

3 种锥栗外生菌根真菌培养条件的单因素优化

刘冬明^{1,2},袁德义^{1,2*},邹 锋^{1,2},张旭辉^{1,2},朱周俊^{1,2},谭露曼^{1,2}

(1.中南林业科技大学 经济林培育与保护教育部重点实验室,湖南 长沙 410004;
2.中南林业科技大学 经济林育种与栽培国家林业局重点实验室,湖南 长沙 410004)

摘 要:明确 3 种锥栗外生菌根真菌的最适培养条件,为锥栗外生菌根真菌进一步研究和生产应用奠定基础。采用固体培养方法,用十字交叉法测量菌落的直径,研究不同温度(15、20、25、30℃和 35℃)、pH 值(4.0、5.0、6.0、7.0、8.0)、碳源(葡萄糖、蔗糖、甘露醇、麦芽糖、可溶性淀粉)、氮源(KNO₃、(NH₄)₂HPO₄、NH₄NO₃、蛋白胨、酵母膏)对 3 种锥栗外生菌根真菌生长的影响。结果表明,3 种锥栗外生菌根真菌最佳生长条件差异不大,最适生长温度均为 25℃,属中温菌;3 种外生菌根真菌在 pH4.0~8.0 均能生长,鸡枞菌(*Termitornyces albuminosus*)和正红菇(*Russula griseocarnosa*)最适生长 pH 为 6.0,橙黄硬皮马勃(*Scleroderma citrinum*)为 7.0;3 种外生菌根真菌的最适碳源均为甘露醇,最适氮源均为 KNO₃。

关键词:锥栗;外生菌根真菌;培养条件

中图分类号:S763.15 文献标志码:A 文章编号:1001-7461(2016)02-0195-06

Optimization of Culture Conditions for 3 *Castanea henryi* Ectomycorrhizal fungi

LIU Dong-ming^{1,2}, YUAN De-yi^{1,2*}, ZOU Feng^{1,2}, ZHANG Xu-hui^{1,2}, ZHU Zhou-jun^{1,2}, TAN Lu-man^{1,2}

(1. The Key Lab of Non-wood Forest Nurturing and Protection of the Nation Ministry of Education, Central South University of Forestry and Technology, Changsha, Hunan 410004, China; 2. The Key Laboratory of Non-timber Breeding and Cultivation of State Forestry Administration, Changsha, Hunan 410004, China)

Abstract: The objective of this research was to find out the optimum culture conditions of 3 ectomycorrhizal fungi for the practical application and bacteria production. Ectomycorrhizal fungi were cultured in solid state, and the colony diameter was measured by cross the crossover method. Effects of temperatures (15, 20, 25, 30℃ and 35℃), pH (4.0, 5.0, 6.0, 7.0 and 8.0), carbon sources (glucose, sucrose, mannitol, malt sugar and soluble starch), nitrogen sources (KNO₃, (NH₄)₂HPO₄, NH₄NO₃, peptone and yeast extract) on the fungus growth were studied. The results indicated that the optimum culture conditions of 3 ectomycorrhizal fungi were slightly different. All of them grew fast at 25℃, and they belonged to moderate temperature fungi. The 3 ectomycorrhizal fungi could grow in pH ranging from 4.0~8.0, while the optimum pH value of *Termitornyces albuminosus* and *Russula griseocarnosa* was 6.0, *Scleroderma citrinum* was 7.0. The optimum carbon source of all the 3 ectomycorrhizal fungi was mannitol and the optimum nitrogen source was KNO₃.

Key words: *Castanea henryi*; ectomycorrhizal fungus; culture condition

锥栗(*Castanea henryi*)属壳斗科(Fagaceae)栗种之一,主要分布在长江以南的丘陵地区^[1]。目前属(*Castanea*)植物,是我国南方重要的木本粮食树 锥栗育苗主要采用大田实生苗嫁接良种的繁殖方

收稿日期:2015-06-18 修回日期:2015-07-19
基金项目:国家“十二五”科技支撑计划课题“板栗和锥栗高效生产关键技术与示范”(2013BAD14B04)。
作者简介:刘冬明,女,硕士研究生,研究方向:果树育种与栽培。E-mail:ldm19890321@163.com。
* 通信作者:袁德义,男,教授,博士生导师,研究方向:经济林育种与栽培。E-mail:yuan-deyi@163.com

式,育苗周期长,苗木质量低。在移栽定植的过程中,极易损伤苗木根系,导致缓苗期长,成活率低。锥栗的菌根化育苗,可以缩短苗木繁育周期,提高苗木质量,培育出优质苗木,提高造林成活率,有利于锥栗的推广种植。

外生菌根(Ectomycorrhizal fungi, ECMF)是由植物营养根系与土壤真菌共生形成的,自然界中普遍存在^[2]。外生菌根真菌可以扩大宿主植物根系吸收营养物质的面积,产生多种有机酸、酶、抗生素等物质,加速生态系统中有有机物和氮、磷、钾、钙、镁等的无机物循环^[2],改善土壤营养状况,促进宿主植物生长,同时对根部土传病害有拮抗作用,能增强植物的抗逆性。外生菌根真菌可以影响宿主植物根际的微生物组成和数量,在建设苗圃、引进树种中应用外生菌根真菌可以提高成活率,外生菌根真菌在干旱地及撂荒地等恶劣环境条件造林的作用更加明显^[3-4]。接种外生菌根真菌还可以延长某些食叶昆虫的发育历期^[5]。很多植物的优良抗性都与它的外生菌根真菌有密切的关系,国际上对与锥栗同属的板栗外生菌根真菌的研究较为深入。E. Pereira^[6]等研究发现板栗根部腐生菌的出现时间对外生菌根真菌侵染效果有极大影响。A. Martins^[7]等研究表明,板栗园内种植多种可食用的外生菌根真菌,与不同的耕作方式相结合,可以增加板栗园收益和恢复园内的生物多样性。J. M. Palmer^[8]等研究了美国板栗外生菌根真菌种群的组成,并鉴定出 46 种菌根真菌。我国关于栗属外生菌根真菌的研究相对较少。秦岭^[9]等调查发现 29 种能与板栗共生的外生菌根真菌,这 29 种外生菌根真菌与板栗共生关系的强弱主要由真菌种类决定;且板栗外生菌根真菌的分布受温度、土壤湿度、土壤类型、树木年龄等诸多因素的影响。柴迪迪^[10]等从野生板栗根部分离 3 株菌种并进行了回接试验,得到 1 种可以极大促进板栗苗木地径和生物量生长的菌根真菌。外生菌根真菌的纯培养,可以突破外界环境因素的限制,在实验室条件下控制所要研究的环境因子,有利于对菌根真菌开展更为深入的研究,为菌根真菌的其他研究奠定基础^[11]。

目前还没有关于锥栗外生菌根菌的相关报道。因此,本试验通过研究不同环境因素对 3 种锥栗外生菌根真菌生长的影响,探索其最佳培养条件。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试外生菌根真菌的采集 2014 年 9 月在

浙江省丽水市庆元县五大堡乡杨楼村(27°33′13″N、119°7′32″E)的锥栗林下采集真菌子实体。采集时参照秦岭^[8]等方法,采集菌丝与锥栗根系相连的子实体,共采集到 10 种子实体。通过子实体形态学特征和解剖学特征将其鉴定到种,经过分离纯化后,得到 3 种锥栗外生菌根真菌菌丝,分别为鸡枞菌(*Termitornyes albus*)、正红菇(*Russula griseocarnosa*)和橙黄硬皮马勃(*Scleroderma citrinum*)(图 1)。

1.1.2 试验培养基 本试验以 MMN(Modified Melin-Norkans)为基础培养基^[12],并在不同的环境因素试验中替换 MMN 基础培养基的特定组成成分。

1.2 方法

本研究的温度、碳源和氮源试验采用固体培养法。将分离纯化得到的 3 种锥栗外生菌根真菌菌丝在平板培养基上复壮后,用无菌的打孔器,打取长势一致的直径为 4.5 mm 的菌饼,将其接种在盛有 20 mL MMN 培养基(培养皿直径 90 mm)的培养皿中央,每皿接种一个菌饼。培养基 pH=6.0,培养 7 d 后,用游标卡尺采用十字交叉法测量菌落直径。温度和 pH 试验采用 MMN 基础培养基,pH 试验采用液体培养法。每处理 3 次重复。

1.2.1 温度 按照上述方法接种的培养皿分别置于 15、20、25、30℃ 和 35℃ 恒温培养箱中倒置培养。

1.2.2 pH 试验采用 FE20pH 计测定培养基 pH 值,用 0.1 mol/L 的 HCl 和 0.1 mol/L 的 NaOH 调整培养基的 pH 值。pH 值分别调整为 4.0、5.0、6.0、7.0、8.0,将其装入容量为 100 mL 的三角瓶中(25 mL/瓶),高温高压(121℃、0.05 MPa)灭菌 20 min。冷却至室温后每瓶接种 1 个长势一致的直径 4.5 mm 菌饼,25℃ 恒温振荡培养(100 r/min)7 d 后用滤纸滤掉菌液,将过滤后的菌丝体放在 80℃ 烘箱内烘至恒重。菌丝体干质量不变后用分析天平称量菌丝体干质量。

1.2.3 碳源 葡萄糖、蔗糖、甘露醇、麦芽糖和可溶性淀粉为试验碳源。用试验碳源替换基础培养基中的葡萄糖,各碳源用量为其碳含量同 20 g/L 葡萄糖的碳含量,不加任何糖类物质的培养基为对照,其他组分与基础培养基相同。根据 3 种外生菌根真菌温度的试验结果,在各自最适温度下培养。

1.2.4 氮源 将基础培养基中的(NH₄)₂HPO₄ 和麦芽汁分别用 3 g/L 蛋白胨、3 g/L 酵母浸出液、0.25 g/L 的(NH₄)₂HPO₄、0.25 g/L 的 KNO₃ 和 0.25 g/L 的 NH₄NO₃ 代替。用不加任何氮源物质的培养基作对照,其他组分与基础培养基相同。分

别在各自最适的温度下培养。

1.3 数据处理与分析

试验所得数据用 SPSS 19.0 软件,采用单因素方差分析方法分析处理。

2 结果与分析

2.1 温度对外生菌根真菌生长的影响

温度对鸡枞菌的生长有极显著($p<0.01$)影响。如图 2 所示,在 15℃至 25℃范围内随着温度升高,鸡枞菌的菌落直径增加,菌丝生长速度加快;之后随着培养温度的继续升高,菌落生长受到显著抑

制,菌落直径远远 $<25^{\circ}\text{C}$ 时的菌落,到 35°C 时鸡枞菌菌丝几乎没有生长。 25°C 时的菌落直径最大,表明鸡枞菌菌丝适合在 25°C 培养。

温度对正红菇的生长影响达极显著($p<0.01$)。如图 2 所示,正红菇的菌落直径随培养温度的变化而变化,在 15°C 至 25°C 之间随着培养温度升高,菌丝生长速度加快,菌落直径变大;正红菇的在 $25\sim35^{\circ}\text{C}$ 的范围内随温度升高菌丝生长受到显著抑制,到 35°C 时菌落几乎停止生长。 25°C 时正红菇的菌丝生长最快,菌落直径最大,表明正红菇的菌丝最适培养温度为 25°C 。

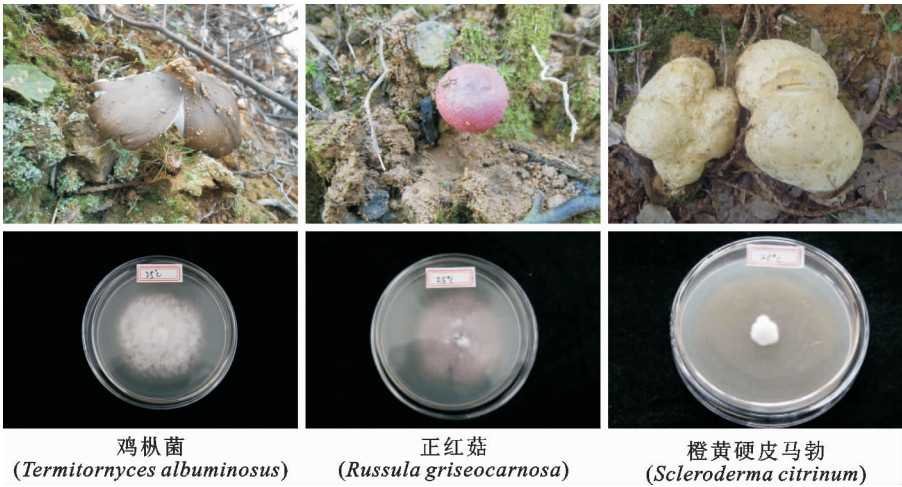
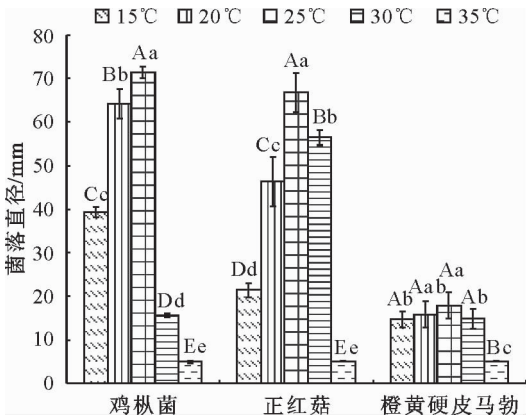


图 1 3 种锥栗外生菌真菌菌丝

Fig. 1 Three species of ectomycorrhizal fungi of *C. henryi*



注:邓肯氏多重比较测验,横向不同小写字母表示差异达到显著水平($p<0.05$),不同大写字母表示差异达到极显著水平($p<0.01$)。下同。

图 2 温度对 3 种锥栗外生菌根真菌生长的影响

Fig. 2 Effects of different temperatures on culturing of ectomycorrhizal fungi

温度对橙黄硬皮马勃的生长有极显著($p<0.01$)的影响。如图 2 所示,橙黄硬皮马勃的菌丝在 $15\sim25^{\circ}\text{C}$ 随着温度升高生长速度也加快,但其菌落菌丝致密,菌落增加的幅度不是很大; 25°C 时橙黄硬

皮马勃菌丝生长的速度最快,菌落直径达到最大;温度继续升高,菌丝生长速度减慢,菌落直径减小, 35°C 时橙黄硬皮马勃的菌丝几乎不再生长。此研究表明 25°C 是橙黄硬皮马勃菌丝最适培养温度。

2.2 pH 对外生菌根真菌生长的影响

由图 2 可以看出,pH 对鸡枞菌的生长影响不显著($p>0.05$)。在 $\text{pH}4.0\sim8.0$ 的范围内鸡枞菌菌丝都可以生长,但不同 pH 值生长状况不同。在 $\text{pH}4.0\sim6.0$ 范围内,随 pH 值升高,其菌丝体干质量增加,但差异不显著。 $\text{pH}=6.0$ 时菌丝体干质量达到最大,表明其最适 pH 为 6.0。在中性和弱碱性环境中,鸡枞菌菌丝生长速度较慢。pH 对正红菇生长影响显著($p<0.05$),如图 3 所示,正红菇在 $\text{pH}4.0\sim8.0$ 都可以生长,但不同 pH 值生长状况有差异。 $\text{pH}4.0\sim6.0$ 时,随着 pH 值的升高,菌丝生长速度加快,菌丝体干质量逐渐增加。 $\text{pH}=6.0$ 时菌丝繁殖最快,菌丝体干质量达到最大。培养液中性和偏碱性时菌丝繁殖速度较慢,菌丝体干质量较小。pH 对橙黄硬皮马勃的生长影响达极显著($p<0.01$)。如图 3 所示,橙黄硬皮马勃在 $\text{pH}4.0\sim8.0$

都可以生长;橙黄硬皮马勃菌丝体干质量在 pH4.0~7.0 时随着 pH 升高,菌丝体质量增大,pH=7.0 时菌丝体质量达到最大。菌丝在酸性和弱碱性中生长速度较慢。

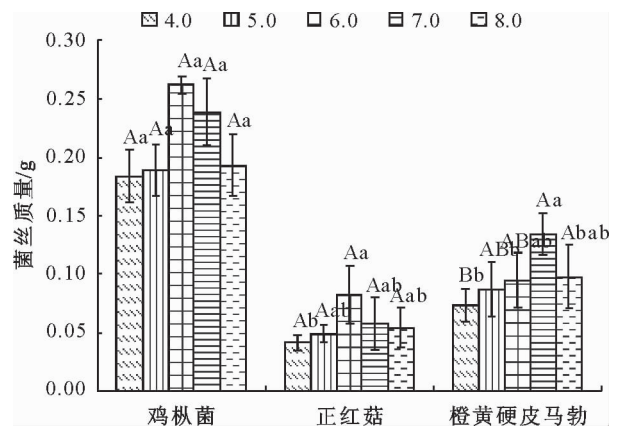


图3 pH 对3种锥栗外生菌根真菌生长的影响

Fig. 3 Effects of different pH values on culturing of ectomycorrhizal fungi

2.3 碳源对外生菌根真菌生长的影响

从图4可以看出,碳源对鸡枞菌的生长影响达极显著($p<0.01$)。鸡枞菌对碳源的利用范围较广,能利用多种碳源。鸡枞菌生长速度最快的碳源为甘露醇,最慢的为可溶性淀粉。碳源对正红菇的生长有极显著($p<0.01$)的影响。正红菇可以利用多种碳源作为其生长的能量来源,其中利用最好的碳源为蔗糖和甘露醇,最差的为麦芽糖。碳源对橙黄硬皮马勃生长的影响达极显著($p<0.01$)。橙黄硬皮马勃可以利用的碳源非常丰富,本试验提供的碳源都能利用。利用效果最好的碳源是甘露醇,最差的是葡萄糖。

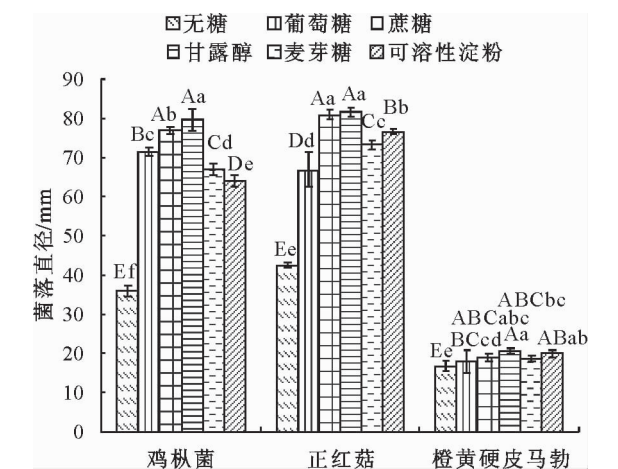


图4 碳源对3种锥栗外生菌根真菌生长的影响

Fig. 4 Effects of different carbon source on culturing of ectomycorrhizal fungi

2.4 氮源对外生菌根真菌生长的影响

从图5可以看出,氮源对鸡枞菌生长影响达极

显著($p<0.01$)。鸡枞菌可以利用试验中的5种氮源,与铵态氮氮源相比,鸡枞菌在有硝态氮和有机氮氮源条件下菌落直径较大。鸡枞菌利用最好的氮源为KNO₃,说明其最适氮源为KNO₃。鸡枞菌对有机氮(蛋白胨、酵母膏)和硝态氮(NH₄NO₃、KNO₃)利用较好。

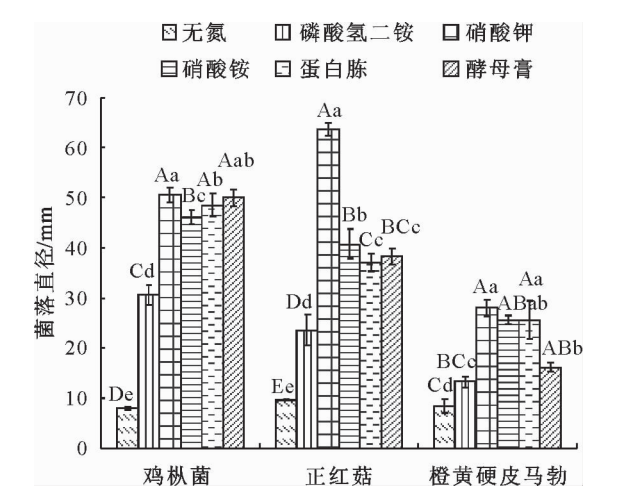


图5 氮源对3种锥栗外生菌根真菌生长的影响

Fig. 5 Effects of different nitrogen source on culturing of ectomycorrhizal fungi

氮源对正红菇生长有极显著($p<0.01$)影响。由图5可以看出,正红菇能利用多种氮源,与铵态氮相比,正红菇在有硝态氮和机氮氮源条件下生长较快。正红菇在KNO₃为氮源的培养基内生长速度最快,说明其最适氮源为KNO₃。此外,正红菇在NH₄NO₃和酵母膏为氮源的培养基中生长较快。

由图5可以看出,氮源对橙黄硬皮马勃的生长影响达极显著($p<0.01$)。橙黄硬皮马勃能利用多种氮源,与铵态氮氮源相比,橙黄硬皮马勃在有硝态氮和有机氮氮源条件下生长较快。橙黄硬皮马勃对KNO₃的利用最好,说明KNO₃是最适氮源。橙黄硬皮马勃对蛋白胨和NH₄NO₃的利用较好。

3 结论与讨论

温度是对外生菌根真菌生长繁殖有重要影响的环境因素。本试验中3种外生菌根真菌的最适生长温度都为25℃,这一结论与姚庆智^[13]等的研究结果相一致,他研究发现大部分外生菌根真菌适宜的生长温度为22.5~25℃。朱教君^[14]等研究表明牛肝菌、乳菇、高环柄菇的最适生长温度分别为25℃、25~28℃、25~30℃,且在温度<5℃和>37℃时,这3种真菌生长受到抑制。但是,菌根形成还受到其他多种因素的影响,所以,菌丝纯培养时生长最迅速的温度可能与形成菌根的最适宜温度有差异^[15]。

pH 作为外生菌根真菌生长的一个重要环境因素也是真菌菌丝体纯培养研究中的一个重点。大部分情况下,外生菌根菌最适 pH 为 4.0~6.0,偏嗜酸性。也有少数较喜弱碱性环境^[16]。本研究中,鸡枞菌和正红菇在微酸性条件下生长较快,橙黄硬皮马勃在中性条件下生长较快。姚庆智^[13]等、宋薇^[17]等、柴迪迪^[18]等的研究也表明,不同菌株的适宜 pH 值不完全相同,但大多数外生菌根真菌适宜在偏酸性的条件中培养,本研究也得到相同的结论。谢一青^[19]等、李翠^[11]等的研究也表明,同一种菌在不同 pH 中生长状况不同,不同种菌在同一 pH 中生长状况也不同。

真菌生长繁殖所消耗的能量主要由碳源提供,所以碳源也是本研究的重要组成部分。很多研究表明,不同种类外生菌根真菌对碳源的利用情况不尽相同,每一种菌根真菌都能利用多种碳源^[16]。李翠^[11]等研究发现 4 种外生菌根真菌利用最好的碳源分别为甘露醇、可溶性淀粉、葡萄糖和麦芽糖。柴迪迪^[18]等的研究发现,大红菇、褪色红菇、黄丝膜菌和多根硬皮马勃生长最快的碳源分别为可溶性淀粉、蔗糖、甘露醇和麦芽糖,淡紫红菇、空柄小牛肝菌和华丽牛肝菌的最适碳源为葡萄糖。本研究中,3 种外生菌根真菌利用最好的碳源为甘露醇,对其他碳源也都能较好利用。但在无糖条件下,3 种外生菌根真菌的生长都受到极大影响,这与柴迪迪^[18]等的研究结果一致。

氮源是真菌生长繁殖的一个重要限制因素。本研究发现,3 种锥栗外生菌根真菌的最适氮源为 KNO₃,对其他有机态氮和硝态氮利用较好,对 (NH₄)₂HPO₄ 利用最差。这一结论与许多前人的研究结果有差异:有机氮是大部分外生菌根真菌的优良氮源,铵态氮次之,硝态氮则较差^[16]。但彭剑涛^[20]等研究的 14 种外生菌根真菌发现铵态氮最好,蛋白质氮其次,尿素和硝态氮对 14 种外生菌根真菌生长的促生作用较差。柴迪迪^[18]等研究发现,外生菌根真菌能够利用多种氮源,其中有机氮源和铵态氮源的利用效果普遍比无机氮源好。本研究还表明,在无氮条件下,3 种外生菌根真菌的生长受到极大影响,这一结论在柴迪迪^[18]等的研究中得到证实。

本研究中对正红菇的研究结果与前人有差异^[21],可能是宿主植物不同和子实体采集地的气候条件差异造成。

外生菌根真菌的纯培养研究对菌根真菌推广和应用具有重大意义,宋薇^[22]等利用菌根真菌的纯培

养结果制作菌剂,并在杨树的育苗中取得良好效果。郭渊^[23]等利用前人研究的菌根菌培养结果制作菌剂接种到 2 年生油松苗上,结果表明,接种菌根真菌可以显著提高苗木菌根化和油松苗质量。本试验得出的 3 种锥栗外生真菌最佳纯培养条件,为锥栗菌根形成机理的探索性研究和锥栗菌剂产品的开发利用奠定了重要基础。

参考文献:

[1] 胡芳名,谭晓凤,刘惠民. 中国主要经济林树种栽培与利用 [M]. 北京:中国林业出版社,2006:10-11.

[2] 梁宇,郭良栋,马克平. 菌根真菌在生态系统中的作用[J]. 植物生态学报,2002,26(6):739-745.

LIANG Y, GUO L D, MA K P. The role of mycorrhizal fungi in ecosystems [J]. Acta Phytoecologica Sinica, 2002, 26(6): 739-745. (in Chinese)

[3] TAKESHI T, RYOTA K, KAZUYOLII F. Plant growth and nutrition in pine(Pinusthunbergii) seedlings and dehydrogenase and phos-phatase activity of ectomycorrhizal root tips inoculated with seven individual ectomycorrhizal fungal species at high and lownitrogen conalitions [J]. Soil Biology&Biochemistry, 2008, 40(5):1235-1243.

[4] 盛江梅,吴小芹. 菌根真菌与植物根际微生物互作关系研究 [J]. 西北林学院学报,2007, 22(5):104-108.

SHENG J M, WU X Q. Interaction between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(5):104-108. (in Chinese)

[5] 刘藩,杨晨,刘同先,等. 杨树接种外生菌根真菌卷缘桩菇对杨扇舟蛾生长发育的影响[J]. 西北林学院学报,2015, 30(3): 145-148.

LIU F, YANG C, LIU T X, et al. Development of *Clostera anachoreta* mediated by ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* on silver-grey poplar seedlings[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2015, 30(3):145-148. (in Chinese)

[6] PEREIRA E, COELHO V, TAVARES R M, et al. Effect of competitive interactions between ectomycorrhizal and saprotrophic fungi on *Castanea sativa* performance [J]. Mycorrhiza, 2012, 22(1):41-49.

[7] MARTINS A, MARQUES G, BORGES O, et al. Management of chestnut plantation for a multifunctional land use under mediterrameam conditions: effects on productivity and sustainability[J]. Agroforest Syst, 2011, 81:175-189.

[8] PALME J M, LINDNER D L, VOLK T J. Ectomycorrhizal characterization of an American chestnut (*Castanea dentata*)-dominated community in Western Wisconsin [J]. Mycorrhiza, 2008, 19(1):7-36

[9] 秦岭,王有智. 板栗外生菌根真菌及其分离培养 [C]//园艺学进展(第二辑). 南京:东南大学出版社 1998:218-222.

[10] 柴迪迪,郭素娟,牛晓丹. 野生板栗根部菌根真菌的分离与间接效应研究[J]. 北方园艺,2010(21):18-21.

CHAI D D, GUO S J, NIU X D. Mycorrhizal fungi of wild Chestnut isolation and the effect of backing up[J]. Northern

Horticulture,2010(21):18-21. (in Chinese)

[11] 李翠,张艳,张茹琴,等. 4 种外生菌根真菌培养条件的研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2009,37(2):155-159.

LI C,ZHANG Y,ZHANG R Q,etal. Cultivating conditions on the growth of 4 ectomycorrhizal fungi in vitro [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Edi. ,2009,37(2):155-159. (in Chinese)

[12] TAKESHI T,RYOTA K,KAZUYOLII F. Plant growth and nutrition in pine(*Pinus thunbergii*) seedlings and dehydrogenase and phosphatase cutivity of ectomycorrhizal root tips inoculated with seven individual ectomycorrhizal fungi species at high and low nitrigen conditions [J]. Soil Biology &Biochemistry,2008,40(5):1235-1243.

[13] 姚庆智,闫伟. 11 株外生外生菌根真菌菌株纯培养营养生理特性的研究[J]. 内蒙古大学学报:自然科学版,2005,36(2):186-191.

YAO Q Z,YAN W. Study on physiological characteristics of 11 ectomycorrhizal strains on pure cultural condition [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis NeiMongol: Nat. Sci. Edi. ,2005,36(2):186-191. (in Chinese)

[14] 朱教君,许美玲,康宏樟,等. 温度、pH 及干旱胁迫对沙地樟子松外生菌根菌生长影响[J]. 生态学杂志,2005,24(12):1375-1379.

ZHU J J,XU M L,KANG H Z,*et al.* Effects of temperature, pH and drought stresses on ectomycorrhizal fungi growth in a *Pinus sylvestris* var. *mongolica* plantation on sandy land [J]. Chinese Journal of Ecology,2005,24(12):1375-1379. (in Chinese)

[15] 蒋盛岩,张平,胡劲松,等. 外生菌根菌白毒伞菌丝体纯培养条件[J]. 湖南师范大学自然科学学报,2002,25(1):75-77.

JIANG S Y,ZHANG P,HU J S,*et al.* Study on pure culture of ectomycorrhizal fungi *Amanita verna* [J]. Journal Natural Science Hunan Normal University,2002,25(1):75-77. (in Chinese)

[16] 弓明钦,陈应龙,仲崇禄,等. 菌根研究及应用[M]. 北京:中国林业出版社,1997:3-46.

[17] 宋薇,吴小芹. 12 种林木外生外生菌根真菌的培养条件[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2007,31(3):133-135.

SONG W,WU X Q. Research of cultivating conditions of 12 wood ectomycorrhizal fungi [J]. Journal of Nanjing Forestry University: Nat. Sci. Edi. ,2007,31(3):133-135. (in Chinese)

[18] 柴迪迪,郭素娟,孙小兵,等. 燕山地区 7 种板栗外生外生菌根真菌培养条件的优化[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2014,42(4):109-116.

CHAI D D,GUO S J,SUN X B,*et al.* Optimization of culture conditions for 7 chestnut ectomycorrhizal fungi in Yanshan Area [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Edi. ,2014,42(4):109-116. (in Chinese)

[19] 谢一青,李志真,杨宗武. pH、盐浓度及铝离子对菌根菌生长的影响[J]. 江西农业大学学报:自然科学版,2002,24(2):204-207.

XIE Y Q, LI Z Z,YANG Z W. Effect of pH Value,Salt concentration and Al³⁺ on mycorrhizal fungus growth[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis: Nat. Sci. Edi. ,2002,24(2):204-207. (in Chinese)

[20] 彭剑涛. 外生菌根真菌氮、钾营养特性及其对汞胁迫的反应[D]. 成都:西南大学,2010.

[21] 莫天砚,黄福常. 正红菇生理特性研究[J]. 吉林农业大学学报,1998,20(S1):113.

MO T Y,HUANG F C. Studies on the physiologieal charaeresties of *Russula vinosa* [J]. Journal of Jilin Agricultural University,1998,20(S1):113. (in Chinese)

[22] 宋薇,吴小芹,叶建仁. 江苏几种杨树优良外生菌根真菌的筛选[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2009,33(2):81-84.

SONG W,WU X Q,YE J R. Screening elite ectomycorrhizal fungi forpoplars in Jiangsu [J]. Journal of Nanjing Forestry University: Nat. Sci. Edi. ,2009,33(2):81-84. (in Chinese)

[23] 郭渊,唐明,王亚军,等. 外生菌根真菌对油松幼苗的接种效应[J]. 西北林学院学报,2006,21(5):116-119.

GUO Y,TANG M,WANG Y J,*et al.* Effect of inoculating *Pinus tabulaeformis* with ectomycorrhizal fungi[J]. Journal of Northwest Forestry University,2006,21(5):116-119. (in Chinese)