

镇安板栗外生菌根真菌多样性研究

宋彦君¹,季志平^{2*},吕平会²,王晓冰²,韩其晟²,龙东风²

(1. 华东师范大学 生态与环境科学学院,上海 200241; 2. 西北农林科技大学 林学院,陕西 杨陵 712100)

摘要:为了明确秦岭山区与板栗共生的外生菌根真菌群落组成,以西北农林科技大学镇安板栗教学实验地板栗试验林为对象,对板栗外生菌根真菌群落结构进行了研究。在形态学鉴定的基础上,综合运用 ITS 序列分析技术,共检测到 27 种外生菌根真菌与板栗共生,其中 3 种为子囊菌,24 种为担子菌,分属 8 科,9 属;优势种不明显,常见种有 *Russula* sp. 1、*Tomentella* sp. 3、*Inocybe* sp.、*Russula livescens*,其他 23 种均属于稀有种;优势类群为 *Russula*、*Tomentella* 2 属。*Russula*、*Tomentella* 外生菌根真菌是与秦岭山区板栗共生的优势真菌类群,可能在促进板栗植株生长、提高板栗品质等方面发挥着重要作用。研究结果为秦岭山区板栗共生外生菌根筛选以及板栗林生产培育等方面提供了一定的理论依据。

关键词:板栗;外生菌根真菌;形态鉴定;ITS;群落结构

中图分类号:S763.15 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2016)04-0188-07

Community Structure of Ectomycorrhizal Fungi Associated with *Castanea mollissima* in Zhen'an County

SONG Yan-jun¹,JI Zhi-ping^{2*},LYU Ping-hui²,WANG Xiao-bing²,HAN Qi-sheng²,LONG Dong-feng²

(1. College of Ecological and Environmental Sciences,East China Normal University,Shanghai 200241,China;

2. College of Forestry,Northwest A&F University,Yangling,Shaanxi 712100,China)

Abstract:Taking the forests of *Castanea mollissima*,located in the Teaching and Experimental Base of Northwest A&F University,Zhen'an County,Shaanxi Province as research objects,the community structure of ectomycorrhizal (ECM) fungi associated with *C. mollissima* in Qinling Mountains was investigated. Based on the results of morphological identification,technology of ITS sequence analysis was adopted. The results indicated that there existed 27 different ECM fungi,belonging to 8 families and 9 generas,in which 24 types belonged to Basidiomycetes,and 3 to Ascomycete. No dominant species was found. The common species were *Russula* sp. 1,*Tomentella* sp. 3,*Inocybe* sp. and *R. livescens*,and the other 23 species were rare species. Among these ectomycorrhizal fungi,*Russula* and *Tomentella* were the dominant group. The results would provide a theoretical basis for the selection of ECM fungi and cultivation of chestnut in Qinling Mountains.

Key words:*Castanea mollissima*; ectomycorrhizal fungsu; morphological identification;ITS; community structure

外生菌根(ectomycorrhizas,ECM)是土壤中的真菌与宿主植物形成的互惠共生体,其主要特征是真菌菌丝伸入根皮层细胞间隙形成的哈氏网(Har-

tig.s net)网络结构,但不侵入细胞内部^[1],主要出现在以松科、榛科、壳斗科等树种占优势的森林生态系统中,尤以壳斗科的栗属、栎属、水青冈属等树木

收稿日期:2015-10-15 修回日期:2015-11-19
基金项目:国家“十二五”科技支撑计划项目(2013BAD14B404);西北农林科技大学科技创新项目(XNY2013-33)。
作者简介:宋彦君,女,在读硕士,研究方向:功能生态学。E-mail:songyj3000@163.com
*通信作者:季志平,男,副研究员,硕士,研究方向:森林生态与经济林栽培研究。E-mail:jzhip@nwsuaf.edu.cn

为多,此类树木是人工林的主要造林树种,在没有外生菌根生存的条件下无法存活^[2]。外生菌根在森林生态系统中发挥着极其重要的作用,在促进育苗成活与生长、提高林木生产力、增强植物器官功能、提高植物抗病性及抗逆性等方面具有重要作用^[3-6]。因此,研究人工林生态系统结构中的外生菌根真菌多样性对人工林的育苗、生长及增产等方面有重要的指导意义。

板栗(*Castanea mollissima*)是我国主要的人工经济林树种,至今已有2 500多a的栽培历史^[7]。板栗的优良抗性与其共生的外生菌根真菌密不可分^[8]。外生菌根真菌在促进板栗光合效率方面具有重要的作用^[15]。目前,板栗外生菌根真菌的研究主要集中在菌根真菌的种类、分离培养、提高植物抗旱性以及吸收矿质元素等方面^[9-13]。关于板栗外生菌根真菌群落结构的研究主要以秦岭为代表。秦岭^[9]等在燕山地区发现13属29种外生菌根真菌与板栗共生,而有关秦岭山区与板栗共生的外生菌根真菌的研究鲜有报道,尤其是以“镇安1号”板栗为对象的研究尚未有报道。镇安县位于秦岭腹地,是国内著名的板栗产地,“镇安1号”板栗是国家“十一五”期间唯一通过国审的优良板栗品种^[14],是目前秦岭山区重点推广的品种。受生态环境条件的影响,不同地区与同一物种共生的外生菌根真菌有所差异。因此,在秦岭山区开展板栗外生菌根真菌多样性研究对广泛栽培的“镇安1号”板栗的增产具有重要的指导作用。本研究拟在形态学水平的基础上,综合运用ITS序列分析方法,对板栗外生菌根真菌的物种组成及多样性进行研究,以期丰富相关研究并为板栗的生产实践提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料取自西北农林科技大学镇安板栗教学实验基地试验林,该基地位于陕西省商洛市镇安县,属于秦岭腹地。随机选取人工板栗20棵进行研究(树龄约为15 a,树高5~7 m),采样点之间距离在10 m以上。采用Agerer^[16]等方法进行样品的采集,沿板栗主根生长方向选取侧根,确认与板栗根系相连,利用切根刀切取新鲜、完整、有代表性的须根;采样深度为0~20 cm,挖取20~30 cm长度的须根,连同土块一起装入自封袋中并编号;将采回的样品及时带回置于0~4℃冰箱中保鲜备用,保存时间不超过1周。

1.2 试验方法

1.2.1 菌根处理 从冰箱中取出样品,于清水中浸

泡或漂洗至板栗根样上的土块消失,之后借助胶头滴管顺着须根生长方向小心冲洗,力度适中,避免破坏须根,保持根样的完整性,剪成长约9 cm的根段^[17]。

1.2.2 形态结构观察 将完整的根段置于装有蒸馏水的表面皿中,在体视显微镜PXS9T(上海测维光电技术有限公司)下用镊子、细小的毛刷及解剖针进一步清洗干净。利用体视显微镜观察板栗根段,放大倍数为40倍。菌根形态观察的内容包括菌根大小、形状、颜色、有无分叉、外延菌丝、根状菌索、粗糙程度等方面,对外生菌根根尖进行初步分类、拍照、取样并编号。每棵树观察200~300个根尖,根据形态特征将外生菌根根尖归类,并记录不同形态型的外生菌根根尖数目。将每个形态型中挑选的新鲜根尖(4~9个)置于2 mL离心管中,于冷干机中冻干后常温保存,备用。

1.2.3 DNA提取 采用Lian^[18]等的CTAB法提取DNA,具体步骤如下:向装有被外生菌根真菌感染的根尖的2 mL离心管中加入钢珠,放入组织研磨仪进行研磨,加入50 μ L的2×CTAB,继续研磨直至样品粉碎,离心后加入350 μ L的CTAB;离心管置于60℃的水浴锅中,水浴30~60 min;离心管取出后,加入400 μ L的CIA(氯仿:异戊醇=体积比24:1)试剂,猛烈震荡,之后放入离心机,18℃、15 000 r·min⁻¹条件下离心5 min;取上层清液转移到新的1.5 mL离心管中,加入400 μ L的异丙醇,混匀后放入-20℃冰箱中冷藏10 min;4℃、15 000 r·min⁻¹离心10 min,去除液相,将DNA析出;加入400 μ L 80%的酒精对DNA进行再次提纯,4℃、15 000 r·min⁻¹条件下离心5 min,去除液体;最后将试管倒立于吸水纸上1~2 h,干燥后在试管中加入30 μ L的无菌水,于4℃冰箱中保存、备用。

1.2.4 PCR扩增 采用真菌特有引物ITS1F(5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和ITS-4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行PCR扩增^[19]。PCR扩增反应在MyCycler Thermal Cycler # 170-9701EDU型PCR仪(美国Bio-RAD公司)上进行。PCR反应体系(30 μ L)包括:1.5 μ L 2×PCR缓冲液、DNA模板;15 μ L 2×Taq Master Mix;12.3 μ L ddH₂O;0.6 μ L ITS1F引物和0.6 μ L ITS-4引物。反应程序为:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,53℃退火30 s,72℃延伸1 min,35个循环;72℃再延伸5 min,4℃保存备用。

1.2.5 ITS序列比对 经电泳(2%琼脂糖凝胶)和凝胶成像仪检测后(Molecular Imager® Gel DocTM

XR 型紫外凝胶成像系统),合格的 PCR 扩增产物由生工生物工程(上海)股份有限公司测序。测得序列经 BioEdit 分子生物学软件校正后,运用 GenBank 的局部相似性查询系统 BLAST 进行比较分析^[20]。一般认为在其中之一查询系统中序列相似性系数超过 97%鉴定为种的水平^[21-24],相似性系数为 90%~97%之间鉴定为属的水平^[25],<97%则鉴定为未知种^[17],将碱基序列置于 NCBI 数据库对外生菌根真菌进行查询确认^[26],然后对所有获得的序列进行 OUT 划分,最终完成外生菌根真菌种和属的鉴定。

1.3 数据处理分析

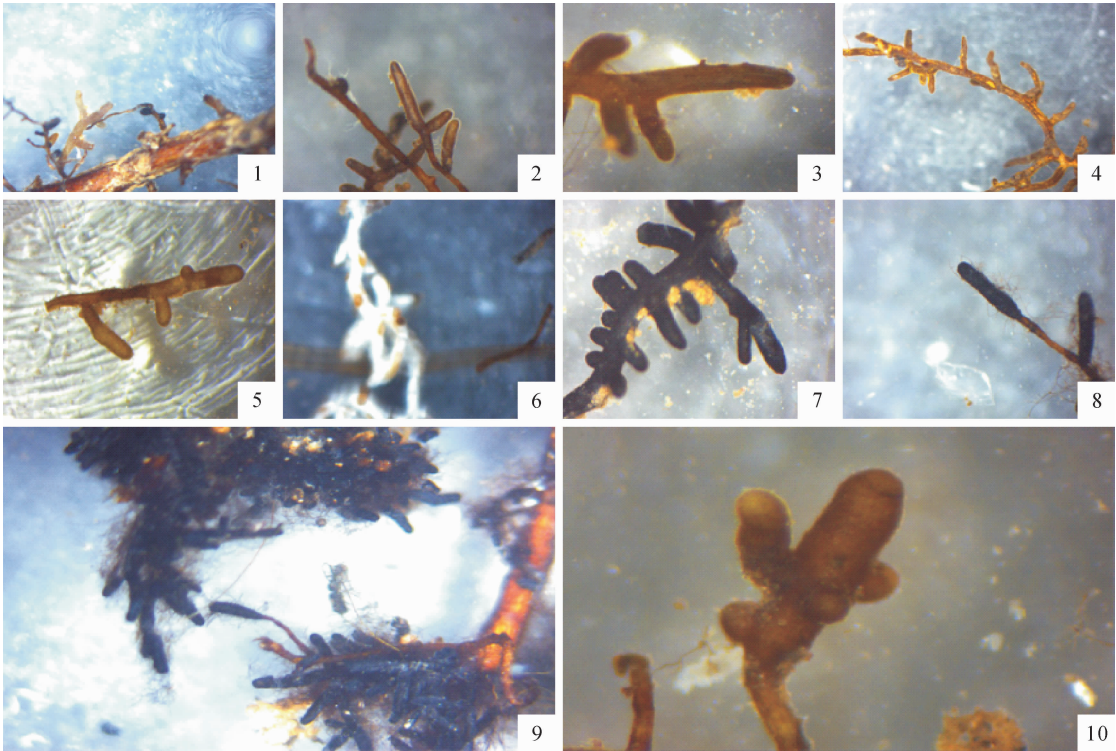
采用重要值(important value)衡量物种的优势度,具体用相对多度(relative abundance)和相对频度(relative frequency)之和表示。相对多度指一个种的形成菌根根尖数之和除以所有种的形成菌根根尖数目之和,相对频率指一个种的形成菌根根尖出现的样方数(一个种的菌根根尖在 20 棵树中出现的频数)除以所有种的形成菌根尖出现的样方数之和。定义“优势种”为在 $\geq 80\%$ 的样方(16 份样方中)中

被检测到的外生菌根真菌,“常见种”为在 $\geq 30\%$ 的样方(6 份样方中)中被检测到的外生菌根真菌,“稀有种”为在 $< 30\%$ 的样方(6 份样方中)中被检测到的外生菌根真菌^[27]。

2 结果与分析

2.1 不同外生菌根形态学特征

与板栗共生的不同外生菌根形态学特征如图 1 所示,从图中可以看出,不同外生菌根大小形状不一,主要以棒状、杆状、二叉状、羽毛状为主;颜色主要以褐色、黄色、黑色、灰色、白色为主,深浅层次不一;分叉程度不一,少数菌根无分叉,部分分叉多且分支较长,分叉程度在一定程度上反映了菌根的形状特征;外延菌丝明显,颜色主要有黑色、褐色和白色,大多数周围密被菌丝,尤以 *Tomentella* 外生菌根突出;根状菌索以 *Tomentella* 属较多(图 1-9),大多数外生菌根无根状菌锁;菌根边缘粗糙程度不一,少数极其光滑,无外延菌丝附着。相关形态指标为后续筛选与板栗共生的外生菌根根尖及进行 ITS 序列扩增分析提供了重要依据。



注:此 10 种外生菌根上的外生菌根真菌依次为 1. *Hymenogaster* sp.; 2. *Inocybe napipes*; 3. *R. livesence*; 4. *Russula* sp. 1; 5. *Sebacina* sp. 1; 6. *Scleroderma* sp.; 7. *Tomentella* sp. 2; 8. *Tomentella* sp. 3; 9. *Tomentella* sp. 6; 10. *Tuber* sp. 1,此结果根据后续的分

图 1 不同板栗外生菌根形态学特征

Fig. 1 Morphological feature of different ECM types

2.2 板栗外生菌根真菌分子鉴定

在形态学观察的基础上,通过 ITS 序列分析及 OTU 进化地位分析,共检测到 29 种真菌,经检索和文献核对,有 27 种属于能与板栗共生的外生菌根真

菌,分别隶属于 8 科、9 属(表 1)。其中 Russulaceae 和 Thelephoraceae 两科 ECM 真菌种类最多,Russulaceae 科有 1 属(*Russula*)7 种, Thelephoraceae 科同样有 1 属(*Tomentella*)7 种;Cortinariaceae 科

表 1 板栗外生菌根根尖 ITS 区段 DNA 序列 BLAST 比对结果

Table 1 DNA sequence BLAST results of the ITS region of DNA extracted from ECM root tips of chestnut

ECM 类型	ITS 序列分析结果		比对结果	
	科	种	In GenBank	In UNITE database
1	Cortinariaceae	<i>Cortinarius</i> sp. 1	<i>C. cf. saniosus</i> EKB890808(DQ102685. 1) 515/559(92%)	<i>Cortinarius umbrinolens</i> (UDB016131) 512/556 (92%)
2	Cortinariaceae	<i>Cortinarius</i> sp. 2	<i>C. torvus</i> (AJ889977. 1) 566/590(96%)	<i>C. torvus</i> (UDB018320)559/581 (96%)
3	Hymenogasteraceae	<i>Hymenogaster</i> sp.	<i>Hymenogaster</i> sp. EMF23 (JF273526. 1)614/651(94%)	<i>Hebeloma populinum</i> (UDB000697) 360/397 (90%)
4	Cortinariaceae	<i>Inocybe na pipes</i>	<i>Inocybe</i> sp. 2488CG-2012 (HE814153. 1)480/509(94%)	<i>Inocybe na pipes</i> (UDB015574) 193/197 (97%)
5	Cortinariaceae	<i>Inocybe</i> sp.	<i>I. oblectabilis</i> (AM882831. 2) 585/686 (85%)	<i>I. dunensis</i> (UDB017674) 310/334 (92%)
6	Tricholomataceae	<i>Laccaria</i> sp.	<i>L. murina</i> (AB211271. 1) 569/607 (94%)	<i>L. laccata</i> (UDB017611) 568/607 (93%)
7	Russulaceae	<i>R. cerolens</i>	<i>R. cerolens</i> (JX434674. 1) 590/595 (99%)	<i>R. amoenolens</i> (UDB000343) 552/568 (97%)
8	Russulaceae	<i>R. livescens</i>	<i>R. livescens</i> (JN129398. 1) 676/680 (99%)	<i>R. livescens</i> (UDB000894) 667/672 (99%)
9	Russulaceae	<i>R. pelargonia</i>	<i>Russula</i> sp. B181 (FN669244. 1) 636/651(98%)	<i>R. pelargonia</i> (UDB011322) 642/656 (97%)
10	Russulaceae	<i>Russula</i> sp. 1	<i>R. livescens</i> (GU371295. 1) 593/617 (96%)	<i>R. livescens</i> (UDB000894) 588/618 (95%)
11	Russulaceae	<i>Russula</i> sp. 2	<i>R. livescens</i> (JN129398. 1) 552/634 (87%)	<i>R. livescens</i> (UDB000894) 437/497 (87%)
12	Russulaceae	<i>Russula</i> sp. 3	<i>Russula</i> sp. 2 ZWG-2011(JN129400. 1) 543/603(90%)	<i>R. amoenolens</i> (UDB000343) 443/512 (86%)
13	Russulaceae	<i>Russula</i> sp. 4	<i>R. livescens</i> (JN129398. 1) 568/643 (88%)	<i>R. livescens</i> (UDB000894) 564/643 (87%)
14	Sebacinaceae	<i>Sebacina</i> sp. 1	<i>S. epigaea</i> (JQ665516. 1) 537/561 (96%)	<i>S. helvelloides</i> (UDB016423) 474/513 (92%)
15	Sebacinaceae	<i>Sebacina</i> sp. 2	<i>S. epigaea</i> voucher TUB 019706 (JQ665516. 1)551/580(95%)	<i>Environmental sequence</i> (UDB013622) 537/565 (95%)
16	Sclerodermataceae	<i>Scleroderma</i> sp.	<i>Scleroderma</i> sp. EMF38 (JF273540. 1) 704/709(99%)	<i>S. verrucosum</i> (UDB011607) 638/706 (90%)
17	Sebacinaceae	<i>Sebacina</i> aff. <i>epigaea</i>	<i>Sebacina</i> aff. <i>Epigaea</i> MW 526 (AF490393. 1)584/605(97%)	<i>Sebacina</i> (UDB016431)562/594 (94%)
18	Thelephoraceae	<i>Tomentella</i> sp. 1	<i>Tomentella</i> sp. N44 (AJ534916. 1)557/593(94%)	<i>T. stuposa</i> (UDB000244) 550/583 (94%)
19	Thelephoraceae	<i>Tomentella</i> sp. 2	<i>Thelephoraceae</i> sp. P309 (FN669266. 1)586/611(96%)	<i>T. stuposa</i> (UDB011637) 584/605 (96%)
20	Thelephoraceae	<i>Tomentella</i> sp. 3	<i>Tomentella</i> sp. src834 (EU726329. 1) 598/640(93%)	<i>Tomentella</i> (UDB003278) 587/634 (92%)
21	Thelephoraceae	<i>Tomentella</i> sp. 4	<i>Tomentella</i> sp. J54 (AJ534914. 1) 624/669(93%)	<i>T. lilacinogrisea</i> (UDB016404)612/649 (94%)
22	Thelephoraceae	<i>Tomentella</i> sp. 5	<i>Thelephoraceae</i> sp. ‘ Taylor # 2 ‘ (U83467. 1)619/658(94%)	<i>T. bryophila</i> (UDB018507) 620/649 (95%)
23	Thelephoraceae	<i>Tomentella</i> sp. 6	<i>Thelephoraceae</i> sp. ‘ Taylor # 2 ‘ (U83467. 1)616/656(94%)	<i>Tomentella</i> (UDB003278) 599/639 (93%)
24	Thelephoraceae	<i>Tomentella</i> sp. 7	<i>Tomentella</i> sp. J54 (AJ534914. 1) 600/653(92%)	<i>T. cystidiata</i> (UDB018457) 594/645 (92%)
25	Tuberaceae	<i>Tuber huidongense</i>	<i>T. huidongense</i> (GU979035. 1)570/580 (98%)	<i>T. rufum</i> (UDB015182) 407/450 (90%)
26	Tuberaceae	<i>Tuber</i> sp. 1	<i>T. rufum</i> f. Nitidum (FM205677. 1) 490/545(90%)	<i>T. rufum</i> (UDB015182)423/475(89%)
27	Tuberaceae	<i>Tuber</i> sp. 2	<i>Tuber</i> sp. S-11-I-34 18S(KF742769. 1) 514/525(98%)	<i>E. sequence</i> (UDB017387) 503/512 (98%)

有 2 属(分别为 *Inocybe*、*Cortinarius*),每属各 2 种;
Tuberaceae 科有 1 属(*Tuber*)3 种,Sebacinaceae 科

有 1 属(*Sebacina*) 3 种;Trichol-omataceae 科有 1
属(*Laccaria*) 1 种,Sclerodermataceae 科有 1 属

(*Scleroderma*) 1 种, Cl-adosporiaceae 科有 1 属 (*Cladosporium*) 1 种, Hymenogasteraceae 科有 1 属 (*Hymenogaster*) 1 种。在已鉴定的外生菌根真菌中, Tuberaceae 科(3 种)为子囊菌, 其他 7 科外生菌根真菌(24 种)皆属于担子菌。

2.3 板栗外生菌根真菌群落组成

2.3.1 侵染率 侵染率指形成菌根根尖数与被检根尖总数之比^[28-29]。本研究共观察根尖 5 140 个, 其中被侵染根尖 3 740 个, 总侵染率为 72.8%。与板栗共生的外生菌根真菌群落中, *Russula* sp. 1 的侵染率最高, 为 9.53%; *Tomentella* sp. 2 次之, 侵染率为 8.40%; 而 *T. huidongense* 侵染率最低, 为 0.12%; 其余外生菌根真菌侵染率介于 0.16%~6.66% 之间(图 2)。

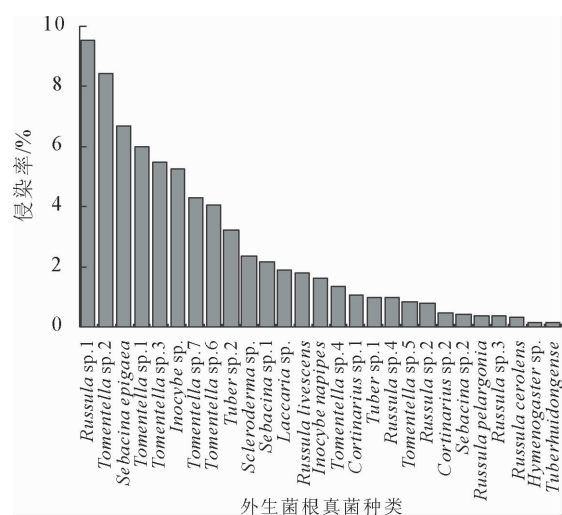


图 2 板栗外生菌根的侵染率

Fig. 2 The infection rate of the chestnut

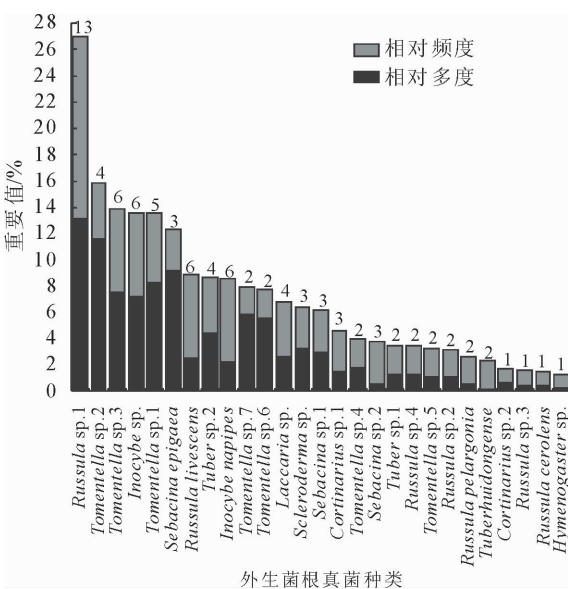


图 3 板栗外生菌根真菌种类组成

Fig. 3 Composition of ectomycorrhizal fungus species of chestnut

2.3.2 优势度 与侵染率计算结果相一致, 外生菌根真菌群落中, *Russula* sp. 1 的重要值也是最高的, 为 26.93%; *Tomentella* sp. 2 的重要值次之, 为 15.81%。但优势种并不明显, 并未出现在 ≥ 16 份样本中均被检测到的种类; 常见种有 *Russula* sp. 1、*Tomentella* sp. 3、*Inocybe* sp.、*R. livescens*, 其中 *Russula* sp. 1 在 13 份样本中被检测到, 其他 3 种均在 6 份样本中被检测到; 其余 23 种均为稀有种, 在 ≤ 6 份样本中被检测到。各个种的优势度不高, 却呈现出了一定的菌根多样性。在属这一层次上, *Russula* 和 *Tomentella* 两属种类较多(各 7 种), 在个样方中(≥ 16) 的分布也较为普遍, 占有一定的优势。

3 结论与讨论

研究结果表明: 研究区内与镇安板栗共生的外生菌根真菌群落主要由 27 种外生菌根真菌构成, 包括 3 种子囊菌, 24 种担子菌, 分属于 8 科、9 属; 其中, 4 个种属于常见种, 其余 23 种则属于稀有种, 优势种不明显, 但仍反映出一定程度的菌根真菌多样性。在属这一层次上, *Russula* 和 *Tomentella* 2 属种类相对较多, 且在多数样方中均有分布, 属于与镇安板栗共生的优势类群。秦岭^[9]等发现燕山地区与板栗共生的优势真菌中也有 *Russula*、*Blom*^[30] 在对意大利中部地区板栗外生菌根的研究中也发现 *Tomentella* 属为优势为类群。综合上述研究结果可以推断, *Russula*、*Tomentella* 2 属外生菌根真菌可能是与板栗共生的广谱性真菌。此外, 王琴^[27] 在蒙古栎 ECM 真菌群落研究中发现 *Tomentella* 属为优势外生菌根类群, 说明 *Tomentella* 属外生菌根真菌可能是与壳斗科植物共生的重要类群, 在壳斗科植物生长发育过程中发挥着重要作用。另外, *Tuber*、*Sebacina* 2 属外生菌根真菌虽然在本研究中划为稀有种, 但在王琴^[27] 等的研究中亦有报道, 说明 2 属可能是与壳斗科植物共生的广谱外生真菌类群。然而, 与其他林区的 ECM 真菌群落结构相比, 研究区板栗外生菌根类群也呈现出一定的特殊性, 诸如 *Hymenogaster*、*Sporisorium* 等类群并未在早先的研究中被报道, 可能为镇安板栗林所特有, 关于这一点还有待进一步研究确认。

生态因子是造成外生菌根真菌群落组成差异的重要原因^[31]。蒲训^[32]与毕国昌^[33]等分别对陇南地区与滇西北林木外生菌根真菌做了调查, 对比发现 2 地林木外生菌根菌的种类及数量均有差异, 说明 ECM 真菌的分布与地理条件相关。结合燕山地区与板栗共生 ECM 真菌的研究^[5], 2 地区 ECM 真菌群落结构差异较大, 充分说明了地理条件是板栗

共生 ECM 真菌分布差异性的一个重要因素。地理条件的差异反映在生态因子上则是光、热、水、气、土的不同,而土壤条件的差异则是地理条件差异的一个主要因素,相应的,土壤因子也是影响外生菌根菌种类与分布的重要因子之一^[34]。柴迪迪^[10]等对 7 种燕山地区板栗外生菌根真菌的研究发现,不同种类的 ECM 真菌最适生长温度、pH 值、碳源及氮源等均存在差异,中温菌最适生长温度为 25℃,耐高温菌适生长温度为 30℃;pH 最适环境为偏酸性;不同菌种的碳源和氮源差异同样很大。综合上述,与板栗共生的 ECM 真菌群落结构主要受温度、pH 值、土壤肥力等多方面因子的影响。鉴于本研究缺乏土壤等相关数据,并且新报道的 ECM 真菌稀有种类和数量较多,而关于稀有种的研究较少。因此,之后的研究可以集中在土壤理化性质和稀有种接种试验等方面,分析外生菌根真菌与生态因子之间的关系,寻找更有利于宿主“镇安 1 号”板栗的菌种,以逐步实现板栗产量最大化的生产目的。

参考文献:

[1] HARLEY J L, SMITH S E. Mycorrhizal symbiosis[M]. London: Academic Press, 1983: 1-483.

[2] 杨国亭, 宋关玲, 高兴喜. 外生菌根在森林生态系统中的重要性 (I)——外生菌根对宿主树木的影响[J]. 东北林业大学学报, 1999, 27(6): 72-77.

[3] 朱教君, 徐慧, 许美玲等. 外生菌根菌与森林树木的相互关系[J]. 生态学杂志, 2003, 22(6): 70-76.

ZHU J J, XU H, XU M L. Review on the ecological relationships between forest trees and ectomycorrhizal fungi[J]. Chinese Journal of Ecology, 2003, 22(6): 70-76. (in Chinese)

[4] 郭渊, 唐门, 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)

[5] 赵平娟, 安峰, 丁明明. 菌根提高植物抗病机理的研究[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(1): 93-97.

ZHAO P J, AN F, DING M M. Advances in the researches of the mechanism of disease resistance promotion of mycorrhiza[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2004, 19(1): 93-97. (in Chinese)

[6] 赵忠, 王真辉. 菌根真菌与根际微生物间的关系及其对宿主植物的影响[J]. 西北林学院学报, 2001, 16(4): 70-75.

ZHAO Z, WANG Z H. The relationships between mycorrhizal fungi and microbe of rhizosphere and their influences on host plant [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2001, 16(4): 70-75. (in Chinese)

[7] 王福堂, 张昌辉, 张子勤, 等. 板栗栽培贮藏与加工[M]. 北京: 农业出版社, 1993.

[8] 周崇莲, 齐玉臣. 外生菌根与植物营养[J]. 生态学杂志, 1993, 12(1): 37-44.

ZHOU C L, QI Y C. Ectomycorrhiza and plant nutrition[J].

Chinese Journal of Ecology, 1993, 12(1): 37-44. (in Chinese)

[9] 秦岭, 徐践, 马萱, 等. 板栗共生菌根真菌种类及其发生规律的研究[J]. 北京农学院学报, 1995, 10(1): 71-75.

[10] 柴迪迪, 郭素娟, 孙小兵, 等. 燕山地区 7 种板栗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: Natural Science, 2014, 42(4): 109-116. (in Chinese)

[11] 秦岭, 郑来友. 菌根对板栗幼苗生长及抗旱性的影响[J]. 北京农学院学报, 2000, 15(2): 10-14.

[12] 徐冰, 冯固, 潘家荣, 等. 外生菌根菌丝桥在板栗幼苗间传递磷的效应[J]. 生态学报, 2003, 23(4): 765-770.

XU B, FENG G, PAN J R, et al. Transferring of phosphorus between chestnut seedlings via ectomycorrhizal hyphal links [J]. Acta Ecologica Sinica, 2003, 23(4): 765-770. (in Chinese)

[13] 冯固, 徐冰, 秦岭, 等. 外生菌根真菌对板栗生长及养分吸收的影响[J]. 园艺学报, 2003, 30(3): 311-313.

FENG G, XU B, QIN L, et al. Effects of ectomycorrhizal fungi on the growth and nutrient uptake of chestnut[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2003, 30(3): 311-313. (in Chinese)

[14] 王祥坤, 王洪宽. 镇安 1 号 十一五期间国家唯一鉴定推广的板栗优良品种[J]. 陕西林业, 2010(3): 16-17.

[15] 柴迪迪, 郭素娟, 秦天天, 等. 接种菌根菌后板栗幼苗光合作用的光响应曲线[J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(8): 38-42.

CHAI D D, GUO S J, QIN T T, et al. Light response curve of inoculated *Castanea mollissima* seedling photosynthesis[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2013, 33(8): 38-42. (in Chinese)

[16] AGERER R. 2 Characterization of ectomycorrhiza[J]. Methods in Microbiology, 1991, 23(4): 25-73.

[17] HUANG J, NARA K, LIAN C L, et al. Ectomycorrhizal fungal communities associated with Masson pine (*Pinus massoniana* Lamb.) in Pb-Zn mine sites of central south China[J]. Mycorrhiza, 2012, 22(8): 589-602.

[18] LIAN C, HOGETSU T, MATSUSHITA N, et al. Development of microsatellite markers from an ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma matsutake*, by an ISSR-suppression-PCR method[J]. Mycorrhiza, 2003, 13(1): 27-31.

[19] GARDES M, BRUNS T D. ITS Primers with enhanced specificity for basidiomycetes-application to the identification of mycorrhizae and rusts[J]. Molecular Ecology, 1993, 2(2): 113-118.

[20] ALTSCHUL S F, MADDEN T L, SCHAFER A A, et al. Gapped BLAST and PSIBLAST: a new generation of protein database search programs[J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(8): 3389-3402.

[21] KRPATA D, PEINTNER U, LANGER I, et al. Ectomycorrhizal communities associated with *Populus tremula* growing on a heavy metal contaminated site[J]. Mycological Research, 2008, 112(9): 1069-1079.

[22] LEHO T, URMAS K, NILS H, et al. Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest[J]. New Phytologist, 2003, 159(1): 153-165.

[23] TEDERSOO L,JAIRUS T,HORTON B M,*et al.* Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers [J]. New Phytologist,2008,180(2):479-490.

[24] PEAY K G,GARBELOTTO M,BRUNS T D. Spore heat resistance plays an important role in 1disturbance-mediated assemblage shift of ectomycorrhizal fungi colonizing *Pinus muricata* seedlings [J]. Journal of Ecology,2009,97(3) :537-547.

[25] NIETO M P,CARBONE S S. Characterization of juvenile maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) ectomycorrhizal fungal community using morphotyping, direct sequencing and fruit bodies sampling[J]. Mycorrhiza,2009,19(2):91-98.

[26] BAUMAN J M,KEIFFER C H,HIREMATH S,*et al.* Soil preparation methods promoting ectomycorrhizal colonization and American chestnut *Castanea dentate* establishment in coal mine restoration [J]. Journal of Applied Ecology, 2013, 50 (3):721-729.

[27] 王琴. 蒙古栎外生菌根真菌多样性研究[J]. 辽宁林业科技, 2013(3):6-9.

[28] 阎秀峰,王琴. 两种外生菌根真菌在辽东栎幼苗上的混合接种效应[J]. 植物生态学报, 2004,28(1):17-23.

YAN X F,WANG Q. Effects of co-inoculation with two ectomycorrhizal fungi on *Quercus liaotungensis* seedlings[J]. Acta Phytocologica Sinica,2004,28(1):17-23. (in Chinese)

[29] 耿荣,耿增超,黄建,等. 秦岭辛家山林区云杉外生菌根真菌多

样性[J]. 微生物学报,2015,55(7):905-915.

GENG R,GENG Z C,HUANG J,*et al.* Diversity of ectomycorrhizal fungi associated with *Picea asperata* in Xinjiashan forest of Qinling Mountains[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2015,55(7):905-915. (in Chinese)

[30] BLOM J M,VANNINI A,VETTRAINO A M,*et al.* Ectomycorrhizal community structure in a healthy and a Phytophthora-infected chestnut (*Castanea sativa* Mill.) stand in central Italy[J]. Mycorrhiza,2009,20(1):25-38.

[31] 秦岭,王有智. 板栗菌根真菌及其分离培养[C]. 中国科协第3届青年学术年会园艺学卫星会议暨中国园艺学会第2届青年学术讨论会论文集,1998.

[32] 蒲训. 甘肃陇南地区的外生菌根菌[J]. 甘肃林业科技,2000, 25 (2):1-5.

[33] 毕国昌,臧穆,郭秀珍. 滇西北高山针叶林区主要林型下外生菌根真菌的分布[J]. 林业科学,25(1):33-39.

BI G C,ZANG M,GUO X Z. Distribution of ectomycorrhizal fungi under several chief forest types in alpine coniferou region of northwestern Yunnan [J]. Scientia Silvae Sinicae, 1989,25(1):33-39. (in Chinese)

[34] BAUM C,WEIH M,VERWIJSTB T,*et al.* The effects of nitrogen fertilization and soil properties on mycorrhizal formation of *Salix viminalis* [J]. Forest Ecology & Management, 2002,160(1):35-43.

(上接第 187 页)

参考文献：

[1] 杨玲. 黄帝陵古柏健康评价与保护技术研究[D]. 陕西杨陵:西北农林科技大学,2014.

[2] 杨慧敏,王立海. 立木与原木内部腐朽二维成像检测技术研究进展[J]. 林业科学,2010,46(7):170-175.

YANG H M ,WANG L H. Research and development on 2D imaging technology of the decay in trees and logs[J]. Scientia Silvae Sinicae,2010,46(7):170-175. (in Chinese)

[3] HRUSKA J,CERMÁK J,SUSTEK S. Mapping tree root systems with ground-penetrating radar[J]. Tree Physiology,1999 (19),125-130.

[4] BUTNOR J R,DOOLITTLE J A. Use of ground- penetrating radar to study tree roots in the southeastern United States[J]. Tree Physiology,2001(21):1269-1278.

[5] BUTNOR J R,DOOLITTLE J A. Utility of ground- penetrating radar as a root biomass survey tool in forest systems[J]. Soil Science Society of America Journal,2003,67:1607-1615.

[6] 崔喜红,陈晋,关琳琳. 探地雷达技术在植物根系探测研究中的应用[J]. 地球科学进展,2009,24(6):606-610.

CUI X H,CHEN J,GUAN L L. The application of ground penetrating radar to plant root system detection[J]. Advances in Earth Science,2009,24(6):606-610. (in Chinese)

[7] 舒洪岚. 探地雷达在植物根系研究中的应用[J]. 江西林业科技,2007(5):32-33.

[8] 闫永斌. 探地雷达图像识别与处理[D]. 北京:北京化工大学,2008.

[9] 于炜,余金良,钱江波. 杭州古树树干腐烂空洞状况检测研究[J]. 园林科技,2013(3):40-42.

[10] 于炜,余金良,钱江波. 杭州古树树干空洞状况调查研究[J].

西北林学院学报,2014,29(2):178-183.

YU W,YU J L,QIAN J B. Health status of old trees in Hangzhou[J]. Journal of Northwest Forestry University,2014,29 (2):178-183. (in Chinese)

[11] 赖娜娜,袁承江,唐硕. 应用探地雷达探测古树根系分布[J]. 东北林业大学学报,2011,39(11):124-126.

LAI N N,YUAN C J,TANG S. Application of ground-penetrating radar to detection of root system distribution of a veteran tree[J]. Journal of Northeast Forestry University,2011, 39(11):124-126. (in Chinese)

[12] 刘建军. 林木根系生态研究综述[J]. 西北林学院学报,1998, 13(3):74-78.

LIU J J. A review on rootecology of forest trees [J]. Journal of Northwest Forestry University,1998,13(3):74-78. (in Chinese)

[13] 杨玲,康永祥,李小军. 黄帝陵古侧柏保护与复壮技术研究 [J]. 林业实用技术,2014(3):64-66.

[14] 闫慧,董心亮,张守仁. 古田山亚热带常绿阔叶林粗根空间分布特征及影响因子分析——探地雷达途径[J]. 中国科学:生命科学,2013,43(9):788-798.

YAN H,DONG X L,ZHANG S R. Coarse root spatial distribution determined using a ground-penetrating radar technique in a subtropical evergreen broad-leaved forest [J]. Scientia Sinica: Vitae,2013,43(9):788-798.

[15] 崔喜红,陈晋,沈金松. 基于探地雷达的树木根径估算模型及根生物量估算新方法[J]. 中国科学:地球科学,2011,41(2): 243-252.

CUI X H,CHEN J,SHEN J S. Modeling tree root diameter and biomass by ground-penetrating radar[J]. Scientia Sinica: Terrae,2011,41(2):243-252. (in Chinese)