

外生菌根真菌同立枯丝核菌重寄生关系的研究

赵志鹏 郭秀珍

(中国林业科学研究院林业研究所,北京)

研究了 18 株外生菌根菌对 *Rhizoctonia solani* Kuehn 的重寄生作用。在光学显微镜下观察到 8 株菌根真菌同 *R. solani* 具有重寄生关系,通常表现为吸附生长,缠绕,侵入,消解等 4 种作用形式。

首次将扫描电镜和能谱仪 (EDAX) 应用到真菌间相互作用关系的研究上,对 3 株菌根菌 *Gomphidius roseus*、*Laccaria bicolor*、*Lactarius deliciosus* 进行了扫描电镜观察和 X-射线微区分析。发现了在吸附生长,缠绕和侵入等 3 种作用形式中, *R. solani* 和菌根菌菌丝之间有物质流的存在,物质流主要含有 P、S、K、Ca 等元素物质,流向是由 *R. solani* 菌丝到菌根菌丝。而在消解作用中则没有发现这种物质流。

关键词 外生菌根;真菌;重寄生作用;立枯丝核菌

外生菌根对多种林木根部土传病害有良好的防治效果,是一种比较重要的生物防治手段^[1,2]。不少人对外生菌根真菌抗病的机制进行了探讨,但主要集中在平板拮抗作用和拮抗活性物质的研究上,很少对菌根菌同病原菌间的重寄生关系加以深入研究。而这种关系很可能在外生菌根抗病中起重要作用。

以往,在真菌与真菌及真菌同植物间相互作用关系的研究中,通常只采用光学显微镜和电子显微镜来观察双方相互作用的形态和解剖学特性,而缺少对作用双方的物质交换进行深入研究。因此,难以揭示双方相互作用的本质问题。

作者首次将能谱仪应用到真菌间相互作用关系的研究上,对外生菌根菌同 *R. solani* 的重寄生关系进行了 X-射线微区分析。目的在于深入研究重寄生作用的机理及其在外生菌根菌生物防治中的作用,以便能筛选优良的外生菌根菌菌株,应用于林业生产,使其在促进寄主植物生长的同时,也能具有一定的抗病作用。

材料和方法

(一) 菌种

共采用 18 株外生菌根真菌(表 1),分别从云南、北京和山东采集分离。

病原菌立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)系由油松病苗上分离得到。

(二) 培养基及培养条件

PDA 培养基 (g/L)^[3,4]:马铃薯 200g,葡萄糖 20g,琼脂 15g,蒸馏水 1000ml。

无光条件下于 25℃ 培养箱内培养。

(三) 重寄生关系的光学显微镜研究^[3,4]

在 PDA 平板上,放置 3 块盖玻片,形成一个倒梯形,在盖玻片的两侧接种。接种体为直径 6 mm 的菌块。对 18 株外生菌根菌进行了研究。首先,在盖玻片的一侧接种外生菌根菌,接种 *R. solani* 的时间视菌根菌生长情况而定,一般在菌根菌接种后 2—6d。待双方菌丝体在盖玻片上发生接触,即可分阶段取出盖玻片在光学显微镜下

本文于 1988 年 10 月 10 日收到。

中国科学院研究生院毕国昌研究员给予许多帮助;外生菌根菌种由中国科学院昆明植物研究所臧穆研究员鉴定;本院任建南同志协助扫描电镜观察及能谱仪测定,在此一并致谢。

表 1 18 株外生菌根菌对 *R. solani* 的重寄生作用

Table 1 Ectomycorrhizal fungi hyperparasitism to *R. solani*

菌 株 Strains	吸附生长 Appressed growth	缠 绕 Coiling	侵 入 Penetration	消 解 Lysis	采集地点 Sites of collection
<i>Amanita pantherina</i>	—	—	—	—	云南 Yunnan
<i>Boletus griseus</i>	—	—	—	—	云南 Yunnan
<i>B. sp.</i>	+	—	+	—	北京 Beijing
<i>Cortinarius castaneus</i>	—	—	—	—	云南 Yunnan
<i>Gomphidius roseus</i>	+	+	+	+	云南 Yunnan
<i>Laccaria amethystea</i> 8628	+	—	—	—	北京 Beijing
<i>L. amethystea</i> 86011	—	—	—	—	山东 Shandong
<i>L. bicolor</i>	+	—	+	+	云南 Yunnan
<i>Lactarius camphoratus</i>	+	—	+	—	云南 Yunnan
<i>L. deliciosus</i>	+	+	+	+	云南 Yunnan
<i>Pisolithus tinctorius</i> 85027	—	—	—	—	云南 Yunnan
<i>P. tinctorius</i> K145	—	—	—	—	云南 Yunnan
<i>Russula lutea</i>	—	—	—	—	云南 Yunnan
<i>R. rubra</i>	+	—	—	—	云南 Yunnan
<i>Suillus bovinus</i>	—	—	—	—	云南 Yunnan
<i>S. granulatus</i>	—	—	—	—	云南 Yunnan
<i>S. grevillei</i>	+	—	+	—	北京 Beijing
<i>S. luteus</i>	—	—	—	—	云南 Yunnan

观察双方的相互作用。

(四) 扫描电镜及能谱仪在重寄生关系研究上的应用^[5-7]

在光学显微镜研究的基础上，选取 3 株对 *R. solani* 具有较好的重寄生作用的菌根菌：*Gomphidius roseus*、*Laccaria bicolor* 和 *Lactarius deliciosus* 作为实验菌。将经蒸馏水清洗的 1 × 7cm 的无菌纤维素透析膜条带置于 PDA 平板之中。接种体置于膜条带的两端，接种方法同于光学显微镜实验。

待双方菌丝体接触后，取出透析膜条带，先在光学显微镜下观察，确定作用区域。将作用区域处条带修剪成约 1cm² 的样品。该新鲜材料直接采用冷冻干燥法处理，然后喷碳。

用扫描电子显微镜 SEM-505 观察样品中菌丝形态及重寄生作用形式。与此同时，采用能谱仪 EDAX 9100 进行 X-射线微区分析，对各菌根菌及 *R. solani* 不同作用形式的作用区域和邻近非作用区域进行比较观测。对无作用的菌丝上相应的两点进行观测作为对照。工作条件为：工作电压 20kEV；计数率约 500cps；计数时间 100s。

根据观测数据，可计算出各菌株不同区域的 P、S、K、Ca 等元素的相对物质含量。对作用区域与非作用区域的相对物质含量进行比较，即可确定在不同的作用形式下，菌根菌同 *R. solani* 之间是否存在物质流及其流向。

结 果

(一) 外生菌根菌对 *R. solani* 的重寄生作用

18 株外生菌根菌中，共有 8 株菌根菌对 *R. solani* 有重寄生作用。光学显微镜下所观察到的，比较明显的菌根菌菌丝对 *R. solani* 菌丝的重寄生作用有 4 种形式，即吸附生长，缠绕，侵入和消解(表 1)。

很明显，在 8 株具有重寄生作用的菌根菌中，*Gomphidius roseus*、*Laccaria bicolor* 和 *Lactarius deliciosus* 等 3 株菌根菌表现了较强的重寄生能力。

(二) 重寄生作用的扫描电镜观察及

表 2 外生菌根菌对 *R. solani* 重寄生作用的 X-射线微区分析

Table 2 The changes of relative contents of elemental substances within fungal hyphae in diverse interaction

作用形式 Interaction	菌 株 Strains	P	S	K	Ca
吸附生长 Appressed growth	外生菌根菌 Mycorrhizal fungi	391.00	43.92	488.44	17.45
	<i>R. solani</i>	-119.15	-147.29	-26.00	-16.07
缠 绕 Coiling	外生菌根菌 Mycorrhizal fungi	419.00	175.95	45.76	35.51
	<i>R. solani</i>	-131.00	4.16	-94.00	-8.88
侵 入 Penetration	外生菌根菌 Mycorrhizal fungi	249.00	20.67	106.62	-6.63
	<i>R. solani</i>	-69.05	-13.02	21.90	-9.18
消 解 Lysis	外生菌根菌 Mycorrhizal fungi	-1.00	-0.42	6.77	7.15

X-射线微区分析

在扫描电子显微镜下同样也观察到了重寄生作用的 4 种形式(图版 I),证实了光学显微镜研究的结果。

应用 EDAX 9100 型能谱仪检测样品所获得的 X-射线微区分析能谱见图版 II。检测到的元素包括 P、S、K、Ca 等 4 种(表 2)。表 2 的数据是菌丝作用区域与邻近非作用区域能谱测量值差值的平均数,表示菌丝内元素物质相对含量的变化。

由表 2 结果可知,菌根菌菌丝在吸附生长、缠绕及侵入 3 种作用形式中,可以从 *R. solani* 菌丝中获取 P、S、K、Ca 等元素的化合物。其中 P、S 元素化合物具有重要的生物学意义。从 *R. solani* 菌丝的测量差值中可以得出同样的结论。因此,菌根菌在这 3 种重寄生作用中,可以从 *R. solani* 获得营养物质,同时抑制 *R. solani* 的生长。然而在消解作用中,菌根菌并没有 P、S、K、Ca 等几种元素化合物含量的变化。说明消解作用可能是菌根菌对 *R. solani* 的一种破坏性寄生作用。它虽然是一种低效率的寄生方式,但却在菌根菌的

生物防治作用中占有重要地位。

讨 论

本文首次报道了将 X-射线微区分析应用于真菌间重寄生关系的研究工作。从实验结果来看,该分析方法可以用来研究各种重寄生形式菌丝相互间的物质转移,从而断定各种重寄生形式在菌根菌抗病中的作用以及对作用双方生长发育的影响。同时,也能证实光学显微镜下所观察到的现象是否真正是重寄生作用,避免视觉误差以及由于双方菌丝偶然接触引起的错误判断。虽然 X-射线微区分析不能测定 C、N 等元素化合物的转移,但 P、S、K、Ca 等几个重要元素化合物的物质转移流向,也基本说明了双方相互的寄生关系。

实验结果表明,重寄生在生物防治中起重要作用,能破坏病原菌的形态结构,阻碍病原菌正常的生理代谢。因而在筛选林业上应用的优良的外生菌根菌菌株时,必须注意菌根菌在病原菌上的重寄生能力。

X-射线微区分析可以用于真菌间乃至不同生物间的相互作用关系的研究,揭

示这些相互作用关系的本质。

参 考 文 献

- [1] 郭秀珍等: 林木的菌根及其研究方法, 中国林业出版社, 北京, 1988。
[2] Marks, G. C. et al.: Ectomycorrhizae: Their ecology and physiology, Academic Press, London, 1973.
[3] Wu, W. S. et al.: *Plant Prot. Bull. (Taiwan)*,

- 28: 91—100, 1986.
[4] Kuter, G. A.: *Mycologia*, 76: 936—940, 1984.
[5] Nordbring-Hertz, B.: *Appl. Environ. Microbiol.*, 45: 290—293, 1983.
[6] Mahadevan, A.: Proceedings of 1st Asian Conference On Mycorrhizae, University of Madras, Madras, India, 1988 (In Press).
[7] Schenck, N. C.: Methods and principles of mycorrhizal research, The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, USA, 1982.

STUDY ON HYPHAL HYPERPARASITIC RELATIONSHIPS BETWEEN *RHIZOCTONIA SOLANI* AND ECTOMYCORRHIZAL FUNGI

Zhao Zhipeng Guo Xiuzhen

(Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing)

Eighteen ectomycorrhizal fungi were used to be studied on hyphal hyperparasitism to *Rhizoctonia solani* in PDA dishes. Under the light microscope, 8 of 18 ectotrophic fungi were found to have hyphal hyperparasitism which could be commonly grouped into 4 types: appressed growth, coiling, penetration and lysis.

In the maiden applications of scanning electron microscopy and X-ray microanalysis to the study of hyperparasitic relations be-

tween *R. solani* and the 3 of 8 mycorrhizal fungi, *Gomphidius roseus*, *Laccaria bicolor* and *Lactarius deliciosus*, the substances transferences of several elements including P, S, K, Ca from *R. solani* to mycorrhizal fungi were discovered in the interactions except the lysis.

Key words

Ectomycorrhizae; Fungi; Hyperparasitism: *Rhizoctonia solani*.

图 版 说 明 Explanation of plates

图 版 I

1. 吸附生长。2. 缠绕。3. 侵入。4. 消解。1. Appressed growth. 2. Coiling. 3. Penetration. 4. Lysis.

图 版 II

Laccaria bicolor 菌丝在 *R. solani* 菌丝上吸附生长的 X-射线微区分析:

1. 菌根菌非作用区域。2. 菌根菌作用区域。3. *R. solani* 非作用区域。4. *R. solani* 作用区域。

Spectra of X-ray microanalysis of appressed growth of *Laccaria bicolor* on *R. solani*:

1. Non-interaction region of *L. bicolor*. 2. Interaction region of *L. bicolor*. 3. Non-interaction region of *R. solani*. 4. Interaction region of *R. solani*.