

微生物学报 *Acta Microbiologica Sinica*
55(7):905-915; 4 July 2015
ISSN 0001-6209; CN 11-1995/Q
<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>
doi: 10.13343/j.cnki.wsxb.20140555

秦岭辛家山林区云杉外生菌根真菌多样性

耿荣¹, 耿增超^{1*}, 黄建², 和文祥¹, 侯琳², 余雕³, 赵军¹, 尚杰¹

¹西北农林科技大学资源环境学院, 农业部西北植物营养与农业环境重点实验室, 陕西 杨凌 712100

²西北农林科技大学林学院, 陕西 杨凌 712100

³西北农林科技大学水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100

摘要:【目的】为了研究秦岭辛家山林区云杉外生菌根真菌多样性状况。【方法】通过野外调查结合形态学和分子生物学鉴定方法。【结果】与秦岭辛家山林区云杉共生的外生菌根真菌有 37 种不同的类型, 包括 1 种子囊菌、34 种担子菌和 2 种未知种, 分属于 10 科 14 属, 其中丝伞盖属 (*Inocybe* sp.) 是优势类群, 灰味红菇 (*Russula nauseosa*) 是优势种, 蜡伞属 (*Hygrophorus* sp.)、丝伞盖属 1 (*Inocybe* sp. 1)、柔膜菌属 (*Helotiaceae* sp.)、*Tomentella coerulea*、*Lactarius deterrimus* 是常见种, 其他 31 种是少见种。【结论】云杉外生菌根真菌群落优势种的数量较多, 而种类相对却较少; 少见种的数量较少, 而种类相对却较多; 对于西部生态系统极度退化干旱区, 鉴定出一些少见种进一步的开发和利用具有非常重要的现实意义。

关键词: 云杉, 外生菌根真菌, 多样性, 形态学, 分子生物学, 菌根侵染率

中图分类号: Q938.1 **文章编号:** 0001-6209(2015)07-0905-11

外生菌根(ectomycorrhiza, ECM)真菌的多样性是维持生态系统多样性及其功能多样性的一个重要因素^[1]。生态系统的每个过程都伴随着各种微生物的活动, 其中最重要的功能群之一是菌根真菌^[2]。在植物定殖伊始, 菌根菌就与植物形成了动态的共生体系, 这种共生关系对于维护森林生态系统的物质循环、能量流动、种间关系、群落的物种构成、多样性与演替以及生态系统变化过程中发挥重要作用^[3]。在自然生态系统中, 菌根真菌不仅可以促进植物的生长来维持生态环境中物种资源的稳定^[4], 而且可以改善寄主植物的根际环境(较低

根际的 pH 值), 增强树木抗旱、抗病、抗盐和抗重金属等能力^[5-7], 同时在保持良好的土壤结构、抑制水土流失、控制沙尘暴等方面也具有一定的作用^[8]。

在过去很长一段时期内, 外生菌根真菌多样性一般是通过子实体的种类和数量的调查实现^[9]。关于秦岭地区森林生态系统中外生菌根的调查已经开展过一些研究, 主要是通过野外调查结合形态特征的方法对秦岭地区林木的外生菌根进行鉴定, 而对于分子生物学鉴定方法尚未进行运用。然而随着 20 世纪 90 年代分子生物学的引入, 特别是 ITS-RFLP 结合序列分析的方法, 对于外生菌根真菌多

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项资助(201304307)

* 通信作者。E-mail: gengzengchao@126.com

作者简介: 耿荣(1990-), 男, 甘肃庆阳人, 硕士研究生, 主要从事森林林木外生菌根真菌的多样性研究。E-mail: gengronglzhf@nwfau.edu.cn

收稿日期: 2014-11-22; 修回日期: 2014-12-31

样性的鉴定更快速、准确、可靠,而且能真实的反映生态系统中外生菌根真菌种类组成和数量^[9]。关于秦岭辛家山林区林木外生菌根的资源调查未见报道。云杉是我国经济价值和生态价值均很高的树种之一,稍耐荫,能耐干燥及寒冷的环境条件,在维持秦岭辛家山林区生态平衡和生态系统恢复重建中有重要的作用。因此,本研究通过结合形态学和分子生物学鉴定方法对外生菌根真菌 rDNA 的 ITS 区段的 PCR 扩增产物进行分析,对秦岭辛家山林区云杉外生菌根形态多样性进行研究和外生菌根真菌物种多样性进行分子鉴定,并分析其形成过程中根际土和非根际土化学性质的差异以及根际土的化学性质与外生菌根侵染率之间的相互关系,为外生菌根真菌在此地区育苗、造林以及退化森林生态系统的恢复和改造等应用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究区域概况

调查样地位于陕西省宝鸡市西南部的秦岭辛家山的通天河国家森林公园,地理位置为 34°10′ - 34°20′ N, 106°28′ - 106°38′ E。该地区年均气温 10.7°,年均降雨量 1097 mm,多集中于 7、8、9 三个月,属于暖温带半湿润山地气候区。公园面积 5235 hm²,地势西北高、东南低,最高海拔 2738.7 m,最低海拔 1580 m,森林覆盖率达 98.6%,拥有广阔的自然森林植被景观。土壤种类以暗棕壤为主,自然植被以天然次生林群落为主,乔木主要有云杉(*Picea asperata*)、冷杉(*Abies Mill*)、油松(*Pinus tabulaeformis*)、红桦(*Betula albo-sinensis* Burk)、锐齿栎(*Quercus aliena* var. *acuteserrata*)、辽东桦(*Betula schmidtii*)、华山松(*Pinus armandii* Franch)、漆树(*Toxicodendron succedaneum*)、山杨(*Populus davidiana*)、鹅耳枥(*Carpinus turczaninowii*)等;灌木主要有悬钩子(*Rubus corchorifolius*)、栓翅卫矛(*Euonymus phellomanus* Loes)等;草本主要有龙芽草(*Agrimonia pilosa* Ldb.)、异叶败酱(*Patrinia heterophylla* Bunge)、艾蒿(*Artemisia argyi*)、茜草(*Rubia cordifolia* L.)、披针叶苔草(*Carex lanceolata* Boott)等。本次调查研究为两个区域:样地 1 位于 N 34°16′ 51.4", E 106°31′ 38.0", 海拔 2175 m;样地 2 位于 N 34°16′ 53.2", E 106°31′ 35.4", 海拔

2182 m;两样地坡位均为南坡,坡度约 40° - 50°,土壤类型为暗棕壤。

1.2 样品的采集和处理

在研究区域设有代表性的云杉纯林样地两个(20 m × 20 m),分别选择云杉树 25 棵,利用 GPS 进行定位采样点,并测量每棵树胸高处周长。采集根样时,首先用铁锹或刀具轻轻抛去表层的杂物,直到须根的出现,然后轻轻挖根样,挖至根的末级,用剪刀将根剪断,选择较好的根段剪去约 15 cm 长 2 - 3 个装入塑料袋中编号,并装入部分鲜土以保鲜根样;采用抖落法采集根际土壤样品;非根际土样采集深度为 0 - 20 cm。根样共计 100 袋,采回置于 0 - 4℃ 冰箱中保鲜待测;根际和非根际土样各 50 个,置于通风、阴凉、干燥的室内风干,以四分法取样磨细并过筛(孔径:1 mm, 0.25 mm),备用^[10]。

1.3 外生菌根形态学鉴定

从冰箱中取出根样置于筛子中,用自来水小心地清洗根样表面的土壤颗粒和杂物,洗净后剪成长约 9 cm 的根段^[11],然后将小根段放入装有自来水的培养皿中,置于体视显微镜下用镊子、细小的毛刷进一步轻轻清洗,以避免菌根的脱落。清洗干净后,在体视显微镜下,观察记录菌根的形状、颜色、分叉情况及外延菌丝的有无等,利用观察的结果来确定菌根的种类数,并利用计数器记录根尖总数和每一种菌根侵染的根尖数量,统计菌根侵染率(形成菌根根尖数/被检根尖总数)。利用电脑显微照像系统分别对每种菌根进行拍照并记录其形态特征,同时提取每种菌根中新鲜、幼嫩、纯净的约 6 - 8 个外生菌根分别装入 2 mL 的离心管中并编号,然后利用干燥器或烘箱干燥菌根。干燥后的菌根置于 0 - 4℃ 冰箱中保存,用于外生菌根分子鉴定。

1.4 DNA 的提取

外生菌根 DNA 的提取采用一种改进的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)法^[12]。外生菌根的粉碎使用高通量组织破碎仪(振荡频率 = 1800 次/min),首先在 2.0 mL 离心管中加入一个氧化锆球和 50 μL CTAB 溶液(2% CTAB, 1 mol/L Tris-HCl (pH 8.0), 0.5 mol/L EDTA (pH 8.0), 1.4 mol/L NaCl, 0.5% β-巯基乙醇)后粉碎,再放入高速冷冻离心机(离心力 = 21382 × g)离心后加入 350 μL CTAB 溶液继续粉碎外生菌根,离心后放入 65℃ 水浴锅水浴 1 h 后

加入 CIA 溶液(氯仿:异戊醇 = 24:1)400 μL 猛力振荡萃取,然后离心后将上清液转移到新的 1.5 mL 离心管中,分别加入 400 μL 异丙醇沉淀 DNA 和 500 μL 80% 乙醇清洗 DNA 后离心,去除离心管上部溶液,倒置离心管于桌面上直到干燥,最后提取的 DNA 溶于 30 μL 去离子水后存储于 0 - 4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中待用。

1.5 PCR 扩增、DNA 测序

采用 PCR(聚合酶链反应)对外生菌根真菌的 ITS 区进行扩增,PCR 反应体系包括:2X *Taq* master mix(含有 *Taq* DNA 聚合酶、dNTPs、标准 *Taq* 酶反应缓冲液、酶稳定剂和溴酚蓝染料),扩增引物 ITS1-F 和 ITS4(ITS1 和 ITS4B)^[12-14], ddH₂O, DNA 模板。为了减少 PCR 扩增产物的测序数量,经电泳和凝胶成像系统检测,检测后合格的 PCR 扩增产物用于测序。测序均由生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

1.6 土壤化学指标的测定

按照常规方法测定分析全氮、全磷、全钾、水溶性钙、水溶性镁、pH 及 EC 共 7 个化学指标^[15]。

2 结果和分析

2.1 根际与非根际土壤化学性质的比较

由表 1 可知,样地 1 和样地 2 根际与非根际 0 -

20 cm 土壤基本都呈中性,并且根际土的 pH 略低于非根际土;样地 1 和样地 2 根际土的电导率高于非根际土;样地 1 和样地 2 根际土和非根际土的全氮含量均属于 1 级水平(参照《陕西省土壤养分含量分级标准》,下同),并且根际土的全氮含量高于非根际土;样地 1 和样地 2 根际土和非根际土的全磷含量均属于 2 级水平,并且根际土的全磷含量略低于非根际土;样地 1 和样地 2 的根际土全钾含量均属于 3 级水平,而非根际土全钾含量均属于 4 级水平,并且根际土的全钾含量均高于非根际土;样地 1 和样地 2 根际土的水溶性钙和水溶性镁含量均高于非根际土。

根际土的 pH 略低于非根际土,根际中菌根真菌分泌有机酸和呼吸作用产生的 CO₂ 形成 H₂CO₃ 被认为是根际 pH 值降低的必然原因。根际土的全氮、全钾、水溶性钙、水溶性镁的含量均高于非根际土,菌根真菌通过外延菌丝从非根际吸收而表现出明显的根际聚集现象,这与前人的研究结果相一致^[16]。在其他一些报道中,根际与非根际全磷含量差异多不显著^[17-18]。本研究根际土的全磷含量低于非根际土,说明在森林土壤中,根际微域的菌根真菌发生一系列变化对土壤全磷养分的活化,提高土壤磷的有效性具有一定作用^[18]。因此,活化的土壤全磷主要可能被树木所吸收,而使根际土壤的全磷含量低于非根际土壤。

表 1. 根际与非根际土壤化学性质的比较

Table 1. The comparisons of soil chemical properties in rhizosphere and bulk soils

Soil chemical property	Site			
	Site one (n = 25)		Site two (n = 25)	
	Rhizosphere soil	Bulk soil	Rhizosphere soil	Bulk soil
pH	6.89 ± 0.05a	6.94 ± 0.05a	6.46 ± 0.06a	6.50 ± 0.05a
Electrical conductivity/($\mu\text{s}/\text{cm}$)	180.63 ± 21.40a	153.61 ± 15.61a	292.33 ± 35.37a	239.99 ± 25.58a
Total N/(g/kg)	4.4195 ± 0.2472a	3.8797 ± 0.1663a	5.1577 ± 0.2232a	4.3460 ± 0.1660b
Total P/(g/kg)	2.0504 ± 0.0499a	2.1040 ± 0.0435a	1.8323 ± 0.0465a	1.8581 ± 0.0481a
Total K/(g/kg)	18.3530 ± 0.6668a	17.7050 ± 0.5325a	18.5307 ± 0.7923a	17.8887 ± 0.8147a
Water-Soluble calcium/(g/kg)	0.1583 ± 0.0125a	0.1414 ± 0.0093a	0.1680 ± 0.0107a	0.1377 ± 0.0075b
Water-Soluble magnesium/(g/kg)	0.0778 ± 0.0155a	0.0689 ± 0.0128a	0.0549 ± 0.0065a	0.0530 ± 0.0058a

Different letters in a column within a crop mean significant difference at 5% levels. The figures of behind "±" mean standard error.

2.2 不同类型外生菌根形态学特征

不同类型外生菌根形态学特征如图 1 所示。在体视显微镜下,通过对外生菌根形态学的观察发现,外生菌根尖端明显膨大,形态多种多样,以棒状、二叉状、羽状为主,而且多分支;颜色主要有黑色、灰

色、白色、褐色、红色、黄色等,有些呈两种颜色的中间色。只有少部分外生菌根具有外延菌丝和根状菌索,而且外延菌丝大多较细,呈绒毛状,一般为白色或黑色;菌根因子长度多集中在 1 - 10 mm 之间,直径一般多分布在 0.1 - 2.0 mm 之间。外生菌根的

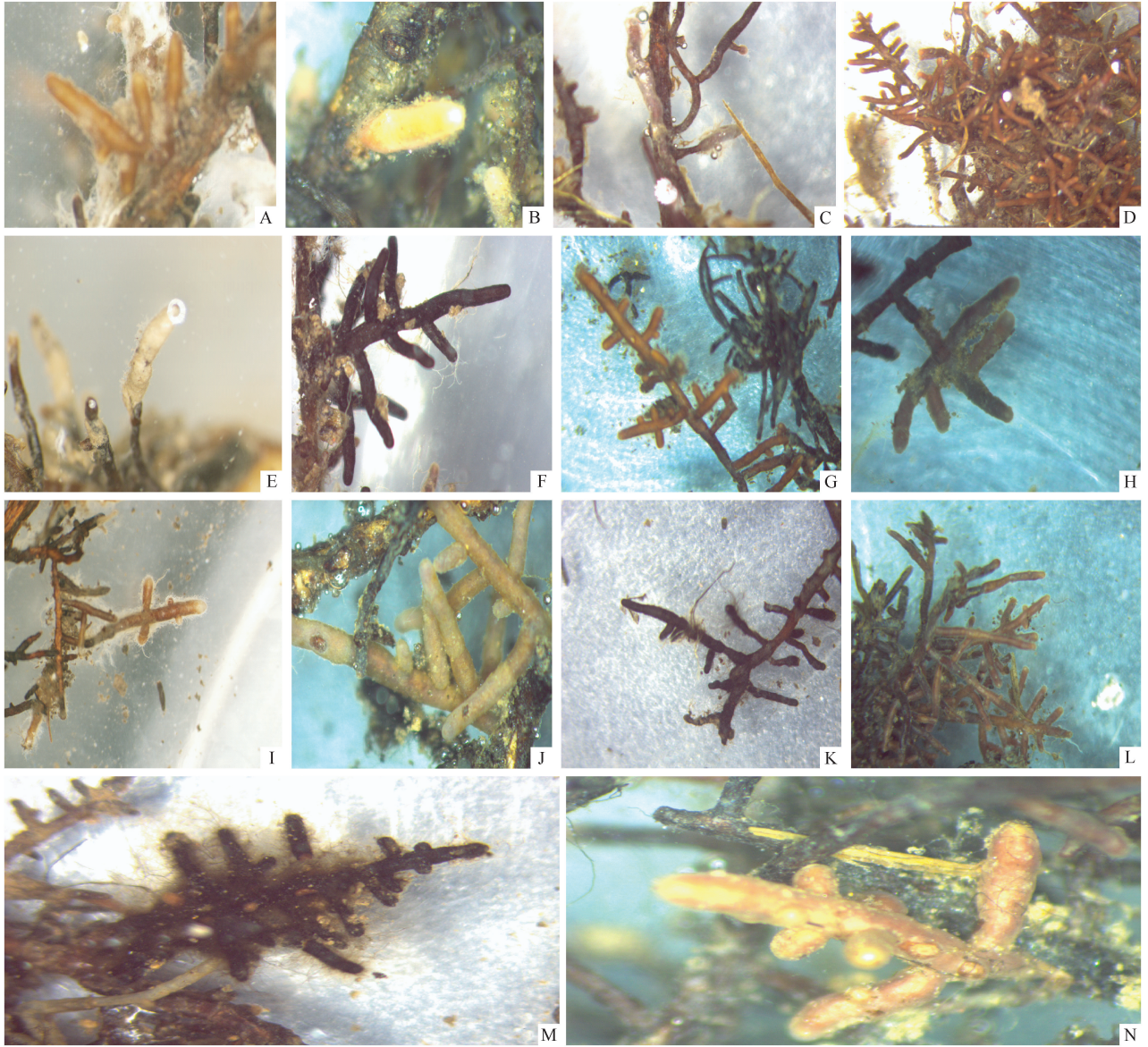


图 1. 不同类型外生菌根形态学特征

Figure 1. Morphological feature of different ECM types. A: *Amphinema* sp. ; B: *Clavulina* sp. ; C: *Cortinarius parvannulatus*; D: *Helotiaceae* sp. ; E: *Hymenogaster* sp. ; F: *Hygrophorus* sp. ; G: *Inocybe* sp. ; H: *Laccaria* sp. ; I: *Lactarius* sp. ; J: *Russula* sp. ; K: *Pseudotomentella* sp. ; L: *Thelephoraceae* sp. ; M: *Tomentella* sp. ; N: *Sebacina* sp. .

形状及分支情况可能主要是由其共生树种来决定的,而其颜色和外表菌丝可能主要是由真菌自身生物学特征来决定的。

2.3 外生菌根分子鉴定

通过对所有提出的外生菌根根尖材料进行 DNA 的提取,以及分析外生菌根真菌 rDNA 的 ITS 区段的 PCR 扩增产物,并经电泳和凝胶成像系统检测,检测后合格的 PCR 扩增产物用于测序,测出合格的外生菌根真菌 rDNA 上 ITS 区段的 DNA 序列,运用

GenBank 的序列局部相似性查询系统 (BLAST)^[19]。在 GenBank + EMBL + DDBJ + PDB 4 个 DNA 序列数据库中搜索与所测 DNA 序列相似的序列,并进行分析比较^[20]。若比对结果的相似率 $\geq 97\%$,可以鉴定到种的水平^[21-24];若比对结果的相似率 $90\% - 97\%$ 之间,可以鉴定到属的水平^[25];若比对结果的相似率为 $< 90\%$,可以确定为未知种^[11]。BLAST 查询的结果如表 2 所示,除 ECM 类型 36 和 37 相似率低于 90% 外,其余均为 90% 以上。利用分子鉴定的结果

初步确定外生菌根真菌 37 种 (其中 2 种为未知种), 包括 1 种子囊菌和 34 种担子菌, 分属于 10 科 14 属, 其中 ECM1 和 ECM2 的 *Amphinema* sp. 属于担子菌亚门的阿太菌科, ECM3 的锁瑚菌属 (*Clavulina* sp.) 属于担子菌亚门的锁瑚菌科, ECM4 的 *Cortinarius parvannulatus* 属于担子菌亚门的丝膜菌科丝膜菌属 (鉴定到种), ECM5 的柔膜菌属 (*Helotiaceae* sp.) 属于子囊菌亚门的柔膜菌科, ECM6 和 ECM7 的层腹菌属 (*Hymenogaster* sp.) 属于担子菌亚门的层腹菌科, ECM8 的蜡伞属 (*Hygrophorus* sp.) 属于担子菌亚门的蜡伞科, ECM9 – ECM16 的丝盖伞属 (*Inocybe* sp.) 属于担子菌亚门

的丝膜菌科 (其中 ECM15 和 ECM16 均鉴定到种), ECM17、ECM18 和 ECM19 的蜡蘑属 (*Laccaria* sp.) 属于担子菌亚门的白蘑科, ECM20 和 ECM21 的乳菇属 (*Lactarius* sp.) 以及 ECM23、ECM24 和 ECM25 的红菇属 (*Russula* sp.) 均属于担子菌亚门的红菇科 (ECM20、ECM21、ECM23 和 ECM25 均鉴定到种), ECM22 的棉革菌属 (*Pseudotomentella* sp.)、ECM29 的革菌属 (*Thelephoraceae* sp.) 和 ECM30 – ECM35 的毛革菌属 (*Tomentella* sp.) 均属于担子菌亚门的革菌科 (其中 ECM30 鉴定到种), ECM26、ECM27 和 ECM28 的蜡壳耳属 (*Sebacina* sp.) 属于担子菌亚门的银耳科^[26], ECM36 和 ECM37 为未知种。

表 2. 外生菌根根尖 ITS 区段 DNA 序列 BLAST 比对结果

Table 2. DNA sequence BLAST results of the ITS region of DNA extracted from ECM root tips

ECM type	Sequence	GenBank accession No.	Closest blast match accession	Similarity /%	Relative abundance /%	Relative frequency /%	Classified as (OTUs)
1	600	KM588761	UDB008282 <i>Amphinema</i> sp. (Atheliaceae)	556/561 (99)	4.12	6.35	<i>Amphinema</i> sp. 1
	715	KM588763		655/662 (98)			
	717	KM588764		657/666 (98)			
	607	KM588765		568/574 (98)			
2	709	KM588762	UDB001719 <i>Amphinema</i>	658/695 (94)	2.06	1.59	<i>Amphinema</i> sp. 2
3	819	KM588766	EF417811 Uncultured ectomycorrhiza (<i>Clavulina</i>)	764/787 (97)	0.28	1.59	<i>Clavulina</i> sp.
4	712	KM588767	UDB016144 <i>Cortinarius parvannulatus</i>	665/684 (97)	0.47	1.59	<i>Cortinarius parvannulatus</i>
5	566	KM588768	EU649082 Uncultured ectomycorrhiza (Helotiales)	518/537 (96)	5.11	1.59	<i>Helotiaceae</i> sp.
6	824	KM588769	JX030230 <i>Hymenogaster</i> sp. 1	696/736 (95)	1.50	1.59	<i>Hymenogaster</i> sp. 1
7	716	KM588770	JF273526 <i>Hymenogaster</i> sp. EMF23	638/685 (93)	0.05	1.59	<i>Hymenogaster</i> sp. 2
8	650	KM588772	UDB015719 <i>Hygrophorus pustulatus</i>	566/620 (91)	6.01	4.76	<i>Hygrophorus</i> sp.
	647	KM588773		589/622 (94)			
	653	KM588774		613/637 (96)			
	816	KM588775		535/560 (95)			
9	812	KM588776	UDB015337 <i>Inocybe</i>	531/555 (95)	8.11	4.76	<i>Inocybe</i> sp. 1
	816	KM588777		532/556 (95)			
10	809	KM588778	UDB015350 <i>Inocybe sindonia</i>	524/562 (93)	1.41	1.59	<i>Inocybe</i> sp. 2
11	777	KM588779	UDB015335 <i>Inocybe flocculosa</i>	720/771 (93)	0.05	1.59	<i>Inocybe</i> sp. 3
12	759	KM588784	AY702727 Uncultured ectomycorrhiza (<i>Inocybe</i>)	536/549 (98)	1.36	1.59	<i>Inocybe</i> sp. 4
13	842	KM588785	JF908203 <i>Inocybe</i> sp.	592/604 (98)	0.66	1.59	<i>Inocybe</i> sp. 5
	720	KM588781		669/702 (95)			
14	732	KM588783	UDB015355 <i>Inocybe mixtilis</i>	670/703 (95)	1.87	3.17	<i>Inocybe</i> sp. 6
	842	KM588780	UDB015671 <i>Inocybe terrigena</i>	798/810 (98)			
16	771	KM588781	UDB001195 <i>Inocybe calamistrata</i>	558/569 (98)	0.66	1.59	<i>Inocybe calamistrata</i>
17	755	KM588786	UDB015780 <i>Laccaria laccata</i>	676/712 (94)	0.28	1.59	<i>Laccaria</i> sp. 1
18	751	KM588787	JX504120 <i>Laccaria</i> sp.	532/587 (91)	2.76	1.59	<i>Laccaria</i> sp. 2
19	795	KM588788	UDB011517 <i>Laccaria laccata</i>	730/762 (95)	3.19	1.59	<i>Laccaria</i> sp. 3
20	847	KM588789	UDB015865 <i>Lactarius badiosanguineus</i>	800/803 (99)	4.12	4.76	<i>Lactarius badiosanguineus</i>
	838	KM588790		806/812 (99)			
	856	KM588791		793/798 (99)			

续表 2

ECM type	Sequence	GenBank accession No.	Closest blast match accession	Similarity /%	Relative abundance /%	Relative frequency /%	Classified as (OTUs)
21	853	KM588792	UDB015779 <i>Lactarius deterrimus</i>	809/816 (99)	5.25	3.17	<i>Lactarius deterrimus</i>
	853	KM588793		811/816 (99)			
22	801	KM588794	UDB000282 <i>Pseudotomentella mucidula</i>	568/608 (93)	2.06	1.59	<i>Pseudotomentella</i> sp.
23	781	KM588806	UDB015979 <i>Russula puellaris</i>	742/746 (99)	2.06	1.59	<i>Russula puellaris</i>
24	787	KM588808	UDB011239 <i>Russula nauseosa</i>	671/703 (95)	1.85	1.59	<i>Russula</i> sp.
25	799	KM588795	UDB011239 <i>Russula nauseosa</i>	743/751 (98)	21.63	20.63	<i>Russula nauseosa</i>
	796	KM588796		741/749 (98)			
	781	KM588797		749/762 (98)			
	779	KM588798		748/754 (99)			
	751	KM588799		726/733 (99)			
	780	KM588800		749/754 (99)			
	800	KM588801		742/752 (98)			
	675	KM588802		639/645 (99)			
	793	KM588803		767/776 (98)			
	790	KM588804		753/758 (99)			
	778	KM588805		751/756 (99)			
	792	KM588807		756/763 (99)			
	794	KM588809		752/759 (99)			
26	609	KM588810	UDB016423 <i>Sebacina helvelloides</i>	476/507 (93)	0.52	1.59	<i>Sebacina</i> sp. 1
27	625	KM588811	EU645626 Uncultured ectomycorrhiza (<i>Sebacinaceae</i>)	578/616(94)	0.23	1.59	<i>Sebacina</i> sp. 2
28	742	KM588812	FJ196970 Uncultured ectomycorrhiza (<i>Sebacinales</i>)	664/699(95)	1.78	1.59	<i>Sebacina</i> sp. 3
29	791	KM588813	JQ991864 Uncultured Thelephoraceae clone ECM239	570/577(99)	3.94	4.76	<i>Thelephoraceae</i> sp.
	775	KM588814		575/580(99)			
	782	KM588816		574/580(99)			
	790	KM588822		716/732 (97)			
30	786	KM588823	UDB016489 <i>Tomentella coerulea</i>	717/732 (97)	5.81	3.17	<i>Tomentella coerulea</i>
	782	KM588821	UDB016173 <i>Tomentella fuscocinerea</i>	722/759 (95)			
32	792	KM588817	UDB016500 <i>Tomentella lilacinogrisea</i>	706/736 (95)	3.33	1.59	<i>Tomentella</i> sp. 2
33	785	KM588820	UDB016389 <i>Tomentella subclavigera</i>	692/729 (94)	0.80	1.59	<i>Tomentella</i> sp. 3
34	780	KM588818	UDB013202 <i>Tomentella</i>	678/717 (94)	1.97	1.59	<i>Tomentella</i> sp. 4
35	670	KM588819	UDB004959 <i>Tomentella</i>	607/641 (94)	1.69	1.59	<i>Tomentella</i> sp. 5
36	787	KM588815	AJ893338 Uncultured ectomycorrhiza (<i>Thelephoraceae</i>)	628/741(85)	0.33	1.59	Unknown 1
37	654	KM588771	UDB015719 <i>Hygrophorus pustulatus</i>	553/620 (89)	1.58	1.59	Unknown 2

Relative abundance = (One kind of ectomycorrhizae abundance add up to all sites/All kinds of ectomycorrhizae abundance add up to all sites) × 100% ;
Relative frequency = (One kind of ectomycorrhizae frequency/All kinds of ectomycorrhizae frequency) × 100% .

本实验中用重要值(Important value)表示物种的优势度。重要值用相对频率和相对多度之和表示。定义“优势种”为在 ≥80% 的样本(40 份样本)中被检测到的外生菌根真菌;“常见种”为在 ≥30% 的样本(15 份样本)中被检测到的外生菌根真菌^[9]。由图 2 可以看出, *Inocybe* sp. 是优势类群,检测到 8 种外生菌根真菌与云杉共生; 灰味红菇(*Russula nauseosa*) 是优势种,在 50 份样本中有 42 份样本被检测到,重要值为 42.26%; *Hygrophorus* sp.、*Tomentella coerulea*、*Inocybe* sp. 1、

Helotiaceae sp.、*Lactarius deterrimus* 是常见种,分别在 16、16、18、15 和 15 份样本中被检测到,重要值分别为 10.77%、8.98%、12.87%、6.70% 和 8.42%; 31 种是少见种,在 <12 份样本中被检测到,重要值也比较小,其中 *Inocybe* sp. 3、*Inocybe terrigena*、*Laccaria* sp. 1、*Sebacina* sp. 1、*Sebacina* sp. 2 和 Unknown 1 仅在 1 份样本中被检测到。结果发现,云杉外生菌根真菌群落优势种的数量较多,而种类相对却较少;少见种的数量较少,而种类相对却较多。

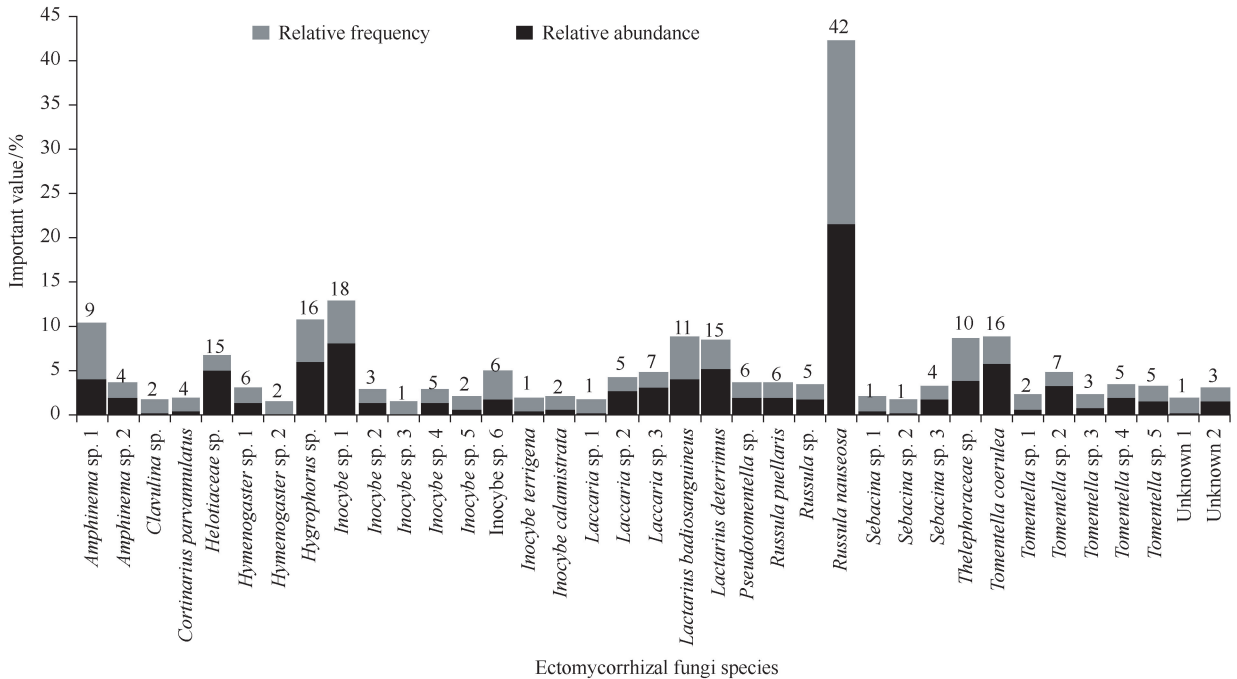


图 2. 云杉外生菌根真菌种类组成

Figure 2. Composition of ectomycorrhizal fungi species of spruce. The figures on column chart mean samples containing the ectomycorrhizal fungus.

有研究发现,外生菌根真菌的侵染率和侵染强度指数在一定程度上受到海拔高度、坡度、林龄等条件的影响。通过测定结果显示,样地 1 和样地 2 的海拔高度和坡度差异较小,而林龄却不相同,并且样地 1 和样地 2 云杉纯林胸高处周长分别平均为 116 cm 和 98 cm。因此,样地 1 的林龄相对样地 2 来说较大,而菌根侵染率均值相对样地 2 来说偏低(表 3 所示),这一结果间接的证明了不同林龄的云杉被外生菌根真菌侵染差异较大,而且本研究云杉为低龄云杉(约 15 - 20 年生),发现随着林龄的增加菌根侵染率也逐步减少,这与宋福强等^[2]的研究结果一致。本研究中每份样本包含外生菌根真菌分类单元 3 - 4 个,平均 3.2 个。样地 1 的 25 份样本检测到 19 种外生菌根真菌,样地 2 的 25 份样本检测到 21 种外生菌根真菌(表 3 所示)。

表 3. 两样地外生菌根真菌平均侵染率和种类对比

Table 3. The comparisons of two sites about average infection rate and kinds of ectomycorrhizal fungi

Comparison of property	Site one	Site two
The average girth of breast height/cm	116	98
The average infection rate of mycorrhiza	0.1509	0.3196
Fungal species	19	21

2.4 土壤化学性质与菌根侵染率的关系

2.4.1 pH 与菌根侵染率的关系:pH 值是影响菌根

真菌生长及菌丝体新陈代谢的重要因素之一^[27]。一般来说,菌根真菌是喜酸性的,最适 pH 在 4 - 6 之间。由表 4 可以看出,pH 与菌根侵染率呈显著负相关,即随着 pH 的降低,外生菌根侵染率却在增加,说明菌根真菌喜欢生长在酸性的环境中。本研究结合形态学观察和根际土壤 pH 测定,发现两样地云杉微酸性的根际环境中,尤其是 *Inocybe* sp. 这样的优势类群或一些常见种频繁出现,形成一个较大的群体而存在,菌根侵染率相对也较高,而对于中性根际环境中,多出现诸如 *Clavulina* sp. 等抗逆性较强的少见种,数量较少而种类相对较多,菌根侵染率也较低。

2.4.2 电导率与菌根侵染率的关系:土壤电导率数值的高低一般通常反映土壤含盐量的高低。由表 4 可以看出,电导率与菌根侵染率呈显著正相关。两样地云杉的根际土壤电导率多集中在 100 - 300 $\mu\text{s}/\text{cm}$ 之间(含盐量约为 0.1% - 0.3%),并且在此较低盐浓度范围内,随着根际土壤电导率的增加,菌根侵染率也在相应的增加,而且发现外生菌根生长的越来越粗壮、外延菌丝多且发达,形态多为羽状分支为主,颜色以褐色为主,并且出现少量的根状菌索。谢一青等^[28]发现适当的盐浓度能促进彩色豆马勃菌根菌的生长,当盐浓度过高或过低时,菌根菌的生长均呈现出受抑制现象。

2.4.3 全氮、全磷、全钾与菌根侵染率的关系:氮源是真菌合成氨基酸、蛋白质、核酸和细胞质的重要营养源^[29]。外生菌根分泌的有机酸螯合金属离子(如 Fe^{3+} 和 Al^{3+}),使磷元素从 Fe-P、Al-P 螯合物中得到释放^[29]。外生菌根真菌和菌根能吸收与活化无效钾,是因为它们的外延菌丝数量多、比表面积大、与土壤广泛接触,因此吸收单位重量的根系所吸收的钾高于普通根系^[30]。由表 4 可以看出,全氮和全钾分别与菌根侵染率呈极显著正相关,全磷与菌根侵染率呈显著正相关。研究发现,全氮含量高的根际土壤中外生菌根真菌的侵染率高,而且外延菌丝相对也较稠密;全钾和全磷含量均随着菌根侵染率的增加而增加,全磷含量与菌根侵染率正相关性不及全钾,可能主要是因为根

际微域的全钾含量属于 3 级(中等)水平,外生菌根真菌侵染越多,其外延菌丝可从非根际微域吸收而使根际土壤全钾增幅较明显,而全磷含量属于 2 级(较高)水平,外生菌根真菌侵染越多,活化部分土壤磷促进云杉的吸收而使根际土壤全磷增幅不及全钾明显。

2.4.4 水溶性钙、水溶性镁与菌根侵染率的关系:土壤水溶性钙和水溶性镁含量的变化能够引起盐基离子总量的变化,而且其变化与土壤电导率的变化都呈极显著的正相关^[31]。由表 4 可以看出,水溶性钙与菌根侵染率呈极显著正相关,水溶性镁与菌根侵染率无相关性,而且随着土壤水溶性钙含量的增加,外生菌根的相对多度也普遍偏高,在一定范围内有利于外生菌根的生存。

表 4. 菌根侵染率与土壤化学性质的相关系数

Table 4. Correlation coefficients between infection rate of mycorrhizae and soil chemical properties

Correlation coefficient	Infection rate of mycorrhizae	pH	Electrical conductivity	Total N	Total P	Total K	Water-soluble calcium
pH	-0.410 *						
Electrical conductivity	0.458 *	-0.575 **					
Total N	0.515 **	-0.441 *	0.461 *				
Total P	0.399 *	-0.045	0.198	0.131			
Total K	0.672 **	-0.459 *	0.671 **	0.670 **	0.473 *		
Water-soluble calcium	0.598 **	-0.265	0.454 *	0.334	0.510 **	0.562 **	
Water-soluble magnesium	0.190	0.064	0.241	0.055	0.151	0.212	0.053

** and * indicate significant difference at the 0.01 and 0.05 level, respectively.

3 讨论

本研究对秦岭辛家山林区云杉外生菌根真菌物种多样性调查结果表明,与云杉共生的外生菌根真菌有 37 种(其中 2 种为未知种),隶属于 10 科 14 属,显示出较高的外生菌根真菌多样性。目前,我国有关外生菌根真菌多样性报道较多,在不同地域有不同的种类和优势类群。采用野外调查、形态特征及显微特征鉴定方法,吴重华等^[32]报道了太白山自然保护区巴山冷杉和太白红杉有 28 种外生菌根,以红菇(*Russulaceae*)和牛肝菌(*Boletaceae*)为主;张春霞等^[33]发现秦岭火地塘林区锐齿栎林、松栎混交林等 6 种林分存在大型真菌 97 种;张茹琴等^[34]调查秦岭火地塘林区松栎混交林、落叶松林等 4 种林分有 29 种外生菌根,以牛肝菌科(*Boletaceae*)、红菇科(*Russulaceae*)和鸡油菌(*Cantharellaceae*)为主;祁鹏

等^[35]报道秦岭中段部分地区的地上、草丛、枯枝、落叶层等各种生境的大型真菌 123 种。这些研究主要记录了外生菌根真菌的种类,而关于其优势度方面的报道却很少,从而不能显现出各个地区的特色,应该在保护好优势种和常见种的基础上,挖掘和探知一些潜在的少见种。本研究发现,在适宜的水分、温度、土壤及其他环境条件好的区域中,菌根种类比较单一,数量却较多,形成较大的类群,而对于干旱、结构性较差的土壤以及其他环境条件差的区域,菌根虽然数量较少,但是种类并不单一,一些少见种具有较强的抗逆性,不易被人发现。因此,本研究在分子鉴定物种的基础上,调查统计了每种外生菌根的侵染率而确定其优势度,鉴定出优势种、常见种和少见种,并且少见种占很大一部分比例,尤其对于西部生态系统极度退化的干旱区,鉴定出一些少见种对进一步的开发和利用具有非常重要的现实意义。

同一地区的不同样地和不同树种菌根真菌种类

和优势种数量也存在差异, 外生菌根真菌的生态分布不仅取决于其共生树种, 与林龄、土壤条件等其他生态因子也关系密切。因此, 本研究在海拔和坡度相似的基础上, 间接考虑林龄对外生菌根的影响, 发现不同林龄的云杉均能被外生菌根真菌侵染, 但由于林龄不同而形成的菌根侵染率差异也较大, 即随着林龄的增加菌根侵染率也逐步减少。Arocena 等^[36]认为, 外生菌根真菌能使冷杉根周围土壤溶液中的营养矿物元素浓度远高于根围以外的土壤。本研究中, 外生菌根真菌能使云杉根际土壤的 pH 和全磷含量略低于非根际土壤, 而其电导率、全氮、全钾、可溶性钙和可溶性镁的含量均分别高于非根际土壤。有关外生菌根真菌对树种根际土壤化学性质影响的报道甚少, 有待于更进一步研究。

当然, 秦岭辛家山林区云杉 ECM 的种类远不止本论文调查的这些种类, 有些 ECM 真菌的子实体可能容易破坏, 有的 ECM 真菌可能没有采集到子实体, 而且本研究为 2013 年 8 月份调查的结果, 不同 ECM 真菌子实体产生在不同的年份、或同一年份的不同季节^[34]。因此, 对于同一林分的不同季节、同一季节的不同林分外生菌根真菌的多样性还需要大量而详细的调查工作, 相关的调查结果也会陆续报道, 这对于外生菌根真菌在此地区育苗、造林以及退化森林生态系统的恢复和改造等应用中具有重大的意义和广阔的前景。

参考文献

- [1] Johnson D, Ijdo M, Genney DR, Anderson IC, Alexander IJ. How do plants regulate the function, community structure, and diversity of mycorrhizal fungi? *Journal of Experimental Botany*, 2005, 56(417): 1751-1760.
- [2] Song F, Tian X, Yang C, He X, Chen B, Zhu J, Hao J. Ectomycorrhizal infection intensity of subalpine forest ecosystems in western Sichuan, China. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(12): 4171-4178. (in Chinese)
宋福强, 田兴军, 杨昌林, 何兴兵, 陈彬, 朱静, 郝杰杰. 川西亚高山带森林生态系统外生菌根的形成. *生态学报*, 2006, 26(12): 4171-4178.
- [3] Liang Y, Guo L, Ma K. The role of mycorrhizal fungi in ecosystems. *Acta Phytocologica Sinica*, 2002, 26(6): 739-745. (in Chinese)
梁宇, 郭良栋, 马克平. 菌根真菌在生态系统中的作用. *植物生态学报*, 2002, 26(6): 739-745.
- [4] Lin S, Sun X, Wang X, Dou C, Li Y, Luo Q, Sun L, Jin L. Mycorrhizal studies and their application prospects in China. *Acta Prataculturae Sinica*, 2013, 22(5): 310-325. (in Chinese)
林双双, 孙向伟, 王晓娟, 豆存艳, 李媛媛, 罗巧玉, 孙莉, 金樑. 我国菌根学研究进展及其应用展望. *草业学报*, 2013, 22(5): 310-325.
- [5] Smith SE, Read DJ. *Mycorrhizal Symbiosis*. Cambridge: Academic Press, 2008: 126-160.
- [6] Colpaert JV, Wevers JHL, Krznanic E, Adriaensen K. How metal-tolerant ecotypes of ectomycorrhizal fungi protect plants from heavy metal pollution. *Annals of Forest Science*, 2011, 68(1): 17-24.
- [7] Luo ZB, Li K, Gai Y, Gobel C, Wildhagen H, Jiang XN, Feussner I, Rennenberg H, Polle A. The ectomycorrhizal fungus (*Paxillus involutus*) modulates leaf physiology of poplar towards improved salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 2011, 72(2): 304-311.
- [8] Lin X, Li Z, Han D, Hou J. Mycorrhiza and restoration of vegetation. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2003, 21(2): 167-170. (in Chinese)
林晓民, 李振岐, 韩德俊, 侯军. 菌根与植被恢复. *干旱地区农业研究*, 2003, 21(2): 167-170.
- [9] Wang Q. Ectomycorrhizal community composition of *Quercus mongolica*. *Journal of Liaoning Forestry Science & Technology*, 2013, (3): 6-9. (in Chinese)
王琴. 蒙古栎外生菌根真菌多样性研究. *辽宁林业科技*, 2013, (3): 6-9.
- [10] 中华人民共和国林业局. 森林土壤分析方法(中华人民共和国林业行业标准). 北京: 中国标准出版社, 1999: 1-167.
- [11] Huang J, Nara K, Lian CL, Zong K, Peng KJ, Xue SG, Shen ZG. Ectomycorrhizal fungal communities associated with Masson pine (*Pinus massoniana* Lamb.) in Pb-Zn mine sites of central south China. *Mycorrhiza*, 2012, 22(8): 589-602.
- [12] Lian C, Hogetsu T, Matsushita N, Guerin-Laguette A, Suzuki K, Yamada A. Development of microsatellite markers from an ectomycorrhizal fungus, *Tricholoma matsutake*, by an ISSR-suppression-PCR method. *Mycorrhiza*, 2003, 13(1): 27-31.
- [13] White TJ, Bruns TD, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics//Innis M, Gelfand D, Sninsky J, White T. eds. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. San Diego: Academic Press, 1990:

- 315-322.
- [14] Gardes M, Bruns TD. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes—application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Molecular Ecology*, 1993, 2(2):113-118.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [16] Meng L, Geng Z, Wang H, Yin J, Jiang L, Lin W. Soil nutrients and enzyme activities of *Pyrola* in rhizosphere and non-rhizosphere on Mt. Taibai, Qinling Mountains. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science)*, 2012, 40(5):157-165. (in Chinese)
孟令军, 耿增超, 王海涛, 殷金岩, 姜林, 林伟达. 秦岭太白山区鹿蹄草根际与非根际土壤养分及酶活性研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2012, 40(5):157-165.
- [17] Su Y, Zhao H, Zhang T. Influencing mechanism of several shrubs and subshrubs on soil fertility in Keerqin sandy land. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(7):802-806. (in Chinese)
苏永中, 赵哈林, 张铜会. 几种灌木、半灌木对沙地土壤肥力影响机制的研究. 应用生态学报, 2002, 13(7):802-806.
- [18] Xue Z, Zhou Z, Zhan Y, Ren W. Changing characteristics of phosphorus in the rhizosphere soil of the xeromorphic shrubs in arid deserts. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(2):341-349. (in Chinese)
薛梓瑜, 周志宇, 詹媛媛, 任伟. 干旱荒漠区旱生灌木根际土壤磷变化特征. 生态学报, 2010, 30(2):341-349.
- [19] Altschul SF, Madden TL, Schaffer AA, Zhang J, Zhang Z, Miller W, Lipman DJ. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(17):3389-3402.
- [20] Fan Y, Yan W, Wang L. Morphological type and molecular identification of ectomycorrhizae on *Picea crassifolia* in Helan Mountain. *Scientia Silvae Sinicae*, 2011, 47(6):108-113. (in Chinese)
樊永军, 闫伟, 王黎元. 贺兰山地区青海云杉外生菌根的形态. 林业科学, 2011, 47(6):108-113.
- [21] Tedersoo L, Kõljalg U, Hallenberg N, Larsson KH. Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest. *New Phytologist*, 2003, 159:153-165.
- [22] Krpata D, Peintner U, Langer I, Fitz WJ, Schweiger P. Ectomycorrhizal communities associated with *Populus tremula* growing on a heavy metal contaminated site. *Mycological Research*, 2008, 112(9):1069-1079.
- [23] Tedersoo L, Jairus T, Horton BM, Abarenkov K, Sui T, Saar I, Kõljalg U. Strong host preference of ectomycorrhizal fungi in a Tasmanian wet sclerophyll forest as revealed by DNA barcoding and taxon-specific primers. *New Phytologist*, 2008, 180(2):479-490.
- [24] Peay KG, Garbelotto M, Bruns TD. Spore heat resistance plays an important role in disturbance-mediated assemblage shift of ectomycorrhizal fungi colonizing *Pinus muricata* seedlings. *Journal of Ecology*, 2009, 97(3):537-547.
- [25] Pestana Nieto M, Santolamazza Carbone S. Characterization of juvenile maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.) ectomycorrhizal fungal community using morphotyping, direct sequencing and fruitbodies sampling. *Mycorrhiza*, 2009, 19(2):91-98.
- [26] Ge ZW, Smith ME, Zhang QY, Yang ZL. Two species of the Asian endemic genus *Keteleeria* form ectomycorrhizas with diverse fungal symbionts in southwestern China. *Mycorrhiza*, 2012, 22(5):403-408.
- [27] Han G, Qi Y, Liu C, Zhou Y. Effects of temperature and pH on mycorrhizal fungal growth. *Chinese Journal of Ecology*, 1993, 12(1):15-19. (in Chinese)
韩桂云, 齐玉臣, 刘忱, 周玉芝. 温度、pH对菌根真菌生长影响的研究. 生态学杂志, 1993, 12(1):15-19.
- [28] Xie Y, Li Z, Yang Z. Effect of pH value, salt concentration and Al^{3+} on mycorrhizal fungal growth. *Acta Agriculturae Universitatis Jiang xiensis (Natural Science)*, 2002, 23(2):204-207. (in Chinese)
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. 江西农业大学学报(自然科学版), 2002, 23(2):204-207.
- [29] 吴克. 云杉外生菌根菌的研究. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2003:8-9.
- [30] Harley JL, Smith SE. *Mycorrhizal Symbiosis*. 3rd eds. New York: Academic Press, University of Michigan, 1983:210-230.
- [31] Xia L, Li Z, Yang L. Changes in composition and content of nutrients and water soluble salts in soil under plastic greenhouse tomato cultivation in relation to fertilization. *Soils*, 2005, 37(6):620-625. (in Chinese)
夏立忠, 李忠佩, 杨林章. 大棚栽培番茄不同施肥条件下土壤养分和盐分组成与含量的变化. 土壤, 2005, 37(6):620-625.
- [32] Wu C, Wang J, Yang X, Wu G. A study on

- ectomycorrhizae and mycorrhiza fungi in Taibai Mountain Nature Reserve. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science)*, 2001, 29(2): 56-60. (in Chinese)
- 吴重华, 王吉忍, 杨俊秀, 吴国华. 太白山自然保护区外生菌根及菌根真菌调查研究. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(2): 56-60.
- [33] Zhang C, Cao Z, Gao Z. Distributional features of macro fungi in huoditang forest farm. *Journal of Northwest Forestry University*, 2005, 20(1): 127-131. (in Chinese)
- 张春霞, 曹支敏, 高智辉. 火地塘林区大型真菌生态分布及资源评价. 西北林学院学报, 2005, 20(1): 127-131.
- [34] Zhang R, Tang M, Zhang H, Du X. A preliminary investigation on ectomycorrhizal fungi in huoditang forest region of qinling mountains. *Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science)*, 2011, 28(3): 168-173. (in Chinese)
- 张茹琴, 唐明, 张海涵, 杜小刚. 秦岭火地塘林区外生菌根真菌的初步调查. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2011, 28(3): 168-173.
- [35] Qi P, Li J, Li A, Dai L, Ding S. Preliminary survey report of macro-fungi germplasm resources in the middle area of qinling mountains. *Edible Fungi of China*, 2013, 32(1): 8-13. (in Chinese)
- 祁鹏, 李峻志, 李安利, 戴璐, 丁世刚. 秦岭中段地区大型真菌种质资源调查初报. 中国食用菌, 2013, 32(1): 8-13.
- [36] Arocena JM, Glowka KR. Mineral weathering in ectomycorrhizosphere of subalpine fir [*Abies lasiocarpa* (Hook.) Nutt.] as revealed by soil solution composition. *Forest Ecology and Management*, 2000, 133: 61-70.

Diversity of ectomycorrhizal fungi associated with *Picea asperata* in Xin Jiashan Forest of Qinling Mountains

Rong Geng¹, Zengchao Geng^{1*}, Jian Huang², Wenxiang He¹, Lin Hou², Diao She³, Jun Zhao¹, Jie Shang¹

¹Ministry of Agriculture Key Laboratory of Plant Nutrition and Agri-environment in Northwest China, College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China

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

³Institute of Soil and Water Conservation, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China

Abstract: [**Objective**] To study the diversity of ectomycorrhizal fungi associated with *Picea asperata* in Xin Jiashan Forest of Qinling Mountains. [**Methods**] This method combined the field investigation, morphological and molecular biology to identify ectomycorrhizal fungi. [**Results**] There were 37 different ectomycorrhizal fungi under 14 genera of 10 families on spruce in Xin Jiashan Forest of Qinling Mountains, 34 types belonged to Basidiomycetes, 1 to Ascomycete and 2 to unknown species. Among these identified ectomycorrhizal fungi types, *Inocybe* sp. was the dominant group; *Russula nauseosa* was the most dominant species; *Hygrophorus* sp., *Tomentella coerulea*, *Inocybe* sp. 1, *Helotiaceae* sp. and *Lactarius deterrimus* were common species; and the rest species were rare species. [**Conclusion**] The large number but relatively rare species of dominant family and the small number but relatively more species of rare family survived in ectomycorrhizal fungal communities of *Picea asperata*. For the extreme degradation in arid area of western ecological system, identifying some rare family for further development and utilization had very important practical significance.

Keywords: *Picea asperata*, ectomycorrhizal fungi, diversity, morphology, molecular biology, mycorrhizal infection rate
(本文责编:王晋芳,李磊)

Supported by the Special Fund for National Forest Scientific Research in the Public Welfare (201304307)

* Corresponding author. E-mail: gengzengchao@126.com

Received: 22 November 2014/Revised: 31 December 2014