

# 块菌菌根苗高效交叉感染技术研究

林强<sup>1</sup> 任君芳<sup>2</sup> 冉晓潇<sup>1</sup> 柳成益<sup>4</sup> 韩灯<sup>3</sup>

(1. 四川省林科院 四川 成都 610081; 2. 四川省阿坝州科学技术研究院林科所 四川 阿坝 623000;  
3. 攀枝花市林业局 四川 攀枝花 617000; 4. 攀枝花市林科所 四川 攀枝花 617065)

**摘要:** 本文首次提出了块菌菌根苗的高效交叉感染育苗技术,通过保水剂吸附块菌孢子悬浮液,在育苗盆内集中榛子和松树种子,5个月后,陆续移栽感染的菌根苗,采用此方法,用200g夏块菌,培育出3000多株菌根苗。该技术可以广泛地运用在菌根苗培育中。

**关键词:** 块菌; 菌根苗; 交叉感染

中图分类号: S723.1

文献标识码: A

文章编号: 1003-5508(2013)04-0025-02

## A Study of the Cross-infection Technique of Mycorrhizal Seedlings of Truffles

LIN Qiang<sup>1</sup> REN Jun-fang<sup>2</sup> RAN Xiao-xiao<sup>1</sup> LIU Cheng-yi<sup>4</sup> HAN Deng<sup>3</sup>

(1. Forestry Academy of Sichuan, Chengdu 610081, China; 2. Forestry Institute of Aba TAP., Sichuan 623000, China;  
3. Forestry Bureau of Panzhihua, Panzhihua 617000, China; 4. Forestry Institute of Panzhihua, Panzhihua 617065, China)

**Abstract:** The high-efficient cross-infection seedling-raising technique of truffles were proposed firstly in this paper. The hazel and pine seeds were inoculated in the tub containing the water-retaining agent adsorbing the suspension of truffle spore. After five months, the mycorrhizal seedlings of truffles were transplanted. 3000 mycorrhizal seedlings were produced by using only 200g of truffle ascocarp. This technique would be very useful in the cultivation of mycorrhizal seedlings.

**Key words:** Truffles, Mycorrhizal seedling, Cross-infection

商业块菌(truffle)作为世界顶级食材,在欧洲备受推崇。块菌的采食已经有2000多年的历史,早在公元450年以前地中海的居民就开始采食块菌。古希腊人和罗马人认为,块菌具有壮阳的作用,直到上个世纪,贵族仍然保持着用块菌壮阳的风尚。

上世纪60年代开始,法国国家农业研究所 Institut National de la Recherche Agronomique (INRA)与意大利的科学家联合开展了块菌栽培研究工作,以拯救欧洲的块菌产业。两国科学家在做了大量卓有成效的研究工作之后,获得了突破性的进展,成功培育出了块菌的菌根苗,并且掌握了大量扩繁高品质块菌菌根苗的技术。直到1975年,意大利科学家,在世界上首次采用温室培育块菌菌根苗营造的块菌人工林,产生了黑孢块菌(*T. melanosporum*)

(pers. comm. Chevalier 2002)。这个结果无论在块菌产业上,甚至在整个菌物学,菌根真菌栽培研究上,都是十分重大的进展,同时也标志着人工栽培的方式,将可能使块菌产业化。1979年,同样的结果在法国也被完成(Chevalier & Grente 1979)。之后,法国科学家和意大利科学家发育了,用(*T. melanosporum*)子囊孢子接种橡树和榛子的技术,开始了块菌产业化的进程。

块菌的栽培和产业化经历了三个时期,第一个时期是块菌菌根育苗接种技术在意大利和法国的突破,并在法国、意大利、西班牙产业化;第二个时期是非块菌出产国新西兰在南半球营造块菌林并获得成功;第三个时期是块菌栽培技术转移、扩散期,澳大利亚、美国、加拿大、瑞典、英国纷纷引进法国块菌

收稿日期: 2013-03-04

项目基金: 国家948项目(2009410)。

作者简介: 林强(1963-)男,硕士,高级工程师,主要研究方向为大型真菌分类学、栽培学及菌根技术研究。

苗,建立自己的块菌园,并获得成功。

国内20世纪90年代开始块菌栽培技术的研究,目前已有零星报道。从宿主植物的筛选,菌根苗接种技术,到检测技术已经在很多科研单位实现,为块菌产业化奠定了坚实的基础。

常规的接种技术都是用孢子粉对单颗无菌苗接种,耗用菌种量较大,对于珍稀的块菌种子,特别是欧洲块菌,价格昂贵,实际上可以用孢子悬浮液接种,本研究首次提出交叉感染接种的技术,同样可以达到批量接种节省成本的效果。

## 1 材料和方法

1.1 接种材料夏块菌(*Tuber aestivum*)源自意大利埃蒙特大区;华山松来源于会东县母树园良种,收集当年滇榛种子;接种基质:泥炭土、珍珠岩、蛭石;保水剂。

### 1.2 无菌苗培育及接种:

消毒:0.1%的高锰酸钾液浸泡处理30 min后,用自来水冲洗去表面残留的高锰酸钾溶液。

浸种:将宿主植物种子浸泡1 d~3 d,榛子需要脱壳并在50 ppmGA再浸泡20 h。

基质:采用河沙:蛭石:珍珠岩=1:1:1混合基质,在126℃下灭菌3 h,冷却,放置一周后待用。

菌种的制备:将夏块菌洗干净,晾干,在酒精内浸泡一下,然后在酒精灯上漂烧灭菌;然后用打浆机添加无菌水打浆,越细越好,将打好的块菌浆与发好水的保水剂混合,然后不断添加无菌水,直到保水剂达到饱和的吸水能力,这样孢子悬浮液将被均匀的吸附到保水剂表面。

播种及接种:将上述培养基质,在底部有孔的播种盆内铺垫5 cm深,然后铺垫一层吸附了块菌孢子的保水剂铺垫2 cm~3 cm,在保水剂上覆盖3 cm的灭菌基质,然后播入处理好的榛子和华山松种子,最后在种子表面覆盖2 cm灭菌基质,用无菌水一次灌透,放置无菌培养室培养。温度控制在20℃~25℃,每周浇水2次~3次。

出苗:种子一般于7 d和10 d内萌发,榛子萌发稍慢,甚至15 d~20 d陆续萌发。

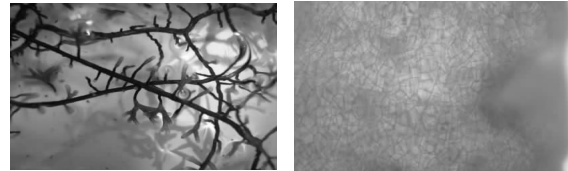
培育:5个月后检测接种苗,然后随着苗子的生长,陆续感染,将感染的菌根苗移栽到营养杯。榛子和少量松树苗可以保留。当感染的松树苗大量移植后,可以重新播入表面消毒的松树种子,保留感染的榛子苗和松树苗将交叉感染新播种生长的松树苗。

## 2 结果

5个月后起出华山松苗,肉眼可以看到须根膨大,二叉分枝或则丛状分枝,显微镜下可以看到感染的根部表面不规则的三角形或多角型网纹。随后陆续可以观察到华山松苗被感染,感染在6个月~8个月达到高峰。用这样方法我们采用200 g的夏块菌,成功地交叉感染出3 000多株菌根苗。



华山松和滇榛混播在育苗盆内



感染的华山松须根二叉枝 感染夏块菌的须根表面鞘细胞

## 3 讨论

交叉感染的技术可以高效的感染块菌菌根苗,只要保留感染宿主植物,理论上可以无限的交叉感染。这个方法较之欧洲传统的孢子粉接种感染,能够节约大量的菌种,在欧洲通常每株无菌苗需要的接种量3g,接种3000株需要9kg块菌种子,节省接种量8.8kg,因此该方法对于珍稀的仅有少量的块菌种子扩繁菌根苗十分有效。

榛子具有丰富的须根,感染的榛子保留在接种盆内,成为新的接种源,是交叉感染的最佳传递载体,而松树苗种子来源方便,价格低廉,易于大量培育。

使用保水剂吸附孢子悬浮液也是本研究最关键的技术,吸附的孢子将不被浇灌流失。

尽管理论上这样的方法可以无限扩繁菌根苗,但是从遗传多样性的角度来看,最好还是能采用少量多批块菌种子大量扩繁块菌菌根苗。

该方法同样可以适用于大多数的菌根苗培育,在生产实践中具有广泛的运用前景。