

马占相思优势外生菌根菌与根瘤菌双接种效应初报*

王新荣 康丽华

关键词 马占相思 外生菌根菌 根瘤菌 双接种 效应

马占相思(*Acacia mangium* Willd)是速生优良多用途树种,其根部具有根瘤,具有共生固氮功能。为了使根瘤菌更好地促进马占相思的生长,国内外对其根瘤菌进行了大量的研究^[1]。其中包括双接种根瘤菌与VA菌的研究^[2]。虽然VA菌根菌能较好地促进马占相思根瘤的形成,促进林木的生长,但由于VA菌根菌无法进行人工纯培养,其扩大使用受到一定的局限^[3]。野外调查结果表明,马占相思的优势外生菌根菌是多根硬皮马勃(*Scleroderma polyrhizum* Pers),且人工接种结果表明,外生菌根菌能促进苗木的生长(另文报道)。外生菌根菌以其能产生大量孢子,能进行人工纯培养,可以大量生产,使用方便而优于VA菌根菌。但国内外无人对马占相思的外生菌根菌进行过深入研究。我们于1994~1996年对马占相思苗木双接种根瘤菌及外生菌根菌的效应进行了研究,报道如下。

1 材料与方 法

1.1 供试苗木

马占相思种子(中国林科院热林所相思育种课题组提供)经过表面消毒后,按常规方法催芽^[4],将刚出芽的种子移入装有灭菌基质的花盆中。

1.2 接种基质

将蛭石、泥炭、河沙及黄心土按1:1:1:1.5(体积比)的比例混合混匀。用聚丙烯耐高温塑料袋分装,在1 kg/cm²的条件下,灭菌2 h,冷却后放置2个星期,装入用0.5%高锰酸钾溶液消过毒的内径为20 cm的花盆内。

1.3 供试菌种

1.3.1 多根硬皮马勃菌 从马占相思林中采集新鲜、成熟、无病虫害的子实体,用75%的酒精表面消毒0.5 min,用0.1%升汞水浸2 min,用灭菌水清洗6次后,再用灭过菌的解剖刀将子实体切开,取出孢子,用含有1.5%的洗衣粉的无菌水将孢子粉配制成低倍显微镜镜(10×5)下,每视野40个孢子的孢子悬浮液。

1.3.2 根瘤菌 该菌是从广州市龙洞林场(23°06'N, 113°18'E)的黑木相思(*Acacia melanoxylon* R. Br.)根瘤中分离获得。挑取新鲜、饱满、个大的根瘤,自来水冲洗干净,于75%酒精液中浸泡15~30 s后,放入0.1%酸性升汞溶液中,表面消毒4 s,用无菌水冲洗干净。将经表面消毒后的根瘤放在两片无菌载玻片之间,用力挤压,使根瘤破碎,用接种针沾取根瘤液

1997—08—01 收稿。

王新荣助理研究员,康丽华(中国林业科学研究院热带林业研究所 广州 510520)。

* 本研究属1994~1996年中国林科院科学技术发展基金资助项目“亚热带相思菌根作用及其应用的研究”内容之一。在研究过程中得到本所弓明钦、郑海水、许煌灿研究员,黄世能、杨民权、徐大平副研究员等的热心帮助,同时得到广州龙眼洞林场、花都镇林业局和广东鹤山林科所的支持,在此一并致谢!

在 YMA 平板上划线, 28 ~ 30 ℃ 恒温培养至菌落出现, 挑取典型菌落纯化和鉴定^[5]。

根瘤菌培养采用液体震荡培养方法, 在温度为 28 ~ 30 ℃, 转速 100 r/min 条件下, 振荡培养 4 d 即用于接种。

1.4 接种方法

用无菌注射器将根瘤菌的悬浮液及菌根菌的悬浮液, 注射到苗木根系周围, 每株苗木注射每种菌的悬浮液 3 mL。

1.5 试验设计

设 4 个处理: (1) 对照; (2) 单接菌根菌; (3) 单接根瘤菌; (4) 根瘤菌与菌根菌双接种。采用完全随机化实验设计。每处理为 4 盆, 每盆有 8 株苗。

1.6 苗木管理

接种苗木置于实验室阳台上。每日淋水 1 次, 每隔 10 d 换盆位置一次。苗木接种后 20 d, 每株苗木施 0.5% 的挪威复合肥 10 mL。接种 45 d 后, 叶面喷施 600 倍 65% 的代森锰锌两次, 防治白粉病。

1.7 试验观测

接种后注意观察苗木生长势。接种 2 个月后, 每隔 20 d 测量试验苗的苗高、地径, 3 个月, 测量苗高、地径、生物量(地上及地下部分的鲜重及干重), 检查苗木的菌根菌感染株率、菌根感染强度及根瘤数。

1.8 外生菌根接种结果检查方法

接种 3 个月后, 用水浸泡栽培基质 4 h, 轻轻连同栽培基质挖出接种苗木, 在自来水下细心冲洗干净, 进行外生菌根鉴定^[3], 并统计菌根感染株率及感染强度。

1.9 菌根菌感染株率、菌根感染强度统计方法

菌根菌感染株率(%) = 感染菌根株数 / 检查苗木株数 × 100%。菌根感染强度分级标准:

感染强度	符 号	分 级 标 准
无	0	菌根数为 0
轻	+	菌根数与总根数之比小于 20%
中等	++	菌根数与总根数之比在 20% ~ 50%
较强	+++	菌根数与总根数之比在 50% ~ 70%
强	++++	菌根数与总根数之比大于 70%

1.10 数据处理

根据有关调查观测结果, 用计算机进行方差分析及多重比较分析^[6]。

2 试验结果

2.1 多根硬皮马勃菌根菌感染马占相思苗的菌根形态

接种 3 个月后, 接种苗木的培养基质中, 有白色菌索与苗木根部相连, 苗木根部少根毛, 小根为单轴状短分枝, 浅色。切片观察, 可见光滑型菌套及少量外延菌丝, 并具有典型的哈蒂氏网, 可鉴定为外生菌根^[3]。

2.2 多根硬皮马勃菌根菌对马占相思苗生长的影响

接种 3 个月后, 平均每株苗木结根瘤 2.25 个, 苗木菌根感染株率是 100%, 感染强度中等。接种苗木的平均苗高 12.75 cm, 平均地径粗 1.5 mm, 平均地上部分鲜重 0.127 g, 平均地

下部分鲜重 0.127 g, 平均地上部分干重 0.178 g, 平均地下部分干重 0.048 g, 分别比对照增加 61.19%、27.66%、86.18%、84.78%、144.9%、122.5%。方差分析及多重比较结果表明, 菌根菌接种对苗木高生长有极显著差异(表 1~4)。

表 1 不同处理对马占相思苗高、地径生长的影响

处 理 ^①	平均苗高		平均地径		菌根感染率 (%)	根瘤数 (个/株)
	\bar{H} (cm)	增长率(%)	\bar{D} (mm)	增长率(%)		
SP	12.75	61.19	1.5	27.66	100++	2.25
RL	16.00	102.28	1.96	66.81		3.33
SP+ RL	16.91	113.89	1.89	60.85	100+++	4.5
CK	7.91	—	1.175	—		

①CK: 对照; SP: 单接菌根菌; RL: 单接根瘤菌; SP+ RL: 双接种(下同)。+ : 菌根感染强度轻; ++ : 菌根感染强度中等; +++ : 菌根感染强度较强(下同)。

表 2 不同处理对马占相思苗生物量的影响

处 理	地上		地下		地上		地下		菌根 感染率 (%)	根瘤数 (个/株)
	\bar{FW} (g)	增长率 (%)	\bar{FW} (g)	增长率 (%)	\bar{DW} (g)	增长率 (%)	\bar{DW} (g)	增长率 (%)		
SP	0.633	86.18	0.129	84.79	0.178	122.5	0.048	144.9	100++	2.25
RL	0.899	164.41	0.301	227.17	0.284	255.0	0.086	389.8	0	3.33
SP+ RL	1.487	333.35	0.378	320.65	0.380	375.0	0.104	430.61	100+++	4.5
CK	0.34	—	0.092	—	0.080	—	0.019	—	0	

表 3 不同处理对马占相思苗高方差分析

变差来源	平方和	自由度	平均值	F	$F_{0.05}$
组间	791.167 4	3	263.722 47	28.566	8.5
组内	544.686 9	59	9.231 98		
总的	1 335.854 3	62			

表 4 不同处理对马占相思苗高生长影响的多重比较结果

处 理	株数	平均值	同源组
CK	16	7.902 6	*
SP	16	12.750 0	*
RL	15	16.000 0	*
SP+ RL	16	16.937 5	*

注: 95% 的可信区间。

2.3 根瘤菌对马占相思苗木生长的影响

接种 3 个月后, 苗木感染根瘤菌株率 73%, 平均每株苗木结根瘤 3.33 个, 菌根感染率为 0。接种苗木的平均苗高 16.0 cm, 平均地径粗 1.96 mm, 平均地上部分鲜重 0.899 g, 平均地下部分鲜重 0.301 g, 平均地上部分干重 0.284 g, 平均地下部分干重 0.086 g, 分别比对照增加 102.228%、66.808%、164.41%、227.11%、255.0%、389.8%。方差分析及多重比较结果表明, 根瘤菌接种对苗木高生长有显著影响(表 1~4)。

2.4 根瘤菌和菌根菌双接种对马占相思苗木生长的影响

接种 3 个月后, 苗木感染根瘤菌株率 100%, 平均每株苗木结瘤 4.5 个, 菌根感染株率 100%, 平均感染强度高, 平均苗高 16.91 cm, 平均地径粗 1.89 mm, 平均地上部分鲜重 1.487 g, 平均地下部分鲜重 0.378 g, 平均地上部分干重 0.380 g, 平均地下部分干重 0.104 g, 分别比对照增加 113.89%、60.85%、333.35%、320.65%、375.0%、430.61%。方差分析及多重比较结果表明, 菌根菌和根瘤菌双接种对苗木高生长有显著影响(表 1~4)。

2.5 不同生长时期不同菌对苗木高生长的影响

在生长期, 3 种接种方式均能显著地促进苗木的生长, 但 3 种接种方式在不同生长期对苗木生长的促进程度不同, 其中菌根菌对苗木的促进作用在后期下降最快, 根瘤菌也呈下降趋势, 双接种在整个生长期内一直处于上升趋势。见表 5、图 1。

表 5 不同菌剂对马占相思苗高生长影响趋势

(1996 年)

处 理	观测日期(月—日)	株 数	苗 高(cm)	增 长 率 (%)
CK	08—06	16	6.184	—
	08—26	16	6.732	—
	09—05	16	7.91	—
RL	08—06	16	13.16	112.81
	08—26	16	17.054	153.33
	09—05	16	16.00	102.28
RL+ SP	08—06	16	10.676	72.46
	08—26	16	13.52	96.82
	09—05	16	167.91	113.89
SP	08—06	16	11.017	70.66
	08—26	16	12.785	89.91
	09—05	16	12.75	61.19

图 1 不同时期 3 种菌剂对马占相思苗木生长促进作用比较及趋势

3 小结与讨论

(1) 用自然界采集的马占相思优势菌根菌硬皮马勃菌接种马占相思苗木, 能形成典型的外生菌根形态, 显著地促进苗木的生长。

(2) 采用马占相思外生菌根菌与根瘤菌进行双接种能同时形成典型的外生菌根形态和根瘤, 显著地提高马占相思的生物量。

(3) 虽然多重比较结果表明: 单接根瘤菌与双接根瘤菌和外生菌根菌对马占相思苗木的高生长影响属于同一个同源组, 但两者对它的地上鲜重的影响不属于一个同源组, 双接种的影响大于单接根瘤菌的影响(表 4)。接种后的不同时期的观测结果表明, 双接种对马占相思苗木生长的促进方式呈逐渐增长方式, 且能提高苗木的根瘤数, 增强苗木的菌根感染强度。而单接根

瘤菌对苗木生长的促进呈下降趋势(图 1)。综上所述,双接种优于单接根瘤菌或菌根菌。其实,自然界生物多种多样,马占相思的根部也绝不是仅有根瘤菌存在,菌根菌和根瘤菌都是自然界长期进化的产物,它们在促进马占相思的生长方面必将起着应有的作用,深入揭示两者之间的关系需要做进一步的工作。

(4) 菌根是植物和自然界长期进化的产物。对菌根菌的作用已进行过深入的研究。对马占相思这种固氮树种,根瘤菌是必不可少的共生菌。野外调查结果表明,在贫瘠的林地中,外生菌根菌的子实体出现频率高,在立地条件较好的林地中,VA 菌根菌的感染强度大。因此,外生菌根菌与 VA 菌在马占相思生长过程中所起的作用及它们和根瘤菌的相互作用机理,以及如何使这三类共生菌更好地促进马占相思的生长,有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Sharma D. Response of rhizobial inoculation on germination and growth of seedlings of three leguminous nitrogen-fixing tree species. Banko Janakari, Thailand, 1944, (2): 172 ~ 175.
- 2 Verma R K. Effect of inoculation of VAM fungi and *Rhizobium* on growth and biomass in *Acacia* nodulation in nuRLery. Indian Forester, 1994, 20(12): 1089 ~ 1094.
- 3 郭秀珍, 毕国昌. 林木菌根及应用技术. 北京: 中国林业出版社, 1989.
- 4 潘志刚. 马占相思在我国的引种初报. 热带林业科技, 1985, (1): 20 ~ 31.
- 5 Incent J M. A manual for the practical study of root-nodule bacteria. IBP Handbook No. 15. Blackwell, Oxford, 1970. 164.
- 6 北京林学院. 数理统计. 北京: 中国林业出版社, 1980.

The Effects of Dual-inoculation of Ectomycorrhiza and Rhizobia on the Growth of *Acacia mangium*

Wang Xinrong Kang Lihua

Abstract *Acacia mangium* seedlings were artificially inoculated with its superior ectomycorrhizal fungus *Scleroderma polyrhizum* and nitrogen-fixing bacteria rhizobia LR001. After 3 months inoculation, the seedlings could form its typical ectomycorrhiza and nodulation. The result showed that the infection rate of mycorrhiza and nodulation are 100% with higher infection degree. The growth of the seedlings was promoted. The height, ground diameter, fresh weight and dry weight all increased in a certain degree. Dry weight of root biomass underground increased evidently by 430. 61% in comparison with the control. One way analysis of variance and multiple range analysis for seedling height indicated that there was an obviously significant difference between inoculation and control.

Key words *Acacia mangium* ectomycorrhizal fungi rhizobia dual-inoculation effect