

# 相思菌根的菌种筛选及其接种效应研究

弓明钦, 王凤珍, 陈羽, 陈应龙

(中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东广州 510520)

摘要: VA 菌根、外生菌根及菌根菌剂对马占相思和厚荚相思幼苗的接种结果表明: VA 菌根和外生菌根都可对两种相思幼苗形成侵染, 菌根感染率达 49.5% ~ 73.33%; 5 个月后的马占相思苗木高比对照增加 53.9% ~ 148.99%, 厚荚相思苗木高增加 31.7% ~ 95.39%; 马占相思生物量比对照增加 208% ~ 396%, 厚荚相思生物量增加 294% ~ 441.5%; 对 VA 菌的菌根依赖性(MD)测定结果表明, 除厚荚相思对 B9302 菌株的依赖属中等外, 两种相思对其它菌种的依赖性较强(MD > 300)。在外生菌根方面, 除厚荚相思对 99215 和 94070 两菌株依赖性属中等外, 对其它菌种的依赖性均较强, 特别是马占相思对 9439 菌株, 其 MD 值达 542; 对 6 种菌剂而言, 以美 2 菌剂效果最好, MD 值均大大高于其它菌株。试验结果还表明, 就两个类型菌根比较而言, VA 菌根对苗木的促生效果优于外生菌根的效果; 就几种菌株比较来看, B9301 和 B9302 两个 VA 菌和 9439、99215 及 94070 三个外生菌对马占相思效果好, 而 VA 菌 99004、9301 和外生菌根菌 99132、9439 菌株对厚荚相思效果好; 相思幼苗接种菌根后还有促进固氮结瘤的明显作用。

关键词: VA 菌根; 外生菌根; 马占相思; 厚荚相思; 接种效应

中图分类号: S718.81

文献标识码: A

相思属(*Acacia*) 树种是固氮树种, 其固氮能力仅次于豆科(Leguminosae) 牧草, 为每年 10 ~ 32 kg(N) · hm<sup>-2</sup><sup>[1]</sup>。不仅如此, 相思属树种也是菌根营养型树种, 它既可形成外生菌根, 也可形成 VA 菌根, 还有些树种可形成混合菌根<sup>[2]</sup>。正是由于相思的这些优良特性, 使它可以在环境条件十分恶劣的地方茁壮生长。近年来许多国家都开展了对相思菌根的研究, 泰国<sup>[3]</sup>、印度<sup>[4]</sup>、马来西亚<sup>[5]</sup>、菲律宾<sup>[6]</sup>等都有关于相思树种在自然条件下感染菌根的报道。在人工接种研究方面, Natarajan 等<sup>[4]</sup>、Delacurz 等<sup>[7]</sup>都证明相思幼树接种外生菌根或 VA 菌根后, 对幼树生长有良好的增产效果; 此外有更多的人注意到, 利用菌根和根瘤菌对相思幼苗进行双接种的效果, 比任何单接种的效果还要好(Delacurz 等)<sup>[8,9]</sup>。

尽管国内对相思菌根的研究并不多, 但已经有了良好的开端。王云贞等利用外生及 VA 菌根菌对相思幼苗进行双接种<sup>[10]</sup>; 曹季丹等利用 VA 菌和根瘤菌对大叶相思(*Acacia auriculaeformis* A. Cunn. ex Benth.) 等树种进行双接种<sup>[11]</sup>; 王新荣等则利用外生菌根菌和根瘤菌对马占相思(*A. mangium* Willd.) 进行双接种试验<sup>[12]</sup>, 都取得了较好的研究结果。除此以外, 国内其余研究则较少。

虽然相思树种既可感染外生菌根又可感染 VA 菌根的事实, 以及人工接种菌根后的促生

效果已毋庸置疑,但是,最佳接种菌种的选择则是推广应用亟须解决的问题。本研究利用已在华南地区应用,且接种效果较好的3个VA菌和4个外生菌根菌株进行接种试验,同时使用4种引进菌剂和2种自配菌剂进行应用比较试验,以目前生产上栽培较广的马占相思和厚荚相思为对象,选择其优良菌株或菌剂,结果报道如下。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

1.1.1 供试苗木 供试苗木2种,马占相思、厚荚相思(*Acacia crassicaarpa* A. Cunn. ex Benth.),种子由本所陈祖旭先生提供。种子先用100℃沸水浸泡,边泡边搅拌,待自然冷却并保留24h后取出晾干,用0.1% HgCl<sub>2</sub>溶液浸泡0.5min进行表面消毒,取出后用无菌水冲洗多次,晾干;在经121℃高温消毒的混合基质(蛭石 泥炭 河沙=1 1.5 2)中播种,用相同基质覆盖保湿,常规管理,待芽苗长出后备用。

1.1.2 供试菌种 供试VA菌种3株,即苏格兰球囊霉(*Glomus caledonium* (Nicol. & Gerd.) Trappe & Gerdl) B9301及B9302菌株,多型球囊霉(*G. versiforme* (Karsten) Bench.) 99004菌株,分别引自中国科学院南京土壤所和中国林业科学研究院。菌种在消毒混合基质中利用三叶草(*Trifolium repens* L.)进行生物繁殖,3个月后去其茎叶,将根系剪碎与基质混合,晾干后备用。

外生菌根菌4种,分别为豆马勃 *Pisolithus* 99132 菌株,硬皮马勃 *Scleroderma* 99215 菌株,蜡蘑 *Laccaria* 9439 菌株和西澳粘滑菇 *Hebeloma* 94070 菌株。前两种菌株分离自华南地区该菌的子实体,后两种菌株引自澳大利亚CSIRO。菌种经MMN液体培养后再经匀浆器粉碎,制成菌液使用。

1.1.3 供试菌剂 供试6种菌剂分别为:美1和美2菌剂,引自美国商品菌剂;台s和台p菌剂引自台湾省东兴大学生产的菌剂;S和P则由作者自行配制。

### 1.2 试验方法

1.2.1 苗木接种 当幼苗高4~5cm,长出1~2片变态叶时即可按常规方法移栽。VA菌根菌及各种菌剂均在移苗时接种,在每株育苗基质中分别放入,每株菌剂2g;外生菌根菌在幼苗移栽后10d接入,每株注射液体菌剂2mL。苗木按常规方法管理,每周淋施0.2%复合肥液1次。

1.2.2 试验观测 全部试验从苗木移栽时起至5个月后结束,分别进行苗高的每木调查测定;试验结束时再测定其幼树平均高、根长、地上及地下干、鲜质量,并按下列公式统计生物量及菌根依赖性(MD)、菌根感染率及感染强度等,同时考察各处理的根瘤数。

菌根依赖性  $MD = \frac{\text{接种植株平均干质量}}{\text{对照株平均干质量}} \times 100$

菌根感染率(%) = (菌根感染的根段数 / 检查的菌根根段总数) × 100

菌根感染指数  $MI = \left[ \frac{\sum \text{菌根感染级} \times \text{感染株数}}{\text{感染最高级} \times \text{总株数}} \right] \times 100$

菌根感染分级标准:

- |                   |                   |
|-------------------|-------------------|
| 0级: 根系无感染;        | 3级: 感染根段占31%~50%; |
| 1级: 感染根段在10%以下;   | 4级: 感染根段占50%以上。   |
| 2级: 感染根段占11%~30%; |                   |

## 2 试验结果

### 2.1 VA 菌根菌对相思幼苗的接种效果

2 种不同相思幼苗接种 VA 菌 5 个月后的结果见表 1。结果表明, 3 个 VA 菌菌株对 2 种相思幼苗均有较明显的促生效果, 3 个菌株对 2 种相思均可侵染并形成 VA 菌根, 菌根感染率达 56.67% ~ 73.33%, 其中以 B9301 菌株接种效果最好, 无论感染率及感染指数均最高。马占相思和厚荚相思接种苗高比对照分别增加 89.01% ~ 148.99% 和 64.48% ~ 95.39%; 生物量比对照分别增加 208% ~ 396% 和 106% ~ 259%; 菌根依赖性 MD 值除个别处理外绝大多数都在 300 以上, 说明 2 个相思树种对内生菌根有较强的依赖性; 接种 VA 菌根后, 苗木的根瘤数量、根瘤质量和 2 mm 以上根瘤数均比对照苗明显增加。显著性分析结果表明, 厚荚相思的苗高、地上及地下部分干质量、生物量和马占相思苗高与对照处理相关指标的差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 马占相思地上干质量与对照的差异显著 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。

表 1 2 种相思树种苗期接种 VA 菌根的效应

树种	接种菌 (菌株号)	苗高/ cm	根长/ cm	菌根感染 率/%	感染 指数	地上干 质量/g	地下干 质量/g	生物 量/g	菌根依赖 性 MD	平均根瘤 数/个	根瘤 质量/g	2 mm 以上 根瘤数/个
马占 相思	B9301	91.33	38.33	73.33	41.67	13.75	2.08	15.83	496	55.5	1.317	29.0
	B9302	84.67	28.33	66.67	30.83	11.76	2.51	14.27	447	49.0	1.120	23.5
	99004	69.33	23.67	63.33	24.17	7.58	2.24	9.82	308	95.5	1.183	20.0
	对 照	36.68	22.00	9.90	0	2.62	0.57	3.19	-	46.0	0.573	21.0
厚荚 相思	B9301	71.67	27.00	63.33	35.8	9.55	1.90	11.45	359	94.5	1.434	24.5
	B9302	60.33	23.00	56.67	25.0	4.95	1.61	6.56	206	70.0	1.075	18.0
	99004	66.67	27.00	56.67	17.5	9.89	1.85	11.74	368	101.0	0.997	17.0
	对 照	36.68	22.00	6.70	0	2.62	0.57	3.19	-	88.5	0.969	14.5

表 2 2 种相思苗期接种 VA 菌的显著性分析 ( $F$  值)

变异来源	苗 高	地上干质量	地下干质量	生物量
马占相思	23.338***	4.632**	0.393	3.52
厚荚相思	23.725***	35.256***	17.576***	35.253***

注: \*\*\*: 显著性差异  $P < 0.05$ ; \*\*: 显著性差异  $P < 0.01$ , 下同。

3 个 VA 菌株中除了 B9302 菌株在厚荚相思上表现较其它稍差外, 其余所有处理均有较好的促生效果。因此, VA 菌根不仅可以感染 2 种相思, 而且接种效果明显。

### 2.2 外生菌根菌对相思幼苗的接种效果

4 个外生菌根菌株对 2 种相思幼苗接种结果见表 3。表 3 结果表明, 供试的 4 个外生菌根菌株对 2 种相思均可形成侵染并形成外生菌根, 菌根形态多呈棒状, 极少分枝, 白色, 粗短, 以 9439、99215 和 99132 等菌株为好, 菌根感染率及菌根感染指数均较高, 而 94070 菌株对厚荚相思的感染结果稍差(表 3)。

从苗木高生长结果来看, 外生菌根接种马占相思的效果较好, 接种苗高比对照增加达 53.9% ~ 91.3%, 厚荚相思其次, 苗高增幅达 31.7% ~ 69.1%; 接种菌根的苗木其地上、地下部分干质量及生物量增加显著, 马占相思生物量比对照提高 294% ~ 441.5%, 厚荚相思生物量增幅也可达 134.2% ~ 225.2%。菌根依赖性 MD 值比较结果可知, 除厚荚相思对 94070 和

99215 菌株的依赖性在 300 以下, 属中等强度依赖性外, 其余菌种处理的 MD 值均在 300 以

表 3 2 种相思树种接种外生菌根的效应

树种	接种菌 (菌株号)	苗高/ cm	根长/ cm	菌根感染 率/%	感染 指数	地上干 质量/g	地下干 质量/g	生物 量/g	菌根依赖 性 MD	平均根瘤 数/个	根瘤 质量/g	2 mm 以上 根瘤数/个
马占 相思	99132	63.33	21.67	69.0	39.5	7.825	1.812	9.635	394	130	3.967	120
	99215	60.33	24.33	66.0	36.0	9.380	2.176	11.555	472	175	4.015	54
	9439	65.00	23.33	72.5	40.2	10.698	2.539	13.246	542	203	3.684	124
	94070	52.33	26.67	52.4	32.4	8.42	2.031	10.452	427	132	2.767	63
	对 照	34.00	23.33	6.7	0	1.984	0.462	2.446	-	52	0.929	29
厚荚 相思	99132	67.67	27.0	68.5	54.0	9.928	2.300	12.228	325	144	3.466	89
	99215	65.33	26.0	52.0	40.4	8.193	1.206	9.407	250	113	3.550	78
	9439	69.33	25.33	56.0	42.0	10.019	1.407	11.426	304	178	7.063	154
	94070	54.67	25.33	49.5	35.0	7.440	1.367	8.807	234	139	3.899	108
	对 照	41.0	21.67	3.3	0	3.110	0.652	3.760	-	64	1.269	42

上, 属于对菌根依赖性较强的树种。2 种相思接种外生菌根后, 苗木根系平均根瘤数、根瘤质量和 2 mm 以上根瘤数均明显增加, 其中马占相思根瘤质量比对照增加 197.8% ~ 332.2%, 厚荚相思根瘤质量比对照增加 173.1% ~ 456.6%。苗高、地上及地下干质量、生物量等指标与对照苗差异的显著性分析结果表明, 除厚荚相思地下干质量的差异不显著外, 其余指标的差异都为极显著(表 4)。

表 4 2 种相思接种外生菌根菌的显著性测定( $F$  值)

变异来源	苗 高	地上干质量	地下干质量	生物量
马占相思	53.833***	11.993***	6.969***	11.739***
厚荚相思	12.542***	13.510***	5.406	13.563***

从总体来看, 4 种外生菌根菌对 2 种相思都有较好的接种效果, 其中尤以 9439 和 99132 菌株为佳, 对两种相思均有较好的促生效果, 而 99215 和 94070 菌株对马占相思的接种效果优于对厚荚相思的接种效果。

### 2.3 几种菌根菌剂对相思幼苗的接种效果

几种菌根菌剂对相思幼苗接种结果见表 5。结果表明, 不同的菌根菌剂对 2 种相思有不同的感染率和感染指数, 其中以美 2 和美 1 处理效果较好。各种菌剂处理的相思幼苗其生长普遍优于对照, 其中, 马占相思苗木高生长可增加 50.0% ~ 138.2%, 厚荚相思苗高增长达 37.39% ~ 131.4%; 苗木地上及地下干质量增加也十分明显, 马占相思接种苗平均生物量比对照增加 178.3% ~ 792.5%, 厚荚相思生物量也比对照增加 58.67% ~ 321.03%, 其中美 2 菌剂处理的 2 种相思幼苗, 无论地上或地下部分的干质量、生物量等的增幅均是最高。几种菌剂接种处理的苗木高、地上及地下部分干质量、生物量的差异显著性测定结果见表 6。结果表明, 菌剂接种苗在上述几个指标中与对照苗木的差异全部为极显著。

接种苗木的根瘤数、根瘤质量以及 2 mm 以上根瘤数量也均比对照多, 其中, 美 2 菌剂仍属领先。

就苗木生长总体情况来看, 美 2 和美 1 菌剂使用效果最好, 特别以美 2 菌剂效果最佳, 其

余 4 种菌剂的综合效果差异并不大,但对苗高生长、生物量及根瘤均有一定的促生效果。

表 5 不同菌剂对相思幼苗接种的效应

树种	菌剂种类	苗高/ cm	根长/ cm	地上干质 量/g	地下干质 量/g	生物量/ g	菌根依赖 性 <i>M/D</i>	平均根瘤 数/个	根瘤质 量/g	2 mm 以上根 瘤数/个
马占 相思	美 1	67.67	28.67	7.083	1.838	8.921	365	233	4.426	116
	美 2	81.00	39.33	16.468	5.360	21.830	892	245	4.852	113
	台 s	53.67	21.33	5.485	1.232	6.717	275	124	3.185	112
	台 p	51.00	22.33	6.710	1.852	8.562	350	186	3.952	128
	S	52.00	23.00	6.288	1.475	7.763	317	182	2.732	93
	P	52.00	26.33	5.635	1.173	6.808	278	101	3.14	95
	对照	34.00	23.33	1.984	0.462	2.446	-	52	0.929	29
厚荚 相思	美 1	58.67	24.33	8.257	1.074	9.304	247	179	3.566	101
	美 2	78.67	19.67	13.502	2.329	15.830	421	384	9.423	322
	台 s	61.67	24.67	6.975	1.330	8.305	221	192	5.320	140
	台 p	57.67	24.00	5.010	0.956	5.966	159	141	4.196	123
	S	56.33	18.33	5.750	1.174	6.924	184	213	4.479	192
	P	66.00	26.33	2.706	0.321	9.027	240	186	3.806	125
	对照	41.00	21.67	3.110	0.652	3.760	-	64	1.269	42

表 6 不同菌剂接种相思的显著性测定 (*F* 值)

变异来源	苗 高	地上干质量	地下干质量	生物量
马占相思	38.891***	19.577***	20.463***	20.630***
厚荚相思	33.282***	16.292***	19.592***	19.263***

### 3 结论与讨论

(1) 3 株 VA 菌种、4 种外生菌根菌种以及 6 个菌根菌剂对供试的马占相思和厚荚相思都有不同程度的菌根侵染,说明这些菌种可以与 2 种相思共生形成菌根;VA 菌与外生菌根菌的成功侵染,再次证明这两种相思既可形成外生菌根也可形成内生菌根;美 1 及美 2 菌剂均包含 5 种 VA 菌孢子和 2 种外生菌根菌孢子,属于混合菌剂,其接种效果反映了混合菌根的效果,因此,再次证实 2 种相思也属于具有混合菌根的树种。

(2) 从总体结果来看,VA 菌根同外生菌根接种都有相似的较好结果。但是,不同类型的菌种与树种之间效果有差异。VA 菌根菌中以 B9301 和 B9302 菌株较好,但 B9302 菌株对厚荚相思的效果稍差,而 99004 菌株对马占相思效果较差,但对厚荚相思的效果较好。在外生菌根菌中,4 个菌种对马占相思都有较好的接种效果,但以 9439 和 99215 最好;对厚荚相思而言,以 99132 和 9439 菌株为好,99215 和 94070 效果则居次。因此,针对不同树种选择适合的菌种进行接种可以取得更好的接种效果。

(3) 美 1 和美 2 菌剂是包含 VA 菌和外生菌根菌的混合型商品菌剂;台 s 和台 p 菌剂是以 VA 菌为主的混合菌剂;而 S 和 P 则是以外生菌根菌为主的菌剂。3 种类型菌剂比较的结果表明,美 2 和美 1 混合型菌剂的接种效果比任何单一型菌剂效果好。

(4) 3 个类型菌根菌剂对 2 种相思的接种,还有促进相思根系结瘤的明显效果。其原因可能是菌根改善了幼苗体内的 P 素代谢,促进其营养平衡,从而带动和促进固氮菌的生长,至于菌根菌与固氮菌之间有无直接关系,尚待进一步研究。

(5) 外生菌根菌剂已可以进行工业化生产,VA 菌根菌虽然至今无法人工培养,但在一定

范围内可以通过生物繁殖法进行扩大繁殖。因此, 菌根技术在相思树种中的应用, 不仅促进树木生长, 对相思大面积发展也有重要的现实意义。

### 参考文献:

- [1] Nutman P J. Field experiment on nitrogen fixation by nodulated legumes [A]. In: Nutman P S ed. Symbiotic Nitrogen Fixation Plants [M]. London, 1976. 211 ~ 237.
- [2] Reddell P, Warren R. Inoculation of *Acacia* with mycorrhizal fungi: potential benefits, ACIAR Proceedings [M]. Canberra, Australia, 1987, (16): 50 ~ 52.
- [3] Yantasath K. A new hope from mycorrhizal [J]. Sci and Tech J, 1989, (3): 2 ~ 4.
- [4] Nalarajan K. Mycorrhizal development and growth response in *Acacia nilotica* seedlings by inoculation with ectomycorrhizal fungi [A]. In: Programmes and Abstracts ACOM [C]. Yogyakarta, Indonesia, 1994. 3 ~ 4.
- [5] Lee S S. The association of *Telephora ramarioides* Reid with *Acacia mangium* Willd [A]. In: Proceeding Third Int Conf Plant Protection in Tropics [C]. Malaysia, 1994. Vol. . 171 ~ 173.
- [6] Dela Cruz. Pilot testing the effectiveness of VA mycorrhiza in the reforestation of Marginal Grasslands [A]. In: Programmes and Abstracts ACOM [C]. Yogyakarta, Indonesia, 1994, 4. 1.
- [7] Dela Cruz. Application of mycorrhizal fungi and rhizobium for advanced silviculture [A]. In: Programmes and Abstracts ACOM [C], Ching Mai, Thailand, 1991.
- [8] Dela Cruz. Nitrogen fixation and mycorrhizae in *Acacias* on degraded grasslands [A]. In: Kamis A, Taylor D A. Tropical and the Pacific [C]. Bangkok, Thailand, 1992. 59 ~ 71.
- [9] 王元贞. 相思幼苗接种外生菌根和 VA 菌根的效应[J]. 福建农学院学报, 1991, 8(3): 327 ~ 332.
- [10] Cao Jidan, Tang Yugui, Gin Shangmin. Dual inoculation of mimosaceae seedlings with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium [A]. In: Mycorrhizas for Plantation Forestry in Asia [C]. ACIAR Proceedings, Canberra, Australia, 1995, No. 62, 119 ~ 121.
- [11] 王新荣, 康丽华. 马占相思优势外生菌根菌与根瘤菌双接种效应初报[J]. 林业科学研究, 1998, 11(5): 542 ~ 546.

## Mycorrhizal Fungal Screening and Inoculant Effectiveness for Two *Acacia* Species

GONG Ming-qin, WANG Feng-zhen, CHEN Yu, CHEN Ying-long  
(The Research Institute of Tropical Forestry, CAF, Guangzhou 510520, Guangdong, China)

**Abstract:** Preliminary results showed that the seedlings of *Acacia mangium* and *A. crassicarpa* were capable of forming ectomycorrhizal (ECM) and vesicular-arbuscular mycorrhizal (VAM) associations. The average infective rates of both mycorrhizal associations varied from 49.5% to 73.33%. Five months after inoculation, the average heights of *A. mangium* and *A. crassicarpa* were increased by 53.9% ~ 148.99% and 31.7% ~ 95.39% respectively compared to those of controls. The biomass was accordingly increased by 208% ~ 396% and 294% ~ 441.5% respectively. Seedlings of both tree species indicated strong mycorrhizal dependency (MD) on inoculant fungi, except relatively weak MD for *A. mangium* on either VAM fungus isolate B9302 or ECM fungus 99215 and 94070. The highest MD were 542 of *A. crassicarpa* on ECM isolate 9439. Another experiment with various inoculum products showed that American inoculum No. 2 posed the best effectiveness on the growth of seedlings. Among these fungal isolates, more compatible isolates for the two *Acacia* species were screened and can be further tested in field trials. Experimental results also indicated that inoculation with mycorrhizal fungi could enhance nodule formation by rhizobia.

**Key words:** VA mycorrhiza; ectomycorrhiza; *Acacia mangium*; *A. crassicarpa*; inoculant effectiveness