第6卷 第6期 林业科学研究 Vol.6, No.6
1993年12月 FOREST RESEARCH Dec., 1993

木麻黄苗期最佳固氮基因型组合体研究*

仲崇禄

摘要 在野外苗圃中，对放线菌F287与不同基因型苗(14个种源的普通木麻黄和10个种源或家系的山地木麻黄)组合的研究表明，在生长和生物量指标上，参试苗木的基因型间存在着显著或极显著差异，且接种与未接种处理间也存在着显著或极显著差异；接种后形成的24种固氮基因型组合体的各指标增量平均值变化非常大：根瘤数为0.3～8.9个/株；苗高为－2.1～40.3 cm；地径为－0.04～0.18 cm；地上生物量为－0.205～5.072 g/株；地下生物量为－0.009～1.324 g/株；总生物量为0.101～6.396 g/株。这表明不同基因型的木麻黄苗的固氮能力有遗传变异性。最后，利用多目标决策分析方法对24种固氮基因型组合体进行了选优和排序，找出了一些最佳固氮基因型组合体。

关键词 木麻黄、固氮、基因型、放线菌

木麻黄属(*Casuarina*)作为多用途树种广泛引种和栽培于世界热带和亚热带地区，它具有较高的共生固氮能力和耐贫瘠能力。我国大面积种植的原是普通木麻黄(*Casuarina equistifolia* L. Johnson)，80年代中期开始引进山地木麻黄(*C. junghuhniana* Miq.)，并初步证明它在酸性土壤上生长优于其他木麻黄。

对木麻黄有固氮作用的放线菌(Frankia)的研究已受到人们极大的重视并做了大量研究，但对可获得较大固氮效益的寄主间存在的差异研究甚少[1]。选择出超级基因型(super genotype)，用寄主植物与放线菌配对组合的研究方法证明植物固氮能力的差异在很大程度上归结于植物基因型的差异[2]。在国外，有人报道了某些普通木麻黄苗木无性系和种源间，及细枝木麻黄(*C. cunninghamiana* Miq.)苗木种源间固氮能力及其生长表现等有显著差异[3～10]，但对普通木麻黄有代表性的大量种源和山地木麻黄种源或家系的固氮能力研究未曾有报道。本文对14个普通木麻黄种源基因型和10个山地木麻黄种源或家系基因型的固氮能力的遗传变异性进行了探讨和苗期筛选，找出了一些最佳固氮基因型组合体(Optimum *Frankia*-genotype associations)。

1 材料和方法

1.1 材料

参试木麻黄种子均来自澳大利亚树木种子中心，详见表1。用放线菌品系F287液态培养物作为接种体。采用高12 cm且口径6 cm的营养杯培育苗木，培养土为新鲜的典型酸性砖红

1992—02—24收稿。

仲崇禄助理研究员(中国林业科学研究院热带林业研究所 广州 510520)。

*试验用菌种F287来自澳大利亚，由本所康丽华助理研究员培养并提供，在此致谢。

壤心土。

表1　试验所用种批（树种、种源或家系）的基因型

树种	编号	对应组合体代号			种批和产地	
	1	CE1	13422		QUEZON	PHILIPPINES
	2	CE3	14195		NW ROLLINGSTONE	QLD
	3	CE4	14233		RAYONG PROV	THAILAND
	4	CE5	14234		SONGKIHLA PROV	THAILAND
普	5	CE7	14985		GUANGDONG	CHINA
通	6	CE8	14986		FUJIAN	CHINA
木	7	CE9	14987		HAINAN ISLAND	CHINA
麻	8	CE10	15616		WANGETTI BEACH	QLD
黄	9	CE12	16166		DANGER POINT	NT
	10	CE13	16499		DENIS ISLAND	SEY
	11	CE14	17575			INDONESIA
	12	CE15	17586		GEDE	KENYA
	13	CE16	17587		ROBINSON ISLAND	KENYA
	14	CE17	17596		ALEXANDRIA	EGYPT
	15	CJ20	17599	MET00003	MUGUGA	KENYA
	16	CJ25	17599	ARB00003	MUGUGA	KENYA
山	17	CJ27	17599	ARB00005	MUGUGA	KENYA
地	18	CJ29	17599	SCC00002	MUGUGA	KENYA
木	19	CJ31	17599	SCC00004	MUGUGA	KENYA
麻	20	CJ33	17559	JSL00144	COFFS HARB.PLT.	NSW
黄	21	CJ34	17559	JSL00145	COFFS HARB.PLT.	NSW
	22	CJ35	17559	JSL00146	COFFS HARB.PLT.	NSW
	23	CJ39	17597	T0000006	WEST TIMOR	INDONISIA
	24	CJ47	17598		NOELMINA R.W.TIMOR	INDONISIA

1.2　方法

1992年4月14日至9月28日，在热带林业研究所（广州）苗圃中进行试验，试验期间平均气温21.9～28.4 ℃。为裂区设计，主区为种批，即种、种源或家系，副区为接种和未接种两种处理，每小区处理10株，重复3次，接种与未接种处理间有2行隔离苗带。播种前用约3％的次氯酸钠消毒种子，播种土壤用1/1 000高锰酸钾消毒24 h后再将种子播下，待苗木长至5～7 cm时，移植到营养杯中。放线菌F287用P培养基培养25 d左右，于移苗后第二天接种。接种采用注射法，接种量为每株苗10 ml接种体。其后，进行常规浇水管理，整个试验期间未施入任何肥料。

接种后167 d收获，观察指标有6项：根瘤数(Nn)、苗高(H)、地径(Do)、地上生物量(Wa)、地下生物量(Wu)，并计算总生物量(Wt)。测定生物量是在105 ℃下烘48 h至恒重后称其重量。

按裂区试验设计，以每处理指标平均值进行方差分析，并对各指标增量平均值（接种与未接种之差值）进行单因素方差分析和多重比较(Duncan法)。为进一步评定各个固氮基因型组合体的优劣，选用后5个有代表性指标进行多目标决策分析[11]，以便找出一些最佳固氮基因型组合体。目前，植物固氮能力的评定方法主要有乙炔还原法（固氮酶活性法），放射

性同位素标记法及生长和生物量法[3,9]。本文采用最后一种方法。

2 结果和分析

2.1 接种与未接种苗的比较

试验结果的方差分析表明，在生长和生物量指标上，除山地木麻黄地上生物量和总生物量外，其它参试种批的基因型间、处理间和交互作用项都存在着显著差异或极显著差异（表2）。

表2 5个指标的方差分析统计

指标	变异来源	普通木麻黄 自由度	普通木麻黄 F值及显著水平	山地木麻黄 自由度	山地木麻黄 F值及显著水平
H (cm)	基因型(A)	13	81.80***	9	6.37***
	处理(B)	1	255.17***	1	90.38***
	交互(A×B)	13	10.36	9	3.05**
Do (cm)	基因型(A)	13	44.19***	9	5.67***
	处理(B)	1	89.08***	1	34.68***
	交互(A×B)	13	3.34***	9	3.01**
Wa (g/株)	基因型(A)	13	18.53***	9	3.53***
	处理(B)	1	35.73***	1	32.20***
	交互(A×B)	13	3.82***	9	1.38NS
Wu (g/株)	基因型(A)	13	121.33***	9	6.03***
	处理(B)	1	59.05***	1	74.22***
	交互(A×B)	13	4.46***	9	2.55**
Wt (g/株)	基因型(A)	13	77.79***	9	4.32***
	处理(B)	1	95.88***	1	41.06***
	交互(A×B)	13	6.37***	9	1.64NS

注：•••——极显著差异（$P<0.01$）；••——显著差异（$P<0.05$）；NS——无显著差异。

接种后结瘤平均数，普通木麻黄种源基因型间变化为1.1～7.1个/株，山地木麻黄种源或家系间变化为0.3～8.9个/株，而其对照苗木皆未结瘤。两树种的少数种源或家系接种后的生长或生物量指标的增值（即接种与未接种之差）为负数。如CE10的地径（－0.01 cm）和地下生物量（－0.009 g/株）；CJ29的苗高（－2.1 cm）、地径(－0.04 cm)和地上生物量（－0.205 g/株）；CJ31的地径(－0.01 cm)等。这表明接种后并没有促进这些基因型某些指标的生长或生物量生产。本试验时间达5个月而且试验中只采用同一种营养土培育苗木，所以，认为这种现象主要是由放线菌F287与基因型的结合能力不同引起的，或放线菌与基因型结合上存在着排斥性，对此有待进一步研究。

2.2 接种后生长和生物量指标增量的分析与比较

试验设计时树种所含的每个种批都被视为一个不同基因型，分析时把种源或家系基因型作为独立因子。各指标增量则是评定接种后产生的固氮基因型组合体优劣的重要指标。对24种固氮基因型组合体的5个指标平均增值进行单因素方差分析和多重比较，结果见表3、4。

从表3的5个指标方差分析结果看，重复间皆无显著差异，而处理间（即固氮基因型组合体间）皆有显著差异。表4反映了各种基因型组合体在5个指标上的差异情况，苗高增值

较大者有：CE4、CE5、CJ35、CE7、CE14、CE9、CJ20、CJ39、CE8、CJ33、CJ34、CJ47及CE1；地径有：CJ47、CE14、CJ35、CE4、CE5、CE1及CJ33；地上生物量有：CE14、CE4、CJ35、CE8、CJ47及CE5；地下生物量有：CE14、CJ47、CJ20、CJ33、CE8、CE4、CJ27、CJ25、CJ34、CE7、CJ39、CE5、CE1及CE9；总生物量有：CE14、CE4、CJ35、CJ47及CE8。

表3　组合体增值的方差分析

增值指标	变异来源	自由度	F值及显著水平
Hi	重　复	2	0.48^{NS}
	组合体	23	11.95^{***}
Doi	重　复	2	0.45^{NS}
	组合体	23	5.30^{***}
Wai	重　复	2	0.25^{NS}
	组合体	23	7.92^{***}
Wui	重　复	2	0.11^{NS}
	组合体	23	4.48^{***}
Wti	重　复	2	0.15^{NS}
	组合体	23	7.97^{***}

注同表2。

表4　组合体5个指标增量平均值的多重比较（Duncan法，$P<0.05$）

No	*Hi*	No	*Doi*	No	*Wai*	No	*Wui*	No	*Wti*
CE4		CJ47		CE14		CE14		CE14	
CE5		CE14		CE4		CE47		CE4	
CJ35		CJ35		CJ35		CJ20		CJ35	
CE7		CE4		CE8		CJ33		CJ47	
CE14		CE5		CJ47		CJ35		CE8	
CE9		CE1		CE5		CE8		CJ20	
CJ20		CJ33		CJ27		CE4		CE5	
CJ39		CE8		CJ20		CJ27		CJ27	
CE8		CE9		CE9		CJ25		CJ33	
CJ33		CJ39		CE7		CJ34		CE9	
CJ34		CJ34		CJ33		CE7		CE7	
CJ47		CE7		CJ39		CJ39		CJ39	
CE1		CE3		CE1		CE5		CE1	
CJ27		CJ20		CJ34		CE1		CJ34	
CE12		CJ25		CE17		CE9		CE25	
CE3		CE17		CJ31		CE17		CE17	
CJ25		CE12		CE12		CE15		CJ31	
CJ31		CE15		CJ25		CE13		CE15	
CE16		CJ27		CE15		CJ29		CE12	
CE13		CE13		CE16		CJ31		CE16	
CE10		CE16		CE3		CE16		CE13	
CE17		CE10		CE13		CE3		CE3	
CE18		CJ31		CE10		CE12		CE10	
CJ29		CJ29		CJ29		CE10		CJ29	

2.3 固氮基因型组合体优劣的多目标决策分析

以上多重比较分析仅能从单因子（指标）来评价固氮基因型组合体的优劣。现借助多目标决策分析中一维选优法，用5个指标的增值对参试的24种固氮基因型组合体进行综合评定。具体方法：根据指标重要性及数据变化特征，采用相对比较法给出两两指标的比较权重，并求出每个指标的平均权重即权重系数(Wj)，见表5。

表5 增值指标的权重系数Wj统计

增值指标	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	$Wj(\Sigma Wj=1)$
Hi	0.6	0.5	0.5	0.4							0.20
Doi	0.4				0.4	0.4	0.4				0.16
Wai		0.5			0.6			0.5	0.4		0.20
Wui			0.5			0.6		0.5		0.4	0.20
Wti				0.6			0.6			0.6	0.24

然后，把各指标平均值转换成同一效用单位值(Uij)(注：$Uij=1-[0.9(V\max-Vij)](V\max-V\min)$；$0.1\leqslant Uij\leqslant 1.0$；$V$、$V\max$及$V\min$分别为指标增值、指标增值的最大值及指标增值的最小值)，计算综合指标$Wi=\Sigma Wj*Uij$，并把Wi按大至小顺序编号。最后，根据排序大小确定优劣，即Wi值大者为好，详见表6。

表6 各指标同一效用单位值（Uij），综合评定值(Wi)和排序

组合体号	同一效用单位值					综合评定值	大小顺序
	Hi	Doi	Wai	Wui	Wti		
CE1	0.584	0.796	0.420	0.349	0.395	0.493	13
CE3	0.401	0.509	0.186	0.157	0.166	0.270	17
CE4	1.000	0.836	0.843	0.592	0.789	0.810	2
CE5	0.938	0.836	0.590	0.364	0.537	0.641	6
CE7	0.862	0.591	0.446	0.371	0.421	0.532	9
CE8	0.675	0.714	0.615	0.640	0.615	0.649	5
CE9	0.771	0.673	0.480	0.328	0.439	0.529	10
CE10	0.232	0.223	0.167	0.100	0.139	0.169	23
CE12	0.457	0.386	0.212	0.152	0.186	0.270	16
CE13	0.266	0.346	0.182	0.184	0.169	0.222	20
CE14	0.775	0.918	1.000	1.000	1.000	0.942	1
CE15	0.151	0.386	0.205	0.189	0.188	0.216	22
CE16	2.7684	0.305	0.200	0.167	0.179	0.220	21
CE17	0.181	0.468	0.241	0.257	0.231	0.266	18
CJ20	0.680	0.509	0.562	0.743	0.543	0.597	8
CJ25	0.399	0.468	0.211	0.487	0.254	0.355	15
CJ27	0.548	0.386	0.532	0.520	0.521	0.507	11
CJ29	0.100	0.100	0.100	0.176	0.100	0.115	24
CJ31	0.283	0.223	0.230	0.176	0.206	0.223	19
CJ33	0.646	0.755	0.432	0.732	0.483	0.599	7
CJ34	0.643	0.632	0.349	0.404	0.349	0.464	14
CJ35	0.888	0.836	0.691	0.666	0.681	0.746	3
CJ39	0.675	0.632	0.459	0.366	0.431	0.505	12
CJ47	0.612	1.000	0.607	0.864	0.653	0.733	4

注：$W_i=\Sigma W_j\cdot U_{ij}$，$i=1,2,3\cdots 24$，$j=1,2,3,4,5$。

由表 6 可获得固氮基因型组合体优劣顺序为 CE14>CE4>CJ35>CJ47>CE8>CE5>CJ33>CJ20>CE7>CE9>CJ27>CJ39>CE1>CJ34>CJ25>CE12>CE3>CE17> CJ31>CE13>CE16>CE15>CE10>CJ29。从以上顺序可分为 5 级：最佳的固氮基因型组合体为CE14、CE4、CJ35和CJ47，其Wt_i>0.7；其次为CE8、CE5、CJ33、CJ20、CE7、CE9、CJ27和CJ39，Wt_i>0.5；居中者为CJ25、CJ34和CE1，0.3<Wt_i<0.5；较差者为CE15、CE16、CE13、CJ31、CE17、CE3和CE12，0.2<Wt_i<0.3；最差者为CE10和CJ29，Wt_i<0.2。可见基因型在固氮能力上的差异是普遍存在的。同时，未接种时生长或生物量指标大的基因型，其接种后指标也不一定是较大的。很明显只有特定基因型与放线菌品系F 287结合才能获得较高增产效益，说明进行固氮基因型组合体的研究与筛选是非常必要的。

3　结　　语

(1) 苗高、地径和生物量指标上，参试木麻黄苗种批的基因型间、接种与未接种处理间都存在显著或极显著差异，构成固氮基因型组合体后，组合体间也都存在着极显著的差异。说明木麻黄苗不同基因型间的固氮能力存在普遍的遗传变异性。

(2) 接种苗木平均根瘤数，普通木麻黄种源间变化为1.1～7.1个/株，山地木麻黄种源或家系间变化为0.3～8.9 个/株，而对照苗木上皆无根瘤。

(3) 参试的固氮基因型组合体优劣顺序为 CE14>CE4>CJ35>CJ47>CE8>CE5>CJ33>CJ20>CE7>CE9>CJ27>CJ39>CE1>CJ34>CJ25>CE12>CE3>CE17>CJ31 CE13>CE16>CE15>CE10>CJ29，其中前 4 个为最佳组合体；第 5 ～12个较好；第13～15个居中；第16～22个较差；最后 2 个最差。

(4) 试验仅采用一种放线菌品系，而不同放线菌品系与不同基因型组合会有不同的结果，这方面需要大量的工作去证实。但放线菌F 287是从木麻黄上分离培养出来且已被试验证明具有良好特性的品系，同时此试验选用的种批基因型都有较高的代表性。因而，该试验结果对指导林业生产有实践意义。

参 考 文 献

1 Dommergues Y R. The role of biological nitrogen fixation in agroforestry. in: Steple H A, Nair P K R(ed): Agroforestry, a Decade of Development. Nairobi: ICRAF, 1987, 245～271.

2 Simon L, Stein A, Cote S, et al. Performance of *in vitro* propagated *A. glutinosa* (L.) Gaaertn colones inoculated with Frankia. Plant and Soil, 1985, 87: 125～133.

3 El—Lakany M H, Turnbull J W, Brewbaker J L. Advances in *Casuarina* Research and Utilization. Cairo: AUC & DDC, 1990.

4 Fleming A J, Williams E R, Turnbull J W. Growth and nodulation and nitrogen fixation of provenances of *Casuarina. cunninghamiana* inoculated with a range of Frankia sources. Australian Journal of Botany, 1988, 36: 171～181.

5 National Academy of Science. *Casuarina*: nitrogen-fixing tree for adverse sites. Washington: National Academy Press, 1984.

6 Midgley S J, Turnbull J W, Johnston R D. Casuarina Ecology, Management and Utilization. Melbou-

rne, CSIRO, 1983.

7 Reddell P W, Bowen G D, Roboson A D. Nodulation of Casuarinaceae in relation to host species and soil properties. Australian Journal of Botany, 1986, 34: 435~444.

8 Sanginga N, Bowen G D, Danso S K A. Genetic variability in symbiotic nitrogen fixation with and between provenances of two casuarina species using ^{15}N—labelled methods, Soil Biol. Biochem., 1990, 22(4): 539~547.

9 Sellstedt A. Nitrogenase activity, hydrogen evolution and biomass production in different casuarina symbioses. Plant and Soil, 1988, 105: 33~40.

10 Sougoufara B, Duhouk E, Dommergues Y R. Improvement of nitrogen fixation by *Casuarina equisetifolia* through colonal selection. Arid Soil Research and Rehabilitation, 1987, 1: 129~132.

11 洪伟. 多目标决策在林业中的应用. 林业勘察设计, 1987, 14(2): 40~46.

Study on the Optimum Frankia-genotype Associations of Casuarina Seedlings

Zhong Chonglu

Abstract In field nursery, an experiment was carried out with a *Frankia* F287 strain and seedlings from 24 different seedlots of genotypes——14 provenances of *Casuarina equisetifolia* and 10 *C. junghuhniana*. The results showed that there were significant differences ($P<0.05$ or 0.01) among genotypes, and between inoculation and non-inoculation treatments in growth and biomass production. The increment mean values of 24 *Frankia*-genotype associations in nodule numbers, growth and biomass production of seedlings were also obviously fluctuating: root nodule numbers 0.3~8.9/plant; seedlings heights -2.1~40.3 cm; diameters at ground level -0.01~0.18 cm; biomass above ground (stem, shoot and leaf) -0.205~5.072 g/plant; biomass under ground (roots and nodules) -0.009~1.324 g/plant; total biomass -0.101~6.396 g/plant. This indicated that nitrogen fixation capabilities of different genotypes provenances and families of *Casuarina* species are genetically variable. Finally, by the Multiple Objective Strategic Decision Analysis methods, 24 *Frankia*-genotype associations were optimized and ordered, and some optimum associations were found out.

key words *Casuarina* sp., nitrogen fixation, *Frankia*, genotype

Zhong Chonglu, Assistant Professor (The Research Institute of Tropical Forestry, CAF Guangzhou 510520).