木麻黄苗期接种弗兰克氏菌效应及其 与营养元素的关系*

康丽华

摘要 试验结果表明,细枝木麻黄和粗枝木麻黄的接种效果较山地木麻黄明显。接种不同弗兰克氏菌的木麻黄苗木,其高、地径和生物量均表现出明显的差异。营养元素 Ca、Co、P 和 Mg 有效地提高苗木的接种效果,其中 P 是木麻黄生长和固 N 的限制因子。接种苗木的含 N 量均高于对照的苗木。

关键词 木麻黄、弗兰克氏菌、苗期接种、营养元素

木麻黄是我国南方沿海地区营造防护林和能源林难以替代的先锋树种,同时也是非豆科固氮树种,其根系与土壤中的放线菌——弗兰克氏菌(Frankia)共生形成根瘤,把大气中的分子态氮转变成自身可吸收利用的氨态氮,促进其生长。据报道[1],生长在西非沿海沙丘上普通木麻黄固氮量可达 40~60 kg/(hm²•a),但木麻黄根瘤固氮能力因不同的弗兰克氏菌菌株而异,而且还取决于宿主的基因型、土壤因子、营养元素、温度和湿度等[2]。研究结果表明,要提高木麻黄的生长和固氮能力,就必须要:(1)选择速生的宿主林木基因型和能共生的高效固氮菌株;(2)尽量减少立地中限制林木生长和固氮的因子。本文仅就这两个范畴,研究树种、菌株和营养元素对接种后木麻黄的生长及固氮的影响,目的在于鉴别影响木麻黄接种效果的因子,从而提高木麻黄的生长量和固氮能力,这对于改良南方沿海日趋贫瘠的沙地具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 菌株的分离和培养

供试菌株 Frankia 9041、9022、9023、9044、9046、9045、9031、9050 均从本所苗圃粗枝木麻黄(Casuarina glauca Sieber)根瘤上分离获得。分离方法采用切片法^[3]。CcI。菌株从细枝木麻黄(C. cuninghamiana Miq)根瘤中分离获得(澳大利亚科工组织 Paul Reddell 博士赠送)。全部供试菌株在 28~30 ℃ BaP^[4]培养液中培养一个月。

1.2 苗木培育和接种

细枝木麻黄、粗枝木麻黄、山地木麻黄(C. junghuhniana Miq)种子经 0.5%KMnO、消毒 0.5 h 后,无菌水冲洗干净,播于经 121 ℃灭菌的基质(莅石,沙=2:1)中,待苗木长至高约 5 ~6 cm,根长 3~4 cm 时,移栽到装有黄心土;沙=1.5:1 的塑料育苗袋中,每袋移植 1 株。

将培养好的菌株,制成菌悬液,用无菌注射器吸取 3 mL 菌悬液注射到苗木根系周围,每个菌株接 10 株苗。对照为不接种。

1.3 营养元素的处理

1993-01-18 收稿。

康丽华助理研究员(中国林业科学研究院热带林业研究所 广州 510520)。

*本项目为国家自然科学基金资助课题"木麻黄及桉树共生菌"研究内容之一。本文承本所弓明钦副研究员审阅,在此一并致谢。

苗木接种后,每星期每株苗分别施 K₂HPO₄ 0.5 g,MgSO₄ • 7H₂O 0.5 g,CaSO₄ • 2H₂O 0.002 g,CoSO₄ • 7H₂O 0.002 g,NH₄NO₃ 0.5 g。对照不施肥。

观察项目:苗木接种9个月后,测定苗高、地径。用水冲洗净根部,计数根瘤个数、称其鲜重和干重,用凯氏定氮法测定样品含氮量。

2 结果与讨论

2.1 接种对苗木生长的效应

试验证明木麻黄苗木接种不同的弗兰克氏菌后,对其苗木生长的促进作用十分明显。从表1看出,接种苗木株高为对照的1.8~4.2倍;地径为1.8~4.4倍;生物量为4.3~43.6倍。经方差分析检验,差异极显著。

变	异	44-	e Stat	细枝木麻黄		粗枝	木麻黄	山地木麻黄	
		来	源 -	F ₀	F.	F ₀	F«	F ₀	Fa
苗	接种	×不	接种	10.494 * *	2.01(0.05)	8. 405 * *	2.07(0.05)	4. 301 * *	2.08(0.05)
					2.67(0.01)		2.78(0.01)		2.79(0.01)
高	菌	株	围	2.902 * *	2.07(0.05)	4.574 * *	2.13(0.05)	1.37	2.02(0.05)
					2.77(0.01)		2.88(0.01)		2.7(0.01)
地	接种	×不	接种	6.679 * *		6.462 * *		3.136**	
径	菌	株	间	2.6 * *		3.831 * *		1. 192	
生物量	接种	×不	接种	4.159**		3. 121 * *		2.592*	
量	菌	株	间	2.881 * *		2.357 *		2.141*	

表 1 接种效果方差分析

2.2 对树种的影响

细枝木麻黄、粗枝木麻黄和山地木麻黄分别接种弗兰克氏菌,检验树种对接种的反应。结果表明(表 2),接种弗兰克氏菌的 3 个树种苗高、地径、生物量都大于对照苗木,不同树种的接

树 种	处	理	苗 高		地 径		生物量	
1T FY	ж.	<u> </u>	平均(cm)	效果(倍)	平均(cm)	效果(倍)	平均(cm)	效果(倍)
细枝木麻黄	接 对	菌照	102. 43 31. 5	3. 25	0. 696 0. 1 55	4. 49	17. 82 0. 55	32. 4
粗枝木麻黄	接 对	菌照	85.52 27.2	3. 14	0.533 0.139	3. 83	11.04 0.46	24. 0
山地木麻黄	接 对	菌照	104.02 49.4	2. 11	0.778 0.316	2. 46	17.74 2.17	8. 18

表 2 3 个种的木麻黄接种效果比较

种效果有明显的差异。细枝木麻黄接种后,其增长量大于粗枝木麻黄和山地木麻黄,故选择木麻黄种的标准,除了树种本身的因素外,还应考虑与弗兰克氏菌形成有效共生体能力的高低。

2.3 不同弗兰克氏菌菌株的接种效果

同一种木麻黄苗木接种不同菌株的弗兰克氏菌,其增长效果表现出明显的差异(表 3)。

全部 9 株弗兰克氏菌接种的苗木其生长量均比对照有所增加,其中 9022、9031 菌株接种于细枝木麻黄效果最好,接种苗木的生物量为对照的 4.6~47.6 倍;而 9022、9045、9031 菌株接种粗枝木麻黄效果最好,接种苗木的生物量为对照的 30.3~36.3 倍;9050 菌株接种于山地

木麻黄其效果最好,接种苗木的生物量为对照的 19.1 倍。用 LSR 多重比较法对各菌株苗木的 生物量作显著性差异分析,从而得出上述菌株均为各自树种的优良菌株。试验结果说明:利用 经过筛选的弗兰克氏菌接种木麻黄苗木,提高其生长量的潜力是很大的。

表 3 不同菌株接种效果的比较

##: b4:	细枝木麻黄			粗枝木麻黄			山地木麻黄		
菌株	苗高(cm)	地径(cm)	生物量(g)	苗高(cm)	地径(cm)	生物量(g)	苗高(cm)	地径(cm)	生物量(g)
9022	118. 5	0.820	26.2(a)	112. 9	0.693	16.7(a)	114. 3	0. 909	21.36(ab)
9031	118. 4	0.811	25.3(a)	101.4	0.647	13.92(a)	94.3	0.665	10.04(b)
9045	109.0	0.824	23.3(ab)	100.0	0.638	15.2(a)	117.4	0.899	18.9(ab)
9041	105.4	0.823	22.8(ab)	83.4	0.530	9.14(ab)	92. 1	0.673	10.5(b)
9050	86. 4	0.504	7.7(de)	83.3	0.453	11.58(b)	121.3	0.919	41.4(a)
9023	92.6	0.727	14.6(bc)	77.6	0.588	9.04(ab)	89.0	0.665	12.6(b)
9044	91.5	0.575	10.1(bcd)	84.0	0.536	8.93(ab)	99.9	0.716	18.3(ab)
CcI ₃	88. 3	0.544	9.7(bcd)	46.1	0.251	1.56(c)	98.3	0.718	17.3(b)
9046	102.1	0.656	21.6(abc)	80. 1	0.416	10.07(ab)	101.6	0.777	19.5(ab)
对照	31.5	0.155	0.55(d)	27. 2	0.319	0.46(c)	49.4	0.316	2.17(b)

注:同一项内,不具有共同字母的数据,表明经 LSR 分析差异显著。

2.4 营养元素对接种的效应

营养元素 Ca、Co、P、Mg 能提高苗木接种效应和结瘤能力,促进苗木生长,其中以磷元素尤其显著(见表 4)。表 5 的结果进一步说明磷元素对接种苗木生长的效应。试验还表明,接种弗兰克氏菌比施氮肥对苗木生长更为有效。接菌加施氮肥的处理效果最好。

表 4 营养元素对苗木接种效应的影响

		高(cm)	瘤	重(g)	生4	勿量(g)
双连	平均	增加(%)	平均	増加(%)	平均	增加(%)
+Ca	49.6	26. 94	0. 273	56.90	2. 139	62.40
+Co	58.6	49.87	0.508	191.95	3. 337	153.39
+P	65.0	66.24	0.768	341.38	6.166	368. 19
+Mg	50.6	29.41	0.495	184.37	2.595	97.04
对照	39. 1	-	0.174		1.317	_

表 5 P 与 N 元素对木麻黄苗木生长的效应

施P	施N	高(cm)	生物量(g)
0	0	44. 4	1. 531
0	N	57. 7	3.274
0	接菌	91.7	10.848
0	接菌+N	95.0	15.078
P	0	76.7	10.013
P	N	87. 1	14.645
P	接菌	97.3	16. 254
P	接菌+N	112. 1	18.041

2.5 木麻黄苗木 N 元素的累积

木麻黄苗木接种弗兰克氏菌后,与对照苗木叶片 N 含量明显不同。从表 6 看出,木麻黄苗木叶片 N 含量(%)与苗木结瘤量关系非常密切,根瘤量越多,N 元素累积含量越高;菌株不同,叶片含 N 量也不同。从表 7 看出,接种苗木与不接种苗木各部位含 N 量有差异,没有根瘤的苗木,根部含 N 量仅次于叶片的;相反,有根瘤苗木,根部含 N 量在各部位中是最低的。接种苗木各部位含 N 量均比不接种的高,说明弗兰克氏菌具有固定空气中分子态 N 的特殊作用。

表 6 木麻黄苗木叶片含 N 量

	细枝木麻黄		粗枝オ	卜麻黄	山地木麻黄	
菌株	量N含	瘤重	含N量	瘤重	量以含	瘤重
	(%)	(g/株)	(%)	(g/株)	(%)	(g/株)
9031	2.598	0.966	2.383	0.648	2.087	0.195
9023	2.477	0.816	2. 131	0.578	2.545	0.927
对照	1.414	0	1.037	0	1.478	0

表 7 木麻黄苗木各部位含 N 量

(单位:%)

处 理	叶 片	枝条	根	根瘤	
接蘭	2. 598	0.899	0. 823	1. 396	
对照	1.441	0.656	0.722	0	

3 结 语

- (1)根据本试验结果,营养元素 P 是木麻黄生长和固 N 的限制因子,从而提出了合理施用肥料,减少浪费,这对于提高林业生产是有实践意义的。
- (2)本试验所用的菌株,侵染结瘤力强,在未经消毒的基质中,达到 100%的结瘤率,而对照只有个别苗木有 1~2 个根瘤。Frankia 9022、9031、9045 菌株的接种效果特别显著,提高木麻黄生长量的潜力很大,建议开发、利用,进一步研究、完善接种方法,在林业生产上推广生物固氮这一先进技术。

参考文献

- 1 Gauthier D, Diem H D, Dommergues. Assessment of N fixation by Casuarina equisetifolia inoculated with Frankia OR-SO21001 using N¹⁵ methods. Soil Biol. Biochem. ,1985,17;375~379.
- 2 Paul Reddell, Rosbrook P A, Bowen G D et al. Growth responses in Casuarina cunninghamiana plantings to inoculation with Frankia. Plant and Soil, 1988, 108, 79~86.
- 3 康丽华, 曹月华, 吴英标. 木麻黄根瘤内生菌的分离、培养和回接. 林业科学研究, 1990, 3(5); 483~486.
- 4 Murry M A. Growth kinetics and nitrogenase induction in *Frankia* sp. HFPPArI growth in batch culture. Plant and Soil, 1984, 78, 61~78.
- 5 Granhall U, Eriosson T, Clarholm M. Dinitrogen fixation and nodulation by Frankia in Alnus incana as affected by inorganic nitrogen in pot experiments with peat. Can. J. Bot., 1983, 61, 2956~2963.

Study on Growth Responses in Casuarina Seedlings to Inoculation with Frankia and Application of Nutrient

Kang Lihua

Abstract The research results showed that the inoculation effect for C. cunninghamiana and C. glacua were better than that for C. junghuhniana. The seedlings of Casuarina with different Frankia strains displayed distinct differences on the growth, ground diameter and biomass especially those which were inoculated with the three strains of 9022,9031 and 9045 increased biomass by $46\% \sim 47\%$ after nine months in comparison to the uninoculated seedlings. Ca, Co, P and Mg can promoted the inoculation-effects, the seedlings applied with these nutrient elements raised 26. $94\% \sim 66.24\%$ height than that of the control. The seedlings growth and nitrogen-fixing ability were limited by P. The N content in the inoculated seedlings was more than that of the uninoculated seedlings. These results demonstrate the potential to increase the productivity of Casuarina plantation by inoculation with Frankia and by alleviation of P deficiency.

Key words Casuarina, Frankia, inoculation, effect

Kang Lihua, Assistant Professor (The Research Institute of Tropical Forestry, CAF Guangzhou 510520).