

木麻黄根瘤内生菌纯培养接种效果试验*

李炎香 吴英标

摘要 用 *Frankia* 纯培养接种木麻黄苗木试验,获得了明显效果,苗高、地径、根瘤数、根瘤鲜重及生物量均比对照高。在 4 个供试菌株中,接种 Br 的效果最好,苗高、地径分别为对照的 3.5 倍和 2.7 倍,其次是 P₁。接种效果随着苗龄增加越来越明显。苗木的高度、地径、生物量与根瘤数量、根瘤重呈极显著的直线正相关。

关键词 木麻黄、弗兰克氏菌、接种、根瘤、苗木生长

木麻黄(*Casuarina* spp.)与放线菌弗兰克氏菌(*Frankia*)形成的根瘤共生体系,具有固氮能力。Dien 等分别报道了从木麻黄树种的根瘤中分离到 *Frankia* 菌株^[1]。应用 *Frankia* 人工纯培养体进行人工接种,能促进苗木的生长,但不同菌株的固氮效果存在差异。因此,研究不同 *Frankia* 菌株对苗木生长的影响,选择高效菌株,在苗圃育苗及造林生产上具有重要的意义。该研究利用本项目实验室分离的 86007 和 P₁ 菌株,法国热带林业研究中心提供的 Br 菌株及澳大利亚提供的 A₂₈₇ 菌株,在苗圃进行木麻黄苗木接种试验,探讨各菌株对苗木的接种效应,为大量接种育苗提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 苗木

普通木麻黄(*Casuarina equisetifolia* L.)503 无性系苗,是华南农业大学梁子超教授选育的速生抗病无性系,苗龄 15 d。

1.2 菌株及来源

P₁ 菌株,热带林业研究所潘一峰分离提供。86007 菌株,热带林业研究所康丽华分离提供。A₂₈₇ 菌株,澳大利亚提供。Br 菌株,法国热带林业研究中心提供。

1.3 接种试验

试验地位于广州中国林科院热带林业研究所苗圃地,接种基质用 3 份沙、2 份红土均匀混合,不加任何肥料,接种前测定基质的含氮量。用各菌株的菌悬液,分别浸泡木麻黄无性系苗根 4 h,然后移入土杯中培育。试验处理重复 3 次,每重复 10 株,随机排列,用塑料薄膜垫底和隔离。接种后每半个月调查一次苗木生长量,4 个月后进行全面调查,观测苗高、地径、生物量、根瘤数量及根瘤鲜重,不接菌的作为对照。

1993-02-15 收稿。

李炎香副研究员,吴英标(中国林业科学研究院热带林业研究所 广州 510520)。

* 本试验为 1986 年法国资助的 FAO GCP/CRP/005/FRA 项目中的研究内容之一。

2 结果与分析

2.1 接种对苗高和地径生长效应

试验结果(表 1)表明,经接种的苗木均优于对照,其中 Br 菌株的接种效应最好,苗高为对照的 3.45 倍,地径为对照的 2.73 倍。其次是 P₁ 菌株,苗高和地径分别为对照的 1.90 和 1.73 倍。方差分析结果(表 2、3)表明,接种试验的苗高和地径生长差异均达极显著。多重测验结果(表 4、5)表明,接种试验的苗高,86007、A₂₈₇与对照之间差异不显著,P₁与 86007、A₂₈₇之间差异亦不显著,但与对照、Br 之间差异显著。Br 与其他菌株及对照之间的差异均显著。在地径生长方面,除对照、86007、A₂₈₇之间的差异不显著外,其余两两之间的差异均显著。说明在 4 个菌株中,Br 的接种效果最好。

表 1 接种与对照苗木生长比较

处 理	苗 高 (cm)	比对照增长 (%)	地 径 (cm)	比对照增长 (%)
Br	40.10	245.09	0.30	172.73
86007	16.11	38.64	0.14	27.27
A ₂₈₇	15.27	31.41	0.13	18.18
P ₁	22.11	90.28	0.19	72.73
对照	11.62		0.11	

表 2 苗高方差分析

变异来源	自由度	平方和	均 方	F	临界值
菌 株	4	1 569.980 6	392.495 16	29.182 **	$F_{0.01}=5.99$
误 差	10	134.499 1	13.449 91		
总 和	14	1 704.479 7			

表 3 地径方差分析

变异来源	自由度	平方和	均 方	F	临界值
菌 株	4	0.065 706 7	0.016 426 7	40.393 **	$F_{0.01}=5.99$
误 差	10	0.004 066 7	0.000 406 7		
总 和	14	0.069 773 3			

表 4 苗高 LSR 测验(95%)

处 理	重 复	平 均 值	相 似 组
对 照	3	11.606 667	*
A ₂₈₇	3	15.270 00	**
86007	3	16.043 333	**
P ₁	3	22.113 333	*
Br	3	40.403 333	*

表5 地径LSR测验(95%)

处 理	重 复	平 均 值	相 似 组
对 照	3	0.113 333 3	*
A ₂₈₇	3	0.133 333 3	*
86007	3	0.140 000 0	*
P ₁	3	0.193 333 3	*
Br	3	0.296 666 7	*

菌株的接种效果与苗木生长周期有关,以苗高为例(图1),从图1中明显地看出,接种后40d,各菌株之间及与对照没有多少差异。到60d之后,接种的苗高生长明显地比对照快,但在后期,除Br和P₁菌株外,其余菌株接种苗木的生长趋于缓慢,原因可能是本试验的接种基质缺乏养分又未加任何肥料,故苗木生长到一定时期需要的养分相应增加,接种苗木的结瘤少固氮效率低,在不补充养分的情况下,苗木本身固氮不能满足苗木生长的需要而呈现出缺氮症状。这种症状,本试验除Br菌株接种的苗木表现正常(植株绿色)外,其它菌株接种的苗木枝叶均表现为不同程度的黄色。86007和A₂₈₇接种的苗木有部分出现顶梢枯萎,对照绝大部分顶梢枯萎,表现出严重的缺肥。

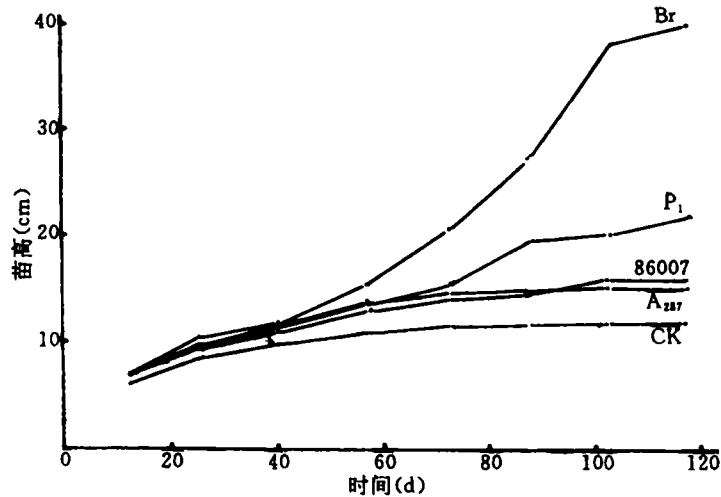


图1 各菌株接种苗木的高生长随生长期的变化

2.2 不同菌株接种苗木的结瘤差异

优良菌种的选择有两个主要标准,一是形成有效根瘤的能力,二是具有竞争能力(结瘤能力)^[2]。据报道,即使结瘤能力强的菌株少一百倍,结瘤数仍多于结瘤能力弱的菌株。本试验采用的4个菌株都是经过镜检证明为 *Frankia* 菌。接种试验结果表明,Br菌株接种后,不论是结瘤数量、根瘤鲜重、结瘤率都明显高于其它菌株。形成的根瘤呈粉红色,既有簇生也有个别散生,有的成串状分叉,并且多数分布在主根或第一级次生根上。Br菌株的结瘤率为100%,平均单株结瘤个数为11.8个,根瘤鲜重为1.34 g/株。86007、A₂₈₇、P₁等菌株的结瘤率分别为20%、13.3%、60%;平均单株结瘤个数分别为0.25、0.10、0.83个;平均单株根瘤鲜重分别为0.09、0.03、0.36 g。对照的不结瘤。对根瘤数、根瘤鲜重、结瘤率的方差分析表明(表6、7),接种与不

表6 根瘤数量方差分析

变异来源	自由度	平方和	均 方	F	临界值
菌 株	4	288.360 00	72.090 000	219.016 **	$F_{0.01}=5.99$
误 差	10	3.291 53	0.329 153		
总 和	14	291.651 53			

接种的差异显著。多重比较测验结果(表 8、9), P_1 、86007、 A_{287} 的结瘤数与对照之间的差异不显著,Br 与 P_1 、86007、 A_{287} 、对照的结瘤数差异显著。其中 Br 菌株在接种试验中,不论是苗高、地径,还是结瘤量、结瘤率都明显高于其它菌株。所以,选择优良的 *Frankia* 菌接种苗木,可提高木麻黄苗木的生长量。

表 7 根瘤鲜重方差分析

变异来源	自由度	平方和	均 方	F	临界值
菌 株	4	3.859 960 0	0.964 990 0	142.349 **	$F_{0.01}=5.99$
误 差	10	0.067 800	0.006 780 0		
总 和	14	3.927 760 0			

表 8 根瘤数量 LSR 测验(95%)

处 理	重 复	平 均 值	相 似 组
对 照	3	0.000 000	*
A_{287}	3	0.100 000	*
86007	3	0.250 000	*
P_1	3	0.833 333	*
Br	3	11.200 000	*

表 9 根瘤鲜重 LSR 测验(95%)

处 理	重 复	平 均 值	相 似 组
对 照	3	0.000 000	*
A_{287}	3	0.300 000	*
86007	3	0.866 667	*
P_1	3	0.356 667	*
Br	3	1.346 667	*

2.3 生物量的差异

平均单株生物量测定结果,依次为:Br(10.70 g)、 P_1 (4.06 g)、86007(1.37 g)、 A_{287} (1.21 g)、对照(0.91 g)。方差分析结果(表 10)表明,各菌株接种的苗木生物量差异显著。多重测验结果(表 11),86007、 A_{287} 与对照差异不显著, P_1 与对照差异显著,与 86007、 A_{287} 之间差异不显著,Br 与其它菌株及对照之间差异均显著,这一结果与苗高一致。

表 10 生物量方差分析

变异来源	自由度	平方和	均 方	F	临界值
菌 株	4	210.017 88	52.504 457	37.009 **	$F_{0.01}=5.99$
误 差	10	14.187 13	1.418 713		
总 和	14	224.204 96			

表 11 生物量 LSR 测验(95%)

处 理	重 复	平 均 值	相 似 组
对 照	3	0.900 000	*
A_{287}	3	1.210 000	**
86007	3	1.350 000	**
P_1	3	4.066 667	*
Br	3	10.793 333	*

2.4 根瘤对苗木生长的影响

相关分析结果(表 12)表明,苗高、地径、生物量与根瘤数量、根瘤鲜重呈直线正相关,相关程度较紧密,经显著性检验达到极显著的水平。这说明根瘤对苗木生长有明显的促进作用。

表 12 树高、地径、生物量与根瘤的相关分析

因变量 y	自变量 x	相关系数 r	临界值 $r_{0.01}$	回归方程
树高	根瘤数量	0.539**	0.478	$y=25.325+1.321x$
树高	根瘤鲜重	0.697**	0.478	$y=18.014+16.888x$
地径	根瘤数量	0.500**	0.478	$y=0.225+0.006x$
地径	根瘤鲜重	0.632**	0.478	$y=0.194+0.078x$
生物量	根瘤鲜重	0.561**	0.478	$y=4.478+0.557x$
生物量	根瘤数量	0.829**	0.478	$y=0.087+8.119x$

2.5 接种基质的氮素变化

接种前基质含 N 量为 0.010 1%。接种 117 d 后对基质含 N 量分析为:对照为 0.005 6%、86007 为 0.014 0%、A₂₈₇ 为 0.001 3%、Br 为 0.013 8%、P₁ 为 0.013 7%。由此可见,对照和 A₂₈₇ 的含 N 量减少,P₁、86007、Br 的含 N 量略有增加。表明苗木生长消耗大量的 N,根瘤固 N 能增加基质中的 N。因此,基质中的 N 总量是增加还是减少,取决于苗木生长对 N 的消耗量和根瘤固 N 的补偿量。这一论据说明 Br 是一个固 N 能力较强的优良菌株。

3 结果与讨论

(1)通过对普通木麻黄苗木接种不同 *Frankia* 菌株试验表明,接种的苗木生长都比对照的好。其中 Br 菌株的接种效果最好,苗高达 40.10 cm,为对照的 3.45 倍,结瘤率 100%;其次为 P₁ 菌株,苗高为 22.11 cm,为对照的 1.90 倍,结瘤率达 60%。苗木生长快,消耗 N 素多,但基质中的含 N 量比接种前还高,这说明 Br 和 P₁ 是固 N 活性较高的菌株。利用这些优良菌株接种育苗,可缩短育苗时间,降低育苗成本。

(2)苗圃大量接种,应考虑结合施磷肥。另有试验结果表明,接种加施磷肥的固 N 量比不加磷肥的增加 80%。澳大利亚学者 Gympie 为此作过普通木麻黄施用不同数量磷的研究,结果表明施磷和接种 *Frankia* 菌对木麻黄生长有明显的交互作用。在施磷组合中,与不接种对比,接种后的材积生长量随施磷量成比例增加。所以,接种结合施用磷肥来增加木麻黄生长量其效果更好。

(3)本试验仅对不同的菌株接种效果进行探讨。然而影响根瘤的形成和产生的数量是多因素的,除了菌株本身的属性外,有效水分、土壤通气性、土壤 pH 值等对根瘤的形成也有很大的影响。不同土壤接种效果不一样,在补充试验中,A₂₈₇ 在不加沙的砖红壤土中接种苗木试验,收到较好的效果。因此,应根据不同条件,因地制宜地研究选择高效固 N 菌及有效的接种条件和技术。

(4)对于 *Frankia* 菌的接种效果,报道不一,有人认为接种效果不大,特别是在土壤已含有特定的根瘤菌时接种效果很小。有些接种后很少形成根瘤,可能是由于土壤中 N 素过量,缺磷、硼或钼等而引起^[3]。我们在以前的接种试验中也遇到这种情况。如在海南省文昌县岛东林场,大田接种试验地曾种过木麻黄,林地普遍存在根瘤菌,利用粉碎根瘤接种的林木与对照差异不显著。而本试验是在未经根瘤菌污染,且在含 N 量较低的基质上进行,接种效果明显。

(5)本试验苗木的根瘤量与苗木生长呈极显著的直线正相关,这一结果与种源试验大批量

育苗的根瘤调查统计结果一致,说明接种后形成的根瘤能促进苗木的生长。

参 考 文 献

- 1 李忠伟,丁鉴. 木麻黄根瘤共生放线菌——*Frankia* 的研究. 微生物学报, 1986, 26(4): 295~301.
- 2 陈华癸,李阜棣,陈文新,等. 土壤微生物学. 上海:上海技术出版社,1981.
- 3 Obaton M. Technical handbook on symbiotic nitrogen fixation. Rome:FAO, 1983.

Experiment on Effect of Inoculation with Pure Culture of *Frankia* from Nodules of *Casuarina*

Li Yanxiang Wu Yingbiao

Abstract The result showed that effect of inoculation on casuarina seedling with pure culture of *Frankia* is obvious. Inoculated seedling's height, basic diameter, number and fresh weight of nodule and biomass were higher than those of the uninoculated seedlings. Among four tested *Frankia* strains, Br behaves best. Height of seedling inoculated with Br were 3.45 times that of the control, and 2.73 times in basic diameter. Strain P₁ was the better one. Effect of inoculation became more significant as time went on. Seedling's height, basic diameter and biomass appeared to be extremely positively correlative with the number and fresh weight of its own nodule.

Key words casuarina, *Frankia*, inoculation, nodule, seedling growth