

木麻黄根瘤内生菌 ——弗兰克氏菌侵染特性的研究*

康丽华

摘要 对 25 株木麻黄属和异木麻黄属的弗兰克氏菌进行侵染特性研究结果表明,从木麻黄属根瘤分离的弗兰克氏菌菌株在同属不同种木麻黄宿主之间可以交叉感染结瘤,显示其专一性在属的水平上。由异木麻黄属根瘤分离的弗兰克氏菌可以感染木麻黄属的根系结瘤,反映出其专一性在科的水平上。从木麻黄属和异木麻黄属分离的这些供试菌株均能侵染沙棘,结瘤率达 40% ~ 100%,揭示出弗兰克氏菌具有跨越侵染不同科、属的能力。这些菌株全部不侵染滨海木麻黄。

关键词 木麻黄弗兰克氏菌 交叉感染 侵染 宿主

自从 1978 年美国的 Callaham 等首次从香蕨木(*Camptonia peregrina*) 根瘤中分离弗兰克氏菌(*Frankia*) 获得成功^[1],国内外许多学者也从桤木(*Alnus* spp.)、沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)、胡颓子(*Elaeagnus* spp.) 和木麻黄(*Casuarina* spp.) 等非豆科植物根瘤中分离获得弗兰克氏菌^[2-5]。Beeking^[6] 根据弗兰克氏菌与宿主植物的关系划分为 10 个种,但有些弗兰克氏菌具有跨越科、属、种宿主的能力^[7],所以按宿主的种类来划分弗兰克氏菌的分类地位,似嫌为时过早。深入进行弗兰克氏菌交叉侵染能力的研究,将有助于对“种”的准确划分和完善分类系统的建立。对弗兰克氏菌的应用也具有指导意义。本文研究了从不同地点、不同种木麻黄根瘤中分离的弗兰克氏菌的侵染特性。

1 材料与方 法

1.1 弗兰克氏菌的分离、培养

弗兰克氏菌的分离方法采用根瘤切片法^[5],菌株分离地点及树种见表 1。弗兰克氏菌在 28 ~ 30 的 Bap^[8] 培养液中培养 1 个月后制成菌悬液接种苗木。

1.2 苗木培育及接种方法

普通木麻黄(*C. equisetifolia* L.)、粗枝木麻黄(*C. glauca* Sieb. ex Spreng.)、细枝木麻黄(*C. cunninghamiana* Miq.)、山地木麻黄(*C. junghuhniana* Miq.)、滨海木麻黄(*Allocasuarina littoralis* (Salisb.) L. Johnson) 种子和沙棘种子用 0.1% HgCl₂ 表面消毒 3 min,用无菌水冲洗干净,播种于经 121 灭菌的蛭石 沙为 1 : 1 的容器中,待苗木长至高为 3 ~ 4 cm、根长约 2 cm 时移至塑料容器。每个容器移 1 株苗,用无菌注射器吸取 5 mL 菌悬液注射到苗木根系周

1995—11—11 收稿。

康丽华副研究员(中国林业科学研究院热带林业研究所 广州 510520)。

* 本项研究为中国林科院基金项目(1993 ~ 1995)“木麻黄根瘤菌——弗兰克氏菌的应用生态学研究”的部分内容。本所周文龙副研究员提供山地及滨海木麻黄种子;中国林科院林研所潘志刚研究员提供沙棘种子,在此一并致谢。

围土壤,每个弗兰克氏菌接8株苗,3次重复。接种6个月后观察结瘤情况、高生长、生物量并进行根瘤计数。

1.3 根瘤固氮酶活性的测定

用乙炔还原反应的方法,气相色谱检测⁹⁾。

2 结果与讨论

2.1 弗兰克氏菌对不同种木麻黄的侵染能力

表2看出,从木麻黄属的4个种根瘤分离的弗兰克氏菌,可以互相交叉侵染,达到100%的结瘤率,还显著地提高木麻黄的高生长及生物量。从表1,2还可看出,从广西、广东木麻黄根瘤分离的菌株可以侵染地理种源与其相差甚远的宿主,其中山地木麻黄来自于非洲的坦桑尼亚。结果表明:同一属不同种的木麻黄弗兰克氏菌具有同属内交叉侵染的能力;其侵染能力与宿主的地理种源无关;但共生固N能力存在差异。

表1 菌株分离地点及树种

菌株编号	分离地点	宿主植物
上-6	海南省琼海县上踊林场	普通木麻黄
K-1	本所苗圃	普通木麻黄
K-26	本所苗圃	普通木麻黄
9028	本所苗圃	粗枝木麻黄
9031	本所苗圃	粗枝木麻黄
9041	本所苗圃	粗枝木麻黄
L-1	本所苗圃	细枝木麻黄
L-3	本所苗圃	细枝木麻黄
CIC-20	本所苗圃	细枝木麻黄
CIJ-12	本所苗圃	山地木麻黄
4-1-18	本所苗圃	山地木麻黄
4-1-21	本所苗圃	山地木麻黄
粗-5	广东省电白县	粗枝木麻黄
CL9376	福建省龙海市	普通木麻黄
CL9381	福建省龙海市	普通木麻黄
CX9312	福建省厦门市	普通木麻黄
CX9301	福建省厦门市	普通木麻黄
Or9302	本所苗圃	滨海木麻黄
Or9318	本所苗圃	滨海木麻黄
JCT2871	澳大利亚	细枝木麻黄
88057	福建省晋江县赤湖林场	细枝木麻黄
9022	本所苗圃	粗枝木麻黄
87063	广东省湛江市东海林场	普通木麻黄
BC-42	广西区北海市	普通木麻黄
BC-46	广西区北海市	普通木麻黄

①(Paul Reddell 赠送)

表2 *Frankia* 菌株对木麻黄属4个木麻黄种的侵染能力

菌株	原宿主	细枝木麻黄(福建种源)						粗枝木麻黄(广东种源)					
		瘤重 (g/株)	结瘤率 (%)	树高 (cm)	增长率 (%)	生物量 (g/株)	增长率 (%)	瘤重 (g/株)	结瘤率 (%)	树高 (cm)	增长率 (%)	生物量 (g/株)	增长率 (%)
BO-42	普通木麻黄	0.24	100	68.8	7.3	4.76	37.97	0.34	100	52.24	40.66	3.54	276.60
BC-46	普通木麻黄	0.12	100	84.3	31.47	10.54	205.5	0.15	100	50.95	37.18	4.15	341.49
L-1	细枝木麻黄	0.10	100	67.3	4.83	3.47	0.58	0.15	100	60.99	64.22	4.0	325.53
CIJ-12	山地木麻黄	0.22	100	77.9	21.45	6.42	86.09	0.45	100	82.60	122.4	10.99	1069.15
4-1-21	山地木麻黄	0.29	100	69.4	8.23	4.38	29.96	0.24	100	47.83	28.78	2.01	107.0
CK		0	0	64.2	0	3.45	0	0	0	37.14	0	0.94	0
菌株	原宿主	山地木麻黄(坦桑尼亚种源)						普通木麻黄(海南种源)					
		瘤重 (g/株)	结瘤率 (%)	树高 (cm)	增长率 (%)	生物量 (g/株)	增长率 (%)	瘤重 (g/株)	结瘤率 (%)	树高 (cm)	增长率 (%)	生物量 (g/株)	增长率 (%)
BO-42	普通木麻黄	0.20	100	74.78	19.29	3.59	14.7	0.08	100	56.93	14.23	4.89	54.75
BC-46	普通木麻黄	0.18	100	98.40	56.96	15.78	404.15	0.17	100	71.97	44.40	8.78	177.85
L-1	细枝木麻黄	0.12	100	97.55	55.61	15.56	397.12	0.10	100	64.08	29.57	7.02	122.15
CIJ-12	山地木麻黄	0.12	100	85.29	36.05	11.87	279.23	0.08	100	66.23	32.89	5.55	75.63
4-1-21	山地木麻黄	0.80	100	67.45	7.59	3.64	16.29	0.12	100	56.58	13.52	3.97	25.63
CK		0	0	62.69	0	3.13	0	0	0	49.84	0	3.16	0

2.2 弗兰克氏菌对不同属木麻黄的侵染能力

从木麻黄属的普通木麻黄、细枝木麻黄、山地木麻黄、粗枝木麻黄根瘤中分离的弗兰克氏

菌侵染异木麻黄属的滨海木麻黄的侵染情况见表 3。从结果看出, 这些菌株均不侵染滨海木麻黄, 但从滨海木麻黄根瘤中分离的弗兰克氏菌可以侵染不同属的木麻黄和不同科的沙棘。结果说明: 木麻黄属的弗兰克氏菌只有种间交叉侵染能力。异木麻黄属的弗兰克氏菌具有跨越属间的侵染能力, 即在科水平上的专一性。此结果与 Torrey J G 的研究结果相一致^[7]。

表 3 *Frankia* 对沙棘、滨海木麻黄的侵染能力

菌株	原宿主	沙棘		滨海木麻黄		细枝木麻黄		固氮酶活性 (μM 乙烯/ g 鲜瘤 $\cdot\text{h}$)
		结瘤数 (个/株)	结瘤率 (%)	结瘤数 (个/株)	结瘤率 (%)	结瘤数 (个/株)	结瘤率 (%)	
CIJ-12	山地木麻黄	19.7	66.7	0	0	4.9	100	4.561
上-6	普通木麻黄	17.3	66.7	0	0	—	—	—
87063	细枝木麻黄	12.4	83.3	0	0	3.1	100	—
1-14	细枝木麻黄	9.7	60.0	0	0	—	—	—
粗-5	粗枝木麻黄	8.7	50.0	0	0	11.7	100	—
9022	粗枝木麻黄	8.3	80.0	0	0	21.1	100	6.875
4-1-18	山地木麻黄	8.7	60.0	0	0	4.5	100	—
K-26	山地木麻黄	6.0	50.0	0	0	7.3	100	1.958
9031	粗枝木麻黄	4.3	100	0	0	10.0	100	—
88057	细枝木麻黄	13	100	0	0	—	—	—
L-3	粗枝木麻黄	8.3	100	0	0	4.7	100	—
JCT 287	细枝木麻黄	1.5	66.7	0	0	6.1	100	5.243
9041	粗枝木麻黄	3.0	83.3	0	0	5.7	100	3.509
Or9302	滨海木麻黄	5.5	40.0	0	0	6.6	100	2.814
Or9318	滨海木麻黄	3.0	50.0	0	0	8.2	100	—
CIC-20	细枝木麻黄	—	—	0	0	6.4	100	6.053
CX9312	普通木麻黄	—	—	0	0	2.3	66.7	—
CX9301	普通木麻黄	—	—	0	0	9.2	100	—
CL9381	普通木麻黄	—	—	0	0	4.4	83.3	—
CL9376	普通木麻黄	—	—	0	0	7.0	100	—
K-1	山地木麻黄	—	—	0	0	7.3	100	7.550

2.3 木麻黄弗兰克氏菌对沙棘的侵染能力

表 3 结果看出, 从木麻黄属和异木麻黄属分离的弗兰克氏菌均能侵染与其不同科、属的沙棘, 达到 40% ~ 100% 的结瘤率。说明这些弗兰克氏菌具有跨越侵染不同科、属的能力。Zhang Z 和 Baker 等人报道了木麻黄弗兰克氏菌可以侵染杨梅属(*Myrica*) 和胡颓子属的植物^[10-12]。

3 结 语

实验结果表明, 弗兰克氏菌对宿主的侵染有一定的选择性, 这种选择反映出不同的弗兰克氏菌与宿主间存在着专一性关系。由表 2 看出, 木麻黄属的三个不同树种的弗兰克氏菌可以相互交叉侵染结瘤, 显示出其专一性在属的水平上。从表 3 看出, 由滨海木麻黄分离的菌株 Or9302、Or9318, 可以感染同科不同属的木麻黄根系结瘤, 反映出科水平上的专一性。从木麻黄属和异木麻黄属分离的这些供试菌株均能感染沙棘根系结瘤, 结瘤率达 40% ~ 100%, 揭示出弗兰克氏菌具有跨越侵染不同科、属的能力。这些菌株全都不感染滨海木麻黄根系结瘤, 其原因有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Callahan D, Tredici P Del, Torrey J G. Isolation and cultivation *in vitro* of the Actinomycete causing root nodulation in comptonia. Science, 1978, 199: 899 ~ 902.
- 2 Diem H G, Domergues Y R. The isolation of *Frankia* from nodules of *Casuarina*. Can. J. Bot., 1983, 61: 2822 ~ 2825.
- 3 Shipton W A, Burggraaf A J P. Aspects of the cultural behaviour of *Frankia* and possible ecological implications. Can. J. Bot., 1983, 61: 2783 ~ 2792.
- 4 Zhang Z, Lopez M F, Torrey J G. A comparison of cultural characteristics and infectivity of *Frankia* isolates from root nodules of *Casuarina* species. Plant and Soil, 1984, 78: 79 ~ 90
- 5 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.
- 6 Buchanan R E, Gibbons. Bergey's manual of determinative bacteriology (eighth edition), The Williams and Wilkins Company, Baltimore, 702 ~ 706.
- 7 John G. Torrey, Suzanne Racette. Specificity among the Casuarinaceae in root nodulation by *Frankia*. Plant and Soil, 1989, 118: 157 ~ 164.
- 8 Murry M A. Growth kinetics and nitrogenase induction in *Frankia* SP HFPPArI growth in batch culture. Plant and Soil, 1984, 78: 61 ~ 78.
- 9 上海植物生理所固氮室. 固氮研究中乙炔还原量测定方法的简易化. 植物学报, 1984, 16(4): 382 ~ 384.
- 10 Zhang Z, Lopez M F, Torrey J G. A comparison of cultural characteristics and infectivity of *Frankia* isolates from root nodules of *Casuarina* species. Plant and Soil, 1984, 78: 79 ~ 90.
- 11 Zhang Z, Torrey J G. Studies of an effective strain of *Frankia* from *Allocasuarina lehmanniana* of the Casuarinaceae. Plant and Soil, 1985b, 87: 1 ~ 16.
- 12 Baker D. Host specificity relationship among pure cultured strains of *Frankia*. Physiol. Plant, 1987, 70: 245 ~ 248.

Study on Infective Specificity by *Frankia* Strains from Casuarinaceae

Kang Lihua

Abstract 25 *Frankia* strains from Casuarinaceae were tested for their infective specificity on other host. The results showed there were highly cross-inoculation within genus *Casuarina*. The cross-inoculation in the family Casuarinaceae were found by *Frankia* strains from *Allocasuarina*. All the *Frankia* strains from *Casuarina* and *Allocasuarina* are infective and effective on *Hippophae rhamnoides* but not on *Allocasuarina littoralis* (Salisb.) L. Johnson.

Key words *Casuarina* *Frankia* cross-inoculation infective specificity host

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