

山地木麻黄菌根菌的筛选和接种效应的研究

张勇¹, 陈羽¹, 李国标², 陈珍¹, 仲崇禄¹

(1 中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东 广州 510520 2 广东省清远市林业局, 广东 清远 511515)

摘要: 利用 3 个内生菌根菌 (AMF) 和 6 个外生菌根菌 (ECMF) 接种山地木麻黄苗, 测定小苗的树高、根长、地径、地上干质量、地下干质量和总生物量, 并在干旱胁迫下测定小苗的保存率。结果表明: 接种内、外生菌根菌后都能极显著地促进山地木麻黄苗期的生长; 山地木麻黄对供试的 AMF 和 ECMF 菌根都属于中等强度或较弱的依赖性; 山地木麻黄接种菌根菌后对地上部分 (苗高、地径和地上干质量) 生长的促进作用比地下部分 (根长和地下干质量) 要大; 在供试的 9 个菌根菌种和菌株中, AMF 比 ECMF 更能提高山地木麻黄的抗旱力; 筛选出菌根效应较好的菌根菌有: 苏格兰球囊霉 90068、苏格兰球囊霉 90036、地球球囊霉 9004、黄硬皮马勃 0207、蜡蘑 E439, 可在山地木麻黄苗期接种应用。

关键词: 山地木麻黄; 菌根菌; 菌根依赖性; 接种效应

中图分类号: S792.93 文献标识码: A

Mycorrhizal Fungal Screening and Inoculant Effectiveness for *Casuarina junghuhniana*

ZHANG Yong¹, CHEN Yu¹, LI Guo-biao², CHEN Zhen¹, ZHONG Chong-lu¹

(1. Research Institute of Tropical Forestry, CAF, Guangzhou 510520 Guangdong China

2. Qingyuan Forest Bureau of Guangdong Province, Qingyuan 511515 Guangdong China)

Abstract The paper reports the preliminary results of inoculant effect on the growth and drought resistance of *Casuarina junghuhniana* based on a nursery experiment. Seedlings were inoculated with 3 endomycorrhizal fungi (AMF) and 6 ectomycorrhizal fungi (ECMF), then the seedling height, root length, ground diameter, dry weight under ground, dry weight above ground and total biomass were measured, and the survival percentage of seedlings under drought stress was surveyed after nowatering for 7 days as well. The results showed that both fungi could significantly improve the growth of *C. junghuhniana* seedlings. Mycorrhizal Dependency (MD) of *C. junghuhniana* belongs to medium or weak in classification according to 9 fungi applied in this experiment. The growth improvement of above ground (such as seedling height, diameter at ground level and dry weight above ground) was more evident than that of under ground (such as root length, dry weight under ground) when *C. junghuhniana* was inoculated with mycorrhizal fungi. The AMF indicated more obvious effect in improving drought resistance of *C. junghuhniana* than that of ECMF according to 9 mycorrhizal fungi used in this experiment. 5 isolates were selected from tested AMF and ECMF, including *Glomus caladonum* 90068, *G. caladonum* 90036, *G. versiform* 9004, *Scleroderma flavidum* 0207, *Laccaria* sp E439. They could be used as inoculant of *C. junghuhniana* seedlings.

Key words *Casuarina junghuhniana*; mycorrhizal fungi; mycorrhizal dependence; inoculant effectiveness

收稿日期: 2005-08-09

基金项目: 863 项目“生态环境建设抗逆林灌木柠条、沙棘等新品种选育”的子专题: “木麻黄抗逆新品种选育”(2002—2005); 基金项目“外生菌根菌抗木麻黄青枯病的研究”部分研究内容; 广东省自然科学基金项目“利用菌根菌提高木麻黄抗旱性的研究”

作者简介: 张勇 (1975—), 男, 广东阳江人, 助理研究员, 硕士。

山地木麻黄 (*Casuarina junghuhniana* Miq. 也称 *C. montana* Miq.)^[1]原产印度尼西亚, 属于木麻黄科 (Casuarinaceae) 木麻黄属 (*Casuarina* L.) 乔木, 1986 年被引种到中国, 它不仅适于山地种植, 而且适于沿海地区种植。山地木麻黄为固氮树种, 抗干旱、速生, 成熟林林木树高可达 35 m, 胸径可达 65~100 cm。山地木麻黄的木材非常适于作薪材和木炭产品, 它的热值达 17 165.9~30 061.2 kJ·kg⁻¹, 木材气干密度为 900 kg·m⁻³^[2]。山地木麻黄也是共生营养型树种, 除了能和 *Frankia* 菌共生固氮外, 还能和外生菌根菌 (ectomycorrhizal fungus) 和内生菌根菌 (endomycorrhizal fungus) 共生。研究证明: 木麻黄树种形成菌根后, 明显增加了宿主植物的适应性以及在苛刻的环境条件下的生长能力。菌根除了帮助木麻黄植物吸收土壤中的养分外, 还增加了木麻黄植物抗旱能力, 影响 *Frankia* 菌的固氮活性, 提高木麻黄的抗病性, 减轻酸、碱和其他有毒物质的危害等^[3]。在沿海营造和更新木麻黄防护林的过程中, 由于沿海沙地干旱、保水力差, 木麻黄的造林成活率低一直是困扰造林工作者的难题。本试验中, 通过对山地木麻黄苗接种 AMF 和 EC-

MF 菌种或菌株, 比较苗木接种后各处理生长指标间的差异, 并在收获前进行干旱胁迫, 希望能从多个菌根菌中筛选出能促进山地木麻黄生长, 并能提高山地木麻黄抗旱性的菌根菌种或菌株, 为菌根菌在山地木麻黄上进一步应用奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

1.1.1 供试苗木 供试苗木为山地木麻黄当年生实生苗。种子先用 80℃ 温水浸泡 10 min, 冷却后用 0.1% HgCl₂ 溶液浸泡 5 min 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, 定时喷水保湿, 待小苗长出后备用。

1.1.2 供试菌种 供试的内生菌根菌 (AMF) 有 3 种, 外生菌根菌 (ECMF) 有 6 种 (表 1), 由热林所菌根课题组提供。AMF 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 个月后来去其茎叶, 将根系剪碎与基质混合, 晾干后备用, 菌体密度为每克基质含孢量 (或菌丝段) 68~75 个; ECMF 菌种在实验室中扩大培养后, 经匀浆器粉碎制成菌液使用, 菌液的烘干净质量为 17 mg·g⁻¹。

表 1 供试菌根菌种及菌株

菌种	处理	菌株号	拉丁学名	中文名
	1	E439	<i>Laccaria</i> sp	蜡蘑
	2	0202	<i>Sclerotium polyrhizum</i> Pers	多根硬皮马勃
外生菌根菌 (ECMF)	3	9705	<i>Pisolithus tinctorius</i> (Pers.) Coker et Couch	彩色豆马勃
	4	E4070	<i>Hebeloma</i> sp	粘滑菇
	5	0207	<i>Sclerotium flavillum</i> E.H. & Ev	黄硬皮马勃
	6	9480	<i>Rhizopogon picatus</i> Berk. et Curt	光黑腹菌
内生菌根菌 (AMF)	7	90036	<i>Glomus caledonium</i> (Nicol & Gerd) Trappe & Gerd	苏格兰球囊霉
	8	9004	<i>Glomus versiforme</i> (Karsten) Berch	地表球囊霉
	9	90068	<i>Glomus caledonium</i> (Nicol & Gerd) Trappe & Gerd	苏格兰球囊霉
对照 (CK)	10			

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 共设 10 个处理, 处理 1~6 为接种 ECMF, 处理 7~9 为接种 AMF, 处理 10 为不接菌根菌的对照 (表 1)。每个处理接种 10 株苗, 重复 3 次, 共接种山地木麻黄苗 300 株。

1.2.2 苗木接种 当幼苗高 4~5 cm 时选择生长一致的小苗移植, 栽培容器为家用一次性塑料杯 (高 9 cm, 上口直径 7 cm, 底直径 4.5 cm), 杯中装入高

温消毒的基质, 每杯种 1 株小苗。AMF 在移苗时接种, 每株小苗根系附近放 2 g 菌剂; ECMF 在幼苗移植 10 d 后接入, 每株注射液体菌剂 2 mL。苗木按常规方法进行一致管理。

1.2.3 试验观测 接种后 60、90 d 分别测定山地木麻黄的苗高, 接种后 90 d 测定山地木麻黄的地径, 然后停止浇水 7 d 后, 再复水, 计算干旱胁迫后各处理山地木麻黄的保存率; 最后收获所有小苗, 测

定其根长、地上干质量、地下干质量和总生物量,按如下公式计算山地木麻黄菌根依赖性 (Mycorrhizal dependence MD)和菌根感染率^[4]。

菌根依赖性 (MD) = 接种植株平均干质量 / 对照株平均干质量 × 100%

菌根感染率 = 菌根感染的根段 / 检查的菌根根段总数 × 100%

1.2.4 数据处理与分析 采用国际通用的 SAS 统计软件进行方差分析,用 Duncan 法进行处理间的多

重比较^[5]。

2 结果与分析

2.1 各处理对山地木麻黄小苗的接种效果

由表 2 可知:山地木麻黄苗形成菌根后,各处理间的苗高、根长、地径、地上部分干质量、地下部分干质量、总生物量和干旱胁迫后的保存率都有极显著的差异 ($P < 0.01$)。

表 2 山地木麻黄菌根筛选各指标方差分析

测定指标	自由度	平方和	均方	F 值	$P > F$
接种后 60 d 苗高	9	1 386 138 967	154.015 441	7.83***	< 0.000 1
接种后 90 d 苗高	9	1 999 952 323	222.216 925	4.58***	< 0.000 1
根长	9	244 184 424 3	27.131 602 7	6.44***	< 0.000 1
接种后 90 d 地径	9	0 131 833 34	0.014 648 15	24.00***	< 0.000 1
地上干质量	9	1 856 829 52	0.206 314 39	11.66***	< 0.000 1
地下干质量	9	0 418 700 60	0.046 522 29	4.57***	< 0.000 1
总生物量	9	3 564 351 04	0.396 039 00	10.75***	< 0.000 1
保存率	9	7 553 482 916	581.037 147	4.41***	0.000 5

注:保存率方差分析时作反正弦变换,***表示 $P = 0.01$ 水平上的差异。

2.1.1 不同处理对山地木麻黄菌根感染率的影响 参试的 9 个 AMF 和 ECMF 都可以和山地木麻黄根系形成菌根,但不同的菌种或菌株对山地木麻黄的感染率有明显的差异,其中 AMF 比 ECMF 有更高的感染率,ECMF 中处理 4(粘滑菇)和处理 6(光黑腹菌)的菌根感染率相对较高(表 3)。

2.1.2 不同处理对山地木麻黄苗高生长的影响 根据表 3 的 Duncan 多重比较可知:接种后 60 d 只有 3 个接种 AMF 处理的苗高极显著 ($P < 0.01$) 高于对照,而接种后 90 d 处理 9(苏格兰球囊霉 90068)、7(苏格兰球囊霉 90036)、6(光黑腹菌)、3(彩色豆马勃)、2(多根硬皮马勃)的苗高均极显著高于对照。

表 3 不同处理各测定指标均值和 $P = 0.01$ 水平 Duncan 多重比较

处理	均值及 Duncan 多重比较								
	菌根感染率 / %	接种后 60 d 苗高 / cm	接种后 90 d 苗高 / cm	根长 / cm	地径 / cm	地上干质量 / ($g \cdot 株^{-1}$)	地下干质量 / ($g \cdot 株^{-1}$)	总生物量 / ($g \cdot 株^{-1}$)	保存率 / %
1	62.0	21.59 cd	27.95 cd	9.82 b	0.17 ab	0.56 b	0.22 ab	0.78 b	33.00 bcd
2	43.5	23.99 bcd	30.00 abc	9.88 b	0.12 d	0.28 c	0.18 b	0.46 cd	21.15 d
3	46.3	23.91 bcd	30.43 abc	9.78 b	0.13 cd	0.32 c	0.16 b	0.48 cd	33.00 bcd
4	72.4	23.26 bcd	29.30 bcd	9.70 b	0.13 cd	0.25 c	0.17 b	0.42 cd	41.07 bcd
5	43.6	23.95 bcd	29.53 bcd	9.55 b	0.17 ab	0.67 a	0.29 a	0.96 a	30.29 bcd
6	67.4	22.28 cd	29.92 bc	10.94 ab	0.14 c	0.42 bc	0.20 b	0.62 bcd	45.08 abcd
7	78.2	26.03 ab	31.26 ab	10.86 ab	0.18 a	0.66 a	0.21 b	0.87 a	53.07 abc
8	81.2	24.82 bc	28.51 cd	11.75 a	0.17 ab	0.66 a	0.23 ab	0.89 a	54.99 ab
9	85.0	28.81 a	34.28 a	12.33 a	0.18 a	0.72 a	0.23 ab	0.95 a	71.57 a
10(对照)	23.5	21.01 d	26.66 d	11.02 ab	0.14 cd	0.20 c	0.17 b	0.37 d	23.86 cd

注:同一列中相同字母表示无显著差异。

2.1.3 不同处理对山地木麻黄苗根长、地径、地上干质量、地下干质量和保存率的影响 由表 3 可知: 在各处理中, 没有一个处理的根长极显著大于对照; 处理 9 & 7 5 1 的地径极显著大于对照, 处理 9 & 7 5 1 的地上干质量极显著大于对照, 这 5 个处理的地上干质量分别比对照高 260.0%、230.0%、230.0%、235.0%、180.0%; 而各处理的地下干质量只有处理 5 极显著大于对照, 其它各处理间没有极显著差异; 处理 9 & 7 5 1 的总生物量极显著大于

对照, 各处理在干旱胁迫后的保存率, 只有处理 9 和 8 极显著大于对照。

2.2 山地木麻黄的菌根依赖性

表 4 表明: 在除对照外的 9 个处理中, 处理 5 9 & 7 1 的菌根依赖性 (MD) 大于 200%, 属于中等依赖性, 其它处理菌根依赖性都属于弱依赖性, 没有处理属于强依赖性 (MD > 300 为强依赖性, MD > 200 为中等依赖性, MD < 200 为弱依赖性^[4])。

表 4 山地木麻黄的菌根依赖性

处理	5	9	8	7	1	6	3	2	4
菌根依赖性 (MD) %	259.5	256.7	240.5	235.1	210.8	167.6	129.7	124.3	113.5

2.3 各生长指标间的相关性分析

方差分析及多重比较结果显示: 不同菌株接种后对山地木麻黄试验苗各生长指标有不同程度的影响, 在此基础上, 再分析试验苗总生物量与各生长指标 (接种后 90 d 的苗高、根长和地径) 间的相关性。经多元相关分析得出复相关系数 $R^2 = 0.883833$, 用似然法及 Wilks' Lambda^[6] 等 5 种方法对因变量总体与自变量的多元正态总体之间相关系数为零的假设进行检验, 结果证明: 相关性极显著 ($P = 0.0012 < 0.01$), 其标准化典型变量为:

$$Y = 0.230X_1 - 0.220X_2 + 1.011X_3$$

式中: Y 为山地木麻黄试验苗的总生物量, X_1 为接种后 90 d 苗高, X_2 为根长, X_3 为地径。构成典型变量的原变量系数, 其绝对值的大小反映了原变量在典型变量中的权重, 也表明了原变量对典型相关系数的影响程度。从计算结果可以看出, 地径 (X_3) 对生物量的影响最大, 苗高 (X_1) 次之, 根长 (X_2) 影响最小, 其相关系数分别为: X_1 (0.4709)、 X_2 (0.3730)、 X_3 (0.9623)。以上分析说明了山地木麻黄试验苗接种菌根菌后, 对苗木地上部分 (地径和苗高) 生长的影响较大, 对地下部分 (根长) 生长的影响较小。

3 结论与讨论

(1) 对试验采用的 9 个 AMF 和 ECMF 菌种或菌株对山地木麻黄接种效应进行了比较和分析, 结果表明: 接种后 90 d AMF 或 ECMF 都可以感染山地木麻黄根系而形成菌根, 其菌根感染率因菌根菌不同而有差异, AMF 比 ECMF 有更高的菌根感染率; 菌根菌能显著促进山地木麻黄苗期的生长, 一些处

理在苗高、地径、地上干质量、地下干质量、总生物量和保存率等方面都优于未接种的对照, 达极显著差异 ($P < 0.01$); 但一些菌种或菌株的菌根效应随着时间的变化而产生变化, 如接种多根硬皮马勃 0202、彩色豆马勃 9705 和光黑腹菌 9480 的处理随着时间的增加, 菌根对苗高的促生作用变得显著, 而接种地表球囊霉 9004 在 90 d 后, 对苗高的促生作用和对照已没有显著差异。作者认为这与 AMF 在根系感染得快, 而 ECMF 感染慢有一定关系。陈应龙等^[7,8] 的研究表明: AMF 在接种初期具有较高的感染率, 但随着时间的推移, 苗木新生侧根数目剧增, 导致 AMF 菌根相对感染率下降; 而相对 AMF 菌根来说, ECMF 合成菌根的速度较慢, 但 ECMF 后期繁殖能力增强, 形成更多的菌根, 因此菌根效应呈上升的趋势。

(2) 山地木麻黄接种 9 个菌种或菌株的处理中, 只有黄硬皮马勃 0207、苏格兰球囊霉 90068、地表球囊霉 9004、苏格兰球囊霉 90036、蜡蘑 E439 的菌根依赖性达到中等强度, 其它属于弱依赖性或没有依赖性, 这说明山地木麻黄对内生和外生菌根的依赖性都不是很强。

(3) 表 3 的 Duncan 多重比较表明: 在供试的 9 个菌种或菌株中, 菌根菌对山地木麻黄的促生作用主要表现在植株的地上部分 (苗高、地径和地上干质量), 对地下部分 (根长和地下干质量) 的促生作用则相对不明显; 相关性分析也表明: 山地木麻黄的地径、苗高与植株总生物量之间的相关性较大, 而根长与植株总生物量之间的相关性较小。

(4) 在山地木麻黄苗的保存率上, 接种菌根菌的苗木经过 7 d 的干旱胁迫后, 只有处理 9 (苏

格兰球囊霉)和处理 8(地表球囊霉)这两种内生菌根菌接种的山地木麻黄的保存率极显著高于对照,其它处理则没有极显著差异($P = 0.01$ 水平),而这两个菌种都是 AMF。因此在供试的 9 个菌根菌种和菌株中,AMF 比 ECMF 更能提高山地木麻黄的抗旱力。

(5)从总体上来说,无论是山地木麻黄苗的苗高、根长、地径、地上干质量、地下干质量、总生物量,还是在提高植株干旱胁迫下的保存率上,AMF 比 ECMF 的菌根效应更好一些。综合考虑山地木麻黄接种 9 个菌根菌种或菌株后的生长效应,苏格兰球囊霉 90068、地表球囊霉 9004、苏格兰球囊霉 90036、黄硬皮马勃 0207、蜡蘑 E439 这 5 个菌种或菌株对山地木麻黄都有较好的接种效果,可在山地木麻黄苗期接种应用,加快苗木生长,提高苗木抗旱能力。

参考文献:

- [1] Boland D J, Moncur M W, Khongsak Pinyopusarek. Review of some floral and vegetative aspects to consider when domesticating casuarina[A]. In Pinyopusarek K, Turnbull J W, Midgley S J. Recent Casuarina Research and Development[M]. CSIRO, Canberra, 1996: 17~25
- [2] 仲崇禄,施纯金,王维辉,等. 华南地区山地木麻黄种源试验与筛选[J]. 林业科学, 2002, 38(6): 58~65
- [3] 弓明钦,陈应龙,仲崇禄. 菌根研究及应用[M]. 北京:中国林业出版社, 1997
- [4] 弓明钦,王风珍,陈羽,等. 西南桦对菌根的依赖性及其接种效应研究[J]. 林业科学研究, 2000, 13(1): 8~14
- [5] 黄少伟,谢维辉. 实用 SAS 编程与林业试验数据分析[M]. 广州:华南理工大学出版社, 2001
- [6] 陈子星,徐夕水. 生物统计 SAS 程序题解[J]. 计算机与农业, 1997(增刊)
- [7] 陈应龙,弓明钦,陈羽,等. 蓝桉和尾叶桉混合菌根研究[J]. 林业科学研究, 1999, 12(5): 452~460
- [8] 李晓林,冯固. 丛枝菌根生态生理[M]. 北京:华文出版社, 2001