

菌根真菌对春兰生长和矿质元素吸收的影响

金 辉¹, 伍建榕², 陈 曦¹, 韩素芬¹

(1. 南京林业大学森林资源与环境学院, 南京 210037; 2. 西南林学院保护生物学学院 昆明 650224)

摘 要: 春兰(*Cymbidium goeringii*)组培苗经盆栽接种 GDB181, GJ311, GJ321, GJ131, GH132, GA211 这 6 个真菌菌株, 对培养 8 个月的苗的平均鲜重增长率、各矿质元素含量分析、重分离以及石蜡和超薄切片观察; 接菌苗的平均鲜重增长率均比对照苗高, 其中接种 GDB181, GJ311, GJ321, GJ131, GH132 菌株的苗平均鲜重增长率经检验达到了显著($\alpha=0.05$)或极显著的差异($\alpha=0.01$); 接菌苗的各矿质元素含量也均高于对照, 微量元素含量的增加尤为明显; 对春兰生长有显著促进作用。接菌苗的营养根重分离获得原接种菌株。在显微镜下观察到菌丝破坏根被进入皮层组织, 在皮层组织中形成菌丝结等典型的共生结构; 菌丝结在皮层细胞中分布不均匀, 有些位于细胞核较近区域的菌丝被消化。由此表明接种菌株已与春兰根形成有效菌根, 对春兰的生长有较明显促进作用。故认为 GDB181, GJ311, GJ321, GJ131, GH132 是春兰优良的菌根菌株。

关键词: 春兰; 菌根真菌; 共生; 菌丝结

中图分类号: S718 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2006)06-0090-03

春兰(*Cymbidium goeringii*)属于兰科(*Orchidaceae*)兰属(*Cymbidium*)植物中的地生兰。春兰在我国栽培历史悠久, 以其淡雅素洁的花朵和轻远奇绝的幽香成为花中珍品而备受赞誉。春兰生长发育常需与有益真菌共生并从中获取营养, 菌根真菌也在兰花根中得到了生息^[1]。目前春兰组培苗培养和移栽都较困难, 并且生长缓慢, 开花迟。本研究通过春兰组培的无菌苗接种不同真菌菌株, 筛选出能与春兰建立共生关系并能明显促进其生长的优良菌根真菌, 为春兰组培苗移栽提供优良的接种菌株, 提高苗的成活率, 并促进其生长发育和提早开花。

1 材料与方法

1.1 供试材料及菌株

春兰无菌苗由采自云南的野生春兰种子通过组织培养获得。

接种菌株: GH132 分离自安徽泾县的春兰, GA211 分离自安徽泾县的蕙兰, GDB181 分离自安徽岳西的蕙兰, GJ131、GJ311、GJ321 分离自安徽金寨的蕙兰。

1.2 组培苗移栽及供试菌株培养

春兰组培苗移栽练苗: 苗后的组培苗移栽到苔藓、蛭石、细沙以 1:1:1 混匀的基质中^[2], 25℃左右恒温保湿培养,

每天光照 12 h。

供试菌株培养: 菌株经 PDA 斜面培养基活化后转移到无菌的蛭石、桉叶和 PDA 液体培养基的混合基质中, 于 25℃恒温培养, 待菌丝长满基质后供接种用。

1.3 组培苗的接种

组培苗在基质中生长一周之后, 将各菌株分别接种在春兰根部, 每株苗接一片桉叶(约 0.25 cm²)培养, 2 周后开始叶面喷施营养液(条件同 1.2), 每隔半个月喷一次。

1.4 接种菌的重分离

培养 8 个月的接菌春兰营养根采用常规分离方法, 但在 PDA 培养基中加入一定浓度的抗生素。

1.5 接菌苗矿质元素含量测定

采用 HNO₃: HClO₄ 为 5:1 的混合酸消煮法提取春兰苗内的矿质元素, 用 ICP(电感耦合等离子体发射光谱仪)测定各元素含量。

1.6 石蜡切片的制备

石蜡切片制作与观察截取接菌苗 2~3 mm 新生的营养根段, 迅速放入 FAA 液(70%乙醇)中固定, 采用常规石蜡切片法, 番红固绿对染, 加拿大树胶封片, 光学显微镜下观察并拍照。

2 结果

表 1 真菌菌株接种春兰组培苗共生培养结果

处理菌株	生长情况	成活率(%)	平均鲜重增长率(%)	重分离原菌株
对照	有叶尖干枯	83.3	66.17	—
GDB181	正常, 有新根	100	91.63 *	+
GJ311	翠绿, 新根多发达	100	114.94 * *	+
GJ321	翠绿, 新根多发达	100	120.53 * *	+
GJ131	翠绿, 新根多发达	100	134.82 * *	+
GH132	翠绿, 新根多发达	100	111.38 * *	+
CA211	正常	100	77.54	+

注: “+”差异显著($\alpha=0.05$), “* *”差异极显著($\alpha=0.01$); “—”未分离到菌株。

2.1 春兰组培苗接种各菌株后的生长状况

春兰盆栽苗培养 60 d 后, 接菌苗明显表现出旺盛的生长



第一作者简介: 金辉, 1978 年生, 南京林业大学树木与观赏植物保护专业本科毕业生, 考入本校森林保护专业攻读硕士, 师从著名微生物学专家—韩素芬教授, 从事兰科植物菌根研究, 在兰科植物(尤其是春兰、虎头兰、铁皮石斛)菌根菌的筛选, 菌根菌入侵兰科植物根部的途径及被消化的过程, 兰科植物菌根中酸性磷酸酶的定位及活性变化等方面进行了深入系统的研究, 已发表专业论文 2 篇, 整理待发表论文数篇。

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目, 编号: 30371190

收稿日期: 2006-01-10

势, 苗色翠绿, 叶宽而健壮, 苗高生长迅速; 240 d 取苗观察发现, GDB181, GJ311, GJ321, GJ131, GH132 菌株接种的春兰苗根系发达, 有大量的新根产生, 有的根在先端出现分叉(见图 1, 2)。接菌苗新生营养根中均分离获得了原接种菌株(详见表 1)。

从表 1 可知, 接菌苗的长势、成活率和平均鲜重增长率均高于对照苗, 其中接种 GDB181, GJ311, GJ321, GJ131, GH132 这 5 个菌株的苗平均鲜重增长率经检验都已达到显著($\alpha=0.05$)或极显著的差异($\alpha=0.01$), 分别比对照苗高 25.46%, 48.77%, 54.36%, 68.65%, 45.21%, 最高的 GJ131 菌株接种的苗平均鲜重增长率是对照苗的 2 倍以上。接菌苗的营养根中通过重分离均获得了原接种菌株。

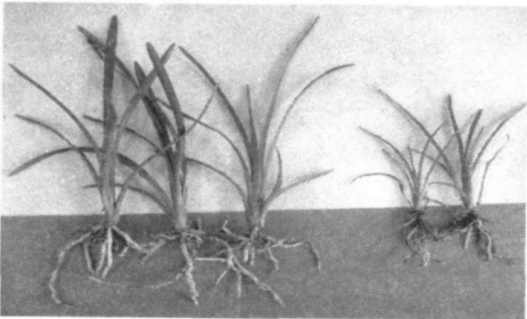


图 1 GJ321 接菌的整株苗和对照苗(左为接菌, 右为对照)

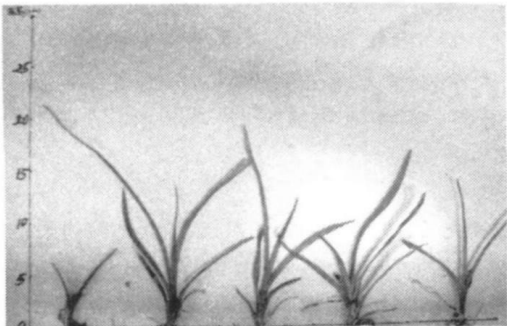


图 2 接菌苗高生长对照(CK, GJ131, GJ321, GJ311, GH321)

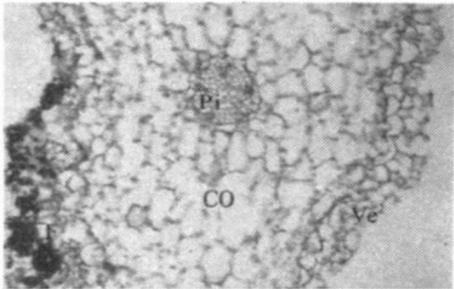


图 3 菌根真菌入侵根被组织($\times 100$)

2.2 接菌苗根的显微结构变化

在接菌苗营养根连续石蜡切片中, 显微观察到在皮层细胞中有明显的菌丝结, 衰败菌丝等菌根的典型结构。菌根真菌先侵入根被组织, 并破坏根被组织进入皮层组织, 入侵和破坏根被组织的部位是随机的(见图 3); 菌丝从根被组织进入皮层组织后, 在皮层组织内形成分布不均匀的形状不规则的菌丝结(见图 4)。表明真菌已侵入兰苗根并形成共生菌根, 真菌菌丝可为春兰的生长发育提供营养。而在对照苗根的根被及皮层细胞中均未发现入侵菌丝及菌丝结等结构(见

图 5)。(Ve. 根被; CO. 皮层; F. 真菌; P. 菌丝结; A. 衰败菌丝; N. 细胞核; Pi. 髓)

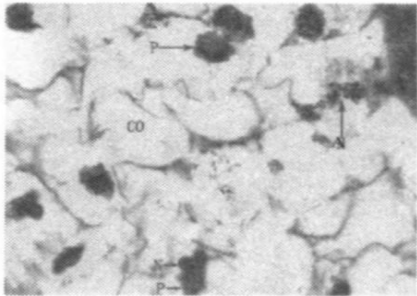


图 4 细胞核附近衰败和新定植的菌丝结($\times 400$)

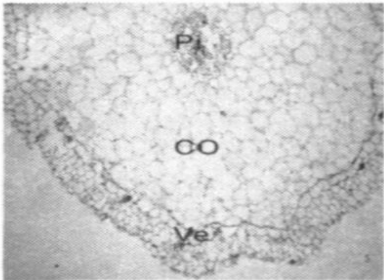


图 5 对照春兰苗根的横切面($\times 200$)

2.3 接菌苗内矿质元素含量

经 ICP 测定苗内各矿质元素含量, 结果见表 2。

表 2 春兰苗的矿质元素含量(mg/g)

处理菌株	B	P	S	K	Ca	Na	Mg	Fe	Cu	Mn	Zn
对照	0 *	1.278	0 *	11.64	0.642	2.620	0.241	0.185	0 *	0.062	0 *
GDB181	0.0286	1.315	0.874	— **	3.245	9.920	1.050	0.629	0.0058	0.153	0.132
GJ311	0.0014	1.692	0.697	— **	6.875	10.84	1.627	1.018	0.0085	0.040	0.132
GJ321	0.0010	2.833	2.634	41.33	21.62	10.40	4.333	1.583	0.218	0.118	0.388
GJ131	0.0025	3.538	3.926	39.92	7.365	4.767	1.995	0.330	0.377	0.97	0.802
GH132	0.0225	2.640	2.458	33.67	19.925	9.450	3.515	0.917	0.154	0.079	0.214
GA211	0.0105	2.755	2.516	39.33	19.060	8.960	3.981	1.567	0.223	0.099	0.322

注: * 含量低于检测线未检出, ** 含量高于检测线未检出

由表 2 可知, 春兰接菌苗内各矿质元素的含量均高于对照未接菌的苗, 微量元素的增加尤为突出。其中接种 GDB181 菌株的苗 B 元素含量最高; P 元素的含量接菌苗比对照苗至少高出了 2.8%, 最高的为接种 GJ131 菌株的苗; 接种 GJ131 菌株的苗 S 元素含量最高; K 元素的含量接菌苗比对照苗至少高出了 189.26%, 最高的为接种 GJ311 和 GDB181 菌株的苗; Ca 元素的含量接菌苗比对照苗至少高出了 405.45%, 最高的为接种 GJ321 菌株的苗; Na 元素的含量接菌苗比对照苗至少高出了 81.95%, 最高的为接种 GJ311 菌株的苗; Mg 元素的含量接菌苗比对照苗至少高出了 335.68%, 最高的为接种 GJ321 菌株的苗; Fe 元素的含量接菌苗比对照苗至少高出了 78.38%, 最高的为接种 GJ321 菌株的苗; 接种 GJ131 菌株的苗 Cu 元素含量最高; Mn 元素的含量接菌苗比对照苗至少高出了 545.16%, 最高的为接种 GDB181 菌株的苗; 接种 GJ321 菌株的苗 Zn 元素含量最高。

3 结论与讨论

GDB181, GJ311, GJ321, GJ131, GH132, GA211 菌株接种的春兰苗不仅生长势旺盛, 苗色翠绿, 叶舒展健壮, 新生根多, 根系发达, 而且在生物量和各矿质元素含量上也有明显提高;

延长月季花期的技术要点

张晓丽

(河北省邢台学院生物系, 054001)

月季(*rosa chinensis*)是蔷薇科蔷薇属植物, 是深受人们喜爱的一种观花灌木, 其花色、花型、花香以及花的大小、数量因品种而异。它以花姿绰约、色彩艳丽、香味浓郁、花期长、适应性广等特点而在园林中得到广泛的应用。但是, 由于长期以来人们的养护误区, 未能充分挖掘月季花期长的潜力。要使月季花期延长, 即增加同株当年的开花次数, 可从以下几个方面进行养护。

1 土壤的选择

栽培土壤以富含有机质、排水良好, pH 值 6~6.5 为最佳。种植位置应通风良好, 日照充足, 且地势高。

2 施肥

在冬季整形修剪和土壤冬翻之后施一次基肥, 花谢后再施追肥 2~4 次; 结合平时浇水, 也可掺施少量液肥, 做到薄肥多施, 为月季多次开花提供充分的营养条件。

3 修剪

以时间为轴线的多种修剪组合, 可促成月季多次开花。

3.1 落叶期修剪 通常在初冬进行重修剪, 老枝留 2~4 个外向芽, 弱枝、枯枝、病虫枝齐基剪除, 可调整生长势, 使植株生长健壮。

3.2 营养生长期修剪 在 4 月份开花前, 剪除病、弱枝, 以减

少营养生长和弱势开花的营养浪费。

3.3 花蕾期修剪 春季花蕾形成后可适当摘除, 均匀疏蕾可促使养分集中, 使花开得大而艳。

3.4 花期修剪 进入开花期后, 应不断剪除残花和弱枝, 以利于后续花芽的形成; 短剪花枝, 留 2~4 个芽; 同时剪除交叉枝、徒长枝和细弱枝。

3.5 入秋修剪 夏季高温后, 修剪是促进月季秋天连续开花的关键。一般在 8 月底、9 月初的早晨或傍晚, 剪除植株离地面 20~30 cm 以上的地上部分, 促使其在随后的一个月长出花枝, 并在 10 月初开花。

4 中耕除草

月季多次开花需要大量的营养供应, 但由于杂草具较强的吸收营养和水分的能力, 是影响月季对土壤营养充分利用的主要不利因素, 因此中耕除草是月季多次开花的重要保障。

一般意义上的除草不能替代中耕除草, 在及时锄去杂草之后, 仍然要进行中耕。根据土壤疏松情况, 在生长季节一般每月进行一次中耕, 以疏松表土, 流通土壤内的空气, 促进土壤的养分解。

5 病虫害防治

病虫害是月季连续开花的主要危害, 其中以白粉病和黑斑病为甚, 4、5 月和 9、10 月是两个发病高峰期。防治措施主要有: 在冬季修剪后, 喷施 0.8~1° 的石硫合剂。在生长季节的发病初期, 用 20% 粉锈宁杀菌剂 2 000~3 000 倍液喷施。病情严重的要剪除病枝。

另外, 月季的虫害也较多, 主要有大地老虎、食叶害虫刺蛾、月季长管蚜、金龟子、桃蛀螟等, 对此可采取多种形式进行防治, 如修剪、冬翻、人工捕捉、黑光灯诱杀及药剂防治。

重分离获得原接菌菌株。显微和超微结构观察在皮层组织有典型菌丝结, 这些都表明这 6 个菌株已与春兰组培苗有效共生并形成了菌根: 它们是春兰的共生菌根真菌。而其中 GDB181, GJ311, GJ321, GJ131, GH132 这 5 个菌株对春兰生长的促进作用尤为明显, 与对照相比已达到显著或极显著的差异, 因此它们是春兰优良的共生菌根真菌菌株, 可供春兰苗移栽接菌试用。

接菌苗的大量和微量元素的含量都有不同程度的增加, 微量元素的增加更加明显, 其中 Ca、Mg 和 Mn 元素的增加量尤为惊人。大量元素 P 和 K 含量有较明显的升高, 这与赵杨景等用从开唇兰(*Anectachiuo xburghit*)、墨兰(*Cymbidium sinense*) 中分离的三个内生真菌菌株接种盆栽大花蕙兰(*Cymbidium sp.*) 组培苗, 能促进植株吸收 P 和 K 养分的结论相同^[3]; 而各微量元素的增加更明显, 与陈连庆等研究野生石斛菌根微量元素(除 Zn 外) 含量高于组培苗的结论一致^[4], 本实验中接菌苗 Zn 元素的含量也高于对照苗。故认为入侵兰苗根组织中的菌根真菌可从外界环境中吸收各种矿质元素提供给春兰, 因而矿质元素含量明显增加。

接菌苗产生大量的新生营养根, 菌根真菌侵染新生根并

共生形成菌根, 为春兰提供必要的各种营养进行正常的生长发育; 而贮藏根则由于产生兰酚, 抵制真菌的侵染。因此认为菌根真菌可诱导春兰产生大量新根, 这样不仅有利于真菌的大量入侵, 而且春兰也能吸收到更多的菌提供的营养, 从而使双方达到互惠互利的共生目的。

本研究是在试验室条件下完成的。但在自然条件下, 与春兰共生并能促进春兰生长发育的菌根真菌可能不止一种, 而且环境条件相当复杂, 春兰形成菌根的过程受多方面的影响。因此, 今后可考虑将春兰组培苗移栽到野外并接种优良菌株或混和菌株, 为推广使用菌根菌剂提供理论依据。

参考文献:

- [1] 陈心启, 吉占和. 中国兰花全书[M]. 北京: 中国林业出版社, 2003. 1—14.
- [2] 伍建榕, 韩素芬, 朱有勇, 等. 春兰与丝核菌共生菌根及结构研究[J]. 南京林业大学学报, 2005, 29(4): 105—108.
- [3] 赵杨景, 郭顺星, 高薇薇, 等. 三种内生真菌与大花蕙兰共生对矿质营养吸收的影响[J]. 园艺学报, 1999, 26(2): 110—115.
- [4] 陈连庆, 裴致达, 韩宁林, 等. 三种石斛菌根形态结构及元素构成的研究[J]. 林业科学研究, 2002, 15(1): 96—100.