

四种马先蒿属植物的菌根形态学研究

陈绍田, 管开云*

(中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204)

摘要: 通过4种马先蒿属植物, 三色马先蒿三色变种 (*Pedicularis tricolor* Hand. - Mazz. var. *tricolor*), 管花马先蒿管花变种 (*P. siphonantha* Don var. *siphonantha*), 全缘叶马先蒿全缘亚种 (*P. integrifolia* Hk. f. subsp. *integerrima* Tsoong) 和二歧马先蒿 (*P. ditotoma* Bonati) 根的解剖, 在这四种马先蒿属植物根内均发现有真菌菌丝侵入, 真菌菌丝向外伸入土壤, 向内侵入皮层细胞内形成囊泡。从根表面分离到的真菌厚垣孢子, 经鉴定均为漏斗球囊霉 (*Glomus mosseae* Nicol. & Gerd.)。其中, 三色马先蒿和二歧马先蒿栽培实验表明, 真菌起到了改善寄主植物营养状况的作用。

关键词: 马先蒿; 菌根; 栽培实验

中图分类号: Q 944, Q 948.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2700(2001)03-0331-05

Mycorrhizal Study on Four Species of *Pedicularis*

CHEN Shao-Tian, GUAN Kai-Yun*

(Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: In this paper, four species of the genus *Pedicularis* L., *P. tricolor* Hand. - Mazz. var. *tricolor*, *P. siphonantha* Don var. *siphonantha*, *P. integrifolia* Hk. f. subsp. *integerrima* Tsoong, *P. ditotoma* Bonati effected by mycorrhizal fungi were studied. Hyphae of mycorrhizal fungi invaded into root cortex and intracellular vesicles formed vesiculas in all host species. On the top of some hyphae in soil, chlamydospores were formed. According to the characters of these spores, all fungi from four species of *Pedicularis* were identified as *Glomus mosseae* Nicol. & Gerd. Cultivation experiments of *P. tricolor* and *P. ditotoma* implied that mycorrhizal fungi could increase nutrient absorption of host plants, and have promoted nutrient utilization.

Key words: *Pedicularis*; Mycorrhizy; Cultivation experiments

马先蒿属 (*Pedicularis* L.) 植物属玄参科 (Scrophulariaceae), 本属植物种类繁多, 具有很大观赏价值。但一直未能成功引种栽培。我们通过几种野生马先蒿属植物菌根解剖, 真菌分离以及真菌感染实生苗, 并结合引种栽培, 对马先蒿属植物菌根形态和真菌对寄主的作用进行了一些研究, 本文对这一研究的初步结果作一报道。

* 通讯联系人 Author for Correspondence

收稿日期: 2000-09-13, 2001-01-03 接受发表

作者简介: 陈绍田 (1976-) 男, 湖北人, 在读硕士研究生, 主要从事植物系统学的研究。

1 材料和方法

4 植物实验材料三色马先蒿三色变种 (*Pedicularis tricolor* Hand. - Mazz. var. *tricolor*), 管花马先蒿管花变种 (*P. siphonantha* Don var. *siphonantha*), 全缘叶马先蒿全缘亚种 (*P. integrifolia* Hk. f. subsp. *integerrima* Tsoong) 和二歧马先蒿 (*P. ditrotoma* Bonati) 均采自云南中甸 (表 1)。凭证标本存于中国科学院昆明植物研究所植物园。

表 1 四种马先蒿属植物材料来源

Table 1 Mycorrhizal materials collected from 4 species of *Pedicularis*

种类 Species	材料来源 Materials Origin	海拔 Altitude (m)	凭证标本 Voucher species
三色马先蒿	云南中甸纳帕海	3280	99701
管花马先蒿	云南中甸城南	3230	99702
全缘叶马先蒿	云南中甸城南	3240	99703
二歧马先蒿	云南中甸纳帕海	3280	99704

1.1 根解剖

野外采集新鲜植物根, 洗净, 取细小须根, 切成 0.7 ~ 20.8 cm 的小段, FAA 固定液固定; 洗去固定液, 经 35%, 50%, 70%, 83%, 95% 和 100% 酒精溶液脱水, 每级 2 h, 100% 酒精脱水时, 中途换一次酒精; 然后经透明剂 (酒精: 二甲苯) 3:1, 2:2, 1:3 及纯二甲苯透明, 每级 2 h, 纯二甲苯透明时中途换一次二甲苯; 根切段在纯二甲苯中透蜡; 逐渐加入蜡屑, 直至饱和, 36℃ 恒温过夜; 根段在纯石蜡中 56℃ 下恒温 3 h, 中途换石蜡 2 次; 石蜡包埋。切片 (厚 8 μm), 贴片, 经纯二甲苯 10 min, 二甲苯: 酒精 (1:1)、100%、95%、83%、70%、50% 和 35% 酒精等溶液处理各 5 min 后, 曲利苯蓝 (Trypan Blue) 染色, 脱色液洗去多余染液, 显微摄影 (郑国锷, 1978; Phillips 等, 1970)。同时, 取固定后的根切段按 Kommanik 等 (1980) 的方法, 进行常规压片, 观察根内部泡囊和根外菌丝。

1.2 真菌孢子分离

用湿筛法 (Kommanik 等, 1980) 可以从植物根系周围的土壤中分离到真菌孢子, 但同时也会分离到其它杂菌。因此实验中我们采用了卡岗 (Calgon) 土壤分散剂 (20 g 六聚磷酸钠和 16 g 氢氧化钠配成 1000 mL 溶液) 使土壤与植物根自行分离, 在这样减少振荡的条件下, 有少量真菌孢子通过菌丝与根相连接, 在解剖镜下分离这些孢子进行鉴定。但用于孢子萌发等实验时分离孢子不使用分散剂。

1.3 实生苗与真菌共培养

种子经低温沉积后, 45℃ 温水中恒温 2 h, 洗净, 在 2℃ 下处理 48 h, 转到培养箱中 24℃ 下纸基质培养 2 周左右, 实生苗根开始产生分支。加入真菌孢子及洗净的新鲜野生植株根切段, 使实生苗与孢子和根切段接触, 利用真菌孢子和新鲜根切段上的菌丝共同感染实生苗的幼根, 在培养箱中 24℃ 培养一周, 转到室温下继续培养 35 d。营养供给按 MS 培养基配方, 加入营养液, 适时调节培养环境的 pH 值。在解剖镜下观察幼苗根, 以根上是否有菌丝作为真菌感染成功与否的标志, 将成功感染的幼苗与未经真菌感染处理的幼苗,

移入经过灭菌的栽培土壤中相同条件下栽培。

2 结果与讨论

2.1 根解剖

野生植株的须根切片上可以观察到: 真菌菌丝向内深入根皮层形成泡囊, 一个细胞中有一个或几个泡囊出现, 曲利苯蓝染色呈深蓝色 (图版 I: 1)。另外, 在野生植株的须根上可以观察到肉眼可见的细小瘤状突起 (图版 I: 3), 根经曲利苯蓝染色后压片发现, 瘤状突起着色较一般组织深。

2.2 真菌鉴定

根据 I. R. Hall 和 B. J. Fish (1979) 确定的分类系统, 与 4 种马先蒿属植物共生的真菌经鉴定均为漏斗球囊霉 (*Glomus mosseae* Nicol. & Gerd.) (Gerdeemann 等, 1974)。真菌孢子如图版 I: 2。

2.3 实生苗与真菌共培养

4 种马先蒿中只有二歧马先蒿和三色马先蒿部分幼苗成功感染真菌, 这些幼苗根侧根数量多于未感染真菌的幼苗, 解剖镜下观察到它们根上有菌丝存在, 菌丝呈毛状, 长于根毛。植株生长状况记录如表 2。表 2 中, 二歧马先蒿真菌成功感染即形成菌根的植株各项统计均高出未感染真菌即未形成菌根的植株, 即前者营养生长状况优于后者, 这就表明真菌对寄主植物的作用之一就是增加寄主植物营养供应, 改善寄主植物营养状况, 这种作用是通过何种机制产生的, 还有待于更多的研究。同时, 野外二歧马先蒿种子萌发后经过 4 个月的生长, 植株平均高度 (地上部分) 在 18 cm 左右, 并且已经进入果期, 而研究结果中植株高度在 7.3 cm 左右, 经过 4 个月的营养生长中, 没有出现孕蕾期, 同野外条件下相距甚远。这就表明, 可能还有其它因素如气候因子、生物因子等制约着二歧马先蒿的生长, 它还有待于进一步的研究。

表 2 真菌感染成功的植株与未感染真菌植株营养生长状况比较

Table 2 Comparison of growth between plants infected by fungi and these not infected

种类	植株总数	感染 真菌植株数	移栽时平均 须根数	移栽时平均株 高 (地上) (cm)	移栽后 3 个月 平均株高 (地上) (cm)
经真菌感染处理的 <i>P. ditrotona</i>	45	15	7.8	1.8	7.3
未经真菌感染处理 <i>P. ditrotona</i>	45	/	5.4	1.5	4.7
经真菌感染处理的 <i>P. tricolor</i>	45	12	7.5	2.0	4.5
未经真菌感染处理 <i>P. tricolor</i>	45	/	5.1	1.8	3.1

三色马先蒿的研究结果也存在同样的问题。从 1991 年开始, 李景秀等 (1997) 对三色马先蒿进行了长达 5 年的研究, 通过增施氮、磷、钾及硼酸等营养, 进行低温长日照处理等方法, 获得了株成花 45 朵, 结实率达 50% 的好结果。这一研究主要是从植物营养的改善这一方面进行调控, 使三色马先蒿的引种栽培初见成效, 这也暗示了共生真菌在寄主植物营养改善上的作用。

L. K. Abbott 和 A. D. Robson (1982) 曾总结以往 VA 真菌研究工作, 认为 VA 真菌对其寄主的主要作用在于改善寄主营养吸收和利用。虽然我们通过几种马先蒿植物菌根的研究, 目前还没有完全解决该属植物的引种栽培, 但研究表明, 这几个种均与漏斗球囊霉菌间存在内共生关系, 而且, 从栽培研究结果来看, 真菌对寄主的作用之一是改善寄主植物的营养状况, 促进营养吸收。

致谢 研究中真菌鉴定工作得到了臧穆研究员的悉心指导和帮助。

〔参考文献〕

- 李景秀, 管开云, 李运昌等, 1997. 三色马先蒿的引种栽培研究 [J]. 广西植物, 17 (3): 255—258
 郑国娟. 1978. 生物显微技术 [M]. 北京: 人民教育出版社.
 Abbott L K, Robson, A D, 1982. The role of vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation [J]. *Aust J Agric Res*, 33: 489
 Gerdemann J W, 1955. Relation of a large soil - borne spore to phytozytotoxic mycorrhizal infections [J]. *Mycologia* 47: 619—632
 Gerdemann J W, Trappe J. M. 1974. The Endogonaceae in the Pacific Northwest [J]. *Mycologia Men*, 5: 1—76
 Hall I R, Fish B J, 1979. A key to the Endogonaceae [J]. *Trans Br Mycol Soc*, 73 (2): 261—270
 Kormanik P P, Bryan W C, Schultz R C, 1980. Procedures and equipment for staining large numbers of plant roots for endomycorrhizal assay [J]. *Can J Microbiol*, 26: 536—538
 Phillips J M, Hayman D S, 1970. Improved procedure for clearing roots and staining parasitic and vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection [J]. *Trans Br Mycol Soc*, 55: 158—161

Explanation of Plate I

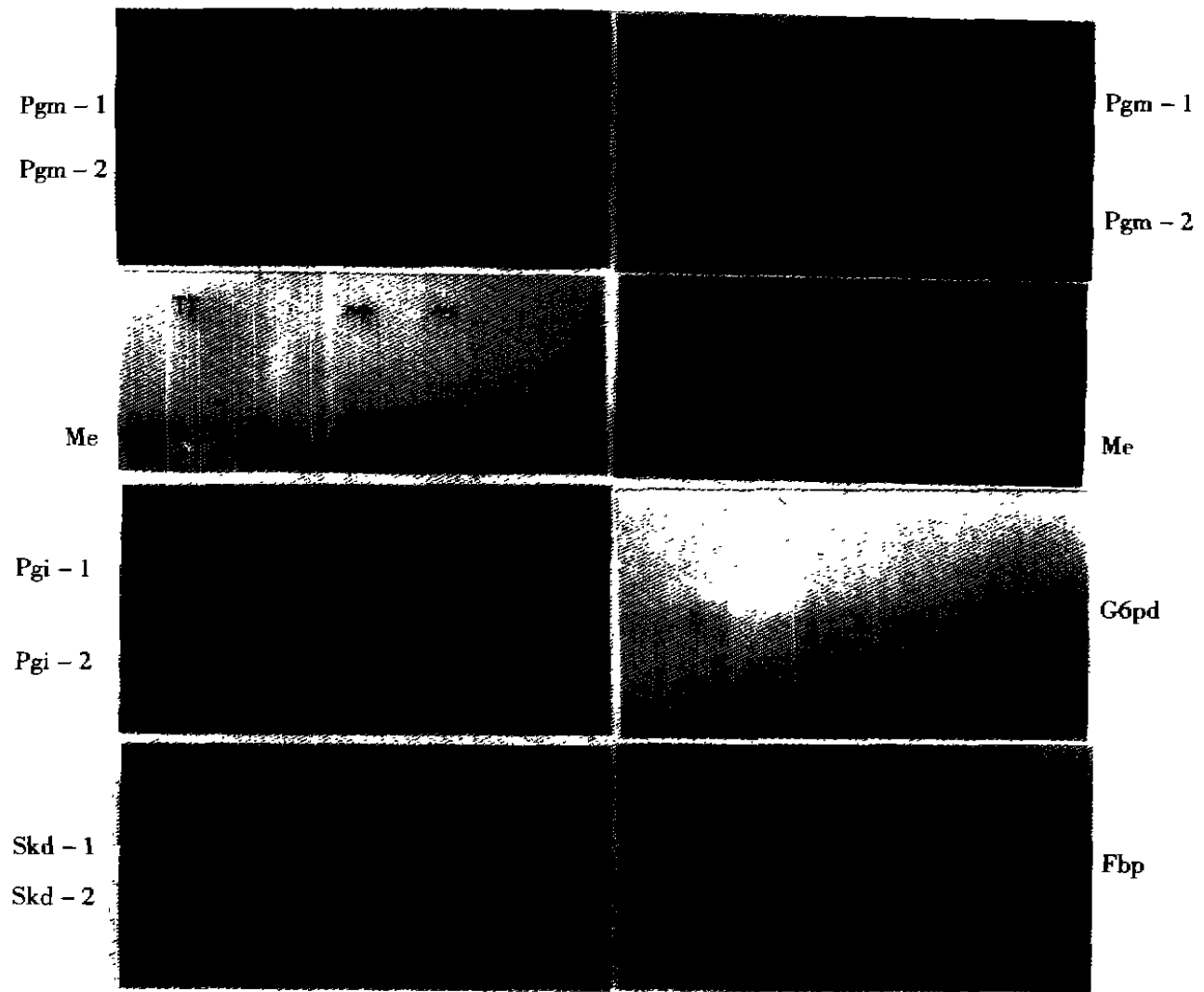
- 1 Vesicles in cortex cells; A *P. tricolor* var. *tricolor*; B *P. siphonantha* var. *siphonantha*; C. *P. integrifolia* subsp. *integerrima*; D. *P. ditotoma*.
 2 Spores of fungi; A *p. tricolor* var. *tricolor*; B *P. siphonantha* var. *siphonantha*; C *P. integrifolia* subsp. *integerrima*; D *P. ditotoma*
 3 Tumors on roots; A *P. tricolor* var. *tricolor*; B *P. siphonantha* var. *siphonantha*; C *P. integrifolia*; subsp. *integerrima*; D *P. ditotoma*

李巧明等：龙脑香科植物望天树的居群遗传结构及分化

图版 I

LI Qiao - Ming *et al*: Population Genetic Structure and Differentiation of
Parashorea chinensis of Dipterocarpaceae

Plate I



See explanation at the end of text