

快生型大豆根瘤菌生物学特性研究

程丽娟 刘海轮

(西北农业大学农化系, 陕西杨陵·712100)

摘 要 由当地分离纯化并回接有效而获得的4株快生型大豆根瘤菌株,通过形态、生理鉴定,表明与慢生型菌株有明显差异;在菌株与大豆品种亲和性的盆栽试验中,其中 A034菌株与“徐州四号”、A032与“东解选”大豆品种间具有良好共生效应;其株高、茎叶干重及含氮量、株瘤数与瘤重、及固氮酶活性等,均明显高于不接种对照,固氮率分别提高为48.1%与44.5%。

关键词 快生型大豆根瘤菌,菌株特性,共生效应,固氮率

中图分类号 S531.381

豆科植物与根瘤菌共生固氮效应在豆类作物的增产和土壤培肥上具有重要的理论与实践意义。早期研究认定了大豆根瘤菌(*R. japonicum*)属于慢生型根瘤菌。1982年 Keyser H. H 等^[1]首次报道了我国采集的样品中分离到了快生型大豆根瘤菌之后,国内外对此研究进展很快,现已被定为根瘤菌属中一新种,即快生型大豆根瘤菌(*R. fredii*)。该种菌生长速度快,耐盐,并具有一定的结瘤竞争力^[2~3],这些优于慢生型菌株的特性,无疑对根瘤菌的遗传、生物技术及生产应用有重要价值。

作者对从陕西省采样筛选的4株快生型大豆根瘤菌株进行了研究,考察其与当地大豆栽培种间的亲和关系,以便为该类菌的进一步研究提供种质材料和生产应用的依据。

1 材料和方法

1.1 菌株分离纯化与细菌学鉴定

按照 Vincent 之方法^[4],我们从当地栽培大豆(*Glycine max*)根瘤中分离纯化回接,获得了4个菌株(编号为 A031,A032,A033和 A034),并选一株与栽培大豆共生的快生型大翼豆菌株(编号 A035)及慢生型大豆根瘤菌株113-2(广谱、高效优良菌)^[5]、2031、3202和根瘤农杆菌1106为对照,进行有关细菌学鉴定^[6]。供试菌株及来源见表1。

表1 供试菌株及来源			
测试菌株	来 源	对照菌株	来 源
A031	陕西扶风县	113-2	中国农科院油料所
A032	陕西杨陵	2031	中国农科院土肥所
A033	陕西杨陵	3202	陕西省微生物所
A034	陕西杨陵	A035	华中农业大学
		1106	本室菌种组

收稿日期:1993-01-14.

1.2 供试大豆品种

“徐州四号”、“东解选”由西北农业大学农场大豆品种试验组提供。

1.3 盆栽试验

土壤采自本校农场小麦试验田耕层,为红油土(有机质0.9%,全氮0.08%,速效磷7.45ug/g,风干后通过1mm筛孔,装入20cm×30cm盆钵中、每盆5kg(合干重4.46kg),混施过磷酸钙(含P₂O₅14%)0.45g,种子经消毒催芽后,分别接种快、慢生型大豆根瘤菌液(含菌量约5亿/L),设不接种对照,每盆定苗3株,每品种9个处理、4次重复,随机排列,于花蕾初期冲盆取植株进行生物学效应测定。

2 结果及分析

2.1 测试菌株的细菌学鉴定(见表2)

2.1.1 形态和培养特征 在甘露醇酵母汁琼脂培养基中经3d培养,4株快生型菌株均发育良好,菌落呈圆形突起、边缘整齐、表面光滑、粘稠,颜色乳白色或无色、具玻璃光泽,直径3~6mm。而慢生型的3个菌株,培养7d,显示成形菌落,其大小为2.5~3.8mm。两类型细胞形态为杆状、无芽孢,革兰氏染色阴性,均具明显环节状,与根瘤农杆菌细胞形态具有明显差异。

2.1.2 生理生化特性 ①B. T. B反应:培养2~3d后,快生型菌株使培养基变黄,示产酸;而慢生型菌株与根瘤农杆菌使培养基变蓝,示产碱。②3-酮基乳糖反应:唯根瘤农杆菌生长。③石蕊牛乳反应:快生型菌株均产酸,并出现酸凝固;而慢生型则产碱,有的有胨化;根瘤农杆菌可使培养基退色还原。④耐盐试验:快生型菌株耐盐性均较慢生型高。⑤肉汁-胨试验:唯有根瘤农杆菌表现生长。以上各项鉴定证明来源于栽培大豆根瘤的4株快生型菌,可认为属快生型大豆根瘤菌。

表2 测试菌株的细菌学鉴定

菌 株	生长速度 (d)	革兰氏 染 色	B. T. B 反 应	3-酮基 乳 糖	石蕊牛乳	耐盐性 mol/L	肉汁-胨 反 应	菌落特征	
快生型	A031	2~3	阴性	酸	—	产酸、酸凝固	0.2	—	无色、粘稠
	A032	2~3	阴性	酸	—	产酸、酸凝固	0.45	—	白色、粘稠
	A033	2~3	阴性	酸	—	产酸、酸凝固	0.45	—	白色、粘稠
	A034	2~3	阴性	酸	—	产酸、酸凝固	0.45	—	乳白色、粘稠
	A035	2~3	阴性	酸	—	产酸、酸凝固	0.3	—	无色、粘稠
慢生型大豆 根瘤菌	113-2	7~9	阴性	碱	—	产碱(蓝色)	0.1	—	乳白色、粘稠
	3202	7~9	阴性	碱	—	产碱、胨化	0.1	—	乳白色、粘稠
	2031	7~9	阴性	碱	—	产碱、胨化	0.1	—	无色—白色、粘稠
根瘤农杆菌	1106	2	阴性	碱	+	还原(淡棕色)	不耐	+	—

2.2 盆栽试验

通过“徐州四号”与“东解选”两个大豆品种与8个快、慢生菌株的接种盆栽试验的(表3,4)结果表明,两个大豆品种接种快、慢生菌株与不接种的对比,在株高、茎叶干重及含氮量、根瘤数与根瘤重量、固氮酶活性等均表现较高。其中 A034菌株与“徐州四号”(表3)、A032菌株与“东解选”(表4)之间亲和性好,经统计检验,其生物学效应差异达极显著水

准。而 A033 及 A035(CK₁) 与慢生型 113-2 在“徐州四号”品种上, A034 与 113-2 在“东解选”品种上生物学效应及固氮酶活性差异均达显著水准。说明测试菌株 A032, A033, A034 只与相应品种能有效共生, 并与广谱、高效的慢生型 113-2 效应相一致, 可作为初筛的优良菌株做进一步试验。其他测试株的生物效应未能超过土著根瘤菌。

通过对 A034 与 A032 菌株在相适应品种上的茎叶含氮量与固氮酶活性及二者与对照(CK₁) 间的相关性测定, 表明相关性极好, 即示拌种结瘤有效, 两菌株的固氮率高于对照, 分别为 48.1% 与 44.5%。

表3 接种菌株的生物效应与固氮酶活性(徐州四号)

菌 株	株高 (cm)	茎叶干重 (g/盆)	茎叶含氮量		根干重 (g/盆)	瘤数 (个/株)	瘤重 (g/盆)	固氮酶活性(C ₂ H ₄)		固氮率 (%)	
			(%)	(比 CK ₂)				(μmol/株·h)	(比 CK ₂)		
快生型	A031	25.75	1.64	4.60	131	1.04	17.88	0.090	4.91	135	23.9
	A032	25.00	1.60	4.50	129	1.08	18.03	0.086	5.27	145	22.2
	A033	27.00*	2.02*	5.90	169	1.34*	23.58*	0.127*	6.62	182	40.7
	A034	29.33**	2.52**	6.75	193	1.47**	25.7**	0.136**	7.34	202	48.1
	A035 (CK ₁)	26.58*	2.06*	5.32	152	1.26*	20.58*	0.125*	5.61	155	34.2
慢生型	113-2	26.50*	2.31*	5.61	160	1.42*	20.92*	0.130*	6.65	183	37.6
	3202	26.08	1.85	4.80	137	1.21	19.00	0.107	4.31	119	27.1
	2031	24.21	1.80	4.50	129	0.93	17.50	0.095	4.16	115	22.2
不接种	CK ₂	23.79	1.44	3.50	100	0.77	15.25	0.079	3.63	100	—

表4 接种菌株的生物效应与固氮酶活性(东解选)

菌 株	株高 (cm)	茎叶干重 (g/盆)	茎叶含氮量		根干重 (g/盆)	瘤 数 (个/株)	瘤 重 (g/盆)	固氮酶活性(C ₂ H ₄)		固氮率 (%)	
			(%)	(比 CK ₂)				(μmol/株·h)	(CK ₂)		
快生型	A031	19.11	2.11	4.60	103	1.09	24.4	0.097	4.01	110	3.2
	A032	30.6**	3.42**	4.50	180	1.61**	46.0**	0.179**	7.74	213	44.5
	A033	23.2	2.61	5.90	129	1.20	33.4	0.125	5.17	142	22.5
	A034	25.5**	3.00*	6.75	159	1.42*	36.8*	0.138*	6.21	171	36.9
	A035 (CK ₁)	24.27	2.72	5.32	138	1.22	33.1	0.128	5.57	153	27.6
慢生型	113-2	25.3*	3.10*	5.61	153	1.44*	37.8*	0.141	6.17	170	35.3
	3202	19.7	2.01	4.80	108	1.07	24.6	0.091	4.32	119	7.6
	2031	21.85	2.42	4.50	116	1.17	26.4	0.107	4.80	132	13.7
不接种	CK ₂	18.77	1.98	3.50	100	1.05	24.1	0.091	3.95	100	—

3 小 结

分离自栽培大豆根瘤中的 A031, A032, A033 和 A034 4 个菌株, 其细菌学鉴定结果, 初步认为是快生型大豆根瘤菌。盆栽试验表明, A032, A033 与 A034 菌株在相应的大豆品种上可有效共生、具亲和性。其中 A034 固氮率比对照提高 48.1%; A032 提高 44.5%。鉴于快生型菌株繁殖快、耐盐分, 又具有良好的结瘤竞争力与固氮效率, 作为新菌种资源的发掘, 将对大豆根瘤菌的研究和应用具有重要价值。

参 考 文 献

- 1 Keyser H H et al. Fast-Growing Rhizobia Isolated from Root Nodules of Soybean. Science, 1982, (215): 1631~1632
- 2 葛 诚. 快生型大豆根瘤菌共生固氮特性的研究. 中国油料, 1986(2): 69~73
- 3 徐玲玫, 樊 惠, 葛 诚等. 快生型大豆根瘤菌的理化特性和共生效应. 大豆科学, 1983, (2): 101~108
- 4 J. M 芬森特著, 上海植物生理研究所固氮研究室译. 根瘤菌实用研究手册. 上海: 上海人民出版社, 1974
- 5 张学江, 周平贞, 吴生堂等. 广谱、高效的大豆根瘤菌113-2. 中国油料, 1986, (1): 62~67
- 6 中国科学院微生物研究所细菌分类组. 一般细菌常用鉴定方法. 北京: 科学出版社, 1978

Biological Characteristics of Four Fast-Growing *Rhizobium Japonicum* Strains

Cheng Lijuan Liu Hailun

(The Department of Soil Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

Abstract Four fast-growing *Rhizobium japonicum* strains were isolated, purified and back-nodulated to soybeans in the local areas. The results from the identification of morphology and physiology showed that there were obvious differences between these strains and slow-growing *Rhizobium japonicum* strains. In the pot experiments of an affinity between the strains and soybean cultivars, the excellent symbiotic effect was found among strain A034 and soybean cultivar-Xuzhou NO. 4 and strain A032 and soybean cultivar-Dong Xiexuan, whose plant height, dry weight and nitrogen contents of stems and leaves, and also activity of nitrogenase were higher than those of the control soybean plants (without inoculation). Nitrogen-fixing efficiency was increased by 48.1% and 44.5% respectively.

Key words fast-growing *Rhizobium japonicum*, strain characteristics, symbiotic effect, nitrogen-fixing efficiency