

快生型大豆根瘤菌的生理生化特 性和共生效应

孙淑荣 张桂芝 王晓明 张宏

(吉林省农科院土肥所)

快生型大豆根瘤菌是1982年Kegsen等发现的一种不同于慢生型大豆根瘤菌的新类型。由于它的发现,已引起国内外许多专家与学者的注意。我们也从1983年以来在省内各地区的典型土壤与根瘤样品中分离获得一批快生型根瘤菌,并对它们的生理生化特性和共生效应进行了研究与探讨。从中发现其特性,这些特性必将对微生物遗传学的发展以及它在根瘤菌中的分类有其特殊意义。同时也为选育高效优良菌株提供较好的材料。

一、材料与方法

(一)快生型大豆根瘤菌的分离

在省内采集了具有代表性的黑土、淡黑钙土、草甸黑土、白浆土和轻碱土,栽种了吉林3、吉林13、集体5、小金黄、九农9和早丰等6个大豆栽培品种,在开花期采集根瘤,同时又在本院大田内采集了27个大豆栽培品种和8个野生豆种的根瘤进行分离。经过0.2%HgCl₂灭菌、无菌水冲洗、破瘤、挑取内含物、划培养基斜面、纯化,结果分离获得512株大豆根瘤菌。其中74株属快生型,我们又从中选出19株进行生理生化特性鉴定。

(二)快生型大豆根瘤菌的生理生化特性鉴定

革兰氏染色与细胞形态学:采用细菌学鉴定法;

石蕊牛奶反应:将菌直接接入石蕊牛奶培养基上,28℃温箱培养,1~7天观察并记录结果;

肉汁蛋白胨反应:将菌分别接种于肉汁蛋白胨培养基上,28℃条件下培养1~2天,观察并记录结果;

耐盐性鉴定:在YMA培养基中分别加入不同克分子浓度的NaCl,制成含有0.15M、0.2M、0.3M、0.4M、0.45M、0.5M的培养基,将菌直接接入培养基上,28℃培养,1~7天观察并记录结果;

代时测定:用YME液体培养基,经活性炭吸去颜色灭菌后,接入菌,每个菌株3次重复,28℃培养24小时,用721型分光光度计进行测定。

(三)回接试验与共生效应测定

用罐头瓶进行无菌砂培,栽种不同大豆品种并进行接种,分别设2次与3次重复,以不接菌为对照,结荚期收获,测其植株干重、瘤干重、固氮活性(乙炔乙烯法:即将植株经4小时自然光照后,取下根放入三角瓶中,按试管体积加入10%的乙炔,28℃条件下培

养1.5小时,用气相色谱测其峰值)、氢酶活性(从植株根上取下瘤子,饥饿一段时间后,按试管体积注入2.5%的纯氢,立刻用气相色谱仪测基始氢峰,然后在28℃条件下水浴24小时,再测峰高,两峰值之差进行换算),查根瘤个数。

二、试验结果与分析

(一) 快生型大豆根瘤菌的生理生化特性

对19株快生型大豆根瘤菌的生理生化特性从7个方面进行鉴定,结果见表1:

表1 快生型大豆根瘤菌的生理生化特性

菌号	细胞形态	革兰氏染色	代时(小时)	肉汁蛋白胨	BTB反应	石蕊牛奶反应	耐盐性(NaCl, M)
120	杆状	—	3.1	稍混浊	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
160	杆状	—	2.2	混浊	产碱	产碱 分三层有黄色血清带	>0.45
162	杆状	—	2.7	稍混浊	产酸	产碱 形成血清带	0.2
166	杆状	—	2.5	混浊	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
9	杆状	—	2.5	混浊	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
114	杆状	—	3.1	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
216	杆状	—	2.1	混浊	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
215	杆状	—	2.1	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
267	杆状	—	2.7	清亮	产酸	产碱 不形成血清带	>0.45
515	杆状	—	2.8	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
522	中杆状	—	3.3	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
517	中杆状	—	3.0	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
530	中杆状	—	3.6	清亮	产酸	产碱 不形成血清带	>0.45
533	中杆状	—	3.7	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
634	中杆状	—	2.6	清亮	产碱	产碱 形成血清带	>0.45
637	中杆状	—	2.9	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
644	中杆状	—	3.4	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
645	中杆状	—	3.2	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45
647	中杆状	—	3.9	清亮	产酸	产碱 形成血清带	>0.45

通过表1看出,革兰氏染色与细胞形态:19株菌全部为阴性和中短杆状体;在BTB培养基上:634、160菌株培养2~3天培养基变兰产碱,而其它菌株培养基完全变黄产酸;在肉汁蛋白胨培养基上:5株生长,14株不生长;石蕊牛奶反应:160、216菌株表现不明显,267、530菌株没有形成血清环,637菌株产酸,其它菌株都产碱,并形成血清环,其厚度1~6mm;代时测定:全部菌株繁殖一代所需要的时间都在4.0小时以下,其范围在2.1~3.9小时,确属快生菌;耐盐性鉴定:除162一株耐0.2M的NaCl,其它菌株都耐0.45M以上,高于Yelfon、杨苏声等测定的USDA191能耐0.4M NaCl的报道^[1]。这种快生型大豆根瘤菌的抗逆性可能与它本身代谢过程产酸和寄主生活的自然条件有关。

(二) 快生型大豆根瘤菌的回接试验及其与不同豆种共生效应

对19株快生型大豆根瘤菌进行了回接试验,其结果19株快生菌都已结瘤,确系大豆根

瘤菌。

在回接试验基础上，又对其共生效应进行测定，结果见表2：

表2 快生型大豆根瘤菌与大豆不同品种的共生效应

大豆品种	菌号	植株干重 (g/盆)	根瘤数 (个/盆)	瘤干重 (g/盆)	固氮活性 (nmol/h/mg)	吸氢活性 (nmol/h/mg)
吉林20	CK	4.7	127.5	0.30	320	0
	114	5.3	83.0	0.20	3800	1658
	120	8.5	221.5	0.55	4536	1658
	160	4.4	72.0	0.25	5600	1658
	162	4.4	46.0	0.17	889	199
	267	9.1	186.0	0.49	2080	317
	522	5.7	246.0	0.41	1813	575
	533	7.2	198.5	0.40	1382	1507
	634	6.0	110.0	0.20	2539	1658
	645	8.0	198.0	0.49	1710	267
吉林18	CK	7.9	144.5	0.45	736	829
	9	9.3	222.5	0.65	1493	1273
	162	7.5	185.0	0.49	7080	1105
	166	8.5	114.0	0.33	586	691
	216	8.1	140.0	0.30	7600	1105
吉林3	CK	6.5	96.3	0.33	3109	829
	515	11.0	175.7	0.65	2400	514
	517	8.7	211.3	0.60	320	553
	637	6.7	186.7	0.52	2686	569
小金黄	647	6.3	245.6	0.43	2304	913
	CK	8.2	19.9	0.43	1067	929
	215	10.0	77.3	0.37	1126	872
	216	8.7	126.7	0.41	4187	875
	530	10.0	123.7	0.54	2203	760
	644	11.2	92.7	0.20	2800	1085

注：以上所列数字为3次重复的平均值。

通过表2看出，接种在吉林20、吉林18与小金黄上的大多数菌株与品种表现为有效共生，而接种在吉林3上的大多数菌株与品种表现为无效共生。

同一菌株对不同品种的亲和性亦有差异。如162菌株接种在吉林18品种上，无论是植株干重、瘤干重、瘤个数、固氮活性和吸氢活性都明显高于接种在吉林20品种上。

同一品种不同菌株对大豆的共生效应亦不同。如接种在吉林20上的9个菌株其植株干重、瘤干重、固氮活性和吸氢活性几乎不尽相同。

在共生条件下19株快生菌都具有吸氢活性。其中接种在吉林20品种上的114、634、120、160菌株吸氢活性最高为1658nmol/h/mg，而162菌株吸氢活性最低为199nmol/h/mg；接种在吉林18品种上的9号菌株吸氢活性最高为1273nmol/h/mg，166菌株吸氢活性最低为691nmol/h/mg；接种在吉林3品种上的647菌株吸氢活性最高为913nmol/h/mg，515菌株吸氢活性最低为514nmol/h/mg；接种在小金黄品种上的644菌株吸氢

活性最高为 1085nmol/h/mg ，530菌株吸氢活性最低为 760nmol/h/mg 。

接种在吉林18品种上的162、216菌株其固氮活性最高，分别为 7080nmol/h/mg 和 7600nmol/h/mg ；接种在吉林20品种上的160菌株固氮活性最高为 5600nmol/h/mg ；接种在小金黄品种上的216菌株固氮活性最高为 4187nmol/h/mg 。

同时也应看到，菌株的固氮活性与吸氢活性呈现一定的正相关；即固氮活性越高，吸氢活性也越高；固氮活性较低的，吸氢活性也较低。这些结果为今后选育节能高效优良菌株提供了较好的材料。

以上试验结果充分说明了一部分快生型大豆根瘤菌在生产上有直接应用的可能性。但还有待于进一步筛选，并在田间试验中去验证这些菌株的有效性和与大豆品种的亲和性。

三、小 结

(一) 通过生理生化特性鉴定和回接试验证明了所分离选出的19株菌确系快生型大豆根瘤菌。

(二) 19株快生型大豆根瘤菌与栽培大豆吉林20、吉林18、吉林3和小金黄的共生效应表现了品种亲和性的差异。

(三) 19株快生型大豆根瘤菌中有18株耐 NaCl 在 0.45M 以上，是这批快生菌的突出特点，并为遗传学提供了有价值的素材。

(上接第6页)

搞好，为作物提供适宜的生长条件，为高产稳产打下基础。因此要充分发挥他们在总体规划，技术把关方面的作用，可以委托各科研单位搞好试点区，典型治理片的全面承包，以起到先行作用。

6. 建立健全验收标准和验收制度。中低产田培肥改造是一项综合的系统工程，不同系统工程，不同系列的治理，都应有明确的指标要求。因此要在落实合同的同时，分别建立健全验收标准和验收制度。举例如下：

(1) 风沙地要有良好的农田防护林，抗旱装备和良好的生态环境。

(2) 涝洼地要有治涝排水系统和台条田工程，确保不受涝灾危害。

(3) 盐碱种稻地要有系统排灌工程，防止次生盐碱化，保证水稻高产稳产。

(4) 在低产易旱地要有灌水来源，保证坐水种，保全苗。

(5) 中低产田客土施肥，施用农肥，每亩达2吨。客土总量要达到每亩50吨。土壤质地要有明显改善，障碍因素基本克服。

(6) 粮食亩产达到规划的指标。