

稻麦根系结合性共生固氮的研究(初报)*

福建农学院微生物研究室
稻麦结合性共生固氮组

氮肥是粮食稳产高产的主要保证,大气中约 80% 是氮素,但植物本身无法直接利用,只有通过固氮微生物或者固氮微生物与植物实现共生的时候才能利用它。据估计,生物固氮约占地球氮周转率的 90% 以上,因此通过生物固氮途径为稻麦等粮食作物提供氮肥是很有意义的。

根据国外报道,在某些水稻品种的根、茎上已测到了固氮活性^[1]。1974 年我们在筛选水稻根际固氮菌中,在无氮平板上发现经根表灭菌的根段剪口的一端或两端长出菌落,联系上述情况,稻株根系是否具有与稻株形成共生关系的固氮微生物存在? 针对这一问题,我们进行了初步探讨。

材料与方 法

1. 采样: 我们采用就地采样分离测定的办法,先后到本省晋江、莆田、漳州等八个县市的一些社队、农场。于稻、麦孕穗—齐穗扬花期,

选择生育正常、无病虫害的健壮植株,连根挖起剔去土壤,除去夹在根系中的烂根、叶梢等杂物,用水冲洗干净备用。

2. 根系及根段端生菌落分离菌株固氮活性的测定: 用乙炔—乙烯法测定,以一定时间内乙炔还原为乙烯的百分率表示固氮酶活性的高低。气相色谱仪为(日产)GCG-3DH,固定相 GDX-104, N₂ 为载体。根系分两种处理: 一种是将根系洗净后直接装入灭菌的 20 毫升疫苗瓶; 另一种是根系经表面灭菌后装入灭菌的 20 毫升疫苗瓶,加塞注入纯乙炔气 2 毫升,密封保温摇动半小时后送检。

将根段端生菌落分离菌株接种于疫苗瓶斜面(培养基为慢型快长根瘤菌培养基),置 25—28℃ 培养 2—3 天,待菌长足后换上橡皮塞注入 2 毫升乙炔气,保温摇动半小时后测定固氮活性。

* 福州市计量测试所气相色谱组协助测定固氮活性。

3. 分离与纯化:

(1) 培养基: 分离用阿斯毕 (As.) 和斯塔基 (St.) 无氮培养基, 纯化用慢型快长根瘤菌培养基^[2], 配方如下:

甘露醇(或蔗糖) 10 克, K_2HPO_4 0.5 克
 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2 克, NaCl 0.1 克
 葡萄糖酸钙 1.5 克 $FeCl_3$ 0.01 克
 酵母提取物 2.0 克 水 1000 毫升
 pH 6.8

(2) 方法: 为了搞清根段端生菌落是否自稻、麦根组织内长出, 我们将剪下的部分洗净根系置于 0.1% 昇汞液中, 灭菌 5 分钟后, 用无菌水冲洗 3—4 次, 再用无菌剪刀剪成约 1 厘米长根段, 排于琼脂平板上, 25—28℃ 恒温培养, 挑取自根段一端或两端长出的菌落, 移植于试管斜面保存。再用稀释平板和划线法进行纯化后测定其固氮活性。

结果与讨论

1. 水稻和小麦根系固氮活性的测定: 为了把水稻和小麦根段端生菌落现象与根系有无固氮作用联系起来, 于 1975—1976 年我们先后测定了 79 个水稻根系样品和 9 个小麦根系样品的固氮活性, 结果如表 1:

表 1 水稻和小麦根系固氮活性的测定

处 理 作 物	根表不灭菌		根表 0.1% 昇汞 灭菌	
	水稻	小麦	水稻	盆栽水稻
乙炔-乙烯 法测定				
测定样品数	25	9	42	12
有固氮活性的样品数	5	5	0	1

表 1 表明: (1) 在测定的样品中, 水稻和小麦的根系都有一些样品有固氮活性, 有固氮活性的百分率小麦高于水稻, 小麦约占 56%, 水稻仅占 20%。

(2) 根系的固氮活性与作物品种有关, 5 个有固氮活性的水稻样品, 分别属于“窄叶青”、“爱武”和“龙选”三个品种, 占测定品种的 15%, 而 5 个有固氮活性的小麦样品多集中于“4058”

和“晋麦 33”两个品种, 占测定品种的 33%。

(3) 水稻根系有固氮活性只表现在根表不灭菌的样品上, 根系经表面灭菌后除个别盆栽样品外, 都没有固氮活性。说明水稻某些根系的固氮活性可能是由于固氮微生物附着于其根表的结果^[1]。经灭菌后的根系由于汞离子使固氮微生物酶失去活性^[3]。

2. 稻、麦根段端生菌落分离菌株的特性及适宜培养基的筛选:

经根表灭菌处理后长出的端生菌落, 一般在一星期后才出现, 出现机率也较低, 甚至平板上经常没有长菌。一般小麦根段出现的端生菌落数量比水稻多。稻、麦细菌性菌落的特征, 一般为边缘整齐、中凸、粘液或粘稠状、透明或半透明、乳白色。但分离到的菌株移植于无氮斜面上, 其长势往往一代不如一代, 3—4 代后即退化致死。为了解决这个问题, 进行了适宜培养基的筛选工作, 找到了一种能使多数菌株生长良好的培养基——慢型快长根瘤菌培养基。多数分离菌株在这种培养基上生长较快, 菌苔丰满、粘稠, 颜色较浓多呈乳白色甚至乳黄色 (见表 2), 现已成为我们纯化和保存菌株常用的培养基。

3. 纯化菌株及盆栽水稻根系的固氮活性测定: 在 10 个稻、麦纯化菌株*固氮活性的测定中, 只有 3106A₍₁₎ 菌株表现有乙炔还原力, 且经多次测定其乙炔还原能力分别为 0.1%, 0.2% 和 0.4%。表 1 中根表灭菌的盆栽水稻根系固氮活性的测定结果, 在 12 个样品中也只有 3106A₍₁₎ 菌株接种于水稻“珍龙 13 号”的无施氮肥区有固氮活性, 而且乙炔还原力高达 3%, 相当于该菌株斜面固氮活性的 15 倍左右。

从我们的实验结果看出, 3106A₍₁₎ 菌株可能属于能营结合性共生固氮的好气自生固氮菌, 由于水稻有发达的通气组织, 它可以把空气运送到根际, 分子态氮被输送到地下部分。氧则大

* 10 个稻、麦纯化菌株是: 3106A₍₁₎, 2113S, 麦 2202S, 3103S, 麦 5109A, 麦 5104A₍₁₎, 麦 5101A₍₁₎, 麦 5105A₍₁₎₍₂₎, 麦 5103S, 麦 5105A₍₁₎。该菌株均由 0.1% 昇汞灭菌的根段端生菌落中分离得到。

表2 部分分离的菌株在不同培养基上的生长情况*

生长情况 菌株号**	培养基	阿斯毕无氮培养基 或 斯塔基无氮培养基	斯塔基无氮培 培养基+稻根汁	慢型快长根 瘤菌培养基	备注
5502A	As. ++ 半透明	++ 半透明	+++ 粘稠乳白色	四个重复	
5503A	As. ++ 半透明	++ 半透明	+++ 半透明	三个重复	
5505A	As. ++ 半透明	++ 半透明	+++ 菌苔较厚乳黄色	二个重复	
5504A ₍₁₎	As. + 半透明	+ 半透明	+++ 菌苔厚乳白色	三个重复	
5505A ₍₁₎	As. ++	+++	+++		
5101S	St. -	-	-	三个重复	
5128S	St. + 半透明	++ 半透明	+++ 乳白色		
5125S	St. ±	+	+++ 乳白色		
4113A	As. -	-	-		
5130A	As. +	++ 菌苔底乳白色	++ 菌苔底乳白色		
麦5105S ₍₁₎	As. + 半透明	+ 半透明	+++ 乳白		
麦5103S	St. +	++	+++ 呈不匀乳白色		
5103S	St. ++	++	+++		
2101A	As. +	++	+++ 不匀乳白色		
5501A	As. ++ 透明产气	++ 透明产气	+++ 产气	二个重复	

* 表中“+”表示正常生长 “±”表示微弱生长 “-”表示未生长

** 表中所列各菌株均由0.1% 昇汞灭菌的水稻根段端生菌落中分离得到。

多为根呼吸所消耗,另一部分被排出根外,使根部内皮层的氧分压降低。加之根分泌物适于固氮菌生长,对氮素固定特别有利,所以3106A₍₁₎菌株在这种环境条件下具有较高的固氮活性^[4]。

小 结

1. 发现小麦品种“4058”、“晋麦33”根系有固氮活性;水稻的“窄叶青”、“爱武”、及“龙选”等品种也有固氮活性,活性可能存在于水稻根表。

2. 慢型快长根瘤菌培养基是稻、麦根内分离菌株的适宜培养基。

3. 初步从水稻根系分离到一个有希望的菌株—3106A₍₁₎,有可能与水稻某品种发生结合性共生固氮。

参 考 文 献

- [1] Tomio, Y. et al.: IRRI. Annual Report, 1969, p. 18—19.
- [2] Iswaran, V.: Zbl. Bakt. II, 128: 23—24, 1973.
- [3] 北京农业大学: 植物生物化学, 农业出版社, 北京, 1961, 第68页。
- [4] 吉田富男: 醱酵协会誌, 31:1, 1973.