



# 栓麻根瘤菌的分离和应用

湖北省微生物研究所生物固氮组

(武 汉)

栓麻又叫太阳麻，属豆科猪屎豆属 (*Crotalaria L.*)，是一种夏季速生绿肥。为了配合栓麻绿肥的推广应用，我们于 1974 年从栓麻植株上采瘤分离，按照根瘤菌常规的筛选方法，选出固氮能力较强的栓麻根瘤菌 1 号菌株(简称“栓菌 1 号”)。几年来在湖北省农管局等单位的支持和协助下，在二十多个县进行了栓麻根瘤菌接种试验，获得较明显的效果。

## 一、栓麻根瘤菌的生物学特性

栓菌 1 号无芽孢，革兰氏染色阴性。在甘露醇-酵母粉培养基上，细胞呈短杆状， $1-1.1 \times 0.6-7$  微米，在培养过程中，常看到二个或几个细胞呈链状排列，顶生单鞭毛，能运动。平板上的菌落呈圆形，隆起，边缘整齐，乳白色，有光泽，粘质状。培养基中加入刚果红时，菌落不吸收颜色。

该菌在甘露醇-酵母粉培养基上生长良好，在这种培养基中加入 0.2% 的蛋白胨，在离体培养下可以固氮。以等量的葡萄糖代替甘露醇，加倍的酵母膏代替酵母粉，也能良好地生长。但以麦芽糖为碳源，生长较差；分别以蔗糖、乳糖、菊糖、糊精等为碳源时生长微弱。在牛肉膏-蛋

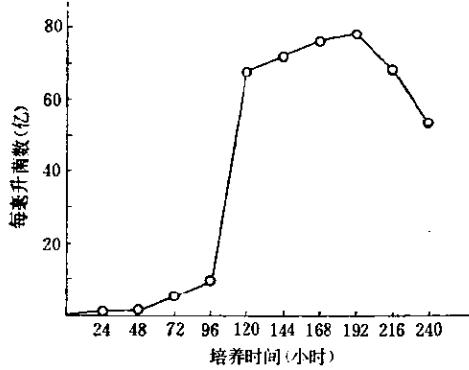


图 1 栓菌 1 号生长曲线

白胨培养基上不生长或微弱生长。在无机氮培养基上生长不好。

培养的适宜温度为 28—30℃，在 28℃ 的条件下，划线培养需 2—3 天方可见生长，6—7 天生长丰满；稀释倒平板，需 4—5 天才开始出现菌落。因此，该菌属于慢生型。

将分离出的栓麻根瘤菌，分别接种于豇豆、花生、大豆、四季豆、豌豆、紫云英等豆科植物上，发现它可以在豇豆、花生上结瘤固氮，而在其他几种植物上不结瘤；同时，将豇豆等六种植物的根瘤菌分别接种于栓麻上，发现豇豆、花生的根瘤菌能在栓麻上结瘤固氮，其他几种根瘤菌在栓麻上不结瘤。因此，栓麻根瘤菌的互接种族是属于豇豆族。

一般说来，栓麻在 2—3 片真叶时，开始结瘤，4—5 片真叶时，已有较强的固氮能力；在十多片真叶时，固氮能力很高，将 8 月 26 日播种于温室中的盆栽栓麻，用气相色谱仪测定结有根瘤的植株的固氮酶活性，见表 1。

表 1 栓麻不同生长期的固氮酶活性

测定日期 (日/月)	平均真叶数	固氮酶活性 (乙烯 mM/株·小时)	测定时温
3/9	2.8	0.011	29℃
5/9	4.6	0.328	30℃
23/9	16.4	7.26	25℃
3/10*	25.1	1.13**	22℃
8/10*	25.4	2.32	26℃

\* 此时植株为现蕾期。

\*\* 此次测定的固氮酶活性偏低可能与气温低有关。

## 二、栓麻根瘤菌的应用

### (一) 菌剂的制备

培养基：葡萄糖 10 克，酵母膏 0.8 克，磷

酸氢二钾 0.5 克，硫酸镁 0.2 克，氯化钠 0.2 克，碳酸钙 3 克，微量元素液 4 毫升 (0.5% 钼酸钠、0.5% 硼酸混合液)，琼脂 18—20 克，水 1,000 毫升，pH 6.5—7.5。在 28—30℃ 下，固体培养 7—8 天；液体振荡培养 5 天左右。生产流程与生产紫云英根瘤菌相同。

## (二) 接种的效果

1. 盆栽试验用棉田土和菜园土，在不灭菌的条件下盆栽，进行接种与不接种的对比试验，观察结瘤的情况如表 2。

表 2 盆栽接种怪菌 1 号对结瘤时间和部位的影响

处理	生长天数	结瘤植株占观测植株的百分比(%)					平均瘤单数	结瘤部位
		8	39	42	47	67		
棉田土	接种	50.0	80.0	100	100	15.4	集中在主根上部	
	对照	0	0	20.0	50.0	3.4		
菜园土	接种	60.0	66.6	100	100	27.5	大都集中在主根	
	对照	50.0	33.3	100	100	22.9		

由于接种能提早和增多结瘤，且瘤常集中在主根上部，因而使植株较早和较多地固定空气中的氮素，为增产和少从土壤中吸收氮肥创造了条件。

2. 田间小区试验：本所和其他单位进行了大量的田间小区对比试验（一般小区面积 0.1 亩，重复三次），我们分析了 22 个试验区的平均产量，结果如表 3。

表 3 接种怪菌 1 号对怪麻鲜草的增产效果\*

接种平均产量 (斤/亩)	对照平均产量 (斤/亩)	平均增产 (斤/亩)	平均增产率 (%)
1071	921	150	16.29

\*  $t=7.5$ ; 5% 显著点  $t=2.08$ , 1% 显著点  $t=2.83$ 。

看来，接种怪菌 1 号的增产效果是可以肯定的。

3. 大田试验：根据 10 个大田试验点的统计，平均单株鲜重比对照增加 23.42%，但平均株高仅增加 4.43%。因此，我们认为增产的主要因素是单株重量增加，这与根瘤菌固氮较多，使其叶片肥大有关，所以接种后株高差别不够

明显，但产量有较大的增加。

## (三) 条件试验

1. 土壤状况：土壤条件对接种根瘤菌后的增产幅度有密切关系，其中主要决定于土壤中是否含有较多的豇豆族根瘤菌。例如用棉田土壤进行盆栽，由于该地长期采用棉花-小麦轮作制，土壤中含豇豆族根瘤菌较少，故接种后根瘤数比对照多几倍；而种过豇豆、绿豆等作物的菜园土中含有大量的豇豆族根瘤菌，故接种植株的瘤数增加不够显著。

其次，土壤中氮的供应情况与接种效果关系很大，我们曾进行无氮和含氮丰富的无菌沙培试验。8 月 22 日播种，9 月 23 日测完，结果见表 4。

表 4 在无氮和含氮丰富的条件下怪麻生长和结瘤固氮的情况

处 理	无 氮		含氮丰富	
	固氮酶活性 (乙烯 mM/株·小时)	单株鲜重(克)	固氮酶活性 (乙烯 mM/株·小时)	单株鲜重(克)
接 种	14.0	4.52	6.50	4.62
对 照	0	0.92	0.25*	4.42

\* 对照因污染而结有少数根瘤。

从表 4 看出，在无氮条件下，接种的植株结瘤固氮能力很强，单株鲜重比对照显著增加，而在含氮丰富条件下，接种的植株结瘤固氮较差，单株鲜重与对照相似。在大田试验也常见土壤含氮丰富，接种根瘤菌的效果较差；相反，土壤中含氮贫乏，则效果较好。

表 5 新平整的红黄壤接种怪菌 1 号对怪麻结瘤和生长的影响

处 理	接 种	对 照
播种期(日/月)	31/5	31/5
观测期(日/月)	7/7	7/7
瘤数(株)	17.3	7.1
瘤的大小	较大	细小
瘤的颜色	大部粉红	大部白色
株高(厘米)	60.2	43.2
叶 色	深绿	浅绿
单株鲜重(克)	11.75	5.41

表 6 不同接种量对结瘤和产量的影响

项目 接种量	6月8日			6月17日			6月24日			7月2日	
	株高 (厘米)	叶数	瘤数	株高 (厘米)	叶数	瘤数	株高 (厘米)	叶数	瘤数	亩产鲜草 (斤)	增产率 (%)
1:10*	—	—	11.1	19.4	7.4	13.8	57.3	23.0	17.2	550	11.8
1:20	—	—	10.6	20.0	7.0	13.4	56.5	22.0	—	553	12.4
1:40	—	—	11.5	18.7	7.3	8.1	51.9	23.5	10.0	502	2.6
对照	—	—	5.7	16.8	6.6	9.0	46.2	20.5	—	492	—

\* 1:10 是指 1 斤菌剂拌 10 斤桔麻种子，余类推。

除在一般熟地试验接种效果外，湖北省农科所还在新平整的红黄壤上播种桔麻，发现接种根瘤菌 1 号的效果非常显著，观测的结果如表 5。

从表 5 看来，新平整的红黄壤播种桔麻，接种根瘤菌剂可能是一项重要的增产措施。

2. 接种量的影响：根瘤菌的接种量能影响结瘤效果和绿肥产量。用每克含活菌 4—5 亿的草炭菌剂，于 6 月 1 日在棉田做了不同接种量的对比试验，其结果如表 6。

从表 6 看出，若每克草炭菌剂含活菌数在 5 亿左右，1 斤菌剂拌 20 斤种子即可达到较好

的增产效果。

3. 不同接种方式的影响：我们曾用干种子和萌发种子(将桔麻种子加清水浸泡约 5 小时，滤去多余的水，过夜，种子胚根长出 0.5—0.8 厘米时拌入菌剂，立即播种)分别拌菌播种。

试验结果表明，用萌发种子拌菌，其结瘤数不但比对照显著增多，而且比干种子拌菌时也要多。其鲜草产量比对照增加 34.4%，虽然这一组试验未测干种子拌菌的产量，但同一地块其他组合的干种子拌菌比对照仅增产 11.8%。因此，用萌发种子拌菌是值得进一步研究的。