

大豆根瘤菌 005 菌株的选育及应用

中国农业科学院土壤肥料研究所固氮组

我国黄淮地区夏大豆种植面积很大,为了提高大豆根瘤菌接种效果,我们与山东菏泽地区微生物所协作,于1975年开始在当地进行高效菌株的选育工作。同年育出侵染力强、固氮活性高、有一定适应性的大豆根瘤菌005菌株。1977年开始在鲁西南及淮北地区推广使用,效果明显,现将菌株选育及大田应用效果简报如下。

材 料 与 方 法

1. 采瘤及分离: 1975年在山东巨野、菏泽、东明等十个县采集大豆根瘤47份,然后将根瘤分别研碎拌种大豆,做盆栽试验。结瘤后选择植株表现优良、结瘤性能较好的9个处理的根瘤进行分离。

2. 形态及生理生化特性鉴定: 常规方法。

3. 血清型鉴定: 用分离得到的005菌株作抗原与8种大豆根瘤菌抗血清[002(广西)、B₁₅(辽宁)、305(美国)、113-2(湖南)、121-6(湖北)、2028(美国)、2031(山东)、7501(江苏)血清型]分别进行凝集反应;以005菌株作抗原,用免疫家兔制备005抗血清,与13种抗原[002、B₁₅、305、113-2、121-6、2028、2031、7501、61A76(美国)、311B-123(美国)、311B-135(美国)、CB₁₈₀₉(美国)]分别进行凝集试验。

4. 侵染力测定: 用005、002、B₁₅、2028、113-2菌株分别制成菌剂,同时做5个菌株的混合菌剂。播种前用菌剂拌种大豆(品种:丰收黄),于大豆开花前采集根瘤,洗净后分别研磨制成根瘤悬液作为抗原,与005、002、B₁₅、2028、113-2抗血清分别进行凝集反应。计算发生凝集反应的根瘤占供试根瘤的比例,即得出接种回收率,以接种回收率表示根瘤菌的侵染力。

5. 菌株与大豆品种间亲和性的测定: 将005、B₁₅、2028、113-2、121-6根瘤菌等量混合,拌种大豆(滕县1号等10个品种),盆栽40天后采集根瘤。将根瘤分别研磨制成悬液作为抗原,分别与005、B₁₅、2028、113-2、121-6抗血清进行凝集反应,计算接种回收率,即可看出各菌株与不同大豆品种间的亲和性。

6. 固氮酶活性的测定: 根瘤固氮酶活性的测定:用005和2028菌剂拌种大豆(品种:滕县1号)做试管砂培试验。30天后剪去植株的上部分后,每个试管塞上反口橡皮塞,注入试管容积10%的乙炔气体,反应4小时后取样在气相色谱仪上测定还原乙烯量,然后将根瘤取出称根瘤鲜重,计算根瘤固氮酶活性;纯培养条件下固氮酶活性的测定:在YMSA斜面培养基上分别接种大豆根瘤菌005、2028菌株,5次重复。接种后用反口橡皮塞替换试管上的棉花塞,然后注入2毫升乙炔气体,置28℃恒温培养8天,取样在气相色谱仪上测定乙烯还原量计算固氮酶活性。

7. 田间接种效果测定: 常规方法。

结 果

1. 005菌株的形态及生理生化特性: 在肉汁培养基上37℃培养12—48小时均不生长,在BTB培养基上生长7—10天呈蓝色,刚果红培养基上不吸色,石蕊牛乳中反应30天呈蓝紫色,无乳清环。革兰氏反应阴性。

2. 005菌株的血清型: 以005菌株为抗原与8种已知的大豆根瘤菌抗血清进行凝集反应,结果表明均无凝集现象(表1)。

以13个不同血清型的大豆根瘤菌为抗原,与005抗血清进行凝集反应也未见发生凝集作用(表2)。

表 1 005 菌株与 9 种大豆根瘤菌抗血清凝集反应*

凝集反应 血清效价 抗血清	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	对 照
002	-	-	-	-	-	-	-	-	-
005	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-
B ₁₅	-	-	-	-	-	-	-	-	-
305	-	-	-	-	-	-	-	-	-
113-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
121-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2028	+	+	-	-	-	-	-	-	-
2031	+	-	-	-	-	-	-	-	-
7501	+	-	-	-	-	-	-	-	-

*“-”不凝集，“+”凝集，“++”凝集明显，“+++”凝集极明显。

表 2 005 抗血清与 13 种抗原的凝集作用

凝集反应 血清效价 抗 原	100	200	400	800	1600	3200	6400	12800	对 照
002	-	-	-	-	-	-	-	-	-
005	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	-
B ₁₅	-	-	-	-	-	-	-	-	-
305	-	-	-	-	-	-	-	-	-
113-2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
112-6	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2028	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2031	+++	+++	++	+	-	-	-	-	-
7501	-	-	-	-	-	-	-	-	-
61A ₁₆	-	-	-	-	-	-	-	-	-
311B123	-	-	-	-	-	-	-	-	-
311B135	-	-	-	-	-	-	-	-	-
CB1809	-	-	-	-	-	-	-	-	-

表 1、表 2 表明，005 菌株的抗血清是一个独立的大豆根瘤菌血清型，编号为 S₂₋₂ 血清型。

3. 侵染力：根瘤菌的侵染力受环境条件（土壤温度、湿度、pH、有机质等）的影响，为了测定 005 菌株在不同地区条件下的侵染力，我们在山东、湖北等地进行了田间接种回收率测定试验（表 3），大豆品种为丰收黄。

从表 3 中可看出，无论是单菌株拌种还是混合菌剂拌种，005 菌株的接种回收率均高于当前生产上使用的 2028 菌株。1977 年在湖北孝感测定回收率，005 为 38.0%，2028 仅为 8.9%。

1976—1978 年，用 005 和 2028 抗血清对

005 和 2028 菌株在不同地区 14 个大豆品种上进行了 27 次接种回收率测定，统计结果表明，005 菌株的接种回收率为 30%，2028 为 9.3%。这说明 005 菌株的侵染力强是该菌的显著特性。

4. 亲和性：根瘤菌的侵染力与寄主的品种特性有密切关系，根瘤菌通过本身具有的特异性细菌多糖，对寄主品种进行选择，而寄主也通过根毛的特异性蛋白体对根瘤菌进行选择。为了了解 005 菌株与大豆品种的亲和性，与目前生产上使用的 11 个大豆品种进行接种试验。回收率结果表明，005 菌株与南方及黄淮地区大豆品种有较强的亲和性（图 1）。

表 3 田间接种回收率测定结果

回收率(%) / 菌 剂 / 试验地点	005	2028	113-2	002	B ₁₅	混 合
山东滕县党村试验队	2	0	2	0	0	11.5*
山东滕县党村一队	16	0	10	1.6	0	30.7**

* 其中 005 占 9.6%, B₁₅ 占 1.9%

** 其中 005 占 21.1%, 2028 占 1.9%, 113-2 占 7.6%。

表 4 005 菌株的大田接种效果(菏泽)

菌 号	株 高 (厘米)	荚 数 (个)	粒 数 (个)	百粒重 (克)	亩 产 (斤)	增产斤数 (斤/亩)	增产率 (%)
对 照	68.4	41.3	82.3	12.88	278		
005	72.8	43.2	92.8	12.37	307	29	10.4
2028	72.5	42.8	82.9	12.80	288.3	10.3	3.7
113-2	74.6	40.3	79.1	13.13	305	27	9.7

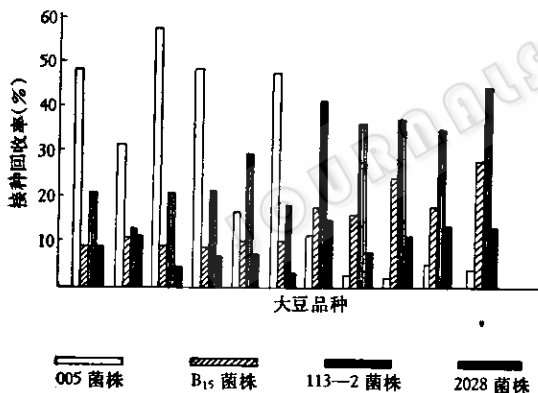


图 1 005 菌株与大豆品种亲和性比较

大豆品种(自左至右): 滕县一号、卫371、泰兴黑豆、1138-2、猴子毛、鄂豆二号(以上为南方品种)、吉林十号、吉林一号、早三粒、铁丰 18、78-4152

5. 固氮酶活性: 经测定表明, 005 菌株的根瘤固氮酶活性和纯培养条件下固氮酶活性均比 2028 菌株高。测定值为: 005 菌株的根瘤固氮酶活性为 866,064.5 毫微克分子乙烯/克鲜瘤/小时, 2028 为 66,963.5 毫微克分子乙烯/克

表 5 005 菌株的田间接种效果(沛县)

菌 号	单株粒数 (个)	单株粒重 (克)	百粒重 (克)	增 产	
				斤/亩	百分率 (%)
对 照	98	17.5	17.3		
005	108.1	19.5	19.9	45.3	12.9
2028	105.6	18.0	17.9	14.7	4.2
113-2	104.4	19.5	17.7	15.7	4.5

鲜瘤/小时, 纯培养物的固氮酶活性, 005 菌株为 85,713.6 毫微克分子乙烯/管/8 天, 2028 菌株为 50,178.2 毫微克分子乙烯/管/8 天。

6. 田间接种效果: 1977 年在菏泽、江苏沛县、铜山等地测定了 005 菌株的田间接种效果, 结果表明, 005 菌株的增产百分数为 10.4—12.9%, 每亩净增粮食 29—45 斤, 2028 菌株为 3.7—4.2%, 每亩净增粮食 10.3—14 斤。(表 4、5), 大田接种效果 005 比 2028 提高 6.7—8.7%。(表 4、5 均为多点测定平均数)。