

沙打旺根瘤菌 CA 8116 菌株特性及应用效果

宁国赞 李元芳 吴育英 黄岩玲 于代冠

(中国农业科学院土壤肥料研究所,北京)

沙打旺 (*Astragalus adsurens* Pall) 是一种适应性很强的豆科黄芪属多年生草本植物。近年来,在我国西北、华北及东北地区用飞机大面积播种沙打旺改良退化的草原和治理水土流失。据调查,飞机播种区沙打旺苗期结瘤率不高,有效根瘤不多。为了改善沙打旺的结瘤状况,必须人工接种优良沙打旺根瘤菌。但是前几年国内外还没有用于沙打旺大面积接种用的根瘤菌种。1981年我们筛选出沙打旺根瘤菌 CA8116 菌株。经3年室内外试验及大面积草场试验示范,充分证明 CA 8116 菌株是结瘤和固氮性能较好的沙打旺根瘤菌。

材 料 和 方 法

(一) 供试菌种

菌种名称	菌 号	菌种来源
紫云英根瘤菌	3144	美国
大豆根瘤菌	005	中国农科院土肥所
花生根瘤菌	009	中国农科院油料所
苜蓿根瘤菌	9	中国农科院土肥所
菜豆根瘤菌	27117	美国
三叶草根瘤菌	540-80	新西兰
沙打旺根瘤菌	CA 8116, CA 8212 CA 8213, CA 8222 CA 8227。	中国农科院土肥所

(二) 供试豆科植物种子

沙打旺、紫云英、大豆、花生、苜蓿、三叶草、豌豆、菜豆和百脉根种子。

(三) 菌种的分离与鉴定

1981年6月从北京西郊采集沙打旺根瘤20份。根瘤菌的分离、纯化、形态观察及生理生

化特性鉴定按常规方法。

(四) 菌株侵染力及固氮力的测定

用常规结瘤试验测定菌株侵染能力,乙炔还原法测定根瘤固氮酶活性,凯氏法测定植株含氮率。

(五) 菌株的血清型鉴定

用不同菌种与不同抗血清进行交叉凝集反应。

(六) 不同菌株接种效果比较

通过常规盆栽试验,测定植株干重、根重、根瘤固氮酶活性及植株含氮百分率。

(七) 菌株接种回收率测定

从草场接种区和非接种区采集根瘤,用荧光抗体技术测定 CA 8116 菌株的接种回收率。

(八) 草场接种效果试验

用 CA 8116 菌制剂(辽宁省兽医生物制品厂生产)进行接种效果试验,沙打旺种子用丸衣化方法接种根瘤菌。

1. 试验设计:

(1) 丸衣接种区: 种子拌根瘤菌后外包一层丸衣。

(2) 丸衣对照区: 种子不拌根瘤菌,仅包一层丸衣。

(3) 空白对照区: 种子不拌根瘤菌,也不包丸衣。

大面积试验在黑龙江、吉林、辽宁、内蒙古、山西、陕西、甘肃、河北、河南和北京等省、市、自治区的飞机播种区进行。1982—1984年接

农牧渔业部李毓堂、黄文惠和李惠兰同志对本工作大力协助。中国农科院土肥所胡济生、陈延伟同志给予指导,特此致谢。

CA8116 菌剂面积约 60 万亩。有些播种区还没有面积 30—50 亩的小区对比试验。

2. 观察项目及调查方法:

(1) 结瘤率: 在沙打旺幼苗第一片真叶展开后和出苗 60 天后两次调查植株结瘤率。每次调查都在 3 个播幅上选 3 个点 (共 9 个重复), 每个点取 10 株调查。

(2) 根瘤数量、根瘤重量、植株高度及植株重量在出苗 60 天后调查。取样方法同文献 [1]。

(3) 产草量: 牧草越冬前和第二年割草或放牧前测定产草量。在 3 个播幅上各取 3 个点, 每个点割草 $1m^2$, 称草重。

结果与讨论

从 20 份沙打旺根瘤中分离得到 13 株根瘤菌。经生理生化鉴定和盆栽对比试验, 筛选出结瘤、固氮性能较好的 CA 8116 菌株。

(一) CA8116 菌株的生理生化特性

沙打旺根瘤菌 CA 8116 菌株在酵母汁-甘露醇培养基平板上, $28^{\circ}C$ 培养 3—5 天后菌落直径 2—4mm, 菌落圆形、边缘整齐、微突起、光滑、半透明、乳白色; 菌体呈杆状、大小为 $0.5—0.6 \times 1.0—1.2 \mu m$; 革兰氏阴性; 在溴麝香草酚蓝 (B. T. B) 培养基上培养 7 天, 斜面变黄; 在肉汤培养基中不生长; 石蕊牛奶试验无乳清环, 培养一个月后颜色微蓝。生长代期为 5.1 小时, 介于快生型和慢生型菌之间。在含 1% NaCl 的酵母汁-甘露醇液体培养基中能生长, 在含 2% NaCl 的培养基中不生长。

(二) CA8116 菌株的结瘤及固氮能力

沙打旺种子用 CA8116 菌悬液拌种后播于无菌沙土中。待第一片真叶展开, 观察结瘤情况。出苗 45 天后测定根瘤固氮酶活性和植株含氮百分率 (见表 1)。

从表 1 结果看出, CA 8116 菌株能侵染沙打旺并引起结瘤, 具有共生固氮能力。植株的含氮百分率明显提高

(三) CA8116 菌株对不同寄主的侵染力

将不同接种族寄主 (大豆、花生、苜蓿、三叶

表 1 沙打旺根瘤菌 CA 8116 菌株的结瘤及固氮能力

处理	结瘤情况	根瘤固氮酶活性 NMOLC ₂ H ₄ / MG/HOUR	植株干重 (克/株)	植株含氮 (%)
拌种 CA 8116	根瘤着生在主 根略带粉红色	3.33	0.27	2.49
对照	无根瘤	—	0.13	1.55

表 2 CA 8116 菌株对不同寄主的侵染力

植物 名称	大 豆	花 生	苜 蓿	三 叶 草	豌 豆	菜 豆	百 脉 根	紫 云 英	沙 打 旺	沙打旺 (不 接种)
结瘤 情况	—	—	—	—	—	—	—	+	+	

“+”表示结瘤 “-”表示不结瘤

草、豌豆、菜豆、百脉根、紫云英和沙打旺) 的种子, 用 CA 8116 菌悬液拌种后播种, 温室 $25^{\circ}C$ 培养 22 天后观察结瘤情况 (表 2)。

结果表明, 沙打旺根瘤菌 CA 8116 不能使大豆、花生、苜蓿、三叶草、豌豆、菜豆和百脉根结瘤, 但能使部份紫云英 (江苏淮阴紫云英) 结瘤。

(四) CA 8116 菌株的抗血清特性

用 CA 8116 菌悬液注射兔子, 得到抗血清。再用 CA 8116 抗血清与不同接种族代表菌进行交叉凝集反应 (表 3)。

表 3 CA 8116 抗血清与不同接种族菌株凝集结果

菌株	沙打旺 CA 8116	紫云 英 3144	苜蓿 9	三叶草 54080	豌豆 5017	菜豆 27117	大豆 005	羽扇豆 137	豇豆 009
凝集 价	1600	—	—	—	—	—	—	—	—

“—”不发生凝集

从凝集结果看, CA 8116 抗血清仅与沙打旺根瘤菌发生凝集反应。对紫云英、苜蓿、三叶草、豌豆、菜豆、大豆、羽扇豆和豇豆等供试根瘤菌不发生凝集反应。说明沙打旺根瘤菌 CA 8116 菌株与上述接种族菌株在抗血清特性上有明显不同, 属独立的血清型。定名为 CA 8116 血清型。

(五) CA 8116 菌株的接种效果

通过盆栽接种试验, 对比了 CA 8116 与新菌株 CA 8212、CA 8213、CA 8222 和 CA 8227

表4 沙打旺根瘤菌不同菌株接种效果对比试验

项目	植株干重	植株含氮	单株蛋白质含量	根瘤鲜重	根瘤固氮酶活性
菌号	g/30株	(%)	(g)	(g/30株)	(nM 乙炔/株/小时)
CA 8116	0.73	3.13	0.48	0.17	207.20
CA 8212	0.62	2.56	0.33	0.09	117.93
CA 8213	0.58	3.05	0.39	0.10	155.04
CA 8222	0.66	3.04	0.42	0.13	150.47
CA 8227	0.60	3.05	0.38	0.11	—
CK	0.38	2.21	0.17	0	—

在结瘤及固氮性能上的差异,结果见表4。

从表4结果看出,接种 CA8212、CA8213、CA8222 或 CA8227 菌株的沙打旺,无论在植株干重、单株蛋白质含量、单株根瘤鲜重或根瘤固氮酶活性等方面都低于用 CA 8116 菌株接种的处理。说明 CA 8116 菌株是结瘤和固氮能力较强的优良菌株。

(六) CA8116 菌株的草场接种回收率

从内蒙古飞机播种沙打旺试验区(该区一部份接种 CA 8116 菌剂为接种区,另一部份不接根瘤菌为对照区)采集沙打旺根瘤,用荧光抗体技术测定 CA 8116 菌株的草场接种回收率。结果表明,CA 8116 菌株在试验区的接种回收率是 34.8%(大豆根瘤菌、花生根瘤菌的田间接种回收率一般是 10—20%),说明 CA 8116 菌株对土著的沙打旺根瘤菌有较强的竞争能力。

(七) CA8116 菌株的草场接种效果

1982—1984 年在内蒙古等地区进行的大面积 CA 8116 菌剂接种效果试验。据 7 个省 13 个点调查表明,效果明显(表 5、6)。

从表 5、6 可以看出,接种 CA 8116 菌株可以使沙打旺幼苗结瘤率提高 31—53%;单株根瘤数量增加 100—128%;根瘤重量增加 25—141%;幼苗生长量增加 71—91%;播种次年第一次割草,接菌区产草量比对照区提高 31.5—55.7%,每亩草地每年增加干草 131—185 斤。每亩可增加氮素 4—5.6 斤。

表6 接种 CA8116 菌对沙打旺产草量的影响 (次年第一次割草)

试验地点	时间	重复次数	干草产量(斤/亩)				
			空白对照	丸衣对照	丸衣接菌	接菌比空白对照增加(%)	接菌比丸衣对照增加(%)
河北	1982	10	79	/	185	134	/
陕西	1982	10	675	/	743	13	/
河北	1983	9	108	267	303	180	33
陕西	1983	9	233	/	389	67	/
陕西	1983	9	389	/	620	59	/
山西	1983	9	133	120	190	43	58
内蒙古	1983	9	150	/	280	87	/
黑龙江	1983	9	115	157	220	91	40
平均			235		366	55.7	
				181	238		31.5

表5 CA 8116 菌株对沙打旺苗期结瘤及生长的影响

调查项目	结瘤率 (%)	根瘤数量 (个/株)	根瘤重量 (g/10株)	幼苗生长量 (g/10株)
空白对照	55	6	0.31	2
丸衣对照	64	7	0.60	2.23
丸衣接菌	84	16	0.75	3.83
接菌比空白对照增加(%)	53	100	141	91
接菌比丸衣对照增加(%)	31	128	25	71

参 考 文 献

- [1] J. M. Vincent: 《根瘤菌实用研究手册》,上海植物生理研究所译,上海人民出版社,上海,14—47 页,1974 年。
- [2] V. B. D. Skerman: 《WORLD CATALOGUE OF RHIZOBIUM COLLECTIONS》, Issued by the UNESCO/UNDP Supported. World Data Center for Microorganisms, 1983.
- [3] 苏加格等: 《优良牧草栽培技术》,农业出版社,北京,153—156 页,1983 年。