

花生接种根瘤菌共生固氮酶活性的研究

曾广勤 牛福文 赵树斌

(河北省科学院微生物研究所,保定)

1983—1984年,分别利用生茬土和重茬土进行了盆栽花生接种根瘤菌共生固氮酶活性的研究,试验结果表明,花生接种 8B6, 97-1 两株根瘤菌,显著提高结瘤数量,瘤重和固氮酶活性,提高植株干物重和含氮量。共生固氮酶活性高峰期在花针中期至结荚中期,历时 60—70 天,活性变化呈“双驼峰形”。这一变化情况证实了接种效果,为进一步提高接种技术提供了依据。

材料和方法

(一) 材料

1. 菌种: 根瘤菌 *Rhizobium* sp. 8B6, 中国农科院土肥所提供; *Rhizobium* sp. 97-1, 中国农科院油料所提供。

2. 花生品种: 83 年伏花生, 84 年天麻 3 号, 本所提供。

3. 土壤: 取自本所试验地, 质地为壤土, 掺 20% 河沙, 83 年生茬土, 播种前 N、P、K (速效) 含量分别为 0.057%、0.071%、0.010%; 84 年重茬土, N、P、K (速效) 含量分别为 0.075%、0.078%、0.010%。

4. 肥料: 1983 年未施肥, 1984 年每盆施三料复合肥(美国产。N、P、K 各 15%) 1.5 克, 折合每亩 24 斤。

5. 栽培盆: 30×35cm 白瓷盆。

(二) 方法

1. 菌液培养: 8B6, 97-1 两菌株单独接种在 YM 液体培养基中, 28℃ 摇床培养 72 小时, 含菌量达 35 亿/ml 左右。用时 8B6 和 97-1 两菌液以 1:1 混合。

2. 接种: 催芽到露白的花生种子, 用混和

菌液浸泡 10 分钟, 浸后立即播种。

3. 播种期: 1983 年 5 月 6 日, 1984 年 5 月 12 日, 每盆 3 粒, 覆土 3—4cm, 以不接菌为对照, 3 次重复, 每盆 3 株为一次重复。1983 年生长 124 天收获, 1984 年 132 天收获。

4. 根瘤固氮酶活性: 用乙炔还原法, G102 型气相色谱测定, 以 $nMC_2H_4/株/时$ 表示。

5. 植株含氮量: 凯氏定氮法测定, 以克氮/株表示。

6. 取样时间和次数: 幼苗期(播后 33 天) 开始取样, 每隔 8 天取一次, 1983 年取 8 次, 1984 年取 11 次。

结果与讨论

播种后 15 天出齐苗, 33 天接菌植株现早期瘤^[1], 36 天开花。直观植株地上部, 接菌的花针期, 表现出生长健壮, 枝叶茂盛, 叶色深绿; 不接菌的对照株明显矮小黄瘦。此差异可保持到收获期。两年的试验结果均一致。

(一) 接菌对结瘤的影响

苗期, 花针期, 结荚期和饱果成熟期的单株结瘤三次重复的平均值见表 1。

表 1 数据说明, 不论生茬土或重茬土, 接菌株比对照株结瘤早, 结瘤多, 根瘤重量高。1983 年接菌的播种后 33 天(花期)就现早期瘤, 对照的直到花针期末结早期瘤只结 1.92 个侧根瘤; 84 年重茬土, 虽然结瘤数量普遍增加, 但对照株到花针期还没结主根瘤, 也只有 1.55 个侧根瘤。两年中接菌植株比对照早结瘤 30—45 天; 接菌的苗期平均单株结瘤数是对照的 15 倍, 花针期是 22—24 倍, 结荚期和饱果成熟期是 4—7

倍,以花针期效果最明显;接菌株单株瘤重是对照的2—3倍,而且50%的根瘤呈粉红色,有豆血红蛋白,对照的根瘤多数是黄白色小瘤,说明接菌的根瘤固氮酶活性好于对照。

表1 接菌对根瘤数和瘤重的影响

处 理		生育期				备注
		苗期	花针期	结荚期	饱果成熟期	
根瘤数(个)	1983年					
	接菌	21.28	42.35	71.10	82.33	生茬土
	对照	1.42	1.92	10.77	10.67	
	1984年					
接菌	—	38.02	109.64	155.31	重茬土	
对照	—	1.55	19.09	34.11		
根瘤重(g)	1984年					
	接菌	—	0.423	0.925	1.003	重茬土
对照	—	称不出	0.288	0.483		

注: 1983年对照结瘤甚少,多数称不出来,故未统计。

(二) 对根瘤固氮酶活性影响

苏联 Б. Ф. Сабыков 等报道大豆根瘤数量和重量与固氮酶活性呈高度正相关^[2], 我们测算的花生根瘤数量和重量与固氮酶活性呈中度正相关 ($r_{\text{瘤数}}=0.348>0.33$, $r_{\text{重量}}=0.624<0.66$), 都说明瘤多瘤重能提高固氮酶活性。定期取离体根瘤用乙炔还原法测定固氮酶活性, 并以酶活性为纵坐标, 生育期为横坐标, 绘制共生固氮酶活性变化曲线如图1。

从图1看出两年测得的活性变化趋势一致, 接菌的花生全生育期有两个活性高峰, 呈

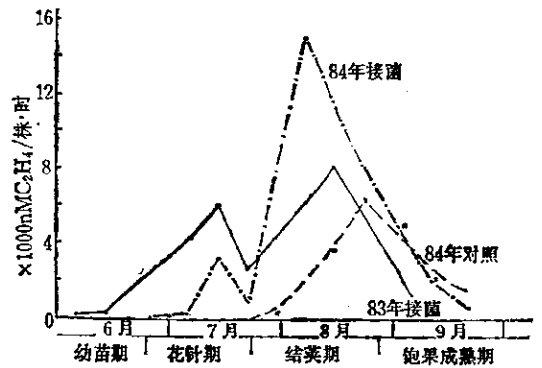


图1 生育期根瘤固氮酶活性变化曲线

“双驼峰形”。第一个高峰在花针中期(播后62—68天), 第二个在结荚中期(播后85—97天), 第二个峰高于第一个峰。花针期与结荚期的过渡时期, 因早期瘤有一部分干瘪, 活性降低; 晚期瘤活性尚低, 故出现了暂时的活性低落。结荚中期有大量的晚期瘤形成, 活性达到最高峰。对照全生育期只有一个活性高峰, 出现在结荚后期, 比接菌的第二个高峰还晚16天。接菌的200nM C₂H₄/株/时以上的活性高峰期有60—70天, 对照只有33天。接菌的从苗期就能固定氮素, 供植株生长需要, 为提高产量打下了基础。

(三) 对植株干物重和含氮量的影响

接菌提高结瘤能力和固氮活性的效果直接影响着植株地上部干物质和氮量的积累。定期取样测定单株平均干物重见表2。从表2看出, 接菌和对照的植株地上部干物重均随生长期延

表2 接菌对单株干物重的影响(单位: 克/株)

取样日期		1983(日/月)								1984(日/月)										
		5/6	13/6	22/6	6/7	14/7	21/7	12/8	5/9	25/6	5/7	13/7	21/7	29/7	6/8	14/8	22/8	3/9	11/9	19/9
各生育期的处理	苗期																			
	接种	1.43	2.21																	
	对照	1.39	2.95																	
花针期	接种			4.23	8.86	9.07	12.87			2.69	5.03	7.80	7.03							
	对照			3.43	7.84	9.08	10.92			3.60	5.05	6.50	6.22							
结荚期	接种							25.07						13.81	16.80	13.80	20.64			
	对照							17.66						8.42	9.88	8.40	10.49			
饱果成熟期	接种								36.80										27.47	37.30
	对照								17.62										12.58	14.20

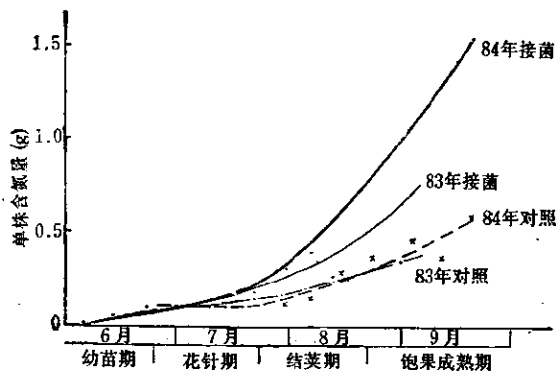


图2 地上部植株含氮量变化曲线

长而增加,而接菌的增加量明显高于对照。1984年结荚期和饱果成熟期接菌的比对照分别高6.97克/株和19.00克/株,提高74.91%和141.90%。

凯氏定氮法测得植株百分含氮量。据植株干物重和百分含氮量计算出单株含氮量,用克/株表示。以单株含氮量为纵坐标,生育期为横坐标绘制全生育期单株含氮量变化曲线如图2。从图2看出两年单株含氮量的变化趋势是一致的。苗期和花期,接菌和对照植株含氮量无明显差异;花针中期出现第一个活性高峰后,接菌的比对照高0.036克/株(两年平均),提高30.5%;结荚期(第二个活性高峰期)接菌比对照

高0.258克/株,提高104.03%;成熟期高0.592克/株,提高137.67%。说明接菌能提高共生固氮量。根据收获时取样测定,接菌株的单株含氮量减去对照株的含氮量即多固定的氮量,它占接菌株氮量的49—64%。就是说接菌株有一半左右的氮是人工接上去的根瘤菌所提供的,因此,构成了花生增产。

讨 论

花生接种根瘤菌,播后33天可见根瘤,并表现出共生固氮酶活性。单株结瘤量比对照提高3.6—23倍,结瘤期提前30—45天;根瘤重量高1—2倍;根瘤数量和重量与固氮酶活性呈中度正相关,接菌植株全生育期有两个活性高峰,呈“双驼峰形”,2000 nMCO₂H₄/株/时以上的活性高峰期60—70天,比对照长27—37天,延长一倍左右;植株干物重和单株含氮量分别比对照高141.90%和137.67%。人工接种的根瘤菌所提供的氮量占接菌株本身总氮量的49—64%。由此证明花生接种高效根瘤菌有明显的增产作用。

参 考 文 献

- [1] Renc, M.: Appl. Environ. Microbiol., 46(4): 870—873, 1983.
- [2] Б. Ф. Сабыков 等: 应用微生物, 2: 52—53, 1985.