

接种不同大豆根瘤菌株的根瘤放氢和吸氢的研究

樊蕙 葛诚 徐玲玫

(中国农业科学院土壤肥料研究所,北京)

摘要 本实验测定和比较了七株大豆根瘤菌与三个大豆品种共生时的放氢和固氮效率。证明了大多数菌株接种不同寄主,其根瘤的放氢、吸氢和固氮效率的差异均明显。但 USDA110 在三个品种上所结根瘤不放氢或极少放氢;它的固氮量最高。根瘤的能量利用率与植株的氮积累及产量的相关性尚需进一步验证。

关键词 慢生型大豆根瘤菌;放氢;吸氢

参加本实验工作的还有吴玉兰、陈月英。

近年来 H. J. Evans 等人对大量豆科植物的调查表明,植物供给固氮酶的能量因放氢损失30—60%与此同时发现了一些豆科植物已演化出从固氮酶反应中重新利用氢的机制^[1]。即在根瘤菌细胞内含有合成氢酶的遗传信息,该氢酶只能催化氢的氧化,为不可逆反应。具有氢酶活性的根瘤菌接种寄主植物后,有可能使固氮酶反应中产生的氢再循环,并在电子转移系统中被利用。这对减少固氮过程的能量损失无疑是有利的。此外氢酶还具有维持固氮酶活性和保持固氮酶的作用。

为调查在实验室及田间常用的大豆根瘤菌接种形成的根瘤放氢和吸氢的能力,我们选择了七株国内外大豆根瘤菌进行试验。比较了不同菌株之间的差异及与寄主大豆品种之间的关系。

材料和方 法

(一) 供试菌株和大豆寄主

我国慢生型大豆根瘤菌株 (*Bradyrhizobium japonicum*) 005, B₁₅, 113-2, 2028 及从美国引进的 USDA110, USDA122, USDA123 以上

菌株均为我组保存。

供试植物有四个大豆品种 (*Glycine max*) 铁丰 8 号,铁丰 18 号(均为东北大豆品种),卫 5₃₄ (黄淮地区品种),小白眉 (华北夏大豆品种)。

(二) 盆栽实验

将备好的各大豆根瘤菌菌株制成菌悬液,分别接种于不同品种的大豆(大豆种子预先用 75% 酒精消毒 3—5 分钟)。采用无菌沙培养。于植物生长的初花期前后取样。采样前使植株至少接受 4 小时的自然光照,之后截取植株地上部和地下部分别进行测定。

(三) 放氢量测定

参照黎跃辉等人介绍的方法^[2],相对效率的计算公式引自 K. R. Schubert 等人的方法^[4]。

(四) 吸氢活性的测定

按(三)介绍的方法取样后,每瓶注入 2% 高纯氢代替瓶中 2% 的空气。立即测定反应时间为 0 时瓶内氢气的量。然后在 28℃ 下保温 2、4、6、8 小时后,分别测定瓶内氢含量的变化。结果用吸 H₂μM/克鲜瘤·时表示。固氮效率率计算按下式:

固氮效率

表 1 不同菌株接种春大豆(铁丰 18 号)的固氮效率和相对效率比较*

供试菌株	植株全氮量 (mg)	固氮效率 (%)	根瘤的固 N 酶活性		相对效率
			C ₂ H ₄ μM/克鲜瘤·时	放氢量 H ₂ μM/克鲜瘤·时	
USDA110	15.38 _a	58.22	3.09	0.31	0.90
USDA122	13.62 _b	52.84	4.34	0.07	0.99
113-2	13.55 _{bc}	52.58	2.53	0.16	0.99
USDA123	13.01 _{bc}	50.61	3.11	0.02	0.99
B ₁₅	14.39 _{ab}	55.35	3.16	1.88	0.41
2028	13.34 _{bc}	51.85	1.27	0.80	0.37
005	9.95 _d	35.39	2.29	0.65	0.72
CK	6.43 _e	0	—	—	—

* 表中数据为 5 次重复的平均值,数字右侧的英文字母相同者表示差异不显著 ($\alpha = 0.05$)

表 2 不同菌株接种夏大豆(小白眉)的固氮效率和相对效率比较*

供试菌株	植株干重 (g)	植株全 N 量 (mg)	固氮效率 (%)	根瘤的固 N 酶活性		相对效率
				C ₂ H ₄ μM/克鲜瘤·时	放氢量 H ₂ μM/克鲜瘤·时	
USDA110	2.42 _a	44.12 _a	57.84	14.42	2.23	0.85
B ₁₅	2.36 _b	43.08 _a	56.82	8.46	2.22	0.73
005	2.33 _b	36.09 _b	48.46	10.89	1.74	0.84
CK	1.59 _c	18.60 _c	—	—	—	—

* 表中数据为 6 次重复的平均值。

$$\frac{\text{全N量(接种)} - \text{全N量(对照)}}{\text{全N量(接种)}} \times 100\%$$

试验结果

(一) 不同菌株接种同一寄主的固氮和放氢 (表 1, 2)

从表 1 结果看出 USDA110, USDA123, USDA122 和 113-2 四株菌在铁丰 18 号上所结根瘤几乎不放氢或极少放氢, 相对效率在 0.9—0.99 之间。其植株的全氮量以 USDA110 居首位。005 接种的根瘤全氮量低, 相对效率为 0.72, 植株的固氮效率亦最低。然而放氢最多的 B₅, 虽然相对效率只有 0.41, 但植株全氮量居第 2 位。

表 2 比较了三个菌株接种夏大豆(小白眉)的测定结果。USDA110 相对效率高, 固氮效率亦最高。B₅ 在该品种上放氢量明显减少, 相对效率较在其它品种上均高。005 虽放氢量少, 但固氮效率最低。这与表 1 的实验结果基本一致。

(二) 菌株接种不同寄主时结根瘤的相对效率 (图 1)

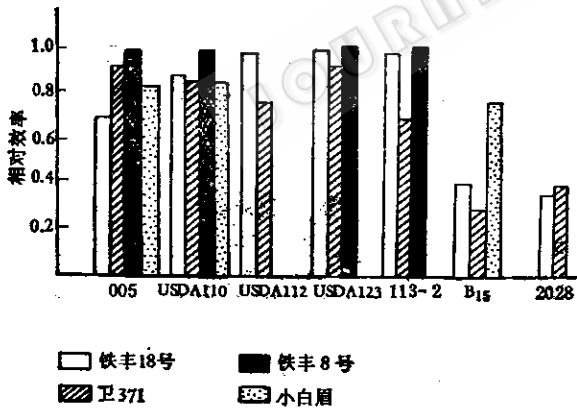


图 1 各菌株接种不同品种的寄主结根瘤的相对效率

从图 1 不仅看出不同菌株氢酶活性的存在与否以及酶活性大小有无差别外; 而且还说明了寄主品种的差异对氢酶氧化氢作用的影响不能忽视。例如 005 在铁丰 18 号上所结根瘤的相对效率只有 0.72, 其固氮量亦低。但它与卫₃₇₁ 共生时, 根瘤几乎不放氢; 其固氮量也高。田间

试验表明, 用 005 等三个菌株接种山东大豆和用 005 等八个菌株接种江苏的大豆品种, 005 均表现出固氮能力强, 增产效果高等优点^[2]。

(三) 不同菌株接种的根瘤吸氢速率的差异 (图 2)

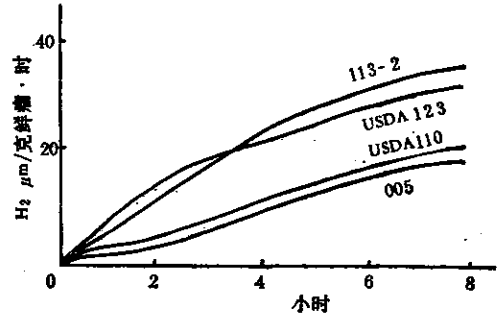


图 2 不同菌株接种的根瘤吸氢速率比较

图 2 表示 113-2, USDA123, USDA110 和 005 四株大豆根瘤菌接种在铁丰 8 号上所结根瘤的吸氢速率。随温育时间的延长而逐渐增加。其中 113-2 和 USDA 123 的吸氢速率最高。这也说明四株菌都不放氢; 具有氢酶活性。

讨 论

1. 近几年 H. J. Evans 等从节能固氮的目的出发对根瘤菌在共生固氮中放氢耗能反应和氢酶氧化氢的机制进行了深入地研究。目前对氢酶的遗传工程的研究已取得了一定的进展^[5,6]。通过一系列试验证明 Hup⁺ (吸氢菌株) 较 Hup⁻ (不吸氢菌株) 在植株干重、全氮量以及种子重量和蛋白含量上都有不同程度的提高^[7,8]。说明节能必然增加固氮。但从我们近几年试验说明, 并非所有的试验菌株都能取得规律性一致的结果。其中只有 USDA110 无论在本次试验中, 还是在 H. J. Evans 的工作中, 都证明了该菌株在我国大豆品种 (铁丰 8 号、18 号和卫₃₇₁ 等) 或美国的大豆品种 (“Wilkin” “Anoka” 和 “Amsoy”) 上接种, 根瘤的氢损失极少或不损失, 植物固氮量高。K. R. Schubert 等人用 (Hup⁺) 接种 “Anoka” 比用 USDA 31 (Hup⁻) 接种同一品种, 其植株的干重、含 N% 和全氮量分别提高 24%、7% 和 31%^[7]。说明 USDA110 是对不同的大豆品种

适应性强的优良菌株之一。

2. 试验还表明大多数菌株对品种的选择性较强,同一菌株接种不同寄主其放氢、吸氢及固氮效率有差异。

3. H. J. Evans 等曾经解释了一些试验之所以不能表现 Hup⁺ 菌株的高效,是由于没有利用合适的菌株和很好的重复试验,或没有使植株延续生长到成熟期再进行测定^[6]。我们试验中的某些菌株表现的不一致性是否由于以上原因所致,尚待实践中证明。

4. 氢酶的合成和表达的影响因素是复杂的,植株及根瘤的表现是诸因素综合作用的结果。其中环境因子也有很大影响。Evans 认为植株生长的初期损失占 60%;随生长时间的延长氢损失减少,开花期减少至 30%。图 1 中卫₃₇₁

的相对效率普遍较低可能与株龄短有关。此外,实验条件的控制和测定方法对结果的影响也是值得考虑的。

参 考 文 献

- [1] 樊蕙: 中国油料, 1: 75—77, 1984。
- [2] 黎耀辉: 微生物学报, 20(2): 185—190, 1980。
- [3] 黄隆广等: 江苏农业科学, 7: 25, 1985。
- [4] Schubert, K. R. et al.: *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 73 (4): 1207—1211, 1976。
- [5] Evans, H. J.: Program and Abstracts World Soybean research conference-III, 044, 1984。
- [6] Evans, H. J. et al.: *Current Perspectives in Nitrogen Fixation*, 1981。
- [7] Schubert, K. R. et al.: *Plant Physiol*, 61: 398—401, 1978。
- [8] Albrecht, S. L. et al.: *Science*, 203 (23): 1255—1257, 1979。