

# 影响三叶草根瘤菌生存条件的研究和分析

曹景勤

(中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

**摘要** 对影响三叶草根瘤菌生存的土壤酸度、含水量、养分和作物的根际效应等进行了研究和分析。

**关键词** 根瘤菌, 根际效应, 生存条件

根瘤菌接种剂进入土壤后, 接种菌能否生存, 存活时间多长, 是一个极其重要和复杂的问题, 它涉及到根瘤菌生态学和接种菌的多种抗逆性。本文就土壤酸度、含水量、养分和作物的根际效应等, 对三叶草根瘤菌生存的影响进行了研究和分析。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试菌株

绛三叶草菌株38、47、402、13-2、Wu95和60。耐药标记菌株S-13-2。白三叶草菌株86-7、86-75。以上菌株除Wu95由澳大利亚引进外, 其余为我所共生固氮组提供。

### 1.2 培养基

采用葡萄糖-酵母膏-琼脂(YMA)培养基。从土壤中分离根瘤菌时, 每升培养基需加50mg结晶紫。

### 1.3 菌株耐酸能力测定

46个菌株首先接种在pH5.2水土比为10:1的灭菌三角瓶中, 室温培养, 并经常摇动, 60天后用稀释平板法在YMA培养基上进行分离, 从中选出耐酸能力比较好的6株, 分别接种在pH4.4和6.4; 水土比为10:1的溶液中培养, 定期测定菌数变化。

### 1.4 土壤水分含量对根瘤菌数量的影响

在1250g pH5.2红壤中, 接种耐药标记菌株S-13-2, 每盆菌数约为30亿个, 种植绛三叶草(*Trifolium incarnatum* L) 试验收获后, 取盆栽土分别保持淹水(含水量70%)、湿润(含水量25%)和风干土(含水量10%)三个处理,

一年后, 测定不同含水量对根瘤菌存活数量的影响, 然后种植绛三叶草, 生长到70天时, 检查结瘤数并进行回收率测定。耐药标记菌株的分离筛选和培养按文献[1]方法进行。

### 1.5 土壤养分磷素含量对根瘤菌存活数量的影响

试验在江西省鹰潭市中国科学院红壤生态站第四纪红色粘土上进行, 土壤有机质含量6g/kg, 全氮约0.4g/kg, 速效磷4mg/kg, pH5.0。

试验处理:(1)对照绛三叶草接菌。(2)对照加钙镁磷肥20kg/亩。(3)对照白三叶草接菌。(4)对照加钙镁磷肥20kg/亩。以上处理每亩接种混合菌剂200g, 每克菌剂含菌数约为 $2 \times 10^8$ 个。生长80天后, 采样分析结瘤数。

### 1.6 作物根际对根瘤菌存活效应的影响

试验在( $\phi$ 2.8 $\times$ 10.7cm)塑料管中进行, 每管装20g风干红壤土, 加水至湿润后播种绛三叶草、紫云英、小麦的种子各2—3粒, 出苗后每管保持一苗, 并设一不种作物为对照, 接种等量的耐药标记菌株S-13-2, 定期用稀释平板法在含500 $\mu$ g/ml硫酸链霉素YMA平板上测定接种菌数量变化。

## 2 结果和讨论

### 2.1 土壤酸度对根瘤菌数量的影响

三叶草根瘤菌虽然具有一定耐酸能力, 但是当土壤pH低于4.5时, 就很难在土壤中存

活,我们测定了46个菌株,在红壤中(pH5.2)的耐酸情况,有30株因不能耐酸而死亡,占65%。从中选出6个优良菌株,同时测定在pH4.4和6.4同一土壤中的存活情况,其中有38和47两个菌株在pH4.4的土壤中,经60天后存活数量急剧下降而死亡。另外4个菌株402、13-2、Wu95和60在不同pH值土壤中存活良好,根瘤菌数量多。由此说明,根瘤菌对土壤酸度是敏感的,不同菌株对酸度反应不同,即使同一种内的不同菌株,耐酸能力也有差异。可见,土壤酸度是影响根瘤菌生存的重要因素。

## 2.2 土壤含水量对根瘤菌数量的影响

据报道,根瘤菌能在干旱土壤中存活很长时间,苜蓿根瘤菌在风干土壤中贮存30—45年,三叶草及豌豆根瘤菌贮存10—14年,未发现贮存时间和细菌数量的相关性<sup>[1]</sup>。然而,本试验结果与文献报道不完全一致。

取耕作红壤接种耐药标记菌株S-13-2,种植绛三叶草,待收获后,取菌数一致的盆栽土壤,分别保持淹水、湿润和风干土3个处理,一年后测其结果(表1)。

表1 土壤含水量对根瘤菌存活的影响

处 理	根瘤菌数 (个/g 干土)	根瘤数 (个/株)	回收率测定		
			测定瘤数	耐药平板出现瘤数	回收率 (%)
淹水土 (含水量70%)	1000	67	94	85	90.4
湿润土 (含水量25%)	300	65	63	59	93.7
风干土 (含水量10%)	0	29	57	56	98.2

表2 磷肥对根瘤菌存活结瘤的影响

处 理	作 物	株 高 (cm)	分 枝 (个/株)	瘤 数		植株干物重	
				(个/株)	%	g/100株	%
接菌	绛三叶草	13.8	1.5	31.0	—	21.84	—
接菌+磷	绛三叶草	19.2	2.4	65.9	112.6	34.18	56.5
接菌	白三叶草	3.2	1.5	10.2	—	3.75	—
接菌+磷	白三叶草	3.4	2.7	19.6	92.2	7.86	109.6

表1数据说明,在耕作红壤中,根瘤菌的存活数量,随着土壤含水量的减少而递减,淹水土每克土有1000个菌,而风干土已测不出菌数,表明风干土不利根瘤菌存活。种植绛三叶草后,测其结果,淹水土和湿润土平均每株结瘤65个左右,风干土只有29个,经回收率测定,证明植株所结根瘤,系由接种菌所致,同时说明水分含量可直接影响寄主作物第二年结瘤,由此看来,施用根瘤菌剂后,保持湿润状态,土壤中有足够的接种菌存在,这样,就可保证寄主作物第二年结出较多的根瘤数。

## 2.3 土壤磷素含量对根瘤菌数量的影响

豆科植物和根瘤菌都需要较高的磷素营养,土壤中有有效磷含量高,对根瘤菌在豆科植物根际的存活、繁殖、入侵结瘤以及根瘤菌的固氮活性都有促进作用。试验和实践证明,种植豆科作物施用磷肥常有显著的增产效果<sup>[3]</sup>。

表2数据说明,绛三叶草接菌并施磷处理比只接菌处理,平均每株增加34.9个瘤,结瘤率提高112.6%,白三叶草施磷比不施磷每株增加9.4个瘤,提高92.2%。结果还说明,施用磷肥可显著增加植株干物重。

## 2.4 作物的根际效应对根瘤菌数量的影响

由于作物根系分泌物的刺激作用,根瘤菌

能在作物根际发育成很大数量,不管是寄主豆科作物,非寄主豆科作物或非豆科作物都有很明显的根际效应,我们测定了豆科作物绛三叶草

根瘤菌在寄主植物绛三叶草,非寄主豆科植物紫云英和非豆科作物小麦根际数量,以不种作物的土壤为对照,结果见表3。

表3 不同作物根际效应对根瘤菌存活数量的影响 ( $10^3$ 个/g 干土)

作物	1天	7天		30天		60天	
		数量	占接种量%	数量	占接种量%	数量	占接种量%
对照	5.2	1.4	26.9	0.3	5.8	0	0
绛三叶草	5.2	27.2	523.1	28.9	555.8	10.7	205.8
紫云英	5.2	-	-	26.1	501.9	6.6	126.9
小麦	5.2	8.3	159.6	14.7	282.7	1.4	26.9

“-”未测

表3数据说明,接菌后30天,绛三叶草根瘤菌在寄主作物绛三叶草根际菌数高达原接种量的555.8%,其次为非寄主豆科作物紫云英501.9%,非豆科作物小麦也增至282.7%,而不种作物的对照降至原来的5.8%。60天后,各处理菌数明显少于30天,但寄主作物根际仍有原接种量的205.8%,非寄主豆科作物紫云英为126.9%,非豆科作物小麦只剩原接种量的26.9%,不种作物的对照区已测不出菌数。上述结果说明,绛三叶草根瘤菌接种于寄主作物绛三叶草,它的根际效应大于非寄主豆科作物紫云英,而紫云英的根际效应又大于非豆科作物小麦,不种作物不利于根瘤菌在土壤中存活,所

以,作物的根际效应是促进根瘤菌在土壤中存活、繁殖的另一个重要因素。

总之,影响根瘤菌在土壤中生存条件有很多因素,除本文提到的因素外,还有土壤质地和结构性,有机质含量,土壤中生物对根瘤菌的吞食拮抗和竞争,以及高温、干旱、盐碱、高酸度、铝、锰等的毒害,这些因素都有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] 曹景勤. 土壤, 1988, 2: 75-78.
- [2] 陈文新. 微生物学通报, 1986, 13(4): 180.
- [3] 曹景勤. 中国草地, 1993, 1: 52-54.

## THE EFFECT OF SOIL FACTORS ON THE SURVIVAL OF RHIZOBIUM TRIFOLI

Cao Jinqin

(Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing 210008)

**Abstract** This paper focuses on the effect of soil factors such as soil acidity, Water contents, Nutrients and the rhizosphere effect of crops on the survival of Rhizobium Trifoli.

**Key words** Rhizobium Trifoli, Rhizosphere Effect, Surviving Conditions