

苕子根瘤菌优良菌株的筛选

中国科学院南京土壤研究所根瘤菌组

豆科植物与根瘤菌之间的共生固氮作用,在整个生物固氮作用中占极其重要的位置,据估计,在地球表面每年由空气中固定的氮素约有一亿吨,其中通过与豆科植物共生的根瘤菌所固定的氮素约有5500万吨。因此,根瘤菌的选育和应用在农业生产中具有重要的实践意义。解放以后,在党的领导下,在毛主席革命路线的指引下,根瘤菌菌肥工作得到了迅速的发展,农业发展纲要中明确规定:“积极发展细菌肥料”。大豆、花生、紫云英根瘤菌工作已在全国各地广泛地运用推广,获得了显著的增产效果,受到广大贫下中农的欢迎。目前,随着农业生产的不断发展,迫切需要广辟肥源,而大力发展绿肥,既是解决肥料问题的好办法,又是改良土壤、提高土壤肥力、促进粮棉作物稳产高产的一条重要途径。苕子是我国重要的冬季绿肥品种之一,种植面积较大,如能接种优良的有效根瘤菌以充分发挥其共生作用,既可增加苕子鲜草产量,提高固氮能力,又可提高苕子利用磷肥的效率。为此,我们从1971年春起开展了苕子根瘤菌优良菌株的筛选工作,并与有关单位及贫下中农共同进行了田间试验,现就1971—1973年部分研究结果作初步报告。

一、菌株的分离和筛选

苕子根瘤菌的分离是应用平板法进行的,从田间选取生长有良好根瘤的苕子、蚕豆植株的根系(少数标本是采集熟化程度较高的土壤,在钵钵内种植苕子,待根瘤形成后再分离),取其主根基部较大的根瘤,进行表面消毒,压碎稀释后,接种在含有刚果红的甘露醇——酵母汁琼脂上,挑出菌株经过反复纯化,获得苕子根瘤菌的纯培养;再用石蕊牛奶进行纯度检定。依照这样的程序,1971年春先后由江苏省的南京、江宁、丹阳、扬州、兴化、盐城、响水、丰县、铜山等地标本中得到根瘤菌纯培养162株。

用无氮琼脂斜菜面进行菌株初筛。在5×30厘米的大型试管中装入无氮琼脂100毫升,灭菌后做成斜面,菜去顶端部分的琼脂成一平台,在这个平台上播种带有根瘤菌的已萌发的苕子种籽一粒。俟苕子根系长出后,逐日观察成瘤速度和结瘤状况。我们由162个纯培养中选出繁殖快、结瘤早的七个菌株(表1)。它们在播后9—12天,当苕子有2—4片真叶时,就可形成肉眼能见到的根瘤。

表1 苕子根瘤菌的标本来源及其成瘤速度

菌株号	标本采集地点	分离植物	成瘤速度(天)
7017	江宁县丝织厂菜地	蚕豆	10
7025	江宁县本所农场菜地	蚕豆	10
7036	南京市省农科所	苕子	12
7081	盐城县南洋公社曙光大队	苕子	9
7084	盐城县南洋公社曙光大队	苕子	9
7122	江宁县本所农场	苕子	10
7130	南京市燕子矶菜地	蚕豆	9

优良的有效根瘤菌菌株,既要成瘤快(毒力强),又要有较高的固氮能力(即活动性大)。为了测定菌株的固氮能力进行了砂培试验,用小号磁质盆钵,每盆盛石英砂2000克,灭菌后加入定量的无氮营养液,播种苕子5粒,分别接种初筛获得的七个菌株,重复三次。1972年4月27日播种,两周后种子的养分基本耗尽,植株生长开始出现差别,经36天后,于6月1日收获。这时未接种的对照处理,植株矮小,茎叶色黄,呈现缺氮象征,苕子几乎不分枝,呈单枝生长;而接种苕子根瘤菌的植株生长良好,高度超过对照一倍,分枝数提高到2以上。此外,接种这几株菌株的苕子根瘤大且集生在主根基部,根瘤呈粉红色到红色,说明这几株根瘤菌是有效菌株,具有一定的固氮能力。最后将上述砂培植株在80°C烘箱中烘干,称其干重,并以凯氏法作全氮分析(表2)。

表2 苕子根瘤菌的接种效果(砂培试验)

菌株号	株高 (厘米)	植株干重(克/盆)				植株含氮量(毫克/盆)			菌株固氮量*	
		地上部分	根系	总量	增加%	地上部分	根系	总量	毫克/盆	%
未接种	15.3	0.15	0.14	0.29	—	2.50	2.95	5.45	—	—
7017	27.6	0.66	0.31	0.97	235	22.35	10.66	33.01	27.56	506
7025	24.0	0.55	0.27	0.82	183	15.51	8.17	23.68	18.23	335
7036	24.8	0.54	0.28	0.82	183	13.04	7.79	20.83	15.38	282
7081	28.7	0.54	0.22	0.76	162	15.62	7.37	22.99	17.54	322
7084	32.9	0.85	0.42	1.27	338	25.66	13.71	39.37	33.92	622
7122	27.5	0.66	0.30	0.96	231	18.27	9.10	27.37	21.92	402
7130	30.3	0.84	0.39	1.23	324	25.94	11.46	37.40	31.95	586

*菌株固氮量 = 接种的植株总氮量 - 未接种的植株总氮量

由表2可以看出,接种根瘤菌可以增加苕子植株干物质的积累,与未接种的对照相比较,接种7084及7130菌株每盆植株干重增加三倍多;接种7017及7122增加二倍多;接种7025,7036及7081增加一倍半以上。再从植株总氮量来看,在不接种的对照盆中只有5.45毫克,而接种的提高到20.83—39.37毫克,分别比对照增加4—6倍。其中7084和7130菌株每盆固氮量在30毫克以上,7017和7122在20毫克以上。

二、根瘤菌的接种效果

(一)田间试验结果1971年秋首先在江苏省铜山县张集公社孟庄大队第七生产队的砂壤土上进行田间试验,试验地前茬是玉米,曾种过豌豆和苕子。供试菌株8个,每试验区面积为二亩,未设重复,1971年10月2日用耩耩播,每亩播种苕子8斤,同时随耩每亩条施钙镁磷肥40斤和土杂肥300斤作种肥,菌剂用量每亩半斤,在田头树荫之下用菌剂拌种,随拌随播。1972年4月25—26日在苕子开花前约二周收割。接种根瘤菌的苕子鲜草产量都有不同程度的增高(表3),其中以7017,7025,7084和5022四个菌株的效果较高,与不接种的相比较,提高鲜草量一倍以上,说明这四个苕子根瘤菌菌株是优良的有效菌株。

1972年秋,又在孟庄大队第六生产队布置小区试验,小区面积为42平方米,试验地前茬为高粱,土壤质地为紧砂土,物理性粘粒含量为6.4%,有机质含量为0.5%,全氮0.028%,全磷0.12%,速效磷(P_2O_5)为1.58毫克/100克干土,碳酸钙2.74%,pH8.8。试验是在两种磷肥条件下进行的,第一组每亩施用过磷酸钙40斤,混合土杂肥650斤,第

表3 苕子根瘤菌的接种效果(大田试验)

菌 株 号	株 高 (厘米)	鲜 草 产 量 (斤/亩)	增 产	
			斤/亩	%
未 接 种	29.8	822	—	—
3001	37.8	1285	463	56.3
5019	40.4	1431	609	74.1
5022	44.5	1886	1064	129.4
7017	47.5	2416	1594	193.9
7025	47.3	1945	1123	136.6
7036	49.5	1620	798	97.1
7081	56.9	1637	815	99.2
7084	47.8	1748	926	112.1

二组每亩施用钙镁磷肥40斤,混合土杂肥650斤,均为条施。供试菌株6个(7017, 7025, 7084, 5022, 7122和7130),菌剂用量仍为每亩半斤,9月15日播种,播种量为10斤/亩,行距26厘米,重复二次(未接种的对照重复三次)。1973年4月24日在苕子始蕾期收割。供试的6个菌株均能提高苕子地上部分鲜草产量(表4),增产幅度为6.2—39.1%。用过磷酸钙作种肥的,以7017, 7084及7025三个菌株效果较好,与不接种的相比,每亩增加鲜草980—1200斤;而用钙镁磷肥作种肥的,以7017及7084两个菌株较好,与不接种的相比,每亩增加鲜草720—1000斤,与1971年大田试验结果基本一致。

表4 接种根瘤菌对苕子的增产效果

菌 株 号	过 磷 酸 钙			钙 镁 磷 肥		
	草 量 (斤/亩)	增 产		草 量 (斤/亩)	增 产	
		(斤/亩)	%		(斤/亩)	%
未 接 种	3093	—	—	2720	—	—
7017	4192	1099	35.5	3720	1000	36.6
7025	4080	987	31.9	2888	168	6.2
7084	4304	1211	39.1	3440	720	26.5
7122	3344	251	8.1	3184	464	17.1
7130	3464	371	12.0	3344	624	22.9
5022	3608	515	16.4	3368	648	23.8

另外,1972年还在江苏省涟水县东风公社的砂土上进行了苕子接种根瘤菌试验,7122及7084分别增产10.1—11.8%(对照亩产鲜草1190斤)。在东海县洪庄公社非石灰性的砂壤土上种苕子,接种7084、7130、7122、7017及5022的鲜草产量可增加12—21%(对照亩产为1335斤)。

接种苕子根瘤菌可以提高鲜草产量,但不同菌株增产效果是不一样的,这与菌株的成瘤速度(毒力大小)和固氮能力(活动性)密切相关。1972年秋曾在孟庄大队观察苕子出苗后半个月植株结瘤的情况,在不接种的小区中每100株苕子只有37株形成根瘤,而接种菌株7122的苕子有64株结瘤,接种其他菌株的为76—91株,这说明7017, 7025, 7084等菌株比当地土壤中原有的根瘤菌毒力强,成瘤快。种肥中的磷肥种类不同也可影响根瘤菌的固氮能力。

表5 菌株田间固氮量(斤/亩)

菌 株 号	过 磷 酸 钙		钙 镁 磷 肥	
	植株总氮量	菌株固氮量	植株总氮量	菌株固氮量
未 接 种	14.23	—	10.10	—
7017	20.81	6.58	14.96	4.86
7025	17.99	3.76	10.38	0.28
7084	20.26	6.03	14.26	4.16
7122	16.62	2.39	13.59	3.49
7130	20.17	5.94	12.16	2.06
5022	15.98	1.75	12.85	2.75

由表5可知,以过磷酸钙作种肥的各菌株,其固氮量普遍比用钙镁磷肥作种肥的较高,在各菌株之间,又以7017和7084两个菌株的固氮量较高。在以过磷酸钙作为种肥时,每亩固氮量为6—6.5斤,用钙镁磷肥作种肥时,每亩固氮量为4.1—4.8斤。以过磷酸钙为种肥时,菌株7130的鲜草增产率虽然只有12%(表4),但因固氮能力较高,致使植株含氮百分率提高,所以7130的固氮量每亩可达5.9斤;而7025菌株的鲜草增产率为31.9%,虽高于7130菌株(表4),但由于固氮能力较低,所以每亩固氮量仅有3.8斤。

(二)粘质土壤上的盆栽试验 盆栽试验的土壤,采自江苏省涟水县高沟公社,当地群众称为淤土。该土壤含物理性粘粒84.8%,属于中粘土,碳酸钙含量为14.62%,pH8.7,有机质含量为1.02%,全氮0.069%,全磷0.138%,速效磷极低,每百克土仅有 P_2O_5 0.3毫克。这种土壤如果不施磷肥,苕子就长不好,为此,在布置试验时,每盆土壤(重3.6公斤)加入过磷酸钙5克。1972年11月3日播种苕子,每盆种5穴,每穴3粒,分别接种7017、7025、7084、7122、7130和5022等六个菌株,重复三次,经60天后于1973年元月3日收草(表6)。

表6 根瘤菌在淤土上的接种效果

菌 株 号	地 上 部 分 干 重			植 株 总 干 重			地 上 部 分 含 氮 量			植 株 总 氮 量		
	克/盆	增 加		克/盆	增 加		含氮量 毫克/盆	固 氮 量		总氮量 毫克/盆	固 氮 量	
		克/盆	%		克/盆	%		毫克/盆	%		毫克/盆	%
未 接 种	9.07	—	—	12.68	—	—	403.5	—	—	531.8	—	—
7017	10.83	1.76	19.4	—	—	—	465.3	61.8	15.3	—	—	—
7025	12.23	3.16	34.8	15.91	3.23	25.5	540.0	136.5	33.8	675.7	143.9	27.1
7084	11.90	2.83	31.2	16.43	3.75	29.6	535.1	131.6	32.6	705.0	173.2	32.6
7122	9.90	0.83	9.2	—	—	—	401.4	—	—	—	—	—
7130	11.27	2.20	24.3	15.65	2.97	23.4	510.5	107.0	26.5	654.3	122.5	23.0
5022	9.90	0.83	9.2	—	—	—	423.8	20.3	5.0	—	—	—

盆栽试验结果表明7017、7025、7084和7130四个菌株在淤土上能使苕子地上部分增产19.4—34.8%。

(三)根瘤菌在豌豆上的接种效果 在根瘤菌与豆科植物相互接种的关系上,苕子和豌豆同属于一个互接种族。基于这点,为了充分发挥菌株作用,对豌豆也进行了接种试验。在砂培条件下同样表现出有效(表7)。生长50天的豌豆植株,每盆固氮量为57.5—95.6毫

克，分别比对照增加 2—3.4 倍。在土培的盆栽试验中(供试土壤为孟庄大队的砂壤土)，也得到类似的结果。其中以 7025 为最高，7130 次之。在孟庄大队进行的田间小区试验亦证明豌豆接种根瘤菌可以提高其籽实产量(表 8)。

表 7 豌豆接种根瘤菌的盆栽试验

菌 株 号	砂 培				土 培			
	株 高 (厘米)	植株总氮量 (毫克/盆)	固 氮 量		株 高 (厘米)	地 上 部 分 含 氮 量 (毫克/盆)	固 氮 量	
			(毫克/盆)	%			(毫克/盆)	%
未 接 种	37.3	27.8	—	—	139.9	241.4	—	—
7017	66.7	85.3	57.5	207	153.6	303.6	62.2	25.8
7025	77.3	117.7	89.9	323	150.6	344.0	102.6	42.5
7084	77.5	116.4	88.6	319	153.8	300.2	58.8	24.4
7122	73.0	117.1	89.3	321	143.9	—	—	—
7130	78.7	123.4	95.6	344	151.7	315.1	73.7	30.5
5022	74.9	102.8	75.0	270	138.8	—	—	—

表 8 接种根瘤菌对豌豆籽实的增产效果

菌 株 号	产 量 (斤/亩)	增 产	
		(斤/亩)	%
未 接 种	175.5	—	—
7 0 1 7	212.9	37.4	21.4
7 0 8 4	191.4	15.9	9.1
7 1 2 2	198.6	23.1	13.2
7 1 3 0	218.0	42.5	24.2
5 0 2 2	192.4	16.9	9.6

三、摘 要

1. 从江苏省各地的苕子、蚕豆根瘤和土壤中分离和筛选了生长快、结瘤早、固氮能力强的 7 个菌株。在苕子上 9—12 天内即可形成肉眼可见的根瘤。经 36 天的幼苗试验，7084 及 7130 两个菌株每盆可由空气中固定氮素 30 毫克以上，7017 及 7122 在 20 毫克以上，分别比不接种的增加氮素 4—6 倍。

2. 初选的菌株比江苏北部土壤中原有的根瘤菌毒力强、成瘤快。苕子接种后，每亩鲜草产量可增加 700—1500 斤。用过磷酸钙作种肥，7017、7084 及 7130 三个菌株可使每亩苕子固氮 6.0—6.5 斤，若用钙镁磷肥作种肥，7017 和 7084 可固氮 4.1—4.8 斤。

3. 上述优良菌株不仅在砂质土壤中有效，在粘质的淤土上也有一定效果。此外，接种在豌豆上，对绿色体的产量和籽实产量均有增产效果。