

紫云英根瘤菌菌株固氮效果的比较

浙江农业大学农业化学教研组

1973年我们曾比较几种紫云英品种的固氮能力，并从中选出固氮酶活性较强的一个菌株^[1]，1974、1975两年先后选用我国南方四省十五种较好的紫云英根瘤菌菌株，采用浙江省栽培较广的紫云英姜山种，比较各菌株的固氮效果。毛主席教导说：“有比较才能鉴别。有鉴别，有斗争，才能发展。”我们遵循这一原则，比较这十几种菌株的固氮效果，试图从中找出适合我省的紫云英根瘤菌菌株。此外，还研究各菌株根瘤中固氮酶的活性和瘤中豆血红蛋白的含量与紫云英产量及含氮量的关系。

一、试验方法及材料

本试验分两年进行，第一年(73~74年)选用七个紫云英根瘤菌菌株，比较它们的固氮能力。土壤用未种过紫云英的旱地，属杭州华家池小粉土。土壤反应近中性，pH6.9，土壤全氮量为0.121%，有效磷为51ppm，土壤质地属粉砂质壤土。先用蒸气灭菌，每盆装土6斤，下填细砂6斤。种子用氯化汞溶液消毒，待萌发后接种，每盆播20粒，播种后4天和12天分别施用无氮荷格兰和桑特(Hoaglana 和Snyder)完全营养液(用加倍浓度)各150毫升。于1月中旬追施磷、钾肥，每盆过磷酸钙3克，氯化钾1克。到2月下旬，紫云英叶色稍淡，再施以上营养液250毫升。所有处理都重复7次，生长早期间苗一次，最后每盆定苗10株。平时定量灌水，喷药防治病虫。于盛花期收获，并测定每盆整株紫云英的鲜重、干重、含氮量和根瘤中固氮酶的活性。植株含氮量用半微量克氏法测定，固氮酶的活性系用102型气相层析仪测定根瘤还原乙炔为乙烯的浓度。称鲜瘤1克，放入注射器内，注入乙炔和氧各6毫升，加氮气至30毫升，在室温下作用2小时后，抽取100微升气体测定乙烯峰，并按标准乙烯在气相层析仪上求得的面积，换算为微克分子浓度。根据各菌株的固氮能力，从中选出较好的3个菌株。第二年(74~75年)选用8个新菌株，连同上年3个共11个菌株，分别在小粉土和红壤上进行比较。小粉土仍用华家池旱地土壤，红壤来自浙江省义乌，母质为第四纪红土，均未种过紫云英。小粉土属强石灰性反应，pH7.7，全氮量为0.116%，有效磷为40ppm，土壤质地属粉砂质壤土；红壤呈强酸性反应，pH4.5，全氮量为0.072%，有效磷为2.0ppm，属壤质粘土。两种土壤肥力均低。土壤未经灭菌，改用大量接种方法。红壤每盆装土12斤，小粉土所用盆钵稍大，改用14斤土。播种方法同第一年，但红壤先播，小粉土隔20天再播，避免以后大量样本同时分析在时间上的困难。播种后7天和23天，每盆分别施用以上缺氮的完全营养液150毫升和200毫升。于生长期追施磷、钾肥二次。红壤第1次追肥于12月19日，小粉土于26日各追施磷酸氢钙2克，氯化钾1克，第二次均在1月30日追施以上磷、钾肥料各1克，定苗、灌水等同第一年。并于初花到盛花期和盛花期分别测定各处理根瘤中豆血红蛋白的含量，红壤仅在盛花期测定一次，方

法系用得根(Drabkin)溶液提取根瘤中豆血红蛋白,于 $20000\times g$ 离心后于540毫微米波长比色测定,用血中血红蛋白含量作标准计算^[2]。于盛花期收获,产量(包括根)系5次重复,所有分析均重复一次。最后比较紫云英各菌株的产量和含氮量,选出固氮能力较强的菌株,同时统计分析各菌株根瘤中豆血红蛋白含量与全植株含氮量和产量的关系,求出各自的相关系数及其回归方程式。

为了便于说明,特将两年所用紫云英根瘤菌菌株的来源及其代号列于表1。

表1 紫云英根瘤菌菌株来源及其代号名称

根瘤菌菌株代号名称	菌株来源(选育菌株单位)
52油二代	湖南长沙微生物研究所
83油二代	湖南长沙微生物研究所
102油二代	湖南长沙微生物研究所
A ₁₆	华中农学院微生物教研组
A ₁₉	华中农学院微生物教研组
紫1	江苏农学院微生物教研组
紫10	江苏农学院微生物教研组
宁3	江苏农科院土肥所
503	江苏农科院土肥所
343	江苏农科院土肥所
344	江苏农科院土肥所
6601	浙江省农科院微生物研究室
50A	浙江省农科院微生物研究室
38D	浙江省农科院微生物研究室
H ₇₃	浙江农业大学农业化学教研组

二、紫云英根瘤菌菌株的固氮能力比较

第一年我们选用了7个菌株,以浙江省当年推广的6601菌株作对照,进行比较。土壤选用小粉土。土壤全氮量为0.121%,有效磷为51ppm,土壤pH值为6.9,土壤质地属粉砂质壤土。于盛花期收获,分别测定产量,植株含氮量和根瘤中固氮酶的活性。测定结果指出,凡是固氮能力较强的菌株,紫云英根瘤中固氮酶的活性多较强,植株含氮量和产量多较高,但也有例外,总的看来,各菌株的固氮能力有如下顺序: A₁₆、102油二代>H₇₃、83油二代>6601>A₁₉>52油二代。其中固氮能力较强的有3个菌株,即 A₁₆、102油二代和H₇₃(表2)。

表2 紫云英根瘤菌菌株固氮能力比较

菌株代号	产量(克/盆)		乙稀浓度(微克分子/克饼瘤)	全株含氮量	
	鲜重	干重		%	毫克/株
52油二代	470.0	51.7	8.44	3.25	168.0
83油二代	584.3	60.5	17.00	3.71	224.6
102油二代	619.9	65.0	21.27	3.64	236.6
A ₁₆	621.5	67.8	23.84	3.50	237.3
A ₁₉	622.5	66.7	11.25	3.00	200.1
H ₇₃	629.9	65.4	11.86	3.46	226.3
6601(对照)	582.1	62.8	6.85	3.55	222.9

表3 紫云英根瘤形态与固氮酶活性的关系

根瘤形态	乙稀浓度(微克分子/克鲜瘤)
集中的大红瘤	8.56
一般大小的红瘤	8.31
分散的小瘤	2.91
比较集中的灰瘤	2.57

注：各种根瘤都选自6601菌株，但其中灰瘤不足一克，改选自菌株H₇₃。

为了摸清根瘤的分布部位、根瘤的形态与固氮强度的关系，我们分别测定了着生于根上部集中的红色大瘤(鸡冠瘤)、根中部一般大小的红瘤、根下部分散的小瘤和比较集中的灰瘤中的固氮酶的活性(表3)。

测定结果指出，位于根上部集中的大红瘤和在根中部一般大小的红瘤固氮酶活性均较强，而根下部的小瘤和比较集中的灰瘤则较弱。红瘤通称有效根瘤，而灰瘤是由于瘤中豆血红蛋白已部分分解为绿色的胆株蛋白而为无效根瘤。根据我们的观察，紫云英在开花以后，有些菌株就出现灰瘤。但各菌株出现灰瘤的时间早晚不一，数量多寡不等。一般的讲，初花期瘤多呈红色，到了盛花期已有少量灰瘤，盛花以后灰瘤则急剧增多，如菌株6601、H₇₃、A₁₆在盛花期都有不等量的灰瘤，而菌株52油二代则有大量小瘤，以上这些菌株根瘤中固氮酶的活性都较低(表2)。大田生产紫云英多在初花到盛花期耕翻，这时根上红瘤多，植株含氮量高，单位面积上所固定的氮已达高峰，紫云英这时耕翻，不仅适合农时，而且是有其科学依据的。

三、紫云英根瘤菌株固氮能力与根瘤中豆血红蛋白含量的关系

小粉土的试验选用了10个菌株，包括上年的3个，红壤选用了6个菌株，均以浙江省新推广的38D菌株作对照^[3]，比较它们的固氮能力。并于初花到盛花期和盛花期分别测定各处理根瘤中豆血红蛋白的含量。由于在盛花期已有少量灰瘤，据测定，各菌株根瘤中豆血红蛋白含量与植株含氮量缺乏规律性(表4)。

试验结果表明，同一紫云英品种，各菌株紫云英的产量和植株含氮量差异很大，其中以菌株38D、50A为最高，紫1、H₇₃、503、A₁₆次之，而以343、344为最低。其顺序为：

表4 紫云英根瘤菌株固氮能力与根瘤中豆血红蛋白的含量(土壤：小粉土)

菌株代号	产量(克/盆)		全株含氮量(%)	根瘤中豆血红蛋白的含量(毫克/克鲜瘤)
	鲜重	干重		
38D(对照)	808.0	83.5	3.38	5.56
50A	794.3	79.1	3.54	5.14
紫1	770.0	74.2	3.32	4.95
H ₇₃	720.0	74.9	3.29	5.12
503	710.0	72.2	3.08	5.14
A ₁₆	717.5	71.6	3.08	5.09
102油二代	712.5	69.4	2.79	4.63
宁3	641.0	66.6	3.04	4.93
344	282.8	31.0	1.90	3.45
343	215.7	29.8	2.19	3.58

38D、50A>紫1、H₇₃、503、A₁₆>102油二代、宁3>343、344由此看来，我国南方四省根瘤菌株中目前适合浙江省的仍然是菌株38D。

关于紫云英根瘤菌株固氮能力的差异，我们测定了根瘤中豆血红蛋白的含量。据统计分析，各菌株根瘤中豆血红蛋白的含量与紫云英全株含氮量成正相关， $r = +0.9501$ ，超过1%机率的显著水准。此外，它还和紫云英产量无论是鲜重或干重，均成正相关，相关系数分别为+0.9540和+0.9783，显著性也超过1%机率水准。根据过去一些资料报导^[4,5]，大豆、花生、豌豆等豆科植物，根瘤中豆血红蛋白的含量与植株含氮量都显示出明显的相关。因此，根瘤中豆血红蛋白含量可作为筛选紫云英优良根瘤菌株的一个手段。这在生产实践上是有一定意义的。现将试验的统计资料归纳于图1和图2中。

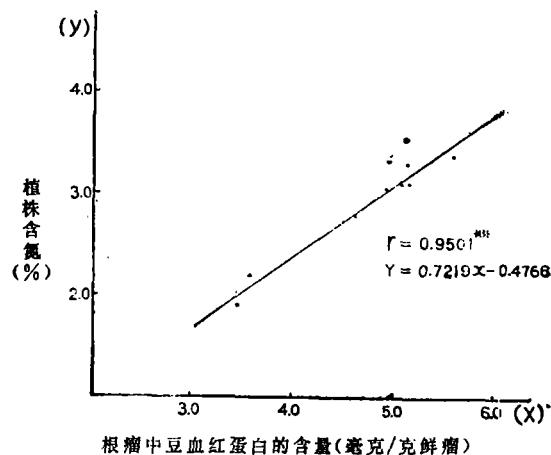


图1 根瘤中豆血红蛋白的含量与紫云英全植株含氮量的关系

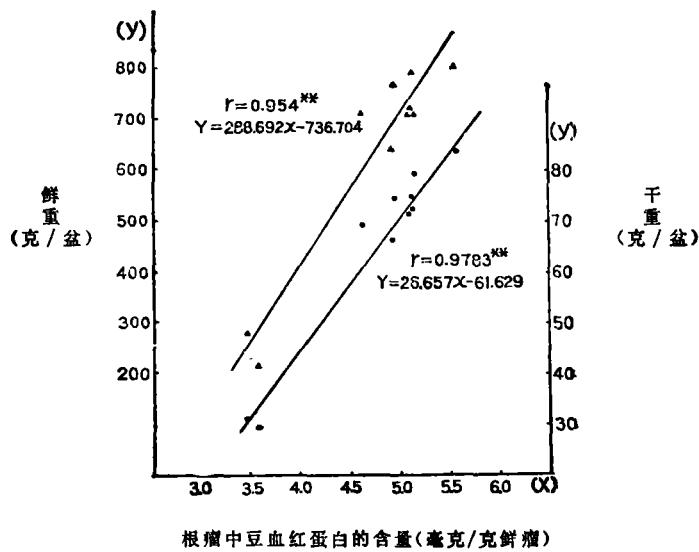


图2 根瘤中豆血红蛋白的含量与紫云英产量的关系

在红壤上的试验，由于取样时间偏迟，根瘤中已有不等量的灰瘤出现，致使根瘤中豆血红蛋白含量和植株含氮量缺乏规律性。从6个菌株的紫云英产量和含氮量比较，仍然是以38D菌株效果最好(表5)。这充分表明38D菌株具有较广泛的适应性。

两年来我们在实践中对紫云英根瘤菌的固氮能力进行了一些摸索，接触到紫云英根瘤菌固氮能力的一些内在联系，明确了根瘤中固氮酶的活性，过去了解到整个植株根瘤中总的固氮酶活性与全植株含氮量呈正相关⁽¹⁾，现在又明确了根瘤中豆血红蛋白的含量与紫云英全植株含氮量及产量的关系。此外还比较了我国南方四省15个紫云英根瘤菌菌株的固氮能力，试验结果肯定了38D菌株较之其他根瘤菌优越。这个结果与浙江省农科院微生物研究室⁽³⁾于全省十九个点进行大田试验的结果也是一致的。当然，这项工作我们还是刚刚开始，如何提高紫云英根瘤菌的固氮能力和它的结瘤性，提高其中固氮酶的活性和根瘤中豆血红蛋白的含量，使紫云英产量，来一个较大幅度的增产，则有待于今后进一步试验摸索。

表 5

紫云英根瘤菌株固氮能力比较(土壤：红壤)

菌株代号	产 量(克/盆)		全植株含氮量	
	鲜重	干重	%	毫克/株
38D(对照)	658.8	71.0	3.54	251.3
102油二代	632.5	67.4	3.54	238.6
A16	627.5	70.7	3.25	229.8
宁3	595.8	66.5	3.43	228.1
紫10	625.8	64.9	3.39	220.0
H73	618.3	66.2	3.32	219.8

参 考 文 献

- [1] 浙江农业大学农业化学教研组，土壤，4，144—149，1974。
- [2] Wilson, D. O. and Reisernauer, H. M., Anal. Biochem., 6, 27—30, 1963.
- [3] 浙江省农科院微生物研究室，紫云英根瘤菌优良菌株的选育，浙江农业科学，4,32—35，1975。
- [4] Schiffmann, J. and Löbel Rina, Plant and Soil, 33, 501—512, 1970.
- [5] Bergersen, F. J., Biochem. Biophys. Acta 50, 576—578, 1961.

红萍的自然保种技术

江西省余江县农业局

在我国适宜养萍的地区，发展红萍是扩大有机肥料来源，实行以田养田和以水养田，夺取农业高产稳产的一项重要措施，也是扩大牲畜饲料来源的一个有效办法。大面积地推广稻田养萍及闲散水面养萍，能够解决粮食作物与绿肥争地的矛盾，有利于提高复种指数，可以改良土壤，是一条自力更生解决肥料问题的新途径。

但是，由于我县气候冬寒夏热，加上病虫害严重，对红萍生长繁殖不利，常常造成夏季及冬季的萍种大量死亡。为了解决红萍越冬越夏保种问题，曾采取过薄膜覆盖越冬及人工活水越夏等保护性措施，收到了较好的保种效果。但由于这两种人工保种费用比较昂