

新疆部分豆科植物根瘤菌的 某些耐性试验

黄玲 石玉瑚 吴祖银

(新疆农科院微生物研究所,乌鲁木齐)

摘要 从新疆境内采集的豆科植物标本上分离出的根瘤菌株中选出 61 株,在含不同浓度的 NaCl、混合盐及不同砂土含水量的根瘤菌培养基中培养。其中有 65.58% 的菌株能在 1% 以上的 NaCl 浓度中生长,最高可耐 6% NaCl;有 83.32% 菌株能耐 2% 以上的混合盐,49% 的菌株能在 5% 含水量的情况下生长,并且同一根瘤菌株耐混合盐的能力要比耐 NaCl 能力强。

关键词 豆科植物根瘤菌株;耐盐性;抗干旱性

为了开发利用新疆根瘤菌资源,改良荒漠土壤,促进农牧业生产的发展,从 1980—1985 年,我所与北京农业大学协作*,用 6 年时间,对新疆 76 个县,69 个农林牧场,87 个兵团农场的豆科植物根瘤菌资源进行了较全面的调查,在高山、峡谷、荒漠、草原、盆地、河谷沿岸等各种生态环境下,采集到豆科植物标本 223 个,包括 37 属,123 种,共分离纯化出 163 株根瘤菌,经回接证实的根瘤菌有 105 株。为了选育出固氮活性高、耐性强的优良根瘤菌用于农牧业生产,我们从中筛选出 61 株,在测定其生理生化特性的基础上,又进一步研究了根瘤菌耐 NaCl、耐混合盐及抗干旱的特性。

材料和方法

(一) 供试菌株

采自新疆境内的 61 株豆科植物根瘤菌列于表 1。

(二) 耐 NaCl 试验

按重量百分比浓度配制不同 NaCl 浓度的 YMA 培养基,经灭菌后制成平板,为抑制其它 G⁺ 菌的生长,按 100ml 培养基中加入 0.6ml 结晶紫,取一环菌划线或取一定浓度的菌悬液均匀涂布,置 27℃ 恒温培养。

(三) 耐混合盐试验

新疆盐碱土有 1.5 亿亩,它可分为盐性土、

碱性土和盐碱性土。经分析,新疆盐碱土中 [SO₄²⁻] 占 0.071%, [Cl⁻] 占 0.027%, [HCO₃⁻] 占 0.020%, 主要盐有 MgSO₄、CaSO₄、NaCl、KCl、MgCl₂、NaHCO₃ 等。其中 [Mg⁺⁺] 占 0.005%, [Ca⁺⁺] 占 0.017%、[K + Na] 占 0.031%^[1]。为了更切合新疆土壤的生态实际,我们模拟这种比例配制不同浓度的混合盐培养基,经灭菌后倒入平板,取一环菌划线或制成一定浓度的菌悬液均匀涂布,置 27℃ 恒温培养。

(四) 抗干旱试验

1. 砂土管的制备: 根据卡庆斯基的土壤质地分类简明系统,把荒漠草原土与细砂按 2:8 的比例均匀混合,配成砂壤土^[1],置 105℃ 烘箱烘到恒重,分装试管,每管 10g,然后把每支试管置 160℃ 干热间隙灭菌,每天一次,连续三次,灭菌后待用,橡皮塞高压蒸汽灭菌。

2. 菌液制备: 将斜面培养的根瘤菌挑取一环于无氮培养液 (10ml) 的试管内,振荡制成菌悬液。

3. 具体试验方法:

按照表 2 的比例制备含水量不同的砂土试管,接种根瘤菌液,接种后用橡皮塞塞紧,立即

本所孟小江、孟庆玉、严民范同志参加了部分研究工作。

* 协作的课题“新疆豆科植物共生固氮根瘤菌资源调查与分类研究”曾于 1987 年获农牧渔业部科技进步一等奖。

表1 新疆部分根瘤菌的某些耐性试验结果

根瘤菌号	寄主植物	抗 NaCl(%)						抗混合盐(%)				含水量(%)	
		0.5	1	2	3	4	5	2	4	6	8	5	10
014B	骆驼刺											-	+
033B	紫穗槐	+	+	+				+				-	+
E33	黄芪	-										-	+
37/83*	变异黄芪	+	+	+								-	+
T8/83	硬轴黄芪	+	+									-	+
032B*	昆仑锦鸡N	+										-	+
030B	扁豆	+	+	+				+				+	+
009B	大豆	+	+					+				+	+
009BS	大豆	+	+					+	+			-	+
A-1-BS*	刺果甘草	+	+					+				+	+
6/83*	甘草	+	+					+				+	+
61/83*	光果甘草	+						+	+			+	+
63/83	光果甘草	+	+	+	+							-	+
050A*	盐豆木	+	+					+	+			+	+
T14/83	小花棘豆	+	+									-	+
50-1/83	小花棘豆	+	+	+	+			+	+			-	+
T9/83	假冰河棘豆	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T13/83	泣普兰棘豆	+	+									-	+
23/84	真棘豆	-										-	+
001B	菜豆	+	+	+				+	+	+		+	+
021B ₂	红花菜豆	-	-									+	+
49/83*	矮菜豆	+	+	+								-	+
054B	补骨脂	+	+					+	+			+	+
028B ₂	刺槐	-						+				+	+
E18	刺槐	+	+									-	+
005B*	苦豆子	+	+					+	+			-	+
017A	苦豆子	-						+				+	+
2/83	苦豆子	+	+	+	+							-	+
3/83	苦马豆	+	+	+				+	+			+	+
016B	苦马豆	+	+									+	+
020A	白花车轴草	-						+				+	+
026A ₁	杂种三叶草	-						+				-	+
044A	野火球	+	+	+				+				+	+
019B	红花三叶草	-										+	+
30/83	胡芦巴	+	+	+				+	+			+	+
039A	山豆	+										+	+
A05	香豌豆	+										+	+
A07	香豌豆	-						+				+	+
038B	柔毛野豌豆	+										+	+
034BS	胡枝子	+	+	+				+	+			-	+
A-2-BS	百脉根	+	+	+				+				-	+
13/83	百脉根	+	+	+	+			+	+			-	+
002	紫花苜蓿	+	+	+	+			+	+	+		+	+
10	天兰苜蓿	+	+	+	+			+	+	+		-	+
042B*	密序苜蓿	+	+	+	+			+	+	+		+	+
15	紫花苜蓿	+	+	+	+			+	+	+		-	+
20	紫花苜蓿	+	+	+	+			+	+	+		-	+

根瘤菌号	寄主植物		抗 NaCl (%)						抗混合盐 (%)				含水量 (%)	
			0.5	1	2	3	4	5	2	4	6	8	5	10
			26*	小花苜蓿	<i>M. rivularis</i> Vass.	+	+	+	+	+	-	+	+	+
030	苜蓿	<i>M. Spp.</i>	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
037B	草木樨	<i>Melilotus suaveolens</i> Ldb.	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+
19/83	黄花草木樨	<i>M. officinalis</i> (L) Desr.	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
22/83	白花草木樨	<i>M. Albus</i> Desr.	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	+
052B	蚕豆	<i>Vicia Faba</i> L.	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
7/83	蚕豆	<i>V. Faba</i> L.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
T14 野	广播野豌豆	<i>V. cracca</i> L.	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
022A*	大野豌豆	<i>V. gigantea</i> Bunge.	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
39/83	野豌豆	<i>V. Spp.</i>	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
40/83	野豌豆	<i>V. Spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
57	柔毛野豌豆	<i>V. villosa</i> Roth.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+
9	野豌豆	<i>V. Spp.</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
18/83	豌豆	<i>Vigna sinensis</i> (L) End.	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+

注：“*”示该菌为 O. N. Allen 等发现的根瘤菌新种；“+”示菌能生长；“-”示菌不能生长；空白处表示未做此项实验

振摇,置 27℃ 培养 10 天后,取 1g 菌土于 10ml 的无氮营养液里(每隔 10 天取一次,重复 3 次),摇匀后取 1.5ml 倒入平板涂匀,置 27℃ 恒温培养。

表 2 砂、土含水量的配比表

砂、土 (g)	加入液体量 (ml)			砂、土管含水量(重量百分比)
	菌液	营养液	无菌水	
10	0.25	0.25		≤5
	0.25	0.25	0.5	≤10
	0.25	0.25	1.0	≤15
	0.25	0.25	1.5	≤20

(五) 分析方法

以平板上有无菌落出现为标准,检测根瘤菌株耐 NaCl、耐混合盐及抗干旱的特性。每种根瘤菌的每个试验均设 3 个重复。一般快生型根瘤菌 3 天后即可见到菌落,慢生型约需 10 天左右。

结 果

(一) 耐 NaCl 试验(表 3)

从表 3 结果看出,60 株新疆豆科植物根瘤菌的大部分能耐 0.5 和 1% 的 NaCl 浓度(分别占试验株数的 76.67% 和 65.58%),有一部分

表 3 根瘤菌耐 NaCl 试验结果

NaCl 含量 (%)	出现菌落的根瘤菌数(株)	未出现菌落的根瘤菌数(株)	出现菌落的株数占试验总株数的百分比 (%)
0.5	46	14	76.67
1	40	21	65.57
2	25	36	40.98
3	17	44	27.87
4	9	52	14.75
5	1	60	1.04
6	1	60	1.04

能耐 2—3% NaCl 浓度(分别占试验株数的 40.98% 和 27.87%),极少部分能耐 4% NaCl 浓度(仅占 14.75%),其中假冰河棘豆的根瘤菌能耐 6% 的 NaCl 浓度,但回接试验未成功。苜蓿根瘤菌能耐 3% 或 4% NaCl 浓度,这些根瘤菌的耐盐性比文献报道的根瘤菌最高耐 NaCl 浓度不超过 2% 的要高得多^[2]。

从表 3 中还可看出,随着含盐量的增大,能存活和生长的根瘤菌逐渐减少。

(二) 耐混合盐试验(表 4)

从表 4 结果看出,耐 2% 混合盐的根瘤菌占试验菌株的 83.33%,而能耐 2% NaCl 的根瘤菌占试验菌株的 40.98%,说明耐混合盐的根

表 4 根瘤菌耐混合盐试验结果

混合盐含量 (%)	出现菌落的根瘤菌数 (株)	未现菌落的根瘤菌数 (株)	出现菌落的根瘤菌数占试验菌数的百分数 (%)
2	40	8	83.33
4	23	25	47.92
6	15	33	31.25
8	3	45	6.67

瘤菌数比相同浓度的耐 NaCl 根瘤菌数高一倍以上。从表 1 中看到所有的苜蓿根瘤菌能耐 6% 的混合盐,而不能耐 5% 的 NaCl,说明同一种根瘤菌耐混合盐的浓度都高于耐 NaCl 的浓度。表 4 结果也说明了随着混合盐浓度的增大,能存活和生长的根瘤菌株数逐渐减少。比较表 3 和表 4 的结果,说明了根瘤菌耐混合盐能力强于耐单盐(如 NaCl)的能力。

(三) 抗干旱试验(表 5)

表 5 根瘤菌抗干旱试验结果

含水量 (%)	出现菌落的根瘤菌数 (株)	未现菌落的根瘤菌数 (株)	出现菌落的根瘤菌数占试验菌株的百分数 (%)
10	61	0	100
5	30	31	49.18

表 5 结果说明,61 株根瘤菌全部能在含水量 10% 的砂土中存活和生长,甚至有 49% 的根瘤菌能在使植物绝对致死的 5% 含水量的情况下存活和生长,此时,土壤的永久萎蔫百分数为 6.6%,土壤的水势为 -15 巴左右^[3,4]。

讨 论

1. 从本试验结果看出,新疆野生豆科植物

根瘤菌的耐盐性和抗旱性较强,而且这些根瘤菌的固氮活性也较高,如筛选出的 CX107 苜蓿根瘤菌的离体固氮活性达 1071.79 nmol C₂H₄/cm²·h,经盆栽、小区和大区接种结果,一般增产苜蓿草 30% 以上,最高可达 116%,这株菌采集于新疆南部的和田河流域荒漠土壤,当地年降水量在 50mm 以下,蒸发量达 2000mm 以上,30cm 的土层含盐量普遍超过 2%,土壤贫瘠,由此可见新疆一些根瘤菌的耐盐性、抗干旱性和固氮活性是它们与寄主植物长期适应当地生态环境的结果。

2. 模拟新疆盐碱土各种盐的实际含量(即混合盐)试验结果表明,同一种根瘤菌的耐混合盐浓度超过单盐(如 NaCl)的浓度。这可能是由于各种不同离子产生一种平衡效应,对根瘤菌产生一种综合影响,另一方面,在混合盐中 Cl⁻ 的浓度远比单盐(如 NaCl)小得多。而 Cl⁻ 是对植物或微生物等杀害力最大的一种盐离子。

3. 新疆豆科植物根瘤菌不仅丰富了我国和世界根瘤菌资源,也为生物固氮分子生物学及遗传工程的研究提供了珍贵资料,而且利用它的耐盐性和抗干旱性较强的特点,可以直接利用在农、林、牧业的生产上。

参 考 文 献

1. 许志坤: 新疆盐碱土的改良,新疆人民出版社,新疆,1980。
2. 陈文新等: 中国农业科学,20(6): 22—27,1987。
3. 北京林学院主编: 植物生理学,农业出版社,北京,第 123、135、268 页,1980。
4. 北京林学院主编: 土壤学(上册),中国林业出版社,北京,第 120—121、152—153 页,1982。