

不同互接种族豆科的根瘤菌在綠豆上 形成根瘤及有效性的研究*

罗 明 典

一、緒 言

豆科植物和根瘤菌共生是生物固定大气游离氮素最有效的途径。綠豆植物不仅应用在农业上和食品工业上,而且还应用于医学上。但是对于綠豆的根瘤形成研究得很少,仅在 Richmond (1926)^[1]、Fred. Baldwin 和 McCoy (1932)^[2]、Allen 和 Allen(1939)^[3]、Wilson (1939)^[4] 的工作中提到綠豆根瘤細菌。不同互接种族豆科的根瘤菌对于綠豆植物的关系,在文献中根本沒有涉及到。

本工作的目的在于研究綠豆和不同互接种族豆科的根瘤菌的关系,通过对于不同互接种族豆科的根瘤菌在綠豆上感染性及有效性的研究,对于在文献中爭論着的“共生关系的专属性”問題提供以綠豆植物为对象的實驗材料和討論根据。

二、研究方法及材料

根瘤形成的實驗采用了沙培、水培和洋菜培养的方法,盆栽實驗采用了 Прянишников^[5]、Кноп^[5]、Гельригль^[5]、陈华癸^[6]、和 Разумовская^[7] 的培养溶液。

植物种子灭菌,采用 1% 的溴水溶液,时间为 8—12 分鐘。

植物种子灭菌后,接种下列根瘤細菌:

- (1) 四季豆根瘤菌 N.673 (*Rh. phascoli*);
- (2) 大豆根瘤菌 N.636 (*Rh. japonicum*);
- (3) 羽扇豆根瘤菌 N.397 (*Rh. lupini*);
- (4) 豌豆根瘤菌 N.222a (*Rh. leguminosarum*)。

以上各根瘤菌根据广泛采用于文献中的 Fred E. B. 的分类是属于不同互接种族植物的根瘤菌。由于花生、赤豆、豇豆和綠豆一般认为是同一互接种族(豇豆族)的植物,因而从这些植物分离的根瘤菌應該在綠豆上形成根瘤。为了检验實驗的結果,我們除了采用不接种細菌的处理作为不形成根瘤的对照外,并采用了接种綠豆根瘤菌 N.04、花生根瘤菌 N.33、赤豆根瘤菌 N.12 和豇豆根瘤菌 N.161 作为形成根瘤的对照。

生物固氮能力的测定是在植物不同发育时期取样,按干重計算总产量,用克氏法定总氮量。

* 本文系作者在苏联列宁格勒大学微生物学教研室生物科学博士 З. Г. Разумовская 教授指导下进行的副博士学位论文的一部分。作者現在通訊处:济南,山东大学。

本文于 1962 年 6 月 3 日收到。

三、研究結果

1. 接种不同根瘤細菌在綠豆上的根瘤形成。觀察結果列于表 1 中。

表 1 綠豆的根瘤形成

植物与 根瘤数目 实验处理	对照 (未接种 細菌)	接种不同根瘤細菌							
		綠豆 N.04	花生 N.33	赤豆 N.12	豇豆 N.161	四季豆 N.673	大豆 N.636	羽扇豆 N.397	豌豆 N.222a
取样的植物数目	65	38	32	52	34	20	32	19	38
带根瘤的植物数目	0	38	32	19	34	17	32	6	0
感染植物的%	0	100	100	37	100	84	100	33	0
一株植物根瘤数目 (平均值)	0	23.6	17.7	2.5	32.7	19.3	12.5	3.3	0

从表 1 看出,引起綠豆根瘤形成不仅由豇豆族分离出来的根瘤菌,而且由四季豆、大豆、羽扇豆根瘤菌。但豌豆根瘤菌不引起綠豆的根瘤形成。

在感染性方面,大豆根瘤菌如同綠豆、花生根瘤菌具有极高的感染能力,四季豆根瘤菌稍次,羽扇豆根瘤菌对綠豆的感染能力表現得弱些。

根瘤形成的速度在半灭菌条件下的盆栽实验中于 7—8 天可見根瘤,而在水培无菌条件下要 10 天。各种不同根瘤菌在綠豆上形成的根瘤均为圆形,但接种羽扇豆、赤豆根瘤菌所形成根瘤小,色白,分布在側根上,接种四季豆、大豆根瘤菌如同接种綠豆根瘤菌所形成的根瘤一样,呈粉紅色,在主根上也有分布,其中以接种花生根瘤菌 N. 33 所形成的根瘤最大,在主根上多。

2. 不同根瘤菌在綠豆上形成根瘤的有效性。

接种后 37 天,不同处理的植物出現了外部差异:感染羽扇豆、赤豆根瘤菌的植物比对照植物(1/10 氮为底)长得差些,感染四季豆、大豆和綠豆根瘤菌的植物比对照植物(1/10 氮为底)发育得好些,长得最好的是感染花生根瘤菌 N. 33 和豇豆根瘤菌 N. 161 的植物。

在此时期,取了样品进行分析,植物的干重和含氮量列于表 2 中。从表 2 可以看出,

表 2 接种各种不同根瘤菌綠豆植物的干重和含氮量(接种后 37 天,沙培盆栽实验)

实 验 处 理	10株植物地上部分干重 (平均量,克)		总 氮 量	
			毫克数/1 克干重	% (与对照 1 相比)
对 照 (未接种細菌)	1. 1/10 氮 2. 全 氮	1.74 2.21	13.39 15.54	100 116
接种各种不同 根瘤菌(1/10 氮)	綠豆 N. 04	1.85	18.88	149
	花 生 N. 33	1.98	28.24	210
	赤 豆 N. 12	1.74	13.28	103
	豇 豆 N. 161	2.10	27.85	209
	四 季 豆 N. 673	1.83	16.12	120
	大 豆 N. 636	1.79	14.84	110
	羽 扇 豆 N. 397	1.72	14.14	106

感染花生根瘤菌和豇豆根瘤菌的植物所累积的氮素比以全氮为对照的植物还要高得多。在接种羽扇豆、赤豆根瘤菌的植物含氮量最低。

重复实验所获得的材料均一致指出，花生根瘤菌 N. 33，豇豆根瘤菌 N. 161 是最有效的，四季豆根瘤菌 N. 673、綠豆根瘤菌 N. 04、大豆根瘤菌 N. 636 效果小些，而羽扇豆根瘤菌 N. 397、赤豆根瘤菌 N. 12 一般说是无效的。

四、討 論

实验结果指出，不仅从綠豆根瘤中分离的细菌能引起綠豆根瘤形成，而且大豆、羽扇豆、四季豆、赤豆、豇豆、花生根瘤菌亦能引起綠豆根瘤形成，在 Березова、Доросинский 等著作中^[8,9]指出了綠豆根瘤菌的专属性，并将它列为独立的细菌族。但是从本实验结果看来，他们这种观点没被证实，把綠豆列入豇豆族中更妥当些^[1,2,10,12]。

但能引起綠豆根瘤形成的不仅是豇豆族植物根瘤中分离出来的细菌，而且有大豆根瘤菌，大豆族与豇豆族经常在一起进行研究^[11,13]。

接种羽扇豆根瘤菌时在綠豆上形成根瘤的事实指出，羽扇豆族和豇豆族有一定联系。

四季豆根瘤菌有相当的专属性^[14,15]，一般列为独立的四季豆族^[12,6,17,18]。但 Norris^[19]指出，把四季豆根瘤菌分为独立族缺乏足够的论据。Wilson 认为四季豆根瘤菌和豇豆族植物的根瘤菌很相近^[4,20]。从作者的材料看出，四季豆族和豇豆族之间是有联系的。

作者用赤豆做试验，接种綠豆、四季豆、花生、大豆、羽扇豆、豇豆和豌豆根瘤菌也得到类似的材料，仅仅豌豆根瘤菌对这些植物没有形成根瘤^[21]。用四季豆做实验，接种四季豆、綠豆、赤豆、和花生根瘤菌时，在该植物上亦形成根瘤^[21]。

这些材料证实了 Wilson 关于豆科植物存在着广泛交互感染性的观点。

从綠豆实验得到的材料指出，不同来源的根瘤菌表现不同的有效性。在以赤豆为对象的实验中，接种上述不同来源的根瘤菌，按其有效性而言，也获得了类似的结果^[21]。但在四季豆植物上仅仅接种四季豆根瘤菌 N. 673 才得到有效的根瘤，而由赤豆根瘤菌 N. 12、綠豆根瘤菌 N. 04 及花生根瘤菌 N. 33 所形成的根瘤都是无效的^[21]。因此，从细菌对植物共生的有效性情况来看，Wilson^[4,21] 认为互接种族的界线根本不存在的观点是还需要详细地、专门地研究和得到进一步证实。

五、結 論

1. 研究了不同根瘤菌在綠豆植物上形成根瘤及其有效性，并讨论了关于共生关系的专属性问题。

2. 不仅綠豆、赤豆、花生、豇豆根瘤菌，而且不同互接种族豆科：大豆、四季豆、羽扇豆的根瘤菌亦引起綠豆根瘤的形成。接种 7—10 天后即可形成可见的根瘤。

3. 豌豆根瘤菌不引起綠豆的根瘤形成。

4. 花生根瘤菌 N. 33、豇豆根瘤菌 N. 161 最有效，大豆根瘤菌 N. 636、四季豆根瘤菌 N. 673 和綠豆根瘤菌 N. 04 是中效与低效的，羽扇豆根瘤菌 N. 397 和赤豆根瘤菌 N. 12 是无效的。因此，用根瘤菌感染綠豆时最好采用高效的花生和豇豆根瘤菌。

参考文献

- [1] Richmond, T. E.: *J. Amer. Soc. Agron.*, 18: 411—416, 1926.
- [2] Fred, E. B., Baldwin, I. L. & McCoy, E.: *Root nodule bacteria and leguminous plants*. Madison, Wisconsin, 1932.
- [3] Allen, O. N. & Allen, E. K.: *Soil Sci.*, 47: 63, 1939.
- [4] Wilson, J. K.: *Leguminous plants and their associated organisms*. Cornell Univ. Agr. Exp. Sta. Mem., 221, 1939.
- [5] Иванов, Н. П.: *Метод физиологии и биохимии растений*, 4-е Изд. Сельхозгиз, 1946.
- [6] Chen, H. K. & Thornton, H. G.: *Proc. Roy. Soc.*, 129: 208—229, 1940.
- [7] Разумовская, З. Г.: *Журнал русского ботанического общества*, 16(4): 385, 1931.
- [8] Березова, Е. Ф., Доросинский, Л. М., Лопатина, Г. В., Мекина, Р. А. и Лазарев, Н. М.: *Применение бактериальных удобрений*. Изд. Сельхозгиз, 1955.
- [9] Доросинский, Л. М.: *Применение бактериальных удобрений*. Изд. Сельхозгиз, 1959.
- [10] Carroll, W. R.: *Soil Sci.*, 37: 117, 1934.
- [11] Walker, R. H. & Brown, P. E.: *Soil Sci.*, 39: 221—225, 1935.
- [12] Walker, R. H.: *Iowa Agr. Col. Exp. Stat. Res. Bull.*, 113: 371, 1928.
- [13] Nutman, P. S.: *Biol. reviews*, 31 (2): 109—151, 1956.
- [14] Красильников, Н. А.: *Микроорганизмы почвы и высшие растения*. Изд. АН СССР, 1958.
- [15] Красильников, Н. А.: *Прививка новых свойств клубеньковым бактериям методом индукции*. Сб. «Достижения мичуринской науки в микробиологии», Сельхозгиз, стр. 28—43, 1958.
- [16] Burrill, I. J. and Hansen, R.: *Agr. Exp. Sta. Bull.*, 202: 115, 1917.
- [17] Красильников, Н. А.: *Определитель бактерий и актиномицетов*, Изд. АН СССР, 1949.
- [18] Bergey, D. Manual of Determinative Bacteriology 6-ed, 7-ed 1948, 1957.
- [19] Norris, D. O.: *Empire J. exp. Agr.*, 24: 247—270, 1956.
- [20] Wilson, J. K. *Soil Sci.* 58: 61, 1944.
- [21] Ло Мин-дянь: *Образование клубеньков у маша (Phaseolus aureus)*. Диссер. ЛГУ. Ленинград, 1960.

ВОПРОС ОБ ОБРАЗОВАНИИ КЛУБЕНЬКОВ И ИХ ЭФФЕКТИВНОСТИ У МАША (*PHASEOLUS AUREUS*), ЗАРАЖЕННОГО КЛУБЕНЬКОВЫМИ БАКТЕРИЯМИ У РАЗЛИЧНЫХ ПЕРЕКРЕСТНО-ИНОКУЛИРУЮЩИХСЯ ГРУПП

Ло Мин-дянь

1. Изучено образование клубеньков и их эффективности у маша, зараженного клубеньковыми бактериями у различных перекрестно-инокулирующих групп. Обсужден вопрос о специфичности клубеньковых бактерий.

2. Образование клубеньков у маша вызывали клубеньковые бактерии маша, адзуки, арахиса, сои, вигны, фасоли обыкновенной и люпина. На 7—10-ый день после посева образовались видимые клубеньки.

3. У маша не вызывали образования клубеньков клубеньковые бактерии гороха.

4. Наиболее эффективными были клубеньковые бактерии арахиса штамм № 33, вигны № 161, менее эффективными бактерии сои № 636, бактерии фасоли обыкновенной № 673 и бактерии, выделенные из клубеньков маша при заражении ташкенской почвой штамм № 04. Неэффективными являлись клубеньковые бактерии адзуки № 12, люпина № 397. Таким образом при инокуляции растений маша клубеньковыми бактериями следует использовать высокоеффективные штаммы клубеньковых бактерий арахиса и вигны.