

大豆—根瘤菌混交性与亲和性

张学江 周平贞 姜荣文 江木兰

(中国农业科学院油料作物研究所)

摘 要

本文报导了大豆—根瘤菌混交性与亲和性研究结果: 1) 大豆与根瘤菌共生关系具有混交性。用许多豆科植物根瘤分离的菌株和大豆×花生根瘤菌交互接种, 都在大豆上混交结瘤。大豆甚至比花生容易感染结瘤。2) 大豆—根瘤菌仍具有很强的专一性, 表现在有效性(固氮)方面, 而并不是在侵染力(结瘤)方面。不同品种—菌株组合存在亲和性和非亲和性。供试适合于春、夏、秋播的4个南方推广品种中, “太兴黑(春豆)根瘤菌”表现广谱亲和性; 而“矮脚早(春豆)根瘤菌”表现特异非亲和性, 与Hup⁺、负菌株和血清型为123的等菌株共生不亲和, 但与几个快生型菌株共生, 表现中度亲和。本文讨论了怎样提高大豆—根瘤菌共生固氮作用, 提高大豆产量的问题和研究大豆固氮生态、资源及固氮育种、遗传意义, 提出了关于根瘤菌选择及其菌剂生产应用的建议。

引 言

大豆起源于我国, 其土著根瘤菌很多, 人工接种根瘤菌, 增产效果往往不稳定, 也不平衡。与我国情况相反, 不是大豆原产的热带地区, 虽有例外, 但多数栽培大豆品种不是有效结瘤, 除非人工接种大豆根瘤菌^[1], 引种大豆的一些国家采用根瘤菌剂接种明显增产^[2]。但是, 无论我国还是其他国家, 一个共性问题就是大豆与根瘤菌共生具有特异性, 不同品种与根瘤菌共生有明显差异^[3]。只是因为大豆原产我国, 这个问题显得更为复杂些。因此, 针对我国大豆的特点, 研究其共生固氮的特异性, 有特殊意义。五十年代张宪武等^[4]对我国东北大豆品种与根瘤菌的共生关系作过一些研究。此外尚少见报导。本文从大豆共生混交性和适合于南方春、夏、秋播的大豆品种—菌株亲和性两方面, 总结了我们十多年的研究成果。

材 料 和 方 法

(一) 菌株 1972—1973年, 从云南昆明和西双版纳、湖南衡阳水田土和湖北武汉市等地的豆科植物上采集根瘤或采集土样中分离菌株^[5]。1977—1985年, 又从其他研究

* 吴生堂同志曾参加1982年以前的部分工作, 现已调离本所。

本文于1986年2月26日收到。The paper was received in Feb, 26, 1986

者手里获得一些大豆根瘤菌。

(二) 品种 选用可供春播的太兴黑、矮脚早和夏(秋)播的猴子毛、鄂豆二号等4个南方推广品种,由本所品种研究室提供。

(三) 水培法^[6]盆栽结瘤鉴定。

(四) 结瘤和固氮测定 根据根瘤出现时间和根瘤数评分划为强、中、弱、无4级结瘤;根据植株干重、净固氮酶活性(即乙烯量减放氢量)也评分划为强、中、弱、无4级固氮。

(五) 田间试验 随机区组设计,重复3—4次,小区管理同大田。

结 果 和 讨 论

(一) 共生混交性

从24种豆科植物根瘤中分离的171个菌株,经植物结瘤鉴定(表1),有18种植物根瘤分离的79个菌株在大豆上结瘤;也有18种植物分离的44个菌株在花生上结瘤;还有在大豆、花生上都能结瘤的有14种植物22个菌株。根据 Burton^[7]划分的11种根瘤菌,并把接种同一根瘤菌表现相似反应的豆科植物分别划为45个组群。在我们鉴定的18个属根瘤菌分离的菌株中,有4个属分离的菌株是属于豇豆型根瘤菌 *Rhizobium spp.* (Cowpea type), 寄主属于第30组群;还有1个属是属于 *Rhizobium spp.* (Various), 第41组群。又根据 Date^[8]按结瘤反应的分类,将寄主植物划分为有效混交组群(Group PE)、无效混交组群(Group PI)和特异组群(Group S)。我们的结果中,有8个属的植物是 Group PE, 有2个属是 Group PI, 其它属则少见报导。这些豆科植物根瘤分离的菌株,虽然未在原寄主上回接,需待进一步研究证实,但是,这些数据与国外文献报导的结果趋势是一致的,说明大豆对其它许多豆科植物分离的菌株具有感染结瘤的能力,存在大豆、花生和其它豆科“寄主—菌株”交互感染的共生混交性。

大豆、花生“寄主—菌株”交互感染的共生混交性,从交互接种试验看出(表2):在大豆和花生同栽一盆中,接种花生根瘤菌时,在大豆上结瘤的菌株数,至少达到在其本身寄主花生上的比率;相反,接种大豆根瘤菌时,在花生上结瘤的菌株数,远少于在其本身寄主大豆上的比率,只占8.4%。从照片1、2看出,花生根瘤菌97—1、009能在大豆上很好结瘤。

以上表1、2和照片1、2一致表明,大豆甚至比花生容易被根瘤菌感染结瘤。因此,大豆—根瘤菌共生固氮的特异性,在侵染力(感染结瘤)方面,并非具有很强的专一性。这可能是与大豆起源与进化相联系的。

研究共生混交性,一方面打破了根瘤菌按侵染力划分种族的概念。正如早在1944年 Wilson^[9]的报导指出,鉴于能使大豆和“豇豆互接种族”的豆科植物结瘤的根瘤菌之间没有明显的界限,而是整个豆科中存在着混交性,因此,有理由放弃“互接种族”这一概念。伯尔盖细菌分类手册第九版,关于根瘤菌的分类已经不同于过去几版了^[10]。另一方面,也为进一步研究我国大豆和大豆根瘤菌的起源和进化,扩大共生固氮微生物的

表 1. 分离的菌株在大豆、花生上结瘤

Table 1. Nodulations on soybean and peanut inoculated with differnet isolates

寄主植物*	Host plants	受试菌株数 No. of isolates tested	结瘤菌株数		
			在花生上 On peanut	在大豆上 On soybean	在花生和大豆上 On peanut and soy bean
云南紫荆	<i>Cercis yunnanensis</i>	4	0	0	0
黑心树	<i>Cassia siamea</i>	3	1	2	1
无刺含羞草	<i>Mimosa invisa</i>	3	1	0	0
油麻藤	<i>Mucuna imbricata</i> (PE)	16	1	7	1
金雀花	<i>Parochetus communis</i>	3	0	0	0
山蚂蝗	<i>Desmodium racemosum</i> (PE)	13	7	5	3
十一叶木	<i>Indigofera hendecaphylla</i> (30; PE)	4	3	3	2
猪屎豆	<i>Crotalaria mucronata</i> (30; PE)	25	4	11	0
地八角	<i>Astragalus bhoianensis</i>	2	0	0	0
小鹿藿	<i>Rhynchosia minima</i> (PE)	12	4	2	0
田菁	<i>Sesbania cannabina</i> (PI)	7	0	1	0
云南葛藤	<i>Pueraria peduncularis</i> (PI)	8	2	7	2
大叶千斤拔	<i>Moghania macrophylla</i>	1	1	1	1
葛藤	<i>Pueraria spp.</i>	2	0	0	0
绢毛胡枝子	<i>Lespedeza curceta</i> (30)	3	1	1	0
合欢	<i>Albizia spp.</i>	10	5	2	1
合欢	<i>Aeschynomene indica</i> (PI)	1	1	1	1
虫豆	<i>Atylosia spp.</i>	3	0	0	0
木豆	<i>Cajanus cajan</i> (20; PE)	5	1	1	1
鸡眼草	<i>Kummerowia striata</i>	8	6	5	4
野大豆	<i>Glycine soja</i> (PE)	31	1	26	1
草木犀	<i>Melilotus suaveolens</i>	1	1	1	1
槐树	<i>Rolinia pseudoacacia</i> (41)	1	1	1	1
鸭脚树	<i>Acacia farnesiana</i>	5	3	2	2
合计	24种 Total 24 species	171	44	79	25

* 中国科学院西双版纳植物园和武汉植物园帮助鉴定，致谢。
括号中的四位数字系根据 Burton 分类划分的寄主植物组群；PE；PI 分别系根据 Date 的分类划分的有效混交组群和无混交组群。

表 2. 大豆 × 花生根瘤菌交互接种

Table 2. Soybean x peanut Rhizobium cross inoculation

根瘤菌 (Rhizobium Species)	供试菌株数 No. of strains tested	在大豆上 On soybean		在花生上 On peanut	
		结瘤菌株数 No. of nodule- lation strains	%	结瘤菌株数 No. of nodule- lation strains	%
大豆根瘤菌 (<i>Rhizobium japonicum</i>)	166	153	92.2	14	8.4
花生根瘤菌 <i>Rhizobium spp</i> (<i>Arachis</i>)	19	12	63.2	10	52.8

寄主范围、生态、分类和资源利用提供了参数。

(二) 品种—菌株亲和性

尽管大豆存在共生混交性,但与根瘤菌之间仍然存在专一性^[9]。所以,大豆根瘤菌有效菌株的分离与选择,应根据不同区域性的大豆品种来进行^[11]。我们对大豆根瘤菌与我国南方推广的春、夏、秋播的大豆品种之间的选择性进行了研究,证明大豆—根瘤菌在有效性(固氮能力)方面,具有专一性。

1. 盆栽试验,从表 3 看出,“太兴黑—根瘤菌”表现广谱性,其结瘤频率为100%。但是,矮脚早对大豆根瘤菌株的选择性最强,其结瘤频率只占52.7%。从表 4 看出,在供试的 4 个品种上,用15个大豆根瘤菌接种,表现出品种—菌株亲和性有明显差异。其

表 3. 根瘤菌接种大豆品种结瘤频率

Table 3. Summary of nodulation frequencies on soybean cultivars with Rhizobium strains

年 份 Years	结瘤菌株数/供试菌株数 No. of nodulation strain/No. of strains tested			
	太兴黑 Taixinghei	矮脚早 Aichiasao	猴子毛 Houzimao	鄂豆二号 dou 2
1977	12/12	7/12	10/12	12/12
1978	4/4	2/4	3/4	
1979		11/25	20/25	
1980	6/6	2/6	6/6	6/6
1983—84		5/9		9/9
1985		11/16		14/16
平均频率(%) Average frequency %	100	52.7	83.0	95.3

中,仍以矮脚早的选择性最强,对 123 血清型菌株 (CB1809、3I1b123、305) 和 Hup⁺ (氢吸收) 正、负菌株及其它菌株 (SR Hup⁺, PJ18 Hup⁺, 2027, B15) 共 7 个菌株,显示结瘤少,不固氮,即表现为特异非亲和性。从照片 3、4 也看出品种—菌株组合表现的亲和性与非亲和性的明显差异。亲和性组合,形成正常根瘤,显红色、瘤多、瘤大,一般在水培盆栽接种后10天出现根瘤,植株生长健壮、叶色深绿。非亲和性组合,则形成发育不良的非正常根瘤,呈白色、瘤少、瘤小,多数为肿状突起,一般在接种后20天出现根瘤,植株生长黄瘦。

“矮脚早—菌株”这种特异非亲和性表现型与美国报导^[12]的具有控制结瘤反应的 R_i 基因的大豆寄主—菌株非亲和性表现型相似。因此,该品种可用作进一步研究控制结瘤的大豆寄主因子与遗传的试验材料。我国品种资源丰富,分布甚广,共生固氮性状多异,有必要研究我国大豆共生固氮的寄主遗传因子,以及克服非亲和性的大豆固氮育种,以提高大豆共生固氮。

有趣的是,与许多慢生型大豆根瘤菌 (*Bradyrhizobium japonicum*) 非亲和性的矮脚早品种,却与快生型大豆根瘤菌 (*Rhizobium fredii*) USDA 191、192、193 中度亲和,鄂豆二号品种也与这快生菌中度亲和 (表 4)。新近报导,这种快生菌与北美大豆

表 4 大豆“品种—菌株”亲合性* (1972—1985年,水培)
Table 4 Soybean “cultivar—strain” compatibility*
(1972—85, water culture)

菌 株 Strains	结 瘤 Nodulation				固 氮 Fixation			
	太兴黑 Tai-xing-hei	矮脚早 Aichia zao	猴子毛 Houzi mao	鄂豆二号 Edou 2	太兴黑 Tai-xing-hei	矮脚早 Aichia zao	猴子毛 Houzi-mao	鄂豆二号 Edou2
113—2 (USDA 335)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
182—2	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
305	+++	+	+++	+++	+++	—	+++	++
121—6	○	+	+++	○	○	+	+++	+++
2027	+++	+	+++	+++	+++	—	++	++
005	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
B 15	+++	+	+++	+++	++	—	+++	++
CB 1809	+++	+	+++	+++	++	—	+++	+++
3lib110 (USDA 110)	○	+++	○	+++	○	+++	○	+++
3lib 123	○	+	○	+++	○	—	○	+++
SR (Hup ⁺)	○	+	○	+++	○	—	○	+++
PJ 18 (Hup ⁻)	○	+	○	+++	○	—	○	++
USDA 191	○	++	○	++	○	++	○	++
USDA 192	○	++	○	++	○	++	○	++
USDA 193	○	++	○	++	○	++	○	++

* +++ 强结瘤或固氮 Strong infection or N₂-fixation
 ++ 中结瘤或固氮 Moderate infection or N₂-fixation
 + 弱结瘤或固氮 Weak infection or N₂-fixation
 — 无结瘤或固氮 No infection or N₂-fixation
 ○ 未作鉴定 No test

表 5. 单一菌株与复合菌株接种剂的产量效应 (比不接种增减产%) 1978—1979年
Table 5. Effect of single and multistrain on yield (% of increase or decrease in yield as compared with uninoculated control)

品 种 Varieties	58—161	矮 脚 早 Ai-Chia-Tsao	鄂豆二号 E-Dou-2	太兴黑豆 Tai-Xing-Hei	当地秋豆 Local autumn soybean
菌 剂 Inoculants					
113—2	16.7	18.5	8.0	8.3	13.9
182—2	9.5	15.3	5.3	2.3	12.8
305	12.0	—5.6	2.2	15.5	18.1
复合菌剂* Multistrain	16.7	14.3	6.1	8.3	18.7
121—6	10.7	—9.9			
2027	11.4	—3.4			

* 表中前两个品种所用的复合菌剂为 113—2+182—2+305+121—6+2027 组成后三个品种所用的复合菌剂 113—2+182—2+305 组成。

品种共生，虽有有效共生的例子，但多数是无效或低效^{〔13〕}，而与亚洲大豆，包括与中国的大豆共生时，多数有效共生^{〔14〕}。我们的结果也支持了这一点。这些研究，揭示了在我国选择亲和性强的快生型大豆根瘤菌与品种组合的可能性。

2. 田间试验结果与盆栽试验一致。即在盆栽试验中，品种—菌株亲和性组合，在田间表现显著增产 ($P < 0.05$)；相反，在盆栽试验中，矮脚早—菌株非亲和性组合，在田间则表现不增产^{〔15〕}。从表 5 看出，盆栽试验测定的矮脚早品种与菌株 305、121—6、2027 非亲和性组合 (表 4)，在田间试验中表现无增产作用；然而，田间接种复合菌剂 (即含有多个有效菌株组成的菌剂) 可以克服大豆—根瘤菌共生固氮特异性，增产效果比单一菌株的接种剂稳定。这与 Caldwell^{〔16〕} 报导的结果基本一致，与 Rennie 等人的报导^{〔17〕} 相矛盾 (在加拿大，混合菌接种早熟品种降低固氮力和大豆减产)。当然，广谱菌株是为人们生产实际中所需求的。我们选出的广谱、高效的大豆根瘤菌 (*Bradyrhizobium japonicum*) 113—2，是适应较多的大豆品种，特别适应南方春、夏、秋播大豆 4 个推广品种，一般每亩能增收大豆 29.2 斤，增产 14.4%^{〔15〕}。



根据我们的研究结果和 Date^[18] 提出的原则, 可作如下建议: 1、在菌株选择方面, 应针对品种—菌株组合, 选择广谱性的或特异性的高效菌株, 以提高接种根瘤菌的效果。2、在菌剂生产和农业应用上, 为了调节大豆—根瘤菌共生固氮特异性, 有三种可能的办法, 这就是生产使用适应特定品种的那个菌株的特异菌剂, 适应多个品种的广谱高效菌株的广谱菌剂, 和包含多个有效菌株的复合菌剂。

参 考 文 献

- [1] Pulver EL et al, 1992, Nodulation of soybean cultivars with *Rhizobium* spp. and their response to inoculation with *R. japonicum*, *Crop Sci.*, 22, 1065—1070.
- [2] Harold L. Peterson et al, 1981, the significance and application of *Rhizobium* in agriculture, In: *Biology of the Rhizobiaceae (International Review of Cytology, Supplement 13)*, Ed. Kenneth L. Giles and Alan G. Atherly, 311—331, AP. A Subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich, Publishers New York, London, Toronto, Sydney, San Francisco.
- [3] Vest G. et al, 1973, Nodulation and nitrogen fixation, In: *Soybeans, Improvement, Production, and uses*, Ed. Caldwell BE., pp. 365—373, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin, USA.
- [4] 张宪武, 许光辉编著, 1953, 大豆和大豆根瘤菌, PP. 47, 科学出版社.
- [5] Vincent JM., 1970, A manual for the practical study of root-nodule bacteria, IBP, Blackwell Scientific Publications, Oxford, England.
- [6] 周平贞等, 1979, 豆科植物结瘤试验——水培法介绍, 中国油料, (2) 60—62.
- [7] Purton JC., 1980, New developments in inoculating legumes, In: *Recent Advances in BNF.*, Ed. N. S. Subba Rao, pp. 380—405, Edward Arnold.
- [8] Date RA., 1982, Assessment of rhizobia status of the soil, Classification of nodulation response In: *Nitrogen Fixation in Legumes*, Ed. Vincent JM., pp. 92—93, AP., A Subsidiary of Harcourt Brace Jovanovich, Publishers Sydney, New York London, Paris, San Diego, Francisco Sao Paulo, Tokyo, Toronto.
- [9] Wilson JK., 1944, Over five hundred reasons for abandoning the cross inoculation groups of the Legumes, *Soil Sci.*, 58, 61—69.
- [10] Jordan DC., 1983, In: *Bergey's manual of systematic bacteriology*, 9ed., 234—254.
- [11] Лунги НД, 1977, Итогика выделения эффективных штаммов клубеньковых Бактерий сои. Селекция и семеноводство, 4 74—75.
- [12] Devine TE., 1984, Genetics and breeding of nitrogen fixation, In: *BNF—Ecology, Technology and Physiology* Ed. Martin Alexander, pp. 127—154, Plenum Press, New York and London.
- [13] DuTeau NM et al, 1984, Program and Abstracts Word Soybean Research Conference III, No 110, pp. 24, 12—17 August, 1984, Iowa state Univ., Ames, Iowa, USA.
- [14] Stiwers MD, et al, 1984, Physiological and Symbiotic Characteristics of Fast-growing *R. japonicum*, *Plant and Soil*, 77(1), 3—14.
- [15] 张学江等, 1986, 广谱、高效的大豆根瘤菌 (*Bradyrhizobium japonicum*) 113—2, 中国油料, (1), 62—68.
- [16] Caldwell BE., 1969, Initial competition of root nodule bacteria on soybeans in a field environment, *Agron. J.*, 61, 813—815.
- [17] Rennie RJ. et al, 1984, Multistrain vs. single strain *Rhizobium japonicum* inoculants for early maturing (oo and ooo) soybean cultivars, N_2 -fixation quantified by ^{15}N isotope dilution, *Agron. J.*, 76, 498—502.
- [18] Date RA., 1976, Principles of *Rhizobium* strain selection, In: *Symbiotic Nitrogen Fixation in Plants*, IBP, 7, Ed. Nutman, PS, pp. 137—150, Cambridge Univ. Press, Cambridge, England.

PROMISCUITY AND COMPATIBILITY BETWEEN SOYBEAN HOST AND RHIZOBIUM STRAINS

Zhang xuejiang Zhou Pingzhen Jiang Rongwen Jiang Mulan

(Institute of Oil Crops, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Wu han)

Abstract

The interactions between soybean and Rhizobium are complex, but very few study has been reported. This paper is the report of result research about host soybean—Rhizobium strain promiscuity and compatibility. The results indicate that promiscuity occurs in soybean—Rhizobium symbiont. There is promiscuous nodulation on soybean roots inoculated with isolates from other legumes on soybean × peanut with Rhizobium cross inoculation. Soybean is even easier nodulated by Rhizobium as compared with peanut. On the other hand, soybean—Rhizobium specificity is strong in effectiveness of nitrogen fixation not in infectiveness. Compatibility or incompatibility occurs in different cultivar—Rhizobium combinations. Of four released soybean cultivars suitable for spring, summer and autumn sowing in south of China, cultivar Taixinghei—Rhizobium strain combination was found to have broad spectrum compatibility, while Aichiaizao with Rhizobium strains of serogroup 123, some Hup⁺, Hup⁻ and others was found to be specific incompatibility, and moderate compatibility with some fast grower. How to improve symbiotic nitrogen fixation for high yield of soybean with Rhizobium significance of study on ecology, germplasm resources, breeding and Genetics of nitrogen fixation in soybeans and suggestions of strain selection, inoculant production and uses are discussed in this paper.