

大豆三类共生体抗逆性研究初报*

崔 阵 徐玲玫 樊 蕙 葛 诚

(中国农业科学院土壤肥料研究所)

摘 要

对大豆根瘤菌三类共生体56个菌株和9个参照菌株进行了抗逆性试验。结果表明,中华根瘤菌的耐盐、耐高温、耐碱能力高于慢生和超慢生大豆根瘤菌,并存在有耐酸能力的菌株。中华根瘤菌在37℃高温下连续传10代后,其结瘤和固氮能力不受影响。

已知在大豆根部结瘤共生的大豆根瘤菌有三个类群,即中华根瘤菌(*Sinorhizobium fredii*)^[3]、慢生大豆根瘤菌(*Bradyrhizobium japonicum*)^[6]和超慢生大豆根瘤菌(*Extra-slow-growing soybean rhizobia*)^[1],它们在生理生化、血清学、遗传学、分类等方面有十分显著的差别^[2]。本文选取来自不同地区的大豆三类共生体,研究了它们对盐、温度、酸和碱的耐受性,并测定了能在高温环境下连续传代的菌株在大豆寄主上的结瘤和固氮,以观察三类共生体在抗逆性方面的差异,为菌株选育、生物技术改造菌株提供依据。

材 料 与 方 法

供试菌株共65株,其中中华根瘤菌26株,慢生大豆根瘤菌14株,超慢生大豆根瘤菌16株,参照菌株9株。

基础培养基的成份为:甘露醇5克、谷氨酸钠4克、阿拉伯糖1克、 K_2PO_4 0.5克、 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.2克、NaCl 0.1克、 $CaSO_4$ 0.2克、酵母粉0.4克、琼脂20克、水100毫升、pH6.8-7.0。

一、温度试验

设4-6℃、8℃、35℃、37℃4个处理,每处理2次重复。

二、耐盐试验

在基础培养基中添加 NaCl 使其最终浓度分别0.1M、0.2M、0.3M、...0.9M。每处理2次重复,28℃下培养。

* 国家自然科学基金资助项目。

本文于1991年12月23日收到, This paper was received on Dec. 23, 1991.

三、pH 耐受试验

用 HCl 或 NaOH 调节基础培养基的 pH 值,使其最终 pH 分别为 5.0、8.0、9.0、10.0。每处理 2 次重复,28℃ 培养。pH5 为液体培养基,接种后定时测定 420nm 下 OD 值,以 OD 值增加为生长。

四、高温连续传代对结瘤固氮影响的观察试验

选取不同地理来源的 6 个菌株,用其出发菌株、37℃ 下第 5 代和第 10 代菌株作接种物,在大豆品种矮脚早上做灭菌沙培试验,每处理 4 次重复,测定植株干重和根瘤活性。其余菌株只观察第 10 代的结瘤情况。

试验结果

一、温度试验

在低温下,所有菌株的生长均受到抑制。在高温下,除 C223 外的慢生大豆根瘤菌和所有超慢生大豆根瘤菌的生长均受到抑制,而中华根瘤菌则生长良好。9 株参照菌株表现不一。见表 1。

二、耐盐试验

表1 大豆根瘤菌对盐和温度的反应
Table 1 Responses of soybean rhizobia to salt and temperature

菌 株 Strain(s)	耐盐性 NaCl tolerance	对温度的反应 Response to temperature	
		35℃	37℃
百脉根根瘤菌 <i>R. loti</i> ATCC33669	0.2M	—	
豌豆根瘤菌 <i>R. leguminosarum</i>			
菜豆生物型 bv. phaseoli 127K17	<0.1M	+	—
三叶草生物型 bv. trifolii 540-80	<0.1M	—	
蚕豆生物型 bv. viciae ATCC10004	<0.1M	+	—
华癸根瘤菌 <i>R. huakuii</i> 紫103	0.2M	+	+
苜蓿根瘤菌 <i>R. meliloti</i> ATCC9930	0.7M	+	+
沙打旺根瘤菌 <i>R. sp. (Astragalus)</i> 沙16	<0.1M	—	
羽扇豆根瘤菌 <i>R. sp. (Lupinus)</i> G13	<0.1M	—	
根癌农杆菌 <i>A. tumefaciens</i> T37	0.7M	+	+
中华根瘤菌 <i>S. fredii</i>			
2048等16株	0.3M	+	+
2049	0.1M	+	+
2205等5株	0.2M	+	+
2078	0.4M	+	+
2251等3株	0.7M	+	+
慢生大豆根瘤菌 <i>B. japonicum</i>			
002 13	<0.1M	—	
C223	<0.1M	+	
超慢生大豆根瘤菌 ESG			
2044等16株	<0.1M	—	

耐盐试验结果见表1。

三、pH 耐受试验

试验的全部65个菌株在 pH8和 pH9的培养基上均能生长。在 pH10的培养基上,26株中华根瘤菌中除2049和2075外均能生长,慢生和超慢生大豆根瘤菌不能生长,9株参照菌株中只有紫103、9930和 T37能够生长。

在 pH5的固体培养基上,由于琼脂凝固不好,所以妨碍了结果的观察,能明显看出生长的菌株有参照菌株33669和 T37、中华根瘤菌2048和2075。对这4株菌在 pH5液体培养基中进行试验,T37和2075培养仅1天后,光密度值就迅速增加并伴随着 pH 值的升高,培养5天后,33669的光密度和 pH 值均增加,2048的光密度和 pH 值增加较小。

四、高温连续传代对结瘤固氮影响的观察试验

试验结果见表2

表2 高温传代后对菌株结瘤和固氮的影响***

Table 2 Effects of high temperature on nodulation and nitrogen fixation

菌 株 Strain	世 代 Generation	结瘤部位 Site of nodulation	鲜瘤重 克 Fresh nodule weight	总酶活 mol c ₂ H ₂ /hr Nitrogenase activity	植株干重 克 Shoot dry weight
<i>S. fredii</i> 2048 [*]	F0 ^{**}	集中主根, 量多	0.29	0.41	1.14a
	F5		0.15	0.37	0.57a
	F10		0.21	0.46	0.80a
2078	F0	集中主根, 量多	0.23	0.19	0.83a
	F5		0.31	0.84	1.06a
	F10		0.22	0.64	0.75a
2205	F0	集中主根, 量多	0.23	0.28	0.78a
	F5		0.39	0.46	0.96a
	F10		0.33	0.49	0.93a
2300	F0	集中主根, 量多	0.20	0.49	0.94a
	F5		0.24	0.51	1.04a
	F10		0.20	0.49	0.87a
C331	F0	集中主根, 量多	0.24	0.41	1.02a
	F5		0.24	0.33	0.88a
	F10		0.24	0.39	1.09a
DE145	F0	集中主根, 量多	0.22	0.51	1.07a
	F5		0.22	0.46	0.88a
	F10		0.20	0.24	0.95a

* 2048由于出苗不齐,每处理3次重复,每盆2株。其余均为4次重复,每盆2株。表中数据为每盆的平均值。

** F0、F5、F10分别代表出发菌株、第5代菌株和第10代菌株。

*** 用 Duncan's 新复极差测验植株干重,F0、F5和 F10之间差异不显著(p=0.05)。

结 语

1. 中华根瘤菌能耐受较高的盐浓度,且不同菌株之间耐盐能力有较大差别。慢生和超慢生大豆根瘤菌耐盐浓度均小于0.1MNaCl。当培养基组成不同时,菌株对同一盐浓度反应不一样^[5],所以比较不同菌株的耐盐能力时须在相同的培养条件下进行。

2. 在pH8和pH9的培养基上,中华根瘤菌生长良好,慢生和超慢生大豆根瘤菌生长比对照稍差。在pH10培养基上,23株中华根瘤菌能够生长,说明它有很强的耐碱能力。两株中华根瘤菌在pH5液体培养基中表现出较强的耐酸能力,其中2075培养仅1天光密度就迅速增加,该菌培养后产生大量胞外多糖,可能与耐酸能力有关^[4]。

3. 中华根瘤菌能够耐受37℃,在37℃下连续传代5和10代后,对其结瘤和固氮能力没有明显影响。

参 考 文 献

- [1] 徐玲玫等. 1987. 大豆科学. 6(2):127--131.
- [2] 葛诚. 1989. 农牧情报研究. 1:13--21.
- [3] Chen. W. X. et al. 1988. Int. J. Syst. Bacteriol. 38:392-397
- [4] Cunningham. S. D. et al. 1984. Soil Sci. Soc. Am. J. 48:1273-1276
- [5] Elsheikh. E. A. E. et al. 1989. Soil Biol. Biochem. 21:883-887
- [6] Jordan. D. C. et al. 1988. Int. J. Syst. Bacteriol. 38:392-397

PRELIMINARY STUDY ON THREE GROUPS OF SOYBEAN RHIZOBIA FOR TOLERANCE TO STRESSES

Cui Zhen Xu Lingmei Fan Hui Ge Cheng

(Soils and Fertilizers Institute, Chinese Academy
of Agricultural Sciences, Beijing)

Abstract

Fifty-six strains from three groups of soybean rhizobia and nine reference strains were examined for tolerance to stresses. Twenty-five strains of *S. fredii* varied in tolerance to salt-stress ranging from 0.1M--0.7M NaCl, all were tolerant of 37℃, twenty-three strains were capable of growth at pH10, and two strains exhibited acid-tolerance. Strains of *B. japonicum* and ESG were not tolerant to 0.1M NaCl, and unable to grow at 35℃, all were tolerant of pH9 but not pH10. After serial subculture at 37℃, *S. fredii* strains retained symbiotic effectiveness.