

# 黑龙江省土著大豆根瘤菌数量分布及接种菌在土壤中共生定殖能力的研究<sup>\*</sup>

李新民 窦新田 刘庆学<sup>\*</sup> 王玉峰

(黑龙江省农科院土肥所)

**摘要** 黑龙江省土壤土著大豆根瘤菌的数量变化范围在 3~10 000 个/g 鲜土,受种植年限和土壤质地等因素的影响,黑土土著菌数明显的高于其它土类。在寄主植物大豆生长时期,土壤中根瘤菌数量在一定的幅度内波动变化,即存在着土壤载菌量的问题。寄主植物存在与否对黑土和白浆土的载菌量有明显的影响,而对风沙土和草甸土影响不大。接种菌 B1611C Str<sup>+</sup>、Rif<sup>+</sup>、Gen<sup>+</sup> 在黑土中的生存定殖能力强于在白浆土,在风沙土和盐碱土上最弱

**关键词** 土著大豆根瘤菌数量及变化 土壤载菌量 生存与定殖

**中图分类号** S154.3 S565.101

豆科植物接种根瘤菌是早已证明的一项农业增产措施,接种的目的是能有效建立起豆科植物-根瘤菌共生固氮体系。在影响接种效果的诸多因素中,土壤中土著根瘤菌数量分布对接种菌的侵染结瘤有显著地制约作用(Singleton et al., 1986, Weaver et al., 1974),土壤理化性状影响接种菌生存定殖能力(Weaver et al., 1972),并同接种菌有效性存在一定相关关系(窦新田等, 1989)。黑龙江省是我国的大豆主产区,常年播种面积 233.3 万  $\text{hm}^2$ ,因此研究不同土壤土著大豆根瘤菌数量生态分布及土壤对接种菌的定殖能力影响,对于指导大豆根瘤菌接种剂的应用具有重要的现实意义。

## 1 材料与方 法

### 1.1 大豆土著根瘤菌数量的测定

采用植物感染计数法(MPN),指示植物为野生大豆。取新采集的鲜土样,制成 10 倍土壤稀释梯度液,各梯度液 1ml 接种到无菌无氮琼脂幼苗试管中,培养一个月后,调查结瘤管数,算出最大可能数

### 1.2 不同土类土壤载菌量的研究

依上述方法,将所研究的各土类土壤根瘤菌数用预培养 HN32 根瘤菌培养体调节到较为相近的菌数水平后,分别装入小塑料盒中,加入无菌、无氮植物营养液,土壤含水量保持在 40% 左右。处理分两组,一组播种大豆,另一组不种植物,置温室中培养。试验当天及每隔 10 天左右取样按 MPN 法测数

### 1.3 接种菌在土壤中定殖、生存能力研究

接种菌系由广西农大提供的抗性标记大豆根瘤菌菌株 B1611C Str<sup>+</sup>、Rif<sup>+</sup>、Gen<sup>+</sup>,其抗性

<sup>\*</sup> 收稿日期 1997-06-05

省自然科学基金资助课题;克东县种子公司。

高量为: Str.  $2.5^4$  g/ml Rif  $50^4$  g/ml和 Gen  $3^4$  g/ml

20g 风干过筛土样装入玻璃称瓶中,加入 1ml含  $3.5 \times 10^8$  细胞 /ml标记菌培养体,同时加入无菌水使土壤含水量保持 40%,盖好瓶盖置于  $28^{\circ}\text{C}$ 培养箱中培养,每隔 1周测定一次。具体操作如下: 20g 土样放入 200ml 无菌水的三角瓶中,瓶内加玻璃珠若干个,摇床振荡 30 分钟,静置后取上清液 1ml制成 10倍稀释梯度液,取 0.5ml各梯度液涂布到含 Str Rif Gen 抗菌素的 YMA培养基上培养,重复 3次,7天后观察记数(平板中抗菌素浓度为该标记菌的最高标记量)

## 2 结果与讨论

### 2.1 土壤中土著大豆根瘤菌数量

对不同土类土著大豆根瘤菌数量研究表明,其数量范围在 3~ 11 000个 /g 鲜土(表 1) 较为肥沃的草甸土和黑土土著菌数明显地高于其它土类,质地较为粘重的白浆土和盐碱土其菌数高于质地较轻的风沙土,同一土类耕种历史长的高于开垦晚的,说明土壤中土著根瘤菌的数量同土壤的肥沃程度、土壤质地、耕种历史及种植作物的种类有很大关系。

表 1 土壤土著根瘤菌数量

土壤类型	采集地	土著根瘤菌数 (个 /g 鲜土)	土壤类型	采集地	土著根瘤菌数 (个 /g 鲜土)
黑土	绥化	3100	白浆土	虎林	750
	德都	4900		林口	460
	哈尔滨	11000		红兴隆	1400
盐碱土	安达	210	风沙土(2年耕作史)	杜蒙	3
风沙土(17年耕作史)	杜蒙	50	草甸土	集贤	3100

### 2.2 土壤根瘤菌数量的发展变化

对 5个土类种植与不种植寄主植物大豆后土壤中根瘤菌数量水平的变化研究结果见表 2

从表中可以看出,在寄主植物大豆生长发育时期内各种土壤大豆根瘤菌数量发展变化趋势相一致,即在 0~ 60天内菌数的变化是开始缓慢增加,35天左右达到最高,然后逐渐降低,最后再回到原有水平。寄主植物的存在与否明显地影响着菌数的变化与发展,特别是质地较重的土壤如黑土和白浆土,当种植寄主植物大豆后其最高菌数量为起始菌数的 100倍以上,而无寄主生长时最高菌数仅 30倍于起始菌数。质地粘重的盐碱土菌数发展的最高水平两者分别仅为起始菌数的 30倍和 4倍,这同土壤 pH影响根瘤菌生长增殖有关(Holding et al., 1971) 风沙土与草甸土根瘤菌数的发展水平受寄主植物存在与否影响不大,可能是由于风沙土壤瘠薄,有机质含量低,寄主作用(根际作用)未能充分发挥出来,而草甸土则可能由于有机质含量丰富而掩饰了寄主的作用。

Weaver等(1974)研究认为若使接种菌能形成 50% 以上的根瘤,其接种菌在每粒种子表面的数量至少是土著菌的 1 000倍。通过增加接种菌数量来提高接种菌的占瘤率进而提高接种的效果在实际应用中是有一定作用的。我们的研究认为,由于在寄主植物生长时期土壤中根瘤菌群体数量的变化是有一定限度的,即存在着生物容量-土壤载菌量的问题,因而加大接种菌的接种量的作用也是有限的,这也同 Sgleton等人(1986)认为一旦土壤中土著根瘤菌的数量达到一定阈值时,有效的接种菌并非能产生较大作用的研究,结果相类似。因此,接种菌与土

著菌对寄主根系侵染结瘤位点的竞争作用和机制是另一个值得重视的问题

表 2 不同土壤大豆根瘤菌数量的变化 (个 /g 鲜土 )

地点及土壤	处理	测定天数						
		0	9	18	25	35	45	55
德都黑土	种植大豆	1.4× 10 <sup>4</sup>	4.9× 10 <sup>4</sup>	3.1× 10 <sup>5</sup>	1.2× 10 <sup>6</sup>	1.6× 10 <sup>6</sup>	5× 10 <sup>5</sup>	4.9× 10 <sup>4</sup>
	未种植	1.4× 10 <sup>4</sup>	3.1× 10 <sup>4</sup>	1.4× 10 <sup>5</sup>	5× 10 <sup>5</sup>	4.9× 10 <sup>4</sup>	3.1× 10 <sup>4</sup>	4.9× 10 <sup>3</sup>
杜蒙风沙土	种植大豆	7.7× 10 <sup>2</sup>	4.9× 10 <sup>2</sup>	3.1× 10 <sup>3</sup>	8.7× 10 <sup>3</sup>	3.1× 10 <sup>4</sup>	1.4× 10 <sup>3</sup>	4.9× 10 <sup>2</sup>
	未种植	7.7× 10 <sup>2</sup>	4.9× 10 <sup>2</sup>	1.4× 10 <sup>3</sup>	3.1× 10 <sup>3</sup>	7.7× 10 <sup>3</sup>	4.9× 10 <sup>2</sup>	1.5× 10 <sup>2</sup>
集贤草甸土	种植大豆	7.7× 10 <sup>3</sup>	1.4× 10 <sup>4</sup>	4.9× 10 <sup>5</sup>	1.5× 10 <sup>5</sup>	8× 10 <sup>5</sup>	4.9× 10 <sup>5</sup>	1.4× 10 <sup>4</sup>
	未种植	7.7× 10 <sup>3</sup>	4.9× 10 <sup>3</sup>	1.4× 10 <sup>4</sup>	3.1× 10 <sup>4</sup>	5.0× 10 <sup>5</sup>	1.5× 10 <sup>5</sup>	3.1× 10 <sup>4</sup>
林口白浆土	种植大豆	2.1× 10 <sup>3</sup>	4.6× 10 <sup>2</sup>	4.6× 10 <sup>3</sup>	1.8× 10 <sup>4</sup>	2.1× 10 <sup>4</sup>	7.4× 10 <sup>3</sup>	1.2× 10 <sup>3</sup>
	未种植	2.1× 10 <sup>3</sup>	4.6× 10 <sup>2</sup>	4.6× 10 <sup>3</sup>	9.4× 10 <sup>3</sup>	1.1× 10 <sup>4</sup>	2.1× 10 <sup>3</sup>	7.4× 10 <sup>2</sup>
安达盐碱土	种植大豆	7.4× 10 <sup>2</sup>	2.7× 10 <sup>2</sup>	1.4× 10 <sup>3</sup>	7.8× 10 <sup>3</sup>	2.1× 10 <sup>4</sup>	4.9× 10 <sup>3</sup>	2.1× 10 <sup>2</sup>
	未种植	7.4× 10 <sup>2</sup>	1.8× 10 <sup>2</sup>	9.0× 10 <sup>2</sup>	2.1× 10 <sup>3</sup>	2.7× 10 <sup>3</sup>	9.4× 10 <sup>3</sup>	9.7× 10 <sup>2</sup>

2.3 接种菌在土壤中的定殖生存能力

接种菌 B1611C Str<sup>r</sup>、Rif<sup>r</sup>、Gen<sup>r</sup> 在黑土、白浆土、风沙土和盐碱土中菌数变化见图。土壤

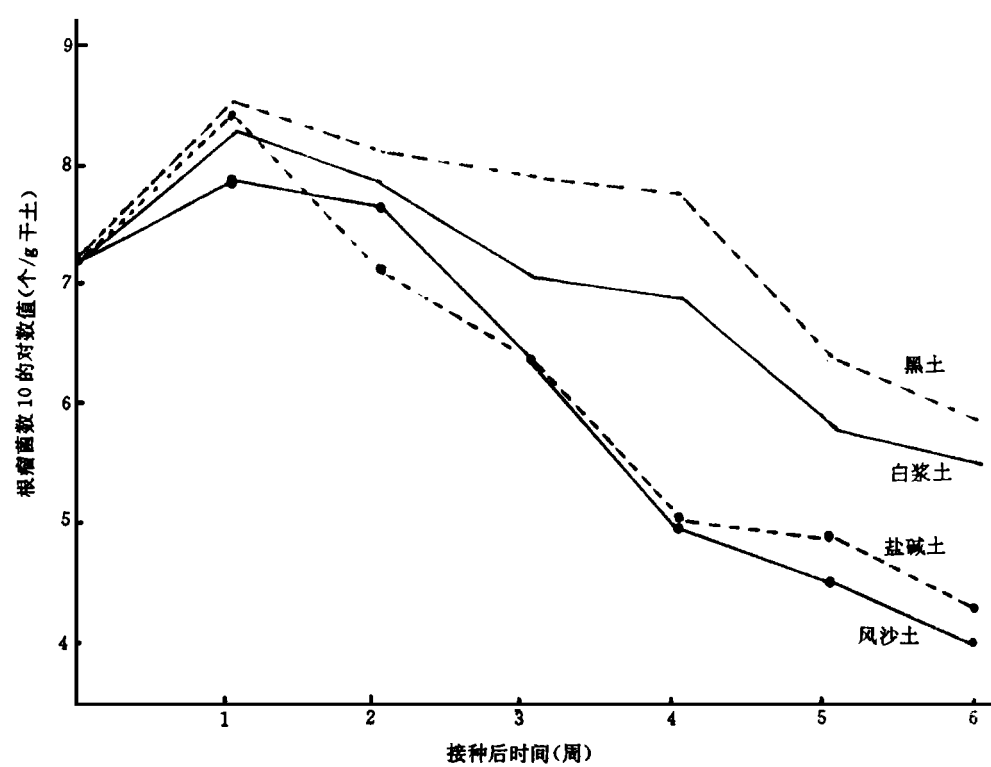


图 接种菌 B1611C Str<sup>r</sup>、Rif<sup>r</sup>、Gen<sup>r</sup> 在 4 种土壤中菌数的变化

接种 1~ 2 星期后接种菌群体数量在盐碱土和风沙土中呈明显的下降趋势,表明了土壤 pH 和土壤养分影响着接种菌的代谢增殖活动,接种菌 B1611C Str<sup>+</sup>、Rif<sup>+</sup>、Gen<sup>+</sup> 在黑土中的生存定殖能力强于白浆土和其它两种土壤

接种菌在土壤中的生存定殖能力的强弱是豆科植物接种成败的关键之一,针对不同土壤的理化特性筛选出抗逆性强的优良根瘤菌菌株做为接种剂仍是需研究的一个问题 (Watanabe 等 1986)

## 参 考 文 献

- 1 奚新田等.大豆根瘤菌在黑龙江省接种效果与接种有效性的研究.中国农业科学, 1989, 22(5): 62~ 70
- 2 Singleton, P. W., et al., Inoculation response of legumes in relation to the number and effectiveness of indigenous rhizobium populations. Appl. Environ. Microbiol. 1986(51): 1013~ 1018
- 3 Weaver, R. W., et al., Effect of soybean cropping and soil properties on number of rhizobium Japonicum in Iowa Soils. Soil Science, 1972(114): 137~ 141
- 4 Weaver, R. W., et al., Effect of inoculum rate on competitive nodulation of Glycine max II. Agron. Journal, 1974, 66 233~ 236
- 5 Holding, A. J., et al., Some effects of acidity and heavy metals on the rhizobium-leguminous plant association. Plant Soil. Spec., 1971, 153~ 166
- 6 Watanabe, Y., et al., Analysis of the behavior of Rhizobium inoculum using marked strain in the rhizosphere of soybean. Soil Sci. Plant Nutr., 1986, 32(1): 59~ 69

# The Distribution of Native Rhizobial Populations and the Survival Ability of the Inoculum Strain in Soils of Heilongjiang Province

Li Xinmin Dou Xintian Liu qingxue Wang Yufeng

(Soil and Fertilizer Research Institute of HAAS)

**Abstract** The range of native rhizobium japonicum population was in between 3 and 10000 cells/g. fresh soil in soils of Heilongjiang province, which was influenced by planting history, soil property etc. The populations in black soil were higher than those in other soil types. During the growth of host plants, the populations in soils changed within the definite range, which means the existence of the concept of soil bacterium capacity. Planting host plants significantly influenced the bacterium capacity of soil on black and lessive soils, but less influence on sandy and meadow soils. The survival and persistent ability of the inoculum strain B1611C with Str<sup>+</sup>, Rif<sup>+</sup>, Gen<sup>+</sup> in black soil was more than that in lessive soil. The weakest survival ability was found in sandy and salinization soil.

**Key words** Native rhizobium japonicum population, Bacterium Capacity of Soil, Survival and persistence