

山西省快生型大豆根瘤菌资源调查和鉴定*

冯瑞华 徐玲玖 樊蕙 葛诚

(中国农业科学院土壤肥料研究所)

摘 要

从山西省主要大豆产区的不同土壤和大豆品种中分离得到的38个快生型大豆根瘤菌株的鉴定表明,这些分离物的IAR除了氨基青霉素外,均较慢生型为低。38个菌株被分为4个血清型,其中2个为新发现的,命名为2077和2120型。细胞成分N%含量为2.01—3.78, C%含量为50.52—55.53%, N/C值<10。所检测的7个菌株都有1—2个大质粒,且每个均有112 Md的大质粒。分离株的共生效应和结瘤竞争由于大豆品种不同而有显著差异。本研究表明,我国大豆起源地之一的山西省,快生型大豆根瘤菌的分布广泛,分离频率较高,菌株类型也多。

1982年美国Keyser等与中国农科院土肥所胡济生共同报道从中国的土壤,根瘤样品中分离得到了不同于一般慢生型大豆根瘤菌的快生型大豆根瘤菌以来^[1],引起了国内外许多学者的广泛注意和重视,已进行的研究表明,快生型大豆根瘤菌具有的特性有重要的理论和应用价值。

本研究的目的是采集中国大豆起源地之一的山西省主要大豆产区不同土壤,不同大豆品种的根瘤进行快生型大豆根瘤菌的分离和鉴定,以了解其分布,分离频率和特性,为进一步研究和应用奠定基础。

一、材料和方法

(一) 快生型大豆根瘤菌的分离和回接

从山西省主要的大豆产区6个地区13个县(市)采集的数十个根瘤样品,通过盆栽结瘤,重新分离纯化,得到38个快生型大豆根瘤菌株。并将其接种于“猴子毛”大豆。设不接种空白对照;接菌对照慢生型为ATCC 10324;快生型为USDA205和2048。灭菌沙培,3周后收获,观察分离株是否结瘤。

(二) 分离菌株的生理生化特性

1. 世代时间测定: 根据分离地和寄主,选择20个菌株,液体培养,以光密度增加1倍的时间定为菌株的世代时间^[1]。
2. BTB反应: 将菌株接种在含0.5%的溴代麝香草酚兰的YMA培养基斜面上,28℃恒温箱培养3—7天,观察其产酸碱能力。
3. 蛋白胨肉汤生长: 将菌株接入蛋白胨肉汤培养基内^[1],28℃静止培养48小时,观察生长情况。

* 国家自然科学基金资助项目。

根瘤采集工作由山西省农科院土肥所马玉珍、史清亮同志进行,特致谢忱。

4. 石蕊牛奶反应: 将菌株接种于石蕊牛奶, 28℃ 培养。于 3、5、7、14、28 天观察牛奶酪化及产酸、碱和还原能力^[3]。

5. 耐盐试验: 在 YMA 培养基中加入 NaCl, 使成 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 和 0.5 mol, 菌悬液接种。普通 YMA 斜面为对照。28℃ 培养 3—7 天观察菌株对 NaCl 耐受力。

6. 3-酮基乳糖反应: 将含有乳糖的培养基制成平板^[3], 菌株点种其上, 28℃ 培养 2 天长成明显的菌落后在平板上注入 Benedict 试剂, 室温放置 30 分钟, 菌落周围出现黄褐色沉淀为阳性, 无变化为阴性。

7. 柠檬酸盐利用: 将菌悬液接种在 Simmons 柠檬酸盐斜面上^[3]。28℃ 培养 14 天, 观察能否利用柠檬酸盐。

8. 碳源利用的试验: 按 White^[21] 方法, 供试碳源为 L-阿拉伯糖等 23 种。试验菌株被制成菌悬液, 平板划线, 3 次重复, 28℃ 培养 3—7 天观察结果。

9. 抗菌素自然耐受性 (IAR): 将不同浓度的 6 种抗菌素溶液过滤除菌后加入 YMA 培养基中制成含不同浓度的抗菌素平板, 以培养 48 小时的菌悬液划线接种, 不加抗菌素的为对照。每处理重复 3 次。28℃ 培养 3—7 天观察结果。供试抗菌素为四环素等 6 种。

(三) 分离菌株的血清学特性

按文献所述分别制备抗原和免疫家兔^[1]。共制备已知血清型菌株的 8 个抗血清和待鉴定菌株的 9 个抗血清。

以 2 倍稀释法做交叉凝集, 分析血清学归属。以间接法做免疫荧光分析, 验证交叉凝集试验结果^[2]。

(四) 分离菌株的细胞成分 N, C 分析

测定分离的 20 株快生型和 6 株慢生型大豆根瘤菌及对照菌株的细胞成分 N, C% 含量和 N/C 比值, 按文献^[10]所述进行。

(五) 分离菌株的质粒检测

根据分离地点、寄主和不同的血清型选 2077、2094、2118、2112、2086A、2092 和 2096 七株菌株进行质粒检测。以 USDA205 为标尺, 在琼脂糖凝胶电泳图谱上进行比较, 估算质粒分子量。

质粒提取基本采用 Hirsch 方法^[14], 电泳仪为北京生化仪器厂的 DY-W1 型。点样后于室温在 70 伏, 17 毫安电流条件下电泳 8—9 小时。结束后取出胶板置 0.5 微克/毫升溴化乙锭溶液中浸半小时, 水洗, 最后置 260nm 紫外检测仪下观察结果并照相。

(六) 分离菌株的共生效应和结瘤竞争试验

根据分离地和寄主, 选用 9 个菌株做共生效应试验, 以 2057 (快生型) 和 USDA110 (慢生型) 为对照菌株, 不接种为空白对照。在塑料盒做无菌沙培盆栽。大豆品种为鄂豆 2 号和合丰 29。每菌株 5 次重复, 45 天后收获。测定植株干重, 鲜瘤重, 全氮, 固氮酶活性和豆血红蛋白含量。

选 2120、2086A 与慢生型 61A76 菌株进行结瘤竞争试验。将上述 3 个菌株的悬液以分光光度计调 OD 值一致。然后分别按慢: 快为 1:1, 1:10, 1:100 (V/V) 混合, 立即平皿计数, 测得慢: 快数量之比为 2:1, 1:5 和 1:50。混合后的菌悬液立即接种在合丰 29 和猴子毛两个品种。试验在灭菌沙培条件下进行。每处理重复 3 次, 35 天采根瘤用相应抗血清测定, 并按使用说明进行部分抗血清标记的 SPA 协同凝集试验。

二、实验结果

(一) 快生型大豆根瘤菌分离结果

在采瘤→干燥→重新回接寄主→重新分离的条件下, 从山西省的晋北、雁北和晋东南

3 个地区 4 个县 的 9 个大豆品种上分离得到 *S. fredii* 38 个菌株。分离菌株菌落乳白色不透明, 直径一般为 2—5 毫米, 显微镜下均为革兰氏阴性, 杆状, 较慢生型粗大。38 个菌株回接大豆寄主皆结瘤良好。分离结果见表 1。

表 1 山西省快生型大豆根瘤菌分离地概况

Table 1 Isolation location of *S. fredii* of Shanxi Province

采集地 Sites	土壤类型 Soil type	大豆品种 Soybean cultivars	分离菌株 Isolated Strains
浑源县	草原淡栗钙土	晋大 3 号, 24 号, 农家黄豆	<i>S. fredii</i> 2076, 2077, 2078, 2083, 2084, 2086A, 2086B
五台县	淡褐土	紫花小黄豆, 羊眼睛大豆, 农家黄豆	2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2106, 2107, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105
山阴县	淡栗钙土	白花小黑豆 黑豆	未分离出 2108, 2109, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116
应县	盐化草原草甸土	小黑豆, 农家黄豆	分离出慢生型
介休县 太原市	淡褐土 浅色草甸土 淡褐土	铁丰 3 号, 晋中 84 号, 70225-8 尖叶野大豆, 圆叶野大豆 PY×263, 河南青	分离出慢生型 未分离出 未分离出
沁源县	淋溶褐土	农家黄豆, 东北大豆, 沁源黄	2090, 2091, 2092, 2093, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2129, 2130
长治县 苛岚县 河曲县	褐土 灰褐土 淡栗钙褐土	农家黄豆 农家黄豆 农家黄豆	未分离出 未分离出 未分离出
交城县	盐化浅色草甸土	70225-8, 晋大 3 号 农家黄豆	分离出慢生型 分离出慢生型
离石县 柳林县	灰褐土 灰褐土	白黑豆 野大豆	未分离出 未分离出

(二) 快生型大豆根瘤菌的理化特性

1. 世代时间 对其中 20 个菌株的世代时间测定结果表明, 其代时均低于 6 小时, 范围为 2.6—3.3 小时, 培养 4 天后全部产酸, pH 为 4.8—5.6, 与 Keyser 等从河南、山东等地; 徐玲玫等从辽宁; Dowdle 等分离自湖北的菌株代时及产酸情况基本一致^[7, 11-12]。

2. BTB 反应 全部分离的快生型大豆根瘤菌在含 BTB 的 YEM 培养基上均产酸, 生长 2—3 天即可使培养基变黄。

3. 蛋白胨肉汤生长 38 个菌株接种后无一生长。

4. 石蕊牛奶反应 与其它快生型根瘤菌一样, *S. fredii* 在石蕊牛奶培养基上有多变的表现。除 2 株形成的血清环不明显外, 多数菌株可形成 5—7 毫米的胨化层, 有的菌株可高达 8—12 毫米。11 株产碱, 27 株产酸。

5. 3-酮基乳糖反应 38 个菌株都不产生 3-酮基乳糖, 对照菌株根瘤土壤杆菌 T₃₇ 在

表 4 山西省快生型大豆根瘤菌菌株间交叉凝集结果

Table 4 Cross-agglutination reaction of *S. fredii* of Shanxi province

抗原 Antigen	抗体 Antibody	血清型及交叉凝集效价 Serotype and titre of cross-agglutination									
		191	194	217	2053	2054	2047	2056	2048	2077	2120
2101,2102,2103,2090,2091,2098		0		12800	0	0	0	0	0	0	0
2104,2105,2114,2115,2116,2130		0		6400	0	0	0	0	0	0	0
2111, 2112		200	100	12800	0	0	0	0	0	0	0
2113		0	400	12800	0	0	0	0	0	0	0
2129		0	100	12800	0	0	0	0	0	0	0
2086A,2086B,2094		0	0	0	0	0	0	0	6400	0	0
2084		0	0	0	0	0	0	100	6400	0	0
2083		0	0	0	0	0	0		12800	0	0
2106		0	0	400	400	0	0	0	200	0	3200
2107		0	0	400	200	0	0	0	0	0	3200
2117,2119,2092		0	0	800	400	0	0	100	0	0	12800
2118		0	0	800	800	0	0	100	0	0	12800
2093,2095		0	0	400	400	0	0	100	0	0	12800
2096		0	0	400	200	0	0	0	0	0	3200
2120		0	0	1600	800	0	0	200	100	800	12800
2121		0	0	800	400	0	0	100	0	100	12800
2108,2109		0	0	200	200	0	0	100	100	12800	0
2097		100	200	0	100	0	0	0	0	12800	0
2076		100	200	200	200	0	0	100	100	12800	0
2077			100	200	200	0	0	100	0	12800	0
2078		100	100	200	100	0	0	100	0	12800	0

与慢生型相对比,对多数抗菌数的耐受能力低,其结果与 Stowers 和 Dowdle 的结果一致^[20,12]。唯对氨基青霉素的耐受性要明显高于慢性。38 个菌株的 IAR 列于表 3。

(三) 快生型大豆根瘤菌血清学特性

用交叉凝集和免疫荧光技术对 38 个快生型大豆根瘤菌进行血清学分类,以已知的 8 个血清型为抗体,分离菌株为抗原。交叉反应结果表明,分离株中有 217 (16 个菌株), 2048 (5 个菌株)型和另外 2 个与已知的 8 个基本不交叉,仅与个别血清型有低滴度非特异性交叉的血清型。用荧光抗体技术鉴定的结果与交叉凝集一致(表略),证明是两个新血清型,命名为 2077 和 2120 型。交叉凝集结果见表 4。

(四) 快生型大豆根瘤菌细胞成分 N, C% 含量及 N/C 比值的测定

对 20 株快生型大豆根瘤菌进行了细胞成分 N, C% 含量及 N/C 比值的测定。同时以 2 个快生型和 7 个慢生型大豆根瘤菌(2 株为已知的, 5 株是从山西省根瘤中分离出来的)为对照。测定结果证明,快生型大豆根瘤菌 N 含量为 2.01—3.78%, C 含量为 50.52—55.53%, N/C < 10。慢生型大豆根瘤菌则 N/C > 10。与葛诚等测定的结果一致^[10](表 5)。

(五) 分离菌株的质粒分析

对 38 株快生型大豆根瘤菌中的 7 株进行了质粒检测。本试验提取根瘤菌大质粒的方法简便,且重复性好。Masterson 等和宁林夫等用 Hirsch 法检测到 USDA205 有 3 个大质粒,分子量大约是 200, 112, 57Md^[4,18]。本试验用此法同样检出 USDA205 有 3 个大

表 5 快生型及慢生型大豆根瘤菌 N, C% 含量及 N/C 比值
Table 5 Content and ratio of N and C of *S. fredii* and *B. japonicum* of Shanxi province

菌株 Strain	N (%)	C (%)	N/C	菌株 Strain	N (%)	C (%)	N/C
<i>S. fredii</i>				2097	2.95	54.13	5.44
2102	3.04	52.91	5.75	2098	2.69	54.48	4.93
2107	2.58	55.32	4.66	2121	2.74	53.22	5.15
2109	2.93	53.62	5.47	2129	2.36	52.72	4.47
2113	2.59	54.45	4.76	2130	2.58	53.12	4.85
2117	2.27	53.11	4.27	2048	3.67	52.36	7.00
2083	2.90	52.64	5.51	2049	3.35	53.66	6.25
2086A	2.48	53.04	4.68	<i>B. japonicum</i>			
2086B	2.63	53.62	4.90	ATCC 10324	6.76	38.00	17.79
2076	3.78	50.52	7.49	005	4.82	44.10	10.93
2077	3.01	52.74	5.71	2081	5.94	46.40	12.80
2090	2.18	54.85	3.98	2087	7.27	48.24	15.07
2091	2.77	53.42	5.19	2088	9.62	46.56	20.65
2093	2.01	55.53	3.62	2131	3.01	20.38	14.76
2094	2.18	55.31	5.94	2139	6.27	50.72	12.37
2096	2.55	55.29	4.62				

质粒。以 USDA205 作为标尺,粗略估算检测到的大质粒分子量。结果表明,所测的 7 株快生型大豆根瘤菌分别有 1—2 个大质粒,而且每株都有一个 112 Md 的大质粒(图略)。

(六) 快生型大豆根瘤菌的共生效应和结瘤竞争特性

从 38 个菌株中选出 9 株接种在合丰 29 和鄂豆 2 号上。测定结果表明,在不同的大豆品种上共生效应不同,在鄂豆 2 号上较合丰 29 为优,至少有 3 个菌株的植株干重、含氮量与慢生型对照 USDA110 一致,无统计学上的差异。豆血红蛋白含量有高低,基本正常。有的较慢生型所结根瘤的含量要高。测定结果见表 6, 7。

以 2 个快生型大豆根瘤菌株与慢生型对照 61 A 76 菌株分别混合为不同比率的菌悬液接种在合丰 29 和猴子毛品种上,生长 35 天后采瘤测定,结果表明:快生型大豆根瘤菌在不同大豆品种上竞争结瘤表现差异。在猴子毛品种上占据绝对优势,在合丰 29 上则相对要差得多。SPA 协同凝集表明两种方法结果一致。试验中合丰 29 大豆的 1:10, 1:100 菌悬液接种处理所出现的反常现象原因待查。测定结果见表 8。

表 6 快生型大豆根瘤菌的共生效应*(鄂豆 2 号)
Table 6 Symbiotic response of *S. fredii* of Shanxi province
(Soybean cultivar: Eaou-2)

菌 株 Strain	植株干重 Dry weight of plant \bar{x} (g)	植株全氮量 Total nitrogen content of plant \bar{x} (mg)	鲜瘤重 Fresh nodule weight \bar{x} (g)	固氮酶活性 Nitrogenase activity \bar{x} (nM $C_2H_4 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)	豆血红蛋白量 Leghemoglobin \bar{x} (mg/g·nodule)
2120	3.32	67.38	0.69	3567.9	15.4
2102	3.22	59.83	0.62	4064.1	13.0
2057	3.21	63.76	0.79	2683.2	N. D.
2084	3.21	61.08	0.79	2988.1	4.88
USDA110	3.14	69.23	0.74	3172.6	14.9
2086A	3.14	57.00	0.65	3956.1	21.0
2097	2.98	53.37	0.69	1526.3	13.84
2091	2.88	56.32	0.70	4343.3	8.36
2077	2.65	48.30	0.61	3572.1	12.04
2108	2.48	43.85	0.65	4396.0	10.36
2094	2.33	48.60	0.61	3008.7	N. D.
对照	2.19	41.19	0	0	0

* USDA 110 为慢生型对照, 2057 为快生型对照; 表中数据为 4 次重复的平均数; N.D. 为未测定。

表 7 快生型大豆根瘤菌的共生效应*(合丰 29)
Table 7 Symbiotic response of *S. fredii* of Shanxi province
(Soybean cultivar: Hefeng-29)

菌 株 Strain	植物干重 Dry weight of plant \bar{x} (g)	植株全氮量 Total nitrogen of plant \bar{x} (mg)	鲜瘤重 Fresh nodule weight \bar{x} (g)	固氮酶活性 Nitrogenase activity \bar{x} (nM $C_2H_4 \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$)	豆血红蛋白量 Leghemoglobin \bar{x} (mg/g. nodule)
USDA110	3.51	82.56	0.67	3217.6	18.6
2057	3.06	42.44	0.39	4960.1	22.9
2086A	2.98	50.16	0.41	5600.7	23.74
2102	2.92	45.71	0.51	7611.6	15.70
2120	2.79	43.61	0.46	7042.1	15.70
2077	2.79	34.61	N.D.	N.D.	12.70
2097	2.78	40.82	0.33	8361.6	14.90
2108	2.63	37.81	0.23	1086.1	11.90
2094	2.49	45.18	0.49	6248.0	15.68
2091	2.48	38.09	0.29	6823.9	16.16
对照	2.57	42.35	0	0	0

* USDA110 为慢生型对照, 2057 为快生型对照; 表中数据为 4 次重复的平均值; N.D. 为未测。

表 8 快生型大豆根瘤结瘤竞争试验*
Table 8 Competition between *S. fredii* and *B. japonicum* in nodulation on 2 soybean cultivars

大豆品种 Soybean cultivar	试验处理 (慢:快) Treatment (Slow:Fast)	试管凝集法测定结果(%) Agglutination response (%)						SPA 抗血清标记法结果(%) SPA response (%)					
		61A76	2086A	61A76	2120	61A76	2086A	61A76	2086A	61A76	2120		
猴 子 毛	1:1	0/45(0)	45/45(100%)	4/47(8.5%)	43/47(91.4%)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.		
	1:10	0/53(0)	53/53(100%)	0/29(0)	29/29(100%)	N. D.	N. D.	53/53(100%)	N. D.	29/29(100%)	N. D.		
	1:100	0/48(0)	48/48(100%)	1/33(3%)	32/33(96.4%)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.		
	接种对照	N. D.	N. D.	N. D.	55/55(100%)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.		
	空白对照	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
合 丰 29	1:1	57/57(100%)	0/57(0)	37/37(100%)	0/37(0)	57/57(100%)	0/57(0)	37/37(100%)	57/57(100%)	3/37(0)	3/37(0)		
	1:10	56/60(93.3%)	2/60(3.3%)	9/13(69.1%)	0/13(0)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.		
	1:100	20/39(51.2%)	12/39(30.7%)	31/48(64.5%)	2/48(4.1%)	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.		
	接种对照	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.	N. D.		
	空白对照	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

* 总瘤数为 3 个重复的总数, N.D. 表示未测。

三、小 结

1. 从山西省主要大豆产区的 6 个地区 13 个县(市)的 10 种土壤, 24 个大豆品种的根瘤, 通个重新回接寄主结瘤、分离、纯化, 最后从 3 个地区 4 个县 5 种土壤, 9 个大豆品种中分离得到 38 个 *S. fredii* 菌株, 分离频率还是较高的。结合 Keyser, Dowdle, 徐玲玫, 张宏等人的工作结果^[5,6,12,16], 证明快生型大豆根瘤菌在中国分布广泛。

2. 国外一些学者认为快生型大豆根瘤菌为大豆的不良共生体和劣势的结瘤竞争者^[13,19]。本文的结果表明, 在不同的菌株-寄主组合下, 可能有完全不同的固氮和结瘤竞争模式, 与国内研究者的结果一致^[7,9,11]。选育最佳的菌株-品种组合是 *S. fredii* 生产应用的基础。

3. 由于根瘤菌抗原结构与菌株 DNA 同源组的一致性在菌株的鉴定、分类、自然分布以及结瘤竞争研究的价值^[8,9,15,17], 快生型大豆根瘤菌的血清学特性研究具有一定的价值, 本研究新鉴定出 2 个新血清型, 使得中国快生型大豆根瘤菌的体细胞抗原血清型达到 10 个^[8], 为快生型大豆根瘤菌的进一步研究奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] 中国农科院土肥所生物固氮组, 1979: 根瘤菌免疫血清制备方法。农业科技通讯, 第 4 期, 24—25 页。
- [2] 中国农科院土肥所生物固氮组, 1979: 荧光抗体技术在土壤微生物研究中的应用。土壤肥料, 第 6 期, 45—47 页。
- [3] 中国科学院微生物研究所细菌分类组编著, 1978: 《一般细菌常用鉴定方法》, 科学出版社。
- [4] 宁林夫等, 1986: 几类快生型根瘤菌质粒的研究, 微生物学报, 第 26 卷 3 期, 271—276 页。
- [5] 张宏等, 1988: 快生型大豆根瘤菌和大豆品种不同土壤类型对结瘤的相互影响。微生物学杂志, 第 8 期, 23—29 页。
- [6] 徐玲玫等, 1983: 野生大豆根瘤菌分离初报。土壤肥料, 第 2 期, 7—8。
- [7] 徐玲玫等, 1984: 快生型大豆根瘤菌生理生化特性和共生效应, 大豆科学, 第 3 卷 2 期, 101—109 页。
- [8] 葛诚等, 1984: 快生型大豆根瘤菌抗原分析, 大豆科学, 第 3 卷 3 期, 237—242 页。
- [9] 葛诚等, 1986: 快生型大豆根瘤菌结瘤竞争研究及其在田间自然分布调查, 大豆科学, 第 5 卷 4 期, 327—333 页。
- [10] 葛诚等, 1988: 大豆根瘤菌元素分析分类。中国农业科学, 第 21 卷 3 期, 70—78 页。
- [11] 樊蕙等, 1986: 快生型大豆根瘤菌生理生化特性和共生效应(二)。大豆科学, 第 5 卷 1 期, 57—64 页。
- [12] Dowdle S. F. et al., 1985: Predominance of fast-growing *Rhizobium japonicum* in a soybean field in the People's Republic of China. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 50: 1171—1176.
- [13] Duteau N. M. et al., 1986: Fast-growing *Rhizobium fredii* are poor nitrogen-fixing symbionts of soybean. *Crop Science*, 26: 884—889.
- [14] Hirsch P. R. et al., 1980: Physical identification of bacteriocinogenic nodulation and other plasmids in strain of *Rhizobium leguminosarum*. *J. Gen. Microbiol.*, 120: 403—412.
- [15] Hollis A. B. et al., 1981: DNA: DNA hybridization studies of *Rhizobium japonicum* and related *Rhizobiaceae*. *J. Gen. Microbiol.*, 123: 215—222.
- [16] Keyser H. H. et al., 1982: Fast-growing rhizobia isolated from root nodules of soybean. *Science*, 215: 1631—1632.
- [17] Keyser H. H. et al., 1987: Nodulation and competition for nodulation of selected soybean genotypes among *Bradyrhizobium japonicum* serogroup 123 isolates. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 53: 2631—2635.
- [18] Masterson R. V. et al., 1982: Nitrogen fixation genes(*nif*) and large plasmids in *Rhizobium japonicum*. *J. of Bacteriol.*, 152: 928—931.
- [19] McLoughlin T. J. A. et al., 1985: Competition studies with fast-growing *Rhizobium Japonicum* strains *Can. J. Microbiol.*, 31: 220—223.

- [20] Stowers M. D. et al., 1984: Physiological and symbiotic characteristics of fast-growing *Rhizobium japonicum*, *Plant and Soil*, 77: 3—14.
- [21] White F. F. et al., 1980: Hairy root plasmid encodes virulence traits in *Agrobacterium rhizogenes*, *J. Bacteriol.*, 141: 1134—1141.

RESOURCES INVESTIGATION AND IDENTIFICATION OF *S. FREDII* OF SHANXI PROVINCE

Feng Ruihua, Xu Lingmei, Fan Hui and Ge Cheng

(*Soils & Fert. Inst. Chinese Academy of Agr. Sci., Beijing*)

Summary

This paper reports the results of biochemical and serological characteristic identification of thirty-eight fast-growing soybean rhizobia which were isolated from different soils and soybean cultivars of main soybean-producing area in Shanxi Province. The cell component analysis, plasmid identification, and symbiotic effectiveness and competitive nodulation tests of some strains were carried out.

The results showed that all of the isolated 38 strains were typical fast-growing rhizobia. The intrinsic antibiotic resistance of the isolated strains were lower than that of *Bradyrhizobium japonicum* strains except to ampicillin. By cross-agglutination reaction and fluorescent antibody technique, 38 isolated strains were divided into 4 serotypes, of which two were new serotypes and named Serovar 2077 and Serovar 2120. Nitrogen and carbon contents of cell component were 2.01—3.78% and 50.52—55.53% respectively. The ratio of nitrogen to carbon was smaller than ten. Seven strains detected all contained one to two large plasmids and had one plasmid with a molecular weight of 112 Md or so. Because soybean cultivars were different, the symbiotic effectiveness and competitive nodulation of the isolated strains had distinct difference. The isolated strains were superior on soybean cultivar “Edou-2” to “Hefeng-29” in the symbiotic effectiveness. The dry weight and total nitrogen of plant of at least three strains were similar to those of USDA110. When the isolates and slow-growing soybean rhizobia were mixed, the nodulation ratios of different soybean cultivars varied greatly. The nodulation ratio of fast-growing soybean rhizobia is far higher on soybean cultivar “Houzima” than on cultivar “Hefeng”.

Research results show that there is a wide distribution of fast-growing soybean rhizobia in Shanxi province which is one of Chinese soybean origins. The isolation frequency is rather high, and there are more strain types in these isolates.