花生根瘤菌的培养及其增產效果

胡济生 陈淑筠 周平貞 趙質培

(華北農業科学研究所)

据后魏(公元 385—583 年) 齐民要術:"養可用苗糞, 苗糞者綠豆为上, 小豆、胡麻夹之, 悉皆五、六月播种, 七、八月型掩殺之, 为春谷田, 則畝收十石, 与蚕豆熟蒌同。"可見利用豆类作物肥田在我國古書中早有記載。有些地区的農民在种植隔在豆科作物的时候往往采用"客土法", 把已栽种豆科作物的土壤撒翻在新地里可以增產。四川成都平原有些農民在收穫黃豆之后, 把少量殘根帶着根瘤和泥土捣爛, 并掺入少量草木灰揉成小团, 用稻草包札貯备, 作明年拌种用。这些都是我國劳动人民利用根瘤菌增產的宝貴經驗。至于根瘤菌的發現, 是俄罗斯学者沃罗寧(M. C. Воронин)于十八世紀中叶發現的, 并認为具有根瘤的豆类作物可以利用空气中的游离氮素作为养料, 并肥沃土壤而使自己生長茂盛。1888 年 M. W. Benjerinck 首先从根瘤中分离出根瘤菌, 提純培养, 并作了一些形态和生理的研究。此后世界各國关于根瘤菌的形态、生理特性、与豆科作物的关系以及固氮作用的机能等問題作了很多研究, 揭發了許多事实, 也存在着很多爭論。現在虽然有很多理論与实际問題沒有解决, 但是把根瘤菌作为生物制品的細菌肥料工業已在很多國家中有了相当規模[1]。在增加豆科作物產量以及土地肥沃力上起着重要的作用。

我國的学者如陈華癸、張憲武等早在1938年以前便研究了根瘤菌的生理和与豆科作物的关系等問題。1950年,華北農業科学研究所首先把根瘤菌用于生產,制造花生根瘤菌拌种剂十一万二千畝,使山东、河南、河北以及北京郊区的一些農民初次接触到根瘤菌,并且得到每畝增產約三十斤花生的收益^[23]。从此,根瘤菌的制造和推廣,包括大豆、紫云英等,逐年發展^[3,47]。迄今花生根瘤菌剂的应用已遍及國內,并約有十多个地区¹³能自行制造,并供应菌剂,总的面積,花生根瘤菌达 8,000,000 畝,成品質量也能达到每克⁵一8千万个菌数。在这个基礎上,根瘤菌剂制造的数量和質量不断改進,有些研究所和農場还發展了棉麥和蔬菜固氮菌接种的工作。現將國內对于花生根瘤菌的培养和效果

^{*} 本文承徐叔華先生校閱指正, 謹此志謝。

¹⁾ 河北、河南、山东、安徽、江苏、陜西、四川、廣西、福建、东北公主嶺、廣东、江西、北京。

总結略述于后。

一. 花生根瘤菌的培养

(一) 菌种

用普通做生物学的方法,从一些选定的豆科根瘤中分离根瘤菌,經过提純培养和形态、生理等鑒定試驗,然后接种適当的豆类作物,并在適当的光照和温度条件下進行盆栽比較試驗^[24]。观察植株的生長狀况并根据干物重、含氮量、根瘤的数量与大小、在根部分布的部位以及根瘤內汁液的顏色,确定菌种的有效性,并选擇用于大量生產的"有效菌种"。花生根瘤菌屬于豇豆族。这一族的豆科植物包括很多亞热帶和热帶的豆科

1				****	44		
菌种		菌体		美种效值		选	
图例 代号	原寄生植物	料液質	結瘤数		室叶	用菌种	其 他 性 狀
			主根(大)	支根 (小)	愛量 (毫克)	种	
1001	刺桐 (Erythrina Indica)	多	18.2	0	28.5	V	所选菌种都作生理檢定及染色
1002	狗兒豆(Alysicarpus Vaginais)	少	0.3	0.5	21.1		反应,結果一致表現如下:
1003	野百合(Crosalaria sagittalis)	多	19.8	3	31.9	V	1. 格爾氏染色:負;
1004	同 1002	不多	27.0	0.3	29.1	V	2. 生長速度: 緩慢;
1005	同 1001	多	19.0	2	25.4	V	3. 石蕊牛乳培养: 碱性反应,不
1006	同 1002	少	0	0	18.2		凝固,無清环;
1007	北京綠豆, 1002 菌种接線豆再 分离 Phaseolus aureus	少	0.1	2	22.8	•	4. 馬鈴薯楔培养: 不生長;
1008	北京胡枝子 Lespedeza straita	多	8.1	9.7	22.2		5. 甘露醇酵母水培养: 生長良 好;
1009	漆縣化生(Arachis hypogaea)	很少	2.3	8.6			6. 麝香藍 B. T. B. 指示反应: 藍色,碱性;
1010	北京綠豆(Phaseolus aureus)	多	17	27	28.1	✓	7. 硝酸态質利用: 良好。
1011	"	多	19.2	8.8	36.0	1	
1012	北京紫邁槐(Amorpha fruticasa)	多	14	10.7	35.6	V	
1013	北京化生(Arachis hypogaea)	不多	10.3	19.7	24.5		
1014	Desmodium purpureum	少	20.3	4.8	28.1	V	
1015	北京花生(Arachis hypogaea)	不多	5.1	16	25.6		
1016	"	不多	8.7	11.1	21.3		
	对照 (接种效能比較)		0	1.3	10.5		

表 1 菌种选用情况表

^{*} 系盆栽接种試驗6株平均数。

植物,和其他各族的接种关系也很不規則,在选定"有效菌种"时包括的范围也比较廣泛。我們起初系从國外引進菌种,1958年以后便自选新种,逐漸更替旧种。选种情况如表1所示。

將选定的菌种分別或混合培养,然后与草炭粉混合調制成为多菌种的拌种剂。

(二) 制造方法与成品質量

起初采用培养液的深層培养法¹⁾,把滅菌的空气打入改装的压力鍋或玻璃瓶內(作为發酵罐),使根瘤菌得到較快的增殖,但是由于通气时間不足,根瘤菌的生長很慢,一星期后每毫升只在一億上、下,而且容易有空气中的雜菌污染。1953年以后便改用固体培养法^[5]。培养基中碳源曾以洗净过滤的粗柿霜液(圖 1)代替昂貴的计露醇,得到很好的增殖^[6]。

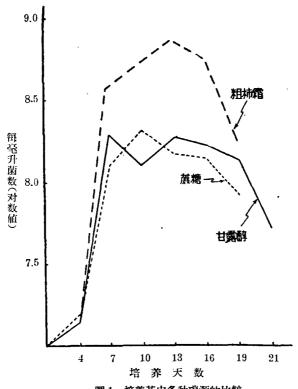


圖 1 培养基中各种碳源的比較

1)	蔗糖	8克	H_3BO_3	0.0025克
	K₂HPO₄	0.44 克	KMnO₄	0.0025 克
	NaCl	0.19 克	FePO ₃	0.0025 克
	CaSO ₄	0.04 克	$MgSO_4$	0.19 克
	$Ca(NO_3)_2$	0.02 克	酵母水	10 毫升
	MnSO ₄	0.0025 克	水	990 毫升

培养大豆根瘤菌时另加入 10 毫升泡菜水同时免去 NaCl。

山东省農業科学研究所在 1954 及 1955 年上半階段制造花生根瘤菌,會用粗柿霜为碳源,由于粗柿霜的洗净过滤比較煩瑣,精制的柿霜糖餅对于結瘤有影响,經比較試驗后以葡萄糖为碳源,無論在生長或結瘤情况都有良好效果(表 2,3)

菌	种	升	号	旗	糖	葡	萄糖	麥芽	糖	柿霜餅	丢	米粉	甘露	淳
	花生	100	l.	+	+	++	++	++	_	+++++	- _	++	+++-	+
	花生	100	3	+	+	++	++	++		++++	-	+	+++-	+
	大豆	200	l	+-	++	++	++	++-	+	++++	- -	+++	+++-	+
	大豆	2009	2	+-	++	++	++	++-	+	++++	-	++	+++-	+

表 2 根瘤菌在不同碳源的培养洋菜斜面生長情况

說明: +++++为生長最好,菌苔厚,生長快;++++,++,++,生長遞次減弱; +生長最差。

			对	照	鷹	糖	葡	萄糖	柿;	電餅	甘	翠 醇
			主根	支根	主根	支根	主 根	支 根	主根	支根	主 根	支 根
第		株	+	+	++	: +++	+++	++++	0	0	+	+++
第	=	株	0	+	++	+++	++	+++	0	0	++	++++
第	\equiv	株	0	·+	+	++++	+++	+++	0	Ô	0	++
第	四	株	0	0	++4	+++	++	++++	0	0	0	++
第	五	株	0	0	0	++++	++	++++	}	j	++	++++
第	六	株			++	++++	İ	++++	 		İ	

表 3 花生根瘤菌經过不同碳源培养基后接种花生形成根瘤的情况

說明: ++++ 表示根瘤数最多, +++, …… 週次减少, 0表示不生根瘤。

按照以上的培养情况,每个克氏瓶的菌数(裝約70毫升培养基)不少于3700億。 以四个克氏瓶中培养基面發育的根瘤菌,加水制成縣液(与洋菜培养基一种打碎),混拌50斤草炭粉制成的根瘤菌剂在貯藏期不超过四个月的条件下,可以拌种3000畝花生。 这个制品在应用时可以使每粒花生种子沾着不少于5万个根瘤菌。当根瘤菌縣液混合草炭后,在合適的条件下,根瘤菌还能大量繁殖。在貯藏过程中每隔十天上下抽样作不同的稀釋度,并分別接种在滅菌过的沙杯中,播种表面曾經滅菌的花生种子,以后观察花生幼苗的生長情况,約一月后檢查根部結瘤情况。以下的結果,說明这种成品在貯藏期中(室温在20°C以下)根瘤菌的增長,一个月后結瘤的能力增長十倍,維持这个时期达一个月,貯藏三个月后仍然能在百万分之一的稀釋度下發生根瘤,并且比較初始混拌时期所結根瘤数多^[23],效果更好。

用局平培养法測数每克成品中的根瘤菌数不少于 5 千万个^[10]。由于根瘤菌在拌入草炭后的尚能大量繁殖,因此改善根瘤菌剂中的通气、水分、营养等条件以加强根瘤菌的活躍性是保証成品質量的重要环節^[25]。下面的結果是試驗把篩細的煤爐灰加入草炭菌剂或腐熟堆肥粉菌剂后,根瘤菌的增殖情况^[14]。

表 4 菌剂貯藏时間与接种效能的关系

排种剂稀釋度 每株大根瘤数	100,000	1,000,000	10,000,000	100,000,000
5 天		1个	0	
13 天	8个	8个	0	
31 天		6个	4个	0
39 天	15个	7个	10个	0
66 天	8个	14个	23个	0
94 天		21个	0	

表 5 煤爐灰对根瘤菌的增殖影响

加入煤灰量	每克菌剂中	- 附 注	
/H/八/木/八.直	草 炭 粉	堆肥粉	- Mil ZE
5%	1000	1500	1. 菌粉預行滅菌
10%	1400	1800	2. 草炭粉 pH 在 7.2-7.4
15%	2100	1560	3. 堆肥粉 pH 7.5 以上
20%	3800	1040	
CaCO ₃	2150		

根据以上的結果和其他的女献資料,拟訂了適合我國目前情况的"根瘤菌制造程序"^[5],在各省应用。这样不但擴大了根瘤菌应用的范围和面積,同时也建立了土壤微生物学的研究和結合生產实踐的工作基礎。这个制造方法比較简單但达不到苏联制訂

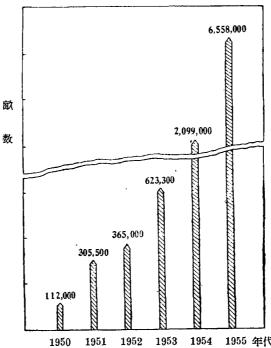


圖 2 1950—1955 年間 化生根 溜菌制剂 的增長

(三) 制造数量

花生根瘤菌剂的制造数量在1954年以后大为增加(圖2),一方面是由于在大面積 花生生產中証明了它的增產效果,已在群众中建立了威信^[13,16]。另一方面是全國農業 合作化已达高潮, 農業技術有了很大發展的条件,華北農業科学研究所亦即適时地采用 了把制造技術逐漸傳授移交各省掌握的方針。

二 花生根瘤菌的增產效果

我國几年來廣泛試驗和推廣的結果, 証明花生根瘤菌的接种效果很好。我國廣大的華北地区, 花生多栽种在有机質較少的沙地里。由于春旱, 土壤的豊夜温差很大, 以及風力、水力冲刷的影响, 都不利于原遺存在土壤中根瘤菌的成活, 或者数量較少需要接种以有效的菌种。从華北的土壤性質(物理和化学的)來看, 对于接种花生根瘤菌也是有利的。此外, 花生本身的良好生長是根瘤菌發揮作用的先决条件, 当然"有效菌种"也能促進花生得到更好的生長。

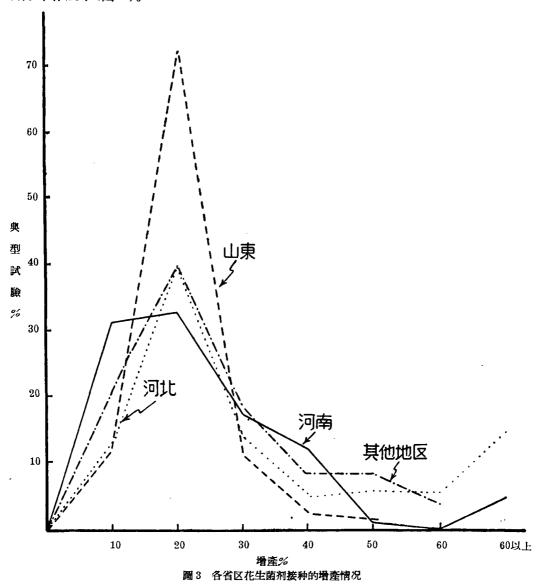
1950年开始把花生根瘤菌交給群众在大田生產中試驗^[14]。采用点面結合的方法,作廣泛的对比試驗^[15]。在一般群众地里用普查的方法,即每塊地各采挖几穴花生株,比較高度、顏色、瘤数、莢数和籽粒飽滿的程度,估計增產或不增產。在有条件的農場、劳模、生產能手或技術組里,采用詳查的办法,划等分地,單收單秤,計算產量及出籽率。此

年 份	对照產量 斤/畝	接种后	增產	典型 試驗 数
		斤/畝	%	央 望 A M M
1950	170.0	34.0	20.0	83
1951	147.9	31.2	21.1	1113
1952	224	38.8	17.1	90
1953	231	27	12	6(山东、福建平均)
1954	221.0	37.5	17.0	87
1955	232.7	37.7	16.2	13(河北省資料)

表 6 歷年增產效果

后,各省都進行了花生根瘤菌在各种情况下表現的效果的調查。同时总結全面增產花 生的問題。

- 1. 歷年增產的效果(全國各地,表6)。
- 2. 在各省表現的增產效果: 將山东、河南、河北三省 264 个典型試驗及其他華东、西北、中南、东北等 48 个典型試驗的結果,按照增產百分率分組,然后換算各試驗数的百分率作成下(圖 3)。



如上圖所示,花生根瘤菌的增產效果在 10—20% 者最多,如果按小于 5% 为不增產,則河南省所占的比值較大,可能是由于該省的花生產地地力过于瘠薄(平均畝產不

过80斤)或其他自然灾害的影响。

3. 花生籽粒飽滿的程度: 接种花生根瘤菌后,不但每株花生的炭果增加,而且籽粒丰碩飽滿,出籽率高,很受群众的欢迎。据河北、河南、山东以及華北農業科学研究所試驗檢查的 58 个材料分别平均如下:

	帶皮	花 生 出 籽	率 %
	对 照	接种	增 加
河 北	60.4	62.6	2.2
河 南	63.2	66.1	2.9
山 东	63.5	68.8	3.3
華北農業科学研究所	68.9	70.2	1.3

表 7 接种对花生出籽率的影响

4. 根瘤的数目和瘤汁顏色: 据江苏省 1955 年阜寧農業技術推廣站的檢查如下:

		毎株大根瘤数		根瘤內	汁 液 色	
		(平均)	紅 色	棕 色	靑 灰 色	剖解根瘤总数
接	种	30 个	7个	3↑	4个	14个
对	照	17.6个	2个	3个	8个	13个

表 8 接种对根瘤数和瘤汁颜色的影响

上表說明接种花生根瘤菌后不但根瘤的数目增多,"有效菌种"所引致的具有紅色 汁液的根瘤数目也較多。紅色物質是"豆血紅素",它与固定空中氮素的作用有关系。紅 色表示作用進行的效率很高,棕色表示較差,青灰色表示不固定氮素,实际上是寄生^[1]。 近年來曾有人試圖利用这个特点來測定根瘤菌对于豆类作物的固氮效能^[17,18]。

5. 連作与生產: 一般說,花生根瘤菌剂对于連作花生的效果不如輪作或生產,据 山东省几年來 51 个典型調查(原始材料整理)及河南1954年14个典型調查的結果如下。

		3		対照平均產量	接种)	금 增 產	銀海	
		1	±	斤/畝	斤/畝	%	_	30 0.
	*	生	茬	308	44.3	14.5	28	
山 东	連	作	313	34.4	10.99	23		
) जिल		生	茬	63.0	11.5	18.3	6	
河 南	連	Y F	81.3	1.0	1.2	8		

表 9 連作和生茬对接种效果的影响

根据我們在各地調查的認識,有些地区虽然是連作花生,使用根瘤菌剂后仍然表現

良好的效果,各省在总結材料上也有报告^[16],甚至連年在一塊地上使用花生根瘤菌剂仍然表現增產^[19]。但是連作花生一般容易受病害的影响。

6. 高產区与低產区: 根据山东省農業科学研究所的 28 个原始材料整理結果,指 出花生在高產区和低產区因接种根瘤菌剂而增產的效果是有不同的。

对照平均產量(斤/畝)	接种品	計 增 產	試 驗 数		
AIRK 1 30 座屋 () 1 / 四()	斤/畝	%	P-1 2000 200		
高產区 541.3	40.3	7.4	12		
低產区 148.1	33.8	22.9	16		

表 10 高產区和低產区接种的增產情况

上表指出,虽然高產区的增產率較低,但是实际每畝增產斤数还是高的,这个增產 率的数字在田間用目測是不容易辨認的。

7. 与磷鉀肥的关系: 根瘤菌剂表現的效果和土壤中豆科作物养分的含量关系很大,已經有很多試驗总結了施肥的影响^[20,21]。山东膠东地区一般作物施用乾灰增產,使用花生根瘤菌剂配合磷鉀肥可以提高效果。下表数字系根据山东農業科学研究所的材料。

	处理項目	皮果產量 斤/畝	增 產		出籽率%	备注
	L E X I		斤/畝	%	1143 4-70	, pa
荣城縣農場	对 照	320	-			1) 試驗地系沙壤土
	磷、鉀	360	40	12.5		2) 过磷酸鈣每畝30斤
	根瘤菌	340	20	6.3		3) 草木灰毎畝 150 斤
	磷、鉀及根瘤菌	380	60	18.8		,
	对 照	267	_	-	63.8	间上
蒼 山 縣	磷、鉀	283	16	6.0	72.0	
于 廷 申	根瘤菌	283	16	6.0	69.0	
	磷、鉀及根瘤菌	286	19	7.1	72.0	

表 11 磷鉀肥料对根瘤菌接种效果的影响

在新泰、棲霞、歷城等縣試驗均有类似的結果,虽然增加数字幷不很高,这与土地本 身的肥力关系很大。

8. 与硫酸銨和糞肥的关系: 根瘤菌在开始侵入幼苗根系时并不能和該豆科作物 進行固氮作用,因此在过于瘠薄的沙地中配合根瘤菌剂与花生种籽或其他豆科种子同

注

1) 試驗各处理重复四次,結果趋 向一致,表列系平均数字

2) 糞按農家慣用的数量和質量

3) 1951年潦西農場的結果

时施用少量氮肥或豆餅等促使花生很快的渡过"氮素缺乏期",可以提高根瘤菌的效能。 有很多材料說明薄地种花生同时用有机質肥料,可以使根瘤菌收到更高的效果[16,20]。 当然在过于肥沃的土壤或施过量氮肥情况下,土壤中硝酸态氮素的積累將阻碍根瘤菌 侵入根系[22]。但是我國一般花生地的地力十分瘠薄,施有机質肥料甚至硫酸銨等对于 根瘤菌是有利的,下表即說明这个情况[16]。

	皮果產量	增	產	出籽率%	备	进
	斤/畝	斤/畝	%	Щ#) ф / о	P	
对 照	352.5			68.3	1) 粗沙壤土	
硫酸銨	407.5	55.0	15.6	67.5	2) 硫酸銨按每畝-	十斤,播动时
根瘤菌	377.5	25.0	7.1	68.0	开溝施,作基肥	1
硫酸銨及根瘤菌	447.5	95.0	27.0	68.8		

表 12 硫酸銨对根瘤菌接种效果的影响

表 13 糞肥对根瘤菌接种效果的影响

產

%

9.2

-3.1

19.7

增

斤/畝

35

75

<u> </u>						
無数資	科証明花生接 種	中根瘤菌后,	都得到了增	產效果,而	IL費用極为(近廉 (毎畝接
种所費不过	23 分錢)。>	为了今后提高	新根瘤菌剂的	效能,应認	亥从下述几方	面着手:

- (1) 提高菌剂質量,擴大应用范圍——如改進制备技術, 选育新种, 研究豆科植物 与根瘤菌接种的关系等。
- (2) 改進使用技術——如注意防止殺虫葯剂的毒塞和作物种皮某种物質对根瘤菌 的抑制作用等。
 - (3) 加强根瘤菌固氮的条件和歷程的研究。

皮果產量

斤/畝

379

414

370

454

对

施

根瘤菌

根瘤菌及糞

照

要 摍

本文总結了六年來花生根瘤菌剂生產和应用的情况,研究如何从菌种、制造方法、 成品規格方面提高質量。

本文引述了近年來花生根瘤菌剂在不同地区、不同条件下,田間效果的具体資料, 并提出了進一步提高根瘤菌效率的途徑。

参考文献

- [1] Erdman, L. W., 1949. What inoculation does for soybean. The soybean digest, vol. 9, No. 17.
- [2] 華北農科所土壤肥料研究室,1951,1950年化生根瘤菌拌种工作总結。農業科学通訊,第4期。
- [3] 板野新夫、任乐讓,1952. 大豆根瘤菌培养法介紹。 东北農業,第11期。
- [4] 賈醉公,1955. 豆科綠肥根瘤菌的制造与效能。土壤学报,3卷2期。
- [5] 胡济生等, 1955. 根瘤制造程序。農業学报, 6 卷 3 期。
- [6] 胡济生,粗柿霜作为花生根瘤菌培养液的基質(未發表)。
- [7] 陈淑筠, 1955. 几种碳源对于根瘤菌生長的关系。土壤微生物学通訊, 2期。
- [8] 胡济生,利用稀釋接种法测定根瘤菌在拌种剂中的生長(未發表)。
- [9] 陈淑筠,煤爐灰加入根瘤菌剂后对于根瘤菌生長的影响(尚未發表)。
- [10] 陈淑筠,根瘤菌制剂的檢查——貯藏后干燥对于根瘤菌成活率的影响(尚未發表)。
- [11] 魯达柯夫(Рудаков, К. И.), 1955. 苏联在根瘤菌研究上的發展(謝潜淵譯)。科学出版社。
- [12] Burton, J. C., 1950. 私人搜集材料。
- [13] 陝西省農林廳花生根瘤菌总結,1955(油印資料)。
- [14] 華北農科所土壤肥料研究室,1950.十万畝花生根樹菌拌种工作总結。農業科学通訊,第8期。
- [15] 華北農科所土壤肥料研究室,1950. 抓緊檢查拌种花生根瘤菌的效果。農業科学通訊,第9期。
- [16] 山东省五年(1950—1954)花生根瘤菌施用試驗及推廣效果总結。山东省農業科学研究所油印材料。
- [17] Jordon, D. C., 1952. Studies on the legume root nodule bacteria II, III Can. J. Botany, 30, 125-130, 693-700.
- [18] Jordon, D. C., 1951. Studies on the legume root nodule bacteria I. Can. J. Botany, 29, 360-372.
- [19] 河南省 1952 年推廣化生根瘤菌总結(打印材料)。
- [20] Березова, Е. Ф. 等, 1955, Применение бактериальных удобрений, 84 頁.
- [21] Lynch, D. L., 1951, Differential response of strains of lotus nodule bacteria to soil treatment practices. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 15, 176—180.
- [22] Fred, E. B. & others, 1932. Root nodule bacteria and leguminous Plants, Univ. of Wisconsin, Madison, pp. 202-207, 123-134.
- [23] Geobel, G., 1926. The relation of soil nitrogen to nodule development and nitrogen fixation by certain legumes. New Jersey Agri. Expt. Sta. Bull., 436.
- [24] Allen, O. N., 1952. Experiments in soil bacteriology.
- [25] Mecalla, T. M., 1937, Behavior of legume bacteria in relation to exchangeable calcium and hydrogen ion concentration of the colloidal fraction of the soil.

ВЛИЯНИЕ ЗАРАЖЕНИЯ "НИТРАГИНА" НА УРОЖАЙ АРАХИСА

Ху Гэй-жэн, Чэн Жу-юнь, Чжоу Пин-чжэн и Шао Чжи-пэй Институт Сельскиозяйственного Наук Северного Китая

В Китае проведенно большое число опытов с нитрагин, препрараты искусственно разведенных культур клубеньковых бактерий, под арахисом за 1950—1955 гг. По данным этих опытов, преимущественно в производственных условиях, в разных области Китая заражение нитрагина под арахисом окавывается эффекитивностами. Прибавка урожая арахиса от заражения в средий 10—20%.