

石灰性紫色土施铁肥与接种根瘤菌对花生-根瘤菌共生固氮作用的影响^{*}

于景丽^{1,2} 张小平^{1†} 李登煜¹ 陈 强¹ 王可美¹

(1 四川农业大学资源与环境学院微生物系, 四川雅安 625014)

(2 内蒙古大学生命科学学院生态与环境科学系, 内蒙古呼和浩特 010021)

摘 要 以缺铁的石灰性紫色土为供试土壤进行盆栽实验, 选用三株慢生型花生根瘤菌 Spr3-5、Spr3-7、Spr4-5 及 *gusA* 和 *celB* 标记的菌株 *gusA* 3-5、*gusA* 3-7、*gusA* 4-5、*celB* 3-5、*celB* 3-7、*celB* 4-5 接种天府 9 号花生。通过标记根瘤菌形成的根瘤能与检测试剂产生颜色反应的特征, 检测施铁肥及施不同浓度的铁肥对花生-根瘤菌有效性和竞争性的影响。结果发现: 缺铁的石灰性紫色土上单施铁肥、单接种根瘤菌、接种根瘤菌配施铁肥均能促进花生与根瘤菌的共生固氮效应和竞争结瘤能力, 但接种根瘤菌配施铁肥的效果最好, 单接种根瘤菌的效果次之, 单施铁肥的效果差。喷施 0.2% 硫酸亚铁溶液的效果比 0.3% 的好。植株全氮含量和叶绿素含量都是指示共生固氮效应的重要指标, 与花生产量间存在极显著的相关性, 相关系数分别为 0.763 和 0.795。*gusA* 和 *celB* 两种标记方法检测的结果基本一致, 两种标记根瘤菌的平均占瘤率分别为 79.64%、75.62%、74.41%。供试菌株中 Spr4-5 的有效性和竞争性最强, Spr3-7 次之, Spr3-5 最差。

关键词 缺铁; 花生根瘤菌; 有效性; 竞争性

中图分类号 S154.36 **文献标识码** A

根瘤菌与豆科植物共生固氮体系在农业生产上有重要的作用。据报道, 全球每年由豆科根瘤菌固定的氮素为 8×10^{10} kg, 约占全球生物固氮总量的 65%^[1]。以提高农业生产效果的根瘤菌接种剂曾在农业生产中发挥了重要的作用^[2]。随着分子生物学技术的发展和遗传学认识的深入, 一些通过群体遗传学研究手段筛选或经过改造, 目的在于提高农业生产效果的高效根瘤菌剂正在应用于农业生产实践中。然而影响和决定根瘤菌共生固氮效率的因素来自土壤生态环境、宿主植物和根瘤菌等三个方面。因此, 施用根瘤菌接种必须兼顾土壤有机质、氮素、微量元素含量、pH 等理化因子对其固氮效率的影响。石灰性紫色土占四川境内紫色土耕地面积的 51%^[3], 全省有 1/3 的花生都分布在该土壤上^[4]。但由于石灰性紫色土上有效铁缺乏影响了豆科植物-根瘤菌的共生固氮作用, 最终成为花生高产的主要限制因子。如何纠正土壤缺铁对豆科植物和根瘤菌造成的伤害? 传统的根瘤菌接种剂以及铁肥的施用缺少必要的检测技术。外源分子标记技术是继内

源分子标记日益发展起来的一种新型检测技术, 其原理是向所要研究的根瘤菌导入易于识别的标记基因, 根据基因编码的酶能与底物产生颜色反应^[5]的特征, 借助肉眼或简便的仪器对所要研究的根瘤菌进行识别和鉴定。常见的外源标记基因很多, 但最适合于研究根瘤菌竞争结瘤的标记基因主要有 *gusA*、*celB* 两种^[5~11]。应用基因标记技术可以改善以往施用菌肥的盲目性, 充分利用根瘤菌资源, 发挥高效根瘤菌剂在农业生产实践中的重要作用。最终为石灰性紫色土上花生高产提供理论依据和技术参考。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

三株慢生型花生根瘤菌 Spr3-5、Spr3-7、Spr4-5 由四川农业大学微生物实验室提供; *gusA* 和 *celB* 标记菌株是由三株慢生型花生根瘤菌 Spr3-5、Spr3-7、Spr4-5 与含有 *gusA* 和 *celB* 标记基因的大肠杆菌 *E.*

^{*} 国家自然科学基金项目(39970029)及国家“973”项目(2001CB108905)资助

[†] 通讯作者: 张小平, 四川农业大学外事办主任, 教授, 博士。Tel: 0835-2882710, Fax: 0835-2883166

作者简介: 于景丽(1976-), 女, 内蒙古赤峰人, 助教, 硕士。E-mail: hotyjl@163.com

收稿日期: 2004-03-09; 收到修改稿日期: 2004-10-11

coli HMBI2179 通过混合培养和选择性培养分离获得的。

1.2 根瘤菌培养基及吸附剂^[4]
固体培养基 YMA, 液体培养基 TY, 选择性培养

基为 1ml YMA 加链霉素 250 μg, 根瘤菌吸附剂。
1.3 供试土壤
石灰性紫色土取自四川省乐山市凌云乡, 前作为蔬菜。其基本理化性质见表 1。

表 1 供试土壤的基本理化性质¹⁾
Table 1 Basic physical and chemical properties of soil

土壤类型 Soil type	pH	有机质 OM (g kg ⁻¹)	全量养分 Total nutrient (g kg ⁻¹)			速效养分 Available nutrient (mg kg ⁻¹)			有效铁 Available Fe (mg kg ⁻¹)
			N	P	K	N	P	K	
石灰性紫色土 Calcareous purple soil	8.05	17.46	1.59	0.81	10.33	99.9	9.4	145.6	4.65

1) 表中数据为 3 次重复的平均数值 Numerical values given in Table 1 were the mean of three replicates

1.4 盆栽试验
实验设 6 个处理, 6 次重复。(1) CK: 不接种根瘤菌, 不施铁肥; (2) 单接种根瘤菌: Spr3-5、Spr3-7、Spr4-5、*gusA* 3-5、*gusA* 3-7、*gusA* 4-5、*cdB* 3-5、*cdB* 3-7、*cdB* 4-5; (3) 接种根瘤菌配施 0.2% 的硫酸亚铁溶液; (4) 接种根瘤菌配施 0.3% 的硫酸亚铁溶液; (5) 单施 0.2% 的硫酸亚铁溶液; (6) 单施 0.3% 的硫酸亚铁溶液。采用 30 cm × 19.5 cm 塑料盆钵, 每钵装土 5 kg。每钵加过磷酸钙 5 g 作基肥, 泥炭菌剂 5 g (含菌量 > 2 × 10⁸ 个 g⁻¹) 作种肥。将表面消毒的花生种子浸泡后胚根朝下播种, 每盆播 3 粒, 立即盖土, 覆薄膜。待出全苗后定苗 2 株。硫酸亚铁溶液采用苗期喷施法 (间隔 1 周 1 次, 共 2 次)。分盛花期和收获期取样。

1.5 供试花生及其分析测试
天府 9 号花生, 购自四川省南充市农业科学研究所。盛花期取样测定植株干重、全氮含量、叶绿素含量、鲜瘤重、总瘤数、蓝瘤数; 收获期测定花生产量。

1.5.1 植株干重 先 85℃ 杀酶 10 min, 再 65℃ 烘干至恒重, 称干重。
1.5.2 植株全氮含量 采用奈氏比色法^[12] 测定。
1.5.3 叶绿素含量 取 0.23 g 新鲜小块叶片, 放入装有 95% 酒精与 80% 丙酮等体积混合液的刻度磨口试管中, 加塞后立即放到 37℃ 恒温培养箱中避

光保存, 待叶片完全变白后即可用 7230 型分光光度计在 652 nm 的波长处测定 OD 值^[13], 计算出叶绿素总含量。
1.5.4 接种 *gusA* 和 *cdB* 标记菌株的占瘤率检测^[9]
(1) *gusA* 和 *cdB* 标记菌株的占瘤率检测试剂分别为 X-glcA 和 X-gal 染色缓冲液。(2) *gusA* 和 *cdB* 标记菌株的占瘤率检测: 首先用自来水冲洗花生根系以除去表面的杂质, 再用蒸馏水洗 2~3 次。*gusA* 检测是将根系直接浸泡于含有 X-glcA 的磷酸盐缓冲溶液中; 而 *cdB* 检测是将根系浸泡于不含有底物的磷酸盐缓冲溶液中, 经 70℃ 杀酶 1 h, 冷却至室温后再加入含 X-gal 的缓冲液 (200 μg ml⁻¹)。真空抽气 10~15 min; 经 37℃ 避光保存至蓝色瘤子出现后, 即可进行蓝、白色瘤子的计数, 并计算占瘤率。
1.6 数据处理
数据分析主要采用 SPSS 软件进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 石灰性紫色土施铁肥与接种根瘤菌对花生-根瘤菌有效性的影响
从表 2 可以看出, 单施铁肥或单接种根瘤菌能促进花生与根瘤菌的共生固氮效应, 且单接种根瘤菌时的植株干重、全氮含量、叶绿素含量都能与 CK 间达到差异极显著水平。

表 2 花生施铁肥或接种根瘤菌对花生-根瘤菌有效性的影响¹⁾

Table 2 Effect of application of Fe fertilizer or inoculation of *Bradyrhizobium* on effectiveness of peanut *Rhizobium*

处理 Treatment	植株干重 Plant dry weight (g plant ⁻¹)	植株全氮含量 Plant total nitrogen content (g kg ⁻¹)	叶绿素含量 Plant total chlorophyll content (mg kg ⁻¹)
CK	3.47	0.149	1.642
Fe0.2 ²⁾	4.44	0.177 [*]	2.072 ^{**}
Fe0.3 ²⁾	4.48	0.164 [*]	1.804 ^{**}
Spr3-5	5.21 ^{**}	0.182 ^{**}	1.890 ^{**}
Spr3-7	5.52 [*]	0.194 [*]	2.075 [*]
Spr4-5	4.78 [*]	0.216 [*]	2.259 [*]

1) 表中数据均为 6 次重复的平均数; * 表示在 0.05 水平上差异显著; ** 表示在 0.01 水平上差异极显著 Numerical values given in Table 2 were means of six replicates; * LSD at 0.05 level; ** LSD at 0.01 level. 2) Fe0.2, Fe0.3 分别代表 0.2%、0.3% 的硫酸亚铁溶液 Fe0.2 and Fe0.3 stands for 0.2% and 0.3% solution of FeSO₄·7H₂O, respectively

从表 3 可以看出,在接种根瘤菌的情况下,施铁肥能促进根瘤菌与花生的共生固氮效应,增加植株干重,提高植株全氮含量和叶绿素含量。从铁肥的浓度看,0.2% 的铁肥和 0.3% 的铁肥均有促进作

用,但 0.2% 的效果更好,这说明铁肥浓度偏高会抑制根瘤菌的有效性。接种根瘤菌 Spr4-5 时,花生植株的各项指标在施铁肥 0.2% 时与不施铁肥和施铁肥 0.3% 间存在显著或极显著差异。

表 3 不同浓度的铁肥对接种根瘤菌有效性的影响¹⁾

Table 3 Effect of different concentration of Fe fertilizer on effectiveness of *Bradyrhizobium* inoculation

处理 Treatment	植株干重 Plant dry weight (g plant ⁻¹)	植株全氮含量 Plant total nitrogen content (g kg ⁻¹)	叶绿素含量 Plant total chlorophyll content (mg kg ⁻¹)
Spr3-5	5.21 b A	0.182 c B	1.890 c C
Spr3-5+ Fe0.2	6.13 a A	0.226 a A	3.250 a A
Spr3-5+ Fe0.3	5.46 ab A	0.194 b B	2.341 b B
Spr3-7	5.52 b A	0.194 c B	2.075 b B
Spr3-7+ Fe0.2	6.46 a A	0.235 a A	2.444 a A
Spr3-7+ Fe0.3	5.58 b A	0.207 b B	2.113 b B
Spr4-5	5.25 b B	0.216 c C	2.259 c C
Spr4-5+ Fe0.2	7.42 a A	0.261 a A	3.362 a A
Spr4-5+ Fe0.3	5.29 b B	0.245 b B	2.427 b B

1) 方差分析为同一菌株在不同铁浓度下的比较;不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著;不同大写字母表示在 0.01 水平上差异极显著 Analysis of variance used the same *Bradyrhizobium* strain in different concentrations for comparison. Means followed by different low case letters stands for LSD at 0.05 level ($p = 0.05$) and by different upper case letters for LSD at 0.01 level, as is determined with Duncan's multiple range test

结合表 2 和表 3 可以看出,接种根瘤菌配合施铁肥的效果最好,单接种根瘤菌的效果次之,单施铁肥的效果差。可见石灰性紫色土中土著根瘤菌在缺铁的条件下缺乏或者活性低;单接种根瘤菌的效果比单施铁肥的效果好,说明接种根瘤菌在石灰性紫色土中有很强的适应性和有效性,能适应缺铁的条件;施铁肥也能促进土著菌与花生的共生固氮效

应,说明土著菌在铁营养改善的条件下其固氮活性增强了,但单施铁肥的效果不如单接种根瘤菌的效果好,说明石灰性紫色土中土著根瘤菌缺乏或铁肥浓度没能达到最佳浓度。因此,铁肥的最佳浓度有可能在 0~ 0.2% 的区间内。菌株之间的有效性存在差异,总体上 Spr4-5 的最强, Spr3-7 次之, Spr3-5 最差。

2.2 石灰性紫色土施铁肥与接种根瘤菌对花生根瘤菌竞争性的影响

从表 4 可以看出, 接种不同的根瘤菌均能促进花生与根瘤菌的竞争性, 花生的鲜瘤重、总瘤数与 CK 相比均有不同程度的增加, 且除接种 Spr4 5 时的总瘤数与 CK 间差异不显著外, 其余处理的各个指标均与 CK 间存在显著或极显著差异。这说明接种根瘤菌能适应缺铁条件, 有很强的竞争能力。石灰性紫色土上用 *gusA* 和 *celB* 两种基因标记方法检测接种根瘤菌形成的蓝瘤数, 结果表明两种方法测定的结果间无显著差异, 这说明用 *gusA* 和 *celB* 两种基因标记方法研究根瘤菌的竞争性有一致性。菌株

Spr4 5 的竞争性最强, Spr3-7 次之, Spr3-5 最差。在接种根瘤菌的情况下, 施铁肥能促进花生与根瘤菌的竞争结瘤能力, 增加鲜瘤重、总瘤数和蓝瘤数。从铁肥的浓度看, 0.2% 的铁肥和 0.3% 的铁肥均有促进作用, 但 0.2% 的效果比 0.3% 的好, 接种根瘤菌 Spr4 5 时, 花生植株的各个指标在施铁肥 0.2% 时与不施铁肥和施铁肥 0.3% 间存在显著或极显著差异, 这说明铁肥浓度偏高同样会抑制根瘤菌的竞争性。因此接种根瘤菌配合适宜浓度的铁肥更能促进接种根瘤菌的竞争结瘤能力, 铁肥的最佳浓度仍可能在 0~ 0.2% 的区间内。

表 4 接种不同根瘤菌配施不同浓度的铁肥对花生根瘤菌竞争性的影响¹⁾

Table 4 Effect of combination of inoculation of different *Bradyrhizobium* with Fe fertilization different in concentration on competitiveness of peanut *Rhizobia*

处理 Treatment	鲜瘤重 Fresh nodule weight (g plant ⁻¹)	总瘤数 Total nodules (plant ⁻¹)	蓝瘤数 Blue nodules (plant ⁻¹)	蓝瘤占瘤率 Ratio of blue nodules occupancy(%)
CK	0.70	100	—	0
<i>gusA</i> 3-5	1.76** aA	234** bB	148** bB	63.25**
<i>gusA</i> 3-5+ Fe0.2	2.26** aA	412** aA	305** aA	74.03**
<i>gusA</i> 3-5+ Fe0.3	2.15** aA	287** bAB	205** bB	71.43**
<i>celB</i> 3-5	1.72** aA	247** bB	161** bB	65.18**
<i>celB</i> 3-5+ Fe0.2	2.24** aA	422** aA	315** aA	74.64**
<i>celB</i> 3-5+ Fe0.3	2.13** aA	284** bAB	203** bB	71.48**
<i>gusA</i> 3-7	2.06** aA	233** aA	161** bA	69.10**
<i>gusA</i> 3-7+ Fe0.2	2.53** aA	323** aA	245** aA	75.85**
<i>gusA</i> 3-7+ Fe0.3	2.40** aA	240** aA	174** bA	72.50**
<i>celB</i> 3-7	1.97** aA	246** aA	169** bA	68.70**
<i>celB</i> 3-7+ Fe0.2	2.51** aA	332** aA	251** aA	75.60**
<i>celB</i> 3-7+ Fe0.3	2.42** aA	251** aA	182** bA	72.51**
<i>gusA</i> 4-5	2.13** bB	165 bB	117** bB	70.91**
<i>gusA</i> 4-5+ Fe0.2	3.28** aA	297** aA	236** aA	79.46**
<i>gusA</i> 4-5+ Fe0.3	2.51** bAB	220* bB	162** bB	73.64**
<i>celB</i> 4-5	2.15** bB	174 bB	124** bB	71.26**
<i>celB</i> 4-5+ Fe0.2	3.31** aA	324** aA	258** aA	79.63**
<i>celB</i> 4-5+ Fe0.3	2.83** aAB	207* bB	153** bB	73.91**

1) 方差分析为接种根瘤菌及施铁肥与对照间的比较: * 表示在 0.05 水平上差异显著; ** 表示在 0.01 水平上差异显著 Analysis of variance was based on comparison of combination of inoculation of *Bradyrhizobium* and application of Fe fertilizer with CK: * LSD at 0.05 level; ** LSD at 0.01 level; 方差分析为同一菌株在不同铁浓度下的比较: 不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著; 不同大写字母表示在 0.01 水平上差异极显著 Analysis of variance used the same *Bradyrhizobium* strain in different concentrations for comparison. Means followed by different low-case letters stands for LSD at 0.05 level ($p = 0.05$) and by different upper case letters for LSD at 0.01 level, as is determined with Duncan's multiple range test

2.3 石灰性紫色土花生施铁肥与接种根瘤菌对花生产量的影响

从表 5 中可看出, 单施铁肥、单接种根瘤菌、接

种根瘤菌配合施用铁肥的情况下, 花生产量与 CK 相比均有不同程度的提高, 且与 CK 间达到差异显著或极显著水平, 但花生接种根瘤菌配施铁肥时增

产效果最好,单接种根瘤菌的效果较好,单施铁肥的效果较差;无论铁肥与根瘤菌配施还是单施,总以0.2%的铁肥效果好。在施用相同浓度的铁肥时,菌株Spr4-5的增产效果最好,Spr3-7次之,Spr3-5差。

以上结果表明,在缺铁的石灰性紫色土上接种高效根瘤菌配合施用适宜浓度的铁肥是农业上一项可以应用并推广的增产措施。

表 5 不同处理对花生产量的影响¹⁾
Table 5 Effect of different treatment on yield of peanut

处 理 Treatment	花生产量 Peanut yield(g plant ⁻¹)	增加百分数 Increment in percentage(%)	标准差 Standard deviation
CK	3.25	0	0.31
Fe0.2	6.12**	88	0.21
Fe0.3	5.27	62	0.49
Spr3-5	7.59** cC	134	0.46
Spr3-5+ Fe0.2	9.65** aA	197	0.25
Spr3-5+ Fe0.3	8.19** bB	152	0.38
Spr3-7	7.71** bB	137	0.55
Spr3-7+ Fe0.2	9.89** aA	204	0.41
Spr3-7+ Fe0.3	8.37** bB	158	0.36
Spr4-5	7.91** cC	143	0.29
Spr4-5+ Fe0.2	10.25** aA	215	0.35
Spr4-5+ Fe0.3	8.64** bB	166	0.58

1) 同表 4 中注释 1) was the same as the note in Table 4

从表 6 可知,花生产量与植株干重、全氮含量、叶绿素含量,瘤重、总瘤数等指标间存在极显著的相关性,说明上述指标均是反映共生固氮作用的主要

指标。与叶绿素含量的相关性最强,说明花生在缺铁失绿的情况下,叶绿素含量是反映花生生产量的重要指标,这与前人的研究结果一致^[4]。

表 6 花生产量与植株全氮含量等指标间的相关性分析
Table 6 Analysis of correlations between peanut yield and plant total nitrogen content, etc.

	植株干重 Plant dry weight	植株全氮含量 Plant total nintrogen content	叶绿素含量 Plant total chlorophyll content	总瘤数 Total nodules	鲜瘤重 Fresh module weight
花生产量 Peanut yield	0.553*	0.763**	0.795**	0.551**	0.510**

** 表示在 0.01 水平上呈极显著正相关 ** LSD at 0.01 level

3 结 论

缺铁石灰性紫色土上花生接种根瘤菌配施铁肥的增产效果最好,单接种根瘤菌的效果较好,单施铁肥的效果较差;无论铁肥与根瘤菌配施还是单施,总以0.2%的铁肥效果好。因此,缺铁的石灰性紫色土上接种高效根瘤菌配合施用适宜浓度的铁肥是农业上一项可以应用并推广的增产措施。

参 考 文 献

[1] FAO. Technical Handbook on Symbiotic Nitrogen Fixation Legume Rhizobium. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 1983

[2] Elkan G H. Biological nitrogen fixation. In: Lederberg J. ed. Encyclopedia of Microbiology. san Diego: Academic Press, 1992. 285~ 296

[3] 刘世全, 张明. 区域土壤地理. 成都: 四川大学出版社, 1996. 10. Liu S Q, Zhang M. Regional Soil Geography (In Chinese). Chengdu: Sichuan University Publishing House, 1996. 10

[4] 李江凌, 黄怀琼. 石灰性紫色土上铁对花生根瘤菌共生固氮的影响. 四川农业大学学报, 1997, 15(3): 323~ 328. Li J L,

- Huang H Q. Effect of Fe on the symbiotic nitrogen fixation of *Rhizobium*-peanut in calcareous purple soils (In Chinese). Journal of Sichuan Agricultural University, 1997, 15(3): 323~ 328
- [5] Sessitsch A, Hardarson G, de Vos WM, *et al.* Use of marker genes in competition studies of *Rhizobium*. Plant and Soil, 1998, 204: 35~ 45
- [6] Streit W, Kosch K, Werner D. Nodulation competitiveness of *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* and *Rhizobium tropici* strains measured by glucuronidase (GUS) gene fusions. Biol. Fertil. Soils, 1992, 14: 140~ 144
- [7] Wilson K J, Sessitsch A, Akkerman A D L. Molecular markers as tools to study the ecology of microorganisms. In: Ritz K, Dighion J, Güler K E. eds. Beyond the Biomass: Compositional and Functional Analysis of Soil Microbial Communities. Chichester, UK: John Wiley, 1994. 149~ 156
- [8] Streit W, Botero L, Werner D, *et al.* Competition for nodule occupancy on *Phaseolus vulgaris* by *Rhizobium etli* and *Rhizobium tropici* can be efficiently monitored in an ultisol during the early stages of growth using a constitutive GUS gene fusion. Soil Biol. Biochem., 1995, 27: 1 075~ 1 082
- [9] Sessitsch A, Wilson K J, Akkerman A D L, *et al.* The *celB* marker gene. Molecular Microbial Ecology Manual, 1998, (12): 1~ 15
- [10] Wilson K J, Sessitsch A, Corbo J, *et al.* β -glucuronidase (GUS) transposons for ecological and genetic studies of rhizobia and other Gram negative bacteria. Microbiology, 1995, 141: 1 691~ 1 705
- [11] De Boer M H, Djordjevic M A. The inhibition of infection thread development in the cultivar-specific interaction of *Rhizobium* and subterranean clover is not caused by a hypersensitive response. Protoplasma, 1995, 185: 58~ 71
- [12] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析. 上海: 上海科学技术出版社, 1986. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. ed. Analysis of Physical and Chemical Properties of Soils (In Chinese). Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1986
- [13] 张志良主编. 植物生理学实验指导. 北京: 高等教育出版社, 1991. 84~ 91. Zhang Z L. ed. Experimental Guide of Plant Physiology (In Chinese). Beijing: Higher Education Press, 1991. 84~ 91

EFFECTS OF Fe FERTILIZATION AND INOCULATION OF *BRADYRHIZOBIUM* IN CALCAREOUS PURPLE SOIL ON SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION OF *BRADYRHIZOBIUM*-PEANUT

Yu Jingli^{1,2} Zhang Xiaoping^{1†} Li Dengyu¹ Chen Qiang¹ Wang Kemei¹

(1 Department of Microbiology, College of Resources and Environment, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

(2 Department of Ecology and Environment Science, Inner Mongolia University, Huhhot, Inner Mongolia 010021, China)

Abstract In this research, calcareous purple soil deficient in Fe was used for pot experiment. Three strains of *Bradyrhizobium* Spr3-5, Spr3-7, Spr4-5 and *gusA*⁻ and *celB*⁻ labeled strains *gusA* 3-5, *gusA* 3-7, *gusA* 4-5, *celB* 3-5, *celB* 3-7, *celB* 4-5 were selected inoculate TianFu 9 peanut. Root nodule formed by gene marker strains would have color reaction with the test reagent. This characteristic can be used to detect effect of Fe fertilization and its application rate on effectiveness and competitiveness of the peanut *Bradyrhizobium* symbiosis. Results show that in calcareous purple soil deficient in available Fe, spraying of FeSO₄•7H₂O solution, inoculation of *Bradyrhizobium* or combination of the two could all promote symbiotic nitrogen fixation and competitive ability of peanut *Bradyrhizobium* in nodulation, but the effect was the best with the combination, followed by inoculation and then Fe application. The effect of spraying 0.2% FeSO₄•7H₂O solution was much better than that of spraying 0.3% FeSO₄•7H₂O solution. Plant total nitrogen content and total chlorophyll content, which are both important indices of symbiotic nitrogen fixation, showed extremely significant correlations with peanut yields, with correlation coefficient being 0.763 and 0.795, respectively. Results of the test with either *gusA* or *celB* labeled strains were almost the same. The nodulation rate of the three labeled *Bradyrhizobium* strains, Spr3-7, Spr4-5 and Spr3-5 was averaged to be 79.46%, 75.62% and 74.41%, respectively. In terms of effectiveness and competitiveness, Strain Spr4-5 took the lead and was followed by Spr3-7 and Spr3-5 in the end.

Key words Deficiency in Fe; *Bradyrhizobium*; Effectiveness; Competitiveness