

生物学译文选

第九集

河北省科学院生物研究所情报室

1981.6

编者的话

生物防治的重要性表面上已为人所认识，比如化学农药的毒性、残毒、耐药性、污染以及生态平衡等，方面的问题，使人们希望迅速用生物防治来取代之。但是由于生防制剂上的一些困难，如生产工艺，成本、质量类型、施用方法等方面的困难，以及农民的认识和习惯性，领导部门缺乏奖励政策等等原因，国内生物防治情况每况愈下，不少生防工厂纷纷停产转业，而化学农药则大量继续生产和销售。对这样有关于子孙后代的事怎么办？除了希望国内加强生物防治的研究外，我们也想看看国外的情况，因此本期翻译了一篇有关生物杀虫剂的文章，以供参考。

生物固氮是农业上的方向，需要很好的研究，本期翻译了一篇国外根瘤菌生产和应用情况的文章，以及1980年生物固氮研究的主要动向，以供参考。

纤维素的分解关系到自然界里被丢弃或浪费的大量纤维素（如麦杆）的利用，以及纤维素被微生物的分解（如木材和纤维制品的腐烂）以及在细胞学遗传学上的应用，（溶壁以得到原生质体和原生质体融合技术等）都是当前研究的课题。为此我们还翻译了“纤维素和纤维素分解”的综述。这篇综述虽然不是最新的，但还不失为供参考的材料。

今后，我们的译丛将联系工农业生产实际和国外的进展情况以有助于当前的科研工作和领导的参考。

目 录

一、根瘤菌尿的种	1
二、生物固氮中的氧和氢	37
三、生物杀虫剂	69
四、纤维素和纤维素分解	105

根瘤菌的种

JoE C. BuRTon

引言

人生活在大气中受氮的支配，但他不能利用其分子型的元素。空气中氮首先必须“固定”，结合为动物和植物能作为食物利用的化合物。

氮能化学的或生物固定。可是化学制造氮肥需要大量的石油燃料能量，最近石油燃料的短缺和造成氮肥的高成本，已经集中更大注意力到生物方法。

某些细菌，根瘤菌，具有感染豆科植物根的能力，形成瘤和它们的宿主共生，进行分子氮的固定。已经测补过 (Hardy & Holsten 1972) 瘤细菌 (根瘤菌)，与豆科宿主结合，每年至少固定 90×10^6 公吨的氮。这大大超过化肥氮量的二倍，和大大超过每年生物法固定该元素总量的一半。世界人口依然快速增加和制造氮肥石油燃料的急剧短缺，生物氮固定大量增加是必须遵循的。根瘤菌——豆科植物结合提供了所有系统的最大希望，以供在末年末年代需要的营养蛋白质食品。

根瘤菌的种 (根瘤菌) 在实验室的培养以应用于农业，在 1886 年 Hellriegel 揭示了他的结瘤豆科植物的魔力的发现以后不久就开始了。Beijerinck，一个荷兰微生物学家，分离了

致病菌，根瘤菌，在1888年从豆科的瘤上。根瘤菌的种在实验室内的培养以增加豆科作物的生产，在这以后马上开始，但是早期打靶应用实验室生产的细菌培养物未使豆科作物提高很少碰到成功。这不应过分惊奇因考虑到涉及到的多种因素。在早期遇到的复杂问题由Fred efal (1932) 作了详细的描述。

很早认识到豆科植物对根瘤菌有偏爱，反之亦然，但对此的整个含义不清楚。对专一的豆科的种，根瘤菌的有效菌株的选育是一个关键的关键，也是今天接种物制造者要继续去做的一个主要职责。另外一个关键的关键是了解根瘤菌——豆科结合。

Burton (1967) 叙述了接种物工业的发展。

II、根瘤菌：豆科植物的结合

A、植物类群和根瘤菌的种

豆科，包含豆科植物超过12000种，虽然现代应用作为食品生产的少于100种。这些主要在亚科、蝶形花科、包含主要的有瘤的种，具有和根瘤菌共生，进行利用大气的氮的能力。

瘤菌（根瘤菌 *Rhizobium*）是根瘤菌科中二个属中的一个，它能在豆科植物的根上志染并诱导瘤的形成是它的特性。

(Buchanan & Gibbons 1974)。根瘤菌的种由它们成瘤的植物种类而差别，植物和根瘤菌的特殊种类相互敏感成瘤组成一个交叉—接种组合，细菌能够在这些组合中的一个植物上成瘤的被认为是根瘤菌的种。

六了已认识的根瘤菌尿的种和它们分别的豆科宿主見下表所示

<i>Rhizobium meliloti</i>	苜蓿尿 草木犀尿和胡芦巴尿的种
<i>Rhizobium Trifolii</i>	三叶草尿的种
<i>Rhizobium leguminosarum</i>	豌豆尿 野豌豆尿 山豆尿 和小扁豆尿的种
<i>Rhizobium phaseoli</i>	菜豆和红花菜豆
<i>Rhizobium japonicum</i>	大豆
<i>Rhizobium lupini</i>	羽扇豆尿和鸟足尿的种

根瘤菌尿的新种的名称基于交叉接种组合，约在1939就中断了，因为许多无法解释的不一致的植物和细菌反应，对这个概念的正确性有了怀疑。根瘤菌分类学家现在已集中主要注意力在生长速度，酸产生，血清学，DNA碱基比，数值分类法，DNA杂交和噬菌体敏感性。Graham (1976) 和 Vincent (1974) 讨论这些系统甚详，並指出其不一致性。几乎四十年来没有增加一个根瘤新菌种的事实证明其困难。今天的实践能鉴别瘤细菌菌株与其母本宿主植物，例如从百脉根尿 *Lotus* 尿的种得百脉根根瘤菌或从鹰嘴尿 *Baptisia* 的种得鹰嘴尿根瘤菌，而没有根瘤菌尿本身的种名。

豆科植物的组合基于成瘤的敏感性由特殊的种或根瘤菌的种，对接种物的制造者很有用。对豆科的种，通常被接受为成瘤是其生固氮所必需。该试验能限于对特殊植物成瘤的菌株，而且

最好的氮固定细菌能从中选育。

B、根瘤菌菌株选育

根瘤菌菌株选育是接种物制造者最重要的职责之一。根瘤菌菌株选育要有如下的质易：(a)它们在特殊的植物上必须形成固氮瘤和提供适宜的氮的补给(b)它们正像通过根毛定居和宿主的成瘤所证明那样，在存在其他高度感染的根瘤菌时必须竞争；(c)成瘤必须出现在特殊植物能生长的温度范围之内(d)该根瘤菌菌株必须能在培养基、在载体培养基和在种子植入后的土壤内生长良好(e)该菌能在土壤中生存从一季到另一季。

1、固氮能力

在根瘤菌菌株选育中首先考虑的是氮固定能力。最初试验通常是在温室或生长室内做的(Vincenz 1970, Wacek & Brill 1976; Datta 1976)。表面灭菌的种子植入和接种不同的根瘤菌菌株。根瘤菌菌株对固氮和刺激生长的能力有很大的不同。

经过一年，研究者简单的观察，快速试验测定氮固定效率，但是只有确切知道一个根瘤菌菌株和一特殊的宿主放在一起在一个适合生长的环境下才能固氮和测定氮的固定。最近发现固氮酶，在豆科瘤内把还原 N_2 为 NH_3 ，亦还原乙炔为乙烯，提供了估价根瘤菌——植物结合和淘汰劣等菌株的快速方法。Hardy 和 Holsten (1977) 讨论了乙炔还原的优良和在豆科内双氮固定的另一测定法。

根瘤菌菌株对很大范围的宿主植物有效，这些中较优的只对少数有效。三种野豌豆种 *Vicia* 对七种根瘤菌的反应见图2。菌株 175G9, 175G10 和 128C2 对长柔毛野豌豆 *V. Villosa* 高度有效，但对大花野豌豆 *V. grandiflora* 无效。相反，菌株 128C53 和 128C56 对所有三种宿主植物非常有效，这样，将更有希望作为野豌豆属的种的接种物。

某些豆科宿主是非常混杂的，能够与大幅度的根瘤菌有效的一起工作。Siratro 大毛豆 (*Macroptilium purpureum*) 和豇豆 (*Vigna unguiculata*) 即是例子。其他植物是高度的专一性只能和一个专一的根瘤菌菌株工作。得克薩斯羽扇豆 (*Lupinus subcarneus*) 和古拉三叶草 (*Trifolium arvense*) 是该类的例子。

通过豆科的许多种和许多根瘤菌的菌株结合研究氮固定，指在交叉接种组合内，某个植物的种同样倾向对应于接种的根瘤菌菌株。这个资料按氮固定的预测性导致一个植物的重组，这些重组称作“有效组合”和含有对多种宿主接种物的基础。

应该记得在有效组合内的所有植物同样不可能对所有根瘤菌菌株对应。可是，在一个组合内有足够的适合性来证明这个分类是正当的，直到能够测得，对每个宿主基因型的精确的根瘤菌属的要求。

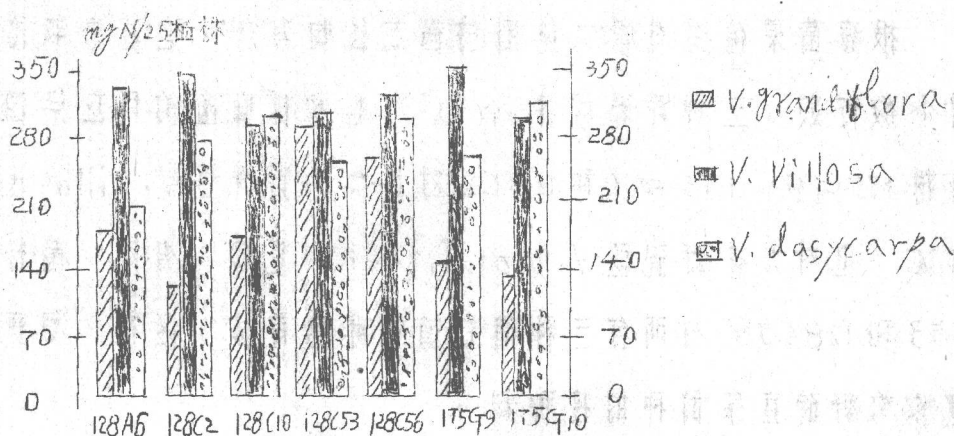


图2 三种野豌豆接种 7个根瘤菌菌株在生长室研究其氮固定，植物在 6 星期收获。

表1 豆科的种的有效组合在交叉培养组合内

交叉接种组合	参考文献
苜蓿组/ <i>Rhizobium meliloti</i>	
A. 苜蓿, 野苜蓿, 小苜蓿	Burton + Erdman 1940
蒺藜状苜蓿, 小齿草木犀	Burton Wilson 1939
白香草木犀, 臭香草木犀, 印度草木犀	Brockwell + Hely 1961
B. 褐斑苜蓿, 金花菜, 天蓝	Brockwell + Hely 1961
困取苜蓿, 早发苜蓿, 小苜蓿	
蜗牛苜蓿, 多形苜蓿, 轮种苜蓿	Kassim 1976
硬苜蓿, 浓香葫芦巴	
C. 条裂苜蓿	Brockwell + Hely 1961
D. 皱纹苜蓿	Brockwell 1971

续表1

交叉接种组合	参考文献
三叶草亚组/ <i>Rhizobium trifolii</i>	
A、肉色三叶草、地生三叶草	Burton + Briggeman 1948
巫山山大三叶草、硬毛三叶草成球三叶草	Vincent 1945
田野三叶草、狭叶三叶草	Purchase + Vincent 1949 Strong 1957
B、草地三叶草、扁扁三叶草、杂种三叶草	Erdman & means 1946
产草莓三叶草、平铺三叶草、变黑三叶草	
成球三叶草	Burton et al 1977
C、鲁比利安那三叶草(<i>T. ruppellianum</i>)	<u>Norris 1959 Norris & mannetje 1964</u>
梯本斯三叶草(<i>T. Temense</i>)	
<i>T. usambarense</i> , <i>T. barcarinii</i> , <i>T. Stendneri</i>	
<i>T. burchellianum</i> var. <i>burchellianum</i>	
<i>T. burchellianum</i> var. <i>johnstonii</i>	
<i>T. Africanum</i> <i>T. pseudostratum</i>	
D、 <i>T. semipilosum</i> var. <i>Kilimanjaricum</i>	Norris 1959 Norris & mannetje 1964
<i>T. masaiense</i> <i>T. cherangiense</i>	
<i>T. ruppellianum</i> var. <i>lanceolatum</i>	
E、 <i>T. semipilosum</i>	
F、 <i>T. masiense</i>	Norris 1959 Norris & mannetje 1964
G、 <i>T. reflexum</i>	Burton et al 1977
H、 <i>T. ambiguum</i>	Parke & Allen 1949

续表1

交叉接种组合	参考文献
I. <i>T. Vesiculosum</i> <i>T. bergthaeum</i> <i>T. bocconi</i> <i>T. boissiere</i> <i>T. compactum</i> <i>T. dosyurum</i> <i>T. leucanthum</i>, <i>T. metabile</i> <i>T. verrum</i> <i>T. physodes</i>	Burton et al 1977
J. <i>Trifolium hellreichianum</i>	Burton et al 1977
K. <i>T. medium</i> <i>T. sarosienae</i> <i>T. alpestris</i>	
L. <i>T. rubens</i>	
碗豆和巢茅野豌豆组/ <i>Rhizobium leguminosarum</i>	
A. 碗豆赤毛野豌豆, 巢茅(硬毛果野豌豆)	Burton et al 1977
细叶野豌豆, 四棱野豌豆, 小扁豆	
山 黧豆 扁荚山黧豆 硬毛山黧豆 香豌豆	
B. 蚕豆 赤国野豌豆	Burton et al 1977
C. 巢茅, <i>Vicia crupnicarpa</i>	Burton et al 1977
D. 草香豌豆 <i>Lathyrus clymenum</i> 丹壳尔山黧豆	Burton et al 1977
E. 林生山黧豆	Burton et al 1977
F. 乳白山黧豆 块茎香豌豆 <i>Lathyrus Szenitzii</i>	Burton et al 1977
豇豆亚组/ <i>Rhizobium</i> sp	
A. <i>Vigna unguiculata</i> , 长豇豆	Burton et al 1952
<i>V. luteola</i> ; 眉豆 <i>Vanguluris</i>	Burton et al 1977

续表 I

交叉接种组合	参考文献
<i>V. radiata</i> <i>V. mungo</i> 山豆、蝗原	Burton et al 1977
<i>Alysicarpus vaginalis</i> , 猪屎豆原	
<i>Macroptilium latunygroides</i> , <i>M. atropurpurea</i>	
四棱豆原 <i>Lepedeza striata</i> , <i>L. stipulacea</i>	
B. 利亨豆、棉豆、乌头叶茅豆	Burton et al 1977
洋刀豆 <i>Canavalia lineata</i>	
C. <i>Arachis hypogaea</i> , <i>A. glabrata</i>	
<i>Cyamopsis tetragonoloba</i> , <i>Lepedeza sericea</i>	
<i>L. japonica</i>	Bowen 1959
D. <i>Centrosema pulchellum</i>	
E. <i>Lotononis bainesii</i>	Norris 1958
羽扇豆重組/ <i>Rhizobium lupini</i>	
A. <i>Lupinus albicanlis</i> , <i>L. alifrons</i> , <i>L. albus</i> ,	Burton et al 1977
<i>L. angustifolius</i> , <i>L. arboreus</i> , <i>L. argentus</i>	
<i>L. benthami</i> , <i>L. formosus</i> , <i>L. luteus</i> , <i>L. micranthus</i>	Burton et al 1977
<i>L. perrenis</i> , <i>L. pericnem</i>	
B. <i>Lupinus densiflorus</i> , <i>L. vallicola</i>	Burton et al 1977
C. <i>Lupinus</i>	
D. <i>Lupinus polyphyllus</i>	Burton et al 1977

续表 I

交叉接种组合	参考文献
<i>E. lupinus subcarneus</i>	Burton et al 1977
<i>F. lupinus pueculentus</i>	Burton et al 1977
小冠花根/Rhizobium sp	
A. 多变小冠花. 驴食草	Burton et al 1977
<i>Petalostemum purpureum</i> , <i>p. camelidum</i>	
<i>P. microphyllum</i> , <i>p. multiflorum</i> , <i>p. villosum</i>	
<i>Leucaena leucocephala</i> 合欢 (<i>Albizia julibrissin</i>)	

2. 竞争性:

竞争意指侵入和一个特殊豆科宿主的根生长在含有其他高度感染根瘤菌的土壤内产生瘤的能力。一个根瘤菌菌株认为是竞争性的, 当它在产生大量的瘤在一个生长在土壤或基质为其他感染菌株最重侵扰的特殊的豆科植物上, 一个根瘤菌株的竞争性质是难于估价的但它的重要性是没有问题的。Date (1976) 主张控制环境设备通常并不认为对测定竞争性或其他性质是合适的, 比如 PH, 和杀虫剂的耐受性或在培养物或种子上的寿命。他认为测定这些性质, 大田试验是绝对必要的。

Johnson et al (1965) 曾用血清学技术在研究 *R. japonicum* 菌株在温室条件下和没有 *R. japonicum* 的大田土壤的竞争性非

常成功。可是，这个技术在大田内容筛选大具竞争性的
R. japonicum 菌株太费力和花时间，特别在大豆已经生长好几年
 的大田。只有极少菌株可能得到研究。

作者（未发表的结果）曾用一生长室技术来筛选 *R. trifolii*
 的菌株，应用大具高度感染的非氮固定根瘤菌侵扰的土壤，一个
 泥炭基的接种物含有天生的菌株加到 Leonard 皿的天菌沙中。
 每个 *R. trifolii* 的试验菌株都如泥炭基接种物那样制备应用于种
 子。接种的种子植入含有天菌沙的 Leonard 皿作为对照。在一个
 平行的系列内，接种的种子被植入含有接种天生无效的根瘤菌
 的沙的 Leonard 皿内。在后者系列中得到的生长和氮固定是菌
 株竞争性的很好测试（图 3）

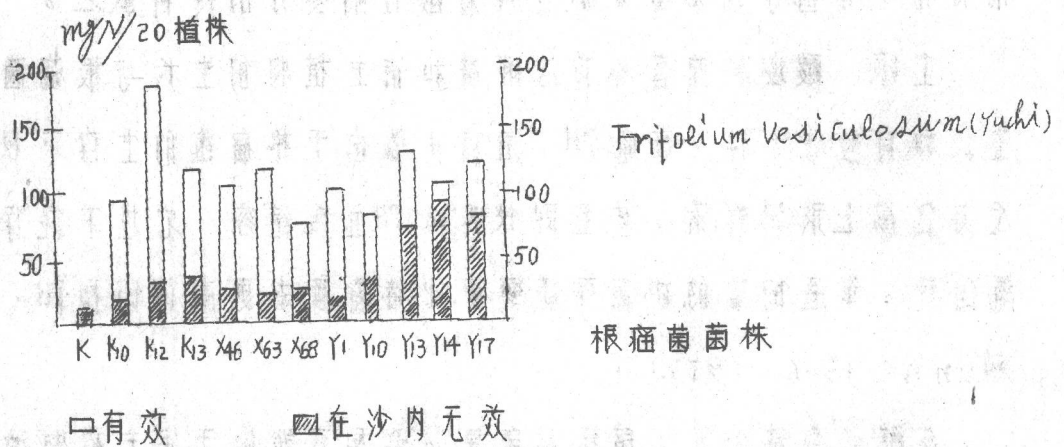


图 3: 在箭叶三叶草 (*Trifolium Vesiculosum* Yuchi) 上的有效根瘤

菌的竞争性由高度感染，非固氮根瘤菌在基质内存在的影
 响。图中黑的部分表明根瘤菌的竞争性。

根瘤菌的有效菌株常常以天菌沙内生长来判断，在存在天生的根瘤菌株内是无效的，这些被认为无竞争性菌株。从生长室试验的结果已在大田条件下被试验和验证。

3. 根瘤菌的其他质易

根瘤菌菌株在温室内氮固定的相等的有效性当在大田内试验时常表现明显的差别。这原因不完全清楚，但某些因素已被提出：(a)根瘤菌菌株对肥力水平或土壤的PH的适应性 (b)根瘤菌菌株的氮固定能力的天生的变化仅在成熟结果的植物的氮压力之下表现，或 (c)对耐受一个拮抗土壤微生物群落能力的变化。

根瘤菌菌株是否对无批营养物的水平和土壤PH有不同反应的问题没有很好回答。原因之一是不可能将植物上的这些细菌的作用分开。亦由于许多重要的豆科的酸性耐受力的资料缺乏。

土壤酸度影响营养物溶解度和宿主植物的生长与根瘤菌的生长和有效性一样。在低PH，结瘤失败由于根瘤菌的生存不良和无力在根上形成群落。甚至即使在低PH出现结瘤，它也不能保证氮固定。最适的瘤的功能可能需要比结瘤要求更高的钙和PH (

Munns 1976, 1977)。

在酸性条件之下，铝和锰更易溶解和可能由于宿主植物的生长减退而简单地抑制氮固定。根瘤菌菌株耐受高浓度的铝和锰将没有好处除非宿主植物也能耐受铝和锰。*R. meliloti* 的耐酸菌株曾由 Rice (1976) 和 L. M. Bordeleau (个人交流) 报告，

但这些在大田条件(例如PH一样的一些其他因子)下筛选亦未经过选育的,根瘤菌菌株的大田试验无法代替这是真的,特别在作为课题的小区,在那里无法重复玻璃房的条件。

III、根瘤菌的培养

A、营养需要

根瘤菌是好气格蘭氏陰性杆菌($0.5-0.9 \times 1.2-3.0 \mu m$)单个或成对出现,年幼时能运动,年老细胞染色不匀而成带由于颗粒或多聚 β -羟丁酸(PHB)不染色。

根瘤菌通常分为迅速生长者和缓慢生长者。所谓迅速生长者指 *R. Meliloti*, *R. Trifolii*, *R. leguminosarum*, *R. phaseoli*, *Lotus* (鸟足型) *Astragalus*, *Scalbonia*, *Caragana* 和其他不同的变种能在发酵液中产生混浊和在固体培养基上看到菌落在 $28^{\circ}C$ 3至5天。缓慢生长者 *R. japonicum*, *R. lupini*, 豇豆, 莲豆(大三叶型)和其他变种,需要8-10天达到等量的生长。这分裂不是绝对的。在菌株中,生长的量或速率的差别可能减少,但由于在培养基的补充不同型的碳水化合物,含氮化合物和有机浸取物,而不能消除。

根瘤菌营养的广泛文献由 Wilson (1940) Allentallor (1950) 和 Vincent (1974, 1977) 综述。根瘤菌甚易利用单醣和双醣,较小程度的三醣,醇和酸。戊糖,如阿拉伯糖和木糖,是 *R. japonicum* 和其他缓慢生长者的优先碳源 (Wilson & umbreit 1940)

Graham & Parker 1964)。Graham & Parker 报告根瘤菌菌株对利用碳水化合物能力有所不同，16个不同的碳水化合物没有一个证明对根瘤菌特殊种的所有菌株是完全满意的。可是，这并不奇怪，当考虑给予根瘤菌的宿主选择物，同时，根瘤菌利用碳水化合物的能力也随基础培养基的某些程度，氧化——还原能力，接种物的形状，培养的方法和可能其他因子而定。

根瘤菌工业上繁殖所用的培养基的组成见表II、蔗糖是最通常应用的碳源，但甘露醇和甘油有时应用于缓慢生长者。

表II 根瘤菌培养所用培养基

成分 g/ml	Wright (1925)	Bond (1940)	Van Schreven (1953)	Burton (1957)	date (1976)
蔗糖	—	10.00	15.00	10.00	—
甘露醇	10.00	—	—	2.00	10.00
K ₃ PO ₄	—	—	—	0.10	—
K ₂ HPO ₄	0.50	9.50	0.50	—	0.50
KH ₂ PO ₄	—	—	—	0.37	—
MgSO ₄ 7H ₂ O	0.20	0.20	0.20	0.18	0.80
Nad	0.10	0.10	—	0.06	0.20
(NH ₄) ₂ HPO ₄	—	—	—	0.10	—
CaSO ₄ · 2H ₂ O	—	—	—	0.04	—
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	—	—	—	—	—
CaCO ₃	3.00	1.00	2.00	0.25	—
葡萄糖酸钙	—	1.50	—	—	—
FeCl ₃ · 6H ₂ O	—	—	—	—	0.10
酵母水(ml)	100	50	100.0	—	100.0
自溶酵母	—	—	—	1.00	—
水(ml)	900	950	900	1000	900