

大豆根瘤菌剂载体的选择及最佳施用浓度筛选

刘庆莉¹,王金生¹,刘丽君¹,林蔚刚¹,王红蕾²,张俐俐³,吴俊江¹

(1. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所,黑龙江 哈尔滨 150086; 2. 黑龙江省农业科学院 信息中心,黑龙江 哈尔滨 150086; 3. 黑龙江省农业科学院,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:为筛选出适宜根瘤菌吸附且能促进大豆生长、提高产量的优质载体,并且在优质载体的条件下,筛选出大豆根瘤菌液的最佳使用浓度,通过3种载体吸附不同浓度根瘤菌液拌种大豆盆栽播种后,对大豆的生物量、结瘤及产量的对比发现:不同载体介入、大豆接入根瘤菌后均对大豆的生物量及结瘤产生一定的促进作用。根瘤菌以草炭和蛭石为载体,更有利于促使大豆植株生长,积累更多的干物质;草炭的促进结瘤作用持续效果时间较长,液体的持续效果时间最短,而蛭石的持续效果时间相对比较居中;以草炭和蛭石作为根瘤菌载体,低浓度的根瘤菌液接入更能发挥其提高产量的作用,以液体作为根瘤菌载体,根瘤菌接入浓度较高才能发挥其提高产量的作用。结合生产成本来看,草炭土更适宜作为自主研发根瘤菌剂的载体,同时推荐根瘤菌使用浓度为 1.4×10^8 菌细胞 \cdot mL⁻¹。

关键词:大豆根瘤菌;结瘤;载体

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2014)02-0207-04

Chosen of Soybean Rhizobia Carrier and Screening of the Best Concentration

LIU Qing-li¹, WANG Jin-sheng¹, LIU Li-jun¹, LIN Wei-gang¹, WANG Hong-lei², ZHANG Li-li³, WU Jun-jiang¹

(1. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 2. Information Center of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 3. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to screen the carrier that was more appropriate for the absorption of rhizobia, improving yield and quality of inoculated soybean, and screen the best soybean rhizobia bacterial concentration at levels of quality carrier, three carriers absorbed different soybean rhizobia bacterial concentration with seed dressing were performed according to the biomass, nodular rate and yields of soybean plant by soil pot experiments. The results showed that different carriers and inoculating soybean rhizobia could improve the biomass and nodular rate of soybean plant. Peat and vermiculite were used as carriers of rhizobia could remarkably promote the growth of soybean plant and enhance dry matter accumulation; thus the lasting effect of nodular was the longest, followed by vermiculite and liquid. Low level bacterial concentration could remarkably increased soybean yield and quality with peat and vermiculite as carriers, however the opposite when used liquid as carriers. In conclusion, in view of the cost, peat was more appropriate for soybean rhizobia, and the best bacterial concentration was 1.4×10^8 cells \cdot mL⁻¹.

Key words: Soybean rhizobia; Nodulation; Carrier

施用根瘤菌剂能促进大豆结瘤,有效提高豆科植物的产量,减少生产中的化肥使用量,降低生产成本,而且可以提高土壤肥力,同时,由于根瘤菌剂耐污染能力强^[1],还可以减少因长期使用化肥对环境的破坏^[2-3],对无公害大豆生产以及降低农民投入,保护环境等具有十分重要的作用^[4-5]。因此引起了人们的极大兴趣和广泛关注,已成为豆科植物增产的主要研究方向。

近年来随着新技术特别是分子生物学技术的发展,各种高效菌种不断被选育或改造,制备菌剂的工艺、保藏菌剂的方法也不断完善和发展,配制成的菌剂的效果越来越好,在农业生产中得到了广泛利用。与此同时,诸如发酵水平低、保质期短和

技术不成熟、质量不过关等问题限制了根瘤菌剂的产业化和大规模推广应用。其中,菌种质量的高低一直是影响其应用效果的一个突出问题;载体也是大豆根瘤菌肥料质量控制的一个关键因素^[6]。作为根瘤菌的载体很多,如草炭、蛭石、珍珠岩、煤炭、草炭、膨润土和高岭土等。草炭、蛭石由于其营养与pH适中,表面积比较大和吸附性好,有利于根瘤菌的存活及菌剂保存,是理想的载体^[7-9]。另外,草炭和蛭石等资源丰富,价格低廉,适合于在根瘤菌剂生产中应用推广,已成为当代根瘤菌类肥料的主要类型。

本文的研究目的是筛选出适宜根瘤菌吸附且接种大豆能促进大豆生长、提高产量的优质载体,

收稿日期:2013-10-11

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划(2012BAD14B06);现代农业产业技术体系(CARS-004);黑龙江省自然科学基金(C201104);哈尔滨市科技创新人才研究专项资金(2013RFXJ043)。

第一作者简介:刘庆莉(1971-),女,技师,主要从事大豆耕作与栽培研究。E-mail:liuqingli1971@126.com。

通讯作者:吴俊江(1970-),男,博士,研究员,主要从事大豆耕作与栽培研究。E-mail:nkywujj@163.com。

并且在使用优质载体的条件下,筛选出大豆根瘤菌液的最佳使用浓度,为根瘤菌肥的研发和使用提供参考和帮助。

1 材料与方法

1.1 材料

蛭石除去杂质、过筛、灭菌;草炭除去杂质,用NaOH调pH为中性,灭菌;供试菌株001-1为加拿大优势菌株。对照药剂为由黑龙江华龙生物科技有限公司生产的“富思德”根瘤菌液剂。

1.2 试验设计

将根瘤菌接入YMA固体平板培养基活化培养,再转入YMA液体培养基,置于转速120 r·min⁻¹、温度28℃的摇床中培养,测定根瘤菌悬浮液的光密度值(OD₆₀₀,1 OD大约含有10⁸菌细胞·mL⁻¹)。试验共设置5个根瘤菌液浓度处理,根瘤菌悬浮液的光密度值分别为0(培养基对照,YMA液体培养基),1.4,2,5和10 OD₆₀₀,将5个不同浓度的根瘤菌液分别与干燥、粉碎过筛且灭菌的草炭、蛭石及清水(液体)进行混拌,即菌液:载体=1/3:4,拌入0.05%钼酸铵。混拌后精选无病、饱满的大豆种子用95%的乙醇表面灭菌后再与之混拌,阴干后盆栽播种。以不含根瘤菌液的清水混拌的大豆作为对照,即清水对照。采用随机区组排列,每盆留苗3株,3次重复。

1.3 测定项目与方法

分别于大豆苗期、花期、结荚期、鼓粒期取样。每次取样时,将整株大豆用清水冲洗干净,将植株分为地上、根和根瘤3部分,分别测定鲜重、干重和根瘤数。并于成熟期对其产量构成因子进行测定分析。

1.4 数据分析

采用Excel 2003作图并应用DPS 7.5进行方差分析和显著性检验。

2 结果与分析

2.1 不同载体及根瘤菌处理大豆生物量变化

由图1可见,不同载体和根瘤菌均对大豆的生物量产生一定的促进作用,各生育时期均高于各对照处理。以草炭和蛭石为载体时,生物量增长最快的生长阶段出现在结荚期至鼓粒期,而以液体为载体时,生物量的增长在大豆的整个生长发育阶段均较为平稳,这可能与载体的保菌能力有关。以草炭和蛭石为载体时,根瘤菌在大豆生长发育后期仍保有大量富有活力的活体菌以结瘤固氮,从而促进植株生长,积累更多的干物质。与之相反的对照处理在大豆生长后期出现不同程度的生长缓慢,干物质积累速度下降。由图1也可看出,相同浓度的根瘤菌液条件下,以草炭为载体的大豆生物量积累高于其他两种载体,且后两者间生物量积累的差别不大。

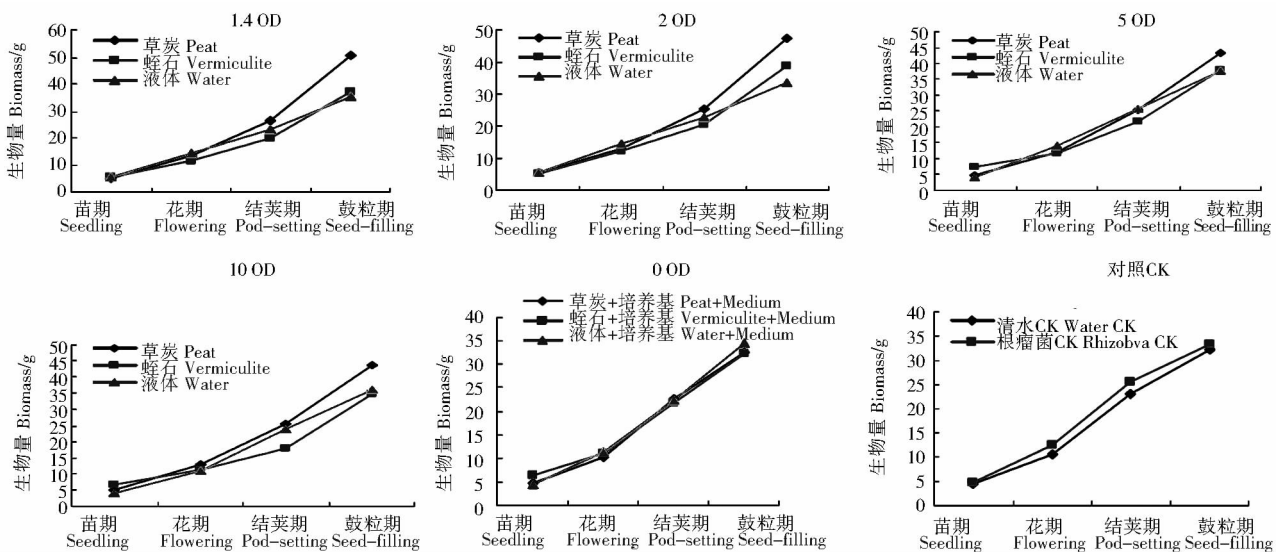


图1 以不同载体接入根瘤菌大豆的生物量变化趋势

Fig. 1 The tendency of biomass of soybean inoculated rhizobia with different carriers

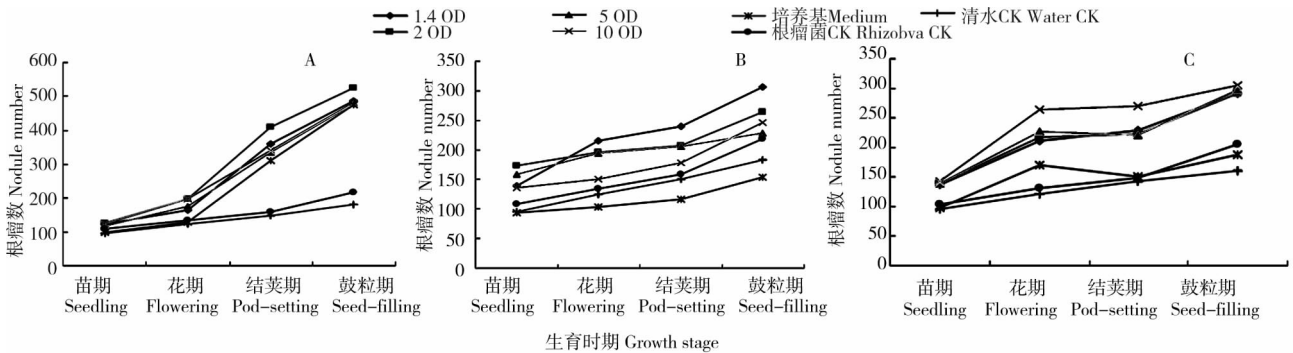
2.2 不同载体及根瘤菌处理大豆根瘤数变化

由图2可看出,不同载体和根瘤菌均可促进大豆结瘤,各生育时期均高于对照处理。以草炭为载

体的各处理根瘤数增长最快的生长阶段出现在大豆花期至结荚期;以液体为载体的各处理根瘤数增长最快的生长阶段出现在苗期至花期;而以蛭石为

载体的各处理根瘤数各生育时期变化较为平稳,载体的不同保菌能力可能是产生这种现象的原因。草炭的保菌能力最强,在大豆生长发育的后期仍保有大量富有活力的根瘤菌以结瘤,液体的保菌能力最差只能在大豆生长前期产生强烈的影响,而蛭石的保菌能力则相对比较稳定居中。从图 2 还可以看

出,不同载体根瘤菌处理结瘤能力表现为草炭强于蛭石,液体的最低;同一载体不同根瘤菌液浓度对大豆结瘤能力的影响各异,以草炭和蛭石为载体,较小的根瘤菌液浓度(2 OD、1.4 OD)产瘤高于较高的根瘤菌液浓度(5 OD、10 OD),而液体载体较高的根瘤菌液浓度产瘤高于较低根瘤菌液浓度。



A、B 和 C 分别以草炭、蛭石和液体为载体。
The carrier of A, B and C is peat, vermiculite and water, respectively.

图 2 不同载体条件下根瘤菌各处理大豆根瘤数随大豆生育期变化趋势图

Fig. 2 The trend picture of amount of root nodule which inoculated rhizobia with different carrier

2.3 不同载体及根瘤菌各处理大豆成熟期生物性状

由表 1 可以看出,根瘤菌处理的大豆单株荚数、单株粒数及百粒重较对照均有所提高。以草炭作为载体,除根瘤菌浓度为 2 OD 处理的百粒重显著高于其他处理外,其他处理间单株荚数、单株粒数和百粒重差异均不显著;单株荚数和单株粒数以 1.4 OD 处理

最高,百粒重以 2 OD 处理最高。相关性分析表明单株荚数与单株粒数之间呈现不显著正相关($r = 0.641, t_{0.05} = 0.754, t_{0.01} = 0.874$),说明草炭介入接种大豆根瘤菌并不是完全依靠提高单株荚数来提高单株粒数,可能更多的是提高单荚粒数,进而达到提高大豆产量的目的。另外,以草炭为载体,低浓度的根瘤菌接入更能发挥其提高产量的作用。

表 1 不同载体条件下根瘤菌各处理对大豆成熟期主要生物性状的影响

Table 1 The effect of each treatment on biological characters in maturity which inoculated rhizobia with different carriers

根瘤菌浓度 Rhizobia concentration	载体 Carrier								
	草炭 Peat			蛭石 Vermiculite			液体 Water		
	单株荚数 Pods per plant	单株粒数 Seeds per plant	百粒重 100-seed weight	单株荚数 Pods per plant	单株粒数 Seeds per plant	百粒重 100-seed weight	单株荚数 Pods per plant	单株粒数 Seeds per plant	百粒重 100-seed weight
10OD	32.97 a	71.83 a	21.65 bc	30.90 bc	71.10 a	21.19 bcd	33.10 b	72.43 b	21.15 b
5OD	32.87 a	72.33 a	21.83 bc	30.77 bc	71.33 a	22.88 ab	38.90 a	82.33 a	21.49 b
2OD	32.67 a	68.10 a	23.54 a	36.77 a	80.43 a	23.18 a	32.27 b	66.67 bc	23.81 a
1.4OD	33.97 a	78.33 a	22.68 ab	35.33 ab	78.33 a	22.29 abc	30.67 b	63.80 c	21.65 b
根瘤菌 CK	31.89 a	70.74 a	21.60 bc	31.89 bc	70.74 a	21.65 abcd	31.89 b	70.74 b	20.62 b
培养基 CK	31.76 a	70.80 a	21.36 bc	30.23 c	70.20 a	20.31 d	30.87 b	70.03 bc	20.42 b
清水 CK	30.41 a	70.16 a	20.79 c	30.41 c	70.16 a	20.79 cd	30.41 b	70.16 bc	20.79 b

以蛭石作为载体的各处理单株粒数、单株荚数和百粒重均以 1.4 OD 和 2 OD 处理较高。其中,单株粒数各处理间差异不显著;2 OD 处理的单株荚数显著高于对照处理和高浓度的 5 OD 和 10 OD 处

理;2 OD 的百粒重显著高于培养基对照、清水对照以及 10 OD 处理。

相关性分析表明单株荚数与单株粒数之间呈极显著的正相关($r = 0.983, t_{0.01} = 0.874$)。说明蛭

石介入接种大豆根瘤菌植株依靠提高单株荚数,进而提高单株粒数,达到提高大豆产量的目的。以蛭石作为载体同样是较低浓度根瘤菌对大豆产量有所帮助,但相对于草炭土根瘤菌接入浓度要求较高。

以液体作为载体的各处理中,单株荚数和百粒重分别以根瘤菌浓度为5 OD和2 OD处理最高,显著高于其他处理,其他处理间差异不显著;单株粒数以根瘤菌浓度为5 OD处理最高,显著高于其他处理,1.4 OD处理最低,显著低于10 OD、5 OD和根瘤菌对照。相关性分析表明单株荚数与单株粒数之间呈现极显著的正相关($r = 0.887$, $t_{0.01} = 0.874$)。说明无载体介入接种大豆根瘤菌植株同样依靠提高单株荚数,进而提高单株粒数来达到提高大豆产量的目的。以液体作为根瘤菌载体,较高的根瘤菌接入浓度才能发挥其提高产量的作用。

3 结论与讨论

不同载体接入根瘤菌后均可提高大豆的生物量。相同浓度的根瘤菌液条件下,草炭为载体的大豆生物量的积累高于蛭石和液体两种载体。产生这种现象的原因可能由于草炭松软、透气且保温、保湿的效果较好,良好的有机质环境更有利于根瘤菌的生存、生长及发挥功效。草炭是一种优良的农业资源,储量相对较少,在选用吸附载体时,可考虑选用适宜草炭的其他物质与其混合作为大豆根瘤菌类肥料的吸附载体。

不同载体接入根瘤菌后均对大豆的结瘤产生一定的促进作用,这与以往的研究结果相一致^[10]。草炭的促进结瘤作用持续效果时间较长,液体的持续效果时间最短,只能在大豆生长的前期对其产生强烈的影响,而蛭石的促进结瘤作用持续效果时间相对比较居中,这可能与不同载体的保菌能力差异有关^[11],有待于今后进一步研究确定。

接种根瘤菌后大豆生物量的增加和产量的提高,可以认为是由于发挥了根瘤菌的高效结瘤固氮能力所致。以草炭(1.4 OD)和蛭石(2 OD)作为根瘤菌载体的情况下,低浓度的根瘤菌液接入即能发挥其提高产量的作用,以液体作为根瘤菌载体,根瘤菌接入浓度较高(5 OD)才能发挥其提高产量的作用。综上所述,结合生产成本来看,草炭土更适宜作为自主研发根瘤菌剂的优异载体,并且推荐根瘤菌使用浓度为 1.4×10^8 菌细胞 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 。

参考文献

- [1] Li J F, Huo P H, Shi S L, et al. Effect of bacteriostats on cells growth and contamination-resistant capability of Rhizobium inoculants [J]. *Advanced Materials Research*, 2011, 291-294: 2460-2465.
- [2] Zahran H H. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under sever condition an dinan arid climate [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1999, 63: 968-989.
- [3] Peoples M B, Herridge D F, Ladha J K. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for sustainable agricultural production [J]. *Plant and Soil*, 1995, 174: 3-28.
- [4] 李永兴, 匡柏健, 李久蒂. 不同载体对微生物菌剂质量的影响 [J]. *中国土壤与肥料*, 1999(6): 30-32. (Li Y X, Kuang B J, Li J D. Influence of different carriers on qualities of microbial manure [J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 1999(6): 30-32.)
- [5] 刘雯雯, 姚拓, 孙丽娜, 等. 菌糠作为微生物肥料载体的研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(2): 787-791. (Liu W W, Yao T, Sun L N, et al. The Feasibility of spent mushroom substrate as a kind of microbial fertilizer carrier [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(2): 787-791.)
- [6] 葛诚. 微生物肥料生产应用基础 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. (Ge C. *Application of microbial fertilizer production base* [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.)
- [7] 熊春林, 黄隆广, 丁磊. 根瘤菌新载体及其接种效果的研究 [J]. *微生物通报*, 1989(2): 66-69. (Xiong C L, Huang L G, Ding L. Study on root lame bacteria new carrier and its effect of inoculation [J]. *Microbiology China*, 1989(2): 66-69.)
- [8] 牛彦波, 吴皓琼, 李智. 载体, 灭菌方式及 pH 对生物肥料产品活菌数及保存期的影响 [J]. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2003, 15(3): 36-39. (Niu Y B, Wu H Q, Li Z. Effect of absorbent, disinfection and pH on the living cell quantity and the preservative time of microbial fertilizer [J]. *Heilongjiang August First Land Reclamation University*, 2003, 15(3): 36-39.)
- [9] 吴皓琼, 沙长青, 牛彦波, 等. 保护剂与抑菌剂对生物肥料保存期的影响 [J]. *生物技术*, 2004, 14(6): 55. (Wu H Q, Sha C Q, Niu Y B, et al. Effects of nutritious substance and bacteriostatic agent on the shelf-life of biofertilizer [J]. *Biotechnology*, 2004, 14(6): 55.)
- [10] 王庆胜. 中国大豆品种资源保存与更新状况分析 [J]. *黑龙江农业科学*, 2010, 3(9): 138. (Wang Q S. Analysis of conservation and regeneration statues for Chinese soybean germplasm [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2010, 3(9): 138.)
- [11] 杨旭生. 不同吸附载体对大豆根瘤菌剂质量影响研究 [J]. *内蒙古科技与经济*, 2012, 7(13): 121. (Yang X S. Study on the effect of different adsorption carrier on the quality of Soybean rhizobium [J]. *Inner Mongolia Science Technology & Economy*, 2012, 7(13): 121.)