

四川高效大豆根瘤菌的筛选及初步应用研究

周涛, 陈远学, 邹依霖, 李克祥, 汪鹏, 蒋攀, 徐开未*

(四川农业大学资源环境学院, 四川雅安 625014)

摘要: 采用无氮水培、盆栽、田间区组试验, 从采集自四川 33 个市县 35 个采样点分离获得的 70 个大豆根瘤菌株中, 筛选与四川主栽大豆品种“贡选 1 号”匹配性最佳的根瘤菌。对第一批分离自 21 个市县 23 个采样点的 52 个菌株进行无氮水培实验, 其结瘤能力和共生固氮能力表明, S8、S22、S36、S46、S55、S65 菌株与“贡选 1 号”共生匹配性好。用 6 个菌株进行的盆栽试验结果表明, S36、S8 菌株与“贡选 1 号”匹配性更佳。将第二批分离自四川另外 12 个市县的 12 个采样点的 18 个菌株进行第二次水培实验, 以 S8、S36 和 CK 分别作为阳性和阴性对照, 结果表明接种 S151、S152、S150、S149 菌株的植株鲜重和干重均极显著高于 CK, 且高于阳性对照 (S8、S36)。结合盆栽和第二次水培实验结果选择 S152、S151、S150、S149、S8 进行田间试验, 以不接种为对照, 结果显示, 接种 S152、S150 菌株的大豆产量分别比 CK 显著增加 33.5% 和 18.5%, 且显著高于其他三个供试菌株 S151、S149 和 S8 接种处理。为此筛选出与四川主栽大豆品种“贡选 1 号”共生匹配性最佳的菌株是 S152、S150。

关键词: 大豆; 根瘤菌; 筛选; 共生固氮; 共生匹配性

中图分类号: 154.38⁺¹

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2012)01-0227-07

Screening and preliminary application of high efficient soybean rhizobia strains in Sichuan province

ZHOU Tao, CHEN Yuan-xue, ZOU Yi-lin, LI Ke-xiang, WANG Peng, JIANG Pan, XU Kai-wei*

(College of Resource and Environmental Sciences, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China.)

Abstract: By N-free hydroponic, potted and field randomized block experiments, high efficient soybean rhizobia which were best matched with the rhizobia of mainly planted soybean cultivar, Gongxuan No. 1, in Sichuan province were screened from 70 rhizobia isolated from 33 counties with 35 sampling spots. The results of the first hydroponic experiment show that six strains, S8, S22, S36, S46, S55 and S65 are screened out from 52 rhizobia which are isolated from 21 counties with 23 sampling spots, and the S8 and S36 are matched “Gongxuan No. 1” best in the subsequent soil pot experiment. In the second hydroponic experiment, S8, S36 and CK are the positive and negative controls screening, and high efficient strains are screened from the other 12 counties with 12 sampling spots, the results show that plant fresh weights and dry weights of the S151, S152, S150 and S149 are significantly higher than those of CK, and higher than those of the S8 and S36. Consequently, S151, S152, S150, S149 and S8 are used in the field experiment, the results indicate that the yields of S152 and S150 are increased significantly by 33.51%, 18.48% compared with CK respectively, and the yields of S152 and S150 are also significantly higher than those of the other three tested strains, S151, S149 and S8. Thus, the S152 and S150 rhizobial strains are selected out with best matching “Gongxuan No. 1”.

Key words: soybean; rhizobium; screening; symbiotic nitrogen-fixing; symbiotic matching

四川是我国南方大豆的主产区, 但四川大豆需求量远大于产量, 年消耗量在 200 万吨左右, 而年产

量仅有 50 万吨, 缺口 150 万吨以上^[1]。近年来“小麦/玉米/大豆”旱作新三熟种植模式在四川山地丘

收稿日期: 2011-07-31

接受日期: 2011-10-30

基金项目: 四川省教育厅青年基金项目(09ZB047)资助。

作者简介: 周涛(1987—), 男, 四川遂宁人, 本科, 主要从事土壤微生物和植物营养的研究。E-mail: 364462907@qq.com

* 通讯作者 E-mail: cyxue2002@yahoo.com.cn

陵区得到大力推广,四川大豆种植面积随之大幅度增加^[2]。作为主要豆科作物,大豆有较强的共生固氮能力。豆科植物与根瘤菌共生固氮量占全球每年生物固氮量的70%,高效根瘤菌剂的使用可以减少化学氮肥的施用量,节约生产成本,降低化学氮肥过量施用造成的环境污染,且能提高大豆产量与品质^[3]。土壤中75%以上的土著根瘤菌是低效或无效菌株,且竞争结瘤能力强,是高效固氮根瘤菌发挥生物固氮作用的重要限制因素^[3-4]。优良菌株的筛选一般以菌株的固氮能力、与品种的匹配性和与土著菌的竞争能力作为评价指标,并还需在种植区进行田间试验确证后方可在生产上推广应用^[3-6]。而截至目前,四川大豆根瘤菌与大豆主栽品种的匹配性,高效菌株的筛选及田间应用的研究还鲜见报道。为此,本研究利用分离自四川33个市县区35个采样点的70株大豆根瘤菌株,采用无氮水培初筛,盆栽、田间试验复筛,通过比较供试根瘤菌的结瘤能力、共生固氮能力,以及田间小区试验的大豆产量为主要指标,筛选与四川主栽大豆品种“贡选1号”匹配性好的菌株,为该地区高效大豆根瘤菌剂的研制与应用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

大豆品种为“贡选1号”,由四川省自贡市农科所选育。供试菌种是从采集自四川省33个市县35个采样点的根瘤中分离出的70个根瘤菌株,其基本状况见表1。

供试土壤:盆栽试验用土为采自四川雅安草坝镇青衣江的潮湿锥形土(潮土),基本养分状况:pH 5.9,有机质含量13.3 g/kg,全氮0.30 g/kg,碱解氮70.2 mg/kg,有效磷30.2 mg/kg,速效钾26.9 mg/kg。大田试验在四川农业大学雅安校区农场进行,土壤为紫色湿润锥形土(紫色大土),其pH 6.7,有机质含量35.4 g/kg,全氮0.70 g/kg,碱解氮95.2 mg/kg,有效磷31.2 mg/kg,速效钾54.4 mg/kg。

1.2 试验方法

1.2.1 第一次水培筛选 第一次水培实验:将从四川21个市县区23个采样点分离纯化获得的52个大豆根瘤菌株(见表1),于2008年12月3日至2009年1月6日用无氮水培法进行大豆回接实验。

对照不接种,每个处理重复3次。催芽和播种方法按参考文献[7]进行。温室培养35 d后收获,测定植株鲜重、干重和总瘤数。

1.2.2 盆栽复筛 2009年5月12日至2009年8月2日,用第一次水培实验筛选到的6个高效菌株(S8, S22, S36, S46, S55, S65)分别制成6种根瘤菌剂,菌剂的生产及质量检测方法同参考文献[8],贮存48 d(活菌数均在5亿/g以上)进行盆栽试验。每盆装土6 kg,根瘤菌剂采用拌种法,用量为1 g/盆,播种深度2 cm左右,每盆播种4粒,定苗2株,以不接种为对照,共7个处理,重复3次。盛花期(生育期83 d)测定植株鲜重、干重、株高、总瘤数,方法同参考文献[8]。

1.2.3 第二次水培筛选 以从四川另外12个市县区12个采样点分离的18个大豆根瘤菌菌株(见表1)为供试菌,以盆栽复筛出的2个高效大豆根瘤菌株(S8, S36)作阳性对照,以不接种CK作阴性对照,于2010年4月29日至2010年6月16日进行第二次水培回接筛选实验。温室培养49 d收获,测定植株鲜重、干重和总瘤数。

1.2.4 大田试验 盆栽试验和第二次水培实验共筛选到5株与四川主栽大豆品种“贡选1号”结瘤能力和共生固氮能力均强的大豆根瘤菌株(S8, S149, S150, S151, S152),将这5个菌株制成5种根瘤菌剂,方法同1.2.2,于2010年6月26日至2010年11月6日进行田间随机区组试验。试验共设5个根瘤菌剂处理和1个不接种(对照)处理,小区面积2 m²,每个处理重复3次。根瘤菌剂采用拌种法,每小区用量2.5 g,在贮存期10 d(活菌数均在5亿/g以上)进行。窝距33 cm、行距35 cm,每窝播6粒,定苗3株。盛花期(生育期80 d)测定植株鲜重、干重、株高、总瘤数、平均单瘤重;收获期(生育期134 d)测定饱荚数、瘪荚数、植株干重(收获时植株叶子基本掉完,干重仅为植株茎荚干重)、豆粒产量、饱瘪比(饱瘪比=饱荚数/瘪荚数),地上部植株样品用H₂SO₄-H₂O₂消煮联合测定氮、磷、钾含量^[9]。

试验数据用Excel 2007和SPSS 17.0进行统计分析。

表 1 供试菌株基本状况
Table 1 *Rhizobia* strains used in this study

试验 Experiment	菌株 Strain	来源 Origin	土壤类型 Soil type
第一次水培 实验用菌株 The strains for the first hydroponics	S1, S2, S3, S4, S7, S8	雅安市雨城区 Yaan	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S11, S12, S13	资阳市雁江区 Ziyang	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S14, S15	绵阳市盐亭县 Mianyang	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S16, S17	宜宾市江安县 Yibin	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S21	阿坝州茂县 Aba	干润冲积新成土(冲积土) Usti-Alluvic Primosols
	S22, S23	绵阳市青川县 Mianyang	潮湿锥形土(潮土) Oehri-Aquic Cambosols
	S25, S26	巴中市巴州区 Bazhong	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S27	绵阳市三台县 Mianyang	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S28, S29	南充市西充县 Nanchong	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S31, S32, S33	泸州市泸县 Luzhou	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S34, S35, S36	泸州市泸县 Luzhou	湿润冲积新成土(冲积土) Udi-Alluvic Primosols
	S43, S44	眉山市东坡区 Meishan	筒育常湿富铁土(黄壤) Hapli-Perudic Ferrosols
	S46, S47	攀枝花市延边县 Panzhihua	潮湿锥形土(潮土) Oehri-Aquic Cambosols
	S52	攀枝花市延边县 Panzhihua	筒育常湿富铁土(黄壤) Hapli-Perudic Ferrosols
	S53, S54, S55	自贡市富顺县 Zigong	潮湿锥形土(潮土) Oehri-Aquic Cambosols
	S58, S59, S60, S61	南充市嘉陵区 Nanchong	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S64, S65	德阳市旌阳区 Deyang	湿润冲积新成土(冲积土) Udi-Alluvic Primosols
	S68, S69, S70	内江市东兴区 Neijiang	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S74	乐山市夹江县 Leshan	潮湿锥形土(潮土) Oehri-Aquic Cambosols
	S75, S76, S77, S78	遂宁市大英县 Suining	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
S79	乐山市井研县 Leshan	潮湿锥形土(潮土) Oehri-Aquic Cambosols	
S80	凉山州西昌市 Liangshan	筒育水耕人为土(水稻土) Hapli-Stagnic Anthrosols	
S83	成都市金堂县 Chengdu	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols	
第二次水培 实验用菌株 The strains for the second hydroponics	S110	宜宾市筠连县 Yibin	筒育常湿富铁土(黄壤) Hapli-Perudic Ferrosols
	S123	绵阳市游仙区 Mianyang	筒育常湿富铁土(黄壤) Hapli-Perudic Ferrosols
	S156, S157, S158, S149	达州市大竹县 Dazhou	湿润冲积新成土(冲积土) Udi-Alluvic Primosols
	S150, S151, S160, S161	达州市渠县 Dazhou	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S152	凉山州盐源县 Liangshan	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S159	眉山市洪雅县 Meishan	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S162	达州宣汉县 Dazhou	筒育常湿锥形土(黄壤) Hapli-Perudic Ferrosols
	S163	达州万源市 Dazhou	筒育常湿锥形土(黄壤) Hapli-Perudic Ferrosols
	S164	攀枝花市仁和区 Panzhihua	漂白湿润淋溶土(白浆土) Albi-Udic Argosols
	S165	广元市旺苍县 Guangyuan	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S166	广元市剑阁县 Guangyuan	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols
	S167	广元市苍溪县 Guangyuan	紫色湿润锥形土(紫色土) Purpli-Udic Cambosols

2 结果与分析

2.1 第一次水培筛选结果分析

第一次无氮水培初筛结果表明,52个根瘤菌处理全部结瘤,结瘤数为0.7~30.7个/株,CK未结瘤;植株干重高于CK(0.47 g/株)的有31个(占59.6%)菌株处理,但显著或极显著高于CK的仅有S8、S22、S36、S46、S55、S65 6个菌株处理,其植株干重为0.65~0.70 g/株,结瘤数为17.3~28.3个/株;另有2株(S16、S26)的植株鲜重显著低于CK,其结瘤数为1.3~2.7个/株。可见,在本次水培实验中,植株干重高的处理其结瘤量中等,结瘤能力过弱或过强的菌株表现低效或无效,可能是结瘤能力过弱的菌株,即使固氮能力强但固氮量也有限;相关研究表明,绝大多数土著根瘤菌形成的根瘤的固氮效率不高,为大豆生长提供的氮素营养有限^[5,6],若结瘤能力过强,消耗宿主营养多,故表现为低效或无效。在第一批供试的52株根瘤菌中,仅有11.5%是高效菌株,大多数(88.5%)是低效、无效菌株。为此初步筛选出与“贡选1号”共生匹配

性好的大豆根瘤菌为S8、S22、S36、S46、S55、S65,这6个菌株作为后续盆栽复筛试验的供试菌株。

2.2 盆栽复筛结果分析

2.2.1 接种根瘤菌对大豆结瘤的影响 将第一次水培筛选获得的6个高效大豆根瘤菌株(S8、S22、S36、S46、S55、S65)接种“贡选1号”进行土壤盆栽试验,植株结瘤情况见表2,除S55外,其他5个菌株(S8、S22、S36、S46、S65)处理的结瘤数均高于CK,其中S8和S36处理的根瘤数显著、极显著高于CK,分别比CK增加86.6%和72.2%。说明S8、S36结瘤能力强,或可促进土著根瘤菌结瘤。

2.2.2 接种根瘤菌对大豆植株生长的影响 从表2知,S8、S36处理的植株鲜重、干重均明显高于CK,S36植株鲜重比CK显著增加32.1%;S46、S65的植株干重、鲜重均低于CK,但差异不显著。综合结瘤能力和共生固氮能力,S8、S36结瘤能力最强,且其植株鲜重、干重比CK的增加量最大,说明在有土著根瘤菌存在的情况下,S8、S36与“贡选1号”的共生匹配性最好。

表2 接种根瘤菌对大豆生长的影响(盆栽试验)

Table 2 Effect of rhizobia inoculation on soybean growth (pot experiment)

处理 Treatment	植株鲜重 (g/plant) Fresh weight	植株干重 (g/plant) Dry weight	根瘤数 (No./plant) No. of nodules	株高 (cm) Plant height
S8	60.72 ab AB	18.50 ab A	135 ab AB	57.5 a
S22	54.79 bc AB	17.72 ab A	107 bc ABC	57.8 a
S36	67.07 a A	20.53 a A	147 a A	59.8 a
S46	48.89 c B	15.91 b A	110 bc ABC	53.0 a
S55	58.68 abc AB	19.21 ab A	52 d D	54.9 a
S65	50.78 bc B	17.24 ab A	96 c BCD	59.0 a
CK	50.79 bc B	17.42 ab A	78 cd CD	53.0 a

注(Notes): 同列数值后不同小、大写字母分别表示处理间差异达5%和1%显著水平 Values followed by different small and capital letters in the same column mean significant at the 5% and 1% levels, respectively.

2.3 第二次水培筛选结果与分析

将第二次分离纯化得到的18株根瘤菌(表1),以盆栽复筛得到的S8、S36和不接种CK分别作为阳性和阴性对照,用水培法回接“贡选1号”,从中筛选高效菌株。18个菌株全部结瘤,植株结瘤数为26.3~68.0个/株。所有菌株处理的植株干重均高于CK,其中显著或极显著高于CK(0.91 g/株)的有6个菌株(S149、S150、S151、S152、S159、S163)处理,其植株干重为1.15~1.36 g/株。且S149、

S150、S151、S152 4个处理的植株干重高于阳性对照S8(1.28 g/株)、S36(1.23 g/株),但差异未达显著水平;其植株结瘤数为30.0~39.0个/株。植株干重和单瘤重的相关系数($r=0.381^{**}$)达极显著水平,可见单瘤重对植株的固氮能力影响较大。

两次水培实验均表明结瘤数太少或太多的菌株是中、低效菌株,而共生固氮效果显著的菌株其结瘤量中等。从第二次水培实验中筛选到的S152、S151、S150、S149 4个菌株是与“贡选1号”大豆品

种共生匹配性好的菌株。

2.4 田间试验结果分析

综合前期筛选结果,选择 5 个菌株 S152、S151、S150、S149、S8 进行田间随机区组试验作进一步筛选应用。

2.4.1 接种根瘤菌对大豆植株生长的影响 接种不同根瘤菌对盛花期大豆植株生长影响较大。接种 S152、S151、S150 的植株株高、鲜重和干重均高于 CK,其干重分别比 CK 增加 11.8%、8.1%、6.6%,但与 CK 的差异未达显著水平。S8 和 S149 的盛花期大豆的株高、鲜重和干重均低于 CK。5 个接种处理的大豆根瘤数均未高于 CK(表 3)。但从表 3 可以看出,根瘤菌处理的收获期植株干重均高于 CK,

且 S152 最高。植株茎氮、磷、钾含量均高于 CK。接种 S152 的植株氮、磷、钾含量最高,比 CK 分别增加 26.9%、22.2%、38.6%。说明接种根瘤菌不仅能促进寄主植物对氮的吸收,还能促进对磷、钾的吸收,这与徐开未等^[8,10]的研究结果一致。

2.4.2 接种根瘤菌对大豆产量的影响 接种不同根瘤菌对大豆产量的影响存在显著差异。表 4 显示,除 S151 外,其他菌剂处理的大豆产量均高于 CK。S152、S150 处理的大豆产量比 CK 高 33.5%、18.5%,达显著水平,且显著高于 S8、S149、S151 处理。接种处理的植株结荚数均高于 CK,但差异不显著;S152、S150 以结二粒荚为主,S152 饱荚数极显著高于 CK,瘪荚数低于其他 5 个处理,S152、S150 饱

表 3 接种根瘤菌对大豆生长及茎氮、磷、钾含量的影响

Table 3 Effects of rhizobia inoculation on soybean growth and total N, P and K contents in plant stems

处理 Treat.	盛花期 Blooming stage				收获期 Harvest stage			
	植株鲜重 Fresh weight (g/plant)	植株干重 Dry weight (g/plant)	株高 Plant height (cm)	根瘤数 No. of nodules (No./plant)	植株干重 Dry weight (g/plant)	全氮 Total N (%)	全磷 Total P (P ₂ O ₅ %)	全钾 Total K (K ₂ O %)
S8	47.78 b A	9.14 a	66.0 a	101 bc AB	9.56 a	1.907 a	0.167 a	1.036 a
S149	51.81 b A	9.55 a	66.3 a	75 d C	10.43 a	1.898 a	0.143 a	1.259 a
S150	57.63 ab A	10.21 a	70.3 a	92 c B	10.61 a	1.716 a	0.165 a	1.266 a
S151	56.70 ab A	10.36 a	70.7 a	103 b AB	10.06 a	1.766 a	0.161 a	0.880 a
S152	68.33 a A	11.38 a	71.1 a	114 a A	11.38 a	2.047 a	0.165 a	1.247 a
CK	53.56 ab A	9.58 a	68.9 a	116 a A	9.47 a	1.613 a	0.135 a	0.900 a

注(Note): 同列不同小、大写字母分别表示处理间差异达 5% 和 1% 显著水平 Different small and capital letters in the same column mean significant at the 5% and 1% levels, respectively.

表 4 接种根瘤菌对收获期大豆产量的影响

Table 4 Effects of rhizobia inoculation on yield of the soybean at the harvest stage

处理 Treatment	产量 Yield (kg/hm ²)	饱荚数 Number of full pods (No./plant)	瘪荚数 Number of blighted pods (No./plant)	饱瘪比 Ratio of full pods to blighted pods
S8	2460.2 c B	33.4 c B	15.5 ab A	2.15
S149	2650.8 c B	38.2 ab A	14.4 ab A	2.65
S150	2892.2 ab AB	35.1 bc AB	11.5 b A	3.05
S151	2418.9 c B	38.7 a A	18.3 a A	2.11
S152	3259.1 a A	39.3 a A	10.4 b A	3.79
CK	2441.1 c B	32.9 c B	12.0 b A	2.75

注(Note): 同列不同小、大写字母分别表示处理间差异达 5% 和 1% 显著水平 Different small and capital letters in the same column mean significant at the 5% and 1% levels, respectively.

瘪比(饱荚数和瘪荚数之比)分别为3.79、3.05,明显高于其他接种菌株和CK;以结单粒荚为主的S151、S149结荚量最大,饱荚数、瘪荚数均明显高于CK,但产量与CK间的差异不显著。饱瘪比与产量相关性达显著水平($r=0.548^*$)。可见,高效根瘤菌的增产主要是通过增加大豆的二粒饱荚数,提高饱荚率来实现的。

综上,从接种根瘤菌对供试大豆品种的生长性状及产量的影响来看,S152和S150是与四川主栽大豆品种“贡选1号”和供试土壤匹配性好的菌株,且S152最佳。

3 讨论

高效根瘤菌的筛选工作繁琐又复杂。首先用大量菌株针对作物品种以无菌基质(无氮水培或蛭石)在温室中筛选一批共生效果高的菌株;然后以种植区土壤为基质,筛选出与土著菌竞争结瘤能力强的菌株;最后在种植地区进行田间小区试验确证后方能推广应用接种^[3]。土壤理化性质、肥力水平、土著根瘤菌的数量等因素都直接影响根瘤菌的竞争结瘤能力^[11-12],氮素水平较低的土壤能够提高接种剂的成功率^[13]。本研究正是应用无氮水培、盆栽和田间试验筛选菌株,而在不同试验条件下有的菌株共生有效性表现不一致。如S8在两次水培实验和盆栽试验中均表现较好,说明S8与供试大豆品种的共生匹配性好,但在田间试验中对大豆的增产效果不明显,可能与土著根瘤菌的竞争结瘤能力有关,可见,高效菌株的筛选必须要在种植区进行田间试验确证后方能推广应用。在肥力水平相差较大的不同土壤中可能竞争结瘤能力差别较大。在第二次水培实验中,结瘤能力较强且植株干重极显著高于对照的5个菌株,其植株干重表现为S151 > S152 > S149 > S150 = S8 > CK,说明这些菌株与四川大豆主栽品种“贡选1号”具有良好的亲和性,但在大田试验中这5个菌株共生固氮能力有明显的差异,S152、S150的产量显著高于对照,而S151的产量还略低于对照,可能是因为与供试大豆共生匹配性好的这5个菌株中,S152和S150比供试土壤土著根瘤菌的竞争能力强,而S151最差,这需要后续的竞争结瘤试验加以证实。菌株的竞争结瘤能力是接种成功的关键^[3,5,11],为此,本研究也将继续对田间试验筛选到的高效菌株进行分子标记用以检测其占瘤率,考察接种菌与四川大豆种植土壤的适应性和与土著根瘤菌的竞争结瘤能力,以期获得适应四川大

豆种植区土壤、与四川主栽大豆品种“贡选1号”匹配性最佳的高效菌株。

在考察根瘤菌与宿主的共生固氮效果时,经常用盛花期植株地上部分鲜重、干重等指标评价菌株的共生有效性^[8,10]。本试验所得高效菌株在水培实验、盆栽试验中盛花期植株干重、鲜重均比对照明显增加;大田试验中盛花期植株鲜重、干重与对照相当或略有增加,可能是因为试验田在种植双胞蘑菇后土壤较肥沃,高效根瘤菌的共生固氮效果在生长前期还没显著体现出来。而到生殖生长期,高效菌株的固氮效率得以显著体现:接种S152和S150的大豆产量均显著高于对照和其他三个接种菌株S151、S149、S8。众所周知,根瘤菌的共生固氮能力,在含氮量越低的土壤中表现得越明显,而本研究筛选到的S152和S150两个菌株在较肥沃土壤中接种“贡选1号”,其产量仍与对照的差异达显著水平,说明这两个菌株在四川大豆生产中有良好的应用前景。而S151、S149、S8虽在水培试验中表现为高效菌株,但在田间试验中表现无效或低效,可能也与该土壤的肥力水平和土著根瘤菌的竞争结瘤能力的影响有关。

植株氮、磷、钾的吸收是产量形成的基础,大豆是需钾量较高的作物^[14]。接种根瘤菌能为植株提供氮素,同时促进磷、钾的吸收。焦如珍等^[15]认为根瘤菌有溶磷能力,且同一属种的根瘤菌不同菌株之间溶磷能力相差巨大。张慧等^[16]用根瘤菌接种大叶相思幼苗的研究表明,6个供试菌株的溶钾效果均较明显,但仅有1个菌株有较好的溶磷能力。而本研究中,两高效菌株S152、S150接种的植株氮、磷、钾含量明显高于对照,且全钾含量的增幅最大,分别比对照增加38.5%、40.7%,而田间试验表现无效的菌株S151接种植株的含钾量还略低于对照,可能是这两个高效根瘤菌(S152、S150)有一定的溶钾溶磷能力,且高效菌株的共生固氮与钾的协同作用好。这两株高效菌的溶钾溶磷能力有待进一步研究和开发利用。

紫色土是四川最重要的旱耕地,潮土也是较重要的旱耕地之一^[17],四川大豆种植区土壤主要是紫色土和潮土等,若能筛选到与这两种未灭菌的自然土壤适应性均好的高效菌株,在四川应有较好的应用潜力。本研究从四川33个市县35个采样点分离获得的70个大豆根瘤菌株中通过无氮水培、盆栽(潮土)和大田小区试验(紫色土)筛选出了与四川大豆主栽品种“贡选1号”匹配性最佳的菌株S152

和 S150, 这为四川大豆高效根瘤菌的进一步筛选鉴定, 高效根瘤菌剂的研制与应用奠定了良好基础, 具有重要的生产应用价值。

参考文献:

- [1] 雍太文, 杨文钰, 任万军, 等. 发展套作大豆促进四川大豆产业发展[J]. 作物杂志, 2007, 6: 5-8.
Yong T W, Yang W Y, Ren W J *et al.* Promotion of soybean industry by popularization of relay-planting soybean in Sichuan Province [J]. Crops, 2007, 6: 5-8.
- [2] 杨文钰, 雍太文, 任万军, 等. 发展套作大豆, 振兴大豆产业[J]. 大豆科学, 2008, 27(1): 1-7.
Yang W Y, Yong T W, Ren W J *et al.* Develop relay-cropping soybean, revitalize soybean industry [J]. Soybean Sci., 2008, 27(1): 1-7.
- [3] 李俊, 沈德龙, 林先贵. 农业微生物研究与产业化进展[M]. 北京: 科学出版社, 2011. 289-292.
Li J, Shen D L, Lin X G. Agricultural microbiology research and industrialized progress [M]. Beijing: Science Press, 2011. 289-292.
- [4] 马中雨, 李俊, 张永芳, 等. 大豆根瘤菌与大豆品种共生匹配性研究[J]. 大豆科学, 2008, 27(2): 221-227.
Ma Z Y, Li J, Zhang Y F *et al.* Symbiotic matching between soybean rhizobium and soybean cultivars [J]. Soybean Sci., 2008, 27(2): 221-227.
- [5] 李涛, 关大伟, 李俊, 等. 黄淮海地区优良大豆根瘤菌株的筛选与接种方式研究[J]. 大豆科学, 2010, 29(4): 645-649.
Li T, Guan D W, Li J *et al.* Screening of superior soybean rhizobial strains and approach to inoculation methods for region of HuangHuaiHai [J]. Soybean Sci., 2010, 29(4): 645-649.
- [6] Marta A, Dulce N R - N, Francisco J T. Soybean inoculation: Dose N fertilizer supplementation and rhizobia persistence in soil [J]. Field Crops Res., 2009, 113: 352-356.
- [7] 徐开未, 张小平, 陈远学, 等. GUS 基因标记法对慢生花生根瘤菌竞争结瘤和接种效果的研究[J]. 中国土壤与肥料, 2006, (3): 51-53.
Xu K W, Zhang X P, Chen Y X *et al.* Studies on competitive nodulation and efficiency of *bradyrhizobium* sp. (*Arachis*) using GUS marker gene [J]. China Soils Fert., 2006, (3): 51-53.
- [8] 徐开未, 陈远学, 张小平, 等. Mo 与花生根瘤菌的复合菌剂对盛花期花生生长的影响[J]. 水土保持学报, 2009, 23(2): 198-201.
Xu K W, Chen Y X, Zhang X P *et al.* Effects of combined inoculant with peanut *bradyrhizobium* and molybdate on peanut growth in florescence stage [J]. J. Soil Water Conserv., 2009, 23(2): 198-201.
- [9] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. 263-270.
Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis (Third edition) [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000. 263-270.
- [10] 徐开未, 张小平, 陈远学. “根瘤菌+Mo” 菌剂和 AM 菌剂对花生生长和产量的影响[J]. 中国油料作物学报, 2009, 31(2): 228-232.
Xu K W, Zhang X P, Chen Y X. Effects of co-inoculation of *bradyrhizobium* with molybdate and arbuscular mycorrhizal fungi on growth and yield of peanut plants [J]. Chin. J. Oil Crop Sci., 2009, 31(2): 228-232.
- [11] 何庆元, 胡艳, 王永雄. 生态环境对根瘤菌竞争结瘤影响的研究进展[J]. 大豆科学, 2004, 23(1): 66-70.
He Q Y, Hu Y, Yu Y X. Advance the study of the nodulation competition of rhizobium in environment [J]. Soybean Sci., 2004, 23(1): 66-70.
- [12] 刘晓云, 郭振国, 李乔仙, 等. 南苜蓿高效共生根瘤菌土壤的筛选[J]. 生态学报, 2011, 31(14): 4034-4041.
Liu X Y, Guo Z G, Li Q X *et al.* Screening of highly-effective rhizobial strains on alfalfa (*Medicago polymorpha*) in soil [J]. Acta Ecol. Sin., 2011, 31(14): 4034-4041.
- [13] Bushby H V A. Colonization of rhizospheres by *bradyrhizobium* sp. in relation to strain persistence and nodulation of some pasture legumes [J]. Soil Biol. Biochem., 1993, 25(5): 597-605.
- [14] 金晓梅, СИНЕГОВСКАЯ ВТ, 赵念力. 根瘤菌、微肥和作物生长调节剂对大豆氮磷钾积累和产量的影响[J]. 大豆科学, 2009, 28(4): 751-754.
Jin X M, Sinegovskaya V T, Zhao N L. Influence of rhizobium, trace fertilizer and crop growth regulators on nitrogen, phosphorous, potassium accumulation and yield of soybean [J]. Soybean Sci., 2009, 28(4): 751-754.
- [15] 焦如珍, 彭玉红. 海南岛热带木本豆科植物根瘤菌的溶磷作用[J]. 林业科学, 2010, 46(10): 1-5.
Jiao R Z, Peng Y H. Phosphate solubilization by rhizobia isolated from woody legume plants in Hainan island [J]. Sci. Silv. Sin., 2010, 46(10): 1-5.
- [16] 张慧, 余永昌, 黄宝灵, 等. 接种根瘤菌对直杆型大叶相思幼苗生长及土壤营养元素含量的影响[J]. 东北林业大学学报, 2005, 33(5): 47-48, 50.
Zhang H, Yu Y C; Huang B L *et al.* Effects of rhizobia inoculation on the growth of straight-stem *Acacia auriculaeformis* seedlings and the contents of soil nutritive elements [J]. J. Northeast For. Univ., 2005, 33(5): 47-48, 50.
- [17] 刘世全, 张明. 区域土壤地理[M]. 成都: 四川大学出版社, 1996. 220-224.
Liu S Q, Zhang M. Regional soil geography [M]. Chengdu: Sichuan University Press, 1996. 220-224.