

大豆根瘤菌优良菌株与春大豆品种的亲和性研究*

樊 惠 徐玲玫 葛 诚 崔 阵

(中国农科院土壤肥料研究所)

张景岚 冯丽华

(黑龙江省农科院合江农科所)

摘 要

以黑龙江大豆产区主栽品种合丰 25、合丰 30 等为寄主。将从本地区不同品种采集的根瘤中分离的十多株快慢生大豆根瘤菌及引入的其它菌株接种上述栽培大豆。从中筛选出 2178、2187 等优良菌株。接种后大豆植株干重、全氮、全磷量分别较 61A76(美国引进菌株)提高 10~17%、56.7~78.3 和 14.6~19.6%。采用丸衣化的 2178 菌剂接种效果更佳。较 61A76 接种的植株干重、全氮、全磷分别提高 27%、83.2%和 39.2%。田间小区试验初步证明 2178、2187 接种后,增加了大豆植株的鲜重、干重、增加结荚数和百粒重;从而提高产量 10%以上。

关键词 根瘤菌;寄主品种;共生效应;接种物

大豆根瘤菌的共生效益受寄主大豆品种影响极大^[1,4]。选择固氮力高、竞争性强的
大豆根瘤菌与相应的大豆品种建立的最佳组合是提高大豆产量的内在因子;改善磷素和微量元素等营养是发挥固氮潜力的外在条件。二者相互作用。本研究即从以上两个方面研究了提高寄主—菌株共生效应之途径。

* 中国农科院院长基金资助项目

本文于 1991 年 8 月 26 日收到。 This paper was received on Aug. 26, 1991.

材料和方法

一、试验菌株及来源:

表 1 菌株及来源
Table 1 Strains and source

菌株 Strains	分离地 Location	寄主大豆品种 Soybean cultivar	来 源 Source	菌株 Strains	分离地 Location	寄主大豆品种 Soybean cultivar	来 源 Source
Bradyrhizbium japonicum(慢生大豆根瘤菌)				Sinorhizobium fredii(中华根瘤菌)			
2181、2182	佳木斯	合丰 30	本组分离	DE145	武汉	鄂豆 2 号	本组分离
2184、2185				C354	河南商丘	同上	本组分离
2186	同上	黑河 4 号	本组分离	2048	辽宁铁岭	野生大豆	本组分离
2187、2188	同上	红丰 3 号	本组分离	2235	佳木斯	栽培大豆	本组分离
2178	同上	627	本组分离	2233	同上	野生大豆	本组分离
2191、2192	同上	黑农 3 号	本组分离	USDA191	上海郊区	栽培大豆	引自北京农 大本组保存
61A76			引自北京农 大本组保存				

二、大豆品种:合丰 30、九丰 3 号均由黑龙江省农垦科学院作物所提供。合丰 25、合丰 31 引自黑龙江省农科院合江农科所。

三、盆栽试验:采用仿 Leonard jar 装置的多层塑料土壤盒。内装无菌沙。大豆种子用 75%酒精消毒 3 分钟。将接种用根瘤菌转接在酵母膏—甘露醇培养基上。待生长丰满后,用无菌水刮下,制成 10⁹ 个/ml 菌悬液。用此悬液接种,出苗后,留整齐一致的幼苗。留苗数相等,生长 5~6 周、截取植株地上部分测定干重、全氮、全磷及固氮酶活性。

四、植株全氮量、全磷量测定采用常规方法。植株消化后,消化液在 ST-FIA₂₂ 型流动注射分析仪进行测定。固氮酶活性用 Sigma 型气相色谱仪测定。

五、田间小区试验设计:垅长 5m,宽 0.7m,6 垅区。小区面积 21m²。每一处理四次重复,随机排列。试验区土壤为草甸黑土,底肥为每亩施三料 10kg。根瘤菌剂拌种用量为每亩 500g。丸衣菌剂随种子播种入土。

六、菌剂及丸衣菌剂:将菌悬液吸附于 40 目蛭石中,使其含菌 10⁸ 个/g 以上。丸衣菌剂系以以灭菌珍珠岩为载体;甲基纤维素作粘着剂。先将菌剂吸附,再加适量粘着剂,使 CaHPO₄ 和 (NH₄)₂Mo₇O₂₄ 包在外层,胶干后装入无菌塑料袋备用。

试 验 结 果

首先选用 10 株从佳木斯地区土壤中根瘤分离的慢生大豆根瘤菌和引入的国内外其他快慢生大豆根瘤菌在盆栽条件下接种当地主栽大豆品种合丰 25。结果见表 2。表 2 可以看出从当地筛选的慢生大豆根瘤菌 2178、2187 等 6 株菌接种的植株地上部干重、全氮

量明显地高于其它菌株。在初筛基础上,1990 年又将 2178、2187 等与引入的美国慢生菌株 61A76(系黑龙江省推广菌株)进行共生试验比较。结果见表 3。表 3 说明合丰 30 大豆接种 2178 后,其地上部干重、全氮分别为对照的 1.57 倍和 2.18 倍。较 61A76 接种的处理干重和全氮分别提高 17%和 56.7%($P=0.05$ 差异显著)。施用 2178 丸衣接种的植株干重、全氮、全磷量均优于单施 2178 拌种的处理,其植株全氮、全磷量各增加 16.9%和 16.4%。九丰 3 号大豆品种接种 2187 后植株干重、全氮、全磷量与 61A76 相比,有明显的差异($P=0.05$)分别较 61A76 提高 10%、78.3%和 14.5%。表 4 系采用佳木斯地区分离的快、慢生大豆根瘤菌分别和混合接种的试验结果:2178 丸衣菌剂接种其生表现最佳。植株干重、全氮、茎叶磷百分比、全磷量、瘤重等均较其它三个处理有明显的增加($P=0.05$ 差异显著)。自野生大豆上分离的 2233 快生大豆根瘤菌接种合丰 30,植株仅形成瘤状物;无酶活性。混合接种的处理较单用慢生菌共生固氮作用降低。

在盆栽试验基础上,选用 2187、2178 等优良菌进行田间小区试验。结果可以看出:

表 2 15 株快、慢生大豆根瘤菌与合丰 25 的共生试验结果

Table 2 Symbiotic effects of Hefeng 25 inoculated with 15 strains of *Sinorhizobium* and *Bradyrhizobium*

大豆品种 Cultivar	地上部干重(克) Dry weight (g)	地上部全 N(毫克) Total N (mg)	根瘤重 Nodule weight (g)	固 N 酶总活 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{盆} \cdot \text{时}$ Nase total activity $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{Pot} \cdot \text{h}$	固 N 酶比活 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{克} \cdot \text{时}$ Nase specific activity $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{h} \cdot \text{g}$
2178	2.86 ^a **	79.10 ^a	0.73	0.77	1.05
2188	2.78 ^{ab}	75.81 ^{abc}	0.71	1.47	2.07
2186	2.69 ^{abc}	74.76 ^{abc}	0.71	0.87	1.24
2187	2.68 ^{abc}	78.02 ^{ab}	0.61	0.89	1.47
2191	2.63 ^{abc}	71.63 ^{bcd}	0.74	1.70	2.28
2182	2.57 ^{bc}	70.74 ^{cd}	0.64	1.43	2.24
2184	2.53 ^{bcd}	76.67 ^{abc}	0.56	0.75	1.35
2181	2.51 ^{bcd}	74.12 ^{abc}	0.68	1.45	1.91
61A76	2.50 ^{bcd}	71.01 ^{bcd}	0.60	0.99	1.65
2185	2.44 ^{cde}	64.98 ^a	0.64	1.44	2.30
2192	2.41 ^{cde}	64.78 ^a	0.76	1.58	2.08
USDA191	2.26 ^{def}	41.31 ^{fg}	0.63	1.70	2.28
2048	2.23 ^{ef}	46.93 ^{ef}	0.77	0.84	1.09
CK	2.13 ^{fg}	35.94 ^g	0	—	—
DE145	2.04 ^{fg}	45.55 ^{ef}	0.63	0.63	1.02
C354	1.95 ^g	48.58 ^e	0.59	0.68	1.16

* 生长 38 天时的测定值,每个处理三个重复,每盆 3 株大豆。

** 采用 Duncan's 新复极差法,纵向比较数值右测英文字母相同者表示差异不显著($P=0.05$)。

表 3 筛选的慢生大豆根瘤菌接种合丰 30、九丰 3 号的共生效应*

Table 3 Symbiotic effects of Hefeng 30 and Jiufeng 3 varieties inoculated with screened strains of *Bradyrhizobium japonicum*

大豆品种 Cultivar	接种物 Inoculum	地上部干重 (克) Dry weight (g)	地上部全 N (毫克) Total N (mg)	茎叶 P% P% of shoot	茎叶全 P 量(毫克) Total P of shoot(mg)	根瘤重 (毫克) Nodule weight (mg)	酶比活性 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{时} \cdot \text{克}$ Nase specific activity $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{h} \cdot \text{g}$	酶总活性 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{盆} \cdot \text{时}$ Nase total activity $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{Pot} \cdot \text{g}$
合丰 30 Hefeng30	2178 (九衣)	4.32 ^a	112.7 ^a	0.164 ^{ab}	7.10 ^a	1.35	0.28	0.37
	2178	3.98 ^{ab}	96.4 ^b	0.153 ^b	6.10 ^b	1.26	0.31	0.39
	2187	3.75 ^{bc}	88.3 ^b	0.154 ^b	5.76 ^{bc}	1.36	0.35	0.47
	61A76	3.39 ^{cd}	61.5 ^c	0.151 ^b	5.10 ^{cd}	1.20	0.37	0.44
	CK	2.53 ^d	30.3 ^d	0.175 ^b	4.43 ^d			
九丰 3 号 Jiufeng3	2187 (九衣)	3.61 ^a	101.1 ^a	0.166 ^{ab}	5.99 ^a	1.52 ^a	0.56	0.83
	2187	3.48 ^a	99.7 ^a	0.154 ^{bc}	5.36 ^a	1.51 ^a	0.17	0.26
	2184	3.18 ^b	90.4 ^b	0.174 ^a	5.53 ^{ab}	1.31 ^b	0.19	0.24
	61A76	3.15 ^b	55.9 ^c	0.149 ^c	4.68 ^b	1.22 ^b	0.24	0.29
	CK	2.20 ^b	26.4 ^d	0.176 ^d	3.87 ^c			

* 表中数据为生长 45 天的测定值。每个处理 4 盆重复,每盆 4 株大豆。
** 采用 Duncan's 新复极差分析。纵行比较,数值右侧英文字母相同者表示差异不显著(P=0.05)。

表 4 慢生大豆根瘤菌及中华根瘤菌接种合丰 30 的共生效应*

Table 4 Symbiotic effects of Hefeng 30 soybean cultivar inoculated with *sinorhizobium* and *Bradyrhizobium*

接种物 Inoculum	地上部干重 (克) Dry weight (g)	地上部全 N (毫克) Total N (mg)	茎叶 P% P% of shoot	茎叶全磷量 Total P of shoot(mg)	根瘤重 (毫克) Nodule weight(mg)	固氮酶比活性 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{时} \cdot \text{克}$ Nase specific activity $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{h} \cdot \text{g}$	固氮酶总活性 $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{盆} \cdot \text{时}$ Nase total activity $\mu\text{MC}_2\text{H}_4/\text{Pot} \cdot \text{g}$
<i>Bradyrhizobium</i>							
2178(九衣)	3.25 ^a **	96.13 ^a	0.215	7.00 ^a	0.94 ^a	3.15	2.96
2187	2.83 ^b	72.88 ^b	0.153	4.35 ^b	0.63 ^b	4.11	2.59
2187+2233	2.43 ^c	60.30 ^c			0.61 ^b	5.02	3.06
<i>Sinorhizobium</i>							
2233	20.4 ^d	23.73 ^d			瘤状物***		
CK	2.17 ^d	23.95 ^d	0.156	3.37 ^b			

* 表中数据为生长 39 天的测定值。每一处理六盆重复,每盆 4 株。
** Duncan's 新复极差分析。纵行里数值右侧英文字母相同者表示差异不显著。
*** *Sinorhizobium* 2233 接种合丰 30,39 天后只出现瘤状物结构,无活性。

1. 接种根瘤菌对大豆产量的影响:表 5 中说明合丰 31 接种 2178 的处理与对照相比,每亩增产 17.9kg;增产率为 17%(经统计分析, $P=0.05$ 差异显著)。较 61A76 的处理增产 10.9%。在合丰 25 品种的试验中,2187(丸衣)每亩较对照增产 13.5kg;增产率为 12.5%。较 61A76 增产 7.7%。单施 2187 拌种者亩产较对照提高 10kg,增产率为 9.2%。表 6 说明增产的主要因素为总荚数增多;百粒重增加。如合丰 31 接种 2178 单株总荚数较对照增加 13.6 个。百粒重增加 0.8g。合丰 25 接种 2187 丸衣菌剂的单株总荚数较对照增加 6 个;百粒重增加 1.4g。

2. 接种不同根瘤菌剂对大豆生长发育的作用:通过不同根瘤菌接种合丰 25 后不同生长期的调查(见表 7)可以发现 2187 等接种后,对不同发育阶段的大豆植株株高、鲜重和干重均有不同程度的促进作用。结荚期表现尤为明显。此外接种 2187、2235 后植株地下部根瘤较对照增加。大于 3mm(直径)的根瘤较对照增多 1 倍以上。用估测法^[3]算出的固氮量每年每亩提高 1.8~2.2kg。

表 5 接种不同根瘤菌剂对合丰 25、合丰 31 产量的影响

Table 5 Yield effects of inoculated Hefeng 25 and Hefeng 31 with different inocula

大豆品种 Cultivar	接种物 Inoculum	亩产量(公斤) Yield/per · mu (kg)	每亩增产 (公斤) Increment (kg)	增产率 % Rate of increment	与 61A76 相比每亩增产(公斤) Compared with 61A76 (kg)	与 61A76 相比增产率 % Rate of increment
合丰 25 Hefeng 25	CK	108.55				
	61A76	113.34	4.79	4.4		
	2235	121.47	12.92	11.9	8.13	7.2
	2187	118.55	10.00	9.2	5.21	4.6
	2187(丸衣)	122.09	13.54	12.5	8.75	7.7
合丰 31 Hefeng 31	CK	105.42				
	61A76	111.26	5.84	5.5		
	2178	123.34	17.92	17.0	12.08	10.9
	2178(丸衣)	120.01	14.59	13.8	8.75	7.9

讨 论

一、盆栽和田间小区试验结果说明:从佳木斯地区土壤的根瘤中筛选的 2178、2187 等慢生根瘤菌能与该地区主栽大豆产品种合丰 25、合丰 30、合丰 31 和九丰 3 号等形成优良的共生组合。与引入的美国慢生菌株 61A76 相比,共生固氮作用增强,提高了植株的氮素营养,同时也促进了植物对磷的吸收;从而使植株干重、总荚数、百粒重均有增加。最终提高了大豆产量。盆栽与田间试验结果基本趋于一致。

二、在合丰 30 上接种 2178 和 2187 丸衣菌剂的两次盆栽培试验中,一致表现出施用 2178 丸衣菌剂后,地上部干重、全氮、茎叶 P%。茎叶全磷量和根瘤重均优于单施 2178 的

处理。说明磷素营养和微量钼肥可促进结瘤,提高共生固氮效益。据 U. R. PAL 等在尼日利亚的亚热带地区研究大豆对磷钾和钼的效应,结果指出施入适量的磷或钼均能使大豆增产。在交互效应中,磷、钼互作效应在品种 Samaru 和 Zonkwa 上表现显著^[3]。从我们的田间试验结果中尚不能完全肯定的磷钼为包衣的丸衣菌剂较单施根瘤菌剂增产。这可能由于采用的包衣材料中磷、钼含量少(尤其是磷的含量)。在盆栽试验中施用丸衣明显地提高了固氮作用。故在田间应用中还应视土壤中营养状况采取相应的施肥措施以提高根瘤菌剂的增产效果。

表 6 接种不同根瘤菌剂大豆产量因子的影响

Table 6 Fact effects of inoculated Hefeng 25 and Hefeng 31 with different inocula

品 种 Cultivar	接 种 物 Inoculum	单株总荚数 (个) Total number of pods plant ⁻¹	与对照相比 Compared withck	单株总粒数 Total number of pods plant ⁻¹	与对照相比 Compared withck	百粒重(克) Weight of 100 seeds (g)	与对照相比 Compared with CK
合丰 25 Hefeng 25	CK	19.8		50.4		17.2	
	61A76	16.9	-2.9	41.5	-8.9	18.0	0.8
	2235	23.5	3.7	60.6	10.2	19.0	1.8
	2187	24.7	4.9	58.7	0.83	18.3	1.1
	2187(丸衣)	25.8	6.0	64.2	13.8	18.6	1.4
合丰 31 Hefeng 31	CK	17.6		44.9		17.8	
	61A76	24.1	6.5	62.5	17.6	18.4	0.6
	2178	31.2	13.6	89.0	44.1	18.6	0.8
	2178(丸衣)	25.4	7.8	64.4	19.5	18.4	0.6

表 7 接种不同根瘤菌剂对单株根瘤数和固氮量的影响

Table 7 Nodules number and Nitrogen fixation effects of inoculated Hefeng 25 with different inocula

品 种 Cultivar	接 种 物 Inoculum	根 瘤 分 级 Nodules grade			固氮量 公斤/公顷·年 Nitrogen fixation Kg/ha·year	比对照增加固 N 量 公斤/公顷·年 Compared with CK kg/ha·year
		单株根瘤数 Nodule number plant ⁻¹	大于 3mm 根瘤数 >3mm nodules number	增 加 % Increment		
合丰 25 Hefeng 25	CK	22.3	7.0		18.60	
	61A76	30.0	8.7	24.3	23.53	4.93
	2235	43.7	18.7	167.1	46.85	28.24
	2187	46.3	18.3	161.1	46.00	27.39
	2187(丸衣)	87.3	17.3	147.1	51.78	33.17

三、从本地区土壤中筛选土著大豆根瘤菌中的优良菌株,再通过人工接种施用当地大豆生产。由于其适应性强,在不同根瘤菌的相互竞争中可能占据优势,从而改善原有的固氮强度。

参 考 文 献

- [1] 樊惠:1991, 中国农业科学, 24 (1):80~88
[2] 贾凤菊:1982, 土壤肥料, 6:31~32
[3] U. R. PAL:1990, 国外农学—大豆, 3:21~23
[4] Dowdle S. F. et al.: 1987, Can. J. Microbiol., Vol. 33:990~995

STUDIES ON COMPATIBILITY BETWEEN SUPERIOR INDIGENOUS
SOYBEAN RHIZOBIAL STRAINS AND SOYBEAN CULTIVARS

Fan Hui Xu Lingmei Ge Cheng Cui Zhen

(Soils Fertilizer Inst, CAAS, Beijing)

Zhang Jinglan Feng Lihua

(Hejiang Research Inst. of Agri.)

Abstract

More than 10 *Sinorhizobium fredii* and *Bradyrhizobium japonicum* strains isolated from the nodules of different soybean cultivars in the locality were used along with other introduced strains to inoculate Hefeng 25, Hefeng 30, two major production cultivars in the soybean—growing areas of Heilongjiang Province, for screening of superior inoculum strains. Results showed that plant dry weight, total N, and total P of plants inoculated with strains 2178 and 2187 were 10~17%, 56.7~78.3%, and 14.6~19.6% higher respectively, than those of plants inoculated with the widely applied inoculant strain 61A76 (introduced from the United States). Better results were achieved when seeds coated with strain 2178 inoculum were used. In comparison with the plants inoculated with 61A76, plant dry weight, total N, and total P increased 27%, 83.2%, and 39.2%, respectively, field plot experiments showed that inoculation, with strains 2178 and 2187 increased fresh weight, dry weight, pod numbers, and weight of 100 seeds of soybean plants, and yield increased more than 10%.

Key words *Rhizobium*; Host cultivar; Symbiotic effect; Inoculum