

根瘤菌配施胶质类芽孢杆菌对大豆叶绿素荧光特性、产量及品质的影响

李馨园¹,王守义¹,王淑荣¹,袁明¹,韩冬伟¹,魏嵘²,唐晓飞²

(1. 黑龙江省农业科学院 齐齐哈尔分院,黑龙江 齐齐哈尔 161006;2. 黑龙江省农业科学院 大豆研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要:以常规施肥为对照,研究根瘤菌和胶质类芽孢杆菌不同比例配合施用对黑龙江西部干旱地区大豆开花期荧光特性、产量及品质的影响。结果表明:两种菌剂配合施用,能够提高光合能力,增加产量,其中根瘤菌和胶质类芽孢杆菌各施用 150 mL·hm⁻² 为最优处理,与对照相比,该处理叶绿素含量显著变化,Chla 增加 68.12%,Chlb 增加 87.51%,Chla/b 比值降低 10.32%;Fv/Fm 和 Fv/Fo 值分别比对照提高 1.82% 和 7.59%,qN 值低于对照 6.25%;蛋白总量较对照增加 4.01%,产量高于对照 19.10%,与其他处理差异显著。

关键词:根瘤菌;胶质类芽孢杆菌;大豆;荧光特性;产量;品质

中图分类号:S565.1 **文献标识码:**A **DOI:**10.11861/j.issn.1000-9841.2014.04.0541

Effect of *Rhizobium* Combined with *Pamibacillus mucilaginosus* on Soybean Chlorophyll Fluorescence Characteristics, Yield and Quality

LI Xin-yuan¹, WANG Shou-yi¹, WANG Shu-rong¹, YUAN Ming¹, HAN Dong-wei¹, WEI Lai², TANG Xiao-fei²

(1. Qiqihar Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Qiqihar 161006 China; 2. Soybean Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

Abstract: The effect of different proportion combined application of *Rhizobium* and *Pamibacillus mucilaginosus* on the soybean yield and chlorophyll fluorescence characteristics at florescence in the western arid area of Heilongjiang province was studied with conventional fertilization as control. The results showed that it could improve the photosynthetic capacity and increase the yield for using combined two kinds of bacteria fertilizer. The best combined ratio of using *Rhizobium* and *Pamibacillus mucilaginosus* fertilizer was 150 mL·ha⁻¹ to 150 mL·ha⁻¹. Comparing to conventional fertilization application the content of Chla and Chlb increased to 68.12% and 87.51% respectively under the treatment, while the ratio of Chla/b decreased by 10.32%. It also presented significant changes as the Fv/Fm and Fv/Fo values increasing by 1.82% and 7.59%, the qN value lowered by 6.25%, total amount of protein and fat increasing by 4.01% and the yield higher 19.10% than that of the control.

Key words: *Rhizobium*; *Pamibacillus mucilaginosus*; Soybean; Chlorophyll fluorescence characteristics; Yield; Quality

利用大豆根瘤菌 (*Rhizobium*) 接种豆科植物以提高植株固氮效率已有 100 多年历史,根瘤菌剂在许多国家得到广泛应用^[1]。研究表明,豆科植物光合作用的提高常常伴随着根瘤菌固氮能力的提高^[23]。大豆开花期固氮能力最高,光合作用电子传递的量子效率和光化学淬灭也相应变高^[4]。

将大豆根瘤菌与有益微生物复合使用,会提高大豆根瘤菌结瘤和固氮效果^[5]。胶质类芽孢杆菌作为微生物肥料广泛应用的功能菌种之一,在农业生产中表现出提高土壤速效钾与速效磷含量、促进作物生长、提高作物产量和品质等多方面的效应^[6-7]。P.3016 是近年来在根际土壤中筛选获得的优良菌株,具备显著的溶磷、解钾、固氮等功能,同时能够产生柠檬酸、生长素和赤霉素等促进植物生长的活性物质^[8]。

利用菌种之间的互利共生关系,将两种菌剂按

照不同比例配合施用,是一项简单有效、成本低廉的实用性技术,易于大范围推广。本研究旨在通过筛选出根瘤菌与胶质类芽孢杆菌的最优配比方案,从大豆叶绿素荧光特性层面探讨二者不同比例配施对产量的影响,为黑龙江省西部半干旱地区大豆根瘤菌和胶质类芽孢杆菌混合施用技术的推广提供理论依据和支持。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试大豆品种嫩丰 16,为齐齐哈尔地区主栽大豆品种,由黑龙江省农业科学院齐齐哈尔分院提供;供试菌种为根瘤菌 *B. japonicum* 5038,分离于黑龙江安达土壤,分离宿主为抗线 9 号,胶质类芽孢杆菌 3016 分离于山东泰安土壤,两种菌剂由中国农业科学院农业资源与农业区划研究所提供。试验地

收稿日期:2014-01-09

基金项目:现代农业产业技术体系建设专项(CARS-004)。

第一作者简介:李馨园(1986-),女,硕士,研究实习员,主要从事作物高产栽培研究。E-mail:lipan.08@163.com。

土壤肥力及微量元素含量为:有机质 1.20%、铵态氮 15.8 mg·L⁻¹、硝态氮 93.6 mg·L⁻¹、磷 33.4 mg·L⁻¹、钾 150.5 mg·L⁻¹、钙 4526.9 mg·L⁻¹、镁 361.4 mg·L⁻¹、硫 34.4 mg·L⁻¹、铁 5.9 mg·L⁻¹、铜 2.8 mg·L⁻¹、锰 5.4 mg·L⁻¹、锌 3.6 mg·L⁻¹、硼 1.71 mg·L⁻¹。

1.2 试验方法

试验于 2013 年在黑龙江省农业科学院齐齐哈尔分院试验田进行,5 月 10 日播种,5 行区,行距 0.65 m,小区面积为 19.5 m²,3 次重复,随机排列。采用拌种的方式将根瘤菌 *B. japonicum* 5038 和胶质类芽孢杆菌 3016 进行配比使用时,菌剂总用量为 300 mL·hm⁻²,具体混合比例详见表 1,将混合均匀的菌剂洒在种子表面,并充分搅拌,让根瘤菌剂粘在所有种子表面^[9]。试验地常规施肥,施肥标准为尿素 171.25 kg·hm⁻²、磷酸二铵 338.1 kg·hm⁻²、硫酸钾 306 kg·hm⁻²。人工精量播种,单粒播种,保苗数为 28 万株·hm⁻²,常规田间管理。在大豆花期,参照周相娟^[10]的方法,每小区选取长势相近的 5 株植株,于晴朗无云的上午 9:00~11:00,用便携式荧光仪(PAM-210, Walz, Germany)测定大豆植株从上向下第三片三出复叶的中间叶片的 PS II 的潜在活性(F_v/F_o)、PS II 的最大光能转换速率(F_v/F_m)、光化学淬灭系数(qP)、非光化学淬灭系数(qN)。叶绿素含量测定采用乙醇丙酮法^[11]。收获时各处理分小区计算产量,每处理取 10 株带回室内进行常规考种。

表 1 接种菌剂用量

Table 1 Microbial inoculum amount

| 处理 Treatment | 根瘤菌 <i>B. japonicum</i> 5038 | 胶质类芽孢杆菌 3016 <i>P. mucilaginosus</i> |
|-----------------|--|---|
| | <i>Rhizobium B. japonicum</i> 5038/mL·hm ⁻² | 3016/mL·hm ⁻² |
| CK | 0 | 0 |
| T1 | 300 | 0 |
| T2 | 0 | 300 |
| T3 | 200 | 100 |
| T4 | 150 | 150 |
| T5 | 120 | 180 |

1.3 数据处理

采用 SPSS 13.0 进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同施肥处理对叶片叶绿素含量的影响

如图 1 所示,不同处理下大豆叶绿素 Chla 和 Chlb 含量均有增加。T4 处理与对照相比 Chla 增加 68.12%, Chlb 增加 87.51%,显著高于其他处理。T3 处理与对照相比 Chla 增加 46.43%, Chlb 增加 63.40%,略高于 T5 处理,但二者差异不显著。T2 处理与对照相比 Chla 增加 21.79%,差异显著,Chlb 增加 19.12%,无显著差异。两种叶绿素增加的比例不同,导致 Chla/b 比值也不同,T4 处理 Chla 和 Chlb 含量均最高,但是 Chla/b 比值却比对照低

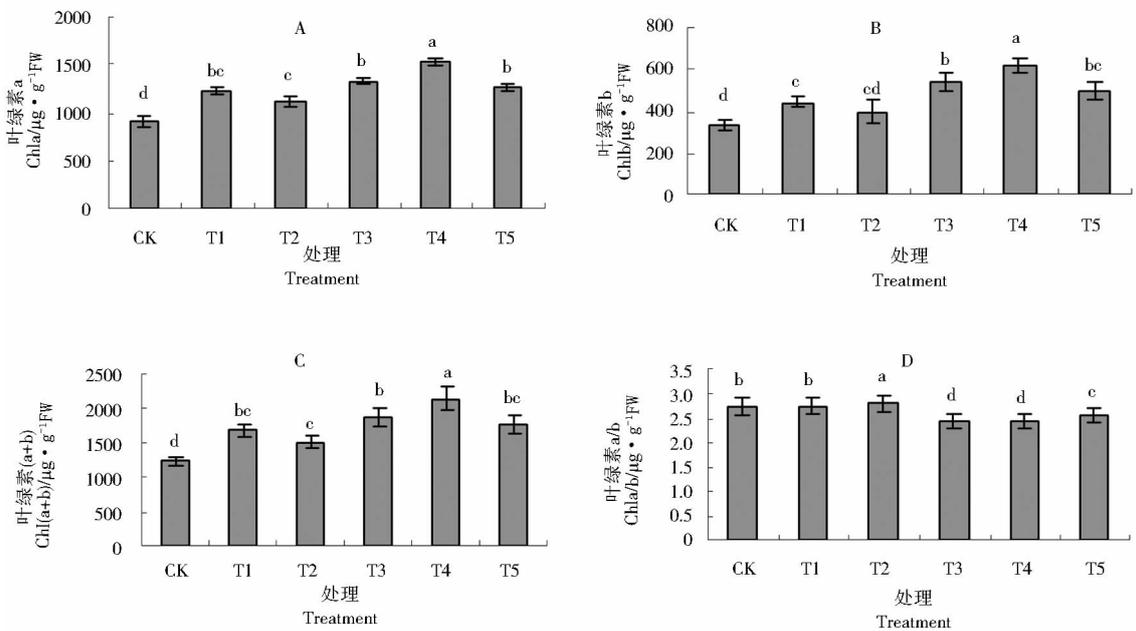


图 1 不同处理对大豆叶片叶绿素含量的影响

Fig. 1 Effects of different treatments on chlorophyll content of soybean leaves

10.32%。T3 处理 Chla/b 比值最低,比对照低 10.38%,与 T4 差异不显著。

2.2 不同施肥处理对叶片叶绿素荧光参数的影响

测定叶绿素荧光参数能够了解大豆叶片与电子传递链有关的光合器的能力^[12]。 F_v/F_m 表示 PS II 的最大光能转换速率, F_v/F_o 表示 PS II 的潜在活

性。如图 2 所示,T2 处理与对照开花期的 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值相比无显著差异,其他处理均高于对照。其中,T4 处理最高,分别比对照提高 1.82% 和 7.59%。T2 处理低于对照,差异不显著。各处理 qP 值低于对照,其中 T3、T4、T5 处理显著低于对照。

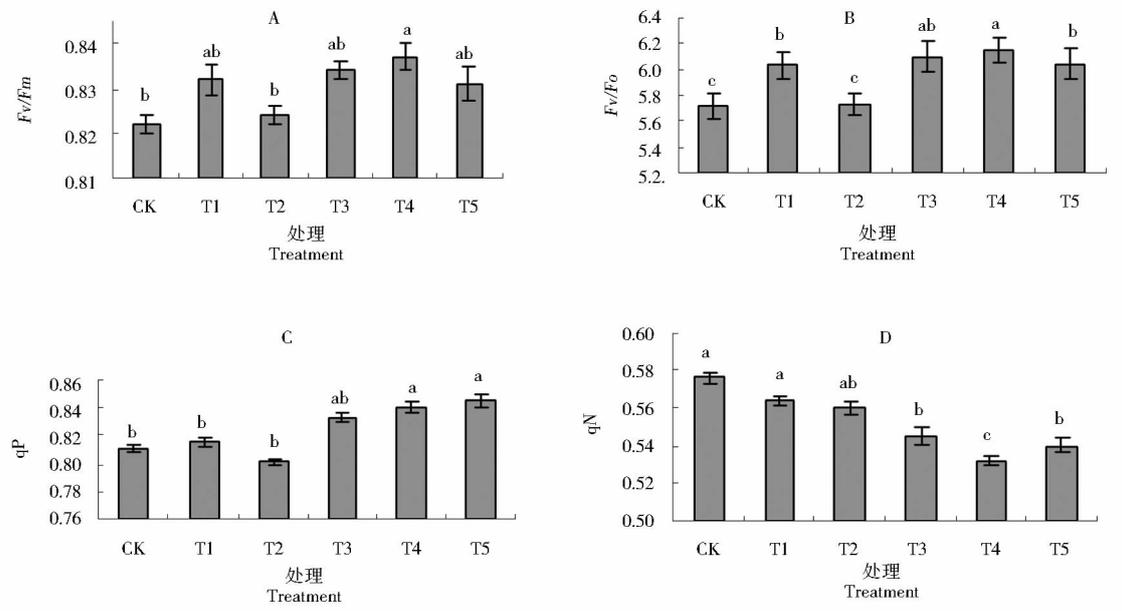


图 2 不同处理对大豆叶片叶绿素荧光参数的影响

Fig. 2 Effect of different treatments on chlorophyll fluorescence parameters in soybean leaves

2.3 不同施肥处理对大豆产量的影响

由表 2 可知,大豆产量构成因素受不同肥料处理影响较为显著,其中以 T4 处理增产效果最为显著,较对照提高 19.10%。分别施用根瘤菌 *B. japonicum* 5038 和胶质类芽孢杆菌 3016 拌种处理不能增加单株荚数,但能通过增加单株粒数和百粒重

以提高大豆产量(T1 处理除外,该处理百粒重低于对照)。各处理产量表现为 T4 > T5 > T3 > T2 > T1 > CK,这说明胶质类芽孢杆菌 3016 和根瘤菌 *B. japonicum* 5038 具有良好的匹配性,配合施用能够显著提高大豆产量。

表 2 不同施肥处理对大豆产量性状的影响

Table 2 Effects of different fertilization treatments on yield and yield components in soybean

| 处理 Treatment | 单株荚数 Pods per plant | 单株粒数 Seeds per plant | 百粒重 100-seed weight/g | 平均产量 Yield/kg·hm ⁻² | 增产率 Increase/% |
|-----------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------------|-------------------|
| CK | 29.64 ± 7.75 b | 58.5 ± 16.3 c | 19.86 ± 2.38 a | 2364 ± 400 d | — |
| T1 | 25.91 ± 12.36 b | 65.5 ± 15.4 b | 19.23 ± 1.12 a | 2403 ± 432 c | 1.62 ± 0.04 |
| T2 | 28.45 ± 12.14 b | 69.5 ± 17.5 b | 20.44 ± 2.87 a | 2478 ± 506 c | 4.60 ± 0.03 |
| T3 | 34.64 ± 8.61 ab | 65.5 ± 11.2 b | 20.62 ± 1.56 a | 2674 ± 247 b | 11.61 ± 0.05 |
| T4 | 43.06 ± 4.16 a | 74.2 ± 10.5 a | 21.24 ± 2.31 a | 2922 ± 305 a | 19.10 ± 0.04 |
| T5 | 35.14 ± 10.06 ab | 64.7 ± 7.6 b | 20.85 ± 1.45 a | 2752 ± 403 b | 14.11 ± 0.02 |

同列数值后不同小写字母表示差异达到 0.05 显著水平。

Values within a column followed by different lowercase letters are different at 0.05 probability level.

2.4 不同施肥处理对大豆品质的影响

如图 3 所示,根瘤菌 *B. japonicum* 5038 和胶质类芽孢杆菌 3016 单独施用或者配合施用均可提高

大豆蛋白质含量,其中 T4 处理增幅最高,与对照相比增加 1.07%。但各处理对脂肪含量的影响与对照相比变化不大,并且单独施用根瘤菌 *B. japonicum*

5038 或胶质类芽孢杆菌 3016 都会降低大豆脂肪含量,分别较对照降低 3.53% 和 3.86%。如图 4 所示,各施肥处理均能增加大豆蛋脂总量,其中 T4 处

理最高,较对照增加 4.01%,各处理蛋脂总量表现为 T4 > T3 > T5 > T1 > T2 > CK。

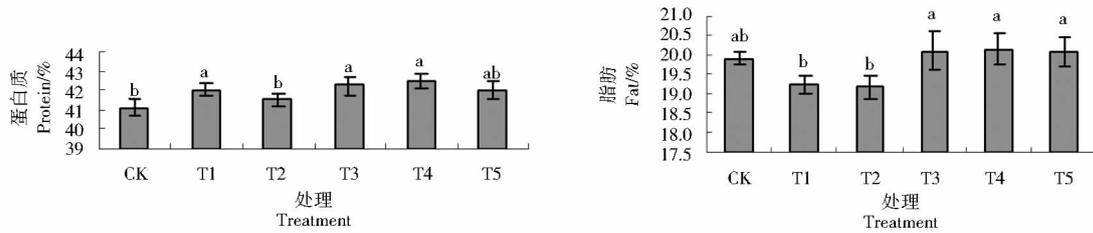


图 3 不同施肥处理下大豆蛋白质和脂肪含量

Fig. 3 Protein and fat content of the seed of soybeans in different fertilizer treatments

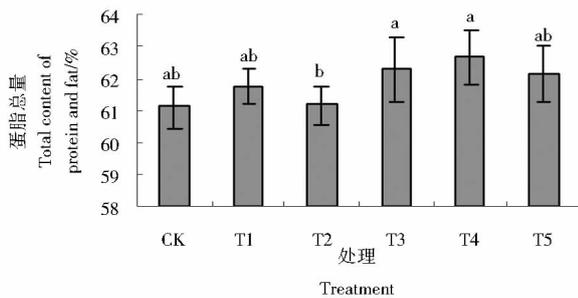


图 4 不同施肥处理下大豆蛋白质和脂肪总量

Fig. 4 Total amount of protein and fat in different fertilizer treatments

3 结论与讨论

一般而言,氮素供应充足的植株 Chla/b 比值要比氮素供应不充足的植株低^[13]。本研究结果表明,根瘤菌 *B. japonicum* 5038 和胶质类芽孢杆菌 3016 两种菌剂配施,Chla/b 比值要低于两种菌剂单施的处理,说明两种菌剂互利共生,能够改善土壤根际微生物环境,增加有机质含量,提高了肥料利用率,促进了根对养分特别是氮素的吸收。由于光系统 II,即 PS II 中捕光色素蛋白复合物含有较多的 Chlb,Chla/b 比值低说明捕光色素蛋白复合物含量高^[14],有利于提高机体捕获光能的能力,促进光合作用。

植物体内的光化学最大效率 F_v/F_m 与其体内的影响水平有关, F_v/F_o 能够反映 PS II 的潜在活性^[15]。根据叶绿素荧光参数可以了解到两种菌剂不同比例配施对光合机构反应中心光化学性能的影响。本研究结果表明,两种菌剂按照每种 150 mL·hm⁻² 配施能显著提高 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值,单施胶质类芽孢杆菌 3016 并不能显著提高 F_v/F_m 和 F_v/F_o 值。

光化学淬灭系数 qP 是 PS II 天线色素吸收的光

能用于光化学反应的份额,而非光化学淬灭系数 qN 反应 PS II 反应中心非辐射能量耗散能力的大小^[16]。本研究结果表明两种菌剂配施和根瘤菌 *B. japonicum* 5038 单施,均能提高大豆叶片的 qP 值,胶质类芽孢杆菌 3016 单施却使 qP 值比对照略有下降。两种菌剂单施和按照不同比例配施都能降低大豆叶片的 qN 值。

根瘤菌 *B. japonicum* 5038 和胶质类芽孢杆菌 3016 单施或者按照不同比例配施,均能提高大豆产量和品质,菌剂单独施用,增产效果不明显。各处理均能提高大豆蛋白质的含量,但对脂肪含量影响不大,并且单施会降低脂肪含量,这与前人研究结果相似^[17]。处理中两种菌剂按照每种 150 mL·hm⁻² 配施,较对照增产 19.10%,蛋脂总量比对照高 4.01%,为最优处理。

参考文献

- [1] 裴晓峰. 耐旱大豆根瘤菌的筛选及其接种效应[J]. 大豆科学, 2012, 31(3): 420-423. (Pei X F. Drought tolerance screening of soybean rhizobia and inoculation effect [J]. Soybean Science, 2012, 31(3): 420-423.)
- [2] Bethlenfalvai G J, Phillips D A. Effect of light intensity on efficiency of carbon dioxide and nitrogen reduction in *Pisum sativum* L. [J]. Plant Physiology, 1977, 60: 419-412.
- [3] Finn G A, Brun W A. Effect of atmospheric CO₂ enrichment on growth non-structural carbohydrate content and root nodule activity in soybean [J]. Plant Physiology, 1982, 69: 327-331.
- [4] Maury P, Sue S, Berger M, et al. Response of photochemical processes of photosynthesis to dinitrogen fixation in soybean [J]. Plant Physiology, 1993, 101: 493-497.
- [5] 薛晓响,冯瑞华,关大伟,等. 大豆根瘤菌与促生菌复合系筛选及机理研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(4): 613-619. (Xue X Y, Feng R H, Guan D W, et al. Screening and analysis for efficient co-inoculation system of soybean rhizobia and plant growth-promoting rhizobacteria [J]. Soybean Science, 2011, 30(4): 613-619.)

(下转第 549 页)

参考文献

- [1] 吴明才,肖昌珍,郑普英.大豆磷素营养研究[J].中国农业科学,1999,32(3):59-65. (Wu M C, Xiao C Z, Zheng P Y. Phosphorus nutrition of soybean[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1999, 32(3):59-65.)
- [2] 姚玉波,吴冬婷,龚振平,等.磷素水平对大豆氮素积累及产量的影响[J].核农学报,2012,26(6):947-951. (Yao Y B, Wu D T, Gong Z P, et al. Effect of phosphorus level on nitrogen accumulation and yield in soybean[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 2012, 26(6):947-951.)
- [3] Tsvetkova G E, Georgiev G I. Effect of phosphorus nutrition on the nodulation, nitrogen fixation and nutrient use efficiency of bradyrhizobium japonicum soybean (*Glycine max* L. Merr.) symbiosis[J]. Bulgarian Journal of Plant Physiology Special Issue, 2003: 331-335.
- [4] Miao S J. Nodule formation and development in soybeans (*Glycine max* L.) in response to phosphorus supply in solution culture[J]. Pedosphere, 2007, 17(1):36-43.
- [5] Myo W, Sutkhet N, Ed S. Effects of phosphorus on seed oil and protein contents and phosphorus use efficiency in some soybean varieties[J]. Kasetsart Journal (Nature Science), 2010, 44:1-9.
- [6] 王维军.大豆的磷素营养与施肥[J].中国农业科学,1963(11):41-44. (Wang W J. Soybean phosphorus nutrition and fertilization[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1963(11):41-44.)
- [7] 吴冬婷,张晓雪,龚振平,等.磷素营养对大豆磷素吸收及产量的影响[J].植物营养与肥料学报,2012,18(3):670-677. (Wu D T, Zhang X X, Gong Z P, et al. Effects of phosphorus nutrition on P absorption and yields of soybean[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2012, 18(3):670-677.)
- [8] 苗淑杰,乔云发.大豆根系特征与磷素吸收利用的关系[J].大豆科学,2007,26(1):16-20. (Miao S J, Qiao Y F. Relationship between root characters and phosphorus absorption in soybean[J]. Soybean Science, 2007, 26(1):16-20.)
- [9] 王应祥,廖红.大豆适应低磷胁迫的机理初探[J].大豆科学,2003,22(3):208-212. (Wang Y X, Liao H. Preliminary studies on the mechanisms of soybean in adaptation to low P stress[J]. Soybean Science, 2003, 22(3):208-212.)
- [10] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000:268-270. (Bao S D. Soil agro-chemistry analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000:268-270.)
- [11] Steven J, Crafts B. Phosphorus nutrition influence on leaf senescence in soybean[J]. Plant Physiology, 1992, 98:1128-1132.
- [12] 于洋,马春梅,龚振平,等.不同磷水平下大豆植株磷素积累与转运动态的研究[J].作物杂志,2012(6):68-73. (Yu Y, Ma C M, Gong Z P, et al. Research of phosphorus accumulation and dynamics of transportation in soybean under different phosphorus levels[J]. Crops, 2012(6):68-73.)
- [13] 贺振昌.高产大豆营养与施肥的探讨[J].中国农业科学,1982(1):65-70. (He Z C. Investigation on the nutrient and fertilizer requirements of a high-yielding soybean[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1982(1):65-70.)
- [14] 王建国,李兆林,李文斌,等.磷肥与大豆产量及品质的关系[J].农业系统科学与综合研究,2006,22(1):55-57. (Wang J G, Li Z L, Li W B, et al. Application of phosphorus in relation to soybean yield and quality[J]. System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture, 2006, 22(1):55-57.)
- (上接第 544 页)
- [6] 王璇,马鸣超,关大伟,等.胶质类芽孢杆菌 PCR 快速检测方法[J].微生物学报,2011,51(11):1485-1493. (Wang X, Ma M C, Guan D W, et al. Rapid identification for Paenibacillus mucilaginosus by PCR [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2011, 51(11):1485-1493.)
- [7] 王振亚.胶质类芽孢杆菌 3016 基因组学初步研究[D].山东:山东农业大学,2012:1-5. (Wang Z Y. Preliminary analysis on the genome of Paenibacillus mucilaginosus 3016 [D]. Shandong: Shandong Agricultural University, 2012:1-5.)
- [8] Bijoy Moktan, Jayati Saha, Prabir k. Sarkar. Antioxidant activities of soybean as affected by Bacillus-fermentation to kinema[J]. Food Research International, 2008, 41(6):586-593.
- [9] 张红侠,冯锐华,李俊,等.黄土高原地区优良大豆根瘤菌的筛选与接种方式研究[J].大豆科学,2010,29(6):996-1002. (Zhang H X, Feng R H, Li J, et al. Screening of superior soybean rhizobial strains and analyzing of different inoculation methods in loess plateau region of China[J]. Soybean Science, 2010, 29(6):996-1002.)
- [10] 周相娟.根瘤菌、铵态氮、光照强度对大豆固氮和光合特性作用影响的研究[D]北京:中国科学院研究生院,2006:41-42. (Zhou X J. Effects of rhizobia, NH_4^+ -fertilizer and light strength on nitrogen fixation and photosynthesis of soybean [D] Beijing: The Institute of Botany, Chinese Academy of Science, 2006:41-42.)
- [11] 孔祥生.植物生理学试验技术[M].北京:中国农业出版社,2008:77-80. (Kong X S. Experimental technology of plant physiology [M]. Beijing: Chinese Agriculture Press, 2008:77-80.)
- [12] Maxwell K, Johnson G N. Chlorophyll II fluorescence—a practical guide[J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51:659-668.
- [13] Langsdorf G, Buschmann C, Sowinska M, et al. Multicolour fluorescence imaging of sugar beet leaves with different nitrogen status by flash lamp UV-excitation[J]. Photosynthetica, 2000, 38:539-551.
- [14] Terashima I, Hikosaka K. Comparative ecophysiology of leaf and canopy photosynthesis [J]. Plant Cell Environment, 1995, 18:1111-1128.
- [15] Krause G H, Weis E. Chlorophyll II fluorescence and photosynthesis: The basics [J]. Annual Review of Plant Physiology Plant Molecular Biology, 1991, 42:313-349.
- [16] 赵明,姜雯,丁在松,等.玉米和小麦在光合诱导期间非光化学淬灭(qN)差异(英文)[J].作物学报,2005,31(12):1544-1551. (Zhao M, Jiang W, Ding Z S, et al. Corn and wheat during photosynthetic induction of non photochemical quenching (qN) difference [J]. Acta Agronomica Sinica, 2005, 31(12):1544-1551.)
- [17] 朱宝国,于忠和,王囡囡,等.有机肥和化肥不同比例配施对大豆产量和品质的影响[J].大豆科学,2010,29(6):97-100. (Zhu B G, Yu Z H, Wang N N, et al. Effect of different proportion combined application of organic and chemical fertilizer on soybean yield and quality[J]. Soybean Science, 2010, 29(6):97-100.)