

# 不同溶磷菌菌液对盛花期大豆生长的影响

刘晶晶<sup>1</sup>, 孙合美<sup>1</sup>, 岳胜天<sup>1</sup>, 卢冬雪<sup>1</sup>, 武志海<sup>2</sup>, 杨美英<sup>1</sup>

(1. 吉林农业大学 生命科学院, 吉林 长春 130118; 2. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118)

**摘 要:**溶磷菌能将土壤中难溶性无机磷酸盐转化为植株能吸收利用的可溶性磷,从而提高土壤中有效磷含量,促进植株生长发育。分别采用从大豆根际土壤中分离的溶磷菌 wj1、wj3 及其 wj1 + wj3 混合菌液施入土壤中,研究溶磷菌株对吉林省地区主推大豆品种吉育 47、吉育 99 和吉育 406 盛花期的光合作用、抗逆作用、生长量以及含磷量的影响。结果表明:溶磷菌菌液处理对 3 个品种大豆有不同程度的促生作用。wj1 和 wj3 单菌种菌液处理增加了 3 个品种大豆盛花期的光合作用,混合菌可显著降低盛花期 3 个品种的蒸腾速率,从而提高植株水分利用率。wj3 菌液对大豆盛花期生长量的影响较为显著,对根瘤的生长也有良好的促进作用,wj1 和混合菌明显增强 3 个大豆品种植株的抗性。wj3 和混合菌液对吉育 406 叶片中全磷量影响不显著,其它大豆根茎叶的全磷含量均高于对照。其中,wj1 处理的根茎叶中全磷含量与对照相比达到显著水平。因此,wj1 的综合促生能力优于 wj3,更适合应用于农业生产中。

**关键词:**外源溶磷菌;大豆;生长量;光合作用;抗逆作用;全磷量

**中图分类号:**S565. 1      **文献标识码:**A      **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2016. 02. 0275

## Effect of Different Phosphate-Solubilizing Bacteria Liquid on the Growth of Soybean in Florescence Stage

LIU Jing-jing<sup>1</sup>, SUN He-mei<sup>1</sup>, YUE Sheng-tian<sup>1</sup>, LU Dong-xue<sup>1</sup>, WU Zhi-hai<sup>2</sup>, YANG Mei-ying<sup>1</sup>

(1. College of Life Science, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

**Abstract:** Soybean is the most important oil crops in China, and is one of the crop requiring large amounts of phosphorus, this experiment studied the effect of photosynthesis, resistance effect, mass growth and the total phosphorus content on three kinds of soybean under the condition of adding exogenous phosphorus-solubilizing bacteria-wj1, wj3 and wj1 + wj3 mixed bacterial liquid, which has an important role in saving the input of phosphate fertilizer and reducing the cost of soybean in the agricultural production. The photosynthesis, stress tolerance, growth characteristics and phosphate content were determined in florescence stage. The results showed that different bacterial liquid had different levels of growth-promoting effect on different varieties of soybean. The effect of wj3 on the mass growth of three kinds of soybean was significant, also promoted the growth of root nodules. The three treatments had the promotion effect on the growth on Jiyu 406 in full-bloom stage. wj1 and wj3 increased the photosynthetic rate on three varieties of soybean, wj1 + wj3 significantly decreased the transpiration rate of the three cultivars, and significantly increased the water use efficiency of the plants. wj1 and mixed bacteria significantly enhanced the resistance of three cultivars of soybean. In addition to the total phosphorus content in leaves of Jiyu 406 effected by wj3 and mixed bacteria, others in the roots, stems and leaves were significantly higher than the control, and wj1 increased the most. Therefore, the comprehensive promotion of wj1 is better than wj3, and it is more suitable for agricultural production.

**Keywords:** Exogenous phosphorus-solubilizing bacteria; Soybean; Mass growth; Photosynthesis; Resistance; Total phosphorus content

在我国土壤全磷含量虽然较高,但多以难溶态存在于土壤中,难以被植物吸收利用<sup>[1]</sup>。磷是植物生长发育必需的营养元素,缺磷可导致农作物产量明显降低。为了获得高产,生产上反复施用大量磷素化肥,其中大约 70% 转化为难溶性化合物而储存在土壤中,这不仅耗竭有限的磷矿资源,还会给食物安全和生态环境造成不良影响<sup>[2]</sup>。

溶磷菌通过分泌各种酶类或有机酸来活化土壤中的难溶态磷,从而使植物可吸收的可溶性磷含

量增加,Peix 等<sup>[3]</sup>研究表明,溶磷菌菌液不仅能促进植株对磷的吸收,还促进植株对 N、K、Ca、Mg 营养元素的吸收。溶磷菌还可以增进土壤肥力、增强植物抗病和抗旱能力<sup>[4]</sup>。近年来,很多研究发现解磷菌对作物都有不同程度的促生作用,越来越多的溶磷菌肥应用到生产中<sup>[5]</sup>。王同等<sup>[6]</sup>研究发现接种溶磷菌能显著提高土壤有效磷含量,促进花生根瘤的形成以及地下部分的生长发育,提高双荚果比例和百仁重,增加果实中粗蛋白含量。郜春花等<sup>[7]</sup>

收稿日期:2015-07-30  
基金项目:国家自然科学基金(31201687)。  
第一作者简介:刘晶晶(1988-),女,硕士,主要从事植物生物化学研究。E-mail:15590677283@163.com。  
通讯作者:杨美英(1974-),女,博士,副教授,主要从事生物化学与分子生物学研究。E-mail:jlaumeiying@163.com。

用自行分离筛选的 B2 和 B67 解磷细菌制成解磷菌剂,进行小麦、玉米、甘蓝、青菜、苜蓿等的盆栽和大田对比试验,发现增产效果显著,并具有提高土壤速效磷含量和培肥土壤的作用。

大豆是我国最重要的油料作物,是需磷量较大的农作物之一,其籽粒含磷量远远高于水稻、小麦和玉米<sup>[8]</sup>。本试验研究了在盆栽条件下,加入外源溶磷菌 wj1、wj3 及其混合菌对 3 种大豆光合作用、抗逆作用、生长量以及含磷量的影响,以期为高效溶磷菌株的筛选利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株为假单胞菌属 *Pseudomonas* sp. wj1 (GenBank: KM975675.1) 和肠杆菌属 *Enterobacter* sp. wj3 (GenBank: KM975677),于 2012 年分离自大豆根际土壤中<sup>[9]</sup>。

3 个大豆栽培品种分别是吉育 47、吉育 99 和吉育 406,均由吉林省农业科学院大豆研究所选育,均为中度需磷品种。

供试土壤采自吉林农业大学大豆试验田,前茬为玉米,其土壤理化性质为:有机质含量为 26.7 g·kg<sup>-1</sup>,全氮 1.07 g·kg<sup>-1</sup>,碱解氮 90.44 mg·kg<sup>-1</sup>,全磷 1.26 g·kg<sup>-1</sup>,有效磷 34.15 mg·kg<sup>-1</sup>,全钾 2.2 g·kg<sup>-1</sup>,速效钾 92.5 mg·kg<sup>-1</sup>,pH6.36。

1.2 试验设计

试验于 2014 - 2015 年采用盆栽试验进行。试验共设 3 个处理,分别为加 wj1、wj3 和混合菌菌液处理,混合菌液为 wj1 和 wj3 菌液等量混合,以等量蒸馏水处理为对照。每个处理种 9 盆,3 次重复,每盆播种 5 粒大豆种子,定苗 3 株。每次随机挑选 3 株长势均匀的植株进行取样测定。移苗前施基肥,磷酸二铵(N 18% ;P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 46%)0.31 g·kg<sup>-1</sup>和氯化钾(K<sub>2</sub>O 60%)0.23 g·kg<sup>-1</sup><sup>[10-11]</sup>,生长期不施肥,正常管理。

1.3 试验方法

1.3.1 种子处理 将种子浸泡在 0.1% 的次氯酸钠溶液中 5 min,灭菌蒸馏水冲洗 3 次,然后把种子放在装有湿润滤纸的培养皿里,30℃ 恒温培养 2 d,保持水分充足<sup>[8]</sup>。2 d 后将幼苗转移至盆中。

1.3.2 菌液制备 将 wj1 和 wj3 菌株在 NBRIP 培养基中进行培养,40 h 后收集菌体,将菌体悬浮在灭菌蒸馏水中,调节菌体浓度为 1.0 × 10<sup>8</sup> CFU·mL<sup>-1</sup>,在移植前,取 1 mL 菌液加入穴中,混合菌液为 wj1 和

wj3 菌液各 0.5 mL,每穴移苗 1 株。

1.3.3 测定指标与方法 在盛花期时,测定植株各项生理指标。用长度法测量株高,重量法测量植株鲜重、根鲜重和单个根瘤鲜重,光合作用采用 LI-6400XT 光合作用仪进行测定;超氧化物歧化酶采用氮蓝四唑光化还原法<sup>[12]</sup>,过氧化物酶采用愈创木酚法<sup>[12]</sup>,过氧化氢酶采用 KMnO<sub>4</sub> 滴定法<sup>[12]</sup>。超氧阴离子自由基含量的测定采用羟胺氧化法<sup>[12]</sup>,游离脯氨酸采用茚三酮法<sup>[12]</sup>,可溶性糖含量测定采用蒽酮法<sup>[12]</sup>;植株全磷含量采用钒钼黄比色法<sup>[13]</sup>。

1.4 数据分析

采用 DPS 7.5 和 Excel 2003 进行数据处理分析。

2 结果与分析

2.1 不同菌液处理对大豆农艺性状的影响

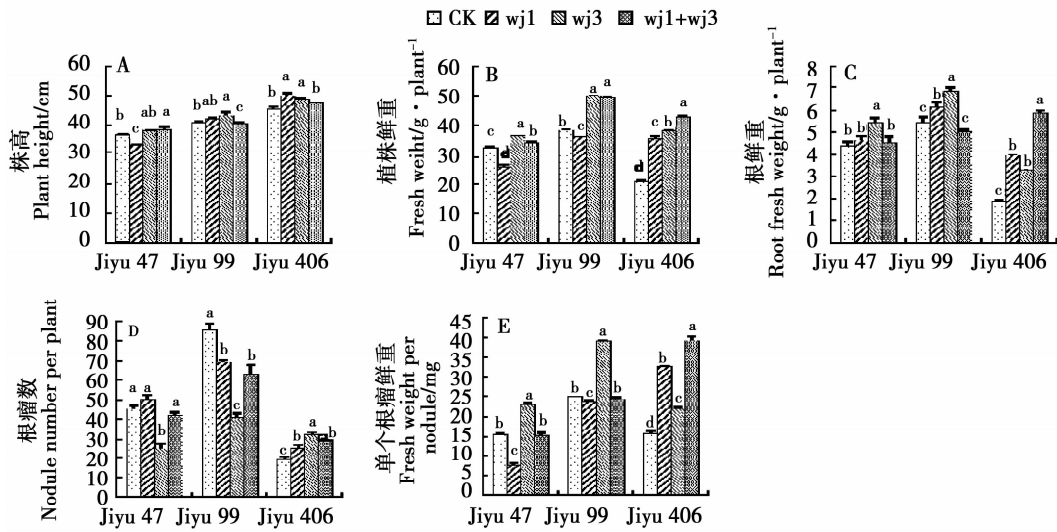
由图 1 可知,添加 wj3 菌液后对 3 个大豆品种植株鲜重、根鲜重和单个根瘤鲜重与对照相比都有显著的促进作用,wj1 + wj3 混合菌液处理后 3 个品种的植株鲜重都表现为显著增加,但该处理对吉育 406 根鲜重、根瘤数及单个根瘤鲜重的促进作用要明显优于其它两品种。wj1 处理对 3 个品种各指标的促生作用要略低于 wj3 处理,但该处理对吉育 406 各指标影响仍明显高于对照。可见,3 种处理对吉育 406 农艺性状均表现出明显的促生作用,而 wj1 和混合菌对吉育 47 和吉育 99 生长量促生能力低于 wj3。

2.2 不同菌液处理对大豆抗逆作用的影响

由图 2A 可以看出,混合菌菌液处理后 3 个品种叶片 SOD 活性较对照高,吉育 47 和吉育 99 两品种 SOD 活性显著高于对照,而 wj1 和 wj3 菌液处理 3 个品种后叶片 SOD 活性低于对照。说明,混合菌肥对植株 SOD 活性影响较大。3 种菌液处理均显著增加了吉育 47 和吉育 99 大豆叶片中过氧化物酶的活性。3 种菌液处理对吉育 406 的过氧化物酶活性反而比对照显著降低。说明溶磷菌处理对不同品种的过氧化物酶有不同的影响。添加 wj1 菌液对 3 种大豆叶片中过氧化氢酶活性都显著高于对照植株,而 wj3 和混合菌液处理对吉育 47 叶片中过氧化氢酶活性比对照有所增加。

wj1 和混合菌液处理均降低了 3 个品种叶片中超阴离子自由基含量,wj3 菌液处理与对照相比显著降低了吉育 99 和吉育 406 叶片中超氧阴离子自由基含量,而对吉育 47 叶片中超氧阴离子自由基含

量影响差异不显著。图 2E 显示,3 种处理显著降低了吉育 99 和吉育 406 叶片中游离脯氨酸的含量,对吉育 47 影响不大。由图 1F 看出,wj3 处理显著增加了吉育 99 和吉育 406 可溶性糖含量,而 wj1 显著增加了吉育 99 叶片中可溶性糖含量,混合菌液处理比对照显著增加了吉育 406 叶片中可溶性糖含量。



不同字母代表处理间 0.05 水平差异显著。下同。  
Different letters indicate significant difference between treatments. The same below.

图 1 不同菌液处理对 3 个大豆品种农艺性状影响

Fig. 1 Effect of different treatments on the agronomic traits of three soybean varieties

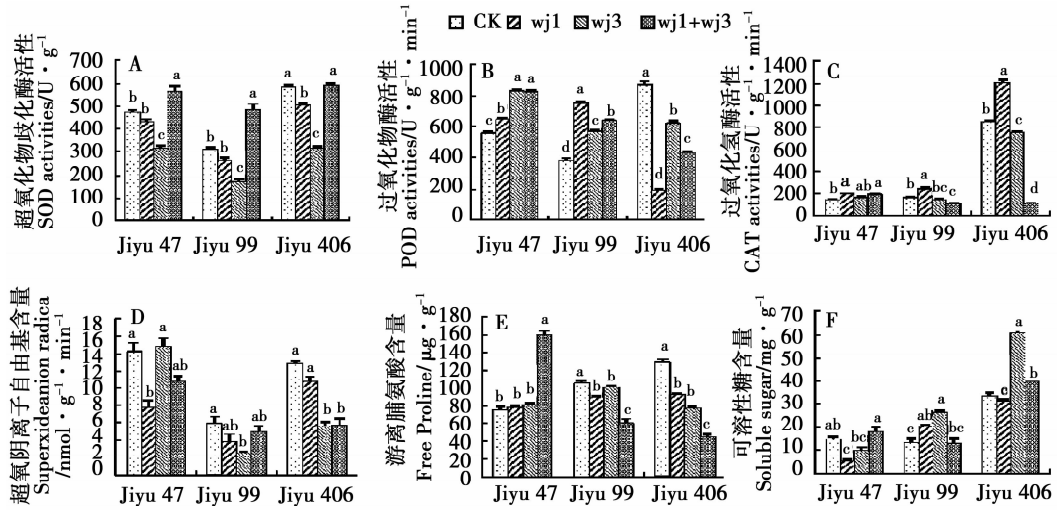


图 2 不同菌液处理对 3 个品种大豆叶片抗逆相关指标的影响

Fig. 2 The resistance effect chart of three varieties of soybean in leaves

2.3 不同菌液处理对大豆光合作用的影响

如图 3 所示,与对照相比,wj1 菌液处理显著增加了 3 个大豆品种的净光合速率和气孔导度,并显著增加吉育 47 和吉育 99 的蒸腾速率,同时显著增加了吉育 47 和吉育 406 的胞间 CO<sub>2</sub> 浓度。wj3 菌液处理显著增加了 3 个品种叶片胞间 CO<sub>2</sub> 浓度,同时对吉育 47 和吉育 406 净光合速率和气孔导度有显著性增加作用,而且显著性增加了吉育 47 的蒸腾速率和吉育 406 的水分利用率。混合菌液处理可显著降低 3 个品种的蒸腾速率,从而显著增加 3 个大豆

品种水分利用率。

2.4 不同菌液处理对大豆根茎叶全磷含量的影响

如图 4 所示,3 种大豆中,叶片所含的磷水平最高,其次是茎中,根中含量最低;除了叶片中 wj3 和混合菌液对吉育 406 影响不显著外,其它加菌处理的大豆根茎叶的全磷含量均比对照高,其中,wj1 处理与对照相比显著增加了 3 个品种大豆根茎叶中全磷含量。由此可见,外施溶磷菌对大豆吸收磷素有明显的促进作用。

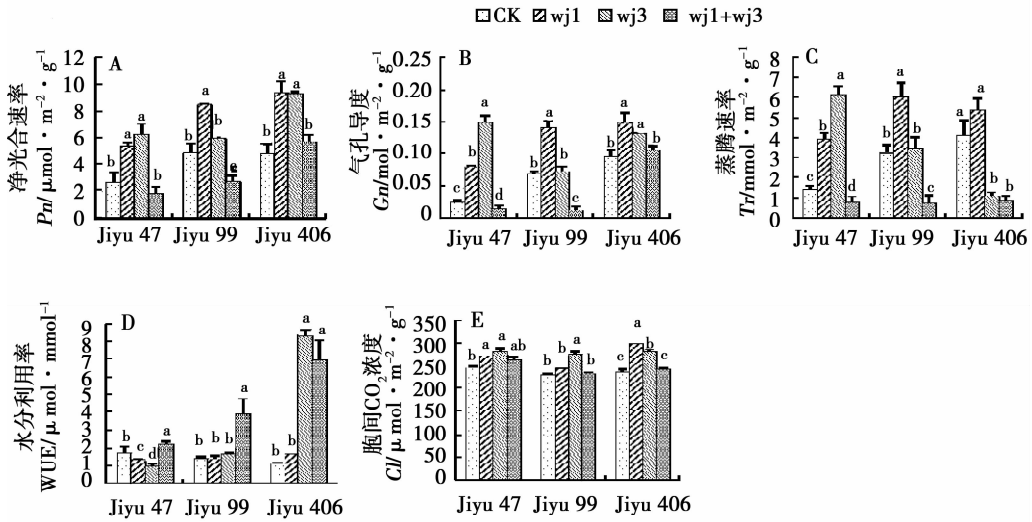


图3 不同菌液处理对3个大豆品种光合作用的影响

Fig. 3 Effect of different treatments on photosynthesis of three soybean varieties

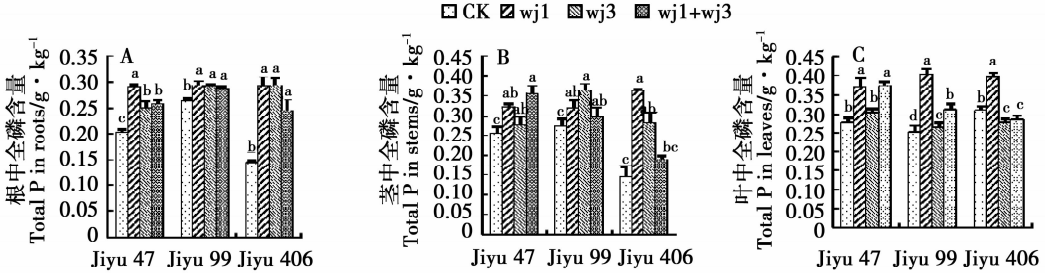


图4 不同菌液处理对3个大豆品种根茎叶中全磷含量的影响

Fig. 4 The total phosphorus content of three soybean varieties in root, stems and leaves

### 3 结论与讨论

大豆对磷素的吸收在不同生育时期也有所不同,其中以幼苗到开花期是对磷素需求最为敏感的阶段,此时缺磷将严重影响大豆的正常生长发育<sup>[7]</sup>,盛花期的营养对植株结荚和产量有重要影响。

在大豆生长发育过程中,磷能促进大豆光合作用,有利于种子氨基酸、蛋白质的积累,促进大豆形态建成<sup>[14]</sup>。余旋<sup>[15]</sup>研究表明接种4种解磷菌剂均可使核桃植株叶片净光合速率增加,同一施磷水平下,接种4种解磷菌剂均可使核桃植株叶片的蒸腾速率较对照有所上升。本研究结果发现添加溶磷菌后盛花期大豆的光合作用均有所增加,wj1菌液处理显著增加3个大豆品种的光合作用,并增加了3种大豆的蒸腾速率。wj3菌液处理增加了3个品种的光合作用,混合菌液处理显著增加3个大豆品种水分利用率。

白文娟等<sup>[16]</sup>研究表明溶磷细菌对玉米苗期生长有明显的促进作用,各处理苗期玉米的株高、茎粗、地上生物量、地下生物量、根长、根体积、叶绿素

含量均明显高于对照。同时与对照相比,各处理均显著提高了玉米植株和根系的全磷含量。段秀梅等<sup>[17]</sup>盆栽试验结果表明:单接种、双接种溶磷菌处理的玉米株高、植株干重和磷含量显著高于不接菌对照。Hameeda等<sup>[18]</sup>研究表明加入溶磷菌显著增加了植株株高、叶面积及植株干重,并显著增加了植株对磷和氮的吸收。本试验中wj1菌液和混合菌液处理显著提高了吉育406的生长量,wj3明显增加3个品种株高、地上部分和地下部分鲜重。除了叶片中wj3和混合菌液对吉育406植株全磷含量影响不明显外,其它处理植株中全磷含量都有所提高,wj1处理的3种大豆根茎叶全磷含量比其它处理都高,总体趋势为wj1 > wj3 > 混合菌 > CK。

郝晶等<sup>[19]</sup>研究表明施用解磷菌群能提高豌豆的抗逆、抗衰老能力。施入解磷菌群使过氧化物酶活性提高0.92%~44.8%;使过氧化氢酶活性提高1.01%~9.5%。本试验结果显示:混合菌液处理增加了3个品种SOD活性,3个处理对吉育47和吉育99叶片中过氧化物酶都有所提高,wj1对3个品种的过氧化氢酶都有显著性提高。除wj3对吉育47影响不显著外,其它处理都比对照降低了3种大

豆叶片中超氧阴离子自由基的含量。

综上,各种菌液处理对盛花期不同品种大豆的影响不同,3 种处理对吉育 406 农艺性状均表现出明显的促生作用,而 wj1 和混合菌对吉育 47 和吉育 99 生长量促生效果低于 wj3,显示出菌株对同一作物的不同品种保持了不同的促生作用。wj1 和混合菌处理可增加 3 个品种大豆抗性相关指标,wj1 和混合菌促生作用的一致性显示出有可能 wj1 在混合菌液中的促生作用更为重要,同时 wj1 提高植物抗性能力高于 wj3,可能与植株全磷含量有关。因此,wj1 的综合促生能力优于 wj3,更适合应用于农业生产中。

参考文献

[1] 陈哲,吴敏娜,秦红灵,等. 土壤微生物溶磷分子机理研究进展[J]. 土壤学报,2006,46(5):926-931. (Chen Z, Wu M N, Qin H L, et al. Advances in molecular mechanism of soil phosphorus dissolving microbes[J]. Journal of Soil, 2006, 46(5): 926-931. )

[2] 王莉晶,高晓蓉,孙嘉怡,等. 土壤解磷微生物作用机理及解磷菌肥对作物生长的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(14): 5948-5950. (Wang L J, Gao X R, Sun J Y, et al. Mechanisms of phosphorus dissolving microbes and the effects of microbial fertilizer on crop growth[J]. Anhui Agricultural Sciences, 2008, 36(14): 5948-5950. )

[3] Peix A, Rivas-Boyer A A, Mateos P F, et al. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium mediterraneum* under growth chamber conditions[J]. Soil Biology & Biochemistry[J], 2001, 33: 103-110.

[4] 邵玉芳,樊明寿,乌恩,等. 植物根际解磷细菌与植物生长发育[J]. 中国农学通报,2007,23(4):241-244. (Shao Y F, Fan M S, Wu E, et al. Phosphate-solubilizing bacteria in rhizosphere and its effect on plant growth[J]. Chinese Agricultural Science, 2007, 23(4): 241-244. )

[5] Behera B C, Singdevsachan S K, Mishra R R, et al. Diversity mechanism and biotechnology of phosphate solubilising microorganism in mangrove-A review[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2014, 3: 97-110.

[6] 王同,孔令雅,焦加国,等. 盆栽条件下溶磷菌对花生生长的影响[J]. 土壤,2014,46(2): 313-318. (Wang T, Kong L Y, Jiao J G, et al. Effect of phosphate-solubilizing bacteria on peanut growth under the condition of potted[J]. Soils, 2014, 46(2): 313-318. )

[7] 邵春花,王 岗,董云中. 解磷菌剂盆栽及大田施用效果[J]. 山西农业科学,2003,31(3):40-43. (Gao C H, Wang G, Dong Y Z. Effect of phosphate-solubilizing bacteria agent under the condition of potted and field [J]. Shanxi Agricultural Science, 2003, 31(3): 40-43. )

[8] 李喜焕,常文锁,张彩英. 中国大豆磷素营养及磷高效品种筛

选最新进展[J]. 大豆科学,2011,30(2):322-327. (Li X H, Chang W S, Zhang C Y. Advances of soybean phosphorus nutrition and high P-efficient germplasms screening in China[J]. Soybean Science, 2011, 30(2): 322-327. )

[9] 王春红. 大豆根际土壤溶无机磷细菌的溶磷特性研究[D]. 长春:吉林农业大学,2015. (Wang C H. Solubilizing properties of the inorganic phosphate-solubilizing bacteria isolated from soybean rhizosphere soil[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2015. )

[10] 王志刚,高强,冯国忠. 吉林省大豆施肥指标体系初步建立[J]. 大豆科学,2010,29(4):670-672. (Wang Z G, Gao Q, Feng G Z. Preliminary raising fertilization index system for soybean in Jilin Province [J]. Soybean Science, 2010, 29(4): 670-672. )

[11] Samina M, George L. Inoculation effects of *Pseudomonas putida*, *Gluconacetobacter azotocaptans*, and *Azospirillum lipoferum* on corn plant growth under greenhouse conditions[J]. Microbial Ecology, 2006, 51: 326-335.

[12] 张志安,张美善,魏荣海,等. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业科学技术出版社,2004. (Zhang Z A, Zhang M S, Wei R H, et al. Plant physiology experiments[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2004. )

[13] 赵月华. 植株全磷测定方法[J]. 科技与管理, 2012(2):64. (Zhao Y H. The determination methods of total phosphorus content in plant[J]. Science and Technology Management, 2012(2): 64. )

[14] 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. Research of phosphorus nutrition on soybean[J]. Chinese Agricultural Science, 1999, 32(3): 59-65. )

[15] 余旋. 四川核桃主产区根际解磷细菌研究[D]. 雅安:四川农业大学,2011. (Yu X. A study on phosphate-solubilizing bacteria of rhizosphere soil in walnut plant grown in Sichuan province[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2011. )

[16] 白文娟,胡蓉蓉,章家恩,等. 溶磷菌对玉米苗期生长和磷素吸收的影响[J]. 生态科学,2014,3(3):401-407. (Bai W J, Hu R R, Zhang J E, et al. Effects of phosphate-solubilizing bacteria on growth and phosphorus uptake of corn seedling[J]. Ecological Science, 2014, 33(3): 401-407. )

[17] 段秀梅,高晓蓉,吕军,等. 两株土壤分离菌的解磷能力及对玉米的促生作用[J]. 中国土壤与肥料,2010(2):79-85. (Duan X M, Gao X R, Lyu J, et al. Phosphate-solubilizing capacity of two strains isolated from soil and promoting effect on corn[J]. Chinese Soils and Fertilizers, 2010(2):79-85. )

[18] Hameeda B, Harini G, Rupela O P, et al. Growth promotion of maize by phosphate-solubilizing bacteria isolated from composts and macrofauna [J]. Microbiological Research, 2008, 163: 234-242.

[19] 郝晶,洪坚平,刘冰,等. 不同解磷菌群对豌豆生长和产量影响的研究[J]. 作物杂志,2006(1):73-76. (Hao J, Hong J P, Liu B, et al. Research of different phosphate-solubilizing bacteria on growth and yield of pea[J]. Crops, 2006(1): 73-76. )