

根瘤菌和复合促生菌对大豆结瘤和生长的影响

李艳萍<sup>1,2</sup>, 张 敏<sup>1</sup>, 袁 梅<sup>1</sup>, 陈劲伊<sup>2</sup>, 邓祖科<sup>1,2</sup>, 杨升辉<sup>3</sup>, 陈文浩<sup>3</sup>, 陈文峰<sup>3</sup>

(1. 北京世纪阿姆斯生物技术有限公司, 北京 100193; 2. 首都生物肥料科技创新服务联盟, 北京 101299; 3. 中国农业大学根瘤菌研究中心, 北京 100193)

**摘 要:**为了研究不同根瘤菌和复合促生菌单独使用及复合后对大豆结瘤和生长的影响。采用大豆单独接种 2 种快生大豆根瘤菌、2 种慢生大豆根瘤菌及根瘤菌分别与复合促生菌交叉接种, 再种植的方法, 观察大豆结瘤与生长情况。结果表明: (1) 大豆结荚初期大豆快生和慢生根瘤菌处理的大豆地上部鲜重、地下部鲜重、结荚数、豆荚鲜重等生物学性状显著优于其它处理; 快生根瘤菌处理的大豆结瘤率显著高于其它处理, 慢生根瘤菌处理的总根瘤数和根瘤重量显著高于其它处理; (2) 大豆结荚后期, 对照处理的地上部鲜重、根鲜重显著高于其它处理, 慢生根瘤菌和复合促生菌处理的根瘤数显著高于其它处理, 快生根瘤菌剂处理的大豆粗蛋白含量显著高于其它处理, 而复合促生菌处理的大豆产量显著高于其它处理。虽然快生根瘤菌两处理有利于地上部、地下部、有效根瘤数、土壤碱解氮的提升, 但复合促生菌处理的大豆产量、土壤速效磷和土壤有效钾都显著高于其它处理, 因此表明复合促生菌处理能增加大豆产量。

**关键词:**大豆; 根瘤菌; 复合促生菌  
**中图分类号:** S565. 1      **文献标识码:** A      **DOI:** 10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2017. 04. 0583

Influence of Combination of Rhizobia and Compound Growth-promoting Bacteria on the Nodulation and Growth of Soybean

LI Yan-ping<sup>1,2</sup>, ZHANG Min<sup>1</sup>, YUAN Mei<sup>1</sup>, CHEN Jin-yi<sup>2</sup>, DENG Zu-ke<sup>1,2</sup>, YANG Sheng-hui<sup>3</sup>, CHEN Wen-hao<sup>3</sup>, CHEN Wen-feng<sup>3</sup>

(1. Beijing Century AMMS Bio-technique Co. Ltd., Beijing 101299, China; 2. Capital Bio-fertilizer Technology Innovation Service Alliance, Beijing, 1012999, China; 3. Rhizobium Research Center of China Agricultural University, Beijing 1001939, China)

**Abstract:** To study the influence of combination of rhizobia and compound growth-promoting bacteria on the nodulation and growth of soybean, two fast-growing and two slow-growing soybean rhizobia combined with growth-promoting bacteria separately were used to inoculate soybean to observe the nodulation and soybean growth. The result indicated that as follows: (1) At the beginning of soybean podding, the fresh weight of above ground and underground part, pods number, pod fresh weight of the soybean inoculated with fast-growing and slow-growing rhizobia were significantly higher than other treatments. The nodule rate of soybean inoculated with fast-grower was significantly higher than others, while the total nodules number and nodule weight of soybean inoculated with slow-grower were significantly higher than others. (2) At the end of soybean podding, the fresh weight of above ground part and root were significantly higher than others. The nodules number of soybean inoculated with combination of slow-growing rhizobia and growth promoting bacteria were significantly higher than others, while the yield of soybean inoculated with only growth promoting bacteria was significantly higher than others. Inoculation of rhizobia solely to soybean could increase the pods number, pod fresh weight, fresh weight of above ground and underground part, inoculation with growth promoting bacteria solely could also increase the yield of soybean.

**Keywords:** Soybean; Rhizobia; Compound plant-growth promoting bacteria

根瘤菌是一类生活在土壤中的革兰氏阴性杆状细菌, 作为一类有益微生物, 对农业生产具有重要作用, 在适宜的条件下, 根瘤菌能侵染豆科植物并与之进行共生结瘤固氮。据估计所固定的氮约占生物固氮总量的 65%, 对提高豆类产量起着至关重要的作用。随着研究的深入, 土壤及根际环境中的非共生根瘤菌在重金属修复、土壤污染物降解、

植物促生作用、生物防治、纤维素降解等功能相继被报道<sup>[1]</sup>。有研究表明根瘤菌不仅存在于豆科植物根系中, 在水稻及其它非豆科作物中普遍存在, 并对植物的生长起着有益的促进作用, 但根瘤菌与非豆科植物并不能形成根瘤<sup>[2-3]</sup>, 其促生作用可能并非是生物固氮, 而是产生植物激素、影响根的发育、促进土壤中营养元素的吸收等<sup>[4-7]</sup>。吴显峰<sup>[8]</sup>

收稿日期: 2017-02-21  
基金项目: 中国农业大学基本科研业务费专项资金 (2017TC030)。  
第一作者简介: 李艳萍 (1982 - ), 女, 硕士, 中级农艺师, 主要从事果树学研究。E-mail: lypmm@126.com。  
通讯作者: 陈文峰 (1972 - ), 男, 博士, 副教授, 主要从事根瘤菌资源及应用研究。E-mail: chenwf@cau.edu.cn。

应用大豆根瘤菌剂接种大豆,结果表明应用大豆根瘤菌剂拌种处理比未用根瘤菌剂拌种处理产量增加13%,效益增加18%,大大减少化肥施用量,因此豆科植物接种大豆根瘤菌以提高其固氮效率和经济效益,有很好的应用价值。

根瘤菌接种剂在农业实际生产中的应用近一个世纪<sup>[9]</sup>,我国应用根瘤菌的报道也有近50年的历史<sup>[10]</sup>。目前共生固氮的基础研究已达到国际先进水平,尽管如此,由于我国根瘤菌剂产业起始阶段发酵水平低、保质期短和技术不成熟、质量不过关等问题,使根瘤菌剂的产业化和大规模推广应用受到限制,虽然我国大豆种植约800万hm<sup>2</sup>,但与大豆生产大国30%~60%以上的根瘤菌剂接种面积相比,我国不足3%,与国外相比差距甚大<sup>[11]</sup>。人们长期依靠化学肥料的投入来维持作物产量,长期使用导致土壤酸化<sup>[12]</sup>等一系列环境问题。过量施用硝态氮肥,残存在植物体内的硝酸根离子含量就高,可进一步转化为亚硝酸胺,而亚硝酸胺是致癌物质,因此氮肥的过量施用不仅会导致土壤理化性状恶化,也会威胁人们的健康<sup>[13-14]</sup>。因此有必要加大对根瘤菌剂的研究与开发力度,提高根瘤菌固氮效率,推广根瘤菌的应用面积<sup>[15]</sup>。如何提高大豆根瘤菌的共生结瘤和固氮效率,针对性地选育出适合某地区某土壤类型主栽品种的高固氮力、高竞争结瘤能力的优良菌株,通过大豆根瘤菌和促生微生物相互作用关系研究,选出具有提高大豆根瘤菌结瘤能力和效果的促生微生物,开发出新型复合的大豆根瘤菌剂是现代根瘤菌剂研究的主要方向<sup>[16]</sup>。

根瘤菌剂的应用不仅可以提高大豆固氮能力,减少氮肥使用量,缓解由于氮肥过量施用带来的危害,对改善土壤结构、降低成本、实现农业可持续发展具有重要意义。近年来国家提出减肥增效,化学肥料零增长等一系列政策,微生物肥料无疑为现代农业的发展提供了新的方向。筛选出高效固氮的根瘤菌株,以进一步提高根瘤菌菌种的固氮效能、结瘤能力和竞争抗逆能力是提高根瘤菌的应用效果面临的关键问题。本研究旨在探索大豆接种不同根瘤菌剂和混合接种复合促生菌和根瘤菌对大豆结瘤情况、大豆产量和品质的影响,筛选出高效菌株和菌种的最佳组合,为在生产上推广普及大豆根瘤菌剂应用技术提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试大豆品种 大豆品种:徐豆18,由山东济宁圣丰种业提供。

1.1.2 供试菌种 根瘤菌:快生根瘤菌1(菌株编号CCBAU 45436);快生根瘤菌2(菌株编号J18-13);慢生根瘤菌1(菌株编号USDA 110);慢生根瘤菌剂2(菌株编号LY)。根瘤菌均由中国农业大学生根瘤菌研究中心提供。每个菌株用YMA液体培养基培养到对数生长期,菌数达到 $1 \times 10^8$ 个·mL<sup>-1</sup>以上后使用。

复合促生菌:枯草芽孢杆菌( $3.6 \times 10^8$ 个·g<sup>-1</sup>)、胶冻芽孢杆菌( $3.1 \times 10^7$ 个·g<sup>-1</sup>)、巨大芽孢杆菌( $5.5 \times 10^8$ 个·g<sup>-1</sup>)由北京世纪阿姆斯生物技术有限公司提供。

1.1.3 试验试剂 YMA培养基:甘露醇10g,酵母粉3g,无水MgSO<sub>4</sub> 0.2g,NaCl 0.1g,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.25g,KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.25g,琼脂粉2%,pH7.0,蒸馏水定容到1000mL。不加琼脂粉的液体培养基用于液体培养根瘤菌。

黄腐酸:固体。使用前用水溶解,使用时的终浓度为0.5g·L<sup>-1</sup>。

中微量元素液(1×):Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 0.03g,CaSO<sub>4</sub> 0.46g,KCl 0.075g,MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.06g,K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.136g,柠檬酸铁 0.075g,微量元素1mL,去离子水定容至1000mL,15磅灭菌30min。微量元素(1×):ZnSO<sub>4</sub> 0.22g,MnSO<sub>4</sub> 1.81g,H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 2.86g,CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.8g,H<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub> 0.02g,去离子水溶解并定容到1000mL,15磅灭菌30min。使用时,将中微量元素以1mL·L<sup>-1</sup>菌剂的量加到根瘤菌培养液或复合促生菌中。

上述试剂中,酵母粉来自英国Oxoid公司,黄腐酸由中国农业大学袁红莉教授惠赠,系由褐煤经过微生物发酵后提取的产品;其它试剂均为市售化学纯试剂。

1.2 试验设计

试验在北京世纪阿姆斯生物技术有限公司试验基地进行,土壤类型为潮土。其理化性质为:土壤pH6.79,土壤有机质为14.08g·kg<sup>-1</sup>,土壤碱解氮为45.91mg·kg<sup>-1</sup>,土壤速效钾151.49mg·kg<sup>-1</sup>,土壤速效磷36.91mg·kg<sup>-1</sup>。大豆种子接种预处理后于2016年6月22日种植,每个小区面积为8m<sup>2</sup>,设置12个小区。在试验田中进行开沟种植,行距50cm,每穴播种2粒种子,株距10cm,进行覆土平整,出苗后进行间苗,每穴只留1棵苗。大豆结荚初期,每个重复随机取5株,测定株高、分枝数、地上部鲜重、结荚数、豆荚鲜重、根鲜重、总根瘤重、总根瘤数、粉色根瘤数、结瘤率。大豆结荚后期,每个重复随机取5株,测定地上部鲜重、根鲜重、根瘤数、大豆产量、百粒重、豆荚鲜重、结荚数,测定大豆全氮、全

磷、全钾、粗蛋白,测定土壤碱解氮、速效磷、有效钾。

大豆种子处理为:接种快生根瘤菌 1 (K1);接种快生根瘤菌 2 (K2);接种慢生根瘤菌 1 (M1);接种慢生根瘤菌 2 (M2);接种复合促生菌(F);接种快生根瘤菌 1 和复合促生菌(K1 + F);接种快生根瘤

菌 2 和复合促生菌(K2 + F);接种慢生根瘤菌 1 和复合促生菌(M1 + F);接种慢生根瘤菌 2 和复合促生菌(M2 + F);不接种只添加 YMA 液体培养基、黄腐酸和中微量元素(Y);不做任何处理(CK)。具体试验设计如表 1 所示。

表 1 试验设计与编号说明

Table 1 Experimental design and number description			
编号	说明	编号	说明
Code	Instruction	Code	Instruction
K1	快生根瘤菌 1	K1 + F	快生根瘤菌 1 + 复合促生菌
K2	快生根瘤菌 2	K2 + F	快生根瘤菌 2 + 复合促生菌
M1	慢生根瘤菌 1	M1 + F	慢生根瘤菌 1 + 复合促生菌物
M2	慢生根瘤菌 2	M2 + F	慢生根瘤菌 2 + 复合促生菌
Y	对照,YMA 液体培养基、只含黄腐酸和中微量元素	F	复合促生菌
CK	对照,未做任何处理		

1.3 试验方法

1.3.1 种子预处理 使用根瘤菌、复合促生菌、黄腐酸、中微量元素拌种,各处理如表 1 所示。各处理以液体使用,用量为每 1 kg 大豆种子使用 3 mL 的液体拌种。根瘤菌培养到对数生长期时添加黄腐酸(终浓度为 0.5 g·L<sup>-1</sup>)及中微量元素(1 mL·L<sup>-1</sup>)后可直接拌种大豆使用;复合促生菌加水稀释后添加黄腐酸、中微量元素拌种,用量同上;根瘤菌与复合促生菌以 1:1 混合后,也添加黄腐酸及中微量元素,用量同上。以没有根瘤菌和复合促生菌,只含黄腐酸及中微量元素的 YMA 液体培养基为对照 Y;没有任何处理的为对照 CK。大豆种子拌种后立即播种。

1.3.2 大豆生物性状的测定 取样时按地上部和根分开,分别对地上部分枝数、地上部鲜重、豆荚鲜重、豆荚数量、根鲜重、根瘤数、粉色根瘤数、产量、百粒重进行测定。

1.3.3 大豆营养成分和土壤化学性质的测定 将大豆籽粒样品粉碎,用 N、P、K 联合测定消煮法进行消煮,然后分别用凯氏定氮法、钼锑抗比色法和火焰光度计法对果实中 N、P、K 进行测定<sup>[17]</sup>。

1.3.4 大豆粗蛋白含量 粗蛋白质含量 = 全氮 × 6.25<sup>[18]</sup>。

1.4 数据分析

利用 Excel 2010 绘图与作表;利用 SPSS 19.0,采用单因素方差分析法(one-way ANOVA)和 Duncan 多重比较法来评价不同指标的差异显著性,采用 Pearson 相关系数检验法分析不同指标间的相关性。

2 结果与分析

2.1 结荚初期不同微生物菌剂对大豆地上部生物性状的影响

从如表 2 所示,CK 和 F 处理的株高较高,但各处理间差异不显著;CK 处理的分枝数与其它处理相比较少,且 CK 处理的分枝数显著少于快生根瘤菌剂 1、快生根瘤菌剂 2、慢生根瘤菌剂 1 和快生根瘤菌剂 2 + 复合促生菌,表明快生根瘤菌剂 1、快生根瘤菌剂 2 和慢生根瘤菌剂 1 根瘤菌剂的添加有利于增加大豆地上部的分枝数;CK 的地上部鲜重最低,且 CK 处理显著低于快生根瘤菌剂 1、快生根瘤菌剂 2、慢生根瘤菌剂 1 和快生根瘤菌剂 2 + 复合促生菌,表明快生根瘤菌剂 1、快生根瘤菌剂 2 和慢生根瘤菌剂 1 的添加有利于增加大豆地上部鲜重;结荚数 CK 处理最低,且快生根瘤菌剂 1 处理显著高于 CK 处理,表明快生根瘤菌剂 1 根瘤菌剂的添加能显著增加大豆的结荚数,快生根瘤菌剂 1 + 复合促生菌处理显著低于快生根瘤菌剂 1 处理,表明复合促生菌的添加抑制大豆的结荚数;豆荚鲜重 CK 处理低于其它处理,快生根瘤菌剂 1 显著高于 CK 处理,表明快生根瘤菌剂 1 根瘤菌剂的添加能显著增加大豆的豆荚鲜重( $P < 0.05$ )。

2.2 结荚初期不同微生物菌剂对大豆地下部生物性状的影响

如表 3 所示,CK 处理根鲜重在所有处理中最低,且显著低于快生根瘤菌剂 1、快生根瘤菌剂 2、慢生根瘤菌剂 1、慢生根瘤菌剂 2、复合微生物菌剂和快生根瘤菌剂 2 + 复合促生菌,表明快生根瘤菌剂 1、快生根瘤菌剂 2、慢生根瘤菌剂 1 和慢生根瘤菌

剂2根瘤菌剂的添加有利于增加大豆根鲜重;慢生根瘤菌剂1+复合促生菌处理的总根瘤重最低,CK处理显著低于快生根瘤菌剂1、慢生根瘤菌剂1和慢生根瘤菌剂2。慢生根瘤菌剂2+复合促生菌处理的总根瘤重显著低于慢生根瘤菌剂2处理,表明复合微生物菌剂的添加对慢生根瘤菌剂1和慢生根瘤菌剂2根瘤菌处理的总根瘤重有抑制作用;CK和快生根瘤菌剂1+复合促生菌处理的总根瘤数与其它处理相比较低,但各处理间差异不显著;CK和快生根瘤菌剂1+复合促生菌处理的粉色根瘤数在所有处理中相对较少,且快生根瘤菌剂1、快生根瘤菌

剂2、慢生根瘤菌剂1、慢生根瘤菌剂2、复合微生物菌剂、快生根瘤菌剂2+复合促生菌显著高于CK;CK处理的根瘤率最低,且快生根瘤菌剂1、快生根瘤菌剂2、慢生根瘤菌剂1、慢生根瘤菌剂2、复合促生菌、快生根瘤菌剂2+复合促生菌、慢生根瘤菌剂1+复合促生菌显著高于CK处理。快生根瘤菌剂1+复合促生菌和慢生根瘤菌剂1+复合促生菌处理的根瘤率显著低于快生根瘤菌剂1和慢生根瘤菌剂1,表明复合微生物菌剂的添加对快生根瘤菌剂1和慢生根瘤菌剂1根瘤菌的根瘤率有抑制作用( $P < 0.05$ )。

表2 大豆结荚初期地上部生物性状

Table 2 Biological characters of aboveground of soybean at the beginning of poddding

处理 Treatment	株高 Plant height /cm	分枝数 Branch number	地上部鲜重 Shoot fresh weight per plant/g	结荚数 Pods number per plant	豆荚鲜重 Pod fresh weight per plant /g
K1	153.87 ± 6.24 a	5 ± 0.42 a	282.00 ± 48.66 ab	134 ± 18.60 a	60.67 ± 7.57 a
K2	159.07 ± 5.86 a	5 ± 1.60 a	313.33 ± 58.29 a	111 ± 28.85 ab	54.00 ± 10.00 ab
M1	147.27 ± 10.69 a	5 ± 1.60 a	258.00 ± 71.36 abc	101 ± 39.76 ab	53.33 ± 26.10 ab
M2	155.07 ± 5.78 a	4 ± 0.31 ab	201.33 ± 15.01 cdef	82 ± 6.17 b	49.33 ± 5.03 ab
F	163.80 ± 3.22 a	4 ± 0.23 ab	254.67 ± 47.17 abcd	87 ± 39.92 b	52.00 ± 25.06 ab
K1 + F	152.93 ± 20.33 a	3 ± 0.50 ab	196.67 ± 14.47 cdef	87 ± 14.96 b	45.33 ± 14.74 ab
K2 + F	150.60 ± 16.67 a	4 ± 0.31 a	224.67 ± 13.32 bede	112 ± 24.07 ab	50.67 ± 3.06 ab
M1 + F	153.80 ± 3.29 a	3 ± 0.81 ab	184.67 ± 18.15 def	97 ± 19.43 ab	42.00 ± 8.72 ab
M2 + F	159.47 ± 17.89 a	4 ± 0.99 ab	181.33 ± 33.84 ef	103 ± 21.06 ab	32.67 ± 16.17 b
CK	163.40 ± 9.90 a	3 ± 0.61 b	135.33 ± 22.03 f	67 ± 11.83 b	28.00 ± 5.29 b
Y	162.93 ± 13.57 a	4 ± 0.20 ab	168.67 ± 11.72 ef	81 ± 10.80 ab	28.67 ± 5.03 b

同一列不同字母表示处理间差异显著, $P < 0.05$ 。下同。  
Different letters represent significant in the 0.05 level at same column. The same below.

表3 大豆结荚初期地下部生物性状

Table 3 Biological characters of underground of soybean at the beginning of podding

处理 Treatment	根鲜重 Root fresh weight per plant/g	总根瘤重 Nodule fresh weight per plant/g	总根瘤数 Nodule numbers per plant	粉色根瘤 Pink nodule number per plant	结瘤率 Nodule rate /%
K1	21.33 ± 6.11 a	1.47 ± 0.17 ab	73 ± 27.91 a	32 ± 12.90 abc	43.78 ± 1.86 ab
K2	24.00 ± 3.46 a	1.20 ± 0.68 abcd	65 ± 36.81 a	43 ± 22.49 ab	67.66 ± 7.25 a
M1	23.33 ± 8.08 a	1.34 ± 0.15 bcd	74 ± 14.48 a	46 ± 10.80 a	61.62 ± 11.36 a
M2	21.33 ± 2.31 a	1.67 ± 0.34 a	87 ± 12.32 a	40 ± 13.20 ab	46.09 ± 15.30 ab
F	23.33 ± 9.24 a	1.09 ± 0.75 abcd	59 ± 16.20 a	32 ± 21.20 abc	51.06 ± 20.43 ab
K1 + F	14.67 ± 1.15 ab	0.82 ± 0.39 bcd	47 ± 18.15 a	9 ± 4.61 cd	17.81 ± 2.61 cd
K2 + F	22.00 ± 4.00 a	1.12 ± 0.11 abcd	73 ± 9.89 a	36 ± 11.61 ab	50.51 ± 18.23 ab
M1 + F	16.67 ± 3.06 ab	0.46 ± 0.40 d	64 ± 23.61 a	18 ± 2.66 bcd	31.10 ± 11.68 bc
M2 + F	14.67 ± 4.16 ab	0.80 ± 0.27 bcd	81 ± 25.24 a	22 ± 18.00 abcd	27.79 ± 20.53 bcd
CK	12.00 ± 2.00 b	0.70 ± 0.22 cd	50 ± 28.59 a	3 ± 1.46 d	4.52 ± 1.95 d
Y	14.67 ± 1.15 ab	0.72 ± 0.24 bcd	63 ± 16.11 a	10 ± 4.85 cd	17.67 ± 13.94 cd

2.3 结荚后期不同微生物菌剂对大豆生物性状的影响

慢生根瘤菌 1 + 复合促生菌处理的根瘤数显著高于其它处理(表 4)。

CK 处理的地上部鲜重和根重高于其它处理,

表 4 大豆结荚后期生物性状

Table 4 Biological characters of soybean at the end of podding

处理 Treatment	地上部鲜重 Shoot fresh weight/kg	根鲜重 Root fresh weight/g	根瘤数 Nodule number
K1	0.18 ± 0.10 b	17.35 ± 9.95 b	42.67 ± 16.65 bc
K2	0.20 ± 0.06 ab	20.99 ± 6.62 b	68.00 ± 37.24 bc
M1	0.29 ± 0.10 ab	19.58 ± 7.33 b	54.00 ± 18.25 bc
M2	0.23 ± 0.05 ab	19.82 ± 6.92 b	113.33 ± 27.74 b
F	0.18 ± 0.06 b	13.80 ± 6.03 b	33.00 ± 37.32 c
K1 + F	0.29 ± 0.03 b	28.86 ± 7.40 ab	70.00 ± 29.87 bc
K2 + F	0.17 ± 0.05 b	21.04 ± 8.73 b	81.33 ± 27.39 bc
M1 + F	0.30 ± 0.03 ab	28.44 ± 5.22 ab	216.00 ± 66.78 a
M2 + F	0.27 ± 0.05 ab	24.67 ± 5.12 ab	111.00 ± 51.12 b
CK	0.34 ± 0.14 a	37.62 ± 5.81 a	83.33 ± 21.01 bc
Y	0.25 ± 0.11 ab	28.15 ± 12.32 ab	56.67 ± 42.39 bc

2.4 结荚后期微生物菌剂对土壤理化性状的影响

收获后期快生根瘤菌 2 处理的土壤碱解氮显著高于其它处理,复合促生菌处理的土壤有效磷显著高于其它处理,复合促生菌和慢生根瘤菌 1 + 复合

促生菌处理的土壤速效钾显著高于其它处理,表明快生根瘤菌 2 可以增加土壤有效氮的含量,复合促生菌处理可以增加土壤有效磷和速效钾含量(表 5)。

表 5 大豆收获后土壤理化性状

Table 5 Chemical properties of soil after harvest (mg·kg<sup>-1</sup>)

处理 Treatment	碱解氮 Alkali-hydrolyzable N	有效磷 Available P	速效钾 Available K
K1	35.64 ± 1.70 e	41.42 ± 0.15 d	165.55 ± 3.58 e
K2	57.53 ± 0.04 a	48.54 ± 0.05 b	187.43 ± 2.06 c
M1	24.27 ± 1.33 g	20.65 ± 0.25 i	136.39 ± 4.95 f
M2	25.04 ± 0.02 g	43.10 ± 0.15 c	188.89 ± 5.49 c
F	43.60 ± 0.03 bc	57.21 ± 1.13 a	226.80 ± 2.67 a
K1 + F	30.19 ± 0.07 f	41.45 ± 0.10 d	162.64 ± 1.30 e
K2 + F	37.10 ± 0.22 de	35.66 ± 0.96 f	188.89 ± 5.18 c
M1 + F	37.86 ± 1.67 d	31.99 ± 0.03 g	215.14 ± 0.37 a
M2 + F	42.00 ± 0.05 c	37.67 ± 0.25 e	162.64 ± 0.52 e
CK	44.24 ± 0.03 b	28.57 ± 1.12 h	174.30 ± 3.24 d
Y	30.58 ± 0.01 bf	29.59 ± 0.10 h	168.47 ± 2.56 de

2.5 结荚后期不同微生物菌剂对大豆产量的影响

快生根瘤菌 1、2 和复合促生菌处理的产量显著高于对照分别增产 2.57,2.46,3.02 倍(表 6)。快生根瘤菌 2 + 复合促生菌处理的大豆百粒重显著高

于 CK 处理,快生根瘤菌 1 + 复合促生菌处理的大豆豆荚重最高,CK 处理的结荚数最高,但豆荚鲜重和百粒重较低。

表 6 大豆产量性状  
Table 6 Yield traits of soybean

处理 Treatment	大豆产量 Soybean yield /(kg·hm <sup>-2</sup> )	百粒重 100-seed weight /g	豆荚重 Pod weight /g	结荚数 Pod number
K1	127.68 ± 17.85 a	56.27 ± 5.75 abc	94.25 ± 49.55 ab	92.00 ± 73.99 ab
K2	123.71 ± 26.54 a	52.55 ± 8.92 abc	117.14 ± 20.51 ab	142.33 ± 43.75 ab
M1	106.40 ± 80.32 ab	61.78 ± 7.13 ab	119.30 ± 56.53 ab	117.00 ± 41.04 ab
M2	40.18 ± 29.22 c	51.25 ± 17.42 abc	67.93 ± 13.87 ab	114.67 ± 15.53 ab
F	143.56 ± 15.99 a	59.64 ± 4.49 abc	116.10 ± 46.88 ab	105.00 ± 41.58 ab
K1 + F	18.26 ± 26.13 c	43.89 ± 16.49 bc	121.76 ± 30.77 a	161.33 ± 31.79 ab
K2 + F	42.08 ± 26.21 bc	64.87 ± 1.41 a	83.30 ± 7.50 ab	101.33 ± 34.96 ab
M1 + F	37.00 ± 2.25 c	41.37 ± 7.33 c	81.98 ± 20.79 ab	111.00 ± 32.08 ab
M2 + F	55.27 ± 10.18 c	47.55 ± 11.26 abc	95.95 ± 18.79 ab	113.67 ± 20.03 ab
CK	35.73 ± 15.22 c	42.26 ± 4.81 c	112.65 ± 11.76 ab	178.00 ± 28.00 a
Y	45.58 ± 12.52 c	50.80 ± 10.49 abc	52.59 ± 48.44 b	84.67 ± 81.30 b

2.6 结荚后期不同微生物菌剂对大豆养分和粗蛋白含量的影响

收获后快生根瘤菌 2 和慢生根瘤菌剂 2 处理的大豆全氮和粗蛋白含量高于其它处理,而复合促生菌、快生根瘤菌剂 1 和 Y 处理的全磷含量显著高于

其它几个处理,快生根瘤菌 1 + 复合促生菌处理的全钾含量显著高于其它处理。表明快生根瘤菌剂 2 根瘤菌剂的处理可以提高大豆种氮元素的积累,进而提高大豆粗蛋白含量(表 7)。

表 7 大豆养分和粗蛋白含量  
Table 7 Soybean protein and nutrient content (mg·kg<sup>-1</sup>)

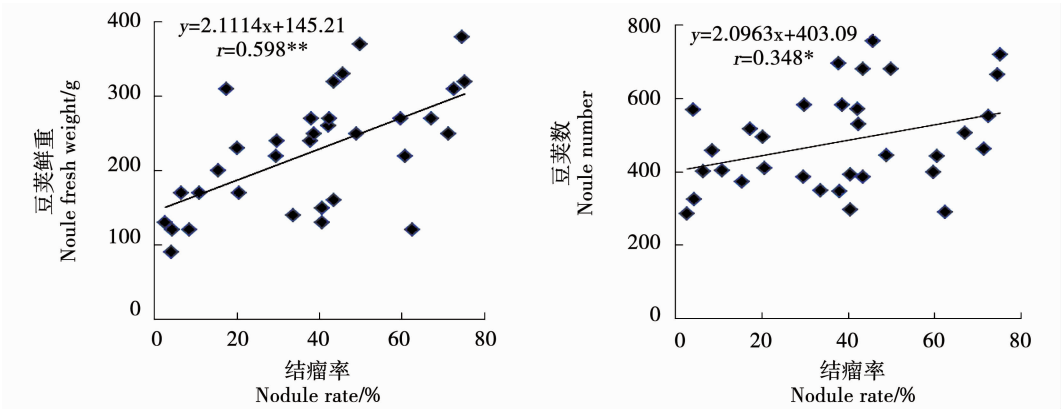
处理 Treatment	粗蛋白 Crude protein content	全氮 Total-N	全磷 Total-P	全钾 Total-K
K1	7.63 ± 0.09 d	1.22 ± 0.01 d	0.13 ± 0.01 a	0.33 ± 0.01 b
K2	9.50 ± 0.27 a	1.52 ± 0.04 a	0.11 ± 0.02 a	0.27 ± 0.01 c
M1	5.13 ± 0.09 g	0.82 ± 0.01 de	0.10 ± 0.02 a	0.06 ± 0.01 c
M2	9.31 ± 0.18 a	1.49 ± 0.03 de	0.10 ± 0.01 a	0.18 ± 0.01 c
F	8.13 ± 0.18 c	1.30 ± 0.03 c	0.13 ± 0.01 a	0.19 ± 0.01 d
K1 + F	7.13 ± 0.09 e	1.14 ± 0.01 e	0.12 ± 0.01 a	0.45 ± 0.01 a
K2 + F	7.25 ± 0.09 de	1.16 ± 0.01 g	0.11 ± 0.01 a	0.26 ± 0.01 f
M1 + F	7.25 ± 0.09 de	1.16 ± 0.01 a	0.11 ± 0.03 a	0.28 ± 0.01 de
M2 + F	6.75 ± 0.27 f	1.08 ± 0.04 f	0.12 ± 0.01 a	0.17 ± 0.01 de
CK	7.50 ± 0.18 de	1.20 ± 0.03 de	0.12 ± 0.01 a	0.15 ± 0.01 e
Y	8.56 ± 0.18 b	1.37 ± 0.03 b	0.13 ± 0.01 a	0.19 ± 0.02 de

2.7 相关性分析

2.7.1 根瘤率与结荚数和豆荚鲜重相关性分析  
如图 1 所示,根瘤率与结荚数显著正相关,表明根瘤菌剂的添加有利于大豆形成有效根瘤数,有利于增加大豆的结荚数。根瘤率与豆荚鲜重相关系数为 0.598,极显著正相关,表明有效根瘤数有利于增加豆荚的重量。

2.7.2 根瘤率与地上部鲜重和根鲜重相关性分析

如图 2 所示,根瘤率与地上部鲜重极显著相关,表明有效根瘤通过增加地上部植株的鲜重增加光合面积和有机物质的积累,增加豆荚的重量和数量。根瘤率与根鲜重相关系数为 0.628,极显著正相关,表明有效根瘤数有利于增加根的鲜重,增加根在土壤中的养分吸收面积,进而增加地上部有机物质的积累,增加结荚数。



\*\* 表示相关性的显著水平  $P < 0.01$ ; \* 表示相关性的显著水平  $P < 0.05$ 。  
\*\* indicate the significant correlation at 0.01 level  $P < 0.01$ ; \* indicates significant correlation at  $P < 0.05$  level.

图1 根瘤率与结荚数和豆荚鲜重相关性分析

Fig. 1 Correlations between nodule rate and pod number and fresh weight of pods

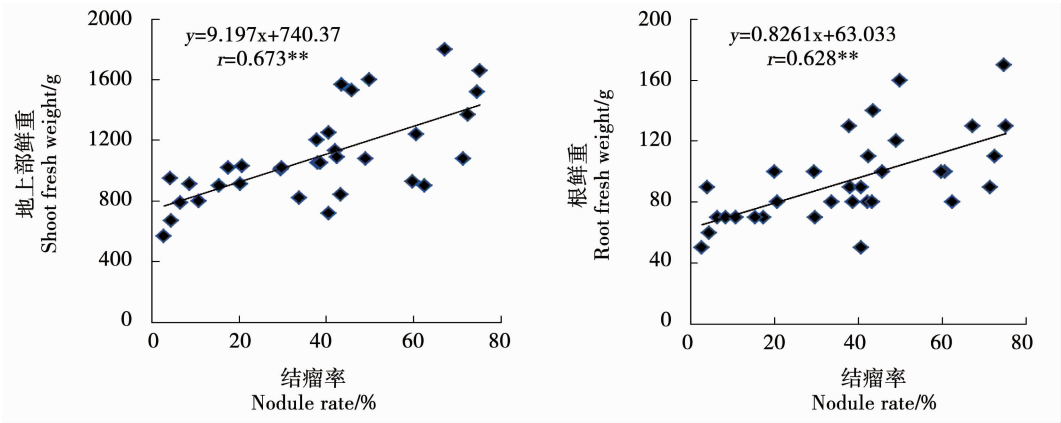


图2 根瘤率与地上部和地下部鲜重的相关性分析

Fig. 2 Correlations between nodule rate and the fresh weight of aboveground and root

3 讨论

本研究结果表明,快生根瘤菌处理的大豆生物学性状显著优于其它处理,例如快生根瘤菌2处理的地上部鲜重是CK处理的2.3倍,快生根瘤菌1处理的大豆结荚数和大豆的质量分别是CK的2倍和2.2倍,快生根瘤菌2处理的大豆地下部鲜重和根瘤率分别是CK处理的2倍和14.9倍。收获后快生根瘤菌剂2根瘤菌处理的土壤氮素含量比CK处理高13.29 mg·kg<sup>-1</sup>,大豆氮素含量比CK高0.32 mg·kg<sup>-1</sup>,粗蛋白含量比CK高2 mg·kg<sup>-1</sup>,表明快生根瘤菌2可以增加土壤有效氮含量,增加大豆的氮素积累,增加大豆粗蛋白含量。有研究表明根瘤菌可以增加土壤中氮素来源,同时根瘤菌脱落、残留及分泌到土壤中的氮,可增加土壤肥力从而改良土壤,进而增加地上部蛋白质含量。而复合促生菌处理的土壤有效磷和土壤速效钾比CK高出28.64和52.5 mg·kg<sup>-1</sup>,复合微生物菌剂包括巨大芽孢杆菌

和胶冻样类芽孢杆菌,有研究表明巨大芽孢杆菌<sup>[19]</sup>有较好的溶磷作用,胶冻样类芽孢杆菌有较好的解钾作用<sup>[20]</sup>,因此复合微生物菌剂处理的土壤有效磷钾元素含量较高。与CK处理相比无论是根瘤菌处理和复合促生菌处理都能改善大豆地上部生物学性状,提高大豆产量。且施用根瘤菌可以有效改善大豆重茬产生的问题,如大豆根结瘤不佳、根系不发达等情况。所以施用根瘤菌剂是改善大豆根系发育、提高大豆根结瘤的良好方法<sup>[21]</sup>。因此无论是大豆根瘤菌还是复合促生菌为大豆的生产和生态农业提供了一个新的方向。

微生物肥料存在效果不稳定等问题,主要原因在于土壤是一个复杂的生态体系,微生物功效的发挥取决于它的数量、与土著菌的竞争力和土壤有机质含量的高低<sup>[22]</sup>,这些因素使得微生物菌剂效果不够稳定,影响其进一步推广。因此有必要在菌剂的生产和应用的方式上探索新的方式,才有可能改变这一现状。为提高根瘤菌菌剂结瘤、固氮效果,一

定范围内可通过增加菌体接种量来实现,然而由于单一菌株生物学性质的限制,其不同土壤的适应能力、竞争能力都将影响其最终的定殖、结瘤情况。因此发挥多种根瘤菌菌株的优势<sup>[23]</sup>,体现综合效应,进行菌株的混合接种,作为目前菌剂研究中的一具重要内容,在生产实践中提高大豆根瘤菌结瘤与固氮作用更具实际意义。

本研究中接种复合促生菌功能菌剂的处理产量较高,复合功能微生物菌剂处理的产量是对照处理产量的4.0倍。可能由于复合促生菌菌剂处理的土壤磷钾养分含量较高,氮磷钾养分较为平衡,能够显著提高大豆产量<sup>[24]</sup>,也有研究表明,复合促生菌菌剂在农业生产中,能获得特定的肥料效应<sup>[25]</sup>。使用微生物菌剂特别是多种菌复合菌剂,能增加土壤氮磷钾的利用率,还能加速有机质的分解,拮抗病原微生物,刺激作物生长<sup>[26-27]</sup>,并且在减少化肥用量、降低环境污染、提高农作物品质等方面具有重要意义。李晓旭等<sup>[28]</sup>研究表明复合促生菌可增加土壤养分的有效性、提高作物抗性也可增加大豆的株高、干重和百粒重,进而提高作物产量。在本研究中接种大豆根瘤菌的处理产量低于单用植物促生菌复合促生菌处理,可能由于供试大豆品种与所用根瘤菌剂的亲和性不强,或者供试大豆根瘤菌剂在供试土壤中的定殖和繁殖能力较弱等,或者土壤中的氮素抑制了接种的根瘤菌的固氮作用,其机理还需进一步探究。

4 结 论

本研究表明无论是接种大豆根瘤菌还是接种促生菌与对照相比大豆的产量都有一定程度的提高,且单独接种复合促生菌的处理产量高于其它处理,单独分别接种促生菌和根瘤菌的处理要优于混合接种根瘤菌和促生菌的效果,可能由于菌种间存在竞争等其它相互作用,导致交叉接种效果不如单独接种。

复合促生菌处理的土壤有效磷和速效钾高于其它处理,因此本研究中促生菌的促生机理可能由于促生菌溶磷解钾的功能促进土壤养分的有效性有一定关系,因此复合促生菌在农业上的应用也有很大的价值。根瘤菌剂的应用有一定的地域性和特异性,因此在应用过程中受到限制,研发广谱性、高效性、抗逆性强的根瘤菌剂是目前根瘤菌菌剂研发急需解决的问题,对农业发展有一定现实意义。同时还存在一些问题急需解决,如菌剂制备工艺的完善、保藏时间的进一步延长、大面积的推广利用等。相信随着科学研究的进一步深入相关问题必

将得到有效解决。

参考文献

[1] 张晓霞,马晓彤,姜瑞波. 根瘤菌分类研究进展及存在的争议[J]. 微生物学通报, 2010, 37(4): 601-606. (Zhang X X, Ma X T, Jiang R B. Advances in classification of rhizobia and the existence of controversy[J]. Microbiology China, 2010, 37(4): 601-606. )

[2] Cocking E C. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria[J]. Plant and Soil, 2003(252): 169-175.

[3] Dakora F D. Defining new roles for plant and rhizobial molecules in sole and mixed plant cultures involving symbiotic legumes[J]. New Phytologist, 2003, 158(1): 39-49.

[4] Biswas J C, Ladha J K, Dazzo F B. Rhizobia inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice[J]. Soil Science Society of America Journal, 2000(64): 1644-1650.

[5] Chaintreuil C, Giraud E, Prin Y, et al. Photosynthetic bradyrhizobia are natural endophytes of the African wild rice *Oryza breviligulata*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(12): 5437-5447.

[6] Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 2003, 22(2): 107-149.

[7] Matiru V N, Dakora F D. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in land-races of African cereal crops[J]. African Journal of Biotechnology, 2004, 3(1): 1-7.

[8] 吴显峰. 大豆应用富思德大豆根瘤菌剂效果研究[J]. 现代农业科技, 2012(5): 79. (Wu X F, Effect of fusid soybean rhizobium on soybean growth[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2012(5): 79. )

[9] Shantharam S. Field testing of genetically engineered rhizobia [M]//Palacios et al eds. New Horizons in nitrogen fixation. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1993(17): 695-701.

[10] 陈华癸. 草籽绿肥根瘤细菌和人工接种[J]. 新科学, 1952(3): 33-38. (Chen H K. Grass seed green manure and bacterial inoculation[J]. New Science, 1952(3): 33-38. )

[11] 朱铁霞,胡自治. 农公1号紫花苜蓿接种“富思德”苜蓿根瘤菌剂及施肥试验研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2005. (Zhu T X, Hu Z Z. Experimental study on inoculation of ‘Fusid’ alfalfa rhizobia and fertilization in ‘Gongnong No. 1’ [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2005. )

[12] 张永春,汪吉东,沈明星,等. 长期不同施肥对太湖地区典型土壤酸化的影响[J]. 土壤学报, 2010, 47(3): 33-36. (Zhang Y C, Wang J D, Shen M X, et al, Effects of different long-term fertilization on typical acid soil in Taihu Lake Region [J]. Acta Pedologica Sinica, 2010, 47(3): 33-36. )

[13] 张苗苗,王伯仁,李冬初,等. 长期施加氮肥及氧化钙调节对酸性土壤硝化作用及氨氧化微生物的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(19): 6362-6370. (Zhang M M, Wang B R, Li D C, et al. Effects of long-term application of nitrogen fertilizer and calcium oxide on nitrification and ammonia-oxidizing microorganisms in acidic soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(19): 6362-6370. )



[14] 王志高, 孙桂清, 王梁. 浅谈过量施用化肥的危害及防治措施[J]. 现代化农业科技, 2002(5): 25-26. (Wang Z G, Sun G Q, Wang L. Talking about the harm of excessive application of chemical fertilizer and prevention measures[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2002(5): 25-26. )

[15] 管凤贞, 邱宏瑞, 陈济琛, 等. 根瘤菌剂的研究与开发现状[J]. 生态学报, 2012, 31(3): 755-759. (Guan F Z, Qun H R, Chen J S, et al. Research and development of rhizobium[J]. Journal of Ecology, 2012, 31(3): 755-759. )

[16] 薛晓昀, 冯瑞华, 关大伟, 等. 大豆根瘤菌与促生菌复合系筛选及激励机制研究[J]. 大豆科学, 2011, 30(4): 613-620. (Xue X Y, Feng R H, Guan D W, et al. Study on screening and incentive of soybean rhizobia and promoting bacteria[J]. Soybean Science, 2011, 30(4): 613-620. )

[17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000. (Bao S D. Soil agro-chemistry analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000. )

[18] 王全富, 刘丽君, 孙聪妹, 等. 大豆氮素积累及其对籽粒蛋白质含量的影响[J]. 东北农业大学学报, 2005, 36(5): 545-548. (Wang Q F, Liu L J, Sun C S. Nitrogen accumulation in soybean and its effect on grain protein content[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2005, 36(5): 545-548. )

[19] 江丽华, 王梅, 张文君, 等. 固氮、解磷、解钾混合菌株协同固定化技术[J]. 中国农学通报, 2010, 26(12): 18-21. (Wang L H, Wang M, Zhang W J, et al. Synergistic immobilization technology of nitrogen fixation, phosphorus solution and potassium solution mixed strains[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(12): 18-21. )

[20] 赵艳, 张晓波, 郭伟. 不同土壤胶质芽孢杆菌生理生化特征及其解钾活性[J]. 生态环境学, 2009, 18(6): 2283-2286. (Zhao Y, Zhang X B, Guo W. Physiological and biochemical of different Bacillus characteristics on potassium-releasing activity in different soil[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2009, 18(6): 2283-2286. )

[21] 王美玲, 费志宏, 宋喜清, 等. 根瘤菌剂对大豆产量的影响[J]. 现代化农业, 2014: 418(5): 22-26. (Wang M L, Fei Z H, Song X Q, et al. Effect of rhizobium on soybean yield[J]. Modern Agriculture, 2014, 418(5): 22-26. )

[22] 魏辉, 郭俊, 周强, 等. 生物有机无机复合肥的研制与效果研究[J]. 微生物学杂志, 1997, 17(3): 18-24. (Wei H, Guo J, Zhou Q. Research on the development and effect of bio-organic-inorganic compound fertilizer[J]. Journal of Microbiology, 1997, 17(3): 18-24. )

[23] Temprano F, Albareda M. Survival of several rhizobium/bradyrhizobium strains on different inoculation and enoclated seed[J]. International Microbiology, 2002, 5: 81-86.

[24] 王政, 高瑞凤, 姜涛, 等. 氮磷钾肥配施对大豆产量的影响[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2008, 25(2): 131-134. (Wang Z, Gao R F, Jang T, et al. Effect of combined application of NPK fertilizer on soybean yield[J]. Journal of Qingdao Agricultural University(Natural Science), 2008, 25(2): 131-134. )

[25] 刘爱民, 黄为一. 生物肥料应用基础[M]. 北京: 高等教育出版社, 1979: 2-3. (Liu A M, Huang W Y. Application basis of biological fertilizer[M]. Beijing: Higher Education Press, 1979: 2-3. )

[26] 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: 1-28. (Ge C. Application basis of microbial fertilizer production[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000: 1-28. )

[27] 刘健, 李俊, 葛诚. 微生物肥料作用机理的研究新进展[J]. 微生物学杂志, 2001, 21(1): 33-36. (Liu J, Li J, Ge C. New advances in mechanism of microbial fertilizer[J]. Journal of Microbiology, 2001, 21(1): 33-36. )

[28] 李晓旭, 王慧达, 王卓, 等. 复合包埋菌剂对大豆生长及土壤肥力的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2013, 44(2): 160-165. (Li X X, Wang H D, Wang Z, et al. Effect of composite embedding agent on soybean growth and soil fertility[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2013, 44(2): 160-165. )