



晋大 88 高匹配性强耐盐根瘤菌筛选

王 敏¹, 秦 杰¹, 杨万明², 岳爱琴¹, 赵晋忠³, 张永坡³, 高春艳³, 杜维俊¹

(1. 山西农业大学 农学院, 山西 太谷 030801; 2. 晋中学院 生物科学与技术学院, 山西 榆次 030619; 3. 山西农业大学 基础部, 山西 太谷 030801)

摘要:为筛选与山西主栽品种晋大 88 匹配性较好的强耐盐根瘤菌, 本研究选用从 187 株大豆根瘤菌株中筛选出的 7 株强耐盐性根瘤菌株为供试材料, 以 USDA110 为对照菌株, 采用随机区组试验设计, 将不同菌株分别接种在清水对照和 150 mmol·L⁻¹ NaCl 溶液处理的晋大 88 植株上, 比较其对晋大 88 性状的影响, 采用相关分析和聚类分析方法筛选耐盐性强且匹配性好的大豆根瘤菌菌株。结果表明: 晋大 88 的大多数生长性状在 NaCl 胁迫下较清水对照组有所下降, 其中根瘤性状表现出显著或极显著下降。在清水对照下菌株 USDA110 处理的植株根瘤鲜重、根瘤干重和根瘤数量均较高, 与晋大 88 的匹配性最好。NaCl 胁迫下菌株 TG1 处理的植株叶片 SPAD 值、根瘤鲜重、根瘤干重、根瘤数量表现最好, 菌株 TG14 处理的植株株高、地上部鲜重表现最好。相关分析表明相对根瘤数与相对 SPAD 值相关极显著, 相对根瘤鲜重与相对根瘤干重相关极显著, 而相对地上部鲜重与相对株高、相对地上部干重呈显著相关关系。聚类分析表明菌株 TG1、TG53、TG79 和 TG14 处理的植株表现出较好的耐盐性, 本研究筛选得到的菌株为山西省大豆耐盐根瘤菌的推广应用提供了菌株资源。

关键词:大豆; 山西; 耐盐性; 根瘤菌; 鉴定; 筛选

Screening of Salt-Tolerant and Well Symbiotic Matching Soybean Rhizobia Strains for Jinda 88

WANG Min¹, QIN Jie¹, YANG Wan-ming², YUE Ai-qin¹, ZHAO Jin-zhong³, ZHANG Yong-po³, GAO Chun-yan³, DU Wei-jun¹

(1. College of Agriculture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 2. Department of Biological Science and Technology, Jinzhong University, Yuci 030619, China; 3. Department of Basic Courses, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: In order to screen soybean rhizobium with strong salt-tolerance for Shanxi main cultivar Jinda 88, and provide theoretical basis for solving the application of rhizobia in saline soil, 7 salt-tolerant rhizobia strains screened from 187 soybean rhizobia strains and 1 reference rhizobia strains USDA110 were used for tested strains. All strains were inoculated on Jinda 88 treated with water control and 150 mmol·L⁻¹ NaCl using randomized block design, in order to analyze the effects of rhizobium on growth traits of Jinda 88 and screen out the salt-tolerant and well-matched rhizobia strains by using correlation analysis and cluster analysis. The results showed that most of the growth traits reduced under salt stress, especially nodule traits were decreased significantly or extremely significantly. The nodule traits including fresh weight and dry weight of root nodules and root nodule number were significantly increased in USDA110 inoculated plants, which indicated that well compatibility of soybean-rhizobia in water control was Jinda 88-USDA. The plant leaf SPAD value, nodule fresh weight, dry weight of root nodules and nodule number were the best for TG1 inoculated plants under salt stress. The plant height and aboveground fresh weight were the best for TG14 inoculated plants under salt stress. Correlation analysis showed that the relative nodule number was significantly correlated with the relative SPAD value, the relative nodule fresh weight was significantly correlated with the relative nodule dry weight, and the relative shoot fresh weight was significantly correlated with the relative plant height and the relative shoot dry weight. Cluster analysis showed that strain TG1, TG53, TG79 and TG14 inoculated plants showed stronger salt resistance. These strains provided theoretical basis for the research on salt tolerance of soybean rhizobia strains and strain resources for the popularization and application in salinity soil of Shanxi Province.

Keywords: Soybean; Shanxi; Salt-tolerance; Rhizobia strains; Screening

土壤盐渍化已成为世界性难题, 我国是土壤盐渍化较为严重的国家。山西省由于受地形地貌、气候、煤炭开采等的影响, 盐碱地面积较大, 共有盐碱地 261 800 hm², 占平川总土地面积的 9.9%。其中

盐碱耕地 205 200 hm², 占山西省中低产田的 7.12%, 占山西省耕地的 5.34%^[1]。植物生长在盐碱地中不仅水势降低、离子失衡、对植物产生毒害, 更严重的会导致植物停止生长甚至死亡^[2]。土壤

收稿日期: 2021-01-27

基金项目: 山西省自然科学基金(201801D121247, 201901D111304); 山西省重点研发计划重点项目(201703D211001)。

第一作者: 王敏(1981—), 女, 博士, 副教授, 主要从事大豆遗传育种与种质创新研究。E-mail: wangmin3502@126.com。

通讯作者: 杜维俊(1968—), 女, 博士, 教授, 主要从事大豆遗传育种与种质创新研究。E-mail: duweijun68@126.com。

盐渍化严重制约了农作物的生长和农业发展,因此提高山西省盐碱地的土地利用率对农业可持续发展具有重要意义。

根瘤菌是一种革兰氏阴性菌,存在于土壤中,它与豆科植物共生形成根瘤,可将空气中的分子态氮转化为土壤直接利用的氮素营养。豆科植物-根瘤菌共生固氮在自然界的生物固氮中尤为重要,可降低化肥用量,节约资源,减少空气污染。大豆生长过程中对氮素的需求量很大,据有关报道,大豆所需氮素营养的30%~80%来自根系与根瘤菌的共生固氮。因此,大豆根瘤菌研究在提高其产量和品质,增加土壤肥力和减少氮肥用量等方面具有重要意义。目前人们对根瘤菌的分类、生物学作用及作用机制进行了大量研究,如根瘤菌在豆科和非豆科植物中的促生机制^[3]、根瘤菌遗传多样性^[4]、根瘤菌对植物磷吸收的影响^[5]、根瘤菌与促生菌^[6]或菌根真菌联合应用^[7]等,为根瘤菌在农业生产中的应用奠定了一定基础。

我国大豆根瘤菌剂的接种面积不超过3%^[8]。造成这种现象的原因是多方面的,其中根瘤菌剂与大豆主栽品种匹配性差是影响根瘤菌开发及应用的关键症结之一。伍惠等^[9]对8株优良大豆根瘤菌与不同地区27个大豆主栽品种共生匹配性进行研究发现HN01、GR3、HH29和HH103匹配性好,具有在东北地区、黄淮海地区、长江流域和东南地区推广的潜能,中豆39、BD2、天隆1号与8株供试大豆根瘤菌的匹配接种表现出高生物量特点,筛选出适合不同地区推广的最佳匹配组合;冀照君等^[10]对鲁花1号大豆中分离到的S10菌株和S6菌株共生匹配性进行研究后发现菌株S6是与鲁花1号相匹配的高效根瘤菌;马中雨等^[11]研究发现商951099、郑92116和北京黑豆可与供试根瘤菌高效匹配,结瘤效果明显,而绥农14、绥农20、合丰25和固新野生大豆则不能与供试根瘤菌高效匹配,结瘤效果不

明显,表明在注重根瘤菌生物学作用及作用机制等方面研究的同时,还需进一步关注根瘤菌分离物同宿主之间的匹配性研究。

大豆属于中等耐盐性植物,生育期间受到盐害会影响产量的形成。研究表明,接种根瘤菌对豆科植物抗逆性的提高具有重要作用^[12-14]。接种根瘤菌对大豆抗逆性的影响已有一些研究,李秀平等^[15]研究了接种耐酸铝根瘤菌其对大豆-根瘤菌共生体系的影响;Kibido等^[16]对干旱胁迫下提高大豆根瘤菌共生和固氮能力进行了研究;Muleta等^[17]研究了在酸性土壤中接菌根瘤菌具有提高大豆产量的潜力。对于大豆耐盐根瘤菌的匹配性研究则相对较少。代重阳等^[18]对不同耐盐大豆与根瘤菌的匹配性进行了研究,发现耐盐品种绿领八号与USDA122的结瘤固氮能力较强,盐敏感品种日本青与HH103的结瘤固氮能力较强。但鲜见针对强耐盐根瘤菌对大豆耐盐性促进作用的报道。

山西省大豆种质资源丰富,与之共生的根瘤菌资源也相当丰富。筛选适宜山西省主栽大豆品种的强耐盐根瘤菌,是在山西省有限耕地面积下提高大豆产量的有效途径之一。本研究选用前期从187株大豆根瘤菌株中筛选出的7株强耐盐根瘤菌为供试菌株,以目前广泛使用的优良菌株USDA110为对照菌株,分别接种到山西省主栽品种晋大88上,调查高盐胁迫下大豆植株的生长指标,获得具有耐盐性强、共生匹配性好的优良菌株,以期为解决山西省盐碱地区根瘤菌应用问题、推动大豆根瘤菌的高效利用和实现大豆产业绿色发展提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 选用7株耐盐性强的根瘤菌株为供试菌株,1株优良慢生型根瘤菌菌株USDA110作为对照菌株。菌株的来源及归属详见表1。

表1 供试根瘤菌株

Table 1 The tested soybean rhizobial strains

菌株 Strain	来源 Source	属 Species	分离地点 Isolated location
USDA110		慢生根瘤菌属 <i>Bradyrhizobium</i>	
TG1	晋豆 19 Jindou 19	中华根瘤菌属 <i>Sinorhizobium</i>	山西, 太谷 Taigu, Shanxi
TG14	G40	中华根瘤菌属 <i>Sinorhizobium</i>	山西, 太谷 Taigu, Shanxi
TG16	G70	中华根瘤菌属 <i>Sinorhizobium</i>	山西, 太谷 Taigu, Shanxi
TG44	淮豆 13 Huaidou 13	中华根瘤菌属 <i>Sinorhizobium</i>	山西, 太谷 Taigu, Shanxi
TG53	平南 Pingnan	中华根瘤菌属 <i>Sinorhizobium</i>	山西, 太谷 Taigu, Shanxi
TG79	晋大 110 Jinda 110	中华根瘤菌属 <i>Sinorhizobium</i>	山西, 太谷 Taigu, Shanxi
GL93	黄豆 15 Huangdou 15	中华根瘤菌属 <i>Sinorhizobium</i>	山西, 广灵 Guangling, Shanxi

1.1.2 供试品种 接菌大豆品种为晋大 88,由山西农业大学选育,是山西省主栽品种之一。

1.2 试验设计

选择大小一致的供试大豆种子,用 70% 无水乙醇表面消毒 5 min,后用 5% NaClO 消毒 5 min,之后用无菌水清洗 3 次。将种子播种到装有灭菌蛭石的双层营养钵(10 cm × 10 cm)中,每盆定苗 1 株,每个菌株 6 盆,其中 3 盆为清水对照,3 盆为盐胁迫(150 mmol·L⁻¹ NaCl)。采用随机区组试验设计,3 次重复,于人工气候箱(16 h 光,25 °C/8 h 暗,16 °C;光强 8 000 lx)中培养。待植株长出第一片真叶时每株各接种 3 mL 菌悬液(OD₆₀₀ = 0.5),以不接种为对照,35 d 后测定大豆植株生长指标并进行相关分析。最后对高盐条件下接种不同根瘤菌时大豆的生长指标进行聚类分析与晋大 88 高匹配性的强耐盐性根瘤菌菌株。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 叶片 SPAD 采用叶绿素仪(Minolta Camen 公司,日本)测定植株倒一叶顶叶片的 SPAD 值,3 次重复。

1.3.2 植株生物量 将植株沿子叶节剪下,分别测定植株地上部和地下部生物量。直接用天平测量地上部鲜重和地下部鲜重。将植株置于 105 °C 烘箱中杀青 30 min,80 °C 条件下烘干至恒重,用天平测量地上部干重和地下部干重。

1.3.3 根瘤数量及生物量 将根瘤从根部小心摘下,统计各植株结瘤数量。将统计好的根瘤用吸水纸吸干,分别测定鲜重和干重。测量方法同上。

1.4 数据分析

采用 SPSS 22.0 软件进行数据分析。运用 Duncan 检验法进行多重比较。运用 Ward 法进行系统聚类分析。

2 结果与分析

2.1 接种耐盐根瘤菌对盐胁迫下大豆 SPAD 值的影响

由表 2 可知,在 NaCl 胁迫下除接种 TG1 和 TG53 菌株的植株外,接种其他菌株的晋大 88 叶片 SPAD 值均低于清水对照。其中接种 TG1 的植株叶片 SPAD 值在 NaCl 胁迫下显著高于清水对照($P < 0.05$)。接菌 USDA110 和 GL93 的植株叶片 SPAD 值在 NaCl 胁迫下显著低于清水对照($P < 0.01$)。在清水对照下,接菌 TG79 和 GL93 比不接菌的晋大 88 叶片 SPAD 值有所增加,接种其他菌株时晋大 88

叶片 SPAD 值比不接菌均有所下降。接菌 TG79 和 GL93 的植株叶片 SPAD 值显著高于参比菌株 USDA110,分别增加了 16.49% 和 16.10%。在 NaCl 胁迫下只有接菌 TG1 和 TG53 的植株叶片 SPAD 值高于不接菌植株,但差异均未达到显著水平,其他菌株处理的植株叶片 SPAD 值均低于不接菌植株。TG1 和 TG53 处理的植株叶片 SPAD 值极显著高于对照菌株 USDA110 处理,分别增加了 49.17% 和 51.53%。可见,参试菌株中 TG1 和 TG53 可以有效缓解高浓度盐胁迫对叶片叶绿素含量的影响。

表 2 接种耐盐根瘤菌对盐胁迫下晋大 88 叶片 SPAD 值的影响

Table 2 The effects of inoculating salt tolerant rhizobia on SPAD of Jinda 88 leaves under salt stress

处理 Treatment	清水对照 Water CK	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	T 检验 T-test
不接菌 Non-inoculated	29.50 ± 1.14 abA	29.17 ± 0.65 aA	-
USDA110	25.90 ± 0.69 bA	19.93 ± 0.51 dC	**
TG1	26.07 ± 1.42 bA	29.73 ± 0.38 aA	*
TG14	29.37 ± 3.35 abA	27.10 ± 1.13 abAB	-
TG16	27.37 ± 2.70 abA	24.87 ± 2.39 bcABC	-
TG44	27.03 ± 0.50 abA	26.50 ± 1.35 abcAB	-
TG53	27.20 ± 1.75 abA	30.20 ± 4.78 aA	-
TG79	30.17 ± 0.71 aA	28.57 ± 1.42 abA	-
GL93	30.07 ± 1.91 aA	22.97 ± 0.68 cdBC	**

同列不同大小写字母分别表示 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 水平差异极显著或显著,T 检验中 * 和 ** 分别表示 CK 与 150 mmol·L⁻¹ NaCl 处理在 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ 水平差异显著或极显著,下同。

Different capital or lowercase following the mean values within each indicates extremely significant or significant differences at $P < 0.01$ or $P < 0.05$. * and ** means significant or extremely significant differences at $P < 0.05$ or $P < 0.01$. The same below.

2.2 接种耐盐根瘤菌对盐胁迫下大豆株高的影响

由表 3 可知,与清水对照组相比,NaCl 胁迫降低了晋大 88 的株高,其中接菌 USDA110、TG16 和 TG53 的株高在 NaCl 胁迫下显著低于清水对照。清水对照下不同根瘤菌处理的株高差异不显著。NaCl 胁迫下根瘤菌 TG14 和 TG16 处理的株高最高,除与参比菌株 USDA110 处理的株高差异显著外,与不接菌对照及其他根瘤菌处理的株高均差异不显著。

表3 接种耐盐根瘤对盐胁迫下晋大88株高的影响

Table 3 The effects of inoculating salt tolerant rhizobia on plant height of Jinda 88 under salt stress (cm)

处理 Treatment	清水对照 Water CK	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	T 检验 T-test
不接菌 Non-inoculated	27.00 ± 1.87 aA	23.87 ± 1.31 abA	-
USDA110	31.03 ± 3.93 aA	20.43 ± 2.48 bA	*
TG1	26.83 ± 3.15 aA	23.70 ± 5.40 abA	-
TG14	30.77 ± 2.31 aA	29.17 ± 2.34 aA	-
TG16	32.47 ± 1.70 aA	28.17 ± 0.90 aA	*
TG44	31.97 ± 4.93 aA	24.57 ± 2.74 abA	-
TG53	32.60 ± 1.91 aA	24.93 ± 2.51 abA	*
TG79	29.00 ± 1.37 aA	26.40 ± 7.97 abA	-
GL93	27.70 ± 2.25 aA	25.23 ± 0.15 abA	-

表4 接种耐盐根瘤菌对盐胁迫下晋大88地上部生物量的影响

Table 4 The effects of inoculating salt tolerant rhizobia on aboveground biomass of Jinda 88 under salt stress (g)

处理 Treatment	地上部鲜重 Aboveground fresh weight			地上部干重 Aboveground dry weight		
	清水对照 Water CK	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	T 检验 T-test	清水对照 Water CK	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	T 检验 T-test
	不接菌 Non-inoculated	1.24 ± 0.13 aA	0.98 ± 0.17 abA	-	0.26 ± 0.03 aA	0.24 ± 0.04 aA
USDA110	1.26 ± 0.11 aA	0.70 ± 0.08 bA	**	0.24 ± 0.03 aA	0.16 ± 0.02 aA	**
TG1	1.27 ± 0.09 aA	1.06 ± 0.11 abA	**	0.25 ± 0.01 aA	0.21 ± 0.02 aA	*
TG14	1.19 ± 0.14 aA	1.16 ± 0.19 aA	-	0.23 ± 0.04 aA	0.23 ± 0.03 aA	-
TG16	1.37 ± 0.07 aA	0.94 ± 0.07 abA	**	0.26 ± 0.01 aA	0.24 ± 0.02 aA	-
TG44	1.18 ± 0.42 aA	0.90 ± 0.20 abA	-	0.23 ± 0.10 aA	0.19 ± 0.04 aA	-
TG53	1.27 ± 0.11 aA	0.80 ± 0.09 abA	*	0.26 ± 0.01 aA	0.20 ± 0.03 aA	-
TG79	1.29 ± 0.26 aA	0.92 ± 0.42 abA	-	0.29 ± 0.08 aA	0.21 ± 0.11 aA	-
GL93	1.09 ± 0.11 aA	0.89 ± 0.09 abA	-	0.24 ± 0.03 aA	0.20 ± 0.01 aA	-

2.4 接种耐盐根瘤菌对盐胁迫下大豆地下部生物量的影响

由表5可知,与清水对照组相比,NaCl胁迫降低了不同处理晋大88的地下部生物量,但所有菌株处理的植株地下部鲜重在NaCl胁迫下降低不显著。与清水对照相比,接菌USDA110和GL93的植株地

2.3 接种耐盐根瘤菌对盐胁迫下大豆地上部生物量的影响

由表4可知,与清水对照组相比,NaCl胁迫降低了晋大88的地上部生物量。其中USDA110、TG1和TG16菌株处理的植株地上部鲜重在NaCl胁迫下极显著降低,TG53菌株处理的植株地上部鲜重显著降低。USDA110菌株处理的植株地上部干重在NaCl胁迫下极显著降低,TG1菌株处理的植株地上部干重显著降低。清水对照下不接菌和接种不同根瘤菌处理的植株地上部生物量均没有达到显著差异。NaCl胁迫下根瘤菌TG14处理的植株地上部鲜重最高,除与参比菌株USDA110处理的植株地上部鲜重差异显著外,与不接菌对照及其他根瘤菌处理的植株地上部生物量差异均不显著。NaCl胁迫下不接菌对照及各根瘤菌处理的植株地上部干重间差异均没有达到显著水平。

下部干重在NaCl胁迫下极显著下降,TG1、TG14、TG16、TG53和TG79菌株处理的植株地下部干重显著下降。不同根瘤菌处理的植株地下部鲜重和干重在NaCl胁迫和清水对照下均没有达到显著差异。表明根瘤菌处理对植株地下部生物量并没有显著影响。

表 5 接种耐盐根瘤菌对盐胁迫下晋大 88 地下部生物量的影响

Table 5 The effects of inoculating salt tolerant rhizobia on underground biomass of Jinda 88 under salt stress (g)

处理 Treatment	地下部鲜重 Underground fresh weight			地下部干重 Underground dry weight		
	清水对照	150 mmol·L ⁻¹	T 检验	清水对照	150 mmol·L ⁻¹	T 检验
	Water CK	NaCl	T-test	Water CK	NaCl	T-test
不接菌 Non-inoculated	1.60 ± 0.23 aA	1.22 ± 0.29 aA	-	0.17 ± 0.02 aA	0.12 ± 0.02 aA	-
USDA110	1.19 ± 0.05 aA	1.05 ± 0.14 aA	-	0.18 ± 0.01 aA	0.12 ± 0.02 aA	**
TG1	1.08 ± 0.08 aA	1.03 ± 0.12 aA	-	0.20 ± 0.02 aA	0.15 ± 0.01 aA	*
TG14	1.46 ± 0.31 aA	1.13 ± 0.08 aA	-	0.20 ± 0.03 aA	0.14 ± 0.01 aA	*
TG16	1.53 ± 0.11 aA	1.29 ± 0.14 aA	-	0.19 ± 0.01 aA	0.16 ± 0.01 aA	*
TG44	1.44 ± 0.47 aA	1.19 ± 0.21 aA	-	0.17 ± 0.07 aA	0.15 ± 0.02 aA	-
TG53	1.54 ± 0.30 aA	1.17 ± 0.13 aA	-	0.20 ± 0.03 aA	0.14 ± 0.02 aA	*
TG79	1.29 ± 0.11 aA	1.09 ± 0.33 aA	-	0.22 ± 0.04 aA	0.13 ± 0.02 aA	*
GL93	1.28 ± 0.12 aA	1.13 ± 0.16 aA	-	0.19 ± 0.02 aA	0.13 ± 0.03 aA	**

2.5 接种耐盐根瘤菌株对盐胁迫下大豆根瘤生物量的影响

从表 6 可以看出,NaCl 胁迫显著或极显著降低了不同处理的根瘤生物量。清水对照下,参比菌株 USDA110 处理的根瘤鲜重最大,其次是 TG14 和 TG16,这些根瘤菌处理的根瘤鲜重与不接菌及接种 TG53、TG79 和 GL93 处理的根瘤鲜重差异显著,且与不接菌及接种 TG79 和 GL93 处理的根瘤鲜重差异达到了极显著水平。NaCl 胁迫下,TG1 处理的根瘤鲜重最大,与 TG14 处理差异不显著,与接种 USDA110 和 TG79 处理差异显著,与其他处理均达

到极显著差异。其次是接种 TG14 处理,与不接菌及接种菌株 TG16、TG53、TG44 和 GL93 处理差异显著,且与不接菌及接种 GL93 达到极显著差异。

清水对照组中,TG1 处理的根瘤干重最大,其次是 USDA110,它们与不接菌及接种 TG79 和 GL93 处理的根瘤干重差异极显著。NaCl 胁迫下,TG1 处理的根瘤干重最大,与除 TG14 处理外的其他处理根瘤干重差异显著,其中与不接菌和接种 GL93 处理的根瘤干重达到极显著差异。其次是 TG14,仅与不接菌处理差异显著,与其他根瘤菌处理的根瘤干重均没有达到显著差异。

表 6 接种根瘤菌对盐胁迫下晋大 88 根瘤生物量的影响

Table 6 The effects of rhizobia inoculation on nodule biomass of Jinda 88 under salt stress (g)

处理 Treatment	根瘤鲜重 Nodule fresh weight			根瘤干重 Nodule dry weight		
	清水对照	150 mmol·L ⁻¹	T 检验	清水对照	150 mmol·L ⁻¹	T 检验
	Water CK	NaCl	T-test	Water CK	NaCl	T-test
不接菌 Non-inoculated	0 ± 0 dE	0 ± 0 aA	-	0 ± 0 dD	0 ± 0 cB	-
USDA110	101.20 ± 10.89 aA	14.03 ± 1.08 bcABC	**	23.55 ± 2.19 aA	2.00 ± 0.26 bcAB	**
TG1	91.07 ± 23.89 aABC	25.85 ± 12.79 aA	**	24.33 ± 6.75 aA	5.20 ± 3.25 aA	*
TG14	99.70 ± 21.24 aAB	21.00 ± 9.43 abAB	**	21.20 ± 4.81 aABC	3.80 ± 1.99 ab	**
TG16	98.60 ± 9.21 aAB	9.30 ± 2.12 cdBC	**	22.77 ± 1.33 aAB	1.65 ± 0.49 bcAB	**
TG44	84.05 ± 10.82 abABC	5.67 ± 1.29 cdBC	**	18.50 ± 1.84 abABC	1.57 ± 0.25 bcAB	**
TG53	58.93 ± 12.03 bcBCD	7.55 ± 2.19 cdBC	**	20.90 ± 2.12 aABC	2.40 ± 0.42 bcAB	*
TG79	43.25 ± 2.19 cD	10.25 ± 4.31 bcdABC	*	11.15 ± 0.21 cC	2.10 ± 0.85 bcAB	*
GL93	53.80 ± 3.54 cCD	4.00 ± 2.40 cdC	*	12.80 ± 0.42 bcBC	1.20 ± 0.28 bcB	*

2.6 接种耐盐根瘤菌对盐胁迫下大豆根瘤数量的影响

从表7可以看出,NaCl胁迫显著或极显著降低了不同处理的根瘤数量。清水对照下,参比菌株USDA110处理的植株根瘤数量最多,与其他处理的根瘤数量差异显著或极显著,其中与不接菌、接种TG14、TG79、TG44和TG53处理差异极显著。其次

是TG16,与不接菌、接种TG14、TG79和TG44处理的根瘤数量差异显著或极显著,其中与不接菌、接种TG14和TG79处理差异极显著。NaCl胁迫下,TG1处理的根瘤数量最多,其次是接种TG53,这些根瘤菌处理的植株根瘤数量与其他处理差异均极显著。

表7 接种耐盐根瘤菌对盐胁迫下晋大88根瘤数量的影响

Table 7 The effect of inoculating salt tolerant rhizobia on the nodules number in Jinda 88 under salt stress

处理 Treatment	清水对照 Water CK	150 mmol·L ⁻¹ NaCl	T 检验 T-test
不接菌 Non-inoculated	0 ± 0 eD	0 ± 0 dD	-
USDA110	60.50 ± 9.19 aA	7.67 ± 2.52 bcBCD	**
TG1	47.67 ± 5.86 bcAB	26.00 ± 1.41 aA	*
TG14	28.67 ± 4.51 dC	11.67 ± 2.52 bB	*
TG16	50.33 ± 3.51 bAB	7.50 ± 0.71 bcBCD	**
TG44	39.00 ± 0.01 cBC	7.67 ± 1.15 bcBCD	**
TG53	43.00 ± 1.41 bcB	24.00 ± 7.07 aA	*
TG79	29.00 ± 4.24 dC	8.50 ± 2.12 bcBC	*
GL93	47.50 ± 3.54 bcAB	3.00 ± 1.41 cdCD	**

2.7 接种耐盐根瘤菌后植株性状的相关分析

将不同根瘤菌处理下的植株各性状相对值进行相关性分析,从表8可以看出,相对根瘤数与相对SPAD值呈极显著正相关关系,表明盐胁迫下叶片SPAD值可以一定程度反映植株根瘤数量。此外,

相对株高与相对地上部鲜重呈显著正相关关系,表明盐胁迫下的株高越高,地上部鲜重越重。相对地上部鲜重与相对地上部干重相关显著,相对根瘤鲜重与相对根瘤干重相关极显著,表明盐胁迫下地上部分和根瘤的鲜重越大,干重也越大。

表8 接种根瘤菌处理植株的性状相对值间的相关性分析

Table 8 Correlation analysis between relative values of plants characters inoculated with rhizobia

	相对 SPAD RS	相对株高 RPH	相对地上部 鲜重 RAFW	相对地上部 干重 RADW	相对根鲜重 RRFW	相对根干重 RRDW	相对根瘤 鲜重 RNFW	相对根瘤 干重 RNDW
相对株高 RPH	0.098							
相对地上部鲜重 RAFW	0.130	0.794 *						
相对地上部干重 RADW	0.121	0.664	0.782 *					
相对根鲜重 RRFW	-0.087	0.015	-0.024	-0.255				
相对根干重 RRDW	0.219	-0.144	0.088	0.446	-0.006			
相对根瘤鲜重 RNFW	0.468	0.382	0.328	0.013	0.297	-0.469		
相对根瘤干重 RNDW	0.519	0.557	0.534	0.144	0.197	-0.439	0.950 **	
相对根瘤数 RNN	0.885 **	0.152	0.229	0.134	-0.192	-0.126	0.650	0.684

* 表示相关性在 P < 0.05 水平显著相关; ** 表示相关性在 P < 0.01 水平极显著相关。

* means significant correlation at P < 0.05; ** means highly significant correlation at P < 0.01. RS: Relative value of SPAD; RPH: Relative value of plant height; RAFW: Relative value of aboveground fresh weight; RADW: Relative value of aboveground dry weight; RRFW: Relative value of root fresh weight; RRDW: Relative value of root dry weight; RNFW: Relative value of nodule fresh weight; RNDW: Relative value of nodule dry weight; RNN: Relative value of nodule numbers.

2.8 聚类分析

将各根瘤菌处理的植株性状的相对值进行聚类分析(图 1),在平方 Euclidean 距离为 10 时将 8 个根瘤菌分为 2 类,第一类包括 TG16、TG44、GL93 和 USDA110,表现为耐盐指数低,耐盐性弱;第二类包括 TG1、TG53、TG79 和 TG14,表现为耐盐指数高,耐

盐性强。以 TG14 处理植株的长势为例,NaCl 胁迫下接菌 TG14 和不接菌对照的株高均有所下降,但不接菌对照株高下降更明显,且在 NaCl 胁迫下不接菌植株表现出了叶片萎蔫的盐害症状,而 TG14 处理的植株长势良好(图 2)。

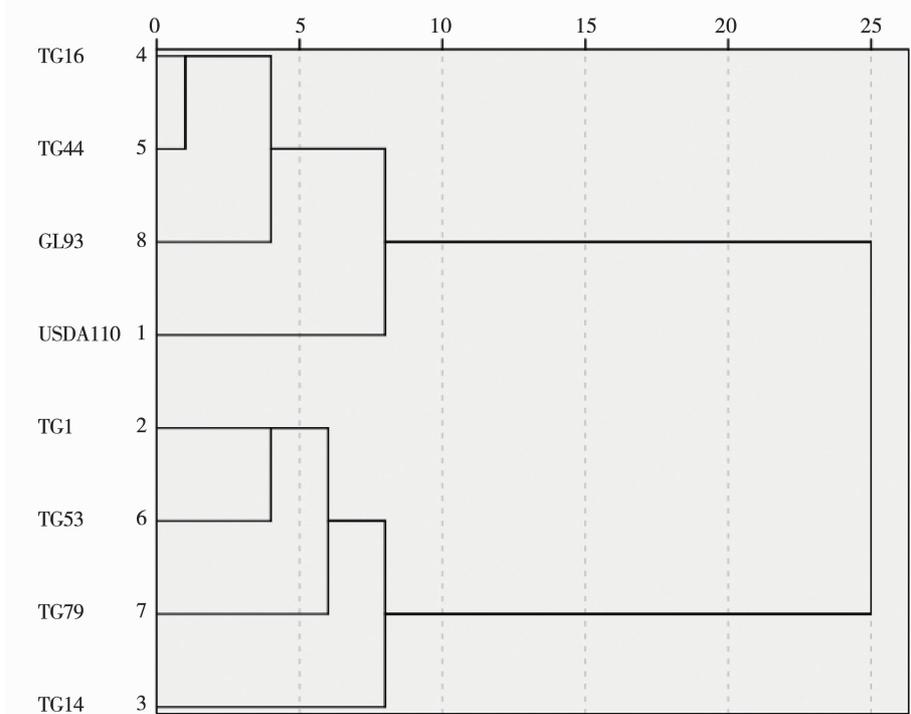


图 1 接种根瘤菌处理植株的性状相对值聚类图

Fig. 1 The cluster diagram of the relative value of plant characters inoculated with rhizobia



1:清水对照下 TG14 处理的植株;2:NaCl 处理下 TG14 处理的植株;3:清水对照下不接菌的植株;4:NaCl 处理下不接菌的植株

1: Plants treated with TG14 under control; 2: Plants treated with TG14 under salt stress; 3: Plants under control; 4: Plants under salt stress

图 2 盐胁迫下 TG14 处理下植株长势

Fig. 2 The plant growth inoculated with rhizobial strains TG14 under salt stress

3 讨论

豆科植物与根瘤菌共生不仅能使植株结瘤率增加,而且能使土壤可利用氮含量增加,增强土壤肥力。不同的根瘤菌与大豆品种的共生匹配性存在较大差异,马中雨等^[11]通过根瘤菌与黄淮海和黑龙江省 11 个大豆核心种质共生匹配性研究发现,不同的大豆根瘤菌间存在明显结瘤固氮差异,快生型大豆根瘤菌表现出比慢生型根瘤菌更严格的品种匹配性。伍惠等^[9]对 8 株优良根瘤菌与 27 个不同地区主栽大豆品种进行匹配性研究表明不同根瘤菌间结瘤固氮能力存在极显著差异。李彦连等^[19]利用从黄淮海地区主栽大豆品种徐豆 24 的种植田中分离得到的 32 株根瘤菌,与徐豆 24 进行共生匹配性研究,确定 *S. fredii* 3 为徐豆 24 相匹配的高效菌株。根瘤菌-大豆共生匹配性关系的研究为选择适合各地主栽品种的根瘤菌株提供依据,本研究选用山西省主栽大豆品种进行匹配性研究,为根瘤菌在山西省的推广应用提供了理论依据和基础材料。利用 8 个根瘤菌与晋大 88 进行共生匹配性分

析,发现在正常清水对照组中接菌对照菌株 USDA110 的植株根瘤性状显著优于其它菌株处理的植株。与清水对照组相比,大多数性状在 NaCl 胁迫下都发生降低,其中根瘤性状表现出显著或极显著下降,表明根瘤性状对盐胁迫的反应较其他性状更为敏感。本研究的其他 7 株菌株均为快生型根瘤菌株,原因可能是快生型根瘤菌比慢生型根瘤菌对大豆品种选择性强,从而限制了其在生产中的应用。

在根瘤菌-豆科植物共生匹配性研究中,大多数研究均采用植株生物量及根瘤性状等指标进行评价^[20],可以较全面地反映出根瘤菌与豆科植物的匹配性关系。在大豆耐盐性研究中,由于耐盐性属于复杂的数量性状,常采用多个指标进行综合评价。刘谢香等^[21]建立了大豆出苗期耐盐性鉴定方法,将成苗率、株高、地上部鲜重、根鲜重、地上部干重和根干重作为苗期耐盐性鉴定的指标。叶片 SPAD 值可以间接反映植株的健康状况,是耐逆性鉴定的常用指标。因此,本研究采用 SPAD 值、植株生物量、根瘤性状作为接种根瘤菌后植株的耐盐性评价指标,且发现接种不同根瘤菌植株的相对 SPAD 值与相对根瘤菌数量呈极显著正相关关系。在清水对照下,不同菌株处理的植株株高、地上部生物量和地下部生物量没有显著差异,对照菌株 USDA110 处理的植株根瘤鲜重、根瘤干重和根瘤数量均较高,与晋大 88 的匹配性最好。NaCl 胁迫下各根瘤菌株处理的植株地下部生物量差异不显著, TG1 处理的植株叶片 SPAD 值、根瘤鲜重、根瘤干重、根瘤数量表现最好, TG14 处理的植株株高、地上部鲜重表现最好。

牛远等^[22]研究表明,大豆鲜生物量、根鲜重在遭受盐害时变化显著。侯鹏浩等^[23]研究表明高浓度盐胁迫显著降低叶片 SPAD 值和植株鲜重,而对于干重的影响没有达到显著水平。本研究在盐胁迫下所有指标均不同程度下降,除 SPAD 值外,其他指标与清水对照相比均达到极显著差异,这可能是由于接菌后植株的耐盐性响应机制与不接菌植株的耐盐性响应机制不同。孟庆英等^[24]认为接种大豆根瘤菌对大豆叶片的叶绿素含量无明显影响,而王鹏辉等^[25]研究表明有些大豆品种接菌处理的叶绿素含量显著高于对照组。本研究结果表明 8 株根瘤菌接种处理中只有 2 个处理表现出叶绿素含量高于不接菌对照,由此可见接种大豆根瘤菌对大豆叶片叶绿素的影响因不同根瘤菌而异。不同根瘤菌处理下的植株各性状相对值相关分析表明,相对根瘤数与相对 SPAD 值呈极显著正相关关系,表明盐胁迫下叶片 SPAD 值可以一定程度反映植株根瘤

数量。相对株高与相对地上部鲜重显著正相关,相对地上部鲜重与相对地上部干重显著正相关,相对根瘤鲜重与相对根瘤干重极显著正相关。而地上部性状、地下部性状及根瘤性状间并没有表现出明显的相关性。

目前我国土壤盐渍化越来越严重,而盐渍化土壤中土著根瘤菌丰度较低,人工接种根瘤菌是提高豆科作物固氮能力、抵抗外界不良环境、增强抗逆性、提高产量和品质的主要措施之一。本研究利用测定指标的相对值对不同根瘤菌处理植株的耐盐性进行综合评价,得到匹配性好的耐盐性菌株为 TG1、TG53、TG79 和 TG14,而对照菌株 USDA110 的耐盐性较弱,在清水条件下匹配性好的根瘤菌在盐胁迫并没有表现出较好的匹配性,本研究筛选的根瘤菌更适合在盐渍土地推广和利用。

4 结 论

在清水对照下,对照菌株 USDA110 处理的植株根瘤鲜重、根瘤干重和根瘤数量均较高,与晋大 88 的匹配性最好。根瘤性状对盐胁迫的反应较其他性状更为敏感。NaCl 胁迫下, TG1 处理的植株叶片 SPAD 值、根瘤鲜重、根瘤干重、根瘤数量表现最好, TG14 处理的植株株高、地上部鲜重表现最好。盐胁迫下叶片 SPAD 值可以一定程度反映植株根瘤数量。TG1、TG53、TG79 和 TG14 处理的植株表现出较好的耐盐性,这些菌株为盐渍地根瘤菌剂的利用提供了菌株资源。

参考文献

- [1] 车文峰,李帅,穆光远.山西省盐碱地资源调查研究及其开发利用[J].科技情报开发与经济,2012,22(1):106-109. (Che W F, Li S, Mu G Y. Survey research and development/utilization of saline-alkaline land resources in Shanxi Province[J]. Sci-Tech Information Development & Economy, 2012,22(1):106-109.)
- [2] 杨少辉,季静,王罡,等.盐胁迫对植物影响的研究进展[J].分子植物育种,2006,4(S1):139-142. (Yang S H, Ji J, Wang G, et al. Effects of salt stress on plants[J]. Molecular Plant Breeding, 2006, 4(S1): 139-142.)
- [3] 李婷,何来,梁泉峰.非豆科植物的根瘤菌促生机制的研究进展[J].中国农业科技导报,2013(2):97-102. (Li T, He L, Liang Q F. Progress in the study of rhizobium associated with non-leguminous plants [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2013 (2): 97-102.)
- [4] 聂刚,陈卫民,韦草宏.神木地区耐旱灌木和草本豆科植物根瘤菌遗传多样性[J].应用生态学报,2014,25(6):1674-1680. (Nie G, Chen W M, Wei G H. Genetic diversity of rhizobia isolated from shrubby and herbaceous legumes in Shenmu arid area, Shaanxi, China [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, 25(6): 1674-1680.)

- [5] 郭丽琢,张虎天,何亚慧,等. 根瘤菌接种对豌豆/玉米间作系统作物生长及氮素营养的影响[J]. 草业学报, 2012(1): 43-49. (Guo L Z, Zhang H T, He Y H, et al. Effect of rhizobium inoculation on crop growth and nitrogen nutrition of a pea/maize intercropping system[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2012(1): 43-49.)
- [6] 刘卢生,玉永雄,郭蕾,等. 苜蓿根瘤菌对不同形态磷利用效率的研究[J]. 草业学报, 2015(7): 60-67. (Liu L S, Yu Y X, Guo L, et al. Utilization of different forms of phosphorus by *Sinorhizobium meliloti*[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2015(7): 60-67.)
- [7] 刘丽,马鸣超,姜昕,等. 根瘤菌与促生菌双接种对大豆生长和土壤酶活的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015(3): 644-654. (Liu L, Ma M C, Jiang X, et al. Effect of rhizobia and PGPR co-inoculant on soybean characteristics and soil enzyme activities[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2015(3): 644-654.)
- [8] Alves B J R, Boddey R M, Urquiaga S. The success of BNF in soybean in Brazil [J]. Plant Soil, 2003, 252(1): 1-9.
- [9] 伍惠,钟喆栋,樊伟,等. 8株优良大豆根瘤菌与不同地区27个大豆主栽品种的匹配性研究[J]. 大豆科学, 2017, 36(3): 405-418. (Wu H, Zhong Z D, Fan W, et al. Symbiotic compatibility among eight elite soybean rhizobia strains and twenty-seven soybean cultivars from different planting regions [J]. Soybean Science, 2017, 36(3): 405-418.)
- [10] 冀照君,王非梦,王素阁,等. 鲁黄1号大豆与根瘤菌的共生匹配性[J]. 应用生态学报, 2014(12): 3573-3579. (Ji Z J, Wang F M, Wang S G, et al. Symbiotic matching between soybean cultivar Luhuang No. 1 and different rhizobia[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014(12): 3573-3579.)
- [11] 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 Science, 2008, 27(2): 221-227.)
- [12] 韩梅. 蚕豆根瘤菌耐旱耐盐碱研究[J]. 青海大学学报, 2019, 37(4): 35-41. (Han M. Drought and saline tolerance of *Vicia faba* rhizobium[J]. Journal of Qinghai University, 2019, 37(4): 35-41.)
- [13] 王卫栋,杨培志,张攀,等. 共生根瘤菌对 NaCl 胁迫下紫花苜蓿抗氧化和渗透调节能力的影响[J]. 草业学报, 2013, 22(5): 120-127. (Wang W D, Yang P Z, Zhang P, et al. The effect of symbiotic rhizobium on the antioxidative and osmoregulatory capability in alfalfa under salt stress [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2013, 22(5): 120-127.)
- [14] Noori F, Etesami H, Zarini H N, et al. Mining alfalfa (*Medicago sativa* L.) nodules for salinity tolerant non-rhizobial bacteria to improve growth of alfalfa under salinity stress[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 162: 129-138.
- [15] 李秀平,陈淑珍,黄琮斌,等. 耐酸铝根瘤菌的筛选及其对大豆-根瘤菌共生体系的影响[J]. 大豆科学, 2018, 37(1): 105-111. (Li X P, Chen S Z, Huang C B, et al. Screening for Al-tolerant rhizobium and its effects on soybean-rhizobium symbiosis system [J]. Soybean Science, 2018, 37(1): 105-111.)
- [16] Kibido T, Kunert K, Makgopa M, et al. Improvement of rhizobium-soybean symbiosis and nitrogen fixation under drought [J]. Food and Energy Security, 2020, 9(1): e177.
- [17] Muleta D, Ryder M H, Denton M D. The potential for rhizobial inoculation to increase soybean grain yields on acid soils in Ethiopia [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2017, 63(5): 441-451.
- [18] 代重阳,孙继鑫,王聪. 不同耐盐性菜用大豆与大豆根瘤菌的共生匹配性研究[J]. 北方农业学报, 2019, 47(6): 90-95. (Dai C Y, Sun J X, Wang C. Symbiotic matching between soybean rhizobium and vegetable soybean with different salt tolerance [J]. Journal of Northern Agriculture, 2019, 47(6): 90-95.)
- [19] 李彦连,王传雷,徐保民,等. 徐豆 24 大豆根瘤菌共生匹配性筛选及应用[J]. 大豆科学, 2020, 39(4): 612-620. (Li Y L, Wang C L, Xu B M, et al. Screening and application of suitable symbiotic combination between rhizobia and soybean cultivar Xudou 24 [J]. Soybean Science, 2020, 39(4): 612-620.)
- [20] 张慧敏,高永,程波,等. 接种根瘤菌后 3 个紫花苜蓿品种耐盐性综合评价[J]. 东北林业大学学报, 2020, 48(2): 40-46. (Zhang H M, Gao Y, Cheng B, et al. Comprehensive evaluation of salt tolerance of 3 *Medicago sativa* L. cultivars inoculated with rhizobium [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2020, 48(2): 40-46.)
- [21] 刘谢香,常汝镇,关荣霞,等. 大豆出苗期耐盐性鉴定方法建立及耐盐种质筛选[J]. 作物学报, 2020, 46(1): 1-8. (Liu X X, Chang R Z, Guan R X, et al. Establishment of screening method for salt tolerant soybean at emergence stage and screening of tolerant germplasm [J]. Acta Agronomica Sinica, 2020, 46(1): 1-8.)
- [22] 牛远,杨修艳,戴存凤,等. 大豆芽期和苗期耐盐性评价指标筛选[J]. 大豆科学, 2018, 37(2): 215-223. (Niu Y, Yang X Y, Dai C F, et al. Related indices selection of soybean salt tolerance at germination and seedling stages [J]. Soybean Science, 2018, 37(2): 215-223.)
- [23] 侯鹏浩,杨万明,杜维俊,等. 不同程度盐胁迫对大豆苗期生物量及生理指标的影响[J]. 大豆科学, 2020, 39(3): 422-430. (Hou P H, Yang W M, Du W J, et al. Effects of different degree salt stress on biomass and physiological indexes of soybean seedling [J]. Soybean Science, 2020, 39(3): 422-430.)
- [24] 孟庆英,张立波,张春峰,等. 根瘤菌对大豆生理及农艺性状的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2015(1): 27-29. (Meng Q Y, Zhang L B, Zhang C F, et al. Effect of rhizobia on physiology and agronomic characters of soybean [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2015(1): 27-29.)
- [25] 王鹏辉,姜昕,马鸣超,等. 一株耐干燥大豆根瘤菌菌株的筛选与固氮效果评价[J]. 大豆科学, 2020, 39(1): 90-96. (Wang P H, Jiang X, Ma M C, et al. Screening of drought-tolerant soybean rhizobium and its symbiotic compatibility verification [J]. Soybean Science, 2020, 39(1): 90-96.)