



烟渣有机肥对大豆结瘤及生长的影响

李子东¹, 孙琪², 谢致平², 王琰^{2*}, 刘可星^{1*}

(1. 华南农业大学 资源环境学院, 广东 广州 510642; 2. 中山大学 生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要:为探究烟渣有机肥对大豆结瘤及生长的影响,本研究对大豆接种4种根瘤菌,发现 *Bradyrhizobium japonicum* USDA110 是最佳的接种菌株,相较于对照组该菌株具有显著的植物促生作用。在相同的试验环境下,设置5个不同的烟渣有机肥水平(0, 10.7, 21.4, 42.9 和 85.7 g·L⁻¹),使用接种了 USDA110 的大豆进行结瘤试验,以未接种根瘤菌且不施用烟渣有机肥的处理作为空白对照。结果表明:两个高施肥水平的处理(42.9 和 85.7 g·L⁻¹)显著增加了结瘤数量,21.4 g·L⁻¹施肥水平下根瘤生物量、茎叶干重、叶绿素含量和植株总干重均为最高,与不施肥处理组的植株有显著差异。与空白对照组相比,各处理组的植株氮含量增加 130.00% ~ 155.47%,磷含量在各处理间没有显著差异,而钾含量随着烟渣有机肥施用量的增加而增加。综上所述,施用烟渣有机肥可以促进大豆结瘤和植株生长,在本试验条件下,施用量 21.4 g·L⁻¹为最佳。因此,烟渣有机肥能以环境友好的方式促进大豆生长,未来的研究仍需在田间条件下测试烟渣有机肥和 USDA110 联合肥料的效应。

关键词:烟草废弃物;有机肥;根瘤菌;共生固氮;植物促生作用;大豆

Effects of Tobacco Residue Organic Fertilizer on Growth and Nodule Formation of Soybean

LI Zidong¹, SUN Qi², XIE Zhiping², WANG Yan^{2*}, LIU Kexing^{1*}

(1. College of Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: In order to explore the effect of tobacco residue organic fertilizer on soybean nodulation and growth. In this study, soybean plants were grown under controlled growth room conditions and inoculated with four different rhizobial strains. *Bradyrhizobium japonicum* USDA110 was found to be the best inoculum strain and a considerable plant growth promoting effect was observed for this strain compared to mock-inoculated control plants. In a similar growth room experiment, organic fertilizer from tobacco (*Nicotiana tabacum*) residues was applied to soybean plants that were inoculated with USDA110. Five different fertilizer levels (0, 10.7, 21.4, 42.9 and 85.7 g·L⁻¹) were used. Non-inoculated control plants without fertilizer were included in the experiment. At the time of harvest (28 days post inoculation), the number of nodules per plant significantly increased for the two highest fertilizer levels while the nodule biomass was the highest at the 21.4 g·L⁻¹ fertilizer level. Likewise, the shoot dry weight and estimated chlorophyll levels in leaves showed a maximum at this fertilizer level. Furthermore, the plant biomass (shoot and root biomass combined) was the highest at this fertilizer level and significantly different from non-fertilized plants inoculated with or without USDA110. Compared with non-inoculated control plants without fertilizer, nitrogen contents were at least 2-fold higher in the inoculated plants independently of the fertilizer level. Phosphorus levels were not different among all plant samples while potassium levels increased with increasing fertilizer amounts. In conclusion, the results of this study show that residues from tobacco plants can be used as an organic fertilizer for soybeans and that a concentration of 21.4 g·L⁻¹ was optimal for plants inoculated with USDA110 under the used test conditions. Future studies are needed to test the combined fertilizer effects of tobacco residues and USDA110 under field conditions. It is suggested that tobacco residues can promote soybean production in an environmentally friendly way.

Keywords: tobacco residues; organic fertilizer; rhizobia; symbiotic nitrogen fixation; plant growth-promoting effects; soybean

大豆是中国重要的粮油作物,同时作为饲料在我国禽畜生产中具有不可替代的作用^[1,2]。施用化学氮肥在大豆增产中起着重要的作用,为了追求更高的经济效益,化学氮肥的滥用成为普遍现象^[3],一方面,造成资源的浪费和品质的降低;另一方面,造成环境污染和土壤生态失衡^[4,5]。大豆也是重要的固氮作物,根瘤菌通过侵染植株根部使大豆形成根瘤,将空气中的分子态氮 N₂ 转化为氨 NH₃ 供植物

利用^[6],可满足豆科植物 60% ~ 95% 的氮素需求^[7,8]。大豆接种根瘤菌是一种经济高效的农业技术措施,在美国、巴西等大豆主产国家得到了广泛应用^[9]。大量研究表明,化学氮肥的使用阻碍了土壤微生物的繁殖、降低了固氮微生物群落丰度,并抑制了豆科植物的固氮结瘤^[10-12]。因此,贯彻可持续发展农业的发展方针,研究并挖掘大豆的生物固氮潜能,是实现化肥减量增效的重要措施。

收稿日期:2024-10-15

基金项目:广东省重点研发项目(2023B0202080001);广州市科技计划项目(20212100024);广州市科技计划项目(20212100035)。

第一作者:李子东,男,硕士研究生,主要从事固体废弃物资源化利用研究。E-mail:15307031411@163.com。

通讯作者:刘可星,男,博士,副教授,主要从事固体废弃物资源化利用研究。E-mail:kxliu@scau.edu.cn;

王琰,男,博士,助理研究员,主要从事根瘤菌共生固氮相关研究。E-mail:wangyan39@mail.sysu.edu.cn。

有机肥是化肥的重要替代物。相较于成分单一的化学肥料,有机肥富含有机质且养分全面,相关应用研究表明,施用有机肥不仅能提高农产品的产量,还有助于改善土壤理化性质、提高土壤微生物群落结构多样性^[13-15]。此外,施用有机肥也是提高豆科植物结瘤固氮能力的重要手段^[11,16]。朱瑞芬^[17]的研究发现施用有机肥能促进紫花苜蓿结瘤与植株生长。且有研究指出,腐熟的有机肥中富含可刺激根系生长和促进种子萌发的活性物质^[18,19]。有机肥还能促进农业废弃资源的转化利用,本研究使用的烟渣有机肥便是由烟草废弃物堆制而成,其富含糖类、氨基酸、有机质、微量元素等多种植物生长所需的营养成分,以及丰富的植物源活性物质^[20],是作为辣椒、茄子、番茄和黄瓜幼苗促生增产的优秀有机肥料^[21]。烟渣有机肥用于水稻^[22]、黄瓜^[23]、花生^[24]等经济作物的促生增产的研究相对较多,但对大豆的生长促进及共生结瘤的影响研究鲜有报道。

根瘤菌-大豆共生体系具有高度专一性和品种匹配性^[25,26],特定大豆品种与不同根瘤菌的结瘤效果存在极显著的差异^[27],因此,筛选出与特定大豆品种匹配性好的根瘤菌株,是研究大豆共生固氮的前提条件。本研究分为两个部分:(1)通过无菌条件下的结瘤试验筛选出与大豆品种 892-2 共生匹配度高的大豆根瘤菌株;(2)探究烟渣有机肥对大豆结瘤和植株生长的影响。试验采用低氮基质培养栽培方法,在接种高效固氮根瘤菌的条件下施用烟渣有机肥,分析各处理下大豆结瘤和植株生长状况的差异,旨在为大豆生产中实现合理施用烟渣有机肥以促进大豆结瘤固氮提供技术支持,推动农业的可持续发展。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆品种为“892-2”,由华南农业大学农学院选育。供试根瘤菌菌株有:USDA33 (*Bradyrhizobium elkanii* USDA33)、USDA61 (*Bradyrhizobium elkanii* USDA61)、USDA110 (*Bradyrhizobium japonicum* USDA110)和 XS1150 (*Bradyrhizobium* sp. XS1150),由中山大学生命科学学院提供。

供试的烟渣有机肥是由 50% 烟叶废弃物加 50% 枯枝落叶堆制而成,由华南农业大学研发,广州市绿风生物技术有限公司生产。有机肥的基本性质为:有机质含量 50.03%、N 1.67%、P₂O₅ 0.85%、K₂O 7.85%,pH8.41。

1.2 试验设计

1.2.1 接种不同根瘤菌的结瘤试验 设置 1 个空白对照组(CK)以及 4 个处理组(USDA33、USDA61、USDA110 和 XS1150),共 5 个处理,处理组分别接

种对应的根瘤菌悬液 2 mL($OD_{600} = 0.2$),对照组(CK)注射相同体积的 MgSO₄ 溶液。植株生长 28 d 后,记录植株的结瘤和植株生长情况。

1.2.2 烟渣有机肥不同施用量的结瘤试验 通过以上试验,筛选出与大豆品种 892-2 结瘤匹配性较好的菌株,作为试验根瘤菌。设置 1 个对照组(CK)以及烟渣有机肥用量梯度(R、RF1、RF2、RF3 和 RF4),共 6 个处理,其中 R 代表只接种根瘤菌,其他处理组均接种根瘤菌且依据 10.7、21.4、42.9 和 85.7 g·L⁻¹ 用量施用烟渣有机肥,对应用量的烟渣有机肥与基质充分混合均匀后装入塑料培养盒上层,上层塑料培养盒的体积为 280 mL。各处理接种根瘤菌悬液 2 mL,对照组(CK)注射相同体积的 MgSO₄ 溶液(10 mmol·L⁻¹)。

1.3 方法

1.3.1 低氮 B & D 营养液配制 蛭石和陶粒中按照体积比 3:1 加入蒸馏水,充分拌匀成培养基质。随后将培养基分装到上层培养盒(长 5 cm,宽 6 cm,高 10 cm),下层培养盒则加入 B & D(Broughton and Dilworth) 营养液,上下两层培养架之间通过棉绳连接。组装好的塑料培养盒用高压灭菌锅在 121 ℃ 条件下灭菌 40 min。B & D 营养液配方(1 L):CaCl₂ 222 g、KH₂PO₄ 136 g、Fe-EDTA 8.42 g、MgSO₄ 0.03 g、K₂SO₄ 87 g、MnSO₄·H₂O 0.34 g、H₃BO₃ 0.25 g、ZnSO₄·7H₂O 0.29 g、CuSO₄·5H₂O 0.10 g、CoCl₂·6H₂O 0.056 g 和 Na₂MoO₄·2H₂O 0.048 g。每 1 L 营养液额外添加 1 g KNO₃ 配置成低氮 B & D 营养液。

1.3.2 菌悬液制备 将活化的根瘤菌 USDA33 接种在 TY 液体培养基中,其余 3 株根瘤菌接种在 MAG(Modified Arabinose Gluconate) 液体培养基,置于 27 ℃、180 r·min⁻¹ 的条件下培养至 OD_{600} 为 1.8 ~ 2.0。菌液在室温下以 4 000 r·min⁻¹ 的转速离心 5 min,弃上清后,用 10 mmol·L⁻¹ MgSO₄ 溶液调节重悬液至 $OD_{600} = 0.2$ 备用。

TY 液体培养基配方(1 L):Yeast extract 3.0 g、Tryptone 5.0 g、CaCl₂·2H₂O 0.5 g。121 ℃ 条件下灭菌 20 min。

MAG 液体培养基配方(1 L):HEPES 1.3 g、MES 1.1 g、Yeast extract 1.0 g、L-arabinc acid 1.0 g、D-gluconic acid 1.0 g、KH₂PO₄ 0.22 g、NaSO₄ 0.25 g、NH₄Cl 0.32 g、FeCl₃ 0.006 7 g、CaCl₂ 0.01 5 g、MgSO₄ 0.18 g,pH6.8 ~ 7.0。121 ℃ 条件下灭菌 20 min。

1.3.3 幼苗培育与处理 挑选大小均一的大豆种子,分别用 75% 乙醇和 10% H₂O₂ 消毒后在无菌蒸馏水中浸泡 12 h。将种子均匀铺在 1.5% 琼脂培养板,避光放在室温下萌发 3 d,挑选一颗长出主根的种子移栽到上层培养盒中,在光照下培养 2 d。用移

液枪将根瘤菌重悬液接种在植株根部,每 1 株豆苗接种 2 mL 根瘤菌重悬液(用 10 mmol·L⁻¹ MgSO₄溶液调节至 OD₆₀₀ = 0.2),覆盖灭菌白石子完成接种,并用 2 mL MgSO₄作对照处理。移栽和接种过程均在超净工作台中进行。移栽接种完成后,塑料培养盒置于光照培养温室内(23 ℃,光照强度为 1 050 ~ 1 100 Lux,光照时长 12 h·d⁻¹)。每 7 d 定量补充 B & D 营养液。

1.3.4 大豆结瘤状况及植株生长形态指标测定
植株生长 28 d 后,用叶绿素仪 (SPAD-502 PLUS, Japan) 根据其叶片的分层测定叶片叶绿素相对含量 (SPAD 值),剪断植株茎叶部,清洗根部后统计植株结瘤数量,处理表面水分后测定根瘤鲜重。然后将植株置于 105 ℃烘箱中杀青 30 min,65 ℃烘干至恒重,测定茎叶部、根部和根瘤的干重。采用 AA3-连续流动分析仪、钒钼黄比色法和火焰光度法测定植株氮、磷、钾含量。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 2022 软件处理数据,采用

SPSS Statistics 26 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和相关性检验 (Pearson),采用 Origin pro 2021 软件绘制图片。

2 结果与分析

2.1 根瘤菌与大豆品种 892-2 的共生匹配效果

如表 1 所示,除对照组 (CK) 外,植株在接种 4 种根瘤菌后均有不同程度的结瘤。USDA33 和 XS1150 处理组的结瘤效果较差,且株高和地上部干重与对照组无明显差异。匹配性最好的菌株为 USDA61 和 USDA110,接种后大豆品种 892-2 植株全部结瘤,且结瘤数量、根瘤干重、根瘤鲜重均显著大于 USDA33 和 XS1150,其中 USDA110 的结瘤数量最多;另外,USDA61 和 USDA110 处理组的株高分别是对照组的 2.02 和 2.07 倍,茎叶干重分别是对照组的 2.19 和 2.26 倍。因此,根瘤菌 USDA61 和 USDA110 与大豆品种 892-2 的结瘤匹配性较好。但根瘤菌 USDA 61 的生长较为缓慢,因此后续试验采用 USDA110 作为接种菌株。

表 1 接种不同根瘤菌对大豆品种 892-2 结瘤和植株生长的影响

Table 1 Effects of inoculation with different rhizobia on nodulation and plant growth of soybean cultivar 892-2						
处理 Treatment	结瘤植株数 Number of plants with nodules	单株结瘤数量 Number of nodules per plant	单株根瘤鲜重 Nodule fresh weight per plant/mg	单株根瘤干重 Nodule dry weight per plant/mg	株高 Plant height/cm	单株茎叶干重 Dry weight of stem and leaves per plant/g
CK	0	—	—	—	12.12 ± 0.88 b	0.46 ± 0.03 b
USDA33	3	26.33 ± 2.19 c	3.51 ± 0.40 c	0.48 ± 0.01 b	12.72 ± 1.04 b	0.50 ± 0.05 b
USDA61	10	41.18 ± 3.94 b	37.60 ± 3.08 a	6.99 ± 0.99 a	25.04 ± 1.98 a	1.01 ± 0.06 a
USDA110	10	61.91 ± 3.91 a	29.35 ± 1.87 b	6.44 ± 1.01 a	24.44 ± 2.40 a	1.04 ± 0.05 a
XS1150	4	3.25 ± 1.11 c	0.35 ± 0.13 c	0.15 ± 0.01 b	13.65 ± 2.06 b	0.52 ± 0.04 b

注:表中数据为平均值 ± 标准误,n = 10;同列数据后的不同小写字母表示差异显著(P < 0.05)。
Note: Data in the table indicate mean ± standard error, n = 10; Different lowercase letters after values in the same column indicate significant differences (P < 0.05).

2.2 烟渣有机肥对大豆结瘤和生长的影响

2.2.1 结瘤 不同处理对大豆结瘤的影响如表 2 所示,施用烟渣有机肥后大豆结瘤数量、根瘤鲜重、根瘤干重均显著提升,根瘤鲜重与根瘤干重较单接种根瘤菌 USDA110 (R 处理) 分别增加了 30.9% ~ 53.6% 和 12.8% ~ 43.1%,均以 RF2 组 (用量为 21.4 g·L⁻¹) 为最大,但继续提高施肥量,根瘤干重和根瘤湿重反而下降。结瘤数量随着烟渣有机肥用量的增加而先增加后基本不变,RF3 组 (用量为 42.8 g·L⁻¹) 的根瘤数量达 88 个,较 R 处理提高了 101.2%。总体而言,烟渣有机肥的施用量为 42.8 g·L⁻¹ 时大豆的结瘤数量最多,施用量为 21.4 g·L⁻¹ 时结瘤生物量最大。

2.2.2 大豆生长和形态指标 不同处理的大豆植株生长指标检测结果如表 3 所示,施用烟渣有机肥促进了大豆植株生长和干物质积累。其中 RF2 组

(用量 21.4 g·L⁻¹) 的株高与植株总干重是所有处理中最好的,分别较 CK 增长了 83.2% 和 123.3%。R 组的茎叶干重较 CK 组有显著提高,而施用烟渣有机肥则进一步提升植株茎叶干重,且在烟渣有机肥用量为 21.4 g·L⁻¹ 时达到最大,但继续提高施肥量,茎叶干重反而下降。另外。施用烟渣有机肥促进了大豆叶片生长,且叶片数量随着烟渣有机肥用量的加大而增加,最大为 RF4 组 (用量 85.7 g·L⁻¹),较 CK 组增加 154.2%,较 R 组增加 47.5%。各处理的根部干重没有显著差异。可见,施用烟渣有机肥能够促进大豆植株生长,提高叶片数量,增加地上部干物质积累。

2.2.3 大豆各部位叶绿素含量 (SPAD 值) 如图 1 所示,相较于对照组 CK,单独接种根瘤菌 (R) 有利于叶片 SPAD 值的提升。而施用烟渣有机肥处理的植株叶片 SPAD 值均大于单独接种根瘤菌 (R),且

SPAD 值随着烟渣有机肥用量的增加呈先上升后下降的趋势,其中 RF2 组(用量 $21.4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)的各部位 SPAD 值均为最大。另外,除对照组(CK)外,各处理的大豆叶片 SPAD 值均表现为子叶 > 第一对真叶 > 第二对真叶。可见,单独接种根瘤菌可以提升大豆植株各部位的 SPAD 值,施用烟渣有机肥可进一步提升植株 SPAD 值,且用量为 $21.4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时植株 SPAD 值最高。

表 2 不同烟渣有机肥用量下大豆的结瘤数量及生物量

Table 2 Nodule number and nodule biomass of soybeans fertilized with different amounts of tobacco residues			
处理	单株结瘤数量	单株根瘤鲜重	单株根瘤干重
Treatment	Number of nodules per plant	Nodule fresh weight per plant/mg	Nodule dry weight per plant/mg
CK	—	—	—
R	42.33 ± 4.31 b	67.22 ± 3.63 b	12.40 ± 1.26 a
RF1	65.44 ± 6.88 ab	95.10 ± 5.81 a	16.50 ± 1.83 a
RF2	67.44 ± 6.72 ab	103.25 ± 8.13 a	17.74 ± 1.48 a
RF3	88.33 ± 12.37 a	98.10 ± 8.64 a	15.94 ± 1.29 a
RF4	86.89 ± 7.98 a	88.00 ± 5.51 a	13.99 ± 0.93 a

注:表中数据为平均值 ± 标准误,n = 9;同列数据后的不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

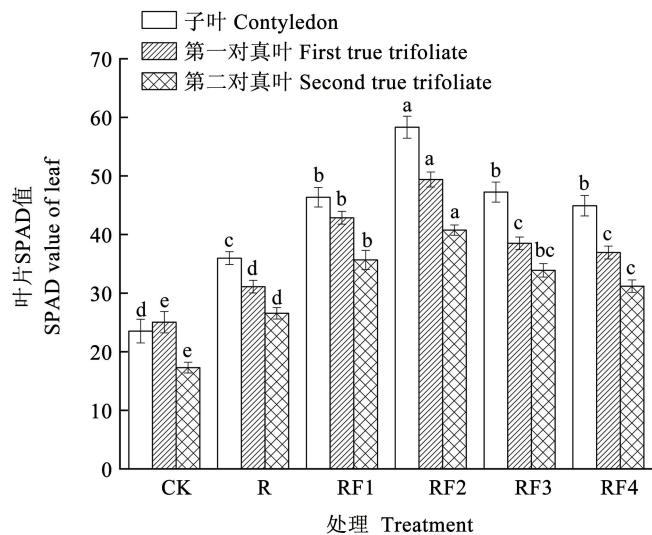
Note: Data in the table indicate mean ± standard error, n = 9; Different lowercase letters after values in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

表 3 同烟渣有机肥用量下大豆的植株形态指标

Table 3 Growth parameters of soybeans fertilized with different amounts of tobacco residues					
处理	株高	单株叶片数量	单株茎叶干重	单株根部干重	单株总干重
Treatment	Plant height/cm	Number of leaves per plant	Dry weight of stem and leaves per plant/g	Root dry weight per plant/g	Total dry weight of plant/g
CK	14.43 ± 0.92 b	11.67 ± 0.69 c	0.53 ± 0.04 c	0.43 ± 0.03 a	0.96 ± 0.07 c
R	20.52 ± 1.70 ab	20.11 ± 2.15 b	1.20 ± 0.10 b	0.44 ± 0.04 a	1.64 ± 0.14 b
RF1	21.40 ± 2.03 ab	22.33 ± 1.97 ab	1.44 ± 0.09 ab	0.49 ± 0.03 a	1.93 ± 0.12 ab
RF2	26.44 ± 2.96 a	26.78 ± 2.31 ab	1.75 ± 0.13 a	0.48 ± 0.04 a	2.23 ± 0.17 a
RF3	21.33 ± 1.57 ab	26.89 ± 2.44 ab	1.49 ± 0.14 ab	0.44 ± 0.04 a	1.93 ± 0.18 ab
RF4	16.89 ± 1.79 b	29.67 ± 3.46 a	1.42 ± 0.13 ab	0.52 ± 0.03 a	1.94 ± 0.16 ab

注:表中数据为平均值 ± 标准误,n = 9;同列数据后的不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Data in the table indicate mean ± standard error, n = 9; Different lowercase letters after values in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).



注:不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

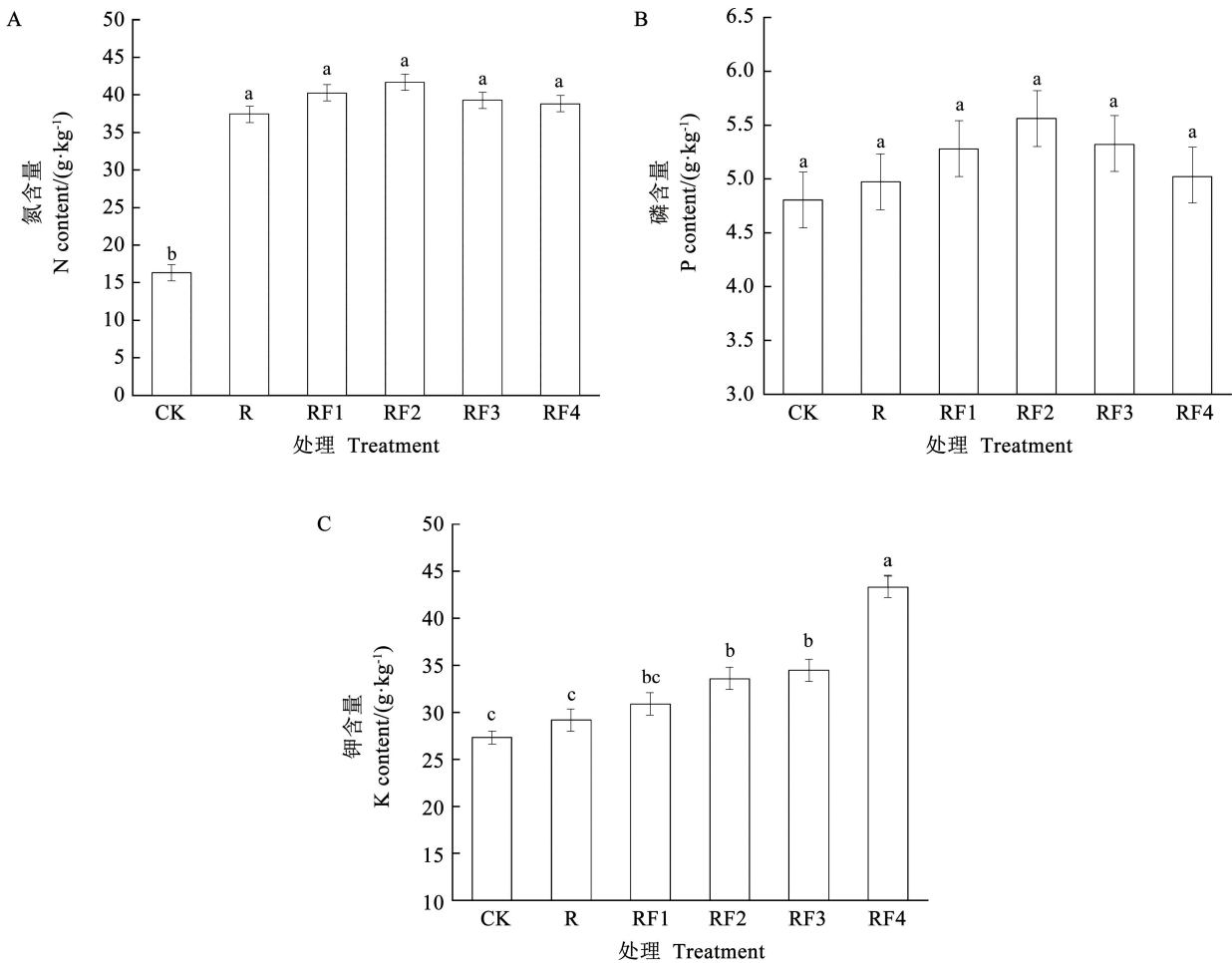
Note: Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

图 1 烟渣有机肥用量对大豆各部位叶片 SPAD 值的影响

Fig.1 Effects of tobacco residues on SPAD values of soybean leaves of different part

2.2.4 大豆植株养分含量 如图 2 所示,施用烟渣有机肥不同程度地提高了大豆植株的氮、磷、钾含量。如图 2A 所示,与空白对照组 (CK) 相比,各处理的氮含量增加了 130.0% ~ 155.5%,其中 RF2 组 (用量 21.4 g·L⁻¹) 的氮含量最高。相比空白对照

组,各处理的植株磷含量无显著差异。如图 2C 所示,施用烟渣有机肥显著提高了植株钾含量,随着烟渣有机肥施用量的增加,钾含量呈上升趋势,其中 RF4 组 (用量 42.8 g·L⁻¹) 的钾含量最高,相比 CK 组增加了 54.6%,较单接种根瘤菌 (R) 增长了 48.3%。



注:不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant differences ($P < 0.05$).

图2 烟渣有机肥用量对植株氮、磷和钾含量的影响
Fig. 2 N, P and K contents of soybeans fertilized with different amounts of tobacco residues

3 讨论

根瘤菌-大豆共生系统的建立具有高度专一性^[28],同一大豆品种接种不同根瘤菌的结瘤效果存在极显著差异^[8],因此筛选出与目标大豆品种最佳匹配的根瘤菌是探究大豆固氮潜能的前提条件。本研究结果表明,根瘤菌 USDA110 与大豆品种 892-2 存在较高的共生匹配性,接种根瘤菌 USDA110 的植株均结瘤,相比其他处理组大豆品种 892-2 的结瘤性状显著提高且结瘤数量最多,且根瘤菌 USDA110 能更快达到 OD₆₀₀ = 1.8 ~ 2.0,因此作为后续结瘤试验的接种菌株。

大豆与根瘤菌形成根瘤,将空气中的 N₂转化成可供植物利用的形式,为植株提供了丰富的氮素来源^[29],促进了大豆的植株生长和氮素积累。本研究中,大豆施用烟渣有机肥相比单独接种根瘤菌,其结瘤数量、根瘤生物量、茎叶干重、叶片数量和各叶绿素含量均显著提高,表明施用有机肥能够促进大豆结瘤以及地上部分的生长。朱瑞芬^[17]在豆科植物栽培中添加有机肥的试验中发现,有机肥与根瘤菌配合施用较单施肥处理的结瘤促生效果有显著提升,与本研究的观点一致。豆科作物根系形成根瘤是生物固氮的基本条件,统计根瘤数量并测算根瘤鲜重、根瘤干重是研究生物固氮的重要方法^[30]。

本研究中,施用烟渣有机肥相比单接种根瘤菌(R)显著提升结瘤数量,且随着有机肥用量的增加而增加,可见有机肥的施用可以促进大豆根瘤的形成和发育,这与前人得出相同的结论一致^[18,19]。韩玉竹等^[31]的研究表明,有机肥的施用可以向根际环境提供更多的有机质,增加微生物需要的营养和能源物质,促进其生长繁殖,根瘤的形成依赖于根瘤菌侵染根部,同时有研究表明有机肥的施用可以提高大豆菌根侵染率,从而促进大豆的结瘤^[32]。本研究中烟渣有机肥的施用可能为基质中的根瘤菌提供充足的有机物质从而间接提高大豆根部结瘤数量。而根瘤干/湿重和植株氮含量随着烟渣有机肥用量的增加呈先增加后减小的趋势,说明过量施肥对根瘤和植株的生长有抑制作用。刘颖等^[7]在关于豆科植物肥料高效利用的研究中也得出相同的结论;邹狮等^[33]通过比较不同氮肥施用量下的结瘤固氮效果,发现过量的氮素投入会抑制大豆结瘤;杨丹霞等^[34]指出高氮会抑制豆科植物结瘤固氮,形成“氮阻遏”效应。本研究表明,大豆农业生产中接种高效固氮根瘤菌及烟渣有机肥施用量为 21.4 g·L⁻¹条件下显著增加了大豆结瘤数量、根瘤干/湿重、株高和茎叶干重。

叶片叶绿素含量(SPAD 值)是反映大豆固氮的重要指标^[35],不同叶层及不同叶位 SPAD 值与氮素营养指标呈现正相关性^[36]。本研究中,接种高效固氮根瘤菌 USDA110 相比 CK 显著提高了叶片 SPAD 值,且随着烟渣有机肥施用量的增加,叶片 SPAD 值呈先递增后递减的趋势,说明增施有机肥显著提升大豆的叶绿素含量,但用量过多对植株固氮有抑制作用。值得注意的是,SPAD 值在叶片各个部位的分布均呈现子叶 > 第一对真叶 > 第二对真叶的规律,这一规律与前人在辣椒^[36]、水稻^[37]和甜瓜^[38]等作物上的研究结果一致。

烟渣有机肥能在土壤中缓慢释放其中的无机(如氮、磷、钾)和有机(如糖类、氨基酸及植物源天然活性物质)物质,长时间维持较高的根际养分水平^[39,40],这是促进大豆结瘤和生长的重要因素。本研究中,烟渣有机肥可以提升植株磷含量,且显著增加大豆植株钾含量,这可能与烟渣有机肥持续为根际提供充足的养分有关。Mukherjee 等^[41]的研究表明有机肥可以调节根系环境并促进微生物的繁殖,在大豆的农业生产中同时施用烟渣有机肥与高效固氮根瘤菌,能改良土壤理化性质、维持土壤养分长效释放、丰富土壤固氮微生物群落结构。但是,在土壤栽培条件下的烟渣有机肥和根瘤菌协同

促进大豆结瘤调控机制仍待深入研究。另外,烟渣有机肥兼具营养、防虫抗病双重功效,含有的天然植物源活性成分可以杀虫抑菌,其中的烟碱作为主要成分在生物农药的研制和应用上被广泛研究,在烟草^[20]、水稻^[22]等经济作物上均有良好的抗病防虫效果。烟渣有机肥可用于部分替代化学氮肥和化学农药施用于大豆,为大豆栽培过程减少化肥、农药的使用,以实现绿色农业提供了新的技术途径。

4 结论

接种根瘤菌对大豆生长有一定的促进作用,施用烟渣有机肥显著提升了大豆的结瘤数量、根瘤鲜重、株高、叶片数量、茎叶干重、叶绿素含量和植株钾含量。本试验筛选出了与 892-2 大豆品种匹配性高的菌株 USDA110,且在后续的试验中发现,烟渣有机肥用量为 21.4 g·L⁻¹时大豆的根瘤鲜重、根瘤干重、株高、茎叶干重、叶绿素含量、植株氮含量和植株磷含量均为最高,大豆的结瘤数量、叶片数量和植株钾含量均随着烟渣有机肥用量的增加而增加。在大豆的生产中接种匹配性较好的根瘤菌并施用适量烟渣有机肥,能显著促进作物生长,这项举措为实现大豆栽培肥料减量增效提供了理论支撑,有助于推动农业可持续发展。

参考文献

[1] 曲厚兰,姜振,李晶,等.世界大豆产业发展现状及我国大豆产业发展建议[J].大豆科技,2022(5):28-33,39.
QU H L, JIANG Z, LI J, et al. Development status of world soybean industry and suggestions on the development of soybean industry in China[J]. Soybean Science & Technology, 2022(5): 28-33, 39.
[2] 李顺萍.世界大豆生产布局及中国大豆对外依存度分析[J].世界农业,2018(11):108-112.
LI S P. Analysis of world soybean production layout and foreign dependence of China soybean[J]. World Agriculture, 2018(11): 108-112.
[3] 巨晓棠,谷保静.我国农田氮肥施用现状、问题及趋势[J].植物营养与肥料学报,2014,20(4):783-795.
JU X T, GU B J. Status-quo, problem and trend of nitrogen fertilization in China[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2014, 20(4): 783-795.
[4] 盖志佳.氮肥密度互作对大豆产量影响的生理机制研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2017.
GAI Z J. Study on physiological mechanism of interaction of nitrogen fertilizer density on soybean yield[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2017.
[5] 蔡祖聪,颜晓元,朱兆良.立足于解决高投入条件下的氮污

染问题[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(1): 1-6.

CAI Z C, YAN X Y, ZHU Z L. A great challenge to solve nitrogen pollution from intensive agriculture[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2014, 20(1): 1-6.

[6] 唐东阶. 大豆品种—根瘤菌株最佳组合筛选试验[J]. 广西农学院学报, 1989, 8(1): 49-55.

TANG D J. Selection of the best combinations between soybean cultivars and strains of *Bradyrhizobium*[J]. Genomics and Applied Biology, 1989, 8(1): 49-55.

[7] 刘颖, 张佳蕾, 李新国, 等. 豆科作物氮素高效利用机制研究进展[J]. 中国油料作物学报, 2022, 44(3): 476-482.

LIU Y, ZHANG J L, LI X G, et al. Research progress on nitrogen efficient utilization mechanism of leguminous crops[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2022, 44(3): 476-482.

[8] 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.

[9] 胥雅馨, 徐玥, 李玲, 等. 接种根瘤菌对新疆春大豆结瘤和生长的影响[J]. 大豆科学, 2021, 40(1): 98-105.

XU Y X, XU Y, LI L, et al. Effects of rhizobia inoculation on nodulation and growth of spring soybean in southern Xinjiang[J]. Soybean Science, 2021, 40(1): 98-105.

[10] WANG C, ZHENG M, SONG W, et al. Impact of 25 years of inorganic fertilization on diazotrophic abundance and community structure in an acidic soil in southern China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 113: 240-249.

[11] LIU X, LIU C, GAO W, et al. Impact of biochar amendment on the abundance and structure of diazotrophic community in an alkaline soil[J]. Science of the Total Environment, 2019, 688: 944-951.

[12] COSTA PEREZ J, ESTRELLA CASTRO A, MARCOS RODRIGUEZ A T, et al. Method for the production of beta-carotene: US8859228[P]. 2014-10-14.

[13] 张江周, 李奕赞, 李颖, 等. 土壤健康指标体系与评价方法研究进展[J]. 土壤学报, 2022, 59(3): 603-616.

ZHANG J Z, LI Y Z, LI Y, et al. Advances in the indicator system and evaluation approaches of soil health [J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(3): 603-616.

[14] 张福锁, 申建波, 危常州, 等. 绿色智能肥料: 从原理创新到产业化实现[J]. 土壤学报, 2022, 59(4): 873-887.

ZHANG F S, SHEN J B, WEI C Z, et al. Green intelligent fertilizer: From interdisciplinary innovation to industrialization realization[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(4): 873-887.

[15] 徐有祥, 朱真令, 王昱妃, 等. 有机肥部分替代化肥对水稻产量和土壤理化性质的影响[J]. 浙江农业科学, 2024, 65(4): 817-822.

XU Y X, ZHU Z L, WANG Y F, et al. Effect of organic fertilizer instead of partial chemical fertilizer on rice yield and soil physicochemical properties[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2024, 65(4): 817-822.

[16] XIE Z, LI Y, YU Z, et al. Incorporation of maize crop residue maintains soybean yield through the stimulation of nitrogen fixation rather than residue-derived nitrogen in Mollisols[J]. Field Crops Research, 2021, 272: 108269.

[17] 朱瑞芬. 腐熟牛粪对紫花苜蓿结瘤促生机制研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2023.

ZHU R F. Study on the mechanism of rotten cow manure on nodulation and growth promotion of alfalfa[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2023.

[18] 李絮花, 杨守祥, 于振文, 等. 有机肥对小麦根系生长及根系衰老进程的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(4): 467-472.

LI X H, YANG S X, YU Z W, et al. Effects of organic manure application on growth and senescence of root in winter wheat[J]. Plant Nutrition and Fertilizing Science, 2005, 11(4): 467-472.

[19] 孙世超. 大豆施用生物有机肥对产量及构成因素的影响[J]. 大豆通报, 2002(4): 10-12.

SUN S C. The influence of using biological organic fertilizer on yield and component element of soybean[J]. Soybean Bulletin, 2002(4): 10-12.

[20] 张盼, 谢松, 易卿, 等. 烟草废弃物腐熟发酵生物有机肥在烟草种植上的应用效果研究[J]. 农业科技通讯, 2016(2): 113-115.

ZHANG P, XIE S, YI Q, et al. Study on the application effect of bio-organic fertilizer fermented by tobacco waste in tobacco planting[J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2016(2): 113-115.

[21] GEBOLOĞLU N, DURUKAN A, CAMCI CETIN S. Determination of heavy metal and nutrient contents and potential use of tobacco waste compost in vegetable seedling production[J]. Asian Journal of Chemistry: An International Quarterly Research Journal of Chemistry, 2005, 17(2): 829-834.

[22] 林挺锐, 孙郑, 卢日辉, 等. 新型植物源有机药肥对水稻的肥效及防虫效果[J]. 华南农业大学学报, 2021, 42(2): 58-64.

LIN T R, SUN Z, LU R H, et al. Effects of new organic fertilizers with botanical pesticide components on rice growth and insecticidal efficiency[J]. Journal of South China Agricultural University, 2021, 42(2): 58-64.

[23] 吴传万, 杜小凤, 顾大路, 等. 植物源药肥对温室黄瓜生长发育和土壤环境的影响[J]. 江苏农业学报, 2014, 30(1): 92-99.

WU C W, DU X F, GU D L, et al. Impacts of plant-derived officinal fertilizer on soil environment and growth of cucumber in solar greenhouse[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 2014, 30(1): 92-99.

[24] 毕军, 夏光利, 朱国梁, 等. 植物源药肥对花生生长、害虫防效及土壤微生物活性的影响[J]. 土壤通报, 2008, 39(5): 1097-1101.

BI J, XIA G L, ZHU G L, et al. Effects of plant-sourced officinal-fertilizer on earhnut growth, anti-pest efficiency and soil microbial activity[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2008, 39(5): 1097-1101.

[25] 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, 25(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, 25(12): 3573-3579.

[26] 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.

[27] 伍惠,钟喆栋,王学路,等. 与黑龙江大豆主栽品种匹配的优良根瘤菌筛选与鉴定[J]. 应用与环境生物学报, 2018, 24(1): 39-46.
WU H, ZHONG Z D, WANG X L, et al. Screening and identification of elite rhizobia matched with main cultivars of soybean in Heilongjiang province[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2018, 24(1): 39-46.

[28] 周涛,陈远学,邹依霖,等. 四川高效大豆根瘤菌的筛选及初步应用研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(1): 227-233.
ZHOU T, CHEN Y X, ZOU Y L, et al. Screening and preliminary application of high efficient soybean rhizobia strains in Sichuan province[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2012, 18(1): 227-233.

[29] 江木兰,张学江,徐巧珍,等. 大豆-根瘤菌的固氮作用[J]. 中国油料作物学报, 2003, 25(1): 50-53, 58.
JIANG M L, ZHANG X J, XU Q Z, et al. Nodulation and nitrogen-fixation in soybean-rhizobium[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2003, 25(1): 50-53, 58.

[30] 关大伟,李力,岳现录,等. 我国大豆的生物固氮潜力研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(6): 1497-1504.
GUAN D W, LI L, YUE X L, et al. Study on potential of biological nitrogen fixation of soybean in China[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2014, 20(6): 1497-1504.

[31] 韩玉竹,张亮,李倩,等. 有机无机肥配施和根瘤菌接种对拉巴豆生长、品质及养分吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(5): 1228-1234.
HAN Y Z, ZHANG L, LI Q, et al. Effects of chemical fertilizer combined with organic manure and *Rhizobium* inoculation on growth, feeding quality and nutrient absorption of *Dolichos lablab* L [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2012, 18(5): 1228-1234.

[32] 李江. AMF与生物炭基肥互作对大豆产量和养分吸收及固氮菌多样性的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2023.
LI J. Effects of interaction between AMF and biochar-based fertilizer on soybean yield, nutrient absorption and diversity of nitrogen-fixing bacteria [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2023.

[33] 邹狮,严君,高瑞敏,等. 高油大豆结瘤固氮和籽粒产质量对氮肥的响应[J]. 中国油料作物学报, 2023, 45(4): 836-844.
ZOU S, YAN J, GAO R M, et al. Response of nodulation and nitrogen fixation and grain yield and quality of high oil soybean to nitrogen fertilizer [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2023, 45(4): 836-844.

[34] 柯丹霞,徐勤朕,杨娜,等. 高氮抑制豆科植物结瘤固氮机制研究进展[J]. 生物技术通报, 2019, 35(10): 40-45.
KE D X, XU Q Z, YANG N, et al. Research progresses on the mechanism of high nitrogen inhibiting nodulation and nitrogen fixation in legumes[J]. Biotechnology Bulletin, 2019, 35(10): 40-45.

[35] 朱佳豪,焦健,蒲怡,等. 固氮根瘤菌与海南主栽菜用大豆的共生匹配性和促生效应[J]. 大豆科学, 2023, 42(4): 441-450.
ZHU J H, JIAO J, PU Y, et al. Symbiotic compatibility and growth promotion effect of nitrogen fixing rhizobia on Hainan vegetable-type soybean [J]. Soybean Science, 2023, 42(4): 441-450.

[36] 王世宁,谢雪果,袁雷,等. 基于垂直方向的色素辣椒氮素诊断敏感叶位筛选[J]. 干旱区资源与环境, 2022, 36(9): 194-201.
WANG S N, XIE X G, YUAN L, et al. Screening of sensitive leaf sites for nitrogen diagnosis in pigment pepper in vertical direction [J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2022, 36(9): 194-201.

[37] 李杰,冯跃华,王旭,等. 水稻叶片 SPAD 值分布特征及其与施氮量的关系[J]. 南方农业学报, 2017, 48(1): 38-45.
LI J, FENG Y H, WANG X, et al. Distribution characteristics of SPAD value in rice leaf and its relationship with nitrogen application rate[J]. Journal of Southern Agriculture, 2017, 48(1): 38-45.

[38] 胡国智,熊韬,张炎,等. 甜瓜主茎叶不同叶位 SPAD 值空间分布与氮素营养诊断[J]. 中国土壤与肥料, 2017(1): 80-85, 148.
HU G Z, XIONG T, ZHANG Y, et al. Spatial distribution and nitrogen diagnosis of SPAD value for different leaves position on main stem of muskmelon [J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2017(1): 80-85, 148.

[39] ZAMA E F, REID B J, ARP H P H, et al. Advances in research on the use of biochar in soil for remediation: A review[J]. Journal of Soils and Sediments, 2018, 18(7): 2433-2450.

[40] JOSEPH S, GRABER E R, CHIA C, et al. Shifting paradigms: Development of high-efficiency biochar fertilizers based on nano-structures and soluble components [J]. Carbon Management, 2013, 4(3): 323-343.

[41] MUKHERJEE A, ZIMMERMAN A R, HARRIS W. Surface chemistry variations among a series of laboratory-produced biochars [J]. Geoderma, 2011, 163(3/4): 247-255.