

科研报告

不同土壤大豆接种根瘤菌剂反应的研究^{*}李新民 谷思玉^{*} 窦新田 王玉峰 张振江

沈海滨

(黑龙江省农科院)

(德都县凤凰山农场)

摘要 不同土壤多点接种试验表明,土壤中土著大豆根瘤菌的群体数量影响着接种菌的竞争结瘤,土著菌数分别在低于 100 个/g 土、100~1 000 个/g 土间和超过 1 000 个/g 土时,接种菌的占瘤率分别为 50.95%、20.37% 和 16.84%。大豆自然结瘤性状 C 值与接种菌占瘤率和接种产量反应分别呈显著负相关 ($r = -0.6294$ 和 -0.5951),占瘤率与接种效果呈显著正相关 ($r = 0.9609$),当大豆自然结瘤性状 C 值为 14 以下和占瘤率超过 25% 时,接种效果增产 10% 左右。所研究的四种土壤(风沙土、黑土、盐碱土和白浆土)供氮水平和土著菌的结瘤固氮作用不能满足大豆植株生长发育所需的氮素,通过有目的接种高效抗逆性强的根瘤菌剂可以达到提高大豆产量的作用,而土著菌超过 1 000 个/g 土的草甸土土壤的供氮能力和土著菌的结瘤固定的氮素,基本满足大豆生长发育的需要。

关键词 大豆接种反应 土著大豆根瘤菌 土壤类型

中图分类号 S154.3 S565.105

土著菌广泛地分布于土壤中,数量高,竞争力强,对植株根系结瘤位点的成功竞争是导致接种反应低或无的主要原因(Meade等 1985),土壤中高的氮素含量通过抑制结瘤作用而影响接种菌的接种效果(Gibson等 1985) Thies等(1991)研究提出了只要群体中存在有效的根瘤菌,相对小的土著根瘤菌群体能满足以寄主植物对氮素的需求的假说。本研究通过对我省几种主要土壤接种大豆根瘤菌试验,探讨接种反应与土著菌群体大小的关系,为进一步指导大豆生产提供依据。

1 材料与方

多点田间接种试验,处理分别为:1)不接种和不施肥(CK);2)接种处理;3)施氮处理,播种时施 100kgN/hm²,出苗后,每月增施 150kgN/hm²,整个生长季节,施氮肥总量达 600~800kgN/hm²,三次重复,接种菌为遗传标记菌 B1611G Str^r、Rif、Gen^r。同时各点辅助种植不结瘤大豆等位基因系。播前采集各试验点土样,用于土著大豆根瘤菌数量(MPN)和土壤含氮量分析。开花—结荚期,调查根瘤数和根瘤重,同时任选一重复区组,从接种处理小区,采取 5株大豆,在每株大豆上随机选取 10个根瘤,按照大豆根瘤菌分离方法,在 YMA培养基和选择性培养基(YMA+Str Rif Gen)确定接种标记菌 B1611G Str^r、Rif、Gen^r的占瘤率。

秋收后,各处理小区测产,并将植株(荚、粒)以及不结瘤大豆植株粉碎,用于分析植株含氮量。

* 收稿日期 1998-01-22

本研究是省自然科学基金资助项目,* 东北农业大学

2 结果与分析

2.1 不同土壤接种与施肥对大豆产量的影响 表 1 中看出,对五种土类 15 个试验地点,接种大豆根瘤菌平均比对照增产 298.5kg/hm²,施肥处理平均比对照增产 414kg/hm²,与对照相比,接种处理达显著增产 (P<0.05)有 6 个点次占多点试验的 40.0%,施肥处理达显著增产的占多点试验的 60% (9 个点),其中 6 个点次接种效应和施肥效应都表现出显著增产,且 3 个点次接种效应高于施肥效应 具体体现在黑土、白浆土和盐碱土上,施肥效应高于接种效应,风沙土接种效应高于施肥效应 草甸土上的两个试验点接种和施肥处理都同对照无显著差异

表 1 接种和施肥处理各试验产量统计 (kg/hm²)

土壤类型	地点	接种	施肥	对照	接种效应	施肥效应
黑土	黑 河	1975.5	3042	1734	241.5 [*]	130f
	德 都	5800.5	5500.5	4800	1000.5	700.5
	绥 化	2925	3100.5	2632.5	292.5 [*]	468 [*]
	哈尔滨	1966.5	2133	1902	64.5	231
	\bar{X}	3166.5	3444	2767.5	400.5	633
白浆土	林 口	1921.5	2118	1863	58.5	255 [*]
	虎 林	2400	1900.5	1150.5	1249.5 [*]	750 [*]
	红兴隆	1876.5	1854	1704	172.5	150
	桦 川	3199.5	3829.5	3195	4.5	634.5 [*]
	\bar{X}	2349	2425.5	1978.5	370.5	447
盐碱土	安达 1	2949	3001.5	2553	396 [*]	448.5 [*]
	安达 2	2652	2751	2601	51	150
	林甸	1668	1905	1595	72	309 [*]
	\bar{X}	2422.5	2553	2254.5	168	298.5
风沙土	杜蒙 1	1953	1773	1618.5	334.5 [*]	154.5 [*]
	杜蒙 2	1929	1879.5	1540.5	388.5 [*]	339 [*]
	\bar{X}	1914	1827	1579.5	361.5	247.5
草甸土	集 贤	2299.5	2431.5	2263.5	36	168
	富 锦	2244	2277	2148	96	111
	\bar{X}	2272.5	2355	2206.5	66	139.5
平均		2517	2632.5	2218.5	298.5	414

注: * 表示处理与对照达显著差异。

2.2 接种处理后不同土壤大豆植株的固氮率 大豆生长发育所需的氮素来源于两方面,即从土壤中吸收和从空气中所固定的氮,表 2 可以看出,接种处理,各土壤大豆固氮率都有不同程度的提高,特别是风沙土接种处理后固氮率提高了 21.13%。这同风沙土含氮量 (0.08%)、土著根瘤菌数量少 (<100 个/克土)有很大关系。以往研究表明,土壤速效氮与大豆根瘤菌接种

表 2 五种土壤大豆固氮率统计

土壤类型	接种固氮率 (%)	对照固氮率 (%)	接种比对照增加	土壤类型	接种固氮率 (%)	对照固氮率 (%)	接种比对照增加
黑土 (3点平均)	54.49	43.90	10.54	风沙土 (2点平均)	36.13	15.0	21.13
白浆土 (3点平均)	41.35	34.69	6.66	草甸土 (2点平均)	52.5	46.34	6.16
盐碱土 (3点平均)	40.93	26.56	14.37				

注: 固氮率 (%) = $\frac{\text{接种(对照)植株全 N 含量} - \text{不结瘤大豆植株全 N 含量}}{\text{接种(对照)植株全 N 含量}} \times 100\%$

有效性呈显著的负相关 ($r = -0.5876^*$) (窦新田等, 1989)。

2.3 不同土壤大豆接种结瘤反应与接种菌的占瘤率 大量的研究表明,根瘤菌接种有效性包括接种有效和结瘤有效两个因素。表 3 中可以看出,各试验点,接种处理后,大豆根瘤菌数及根瘤鲜重均有不同程度的增加,接种菌的占瘤率依试验地点及土壤类型不同而异,在 5 种土壤上的 13 个点调查,占瘤率范围在 8.3%~54.8%,平均为 23.64%。风沙土土壤两点占瘤率最高平均为 50.95%,草甸土最低平均为 10.05%,黑土 3 点平均为 21.3%,白浆土 3 点平均为 20.27%,盐碱土 3 点平均为 20.47%,反映出风沙土壤上大豆接种根瘤菌具有较高的结瘤反应作用,而草甸土接种反应作用最低。对播前各试验点土壤土著大豆根瘤菌数量分布测定,从表 4 中可以看出,总体趋势是土著大豆根瘤菌数量多,其接种菌占瘤率低即土著大豆根瘤菌群体大小明显地影响着接种菌的占瘤率,当土著大豆根瘤菌数量小于 100 个/g 土时,接种菌占瘤率超过 50%,而土著大豆根瘤菌数量超过 1000 个/g 土时,占瘤率仅为 16.64%。反映出接种菌在土壤中的存活和定殖能力也影响着接种反应 (李新民等, 1997)。

表 3 各试验大豆结瘤和接种菌占瘤率统计

土壤类型	地点	接 种		对 照		接种效应		占瘤率 (%)
		瘤数/株	瘤重 (g/株)	瘤数/株	瘤重 (g/株)	瘤数/株	瘤重 (g/株)	
黑 土	黑 河	135.2	1.08	48.4	0.29	86.8	0.79	28.3
	绥 化	76.3	0.58	45.5	0.31	30.8	0.27	26.5
	哈尔滨	46.7	0.45	32	0.32	14.7	0.13	8.3
白浆土	林 口	32.1	0.49	28.3	0.46	3.8	0.03	12.4
	红兴隆	46.8	0.31	25.1	0.17	21.7	0.14	37.1
	桦 川	61.6	0.71	52	0.55	9.6	0.16	11.3
盐碱土	安 达 1	61	0.27	41.6	0.13	19.4	0.14	33.3
	安 达 2	59	0.45	49	0.36	10	0.09	11.4
	林 甸	75.2	0.37	62.5	0.35	12.7	0.02	16.7
风沙土	杜 蒙 1	59.7	0.27	48.2	0.23	11.5	0.04	47.1
	杜 蒙 2	67.5	0.37	41.5	0.21	26	0.16	54.8
草甸土	集 贤	68.9	0.52	52.7	0.47	17.2	0.05	9.2
	富 锦	74.0	0.60	67	0.52	7	0.08	10.9

表 4 接种结瘤反应与土壤土著大豆根瘤菌群体大小关系

土壤土著根瘤菌数 (M PN)	点次	占瘤率 (%)	土壤类型
< 100	2	50.95	风沙土
100~ 1000	6	20.37	白浆土、盐碱土
> 1000	5	16.84	黑土、草甸土

2.4 土著根瘤菌与大豆接种有效性的关系

大量研究表明,土壤中土著根瘤菌数量多,则接种效果差 (Vicent 等),土著根瘤菌的数量一般用植物感染计数法 (M PN) 测定,但这种方法不能完全反映出土著大豆根瘤菌与人工接种的根瘤菌之间的竞争结瘤关系。本研究采用接种菌占瘤率和大豆自然结瘤性状 C

值两个指标能较好地反应出土著大豆根瘤菌与接种有效性的内在关系 (见表 5)。表 5 可看出,接种菌占瘤率与接种增产率呈极显著正相关 ($r = 0.9609$),对 13 个点次试验表明,接种菌在不同土壤上的占瘤率平均为 23.64%,占瘤率高的,其增产效果也明显。占瘤率为 25% 时,置信度 95% 的大豆接种增产率 (%) 的置信区间为 9.57 ± 1.4 。大豆自然结瘤性状 C 值是指大豆在某一试验点花期大豆自然结瘤数和根瘤重的乘积 (对照),它在一定程度上能反映出土著根瘤菌的数量和结瘤情况,表中看出,大豆自然结瘤性状 C 值与接种菌占瘤率呈显著负相关 ($r = -0.6294$)。结瘤性状 C 值为 14 时,置信度 95% 的大豆接种菌占瘤率的置信区间为 $25.82 \pm$

7.92 同样,大豆自然结瘤性状 C值同接种增产效果呈显著的负相关 ($r = -0.5951$),性状 C值为 14时,置信度 95%的大豆接种根瘤菌增产率(%)的置信区间为 9.95 ± 4.18

表 5 大豆自然结瘤性状 C值、占瘤率和接种增产效应间的关系

项目	F值	R值	拟合方程
C值与占瘤率	7.22	-0.6294	$y = 40.86 - 1.07x$
C值与增产率	6.11	-0.5951	$y = 17.23 - 0.52x$
占瘤率与增产率	131.94	0.9609*	$y = -2.74 + 0.49x$

注: $F_{0.05} = 2.36$ $r = 13$

本研究通过大量施用氮肥以限制土著大豆根瘤菌的结瘤和固氮作用,并假定提供的化学氮素能足以满足大豆生长发育所需,从表 6 可以看出,对照区产量占施肥区产量的 75%~94%,表明了五种土壤上土著大豆根瘤菌的结瘤固氮作用和土壤中有效氮素养分两种氮源不能满足大豆植株生长所需的氮素,接种大豆根瘤菌后,黑土、白浆土虽供氮水平有所提高,但仍不能满足大豆生长所需,反映出结瘤共生固氮过程中,土著菌与接种菌的竞争结瘤,有效与无效复杂的内在关系。值得一提的是,风沙土壤瘠薄,土著根瘤菌群体最小,在所研究的五种土壤中,大豆产量水平最低(平均为 1579.5 kg/hm^2),通过有目的接种高效大豆根瘤菌是可以满足低水平产量下的大豆植株生长发育所需的氮素营养,草甸土壤接种、施氮,对照区产量基本接近,反映出现有的土壤供氮水平和土著根瘤菌群体的结瘤固氮作用基本可以满足该产量水平下的植株生长所需,盐碱土壤通过接种大豆根瘤菌也基本接近其最高产量。

表 6 五种土壤接种施氮与大豆氮素需求关系

土壤类型	土著根瘤菌数 (M PN)	接种区产量 施肥区产量	对照产量 施肥产量	接种增产率 (%)
风沙土(2点平均)	< 100	1.06	0.86	18.73
盐碱土(3点平均)	100~ 1000	0.97	0.88	7.65
白浆土(3点平均)	100~ 1000	0.89	0.87	3.48
黑土(3点平均)	> 1000	0.82	0.75	9.54
草甸土(2点平均)	> 1000	0.96	0.94	2.97

3 结论

3.1 多点接种大豆根瘤菌试验表明,大豆的接种反应总体趋势是土壤土著大豆根瘤菌群体数量大其接种反应低,土著菌数在低于 100个/g土、100~ 1000个/g土和超过 1000个/g土时,接种菌的占瘤率分别是 50.95%、20.37%和 16.84%,反映出土著菌的群体数量影响着接种的竞争结瘤,但具体到土壤类型又各不相同。

3.2 采用大豆自然结瘤性状 C值和接种菌的占瘤率较能全面地反映土著大豆根瘤菌与接种菌的竞争结瘤和接种产量反应的内在关系,大豆自然结瘤性 C值与接种菌的占瘤率和接种产量反应呈显著的负相关,相关系数分别为 -0.6294和 -0.5951 占瘤率与接种效果呈极显著的正相关 ($r = 0.9609$),13个点次总体分析来看,当大豆自然结瘤性状 C值为 14以下和占瘤率超过 25%时,接种效果增产 10%左右。

3.3 所研究的五种土壤其供氮水平和土著根瘤菌的结瘤固氮作用不能满足大豆植株生长发育所需的氮素,通过有目的接种大豆根瘤菌可以满足土著根瘤菌数量少的风沙土土壤低产量水平的氮素需求,盐碱土接种高效、抗逆性强的菌株也基本获得最高产量。土著根瘤菌群体数量超过 1000个/g土的草甸土,基本可完全满足大豆植株生长发育所需氮素营养,黑土和白浆土接种大豆根瘤菌,仍不能满足植株的氮素需求,一方面反映出土著菌与接种菌竞争结瘤固氮

的复杂关系,同时也反映出通过进一步提高接种技术和接种菌的固氮能力来提高大豆产量的潜力。

参考文献

- 1 李新民等. 黑龙江省土著大豆根瘤菌数量分布及接种菌在土壤中生存在定殖能力的研究. 黑龙江农业科学, 1997(5): 24-27
- 2 冀新田等. 大豆根瘤菌在黑龙江省接种效果与接种有效性的研究. 中国农业科学, 1989(5): 62-70
- 3 Gibson. A. H. et al., Nitrate effect on nodulation of soybean by *Bradyrhizobium japonicum*. *Crop Science*. 1985(25): 497-501
- 4 Meade. J. P. et al., Studies on the inoculation and competitiveness of a *Rhizobium leguminosarum* strain in soil containing indigenous rhizobia. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1985(49): 899-903
- 5 Thies. J. E. et al., Influence of the size of indigenous rhizobial populations on establishment and symbiotic performance of introduced rhizobia on field-grown legumes. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1995(1): 19-28

Study on Plant Response to Inoculation with *Rhizobium Japonicum* Strain in Different Soil Types

Li Xinmin Gu Siyu Dou Xintian Wang Yufeng et al.

(Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences)

Abstract The results of multi-plot inoculation experiments indicated that the indigenous rhizobial population in soil influenced the competitive nodulation of inoculum. As the population of native rhizobia of soybean was below 100 cells in one gram soil, between 100 and 1000 cells in one gram soil and over 1000 cells in one gram soil, the rates of nodule occupancy of inoculum strain were 50.95%, 20.37% and 16.84%, respectively. The characteristic value of natural nodulation (C value) was negatively correlated to the rate of nodule occupancy of inoculum strain and the yield-increasing effect of inoculation ($r = -0.6294$ and -0.5951), but the yield-increasing effect positively correlated with of nodule occupancy rate of inoculum strain ($r = 0.9609$). When the C value was below 14 and nodule occupancy rate of inoculum strain was up to 25%, the yield-increasing rate of 10% could be achieved. In these trials the sum of available soil N plus N_2 fixed by the indigenous rhizobial population in sandy soil, black soil, lessive soil and salined soil was insufficient to meet N demand of soybean, suggesting that through inoculation with more effect inoculant strain could get higher grain yield of soybean, however, the meadow soil with a indigenous rhizobia population in excess of 1000 cells in one gram soil could meet the demand of soybean to N.

Key Words Soybean plant response to inoculation, Indigenous rhizobial population, Soil type