

花生根瘤菌与钼、硼复配的初步研究*

陈远学 徐开未 张小平** 庞孝勇 郭辉权

(四川农业大学资源环境学院 雅安 625014)

摘要 针对四川花生主产区土壤缺硼、钼现状和花生对硼、钼的需肥特性,研究根瘤菌与 Mo、B 复配的可行性。供试慢生花生根瘤菌 Spr2-9、Spr4-5 耐硼、钼试验结果表明,根瘤菌耐硼能力远低于耐钼能力。“根瘤菌 + Mo + B”复合菌肥研制试验表明,根瘤菌不宜与硼复配,宜与 Mo 复配,与钼复配的适宜最高钼浓度以 0.4% 为宜。

关键词 花生根瘤菌 硼 钼

中图分类号 S144.3 文献标识码 A 文章编号 0253-2654(2007)03-0516-03

Primary Study on Co-inoculum of Peanut *Bradyrhizobium* and Molybdate and Boron*

CHEN Yuan-Xue XU Kai-Wei ZHANG Xiao-Ping** PANG Xiao-Yong GUO Hui-Quan

(Faculty of Resource and Environmental Science, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014)

Abstract Aiming at molybdate and boron deficient acid purple soil from main peanut cultivated areas in Sichuan, and Mo and B requirement of peanut growth, the feasibility of Co-inoculum of peanut *Bradyrhizobium* and molybdate and boron was studied. The tolerance to molybdate and boron of the tested strains Spr2-9, Spr4-5 was inspected. The result indicated that the two tested strains could tolerate higher concentration of molybdate than that of boron. The compound inoculum of Bradyrhizobial strain and trace element Mo was developed. The optimum concentration of Mo was 0.4%.

Key words *Bradyrhizobium* sp. (*Arachis*), Boron, Molybdate

要使作物增产必须施用大量氮肥。作物氮营养来源于化肥和生物固氮,但生产中过多依赖化肥。化学氮肥生产成本低、利用率较低,长期大量施用会不断破坏土壤肥力和环境生态。微生物肥料至少可以替代部份化肥,减少化肥污染和提高农作物产量与品质。根瘤菌肥可减少豆科作物氮肥用量。因此,结合土壤肥力水平和高效菌株的选育,研制和应用高效微生物肥料是提高作物产量和品质、降低成本、保护生态环境、发展有机农业和生态农业的重要举措。

四川是我国花生主产区之一,但花生产量低。接种高效花生根瘤菌剂的增产效果显著^[1]。四川旱耕地主要是紫色土^[2],据调查,四川自贡、资阳、乐山等花生主产区土壤主要是质地砂性的酸性紫色土。四川酸性紫色土极缺 Mo、B^[2],而 Mo 是固氮酶和硝酸还原酶的重要成分,Mo、B 对花生的共生

固氮、产量和品质均有显著影响^[1,3~6]。当前,根瘤菌向多功能“菌+菌”的复合方向发展,且处于研究和探索阶段,而“根瘤菌+多种微量元素”的复合菌肥鲜见报道。为此,针对四川花生主产区酸性紫色土缺钼、硼状况,研制花生根瘤菌与 Mo、B 复配的可行性,对新型复合菌肥的研制和指导该地区花生的生产具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试菌株 慢生型花生根瘤菌 Spr4-5, Spr2-9。由四川农业大学微生物系提供。

1.1.2 培养基 YMA 培养基。菌剂活菌数的检测用加刚果红根瘤菌培养基^[7]。

1.1.3 泥炭 过 100 目筛的泥炭,全硼 0.1214%,有效硼 0.9745mg·kg⁻¹;全钼 80.8315mg·kg⁻¹,有效钼

* 国家重点基础研究发展计划(973)项目(No. 2001CB108905)
国家自然科学基金(No. 30570062)

** 通讯作者 Tel 0835-2882710, E-mail: zxpjg@sicau.edu.cn

收稿日期 2006-08-30, 修回日期 2006-12-25

2.7370(mg·kg⁻¹)。

1.1.4 传统根瘤菌吸附剂配方(500g):泥炭 488.5g ,蔗糖 1g ,过磷酸钙 0.5g ,石灰 10g ,钼酸钠 (0.5%)1mL ,硼酸 (0.5%)1mL。

1.2 方法

1.2.1 供试菌株的耐硼、耐钼性 :根瘤中根瘤菌本身含钼量约为宿主豆科作物叶片中含量的 6 倍以上^[8] ,可见根瘤菌耐钼能力应较强。耐性试验钼酸铵最高浓度选 0.5%。有关根瘤菌耐硼能力的研究未见报道 ,将硼最高浓度定为 0.1%。

具体操作 :以 YMA 培养基为基础培养基 ,分别配制不同浓度的钼酸铵、硼酸 YMA 平板 ,划线接种 ,重复 3 次 ,28℃恒温培养至 10d 观察记载。钼酸铵终浓度(W/V)分别为 0.05%、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5% ,硼酸终浓度(W/V)分别为

0.005%、0.01%、0.025%、0.05%、0.075%、0.1%。以 YMA 培养菌苔作对照。

1.2.2 “根瘤菌 + Mo + B”复合菌肥的生产与质量检测 (1)复合菌剂种类 :本研制“根瘤菌 + Mo + B”的复合菌肥 ,以钼酸铵、硼酸为钼源和硼源。据供试菌株耐钼、硼试验确定钼酸铵和硼酸浓度。钼、硼添加方法 :以传统根瘤菌吸附剂配方为基础 ,钼酸铵、硼酸按配方浓度量代替传统根瘤菌吸附剂配方中的钼酸钠和硼酸 ,其它成分和用量不变而制成复合吸附剂 ,共 14 种(表 1)。分别接种两供试菌 ,共制备 28 个组合。通过此试验可知根瘤菌与 B、Mo 复配的可行性、可耐 B、Mo 的最高、最佳浓度及二者较优的配方组合 ,为新型复合菌肥的研究提供科学理论依据。

表 1 硼钼复合的吸附剂和菌肥代号

吸附剂代号		菌肥代号		钼酸铵含量 (%)	硼酸含量 (%)	吸附剂代号		菌肥代号		钼酸铵含量 (%)	硼酸含量 (%)
1	A1	B1		0.1	0.001	8	A8	B8		0.1	0.04
2	A2	B2		0.2	0.001	9	A9	B9		0.2	0.03
3	A3	B3		0.3	0.001	10	A10	B10		0.2	0.04
4	A4	B4		0.4	0.001	11	A11	B11		0.3	0.03
5	A5	B5		0.001	0.03	12	A12	B12		0.3	0.04
6	A6	B6		0.001	0.04	13	A13	B13		0.4	0.03
7	A7	B7		0.1	0.03	14	A14	B14		0.4	0.04

注 :ASpr4-5 代号 ,BSpr2-9 代号 ,下同。

(2)复合菌肥的生产与质量检测 :生产流程 :泥炭(100 目)→按吸附剂配方添加营养物→装袋 (50g/袋)→1 × 10⁵ Pa 湿热灭菌 2h ,冷却待用。

将生长良好的供试菌株培养物刮洗至无菌 100mL YMA 营养液三角瓶→28℃ ~ 30℃ 恒温摇床扩大培养(8d ~ 10d)→无菌注射器接种(4mL/袋)→封口→28℃ ~ 30℃ 恒温培养(5d)→质量检查。

质量检查 :主要检测活菌数 ,用稀释分离涂布法^[7]。

2 结果与分析

2.1 供试菌株耐钼、耐硼性

从表 2 看出 ,供试菌株耐钼能力远大于耐硼能

力。在钼酸铵浓度为 0.5% 时供试菌株受到较强的抑制 ,说明钼浓度过高对根瘤菌的影响大。若配制“根瘤菌 + Mo + B”的复合菌肥 ,B 浓度不宜超过 0.05% ,Mo 浓度最高以 0.3% ~ 0.4% 为宜。

2.2 “根瘤菌 + Mo + B”复合菌肥的质量

从“根瘤菌 + Mo + B”的复合菌肥活菌结果看(表 3) ,在 0.001% 硼酸浓度下 ,只增大传统泥炭吸附剂配方中钼含量 ,菌肥的活菌数高 ,在 < 0.4% 钼浓度下 ,活菌数随含钼量的增加而增加。这与两菌株的耐钼实验结果基本一致。因该吸附剂泥炭的有效钼和全钼量与添加的钼量比均低得多 ,可见 ,影响菌株生长的钼基本由添加的钼量决定。

表 2 不同浓度硼酸、钼酸铵对供试菌株生长的影响

菌株	硼酸浓度(%)						钼酸铵浓度(%)							
	0.005	0.01	0.025	0.05	0.075	0.1	0.005	0.01	0.05	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
Spr2-9	++++	++++	++++	-	-	-	++++	++++	++++	++++	++++	+++	++	+
Spr4-5	++++	++++	++++	+	-	-	++++	++++	++++	++++	++ ++	+++	+++	+

注 :++++ 生长好 ,+++ 生长较好 ,++ 生长一般 ,+ 生长较差 ,- 不生长。

从表 3 知 ,不管是低钼还是高钼浓度下 ,硼酸含量增至 0.03% 和 0.04% ,活菌数均很低 ,大多数低于菌肥的标准(2 亿/g)^[7] ,这与供试菌株的耐硼酸试验结果较一致。硼酸和钼酸铵复配的菌肥也多数不符合标准。载体泥炭的有效硼(0.9745mg· kg⁻¹)较低 ,全硼量较高(0.1214%) ,是因泥炭有机质含量高 ,而有机质及其分解的中间产物能吸附固定水溶性硼^[9]。综上所述 ,泥炭载体灭菌处理后对有效硼的影响不大 ,影响接种菌株生长的硼主要是外源添加的硼 ,同时说明供试菌株耐硼能力差。可见 ,增大吸附剂中硼酸浓度是不科学、不经济的 ,根瘤菌不宜与硼复配 ,宜与钼酸铵复配。

表 3 硼、钼复合菌肥活菌数检测结果

菌肥代号	含菌量(10 ⁸ cfu/g)	菌肥代号	含菌量(10 ⁸ cfu/g)
A1	37.2	B1	32.5
A2	53.3	B2	34.0
A3	36.7	B3	36.3
A4	27.3	B4	25.3
A5	1.6	B5	0.1
A6	0.2	B6	5.2
A7	1.3	B7	0.1
A8	5.2	B8	5.2
A9	1.3	B9	0.7
A10	6.2	B10	0.4
A11	2.5	B11	3.9
A12	0.8	B12	0.2
A13	2.9	B13	2.9
A14	2.8	B14	1.4

注 :A Spr4-5 代号 ,B Spr2-9 代号 ,1 ~ 14 吸附剂代号 ,同表 1。

3 结论与讨论

从根瘤菌耐 B、Mo 性和“根瘤菌 + Mo + B”复合菌肥的研制试验结果知 ,根瘤菌耐钼能力强 ,耐硼能力差。“根瘤菌 + 微量元素”复合菌肥的研制中 ,根

瘤菌宜与钼而不宜与硼复配 ;与钼复配的适宜最高钼浓度为 0.4%。徐开未等^[10]已报道含一定浓度钼的“根瘤菌 + Mo”复合菌肥盆栽效果好。

根瘤菌无芽孢 ,抗逆能力差^[11] ,但对某些营养元素的耐受能力较高。同一根瘤菌对不同微量元素耐受能力不同 ,有的差异极大 ,本实验供试菌对钼的耐受能力比硼高 10 倍以上。不同根瘤菌对同一微量元素的耐受性也有差异。因此 ,进行“根瘤菌 + 微量元素”复合菌肥的研制中 ,微量元素不能任意复合 ,可通过平板耐性试验进行初步确定 ,同时还应注意菌剂载体中相应有效微量元素的含量。

当然 ,复合菌肥是否科学有效 ,首先应进行高效菌株的选育 ,考察施用作物对该微量元素的需肥特性、土壤肥力水平及供试菌株对该微量元素的耐受力等 ,在复合菌肥生产好后还需进行复合菌肥的盆栽、田间试验进行施用效果验证。

参考文献

[1] 周平贞 ,胡济生.土壤学报 ,1990 27(4) 353 ~ 359.
[2] 四川省农牧厅、四川省土壤普查办公室.四川土壤.成都 :四川科学技术出版社 ,1997.
[3] 马玉珍 ,史清亮.土壤肥料 ,1992 3 :40 ~ 42.
[4] 杜应琼 ,廖新荣 ,黄志尧 ,等.作物学报 ,2001 27(5) 612 ~ 616.
[5] 杜应琼 ,廖新荣 ,黄志尧 ,等.作物营养与肥料学报 ,2002 8(2) : 229 ~ 233.
[6] 郑林用 ,黄怀琼 ,刘世全.四川农业大学学报 ,1990 8(2) :129 ~ 135.
[7] 中华人民共和国农业发布.中华人民共和国农业行业标准根瘤菌肥料 NY410 ~ 2000. 北京 :中国标准出版社 ,2000.
[8] 张石城 ,王高勇 ,潘登魁 ,等.农用微量元素与微肥施用技术.北京 :中国农业科技出版社 ,1998. pp. 268 ~ 273.
[9] 刘武定主编.微量元素营养与微肥施用.北京 :中国农业出版社 ,1995. pp. 24.
[10] 徐开未 ,张小平 ,陈远学 ,等.植物营养与肥料学报 ,2005 11(6) : 816 ~ 821.
[11] 李卓棣 ,胡正嘉主编.微生物学(第五版).北京 :中国农业出版社 ,2001. pp. 260 ~ 267.