

doi: 10.11838/sfsc.1673-6257.21213

芽孢杆菌与根瘤菌复合包衣对大豆结瘤固氮能力的影响

赵宇宾^{1, 2}, 关大伟^{1, 2}, 邢鹏飞^{1, 2}, 王天舒¹, 马鸣超^{1, 2}, 姜 昕^{1, 2}, 李 俊^{1, 2*}

(1. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 北京 100081;
2. 农业农村部微生物产品质量安全风险评估实验室, 北京 100081)

摘 要: 为了探究不同芽孢杆菌与根瘤菌复合包衣对大豆结瘤固氮的影响, 通过盆栽试验, 设置不接菌对照(CK)、根瘤菌单独包衣(R)、阿氏芽孢杆菌(RB)和胶质类芽孢杆菌(RP)2种促生菌分别与根瘤菌双包衣以及3种菌混合包衣(RBP)共5个处理, 测定大豆根瘤数量、干重、根瘤固氮酶活性及植株氮、磷、钾含量, 筛选根瘤菌剂最佳组合。结果表明, 接种菌剂的处理均能够促进大豆结瘤固氮, 其中RB处理效果最好, 能够获得最高的大豆植株干重、根瘤数量、根瘤干重、固氮酶活性、全氮含量, 比CK分别提高51.80%、14.44%、53.33%、44.36%、25.61%, 3种菌包衣并没有比双接种促生效果更好。相关性分析表明, 根瘤干重与固氮酶活性、根瘤数量及植株干重都呈显著正相关关系, 说明根瘤的质量可能比数量更能准确评价共生固氮效率。此结果为根瘤菌剂应用于机械化种植提供可能性, 为进一步推广根瘤菌剂的规模化生产应用提供了科学依据。

关键词: 大豆; 根瘤菌; 芽孢杆菌; 包衣; 促生

大豆-根瘤菌共生体是效率最高的生物固氮系统, 一年的固氮量能够占到所有豆科类作物固定氮量的77%, 固定的氮素可为豆科植物生长提供所需氮素营养的50%~100%^[1]。利用大豆根瘤菌接种进行生物固氮, 是一种有效减少氮肥施用, 实现农业绿色发展的有效措施^[2]。

传统的根瘤菌接种方式拌种, 是在播种前将种子与液体状根瘤菌剂混合的接种技术, 能够取得一定的增产效果^[3-4]。然而, 随着科学技术的发展, 我国大豆主产区已基本实现机械化, 现有的大豆播种机缺少液体根瘤菌剂施用的配套装置, 导致液体根瘤菌剂无法随播种进行施用, 极大地限制了根瘤菌剂的推广应用。目前, 北美地区采用新型的根瘤菌包衣技术, 使大豆根瘤菌接种方式由传统的拌种改为售前包衣, 消除了播前拌种的环节, 大大提高了接种效率, 但是由于包衣技术接种的根瘤菌数量

有限, 含量一般为 $10^5 \sim 10^8$ 个菌体/g, 活菌数量远低于液体菌剂活菌数 $10^{10} \sim 10^{11}$ 个菌体/mL, 会大大降低根瘤菌的接种效果, 降低固氮效率^[5]。因此, 如何在包衣条件下增加根瘤菌的结瘤固氮效率, 成为推进根瘤菌剂机械化应用的关键问题。

大量研究表明, 根瘤菌与促生菌复合接种是一种有效提升根瘤菌结瘤固氮效率的方式。复合菌剂不仅能够增强固氮能力, 还能增加可溶性磷、钾的含量, 分泌生长激素等, 能为植物提供更多的营养物质, 增加植物抗逆性, 进一步促进植物生长^[6-7]。芽孢杆菌作为一类典型的促生菌, 被广泛用于根瘤菌复合菌剂的研发应用中。胶质类芽孢杆菌能够活化土壤磷, 产生有机酸、氨基酸、激素等促进植物生长, 还能够产生胞外多糖, 增强植物非特异性免疫能力, 是微生物肥料的常用功能菌种^[8-10]。有研究表明, 胶质类芽孢杆菌和大豆根瘤菌复合接种, 比根瘤菌单接种增产1.94%, 比不接种对照提升9.3%, 同时能够提高土壤肥力、增加土壤生物量、改善土壤微生物群落结构^[11]。阿氏芽孢杆菌自2009年在20~41 km平流层分离发现以来, 后续的研究表明其分布广泛, 最大的储存库是土壤^[12]。从土壤分离的阿氏芽孢杆菌有助于提高玉米^[13]和大豆^[14]耐旱耐高温能力, 提高水稻^[15]、大豆^[16]耐镉、硝酸盐毒性等抗逆能力, 增加植株根、茎、叶及籽粒中氮、磷、钾、钙元素的含量, 促进作物

收稿日期: 2021-04-07; 录用日期: 2021-06-05

基金项目: 云南省重大科技专项计划——云南高原特色经济作物专用生物肥料创制及产业化应用(202202AE090025); 国家重点研发计划(2021YFD1700200); 中国农业科学院重大联合攻关任务——大豆根瘤菌长效包衣技术(CAAS-ZDRW202003-10); 财政部和农业农村部国家现代农业产业技术体系(CARS-04); 中国博士后科学基金资助项目(2021M693450)。

作者简介: 赵宇宾(1989-), 助理研究员, 博士, 主要从事复合根瘤菌群的筛选及生态效应研究。E-mail: 282236083@qq.com。

通讯作者: 李俊, E-mail: lijun01@caas.cn。

生长。接种阿氏芽孢杆菌能将碳酸锌、磷酸锌和氧化锌水解,促进植物吸收锌离子,提升植株光合作用^[17]。除此之外,阿氏芽孢杆菌还能解磷、解硅、解钾,来提升茶园的土壤肥力^[18]。以上研究表明,单独接种阿氏芽孢杆菌对多种作物包括大豆均具有促生效果,但是,关于阿氏芽孢杆菌与根瘤菌复合菌剂的研究应用鲜有报道。

因此,本研究以慢生大豆根瘤菌 5038 (*Bradyrhizobium japonicum* 5038)、阿氏芽孢杆菌 MB35-5 (*Bacillus aryabhattai* MB35-5)、胶质类芽孢杆菌 3016 (*Paenibacillus mucilaginosus* 3016) 3 种菌作为研究材料,设置不接种、根瘤菌单独包衣、促生菌与根瘤菌双包衣和 3 种菌混合包衣共 5 个处理,通过盆栽试验,测定大豆结瘤能力、营养物质含量及根瘤固氮酶活性,筛选根瘤菌剂的最佳组合,为探究高效复合根瘤菌剂应用于机械化种植提供可能性,也为进一步推广根瘤菌剂的生产应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 供试大豆品种

大豆品种:冀豆 17,由河北省农林科学院粮油作物研究所提供。

1.1.2 供试菌株

慢生大豆根瘤菌 5038 (*Bradyrhizobium japonicum* 5038)、胶质类芽孢杆菌 (*Paenibacillus mucilaginosus* 3016)、阿氏芽孢杆菌 (*Bacillus aryabhattai* MB35-5),菌种来自中国农科院农业资源与农业区划研究所菌肥测试中心。

1.1.3 培养基

YMA 培养基(用于根瘤菌培养):甘露醇 10 g、酵母粉 3 g、MgSO₄ 0.2 g、NaCl 0.1 g、K₂HPO₄ 0.25 g、KH₂PO₄ 0.25 g, pH 7.0,蒸馏水定容到 1000 mL。

LB 培养基(用于阿氏芽孢杆菌培养):胰蛋白胨 10 g、酵母提取物 5 g、NaCl 10 g, pH 7.0,蒸馏水定容到 1000 mL。

改良的 ACCC55 培养基(用于胶质类芽孢杆菌培养):蔗糖 10 g、酵母粉 0.5 g、K₂HPO₄·3H₂O 0.5 g、MgSO₄·7H₂O 0.2 g、CaCO₃ 1 g、NaCl 0.2 g, pH 7.0 ~ 7.2,蒸馏水定容到 1000 mL。

1.2 试验设计

试验在中国农业科学院温室大棚进行,基质采

用蛭石:营养土(体积比)=1:1。大豆接种设为 5 个处理,每个处理 6 个重复。分别为:处理 1,不施肥对照(CK);处理 2,根瘤菌(R);处理 3,根瘤菌+阿氏芽孢杆菌(RB);处理 4,根瘤菌+胶质类芽孢杆菌(RP);处理 5,根瘤菌+阿氏芽孢杆菌+胶质类芽孢杆菌(RBP)。预试验结果表明,根瘤菌、阿氏芽孢杆菌与胶质类芽孢杆菌之间并无明显拮抗作用,因此,本试验设计将这 3 种菌进行复配研究。

表 1 根瘤菌、促生菌复合包衣菌剂组成 (mL)

项目	CK	R	RB	RP	RBP
包衣剂	30	15	15	15	15
R	—	5	5	5	5
BA	—	—	1.32	3.88	1.32
PM	—	—	—	—	3.88
灭菌蒸馏水	0	10	8.68	6.12	4.80
总体积	30	30	30	30	30
OD 值	0	1.024	2.408	3.432	4.456

1.3 试验方法

1.3.1 种子包衣预处理

按体积比 1:1 将多糖包衣剂溶液与根瘤菌和促生菌充分振荡、混匀,制成混合菌液,将称好重量的大豆种子放入干净的自封袋中,每个处理选取 100 粒大豆种子,加入 30 mL 混合菌液,吹气并扎紧自封袋袋口,反复摇匀,晾干备用。

1.3.2 大豆生物性状测定

种植 45 d 后,取样,测定大豆鲜重和干重、根瘤数量和干重。测定干重的方法为将鲜植株与根瘤置于 105℃ 的烘箱中杀青 30 min, 80℃ 条件下烘干至恒重,再用天平测量其质量。

1.3.3 大豆营养成分测定

将烘干的植物样品,粉碎研磨,过 1 mm 筛,分别用凯氏定氮法、钼锑抗比色法和火焰光度法^[19]对大豆植株氮、磷、钾含量进行测定。大豆生长至 45 d 采用 SPAD-502 叶绿素仪测定叶绿素含量。

1.3.4 根瘤固氮酶活测定

将生长 45 d 的大豆植株根部用清水洗净,每个处理选取 6 株大豆植株,将每一株植株根部剪下放入一个 20 mL 的棕色反应瓶中反应 2 h,采用乙炔还原法测定固氮酶活性^[20]。

固氮酶活性 $[\text{nmol}/(\text{mg} \cdot \text{h})]$: $U=n/(\text{m} \cdot \text{t})$

式中, U : 根瘤固氮酶活性 $[\text{nmol}/(\text{mg} \cdot \text{h})]$; n : 乙烯含量 (nmol); m : 根瘤鲜重 (mg); t : 反应时间 (h)。

1.4 数据分析

利用 Excel 2010 绘制图表; 利用 SPSS 20.0 分析处理数据, 不同小写字母表示 0.05 水平差异显著, 不同大写字母表示 0.01 水平差异极显著。

2 结果与分析

2.1 不同促生菌与根瘤菌包衣对大豆植株生物性状的影响

阿氏芽孢杆菌和胶质类芽孢杆菌与根瘤菌混

合包衣对大豆植株生物形状影响不同 (表 2、3)。总体而言, 根瘤菌单独包衣, 或与 2 种促生菌包衣, 或者 3 种菌包衣, 都能够促进大豆生长, 且大豆植株的鲜、干重分别增加 44.36% ~ 82.55%、23.42% ~ 51.80%, 其中阿氏芽孢杆菌与根瘤菌双接种处理 (RB) 获得最高的植株鲜、干重, 但是植株干重在处理间并没有显著性差异 ($P>0.05$)。不同菌种包衣大豆根瘤数量与根瘤干重具有差异性; 同样的, RB 处理获得了最多的根瘤数量与根瘤干重, 分别比不接种 CK 增加 14.44% 和 53.33%, 但是处理间没有显著性差异 ($P>0.05$)。但是, RP 和 RBP 处理的根瘤数量与根瘤干重却略低于根瘤菌单独接种。

表 2 不同促生菌与根瘤菌包衣大豆生物性状

处理	植株鲜重 (g)	植株干重 (g)	根瘤干重 (g)	根瘤数量
CK	1.92 ± 0.24b	0.37 ± 0.04a	0.025 ± 0.005a	15.00 ± 1.76a
R	2.77 ± 0.18ab	0.46 ± 0.05a	0.033 ± 0.008a	17.83 ± 2.02a
RB	3.51 ± 0.49a	0.56 ± 0.11a	0.038 ± 0.014a	17.17 ± 2.93a
RP	3.08 ± 0.90ab	0.46 ± 0.14a	0.035 ± 0.005a	16.83 ± 1.15a
RBP	3.17 ± 0.69ab	0.53 ± 0.14a	0.028 ± 0.008a	16.83 ± 4.25a

注: 同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

表 3 不同促生菌与根瘤菌包衣大豆生物性状增量 (%)

处理	植株鲜重 增量	植株干重 增量	根瘤干重 增量	根瘤数量 增量
CK	—	—	—	—
R	44.36	23.42	33.33	18.89
RB	82.55	51.80	53.33	14.44
RP	60.24	22.97	40.00	12.22
RBP	65.28	42.34	13.33	8.89

2.2 不同促生菌与根瘤菌包衣对大豆根瘤固氮酶活性的影响

阿氏芽孢杆菌和胶质类芽孢杆菌与根瘤菌混合包衣对大豆根瘤固氮酶活性具有显著性影响 ($P<0.05$) (图 1)。R、RB、RP 和 RBP 处理酶活性比 CK 分别提高 4.99%、44.36%、40.77% 和 28.22%, RB 处理固氮酶活性最高, 达到 7.38 $[\text{nmol}/(\text{mg} \cdot \text{h})]$ 。由此可见, 阿氏芽孢杆菌与根瘤菌、胶质类芽孢杆菌与根瘤菌双接种或者 3 接种, 都能够提高大豆根瘤固氮酶活性, 并且固氮酶活性都高于根瘤菌单独接种, 但是 3 种菌

混合接种却没有达到最高的固氮酶活性。

2.3 不同促生菌与根瘤菌包衣对大豆植株营养成分的影响

阿氏芽孢杆菌和胶质类芽孢杆菌与根瘤菌混合包衣对大豆植株氮、磷、钾含量的影响差异性较大 (图 2)。CK、R、RB、RP、RBP 处理对大豆植株氮含量均没有显著性影响 ($P>0.05$), 且含量在 1.68% ~ 2.11% 之间, 其中 RB 处理获得最高的氮含量。R、RB、RP 和 RBP 4 个接种处理的大豆植株氮含量分别比 CK 增加 10.34%、25.61%、2.86%、8.57%。胶质类芽孢杆菌与根瘤菌混合接种含氮量虽然高于不接种处理, 但是却低于根瘤菌单独接种。阿氏芽孢杆菌和胶质类芽孢杆菌包衣增加大豆植株磷含量, 与根瘤菌单独接种具有显著性差异 ($P<0.05$)。RB 与 RBP 处理含磷量高, 分别为 0.97% 和 0.94%, 比根瘤菌单独接种处理提高 25.97% 和 22.08%。4 个接种处理钾含量在 1.88% ~ 1.92% 之间, 不具有显著性差异 ($P>0.05$), 但是, 接种处理与不接种 CK (1.67%) 均存在显著性差异, 且含量提高 12.86% ~ 14.40% ($P<0.05$)。

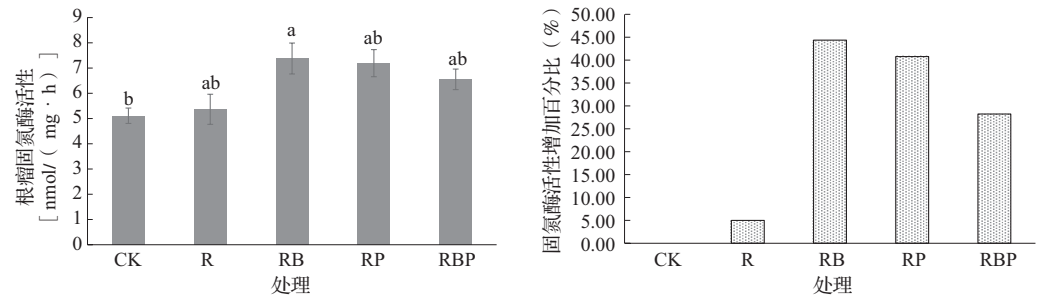


图1 不同促生菌与根瘤菌包衣大豆固氮酶活性及增加百分比
注：不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。下同。

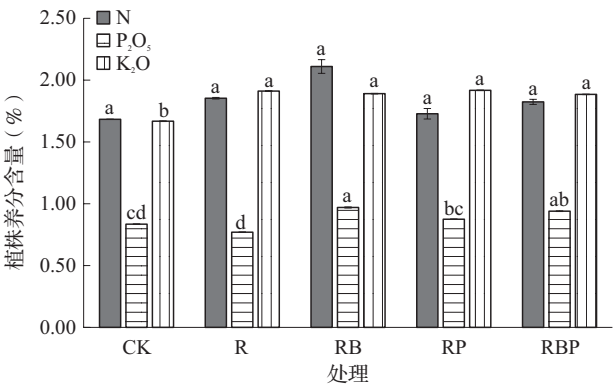


图2 不同促生菌与根瘤菌包衣大豆氮、磷、钾含量

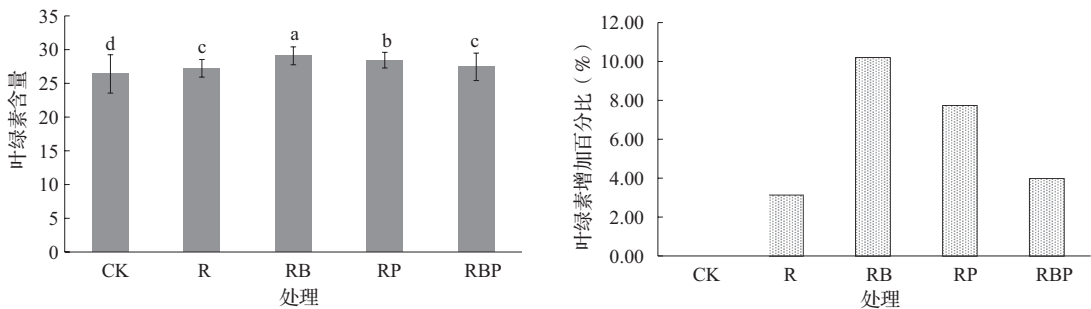


图3 不同促生菌与根瘤菌包衣大豆植株叶绿素含量及增加百分比

表4 大豆生物性状与营养成分的相关性分析

项目	固氮酶活性	根瘤干重	根瘤数量	全氮含量	植物干重
固氮酶活性	1				
根瘤干重	0.620*	1			
根瘤数量	0.266	0.678**	1		
全氮含量	0.387	0.097	-0.097	1	
植物干重	0.388	0.657**	0.511	0.098	1

注：* 表示在 0.05 水平（双侧）上显著相关；** 表示在 0.01 水平（双侧）上显著相关。

共生系统工作效率是可行的，还可以考虑作为一项间接指标预测大豆产量，使用根瘤作为大豆产量预测指标要同时考虑数量与质量，才有可能更加准确。

阿氏芽孢杆菌和胶质类芽孢杆菌与根瘤菌混合包衣，能够增加大豆植株叶绿素含量（图3），其中阿氏芽孢杆菌与根瘤菌双接种效果最好，提高10.16%，其次为胶质类芽孢杆菌与根瘤菌双接种，比CK高7.71%。R与RBP处理没有显著性差异 ($P>0.05$)，分别比CK高3.14%和3.98%。

2.4 大豆生物性状与营养成分的相关性分析

如表4所示，固氮酶活性与根瘤干重呈显著正相关关系，根瘤干重又与根瘤数量和大豆植株全氮含量呈正相关关系。表明大豆根瘤的数量与质量可直接影响根瘤的固氮酶活性，从而影响大豆植株对氮的吸收利用。可见，用固氮酶活性作为评价根瘤

3 讨论

胶质类芽孢杆菌作为常用的微生物菌剂，能够促进植物生长，对其促生效果和功能基因机制研究的比较多^[9, 21]，本研究也获得了类似的研究结果，与根瘤菌包衣能够促进大豆结瘤固氮。阿氏芽孢杆菌能够促进大豆生长的研究机理较少，可能与其高效分解硅酸盐、磷酸盐能力有关。有研究表明，外源添加硅能够缓解NO₃⁻对辣椒的胁迫，增加辣椒干、鲜重、光合能力、氮代谢酶活性^[22]。硅可显著增加稻田土壤的微生物总量，从而促进土壤养分的同化固定，提高土壤中氮和磷的矿化，提高氮肥和

磷肥利用率,减少化肥的施用^[23]。施用硅提高了光合作用和根系形态,从而提高了大豆的产量^[24],尤其在干旱等逆境条件下,能增强干旱条件下大豆幼苗的新陈代谢与渗透调节能力,进而改善其株高、茎粗、侧根条数及茎叶干物质重^[25]。但是,有研究表明,低氮高硅的配比最能促进水稻分蘖,增加叶片含氮量^[26],施用硅肥要注意用量才能起到促生作用^[27]。也有研究表明,阿氏芽孢杆菌可溶解无机磷酸盐,合成铁载体,并产生生物激素如吲哚乙酸(IAA)等活性有机物,促进植物生长,或者直接定殖于植物根系,与植物共生^[28]。阿氏芽孢杆菌与根瘤菌复合接种,对大豆的促生因素主要有哪些,在不同生境下这些促生因素如何发挥作用,还需进一步探究。

促生菌接种并不都会增加作物产量,Chibeba等^[29]在莫桑比克通过慢生根瘤菌单接种和根瘤菌与固氮螺旋菌共接种试验,也发现了此现象。研究发现,单株接种大豆增产22%,与施肥处理的增产幅度相同,共接种并没有增加籽粒产量,这表明需要进一步研究有效的共接种菌种来探究多功能菌种共接种在生产上的限制因素,本研究中解磷的胶质芽孢杆菌与解硅的阿氏芽孢杆菌,分别接种都具有良好的促生效果,但是三者混合却没有取得更高的共生固氮效率。可能是因为菌间的竞争、菌间配比失调,导致接种效果不好。黄秋良等^[30]研究了褐球固氮菌、巨大芽孢杆菌、胶冻样芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌不同接种量组合对芳樟生长的影响,发现不同接种量会影响接种效果。Gao等^[31]发现初始菌种比例确实可以影响群落结构、代谢和功能。因此,多微生物种类的复合根瘤菌剂的开发需要对于限制固氮结瘤的内在机制,如菌剂配比,菌间代谢物的互相影响,与真菌的互作等外在因素如土壤性质、营养物质、中微量元素含量、土著微生物等进行深入研究,才能研发出稳定高效的复合根瘤菌剂用于农业生产中。

固氮酶活性、全氮含量、根瘤数量及质量等是评价根瘤菌与大豆共生固氮效率的指标^[32]。本研究发现根瘤数量、干重与植株干重显著正相关,根瘤作为评价固氮效率的重要指标,对它的检测分析对评价接种效果至关重要。通常情况,对于根瘤的检测手段是通过手动计数数量与测量根瘤大小,处理能力有限,人为操作还可能会出现较大的误差。Chung等^[33]采用了先进的扫描机器与分析技术来确定根瘤的数量和大小,还能够从根图像中识别出根表型,大大增加了根瘤研究的准确性与标准性。

因此,先进技术的使用能够更加准确地评价根瘤固氮效率,为快速筛选高效根瘤菌剂提供技术支撑。

4 结论

阿氏芽孢杆菌与胶质类芽孢杆菌分别与根瘤菌包衣接种都能够促进大豆结瘤固氮,增加大豆植物氮、磷、钾含量。其中,MB35-5阿氏芽孢杆菌促生效果最好,能够为复合根瘤菌包衣剂的研发提供一定的科学依据,但是3种菌混合却没有达到促生效果的叠加效应,可能是因为两种促生菌间存在种间竞争,导致接种效果不如双接种。因此,在后续根瘤菌复合包衣剂的研发中要充分考虑促生菌间的协同性和竞争性,避免根际资源浪费,影响接种效果。

参考文献:

- [1] Herridge D F, Peoples M B, Boddey R M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems [J]. *Plant and Soil*, 2008, 311 (1-2): 1-18.
- [2] 李玲,沈宝宇,张天静,等. 根瘤菌对生态农业的重要意义及其影响因素 [J]. *园艺与种苗*, 2019, 39 (3): 72-75.
- [3] 刘若慈,王铁梅,苏德荣,等. 根瘤菌拌种量对库布齐沙地紫花苜蓿生长的影响 [J]. *草业科学*, 2017, 34 (11): 2303-2308.
- [4] 李俊,沈德龙,林先贵. 农业微生物研究与产业化进展 [M]. 北京: 科学出版社, 2011.
- [5] Hartley E J, Gemell L G, Deaker R. Some factors that contribute to poor survival of rhizobia on preinoculated legume seed [J]. *Crop and Pasture Science*, 2012, 63 (9): 858-865.
- [6] Jesus E D C, Leite R D A, Bastos R D A, et al. Co-inoculation of Bradyrhizobium stimulates the symbiosis efficiency of Rhizobium with common bean [J]. *Plant and Soil*, 2018, 425 (1), 201-215.
- [7] Jabborova D, Wirth S, Kannepalli A, et al. Co-inoculation of rhizobacteria and biochar application improves growth and nutrients in soybean and enriches soil nutrients and enzymes [J]. *Agronomy*, 2020, 10 (8): 1142.
- [8] Wu J G, Wang J F, Zhang X H, et al. A gyr B targeted PCR for rapid identification of *Paenibacillus mucilaginosus* [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2010, 87 (2): 739-747.
- [9] Chen Y H, Yang X Z, Li Z, et al. Efficiency of potassium-solubilizing *Paenibacillus mucilaginosus* for the growth of apple seedling [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19 (10): 2458-2469.
- [10] 常文智. 胶质类芽孢杆菌溶磷分子机理探索及其对土壤生态效应的影响 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [11] 马鸣超,刘丽,姜昕,等. 胶质类芽孢杆菌与慢生大豆根瘤菌复合接种效果评价 [J]. *中国农业科学*, 2015, 48 (18): 3600-3611.

- [12] 熊乙, 欧翔, 贾蓉, 等. 阿氏芽孢杆菌应用研究进展 [J]. 生物技术, 2018, 28 (3): 302-306.
- [13] Kavamura V N, Santos S N, Taketani R G, et al. Draft genome sequence of plant growth promoting drought tolerant *Bacillus* sp. strain CMAA 1363 isolated from the Brazilian Caatinga Biome [J]. Genome Announcements, 2017, 5 (5): e01534-16.
- [14] Park Y G, Raddhakrishnan R, Al E. Application of phytohormones producing *Bacillus aryabhattai* SRB02 on soil can stimulate soybean plant growth during high temperature [C]// Kmb 2015, meeting and international symposium. South Korea, 2015.
- [15] 范美玉, 黎妮, 贾雨田, 等. 耐铝阿氏芽孢杆菌缓解水稻受镉胁迫的研究 [J]. 农业环境科学学报, 2021, 40 (2): 279-286.
- [16] Park Y G, Mun B G, Kang S M, et al. *Bacillus aryabhattai* SRB02 tolerates oxidative and nitrosative stress and promotes the growth of soybean by modulating the production of phytohormones [J]. PLOS ONE, 2017, 12 (3): e0173203.
- [17] Mumtaz M Z, Ahmad M, Jamil M, et al. Zinc solubilizing *Bacillus* spp. potential candidates for biofortification in maize [J]. Microbio Logical Research, 2017, 202 (9): 51-60.
- [18] 董玉惠. 山东茶园专用高效磷钾菌剂的研发及应用效果 [D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- [19] 鲍士旦. 土壤农化分析 (第3版) [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [20] Buendía-Clavería A M, Ruiz-Sainz J E, Cubo-Sánchez T, et al. Studies of symbiotic plasmids in *Rhizobium trifolii* and fast-growing bacteria that nodulate soybeans [J]. Journal of Applied Microbiology, 2010, 61 (1): 1-9.
- [21] 马鸣超, 姜昕, 李力, 等. 胶质类芽孢杆菌功能及基因组学研究进展 [J]. 生命科学, 2014, 26 (10): 1038-1045.
- [22] 宋云鹏, 龚繁荣, 张丽丽, 等. 硅对 NO_3^- 胁迫下辣椒幼苗生长及氮代谢的影响 [J]. 上海农业学报, 2020, 36 (5): 50-55.
- [23] Liao M, Fang Z P, Liang Y Q, et al. Effects of supplying silicon nutrient on utilization rate of nitrogen and phosphorus nutrients by rice and its soil ecological mechanism in a hybrid rice double-cropping system [J]. Journal of Zhejiang University-Science B (Biomedicine Biotechnology), 2020, 21 (6): 474-484.
- [24] 牟英辉, 陈志梁, 程艳波, 等. 硅肥对大豆农艺性状、产量及品质的影响 [J]. 大豆科学, 2012, 31 (4): 625-629.
- [25] 梁喜龙, 段立华, 梁鹏飞, 等. 外源硅包衣对于旱胁迫下大豆幼苗生长的调控效应 [J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 2019, 31 (2): 7-12.
- [26] 潘韬文, 陈保, 蔡昆争. 硅肥和氮肥配施对优质稻植株养分含量、产量和品质的影响 [J]. 生态与农村环境学报, 2021, 37 (1): 120-126.
- [27] Tripathi P, Na C I, Kim Y. Effect of silicon fertilizer treatment on nodule formation and yield in soybean (*Glycine max* L.) [J]. European Journal of Agronomy, 2021, 122: 126172.
- [28] Chandrima B, Utpal B, Ivy M, et al. Genome-guided insights into the plant growth promotion capabilities of the physiologically versatile *Bacillus aryabhattai* strain ab211 [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 411.
- [29] Chibeba A M, Kyei-Boahen S, Guimares, M, et al. Towards sustainable yield improvement: field inoculation of soybean with *Bradyrhizobium* and co-inoculation with *Azospirillum* in Mozambique [J]. Archives of Microbiology, 2020, 202 (9): 2579-2590.
- [30] 黄秋良, 杨先吉, 罗佳佳, 等. 不同微生物菌剂组合处理对芳樟生长和精油积累的影响 [J]. 植物资源与环境学报, 2020, 29 (2): 38-45.
- [31] Gao C H, Cao H, Cai P, et al. The initial inoculation ratio regulates bacterial coculture interactions and metabolic capacity [J]. The ISME Journal, 2021, 15: 29-40.
- [32] 邸伟. 大豆根瘤固氮酶活性与固氮量的研究 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- [33] Chung Y S, Lee U, Heo S, et al. Image-based machine learning characterizes root nodule in soybean exposed to silicon [J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 520161.

Effect on the nodulation and growth of soybean coated with *Bradyrhizobium* and *Bacillus* co-inoculants

ZHAO Yu-bin^{1, 2}, GUAN Da-wei^{1, 2}, XING Peng-fei^{1, 2}, WANG Tian-shu¹, MA Ming-chao^{1, 2}, JIANG Xin^{1, 2}, LI Jun^{1, 2*}

[1. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081; 2. Laboratory of Quality & Safety Risk Assessment for Microbial Products (Beijing), Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081]

Abstract: To explore the effect on the nodulation and growth of soybean when coated with *Bradyrhizobium* and *Bacillus* co-inoculants, pot experiment was carried out. Five treatments were set up, including CK (no inoculant), R (*Bradyrhizobium* inoculant coating), RB (co-inoculant coating of *Bradyrhizobium* and *Bacillus aryabhattai*), RP (co-inoculant coating of *Bradyrhizobium* and *Paenibacillus mucilaginosus*) and RBP (multi-inoculant coating of *Bradyrhizobium*, *Bacillus aryabhattai* and *Paenibacillus mucilaginosus*). Soybean nodule number, nodule dry weight and nodule nitrogenase activity, total nitrogen, phosphorus and potassium of soybean plant were analyzed. The result showed that all treatments with inoculation growth-promoting bacteria promoted soybean nodulation. The RB treatment obtained the highest soybean plant dry weight, nodule number, nodule dry weight, nitrogenase activity, and total nitrogen content, which were higher than that of CK by 51.80%, 14.44%, 53.33%, 44.36% and 25.61%, respectively, and the three kinds of bacterial coating were not better than double inoculation in growth-promoting. Correlation analysis showed that nodule dry weight was significantly positively correlated with nitrogenase activity, nodule number and plant dry weight, indicating that the quality of nodule was more accurate than the quantity to evaluate the symbiotic nitrogen fixation efficiency. The study optimized a high-efficiency composite *Bradyrhizobium* and *Bacillus* coating agent for soybean, and provided a scientific support for the application of *Bradyrhizobium* in the future.

Key words: soybean; *Bradyrhizobium*; *Bacillus*; coating; growth-promoting