

DB 2301

黑龙江省哈尔滨市地方标准

DB 2301/T 104—2022

大豆根瘤菌固氮能力与共生匹配性评价 技术规程

地方标准信息服务平台

2022 - 07 - 18 发布

2022 - 08 - 17 实施

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由哈尔滨市农业农村局提出并归口。

本文件起草单位：中国科学院东北地理与农业生态研究所农业技术中心、哈尔滨市农业技术推广总站。

本文件主要起草人：严君、王崇生、邹文秀、陆欣春、陈旭、许艳丽、居瀚寻、韩阳。

地方标准信息服务平台

大豆根瘤菌固氮能力与共生匹配性评价技术规程

1 范围

本文件规定了大豆根瘤菌固氮能力和共生匹配性评价的术语和定义，盆栽试验实施及评价原则，田间试验管理及评价原则和生产档案。

本文件适用于哈尔滨市行政区内大豆种植区大豆根瘤菌固氮能力和共生匹配性评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 9823 粮油检验 植物油料饼粕总含氮量的测定

GB 20287 农用微生物菌剂

NY 410 根瘤菌肥料

NY/T 1535 肥料合理施用准则 微生物肥料

NY/T 1536 微生物肥料田间试验技术规程及肥效评价指南

NY/T 1735 根瘤菌生产菌株质量评价技术规范

DB2301/T 93 高效大豆根瘤菌菌株筛选技术规程

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

根瘤菌共生固氮能力

根瘤菌通过与豆科作物共生结瘤，将空气中的氮气转化为豆科植物可吸收利用的氨的能力。

3.2

共生匹配性

在大豆根系上形成具有固氮能力的有效根瘤。

3.3

参比菌株

已被认可并广泛使用的根瘤菌生产菌株，作为根瘤菌生产质量控制的参照标准。

4 盆栽试验

4.1 试验准备

基质选用蛭石。蛭石过 100 目筛，去除大的颗粒和杂物，121 °C 条件下间歇性灭菌 2 次，每次 1h，然后将灭菌后的蛭石置于阴凉通风处 2 d ~ 3 d 备用。盆钵用 5% 氯酸钠或 0.1% 高锰酸钾溶液消毒后用无菌水冲洗 2 次 ~ 3 次，将灭菌后的蛭石装入盆钵中，浇适量无菌水备用。用无菌的蒸馏水将参比菌株和待测菌株，分别制备成菌体数量 $\geq 1.0 \times 10^9$ cfu/mL 的接种液，接种液制备应按照 NY/T 1735 的规定

执行。选择当地主栽大豆品种。大豆种子表面消毒后备用，大豆种子表面灭菌应按照DB2301/T 93的规定执行。

4.2 试验实施

设置不接种、接种参比菌株和接种待测菌株处理。不接种处理：将已表面消毒的大豆种子播种于灭菌后的蛭石中，作为空白对照。接种参比菌株处理：将已表面消毒的大豆种子在参比菌株接种液中浸泡1 min ~ 2 min后，移植到灭菌后的蛭石中。接种待测菌株处理：操作方法与接种参比菌株处理相同。每个处理5个重复。接种后每粒大豆种子上至少含有根瘤菌：小粒种子 10^3 个，大粒种子 10^5 个，根瘤菌活菌菌落计数应按照NY 410的规定执行。大豆在昼温/夜温=25℃/20℃下培养，叶面光照强度7000 lx ~ 8000 lx，每天光照12 h。每盆定植1株 ~ 2株大豆。

4.3 结瘤情况调查

于大豆初花期，将大豆连根取出用清水洗净，观察根系结瘤情况和根瘤菌的有效性。凡是肉眼可见的根瘤为结瘤，使用刀片将较大的根瘤切开，若根瘤内部为粉红色、红色或褐色为有效瘤，白色或绿色为无效瘤。

4.4 植株含氮量测定

在完成4.3的同时，分别取不接种、接种参比菌株和接种待测菌株处理下的大豆地上部分（即子叶痕以上），于105℃杀青5 min ~ 10 min，再在80℃下烘干至恒重，测定每盆大豆地上植株干重和含氮量。计算植株总含氮量和待测接种菌株处理较不接种处理植株总氮量的增加量。植株含氮量测定应按照GB/T 9823中的规定执行，植株含氮量计算应符合NY/T 1735中的规定。

4.5 盆栽试验评价原则

接种待测菌株处理与不接种处理相比，收获大豆植株总氮量增加20%以上，统计检验达到显著水平。总含氮量的增加量计算应符合NY/T 1735中的规定。

5 田间试验

5.1 试验设计

试验设计应符合NY/T 1536的规定。

5.2 试验准备

试验地处理应符合NY/T 1536的规定，按试验设计准备所需的根瘤菌接种液的质量应符合GB 20287中的规定，大豆品种为当地主栽大豆品种。

5.3 试验实施和田间管理

试验实施、田间管理和计产等工作，应按照NY/T 1535和NY/T 1536的规定执行。

5.4 田间试验评价原则

接种待测根瘤菌菌株处理与不接种处理产量相比，籽粒产量增加10%以上，统计检验达到显著水平；接种待测根瘤菌菌株处理与接种参比菌株处理相比，籽粒产量增加5%以上，统计检验达到显著水平。计算方法应符合NY/T 1735中的规定。

6 生产档案

应建立生产档案，内容包括：盆栽试验和田间试验准备、实施和评价原则等。档案保存至少3年。

地方标准信息服务平台