

# 甘肃中西部豆科植物根瘤菌多样性调查研究<sup>(20)</sup>

陈卫民, 张执欣, 张宏昌, 韦革宏

(西北农林科技大学生命科学院, 陕西 杨凌 712100)

**摘要:**通过对甘肃中西部地区豆科植物共生固氮资源多样性的调查, 共获得豆科植物根瘤菌样品 452 份, 涉及 18 个属, 30 个种, 分离得到 328 株根瘤菌。调查结果显示: (1) 本地区豆科植物资源贫乏, 但适应性强, 大多数都具有抗干旱、耐盐耐碱特性。(2) 土壤干旱和土壤高盐浓度是影响根瘤形成的重要限制因子。(3) 本地区豆科植物根瘤形状多为棒状、球状, 部分为不规则状; 颜色为红色、浅褐色、褐色、黄色, 部分为白色、黑色。(4) 许多豆科植物—根瘤菌共生固氮体系已被广泛应用于防风固沙、防治水土流失及改善生态环境等方面。

**关键词:** 共生固氮; 根瘤菌; 多样性; 甘肃中西部

**中图分类号:** S 154 38<sup>+</sup> 1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7601(2006) 01-0183-04

根瘤菌是一类与农业生产极为密切的革兰氏阴性杆状细菌, 它们与植物共生形成有效根瘤或茎瘤, 将大气中的分子态氮转化为能被植物利用的化合态氮, 供植物生长, 是已知生物固氮能力最强的共生体系之一, 每年固氮量占全球生物固氮量的 65% 以上, 相当于全世界工业合成氮肥量的 2 倍, 是氮素循环的主要环节。目前, 世界上已知的豆科植物约 750 属, 近 2 万种, 有人预测, 根瘤菌种的数目将与目前豆科植物种的数量一样多。我国已知有 170 多个属, 约 1 500 种, 还有许多能够与根瘤菌共生结瘤的豆科植物正在不断地被收录。然而, 对豆科植物根瘤菌的资源调查及分类研究明显不足, 在这些豆科植物中只有不足 10% 的种做过结瘤调查研究, 研究过共生关系的更少, 只有 0.3% ~ 0.5%<sup>[1]</sup>。

甘肃省的大部分地区属于干旱半干旱地区, 沙漠化、盐碱化、水土流失严重威胁着农业生产及人民的生活, 进而影响西部大开发及国民收入。其中, 河西走廊地区是我国最大的两个沙尘暴策源地之一, 它东起乌鞘岭, 西接吐哈盆地, 南依祁连山, 北偎腾格里、巴丹吉林沙漠。武威、张掖、金昌、酒泉、嘉峪关五地市自东向西连成千里走廊。整个走廊属于典型的大陆干旱荒漠气候, 地带性植被主要由超旱生灌木、半灌木和超旱生半乔木组成。民勤、安西等地区的荒漠化, 临泽、安西等 11 个县市的盐碱化及祁连山区水土流失一系列问题, 使得人、水、地等资源配置矛盾日益凸显出来, 自然生态环境更加脆弱。因

此, 转变开发模式是治理沙尘暴, 防止盐碱化, 改善河西走廊、祁连山区等生态环境的良策。

生产实践发现, 许多豆科植物具有适应各种恶劣环境的特性, 并成为先锋植物, 倍受人类密切关注, 如锦鸡儿具有较强的抗旱作用, 被广泛应用于防风固沙、防治水土流失; 骆驼刺具有较强的抗旱、耐盐耐碱性, 并且含有较高的蛋白、矿物质, 是优良的牧草, 已应用于改善土壤、提高农业生产; 细枝岩黄耆具有很强的抗旱特性已被应用于防风固沙。这些豆科植物已显示出良好的经济效益、社会效益和生态效益。2004 年 7~8 月, 我们对甘肃中西部地区豆科植物共生固氮资源进行系统的调查研究, 这将为本地区豆科植物资源及根瘤菌的开发利用提供科学依据。

## 1 调查路线

根据甘肃中西部地区的地形、气候及土壤类型, 共设 40 个采样点, 采集路线由东向西依次是: 古浪→武威→民勤→永昌→金昌→山丹→张掖→临泽→高台→酒泉→嘉峪关→玉门→安西, 途径 13 个县市, 行程约 1 500 多公里。

## 2 材料与方法

### 2.1 样品采集

选定植株, 对其周围生态环境及植株用数码相机拍照, 挖出根, 挑选新鲜、个大并饱满的根瘤, 保藏

<sup>(20)</sup>收稿日期: 2005-03-01

基金项目: 国家自然科学基金(30470040); 全国优秀博士学位论文作者专项基金(200254); 教育部新世纪优秀人才支持计划

作者简介: 陈卫民(1976-), 男, 在读硕士生, 主要从事微生物多样性研究。E-mail: colin\_007007@yahoo.net

通讯作者: 韦革宏, E-mail: weigehong@yahoo.com.cn

于装有变色硅胶的离心管中(根瘤较大的保藏于装有变色硅胶的青霉素瓶中),密封,带回实验室进行分离。并对根瘤照相、编号,记录其形状、大小、颜色、结瘤部位及植物属名、种名、生长阶段、株高、伴生植物、采样地点、地形、纬度、经度、海拔、土壤类型。

## 2.2 根瘤菌的分离与纯化

干燥的根瘤在无菌水中浸泡至吸胀为止,经 75% 的酒精 3~5 min 和 0.1%  $\text{HgCl}_2$  1~3 min 表面灭菌,无菌水冲洗 5~6 次,在无菌条件下将根瘤压碎,挤出汁液,接种于 YMA 培养基 0.4%,置 28℃ 下培养。挑取单菌落,牛肉汤液体培养基培养 24 h,或进行革兰氏染色,镜检,斜管保藏两份,30% 甘油-30℃ 保藏一份,备用。如果不纯,继续进行 YMA 平板划线,直至纯化为止。

## 3 结果与分析

### 3.1 豆科植物根瘤菌资源情况

通过对甘肃中西部地区的豆科植物根瘤菌资源调查,共采集到根瘤 452 份,涉及豆科植物 18 个属,30 个种(表 1),主要分布在东经 96°14'04"至东经 103°23'39",北纬 37°35'13"至北纬 40°33'46",海拔由 1 258 m 至 2 487 m,所采集的种类仅占全国豆科植物种类的 2%,全部属于蝶形花亚科,多为灌木、一年生或多年生草本植物,除猫头刺(*O. aciphylla* Ledeb.)外,其余均有结瘤。据 Allen 对全世界 3 108 种豆科植物结瘤情况的统计,2 833 种豆科植物结瘤,其中,蝶形花亚科(*Papilionoideae*) 98% 可结瘤,含羞草亚科(*Mimosoideae*) 90% 可结瘤,而云实亚科(*Caesalpinioideae*) 仅为 28%<sup>[2]</sup>,与本调查结果基本一致,即蝶形花亚科占多数。调查还发现,河西走廊干旱荒漠区特有的三种豆科植物:胀果甘草(*G. inflata* Batal)、黄花棘豆(*O. chrocephala* Turcz.)和红花岩黄耆(*H. multijugum* Maxim.)均有结瘤<sup>[3]</sup>。实验室分离得到 328 株根瘤菌,为研究优良的共生固氮体系奠定了基础。

调查结果显示,一些豆科植物分布具有明显的地域差异性。在陇东、陇中等黄土高原干旱地区,分布较广且耐旱的胡枝子、刺槐、皂角,本地区未见到。与之相比,本地区分布较广且能反映荒漠气候的一些豆科植物,如胀果甘草、骆驼刺(*A. pseudalhagi* Desv.)、细枝岩黄耆(*H. scoparium* Fisch.)、红花岩黄耆、黄花棘豆等,在陇东、陇中等黄土高原干旱地区却未见到。然而由于一些豆科植物具有抗旱、耐贫瘠的共性,如苦马豆(*S. salsula* DC.)、苦豆子(*S. alopeuroides* Linn.)、柠条锦鸡儿(*C. korshinskii*

*Kom.*)、甘草(*G. uralensis* Fisch.)等,其分布跨越干旱半干旱气候区和大陆荒漠气候区,这种分布特性为豆科植物与根瘤菌的跨气候区开发利用提供了依据。

### 3.2 根瘤特征

甘肃中西部地区根瘤形状以球状、棒状、掌状居多,部分为不规则,与王卫卫、谭志远等对陕西、甘肃和宁夏部分调查结果相同<sup>[4~6]</sup>,即同属豆科植物寄主间根瘤形状相似,这与结瘤植物本身的遗传特性相关。根瘤颜色以褐色、红色、黄色居多;由表 1 可知,壤土或沙壤土中根瘤多为粉红色和浅褐色,沙土或盐碱土中根瘤多为褐色,部分是黄色或黑色。产生原因是由于本地区气候干燥,降雨量少,蒸发量大,加之沙土蓄水能力差、土壤贫瘠,造成逆境,导致根瘤活性不及壤土的高,无效瘤多。说明土壤中的高盐浓度与干旱是共生固氮的重要限制因子<sup>[7]</sup>。

由表 1 可见,根瘤主要着生在须根部位(除豇豆、大豆及蚕豆等人工栽培豆科植物主根和侧根结瘤外),其大小为 0.5~6 mm 不等,大多数在 1~4 mm 之间,与很多学者对西北地区根瘤调查结果一致。

### 3.3 生态环境对结瘤特性的影响

通过对甘草、细枝岩黄耆、骆驼刺根瘤的采集,本调查分析认为,影响该地区共生固氮的主要因素是干旱和土壤高盐浓度。

古浪县位于黄土高原边界,土壤多为黄绵土,土壤水分含量低,但甘草生长旺盛,根系发达,多为一条主根,垂直向下生长,根毛极少,颜色褐色较深,很难采到根瘤。相比之下,在民勤县郊的农田与水渠边,土壤水分含量较高,甘草根系很发达,须根多,10 cm 深处就可以采到大量的根瘤,且根瘤饱满、颜色多为粉红色和浅褐色。

细枝岩黄耆——荒漠中的先锋植物,在民勤县、高台县和安西县已被广泛用于防风固沙,作为人工防护林带主要种类种植在沙漠公路、农田和铁路边,根瘤采集过程中发现结瘤率很低,很难采到根瘤,这与土壤干旱以及多年未种豆科植物有关<sup>[8]</sup>。

骆驼刺是一种抗旱、耐盐耐碱半灌木豆科植物,在临泽县、安西市盐碱地所见到的骆驼刺根瘤生长部位很深,50 cm 左右甚至 100 cm 以下才能见到根瘤,根据盐碱地土壤中盐碱离子分布的特点,这极可能是由于表层土壤盐浓度高,不利于根瘤形成,而深层土壤盐浓度较低,较适宜根瘤的形成所决定的。以上均验证了土壤中的高盐浓度与干旱是共生固氮的限制因子。

表 1 甘肃中西部地区豆科植物根瘤资源情况

Table 1 Investigation of rhizobium of legumes in the middle and western areas of Gansu Province

属名 Genus	种名 Species	根瘤特征 Characteristics of nodules				土壤类型 Soil type
		根瘤形状 Shape	根瘤颜色 Color	大小(mm) Size	着生部位 Position	
骆驼刺属 <i>Alhagi</i> Desvauz	骆驼刺 <i>A. pseudalhagi</i> Desv.	棒状或球状 Stick or sphericity	浅褐色 Sandy beige	1~3	侧根 Lateral	盐碱土、沙土 Saline alkali, sand
甘草属 <i>Glycyrrhiza</i> Linn	胀果甘草 <i>G. inflata</i> Batal.	掌状 Palm shaped	粉红色 Pink	1	侧根 Lateral	沙土 Sand
	甘草 <i>G. uralensis</i> Fisch.	球状 Sphericity	浅褐色 Sandy beige	0.5	侧根 Lateral	沙土 Sand
野豌豆属 <i>Vicia</i> Linn	蚕豆 <i>V. faba</i> Linn.	棒状或不规则 Stick or irregular	褐色 Brown	1~4	主、侧根 Taproot, lateral	沙壤土 Silt loam
	大巢菜 <i>V. sativa</i> Linn.	棒状或不规则 Stick or irregular	浅红色 Baby pink	1~5	侧根 Lateral	壤土 Loam
	野豌豆 <i>V. sepium</i> Linn.	棒状 Stick	粉红 Pink	1~3	侧根 Lateral	壤土 Loam
胡卢巴属 <i>Trigonella</i> Linn	胡卢巴 <i>T. foenum graecum</i> Linn.	棒状 Stick	浅褐色 Sandy beige	1	侧根 Lateral	壤土 Loam
岩黄耆属 <i>Hedysarum</i> Linn	红花岩黄耆 <i>H. multijugum</i> Maxim.	棒状 Stick	褐色、粉红色 Brown, baby pink	1~5	侧根 Lateral	沙壤土、壤土 Silt loam, loam
	细枝岩黄耆 <i>H. scaparium</i> Fisch.	棒状 Stick	浅褐色 Sandy beige	2	侧根 Lateral	沙土 Sand
	短翼岩黄耆 <i>H. brachypterum</i> Bunge.	棒状 Stick	浅褐色 Sandy beige	1.5	侧根 Lateral	沙土 Sand
锦鸡儿属 <i>Caragana</i> Fabr	荒漠锦鸡儿 <i>C. roborovskii</i> Kom.	棒状 Stick	黑褐色 Dark brown	1~4	侧根 Lateral	沙壤土 Silt loam
	柠条锦鸡儿 <i>C. korshinskii</i> Kom.	棒状 Stick	褐色 Brown	1~2	侧根 Lateral	沙土 Sand
槐属 <i>Sophora</i> Linn	苦豆子 <i>S. alopecuroides</i> Linn.	棒状 Stick	粉红、土黄 Pink, yellow	3 2~5	侧根 Lateral	沙壤土、沙土 Silt loam, sand
草木樨属 <i>Melilotus</i> Adans.	草木樨 <i>M. suaveolens</i> Ledeb.	棒状 Stick	粉红 Pink	0.5	侧根 Lateral	沙土 Sand
	白香草木樨 <i>M. albus</i> Desr.	短棒状 Stick	乳白、黄色 White, yellow	1	侧根 Lateral	沙土 Sand
苦马豆属 <i>Spharophysa</i> DC.	苦马豆 <i>S. salsula</i> DC.	棒状 Stick	褐色 Brown	1~3	侧根 Lateral	沙土、盐碱土 Sand, saline alkali
黄华属 <i>Thermopsis</i> R. Br.	披针叶黄华 <i>T. lanceolata</i> R. Br.	棒状 Stick	浅褐色 Sandy beige	1~3	侧根 Lateral	沙土、壤土 Sand, loam
苜蓿属 <i>Medicago</i> Linn	苜蓿 <i>M. minima</i> Linn.	棒状 Stick	黄褐、红色 Brown, red	1~3	主、侧根 Taproot, lateral	盐碱土、沙土 Saline alkali, sand
	天蓝苜蓿 <i>M. lupulina</i> Linn.	棒状 Stick	褐色 Brown	1~2.5	侧根 Lateral	壤土 Loam
棘豆属 <i>Oxytropis</i> DC	小花棘豆 <i>O. glabra</i> DC.	棒状 Stick	褐、粉红 Brown, pink	1~4	主、侧根 Taproot, lateral	盐碱土、壤土 Saline alkali, loam
豇豆属 <i>Vigna</i> Sevi	豇豆 <i>V. sinensis</i> Linn.	球状 Sphericity	黄色 Yellow	2	侧根 Lateral	沙土 Sand
兵豆属 <i>Lens</i> Linn.	兵豆 <i>L. culinaris</i> Medic.	球状 Sphericity	黄色 Yellow	1	侧根 Lateral	壤土 Loam
黄芪属 <i>Astragalus</i>	变异黄芪 <i>A. variabilis</i> Bunge.	棒状 Stick	粉红 Pink	1 1~3	侧根 Lateral	沙壤土、壤土 Silt loam, loam
	糙叶黄芪 <i>A. scaberrimus</i> Bunge.	球、棒状 Stick or sphericity	浅褐色 Sandy beige	1	侧根 Lateral	沙壤土 Silt loam
	多枝黄芪 <i>A. polycladus</i> Bur.	球状 Sphericity	浅褐色 Sandy beige	1~3	主、侧根 Taproot, lateral	沙土 Sand
	直立黄芪 <i>A. adsurgens</i> Pall.	棒状 Stick	浅褐色 Sandy beige	1	侧根 Lateral	壤土 Loam
扁蓿豆属 <i>Melissitus</i> Medic.	花苜蓿 <i>M. ruthenicus</i> G. A	棒状、掌状 Stick or palm shaped	粉红、白色 Pink, white	1~3	侧根 Lateral	壤土 Loam
大豆属 <i>Glycine</i> Willd	大豆 <i>Glycine</i> Max.	棒状 Stick	土黄色 Yellow	2~6	主、侧根 Taproot, latera	壤土 Loam
棘豆属 <i>Oxytropis</i>	黄花棘豆 <i>O. ochrocephala</i> Turcz.	棒状 Stick	黄色 Yellow	1~5	侧根 Lateral	壤土 Loam
豌豆属 <i>Pisum</i> Linn	豌豆 <i>P. sativum</i> Linn.	棒状 Stick	黄色、灰色 Yellow, gray	1~6	侧根 Lateral	壤土 Loam

### 3.4 结瘤豆科植物特性及周边生态环境

全世界豆科植物种类多、分布广,主要有乔木、灌木、草本等,各种气候类型、土壤条件、地形状况都有豆科植物生长。在我国西部地区的农业、林业和牧业等各生产领域中豆科植物起着重要的作用。而本地区许多豆科植物主要分布在荒漠区、戈壁滩、碱滩、草原以及农业生产区,其根系发达,尤其是甘草、骆驼刺、细枝岩黄耆,其根深可达 20m 以下,生长旺盛,株丛大,分枝多,都具有抗旱、耐贫瘠、耐碱耐盐等特性,不仅用于防风固沙,实现改土治沙,保护耕田,改善生态环境,减缓人畜争粮矛盾,而且还用于生产药物、加工饲料,以增加农民收入,提高人民生活水平。

本地区属于典型的大陆干旱荒漠区,气候干燥,降雨量少,蒸发量大,植被以抗旱灌木、乔木和草本为主,豆科植物的伴生植物较贫乏,主要包括杨树、灰绿藜、骆驼蒿、枸杞子、芦苇草和禾本科类。越往甘肃西部,越接近戈壁滩、碱滩、荒漠,生态环境越恶劣,植物分布稀少,豆科植物种类单一,但在这种环境中所能生长的豆科植物一般都具有较强的抗旱、耐盐碱等优良特性,并且是这种恶劣环境中的先锋植物。

### 3.5 结瘤豆科植物生长阶段对根瘤的影响

本调查结果显示,结瘤豆科植物在不同生长期,根瘤活性不同。营养生长期到开花期,根瘤颜色粉红,饱满,活性高,共生固氮效率高;营养生长前期,根瘤形成过程,几乎没有固氮能力,种子成熟后期,根瘤颜色逐渐变黑,最后脱落,形成土著根瘤菌,也无固氮能力。在多年生灌木、草本豆科植物中,生长一年以上的根,没有结瘤,可能是由于根表皮老化,甚至有些木质化,颜色呈深褐色,根毛稀少,根瘤菌难以侵染造成的<sup>[9]</sup>,只有当年新生根上才形成根瘤。

## 4 讨 论

豆科植物具有广阔的开发和应用前景,优良的豆科植物——根瘤菌共生体系能固氮,可以少施或不施氮肥;能抗干旱,耐瘠薄,还能提高土壤肥力;豆科或豆科与禾本科混播形成的草地可很好保蓄水分,防治水土流失;豆科植物还能防风固沙;豆科作

物种子营养价值高;豆科牧草是优质饲料;许多豆科植物用作药材;不少豆科树木质地优良,还能提供化工原料。建议在西部农林牧种植区以及水土流失较严重地区大量引入豆科植物,同时,必须接种与该地区生态环境及该种豆科植物相匹配的优质根瘤菌<sup>[9]</sup>。

针对甘肃中西部豆科植物根瘤菌的调查,发现本地区由于干旱、荒漠化、盐碱化等生态环境的影响,豆科植物资源比较贫乏,结瘤率低,影响因素十分复杂,主要有生态因素和生物因素,生态因素包括土壤水分、土壤 pH、土壤盐浓度、温度、结构和肥力水平等;生物因素包括寄主基因、土著根瘤菌以及伴生植物等。本地区的豆科植物与根瘤菌是在长期的逆境胁迫下,经过双重选择,逐渐进化为适应这种恶劣生态环境的共生固氮体系。因此,对本地区固氮体系资源进行调查研究,筛选优良的菌株,培育结瘤率高、固氮能力强的共生固氮体系,对于加快西部地区还草还林,防治水土流失,延缓和改善西部地区逐渐恶化的生态环境将会起到积极的作用。

### 参 考 文 献:

- [1] Rao subba N S. Soil Microbiology (Fourth Edition of Soil Microorganisms and Plant Growth) [M]. USA: Science Publishers·Inc, 1999: 167.
- [2] Allen O N, Allen E K. The Leguminosae, A Source book of Characteristic, Urea and Nodulation [M]. Wisconsin: The unit of Wisconsin Press, 1981: 71.
- [3] 潘晓玲,党荣理.西北干旱荒漠区植物区系地理与资源利用[M].北京:科学出版社,2001:52-53.
- [4] 王卫卫.甘宁黄土高原地区重要水土保持植物共生固氮资源及特性研究[J].水土保持通报,2001,21(5):16-19.
- [5] 谭志远,朱铭莪.陕西及甘、宁部分地区豆科植物根瘤菌资源调查[J].西北植物学报,1996,15(3):189-196.
- [6] 贺学礼,韦革宏.陕西豆科固氮植物资源调查及生态分布[J].陕西农业科学,1996(1):35-37.
- [7] Steinborn J, Roughley R J. Sodium chloride as a cause of low numbers of Rhizobium in legume inoculants [J]. Appl bacterial, 1974, 37: 93-99.
- [8] 陈华葵,樊庆笙.中国共生固氮研究五十年[M].南京:南京农业大学出版社,1987.
- [9] 陈文峰,陈文新.我国豆科植物根瘤菌资源多样性及应用基础[J].微生物学通报,2003(7):1-4.

(英文摘要下转第 191 页)

## Discussion on industrialization development of miscellaneous cereals on drylands in south Ningxia

WANG Jian yu, HE Wen shou, DONG Liang

(*Ningxia University, Yinchuan 750021, China*)

**Abstract:** This paper analyzes the current production status of miscellaneous cereals and the main limiting factors in their industrialization. In order to promote the rainfall productive potential of crops and to enhance the rainfall use ratio and water use efficiency in farmlands continuously, it is essential to extend energetically the improved varieties with high quality and efficiency, to optimize and integrate the drought-resistant and water saving farming technologies, to fertilize soil, to construct the basic farmlands with high and stable productivity, and to strengthen the development of industrialization. These measures are important to the industrialization development of miscellaneous cereals on drylands in south Ningxia.

**Key words:** loess plateau region in Ningxia; miscellaneous cereals; industrialization development

(上接第 186 页)

## Investigation of rhizobium of legumes in the middle and western areas of Gansu Province

CHEN Wei min, ZHANG Zhi xin, ZHANG Hong chang, WEI Ge hong

(*College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China*)

**Abstract:** 452 rhizobium samples were collected from 18 genera and 30 species of legumes according to the investigation in the middle and western areas of Gansu Province, and 328 rhizobium strains were isolated. The results show that the resources of leguminous plants are very scarce, and the growth of rhizobium is related to special ecological condition and topographical features. Especially, drought and high salt concentration are significant factors that limit rhizobium legume symbiosis. The shape of these nodules is mostly sphericity or stick, and the color is mostly red, sandy beige, brown or yellow. Many kinds of legume have been applied not only to soil and water conservation but also to the improvement of environment in Gansu Province.

**Key words:** symbiotic nitrogen fixation; rhizobium; diversity; the middle and western areas of Gansu