

# 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

王卫卫, 胡正海

(西北大学 生命科学学院, 陕西 西安 710069)

**摘要:** 甘肃省黄土高原区不同生态条件下栽培和野生豆科植物根瘤菌资源及共生固氮特性的调查结果表明, 从 112 份 24 属 53 种根瘤样品中分离获得 87 株根瘤菌。它们与豆科植物共生结瘤 63.5% 为有效根瘤。不同种根瘤固氮活性差异较大, 一般比较低, 小于  $1 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$  占 35%。大于  $10 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$  仅占 6%。根据研究结果对这些豆科植物在水土保持中的作用及意义进行了讨论。

**关键词:** 豆科植物; 共生固氮; 黄土高原; 水土保持

文献标识码: A

文章编号: 1000-288X(2001)05-0016-04

中图分类号: S157.433 S144.5

## Characteristics of Symbiotic Nitrogen Fixation of Main Soil and Water Conservation Plants in Gansu—Ningxia Region of Loess Plateau

WANG Wei-wei, HU Zheng-hai

(Institute of Life Science, Northwest University, Xi'an 710069, Shaanxi Province, PRC)

**Abstract:** The nodulation and nitrogen fixation of 53 species belonging to 24 genera major cultivated or wild legumes are studied in Gansu—Ningxia region of the loess plateau. There were 87 strains of root nodule bacterial from 112 samples be separated, and 63.5% of those nodules samples be effective for nitrogen fixation. The activities of nitrogen fixation in nodules of various species varied greatly and all of them were low that 35% of them are under  $1 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h}) \text{C}_2\text{H}_4$  and more than  $10 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})\text{C}_2\text{H}_4$  is only 6%. The characteristics of symbiotic nitrogen fixation and action of soil and water conservation in environment were discussed.

**Keywords:** legume; symbiotic nitrogen fixation; the loess plateau; soil and water conservation

甘宁黄土高原区包括甘肃中部古浪以东天水以西以及宁夏南部六盘山地区, 属于黄土高原、青藏高原和西南暖湿区交汇处, 气候温和, 雨量适宜, 为植物正常发育提供了良好条件, 但土层深厚, 质地疏松, 孔隙度大, 易受暴雨冲刷和流水侵蚀<sup>[1]</sup>。苜蓿, 草木樨, 红豆草, 锦鸡儿等豆科植物的生长, 有利于增加地面覆盖率, 在该区农业生产、土壤改良及水土保持中起着重要作用。因此, 挖掘该地区豆科植物—根瘤菌共生固氮资源, 探索自然条件下豆科植物与根瘤菌共生关系及共生固氮的生理生态基础, 可为提高共生固氮效率, 强化豆科植物蓄水保土能力提供参考。1993—1996 年我们对该区栽培和野生豆科植物野外考察和室内分析的结果。

## 1 材料和方法

### 1.1 根瘤的采集

在豆科植物的生长盛期挖掘根瘤, 将采集的根瘤

冲洗干净, 选取个大的新鲜根瘤分成 3 份, 一份用于酶活测定, 一份就地分离, 一份装入灭过菌的  $\text{CaCl}_2$  的小瓶或 50% 甘油小瓶带回实验室备用<sup>[4]</sup>, 同时编号记录时间、地点、生态植被、土壤类型、水分条件等。

### 1.2 根瘤固氮活性的测定

按上海植物生理研究所固氮室改进的高峰比法<sup>[3]</sup>, 离体根瘤在取样后立即置于体积约 8 ml 的密封的血清瓶中, 并用注射器注入 1 ml  $\text{C}_2\text{H}_2$  自然保温 1~2 h 抽 1 ml 气体于另一只 8 ml 密封的血清瓶中, 测定乙烯产生量。

### 1.3 根瘤菌的分离与纯化

将冲洗干净的根瘤用 75% 乙醇及 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒后, 无菌水冲洗若干次后, 在无菌条件下将根瘤压碎, 挤出汁液, 接种于 YMA 培养基或别列卓娃培养基, 置  $28^\circ\text{C}$  下培养。将长出的菌落进行 YMA 平板划线, 用刚果红 YMA 平板倾注法培养, 挑取单个菌落, 进行 G 氏染色、镜检<sup>[4]</sup>。

收稿日期: 2001-05-10

资助项目: 国家自然科学基金(39670017)

作者简介: 王卫卫(1961—), 男(汉族), 陕西周至县人, 副教授, 在职博士生, 主要从事生物固氮资源及生理生态研究。电话(029)8302411,

E-mail: ww.wang@nwu.edu.cn

### 1.4 根瘤菌的回接结瘤试验<sup>[4]</sup>

选取同一或相近寄主植物种子按不同方法处理(如硬皮种子用浓硫酸或砂子擦破种皮等方法),再将种子进行消毒催芽后,接种培养好的根瘤菌,小粒种子以试管琼脂,大粒种子以三角瓶(或广口瓶)蛭石培养,以少氮或无氮培养液维持营养,光照 7 000 ~ 8 000 lx(12 h/d),并加红光辅助。日夜温差 5 °C ~ 10 °C,相对湿度 50% ~ 70%。

## 2 结果及分析

### 2.1 结瘤豆科植物

根瘤是豆科植物发生固氮作用的场所。豆科植物形成根瘤是常见现象,但并非必然现象。已经证实豆科中蝶形花亚科(*Papilionoideae*)有 90%可以结瘤,含羞草亚科(*Mimosoideae*)有 90%,而云实亚科(*Caesalpinioideae*)只有 30%可以结瘤<sup>[5]</sup>。

在甘宁黄土高原地区共采集根瘤样品 112 份,主要涉及的豆科寄主植物属有苜蓿(*Medicago*)、草木樨(*Melilotus*)、黄芪(*Astragalus*)、锦鸡儿(*Caragana*)、红豆草(*Onobrychis*)、大豆(*Glycine*)、野豌豆(*Vicia*)、胡枝子(*Lespedeza*)、刺槐(*Robinia*)、紫穗槐(*Amorpha*)、合欢(*Albiza*)、木蓝(*Indigofera*)、皂角(*Gleditsia*)、云实(*Caesalpinia*)等 24 属植物(见表

1)。这些植物多为蝶形花亚科,占调查结瘤植物 85.3%,其中含羞草亚科 2 种,占 5.9%,云实亚科 3 种,占 8.8%(表 1)。

从表 1 可见,甘肃省黄土高原豆科植物根瘤一般为圆形、棒状,形态较为规则,这些形态特点与新疆干旱地区豆科植物有明显区别<sup>[7,8]</sup>。黄土高原区乔木、灌木及沙生植物根瘤一般为白色、黄色或棕色,而草本植物根瘤则以粉红色者居多(表 1),这些特点与新疆干旱地区豆科植物相似<sup>[7,8]</sup>。同属植物根瘤形态较为相似,说明豆科植物根瘤形态涉及植物的遗传因子<sup>[5]</sup>。一般认为具有固氮活性的有效根瘤较大,着生于主根或侧根的上部,由于豆血红蛋白的存在而呈粉红色。豆血红蛋白在根瘤中起着调节氧缓冲剂的作用,它向类菌体提供低浓度和高流量的氧,这是进行固氮作用的必要条件之一。但甘宁黄土高原区豆科植物根瘤粉红色者少,尤其是沙土、乔木或灌木植物,多数为白色、黄色或棕色,因而无效根瘤较多。按 Corbin 根瘤分类及评分标准,多数植物只有 0.5 分,可见根瘤状况较差<sup>[9]</sup>。一般认为云实亚科、香槐、紫荆等植物根系在外观形态上几乎无一例外的坚实,呈深褐色,甚至黑色,根毛稀少,根瘤菌难以入侵,不易形成根瘤<sup>[9]</sup>。我们在该地区分别采集到了上述植物根瘤。

表 1 甘肃省黄土高原区豆科植物根瘤状况

植物名称	根瘤形态	根瘤颜色	根瘤大小/mm	着生部位
合欢属( <i>Albizia</i> )	圆形、椭圆形	黄色、白色	0.5~3	侧根上部,单生
紫穗槐属( <i>Amorpha</i> )	圆形	黄色	1~3	侧根上部,单生
黄芪属( <i>Astragalus</i> )	长圆形、棒状	粉红色	1~3	主根、侧根上部,单生
云实属( <i>Caesalpinia</i> )	圆形	白色	0.5~1	侧根下部
鸡儿属( <i>Caragana</i> )	圆形、长棒状	黄色、粉红色	0.5~2	主、侧根,单生、丛生
紫荆属( <i>Cercis</i> )	圆形、棒状	黄色	1~3	侧根下部,单生
香槐属( <i>Cladrastis</i> )	圆形	黄色	1~2	侧根下部,单生
扁豆属( <i>Dolichis</i> )	椭圆形	粉红色	1~2	主根下部,侧根上部,单生
皂角属( <i>Gleditsia</i> )	近圆形	粉红色	0.5~1	侧根,单生
大豆属( <i>Glycine</i> )	圆形	黄色	0.5~3	主根、侧根,单生
木蓝属( <i>Indigofera</i> )	圆形	白色、褐色	0.5~3	侧根下部,单生
香豌豆属( <i>Lathyrus</i> )	棒状	粉红色	0.5~2	主根、侧根,单生或丛生
胡枝子属( <i>Lespedeza</i> )	圆形、卵圆形	黄色	1~4	主根、侧根,单生、丛生
苜蓿属( <i>Medicago</i> )	近圆形、指状	粉红色	0.5~3	主根、侧根,单生、轮生
草木樨属( <i>Melilotus</i> )	棒状	粉红色	0.5~2	主根、侧根,单生或轮生
红豆草属( <i>Onobrychis</i> )	棒状,具分叉	粉红色	1~3	主根、侧根,单生或轮生
棘豆属( <i>Oxytropis</i> )	长圆形	粉红色	1~3	主根、侧根,单生
菜豆属( <i>Phascolus</i> )	圆形	黄色	1~3	主根上部,侧根,单生
黄花木属( <i>Piptanthus</i> )	棒状	褐色	1~3	侧根下部,单生
豌豆属( <i>Pisum</i> )	指状	粉红色	1~3	主根、侧根,单生
刺槐属( <i>Robinia</i> )	圆形、指状	黄色	1~5	侧根,单生
三叶草属( <i>Trifolium</i> )	圆形	粉红色	0.5~1	主根、侧根,单生
野豌豆属( <i>Vicia</i> )	棒状、长棒状	黄色、粉红色	0.5~2	主根上部,侧根,单生或丛生
豇豆属( <i>Vigna</i> )	近圆形	黄色	1~5	主根,侧根,单生或轮生

## 2.2 根瘤菌种类

我们从所采集的 24 属 53 种豆科植物的 112 个根瘤的样品中, 分离纯化获得了 87 株根瘤菌, 对其中

的 24 株根瘤菌以 8 种原寄主植物或认为是近亲的原寄主植物进行回接鉴定, 发现 91.6% 的样品可以产生结瘤现象(见表 2)。

表 2 根瘤菌回接实验结果

回接寄主植物	结瘤菌株号	未结瘤菌株号
紫穗槐 ( <i>Ammopiptanthus fruticosa</i> )	G052	G074
中间锦鸡儿 ( <i>Caragana intermedia</i> )	G025	G037
大豆 ( <i>Glycine max</i> )	G047, G055, G057, G067	
紫花苜蓿 ( <i>Medicago sativa</i> )	G035, G058	
白花草木樨 ( <i>Medilotus albus</i> )	G034, G059	
洋槐 ( <i>Robinia pseudoacacia</i> )	G036, G080	
苦豆子 ( <i>Sophora alopecurioides</i> )	G046	
长柔毛野豌豆 ( <i>Vicia villosa</i> )	G043, G054, G056, G062, G063, G065, G069, G038	

## 2.3 根瘤菌—豆科植物固氮活性

对甘肃省黄土高原区 24 属 53 种豆科植物约 110 个根瘤样品的乙炔还原活力测定表明, 36.5% 为无效根瘤, 即所测活力为零。不同种豆科植物根瘤活力相差不大, 一般均较低, 乙炔还原活力小于  $1 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$  的豆科植物根瘤占检测总数的 35%, 乙炔还原活力大于  $10 \mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$  仅占 6% (见表 3)。在黄土

高原区栽培历史悠久、面积较大的一些水土保持植物紫花苜蓿 (*M. sativa*), 长柔毛野豌豆 (*Vicia villosa*), 红豆草 (*O. tanaitica*) 白花草木樨 (*Medilotus albus*) 及一些牧草绿肥植物野苜蓿 (*M. falcate*), 矩镰荚苜蓿 (*M. archidusisnicolai*), 米口袋状棘豆 (*O. queldestacatioides*), 三叶草 (*Trifolium. sp*), 三齿萼野豌豆 (*V. bungei*) 均具有较高的活性。

表 3 主要豆科植物根瘤固氮活性

植物名称	采样地点	生育期	$\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 乙炔还原活性
山合欢 ( <i>Albizia kalkora</i> )	麦积山	生长期	0.43
鄂西黄芪 ( <i>Astragalus coronilloides</i> )	武山洛门镇	开花、结实期	0.27
黄芪一种 ( <i>Astragalus sp.</i> )	麦积山	生长期	0.41
毛毛刺 ( <i>Caragana jubata</i> )	兰州七道梁	结实期	0.29
矮锦鸡儿 ( <i>Caragana pyymaea</i> )	临夏市蒿支沟	开花期	5.46
锦鸡儿 ( <i>Caragana sinica</i> )	武威	生长期	0.35
紫荆 ( <i>Cercis sp.</i> )	麦积山	生长期	0.33
扁豆 ( <i>Dolichis lahlab</i> )	漳县高家沟	开花期	1.79
大豆 ( <i>Glycine max</i> )	临潭白家门	生长期	2.50
野大豆 ( <i>Glycine soja</i> )	麦积山	生长期	4.26
毛山黧豆 ( <i>Lathyrus pilosus</i> )	临潭白家门	生长期	1.96
牧地香豌豆 ( <i>Lathyrus pratensis</i> )	渭源县黄香沟	生长期	0.52
达乎里胡枝子 ( <i>Lespedza davurica</i> )	渭源县城北	生长期	3.12
美丽胡枝子 ( <i>Lespedza Formosa</i> )	麦积山	生长期	1.63
矩镰荚苜蓿 ( <i>Medicago archidusisnicolai</i> )	会川县沈家滩	生长期	5.78
野苜蓿 ( <i>Medicago falcate</i> )	麦积山	开花期	8.29
天兰苜蓿 ( <i>Medicago lupulina</i> )	临夏市	开花、结实期	0.86
紫花苜蓿 ( <i>Medicago sativa</i> )	天水县西北	生长期	11.06
白花草木樨 ( <i>Medilotus albus</i> )	会川县沈家滩	生长期	17.40
黄花草木樨 ( <i>Medilotus officinalis</i> )	天水县西北	开花期	2.87
草木樨 ( <i>Medilotus suareolens</i> )	天水县西北	生长期	1.06
红豆草 ( <i>Onobrychis vicii folia</i> )	会川县沈家滩	开花期	10.31
米口袋状棘豆 ( <i>Oxytropis gueldestacatioides</i> )	临夏市蒿支沟	开花期	37.73
黄土毛棘豆 ( <i>Oxytropis ochrantha</i> )	六盘山和尚铺	生长期	0.11
红小豆 ( <i>Phascolus calcaratus</i> )	六盘山和尚铺	生长期	0.40

续表 3

植物名称	采样地点	生育期	乙炔还原活性
绿豆 ( <i>Phaseolus radiatus</i> )	武山县洛门镇	开花期	0.97
菜豆 ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	武山县洛门镇	开花期	0.28
白豆角 ( <i>Phaseolus sp.</i> )	天水县西北	开花期	6.48
豌豆 ( <i>Pisum sativum</i> )	漳县高家沟	开花期	4.17
刺槐 ( <i>Robinia pseudoacacia</i> )	天水县西北	开花、结实期	0.95
红花刺槐 ( <i>Robinia sp.</i> )	麦积山	开花期	3.15
红花毛刺槐 ( <i>Robinia sp.</i> )	麦积山	结实期	1.28
狼牙刺 ( <i>Sophora viciifolia</i> )	武山县桥头乡	结实期	0.63
三叶草 ( <i>Trifolium sp.</i> )	会川县沈家滩	生长期	25.00
山野豌豆 ( <i>Vicia amoena</i> )	六盘山和尚铺	生长期	0.52
三齿萼野豌豆 ( <i>Vicia bungei</i> )	麦积山	开花、结实期	7.34
广布野豌豆 ( <i>Vicia cracca</i> )	兰州七道梁	生长期	0.53
蚕豆 ( <i>Vicia faba</i> )	漳县高家沟	生长期	3.03
硬毛果野豌豆 ( <i>Vicia hirsute</i> )	武山县桥头乡	结实期	1.77
救荒野豌豆 ( <i>Vicia sativa</i> )	六盘山和尚铺	开花期	1.96
野豌豆 ( <i>Vicia sepium</i> )	麦积山	开花期	0.26
豇豆 ( <i>Vigna sinensis</i> )	武山县洛门镇	开花期	0.62

### 3 讨 论

豆科植物的经济用途甚广,可提供食物、饲料、绿肥,并且是木材、染料、树脂和药材的原料,同时,还是大地覆盖物。更重要的是豆科植物共生固氮可提供豆科植物本身氮素和增强地力,可作为生态体系中提供有效氮的中心<sup>[5]</sup>。在甘肃省黄土高原区,紫花苜蓿是广泛种植的一种优良豆科牧草,一般能生产  $7.5 \times 10^3 \sim 1.5 \times 10^4 \text{ kg/hm}^2$  鲜根,能大幅度提高土壤有机质含量和团粒结构。据调查,苜蓿播种当年可增加土壤氮素  $60 \sim 105 \text{ kg/hm}^2$ ,第 2 a 增加土壤氮素  $150 \text{ kg/hm}^2$  以上,第 3 a 可增加土壤氮素  $300 \text{ kg/hm}^2$  以上。其发达的根系具有良好的蓄水保土能力,为黄土高原区保持水土的优良草种。白花草木樨产于欧亚温带,在黄土高原区广泛栽培,适应能力强,耐干旱,其庞大的根系和大量的根瘤使土壤有机质和含氮量分别增加  $36\% \sim 40\%$ ,同时改善了耕作层,使土壤疏松,孔隙度增加,第 2 a 返青早,能较好的防止水土流失,一般可减少径流  $95\%$ ,为优良的蓄水保土植物。红豆草主根入土深达  $3 \sim 4 \text{ m}$ ,甚至  $10 \text{ m}$ ,侧根发达,着生很多根瘤,繁茂时根瘤密集成串,状似葡萄,单株根瘤鲜重可达  $10 \text{ g}$  以上,能给土壤留下大量有机质和氮素,为黄土高原区良好的养地改土作物。

综合治理黄土高原水土流失区,改善土壤状况,研究开发此区域的豆科植物非常重要。我们的考察和分析结果表明甘肃省黄土高原区豆科植物在蓄水保土、防止暴雨冲刷和流水侵蚀方面发挥着重要作

用,但它们的共生固氮效率较低,降低了提供氮素的能力,从而影响了豆科植物在土壤改良中的地位和作用。因此,今后必须重视研究改善和提高黄土高原区豆科植物固氮效率和产氮水平的条件和农业措施。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] 西北大学地理系黄土高原地理研究室编. 黄土高原地理研究[ M ]. 西安: 陕西人民出版社, 1987: 1—8.
- [ 2 ] 王卫卫, 陈菊英, 董文彩, 等. 甘肃宁夏地区根瘤菌的分离和鉴定[ J ]. 干旱区研究, 1996, 13(4): 42—47.
- [ 3 ] 中国科学院上海植物生理研究所固氮室. 共生固氮研究中乙炔还原简易峰高比法[ J ]. 植物学报, 1977, 16: 382—384.
- [ 4 ] Vincent J H. A manual for the practical study of root-nodule bacteria[ M ]. Blackwell Scientific Publication. London, Oxford of Edinburgh, 1970. 128—214.
- [ 5 ] Allen O N, Allen E K. The leguminosae. A source book of characteristic uses and nodulation[ M ]. Wisconsin: The Unit of Wisconsin Press. 1981, 71.
- [ 6 ] 谭志远, 朱铭毅, 贺学礼, 等. 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(2): 189—196.
- [ 7 ] 关桂兰, 王卫卫, 杨玉锁, 等. 新疆干旱地区固氮生物资源[ M ]. 北京: 科学出版社, 1991, 29—43.
- [ 8 ] 王卫卫, 关桂兰. 新疆干旱地区结瘤豆科植物调查[ J ]. 植物生理学通讯, 1992, 28(2): 148—154.
- [ 9 ] Cobin E J, Brockwell J, Gault R R. Environmental Physiology of the Legume—Rhizobium Symbiosis[ M ]. In: Brolghton W J(ed). Nitrogen Fixation. Vol. 1, Charedon Press Oxford. 1981. 104—134.