浙 江 农 林 大 学 学 报，2018，**35**(6)：1098-1106
*Journal of Zhejiang A&F University*
doi:10.11833/j.issn.2095-0756.2018.06.013

# 接种不同根瘤菌对花椒木幼苗光合生理的影响及促生效应

段如雁[1,2]，韦小丽[1]，安常蓉[1]

（1. 贵州大学 林学院，贵州 贵阳 550025；2. 贵州省生物研究所，贵州 贵阳 550009）

**摘要：**为筛选促生效果好的花椒木 *Ormosia henryi* 根瘤菌菌株，建立良好的共生固氮体系，从贵州、浙江、安徽、福建、江西等不同地区采集花椒木根瘤并进行分离鉴定，将通过 16S rDNA 序列分析及回接验证的 20 株纯化菌株接种到 1 年生盆栽无菌花椒木幼苗上，并测定接种后花椒木幼苗光合速率、蒸腾速率、叶绿素荧光参数、生长指标及结瘤指标。研究结果表明：20 个菌株接种后结瘤率均在 90%以上，其中 7 号菌株结瘤率、结瘤数、根瘤质量均最高。接种根瘤菌能显著($P<0.05$)提高花椒木幼苗光合速率、蒸腾速率以及叶绿素荧光参数，促进花椒木幼苗的地上地下部分生长及总生物量积累，且接种不同菌株的促生效果差异显著($P<0.05$)。与对照相比，接种根瘤菌的花椒木幼苗光合速率、蒸腾速率、实际光合量子产量分别提高 41.6%~197.4%，3.2%~512.9%和 4.8%~95.2%；总根表面积、根平均直径、根尖数分别增加 3.4%~866.1%，6.7%~193.3%和 0.5%~92.1%；苗高生长量、地径生长量和生物量分别增加 6.3%~273.8%，10.7%~185.7%和 37.9%~310.3%。隶属函数综合评价结果表明：对花椒木幼苗光合生理和生长有显著促进作用的前 5 个菌株号为 15 号、16 号、7 号、18 号、17 号，可作为花椒木幼苗接种的优良菌株。图 5 表 5 参 16

**关键词：**植物学；花椒木；根瘤菌；光合生理；促生效应；优良菌株

**中图分类号：**S718.43　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**2095-0756(2018)06-1098-09

# Growth of *Ormosia henryi* seedlings and photosynthetic and physiological characteristics with rhizobia inoculation

DUAN Ruyan[1,2], WEI Xiaoli[1], AN Changrong[1]

(1. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025, Guizhou, China; 2. Guizhou Institute of Biology, Guiyang 550009, Guizhou, China)

**Abstract:** To screen the growth-promoting strains of rhizobia for *Ormosia henryi* and to establish a good symbiotic nitrogen-fixing system, root nodules of *O. henryi* collected from Guizhou, Zhejiang, Anhui, Fujian, and Jiangxi Provinces were isolated and identified. Using randomized block design, 20 strains of rhizobia that passed reinoculation and 16SrDNA sequence analysis were inoculated into one-year-old aseptic potted *O. henryi* seedlings followed by measurement of the photosynthetic rate, transpiration rate, chlorophyll fluorescence parameters, growth indexes, and nodulation indexes. Results showed that the nodulation rates of the 20 strains were above 90.0%, the nodule number and nodule weight of strain No. 7 was the highest. Compared to the control which was not been inoculated, inoculation rhizobium significantly ($P<0.05$) increased photosynthetic rate, transpiration rate and chlorophyll fluorescence parameters of *O. henryi* seedlings. Rhizobium also promoted the growth of above ground and underground parts as well as accumulation of total biomass. Seedlings with different rhizobium strains increased the photosynthetic rate (41.6%–197.4%), transpiration rate (3.2%–512.9%), actual photosynthetic quantum yield (4.8%–95.2%), total root surface area (3.4%–866.1%), average

收稿日期：2017-11-20；修回日期：2018-05-09

基金项目：国家自然科学基金资助项目(31460193)；贵州省高层次创新人才培养计划项目-百层次人才(黔科合平台人才〔2006〕5661)

作者简介：段如雁，博士研究生，从事种苗繁育与根际微生物等研究。E-mail：ruyan115@163.com。通信作者：韦小丽，教授，博士生导师，从事林木种苗与栽培生理等研究。E-mail：gdwxl-69@126.com

root diameter (6.7%–193.3%), root number (0.5%–92.1%), seedling height growth (6.3%–273.8%), diameter growth (10.7%–185.7%), and biomass (37.9%–310.3%). The comprehensive evaluation showed that the best five strains for promoting growth of *O. henryi* seedlings were No. 15, 16, 7, 18, and 17, and these could be used as excellent strains for inoculation of *O. henryi* seedlings. [Ch, 5 fig. 5 tab. 16 ref.]

Key words: botany; *Ormosia henryi*; rhizobium; photosynthesis; promoting effect; excellent strains

生物固氮是指自然界中的一些微生物将大气中的不能被植物利用的氮气还原成可利用的氨的过程。豆目Fabales 树种与根瘤菌在长期进化过程中形成的共生固氮体系是生物固氮中效率最高的体系，所固定的氮素约占生物固氮总量的 65%，它可以导致植物的氮素营养和土壤中化合态氮大量增加[1-2]，对于自然界氮素的生物循环和农林生产都有十分重要的作用。花榈木 *Ormosia henryi* 属豆目 Fabales 蝶形花科 Papilionaceae 红豆树属 *Ormosia*，主产于中国亚热带地区，其材质优良，是制作高档家具、工艺雕刻和特种装饰品的珍贵用材树种[3]。段如雁等[4]通过对花榈木结瘤调查发现，当年生花榈木幼苗根瘤较少，幼苗生长细弱，其固氮效率很低。未结瘤的当年生幼苗上山造林成活率低，只有到第 2 年时才有部分结瘤，且结瘤幼苗在生长上、生理生化特征上都优于未结瘤幼苗 。因此，通过人工接种优良菌株，建立一个高效的花榈木-根瘤菌共生体系是提高苗木品质的重要措施。通过研究花榈木与根瘤菌之间的最佳匹配关系，推广花榈木根瘤菌的接种技术，使花榈木获得最佳生长效果，不仅可以提高花榈木苗木品质和造林成活率，还可以丰富豆目树木根瘤菌在整个根瘤菌应用研究领域的内容。目前，中国对花榈木的根瘤菌研究较少，除笔者[4]进行过初步研究外，韩素芬等[5]对花榈木的根瘤形态、结瘤数量进行过研究，李东等[6]对花榈木根瘤菌的 16S rDNA 序列进行过分析。尚未涉及到人工接种根瘤菌对花榈木幼苗生理和生长效应的研究。本研究拟通过对花榈木幼苗接种不同根瘤菌试验，测定接种不同菌株后花榈木幼苗的光合生理指标以及苗高、地径、生物量、根系等生长指标变化，以揭示不同根瘤菌株对花榈木幼苗的促生效应，初步筛选出高效促生的优良根瘤菌种，为今后花榈木育苗中人工接种根瘤菌，培育优质壮苗提供理论依据。

## 1　材料与方法

### 1.1　试验材料

花榈木种子采自贵州省石阡县同一母株，千粒重为(390.6 ± 0.4) g，净度为 94.6%。移栽基质为经过 121 ℃高温高压灭菌 0.5 h 的蛭石，育苗容器为直径 20 cm 高度 15 cm 的塑料盆，使用前用质量分数为 0.5%高锰酸钾溶液进行消毒。

供试菌株是从贵州、浙江、安徽、福建、江西等省采集的花榈木根瘤分离，经加有刚果红的酵母甘露醇琼脂(YMA)平板上划线，28 ℃恒温培养，并通过 16S rDNA 序列分析及回接验证筛选出 20 株纯化菌株(表 1)。

### 1.2　研究方法

选取饱满的花榈木种子，先用质量分数为 0.1%升汞溶液浸泡 10 min 进行表面消毒，然后浸泡于 80 ℃的热水中，并让其自然冷却。种子吸胀后，置于无菌发芽盒中，在 25 ℃培养箱内催芽。待芽苗长至 1~2 cm 时，将芽苗移栽到装有蛭石的塑料花盆中。移栽花榈木芽苗 5 株·盆$^{-1}$，共移栽芽苗 126 盆，置于塑料大棚中培养，待花榈木长出真叶后，接种不同的根瘤菌菌液，设置重复 3 个·处理$^{-1}$，每个重复设 10 株苗，共 21 个处理(含不接种根瘤菌的对照 ck)。

供试菌株在 YMA 斜面上活化后，接入 YMA 液体培养基中，28 ℃下摇床培养 3 d 至对数期，用分光光度计检测菌液吸光度 $D(600)$为 0.7 时即可接种。接种菌液 10 mL·株$^{-1}$，接种方式为直接将菌液浇灌在苗木根部，隔 15 d 浇 1 次无氮营养液，不施加其他肥料，隔 30 d 追浇 1 次根瘤菌菌液，到 2016 年 7 月抽查到苗木结瘤为止。

于 2016 年 5 月下旬，花榈木幼苗接种根瘤菌 3 d 后开始测量苗高、地径，以后测量 1 次·月$^{-1}$，直到 11 月底试验结束。接种后 2 个月抽查苗木结瘤情况，苗木结瘤后于 8 月中旬晴天测定花榈木幼苗光合生理指标以及叶绿素荧光等指标。试验结束后，统计各处理的结瘤数和根瘤质量，从各处理中选取标

表 1 通过 16S rDNA 序列分析及回接验证的 20 株菌株

Table 1 Twenty strains by return verifying and 16S rDNA sequence analysis

| 编号 | 采集地 | 近源菌 | 相似性/% | 登录号 |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 贵州荔波 | *Rhizobium* sp. SCAUS07 | 99.00 | KF836032.1 |
| 2 | 贵州荔波 | *Rhizobium* sp. S41 | 100.00 | CP016433.1 |
| 3 | 贵州平塘 | *Rhizobium* sp. strain YE2-4 | 98.00 | KT992333.1 |
| 4 | 贵州罗甸 | *R. nepotum* strain MLS-6-6 | 99.00 | KT997460.1 |
| 5 | 贵州石阡 | *Rhizobium* sp. L120T | 99.00 | KM894194.1 |
| 6 | 贵州石阡 | *R. pusense* strain BJ | 99.00 | KF297587.1 |
| 7 | 贵州石阡 | *Rhizobium* sp. JCM 28644 | 99.00 | LC133675.1 |
| 8 | 贵州麻江 | *R. nepotum* strain Rrad-006 | 99.00 | KX260959.1 |
| 9 | 贵州麻江 | *R. lusitanum* strain P3-13 | 99.00 | HQ830495.1 |
| 10 | 贵州孟关 | *R. tropici* strain SY61 | 99.00 | KP687381.1 |
| 11 | 贵州黎平 | *Rhizobium* sp. RITF 1462 | 98.00 | JQ697681.1 |
| 12 | 贵州黎平 | *Rhizobium* sp. CCBAU 83718 | 99.00 | EU145992.1 |
| 13 | 贵州天柱 | *R. lusitanum* strain R-51027 | 99.00 | LN995682.1 |
| 14 | 浙江临安 | *R. lusitanum* strain P3-13 | 98.00 | HQ830495.1 |
| 15 | 浙江临安 | *Rhizobium* sp. JCM 28634 | 99.00 | LC133665.1 |
| 16 | 浙江永康 | *Rhizobium* sp. L120T | 99.00 | KM894194.1 |
| 17 | 浙江永康 | *Rhizobium* sp. LMB-1 | 99.00 | KM891589.1 |
| 18 | 福建建瓯 | *R. multihospitium* strain CCBAU 83375 | 99.00 | EF035065.2 |
| 19 | 福建南平 | *R. lusitanum* strain ITM L4111 | 99.00 | KC568140.1 |
| 20 | 江西庐山 | *R. tropici* strain B28 | 99.00 | JX010975.1 |

准株 5 株测定生物量以及根系状况。

### 1.3 指标测定方法

1.3.1 *苗高、地径及生物量测定* 用卷尺测苗高(精度 0.1 cm)，游标卡尺测地径(精度 0.01 mm)。生物量测定方法：选取 5 株标准株，将苗木洗净擦干后放到 105 ℃烘箱中杀青 15 min，再用 70 ℃烘(17±1) h，在干燥器中冷却后用 1/1 000 电子天平称取地上部分和地下部分干质量，单株生物量=地上部分干质量+地下部分干质量。

1.3.2 *根系指标的测定* 先将选取的花榈木标准株冲洗干净，用吸水纸吸干，把待测根系用根系扫描分析系统(WinRHIZO)进行根系指标的分析。

1.3.3 *光合参数的测定* 于 8 月中旬的晴天上午 9:00–11:00，各处理选择 3 株标准株的功能叶片，用 LI-6400 便携式光合仪测定光合速率、蒸腾速率等光合指标。测定时使用红蓝光源叶室，光照强度设置为 1 000 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$，二氧化碳摩尔分数设为 400 $\mu mol \cdot mol^{-1}$，测定时保持叶片自然生长角度不变，对测定的数据取平均值。叶绿素荧光参数测定：使用 Junior-PAM 叶绿素荧光仪测定叶绿素荧光参数，主要包括最大光化学量子产量($F_v/F_m$)，PSⅡ潜在活性($F_v/F_o$)，实际光合量子产量($Y_{II}$)，光化学猝灭($q_P$)，非光化学猝灭($q_N$)。进行实验前将 Junior-pam 连接好。将叶片暗适应 30 min 后放到磁性叶夹上进行实验，在测量 $F_v/F_m$ 前确保实时荧光($F_t$)小于 600，饱和脉冲、远红光强度和持续时间选用默认设置，光化光强度设置为 1 150 $\mu mol \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$，点击诱导曲线程序按扭进行自动测量。

### 1.4 数据统计方法

试验数据采用 Excel 2010 和 SPSS 22.0 统计分析软件进行分析处理。采用 Duncan 法进行多重比较。利用隶属函数法对各个指标进行综合评价[7]。

## 2 结果与分析

### 2.1 对花榈木幼苗结瘤数和鲜瘤质量的影响

单株结瘤数和根瘤质量是评价瘤菌结瘤效率的重要指标。由表 2 可得：与对照相比，接种根瘤菌后，花榈木幼苗结瘤率显著($P<0.05$)增加，结瘤率均为 90.0%以上。其中 7 号处理单株根瘤数最多，

15 号和 17 号次之，分别是 ck 的 102.9，100.0 和 95.3 倍，3 号处理单株根瘤数最少，为 ck 的 24.3 倍。不同菌株处理后苗木单株根瘤质量与根瘤数变化趋势一致。

**表 2　接种不同根瘤菌对花榈木单株结瘤数和单株瘤质量的影响**

Table 2　Effects of inoculated different rhizobium strains on nodule number and nodule weight per plant of *Ormosia henryi* seedlings

| 处理 | 结瘤率/% | 单株根瘤数/个 | 单株根瘤质量/mg | 处理 | 结瘤率/% | 单株根瘤数/个 | 单株根瘤质量/mg |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 96.67 | 2.93 ± 0.43 | 117.87 ± 12.74 | 11 | 93.33 | 1.87 ± 0.08 | 74.97 ± 3.65 |
| 2 | 93.33 | 1.90 ± 0.15 | 76.20 ± 3.78 | 12 | 100.00 | 4.90 ± 0.36 | 196.27 ± 5.66 |
| 3 | 90.00 | 1.70 + 0.32 | 67.57 ± 13.65 | 13 | 100.00 | 3.90 ± 0.25 | 156.00 ± 36.22 |
| 4 | 96.67 | 3.27 ± 0.52 | 130.57 ± 9.78 | 14 | 96.67 | 3.17 ± 0.20 | 126.23 ± 24.57 |
| 5 | 96.67 | 2.87 ± 0.44 | 114.50 ± 6.65 | 15 | 100.00 | 7.00 ± 0.48 | 280.63 ± 26.89 |
| 6 | 100.00 | 3.40 ± 0.10 | 135.43 ± 8.57 | 16 | 100.00 | 6.50 ± 0.64 | 259.50 ± 26.45 |
| 7 | 100.00 | 7.20 ± 0.79 | 287.47 ± 35.75 | 17 | 100.00 | 6.67 ± 0.38 | 266.17 ± 35.50 |
| 8 | 93.33 | 2.17 ± 0.12 | 86.23 ± 3.70 | 18 | 100.00 | 6.40 ± 0.37 | 256.17 ± 16.42 |
| 9 | 100.00 | 4.47 ± 0.11 | 178.70 ± 17.68 | 19 | 96.67 | 3.17 ± 0.16 | 127.00 ± 24.64 |
| 10 | 93.33 | 1.97 ± 0.03 | 79.03 ± 12.33 | 20 | 96.67 | 2.80 ± 0.32 | 111.90 ± 21.78 |
| | | | | ck | 3.33 | 0.07 ± 0.00 | 1.76 ± 0.00 |

## 2.2　对花榈木幼苗光合速率、蒸腾速率的影响

光合速率的大小直接决定着植物光合能力的强弱。试验结果(图 1)显示：接种根瘤菌可以提高花榈木幼苗的光合速率。接种不同根瘤菌的花榈木幼苗光合速率差异显著($P<0.05$)。与 ck 相比，所有接种根瘤菌处理的花榈木幼苗叶片的光合速率都高于 ck，增幅为 41.6%~197.4%。接种 2 号、1 号、9 号菌株的花榈木光合速率较高，分别比 ck 提高 197.4%，177.9%，177.9%，说明这几个菌株更有利于花榈木光合能力的提高。

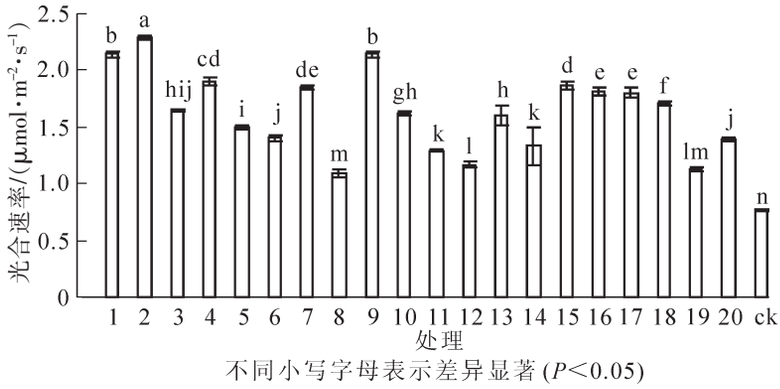



图 1　接种不同根瘤菌对花榈木幼苗光合速率的影响

Figure 1　Effects of inoculated different rhizobium strains on photosynthetic rate of *Ormosia henryi* seedlings

图 2 表明：接种不同菌株对花榈木幼苗蒸腾速率的影响差异显著($P<0.05$)。各菌株处理的蒸腾速率变化范围为 0.32~1.90 mmol·m$^{-2}$·s$^{-1}$。蒸腾速率最高为 2 号菌株，是 ck 的 6.1 倍；最低为 10 号菌株，比 ck 高 3.2%。蒸腾速率大于 1.00 mmol·m$^{-2}$·s$^{-1}$ 的处理有 2 号和 3 号菌株，表明这些菌株接种后有利于促进花榈木幼苗蒸腾作用的进行。

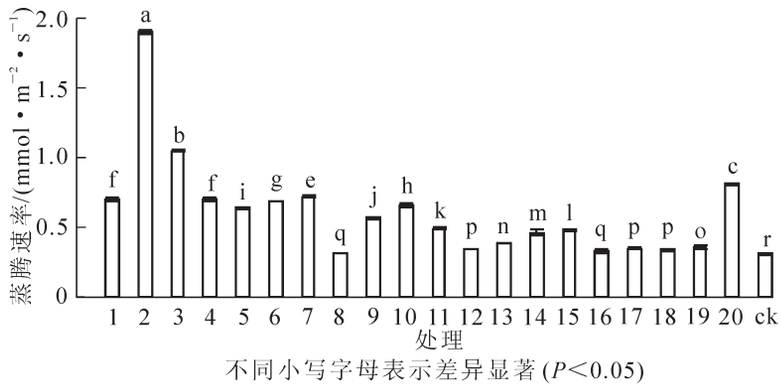



图 2　接种不同根瘤菌对花榈木蒸腾速率的影响

Figure 2　Effects of inoculated different rhizobium strains on transpiration rate of *Ormosia henryi* seedlings

## 2.3　对花榈木幼苗叶绿素荧光的影响

表 3 表明：接种不同根瘤菌的花榈木幼苗叶绿素荧光参数差异均达到显著水平($P<0.05$)。接种根瘤菌各处理实际光化学量子产量 $Y_{II}$ 均高于 ck，增幅为 4.8%~95.2%，其中，接种 20 号菌株 $Y_{II}$ 最大，是 ck 的 2.0 倍，表明其 PSⅡ反应中心有部分关闭情况下的实际原初光能捕获效率最高。$q_P$ 为光化学猝灭，反映的是 PSⅡ天线色素吸收的光能用于光化学电子传递的份额。接种根

瘤菌各处理 $q_P$ 均高于 ck，增幅为 7.7%~51.9%，其中，接种 3 号菌株 $q_P$ 最大、8 号次之，分别比对照高出 51.9%和 44.2%。非光化学猝灭($q_N$)反映的是 PSⅡ天线色素吸收的光能不能用于光合电子传递而以热的形式耗散掉的光能部分。$q_N$ 表现为 ck 最大，接种 20 号菌株次之，5 号菌株 $q_N$ 最小，分别是 ck 的 75.0%和 12.0%。$F_v/F_m$ 反映 PSⅡ反应中心内禀光能转化效率，$F_v/F_o$ 表示 PSⅡ的潜在活性，2 个指标变化趋势基本一致，均表现为 ck 最小，接种 20 号菌株最大，分别是 ck 的 2.1 倍和 4.8 倍。

**表 3 接种不同根瘤菌对花榈木叶绿素荧光的影响**

Table 3 Effects of inoculated different rhizobium strains on chlorophyll fluorescence of *Ormosia henryi* seedlings

| 处理 | 实际光合量子产量 $Y_{Ⅱ}$ | 光化学猝灭 $q_P$ | 非光化学猝灭 $q_N$ | 最大光合量子产量 $F_v/F_m$ | PSⅡ潜在活性 $F_v/F_o$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 0.25 ± 0.03 defgh | 0.59 ± 0.04 bcd | 0.58 ± 0.09 abc | 0.54 ± 0.02 abcde | 1.16 ± 0.12 cdefg |
| 2 | 0.25 ± 0.01 defgh | 0.57 ± 0.01 bcd | 0.62 ± 0.02 ab | 0.55 ± 0.03 abcde | 1.25 ± 0.13 cdef |
| 3 | 0.24 ± 0.07 efgh | 0.79 ± 0.22 a | 0.45 ± 0.17 abcde | 0.42 ± 0.16 efghi | 0.76 ± 0.46 fgh |
| 4 | 0.28 ± 0.00 bcdefg | 0.73 ± 0.06 abc | 0.18 ± 0.08 efgh | 0.43 ± 0.03 defghi | 0.77 ± 0.14 fgh |
| 5 | 0.24 ± 0.03 efgh | 0.73 ± 0.13 abc | 0.11 ± 0.03 h | 0.36 ± 0.07 ghi | 0.58 ± 0.20 h |
| 6 | 0.22 ± 0.01 h | 0.72 ± 0.05 abc | 0.17 ± 0.18 fgh | 0.33 ± 0.06 hi | 0.51 ± 0.15 h |
| 7 | 0.24 ± 0.03 efgh | 0.69 ± 0.10 abcd | 0.16 ± 0.03 fgh | 0.39 ± 0.01 fghi | 0.64 ± 0.06 gh |
| 8 | 0.24 ± 0.03 fgh | 0.75 ± 0.14 ab | 0.14 ± 0.10 gh | 0.37 ± 0.11 ghi | 0.62 ± 0.29 h |
| 9 | 0.26 ± 0.02 cdefgh | 0.59 ± 0.27 bcd | 0.13 ± 0.06 gh | 0.35 ± 0.13 ghi | 0.60 ± 0.37 h |
| 10 | 0.30 ± 0.05 bcde | 0.57 ± 0.00 bcd | 0.43 ± 0.07 abcdef | 0.61 ± 0.08 ab | 1.65 ± 0.46 bc |
| 11 | 0.26 ± 0.02 cdefgh | 0.68 ± 0.09 abcd | 0.39 ± 0.10 bcdefg | 0.48 ± 0.11 bcdefgh | 1.00 ± 0.37 efgh |
| 12 | 0.31 ± 0.01 bcde | 0.60 ± 0.02 bcd | 0.47 ± 0.22 abcd | 0.60 ± 0.05 abc | 1.52 ± 0.33 bcde |
| 13 | 0.23 ± 0.02 fgh | 0.56 ± 0.01 cd | 0.62 ± 0.04 ab | 0.53 ± 0.03 abcdef | 1.16 ± 0.17 cdefg |
| 14 | 0.30 ± 0.00 bcde | 0.58 ± 0.05 bcd | 0.29 ± 0.07 defgh | 0.58 ± 0.05 abc | 1.40 ± 0.25 cde |
| 15 | 0.31 ± 0.01 bcd | 0.68 ± 0.03 abcd | 0.56 ± 0.14 abcd | 0.58 ± 0.03 abc | 1.38 ± 0.23 cde |
| 16 | 0.34 ± 0.03 b | 0.65 ± 0.02 abcd | 0.32 ± 0.23 cdefgh | 0.59 ± 0.04 abc | 1.46 ± 0.27 bcde |
| 17 | 0.23 ± 0.01 fgh | 0.63 ± 0.09 abcd | 0.31 ± 0.00 cdefgh | 0.45 ± 0.06 cdefghi | 0.84 ± 0.20 fgh |
| 18 | 0.30 ± 0.05 bcde | 0.73 ± 0.07 abc | 0.32 ± 0.07 cdefgh | 0.49 ± 0.10 bcdefg | 1.04 ± 0.39 defgh |
| 19 | 0.26 ± 0.05 cdefg | 0.66 ± 0.06 abcd | 0.43 ± 0.05 abcdef | 0.65 ± 0.06 a | 1.95 ± 0.06 ab |
| 20 | 0.41 ± 0.07 a | 0.58 ± 0.04 bcd | 0.69 ± 0.20 a | 0.68 ± 0.09 a | 2.38 ± 0.08 a |
| ck | 0.21 ± 0.02 h | 0.52 ± 0.04 d | 0.92 ± 0.26 a | 0.31 ± 0.12 i | 0.50 ± 0.29 h |

说明：同列数据后不同字母表示差异显著($P<0.05$)

### 2.4 对根系生长状况的影响

从表 4 可以看出：接种根瘤菌对花榈木幼苗根系生长有明显的促进作用，各处理间花榈木幼苗总根表面积、根平均直径、根尖数之间差异显著($P<0.05$)。与 ck 相比，接种 17 号菌株的花榈木幼苗总根表面积最大，随后依次为 7 号、15 号、16 号菌株，但三者与接种 17 号菌株处理间差异不显著($P>0.05$)。接种 5 号菌株总根表面积最小，仅是 ck 的 1.4 倍。1~5 号菌株处理均与 ck 差异不显著($P>0.05$)。接种 7 号、12 号、11 号菌株对根平均直径的提高作用较大，分别比 ck 高 193.3%，171.1%和 171.1%，1~6 号菌株对花榈木根平均直径的影响较小，增幅均小于 50%且与 ck 差异不显著($P>0.05$)。6 号菌株对花榈木幼苗根尖数的生长促进作用最大，比 ck 提高 92.1%，与其他处理差异显著($P<0.05$)。接种 7 号、4 号、18 号、9 号、15 号、17 号、12 号、20 号、16 号、13 号菌株的花榈木幼苗的根尖数增幅为 37.4%~53.3%，其中 7 号、4 号、18 号增幅较大，分别为 53.3%，50.0%和 45.8%。

### 2.5 对花榈木幼苗苗高的影响

从图 3 可以看出：人工接种根瘤菌有助于促进花榈木高生长。与 ck 相比，接种根瘤菌的花榈木幼苗高生长增幅为 6.3%~273.8%，差异显著($P<0.05$)。其中，苗高增长量增幅为 200%以上的菌株号为 15 号、4 号、2 号；增幅为 100%~200%的菌株号为 1 号、13 号、19 号、16 号、7 号、6 号、17 号、10 号、18 号、14 号、20 号；增幅为 10%~99%的菌株号为 9 号、12 号、8 号、5 号、3 号；11 号菌株对花榈木幼苗高生长的影响最小，仅比 ck 高 6.3%，与 ck 差异不显著($P>0.05$)。

**表 4　接种不同根瘤菌对花榈木幼苗根生长的影响**

Table 4　Effects of inoculated different rhizobium strains on roots growth of *Ormosia henryi* seedlings

| 处理 | 总根表面积/cm² | 根平均直径/mm | 根尖数/个 | 处理 | 总根表面积/cm² | 根平均直径/mm | 根尖数/个 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 13.72 ± 7.03 ij | 0.48 ± 0.06 d | 263 ± 42 bcde | 11 | 37.95 ± 19.59 gh | 1.22 ± 0.09 ab | 215 ± 22 e |
| 2 | 16.73 ± 4.39 ij | 0.50 ± 0.04 d | 245 ± 43 cde | 12 | 76.38 ± 14.62 bcd | 1.22 ± 0.15 ab | 297 ± 43 bc |
| 3 | 18.31 ± 3.77 ij | 0.48 ± 0.02 d | 282 ± 49 bcd | 13 | 67.83 ± 12.17 cdef | 1.06 ± 0.12 bc | 294 ± 20 bc |
| 4 | 17.12 ± 4.72 ij | 0.51 ± 0.05 d | 321 ± 36 b | 14 | 55.53 ± 9.53 efg | 1.10 ± 0.22 bc | 239 ± 53 cde |
| 5 | 13.71 ± 3.92 ij | 0.52 ± 0.07 d | 266 ± 19 bcde | 15 | 84.32 ± 7.52 abc | 1.00 ± 0.09 cbc | 299 ± 35 bc |
| 6 | 31.61 ± 6.82 hi | 0.61 ± 0.04 d | 411 ± 5 a | 16 | 82.29 ± 17.00 abc | 1.13 ± 0.12 bc | 294 ± 43 bc |
| 7 | 95.37 ± 10.87 a | 1.32 ± 0.03 a | 328 ± 39 b | 17 | 96.61 ± 13.82 a | 1.12 ± 0.02 bc | 299 ± 18 bc |
| 8 | 51.28 ± 11.20 fg | 1.01 ± 0.05 c | 286 ± 20 bc | 18 | 72.13 ± 12.56 bcde | 1.10 ± 0.06 bc | 312 ± 29 b |
| 9 | 67.97 ± 9.96 cdef | 0.99 ± 0.04 c | 303 ± 21 bc | 19 | 57.70 ± 10.62 def | 1.03 ± 0.18 c | 274 ± 24 bcde |
| 10 | 58.87 ± 13.55 def | 1.02 ± 0.03 c | 278 ± 26 bcd | 20 | 51.43 ± 5.99 fg | 1.09 ± 0.06 bc | 295 ± 19 bc |
| | | | | ck | 10.00 ± 6.23 j | 0.45 ± 0.02 d | 214 ± 14 e |

说明：同列数据后不同字母表示差异显著($P<0.05$)

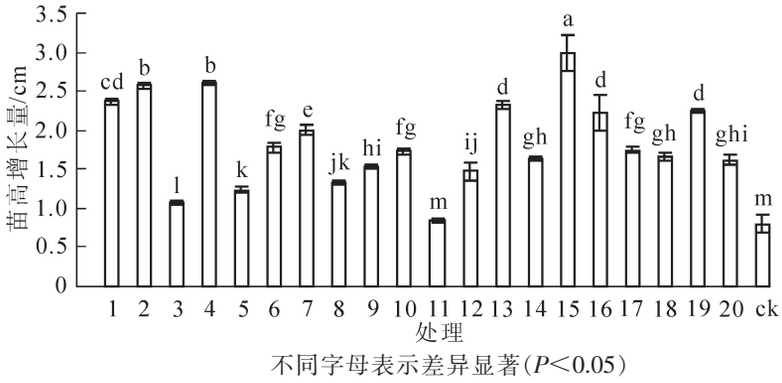



图 3　接种不同根瘤菌对花榈木幼苗苗高增长量的影响

Figure 3　Effects of inoculated different rhizobium strains on height growth of *Ormosia henryi* seedlings

## 2.6　对花榈木幼苗地径的影响

接种根瘤菌对花榈木幼苗地径生长有明显促进作用(图 4)。方差分析表明：不同处理间花榈木幼苗地径差异显著($P<0.05$)。接种根瘤菌的花榈木幼苗地径增长量比 ck 提高 37.9%~310.3%，其中增幅为 200%以上的菌株号为 15 号、16 号、13 号、2 号、4 号、12 号；增幅为 100%~200%的菌株号为 17 号、14 号、5 号、19 号、8 号、18 号、6 号、1 号、7 号、3 号；增幅小于 100%的菌株号为 9 号、20 号、20 号、11 号；11 号处理地径增长量最低，仅比 ck 高 37.9%。

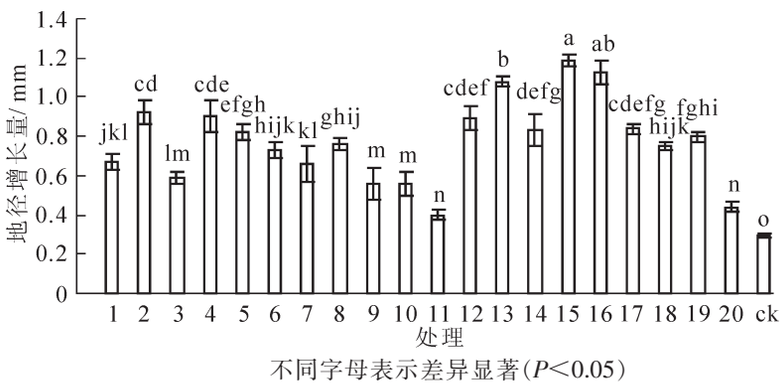


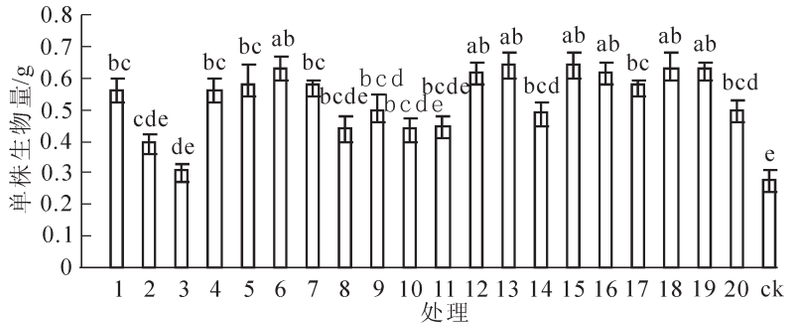

图 4　接种不同根瘤菌对花榈木幼苗地径增长量的影响

Figure 4　Effects of inoculated different rhizobium strains on ground diameter increment of *Ormosia henryi* seedlings

## 2.7　对花榈木幼苗生物量的影响

图 5 表明：接种根瘤菌的花榈木幼苗单株生物量均高于 ck，增幅为 10.7%~128.6%。方差分析表明：

接种不同根瘤菌的花榈木幼苗单株生物量之间差异显著($P<0.05$)。其中，接种 13 号、15 号菌株单株生物量最大，比 ck 高了 128.6%；接种 6 号、18 号、19 号、12 号、16 号、5 号、7 号、17 号、1 号、4 号菌株花榈木幼苗单株生物量增幅均高于 100%；单株生物量增幅为 50%~100%的菌株处理为 9 号、20 号、14 号、11 号、8 号、10 号；单株生物量增幅低于 50%菌株号为 2 号、3 号菌株。




不同字母表示差异显著($P<0.05$)

图 5 接种不同根瘤菌对花榈木幼苗单株生物量的影响

Figure 5 Effects of inoculated different rhizobium strains on biomass of *Ormosia henryi* seedlings

## 2.8 接种不同根瘤菌效应的综合评价

对各指标进行相关性分析，去除相关性较强的指标，余下地径增长量、生物量、总根表面积、根尖数、实际光合量子产量、光化学猝灭、光合速率、总根瘤质量作为隶属函数综合评价指标。评价结果表明(表 5)：对花榈木幼苗生长生理促进效应最为显著的前 5 个菌株号为 15 号、16 号、18 号、7 号、4 号，可初步作为促进花榈木生长的优良菌株。

表 5 接种不同根瘤菌株花榈木幼苗质量综合评价

Table 5 Comprehensive evaluation of quality for *Ormosia henryi* seedlings with different rhizobium strains

| 处理 | 地径增长量 | 生物量 | 总根表面积 | 根尖数 | 实际光合量子产量 | 光化学猝灭 | 光合速率 | 总根瘤质量 | 综合值 | 排序 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 15 | 1.00 | 1.00 | 1.00 | 0.43 | 0.50 | 0.59 | 0.56 | 0.98 | 6.06 | 1 |
| 16 | 0.93 | 0.73 | 0.97 | 0.41 | 0.65 | 0.48 | 0.53 | 0.90 | 5.60 | 2 |
| 7 | 0.51 | 0.43 | 0.84 | 0.50 | 0.45 | 0.78 | 0.48 | 1.00 | 4.99 | 3 |
| 18 | 0.41 | 0.51 | 1.15 | 0.58 | 0.15 | 0.63 | 0.55 | 0.89 | 4.87 | 4 |
| 17 | 0.68 | 0.78 | 0.10 | 0.54 | 0.35 | 0.78 | 0.58 | 0.93 | 4.74 | 5 |
| 4 | 0.61 | 0.49 | 1.17 | 0.43 | 0.10 | 0.41 | 0.53 | 0.45 | 4.19 | 6 |
| 12 | 0.88 | 0.75 | 0.78 | 0.41 | 0.10 | 0.15 | 0.43 | 0.68 | 4.18 | 7 |
| 13 | 0.67 | 0.41 | 0.89 | 0.42 | 0.50 | 0.30 | 0.21 | 0.54 | 3.94 | 8 |
| 6 | 0.49 | 0.46 | 0.29 | 1.00 | 0.05 | 0.74 | 0.32 | 0.47 | 3.82 | 9 |
| 9 | 0.57 | 0.63 | 0.64 | 0.30 | 0.25 | 0.52 | 0.18 | 0.62 | 3.71 | 10 |
| 19 | 0.30 | 0.32 | 0.78 | 0.45 | 0.25 | 0.26 | 0.70 | 0.44 | 3.50 | 11 |
| 20 | 0.17 | 0.31 | 0.56 | 0.41 | 1.00 | 0.22 | 0.32 | 0.39 | 3.38 | 12 |
| 8 | 0.52 | 0.32 | 0.56 | 0.37 | 0.15 | 0.85 | 0.16 | 0.30 | 3.23 | 13 |
| 14 | 0.70 | 0.78 | 0.09 | 0.16 | 0.20 | 0.19 | 0.78 | 0.44 | 3.34 | 14 |
| 2 | 0.60 | 0.45 | 0.61 | 0.13 | 0.45 | 0.22 | 0.29 | 0.26 | 3.01 | 15 |
| 10 | 0.30 | 0.39 | 0.66 | 0.32 | 0.45 | 0.19 | 0.44 | 0.27 | 3.02 | 16 |
| 1 | 0.33 | 0.18 | 0.11 | 0.35 | 0.15 | 1.00 | 0.45 | 0.41 | 2.98 | 17 |
| 5 | 0.59 | 0.31 | 0.05 | 0.26 | 0.15 | 0.78 | 0.37 | 0.40 | 2.91 | 18 |
| 3 | 0.42 | 0.63 | 0.05 | 0.25 | 0.20 | 0.26 | 0.70 | 0.23 | 2.74 | 19 |
| 11 | 0.12 | 0.05 | 0.38 | 0.01 | 0.25 | 0.59 | 0.27 | 0.26 | 1.93 | 20 |
| ck | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 21 |

## 3 讨论

豆目植物接种根瘤菌后光合能力显著提高[8-12]，其主要原因是：①与根瘤菌共生形成根瘤进行生物固氮，固定的氮素转化成氨基酸或酰胺后，运往植物的地上及其他部位，为地上部的生长提供合成物质，增加了叶面积，提高了整个植株的碳固定水平 。②氮素供给提高了叶片中叶绿素的含量，影响天线色素的光吸收和光传递。③氮素供给促进类囊体中的电子传递体和烟酰胺腺嘌呤二核苷磷酸(NADP+)以及细胞基质中的二氧化碳同化酶(主要是 1,5-二磷酸核酮糖羧酶 Rubisco)等物质的合成[13]，从而提高植物的光合能力。本研究中，花榈木幼苗接种根瘤菌后，叶片光合速率都有不同程度提高，且接种不同菌株后花榈木幼苗的光合速率存在显著的差别，表明不同根瘤菌与花榈木共生固氮效率亦有所不同，这与前人的研究结果一致[14-15]。

叶绿素荧光参数也是体现植物光合作用潜力的重要指标，通过对花榈木叶片叶绿素荧光参数的测量可以更深入了解与电子传递有关的光合器官能力[9]。接菌处理后，花榈木叶片的叶绿素荧光参数与对照相比，除 $q_N$ 外其余参数都有不同程度的提高，表明接种根瘤菌后，氮素营养得到补充，花榈木幼苗的 PSⅡ反应中心开放度提高，更多的光能用于驱动电子传递，PSⅡ的光量子效率潜能提高，对花榈木光合作用更为有利。本研究中无论接种哪个菌株，$q_N$ 都比对照低，其原因可能是未接菌处理不能通过生物固氮为幼苗提供氮素营养，属于低氮胁迫状态，因此 PSⅡ天线色素吸收的光能更多部分不能用于光合电子传递，只能以热形式耗散掉。

根系是植物吸收水分和养分的主要器官，接种根瘤菌促进了根系生长和根系对养分及水分的吸收利用。郝凤等[16]研究结果表明：接种中华根瘤菌 *Sinorhizobium meliloti* 和不接菌相比，紫花苜蓿 *Medicago sativa* 的根长、根表面积、根平均直径和根体积均表现为接菌比不接菌要好，本研究亦得到类似的研究结果。另一方面，地上部分所产生的光合产物向地下部分运输，为根系的生长提供能量和碳架，生长点便成为很强的光合产物竞争部位，间接体现在根尖数的增加上。根尖数增加越高的处理，其光合产物供给能力越强。接种根瘤菌从地上部分提高光合能力，地下部分改善水分、养分的吸收，最终体现为苗高、地径和生物量的增加。

花榈木与根瘤菌的共生作用，是在长期的进化中相互作用、互相选择的结果，也是与环境相适应的结果。本研究表明：在相同的条件下，花榈木幼苗分别接种 20 株不同的根瘤菌菌株，虽然都可与花榈木共生结瘤固氮，但并未获得同样的接种效果，说明根瘤菌和寄主之间的共生匹配关系存在差异。只有选择合适的菌株，在共生固氮中综合考虑宿主菌株和环境的相互关系，才有利于充分发挥共生固氮的作用，促进苗木的生长。本研究所采集的根瘤菌来自不同的区域，各自有其适生环境，虽然寄主都是花榈木，但不同区域的的花榈木还存在基因型上的差异，因而在相同条件下接种产生的效果不一致。因此，筛选最佳花榈木与根瘤菌共生固氮体系，不仅要适地适菌，还要做到适苗适菌。此外，本研究对象为 1 年生花榈木苗木，且育苗基质并非土壤，根瘤菌与花榈木苗木的共生环境比较单一，因此，所筛选的促生菌株对于多年生花榈木是否具有的促进效应，以及所筛选的优良菌株在土壤基质中是否有相同的促生效应，有待进一步验证。

## 4 参考文献

[1] 付萍. 根瘤菌对箭筈豌豆结瘤固氮的影响[J]. 草业科学，2016，**33**(4)：584 – 588.
FU Ping. Effects of different rhizobia on nodulation of Vicia sativa [J]. *Pratac Sci*, 2016, **33**(4): 584 – 588.

[2] ZAHRAN H H. Rhizobium legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in arid climate [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 1999, **63**(4): 968 – 989.

[3] 韦小丽，孟宪帅，邓兆. 珍稀树种花榈木种子繁殖生态学特性与濒危的关系[J]. 种子，2014，**33**(1)：82 – 86.
WEI Xiaoli, MENG Xianshuai, DENG Zhao. Relation between being endangered and seed reproductive ecology of a rare species Ormosia henryi [J]. *Seed*, 2014, **33**(1): 82 – 86.

[4] 段如雁，韦小丽，简才源，等. 根瘤菌对花榈木 2 年生苗木生长及生理生化特性的影响[J]. 西部林业科学，2014，**43**(2)：102 – 107.
DUAN Ruyan, WEI Xiaoli, JIAN Caiyuan, *et al.* Effect of rhizobia on growth and physiological biochemical character

of biennial Ormosia henryi seedlings [J]. *J West China For Sci*, 2014, **43**(2): 102 – 107.

[5] 韩素芬，林树燕. 豆目树种与根瘤菌[M]. 北京：中国林业出版社，2013：31 – 32.

[6] 李东，黄莉莉，韩素芬. 23 株豆科木本植物根瘤菌 16SrDNA 序列分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版)，2007，**31**(6)：117 – 120.

LI Dong, HUANG Lili, HAN Sufen. 16S rDNA Sequence analysis of 23 rhizobium strains isolated from Leguminosae woody plants [J]. *J Nanjing For Univ Nat Sci Ed*, 2007, **31**(6): 117 – 120.

[7] 曹佳乐，延娜，樊军锋，等. 4 个白杨派新无性系抗寒性鉴定和综合评价[J]. 西北林学院学报，2016，**31**(2)：130 – 134，139.

CAO Jiale, YAN Na, FAN Junfeng, *et al*. Determination and comprehensive evaluation on cold-tolerance of four new populus clones [J]. *J Northwest For Univ*, 2016, **31**(2): 130 – 134, 139.

[8] 潘佳，范燕，李荣，等. 甘农 3 号和陇东苜蓿高效共生根瘤菌菌株的筛选[J]. 草业科学，2016，**33** (8)：1536 – 1549.

PAN Jia, FAN Yan, LI Rong, *et al*. Screening of high efficient symbiotic rhizobium for *Medicago sativa* cv. Gannong No.3 and *M. sativa* cv. Longdong [J]. *Pratac Sci*, 2016, **33**(8): 1536 – 1549.

[9] 周相娟，梁宇，沈世华，等. 接种根瘤菌和遮光对大豆固氮和光合作用的影响[J]. 中国农业科学，2007，**40**(3)：478 – 484.

ZHOU Xiangjuan, LIANG Yu, SHEN Shihua, *et al*. Effects of rhizobial inoculation and shading on nitrogen fixation and photosynthesis of soybean [J]. *Sci Agric Sin*, 2007, **40**(3): 478 – 484.

[10] 杨忠，罗辑，王道杰. 马桑结瘤固氮与光合作用的关系[J]. 生态学报，2001，**21**(2)：244 – 248.

YANG Zhong, LUO Ji, WANG Daojie. Relationship between nitrogen fixation and photosynthesis of Coriaria sinica [J]. *Acta Ecol Sin*, 2001, **21**(2): 244 – 248.

[11] GYOGLUU C, MOHAMMED M, JAISWAL S K, *et al*. Assessing host range, symbiotic effectiveness, and photosynthetic rates induced by native soybean rhizobia isolated from Mozambican and South African soils [J]. *Symbiosis*, 2017. doi: 10.1007/s13199-017-0520-5.

[12] HUSSAIN M B, ZAHIR Z A, ASGHAR H N, *et al*. Efficacy of rhizobia for improving photosynthesis, productivity, and mineral nutrition of maize [J]. *Clean Soil Air Water*, 2016, **44**(11): 1564 – 1571.

[13] SAGE R F, PEARCY R W. The nitrogen use efficiency of C3 and C4 plants (Ⅰ) leaf nitrogen, growth, and biomass partitioning in *Chenopodium album* (L.) and *Amaranthus retroflexus* (L.) [J]. *Plant Physiol*, 1987, **84**(3): 954 – 958.

[14] 韩志顺，郑敏娜，梁秀芝. 接种不同根瘤菌对紫花苜蓿固氮效能及生物量的影响[J]. 华北农学报，2016，**31**(4)：214 – 219.

HAN Zhishun, ZHENG Minna, LIANG Xiuzhi. Effect of Rhizobium inoculation on nitrogen fixation activity and biomass of *Medicago sativa* L. [J]. *Acta Agric Boreal-Sin*, 2016, **31**(4): 214 – 219.

[15] 伍惠，钟喆栋，樊伟，等. 8 株优良大豆根瘤菌与不同地区 27 个大豆主栽品种的匹配性研究[J]. 大豆科学，2017，**36**(3)：405 – 418.

WU Hui, ZHONG Zhedong, FAN Wei, *et al*. Symbiotic compatibility among eight elite soybean rhizobia strains and twenty-seven soybean cultivars from different planting regions [J]. *Soybean Sci*, 2017, **36**(3): 405 – 418.

[16] 郝凤，刘晓静，齐敏兴，等. 磷水平和接根瘤菌对紫花苜蓿根系形态特征和根瘤固氮特性的影响[J]. 草地学报，2015，**23**(4)：818 – 822.

HAO Feng, LIU Xiaojing, QI Minxing, *et al*. Effects of phosphate levels and rhizobium inoculation on the root morphology and nitrogen-fixing characteristic of alfalfa [J]. *Acta Agrest Sin*, 2015, **23**(4): 818 – 822.