



引用格式:张俊杰,尚益民,郭晨,等.我国豆科绿肥根瘤菌资源研究现状[J].轻工学报,2019,34(4):30-36.

中图分类号:Q939.1 文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.2096-1553.2019.04.005

文章编号:2096-1553(2019)04-0030-07

我国豆科绿肥根瘤菌资源研究现状

Current status of research on rhizobium resources of leguminous green manure in China

张俊杰¹,尚益民¹,郭晨¹,彭姗姗¹,陈文峰²

ZHANG Junjie¹,SHANG Yimin¹,GUO Chen¹,PENG Shanshan¹,CHEN Wenfeng²

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 中国农业大学 根瘤菌研究中心,北京 100193

1. School of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Rhizobium Research Center, China Agricultural University, Beijing 100193, China

关键词:

豆科绿肥;紫云英;
三叶草;箭筈豌豆;
根瘤菌

Key words:

leguminous green manure; *Astragalus sinicus*; *Trifolium repens*; *Vicia sativa*; rhizobia

摘要:对紫云英、三叶草和箭筈豌豆3种主要豆科绿肥作物的特性及其共生根瘤菌多样性进行综述指出,这3种豆科绿肥作物均具有较强的固氮能力,可提高肥力,改善土壤结构;与其共生的根瘤菌具有较强的多样性,针对不同地区接种匹配的高效根瘤菌菌株,可达到较为理想的增产固氮效果.今后应加强适宜不同地区的根瘤菌菌种选育,添加甘油、海藻糖等保护剂制作不同剂型的根瘤菌菌剂,并对其大田生产运用开展研究,以更好发挥绿肥在现代绿色农业发展中的作用.

收稿日期:2019-06-03

基金项目:国家人社部留学回国人员科技活动项目(豫留学函【2016】1号);中国农科院作物科学研究所项目;河南省农科院植物营养与资源环境研究所项目

作者简介:张俊杰(1984—),男,河南省汝州市人,郑州轻工业大学副教授,博士后,主要研究方向为细菌分类与分子生态学.

通讯作者:陈文峰(1972—),男,河南省义马市人,中国农业大学副教授,博士,主要研究方向为根瘤菌和豆科植物互作.

Abstract: The characteristics and the diversity of rhizobia symbiosis on the three main leguminous green manure crops (*Astragalus sinicus*, *Trifolium repens* and *Vicia sativa*) were summarized. It was pointed out that the three kinds of leguminous green manure crops had strong ability of nitrogen fixation, could improve the fertility and soil structure. The symbiosis of rhizobia had a strong diversity, inoculating matched strains of highly effective rhizobia in different regions could achieve an ideal effect of increasing yield and fixing nitrogen. In the future, the selection and breeding of rhizobia strains suitable for different regions should be strengthened, protective agents such as glycerin and trehalose should be added, rhizobia agents with different dosage forms should be prepared, and research on their field production and application should be carried out, so as to better play the role of green fertilizer in the development of modern green agriculture.

0 引言

绿肥是指直接或经堆沤后施入土壤作为肥料使用的栽培或野生绿色植物体^[1],作为生态农业的重要组成部分,其栽培利用历史悠久,曾对我国农业生产起到举足轻重的作用^[2-3]. 绿肥能够吸碳固氮,促进养分良性循环,有效培肥改土等^[4-8],具有节能、减排、增效等特点,有助于环境友好型农业生产方式的建立^[9]. 绿肥对于现代农业的作用主要表现为:增加耕层土壤养分,改善土壤理化性状;作为开垦荒地的先锋作物,为后作创造良好的生长条件,使得开垦初期即可得到增产增收;覆盖地面,固沙护坡,防止水土流失,改善生态环境,等等^[10]. 按植物学分类,可将绿肥分为豆科绿肥和非豆科绿肥. 豆科绿肥有紫云英、三叶草、箭筈豌豆、毛叶苕子等 72 种,非豆科绿肥有黑麦草、满江红、莲子草等 26 种^[1,11]. 此外,研究表明^[12],豆科绿肥的肥料价值和饲料价值均高于非豆科绿肥. 豆科绿肥具有生物固氮作用,不仅可以提高土地的生产力,改良土壤,而且翻压绿肥并利用其根茬可有效改善土壤养分供应情况,使下茬作物产量明显提高^[13]. 但是豆科植物需要与相应的根瘤菌互作以形成共生匹配关系,才能发挥共生固氮体系的优势^[14]. 根瘤菌与豆科植物共生关系的建立,是细菌、植物和环境三方相互作用的结果,而不只是细菌与植物间的相互对话^[15],且其共生关系因区域地理环境的差异而

具有多样性. 因此,不同地区应选择适宜的豆科绿肥作物,并接种与之相匹配的高效根瘤菌菌株,这样才能使其发挥更大的生物固氮作用,为现代农业提供更大的价值. 目前关于豆科绿肥根瘤菌的遗传多样性及其生物地理学分布的研究已有许多,但是豆科绿肥的种类众多,不同地区的土壤特性也有明显的差异,因此需要系统地对比豆科绿肥根瘤菌的遗传多样性和生物地理学分布规律展开研究,以便为不同地区的豆科绿肥种植提供技术指导.

本文拟对紫云英、三叶草、箭筈豌豆 3 种主要豆科绿肥作物的特性及其共生根瘤菌多样性进行综述,以期为不同地区选育合适的豆科绿肥作物、接种匹配的高效根瘤菌菌株提供参考.

1 主要豆科绿肥作物特性

1.1 紫云英

紫云英(*Astragalus sinicus*),又名红花草、翘摇、草子等,属于豆科黄芪属作物,一般在秋季套播于稻田,是我国南方稻田主要的冬季绿肥^[16-17]. 紫云英含有较高的营养成分,约含氮 0.48% (质量分数,下同),五氧化二磷 0.11%,氧化钾 0.24%,即 100 kg 鲜草相当于尿素 2.08 kg,过磷酸钙 0.92 kg,氯化钾 0.24 kg,此外还含有大量的有机质,是农业生产中不可多得的有机肥源^[18]. 通过紫云英还田可以增加稻田土壤养分,改善稻田的物理、化学和生物学性状,提高水稻产量^[19-22]. 紫云英还可以固定空

气中的氮,从而减少氮肥的施用和氮素的流失^[23-24],减少稻田温室气体 N₂O 和 CH₄ 的排放,改善稻田的生态环境^[25-26].此外,紫云英作为牧草和蔬菜,也可以生产一种营养价值很高的花蜜^[27].我国紫云英的种植历史悠久,且种质资源丰富,按开花和成熟期来分,其品种可分为特早熟种、早熟种、中熟种和迟熟种^[28].紫云英作为一种豆科绿肥,和与其匹配的根瘤菌结合进行共生固氮,在结瘤良好的情况下,固氮量可占植株总氮量的 80%^[29],按紫云英氮积累量为 140 kg/hm² 计算,来自生物固氮的氮积累量约为 110 kg/hm²,可节约大量的能源和工业投入^[27].磷肥可促进结瘤,达到以磷增氮的效果.不同稻区的试验表明^[30-32],种植翻压紫云英可以减少无机化肥的施用量,紫云英翻压 15 000 ~ 30 000 kg/hm²,减施化肥 20% ~ 40%,仍能保证水稻不减产.

1.2 三叶草

三叶草 (*Trifolium repens*),又名车轴草,豆科一年生或多年生草本植物,是一类优质牧草和优良豆科绿肥,至今已有上千年的种植历史.目前国内种植的三叶草品种主要是白三叶草、红三叶草和绛三叶^[33-34],其中白三叶草是本属植物中具有推广前途的一个种群^[35].三叶草不仅可以作为牧草,还可以在果园间种,有效地改善果园土壤的生态环境和果树的生产状况.三叶草作为绿肥,具有较强的固氮能力,可提高土壤肥力,保持土壤温度,并且可作为防风固沙的好材料^[34].此外,现代医学研究也证明,三叶草属植物具有调节激素平衡、抗癌、抗肿瘤、降血压、抗菌、消炎、抗自由基和防治骨质疏松等多方面的药理作用^[36].

1.3 箭筈豌豆

箭筈豌豆 (*Vicia sativa*),又名大巢菜,豆科野豌豆属,一年生或越年生豆科草本植物^[37].箭筈豌豆原产于欧洲南部和亚洲西部,目前在国内外新疆、青海、江苏、台湾等 29 个省(自治

区)均有种植^[38].箭筈豌豆生育期较短,土壤和气候适应性较强,具有固氮、改善土壤结构等功能,营养价值和经济效益较高,是农业生产中使用十分普遍的一种绿肥种质资源^[39-40].箭筈豌豆可以通过生物固氮的作用来抑制土壤的退化,并减少化肥的使用量,是各种作物的良好前作.箭筈豌豆的大量根部残留物和脱落的叶片可以增加土壤的腐殖质,显著增加土壤有机质含量,起到改良土壤结构和提升土壤肥力的作用^[41-42].Z. Berzsenyi 等^[43]研究发现,在有箭筈豌豆参与的轮作系统的农田中,土壤中的有机质含量较麦类作物连作模式的土地提高了近 20%.

总之,紫云英、三叶草和箭筈豌豆这 3 种豆科绿肥作物具有较强的固氮能力,可提高土壤肥力,改善土壤结构,利用其共生固氮体系来减少化肥的使用量,具有较高的营养价值和经济价值,符合现代绿色农业的要求,可以大面积推广种植.

2 主要豆科绿肥作物共生根瘤菌多样性

2.1 紫云英根瘤菌

根瘤菌并不是土壤的常住微生物区系,种植紫云英的关键在于接种有效的根瘤菌.无论是初次种植紫云英还是多年种植紫云英的地区,都可以通过接种优良根瘤菌菌种显著增加鲜草产量和质量^[44].陈华癸在 1940 年代首次从紫云英根瘤中分离发现根瘤菌,因其具有高度的宿主专一性,定名为紫云英根瘤菌 (*Rhizobium astragali*)^[45].C. L. Chan 等^[46]研究了从中国南京和日本 Otaki 等地采集的 11 个菌株,将其归于 *Bradyrhizobium*.1991 年,陈文新采用数值分类法,将紫云英根瘤菌重新命名为“华癸根瘤菌” (*R. huakuii*),以纪念已去世的陈华癸院士.1997 年陈文新又将其并入 *Mesorhizobium* 属,称为“华癸中慢生根瘤菌” (*Mesorhizobium huakuii*)^[47].2001 年, J. L. Gao 等^[48]对 95 株紫

云英根瘤菌多样性进行了系统分析,发现这些菌株分别归为 *Mesorhizobium*, *Agrobacterium*, *Rhizobium* 和 *Sinorhizobium* 属. 2004 年,在上述研究的基础上, J. L. Gao 等^[49]报道了两个紫云英根瘤菌的新种 *M. septentrionale* 和 *M. Temperatum*. 2010 年,张晓霞等^[45]对分离自广西玉林、广东梅县、安徽室州等地共 13 个紫云英菌株进行鉴定发现,这些菌株属于 *Mesorhizobium*, *Agrobacterium* 和 *Stenotrophomonas* 3 个属. 2012 年,管凤贞等^[50]从采自福建各地的紫云英根瘤中分离出具有一般根瘤菌特征的菌株 18 株,经过分子生物学鉴定,这些菌株分别属于 *Mesorhizobium*, *Agrobacterium* 和 *Rhizobium*. 2013 年, W. T. Zheng 等^[51]研究了中国东南部 4 个省份的 232 株紫云英根瘤菌,发现有 5 株来自江西省的紫云英根瘤菌为新种群,并将其命名为 *M. qingshengii*. 2015 年,李艳梅等^[52]在四川地区结瘤大豆土壤中再次种植紫云英,并分离得到 14 株根瘤菌,经过鉴定,这些菌株属于 *Rhizobium*. 2018 年, J. J. Zhang 等^[53]对分离自河南省信阳地区酸性土壤中的 257 株紫云英根瘤菌分析发现,所有菌株均为 *Mesorhizobium*, 且 *M. jarvisii* 为主导种群.

总之,紫云英根瘤菌具有多样性,其中 *M. huakuii* 分布最为广泛. 针对不同的区域,选用不同的紫云英根瘤菌制作豆科绿肥菌剂,有望达到较为理想的增产固氮效果.

2.2 三叶草根瘤菌

2002 年,刘晓云等^[54]用 16S rDNA PCR-RFLP 分析和表型特征数值分类方法研究了来自江西、湖北等 5 省的三叶草根瘤菌,并将其归为快生根瘤菌属、中华根瘤菌属、中慢生根瘤菌属和慢生根瘤菌属. 2004 年,齐春梅^[55]用分子生物学方法将四川和重庆地区的三叶草根瘤菌鉴定为 *Sinorhizobium* 和 *Rhizobium*. 2008 年,吕飞等^[56]对 50 株分离自新疆和陕西地区的三叶草根瘤菌进行系统研究,发现所有供试菌株产

生了 5 种 16S rDNA 基因型,归属于根瘤菌属,土壤杆菌属和叶杆菌属 3 个系统发育分支. 2010 年,刘晓云等^[57]从云南、湖北、河北等 6 个地区分离得到 120 株三叶草根瘤菌菌株,并采用 SDS-PAGE 分子标记法将其分为 6 个类群. 2014 年,潘明洪等^[58]对四川部分地区的 69 株野生白三叶草根瘤菌进行系统研究,发现所有供试菌株均归为根瘤菌属和土壤杆菌属,且大部分菌株属于根瘤菌属并与豌豆根瘤菌三叶草生物型 (*R. leguminosarum* bv. *trifolii*) ATCC 14480T 的亲缘关系较近. 同年,李艳梅等^[52]发现四川地区结瘤大豆根基土壤中的三叶草根瘤菌为 *Rhizobium*. 2016 年,张俊杰等^[33,35,59]从中国东部和北部碱性土壤中分离得到 83 株白三叶草根瘤菌,经分子生物学鉴定,这些供试菌株归属为 *R. leguminosarum* 和 *R. anhuiense*, 且 *R. anhuiense* 为主要种群. 2017 年,韦兴迪等^[60]调查了贵州部分地区野生白三叶草根瘤菌资源,在分离的全部根瘤菌株中,共鉴定出 6 个属 20 个种,其中 *Rhizobium* 的分布频率高达 81.31%, 是所调查地区的绝对优势属. 同年, C. T. Huang 等^[61]分离了台湾北部与三叶草等 7 个宿主豆科植物所共生的根瘤菌,并将其中的三叶草根瘤菌鉴定为 *Rhizobium*.

总之,三叶草根瘤菌也具有多样性,且目前根瘤菌属在国内分布最为广泛. 通过前人对三叶草根瘤菌资源的调查研究,可以筛选出一些针对于不同地区共生效果好的菌株,从而提高三叶草的质量和产量.

2.3 箭筈豌豆根瘤菌

目前国内对于箭筈豌豆根瘤菌资源的研究相对缺乏,大部分业内学者的研究重点是箭筈豌豆的种质资源及其栽培与管理技术^[40,62,63], 对于根瘤菌来说,大部分还是选用与豌豆属共生的根瘤菌接种至箭筈豌豆来提高固氮效果. 王雪翠等^[37]为获得抗逆性强的根瘤菌菌株,在青海主产区采集样本,经分离、鉴定得到 61 株

箭筈豌豆根瘤菌,并筛选出5株对宿主结瘤生长促进作用较强的根瘤菌,但是并没有对这些菌株进行分子鉴定,只是做了抗逆性分析.付萍^[38]研究了根瘤菌对箭筈豌豆结瘤固氮的影响,发现通过接种根瘤菌可以显著促进箭筈豌豆的单株株高、根长、根瘤数、根瘤鲜重、植物全氮含量和固氮酶活性等.笔者所在实验室对山西、青海、甘肃3个省份部分地区的箭筈豌豆根瘤菌资源进行了系统研究,其结果将择机发表.

总之,国内对于箭筈豌豆根瘤菌资源的研究成果比较匮乏,业界应该加强对不同地区的箭筈豌豆根瘤菌资源的研究,特别是青海、甘肃等箭筈豌豆的主产区,接种合适的箭筈豌豆根瘤菌显得十分必要.

3 总结与展望

本文通过对紫云英、三叶草和箭筈豌豆这3种主要豆科绿肥作物的特性及其共生根瘤菌多样性的综述,认为:这3种豆科绿肥作物具有较强的固氮能力,可提高土壤肥力,改善土壤结构,与共生的根瘤菌具有较强的多样性,针对不同的地区接种匹配的高效根瘤菌菌株,可达到较为理想的增产固氮效果.鉴于目前对于这3种豆科绿肥作物根瘤菌资源的调查研究尚不深入,今后应深入开展对不同地区的豆科绿肥根瘤菌资源的调查,以发现更为高效的根瘤菌菌株.另外,选育适宜当地的根瘤菌菌种只是第一步,后续还需要考虑根瘤菌菌剂(固体菌剂、液体菌剂等)的制作、如何通过添加保护剂(甘油、海藻糖等)保持这些菌种的活性,以及如何将这些菌剂运用到大田中来提高田间绿肥的质量和产量等.总之,绿肥是现代农业肥料不可或缺的一部分,豆科绿肥作物的地位尤为重要,并且豆科绿肥的种类众多,远不止本文所阐述的这3种,针对目前国内对于豆科绿肥根瘤菌的研究相对比较匮乏的现状,尚需要更多的理论研究来指导大田生产,进而推动现代绿色农业的发展.

参考文献:

- [1] 胡霁堂.植物营养学(下)[M].2版.北京:中国农业大学出版社,2003.
- [2] 杨春燕,赵双进,张孟臣.高蛋白大豆新品种冀豆15号的选育[J].河北农业科学,2005,9(2):60.
- [3] 窦菲,刘忠宽,秦文利,等.绿肥在现代农业中的作用分析[J].河北农业科学,2009,13(8):37.
- [4] 兰延,黄国勤,杨滨娟,等.稻田绿肥轮作提高土壤养分增加有机碳库[J].农业工程学报,2014,30(13):146.
- [5] 赵秋,高贤彪,宁晓光,等.华北地区春玉米-冬绿肥轮作对碳、氮蓄积和土壤养分以及微生物的影响[J].植物营养与肥料学报,2013,19(4):1005.
- [6] 李继明,黄庆海,袁天佑,等.长期施用绿肥对红壤稻田水稻产量和土壤养分的影响[J].植物营养与肥料学报,2011,17(3):563.
- [7] 周春来,王建中,扎桑,等.绿肥对土壤理化性状和作物产量影响的研究[J].西南农业学报,1988(14):80.
- [8] 王志运,詹硕仁.从土壤结构性的变化看绿肥和秸秆还田在养地中的意义[J].农业科学研究,1989(1):55.
- [9] 秦文利,刘忠宽,智健飞.绿肥在河北省现代农业发展中的作用及其高效种植技术模式[J].河北农业科学,2017,21(1):57.
- [10] 刘芳珍,何丹,邱才飞.绿肥与现代农业[J].安徽农业科学,2014,42(27):9329.
- [11] 曾莎,张炼,张玉平.绿肥生产应用现状及绿肥还田研究进展[J].湖南农业科学,2017(9):132.
- [12] 孟瑶,徐凤花,孟庆有,等.中国微生物肥料研究及应用进展[J].中国农学通报,2008,24(6):276.
- [13] 刘晓云,孙新新,刘昱,等.河北省豆科绿肥作物种质资源相关共生根瘤菌资源的研究[J].作物杂志,2015(3):29.

- [14] 陈文新. 中国根瘤菌[M]. 北京:科学出版社, 2011.
- [15] 陈文新,汪恩涛,陈文峰. 根瘤菌-豆科植物共生多样性与地理环境的关系[J]. 中国农业科学,2004,37(1):81.
- [16] 夏海林,康丽春,王飞,等. 江西绿肥紫云英的研究[J]. 草业科学,2018,35(11):2711.
- [17] 林新坚,曹卫东,吴一群,等. 紫云英研究进展[J]. 草业科学,2011,28(1):135.
- [18] 符杨. 浅谈紫云英的栽培技术与耕翻压青[J]. 植物医生,2018(1):28.
- [19] 刘春增,李本银,吕玉虎,等. 紫云英还田对土壤肥力、水稻产量及其经济效益的影响[J]. 河南农业科学,2011,40(5):96.
- [20] 颜志雷,方宇,陈济琛,等. 连年翻压紫云英对稻田土壤养分和微生物学特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2014,20(5):1151.
- [21] 刘春增,刘小粉,李本银,等. 紫云英还田对水稻产量、土壤团聚性及其有机碳和全氮分布的影响[J]. 华北农学报,2012,27(6):224.
- [22] 张珺璋,曹卫东,徐昌旭,等. 种植利用紫云英对稻田土壤微生物及酶活性的影响[J]. 中国土壤与肥料,2012(1):19.
- [23] 卢萍,单玉华,杨林章,等. 绿肥轮作还田对稻田土壤溶液氮素变化及水稻产量的影响[J]. 土壤,2006,38(3):270.
- [24] 袁嫚嫚,刘勤,张少磊,等. 太湖地区稻田绿肥固氮量及绿肥还田对水稻产量和稻田土壤氮素特征的影响[J]. 土壤学报,2011,48(4):797.
- [25] 熊正琴,邢光熹,鹤田治雄,等. 冬季耕作制度对农田氧化亚氮排放的贡献[J]. 南京农业大学学报,2002,25(4):49.
- [26] KIM S Y, GUTIERREZ J, KIM P J. Considering winter cover crop selection as green manure to control methane emission during rice cultivation in paddy soil[J]. *Agric Ecosyst Environ*, 2012, 161:130.
- [27] 刘春增,吕玉虎,李本银,等. 不同播期对紫云英“信紫1号”生长状况、产量及养分积累的影响[J]. 中国土壤与肥料,2018(1):127.
- [28] 李忠义,唐红琴,何铁光,等. 绿肥作物紫云英研究进展[J]. 热带农业科学,2016,36(11):27.
- [29] 林多胡,顾荣申. 中国紫云英[M]. 福州:福建科学技术出版社,2000.
- [30] 王飞,林诚,林新坚,等. 连续翻压紫云英对福建单季稻产量与化肥氮素吸收、分配及残留的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2014,20(4):896.
- [31] 王建红,曹凯,张贤. 紫云英还田配施化肥对单季晚稻养分利用和产量的影响[J]. 土壤学报,2014,51(4):888.
- [32] 万水霞,朱宏斌,唐杉,等. 紫云英与化肥配施对安徽沿江双季稻区土壤生物学特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2015,21(2):387.
- [33] 张俊杰,杨旭,陆勇,等. 汝州白三叶草根瘤菌的分离与分子鉴定[J]. 河南农业大学学报,2017,51(1):76.
- [34] 徐广. 西安地区三叶草根瘤菌生物学特性及共生固氮效应的研究[D]. 西宁:青海师范大学,2009.
- [35] 张俊杰,杨旭,刘苏萌,等. 郑州草坪白三叶草根瘤菌的分离与分子鉴定[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版),2016,37(6):70.
- [36] 陈学福,史高峰. 三叶草属植物研究进展[J]. 安徽农业科学,2006,34(13):3087.
- [37] 王雪翠,马晓彤,韩梅,等. 青海箭筈豌豆根瘤菌的筛选及其共生体耐盐性研究[J]. 草业学报,2016,25(8):145.
- [38] 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.
- [39] 董瑞. 箭筈豌豆遗传多样性及裂荚生物学特性研究[D]. 兰州:兰州大学,2017.
- [40] 卢秉林,包兴国,张久东,等. 甘肃箭筈豌豆种质资源评价[J]. 草业科学,2015,32(8):1296.
- [41] 石凤翎,王明玖,王建光. 豆科牧草栽培[M]. 北京:中国林业出版社,2003.
- [42] 马望力. 拉萨地区春箭筈豌豆不同轮作方式的生产力评价[D]. 兰州:兰州大学,2018.
- [43] BERZSENYI Z, GYÖRFFY B, LAP D Q. Effect

- of crop rotation and fertilisation on maize and wheat yields and yield stability in a long-term experiment[J]. *European Journal of Agronomy*, 1996, 13(2):225.
- [44] 谢志坚,周春火,贺亚琴,等. 21世纪我国稻区种植紫云英的研究现状及展望[J]. *草业学报*, 2018, 27(08):185.
- [45] CHEN H K. *Microbiology*[M]. Beijing: Higher Education Press, 1959.
- [46] CHAN C L, LUMPKIN T A, ROOT C S. Characterization of *Bradyrhizobium* sp. (*Astragalus sinicus* L.) using serological agglutination, intrinsic antibiotic resistance, plasmid visualization, and field performance[J]. *Plant & Soil*, 1988, 109(1):85.
- [47] CHE W X, LI G S, QI Y L, et al. *Rhizobium huakuii* sp. nov. isolated from the root nodules of *Astragalus sinicus* [J]. *Int J Syst Bacteriol*, 1991, 41:275.
- [48] GAO J L, TEREFWORK Z D, CHEN W X, et al. Genetic diversity of rhizobia isolated from *Astragalus adsurgens* growing in different geographical regions of China[J]. *Journal of Biotechnology*, 2001, 91(2):155.
- [49] GAO J L, TURNER S L, KAN F L, et al. *Mesorhizobium septentrionale* sp. nov. and *Mesorhizobium temperatum* sp. nov., isolated from *Astragalus adsurgens* growing in the northern regions of China[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2004, 54(6):2003.
- [50] 管凤贞,钟少杰,邱宏端,等. 紫云英根瘤菌的分离与鉴定[J]. *福建农业学报*, 2012, 27(5):524.
- [51] ZHENG W T, LI Y, WANG R, et al. *Mesorhizobium qingshengii* sp. nov., isolated from effective nodules of *Astragalus sinicus*[J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2013, 63:2002.
- [52] 李艳梅,钟宇舟,谭渊,等. 四川地区结瘤大豆根际土壤中紫云英、苜蓿和三叶草根瘤菌的多样性分析[J]. *应用与环境生物学报*, 2015, 21(2):234.
- [53] ZHANG J, SHANG Y, WANG E, et al. *Mesorhizobium jarvisii* sv. *astragali* as predominant microsymbiont for *Astragalus sinicus* L. in acidic soils, Xinyang, China[J]. *Plant and Soil*, 2018, 433(1/2):201.
- [54] 刘晓云,陈文新. 三叶草、猪屎豆和含羞草植物根瘤菌 16S rDNA PCR—RFLP 分析和数值分类研究[J]. *中国农业大学学报*, 2003, 8(3):1.
- [55] 齐春梅. 苜蓿、三叶草根瘤菌生物多样性和系统发育地位的研究[D]. 雅安:四川农业大学, 2004.
- [56] 吕飞,蒋欣,徐佳洁,等. 新疆和陕西三叶草属根瘤菌 16S rDNA 多态性及系统发育研究[J]. *草地学报*, 2009, 17(3):304.
- [57] 刘晓云,戴燕燕,郭振国,等. 三叶草根瘤菌 SDS-PAGE 分析及结瘤试验分子验证[J]. *草业科学*, 2010, 27(1):79.
- [58] 潘明洪,凌瑶,景文,等. 四川白三叶根瘤菌遗传多样性及系统发育研究[J]. *草业学报*, 2014, 23(5):143.
- [59] ZHANG J J, JING X Y, DE LAJUDIE P, et al. Association of white clover (*Trifolium repens* L.) with rhizobia of sv. *trifolii* belonging to three genomic species in alkaline soils in North and East China[J]. *Plant And Soil*, 2016, 407(1/2):417.
- [60] 韦兴迪,曾庆飞,谭玉兰,等. 贵州部分地区野生白三叶根瘤菌资源调查与区系分析[J]. *作物杂志*, 2018(2):35.
- [61] HUANG C T, LIU C T, KAO W Y. Rhizobia symbiosis of seven leguminous species growing along Xindian riverbank of Northern Taiwan [J]. *Taiwania*, 2018, 63(1):7.
- [62] 徐加茂. 箭筈豌豆的种植与管理[J]. *草业与畜牧*, 2012(7):28.
- [63] 陈建纲. 箭筈豌豆及其栽培利用[J]. *农村百事通*, 2006(3):47.