

相思属树种根瘤菌研究进展

窦雅静^{1,2}, 康丽华^{1*}, 陆俊锐¹ (1. 中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东广州 510520; 2. 海南省三亚林场, 海南三亚 572000)

摘要 绝大多数相思属树种都能与根瘤菌共生结瘤, 对改良土壤肥力、水土保持和植被恢复具有重要意义。对与相思属树种共生的根瘤菌的生物学特性、遗传多样性及苗木接种效应方面的研究历史与现状进行了综述, 旨在增加人们对相思根瘤菌的了解, 扩展对相思根瘤菌研究与应用的视野。

关键词 相思属树种; 根瘤菌; 生物学特性; 遗传多样性; 苗木接种效应

中图分类号 S154.38*3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)17-07511-04

Research Progress of Rhizobia Associated with *Acacia* Trees

DOU Ya-jing et al (Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou, Guangdong 510520)

Abstract Most *Acacia* trees could symbiosis and nodulate with rhizobia, which is significant in the soil fertility improvement, soil conservation and vegetation restoration. The research history and status of biological characteristics, genetic diversity and inoculation effect of rhizobia associated with *Acacia* trees were summarized, so as to extend the research and application of research about *Acacia* rhizobia.

Key words *Acacia* trees; Rhizobia; Biological characteristics; Genetic diversity; Inoculation effect

相思属(*Acacia*)是含羞草亚科(Mimosaceae)的一个特属, 为乔木或灌木, 泛生于热带或亚热带地区。我国从20世纪60年代开始大规模的引种。相思属树种不仅具有很高的经济价值, 而且能够与根瘤菌共生固氮, 对改良土壤肥力、水土保持和植被恢复具有重要意义。因此, 相思树种得到了越来越多的关注。生产上, 通过接种根瘤菌既能提高相思苗木的存活率、生长速度, 又能减少化肥施用带来的环境污染。为更好地发挥相思属树种与根瘤菌的共生固氮关系, 深入研究和挖掘相思树种的根瘤菌资源, 有必要对相思根瘤菌的研究现状进行总结。为此, 对相思树种根瘤菌生物学特性、遗传多样性及苗木接种效应等方面进行综述。

1 生物学特性研究

根瘤菌的生物学特性是其本身的一种属性, 对筛选根瘤菌优良菌株具有重要的指导作用, 进而直接影响其在生产应用中的效果。因此, 根瘤菌的生物学特性一直是根瘤菌研究工作的重要内容。

早期由于受到条件的限制, 对吸氢酶活性的研究较多。具有吸氢酶的根瘤菌能重新利用固氮反应所放出的氢, 获得能量, 从而提高固氮效率。20世纪90年代, 黄维南等^[1-3]先后进行了大叶相思(*Acacia auriculiformis* Cunn. ex Benth.)、台湾相思(*Acacia confusa* Merr.)和马占相思(*Acacia mangium* Willd.)根瘤菌的结瘤固氮与吸氢酶活性研究。结果表明, 相思根瘤菌固氮酶活性与苗龄、成熟度及光照、温度、湿度等生态条件有关, 根瘤离体后能较长时间地维持高的固氮活性水平。这可能与其吸氢酶系统有关。

随着技术的发展, 研究逐渐深入, 相思根瘤菌的生长适应性及抗逆性等成为研究重点, 在耐盐性、耐酸性、抗生素抗性、抗逆性等方面表现出较丰富的多样性。吕成群等^[4]从广

西喀斯特地区采集了15株台湾相思根瘤菌, 对其表型特征、抗性进行了研究, 证明在喀斯特环境下台湾相思根瘤菌具有生理生化特性、抗逆性的多样性。曾小红等^[5]对金沙江河谷地区的台湾相思等豆科树种根瘤菌进行了耐干热研究, 人工设置高温和模拟干旱条件下根瘤菌表现出耐受力的多样性和特异性。康丽华等^[6]研究发现, 大多数分离自黑木相思(*Acacia melanoxylon* R. Br.)、灰木相思(*Acacia implexa* Benth.)、银荆(*Acacia dealbata* Link.)和黑荆(*Acacia mearnsii* De Wild.)等豆科树种的根瘤菌不耐酸, 少数生长较好, 并初步筛选出一株耐酸菌株。马海宾等^[7]比较了不同程度水分胁迫下接种根瘤菌与不接种根瘤菌对厚荚相思(*Acacia crasicaarpa* A. Cunn. ex Benth.)苗木的生理生化响应, 发现接种根瘤菌能够提高厚荚相思的抗旱能力。杨群等^[8]比较了不同苗木类型(组培苗、实生苗、扦插苗)以及不同生态环境的厚荚相思根瘤菌菌株的抗逆性。结果表明, 扦插苗根瘤菌的抗性总体上比实生苗和组培苗强。

根瘤菌的生物学特性与宿主、环境之间关系的研究为筛选优质、高效菌株提供依据。焦如珍等^[9]研究了海南尖峰岭马占相思根瘤菌菌株的溶磷能力, 发现根瘤菌溶磷能力与共生宿主无关。Zhang等^[10]研究了硫酸锌对大叶相思-根瘤菌共生体系的影响。耐锌菌株的筛选是锌污染地区植被恢复的先决条件。张希涛等^[11]从200株相思根瘤菌中筛选出40株具有解磷能力的根瘤菌, 其中2株解磷能力较强, 广州地区分离的具有解磷能力的相思根瘤菌数量比福建漳州和广东清新地区多。这可能与环境因素有关。Lind等^[12]发现从高盐度土壤中分离出菌株的耐盐性较高, 表明群体的差异与盐胁迫有关。

固氮酶是生物固氮过程中催化空气中的氮气转化为含氮化合物的酶, 其活性的高低与根瘤菌的固氮能力直接相关。王作明等^[13]将分离自大叶相思、绢毛相思(*Acacia holosericea* A. Cunn. Ex G. Don.)和马占相思的根瘤菌进行了回接, 并且测定了生物量、固氮酶活性。周丽霞等^[14]发现, 大叶相思、卷荚相思(*Acacia cincinnata* F. Muell.)、台湾相思、黑

基金项目 农业科技成果转化资金项目(2011GB24320016); 林业公益性行业科研专项经费项目(201004075)。

作者简介 窦雅静(1987-), 女, 河北玉田人, 硕士研究生, 研究方向: 应用微生物。*通讯作者, 研究员, 硕士生导师, 从事应用微生物方面的研究, E-mail: kllh587@126.com。

收稿日期 2013-05-26

木相思等树种都能与根瘤菌结瘤,且固氮酶活性大小顺序为大叶相思 > 厚荚相思 > 黑木相思。

2 遗传多样性研究

绝大多数相思属树种都能与根瘤菌共生结瘤,且相思根瘤菌具有丰富的遗传多样性。相思根瘤菌主要分布在慢生根瘤菌属、中慢生根瘤菌属、根瘤菌属、中华根瘤菌属/剑菌属、草螺菌属、伯克霍尔德菌属、苍白杆菌属、叶杆菌属。

我国分布的相思树种根瘤菌主要为 α-变形菌纲的慢生根瘤菌属、中慢生根瘤菌属、根瘤菌属菌株,也有少数 β-变形菌纲菌株。陈强等^[15]从四川省台湾相思中分离出的根瘤菌菌株经 AFLP、BOXair-PCR 分析,确定为慢生根瘤菌属。余永昌^[16]用分子生物学方法将广西卷荚相思根瘤菌菌株初步鉴定到属,分布在伯克霍尔德属、慢生根瘤菌属和中慢生根瘤菌属。吕成群等^[17]从广西 3 种相思属树种中分离了 45 株根瘤菌。16S rDNA 系统发育分析表明,与厚荚相思接瘤的主要为慢生根瘤菌属,少部分为中慢生根瘤菌,与马大杂交相思(*Acacia mangium* × *Acacia auriculiformis*) 结瘤的优势菌群为中慢生根瘤菌,而与台湾相思结瘤的 40% 是根瘤菌属菌株,60% 属于农杆菌属。这说明相思根瘤菌的多样性与宿主特性和环境因子有关。来源于广东、福建的金合欢根瘤菌分布在慢生根瘤菌属、中慢生根瘤菌属,其中中慢生根瘤菌为优势种群^[18]。

国际上对相思树种根瘤菌的研究主要集中在新种的发现、鉴定以及不同品系的宿主、环境因子与根瘤菌的相互作用。Diouf 等^[19]从阿拉伯胶树(*Acacia seyal* Windl.) 中分离的根瘤菌大多属于中慢生根瘤菌属和中华根瘤菌属,分别占 64% 和 29%,无固氮能力的农杆菌属和伯克霍尔德属的菌株也存在于根瘤中。Barnet 等^[20]从澳大利亚不同地域分离出的相思根瘤菌类型与环境有很大相关性。快生的根瘤菌属菌株只从干旱地区分离出,雨林和沿海分离出的为慢生根瘤菌属,从阿尔卑斯山分离出的为超慢生根瘤菌,且对原宿主具有特异性,而其他地域分离出的相思根瘤菌具有广泛的宿主范围。Mohamed 等^[21]用数值分类的方法对 30 株分离自澳洲金合欢(*Acacia cyanophylla* Lindl.) 等相思属树种的根瘤菌进行了表型特征分析。供试菌株被分在 5 个类群,其中快生菌 1 个群,慢生菌 4 个群,二者都能与金合欢(*Acacia senegal* (L.) Willd.) 交叉结瘤。Crisóstomo 等^[22]从澳大利亚分离出的相思根瘤菌分布在慢生根瘤菌属和中慢生根瘤菌属,而从葡萄牙分离出的根瘤菌全为慢生根瘤菌。Ndlovu 等^[23]对澳大利亚本土的和入侵南非的金荆(*Acacia pycnantha* Benth.) 的根瘤菌进行分类鉴定和多样性研究,发现金荆至少与 6 种根瘤菌属和慢生根瘤菌属的菌株结瘤,且能与对生长有促进作用的伯克霍尔德菌属 3 个种的菌株共生。通过对 *nodA* 基因的系统发育分析,证明金荆-根瘤菌是联合入侵到南非的。Samir 等^[24]从突尼斯的旋扭相思(*Acacia tortilis* (Forsk.) Hyne.) 中分离出 31 株根瘤菌,用 RFLP、IGS、16S rDNA 序列分析方法分为 20 个群,分布在中华根瘤菌属、中慢生根瘤菌属、根瘤菌属,其中中华根瘤菌属为优势菌种。

这与 Fterich 等^[25-26] 研究结果相符合。突尼斯地区与旋扭相思根结瘤的根瘤菌优势菌群为中华根瘤菌属/剑菌属。Hoque 等^[27]从澳大利亚东南部 60 个采样点分离出的与柳相思树(*Acacia salicina* Lindl.) 和线叶金合欢(*Acacia stenophylla* Cunn. ex Benth.) 结瘤的根瘤菌菌株具有丰富的遗传多样性,分布在根瘤菌属、剑菌属、中慢生根瘤菌属、伯克霍尔德菌属、叶杆菌属和戴沃斯菌属。Susana 等^[28]研究发现,澳大利亚沿海和沙丘地区长叶相思(*Acacia longifolia* Willd.) 在引入前期,共生的根瘤菌全部属于慢生根瘤菌属,而多年生树种根瘤菌则有较丰富的多样性,说明慢生根瘤菌是与植物一起引入的。Ngom 等^[29]从菲律宾和泰国的马占相思中分离鉴定出 1 株苍白杆菌属菌株,能与马占相思、微白金合欢(*Acacia albida* Del.) 和南洋楹(*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) 结瘤。这是第 1 次报道苍白杆菌属的菌株能与相思属树种结瘤。

相思根瘤菌在种的水平上也具有丰富的遗传多样性。Khbaya 等^[30]从摩洛哥的拉登金合欢(*Acacia raddiana* Savi)、澳洲金合欢等 4 种相思树分离的根瘤菌分布在中华根瘤属和根瘤菌属,相近菌株为苜蓿中华根瘤菌(*Sinorhizobium meliloti*)、费氏中华根瘤菌(*S. fredii*) 和根瘤土壤杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)。Bevan 等^[31]分离自长叶相思的根瘤菌在 16S rDNA 序列分析与辽宁慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium liaoningense*) 和圆明慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium yuanmingense*) 聚群。Clapp 等^[32]用 PRS 技术将 26 株分离自马占相思的根瘤菌聚类,种内多样性较低,46% 与埃氏慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium elkanii*) 聚群,50% 与日本慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium japonicum*) 聚群,4% 与百脉根中慢生根瘤菌(*Mesorhizobium loti*) 聚群。Marsudi^[33]从澳大利亚西南部地区 9 个不同采样点分离出的 133 株金环相思根瘤菌中,39 株为快生根瘤菌,94 株为慢生根瘤菌。快生菌分为 2 个类群豌豆根瘤菌(*Rhizobium leguminosarum*)、热带根瘤菌(*Rhizobium tropici*)、慢生菌与日本慢生根瘤菌聚群。Crisóstomo 等^[22]采用 BOX-PCR 的方法初步区分从澳大利亚和葡萄牙的金环相思中分离出的根瘤菌。优势菌株、辽宁慢生根瘤菌和加拉利群岛慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium canariense*) 亲缘关系较近,并且第 1 次报道从金环相思中分离出三叶草叶杆菌(*Phyllobacterium trifolii*) 菌株。目前为止,在相思属树种中共分离到 4 个根瘤菌新种,主要为中华根瘤菌属/剑菌属菌株,见表 1。

表 1 与相思属树种结瘤的根瘤菌新种

根瘤菌	学名	宿主
柯蒂斯中华根瘤菌	<i>Sinorhizobium kostiense</i> HAMB1 18491 ^[34]	<i>Acacia senegal</i>
多宿主中华根瘤菌	<i>Sinorhizobium teranga</i> LMG 7834T ^[35]	<i>Acacia laeta</i>
美洲中华根瘤菌	<i>Sinorhizobium americanus</i> CFNEI 156 ^[36]	<i>Acacia acatensis</i>
墨西哥中华根瘤菌	<i>Sinorhizobium mexicanus</i> ITTG R7T ^[37]	<i>Acacia angustissima</i>
多源中慢生根瘤菌	<i>Mesorhizobium plurifarium</i> LMG 11892 ^[38]	<i>Acacia senegal</i>

3 苗木接种效应研究

根瘤菌与豆科植物的共生关系对促进植物生长、改良土壤肥力、水土保持和植被恢复都具有重要的作用。相思属树种作为我国华南地区主要引种植物,它与根瘤菌的共生促进效果倍受关注。根据苗木接种效应筛选高效菌株也成为研究的重点。

多年研究结果表明,绝大多数相思树种的共生根瘤菌能够促进其他种相思树种的生长,但苗木生长效应因树种、种源的不同而差异较大。蒋艳明等^[39]发现,接种马占相思根瘤菌能够促进马占相思、大叶相思及厚荚相思树种的株重、株高和生物量的增长。康丽华等^[40]将分离自黑木相思、灰木相思、银荆和黑荆的根瘤菌接种到黑木相思苗木,不同树种/种源的促生效果差异很大,就此筛选出一株能显著提高苗木生长量的菌株。孙成毅等^[41]将不同根瘤菌接种到厚荚相思组培苗,根据苗木各项指标的测定结果筛选出2株优良菌株。Galiana等^[42]将8种慢生根瘤菌属和2株根瘤菌属菌株接种到马占相思和大叶相思,发现只有慢生根瘤菌属菌株能有效结瘤,且马占相思为特异性宿主,大叶相思为广宿主植物,接种根瘤菌的大叶相思固氮效果比马占相思更好。

不同的处理方式对苗木接种效应也不同。侯远瑞等^[43-44]发现,根瘤菌浸根处理及拌种都能明显提高相思苗木根系结瘤,苗木生长差异因育苗基质不同而表现不同。出小平等^[45]将采集自黑木相思、台湾相思和灰木相思的根瘤菌与磷细菌、钾细菌等混合接种到黑木相思,分析复合菌肥的接种效应。结果表明,根瘤菌+磷细菌+菌根真菌组合对黑木相思幼苗生长促进作用最明显。Sarr等^[46]研究了不同处理对阿拉伯胶树和阿拉伯金合欢结瘤和生长的影响,在温室条件下接种含有根瘤菌的藻酸盐微球溶液对生长的促进效果最好。

4 小结

目前,对相思树种根瘤菌的研究越来越系统化,不仅限于其中一方面的特性。这有助于更全面地了解根瘤菌与相思的共生关系及与环境因子的关系,指导生产与应用。吕成群等^[47-51]对7种相思树木(厚荚相思、黑木相思、卷荚相思、马占相思、台湾相思、大叶相思、马大杂交相思)的根瘤菌进行了较系统、全面的研究,主要包括根瘤菌的生理生化特性、生长适应性、侵染结瘤特性、接种根瘤菌对苗木生长的影响、固氮酶活性及造林试验,也对部分菌株的16S rDNA和nif基因进行了扩增。康丽华对我国广东、福建、江西等地的黑木相思根瘤菌的遗传多样性进行了系统的研究,并进行了苗木接种试验,为进一步筛选高效菌株提供了依据。我国相思属树种根瘤菌资源丰富。相思根瘤菌新的种植资源的发掘、与土壤环境之间的关系、高效根瘤菌菌剂的制作等方面有待更深入的研究。

参考文献

[1] 黄维南,蔡克强,邹小鲁.大叶相思的结瘤固氮和吸氢酶活性[J].亚热带植物科学,1990(1):1-6.

[2] 蔡克强,邹小鲁,黄维南.台湾相思结瘤固氮与吸氢酶活性研究[J].亚热带植物科学,1993,22(1):1-6.

[3] 丁明懋,蚁伟民,廖兰玉,等.生态条件对马占相思结瘤固氮的影响[J].热带亚热带植物学报,1994,2(2):15-21.

[4] 吕成群,陆俊钡,黄宝灵,等.喀斯特生境台湾相思根瘤菌的生物学特性研究[J].微生物学通报,2008,35(2):215-219.

[5] 曾小红,伍建榕,马煊成,等.金沙江河谷地区豆科树种根瘤菌耐干热研究[J].水土保持研究,2008,13(4):75-77.

[6] 康丽华,李素翠.相思根瘤菌耐酸性研究及耐酸菌株的筛选[J].林业科学研究,1998,11(6):581-585.

[7] 马海宾,康丽华,江业根,等.接种根瘤菌对厚荚相思水分胁迫的响应[J].中南林业科技大学学报,2009,29(4):74-78.

[8] 杨群,吕成群,黄宝灵,等.厚荚相思树种根瘤菌的抗逆性研究[J].中南林业科技大学学报,2010,30(3):123-128.

[9] 焦如珍,彭玉红.海南岛热带木本豆科植物根瘤菌的溶磷作用[J].林业科学,2010,46(10):1-6.

[10] ZHANG Z, WONG M, NIE X, et al. Effects of zinc (zinc sulfate) on Rhizobia-earleaf acacia (*Acacia auriculaeformis*) symbiotic association[J]. Bioresource Technology, 1998, 64(2):97-104.

[11] 张希涛,康丽华,马海宾,等.具有解磷能力的相思根瘤菌的筛选[J].林业科学研究,2008,21(5):619-624.

[12] THRALL P H, BROADHURST L M, HOQUE M S, et al. Diversity and salt tolerance of native *Acacia rhizobia* isolated from saline and non-saline soils[J]. Austral Ecology, 2009, 34(8):950-963.

[13] 王作明,蚁伟民,余作岳.豆科树种回接根瘤菌的研究[J].植物生态学报,1996,20(4):363-370.

[14] 周丽霞,蚁伟民,丁明懋,等.广东省豆科植物结瘤固氮及根瘤菌资源的初步研究[J].生物多样性,2003,11(4):309-321.

[15] 陈强,陈文新,张小平,等.四川省部分豆科植物根瘤菌的遗传多样性[J].应用与环境生物学报,2008,14(1):83-89.

[16] 余永昌.卷荚相思树种根瘤菌的初步研究[D].南宁:广西大学,2006:15-19.

[17] LV C, HUANG B. Relationships between the Diversity of *Acacia Rhizobia* and the Tree Growth Characteristics and the Environmental Conditions [C]//ICBEB 12 Proceedings of the 2012 International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology. Washington, DC, USA: IEEE Computer Society, 2012:1638-1641.

[18] 王凤芹.金合欢和银合欢根瘤菌多相分类与系统发育研究[D].北京:中国农业大学,2005:20-28.

[19] DIOUF D, SAMBA-MBAYE R, LESUEUR D, et al. Genetic diversity of *Acacia seyal* Del. rhizobial populations indigenous to Senegalese soils in relation to salinity and pH of the sampling sites[J]. Microbial Ecology, 2007, 54(3):553-566.

[20] BARNET Y, CATT P. Distribution and characteristics of root-nodule bacteria isolated from Australian *Acacia* spp[J]. Plant and Soil, 1991, 135(1):109-120.

[21] MOHAMED S, SMOUNI A, NEYRA M, et al. Phenotypic characteristics of root-nodulating bacteria isolated from *Acacia* spp. grown in Libya[J]. Plant and Soil, 2000, 224(2):171-183.

[22] CRISÓSTOMO J A, RODRÍGUEZ-ECHEVERRÍA S, FREITAS H. Co-introduction of exotic rhizobia to the rhizosphere of the invasive legume *Acacia saligna*, an intercontinental study[J]. Applied Soil Ecology, 2013, 64:118-126.

[23] NDLOVU J, RICHARDSON D M, WILSON J R, et al. Co-invasion of South African ecosystems by an Australian legume and its rhizobial symbionts[J]. Journal of Biogeography, 2013, 40(7):1240-1251.

[24] ROMDHANE S, NASR H, SAMBA-MBAYE R, et al. Diversity of *Acacia tortilis* rhizobia revealed by PCR/RFLP on crushed root nodules in Tunisia[J]. Annals of Microbiology, 2005, 55(4):249-258.

[25] FTERICH A, MAHDHI M, LAFUENTE A, et al. Taxonomic and symbiotic diversity of bacteria isolated from nodules of *Acacia tortilis* subsp. *raddiana* in arid soils of Tunisia[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2012, 58(6):738-751.

[26] ROMDHANE S B, NASR H, SAMBA-MBAYE R, et al. Genetic diversity of *Acacia tortilis* ssp. *raddiana* rhizobia in Tunisia assessed by 16S and 16S-23S rDNA genes analysis[J]. Journal of Applied Microbiology, 2006, 100(3):436-445.

[27] HOQUE M S, BROADHURST L M, THRALL P H. Genetic characterization of root-nodule bacteria associated with *Acacia salicina* and *A. stenophylla* (Mimosaceae) across south-eastern Australia[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2011, 61(2):299-309.

[28] RODRÍGUEZ-ECHEVERRÍA S, CRISÓSTOMO J A, FREITAS H. Genetic

- diversity of rhizobia associated with *Acacia longifolia* in two stages of invasion of coastal sand dunes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(15): 5066–5070.
- [29] NGOM A, NAKAGAWA Y, SAWADA H, et al. A novel symbiotic nitrogen-fixing member of the *Ochrobactrum* clade isolated from root nodules of *Acacia mangium*[J]. The Journal of general and applied microbiology, 2004, 50(1): 17–27.
 - [30] KHBAYA B, NEYRA M, NORMAND P, et al. Genetic diversity and phylogeny of rhizobia that nodulate *Acacia* spp. in morocco assessed by analysis of rRNA genes[J]. Applied and environmental microbiology, 1988, 64(12): 4912–4917.
 - [31] WEIR B S, TURNER S J, SILVESTER W B, et al. Unexpectedly diverse *Mesorhizobium* strains and *Rhizobium leguminosarum* nodulate native legume genera of New Zealand, while introduced legume weeds are nodulated by *Bradyrhizobium* species[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(10): 5980–5987.
 - [32] CLAPP J P, MANSUR I, DODD J C, et al. Ribotyping of rhizobia nodulating *Acacia mangium* and *Paraserianthes falcata* from different geographical areas in Indonesia using PCR-RFLP-SSCP (PRS) and sequencing[J]. Environmental Microbiology, 2001, 3(4): 273–280.
 - [33] MARSUDI N D, GLENN A R, DILWORTH M J. Identification and characterization of fast-and slow-growing root nodule bacteria from South-Western Australian soils able to nodulate *Acacia saligna*[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(9): 1229–1238.
 - [34] NICK G, DE LAJUDIE P, EARDLY B D, et al. *Sinorhizobium arboris* sp. nov. and *Sinorhizobium kostense* sp. nov., isolated from leguminous trees in Sudan and Kenya[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1999, 49(4): 1359–1368.
 - [35] LAJUDIE P D, WILLEMS A, POT B, et al. Polyphasic taxonomy of rhizobia: emendation of the genus *Sinorhizobium* and description of *Sinorhizobium meliloti* comb. nov., *Sinorhizobium teranga* sp. nov. [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1994, 44(4): 715–733.
 - [36] TOLEDO I, LLORET L, MARTÍNEZ-ROMERO E. *Sinorhizobium americanus* sp. nov., a New *Sinorhizobium* Species Nodulating Native *Acacia* spp. in Mexico[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2003, 26(1): 54–64.
 - [37] LLORET L, ORMEÑO-ORRILLO E, RINCÓN R, et al. *Ensifer mexicanus* sp. nov. a new species nodulating *Acacia angustissima* (Mill.) Kuntze in Mexico[J]. Systematic and Applied Microbiology, 2007, 30(4): 280–290.
 - [38] HUANG B, LV C, ZHAO Y, et al. A Novel Strain D5 Isolated from *Acacia confusa*[J]. Plos One, 2012, 7(11): e49236.
 - [39] 蒋艳明, 凌云, 秦建丽, 等. 马占相思根瘤菌结瘤固氮特性的分析[J]. 广西农业生物科学, 2005, 24(3): 215–219.
 - [40] 康丽华. 相思苗木接种根瘤菌的研究[J]. 林业科学研究, 1998, 11(4): 343–349.
 - [41] 孙成毅, 吕成群, 方丽英, 等. 根瘤菌对厚荚相思组培苗的效应[J]. 林业科学研究, 2008, 21(1): 79–83.
 - [42] GALIANA A, CHAUMONT J, DIEM H, et al. Nitrogen-fixing potential of *Acacia mangium* and *Acacia auriculiformis* seedlings inoculated with *Bradyrhizobium* and *Rhizobium* spp[J]. Biology and fertility of Soils, 1990, 9(3): 261–267.
 - [43] 侯远瑞, 邓艳, 林莹, 等. 根瘤菌浸根处理对相思苗木接种的效应初报[J]. 广西林业科学, 2004, 33(2): 88–89.
 - [44] 侯远瑞, 邓艳. 根瘤菌拌种培育马占相思苗木试验[J]. 广西林业科学, 2002, 31(4): 204–205.
 - [45] 出小平. 不同菌种组合接种对黑木相思幼苗的生长生理效应[D]. 福州: 福建农林大学, 2008: 52–55.
 - [46] SARR A, DIOP B, PELTIER R, et al. Effect of rhizobial inoculation methods and host plant provenances on nodulation and growth of *Acacia senegal* and *Acacia nilotica*[J]. New Forests, 2005, 29(1): 75–87.
 - [47] DE LAJUDIE P, WILLEMS A, NICK G, et al. Characterization of tropical tree rhizobia and description of *Mesorhizobium plurifarum* sp. nov. [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1998, 48(2): 369–382.
 - [48] 吕成群. 相思树种根瘤菌的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2004: 7–9.
 - [49] 吕成群, 黄宝灵, 韦原莲, 等. 不同相思根瘤菌株接种厚荚相思幼苗效应的比较[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2003, 27(4): 15–18.
 - [50] 吕成群, 黄宝灵, 韦原莲, 等. 相思树种根瘤菌的生物学特性[J]. 微生物学通报, 2003, 30(4): 1–5.
 - [51] 李莉, 吕成群, 伍荣善, 等. 杂交相思根瘤菌的抗逆特性[J]. 林业科技开发, 2010(1): 32–35.

(上接第 7510 页)

之一。研究表明, 烤烟总糖含量在 18%~25%, 水溶性糖含量在 15% 左右, 烟叶烟碱含量在 1.5%~3.5%, 总氮与烟碱比一般以 0.8~0.9 为好, 总糖与烟碱比一般 6~10 为宜, 对烟叶质量最为适宜。烤烟是喜钾作物, 钾元素含量高, 烟叶燃烧性增强, 安全性随之提高, 所以以环形施肥处理的安全性为高, 但下部叶氯离子含量稍大, 具体原因可能与田间气候、局部土壤环境有关。感官评吸结果综合而言, 环形施肥处理能产生让人舒适的烟气, 满足卷烟工艺生产的要求。

综上所述, 南涧县绿色烟叶生产施肥方式中, 环形施肥方式能得到较好的原烟和较大的经济效益, 而且在实际生产中易进行推广实施, 较适合当地绿色烟叶生产发展的要求。优质烟叶的生产还受到其他诸多因素的影响如土壤、大气、降雨量、烘烤条件等, 所以在实际生产过程中, 还应综合考虑这些因素, 同时配合适合的施肥方式, 才能为我国烟叶绿色可持续发展带来更好的前景, 促进烟草行业的蓬勃发展。

参考文献

- [1] 胡国松, 郑伟, 王震东, 等. 烤烟营养原理[M]. 北京: 科技出版社, 2000: 1–5.
- [2] 刘添毅, 曾文龙, 谢风标, 等. 烤烟“101”施肥技术效应[J]. 福建农业大学学报, 1990, 27(2): 216.

- [3] 赵兴, 刘卫群, 张维理, 等. 中国烟草平衡施肥技术研究现状与展望[J]. 中国烟草学报, 2003(8): 30–35.
- [4] 石俊雄. 基肥追肥比例和施肥方法对烤烟产质量的影响[J]. 贵州农业科学, 2002, 30(S1): 19–22.
- [5] 邱志丹, 郭金平, 罗发键. 龙岩烟区不同施肥方式对烟叶产质量的影响[J]. 中国烟草科学, 2004(3): 46–48.
- [6] 李良勇, 余卓越, 邹喜明. 不同施肥方式对烤烟生长发育及烟叶产质量的影响[J]. 湖南农业科学, 2006(4): 53–55.
- [7] 胡国松, 郑伟, 王震东, 等. 烤烟营养原理[M]. 北京: 科学出版社, 2000: 30–35.
- [8] 林桂华, 杨述元, 上官克攀, 等. 龙岩不同施肥技术对烟叶产量和质量的影响[J]. 中国烟草科学, 2002(3): 33–36.
- [9] 何彬. 巧妙掌握施肥技术, 提升烟农对上部烟叶的利用价值[J]. 新农村, 2010(4): 39.
- [10] 王树会, 邵岩, 李天福, 等. 云南 12 个地州植烟土壤养分状况与施肥对策[J]. 土壤通报, 2006, 37(4): 684–687.
- [11] 李明德, 肖汉乾, 余崇祥, 等. 湖南烟区土壤 K、Mg 营养及其施肥效应[J]. 土壤通报, 2004, 35(3): 323–326.
- [12] 吴亮亮, 靳志丽, 王艳珍. 新型叶面肥对烤烟上部叶开片和烟叶产质量的影响[J]. 作物研究, 2010, 24(1): 27–29.
- [13] 袁美莲, 祝金虹, 郑立华. 不同施肥处理对烤烟产量与品质效果影响试验[J]. 现代农业科技, 2009(8): 117–119.
- [14] 李琰琰, 韩延, 齐飞, 等. 不同有机无机肥对烤烟生长发育及产质量的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(34): 16575–16577, 16584.
- [15] 韩晓飞, 王子芳, 习向银, 等. 施肥方法对烤烟生长及养分吸收、分配的影响[J]. 华北农学报, 2011(S1): 209–213.
- [16] 周文亮, 赖洪敏, 全建华, 等. 施用复合有机肥对烤烟生长和烟叶品质的影响[J]. 西南农业学报, 2013(2): 647–652.