

刘瑞瑞,危 期,刘梦函,等. 高效固氮花生根瘤菌株的筛选[J]. 江苏农业科学,2016,44(7):472-475.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.134

高效固氮花生根瘤菌株的筛选

刘瑞瑞,危 期,刘梦函,刘朋飞,刘晓云

(河北大学生命科学学院/河北省微生物多样性研究与应用重点实验室,河北保定 071002)

摘要:以采自河北省保定市涞水县的花生根瘤为原材料,进行花生根瘤的采集、菌株分离纯化和回接试验,通过研究接种不同根瘤菌菌株对天府 3 号花生生长的影响,成功筛选出可与该种花生高效固氮的优良菌株。研究结果表明:接种 Hbu074005 菌株效果最佳,花生植株干质量较对照组提高 52.29%,其结瘤数、果穗数、植株株高等指标也明显优于对照组及其他处理,分别较对照提高 235.56%、112.00%、31.31%;菌株 Hbu074012、Hbu074004 的表现仅次于 Hbu074005,干质量分别较对照提高 43.13%、35.88%。由结果可以看出,菌株 Hbu074005 可显著提高天府 3 号花生的生产性状,是较为优良的花生高效共生固氮菌株。研究结果为高效固氮根瘤菌在花生农业生产中的应用奠定理论基础,具有一定的现实生产意义。

关键词:花生;根瘤菌;高效固氮;盆栽试验

中图分类号: S182;S154.39 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)07-0472-04

花生(*Arachis hypogaea*)别称落花生、番豆、地豆、长生果,属豆科落花生属,为 1 年生草本植物,是中国主要的油粮两用作物。2012 年,中国花生播种面积为 470 万 hm^2 ,产量居油料作物首位,占世界花生产量的 40.8%^[1]。花生富含蛋白质、脂肪等多种营养成分,且供给相对均衡,是目前较为理想的种植作物,具有良好的经济价值和药用价值^[2]。花生果仁通常用作食用油提取的原材料,花生油脂在纺织、印染工业上可用作乳化剂、润滑剂,为工业生产提供便利^[3]。相关研究证实,花生根茎中含有丰富的白藜芦醇^[4-5]。白藜芦醇是一种良好的植物抗菌素,具有抗氧化、抗肿瘤、保护心血管的作用,被喻

为继紫杉醇之后又一新的绿色抗癌药物^[6-7]。目前,白藜芦醇的产量远不能满足医药市场的需求,开发花生根茎白藜芦醇生产产业具有重大的医药用价值和深远的社会意义。我国花生多种植在辽东半岛、山东半岛、东南沿海地区以及黄河、长江流域的部分地区。与其他常规作物相比,花生具有强抗逆、耐瘠薄、适应性强、生产效益高的特点。在能源短缺和环境危机日益严峻的社会背景下,花生壳、花生枝条等自然状态下的生物质可以通过生物转换和热化学交换制备焦油、焦炭、液态燃料等,即可用作能源,又可作为化工原料。相关研究报道,1 t 花生油下脚料可以转化为近 1 t 的生物柴油,这种利用花生油下脚料转化的生物柴油与传统柴油相比不含对人体有害的硫和苯,燃烧后污染物排放量减少 50%,是一种绿色、清洁、可再生的能源^[8]。因此,花生作为一种生物质新能源必将得到更快更好的发展^[9]。近年来,许多国家在扩大豆科植物的生产面积,但在实际生产中过分依赖化学合成肥料,使得土壤中氮磷单一养分过高,造成土壤板结,土壤养分失调^[10]。并且化肥施用会导致土壤和水污染等一系列环境问题的产生。在化肥零增加的政策下,如何提高作物产量并保良土壤

收稿日期:2016-03-01

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201103005-7);河北省生物学强势特色学科建设项目;河北省生物工程重点学科建设项目(编号:1050-5030023)。

作者简介:刘瑞瑞(1990—),女,山东滨州人,硕士研究生,主要从事根瘤菌资源与多样性研究。E-mail:liuruirui@126.com。

通信作者:刘晓云,教授,主要从事微生物分子系统学与资源应用研究。Tel:(0312)5079696;E-mail:liuxiaoyun@126.com。

[2] Imperato M, Adamo P, Naimo D, et al. Spatial distribution of heavy metals in urban soils of Naples City (Italy) [J]. Environmental Pollution, 2003, 124(2): 247-256.

[3] Wei B G, Yang L S. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China [J]. Microchemical Journal, 2010, 94(2): 99-107.

[4] Cui S, Zhang T A, Zhao S L, et al. Evaluation of three ornamental plants for phytoremediation of Pb-contaminated soil [J]. International Journal of Phytoremediation, 2013, 15(4): 299-306.

[5] Sun Y, Zhou Q, Xu Y, et al. Phytoremediation for Co-contaminated soils of benzo [J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 186(2): 2075-2082.

[6] Fawzy M A, Badr N E, El-Khatib A, et al. Heavy metal biomonitoring and phytoremediation potentialities of aquatic macrophytes in

River Nile [J]. Environmental Monitoring and Assessment, 2012, 184(3): 1753-1771.

[7] Cao Z W, Wang S X, Wang T, et al. Using contaminated plants involved in phytoremediation for anaerobic digestion [J]. International Journal of Phytoremediation, 2015, 17(1/2/3/4/5/6): 201-207.

[8] 王彦予. 昆明市园林植物配置与造景特色研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2013.

[9] 郭胜男, 林 萍, 吴 荣, 等. 昆明市园林植物树冠截留降雨及其影响因素研究 [J]. 广东农业科学, 2014, 41(23): 47-51.

[10] 韦朝阳, 陈同斌. 重金属超富集植物及植物修复技术研究进展 [J]. 生态学报, 2001, 21(7): 1196-1203.

[11] 金文芬, 方 晰, 唐志娟. 3 种园林植物对土壤重金属的吸收富集特征 [J]. 中南林业科技大学学报, 2009, 29(3): 21-25.

是我们面临的一个重要课题。

根瘤菌与豆科植物共生是生物固氮作用最强的体系,所固定的氮约占生物固氮总量的 65%^[11-12]。然而豆科植物与根瘤菌共生具有较强的专一性,新种植的土壤中有效根瘤菌的数量往往很少,固氮效率低,必须接种高效固氮根瘤菌才会显示固氮生长优势^[13],因此,人工接种优良菌株可以充分发挥固氮作用,提高作物产量^[14-15]。豆科植物与根瘤菌共生固氮优良组合筛选一直是生物固氮研究领域中的热点^[16-18]。有关花生根瘤菌的研究表明,不同自然环境中的花生根瘤菌遗传多样性差异明显^[19-20],花生根瘤菌菌种的多样性,为花生的增产提供了理想丰度的菌种资源库。我国目前对于豆科植物根瘤菌应用的研究很多^[21-23],对花生根瘤菌的研究也已卓见成效。周平贞等对我国各省接种花生根瘤菌的增产作用进行了分析总结,其平均增产率可达 13.4%,其中接种冻干菌剂与草炭菌剂分别可增产 38.0%、45.4%^[24]。近年来,吴海燕等已经筛选出了适合吉林省、四川省花生品种的优良菌株^[25-26]。目前,河北省优良花生根瘤菌选育的研究报道较少,刘杰等分析表明,河北地区花生根瘤菌具有更大的多样性^[27]。本研究以采自河北省保定市涞水县花生根瘤为试验材料,通过分离纯化得到根瘤菌纯培养物,进行回接试验,筛选并保存生产性状优良的根瘤菌菌株,为实现花生增产、减少土壤污染、培肥地力、改善生态环境奠定了理论基础,并具有一定的生产价值和社会意义。

1 材料与方法

1.1 样品采集及分离

以河北省保定市涞水县娄村满族乡为采集地点,进行天府 3 号花生根瘤的采集。

选取饱满根瘤若干,无菌水冲洗干净后用 95% 乙醇浸泡处理 5 min,5% NaClO 浸泡处理 1 min,然后用无菌水冲洗 5~6 次,以充分洗去残留的消毒液;将消毒后的根瘤置于无菌培养皿中,用无菌竹签压破根瘤,使根瘤内容物流出,用接种环蘸取根瘤汁液在 YMA 固体平板上划线,置于 28℃ 恒温箱中培养 5~7 d,直至长出单菌落。从平板上挑选圆形、光滑有光泽、边缘整齐、稍有突起的具有典型根瘤菌菌落形态特征的单菌落,革兰氏染色镜检。选取革兰氏染色阴性、细胞形态杆状的培养物进行纯化。纯化后接种于 YMA 斜面,4℃ 存放备用,并转接于含 20% 甘油的 YMA 液体培养基中,-80℃ 保存。

1.2 高效菌株的土壤筛选

1.2.1 土壤 采用沧州黄骅盐碱土,并添加 10% 沙作为土壤基质。将土壤压碎去杂,按照盐碱土:沙=9:1 的比例充分混匀,称取 1.0 kg 置于种植花盆中,种植前适量浇水,保持土壤湿润。

1.2.2 种子催芽 选用天府 3 号花生品种,取光滑饱满、粒大的花生种子。将种子依次用 95% 乙醇浸泡处理 5 min,5% NaClO 浸泡处理 1 min,然后用无菌水冲洗 5~7 次进行消毒。将消毒后的种子均匀置于垫有湿润滤纸的 150 mm 直径培养皿中,26~30℃ 黑暗避光生长。

1.2.3 接种与培养 待芽长至 1 cm 左右,挑选长势好的发芽花生,每 5 个 1 组放入灭菌培养皿中,加入 2 mL 菌液,侵染

30 min 后植入花盆进行土壤筛选试验,用塑料薄膜封闭盆口(待幼苗长出时将薄膜划开)。每个处理设 5 个重复,以不接菌为空白对照。将接种后的花生转入 28℃、光照时间 12 h 的温室,随机排列放置,根据花盆失水状况定期浇水。

1.2.4 作物生长指标的采集 培养至 40 d 可观察到植物开花,培养至 85 d 时开始观测结果,观测项目包括植株株高、结瘤数、果穗数及地上部分干质量(以第 1 张叶叶痕处为划分标准,植物样品先在烘箱中于 105℃ 杀青 2 h,然后于 65℃ 烘干至恒质量)。筛选出性能优良的菌株继续回接 2~3 次,得到重复性好的稳定菌株。

1.3 培养基及试剂

YMA 固体培养基:KH₂PO₄ 0.25 g,K₂HPO₄ 0.25 g,NaCl 0.1 g,甘露醇 10 g,酵母粉 0.8 g,琼脂 14 g,MgSO₄·7H₂O 0.2 g,蒸馏水 1 L,pH 值 6.5~7.0。试剂:革兰氏染液、无菌水,95% 乙醇,5% NaClO。

1.4 数据处理与统计分析

数据通过 SPSS 13.0 进行单因素方差分析,在满足方差分析的情况下,利用 Tukey 检验进行多重比较,确定各因子水平内部不同水平平均值之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 根瘤菌的分离与培养

通过对根瘤样品的分离、纯化,共得到花生根瘤菌菌株 19 株,从表 1 可以看出,接种根瘤菌菌株对花生植株株高、干质量、结瘤数、果穗数均有显著影响,这可能是花生接种根瘤菌后,与其匹配的菌株提高了花生的氮素营养水平,从而为花生后期的生长发育和产量提高打下基础。

表 1 根瘤菌菌株对花生植株生长性状影响的方差分析结果

变量	菌株	
	F 值	P 值
植株株高	2.925	<0.05
干质量	1.936	<0.05
根瘤数	7.108	<0.05
果穗数	1.858	<0.05

2.2 根瘤菌对花生生长及产量的影响

花生接种根瘤菌 85 d 后收获,测定植株株高、干质量、结瘤数、果穗数等。通过对接种不同根瘤菌菌株的作物进行单因素方差分析,通过均值分析,获得花生植株干质量、结瘤数、株高等生长性状(表 2)。

从表 2 可以看出,接种不同的根瘤菌均能增加花生植株株高及干质量,说明施用根瘤菌肥能明显促进花生的营养生长^[28],增加其生物量及干物质积累量。不同的菌株对花生的促进作用存在差别,说明根瘤菌与植物之间共生固氮存在一定的匹配性。所有供试菌株中,对干质量影响较大的菌株依次顺序为 Hbu074005、Hbu074012、Hbu074004,分别比对照高 52.29%、43.13%、35.88%,且这 3 株菌株均与对照组差异显著。接种不同根瘤菌对花生植株株高也表现出促进作用,与对照相比,试验组花生株高均有不同程度的增加。影响较大的菌株依次为 Hbu074017、Hbu074005、Hbu074014,分别较对照提高 31.65%、31.31%、29.59%,其中菌株 Hbu074005、Hbu074017 与其他多数菌株差异显著。对结瘤数影响较大的

表 2 不同菌株接种天府 3 号对其生长及产量性状的影响

编号	植株干质量 (g)	根瘤数 (个)	植株株高 (cm)	果穗数 (个)
Hbu074001	2.97 ± 0.17bcd	32.4 ± 4.84bcd	32.22 ± 2.53abc	9.4 ± 1.21abcd
Hbu074002	2.99 ± 0.33bcd	25.0 ± 1.79cde	29.82 ± 1.33abcd	8.8 ± 0.66abcd
Hbu074003	2.74 ± 0.17cd	24.6 ± 1.78cde	26.28 ± 0.68d	5.2 ± 0.49d
Hbu074004	3.56 ± 0.22abc	25.0 ± 3.30cde	32.66 ± 1.73abc	12.0 ± 2.02a
Hbu074005	3.99 ± 0.13a	60.4 ± 7.46a	34.35 ± 2.54a	10.6 ± 1.21abc
Hbu074006	2.95 ± 0.27bcd	34.6 ± 5.13bc	29.76 ± 1.79abcd	9.0 ± 1.95abcd
Hbu074007	3.14 ± 0.08abcd	33.6 ± 6.38bc	28.00 ± 1.41cd	5.8 ± 1.66cd
Hbu074008	2.82 ± 0.28cd	20.6 ± 2.40cde	28.30 ± 1.62cd	6.4 ± 1.03bcd
Hbu074009	2.73 ± 0.31cd	12.8 ± 2.27e	27.02 ± 1.60d	7.8 ± 1.96abcd
Hbu074010	3.14 ± 0.43abcd	19.0 ± 3.02de	31.12 ± 1.30abcd	7.8 ± 1.53abcd
Hbu074011	2.63 ± 0.22d	33.8 ± 5.34bc	28.82 ± 1.99cd	7.4 ± 1.54abcd
Hbu074012	3.75 ± 0.18ab	44.4 ± 3.80b	29.94 ± 0.69abcd	9.2 ± 3.17abcd
Hbu074013	3.18 ± 0.17abcd	24.0 ± 2.24cde	28.06 ± 1.22cd	8.4 ± 1.36abcd
Hbu074014	3.52 ± 0.47abcd	33.0 ± 4.01bc	33.90 ± 1.25ab	6.4 ± 0.81bcd
Hbu074015	2.72 ± 0.29cd	22.6 ± 2.16cde	29.84 ± 1.37abcd	5.6 ± 1.36cd
Hbu074016	3.03 ± 0.26bcd	32.0 ± 3.69bcd	29.40 ± 0.53bcd	11.4 ± 1.63ab
Hbu074017	3.06 ± 0.18bcd	43.6 ± 7.13b	34.44 ± 1.45a	5.6 ± 1.63cd
Hbu074018	3.01 ± 0.35bcd	16.6 ± 3.88e	28.74 ± 0.82cd	6.8 ± 1.77abcd
Hbu074019	2.95 ± 0.32bcd	33.6 ± 3.83bc	28.54 ± 1.17cd	5.4 ± 0.87cd
CK	2.62 ± 0.15d	18.0 ± 2.76e	26.16 ± 1.43d	5.0 ± 0.71d

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

菌株依次为 Hbu074005、Hbu074012、Hbu074017,分别较对照组提高 235.56%、146.67%、142.22%。

接种根瘤菌的处理组果穗数均较对照有不同程度的增加。且接种不同的花生根瘤菌对花生产量性状的影响不同,相互间差异较大。接种表现较好的处理为 Hbu074004,果穗平均为 12.0 个,较对照组提高 140.0%;接种菌株 Hbu074005、Hbu074012 的花生果穗数分别较对照组提高 112.0%、84.0%。表明接种根瘤菌可以明显提高豆科作物花生的产量和品质。

对接种表现较好的处理进行植株干质量方差分析,结果见图 1。综合各项指标分析,所有处理中以菌株 Hbu074005 总体效果最好,其次为菌株 Hbu074012、Hbu074004。菌株 Hbu074017 的结瘤数、株高增加显著,但其干质量却仅比对照增加 16.79%,原因有待分析。

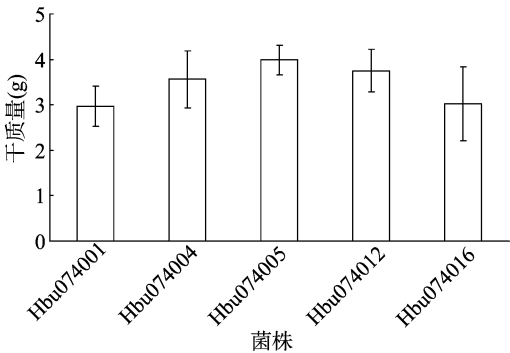


图 1 接种不同花生根瘤菌后植株干质量均值及方差分析

2.3 接种根瘤菌 Hbu074005 对花生生长状况的影响

花生接种根瘤菌 Hbu074005 后,植株茎秆粗壮,分蘖数多,生长旺盛,产量性状也有明显的提高(图 2)。对照组中,

花生植株茎秆稍细,长势较弱,果穗数也低于试验组。

3 讨论与结论

花生是我国主要的油、粮两用作物,在我国广泛种植。花生是豆科植物,豆科植物的大面积栽培需要人工接种根瘤菌。陈文新提到,在一个地区,如果从未种植过或 5 年以上没有种过某种豆科植物,土壤中很难有与该种豆科植物相匹配的土著根瘤菌^[13]。因此在少施氮肥的条件下,如果没有有效的共生根瘤菌进行结瘤固氮给植物提供营养,植物很难在该地实现高产,因此对高效固氮根瘤菌株的筛选具有重要意义。

本研究筛选了 3 株优良的根瘤菌菌株 Hbu074005、Hbu074012、Hbu074004,其干质量及其他生长指标都较为理想。具有最大结瘤数的菌株 Hbu074005 同时具有最大干质量,在其他处理中干质量与结瘤数呈正相关。说明接种合适的根瘤菌能够显著提高花生的结瘤能力,增加植株的生物量和含氮量,对花生生长发育具有明显的促进作用和增产效应,林国林等研究也证明了这一点^[29]。刘晓云等研究表明,来源相同的菌株接种后测试指标差异很大,表明土著菌经过筛选后是可以得到高效菌株的^[30];钟文文等也已利用分子标记技术从土著菌中成功筛选出与盛世苜蓿相匹配的高效苜蓿根瘤菌菌株^[31]。

研究中发现,接种菌株 Hbu074004 后,植株干质量及株高较对照明显增加,但结瘤数提升并不显著,说明仅依靠结瘤数指标不能准确判断菌株固氮能力的高低,结瘤是一个耗能的过程,结瘤数过多会给植物增加一定的负担。此外,接种菌株 Hbu074017 后花生地上部分生长旺盛,株高、分蘖数较对照有显著差异,根部结瘤数比较显著,但植物的干质量贡献较其他指标低,果穗数也较少并且发育不成熟。因此筛选高效菌株,结瘤数可作为一个参考指标。



图2 花生接种 Hbu074005 菌株生长状况比较

综合考虑各项指标,菌株 Hbu074005 对天府 3 号花生具有较高的固氮效率,可明显促进其生长发育,可作为进行天府 3 号花生种植时匹配的根瘤菌菌株。

本研究选用盐碱土作为土壤基质。河北地区盐碱耕地较多,其中绝大多数属于中、低产田,若能被充分利用,将是非常宝贵的土壤资源。在盐碱地区种植豆科作物,可通过豆科植物与根瘤菌共生作用,使植物获得生长所需的大部分氮素,同时可以增加土壤中微生物的丰富度,明显改善土壤的营养状况。本研究应用盐碱土筛选所获得的高效菌株,可用于盐碱地的花生种植栽培,具有较好的现实意义。

参考文献:

- [1] 张怡. 中国花生生产布局变动解析[J]. 中国农村经济, 2014(11): 73-82.
- [2] 张二全, 杜同年. 花生的营养价值与合理利用[J]. 中国食物与营养, 2003(3): 27-28.
- [3] 邱庆树, 李正超, 申馥玉, 等. 我国花生生产及加工[J]. 中国食物与营养, 2000(1): 25-26.
- [4] 张永辉. 新栽桑园行间套种花生新技术[J]. 蚕桑茶叶通讯, 2015(2): 15-16.
- [5] 梁志. 花生根茎中白藜芦醇的提取研究进展[J]. 轻工科技, 2014(10): 8-9.
- [6] Wood J G, Rogina B, Lavu S, et al. Sirtuin activators mimic caloric restriction and delay ageing in metazoans[J]. Nature, 2004, 430(70): 686-689.
- [7] 任秀莲, 邢峰, 解利利. 花生中白藜芦醇的研究现状及应用展望[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(5): 163-166.
- [8] 山东农业信息网. 山东省生物能源关键技术研究获重大突破[J]. 吉林农业农村经济信息, 2005(11): 16.
- [9] 刘刚, 沈镭. 中国生物质能源的定量评价及其地理分布[J]. 自然资源学报, 2007, 22(1): 9-19.
- [10] 李会志, 刘世奎, 尹协芬, 等. 花生施用根瘤菌接种剂增产作用研究[J]. 花生学报, 2003, 32(增刊 1): 434-438.
- [11] Zahran H H. Rhizobium-legume symbiosis and nitrogen fixation under severe conditions and in an arid climate[J]. Microbiology and Molecular Biology Reviews, 1999, 63(4): 968-989.
- [12] Hamdi Y A. Application of nitrogen-fixing systems in soil improvement and management[M]. Rome: FAO, 1982: 1-5.
- [13] 陈文新. 豆科植物根瘤菌固氮体系在西部大开发中的作用[J]. 草地学报, 2004, 12(1): 1-2.
- [14] 姚瑞林, 李健宝. 花生根瘤菌的应用技术及其肥效(一)[J]. 花生科技, 1989(2): 16-18.
- [15] 肖艳宏. 花生接种根瘤菌剂作用及效果[J]. 现代农业科技, 2015(7): 73, 75.
- [16] Majeed A, Abbasi M K, Hameed S, et al. Isolation and characterization of plant growth-promoting rhizobacteria from wheat rhizosphere and their effect on plant growth promotion[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6(6): 198.
- [17] Gopalakrishnan S, Srinivas V, Prakash B, et al. Plant growth-promoting traits of *Pseudomonas geniculata* isolated from chickpea nodules[J]. Biotech, 2015, 5(5): 653-661.
- [18] Bhardwaj D, Ansari M W, Sahoo R K, et al. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity[J]. Microbial Cell Factories, 2014, 13(13): 66.
- [19] 陈静瑜, 冯翊果, 吴燕玲, 等. 基于非培养和培养的方法比较花生根瘤菌遗传多样性[J]. 微生物学报, 2015, 55(6): 772-779.
- [20] 李俊, 徐玲玫, 樊蕙, 等. 用 rep-PCR 技术研究中国花生根瘤菌的多样性[J]. 微生物学报, 1999, 39(4): 296-304.
- [21] 樊蕙, 徐玲玫, 葛诚, 等. 快生型大豆根瘤菌(*R. fredii*)与不同地区栽培大豆的共生效应[J]. 中国农业科学, 1991, 24(1): 80-88.
- [22] 陈逸湘, 李忠. 紫云英根瘤菌剂的应用与生产方法[J]. 现代农业科技, 2007(24): 138.
- [23] 陈丹明, 曾昭海, 隋新华, 等. 紫花苜蓿高效共生根瘤菌的筛选[J]. 草业科学, 2002, 19(6): 27-31.
- [24] 周平贞, 胡济生. 我国花生根瘤菌技术应用与研究进展[J]. 土壤学报, 1990, 27(4): 353-360.
- [25] 吴海燕, 刘春光, 桂桂芝, 等. 花生根瘤菌高效菌株的筛选及固氮效应研究 II. 花生根瘤菌高效菌株的筛选及固氮效应田间试验[J]. 吉林农业科学, 2004, 29(4): 28-34.
- [26] 罗明云. 4 株高效共生花生根瘤菌的筛选[J]. 西华师范大学学报, 2003, 24(4): 427-430.
- [27] 刘杰, 汪玲玲, 汪恩涛, 等. 河北地区花生根瘤菌的系统发育多样性研究[J]. 中国农业科学, 2006, 39(2): 344-352.
- [28] 杨庆峰, 杜迎辉, 刘峰. 根瘤菌肥对花生主要农艺性状及产量的影响[J]. 山东农业科学, 2014, 46(5): 93-95.
- [29] 林国林, 马晓明, 迟玉成, 等. 接种根瘤菌对花生生长及其根际土壤微生物数量的影响[J]. 山东农业科学, 2010(6): 63-65.
- [30] 刘晓云, 郭振国, 李乔仙, 等. 南苜蓿高效共生根瘤菌土壤的筛选[J]. 生态学报, 2011, 31(14): 4034-4041.
- [31] 钟文文, 张小平, Lindstrom K. 高效苜蓿根瘤菌的筛选[J]. 西北农业学报, 2006, 15(3): 69-74.