

# 地木耳提取液及根瘤菌对小叶锦鸡儿幼苗生长的影响

刘晓云<sup>1</sup>, 郭振国<sup>1</sup>, 杨亚男<sup>2</sup>, 刘桂霞<sup>1</sup>, 王娜<sup>1</sup>,  
戴燕燕<sup>1</sup>, 王易鹏<sup>3</sup>, 郭小叶<sup>1</sup>, 魏爽<sup>1</sup>

(1. 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;  
2. 河北省保定市第三中学, 河北保定 071002; 3. 西南林学院保护生物学院, 云南昆明 650224)

**摘要:**小叶锦鸡儿(*Caragana microphylla*)是一种极抗寒和抗旱的豆科植物,既能防风固沙、保持水土,又可为畜牧业提供优质饲料,是干旱草原、荒漠草原植被恢复的先锋植物。本研究通过施用地木耳提取液及根瘤菌菌剂对小叶锦鸡儿幼苗的生长进行了研究。结果表明,2种微生物制剂对该植物的生长均具有显著的促进作用,田间栽培试验中,根瘤菌菌株 HBU037001 接种种子出苗率高达 91.1%;地木耳提取液 1/20 原液浓度、菌株 HBU037002 处理的小叶锦鸡儿幼苗生物量分别比对照提高 11.5% 和 17.7%;地木耳提取液 1/10 原液浓度+菌株 HBU037001 的联合处理表现最好,可提高植物生物量高达 28.2%。

**关键词:**小叶锦鸡儿;地木耳提取液;根瘤菌菌剂;共生固氮

**中图分类号:**Q945.3;Q939.11<sup>+</sup>4

**文献标识码:**A

**文章编号:**1001-0629(2011)04-0572-05

\*<sup>1</sup> 小叶锦鸡儿(*Caragana microphylla*)是豆科蝶形花亚科锦鸡儿属植物,别名小柠条、牛筋条,我国是主要分布地区,从东北的呼伦贝尔草原到西北的甘肃等地都有自然分布<sup>[1]</sup>。小叶锦鸡儿具有抗旱、耐寒、耐贫瘠的特点<sup>[2]</sup>,为固定、半固定沙地的优势种<sup>[3]</sup>;同时兼具有丰富的营养,是牲畜的良好饲料,它是集“生态效益、经济效益和社会效益”于一体的“三效合一”树种<sup>[4]</sup>。目前,小叶锦鸡儿在内蒙古科尔沁沙地<sup>[3]</sup>及内蒙古半干旱草原地区<sup>[5]</sup>、辽西地区<sup>[4]</sup>、河北宣化黄羊滩<sup>[6]</sup>等地得到应用,用于植被恢复、保育土壤、以及饲料防护林的培育工作。

地木耳(*Nostoc commune*)是一种地衣,俗称地软、地皮菜,是真菌和藻类的共生结合体,属自养植物,可进行光合作用,在我国各地均有广泛分布<sup>[7]</sup>。已有研究表明,地木耳提取液可有效提高小麦(*Triticum aestivum*)<sup>[8]</sup>、石竹(*Dianthus chinensis*)和孔雀草(*Tagetes patula*)<sup>[9]</sup>等种子的萌发及幼苗的生长;王静等<sup>[10-11]</sup>研究了地木耳对土壤含氮量的影响,并将其作为肥料分别施用于马铃薯(*Solanum tuberosum*)及番茄(*Lycopersicon esculentum*),观察其营养生长及开花情况。结果表明,施用地木耳可增加土壤中的含氮量,并证实了它可以利用自身的碳源物质进行固氮作用,向周围环境泌氮,具有明显

的增肥作用,现在国内已有地木耳的人工培育机构<sup>[12]</sup>。地木耳的这些优点可考虑应用在小叶锦鸡儿的生长调节上,国内尚无这方面的研究。由于小叶锦鸡儿是豆科植物,具有豆科植物共生固氮的特点,可以与根瘤菌形成根瘤,进行生物固氮以获取氮素营养,目前对小叶锦鸡儿根瘤菌的研究已有许多报道<sup>[13-15]</sup>。在菌剂应用方面,刘振龙和蔡安国<sup>[16]</sup>的研究表明小叶锦鸡儿接种根瘤菌后,能显著地提高植株幼苗的结瘤率,使其能更早地共生固氮,从而促进植物生长。

鉴于小叶锦鸡儿的栽培和经济价值以及根瘤菌菌剂与地木耳提取液对植物生长的调节作用,本研究将这2种微生物制剂应用在小叶锦鸡儿幼苗生长上,以研究其对该植物生长的促进作用,探讨其应用在小叶锦鸡儿种植和栽培上的可行性,为该植物应用在干旱草原和沙化土壤的植被恢复中提供生物肥料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料 试验用地木耳以及小叶锦鸡儿根

收稿日期:2010-12-01 接受日期:2011-01-05  
基金项目:河北省自然科学基金(C2010000270)  
作者简介:刘晓云(1968-),女,甘肃镇原人,副教授,博士,主要从事微生物系统学及应用研究。  
E-mail: liuxiaoyunly@126.com

瘤菌、小叶锦鸡儿种子,均由河北大学河北省微生物多样性研究与应用重点实验室提供。

**1.1.1 地木耳提取液的制备** 新鲜地木耳(2010年5月采集于河北张家口沽源牧场)用水洗净后,60℃烘干、粉碎,准确称取0.1 g加入到1 L水中,用NaOH调节其pH值为10.0;80℃水解4 h,过滤取上清液,将滤渣重复水解一次,取上清液;将两次上清液浓缩至100 mL,即得原液;用蒸馏水依次稀释得到1/10原液、1/20原液、1/50原液。

**1.1.2 根瘤菌菌剂的制备** 将小叶锦鸡儿根瘤菌菌株HBU037001、HBU037002、HBU037003分别在YMA平板上活化后保存至斜面,然后接种于盛有100 mL YMA液体培养液的250 mL三角瓶中,于28℃恒温摇床,转速150 r/min培养48 h即得根瘤菌液体菌剂。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 盆栽试验** 精选饱满的小叶锦鸡儿种子,95%乙醇浸泡3 min,0.1%氯化汞表面消毒5 min,用无菌水将消毒后的种子洗涤3~5遍。

分别用地木耳提取液原液、1/10原液、1/20原液、1/50原液4种剂量的地木耳提取液分别浸种6 h,并用蒸馏水进行相同处理作为对照组。

将种子播入花盆中,每盆播20粒种子,覆土1~2 cm,每种处理设置3个重复,共15盆,每天定时统计当天出苗数量;当种子不再萌发时,每盆保留5株长势较好且一致的幼苗,每2 d分别用等量的不同剂量地木耳提取液喷施幼苗,用蒸馏水喷洒对照组植物。生长20 d后进行指标测定,测定株高(从子叶痕处至离生长点最近的展开叶顶端,每盆测量5株)、地上生物量(以第1片子叶叶痕处作为划分标准,植物样品先在烘箱中120℃杀青40 min,后于60℃烘干

至质量恒定,每盆测量5株)、叶面积(将植株的叶片全部剪下,放在坐标纸上,统计叶片所占的格数,然后得出每株植物叶面积总数值,每盆测量5株)。

**1.2.2 田间试验** 选择地木耳提取液原液的1/10、1/20和1/50共3个剂量处理,3个不同的根瘤菌菌剂处理及地木耳提取液和根瘤菌菌剂联合处理9个组合,共15种处理;采用完全随机区组设计样方,每个样方2 m×2 m,另设不进行地木耳和根瘤菌菌剂处理的空白对照,每个处理3个重复。

每个处理的播种量为55 g,约为1 200粒种子;将小叶锦鸡儿的种子用地木耳提取液或根瘤菌菌剂分别浸泡6 h,播种时,用干燥的土壤将种子拌匀;地木耳和根瘤菌菌剂联合处理时,先将小叶锦鸡儿的种子用地木耳提取液浸泡6 h,再用菌剂处理2 h;每天定时统计当天出苗数量,每3 d分别用等量的不同浓度地木耳提取液喷施幼苗,其他处理及对照用蒸馏水喷洒叶面,50 d后观察生长情况,指标测定方法同室内盆栽试验,每个重复测定10株植物。

**1.2.3 数据分析** 通过SPSS 13.0数学统计分析软件对实验数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA);在满足方差齐性的情况下,再利用Duncan检验进行多重比较,确定各因子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 盆栽试验** 对盆栽生长20 d的小叶锦鸡儿的种子出苗率、株高、干质量和叶面积进行了测定,统计结果见表1。

试验结果表明,地木耳提取液对小叶锦鸡儿的出苗率、株高和生物量均有显著影响( $P<0.01$ )。地

表1 盆栽试验地木耳提取液对小叶锦鸡儿出苗及生长的影响

处理	平均出苗率(%)	平均株高(cm/株)	平均叶面积(mm <sup>2</sup> )	平均生物量(mg/株)
原液	16.67±3.33b	8.60±0.26ab	363.33±28.06c	34.17±0.17b
1/10原液	31.67±3.33b	9.10±0.55a	456.67±16.75b	34.33±0.33b
1/20原液	48.33±4.41a	9.80±0.66a	551.33±24.33a	38.67±0.89a
1/50原液	43.33±8.82a	8.83±0.63ab	442.33±3.93bc	35.17±0.60b
对照	28.33±1.67b	6.63±0.47c	370.67±3.84c	31.73±0.82c

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.01$ )。下表同。

木耳提取液原液对小叶锦鸡儿的出苗率有明显的抑制作用,1/20 和 1/50 的稀释液对出苗率的影响较对照和其他处理差异显著( $P < 0.01$ ),1/20 稀释液的效果最好,出苗率可达 48.3%;处理后获得的植株株高与对照相比均具有显著差异( $P < 0.01$ ),而各个处理之间的株高值无显著差异( $P > 0.01$ )。

从生物量来看,各个处理与对照相比差异显著,相比对照提高 7.8%~21.9%,其中 1/20 的稀释液提高幅度最大,与其他处理之间差异显著( $P < 0.01$ );比较其对叶面积的影响,1/20 稀释液与其他处理均差异显著( $P < 0.01$ ),叶面积数值最高。

**2.2 田间试验** 由盆栽试验结果发现,地木耳原液对种子的萌发起抑制作用,因此田间试验选取了 1/10、1/20 和 1/50 的地木耳稀释液;选择根瘤菌菌株 HBU037001、HBU037002 和 HBU037003 制作菌剂;种子经过表面处理后播种,2 d 后开始出苗,植物生长到 50 d 开始测量植株高度、叶面积、生物量等指标。

统计分析表明,地木耳提取液和根瘤菌菌剂对小叶锦鸡儿的出苗率、株高、生物量和叶面积均有显著影响( $P < 0.01$ )。

表 2 田间试验地木耳提取液及根瘤菌菌剂对小叶锦鸡儿出苗及生长的影响

处理因素	平均出苗率 (%)	平均株高 (cm/株)	平均生物量 (mg/株)	平均叶面积 (mm <sup>2</sup> /株)
1/50 原液	68.47±3.27bc	9.37±0.41ab	122.27±4.08b	1 107.37±66.91b
1/20 原液	73.80±3.15ab	7.70±0.26e	122.50±1.31ab	1 496.77±41.49a
1/10 原液	46.67±3.41efg	7.86±0.32e	107.60±1.55c	1 169.43±27.69ab
菌剂 HBU037001	91.10±2.57a	10.16±0.48a	126.27±0.84ab	1 165.77±48.22ab
菌剂 HBU037002	82.23±3.26a	10.00±0.53a	129.23±4.88ab	1 170.23±42.65ab
菌剂 HBU037003	65.80±1.73bcde	9.70±0.75ab	124.30±3.91ab	1 134.40±60.01b
1/50 原液+菌剂 HBU037001	48.90±1.91defg	8.93±0.19cde	110.67±2.89bc	1 047.00±58.68c
1/50 原液+菌剂 HBU037002	51.53±2.23cdefg	9.00±0.40bc	128.37±3.95ab	1 019.47±34.59c
1/50 原液+菌剂 HBU037003	47.53±3.47efg	8.36±0.09de	111.33±2.16bc	1 046.73±21.51c
1/20 原液+菌剂 HBU037001	47.80±0.58efg	8.36±0.03de	125.30±2.51ab	969.90±57.03c
1/20 原液+菌剂 HBU037002	53.77±2.32cdef	8.90±0.21cde	127.97±6.02ab	1 148.03±77.02b
1/20 原液+菌剂 HBU037003	53.33±6.15cdefg	8.50±0.06de	112.27±2.49bc	1 094.40±72.64bc
1/10 原液+菌剂 HBU037001	67.10±3.87bcd	9.40±0.15ab	140.80±8.69a	1 170.33±37.88ab
1/10 原液+菌剂 HBU037002	48.47±3.14defg	8.20±0.01e	108.17±2.38c	1 068.93±18.22bc
1/10 原液+菌剂 HBU037003	46.20±3.87fg	9.26±0.18bc	118.83±1.41b	1 088.40±77.27bc
对照	34.47±0.23g	8.46±0.12de	109.83±4.73c	1 048.03±81.97c

根瘤菌菌剂 HBU037001 和 HBU037002 对种子的出苗率影响较其他处理显著,菌剂 HBU037001 处理种子出苗率最高,在 90%以上;地木耳提取液中,1/20 稀释处理出苗率较好,达到 73.8%,其他各处理也均比对照有所提高。比较 3 种不同的处理方式,1/50 地木耳提取液、根瘤菌菌剂 HBU037001 以及联合处理 1/10 地木耳提取液与菌剂 HBU037001 等较对照相比,株高差异显著( $P < 0.01$ ),其中根瘤

菌剂 HBU037001 处理的植物株高最高。

从生物量来看,1/20 地木耳提取液、菌剂 HBU037002 等对小叶锦鸡儿的生物量较对照具有显著的差异,较对照分别提高 11.5%和 17.7%;综合来看,地木耳提取液 1/10 与菌剂 HBU037001 的联合处理又较其他处理差异显著,生物量提高达到 28.2%。在叶面积的测定中,1/20、1/10 稀释的地木耳提取液、菌剂 HBU037002 以及联合处理 1/10

地木耳提取液+菌剂 HBU037001 等较对照具有显著差异,其中 1/20 稀释的地木耳提取液效果最好,相比对照提高 42.8%。

### 3 讨论

本研究结果显示,不同的根瘤菌菌株对于植物的生长影响差异较大。在 3 个供试菌株中,菌株 HBU037001 处理的种子出苗率最高,而菌株 HBU037002 提高幼苗的干质量幅度最大。已有研究<sup>[17]</sup>表明,根瘤菌的施用可以提高植物种子的萌发率,这对于植物在干旱环境中定植非常重要。因此,小叶锦鸡儿的种植需要接种根瘤菌菌剂以提高其对干旱的抗性。因此,在今后的研究中,应多筛选不同的根瘤菌菌株进行研究,将不同菌株的优点结合起来,对其特性研究,以选择表现最优的根瘤菌菌株制作菌剂,在生产上进行应用。

地木耳提取液处理对植物的干质量影响较显著,但根瘤菌菌剂与地木耳提取液的联合处理(地木耳提取液 1/10 原液+菌剂 HBU037001)为所有处理中提高植物干质量最高者,这可能与两者对植物生长调节的累加作用有关。地木耳叶面喷施可以使营养物质从叶面输送,促进植物快速吸收地木耳提取液中的营养物质,而根瘤菌与植物形成的根瘤能利用空气中的游离氮合成氨,促进植物根际发育,使生物量增加。根据盛家荣等<sup>[18-19]</sup>的研究结果,地木耳提取物中起促进植物生长作用的物质主要是多糖,而在根瘤菌与豆科植物的识别机制当中,根瘤菌表面多糖是植物与根瘤菌互作的必需物质<sup>[20]</sup>,所以地木耳也间接地影响着根瘤菌的活动;此外根瘤菌除了固氮活性外还可以活化土壤中的微生物群落,为植物提供磷、钾等其他营养及多种微量元素<sup>[21-23]</sup>,并可有效影响土壤呼吸速率<sup>[24]</sup>。

本研究证实这两种微生物制剂对小叶锦鸡儿的种植具有应用价值,这两种微生物制剂成本低,制作简易、无污染,是制作生物肥料的理想材料。今后将进一步筛选更多的高效固氮根瘤菌菌株,并选择人工培育的地木耳作为材料进行研究,从而对这两种微生物制剂进行研究和开发,减少化肥使用并节约国家资源<sup>[25]</sup>,为我国“退耕还林”、贫瘠土壤植树造林、以及在干旱草原和荒漠草原植被恢复服务。

### 参考文献

- [1] 徐博,王赞,陆景伟,等. 内蒙古东部地区小叶锦鸡儿表型变异研究[J]. 植物研究,2009,29(3):276-281.
- [2] 熊小刚,韩兴国,白永飞,等. 锡林河流域草原小叶锦鸡儿分布增加的趋势、原因和结局[J]. 草业学报,2003,12(3):57-62.
- [3] 李衍青,张铜会,赵学勇,等. 科尔沁沙地小叶锦鸡儿灌丛降雨截留特征研究[J]. 草业学报,2010,19(5):267-272.
- [4] 郑英达,李建贵,刘明国,等. 辽西地区小叶锦鸡饲料防护林生物量动态及粗蛋白含量变化[J]. 辽宁林业科技,2010,4:16-19.
- [5] 张灿娟,吴冬秀,张琳,等. 内蒙古草原 3 年生小叶锦鸡儿根瘤特征及其对环境变化的响应[J]. 植物生态学报,2009,33(6):1165-1176.
- [6] 杨志国,赵秀海,刘向民,等. 黄羊滩沙地不同造林措施对植被恢复和土壤风蚀的影响[J]. 中国水土保持科学,2009,7(1):74-79.
- [7] 赵惠玲,王青,李砧. 地木耳分子生物学特性初步探究[J]. 农产品加工,2010,9:16-19.
- [8] 郭小强,万来会,张黎. 地木耳提取物对小麦种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 陇东学院学报,2009,20(2):65-67.
- [9] 王弋博,李三相,李勃,等. 地木耳提取物对石竹和孔雀草种子发芽及幼苗生长的影响[J]. 天水师范学院学报,2003,23(5):38-40.
- [10] 王静,张志铭. 地木耳对番茄生长的影响[J]. 西北植物学报,1995,15(6):86-90.
- [11] 王静. 地木耳改变土壤含氮量的研究[J]. 兰州大学学报(自然科学版),1995,31(3):97-99.
- [12] 阎春兰,邓中洋,胡征宇. 人工培养地木耳的群体显微结构及营养成分分析[J]. 食品科学,2010,31(3):22-25.
- [13] 严雪瑞,陈文峰,陈文新,等. 辽宁营口地区锦鸡儿与树锦鸡儿根瘤菌遗传多样性研究[J]. 沈阳农业大学学报,2007,38(1):44-48.
- [14] 牛西午,史清亮,张强,等. 山西锦鸡儿根瘤菌资源分布与生态学研究[J]. 西北植物学报,2003,23(6):921-925.
- [15] 高丽锋,邓馨,王洪新,等. 乌素沙地中间锦鸡儿根瘤菌的多样性及其抗逆性[J]. 应用生态学报,2004,15(1):44-48.
- [16] 刘振龙,蔡安国. 小冠花、胡枝子及柠条接种根瘤菌的效果[J]. 中国草地,1999(2):80.
- [17] 万牧媛. 牧草种子播前须处理——硬实处理与根瘤菌接种能有效提高种子发芽率[J]. 北京农业,2002,8:30.

- [18] 盛家荣,曾令汇,孙海珍,等. 普通念珠藻蛋白多糖对植物生长的促进作用[J]. 广西科学院学报, 2001, 17(1):20-23.
- [19] 盛家荣,债春,陈超球. 普通念珠藻多糖的研究[J]. 精细化工, 2001, 10:617-619.
- [20] 常慧萍,陶令霞,夏铁骑,等. 豆科植物——根瘤菌识别的分子机制及其共生多样性与生态环境的关系[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(15):4412.
- [21] 陈利云,张海林,周志宇. 生物与非生物因素对共生固氮的影响[J]. 草业科学, 2010, 27(6):64-70.
- [22] Venkataramang S, Neekantan S. Effect of the cellular constituents of nitrogenfixing blue-green alge *Cylindrospermum muscicola* on the root of rice plants[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1967, 13: 53-61.
- [23] Kushuasa. Effect of algal growth promoting substances of *Phormidium foveolarum* seeding of some varieties of wheat[J]. Hydrobiologia, 1970, 35(2):324-332.
- [24] 阿斯嘎,高丽,朴顺姬,等. 库布齐沙地土壤呼吸及其影响因素分析[J]. 草业科学, 2009, 26(9):99-104.
- [25] 陈文新,陈文峰. 发挥生物固氮作用,减少化学氮肥用量[J]. 中国农业科技导报, 2004, 6(6):3-6.

### Effect of water extraction of *Nostoc commune* and rhizobial inoculants on seedling growth of *Caragana microphylla*

LIU Xiao-yun<sup>1</sup>, GUO Zhen-guo<sup>1</sup>, YANG Ya-nan<sup>2</sup>, LIU Gui-xia<sup>1</sup>, WANG Na<sup>1</sup>,  
DAI Yan-yan<sup>1</sup>, WANG Yi-peng<sup>3</sup>, GUO Xiao-ye<sup>1</sup>, WEI Shuang<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Key Laboratory of Microbial Diversity Research and Application of Hebei Province, Hebei University, Hebei Baoding 071002, China;

2. No. 3 Middle School of Baoding, Hebei Baoding 071002, China;

3. School of Conservation Biology, Southwest Forestry University, Yunnan Kunming 650224, China)

**Abstract:** *Caragana microphylla* not only plays important roles in wind prevention and sand-fixation, conservation soil erosion, but also provide high-quality feed for livestock due to its strongly cold and drought resistance. A pot and a field experiments were conducted to determine the effect of water extraction of *Nostoc commune* and rhizobial inoculants on seedling growth of *C. microphylla* in this study by individually and jointly ways. This study showed that the extraction of *N. commune* and rhizobial inoculants remarkably encouraged the seedling growth of *C. microphylla*. The field experiment showed that the rate of seed emergence was 91.1% when seeds were inoculated by the rhizobial inoculants HBU037001. The seedling biomass of *C. microphylla* increased by 11.5% and 17.7% when seeds were treated by 1/20 concentration of *N. commune* and HBU037002, respectively. The combined treatment (1/10 concentration of *N. commune* & rhizobial inoculants' HBU037001) were the best one, which increased the seedling biomass by 28.2%.

**Key words:** *Caragana microphylla*; water extraction of *Nostoc commune*; rhizobial inoculants; symbiotic nitrogen-fixation