

苜蓿根瘤菌及其菌剂研究与应用现状

杨晓蕾^{1,2}, 姚拓^{1,2}, 张颖^{1,2}, 张怡忻^{1,2}, 张莉^{1,2}

(1. 甘肃农业大学草业学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 草业生态系统教育部重点实验室, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 根瘤菌与豆科植物共生是豆科植物固氮的重要方式, 苜蓿作为一种优质豆科牧草, 应用苜蓿根瘤菌剂可以提升豆科牧草的固氮功能, 提高苜蓿产量, 降低氮肥使用量, 不仅可以改善土壤结构, 还能够降低农业生产成本, 进而促进农业可持续发展。本文介绍了根瘤菌研究和应用概况, 从根瘤菌、苜蓿根瘤菌剂及促生菌与根瘤菌共接种等方面对苜蓿生长影响进行综述, 并对根瘤菌及相关菌剂研究方向进行展望。

关键词: 苜蓿; 根瘤菌; 促生菌; 根瘤菌菌剂

中图分类号: S541

文献标志码: A

文章编号: 2097-2172(2025)01-0001-07

doi:10.3969/j.issn.2097-2172.2025.01.001

Research and Application Status of Alfalfa Rhizobia and Inoculants

YANG Xiaolei^{1,2}, YAO Tuo^{1,2}, ZHANG Ying^{1,2}, ZHANG Yixin^{1,2}, ZHANG Li^{1,2}

(1. College of Grassland Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China;
2. Key Laboratory for Grassland Ecosystem of Education Ministry, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The symbiosis between rhizobium and leguminous plants is an important way of nitrogen fixation in leguminous plants. As a high-quality leguminous herbage, the use of alfalfa rhizobium agent can improve the nitrogen fixing function of leguminous herbage, increase the yield of alfalfa, reduce the utilization rate of nitrogen fertilizer, which improve the internal structure of soil, reduce the cost of agricultural production and promote the sustainable development of agriculture. Based on this, this paper introduces an overview of the research and application of rhizobia, reviewing the effects of rhizobia, alfalfa rhizobial inoculants, and co-inoculation of growth-promoting bacteria with rhizobia on alfalfa growth. Additionally, the paper looks ahead to future research directions for rhizobia and related microbial agents.

Key words: Alfalfa; Rhizobium; Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR); Rhizobium agent

根瘤菌(*Rhizobium*)是一类重要的土壤细菌, 可以生活在土壤中, 也可以与豆科植物互惠互利形成根瘤进行生物固氮^[1]。豆科植物-根瘤菌共生固氮是目前应用最广泛的生物固氮方法, 它们能够从植物细胞中摄取必要的营养物质, 并将其转化为氨, 以满足植物的需求。根瘤菌具有寄主专一性, 即每种根瘤菌只能在特定种类的豆科植物上结瘤。苜蓿(*Medicago*)是重要的豆科牧草, 能够通过选择具有共生特征的根瘤菌来产生固氮作用^[2]。苜蓿根瘤菌剂的有效应用, 不仅能增强豆科牧草的固氮能力, 大幅度减少对氮肥的依赖, 缓解因过度施用氮肥导致的环境压力, 还能够提

升土壤地力, 缩减农业生产的经济投入, 在促进作物生产力稳定、实现绿色高质量发展方面潜力巨大。但目前有关苜蓿根瘤菌及其相关菌剂的综述较少, 本文从苜蓿根瘤菌、根瘤菌剂及促生菌与根瘤菌共接种等方面对苜蓿生长影响等方面进行综述, 并对根瘤菌及相关菌剂研究方向进行展望, 以期为后续研究提供指导。

1 根瘤菌研究概况

近百年来, 国际上对豆科根瘤菌的科学研究获得了重要发展。18世纪末, Beijerinck 等人首次从豆科植物的根瘤中提取了第一个纯培养细菌, 随后, 研究员 Frank 将该细菌命名为豆科根瘤菌

收稿日期: 2024-09-13; 修订日期: 2024-11-17

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-34)。

作者简介: 杨晓蕾(1997—), 女, 甘肃兰州人, 博士在读, 研究方向为草地微生物多样性。Email: 1224728115@qq.com。

通信作者: 姚拓(1968—), 男, 甘肃庆阳人, 教授, 博士, 研究方向为草地微生物多样性。Email: yaotuo@gsau.edu.cn。

(*Rhizobium leguminosarum*)，经过多年的研究工作，研究人员最终把能够与豆科植物结瘤的细菌命名为“根瘤菌”^[3]。1889年，Prazmoski运用纯培养技术，成功将根瘤菌接种至豆科植物^[4]，直接验证了根瘤菌接种能促进根瘤形成并提升其固氮效率的理论。截至目前，已经发现的能成功侵染豆科植物并与豆科植物共生固氮的根瘤菌主要包括 α -变形菌纲和 β -变形菌纲16个属的140多个种，包括根瘤菌属(*Rhizobium*)、中慢生根瘤菌属(*Mesorhizobium*)、甲基杆菌属(*Methylobacterium*)、新根瘤菌属(*Neorhizobium*)、中华根瘤菌属(*Sinorhizobium*)和伯克霍尔德氏菌属(*Burkholderia*)等^[5-6]。

2 苜蓿根瘤菌研究

2.1 苜蓿根瘤菌的作用机理

根瘤菌与豆科植物之间形成了共生固氮模式，能够有效地利用空气中的氮素来实现氮素循环，在农业生产方式中发挥了重要作用。苜蓿根瘤的形成要求双方基因的协同作用和生态环境的调节，以及根瘤菌和苜蓿彼此间的相互作用，以达到共生固氮效果。无论根瘤菌是本土的还是通过接种剂引入的，固氮途径都是从细菌感染植物根部开始，其发展过程包含根部定殖、触及根表、根毛变形卷曲、侵入根毛、菌株繁殖、类菌体产生等，每一步都受到遗传因素的控制^[7]。当苜蓿生根后，其根部释放的碳水化合物及氨基酸为根瘤菌的繁衍提供了丰富的营养物质，促进根瘤菌聚集在根部周围并定殖，历经一系列生理代谢活动，最终形成根瘤。根瘤可以固定空气中的氮素，将空气中的氮素转化为能够被植物吸收的离子态氮，使苜蓿从根瘤活动中受益^[2]。苜蓿进入成熟期后，植物氮素需求减少，根瘤固氮酶活性降低，出现老化现象，表现为皱褶和软化，根瘤内的豆血红蛋白会形成胆色素，此时的根瘤为褐绿色。随时间推移，类菌体包膜的破裂标志着根瘤的衰败，其内微生物重归土壤循环。当苜蓿成功越冬，第2年长出新的根叶时，根瘤菌就会侵染新的根系，产生根瘤，从而继续为苜蓿供给氮素。因此对于2年生以上的豆科植物，根瘤通常会出现在当年生长的侧根上，而在主根上则很难发现根瘤^[8-10]。

2.2 苜蓿根瘤菌的共生固氮

苜蓿的生态效益依赖于其与根瘤菌共生固氮

的能力，从而减少或避免氮肥的施用^[11]。当苜蓿植株形成根瘤后，其光合作用产物的1/3将用于支持根瘤的成长和固氮，从而不断地向植株供给氮素^[12]。苜蓿对氮素的需求量较大，共生固氮占氮素总量的33%~80%^[13]。根瘤通过有效固定空气中的氮素转化成植物可以利用的氨态氮，满足苜蓿的生长需要，此过程可以减少对工业氮肥的依赖，增加土壤微生物的活性，改善土壤的物理性质^[9]。虽然苜蓿在收获时会带走部分氮素，但遗留于土壤中的根系、根瘤及下部叶片将逐渐被微生物分解，从而使土壤氮素含量增加，可以为后茬作物提供更多的营养。研究表明，种植苜蓿后的纯氮年产出量可达到220~670 kg/hm²。此外，紫花苜蓿在与禾本科作物间作套种时，可为禾本科作物提供20%~30%的氮素，显著提高农作物的产量^[14-16]。

2.3 苜蓿根瘤菌缓解植物逆境胁迫研究

2.3.1 缓解苜蓿盐胁迫 紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)是一种营养丰富、适口性好的优质饲草^[17-18]，广泛种植于干旱和半干旱地区，对当地社会经济发展做出了巨大贡献^[11]，而盐度是限制该作物生长的主要因素之一^[19-20]。紫花苜蓿被认为是中等耐盐植物，当盐度值接近20 mM NaCl时，紫花苜蓿产量下降明显^[21]。利用传统育种、标记辅助选择和植物基因工程等方法，已经开发出多种策略来选育新的耐盐品种，降低高盐度对植物的毒性影响^[22-23]。然而，这些技术进展缓慢，且对农民来说难度较大。植物生长与根际微生物密切相关，这些微生物在胁迫和环境刺激下能提高植物的抗逆性，促进植物生长发育。因此，基于利用有益土壤微生物(根瘤菌、促生菌等)的方法被认为是可持续农业发展中解决盐度问题的有效策略。

根瘤菌与苜蓿共生可以固定大气中的氮，是农业氮的可再生来源。除了这种营养作用外，根瘤菌还可以通过以下机制缓解盐胁迫的负面影响，包括根际酸化、增强根表面积、增加根分泌物(胞外多糖)、改善寄主植物叶片水分状况、提高养分可利用性以及释放细菌挥发物作为系统抗性的诱导物等^[24]。Raklami等^[25]和Meddich等^[26]的研究发现，根瘤菌可以缓解盐胁迫并提高盐渍土壤中的植物生产力，它们的有益作用与脯氨酸和糖等

渗透性物质的较高积累有关。抗逆品种和根瘤菌的结合已被证明对豆科植物在盐胁迫条件下的生长和生存能力具有积极的协同优势^[27-28]。Li 等^[29]的研究表明, 根瘤菌通过 GmMYB183 磷酸化影响类黄酮代谢, 在盐胁迫下平衡细胞活性氧(ROS), 从而防止大豆受到盐损伤。对紫花苜蓿的代谢组学分析表明, 耐盐根瘤菌接种可以通过调节有机酸含量(草酸、柠檬酸、琥珀酸和苹果酸)来减轻盐胁迫对植物根系的伤害; 醇类物质和蔗糖以及特定氨基酸(脯氨酸、谷氨酸、鸟氨酸和天冬氨酸)的积累与根瘤菌提高紫花苜蓿的耐盐性有关^[21]。

2.3.2 缓解苜蓿干旱胁迫 干旱已成为制约作物生产能力和品质提升的重大障碍。作为在我国西北和东北地区广泛栽培的豆科牧草, 苜蓿的产量与水分条件紧密相关^[30]。当干旱发生时, 苜蓿会遭受水分亏缺, 其生长发育受阻, 细胞老化加速, 若持续缺水时间较长甚至可能引发植物的死亡^[31-33]。干旱限制了植物根毛的正常生长, 减少了根瘤菌附着及侵染的机会, 阻碍了根瘤的形成过程, 影响根瘤菌的数量^[34], 进而降低其豆血红蛋白含量, 对固氮酶活性产生负面影响^[35]。在干旱条件下, 施用根瘤菌可以提高侵染率, 促进根瘤形成, 还能够有效地减轻植物所承受的干旱压力, 抑制氧化应激、维持渗透压平衡等生理机能^[36-37]。Defez 等^[38]对接种苜蓿剑菌(*Ensifer meliloti*)野生型 Ms-1021 及其过量产生吲哚乙酸(IAA)的衍生菌株 Ms-RD64 的植株进行干旱胁迫, 与接种 Ms-1021 胁迫植株相比, 接种 Ms-RD64 的植株受到干旱损伤较轻, 表明根瘤菌分泌的 IAA 对植物应对干旱胁迫有积极的影响。李鹏珍等^[39]的研究表明, 接种根瘤菌条件下再外源添加生物炭, 能有效提升紫花苜蓿的叶面积, 从而增强植物的光合作用, 促进植物生长, 进而缓解干旱胁迫对植株的不利影响。

植物对胁迫条件最重要的调整之一是调节脱落酸(ABA)的含量。ABA 广泛参与调控植物的生命周期进程(包括种子休眠与萌发、根系生长), 同时也在植物应对各种生物胁迫和非生物胁迫中发挥重要作用, 尤其是对于干旱等极端的环境因素有着极强的抗逆能力。ABA 响应元件结合因子(ABFs)是 ABA 信号传导的关键调控因子, 由营养

组织诱导响应 ABA 和渗透胁迫, 并激活非生物胁迫条件下植物的抗氧化防御反应^[40-42]。陈相莉^[43]研究发现, ABA 信号传导会导致 Ca^{2+} 浓度上升或者激活钙离子通道, 从而利用钙离子来影响结瘤信号的传导途径, 进而间接地影响根瘤的形成, 进一步证明 ABA 影响着豆科植物结瘤。

2.3.3 缓解苜蓿重金属胁迫 苜蓿与根瘤菌等植物根际促生菌(Plant growth promoting rhizobacteria, PGPR)之间共生可以通过增加植物对氮和磷的吸收, 增强植物的抗逆性来直接或间接地提升苜蓿在重金属污染土壤中的防御^[44-46]。根瘤菌具有耐受重金属的先天能力^[47], 在受污染的土壤中种植豆科作物, 可为后茬作物提供氨态氮和重金属含量减少的土壤环境, 从而有利于修复重金属污染的土壤^[48-49]。因此, 作为一种新的植物-细菌污染修复策略, 根瘤菌已被应用于重金属污染土壤中以促进植物生长, 提高土壤质量。宋修勇^[50]利用天蓝苜蓿为材料, 同时接种根瘤菌和促生菌可以显著提高苜蓿的株高、根长、地上部分及根部生物量、根瘤数。同时, 与单接种根瘤菌相比, 双接种植株对 Zn 和 Cu 的吸收量增加了 89.22% 和 154.11%; 而与单接促生菌相比, 双接种植株对 Zn 和对 Cu 的吸收量也显著提高了 28.36% 和 306.01%。接种根瘤菌主要通过促进氮素的积累来提高苜蓿的植物提取能力。研究发现, 接种根瘤菌后, 苜蓿叶片丙二醛含量降低, 叶绿素含量、养分吸收、Cd 积累和转运因子增加, 增加了植株总氮的积累, 接种根瘤菌和适量施氮可作为苜蓿修复 Cd 污染土壤的有效措施^[51]。

苜蓿在重金属胁迫下会产生大量的活性氧自由基, 破坏细胞内环境稳定性并影响细胞膜透性, 严重抑制了生物固氮能力。然而, 根瘤中的抗氧化保护机制能够有效减轻由氧化应激引起的损害, 从而维系了其生物固氮的能力^[52-53]。根瘤菌展现出的金属耐受性、还原潜能以及促进豆科植物生长的能力, 使之成为净化金属污染土壤的理想生物工具, 并能有效缓解重金属对紫花苜蓿的不良效应。

3 根瘤菌剂应用概况

接种根瘤菌有助于提升苜蓿的结瘤率, 提高苜蓿的产量及蛋白质含量, 同时促使后续轮作作

物实现更高的产量收益, 展现出突出的经济价值与生态效益^[18]。1895 年, 美国和英国首先尝试商业化生产豆科根瘤菌剂, 加拿大、瑞典和澳大利亚也在 1905 年和 1914 年进行工业生产根瘤菌剂, 为了满足当地大规模栽培豆科牧草产品的需求, 根瘤菌剂的产量迅速发展壮大。据统计, 接种苜蓿根瘤菌面积约占苜蓿总种植面积的 30%~50%, 更有部分发达国家占比达到 80%以上^[54]。Schwieger 等^[55]研究发现, 经根瘤菌接种处理的紫花苜蓿, 植物根表微生物群落发生显著变化, 突出表现为根瘤菌数量的大幅增长。此外, 相关研究进一步指出, 根瘤菌接种对根际土壤微生物同样产生了一定程度的影响^[56-57]。

我国根瘤菌剂的研究始于 20 世纪 30 年代, 经过几十年的发展, 我国根瘤菌剂相关研究已达到国际先进水平。宁国赞等^[58-59]对内蒙古自治区在内的 23 个省区开展根瘤菌接种试验, 结果表明, 接种根瘤菌菌剂处理的紫花苜蓿有结瘤早、结瘤率高以及根瘤重量大等优点。韩可等^[60]通过接种不同根瘤菌对龙牧806和中苜三号紫花苜蓿的株高、地上干重和全氮量进行检测, 发现接种根瘤菌可有效提高植株的生产力。然而, 受限于发酵生产工艺落后及产品质量不达标等问题, 根瘤菌剂的大规模工业化生产和广泛应用面临一定挑战^[61]。同时, 根瘤菌剂存在占瘤率低、自然环境适应性差、接种效果不理想及受地域和环境限制等缺点, 从而无法有效提高植株生长发育水平, 阻碍了其在农业生产中的应用和发展^[62-63]。

近年来, 研究人员对促生菌和根瘤菌共接种管理的促生效果开展了深入研究。发现将有益微生物与根瘤菌共同接种能有效促进豆科植物根系生长, 为根瘤菌的定殖提供更多的侵染位点, 继而增强氮素的利用率, 显著地提高了豆科作物的产量^[64]。协同作用能够更有效帮助宿主植株的结瘤固氮, 有效提升了植株的营养利用率和土壤肥力, 进而为植株的生长提供了有力的支持^[65]。促生菌与根瘤菌的联合作用极大提升了宿主植物的结瘤数量、固氮效率、根系发育及根部营养元素利用率, 因而有利于植株的健康生长^[66-67]。诸多属的促生菌能够与根瘤菌共同作用, 有效地帮助豆科植物生长发育、结瘤和固氮, 从而发挥出协同效

应, 为豆科植物的发育提供重要的支持^[68-69]。刘冠一^[66]发现, 荧光标记根瘤菌与 5 株 PGPR 分别共接种于紫花苜蓿, 显著提升了根瘤数量, 并且有助于根系的生长发育, 显著提升了 ACC 脱氢酶、吲哚乙酸(IAA)的合成、解无机磷能力及固氮能力, 改善了紫花苜蓿的生长环境。Morel 等^[70]发现, 中华根瘤菌(*Sinorhizobium meliloti*)U143 与促生菌 *Delftia* sp. JD2 共接种可提高紫花苜蓿的地上部和根系质量, 在微生物-植物相互作用的早期, 酚类化合物(包括黄酮类化合物)、有机酸和挥发性化合物的定性和定量变化表明, 某些分子的产生对微生物-植物关系产生积极影响。

4 展望

随着我国对优质苜蓿需求量的不断提升, 苜蓿种植面积不断扩大, 氮肥需肥量随之增大。长期以来, 人类在农业生产中重度依赖化学肥料以保障作物产量, 过度施用氮肥不仅会损害土地的理化性质, 还会对人类健康造成严重威胁。鉴于此, 加强对苜蓿根瘤菌的研究及其应用潜力开发, 提升其固氮效能, 拓宽苜蓿根瘤菌制剂的应用领域具有重要的意义和广阔的发展前景。为更有效地促进苜蓿与根瘤菌的共生结瘤及其固氮效率, 可通过以下措施提高苜蓿根瘤菌固氮潜力, 一是根据种植当地土壤、气候、苜蓿品种等多种因素, 选择适合的专一性强的苜蓿根瘤菌株, 以确保充分发挥根瘤菌的生物固氮潜力, 减少对化学氮肥的依赖。二是合理施用氮肥, 通过有机肥替代等方式减少氮肥施用量, 减轻过量施用氮肥导致的径流和渗透进入地下水会造成的环境污染。三是重视抗逆性强的根瘤菌菌种选育, 加强对耐旱、耐盐碱、耐重金属胁迫等菌株的筛选, 提升菌株应用范围, 响应国家号召, 使不能种植农作物的盐碱地、重金属污染土地等变为可以种植紫花苜蓿的改良地。最后, 应针对性地筛选适合特定土壤类型、固氮能力强且结瘤性能优异的本土菌株, 并探究根瘤菌与本土化微生物或其他有益微生物间的互作机制, 进而研制出创新的复合微生物菌剂。随着科学技术进步, 有效运用多学科方法如宏基因组、代谢组等, 进一步完善菌剂的生产工艺流程、并进行大规模推广应用, 这无疑会成为未来的重要研究方向, 使其在豆科植物生长过程

中得以更好的利用。

参考文献:

- [1] HERRIDGE D F, PEOPLES M B, BODDEY R M. Global inputs of biological nitrogen fixation in agricultural systems[J]. *Plant and Soil*, 2008, 311(1/2): 1–18.
- [2] 周 彤, 师尚礼, 陈建纲, 等. 紫花苜蓿与 3 种多年生禾本科牧草轮作的土壤养分生长季动态比较[J]. *草原与草坪*, 2021, 41(3): 19–25.
- [3] 王孝林. 苜蓿根瘤菌的生物地理学及根际微生物的比较宏基因组学研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2018.
- [4] GASSER H, GUY P, OBATON M, et al. Efficiency of *Rhizobium meliloti* strains and their effects on alfalfa cultivars[J]. *Canadian Journal of Plant Science*, 1972, 52(4): 441–448.
- [5] MOULIN L, KLONOWSKA A, CAROLINE B. Complete genome sequence of *Burkholderia phymatum* STM815(t), a broad host range and efficient nitrogen-fixing symbiont of Mimosa species[J]. *Standards in Genomic Sciences*, 2014, 9(3): 763–774.
- [6] ZHANG Y M, LI Y, CHEN W F. Biodiversity and biogeography of rhizobia associated with soybean plants grown in the north China plain[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(18): 6331–6342.
- [7] 钱亚斯. 接种不同根瘤菌对 3 个苜蓿品种及土壤养分的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- [8] 孙丽娜. 苜蓿根瘤菌与溶磷菌互作及其菌肥对苜蓿生长和品质影响研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2008.
- [9] NOCELLI N, COSSOVICH S, PRIMO E, et al. Coaggregative interactions between rhizobacteria are promoted by exopolysaccharides from *Sinorhizobium meliloti*[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2023, 63(6): 646–657.
- [10] LIU M, KAMEOKA H, ODA A, et al. The effects of ERN1 on gene expression during early rhizobial infection in *Lotus japonicus*[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2023, 13: 995589.
- [11] FARISSI M, BOUIZGAREN A, FAGHIRE M, et al. Agro-physiological responses of Moroccan alfalfa (*Medicago sativa* L.) populations to salt stress during germination and early seedling stages[J]. *Seed Science and Technology*, 2011, 39: 389–401.
- [12] 李 萍, 滕长才, 刘玉皎, 等. 青海一株蚕豆根瘤菌的鉴定及抗旱性评价[J]. *微生物学报*, 2022, 62(10): 4030–4046.
- [13] CHEN W F, WANG E T, JI Z J, et al. Recent development and new insight of diversification and symbiosis specificity of legume rhizobia: mechanism and application[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 131(2): 553–563.
- [14] HEICHEL C H, BARNES D K, VANCE C P, et al. N₂ fixation, N and dry matter partitioning during a 4-year alfalfa stand[J]. *Crop Science*, 1984, 24: 811–815.
- [15] 杨恒山, 张玉芹, 杨升辉, 等. 苜蓿轮作玉米后土壤养分时空变化特征分析[J]. *水土保持学报*, 2012, 26(6): 127–130.
- [16] 曾庆飞, 韦兴迪, 韦 鑫, 等. 贵州岩溶山区野生天蓝苜蓿根瘤菌资源发掘、固氮特性及其多样性研究[J]. *草地学报*, 2022, 30(7): 1891–1899.
- [17] 袁群英, 肖占文, 鄂利锋, 等. 盐碱地紫花苜蓿品种筛选及耐盐性比较[J]. *寒旱农业科学*, 2023, 2(1): 36–40.
- [18] 陈永岗, 常生龙, 杨正荣, 等. 滴灌带铺设方式对沙地苜蓿产量及品质的影响[J]. *寒旱农业科学*, 2023, 2(7): 627–630.
- [19] MBARKI S, SKALICKY M, TALBI O, et al. Performance of *Medicago sativa* grown in clay soil favored by compost or farmyard manure to mitigate salt stress[J]. *Agronomy*, 2020, 10:1–14.
- [20] CAMPANELLI A, RUTA C, MASTRO G D, et al. The role of arbuscular mycorrhizal fungi in alleviating salt stress in *Medicago sativa* L. var. icon[J]. *Symbiosis*, 2013, 59: 65–76.
- [21] BERTRAND A, DHONT C, BIPFUBUSA M, et al. Improving salt stress responses of the symbiosis in alfalfa using salt-tolerant cultivar and rhizobial strain[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 87: 108–117.
- [22] AIT-EL-MOKHTAR M, BASLAM M, BEN-LAOUANE R, et al. Alleviation of detrimental effects of salt stress on date palm (*Phoenix dactylifera* L.) by the application of arbuscular mycorrhizal fungi and/or compost[J]. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 2020, 4: 131.
- [23] AIT-EL-MOKHTAR M, BEN-LAOUANE R, ANLI M, et al. Use of mycorrhizal fungi in improving tolerance of the date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings to salt stress[J]. *Scientia Horticulturae*, 2019, 253: 429–438.
- [24] GARG N, BHARTI A, SHARMA A, et al. Plant-mycorrhizal and plant-rhizobial interfaces: Underlying mechanisms and their roles in sustainable agroecosystems[M]. Cham, Switzerland: Springer International Publishing, 2019.
- [25] RAKLAMI A, TAHIRI A I, BECHTAOUI N, et al.

- Restoring the plant productivity of heavy metal-contaminated soil using phosphate sludge, marble waste, and beneficial microorganisms[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2020, 99: 210–221.
- [26] MEDDICH A, JAITI F, BOURZIK W, et al. Use of mycorrhizal fungi as a strategy for improving the drought tolerance in date palm (*Phoenix dactylifera*) [J]. *Scientia Horticulturae*, 2015, 192: 468–474.
- [27] AIT-EL-MOKHTAR M, FAKHECH A, ANLI M, et al. Infectivity of the palm groves arbuscular mycorrhizal fungi under arid and semi-arid climate and its edaphic determinants towards efficient ecological restoration[J]. *Rhizosphere*, 2020, 15: 100220.
- [28] EL-KHALLOUFI F. Hytotoxicité induite par les cyanotoxines: effets des microcystines sur la croissance de *solanum lycopersicum* et sur *Medicago sativa* et sa microflore rhizosphérique [D]. Marrakech Safi, Morocco: Cadi Ayyad University, 2012.
- [29] LI R, CHEN H, YANG Z, et al. Research status of soybean symbiosis nitrogen fixation[J]. *Oil Crop Science*, 2020, 5(1): 6–10.
- [30] 杨青川, 康俊梅, 张铁军, 等. 苜蓿种质资源的分布、育种与利用[J]. *科学通报*, 2016, 61(2): 261–270.
- [31] GÜLER N S, SAGLAM A, DEMIRALAY M, et al. Apoplastic and symplastic solute concentrations contribute to osmotic adjustment in bean genotypes during drought stress[J]. *Turkish Journal of Biology*, 2012, 36: 151–160.
- [32] BOUIZGAREN A, FARISSI M, GHOULAM C, et al. Assessment of summer drought tolerance variability in Mediterranean alfalfa (*Medicago sativa* L.) cultivars under Moroccan fields conditions[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2013, 59: 147–160.
- [33] AMINI H, ARZANI A, KARAMI M. Effect of water deficiency on seed quality and physiological traits of different safflower genotypes[J]. *Turkish Journal of Biology*, 2014, 38: 271–282.
- [34] ASHRAF M, IRAM A T. Drought stress induced changes in some organic substances in nodules and other plant parts of two potential legumes differing in salt tolerance [J]. *Flora*, 2005, 200: 535–546.
- [35] FIGUEIREDO M V, BURITY H A, MARTÍNEZ C R, et al. Alleviation of drought stress in the common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) by co-inoculation with *Paenibacillus polymyxa* and *Rhizobium tropici*[J]. *Applied Soil Ecology*, 2008, 40: 182–188.
- [36] 杨培志. 紫花苜蓿根瘤菌共生对干旱及盐胁迫的响应机制研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- [37] 蔡金宏, 李治霖, 王向涛, 等. 接种根瘤菌对于紫花苜蓿抗逆性的研究概况[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2020(9): 47–49.
- [38] DEFEZ R, ANDREOZZI A, DICKINSON M, et al. Improved drought stress response in alfalfa plants nodulated by an IAA over-producing rhizobium strain[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2466.
- [39] 李鹏珍, 赵得琴, 邓波, 等. 生物炭与干旱胁迫对接种紫花苜蓿光合效率及生长的影响[J]. *草地学报*, 2021, 29(6): 1257–1264.
- [40] LIU J X, HOWELL S H. bZIP28 and NF-Y transcription factors are activated by ER stress and assemble into a transcriptional complex to regulate stress response genes in *Arabidopsis* [J]. *Plant Cell*, 2010, 22: 782–796.
- [41] VYSOTSKII D A, DE V L, SOUER E, et al. ABF transcription factors of *Thellungiella salsuginea*: Structure, expression profiles and interaction with 14–3–3 regulatory proteins[J]. *Plant Signal Behavior*, 2013, 8(1): e22672.
- [42] LUO P, SHEN Y, JIN S, et al. Overexpression of *Rosa rugosa* anthocyanidin reductase enhances tobacco tolerance to abiotic stress through increased ROS scavenging and modulation of ABA signaling[J]. *Plant Science*, 2016, 245: 35–49.
- [43] 陈相莉. GmCYP707A3b 和 GmCYP707A1a 对大豆结瘤固氮的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.
- [44] TIODAR E D, VĂCAR C L, PODAR D. Phytoremediation and microorganisms-assisted phytoremediation of mercury-contaminated soils: Challenges and perspectives [J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2021, 18(5): 1–38.
- [45] HE H H, WU M M, GUO L, et al. Release of tartrate as a major carboxylate by alfalfa (*Medicago sativa* L.) under phosphorus deficiency and the effect of soil nitrogen supply[J]. *Plant and Soil*, 2020, 449: 169–178.
- [46] OVES M A, ZAIDI M, KHAN S. *Microbes for legume improvement*[M]. Vienna, Austria: Springer, 2010.
- [47] FERREIRA C M, SOARES H, SOARES E V. Promising bacterial genera for agricultural practices: an insight on plant growth-promoting properties and microbial safety

- aspects[J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 682: 779–799.
- [48] RANGEL W M, THIJS S, JANSSEN J, et al. Native rhizobia from Zn mining soil promote the growth of *Leucaena leucocephala* on contaminated soil[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2017, 19(2): 142–156.
- [49] UDVARDI M, POOLE P S. Transport and metabolism in legume–rhizobia symbioses[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2013, 64(1): 781–805.
- [50] 宋修勇. 天蓝苜蓿双接 *S. meliloti* 和 *A. tumefaciens* 后对 Cu、Zn 胁迫的响应[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- [51] KONG H, ZHANG Y, ZANG J, et al. Nitrogen supply can improve Cd–phytoextraction capability of rhizobium–inoculated alfalfa[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2024, 20: 1–2.
- [52] 卢明媚. 苜蓿中华根瘤菌 Cu/Zn 抗性机制及其促进天蓝苜蓿对重金属的吸收作用[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [53] DUAN C, MEI Y, WANG Q, et al. Rhizobium inoculation enhances the resistance of alfalfa and microbial characteristics in copper–contaminated soil[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 12: 781831.
- [54] 朱铁霞, 徐安凯, 胡自治, 等. 接种根瘤菌和施磷肥对农公 1 号紫花苜蓿的影响[J]. *中国草地学报*, 2009, 31(5): 60–63.
- [55] SCHWIEGER F, TEBBE C G. Effect of field inoculation with *Sinorhizobium meliloti* L33 on then composition of bacterial communities in rhizospheres of a target plant (*Medicago sativa*) and a non–target plant (*Chenopodium album*)—linking of 16S rRNA gene–based single–strand conformation polymorphism community profiles to the diversity of cultivated bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(8): 3556–3565.
- [56] 郭丽琢, 马 剑, 黄高宝. 根瘤菌接种对豌豆产量及根际微生物数量的影响[J]. *农业现代化研究*, 2010, 31(5): 630–633.
- [57] 赵阳安, 芦光新, 邓 晔, 等. 根瘤菌拌种对两种苜蓿生长及根际微生物多样性的影响[J]. *草地学报*, 2022, 30(2): 370–378.
- [58] 宁国赞, 刘惠琴, 马晓彤. 生物固氮技术在退耕还林还草中的应用[J]. *中国草地*, 2001(4): 70–73.
- [59] 宁国赞, 刘惠琴, 马晓彤. 中国苜蓿根瘤菌大面积应用研究现状及展望[C]//中国草原学会, 北京市农村工作委员会. 首届中国苜蓿发展大会论文集. 长春: 中国草原学会, 2001.
- [60] 韩 可, 孙 彦, 张 昆, 等. 接种不同根瘤菌对紫花苜蓿生产力的影响[J]. *草地学报*, 2018, 26(3): 639–644.
- [61] 吴显峰. 大豆应用富思德大豆根瘤菌剂效果研究[J]. *现代农业科技*, 2012(5): 79.
- [62] 管凤贞, 邱宏端, 陈济琛, 等. 根瘤菌菌剂的研究与开发现状[J]. *生态学杂志*, 2012, 31(3): 755–759.
- [63] FAUZIA Y H, FARRUKH I N, REHAN N, et al. Symbiotic effectiveness and bacteriocin production by *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* isolated[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2005, 54: 142–147.
- [64] RITA HILÁRIO DE CARVALHO, JESUSE D C, VINÍCIO OLIOSI FAVERO, et al. The co–inoculation of *Rhizobium* and *Bradyrhizobium* increases the early nodulation and development of common beans[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2020, 20(3): 860–864.
- [65] 刘 丽, 马鸣超, 姜 昕, 等. 根瘤菌与促生菌双接种对大豆生长和土壤酶活的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2015, 21(3): 644–654.
- [66] 刘冠一. 盐碱胁迫下接种 PGPR 和根瘤菌对紫花苜蓿生长的影响[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2017.
- [67] 马鸣超, 刘 丽, 姜 昕, 等. 胶质类芽孢杆菌与慢生大豆根瘤菌复合接种效果评价[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(18): 3600–3611.
- [68] RAHMAN T, SERAJ M F. Available approaches of remediation and stabilisation of metal contamination in soil: A review[J]. *American Journal of Plant Sciences*, 2018, 9: 2033–2052.
- [69] GAO H, YANG D H, YANG L, et al. Co–inoculation with *Sinorhizobium meliloti* and *Enterobacter ludwigii* improves the yield, nodulation, and quality of alfalfa (*Medicago sativa* L.) under saline–alkali environments [J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 199: 116818.
- [70] MOREL M A, CAGIDE C, MINTEGUIAGA M A, et al. The pattern of secreted molecules during the co–inoculation of alfalfa plants with *Sinorhizobium meliloti* and *Delftia* sp. strain JD2: an interaction that improves plant yield[J]. *Molecular Plant–Microbe Interactions*, 2015, 28(2): 134–142.