王德禄,郑路瑶,杨国平,等.华癸中慢生根瘤菌接种数量对紫云英结瘤固氮的影响[J].华中农业大学学报,2026,45(2):183-189.
DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2026.02.019

华癸中慢生根瘤菌接种数量对紫云英结瘤固氮的影响

王德禄[1],郑路瑶[1],杨国平[2],陈大松[1],林会[1],谢福莉[1],李友国[1]

1.华中农业大学农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室,武汉 430070;
2.宁夏五丰农业科技有限公司,银川 750021

摘要 为探究接种华癸中慢生根瘤菌活菌数与紫云英植株结瘤固氮之间的关系,采用种子表面接种和植株根部接种2种方式,以液体菌剂为接种剂,通过无菌沙培系统,确定紫云英结瘤固氮所需接种根瘤菌的最低活菌数。结果显示,每粒种子表面接种根瘤菌数量达到10^2CFU时,植株叶片开始由黄变绿,地上部鲜质量和株高较更低接种量处理显著增加;同时紫云英植株根部发育出具有固氮活性的根瘤,表现出良好的促生效果。对植株根部接种时,单株紫云英仅需满足10^1CFU的接种量,即可开始结瘤固氮。无论选择哪种方式接种,单个紫云英植株接种根瘤菌数量达10^3CFU时,其结瘤固氮作用、生物量和植株长势均明显优于低接种量组,继续增加接种量后,共生固氮表型趋于稳定。为充分保障根瘤菌接种剂在田间应用后的结瘤固氮作用,综合考虑菌剂施用的经济有效以及土壤条件的复杂性,确定紫云英单株接种10^3 CFU根瘤菌为华癸中慢生根瘤菌接种的最低活菌数。

关键词 紫云英;华癸中慢生根瘤菌;接种量;结瘤;共生固氮
中图分类号 Q939.114;S154.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2026)02-0183-07

紫云英(*Astragalus sinicus* L.)是我国稻田主要的冬季绿肥,通过共生固氮作用可以减少化肥氮的施用[1]和缓解土壤氮素流失[2]。每压青2 000 kg紫云英鲜草,可少施尿素10~12 kg,增加375~600 kg/hm^{2}稻谷[3]。同时还能增加土壤养分含量[4]和改变土壤微生物群落[5],进一步提高土壤肥力[6],对改善稻田的生态环境[7]具有重要意义。紫云英除用作绿肥外,还能直接用青贮紫云英作饲料[8]提高养殖经济效益以及替代除草剂用来防治农田杂草[9]。根瘤菌能与紫云英植株共生形成独特的植物器官—根瘤。人工施用根瘤菌有利于紫云英生长[10]、增加结瘤数量[11]、提高共生固氮效率。在秋季播种时,施用根瘤菌促进紫云英快速生长[12],保障幼苗形成健壮的根系来确保紫云英安全越冬[13],有助于提高田间产量[14]。

长期以来,人们一直在研究豆科植物根瘤菌接种量对根瘤形成的影响[15]。种子接种是将根瘤菌引入豆科植物根际的有效策略,其接种效果受到接种根瘤菌活菌数量的直接影响[16]。此过程中需要综合考虑环境因素[17]、接种技术[18]以及接种过程中根瘤菌活力的丧失等因素,确定所需根瘤菌数量的最低标准[19]。目前大多数关于接种量的研究都集中在大豆[20]及苜蓿[21],关于紫云英接种量的研究较少。

本研究以液体菌剂为接种剂,分别选择紫云英种子表面接种和植株根部接种2种方式接种华癸中慢生根瘤菌,通过无菌沙培盆栽试验,探究紫云英植株接种华癸中慢生根瘤菌活菌数与结瘤固氮之间的关系,确定紫云英植株结瘤固氮所需最低活菌数,旨在为紫云英接种根瘤菌的田间应用提供科学依据和指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试紫云英品种为弋江,供试根瘤菌菌株为华癸中慢生根瘤菌(*Mesorhizobium huakuii*)7653R(Str抗性),由华中农业大学农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室保存。

收稿日期:2025-06-10
基金项目:国家重点研发计划项目(2021YFD1700200);湖北省重点研发计划项目(2023EHA049)
王德禄,E-mail:2374761437@qq.com
通信作者:李友国,E-mail:youguoli@mail.hzau.edu.cn;杨国平,E-mail:yang_guoping@126.com

1.2 试验方法

1)紫云英种子处理。挑选个大饱满的紫云英种子置于PA瓶中,浸入75%乙醇5 min,倒去乙醇,再以5% NaClO表面消毒10 min,无菌水洗涤8~10次,弃去无菌水。将一部分种子置于超净台吹干,保持表面干燥;另取一部分种子平铺于水琼脂平板,倒置于植物培养箱中等待发芽。

2)根瘤菌接种液准备。将-80 ℃保藏的华癸中慢生根瘤菌7653R菌株在TY固体培养基划线活化,挑取单菌落于TY液体培养基中,28 ℃、220 r/min培养48 h,得到种子液。随后以4%接种量接种于TY液体培养基中,继续于28 ℃、220 r/min培养48 h,得到根瘤菌接种液。

3)根瘤菌接种。为确定紫云英植株结瘤固氮所需的最低活菌数,设置紫云英种子表面接种不同数量级根瘤菌的5个试验组和1个对照组(CK),各处理依次为10^5、10^4、10^3、10^2、10^1 CFU/seed 和0(CK)。将上述制备好的根瘤菌接种液使用无菌水进行10倍梯度稀释,然后分别取0.5 mL菌液与10 g洗净的紫云英种子进行拌种,适度阴干后种植。同时取样测定5个数量级处理种子表面的根瘤菌活菌数。经平板计数法测定,最终各处理单颗紫云英种子表面接种根瘤菌活菌数分别为8.8×10^5、9.9×10^4、6.8×10^3、8.2×10^2、7.2×10^1 CFU。对照组(CK)不接种,种子表面根瘤菌活菌数为0。

同上,设置紫云英植株根部接种不同数量级根瘤菌的5个试验组和1个对照组(CK),各处理依次为10^5、10^4、10^3、10^2、10^1 CFU/plant 和0(CK)。将培养好的根瘤菌菌液进行活菌总数计数后,使用无菌水依次10倍梯度稀释,分别取1 mL菌液接种于紫云英植株根部。各处理单个植株根部接种根瘤菌活菌数分别为6.2×10^5、6.2×10^4、6.2×10^3、6.2×10^2、6.2×10^1、0 CFU。

4)双层钵沙石盆栽。提前准备玻璃瓶、塑料小杯(底部打孔)、棉线及洗净的沙子,121 ℃、60 min灭菌处理。将无氮营养液提前倒入玻璃瓶中,放入带棉线的塑料小杯,使棉线浸入营养液中,于杯子中加满细沙,报纸封口。随后将双层钵于121 ℃灭菌30 min。冷却后,用消毒后的小刀划开报纸,根据紫云英种子表面接种要求,将接种根瘤菌的紫云英种子种植于双层钵中(每钵种植2颗紫云英种子),置于温室(18 h光照/8 h暗期,温度控制23 ℃)生长。35 d后收获植株。根据紫云英植株根部接种要求,将已经发芽的紫云英植株栽培进沙石中(每钵种植1株紫云英植株)置于温室(18 h光照/6 h暗期,温度控制23 ℃)生长,待植株长出第1片真叶,取1 mL菌液接种于紫云英植株根部,28 d后收获植株。

1.3 测定指标与方法

1)地上部鲜质量。将整株植物由根茎结合部位剪开,取地上部分称取鲜质量。

2)株高。将整株植物由根茎结合部位剪开,取地上部分量取高度。

3)固氮酶活性。将植物根系放入酶活瓶中打入2 mL乙炔气体,倒置于28 ℃培养箱中反应2 h后抽取100 μL反应气体于气相色谱仪检测。国产GC-4000系列气相色谱仪的工作条件:汽化室温度105 ℃,层析室温65 ℃:检测室温105 ℃,色谱柱载气为N_2,流量25 mL/min,火焰检测气体为H_2,压力0.8 kg/cm^2,助燃气体1.6 kg/cm^2。检测时,用微量进样器吸取气体样品50~100 μL,乙烯在色谱柱的保留时间为1.5~2.5 min。

4)根瘤质量与根瘤数量。测完固氮酶活性后,将植物根系从酶活性测试瓶取出,吸干水分,摘下根瘤,进行计数、称质量。

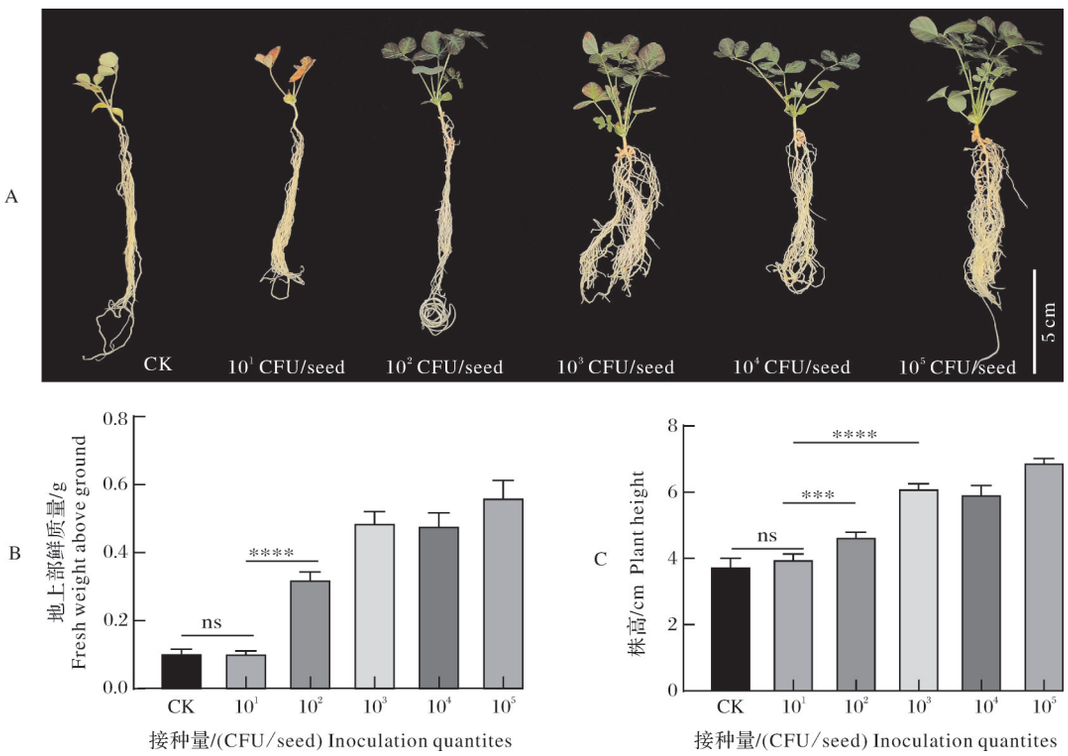
1.4 数据分析

采用GraphPad Prism统计软件对紫云英植株的地上部鲜质量、株高、根瘤数量、根瘤质量、固氮酶活性等指标进行ANOVA方差分析,采用Graph Pad Prism软件和Adobe illustrator 2021制作图表。

2 结果与分析

2.1 种子表面不同接种量对紫云英地上部生物量的影响

由图1可见,随着紫云英种子表面接种量的增加,植物鲜质量呈现上升趋势。不接根瘤菌和接种量为10^1 CFU/seed处理中,紫云英植株叶片发黄,表现出明显缺氮的症状,同时植株长势较弱、植株矮小。当接种量达到10^2 CFU/seed,与CK(不接种根瘤菌)和接种10^1 CFU/seed处理相比,紫云英植株叶片由黄变绿,表现出明显的促生效果(图1A);植株地上部分鲜质量和株高较接种量为10^1 CFU/seed处理分别增加了210%(图1B)和16%(图1C)。继续增大种子表面接种量到10^3 CFU/seed,紫云英植株地上部鲜质量显著增加,为接种量为10^2 CFU/seed处理的1.52倍,单颗紫云英植株地上部鲜质量接近0.5 g。同时,株高也为接种量为10^2 CFU/seed处理的1.32倍,株高平均为6.12 cm。继续增大接种量后,紫云英植株地上部分整体趋于稳定,地上部鲜质量以及株高并无显著增加。



A：不同接种量紫云英植株长势；B：地上部鲜质量；C：株高。*表示在不同接种量之间存在显著差异（*：$P<0.05$；**：$P<0.01$；***：$P<0.001$；****：$P<0.000\ 1$），误差线表示平均值±标准差。下同。A：Plant growth under different inoculation quantites；B：Ground fresh weight；C：Plant height of the ground part. Asterisks denote significant differences in different inoculation quantites（*：$P<0.05$；**：$P<0.01$；***：$P<0.001$；****：$P<0.000\ 1$）.Error bars represent means ±SD.The same as follows.

图 1　紫云英植株地上部分长势及生物量表型统计（种子表面接种）

Fig.1　Statistical analysis of growth and biomass phenotypes of the above-ground parts of *A. sinicus*（seed surface inoculations）

2.2　种子表面不同接种量对紫云英结瘤固氮作用的影响

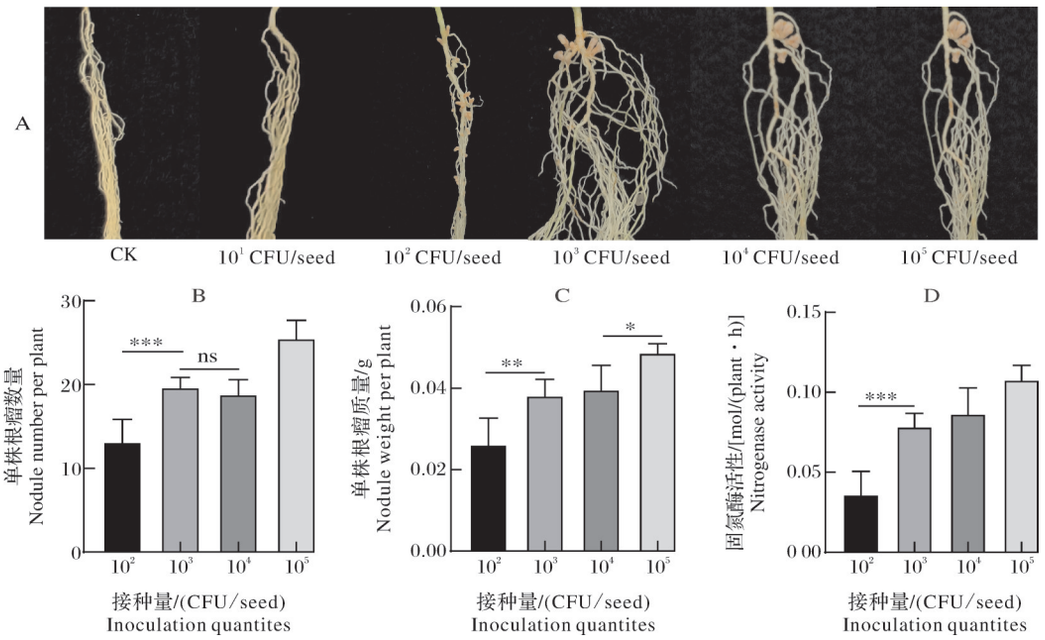
由图 2 可见，当紫云英种子表面根瘤菌接种量小于 10^2 CFU/seed，紫云英植株未形成根瘤，与未接种根瘤菌处理相比并无差异。种子表面接种量达到 10^2 CFU/seed，紫云英植株开始结瘤，植物根瘤呈现粉红色，开始共生固氮（图 2A）。当接种量增加到 10^3 CFU/seed，较接种量为 10^2 CFU/seed，共生表型发生显著变化，根瘤数量增加了 49.3%（图 2B）、根瘤质量增加了 45.8%（图 2C），固氮酶活性增加了 116%（图 2D）。当接种量增加到 10^4 CFU/seed，地下表型均未发生显著变化。直至继续增加接种量达到 10^5 CFU/seed，根瘤数量、根瘤质量才轻微增加，整体趋于稳定。

2.3　植株根部不同接种量对紫云英物地上部生物量的影响

由图 3 可见，随着单株紫云英植株根瘤菌接种量的增加，植株鲜质量、株高均呈现显著增加趋势。不接种根瘤菌处理（CK）的紫云英植株叶片发黄、长势矮小，表现出明显缺氮的症状。当接种根瘤菌后，即使接种量仅满足 10^1 CFU/plant，与 CK（不接种根瘤菌）相比，紫云英植株叶片由黄变绿，但紫云英植株的地上部鲜质量以及株高并无差异。随着接种量的继续增加到 10^2 CFU/plant，紫云英植株地上部长势开始变好（图 3A），植株地上部鲜质量和株高也分别增加（图 3B、C）。接种量继续增加达到 10^3 CFU/plant，植株地上部鲜质量较 CK 及接种量为 10^1、10^2 CFU/plant 处理分别增加了 253%、174%、19.3%。紫云英植株株高也呈相同趋势。随后继续增大接种量，地上部鲜质量以及株高均略有增加。

2.4　植株根部不同接种量对紫云英结瘤固氮作用的影响

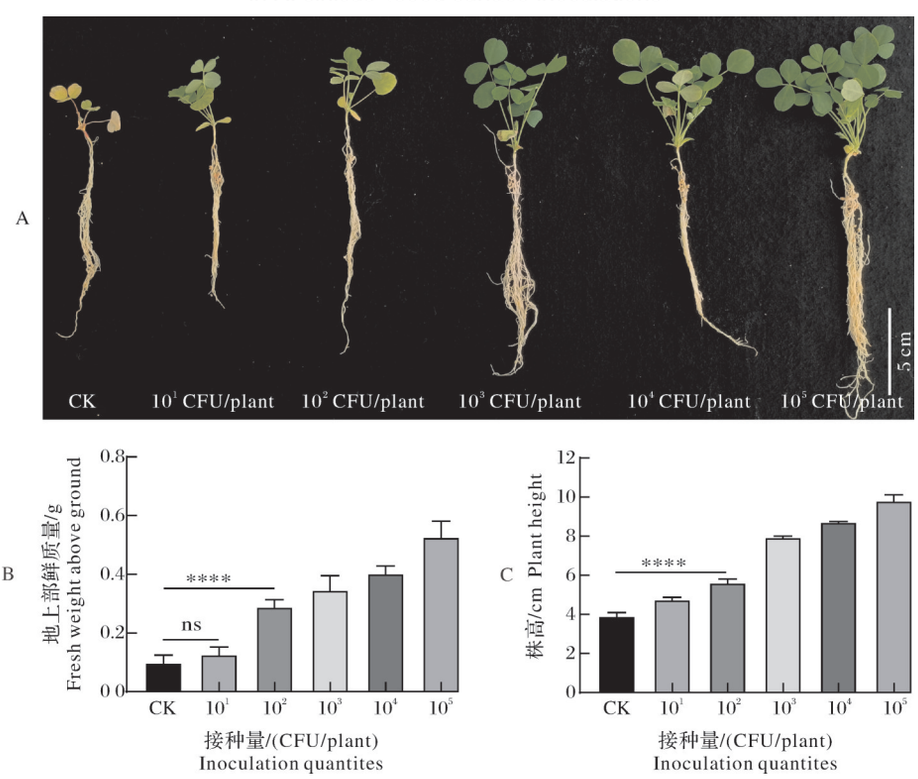
当紫云英植株根部直接接种根瘤菌后，即使接种量仅为 10^1 CFU/plant，紫云英植株也可以形成少量根瘤（图 4A），开始共生固氮。继续增大单株根瘤菌接种量，根瘤数量（图 4B）、根瘤质量（图 4C）以及



A:不同接种量紫云英植株地下部分长势；B:单株根瘤数量；C:单株根瘤质量；D:固氮酶活性。A:The growth of the underground part of the plant under different inoculation quantites ；B:Number of nodules per plant；C:Nodule weight per plant；D:Nitrogenase activity.

图2 紫云英植株地下部分长势及结瘤固氮活性（种子表面接种）

Fig. 2 Analysis of the growth of underground parts and nodule formation and nitrogen fixation activity in *A. sinicus*（seed surface inoculations）

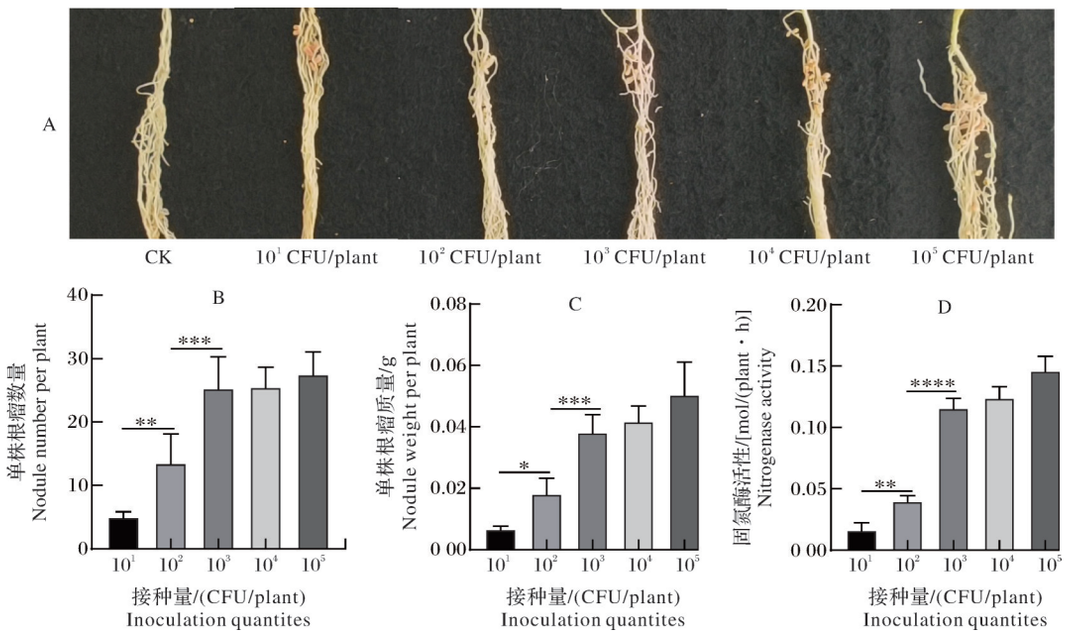


A:不同接种量紫云英植株长势；B:地上部鲜质量；C:株高。A:Plant growth under different inoculation quantites；B:Ground fresh weight；C:Height of the ground part.

图3 紫云英植株地上部分长势及生物量表型统计（植株根部接种）

Fig. 3 Statistical analysis of growth and biomass phenotypes of the above-ground parts of *A. sinicus*（root inoculation of plants）

固氮酶活性(图 4D)均继续增加,促生效果更加明显。当接种量增加到 10^3 CFU/plant,相较于接种量为 10^1、10^2 CFU/plant 处理,根瘤数量分别增加了406%、87.6%。继续增加单株根瘤菌接种量,紫云英单株根瘤数量及质量稍微增加,整体趋于稳定。



A:不同接种量紫云英植株地下部分长势; B:单株根瘤数量; C:单株根瘤质量; D:固氮酶活性。A: The growth of the underground part of the plant under different inoculation quantites; B: Number of nodules per plant; C: Nodule weight per plant; D: Nitrogenase activity.

图 4　紫云英植株地下部分长势及结瘤固氮活性测定分析(植株根部接种)

Fig. 4　Analysis of the growth of underground parts and nodule formation and nitrogen fixation activity in *A. sinicus* (root inoculation of plants)

3　讨　论

接种根瘤菌可以显著促进豆科植物的结瘤固氮及生长,减少对化学肥料使用的依赖[22]。根瘤菌只有与植物的根毛直接接触,通过根毛卷曲进入植物根部,形成足够数量的根瘤[23]才能进行充分的共生固氮并表现出稳定的促生效应,把空气中的分子态氮转变为植物可利用的铵态氮。根瘤菌移动性差且抵御环境胁迫能力差[24],所以直接将根瘤菌接种于种子表面或植株根部均是接种根瘤菌的有效策略。根瘤菌随着植物根部的发育,有效地定殖于根部。

种子表面接种和根部接种是最常用的根瘤菌接种方式,该方法操作简单,接种效率高。但接种后的田间效果不很稳定[25],可能由于根瘤菌活菌接种量过低以及根瘤菌受到环境胁迫失活,有时导致共生效果达不到预期。

本研究发现在对紫云英种子表面接种时,需要在紫云英种子表面接种 10^2 CFU/seed 华癸中慢生根瘤菌,紫云英植株才会结瘤,开始共生固氮,植株叶片由黄变绿。当接种量继续增加时,植物地上部鲜质量、根瘤数量、根瘤质量和固氮酶活均呈现上升趋势。而在植株根部接种时,单株紫云英植株接种量仅需要满足 10^1 CFU/plant 即可结出少量根瘤。2 种接种方式下,当紫云英单株接种根瘤菌 10^3 CFU 时,相较于接种 10^1 CFU、10^2 CFU,紫云英植株的地上生物量和结瘤数量及固氮酶活性均极显著地增加,表现出良好的促生效果。但继续增大根瘤菌的接种量,共生固氮和长势表型趋于稳定。综合分析,本研究确定紫云英单株最低接种根瘤菌数量为 10^3 CFU/plant。

在一定接种量范围内,增加根瘤菌接种量能显著提高紫云英接种华癸中慢生根瘤菌的效率,促生效果也显著提高。因此,在农业生产中,施用紫云英根瘤菌菌剂时,需要综合考虑具体施用方式及施用量,达到最好的接种效果。即对紫云英植株接种华癸中慢生根瘤菌时,单株需接种有效根瘤菌不少于 10^3 CFU,方能达到最有效的促生效果。在田间实际使用根瘤菌菌剂时,需综合考虑到土著根瘤菌的竞争以及自然土壤条件的复杂性,可能还需要适当增大紫云英的根瘤菌剂接种量。

参考文献 References

[1] 杜光辉,张琳,丁丽,等.紫云英与水稻秸秆联合还田配合氮肥减施对水稻产量及氮素营养平衡的影响[J].江苏农业学报,2024,40(6):1012-1019. DU G H,ZHANG L,DING L,et al.Effects of co-incorporation of Chinese milk vetch and rice straw with nitrogen fertilizer reduction on rice yield and nitrogen nutrition balance[J].Jiangsu journal of agricultural sciences,2024,40(6):1012-1019 (in Chinese with English abstract).

[2] YU Y L,XUE L H,YANG L Z.Winter legumes in rice crop rotations reduces nitrogen loss,and improves rice yield and soil nitrogen supply[J].Agronomy for sustainable development,2014,34(3):633-640.

[3] 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. CHEN Y X,LI Z.Application and production method of Chinese milk vetch rhizobia agent[J].Modern agricultural science and technology,2007(24):138 (in Chinese with English abstract).

[4] WANG H,TANG S,HAN S,et al.Long-term application of Chinese milk vetch return to soil alters phosphorus forms associated with aggregates[J].Journal of soil science and plant nutrition,2024,24(1):831-842.

[5] WANG F,CUI H H,HE F W,et al.The green manure (*Astragalus sinicus* L.) improved rice yield and quality and changed soil microbial communities of rice in the karst mountains area[J/OL].Agronomy,2022,12(8):1851[2025-06-10].https://doi.org/10.3390/agronomy12081851.

[6] LEI B N,WANG J,YAO H Y.Ecological and environmental benefits of planting green manure in paddy fields[J/OL].Agriculture,2022,12(2):223[2025-06-10]. https://doi.org/10.3390/agriculture12020223.

[7] WANG Y K,WANG K,LIANG T,et al.Milk vetch returning combined with lime materials alleviates soil cadmium contamination and improves rice quality in soil-rice system[J/OL].Science of the total environment,2024,951:175770[2025-06-10]. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175770.

[8] KEHALIEW A,ASSEFA G,FEKADU D,et al.Milk yield and quality of crossbred dairy cows fed with different levels of vetch(*Vicia dasycarpa*) hay and concentrate on a basal diet of fresh cut napier grass (*Penissetium purpureum*)[J]. Ethiopian journal of agricultural sciences,2010,21:161-167.

[9] LIU S L,MA Z Y,ZHANG Y,et al.*Astragalus sinicus* incorporated as green manure for weed control in corn[J/OL].Frontiers in plant science,2022,13:829421[2025-06-10].https://doi.org/10.3389/fpls.2022.829421.

[10] LIU Y J,GUO Z F,SHI H F.*Rhizobium* symbiosis leads to increased drought tolerance in Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.)[J/OL].Agronomy,2022,12(3):725[2025-06-10]. https://doi.org/10.3390/agronomy12030725.

[11] 丁玉宇.肥-稻-稻模式下紫云英根瘤菌剂拌种试验[J].中国农技推广,2024,40(2):86-88. DING Y Y.Seed dressing experiment of Chinese milk vetch rhizobia agent under fertilizer-rice-rice model[J].China agricultural technology extension,2024,40(2):86-88 (in Chinese with English abstract).

[12] BIAN Q,CHENG K,CHEN L,et al.Organic amendments increased Chinese milk vetch symbiotic nitrogen fixation by enriching *Mesorhizobium* in rhizosphere[J/OL].Environmental research,2024,252:118923[2025-06-10]. https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118923.

[13] 刘英,郭熙盛,王允青,等.紫云英根瘤菌应用效果研究[J].安徽农业科学,2012,40(24):12046-12047. LIU Y,GUO X S,WANG Y Q,et al.Application effects of *Rhizobium* of *Astragalus*[J].Journal of Anhui agricultural sciences,2012,40(24):12046-12047 (in Chinese with English abstract).

[14] MA T T,ZHOU G P,LIU J,et al.Co-incorporating Chinese milk vetch and rice straw increases rice yield by improving nutrient uptake during rice growth[J/OL].Sustainability,2023,15(16):12183[2025-06-10]. https://doi.org/10.3390/su151612183.

[15] ALBAREDA M,RODRÍGUEZ-NAVARRO D N,TEMPRANO F J.Soybean inoculation:dose,N fertilizer supplementation and rhizobia persistence in soil[J].Field crops research,2009,113(3):352-356.

[16] WEAVER R W,FREDERICK L R.Effect of inoculum rate on competitive nodulation of *Glycine max* L.Merrill.I.Greenhouse studies[J].Agronomy journal,1974,66(2):229-232.

[17] JI Z J,YAN H,CUI Q G,et al.Competition between rhizobia under different environmental conditions affects the nodulation of a legume[J].Systematic and applied microbiology,2017,40(2):114-119.

[18] DEAKER R,ROUGHLEY R J,KENNEDY I R.Legume seed inoculation technology:a review[J].Soil biology and biochemistry,2004,36(8):1275-1288.

[19] WEAVER R W,FREDERICK L R.Effect of inoculum size on nodulation of *Glycine max* (L.) merril,variety ford[J]. Agronomy journal,1972,64(5):597-599.

[20] BOGINO P,BANCHIO E,BONFIGLIO C,et al.Competitiveness of a *Bradyrhizobium* sp.strain in soils containing indigenous rhizobia[J].Current microbiology,2008,56(1):66-72.

[21] 李佳欢,希娜,漫静,等.苜蓿根瘤菌接种数量与方式对接种效果的影响[J].草地学报,2022,30(3):743-749. LI J H,XI N,MAN J,et al.Effects of rhizobial population and inoculation method on the efficiency of alfalfa *Rhizobium* inoculation[J].Acta agrestia sinica,2022,30(3):743-749 (in Chinese with English abstract).

[22] ALEMAYEHU D,DECHASSA N.Inoculating faba bean seed with *Rhizobium* bacteria increases the yield of the crop

and saves farmers from the cost of applying phosphorus fertilizer[J]. International journal of plant production, 2022, 16(2): 261-273.

[23] ROY S, LIU W, NANDETY R S, et al. Celebrating 20 years of genetic discoveries in legume nodulation and symbiotic nitrogen fixation[J]. The plant cell, 2020, 32(1): 15-41.

[24] MADSEN E L, ALEXANDER M. Transport of *Rhizobium* and *Pseudomonas* through soil [J]. Soil science society of America journal, 1982, 46(3): 557-560.

[25] SESSITSCH A, HOWIESON J G, PERRET X et al. Advances in rhizobium research[J]. Critical reviews in plant sciences, 2002, 21(4): 323-378.

Effects of inoculation quantity of *Mesorhizobium huakuii* on nodule formation and nitrogen fixation in *Astragalus sinicus*

WANG Delu[1], ZHENG Luyao[1], YANG Guoping[2], CHEN Dasong[1], LIN Hui[1], XIE Fuli[1], LI Youguo[1]

1.*National Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China*;
2.*Ningxia Wufeng Agricultural Technology Co., Ltd., Yinchuan 750021, China*

Abstract Two inoculation methods including seed surface and root inoculations were used to study the effects of inoculation quantity of viable rhizobia *Mesorhizobium huakuii* on the nodule formation and nitrogen fixation in *Astragalus sinicus*. The minimum inoculation quantity of rhizobia required for the nodule formation and nitrogen fixation in *A. sinicus* was determined with a sterile sand-pot experiment system using liquid bacterial agents as inoculants. The results showed that the plant leaves started to turn from yellow to green, and the fresh weight and plant height aboveground significantly increased compared to that in treatments with lower inoculation quantity when the rhizobia concentration inoculated on the seed surface reached 10^2 CFU/seed. Meanwhile, nitrogen-fixing nodules developed on the roots of the *A. sinicus* plants, having a positive effect on promoting growth. When the plant root was inoculated, a single *A. sinicus* plant required only an inoculation quantity of 10^1 CFU/plant to initiate the nodule formation and nitrogen fixation. When the quantity of rhizobia inoculated on a single *A. sinicus* plant reached 10^3 CFU, its nodule formation and nitrogen fixation, biomass, and plant growth was significantly better than that in treatments with low inoculation quantity. Further increasing the inoculation quantity stabilized the symbiotic nitrogen fixation. 10^3 CFU/plant was determined to be the minimum inoculation quantity of *M. huakuii* rhizobia on *A. sinicus* to fully ensure the nodule formation and nitrogen fixation of rhizobia inoculants after application in the field, and take the economic effectiveness of inoculant application and the complexity of soil conditions into account.

Keywords *Astragalus sinicus*; *Mesorhizobium huakuii*; inoculation quantity; nodule formation; nitrogen fixation

（责任编辑：张志钰）