

施氮对大豆根瘤生长和结瘤固氮的影响

王树起, 韩晓增, 乔云发, 严 君, 李晓慧

(中国科学院 东北地理与农业生态研究所, 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要: 采用框栽试验研究了施氮对大豆根瘤生长和结瘤固氮的影响, 结果表明, 施氮对大豆根瘤形成、生长和固氮能力有显著影响, 随着 N 用量的增加, 根瘤干质量、根瘤数量呈现先逐渐增加而后降低的趋势, 而固氮酶活性和豆血红蛋白含量则表现为持续下降的趋势, 适量施氮对根瘤生长有显著的促进作用, 当氮素供应不足时则会抑制根瘤的生长, 但当氮素供应过量时也会抑制根瘤的形成。从根瘤干质量和根瘤数量来看, 各处理间表现为 $N_{100} > N_{200} > N_{50} > N_{25} > N_0$, 以 N_{100} 处理下根瘤干质量最大, 根瘤数量最多, 显著高于不施氮(N_0)和其他施氮处理, 从不同生育时期来看, 根瘤干质量表现为从苗期到花期再到鼓粒期, 大豆根瘤的数量呈现出先明显增加后逐渐减少的趋势, 高峰出现在花期, 而根瘤数量表现为花期 $>$ 苗期。施氮显著抑制了固氮酶活性和豆血红蛋白含量, 随施氮水平的增加, 固氮酶活性和豆血红蛋白含量显著降低, 表现为 $N_0 > N_{25} > N_{50} > N_{100} > N_{200}$, 表明施氮使大豆根瘤的固氮效率显著降低, 因此, 从大豆固氮效率来讲, 施氮对大豆根瘤固氮具有抑制作用。方差分析结果表明, 施氮和不施氮处理间均达到了 5% 的差异显著水平。因此, 从大豆固氮和氮肥施用平衡的角度来看, 应适量施用氮肥, 既可以充分利用大豆的固氮功能, 节约氮肥, 又可以获得较高的产量。

关键词: 根瘤生长; 固氮酶活性; 豆血红蛋白含量; 氮水平; 大豆

中图分类号: S143.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000- 7091(2009) 02- 0176- 04

Nodule Growth, Nodulation and Nitrogen Fixation in Soybean(*Glycine max L.*) as Affected by Nitrogen Application

WANG Shu- qi, HAN Xiao- zeng, QIAO Yun- fa, YAN Jun, LI Xiao- hui

(Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology,
Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, China)

Abstract: In this paper, a pot experiment was conducted to study the effects of different nitrogen application on nodule growth, nodulation and nitrogen fixation in soybean(*Glycine max L.*). The results showed that nitrogen application affected nodule forming, growth and nitrogen fixation capacity significantly, nodule dry weight and nodule number showed a trend of increasing first and then declining, while nitrogenase activity and leghemoglobin concentration showed the trend of continuously declining. Proper N application improved nodule growth, however N deficiency or excessive N use restrained nodule growth. There was an order of $N_{100} > N_{200} > N_{50} > N_{25} > N_0$ for nodule dry weight and nodule number. At different growth stages, nodule dry weight showed a trend of increasing first and then declining from seedling stage to podding stage, and for nodule number was flowering stage $>$ seedling stage. N application significantly decreased nitrogenase activity and leghemoglobin concentration with N rates increasing, showed an order of $N_0 > N_{25} > N_{50} > N_{100} > N_{200}$, suggested that N application decreased the efficiency of nitrogen fixation. The difference analysis showed that there was a significant difference between N application(N_{25} , N_{50} , N_{100} and N_{200}) and no N(N_0) treatment. Therefore, from the view of the balance between N fertilization and nitrogen fixation, proper N application not only makes the best of nitrogen fixation function which economizing N fertilizer application but also obtaining higher output of soybean.

Key words: Nodule growth; Nitrogenase activity; Leghemoglobin concentration; N application; Soybean

收稿日期: 2008- 12- 25

基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2- YW- N- 002, KZCX2- YW- 407); 国家科技支撑计划项目(2006BAD21B01)

作者简介: 王树起(1968-), 男, 山东莱阳人, 副研究员, 博士后, 主要从事植物营养和土壤生态方面的研究。

通讯作者: 韩晓增(1957-), 男, 辽宁瓦房店人, 研究员, 硕士, 主要从事土壤生态方面的研究。

大豆有三种氮来源, 土壤、施肥和根瘤固定大气中的氮, 三者之间既相辅相成, 又相互制约, 共同为大豆提供生长发育所需要的氮素营养。大豆与根瘤菌的共生固氮作用所固定的氮素约占大豆一生需氮量的 50%~ 60%^[1]。然而, 土壤中的氮素是影响大豆共生固氮过程的又一重要因素, 豆科植物仅依靠共生固氮常难于达到高产目的, 一般仍需要配合施用少量化学氮肥。

大量试验研究表明, 根瘤的生长受外源氮素的影响很大, 过多的施用氮肥或在不适宜的阶段施用氮肥, 不仅降低大豆的共生固氮, 也达不到增产的效果。在苗期施用少量氮肥可加强植株光合作用, 促进根系生长, 为根瘤菌感染和结瘤创造较好条件。在籽粒形成后期追施少量氮肥有助于维持大豆营养生长和延长根瘤菌固氮作用, 促进籽粒形成。氮肥对根瘤形成及固氮作用的影响因土壤种类而不同^[2], 对固氮作用的影响主要表现在抑制根瘤的形成和生长, 而对已形成的根瘤的固氮过程抑制作用相对较小^[3]。不同形态的氮肥对豆科作物根瘤形成和固氮功能的影响不同, 宋海星等^[4]的研究表明, NH_4^+ -N 对根瘤固氮的抑制作用明显低于 NO_3^- -N。供给硝态氮时, 抑制根瘤中的固氮酶活性^[5], 同时, 固氮酶活性也受固氮产物的调控^[6]。一方面, NO_3^- 还原消耗光合产物, 导致向根瘤供应的光合产物减少^[7], 另一方面, 由于氮肥增加了叶片含氮量, 增强了叶中含氮化合物的代谢与合成, 从而减少了光合产物向根瘤的运输^[4]。Wall 等^[8]发现, 氮对结瘤的抑制作用依赖于供磷水平, 缺磷条件下, 供给作物较高的氮素根瘤固氮功能降低得最大。从上述研究可以发现, 氮对大豆结瘤固氮有较大的影响, 因此试验设置了不同的氮素水平研究其对大豆根瘤生长和结瘤固氮的影响, 为完善大豆的结瘤固氮理论和调控大豆合理施肥提供依据

1 材料和方法

1.1 试验设计

采用框栽试验(PVC 材料, 直径 @高为 30 cm @ 40 cm, 以 200 目尼龙网与土体隔开), 供试大豆品种为黑农 35, 设 5 个氮肥水平, 分别为 0, 25, 50, 100, 200 kg/hm² (以尿素计, 相当于 N 素 0, 12.5, 25, 50, 100 mg/kg), 同时施 P (KH₂PO₄) 30 mg/kg, K (KH₂PO₄) 30 mg/kg, 4 次重复, 共计 5 @4 @4= 80 微区, 随机排列。

1.2 取样时期

于 2007 年 5 月 1 日播种, 分别于苗期、花期、鼓

粒期、成熟期取样, 于 9 月 20 日收获测产。调查根瘤数, 然后, 将植株分成地上部、根和根瘤三部分, 每部分测定鲜质量, 在 105 e 杀青, 80 e 烘干至恒重, 测定各部分干质量, 粉碎备用。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 固氮酶活性测定 取回的大豆植株放入装有营养液的不透光瓶中, 密封。抽出瓶中空气体积 10% 的空气, 再注入相同体积的 C₂H₂, 反应 30 min 后取出反应气体, 用气相色谱测定生成 C₂H₄ 的量^[9]。

1.3.2 豆血红蛋白含量测定 取一定量的新鲜根瘤, 在 5 e 的磷酸缓冲溶液(0.1 mol/L, pH 6.8) 中研磨匀浆, 磷酸缓冲液的用量为根瘤体积的 4 倍左右。在 100 @g 5 e 下离心 15 min, 弃掉沉淀物, 上清液继续在 5 e 39 000 @g 下离心 20 min, 上清液在分光光度计下比色(540 nm)^[10]。

1.4 数据统计分析

采用 Excel 2003、SigmaPlot 2000 和 SPSS 14.0 软件对数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 施氮对大豆根瘤生长的影响

施氮对大豆根瘤生长有显著影响(图 1), 随着 N 用量的增加, 根瘤干质量先逐渐增加而后降低, 在 N100 kg/hm² 处理下根瘤干质量最大, 由于根瘤本身生长需要一定量的氮素营养, 因此, 施用一定量氮对大豆根瘤生长有促进作用, 但过多的氮素供应则抑制了大豆根瘤生长发育。由此可见, 外界高水平的氮对大豆根瘤生长具有抑制作用。方差分析结果表明, N0 与 N25、N50、N100 和 N200 处理间均存在显著差异(P < 5%), 但 N50 与 N200 间差异不显著。

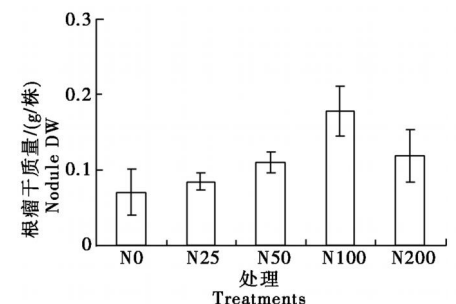


图 1 施氮对大豆根瘤干质量的影响

Fig. 1 Nodule dry weight under different N levels

2.2 根瘤数量的变化

不同氮处理对大豆根瘤数量有显著影响(图 2)。随着施氮量增加, 根瘤数量表现为先增加而后降低, 少量施氮即明显促进根瘤的生长, 表明施氮对大豆根瘤的形成有显著的促进作用, 因为根瘤的生

长发育需要外界提供一定的氮素营养,当氮素供应不足时则会抑制根瘤的生长发育,但当氮素供应过量时也会抑制根瘤的形成和发育。从不同时期大豆根瘤的形成情况来看,从苗期到花期再到鼓粒期,大豆根瘤的数量呈现出先明显增加后逐渐减少的趋势,高峰出现在花期。方差分析结果表明,施氮处理的根瘤数量显著高于不施氮处理(N0),各施氮处理间也有明显差异,最高值出现在 N100 kg/km² 处理,达到 5% 的差异显著水平。

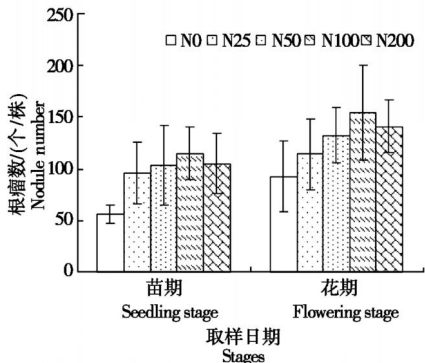


图2 施氮对大豆根瘤数量的影响

Fig. 2 Nodule number under different N levels

2.3 根瘤固氮酶活性

2.3.1 总固氮酶活性 不同氮处理对大豆根瘤固氮酶活性有显著影响(图3)。从总固氮酶活性来看,随施氮水平的增加,总固氮酶活性显著降低,表明施氮显著抑制了大豆根瘤固氮酶活性,从而使大豆根瘤的固氮效率显著降低,因此,从大豆固氮效率来讲,施氮对大豆根瘤固氮具有抑制作用。方差分析结果表明,施氮和不施氮处理间均达到了 5% 的差异显著水平,表现为 N0 > N25 > N50 > N100 > N200,在高氮(N200)处理下,大豆根瘤的固氮酶活性几乎为 0,表明过量施氮显著抑制了对大豆根瘤固氮作用。因此从大豆固氮和氮肥施用平衡的角度来看,应适量施用氮肥,既可以充分利用大豆的固氮功能,节约氮肥,又可以获得较高的产量。

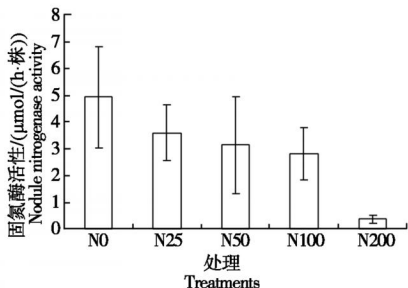


图3 施氮对大豆根瘤总固氮酶活性的影响

Fig. 3 Total nitrogenase activity under different N levels

2.3.2 固氮酶活性的动态变化 从大豆固氮酶活性的变化来看(图4),随着反应时间的延长,各处理间固氮酶活性差异有增大的趋势,C₂H₂还原量随着

反应时间的延长而各处理间差异增大,表明施氮量越大,对固氮酶活性的抑制作用越强。

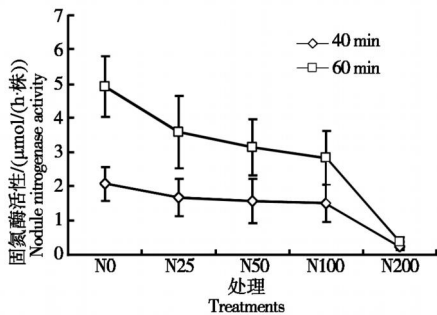


图4 施氮对大豆固氮酶活性动态变化的影响

Fig. 4 Dynamics of nitrogenase activity under different N levels

2.4 豆血红蛋白含量

大豆苗期和花期根瘤的豆血红蛋白含量测定结果见图5,测定结果表明,从苗期到花期,大豆根瘤豆血红蛋白含量随施氮量的增加而降低,说明施氮降低了大豆根瘤中豆血红蛋白的含量,使大豆根瘤的固氮效率降低,固氮量减少,因此,单纯从大豆的固氮效率来讲,氮肥的施用对大豆根瘤的固氮效率有抑制作用。从苗期到花期,豆血红蛋白含量呈增加趋势,表明随着大豆的生长发育,根瘤的固氮效率提高,固氮量增加。方差分析结果表明,不施氮(N0)与施氮(N25, N50, N100 和 N200)处理间,均达到了 5% 的差异显著水平。

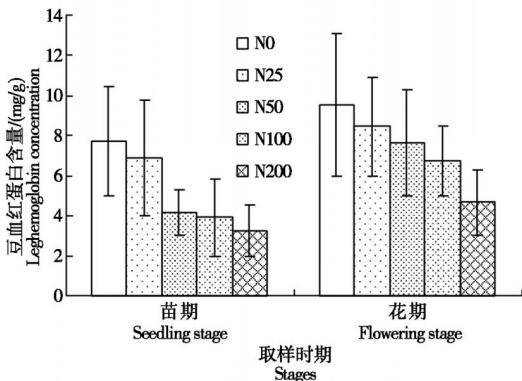


图5 施氮对大豆豆血红蛋白含量的影响

Fig. 5 Leghemoglobin concentration under different N levels

3 讨论与结论

3.1 施氮对根瘤生长的影响

本试验条件下,适量施氮促进了大豆根瘤生长,随施氮量的增加,根瘤生物量逐渐增加,但过量施氮则抑制了大豆根瘤生长。甘银波等^[1]研究了不同阶段施用氮肥对大豆结瘤、生长及产量的影响。每公顷仅施 25 kg 的启动氮,两个大豆品种虽获得较高的根瘤干质量,但仅靠其自身固氮功能,不能满足

大豆生长及丰产的要求。在大豆开花期(R_1)或种子形成始期(R_5), 每公顷再追施 50 kg 氮肥, 两个大豆品种都获得了最高的干物质重和产量。在播种前或开花前期, 施用过多的氮肥, 严重抑制了两个大豆品种根瘤的生长, 降低了其自身的生物固氮功能, 而且对大豆产量也无显著的促进作用。

3.2 施氮对大豆根瘤形成和固氮能力的影响

由于根瘤本身具备了固氮能力, 施用氮素化肥对根瘤固氮有明显的抑制作用, 表现为随施氮量的增加, 根瘤数量、根瘤固氮酶活性和豆血红蛋白含量均显著降低, 其抑制程度和时间与施肥量呈正相关, 施肥量越大, 抑制越重, 时间越长。另外, 氮肥的施用时间不同, 对根瘤的抑制程度亦不同, 生长前期施氮抑制较重, 后期较轻。对于形成根瘤的豆科植物, 含氮化合物会影响根瘤菌对寄主的侵染、根瘤的发育和固氮能力^[12]。然而, 低浓度氮能促进植物生长和提高单株植物结瘤数, 因此, 豆科植物在施氮时虽不能按其他作物一样施肥, 但也需要小剂量的氮素作/ 起爆氮 O , 比如落花生 (*Arachis hypogaea*) 的氮素启动剂量大约为 $N\ 43\ kg/hm^{2[13]}$ 。氮肥的形态不同对根瘤固氮的影响亦不同, 一般认为, 硝态氮使宿主根毛形成受阻遏或弯曲, $NO_3^- - N$ 的还原消耗减少了光合产物向根瘤的运输, 延迟了根瘤的形成和增大, 从而进一步抑制固氮酶的活性和根瘤固氮^[14, 15]。铵态氮对固氮的抑制作用, 主要是直接影响固氮酶活性或限制固氮酶的合成, 在高离子浓度下会导致植物中毒, 不能形成根瘤, 有人认为, 固氮酶和硝酸还原酶具有相同的含钼辅因子, 这两种酶的相互关系在于对这种共同含钼辅因子的竞争, 因此, 钼的存在能消除硝酸盐对固氮酶的抑制作用, 提高根瘤固氮能力。甘银波等^[11]研究表明, 氮肥的施用时间对大豆氮吸收、根瘤干质量及固氮具有重要影响。仅施 $25\ kg/hm^2$ 的启动氮, 两个大豆品种都获得了最高的根瘤干质量和固氮率。在开花期或种子形成初期, 再追施 $50\ kg/hm^2$ 氮, 两个大豆品种都获得了最高的氮吸收总量和固氮总量, 大豆的根瘤干质量与固氮率呈线型正相关。丁洪等^[16]研究了生育期和蛋白质含量不同的 6 个夏大豆品种, 在磷钾肥基础上施用 3 个氮肥水平氮 $0, 6, 12\ kg/667m^2$ 。结果表明: 施氮抑制结瘤, 氮肥越多抑制越严重; 抑制作用主要在盛花期前, 至鼓粒期有的品种受抑制作用较小; 对固氮的抑制在不同品种间存在明显差异, 品种豫豆 8 号表现出较耐氮, 酰脲相对丰度与根瘤干质量极显著正相关, 六叶期、盛花期和鼓粒期两者的相关系数分别为 $r_a = 0.954\ 5, r_b = 0.802\ 5, r_c =$

$0.653, P < 0.01$ 。酰脲的相对丰度反映了品种的固氮差异和不同氮肥水平下固氮的变化。

根瘤的生长受外源氮素的影响很大, 过多的施用氮肥, 不仅降低大豆的共生固氮, 也达不到增产的效果。施氮对根瘤固氮有明显的抑制作用, 表现为随施氮量的增加, 根瘤数量、根瘤固氮酶活性和豆血红蛋白含量均显著降低, 其抑制程度和时间与施肥量呈正相关, 施肥量越大, 抑制越重, 时间越长。

参考文献:

- [1] Ohwaki Y, Sugahara P. Active extrusion of protons and exudation of carboxylic acids in response to iron deficiency by roots of chickpea (*Cicer arietinum* L.) [J]. Plant Soil, 1997, 189: 49- 55.
- [2] 桑原真人. N 多收条件 H 室素代谢 [J]. 农业园艺, 1986, 61(5): 590- 598.
- [3] 藤田耕之辅. K h l k 室素 N 固定、吸收、转流 K 对 9 k 化合室素 N 影响 [J]. 土壤肥科学杂志, 1982, 53(1): 30- 34.
- [4] 宋海星, 王 萍, 申斯乐, 等. 大豆共生固氮与叶片全氮含量之间关系的研究 [J]. 吉林农业科学, 2000, 25(6): 9- 11.
- [5] Streeter J. Inhibition of legume nodule formation and N_2 fixation by nitrate [J]. CRC Crit Rev Plant Sci, 1988, 7: 1- 23.
- [6] Kennedy I R. Primary products of symbiotic nitrogen fixation I. Short-term exposures of serratella nodules to $^{15}N_2$ [J]. Biochim Biophys Acta, 1966, 130: 285- 294.
- [7] 藤田耕之辅. * h S Ì Ó N 生育 r Ê S K 室素 N 固定 K 对 9 k 化合态室素 c 碳酸力 N 影响 [J]. 土壤肥科学杂志, 1986, 57(1): 3- 12.
- [8] Wall L G, Helsten A, Huss - Danell K. Nitrogen, phosphorus, and the ratio between them affect nodulation in *Alnus incana* and *Trifolium pratense* [J]. Symbiosis, 2000, 29: 91- 105.
- [9] Tang C, Hinsinger P J, Drevo J, et al. Phosphorus deficiency impairs early nodule functioning and enhances proton release in Roots of *Medicago truncatula* L. [J]. Annals of Botany, 2001, 88: 131- 138.
- [10] 左元梅, 刘永秀, 张福锁. 与玉米混作改善花生铁营养对其根瘤形态结构及豆血红蛋白含量的影响 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2003, 29(1): 33- 38.
- [11] 甘银波, 陈 静. 大豆不同生长阶段施用氮肥对生长、结瘤及产量的影响 [J]. 大豆科学, 1998, 17(4): 45- 49.
- [12] Eagisham A R J. Aerial stem nodules on *Aeschynomene* spp [J]. Plant Sci., 1983, 29: 265- 273.
- [13] Mukhtar N O, Badreidin A M. NPK fertilization of groundnuts (*Arachis hypogaea* L.) under irrigated environment [J]. Sudan J Agri Res, 1998, 1(1): 21- 26.
- [14] 解惠光. 日本大豆氮素营养与施肥研究最新进展 [J]. 大豆科学, 1990, 9(2): 163- 167.
- [15] 张学江. 农业生态系统中的共生固氮研究 [J]. 土壤学进展, 1990, 18(5): 1- 8, 14.
- [16] 丁 洪, 郭庆元. 氮肥对大豆不同类型品种结瘤固氮影响的差异性研究 [J]. 大豆科学, 1994, 13(3): 274- 278.