

田菁 [*Sesbania canabina* (Retz.) Pers.]

结瘤固氮的研究

I. 化合态氮的抑制作用与提高磷钾水平的效应*

卢仁骏 袁永生 钟锡磷
(土化系) (植保系) (土化系)

提 要

$\text{NH}_4\text{-N}$ 可明显抑制田菁根瘤的形成和每株根瘤重量。在一定浓度下每株根瘤重的降低,主要是由于根瘤形成数量减少。30ppm $\text{NH}_4\text{-N}$ 已可使抑制达到严重程度。此外, $\text{NH}_4\text{-N}$ 对田菁根瘤的发育也有抑制作用,不过程度较轻。化合态氮的抑制作用与浓度密切相关。即使开始时浓度较高,在植物吸收后浓度降低,抑制作用也可随之消除。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 可明显抑制田菁根瘤的固氮酶活性。在本试验条件下,浓度越高抑制作用越强,至70ppm时,已检不出乙烯的生成。

化合态氮明显地增加田菁植株的生长量,在有一定量的磷、钾和其他营养存在的条件下,其施用量越多植株干重越重。但如果较稳定地维持在一定浓度,则 $\text{NH}_4\text{-N}$ 10ppm即已满足要求,浓度继续增加,田菁植株的生长并不一定会明显增长。

磷、钾供应在达到一定水平之后,再增加其供应量,对田菁的生长、根瘤的形成和发育都没有明显的促进作用。在无氮情况下,K从2mM提高至20mM对田菁根瘤干重有抑制,在供氮情况下,则有促进作用,氮与钾有极显著的正交互作用。

氮肥对豆科植物的根瘤形成、根瘤发育和根瘤固氮酶活性的影响意见不一。许多研究者认为豆科植物施用化合态氮肥会减少根瘤的形成,降低根瘤的固氮作用,使固氮酶活性下降^{[5][11][12][13][15]}。Dilworth^[9]认为化合态氮会降低根瘤的豆血红蛋白含量。Sprent^[14]还认为化合态氮会加速根瘤的衰老。Weber^[16]的试验结果表明,随着氮肥施用量增加,大豆的根瘤数、根瘤重、根瘤大小、根瘤质量都会降低。但是化合态氮对豆科植物的影响程度决定于许多因素,包括浓度、化合态氮的形态、施用时期以及豆科植物种类和所用的根瘤菌菌株等^[10]。有时少量无机氮肥会刺激幼苗生长和根瘤形成^{[3][10]}。有些根瘤菌菌株在土壤含氮量相当高的情况下也可以形成根瘤和固定大气氮^[3]。豆科是喜磷植物,对钾需要量也多。DeMooy^[8]等指出,大豆根瘤数、根瘤重和根瘤豆血红蛋白含量对磷肥的施用有高度的效应,最大的结瘤数量要求施用很大

*本文承林孔勳副教授审阅指导,特此致谢。

量的磷肥和钾肥,最大的根瘤固氮酶活性需要磷的水平更高。Collin等^[7]也指出施钾增加苜蓿每株根瘤数,提高碳交换速率,促进碳水化合物从地上部向根瘤运输,所以提高了苜蓿的固氮作用。然而在施用化合态氮的情况下,增施磷钾肥其效果如何则很少见有文献报道。

为了了解化合态氮对田菁 [*Sesbania cannabina* (Retz) Pers] 的生长、结瘤固氮的影响,我们于1980—1982进行水培试验,了解不同浓度化合态氮对该种豆科植物根瘤形成、发育和固氮活性的影响,并探讨磷钾营养水平在消除化合态氮的不良影响方面所起的作用。

材料与 方法

水培试验在玻璃网室进行,先后四次。培养剂成分如下(克/升):尿素0.15(2.5mM, N 70ppm), $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.069, Na_2HPO_4 0.071 (P 1 mM), KCl 0.149 (K 2 mM), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.06, $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.025, $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.344, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.22×10^{-3} , $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2.23×10^{-3} , $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.126×10^{-3} , $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.078×10^{-3} , $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ 4.4×10^{-3} 按处理需要变动其中的营养水平。

试验 I: 设 $\text{N}_0\text{P}_1\text{K}_1$, $\text{N}_0\text{P}_2\text{K}_1$, $\text{N}_0\text{P}_1\text{K}_2$, $\text{N}_0\text{P}_2\text{K}_2$, $\text{N}_1\text{P}_1\text{K}_1$, $\text{N}_1\text{P}_2\text{K}_1$, $\text{N}_1\text{P}_1\text{K}_2$, $\text{N}_1\text{P}_2\text{K}_2$, $\text{N}_2\text{P}_1\text{K}_1$, $\text{N}_2\text{P}_2\text{K}_1$, $\text{N}_2\text{P}_1\text{K}_2$, $\text{N}_2\text{P}_2\text{K}_2$ 12个处理,重复4次。 N_0 为不加化合态氮(下同), N_1 为2.5mM, N_2 为10mM, P_1 为1mM, P_2 为6mM, K_1 为2mM, K_2 为12mM。

试验 II: 设 N_0K_1 , N_0K_2 , N_1K_1 , N_1K_2 , N_2K_1 , N_2K_2 6处理,重复6次。 N_1 为2.5mM, N_2 为5mM, K_1 为2mM, K_2 为20mM。

试验 III: 设 N_0P_1 , N_0P_2 , N_0P_3 , N_1P_1 , N_1P_2 , N_1P_3 6处理,重复5次, N_1 为2.5mM, P_1 为0.5mM, P_2 为1mM, P_3 为5mM。试验 IV 为不同 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度试验,设 N_0 , N_1 0ppm, N_3 0ppm, N_7 0ppm 处理,重复9次。试验 I, II, III 容器为1000毫升广口瓶,按试验方案配好培养剂后,营养一次过供应,以后用自来水补充水分。试验 IV 用500毫升广口瓶,培养剂经常更换(播种后10天内隔二天,10天后隔一天更换一次)以维持较稳定的营养浓度。

瓶子包以里面涂黑的白纸,以防止藻类生长。

试验 I, II 为移植无瘤田菁苗,试验 III, IV 是直接播种。移植用的苗或播种用的种子均以田菁鲜根瘤榨出液和田菁根瘤菌斜面纯种进行接种。

根瘤固氮酶活性用乙炔还原法测定。将每株地下部连根带瘤剪下,装入150毫升三角瓶中,用反口胶塞密封,抽出15毫升空气,注入15毫升乙炔,于30°C温箱中培养1小时,取气样在100型气相层析仪上测定乙炔和乙烯。仪器工作条件:柱温80°C,检测室80°C,气化室80°C,出口100°C,空气流量400毫升/分,氮气流量30毫升/分,氢气流量35毫升/分。乙烯定量按面积归一化法计算^[4]。

试验结果

(一) 不同铵态氮浓度对田菁根瘤形成的影响

播种以后，水培条件下的田菁根瘤逐渐形成，不同 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度下田菁根瘤数目的变化如图1。

不供氮处理，田菁根瘤形成得早，数量增长快，根瘤颜色粉红，而供应化合态氮的田菁，根瘤出现迟，数量增长慢。 $\text{NH}_4\text{-N}10\text{ppm}$ 就可使根瘤出现时间推迟4~5天，30ppm以上根瘤出现更迟，数量几乎没有什么增加，浓度在70ppm则收获时约有80%的植株不形成根瘤（9株中有7株无瘤）。

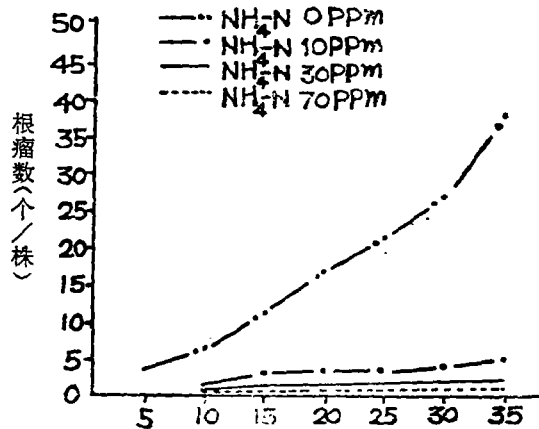


图1 不同浓度 $\text{NH}_4\text{-N}$ 对田结瘤的影响

(二) 铵态氮对田菁生长及对结瘤固氮的抑制作用

无氮处理的每株田菁根瘤数、根瘤干重、根瘤固氮酶活性显著地优于各 $\text{NH}_4\text{-N}$ 处理，差异均达极显著水平。各供氮处理中，30ppm $\text{NH}_4\text{-N}$ 已严重抑制结瘤固氮作用。单个根瘤干重则以 $\text{NH}_4\text{-N}10\text{ppm}$ 最高，30ppm其次。对于田菁的生长量则供氮处理的显著大于无氮处理，但 $\text{NH}_4\text{-N}10\text{ppm}$ 以上已无明显差异（表1）。

(三) 氮、磷、钾营养对田菁生长与结瘤固氮的作用

在播种或移植时一次过供应化合态氮，经过田菁生长30~52天收获，化合态氮对根

表1 不同 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度对田菁生长、结瘤固氮的影响*

| $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度 (ppm) | 植株干重 (克/株) | 根/冠 | 根瘤数*** (个/株) | 根瘤干重 (毫克/株) | 单个根瘤重 (毫克/个) | 根瘤固氮酶**活性 (C_2H_4 $\mu\text{M}/\text{株}\cdot\text{分}$) |
|---------------------------------|------------|------|--------------|-------------|--------------|--|
| 0 | 0.3866 | 0.50 | 39.11(6.20) | 37.52 | 0.96 | 0.0456 |
| 10 | 0.8672 | 0.40 | 4.22(2.05) | 16.22 | 3.85 | 0.0146 |
| 30 | 0.7951 | 0.44 | 1.22(1.10) | 2.76 | 2.26 | 0.0025 |
| 70 | 0.8024 | 0.42 | 0.55(0.74) | 0.23 | 0.42 | 未检出 |
| LSD P0.05 | 0.2144 | | 0.87 | 6.85 | | 0.0093 |
| P0.01 | 0.2880 | | 1.16 | 9.24 | | 0.0128 |

*播种后36天收获

**6重复平均值，其他为9重复平均值

***括号内为 \sqrt{x} 转换后数字，供作显著性比较

表 2 氮、磷、钾营养对田菁生长、结瘤和根瘤固氮作用的影响

| 试验 | 处 理 | 植株干重 (克/瓶) | 根瘤干重 (毫克/瓶) | 根瘤数 (个/瓶) | 根 瘤 固 氮 酶 活 性 | | L S D | 备 注 |
|-------------|-------------|---------------|----------------|--------------|------------------------------------|--------------------------------------|--|--|
| | | | | | 总 活 性 ($C_2H_4\mu M/株\cdot分$) | 比 活 性 ($C_2H_4\mu M/克干瘤\cdot分$) | | |
| I | N_0K_1 | 1.63 | 138.5 | 77.8 | 0.0715 | 0.5163 | 植株干重, P0.05 0.72 P0.01 1.00 根瘤干重, P0.05 38.0 P0.01 52.7 其余各项F检验不显著 | 移植后35天收 获 表列数字为6 次重复平均 |
| | N_0K_2 | 1.12 | 82.1 | 70.8 | 0.0395 | 0.4933 | | |
| | N_1K_1 | 3.58 | 174.2 | 78.5 | 0.0677 | 0.3938 | | |
| | N_1K_2 | 3.12 | 218.2 | 45.8 | 0.0687 | 0.3268 | | |
| | N_2K_1 | 4.29 | 163.1 | 101.3 | 0.0592 | 0.3658 | | |
| | N_2K_2 | 4.40 | 174.7 | 58.8 | 0.0780 | 0.4645 | | |
| | II | N_0P_1 | 0.61 | 36.4 | 31.1 | 0.0193 | | |
| N_0P_2 | | 0.87 | 57.0 | 41.4 | 0.0322 | | | |
| N_0P_3 | | 0.51 | 34.0 | 42.4 | 0.0120 | | | |
| N_1P_1 | | 2.24 | 97.6 | 21.2 | 0.0471 | | | |
| N_1P_2 | | 1.78 | 96.2 | 22.4 | 0.0506 | | | |
| N_1P_3 | | 2.36 | 93.0 | 59.0 | 0.0692 | | | |
| I | | $N_0P_1K_1$ | 0.74 | 53.8 | 49.8 | | | 植株干重, P0.05 0.79 P0.01 1.06 根瘤干重, P0.05 56.3 P0.01 75.6 其余各项F检验不 显著 |
| | $N_0P_1K_2$ | 0.96 | 74.4 | 64.3 | | | | |
| | $N_0P_2K_1$ | 0.95 | 63.4 | 44.8 | | | | |
| | $N_0P_2K_2$ | 0.84 | 50.2 | 48.5 | | | | |
| | $N_1P_1K_1$ | 2.88 | 131.5 | 55.8 | | | | |
| | $N_1P_1K_2$ | 2.44 | 109.5 | 44.3 | | | | |
| | $N_1P_2K_1$ | 2.74 | 108.8 | 61.0 | | | | |
| | $N_1P_2K_2$ | 2.49 | 88.5 | 61.0 | | | | |
| | $N_2P_1K_1$ | 3.29 | 37.8 | 70.0 | | | | |
| | $N_2P_1K_2$ | 3.55 | 40.5 | 52.3 | | | | |
| $N_2P_2K_1$ | 3.28 | 15.6 | 45.3 | | | | | |
| $N_2P_2K_2$ | 3.17 | 19.9 | 40.8 | | | | | |

瘤数、根瘤固氮酶活性都无明显影响, 根瘤干重均以 N_1 (尿素2.5mM) 最重, 试验II N_1 与无氮比较可达显著至极显著水平(表2)。尿素对结瘤的抑制是明显的, 试验II 移植后16天, 收获2个重复调查, 每瓶根瘤干重无氮处理是17.1—19.8毫克, 供氮处理只有0.6—3.2毫克, 相差很远。

试验I、II、III的统计分析表明, 对于根瘤数和根瘤重, P和K的作用、N P之间、P K之间的交互作用都达不到显著水准($F < 0.05$)。试验II把K由2 mM提高到20mM, 在无氮情况下根瘤干重从每瓶138.5毫克下降至82.1毫克, 在 N_1 处理中则由每瓶174.2毫克增加至218.1毫克(表2), 经统计分析氮钾之间交互作用达极显著水准($F < 0.01$)。

田菁生长主要受化合态氮的影响, 氮水平越高, 田菁植株干重越重。氮水平之间的平均效应均达极显著水准。至于提高磷和钾的水平没有见到对植株生长的良好作用, 氮磷钾之间也不存在交互作用(表2)。

讨 论

(一) 化合态氮对于田菁的结瘤固氮有明显的抑制作用, 在更换溶液培养中, 10 ppm NH_4-N 已产生明显的抑制, 30ppm抑制很严重, 这与Bread等^[5]Harpar等^[11]Webber^[16]用大豆所做的试验结果一致。Raggio^[9]提出, 16ppm硝态氮、亚硝态氮、铵盐和尿素都能使根瘤数目增加, 但本试验表明, NH_4-N 10ppm已使用田菁的结瘤数目显著减少, 这可能是由于作物种类和环境条件不同所致。从试验IV单个根瘤干重的结果说明(表1), NH_4-N 10ppm, 30ppm对根瘤发育没有不良影响, 70ppm则有抑制作用, 表明较高浓度 NH_4-N 对田菁根瘤发育也有影响, 但由此也可说明, NH_4-N 降低根瘤至重主要是由于抑制根瘤形成。化合态氮之所以会抑制根瘤的形成, Bargersen^[6]认为与靠近侵入部位的植物生长素形成受抑制有关, 而Munns^[10]则认为这是由于抑制侵入线的形成和扰乱侵入线的生长, 使它不能到达根的皮肤。田菁是热带豆科植物, 化合态氮抑制作用的机理, 有待于进一步研究。

表1的结果说明, 如果维持较稳定的 NH_4-N 浓度, 则较低浓度(10ppm)就已产生抑制作用, 而表2的结果又说明, 即使开始供应化合态氮浓度较高(尿素2.5mM)经过30~52天收获, 不仅化合态氮对根瘤数、固氮酶活性没有抑制, 而对根瘤重还有促进作用。显然, 化合态氮的抑制作用是在一定浓度下产生的, 随着植物吸收浓度下降, 则抑制作用可以消除, 而且由于氮素对田菁生长的良好作用, 一旦抑制作用消除之后, 则充足的光合作用产物供应反而对根瘤的形成与发育有利。因此瘦瘠土壤栽培豆科植物, 前期施用氮肥, 开始即使产生一些抑制作用, 到后来则会转化为起促进作用。

(二) 从本试验结果来看, 当磷、钾在培养液中达到一定浓度以后(P 0.5—1 mM, K 2 mM), 再增加磷、钾的用量对田菁的结瘤固氮和干物产量都不起什么作用(表2)。这与deMooy等^[8], Collins等^[7]的结果并不矛盾, 因为他们是土培试验的结果, 磷肥和钾肥在土壤中都会受到固定, 因此在土壤溶液中的浓度不会很高。不过由此可以说明, 豆科植物对磷、钾营养的要求, 达到一定水平即可满足, 故磷、钾肥的施用

应该根据土壤的供应能力而有所区别。王连铮等^[1]大豆试验也说明不是施磷越多越高产。至于在施氮的基础上提高磷钾营养的作用,从本试验结果看,提高磷营养水平对消除化合态氮的不良影响没有什么作用,氮与钾对于根瘤重有明显的正交互作用,这是值得注意的。

(三)田菁是豆科绿肥作物,主要收获物是鲜茎叶,化合态氮的供应对产量的影响很大(表2),但只要能够维持一定的浓度,就可满足要求,浓度再提高,产量也没有明显增加(表1)。若田菁种植于肥沃的土壤上,有一定浓度有效氮,则可不必要再施氮肥。若土壤瘦瘠,有效氮很低,则施一些氮肥对提高田菁的绿肥产量有明显好处,对其共生固氮也不会有很大妨碍。据华南农学院农化教研组试验^[2],每公斤砂施用尿素0.15克,田菁氮素增加比不施氮的多。

参 考 文 献

- [1] 王连铮等,大豆的氮磷营养试验报告《中国农业科学》,(1)1980:61—69.
- [2] 华南农学院(广东农林学院)农化组,供氮水平对淹水田菁固氮的影响,《广东农业科学》,(4)1977:40—42.
- [3] 陈华葵编,《豆类——根瘤菌的共生关系及其农业利用》,上海市科学技术编译馆,162,188,1965年.
- [4] 罗贤安、涂安千,生物固氮研究中乙炔还原法的应用,《微生物学通报》,6(2)1979:37—40.
- [5] Beard, B. H., Hoover, R. M. 1971 Effect of nitrogen on nodulation and yield of irrigated soybeans. *Agron. J.* 63 (5) :815-816.
- [6] Bergersen, F. J. 1977 Factors controlling nitrogen fixation by Rhizobia. In: Ayanaba, A., Dart, P. J. (eds) *Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics*, 158 John Wiley & Sons.
- [7] Collins, M., Duke, S. H. 1981 Influence of potassium fertilization rate and form on Photosynthesis and N₂ fixation of Alfalfa. *Crop Sci.* 21 (4) :481-485
- [8] de Mooy, C. J., Pesek, J. 1966 Nodulation responses of soybeans to added phosphorus, potassium, and calcium salts. *Agron. J.* 58 :275-280.
- [9] Dtlworth, M. J. 1980 Host and rhizobium contributions to the physiology of legume nodules. In: Newton, W. E., Orme-Johnson, W. H. (eds) *Nitrogen fixation V. II. Symbiotic associations and cyanobacteria* 5 Baltimoss. Uni. Park Press.
- [10] Edwards, D. G. 1977 Nutritional factors limiting nitrogen fixed by Rhizobium. In: Ayanaba, A., Dart, P. J. (eds) *Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics*, 192-194 John Wiley & Sons.
- [11] Harper, J. E., Cooper, R. L. 1971 Nodulation response of soybeans (*Glycine max* L. Merr.) to application rate and placement of combined nitrogen. *Crop Sci.* 11 (3) 438-440.

- [12] Kang, B. T., et al. 1977 Effects of fertilizen use on cowpea and soybean nodulation and nitrogen fixation in the lowland tropics. In : Ayanaba, A., Dart, P. J. (eds) Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics, 205-216 John wiley & Sons.
- [13] Lyons, J. G., Earley, E. D. 1952 The effect of ammonium nitrate applications to field soils on nodulation, seed yield, and nitrogen and oil content of the seed of soybeans. Soil Sci. Amer. Proc. 16 (3) : 259-263.
- [14] Sprent, J. I. 1979 The biology of nitrogen-fixing organisms, 83, 91-93 London McGraw-Hill book Co (UK) L.
- [15] Thornton, G. D. 1964 Greenhouse studies of nitrogen fertilization of soybeans and leneeza using isotopic nitrogen. Soil Sci. Soc. Amer. Proc. 11 : 249-251.
- [16] Weber, C. R. 1966 Nodulating and nonodulating soybean isolines II. Response to applied nitrogen and modified soil conditions. Agron. J. 58 (1) : 46-49.

A STUDY ON THE NODULATION AND NITROGEN FIXATION
OF *SESBANIA CANNABINA* (RETZ.) PERS.
(A LEGUMINOUS PLANT)

I. Inhibiting Effect of Combined Nitrogen and the Effect of
Increasing P, K Levels

Lu Renjun

Yuan Yongsheng

(Department of Soil and Agrochemistry)

(Department of Plant Protection)

Zhong Xilin

(Department of soil and Agrochemistry)

ABSTRACT

The results obtained from water culture experiments were as follows:

1. Nodulation and total dry weight of nodules per plant of leguminous Plant *Sesbanis cannabina*(Retz.)Pers. in water culture were both remarkably inhibited by the combined nitrogen. NH_4-N . A constant concentration of 30ppm combined nitrogen or a higher concentration was required to maintain such an inhibition. The number of nodules per plant but not the dry weight of each nodule decreased significantly at $P=0.05$. Thus showed that the combined nitrogen could exert an inhibiting effect on the nodulation of legumes only. This inhibiting effect was due chiefly to the concentration of combined nitrogen. Although the concentration of combined nitrogen applied to the nutrient solution was rather

high at the beginning of the experiment, it became lower gradually as a result of the uptake of nutrients by the plant. Thus the inhibiting effect was greatly reduced then. Furthermore, plants in a nutrient solution containing 2.5mM of urea, grew much better and the total dry weight of nodules per plant was significantly higher than that of the nodules in the solution without urea ($P < 0.001$).

2. The activity of nodule nitrogenase of *Sesbania cannabina* in water culture was apparently affected by the combined nitrogen. $\text{NH}_4\text{-N}$ at concentration of 30ppm was shown to have a remarkable effect on the activity of nodule nitrogenase. However, in our present experiment at a high concentration of 70ppm of $\text{NH}_4\text{-N}$ no nodule nitrogenase activity could be detected by using ARM.

3. In case other nutrient elements were available, rate of plant growth might increase when suitable amounts of urea was applied. But if the combined nitrogen concentration was kept stable, $\text{NH}_4\text{-N}$ at 10ppm concentration was found to be high enough for normal plant growth.

4. In our experiment, no promotion of plant growth, no increase of nodulation and total dry weight of nodules and also no nodule nitrogenase activity were observed by increase of phosphorous and potassium levels in the nutrient solution at concentrations ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{HPO}_4$ 0.5 or 1mM, KCl 2mM). However, in another N, K di-factor experiment, without urea, when the concentration of KCl was increased from 2mM to 20 mM, the total dry weight of nodules per plant was decreased from 138.5 to 82.1mg. But when the nutrient solution with 2.5mM urea added, the total dry weight of nodules would increase from 174.2 to 218.2mg. Thus nitrogen and potassium were shown to have a very prominent interaction ($p < 0.01$) to each other.