氮肥和水分条件对长喙田菁生长、 结瘤和固氮的影响

袁剑刚 杨中艺*

(中山大学草业与绿地技术研究中心//生物防治国家重点实验室, 广州 510275)

摘要 盆栽试验研究了长喙田菁 (*Sesbania rostrata*)-茎瘤固氮根瘤菌 (*Azorhizobium caulinodans*) 共生体系在不同水分和无机氮肥条件下的生长、结瘤和氮积累。水分处理为: 不浸水、浅浸水(土壤水分为田间持水量)和深浸水, 氮肥处理分别为每千克土施加无机氮肥 10 mg、20 mg 和 40 mg。结果表明, 水分条件对共生体系有较大影响, 浸水环境虽然抑制了根瘤的形成, 却促进了茎瘤的结瘤作用和长喙田菁根系的生长, 田间持水量状态下共生体系能获得最大的生物量和氮累积量; 无机氮肥对共生体系的影响受水分供应的影响较大, 实验氮肥施用浓度范围内, 长喙田菁的结瘤作用对复合态氮无负敏感反应, 明显有别于一般根瘤体系的复合态氮反应。

关键词 长喙田菁 茎瘤固氮根瘤菌 水分 氮肥条件 茎瘤 固氮

EFFECTS OF N FERTILIZER AND WATER CONDITION ON GROWTH, NODULATION AND N-FIXATION OF *SESBANIA ROSTRATA*- *AZORHIZOBIUM CAULINODANS* SYMBIOSIS

YUAN Jian-Gang and YANG Zhong-Yi*

(Grassland and Greenland Research Center of Zhongshan University/State Key Laboratory for Biological Control,
Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract In order to evaluate the growth, nodulation and N-fixation of *Sesbania rostrata*-*Azorhizobium caulinodans* symbiosis on different water and N fertilizer conditions, a greenhouse experiment in Guangzhou was conducted in Summer. Pots were filled with 1 kg homogenized, dried loam red soil. NH_4NO_3 was applied to obtain concentrations of 10, 20, 40 mg $\text{N} \cdot \text{kg}^{-1}$ in the soil. According to water supply to the experimental soil, the pots were divided into three groups as below: W_1 - no waterlogging, W_2 - shallowly waterlogged (soil water in field capacity) and W_3 - flooded. The results showed that the growth and nodulation of the symbiosis were greatly influenced by water supply. Though flooding depressed root nodulation, it, however, stimulated stem nodulation and roots growth. *S. rostrata* grew and nodulated best, and got the maximum N accumulation under the condition of field water capacity. The effect of mineral N on the symbiosis was affected by water supply. In the range of the applied N concentrations in the experiment, both nodulation and N accumulation showed no negative reaction to mineral N, such a result implied that *S. rostrata*-*A. caulinodans* symbiosis was quite different to ordinary leguminous root nodule N-fixation symbiosis in the aspect of mineral N reaction.

Key words *Sesbania rostrata*, *Azorhizobium caulinodans*, Water supply, N fertilizer, Stem nodule, N-fixation

长喙田菁 (*Sesbania rostrata*) 是一种源自西非的热带豆科植物, 被茎瘤固氮根瘤菌 (*Azorhizobium caulinodans*) 感染, 既可形成根瘤, 又可形成茎瘤。长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌可能是目前已知固氮效率最高的生物固氮体系 (Pareek *et al.*, 1990), 我国热带地区生长试验表明 (杨中艺等, 1998), 65 d 生长喙田菁的氮累积量达 $681 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$, 而其生物固氮量在植物总氮积累中所占比重高达 85.6% (袁剑刚等, 2001b)。由于其极速生、高固氮特性, 长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生体系具有极高的水稻氮源潜力

(Ladha *et al.*, 1990; 袁剑刚等, 2001a)。

水是植物生存的必要条件, 但多数植物受淹后生长受影响, 表现为根系相对集中, 根冠比变小。根瘤固氮对水分要求相当严格, 既怕干、又怕淹, 过多的水分对于根瘤固氮尤其具有致命的作用, 往往根瘤表面薄薄的一层水膜, 便可使固氮作用减低至零 (刘昌沛, 1987)。因此, 一般豆科根瘤共生体系在潮湿环境中常常表现出较差的生长、结瘤和固氮。与一般豆科根瘤体系不同, 长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生体系对潮湿环境具极好耐性, 能在淹水条件

下良好生长并保持固氮活性(Ladha *et al.*, 1990)。但是,有关该共生固氮体系对于不同水分条件的反应,目前尚未见有详尽的报道。

一般说来,复合态氮对根瘤固氮具明显抑制作用(Rigaud, 1981),但对于无机氮肥对茎瘤共生体系的影响则存在不同的观点。Dreyfus 和 Dommergues (1981)认为,相对而言茎瘤对复合态氮的反应要特殊得多,但 Becker 等(1991)指出,长喙田菁共生体系同样受高浓度氮肥的毒害。究竟影响如何,目前似乎并无一致的看法。

为了探讨无机氮肥和水分条件对茎瘤共生体系的生态影响,我们对不同水分和氮肥条件下长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生体系的生长、结瘤和固氮进行了研究,本文便是对这一工作的报道。

1 材料和方法

试验在广州中山大学内于夏季进行,盆栽,试验用花盆上口径 13 cm,下口径 8 cm,深 15 cm,花盆置于一大盆内,每花盆装土 1 kg,土壤取自广州近郊,已经干燥、粉碎、过筛,其有关性质如表 1 所示。

表 1 试验用土壤的理化性质
Table 1 Properties of the experimental soil

项目 Parameters	数值 Values
酸度 pH	5.6
有机质 Organic matter(%)	6.54
全氮 Total N(%)	0.157
速效氮 Available N(mg·kg ⁻¹)	69
全磷 Total P (P ₂ O ₅ , %)	1.61
速效磷 Available P(P ₂ O ₅ , mg·kg ⁻¹)	34
全钾 Total K(%)	3.21
速效钾 Exchangeable K(mg·kg ⁻¹)	140
土壤类型 Soil class	红壤 Red soil
质地 Texture	粘土 Loam soil

1.1 种、菌来源

长喙田菁母种源自日本,并已在当地繁殖两代;茎瘤菌菌种 AR111 和 AR57 均源自日本。

1.2 种子处理

人工扎破种皮。

1.3 菌种制备

原菌种 AR111 和 AR57 在炭培养基(70% 炭末 + 30% 纤维素)中于 28℃混合培养,2 d 后加入已处理种子,放置 2 h。

1.4 试验设计

考虑水分、无机氮肥 2 个因素,每因素 3 个水平,

水分(W): W₁ 为不浸水; W₂ 为浅浸水(大盆盛水,水深 5 cm,土壤水分田间持水量状态); W₃ 为深浸水(大盆盛水,水深 16 cm,基部处于淹水状态)。

氮肥(F): F₁ 为低 N (10 mg N·kg⁻¹土); F₂ 为中 N (20 mg N·kg⁻¹土); F₃ 为高 N (40 mg N·kg⁻¹土)。

共 9 个处理: W₁F₁ W₁F₂ W₁F₃
 W₂F₁ W₂F₂ W₂F₃
 W₃F₁ W₃F₂ W₃F₃

每处理 7 个重复,各处理另施 P、K 肥,施肥量为每千克土 60 mg P 和 80 mg K, NPK 肥分别以 NH₄NO₃、Ca(H₂PO₄)₂ 和 KCl 分 2 次施入。

1.5 田间管理

5 月 29 日播种并第一次施肥,每盆播种 3~5 粒,每日浇水,保持湿润,1 周后第二次施肥,2 周后间苗,每盆各留壮苗 1 株。间苗定植后大盆盛水,使其达到要求的水分条件。

1.6 测定项目和方法

播种后 2 个月,即 7 月 29 日结束试验。测量植株高、单株根茎瘤量(鲜重,洗净滤干后称重)和植物地上地下部生物量(干重,105℃杀青 0.5 h 后于 70℃干燥 48 h),并用凯氏定氮法测植物含氮量。

2 结果和讨论

2.1 水分对长喙田菁茎瘤共生固氮体系的影响

2.1.1 对生长的影响

图 1、表 2 分别列出了不同水分条件下长喙田菁的株高和生物量生长情况。由图 1、表 2 可见, W₂ 组植物生长最好,但 W₂、W₃ 组之间植物生长的差异无显著性意义(*p* > 0.05); W₁ 组植物无论在株高

图 1 不同水分条件下的植物株高生长
Fig.1 The plant height of *Sesbania rostrata* in different water conditions
F₁: 10 mg N·kg⁻¹ soil F₂: 20 mg N·kg⁻¹ soil F₃: 40 mg N·kg⁻¹ soil

表 2 不同水肥条件下长喙田菁的生长情况 (平均值 ± 标准差)
Table 2 Dry matter production and root/shoot of *Sesbania rostrata* in different water and N fertilizer applications (mean ± SD)

项目 Parameters	W ₁			W ₂			W ₃		
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
单株生物量(g·plant ⁻¹)	13.99	14.72	15.10	25.26	29.31	27.71	22.96	23.33	26.98
Dry matter production	± 2.05	± 2.07	± 1.98	± 2.36	± 3.13	± 2.97	± 1.75	± 2.11	± 3.66
地下部生物量(g·plant ⁻¹)	1.96	2.10	2.32	4.79	5.78	5.82	5.20	5.10	6.45
Root biomass	± 0.22	± 0.17	± 0.25	± 0.39	± 0.41	± 0.40	± 0.33	± 0.37	± 0.54
根冠比 Root/shoot	0.15	0.17	0.18	0.24	0.25	0.26	0.29	0.28	0.30

SD: 标准差 Standard deviation F₁, F₂, F₃: 同图 1 See Fig. 1

($p < 0.05$), 还是在生物量生长($p < 0.01$)上均明显差于 W₂、W₃ 组植物,说明长喙田菁对淹水环境具极好耐性,充足的水分供应是长喙田菁生长良好的必要条件。

根冠比的情况(表 2)则有些特殊,淹水的 W₃ 组最高, W₂ 组次之,而土壤水分含量较低的 W₁ 组显著低于 W₃ 组($p < 0.01$)和 W₂ 组($p < 0.05$),明显有别于一般植物的水分反应。这可能与长喙田菁根茎部丰富的根原基有关,当土壤水分含量较高,尤其处于淹水状态时,根原基的休眠被打破(Ladha *et al.*, 1990),容易形成大量的不定根,相应地也增加了其地下部生物量。实验中,可以明显观察到 W₂、W₃ 组植物根系远较 W₁ 组丰富,尤其是淹水的 W₃ 组,可以见到大盆水中有不少透过花盆底孔的长喙田菁根系。

2.1.2 对结瘤的影响

由表 3 可见, W₃ 组植物的茎瘤量最高, W₂ 次之,两处理的单株茎瘤量均显著高于 W₁ 组($p < 0.01$),表明长喙田菁茎瘤的生长明显受水分条件的影响,水分含量越高,则茎瘤生长越好。茎瘤着生于茎上,其着生位置一般位于植物茎上的根原基发生点,水分含量高,尤其淹水环境下,根原基易于萌动,并撑破表皮(Ladha *et al.*, 1990),从而利于附于茎表的茎瘤菌的侵染,进而形成茎瘤。但是, W₂、W₃ 之间的茎瘤量并无差异显著性,这可能是由于以下两方面的原因:其一, W₃ 组淹水高度仅及植物茎部 1 cm,对茎干其它部分影响不大,而 W₂ 组供水已足够充分;其二,虽然 W₂、W₃ 之间植株生长无差异显著性,但总体而言, W₂ 组植物茎部生长稍好于 W₃ 组,从而相应增加了茎瘤的可着生部位。

淹水抑制了长喙田菁的根瘤结瘤作用。单株根瘤鲜重, W₃ 组显著($p < 0.01$)少于其它 2 组,而 W₁ 与 W₂ 之间差别不大(表 3)。较高水分含量的土壤不利于根瘤的形成与固氮(曾定, 1987),本试验的淹水组植物却形成了一定量的根瘤,这可能一定程

度上与 2 周后方才淹水的栽培措施有关。但 2 个月 后, W₃ 组的根瘤(非见光部分)仍然是外表灰褐,内里鲜红,与非淹水组相同,而其见光部分(透过花盆到达大盆水中的根系)根瘤则是外表绿色,内部鲜红,与茎瘤相似。根瘤是否有效,主要在于其能否保护固氮酶不受 O₂ 伤害,而 O₂ 又是根瘤固氮所必需。有效根瘤含豆血红蛋白,它只让 O₂ 同它结合并参加生物氧化生成 ATP,供固氮所需,但不让 O₂ 进入固氮类菌体内部伤害固氮酶。因此,健康有效的根瘤切面呈红色或粉红色,无效根瘤的切面呈无色或绿色(曾定, 1987),而根瘤的固氮效率一般与其豆血红蛋白的含量成正比(刘昌沛, 1987)。本试验中各处理根瘤切面皆为鲜红色,暗示长喙田菁根瘤在不同土壤水分条件下均保持强固氮活性,显示出长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生体系对淹水环境具良好的适应性,明显不同于一般根瘤对土壤水分的反应,有关其机理尚需更进一步的研究。

就单株根茎瘤总量而言(表 3), W₂ 组植物具有最高含量,其中茎瘤在总瘤量中所占比重高达 70% 以上;虽然 W₃ 组植物有最高的茎瘤含量,但由于根瘤量较少,故其总瘤量稍少于 W₂ 组。

2.1.3 对固氮的影响

图 2 列出了不同水分条件下长喙田菁的单株氮累积量。由图 2 可见, W₂ 组最高, W₃ 组次之,两组均显著高于 W₁ 组($p < 0.05$),而 W₂ 组与 W₃ 组之间的差异无显著性意义。植物的氮累积量取决于根系的复合态氮吸收和固氮体系的生物固氮,一般与植物的生物量生长和其固氮组织生物量密切相关。本实验中,植物单株氮累积量有 W₂ > W₃ > W₁,与单株生物量(表 2)和单株总瘤量(表 3)有相似的结果,进一步说明了长喙田菁的氮累积与吸收和生物固氮之间的关系。

2.2 无机氮肥对长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生体系的影响

随着水分供应的变化,无机氮肥对共生固氮体系的影响比较复杂。

表 3 不同水肥条件下长喙田菁共生体系的结瘤(平均值 ± 标准差)
Table 3 Fresh weight of stem nodules, root nodules and total nodules per plant of *Sesbania rostrata* in different water and N fertilizer applications (mean ± SD)

项目 Parameters	W ₁			W ₂			W ₃		
	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃	F ₁	F ₂	F ₃
单株茎瘤量(g·plant ⁻¹)	0.58	0.98	0.87	1.66	1.67	1.63	1.84	1.65	1.93
Weight of stem nodules	± 0.07	± 0.08	± 0.08	± 0.12	± 0.14	± 0.12	± 0.15	± 0.15	± 0.17
单株根瘤量(g·plant ⁻¹)	0.54	0.82	0.63	0.53	0.75	0.98	0.15	0.21	0.24
Weight of root nodules	± 0.06	± 0.08	± 0.06	± 0.04	± 0.05	± 0.09	± 0.01	± 0.02	± 0.02
单株总瘤量(g·plant ⁻¹)	1.12	1.80	1.50	2.19	2.42	2.61	1.99	1.86	2.17
Weight of total nodules									

SD: 标准差 Standard deviation F₁, F₂, F₃: 同图 1 See Fig. 1

图 2 不同水分条件下共生体系的单株氮累计量

Fig. 2 N accumulation of one *Sesbania rostrata* in different water conditions
F₁, F₂, F₃: 同图 1 See Fig. 1

2.2.1 对结瘤的影响

W₁ 水分条件下,共生体系的单株茎瘤量表现为 F₂ > F₃ > F₁,其中 F₂ 与 F₁ 之间存在着差异显著性($p < 0.01$)。随着水分供应的增加,氮肥条件的影响逐渐弱化,本试验浓度范围内,在 W₂、W₃ 供水条件下,无机氮肥对共生体系茎瘤结瘤作用的影响无差异显著性(表 3)。

体系根瘤结瘤对氮肥的反应又有不同(表 3): W₁ 条件下,体系根瘤对无机氮肥的反应同茎瘤; W₂ 条件下,单株根瘤量有 F₃ > F₂ > F₁,其中 F₃ 与 F₁ 之间存在着差异显著性($p < 0.05$); W₃ 条件下,有 F₃ > F₂ > F₁,但各组间单株根瘤量差别无显著性意义。

以上分析可见,长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生体系的结瘤,显然与一般根瘤体系对无机氮肥的反应不同。Rigaud(1981)指出,由于能源方面的原因,根瘤植物往往优先吸收环境中的复合态氮。因此,无机氮肥的施加对根瘤植物的结瘤和固氮通常具抑制作用。Becker 等(1991)报道长喙田菁共生体系同样受高浓度无机氮的毒害,当每千克土施加 10 mg N 时,长喙田菁的根瘤结瘤作用受抑,而当无机氮肥的施加量达到每千克土 20 mg N 时,长喙田菁的茎瘤量与生物量均明显下降。但是,我们的实验却得出了不同的结果:试验施用浓度范围内(10 ~ 40

mg·kg⁻¹土),无机氮肥对长喙田菁茎瘤固氮根瘤菌共生体系的结瘤作用不仅无抑制作用,相反还有一定程度的促进作用。目前我们尚不清楚为何我们的实验所用土壤的含氮量高,却与 Becker 等(1991)的实验会有如此不同的结果。

2.2.2 对生长及氮积累的影响

共生体系在不同氮肥条件下的生物量生长及氮积累如表 2、图 2 所示。方差分析结果显示,各肥料处理组在生物量生长及氮积累上的差异均无显著性意义,表明实验浓度范围内无机氮肥对共生体系的生物量生长及氮积累无显著影响。虽则如此,我们可以观察到 W₂ 组植物单株生物量及单株氮积累量有 F₂ > F₃ > F₁,其它两组则有 F₃ > F₂ > F₁ 的趋势,亦即在单株生物量及单株氮积累量上均是低氮的 F₁ 组最低,似乎又表明长喙田菁共生体系单株生物量及氮积累量的增加与氮肥施用量有关。但实际上这里面还有一个生物固氮的问题,遗憾的是实验设计时我们虽然设置了不接种的对照组,各组之间也考虑了隔离问题,限于当时的场地条件,估计是由于风、雨等外部因素的作用,未接种的对照组植物亦产生了茎根瘤,导致本实验中我们无法科学地对这一问题进行解释。随后的实验显示,未结瘤长喙田菁的生长及氮积累明显受无机氮肥的影响,而接种组植物对无机氮肥(0 ~ 60 mg N·kg⁻¹土)无敏感反应,进一步证明无机氮肥对长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生体系的生长及氮积累无显著影响,生物固氮作用在该共生体系的生长及氮积累中有着非常重要的意义。

3 结 论

1) 水分条件对长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生固氮体系有重大影响,充足的水分供应是其良好生长、结瘤和固氮的必要条件。当土壤水分处于田间持水量状态时,长喙田菁具有最好的生长、最高的茎

根瘤总量和氮累积量;长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生体系在淹水环境中同样生长良好,并具有较高的氮积累,且具有最好的茎瘤生长和最高的根冠比。

2) 无机氮肥对长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生固氮体系的影响与水分供应条件有关。试验浓度范围内,共生体系的结瘤作用对复合态氮无负敏感反应,明显有别于一般根瘤体系的复合态氮反应。

3) 由于复合态氮对根瘤固氮具抑制作用,因此,若非土壤严重缺氮,生产上一般不对绿肥作物另施氮肥。本试验表明,一定浓度范围内无机氮肥对长喙田菁-茎瘤固氮根瘤菌共生固氮体系的结瘤无抑制作用。因此,生长早期一定量氮肥的施加,将有利于体系的结瘤作用,从而促进茎瘤共生体系的生长和固氮。

参 考 文 献

- Becker, M., K. H. Diekmann, J. K. Ladha & S. K. De Datta. 1991. Effect of NPK on growth and nitrogen fixation of *Sesbania rostrata* as a green manure for lowland rice. *Plant and Soil*, **132**: 149 ~ 158.
- Dreyfus, B. & R. Dommergues. 1981. Nitrogen fixing nodules induced by rhizobium on the stem of the tropical legume *Sesbania rostrata*. *FEMS Letters*, **10**: 313 ~ 317.
- Ladha, J. K., R. P. Pareek, R. So & M. Becker. 1990. Stem-nodule symbiosis and its unusual properties. In: Greshoff, Roth, Stacy & Newton eds. *Nitrogen fixation: achievements and objectives*. New York, London: Chapman and Hall. 633 ~ 640.
- Liu, C. P. (刘昌沛). 1987. Ecology of biological nitrogen fixation symbiosis. In: You, C. S. (尤崇杓) ed. *Biological nitrogen fixation*. Beijing: Science Press. 163 ~ 183. (in Chinese)
- Pareek, R. P., J. K. Ladha & I. Watanabe. 1990. Estimating N_2 fixation by *Sesbania rostrata* and *S. cannabina* in lowland rice soil by the ^{15}N dilution method. *Biology Fertilization of Soils*, **10**: 77 ~ 88.
- Rigaud, J. 1981. Comparison of the efficiency of nitrate and nitrogen fixation in crop yield. In: Bewly, D. ed. *Nitrogen and carbon metabolism*. The Hague, The Netherlands: Nijhoff / Junk Publishers. 18 ~ 46.
- Yang, Z. Y. (杨中艺), J. G. Yuan (袁剑刚) & H. D. Zhang (张宏达). 1998. Germination, growth, nodulation and seed production of *Sesbania rostrata*-*Azorhizobium caulinodans* symbiosis in South China. *Chinese Journal of Applied Ecology (应用生态学报)*, **9**: 291 ~ 295. (in Chinese with English abstract)
- Yuan, J. G. (袁剑刚), H. J. Xu (徐昊娟), J. B. Xi (席嘉宾) & Z. Y. Yang (杨中艺). 2001a. Stem nodule N-fixing symbiosis and its applications. *Pratacultural Science (草业科学)*, **18** (1): 12 ~ 18. (in Chinese with English abstract)
- Yuan, J. G. (袁剑刚), H. J. Xu (徐昊娟) & Z. Y. Yang (杨中艺). 2001b. Effects of stem nodulation on N-fixation of *Sesbania rostrata*-*Azorhizobium caulinodans* symbiosis. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni (中山大学学报(自然科学版))*, **40** (2): 89 ~ 92. (in Chinese with English abstract)
- Zeng, D. (曾定). 1987. *Nitrogen fixing biology*. Xiamen: Xiamen University Press. 176. (in Chinese)

责任编辑: 蒋高明 责任编辑: 张丽赫