

田间大豆根瘤固氮活性日 变化动态的研究*

汤树德 石晶波

(黑龙江八一农垦大学)

摘 要

1982—1984年在白浆土田间小区上,采用乙炔还原法,对大豆根瘤固氮活性进行了日变化动态的研究表明:大豆各主要生育期中,其根瘤固氮活性表现出不同的特征,并在年度和品种间观察到相似的规律。全期中,一般夜间活性较低,天亮后逐渐升高。阴雨天活性明显下降,并变幅缩小。施氮不仅降低活性,同时改变了日变化特征,增大日变幅。相关分析表明,测定日昼夜最高土温小于 25°C 时,固氮活性日变化同当日土温和太阳累积辐射量之间表现正相关趋势;而昼夜最低土温大于 24°C 时,则表现负相关趋势。根据日变化资料提出了大豆各生育期根瘤固氮活性日平均值校正系数,利用该系数对相应各期某时刻一次测定的活性值进行校正后,便获得田间大豆根瘤固氮活性季节动态的科学资料。

研究大豆的氮素营养以及估测其田间固氮量时,必需了解大豆根瘤固氮活性动态的规律。由于在田间条件下,大豆根瘤固氮活性呈现出明显的日变化^[2,3,7],因此,必需明确这种日变化在大豆整个生育期中所表现的动态规律及其影响因素,并对各个生育期中某天某时一次测得的根瘤固氮活性值进行校正,才能获得田间大豆根瘤固氮活性的季节动态资料。

本文通过1982—1984年在田间条件下,于大豆主要生育时期进行了根瘤固氮活性日变化动态的观察,并研究了某些影响因素。

研 究 方 法

大豆播种在白浆土田间小区。播种前每亩施粉碎麦秸700斤,耙入0—10厘米土层;开沟条施三料磷肥30斤,石灰30斤;钼酸铵拌种。施氮区未施麦秸,施等量磷肥和石灰外,施尿素33.3斤拌入0—15厘米土层中。人工等距点播,保苗3万株/亩。人工除草,不施任何农药。人工灌溉。

* 刘勇健、李春东、隋文志、英瑞竹和刘三义同志参加阶段性实验工作。

本文于1985年1月14日收到。

按 Walter R. Fehr 等 (1977) (4) 提出的大豆发育时期的划分标准和代号, 分别在大豆分枝期 (V_4)、开花始期 (R_1)、结荚始期 (R_3)、鼓粒始期 (R_5)、鼓粒盛期 (R_6) 和成熟始期 (R_7), 选定晴天, 于 6、9、12、15、18、21、0、3 时, 采用根系一根瘤乙炔还原法 (上海 100 型气相色谱仪检测气样) 测定固氮活性。反应瓶埋入田间 5—15 厘米土层中 1 小时。阴雨天根瘤固氮活性日变化, 是在花荚期选定晴天和毗邻阴雨天连续测定。

结 果 讨 论

一、大豆不同生育期中根瘤固氮活性日变化的特征

根据获得的系列资料表明, 大豆根瘤固氮活性日变化动态, 在大豆不同生育期中, 各表现不同的特征, 它们是同各生育期中的太阳辐射、气温昼夜周期变化、以及大豆植株营养生理代谢的变化相联系的。同时表明, 除了在当地高温季节的开花期外, 其余各生育期中根瘤固氮活性日变化动态, 在各年间皆表现出相似的动态趋势。并且在各生育期中, 大豆根瘤固氮比活性和单株根瘤固氮总活性的日变化动态趋势完全相同。

分枝期 (V_4): 是大豆共生固氮体系开始发展的时期, 因自第一片复叶展开可测得植株根系明显固氮活性之后 8—10 天进入此时期, 平均单株结瘤量很少 (36.95 ± 7.88 毫克), 所以单株固氮总活性日平均水平较低 (1.19 ± 0.26 乙烯微克分子/小时), 而根瘤固氮比活性日平均达到 16.05 ± 3.26 活性单位 (乙烯微克分子/小时·克干瘤, 以下皆同)。从图 1 中看出, 9 和 21 时出现两个相当的高峰, 12 和 3 时两个相当的低峰, 15 时活性水平接近日平均值。无论比活性或单株总活性的日变化幅度是全生育期中最小的 (表 1), 二者变异系数 ($C.V.$) 都在 20% 左右。

开花始期 (R_1): 是大豆进入旺盛生长时期, 也是根瘤固氮比活性最高时期 (表 1), 无论比活性或单株总活性的日变化幅度, 除成熟始期外, 是全期最大的, 其变异系数分别为 40.5% 和 54.8% (1983 年)。1982 年分别高达 87.4% 和 128.5%。由于大豆花期正处当地高温季节时期, 根瘤固氮活性的日变化动态, 在颇大程度上受测定当日土壤温度的影响, 故在不同年份呈现出不同的轮廓线。例如 1983 年测定 (图 2), 天明后, 活性迅速上升, 至 9 时呈现高峰, 此后逐渐下降至零时达最低峰。高低峰值之差, 比活为 23 活性单位, 单株总活为 3.5 活性单位。1984 年的情景完全相似于 1983 年, 但活性水平高出 20% 左右。1982 年获得完全不同的动态曲线 (图 3), 早 6 时呈现比活达 520 和单株总活达 50 活性单位的高峰, 但随后成陡坡式急速下降, 至 15 时为全天低峰, 此时峰值还不足高峰时的十分之一。这种年间的较大差别, 可认为是受土壤温度的主要影响。大豆根瘤固氮活性的最适土温为 24°C , 高于此值 4°C , 则固氮量减少 50%, 低于此值 5°C , 只降低 4.5% (5)。金野隆光 (1980) (7) 也指出, 大豆根瘤固氮活性的生理转换温度为 20°C 、在 20°C 以上, 每升高 1°C , 其活性增加 8%, 在 20°C 以下, 每下降 1°C 则降低活性 20%。据此说明, 当土壤温度在 20°C 以下或 24°C 以上时, 大豆根瘤固氮活性就显著降低, 并且在高温下较之低温更为敏感。1982 年花期测定日 (7 月 10

日) 15 厘米土壤最低温度为 24.9°C ，出现在早 6 时，此后土温迅速增高，9、12、15、18 时分别达 27.8 、 29.9 、 31.4 和 29.8°C 。所以在最适土温之上，随温度继续增高，根瘤固氮活性直线下降，呈现负相关趋势 ($r = -0.7084$, $P < 0.05$)。而 1983 年测定日 (7 月 23 日) 15 厘米土温最高为 24°C ，最低 18°C 。所以固氮活性日变化同土温变化表现正相关趋势。

结荚始期 (R_3)：是大豆全生育期中结瘤量最高时期，也是单株根瘤固氮总活性最高时期 (1983 和 1984 年)。

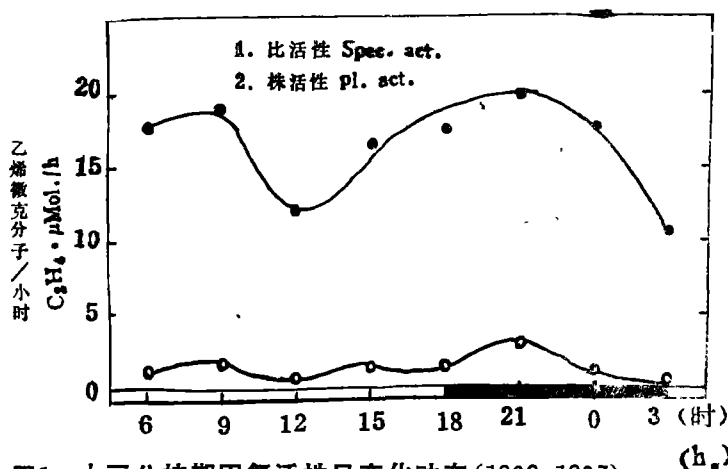


图 1. 大豆分枝期固氮活性日变化动态 (1982—1983)

Fig. 1. The daily variation of the activity of nitrogenase at branching of soybean (1982—1983)

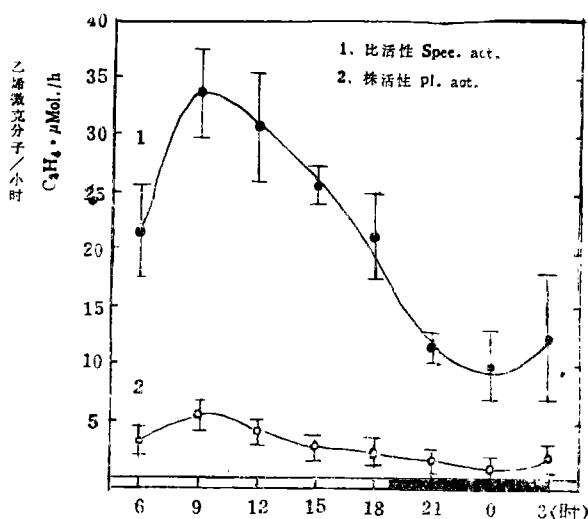


图 2. 大豆开花始期固氮活性日变化动态 (1983—1984)

Fig. 2. The daily variation of the activity of nitrogenase at the beginning of flowering (1983—1984)

三年中获得完全相似的动态曲线。活性高峰在 15 时，0 时还出现一次峰。日变化幅度较前期缩小，其变异系数，比活为 23.5%，单株总活为 30.9%。12 和 18 时活性接近日平均值。

鼓粒始期 (R_5)：是大豆籽实发育开始时期，由于受到碳水化合物供给的限制，故根瘤比活性大幅度下降。日变化幅度又将增大，其变异系数，比活为 37.3%，单株总活为 54.7% (表 1)。12 时呈现活性高峰，以后逐渐下降，至 3 时为最低峰，天亮后又逐渐上升。

成熟始期 (R_7)：是固氮活性最低时期，也是变异幅度最大时期，其变异系数，比活为 108.9%，单株总活性为 91.9% (表 1)。于 12 时出现一突出高峰，9 时活性水平离日平均值较近。

从上述各生育时期根瘤固氮活性日变化动态趋势中看出，其日变化幅度，在大豆开花之前较小，进入花期后变幅增大一倍左右，结荚期缩小，鼓粒期之后又迅

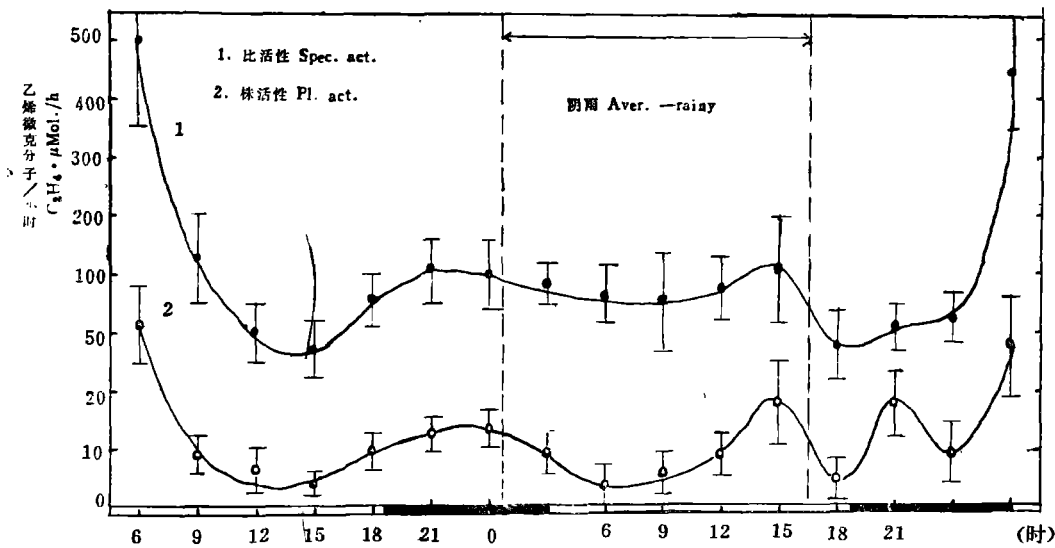


图 3. 大豆开花始期晴和阴雨天固氮活性日变化动态 (1982)
Fig. 3. The daily variation of the activity of nitrogenase in fine, cloudy and rainy days at the beginning of flowering of soybean (1982)

表 1. 大豆生育期中固氮活性日变化幅度和高低峰出现时间
Table 1. The range of daily variation of the activity of nitrogenase and appeavance time of high and low peaks at different stages of growth of soybean

生 育 期 Stages of growth	根 瘤 比 活 性 Specific activity (C ₂ H ₄ μ Mol/h.g)		单 株 总 活 性 Total activity/plant (C ₂ H ₄ μ Mol/h. plant)		高 低 峰 出 现 时 间 The appeavance time of high and low peaks	
	标 准 差 X̄±S	变 异 系 数 C. V. %	标 准 差 X̄±S	变 异 系 数 C. V. %	高 峰 high	低 峰 low
V ₄	16.05±3.26	20.3	1.19±0.26	21.8	9	3
R ₁	20.67±8.36	40.5	2.63±1.44	54.8	9	0
R ₃	19.01±4.46	23.5	5.30±1.64	30.9	15	3
F ₅	5.53±2.06	37.3	1.39±0.76	54.7	12	3
F ₇	3.90±4.25	103.9	0.62±0.57	91.9	12	18

速增大。一天中，夜间活性较低，天明后逐渐升高。将三年中获得的资料进行相关分析表明，在大豆各生育期中，耕层15厘米土壤温度同太阳累积辐射量之间达高度显著的相关程度 ($r=0.9234, P<0.01$)。而土壤温度未成为限制性因素，即昼夜最高土温在25℃以下时，大豆根瘤固氮比活性的日变化同当日土温和太阳累积辐射量之间皆具有一定程度的相关性 (前者 $r=0.6254, P<0.1$ ，后者 $r=0.7045, P<0.1$)。但昼夜最低土温在

24℃以上时, 固氮比活性的日变化同当日土温和太阳累积辐射量之间则呈现负相关关系 (前者 $r = -0.5767$, 后者 $r = -0.3412$)。

二、阴雨天大豆根瘤固氮活性日变化特征

在大豆花荚时期选定晴朗和邻近的阴雨天进行连续测定表明, 阴雨天固氮活性不仅显著下降, 且日变幅缩小, 其变化动态也完全改变。例如, 1982年花期测定 (图3), 阴雨天较毗邻晴天根瘤比活和单株总活性都下降 56% 左右。变异系数比活从 99% 下降至 31%; 单株总活从 103% 下降至 90%。转晴后活性就迅速回升。又如 1983 年荚期测定, 阴雨天较邻近晴天日平均活性下降 40% 左右, 并改变了日变化规律。据分枝期和鼓粒期个别时刻的测定也表明, 阴雨较相应时刻晴天固氮活性下降 50% 左右。

根据气象资料比较分析可以认为, 阴雨天固氮活性的降低是与测定日的太阳累积辐射量和耕层土壤温度的明显下降有关^[6]。例如 1983 年测定日 (8月3日) 晴天, 日累积辐射量为 622.4 卡/平方厘米, 15 厘米土温日平均为 21℃, 而邻近阴雨天 (8月6日) 分别为 310.5 卡和 18.7℃。显然, 由于温度直接影响根瘤固氮酶的活性同时, 依赖太阳光能的光合效率下降以及碳水化合物向根瘤输送量减少 (Sung, 1981), 必然导致根瘤固氮活性的显著降低。

三、施氮对大豆根瘤固氮活性日变化动态的影响

田间施用氮肥后, 不仅明显阻抑了大豆根瘤的着生和降低根瘤固氮活性, 同时也影

表 2. 施氮对大豆根瘤固氮活性日变化的影响 (乙稀微克分子/小时)

Table 2. The effect of nitrogenous fertilizer on the daily variation of the activity of nitrogenase ($C_2H_4 \cdot \mu \text{ Mol} \cdot h$)

生育期 Stages of growth	处 理 Treat-ments	测 定 时 间 (时) Time of determination (hour)								日 平 均 Daily average $\bar{X} \pm S$
		6	9	12	15	18	21	0	3	
V ₄	无 N	17.70	23.10	10.68	16.76	17.57	20.00	17.43	10.54	16.05±3.26
		1.31	1.71	0.79	1.24	1.30	1.48	1.29	0.78	1.19±0.28
	施 N	4.50	3.51	5.95	2.03	4.60	2.84	4.32	2.03	3.72±1.29
		0.33	0.26	0.44	0.15	0.34	0.21	0.32	0.15	0.28±0.10
R ₃	无 N	20.53	20.65	34.48	27.44	16.97	15.24	19.44	10.61	20.67±6.91
		2.63	2.85	7.26	11.57	6.16	4.32	5.58	3.06	5.43±3.00
	施 N	11.44	44.81	33.90	7.79	0.00	7.42	18.92	7.13	16.39±14.39
		1.37	1.17	0.86	0.48	0.00	0.78	0.59	0.28	0.69±0.45
R ₅	无 N	7.44	3.67	8.09	7.33	5.88	7.83	6.34	6.23	6.60±1.34
		1.87	0.61	2.16	1.48	1.80	2.67	1.87	1.57	1.75±0.59
	施 N	16.50	10.33	6.79	0.00	0.00	11.82	0.00	0.00	5.68±6.19
		0.65	0.97	0.36	0.00	0.00	0.58	0.00	0.00	0.32±0.38
R ₆	无 N	6.44	7.37	6.44	9.97	6.90	3.89	6.07	6.00	6.64±1.58
		0.57	1.55	0.87	1.06	0.53	0.46	0.57	0.26	0.73±0.41
	施 N	0.03	0.00	0.00	5.56	0.00	0.00	0.00	0.00	0.70±1.84
		0.00	0.00	0.00	0.47	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06±0.17

注: 分子——比活性 (克干瘤), 分母——单株总活性。

Numcrator: Specific activity (dried nodules/g)

Denominator: Total activity/plant

响到根瘤固氮活性日变化动态的规律。根据对施氮和未施氮的田间大豆植株进行平行测定(表 2)表明,大豆各个生育期中其根瘤固氮活性日变化动态规律,皆因施氮而明显被改变。施氮大豆的固氮活性(无论根瘤比活性和单株根瘤总活性),在各测时均普遍降低,其日变幅显著增大。各生育期比较也看出,日平均固氮活性的受抑程度,在生育中期(花荚期)较之前期和后期为轻。特别是鼓粒盛期的施氮植株,只在 15 时测出固氮活性外,其余测时都未表现活性,故日平均比活和单株总活,因施氮而分别降低 89.5%和 91.8%。这是因大豆生育后期光合产物向根瘤输送急剧减少(Lawn 和 Brun, 1974),以及氮肥更加剧这一能源竞争过程有关。

此外,阴雨天表现氮肥的抑制程度较相邻晴天大大减轻。这可能同阴雨天的气温凉爽和太阳辐射量减少而致大豆根系吸收和同化土壤(肥料)氮素的速率减小(Nicholao 等, 1976)有关。

四、不同叶型大豆根瘤固氮活性日变化动态

选用了熟期接近和固氮水平相当的尖叶型品种(红丰 3 号)和园叶型品种(东农 4 号),于不同生育期进行平行测定(表 3)表明,在大豆开花至成熟的各生育期中,无

表 3. 不同叶型大豆固氮活性日变化动态(乙稀微克分子/小时·克干瘤), 1983

Table 3. The daily variation of the activity of nitrogenase for different foliar types of soybean (C₂H₄ μ Mol/h·g dried nodules) (1983)

生育期 Stages of growth	叶型 Foliar types	测定时间(时) Time of determination (hour)								日平均 Daily average $\bar{X} \pm S$
		6	9	12	15	18	21	0	3	
R ₁	尖叶	21.46	33.49	30.51	25.49	20.90	11.64	9.90	11.95	20.67±8.36
	园叶	16.71	32.59	22.26	22.72	28.29	10.26	14.41	15.10	20.29±7.56
R ₃	尖叶	16.68	13.25	18.42	26.20	19.87	15.14	24.65	17.87	19.01±4.46
	园叶	19.08	13.42	20.71	26.75	23.50	15.70	19.34	11.10	20.08±4.92
R ₃ (阴雨天) Cloudy and rainy day	尖叶	6.80	10.89	14.70	14.82	11.61	15.65	—	5.01	11.05±3.84
	园叶	11.22	24.77	15.95	36.44	19.14	12.91	—	6.50	18.13±9.95
R ₅	尖叶	4.06	7.48	9.29	7.44	5.65	3.70	5.75	1.88	5.53±2.05
	园叶	4.18	10.11	6.27	8.24	5.59	3.76	3.70	2.70	5.57±2.38
R ₇	尖叶	0.00	4.72	12.80	2.18	0.81	—	2.90	—	3.90±4.25
	园叶	1.35	3.44	18.92	1.29	1.13	—	3.33	—	4.91±6.34

论晴天或阴雨天,尖叶型和园叶型品种的固氮活性日变化趋势完全相似。不过,阴雨天的日平均固氮活性,园叶型品种较尖叶型品种高59.7%。若同相邻晴天比较,其日平均

固氮活性，尖叶型品种降低了42%，而园叶型品种只下降9%左右。这表明，尖叶型的红丰3号对阴雨天气影响固氮活性的降低，较之园叶型东农4号更为敏感。这是否由于叶型和品种间的光合效率以及光敏性的差别所致，有待查明。

五、大豆生育期中根瘤固氮活性日平均水平的校正

由于采用乙炔还原法测定田间大豆根瘤固氮活性，只能获得测定时刻的活性水平，基于固氮活性呈现明显的日变化，故一时测得的活性值不能代表24小时的日平均活性。因此，根据不同生育期日变化动态的资料，来校正某时刻的测定值，才获得代表生育期的日平均活性。将各生育期校正的日平均活性连起来，就得到科学的季节动态曲线图。

表4是根据我们三年获得的资料整理而成，因考虑到田间采取大豆植株样一般在上午进行，故只列出6、9、12时采样测定根瘤比活性（一克干根瘤的活性）的校正系数。从图4中看出，9和12时测定

表 4. 大豆生育期中根瘤固氮比活性日平均值的校正系数
Table 4. The correction coefficient of daily average of specific activity of nitrogenase during the stages of growth of soybean

生 育 期 Stages of growth	测定日土壤温度条件 Soil temperature	测 定 时 间 (时) Time of determination (hour)		
		6	9	12
V ₄	15厘米耕层最高土温<25℃	×0.91	×0.70	×1.50
R ₁	15厘米耕层最高土温<25℃	×0.96	×0.62	×0.68
R ₁	15厘米耕层最低土温>25℃	×0.30	×1.09	×3.00
F ₃	15厘米耕层最高土温<25℃	×1.14	×1.44	×1.03
F ₅	15厘米耕层最高土温<25℃	×1.36	×0.74	×0.60
F ₇	15厘米耕层最高土温<25℃	×2.89	×0.83	×0.31

阴雨天大豆根瘤固氮比活性日平均值校正系数为0.45
的活性值所绘制的季节曲线同已校正的日平均活性绘制的曲线具有明显的差别。未经校

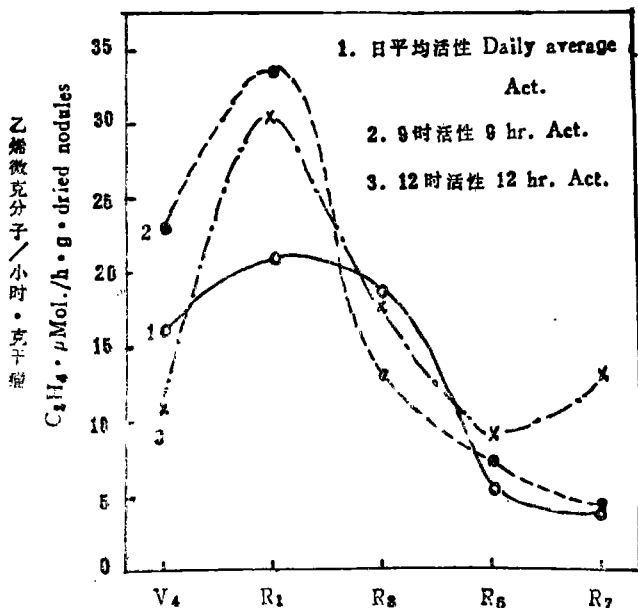


图4. 大豆根瘤固氮活性季节动态 (1983)
Fig. 4. The seasonal dynamics of the activity of nitrogenase of soybean (1983)

正的曲线,除了表现各生育期活性水平之间的变幅加大之外,还可能出现诸如图中成熟始期(R_7) 12时测定的活性水平增高的错误现象。如果根据季节动态再积算田间固氮量的估测值时,同样也因不同采样测定时刻而得到不同的估测量。同时,还必需将各个生育阶段中出现阴雨天活性下降的累积数减去,才能获得田间固氮量较科学的估测值(大豆田间固氮量的估测方法将另文发表)。

结 论

在田间条件下,大豆各主要生育期中,其根瘤固氮活性呈现不同的日变化特征,并在年度和品种间皆表现相似的动态趋势。

一般夜间活性较低,天亮后逐渐升高。阴雨天日变幅缩小,日平均活性下降45%左右,转晴后才回升。施氮不仅显著降低固氮活性,并同时改变其日变化特征,增大日变幅。

相关分析表明,测定日昼夜最高土温 $<25^{\circ}\text{C}$ 时,固氮活性日变化同当日土温和太阳累积辐射量之间表现正相关趋势;而昼夜最低土温 $>24^{\circ}\text{C}$ 时,则表现负相关趋势。

利用不同生育期固氮活性的日平均值校正系数,对相应各期某时刻一次测定的活性值进行校正后,便获得田间大豆固氮活性季节动态的科学资料。

主 要 参 考 文 献

- [1] 张宏等,《土壤通报》1984(5): 220—222
- [2] Herridge D. F., 《Plant physiology》1982, 70(1): 1—11
- [3] Sloger C., 《Nitrogen fixation by free-Living microorganisms》P: 271—284, 1975
- [4] Walter R. Fehr 等, 国外农学《大豆》, 1981(5): 17—22
- [5] Гукова М. М., 《Изв. АН СССР, сер. биол.》1963(5): 832
- [6] Посыпанов Г. С., 《С. Х. За Рубежем》1981(1): 8—14
- [7] 金野隆光, 大豆高产与根瘤, 国外农学《大豆》1982(1): 13—44

STUDY ON THE DYNAMICS OF DAILY VARIATION FOR THE ACTIVITY OF NITROGENASE IN NODULES OF SOYBEAN

Tang Shude Shi Jingbo

(8.1 *Agricultural University of Heilongjiang*)

Abstract

The daily variations of the activity of nitrogenase in nodules of soybean weren't the same in different stages of growth in field condition in 1982—1984. The same trends were found in different years and different varieties. As a rule, the activity of nitrogenase in nodules was low at night and increased gradually at day time. The range of its variation was little in rainy and cloudy day. The average activity of nitrogenase per day decreased by 45 percent, and it increased again in fine day. Application of nitrogen not only decreased the activity of nitrogenase in nodules, but also changed its daily variation. Correlation analysis showed that the daily variation of the activity of nitrogenase was positively correlated with temperature of soil and accumulated radiation of sunshine when the day and night maximum temperature was higher than 25°C, and it was negatively correlated with them when the day and night minimum temperature was lower than 24°C.

The data on second dynamics of the activity of nitrogenase for soybean were obtained by means of correcting the value of its activity which was determined in different stage of growth with the average coefficient of correction for the activity of nitrogenase in different stages of growth.