

硝态氮和氨态氮对大豆根瘤固氮的影响*

宋海星 申斯乐 马淑英 阎 石
刘金萍 赵玉敏**

(中国人民解放军农牧大学,长春 130062 ** 通化师范学院)

摘要

在大豆开花前期追施不同配比的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, 分析其根瘤固氮酶活性, 叶片 NR 活性, 幼茎段酰脲含量、酰脲相对丰度及全氮含量。结果表明: 7 种配比的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 均不同程度地抑制根瘤固氮酶活性, 降低幼茎段酰脲含量及酰脲相对丰度。其中, $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 5$ 时, 根瘤固氮酶活性相对最高, 幼茎段酰脲含量及酰脲相对丰度也最高; $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 0$ 时, 根瘤固氮酶活性最低, 幼茎段酰脲含量及酰脲相对丰度也最低。所有配比均可提高叶片 NR 活性及幼茎段全氮含量, 但叶片 NR 活性随着 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 比例的增加而增高, 幼茎段全氮以 $\text{NH}_4^+ - \text{N} : \text{NO}_3^- - \text{N} = 1 : 3$ 的含量最高。

关键词 大豆 (*Glycine max*); $\text{NO}_3^- - \text{N}$; $\text{NH}_4^+ - \text{N}$; 固氮酶

根瘤固氮在满足大豆对氮素营养的需求及提高产量方面都有着重要作用。但对高产大豆来说, 仅靠根瘤固氮远远不能满足大豆对氮素的需要, 还必须施用氮肥, 而氮肥对根侵染, 痢发育、固氮作用和类菌体蛋白(包括固氮酶)均有抑制作用^[4-12], 大豆木质部汁液和茎秆酰脲含量也下降^[10]。因此, 要获得高产必须综合考虑使其既有利于固氮也有利于氮肥作用的充分发挥。 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 是无机氮肥的两种不同形态, 有人证明, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 比 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 更有利于大豆生长^[5]; 但也有人指出, 开花前期追肥, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的增产效果优于 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ^[6]。针对这些问题, 我们研究了 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 在此方面的差异, 试图为大豆的科学施肥提供依据。

材料和方法

供试材料为栽培大豆 (*Glycine max*) 吉林 20 号, 于 1994 年 4 月 28 日播种于盛有 15kg 土的盆钵中, 盆中土壤类型为黑土, 其基本理化性状如下: pH6.6, 全氮: 1.35g/kg, 水解 N: 110mg/kg, 速效 P: 30.9mg/kg, 速效 K: 179mg/kg, 有机质: 14.33g/kg 每盆施

* 注: 总后军需部资助项目。

1. 7g二铵作种肥,播种6粒,出苗后留长势均匀,位置合理的3株。开花前按 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为1:0.5:1.3:1.1:3.1:5.0:1.0:0等7种配比追施氮肥,除对照(不施任何形态的氮)外,每盆加施硫脲(硝化抑制剂)0.05g,重复3次。

分别在开花初期(R_1)和结荚初期(R_3),采鲜样测定根瘤固氮酶活性(乙炔还原法,顾俭本1985^[1]);叶片NR活性(周树等,1985^[3]);幼茎段(包括叶柄)烘干磨碎后测定酰脲含量(徐志伟等,1986^[2]),全氮含量(凯氏定氮法),硝态氮含量(Cataldo等,1975^[9]),氨态氮含量(茚三酮法);最后计算酰脲相对丰度:[酰脲-N/(酰脲-N+硝态-N+氨态-N)] $\times 100\%$ ^[10]]。

结果与分析

1 不同配比的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 对根瘤固氮酶活性的影响

不同配比的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 对根瘤固氮酶活性均有抑制作用(表1)。其中 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 0$ 时,根瘤固氮酶活性最低, R_1 和 R_3 期分别比对照低41%和39%; $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 5$ 时,上述二个期根瘤固氮酶活性较对照降低最少,分别降低18%和15%。从表1还可以看出,除 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 0 : 1$ 外,随着 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比例的增加,固氮酶活性增高,说明 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的抑制作用小于 $\text{NO}_3^- - \text{N}$,这与星忍等(1978)^[6]的研究结果相一致。 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 0 : 1$ 时固氮酶活性有所下降,可能是由于单一氮源抑制大豆生长^[5]所致。

表1 不同 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$ 下根瘤固氮酶活性的变化

Table 1 The changes of the nodule nitrogenase activities under different $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$

$\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$	1: 0	5: 1	3: 1	1: 1	1: 3	1: 5	0: 1	CK
固氮酶活性 Nitrogenase activities (nmol C ₂ H ₂ / mg DW [*] min)	0.49 (- 41)	0.50 (- 40)	0.56 (- 33)	0.58 (- 30)	0.63 (- 24)	0.68 (- 18)	0.66 (- 20)	0.83
R_1	0.67 (- 39)	0.73 (- 35)	0.77 (- 27)	0.82 (- 23)	0.86 (- 18)	0.92 (- 15)	0.84 (- 17)	1.11
R_3								

注:括号内数字、负值代表比对照减少的百分数。

2 不同配比的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 对幼茎段酰脲含量与酰脲相对丰度的影响

追施氮肥后,幼茎段酰脲含量及酰脲相对丰度均低于对照。其中 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 0$ 时,酰脲含量最低, R_1 和 R_3 期分别为19.12 μmol 酰脲/gDW和30.87 μmol 酰脲/gDW,酰脲相对丰度也最低, R_1 和 R_3 期分别为6.43%和11.28%; $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 5$ 时酰脲含量最高, R_1 和 R_3 期分别为30.12 μmol 酰脲/gDW和42.37 μmol 酰脲/gDW,酰脲相对丰度也最高, R_1 和 R_3 期分别为11.60%和16.25%(表2)。

另外,幼茎段酰脲含量、酰脲相对丰度与根瘤固氮酶活性均呈极显著正相关, R_1 期相关系数分别为0.9355^{**}和0.9094^{**}, R_3 期相关系数分别为0.9575^{**}和0.9834^{**}。

表 2 不同 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$ 下幼茎段酰脲含量及酰脲相对丰度的变化

Table 2 The changes of the ureides in young stems and the relative abundance of ureides under different $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$

$\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$	1: 0	5: 1	3: 1	1: 1	1: 3	1: 5	0: 1	CK	
酰脲 Ureides ($\mu\text{mol}/\text{g DW}$)	R ₁	19.12	21.67	20.81	25.84	27.63	30.12	27.37	36.65
酰脲相对丰度 (%) Relative abundance of ureides	R ₃	30.87	35.97	37.45	40.03	41.11	42.37	40.56	48.61
幼茎段全氮 Total nitrogen in young stems	R ₁	6.43	7.50	7.61	9.48	10.57	11.60	11.50	23.97
幼茎段全氮 Total nitrogen in young stems	R ₃	11.28	13.71	14.51	15.51	15.94	16.25	15.67	28.14

3 不同配比的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 对叶片 NR活性, 幼茎段全氮 硝态氮及氨态氮含量的影响

追施氮肥后, 叶片 NR活性, 幼茎段全氮、硝态氮及氨态氮含量均有所提高(表 3), 但变化趋势不尽相同。幼茎段硝态氮含量与叶片 NR活性, 随着 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 比例的增加而增加, 幼茎段氨态氮含量, 随着 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比例的增加而增加; 幼茎段全氮以 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1: 3$ 的含量最高, R₁ 和 R₃ 期分别为 2.96% 和 2.74%。

表 3 不同 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$ 活性, 全氮、硝态氮氨态氮含量的变化

Table 3 The changes of the NR activities, the content of the total nitrogen, the $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and the $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ under different $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$

$\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N}$	1: 0	5: 1	3: 1	1: 1	1: 3	1: 5	0: 1	CK	
叶片 NR活性 NR activities in leaves (nmol $\text{NO}_2^- / \text{g FW} \cdot 30\text{min}$)	R ₁	935.75	867.36	829.71	726.42	709.65	696.73	657.34	639.65
幼茎段全氮 Total nitrogen in young stems (%)	R ₁	2.18	2.38	2.53	2.89	2.96	2.54	2.19	1.94
幼茎段全氮 Total nitrogen in young stems ($\mu\text{mol NO}^-_3 - \text{N/g DW}$)	R ₃	2.06	2.20	2.45	2.68	2.74	2.41	2.01	1.81
幼茎段硝态氮 $\text{NO}^-_3 - \text{N}$ in young stems ($\mu\text{mol NO}^-_3 - \text{N/g DW}$)	R ₁	229.45	211.37	189.71	167.99	150.14	137.15	102.81	73.48
幼茎段氨态氮 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ in young stems ($\mu\text{mol NH}_4^+ - \text{N/g DW}$)	R ₃	177.91	157.12	143.38	137.39	126.74	119.98	98.23	66.94
幼茎段全氮 Total nitrogen in young stems (%)	R ₁	48.56	55.90	62.79	78.72	83.74	92.33	107.67	42.75
幼茎段全氮 Total nitrogen in young stems ($\mu\text{mol NH}_4^+ - \text{N/g DW}$)	R ₃	64.78	69.17	77.24	80.63	90.13	98.31	119.99	57.17

讨 论

本文研究了不同 $\text{NO}_3^- - \text{N}$: $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 下根瘤固氮酶活性, 幼茎段酰脲含量及酰脲相对丰度的变化。结果表明: 所有配比的氮都降低根瘤固氮酶活性, 同时也降低幼茎段酰脲含量及酰脲相对丰度, 而且固氮酶活性与幼茎段酰脲含量及酰脲相对丰度均呈极显著正相关。这是因为, 酰脲是氮素固定的代谢产物和固氮大豆木质部汁液的主要化合物^[1]

试验表明, 氮肥可增加幼茎段硝态氮、氨态氮及全氮含量, 从而可以改善植株体内氮素营养状况, 这就是适量的氮肥虽然在某种程度上抑制根瘤固氮, 但最终仍能提高产量的原因。本试验的结果还表明, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 对根瘤固氮的抑制作用明显低于 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 。这可能是由于同化 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的关键酶—NR与固氮酶对钼存在竞争性^[13]; 另外, 同化 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 过程中的呼吸消耗量少于同化 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 过程^[8], 从而减少了共生固氮与同化化合态氮两个过程对光合产物的竞争。因此在固氮作用旺盛时期, 以追施 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为宜, 但还要考虑单一 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 对植株生长的抑制作用, 我们认为此期施用氮肥, 应该是重 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, 同时配以少量的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 。在本试验设计的 7 种配比中以 $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 3$ 的幼茎段全氮含量最高, 为最佳配比。

由于氮肥对固氮的抑制作用, 施氮后同化氮总量的增加与氮肥吸收量相比相差很多^[6], 为此人们采取了一些相应措施, 以使氮肥的这种抑制作用降低到最低程度, 如有人指出局部施肥、深施肥、施慢效应肥都可减少氮肥对固氮的抑制作用^[4, 7], 提高同化氮总量。另外, 筛选固氮能力强, 耐高氮肥的菌株对解决氮肥与固氮的矛盾有着广阔的前景。

参 考 文 献

- [1] 顾俭本, 1985, 植物生理学实验手册, 上海科技出版社, 259- 264
- [2] 徐志伟等, 1986, 植物生理学通讯, 4: 60
- [3] 周树等, 1985, 植物生理学通讯, 1: 47
- [4] 桑原真人, 1986, 农业および园芸, 61(4): 473
- [5] 但野利秋等, 1976, 日本土壤肥料学杂志, 47(7): 321- 328
- [6] 星忍等, 1978, 北农试研报, 122, 13- 54
- [7] 田中明等, 1981, 土肥志, 52, 649- 474
- [8] 池田英男, 1987, 农业および园芸, 62(5): 655
- [9] Cataldo, D. A., 1975, Commun. Sci. Plant Analysis. 6(1): 71
- [10] Herridge D. F., 1982, Plant Physiol. (70): 1- 6
- [11] McClure, P. R. et al., 1980, Plant Physiol. 66: 720- 725
- [12] Peoples M. B. and Gibson A. H., Proceedings of world soybean Research Conference IV. Buenos Aires- Argentina. 1989. 196- 211
- [13] H. A. Бах Ния, 1985, А Формия 6: 77

EFFECT OF $\text{NO}_3^- - \text{N}$ AND $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ ON THE NITROGEN FIXATION OF SOYBEAN NODULES

Song Haixing Shen Sile Ma Shuying
Yan Shi Liu Jinping

(University of Agricultural and Animal Sci. of PLA Changchun, 130062)

Zhao Yumin

(Tonghua Normal College)

Abstract

The different proportion of $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ fertilizer were applied to soybean seedling before flowering. The nodule nitrogenase activities, NR activities in leaves, the content of ureides in young stems, the relative abundance of ureids and total nitrogen were analysed. The results indicated that seven proportion of $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ inhibited the nodule nitrogenase activities, reduced the content of ureides in stems and the relative abundance of ureides of soybean in a way. The nodule nitrogenase activities, the content of ureides in stems and the relative abundance of ureides were the highest when $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 5$. And they were lowermost when $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 0$. All of the proportion could increase the NR activities in leaves and total nitrogen content in young stems. The NR activities in leaves increased with the more proportion of $\text{NO}_3^- - \text{N}$. The total nitrogen content was the highest in stems when $\text{NO}_3^- - \text{N} : \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1 : 3$.

Key words Soybean(*G. max*); $\text{NO}_3^- - \text{N}$; $\text{NH}_4^+ - \text{N}$; Nitrogenase