

# 不同形态氮对大豆根瘤生长及固氮的影响

严 君<sup>1,2</sup>, 韩晓增<sup>1,2</sup>, 王守宇<sup>1</sup>, 王树起<sup>1</sup>, 李晓慧<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院东北地理与农业生态研究所, 黑龙江 哈尔滨 150081; <sup>2</sup>东北农业大学农学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:**采用框栽的培养方法,通过施用不同形态氮肥,探讨不同形态氮对大豆根瘤生长、含氮量、氮积累量以及固氮酶活性的影响。结果表明:不同形态的氮源,对根瘤干重、数量有促进作用,同时增加了根瘤中的含氮量和氮积累量。根瘤干重及数量的变化均为铵态氮(N<sub>2</sub>) > 蛋白氮(N<sub>4</sub>) > 硝态氮(N<sub>1</sub>) > 氨基酸态氮(N<sub>3</sub>) > 酰胺态氮(N<sub>5</sub>) > 生物固氮(N<sub>0</sub>),其中 N<sub>0</sub> 处理的根瘤干重、数量最少,而 N<sub>2</sub> 处理的根瘤干重和数量最多。根瘤含氮量的变化为 N<sub>1</sub> > N<sub>4</sub> > N<sub>5</sub> > N<sub>2</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>0</sub>,其中 N<sub>1</sub> 处理下的根瘤中的根瘤含氮量最高,N<sub>1</sub>、N<sub>4</sub> 和 N<sub>5</sub> 各处理与 N<sub>0</sub> 处理间差异显著( $P < 5\%$ )。而氮积累的变化为 N<sub>2</sub> > N<sub>4</sub> > N<sub>1</sub> > N<sub>5</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>0</sub>,各处理与 N<sub>0</sub> 处理相比,差异极显著( $P < 1\%$ ),与含氮量的变化趋势略有不同。添加不同形态的氮源对根瘤固氮酶活性有抑制作用,其变化趋势为 N<sub>0</sub> > N<sub>5</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>2</sub> > N<sub>4</sub> > N<sub>1</sub>,N<sub>0</sub> 处理的固氮酶活性最高。

**关键词:**根瘤;固氮酶活性;不同形态氮;大豆

中图分类号:S565.1 文献标识码:A 文章编号:1000-9841(2009)04-0674-04

## Effect of Different Forms Nitrogen on Nodule Growth and Nitrogen Fixation in Soybean (*Glycine max* L.)

YAN Jun<sup>1,2</sup>, HAN Xiao-zeng<sup>1,2</sup>, WANG Shou-yu<sup>1</sup>, WANG Shu-qi<sup>1</sup>, LI Xiao-hui<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Northeast Institute of Geography and Agricultural Ecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, Heilongjiang; <sup>2</sup>College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, Heilongjiang, China)

**Abstract:** Nitrogen plays an important role in nitrogen fixation of soybean. In this paper, a pot culture experiment was carried out to study the effects of different forms nitrogen on the variation of dry weight (DW), number, nitrogen content, nitrogen accumulation and nitrogenase activity in nodule of soybean (*Glycine max* L.) at flowering stage. The results showed that different forms nitrogen promoted nodule formation and growth, which embodied in dry weight and number significantly increased compared with biological nitrogen fixation. The order of the nodule DW and nodule number were  $\text{NO}_4^+ - \text{N}(\text{N}_2) > \text{Protein-N}(\text{N}_4) > \text{NO}_5^- - \text{N}(\text{N}_1) > \text{Amino Acid-N}(\text{N}_3) > \text{Amide-N}(\text{N}_5) > \text{Biological Nitrogen Fixation}(\text{N}_0)$ , the least nodule DW and number appeared in N<sub>0</sub> treatment, while the most occurred in N<sub>2</sub> treatment. Meanwhile different forms nitrogen increased N content and N accumulation in nodule. The trend of the nitrogen content in nodule was as follows: N<sub>1</sub> > N<sub>4</sub> > N<sub>5</sub> > N<sub>2</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>0</sub>, and nitrogen content was the highest in the N<sub>1</sub> treatment, moreover, the difference among N<sub>0</sub>, N<sub>1</sub>, N<sub>4</sub>, N<sub>5</sub> was significant at 5% level. However, the order of the N accumulation was N<sub>2</sub> > N<sub>4</sub> > N<sub>1</sub> > N<sub>5</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>0</sub>. The different forms nitrogen remarkably affected nitrogenase activity, the trend was N<sub>0</sub> > N<sub>5</sub> > N<sub>3</sub> > N<sub>2</sub> > N<sub>4</sub> > N<sub>1</sub>, and the nitrogenase activity was the highest in N<sub>0</sub> treatment. Therefore, different forms nitrogen had different effects on nitrogen fixation of soybean.

**Key words:** Nodule; Nitrogenase activity; Different forms nitrogen; Soybean

氮素是植物体内蛋白质、核酸、叶绿素和一些激素等的重要组成成分,是影响大豆生长发育的主要因素。大豆与根瘤菌形成共生固氮体系,所固定的氮素约占大豆一生需氮量的 50% ~ 60%<sup>[1]</sup>,还不能

满足大豆对氮素的需要,必须施用适量的氮肥,而施氮对根瘤菌侵染、瘤发育、固氮和类菌体蛋白(包括固氮酶)均有影响<sup>[2-3]</sup>。

不同形态氮对大豆根瘤固氮影响不同,但野利

收稿日期:2008-12-21

基金项目:国家科技支撑计划资助项目(2006BAD21B01,2006BAD05B05);黑龙江省科技攻关资助项目(GB06B101-1-4)。

作者简介:严君(1982-),女,硕士,研究方向为植物营养。E-mail:yanjun985625@163.com。

通讯作者:韩晓增,研究员。E-mail:xzhan@neigaehrb.ac.cn。

秋等<sup>[4]</sup>研究表明  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  比  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  更有利于大豆生长,而宋海星等<sup>[5]</sup>研究也表明, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  对根瘤固氮的抑制作用明显低于  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 。可以看出,前人研究氮对大豆固氮的影响大多集中在无机形态氮及酰胺态氮(尿素),而对于有机态氮(如氨基酸态氮、蛋白氮)在大豆结瘤固氮的研究还未见相关报道<sup>[6-8]</sup>。采用框栽方法,设计不同形态氮肥(包括无机态氮、有机态氮),对比研究不同形态氮源对大豆根瘤生长、氮积累及固氮能力的影响,目的在于完善大豆结瘤固氮理论,同时为生产上调整氮肥的施用制度提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

大豆品种:黑农 35,供试肥料:硝酸钾,硫酸铵,甘氨酸,尿素均为分析纯,豆粉(豆粒磨碎过 40 目筛),土壤:从中国科学院海伦农业生态实验站长期定位试验采集的典型黑土(有机碳:28.64 g·kg<sup>-1</sup>,全氮:2.32 g·kg<sup>-1</sup>,碱解氮:167.9 mg·kg<sup>-1</sup>,pH:6.1),将黑土和砂子按 1:1 的比例混匀,作为供试土壤,目的在于降低黑土的含氮量。

1.2 试验设计

采用框栽试验,每桶(PVC 材料,直径×高:15 cm×20 cm)装土 3 kg(以风干土计),设 6 个处理,氮肥以基肥的形式与土壤混匀一次性施入,同时配施  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,折合  $\text{P}_2\text{O}_5$  30 mg·kg<sup>-1</sup>, $\text{K}_2\text{O}$  30 mg·kg<sup>-1</sup> 土,随机排列,4 次重复。具体设计见表 1。

表 1 氮处理及施肥量  
Table 1 N treatments and rates

处理 Treatments	氮处理及施用量 N treatments and rates
N0	不施氮肥,即生物固氮 Biological nitrogen fixation
N1	$\text{NO}_3^- - \text{N} - \text{KNO}_3$ 1.82 g·pot <sup>-1</sup>
N2	$\text{NO}_4^+ - \text{N} - (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.19 g·pot <sup>-1</sup>
N3	氨基酸态氮-甘氨酸 1.35 g·pot <sup>-1</sup> Amino Acid-N- Glycin 1.35 g·pot <sup>-1</sup>
N4	蛋白氮-豆粉 3.57 g·pot <sup>-1</sup> Protein-N- Soybean powder 3.57 g·pot <sup>-1</sup>
N5	酰胺态氮-尿素 0.54 g·pot <sup>-1</sup> Amide-N-Urea 0.54 g·pot <sup>-1</sup>

于 2008 年 5 月 10 日播种,保苗 2 株·pot<sup>-1</sup>,生长期各处理土壤含水量始终保持在田间持水量的 65% 左右,其它管理与大田相同。于盛花期(7 月 14

日)取样,先测定固氮酶活性,然后调查根瘤数量,测定根瘤干鲜重(105℃ 杀青,80℃ 烘干至恒重),测定根瘤 NP 含量。

1.3 测定项目和研究方法

固氮酶活性采用乙炔还原法活体测定,采用日本岛津 GC-2010 气相色谱分析仪测定<sup>[9]</sup>。大豆植株含氮量测定:采用凯氏定氮法<sup>[10]</sup>。

1.4 数据统计分析

采用 Excel 2003, DPS2000 对数据进行差异性分析并计算 LSD。

2 结果与分析

2.1 不同形态氮对大豆根瘤干重的影响

施用适量的氮素,能促进根瘤的形成和生长,由图 1 可知,不同形态氮处理下,大豆根瘤干重明显不同,表明大豆根瘤的生长发育与氮形态有关。不同形态氮对根瘤干重的影响表现为:  $\text{N2} > \text{N4} > \text{N1} > \text{N3} > \text{N5} > \text{N0}$ ,其中 N0 处理的根瘤干重最低,与 N2 和 N4 处理干重差异显著( $P < 5\%$ ),其它各处理间均未表现出差异。各施氮处理较 N0 处理根瘤干重都有不同的增加,其中 N2 处理的根干重增加最多达 165.6%,其次是 N4 处理为 158.9%,增加最少的是 N5 处理为 52.4%。

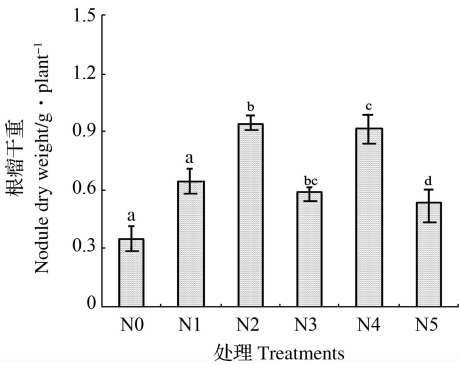


图 1 不同形态氮对根瘤干重的影响

Fig. 1 Effects of different forms N on nodule dry weight

2.2 不同形态氮对大豆根瘤数量的影响

大豆共生固氮能力的大小与根瘤的数量有密切关系。在施用不同形态氮的情况下,根瘤数量的排列顺序为:  $\text{N2} > \text{N4} > \text{N1} > \text{N3} > \text{N5} > \text{N0}$ ,与根瘤干重大小的变化趋势相同,N0 处理与 N1、N2、N3、N4 各处理间差异极显著( $P < 1\%$ )。各处理的根瘤数较 N0 有不同程度的增加,增加量分别为 51.0%、95.7%、32.8%、59.2% 和 11.9%,其中 N2 处理下的根瘤数量最多,N5 处理下的根瘤数量最少。

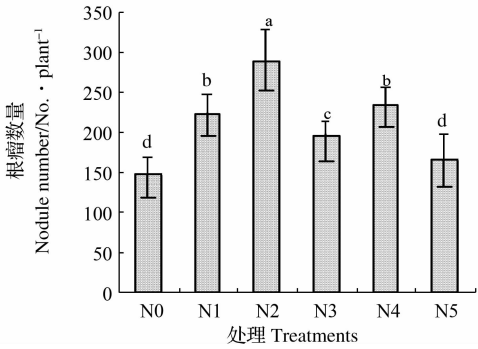


图2 不同形态氮对大豆根瘤数量的影响  
Fig.2 Effects of different forms N on nodule number

2.3 不同形态氮对大豆根瘤含氮量和氮积累的影响

根瘤是大豆氮素的主要贮存器官,结果表明,不同形态的氮对根瘤组织中的含氮量和氮积累量有显著影响。根瘤中的含氮量变化为: N1 > N4 > N5 > N2 > N3 > N0, 其中 N1 处理根瘤中的含氮量最高, 且 N1、N4 和 N5 与 N0 处理相比, 差异显著 ( $P < 5\%$ )。氮积累量的变化趋势为 N2 > N4 > N1 > N5 > N3 > N0, 各处理间差异极显著 ( $P < 1\%$ )。N0 即生物固氮处理根瘤中的含氮量和氮积累量均最低, 可能由于其它处理有外源氮供给, 这些氮素一部分用于满足大豆自身需要, 另一部分则在体内累积, 而生物固氮处理无外界氮素供给, 仅靠根瘤固定的氮素供给自身生长对氮素的需求, 所以在大豆根瘤中内积累的氮较少。

表2 不同形态氮对大豆根瘤含氮量及氮积累的影响		
Table 2 Effects of different forms N on N content and N accumulation in nodule		
处理 Treatments	根瘤含氮量	根瘤氮积累量
	N content in nodule	N accumulation in nodule
	/mg · g <sup>-1</sup>	/mg · plant <sup>-1</sup>
N0	36.0 ± 2.55b C	16.3 ± 1.16e D
N1	43.4 ± 6.18a A	27.9 ± 3.99c B
N2	39.5 ± 2.74ab ABC	37.1 ± 2.57a A
N3	37.5 ± 1.34b BC	20.7 ± 2.29d C
N4	42.1 ± 1.31a AB	34.1 ± 1.03b A
N5	41.9 ± 1.17a AB	22.6 ± 0.63d C

2.4 不同形态氮对大豆固氮酶活性的影响

固氮酶能将生物体无法直接利用的分子氮转化成为可利用的铵态氮<sup>[11]</sup>。由图3可看出, 固氮酶活性的变化趋势为: N0 > N5 > N3 > N2 > N4 > N1, 其中 N0 处理固氮酶活性最高, 而 N1 处理固氮酶活性最低, 表明不论施用何种形态氮均抑制了大豆根瘤的固氮酶活性。正常情况下固氮酶活性随着反应时间

的延长, 不同处理间的差异应该是越来越大<sup>[12]</sup>, 但试验可能受到其它因素, 如土壤微生物、土壤供氧能力、土壤呼吸等因素的影响, 各处理间固氮酶活性差异不显著。

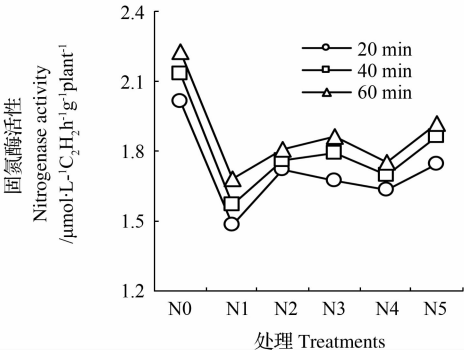


图3 不同形态氮对大豆固氮酶活性的影响  
Fig.3 Effect of different forms N on nitrogenase activity in soybean nodule

2.5 固氮酶活性与根瘤氮积累量相关性分析

由图4可以看出, 根瘤固氮酶活性与根瘤的氮积累呈显著负相关 ( $r = -0.699$ ), 表明施用氮肥抑制了根瘤固氮酶活性而促进了根瘤的含氮量和氮积累量。从理论上讲, 根瘤对施氮肥十分敏感, 根瘤固氮量与氮肥的用量呈显著的负相关<sup>[13]</sup>, 但在试验中, 同一施氮量下不同形态氮对固氮酶活性的抑制作用存在差异, 造成了根瘤的氮积累与之相关性不显著。

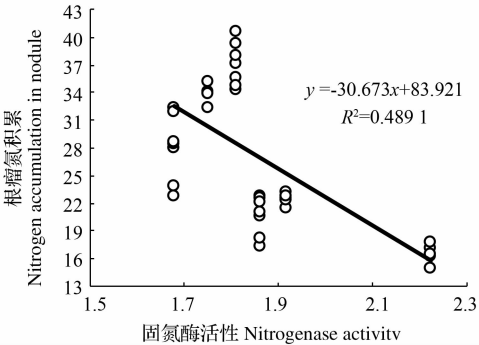


图4 固氮酶活性与根瘤氮积累相关性分析  
Fig.4 Correlation between nitrogenase activity and nitrogen accumulation in nodule

3 结论与讨论

研究不同形态氮对大豆根瘤生长、氮积累以及固氮酶活性等生理学指标的影响, 以及固氮酶活性与氮积累的相关性。结果表明: 不同形态氮促进了大豆根瘤的生长, 表现为根瘤干重与不施氮相比均

有所增加,其变化趋势为  $N_2 > N_4 > N_1 > N_3 > N_5 > N_0$ ;不同形态氮对大豆根瘤的形成也有不同程度的促进作用,其变化趋势与干重的变化趋势相似,这与 Marshner 的研究结果相同<sup>[14]</sup>。由于大豆根瘤生长发育需要一定的氮素营养,不论何种形态氮的施用对大豆根瘤的形成和生长均有促进作用。

不同形态的氮促进了大豆根瘤形成和生长,同时也有利于根瘤氮含量和氮积累量的增加,其中根瘤含氮量变化趋势为  $N_1 > N_4 > N_5 > N_2 > N_3 > N_0$ ,其中  $N_1$  处理下根瘤中的氮含量最高, $N_1$ 、 $N_4$  和  $N_5$  各处理与  $N_0$  相比,均存在显著差异( $P < 5\%$ )。而氮积累的变化趋势为  $N_2 > N_4 > N_1 > N_5 > N_3 > N_0$ ,各处理与  $N_0$  相比,均显著促进了根瘤中氮的积累( $P < 1\%$ )。氮源直接影响着大豆体内的氮含量和氮积累量,试验为大豆提供了不同形态的氮源,由于大豆对这些形态的氮的吸收情况不同,决定了大豆根瘤中的含氮量和氮积累量不同。

添加不同形态氮源后固氮酶活性的变化顺序为  $N_0 > N_5 > N_3 > N_2 > N_4 > N_1$ ,其中  $N_0$  处理固氮酶活性最高,而不同形态氮的施用均抑制了固氮酶的活性。目前国内外研究较多的是  $NO_3^-$ -N 和  $NH_4^+$ -N,即结果中的  $N_2$  和  $N_1$  处理, $N_2$  对根瘤固氮的抑制作用明显低于  $N_1$ ,这与大多数研究者研究结果<sup>[15]</sup>相似。对于酰胺态氮( $N_5$ )、氨基酸态氮( $N_3$ )及蛋白氮( $N_4$ )对固氮酶活性的影响,结果初步显示这几种氮均对固氮酶活性存在不同程度的抑制作用,与  $N_1$  和  $N_2$  相比存在一定差异,出现这种结果的原因,还有待于做进一步的研究。

一般来说大豆对氮肥很敏感,国内外有许多学者已经做过相关的研究表明根瘤固氮量与氮肥用量呈显著的负相关,而在本试验中不同形态对结瘤固氮的影响间差异并不显著,这可能是由于受到土壤微生物、土壤供氧能力、土壤呼吸等因素的影响,所以各处理间固氮酶活性与氮含量和氮积累的相关性不显著,有待于深入研究。

参考文献

[1] O'hwaki Y,Sugahara P. Active extrusion of protons and exudation of carboxylic acids in response to iron deficiency by roots of chick-pea (*Cicer arietinum* L.) [J]. Plant Soil,1997,189:49-55.

[2] 桑原真人. タイズの多収条件と窒素代謝(2) [J]. 农业および园艺,1986,61(5):590-598. (Setiyono. Environment conditions and nitrogen metabolization of soybean [J]. Journal of Agronomy and Horticulture,1986,61(5):590-598. )

[3] 藤田耕之辅. タイズによける窒素の固定、吸収、転流に対する化合态窒素の影響[J]. 土壤肥料学杂志,1982,53(1):30-34. (Takahasuki. Chemical nitrogen on nitrogen fixation, absorption

and transfer of soybean [J]. Journal of Soil and Fertilizer,1982,53(1):30-34. )

[4] 但野利秋,田中明. アソモニア态窒素および硝酸态窒素适应性の作物种间差 [J]. 日本土壤肥料学杂志,1976,47(7):321-328. (Tadano T,Tanaka M. Difference of adaptability to ammonium and nitrate in different crop varieties [J]. Japanese Journal of Soil and Fertilizer Sciences,1976,47(7):321-328. )

[5] 宋海星,申斯乐,马淑英,等. 硝态氮和铵态氮对大豆根瘤固氮的影响 [J]. 大豆科学,1997,16(4):283-286. ( Song H X,Shen S L,Ma S Y,et al. Effect of  $NO_3^-$ -N and  $NH_4^+$ -N on the nitrogen fixation of soybean nodules [J]. Soybean Science,1997,16(4):283-286. )

[6] 吴良欢,陶勤南. 水稻氨基酸态氮营养效应及其机理研究 [J]. 土壤学报,2000,37(4):464-473. ( Wu L H,Tao Q N. Effects of amino acid-N on rice nitrogen nutrition and its mechanism [J]. Acta Pedologica Sinica. ,2000,37(4):464-473. )

[7] 莫良玉. 高等植物氨基酸态氮营养效应研究 [D]. 杭州:浙江大学,2001,24-66. ( Mo L Y. Studies on the effects of amino acid nitrogen on different plants under sterile culture [D]. Hangzhou: Zhejiang University,2001,24-66. )

[8] 张政. 氨基酸态氮对黄瓜的营养效应 [D]. 重庆:西南农业大学,2005,28-30. ( Zhang Z. Effects of amino acid nitrogen on cucumber growth [D]. Chongqing: Southwest Agricultural University,2005,28-30. )

[9] M. 奥巴托. 共生固氮技术手册:豆科植物-根瘤菌 [M]. 北京:科学出版社,1987. ( M. Aobato. The manual of symbiotic nitrogen fixation: legumes plant- rhizobium [ M ]. Beijing: Science Press,1987. )

[10] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京:中国农业科技出版社,2000. ( Lu R K. Soil agricultural chemical analysis methods [ M ]. Beijing:Chinese Agricultural Science and Technology Press,2000. )

[11] 周朝晖,颜文斌,张凤章,等. 固氮酶催化作用机理及其化学模拟 [J]. Journal of Xiamen University ( Natural Science ),2001,40(2):320-329. ( Zhou Z H,Yan W B,Zhang F Z. Catalytic mechanism of nitrogen reduction by nitrogenase and its chemical modeling [J]. Soybean Science,2001,40(2):320-329. )

[12] 苗淑杰,乔云发,韩晓增. 两种形态氮源条件下磷对大豆结瘤固氮的影响 [J]. 大豆科学,2006,25(3):250-278. ( Miao S J,Qiao Y F,Han X Z. Effects of P deficiency on nodulation and function in soybean under two different N sources [J]. Soybean Science,2006,25(3):250-278. )

[13] 孙彦浩,陈殿绪,张礼凤. 花生施氮肥效果与根瘤菌固 N 的关系 [J]. 中国油料作物学报,1998,20(3):69-72. ( Sun Y H,Chen D X,Zhang L F. The relationship between the effect of N application and nitrogen fixation in peanut [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences,1998,20(3):69-72. )

[14] Marschner H. Mineral nutrition of higher plant [J]. Academic press,Inc. ,London,UK,1986:674.

[15] 甘银波,陈静,邱正明,等. 不同阶段施用氮肥对大豆氮吸收及固氮的影响 [J]. 中国油料,1996,18(4):45-48. ( Gan Y B,Chen J,Qiu Z M,et al. Effect of N fertilizer application at different growth stages on uptake and N fixation of soybean [J]. Journal of Chinese Oils,1996,18(4):45-48. )