

大豆—根瘤菌共生固氮乙炔还原 活体测定方法的研究

常从云 孙克用 李奇真

杨孟佩 卢增辉 戴蜀珏

(中国农业科学院作物育种栽培研究所)

摘 要

本文选用克拉克结瘤与不结瘤等位基因系大豆为实验材料,对乙炔还原活体测定盆栽大豆共生固氮方法进行研究。测定了不同生育阶段盆栽大豆共生固氮量,并将乙炔还原活体测定方法与总氮差值法、乙炔还原离体测定方法和同位素稀释各方法相比较。经三年实验表明,乙炔还原活体测定共生固氮的方法是快速、灵敏、简便、可靠的。所测共生固氮值极显著,高于乙炔还原离体方法估测值;与同位素稀释各方法相比较,鼓粒以前,乙炔还原活体方法测定共生固氮值较高,鼓粒以后,活体方法估测值偏低。

乙炔还原活体测定共生固氮为短时间内筛选大豆——根瘤菌最佳共生体提供了简便、快速的方法。

关键词 大豆根瘤菌; 共生固氮; 乙炔还原活体方法

前 言

60年代中期,乙炔还原测定技术应用于生物固氮研究,因方法简便、灵敏、快速,至使在生物固氮研究领域得到广泛应用和迅速推广^[1、2、6、7]。20多年里,发表了许多乙炔还原测定固氮酶活性的论文,大多是把根瘤摘下或连同整个根系剪下,放入翻口胶塞瓶中,注入1/10体积的乙炔气体,温育培养。这种离体测定大大降低了固氮酶活性,而且也不能真实地反映共生、生活条件下的共生固氮能力。为此有人设计一种能使固氮植物生长较长时间的密闭容器,用以研究大气、植物、土壤系统中固氮量和氮素平衡,因容器较大,容器内气体成分难以控制^[2]。近年来,科学家们提出筛选大豆—根瘤菌共生体,使竞争性强和固氮力高在共生体上得到统一的表达,基于这一出发点,我们从

本文于1988年8月16日收到。

This paper was received on Aug. 16, 1988.

1982年开始探索大豆—根瘤菌共生体半封闭式乙炔还原活体测定共生固氮的方法及共生固氮能力的研究。本文主要对乙炔还原活体测定大豆—根瘤菌共生固氮方法做一总结,并将测定的固氮量结果与总氮差值法、同位素稀释法和乙炔还原离体测定等方法估测的固氮量结果相比较,以鉴定乙炔还原活体测定共生固氮方法的可靠性及应用的可行性。

材 料 与 方 法

1982年在本所网室开设乙炔还原活体测定大豆—根瘤菌共生固氮能力盆栽实验。经1983、1986两年技术改进,重复实验和测定验证,3年实验全部选用克拉克结瘤(R_{j1})与不结瘤(r_{j1})等位基因系大豆,以(r_{j1})大豆为对照,同步测定乙炔还原为乙烯的量,其差值经换算即为(R_{j1})大豆—根瘤菌共生系统的共生固氮量。方法研究与氮、磷营养试验相结合。实验处理如表1。

表1 盆栽实验处理
Table 1 Treatments of pot experiment

年 Year	处 理 Treatments	克拉克结瘤 (R _{j1}) 大豆 Nodulated soybeans		克拉克不结瘤 (r _{j1}) 大豆 Non nodulated soybeans	
		施 肥 量(g) {The amount of fertilizer applied		施 肥 量(g) The amount of fertilizer applied	
		N/pot	P ₂ O ₅ /pot	N/pot	P ₂ O ₅ /pot
1982	N ₀ P ₀	0	0	0	0
	N ₀ P ₂	0	0.450	0	0.450
	N ₁ P ₂	0.225	0.450	0.225	0.450
	N ₂ P ₂	0.450	0.450	0.450	0.450
1983	N ₃ P ₆	0.293	0.585	0.293	0.585
1986	N ₀ P ₀	0	0	0	0
	N ₀ P ₄	0	0.390	0	0.390
	N ₂ P ₄	0.195	0.390	0.195	0.390
	N ₃ P ₆	0.293	0.585	0.293	0.585

注: N₁ 为每 kg 干土施纯 N 0.075g, 1982年盆盛干土3kg
P₁ 为每 kg 干土施纯 P₂O₅ 0.075g, 1983、1986年盆盛干土1.3kg

实验用土,1982年为京郊郎府褐土,采用φ18.5×12 cm聚丙烯盆,每盆盛干土3 kg,保苗2株。1983、1986年实验结合黄淮海大豆攻关课题研究,选用山东巨野县粘壤土,改用易密闭的聚乙烯筒,每筒盛干土1.3kg,保苗1株。标记氮肥用上海化工研究院生产的(¹⁵NH₂)₂CO, ¹⁵N丰度12.2%,磷肥1982、1986年用KH₂PO₄,1983年用过磷酸钙,尿素和KH₂PO₄按实验方案以营养液方式施入土中,过磷酸钙播前施入土

中。纸袋育苗,选生长整齐一致的幼苗移入筒中。开花前及开花后分别按土壤最大持水量的 60% 和 70% 灌水。(R_{j1}) 大豆第 3 片复叶期,开始进行乙炔还原活体测定 共生固氮能力,每周一次,在分枝、盛花、结荚、鼓粒、成熟各生育期,对照 (r_{j1}) 大豆同步测定乙炔被还原为乙烯的能力。并做活体、离体测定比较。乙炔还原离体测定每处理测定 3 盆,取各自根系离体培养 3 小时,测定乙炔还原为乙烯的量。然后考种,分别测定干物重、全 N 含量、根瘤数、瘤干重。对同位素 ¹⁵N 处理的做同位素测定分析。

分析方法:全氮用半微量凯氏定氮法;同位素 ¹⁵N 原子百分超用本组德制 N01-5 型光谱仪测定;乙炔还原活体测定,每处理每次测 4—5 盆,测前从子叶痕处用橡皮泥密闭,注入乙炔气体后 24 小时取样,立即在 2305 全型气相色谱仪上测定乙烯生成量。注入乙炔气体和取分析气样时采用大气采样器或输液泵使筒内气体混合均匀;乙炔还原离体测定,从子叶痕处剪断植株,用水冲去土壤把整个根系立即放入空葡萄糖瓶中,盖以翻口胶塞,注入乙炔气体温育 3 小时,取气样,测定乙烯生成量。

固氮量计算方法:〔1、5、9、10〕

1. 乙炔还原活体测定 (R_{j1}) 大豆共生固氮量,将每株 (R_{j1}) 大豆每昼夜生成的乙烯量,减去相同处理 (r_{j1}) 大豆盆乙烯生成量 (固氮酶还原乙炔克分子数与还原氮克分子数的理论转换因数以 3 计算) 求得固氮 mg/株·天,乘以间隔天数,即可求得两次测定间隔时间内累积共生固氮量。

因 24 小时密闭,时间较长,乙烯形成量不可忽略不计,将求乙烯体积的公式

$$x = k \cdot \text{峰高比} \cdot c$$

改为

$$x = \frac{k \cdot \text{峰高比}}{1 + k \cdot \text{峰高比}} \times c$$

k 为乙烯乙炔体积比与峰高比之间的相关系数,本实验中 $k = 0.47$

c 为注入乙炔气体 ml 数

x 为欲求乙烯体积 ml 数

2. 乙炔还原离体测定固氮量是将 3 小时生成的乙烯 ml 数,换算为固氮 mg/株·天。

3. 总氮差值法:

$$\text{固氮量} = (R_{j1}) \text{大豆总氮量} - (r_{j1}) \text{大豆总氮量}$$

4. 示踪差值法〔1〕:

$$\begin{aligned} \text{固氮量} = & [(R_{j1}) \text{大豆总氮量} - \text{Ndff} (R_{j1}) \text{大豆}] - \\ & [(r_{j1}) \text{大豆总氮量} - \text{Ndff} (r_{j1}) \text{大豆}] \end{aligned}$$

Ndff 为总氮中来源于肥料中的氮部分

5. Fried and Middelboe 法: (当 (R_{j1}) 大豆与 (r_{j1}) 大豆施用同样数量氮肥时,可不经 A_N 计算)〔12〕

$$\text{固氮量} = \left(1 - \frac{(R_{j1}) \text{大豆 } ^{15}\text{N 原子百分超}}{(r_{j1}) \text{大豆 } ^{15}\text{N 原子百分超}} \right) \times (R_{j1}) \text{大豆总氮量}$$

6. Fried and Broeshat 法 (即 A_N 值法) [1,12]

- ① 豆株由肥料中得来的 $N\% = \frac{(R_{j1}) \text{ 大豆}^{15}\text{N原子百分超}}{\text{肥料氮的}^{15}\text{N原子百分超}} \times 100$
- ② 肥料利用率 $\% = \frac{\text{豆株总氮量} \times \%Ndff}{\text{氮肥施用量}} \times 100$
- ③ $A \text{ 值} = \frac{100 - \%Ndff}{\%Ndff} \times N \text{ 肥施用量}$
- ④ $A \text{ 值差} = A(R_{j1}) \text{ 大豆} - A(r_{j1}) \text{ 大豆}$
- ⑤ $(R_{j1}) \text{ 大豆固氮量} = A \text{ 值差} \times N \text{ 肥利用率百分数}$

表 2 1986年不同方法估测结瘤大豆共生固氮量结果比较

Table 2 The comparison of the N amount of symbiotic N fixation in nodulated soybeans estimated by different methods in 1986 unit: mg

处 理 Treatments		总氮差值法 Total N difference method	示踪差值法 Difference method based on tracer	A_N 值法 Fried and Broeshart's method	Fried and Middelboe's method	乙炔还原离体法 Acetylene reduction method in vitro	乙炔还原活体法 Acetylene reduction method in vivo
分枝期 Branching	$N_0 P_0$	2.85				0	0.41
	$N_0 P_4$	4.48				0	0.56
	$N_2 P_4$		-3.75	-0.88	-0.87	0	0.29
	$N_3 P_6$		-3.23	-2.49	-2.49	0	0.164
开花期 Flowering	$N_0 P_0$	8.13				0.054	1.05
	$N_0 P_4$	10.74				1.64	9.70
	$N_2 P_4$		-4.65	2.46	2.60	0.036	0.75
	$N_3 P_6$		-1.98	2.00	1.87	0.012	0.42
结荚期 Podding	$N_0 P_0$	36.14				8.08	10.65
	$N_0 P_4$	146.74				13.92	73.38
	$N_2 P_4$		38.60	37.82	38.64	6.46	40.76
	$N_3 P_6$		6.92	6.59	6.30	0.88	13.30
鼓粒期 Seed filling	$N_0 P_0$	138.60				24.28	92.68
	$N_0 P_4$	266.26				31.03	166.46
	$N_2 P_4$		118.50	105.51	105.57	19.37	155.65
	$N_3 P_6$		69.34	67.04	67.14	4.75	80.01
成熟期 Maturing	$N_0 P_0$	319.97				29.45	151.04
	$N_0 P_4$	404.10				33.86	226.18
	$N_2 P_4$		404.62	404.68	404.90	22.78	238.14
	$N_3 P_6$		205.81	202.50	202.63	6.95	141.20

注: 活体测定(R_{j1})大豆固氮量 $\text{mg/株} = (R_{j1}) \text{ 大豆盆氮固定值 } \text{mg/株} - (r_{j1}) \text{ 大豆盆氮固定值 } \text{mg/株}$

结 果 与 分 析

采用不同方法估测大豆与根瘤菌共生固氮量值如表 2，所估测的固氮值尽管存在差异，但固氮动态变化趋势是相同的。对 (R_{j1}) 大豆施用磷肥可促进提前结瘤固氮，而施用氮肥有延缓和抑制结瘤固氮的作用。施氮量增加固氮能力被延缓和抑制也愈加严重。施用磷肥有缓解氮肥抑制结瘤和固氮的作用。适当地施用氮肥，有助于苗期的生长，开花以后结瘤固氮被抑制的现象可以得到解除。采用乙炔还原活体方法测定的上述结果，与一些研究者采用非活体测定方法估测的结果是一致的。

采用乙炔还原活体测定 (R_{j1}) 大豆固氮量的同时，考虑到土壤中含有自生固氮菌，在自然情况下可以产生少量的乙烯，(r_{j1}) 大豆的根系也可还原少量的乙炔为乙烯，因此在使用乙炔还原活体测定 (R_{j1}) 大豆共生固氮能力时，不可忽视去除土壤和 (r_{j1}) 大豆根际乙炔被还原为乙烯的量。表 3 是克拉克 (R_{j1}) 大豆、(r_{j1}) 大豆及空白

表 3 克拉克 R_{j1} 大豆、r_{j1} 大豆和土壤盆固氮量比较
Table 3 The comparison of N fixation amount among Clack
nodulated soybeans non-nodulated soybeans and soil

处 理 Treatments		分 枝 期 Branching			开 花 期 Flowering			结 荚 期 Podding		
		R _{j1} 大豆 Nodulated soybeans	r _{j1} 大豆 Nonnodu- lated soybeans	空白土壤 Soil	R _{j1} 大豆 Nodulated soybeans	r _{j1} 大豆 Non- nodulated soybeans	空白土壤 Soil	R _{j1} 大豆 Nodulated soybeans	r _{j1} 大豆 Non- nodulated soybeans	空白土壤 Soil
1983	N ₀ P ₀	0.14	0.022	0.0008	2.32	0.10	0.017	2.9	0.25	
	N ₀ P ₂	1.21	0.164	0.010	2.89	0.14	0.005	3.77	0.50	
	N ₃ P ₀	0.012	0.054	0.011	0.67	0.056	0.004	2.25	0.11	0.0015
1986	N ₀ P ₀	0.10	0.11	0.008	0.22	0.003	0.005	2.2	0.21	0.15

注：表中数值为每盆每株日固氮量 (mg/盆)，空白土壤盆为土壤自生固氮量 (mg/盆)

土壤固氮量比较，结果表明，(R_{j1}) 大豆乙炔还原为乙烯的能力远远高于 (r_{j1}) 大豆；(r_{j1}) 大豆高于空白土壤，后者的差异可能是根系、土壤互作综合效应的结果。表 4 为 1982 年乙炔还原活体方法测定 (R_{i1}) 大豆共生固氮量结果。固氮量/株·日 以鼓粒期最高，以后逐渐减少，1983、1986 年重复实验得到一致的结果。

对乙炔还原活体测定方法与其它方法估测固氮量做相关性比较 (表 5)，相关系数 r 值表明乙炔还原活体方法测定的固氮值与其它方法估测值之间存在显著的相关性。表 2 中已经看到用 A_N 值法、Fried and Middelboe 法和示踪差值法估测的共生固氮结果较接近，因为都是运用原子百分超计算得来。采用乙炔还原离体方法估测的固氮值远远低于乙炔还原活体方法测定值。乙炔还原活体方法估测固氮值低于总氮差值法估测值。与同位素稀释等方法相比，鼓粒期以前各生育期，乙炔还原活体方法测定的固氮值

表 4 1982年不同生育时间日固氮量 mg/株
Table 4 The amount of N fixed per day in various development stages in 1982

测定时间 Date 处 理 Treatments	22/6	26/6	4/7	9/7	23/7	7/8
N ₀ P ₀	0.03	0.142	0.57	1.63	3.60	5.21
N ₀ P ₂	0.22	0.76		3.50	5.63	7.74
N ₁ P ₂	0.005	0.22	0.17	0.63	2.62	6.28
N ₂ P ₂	0.013	0.15	0.07	0.28	1.42	5.87

表 5 乙炔还原活体测定固氮量与其它方法估测固氮量相关性比较
Table 5 The correlation of the N amount fixed between the method of acetylene reduction in vivo and the others

		处 理 Tretments	总氮差值法 Total N difference method	示踪差值法 Difference method based on tracer	(AN 值法) Fried and Broeshart's method	Fried and middelboe's method
乙炔还原活体测定法 Acetylene reduction method in vivo	1982	N ₀ P ₀	0.942*			
		N ₀ P ₂	0.93*			
		N ₁ P ₂				0.94*
		N ₂ P ₂				0.97**
	1983	N ₃ P ₀		0.975**	0.99**	0.99**
		N ₀ P ₀	0.98**			
		N ₀ P ₄	0.99**			
		N ₂ P ₄		0.94*	0.93*	0.93*
	1986	N ₃ P ₀		0.96*	0.97**	0.98**

表中数为 r 值, * 为 5 % 显著, ** 为 1 % 极显著

比较高, 鼓粒以后, 乙炔还原活体方法测定固氮值偏低, 这是因为此时的根系发达, 根瘤数多、个儿大, 长时期密闭, 导致筒内气体成分发生较大变化, 进而影响根瘤固氮能力的降低, 这种因密闭而对固氮能力的影响在鼓粒以前就出现了, 只不过生育初期, 根系不发达, 根瘤数少, 瘤小, 对固氮的影响不十分明显而已。在实验中, 我们还注意到采用乙炔还原离体方法测定的固氮值低于从子叶痕处剪断地上部后, 整个根系原封不动密闭在筒内的测定值。而两者都远远低于乙炔还原活体方法测定的固氮值。由此看来, 乙炔还原活体测定方法测定的固氮能力, 表示的是大豆—根瘤菌共生生活条件下, 光合作用正常进行, 碳源得到充足供应时的共生固氮量。而乙炔还原离体方法估测值是在光合

作用停止，碳源供应受到影响情况下测得的，所测固氮值应视为根瘤菌的固氮能力^[3]。

表 6 乙炔还原活体、离体测定大豆—根瘤菌共生固氮活性比较表
Table 6 The comparison of the symbiotic N fixation activity in soybean and nodule bacteria measured by acetylene reduction in vivo and vitro

处 理 Treatments	分 枝 期 Branching				开 花 期 Flowering				结 荚 期 Podding			
	结瘤品系 Nodulated strains		不结瘤品系 Non-nodulated strains		结瘤品系 Nodulated strains		不结瘤品系 Non-nodulated strains		结瘤品系 Nodulated strains		不结瘤品系 Non-nodulated strains	
	活 体 In vivo	离体 In vitro	活 体 In vivo	离体 In vitro	活 体 In vivo	离体 In vitro	活 体 In vivo	离体 In vitro	活 体 In vivo	离体 In vitro	活 体 In vivo	离体 In vitro
N ₀ P ₀	0.102	0	0.112	0	0.222	0.013	0.101	0	2.185	0.73	0.214	0
N ₀ P ₄	0.27	0	0.26	0	1.913	0.22	0.133	0	5.43	1.01	0.394	0
N ₂ P ₄	0.07	0	0.03	0	0.084	0.003	0.114	0	3.90	0.64	0.20	0
N ₃ P ₀	0.042	0	0.023	0	0.034	0.002	0.057	0	2.63	0.09	0.06	0

注：此表为1986年测定值，品种采用克拉克结瘤，不结瘤等位基因系，单位：固氮 mg/株·天

表 6 是乙炔还原活体、离体情况下测定的固氮值比较。

采用乙炔还原活体方法测定共生固氮能力24小时密闭使日共生固氮受到影响，它表现为固氮值不总是像密闭初始阶段那样呈直线增长，表 7 为 (R_{j1}) 大豆开花期共生固

表 7 (R_{j1}) 大豆植株24小时固氮活性表
Table 7 The N fixation activities in nodulated soybean plant during 24 hrs
单位：固氮 mg/株 unit: mg/plant

密闭小时 Hours after sealing the roots 处理 Treatments		2	3	4	6	9	13	24
活 体 In vivo	N ₂ P ₂ (二株平均值)	0.016		0.031	0.053	0.057	0.080	0.115
离 体 In vitro	N ₂ P ₂ (二株平均值)	0.002	0.003	0.0036	0.0046	0.0055	0.006	0.006

注：表中数为开花期测定值

氮日变化表。离体测定在 3 小时以内固氮量呈直线增长，3 小时以后成平排曲线缓慢增长。而活体测定，在密闭10余个小时内，固氮能力基本呈直线增长，以后，随密闭时间

的延长，累积固氮量缓慢增长，而单位时间固氮能力开始平缓 和 下 降。这是乙炔还原活体方法测定累积固氮量偏低的主要原因，花荚期以后，氮素来源主要靠共生固氮，长时间的密闭使筒内通风透气的环境变得不利于根系生长。因此鼓粒以后活体测定共生固氮值偏低更大一些。但无论怎样，采用乙炔还原活体测定方法，在密闭 1—2 小时条件下，进行大豆—根瘤菌最佳共生体筛选，其所测定固氮值可以认定为近似实际值，而且快速、灵敏、简便。表 8 是不同氮、磷处理下，共生固氮量根瘤数、瘤干重数值表。

表 8 不同施肥处理结瘤大豆全氮、根瘤数、瘤干重及活体测固氮量
Table 8 The total N, the number and dry weight of nodules and amount of N fixation in nodulated soybeans by applying different kind and amount of fertilizers

处 理 Treatments			N ₀ P ₀	N ₀ P ₄	N ₂ P ₄	N ₃ P ₆
分 枝 期 Branching	全氮量	Total N (mg/plant)	40.7	63.9	58.3	63.4
	根瘤数	Number of nodules (No./plant)	0	0	0	0
	瘤干重	Dry weight of nodules (mg/plant)	0	0	0	0
	固氮量	Amount of N fixation in vivo (mg/plant)	0.41	0.56	0.29	0.16
开 花 期 Flowering	全氮量	Total N (mg/plant)	63.29	84.27	161.20	153.58
	根瘤数	Number of nodules (No./plant)	8	39	0	1
	瘤干重	Dry weight of nodules (mg/plant)	30	90	0	20
	固氮量	Amount of N fixation in vivo (mg/plant)	1.05	9.70	0.75	0.42
结 荚 期 Podding	全氮量	Total N (mg/plant)	107.7	264.0	245.2	262.0
	根瘤数	Number of nodules (No./plant)	49.0	112.1	30	11
	瘤干重	Dry weight of nodules (mg/plant)	240	600	190	80
	固氮量	Amount of N fixation in vivo (mg/plant)	10.65	73.38	40.76	13.30

注：此表为 1986 年测定数据

数值表明，采用乙炔还原活体方法测定共生固氮量与根瘤数、瘤干重的变化相一致。

制作乙炔还原活体测定 (R_{j1}) 大豆全生育期累积固氮量曲线与其它方法测定 (R_{j1}) 大豆累积固氮量曲线比较，图 2 为 1986 年 N₂P₄ 处理下不同方法估测 (R_{j1}) 大豆累积固氮量比较，从图 2 中可以看到尽管密闭 24 小时对乙炔还原活体测定共生固氮有降低的影响，但在大豆鼓粒以前各生育期估测值仍然高于其它方法估测值，鼓粒以后密闭对固氮的影响更大一些。

综上所述，各种方法都可以估测大豆植株共生固氮量，不同测定方法都有各自的优

缺点。

乙炔还原法灵敏简便、快速经济, 但离体方法测定是短时间的动态测量, 它不能排

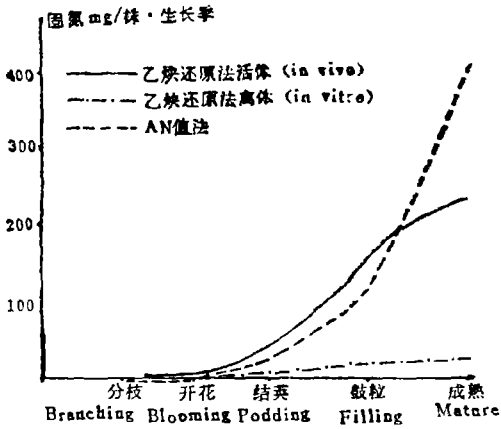


图1 1986年不同方法估测结瘤大豆共生固氮量比较

Fig.1 The comparison of the amount of symbiotic N fixation in nodulated soybeans estimated by different method in 1986

除因昼夜和季节变化而引起固氮量的变化, 不仅估测固氮值不够准确, 而且偏低^[1]; 而乙炔还原活体方法测定共生固氮灵敏度高, 采取全生育期多次测定, 可以近似测得不同生育时期累积固氮量, 它是在光合作用正常进行、碳源供应充足条件下测得的, 因此更近似表达共生、生活条件下的共生固氮量, 它表示的是共生系统还原固定根际周围 N_2 的能力, 它适宜盆栽而不适宜田间大豆的测定, 因而有其局限性; 总氮差值法在本实验中结果偏高, 但它不能区分豆株来源于土壤、肥料及共生固定的氮, 而且方法粗糙。采用同位素稀释的方法测定 N_2 还原是最直接可靠的方法, 但同位素昂贵, 还需一定的设备, 它所测定的固氮量表示大豆植株中来源于空气氮的量, 更确切说, 它是净固氮量, 而不应被认为是总固氮量; 而乙炔还原活体方法测定的固氮值应包括净固氮量和植株生长发育自解 (来源于固定的空气氮) 两个方面。

结 论

1. 经3年实验研究, 乙炔还原活体测定大豆—根瘤菌共生固氮能力可做为测定固氮方法之一予以采用。乙炔还原活体测定固氮量表示的是共生系统还原固定根际周围空气氮的能力。全生育期多次测定可以近似得到不同生育时期累积共生固氮量, (因密闭而造成的结果偏低可以采用系数校正的办法加以校正)。若在密闭1~2小时条件下, 开展大豆—根瘤菌最佳共生体筛选, 无疑是快速、灵敏、准确、可靠的方法, 其测定值近似共生固氮实际值。

2. 乙炔还原活体方法比离体方法灵敏, 所测值是共生系统在正常生活条件下共生固氮能力, 而离体方法所测值可认为是根瘤菌的固氮能力。洗过的豆根在苗期固氮能力与未洗的根固氮能力差异不明显, 表明此时根瘤菌及其它固氮微生物主要生活在根表或根内, 生育后期洗过的根固氮能力远远低于未洗的根, 表明此时根瘤菌及其它固氮微生物主要活动在根表和附在根上的土粒上。

参 考 文 献

- [1] 马昌麟、温贤芳等, 1983, 《原子能农业应用》 (2). 18—24
- [2] 尤崇豹、高盟生, 1983, 《原子能农业应用》 (3). 1—9
- [3] 张宏、徐豹等, 1984, 《土壤通报》 15 (5). 220—222
- [4] 黄隆广, 1984, 《土壤通报》 15 (4). 182—183
- [5] 上海植生所固氮室, 1974, 《植物学报》 16 (4). 382—384
- [6] 寒新田, 1984, 《大豆科学》 Vol 3. No.1. 64—69
- [7] 陈泰松, 1984, 《原子能农业译丛》 No.3. 29—31
- [8] 张宽泽, 1983, 《国外农学 大豆》 No.6. 45—47
- [9] Fried. M. and L. A. Dean, 1952, *Soil Science* 73: 263—271
- [10] Hunter. A. S. and D. L. Carter, 1965, *Soil Science* 100: 112—117
- [11] Fried. M. and Hans B, 1975, *Plant and Soil* 43: 707—711
- [12] Fried. M. and V. Middleboe, 1977. *Plant and Soil* 47: 713—715
- [13] B. L. Vasilas and G. E. Ham, 1984, *Agronomy Journal* Vol. 76 (5) 759—764

MEASURING METHOD'S RESEARCH OF SYMBIOTIC NITROGEN OF NODULE BACTERIA AND SOYBEANS APPLYING ACETYLENE REDUCTION TECHNIQUE IN VIVO

Chang Congyun Sun Keyong
Li Qizhen Yang Mengpei Lu Zenghui Dai Shujue

*(Institute of Crop Breeding and Cultivation, Chinese
Academy of Agricultural Sciences)*

Abstract

Clack soybeans of nodulated and non-nodulated isolines were used for the study of acetylene reduction method in vivo to measure symbiotic N fixation in pots. The amount of symbiotic N fixation was measured by acetylene reduction method in vivo at various development stage. The results from acetylene reduction method in vivo have been compared with those from total nitrogen difference method, acetylene reduction method in vitro and different isotope dilution methods based on tracer. The results in three years indicated that the method of acetylene reduction in vivo was move fast, convenient, simple and reliable. The reading of symbiotic N fixation from acetylene reduction method in vivo were remarkably higher than those from the method

in vitro. In comparison with isotope dilution methods, the readings of symbiotic N fixation measured by acetylene reduction in vivo were higher before seed filling, and lower after seed filling.

We suggest that the acetylene reduction method in vivo is simple and fast from screening best symbiotic system of soybeans and nodule bacteria in short time.

Key words: Soybean nodules; Symbiotic nitrogen of nodule bacteria; Acetylene reduction technique in vivo

第五次全国大豆科研协作会议召开

第五次全国大豆科研协作会议于1989年9月2日至6日在佳木斯市召开。来自全国各地的大豆专家,学者共110余人。会上代表们讨论了大豆栽培和育种研究的经验,并讨论了农业部大豆专家顾问组调查研究的四个专题讨论稿(包括全国大豆生产发展规划,外贸出口,大豆品种区划和高产模式研究)。会议期间,代表们还参观了国营农场建三江管局的大豆生产田,今年8月份,黑龙江省虽然旱灾较重,但三江平原的大豆长势仍然较好,丰收在望,预计平均亩产达300斤左右,有的地块可达350—400斤/亩。

(薛 津)