

茎瘤作用对长喙田菁—*Azorhizobium caulinodans*
共生体系固氮效率的影响^{*}

袁剑刚, 徐昊娟, 杨中艺

(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 盆栽和大田试验研究了长喙田菁茎瘤共生体系在华南地区的氮积累, 并用氮平衡法对共生体系的生物固氮效率进行了研究. 结果表明, 长喙田菁茎瘤共生体系在华南地区有较高的绿肥应用潜能, 65 d 生长喙田菁的氮积累量为 225 kg/hm², 是同等条件下普通田菁的 1.74 倍; 经 65 d 的生长, 长喙田菁茎瘤共生体系的生物固氮量为 0.463 g/株, 而普通田菁为 0.04 g/株, 生物固氮量在植物总氮中所占比重, 长喙田菁高达 85.6%, 远高于普通田菁的 26.7%; 茎瘤在共生体系的生长和固氮中占有重要地位, 根茎瘤总量中, 茎瘤所占比重超过了 75%, 摘除茎瘤组植物的生物量干质量及生物固氮量分别只有正常组植物的 60% 和 46%.

关键词: 长喙田菁; 茎瘤; 固氮效率; 普通田菁; *Azorhizobium caulinodans*

中图分类号: Q945.13 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2001) 02-0089-04

近年来, 茎瘤共生固氮体系以其极速生、高固氮、耐淹、耐复合态氮等特性, 吸引了人们的广泛关注^[1]. 虽然早在 70 多年前茎瘤现象便已有报导, 但人们对其真正感兴趣则是近年长喙田菁 (*Sesbania rostrata*) 的发现之后. 长喙田菁是一种源自非洲的热带豆科植物, 与 *Azorhizobium caulinodans* 共生, 既可形成根瘤, 又可形成茎瘤. 长喙田菁可能是目前已知固氮效率最高的植物^[2], Dreyfus^[3] 报道其固氮酶活性 (以 C₂H₂ 释放量计) 为 600 μmol·h⁻¹·株⁻¹, 并认为长喙田菁茎瘤共生体系可能具有极高的水稻氮源潜力.

为了探讨在我国南方稻作区应用长喙田菁的可行性, 杨中艺等^[4] 对长喙田菁在华南地区的生长、结瘤、氮积累和种子生产进行了研究. 本文则以普通田菁为对照, 对长喙田菁茎瘤共生固氮体系在华南地区的生物固氮效率以及茎瘤在其中的作用进行了研究.

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤 试验在广州中山大学内进行, 试验用土壤为壤性红壤, 理化性质如表 1 所示.

1.1.2 种子及根茎瘤菌 长喙田菁母种引自日本, 已在广州繁殖 2 代; 普通田菁种子采自当

地. 植物种子在播种前用 80℃ 热水浸泡 2 min, 转入已制备好之菌液中浸泡 2 h 后播种. 茎瘤菌种 *A. caulinodans* 品系 AR111 和 AR57 以及普通田菁根瘤菌种均源自日本. *A. caulinodans* 2 个品系菌种在改进型谷氨酸培养液^[3] 中于 28℃ 震荡培养 2 d 并混合后用于浸种. 普通田菁根瘤菌则直接用蒸馏水制作菌液用于浸种.

表 1 试验用土壤理化性质¹⁾

Tah 1 Properties of experimental soil

试验	pH	有机碳	全氮	全磷	速效磷	全钾	可溶性钾
1	5.8	5.92	0.179	1.41	23.5	3.13	100
2	6.7	2.60	0.077	0.66	10.5	1.46	20

1) 除 pH, 速效磷和可溶性钾的单位为 mg·kg⁻¹, 其余均为 w/%

1.2 试验设计和观测项目

1.2.1 试验 1 氮平衡法测量长喙田菁和普通田菁共生固氮体系的固氮效率. 试验用花盆直径 13 cm, 深 15 cm, 每盆装土 1 kg, 花盆置于一大盆内, 大盆内盛水, 使供试植物处于半浸水状态, 每大盆内装 6 个花盆. 共设置 4 个处理, 分别为正常长喙田菁组 (SR1)、长喙田菁摘除茎瘤组 (SR2, 每日摘除新生茎瘤)、普通田菁组 (SC) 和空白组 (CK, 不种植植物, 其余与其他处理相同), 每处理 3 个重复 (即 3 个大盆).

^{*} 基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (980293)

6 月 25 日播种，幼苗出齐后间苗至每盆 1 株，并调整花盆距离，使植株行距为 16 cm×16 cm。每天浇水，保持湿润。各处理另施 NPK 肥，播种前一天施入，每 kg 土施肥量为 N 40 mg、P 60 mg、K 80 mg，分别以 NH_4NO_3 、 $\text{Ca}(\text{HPO}_4)_2$ 和 KCl 施入。播种后 65 d 结束试验。

本试验观测项目包括：

(1) 生物固氮量：氮平衡法^[5]测生物固氮量，其原理为“实验前系统氮含量=实验后系统氮含量”，在本实验中即为：

$\text{BNF} + \text{N}_{\text{土}} + \text{N}_{\text{施肥}} = \text{N}'_{\text{土}} + \text{N}_{\text{植物}} + \text{N}_{\text{水}} + \text{空白}$ 。

其中，BNF 为体系生物固氮量， $\text{N}_{\text{土}}$ 为试验前土壤含氮量， $\text{N}_{\text{施肥}}$ 为施肥所含氮量， $\text{N}'_{\text{土}}$ 为试验后土壤含氮量， $\text{N}_{\text{植物}}$ 为植物含氮量， $\text{N}_{\text{水}}$ 为试验过程中大盆所盛水分含氮量，空白为空白处理试验前后含氮量之差。

(2) 植物株高：定期用卷尺直接测量所有植株的株高。

(3) 植物根茎瘤鲜物质量：实验结束时采集所有植株的根、茎瘤，洗净并滤干后称量。

(4) 植物生物量：实验结束时采集所有植株，置于 105℃烘箱 30 min，再在 70℃条件下干燥 48 h 后称量，部分样品粉碎后用于分析植物氮含量。

(5) 植物、土壤和水分氮含量：凯氏定氮法分析各样品氮含量。

1.2.2 试验 2 大田栽培条件下长喙田菁和普通田菁共生固氮体系的氮积累。试验设 2 处理，即长喙田菁 (SR) 和普通田菁 (SC)。

7 月 10 日整地并施肥，施肥量为每 m^2 施 N 3 g、P 6 g、K 12 g。12 日播种，条播，播种后 10 d 间苗定植，使种植密度为 40 万株/ hm^2 。每日浇水，保持湿润。播种后 65 d 结束试验。每处理抽取 20 株具代表性之植株进行测定。观测项目包括植物株高、根茎瘤鲜物质量、植物生物量干物质量和植物氮含量，测定和分析方法同上。

2 结果与分析

2.1 生长及固氮效率

2.1.1 生长及结瘤情况 各处理植物的生长和结瘤如表 2。无论是株高还是生物量，长喙田菁均显著优于普通田菁；虽然 SR2 组与 SR1 组相

比在植物株高上无差异显著性，但在长势上却明显较弱，具体表现为单株生物量干重上的显著差异，显示了茎瘤在长喙田菁生长中的重要性。

表 2 试验 1 各处理植物的生长和结瘤^[1]
Tab 2 Growth and nodulation in periment 1

项目	株高/ m	每株植物质量/g			
		茎瘤(鲜)	根瘤(鲜)	根茎瘤(干)	生物量(干)
SR1	1.24 ^a	2.19	0.53 ^b	0.41 ^a	22.01 ^a
SR2	1.11 ^a	—	1.40 ^a	0.21 ^b	13.21 ^b
SC	0.66 ^b	—	0.42 ^b	0.06 ^c	7.46 ^c

1) 每列不同英文字母示差异显著性 ($P < 0.05$)；
生物量内含根茎瘤量

SR1 组长喙田菁的根瘤生物量与 SC 组普通田菁基本相等，但由于其茎瘤生物量很大，因此，SR1 组长喙田菁的根茎瘤总量是普通田菁的 6.5 倍。SR2 组长喙田菁在摘除茎瘤条件下根瘤的发育比未摘除茎瘤的 SR1 组要好，前者是后者的 2.7 倍，说明摘除茎瘤处理刺激了长喙田菁根瘤的发育。SR2 组长喙田菁的根瘤生物量同时也 3.3 倍于普通田菁，并具有差异显著性。因此，与普通田菁相比，长喙田菁在固氮组织生物量上的优势是十分明显的。

2.1.2 固氮效率 固氮试验结果如表 3 所示。经 65 d 的生长，SR1、SR2 和 SC 各组植物的单株氮累积量分别为 0.541，0.327 和 0.150 g，而 3 组植物的生物固氮量分别为 0.463，0.211 和 0.040 g，SR1 组长喙田菁与 SC 组普通田菁相比，差别达十多倍；就生物固氮量在植物总氮中所占比重而言，SR1 组达 85.6%，SR2 组为 64.5%，SC 组则仅为 28.2%，三者之间的差异有显著性意义。

2.2 大田栽培条件下长喙田菁茎瘤共生体系在华南地区的氮积累

由表 4 可见，大田栽培条件下，经 65 d 生长的长喙田菁的单株生物量干质量和单位面积生物量干质量分别为 25.57 g 和 10 228 kg/ hm^2 ，比同等条件下的普通田菁高 65.8%；长喙田菁的茎根瘤结瘤作用十分旺盛，所有植株都形成了正常有效的茎根瘤，茎瘤结瘤率为 100%，单株茎瘤鲜质量为 1.25 g，占根茎瘤总量的 75%，而长喙田菁与普通田菁的单株根瘤量大致相同；长喙田菁单位面积氮累积量为 225.0 kg/ hm^2 ，是同等条件下普通田菁的 1.74 倍。

表 3 固氮效率试验结果¹⁾

Tah 3 Results of biological N-fixation (BNF) experiment

项目	试验前土壤			施肥	植物累积	试验后土壤			水分	每株生物固氮效果	
	<i>m</i> /g	<i>w</i> (N)/%	<i>m</i> (N)/g			<i>m</i> /g	<i>w</i> (N)/%	<i>m</i> (N)/g		<i>m</i> (N)/g	<i>p</i> /%
SR1	1000	0.179	1.79	0.02	0.541 ^a	920.3	0.160	1.472	0.637	0.463 ^a	85.6 ^a
SR2	1000	0.179	1.79	0.02	0.327 ^b	910.3	0.157	1.429	0.631	0.211 ^b	64.5 ^b
SC	1000	0.179	1.79	0.02	0.150 ^c	910.2	0.158	1.438	0.622	0.040 ^c	26.7 ^c
C	1000	0.179	1.79	0.02	—	900.4	0.171	1.539	0.623	—	—

1) 每列不同英文字母差异显著性 ($P < 0.05$); 植物氮累积量内含根茎瘤量

表 4 长喙田菁和普通田菁的生长、结瘤和氮积累¹⁾

Tah 4 Growth, nodulation and N accumulation of *S. rostrata* and *S. cannabina*

实验组	株高/ <i>m</i>	单株干物质质量/ <i>g</i>	干物质质量/ (<i>kg</i> /hm ²)	植物 <i>w</i> (N)/%	单株茎瘤鲜质量/ <i>g</i>	单株根瘤鲜质量/ <i>g</i>	氮累积量 <i>m</i> (N)/ <i>kg</i>
SR	1.35 ^a	25.57 ^a	10228 ^a	2.2	1.25	0.41	225.0 ^a
SC	0.97 ^b	15.42 ^b	6168 ^b	2.1	—	0.50	129.5 ^b

1) 每列不同英文字母差异显著性 ($P < 0.05$)

3 讨 论

3.1 长喙田菁茎瘤共生体系在华南地区的生物固氮潜能及绿肥应用前景

目前已知的生物固氮体系有不少种类,但它们普遍具有能耗大、效率低和固氮酶对氧敏感的基本特征,以较为引人注目的豆科根瘤共生固氮体系而言,即使经良好选择的有效体系,其1年的固氮能力也仅为 300 kg/hm²,至于众多的野生体系,则往往只有不到 20 kg/hm² 的年固氮能力^[6].

本研究试验结果表明,经 65 d 的生长,长喙田菁茎瘤共生体系在华南地区的单株氮累积量为 0.541 g,其中生物固氮所占比重达 85.6%,为 0.463 g/株.该试验栽培密度为 40 万株/hm²,换算为单位面积氮累积则达到 216.4 kg/hm²,与试验 2 的结果(225 kg/hm²)相近,而其生物固氮量为 185.2 kg/hm².由于本研究与以前实施的试验^[4]相似,试验期内连续遭遇台风登陆,所带来的低温多云天气不利于长喙田菁的生长,所得结果如生物量、氮积累量和生物固氮量应该是偏低的,但已比当时的试验结果(65 d 氮累积量 151 kg/hm²)增加了 40%~50%,说明长喙田菁在亚热带地区的生长容易受到天气条件的影响. Pa-reek 等^[7]用同位素示踪法研究了长喙田菁在热带非洲的固氮效率,经 2 个月的生长,其生物固氮量达 300 kg/hm²,生物固氮在总氮中所占比例为 70%~90%.在我国湛江地区的栽培试验结果^[8]则表明,长喙田菁茎瘤共生体系在 2 个月里的氮

累积量高达 679 kg/hm².因此,经进一步技术组装和推广,长喙田菁将有望成为我国稻区,尤其是华南稻作体系中的有效氮源.

3.2 茎瘤固氮的优越性及其在生物固氮中的作用

茎瘤着生于茎上,可着生面积大,因而能形成大量的瘤结.本试验结果表明,长喙田菁共生体系的根瘤量与普通田菁基本相等,而其茎瘤量为根瘤的 3 倍以上,可见相对于普通根瘤体系,长喙田菁茎瘤共生体系具有更多的固氮组织生物量.

根瘤生于根上,受土壤微生物区系的影响较大,由于其他微生物的竞争作用,根瘤菌的生长常常处于不利的地位.刘昌沛^[9]指出,根瘤固氮对水分要求相当严格,既怕干,又怕湿,过多的水分对于根瘤固氮尤其具有致命的作用.茎瘤则不同,裸露于空气中的生长和固氮,不仅避免了土壤微生物的激烈竞争,也使水分的影响显得不是那么重要.

长喙田菁茎瘤含光合色素^[1],茎瘤量多表面积大.据测定,生长旺盛期长喙田菁每株茎瘤达 150 个以上,平均直径为 3.55 mm,除去着生点表面积(约占 1/4),总表面积超过 2 700 mm²,而茎瘤的叶绿素含量约为 0.169 mg/g(待发表).因此,茎瘤本身无疑便是一个小的能量供应中心,而且这个中心与固氮中心距离很近,效率必然也高.另外,茎瘤着生于茎上,离叶片等光合器官的距离较近,获取能量也较容易.因此,茎瘤在能量供应上无疑处于比较有利的地位.

在本研究的试验处理中实施了摘除茎瘤处理，其结果十分明确地证明了茎瘤对于长喙田菁生长和固氮的重要作用。经摘除茎瘤处理的长喙田菁的生物量及氮积累均大大低于正常结瘤的长喙田菁，对于生物量而言，前者只有后者的 60%，而对于生物固氮则只有 45.6%，可见摘除茎瘤处理对长喙田菁的生物固氮能力的影响比对其生物量生长的影响更甚，尽管摘除茎瘤处理使根瘤生物量有所增加，但其增量影响显然不能与茎瘤作用相提并论。

参考文献:

[1] LADHA J K, PAREEK R P, SO R, et al. Stem-nodule symbiosis and its unusual properties [A] . In: GRESHOFF, et al. eds. Nitrogen fixation: Achievements and objectives[M] . New York, London: Champan and Hall 1990. 633—640.

[2] DREYFUS B, DOMMERGUES R. Nitrogen fixing nodules induced by rhizobium on the stem of the tropical legume *Sesbania rostrata* [J] . FEMS Letters, 1981, 10: 313—

317.

[3] DREYFUS B. Observations on the use of *Sesbania rostrata* as green manure in paddy fields[J] . MIRCEN J Appl Microbio Biotech, 1985(1): 111—122.

[4] 杨中艺, 袁剑刚, 张宏达. 长喙田菁—*Azorhizobium caulinodans* 共生固氮体系在华南地区的生长、结瘤、固氮和种子生产[J] . 应用生态学报, 1998 9(3): 291—295.

[5] PEOPLES, HERRIDYE. Efficiency of nitrate and nitrogen fixation in crop yield[A] . In: BEWLY D ed. Nitrogen and carbon metabolism. The Hague, The Netherlands: Nijhoff/Junk Publishers, 1990. 18—46.

[6] 刘昌沛. 生物固氮体系生态[A] . 见: 尤崇杓, 等. 生物固氮[M] . 北京: 科学出版社, 1987. 163—183.

[7] PAREEK R P. Estimating N₂ fixation by *Sesbania rostrata* and *S. cannabina* in lowland rice soil by the 15N dilution method[J] . Biol Fertil Soils, 1990(10): 77—88.

[8] YANG Z Y, YUAN J G. Studies on the stem-nodulating legume *Sesbania rostrata* I . As a green manure for sustainable agriculture[M] . Beijing: X VIII Pacific Science Congress 1995.

Effects of Stem Nodulation on N-fixation of *Sesbania rostrata*—
Azorhizobium caulinodans Symbiosis

YUAN Jian-gang, XU Hao-juan, YANG Zhong-yi

(School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Two experiments were conducted to evaluate the biological N fixation (BNF) of *S. rostrata* compared with *S. cannabina* grown in South China. The results showed that, *S. rostrata* stem nodule symbiosis has great potential for green manure. The N accumulation of 65-day-old *S. rostrata* was 225 kg/hm², that of *S. cannabina*. For the 65-day-old *S. rostrata*, the amount of BNF and the ratio of BNF in the total N accumulation were 0.463 g per plant and 89.7%, while they were only 0.04 g per plant and 28.2% for those of *S. cannabina*. Therefore, stem nodule should be much more important for the growth and N fixation of *S. rostrata*.

Keywords: *S. rostrata*; *S. cannabina*; stem nodule; *A. caulinodans*; N fixation