

CNIC-00805
CSNAS-0078

1978

中国核科技报告

用¹⁵N 同位素稀释法评估诱发
结瘤春小麦的固氮作用

EVALUATION FOR DINITROGEN FIXATION OF
INDUCED WHEAT NODULES BY ¹⁵N ISOTOPE
DILUTION METHOD

(In Chinese)



原子能出版社

中国核情报中心

China Nuclear Information Centre



姚允寅：中国农业科学院原子能利用研究所副研究员，1963年毕业于复旦大学生物系微生物学专业。

Yao Yunyin: Associate professor of the Institute for Application of Atomic Energy, CAAS. Graduated from the Department of Biology of Fudan University in 1963, majoring in microbiology.

CNIC-00805

CSNAS-0078

用 ^{15}N 同位素稀释法评估 诱发结瘤春小麦的固氮作用*

姚允寅 陈 明 张希忠 王志东

(中国农业科学院原子能利用研究所,北京)

陈廷伟 诚应先 陈婉华 徐 晶 韩 凯

(中国农业科学院土壤肥料研究所,北京)

摘 要

盆栽试验表明,2,4-D 加田菁固氮根瘤菌处理麦苗能成功地诱发根部结瘤,其植株生育正常。株高和干重明显高于不固氮参照组(2,4-D 加灭活田菁固氮根瘤菌处理)。ARA 法证实其根系呈现固氮酶活性;Kjeldahl 法表明其植株,特别是根部,全氮产量大多高于参照组; ^{15}N 同位素稀释法测得其茎叶 ^{15}N 原子百分超低于不固氮参照组,表明,2,4-D 加田菁固氮根瘤菌诱发的小麦“类瘤”能固定大气氮。连续4年多次试验表明,2,4-D 加田菁固氮根瘤菌处理能使小麦百分之百诱发结瘤,但并非诱发瘤都能固氮。用 ^{15}N 同位素稀释法测定表明,其固氮能力较低,波动甚大。每盆净固氮量约为0.05~18.1 mg 纯氮(合0.01~3.87 mg N/株),占植株全氮量的2.32%~18.07%。 ^{15}N 同位素稀释法还证实了盆栽试验条件下的田菁固氮根瘤菌的自生固氮活性,其固氮产物能为小麦植株吸收。最后还提出了准确计算结瘤小麦固氮百分率的数学方程式。

* 中国原子能农学会供稿。
总理基金资助研究项目。

EVALUATION FOR DINITROGEN FIXATION OF INDUCED WHEAT NODULES BY ^{15}N ISOTOPE DILUTION METHOD

(In Chinese)

Yao Yunyin Chen Ming Chang Xizhong Wang Zhidong

(INSTITUTE FOR APPLICATION OF ATOMIC ENERGY, CAAS, BEIJING)

Chen Tingwei Xie Yingxian Chen Wanhua Xu Jing Han Kai

(INSTITUTE OF SOILS AND FERTILIZERS, CAAS, BEIJING)

ABSTRACT

The results in pot experiments showed that the treating of 2,4-D and *Azorhizobium caulinodans* (2,4-D+A) could induce para-nodule formation on wheat roots. Plants treated grew normally. The plant height and dry weight are significantly higher than reference plants which are treated with 2,4-D+*azorhizobium* sterilized (2,4-D+AS). The nitrogenase activity is detected by ARA method. The N yield of most treated plants, especially in root systems, is higher than reference group that is measured by Kjeldahl method. The atom % ^{15}N excess in leaf and stem of treated plants measured by ^{15}N isotope dilution method is lower than that of reference group. Through four years experiments, it shows that para-nodules of wheat treated with 2,4-D+A could fix N_2 from air, but the ability of nitrogen fixation is lower and unstable. Although the nodulation efficiency could reach 100%, not each para-nodule induced can present activity of dinitrogen fixation. The amount of N fixed is 0.05 ~ 18.1 mg/pot (0.01 ~ 3.87 mg/plant). The net %Ndfa is 2.32% ~ 18.07%. The free-living N_2 fixing activity of *azorhizobium* is detected by ^{15}N isotope dilution method. The calculation of %Ndfa of nodulated wheat accurately is also discussed*.

* Contributed by the Chinese Society of Nuclear-Agricultural Sciences (CSNAS).

近十年, 聂廷富、陈廷伟等⁽¹⁻³⁾成功地利用 2,4-D 等植物激素或酶处理等方法诱发小麦、水稻、烟草、向日葵和玉米等多种非豆科植物根部结瘤, 并导入了根瘤菌。研究证明根瘤菌可在诱发瘤内大量繁殖, 形成类似豆科植物的含菌区, 菌体也演变成类菌体等, 具有明显的豆科植物根瘤形态与结构, 具备了表达固氮活性的物质基础。Kennedy⁽²⁾等把此类人工诱发含根瘤菌的根瘤称为“类根瘤”(‘para-nodules’)以示与豆科植物中的“根瘤”(‘nodules’)和“假瘤”(‘pseudo-nodules’)相区别。陈廷伟等⁽¹⁰⁻¹¹⁾用 ARA 法证实 2,4-D 诱导根瘤菌在春小麦根部结瘤后有明显的固氮酶活性。聂廷富等⁽¹²⁾用¹⁵N₂ 示踪法肯定了 2,4-D 诱发小麦和向日葵等含根瘤菌或类根瘤菌的类根瘤具有固氮活性。我们曾用¹⁵N 同位素稀释法测得经 2,4-D 加 ORS 571 R3 菌株处理的小麦茎叶组织¹⁵N 原子百分超明显低于对照组⁽¹¹⁾。

正如尤崇杓等⁽¹³⁻¹⁵⁾所指出的, 在固氮过程中, 无论是进行生物、生物化学、农学、生态学, 还是非生物学研究, 测定 N₂ 还原的最直接可靠的方法是¹⁵N 同位素示踪技术, 它在测定灵敏度与精度方面具有明显优点。盆栽或田间测定简便易行, 数据准确、合理可靠, 为其它常规方法所不及。本文主要报道连续 4 年, 利用¹⁵N 同位素稀释法测定 2,4-D 加田菁固氮根瘤菌处理的诱发结瘤小麦固氮活性的研究结果。

1 材料和方法

1.1 盆栽试验

1989~1992 年分别在中国农业科学院原子能利用研究所和土壤肥料研究所网室进行盆栽实验。试验所用塑料小盆上口 20 cm, 下底 14 cm, 高 14 cm。所用介质经高温高压消毒灭菌或用⁶⁰Co 辐射灭菌。田菁固氮根瘤菌 (*Azorhizobium caulinodans*) ORS571 的原始菌株来源于比利时欧洲菌种中心 (No. LMG 6465)。2,4-D (2,4-dechlorophenoxyacetic acid, AR) 系德国进口, 处理浓度 1~2 ppm, 于三叶期至拔节期浇灌 3~5 次。(¹⁵NH₄)₂SO₄ (上海化工研究院产品) 配成溶液基施, 均匀混合于培养介质。扬花期至成熟期收获 (见表 1)。

表 1 盆栽试验条件

编号	年份	小麦品系	菌 株	介 质 (kg/盆)	密 度 (株/盆)	施 N 量 (mg N/盆)	¹⁵ N 丰度(%)	重 复 数	收 获 时 期
1	1989	Tieqing 1	Azorh.	1.25 soil	4	5.66	3.42	4	成熟期
2	1989	Tieqing 1	Azorh.	1.75 sand	4	4.04	3.42	2	成熟期
3	1990	Tieqing 1	ORS571WT	2.5 soil	14	7.52	3.65	5	成熟期
4	1990	Tieqing 1	ORS571R3	2.5 soil	14	7.52	3.65	5	成熟期
5	1991	Tieqing 1	ORS571R3	1.75 sand	5	5.70	4.39	4	成熟期
6	1992	Fan 24	ORS571R3	2.75 soil & sand	5	5.63	5.14	5	处理后 30~60 d
7	1992	Tieqing 1	ORS571R3	2.00 soil & sand	5	4.31	10.90	5	成熟期

Azorh. : *Azorhizobium caulinodans* .

ORS571WT: *Azorhizobium caulinodans* strain ORS571WT.

ORS571R3: *Azorhizobium caulinodans* strain ORS571R3.

1.2 测定分析

收获后检查结瘤状况,测量株高,分开地上部与根部。将根部洗净,用滤纸吸干根表水分后,放入 125 ml 容积的棕色瓶中,用翻口橡皮塞封口,注入 10% 容积的乙炔,25°C 和弱光环境中放置 24 h,用色谱仪测定乙炔还原活性(ARA)。排水法测量根体系积值。

植物样品于 70°C 烘干称重后,粉碎过筛,用改良 Kjeldahl 氏法消化、蒸馏、测定全氮后,酸化浓缩,用 MAT-251 质谱仪测定¹⁵N 丰度¹⁰。以 2,4-D 加灭活田菁固氮根瘤菌处理(2,4D+AS)或以 2,4-D 处理的小麦为不固氮参照植物,计算小麦植株中来自空气氮的量(Ndfa)及其在全氮中所占的百分比(%Ndfa)^{17,10}。

2 结果

2.1 2,4-D 对小麦生长的影响

从表 2 可知,凡加有 2,4-D 的各处理组小麦根部均有明显的瘤状结构,其株高、干重和 N%,均高于相应不施 2,4-D 的处理组。但无数理统计上的显著差异(P > 95%)。

表 2 2,4-D 对小麦株高、干重、N% 和结瘤的影响(1990)

处 理	株 高 (cm)	干 重 (g/盆)	N% (%)	结 瘤
AS	36.5	5.28	1.79	无
2,4-D	37.4	5.34	1.85	有
ORS571WT	35.8	5.32	1.61	无
2,4-D+ORS571WT	39.9	5.70	1.64	有
ORSR3	35.1	5.14	1.83	无
2,4-D+ORS571R3	34.9	5.20	1.93	有

AS: 灭活田菁固氮根瘤菌。

2.2 施 N 对 2,4-D 处理小麦的影响

由表 3 可见,少量施氮(5.63 mgN/kg 土砂,折合 1 g N/m² 或 10 kg N/ha)(1 ha=10⁴ m²)对 2,4-D 加田菁固氮根瘤菌处理(2,4-D+A)的小麦株高、干重、N% 和全氮产量、分蘖和穗数均有一定促进作用;但对(2,4-D+AS+¹⁵N)处理组的小麦无明显规律性的影响。如前者各项指标均高于不加¹⁵N 的相应处理,然而,后者(2,4-D+AS+¹⁵N)处理的小麦株高、

表 3 施 N 对不同处理小麦生育的影响(1992)

处 理	株高 (cm)	干重(g/盆)			N%		分 蘖 数	穗 数	结瘤*	根体系积 (cm ³ /盆)	全氮产量(g N/盆)		
		茎叶	根	整株	茎叶	根					茎叶	根	整株
2,4-D+A+ ¹⁵ N	64.4	14.46	1.99	16.45	1.76	0.97	14	9	++(+)	14.6	0.254	0.019	0.273
2,4-D+A	63.5	12.10	1.55	13.65	1.65	0.89	8	5	++++	22.0	0.200	0.014	0.214
2,4-D+AS+ ¹⁵ N	63.4	13.86	1.70	15.56	1.83	0.92	11	9	+	11.6	0.255	0.016	0.270
2,4-D+AS	67.4	11.50	1.90	13.40	2.20	1.02	10	5	+++	18.5	0.253	0.019	0.272
2,4-D+ ¹⁵ N	67.1	14.16	1.55	15.71	1.74	0.96	13	8	++(+)	12.5	0.245	0.015	0.261

*: + 每盆有 2~3 株结瘤; ++ 每株均有瘤;

+++ 每株有较多的瘤; ++++ 每株结瘤多而大。

根干重、N%和全氮产量均未高于不加¹⁵N的相应处理(2,4-D+AS),其余指标却有偏高趋势。但是,对小麦根部的结瘤数和根体积,无论是(2,4-D+A)处理,还是(2,4-D+AS)处理,施氮均有一定抑制作用。如施氮时两者根体积分别为 14.6 cm³/盆和 11.6 cm³/盆;不施氮时,则分别为 22.0 cm³/盆和 18.5 cm³/盆。前者分别比后者降低了 33.6%和 37.3%。可见 2,4-D 处理后,不同处理小麦对施氮的反应是正常和灵敏的;并且与豆科植物对施氮的响应有相似之处。

2.3 根瘤菌对 2,4-D 处理小麦不同时期性状的影响

2,4-D 处理后 42 天内,株高迅速增长。无论是(2,4-D+A)待测组,还是(2,4-D+AS)不因氮参照组,小麦进入繁殖生长后,植株停止增高。其干重和全氮产量(茎叶和整株)均随生长时间的延伸而增加(表 4),茎叶 N%则逐渐降低而根部 N%稳步上升(表 4)。表明两组小麦均系正常生长发育。

表 4 根瘤菌接种对 2,4-D 处理小麦不同时期性状的影响(1992)

处理后 天数(d)	株 高(cm)		干 重(g/盆)					
	待测组* 参照组*		茎 叶		根 系		整 株	
			待测	参照	待测	参照	待测	参照
30	39.6	40.6	3.92	3.74	7.51	4.12	11.39	7.86
36	50.9	50.7	6.03	5.88	3.04	3.16	9.07	9.04
42	66.2	67.4	8.67	8.18	3.00	2.30	11.67	10.48
49	66.6	63.4	11.86	10.92	3.14	2.42	15.00	13.34
56	64.5	63.8	13.18	13.20	1.82	1.80	15.00	15.00
63	64.4	63.4	14.46	13.86	1.99	1.70	16.45	15.66
差异显著性 (P > 95%)	S**		S		S		S	

处理后 天数(d)	N%				全氮产量(g N/盆)					
	茎 叶		根 部		茎 叶		根 系		整 株	
	待测	参照	待测	参照	待测	参照	待测	参照	待测	参照
30	4.06	4.08	0.62	0.61	0.158	0.153	0.046	0.025	0.204	0.178
36	3.24	3.32	0.68	0.63	0.195	0.195	0.021	0.020	0.216	0.215
42	2.71	2.84	0.85	0.99	0.235	0.232	0.025	0.022	0.260	0.254
49	2.14	2.09	1.02	0.96	0.254	0.228	0.032	0.023	0.286	0.251
56	1.81	1.78	1.00	0.94	0.238	0.233	0.021	0.017	0.259	0.250
63	1.76	1.83	0.97	0.92	0.254	0.256	0.019	0.016	0.273	0.272
差异显著性 (P > 95%)	NS**		S		NS		S		S	

* 待测组指(2,4-D+A)处理组;参照组指(2,4-D+AS)处理组。

** S指差异显著;NS指差异不显著。

进一步比较发现,2,4-D 处理后,接种田菁固氮根瘤与否,对小麦性状是有影响的。在少氮施等量氮肥时,(2,4-D+A)处理的小麦大部分性状指标不仅优于(2,4-D)参照组(表 3),而且还显著优于(2,4-D+AS)参照组(表 4),其差异达到数理统计显著水平(P > 95%)。

2.4 2,4-D 对小麦全氮产量的影响

表 5 数据表明,2,4-D 对盆栽小麦的全氮产量有一定影响,但无明显规律,每年结果不

同。试验 1、2 和 5 与清水处理(W)、单接田菁固氮根瘤菌处理(A)、或灭活田菁固氮根瘤菌处理(AS)相比,(2,4-D)处理的小麦全氮产量普遍偏低。如试验 2,(2,4-D)处理组的全氮产量为 0.0197 g N/盆,比 W 组(0.0293 g N/盆)降低了 32.8%,但是,1990 年(试验 3 和 4)和 1992 年(试验 6 和 7)的结果却呈增高的趋势。如试验 7,(2,4-D)组的全氮产量为 0.1755 g N/盆,而 AS 组为 0.1609 g N/盆,增加了 9.07%;试验 4 的(2,4-D)组为 0.0972 g N/盆,而 AS 组为 0.0958 g N/盆,前者增加了 1.46%。

表 5 历年不同处理小麦全氮产量(1989~1992)(g N/盆)

试验编号	W*	2,4-D	AS	A*	2,4-D+AS	2,4-D+A
1	0.1489	0.1472		0.1710		0.1614
2	0.0293	0.0197		0.0274		0.0213
3		0.0972	0.0958	0.0853		0.0932
4		0.0972	0.0958	0.0935		0.1002
5		0.03211	0.00242	0.0237	0.00210	0.00232
6					0.2324	0.2349
7		0.1755	0.1609	0.1758		0.1679

* W 指清水处理;A 指单接田菁固氮根瘤菌处理。

2.5 固氮活性和测定方法

以(2,4-D+AS)为不固氮参照,研究待测组(2,4-D+A)处理的小麦不同时期的固氮活性,用乙炔还原法(ARA)测定其根系固氮酶活性;用全氮差值法(TD)和¹⁵N 同位素稀释法(ID)测定其地上部和根系全氮中来自空气氮的百分比(%Ndfa),所得结果列于表 6。首先,

表 6 结瘤小麦固氮活性的测定(1992)

处理后天数(d)	ARA 法 (nmol C ₂ H ₂ /盆·d)	ID 法(%Ndfa)		TD 法(%Ndfa)	
		茎叶	根系	茎叶	根系
30	0.013	0	20.81*	3.54	45.65*
36	0	0	0	0	4.44
42	0.36	2.54	2.13	1.06	10.81*
49	0	0	3.09	10.23*	26.46*
56	0	0	0	2.05	21.69*
63	0.69	0	0	0	19.67*

* 与参照比较差异显著。

ARA 指乙炔还原法, ID 指¹⁵N 同位素稀释法, TD 指全氮差值法。表中数值均以(2,4-D+AS)处理组为不固氮参照。

三种方法比较一致证明:(1)待测组(2,4-D+A)处理的小麦能固定空气氮,与文献报道基本一致^[5,10-12],其株高和干重均明显高于(2,4-D+AS)参照组的事实(表 4),以及(2,4-D+A)和(2,4-D+AS),(2,4-D+A+¹⁵N)和(2,4-D+AS+¹⁵N)的结瘤状况相比的结果,也可佐证。(2)处理后 30 天,根系即能测出固氮活性,ARA 法证实根系显示了固氮酶活性(较参照组高出 0.013 nmol C₂H₂/盆·d);根系全氮产量显著高于参照组($P > 95\%$),其增量占待测组根系全氮的 45.65%(TD 法);ID 法测得根系的¹⁵N 原子百分超显著低于不固氮参照组($P > 95\%$),所得%Ndfa 值为 20.81%。(3)处理后 42 天,待测组地上部有固氮产物积累,

其%Ndfa 值为 2.54%(ID 法)或 1.06%(TD 法)。其次应该指示,根系的%Ndfa 值普遍高于地上部(无论是 ID 法,或是 TD 法),甚至出现根系测定呈现固氮产物累积。如处理后 49 天, ID 法测得根系%Ndfa 值为 3.09%,而地上部为 0;又如处理后 63 天, TD 法测得根系的%Ndfa 值为 19.67%,茎叶为 0。

此外,必须指出的是三种方法测定结果不完全相符。如处理后 63 天,ARA 法证实根系呈现固氮酶活性;TD 法测得%Ndfa 值为 19.67%,表明有固氮产物累积的可能;但是 ID 法所得%Ndfa 值为 0,表明植株中没有空气氮积累。

2.6 ID 法评定固氮活性

连续 4 年的¹⁵N 同位素稀释法测定表明,(2,4-D+A)待测组小麦茎叶的¹⁵N 原子百分超普遍低于不固氮参照组。经 t 测验分析表明 7 次试验中有 3 次差异极显著($P > 99\%$) (见表 7)。测定还发现只用田菁固氮根瘤菌处理的植株,¹⁵N 原子百分超基本上介于(2,4-D+A)处理和(2,4-D)处理两者之间,表明它也呈现固氮活性,但其量更低。

表 7 (2,4-D+A)处理的待测组小麦和(2,4-D)处理的不固氮参照组小麦¹⁵N 原子百分超比较
(1989~1992)

试验编号	参照组	待测组	差异显著性 ($P > 99\%$)
1	0.022	0.020	S
2	0.181	0.153	S
3	0.0332	0.0324	NS
4	0.0332	0.0272	NS
5	1.6376	1.5428	NS
5	1.6038*	1.5428	NS
6	0.2406*	0.2345	NS
7	0.4390	0.2192	S

差异显著性 ($P > 90\%$) S

* (2,4-D+AS)处理为不固氮参照组。

表 8 ID 法测得不同处理小麦茎叶的%Ndfa
(1989~1992)

试验编号	A	2,4-D+A	净固氮		
			%Ndfa	Ndfa	
				mg N/盆	mg N/株
1	0	9.09	9.09 b	15.5	3.87
2	4.42	15.47	11.05 b	1.70	0.425
3	0	2.41	2.41 b	3.20	0.157
4	0	18.07	18.07 b	18.10	1.293
5	2.33	5.79	2.32 c	0.05	0.01
6		2.54	2.54 d	6.00	1.20
7	44.69	50.07	5.38 b	9.00	1.80

a. 除试验 6,均以(2,4-D)处理为不固氮参照。

b. 净固氮 = (2,4-D+A) - (A)。

c. 由公式(2)算得(见 3.4)。

d. 以(2,4-D+AS)处理为不固氮参照。

根据茎叶¹⁵N原子百分超计算所得%Ndfa及Ndfa值列于表8。数据表明:(1)春小麦根部采用(2,4-D+A)处理后,植株茎叶或地上部有固氮产物积累;(2)固氮活性波动较大;(3)固氮量较低。诱发结瘤小麦净固氮值,%Ndfa为2.32%~18.07%,Ndfa为0.05 mg N/盆~18.1 mg N/盆,相当于0.01 mg N/株~3.87 mg N/株。

¹⁵N同位素稀释法还证实了田菁固氮根瘤菌有自生固氮现象存在,与文献报道相吻合^[18,19,20]。如试验2.5和7,分别测出其自生固氮产物已为植株吸收,约占植株全氮的4.42%,1.48%(=2.33%-0.85%)和5.42%(=44.69%-39.27%)。

3 讨 论

3.1 结瘤与固氮活性

尽管已经证明2,4-D处理后,大豆根瘤菌61A76不仅能侵染类根瘤,而且能在其中繁殖^[4]。但是,在1988年土培和砂培春小麦中,以(2,4-D)处理为不同氮参照,用¹⁵N同位素稀释法测定2,4-D加大豆根瘤菌61A76处理的小麦,发现其类根瘤均不呈现固氮活性,与有关报道相符^[21]。其原因可能与大豆根瘤菌固氮酶对氧非常敏感,而小麦类根瘤中又缺乏有除氧功能的豆血红蛋白有关^[22]。

连续4年接种田菁固氮根瘤菌的试验表明,在本试验条件下,同一品系小麦,用相同量2,4-D诱发并导入同一田菁固氮根瘤菌的类根瘤,并非都能显示固氮活性(表6),历年测定波动亦大(表8)。正如豆科植物中存在无效瘤和“假瘤”一样。从不同年份待测组(2,4-D+A)和不固氮参照组((2,4-D+AS)及(2,4-D))小麦盆间和盆内株间的茎叶¹⁵N原子百分超变异系数的差异也可进一步看出,固氮活性的变化较大。如连续4年22次(2,4-D+A)处理的待测组茎叶(或整个地上部)¹⁵N原子百分超盆间变异系数范围,在1.72%~42.75%之间,明显大于23次不同氮参照组的相应值(0.77%~15.58%);前者平均8.48±9.40%,后者为(5.67±4.04)%。1991年试验(2,4-D+A)待测组小麦盆内株间的平均变异系数为10.7%,而(2,4-D)处理的参照组为7.6%。

ID法测得诱发的类根瘤净固氮量为0.05~18.10 mg N/盆,折合成每公顷固氮量约为0.058~28.77 kg N,大大低于豆科植物的共生固氮体系的年公顷固氮量(52.5~300 kg N),仅与自生固氮体系(0.075~22.5 kg N/ha·y)和固氮螺菌与玉米的联合固氮体系(15~22.5 kg N/ha·y)的固氮量相当。

3.2 不固氮参照植物的选择

根据ID法测定固氮量的原则,不结瘤等同系,或禾本科植物,或施高氮量的同一豆科作物,均可用作不固氮参照。因此,原则上,(AS)处理,(A)处理,(W)组,(2,4-D)组和(2,4-D+AS)组小麦均可用作不固氮参照。

但是,连续4年多次试验结果表明,2,4-D对小麦全氮产量有影响,但不形成规律(表5)。因此,2,4-D的加入可能会导致不能准确评估小麦诱发瘤的%Ndfa。菌体营养物质的影响亦不能完全排除。因而,为了使不固氮参照组尽可能与待测组(2,4-D+A)保持一致条件,(2,4-D+AS)处理是最合适的不固氮参照,其次为(2,4-D)处理组。余皆不合适。

3.3 供测样品采集

根系和地上部固氮值的差异(表6)可以从两个方面解释,(1)类根瘤固定空气氮后,其固氮产物首先累积于根部,然后再运转至地上部,其间需要一个时间过程;(2)尽管根部

%Ndfa 较多,其绝对固氮量仍很低,而且根系全氮量(19~46 $\mu\text{g N/盆}$)仅为地上部的 7.5%~29.1%。因此,即使全部固氮产物都转运至地上部,它们的相对比例仍将急剧降低。有关固氮产物的累积及其转移现象和机制有待研究。

鉴于类根瘤固氮活性较低(表 8)和固氮产物可能“滞留”根系(表 6)的现象,供测样品量尤为重要,不能只以茎叶为供测对象,应同时注意其余部分,特别是根系的采集、测试和研究。唯此才能准确评估类根瘤的固氮活性。

4 类根瘤固氮活性的准确计算

田菁固氮根瘤菌具有自生固氮能力^(16,19,20),在本研究也已得到证实(表 8)。因而,待测组(2,4-D+A)处理的小麦 %Ndfa 值,实际上包括了两部分:该菌自生固氮和类根瘤固氮。为此,由常用公式^(7,10)所得 %Ndfa 值,无疑会造成估计值偏高。比较合理的计算方程应为:

(1)ID 法

$$\%Ndfa = [(1 - E_a/E_b) - (1 - E_c/E_d)] \times 100\% \quad (1)$$

或简化为:

$$\%Ndfa = (E_c/E_d - E_a/E_b) \times 100\% \quad (2)$$

(2)TD 法

$$\%Ndfa = [(TN_a - TN_b)/TN_a - (TN_c - TN_d)/TN_c] \times 100\% \quad (3)$$

或简化为:

$$\%Ndfa = (TN_d/TN_c - TN_b/TN_a) \times 100 \quad (4)$$

式中, E 指样品的 ^{15}N 原子百分超, TN 指样品的全氮量, a, b, c 和 d 分别表示(2,4-D+A)、(2,4-D+AS)、(A)和(AS)不同处理。

但是,事实上,并非每次试验每盆单接种田菁固氮根瘤菌的处理都能测出或呈现自生固氮活性(见表 8, 试验 1, 3 和 4)。因此,上述公式又有可能偏低地估计了类根瘤的固氮活性,尽管其可能性很小。

由于诱发的类根瘤固氮活性甚低,小麦主要利用来自土壤 N 库的 N,因而产生误差的潜力也大。固氮活性的波动甚大,以及 2,4-D 对植株全氮产量和 ^{15}N 原子百分超的影响,必然给准确评估造成一定困难,也可能是造成多种方法测定结果不完全一致的主要原因(表 6)。田菁固氮根瘤菌的自生固氮和类根瘤的“共生”固氮可能同时存在,又有可能不同时存在,更给类根瘤固氮活性的准确评估带来麻烦。

4 结 语

(1)于三叶期至拔节期,适量浇灌 2,4-D 溶液 30 天后,盆栽春小麦根都出现瘤状结构。与相应不施 2,4-D 的处理相比,其生育正常。

(2)少量施氮(10 kg N/ha)对待测组(2,4-D+A)处理的春小麦生长发育有一定促进作用,对不固氮参照组(2,4-D+AS)处理的小麦无明显作用,但对两组的结瘤数和根体积均有抑制作用。

(3)待测组小麦株高、干重、根部 N%、根部和整株全氮产量明显高于不固氮参照组。前者分蘖数、结瘤数和根体积也高于后者。

(4)待测组小麦能固定空气氮,但固氮能力较低,波动亦大。2,4-D 加田菁固氮根瘤菌处理能使春小麦百分之百诱发结瘤,但并非诱发瘤都能固氮。

致 谢

张丽红,侯景琴和骆永云参加部分分析工作,特此一并致谢。

参 考 文 献

- [1] 聂延富. 自然杂志, 1983, 6(5): 326~336
- [2] 陈廷伟等. 自然杂志, 1988, 11(3): 163~167
- [3] 谢应先等. 非豆科作物固氮研究进展, 陈廷伟主编, 北京, 中国农业科技出版社, 1989, 146~149
- [4] 于代冠等. 非豆科作物固氮研究进展, 北京, 中国农业科技出版社, 150~157
- [5] 聂延富等. 自然杂志, 1989, 12(5): 323~345
- [6] Al-Mallah M K, et al. *J. Exp. Bot.* 1989, 40, 473~478
- [7] Cocking E C, et al. *Nitrogen fixation, achievements and objectives* (Eds. Gresshoff, P. M. et al.) Chapman & Hall. London, New York, 1990, 813~823
- [8] Bander G L, et al. *ibid.* 825
- [9] Kennedy I R, et al. *Transactions, 14th International Congress Soil Science* II, 1990, 146~151
- [10] 陈廷伟等. 自然杂志, 1991, (14)(4): 268~272
- [11] 谢应先等. 自然杂志, 1991, 14(9): 664~666
- [12] 聂延富等. 绿色革命的曙光, 青岛, 海洋大学出版社, 1991, 165~172
- [13] 尤崇杓. 水稻根际联合固氮, 北京, 中国农业科技出版社, 1990, 329~335
- [14] Rennie R J, et al. *Can. J. Microbiol.* 1983, 29, 1022~1035
- [15] Knowle R. *Methods for evaluating biological nitrogen fixation* (Ed. F. J. Bergersen), John Wiley & sons Ltd. New York, 1980, 557~582.
- [16] 姚允寅等. 核农学报, 1989(增刊): 16~21
- [17] Fried M, et al. *Plant and soil*, 1977, 47, 713~715
- [18] 马昌焯等. 原子能农业应用, 1983, 2, 18~25
- [19] 陈廷伟等. 中国科学, E辑, 1992, 7, 712~716
- [20] Dreyfus B C, et al. *Appl. Environ. Microbiol.* 1983, 45, 711~713

(京)新登字 077 号



用¹⁵N 同位素稀释法评估诱发结瘤

春小麦的固氮作用

原子能出版社出版(北京市海淀区阜成路 43 号)

通讯处:北京 2108 信箱,100037(邮编)

中国原子能工业公司翻译部排版

中国核科技情报所印刷

开本 787×1092 1/16 · 印张 $\frac{1}{2}$ · 字数 10 千字

1993 年 11 月北京第 1 版 · 1993 年 11 月北京第 1 次印刷

ISBN7-5022-1111-X

TL · 674

This report is subject to copyright. All rights are reserved. Submission of a report for publication implies the transfer of the exclusive publication right from the author(s) to the publisher. No part of this publication, except abstract, may be reproduced, stored in data banks or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording or otherwise, without the prior written permission of the publisher, China Nuclear Information Centre, and/or Atomic Energy Press. Violations fall under the prosecution act of the Copyright Law of China. The China Nuclear Information Centre and Atomic Energy Press do not accept any responsibility for loss or damage arising from the use of information contained in any of its reports or in any communication about its test or investigations.

ISBN7-5022-1111-X
TL • 674

P.O.Box 2103
Beijing, China