

紫云英-小麦混作体系中氮素转移对小麦生长的促进作用*

杜寒春 郑会明 周晶 曹慧 沈标 娄无忌 钟增涛[†]

(南京农业大学生命科学院, 农业部农业环境微生物工程重点开放实验室, 南京 210095)

EFFECT OF NITROGEN TRANSFER ON GROWTH OF WHEAT IN MILKVETCH-WHEAT MIXED CROPPING AFTER INOCULATION OF RHIZOBIUM

Du Hanchun Zheng Huiming Zhou Jing Cao Hui Shen Biao Lou Wuji Zhong Zengtao[†]

(College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Key Lab of Microbiological Engineering of Agricultural Environment, Ministry of Agriculture, Nanjing 210095, China)

关键词 中慢生华癸根瘤菌; *nodD* 基因缺失菌株; 小麦; 氮素; PGPR

中图分类号 S144.3 文献标识码 A

关于根瘤菌与非豆科植物关系的研究近年来已取得了一定的进展。已有的研究表明,在自然条件下,根瘤菌能够在水稻及一些非豆科植物的根圈定殖及固氮^[1,2],具有植物根圈促生(PGPR)作用^[3~5],能促进植物根系有效地吸收土壤中的水分和养分,从而促进植物的生长发育,同时对植物体其他生命活动进行调控。还可以提高植物的抗逆性,减轻或抑制有害的根际微生物,从而间接促进植物生长^[6,7]。

在禾本科与豆科植物混作体系中,接种根瘤菌后,两者的生物量和植株总氮量均有提高^[8~10],¹⁵N 同位素示踪技术表明这是因为体系中的豆科植物向禾本科作物迁移氮素的原因^[11,12]。本研究在紫云英与小麦混作体系中以中慢生华癸根瘤菌 Mh93、敲除 *nodD* 基因的菌株 Mh93-27 为供试菌株,比较研究了 Mh93 和 Mh93-27 对小麦植株生物量,小麦、单位植株总吸氮量的不同影响,进而分析了根瘤菌对小麦的 PGPR 作用,以及根瘤菌结瘤固氮并向禾本科作物转移后对小麦生长的影响。

1 材料与方法

1.1 供试菌株与培养条件

中慢生华癸根瘤菌野生菌株 *Mesorhizobium* 93;

nodD 基因缺失菌株 Mh93-27。前者由本实验室保存,后者由本研究构建。根瘤菌用 TY 培养基, 28 ℃ 培养。

1.2 供试土壤和植物

供试土壤为采自江苏省如皋市的淡色潮湿雏形土(M2.4),土壤基本性状为:pH8.1,有机质含量 6.45 g kg⁻¹,全氮含量 0.12 g kg⁻¹,全磷含量 0.25 g kg⁻¹,速效氮含量 36.47 mg kg⁻¹,速效磷含量 6.29 mg kg⁻¹。供试紫云英和小麦品种分别为闽紫 1 号和扬麦 158(半春性品种)。

1.3 实验设计

试验在南京农业大学温室内进行。土壤磨碎、过筛(< 2 mm)后,按每盆 2.2 kg 土装盆。种植前,氮、钾和磷分别按 28、57.5 和 46.5 mg kg⁻¹ 的量一次性施加尿素和 KH₂PO₄ 为基肥,另外每钵均加入 1 ml 的 Gibson 微量元素液。将紫云英和小麦种子分别进行种子表面消毒,表面灭菌后的紫云英种子平铺于培养皿中倒置于 28 ℃ 培养箱催芽,小麦种子则放于 4 ℃ 冰箱进行春化处理。催芽后的紫云英种子分别接种 Mh93 和 Mh93-27,播种。

实验设 4 个处理,分别为: I. 小麦单作(每盆各 6 株); II. 小麦与紫云英(加与接种菌液等量培养基)混作(每盆各 3 株); III. 小麦与紫云英(接种

* 国家自然科学基金项目(No. 30200036, 40371069)、南京市科技局项目(20023024-04)、国家 973 项目(001BC1089)资助

[†] 通讯作者, Tel: 025-84396645; E-mail: ztzhong@njau.edu.cn

作者简介: 杜寒春(1980~),女,广西北海人,硕士研究生,主要从事分子微生物学与生物固氮研究。E-mail: duhanchun@yahoo.com

收稿日期: 2005-06-14; 收到修改稿日期: 2006-06-26

nodD⁻ 菌株 Mh93-27) 混作(每盆各 3 株); IV. 小麦与紫云英(接种野生菌株 Mh93) 混作(每盆各 3 株)。每个处理设 3 个重复, 3 次采样, 共 9 盆, 4 个处理共计 36 盆。分别于小麦拔节期、孕穗期和收获期采集植株和土壤样品分析测定。

1.4 分析测试

1.4.1 根体积 采用排水法测定。将收获根系用自来水冲洗干净后用吸水纸吸干, 再置于量筒中测定其体积。

1.4.2 单位植株总吸氮量 植株分为地上部、地下部和麦穗(收获期) 分别收获后, 样品经过 105℃ 杀青 0.5 h, 60℃ 烘干后采用半微量凯氏定氮法进行测定^[13]。

2 结果与分析

2.1 氮素转移对小麦地上部生物量及单位植株总吸氮量的影响

结果表明(图 1), 在小麦的全生长期中, 混作时其地上部生物量及单位植株总吸氮量均明显高于单作($p < 0.05$), 说明与豆科植物混作能有效促进小麦生长。在紫云英-小麦混作体系中, 无论接种菌株 Mh93-27 还是接种野生菌株 Mh93, 小麦的生物量及单位植株总吸氮量均较不接种的高, 表明混作体系中接种根瘤菌能有效促进小麦生长。其中, 菌株 Mh93-27 虽能促进小麦的生长, 但只有在孕穗期时, 处理 III 的单位植株总吸氮量才显著高于处理 II 的($p < 0.05$), 菌株 Mh93 在小麦整个生长期均有显著促生作用($p < 0.05$)。这可能是因为根瘤菌的代谢作用在小麦根际积累养分产生的促生作用。结果表明了混作体系中接种根瘤菌的紫云英促进小麦生长

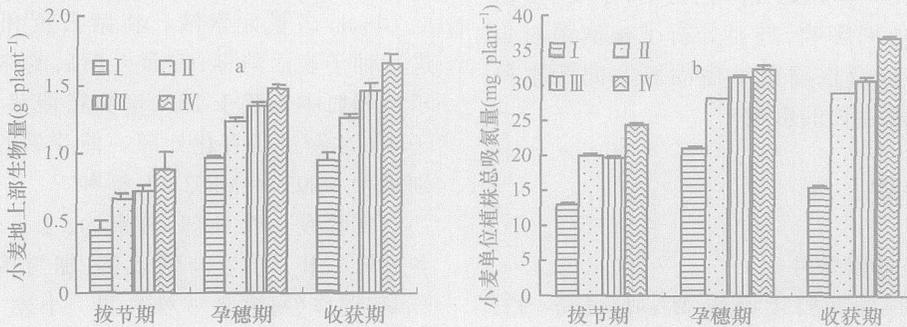
主要是豆科作物向非豆科作物的氮素转移, 以及根圈促生的作用。

2.2 氮素转移对小麦根体积、根部生物量及单位根系总吸氮量的影响

与小麦地上部分的变化趋势相同, 在各生长期中, 单作体系的根体积、根部生物量及单位根系总吸氮量均低于混作体系, 混作接种体系则高于不接种的(图 2, 图 3)。方差分析表明, 接种 *nodD* 菌株 Mh93-27 后, 小麦的根体积、根部生物量与不接种的相比均无显著差异($p > 0.05$), 而根部单位根系总吸氮量在拔节期和孕穗期时达到显著差异水平($p < 0.05$), 说明根瘤菌的 PGPR 作用能在一定程度上促进小麦对氮素的吸收, 有利于提高麦穗的品质。而根部单位根系总吸氮量在孕穗期时差异更明显同样是因为这一时期小麦内生根瘤菌自生固氮的效率相对较高, 为小麦生长提供了一定量的氮素。接种野生菌株 Mh93 后, 在小麦的整个生长期, 其三项指标与不接种的相比均存在显著性差异($p < 0.05$)。结果表明, 根瘤菌的 PGPR 作用有利于小麦根系的生长, 但是体系中存在氮素转移作用后对小麦根系生长的影响更大。

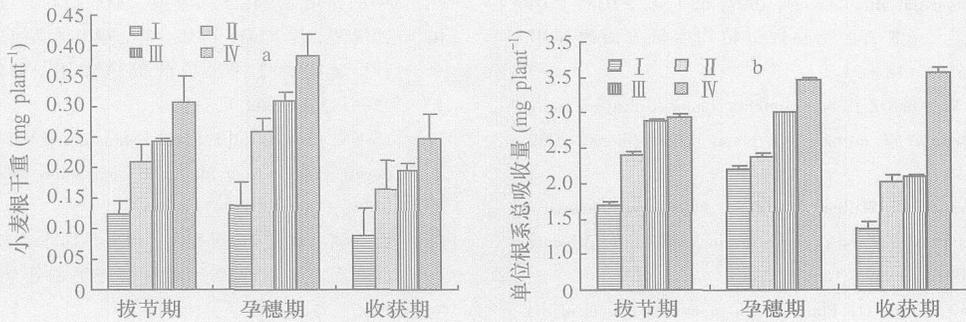
2.3 氮素转移对麦粒干重及单位籽粒总吸氮量的影响

表 1 结果表明, 无论是麦粒干重还是单位籽粒总吸氮量, 混作体系明显高于单作体系, 表明豆科-禾本科作物混作有利于提高禾本科作物的产量。分别接种突变菌株和野生根瘤菌菌株后, 混作体系的麦粒干重及单位籽粒总吸氮量均得到了提高, 但接种野生菌株的效果最为明显, 与前三种处理对比均达到了显著性差异水平, 充分说明了混作体系接种根瘤菌有利于改善小麦的品质, 豆科作物向禾本科作物转移的氮素对这一效果有明显的促进作用。



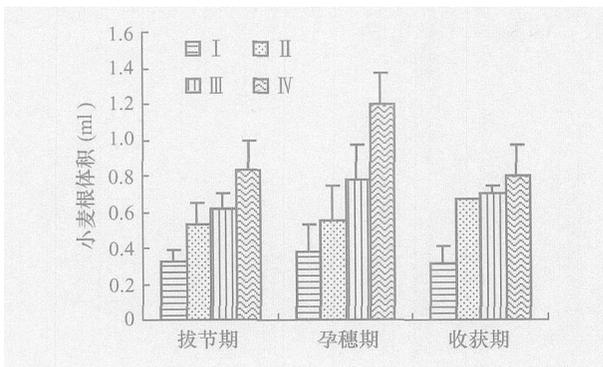
I: 小麦单作; II: 小麦紫云英与紫云英混作不接种; III: 小麦紫云英与紫云英混作接种 *nodD*⁻ 菌株 Mh93-27; IV: 小麦紫云英与紫云英混作接种野生菌株 Mh93

图 1 小麦各生育期中地上部生物量(a)及单位植株总吸氮量(b)变化



I : 小麦单作; II : 小麦紫云英与紫云英混作不接种; III : 小麦紫云英与紫云英混作接种 *nodD*⁻ 菌株 Mh93-27;
IV : 小麦紫云英与紫云英混作接种野生菌株 Mh93

图2 小麦各生长期中根部生物量(a)及单位根系总吸氮量(b)变化



I : 小麦单作; II : 小麦紫云英与紫云英混作不接种;
III : 小麦紫云英与紫云英混作接种 *nodD*⁻ 菌株 Mh93-27;
IV : 小麦紫云英与紫云英混作接种野生菌株 Mh93

图3 小麦各生长期根体积

表1 收获期麦粒的干重及单位籽粒总吸氮量

处理代号	麦粒干重 (g plant ⁻¹)	单位籽粒总吸氮量 (mg plant ⁻¹)
I	0.523±0.096a	12.15±0.47a
II	0.711±0.031b	22.70±0.04b
III	0.807±0.025c	24.18±0.02b
IV	0.900±0.033d	28.35±0.05c

I : 小麦单作; II : 小麦紫云英与紫云英混作不接种; III : 小麦紫云英与紫云英混作接种 *nodD*⁻ 菌株 Mh93-27; IV : 小麦紫云英与紫云英混作接种野生菌株 Mh93。同一行中不同小写英文字母表示差异达到 5% 的显著水平

3 结论与讨论

接种根瘤菌的豆科植物与禾本科植物混作体系中存在氮素的转移现象, 近年来这一结果已被利用¹⁵N 同位素示踪技术测定的结果所证实。根瘤菌与豆科作物的共生结瘤作用是由结瘤调节基因

nodD 正控制的, *nodD* 基因的突变将导致根瘤菌不能结瘤。本研究通过温室盆栽实验, 发现敲除了 *nodD* 基因的 Mh93 菌株虽然失去了在紫云英上的结瘤固氮能力, 但在豆科-禾本科混作体系中, 接种紫云英后仍能促进小麦的生长。本研究中小麦根系不结瘤, 突变菌株能在小麦根圈定殖及 PGPR 的作用, 但是效果没有接种野生菌株的好。可以推测, 根瘤菌能够在豆科作物上结瘤固定氮素并向禾本科作物转移才是提高禾本科作物产量的主要因素。已有研究结果显示, 非豆科作物的吸氮量中来自豆科作物的比例为 0~70%。尽管变化范围较大, 但是多数测定结果不足 N 40 kg hm⁻², 占非豆科作物全氮的 30%^[14]。本研究结果表明, 混作接种体系明显地提高了小麦的生物量和单位植株总吸氮量, 显示了由豆科作物向禾本科作物转移的氮素对提高小麦产量及品质的改善影响显著, 充分说明了氮素的转移对提高非豆科作物特别是粮食作物产量的重要作用。根瘤菌对小麦及根圈的作用如何, 怎样促进小麦的生长, 仍有待于深入研究。因此进一步了解根瘤菌与禾本科作物之间的相互作用关系, 可为分发挥根瘤菌固氮这一生物资源的潜力, 特别是提高粮食作物产量的潜力提供理论依据和技术途径。

参考文献

- [1] Barraquio W L, Revilla L, Lacha J K. Isolation of endophytic diazotrophic bacteria from wetland rice. *Plant and Soil*, 1997, 194: 15~24
- [2] 王平, 冯新梅, 李阜棣. 发光酶基因标记的华葵根瘤菌 JS5A16L 在紫云英根圈的定殖动态. *土壤学报*, 2001, 38(2): 255~270
- [3] Schlöter M, Wiehe W, Assmus B, et al. Root colonization of different plants by plant growth-promoting *Rhizobacterium leguminosarum* bv. *Trifolii* R39 studied with monospecific polyclonal antisera. *Ap*

- plied and Environmental Microbiology, 1997, 63 (5): 2 038~ 2 046
- [4] 吴建峰, 林先贵. 土壤微生物在促进植物生长方面的作用. 土壤, 2003, 35(1): 18~ 21
- [5] Zhou J B, Li S X, Chen Z J. Soil microbial biomass nitrogen and its relationship to uptake of nitrogen by plants. Pedosphere, 2002, 12(3): 251~ 256
- [6] Zahir A, Muhammad A, William T, *et al.* Plant growth promoting rhizobacteria: Applications and perspectives in agriculture. Advances in Agronomy, 2003, 81: 97~ 168
- [7] Sofie D, Jos Va, Yaacov O. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. Critical Reviews in Plant Sciences, 2003, 22(2): 107~ 149
- [8] Ta T C, Faris M A. Effects of environmental conditions on the fixation and transfer of nitrogen from alfalfa to associated timothy. Plant and Soil, 1988, 107: 25~ 30
- [9] 钟增涛, 沈其荣, 孙晓红, 等. 根瘤菌在小麦与紫云英混作中的作用. 应用生态学报, 2003, 14(2): 187~ 190
- [10] 钟增涛, 沈其荣, 冉炜, 等. 旱作水稻与花生混作体系中接种根瘤菌对植株生长的促进作用. 中国农业科学, 2002, 35(3): 303~ 308
- [11] Faris C, Macdowall F D H. Evaluation of ^{15}N methods to measure nitrogen transfer from alfalfa to companion timothy. Plant and Soil, 1989, 114: 243~ 247
- [12] 储贵新, 沈其荣, 曹金留, 等. 旱作水稻与花生间作系统中的氮素固定与转移及其对土壤肥力的影响. 土壤学报, 2003, 40(5): 717~ 723
- [13] 南京农业大学编. 土壤农化分析. 第2版. 北京: 农业出版社, 1986. 44~ 47, 213~ 216
- [14] Vance C.P. Enhanced agricultural sustainability through biological nitrogen fixation. *In*: Legocki A, Bothe H, Pühler A. eds. Biological Fixation of Nitrogen for Ecology and Sustainable Agriculture. NATO ASI Series, Vol. G. 39