

# 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

钟增涛, 沈其荣, 冉 炜, 孙晓红, 谈健康, 茆泽圣

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要: 采用盆钵旱作实验, 通过杂交水稻品种汕优 63 与花生品种鲁花 9 号混作, 并对花生接种根瘤菌 ATCC 14134, 于水稻拔节期、水稻抽穗期、水稻收获期采样分析。结果表明, 在有根瘤菌接种的混作体系中, 植株的生长和氮素供应得到了显著的促进, 植株全氮和干重分别达 29.96 mg N/g、67.55g, 高于花生单作接种(26.29 mg N/g、60.32g) 和水稻单作(8.17 mg N/g、26.59g); 混作中接种花生根瘤菌的固氮酶活性比单作接种的也有显著提高, 混作接种组的土壤相对生产率达 2.27。表明在花生和水稻混作体系中接种根瘤菌对植株生长的促进作用主要是由于增加了当季作物的氮素营养。

关键词: 根瘤菌; 旱作水稻; 花生; 混作

## The Promotion of Plant Growth by *Rhizobium* Inoculation in Mixed Cropping of Rice and Peanut Cultivated on Upland Condition

ZHONG Zeng-tao, SHEN Qi-rong, RAN Wei, SUN Xiao-hong, TAN Jian-kang, MAO Ze-sheng

(College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract: A pot-growing experiment was conducted to investigate the interaction between rice and peanut in mixed cropping and peanut crop was inoculated with *Rhizobium*. The results showed that the mutually beneficial relationships among rice, peanut, and *Rhizobium* were notable. After *Rhizobium* inoculation, both the growth of nodules and the activity of N-fixation in peanut were stimulated significantly by the rice growth. The above-ground biomass, root biomass, and seed weight of either the rice or the peanut were promoted significantly by inoculation of *Rhizobium* in mixed cropping system of rice and peanut. A significantly increased effect was also found of *Rhizobium* inoculation on nitrogen contents in straws, seeds, and roots of rice or peanut. In addition, the nitrogen fertility in the soil was improved by planting of peanuts with *Rhizobium* inoculation.

Key words: *Rhizobium*; Rice cultivated on upland condition; Peanut; Mixed cropping

氮是限制作物产量最重要的营养因素, 作物从土壤中获得氮素是有限的, 因此要获得作物的高产就必须提高氮肥用量, 但大量施用化学氮肥不仅使生产成本增加, 而且会造成环境污染, 从农业可持续发展来看, 发挥微生物固氮作用是今后提高粮食生产重要的途径之一。就微生物固氮作用效率而言, 以根瘤菌的共生固氮作用效率最高, 但由于根瘤

菌对宿主有严格的专一性, 使其本身的应用受到限制。虽然发现根瘤菌能在非豆科植物的根圈定殖, 并有固氮能力<sup>[1, 2]</sup>, 用根瘤菌与非豆科植物拌种, 作物产量也有所提高<sup>[3]</sup>, 但单纯根瘤菌与禾本科植物拌种, 根瘤菌的固氮活性并不高<sup>[1-3]</sup>。而在禾本科与接种根瘤菌的豆科植物混作体系中, 接种根瘤菌后, 豆科植物与禾本科作物的产量均有提高<sup>[4]</sup>, 而且

收稿日期: 2001-04-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070446)

作者简介: 钟增涛(1974-), 男, 湖南长沙人, 讲师, 主要从事土壤微生物工作。沈其荣为本文通讯联系人, Tel: 025-4395212; Fax: 025-4431492; E-mail: qshen@sntp.njau.edu.cn

植株总生物量氮也明显高于单作<sup>[5]</sup>,表明根瘤菌在混作体系中具有较高的固氮效率。

水稻旱作技术具有极其巨大的节水潜力和较低的环境风险,因此其推广面积日益扩大,并成为研究热点。已进行的研究表明,旱作水稻能获得与水作水稻相当的产量<sup>[6,7]</sup>,水稻完全能表现出旱作的生理特性<sup>[8,9]</sup>。为了进一步研究旱作水稻的氮素管理技术,扩大根瘤菌的固氮作用范围,笔者通过盆栽试验,研究了接种根瘤菌对水稻-花生混作系统中氮素转化的影响,首次提出了旱作水稻与花生间作的耕作制度。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试土壤类型为淡色潮湿锥形土(M2.4),采自江苏省如皋市,土壤的基本性状为:pH 值 8.25,有机质含量为 9.5g/kg,全氮含量为 0.47g/kg,全磷为 24.6g/kg,速效氮为 19.47mg/kg,速效磷为 4.71mg/kg。供试花生和杂交水稻品种分别为鲁花 9 号和汕优 63。供试花生根瘤菌(ATCC 14134)由中国农业科学院菌种保藏中心提供。

### 1.2 试验方法

试验于 2000 年 4 月~10 月在南京农业大学农业部作物生长调控重点开放实验室的温室内进行。土壤磨碎、过筛(<2mm)后,取 2.2kg 土与相当于 28mg/N kg 土的尿素 57.5mg K/kg 土和 46.5mg P/kg 土的  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  充分混匀,装入陶瓷钵。考虑到杂交水稻和花生两种作物的苗期生长速度与生长期不同,分别于 4 月 30 日和 5 月 12 日直播水稻和花生。

表 1 花生根瘤的重量及数量<sup>1)</sup>

Table 1 Weight and number of nodule

水稻生长期 Growth stage	组号 No.	瘤重 (g/plant) Weight of nodule	瘤数 (个/plant) Number of nodule	酶活性 Value of enzyme ( $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ )
拔节期	I	0.29 ± 0.019	41 ± 1.73	17.84 ± 1.11
Jointing	III	0.22 ± 0.043	100 ± 1.26	13.38 ± 0.18
抽穗期	I	1.53 ± 0.067	93.2 ± 2.32	6.97 ± 0.28
Heading	III	0.81 ± 0.054	124.3 ± 1.37	4.89 ± 0.57
收获期	I	1.313 ± 0.17	141.3 ± 4.51	1.66 ± 0.17
Harvest	III	0.66 ± 0.028	156.3 ± 3.06	0.31 ± 0.062

<sup>1)</sup> I 混作接种处理 inoculated mixed plant; III 单作接种处理 Inoculated peanut

试验结果表明,花生生长过程中根瘤固氮酶活性的变化具有一定的独立性,但水稻生长对花生根瘤固氮能力有显著的促进作用,这为进一步研究提

试验设 5 个处理:处理 I 为每钵种植 3 株水稻和 3 株花生,且接种根瘤菌;处理 II 为每钵种植 3 株水稻和 3 株花生,但不接种根瘤菌;处理 III 为每钵种植 6 株花生,且接种根瘤菌;处理 IV 为每钵种植 6 株花生,但不接种根瘤菌;处理 V 为每钵种植 6 株水稻。每处理种 9 钵,分别于水稻拔节(6 月 1 日)、抽穗(8 月 8 日)和收获期(9 月 27 日)采集土壤和植株样品进行分析测定(各重复 3 次)。作物全生育期中土壤水分保持田间持水量的 80%~85%。

### 1.3 测定方法

固氮酶活性测定采用乙炔还原法<sup>[10]</sup>,植物和土壤全氮测定采用半微量凯氏定氮法<sup>[11]</sup>,土壤  $\text{NO}_3^- - \text{N}$ ,  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  的测定采用比色法<sup>[12]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 水稻-花生混作对花生根瘤生物学性状的影响

根瘤的生物学性状用单株根瘤重量、根瘤单体重量和根瘤固氮酶活性表示。与单作花生相比,水稻-花生混作体系中花生的单株瘤重、根瘤单体重量和根瘤固氮酶活性都显著提高了(表 1)。方差分析表明,整个生长期混作与单作花生根瘤的 3 项指标的差异均达到了显著水平( $P < 0.05$ )。虽然在水稻拔节期混作体系中的根瘤数量相对较少,但单株瘤重和根瘤单体重量显著高于花生单作体系。在水稻抽穗期和收获期,混作体系中根瘤的 3 项指标均显著高于单作体系。在植株生长过程中,两种体系中虽然单株花生根瘤数量不断增加,但在抽穗期单株根瘤重量最大,而固氮酶活性从拔节期至收获期呈逐步下降的趋势。

高花生根瘤固氮能力提供了一定的科学依据。据报道,豆科作物的吸磷量在混作体系中高于单作体系<sup>[13]</sup>,但是目前还没有直接证据解释花生生长过

程中根瘤菌固氮酶活性降低的原因。

## 2.2 水稻-花生混作对植株地上部生物量、根生物量和籽粒产量的影响

在水稻的全生长期中,水稻-花生混作处理的单株水稻地上部生物量均比单作水稻处理要高,而且随着共生期的延续,其差异逐渐显著,表明花生能促进水稻生长(图 1A)。在水稻-花生混作体系中,与不接种处理相比,花生接种根瘤菌处理显著提高了抽穗期和收获期单株水稻的生物量( $P < 0.05$ ) (图 1A),表明根瘤菌是引起花生促进水稻生长的主要因素。这种现象与文献报道相符<sup>[4]</sup>,其主要原因可能是促进了水稻生长过程中的氮素供应。据报道,在接种根瘤菌的豆科植物与禾本科植物混作中有氮素的转移现象<sup>[14]</sup>,而且根瘤菌能在非豆科植物根圈定殖及固氮<sup>[1,2]</sup>,以及具有植物根圈促生(PGPR)的作用<sup>[15,16]</sup>。由此可见,根瘤菌对植株生长的促进是多方面的,而且混作可以克服根瘤菌宿主专一性强的困难,这对进一步扩大根瘤菌的应用范围提供了很好的理论依据。

在花生的全生长期中,水稻-花生混作处理中单株花生地上部分生物量均比花生单作处理高,而且混作接种处理的单株花生地上部分生物量显著高于花生单作接种处理( $P < 0.05$ ) (图 1B),表明不仅根瘤菌对花生的生长有促进作用,而且水稻生长对花生生长也存在促进作用。这可能与水稻根系酸性分泌物对土壤固定态磷的解吸作用,改善了花生的磷素营养有关<sup>[13]</sup>。

上述结果表明,在水稻-花生混作体系中水稻、花生和根瘤菌三者存在共同促进的互利作用。不同处理的地下部根生物量、水稻籽粒和花生籽粒产量的测定数据(图 1C,表 2)也支持这一观点。

在间套作生产实践中常采用土壤相对生产力指数来衡量作物之间的相互作用。土壤相对生产力指数为作物 1 间作与单作产量之比加上作物 2 间作与单作产量之比。如果该指数大于 1,表明两种作物间存在互相促进生长的作用;如果该指数小于 1,则有相互抑制作用;如果该指数等于 1 则表示无相互作用<sup>[17]</sup>。对本试验的结果分析表明,接种后混作的土壤相对生产力指数为 2.27,不接种的为 1.33,也说明该混作体系有相互促进的作用,而接种根瘤菌会大大提高这两种作物的互相促进作用。在玉米与豆科植物间作的田间试验中,其土壤相对生产力为 1.2~1.3<sup>[17]</sup>,本盆栽试验得到的土壤相对生产力指数高于田间试验结果,这主要是减少了地上部互相

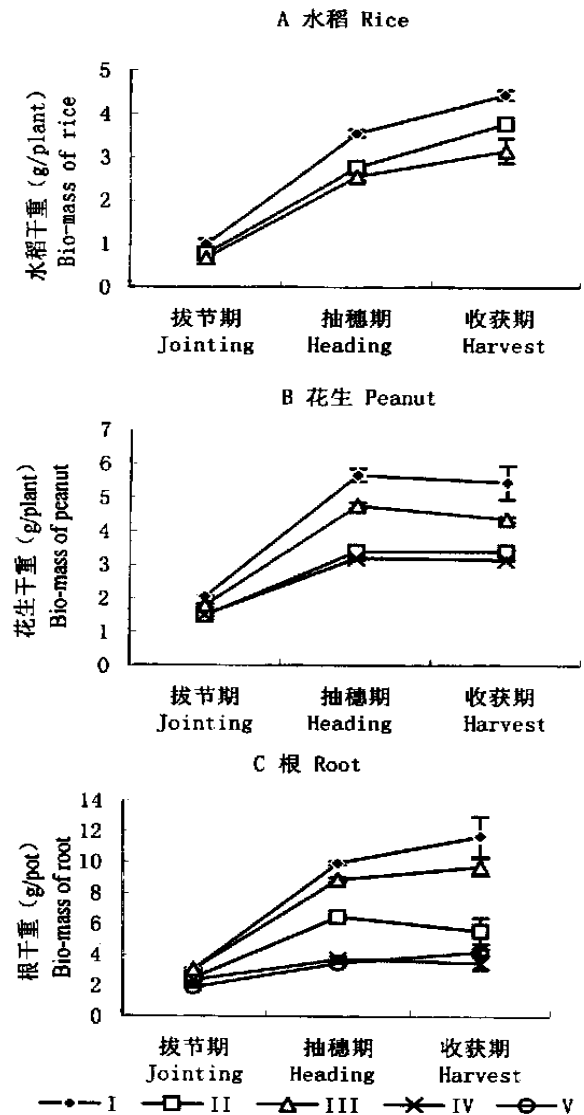


图 1 水稻各生长期植株地上部生物量变化

Fig. 1 Changes of above ground bio mass of plant in different growth stages of rice

遮荫的负效应和植物根系分布空间之故,因而真正反映了作物地下部的相互作用。

## 2.3 水稻-花生混作对植株地上部、根系和籽粒氮素含量的影响

氮素是植物细胞的重要组成物质,参与所有的植物生理生化过程,植株全氮变化能反映植株生长状况。本试验在水稻抽穗期和收获期,水稻-花生混作接种处理的水稻和花生植株地上部和根系氮含量均显著高于其它处理(图 2),表明在接种根瘤菌后水稻-花生混作体系水稻和花生的生长状态均得到改良。在拔节期,水稻和花生植株地上部氮含量各处理间差异不大,可能与根瘤未开始固定足够的氮

表 2 试验体系水稻与花生产量的干重

Table 2 The yield bio mass of rice and peanut(g/ plant)

水稻生长期 Growth stage		稻粒干重 The bio mass of the kernel in the experimental system				
		I	II	III	IV	V
收获期	Harvest	1.6 ± 0.19A	0.81 ± 0.16B			0.57 ± 0.27C
		花生干重 The bio mass of the yield of peanut in the experimental system				
		I	II	III	IV	V
抽穗期	Heading stage	4.32 ± 0.19A	2.82 ± 0.02B	2.99 ± 0.45C	2.36 ± 0.42D	
收获期	Harvest	7.13 ± 0.15A	3.86 ± 0.49B	4.11 ± 0.12C	3.18 ± 0.16D	

1) I 混作接种;II 混作不接种;III 单作接种;IV 单作不接种;V 水稻单作。下同

I: Inoculated mixed plant; II: Uninoculated mixed plant; III: Inoculated peanut; IV: Uninoculated peanut; V: Rice. The same as below

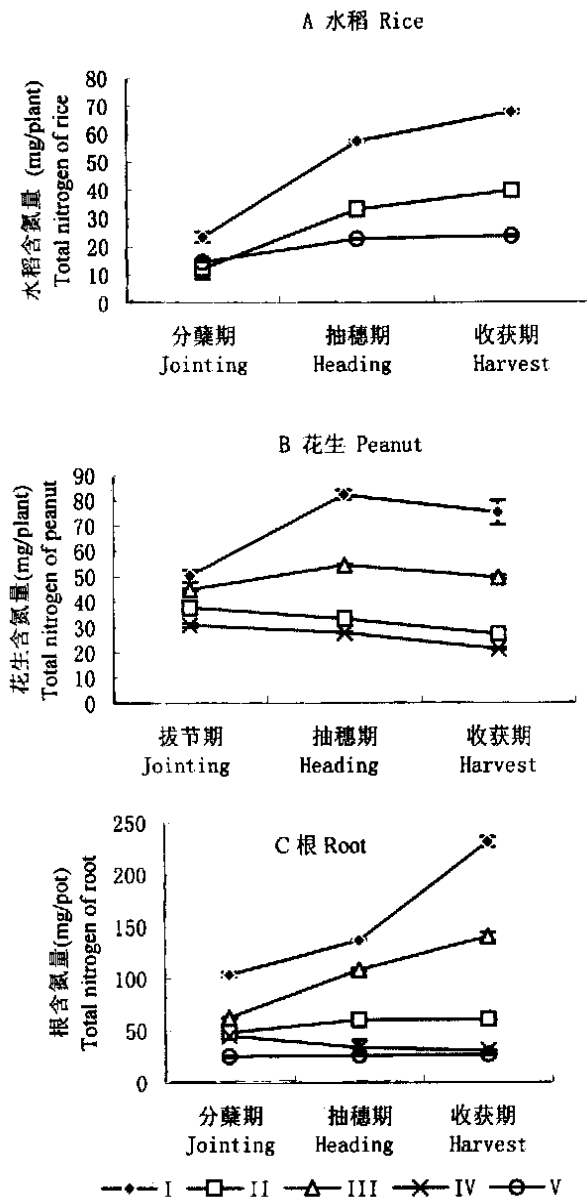


图 2 水稻各生长期植株地上部全氮的变化情况  
Fig.2 Changes of total nitrogen contents in above ground parts of plant in different growth stages of rice

素有关,两种作物间可能存在氮素竞争现象<sup>[20]</sup>,但随着根瘤固氮能力的提高,混作接种处理的植株地上部含氮量显著增加,两种作物间生长初期可能存在的竞争关系转变为显著的相互促进关系,根系的含氮量变化也说明了这一点。据报道,豆科作物与禾本科作物混作中氮素转移主要途径主要有3种:豆科作物根系氮素释放、豆科作物的脱落组织的分解及豆科植株叶片可溶性氮的淋洗<sup>[18]</sup>。有研究表明,在豆科作物与禾本科作物间套作中,禾本科作物的19%含氮量由豆科作物通过氮转移提供,而在低氮水平上处理中这种现象更加显著<sup>[19]</sup>。

作物籽粒含氮量的提高会增加其蛋白质含量,提高作物产品的质量。本试验表明,混作接种处理中水稻和花生单株籽粒含氮量显著高于其它处理(表3),表明在混作体系中作物产品的质量得到提高,这为提高粮食产品质量提供了一条新途径。

2.4 水稻-花生混作对土壤氮素状况的影响

土壤氮素是植物氮素营养的主要来源,铵态氮和硝态氮是植物可直接吸收利用的主要形态,不同种植方式对土壤氮素状况有较大的影响。在本试验中,土壤水分状态与旱地条件相当,供接种根瘤菌的体系铵态氮含量较高,而且混作组高于单作(图3B),这可能与根瘤固氮后并由花生分泌到土壤中有关<sup>[18]</sup>,虽然这种氮素释放的铵态氮的含量较低,但在水稻收获期接种处理仍显著高于不接种处理。土壤硝态氮含量在水稻生长前期和后期各处理的差异不大,但在抽穗期,花生单作且接种处理显著高于其它处理(图3A),这可能受铵态氮的供给和根际土壤pH双重影响。水稻生长不仅能够吸收铵态氮和硝态氮,还会在根际产生酸性分泌物降低根际土壤pH,不利于硝化作用的进行和硝态氮的累积。在水稻收获期,随着根系活力和根瘤菌活性的下降,各处理之间土壤硝态氮没有显著性差异。在水稻收获

期,单作水稻处理的土壤全氮显著低于有花生生长的其它处理,但接种与不接种根瘤菌处理间的土壤

全氮差异没有达到显著性水平(图 3C),表明种植花生能够提高土壤全氮,有利于提高土壤肥力水平。

表 3 试验体系水稻与花生产量的全氮

Table 3 The yield total nitrogen of rice and peanut(mg N/ plant)

水稻生长期 Growth stage	稻粒全氮 The bio mass of the kenneel in the experimental system				
	I	II	III	IV	V
收获期 Harvest	27.61 ± 2.04A	13.34 ± 1.44B		8.28 ± 3.07C	
	花生籽粒全氮 Total nitrogen of yield of peanut in the experimental system				
	I	II	III	IV	V
抽穗期 Heading stage	130.85 ± 4.39A	48.72 ± 0.89B	68.19 ± 3.70C	29.75 ± 2.08D	
收获期 Harvest	382.03 ± 3.60A	129.42 ± 0.61B	192.4 ± 1.83C	74.06 ± 1.07D	

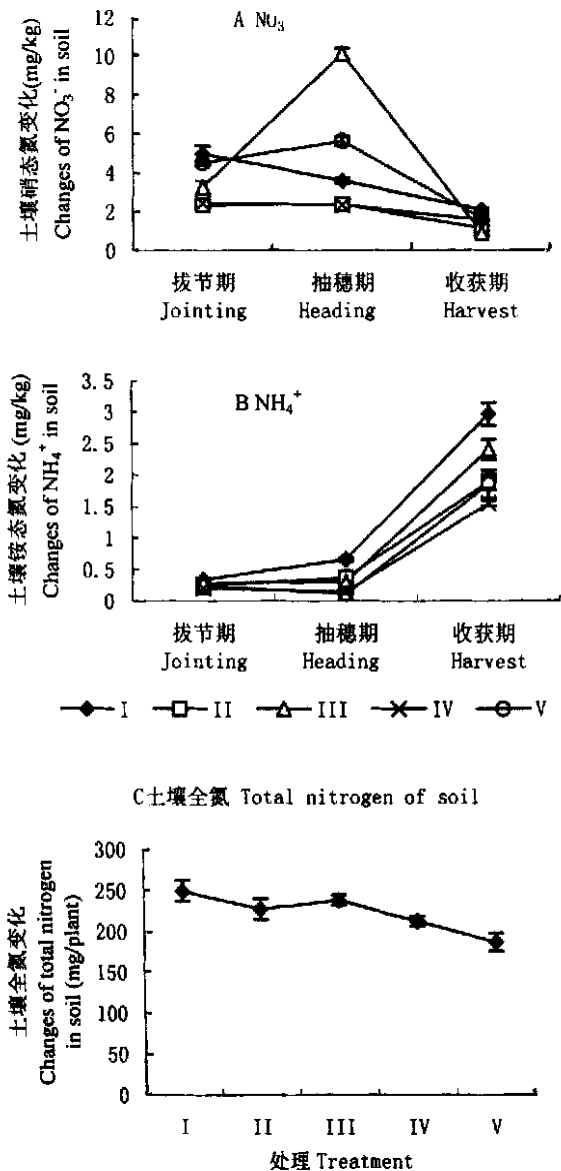


图 3 土壤氮素变化

Fig.3 Changes of nitrogen of soil in different growing stage of rice

References :

[ 1 ] Hu X J, et al. Nodulation of flavonoid-stimulated rhizobia on oilseed rape and nitrogen fixation. Journal of Applied Ecology, 1999,10(1) : 127 - 128. (in Chinese)  
胡小加,等.类黄酮激活根瘤菌在油菜上结瘤和固氮的研究初报.应用生态学报,1999,10(1) :127 - 128 .

[ 2 ] Wang P, et al. Root colonization of non-legume plants by *luxAB* and *gusA* genes marked *huakuii Js5A16*. Journal of Huazhong Agricultural University, 1999,18(3) :238 - 241. (in Chinese)  
王平,等.华葵根瘤菌在非豆科植物根圈定殖能力的研究.华中农业大学学报,1999,18(3) :238 - 241 .

[ 3 ] Xie Y X, et al. The physiological characteristics of *Azorhizobium* and its effect to non-legume as inoculated in seed. Soil Fertilizers, 1995,6 :12 - 16. (in Chinese)  
谢应先,等.固氮根瘤菌的生理特性及对非豆科作物的接种效果.土壤肥料,1995,6 :12 - 16 .

[ 4 ] TA T C, et al. Effects of environmental conditions on the fixation and transfer of nitrogen from alfalfa to associated timothy. Plant and Soil, 1988,107 :25 - 30 .

[ 5 ] George H, et al. Field evaluation of crops in the study of nitrogen fixation by Legumes using isotope techniques. Agronomy Journal, 1982,74 :607 - 612 .

[ 6 ] Shi Y, et al. Biological effect of mulching on upland rice and characteristics of N absorption of mulched rice. Rural Eco-Environment, 2001,17(2) :22 - 25. (in Chinese)  
石英,等.水作与不同覆盖方式下旱作水稻的生物效应及吸氮特征.农村生态环境,2001,17(2) :22 - 25 .

[ 7 ] Shi Y, et al. The effect of soil mulching on biological response of rice crop cultivated on upland soil. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2001,7(3) :47 - 53. (in Chinese)  
石英,等.旱作条件下水稻的生物效应及表层覆盖的影响.植物营养与肥料学报,2001,7(3) :47 - 53 .

[ 8 ] Shi Y, et al. Dynamics of soil inorganic N in rice crop cultivated on upland condition and N absorption by rice supplied with different N fertilizer rate. Journal of Nanjing Agricultural University, 2001,24(2) :61 - 65. (in Chinese)  
石英,等.不同施氮水平旱作水稻土壤无机氮的动态变化及水稻吸氮特征.南京农业大学学报,2001,24(2) :61 - 65 .

[ 9 ] Fan X R, et al. Effect of soil water regime on dynamic levels of endogenous hormones and the relationship between hormones and physio-biochemistry and morphology in different rice cultivated in upland soil. Acta Pedologica Sinica, 2002,39(2) :220 - 225. (in Chinese)  
范晓荣,等.旱作水稻内源激素变化及其与该稻形态、生理特性的关系.土壤学报,2002,39(2) :220 - 225 .

- [10] Shanghai Institution of Plant Physiological CAS. Facilitation of the method of ethylene reduction in nitrogen fixation research. *Journal of Botany*, 1974, 16(4) :382 - 383. (in Chinese)  
上海植物生理研究所固氮研究室. 固氮研究中乙炔还原定量测定方法的简化. *植物学报*, 1974, 16(4) :382 - 383.
- [11] Nanjing Agricultural University. Measure of total nitrogen in soil, measure of total nitrogen in plant. in: *Nanjing Agricultural University eds: Agricultural Chemistry Analyze of Soil (Second Edition)*. Beijing: Agricultural Press, 1986: 44 - 47, 213 - 216. (in Chinese)  
南京农业大学. 土壤全氮测定, 植物全氮测定. 南京农业大学. 土壤农化分析(第2版). 北京: 农业出版社, 1986: 44 - 47, 213 - 216.
- [12] Mulvaney R L. Nitrogen-inorganic forms. in: Bigham J M. *Methods of Soil Analysis. Part 3, Chemical Methods*. SSSA, ASA, Madison, Wisconsin, USA, 1996: 1123 - 1124.
- [13] Li L, et al. Dynamic of nitrogen, phosphorus and potassium uptake by intercropped species in the spring wheat/soybean intercropping. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 1999, 5(2) :163 - 171. (in Chinese)  
李 隆, 等. 春小麦大豆间作条件下作物养分吸收累积动态的研究. *植物营养与肥料学报*, 1999, 5(2) :163 - 171.
- [14] TA C, et al. Evaluation of  $N^5$  methods to measure nitrogen transfer from alfalfa to companion timothy. *Plant and Soil*, 1989, 114: 243 - 247.
- [15] Ladha J K, et al. Introduction: Assessing opportunities for nitrogen fixation in rice- a frontier project. *Plant and Soil*, 1997, 194: 1 - 10.
- [16] Schlöter M, et al. Root colonization of different plants by plant growth promoting *Rhizobacterium leguminosarum* bv. trifolii R39 studied with monospecific polyclonal antisera. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(5) : 2038 - 2046.
- [17] Li L, et al. Interspecific complementary and competitive interactions between mixed planted maize and faba bean. *Plant and Soil*, 1999, 212: 105 - 114.
- [18] Whitney A S, et al. Pathways of nitrogen transfer in some tropical Legume-grass associations. *Agronomy Journal*, 1967, 59: 585 - 588.
- [19] Jensen E S. Barley uptake of N deposited in the rhizosphere of associated field pea. *Soil Biol. Biochem.* 1996, 28(2) :159 - 168.
- [20] Chang J P, et al. An analysis of competition between mixed planted cowpea and maize. *Field Crops Research*, 1985, 12: 133 - 143.

## · 书 讯 ·

# 《作物改良理论与方法》一书出版

刘秉华研究员的专著《作物改良理论与方法》已由中国农业科技出版社正式出版。全书以作物非整倍体、细胞核雄性不育及其在遗传育种研究中的应用的总体论述为前导,先后引入减数分裂、非整倍体、雄性不育、轮回选择、基因定位、等基因系、性状标记、分子标记、种质创新、育种方法、杂优利用和良种良法十二专题,既包括深化传统育种方法的介绍,又含有品种改良新策略的研究,将作物遗传育种知识的广度与深度、实用性与新颖性有机地结合于一体,构成一个比较完整而系统的知识体系。全书 32 万字,图 50 幅,文字精炼,问题论述深入浅出,图文并茂,是作物育种工作者、农业院校有关专业师生必备的参考书。每本定价 32 元,欲购者请直接与作者联系。

地址:北京市中关村南大街 12 号中国农业科学院作物育种栽培研究所

邮编:100081

电话:(010)68918628