

气候因子对三种豆科树种固氮的影响

黄维南, 黄志宏, 林清洪, 章宁, 蔡克强, 邹小鲁

(福建亚热带植物研究所, 福建 厦门 361006)

摘要: 研究了气候因子对台湾相思(*Acacia confusa*)、大叶相思(*A. auriculaeformis*)和南岭黄檀(*Dalbergia balansae*)根瘤固氮酶和吸氢酶活性的影响。3种树木根瘤均具有吸氢酶活性, 外源 H₂ 可提高固氮酶活性, 表明吸氢酶有助于固氮效率的提高。3种树种根瘤的固氮活性有明显季节变化, 夏秋活性较高, 早春及冬季活性较低。离体根瘤固氮和吸 H₂ 活性表达的最适温度为 25-30℃。光照强度及土壤湿度均显著影响根瘤固氮和吸 H₂ 活性。

关键词: 气候因子; 台湾相思; 大叶相思; 南岭黄檀; 根瘤; 固氮酶; 吸氢酶

中图分类号: Q945.13

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)05-0455-04

Effect of Climatic Factors on Nitrogen Fixation in Three Leguminous Trees

HUANG Wei-nan, HUANG Zhi-hong, LIN Qing-hong, ZHANG Ning, CAI Ke-qiang, ZOU Xiao-lu

(Fujian Institute of Subtropical Botany, Xiamen 361006, China)

Abstract: Effect of climatic factors on nitrogenase and hydrogenase activities in nodules of *Acacia confusa*, *A. auriculaeformis* and *Dalbergia balansae* were investigated. Hydrogen uptake activity was found in the nodules of all the three leguminous trees. In the presence of exogenous hydrogen, nitrogenase activity in nodules increased markedly, indicating that hydrogenase played an important role in increasing the efficiency of nitrogen-fixation in symbiotic system. Seasonal changes were obvious in nodulation and nitrogen fixation of leguminous species grown in Xiamen area. Results showed that more nodules produced and higher C₂H₂-reducing activity were observed in summer and autumn than in early spring and winter. The optimum temperature for both nitrogenase and hydrogenase activities in nodules was 25-30℃. Minor soil water deficit did not affect the C₂H₂-reducing activities, but serious soil drought markedly reduced the activities of nitrogen-fixation and hydrogen uptake. Shading reduced both nitrogenase and hydrogenase activities in nodules.

Key words: Climatic factors; *Acacia confusa*; *Acacia auriculaeformis*; *Dalbergia balansae*; Nodules; Nitrogenase; Hydrogenase

树木固氮是重要的固氮资源, 在陆地生态系统的氮素循环和生态平衡中起重要作用。许多豆科树木不仅能结瘤固氮, 而且是重要的经济林木。台湾相思(*Acacia confusa*)、大叶相思(*A. auriculaeformis*)和南岭黄檀(*Dalbergia balansae*)都是豆科常绿乔木, 生长迅速, 适应性广, 萌发力强, 是华南地区荒山造林、水土保持和沿海防护林的重要树种, 南岭黄檀还是优良的紫胶虫寄主树^[1]。近年来, 南方各地大面

积营造这些树种, 在营林学和生态学方面已有较多研究^[2-4], 但对其固氮特性研究较少。不同生境条件下树木固氮效率不同, 根据不同条件选择抗逆性强、固氮效率高的树种, 采取有效的农业措施, 提高现有共生体系的固氮效率, 有重要的实际意义。本文主要研究气候因子对三树种根瘤固氮酶和吸氢酶活性的影响, 并探讨两种酶的关系, 为因地制宜地筛选优良树种提供科学依据。

收稿日期: 2003-10-13 接受日期: 2004-04-05

基金项目: 福建省科委资助项目(94-J-9 和 C95053) 资助

1 材料和方法

台湾相思(*Acacia confusa*)、大叶相思(*A. auriculaeformis*)和南岭黄檀(*Dalbergia balansae*)种子取自本所实验地,经沸水处理后分期播种于沙中,出苗后移至大试管中水培,或盛有沙质红壤的盆中,部分苗木种于沙质红壤的实验地。土培管理粗放,不施肥料,分期取样测定。

根瘤固氮酶活性测定用乙炔还原法^[9],盛有根瘤样品的密封小瓶中,注入 10%的 C_2H_2 , 反应 2 h 后,用带有氢焰检测器的 102-G 型气相色谱仪(上分厂)测反应瓶中 C_2H_4 的形成量。吸氢酶活性测定参照汪化的方法^[6],样品加入 5% H_2 后,用装有热导检测器的 103 型气相色谱仪测 H_2 的消耗量。土壤含水量按烘干法^[7],根瘤含水量按自然鲜重法测定^[7]。每个实验 3-5 个重复。

2 结果和讨论

2.1 吸氢酶活性及其对固氮作用的影响

固氮过程伴随放 H_2 , 放 H_2 是固氮酶反应固有

的特征,固氮酶催化放 H_2 需 ATP 和还原剂,是一种耗能反应,但不少固氮生物具有吸氢酶,能重新利用由固氮酶催化反应所生成的 H_2 , 通过 H_2 的氧化,保护固氮酶免受氧破坏,消除 H_2 对固氮酶的抑制作用,重新获得能量,继续固氮作用^[8]。经多次测定,台湾相思、大叶相思和南岭黄檀的根瘤均未测出放 H_2 活性,但均有吸氢能力,表明含有吸氢酶(表 1)。

在有根瘤的反应瓶中,注入 5%外源 H_2 后,可明显提高固氮酶活性(表 2),3 树种根瘤固氮活性分别提高 26.8%、61.6%和 53.6%,表明通过吸氢酶催化的吸 H_2 反应,有助于固氮效率的提高。

表 1 3 树种根瘤的吸氢酶活性($\mu\text{mol } H_2 \text{ g}^{-1} \text{ FW h}^{-1}$)

Table 1 Hydrogenase activity ($\mu\text{mol } H_2 \text{ g}^{-1} \text{ FW h}^{-1}$) in nodules of 3 species leguminous trees

| | 反应时间 Incubation time (h) | | | | |
|--------------------------------|--------------------------|-----|-----|-----|-----|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 台湾相思 <i>A. confusa</i> | 3.8 | 4.0 | 3.7 | 3.5 | 3.2 |
| 大叶相思 <i>A. auriculaeformis</i> | 1.3 | 2.5 | 2.7 | 2.7 | 2.7 |
| 南岭黄檀 <i>D. balansae</i> | 1.5 | 1.6 | 1.6 | 1.9 | 1.8 |

盆栽实验,1996 年 6 月 15 日测定 Data were obtained on 15 June, 1996, from seedlings grown in pots.

表 2 外源 H_2 对根瘤固氮酶活性($\mu\text{mol } C_2H_4 \text{ g}^{-1} \text{ FW h}^{-1}$)的影响

Table 2 Effect of exogenous H_2 on nitrogenase activity ($\mu\text{mol } C_2H_4 \text{ g}^{-1} \text{ FW h}^{-1}$) in nodules

| | H_2 | 反应时间 Incubation time (h) | | | | | 平均 | % |
|--------------------------------|-------|--------------------------|------|------|------|------|------|-------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | | |
| 台湾相思 <i>A. confusa</i> | 0 | 7.00 | 7.10 | 7.33 | 6.50 | 6.06 | 6.80 | 100 |
| | 5% | 11.00 | 8.80 | 8.50 | 7.70 | 7.12 | 8.62 | 126.8 |
| 大叶相思 <i>A. auriculaeformis</i> | 0 | 1.50 | 1.50 | 1.58 | 1.45 | 1.50 | 1.51 | 100 |
| | 5% | 2.50 | 2.45 | 2.47 | 2.40 | 2.38 | 2.44 | 161.6 |
| 南岭黄檀 <i>D. balansae</i> | 0 | 1.00 | 2.00 | 2.83 | 3.50 | 2.84 | 2.63 | 100 |
| | 5% | 1.80 | 3.50 | 4.50 | 5.00 | 5.40 | 4.04 | 153.6 |

盆栽实验,1996 年 6 月 15 日测定 Data were obtained on 15 June, 1996, from seedlings grown in pots.

2.2 气候因子对根瘤固氮酶和吸氢酶活性的影响

季节变化 1998-1999 年将台湾相思、大叶相思和南岭黄檀幼苗种植于沙质红壤的实验地,于不同季节分别取样测定根瘤的固氮酶活性,同时观

测地表温度。结果(表 3)表明,与其它豆科树种一样^[9,10],3 树种根瘤的固氮酶活性有明显的季节性变化,7-9 月份活性较高,10 月份和翌年 5 月份活性仍维持一定水平,12 月份和 3 月份活性已显著降

表 3 不同季节对根瘤固氮酶活性的影响

Table 3 Effect of seasonal variations on nitrogenase activity in nodules

| | 测定月份 Month determined | 固氮酶活性 Nitrogenase activity ($\mu\text{mol } C_2H_4 \text{ g}^{-1} \text{ FW h}^{-1}$) | | | | | | | |
|--------------------------------|--|---|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| | | 1 | 2 | 3 | 5 | 7 | 9 | 10 | 12 |
| | 地表温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$) | 10 | 10 | 14 | 24 | 31 | 29 | 25 | 17 |
| 台湾相思 <i>A. confusa</i> | | 0.2 | 0.2 | 2.1 | 4.8 | 7.0 | 8.5 | 6.2 | 1.4 |
| 大叶相思 <i>A. auriculaeformis</i> | | 0 | 0.3 | 1.0 | 3.0 | 5.0 | 7.5 | 3.8 | 1.7 |
| 南岭黄檀 <i>D. balansae</i> | | 0 | 0 | 1.3 | 3.2 | 4.0 | 4.8 | 3.5 | 2.5 |

大田实验 Seedlings grown in the field.

低,1-2月份活性最低。由于气候因子(温度、光照、降水等)综合作用的结果,不同年份的根瘤固氮酶活性的月变化也有差异,但其趋势是夏秋结瘤较多,固氮酶活性也较高,冬天和早春新瘤形成少,固氮酶活性显著下降,甚至测不出。

温度 挖取盆栽苗木的根瘤,按常规处理,分别于反应系统中注入 C₂H₂ 或 H₂,置于不同温度下反应,定时测定 C₂H₄ 生成量或 H₂ 减少量,结果如表 4 所示,在 25-30℃,3 树种根瘤的固氮酶活性均较高,20℃ 以下和 35℃ 以上活性明显下降。

表 4 还表明温度也影响吸氢酶活性的表达。温度不仅影响根瘤固氮酶活性,且影响结瘤率和结瘤数。将接菌后的台湾相思水培苗分别置于 15℃、25℃ 和 35℃ 的光照培养箱中培养,观测结瘤状况。表 5 表明在 15℃ 条件下,台湾相思结瘤能力低于 25℃ 和 35℃,低温下,根瘤菌感染慢,严重影响结

瘤,低温下形成的根瘤较小,含类菌体组织的量较少。这 3 树种的结瘤固氮对低温较敏感,可能与其属热带亚热带植物有关。

光照 我们于 10 月上旬将台湾相思和大叶相思的盆栽幼苗置于阳台自然光照(对照)和荫棚下,一周后测定根瘤固氮酶和吸氢酶活性,取样时测定光照强度(光照强度分别为 48 000 和 1 500 Lx)。结果(表 6)表明,遮荫 7 d 的台湾相思和大叶相思固氮活性分别只有对照的 14% 和 10%,吸氢活性仅有对照的 13% 和 5%,光照强度不足明显抑制根瘤的固氮酶和吸氢酶活性。由于遮荫使光照强度降低,植株获得的光照减弱,光合产物减少,因而严重抑制固氮作用。

土壤含水量 有研究认为降雨量对豆科树木根瘤固氮活性有显著影响^[10],我们将盆栽幼苗分 3 组,第 I 组连续 4 d 不浇水,第 II 组 2 d 浇一次水,

表 4 温度对根瘤固氮酶和吸氢酶活性的影响

Table 4 Effect of temperature on nitrogenase and hydrogenase activities in nodules

| 处理温度 Temperature (°C) | 固氮酶活性 Nitrogenase activity ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4\text{g}^{-1}\text{FW h}^{-1}$) | | | | | | 吸氢酶活性 Hydrogenase activity ($\mu\text{mol H}_2\text{g}^{-1}\text{FW h}^{-1}$) | | | |
|--------------------------------|--|-----|-----|-----|-----|-----|--|-----|-----|-----|
| | 5 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 | 5 | 15 | 25 | 35 |
| 台湾相思 <i>A. confusa</i> | 0.2 | 3.3 | 6.0 | 8.1 | 9.2 | 3.6 | 0.5 | 2.8 | 4.4 | 3.0 |
| 大叶相思 <i>A. auriculaeformis</i> | 0.3 | 1.7 | 2.5 | 4.8 | 5.0 | 3.0 | 0.4 | 2.5 | 3.5 | 2.5 |
| 南岭黄檀 <i>D. balansae</i> | 0.3 | 2.8 | 3.0 | 3.8 | 4.0 | 3.0 | 0.4 | 2.2 | 2.9 | 2.6 |

盆栽实验,1997年7月20日测定 Data were obtained on 20 July, 1997, from seedlings grown in pots.

表 5 温度对台湾相思结瘤的影响

Table 5 Effect of temperature on nodulation of *A. confusa*

| 处理温度 Temperature (°C) | 结瘤率 Nodulation rate (%) | | | 结瘤数 Average no. of nodules (grains plant ⁻¹) | | |
|-----------------------------|-------------------------|-------|-------|--|------|------|
| | 15 | 25 | 35 | 15 | 25 | 35 |
| 供试株数 No. of tested plants | 33 | 35 | 34 | 33 | 35 | 34 |
| 接种天数 Days after inoculation | | | | | | |
| 19 | 0 | 57.10 | 47.00 | 0 | 0.69 | 0.66 |
| 43 | 9.10 | 60.00 | 76.50 | 0.36 | 0.90 | 1.69 |
| 78 | 21.20 | 94.30 | 94.10 | 1.24 | 1.79 | 3.08 |

水培实验,1998年5-8月测定 Data were obtained in May to Aug., 1998, from seedlings grown in water.

表 6 光强对根瘤固氮酶和吸氢酶活性的影响

Table 6 Effect of light intensity on nitrogenase and hydrogenase activities in nodules

| 光强(Lx) Light intensity | 固氮酶活性 Nitrogenase activity ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4\text{g}^{-1}\text{FW h}^{-1}$) | | 吸氢酶活性 Hydrogenase activity ($\mu\text{mol H}_2\text{g}^{-1}\text{FW h}^{-1}$) | | |
|---------------------------|--|-----|--|-----|------|
| | | % | | % | |
| 大叶相思 | 48000 | 4.3 | 100 | 3.8 | 100 |
| <i>A. auriculaeformis</i> | 1500 | 0.6 | 14.0 | 0.5 | 13.0 |
| 台湾相思 | 48000 | 8.0 | 100 | 5.6 | 100 |
| <i>A. confusa</i> | 1500 | 0.8 | 10.0 | 0.3 | 5.0 |

盆栽实验,1997年10月6日测定 Data were obtained on 6 Oct., 1997, from seedlings grown in pots.

第 III 组每天浇水 (对照), 4 d 后测定盆栽土壤含水量、根瘤含水量以及根瘤固氮酶和吸氢酶活性, 结果 (表 7) 表明, 持续干旱使植株出现轻度萎蔫, 根瘤含水量明显降低, 固氮酶和吸氢酶活性锐减, 但短期土壤干旱对根瘤含水量影响不大, 固氮酶和吸氢酶仍维持一定水平, 台湾相思在短期缺水下活性

仍较高, 表明该树种对干旱有一定耐受力。缺水导致根瘤固氮作用减弱, 失水如不严重, 浇水后活性可恢复, 但失水过多就会造成根瘤结构的永久性损伤, 因此要保持根瘤固氮功能良好, 必须适当补充水分, 以补偿由于干旱以及根瘤表面蒸发或从根瘤输出含氮物质而损失的水分。

表 7 土壤含水量对根瘤固氮酶和吸氢酶活性的影响

Table 7 Effect of soil moisture on nitrogenase and hydrogenase activities of nodules

| | 灌水 Irrigation* | 土壤含水量 Soil moisture content (%) | 根瘤含水量 Nodules moisture content (%) | 固氮酶活性 Nitrogenase activity ($\mu\text{mol C}_2\text{H}_4\text{g}^{-1}\text{FW h}^{-1}$) | | 吸氢酶活性 Hydrogenase activity ($\mu\text{mol H}_2\text{g}^{-1}\text{FW h}^{-1}$) | |
|-------------|-------------------|---------------------------------------|--|--|------|--|------|
| | | | | | % | | % |
| 台湾相思 | I | 5.8 | 65.0 | 0.3 | 6.0 | 1.0 | 31.2 |
| A. confusa | II | 6.3 | 76.2 | 4.9 | 102 | 2.5 | 78.1 |
| | III | 18.0 | 79.5 | 4.8 | 100 | 3.2 | 100 |
| 南岭黄檀 | I | 3.0 | 33.6 | 0 | 0 | 0.4 | 16.0 |
| D. balansae | II | 4.7 | 61.0 | 3.0 | 76.9 | 1.5 | 60.0 |
| | III | 11.8 | 66.0 | 3.9 | 100 | 2.5 | 100 |

盆栽实验, 1998 年 10 月 16 日测定 Data were obtained on 16 Oct., 1998, from seedlings grown in pots. *I, indicates that the experiment seedlings in pots were not irrigated within four days; II, irrigated once at intervals of one day; III, once a day (control).

综上所述, 气候因子对树木的固氮作用有显著影响, 虽然不同树种对气候的反应不一, 但有共同的规律, 高温或低温、严重缺水、光照不足都会抑制根瘤的固氮作用。3 树种根瘤都有吸氢酶, 固氮酶和吸氢酶活性存在正相关, 表明吸氢酶的存在有利于固氮活性的提高。在 3 树种中, 台湾相思根瘤的固氮和吸氢活性较其它两个树种的高, 这可能与更适应本地区的生境条件有关。

参考文献

- [1] Chen D Z(陈德昭). *Dalbergia* [A]. In: Chen D Z(陈德昭). Flora Reipublicae Popularis Sinicae Tomus 39 [M]. Beijing: Science Press, 1988. 24-26.(in Chinese)
- [2] Xu Y B(徐英宝), Lin S D(林圣德), Shen X Q(陈暹秋). Researches in management of *Acacia confusa* fuelwoods and its yield [J]. Trop For Sci Techn(热带林业科技), 1983, (1):24-31.(in Chinese)
- [3] Huang S Q(黄绳全), Huang W N(黄维南). Preliminary study on introduction and cultivation of *Acacia auriculaeformis* [J]. Subtrop Plant Res Comm(亚热带植物通讯), 1989, (2):21-26.(in Chinese)
- [4] Chinese Sylva Editorial Board(中国树木志编委会). Afforestation Technology of Major Trees in China [M]. Beijing: Agriculture Press, 1978. 1213-1219.(in Chinese)
- [5] Shanghai Society for Plant Physiology(上海植物生理学会). Handbook of Phytophysiological Experiment [M]. Shanghai: Shanghai Sci Techn Press, 1985. 289.(in Chinese)
- [6] Wang H(汪化), Song H Y(宋鸿遇). A H_2 -uptake hydrogenase in *Rhizobium astragali* in relation to nitrogen fixation [J]. Acta Phytophysiol Sci(植物生理学报), 1984, 10(1):63-71.(in Chinese)
- [7] Cai K Q(蔡克强), Huang W N(黄维南). Nodulation and nitrogen fixation characteristics of *Sesbania cannabina* [J]. Subtrop Plant Res Comm(亚热带植物通讯), 1991, 20(1):35-39.(in Chinese)
- [8] Zeng D(曾定). Biology of Nitrogen Fixation [M]. Xiamen: Xiamen University Press, 1987. 358-369.(in Chinese)
- [9] Huang W N(黄维南), Cai K Q(蔡克强), Cai L X(蔡龙祥). Effect of climatic factor on nodulation and nitrogen fixation of *Leucaena leucocephala* [J]. Plant Res Comm(亚热带植物通讯), 1988, (2): 6-11.(in Chinese)
- [10] Huang W N, Cai K Q, Cai L X, et al. Symbiotic nitrogen fixation in tropical and subtropical leguminous trees [A]. In: Hong G F. The Nitrogen Fixation and its Research in China [M]. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1992. 567-585.