

# 施用硫铵和硝铵对大豆根瘤菌 共生固氮量和产量的影响\*

张 宏 张桂芝 王晓明

(吉林省农业科学院土肥所)

大豆有大豆根瘤菌和其共生固氮, 依据R. J. Rennie报道<sup>[1]</sup>, 1982年总结了美国、法国、匈牙利和巴西的大豆根瘤菌共生固氮量平均为100公斤/公顷, 提供大豆所需氮的50%左右。而从大豆高产经验来看<sup>[1][2][3]</sup>, 要获得大豆高产需要施用氮素化肥, 但在大豆上施用氮肥, 据前人研究<sup>[6][7][10]</sup>, 会抑制固氮作用。有的试验指出固氮量受施肥量影响, 变动在1~142磅/英亩/年之间。本试验的目的在于调查了解施用硫铵、硝铵氮素化肥时对大豆共生固氮量和产量的影响, 为合理施用氮素化肥又能充分利用固氮作用达到高产提供依据。

## 材 料 和 方 法

本试验包括施用硫铵和硝铵两个盆栽试验, 瓷盆直径26厘米×高35厘米, 每盆装土15公斤, 栽种结瘤和不结瘤同位基因系大豆, 每盆留3株。试验土壤为黑土, 采自吉林省公主岭。

施用硫铵试验。采用哈罗索结瘤不结瘤同位基因系大豆, 硫铵用<sup>15</sup>N标记丰度为4.96,

按不同施肥量和施肥方法设置九个处理, 详见表1。每处理重复五次, 三盆供测定产量和固氮量用, 两盆供生育调查用。施肥方法, 种肥在播前将固体肥料拌入盆子2~10厘米深的土层中, 追肥将固体化肥制成水溶液浇入盆中。

固氮量测定。植株(种子和植株体)中的<sup>15</sup>N丰度用质谱分析(MS10)用原子百分超计算出大豆从肥料吸收的氮量。从不结瘤大豆计算出大豆从土壤中吸取的氮量。固氮量以结瘤大豆的全氮减去从土壤从肥料获得的氮。具体计算式:

$$(I) \text{从肥料中吸取氮量} \% = \frac{\text{植物中} \% ^{15}\text{Na.e}}{\text{肥料中} \% ^{15}\text{Na.e}} \times 100$$

$$(II) N_{\text{土壤}} = N_{\text{不结瘤}} - N_{\text{不结瘤从肥料吸取}}$$

\*中国科学院科学基金资助项目。本试验得到高金方、徐豹先生多方面指导和帮助, 表示谢意。

$$(III) N_{\text{固定}} = N_{\text{结瘤}} - N_{\text{结瘤从肥料吸取}} - N_{\text{土壤}}$$

$$(IV) \text{肥料利用率} \% = \frac{\text{从肥料获得的N}}{\text{施肥量}} \times 100$$

固氮活性 ( $C_2H_4$ ) 用乙炔还原法, 将冲洗干净的带根瘤根系放于600毫升三角瓶中加入10%乙炔, 28℃保温培养1.5小时, 抽取气样, 用气相色谱测定乙炔乙烯峰, 以乙烯标准曲线计算之, 同时调查根瘤数目。大豆收获时调查生育情况和子实产量。

施用硝酸铵试验。采用克拉克结瘤和不结瘤同位基因系大豆, 试验设置处理如下: ①不结瘤不施肥; ②结瘤不施肥; ③不结瘤施0.75克N (硝酸铵300公斤/公顷); ④结瘤施0.75克N。重复四次。大豆生育期采用Balandreau和Dommergues (8) 所建议的在自然条件下的测定装置, 乙炔还原法测定固氮活性, 气样用气相色谱测定, 乙烯标准曲线计算。在大豆生育期测定九次, 在花期、收获期进行生育调查, 收获后进行子实产量的调查和用凯氏定氮法测定子实和植物体中全氮含量, 用差异法计算固氮量。即:

$$\text{固氮量} = N_{\text{有瘤大豆}} - N_{\text{无瘤大豆}}$$

## 结果和讨论

(一) 施用硫酸铵和硝酸铵对大豆根瘤菌共生固氮量、固氮活性和结瘤数目的影响

施用硫酸铵试验的大豆收获后进行植株体和种子中全氮和 $^{15}N$ 丰度测定, 结果见表2。

表2 大豆哈罗索施用( $^{15}NH_4$ ) $_2SO_4$ 对大豆根瘤菌共生固氮量的影响

处 理	子实重 (g/盆)	全重 (A) (g/盆)	全 N (B) (g/盆)	从肥 料得 N (C) (%)	从肥料 得 N (g) (D) (盆)	从土壤 + N <sub>2</sub> 得 N (E) (g/盆)	从土壤 得 N (F) (g/盆)	从 N <sub>2</sub> 得 N (G) (g/盆)	固氮量 (H) (公斤/公顷)	植株 得 N (I) (%)	肥料 利用率 (%)
1. 结瘤+0.25gN	35.3±5.9	59.0	2.392	1.05	0.0131	2.3789	—	1.7712	89.56	74	5.20
2. 不结瘤+0.25gN	11.6±0.57	37.5	0.623	3.16	0.0153	—	0.6077	—	—	—	6.07
3. 结瘤+0.8gN	44.1±9.23	86.0	2.996	3.31	0.0587	2.9373	—	2.0706	103.53	69	7.34
4. 不结瘤+0.8gN	18.6±3.6	40.1	0.929	8.04	0.0632	—	0.8667	—	—	—	7.93
5. 结瘤+0.8gN+P	42.1±2.1	93.3	2.682	3.68	0.0635	2.6185	—	1.7518	87.58	65	7.96
6. 结瘤+0.8gN+K	43.3±1.1	85.3	2.656	2.85	0.0523	2.6437	—	1.7770	88.84	65	6.34
7. 结瘤+0.8gN+花0.8gN	43.3±2.0	93.0	3.040	22.83	0.0171	2.4229	—	1.5562*	77.80	51	38.67
8. 结瘤+0.25gN+花0.8gN	43.6±2.0	82.0	2.894	21.19	0.5650	2.2390	—	1.3723*	68.63	48	53.80
9. 结瘤+0.25gN+鼓0.8gN	41.6±1.6	79.1	2.795	9.30	0.1881	2.6059	—	1.7392*	86.95	62	17.35

\*注: A、全重=子实重+茎秆重

B、全N=子实中全N+茎秆中全N

C、测定子实和植株体中 $^{15}N$ 丰度以原子百分数计算出

D、从肥料得N=B全N×C从肥料得N%

E、从土壤和N<sub>2</sub>得N=植株全N结瘤-从肥料得N结瘤

F、从土壤得N=植株全N不结瘤-从肥料得N不结瘤

G、从N<sub>2</sub>得N=F从土壤和N<sub>2</sub>得N-F从土壤得N

H、按150000株/公顷换算固氮量

I、肥料利用率=D肥料氮÷施肥量

\* 7、8、9处理以不结瘤施0.8gN处理的土壤N为土壤N计算之

从表 2 可以看出以下几点: (1) 在公主岭黑土施肥条件下土著大豆根瘤菌共生固氮量为 68.63~103.53 公斤/公顷, 占大豆所需氮的 48~74%。施有少量硫酸铵时可促进固氮作用。但到一定量后, 就会抑制固氮作用减低固氮量。处理③施硫酸 0.8 克 N 固氮量为 103.53 公斤/公顷, 比处理①施硫酸 0.25 克 N 时 88.56 公斤/公顷为高。但施肥量增加到处理⑦⑧⑨即施硫酸 1.05 克 N~1.6 克 N 时, 固氮量分别降低到 68.63、77.80 和 86.95 公斤/公顷。(2) 增施硫酸铵可提高大豆产量, 但抑制了固氮作用减低固氮量。从处理⑦可以看出提高施肥量达 1.6 克 N, 可以提高大豆种子产量和植株体中全氮。但固氮量却从 103.53 公斤/公顷, 降到 77.80 公斤/公顷。然而肥料利用率却从 6~7% 提高到 38.6%, 说明大豆的增产和全氮量的增加是由于增施氮肥, 提高了肥料利用率。(3) 从处理⑤⑥看施磷钾肥并不见促进固氮作用, 这可能在本次试验中, 磷钾在黑土上施用量和方法不合适。(4) 从表 2 还可看出, 硫酸施用量的增加, 使各处理的植株从固氮作用所获得的 N% 都有所下降, 从 74% 降低到 48~69%。增施硫酸铵有抑制固氮作用的趋向。在花期用乙炔还原法进行固氮活性的测定也可看出, 硫酸有抑制固氮作用的趋向。本测定是在处理⑦⑧⑨追施氮肥以前进行的。从表 3 可以看出, 施入 0.8 克 N/盆的③⑤⑥⑦四个处理固氮活性在

表 3 大豆哈罗素硫酸铵施用量和方法对大豆结瘤和固氮活性的影响

处 理	花 期		
	根 数 (个/盆)	根 瘤 鲜 重 (克/盆)	固 氮 活 性 C <sub>2</sub> H <sub>4</sub> μmole/鲜瘤/小时
①结瘤+0.25gN	1142	5.7	30.840
③结瘤+0.8gN	819	5.2	24.600
⑤结瘤+0.8gN+P	663	5.6	20.040
⑥结瘤+0.8gN+K	788	6.1	17.280
⑦结瘤+0.8gN+花追0.8gN	762	5.6	25.620
⑧结瘤+0.25gN+花追0.8gN	836	6.6	38.280
⑨结瘤+0.25gN+鼓追0.8gN	778	6.1	40.800

17.280~25.620 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>μmole/鲜瘤克/小时。而施 0.25 克 N/盆的①③⑨三个处理固氮活性在 30.840~40.800 C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>μmole/鲜瘤克/小时。比施 0.8 克 N/盆为高。增施硫酸铵抑制了固氮活性。但从固氮量来看, 施 0.8 克 N/盆为 103.53 公斤/公顷, 比施 0.25 克 N/盆的 88.56 公斤/公顷为高。这个问题前人(6)研究三叶草施用硝酸铵 25~35 公斤 N/公顷, 固氮作用受抑制, 但在 9~14 星期后活力恢复, 并且在某些情况下施肥的固氮力明显提高, 因此虽然在花期硫酸铵对固氮作用有抑制, 但其抑制作用可能在一定时期内消失, 因而不一定影响总固氮量。

本试验中没有设置不结瘤大豆花期和鼓粒期追肥的处理, 因此⑦⑧⑨三个追肥处理即施肥量增加到 1.05~1.6 克 N/盆时均以处理③不结瘤大豆施 0.8 克 N/盆处理的植株全氮减去从肥料中吸取的氮作为从土壤中吸取的氮而计算固氮量。Broabent(4)提出刺激效应的看法, 即施氮量的增加可增加作物对土壤中氮的吸收。按照此种论点追肥处理的总施氮量为 1.05~1.6 克 N/盆从土壤中吸收的氮比处理③施 0.8 克 N/盆为高。因此, 处理⑦⑧和⑨即花期、鼓粒期追肥条件下固氮量以处理③作为从土壤中吸收的氮来计算可能比实际固氮量为高。

从根瘤数目来看,处理①施0.25克N/盆稍高,但处理⑧⑨同样是施0.25克N/盆,并不比施0.8克N/盆的高;硫酸铵对根瘤形成无太大影响。

施硝酸铵试验的大豆在收获期将子实和植株分别采样,用凯氏定氮法测定全氮。固氮量的计算以不结瘤大豆的全氮含量作为从土壤或从土壤和肥料中吸取的氮。以结瘤大豆的全氮减去不结瘤大豆的全氮为共生固氮量,结果见表4。从表4可看到,不施硝酸铵的固氮量为91公斤/公顷,大豆从共生固氮获其所需氮的66.4%,施入硝酸铵后固氮量为74.0公斤/公顷,

表4 大豆Clark施用硝酸铵对大豆根瘤菌共生固氮量的影响

处 理	植株干重 (g/亩)	子粒重 (g/盆)	全重 (g/盆)	全N* (g/盆)	固氮量 (g/盆)	固氮量占大豆全N (%)	固氮量 (公斤/公顷)
结瘤不施肥	77.47	28.90	106.37	2.74	1.82	66.4	91.0
不结瘤不施肥	41.00	13.77	54.77	0.92			
结瘤施N0.75g	67.70	25.25	92.95	2.80	1.49	60.4	74.0
不结瘤施N0.75g	47.70	11.68	59.38	0.81			

\*全N为植株N+子粒N。

大豆从共生固氮获所需氮的60.4%,初步看出大豆施硝酸铵,抑制了固氮作用,减少了固氮量和大豆从固氮作用所获得的氮素。在大豆生育期进行九次固氮活性的调查,结果见

表5 大豆Clark施硝酸铵对大豆生育期固氮活性变化和结瘤数的影响

处 理	乙 烯 微 克 分 子/盆/小 时									花期根瘤 数(个/ 盆)
	20天 (苗期)	30天	40天	50天 (花期)	66天	74天 (结荚)	84天 (鼓粒)	102天	114天	
结瘤不施肥	14.38	17.00	43.70	94.34	74.47	142.85	90.89	56.98	32.34	1130
结瘤施3.75gN	19.62	9.15	34.75	60.75	34.75	162.48	96.69	68.32	23.26	1554

表5。从表5可看到在大豆生育前期,硝酸铵抑制了固氮活性,但到结荚鼓粒期即播种后70天,施肥处理的固氮活性比不施肥的为高。如前面已提到〔5〕,在三叶草上施用硝酸铵,固氮作用受抑制,在9~14星期后活力恢复。本试验施硝酸铵0.75克N/盆,相当于37.5公斤N/公顷,约在播后8个星期抑制作用消失,继而促进了固氮作用。但从整个生育期来看,大豆出苗后82天的固氮活性平均数,没施肥的为69.45C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>μmole/盆/小时,施肥的为62.26C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>μmole/盆/小时。总的来说,施硝酸铵抑制了固氮活性。有人报道〔9〕,硝酸盐抑制大豆根瘤菌类菌体的固氮酶,因此降低了共生固氮量。

从根瘤数目调查来看(见表5)施用硝酸铵0.75克/盆,即硝酸铵300公斤/公顷,对根瘤菌在大豆上结瘤影响不大。因此从本试验可以看出不论是施硫酸铵或硝酸铵,对大豆根瘤的形成无明显影响,但对共生固氮活性和共生固氮量有抑制和减少的趋向。氮肥在大豆生育前期都有抑制固氮活性的作用,因此在一定施用量时会降低固氮量。共生固氮量随硫酸铵施用量的增加而下降,但大豆种子产量和全氮可能由于增施肥料提高了肥料利用率而有所提高。

## (二) 硫酸铵和硝酸铵的不同施用量与不同施用方法对大豆产量和

## 肥料利用率的影响

大豆收获后调查了子实产量、植株全重、荚数、百粒重、肥料利用率等，结果见表6。从表6可以看出以下几点：(1)施用硫酸铵对大豆有增产效果，施用0.8克N/盆，包括加磷、加钾处理均比施0.25克N/盆增产15.02~20.48%。施用1.6克N/盆(种肥0.8克N+追肥0.8克N/盆，即硫酸铵800公斤/公顷)比施0.8克N/盆增产8.3%。增

表6 哈罗索大豆、硫酸铵不同施用量与施用方法对大豆产量和肥料利用率的影响

处 理	籽粒重 (g/盆)	增 产 (%)	全重 (g/盆)	株 高 (cm)	茎 粗 (cm)	分 枝 (个/株)	荚 数 (个/盆)	粒 数 (个/盆)	百粒重 (g)	肥料利用 率(%)
① 结瘤+0.25gN	36.6±5.9	—	69.0	47.0	0.50	3.6	33.46	183.0	20.16	5.20
② 不结瘤+0.25gN	11.6±0.5		37.5	45.5	0.50	2.9	14.76	86.6	13.39	6.07
③ 结瘤+0.8gN	44.1±0.2	20.48(a)*	86.0	61.7	0.60	4.1	42.66	233.6	18.80	7.34
④ 不结瘤+0.8gN	18.6±3.6	60.34(b)*	40.1	47.4	0.54	2.4	16.56	89.0	20.96	7.93
⑤ 结瘤+0.8gN+P	42.1±2.1	15.02(a)	80.3	52.1	0.54	3.9	38.80	246.0	17.11	7.96
⑥ 结瘤+0.8gN+K	43.3±1.5	18.30(a)	85.3	52.6	0.58	3.9	36.13	265.3	16.32	6.34
⑦ 结瘤+0.8gN+花0.8gN	48.3±2.0	31.9(a)**	93.6	54.2	0.56	4.2	46.43	275.0	17.56	38.67
⑧ 结瘤+0.25gP+花0.8gN	43.6±2.0	19.12(a)	82.0	48.9	0.60	4.1	39.23	249.6	17.46	53.80
⑨ 结瘤+0.25gN+鼓0.8gN	41.6±1.6	13.66a	79.6	51.6	0.66	3.5	37.43	245.6	16.93	17.35

注：\*显著，\*\*极显著。(a)和处理①相比较，(b)和处理②相比较，(c)和处理③相比较。

产效果均属显著范围。(2)花期追肥可提高大豆产量，但需要注意施肥量。处理⑦种肥0.8克N/盆，追肥0.8克N/盆，总施肥量为1.6克N/盆，比处理①0.25克N/盆增产31.9%，比施种肥0.8克N/盆增产8.3%。但处理⑧种肥0.25克N/盆，花期追肥0.8克N/盆，总施肥量为1.05克N/盆，虽比处理①0.25克N/盆增产19.12%，但不比处理③种肥0.8克N/盆增产。(3)鼓粒期追肥处理⑨和花期追肥处理⑧相比，总施肥量都是1.05克N/盆，鼓粒期追肥虽比处理①增产13.66%，但比花期追肥要低。说明鼓粒期追肥无效，和以往一些报道鼓粒期追肥能使大豆增产不相符合。这可能因大豆的鼓粒期较长，本试验追肥期偏后，故无效。(4)从大豆植株全重和粒数调查来看，增施硫酸铵可增加大豆植株全重和粒数，因而达到增产。如施肥量从0.25克N/盆处理①增加到0.8克N/盆处理③时，全重69.0克/盆和子粒数180粒/盆，分别增加到86.0克/盆和233.6粒/盆。施肥量提高到1.6克N/盆处理⑦，全重又提高到93.6克/盆，子粒数275.0粒/盆。(5)从肥料利用率来看，增施硫酸铵可提高肥料利用率，如处理①施肥0.25克N/盆肥料利用率为5.2%，处理③⑤⑥施肥0.8克N/盆，肥料利用率提高到6.34~7.96%。比较明显的是花期追肥，使肥料利用率提高到38.67~53.80%。据研究(2)，大豆对氮的吸收结荚鼓粒期最高。因此在花期追施氮肥可以大大提高肥料利用率。

施用硝酸铵0.75克N/盆(硝酸铵300公斤/公顷)对大豆生育和产量影响见表7。施用硝酸铵处理的不论是结瘤大豆还是不结瘤大豆都减少了花荚数和每盆的籽粒数，从而引起大豆减产。

比较两种肥料的效应，施硫酸铵0.8~1.6克N/盆，可增加大豆产量；施硝酸铵0.75克N/盆则引起减产。从大豆花荚和子粒数来看，施用硫酸铵可增加籽粒数，施用硝酸铵减少花荚

表 7

大豆Clark施用硝铵对大豆生育和子实产量的影响

处 理	花 期				收 获 期				
	株高 (cm)	花荚数 (个/株)	根重 (g/株)	地上部重 (g/株)	株高 (cm)	总粒数 (个/盆)	总粒重 (g/盆)	茎秆重 (g/盆)	百粒重 (g)
结瘤不施肥	43.0	26.7	3.27	13.10	65.70	219.70	28.90	49.90	13.10
结瘤施0.75gN	43.0	13.7	3.70	13.46	64.90	176.70	25.25	38.80	14.10
不结瘤不施肥	40.7	10.3	5.10	15.43	52.70	111.67	13.77	24.23	12.08
不结瘤施0.75gN	40.7	8.3	4.57	15.37	64.70	97.00	11.68	33.40	11.97

数和子粒数。由此可见，作为大豆氮素营养，因其形态不同，效应是显著不同的。氨态氮对大豆具有增产作用，硝酸铵中虽有 $\text{NH}_4^+$ 离子但同时有 $\text{NO}_3^-$ ，可见很可能是 $\text{NO}_3^-$ 的存在对大豆生产带来某种不利的影响。Rabie, R.K等<sup>[10]</sup>1979在大豆上施用硝酸盐、氨或尿素的试验指出，除了应用铵可以增加产量和植株的荚数，所有氮的处理对增产无效或抑制产量。因此为了提高大豆产量施用氮素化肥时，要注意氮肥的形态，以氨态氮为好。同时，由于增加施肥量会减低固氮量，因此要统筹考虑经济效益。

## 结 语

在黑土施肥条件下，大豆共生固氮量为68.63~103.53公斤/公顷，占大豆所需氮的46~74%。不论施用硫酸或硝铵化肥，都能抑制固氮作用和减少共生固氮量，但可提高肥料利用率，使大豆子粒产量和全氮量有所提高。花期追施硫酸增产效果较好。氨态氮比硝态氮好。但在大豆上施用氮肥时应从共生固氮量等全面考虑经济效益。

## 参 考 文 献

- (1) 张子金: 1981. 谈大豆及其增产途径. 吉林日报, 1981, 2, 21.
- (2) 贺振昌: 1982. 高产大豆营养与施肥的探讨. 中国农业科学, 1, 65~70.
- (3) 罗文鑫: 1981. 大豆亩产400斤的栽培技术与应用. 中国油料, 2, 51~53.
- (4) 张庆吉, 耿平: 1983. 应用 $^{15}\text{N}$ 示踪法对土壤氮AN值的研究. 土壤通报, 2, 19~20.
- (5) B.W. Strijdom and H. Rensburg. 1982. Efficiency of nitrogen application during establishment of trifolium repens. Paper of 4th international congress of Nitrogen fixation held at U.S.A.
- (6) E. Semin, D.J. Hume. 1979. Effects of inoculation and fertilizer N levels on  $\text{N}_2$  fixation and yields of soybeans in Ontario Can. J. Plant Sci 59(4) 1129~1137.
- (7) C.R. Weber. 1966. Nodulation and nonnodulating Soybean isolines I Response to applied nitrogen and modified Soil condition. Agron. J. Vol 58, No 1, 46~49.
- (8) J. Balandrean, and Y. Dommergues. 1972. Modern method in the study of microbiol ecology 247~254.
- (9) J.C. Trinchant, J. Rigand, Nitrate and nitric oxide as inhibitors of nitrogenase from Soybean bacteroids 1982. Appl. Environ. Microbiol, 44 (6) 1385~1388.
- (10) R.K. Rabie, Y. Arima, K. Kumazawa. 1979. Growth nodale activity and Yield of soybeans as affected by the form and applied method of combined nitrogen. Soil Sci. Plant Nutr. 25(3) 417~424.
- (11) R.J. Rennie J.S. Dubetz; J. B. Bole and H.H. Muendel. 1982. "Dinitrogen fixation measured by  $^{15}\text{N}$  isotope dilution in two canadian soybean cultivars, Aqvon, J. vol 74 725~730.