

三种土壤中大豆根瘤菌共生固氮量估测*

张 宏 赵贵彬 张桂芝 王晓明

高金方 王 庆

(吉林省农科院土肥所)

(吉林省农科院原子能利用所)

摘 要

在三种不同土壤上大豆根瘤菌共生固氮量黑土为 122.5~129.5公斤/公顷/年。白浆土为95.04~158.6公斤/公顷/年, 淡黑钙土为68.5~163.4公斤/公顷/年。三种土壤上无明显差异。种一年大豆, 大豆生长期从生物固氮获得氮占大豆全氮百分数来看, 白浆土47.9~67.0%, 黑土60.5~74.1%, 淡黑钙土为50.1~74.5%。

从本试验看大豆的氮素来源主要从根瘤菌共生固氮获得, 占50.1~74.1%。其次从土壤获得21.2~47.3%。肥料氮利用较少, 仅2.54~4.75%, 固定的氮对大豆生殖生长有良好作用。

大豆是世界上最重要农作物之一, 富含优质蛋白质、矿物质和维生素, 因此它既是人畜的重要食品或饲料, 同时也是重要的工业原料。大豆根瘤菌和大豆共生固氮, 可提供大豆氮素和增进地力。每公顷土地的上空有6,400公斤的氮, 有丰富的氮素资源。如果共生固氮量能提高百分之几, 那就能节约几百万元的肥料费用。显然提高大豆根瘤菌共生固氮量是一项有很大经济效益的技术措施。为了提高固氮量, 首先要掌握土著大豆根瘤菌在自然条件下和大豆共生固氮量的基础性资料。这方面的研究工作国外报导较多, R. J. Rennie^[9]1982年曾总结了匈牙利、斯里兰卡、美国、澳大利亚、法国和巴西等国用¹⁵N在田间测定大豆根瘤菌—大豆共生固氮量平均为100公斤/公顷, 提供大豆所需氮的50%左右。我们在1981—1982^[1]年进行的大豆根瘤菌共生固氮量估测为79.9公斤/公顷, 占大豆所需氮的25—33%。1983年^[2]进行了在施有硫酸、硝氮肥条件下的固氮量估测, 本试验目的是在不同土壤类型下来估测大豆根瘤菌的共生固氮量。我省主要土壤类型有淡黑钙土、白浆土和黑土。

材料和方法

固氮量的估测采用哈罗索 (Harosoy) 结瘤不结瘤同位基因系大豆, 以结瘤大豆和不结瘤大豆植株全氮之间的差异来估测大豆根瘤菌—大豆的共生固氮量。这种方法目前已被很多科学工作者 (Weber 1966^[10], Lynch 1968^[7], Johnson et al^[5] 1974, Helen, Jean Taldott 1982^[4]) 所采用和被认为是一种较直接测定固氮量的方法。本试验在淡黑钙土 (洮南县农业局基地)、白浆土 (蛟河县白石山科技户) 和黑土 (榆树县良种场) 上设置哈罗索结瘤和不结瘤同位基因系。大豆采用吉林20和2个当地品种的田间小区试验, 在田间条件下用差异法估测固氮量。同时将三个基点的三种土壤采回, 在院内进行盆栽试验。施加同位素¹⁵N标记的硫酸, 用AN值法测定固氮量, 三种土壤的基本肥力见表1。

一、盆栽试验: 采集淡黑钙土、白浆土和黑土耕地的0—25公分表土过筛、用直径

* 中国科学院科学基金资助课题

表 1

三 种 土 壤 的 基 本 肥 力

土 壤	地 点	pH	腐殖质 (%)	全 N (%)	全P ₂ O ₅ (%)	全K ₂ O (%)	碱解N ppm
淡黑钙土	洮 南 县	7.90	1.5773	0.1329	0.0364	2.2460	87.9
白 浆 土	蛟 河 县	5.89	3.7179	0.4516	0.1727	2.2680	180.0
黑 土	榆 树 县	7.34	3.5041	0.1905	0.0617	2.3000	139.4

26公分、高35公分的瓷盆，装土15公斤。土壤装盆时在盆中5—20公分深的土壤中拌入用¹⁵N标记的(¹⁵NH₄)₂SO₄。¹⁵N丰度为5.29。结瘤大豆施硫酸1.5克/盆，不结瘤大豆7.5克/盆。大豆为哈罗索结瘤和不结瘤同位基因系。三种土壤共6个处理。每处理重复5次，开花时在盆上插接叶网收集落花落叶。收获后将植株体和落叶为一个样品，种子作为一个样品。分别粉碎测定全氮%和¹⁵N丰度。全氮分析用凯氏法，全氮滴定的酸化浓缩液，在真空系统中用NaBrO氧化成N₂气送入MSIO质谱计测定¹⁵N丰度，减去非标记样品的自然丰度计算¹⁵N原子百分超。按A_N值法^[8, 6, 9]进行计算。

1. 植株全重 = 茎叶干重 + 子实干重

2. 植株全氮 = 茎叶中全氮 + 子实中全氮

3. 从肥料中得氮% (Ndff) = $\frac{\text{植株}^{15}\text{Nape}}{\text{肥料}^{15}\text{Nape}} \times 100$

4. 植株从肥料得氮 = 植株全氮 × Ndff%

5. 肥料氮利用率 = $\frac{\text{植株从肥料得氮}}{\text{施肥量}} \times 100$

6. $A_N = \frac{100 - Ndff}{Ndff} \times \text{施肥量}$

7. 固氮量 = (A_N结瘤 - A_N不结瘤) × 肥料利用率结瘤

收获期进行生育调查。

二、田间小区试验。在田间条件下测定大豆根瘤菌—大豆共生固氮量。在三个点上除了用哈罗索结瘤不结瘤同位基因系大豆，测定植株全氮用差异法估测固氮量外，并栽种吉林20和2个当地大豆栽培品种，用以比较哈罗索大豆的生长和产量，用以测定固氮量能否代表当地大豆品种。淡黑钙土上为白农和集体5，白浆土上为九农13和吉林19，黑土上为长农和吉林18。小区面积为5平方米（长2.5米每小区4条垄）3次重复，共18个小区，随机排列，扎眼种，每穴2粒豆种，出苗后每穴留苗1株。淡黑钙土结合当地种大豆的习惯施有机肥（牛羊粪2.5万公斤/公顷）。其他2个点上不施肥。按一般方法进行田间管理。铲趟完毕后每小区在中间2行大豆上取0.5m²插上用粗铁丝和纱布做成的接落叶网，定期收集落叶落荚。收获后将茎秆和落叶作为一个样品，种子作为一个样品。分别用凯氏法进行全氮分析，用差异法估测固氮量，结荚初期和收获期进行生育调查。

结果和讨论

一、三种土壤上的固氮量。盆栽试验在收获后将植株和落叶作为一个样品，种子作为一个样品进行全氮和¹⁵N分析。按上述A_N值法计算，结果见表2，从表2可看出在三种土壤上淡黑钙土上固氮量较低为68.5公斤/公顷，白浆土较高为158.5公斤/公顷，黑土

表2

三种不同土壤上根瘤菌一大豆共生固氮量

(盆栽试验)**

土 壤	大 豆	黄		叶		子		实	
		干 重 (克/盆)	全 N (克/盆)	Ndff (%)	Ndff (克/盆)	全 重 (克/盆)	全 N (克/盆)	Ndff (%)	Ndff (克/盆)
淡黑钙土	结 瘤	63.5±3.4	0.5698	5.629	0.0324	36.5±1.7	2.1644	1.707	0.0369
	不结瘤	44.7±9.4	0.2993	24.573	0.0744	8.5±1.2	0.3208	20.412	0.0660
白 浆 土	结 瘤	85.1±3.6	0.7769	9.972	0.0769	63.4±4.5	3.9506	3.312	0.1309
	不结瘤	90.7±4.5	0.7000	44.366	0.3114	36.0±1.8	1.6283	42.948	0.6798
黑 土	结 瘤	75.8±8.5	0.7136	9.403	0.0671	43.6±10.1	2.7796	3.490	0.0937
	不结瘤	67.1±8.7	0.4901	52.784	0.2552	19.6±1.2	0.8445	52.643	0.4457

土 壤	植 株				A _N 值	固 氮 量			参考用产 量*
	Ndff (%)	Ndff (克/盆)	肥料利用率 (%)	全 N (克/盆)		(克/盆)	公斤/公顷	占植株全 N (%)	
淡黑钙土	2.51	0.0696	22.12	2.7342	11.65	1.37±0.5	68.5	50.1	1825
	22.32	0.1404	8.89	0.6274	5.39				
白 浆 土	4.39	0.2078	65.98	4.7274	6.76	3.17±0.2	158.5	67.0	3169.6
	43.30	1.0113	64.20	2.3263	2.02				
黑 土	4.75	0.1608	51.06	3.4932	6.46	2.59±0.7	129.5	74.1	2182.5
	52.50	0.7010	44.50	1.3356	1.40				

* 参考产量=单株产量(子实重/盆÷3株)×150.000株/公顷。

** 为4次重复的平均数

为129.5公斤/公顷。但大豆从N₂获氮占其所需氮的百分数来看则以黑土为最高74.1%，白浆土为67.0%，淡黑钙土为50.1%。

三个点上的田间试验结果见表3。可以看出固氮量在淡黑钙土上为163.4公斤/公顷，

表3

三种不同土壤上根瘤菌一大豆共生固氮量

(田间试验)**

土 壤	大 豆	植株全重(克/0.5m ²)			全N(克/0.5m ²)			固 氮 量			参考* 产量
		子 粒	茎 杆	总 和	子 粒	茎 杆	总 和	(克/0.5m ²)	公斤/公顷	占植株全 N (%)	
淡黑钙土	结 瘤	163.5±7.4	338.70±10.0	502.20	9.4949	1.4615	10.9608	8.1706	163.40	74.5	3270
	不结瘤	51.0±2.0	296.50±21.5	347.50	2.0443	0.7469	2.9702				
白 浆 土	结 瘤	120.6±2.8	337.60±31.8	458.60	6.9318	2.9721	9.9042	4.7520	95.04	47.9	2412
	不结瘤	70.0±2.6	346.60±23.7	416.60	2.6784	2.4736	5.1520				
黑 土	结 瘤	111.0±31.9	295.50±19.5	406.60	6.8685	3.2566	10.1250	6.1281	122.56	60.5	2220
	不结瘤	44.0±1.0	283.55±8.0	327.50	1.9136	2.0834	3.9970				

*参考产量=产量/0.5m²×20000

**小区为3次重复

白浆土上为95.04公斤/公顷，黑土为122.56公斤/公顷。依据马昌麟(1982)^[8]和Helen—Jean(1982)^[4]他们的固氮量估测试验中认为A_N值法和差异法结果基本一致，因此本试验中盆栽和田间测定相比较。在淡黑钙土上由于田间小区试验施了底肥，固氮量由盆栽条件下68.5公斤/公顷，提高到163.4公斤/公顷。白浆土上田间固氮量比盆栽条

件下为低，盆栽为158.5公斤/公顷，田间为95.04公斤/公顷，这可能由于盆栽灌水条件较好而田间苗期受干旱影响了固氮量。Weder等^[10]1966年的报导指出，干旱情况下固氮量为50磅/英亩，水份好的情况下为150磅/英亩。从大豆估产也可看出，盆栽为3,169.9公斤/公顷，而在田间为2,412公斤/公顷。在黑土上固氮量田间为122.56公斤/公顷，和盆栽129.5公斤/公顷接近。而且二者产量估测也较接近，2,182.5公斤/公顷和2,220公斤/公顷。从固定的氮占大豆所需氮的百分数来看，在白浆土上为47.9%、黑土为60.5%，白浆土上比黑土为低，和盆栽测定结果一致。淡黑钙土为74.5%。

在三个点的田间小区试验中种植哈罗索结瘤不结瘤同位基因系大豆同时种植了吉林20和2个当地大豆栽培品种，目的是将哈罗索大豆的生育状况和当地栽培大豆品种相比较，从验证用哈罗索大豆品种来测定固氮量，是否能代表当地大豆栽培品种的固氮量，结果见表4。从表4看到三种土壤上的3种栽培大豆的子粒、茎秆全重、子粒和茎秆中的含氮量和产量之平均数和哈罗索结瘤大豆的相比较，还是比较接近。如淡黑土上植株全重、

表4 三种土壤上哈罗索结瘤大豆的全N和栽培大豆的比较

土 壤	豆 种	植株全重 (克/0.5m ²)			全氮 (克/0.5m ²)			结瘤数 (个/株)	参考产量 (公斤/公顷)
		子 粒	茎 秆	总 和	子 粒	茎 秆	总 和		
淡黑钙土	吉林20	221.3±23.1	343.6±33	564.93	11.9143	1.5632	13.4770	159.86	4426.0
	白农	164.7±19.7	274.2±19.4	438.99	9.4831	1.5057	10.9880	62.30	3295.2
	集华5	152.9±2.3	315.4±31.4	468.33	8.6143	1.3386	9.9518	102.50	3058.2
	平均	179.6	311.0	490.75	10.0039	1.4691	11.4716		3593.2
	哈罗索结瘤	163.5	338.7	502.20	9.4949	1.4659	10.9608		3270.0
白 浆 土	吉林20	117.3±11.7	357.6±31.8	474.96	6.8457	2.9194	9.7651	431.5	2346.0
	九农13	147.3±18.4	338.0±30.4	483.33	8.4516	3.0658	11.5114	419.5	2946.6
	吉林19	117.3±19.7	299.3±31.7	416.63	7.0096	3.4075	10.0571	328.5	2346.0
	平均	127.3	330.9	458.30	7.4350	3.0109	10.4445		2546.2
	哈罗索结瘤	120.6	337.6	458.20	6.9318	2.9721	9.9042		2412.0
黑 土	吉林20	130.4±11.2	258.9±31.6	389.30	6.9855	2.5370	9.5226	39.30	2608.0
	长农	104.8±30.1	290.2±29.5	395.00	6.2896	3.0015	9.2911	44.80	2096.0
	吉林18	98.4±36.0	269.9±41.0	368.30	6.1723	2.7965	8.9628	51.30	1968.0
	平均	111.2	273.0	384.20	6.4824	2.7783	9.1588		2224.0
	哈罗索结瘤	111.0	295.5	406.6	6.8685	3.2566	10.1250		2220.0

全氮和产量，一般大豆为490.75克/0.5m²、11.4716克/0.5m²和3,593.2公斤/公顷，哈罗索结瘤大豆为502.20克/0.5m²、10.9608克/0.5m²和3,270.0公斤/公顷。白浆土上，一般大豆为458.30克/0.5m²、10.4445克/0.5m²和2,546.2公斤/公顷，结瘤大豆为453.20克/0.5m²、9.9042克/0.5m²和2,412.0公斤/公顷。黑土上一般大豆为384.20克/0.5m²、9.1588克/0.5m²和2,224公斤/公顷，哈罗索结瘤大豆为406.60克/0.5m²、10.1250克/0.5m²和2,220公斤/公顷。说明在三种不同土壤上用哈罗索结瘤不结瘤大豆来估测三种土壤的土著大豆根瘤菌的固氮量还是可以的。在黑土上为122.56—129.5公斤/公顷，在白浆土上为95.04—158.8公斤/公顷，在淡黑钙土上为68.5—163.4公斤/公顷。

二、三种不同土壤上大豆对不同氮源的利用。将三种不同土壤上大豆的氮素来源整理

表5

三种不同土壤上大豆对土壤、肥料和氮的利用

(盆栽)

土 壤	豆 种	全 N	Ndff		Ndffs		NdffN ₂	
		(克/盆)	(克/盆)	占大豆全 N(%)	(克/盆)	占大豆全 N(%)	(克/盆)	占大豆全 N(%)
淡黑钙土	结 瘤	2.7340	0.0696	2.54	1.294	47.3	1.37	50.1
	不结瘤	0.6274	0.1404	22.32	0.487	77.6	—	—
白浆土	结 瘤	4.7275	0.2078	4.39	1.349	28.5	3.17	67.0
	不结瘤	2.3283	1.0113	43.40	1.317	56.6	—	—
黑 土	结 瘤	3.4932	0.1808	4.75	0.742	21.2	2.59	74.1
	不结瘤	1.3356	0.7010	52.50	0.634	47.5	—	—

* Ndff=来自肥料的N, Ndffs=来自土壤的N, NdffN₂=来自固定空气中的N

于表5。从表5可以看出结瘤大豆氮素来源主要是依靠大豆根瘤菌固定的氮。淡黑钙土为50.1%、白浆土为67.0%、黑土为74.1%、平均为63.7%。其次是土壤氮, 淡黑钙土为47.3%、白浆土为28.5%、黑土为21.2%、平均为32.33%。而吸取的肥料氮很少。淡黑钙土为2.54%、白浆土为4.39%, 黑土为4.75%, 平均为3.89%。对土壤氮的利用从绝对量来看, 在白浆土和黑土上结瘤大豆和不结瘤大豆基本接近如白浆土分别为1.349克/盆和1.317克/盆。黑土上分别为0.742克/盆和0.634克/盆。淡黑钙土上不结瘤大豆自土壤吸取的氮较少。

从哈罗索结瘤和不结瘤大豆的生育调查来看, 初步看到根瘤菌固定的氮对大豆生殖生长有良好的作用的现象。从表6, 大豆茎叶重来看亦即从大豆营养生长来看, 结瘤大豆和不结瘤大豆相差不多。但从花荚数来看, 不结瘤大豆的花荚数显著减少, 这种情况在白

表6

哈罗索结瘤不结瘤大豆的生育调查

土 壤	豆 种	茎 叶 重	花 荚 数	粒 数	子 实 重	百 粒 重
		盆 (克/盆)	栽 (个/株)	栽 (个/株)	栽 (克/盆)	栽 (克)
淡黑钙土	结 瘤	63.5	36.8	77.1	36.5	15.78
	不结瘤	44.7	16.5	29.8	8.5	9.50
白浆土	结 瘤	85.1	53.5	121.8	63.4	17.35
	不结瘤	90.7	44.7	90.3	36.0	10.41
浆 土	结 瘤	75.8	40.1	84.9	43.0	17.11
	不结瘤	67.1	26.8	57.9	19.6	11.16
		田 (克/0.5米 ²)	田 (个/0.5米 ²)	间 (个/0.5米 ²)	间 (克/0.5米 ²)	间 (克)
淡黑钙土	结 瘤	338.7	29.69	—	163.5	—
	不结瘤	298.5	19.48	—	51.0	—
白浆土	结 瘤	337.6	31.56	—	120.6	—
	不结瘤	346.6	16.30	—	70.0	—
黑 土	结 瘤	295.5	22.80	552.0	111.0	20.0
	不结瘤	283.5	15.50	335.0	44.0	13.1

浆土上更为明显。在白浆土上植株干重,盆栽结瘤的为85.1克/盆,不结瘤为90.7克/盆。田间结瘤为337.68克/0.5m²,不结瘤的为346.6克/0.5m²,有不结瘤的比结瘤的为高的趋向。看到大豆的营养生长受根瘤菌共生固氮的影响较小的现象。但在花荚数上结瘤大豆为53.7个/盆、田间31.56个/株。不结瘤大豆为44.7个/盆和16.30个/株。在子实产量上结瘤大豆为63.48克/盆和120.6克/0.5m²,不结瘤大豆为16.3克/盆和70.0克/0.5m²。不结瘤大豆在花荚数和子实产量均比结瘤大豆低得多。有大豆的生殖生长受根瘤菌影响的现象。因此是否土壤氮和肥料氮对大豆营养生长有促进作用而对种子的繁殖作用较小。而大豆根瘤菌固定的氮和种子产量和质量(百粒重)有密切关系。这问题值得今后进一步探讨。

小 结

在三种不同土壤上大豆根瘤菌共生固氮量,淡黑钙土为68.5—163.4公斤/公顷,白浆土为95.04—158.6公斤/公顷,黑土为122.5—129.5公斤/公顷,三种土壤上无明显差异,在淡黑钙土上施加有机肥,可提高固氮量。

种一年大豆,大豆生长期能从生物固氮获得占大豆所需全氮百分数来看,淡黑钙土为50.1—74.5%,白浆土47.9—67.0%,黑土为60.5—74.1%。

大豆的氮素来源,从本试验看,主要是从根瘤菌共生固氮获得,占50.1—74.1%,其次是从土壤获得21.2—47.3%,肥料氮利用较少,仅2.54—4.75%。固定的氮对大豆生殖生长有良好作用的现象。

参 考 文 献

- (1) 张宏、徐豹、高金方等: 大豆生育期间根瘤菌固氮活性动态及共生固氮量的估测《土壤通报》1984, 第15卷第5期220~222.
- (2) 张宏、张桂芝、王晓明: 施用硫酸和硝铵对大豆根瘤菌共生固氮量和产量的影响《吉林农业科学》1985, 第四期43~48.
- (3) 马昌麟、温贤芳、姚见寅、周志祥: 用¹⁵N—AN值法测定豆类作物的共生固氮量《原子能农业应用》1982, №2 18~28.
- (4) Helen-Jean, Talbott; W.J.Kenworthy, and J.O.Fegg, 1982. Field comparison of the nitrogen¹⁵ and difference method of measuring nitrogen fixation, Agron. J. vol74, №5 799~804.
- (5) Johnson, J.W., L.F. Welch and L. T. Kurtz, 1974. Soybean's role in nitrogen balance I Res. 16: 6—7.
- (6) Legg, J.O and C. Sloger 1975. A tracer method for determining Symbiotic nitrogen fixation in field studies. 661—666 In E.R. Kellin and P.D. Klein (ed) Proc. of the and Int. conference on stable Isotopes 20—23 Oct. 1975 Oak. Book II.
- (7) Lynch, D.L. 1968 Field nitrogen field by nodule bacteria and some symbiotic relationships exhibited by two soybean selections trans II, state Acad. Sci 61: 212—214.
- (8) Manrice Fried and victor Middelboe, 1977 Measurement of amount of nitrogen fixed by a legume crop. Plant and Soil 47 713~715.
- (9) Rennie R.T., Daketz, S., Bole J.B. and Muendel H.H. 1982. Dinifrogen fixation measwred by ¹⁵N isotope dilution in two Cayadian Soybean cultivars. Agron. J. Vol 74, 725—730.
- (10) Weher C.R. 1966. Nodulating and non-nodulating Soybean isolincs I Response to applied nitrogen and modified soil coditions, Agron. J. Vol 58 №1 46—49.

EVALUATING SYMBIOTIC NITROGEN FIXATION OF INDIGENOUS RHIZOBIUM JAPONICUM IN THREE TYPES OF SOIL

Zhang Hong et al.

(Jilin Academy of Agricultural Science, Gongzhuling)

ABSTRACT

In pot and field experiments, the amount of N_2 fixed by rhizobium japonicum was estimated by calculating the difference between the total nitrogen contained in nodulating and non-nodulating isolines of soybean cv. Harosoy and by isotope dilution AN -value method and difference method in three types of soil (light chernozem, Baijiang soil and black soil) in Jilin province. The result; (1) In general, the amount of N_2 fixed was 68.5-163.4 kgN/ha. year in light chernozem, 95.04-158.6 kgN/ha. year in Baijiang soil and 122.5-129.5 kgN/ha. year in black soil. There were no obvious difference in the amount of N_2 fixed among the three types of soil. (2) The percentage of N_2 in the plant of soybean derived from N_2 fixation was 47.9-67.0% in Baijiang soil, 60.5-74.1% in Black soil and 50.1-74.5% in light chernozem. (3) The nitrogen of soybean plant was derived from N_2 by nitrogen fixation 50-74.1% mainly, and from soil 21.2-47.2% and a little from fertilizer 2.54-4.25% in this experiment. The nitrogen derived from N_2 was more available to the reproductive growth of soybean.