

氮锌硒肥配合施用对白三叶的固氮作用与氮转移的影响

华 珞^{1,2}, 韦东普², 白玲玉², 姚允寅²

(1. 首都师范大学地理系, 北京 100037; 2. 中国农业科学院原子能利用研究所, 北京 100094)

摘要:在湖北省宜昌县百里荒草场山地黄棕壤上配合施用氮锌硒肥, 研究其对混播白三叶、混播黑麦草及单播黑麦草的干重及混播白三叶的固氮作用和氮转移的影响。试验结果表明: ①氮锌硒肥配合施用, 混播黑麦草的干重均高于相应处理的单播黑麦草, 混播牧草和单播黑麦草干重最高的处理都是 N46Zn0Se5, 其干重分别为 25.38g/盆和 19.93g/盆。②施氮对混播白三叶、混播黑麦草及单播黑麦草的生长有明显的促进作用, 施锌、硒对混播白三叶、混播黑麦草及单播黑麦草的生长作用不明显。③混播白三叶氮素的主要来源是固氮作用, 占全氮产量的 57.600%~77.258%。④混播白三叶固定氮的转移量只占混播黑麦草的全氮产量的 0.316%~12.251%, 通过正交方差分析发现, 适量氮肥 (N30mg/kg) 促进固定氮的转移, 高量氮肥 (N46 mg/kg) 抑制固定氮的转移。

关键词: 氮肥; 锌肥; 硒肥; 配合施肥; 生物固氮; 氮的转移

Effect of application of nitrogen, zinc and selenium on fixation of nitrogen and transfer of nitrogen fixed in white clover

HUA Luo^{1,2}, WEI Dong-Pu², BAI Ling-Yu², YAO Yun-Yin² (1. Department of Geography, Capital Normal University, Beijing 100037; 2 Institute for Application of Atomic Energy, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094)

Abstract: A pot experiment was carried out to study the effects of combined applications of nitrogen, zinc and selenium fertilizer on dry weight of herbage, nitrogen fixation and transfer of nitrogen from white clover to ryegrass in mixed culture in a mountain yellowbrown soil. The results showed as follows: (1) Dry weight of ryegrass in mixed culture was higher than that of ryegrass in mono culture; Dry weight of both herbage in mixed culture and ryegrass in mono culture in treatment of N46Zn0Se5 were the highest, with the value of 25.38g/pot and 19.93g/pot, respectively. (2) The growth of herbage was improved by nitrogen application, but was not affected by zinc, selenium application. (3) The nitrogen of white clover in mixed culture from nitrogen fixation ranged from 57.600%~77.528%. (4) Transfer of nitrogen from white clover to ryegrass in mixed culture was 0.316%~12.251%.

Key words: Nitrogen fertilizer, Zinc fertilizer, Selenium fertilizer, combined application fertilizer, nitrogen fixation, transfer of nitrogen fixed.

文章编号: 1000-0933(2001)04-0588-05 中图分类号: Q945.1 文献标识码: A

目前世界上大多数国家的放牧草地都以混播草地为主, 一般混播草地的生产力比单播草地高得多, 其主要原因是豆科牧草的固氮作用除了供给自身利用, 还将更多的土壤氮、肥料氮供给禾本科牧草利用, 从而提高整个系统的氮产量。而且豆科牧草还可以将生物固氮的产物提供给与之混种的禾本科牧草吸收与利用^[1~4], 称之为氮转移现象, 从而进一步促进了禾本科牧草的生长。

基金项目: 国家自然科学基金项目 (批准号: 39870127)

收稿日期: 2000-11-22 修回日期: 2001-02-05

作者简介: 华珞 (1948~), 女, 北京人, 博士, 研究员。主要从事土壤污染元素与养分元素的作用机制与调控研究。

我国南方草地面积为 0.6 亿 km^2 , 占我国草地总面积的 15%。但是, 南方土壤多呈酸性、微酸性, 致使土壤有效磷固定, 因而普施磷肥、氮肥是增产的必要措施。但是, 施磷又造成土壤锌、硒水平的降低, 而锌、硒是人畜必须的微量元素, 则必须补施锌、硒肥。有研究表明, 锌在固氮作用的电子和能源供给系统和保护系统中发挥作用^[5], 缺锌直接影响豌豆根瘤菌营养或间接影响寄主植物而影响固氮^[6]; 许多含锌酶在微生物(包括固氮菌)体内起重要作用, 缺锌降低根瘤体积, 减少根瘤内类菌体, 从而直接影响固氮^[7]; 有些文献报道高锌导致根瘤数量减少可能与其干扰寄主及根瘤营养平衡有关^[8]。还有试验表明, 给马铃薯施硒, 其非蛋白质氮含量降低, 蛋白质中的氨基酸含量升高而游离的氨基酸含量降低^[9]。所以本项目结合当地实际情况以磷肥为底肥, 选择氮、锌、硒作为施肥的依据。

如何合理施肥以提高我国南方草场的产量与最大限度的促进豆禾混播牧草中的固氮作用及提高氮转移效率将对牧草生产具有重要意义。本试验利用同位素示踪技术研究不同水平氮锌硒肥配合施用对白三叶的干重、固氮作用及固氮产物转移的影响。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

盆栽试验用土取自湖北省宜昌县百里荒示范牧场, 系亚热带中高山山地黄棕壤, 该草地为多年生黑麦草 (*Lolium perenne* L.) 和白三叶 (*Trifolium repens* L.) 混种草地。取去除表面草皮的 0~20cm 土壤, 风干过筛备用(含水量为 16.35%), 进行盆栽试验。土壤化学性状为: pH 为 5.6, 有机质含量为 2.482%, 全氮为 0.150%, 全磷为 0.038%, 全钾为 2.093%, 速效氮为 162.7 mg/kg, 速效磷 (Olsen-P) 为 1.512mg/kg, 速效钾 ($\text{NH}_4\text{Ac-K}$) 为 114.7mg/kg, 速效锌 (HCl-Zn) 为 2.84 mg/kg, 速效硒 (DTPA-Se) 为 0.36mg/kg。

1.2 供试作物

非豆科牧草为多年生黑麦草(品种: APM, 由中国农业科学院畜牧研究所提供), 豆科牧草为白三叶(品种: 胡依阿, 由湖北省农业科学院畜牧研究所提供)。

1.3 供试肥料

同位素标记氮肥为 $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 丰度为 5.038%, 由上海化工研究院提供; 磷肥为三料磷酸钙; 锌肥为 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 硒肥为 $\text{Na}_2\text{Se}_2\text{O}_3$ 。

1.4 试验方案

盆栽试验在中国农业科学院原子能利用研究所示踪网室进行。盆栽试验用盆为塑料盆(底无孔), 高 27cm, 上内直径 28cm, 下内直径 20cm, 每盆装土 8.5kg。

试验方案采用 $L_9(3^4)$ 正交设计, 为 9 个处理, 每处理重复 3 次, 豆科与禾本科混播为每盆白三叶 4 株和黑麦草 16 株, 混播比例是以中国农科院原子能利用研究所在该草场多年试验结果为依据而选定。因为考虑到需要计算白三叶的固氮作用, 所以, 设置相同施肥处理的单播黑麦草作为对照。1997 年 4 月 22 日播种, 每盆施 1.42g 三料磷酸钙 (76.8mg $\text{P}_2\text{O}_5/\text{kg}$) 作底肥, 4 月 28 日出苗, 6 月 2 日分别施入 3 水平氮 0.62、1.24、1.86 g $(^{15}\text{NH}_4)_2\text{SO}_4/\text{盆}$ (相当于 15.3、30.7、46.0 mg N/kg), 3 水平锌 0、0.37、1.86 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}/\text{盆}$ (相当于 0.5、25 mg Zn/kg), 3 水平硒 0、0.013、0.067 g $\text{Na}_2\text{Se}_2\text{O}_3/\text{盆}$ (相当于 0.1、5 mg Se/kg), 所有肥料均配成相应养分浓度的水溶液 3000ml 施入土壤中。设置只施磷肥处理作为对照, 设置相同正交设计黑麦草单播试验作为 ^{15}N 同位素试验的对照, 禾本科单播为每盆黑麦草 20 株, 施肥处理详见表 1。

1.5 测试项目及方法

每盆牧草刈割 4 次, 分别于 1997 年 7 月 8 日 (施肥后 36d)、8 月 8 日 (施肥后 67d)、9 月 2 日 (施肥后 92d)、10 月 17 日 (施肥后 137d) 刈割, 将 4 次刈割的样品混合, 分别称白三叶和黑麦草干重。

样品经烘干、磨碎、过筛, 供全氮及 ^{15}N 的分析测定。样品用改良凯氏法消化^[10], 测定植株含氮量, 并进行质谱分析, 测定 ^{15}N 丰度。用 ^{15}N 同位素稀释法计算牧草中来自生物固氮的百分数 (%Ndfa), 来自肥料氮的百分数 (%Ndff) 和来自土壤氮的百分数 (%Ndfs)。

2 结果与讨论

2.1 氮锌硒肥配合施用对牧草干重的影响

表 1 氮锌硒配施试验处理

Table 1 Treatment of application fertilizers nitrogen, zinc and selenium

耕作处理 Culture treatment	施肥处理 Fertilizer treatment	N (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Se (mg/kg)	P ₂ O ₅ (mg/kg)
豆禾混播 Mixed culture	CK	0	0	0	76.8
	N15Zn0Se1	15.3	0	1	76.8
	N15Zn5Se5	15.3	5	5	76.8
	N15Zn25Se0	15.3	25	0	76.8
	N30Zn0Se0	30.7	0	0	76.8
	N30Zn5Se1	30.7	5	1	76.8
	N30Zn25Se5	30.7	25	5	76.8
	N46Zn0Se5	46.0	0	5	76.8
	N46Zn5Se0	46.0	5	0	76.8
禾单播 Mono culture	N46Zn25Se1	46.0	25	1	76.8
	N15Zn0Se1	15.3	0	1	76.8
	N15Zn5Se5	15.3	5	5	76.8
	N15Zn25Se0	15.3	25	0	76.8
	N30Zn0Se0	30.7	0	0	76.8
	N30Zn5Se1	30.7	5	1	76.8
	N30Zn25Se5	30.7	25	5	76.8
	N46Zn0Se5	46.0	0	5	76.8
	N46Zn5Se0	46.0	5	0	76.8
N46Zn25Se1	46.0	25	1	76.8	

表 2 牧草的干重 (g/盆)

Table 2 Dry weight of herbage (g/pot)

处理 ^①	混播白三叶 ^②	混播黑麦草 ^③	混播牧草 ^④	单播黑麦草 ^⑤
N15Zn0Se1	3.50abc	15.53ab	19.03ab	15.00a
N15Zn5Se5	2.78ab	15.95ab	18.73a	17.00abc
N15Zn25Se0	3.16abc	15.93ab	19.09ab	16.25ab
N30Zn0Se0	2.95ab	16.40ab	19.35abc	16.90abc
N30Zn5Se1	3.63abc	17.60b	21.23bc	15.51a
N30Zn25Se5	3.55abc	17.55b	21.10bc	16.13ab
N46Zn0Se5	5.23abc	20.15c	25.38e	19.93d
N46Zn5Se0	6.70c	17.35ab	24.05de	19.08cd
N46Zn25Se1	6.15b	15.85ab	22.00cd	18.45bcd

①Treatment; ②White clover in mixed culture; ③Ryegrass in mixed culture; ④Herbage in mixed culture; ⑤Ryegrass in mono culture

中氮素的主要来源是生物固氮作用, 占 57.600%~77.258%, 混播白三叶%Ndfa 最高的处理是 N15Zn0Se1, 为 77.258%。正交方差分析的结果表明(见表 4), 施用不同水平氮、锌、硒肥对混播白三叶的固氮百分数(%Ndfa)影响差异不显著。

2.3 氮、锌、硒肥配合施用对氮转移现象的影响

黑麦草为生物固氮固定的氮素是指来自与之混播的白三叶生物固定的氮的转移, 以黑麦草的%Ndfa 表示。从图 2 可以看出, 混播黑麦草的氮素的主要来源是肥料氮和土壤氮, 混播黑麦草的%Ndfa (即固定氮

从表 2 可以看出, 不同施肥处理的混播白三叶的干重在 2.78~6.70g/盆之间, 其中干重最高的处理是 N46Zn5Se0, 产量最低的处理是 N15Zn5Se5; 混播黑麦草干重在 15.53~20.15g/盆之间, 其中干重最高的处理是 N46Zn0Se5, 干重最低的处理是 N15Zn0Se1; 混播牧草的总重在 18.73~25.38g/盆之间, 其中干重最高的处理是 N46Zn0Se5, 干重最低的处理是 N15Zn5Se5; 单播黑麦草的干重在 15.00~19.93g/盆之间, 其中干重最高的处理是 N46Zn0Se5, 干重最低的处理是 N15Zn0Se1。从表中还可以看出, 混播牧草的产量是由白三叶和黑麦草构成的, 其中, 混播黑麦草的产量是决定产量的主要因素。与单播黑麦草相比, 不同施肥处理混播牧草的干重均高于单播黑麦草, 如处理 N46Zn0Se5, 混播牧草的干重为 25.38g/盆, 单播黑麦草的干重为 19.93g/盆。

从表 3 正交方差分析的结果可以看出, 不同施氮水平对混播白三叶的干重影响差异显著, N46 水平与 N15 和 N30 水平的干重相比较显著增加了 100.00%和 86.39%; 不同施锌、硒水平对混播白三叶的干重影响差异不显著。不同施氮水平对混播黑麦草的干重影响差异显著, N46 水平的 17.78g/盆与 N15 水平的 15.80g/盆相比较差异显著; 不同施锌、硒水平对混播黑麦草的干重影响差异不显著。不同施氮水平对混播牧草的干重影响差异显著, N46 水平与 N15 和 N30 水平的干重相比较显著增加了 25.65%和 23.10%; 不同施锌、硒水平对混播牧草的干重影响差异显著, N46 水平的 19.15g/盆与 N15 和 N30 水平的 16.08g/盆和 16.18g/盆相比较差异极显著; 不同施锌、硒水平对单播黑麦草的干重影响差异不显著。从以上结果可以看出, 施氮对黑麦草与白三叶混播及单播黑麦草的生长有显著的促进作用, 施锌、硒对牧草的生长作用不明显。

2.2 氮、锌、硒肥配合施用对混播白三叶固氮作用的影响

从图 1 可以看出, 不同施肥处理的混播白三叶

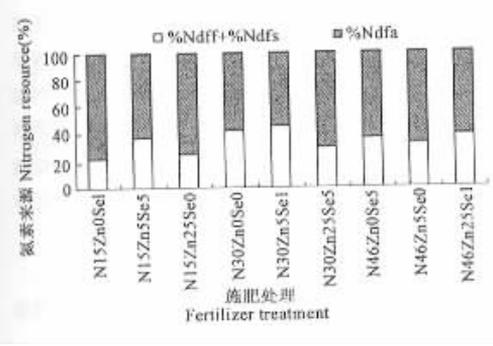


图 1 混播白三叶的氮素来源

Fig. 1 Nitrogen resource of white clover in mixed culture

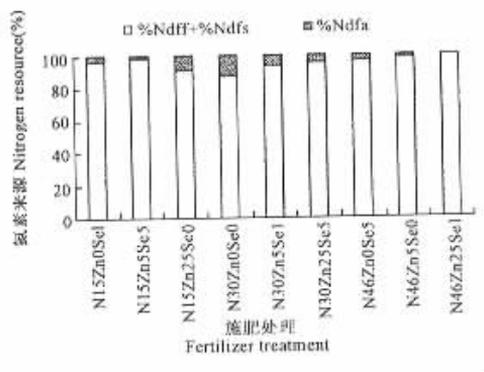


图 2 混播黑麦草的氮素来源

Fig. 2 Nitrogen resource of ryegrass in mixed culture

的转移)只占很小的比例,在 0.316%~12.251%之间。混播黑麦草的 %Ndfa 最高的处理是 N30Zn0Se0,为 12.251%。对混播黑麦草的 %Ndfa 按照不同氮水平、不同锌水平、不同硒水平分别进行正交方差分析,结果表明:不同施氮水平对混播黑麦草的 %Ndfa 影响差异显著,N30 水平 %Ndfa 为 7.832%,显著高于 N46 水平的 2.128%,说明施氮水平对混播黑麦草的 %Ndfa 也有显著影响,N30 水平混播黑麦草的 %Ndfa 最高,超过这一施氮水平混播黑麦草的 %Ndfa 就降低,即较高施氮水平对混播白三叶固定的氮的转移产生抑制作用。施硒显著降低混播黑麦草的 %Ndfa, Se0 水平的 %Ndfa 较 Se1、Se5 水平显著增加了 129.59%、128.38%;施锌显著降低混播黑麦草的 %Ndfa, Zn0 水平的 %Ndfa 较 Zn5、Zn25 水平显著增加了 94.23%、48.89%。总体看来,施锌、降低数据混播黑麦草的 %Ndfa,即对混播白三叶固定的氮向混播黑麦草转移有抑制作用,

表 3 牧草干重的正交方差分析(g/盆)

Table 3 Orthogonal variance analysis of dry weight of herbage (g/pot)

处理 ^①	混播白	混播黑	混播牧	单播黑
	三叶 ^②	麦草 ^③	草 ^④	麦草 ^⑤
N15	3.15A	15.80a	18.95a	16.08A
N30	3.38A	17.18ab	20.56a	16.18A
N46	6.03B	17.78b	23.81b	19.15B
Se0	4.27a	16.56a	20.83a	17.45a
Se1	4.43a	16.33a	20.75a	17.23a
Se5	3.85a	17.88a	21.73a	16.73a
Zn0	3.89a	17.36a	21.25a	17.28a
Zn5	4.36a	16.97a	21.33a	17.20a
Zn25	4.28a	16.44a	20.73a	16.94a

同一元素不同水平间数据进行差异显著性比较,同列具有相同字母的数值为 Duncan's 复全距测验 5% 水平差异不显著。(表 4、表 5、表 6 相同)The data from the same element and different fertilizer treatment should be compared difference. The values with the same letter in a line do not significantly ($P < 0.05$) by Duncan's multiple range test. (The same as table 4, 5, 6)

① Treatment; ② White clover in mixed culture; ③ Ryegrass in mixed culture; ④ Herbage in mixed culture; ⑤ Ryegrass in mono culture

表 4 氮锌硒配合施用对混播白三叶的 %Ndfa 影响的正交方差分析 (%)

Table 4 Orthogonal variance analysis of %Ndfa of white clover in mixed culture

施氮水 平 ^①	%Ndfa	施硒水 平 ^②	%Ndfa	施锌水 平 ^③	%Ndfa
	N15		71.183a		Se0
N30	60.983a	Se1	64.424a	Zn5	61.333a
N46	63.817a	Se5	65.223a	Zn25	68.735a

① Different level of nitrogen; ② Different level of selenium; ③ Different level of zinc

表 5 氮锌硒配合施用对混播黑麦草的 %Ndfa 影响的正交方差分析 (%)

Table 5 Orthogonal variance analysis of %Ndfa of ryegrass in mixed culture (%)

施氮水平 ^①	%Ndfa	施硒水 平 ^②	%Ndfa	施锌水 平 ^③	%Ndfa
	N15		4.646ab		Se0
N30	7.832b	Se1	3.396a	Zn5	3.365a
N46	2.128a	Se5	3.414a	Zn25	4.706a

① Different level of nitrogen; ② Different level of nitrogen; ③ Different level of nitrogen

其原因有可能是由于白三叶的生物固氮作用所固定的氮一般以氨基酸态氮的形式转移给与之混种的黑麦草,施入锌、硒后,促进了白三叶的蛋白质的合成,使氨基酸态氮的数量减少,则施锌、硒降低了混播黑麦草的%Ndffa。相关报道也间接地证实了这种可能性。例如 Munshi 等通过在马铃薯(*Solanum tuberosum*)种植的前 1 天条施硒肥,探讨了硒与氮素代谢的关系,两年的试验结果都表明硒可以提高块茎中总的蛋白质含量,降低游离氨基酸的含量^[9];Cakmak 等指出,大豆缺锌后,根、茎、叶中氨基酸大量累积,而施锌由于促进蛋白质的合成使氨基酸和酰胺的含量迅速下降^[11]等等。施锌、硒肥抑制混播白三叶固定的氮向混播黑麦草转移的作用的机制尚有待进一步研究。

3 结论

(1) 氮锌硒肥配合施用,混播黑麦草的干重产量均高于相应处理的单播黑麦草;混播牧草和单播黑麦草干重产量最高的处理都是 N₄₆Zn₀Se₅,其干重分别为 25.38g/盆和 19.93g/盆。

(2) 施氮对黑麦草和白三叶的生长有明显的促进作用,施锌、硒对黑麦草和白三叶的生长作用不明显。

(3) 混播白三叶氮素的主要来源是固氮作用,占全氮产量的 57.600%~77.258%。

(4) 混播白三叶固定氮的转移量只占混播黑麦草的全氮产量的 0.316%~12.251%,通过正交方差分析发现,适量氮促进固定氮的转移,高量氮抑制固定氮的转移。

参考文献

- [1] Ta T C and Faris M A. Effects of alfalfa proportions on timothy-alfalfa mixed. II. Nitrogen fixation and transfer. *Agron. J.*, 1987, **79**: 820~824.
- [2] 姚允寅,陈明,马昌麟. 低水平化合态氮素对牧草固氮及土壤氮素肥力的影响. 见:温贤芳,姚允寅主编. 同位素示踪技术农业应用研究进展. 北京:中国农业科技出版社,1992. 165~172.
- [3] Hardarson G, Danso S K A and Zapata F. Dinitrogen fixation measurements in alfalfa-ryegrass swards using nitrogen-15 and the influence of the reference crops. *Crop Sci.*, 1988, **28**: 101~105.
- [4] Heichel G H, Barnes D K and Vance C P. Nitrogen fixation of alfalfa in the seeding year. *Crop Sci.*, 1981, **21**: 330~335.
- [5] 刘铮. 微量元素的农业化学. 北京:农业出版社,1991. 62~86,219.
- [6] Jefren L, Demeterio, Roscoe Ellis Jr, et al. Nodulation and nitrogen fixation by two soybean varieties and affected by phosphorus and zinc nutrition. *Agronomy J.*, 1972, **64**(5): 556~568.
- [7] Yie S T. A study of the relationship of zinc concentration to nitrogen fixation in soybean. *J. Sci. Engin.* (Taiwan), 1969, **6**(Oct): 1~8.
- [8] Shukla V C and Yadav O P. Effect of phosphorus and zinc on nodulation and nitrogen fixation in chickpea. *Plant and Soil.* 1982, **65**: 229~248.
- [9] Munshi C B, Combs C F J and Mondy N I. Effect of selenium on the nitrogenous constituents of the potato. *J. Agric. Food Chem.*, 1990, **38** (11): 2000~2002.
- [10] 姚允寅. 植物、土壤样品中 ¹⁵N 天然丰度测定技术的研究. 核农学报,1989,(增刊):16~21.
- [11] Robbins C W. Selenium concentration in phosphorus fertilizer materials and associated uptake by plant. *Soil Science Soc. Am. Proc.*, 1970, **34**: 506.