

稻田非共生固氮对当季 水稻吸收氮的贡献

朱兆良 陈德立 张绍林 徐银华

(中国科学院南京土壤研究所)

非共生固氮是水稻土氮素循环中的一个基本环节。作为一个基础数据,人们首先需要知道稻田土壤中的非共生固氮量。在这一方面已经有了一些总结性报导^[1,2],其中主要是通过长期试验中氮素平衡账的估算而获得的。但国内迄今还未见这类报告。从另一方面来看,稻田土壤对水稻供应的氮量,是以田间试验中无氮区水稻成熟时吸收氮量计算的。实际上水稻吸收氮中并不完全来源于土壤氮,还包括非土壤氮的来源,其中包括非共生固氮所提供的部分。因此,明确非共生固氮对当季水稻吸收氮的贡献,是稻田土壤供氮能力解析研究中的一个重要内容。我们用¹⁵N标记土壤进行水稻盆栽试验,研究了不施氮下,水稻吸收氮中非共生固氮来源的氮所占的比例及其与土壤类型的关系,并在此基础上,对有关问题作一讨论。

一、材料和方法

研究方法的选择 目前用来测定稻田非共生固氮量的方法主要有氮素平衡法^[3],乙炔还原法^[4],¹⁵N₂气体饲喂法^[5]和¹⁵N标记土壤法^[6,7]。氮素平衡法的工作量很大,需时较长,而且作用因子也较复杂,如耕层以下土壤来源氮量的校正,非共生固氮作用形成的有机氮的损失等。乙炔还原法虽然具有较高的灵敏度,但乙炔生成量换算为固氮量的系数常与理论值有较大的差异,因而有人建议必须同时设置¹⁵N₂气体饲喂试验以校正这一系数^[8],此外,为了得出整个生长期间的固氮量,需要进行多次测定。而且,这一方法不能提供关于水稻吸收氮中非共生固氮贡献的数据。¹⁵N₂气体饲喂法是一种直接法,可以排除其他来源氮的干扰,但是对设备和实验技术的要求都比较高,而且也难以用来测定水稻整个生长期间的固氮量及其对水稻吸收氮的贡献。¹⁵N标记土壤法的优点在于设备比较简单,又可用于测定整个生长期间的固氮量及其对水稻吸收氮的贡献。这一方法的关键是参比样品的选择。Ventura和Watanabe^[7]在应用这一方法时,曾试图用种旱稻的处理作为对照,但是由于计得的固氮量太高而无法解释,后又改用黑布遮盖盆体中的土面并种植水稻的处理作为对照。但是,这种作法不能供测定稻田的异养固氮之用。而且,所应用的¹⁵N标记土壤,由于培育的时间很短,其中的标记氮的分解性尚处于剧烈的变化之中,因而可能给测定结果带来很大的误差。我们设想以淹水培养后标记土壤中矿质氮的¹⁵N丰度作为计算固氮量的参比值。这就要求标记土壤中¹⁵N标记氮与土壤原有氮的有效性比率达到相对稳定阶段。Chalk等^[9]在研究用好气培养后土壤中矿质氮的¹⁵N丰度作为测定大豆共生固氮量的参比值时,也曾指出达到均匀标记的重要性。

¹⁵N标记土样的制备 考虑到上述的要求,我们采用了下述步骤制备¹⁵N标记土样。供试

土壤为太湖地区的爽水水稻土(黄泥土)、囊水水稻土(青紫泥)和石灰性排水好的水稻土(砂壤土),其pH分别为5.6, 5.6和8.4;全N分别为0.205%、0.214%和0.129%。1981年春,将黄泥土和青紫泥的风干磨碎样品与 ^{15}N 标记尿素(丰度21.2%)及磷钾肥混匀,用量为1.12克N/5.5公斤土。6月5日淹水插秧,至8月上旬孕穗时,拔出稻株,将土壤和稻株干燥磨碎后再次混匀装盆,淹水腐解约2个月。然后于11月24日落干后种小麦,至1982年4月13日拔出麦株,倒出盆内土样,尽量挑出根和有机残体。于6月25日至1983年3月5日期间,在淹水一落干交替下进行腐解。然后取出风干后磨碎备用。 ^{15}N 标记砂壤土的制备步骤同此,于1983年8月5日开始,至1984年4月底制成。

^{15}N 标记土壤的水稻盆栽试验 试验在网室中进行。于直径12厘米、高14厘米的盆钵中装入标记土样1公斤,以磷钾为底,不施氮。1984年5月26日淹水插秧,每盆3穴,每穴2株,品种广西秀江早,秧龄22天。生长期间盆底不渗漏,土面保持水层,用蒸馏水灌溉。7月28日黄熟期收获地上部分,并尽量挑出根,分别测定干重、全氮及 ^{15}N 丰度。5个重复。同时布置旱作条件下的种稻试验。为控制土壤含水量,每盆中插一水分张力计,保持水分吸力在300—350毫巴之间。其他各项皆同淹水组。

^{15}N 标记土壤的淹水培养试验 取20克风干土,在30℃淹水密闭培养2周、4周和8周,测定矿质氮的 ^{15}N 丰度,每次3个重复。砂壤土因风干程度较低,矿化量少,将3个重复的全部含铵馏出液合并供 ^{15}N 丰度的测定。

为了探讨水稻生长对土壤氮素矿化影响的机理,还同时布置了未经风干的非标记土壤的淹水种稻的盆栽试验,和埋入盆钵土壤中的淹水密闭培养试验,方法见前报^[10]。供试土壤共9个,分别属于上述3种类型,每一类型中包括肥力不同的3个土壤。4个重复。

土壤和植株的全氮测定用克氏法。土壤矿质氮用2M KCl提取、MgO蒸馏法测定。样品的 ^{15}N 丰度由我所质谱组测定。

二、结果和讨论

(一) 非共生固氮对当季水稻吸收氮的贡献

在计算非共生固氮对当季水稻吸收氮的贡献时,我们试图用旱作条件下种稻试验中收获时水稻植株的 ^{15}N 丰度作为参比值。但是,其值与淹水种稻试验中收获时水稻植株的 ^{15}N 丰度没有明显的差异。这表明在本试验条件下,前者的土壤湿度偏高,因而未能有效地抑制异养固氮作用。同时也表明,土面水中的光合固氮作用不是本试验中淹水种稻下的主要固氮机

表1 ^{15}N 标记土壤淹水密闭培养
下铵态氮的 ^{15}N 丰度(%)

培养时间(周)	砂壤土	黄泥土*	青紫泥*
2	3.55	2.64 ± 0.05	2.95 ± 0.23
4	3.97	2.66 ± 0.02	3.03 ± 0.12
8	3.94	2.74 ± 0.01	3.12 ± 0.01

* 系3个重复的 $\bar{X} \pm S.D.$

表2 淹水盆栽中成熟期水稻地上
部分和根的 ^{15}N 丰度(%)

植株部位	砂壤土	黄泥土	青紫泥
地上部分A	3.47 ± 0.05	2.23 ± 0.03	2.52 ± 0.04
根 B	2.54 ± 0.18	2.08 ± 0.04	2.42 ± 0.07
B-A	0.80** ± 0.10	0.15* ± 0.06	0.11* ± 0.07

* 达到5%显著水准,

** 达到1%显著水准。

表列数据系5个重复的 $\bar{X} \pm S.D.$

表3 水稻吸收氮中来自非共生固氮的量(Ndfa)及其占吸氮量的百分率(早稻盆栽)

土壤	地上部分				根				全株	
	吸N量 (毫克/盆) A ₁	Δ ¹⁵ N (%)	Ndfa (毫克/盆) B ₁	B ₁ /A ₁ (%)	吸N量 (毫克/盆) A ₂	Δ ¹⁵ N (%)	Ndfa (毫克/盆) B ₂	B ₂ /A ₂ (%)	Ndfa (毫克/盆) C	C/A ₁ +A ₂ (%)
砂壤土	28.5	0.50	5.4	19.1	0.74	1.39	0.29	39.7	5.7	19.6
黄泥土	107.5	0.48	23.9	22.2	3.15	0.62	0.84	26.6	24.7	22.5
青紫泥	103.4	0.56	22.8	22.8	2.94	0.66	0.72	24.4	23.6	23.0
平均		0.51		21.4		0.89		30.3		21.7

注：(1) 表列数据系5个重复的平均值，

(2) $\Delta^{15}\text{N}\% = (\text{淹水培养第4和8周时土壤矿质氮的}^{15}\text{N丰度}) - (\text{淹水盆栽稻株中的}^{15}\text{N丰度})$ ，

(3) $\text{Ndfa} = (1 - \frac{\text{稻株中}^{15}\text{N的原子百分超}}{\text{培养中土壤矿质氮的}^{15}\text{N原子百分超}}) \times \text{水稻吸氮量}$ 。

制。这与试验期间土面水中藻类生长较少的现象是一致的。因此，我们用淹水培养后土壤矿质氮的¹⁵N丰度作为参比值。

表1结果表明，除砂壤土淹水培养2周后测得的矿质氮的¹⁵N丰度略偏低外，其他各次测定值已较稳定。因此，在计算时以培养4周和8周后测得的矿质氮¹⁵N丰度的平均值作为参比值。现将收获的水稻植株(淹水处理)的地上部分和根的¹⁵N丰度，以及计得的水稻吸收氮中来自非共生固氮的量(Ndfa)及其占吸氮量的百分率的结果示于表2和表3。表2中根的¹⁵N丰度都显著地低于地上部分。这似乎意味着根际的异养固氮或联合固氮，可能是本试验中非共生固氮的主要部分。从表3来看，三种供试土壤上，水稻吸收氮中来自当季非共生固氮作用的量(Ndfa)虽然差异较大，但是从这种来源氮占全株吸收氮量的百分率来看，则三种土壤之间差异很小，都在19.6—23.0%之间，平均21.7%。如前所述，这主要是异养固氮对当季水稻吸收氮的贡献。App等^[3]在用热带水稻土进行淹水种稻的中期盆栽试验中，计算了不施氮时氮素的平衡账，其正值(盆内水面遮光处理，因而可以认为主要是异养固氮用作的结果)约占水稻吸收氮量的14—18%。其值略低于本试验中用¹⁵N标记土壤进行测定的结果。由此看来，异养固氮作用对于当季水稻的氮素营养具有不可忽视的作用。当然，铵态氮可能对稻田土壤中的异养固氮有一定的抑制作用，但这需要达到较高的浓度，例如20ppm以上，而在低浓度下，则甚至可能产生促进异养固氮的作用^[11, 12, 13]。在水稻生长下，特别是田间，土壤中一般不可能较长时间地维持这种高浓度，尤其是在幼穗分化期以后。因此，氮肥对稻田土壤中异养固氮的影响可能不大，至于光合固氮，在氮肥表施下则可能受到强烈的抑制。

根据上述结果对太湖地区水稻土在水稻生长期间的非共生固氮量作一粗略的估算是有益的。根据已有的结果^[14, 15]，本地区土壤对单季晚稻或两季双季稻的供氮量平均为13—14斤/亩。其中虽已扣除了秧苗带入的氮，但是未扣除降雨和灌溉水带入的氮量被水稻吸收的部分。据刘元昌的测定(未刊资料)，本区每年随降雨和灌溉水带入土壤的氮量平均为2.49斤/亩，径流和淋洗损失合计为0.88斤/亩，因此净得1.61斤N/亩，如果其中70%分配在水稻生长季节中，则约为1.1斤N/亩。从上述的供氮量中扣除此值后，再按本文的测定结果21.7%来计算，可以得出水稻吸收氮量中来自非共生固氮的平均为2.6—2.8斤/亩。此值再除以非共生固氮形成的有机氮的当季利用率即可估算出固氮量。从已有的报导来看，水稻对这种氮的利用率约为34%或更低^[5, 16, 17, 18]。此外，根据我们的统计(朱兆良，1985，未刊资料)，水稻对

豆科绿肥的氮素利用率(示踪法)约为30—43%。因此,用34%这一数值作为估算的基础还是可以的。由此计得非共生固氮量为7.6—8.2斤/亩(57—62公斤/公顷)。此值约为文献中一些数据的中值〔1〕,或略高于平均值(49公斤/公顷)〔2〕。由于国内迄今尚无这类数据报导,本文通过一些参数对本区稻田非共生固氮量所进行的估算虽然比较粗放,但仍有一定的参考价值。

(二)水稻生长对土壤氮素矿化的促进作用及其原因

前曾报导〔10〕,在相同的有效积温时,盆栽种稻下以水稻吸收氮计得的土壤氮素矿化量,显著地高于淹水密闭培养中土壤氮素的矿化量。本次研究中也得到了类似的结果,如表4。不

表4 水稻生长对土壤氮素矿化的影响(ppm,早稻)

矿化量	砂壤土	黄泥土	青紫泥	平均 $\bar{X} \pm S.D.$
A	38.3 ± 3.2	51.1 ± 2.5	39.9 ± 4.9	43.1 ± 6.8
B	30.8	39.6	30.7	33.7 ± 5.1
C	24.0 ± 2.2	35.1 ± 4.0	22.1 ± 0.6	27.1 ± 6.5
(A - C)/C%	61 ± 17	46 ± 9	81 ± 17	63 ± 21
(B - C)/C%	28	13	39	27 ± 13

注: A 是以盆栽中水稻吸收氮量计,未扣除非共生固氮来源的矿化量;

B 是以盆栽中水稻吸收氮量计,扣除非共生固氮来源的矿化量;

C 是以淹水密闭培养中交换性铵的增量计的矿化量。

扣除非共生固氮来源的氮量时,以水稻吸收氮计得的土壤氮素矿化量,比相同有效积温下以交换性铵的增量计得的淹水培养中土壤氮素的矿化量高46—81%,平均63%。水稻的生长表现为促进土壤氮素的矿化。但是,从水稻吸收氮素中扣除非共生固氮来源的氮后,则种稻下土壤氮素的矿化量只比相应培养中的矿化量高13—39%,平均27%。可见,所谓水稻生长对土壤氮素矿化的促进,在很大程度上是由于水稻还利用了当季非共生固氮形成的有机氮,而使得以水稻吸收氮计算土壤矿化氮量的结果偏高。此外,我们在稻田土壤供氮能力的解析研究中发现,这些土壤在淹水培养时形成的铵态氮,有相当大的比例转入了非交换态,其量平均达到交换性铵增量的28%(9个土壤)〔19〕。即在淹水培养中,如果以交换性铵和非交换性铵的增量之和计为土壤矿化量,则其值将比仅以交换性铵的增量为指标时的矿化量平均高28%。即如果不计入非交换性铵的增量,将显著地低估本区土壤在培养中的矿化能力。这一低估的程度,大体上相当于扣除非共生固氮来源后的水稻吸氮量高出培养中交换性铵增量的大小(即上述的27%)。因此,所谓水稻对土壤氮素矿化的促进作用〔10〕只是一种表现现象,其实质是在水稻吸收氮中因未扣除非共生固氮来源的部分,而过高地估计了种稻下土壤氮素的矿化量;另一方面却又因忽略了淹水培养中矿化氮转入非交换性铵的部分,而低估了淹水培养中土壤氮素的矿化量。对这两个方面进行校正后,则水稻生长对土壤氮素矿化就没有表现出明显的影响。

三、结 论

1. 在测定水稻—土壤系统中的非共生固氮量时,建议采用¹⁵N标记土壤法,并以淹水密

闭培养中矿化氮的¹⁵N丰度作为参比值。本法要求均匀标记供试土壤。

2. 用本法测定了太湖地区三种水稻土在淹水种稻下,不施氮时水稻吸收氮中来自非共生固氮作用的比例,其值在19.6—23.0%之间,平均21.7%。非共生固氮量约为57—62公斤/公顷。

3. 所谓水稻生长对土壤氮素矿化的促进,主要是由于将水稻体内非共生固氮来源的氮计入了种稻下土壤氮素的矿化量所致。此外,也与淹水密闭培养中一部分矿化氮转入非交换性铵有关。在扣除这两方面的影响后,水稻生长对土壤氮素的矿化即无明显的促进作用。

参 考 文 献

- [1] Watanabe, I., Craswell, E. T. and App, A.A., Nitrogen cycling in wetland rice fields in south-east and east Asia. pp. 4-17 in Wetselaar, R., Simpson, J.R. and Rosswall, T. (eds), Nitrogen Cycling in South-East Asian Wet Monsoonal Ecosystems. Australian Academy of Science. Canberra. 1981.
- [2] Wetselaar, R., Nitrogen inputs and outputs of an unfertilized paddy field. pp. 573-583 in Vlack, F. E. and Rosswall, T. (eds), Terrestrial Nitrogen Cycles, Processes, Ecosystem Strategies and Management Impacts. Ecol. Bull. (Stockholm), Vol. 33, 1981.
- [3] App, A. A., Watanabe, I., Alexander, M., Ventura, W., Daez, C., Santiago, T. and De Datta, S. K., Soil Sci., 130: 283-289, 1980.
- [4] Watanabe, I., Lee, K. K., Alimagno, B. V., Sato, M., del Rosario, P. C. and de Guzman, M. R. IIRRI Research papers series, No. 3, 1977.
- [5] Yoshida, T., Yoneyama, T. and Nakajima, Y., Japanese J. Soil Sci. Pl Nutr., 54: 105-108(in Japanese), 1983.
- [6] Legg, T. O. and Sloger, C., A tracer method for determining symbiotic nitrogen fixation in field studies. pp. 661-667 in Proc. 2nd Inter. Conf. on Stable Isotopes. Oakbrook, Illinois. Argonne National Laboratory, U.S. Department of Energy. 1975.
- [7] Ventura, W. and Watanabe, I., Philippine J. Crop Sci., 7: 44-50, 1982.
- [8] Buresh, R. J., Casselman, M. E. and Patrick, W. H. Jr., Adv. in Agron., 33: 149-192, 1980.
- [9] Chalk, P. M., Douglas, L. A. and Buchanan, S. A., Can. J. Microbiology, 29: 1046-1052, 1983.
- [10] 蔡贵信、朱兆良, 水稻生长对土壤氮素矿化的影响。土壤学报, 20: 272-278, 1983.
- [11] 钱泽澍、闵航、莫文英, 不同铵态氮水平对水稻根际固氮活性的影响。土壤学报, 22: 144-149, 1985.
- [12] Charyulu, B. N. and Rao, V. R., Soil Sci., 128: 86-89, 1979.
- [13] Charyulu, B. N. and Rao, V. R., Soil Sci., 130: 140-144, 1981.
- [14] 朱兆良, 我国土壤供氮和化肥氮去向研究的进展。土壤, 17: 2-9, 1985.
- [15] 朱兆良、蔡贵信、徐银华、张绍林, 太湖地区水稻土的氮素矿化及土壤供氮量的预测。土壤学报, 21: 29-36, 1984.
- [16] Eskero, D. L., Eaglesham, A. R. J. and App, A. A., Pl. Physiol., 68: 48-52, 1981.
- [17] Ito, O. and Watanabe, I., Soil Sci. Pl Nutr., 27: 169-176, 1981.
- [18] Yoshida, T. and Yoneyama, T., Soil Sci. Pl Nutr., 26: 551-559, 1980.
- [19] 陈德立、朱兆良, 太湖地区水稻土非交换性铵的含量及其在培养中的变化。土壤, 18: 35-36, 1986.