

doi: 10.11838/sfsc.1673-6257.23481

施氮量对不同品种苜蓿结瘤固氮和 产量及粗蛋白含量的调控

刘雨涵, 陈 杨*, 李海港, 卢勇鑫

(内蒙古农业大学草原与资源环境学院 / 内蒙古自治区土壤质量与养分资源重点实验室 /
农业生态安全与绿色发展自治区高等学校重点实验室, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘 要: 摸清不同苜蓿品种结瘤固氮对氮肥用量的响应, 增强苜蓿固氮能力与产量和品质的协同, 对于苜蓿节氮增效的生产实践至关重要。采用 10 个苜蓿品种并设置 5 个氮梯度, 通过测定地上部生物量及粗蛋白含量和根瘤数、根瘤重、固氮率及固氮量, 探究施氮对不同品种苜蓿建植当年的生物量、粗蛋白含量和结瘤固氮的影响及相互调控关系。结果表明, 地上部生物量和粗蛋白含量在不同品种和处理间差异显著, 两项指标均较高的品种超新星、佰苜 202、骑士 T、佰苜 341 和绿思乐的固氮效率显著高于其他品种。固氮率对施氮量响应在茬次间差异显著, 第一茬 N0 处理下最高, 第二茬或仅收获 1 茬时 N25、N50 处理下最高, 粗蛋白含量与之呈正相关变化。在 N0 ~ N50 处理下, 高固氮率品种的生物量和粗蛋白含量比低固氮率品种分别高 1.2% ~ 16.7% 和 12.9% ~ 19.2%, N100、N150 处理与其相比, 除固氮率较低的第一茬外, 生物量差值基本相等, 粗蛋白含量差值显著降低至 7.8% ~ 12.3%, 低固氮率品种粗蛋白积累对施氮依赖更高。生物量和粗蛋白含量与结瘤固氮指标呈显著正相关。建植当年, 适量施氮有利于苜蓿固氮协调增效, 超新星等固氮效率较高的 5 个品种在较低氮梯度下生物量和粗蛋白含量可平衡提升, 且显著高于其他品种, 可作为节氮栽培的优良品种。

关键词: 苜蓿品种; 施氮量; 生物量; 粗蛋白含量; 结瘤固氮; ^{15}N 自然丰度法

苜蓿是世界范围广泛种植的优质多年生豆科牧草, 营养价值高且生长适应性强; 其根系发达并具有较强的共生固氮能力, 在陆地生态系统氮循环中发挥着重要作用, 兼具优越的经济和生态效益。氮素与苜蓿的众多生理代谢过程密切相关, 直接影响产量和品质^[1]。研究发现, 固氮占苜蓿氮素总输入量的 51%^[2], 不足的氮仍需通过施用氮肥满足, 施氮是提升其产量品质的重要途径。然而, 苜蓿对氮素比较敏感, 过量施氮不仅造成其干物质和氮素积累显著减少, 而且抑制固氮潜力, 导致氮肥利用率下降和环境风险增加^[3-5]。协调施氮和固氮两种氮源的营养效应, 提升整体氮利用效率, 对苜蓿产

业绿色转型有重要的现实意义。

施氮有利于苜蓿产量累积和品质提升^[6], 草产量和营养品质在适宜施氮量下显著提高, 超过一定施氮量则呈线性下降趋势^[3-5]。氮素对苜蓿结瘤固氮有调控作用, 土壤有效氮含量降低会诱导结瘤并提高固氮酶活性从而增加固氮量, 含量过高则产生抑制^[7-9]。苜蓿产量及氮肥报酬率都与品种密切相关^[10], 外源氮吸收能力和结瘤固氮能力不同, 导致品种间施用氮素的效果差异较大^[7, 10-11]。氮素添加对苜蓿生产的效应十分复杂, 关于施氮量对苜蓿生物量及氮素含量的影响, 当前研究仍存在不同观点, 一部分研究认为, 适量施氮可显著提升生物量和全氮含量^[3-5], 且适量氮肥增强固氮酶活性、提高固氮效率会进一步促进干物质及氮素积累的增加^[8-9]; 另一部分研究则认为, 施氮并不引起生物量及氮素含量的改变^[12], 其中, Xie 等^[12]和 Kozyreva 等^[13]发现与高效接种不施氮相比, 施氮 30 kg/hm² 对产量和氮积累几乎无促进作用, Oliveira 等^[14]发现施氮 450 kg/hm² 也有同样的结果, Wang 等^[15]则发现外源氮增加至 N 20 g/m² 抑制固氮并转

收稿日期: 2023-08-11; 录用日期: 2023-11-14

基金项目: 内蒙古自治区科技计划项目 (2022YFDZ0076); 内蒙古自治区“草原英才”人才工程项目; 呼和浩特市科技计划项目 (2022-农-重-2-4)。

作者简介: 刘雨涵 (1996-), 硕士研究生, 研究方向为牧草营养。
E-mail: liuyuhan54898426@163.com。

通讯作者: 陈杨, E-mail: chenyy80@126.com。



换氮源导致生物量和全氮含量在 $N\ 0 \sim 50\ g/m^2$ 的施氮量处理间无改变, 而且个别研究发现生物量和氮素含量对施氮响应在品种间也无显著差别^[14]。在相关研究中发现, 施氮不改变豆科植物产量及氮素积累的情况下, 固氮效率却在不同施氮量间^[12, 15-16]或不同品种间^[17]存在显著差异。综上可知, 固氮效率在调节平衡氮素需求和来源中具有重要作用, 前人研究以单一品种考察了施氮量对固氮影响下的产量及氮积累变化^[8-9], 或者通过品种和施氮量双因素处理下结瘤固氮特性与产量及氮积累特点的联系比较了不同品种的氮效率特性^[7, 10], 缺少品种和施氮量双因素处理下结瘤能力和固氮效率对生物量和粗蛋白含量的影响及其相互关系的研究, 故本研究从固氮定量的角度分析品种间施氮和固氮共同调控的苜蓿产量及粗蛋白含量的差异, 为准确判断在减量施氮条件下通过挖掘苜蓿固氮潜力能否达到生物量和粗蛋白含量平衡提升提供依据。

内蒙古作为我国重要的草牧业生产基地, 一方面, 为降低优质苜蓿依赖国际供给的牵制风险, 苜蓿生产亟须提质增效, 另一方面, 面对国家北方生态安全屏障建设的要求, 生态保护压力持续加大^[18-19], 两个方面的因素致使苜蓿种植产业发展必须由传统的增肥增效向生态高效转型。这就对今后的苜蓿种植研究提出了新的要求, 要在对国内外苜蓿品种的草产量、营养价值及适应性等的研究基础上^[20-21], 加大对结瘤适应性强和固氮效率高的品种的筛选力度, 通过挖掘苜蓿自身固氮潜力推动减肥增效目标的实现。因此, 本研究分析不同品种苜蓿建植当年的生物量、粗蛋白含量和结瘤固氮对施氮量的响应及其相互之间的关系, 可为筛选高效固氮品种进行节氮栽培提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤采集自内蒙古农业大学海流图园区, 土壤质地类型为壤土。土壤有机质含量 $21.98\ g/kg$; 土壤养分含量分别为全氮 $0.99\ g/kg$ 、速效氮 $68.95\ mg/kg$ 、有效磷 $28.62\ mg/kg$ 、速效钾 $239.67\ mg/kg$; 土壤 pH 值 8.09。

苜蓿材料选用 10 个品种 (表 1), 将羊草作为非固氮参比植物。氮素为分析纯尿素, 其他养分: $KH_2PO_4\ 659.34\ mg/kg$ 、 $K_2SO_4\ 335\ mg/kg$ 。

表 1 苜蓿材料及来源

名称	代码	提供单位
草原 2 号	CY	呼和浩特市草原工作站
敖汉	AH	呼和浩特市草原工作站
中苜 3 号	ZM	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
佰苜 341	B341	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
佰苜 202	B202	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
金皇后	JH	呼和浩特市草原工作站
挑战者	TZ	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
绿思乐	LS	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
超新星	CX	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司
骑士 T	QS	北京佰青源畜牧业科技发展有限公司

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

试验于 2021 和 2022 年的 5—9 月在内蒙古农业大学科技园区的室外防雨棚进行, 为分析建植当年苜蓿的结瘤固氮能力特别是采集根瘤需要, 分 2 次进行种植。取海流图园区 $0 \sim 30\ cm$ 的耕层土, 混匀、粉碎、风干并除杂, 过 $2\ mm$ 筛, 2021 年每盆装土 $2\ kg$, 2022 年每盆装土 $4\ kg$ 。该试验为两因素试验, 因素 1 是氮水平, 设置了 5 个氮梯度 ($N\ 0$ 、25、50、100、150 mg/kg), 记作 $N0$ 、 $N25$ 、 $N50$ 、 $N100$ 和 $N150$; 因素 2 是品种, 共 10 个苜蓿品种 (表 1); 试验重复 4 次。每盆播种 16 粒, 于苜蓿 3 个复叶时期苗至每盆 4 株。尿素于间苗后施入, 其他肥料养分作底肥一次性均匀混入土壤。对于参比植物羊草, 以同样的土壤、肥料和种子粒数单独种植^[15], 4 次重复, 在同一个防雨棚内随机放置。苜蓿与羊草盆均定期调换位置以消除边际效应, 施肥、间苗和采样均同期处理, 所有种植管理相同, 以确保苜蓿和羊草所利用的土壤与肥料氮源及其时空条件一致。地上部采样均于苜蓿花期进行, 2021 年 5 月 23 日播种, 生长较缓慢, 仅采样 1 次, 于种植 100 d 进行; 2022 年 5 月 25 日播种, 种植 60 和 100 d 分别采样 1 次。根瘤采样均于 100 d 地上部采样后进行。

1.2.2 指标测定

地上部生物量: 距离土壤表面约 $3\ cm$ 剪下地上部分, 将鲜样进行 $105^\circ C$ 杀青 $30\ min$, 恒温 $65^\circ C$ 烘干至恒重, 称重。

根瘤数和根瘤重: 将根系置于细筛上冲洗, 摘取根瘤并计数, 洗净根瘤用吸水纸吸干水分后装入保鲜袋, 用电子天平称根瘤鲜重, 计算单株根瘤数

和根瘤鲜重。

地上部全氮含量：用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮，凯氏定氮法测定。

地上部 ^{15}N 自然丰度 ($\delta^{15}\text{N}$)：用同位素质谱仪测定。

1.2.3 计算公式

按 $\delta^{15}\text{N}$ 法公式计算固氮率^[22]和固氮量。

$$\text{固氮率}(\%Ndfa) = \frac{\delta^{15}N_{\text{reference plant}} - \delta^{15}N_{\text{alfalfa}}}{\delta^{15}N_{\text{reference plant}} - B}$$
 (1)

式中， $\delta^{15}N_{\text{reference plant}}$ 指参比植物羊草的 $\delta^{15}\text{N}$ ， $\delta^{15}N_{\text{alfalfa}}$ 指苜蓿的 $\delta^{15}\text{N}$ ，B 指无氮栽培下的苜蓿 $\delta^{15}\text{N}$ ，本研究使用前人研究得出的 -0.68‰ ^[22]。

$$\text{固氮量}(Ndfa) = \%Ndfa \times M_{\text{alfalfa}} \times N_{\text{alfalfa}}$$
 (2)

式中， M_{alfalfa} 是指苜蓿干物质生物量， N_{alfalfa} 是指苜蓿全氮含量。

粗蛋白含量 (%) 估计为全氮含量 (%) $\times 6.25$ ^[23]。

1.2.4 数据分析

数据经 Excel 2021 处理后，采用 SAS 9.4 对不同品种和不同施氮量处理的地上部生物量、粗蛋白含量、根瘤数、根瘤重、固氮率和固氮量进行双因素有交互作用的方差分析，并采用 Duncan 多重比较进行 0.05 水平上的显著性差异检验，使用 Origin 2023 制图。

2 结果与分析

2.1 施氮量对不同品种苜蓿地上部生物量及粗蛋白含量的影响

2.1.1 施氮量对不同品种苜蓿地上部生物量的影响

由图 1 可知，施氮量对苜蓿地上部生物量影响

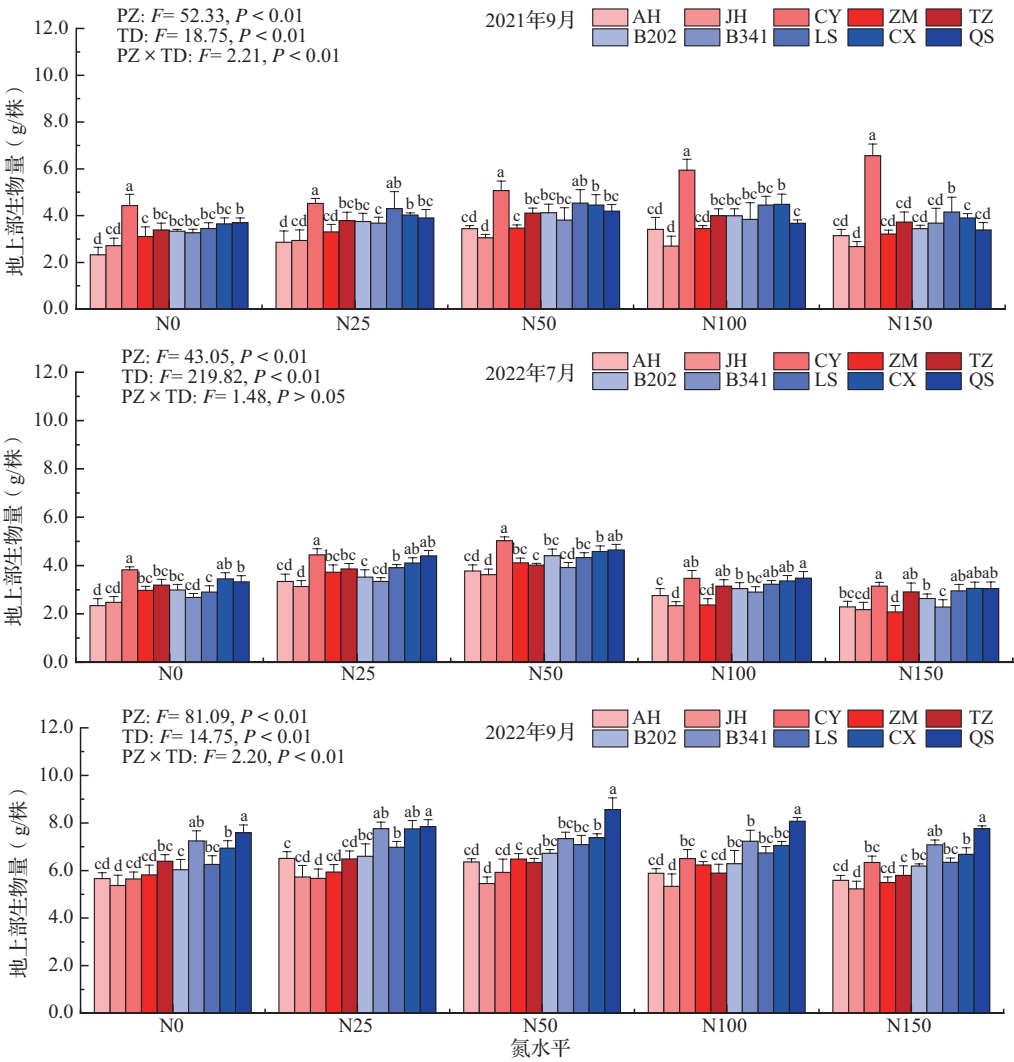


图 1 不同施氮量处理的不同品种苜蓿的地上部生物量

注：PZ 为苜蓿品种，TD 为氮水平。柱上不同字母表示相同氮水平下品种间差异显著 ($P<0.01$)。下同。

显著 ($P<0.01$), 不同施氮量处理下, 所有品种生物量总体趋势为单峰曲线变化, N50 处理达峰值; 不同品种苜蓿生物量差异显著 ($P<0.01$)。相同施氮量处理下, 超新星具有显著优势, 其 3 次生物量均较高, 而金皇后显著低于超新星, 差值为 $0.9 \sim 2.1$ g/株, 差幅达 $26.1\% \sim 28.8\%$, 草原 2 号 3 次采样表现不一, 生物量不稳定。同一品种不同施氮量处理下, 氮梯度间差距较大的品种有草原 2 号、绿思乐和敖汉, 差值接近, 在 $0.5 \sim 1.1$ g/株之间; 差距最小的是金皇后, 为 $0.2 \sim 0.5$ g/株。2021 年 9 月和 2022 年 9 月的施氮量和品种交互作用对苜蓿生物量的影响显著 ($P<0.01$), 2022 年 7 月的影响不显著 ($P>0.05$)。超新星、佰苜

202、骑士 T、佰苜 341 和绿思乐 5 个品种在各氮梯度下的生物量均显著高于其他品种, 适宜施氮量处理下最高, 超新星等在 $3.3 \sim 8.6$ g/株之间, 其他 5 个品种在 $2.8 \sim 6.5$ g/株之间。高和低 2 个品种类群平均生物量差幅进行对比, 2022 年 7 月为 $4.7\% \sim 11.0\%$, 类群之间仅在该次采样的 N100 ~ 150 处理下的差幅高于 N0 ~ N50 处理; 2021 年 9 月为 $0.4\% \sim 1.2\%$, 2022 年 9 月为 $16.0\% \sim 16.7\%$, 这 2 次采样类群差幅在高氮和无氮及低氮处理间无显著差异。

2.1.2 施氮量对不同品种苜蓿地上部粗蛋白含量的影响

图 2 结果表明, 施氮量对苜蓿粗蛋白含量影响

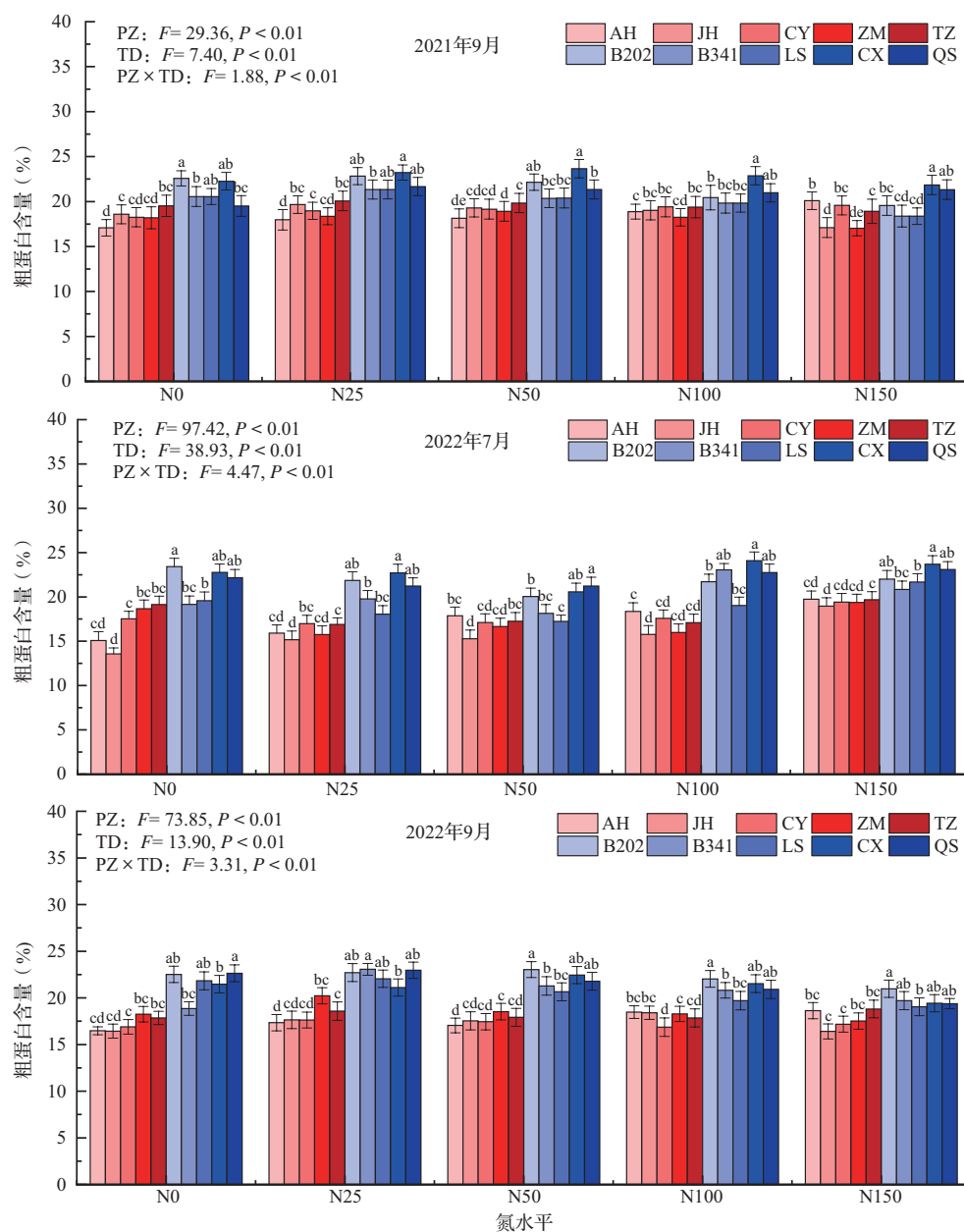
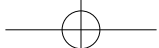


图 2 不同施氮量处理的不同品种苜蓿的粗蛋白含量



显著 ($P<0.01$), 不同施氮量处理下, 粗蛋白含量在不同茬次间变化趋势不同。2021 年 N25 处理下最高, N150 处理下最低; 2022 年第一茬高氮处理下高于无氮和低氮处理, N150 处理下最高, N50 处理生物量最高、粗蛋白含量最低, 出现稀释现象; 第二茬随施氮量增加呈先增加后降低的趋势, N25 处理下最高, N150 最低。综合分析, N25 处理更有利于生物量和粗蛋白含量同步提升。品种间苜蓿粗蛋白含量差异显著 ($P<0.01$), 相同施氮量处理下, 超新星、佰苜 202、骑士 T、佰苜 341 和绿思乐 5 个品种 (以下称超新星等 5 个品种) 粗蛋白含量在各氮梯度均显著高于其他品种, 在 18.0% ~ 23.2% 之间, 其他品种在 15.2% ~ 20.2% 之间。同一品种不同施氮量处理下, 各品种粗蛋白含量的梯度间总体差值在 0.1% ~ 5.4% 之间, 差值较大的品种是金皇后、敖汉, 分别为 0.1% ~ 5.4% 和 0.6% ~ 4.6%, 超新星等 5 个品种在 0.3% ~ 3.6% 之间。品种和施氮量对粗蛋白含量的交互影响显著 ($P<0.01$), 粗蛋白含量的最高值, 超新星等 5 个品种有 73.3% 在 N0 ~ N50 处理下获得, 其他品种有 66.7% 在 N100、N150 处理下获得。高和低 2 个品种类群平均粗蛋白含量差幅比较, 2022 年 7 月为 18.0% ~ 19.2%, 差幅仅在该次采样时无显著氮梯度差异; 2021 年 9 月为 7.8% ~ 12.9%, 2022 年 9 月为 12.3% ~ 19.1%, 这 2 次采样类群间差幅均为 N0 ~ N50 处理下显著高于 N100 ~ 150 处理。

2.2 施氮量对不同品种苜蓿根瘤特性和固氮效率的影响

2.2.1 施氮量对不同品种苜蓿根瘤特性的影响

施氮量对根瘤数、根瘤重影响极显著 ($P<0.01$)。如图 3 所示, 不同施氮量处理下, N25 和 N50 处理下结瘤最佳, N100 处理开始对结瘤产生抑制, 根瘤重较根瘤数降低更多, 氮浓度越高, 降幅越大。品种间根瘤数、根瘤重差异极显著 ($P<0.01$), 相同施氮量处理, 不同品种结瘤响应不同, N50 处理下, 超新星、佰苜 202 和骑士 T 的根瘤数和根瘤重最佳, 为 41.0 ~ 56.1 个/株和 0.21 ~ 0.51 g/株; N25 处理下, 佰苜 341 和绿思乐最佳, 为 10.3 ~ 37.4 个/株和 0.08 ~ 0.40 g/株, 上述 5 个品种显著高于其他品种, 其中, 超新星、佰苜 202 和骑士 T 在 N100 和 N150 处理下仍有结瘤。品种和施氮量对结瘤的交互影响极显著 ($P<0.01$),

超新星、佰苜 202、骑士 T、佰苜 341 和绿思乐在各施氮梯度下的根瘤数和根瘤重均高于其他品种。

2.2.2 施氮量对不同品种苜蓿固氮效率的影响

由表 2 可知, 不同施氮量处理下, 2021 年 9 月, 佰苜 202、超新星和骑士 T 的固氮率在 N50 处理下最高, 其他品种 N25 处理下最高且 N50 处理显著下降; 2022 年 7 月, 10 个品种均为 N0 处理下最高, 随施氮量增加逐渐下降, N50 处理下全部品种均大幅下降; 2022 年 9 月为第二茬收获, 超新星、佰苜 341 和佰苜 202 在 N50 处理下最高, 其他品种在 N25 处理下最高, 各氮梯度的固氮率显著高于第一茬, 且 N25、N50 处理增幅最大。总体上, N0 处理固氮率仅次于 N25、N50, N100 开始产生抑制, N150 处理下大部分品种固氮率为 0。相同施氮量处理下, 品种间在 N50 处理下差异最大, 超新星、佰苜 202、骑士 T、佰苜 341 和绿思乐 5 个品种的固氮率高于其他品种, 2021 年为 55.6% ~ 82.3%, 其他品种为 23.1% ~ 40.0%; 2022 年第一茬为 34.2% ~ 60.2%, 其他品种为 15.7% ~ 43.3%; 2022 年第二茬为 79.8% ~ 100%, 其他品种为 65.1% ~ 70.2%。

固氮量在不同施氮量处理下以 N25 处理最高 (表 3), 且于 2022 年第二茬显著增加 (较第一茬增加 20.0 ~ 34.7 mg/株), N50 处理的固氮量在 2022 年第一茬 (除骑士 T 的 N50 高于 N0 外) 低于 N0, 第二茬高于 N0。相同施氮量处理下, 超新星、佰苜 202、骑士 T、佰苜 341 和绿思乐 5 个品种显著高于其他品种, 最高固氮量的 N25 处理下, 2 个类群的固氮量差值在 2021 年 9 月为 11.5 ~ 15.7 mg/株, 2022 年 7 月为 42.4 ~ 59.8 mg/株, 2022 年 9 月为 30.8 ~ 75.0 mg/株; 最低固氮量的 N100 处理下, 超新星、佰苜 202、骑士 T 仍有分别占其单株最高值 36.3%、32.2%、29.7% 的固氮量。总之, 品种和施氮量及其交互对固氮率和固氮量的影响均极显著 ($P<0.01$), 固氮效率显著影响生物量和粗蛋白含量。固氮效率对施氮量响应在茬次间差异显著, 第一茬 N0 处理下最高, 第二茬或仅收获 1 茬时 N25、N50 处理下最高, 粗蛋白含量与之呈正相关变化。在 N0 ~ N50 处理下, 高固氮效率品种的生物量和粗蛋白含量比低固氮率品种分别高 1.2% ~ 16.7% 和 12.9% ~ 19.2%。

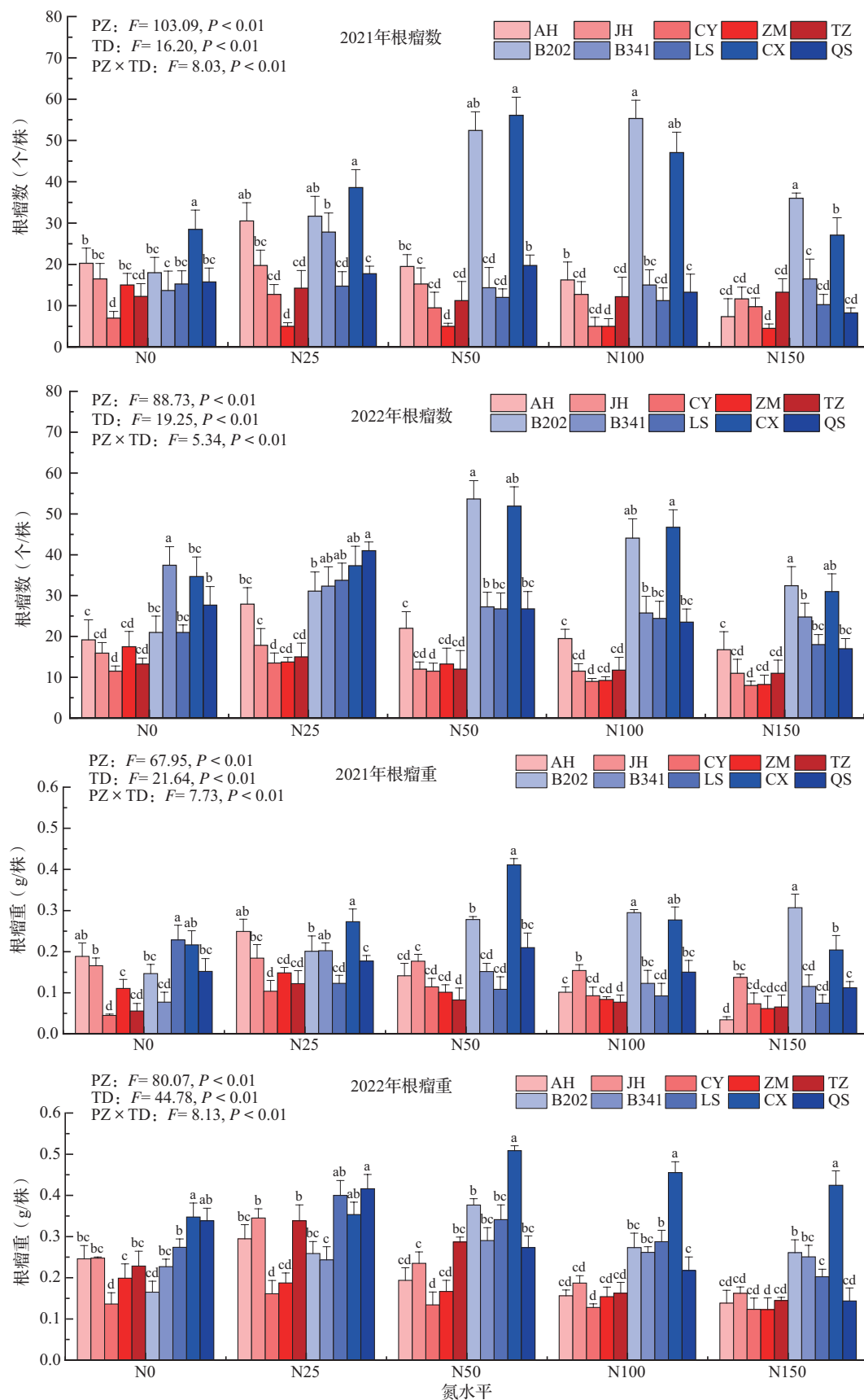


图3 不同施氮量处理的不同品种苜蓿的根瘤数和根瘤重

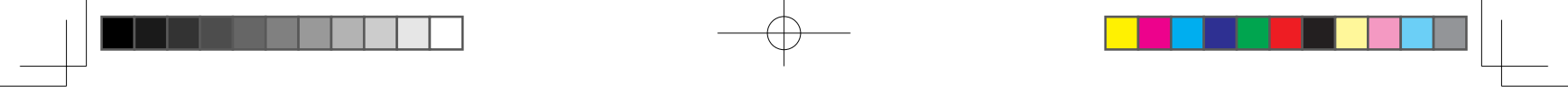


表 2 不同施氮量处理的不同品种苜蓿的固氮率（%）						
时间	品种	N0	N25	N50	N100	N150
2021 年 9 月	CY	61.3 ± 1.8ABe	65.4 ± 1.9Ad	33.1 ± 1.6Bde	11.5 ± 1.8Ccd	0
	AH	68.8 ± 2.3Ac	62.4 ± 1.9ABde	23.1 ± 1.6Be	0	0
	ZM	64.0 ± 1.6ABde	70.2 ± 1.8Ac	36.2 ± 2.0Bde	20.5 ± 2.0Cbc	0
	B341	75.4 ± 2.0ABb	78.2 ± 1.6Aab	55.6 ± 1.9Bbc	12.5 ± 0.5Ccd	0
	B202	77.6 ± 2.3ABa	80.2 ± 2.0ABa	82.5 ± 2.4Aa	45.5 ± 2.2Bab	22.2 ± 0.4Cb
	JH	65.3 ± 1.8ABd	70.3 ± 2.5Ac	30.1 ± 2.0Bde	15.2 ± 1.9Cc	0
	TZ	65.5 ± 2.0Acd	66.3 ± 1.9Acd	40.0 ± 0.3Bd	24.3 ± 0.5Cb	0
	LS	72.0 ± 1.7ABbc	75.1 ± 1.8Ab	56.5 ± 0.6Bb	20.0 ± 2.2Cbc	0
	CX	77.4 ± 2.5Bab	79.6 ± 2.2ABa	82.4 ± 1.8Aa	55.5 ± 2.2Ca	30.0 ± 1.2Da
	QS	76.4 ± 2.1ABab	79.3 ± 1.8ABab	80.2 ± 1.8Aab	47.2 ± 2.5Bab	28.4 ± 2.0Cab
2022 年 7 月	CY	47.8 ± 1.1Ade	36.4 ± 1.7Bde	20.5 ± 1.6Cde	0	0
	AH	43.1 ± 1.3Ae	32.2 ± 1.5Be	19.2 ± 0.5Ce	0	0
	ZM	57.7 ± 1.8Ac	48.2 ± 1.3Bcd	15.7 ± 1.5Ccd	21.3 ± 2.2Dbc	0
	B341	68.4 ± 1.1Abc	66.2 ± 1.7ABab	48.0 ± 1.6Bb	7.4 ± 0.3Dcd	0
	B202	78.3 ± 1.3Aa	65.4 ± 1.5Bb	53.1 ± 0.5Cab	32.3 ± 0.2Da	14.5 ± 0.5Eb
	JH	52.3 ± 1.8Ad	40.7 ± 1.3Bd	25.6 ± 1.5Cd	6.8 ± 2.2Dcd	0
	TZ	57.7 ± 1.6Ac	50.2 ± 1.6ABc	43.2 ± 1.8Bbc	14.2 ± 1.3Cc	0
	LS	73.1 ± 2.1Ab	72.5 ± 1.8ABab	34.2 ± 1.6Bcd	19.0 ± 1.7Cbc	0
	CX	76.1 ± 1.6Aab	75.1 ± 1.6Aba	41.1 ± 1.9Bc	23.0 ± 1.7Cb	16.7 ± 1.7CDa
	QS	75.4 ± 1.3Aab	70.7 ± 2.1ABab	60.2 ± 2.4Ba	31.1 ± 2.1Cab	10.1 ± 1.6Dc
2022 年 9 月	CY	65.9 ± 1.5Bde	74.4 ± 1.6Ac	67.6 ± 1.4ABcd	8.8 ± 0.4Cde	0
	AH	73.4 ± 1.7Acd	70.2 ± 1.6ABcd	65.5 ± 1.8Bd	10.9 ± 0.3Cde	9.0 ± 0.3CDc
	ZM	75.1 ± 1.9Ac	68.2 ± 2.4Bcd	70.2 ± 1.7ABc	17.4 ± 2.0Cd	0
	B341	89.5 ± 1.7ABa	90.7 ± 2.1ABab	98.3 ± 1.3Aab	23.7 ± 1.4Bc	0
	B202	79.9 ± 1.0BCbc	86.2 ± 2.0Bbc	100.0 ± 0.6Aa	42.9 ± 2.0Cab	30.6 ± 1.9Dab
	JH	68.7 ± 1.8ABd	76.7 ± 2.2Abc	68.1 ± 1.9Bcd	19.2 ± 1.7Ccd	0
	TZ	65.4 ± 1.5ABe	68.2 ± 1.0Ad	67.1 ± 2.1ABcd	8.2 ± 0.1Ae	0
	LS	85.5 ± 1.4ABab	93.3 ± 1.9Aab	84.4 ± 2.0Bb	43.5 ± 1.9Ca	23.8 ± 0.3Db
	CX	84.8 ± 2.0BCab	86.6 ± 2.1Bb	99.6 ± 0.9Aa	42.0 ± 1.8Cab	33.4 ± 1.4CDa
	QS	80.7 ± 2.0Bb	96.3 ± 2.0Aa	78.7 ± 2.1BCbc	30.8 ± 2.0Cb	19.0 ± 0.9CDbc

注：同列数值后不同小写字母表示相同时间、相同施氮量下不同品种的差异显著（ $P<0.01$ ）；同行数值后不同大写字母表示同一品种不同施氮量下差异显著（ $P<0.01$ ）。下同。

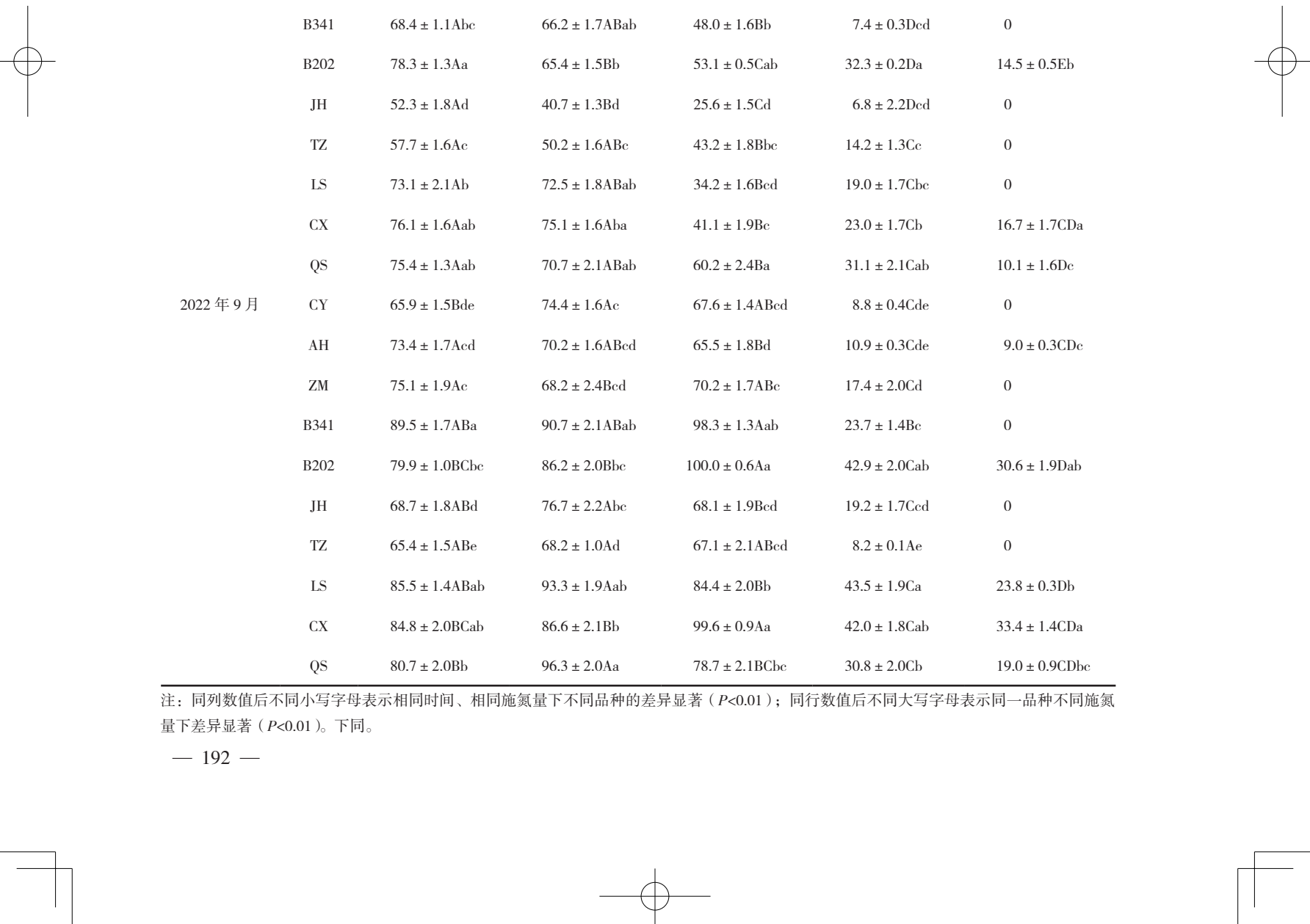




表 3 不同施氮量处理的不同品种苜蓿固氮量 (mg/株)

时间	品种	N0	N25	N50	N100	N150
2021 年 9 月	CY	27.5 ± 2.6Bbc	33.6 ± 1.4Abc	17.9 ± 1.5Cd	7.1 ± 0.8Dd	0
	AH	13.6 ± 1.5ABe	15.8 ± 1.8Ade	6.6 ± 0.7Be	0	0
	ZM	17.1 ± 1.6ABde	20.8 ± 1.7Ad	11.2 ± 0.8Bde	6.2 ± 0.6Cde	0
	B341	31.8 ± 3.3ABab	35.7 ± 2.6Abc	25.2 ± 1.8Bed	5.6 ± 0.7Cde	0
	B202	29.7 ± 2.1Bbc	41.3 ± 4.6ABb	43.4 ± 4.5Aab	19.3 ± 0.8Cbc	0
	JH	20.7 ± 2.0Bd	30.3 ± 3.2Ac	11.1 ± 1.1Cde	5.1 ± 0.9CDde	0
	TZ	25.3 ± 2.0Ac	25.1 ± 1.6ABed	16.0 ± 2.0Bde	8.9 ± 0.6Ced	0
	LS	31.4 ± 2.8ABb	31.5 ± 3.6Abc	26.5 ± 2.1Be	8.9 ± 0.8Ce	0
	CX	36.4 ± 4.2Ba	45.1 ± 3.2ABa	50.4 ± 4.3Aa	31.9 ± 1.6BCa	14.2 ± 1.0Da
	QS	29.5 ± 2.5BCbc	33.8 ± 1.8Bbc	39.8 ± 4.2Ab	21.1 ± 1.5Cb	12.3 ± 1.1Dab
2022 年 7 月	CY	51.2 ± 1.7Ac	43.7 ± 1.1Bde	28.4 ± 2.7Cde	0	0
	AH	24.2 ± 2.0ABde	27.5 ± 2.6Ae	20.7 ± 1.7Be	0	0
	ZM	51.3 ± 4.9Abc	45.4 ± 5.0ABde	39.3 ± 4.4Bd	12.8 ± 1.5Ced	0
	B341	55.8 ± 4.9Bbc	69.9 ± 3.5Ac	55.2 ± 4.9BCc	7.9 ± 0.5Cd	0
	B202	87.7 ± 8.0Aab	80.5 ± 7.7ABbc	75.0 ± 6.8Bb	34.5 ± 3.2Cab	13.4 ± 1.2Db
	JH	28.3 ± 2.8ABd	30.6 ± 1.2Ade	22.7 ± 2.2Bde	4.0 ± 0.3Cde	0
	TZ	56.6 ± 4.7Abc	52.4 ± 4.0ABd	48.3 ± 4.3ABed	12.3 ± 1.7Bed	0
	LS	65.0 ± 6.4Bb	81.8 ± 5.0Ab	40.7 ± 2.2Ced	18.5 ± 0.4De	0
	CX	95.9 ± 9.4Ba	112.2 ± 8.5Aa	62.0 ± 6.7Cbc	30.0 ± 2.7Db	19.6 ± 2.3DEa
	QS	88.6 ± 7.8Bab	105.9 ± 9.4Aab	95.0 ± 9.5ABa	39.1 ± 3.2Ca	11.2 ± 0.6Dbc
2022 年 9 月	CY	51.3 ± 4.5Bde	71.7 ± 4.8Acd	68.9 ± 7.1ABd	9.1 ± 1.4Cde	3.8 ± 0.1CDde
	AH	55.0 ± 5.3Bde	71.8 ± 6.8Acd	52.6 ± 5.0BCde	9.2 ± 1.0Cde	7.1 ± 0.4CDd
	ZM	64.5 ± 4.9Ad	64.2 ± 2.9ABd	62.7 ± 4.6ABde	16.7 ± 1.4Bd	0
	B341	99.6 ± 8.7Bab	135.2 ± 6.8Aab	119.5 ± 8.0ABab	29.4 ± 2.3Cc	0
	B202	85.4 ± 6.5BCc	88.5 ± 9.4Be	120.3 ± 8.7Aab	45.9 ± 3.9Cab	29.6 ± 1.2Db
	JH	50.0 ± 5.3ABe	57.7 ± 6.3Ae	47.5 ± 4.5Be	16.1 ± 2.1Cde	0
	TZ	53.7 ± 1.5Bde	60.1 ± 6.0Ade	55.0 ± 5.5ABde	6.3 ± 0.5Ce	0
	LS	96.8 ± 5.8Bb	111.8 ± 11.9Ab	98.0 ± 4.9ABc	46.0 ± 2.7Cab	22.6 ± 0.8Dcd
	CX	106.5 ± 10.2Bab	109.1 ± 8.9ABbc	129.5 ± 7.7Aa	51.4 ± 4.2Ca	35.6 ± 1.0Da
	QS	113.6 ± 6.9ABa	146.8 ± 4.2Aa	112.6 ± 10.8Bb	39.2 ± 2.7Cb	23.7 ± 2.7CDc

2.3 苜蓿结瘤固氮指标间及其与地上部生物量、全氮含量等指标的相关性

相关性分析 (图 4) 结果表明, 苜蓿的地上部生物量与粗蛋白含量、固氮量之间呈极显著的正相关, 粗蛋白含量、固氮率及固氮量与根瘤数、根瘤重呈极

显著正相关。而 $\delta^{15}\text{N}$ 与根瘤数、根瘤重、固氮率和固氮量呈显著或极显著负相关。因此, 根瘤数和根瘤重可以反映固氮能力, 固氮指标与生物量增长和粗蛋白含量提升密切相关, 上述指标可作为筛选高固氮效率和高生物量、高粗蛋白含量品种的依据。

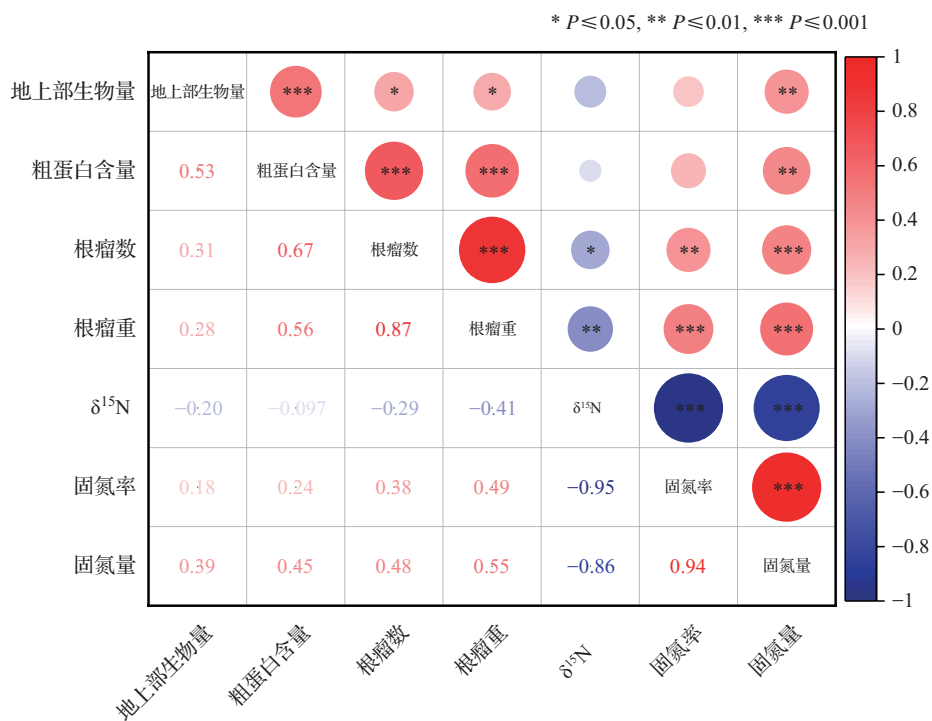


图4 苜蓿结瘤及固氮指标与生物量和粗蛋白含量的相关性矩阵图

3 讨论

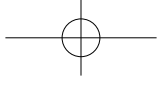
3.1 施氮量对不同品种苜蓿地上部生物量及粗蛋白含量的影响

苜蓿茎叶产量和粗蛋白含量是决定其饲用营养品质和经济价值的重要指标^[24]，氮素是产量最敏感的营养^[25]，而氮含量可以反映品种氮效率差异^[26]。本研究发现，适量施氮处理的生物量和粗蛋白含量高于不施氮，生物量过快增长时粗蛋白含量降低；过高施氮则生物量和粗蛋白含量整体降低，这与其他研究的结论基本一致^[3, 27-28]，5个氮梯度下10个品种均表现为不施氮或过量施氮不利于固氮和生长^[11, 29-30]。原因在于，施氮有助于叶片光合面积和光合速率协同改进从而促进干物质积累，氮缺乏影响光合产物同化^[31]；而过多的氮素在同化过程中消耗大量碳水化合物会抑制植株生长发育，同时抑制根系发育和结瘤，降低土壤水分和养分吸收，最终都会导致产量降低^[3, 17, 29]。本研究还发现，固氮率不同，生物量和粗蛋白积累趋势不同，N50处理下生物量最高，但在第一茬的固氮率未达到50%以上时，生物量快速增长导致粗蛋白稀释，其他研究中有同样的发现^[32-33]，这与植株过度生长造成单个枝条分配的氮素减少有关^[34]；当第二茬固氮率增加到80%~100%时，较高固氮

效率品种的粗蛋白含量增幅最大含量最高，与此对比，高施氮量下（固氮率仅为4%~17%）则增幅最小且含量降低^[24, 35]，表明根瘤固氮优势逐渐显现，增加了有效氮营养供给^[36]。与高浓度外源氮对生长和氮素积累的抑制不同，较高的根瘤供氮与适量外源氮协同可促进生物量和粗蛋白含量同步提升。王静等^[10]的研究也发现，氮高效品种苜蓿LW6010的生物量和氮积累量显著高于氮低效品种金皇后，且在适宜氮梯度下更高，LW6010的总根长、根体积、根尖数和根瘤数等指标在210 mg/L处理下显著高于金皇后，但在高氮梯度下（420 mg/L）则相反，表明根系和结瘤特性与苜蓿生物量和氮积累密切相关，品种间氮肥报酬率及其对不同施氮量响应的敏感度有显著差异^[10, 37-38]，这正是在探究节氮栽培品种筛选方面应当重视的突破口之一。

3.2 施氮量对不同品种苜蓿结瘤特性和固氮效率的影响

根瘤固氮特性是衡量豆科植物氮效率的重要组成部分^[39]，有研究发现根瘤数和根瘤重是苜蓿氮效率的最大影响因素^[10]。不同品种苜蓿在不同施氮量处理下，因异黄酮产生的种类和数量不同而影响其结瘤率和固氮潜力，进而使产量和氮积累产生显著差异^[8]。本研究适宜施氮量处理下苜蓿结瘤



最好^[12, 40], 适量施氮促进苜蓿根系发育, 增强营养吸收能力, 为根瘤菌侵染和结瘤提供了充分的物质条件^[41], 而过量施氮使根尖受损导致根瘤无法着生^[18], 甚至有报道 N 160 mg/kg 就对结瘤具有毒性^[42], 且随供氮浓度和时间增加, 共生体细胞结构被破坏^[43]。本研究发现, 总体上根瘤数与根瘤重呈正相关关系, 但 N50 处理根瘤数减少根瘤重增加, 说明在最佳结瘤状态时促进根瘤数增加比根瘤重增长的氮素阈值低^[44]。不同处理间结瘤效果和固氮效率的趋势基本一致, 结瘤能力强的品种固氮效率高。本研究测定的羊草 $\delta^{15}\text{N}$ 值随施氮量增加而增加, 均为正值, 苜蓿的 $\delta^{15}\text{N}$ 值随施氮量增加逐渐由负值变为正值, 相应的固氮率逐渐降低^[18], 与结瘤对施氮响应一致, 固氮抑制随施氮量增加而加重^[29, 40], 固氮率在第二茬无氮处理下最高, 第二茬在适宜氮处理下最高, 且各梯度固氮率均显著高于第一茬, 表明增加施氮量与无氮处理相比固氮延迟^[19, 40], 且氮肥利用后浓度降低减轻了对固氮的抑制^[45]。本研究发现, 较高固氮效率品种的固氮率、固氮量、生物量和粗蛋白含量均高于其他品种, 且在适宜氮梯度下最高, 这与其他研究的固氮量和产量不随施氮量改变的结论不完全一致^[12-13, 15]。究其原因, 虽然兼性营养策略使苜蓿在不同氮梯度下两种氮源此消彼长, 有时会保持相同量的氮营养供应, 但由于品种对氮源转换阈值的反映不同, 使得固氮效率高的品种对两种氮源的利用充分协调, 外源氮能被快速高效吸收, 产生的低氮环境及时诱导结瘤并促进根瘤生长, 氮素供应和需求平衡协调, 提高了植株对氮素的总体利用效率^[46-47]。

3.3 施氮和固氮对不同品种苜蓿地上部生物量及粗蛋白含量的调控

苜蓿是固氮量最高的饲料豆科植物, 但固氮率变异性很大, 不同品种固氮量主要由植株生长及其氮需求驱动, 而生长受地理位置和土壤气候条件影响较大, 导致同一品种在不同生长条件下固氮率差异也很大^[48], 因此, 针对环境筛选固氮潜力较大的品种对人工苜蓿草地经济和生态效益提升至关重要。大部分研究发现, 地上部生物量与固氮量和氮素积累量呈正线性相关关系^[5, 49-50], 本研究与此基本一致, 但由于苜蓿产量和品质提升存在权衡^[51], 本研究发现生物量和粗蛋白含量的积累关系在氮梯度间和品种间均存在显著的差异, 受施氮和固氮共同调

控。总体来看, 无氮处理生物量和粗蛋白含量较适量氮处理低, 但高于高氮处理, 高氮处理粗蛋白略高于无氮处理但生物量较低。适量氮处理下, 在固氮效率较低时主要促进生物量增长, 生物量增长过高过快则粗蛋白含量降低, 随固氮效率增强则生物量与粗蛋白含量可同步提升, 这可能是根瘤供氮增加后, 通过调节茎叶比而平衡生物量和整体营养价值的结果, 固定氮更有利于叶比例和粗蛋白含量提高^[52]。品种间产量和品质的权衡效果不同, 较高固氮率品种可以比其他品种积累更多的干物质, 且同化转化为粗蛋白的比例更大, 地上部生物量和粗蛋白含量在低氮水平处理下可平衡提升, 较低固氮率品种粗蛋白含量提升则依赖更高的施氮量, 这是植株生长特性驱动固氮的结果, 一方面, 具有更高茎生长和氮积累的品种, 需要更高的固氮量^[6]; 另一方面, 生长能量需求较少的品种, 更有利于固氮^[49], 固氮增加促进氮素积累。总之, 通过比较地上部生物量和粗蛋白含量及其对施氮和固氮的依赖程度, 发现较高固氮效率品种能够更好地协同发挥外源氮与固氮的营养效应, 生物量和粗蛋白含量可在适量氮水平下平衡提升, 并且显著高于其他施氮水平。

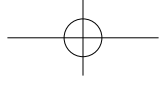
4 结论

施氮对建植当年苜蓿生物量及粗蛋白累积和结瘤固氮的影响极显著, 适量施氮显著促进苜蓿生长和结瘤固氮, 过量施氮反而产生抑制。施氮对固氮调控是一个动态过程, 第一茬苜蓿的固氮能力在 N0 处理下最强, 随施氮量增加逐渐降低, 在 N50 处理下全部品种均大幅下降; 第二茬在 N25、N50 处理下最高, 粗蛋白含量随之呈正相关变化。不同品种间产量及粗蛋白累积和结瘤固氮能力差异极显著, 对施氮和固氮两种氮源的协调利用不同, 高固氮率品种在较低施氮量下即可获得地上部生物量的快速增长, 有利于苜蓿结瘤和固氮潜力充分发挥, 充分生长驱动固氮率提高, 可达 78.7% ~ 100%, 充足的根瘤供氮可使粗蛋白含量与生物量平衡提升; 而低固氮率品种生物量增长水平较低, 最高固氮率仅可达到 65.5% ~ 76.7%, 粗蛋白含量提升依赖更高的施氮量。

参考文献:

- [1] 姚玉波, 张树权, 柴永山, 等. 不同生育期大豆品种氮素积

- 累特性研究[J]. 中国土壤与肥料, 2021 (5): 169-175.
- [2] 魏志标, 柏兆海, 马林, 等. 中国栽培草地氮磷流动空间特征[J]. 中国农业科学, 2018, 51 (3): 535-555.
- [3] Kamran M, Yan Z, Chang S, et al. Enhancing resource use efficiency of alfalfa with appropriate irrigation and fertilization strategy mitigate greenhouse gases emissions in the arid region of Northwest China [J]. Field Crops Research, 2022, 289: 108715.
- [4] 王茜, 纪树仁, 沈益新. 土壤水分和施氮水平对紫花苜蓿苗期生长的互作效应分析[J]. 草业学报, 2017, 26 (12): 48-55.
- [5] Lv Y, Wang J, Yin M. Effects of planting and nitrogen application patterns on alfalfa yield, quality, water-nitrogen use efficiency, and economic benefits in the yellow river irrigation region of Gansu province [J]. China Water, 2023, 15 (2): 251.
- [6] 银敏华, 马彦麟, 康燕霞, 等. 氮素添加对中国苜蓿产量与品质效应的 Meta 分析[J]. 草业学报, 2022, 31 (9): 36-49.
- [7] 童长春, 刘晓静, 吴勇, 等. 内源异黄酮对紫花苜蓿结瘤固氮及氮效率的调控研究[J]. 草业学报, 2022, 31 (3): 124-135.
- [8] 高丽敏, 苏晶, 田倩, 等. 施氮对不同水分条件下紫花苜蓿氮素吸收及根系固氮酶活性的影响[J]. 草业学报, 2020, 29 (3): 130-136.
- [9] 马霞, 王丽丽, 李卫军, 等. 不同施氮水平下接种根瘤菌对苜蓿固氮效能及种子生产的影响[J]. 草业学报, 2013, 22 (1): 95-102.
- [10] 王静, 刘晓静, 童长春, 等. 不同紫花苜蓿品种的氮效率比较及差异机制研究[J]. 草地学报, 2022, 30 (4): 889-900.
- [11] 撒多文, 贾玉山, 格根图, 等. 不同苜蓿品种根瘤菌接种对其蛋白含量的影响[J]. 中国草地学报, 2020, 42 (2): 124-129.
- [12] Xie K, Li X, He F, et al. Effect of nitrogen fertilization on yield, N content, and nitrogen fixation of alfalfa and smooth brome grass grown alone or in mixture in greenhouse pots [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2015, 14 (9): 1864-1876.
- [13] Kozyreva M Y, Basieva L Z. The nitrogen consumption by alfalfa crops depending on the nitrogen nutrition pattern [J]. Volga Region Farmland, 2020, 3 (7): 37-41.
- [14] Oliveira W, Oliveira P, Corsi M, et al. Alfalfa yield and quality as function of nitrogen fertilization and symbiosis with *Sinorhizobium meliloti* [J]. Sci Agric (Piracicaba, Braz.), 2004, 61 (4): 433-438.
- [15] Wang Y, Muqier H, Bu D, et al. Nitrogen addition results in *Medicago sativa* switching nitrogen sources [J]. Plant Ecology & Diversity, 2021, 14 (3-4): 183-194.
- [16] 吴永成, 李梦颖, 杨云飞, 等. 光叶紫花苕生物固氮能力及其还田氮素对玉米的当季有效性[J]. 华北农学报, 2019, 34 (增刊): 183-189.
- [17] Guinet M, Nicolardot B, Revellin C, et al. Comparative effect of inorganic N on plant growth and N_2 fixation of ten legume crops: towards a better understanding of the differential response among species [J]. Plant and Soil, 2018, 432: 207-227.
- [18] 钱政成, 乌日汗, 赵晓园, 等. 草牧业高质量发展背景下的内蒙古草业科技进步贡献率测算[J]. 草地学报, 2023, 31 (3): 642-648.
- [19] 文明, 永海. 内蒙古畜牧业高质量发展现状、面临的挑战及对策研究[J]. 内蒙古社会科学, 2022, 43 (2): 205-212.
- [20] 赵力兴, 徐蔚军, 温丽, 等. 内蒙古兴安盟地区 34 个紫花苜蓿品种营养价值比较研究[J]. 畜牧与饲料科学, 2021, 42 (6): 63-67.
- [21] 李迎, 王晓龙, 王雪婷, 等. 内蒙古中部地区不同苜蓿品种生产性能评价[J]. 中国草地学报, 2022, 22 (9): 39-46.
- [22] Unkovich M, Herridge D, Peoples M, et al. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems [M]. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research, 2003: 333-340.
- [23] Ferreira J, Cornacchione M, Liu X, et al. Nutrient composition, forage parameters, and antioxidant capacity of alfalfa (*Medicago sativa* L.) in response to saline irrigation water [J]. Agriculture, 2015, 5: 577-597.
- [24] 王丹. 施氮对紫花苜蓿生产性能及土壤氮含量的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2013.
- [25] 庄恒扬, 叶迎, 赵考诚, 等. 作物临界氮浓度稀释模型研究述评[J]. 中国土壤与肥料, 2022 (1): 220-229.
- [26] Liu X, Zhao Y, Hao F. Development of nitrogen efficiency screening system in alfalfa (*Medicago sativa* L.) and analysis of alfalfa nitrogen efficiency types [J]. Peer J, 2022, 10: e13343.
- [27] 韩颜隆, 刘晓静, 王静, 等. 施氮对不同品种紫花苜蓿根系特性和生产性能的影响[J]. 草地学报, 2022, 30 (2): 379-384.
- [28] Hakl J, Kunzov E, Tocauerov S, et al. Impact of long-term manure and mineral fertilization on yield and nutritive value of lucerne (*Medicago sativa*) in relation to changes in canopy structure [J]. Eur J Agron, 2021, 123: 126219.
- [29] Zhao Y, Liu X, Tong C, et al. Effect of root interaction on nodulation and nitrogen fixation ability of alfalfa in the simulated alfalfa/triticale intercropping in pots [J]. Scientific Reports, 2020, 10 (1): 4269.
- [30] 王静, 刘晓静, 程甜甜, 等. 不同氮效率紫花苜蓿叶特征及其产量效应研究[J]. 草地学报, 2021, 29 (9): 1942-1949.
- [31] 孙延亮, 赵俊威, 刘选帅, 等. 施氮对苜蓿初花期光合日变化、叶片形态及干物质产量的影响[J]. 草业学报, 2022, 31 (9): 63-75.
- [32] 张玉琪, 马源, 文铜, 等. 祁连山东缘高寒草甸植物及各部位对氮素添加的响应[J]. 草地学报, 2021, 29 (8): 1628-1636.



- [33] 张彩虹. 紫花苜蓿品质提升的生物固氮调控过程研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2022.
- [34] 陈玲玲, 程航, 毛培胜, 等. 紫花苜蓿种子生产中临界氮稀释曲线模型的建立与应用[J]. 中国草地学报, 2017, 39(1): 13-18.
- [35] 张昆, 渠晖, 薛峥, 等. 施氮水平对季节性栽培紫花苜蓿饲草干物质产量和品质的影响[J]. 草地学报, 2015, 23(4): 844-849.
- [36] 万里强, 王丹, 何锋, 等. 不同氮素添加水平对紫花苜蓿生长性能的影响[J]. 西南农业学报, 2014, 27(3): 1175-1180.
- [37] Ghasem F, Poustini K, Besharati H, et al. Pre-incubation of *Sinorhizobium meliloti* with luteolin, methyl jasmonate and genistein affecting alfalfa (*Medicago sativa* L.) growth, nodulation and nitrogen fixation under salt stress conditions[J]. Agr Sci Tech, 2012, 14: 1255-1264.
- [38] Ivanova E P, Skaložub O M. Variety and microbial nitrogen-fixing preparations in the yield formation of variegated alfalfa[J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2021, 723(2): 022032.
- [39] Alam F, Bhuiyan M A H, Alam S S, et al. Effect of *Rhizobium* sp. BARIRGm901 inoculation on nodulation, nitrogen fixation and yield of soybean (*Glycine max*) genotypes in gray terrace soil[J]. Bioscience, Biotechnology and Biochemistry, 2015, 79(10): 1660-1668.
- [40] 郝凤. 紫花苜蓿氮效率差异机制与氮营养阶段生育期划分的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2017.
- [41] 刘晓静, 叶芳, 张晓玲. 外源氮素形态对紫花苜蓿不同生育期根系特性的影响[J]. 草业学报, 2015, 24(6): 53-63.
- [42] Vasileva V, Kostov O, Vasilev E, et al. Effect of mineral nitrogen fertilization on growth characteristics of lucerne under induced water deficiency stress[J]. Pak J Bot, 2011, 43(6): 2925-2928.
- [43] 李莎. 大豆同化硝态氮途径及调控结瘤固氮效应研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2021.
- [44] 赵雅姣, 刘晓静, 童长春. 紫花苜蓿/玉米间作对紫花苜蓿结瘤固氮特性的影响[J]. 草业学报, 2020, 29(1): 95-105.
- [45] Naudin C, Corre-Hellou G, Voisin A S, et al. Inhibition and recovery of symbiotic N₂ fixation by peas (*Pisum sativum* L.) in response to short-term nitrate exposure[J]. Plant Soil, 2011, 346: 275-287.
- [46] Wang C, Zheng Y, Shen P, et al. Determining N supplied sources and N use efficiency for peanut under applications of four forms of N fertilizers labeled by isotope ¹⁵N[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2016, 15(2): 432-439.
- [47] 刘文钰, 雍太文, 刘小明, 等. 减量施氮对玉米-大豆套作体系中大豆根瘤固氮及氮素吸收利用的影响[J]. 大豆科学, 2014, 33(5): 705-712.
- [48] Barbieri P, Starck T, Voisin A S, et al. Biological nitrogen fixation of legumes crops under organic farming as driven by cropping management: a review[J]. Agricultural Systems, 2023, 205: 103579.
- [49] Issah G, Schoenau J, Lardner H, et al. Nitrogen fixation and resource partitioning in alfalfa (*Medicago sativa* L.), cicer milkvetch (*Astragalus cicer* L.) and sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) using ¹⁵N enrichment under controlled environment conditions[J]. Agronomy, 2020, 10: 1438.
- [50] Rumyancheva M L, Vladimirova M E, Muntyan V S, et al. Highly effective root nodule inoculants of alfalfa (*Medicago varia* L.): molecular-genetic analysis and practical usage in cultivar selection[J]. Agricultural Biology, 2019, 54(6): 1306-1323.
- [51] Feng Y, Shi Y, Zhao M, et al. Yield and quality properties of alfalfa (*Medicago sativa* L.) and their influencing factors in China[J]. European Journal of Agronomy, 2022, 141: 26637.
- [52] Kozyreva M Y, Basieva L Z, Nagham A N, et al. Growth and development of alfalfa depending on the type of nitrogen nutrition[J]. BIO Web of Conferenes, 2020, 23: 3007.

Regulation of nitrogen application rate on nodulation, nitrogen fixation, yield, and crude protein content of different alfalfa varieties

LIU Yu-han, CHEN Yang*, LI Hai-gang, LU Yong-xin (College of Grassland Resources and Environment, Inner Mongolia Agricultural University/Inner Mongolia Key Laboratory of Soil Quality and Nutrient Resource/Key Laboratory of Agricultural Ecological Security and Green Development at Universities of Inner Mongolia Autonomous, Hohhot Inner Mongolia 010018)

Abstract: Understanding the response of different alfalfa varieties to nitrogen fertilizer application for nodulation and nitrogen fixation, and enhancing the synergy between alfalfa nitrogen fixation ability and yield and quality, are crucial for the production practice of alfalfa nitrogen conservation and efficiency enhancement. In this study, ten alfalfa varieties were used and five nitrogen gradients were set up. By measuring the aboveground biomass, crude protein content, root nodule number, root nodule weight, nitrogen rate and amount fixed from the atmosphere, the effects of nitrogen application on the biomass, crude protein content, and nodule nitrogen fixation of different alfalfa varieties in the year of establishment and their mutual regulatory relationship were explored. The results indicated that there were significant differences in aboveground biomass and crude protein content among different varieties and treatments. The nitrogen fixation efficiency of varieties with higher aboveground biomass and crude protein content, such as Chaoxingxing, Baimu 202, Qishi T, Baimu 341 and Lvsile, was

significantly higher than that of other varieties. The response of nitrogen derived from the atmosphere to nitrogen application rate showed significant differences between two alfalfa cuts. The first cut had the highest response under the N0 treatment, and the second cut or only one cropping had the highest response under N25 and N50 treatments. The crude protein content showed a positive correlation with it. Under N0–N50 treatments, the biomass and crude protein content of high nitrogen fixation efficiency varieties were 1.2%–16.7% and 12.9%–19.2% higher than those of low nitrogen fixation efficiency varieties, respectively. Compared with N100 and N150 treatments, except for the first cut with lower nitrogen derived from the atmosphere, the biomass difference was basically the same, and the crude protein content difference was significantly reduced to 7.8%–12.3%. The crude protein accumulation of low nitrogen fixation efficiency varieties was more dependent on nitrogen application. There was a significant positive correlation between biomass and crude protein content and nodulation nitrogen fixation indicators. In the year of planting, appropriate nitrogen application was beneficial for the coordinated and efficient nitrogen fixation of alfalfa. Five varieties with higher nitrogen fixation efficiency, such as Chaoxinxing, could achieve a balanced increase in biomass and crude protein content under lower nitrogen gradients, and were significantly higher than other varieties. They could be used as excellent varieties for nitrogen-saving cultivation.

Key words: alfalfa varieties; nitrogen application rate; biomass; crude protein content; nodulation and nitrogen fixation; ¹⁵N natural abundance