

陝西武功附近土壤之固氮作用

姚振鎬

(國立西北農學院農業化學系)

(一)引言

武功位於西北之黃土區，本區之土壤一般富含磷鉀而缺乏氮素(1)，肥料之施用在本區甚感不足，趙雲夢曾以附近農民之最高施肥量，每市畝施用堆肥四大車估計，其加入土壤氮質養分之量，仍不足抵償每年種植小麥與玉蜀黍自土壤中吸收之量(2)，而多數農民之施肥尚不足此數。關於土壤中氮質養分之補充，有一公認之事實，即土壤於適當之環境下，可因微生物活動之結果，而固定空氣中之氮素。武功附近之土壤是否有此顯著固定氮素之能力？此能力有無因人工處理而增高之可能？以及土壤中固定氮素之微生物之情形如何？均未見有研究結果發表，爰就上述諸問題作一初步研究。

(二)供試土壤概述

按王文魁(3)之分類，於武功附近不同之地點採取0—20公分之表土，採回之土壤於風乾後過孔徑一公厘之篩，一部供固氮作用試驗之用，一部供pH值，二氧化碳，有機碳及全氮量等化學分析之用。pH值之測定先用火棉膠袋製備純水之土壤浸出液，浸出液中加入適當之指示劑，然後於Hellige比色器上與永久玻璃色片比色(5)；二氧化碳之測定用H. R. Hutchinson及K. Macleanman法(5)，有機碳之測定用Walkley及Black之重鉻酸鉀滴定法(5)，全氮之測定用Srinivasan改良Kjeldhal法(6,5)。茲將所得結果列表於下：

表一 供試土壤概況

號數	採集地點	土類(計)	水份(%)	CO ₂ (%)	pH值	有機碳(%)	N(%)	C/N
一	農院後門外(頭道原)	埋藏栗鈣土	1.25	2.76	8.2	0.75	0.082	9.2
二	農院前一里(二道原)	同上	1.32	2.55	8.0	0.79	0.090	8.8
三	農院西南渭惠渠南岸	棕鈣土	1.34	2.89	8.2	0.90	0.120	8.8
四	農院西南渭河北岸	石灰性棕色沖積土	1.58	2.18	8.2	0.62	0.084	8.6
五	啞柏鎮南秦嶺北坡	中性棕壤	1.47	0.02	7.2	0.80	0.075	10.6
六	啞柏鎮西北河灘	水稻土	1.40	2.72	8.4	0.96	0.093	10.3

(註)根據王文魁分類法(3)

由上表若將CO₂及有機碳之百分率改算為CaCO₃及有機質之百分含量，則各供試土CaCO₃之含量除中性棕壤外餘均在5%—7%之間，含量尚豐，有機質之含量在1.0%—2.0%之間，全N之含量亦均在中等，pH值除中性棕壤外，餘均在8以上，呈鹼性，各土壤之成土物質其中一、二、三、四號均為次生黃土，五號土屬於周昌雲分類(7)之紅色土，其母質為紅色粘土，六號土成土物質之來

源可能為黃土以及秦嶺系岩石崩解後風化之沖積物。分佈面積以一、二、三號土最廣，四號土次之，五、六號土最小。

(三)土壤之固氮力

土壤固氮力之測定採用普通之溶液法(8)，先配製 Ashby 氏培養液，以 100 c.c. 為 1 份，分別裝入 500 ml. 三角瓶中，消毒後分別接種一，二，三，四，五，六號土各一克，每種土壤有四種不同之處理：(1)立即分析其含氮量，(2)置於 30—33°C 之恆溫箱中培養四日後分析其含氮量，(3)培養五日後分析其含氮量，(4)培養七日後分析其含氮量。茲將所得結果列表於下：

表二 培養日數與土壤固氮力之關係(註)

土壤號數	試驗開始時每 瓶含 N (mg.)	第 四 日		第 五 日		第 七 日	
		含氮mg.	固氮mg.	含氮mg.	固氮mg.	含氮mg.	固氮mg.
一	0.9	4.3	3.4	4.9	4.0	5.5	4.6
二	1.0	5.0	4.0	5.6	4.6	5.9	4.9
三	1.1	5.6	4.5	6.2	5.1	6.1	5.0
四	0.9	5.4	4.5	5.9	5.0	5.9	5.0
五	0.8	1.0	0.2	1.0	0.2	1.6	0.8
六	1.0	5.2	4.2	5.6	4.6	6.0	5.0

(註)三次重複之平均結果。

由上表知三號四號及六號土壤之固氮力較高，五號土壤之固氮力最小，此可能因五號土壤缺少強有力之固氮微生物，或該土壤中之固氮微生物不適於在該試驗環境活動之故。Gainey 及 Briscoe 兩氏(9)謂測定各種土壤之固氮力時，各種土壤固氮力之差異因培養日數之增加而漸不顯著，依本試驗之結果，在培養四日後各供試土之固氮力差異至第七日其間之差異逐漸不顯著。

(四)自然土壤之固氮作用

上述土壤固氮力測定之結果，可表示各土壤在試驗環境下固氮力之大小，但自然環境下之各土壤，在一定時間內是否亦能固定相當之氮素，此固定氮素之能力是否因處理而增高？亦均屬本文研究之問題。

下列試驗係選擇二號四號五號及六號四種土壤，每種土壤於風乾過篩後以 120 克為一份，分別秤入 400 ml. 之燒杯中，各杯中土壤分別作如下之處理：

1. 不加任何物質。
2. 加風乾馬廐肥二克(農院馬廐肥風乾後切細過 1mm 篩)。
3. 加麥桿粉二克(割麥後遺留田間之割株連根拔出根部已開始腐爛，風乾後割碎使通過 1mm 篩)。
4. 同 3 外另加入碳酸鈣 0.2 克。
5. 同 4 外另加入 K_2HPO_4 0.2 克。

將各杯內物質充分混合，加蒸餾水調節其含水量，使達風乾土水份飽和含量之 25%，置於靜室。

內（不避日光），每日加蒸餾水一次以補足其蒸發損失之水份，每隔一日翻動一次以利空氣之流通，於試驗開始，三十日及六十日後分別採取相當於風乾土 5 克之土壤，用 Srinivasan 氏法分析全氮量。試驗期間為 1948 年七月十七日至九月十四日，室溫二十五度至三十三度。

表三 各種處理對於土壤固氮量之影響

(每風乾土 10 克之含氮量) (mg.)

土 壤 號 數	時 間	不 加 物 質	馬 廐 肥	麥 稈 粉	麥 稈 粉 及 碳 酸 鈣	麥 稈 粉 碳 酸 鈣 及 磷 酸 鉀
二	開 始	9.0	10.0	9.4	9.4	9.4
	30 日 後	9.0	10.1	9.4	9.6	9.6
	60 日 後	9.1	10.3	9.5	9.6	9.7
	60日內N之增減	0.1	0.3	0.1	0.2	0.3
四	開 始	8.4	9.4	8.8	8.8	8.8
	30 日 後	8.4	9.5	8.9	8.9	9.0
	60 日 後	8.5	9.5	8.8	9.1	9.2
	60日內N之增減	0.1	0.1	0.0	0.3	0.4
五	開 始	7.5	8.4	7.9	7.9	7.9
	30 日 後	7.5	8.5	7.9	7.9	7.9
	60 日 後	7.4	8.4	7.8	8.1	8.2
	60日內N之增減	-0.1	0.0	-0.1	0.2	0.3
六	開 始	9.3	10.3	9.8	9.7	9.7
	30 日 後	9.4	10.5	10.0	9.8	9.8
	60 日 後	9.6	10.6	10.1	10.1	10.1
	60日內N之增減	0.3	0.3	0.3	0.4	0.4

上述試驗雖不能代表田間土壤之實際情況，但武功在七至九月間土壤之溫度頗適於土壤微生物之活動，故有雨水充足，土壤獲得氮素之量必尚大於實驗所得之數字，因土壤種植作物可減低土壤中之有效氮含量，間接促進固氮微生物之作用，此外降落之雨水中尚有一部分固定氮素加於土壤中也。若將上述土壤固氮之結果改算為每市畝土壤氮素之增加量，設每市畝 20 公分之表土重 16 萬公斤（一律按黃土每立方公尺重 200 公斤計算(2)）則可得下表：

表四 每市畝表土於 60 日內固定之氮素量（市斤）

土 壤 號 數	不 加 物 質	馬 廐 肥	麥 稈 粉	麥 稈 粉 及 碳 酸 鈣	麥 稈 粉 碳 酸 鈣 及 磷 酸 鉀
二	3.2	9.6	3.2	6.4	9.6
四	3.2	3.2	0.0	9.6	12.8
五	-3.2	0.0	-3.2	6.4	9.6
六	9.6	9.6	9.6	12.8	12.8

若每 10 克土壤氮素之增減在 0.14 mg. 即每市畝 20 公分之表土中氮量之增加或減少在 4.48 市斤以上，即認為有意義時，則上述試驗之結果可說明如下：

1. 土壤中不加任何物質六號土於試驗 60 日後其氮素之含量有顯著之增加，其餘土壤之氮素含量無顯著之增加；
2. 土壤中加入馬廐肥對於二號土壤氮素含量之增加有影響，對其餘土壤氮素含量之增加無顯著之影響；
3. 土壤中加入麥稈粉對各供試土壤氮素含量之增加無顯著之影響；
4. 土壤中同時加入麥稈粉及石灰，對各供試土壤氮素含量之增加有顯著之影響；
5. 土壤中同時加入麥稈粉石灰及磷酸鹽類對各供試土壤氮素含量之影響與加入麥稈粉及石灰者相若；
6. 小麥玉蜀黍二者合計每年自每公頃土壤中吸收氮營養分之量若按 127.388 公斤計算(2)，則小麥與玉蜀黍二者每年自每市畝土壤中吸收之氮素約為 17 市斤，上述試驗中各土壤之固氮作用尚不能維持土壤氮素自給，若固氮作用所加入土壤中之氮與廐肥或麥稈粉加入土壤中之氮合計，則麥稈粉、石灰、磷酸鹽同時加入土壤當可使各土壤維持其氮素之自給。

(五) 固氮細菌之觀察

土壤之固氮作用係由於各種固氮微生物活動之結果，在普通農業土壤，主要為 *Azotobacter* 屬及 *B. Amylobacter* 屬。下列試驗即為研究此二屬細菌在武功附近土壤中之分佈情形。

(1) *Azotobacter*：採用 Curie 氏瓊脂扁平培養 (15) 法，測得結果如下：

表五 每克土壤中所含 *Azotobacter* 數

土 壤 號 數	<i>Azotobacter</i> 菌落
一	330
二	420
三	480
四	510
五	30
六	540

由上表知各供試土除五號土外均富含 *Azotobacter*，又各土所含 *Azotobacter* 數目之多少與前節溶液法測定各土壤固氮力之大小對照比較，可見 *Azotobacter* 數多之土壤其固氮力亦較大。

(2) *B. Amylobacter*：採用英洛桑氏農事試驗場稀釋法，先配製各種濃度之土壤稀釋液 (1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:204800) 充分振盪後各吸出兩份，每份 1c.c. 分別加入 15c.c. 不含氮之瓊脂培養基 (16)，培養基先置於試管中預先殺菌，應用之前，置於蒸氣殺菌器內蒸 30 分鐘然後冷至 45°C 左右，由吸管中加入土壤稀釋液，旋轉試管令其充分混合，置恆溫箱中於 28—30°C 培養七日檢查試管中有無 *B. Amylobacter* 生長，由不含 *B. Amylobacter* 之數目查閱 Fisher 特製之統計表即得每克土壤中 *B. Amylobacter* 之數目，茲將試驗結果列下：

表六 測定土壤中 *B. Amylobacter* 數目之結果

土壤稀釋液	培養試管	生長情形(註)					
		一號土	二號土	三號土	四號土	五號土	六號土
1:50	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
1:100	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
1:200	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
1:400	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
1:800	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
1:1600	1	+	+	+	+	+	+
	2	+	+	+	+	+	+
1:3200	1	—	+	+	+	+	+
	2	—	—	+	+	+	+
1:6400	1	+	—	+	+	+	+
	2	—	+	+	+	+	+
1:12800	1	+	—	+	—	—	+
	2	—	—	—	—	+	+
1:25600	1	+	—	—	+	—	—
	2	—	—	—	—	—	+
1:51200	1	—	—	—	—	+	+
	2	—	—	+	—	—	—
1:102400	1	—	—	—	—	—	—
	2	—	—	—	—	—	—
1:204800	1	—	—	—	—	—	—
	2	—	—	—	—	—	—
無 <i>B. Amylobacter</i> 生長之試管數		11	12	9	9	8	6

(註) 負號表示無 *B. Amylobacter* 之生長正號表示有 *B. Amylobacter* 之生長

由上表知各供試土中 *B. Amylobacter* 之分佈甚普遍。一般認為 *Azotobacter* 與 *B. Amylobacter* 間有共生作用。武功附近土壤之固氮作用可能為二者之共同貢獻。又各供試土接種於洋菜培養基上培養之，除 *Azotobacter* 菌落外，另有其他較小粘液狀菌落出現，因用接種針採取此種菌落少許接種於另外之 Ashby 洋菜培養基上培養之以觀察其生長情形，此等菌落亦可在無氮之 Ashby 洋菜培養基上生長。似為 *Azotobacter* 外其他好氣性之固氮細菌。各種固氮細菌之分離純粹培養以及其生理形態之觀察等工作尚在進行，結果容後發表。

摘 要

- 一、本試驗係採取武功附近六種土壤之表土，對其 (1) 幾種簡單化學性質；(2) 固氮力；(3) 各種處理對於土壤含氮量之影響；(4) 土壤中之固氮細菌等作一初步之研討。
- 二、六種供試土中五種土壤之碳酸鈣含量在 5% 以上，其 pH 值在 8 以上，各土之全氮含量中等。

- 三、用溶液法測定六種土壤之固氮力，以二道原理藏栗鈣土及棕鈣土之固氮力最高，秦嶺北坡中性棕壤之固氮力最小，各土壤固氮力之差異於培養七日逐漸不顯著。
- 四、試驗四種土壤在自然環境下固氮作用之結果：(1) 六號水稻土有顯著之固氮力；(2) 加入馬廐肥可增加二道原理藏栗鈣土之固氮力；(3) 麥稈粉、石灰及麥稈粉石灰磷酸鈣之加入可增加各供試土之固氮力。
- 五、各供試土均含有 *Azotobacter* 及 *B. Amylobacter*，各土中並可能有存在其他固氮細菌。

參 考 文 獻

- (1) 張乃鳳：地力之測定 土壤季刊二卷一期 140 頁。
- (2) 趙雲夢：黃土施肥之初步研究 西北農專週刊二卷十期。
- (3) 王文魁：涇河流域之土壤及其利用 土壤季刊四卷三、四合期 39—49 頁。
- (4) 周昌雲：黃土（講演稿）通訊（北農農學研究會）二卷十一、二合刊 10 頁。
- (5) Wright: 1939 Soil Analysis pp. 217—8, 258—9, 169—70, 135.
- (6) Bal: D. V. A Common Error in the Method of Total N Estimation in Soils and Its Bearing on the Results of N-fixation Experiment. Proceedings of the 1st Intern. Cong. of Soil Sci. pp. 190—195.
- (7) 周昌雲等：渭河流域土壤調查報告 土壤專報第九號。
- (8) Waksman: 1932. Principles of Soil Microbiology p. 708.
- (9) Gainey and Briscoe: 1933 Concerning the Length of Incubation Period in Physiological Studies of Bacteria. Soil Science. No. 3. pp. 165—171.
- (10) Pran Kumar De and Anil Kumer Pain: 1936. A Biological Study of the Paddy Soils of Bengal with Special Reference to Their N-fixing Capacities. The India Journal of Agricultural Sci. Vol. VI. Part III. pp. 746—755.
- (11) Dhar N. R. and Mukerji: 1936. N-fixation in Soils with Cellulosic Substance, Cow dung and Fats: Proc. Natl. Acad. Sci. India 6, pp. 288—295.
- (12) Herbert W. Renszer: Total Nitrogen Change in Certain Colorado Soils as Determined by Kjeldhal Method. Soil. Sci Soc. Am. Proc. 1 p. 195. 1936.
- (13) Bhaskaran T.R.: 1945 Research on Utilization of Cane Molasses w loss of Biologically Fixed Nitrogen from Soil and the Influence of Straw on Its Conservation. J. India Inst. Sci. 27 A (1—5) C.A. 40.
- (14) Winogradsky. 1926. Ann. Inst. Pasteur. 40. 455.
- (15) Curie I. H. 1932. Soil Sci. 32. 9.
- (16) Waksman. S.A. and Fred. 1928 Laboratory Manual of General Microbiology. p. 11. Medium No. 11.