

农业生物资源 与合理循环利用

Agricultural Bioresources and its Rational Recycling Use

主 编：翁伯琦

副主编：黄勤楼 陈君琛
王泽生 朱育菁



海峡出版发行集团 | 福建科学技术出版社

THE STRAITS PUBLISHING & DISTRIBUTING GROUP | FUJIAN SCIENCE & TECHNOLOGY PUBLISHING HOUSE

农业生物资源 与合理循环利用

Agricultural Bioresources and its Rational Recycling Use

主 编：翁伯琦

副主编：黄勤楼 陈君琛
王泽生 朱育菁

编 委 会

主任：翁伯琦

副主任：王泽生 黄毅斌 陈君琛 朱育菁

委员：黄勤楼 廖剑华 罗 涛 何志刚 曾 辉 车建美
林衍铨 黄 勤 章明清 江枝和 林代炎 黄秀声
冯德庆 陈钟佃 雷锦桂 钟珍梅 王煌平



海峡出版发行集团 | 福建科学技术出版社
THE STRAITS PUBLISHING & DISTRIBUTING GROUP FUJIAN SCIENCE & TECHNOLOGY PUBLISHING HOUSE

图书在版编目 (CIP) 数据

农业生物资源与合理循环利用/翁伯琦主编. —福州：
福建科学技术出版社，2010.9
ISBN 978-7-5335-3725-8

I. ①农… II. ①翁… III. ①农业资源：生物资源—
资源利用 IV. ①S181

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 169814 号

书 名 农业生物资源与合理循环利用
主 编 翁伯琦
出版发行 海峡出版发行集团
福建科学技术出版社
社 址 福州市东水路 76 号 (邮编 350001)
网 址 www. fjsstp. com
经 销 福建新华发行 (集团) 有限责任公司
排 版 福建科学技术出版社排版室
印 刷 福州晚报印刷厂
开 本 889 毫米×1194 毫米 1/16
印 张 18.5
字 数 570 千字
版 次 2010 年 9 月第 1 版
印 次 2010 年 9 月第 1 次印刷
书 号 ISBN 978-7-5335-3725-8
定 价 72.00 元

书中如有印装质量问题，可直接向本社调换

前　　言

福建省农业科学院从 2007 年开始开展农业科技创新团队建设，目的是优化科技资源、共享学术平台，至今已组建了 10 个创新团队，取得了明显的成效。

在这 10 个创新团队中，有 4 个创新团队同时承担“农田秸秆菌业循环生产技术集成研究与示范”国家科技支撑项目（2007BAD89B13），因此，由福建省农业科学院“农业生态过程与资源合理利用”、“微生物基础生物学与农业生物药物的研究与应用”、“功能性食品资源生物技术与农产品深加工”、“食（药）用菌生物学及产业化技术研究”4 个科技创新团队以及福建省农学会立体农业分会（挂靠福建省农业科学院）联合主办了“农业生物资源与合理循环利用”研讨会，目的在于增进团队间联系，交流进展，相互学习，加强沟通，促进合作。本书收录了此次学术研讨会论文 44 篇，涉及领域有生物资源、生态恢复、菌业开发、农产品加工、污染治理、循环利用等。编委会根据论文研究方向不同，将本论文集分为生物资源、生物技术、菌业开发、土肥管理和循环利用等 5 个部分，以便业内人士更好地了解这些领域的现状和最新发展动态。

本书的文章均由上述 4 个科技创新团队成员撰写；为了便于交流，互相借鉴，共同提高，特将研究论文编辑成册；对入选的论文，编委会对论文格式进行编辑加工，未对论文进行实质性改动；由于编者水平有限和编辑时间仓促，本书中的错误和不妥之处在所难免，敬请读者谅解并提出宝贵意见。

本书在编辑和出版过程中得到了多位专家、学者的关心和指导，以及各论文作者的配合与支持；《福建农业学报》主编翁志辉、《福建畜牧兽医》原主编朱云林和福建省农业科学院农业经济与科技信息研究所的林其水、林琼、郑芳梅、王其芳等做了大量编辑工作。在此，编者向所有关心和支持的专家学者和论文作者表示衷心的感谢，并致以崇高的敬意！

编　　者

2009 年 11 月 14 日

目 录

第一章 生物资源

红萍研究及其在农业生态系统中的应用	黄毅斌等 (2)
施氮水平与方式对黑麦草生物学特性和硝酸盐含量的影响	黄勤楼等 (7)
豆科牧草平托花生草粉替代不同比例精料喂兔效果研究	黄秀声等 (17)
4 种植物对重金属铅、镉和砷污染土壤的修复作用研究	钟珍梅等 (22)
外源乙烯胁迫对枇杷果实若干品质及 PPO 活性的影响	林晓姿等 (27)
厌氧对植物乳杆菌 R23 抗逆性及枇杷酒 MLF 降酸效果的影响	梁璋成等 (31)
Study on the Genetic Diversity and Biological Characteristics of Wild <i>Agaricus bisporus</i> Strains from China	Zesheng Wang, et al (36)
香蕉茎叶纤维转化制燃料酒精的技术研究	张树河等 (44)

第二章 生物技术

生防菌 JK-2 的 GFP 标记及其抑菌作用	车建美等 (49)
青枯雷尔氏菌 (<i>Ralstonia solanacearum</i>) 绿色荧光蛋白标记研究	车建美等 (56)
茄子植物内生细菌群落结构与多样性	蓝江林等 (66)
脂肪酸生物标记法 (PLFAs) 分析水稻根际土壤微生物多样性	刘波等 (78)
狼尾草属牧草 rDNA 的 ITS 序列分析	陈志彤等 (90)
双孢蘑菇分解基质能力退化菌株的 DDRT-PCR 分析	陈美元等 (96)
4 个绣球菌菌株 RAPD 分析	应正河等 (103)
生防菌 ANTI-8098A 对青枯雷尔氏菌致病力的影响	朱育菁等 (106)
动物益生菌对大肠杆菌抑制作用的培养条件优化	陈璐等 (113)
土壤甲胺磷抗性细菌种群特征脂肪酸生物标记的分析	刘波等 (118)
西瓜尖孢镰刀菌 FOV-135 的绿色荧光蛋白基因转化	肖荣凤等 (130)

第三章 菌业开发

正红菇研究新进展	陈宇航等 (135)
珊瑚藻提取物对食用菌的病菌及杂菌的抗菌活性	欧阳桐娇等 (141)
铁钉菜提取物抗真菌活性的影响	林勇等 (146)
褐色蘑菇透气袋栽培种制作的关键技术研究	曾辉等 (154)
姬松茸子实体对土壤重金属的吸收和富集	杨菁等 (163)
大杯蕈菇柄营养分析及“蘑菇粉丝”加工技术研究	陈君琛等 (166)
不同培养料栽培灰树花子实体蛋白质的营养评价	李怡彬等 (172)
茶薪菇抗氧化特性与食用菌生物资源的转化利用	吴俐等 (180)
秀珍菇液体发酵豆渣提高多糖得率初步探讨	郑恒光等 (185)
珍稀食用菌功能营养及开发利用前景	周学划等 (189)

第四章 土肥管理

推荐施肥中校验曲线模型选模方法研究	李娟等 (196)
-------------------	-----------

地理信息系统与数学模型集成技术在福建甘蔗气候适生地评价中的应用	王飞等 (201)
福建沿海县级区域耕地土壤养分空间变异研究	孔庆波等 (209)
福建花生测土配方施肥指标体系研究	颜明媚等 (215)
福建早稻测土配方施肥指标体系研究	李娟等 (223)
侵蚀果园长期植草的水土保持及综合效益分析	罗旭辉等 (232)

第五章 循环利用

农田秸秆菌业发展战略与资源循环利用模式构建	翁伯琦等 (239)
利用盐生植物海蓬子构建滩涂循环农业技术模式	冯德庆等 (247)
工厂化栽培金针菇的资源利用技术优势	汤葆莎等 (251)
资源保护与平潭的生态旅游	黄勤 (254)
沼液-水葫芦材料栽培秀珍菇初试	陈秀霞等 (257)
“奶牛-沼气-牧草”循环型农业系统的能值整合研究	李艳春等 (262)
福建省规模化养猪场粪便沼气潜力评估及分布特征	徐庆贤等 (270)
Evaluation and Applied Models for Materials of Ecological Resource in Taiwan	CHANG Chun-pin, et al (275)
台湾农村发展与生态建设探讨	张俊斌等 (283)

第六章 总结

第六章 总结	291
参考文献	293
附录	295
致谢	297
后记	299

第一章 生物资源

生物资源

红萍研究及其在农业生态系统中的应用

黄毅斌，翁伯琦，唐龙飞

(福建省农业科学院农业生态研究所、国家红萍资源中心，福建 福州 350013)

摘要：本文从分析始新世满江红(红萍)在地球气候从“温室”效应向“冰室”效应转变过程所起的作用入手，指出红萍具有在未来生态农业应用的潜力，包括作为优质农产品的生产原料、作为控制农业生态环境和重金属污染的植物、作为外太空开发的先行植物等。提出要加强红萍在节能、环保和有机肥源、外源基因导入和红萍孢子生产技术等研究，以充分发挥红萍在未来生态农业中的作用。

关键词：红萍事件；水生蕨类植物；生态农业；应用前景

Research on Azolla and Its Application in Agricultural Ecological System

HUANG Yi-bin, WENG Bo-qi, TANG Long-fei

(Agricultural Ecology Institute, Fujian Academy of Agricultural Science; National Azolla Resource Center; Fuzhou, Fujian 350013, China)

Abstract: This paper begins with the azolla's function in global climate event at the Eocene—Oligocene transition: from greenhouse to icehouse, and points out its great application potentials for future ecological agriculture including as production raw material of high quality agricultural products, improving agriculture ecological environment and preventing heavy metal pollution, and as pioneer plant of exploring outer space. Moreover, it put forwards that the future research should be focused on energy—saving and environment protection of azolla, as organic fertilizer source, exogenous gene transfer, and spore production.

Key words: Azolla Event; aquatic fern; ecological agriculture; application prospect

2006年6月，美国权威杂志《自然》发表了Henk Brinkhuis等人的文章——《始新世北冰洋的表面水的淡化作用》^[1]。文章表明，从地质学、古生物学、古地理学及考古学等方面研究的大量证据揭示古三世早期(5 500~4 500万年前)地球发生的温室气候条件可能导致了北冰洋高海拔地区大量水蒸气的沉降作用。他们分析了北冰洋古三世沉淀物的岩心钻探标本，结果表明，从始新世中期开始(5 000万年前)，自由浮生的蕨类满江红植物大量生长与繁衍在北冰洋中。相关研究和报道表明，在此期间的80万年里北冰洋表面水是淡的或微咸的，因为该时期形成了非常丰富的红萍及其伴生淡水有机体和含硅微生物化石^[2,3]。在所有北欧的海洋底部的古三世中期海相沉积物是以红萍为特征的，这个范围到达北海的南部。北冰洋红萍时期的终止与弗拉姆海峡的打开、临近海洋盐水倾入等影响有关^[4]。红萍在北极80万年的繁衍、生殖对北冰洋演化的历史长河来讲只是昙花一现，但它已经对北极温度的降低起到了巨大贡献。因为红萍吸收了大量CO₂，加速了那时期地球从“温室”效应向“冰室”效应转变的过程^[5]。这就是国内外众多网站所报道的“红萍事件”(Azolla Event)。“红萍事件”表明，这种浮生于淡水表面的蕨类植物在适合的生态条件下能快速和无限制的繁殖，它能固定CO₂，提升O₂浓度，改善地球生态环境。

红萍(Azolla)学名满江红，属槐叶萍目、满江红科、满江红属。它是一种起源于晚白垩纪之前(约5 800万年前)的古老水生蕨类植物^[6]，其进化完美度较高，因此能繁衍至今。在其漫长的进化过程中接纳了鱼腥藻(*Anabeana azollae*)，并形成了世代相传、同步发育的共生关系^[7]。蕨类为体内鱼腥藻提供碳水化合物、鱼腥藻固定空气中的氮素以NH₃的形式排泄到叶腔中，通过腺毛将其输送到蕨体，蕨体中的谷氨酰胺合成酶将鱼腥藻固定的NH₃转化为有机态N，进而合成氨基酸和蛋白质^[8]。从生物学意义方

作者简介：黄毅斌(1964—)，男，博士，研究员，从事农业生态与南方草业研究(E-mail: ecohyb@163.com)

通讯作者：唐龙飞(1949—)，男，研究员，从事农业生态与红萍研究(E-mail: tanglf@faas.cn)

基金项目：国家支撑计划(2008BAD95B08)；国家863计划(2008AA7035020G)

面而言，它是水生生态环境中“ $1+1>2$ ”的植物-微生物共生体。它能在贫瘠的水生环境中迅速生长繁殖。在适宜环境下，其倍殖时间可达 $3\sim4$ d^[9]。中国及东南亚国家的农民首先利用红萍的丰富养分和适应水田生态环境等特性，将其作为水稻生产的优质绿肥作物加以利用^[10,11]。“红萍事件”的报道与近期的研究给我们提出一个问题，即如何应用满江红这一古老物种为现代农业，特别是生态农业生产服务。笔者认为，红萍在未来生态农业方面的应用至少有如下几个方面。

1 应用于作为优质农产品的生产原料

1.1 未来有机稻米生产的首选肥源

众所周知，我国早在几百年前就已经把红萍作为稻田水稻生产的主要绿肥品种。随着人类物质生活水平的提高和食物安全性意识的不断加强，有机食品的需求必将愈来愈强。而该类食品生产必须仰赖其生产环境和所使用生产原料的无害化。红萍是天然的生物氮肥厂，它是由鱼腥藻体内的固氮酶从大气中合成有机态氮的，这种生物固氮过程既节约能源，又不污染环境；刘中柱等研究表明，红萍可以从水田灌溉水中富集水稻植株不能直接利用的微量钾，翻入稻田后却能被水稻利用，使其成为有机稻米生产的天然优质氮、钾肥肥源^[12,13]。20世纪80年代以来，有机稻米生产国已经开始重视红萍的应用。比如，1993年由日本冈山县农民古野隆雄发明的“稻-鸭耕作制”引入红萍后成为日本主要的有机稻米生产体系，称之为“稻-萍-鸭”耕作制^[14]。稻-鸭、稻-萍-鸭耕作制不仅推广到日本，而且也推广到韩国、越南、菲律宾和其他东南亚国家。在中国江苏、广东等经济较发达地区的农民已开始接受该耕作制，并对该耕作制进行进一步改良与推广^[15]。

1.2 有机禽、畜、鱼产品生产的廉价饲料源

我国农民在长期传统农业生产中不仅利用红萍作为水稻生产的绿肥，而且还将其应用于禽、畜、鱼的生产^[16]。我们的研究表明，红萍富含动物饲料的主要营养成分与氨基酸等，比如人工培育的回交萍(MH3-1)的粗蛋白、粗纤维和蛋氨酸、苯丙氨酸含量分别达到28.29%、7.06%和0.2645%、0.6479%^[17]，用其作饲料生产猪、鸭、鱼可以提高产品质量、降低生产成本^[18,19]。由于红萍固氮和高光合作用能力，可以进行“洁净”生产。在克服其高含水量和高木质素弱点后，它可为有机禽、畜、鱼产品生产提供廉价而丰富的饲料源。

1.3 食用菌生产潜在原料

红萍在生长过程中迅速积累了巨大的生物量，每hm²水面年产鲜萍量达300 t(含水量93%左右)。如果把它用于食用菌生产，它不但具有蛋白质、微量元素、维生素等营养丰富的优点，而且其木质素含量高、个体小、含水量高的弱点却能在食用菌生产中转化为木质素转化率高、不需加工粉碎和烘干的优点。对于将来的有机食用菌生产中物质循环利用是一种理想的生产原料。

2 应用于作为控制农业生产污染的植物

2.1 红萍是抑制水田甲烷生成的植物

近年来，以化肥为主的农业生产所产生的CO₂和CH₄对地球温室效应的影响备受关注^[20]，大气中CH₄有20%~30%来自稻田农业生产的排放^[21,22]。因此近年来对稻田CH₄产生有较多的研究，但尚未找到普遍使用的有效控制方法。唐建阳等^[23]在稻-萍-鱼耕作制的研究中发现，该耕作制的稻田中CH₄排放量为3.08 mg/m²/h，比常规稻田减少34.6%。

2.2 红萍在光合过程中进行高效的CO₂固定

除了上述“红萍事件”中红萍对CO₂固定的间接推断外，陈敏等^[24]研究表明，在密闭条件下湿润养殖的红萍，在人工光照7 000~9 000 lx时，试验第1 d，0~6 h，舱内大气CO₂浓度从0.032%上升至0.603%，由衡算公式得出，红萍平均放O₂量0.781 g/m²/h，平均固定CO₂量0.766 g/m²/h；试验6~12 h，舱内CO₂浓度从0.603%上升至0.802%，红萍光合效率随之大幅提高，平均放O₂量1.690 g/m²/h，平均固定CO₂量1.958 g/m²/h。这说明在低O₂浓度伴随高CO₂浓度环境下，红萍的净光合放O₂量和固定CO₂量较正常O₂、CO₂浓度环境下的要大。这一特性将有利于将红萍应用于未来对“温室效应”气体，特

别是 CO₂的消除。

2.3 红萍可作为水田重金属离子的降污植物

20世纪80年代以来，随着工业化对环境副作用效应认识的提高，人们增强了对环境污染控制方法研究，在消除重金属污染方面也做了大量的努力。近年来，利用水生浮游植物，如水浮莲、满江红等吸附污染水体重金属的报道很多^[25~27]。这种生物纠正方法（bioremediation）既节约成本，又有很高效率。由于红萍生物固氮和在贫瘠的水体中富集痕量金属离子的能力，因此，在稻田中放养红萍，可以对受过度施用化肥、农药而产生重金属污染起降污作用^[28]。在富营养化的水体环境条件下，只要水体复合态氮浓度不超过1mmol/L，红萍也能生长繁殖，进而吸附固定周围水体中的重金属离子^[29]。

3 应用于作为外太空开发的先行植物

1993年美国生物圈出版社发行了名为《在玻璃墙里的生活：在生物圈二号里的故事（Life Under Glasses: The Inside Story of Biosphere 2）》的出版物^[30]。生物圈二号是美国科学家为人类移居地球外星球而进行的先期研究。它模拟地球外星球恶劣环境，在地面建设与外界完全隔绝的密闭生活小区，从而建立一个适合人类生存的生态系统（即密闭生态生命保障系统，英文简称 CELSS）。该生态系统仅从外界获取阳光，其他物质（水、空气、食物和生活废弃物等）是完全依靠 CELSS 内部循环的。该实验在美国亚里桑那州的沙漠地里进行，由八个研究人员在2 hm²密闭玻璃温室内生活了22个月。在众多参试先锋植物里，水生蕨类植物满江红也名列其中。近年来，国外对满江红用作太空开发的先锋作物的潜力开始进行探索^[31,32]。

在我国，刘啸峰等对满江红应用于 CELSS 的可行性进行了深入研究^[33]。结果表明，红萍的生长特性适合于在 CELSS 中应用。主要优点在于：(1) 生长迅速，倍殖天数为3~5 d，可以叠层养殖，占较小空间。(2) 可以进行湿养，不需过量水分。(3) 非常强的放 O₂ 和固定 CO₂ 能力。(4) 可用于人类尿液回收、再利用的生物部件。(5) 红萍可加工成春卷、饺子馅，凉拌菜、沙拉等人类直接食用的食品，也可喂养螺、蚯蚓、鱼等参与太空环境下的食物链循环。

4 红萍在当前应用中的状况及需要加强的研究

4.1 红萍在当前农业生产中的应用

尽管红萍在水田生态系统中有诸多应用优势，但是由于多种原因，近年来它在农业生产中的应用却减少了。主要表现在我国传统的红萍种植利用省份，浙江、福建和广东的红萍栽培面积大幅缩减。目前除了畜、禽、鱼养殖场零星栽培外，大规模养殖成功的例子是江苏镇江等地的稻—鸭耕作制中的推广使用（即，稻—萍—鸭耕作制）^[34]。

4.2 红萍在未来农业应用中的难点

满江红在现代农业生产中的栽培应用受到了限制，与其自身的生物学缺陷有一定关系。

4.2.1 抗逆境能力不强 红萍在生长中对温度、湿度和光照条件要求较严格，而自然界适合红萍繁衍的地域有限、季节短暂。表现在它在世界的分布地域较窄，周年繁衍困难。存在所谓“越夏”、“越冬”、“烂萍”、“黑腐病”等等在实际栽培应用中的问题^[35]。

4.2.2 耐低光能力差 一般来说，红萍在8 000~12 000 lx 光强下生长旺盛。在8 000 lx 以下生长速率逐步下降。虽然红萍光补偿点在550~700 lx，但是在低于3 000 lx 的环境下难以长期生存。水稻“封行”后稻丛下的光强在2 000 lx 以下，红萍生理代谢下降导致抗病虫能力急剧下降。目前最耐低光强的品种是卡州满江红（*A. caroliniana*），它比其他红萍品种具有更强的多酚氧化酶活性，但它在3 200 lx 光强下的生长速率也明显下降^[36]。

4.2.3 可利用时间短、花工大 在天然条件下，每年3月初到5月中下旬以及9月下旬到11月中旬这两段时间（只占全年1/4左右），红萍在南方大田中生长迅速，但在盛夏和严冬它在自然环境中生存困难。另外，红萍收获、扩繁和晾晒需要较大的工作量，只有劳力充足、具有精耕细作传统习惯的地方才可能种植、利用红萍。

4.2.3 保种繁种困难 与许多农作物相反,红萍在旺盛生长情况下,无法得到它们的“种子”——孢子果。许多红萍品种几乎无法在人工控制条件下结孢。目前主要利用萍体保种,要经过越夏、越冬考验,利用时间短于保种时间,农民无法接受。

4.3 需要加强的研究

4.2.1 红萍在未来农业生产中的潜力研究 尽管红萍在未来农业应用上有很多优势,但从目前的情况来说,它毕竟不是农业生产的“主力军”。要从生态农业、有机农业和循环农业角度探讨红萍参与未来生态农业生产的潜力,特别要研究红萍在节约能源、保护生态和作为有机肥源方面的理论与实用技术,使这一古老物种能在未来农业中占据一席地位。

4.2.2 利用转基因技术加强红萍生物学优势 培养抗性强的红萍品种需要对红萍引入抗虫、耐低光强的外源基因。在农业育种方面,外源抗虫基因转移与表达已在棉花、水稻、烟草等植物应用^[37-39]。耐低光基因在苔藓、原始森林底栖植物、深海藻类中普遍存在。如能有效导入这类基因,红萍将成为“野性”较强的作物。谷氨酰胺合成酶基因导入可以增加红萍鱼腥藻固定的氮向有机态氮转化的速率,从而提高红萍的蛋白质含量^[40]。

4.2.3 红萍孢子果生产技术 目前,在自然条件下大部分红萍品种可观察到孢子果的产生,但不能进行人工控制条件下结孢。国内已进行过用红萍孢子果育苗的研究^[41],但用于生产实际仍需要时日。这个问题的解决可以对红萍在农业生产上的应用产生革命性的突破。在自然气候条件下,红萍孢子果的生成在春一夏和秋一冬交替时节,如何模拟这种气候,进行人工催生红萍孢子果是今后研究的一个方向。

5 结语

根据我们多年对满江红研究与应用的实践,结合国际上的相关研究,笔者认为,红萍是远古时代繁衍下来的、进化完美度较高的水生蕨类植物。它曾在中国的传统农业生产中占据一席地位,在应用现代生物技术克服其适应性不强、耐低光能力差和保种困难等缺点后,它更能适应水面自然生境,使之具有在未来农业生产和循环经济中被广泛应用的潜力。

参考文献:

- [1] Brinkhuis. Episodic fresh surface waters in the Eocene Arctic Ocean [J]. Nature, 2006, 441: 606—609.
- [2] Zachos J C, Pagani M, Sloan L C, et al. Trends, rhythms, and aberrations in global climate [J]. Science, 2001, 292: 686—693.
- [3] Tripati A, Backman J, Elderfield H, et al. Eocene bipolar glaciation associated with global carbon cycle changes [J]. Nature, 2005 (436): 341—346.
- [4] Ross MI, Scotese CR. A hierarchical tectonic model of the Gulf of Mexico and Caribbean region [J]. Tectonophysics, 1988 (155): 139—168.
- [5] Tripati A, Elderfield H. Deep—Sea Temperature and Circulation Changes at the Paleocene—Eocene Thermal Maximum [J]. Science, 2005, 308 (5729): 1894—1898.
- [6] Hills LV, Gopal B. *Azolla primaeva* and its phylogenetic significance [J]. Canada J Botany, 1967 (45): 1179—1191.
- [7] Hill DJ. The pattern of development of *Anabaena azollae* in the *Azolla*—*Anabaena* symbiosis [J]. Planta, 1975, 122: 179—184.
- [8] Hill DJ. The role of *Anabaena* in the *Azolla*—*Anabaena* symbiosis [J]. New Phytologist, 1975 (78): 611—616.
- [9] 郑德英, 唐龙飞, 章宁, 等. 回交萍 MH3-1 若干抗性特性研究 [J]. 福建农科院学报, 1994, 9 (2): 21—27.
- [10] Liu CC. Use of Azolla in Rice Production in China, Nitrogen and Rice, IRRI Publishing House [J]. Philippines, 1979, 375—394.
- [11] Tuan DT, Thuyet TQ. Use of Azolla in Rice Production in Vietnam, Nitrogen and Rice, IRRI Publishing House, Philippines, 1979, 395—406.
- [12] 刘中柱, 魏文雄, 郑国璋, 等. 红萍富钾的生理研究—I. 红萍对水体钾的吸收 [J]. 中国农业科学, 1982, (4): 82—87.
- [13] 刘中柱, 魏文雄, 郑国璋, 等. 红萍富钾的生理研究—II. 萍体钾对水稻生产的有效性 [J]. 中国农业科学 1986,

(5): 59—63.

- [14] Takao Furuno. *The Power of Ducks* [M]. Publishers for the Permaculture Institute science, Tasmania 7325, Australia, 1979.
- [15] 沈晓昆. 稻—鸭共作——无公害有机稻米生产新技术 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2003.
- [16] 吕书樱. 浅谈萍的养用历史及其发展的价值 [J]. 温州土壤肥料, 1982 (1): 39—41.
- [17] 唐龙飞, 刘中柱. 回交萍 3 号的育种及其应用前景 [J]. 福建农业学报, 2004, 19 (2): 68—72.
- [18] 邱鹤龄. 应用回交萍 3 号饲养猪、鸭、鱼的效果 [J]. 福建畜牧兽医, 1993 (4): 36—37.
- [19] 利作桑, 罗仙池, 徐田祥, 等. 大水体生态工程技术及绿萍的养用效果 [J]. 应用生态工程学报, 1991, 2 (2): 113—120.
- [20] 崔玉亭, 李季, 靳乐山. 化肥与生态环境保护 [M]. 2000, 北京: 化学工业出版社.
- [21] 谢小立, 王卫东. 施肥对稻田甲烷排放的影响 [J]. 农村生态环境, 1995, 11 (1): 10—14.
- [22] 林而达, 李玉娥. 稻田甲烷排放量估算和减缓技术选择 [J]. 农村生态环境, 1994, 10 (4): 55—58.
- [23] 唐建阳, 翁伯奇, 黄毅斌等. 稻田甲烷排放机理与调控技术 [J]. 中国农业大学学报, 1998, 3 (3): 101—105.
- [24] 陈敏, 邓素芳, 杨有泉等. 受控密闭舱内红萍载人供氧特性 [J]. 农业工程学报, 2009, 25 (5): 313—316.
- [25] 达良俊, 陈鸣. 凤眼莲不同部位对重金属的吸收、吸附作用研究 [J]. 上海环境科学, 2003, 22 (11): 765—767.
- [26] Sela M, Garty J, Tel-Or E. The accumulation and the effect of heavy metals on the water fern *Azolla filiculoides* [J]. New Phytologist, 1989, 112: 7—12.
- [27] Stepniewska Z, Bennicelli R P, Balakhnina T I, et al. Potential of *Azolla caroliniana* for the removal of Pb and Cd from wastewaters [J]. International Agrophysics, 2005, 19: 251—255.
- [28] Arora A, Sood A, Singh P K. Hyperaccumulation of cadmium and nickel by Azolla species [J]. Indian Journal of Plant Physiology, 2004, 9: 302—304.
- [29] Kitoh S, Shiomi N, Uheda E. The growth and nitrogen fixation of *Azolla filiculoides* Lam. In polluted water [J]. Aquatic Botany, 1993, 46: 129—139.
- [30] Alling A, Nelson M, Silverstone S. *Life Under Glasses: The Inside Story of Biosphere 2* [M]. 1993, Biosphere Press, U. S. A.
- [31] Silverstone S. and Nelson M. Food production and nutrition in Biosphere 2: Results from the first mission September 1991 to September 1993 [J]. Advances in Space Research, 1996, 18: 49—61.
- [32] Katayama N, Yamashita M, Kishida Y, et al. Azolla as the component of the space diet during habitation on Mars [J]. Acta Astronautica, 2008, 63: 1093—1099.
- [33] Liu Xiaofeng, Chen Min, Liu Xia-shi, et al. Research on some functions of Azolla in CELSS system [J]. Acta Astronautica, 2008, 63: 1061—1066.
- [34] 第四届亚洲稻—鸭共作研讨会论文集 [M]. 江苏镇江市科技局, 2004.
- [35] 刘中柱, 郑伟文. 中国满江红 [M]. 北京: 农业出版社, 1989.
- [36] 唐龙飞, 钟红梅, 陈坚. 不同光照条件下 4 种满江红 (*Azolla*) 品系体内多酚氧化酶活性的变化 [J]. 植物生理学报, 1999, 25 (1): 98—102.
- [37] 倪万潮, 张震林, 郭三堆. 转基因抗虫棉的培育 [J]. 中国农业科学, 1998, 31 (2): 8—13.
- [38] 刘雨芳, 王锋, 尤民生, 等. 转基因水稻及其杂交后代对稻纵卷叶螟的田间抗性检测 [J]. 中国农业科学, 2005, 38 (4): 725—729.
- [39] 朱常香, 宋云枝, 温孚江. 多抗 PVY、TMV 和 CMV 转基因烟草的培育 [J]. 中国农业科学, 2008, 41 (4): 1040—1047.
- [40] 唐龙飞, 刘中柱, 董可文. 玉米谷氨酰胺合成酶 c-DNA 导入根癌农杆菌 15955 [J]. 福建农业学报, 1998, 13 (1): 9—14.
- [41] 程景福, 徐声修, 王素珍. 满江红的孢子果和孢子果育苗 [J]. 植物学报, 1978, 20 (1): 54—58.

施氮水平与方式对黑麦草生物学特性和硝酸盐含量的影响

黄勤楼，钟珍梅，陈恩，陈钟佃，黄秀声

(福建省农业科学院农业生态研究所/福建省山地草业工程技术研究中心, 福建 福州 350013)

摘要:禾本科牧草的产量、品质和硝酸盐含量等性状与施氮量密切相关。本试验在大田种植情况下,研究6个施肥水平和4种施肥方式对黑麦草的农艺性状、产量、品质和氮素生产效率的影响,以及相关性状与施氮量的相关性。结果表明,随着施氮量的增加,黑麦草的分蘖数、株高、产量、粗蛋白和氨基酸含量显著提高,黑麦草的硝态氮含量也随之提高,但随着施氮量的继续增加,氮肥对黑麦草农艺性状、产量和品质的作用增幅变小,氮素生产效率降低。当每次刈割后施纯氮肥量超过 $100\text{ kg}/\text{hm}^2$ 时,施氮肥还能较好地促进黑麦草粗蛋白含量提高,而不能有效促进氨基酸含量的提高;当每次刈割后施纯氮肥量达 $250\text{ kg}/\text{hm}^2$ 时,黑麦草的株高和产量还表现出降低的趋势;当每次刈割后施纯氮肥量超过 $150\text{ kg}/\text{hm}^2$ 时,黑麦草的硝态氮含量明显提高,部分刈割期的黑麦草的硝酸盐含量还超过0.25%的致毒标准。黑麦草的分蘖数、株高、产量、粗蛋白含量、氨基酸含量和硝态氮含量6个测定指标相互间均呈正相关,产量与施氮量只有在撒施情况下呈显著相关,粗蛋白和氨基酸含量与施氮量多数呈显著或极显著相关,硝酸盐含量与施氮量呈极显著相关。深施对黑麦草的分蘖数和株高产生影响,且促进黑麦草产量、粗蛋白含量和氨基酸含量的提高。

关键词:黑麦草; 施氮水平与方式; 生物学特性; 硝酸盐

Effects of different N applying levels and methods on the biological characteristics and nitrate content of ryegrass

HUANG Qin-lou, ZHONG Zhen-mei, CHEN En, CHEN Zhong-dian, HUANG Xiu-sheng

(Agricultural Ecology Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences/Fujian Engineering and Technology Research Center for Hilly Prataculturae Fuzhou, Fujian 350013, China)

Abstract: The agronomic traits such as yield, quality and nitrate content of gramineous forages are closely related to nitrogen level. In this study, field experiments were conducted to study the effects of six urea application levels and four application methods on the agronomic traits, the yield, the quality, and the nitrogen producing efficiency of ryegrass, and the correlations among the yield, the content of crude protein, the amino acid content, the amount of N application and many agronomic traits were also investigated. The results showed: the tiller number, the plant height, the yield, the content of crude protein, the amino acid content and the nitrate content significantly increased with increasing N application. However, the effects of N application on ryegrass became less and the nitrogen production efficiency became low with further increasing N application amount. When N application was over $100\text{ kg}/\text{hm}^2$ after each cutting, N fertilizer could increase the crude protein content but had little influence on the amino acid content. When N application reached to $250\text{ kg}/\text{hm}^2$ after each cutting, the plant height and the yield showed decreasing trends. When N application was over $150\text{ kg}/\text{hm}^2$, the nitrate N content increased significantly, and even exceeded the 25% poisoning criterion. There were positive correlations among the yield, the plant height, the tiller number, the content of crude protein, and the nitrate N content of ryegrass. The yield was significantly correlated with the N application amount when broadcast application. The crude protein content and amino acid content were significantly or extremely significantly correlated with the N application amount. Moreover, there was extremely significant correlation between nitrate content and the N application amount. Deep application could influence the tiller number and the plant height, and increase the yield, the crude protein content and the amino acid content.

Key words: ryegrass N applying levels and methods; the biological characteristics; nitrate

作者简介: 黄勤楼(1964—),男,博士,研究员(E-mail: hql202@126.com)

基金项目: 福建省发改委“五新”项目; 福建省科技重点项目(2009S0103, 2009R10036—3); 福建省财政专项——福建省农业科学院科技创新团队建设基金(STIF-Y01)

黑麦草 (*Lolium perenne*) 是冷季型禾本科牧草，原产欧洲、亚洲温带和北非，因其营养丰富，生物产量高，可消化性高，适口性好，并具有良好的抗寒能力、不易倒伏、发芽快、再生迅速的特性而被广泛种植，为我国最重要的冷季牧草之一^[1,2]，是牛、羊、兔、鹅等草食畜禽的优质青饲料，还可用作猪、鱼等的青饲料^[3]。其中特高黑麦草 (Tetra Gold) 是宽叶早熟型一年生四倍体的禾本科牧草，性喜温暖湿润的气候，在昼夜温度为 12~27℃ 时生长最快，其干草粗蛋白含量高达 20% 以上，叶片柔软亮泽、浓绿、多汁，各种畜禽和鱼类均喜食用^[4]。特高黑麦草秋季播种，冬春季刈割利用，在整个冬闲田期间可刈割 4、5 次，鲜草产量可达 10 万 kg/hm² 以上，同时还能改善稻田土壤性状，促进后作水稻 (*Oryza sativa*) 生产^[5]。

在草地生态系统中，氮是牧草产量的一个重要限制因子，是生产优质高产饲草极其重要的元素，对植物成分影响很大，氮肥施用是提高牧草产量的有效手段之一^[6]，大量的生产实践和肥料试验均已证实施用氮肥还能显著改善作物品质^[7]。黑麦草追施一定量的氮肥同样能增加鲜草产量，提高茎叶中粗蛋白等营养品质^[8,9]。但过量的施氮不仅不能提高植物对氮的吸收效率，甚至还可能引起氮利用效率降低、植物体内硝酸盐富集和环境氮素污染等一系列的农业问题^[10,11]。当草食家畜采食硝酸盐含量过高的饲草时，可引起中毒事件发生^[12]。美国家畜饲养标准规定，饲料作物干物质中硝态氮含量（以硝酸盐计）0~0.25% 安全，0.25%~0.5% 警戒，0.5%~1.5% 危险，超过 1.5% 有毒^[13]。由于硝酸盐含量超过 0.25% 时，对家畜均会造成不同程度的毒害，因此有的研究者把硝酸盐含量超过 0.25% 作为有毒的限量指标^[14]。

本试验在盆栽试验的基础上，研究不同施肥方式和不同氮肥水平下大田黑麦草的生长、硝酸盐含量和粗蛋白含量的变化规律，旨在进一步探明大田情况下冷季型牧草施肥利用技术和氮素转化效率等方面的生命生态规律。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2006~2007 年在福建省农业科学院生态所泉头试验地进行，试验区土壤为耕作层土壤，其成分为有机质 2.870%，全氮 0.172%，全磷 1.546%，全钾 2.64%，pH 值 6.12。肥料采用过磷酸钙 [$\text{CaH}_4(\text{PO}_4)_2\text{H}_2\text{O}$, 含 $\text{P}_2\text{O}_5 \geq 12\%$]、氯化钾 ($\text{K}_2\text{O} \geq 60\%$) 和尿素 ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$ 含 N 为 46.0%)。黑麦草选用特高黑麦草品种，种子由北京百绿集团提供。

1.2 试验设计

试验地前作为墨西哥玉米 (*Zea mexicana*)，每个试验小区为 6 m² (1.5 m × 4.0 m)，播种前每个小区统一施基肥过磷酸钙 1.5 kg，氯化钾 0.1 kg，每小区黑麦草播种量为 12.0 g，采用条播，每小区播 14 行。

试验采用裂区设计，主区处理为 6 个尿素施肥水平，分别用 N1、N2、N3、N4、N5 和 N6 表示，即 6 个尿素施肥水平为：N1 施纯氮量 0 kg/hm²、N2 施纯氮量 50 kg/hm²、N3 施纯氮量 100 kg/hm²、N4 施纯氮量 150 kg/hm²、N5 施纯氮量 200 kg/hm²、N6 施纯氮量 250 kg/hm²。黑麦草全生育期共施肥 5 次，分别在播种后 1 个月和每次刈割后第 2 天进行，每次施肥分 4 次进行，每 7 d 施 1 次，每次施总量的 1/4。副区为 4 种施肥方式，即尿素撒施后浇水、尿素挖穴深施后浇水、尿素溶液浇灌和尿素溶液地下设施灌，分别用 P1、P2、P3 和 P4 代表 4 种施肥方式。

1.3 试验测定与分析

黑麦草全生育期共刈割 5 次，分别用 T1、T2、T3、T4 和 T5 表示。刈割前在每个小区的不同对称处随机选择 9 株黑麦草测定分蘖数和株高，取其平均值作为分蘖数和株高测定值，用同样方法取样后称鲜重，然后置 65℃ 烘箱烘干至恒重后称干重，测定黑麦草干物质含量，粉碎后测定粗蛋白和氨基酸含量。每个小区黑麦草全部刈割称重作为鲜草产量，根据干物质含量计算黑麦草的干草产量。

黑麦草硝态氮含量测定采用水杨酸法^[15]，取一定量的植物材料剪碎混匀，精确称取 2 g，分别放入刻度试管中，加入 10 mL 去离子水，用玻璃泡封口，置入沸水浴中 30 min 后取出，用自来水冷却，6 000 r/min 离心 15 min，吸取上清液 0.1 mL 于刻度试管中，然后加入 5% 水杨酸—浓硫酸溶液 0.4 mL，混匀后

置室温下 20 min, 再加入 8% NaOH 溶液 9.5 mL, 冷却至室温后, 以空白作对比, 在 410 nm 波长上测定光密度 (optical density, OD) 值。在标准曲线上查得或回归方程计算硝态氮浓度。

全氮含量测定采用半微量凯氏定氮法^[16], 粗蛋白质含量按照全氮含量 × 6.25 折算。氨基酸测定采用日立 L-8800 氨基酸自动分析仪。

黑麦草氮素吸收与利用效率评价指标参考王永军等^[17]和江立庚等^[18]的方法, 具体评价指标为: 氮素积累总量 (total N accumulation, TNA), 单位面积植株 (茎叶和穗) 氮积累量的总和。氮素干物质生产效率 (N dry matter production efficiency, NDMPE), 单位面积植株干物质积累量与单位面积植株氮积累量 (TNA) 的比值。干物质生产效率 (dry matter production efficiency, DMPE), 单位面积植株干物质积累总量与施氮量之比。粗蛋白质生产效率 (crude protein production efficiency, CPPE), 单位面积植株粗蛋白质产量与施氮量之比。氮素农艺效率 (N agronomy efficiency, NAE), 施氮肥区与不施氮肥区植株产量之差与施氮水平之比。氮素表观回收率 (nitrogen apparent recovery ratio, NARR), 单位面积植株收获的总氮量占施氮量的百分比。氮素回收率 (N recovery efficiency, NRE), 施氮肥区与不施氮肥区植株氮素积累量之差占施氮量的百分比。

1.4 数据处理与统计分析

用 Microsoft Excel 进行数据处理, 用 DPS8.50 统计软件进行二因素无重复试验统计分析 (LSD 法) 和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 施氮水平与方式对黑麦草分蘖数的影响

黑麦草的分蘖数随着施氮水平的提高而逐步提高 (表 1), N6 处理的黑麦草的分蘖数与 N5 差异不显著 ($P > 0.05$), 但都极显著高于 N1~N4 ($P < 0.01$), N2~N4 三种处理的黑麦草分蘖数差异不显著 ($P > 0.05$), 但也极显著高于对照 N1 ($P < 0.01$), 说明氮肥对黑麦草的分蘖具有显著的促进作用。施氮方式对黑麦草的分蘖数也产生影响, P1 对促进黑麦草的分蘖效果最好, 与 P3 施氮方式差异不显著 ($P > 0.05$), 但显著高于 P2 ($P < 0.05$) 且极显著高于 P4 ($P < 0.01$)。

表 1 施氮水平与方式对黑麦草分蘖数的影响

Table 1 Effect of different N application levels and methods on the tiller number of ryegrass plant

项目	P1	P2	P3	P4	均值
N1	8.80	8.80	8.80	8.80	8.80 dD
N2	13.40	14.04	12.91	13.18	13.38 cC
N3	14.53	14.02	14.62	13.07	14.06 cBC
N4	15.60	13.96	14.74	13.36	14.42 bcBC
N5	16.33	13.87	16.64	14.89	15.43 abAB
N6	17.51	15.11	17.31	15.02	16.24 aA
均值	14.36 aA	13.30 bcAB	14.17 abAB	13.05 cB	—

注: 不同小写字母表示其标示的均值差异达到 0.05 的显著水平, 不同大写字母表示其标示的均值差异达到 0.01 的显著水平, 下同。

2.2 施氮水平与方式对黑麦草株高的影响

黑麦草的株高随着施氮水平的提高而逐步提高 (表 2), 当每次刈割施纯氮量高于 100 kg/hm² (N3) 时, 黑麦草的株高趋于稳定, 即 N3~N6 处理的黑麦草的株高差异不显著 ($P > 0.05$), 但都显著和极显著高于 N2 ($P < 0.05$) 和 N1 ($P < 0.01$), 说明适量的氮肥对黑麦草的株高具有促进作用, 但进一步提高施氮量不会提高黑麦草的株高, 甚至还会对株高造成影响。施氮方式对黑麦草的株高也会造成一定影响, P3

施肥方式对黑麦草的株高效果最好,与P1和P4施氮方式差异不显著($P>0.05$),但显著高于P2($P<0.05$)。

表2 施氮水平与方式对黑麦草株高的影响(cm)

Table 2 Effect of different N application levels and methods on the plant height of ryegrass

项目	P1	P2	P3	P4	均值
N1	39.09	39.09	39.09	39.09	39.09 cC
N2	59.19	56.34	64.19	58.28	59.50 bB
N3	64.49	62.49	65.44	63.47	63.97 aA
N4	65.92	61.62	66.98	63.18	64.43 aA
N5	63.64	62.54	63.78	62.68	63.16 aAB
N6	64.81	63.52	61.13	66.65	64.03 aA
均值	59.52 abA	57.60 bA	60.10 aA	58.89 abA	—

2.3 施氮水平与方式对黑麦草产量的影响

施氮处理的黑麦草干草产量极显著高于对照(表3),且随着施氮水平的提高黑麦草产量逐步提高,N5处理的黑麦草产量达到最高,随着施氮量的进一步提高,黑麦草产量反而降低,N3~N6处理的黑麦草产量差异不显著($P>0.05$),但显著高于N2($P<0.05$)和极显著高于N1($P<0.01$)。施氮方式对黑麦草的产量也产生影响,P1施肥方式对提高黑麦草的产量效果最佳,与P2施氮方式差异不显著($P>0.05$),但显著高于P3($P<0.05$)且极显著高于P4($P<0.01$)。

表3 施氮水平与方式对黑麦草干草产量的影响(t/hm²)

Table 3 Effect of different N application levels and methods on the yield of ryegrass

项目	P1	P2	P3	P4	均值
N1	4.93	4.93	4.93	4.93	4.93 cC
N2	10.53	13.17	11.03	10.42	11.29 bB
N3	13.18	13.55	12.80	11.55	12.77 aAB
N4	15.27	14.20	12.45	12.78	13.68 aA
N5	16.05	14.28	12.73	12.90	13.99 aA
N6	15.10	13.03	11.85	11.45	12.86 aAB
均值	12.51 aA	12.19 aAB	10.97 bAB	10.67 bB	—

2.4 施氮水平与方式对黑麦草粗蛋白含量的影响

牧草是用于饲养动物且以茎叶为收获对象,茎叶中粗蛋白含量的高低,直接关系到对动物的饲用效果。施氮能显著提高黑麦草的粗蛋白含量,黑麦草的粗蛋白含量随着施氮水平的提高而逐步提高(表4),四种施肥方式都是以每次刈割施纯氮量为250 kg/hm²时粗蛋白含量最高,且显著高于N5($P<0.05$),极显著高于N1~N4($P<0.01$)。N1~N4间随着施氮量的提高,相互间粗蛋白含量都产生显著差异($P<0.05$)。施氮方式对黑麦草的粗蛋白含量也产生影响,P4施肥方式对提高黑麦草的粗蛋白含量效果最好,与P2和P3施氮方式差异不显著($P>0.05$),但显著高于P1($P<0.05$)。

随着黑麦草生长和刈割次数增加,黑麦草粗蛋白含量提高(图1),到T3时黑麦草的粗蛋白含量达到最高,比T1时粗蛋白含量平均提高39.9%。随后黑麦草的粗蛋白含量开始下降,到T5时粗蛋白含量降到最低,比T1时粗蛋白含量平均降低24.8%,比T3时粗蛋白含量平均降低46.2%。从施肥水平来分析,T3比T1粗蛋白含量提高最多的为N3(50.05%),最少的为N6(27.11%),T5比T1粗蛋白含量

降低最多的为 N5 (30.48%), N1 还略有提高 (7.99%); 从施肥方式来分析, T3 比 T1 粗蛋白含量提高最多的为 P3 (60.70%), 最少的为 P4 (29.65%), T5 比 T1 粗蛋白含量降低最多的为 P2 (30.53%), 最少的为 P3 (11.85%)。说明生育期对牧草的粗蛋白含量影响较大, 在 6 种施肥水平和 4 种施肥方式下黑麦草的粗蛋白含量都随着牧草生长存在先升高后降低的趋势。

表 4 施氮水平与方式对黑麦草粗蛋白含量的影响 (%)

Table 4 Effect of different N application levels and methods on the crude protein content of ryegrass

项目	P1	P2	P3	P4	均值
N1	12.65	12.65	12.65	12.65	12.65 eE
N2	16.39	18.41	18.59	22.46	18.96 dD
N3	22.14	22.05	21.05	24.03	22.32 cC
N4	24.22	27.00	26.40	26.34	25.99 bB
N5	27.82	27.03	28.25	26.74	27.46 bAB
N6	29.06	29.75	30.28	30.01	29.78 aA
均值 Average	22.05 bA	22.82 abA	22.87 abA	23.71 aA	—

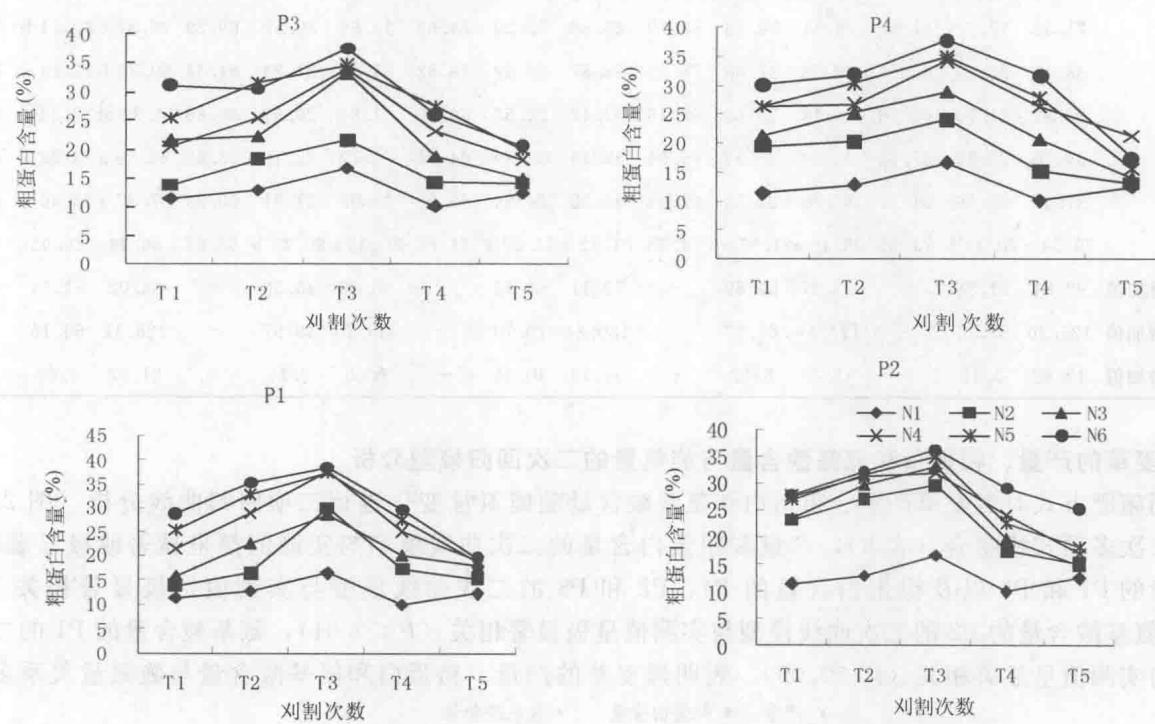


图 1 黑麦草在不同刈割期粗蛋白含量变化

Fig. 1 Variations of the crude protein content of at different cutting periods

2.5 施氮水平与方式对黑麦草第 3 次刈割时粗蛋白和氨基酸含量的影响

黑麦草第 3 次刈割 (T3) 时粗蛋白含量达到最高 (图 1), 因此对 T3 的黑麦草进行粗蛋白和氨基酸含量测定 (表 5), 结果表明, T3 的黑麦草粗蛋白含量同样随着施氮水平的提高而逐步提高, 4 种施肥方式在 N3 和 N4 间以及 N4~N6 间的粗蛋白含量差异不显著 ($P>0.05$), 但都显著高于 N1~N2 ($P<0.05$)。施氮方式对黑麦草的粗蛋白含量无显著影响 ($P>0.05$)。施氮肥同样能显著提高黑麦草的氨基酸含量, 施氮肥处理的黑麦草氨基酸含量显著高于不施氮肥处理 ($P<0.05$), N3~N6 的黑麦草氨基酸含量差异不显著 ($P>0.05$), 但显著高于 N1~N2 ($P<0.05$)。但随着施氮量的增加, 粗蛋白含量提高得多,