

## 施氮对结瘤和非结瘤近等位基因大豆生长和固氮性状的影响

石海<sup>1,2</sup>, 苗淑杰<sup>1</sup>, 刘居东<sup>1</sup>, 周克琴<sup>1</sup>

(1. 中国科学院 东北地理与农业生态研究所 黑土区农业生态重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100049)

**摘要:**以结瘤和非结瘤近等位基因大豆品系为材料, 利用砂培方式, 分析了不同供氮水平对大豆生长、碳氮代谢、结瘤和固氮的影响。结果表明: 供氮水平直接影响大豆生物量, 结瘤大豆在  $N_2$  水平 ( $54 \text{ mg 尿素} \cdot \text{kg}^{-1}$  砂) 时生物量达到最大 ( $9.16 \text{ g} \cdot \text{株}^{-1}$ ); 非结瘤大豆在  $N_4$  水平 ( $216 \text{ mg 尿素} \cdot \text{kg}^{-1}$  砂) 时生物量达到最大 ( $6.36 \text{ g} \cdot \text{株}^{-1}$ )。植株体内碳氮含量与生物量的变化趋势相同。此外, 结瘤品系  $N_2$  水平大豆根瘤数最多 ( $205 \text{ 个} \cdot \text{株}^{-1}$ ), 极显著高于除  $N_4$  以外的其它处理 ( $P < 0.01$ ), 该水平的共生固氮量最大, 为  $275.92 \text{ mg} \cdot \text{株}^{-1}$ , 且与  $N_3$ 、 $N_4$ 、 $N_5$  处理间差异极显著 ( $P < 0.01$ )。因此, 结瘤和非结瘤大豆对外源氮的需求存在显著差异, 该试验条件下的氮阻遏阈值为  $N_2$  水平, 即  $54 \text{ mg 尿素} \cdot \text{kg}^{-1}$  砂。

**关键词:** C、N 代谢; 结瘤; 固氮; 近等位基因大豆; 阈值

中图分类号: S565.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-9841(2012)06-0961-05

## Effects of Nitrogen Application on Growth and Nitrogen Fixation in Nodulation and Non-nodulation Soybean Isolines

SHI Hai<sup>1,2</sup>, MIAO Shu-jie<sup>1</sup>, LIU Ju-dong<sup>1</sup>, ZHOU Ke-qin<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Harbin 150081, Heilongjiang; 2. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

**Abstract:** To illustrate the influence of nitrogen fertilizer application on the growth and nitrogen fixation in soybean, the study on the effect of the different N application levels on growth, carbon and nitrogen metabolism, nodulation and nitrogen fixation in soybean under sand culture condition, was carried out with nodulation and non-nodulation soybean isolines. The results showed that N application levels directly impacted soybean biomass. The biomass of nodulation soybean reached the maximum value of  $9.16 \text{ g} \cdot \text{plant}^{-1}$  at  $N_2$  level ( $54 \text{ mg urea} \cdot \text{kg}^{-1}$  sand), while the non-nodulation soybean reached the maximum of  $6.36 \text{ g} \cdot \text{plant}^{-1}$  at  $N_4$  level ( $216 \text{ mg urea} \cdot \text{kg}^{-1}$  sand). There was similar trend of carbon and nitrogen metabolism affected by N level. In addition, nodule number reached the largest number (205 per plant) at  $N_2$  level, and there were significant differences between  $N_2$  and other treatment, exception of  $N_4$  level ( $P < 0.01$ ). The amount of symbiotic nitrogen fixation reached the maximum of  $275.92 \text{ mg} \cdot \text{plant}^{-1}$  at  $N_2$  level, and there were significant differences between  $N_2$  and  $N_3$  ( $N_4$  or  $N_5$ ) ( $P < 0.01$ ). These results showed that there was obvious difference between nodulation and non-nodulation soybean isolate to the demand of exogenous nitrogen. To take full advantage of symbiotic nitrogen fixation of soybean, nitrogen repression threshold was  $N_2$  level ( $54 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  sand) under this experiment conditions.

**Key words:** Carbon and nitrogen metabolism; Nodulation; Nitrogen fixation; Isoline soybean; Threshold

大豆是重要的豆科固氮作物, 其一生的固氮量占地上部总氮量的 25% ~ 85%<sup>[1-3]</sup>。影响大豆发挥固氮功能的因素较多, 包括土壤环境<sup>[4-5]</sup>、气候条件<sup>[6-7]</sup>、生物因素<sup>[8]</sup>等。氮是大豆生长发育及产量形成的第一要素<sup>[9-10]</sup>, 制约着大豆固氮功能的发挥。大豆生长所需氮素来源主要有三方面: 土壤氮、肥料氮和共生固氮。目前, 大豆正常生长仅靠共生固氮和土壤氮是远远不够的, 还需要合理的施用化肥氮<sup>[11-12]</sup>。外源施入的化肥氮对豆科作物结瘤固氮的作用一直受到研究者的关注, 杨子文等<sup>[13]</sup>以小麦为参照植物, 用<sup>15</sup>N 标记研究了施氮对大豆固氮性状的影响, 结果发现高水平外源氮抑制大豆生物固

氮能力; 董守坤等<sup>[14]</sup>利用<sup>15</sup>N 标记研究了氮对根瘤生长的影响, 认为根瘤生长需要一定量启动氮, 而外源氮过多将抑制根瘤的生长。乔云发等<sup>[15]</sup>研究发现, 在大豆结瘤初期供给一定的氮能促进根瘤形成, 持续供给氮会抑制根瘤的生长和固氮功能发挥。关于氮素对共生固氮的研究较多, 2004 年陈文新院士提出共生固氮的氮阻遏问题, 氮阻遏是指所有固氮生物均有一个共性, 在有氮的条件下不固氮, 固氮酶不能合成或者失去活性。研究者通过各种方法进行分析, 但仍然没有提出一个抑制大豆共生固氮的氮阈值。可见, 在充分发挥大豆共生固氮功能、减少氮肥施用和保持土壤氮平衡的前提下,

收稿日期: 2012-02-09

基金项目: 中国科学院青年人才项目 (KZCX2-EW-QN306); 国家自然科学基金项目 (41101219)。

第一作者简介: 石海 (1985-), 男, 在读硕士, 研究方向为大豆结瘤固氮生理。E-mail: shihailone@126.com。

通讯作者: 苗淑杰 (1975-), 女, 博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事大豆结瘤固氮和土壤碳循环等方面的研究。

E-mail: miaoshujie@126.com。

提出大豆共生固氮阻遏阈值对大豆高效生产具有重要意义。

本试验采用结瘤-非结瘤近等位基因大豆品系为材料,在砂培条件下筛选大豆共生固氮过程中的氮阻遏阈值,以期获得影响大豆发挥最佳固氮功能的临界施氮水平,为指导大豆氮肥施用提供可靠的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

试验于2011年7~10月在中国科学院东北地理与农业生态研究所(哈尔滨)日光培养室内进行。供试大豆材料为近等位基因大豆品系 Clark L73-1054(非结瘤)和 Harosoy L82-1449(结瘤),由中国农业科学院作物科学研究所邱丽娟老师提供。基础肥料为磷  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ),钾  $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ),氮肥为尿素(分析纯),其它营养以基础营养液的形式加入<sup>[16]</sup>;培养所用河砂先用自来水清洗3遍,再用蒸馏水洗1遍,晒干备用。

设6个氮水平( $\text{mg}$  尿素 $\cdot \text{kg}^{-1}$ 砂),分别为0( $\text{N}_0$ )、27( $\text{N}_1$ )、54( $\text{N}_2$ )、108( $\text{N}_3$ )、216( $\text{N}_4$ )和432( $\text{N}_5$ ),随机排列,3次重复。随基础营养一同拌入砂中,每桶装拌好的营养砂3 kg,浇蒸馏水至砂中水分饱和且尚未溢出。试验采用直径10 cm高26 cm的PCV桶。每桶播种均匀的大豆种子3粒,出苗后保苗1株。R3期用蒸馏水将大豆植株清洗干净,带回实验室备用。

### 1.2 测定项目和方法

1.2.1 根瘤数量和植株生物量 将取回的大豆植株根部洗净,轻轻剥落根瘤,调查根瘤数目。然后将大豆植株分成地上与地下两部分烘干至恒重( $105^\circ\text{C}$ 杀青, $80^\circ\text{C}$ 烘干)并称量。

1.2.2 C和N含量 取烘干粉碎的植物样品,用

元素分析仪(Elementar Analysensysteme GmbH, EL-III, German)测定C、N含量。

1.2.3 豆血红蛋白含量 取一定量的新鲜根瘤,在 $5^\circ\text{C}$ 的磷酸缓冲溶液( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ , pH6.8)中研磨匀浆,磷酸缓冲液的用量为根瘤体积的4倍。磨碎的匀浆倾入10 mL离心管中,低温离心( $4^\circ\text{C}$ ,  $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ )30 min,540 nm分光光度计比色<sup>[17-18]</sup>。

1.2.4 固氮量 依据整个植株的含氮量,以非结瘤处理为对照,利用差减法计算固氮量。

植株含氮量 = 地上部生物量  $\times$  地上部氮百分含量 + 地下部生物量  $\times$  地下部氮百分含量;

固氮量 = 结瘤植株含氮量 - 非结瘤植株含氮量

### 1.4 数据分析

采用Excel 2007和SPSS 17.0软件对数据进行处理和统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 施氮对大豆生长的影响

从图1可以看出,不同施氮水平对大豆地上部生物量的影响大于地下部,尤其是结瘤大豆,随供氮水平的增加,地下部生物量没有明显变化,而地上部生物量随施氮水平增加呈单峰曲线变化。比较而言,结瘤和非结瘤大豆地上部生物量出现峰值的氮水平差异较大,结瘤大豆在 $\text{N}_2$ 水平地上生物量最大( $7.06 \text{ g} \cdot \text{株}^{-1}$ ),且 $\text{N}_2$ 水平生物量与 $\text{N}_3$ 、 $\text{N}_4$ 、 $\text{N}_5$ 处理间达到差异显著水平( $P < 0.05$ ),非结瘤大豆在 $\text{N}_4$ 水平地上生物量最大( $3.86 \text{ g} \cdot \text{株}^{-1}$ ),且 $\text{N}_4$ 水平生物量与 $\text{N}_0$ 、 $\text{N}_5$ 处理间差异达到极显著水平( $P < 0.01$ )。此外,结瘤和非结瘤大豆全株生物量与地上部分生物量变化规律相一致。

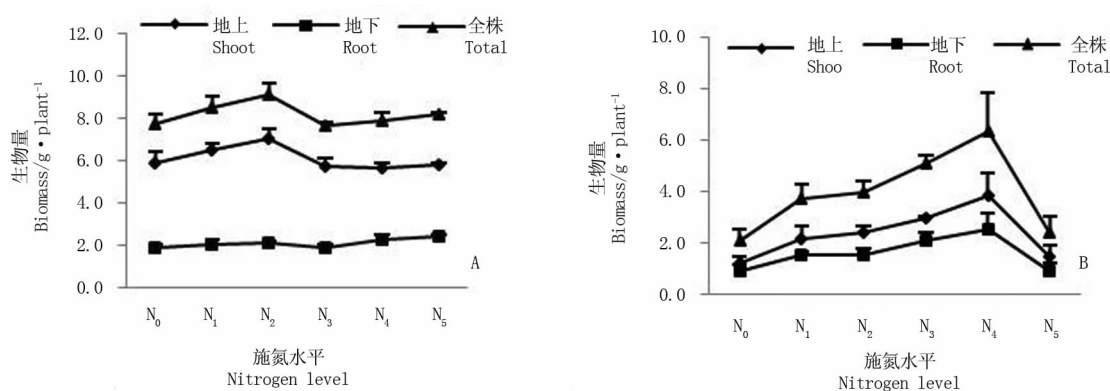


图1 不同施氮水平对结瘤(A)和非结瘤(B)大豆生物量的影响

Fig. 1 Effects of different N supplying level on biomass in nodulating (A) and non-nodulating (B) soybean

2.2 施氮对大豆 C、N 积累的影响

2.2.1 积累量 如表 1 和表 2 所示,结瘤大豆地下部 C、N 含量各处理间未达到差异显著水平。但对地上部分影响比较明显,表现为随施氮水平的增加,结瘤大豆地上部 C、N 积累量在 N<sub>2</sub> 水平下达到峰值。比较而言,N<sub>2</sub> 水平结瘤大豆地上部 C 含量与 N<sub>0</sub>、N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub> 处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。地上部 N 含量与 N<sub>4</sub>、N<sub>5</sub> 处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。全株

C、N 积累量变化与地上部变化趋势一致,均呈现单峰变化。

随着施氮水平的增加,非结瘤大豆的 C、N 积累量不论地上部、地下部还是全株,均呈单峰变化趋势。N<sub>4</sub> 水平地上部 C 含量为 1 625.64 mg·株<sup>-1</sup>,与 N<sub>0</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>5</sub> 处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ),而 N<sub>4</sub> 水平 N 积累达到 61.88 mg·株<sup>-1</sup>,与其它 5 个处理差异显著 ( $P < 0.05$ )。

表 1 不同施氮水平对近等位基因大豆植株 C 积累量的影响

Table 1 Effects of different N supplying levels on C accumulation in nodulating and non-nodulating isoline soybean				
品种 Species	处理 Treatment	地上 Shoot/mg·plant <sup>-1</sup>	地下 Root/mg·plant <sup>-1</sup>	全株 Total/mg·plant <sup>-1</sup>
结瘤 Nodulating	N0	2547.46 ± 238.17 b	736.81 ± 36.16 a	3284.27 ± 207.55 a
	N1	2841.88 ± 137.58 ab	812.22 ± 105.18 a	3654.10 ± 239.82 a
	N2	3079.10 ± 185.35 a	794.24 ± 72.28 a	3873.34 ± 257.00 a
	N3	2475.71 ± 167.68 b	753.85 ± 60.79 a	3229.56 ± 115.76 a
	N4	2430.93 ± 105.01 b	934.33 ± 85.94 a	3365.26 ± 173.38 a
	N5	2499.96 ± 33.54 b	900.38 ± 56.61 a	3400.35 ± 66.45 a
非结瘤 Non-nodulating	N0	490.89 ± 102.13 c	293.21 ± 93.04 b	784.10 ± 194.88 c
	N1	889.08 ± 199.66 bc	529.91 ± 65.90 ab	1418.99 ± 262.33 bc
	N2	1006.46 ± 102.76abc	538.67 ± 82.59 ab	1545.13 ± 183.71abc
	N3	1251.18 ± 9.72 ab	775.42 ± 90.68 a	2026.60 ± 98.90 ab
	N4	1625.64 ± 377.61 a	761.42 ± 155.58 a	2387.06 ± 532.66 a
	N5	625.11 ± 164.42 bc	246.64 ± 70.25 b	871.76 ± 234.54 c

同一品系处理后不同字母代表差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。  
Value within a column for the same isoline followed by different lowercase letters are significantly different at 0.05 probability level. The same bellow.

表 2 不同施氮水平对近等位基因大豆植株 N 积累量的影响

Table 2 Effects of different N supplying levels on N accumulation in nodulating and non-nodulating isoline soybean				
品种 Species	处理 Treatment	地上 Shoot/mg·plant <sup>-1</sup>	地下 Root/mg·plant <sup>-1</sup>	全株 Total/mg·plant <sup>-1</sup>
结瘤 Nodulating	N0	250.24 ± 21.26 ab	39.79 ± 3.26 a	290.03 ± 18.84 ab
	N1	266.51 ± 9.84 ab	48.64 ± 2.94 a	315.15 ± 11.55 a
	N2	286.38 ± 7.86 a	46.69 ± 3.23 a	333.08 ± 10.92 a
	N3	205.17 ± 31.67 bc	39.84 ± 4.46 a	245.01 ± 27.91 bc
	N4	174.82 ± 16.46 c	48.13 ± 1.13 a	222.94 ± 16.13 bc
	N5	160.35 ± 28.27 c	50.04 ± 3.84 a	210.39 ± 31.69 c
非结瘤 Non-nodulating	N0	18.18 ± 2.03 c	14.10 ± 3.24 b	32.28 ± 5.26 c
	N1	26.23 ± 5.43 bc	23.59 ± 2.97 ab	49.83 ± 8.40 bc
	N2	33.09 ± 1.88 bc	24.06 ± 2.66 ab	57.16 ± 4.47 bc
	N3	39.26 ± 1.66 b	33.95 ± 3.56 a	73.21 ± 1.90 ab
	N4	61.88 ± 11.58 a	37.82 ± 8.43 a	99.71 ± 20.10 a
	N5	36.33 ± 3.72 bc	16.14 ± 3.56 b	52.47 ± 6.14 bc

2.2.2 C/N 在有限外源氮条件下,由于结瘤大豆的生物固氮作用增加了大豆体内氮素来源,结瘤大豆植株的 C/N 比明显低于非结瘤大豆植株,并随着施氮水平增加而降低(图2)。

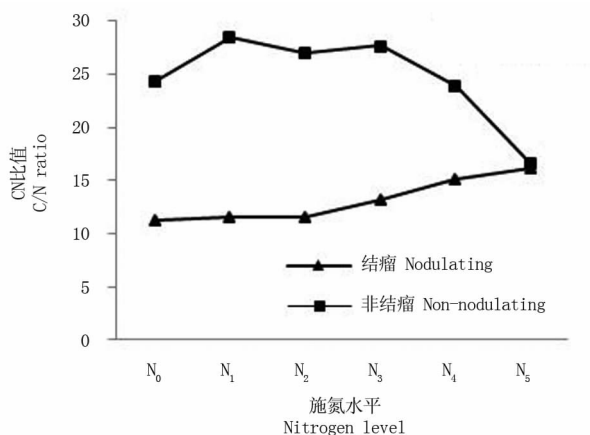


图2 不同施氮水平对近等位基因大豆 CN 比值的影响

Fig.2 Effects of different N supplying levels on C/N ratio in nodulating and non-nodulating soybean isolines

### 2.3 施氮对大豆结瘤植株固氮性状的影响

2.3.1 根瘤数 由图3可知,根瘤数随施氮水平增加而增加,在 N<sub>2</sub> 水平达到最大值(205 个·株<sup>-1</sup>),极显著高于除 N<sub>4</sub> 外的其它处理 ( $P < 0.01$ )。随着氮水平进一步增加,根瘤数逐渐降低,但却在 N<sub>4</sub> 水平时瘤数出现一个高值,为 194 个·株<sup>-1</sup>,这可能是因为植株个体差异所致。

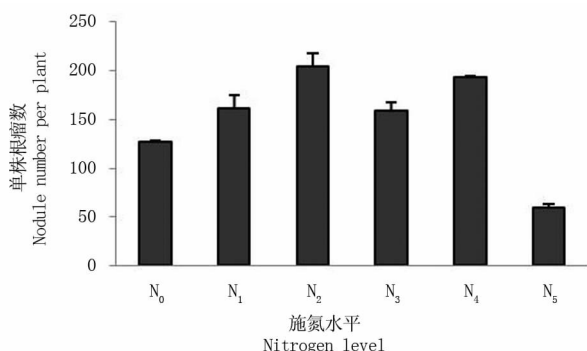


图3 不同施氮水平对结瘤大豆植株根瘤数目的影响

Fig.3 Effects of different N supplying levels on nodule number in nodulating soybean

2.3.2 根瘤豆血红蛋白含量 根瘤豆血红蛋白含量是表征植株固氮功能强弱的指标之一<sup>[19-20]</sup>。由图4可以看出每克根瘤豆血红蛋白含量的变化与结瘤植株生物量、C、N 积累量和根瘤数变化的趋势正好相反,随施氮水平增加每克根瘤的豆血红蛋白含量逐渐降低,至 N<sub>2</sub> 水平达到最低值(3.73 mg·g<sup>-1</sup> 根瘤 FW),这说明随施氮水平增加,根瘤活性受到抑制,而随着氮水平进一步增加每克根瘤的豆血红

蛋白含量逐渐上升,这是因为低氮水平时,根瘤数量较大,相对来讲根瘤较小,在瘤内形成的豆血红蛋白含量较低,而高氮时根瘤形成受到抑制,根瘤较大,瘤内形成的豆血红蛋白较多。

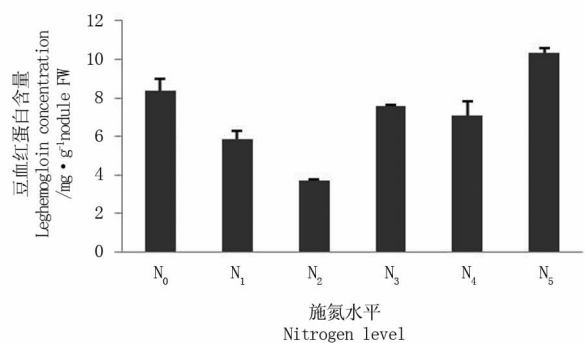


图4 不同施氮水平对结瘤大豆根瘤豆血红蛋白含量的影响

Fig.4 Effects of different N supplying levels on leghemoglobin concentration in nodulating soybean

2.3.3 结瘤固氮量 由图5可知,随着氮水平增加,共生固氮量开始增加,在 N<sub>2</sub> 水平达到最大值(275.92 mg·株<sup>-1</sup>),此后,随着氮水平增加逐渐降低。比较而言,N<sub>2</sub> 水平的共生固氮量极显著高于 N<sub>3</sub>、N<sub>4</sub> 和 N<sub>5</sub> 处理 ( $P < 0.01$ )。因此,在该试验条件下,大豆共生固氮的氮阻遏阈值为 N<sub>2</sub> 水平。

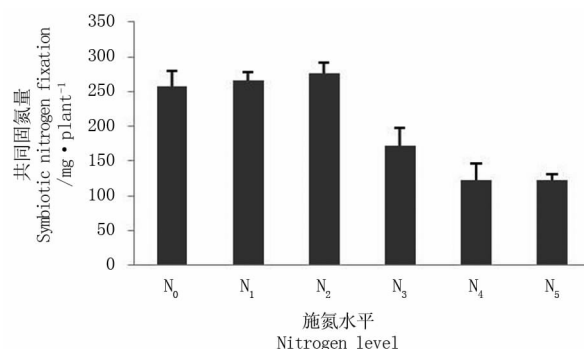


图5 不同施氮水平对结瘤大豆共生固氮量的影响

Fig.5 Effects of different N supplying styles on symbiotic nitrogen fixation in nodulating soybean

## 3 结论与讨论

碳氮代谢是植物体内两大基本代谢过程,分别与碳水化合物和蛋白质的合成有关<sup>[21]</sup>。C、N 积累量随供氮水平的变化规律表明,随施氮水平的增加,植株 C、N 积累量呈先增加后降低的趋势,这与董守坤等<sup>[22]</sup>和邱伟等<sup>[23]</sup>关于氮素对大豆植株氮素积累影响的研究结果相一致。该试验条件下,结瘤植株与非结瘤大豆体内碳氮含量和最高生物量达到峰值所需外源氮量不同,结瘤植株在 N<sub>2</sub> 水平,非

结瘤植株在  $N_4$  水平。这是因为结瘤大豆具有共生固氮能力,可以提供一部分氮供给大豆生长,促进碳氮代谢,其生物量达到峰值时所需的外源氮水平就低于非结瘤大豆。

从结瘤情况来看,在  $N_2$  水平出现根瘤数的峰值 ( $205 \text{ 个} \cdot \text{株}^{-1}$ ),张含彬等<sup>[11]</sup>和王树起等<sup>[24]</sup>也发现适宜的施用氮肥有利于根瘤形成,而高施氮水平则抑制大豆根瘤形成。而从每克根瘤的豆血红蛋白含量来看,随施氮水平增加,在  $N_2$  水平出现最小值,根瘤活性受到抑制,尽管该水平单位根瘤生物量豆血红蛋白含量不高,但是相对较大的根瘤数量弥补了这一不足,结果导致在  $N_2$  水平大豆根瘤固氮量最大 ( $275.92 \text{ mg} \cdot \text{株}^{-1}$ )。

总体而言,不同施氮水平对结瘤和非结瘤近等位基因大豆的 C、N 峰值差异与对其生物量的影响趋势一致,并与大豆固氮量受外源氮水平的影响规律一致,因此,在本试验条件下,可以初步认为  $N_2$  水平,即  $54 \text{ mg 尿素} \cdot \text{kg}^{-1}$  砂为大豆共生固氮的氮阻遏阈值。因此,在大豆实际生产中应注意化肥氮施用水平,以提高结瘤大豆的共生固氮能力,达到少肥高效的目的。下一步的试验将在阻遏阈值条件下,利用<sup>13</sup>C 和<sup>15</sup>N 标记技术分析大豆发生氮阻遏现象时,体内碳氮代谢、根瘤固氮能量需求和固氮产物运输机制等。

## 参考文献

- [1] Deibert E J, Bijeriego M, Olson R A. Utilization of <sup>15</sup>N fertilizer by nodulating and non-nodulating soybean isolines [J]. *Agronomy Journal*, 1979, 71: 717-723.
- [2] Jefing Y, Herridge D F, Peoples M B, et al. Effects of N fertilization on  $N_2$  fixation and N balances of soybean grown after lowland rice [J]. *Plant Soil*, 1992, 147: 235-242.
- [3] Vasilas B L, Nelson R L, Fuhrmann J J, et al. Relationship of nitrogen utilization patterns with soybean yield and seed-fill period [J]. *Crop Science*, 1995, 35: 809-813.
- [4] 袁剑刚, 杨中艺. 氮肥和水分条件对长喙田菁生长、结瘤和固氮的影响 [J]. *植物生态学报*, 2003, 27(1): 172-176. (Yuan J G, Yang Z Y. Effects of N fertilizer and water condition on growth, nodulation and N-fixation of *Sesbania rostrata* azo rhizobium caulimodans symbiosis [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2003, 27(1): 172-176.
- [5] Lamrabet Y, Bellogin R A, et al. Mutation in GDP-fucose synthesis genes of sinorhizobium fredii alters nod factors and significantly decrease competitiveness to nodulate soybeans [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1999, 12: 207-217.
- [6] Anita A, Veena J, Nainawatee H S. Effect of low temperature and rhizospheric application of naringenin on pea-rhizobium leguminosarum biovar viciaesymbiosis [J]. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 1998, 7(1): 35-38.
- [7] 慈恩, 高明. 环境因子对豆科共生固氮影响的研究进展 [J]. *西北植物学报*, 2005, 25(6): 1269-1274. (Ci E, Gao M. Research advances in the effects of environmental factors on the symbiotic nitrogen fixation of legumes [J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 2005, 25(6): 1269-1274.)
- [8] 陈利云, 张海林, 周志宇. 生物与非生物因素对共生固氮的影响 [J]. *草业学报*, 2010, 27(6): 64-70. (Chen L Y, Zhang H L, Zhou Z Y. Effect of biotic and abiotic factors on symbiotic nitrogen fixation [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2010, 27(6): 64-70.)
- [9] Kumar S, Narula A, Abdin M Z, et al. Enhancement in biomass and berberine concentration by neem cake and nitrogen(urea) and sulphur nutrients in *Tinospora cordifolia* Miers [J]. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 2004, 10: 243-251.
- [10] Zhou X J, Liang Y, Chen H, et al. Effects of rhizobia inoculation and nitrogen fertilization on photosynthetic physiology of soybean [J]. *Photosynthetica*, 2006, 44(4): 530-535.
- [11] 甘银波, 涂学文, 田任久. 大豆的最佳氮肥施用时期研究 [J]. *大豆科学*, 1998, 17(4): 287-291. (Gan Y B, Tu X W, Tian R J. Study on optimum timing of nitrogen application on soybean [J]. *Soybean Science*, 1998, 17(4): 287-291.)
- [12] 张含彬, 任万军, 杨文钰, 等. 不同施氮量对套作大豆根系形态与生理特性的影响 [J]. *作物学报*, 2007, 33(1): 107-112. (Zhang H B, Ren W J, Yang W Y, et al. Effects of different nitrogen levels on morphological and physiological characteristics of relay-planting soybean root [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2007, 33(1): 107-112.)
- [13] 杨子文, 沈禹颖, 谢田玲, 等. 外源供氮水平对大豆生物固氮效率的影响 [J]. *西北植物学报*, 2009, 29(3): 574-579. (Yang Z W, Shen Y Y, Xie T L, et al. Biological nitrogen fixation efficiency in soybean under different levels of nitrogen supply [J]. *Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica*, 2009, 29(3): 574-579.)
- [14] 董守坤, 刘丽君, 孙聪姝, 等. 利用<sup>15</sup>N 标记研究氮素水平对大豆根瘤生长的影响 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2011, 17(4): 985-988. (Dong S K, Liu L J, Sun C M, et al. Effects of nitrogen levels on nodule growth of soybean using <sup>15</sup>N tracing method [J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2011, 17(4): 985-988.)
- [15] Qiao Y F, Tang C X, Han X Z, et al. Phosphorus deficiency delays the on set of nodule function in soybean [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2007, 30: 1341-1353.
- [16] 苗淑杰, 乔云发, 韩晓增, 等. 缺磷对已结瘤大豆生长和固氮功能的影响 [J]. *作物学报*, 2009, 35: 1344-1349. (Miao S J, Qiao Y F, Han X Z, et al. Effects of phosphorus deficiency on growth and nitrogen fixation of soybean after nodule formation [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2009, 35: 1344-1349.)
- [17] 王树起, 韩晓增, 乔云发, 等. 不同供 N 方式对大豆生长和结瘤固氮的影响 [J]. *大豆科学*, 2009, 28(5): 859-862. (Wang S Q, Han X Z, Qiao Y F, et al. Soybean (*Glycine max* L.) growth and nitrogen fixation as affected by different N supplying modes [J]. *Soybean Science*, 2009, 28(5): 859-862.)
- [18] 左元梅, 刘永秀, 张福锁. 与玉米混作改善花生铁营养对其根瘤形态结构及豆血红蛋白含量的影响 [J]. *植物生理与分子生物学学报*, 2003, 29(1): 33-38. (Zuo Y M, Liu Y X, Zhang F S. Effects of improvement of iron nutrition by mixed cropping with maize on nodule microstructure and legheamoglobin content of peanut [J]. *Journal of Plant Physiology and Molecular Biology*, 2003, 29(1): 33-38.)

- 验效果[J]. 农药, 2007, 46(3): 197-198. (Wang L J, Zhou Y F, Nie W Y. Test efficacy of acetochlor plus quizalofop-p-ethyl 15% ME for weed control in soybeans field[J]. Agrochemicals, 2007, 46(3): 197-198. )
- [5] 王琳, 耿智德, 王玉兰. 几种除草剂在大豆地的除草效果[J]. 农药, 2003, 42(3): 32-33. (Wang L, Geng Z D, Wang Y L. The weed control effect of several herbicides in soybeans field[J]. Agrochemicals, 2003, 42(3): 32-33. )
- [6] 王宇, 黄春艳, 丛林, 等. 除草剂对优质大豆品质的影响研究[J]. 大豆科学, 2003, 22(4): 310-312. (Wang Y, Huang C Y, Cong L, et al. Study on effect of herbicides to soybean quality[J]. Soybean Science, 2003, 22(4): 310-312. )
- [7] 滕春红. 氯氟草醚乙酯防除大豆杂草[J]. 大豆科学, 2008, 27(2): 301-305. (Teng C H. Control efficacy of ethoxyfen-ethyl on weeds of soybean[J]. Soybean Science, 2008, 27(2): 301-305. )
- [8] 黄春艳, 陈铁保, 王宇, 等. 东部地区大豆田杂草种群演变趋势及其化学防除[J]. 大豆科学, 1999, 16(3): 255-259. (Hung C Y, Chen T B, Wang Y, et al. Weed and chemical control in soybean field in the east of Heilongjiang Province[J]. Soybean Science, 1999, 16(3): 255-259. )
- [9] 吴竞仑, 周恒昌. 稻田土壤多年生杂草种子库研究[J]. 中国水稻科学, 2006, 20(1): 89-96. (Wu J L, Zhou H C. Seedbank of perennial weeds in paddy field[J]. Chinese Journal of Rice Science, 2006, 20(1): 89-96. )
- [10] 魏守辉, 强盛, 马波, 等. 不同作物轮作制度对土壤杂草种子库特征的影响[J]. 生态学杂志, 2005, 24(4): 385-389. (Wei S H, Qiang S, Ma B, et al. Effects of different crop rotation system on the characteristics of soil weed seedbank[J]. Chinese Journal of Ecology, 2005, 24(4): 385-389. )
- [11] 强胜. 杂草学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 11-23. (Qiang S. Weeds learning[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2001: 11-23. )
- [12] Cardina J, Hems C P, Doohan D J. Crop ration and tillage system effect on weed seedbank[J]. Weed Science, 2002, 50: 448-460.
- [13] Buhler D D, Mester T C. Effect of tillage systems on the emergence depth of giant foxtail (*Setaria faberi*) and green foxtail (*Setaria viridis*) [J]. Weed Science, 1991, 39: 200-203.
- [14] 王晓荣, 程瑞梅, 唐万鹏, 等. 三峡库区消落带水淹初期土壤种子库月份动态[J]. 生态学报, 2012, 32(10): 3107-3117. (Wang X R, Cheng R M, Tang W P, et al. Monthly dynamic variation of soil seed bank in water-level-fluctuating zone of Three Gorges Reservoir at the beginning after charging water[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(10): 3107-3117. )
- [15] Buhler D D, Hartzler R G, Forcella F. Implications of weed seedbank dynamics to weed management[J]. Weed Science, 1997, 45: 329-336.
- [16] Rahman A, James T K. Weed seedbank estimation, spatial distribution, decline and potential for predicting future weed populations[J]. Plant Protection, 1998, 13: 117-122.
- [17] 卢娟, 肖黎丽. 农田杂草种子库与除草策略[J]. 辽宁农业科学, 2006(2): 57-59. (Lu J, Xiao L L. The study on the weeds seedbank and weed control strategy[J]. Liaoning Agricultural Sciences, 2006(2): 57-59. )
- [18] 赵桂芝. 百种新农药[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 183-186. (Zhao G Z. Hundreds of new pesticides[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2002: 183-186. )
- [19] 黄春艳, 陈铁保, 王宇, 等. 28 种除草剂对大豆的安全性及药害研究初报[J]. 植物保护, 2003, 29(1): 31-34. (Huang C Y, Chen T B, Wang Y, et al. Preliminary studies on safety and injury of 28 herbicides to soybean[J]. Plant Protection, 2003, 29(1): 31-34. )
- [20] 张玉聚, 赵永谦, 孙化田. 除草剂药害诊断原色图谱[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 2002: 250. (Zhang Y J, Zhao Y Q, Sun H T. Herbicide phytotoxicity diagnosis primary color map[M]. Zhengzhou: Henan Science and Technology Press, 2002: 250. )
- [21] 高爽, 赵平. 除草剂混用及其药效评价方法[J]. 农药, 2007, 46(9): 633-634. (Gao S, Zhao P. Herbicide mixture and efficacy evaluation[J]. Agrochemicals, 2007, 46(9): 633-634. )
- [22] 孙亚林, 朱文达, 陈文勇, 等. 精喹禾灵对夏大豆田间的控草效果和光照及养分的影响[J]. 华中农业大学学报, 2009, 28(2): 161-163. (Sun Y L, Zhu W D, Chen W Y, et al. The weed control effects of quizalofop-p-ethyl and its influence on light and nutrition in summer soybean field[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2009, 28(2): 161-163. )
- [23] 王竹, 杨文钰, 吴其林, 等. 玉/豆套作荫蔽对大豆光合特性与产量的影响[J]. 作物学报, 2007, 33(9): 1502-1507. (Wang Z, Yang W Y, Wu Q L, et al. Effects of shading in maize/soybean relay-cropping system on the photosynthetic characteristics and yield of soybean [J]. Acta Agronomica Sinica, 2007, 33(9): 1502-1507. )

# (上接第 965 页)

- [19] Dakorad F. A functional relationship between leghemoglobin and nitrogenase based on novel measurements of the proteins in legume root nodules[J]. Annals of Botany, 1995, 15: 49-54.
- [20] Sinclair T R, Serra J R. Legume nitrogen fixation and drought[J]. Nature, 1995, 378: 344-347.
- [21] 田纪春, 王学臣, 刘广田. 植物的光合作用与光合氮、碳代谢的耦联及调节[J]. 生命科学, 2001, 13(4): 145-147. (Tian J C, Wang X C, Liu G T. The coupling and regulation between photosynthesis and nitrogen, carbon metabolism in plant[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2001, 13(4): 145-147. )
- [22] 董守坤, 龚振平, 祖伟. 氮素营养水平对大豆氮素积累及产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(1): 65-70. (Dong S K, Gong Z P, Zu W. Effects of nitrogen nutrition levels on N-ac-cumulation and yields of soybean[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(1): 65-70. )
- [23] 邱伟, 金喜军, 马春梅, 等. 施氮水平对大豆氮素积累与产量影响的研究[J]. 核农学报, 2010, 24(3): 612-617. (Di W, Jin X J, Ma C M, et al. Effects of nitrogen application on yield and nitrogen accumulation in soybean[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2010, 24(3): 612-617. )
- [24] 王树起, 韩晓增, 乔云发, 等. 施氮对大豆根系形态和氮素吸收积累的影响[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(6): 1069-1073. (Wang S Q, Han X Z, Qiao Y F, et al. Root morphology and nitrogen accumulation in soybean (*Glycine max* L.) under different nitrogen application levels[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2009, 17(6): 1069-1073. )