



NO₃⁻ 态氮对花生结瘤与固氮作用的影响

左元梅, 刘永秀, 张福锁

(农业部植物营养学重点实验室, 教育部植物-土壤相互作用重点实验室, 中国农业大学植物营养系, 北京 100094)

摘要: NO₃⁻-N 是环境介质中影响豆科植物共生固氮的重要因素。通过土培方法研究了 NO₃⁻-N 对花生根瘤生长发育和固氮功能的影响, 结果表明, 随着 NO₃⁻-N 施用量的增加, 花生根瘤原基、根瘤数和根瘤干重明显降低。当 NO₃⁻-N 施用量为 50、100 mg · kg⁻¹ 时花生单株和单位根瘤固氮酶活性升高, 而施用 NO₃⁻-N 为 150、200 mg · kg⁻¹ 时花生的固氮酶活性较低。结果分析表明, 环境介质中较高浓度的 NO₃⁻-N 可能是通过影响根瘤菌-花生间的识别侵染, 从而抑制根瘤原基形成并导致可见根瘤的数量减少; 花生根瘤生长发育主要受环境中 NO₃⁻-N 浓度和其根系含氮量的影响, 而与植株吸氮量关系不大。

关键词: NO₃⁻-N; 花生; 根瘤形成; 固氮酶活性

Effects of the NO₃⁻-N on nodule formation and nitrogen fixing of peanut

ZUO Yuan-Mei, LIU Yong-Xiu, ZHANG Fu-Suo (Key Laboratory of Plant Nutrition, MOA, Key Laboratory of Plant-Soil Interactions, MOE, Department of Plant Nutrition, China Agricultural University, Beijing 100094, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(4): 758~764.

Abstract: NO₃⁻-N of the environment plays an important role in rhizobium-legume symbiotic nitrogen fixation of legume. A soil pot experiment was carried out to test the effects of NO₃⁻-N on nodule development and nitrogen fixing of peanut. The results showed that number of nodule initials, nodule number and nodule dry weight of peanut decreased significantly along with increase of NO₃⁻-N application. When the supply of NO₃⁻-N was 50 or 100 mg · kg⁻¹, the nitrogenase activity both per plant and per nodule weight increased, but when the supply of NO₃⁻-N was 150 or 200 mg · kg⁻¹, the nitrogenase activity decreased. The high concentration of NO₃⁻-N shown a great effect on recognition and infection between peanut and rhizobia which led to inhibit nodule formation. The nodule development of peanut was mainly affected by concentration of NO₃⁻-N and nitrogen content of peanut root, but had no significant relation to nitrogen uptake of peanut.

Key words: NO₃⁻-N; peanut; nodule formation; nitrogenase activity

文章编号: 1000-0933(2003)04-0758-07 中图分类号: S664 文献标识码: A

豆科植物-根瘤菌是根际微生态系统中一类特殊的植物-微生物共生体, 根瘤菌能有效地固氮, 不仅可满足自身对氮素营养的需求, 又能供寄主植物利用, 根瘤菌通过固氮可为豆科作物提供其所需的 1/3~2/3

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170185)

收稿日期: 2002-01-23; 修订日期: 2002-08-14

作者简介: 左元梅(1964~), 女, 河北张家口人, 博士, 副教授, 主要从事间套作生理生态研究。E-mail: zuoym@mx.cej.gov.cn

Foundation item: National Natural Science Foundation of China(No. 30170185)

Received date: 2002-01-23; Accepted date: 2002-08-14

Biography: ZUO Yuan-Mei, Doctor, Associate Professor, Mainly engaged in the physiology and ecology of intercropping.

的氮素;同时豆科作物也为根瘤菌提供了适宜的生活环境和生长发育所需要的能源。在自然界,生物固氮量的 80%是由根瘤菌与豆科植物共生固氮完成的^[1,2]。全球豆科作物的种植面积约为 2.5 亿 hm^2 ,其中豆科作物共生固氮量每年为 $3.5 \sim 4.4 \times 10^3$ 万 t 氮^[3,4]。 NO_3^- 是环境介质中影响豆科植物共生固氮的重要因素,较高的 NO_3^- 既能够影响根瘤皮层内 O_2 的扩散,最终导致根瘤呼吸速率和固氮酶活性下降,同时又会抑制豆科作物信号物质类黄酮的合成和累积,从而抑制根瘤菌与豆科作物间的识别和侵染^[5~7]。因此,环境介质中 NO_3^- 含量在豆科作物的共生固氮中占有极其重要的地位。

花生是华北地区重要的油料作物。然而,花生缺铁黄化现象在石灰性土壤地区极其普遍,是花生高产、稳产的主要限制因子之一。黄淮海平原广泛实行的玉米/花生间作制度对改善花生的铁营养具有非常明显的效果^[8]。在多种豆科作物中,缺铁可抑制豆科作物结瘤,使固氮酶活性显著降低,从而影响产量和品质^[9,10],可以推测,在玉米花生间作体系中,一方面,玉米可通过竞争花生根际氮而对花生固氮产生影响,另一方面,玉米可通过改善花生铁营养而影响花生固氮,为此,本研究首先通过土培试验,探讨了环境介质中 NO_3^- 浓度的变化对花生根瘤发生、发育和固氮性能的影响,旨在了解铁营养和和硝态氮对花生根瘤发生、发育和固氮性能影响的本质差异,为进一步研究玉米/花生间作体系中氮竞争对花生共生固氮的影响提供理论和技术依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤和供试植物

试验在中国农业大学植物营养系温室中进行,供试土壤为北京大兴县石灰性砂壤土,其基本理化性状有机质含量 0.39%,全氮 0.027%,速效磷(Olsen-P) $3.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,速效钾($\text{NH}_4\text{OAc-K}$) $60.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,有效铁(DTPA-Fe) $4.52 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $\text{pH}(\text{CaCl}_2)$ 8.3,碳酸钙(CaCO_3) 8.32%。供试植物为花生,品种为海花 1 号。

1.2 试验设计与植物培养

试验处理设 5 个 N 水平, NO_3^- -N 施用量以 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 计,分别为 0、50、100、150、200,每个处理重复 3 次,各处理其它底肥相同并以 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 计,分别为 K 100(K_2SO_4)、P 150 (KH_2PO_4)、Mg 50(MgSO_4)、Cu 5 ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)、Zn 5($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)、Fe 10(EDTA-Fe)。将风干土壤过 2.5mm 筛,将肥料与土壤充分混匀后按容重 $1.3 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$ 装入瓷盆,每盆装土 8kg。将花生种子用 10% H_2O_2 在暗处消毒浸泡 30min 后用水冲洗,在滤纸上浸入饱和 CaSO_4 溶液催芽,然后将催芽后的花生种子置于 10^8 个/ ml^{-1} 的花生根瘤菌 3201 菌液中接种 1h 后播种,每盆种植 5 株花生,花生生长 60d 后收获,每盆取 3 株用于乙炔还原力和养分含量的测定,另外两株用于根瘤原基的观察。

1.3 样品测定

1.3.1 根瘤原基点观察 将收获的花生根系,首先用自来水水冲洗干净,然后再用无菌水清洗并置于 1:3 的乙醇/乙酸溶液中,在 4℃ 冰箱内保持数月固定。用 121℃/10min 高压灭菌的 10%KOH 溶液浸洗固定好的花生根系,直至根系棕色消失并变白。老的根系还要在 5%NaOCl 溶液中浸泡 10~20min,使其完全变白,漂白的根系用灭菌的去离子水冲洗,并在 1%的 HCl 溶液中浸泡 5min,随后取出根系再用灭菌的去离子水冲洗数次,最后在 0.1%亮绿($\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_9\text{S}_3$)溶液中染色 10~30min,取出置于灭菌去离子水中过夜脱色,在解剖镜下观察根瘤原基,并计数^[11]。

1.3.2 乙炔还原力测定 获取花生根系,立即放于干净自制的 650ml 密闭容器中,然后注入高纯乙炔气 50ml,在 25℃ 无光条件下反应 1h 后,抽取 0.5ml 待测气体,用日本岛津公司生产的气相色谱 GC-14B (FID)测定乙烯释放量。测定条件如下:柱温 80℃,进样口温度 100℃,检测器温度 150℃,载气流量 50 kPa,氢气流量 50kPa,空气流量 50kPa。

1.3.3 植株全铁全氮含量的测定 花生植株分为地上部、地下部和根瘤分别收获后,样品经过 60℃ 烘干后进行测定。全铁含量的测定:称取一定量磨碎混匀的烘干植物样品,在马福炉中于 550℃ 下灰化 7~8h,灰分用 1:1 的 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 用原子吸收分光光度计测定。全氮含量的测定:浓 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮,凯氏法定氮法^[12]。

2 结果与分析

2.1 NO₃⁻ 对花生结瘤的影响

2.1.1 根瘤原基 如图 1 所示,花生根瘤原基数量随着 NO₃⁻-N 施用量的增加而减少,二者呈显著负相关关系。与对照相比,各处理花生根瘤原基数目分别降低 33%、77%、79%和 91%,该结果表明,NO₃⁻-N 对花生根瘤原基形成影响较大。

2.1.2 总根瘤数、根瘤重量和平均根瘤重 花生总根瘤数和根瘤重量都随着 NO₃⁻-N 施用量的增加而减少,并呈显著负相关(图 1)。与对照相比,各处理花生根瘤数分别下降 44%、69%、75%和 88%,根瘤干重分别下降 53%、69%、78%和 92%。花生总根瘤数与根瘤原基数量之间存在显著正相关(图 2),但各处理间平均根瘤重变化不大(图 3)。

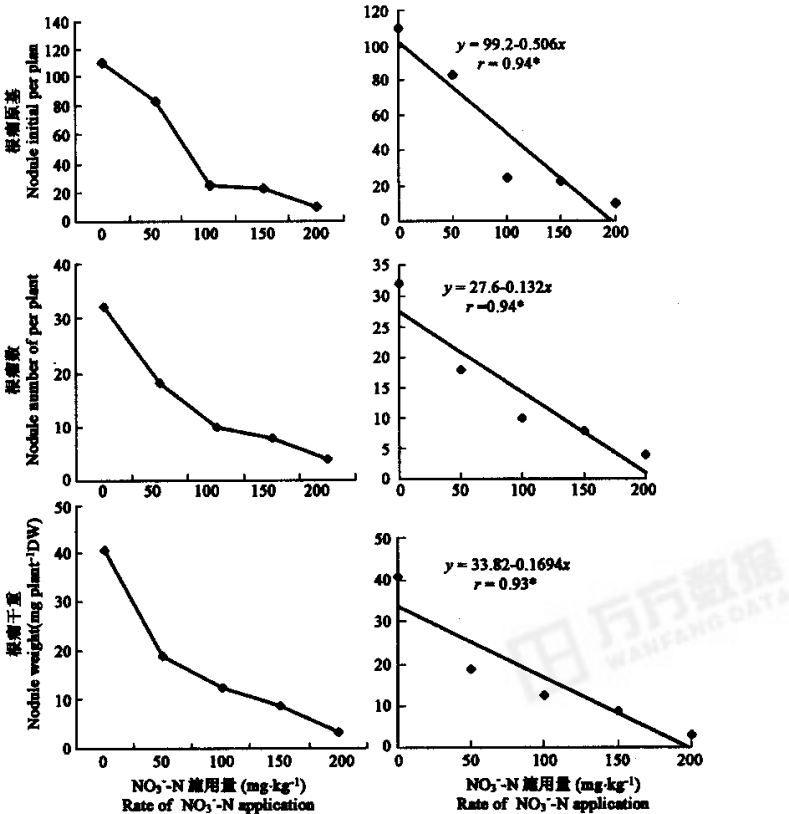


图 1 不同氮肥施用量对花生根瘤原基、根瘤数和根瘤干重的影响

Fig. 1 Effects of NO₃⁻-N on nodule initials, nodule number and nodule dry weight of peanut

2.2 NO₃⁻ 对花生各部位铁含量的影响

如表 1 所示,当 NO₃⁻-N 施用量分别为 50、100mg · kg⁻¹时,花生地上部铁含量和吸铁量以及整株吸铁量都提高。与对照相比,地上部含铁量分别提高 3.8%和 10.6%,地上部吸铁量分别提高 13.6%和 22.2%;整株吸铁量分别提高 16.0%和 10.5%。而 NO₃⁻-N 施用量分别为 150、200 mg · kg⁻¹时,花生地上部含铁量和吸铁量以及整株吸铁量又开始降低,与对照相比,地上部含铁量分别下降 9.3%和 11.9%,地上部吸铁量分别下降 8.4%和 16.0%;整株吸铁量分别下降 11.0%和 18.3%。

但不同施氮量对花生地下部和根瘤含铁量影响不大(表 1),而地下部吸铁量以施用 NO₃⁻-N 为 50 mg · kg⁻¹ 为最高,其它各处理间变化不大;而根瘤吸铁量则随施氮量增加呈明显下降趋势,与对照相比各处理分别降低 40%、46%、63%和 75%。

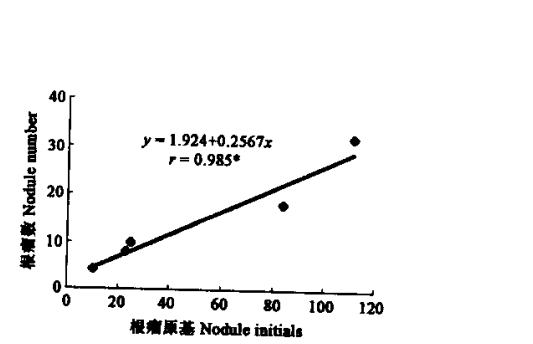


图 2 花生根瘤数与根瘤原基之间的相关关系
Fig. 2 The relation of nodule number and nodule initials of peanut

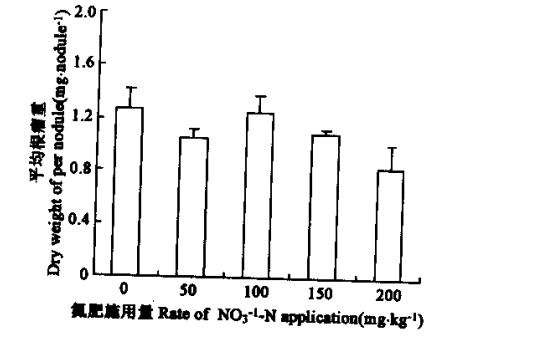


图 3 NO₃⁻-N 施用量对花生平均根瘤重的影响
Fig. 3 Effect of NO₃⁻-N application on dry weight of per nodule

表 1 NO₃⁻-N 对花生各部位铁含量和吸铁量的影响
Table 1 Effect of NO₃⁻-N on iron concentration and iron uptake in the parts of peanut

施氮量 Rate of NO ₃ ⁻ -N application (mg · kg ⁻¹)	含铁量			吸铁量			
	Iron concentration(mg · kg ⁻¹)			Iron uptake(μg per plant)			
	地上部 Shoot	地下部 Root	根瘤 Nodule	地上部 Shoot	地下部 Root	根瘤 Nodule	整株 All plant
0	337.8+38.9a	706.2+37.3a	600+70.1a	666.5+38ab	252.7+50.9b	19.5+5.2a	938.7+86ab
50	350.8+68.4a	978.8+85.6a	593.1+59.7a	757.4+153ab	320.1+5.7a	11.7+2.8b	1089.2+149a
100	373.6+19.2a	868.6+163.3a	740.6+84.0a	814.5+96a	212.3+30.5b	10.6+1.8bc	1037.4+80a
150	306.5+23.9a	865.7+33.7a	711.9+103.0a	610.2+82ab	217.6+34.4b	7.2+2.4bc	834.9+95b
200	297.5+69.4a	874.3+138.9a	608.5+73.8a	559.6+122b	202.5+31.8b	4.9+2.7c	767.0+98b

2.3 NO₃⁻ 对花生根瘤固氮酶活性的影响

单株花生固氮酶活性和单位根瘤固氮酶活性随着施氮量增加先升高而后又迅速下降(图 4,图 5)。当施用的 NO₃⁻-N 为 50mg · kg⁻¹时,单株固氮酶活性和单位根瘤固氮酶活性最高,与对照相比分别提高 37%和 177%。Duncan's 多重比较结果表明,当施用 NO₃⁻-N 分别为 50、100 mg · kg⁻¹时,NO₃⁻ 对花生单株固氮酶活性影响不大,而施用 NO₃⁻-N 分别为 150、200 mg · kg⁻¹时则影响较大,花生单株固氮酶活性明显降低;当施 NO₃⁻-N 分别为 50、100 mg · kg⁻¹时花生单位根瘤固氮酶活性明显提高,而当施用的 NO₃⁻-N 分别为 150、200 mg · kg⁻¹时,花生单位根瘤固氮酶活性虽有下降趋势,但变化不明显。

2.4 NO₃⁻ 对花生各部位氮含量和吸氮量及其同根瘤生长发育关系的影响

施用 NO₃⁻-N 对花生各部位氮含量和吸氮量的影响如表 2 所示。Duncan's 多重比较结果表明,生长 60d 后花生地上部含氮量以及地上部吸氮量、地下部吸氮量和植株总的吸氮量在各处理间差异不明显,然而花生地下部含氮量则在各处理间差异明显。与对照相比,各处理花生地下部含氮量分别提高 15%、30%、20%和 38%。与花生根瘤原基进行相关性分析结果表明(图 6),花生单株根瘤原基数目与其地上部含氮量和总吸氮量关系不密切,而与地下部含氮量呈显著负相关。

2.5 NO₃⁻ 对花生生长的影响

图 7 结果表明对于花生地上部而言,施氮量为 0~100mg · kg⁻¹范围内,随着施氮量增加植株生长较好,但随着施氮量进一步增加至 150、200mg · kg⁻¹时,植株生物量有下降的趋势;而对于花生根系生长则

随着 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 施用量的增加呈下降趋势,这基本与花生固氮酶活性随施氮量的变化相一致,表明过高的施氮量能够抑制花生的固氮酶活性,从而抑制了花生的生长。

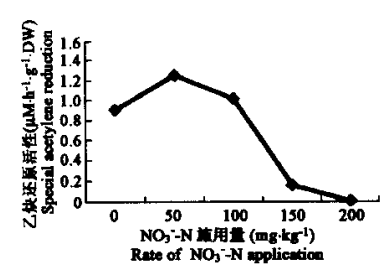


图 4 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 施用量对单株花生固氮酶活性的影响

Fig. 4 Effect of $\text{NO}_3^- \text{-N}$ on total acetylene reduction of per peanut

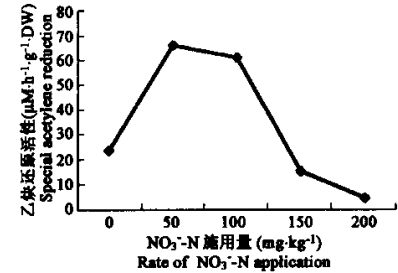


图 5 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 施用量对花生单位根瘤固氮酶活性的影响

Fig. 5 Effect of $\text{NO}_3^- \text{-N}$ on special acetylene reduction of peanut nodule

表 2 花生各部位氮含量和吸氮量

Table 2 Iron concentration and iron uptake of peanut

施氮量 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	含氮量 N concentration(g/kg)		吸氮量 N uptake(mg per plant)		
	地上部 Shoot	地下部 Root	地上部 Shoot	地下部 Root	整株 All plant
0	27.57+1.03a	19.79+2.1c	55.51+8.22a	7.42+2.15a	62.93+10.32a
50	28.19+0.29a	22.85+1.65bc	61.50+12.12a	7.15+1.63a	68.65+13.74a
100	27.75+0.17a	25.66+0.78ab	57.40+5.49a	6.86+1.45a	64.26+6.31a
150	27.22+1.68a	23.82+0.39b	48.42+6.05a	6.83+0.71a	55.26+6.47a
200	27.31+0.95a	27.41+2.88 a	50.02+4.52a	7.02+1.71a	57.04+2.81a

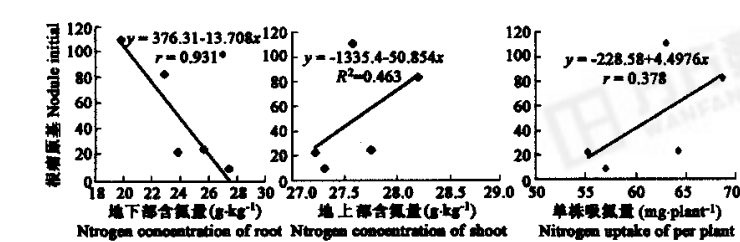


图 6 花生地上部和地下部氮含量及单株吸氮量与根瘤原基之间的关系

Fig. 6 Relation of shoot concentration, root concentration and N uptake per plant with nodule initials of peanut

3 讨论

一般对于依靠共生固氮的豆科作物而言,根际环境中硝态氮含量较低将更有利于刺激作物通过共生固氮作用而固定更多的大气氮。因为硝态氮浓度过高,既影响根瘤皮层内 O_2 的扩散,最终导致根瘤呼吸速率和固氮酶活性下降,又会抑制豆科作物体内信号物质类黄酮的合成和累积,从而抑制根瘤菌与豆科作物间的识别和侵染^[5~7]。本研究结果表明,随着施用 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 的增加,花生根瘤原基数量和根瘤数明显降低(图 1),两者间有极显著的正相关(图 2),说明环境中较高浓度的 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 能抑制根瘤菌对花生的侵染,而导致根瘤原基数量降低,进而使花生根瘤数量明显的减少。关于花生植株体内的氮含量对花生根瘤的影响则较为复杂,花生根瘤原基和地下部含氮量之间存在显著的负相关(图 6),表明根瘤发生主要受介质 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 浓度和地下部含氮量的影响,而与地上部含氮量和植株吸氮量关系不大。

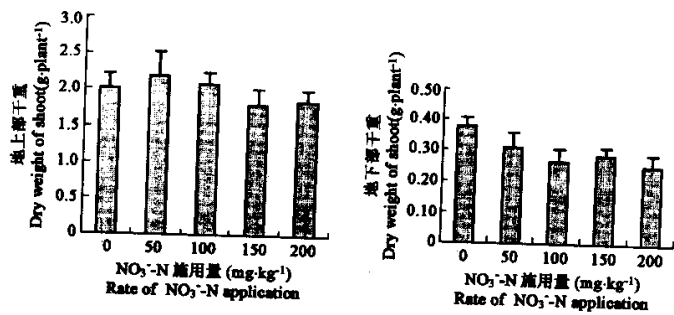


图 7 施用量对花生地上部和根系生长的影响

Fig. 7 Effect of rate of NO₃⁻-N application on dry weight of shoot and root of peanut

施用不同形态的氮肥对植物吸收和利用铁的影响较大,一般而言,当施用 NO₃⁻-N 时由于植物吸收 NO₃⁻ 而促使根系 OH⁻ 分泌的增加,从而提高了植物根际的 pH 值,导致根际铁的生物有效性降低而影响植物的铁营养状况^[13]。在本研究中,当施用低量的 NO₃⁻-N (50、100mg/kg) 时,对花生的铁营养状况影响不大;而当施用高量的 NO₃⁻-N (150、200mg/kg) 时,虽然植株总吸铁量和根瘤吸铁量明显减少(表 1),但是地下部和根瘤含铁量则变化不大,单位根瘤固氮酶活性变化也不大(图 5),而且有研究表明环境介质中低铁浓度并不影响根瘤原基数量^[11],因此,该结果表明较高的 NO₃⁻ 降低花生根际铁有效性和减少植株吸铁量不是影响根瘤发生和固氮功能的主要因素。

NO₃⁻-N 是环境介质中影响豆科植物共生固氮的重要因素。它主要影响根瘤的呼吸速率和固氮酶活性,其原因是 NO₃⁻ 使根瘤皮层内 O₂ 扩散阻力提高,致使根瘤侵染区细胞 O₂ 浓度降低,类菌体呼吸和固氮酶供应不足,因而导致根瘤呼吸速率和固氮酶活性降低^[14~16],因此,NO₃⁻-N 对植物单株固氮酶活性和单位根瘤固氮酶活性影响比较复杂。在本试验中当施用低量 NO₃⁻-N(50、100mg/kg 土)时,花生单株固氮酶活性和单位根瘤固氮酶活性提高,而施用的 NO₃⁻-N(150、200mg/kg 土)量较高时,花生单株固氮酶活性和单位根瘤固氮酶活性则明显地降低(图 4、5),其主要原因可能是尽管施用了低量的 NO₃⁻-N 也能够降低花生的根瘤数和根瘤干重,但是由于该施用量的 NO₃⁻-N 能够促进花生植株的生长发育,促使更多的光合产物向根瘤运移,因而间接促进了已有的花生根瘤的生长发育,从而提高了单位根瘤固氮酶活性,随之单株固氮酶活性也相应升高;而施用高量的 NO₃⁻-N 不但能使根瘤数和根瘤干重降低,而且过高的 NO₃⁻-N 可能抑制根瘤菌对豆科植物的侵染和影响了根瘤的正常结构^[17、18],进而也降低了花生单位根瘤固氮酶活性,同时也抑制了单株花生的固氮活性。

综上所述,NO₃⁻-N 主要是通过影响根瘤菌-花生间的侵染,减少根瘤原基和根瘤的形成,进而影响花生根瘤固氮的。在玉米/花生这一典型的豆科-禾本科间作系统中,玉米不仅通过竞争吸收花生根际土壤氮而对其共生固氮产生影响,而且还可以通过改善花生铁营养对花生固氮产生影响,但是二者对花生共生固氮的各自作用如何,还有待于深入研究。对上述问题的研究不仅可进一步丰富根际微生态系统中植物间相互作用的机制,充分挖掘和利用植物间互惠作用的自身潜力,为高效利用环境资源提供科学的理论依据;而且也探讨了玉米花生间作的适宜配比,更为科学合理调控禾本科/豆科作物间作体系中氮肥的投入,充分发挥豆科作物自身固氮潜力提供技术途径。

References:

[1] Hirsch A M. Developmental biology of legume nodulation. *New Phytol.*, 1992, 122: 211~237.
[2] Wani S P, Rupela O P and Lee K K. Sustainable agriculture in the semi-arid tropics through biological nitrogen fixation in groundnut-legume. *Plant and Soil*, 1995, 174: 29~49.
[3] Peoples M B, Herridge D F and Ladha J K. Biological nitrogen fixation: an efficient source of nitrogen for

sustainable agricultural production? *Plant and Soil*, 1995, **174**: 1~28.

[4] Vance C P. Enhanced Agriculture Sustainability Through Biological Nitrogen Fixation. NATO ASI Series , Vol. G. 39. Biological Fixation of Nitrogen for Ecology and Sustainable Agriculture. Edited by A. Legocki, H. Bothe, Phouler. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1997. 179~186.

[5] Dakora D F. A functional relationship between leghaemoglobin and nitrogenase based on novel measurements of the proteins in legume root nodules. *Annals of Botany Company*, 1995, **15**:49~54.

[6] Dakora Felix D. Nodule function in symbiotic bambara groundnut (*Vigna subterranea* L.) and kersting's bean (*Macrotyloma geocarpum* L.) is tolerant of nitrate in the root medium. *Annals of Botany*, 1998, **82**: 687~690.

[7] Vanderleyden Jos. The “oxygen paradox” of dinitrogen-fixing bacteria. *Biol. Fertil. Soils.* , 2000, **30**: 363~373.

[8] Zuo Y M, Li X L, Cao Y P, *et al.* Effects of peanut intercropping with maize on iron nutrition of peanut plants on calcareous soil. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 1997, **3**(2):153~159.

[9] Tang C, Robson A D and Dilworth M J. The role of iron in the (*brady*) rhizobium legume symbiosis. *Journal of Plant Nutrition*, 1992b, **15**(10): 2235~2252.

[10] Levier K. Iron uptake by symbiosynthesis from soybean root nodules. *Plant Physiol.* , 1996, **111**: 613~618.

[11] O,Hara G W, Dilworth M J and Boonkerd N. Iron-deficiency specifically limits nodule development in peanut inoculated with Bradyrhizobium sp. *New phytol.* , 1988a, **108**: 51~57.

[12] Li Y K. Measurement and methods of soil and agricultural chemistry. Beijing: Chinese Scientific Press,1983.

[13] Lindsay W L and Schwab A P. The chemistry of iron in soils and its availability to plants. *J. of Plant Nutrition*, 1982, **5**: 821~840.

[14] Vessey J K and Waterer J. In search of the mechanism of nitrate inhibition of nitrogenase activity in legume nodules; recent developments. *Physiol. Plant.* ,1992, **84**: 171~176.

[15] Denison R F and Harter B L. Nitrate effects on nodule oxygen permeability and leghemoglobin. *Plant Physiol.* , 1995, **107**: 1335~1364.

[16] Escuredo P R. Involvement of activated oxygen in nitrate-induced senescence of pea root nodules. *Plant Physiol.* , 1996, **110**:1187~1195.

[17] Liu L, Zhou J C, Chen H K . The effect of different compound nitrogen concentration on the nodulation and nitrogen fixation in soybean. *Scientia Agricultura Sinic*,1998, **31**(4):87~89.

[18] Goi S R. Effect of different sources of N₂ on the structure of *Mimosa caesalpiniaefolia* root nodules. *Soil Biol. Biochem.* , 1997, **29**: 983~987.

参考文献:

[8] 左元梅, 李晓林, 曹一平, 等. 1997 石灰性土壤上玉米/花生间作对花生铁营养的影响. 植物营养与肥科学报, 1997, **3**(2):153~159.

[12] 李酉开主编. 土壤农业化学常规分析方法. 北京:科学出版社,1983.

[17] 刘 莉,周俊初, 陈华葵. 不同形态的氮对大豆结瘤和固氮的影响. 中国农业科学,1998, **31**(4):87~89.