植物营养与肥料学报 2019, 25(11): 1909–1919 doi: 10.11674/zwyf.18469
Journal of Plant Nutrition and Fertilizers http://www.plantnutrifert.org

基于^{15}N示踪法的双根大豆系统氮素吸收和分配特性研究

马春梅[1]，王 晶[1]，夏 玄[1]，王 畅[1]，吕晓晨[1]，李 莎[1,2]，程 娟[1]，龚振平[1*]
（1 东北农业大学农学院，哈尔滨 150030；2 东北农业大学资源与环境学院，哈尔滨 150030）

摘要:【目的】施氮可以促进大豆生长并提高产量，同时会抑制根瘤生长和固氮。因此研究大豆对不同形态氮素的吸收、分配及再分配特点，可以为解析大豆氮的转运特性及施氮对根瘤的系统性抑制提供参考。**【方法】**利用嫁接方法，制备具有两个根部和一个地上部的双根大豆植株，在砂培条件下分别以NO_3^-和NH_4^+为氮源设置两种试验处理。试验Ⅰ，一侧施 50 mg/L 的$^{15}NO_3^-$或$^{15}NH_4^+$(A 侧)，另一侧不施氮 (B 侧)；试验Ⅱ，一侧施 50 mg/L 的$^{15}NO_3^-$或$^{15}NH_4^+$(A 侧)，另一侧施同形态的 50 mg/L 的NO_3^-或NH_4^+(B 侧)。于始花期 (R1) 和始粒期 (R5) 取样两次，将植株分为 A 根、B 根、A 侧根瘤、B 侧根瘤、茎、叶片、叶柄、荚等部位，用于测定^{15}N丰度、干重和氮含量等指标。**【结果】**试验Ⅰ和试验Ⅱ结果发现，大豆 A 和 B 两侧根瘤的^{15}N丰度均高于自然丰度 (0.365%)，说明根瘤的生长发育过程中，所需要的氮不是全部来自自身固氮，还需要从根中吸取氮。与试验Ⅰ相比，试验Ⅱ的根瘤固氮率明显下降，表明大豆植株优先吸收利用肥料氮。NO_3^-与NH_4^+处理相比，各器官^{15}N丰度均没有显著性差异，说明在 50 mg/L 的氮浓度下，NO_3^-和NH_4^+对大豆的氮营养没有显著差异。试验Ⅰ和试验Ⅱ均发现大豆 B 侧根及根瘤的^{15}N丰度高于自然丰度 (0.365%)，且小于施加的肥料氮的^{15}N丰度 (3.63%)，表明 A 侧根吸收的氮会经地上部转移到 B 侧的根及根瘤中，即根吸收的肥料氮会以一定的比例运输到地上部，随后会再次重新分配回根及根瘤中。本试验将双根大豆系统中地上部和 B 侧根及根瘤看成一个氮转移系统，利用^{15}N丰度的差异，构建了 R1～R5 期地上部向根及根瘤转移氮量的计算方法。经计算发现，当施氮浓度为 50 mg/L 时，在始花期至始粒期，根来自地上部转移的氮占根部氮积累量的 28.4%～40.8%，根瘤来自地上部转移的氮占其氮积累量的 14.4%～17.2%。**【结论】**根瘤生长所需要的氮不是全部来源于自身固氮，有一部分来源于根系吸收的氮。在有肥料氮存在时，大豆植株优先吸收肥料氮。根系吸收的肥料氮以及根瘤固氮被运输到地上部后，会再次重新分配回根及根瘤中。在 50 mg/L 的氮浓度下，氮素形态 (NO_3^-和NH_4^+) 不会影响大豆植株对氮的吸收及分配。

关键词: 大豆双根系统；氮吸收；氮分配；NO_3^-；NH_4^+

Study on absorption and distribution characteristics of nitrogen in soybeans with dual root systems based on ^{15}N tracing technique

MA Chun-mei[1], WANG Jing[1], XIA Xuan[1], WANG Chang[1], LYU Xiao-chen[1], LI Sha[1,2], CHENG Juan[1], GONG Zhen-ping[1*]
(*1 College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;*
2 College of Resource and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract:【Objectives】Nitrogen application promote soybean growth and increase yields, but inhibit nodule formation and nitrogen fixation. The resource of nitrogen in root and nodules were studied, and the effect of supplying NO_3^- and NH_4^+ on the nitrogen absorption and distribution of soybeans was systematically investigated.**【Methods】**The grafting method was used to generate soybean plants with dual root systems, in which two modulated roots shared one symbiotic shoot. Two experimental treatments were conducted with NO_3^- and NH_4^+ as nitrogen sources under sand culture conditions. Experiment I, supplying one side of root with 50 mg/L of $^{15}NO_3^-$ or $^{15}NH_4^+$ (side A), and no nitrogen on the other side (side B). Experiment II, supplying one side of

收稿日期：2018–11–22 **接受日期：**2019–03–04
基金项目：国家重点研发计划（2018YFD1000905）；黑龙江省应用技术研究与开发计划（GA16B401）。
联系方式：马春梅 E-mail：chunmm1974@163.com ； * 通信作者 龚振平 E-mail：gzpyx2004@163.com

root with 50 mg/L $^{15}NO_3^-$ or $^{15}NH_4^+$ (side A), and supplying the other side with 50 mg/L NO_3^- or NH_4^+. At R1 (initial flowering) and R5 (initial seeding) stages of soybean, the plant samples were collected and divided into separate parts for the analysis of N contents.【**Results**】The ^{15}N abundance in the nodules on both the side A and side B were higher than natural (0.365%), which indicated that the nitrogen in the nodules was derived from both self-nitrogen fixation and root absorption. The rates of nodule-fixed N in both side A and B of experiment Ⅱ were significantly lower than those in experiment Ⅰ, indicating that the fertilizer N was preferentially absorbed and used by soybeans. No significant differences were observed in both the ^{15}N abundance and N accumulation in all parts of soybean when supplied with NO_3^- or NH_4^+, which indicated that soybean was not sensitive to N forms under the experimental N level of 50 mg/L. In experiment Ⅰ, the ^{15}N abundance of root and nodules on the side B was higher than the natural but lower than that in the tested fertilizers (3.63%), suggesting that the N absorbed from root of side A was transferred to the root and nodules in side B via the shoot. Considering the shoots, root and nodule in the dual root systems as a system, we proposed a method for calculating the amount of N translocation from shoots to roots and nodules during the R1–R5 stages based on the difference in the ^{15}N abundance. When adding 50 mg/L of N, the translocated N from the shoots accounted for 28.4%–40.8% of the N accumulation in roots and 14.4%–17.2% of that in nodules of soybeans.【**Conclusions**】The N required for nodule growth and development is derived from both self-nitrogen fixation and root absorption. The fertilizer N will be preferentially absorbed and used by soybeans in the presence of fertilizer N. N forms, namely NO_3^- and NH_4^+, will not affect the N absorption and distribution of soybean plants under the tested N supply concentration (50 mg/L). All the N acquired by the roots and nodules will be transported to the shoots, and a portion of them is then redistributed to the roots and nodules.

Key words: soybean dual root system; nitrogen absorption; nitrogen distribution; NO_3^-; NH_4^+

大豆是重要的粮油兼用作物，其根瘤中的根瘤菌能够高效地固定空气中的氮气，且高产大豆往往有较高的根瘤固氮量[1]。而单纯依靠大豆的根瘤固氮无法达到大豆高产的目标，许多学者研究表明，适量的施氮能够提高大豆产量[2-6]，然而施氮却会抑制根瘤的生长及根瘤固氮[7-17]。Gan 等[18]研究发现，在水培条件下，给大豆分别施加不同浓度的 NO_3^-和 NH_4^+，施用高浓度肥料氮能明显抑制大豆根瘤数量、干重及根瘤固氮。作物利用的氮素主要有 NO_3^-和 NH_4^+，而 NO_3^-和 NH_4^+对根瘤的抑制作用也不尽相同，多数学者认为豆科作物根瘤生长对 NO_3^-比 NH_4^+更为敏感[7-10]。而 Dazzo 等[11]分别用不同浓度的 NH_4^+和 NO_3^-处理三叶草，发现 16 mmol/L 的 NO_3^-与 1 mmol/L 的 NH_4^+对结瘤的抑制相同，表明结瘤过程对 NH_4^+的敏感性大于对 NO_3^-的敏感性。Fujikake 等[19]研究发现，在水培条件下施加 NO_3^-后，大豆根瘤直径的增长完全停止，而未加 NO_3^-时，根瘤的生长迅速回到原来的正常速率。由此证明 NO_3^-引起的抑制根瘤的生长是可逆的。但也有少数学者认为，施加少量氮会促进结瘤并提高根瘤固氮酶活性[18, 20]。Xia 等[21]利用大豆双根系统，在砂培条件下，一侧施加高浓度氮，另一侧不施氮，研究发现施加高浓度氮侧的根瘤量减少，而不施氮侧根瘤量均增加，表明高浓度氮对根瘤的形成及生长的抑制作用有局部接触效应。另外，在水培条件下，利用大豆分根系统，一侧施 NO_3^-，另一侧不施氮，研究发现供氮侧的根瘤生长会受到抑制，当供给高浓度的 NO_3^-时，不施氮侧的根瘤数量不变但重量减小，这可以解释为根瘤生长受到非局部性的抑制[22-23]。Daimon 等[16]则认为，长期施加 NO_3^-，对花生结瘤和根瘤活性的抑制作用是系统性的。施氮导致根瘤的系统性抑制的机制有可能与氮的分配及转运有关。因此研究氮的分配及转运可能为解析根瘤的系统性抑制提供理论参考。Tanaka 等[12]利用大豆分根系统，一侧施$^{15}NO_3^-$，一侧不施氮，发现^{15}N 标记出现在不施氮侧的根及根瘤中，说明一侧的根吸收的 NO_3^-会转移到另一侧的根中。Oghoghorie等[24]在水培条件下，将豌豆的根分为上下两个部分并且隔开，在根的上部施加$^{15}N_2$，发现除了地上部能检测到^{15}N 标记，在根的下部及根瘤中也检测到了^{15}N 标记；同样在根的上部施加$^{15}NO_3^-$，发现地上部、根的下部及根瘤中均检测到了^{15}N 标记，表明由根吸收的氮或由根瘤固氮运输到地上部的氮素会有一部分返回到根及根瘤中。

有许多学者认为，作物体内除了会发生碳的循

环[25]，也会发生氮的循环，即氮的分配与再分配，而对于氮的转运量的研究较少。本试验利用嫁接方法制备出大豆的双根系统，在砂培条件下施用^{15}N 标记 NO_3^-和 NH_4^+，对 R1 期 (始花期) 和 R5 期 (始粒期) 的大豆植株干重、氮含量、^{15}N 丰度进行测定与分析，对大豆不同时期各组织的氮素来源 (肥料氮和共生固氮) 进行量化，并构建了计算大豆地上部向根及根瘤转移氮量的方法。系统研究了大豆对不同氮形态的吸收、分配及再分配特点，为解析肥料氮和根瘤固氮的互作机制及大豆根瘤形成的系统性调控提供参考。

1　材料与方法

1.1　试验设计

试验于 2016 年在东北农业大学校园内进行，在砂培条件下，利用嫁接方法制备出双根大豆植株，并施用^{15}N 标记的 NO_3^-和 NH_4^+为氮源进行研究。$^{15}NO_3^-$或$^{15}NH_4^+$的^{15}N 丰度均为 3.63%。

1.1.1 双根材料制备　　选用直径 0.3 m、高 0.3 m 的塑料桶，插入与桶内部形状契合的定制 PC 塑料板，在塑料桶中间位置用胶固定密封，形成两个相等且独立的空间，塑料板高度低于桶沿 2 cm，在桶底分别钻 1 cm 直径的排水孔，于桶底每个圆孔上方放入一块纱网，防止江砂堵塞圆孔，再将洗净的江砂装入桶中，总装砂量为 20 kg，用于培养双根大豆材料。

大豆双根植株制备方法：参考 Xia 等[21]的大豆双根植株制备方法。将大豆 (品种为‘垦丰 16’) 种子播于细砂中，播深 2 cm，置于培养箱中 30℃ 培养 3 天，当大豆子叶着生处至根尖长约 7～10 cm 时，用蒸馏水冲出幼苗根系，取大豆幼苗用灭菌刀片在两株幼苗胚轴中间偏上的位置，向上或向下划 0.5～1.0 cm 长切口 (不切断)，一个大豆幼苗由子叶向根部方向豁开 (图 1A)，另一个大豆幼苗由根部向子叶方向豁开 (图 1B)，然后将两株幼苗的切口相互插入 (图 1C) 后用嫁接夹夹好，再将两幼苗的根分别栽植于桶内隔板两侧的细砂内，嫁接部位恰好处于隔板正上方，将嫁接苗放于防雨棚中，一周后去掉嫁接夹，剪掉图 1A 中接口以上部分，只留下接合部位及其下部，使幼苗成为包含两个根和一个地上部的幼苗。图 1D 是取样时的双根大豆植株。

1.1.2 试验处理　　试验设置 NO_3^- 和 NH_4^+两种氮源，供氮浓度均为 50 mg/L。试验设置两组试验：试验Ⅰ中一侧施加^{15}N 标记的氮，标记为 A 侧；另一侧不施加氮，标记为 B 侧。试验Ⅱ中一侧施加^{15}N 标记的氮，标记为 A 侧；另一侧施加相对应的^{14}N 的氮 (A、B 两侧施相同形态氮)，标记为 B 侧。每个处理 5 次重复，试验处理见表 1。

不含氮营养液的组成为：KH_2PO_4 136 mg/L、$MgSO_4$ 240 mg/L、$CaCl_2$ 220 mg/L、$MnCl_2{\cdot}4H_2O$ 4.9 mg/L、H_3BO_3 2.86 mg/L、$ZnSO_4{\cdot}7H_2O$ 0.22 mg/L、$CuSO_4{\cdot}5H_2O$ 0.08 mg/L、$Na_2MoO_4{\cdot}H_2O$ 0.03 mg/L、$FeSO_4{\cdot}7H_2O$ 5.57 mg/L、Na_2EDTA 7.45 mg/L。营养液参考 Hoagland 等[26]及董守坤等[27]的配制方法，略有改进。含 NO_3^-的营养液是在上述不含氮营养液的基础上添加 KNO_3 360.7 mg/L，含 NH_4^+的营养液是在上述不含氮营养液的基础上添加 $(NH_4)_2SO_4$ 235.7 mg/L。

自幼苗对生真叶完全展开前每日浇 1 次蒸馏水，每次每侧浇 250 mL。对生真叶完全展开后每日浇 1 次配制的营养液，每次每侧 250 mL 对应营养液，直至 R1 期 (始花期)；R1 期后每日浇 2 次配置的营养液，早晚各 1 次，每次每侧 250 mL 对应营养液，至 R5 期 (始粒期) 试验结束。当大豆对生真叶完全展开时全部根均接种根瘤菌，其方法是将上年冷冻保存的田间大豆根瘤，清洗研碎后加到营养液中，每升营养液中约含 5 g 根瘤，连续接种 5 天。

图 1　双根大豆植株

Fig. 1　Soybean plant with dual root systems

表 1　试验处理

Table 1　Experiment treatments

试验 Experiment	NO_3^-		NH_4^+	
	A 侧 Side A	B 侧 Side B	A 侧 Side A	B 侧 Side B
Ⅰ	$^{15}NO_3^-$	无氮 N free	$^{15}NH_4^+$	无氮 N free
Ⅱ	$^{15}NO_3^-$	NO_3^-	$^{15}NH_4^+$	NH_4^+

1.2 取样方法

于始花期和始粒期取样两次，将植株分为A根、B根、A侧根瘤、B侧根瘤、茎、叶片、叶柄、荚等部位，105℃杀青30 min之后，65℃烘干，样品用于测定^{15}N丰度、干重和氮含量等指标。

1.3 测定分析

植株氮含量测定：以K_2SO_4和$CuSO_4$为催化剂，浓硫酸消煮后，采用B324全自动凯氏定氮仪测定。

^{15}N丰度测定：先用凯氏定氮法测定植株氮含量，然后将凯氏定氮滴定后的样品溶液浓缩，在冷冻真空条件下与次溴酸锂反应产生氮气，用同位素比率质谱仪(Thermo-Fisher Delta V Advantage IRMS)采用双路(DI)测量方式测定^{15}N丰度。

1.4 相关计算

试验采用砂培，没有土壤因素，因此植株的两个氮素来源是源于施加^{15}N标记的肥料氮比例，和源于施加^{14}N肥料氮或根瘤固氮的比例(后者在试验Ⅰ中为源于根瘤固氮的比例，在试验Ⅱ中为源于施加的^{14}N肥料氮+根瘤固氮的比例)。

样品(肥料)的原子百分超 =

样品(肥料)的^{15}N丰度 – 自然丰度(0.365%)[28] (1)

源于^{15}N标记的肥料氮的比例，即：

$$^{15}Ndff\% = \frac{样品的原子百分超}{肥料的原子百分超} \times 100 \text{[28]} \quad (2)$$

由公式(1)和(2)可推导出源于^{15}N标记的肥料氮的比例：

$$^{15}Ndff\% = \frac{样品的^{15}N丰度 – 自然丰度}{肥料的^{15}N丰度 – 自然丰度} \times 100 \quad (3)$$

1.5 数据分析

采用SPSS22.0软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 大豆对肥料氮与根瘤固氮的吸收及分配

2.1.1 大豆各组织中^{15}N丰度变化 表2是试验Ⅰ和试验Ⅱ双根大豆植株中各营养器官的^{15}N丰度。试验Ⅰ，大豆植株中氮来源为A根吸收的$^{15}NO_3^-$或

表2 大豆各组织中^{15}N丰度(%)

Table 2 ^{15}N abundance of the soybean tissues

时期 Stage	部位 Tissue	NO_3^-		NH_4^+	
		试验Ⅰ Exp. Ⅰ	试验Ⅱ Exp. Ⅱ	试验Ⅰ Exp. Ⅰ	试验Ⅱ Exp. Ⅱ
始花期 Initial flowering (R1)	A根 Root A	2.21 ± 0.06 a	2.10 ± 0.03 a	2.30 ± 0.01 a	2.25 ± 0.05 a
	B根 Root B	0.97 ± 0.02 a	0.76 ± 0.02 b	0.91 ± 0.01 a	0.70 ± 0.03 b
	A根瘤 Nodule A	0.78 ± 0.01 a	0.74 ± 0.01 a	0.80 ± 0.01 a	0.79 ± 0.03 a
	B根瘤 Nodule B	0.60 ± 0.01 a	0.53 ± 0.01 b	0.59 ± 0.01 a	0.54 ± 0.02 a
	茎 Stem	1.27 ± 0.01 a	1.11 ± 0.02 b	1.38 ± 0.06 a	1.37 ± 0.12 a
	叶片 Leaf	1.37 ± 0.05 a	1.07 ± 0.05 b	1.33 ± 0.05 a	1.32 ± 0.06 a
	叶柄 Petiole	1.32 ± 0.04 a	1.16 ± 0.04 a	1.36 ± 0.06 a	1.24 ± 0.04 a
始粒期 Initial seeding (R5)	A根 Root A	1.97 ± 0.05 a	1.87 ± 0.04 a	2.20 ± 0.01 a	2.18 ± 0.04 a
	B根 Root B	0.85 ± 0.02 a	0.73 ± 0.02 b	0.84 ± 0.01 a	0.67 ± 0.01 b
	A根瘤 Nodule A	0.70 ± 0.03 a	0.67 ± 0.01 a	0.70 ± 0.01 a	0.70 ± 0.02 a
	B根瘤 Nodule B	0.53 ± 0.01 a	0.51 ± 0.01 a	0.53 ± 0.01 a	0.51 ± 0.01 a
	茎 Stem	1.09 ± 0.02 a	1.08 ± 0.03 a	1.18 ± 0.02 a	1.13 ± 0.04 a
	叶片 Leaf	1.20 ± 0.09 a	1.05 ± 0.03 a	1.14 ± 0.01 a	1.10 ± 0.03 a
	叶柄 Petiole	1.26 ± 0.09 a	1.13 ± 0.04 a	1.20 ± 0.01 a	1.14 ± 0.04 a
	荚 Pod	1.03 ± 0.08 a	0.96 ± 0.02 a	1.14 ± 0.04 a	1.08 ± 0.04 a

注(Note)：表中值代表平均数 ± 标准误 The values are the means ± standard error (n = 3); 同行数据后不同字母表示两个试验处理间差异达5%显著水平 Values followed by different lowercase letters in a row indicate significant differences between treatments of experimental Ⅰ and Ⅱ at the 5% level.

$^{15}NH_4^+$、A 侧根瘤固氮、B 侧根瘤固氮。试验Ⅱ，大豆植株中氮来源为 A 根吸收的$^{15}NO_3^-$或$^{15}NH_4^+$、B 根吸收的$^{14}NO_3^-$或$^{14}NH_4^+$、A 侧根瘤固氮、B 侧根瘤固氮。

由表 2 可知，NO_3^-和 NH_4^+两种氮源的试验Ⅰ在 R1 期 A 根的^{15}N 丰度为 2.21% 和 2.30%，在 R5 期为 1.97% 和 2.20%；在 R1 期 B 根的^{15}N 丰度为 0.97% 和 0.91%，在 R5 期为 0.85% 和 0.84%，^{15}N 丰度均高于自然丰度 (0.365%)，且小于肥料的^{15}N 丰度 (3.63%)，表明 B 根中的氮除了来自根瘤固氮外，一定有 A 根吸收的^{15}N 标记的肥料氮转移到 B 根中。在 R1 期的 A 侧根瘤的^{15}N 丰度为 0.78% 和 0.80%，在 R5 期为 0.70% 和 0.70%；在 R1 期的 B 侧根瘤的^{15}N 丰度为 0.60% 和 0.59%，在 R5 期为 0.53% 和 0.53%，^{15}N 丰度均高于自然丰度 (0.365%)，说明根瘤的氮除了来自根瘤固定的氮外，一定有 A 根吸收的^{15}N 标记的肥料氮运输到 A 侧及 B 侧根瘤中。

在试验Ⅱ中，A 根及根瘤、B 根及根瘤、地上部 (茎、叶片、叶柄、荚) 中的^{15}N 丰度与试验Ⅰ变化规律基本一致，说明两侧根都施氮的条件下，两侧根吸收的肥料氮和两侧根瘤固氮仍然是可以相互转移的。在 NO_3^-和 NH_4^+两种氮源的试验Ⅱ中，R1 期 A 根的^{15}N 丰度为 2.10% 和 2.25%，在 R5 期为 1.87% 和 2.18%；R1 期 B 根的^{15}N 丰度为 0.76% 和 0.70%，R5 期为 0.73% 和 0.67%。R1 期 A 侧根瘤的^{15}N 丰度为 0.74% 和 0.79%，R5 期为 0.67% 和 0.70%，R1 期 B 侧根瘤的^{15}N 丰度为 0.53% 和 0.54%，R5 期为 0.51% 和 0.51%。R1 和 R5 期的茎、叶、叶柄的^{15}N 丰度没有显著性差异，说明根系吸收的肥料氮和根瘤固氮对茎、叶、叶柄三个部位的营养作用相同；地上各部分^{15}N 丰度均高于自然丰度 (0.365%)，且小于施加的肥料氮的^{15}N 丰度 (3.63%)，说明 A 和 B 两侧根吸收的肥料氮和 A 和 B 两侧根瘤固氮都会按一定的比例运输到地上部。试验Ⅰ、Ⅱ的 R5 期植株各器官的^{15}N 丰度均低于 R1 期，说明在 R5 期根瘤固氮对植株的贡献大于 R1 期。

2.1.2 大豆植株吸收肥料氮和根瘤固氮比例　由表 2 中的^{15}N 丰度数据，计算出各器官的氮来源于^{15}N 和来源于根瘤固氮或来源于^{14}N 与根瘤固氮的比例 (表 3 和表 4)。

表 3　试验Ⅰ中大豆各组织中氮来源于^{15}N 和根瘤固氮的比例 (%)

Table 3　Proportions of nitrogen from ^{15}N fertilizer and nodule fixation of soybean tissues in experiment Ⅰ

时期 Stage	部位 Tissue	NO_3^-		NH_4^+	
		^{15}N	根瘤固氮 Nodule fixation	^{15}N	根瘤固氮 Nodule fixation
始花期 Initial flowering (R1)	A 根 Root A	56.57 ± 1.83 a	43.43 ± 1.83 b	59.26 ± 0.21 a	40.74 ± 0.21 b
	B 根 Root B	18.53 ± 0.66 b	81.47 ± 0.66 a	16.83 ± 0.38 b	83.17 ± 0.38 a
	A 根瘤 Nodule A	12.81 ± 0.41 b	87.19 ± 0.41 a	13.33 ± 0.09 b	86.67 ± 0.09 a
	B 根瘤 Nodule B	7.20 ± 0.23 b	92.80 ± 0.23 a	6.89 ± 0.32 b	93.11 ± 0.32 a
	茎 Stem	27.85 ± 0.25 b	72.15 ± 0.25 a	31.11 ± 1.74 b	68.89 ± 1.74 a
	叶片 Leaf	30.69 ± 1.58 b	69.31 ± 1.58 a	29.72 ± 1.60 b	70.28 ± 1.60 a
	叶柄 Petiole	29.34 ± 1.18 b	70.66 ± 1.18 a	30.30 ± 1.95 b	69.70 ± 1.95 a
始粒期 Initial seeding (R5)	A 根 Root A	49.13 ± 1.65 a	50.87 ± 1.65 a	56.29 ± 0.36 a	43.71 ± 0.36 b
	B 根 Root B	14.79 ± 0.78 b	85.21 ± 0.78 a	14.54 ± 0.21 b	85.46 ± 0.21 a
	A 根瘤 Nodule A	10.20 ± 0.82 b	89.80 ± 0.82 a	10.13 ± 0.37 b	89.87 ± 0.37 a
	B 根瘤 Nodule B	5.17 ± 0.14 b	94.83 ± 0.14 a	5.16 ± 0.10 b	94.84 ± 0.10 a
	茎 Stem	22.17 ± 0.59 b	77.83 ± 0.59 a	25.07 ± 0.45 b	74.93 ± 0.45 a
	叶片 Leaf	25.70 ± 2.94 b	74.30 ± 2.94 a	23.63 ± 0.29 b	76.37 ± 0.29 a
	叶柄 Petiole	27.44 ± 2.70 b	72.56 ± 2.70 a	25.59 ± 0.39 b	74.41 ± 0.39 a
	荚 Pod	20.46 ± 2.52 b	79.54 ± 2.52 a	23.73 ± 1.24 b	76.27 ± 1.24 a

注（Note）：表中值代表平均数 ± 标准误 The values are the means ± standard error (n = 3); 同行数据后不同字母表示不同氮来源间差异达 5% 显著水平 Values followed by different lowercase letters in a row indicate significant difference between different N sources at the 5% level.

表 4 试验Ⅱ中大豆各组织中氮来源于^{15}N及^{14}N+根瘤固氮的比例 (%)

Table 4 Proportions of nitrogen from ^{15}N and ^{14}N+nodule fixation of soybean tissues in experiment Ⅱ

时期 Stage	部位 Tissue	NO_3^-		NH_4^+	
		^{15}N	^{14}N + 根瘤固氮 ^{14}N + nodule fixation	^{15}N	^{14}N + 根瘤固氮 ^{14}N + nodule fixation
始花期 Initial flowering (R1)	A 根 Root A	53.15 ± 0.99 a	46.85 ± 0.99 b	57.69 ± 1.42 a	42.31 ± 1.42 b
	B 根 Root B	12.21 ± 0.63 b	87.79 ± 0.63 a	10.40 ± 1.05 b	89.60 ± 1.05 a
	A 根瘤 Nodule A	11.64 ± 0.18 b	88.36 ± 0.18 a	13.12 ± 0.75 b	86.88 ± 0.75 a
	B 根瘤 Nodule B	4.99 ± 0.10 b	95.01 ± 0.10 a	5.30 ± 0.60 b	94.70 ± 0.60 a
	茎 Stem	22.90 ± 0.68 b	77.10 ± 0.68 a	30.63 ± 3.69 b	69.37 ± 3.69 a
	叶片 Leaf	21.68 ± 1.45 b	78.32 ± 1.45 a	29.15 ± 1.78 b	70.85 ± 1.78 a
	叶柄 Petiole	24.43 ± 1.35 b	75.57 ± 1.35 a	26.59 ± 1.30 b	73.41 ± 1.30 a
始粒期 Initial seeding (R5)	A 根 Root A	45.88 ± 1.21 b	54.12 ± 1.21 a	55.64 ± 1.10 a	44.36 ± 1.10 b
	B 根 Root B	11.31 ± 0.77 b	88.69 ± 0.77 a	9.41 ± 0.17 b	90.59 ± 0.17 a
	A 根瘤 Nodule A	9.22 ± 0.40 b	90.78 ± 0.40 a	10.22 ± 0.56 b	89.78 ± 0.56 a
	B 根瘤 Nodule B	4.43 ± 0.32 b	95.57 ± 0.32 a	4.45 ± 0.18 b	95.55 ± 0.18 a
	茎 Stem	21.95 ± 0.88 b	78.05 ± 0.88 a	23.29 ± 1.16 b	76.71 ± 1.16 a
	叶片 Leaf	21.00 ± 0.96 b	79.00 ± 0.96 a	22.36 ± 0.86 b	77.64 ± 0.86 a
	叶柄 Petiole	23.48 ± 1.19 b	76.52 ± 1.19 a	23.77 ± 1.20 b	76.23 ± 1.20 a
	荚 Pod	18.22 ± 0.74 b	81.78 ± 0.74 a	21.92 ± 1.04 b	78.08 ± 1.04 a

注（Note）：表中数值为平均数 ± 标准误 The values are the means ± SD (n = 3); 同行数据后不同字母表示不同氮源间差异达 5% 显著水平 Values followed by different lowercase letters in a row indicate significant difference between different N sources at the 5% level.

由表 3 可知，试验Ⅰ中植株有三个氮源，分别为 A 根吸收的^{15}N标记肥料氮和 A 侧根瘤固定的氮及 B 侧根瘤固定的氮，但由于 A 和 B 两侧根瘤固定的氮无法区分，所以表中列出了两个来源，分别为 A 根吸收的^{15}N标记的肥料氮和 A、B 两侧根瘤固定的氮。由表 3 可知，NO_3^-和NH_4^+两种氮源的试验Ⅰ在 R1 期 A 根的氮来源于 A 根吸收肥料氮占 56.57% 和 59.26%，来自于 A 根和 B 根的根瘤固氮占 43.43% 和 40.74%，R5 期分别为 49.13%、56.29% 和 50.87%、43.71%；在 R1 期，B 根的氮来源于 A 根吸收肥料氮占 18.53% 和 16.83%，来自于 A 根和 B 根的根瘤固氮占 81.47% 和 83.17%，R5 期分别为 14.79%、14.54% 和 85.21% 和 85.46%，说明施氮的 A 根氮大部分来自 A 根吸收的肥料氮，少部分来自根瘤固氮；不施氮的 B 根氮大部分来自根瘤固氮，少部分来自 A 根吸收的肥料氮。在 R1 期，A 侧根瘤的氮来源于 A 根吸收肥料氮占 12.81% 和 13.33%，来自于 A 根和 B 根的根瘤固氮为 87.19% 和 86.67%，R5 期分别为 10.20%、10.13% 和 89.80%、89.87%；在 R1 期，B 侧根瘤的氮来源于 A 根吸收肥料氮占 7.20% 和 6.89%，来自于 A 根和 B 根的根瘤固氮为 92.80% 和 93.11%，R5 期分别为 5.17%、5.16% 和 94.83%、94.84%，说明根瘤中的氮绝大多数来自根瘤固氮，少部分来自根系吸收的肥料氮。在 R1 期，茎的氮来源于 A 根吸收肥料氮占 27.85% 和 31.11%，来自于 A 根和 B 根的根瘤固氮为 72.15% 和 68.89%，叶片是 30.69%、29.72% 和 69.31%、70.28%，叶柄是 29.34%、30.30% 和 70.66%、69.70%。在 R5 期，茎是 22.17%、25.07% 和 77.83%、74.93%，叶片是 25.70%、23.63% 和 74.30%、76.37%，叶柄是 27.44%、25.59% 和 72.56%、74.41%，荚是 20.46%、23.73% 和 79.54%、76.27%。可以看出茎、叶片、叶柄三个部分的氮来源比例几乎相同，说明根部吸收的肥料氮和根瘤固氮会按一定的比例运输到地上部分，且对茎、叶片、叶柄三个部分几乎没有差异。

试验Ⅱ中有 4 个氮来源，分别为 A 根吸收的^{15}N标记的肥料氮、A 侧根瘤固氮、B 根吸收的^{14}N肥料氮、B 侧根瘤固氮，由于 A 和 B 两侧根瘤固定的氮和 B 根吸收的^{14}N肥料氮无法区分，所以表中列出

了 2 个来源，分别为 A 根吸收的^{15}N 标记的肥料氮和 B 根吸收的^{14}N 肥料氮及 A、B 两侧根瘤固定的氮(表 4)。

由于试验Ⅱ中 A 和 B 两侧根施加的肥料氮只有^{15}N 丰度不同，其他均相同，可以认为两侧根及根瘤所处的营养环境相同，即 A 根源于 A 侧根吸收的^{15}N 标记的肥料氮等于 B 根源于 B 侧根吸收^{14}N 的肥料氮，B 根源于 A 侧根吸收的^{15}N 标记的肥料氮 (^{15}N) 等于 A 根源于 B 侧根吸收的^{14}N 肥料氮，A 和 B 两根源于双侧根瘤固定的氮无法区分，因此可以区分出 A 和 B 两根的三个氮来源。即 A 根氮来源于三个部分 (表 4)：1) A 根吸收的^{15}N 标记的肥料氮比例；2) A 根源于 B 根吸收的^{14}N 肥料氮比例等于 B 根源于 A 根吸收的^{15}N 标记分肥料氮比例；3) A 根源于 A 和 B 两侧根瘤固氮的比例等于 1 减去上面两个比例。B 根氮来源于三个部分 (表 4)：1) 源于 A 根吸收的^{15}N 标记的肥料氮比例；2)B 根源于 B 根吸收的^{14}N 肥料氮比例等于 A 根源于 A 根吸收的^{15}N 标记分肥料氮比例；3)B 根源于 A 和 B 两侧根瘤固氮的比例等于 1 减去上面两个比例。同理可知根瘤的三个氮来源。

地上部的氮来源于 A 侧根吸收^{15}N 标记的肥料氮等于来源于 B 侧根吸收的^{14}N 肥料氮，源于双侧根瘤固定的氮无法区分，也可以区分出地上部的三个氮来源。如以茎为例，1) 茎源于 A 根吸收的^{15}N 标记的肥料氮的比例 (表 4)；2) 茎源于 B 根吸收的^{14}N 肥料氮的比例等于茎源于 A 根吸收的^{15}N 标记的肥料氮的比例 (表 4)；3) 茎源于 A 和 B 两侧根瘤固氮的比例为 1 减去上面两个比例。由此可计算出 A 根、B 根、A 侧根瘤、B 侧根瘤、茎、叶片、叶柄、荚的三个氮素来源比例 (表 5)。

由表 5 可知，NO_3^-和 NH_4^+两种氮源的试验Ⅱ在 R1 期 A 根的氮来源于 A 根吸收肥料氮为 53.15% 和 57.70%，来源于 B 根吸收的肥料氮为 12.21% 和 10.40%，来源于 A 和 B 两侧根瘤固定的氮为 34.64% 和 31.90%，R5 期分别为 45.88% 和 55.64%、11.31% 和 9.41%、42.81% 和 34.95%。进一步证明

表 5　试验Ⅱ中大豆各组织中氮来源于^{15}N、^{14}N、根瘤固氮的比例 (%)

Table 5　Proportions of nitrogen from ^{15}N, ^{14}N and nodule fixation of soybean tissues in experiment Ⅱ

时期 Stage	部位 Tissue	NO_3^-			NH_4^+		
		^{15}N	^{14}N	根瘤固氮 Nodule fixation	^{15}N	^{14}N	根瘤固氮 Nodule fixation
始花期 (R1) Initial flowering	A 根 Root A	53.15 ± 0.99 a	12.21 ± 0.63 c	34.64 ± 1.6 b	57.70 ± 1.42 a	10.40 ± 1.05 c	31.90 ± 1.66 b
	B 根 Root B	12.21 ± 0.63 c	53.15 ± 0.99 a	34.64 ± 1.6 b	10.40 ± 1.05 c	57.70 ± 1.42 a	31.90 ± 1.66 b
	A 根瘤 Nodule A	11.64 ± 0.18 b	5.00 ± 0.10 c	83.36 ± 0.29 a	13.12 ± 0.75 b	5.30 ± 0.60 c	81.58 ± 1.22 a
	B 根瘤 Nodule B	5.00 ± 0.10 c	11.64 ± 0.18 b	83.36 ± 0.29 a	5.30 ± 0.60 c	13.12 ± 0.75 b	81.58 ± 1.22 a
	茎 Stem	22.90 ± 0.68 b	22.90 ± 0.68 b	54.20 ± 1.35 a	30.63 ± 3.69 a	30.63 ± 3.69 a	38.74 ± 7.39 a
	叶片 Leaf	21.68 ± 1.45 b	21.68 ± 1.45 b	56.64 ± 2.91 a	29.15 ± 1.78 b	29.15 ± 1.78 b	41.70 ± 3.55 a
	叶柄 Petiole	24.43 ± 1.35 b	24.43 ± 1.35 b	51.14 ± 2.7 a	26.59 ± 1.30 b	26.59 ± 1.30 b	46.82 ± 2.61 a
始粒期 (R5) Initial seeding	A 根 Root A	45.88 ± 1.21 a	11.31 ± 0.77 b	42.81 ± 1.89 a	55.64 ± 1.10 a	9.41 ± 0.170 c	34.95 ± 1.12 b
	B 根 Root B	11.31 ± 0.77 b	45.88 ± 1.21 a	42.81 ± 1.89 a	9.41 ± 0.17 c	55.64 ± 1.10 a	34.95 ± 1.12 b
	A 根瘤 Nodule A	9.22 ± 0.40 b	4.43 ± 0.32 c	86.35 ± 0.53 a	10.22 ± 0.56 b	4.45 ± 0.180 c	85.33 ± 0.74 a
	B 根瘤 Nodule B	4.43 ± 0.32 c	9.22 ± 0.40 b	86.35 ± 0.53 a	4.45 ± 0.18 c	10.22 ± 0.56 b	85.33 ± 0.74 a
	茎 Stem	21.95 ± 0.88 b	21.95 ± 0.88 b	56.10 ± 1.76 a	23.29 ± 1.16 b	23.29 ± 1.16 b	53.42 ± 2.31 a
	叶片 Leaf	21.00 ± 0.96 b	21.00 ± 0.96 b	58.00 ± 1.91 a	22.36 ± 0.86 b	22.36 ± 0.86 b	55.28 ± 1.72 a
	叶柄 Petiole	23.48 ± 1.19 b	23.48 ± 1.19 b	53.04 ± 2.37 a	23.77 ± 1.20 b	23.77 ± 1.20 b	52.46 ± 2.40 a
	荚 Pod	18.22 ± 0.74 b	18.22 ± 0.74 b	63.56 ± 1.47 a	21.92 ± 1.04 b	21.92 ± 1.04 b	56.16 ± 2.08 a

注（Note）：^{14}N 代表来自 B 根吸收的肥料氮的比例，^{15}N 代表来自 A 根吸收的肥料氮的比例，根瘤固氮代表来自 A 和 B 两侧根瘤固氮的比例；表中值代表平均数 ± 标准误 (n=3)；同行数据后不同字母表示不同氮来源间差异达 5% 显著水平。^{14}N represents the proportion of ^{14}N fertilizer nitrogen，^{15}N represents the proportion of ^{15}N-labeled fertilizer nitrogen，nodule fixation represents the proportion of nodule-fixed nitrogen of A and B sides of nodule. The values are the means ± SD (n =3). Values followed by different lowercase letters in a row indicate significant difference among different N sources at the 5% level.

A根中的氮除了来自A根吸收的肥料氮，还有来自B根的肥料氮及根瘤固氮。在R1期，A侧根瘤的氮来源于A根吸收肥料氮为11.64%和13.12%，来源于B根吸收的肥料氮为5.00%和5.30%，来源于A根和B根的根瘤固氮为83.36%和81.58%，R5期分别为9.22%和10.22%、4.43%和4.45%、86.35%和85.33%。进一步证明了根瘤中的氮主要来自根瘤固氮，有一少部分来自本根系吸收的肥料氮。在NO_3^-和NH_4^+两种氮源条件下，在R1期，茎的氮来源于A和B两根吸收肥料氮的比例为45.80%和61.26%，来自于A和B两侧根瘤固氮的比例为54.20%和38.74%，叶片是43.36%、58.30%和56.64%、41.70%，叶柄是48.86%、53.18%和51.14%、46.82%。在R5期，茎是43.90%、46.58%和56.10%、53.42%，叶片是42.00%、44.72%和58.00%、55.28%，叶柄是46.96%、47.54%和53.04%、52.46%，荚是36.44%、43.84%和63.56%、56.16%。

2.2 大豆始花期～始粒期地上部向根及根瘤的氮转移量

由表3、表4可知，双根系统中两个根系吸收的氮可通过地上部相互转移，但这种转运不是简单的过程，而是反映地上与根系和根瘤的相关性。试验中大豆植株各部^{15}N丰度不同(表2)，将B根和地上部看做一个系统，对B根而言，地上部是其^{15}N供给源，R1～R5期，B根增加的^{15}N量可以用R5期积累的^{15}N量减去R1期积累的^{15}N量求得，其应等于R1～R5期由地上部转移下来的^{15}N量，加上R1～R5期B根自身吸收自然丰度的^{15}N量(试验Ⅰ为根瘤固氮，试验Ⅱ为根瘤固氮和B根吸收的^{14}N肥料氮)之和。设定从地上部转运到B根的氮量为N_T，地上部向下转移氮的^{15}N丰度用R1期和R5期地上部^{15}N丰度的平均值来计算，则$N_T \times (f_{地上部R1}+f_{地上部R5})/2$代表R1期到R5期从地上部转移到B根的$^{15}N$量；$N_{R5}-N_{R1}$为R1期到R5期B根的氮积累量，$N_{R5}-N_{R1}-N_T$为R1期到R5期来自B根吸收的氮积累量(包括根瘤供给的)，其乘上^{15}N自然丰度$f_{自}$，即$(N_{R5}-N_{R1}-N_T) \times f_{自}$代表R1期到R5期B根吸收的及根瘤供给的$^{15}N$量；$N_{R5} \times f_{R5}$为R5期B根全部$^{15}N$量，$N_{R1} \times f_{R1}$为R1期B根全部$^{15}N$量。地上部转移到B侧根瘤的氮量也可用此方法计算出来。对于试验Ⅱ，则$N_T \times (f_{地上部R1}+f_{地上部R5})/2+(N_{R5}-N_{R1}-N_T) \times f_{自} = N_{R5} \times f_{R5}-N_{R1} \times f_{R1}$，即，

$$N_T = \frac{N_{R5} \times f_{R5} - N_{R1} \times f_{R1} - (N_{R5} - N_{R1}) \times f_{自}}{(f_{地上R1} + f_{地上R5})/2 - f_{自}} \quad (4)$$

式中，f_{R1}、f_{R5}为B根或B侧根瘤在R1期、R5期的^{15}N丰度(表1)，$f_{地上部R1}$、$f_{地上部R5}$为地上部R1期、R5期的茎、叶片、叶柄、荚的^{15}N丰度(表1)的平均值，$f_{自}$为自然丰度(0.365%)，N_{R1}、N_{R5}为B根或B侧根瘤R1期、R5期氮积累量。试验中参数取值见表6。

由(4)式结合表6可以计算出地上部转移到B根及B根瘤的氮量，在试验Ⅱ中，由于双侧均施加相同浓度相同形态的氮，仅标记不同，认为地上部向A和B两侧的根及根瘤转移的氮量相同，试验Ⅱ在R1～R5期地上部向根及根瘤的氮转移量和比例见表7。

NO_3^-和NH_4^+两种氮源处理下，在R1～R5期A根或B根增加的氮积累量为15.7 mg/株和19.7 mg/株，R1～R5期从地上部转移到A根或B根的氮积累量为6.4 mg/株和5.6 mg/株，占A根或B根增加的氮积累量的40.8%和28.4%。R1～R5期A侧根瘤或B侧根瘤增加的氮积累量为20.3 mg/株和18.8 mg/株，R1～R5期从地上部转移到A侧根瘤或B侧根瘤的氮积累量为3.5 mg/株和2.7 mg/株，占A根瘤或B根瘤增加的氮积累量的17.2%和14.4%。

表6 B根、B根瘤及地上部始花期(R1)和始粒期(R5)的^{15}N丰度及氮积累量

Table 6 ^{15}N abundance and N accumulation of root B, nodule B and shoot at initial flowering (R1) and initial seeding (R5) stage

部位 Tissue	NO_3^-				NH_4^+			
	f_{R1} (%)	f_{R5} (%)	N_{R1} (mg/plant)	N_{R5} (mg/plant)	f_{R1} (%)	f_{R5} (%)	N_{R1} (mg/plant)	N_{R5} (mg/plant)
B根 Root B	0.76	0.73	37.56	53.22	0.70	0.67	41.67	61.32
B根瘤 Nodule B	0.53	0.51	19.38	39.63	0.54	0.51	15.90	34.71
地上部 Shoot	1.11	1.06			1.31	1.11		

注（Note）：f_{R1}—始花期^{15}N丰度^{15}N abundance at initial flowering stage; f_{R5}—始粒期^{15}N丰度^{15}N abundance at initial seeding stage; N_{R1}—始花期氮积累量N accumulation at initial flowering stage; N_{R5}—始粒期氮积累量N accumulation at initial seeding stage.

表 7　始花期 (R1) ～始粒期 (R5) 地上部向根及根瘤的氮转移量和比例

Table 7　Amount and proportion of N periodically transferred from shoot to root and nodule from initial flowering (R1) to initial seeding (R5) stage

氮形态 N form	部位 Tissue	氮积累量 (mg/plant) Accumulated N	转移量 (mg/plant) Transferred N	比例 (%) Proportion
NO_3^-	A 或 B 根 Root A or B	15.7	6.4	40.8
	A 或 B 根瘤 Nodule A or B	20.3	3.5	17.2
	共计 Total	36.0	9.9	27.5
NH_4^+	A 或 B 根 Root A or B	19.7	5.6	28.4
	A 或 B 根瘤 Nodule A or B	18.8	2.7	14.4
	共计 Total	38.5	8.3	21.6

3　讨论

3.1　大豆各器官的氮素来源

大山卓爾等[29]的研究发现，给大豆供给$^{15}NO_3^-$，一段时间后发现^{15}N 标记出现在根瘤中，说明硝态氮可供大豆根瘤生长，尤其是在根瘤生长初期，其利用率是较高的。Sato 等[30]向培养大豆的营养液中加入$^{13}NO_3^-$，发现^{13}N 标记的 NO_3^-首先出现在大豆叶柄中，接着是叶片中，而在根瘤中很少，说明根吸收的 NO_3^-在短时间内没有转移到根瘤中。本研究中试验Ⅰ、Ⅱ是一侧施^{15}N 标记的肥料氮，而在没有施氮或施没有^{15}N 标记肥料氮的另一侧根瘤^{15}N 丰度高于自然丰度，结合 Sato 等[30]的试验结果，说明一定有^{15}N 标记的肥料氮运输到两侧根瘤中，即根瘤中来自根系吸收的氮素主要是由地上部转移下来的。试验Ⅰ和试验Ⅱ中两侧根瘤的^{15}N 丰度均高于氮的自然丰度 (0.365%)，说明根瘤生长发育过程中所需要的氮不是全部都来自自身固氮，也有一部分来自根系吸收的肥料氮。且 A 侧根瘤的^{15}N 丰度显著高于 B 侧根瘤，说明 A 侧根吸收的^{15}N 标记的肥料氮供应 A 侧根瘤的量多于 B 侧根瘤。

Wery 等[31]对苜蓿进行供硝酸铵与不施氮的试验，发现两者在氮积累量上没有显著性差异，但是在供氮条件下根瘤固氮率下降了，而吸收的氮素增加了，说明在有化合态氮和 N_2 同时存在的情况下，苜蓿会优先选择化合态氮。本试验中，试验Ⅰ为单侧供氮，试验Ⅱ为双侧供氮，对比试验Ⅰ和试验Ⅱ中植株各部位来源于肥料氮和根瘤固氮的比例，发现试验Ⅱ中植株各部位来源于根瘤固氮的比例均小于试验Ⅰ，即根瘤固氮率明显下降，这表明在适当增加肥料氮时，大豆植株优先吸收利用肥料氮。

对于铵态氮和硝态氮两种氮素对氮的吸收及分配的影响说法不一。一些学者在大豆和玉米的大田试验中发现，无论是 NO_3^-还是 NH_4^+，使用单一氮源植株的长势均不如 NH_4^+和 NO_3^-混合[32-33]。Chaillou 等[34]在水培条件下，利用大豆分根系统，一侧施加 NH_4^+，一侧施加 NO_3^-，研究发现施加 NO_3^-侧的根干重大于 NH_4^+侧的根干重。而 Gan 等[18]给大豆分别施加 NH_4^+和 NO_3^-，研究发现施用 NH_4^+比施用 NO_3^-的大豆具有更高生物积累量、根瘤干重、总氮积累量和固氮量。本试验的试验Ⅰ、Ⅱ的 NO_3^-或 NH_4^+处理对比，各器官^{15}N 丰度均没有显著性差异，可能是由于一些细菌的存在将 NH_4^+转化为 NO_3^-，但从其表现来看，施 NO_3^-或 NH_4^+并没有影响大豆植株对氮的吸收及分配，说明在 50 mg/L 的氮浓度下，NO_3^-和 NH_4^+影响大豆对氮吸收和分配的作用几乎相同。

3.2　大豆地上部与根系、根瘤的氮分配与再分配

Oghoghorie 等[24]给豌豆叶面施加$^{15}NO_3^-$，发现在地上部、根和根瘤中均检测到了^{15}N 标记，说明叶片中的氮会发生向下的运输，运输到了根及根瘤中。Ito 等[35]用$^{15}NO_3^-$或$^{15}NH_4^+$处理向日葵叶片，在施氮叶片的上下节间都测到了^{15}N，而且上节间的^{15}N 丰度小于下节间，表明施加在叶片上的氮可以发生向上运输的同时也可以发生向下的运输，即地上部的氮会转运到根及根瘤中。Reynolds 等[36]在水培条件下，利用大豆分根系统，一侧施$^{13}NH_4^+$，一侧不施氮，发现^{13}N 先出现在地上部，随后出现在未供氮一侧的根中，说明根部吸收的氮会运输到地上部分，随后再运输回根部。本研究的试验Ⅰ和Ⅱ中地上部、A 和 B 两侧根、A 和 B 两侧根瘤的^{15}N 丰度均高于氮的自然丰度 (0.365%)，且小于施加的肥料氮的^{15}N 丰度 (3.63%)，表明 A 和 B 两侧根部吸收的肥料氮和 A 和 B 两侧根瘤固氮都会按一定的比例运输到地上

部；一定有A根吸收的^{15}N标记的肥料氮转移到B根中；也一定有A根吸收的^{15}N标记的肥料氮运输到两侧根瘤中，由于试验Ⅱ中双侧根都处于50 mg/L的相同氮素溶液中，且均有根瘤的存在，可以认为两侧根及根瘤所处的营养状态相同，因此试验Ⅱ中A根吸收的^{15}N标记的肥料氮会转移到B根中，同理可知，B根吸收的^{14}N的肥料氮也会转移到A根中；A侧根吸收的^{15}N标记的肥料氮会运输到两侧根瘤中，同理可知，B侧根吸收的^{14}N的肥料氮也会运输到两侧根瘤中。综上所述，根吸收的肥料氮和根瘤固氮会以一定的比例运输到地上部，随后会再次重新分配回根及根瘤中。

为估算地上部向根及根瘤转运的氮量及占根和根瘤氮的比例，本试验将大豆双根系统中地上部和未施^{15}N标记肥料氮的一侧根及根瘤看成一个氮转移系统，利用^{15}N丰度的差异，构建了R1～R5期地上部向根及根瘤转移氮量的计算方法。在试验Ⅱ中，利用公式(1)计算得出，在NO_3^-和NH_4^+两种氮源下，R1–R5期A根或B根来自地上部转移的氮为5.6～6.4 mg/株，占R1～R5期A根或B根氮积累量的28.4%～40.8%；R1～R5期A侧根瘤或B侧根瘤来自地上部的氮为2.7～3.5 mg/株，占R1～R5期A侧根瘤或B侧根瘤氮积累量的14.4%～17.2%。地上部向根及根瘤中转运的氮，是以何种形态和通过什么部位运输的，以及其生理作用如何还有待进一步研究。

4 结论

1) 根瘤生长所需要的氮来源包括自身根瘤固氮和根系吸收的外源氮，且大豆植株优先吸收外源氮。不论供应NO_3^-还是NH_4^+，在N 50 mg/L浓度下，大豆氮的吸收和分配不受氮形态的影响。

2) 大豆根系吸收的肥料氮以及根瘤固氮运输到地上部后，会再次重新分配回根及根瘤中。将大豆双根系统中地上部和施^{14}N肥料氮的一侧根及根瘤看成一个氮转移系统，利用^{15}N丰度的差异，构建了R1～R5期地上部向根及根瘤转移氮量的计算方法。经计算表明，当施氮浓度为50 mg/L时，R1～R5期(始花期～始粒期)根来自地上部转移的氮占根部氮素积累量的28.4%～40.8%，根瘤来自地上部转移的氮占其氮素积累量的14.4%～17.2%。

参 考 文 献：

[1] Collino D J, Salvagiotti F, Perticari A, *et al*. Biological nitrogen fixation in soybean in Argentina: relationships with crop, soil, and meteorological factors[J]. Plant & Soil, 2015, 392(1–2): 1–14.

[2] 万涛.氮素水平对大豆光合速率及产量的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2013.
Wan T. Effect of nitrogen levels on photosynthesis rate and yield of soybean[D]. Harbin: MS Thesis of Northeast Agricultural University, 2013.

[3] Taylor R S, Weaver D B, Wood C W, *et al*. Nitrogen application increases yield and early dry matter accumulation in late-planted soybean[J]. Crop Science, 2005, 45(3): 854–858.

[4] Mahon J D, Child J J. Growth response of inoculated peas (*Pisum sativum*) to combined nitrogen[J]. Canadian Journal of Botany, 1979, 57(16): 1687–1693.

[5] Randjelović V, Prodanović S, Tomić Z, *et al*. Genotypic response of two soybean varieties with reduced content of KTI to application of different nitrogen level[J]. Biotechnology in Animal Husbandry, 2010, 26(5/6): 403–410.

[6] Đukić V, Đorđević V, Popović V, *et al*. Effect of nitrogen and nitragin application on soybean yield and protein content[J]. Ratarstvo I Povrtarstvo, 2010, 47(1): 187–192.

[7] Darbyshire J F. Studies on the physiology of nodule formation: IX. the influence of combined nitrogen, glucose, light intensity and day length on root-hair infection in clover[J]. Annals of Botany, 1966, 30(120): 623–638.

[8] Imsande J. Inhibition of nodule development in soybean by nitrate or reduced nitrogen[J]. Journal of Experimental Botany, 1986, 37(3): 348–355.

[9] Svenning M M, Junttila O, Macduff J H. Differential rates of inhibition of N_2 fixation by sustained low concentrations of NH_4^+ and NO_3^- in northern ecotypes of white clover (*Trifoliumrepens* L.)[J]. Journal of Experimental Botany, 1996, 47(299): 729–738.

[10] 夏玄, 龚振平. 氮与豆科作物固氮关系研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2017, 48(1): 79–88.
Xia X, Gong Z P. Research advance on the relationship between nitrogen and Leguminous nitrogen fixation[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2017, 48(1): 79–88.

[11] Dazzo F B, Brill W J. Regulation by fixed nitrogen of host-symbiont recognition in the rhizobium-clover symbiosis[J]. Plant Physiology, 1978, 62(1): 18–21.

[12] Tanaka A, Fujlta K, Terasawa H. Growth and dinitrogen fixation of soybean root system affected by partial exposure to nitrate[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 1985, 31(4): 637–645.

[13] Arnone J A, Kohls S J, Baker D D. Nitrate effects on nodulation and nitrogenase activity of actinorhizal *Casuarina* studied in split-root systems[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1994, 26(5): 599–606.

[14] Saito A, Tanabata S, Tanabata T, *et al*. Effect of nitrate on nodule and root growth of soybean, (*Glycine* max L. Merr.)[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2014, 15(3): 4464–4480.

[15] Carroll B J, Gresshoff P M. Nitrate inhibition of nodulation and nitrogen-fixation in white clover[J]. Zeitschrift Fü Pflanzenphysiologie, 1981, 110(1): 77–88.

[16] Daimon H, Yoshioka M. Responses of root nodule formation and nitrogen fixation activity to nitrate in a split-root system in peanut

(*Arachis hypogaea* L.)[J]. Journal of Agronomy & Crop Science, 2010, 187(2): 89–95.

[17] Streeter J G. Effect of nitrate on acetylene reduction activity and carbohydrate composition of *Phaseolus vulgaris* nodules[J]. Physiologia Plantarum, 1986, 68(2): 294–300.

[18] Gan Y B, Stulen I, van Keulen H, *et al*. Low concentrations of nitrate and ammonium stimulate nodulation and N_2 fixation while inhibiting specific nodulation (nodule DW g^{-1} root dry weight) and specific N_2 fixation (N_2 fixed g^{-1} root dry weight) in soybean[J]. Plant and Soil, 2004, 258(1/2): 281–292.

[19] Fujikake H, Yamazaki A, Ohtake N, *et al*. Quick and reversible inhibition of soybean root nodule growth by nitrate involves a decrease in sucrose supply to nodules[J]. Journal of Experimental Botany, 2003, 54(386): 1379–1388.

[20] Pankhurst C E. Effect of plant nutrient supply on nodule effectiveness and rhizobium strain competition for nodulation of Lotus pedunculatus[J]. Plant & Soil, 1981, 60(3): 325–339.

[21] Xia X, Ma C, Dong S, *et al*. Effects of nitrogen concentrations on nodulation and nitrogenase activity in dual root systems of soybean plants[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2017, 63(5): 470–482.

[22] Hinson K. Nodulation responses from nitrogen applied to soybean half-root systems[J]. Annals of the Royal College of Surgeons of England, 1975, 80(6): 447–804.

[23] Hinson K. Nodulation responses from nitrogen applied to soybean half-root systems[J]. Agronomy Journal, 1975, 67: 799–804.

[24] Oghoghorie C G O, Pate J S. Exploration of the nitrogen transport system of a nodulated legume using ^{15}N[J]. Planta, 1972, 104(1): 35–49.

[25] Pate J S, Herridge D F. Partitioning and utilization of net photosynthate in a nodulated annual legume[J]. Journal of Experimental Botany, 1978, 29(109): 401–412.

[26] Hoagland D R, Arnon D I. The water-culture method for growing plants without soil[J]. California Agricultural Experiment Station, 1950, 347(5406): 357–359.

[27] 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-accumulation and yields of soybean[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(1): 65–70.

[28] 陈良, 池惠荣, 高占峰, 等. 主要农作物对^{15}N标记肥料丰度的选择 Ⅱ.玉米 大豆[J]. 核农学通报, 1991, (2): 79–83.
Chen L, Chi H R, Gao Z F, *et al*. The choice of ^{15}N markers fertilizer abundance of main crop Ⅱ. Corn, soybean[J]. Nuclear Agriculture Bulletin, 1991, (2): 79–83.

[29] 大山卓爾 (陈寿松 译). 关于大豆根瘤固氮动态的研究[J]. 原子能农业译丛, 1984, (3): 29–31.
Ohyama T(Translated by Chen S S). Study on nitrogen fixation dynamics of soybean root nodules[J]. Translation of Atomic Energy Agriculture, 1984, (3): 29–31.

[30] Sato T, Ohtake N, Ohyama T, *et al*. Analysis of nitrate absorption and transport in non-nodulated and nodulated soybean plants with NO_3^- and NO_3^-[J]. Radioisotopes, 1999, 48: 450–458.

[31] Wery J, Turc O, Salsac L. Relationship between growth, nitrogen fixation and assimilation in a legume (*Medicago sativa* L.)[J]. Plant & Soil, 1986, 96(1): 17–29.

[32] 宋海星, 申斯乐, 闫石, 等. 硝态氮与氨态氮对大豆幼苗生长及氮素积累的影响[J]. 大豆科学, 1997, (2): 87–89.
Song H X, Shen S L, Yan S, *et al*. Effect of NO_3^- and NH_4^+ on soybean seedling and nitrogen accumulation[J]. Soybean Science, 1997, (2): 87–89.

[33] Schortemeyer M, Feil B, Stamp P. Root morphology and nitrogen uptake of maize simultaneously supplied with ammonium and nitrate in a split-root system[J]. Annals of Botany, 1993, 72: 107–115.

[34] Chaillou S, Rideout J W, Raper C D, *et al*. Responses of soybean to ammonium and nitrate supplied in combination to the whole root system or separately in a split-root system[J]. Physiologia Plantarum, 1994, 90: 260–270.

[35] Ito O, Kumazawa K. Nitrogen assimilation in sunflower leaves and upward and downward transport of nitrogen[J]. Soil Science & Plant Nutrition, 1976, 22(2): 181–189.

[36] Reynolds P H S, Boland M J, Mcnaughton G S, *et al*. Induction of ammonium assimilation: leguminous roots compared with nodules using a split root system[J]. Physiologia Plantarum, 1990, 79(2): 359–367.