

# 用<sup>15</sup>N富积标记和稀释法研究旱作水稻/花生间作系统中氮素固定和转移

褚贵新<sup>1,2</sup>, 沈其荣<sup>1\*</sup>, 张娟<sup>1</sup>, 肖龙云<sup>1</sup>, 崇泽圣<sup>1</sup>

(1 南京农业大学资源与环境学院植物营养系, 江苏南京 210095;

2 新疆石河子大学农学院资源与环境系, 新疆石河子 832000)

**摘要:**采用花生叶片<sup>15</sup>N富积标记法和<sup>15</sup>N同位素稀释法两种标记方法研究了水稻/花生间作条件下花生的生物固氮以及花生向水稻的氮素转移。盆栽结果表明,两种方法都证明在水稻花生间作的共生期内发生了氮素转移,花生固氮量的2%~3.5%转移到水稻体内。同位素稀释试验还表明,间作对花生固氮有促进作用,能提高其固氮效率(BNF)。本文还对两种同位素标记方法的优缺点进行了讨论。

**关键词:**花生; 旱作水稻; 间作; 氮素固定; 氮素转移; 稀释标记法

中图分类号: S344.2; Q945.13 文献标识码: A 文章编号: 1008-505X(2003)04-0385-05

## Comparision of two methods used to study the biological nitrogen fixation and nitrogen transfer from peanut to rice in aerobic soil of intercropping system

CHU Gui-xin<sup>1,2</sup>, SHEN Qi-rong<sup>1</sup>, ZHANG Juan<sup>1</sup>, XIAO Long-yun<sup>1</sup>, MAO Ze-sheng<sup>1</sup>

(1 College of Resou. and Environ. Sci., Nanjing Agric. Univ., Nanjing 210095, China;

2 College of Agric. Sci., Shihezi Univ., Shihezi, Xinjiang 832000, China)

**Abstract:** Pot experiments was carried to study biological nitrogen fixation and nitrogen transfer from peanut to rice in aerobic soil of intercropping system with two different methods: <sup>15</sup>N-foliar feeding and <sup>15</sup>N-isotope dilution methods. Evidence of nitrogen transfer was obtained in all of the two methods, which represents about 2.0%~3.5% of total N fixed by peanut. Root partition experiments also suggested that the relative proximity of the root system of the associated two components is essential for increasing of N-transfer. The two methods gave identical results. The advantages and disadvantages of the tow methods are also discussed in the paper.

**Key words:** peanut; rice in aerobic soil; intercropping; nitrogen fixation; nitrogen transfer; <sup>15</sup>N-isotope

间作条件下,禾本科作物的产量和氮素吸收量往往比其在单作条件提高很多,表现出明显的间作优势<sup>[1]</sup>。其主要原因是间作提高了系统对资源的利用(包括光照、水分、矿质营养等),尤其是在氮素营养供应上拓宽了作物的氮素营养生态位<sup>[2]</sup>,更好地满足了作物氮素营养的需求。由于豆科作物可以利用根瘤菌从大气中固定氮素来满足其对氮素的需求,从而减少了与禾本科作物对土壤氮素的竞争<sup>[3]</sup>,

因此在单位面积内与豆科间作禾本科作物比其在单作条件下能占有较多的土壤氮素养分。研究还表明,在两种作物共生期间,豆科作物可以向禾本科作物转移一定量的氮素<sup>[4]</sup>,这种转移的氮素可以作为禾本科作物的一种重要的氮源<sup>[5]</sup>。因此豆科植物的生物固氮以及间作中豆科作物向禾本科作物的氮素转移一直受到人们所关注,同时也把它作为可持续农业研究中的重要内容。

收稿日期: 2002-11-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(30200036)资助。

作者简介: 褚贵新(1969—),男,新疆霍城人,在职博士研究生,主要从事土壤及植物营养的教学与科研工作。\* 通讯作者

由于对评价氮素从豆科作物向禾本科作物转移的实验技术和人们的认识所限,间作中氮素转移数量与途径等方面的国内报道较少,而国外有较多报道。Markus Dubach 和 Russelle<sup>[6]</sup>研究证明,豆科作物在生长期问根系有自我更新作用,老的根系能不断腐烂分解,经矿化释放其中的氮素可以在当季被禾本科作物利用;Jeasen<sup>[7]</sup>采用分根(<sup>15</sup>N标记)技术研究表明大麦体的总氮中有19%是从豌豆植株体转移过来的,而大麦不向豌豆转移任何氮素。Christopher等<sup>[8]</sup>采用分根技术研究氮素转移,其结果表明给大豆接种VA菌根能使大豆在施用<sup>15</sup>N肥料后的48小时就向玉米转移氮素,由此说明接种VA菌根能大大提高豆科作物向非豆科作物转移氮素的效率;其它一些研究<sup>[9-13]</sup>也都表明间作中有一定量的氮素转移。然而,也有部分研究结果认为<sup>[14,15]</sup>,豆科与非豆科作物间作系统中氮素的转移量很少或没有发生转移,或者氮素的转移取决于作物的品种<sup>[2]</sup>,说明对间作中豆科作物氮素的释放和转移的机制还没有完全研究清楚,有关的研究值得进一步深入。

花生是一种重要的豆科作物,水稻旱作的成功使二者间作成为可能。本研究用叶片富积标记法和同位素稀释法(Isotope dilution, ID法)比较研究了花生/水稻间作系统中氮素的固定与转移,旨在探索充分利用作物间作系统中养分资源的有效途径,并为旱作水稻与豆科作物间作的管理提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试土壤与作物

试验在南京农业大学资源与环境学院网室进行,供试的水稻品种为武育粳99-15号,花生品种为郑远杂9102。土壤采自江苏省南通市搬经镇的高沙土,为0~20cm的表层土。前茬作物为花生。耕层土壤有机质含量6.9 g/kg,全N 0.56 g/kg,碱解N 47.25 mg/kg,全P 0.64 g/kg, Olsen-P 6.56 mg/kg,全K 9.7 g/kg,有效K 39.69 mg/kg, pH值(H<sub>2</sub>O)8.2。

### 1.2 试验设计

试验1:<sup>15</sup>N稀释法(ID)盆栽试验。设1)塑料膜分隔,2)不分隔2种植方式和1)不施氮肥(CK),2)N 225kg/hm<sup>2</sup>(225N),3)N 300kg/hm<sup>2</sup>(300N)3个氮肥水平。所用氮肥为尿素,<sup>15</sup>N的丰度为10.32%。施用方法为1/2的CO(<sup>15</sup>NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>同位素溶于水,种植前均匀施入土壤,在花生开花期1/2的CO(<sup>15</sup>NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>溶于水用注射器小心施入土壤,防止<sup>15</sup>N污染植株叶片,随后充分浇水,使<sup>15</sup>N在土壤中均匀分布。其他营养元素在播种前溶于水一次施入,施量以mg/kg

计,分别为P 100 (CaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>), K 80 (KCl), Fe 10 (FeSO<sub>4</sub>), Zn 10 (ZnSO<sub>4</sub>), Mo 10 (MoSO<sub>4</sub>)。将风干土过2.5mm筛,每盆装土17 kg。每盆水稻6株,花生6株,种植比例1:1。水稻苗龄4叶1心于2001年6月14日移植,花生于6月20日播种,6月26日出苗。

试验2:叶片<sup>15</sup>N富积标记大盆钵试验,每盆装土67 kg,盆钵直径20 cm,高60 cm。试验设1)塑料膜分隔,水、肥、根不能相互通过;2)网膜分隔(30μm孔径),水、肥可以通过,根系不能通过;3)不分隔,水、肥、根都可相互通过等3种方式。随机排列,3次重复。不施氮肥,其它施肥量和栽培方式同试验1。在花生开花期前用浓度为3%的CO(<sup>15</sup>NH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>(<sup>15</sup>N的丰度为10.32%)连续向花生叶片喷3次。喷施时用PVC柱形桶罩着花生,并在土壤表面铺两层塑料薄膜,防止<sup>15</sup>N污染土壤。喷施后把花生植株用塑料袋包起来,第2天等叶片干后把塑料袋拿去,严格控制可能对土壤和水稻植株造成的<sup>15</sup>N污染。

### 1.3 样品采集、分析及计算方法

盆栽试验的植株样在10月5日收获,并把植株不同器官分开,水稻地上部分分为穗、叶片、茎秆、叶鞘和根系;花生分为叶片、茎秆、根系。在105℃杀青30 min,在75℃温度下烘至恒重。分别称干物质重,粉碎测定全N含量和并用质谱仪测定<sup>15</sup>N丰度。植株全N用凯氏半微量蒸馏定氮法,并进行质谱分析,测定<sup>15</sup>N丰度。

试验中把施用<sup>15</sup>N肥料处理的植株样品<sup>15</sup>N的丰度与不施<sup>15</sup>N植株样品丰度差值计为该样品的<sup>15</sup>N原子百分超(atom % excess, A% E)。

1)花生固氮%(% NDFA),即花生固定空气中氮素占植株全氮的百分数<sup>[2]</sup>:

$$\text{花生在单作条件下固氮 \% (\% NDFA)} = \frac{\text{花生/A\% E 单作水稻}}{\text{花生/A\% E 单作水稻}} \times 100;$$

$$\text{花生在间作条件下固氮 \% (\% NDFA)} = \frac{\text{花生/A\% E 间作水稻}}{\text{花生/A\% E 单作水稻}} \times 100.$$

2)花生向旱作水稻氮素转移百分率%(% NTFL,稀释法)<sup>[17]</sup>:

$$\% \text{NTFL} = 1 - \frac{\text{A\% E 间作水稻/A\% E 单作水稻}}{\text{A\% E 间作水稻}}.$$

3)植株从土壤(% NDFS)或肥料(% NDFF)吸取氮素占植株全氮的%:

$$\% \text{NDFF} = \frac{\text{A\% E 植株样品}}{\text{A\% E 肥料样品}};$$

$$\% \text{NDFS} = 1 - \% \text{NDFF}.$$

4)氮素转移率%(% N)=水稻体内<sup>15</sup>N含量×100/水稻体内<sup>15</sup>N含量+花生体内<sup>15</sup>N含量(叶片富积法)<sup>[18]</sup>;

植物体内<sup>15</sup>N含量(g)=植株<sup>15</sup>N原子百分超×含氮量×干物质重/肥料中<sup>15</sup>N原子百分超。

## 2 结果与分析

### 2.1 <sup>15</sup>N富积标记法研究间作体系中的氮素营养及其氮素转移量

用花生叶片<sup>15</sup>N富积标记法研究氮素在水稻/花

生间作体系的转移,主要通过测定标记在花生叶片上的示踪元素<sup>15</sup>N能否在水稻体内测定出来。由于塑料膜隔开处理的水稻和花生地下部水、肥、根均不能相互通过,因此可以塑料膜隔的水稻<sup>15</sup>N原子百分超为对照(其测定值为0.385%),则网膜分隔和不分隔的水稻体内原子百分超比对照分别平均高出0.36和0.44个百分点(表1)。这就直接证明在水稻/花生间作共生期发生了由花生向水稻的氮素转移。其转移量在网膜分隔条件下占花生固氮量的

2.39%,在不分隔条件下为3.12%。由于不分隔两种作物的地下部根系可以相互交错,从而提高了氮素的转移。Fujita等认为间作中根系的交互掺杂是很重要的,因为氮素的转移可以通过相互交错的根系进行。他们研究了大豆和高粱间作系统氮素在12.5 cm×12.5 cm, 17.7 cm×17.7 cm, 25 cm×25 cm, 50 cm×50 cm等4个种植密度的氮素转移,发现氮素的转移量在12.5 cm×12.5 cm种植密度时最大<sup>[18]</sup>。分隔试验的结果与他们的研究结果一致。

表1 不同处理下花生和水稻体<sup>15</sup>N原子百分超和氮素的转移(试验2)

Table 1 <sup>15</sup>N atom % excess in peanut and rice and nitrogen transfer in different treatments (Exp. 2)

处理 Treatments	<sup>15</sup> N原子百分超(%)		植株体 <sup>15</sup> N重量(mg/pot)		氮素转移量 N transfer amount (mg /pot)	氮素转移率 N transfer rate (%)
	<sup>15</sup> N atom % excess		Total <sup>15</sup> N in plant			
花生 Peanut	水稻 Rice	花生 Peanut	水稻 Rice			
塑料膜分隔 Plastic partition	1.27±0.14	0	92±3.24	0	0	0
网膜分隔 Nylon film partition	1.44±0.13	0.36±0.05	118±3.67	2.89±0.23	2.89±0.17	2.39±0.01
不分隔 No partition	1.23±0.13	0.44±0.02	98±2.19	3.16±0.18	3.16±0.08	3.12±0.03

注(Note): 表中数据为3次平均值。Data was the mean of three replications.

豆科作物的生物固氮量(BNF)易受外界影响,尤其受氮素水平的影响。由表2可看出,300 kg/hm<sup>2</sup>氮素处理花生其固氮率低于225 kg/hm<sup>2</sup>处理的,即氮素水平越高,则固氮率越低,这和前人的研究结果一致<sup>[12]</sup>,说明高氮素水平对花生生物固氮有抑制作用。根系分隔处理对花生的固氮也有影响。在225 kg/hm<sup>2</sup>的氮素水平下,根系分隔和不分隔处理固氮率分别为38.11%、40.97%,两种作物根系交错接触可以提高固氮率2.86个百分点;在

300 kg/hm<sup>2</sup>的氮素水平下,不分隔处理比分隔处理提高固氮率5.68个百分点。不分隔处理在225和300 kg/hm<sup>2</sup>氮素水平下,花生的总固氮量分别为13.74和16.39 mg/pot,比分隔处理的分别高18.76%和18.63%,说明两种作物间作后可以刺激花生的生物固氮作用,提高花生的固氮率和生物固氮量。朱忠秀等<sup>[13]</sup>的研究指出,苜蓿和老芒麦间作使其固氮效率比苜蓿单作的提高了19.5%,也证明了间作可以提高豆科作物的生物固氮量。

表2 水稻和花生体内的<sup>15</sup>N原子百分超及花生在不同处理条件下的生物固氮量(试验1)

Table 2 <sup>15</sup>N atom % excess in rice and peanut and peanut biological nitrogen fixation in different treatments (Exp. 1)

处理 Treatment	氮肥水平 N rate (kg/hm <sup>2</sup> )	花生 Peanut <sup>15</sup> N% atom excess (%)	水稻 Rice <sup>15</sup> N% atom excess (%)	固氮率 N fixation rate (%)	固氮量 Amount of N fixation (mg / pot)
塑料膜分隔 Plastic partition	0	0	0	nd	nd
225	2.25±0.41	4.16±0.30	38.11±1.17	12.47±0.62	
300	3.53±0.58	4.14±0.45	14.81±2.63	13.74±0.57	
不分隔 No partition	0	0	nd	nd	
225	2.46±0.36	3.55±0.28	40.97±1.02	14.81±1.05	
300	3.30±0.87	4.51±0.61	20.49±1.71	16.39±0.82	

注:表中数据为3次平均值; nd:未测定。Note: Data is mean of three replications; nd: not determined.

## 2.2 氮素的固定及在间作作物间的转移

利用用<sup>15</sup>N示踪稀释法和根系分隔处理的试验结果(表3)表明,间作系统中花生固定的氮可以向水稻转移。在N 225和N 300mg/hm<sup>2</sup>两种氮素水平下,分隔处理的水稻体内<sup>15</sup>N原子百分超均高于不分隔处理;氮素转移量分别为2.17%和1.44%,氮素水平低的土壤,花生向水稻的氮素转移更明显。华珞等<sup>[14]</sup>在研究白三叶草/黑麦草间作中也发现适

量氮肥(N 30mg/kg)可以促进固定氮的转移,高氮水平(N 46mg/kg)抑制氮素转移。试验结果(表3)还看出,在N 225 kg/hm<sup>2</sup>水平下,间作水稻从土壤和肥料中吸收氮素分别为24.25%、65.75%,比在单作下从土壤和肥料中吸收氮量分别减少了0.71%和9.28%;N 300g/hm<sup>2</sup>水平下,水稻不分隔处理从土壤吸氮量为68.3%,比分隔处理减少了8.16个百分点。

表3 水稻/花生间作体系中水稻的氮素来源及花生氮素转移(试验1)

Table 3 Nitrogen source of rice and nitrogen transfer from peanut in rice/peanut intercropping system (Exp.1)

施肥量 N rate (kg/hm <sup>2</sup> )	种植方式 Cultivated pattern	氮素来源 (%) N source		转移量 N transfer amount (g/pot)	
		肥料氮 From fertilizer	土壤氮 From soil	转移氮 From peanut	
225	分隔 Partition	24.96±1.14	75.03±4.62	—	—
	不分隔 No partition	24.25±1.37	65.75±2.08	2.17±0.04	14.57±1.22
300	分隔 Partition	23.81±1.55	76.19±3.01	—	—
	不分隔 No partition	31.97±2.03	68.03±5.35	1.44±0.04	8.78±1.88

## 3 讨论

### 3.1 外界条件对间作中氮素固定、转移的影响以及氮素固定与转移之间的关系

在间作系统中,两种作物相互遮荫以及作物对土壤氮素的竞争都会影响豆科作物的生物固氮。本试验结果表明,间作提高了花生的固氮效率及固氮量(表2、表3),其原因是在两种作物间作的生长前期,旱作水稻植株体还比较小,后期水稻株型比较直立,对光照的截获量少,可以满足花生光合的需求,因此不影响花生固氮;而且间作作物对土壤氮素的竞争,尤其在土壤氮素水平高的情况下由于水稻吸收较多的土壤氮素,降低了高氮水平对固氮酶活性的抑制,或间作改变了花生根系微生态都可能刺激花生的生物固氮,如左元梅等<sup>[16]</sup>研究发现,玉米/花生间作改善了花生的铁营养,所以对刺激花生的固氮应有促进作用。

对间作中氮素转移的机制与途径,国内外的研究归纳起来主要有三条途径:第一是豆科作物根系分泌的NH<sub>4</sub><sup>+</sup>、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>、氨基酸等被禾本科作物直接利用<sup>[9]</sup>;第二是豆科作物地下部的根系脱落物、细小根系和根瘤,死亡后被矿化后为非豆科作物所吸收<sup>[6,9]</sup>;第三是通过VA菌根的菌丝桥<sup>[10]</sup>,在豆科与禾本科作物浓度势差作用力下,氮素直接扩散到禾本科作物体内。大量的研究认为,第二条途径是最主要的<sup>[6]</sup>。Jones<sup>[10]</sup>的根系降解试验发现,在田间条

件下豆科根系的氮素含量、死亡率、降解率都是数量很大。Markus Dubach 和 Russelle<sup>[6]</sup>发现,在12cm土层苜蓿和三轴草细小根系的64%和34%在生长早期分解,直径小于0.5mm的根系死亡时的含氮量高于生活期间的,因此得出氮素转移主要通过细小根系当季死亡。Johansen 等<sup>[14]</sup>采用分根法分别在豌豆和大麦上标记<sup>15</sup>N发现,VA菌根对氮素转移的作用不明显,但割去豌豆的地上部分,则在接种VA菌根和不接种的氮素转移量都有增加,分别为15%和4%,说明当间作系统的一种根系在降解时对N的转移有重要作用。Hamel 和 Smith<sup>[10]</sup>用<sup>15</sup>N同位素稀释法研究了在不同环境条件下,苜蓿和梯牧草间作的氮素转移与固定,当土壤进行无菌处理,从而减少土壤中根系的腐烂分解,则氮素转移量很小,表明根系分泌物和豆科根系分解是间作系统有效的氮源。本试验的结果表明,在花生/水稻间作中发生的氮素转移,转移量约为花生BNF的2%~3.5%,而且在土壤氮素增加时会降低氮素的转移。

### 3.2 叶片富积标记和同位素稀释法的分析比较

对豆科作物的生物固氮及氮素转移的测定,普遍使用的是<sup>15</sup>N同位素示踪技术。其主要有<sup>15</sup>N<sub>2</sub>直接法,通常在比较试验时作为一种标准方法,这种方法比较精确,也是经典方法,但操作困难,对试验条件的控制要求非常高;叶片或根系<sup>15</sup>N标记法,即叶片直接饲喂<sup>15</sup>N或采用分根技术给一部分根系喂养<sup>15</sup>N,测定与之间作的禾本科作物体内转移量,方法

操作简单,但要严格控制标记的<sup>15</sup>N,防止污染,同时叶片饲喂<sup>15</sup>N量很难达到完全定量,和<sup>15</sup>N同位素稀释法相比,该方法操作方便且重复结果较好,其精度随所用<sup>15</sup>N丰度提高而显著提高,它不但可以测定氮素转移量也可估测氮素固定量,目前被广泛用于间作系统中豆科作物的生物固氮和向非豆科作物转移氮素的研究。

本试验采用两种方法对氮素转移的测定结果是一致的,每种方法都表明氮素发生了转移,而且氮素转移量也比较相近。叶片标记是直接方法,而同位素稀释法(ID法)是间接方法。对于叶片标记法,应在整个标记过程中严格控制条件,避免可能造成的<sup>15</sup>N对土壤和水稻叶片的污染,污染的结果会造成过高估计氮素转移量。在标记后一段时间应有防雨防风设施和土壤覆盖,防止降雨或露水把叶片表面的<sup>15</sup>N带到土壤或邻近作物上,造成同位素污染而影响到实验结果。稀释法相对要求不高,容易操作。陈明等<sup>[17]</sup>比较了<sup>15</sup>N-植物材料处理和<sup>15</sup>N-硫铵处理两种材料测定BNF,指出用<sup>15</sup>N-植物材料处理的变异系数小,测定精度高于<sup>15</sup>N-硫铵处理。Ta等<sup>[5]</sup>用4种不同的方法测定苜蓿植株氮向梯牧草的转移,结果表明用稀释法和富积法的结果很接近。值得注意的是两种方法所用的<sup>15</sup>N材料的数量和丰度,应满足经土壤和植物稀释后水稻和花生体内的<sup>15</sup>N含量仍能被检测出来。过低检测会增大结果的误差,过大则可能抑制豆科植物的生物固氮。由于叶片标记受肥料溶液浓度要求的局限(肥料浓度一般小于4%),所以叶片富积标记对肥料<sup>15</sup>N的丰度要求高于土壤稀释法,一般ID法<sup>15</sup>N丰度不宜低于5.0%,叶片富积标记丰度应在10.0%以上为好,而且从叶面营养的吸收特性看,<sup>15</sup>N肥料的形态以尿素为好。

## 参考文献:

- [1] Eaglesham A R E, Ayanaba A, Ranga R V, Eskew D L. Improving nitrogen nutrition of maize by intercropping with cowpea[J]. Soil Biol. Biochem., 1981, 13: 169-181.
- [2] Giller K E, Ormesher J and Awah F M. Nitrogen transfer from *Phaseolus* bean to intercropped maize measured using <sup>15</sup>N-enrichment and <sup>15</sup>N-isotope dilution methods[J]. Soil Biol. Biochem., 1991, 23: 339-346.
- [3] Peoples M B, Gault R R, Lean B, Sykes J D and Brockwell J. Nitrogen fixation by soybean in commercial irrigated crop of central and southern new south wales[J]. Soil Biol. Biochem., 1995, 27: 553-561.
- [4] Stern W R. Nitrogen fixation and transfer in intercrop systems[J]. Field Crop Research, 1993, 34: 335-356.
- [5] Ta T C, Faris M A and Macdowall F D H. Evaluation of <sup>15</sup>N methods to measure nitrogen transfer from alfalfa to companion timothy[J]. Plant and Soil, 1989, 114: 243-247.
- [6] Markus D and Michael P R. Forage legume roots and nodules and their role in nitrogen transfer[J]. Agron. J., 1994, 86: 259-266.
- [7] Jensen E S. Barley uptake of N deposited in the rhizosphere of associated field pea[J]. Soil Biol. Biochem., 1996, 28: 159-168.
- [8] Van Kessel C, Singleton P W and Hoben H J. Enhanced N-transfer from a soybean to maize by *vesicular arbuscular mycorrhizal* fungi [J]. Plant Physiol., 1985, 79: 562-563.
- [9] Sawatsk N and Soper R J. A quantitative measurement of the nitrogen loss from the root system of field peas (*pisum avene* L.) grown in the soil[J]. Soil Biol. Biochem., 1991, 23: 255-259.
- [10] Hamel C and Smith D L. Interspecific N-transfer and plant development in a mycorrhizal field-grown mixture[J]. Soil Biol. Biochem., 1991, 23: 661-665.
- [11] Ofosu-Budu G K, Sumiyoshi D, Matsura H et al. Significance of soil N on dry matter production and N balance in soybean/sorghum mixed cropping system[J]. Soil Sci. and Plant Nutr., 1993, 39: 33-42.
- [12] 华珞, 韦东普, 白玲玉, 等. 氮锌硒肥配合施用对白三叶草的固氮作用与氮素转移的影响[J]. 生态学报, 2001, 21(4): 588-592.
- [13] 朱忠秀, 杨忠志. 紫花苜蓿与老芒麦混播优势的研究[J]. 中国农业科学, 1992, 25(6): 63-68.
- [14] Johansen A and Jensen E S. Transfer of N and P from intact or decomposition roots of pea to barley interconnected by an *Arbuscular Mycorrhizal* fungus[J]. Soil Biol. Biochem., 1996, 28: 73-81.
- [15] Danso S K A, Zapata F, Hardarson G and Fried M. N fixation in faba beans as affected by plant population density in sole or intercropped systems with barley[J]. Soil Biol. Biochem., 1987, 19: 411-415.
- [16] Zuo Y, Zhang F, Li X et al. Studies on the improvement in iron nutrition of peanut by intercropping with maize on a calcareous soil [J]. Plant and Soil, 2000, 220: 13-25.
- [17] 陈明, 姚允寅, 张希忠. 不同形态氮素对<sup>15</sup>N同位素稀释法测定苜蓿固氮的影响[J]. 核农学通报, 1997, 18: 30-33, 40.
- [18] Fujita K, Ogata S, Matsumoto K et al. Nitrogen transfer and dry matter production in soybean and sorghum mixed cropping system at different population densities[J]. Soil Sci. Plant Nutri. 1990, 36: 233-241.