

转 *ATCIPK23* 基因烟草植株钾素营养效率研究

陈漫¹, 鲁黎明², 王龙昌¹, 郭臻¹, 李宁¹

(1. 西南大学农学与生物科技学院, 三峡库区生态环境教育部重点实验室, 南方山地农业教育部工程研究中心, 重庆 400715;

2. 四川农业大学农学院, 四川雅安 625014)

摘要: 通过考察转 *ATCIPK23* 基因烟草植株在不同钾浓度下钾及干物质积累的能力, 研究了外源基因的导入对转基因烟草植株钾吸收能力的影响。结果表明, 在低钾环境下, 转基因株系具有明显的生长优势, 烟株发育较快、根系发达、生物量较大、植株的含钾率也有明显提高, 随着供钾量的减少, 这种差异幅度逐渐增大。当供钾浓度为 $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 对照品种 K326 植株的平均钾含量为 $17.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而转基因品系 KA12 为 $23.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, KA16 为 $24.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, KA21 为 $22.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 分别较对照品种增加了 31.6%、39.0% 和 27.7%。钾吸收动力学研究表明, 转基因植株与对照品种植株的最大吸收效率 (V_{\max}) 差别不大, 而最低浓度 (C_{\min}) 与米氏常数 (K_M) 的差别较为明显。

关键词: *ATCIPK23*; 烟草; 转基因; 钾营养效率

中图分类号: S572.01 文献标志码: A 文章编号: 1000-7601(2013)04-0156-05

Research on potassium use efficiency of transgenic tobacco plants carrying *ATCIPK23* gene

CHEN Man¹, LU Li-ming², WANG Long-chang¹, GUO Zhen¹, LI Ning¹

(1. College of Agronomy and Biotechnology, Southwest University / Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region, Ministry of Education / Engineering Research Center of South Upland Agriculture, Ministry of Education, Chongqing 400715, China;

2. College of Agronomy, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China)

Abstract: The experiment was conducted to study the ability of K^+ and dry matter accumulation of *ATCIPK23* transgenic tobacco lines under different K^+ concentration. The results showed that there were remarkable growth advantages for the transgenic tobacco lines, whose plant growth rate, root development, dry matter accumulation and plant potassium content were wholly improved remarkably, compared with the contrast variety. These effects tended to become stronger along with the reduction of potassium supply. When the K^+ concentration of culture medium dropped to $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$, the potassium content in the above-ground part of contrast variety K326 was $17.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, and that of the transgenic lines KA12, KA16 and KA21 was $23.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, $24.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $22.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ respectively, being increased by 31.6%, 39.0% and 27.7% respectively. The study on potassium absorption kinetics indicated that there was no significant difference in maximum absorption efficiency (V_{\max}) between the transgenic lines and the contrast variety, but there were significant differences in minimum concentration (C_{\min}) and Michaelis constant (K_M) between them.

Keywords: *ATCIPK23*; tobacco; transgenic; potassium absorption efficiency

钾是烟草生长不可缺少的重要营养元素之一, 同时钾也是保证烟叶品质形成的重要元素^[1]。钾是烟草体内 60 多种酶的活化剂, 对氮元素的吸收和蛋白质的合成具有促进作用, 加快植株的生长, 增强线粒体内的氧化磷酸化和能量代谢^[2]。钾素能提高烟株的根系活力, 加快根系对养分的吸收和运输。钾

能增加烟叶中叶绿素的含量, 维持叶绿体的片层结构, 促进光合作用从而增加植株生物量。合理的钾素营养能提高植株碳水化合物的代谢, 增加体内糖分的含量, 维持细胞渗透势, 加强烟株的抗性^[3]。钾素对气孔的开放也具有调节作用, 减少因蒸腾而导致的水分流失, 增强烟株的抗旱能力。钾可以加快

收稿日期: 2012-12-15

基金项目: 国家自然科学基金项目(31271673); 国家自然科学基金项目(30871474); 重庆市科技攻关项目(CSTC, 2008AB1001)

作者简介: 陈漫(1986—), 女, 重庆长寿人, 硕士研究生, 主要研究方向为生态农业与可持续发展。E-mail: chenmanlp@163.com。

通讯作者: 王龙昌(1964—), 男, 陕西周至人, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为生态农业与可持续发展。E-mail: wanglc2003@163.com。

com。

机械组织的形成,从而使茎秆更为坚韧,抗倒伏能力提高^[4]。同时,钾素可促进烟叶中芳香类物质合成与积累,增强烟叶的香气量和香气质,填充能力和阴燃持火力也得到增强^[5-6],烟叶的热分解产物的种类和数量显著改变,减少有害物质,从而提高安全性。各种研究表明,钾含量较高的烟叶中尼古丁和总生物碱的含量均有所下降^[7]。

优质烤烟烟叶的含钾量要求大于 $25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[8],而目前我国烟叶的平均含钾量只有 $10 \sim 20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[9],含钾量不足是制约我国烟叶品质发展的重要因素^[10]。因此,研究烟株 K^+ 吸收利用的分子机制,通过基因工程与常规育种手段相结合,提高植株对钾肥的利用效率,是解决我国当前钾肥供应严重不足的重要手段,是实现烟农增产、增收的有效途径。

本试验通过考察转 *ATCIPK23* 基因烟草植株在不同钾浓度下钾积累的能力,研究外源基因的导入对转基因烟草植株钾吸收能力的影响,从而为钾高效品种选育提供理论依据与基础材料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验于 2008 年 3—11 月在四川农业大学农学院烟草研究实验室内进行。供试材料选用转入 *ATCIPK23* 基因的 K326 的 3 个烟草品系 KA12、KA16、KA21(由中国农业大学植物生理学与生物化学国家重点实验室提供),对照品种为常规种植品种 K326。

1.2 试验方法

将烟草种子播种于营养土中,放在光照培养箱中进行培养。培养温度 25°C ,光照强度 $70 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,时间周期为光照 16 h,黑暗处理 8 h。当烟草幼苗生长出 6~7 片真叶时,选取部分生长较为一致的植株进行沙培,每个参试品种同时选取 6 株生长整齐一致的植株,种入小桶中,用全 Hoagland 营养液进行培养。培养一个月后测定植株根系对 K^+ 吸收的动力学参数。

沙培开始时,用 Hoagland (C0) 营养液(K^+ 浓度为 $7.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)对所有参试的烟草植株进行培养,待有新根长出时,即进行处理。在处理组中,分别用含 $1.00 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (C1)、 $0.03 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (C2)、 $0.01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ (C3) 钾的 Hoagland 营养液, C1、C2、C3 中的 KNO_3 及 KH_2PO_4 改为 NH_4NO_3 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,再加入相应浓度的 KCl,而其他成分与 Hoagland 营养液相同。对照组用全 Hoagland 营养液 (C0) 对各个参

试品种进行培养。开始处理后,每天浇一次营养液。试验为裂区设计,主处理为营养液,有 4 个水平;副处理为品系,有 4 个水平。共有 16 个处理,三次重复。每天观察烟草植株的生长情况,并做好记录。

1.3 测定指标与方法

鲜重测定:当处理组 (0.1 mmol) 的转基因品系出现叶片烧尖烧边等典型缺钾症状时^[2],即开始取样。先用自来水将植株根部的泥沙和叶片上的灰尘洗净,再用蒸馏水清洗 2 次,擦干后称鲜重。

干重和含钾量测定:将测定完鲜重的样品放入干燥箱内,先在 105°C 下杀青 15 min(待干燥箱内的温度升高到 105°C 后开始计时),然后用 80°C 烘干 24 h,称取各样品的干重。将测定完干重的样品分别粉碎,过筛,然后用盐酸浸提—火焰光度计测定植株含钾量。

钾吸收动力学参数测定:挑选 3 株较整齐的烟苗先在不钾的营养液中饥饿培养 24 h,再用 $0.12 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 CaSO_4 溶液浸洗 3 次,吸干水分后放入 100 ml 吸收液中,吸收液的组成为: $0.15 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ $\text{KCl} + 0.20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ CaSO_4 ,吸收液放在黑暗的三角瓶中,培养温度为 25°C ,光照强度为 $240 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,每 2 h 取样 1 次,共取 20 次。每次测定时吸取 1 ml 的吸收液,同时补充 1 ml 蒸馏水,测量样品的钾浓度。参照崔国贤等^[11]的计算方法,先计算外界溶液钾离子浓度 C ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 与耗竭时间 t (h) 的一元二次方程 $C = b_0 + b_1 t + b_2 t^2$,则最大吸收速率 V_{\max} ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW} \cdot \text{h}$) = $b_1 \times$ 测定体积 (ml) $\times 0.06$ / 根系鲜重 (g),米氏常数 K_M ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) = $b_0 + [(V_{\max})^2 - 4(b_1)^2] / 16b_2$ 。

2 结果与分析

2.1 转基因烟草在低钾培养下的植物学性状分析

在低钾处理下, K326 较早出现缺钾的症状,植株相对较为矮小、茎秆纤细,茎部节间紧凑,整体的叶片数只有 8 片,叶片半数皱缩。这是由于在钾供应不足的环境下,植株不能吸收足够的 K^+ 以满足生长发育的需求,植株的物质代谢受到抑制,使叶绿素和蛋白质不能正常合成^[12]。

转基因烟草植株发育较快,其叶片数均达到 10 片以上,茎部节间稀疏,根系较为发达,除下部叶片出现缺钾症状外,其余叶片的生长尚属正常。3 个转基因品系在低钾胁迫下的反应也有差异,其中, A21 的生长较为健壮。

在对照营养液培养的条件下, KA12、KA16、KA21 的生长发育进程与对照品种相比无显著性差

异,其展开的叶片数均达到了 10 片。但即使在正常 (见表 1)。
培养条件下,转基因材料的生长也比对照品种健壮

表 1 转基因品系烟草在不同供钾水平下的植物学性状

Table 1 The botanical characters of transgenic tobacco strains under different potassium level

供钾水平/(mmol·L ⁻¹) K ⁺ concentration	品种(系) Variety(lines)	株高/cm Plant height	茎围/mm Stem diameter	根长/mm Root length	叶片数 Number of leaves
0.10	K326	25.89 ± 0.05a	1.98 ± 0.10a	67 ± 0.12a	7.54 ± 0.43a
	KA12	31.23 ± 0.10b	2.21 ± 0.03b	135 ± 0.08b	8.21 ± 0.08b
	KA16	30.87 ± 0.12a	2.32 ± 0.06c	139 ± 0.13c	8.16 ± 0.09a
	KA21	33.45 ± 1.05d	2.43 ± 0.12a	112 ± 0.02d	8.68 ± 0.21d
0.30	K326	27.78 ± 0.09a	2.05 ± 0.03a	121 ± 0.21a	8.12 ± 0.22a
	KA12	33.54 ± 0.13a	2.42 ± 0.11d	189 ± 0.13a	8.72 ± 0.01a
	KA16	33.41 ± 0.11b	2.38 ± 0.05c	186 ± 0.03b	8.71 ± 0.21a
	KA21	35.76 ± 0.02a	2.64 ± 0.18b	192 ± 0.14d	9.07 ± 0.34b
1.00	K326	30.76 ± 0.04c	2.31 ± 0.21a	188 ± 0.02a	8.91 ± 0.35c
	KA12	36.58 ± 0.02c	2.68 ± 0.05d	211 ± 0.24a	9.85 ± 0.44a
	KA16	35.87 ± 0.03a	2.63 ± 0.15a	214 ± 0.06b	9.82 ± 0.09b
	KA21	38.90 ± 0.12c	2.98 ± 0.09a	219 ± 0.23d	10.11 ± 0.18b
7.00	K326	35.54 ± 0.23b	2.71 ± 0.12a	218 ± 0.32c	9.33 ± 0.21c
	KA12	38.23 ± 0.56a	2.99 ± 0.25c	231 ± 0.25c	10.93 ± 0.75c
	KA16	38.12 ± 0.09a	3.03 ± 0.06a	224 ± 0.05b	10.82 ± 0.33a
	KA21	40.65 ± 0.35c	3.32 ± 0.13a	254 ± 0.32a	11.41 ± 0.24b

注:表中数据用平均值表示,同一指标的同列数值间不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Note: The data in the table are presented with the mean, while small different letters in the same columns mean significant difference at $P < 0.05$ level.

2.2 转基因烟草与对照品种生物量的比较

由图 1、图 2 可知,在对照营养液处理下,参试品种干物质的积累量无显著性差异。说明在 K⁺ 供应充足的情况下,各个材料对 K⁺ 的利用效率无显著差异。而在低钾培养条件下,不同材料的干物质积累的量差异显著。对照品种的单株平均干重仅为 5.805 g,而转基因材料 KA12、KA16、KA21 的单株平均干重分别达到了 7.629 g、8.064 g 与 7.601 g,分别比对照品种增加了 31.4%、38.9% 和 30.9%。

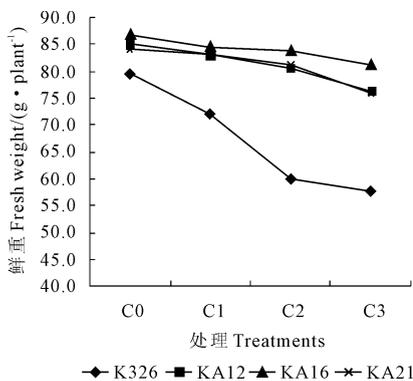


图 1 转基因品系与对照品种鲜重比较

Fig.1 Comparison of fresh weight per plant of different tobacco variety (lines)

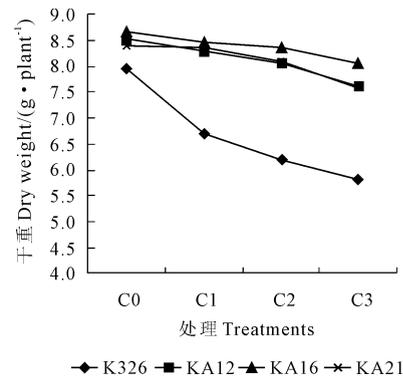


图 2 转基因品系与对照品种干重比较

Fig.2 Comparison of dry weight per plant of different tobacco variety (lines)

该结果说明在相对充分的 K⁺ 供应时,转基因材料与对照品种均能够获得足够的 K⁺ 来进行正常的生长发育,因此,各个材料的生物量无显著性差异。而在低钾培养条件下,植株所吸收的 K⁺ 并不能满足正常的生长与发育。此时,在转基因烟草的根部细胞内,可能由于 *ATCIPK23* 基因激活了 K⁺ 通道的活性,转基因植株所吸收的 K⁺ 高于对照品种,能够保证一定量的生长,所以,生物量比对照品种高。

2.3 转基因烟草与对照品种含钾量的比较

正常供钾时,由于植株根细胞内众多的 K^+ 吸收系统共同发挥作用,使得植株吸收了足够量的 K^+ 来满足自身的生长发育。而当外界 K^+ 浓度较低时,对照品种植株无法吸收足够的 K^+ 。转 *ATCIPK23* 基因的材料可能由于在细胞内表达的 *ATCIPK23* 激活了钾离子通道,增强了根部的吸钾的能力。当供钾浓度为 0.1 mmol 时, K326 植株的平均钾含量为 $17.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 而转基因品系 KA12 为 $23.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, KA16 为 $24.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, KA21 为 $22.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 分别较对照品种增加了 31.6%、39.0% 和 27.7% (见图 3)。

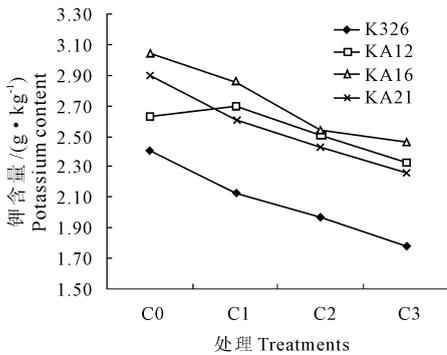


图3 转基因品系与对照品种钾含量比较

Fig.3 Comparison of plant potassium content of different tobacco variety (lines)

2.4 转基因烟草与对照品种 K^+ 吸收动力学参数的比较

从溶液耗竭 - 钾吸收曲线(图 4)可以看出,在 K^+ 吸收特性方面,转基因材料具有较为明显的优势。从 K^+ 吸收动力学参数来看(表 2),转基因植株与对照品种的最大吸收效率 (V_{\max}) 差异不显著。但最低浓度 (C_{\min}) 值与米氏常数 (K_M) 值具有显著性差异。与对照品种相比,转基因材料 KA12、KA16、KA21 的 C_{\min} 分别降低了 36.23、26.91 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 19.60 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$; 而 K_M 分别降低了 89.92、74.39 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 及 62.84 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 K_M 的大小说明了某一基因型的 K^+ 吸收系统对 K^+ 亲和能力的高低,而 C_{\min} 则反应了基因型耐低钾能力的大小。 C_{\min} 越大,基因型耐低钾的能力越差; C_{\min} 越小,则表示基因型耐低钾的能力越强。在本试验中,转基因材料的 K_M 与 C_{\min} 均比野生型显著降低,由此说明, *ATCIPK23* 在烟草中的过表达有利于提高植株对 K^+ 的亲合力,以及耐受更低浓度的钾胁迫。

表 2 转基因品系与对照品种根系钾吸收动力学特征参数的比较 ($\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)

Table 2 Comparison of potassium absorption dynamic characteristic parameters of different tobacco variety (lines)

品种(系) Variety (lines)	V_{\max}	K_M	C_{\min}
K326	22.12	153.26	52.24
KA12	18.21	63.34	16.01
KA16	19.17	78.87	25.28
KA21	20.94	90.42	32.64

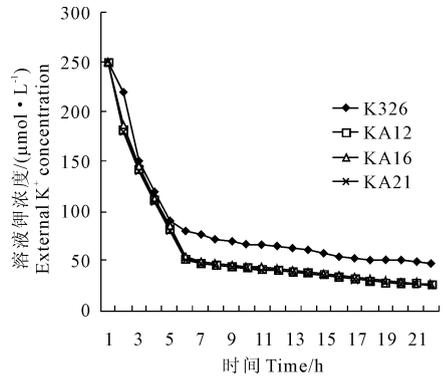


图 4 转基因品系与对照品种烟草钾的耗竭曲线

Fig.4 K^+ denletion curve of different tobacco variety (lines)

3 讨论

烟草属于嗜钾作物,当其生长过程中钾元素供应不足时会出现一系列的生理反应,包括叶面积减少、光合速率下降,烟株的生物量积累会受到严重影响^[13-14]。彭克勤等研究认为:钾素营养可显著影响根系的活力,当供钾不足时,不耐低钾的材料根系活力降低,而耐低钾材料所受影响较小,根系活力仍较强,保证了植物对水分和养分的吸收,表现出较强的抗低钾环境的特性^[12]。 *ATCIPK23* 是拟南芥中一个与 *CBL* 相互作用的蛋白激酶^[13],在低钾胁迫中可有效响应以适应外界环境的不利影响。鲁黎明研究发现,低钾胁迫下, *ATCIPK23* 被激活,激活的 *ATCIPK23* 通过磷酸化使电压依赖的 K^+ 吸收通道 AKT1 也被激活,增加 K^+ 的吸收,从而适应外界的低钾环境^[15]。李皓东等研究发现,蛋白激酶 *ATCIPK23* 与 K^+ 通道 AKT1 处在同一条信号通道中, *ATCIPK23* 磷酸化的同时可激活 AKT1,从而增强植物对 K^+ 的吸收和利用能力^[16]。低钾环境下, *ATCIPK23* 可激活植物对 K^+ 的吸收,加快高亲和性 K^+ 转运体的表达,实现植株对 K^+ 饥饿胁迫的响应。

以上分析可知,转入 *ATCIPK23* 基因的烟草,在低钾环境中生长受到的抑制程度较轻,根系较为发达、主根较长、叶片数较多。这可能是由于转入烟草

体内的 *ATCIPK23* 刺激了 K^+ 吸收系统的活性,使烟株在较低的供钾水平下仍具有较强的钾吸收能力。根吸收动力学参数实验也验证了这一推论。转基因材料 KA12、KA16、KA21 的 C_{min} 比 K326 分别降低了 36.23、26.28 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 19.60 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$; 而 K_M 分别降低了 89.92、74.39 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 62.84 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

4 结 论

以上研究表明,在供钾不足时,转 *ATCIPK23* 基因烟草比对照品种具有明显的生长优势,表现为:

- 1) 生长发育受抑制的程度较轻,主根生长较快,根系较为发达,叶面积较大。
- 2) 生物量大,在钾素供应不足时,转 *ATCIPK23* 基因烟草植株的鲜重和干重均显著高于对照品种。
- 3) 植株含钾量高,转 *ATCIPK23* 基因烟草的 3 个品系的含钾率分别比 K326 提高了 31.6%、39.0% 和 27.7%。
- 4) 根系活力强,转基因材料 KA12、KA16、KA21 的 C_{min} 分别降低了 36.23、26.28 μM 及 19.60 μM ; 而 K_M 分别降低了 89.92、74.39 μM 及 62.84 μM 。

参 考 文 献:

- [1] Capehart T, Grice V. World tobacco production trends [R]. Asheville, NC: Presented to the Tobacco Marketing Cost Study Committee, 1994:23-24.
- [2] 刘国顺. 烟草栽培学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003:1-2.
- [3] 芒森 RD [美]. 范钦楨, 郑文钦译. 农业中的钾 [M]. 北京: 科学出版社, 1995:277-360, 814-829.

- [4] Atehurst B C. Tobacco [M]. New York: Humanities Press, 1981: 387-398.
- [5] Tso, T. C. Mineral nutrition-primary element [C] // Production, Physiology and Biochemistry of Tobacco Plant. USA: Ideals, Inc, and Beltsville, 1990:279-312.
- [6] 胡国松, 赵元宽. 我国主要产烟省烤烟元素组成和化学品质评价 [J]. 中国烟草学报, 1997, 3(3):36-43.
- [7] 谈克政, 陆发熹. 南雄紫色土供钾特性及其对烟草产量和品质的研究 [J]. 华南农业大学学报, 1986, 87:28-36.
- [8] Sims J L, Casy M, Legget J E, et al. Effect of transplant water fertilization on growth and chemical composition of burley tobacco [J]. Annual Report of the College of Agriculture and the K Y Agri Exp Stn, 1981, 59-60.
- [9] 韩锦峰, 朱大恒, 刘华山, 等. 我国烤烟含钾量低的原因及解决途径 [J]. 河南农业科学, 2010, (2):32-36.
- [10] 洪丽芳, 苏帆. 烤烟钾素营养研究进展 [J]. 西南农业学报, 2001, 14(2):87-91.
- [11] 崔国贤, 李宗道. 苧麻不同基因型的吸钾能力及其与根系参数的关系 [J]. 农业现代化研究, 2000, 21(6):371-375.
- [12] 彭克勤, 彭志红, 萧浪涛, 等. 水稻耐低钾变异后代的根系生理研究 [J]. 中国农学通报, 2003, 36(1):1-7.
- [13] 李英鹏, 孙渭, 赵莉丽, 等. 钾胁迫条件下 AM 真菌对烟草生长和叶片保护酶系统的影响 [J]. 干旱地区农业研究, 2003, 21(1):51-53.
- [14] 聂红资, 杨铁钊, 杨志晓, 等. 不同供钾水平下转 *ATCIPK23* 基因烟草钾吸收特征的研究 [J]. 河南农业科学, 2009, (6):53-56.
- [15] 鲁黎明. *AtCIPK23* 在烟草中过表达的钾效率响应及 *NiHAK1* 的克隆与表达模式研究 [D]. 河南: 河南农业大学, 2007.
- [16] 李皓东. 拟南芥钾营养突变体的筛选和低价敏感基因 *LKSL* 的功能与分子调控机制研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2005.

(上接第 155 页)

旱作农田长期施氮肥, 改变土壤耗水层深度和降水入渗补给深度, 降低土壤供水能力, 限制作物对土壤水分利用, 从而提高作物对当季降水的依赖性。这将使得高产农田由于土壤供水能力而受到限制, 导致产量随降雨量产生大的波动^[16]。

参 考 文 献:

- [1] Chen Hongsong, Shao Mingan. Standards for assessing desiccation of deep soil layer on Loess Plateau [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2004, 18(3):164-166.
- [2] 杨文治, 余存祖. 黄土高原区域治理与评价 [M]. 北京: 科学出版社, 1992:241-297.
- [3] 王力, 邵明安, 王全九, 等. 黄土区土壤干化研究进展 [J]. 农业工程学报, 2004, 20(5):27-31.
- [4] 刘忠民, 山仓, 邓西平. 施肥和密度对春小麦产量根系及水分利用的影响 [J]. 水土保持研究, 1998, 5(1):71-75.
- [5] 杨文治, 邵明安. 黄土高原土壤水分研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [6] 黄明斌, 党廷辉, 李玉山. 黄土区旱塬农田生产力提高对土壤水分循环的影响 [J]. 农业工程学报, 2002, 18(6):50-54.

- [7] 陈宝群, 赵景波, 李艳花. 黄土高原土壤干层形成原因分析 [J]. 地理与地理信息科学, 2009, 5(3):85-90.
- [8] 王力, 邵明安, 侯庆春. 黄土高原土壤干层初步研究 [J]. 西北农林科技大学学报, 2001, 29(4):34-38.
- [9] 赵柄梓, 徐富安. 水肥条件对小麦、玉米 N、P、K 吸收的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2000, 6(3):260-266.
- [10] 钟良平, 邵明安, 李玉山. 农田生态系统生产力演变及驱动力 [J]. 中国农业科学, 2004, 37(4):510-515.
- [11] 杨文治, 邵明安. 黄土高原土壤水分研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [12] 李军, 蒋斌, 胡伟, 等. 黄土高原不同类型旱区旱作粮田深层土壤干化特征 [J]. 自然资源学报, 2009, 24(12):21-24.
- [13] 薛晓辉, 郝明德. 黄土旱塬区农田施肥、产量与土壤深层干化化的关系研究 [J]. 干旱地区农业研究, 2010, 28(6):75-80.
- [14] 王兵, 刘文兆, 党廷辉, 等. 长期施肥条件下旱作农田土壤水分剖面分布特征 [J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(3):411-416.
- [15] Wang Jun, Liu Wenzhao, Dang Tinghui. Responses of soil water balance and precipitation storage efficiency to increased fertilizer application in winter wheat [J]. Plant and soil, 2011, 347(1-2):41-51.
- [16] 李玉山. 旱作高产田产量波动性和土壤干化 [J]. 土壤学报, 2001, (3):353-356.