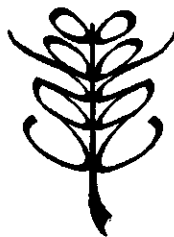


**Fotosynthese en stikstofvoorziening tijdens de periode van  
zaadvulling bij vlinderbloemigen in vergelijking met granen  
(literatuurstudie)**

W. van Dijk

**November 1988**

**CABO-Verslag 101**



**Centrum voor Agrobiologisch Onderzoek (CABO)**

Postbus 14, 6700 AA Wageningen, Nederland

200083.

## INHOUDSOPGAVE

|                                                                    | pag. |
|--------------------------------------------------------------------|------|
| Samenvatting                                                       | 1    |
| 1. Inleiding                                                       | 2    |
| 2. Verloop opname en fixatie van stikstof tijdens het groeiseizoen | 5    |
| 3. (Re)distributie van stikstof tijdens de zaadvulling             | 9    |
| 4. Oorzaken veroudering vegetatieve delen                          | 15   |
| 5. De duur van de zaadvullingsperiode                              | 19   |
| 6. Verloop fotosyntheseactiviteit tijdens de zaadvulling           | 24   |
| 7. Invloed stikstoftoediening op stikstoffixatie                   | 29   |
| Aanwijzingen voor verder onderzoek                                 | 36   |
| Literatuurlijst                                                    | 37   |

## SAMENVATTING

In dit literatuuroverzicht zal worden ingegaan op de opname en (re)distributie van stikstof en verloop van de fotosyntheseactiviteit bij vlinderbloemigen en granen tijdens de zaadvulling.

Op het moment, dat de opname en/of fixatie van stikstof afneemt tijdens de zaadvulling vindt er redistributie plaats van stikstof vanuit de vegetatieve delen naar de zaden toe. Factoren die deze processen beïnvloeden zullen worden besproken. Tevens zal worden ingegaan op de invloed van deze processen op de duur van de zaadvullingsperiode en de fysiologische activiteit van de vegetatieve delen met name de fotosynthese. Uit resultaten van verschillende experimenten blijkt, dat er sprake is van een lineaire relatie tussen het stikstofgehalte en de fotosynthesesnelheid bij lage stikstofconcentraties. Bij hogere concentraties is deze relatie minder duidelijk.

De activiteit van de stikstoffixatie wordt in het algemeen geremd door nitraat/ammonium. Mogelijke oorzaken hiervoor zullen worden besproken. Tevens is gekeken naar oorzaken voor de sterkere groei van op nitraat opgegroeide planten ten opzichte van planten afhankelijk van gefixeerde stikstof.

## SUMMARY

This review deals with the uptake and (re)distribution of nitrogen and the time course of photosynthesis of legumes and cereals during seed filling.

When, during seed filling, the uptake and/or fixation of nitrogen decreases, nitrogen is redistributed from the vegetative parts to the grains. Factors influencing these processes will be discussed. This is also done for the influence of these processes on the duration of the seed filling period and the physiological activity of the vegetative parts, especially photosynthesis. The results of several experiments indicate a linear relationship between nitrogen concentration and the rate of photosynthesis at low nitrogen concentrations. At high nitrogen concentrations this relationship is not clear anymore.

Generally the activity of nitrogen fixation is inhibited by nitrate/ammonium. Possible causes for this inhibition are discussed. Attention is also paid to the stronger growth of nitrate-fed plants in relation to plants depending on fixed nitrogen.

## 1. INLEIDING

De teelt van vlinderbloemigen, met name erwten en veldbonen, is de laatste jaren behoorlijk toegenomen. Dit was mede een gevolg van de aanzienlijke subsidies, die de verbouw van deze gewassen financieel mogelijk maakte. De zaadopbrengsten van vlinderbloemigen blijven echter in het algemeen achter ten opzichte van die van granen, hoewel erwten en veldbonen de afgelopen jaren behoorlijke opbrengsten te zien gaven in Nederland (zie tabel 1.1).

Tabel 1.1: Gemiddelde zaadopbrengsten (kg/ha) van enkele granen en vlinderbloemigen in West-Europa en de Verenigde Staten van 1984 t/m 1986 (de waarden tussen haakjes geven de hoogte van de opbrengst in Nederland aan) (Bron: FAO production yearbook 1986).

| gewas     | opbrengst (kg/ha)       |             |             |                  |      |      |
|-----------|-------------------------|-------------|-------------|------------------|------|------|
|           | West-Europa (Nederland) |             |             | Verenigde Staten |      |      |
|           | 1984                    | 1985        | 1986        | 1984             | 1985 | 1986 |
| tarwe     | 4998 (7802)             | 4580 (6649) | 4504 (8122) | 2609             | 2519 | 2312 |
| gerst     | 4266 (5638)             | 3929 (5061) | 3624 (6247) | 2870             | 2742 | 2736 |
| soja      | 2194 (-)                | 2318 (-)    | 3000 (-)    | 1893             | 2292 | 2271 |
| veldbonen | 1746 (5132)             | 1691 (4749) | 1776 (5175) | -                | -    | -    |
| erwten    | 4380 (5151)             | 4123 (3653) | 4114 (5636) | 1590             | 1748 | 2401 |

Voor de verschillen in opbrengst tussen de gewassen zijn onder andere de volgende oorzaken aan te wijzen:

- \* Er zal uiteraard sprake zijn van gewasverschillen, d.w.z. de potentiële opbrengsten van de verschillende gewassen zullen niet gelijk zijn.
- \* Er zal sprake zijn van verschillen in niveau van veredelingsintensiteit en teelttechniek. Bij de granen zijn door veredeling en verbetering van de teelttechniek de opbrengsten aanmerkelijk verbeterd. Ook bij veldbonen en erwten in Nederland is dit de laatste jaren het geval. In de Verenigde Staten waar de omvang van het areaal aan erwten veldbonen beperkt is zullen de lage opbrengsten in vergelijking met Nederland ook voor een deel een gevolg kunnen zijn van een geringere aandacht voor deze gewassen bij veredeling en teelttechniek.
- \* Er zal sprake zijn van verschil in intensiviteit van de teelt van gewassen. In een land als Nederland met een beperkt areaal landbouw-

grond per bedrijf zullen de gewassen per oppervlakte-eenheid meer moeten opbrengen voor een voldoende hoge rentabiliteit van het bedrijf dan in een land als de Verenigde Staten waar de omvang van het areaal landbouwgrond per bedrijf in het algemeen veel groter is. Uit tabel 1.1 blijkt dat de opbrengsten van veel gewassen in West-Europa en in het bijzonder Nederland hoger zijn dan in de Verenigde Staten.

- \* Een verschil in opbrengst kan ook een gevolg zijn van verschil in grondsoort en klimaatomstandigheden. Dit heeft vooral betrekking op verschillen in opbrengst tussen verschillende teeltgebieden.
- \* Een deel van de verschillen in opbrengst zal verklaard kunnen worden door verschillen in tolerantie voor slechte weersomstandigheden. In de natte zomer van 1985 was de opbrengstreductie ten opzichte van 1984 relatief gezien bij erwten groter dan bij gerst en tarwe (zie tabel 1.1), hoewel dit waarschijnlijk meer een gevolg was van oogstverliezen dan van een geringere produktie. Bij tarwe was de opbrengstreductie in 1985 ten opzichte van 1984 veel groter dan bij gerst. Dit kan ook een gevolg zijn van de weersomstandigheden tijdens de voorafgaande winter.
- \* Verschillen in opbrengst kunnen eveneens veroorzaakt worden door verschillen in chemische samenstelling van het zaad en de hieruit voortvloeiende verschillen in biomassa-produktiviteit. Dit is voor enkele gewassen weergegeven in tabel 1.2.

Tabel 1.2: Chemische samenstelling en biomassa-produktiviteit (gram zaad d.s./gram assimilaten) van zaden van enkele vlinderbloemigen en granen (Bron: Sinclair en de Wit, 1975).

| gewas  | zaadsamenstelling (% van d.s.) |       |         |    | biomassa-produktiviteit |
|--------|--------------------------------|-------|---------|----|-------------------------|
|        | koolhydraten                   | eiwit | lipiden | as |                         |
| erwten | 68                             | 27    | 2       | 3  | 0,65                    |
| soja   | 38                             | 38    | 20      | 4  | 0,50                    |
| gerst  | 80                             | 9     | 1       | 4  | 0,75                    |
| tarwe  | 82                             | 14    | 2       | 2  | 0,71                    |
| haver  | 77                             | 13    | 5       | 5  | 0,70                    |

Deze tabel laat zien, dat sojabonen naast een hoog eiwitgehalte tevens een hoog gehalte aan lipiden bezitten. Een gevolg hiervan is, dat er per eenheid geproduceerde assimilaten bij de fotosynthese minder drogestof wordt geproduceerd ten opzichte van de granen en andere vlinderbloemigen als bv. erwten. Dit is een gevolg van de hogere conversiefactoren voor eiwitten en lipiden ten opzichte van koolhydraten (Penning de Vries, 1983). Voor de produktie van respectievelijk 1 gram koolhydraten, eiwit en lipiden was respectievelijk 1,21, 2,48 en 3,03 gram glucose nodig.

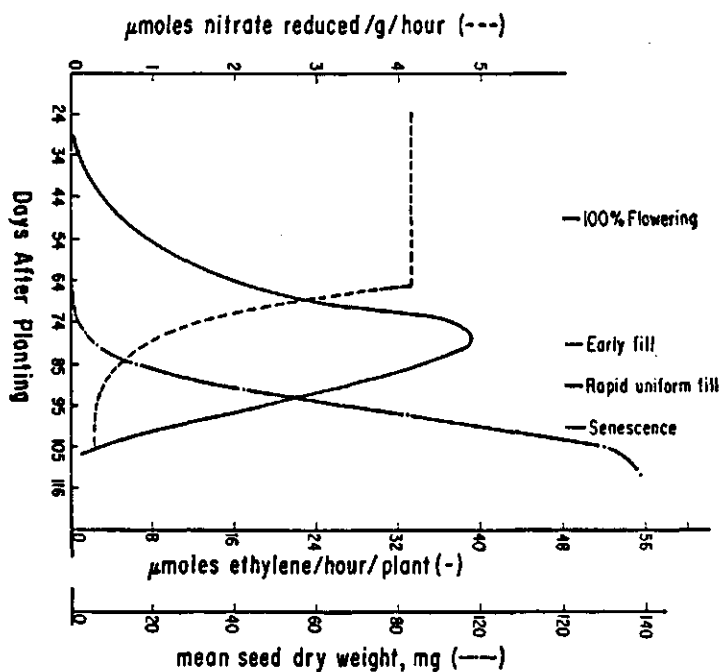
- \* Het doorgaans hogere eiwitgehalte in het zaad bij vlinderbloemigen, vooral bij soja, brachten Sinclair en de Wit (1975) ertoe te stellen, dat zaadleguminosen "self-destructive" zijn. Als gevolg van die hogere eiwitgehalten zou de vraag naar stikstof tijdens de zaadvullingsperiode hoger zijn, waardoor er sneller stikstof onttrokken zou worden aan de vegetatieve delen met als gevolg een vervroegde afsterving van de fotosynthetisch actieve delen resulterend in een kortere, voor de opbrengst ongunstige zaadvullingsperiode. Hierbij moet nog opgemerkt worden, dat de vraag naar stikstof niet alleen wordt bepaald door het eiwitgehalte in het zaad, maar tevens door de zaadopbrengst. Het negatieve verband tussen opbrengst en eiwitgehalte kwam eveneens naar voren bij zomertarwe, waarbij er sprake was van een duidelijk verband tussen eiwitgehalte en opbrengst bij verschillende rassen (Mesdag, 1979).

In dit overzicht zal vooral worden ingegaan op het laatst genoemde punt, nl. dat van de stikstofvoorziening bij zowel de vlinderbloemigen, die de mogelijkheid bezitten om in symbiose met bepaalde stammen van de Rhizobium-bacterie luchtstikstof te binden, als de granen, die deze mogelijkheid niet bezitten en dus zijn aangewezen op de opname van stikstof vanuit de bodem. De fixatie van luchtstikstof vindt alleen plaats in de wortelknollen, terwijl de nitraatreductie overal in de plant verspreid kan plaatsvinden. De nadruk zal in dit overzicht liggen op de stikstofvoorziening bij de vlinderbloemigen en in het bijzonder de zaadleguminosen. Voor een overzicht van de stikstofvoorziening bij niet-leguminosen kan worden verwezen naar Hocking et al. (1984a/b). Achtereenvolgens zullen de volgende onderwerpen worden behandeld:

- \* Verloop opname en/of fixatie van stikstof tijdens het groeiseizoen
- \* (Re)distributie van stikstof tijdens de zaadvulling
- \* Oorzaken veroudering van vegetatieve delen
- \* De duur van de zaadvullingsperiode
- \* Verloop fotosyntheseactiviteit tijdens de zaadvullingsperiode
- \* Invloed stikstoftoediening op de stikstoffixatie

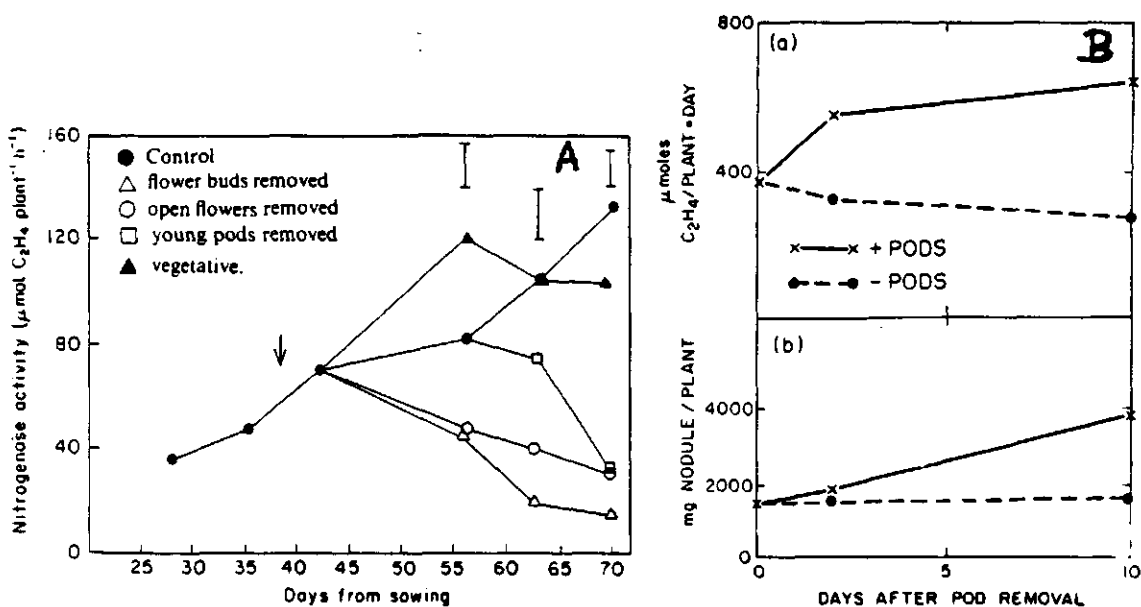
## 2. Verloop opname en/of fixatie van stikstof tijdens het groeiseizoen

De duur van de periode, waarin er actief stikstof door de wortels wordt opgenomen en/of er actief stikstof symbiotisch wordt gebonden is voor de stikstofvoorziening van de plant van groot belang. Hoe sneller deze processen ten einde lopen des te vroeger in de zaadvullingsperiode er een beroep gedaan zal moeten worden op de stikstof aanwezig in de vegetatieve delen. Samenvoeging van onderzoeksresultaten van tarwe van Barraclough en Leigh (1984), Gregory et al. (1978) en Welbank et al. (1974) leverde een positieve relatie op tussen totale lengte van het wortelstelsel en zaadopbrengst ( $r^2 = 0,75$ ). Een goed ontwikkeld wortelstelsel is dus van groot belang voor de uiteindelijke zaadopbrengst. In het algemeen is er tijdens de periode van zaadvulling sprake van een afname van de activiteit van het wortelstelsel. Deze afname heeft zowel betrekking op de opname van nutriënten door het wortelstelsel als de symbiotische stikstoffixatie in de wortelknolletjes. Bij de meeste vlinderbloemigen vindt de stikstofopname plaats door enerzijds een opname door de wortels en anderzijds door symbiotische stikstofbinding. Deze twee processen vinden echter niet gelijktijdig plaats of beter gezegd de tijdstippen van maximale activiteit van beide processen vallen niet samen (Harper en Hageman, 1972; Weil en Ohlrogge, 1972; Harper, 1974; Thibodeau en Jaworski, 1975; Dekhuijzen et al., 1981). Het verloop van beide processen in de tijd is voor soja weergegeven in figuur 2.1.



Figuur 2.1: Het verloop van de stikstofopname, stikstoffixatieactiviteit en zaadgewicht bij soja in de tijd (Bron: Thibodeau en Jaworski, 1975).

Tot aan de bloei vindt de stikstofopname vooral plaats door opname van  $\text{NO}_3^-$  en/of  $\text{NH}_4^+$  vanuit de bodem, waarna een snelle afname volgt van dit proces. Deze opname is waarschijnlijk een gevolg van het beschikbaar komen van gemineraliseerde stikstof in de bodem. Dit is mogelijk ook een oorzaak voor het op een later tijdstip op gang komen van de stikstoffixatie (figuur 2.1), welke wordt geremd door de aanwezigheid van minerale stikstof (zie hoofdstuk 7). Op het moment, dat de stikstofopname vanuit de bodem afneemt neemt de stikstoffixatieactiviteit toe. Na het stadium van begin zaadvulling neemt deze echter al snel weer af. In dit experiment is de plant tijdens de vegetatieve fase dus vooral aangewezen op opname vanuit de bodem en tijdens de generatieve fase vooral op stikstoffixatie. Dit opnamepatroon zal waarschijnlijk afhangen van de beschikbaarheid van stikstof in de bodem. In het algemeen kan gesteld worden, dat bij veel vlinderbloemigen als soja, veldbonen, erwten, witte lupine en cowpea er rondom het stadium van bloei en begin zaadvulling sprake is van maximale activiteit van stikstoffixatie, waarna een snelle afname volgt (Lawn en Brun, 1974; Cooper et al., 1976; Herridge en Pate, 1977; Bethlenfalvay en Phillips, 1977; Pate en Herridge, 1978; Minchin en Summerfield, 1978). De opname van bodemstikstof bij tarwe stopte ongeveer 3 weken na de bloei onder optimale omstandigheden (Gregory et al., 1981; Barraclough, 1986a/b). Stol et al. (1988) vonden tijdens de bloei een afname van de bodemstikstofopname gevolgd door een toename kort hierna. Peat et al. (1981) ontdekten, dat na het verwijderen van de bloemknoppen bij erwten de zojuist genoemde toename van de stikstoffixatie achterwege bleef (zie figuur 2.2A).



Figuur 2.2: Invloed van het verwijderen van de bloemen/peulen op de activiteit van de stikstoffixatie bij erwten (A) en soja (B) (Bron: Hardy et al., 1968; Peat et al., 1981).



Uit figuur 2.2A blijkt echter, dat vegetatief gehouden planten wel een hogere fixatieactiviteit vertoonden dan de controleplanten vlak na het verschijnen van de eerste bloemen. Na afloop van de bloei was de fixatieactiviteit van controleplanten hoger dan bij vegetatieve planten. Hardy et al. (1968) vonden eveneens dergelijke resultaten bij soja na het verwijderen van de peulen (zie figuur 2.2B). Dezelfde onderzoekers vonden in veldproeven met soja dat er sprake was van een sterke toename van de stikstoffixatie vlak na de bloei, hoewel dit ook een gevolg kan zijn van een uitputting van de bodemvoorraad aan stikstof, waardoor de remming van de stikstoffixatie door de bodemstikstof wordt opgeheven. Deze resultaten zijn een aanwijzing, dat er wellicht sprake is van hormonale beïnvloeding. De activiteit van de stikstoffixatie lijkt althans in de zojuist aangehaalde experimenten samen te hangen met de vraag naar stikstof analoog aan de waargenomen afhankelijkheid van de fotosyntheseactiviteit van de vraag naar assimilaten. Echter Lawn en Brun (1974), Lawrie en Wheeler (1974) en Bethlenfalvay et al. (1978) vonden een toename van de fixatieactiviteit na het verwijderen van de peulen. De resultaten van de zojuist genoemde experimenten zijn dus niet eenduidig. Wat betreft de oorzaak van de vroeger of later optredende afname van de activiteit van de stikstoffixatie is de meest voor de hand liggende die van de concurrentie om de geproduceerde assimilaten tijdens de zaadvulling. Uit onderzoek is gebleken, dat de distributie van assimilaten over de verschillende plantedelen tijdens de zaadvulling drastisch verandert (Cooper et al., 1976; Herridge en Pate, 1977; Pate en Herridge, 1978). Het grootste deel van de geproduceerde assimilaten wordt tijdens de zaadvulling naar de zaden toe getransporteerd, terwijl er bovendien sprake was van een afname van transport van assimilaten naar de ondergrondse delen toe (Lawrie en Wheeler, 1974). Waarschijnlijk vormen de snel groeiende zaden een veel sterkere sink dan het wortelstelsel inclusief de wortelknolletjes. Lawn en Brun (1974) concludeerden uit hun onderzoek bij sojabonen, dat van factoren, die de onderlinge concurrentie om assimilaten doen toenemen, verwacht mag worden, dat deze de activiteit van de symbiotische stikstofbinding zullen verminderen en dat van factoren, die de onderlinge concurrentie doen afnemen het omgekeerde verwacht mag worden. Factoren, die de hoeveelheid assimilaten bepalen, die beschikbaar zijn voor de groei van de plant en waarvan inmiddels is aangetoond, dat deze invloed hebben op de activiteit van de stikstofbinding, zijn o.a. de volgende:

- \* lichtintensiteit (Lawn en Brun, 1974)
- \* gedeeltelijke ontbladering (Lawn en Brun, 1974; Bethlenfalvay et al., 1978)
- \* plantdichtheid (Weil en Ohlrogge, 1972; Sprent en Bradford, 1977)
- \* verwijderen van peulen (Lawn en Brun, 1974; Bethlenfalvay et al., 1978)
- \* CO<sub>2</sub>-gehalte buitenlucht (Hardy en Havelka, 1975; Huang et al., 1975)

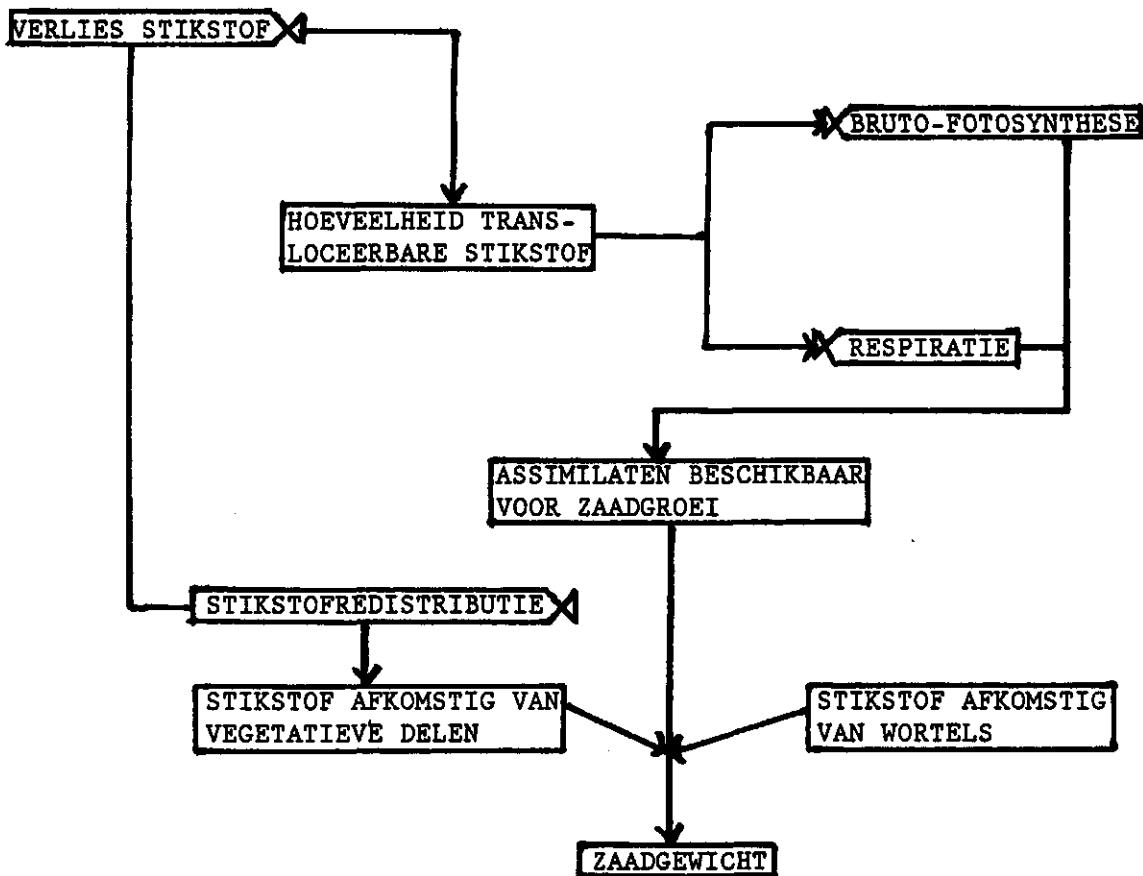
De activiteit van de stikstoffixatie werd bevorderd door een toename van de lichtintensiteit en het CO<sub>2</sub>-gehalte van de buitenlucht, een

afname van de plantdichtheid en verwijdering van de peulen, hoewel dit laatste niet altijd het geval was (zie hierboven). De activiteit werd geremd door gedeeltelijke ontbladering. Bij de verwijdering van de peulen is er niet zozeer sprake van een toename van de beschikbaarheid van assimilaten als wel van een verandering in de verdeling ervan. De afhankelijkheid van de stikstofbindingsactiviteit van de fotosynthesesnelheid werd eveneens bevestigd door Mederski en Streeter (1977) en Chetverikov en Swaraj (1985), die aantoonde, dat tijdens donkerperioden de stikstofbindingsactiviteit afnam echter tot maximaal 50 % van de activiteit in lichtperioden. De resterende 50 % zal waarschijnlijk worden bekostigd door aanwezige reserves opgebouwd in de lichtperiode. Hoewel de stikstoffixatie afhankelijk is van de fotosyntheseactiviteit is het omgekeerde natuurlijk ook het geval. Voor een voldoende hoge produktie van assimilaten is het een vereiste, dat er een voldoende hoeveelheid stikstof aanwezig is in de fotosynthetisch aktieve delen (Huang et al., 1975; Bethlenfalvay et al., 1978b). Sheehy (1983) berekende de hoogte van de fotosynthesesnelheid nodig voor groei en onderhoud van de plant tijdens de zaadvulling bij soja en concludeerde, dat de berekende waarde voor de gewasfotosynthese lager was dan gemeten waarden bekend uit de literatuur, hiermee aanduidend, dat een assimilaten tekort niet perse de oorzaak hoeft te zijn voor de afname van de stikstoffixatie. Dit wordt nog eens ondersteund door het feit, dat Ryle et al. (1978) een scherpe afname van de stikstoffixatie waarnamen op het moment van maximale fotosyntheseactiviteit. Dit zijn aanwijzingen, dat er wellicht sprake is van nog andere factoren dan de concurrentie om assimilaten, die bepalend zijn voor de waargenomen afname van de activiteit van de wortelknolletjes tijdens de zaadvulling. Hierop zal in hoofdstuk 4 worden ingegaan.

Hoewel er in het algemeen sprake is van een afname van de wortelaktiviteit (inclusief de wortelknolletjes) tijdens de zaadvulling is er wat betreft het tijdstip, waarop deze afname aanvangt, sprake van een behoorlijke variatie. Deze variatie wordt waarschijnlijk veroorzaakt door milieufactoren, waarbij de vochttoestand van de bodem een belangrijke rol speelt. Gregory et al. (1981) vergeleken de stikstofopname van tarwe na de bloei in een droog en een vochtiger jaar. In het droge jaar bleek de hoeveelheid opgenomen stikstof na de bloei veel lager te zijn dan in het vochtiger jaar. Naast de vochttoestand van de bodem hebben bodemtemperatuur en beschikbaarheid van stikstof invloed op de stikstofopname na de bloei (Jackson en Sims, 1977). Uit onderzoek bij veldbonen en soja bleek, dat een vochttekort eveneens een duidelijk remmende invloed had op de stikstoffixatie (Sprent, 1972; Sprent en Bradford, 1977/1978). Deze onderzoeksresultaten benadrukken de noodzaak van een goede vochttoestand van de bodem tijdens de zaadvulling.

### 3. (Re)distributie van stikstof tijdens de zaadvulling

Zoals reeds vermeld in de inleiding is de snelheid van de degradatie van het bladapparaat afhankelijk van enerzijds de vraag naar stikstof van de zich ontwikkelende zaden en anderzijds van de hoeveelheid stikstof, die kan worden geleverd door opname vanuit de bodem en in het geval van vlinderbloemigen een combinatie van opname vanuit de bodem en symbiotische stikstofbinding. Is de vraag naar stikstof hoger dan het aanbod dan zal er om toch aan die vraag te voldoen stikstof worden onttrokken vanuit de vegetatieve delen van de plant. Dit is zowel bij de vlinderbloemigen als de granen het geval. Schematisch is dit weergegeven in figuur 3.1. Naast redistributie van stikstof is er tevens sprake van redistributie van andere nutriënten als fosfaat en kalium en in mindere mate magnesium (Hanway en Weber, 1971b/c; Kollman et al., 1974; Derman et al., 1978).



Figuur 3.1: Schema stikstofvoorziening van de plant tijdens de periode van zaadvulling (Bron: Sinclair en de Wit, 1976).

Hieronder volgt eerst een toelichting met betrekking tot bovenstaand schema. Het verschil tussen bruto-fotosynthese -en de respiratiesnelheid geeft de omvang weer van de hoeveelheid assimilaten beschikbaar

voor de zaadvulling. Deze netto-fotosynthesesnelheid zal afhangen van het stikstofgehalte in het blad met name de hoeveelheid transloceerbare stikstof (dit is de totale hoeveelheid stikstof minus de residuele stikstof) (zie hoofdstuk 6). De hoeveelheid benodigde stikstof tijdens de zaadvulling wordt geleverd enerzijds via opname door het wortelstelsel en in het geval van vlinderbloemigen tevens via stikstoffixatie en anderzijds via redistributie van stikstof vanuit de vegetatieve delen. Als gevolg van deze redistributie zal het stikstofgehalte en hiermee samenhangend de fysiologische activiteit, met name de fotosynthesesnelheid, afnemen. De benodigde hoeveelheid stikstof tijdens de zaadvulling zal afhangen van de zaadopbrengst en van het gangbare stikstofgehalte in de zaden van een bepaald gewas. Bij granen ligt dit gehalte in het algemeen veel lager dan bij vlinderbloemigen, terwijl dit ook tussen de vlinderbloemigen onderling verschilt. In tabel 3.1 is van verschillende vlinderbloemigen en granen het percentage eiwit in het zaad weergegeven.

Tabel 3.1: Eiwitpercentages in het zaad van verschillende vlinderbloemigen en granen.

| gewas                                   | eiwitpercentage |
|-----------------------------------------|-----------------|
| sojaboon (a)                            | 38-40           |
| witte lupine (b)                        | 32              |
| veldboon (c)                            | 22-32           |
| erwt (d)                                | 25-28           |
| cowpea ( <i>Vigna unguiculata</i> ) (e) | 20              |
| tarwe (f)                               | 13-14           |
| gerst (g)                               | 9-11            |

a) Lawn en Brun, 1974; Sinclair en de Wit, 1975; Horan, 1976

b) Pate en Herridge, 1978

c) Cooper et al., 1976; Lawes, 1977; Dantuma en Klein-Hulze, 1979; Dekhuijzen en Verkerke, 1984

d) Flinn en Pate, 1968; van Beusichem en Langelaan, 1984a; van Heemst en Smid, 1988

e) Herridge en Pate, 1977

f) Sinclair en de Wit, 1975; Waters et al., 1980

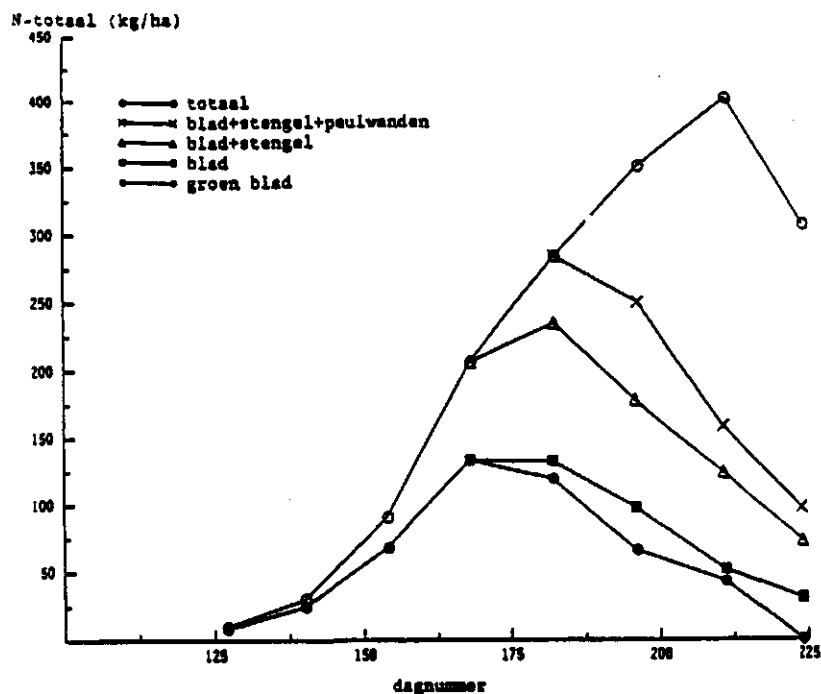
g) Sinclair en de Wit, 1975

Naast variatie in eiwitgehalte tussen gewassen blijkt er bovendien sprake te zijn van een soms behoorlijke variatie binnen een bepaald gewas. Dit laatste kan mogelijk een gevolg zijn van verschil in weersomstandigheden tijdens het groeiseizoen of een verschil in ras. Vergelijking van tabel 1.1 (zaadopbrengst) met tabel 3.1 (eiwitgehaltes) laat zien, dat bij veel verbouwde vlinderbloemigen in Nederland als erwten en veldbonen de vraag naar stikstof tijdens de zaadvulling hoger is dan bij in Nederland veel verbouwde granen als tarwe en gerst.

Tenslotte nog de volgende opmerking. Uit het bovenstaande zou afgeleid kunnen worden, dat de redistributie van stikstof alleen plaatsvindt vanuit de vegetatieve delen naar de zich ontwikkelende zaden toe. Dit is echter niet het geval. Er is tevens sprake van redistributie van stikstof vanuit de oudere vegetatieve delen naar de

jongere delen en wortels toe (Pate en Flinn, 1973; Cooper et al., 1976). Dit is vooral het geval in de periode vlak na de bloei tot begin zaadvulling. Uiteindelijk komt deze stikstof voor een groot deel wel in de zaden terecht.

Na afname van de aktiviteit van de opname van stikstof vanuit de bodem en/of symbiotische stikstofbinding is de plant afhankelijk van de hoeveelheid stikstof aanwezig in de vegetatieve delen. Dit is voor erwten weergegeven in figuur 3.2.



Figuur 3.2: Het verloop van de hoeveelheid opgenomen stikstof in de diverse plantedelen gedurende het groeiseizoen bij erwten (Bron: van Heemst en Smid, 1988).

Tot aan het begin van de zaadvulling neemt de stikstofinhoud in de vegetatieve delen toe. Het tijdstip waarop de stikstofinhoud niet meer toeneemt is niet gelijk voor de diverse plantedelen. Voor de bladeren valt dit tijdstip vroeger dan voor de stengels en de peulen. Tijdens de zaadvulling is er duidelijk sprake van een afname van de stikstofinhoud van de diverse plantedelen. Voor een belangrijk deel zal dit een gevolg zijn van redistributie van stikstof naar de zaden toe. Echter bij de bladeren moet ook rekening gehouden worden met verliezen in afgevallen blad. Deze stikstof is niet meer beschikbaar voor de plant en kan dus een overschatting van de hoeveelheid geredistribueerde stikstof tot gevolg hebben. De afname van de totale stikstofinhoud van de plant tussen dag 212 en 225 (figuur 3.2) kan een aanwijzing zijn voor de omvang van de voor de plant verloren gegane hoeveelheden stikstof.

Vergelijking van de hoeveelheid stikstof aanwezig in de rijpe zaden afkomstig van andere plantedelen ten opzichte van de totale hoeveelheid stikstof in de zaden bij verschillende vlinderbloemigen (Hanway en Weber, 1971c; Cooper et al., 1976; Eaglesham et al., 1977;

Sprent en Bradford, 1977; Dantuma en Klein-Hulze, 1979; Zeiher et al., 1982; Dekhuijzen en Verkerke, 1984; van Heemst en Smid, 1988) en granen (Austin et al., 1977; Spiertz en Ellen, 1978; Spiertz en v/d Haar, 1978; Gregory et al., 1981; Mae en Ohira, 1981) laat zien, dat het niet eenvoudig is verschillen waar te nemen. Het percentage geredistribueerde stikstof in de totale hoeveelheid stikstof in de zaden varieerde zowel bij de granen als de vlinderbloemigen tussen ca. 25 en 75 %. Het aandeel geredistribueerde stikstof werd bovendien sterk beïnvloed door ras en groeiomstandigheden tijdens de fase van zaadvulling (Austin et al., 1977; Gregory et al., 1981; Weaver en Morris, 1982; Zeiher et al., 1982). Deze factoren lijken van meer bepalende invloed te zijn dan eventueel aanwezige gewasverschillen (Dekhuijzen en Verkerke, 1984).

Primaire bronnen van de geredistribueerde stikstof zijn in het algemeen de bladeren gevolgd door peulwanden (in het geval van vlinderbloemigen) en stengels. Relatief weinig redistributie vindt plaats vanuit de wortels en de wortelknolletjes (Hanway en Weber, 1971b; Cooper et al., 1976; Dantuma en Klein-Hulze, 1979; Honjyo et al., 1979). In het algemeen kan gesteld worden, dat omstandigheden, die de duur van de periode van actieve opname en/of fixatie van stikstof bevorderen een lager aandeel geredistribueerde stikstof in de zaden tot gevolg hebben (Sinclair en de Wit, 1976; Gregory et al., 1981). Factoren, die van invloed zijn op de hoeveelheid opgenomen en/of gefixeerde stikstof zijn onder andere waardplant-bacterie-combinatie en milieuomstandigheden. Wat betreft de waardplant-bacterie-combinatie kan gesteld worden, dat veldbonen en erwten meer stikstof fixeren tijdens het groeiseizoen dan soja (Sprent en Bradford, 1977, Smid en v. Heemst, 1988). Wat betreft de milieuomstandigheden is vooral de vochttoestand van het wortelmedium van belang. De activiteit van de stikstofopname en/of fixatie lijkt in het algemeen te worden geremd door droogte (Sprent en Bradford, 1978/1977; Gregory et al., 1981). Uit onderzoek van Grashoff et al. (1987) bij veldbonen bleek, dat deze erg gevoelig waren voor droogte tijdens de zaadvulling, wat mogelijk een gevolg is van een verminderde fixatie, waardoor er sneller een stikstoftekort ontstaat. Dantuma en Klein-Hulze (1979) namen een halvering van de opbrengst waar bij veldbonen in een droog jaar ten opzichte van een jaar met normale neerslaghoeveelheden. De waargenomen opbrengstreductie kan mogelijk ook voor een deel een gevolg zijn van een verminderde fotosyntheseactiviteit als gevolg van het sneller sluiten van de huidmondjes onder droge omstandigheden. Tenslotte nog de volgende opmerking. Het is mogelijk, dat de waargenomen verschillen in hoeveelheden gefixeerde stikstof per groeiseizoen tussen veldbonen en erwten enerzijds en soja anderzijds een gevolg zijn van een verschil in vochttoestand van de bodem. Soja wordt in warmere streken verbouwd, waardoor er mogelijk sneller sprake is van drogere omstandigheden. Deze resultaten benadrukken het belang van een goede vochttoestand van de bodem tijdens de zaadvullingsperiode. Een goede vochttoestand in combinatie met hogere temperaturen kan echter indirect ook de stikstoffixatie remmen door een toename van de stikstofmineralisatie in de bodem (Dekhuijzen et al., 1981).

Zeiher et al. (1982) vonden een positief significant verband tussen het aandeel van stikstof in de zaden afkomstig van redistributie en de

verhouding tussen totale hoeveelheid stikstof in de vegetatieve delen en de totale hoeveelheid stikstof in de zaden bij de afrijping. Dit houdt in, dat het aandeel van geredistribueerde stikstof in de zaden eveneens positief gerelateerd lijkt te zijn aan de omvang van de "stikstof-pool", die potentiëel beschikbaar is voor redistributie. Dit komt overeen met bevindingen van Dantuma en Klein-Hulze (1979), die bij veldbonen concludeerden, dat voor het behalen van goede opbrengsten het noodzakelijk is, dat een gewas grote hoeveelheden drogestof en stikstof accumuleert in de periode tot aan het stadium van snelle zaadgroei. In tegenstelling tot datgene wat Sinclair en de Wit (1976) stelden, nl. dat door een toename van de stikstofvoorziening hetzij door een verhoogde opname en/of fixatie of door een sterkere vegetatieve groei (grotere omvang "stikstofpool") de stikstofinhoud minder snel beperkend zal zijn voor de produktie van assimilaten en zodoende de zaadvullingsperiode verlengd zou kunnen worden, was er bij het onderzoek van Zeiher et al. (1982) geen sprake van een duidelijke relatie tussen de hoeveelheid stikstof aanwezig in de vegetatieve delen en de duur van de zaadvullingsperiode. Het is mogelijk, dat de plant zich aanpast aan de omstandigheden, dat wil zeggen, dat bij een kleinere hoeveelheid stikstof in de vegetatieve delen er minder snel stikstof onttrokken wordt, opdat de fysiologische activiteit niet te snel afneemt. Het is mogelijk, dat er sprake is van een verschil in mobilisatiesnelheid tussen verschillende fracties stikstof met name opslag versus actieve stikstof. Bij gerst (Groot en v. Dijk, 1987) nam het stikstofgehalte in bladeren met hogere gehalten sneller af dan in bladeren met lagere gehalten. Een mogelijke verklaring hiervoor is, dat de hoeveelheid stikstof beschikbaar voor translocatie in bladeren met hogere stikstofgehalten hoger is. Ervan uitgaande, dat de tijdsconstante voor de afbraak van eiwitten constant is (ca. 10 dagen) (Pennning de Vries, 1975) betekent dit dus een snellere afname van het stikstofgehalte bij hogere gehalten. Tenslotte kan nog opgemerkt worden, dat de duur van de zaadvullingsperiode waarschijnlijk in sterkere mate wordt bepaald door de temperatuur (hierover meer in hoofdstuk 5).

Zoals reeds vermeld in de inleiding bracht het gegeven, dat de vraag naar stikstof tijdens de zaadvulling bij de vlinderbloemigen zo hoog is, Sinclair en de Wit (1975/1976) ertoe te stellen, dat zaadleguminosen in het algemeen en de sojaboon in het bijzonder "self-destructive" zijn. Door de grote hoeveelheid benodigde stikstof, nodig tijdens de zaadvulling zal er een sterke wissel getrokken worden op de stikstof in de vegetatieve delen, met als gevolg een snellere degradatie van het bladapparaat, resulterend in een kortere zaadvullingsperiode. Aan de hand van het in figuur 1.1 weergegeven schema hebben Sinclair en de Wit (1976) een model ontwikkeld dat de gevolgen van de stikstofredistributie beschrijft bij soja. Aan de hand van dit model hebben de onderzoekers de volgende conclusies getrokken:

- \* Van doorslaggevend belang voor de opbrengst lijkt de duur van de zaadvullingsperiode te zijn.
- \* De duur van de zaadvullingsperiode, die wordt bepaald door de duur van het fysiologisch actief blijven van de bladeren, is langer naarmate er meer stikstof geleverd wordt door assimilatie en/of

fixatie in de wortels of naarmate de stikstofinhoud van de vegetatieve delen groter is.

- \* Een verhoging van de fotosynthesecapaciteit zonder een gelijktijdige toename van de stikstofvoorziening resulteert in een kortere zaadvullingsperiode als gevolg van een snellere stikstofonttrekking vanuit de bladeren.

Uit deze conclusies blijkt duidelijk het belang van het zo lang mogelijk fysiologisch actief blijven van de bladeren. Dit geldt natuurlijk evenzeer voor de granen. Bij het zojuist genoemde model van Sinclair en de Wit (1976) zijn de volgende kanttekeningen te plaatsen. De auteurs gaan er vanuit, dat de stikstofaccumulatiesnelheid evenredig is met de zaadgroeisnelheid, dus dat het stikstofgehalte in de zaden constant blijft tijdens de zaadvulling. Dit hoeft echter niet altijd het geval te zijn (Hanway en Weber, 1971b; Dantuma en Klein-Hulze, 1979). Het is natuurlijk ook mogelijk, dat de plant relatief gezien minder stikstof naar de zaden toe transporteert om een snelle afsterving van het bladapparaat te voorkomen met als gevolg een lager stikstofgehalte in de zaden. Een tweede kanttekening, die bij dit model geplaatst kan worden is, dat de invloed van temperatuur op de duur van de zaadvullingsperiode hierin niet verwerkt is (zie hoofdstuk 5).

Tenslotte nog de volgende opmerking. Het "self-destructive" karakter is niet specifiek een eigenschap van vlinderbloemigen, maar heeft in het algemeen betrekking op zaadgewassen. Sinclair en de Wit (1975/76) betrokken in hun "self-destructive"-hypothese vooral de vlinderbloemigen door hun hoge eiwitgehalten in het zaad. Zoals reeds eerder vermeld wordt de vraag naar stikstof tijdens de zaadvullingsperiode echter niet alleen bepaald door het eiwitgehalte maar tevens door de zaadopbrengst. Uit resultaten van verschillende experimenten kan worden afgeleid, dat de stikstofvoorziening bij verschillende vlinderbloemigen niet altijd de beperkende factor lijkt te zijn voor groei en ontwikkeling van de plant (zie hoofdstuk 5).



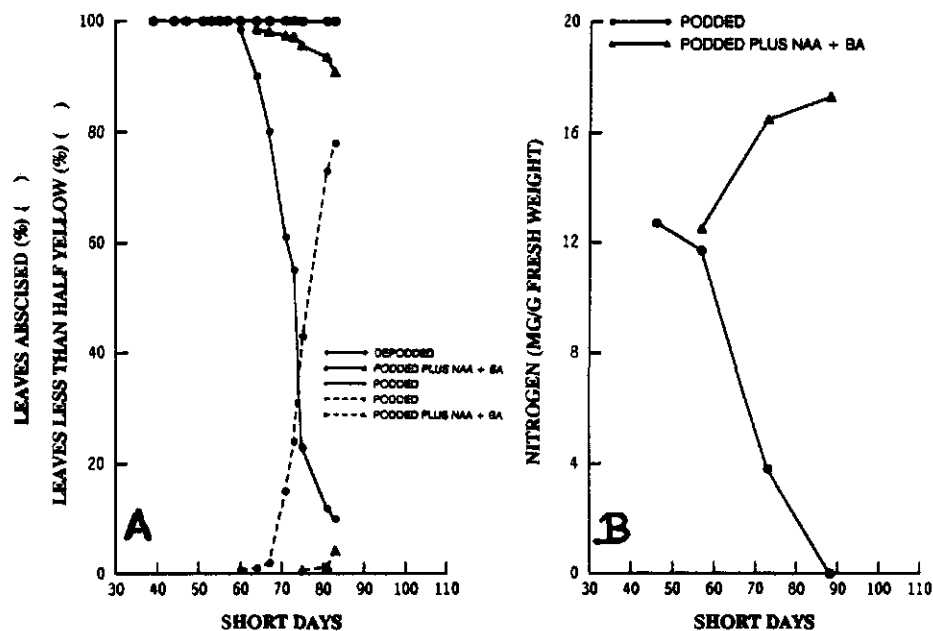
#### 4. Oorzaken veroudering vegetatieve delen

In het vorige hoofdstuk is reeds vermeld, dat naast een verminderde toevoer van assimilaten naar de wortels, wortelknolletjes en andere vegetatieve delen, nog andere factoren een rol kunnen spelen bij de veroudering van deze plantedelen. Hierna volgt een overzicht uit de literatuur met betrekking tot factoren, die mogelijk van invloed zijn op het verouderingsproces.

Indien redistributie van nutriënten verantwoordelijk zou zijn voor de veroudering van het bladapparaat dan zou het verwijderen van de peulen deze veroudering moeten verhinderen of in ieder geval moeten vertragen. Uit onderzoek is naar voren gekomen, dat na het verwijderen van de peulen er in het algemeen wel sprake is van een vertraging van het verouderingsproces, maar niet van een verhindering ervan (Leopold et al., 1959; Kollman et al., 1974; Lindoo en Nooden, 1976; Nooden et al., 1978). Er bleek bovendien een positieve relatie aanwezig te zijn tussen de omvang van de redistributie van stikstof en fosfaat en de omvang van de aanwezige sinks (peulaantal) (McAlister en Krober, 1958; Kollman et al., 1974). Lindoo en Nooden (1977) voerden met betrekking tot de veroudering diverse experimenten uit met sojaplanten, waaruit onder andere het volgende naar voren kwam. Indien de peulen werden verwijderd voor het begin van de zaadvulling trad er geen veroudering op van het bladapparaat. Werden de peulen na dit stadium verwijderd dan trad er veroudering op in dezelfde mate als bij planten, waarbij de peulen niet verwijderd waren. Opvallend is wel, dat indien de peulen werden verwijderd op verschillende tijdstippen na begin zaadvulling er geen verschil was in mate van veroudering tussen het op verschillende tijdstippen verwijderen van de peulen. Zou alleen de stikstofonttrekking verantwoordelijk zijn voor de veroudering dan zou te verwachten zijn, dat hoe eerder na het begin van de zaadvulling de peulen verwijderd worden, hoe minder snel veroudering op zal treden. Bij het op een vroeger tijdstip verwijderen van de peulen zal de vraag naar stikstof immers veel lager zijn, wat een minder snelle veroudering tot gevolg zou moeten hebben in het geval dat stikstofonttrekking verantwoordelijk zou zijn voor de veroudering. Dit was echter niet het geval. Een gelijksoortig effect werd gevonden door Leopold et al. (1959) eveneens bij sojabonen. De onderzoekers stelden, dat de onttrekking van nutriënten, met name stikstof, niet de enige oorzaak is voor de veroudering van het bladapparaat. Dit werd eveneens geconcludeerd door Lockhart en Gottschall (1961) bij erwten. Zij onderzochten bij erwten de invloed van het verwijderen van bloemen direct na hun verschijning op de veroudering van het bladapparaat en de veroudering van de apex. Het bleek, dat de groeiperiode van de stengel slechts voor een beperkte tijd werd verlengd ondanks de voldoende aanwezigheid van nutriënten in de rest van de plant. Door het voortdurend verwijderen van de bloemen was er immers geen sprake van nutriëntenonttrekking als gevolg van zaadgroei. Leopold et al. (1959) vonden, dat bij mannelijke spinazieplanten na het verschijnen van de reproductieve organen er sprake was van een snelle afsterving van de vegetatieve delen, hoewel toch niet gesteld kan worden, dat dit

een gevolg is van een onttrekking van nutriënten uit de rest van de plant door de ontwikkeling van pollen. Ook het toedienen van bladbemesting had geen effect op de veroudering (Schreyer-Lindoo en Nooden, 1975). Indien nutriëntenonttrekking vanuit de vegetatieve delen verantwoordelijk is voor de veroudering dan zou men een remmend effect verwachten van bladbemesting aangenomen, dat de toegediende nutriënten opgenomen worden door de bladeren. Er was veelal wel sprake van een opbrengstverhoging (Ramon Garcia en Hanway, 1976). De soms relatief hoge gehalten aan stikstof in dood blad (Hanway en Weber, 1971b; Dantuma en Klein-Hulze, 1979; van Heemst en Smid, 1988) pleiten ook niet voor nutriëntenonttrekking als oorzaak voor veroudering.

Waarschijnlijk speelt naast de nutriëntenonttrekking nog een andere factor een belangrijke rol bij de veroudering. Nooden et al. (1978) suggereerden de mogelijke aanwezigheid van een bepaalde substantie, analoog aan het bloeihormoon, die wordt geproduceerd in de bloemen en/of de zaden en vervolgens naar beneden wordt getransporteerd en daar veroudering induceert. Over de aard van deze mogelijk aanwezige factor is weinig bekend. Wellicht is het een onbekend hormoon of een combinatie van reeds bekende plantehormonen. Nooden et al. (1979) vonden, dat een combinatie van NAA (een auxine) en BA (een cytokinine) de veroudering remde. De resultaten van dit experiment zijn weergegeven in figuur 4.1A.



Figuur 4.1: Invloed van een behandeling met NAA en BA (50 µM) gelijktijdig toegediend op mate van bladvergeling en bladabscisie (A) en stikstofgehalte van het blad (B) na het wel ("depodded") of niet ("podded") verwijderen van de peulen bij soja (Bron: Nooden et al., 1979).

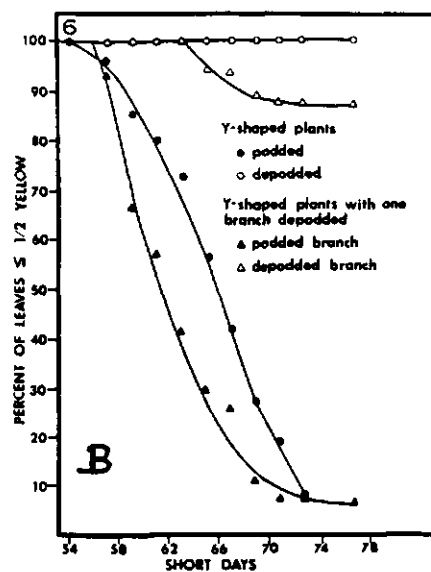
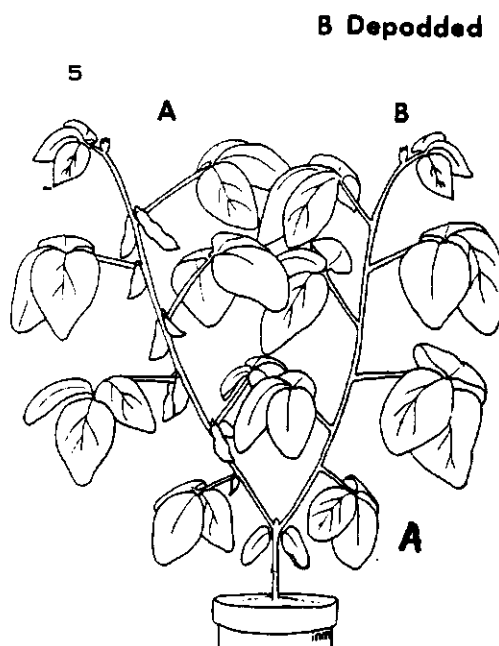
Ook was er geen sprake van een afname van het stikstofgehalte in de bladeren tijdens de zaadvulling na het toedienen van deze hormonen (figuur 4.1B) wat een indicatie is, dat een hoog niveau van

fotosynthese -en stikstofassimilatieactiviteit gehandhaafd blijft. Uit dit experiment blijkt, dat zaadvulling en veroudering onafhankelijk van elkaar kunnen plaatsvinden. Opvallend is wel, dat er geen verschil was in opbrengst tussen onbehandelde en behandelde planten ondanks het veel langer groen blijven van de fotosynthetisch aktieve delen. De afrijping werd echter niet beïnvloed aangezien de peulen al bruin verkleurd waren op het moment dat de bladeren nog groen waren. Blijkbaar is de duur van de zaadvullingsperiode in dit experiment niet direkt afhankelijk van de fotosynthetische aktiviteit van de vegetatieve delen. Hierover meer in hoofdstuk 5.

Schreyer-Lindoo en Nooden (1974) vonden, dat toediening van bepaalde plantehormonen (cytokininen) de veroudering kon uitstellen, maar niet verhinderen. Een andere theorie met betrekking tot veroudering is, dat de zich ontwikkelende reproductieve organen deze veroudering induceren door middel van een effect op de wortels (Nooden en Leopold, 1977). Deze theorie is gebaseerd op de afhankelijkheid van de bovengrondse delen van de wortels voor nutriënten en mogelijk bepaalde plantehormonen als cytokininen, waarvan bekend is, dat deze in de worteltoppen worden geproduceerd. Cytokininen remmen in het algemeen de veroudering. Tijdens de zaadvulling is er veelal sprake van een afname van de wortelactiviteit, wat mogelijk een verminderde cytokininentoevoer naar de bovengrondse delen tot gevolg heeft en dientengevolge een veroudering van het bladapparaat. Er zijn resultaten verkregen, waarbij toediening van cytokininen de veroudering bij soja remde (Schreyer-Lindoo en Nooden, 1974/1975). Uit experimenten van Lindoo en Nooden (1977) bleek echter, althans bij sojabonen, dat deze theorie niet opging. Mocht dit wel zo zijn dan zou, indien bij een van de takken van "Y-shaped plants" (figuur 4.2A) de peulen worden verwijderd dit ook tot veroudering van de tak waarvan de peulen zijn verwijderd zal moeten leiden. Dit was echter niet het geval (figuur 4.2B).

De bladeren aan de tak, waarvan de peulen niet waren verwijderd verouderden wel (zelfs sneller dan de controleplanten). Echter de bladeren aan de andere tak, waarvan de peulen wel waren verwijderd verouderden vrijwel niet. Bij dit experiment is er vanuit gegaan, dat de geproduceerde cytokininen worden verdeeld over de twee takken. Een andere theorie, waarbij de wortels betrokken zijn, is, dat de wortels bepaalde substanties, essentieel voor onderhoud van het bladapparaat, produceren, maar dat tijdens de zaadvulling deze substanties naar de zaden toe worden getransporteerd als gevolg van de sterkere sinkwerking van de zaden ten opzichte van de bladeren.

Uit de in dit hoofdstuk aangehaalde experimenten blijkt wel, dat er met betrekking tot de veroudering nog sprake is van vele onduidelijkheden. Er blijkt echter wel uit, dat men voorzichtig moet zijn de veroudering en afsterving van de vegetatieve delen enkel alleen te zien als een gevolg van onttrekking van nutriënten.



Figuur 4.2: Invloed van verwijdering van de peulen van een van de takken van "Y-shaped plants" (A) op de veroudering van de bladeren van beide takken (B) (Bron: Lindoo en Nooden, 1977).

## 5. De duur van de zaadvullingsperiode

De duur van de zaadvullingsperiode kan een belangrijke opbrengst-bepalende factor zijn (Sinclair en de Wit, 1975/1976). In dit hoofdstuk zal worden ingegaan op factoren, die bepalend zijn voor de duur van de zaadvullingsperiode.

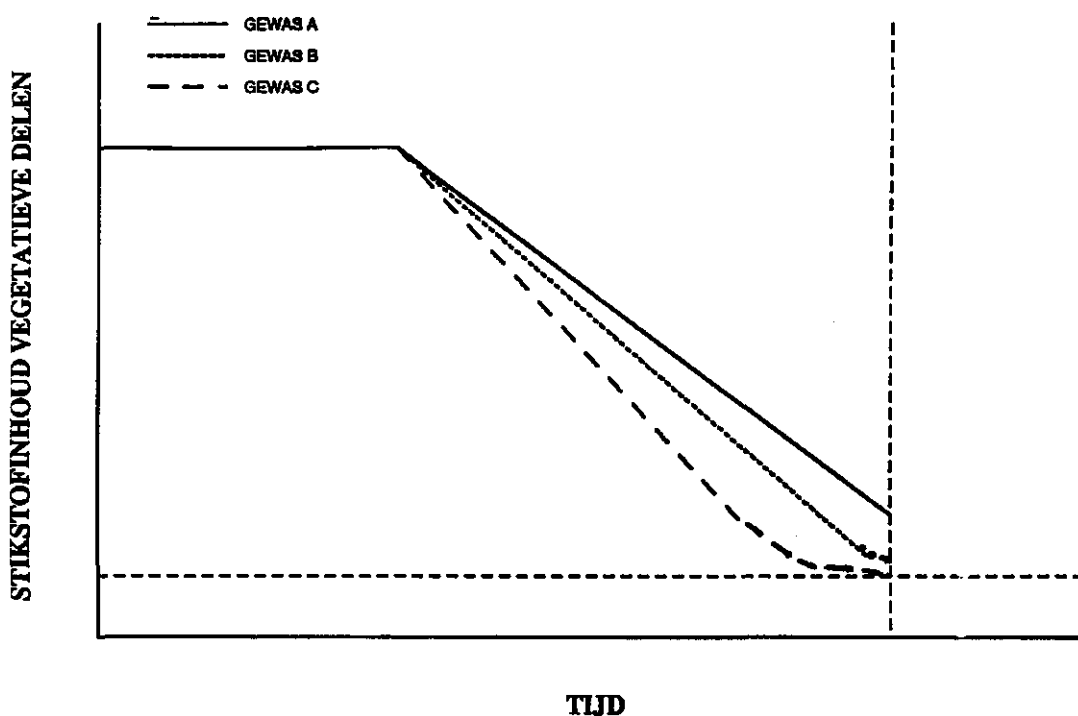
Het is vanzelfsprekend van belang, dat alle mogelijke aanwezige transloceerbare stikstof naar de zaden toe getransporteerd wordt. De stikstof, die achterblijft in de bladeren kan dan worden beschouwd als niet transloceerbare stikstof, de residuele stikstof. Deze stikstof is veelal aanwezig in celwandmateriaal. Bij vergelijking van de stikstofpercentages in dood blad bij vlinderbloemigen (Hanway en Weber, 1971b; Dantuma en Klein-Hulze, 1979; van Heemst en Smid, 1988) en granen (Spiertz en Ellen, 1978; Groot en v. Dijk, 1987) blijkt, dat dit percentage bij vlinderbloemigen in het algemeen hoger is dan bij granen. Dit kan mogelijk een gevolg zijn van een hoger residueel stikstofgehalte bij vlinderbloemigen ten opzichte van de granen. Bij het vergelijken van literatuurwaarden is er altijd de onzekerheid of inderdaad alle transloceerbare stikstof ook werkelijk naar de zaden toe is getransporteerd. Bij de granen heeft het residuele stikstofgehalte waarschijnlijk een waarde van ca. 1 % (v. Keulen en Seligman, 1987), terwijl ook bij soja dergelijke waarden zijn gevonden (Streeter, 1978). Dit laatste was echter het geval bij een sterk beperkt stikstofaanbod in het voedingsmedium bij planten, die niet de mogelijkheid bezaten om luchtstikstof te binden. Bij vlinderbloemigen opgegroeid onder normale omstandigheden bleken de stikstofgehalten in afgevallen bladeren hoger te zijn (ca. 2 %). In tabel 5.1 zijn de stikstofgehalten weergegeven in groen en dood blad op verschillende tijdstippen tijdens de zaadvullingsperiode bij erwten.

Tabel 5.1: Stikstofgehalten (gebaseerd op drogestof) van groen en dood blad bij ertwen tijdens de zaadvulling (Bron: v. Heemst en Smid, 1988).

| Tijdstip<br>(dagen na bloei) | N-gehalte (%) |           |
|------------------------------|---------------|-----------|
|                              | groen blad    | dood blad |
| 17                           | 5,75          | 2,05      |
| 32                           | 4,00          | 2,05      |
| 47                           | 4,19          | 3,39      |

Uit deze tabel blijkt, dat in afgevallen blad vlak na de bloei een stikstofpercentage van ca. 2% werd gevonden, terwijl in afgevallen blad aan het eind van de zaadvullingsperiode percentages van 3,5 à 4 % werden gevonden niet sterk afwijkend van percentages in groen blad op dat moment. Dit kan een aanwijzing zijn, dat er sprake is van een overschot aan stikstof en dat deze hoge percentages stikstof in dood blad waarschijnlijk geen gevolg zijn van een hoger residueel stikstofgehalte maar van een onvolledige redistributie van stikstof tijdens de zaadvullingsperiode. Dit is niet in overeenstemming met de hypothese van Sinclair en de Wit (1975), dat vlinderbloemigen door hun hoge stikstofbehoefte "self-destructive" zouden zijn, maar zijn een

aanwijzing, dat de duur van de zaadvullingsperiode mogelijk gebonden is aan bepaalde grenzen ongeacht de stikstofinhoud van de vegetatieve delen. Dit is schematisch weergegeven in figuur 5.1.

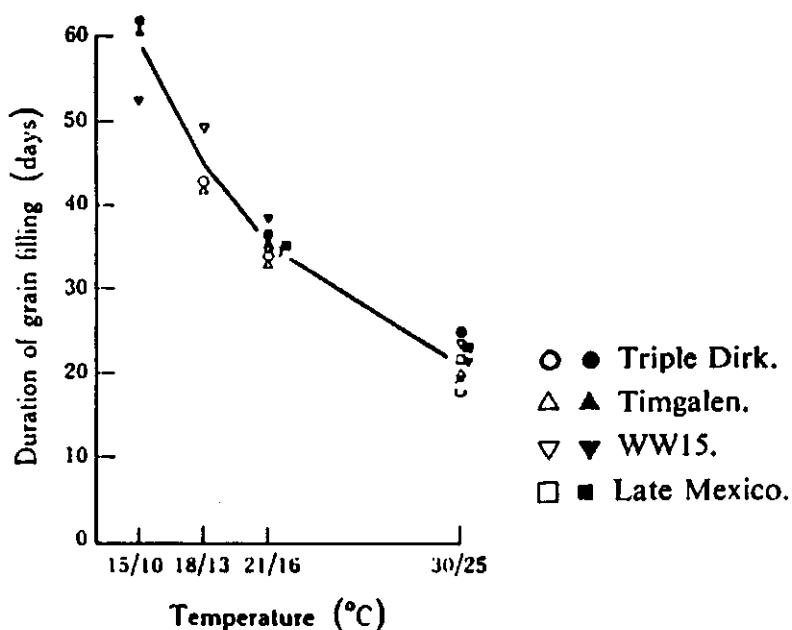


Figuur 5.1: Verloop stikstofinhoud vegetatieve delen tijdens de zaadvullingsperiode bij drie gewassen, die verschillen in hoeveelheid opgenomen en/of gefixeerde stikstof in deze periode (afnemend in de volgorde A B C). De verticale onderbroken lijn geeft het eind van de zaadvullingsperiode aan. De horizontale onderbroken lijn geeft het residuele stikstofgehalte aan.

In deze figuur is de afname van de stikstofinhoud van de vegetatieve delen weergegeven tijdens de zaadvulling bij drie denkbeeldige gewassen, die verschillen in de hoeveelheid opgenomen en/of gefixeerde stikstof in deze periode. Er is vanuit gegaan, dat de zaadvullingsperiode gebonden is aan een maximum duur (verticale onderbroken lijn). Deze is dus voor alle drie gewassen gelijk. Bij gewas A is er sprake van voldoende opname en/of fixatie van stikstof. Als gevolg van de veronderstelde aanwezigheid van een maximum duur van de zaadvullingsperiode blijft een deel van de transloceerbare stikstof in de vegetatieve delen achter. Bij gewas B wordt er minder stikstof opgenomen en/of gefixeerd tijdens de zaadvullingsperiode, zodat de stikstofvoorraad aanwezig in de vegetatieve delen sneller zal afnemen met als gevolg een lager stikstofgehalte in de vegetatieve delen aan het einde van de zaadvullingsperiode. Bij gewas C tenslotte moet er in een dermate vroeg stadium van de zaadvullingsperiode een beroep gedaan worden op de stikstofvoorraad in de vegetatieve delen, dat alle mogelijke transloceerbare stikstof reeds verdwenen is, voordat de maximumduur van de zaadvullingsperiode bereikt is. Aanwijzingen voor de mogelijke aanwezigheid van een maximumduur van de

zaadvullingsperiode werden ook gevonden door Schreyer-Lindoo (1975) en Ramon Garcia en Hanway (1976), die na het toedienen van bladbemesting geen vertraging waarnamen van de veroudering bij soja. Wel was er sprake van een toename van de opbrengst. Deze situatie is te vergelijken met die van gewas A in figuur 5.1. De opbrengstverhoging is mogelijk een gevolg van het minder snel afnemen van de stikstofinhoud van de vegetatieve delen, zodat de fotosyntheseactiviteit langer op een hoger niveau kan worden gehandhaafd.

Een belangrijke factor bepalend voor de duur van de zaadvullingsperiode is de temperatuur. Zowel bij vlinderbloemigen (Egli en Wardlaw, 1980; Hole en Scott, 1984a/b; Dekhuijzen en Verkerke, 1986) als granen (Spiertz, 1974; Sofield et al., 1977; Nicolas et al., 1984) bleek de duur van deze periode af te nemen bij hogere temperaturen. Voor verschillende tarwerassen is dit weergegeven in figuur 5.2.

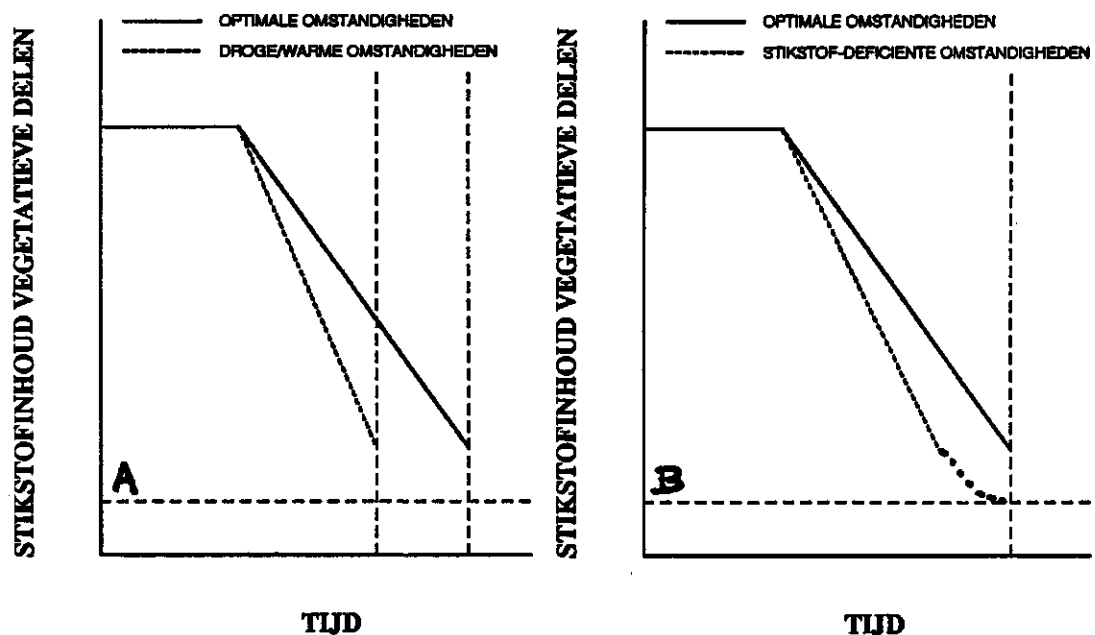


Figuur 5.2: Invloed van temperatuur op de duur van de zaadvullingsperiode bij verschillende tarwerassen (Bron: Sofield et al., 1977).

In het lagere temperatuurstrajekt is de duur van de zaadvullingsperiode gevoeliger voor de temperatuur. De zaadgroeisnelheid nam wel toe bij hogere temperaturen, maar dit bleek niet voldoende om het verlies aan drogestofproduktie door een kortere duur van de zaadvullingsperiode te compenseren (Sofield et al., 1977; Chowdhury en Wardlaw, 1978). De hoogte van de temperatuursom behaald in de zaadvullingsperiode bleek vrij constant te zijn voor de verschillende temperatuurbehandelingen, indien bij de bepaling ervan werd uitgegaan van een minimumtemperatuur van ca. 5 °C ( $T_{som} = (T - T_{min}) * \text{duur van de zaadvullingsperiode}$ ).

De fysiologische factoren, die de duur van de zaadvullingsperiode bepalen zijn niet duidelijk. Tijdens het rijpen van de zaden is er veelal sprake van een toename van de produktie van ethyleen, een

verouderingshormoon (Leshem et al., 1986). Ook is het mogelijk, dat als gevolg hiervan de activiteit van de processen, die zich afspelen in de rijpende zaden en verantwoordelijk zijn voor de verwerking van floeemprodukten, als assimilaten en stikstofverbindingen, afneemt met als gevolg een afname van het transport van deze produkten naar de zaden toe, ondanks de wellicht voldoende aanwezigheid van deze produktën in de vegetatieve delen. Ook een invloed van abscisinezuur (ABA) is gesuggereerd (Schroeder, 1984). In hoofdstuk 4 is naar voren gekomen, dat er bij de veroudering van de vegetatieve delen mogelijk sprake is van hormonale beïnvloeding. De vraag is dan of het rijpen van de zaden en de veroudering van de vegetatieve delen door het(de)zelfde hormo(o)n(en) wordt beïnvloed gesteld, dat er bij beide processen sprake is van hormonale beïnvloeding. Dantuma en Klein-Hulze (1979) vonden bij veldbonen, dat droogte tijdens de zaadvulling een kortere zaadvullingsperiode tot gevolg had. Echter de stikstofgehalten in het dode blad waren even hoog (2,5 à 3 %) als in dood blad van planten opgegroeid onder veel minder droge omstandigheden. Dit houdt in, dat de waargenomen afname van de duur van de zaadvullingsperiode waarschijnlijk niet een gevolg is geweest van een tekort aan stikstof in de bladeren, maar dat waarschijnlijk de veronderstelde maximale mogelijke duur van de zaadvullingsperiode is afgenomen. Dit is niet onwaarschijnlijk gezien de zojuist besproken temperatuursinvloed op de duur van deze periode. Dit is schematisch weergegeven in figuur 5.3A.



Figuur 5.3: Verloop stikstofinhoud vegetatieve delen tijdens de zaadvulling bij twee gewassen, die verschillen in maximaal mogelijke duur van de zaadvullingsperiode (A) en in hoeveelheid opgenomen en/of gefixeerde stikstof tijdens deze periode (B).



In de zojuist aangehaalde experimenten van Dantuma en Klein-Hulze (1979) was er tijdens de zaadvullingsperiode sprake van droogte en hiermee vaak samenhangend hoge temperaturen. De combinatie van deze factoren zal waarschijnlijk een negatieve invloed hebben op de hoeveelheid opgenomen en/of gefixeerde stikstof en mogelijk eveneens op de maximaal mogelijke duur van de zaadvullingsperiode. Nicolas et al. (1984) vonden bij tarwe, dat zowel hoge temperaturen als droogte en met name de combinatie van deze twee factoren een negatieve invloed had op de duur van de zaadvullingsperiode. Onder droge omstandigheden moet echter wel rekening gehouden worden met het feit, dat onvolledige redistributie van stikstof ook een gevolg kan zijn van een vroegtijdige verdroging van het gewas. Ook ziekteaantasting kan onvolledige redistributie van stikstof tot gevolg hebben.

Een andere situatie doet zich voor wanneer de opname en/of fixatie van stikstof wordt gereduceerd, terwijl de maximaal mogelijke duur van de zaadvullingsperiode niet verandert. Dit lijkt het geval te zijn bij het onderzoek van Streeter (1978). Hij beperkte het stikstofaanbod bij sojaplanten op voedingsoplossing op verschillende tijdstippen gedurende de zaadvulling en nam een afname van de zaadopbrengst en het stikstofgehalte in dood blad waar naarmate de stikstofonthouding vroeger plaatsvond. Dit is schematisch weergegeven in figuur 5.3B. Het verschil in stikstofinhoud van de vegetatieve delen tussen stikstofdeficiënte en voldoende bemeste planten (gearceerde gedeelte in figuur 5.3B) zal wel een verschil in fysiologische activiteit tot gevolg hebben. Dit zal waarschijnlijk de oorzaak zijn van de lagere opbrengst bij stikstofdeficiënte planten in het experiment van Streeter (1978).

Afgaande op de onderzoeksresultaten beschreven in dit hoofdstuk zou met betrekking tot de duur van de zaadvullingsperiode de volgende hypothese gesteld kunnen worden: De duur van de zaadvullingsperiode wordt voor een belangrijk deel bepaald door de temperatuur en in veel mindere mate door de stikstofvoorziening. De stikstofvoorziening kan echter wel van invloed zijn op de produktie van assimilaten tijdens de zaadvullingsperiode.

Daar soja wordt verbouwd in de warmere streken is het mogelijk, dat de duur van de zaadvullingsperiode korter is dan bij meer in de gematigde streken verbouwde vlinderbloemigen als erwten en veldbonen. Gemiddeld genomen lijkt de duur van deze periode bij soja lager uit te vallen dan bij andere vlinderbloemigen als veldbonen en erwten, en granen (Hanway en Weber, 1971a/b/c; Spiertz en v/d Haar, 1978; Dantuma en Klein-Hulze, 1979; Gregory et al., 1981; Beaver en Cooper, 1982; Zeiher et al., 1982; van Heemst en Smid, 1988). Echter een hoge betrouwbaarheid kan aan deze uitspraak niet toegeschreven worden als gevolg van de vrij behoorlijke variatie in proefuitkomsten. Bij soja was er bovendien sprake van forse rasverschillen (Zeiher et al., 1982). Een bijkomend probleem, dat zich voordoet is dat het moeilijk is om gewassen aangepast aan warmere streken te vergelijken met gewassen meer aangepast aan een gematigd klimaat.

## 6. Verloop fotosyntheseactiviteit tijdens de zaadvulling

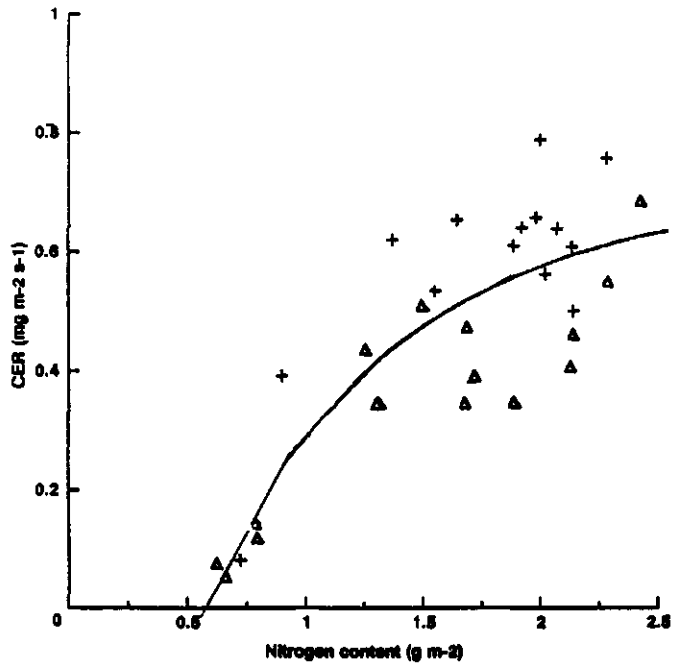
In het voorgaande is regelmatig de degradatie van het bladapparaat naar voren gekomen. In het onderstaande zal een belangrijk proces, dat tijdens de zaadvulling onderhevig is aan deze degradatie, de fotosynthese, worden beschreven. De produktie van de totale hoeveelheid benodigde assimilaten voor de zaadgroei vindt voor een belangrijk deel plaats na de bloei. Dit is zowel het geval bij granen als vlinderbloemigen (Pate en Flinn, 1973; Evans et al., 1983). Bij tarwe (Spiertz en Ellen, 1978) en erwten (van Heemst en Smid, 1988) bleek, dat ongeveer 75 % van de totale drogestof wordt geproduceerd na de bloei. De reden waarom er weinig redistributie van reeds voor de bloei gevormde assimilaten plaatsvindt moet waarschijnlijk gezocht worden in het feit, dat een groot deel van deze assimilaten reeds gebruikt is voor ademhaling en dat de assimilaten, die niet zijn gebruikt voor ademhaling gebonden zijn in materiaal, van waaruit deze moeilijk kunnen worden onttrokken tijdens de veroudering van de vegetatieve delen.

Tijdens de zaadvulling is er in het algemeen sprake van een afname van de fotosyntheseactiviteit van het bladapparaat. Veelal is er eerst sprake van een langzamere afname gevolgd door een veel snellere afname aan het eind van de zaadvullingsperiode. Dit is zowel bij granen (Thomas et al., 1978; Friedrich en Huffaker, 1980; Araus et al., 1986; Groot en v. Dijk, 1987) als bij vlinderbloemigen (Flinn en Pate, 1970; Sinclair, 1980; Lugg en Sinclair, 1981a; Wells et al., 1982) het geval. Voor de opbrengst is vooral de hoogte en de duur van de periode van maximale fotosyntheseactiviteit van belang. Dit is veelal de periode tijdens en vlak na de bloei. Hierbij is het van belang onderscheid te maken tussen de fotosynthesesnelheid van individuele bladeren en van het gehele gewas. Vergelijking van de hoogte van de maximale fotosynthesesnelheid bij lichtverzadiging van individuele bladeren van enerzijds de granen en anderzijds de vlinderbloemigen laat zien, dat deze bij de granen (gerst en tarwe) (Thomas en Thorne, 1975; Hall et al., 1978; Wittenbach, 1979; Friedrich en Huffaker, 1980; Evans, 1983; Araus et al., 1986; Groot en v. Dijk, 1987) lager lijkt uit te vallen dan bij soja (Beuerlein en Pendleton, 1971; Bowes et al., 1972; Bhagsari et al., 1977; Sinclair, 1980; Wittenbach et al., 1980; Lugg en Sinclair, 1981a/b; Wells et al., 1986) en erwten (van Heemst en Smid, 1988) (van de andere vlinderbloemigen waren met betrekking tot dit onderwerp minder eenvoudig gegevens te vinden.). Echter de variatie in de uitkomsten van de verschillende experimenten was hoog mogelijk als gevolg van o.a. de volgende factoren. Er was veelal sprake van behoorlijke rasverschillen, zoals bleek bij tarwe (Chenga Reddy et al., 1984) en soja (Lugg en Sinclair, 1981a/b). Voorts moet rekening gehouden worden met verschillen in proefomstandigheden, zoals stikstofvoorziening, vochttoestand en gewasstadium, waarin de metingen plaatsvonden. Bovendien is het ook mogelijk, dat verschillen in meetmethodiek variatie in uitkomst veroorzaken. Bepalender voor de opbrengst is echter de gewasfotosynthese (Christy en Porter, 1982). Uit de uitkomsten van verschillende experimenten blijkt, dat er geen grote verschillen

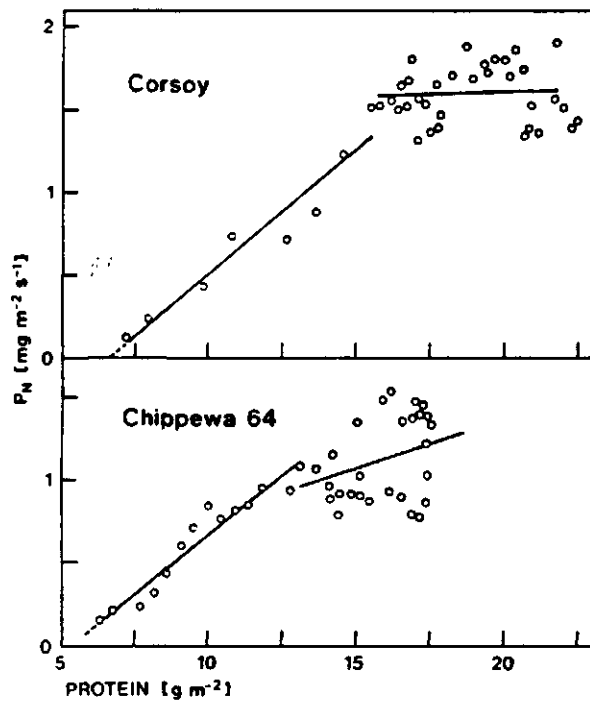
aanwezig zijn in hoogte van de gewasfotosynthese tijdens en vlak na de bloei bij gerst (Groot, 1987), tarwe (Spiertz en v/d Haar, 1978; Morgan, 1988), erwten (van Heemst en Smid, 1988) en soja (Sinclair, 1980; Harrison et al., 1981; Wells et al., 1982/1986a/b). Ook hier was er sprake van behoorlijke variatie, waarvoor veelal dezelfde oorzaken genoemd kunnen worden als voor de variatie tussen in fotosyntheseactiviteit van individuele bladeren.

De afname van de fotosynthesesnelheid van individuele bladeren tijdens de zaadvullingsperiode is waarschijnlijk een gevolg van de afname van het gehalte aan ribulose-1,5-bifosfaat-carboxylase (RuBPCase) in de bladeren. Dit is het enzym betrokken bij de CO<sub>2</sub>-fixatie. Tijdens de veroudering van de bladeren van zowel tarwe (Wittenbach, 1978/1979), gerst (Friedrich en Huffaker, 1980), rijst (Makino et al., 1983, 1984a/b, Mae et al., 1983) als soja (Wittenbach et al., 1980) was er in het algemeen sprake van een duidelijke afname van het gehalte aan RuBPCase in de bladeren. Het gehalte aan RuBPCase nam hierbij sneller af dan het gehalte aan andere aanwezige oplosbare eiwitten (Wittenbach et al., 1980; Makino et al., 1984a). Bij tarwe was er sprake van een veel nauwer verband tussen de afname van de fotosynthesesnelheid en het RuBPCase-gehalte dan bij soja (Wittenbach, 1979, Wittenbach et al., 1980). Als een mogelijke verklaring hiervoor werd door de onderzoeker genoemd de mogelijkheid, dat door zetmeelophoping in de chloroplasten bij soja de weerstand voor het CO<sub>2</sub>-transport door het mesofyl toeneemt en zodoende sneller de beperkende factor wordt voor de fotosynthese, waardoor deze eerder afneemt dan het RuBPCase-gehalte. Een andere mogelijkheid zou een verandering van de in-vivo activiteit van het RuBPCase kunnen zijn. Uit onderzoek van Hall et al. (1978) met betrekking tot de veroudering van het vlagblad van tarwe is gebleken, dat het RuBPCase-gehalte vrijwel niet afnam, maar de activiteit ervan wel. Jensen en Bahr (1977) suggereerden, dat naast het gehalte tevens de in vivo regulatie van RuBPCase een rol speelt bij de fotosynthese. Tevens moet rekening gehouden worden met verschillen veroorzaakt door een verschil in methodiek met betrekking tot de bepaling van gehalte en activiteit van het RuBPCase.

Er is in het algemeen sprake van een vrij duidelijke relatie tussen het stikstofgehalte in het blad en de fotosynthesesnelheid, zowel bij granen (Takano en Tsunoda, 1971; Yoshida en Coronel, 1976; Evans, 1983; Hunt en v/d Poorten, 1985; Groot en v. Dijk, 1987) als de vlinderbloemigen (soja) (Ojima et al., 1965; Sinclair, 1980; Lugg en Sinclair, 1981b). Dit is waarschijnlijk vooral een gevolg van het feit, dat verreweg de meeste stikstof in de bladeren ingebouwd is in eiwitten en dat de helft van de aanwezige oplosbare eiwitten bestaat uit het voor de fotosynthese zo belangrijke RuBPCase (Blenkinsop en Dale, 1974; Brown, 1978; Wittenbach et al., 1980; Wells et al., 1986b). Uit onderzoek bij gerst (Groot en v. Dijk, 1987), tarwe (Evans, 1983), rijst (Takano en Tsunoda, 1971; Yoshida en Coronel, 1976) en soja (Sinclair et al., 1980; Lugg en Sinclair, 1981b) is gebleken, dat de relatie tussen het stikstofgehalte en de fotosynthesesnelheid niet lineair is, althans niet in het gehele traject van voorkomende stikstofgehalten. Vooral bij hogere stikstofgehalten lijkt er sprake te zijn van een verzadigingstoestand, waarbij bij toenemende stikstofgehalten er vrijwel geen toename meer optreedt in fotosynthesesnelheid. Dit is voor het vlagblad van gerst en het



Figuur 6.1: Relatie tussen het stikstofgehalte en de netto-fotosynthesesnelheid bij het vlagblad van tarwe (Bron: Groot en v. Dijk, 1987).



Figuur 6.2: Relatie tussen het stikstofgehalte en de netto-fotosynthesesnelheid bij het bovenste blad bij twee sojarassen (Bron: Lugg en Sinclair, 1981).

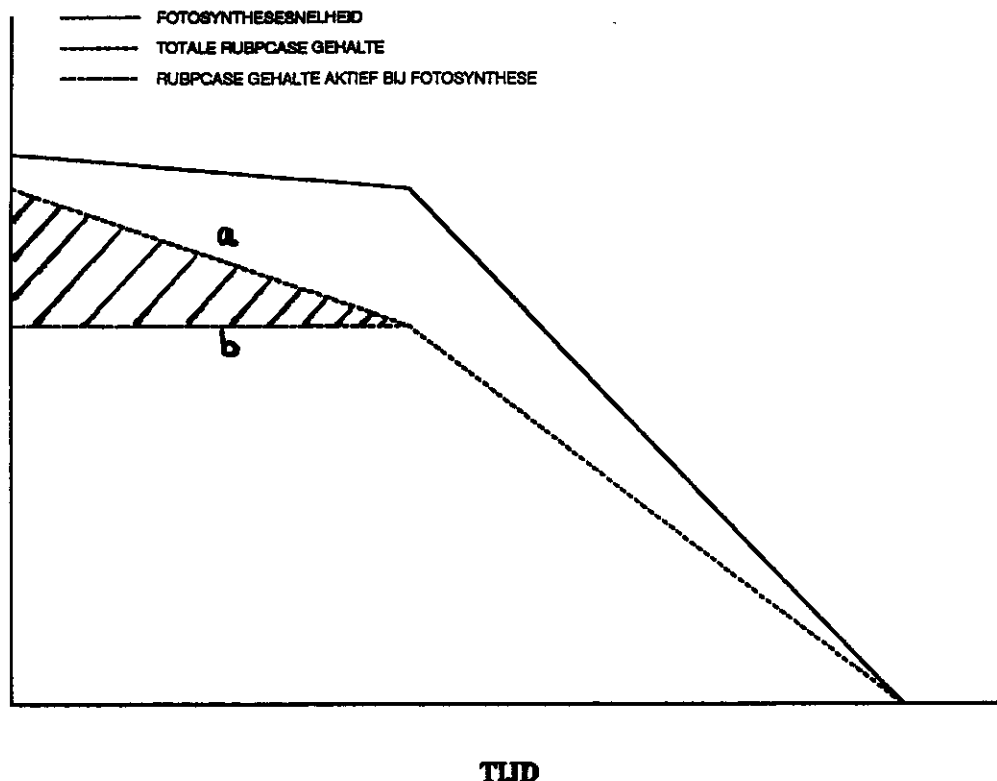
bovenste blad van soja weergegeven in figuur 6.1 en 6.2.

Vergelijking van de twee sojarassen laat zien, dat bij het ene ras (Chippewa) de verzadigingstoestand bij een lager stikstofgehalte wordt bereikt dan bij het andere ras (Corsoy). Vergelijking van tarwe met soja laat zien, dat er vooral sprake is van verschil in snijpunt met de x-as, dat wil zeggen het stikstofgehalte, waarbij de fotosynthesesnelheid is gereduceerd tot nul. Dit gehalte is bij de granen (Takano en Tsunoda, 1971; Yoshida en Coronel, 1976; Evans, 1983; Hunt en v/d Poorten, 1985; Groot en v. Dijk, 1987) in het algemeen lager dan bij een vlinderbloemige als soja (Ojima et al., 1965; Sinclair, 1980; Lugg en Sinclair, 1981b). In hoofdstuk 5 is reeds ingegaan op mogelijke oorzaken voor dit hogere gehalte in dode bladeren bij vlinderbloemigen in het algemeen. Een hoger residueel stikstofgehalte bij soja is mogelijk, maar in hoofdstuk 5 is naar voren gekomen, dat in veel gevallen lang niet alle potentieel transloceerbare stikstof naar de zaden toe getransporteerd is. Streeter (1978) vond gehalten van ca. 1% onder stikstof-deficiënte omstandigheden, een percentage wat niet veel afwijkt van dat van granen (v. Keulen en Seligman, 1987). Hieruit zou kunnen worden afgeleid, dat het hogere stikstofgehalte, waarbij de fotosynthesesnelheid is gereduceerd tot nul, bij soja een gevolg is van onvolledige redistributie. Uit het feit, dat de fotosynthesesnelheid is gereduceerd tot nul op dat moment kan worden afgeleid, dat deze stikstof fysiologisch niet meer actief is. Dat wil zeggen, dat de degradatie van de eiwitten tijdens de veroudering sneller is dan de translocatie van deze gedegradeerde eiwitten naar de zaden toe. Dit gegeven zou een aanwijzing kunnen zijn, dat bij een zeer ruime stikstofvoorziening, waarbij veelal sprake is van onvolledige distributie, de afname van de fotosynthesesnelheid tijdens de zaadvullingsperiode minder een gevolg is van een afnemend stikstofgehalte, maar dat waarschijnlijk andere factoren, die bepalend zijn voor de aktiviteit van de eiwitten, een belangrijke rol spelen. De afnemende stikstofbenuttingsefficiëntie (opgenomen hoeveelheid  $\text{CO}_2$ /eenheid stikstof) bij toenemende bemestingen (Groot en v. Dijk, 1987; Gregory et al., 1981) zou een indicatie in deze richting kunnen zijn.

Een hoger stikstofpercentage, waarbij de fotosynthesesnelheid is gereduceerd tot nul kan ook een gevolg zijn van een verschil in verhouding van de hoeveelheid RuBPCase met de totale hoeveelheid eiwit in het blad. Resultaten van experimenten met soja, rijst en gerst gaven een aandeel van RuBPCase in het totale eiwit te zien van 20-25 % bij soja en 25-30 % bij rijst en gerst (Friedrich en Huffaker, 1980; Wittenbach et al., 1980; Makino et al., 1983/1984a; Wells et al., 1986b). Hoewel dit percentage voor soja iets lager lijkt te zijn dan voor rijst en gerst is het aantal waarnemingen waarop deze gegevens zijn gebaseerd te gering om hierover betrouwbare uitspraken te doen. Het verschil is echter tevens te gering om het verschil in stikstofconcentratie van fotosynthetisch niet meer actieve bladeren tussen soja en gerst te verklaren.

Uit het feit, dat de fotosynthesesnelheid vrijwel niet meer toeneemt bij hoge stikstofgehalten in de bladeren kan worden afgeleid, dat het stikstofgehalte op dat moment niet meer de beperkende factor is voor

de fotosynthese, maar waarschijnlijk de  $\text{CO}_2$ -diffusie in het blad (Hirose, 1984). Op dat moment is er waarschijnlijk sprake van een overschot aan stikstof, die niet actief is bij de fotosynthese. Daar ongeveer de helft van de oplosbare eiwitten bestaat uit RuBPCase suggereerden Racusen en Foote (1965), dat een deel van het RuBPCase in het blad aanwezig is als "storage-protein" bij hoge gehalten van dit enzym. Huffaker (1982) stelde, dat RuBPCase zowel een rol kan vervullen als catalysator van het  $\text{CO}_2$ -fixatie proces en als "storage-protein". Indien dit het geval is zou bij hoge stikstofgehalten, wanneer er sprake is van een verzadigingstoestand, dat deel van de RuBPCase, wat niet actief is bij de fotosynthese een rol kunnen vervullen van "storage-protein". Dit is schematisch weergegeven in figuur 6.3.



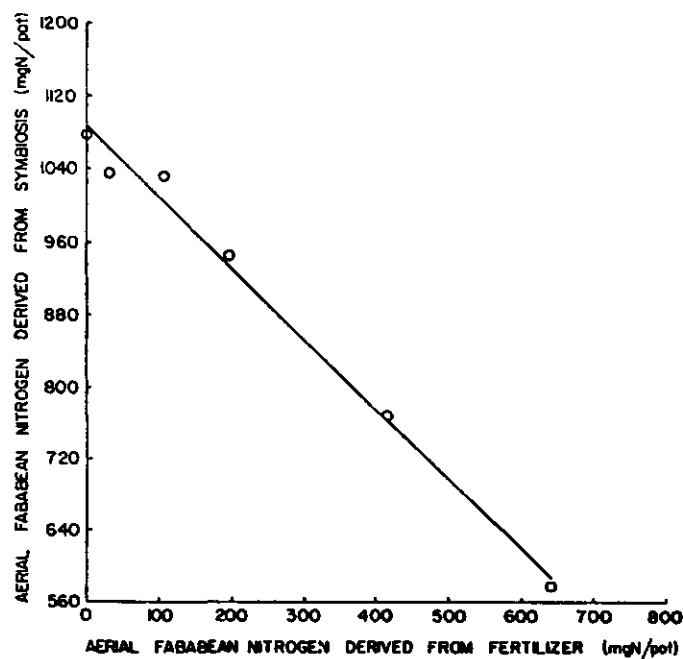
Figuur 6.3: Geschematiseerde weergave van het verloop van het RuBPCase-gehalte en de fotosynthesesnelheid tijdens de zaadvullingsperiode (Bron: Groot en v. Dijk, 1987).

Tijdens de zaadvulling, wanneer er redistributie plaatsvindt van stikstof, zullen naar alle waarschijnlijkheid eerst de "storage-proteinen" naar de zaden getransloceerd worden. Dit is het gearceerde deel in figuur 6.1. De hoeveelheid wordt bepaald door de totale hoeveelheid RuBPCase (b) en de hoeveelheid, waarbij verzadiging optreedt (a). Op het moment, dat deze hoeveelheid verdwenen is uit de bladeren zal eveneens de bij de fotosynthese actieve RuBPCase geredistribueerd worden naar de zaden toe met een afname van de fotosynthesesnelheid als gevolg. Dit is het lineaire deel in de relatie tussen het stikstofgehalte en de fotosynthesesnelheid.

## 7. Invloed stikstoftoediening op stikstoffixatie

Ondanks-het feit, dat vlinderbloemigen het vermogen hebben om in symbiose met de Rhizobium-bacterie luchtstikstof te binden is in sommige gevallen toediening van extra organische stikstof aan te bevelen. Dit is onder andere het geval bij de kieming. In de periode vlak na de kieming is er vrijwel nog geen sprake van stikstoffixatie (Harper en Hageman, 1972; Thibodeau en Jaworski, 1975; Peat et al., 1981; Young, 1982). Om toch te voorkomen, dat de vegetatieve groei hierdoor te sterk wordt belemmerd is het aan te bevelen een lage stikstofgift toe te dienen bij het zaaien, een zogenaamde startdosis. Het effect van deze startdosis zal afhangen van onder andere het minerale stikstofgehalte van de bodem en het tijdstip van aanvang van stikstoffixatie. Naast het tijdstip van aanvang van stikstoffixatie is tevens de effectiviteit van dit proces van belang. Met deze effectiviteit wordt hier bedoeld de hoeveelheid gefixeerde stikstof in het groeiseizoen en niet de energiekosten per eenheid gefixeerde stikstof. Uit onderzoek is gebleken, dat er tussen de vlinderbloemigen verschil is in effectiviteit van de gastheer/Rhizobium-combinatie. Bij cowpea (Summerfield et al., 1977) en veldboon (Sprent en Bradford, 1977; Dantuma en Klein-Hulze, 1979) was de hoeveelheid gefixeerde stikstof tijdens het groeiseizoen voldoende om de stikstofbehoefte van de planten te dekken. Dit was niet het geval bij sojabonen (Vest et al., 1973; Harper, 1974) en Phaseolus vulgaris bonen (Taylor et al., 1983). Ook tussen verschillende genotypen van een bepaalde soort was er sprake van verschillen in effectiviteit van de stikstoffixatie (Sloger, 1969). Ryle et al. (1979a) vonden bij de vlinderbloemigen cowpea, soja en witte klaver, dat de hoeveelheid benodigde assimilaten per hoeveelheid gefixeerde stikstof voor alle drie soorten ongeveer gelijk was, wat een aanwijzing is, dat de effectiviteit van de gastheer-Rhizobium-combinatie waarschijnlijk niet wordt bepaald door de energiekosten per eenheid gefixeerde stikstof. Deze waarde bedroeg ongeveer 6,5 mg C/mg N. Minchin en Pate (1973) vonden bij erwten een waarde van 5,9 mg C/mg N. De hoeveelheid gebruikte C heeft betrekking op het wortelstelsel inclusief de wortelknolletjes. Deze benuttingsefficiëntie is echter niet constant gedurende de groeiperiode van de plant. Tijdens de vorming van wortelknolletjes zal deze lager zijn, daar een relatief groter deel van de beschikbare assimilaten gebruikt wordt voor groei en respiratie van de zich ontwikkelende wortelknolletjes (Gibson, 1966; Bergersen, 1971). Minchin en Pate (1973) vonden een afname van de benuttingsefficiëntie na het verschijnen van de eerste bloemen bij erwten.

Indien de hoeveelheid gefixeerde stikstof de stikstofbehoefte van de plant niet volledig dekt zal er aanvulling dienen plaats te vinden via opname vanuit de bodem. Echter het toedienen van extra anorganische stikstof heeft veelal een onderdrukkend effect op de activiteit van de symbiotische stikstofbinding (Summerfield et al., 1977; Day et al., 1979; Richards en Soper, 1979; Hill-Cottingham en Lloyd-Jones, 1980; Neves et al., 1981; Evans, 1982; van Beusichem en Langelaan, 1984b; Beverly en Jarrell, 1984). Voor veldbonen is dit weergegeven in fi-



Figuur 7.1: Invloed van stikstofbemesting op de hoeveelheid gefixeerde stikstof aanwezig in de bovengrondse delen bij veldbonen (Minor) (Bron: Richards en Soper, 1979).

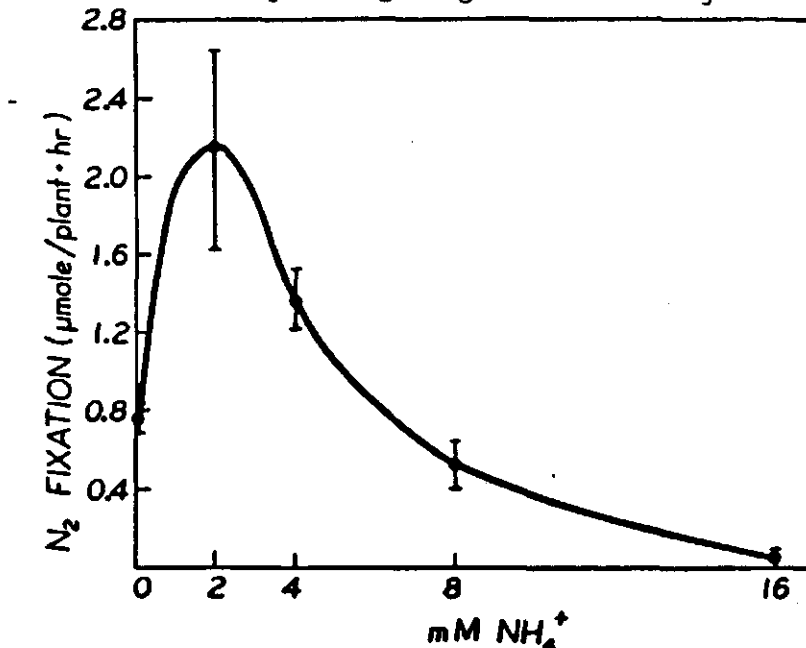
guur 7.1.

Bij het toedienen van extra stikstof zal men dus rekening moeten houden met een afname van de stikstoffixatie. Hill-Cottingham en Lloyd-Jones (1980) vonden, dat de afname van de groei van de wortelknolletjes bij nitraatvoeding niet permanent was, maar dat na twee weken de groei zich weer herstelde. Van Beusichem en Langelaan (1984b) vonden bij erwten eveneens een afname van de stikstoffixatie na het toedienen van nitraat. Uit hun resultaten valt bovendien af te leiden, dat de stikstoffixatie pas aanvangt op het moment, dat er sprake was van een afwezigheid van nitraat in de voedingsoplossing. Deze resultaten zijn een aanwijzing, dat de onderdrukking van de stikstoffixatie niet permanent is na het toedienen van anorganische stikstof. Uit onderzoek bij erwten (Bethlenfalvay et al., 1978b) en soja (Harper, 1974) bleek echter, dat bij lage concentraties nitraat/ammonium in het voedingsmedium de stikstoffixatieactiviteit hoger was dan bij planten waar zich geen nitraat/ammonium in het voedingsmedium bevond. Voor erwten is dit weergegeven in figuur 7.2.

Uit figuur 7.2 blijkt, dat er sprake is van een optimumconcentratie aan ammonium in het voedingsmedium. Bij nitraat in het voedingsmedium zijn eveneens dergelijke resultaten gevonden (Harper, 1974, Ralston en Imsande, 1983). Echter de concentraties, waarbij een toename respectievelijk afname plaatsvond van de activiteit van de stikstoffixatie waren bij nitraat veelal lager. Het fixatieproces lijkt dus minder gevoelig te zijn voor ammonium dan voor nitraat. Deze resultaten zijn een aanwijzing, dat voor maximale activiteit van de stikstoffixatie een kleine hoeveelheid stikstof in het groeimedum



gewenst is. Harper (1974) en van Beusichem en Langelaan (1984a/b) stelden, dat dit mogelijk een gevolg zou kunnen zijn van een sterkere



Figuur 7.2: Invloed van ammoniumconcentratie in het voedingsmedium op de stikstoffixatie in 26 dagen oude erwteplanten (Bron: Bethlenfalvay et al., 1978b).

vegetatieve groei met als gevolg een hogere fotosyntheseactiviteit en dientengevolge een hogere beschikbaarheid van assimilaten voor de stikstoffixatie zonder dat op dat moment de stikstoffixatie wordt geremd.

Een eenduidige verklaring voor de afname van de stikstoffixatie in de wortelknolletjes tengevolge van de aanwezigheid van nitraat in het voedingsmedium wordt niet gegeven in de literatuur. Hieronder volgt in het kort een overzicht wat uit onderzoek met betrekking tot dit onderwerp in de literatuur naar voren is gekomen. Munns (1968) vond, dat nitraat de vorming van wortelknolletjes remde door remming van het omkrullen van de wortelharen en van de groei van de infectiedraden van de rhizobium-bacterie. De vraag is of deze verstoring wordt veroorzaakt door nitraat zelf of door produkten van de nitraatreductie, met name nitriet. Streeter (1982/1985a) vond een duidelijk verband tussen het nitrietgehalte in de wortelknolletjes en het versgewicht ervan bij een bepaalde waardplant-Rhizobium-combinatie bij soja. Deze relatie was echter niet bij alle in het experiment gebruikte Rhizobium stammen even duidelijk. Stephens en Neyra (1983) vonden bij soja geen afname van de nitrogenaseactiviteit door nitraat in geïsoleerde bacteroiden uit wortelknollen, die niet de mogelijkheid bezaten om nitraat te reduceren. Feenstra et al. (1982) concludeerden uit hun resultaten, dat niet nitraat zelf, maar de reductie ervan waarschijnlijk verantwoordelijk is voor de remming van de stikstoffixatie. Dit kan een aanwijzing zijn dat nitriet verantwoordelijk is voor de waargenomen afname van de stikstoffixatie. Echter zowel Streeter (1985b) als Manhart en Wong (1980) vonden bij nitraatreductase-deficiënte stammen van de Rhizobium bacterie een sterke afname van de stikstoffixatie door nitraat zonder dat er sprake

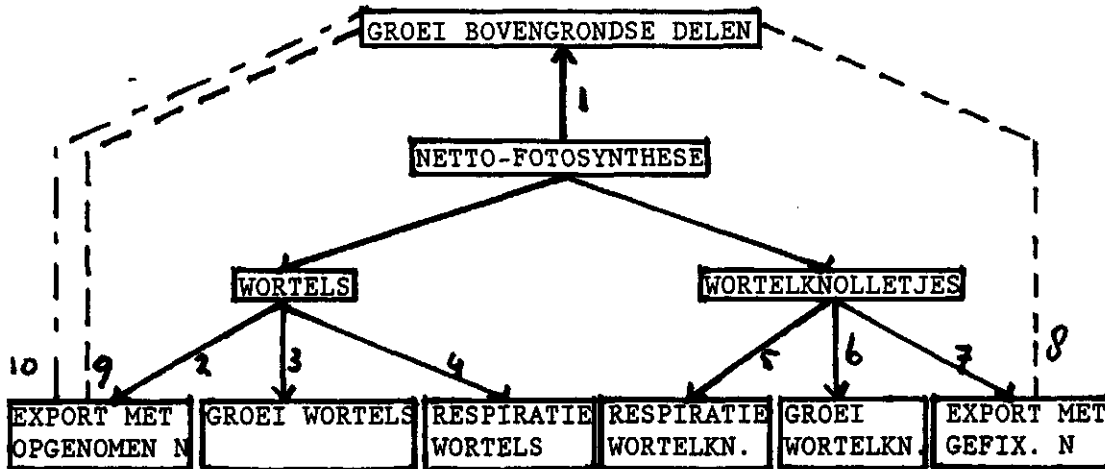
was van vorming van nitriet. Uit deze resultaten kan afgeleid worden, dat nitriet mogelijk een rol speelt bij de afname van de stikstoffixatie door nitraat maar dat waarschijnlijk nog andere factoren een rol spelen. Streeter (1985b) suggereerde een effect van nitraat op de "loading" van produkten van de stikstoffixatie (ureiden/amiden) in het xyleem. Hij baseerde deze hypothese op de door hem waargenomen accumulatie van ureiden in de wortelknollen van soja na het toedienen van nitraat. Het hiervoor verantwoordelijke mechanisme is niet duidelijk.

Naast een directe invloed op de vorming van de wortelknolletjes is er tevens mogelijk sprake van een indirecte invloed, nl. die van de concurrentie om assimilaten (Small en Leonard, 1969). Indien nitraat aanwezig is in het voedingsmedium zullen de wortelknolletjes moeten concurreren om assimilaten met het wortelstelsel, dat verantwoordelijk is voor de stikstofopname vanuit de bodem. Uit onderzoek is gebleken, dat nitraat de stikstoffixatie niet remde wanneer de beschikbaarheid van assimilaten toenam door toevoeging van glucose aan het voedingsmedium (Wong, 1977/1980; Noel et al., 1982; Stephens en Neyra, 1983) of verhoging van de lichtintensiteit (Chen en Phillips, 1977; Bethlenfalvay et al., 1978a). Echter Wong (1980) ontdekte, dat na toevoeging van sucrose aan het voedingsmedium de opname van nitraat afnam, zodat ook dit de oorzaak kan zijn voor de opheffing van het nitraateffect. Streeter (1981/1985b) vond geen verschil in koohydratengehalte in wortelknollen voor en na toediening van nitraat aan het voedingsmedium wat een aanwijzing kan zijn, dat assimilaten niet beperkend zijn voor de stikstoffixatie. Nelson en Edie (1988) vonden bij erwten echter wel een afname van het zetmeelgehalte in de wortelknollen na het toedienen van nitraat. Ze suggereerden, dat zetmeel mogelijk werd afgebroken voor het op niveau houden van het suikergehalte in de wortelknollen. Het is natuurlijk ook niet uitgesloten, dat de afname van de stikstoffixatie door nitraat en/of ammonium een gevolg is van een combinatie van zowel een directe invloed van nitraat en/of ammonium als een verhoogde concurrentie om geproduceerde assimilaten.

Ondanks het feit, dat bij sommige vlinderbloemigen er in voldoende mate stikstof wordt gebonden zijn in het algemeen de opbrengsten hoger bij gewassen opgegroeid op anorganische stikstof (Harper, 1974; Summerfield et al., 1977; Mahon en Child, 1979; Beverly en Jarrell, 1984; Peoples et al., 1985). Over de oorzaken van dit verschil kan het volgende gezegd worden aan de hand van onderstaand schema weergegeven in figuur 7.3.

Van de netto geproduceerde assimilaten zal een deel worden benut voor groei en onderhoud van de bovengrondse delen (1). Het overige deel wordt getransporteerd naar de ondergrondse delen, welke te onderscheiden zijn in wortels en wortelknolletjes. In de wortels en de wortelknolletjes zullen de assimilaten worden gebruikt voor respectievelijk groei (3 en 6), ademhaling (4 en 5) en export van gefixeerde en/of opgenomen stikstof (2 en 7). In het laatste geval gaan de assimilaten dus niet verloren voor de bovengrondse delen, maar worden ingebouwd in de gereduceerde stikstof weer naar boven getransporteerd (8 en 9). Dit is alleen het geval bij stikstoffixatie en in het geval van nitraatreductie wanneer deze in de wortels

plaatsvindt. Vindt deze in de bovengrondse delen plaats dan vervalt assimilatenstroom 2 en stikstofstroom 9 en wordt de opgenomen stikstof



Figuur 7.3: Overzicht C -en N-metabolisme.

in onveranderde vorm (veelal nitraat) naar de bovengrondse delen getransporteerd (10) alwaar de reductie ervan plaatsvindt.

Voor de minder sterke groei van planten, die voor hun stikstofvoorziening volledig afhankelijk zijn van de symbiotische stikstofbinding ten opzichte van planten, die volledig afhankelijk zijn van anorganische stikstof zijn onder andere de volgende verklaringen aangevoerd. De eerste mogelijkheid is, dat de kosten voor stikstoffixatie hoger zijn dan voor opname van stikstof vanuit de bodem. Ryle et al. (1978/1979b) vonden bij soja, dat planten volledig afhankelijk van symbiotisch gebonden stikstof een twee maal zo hoge ademhalingssnelheid van het wortelstelsel vertoonden dan planten volledig afhankelijk van nitraat-stikstof tijdens de periode van intensieve stikstoffixatie. Echter Minchin en Pate (1973) vonden bij erwten geen verschil in kosten per eenheid geassimileerde stikstof tussen planten afhankelijk van nitraat-stikstof en gefixeerde stikstof. Ook Gibson (1966) verkreeg dergelijke resultaten met onderaardse klaver. Het is aangetoond, dat er geen verschil is in thermodynamische kosten voor de reductie van nitraat en luchtstikstof (Bergersen, 1971; Hardy en Havelka, 1975). Echter uit onderzoek is naar voren gekomen, dat mogelijk een deel van de energie verloren gaat door de produktie van H<sub>2</sub>, welke gelijktijdig plaatsvindt met de N<sub>2</sub>-reduktie (Smith et al., 1976; Bothe et al., 1977; Schubert et al., 1977), hoewel het mogelijk is, dat er een recycling plaatsvindt van vrijgekomen H<sub>2</sub> onder invloed van het enzym hydrogenase. De mate van H<sub>2</sub>-produktie en recycling lijkt afhankelijk te zijn van de gebruikte waardplant/Rhizobium-combinatie (Schubert et al., 1977).

Een mogelijke verklaring voor het verschil tussen de waarnemingen van Ryle et al. (1978) en Minchin en Pate (1973) is de plaats waar de nitraatreductie plaatsvindt. Minchin en Pate (1973) stelden, dat de nitraatreductie bij erwten hoofdzakelijk in de wortels plaatsvond. Dit wordt bevestigd door onderzoek van Wallace en Pate (1965). Evans

en Nason (1953) vonden bij soja een hoge activiteit van nitraatreductase in jonge, actief groeiende bladeren. Bij de cowpea lijkt de nitraatreductie eveneens hoofdzakelijk plaats te vinden in de bovengrondse delen (Ryle et al., 1978; Pate et al., 1984; Peoples et al., 1985). In het algemeen kan gesteld worden, dat bij vlinderbloemigen uit de gematigde streken als veldbonen (Sutherland et al., 1985; Andrews, 1986b), erwten (Pate en Wallace, 1964; Wallace en Pate, 1965; Oghoghorie en Pate, 1971; Andrews, 1986b) en lupine (Andrews, 1986a/b) bij lage nitraatconcentraties in het voedingsmedium de nitraatreductie in de wortels domineert, maar dat bij toenemende nitraatconcentraties de nitraatreductie in de bovengrondse delen een belangrijker aandeel inneemt. Bij granen uit de gematigde streken als tarwe (Brunetti en Hageman, 1976; Andrews, 1986a) en gerst (Aslam en Huffaker, 1982; Lewis et al., 1982a/b; Andrews, 1986a; Gojon et al., 1986) vindt de nitraatreductie voornamelijk in de bladeren plaats ook bij lagere nitraatconcentraties in het voedingsmedium. Bij tropische en sub-tropische vlinderbloemigen als soja en *Phaseolus vulgaris* bonen blijkt de spruit in het algemeen de belangrijkste plaats te zijn waar de nitraatreductie plaatsvindt (Andrews, 1986a). De verdeling tussen wortel en spruit bleek bij deze soorten onafhankelijk te zijn van de nitraatconcentratie in het voedingsmedium. De mogelijkheid is dus aanwezig, dat een deel van de energie nodig voor de nitraatreductie wordt geleverd door de lichtreacties in de chloroplasten in plaats van respiratie van reeds gevormde assimilaten in het geval van nitraatreductie in de bovengrondse delen (Hewitt en Smith, 1975; Sprent, 1980; Smirnoff et al., 1984; Smirnoff en Stewart, 1985). Dit levert alleen voordeel op bij een voldoende hoge lichtintensiteit wanneer er sprake is van lichtverzadiging. Alleen dan is er sprake van overvloedige lichtenergie, die gebruikt kan worden voor de nitraatreductie zonder dat dit een afname van de fotosyntheseactiviteit tot gevolg heeft (Smirnoff en Stewart, 1985). Naast het energetisch voordeel bij nitraatreductie in de bladeren is er tevens het voordeel, dat er geen assimilaten, nodig zijn voor de inbouw ervan in nitraatassimilatie producten (assimilatenstroom 2 in figuur 6.1) (Smirnoff en Stewart, 1985). Dit laatste is dus alleen het geval wanneer de nitraatreductie in de bladeren plaatsvindt.

Een tweede mogelijke verklaring voor het feit, dat nitraat-gevoede planten een sterkere groei vertonen dan planten afhankelijk van gefixeerde stikstof is, dat de groei in het beginstadium van de ontwikkeling van de plant wordt geremd door een tijdelijk stikstofgebrek. Dit is een gevolg van het feit, dat op het moment, dat de stikstofvoorraad in de zaden is uitgeput, de stikstoffixatie nog niet een dermate niveau bereikt heeft om de stikstofbehoefte van de plant te dekken (Pate en Dart, 1961; Gibson, 1966/1976; Hoglund, 1973). Vanzelfsprekend is het ook mogelijk, dat een combinatie van beide mogelijkheden bovengenoemde effecten tot gevolg hebben.

Als derde mogelijkheid kan nog genoemd worden de omvang van het stikstofassimilerend apparaat. Dit heeft niet zozeer te maken met de kosten als wel met de potentiële mogelijke omvang van de stikstofassimilatie. Nitraatreductie vindt in de gehele plant plaats, stikstoffixatie alleen in de wortelknollen (ca. 5 % van de plant). De specifieke activiteit (hoeveelheid geassimileerde N/eenheid gewicht) zal in de wortelknollen veel hoger zijn dan in de rest van de

plant. Aangezien deze specifieke activiteit waarschijnlijk gebonden zal zijn aan een bepaalde maximum waarde is het zich voor te stellen, dat bij wortelknollen de maximale stikstofassimilatiecapaciteit eerder beperkend is dan in de rest van de plant.

Uit het-bovenstaande kan worden afgeleid, dat in de meeste gevallen de planten beter groeien op nitraatvoeding dan wanneer de plant volledig afhankelijk is van gefixeerde stikstof, hoewel dit niet altijd tot hogere opbrengsten hoeft te leiden. Het is echter de vraag of een eventuele opbrengsttoename opweegt tegen de hogere kosten voor extra bemesting. Tevens moet er rekening mee gehouden worden, dat bij bemesting een deel kan uitspoelen bij erg vochtige omstandigheden. Vooral in het licht van het actuele probleem van de belasting van het milieu en het kostenaspect is het wellicht niet onverstandig voldoende aandacht te besteden aan de ontwikkeling van een efficiënte waardplant-Rhizobium-symbiose bij verschillende vlinderbloemigen.

## AANWIJZINGEN VOOR VERVOLGONDERZOEK

Aan de hand van deze literatuurstudie zijn de volgende aanwijzingen te geven voor verder onderzoek.

- \* Met betrekking tot de duur van de zaadvullingsperiode is het van belang te achterhalen welke factoren bepalend zijn voor de duur van deze voor de opbrengst zo belangrijke periode. Te denken valt aan het op verschillende tijdstippen tijdens de zaadvulling onthouden van stikstof. Tegelijkertijd lijkt het zinvol om ook de temperatuur tijdens een dergelijke proef te variëren, daar een eventuele maximaal mogelijke duur van de zaadvullingsperiode (indien hier sprake van is) afhankelijk kan zijn van de temperatuur. Door dit bij verschillende vlinderbloemigen te doen is het wellicht mogelijk wat meer licht te werpen op de oorzaken van de waargenomen opbrengstverschillen tussen bepaalde vlinderbloemigen.
- \* Wat betreft de fotosynthese is het wellicht zinvol de relatie tussen het stikstofgehalte en de fotosynthesesnelheid nauwgezet te bekijken bij verschillende vlinderbloemigen om te achterhalen of er sprake is van onderlinge verschillen of van verschillen ten opzichte van granen. Door dit te doen onder dezelfde proefomstandigheden is wellicht een deel van de waargenomen variatie te elimineren en zodoende tot meer betrouwbare uitspraken te komen. Van belang is ook te achterhalen in welke mate de stikstof, die niet wordt geredistribueerd, fysiologisch actief blijft en in welke vorm deze stikstof na het beëindigen van de zaadvullingsperiode in de vegetatieve delen aanwezig is.
- \* Het is wellicht van belang onderzoek te verrichten naar de mogelijkheid van een hormonale beïnvloeding van de stikstoffixatie gezien de onderzoeksresultaten, die zijn verkregen bij erwten en soja (zie hoofdstuk 2).

## LITERATUURLIJST

- Andrews, M. (1986a). The partitioning of nitrate assimilation between root and shoot of higher plants. *Plant, Cell and Environment* 9, 511-519.
- Andrews, M. (1986b). Nitrate and reduced-N concentrations in the xylem sap of *Stellaria media*, *Xanthium strumarium* and six legume species. *Plant, Cell and Environment* 9, 605-608.
- Araus, J.L., Tapia, L. and Calafell, R. (1986). Ontogenetic changes in photosynthetic capacity and dry matter production of flag wheat leaves during the grain filling period. *Photosynthesis Research* 8, 209-218.
- Aslam, M. and Huffaker, R.C. (1982). In vivo nitrate reduction in roots and shoots of barley (*Hordeum vulgare* L.) seedlings in light and darkness. *Plant Physiology* 70, 1009-1013.
- Austin, R.B., Ford, M.A., Edrich, J.A. and Blackwell, R.D. (1977). The nitrogen economy of winter wheat. *Journal of Agricultural Science* 88, 159-167.
- Barracough, P.B. (1986a). The growth and activity of winter wheat roots in the field: nutrient uptakes of high-yielding crops. *Journal of Agricultural Science* 106, 45-52.
- Barracough, P.B. (1986b). The growth and activity of winter wheat roots in the field: nutrient inflows of high-yielding crops. *Journal of Agricultural Science* 106, 53-59.
- Barracough, P.B. and Leigh, R.A. (1984). The growth and activity of winter wheat roots in the field: the effect of sowing date and soil type on root growth of high-yielding crops. *Journal of Agricultural Science* 103, 59-74.
- Beaver, J.S. and Cooper, R.L. (1982). Dry matter accumulation patterns and seed yield components of two indeterminate soybean cultivars. *Agronomy Journal* 74, 380-383.
- Bergersen, F.J. (1971). The central reactions of nitrogen fixation. *Plant and Soil* (Special Volume), 511-524.
- Bethlenfalvay, G.J., Abu-Shakra, S.S. Fishbeck, K. and Phillips, D.A. (1978a). The effect of source-sink manipulations on nitrogen fixation in peas. *Physiologia Plantarum* 43, 31-34.
- Bethlenfalvay, G.J., Abu-Shakra, S.S. and Phillips, D.A. (1978b). Interdependence of nitrogen nutrition and photosynthesis in *Pisum sativum* L. I. Effect of combined nitrogen on symbiotic nitrogen fixation and photosynthesis. *Plant Physiology* 62, 127-130.

- Bethlenfalvay, G.J., Abu-Shakra, S.S. and Phillips, D.A. (1978c). Interdependence of nitrogen nutrition and photosynthesis in *Pisum sativum* L. II. Host plant response to nitrogen fixation by *Rhizobium* strains. *Plant Physiology* 62, 131-133.
- Bethlenfalvay, G.J. and Phillips, D.A. (1977). Ontogenetic interactions between photosynthesis and symbiotic nitrogen fixation in legumes. *Plant Physiology* 60, 419-421.
- Beuerlein, J.E. and Pendleton, J.W. (1971). Photosynthetic rates and light saturation curves of individual soybean leaves under field conditions. *Crop science* 11, 217-219.
- Beusichem, van M.L. and Langelaan, J.G. (1984a). Nitrogen accumulation in nodulated and non-nodulated pea plants, grown in a sandy soil at different acidities. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 15, 493-506.
- Beusichem, van M.L. and Langelaan, J.G. (1984b). Effects of 15-N-nitrate fertilization on yield and dinitrogen fixation of vegetative pea plants. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 15, 507-517.
- Beverly, R.B. and Jarrell, W.M. (1984). Cowpea response to N form, rate and timing of application. *Agronomy Journal* 76, 663-668.
- Bhagsari, A.S., Ashley, D.A., Brown, R.H. and Boerma, H.R. (1977). Leaf photosynthetic characteristics of determinate soybean cultivars. *Crop Science* 17, 929-932.
- Blenkinsop, P.G. and Dale, J.E. (1974). The effects of nitrate supply and grain reserves on fraction I protein level in the first barley leaf. *Journal of Experimental Botany* 25, 913-926.
- Bothe, H., Tenningkeit, J., Eisbrenner, G. and Yates, M.G. (1977). The hydrogenase-nitrogenase relationship in the blue-green alga *Anabaena cylindrica*. *Planta* 133, 237-242.
- Bowes, G., Ogren, W.L. and Hageman, R.H. (1972). Light saturation, photosynthesis rate, RuDP carboxylase activity and specific leaf weight in soybeans grown under different light intensities. *Crop Science* 12, 77-79.
- Brown, R.H. (1978). A difference in N use efficiency in C3 and C4 plants and its implications in adaption and evolution. *Crop Science* 18, 93-98.
- Brunetti, N. and Hageman, R.H. (1976). Comparison of in vivo assays of nitrate reductase in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. *Plant Physiology* 58, 583-587.
- Chen, P.C. and Phillips, D.A. (1977). Induction of root nodule senescence by combined nitrogen in *Pisum sativum* L. *Plant Physiology* 59, 440-442.



Chenga Reddy, V., Bhaskar, C.V.S., Raghavendra, A.S. and Das, V.S.R. (1984). Photosynthesis of wheat cultivars in relation to photosynthetic unit and stomatal conductance. *Photosynthetica* 18, 226-230.

Chetverikov, A.G. and Swaraj, K. (1985). Dark induced changes in photosynthetic systems as related to symbiotic nitrogen fixation in soybean. *Photosynthetica* 19, 9-13.

Chowdhury, S.I. and Wardlaw, I.F. (1978). The effect of temperature on kernel development in cereals. *Australian Journal of Agricultural Research* 29, 205-223.

Christy, A.L. and Porter, C.A. (1982). Vanopy photosynthesis and yield in soybean. In: *Photosynthesis. Volume II: Development, carbon metabolism and plant productivity* (Ed. by Govindjee), p. 499-511, Academic Press, New York.

Cooper, D.R., Hill-Cottingham, D.G. and Lloyd-Jones, C.P. (1976). Absorption and re-distribution of nitrogen during growth and development of field bean, *Vicia faba*. *Physiologia Plantarum* 38, 313-318.

Dantuma, G. and Klein Hulze, J. (1979). Production and distribution of dry matter, and uptake, distribution and redistribution of nitrogen in *Vicia faba* major and minor.

Day, J.M., Roughley, R.J. and Witty, J.F. (1979). The effect of planting density, inorganic nitrogen fertilizer and supplementary carbon dioxide on yield of *Vicia faba* L. *Journal of Agricultural Science* 93, 629-633.

Dekhuijzen, H.M. and Verkerke, D.R. (1984). Uptake, distribution and redistribution of <sup>15</sup>nitrogen by *Vicia faba* under field conditions. *Field Crops Research* 8, 93-104.

Dekhuijzen, H.M. and Verkerke, D.R. (1986). The effect of temperature on development and dry-matter accumulation of *Vicia faba* seeds. *Annals of Botany* 58, 869-885.

Dekhuijzen, H.M., Verkerke D.R. and Houwers, A. (1981). Physiological aspects of growth and development of *Vicia faba*. In: *Vicia faba: Physiology and Breeding* (Ed. by R. Thompson), Martinus Nijhoff Publ., The Hague.

Derman, B.D., Rupp, D.C. and Nooden, L.D. (1978). Mineral distribution in relation to fruit development and monocarpic senescence in Anoka soybeans. *American Journal of Botany* 65, 205-213.

Eaglesham, A.R.J., Minchin, F.R., Summerfield, R.J., Dart, P.J., Huxley, P.A. and Day, J.M. (1977). Nitrogen nutrition of cowpea (*Vigna unguiculata*). III. Distribution of nitrogen within effectively nodulated plants. *Experimental Agriculture* 13, 369-380.

Egli, D.B. and Wardlaw, I.F. (1980). Temperature response of seed growth characteristics of soybeans. *Agronomy Journal* 72, 560-564.

- Evans, H.J. and Nason, A. (1953). Pyridine nucleotide nitrate reductase from extracts of higher plants. *Plant Physiology* 28, 232-244.
- Evans, J. (1982). Response of soybean-Rhizobium symbiosis to mineral nitrogen. *Plant and Soil* 66, 439-442.
- Evans, J.R. (1983). Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* 72, 297-302.
- Evans, L.T., Wardlaw, I.F. and Fischer, R.A. (1975). Wheat. In: *Crop Physiology: some case histories* (Ed. by L.T. Evans), p. 101-149, Cambridge University Press, Cambridge.
- Feenstra, W.J., Jacobsen, E., van Swaay, A.C.P.M. en de Visser, A.J.C. (1982). Effect of nitrate on acetylene reduction in a nitrate reductase deficient mutant of pea (*Pisum sativum* L.). *Zeitschrift fur Pflanzenphysiologie* 105, 471-474.
- Flinn, A.M. and Pate, J.S. (1968). Biochemical and physiological changes during maturation of fruit of the field pea (*Pisum arvense* L.).
- Flinn, A.M. and Pate, J.S. (1970). A quantitative study of carbon transfer from pod and subtending leaf to the ripening seeds of the field pea (*Pisum arvense* L.). *Journal of Experimental Botany* 21, 71-82.
- Friedrich, J.W. and Huffaker, R.C. (1980). Photosynthesis. leaf resistances and ribulose-1,5-biphosphate carboxylase degradation in senescing barley leaves. *Plant Physiology* 65, 1103-1107.
- Grashoff, C., Klein-Hulze, J.A. and Smid, H.G. (1987). Opbrengstvariabiliteit bij beldbonen en erwten (achtergrond, proefresultaten, teelten verdedelingsadviezen). CABO-publikatie nr. 435.
- Gibson, A.H. (1966). The carbohydrate requirements for symbiotic nitrogen fixation: A 'whole-plant' growth analysis approach. *Australian Journal of Biological Science* 19, 499-515.
- Gibson, A.H. (1976). Recovery and compensation by nodulated legumes to environmental stress. In: *Symbiotic nitrogen fixation in plants* (Ed. by P.S. Nutman), p. 385-403, Cambridge University Press, Cambridge.
- Gojon, A., Soussana, J.F., Passama, L. and Robin, P. (1986). Nitrate reduction in roots and shoots of barley (*Hordeum vulgare* L.) and corn (*Zea mays* L.) seedlings. *Plant Physiology* 82, 254-260.
- Gregory, P.J., Marshall, B. and Biscoe, P.V. (1981). Nutrient relations of winter wheat. 3. Nitrogen uptake, photosynthesis of flag leaves and translocation of nitrogen to grain. *Journal of Agricultural Science* 96, 539-547.

- Gregory, P.J., McGowan, M., Biscoe, P.V. and Hunter, B. (1978). Water relations of winter wheat. I. Growth of the root system. *Journal of Agricultural Science* 91, 91-102.
- Groot, J.J.R. and Dijk, W. van (1987). De relatie tussen stikstofgehalte en fotosynthesesnelheid bij wintergerst (*Hordeum Vulgare*). CABO-verslag 74.
- Hall, N.P., Keys, A.J. and Merrett, M.J. (1978). Ribulose-1,5-diphosphate carboxylase protein during flag leaf senescence. *Journal of Experimental Botany* 29, 31-37.
- Hanway, J.J. and Weber, C.R. (1971a). Dry matter accumulation in eight soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) varieties. *Agronomy Journal* 63, 227-230.
- Hanway, J.J. and Weber, C.R. (1971b). N, P and K percentages in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). *Agronomy Journal* 63, 286-290.
- Hanway, J.J. and Weber, C.R. (1971c). Accumulation of N, P, and K by soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) plants. *Agronomy journal* 63, 406-408.
- Hardy, R.W.F. and Havelka, U.D. (1975). Nitrogen fixation research: A key to world food. *Science* 188, 633-643.
- Hardy, R.W.F., Holsten, R.D., Jackson, E.K. and Burns, R.C. (1968). The acetylene-ethylene assay for N<sub>2</sub> fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiology* 43, 1185-1207.
- Harper, J.E. (1974). Soil and symbiotic nitrogen requirements for optimum soybean production. *Crop Science* 14, 255-260.
- Harper, J.E. and Hageman, R.H. (1972). Canopy and seasonal profiles of nitrate reductase in soybeans (*Glycine max* L. Merr.). *Plant Physiology* 49, 146-154.
- Harrison, S.A., Boerma, H.R. and Ashley, D.A. (1981). Heritability of canopy apparent photosynthesis and its relationships to seed yield in soy beans. *Crop Science* 21, 222-226.
- Heemst, van H.D.J. en Smid, H.G. (1988). Physiologisch onderzoek aan erwten (*Pisum sativum* L.). Verslag van proef CABO-909. CABO-verslag 95.
- Herridge, D.F. and Pate, J.S. (1977). Utilization of net photosynthate for nitrogen fixation and protein production in an annual legume. *Plant Physiology* 60, 759-764.
- Hewitt, E.J. and Smith, T.A. (1975). *Plant Mineral Nutrition* 298 p., English University Press Ltd, London.
- Hill-Cottingham, D.G. and Lloyd-Jones, C.P. (1980). The influence of nitrate supply on nitrogen fixation during growth of the field bean *Vicia faba* in sand. *Physiologia Plantarum* 48, 116-120.

- Hirose, T. (1984). Nitrogen use efficiency in growth of *Polygonum cupdatum* Sieb. et Zucc. *Annals of Botany* 54, 695-704.
- Hocking, P.J., Steer, B.T. and Pearson, C.J. (1984a). Nitrogen nutrition of non-leguminous crops: A review. Part 1. *Field Crop Abstracts* 37, 625-636.
- Hocking, P.J., Steer, B.T. and Pearson, C.J. (1984b). Nitrogen nutrition of non-leguminous crops: A review. Part 2. *Field Crop Abstracts* 37, 721-741.
- Hoglund, J.H. (1973). Bimodal response by nodulated legumes to combined nitrogen. *Plant and Soil* 39, 533-545.
- Hole, C.C. and Scott, P.A. (1984a). Pea fruit extension rate. I. Effect of light, dark and temperature in controlled environment. *Journal of Experimental Botany* 35, 790-802.
- Hole, C.C. and Scott, P.A. (1984b). Pea fruit extension rate. II. Effect of temperature on the relationship with respiration. *Journal of Experimental Botany* 35, 803-812.
- Honjyo, K. and Hirano, M. (1979). Studies on protein content in rice grain. 3. Effect of nitrogen top-dressing at full heading time on the translocation of nitrogen to the ear. *Japanese Journal of Crop Science* 48, 517-524.
- Horan, F.E. (1976). Use of soy protein for food. In: *World soybean research* (Ed. by L.D. Hill), p. 775-788.
- Huang, C.Y., Boyer, J.S. and Vanderhoef, L.N. (1975). Limitation of acetylene reduction (nitrogen fixation) by photosynthesis in soybean having low water potentials. *Plant Physiology* 56, 228-232.
- Huffaker, R.C. (1982). Biochemistry and physiology of leaf proteins. In: *Encyclopedia of Plant Physiology* (New Series Vol. 14A), Nucleic acids and proteins in plants. I. (Ed. by D. Boulter and G. Parthier), p. 370-400, Springer Verlag, Berlin.
- Hunt, L.A. and Poorten, van der, G. (1985). Carbon dioxide exchange rates and leaf nitrogen contents during ageing of the flag leaves of five spring-wheat cultivars. *Canadian Journal of Botany* 63, 1605-1609.
- Jackson, G.D. and Sims, J.R. (1977). Comprehensive nitrogen fertilizer management model for winter wheat. *Agronomy Journal* 69, 373-377.
- Jensen, R.J. and Bahr, T. (1977). Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase. *Annual Review of Plant Physiology* 28, 379-400.
- Keulen, H. van and Seligman, N.G. (1987). Nitrogen balance in the crop. In: *Simulation of water use, nitrogen nutrition and growth of a spring wheat crop* (Ed. by H. v. Keulen and N.G. Seligman), p. 66-76, Pudoc, Wageningen.

- Kollman, G.E., Streeter, J.E., Jeffers, D.L. and Curry, R.B. (1974). Accumulation and distribution of mineral nutrients, carbohydrate and dry matter in soybean plants as influenced by reproductive sink size. *Agronomy Journal* 66, 549-554.
- Lawes, D.A. (1977). Recent developments in understanding, improvement and use of *Vicia faba*. In: *Advances in legume science* (Ed. by R.J. Summerfield and A.H. Bunting), p. 625-636.
- Lawn, R.J. and Brun, W.A. (1974). Symbiotic nitrogen fixation in soybeans. I. Effect of photosynthetic source-sink manipulations. *Crop Science* 14, 11-16.
- Lawrie, A.C. and Wheeler, C.T. (1974). The effects of flowering and fruit formation on the supply of photosynthetic assimilates to the nodules of *Pisum sativum* L. in relation to the fixation of nitrogen. *New Phytologist* 73, 1119-1127.
- Leopold, A.C., Niedergang-Kamien, E. and Janick, J. (1959). Experimental modification of plant senescence. *Plant Physiology* 34, 570-573.
- Leshem, Y.Y., Halevy, A.H. and Frenkel, C. (1986). Fruit ripening. In: *Processes and control of plant senescence* (Ed. by Y.Y. Leshem, A.H. Halevy and C. Frenkel), p. 162-210, Elsevier, New York.
- Lewis, O.A.M., Watson, E.F. and Hewitt, E.J. (1982a). Determination of nitrate reductase activity in barley leaves and roots. *Annals of Botany* 49, 31-37.
- Lewis, O.A.M., James, D.M. and Hewitt, E.J. (1982b). Nitrogen assimilation in barley (*Hordeum vulgare* L. cv. Mazurka) in response to nitrate and ammonium nutrition. *Annals of Botany* 49, 39-49.
- Lindoo, S.J. and Nooden, L.D. (1976). The interrelation of fruit development and leaf senescence in "Anoka" soybeans. *Botanical Gazette* 137, 218-223.
- Lindoo, S.J. and Nooden, L.D. (1977). Studies on the behavior of the senescence signal in Anoka soybeans. *Plant Physiology* 59, 1136-1140.
- Lockhart, A.J. and Gottschall, V. (1961). Fruit-induced and apical senescence in *Pisum sativum* L. *Plant Physiology* 36, 389-398.
- Lugg, D.G. and Sinclair, T.R. (1981a). Seasonal changes in photosynthesis of field-grown soybean leaflets. 1. Relation to leaflet dimensions. *Photosynthetica* 15, 129-137.
- Lugg, D.G. and Sinclair, T.R. (1981b). Seasonal changes in photosynthesis of field-grown soybean leaflets. 2. Relation to nitrogen content. *Photosynthetica* 15, 138-144.
- Mae, T., Makino, A. and Ohira, K. (1983). Changes in the amounts of ribulose-1,5-biphosphaat carboxylase synthesized and degraded during

the life span of rice leaf (*Oryza sativa* L.). *Plant and Cell Physiology* 24, 1079(*Oryza sativa* L.). *Plant and Cell Physiology* 24, 1079-1086.

Mae, T. and Ohira, K. (1981). The remobilization of nitrogen related to leaf growth and senescence in rice plants (*Oryza sativa* L.). *Plant and Cell physiology* 22, 1067-1074.

Mahon, J.D. and Child, J.J. (1979). Growth response of inoculated peas (*Pisum sativum*) to combined nitrogen. *Canadian Journal of Botany* 57, 1687-1693.

Makino, A., Tadahiko, M. and Ohira, K. (1983). Photosynthesis and ribulose-1,5-biphosphate carboxylase in rice leaves. Changes in photosynthesis and enzymes involved in carbon assimilation from leaf development through senescence. *Plant Physiology* 73, 1002-1007.

Makino, A., Mae, T. and Ohira, K. (1984a). Relation between nitrogen and ribulose-1,5-biphosphaat carboxykase in rice leaves from emergence through senescence. *Plant and Cell Physiology* 25, 429-437.

Makino, A., Mae, T. and Ohira, K. (1984b). Changes in photosynthetic capacity in rice leaves from emergence through senescence. Analysis from ribulose-1,5-biphosphate carboxylase and leaf conductance. *Plant and Cell Physiology* 25, 511-521.

Manhart, J.R. and Wong, P.P. (1980). Nitrate effect on nitrogen fixation (acetylene reduction). Activities of legume root nodules induced by Rhizobia with varied nitrate reductase activities. *Plant Physiology* 65, 502-505.

Mattson, M., Lundborg, T. and Larsson, C.M. (1988). Nitrate utilization in barley: relations to nitrate supply and light/dark cycles. *Physiologia Plantarum* 73, 380-386.

McAlister, D.F. and Krober, O.A. (1958). Response of soybeans to leaf and pod removal. *Agronomy Journal* 50, 674-677.

Mederski, J.H. and Streeter, J.G. (1977). Continuous, automated acetylene reduction assays using intact plants. *Plant Physiology* 59, 1076-1081.

Mesdag, J. (1979). Genetic variation in grain yield and protein content of spring wheat (*Triticum aestivum* L.). In: *Crop physiology and cereal breeding, Proceedings of a Eucarpia workshop* (Ed. by J.H.J. Spiertz and T. Kramer), p. 166-167, Pudoc, Wageningen.

Minchin, F.R. and Pate, J.S. (1973). The carbon balance of a legume and the functional economy of its root nodules. *Journal of Experimental Botany* 24, 259-271.

Minchin, F.R. and Summerfield, R.J. (1978). Potential yield improvement in cowpea (*Vigna unguiculata*): the role of nitrogen nutrition. *Annals of Applied Biology* 88, 468-473.

- Minchin, F.R., Summerfield, R.J., Hadley, P., Roberts, E.H. and Rawsthorne, S. (1981). Carbon and nitrogen nutrition of nodulated roots of grain legumes. *Plant, Cell and Environment* 4, 5-26.
- Morgan, J.A. (1988). Growth and canopy carbon dioxide exchange rate of spring wheat as affected by nitrogen status. *Crop Science* 28, 95-100.
- Munns, D.N. (1968). Nodulation of *Medicago sativa* in solution culture. III. Effects of nitrate on root hairs and infection. *Plant and Soil* 29, 33-47.
- Nelson, L.M. and Edie, S.A. (1988). Effect of nitrate on nitrogen fixation and nodule carbohydrate and organic acid concentrations in pea mutants deficient in nitrate reductase. *Physiologia Plantarum* 73, 534-540.
- Neves, M.C.P., Minchin, F.R. and Summerfield, R.J. (1981). Carbon metabolism, nitrogen assimilation and seed yield of cowpea (*Vigna unguiculata*) plants dependent on nitrate-nitrogen or on one or two strains of *Rhizobium*. *Tropical Agriculture* 58, 115-132.
- Nicolas, M.E., Gleadow, R.M. and Dalling M.J. (1984). Effects of drought and high temperature on grain growth in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* 11, 553-566.
- Noel, K.D., Carneol, M. and Brill, W.J. (1982). Nodule protein synthesis and nitrogenase activity of soybeans exposed to fixed nitrogen. *Plant Physiology* 70, 1236-1241.
- Nooden, L.D., Kahanak, G.M. and Okatan, Y. (1979). Prevention of monocarpic senescence in soybeans with auxin and cytokinin: An antidote for self-destruction. *Science* 206, 841-843.
- Nooden, L.D., Rupp, D.C. and Derman, B.D. (1978). Separation of seed development from monocarpic senescence in soybeans. *Nature* 271, 354-357.
- Oghoghorie, C.G.O. and Pate, J.S. (1971). The nitrate stress syndrome of the nodulated field pea (*Pisum arvense* L.). Techniques for measurement and evaluation in physiological terms. *Plant and Soil*, special volume, 185-202.
- Ojima, M., Fukui, J. and Watanable, I. (1965). Studies on the seed production of soybean. II. Effect of three major nutrients supply and leaf age on the photosynthetic activity and diurnal changes in photosynthesis of soybean under constant temperature and light intensity. *Proceedings of Crop Science Society of Japan* 33, 437-442.
- Pate, J.S. and Dart, P.J. (1961). Nodulation studies in legumes. IV. The influence of inoculum strain and time of application of ammonium nitrate on symbiotic response. *Plant and Soil* 15, 329-346.
- Pate, J.S. and Flinn, A.M. (1973). Carbon and nitrogen transfer from vegetative organs to ripening seeds of field pea (*Pisum arvense*

- L.). *Journal of Experimental Botany* 24, 1090-1099.
- Pate, J.S. and Herridge, D.F. (1978). Partitioning and utilization of net photosynthate in a nodulated annual legume. *Journal of Experimental Botany* 29, 401-412.
- Pate, J.S. and Minchin, F.R. (1980). Comparative studies of carbon and nitrogen nutrition of selected grain legumes. In: *Advances in legume science* (Ed. by R.J. Summerfield and A.H. Bunting), p. 105-114.
- Pate, J.S., Peoples, M.B. and Atkins, C.A. (1984). Spontaneous phloem bleeding from cryopunctured fruits of a uriede-producing legume. *Plant Physiology* 74, 499-505.
- Pate, J.S. and Wallace, W. (1964). Movement of assimilated nitrogen from the root system of the field pea (*Pisum arvense* L.). *Annals of Botany* 28, 83-99.
- Peat, J.R., Minchin, F.R., Jeffcoat, B. and Summerfield, R.J. (1981). Young reproductive structures promote nitrogen fixation in soya bean. *Annals of Botany* 48, 177-182.
- Penning de Vries, F.W.T. (1975). The costs of maintenance processes in plant cells. *Annals of Botany* 39, 77-92.
- Penning de Vries, F.W.T. (1983). Bioenergetics of growth of seeds, fruits and storage organs. *Proceedings Symposium Potential Productivity of Field Crops under different Environments, 1980*. International Rice Research Institute, Manila, Phillippines.
- Peoples, M.B., Pate, J.S. and Atkins, C.A. (1985). The effect of nitrogen source on transport and metabolism of nitrogen in fruiting plants of cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.). *Journal of Experimental Botany* 36, 567-582.
- Racusen, D. and Foote, M. (1965). Protein synthesis in dark-grown bean leaves. *Canadian Journal of Botany* 43, 817-824.
- Ralston, E.J. and Imsande, J. (1978). Nodulation of hydroponically grown soybean plants and inhibition of nodule development by nitrate. *Journal of Experimental Botany* 34, 1371-1378.
- Ramon Garcia, L. and Hanway, J.J. (1976). Foliar fertilization of soybeans during the seed-filling period. *Agronomy Journal* 68, 653-657.
- Richards, J.E. and Soper, R.J. (1979). Effect of N fertilizer on yield, protein content, and symbiotic N fixation in fababeans. *Agronomy Journal* 71, 807-811.
- Ryle, G.J.A., Powell, C.E. and Gordon A.J. (1978). Effect of source of nitrogen on the growth of Fiskeby soya bean: The carbon economy of whole plants. *Annals of Botany* 42, 637-648.



- Ryle, G.J.A., Powell, C.E. and Gordon A.J. (1979a). The respiratory costs of nitrogen fixation in soyabean, cowpea and white clover. I. Nitrogen fixation and the respiration of the nodulated root. *Journal of Experimental Botany* 30, 135-144.
- Ryle, G.J.A., Powell, C.E. and Gordon, A.J. (1979b). The respiratory costs of nitrogen fixation in soyabean, cowpea and white clover. II. Comparisons of the cost of nitrogen fixation and the utilization of combined nitrogen. *Journal of Experimental Botany* 30, 145-153.
- Schreyer-Lindoo, S. and Nooden, L.D. (1974). Studies on the control of monocarpy in soybeans. *Plant Physiology* 53, S-61.
- Schreyer-Lindoo, S. and Nooden, L.D. (1975). Screening nutrients and growth promoters or inhibitors for ability to mimic or antagonize the death signal in soybeans. *Plant Physiology* 56, S-83.
- Schroeder, H.E. (1984). Effects of applied growth regulators on pod growth and seed protein composition in *Pisum sativum* L. *Journal of Experimental Botany* 35, 813-821.
- Schubert, K.R., Engelke, J.A., Sterling, A.R. and Evans, A.J. (1977). Hydrogen reactions of nodulated leguminous plants. I. Effect of rhizobial strain and plant age. *Plant Physiology* 60, 651-654.
- Sheehey, J.E. (1983). Relationships between senescence, photosynthesis, nitrogen fixation and seed filling in soya bean *Glycine max* (L.) Merr. *Annals of Botany* 51, 679-682.
- Sinclair, T.R. (1980). Leaf CER from post-flowering to senescence of field-grown soybean cultivars. *Crop Science* 20, 196-200.
- Sinclair, T.R., Lugg, D.G. and Spaeth, S.C. (1980). Comparative fixation and utilization of carbon and nitrogen among soybeans genotypes. In: *Advances in legume science* (Ed by R.J. Summerfield and A.H. Bunting), p. 313-322.
- Sinclair, T.R. and de Wit, C.T. (1975). Photosynthate and nitrogen requirements for seed production by various crops. *Science* 189, 565-567.
- Sinclair, T.R. and de Wit, C.T. (1976). Analysis of the carbon and nitrogen limitations to soybean yield. *Agronomy Journal* 68, 319-324.
- Sloger, C. (1969). Symbiotic effectiveness and N<sub>2</sub>-fixation in nodulated soybean. *Plant Physiology* 44, 1666-1668.
- Small, J.G.C. and Leonard, O.A. (1969). Translocation of <sup>14</sup>C-labeled photosynthate in nodulated legumes as influenced by nitrate nitrogen. *American Journal of Botany* 56, 187-194.
- Smirnoff, N. and Stewart, G.R. (1985). Nitrate assimilation and translocation by higher plants: comparative physiology and ecological consequences. *Physiologia Plantarum* 64, 133-140.

- Smirnoff, N., Todd, P. and Stewart, G.R. (1984). The occurrence of nitrate reduction in the leaves of woody plants. *Annals of Botany* 54, 363-374.
- Smith, L.A., Hill, S. and Yates, M.G. (1976). Inhibition by acetylene of conventional hydrogenase in nitrogen-fixing bacteria. *Nature* 262, 209-210.
- Sofield, I., Evans, L.T., Cook, M.G. and Wardlaw, I.T. (1977). Factors influencing the rate and duration of grain filling in wheat. *Australian Journal of Plant Physiology* 4, 785-797.
- Spiertz, J.H.J. (1974). Grain growth and distribution of dry matter in the wheat plant as influenced by temperature, light energy and ear size. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 22, 207-220.
- Spiertz, J.H.J. and Ellen, J. (1978). Effects of nitrogen on crop development and grain growth of winter wheat in relation to assimilation and utilization of assimilates and nutrients. *Netherlands Journal of Agricultural Science* 26, 210-231.
- Spiertz, J.H.J. and Haar, H. van de (1978). Differences in grain growth, crop photosynthesis and distribution of assimilates between a semi-dwarf and a standard cultivar of winter wheat. *Netherlands Journal of Agricultural Science*, 26, 233-249.
- Sprent, J.I. (1972). The effects of water stress on nitrogen-fixing root nodules. IV. Effects on whole plants of *Vicia faba* and *Glycine max*. *New Phytologist* 71, 603-611.
- Sprent, J.I. (1980). Root nodule anatomy, type of export product and evolutionary origin in some leguminosae. *Plant, Cell and Environment* 3, 35-43.
- Sprent, J.I. and Bradford, A.M. (1977). Nitrogen fixation in field beans (*Vicia faba*) as affected by population density, shading and its relationship with soil moisture. *Journal of Agricultural Science* 88, 303-310.
- Sprent, J.I., Bradford, A.M. and Gallacher, A.E. (1978). Factors affecting nodulation and nitrogen fixation by *Vicia faba*. *Annals of Applied Biology* 88, 473-476.
- Stephens, B.D. and Neyra, C.A. (1983). Nitrate and nitrite reduction in relation to nitrogenase activity in soybean nodules and *Rhizobium japonicum* bacteroids. *Plant Physiology* 71, 731-735.
- Stol, W, Groot, J.J.R. en Keulen, van H. (1988). Resultaten van bemestingsproeven ter verificatie van een experimenteel N-balansmodel voor wintertarwe. CABO-verslag 93.
- Streeter, J.G. (1978). Effect of N starvation of soybean plants at various stages of growth on seed yield and N concentration of plant parts at maturity. *Agronomy Journal* 70, 74-76.

Streeter, J.G. (1981). Effect of nitrate in the rooting medium on carbohydrate composition of soybean nodules. *Plant Physiology* 68, 840-844.

Streeter, J.G. (1982). Synthesis and accumulation of nitrite in soybean nodules supplied with nitrate. *Plant Physiology* 69, 1429-1434.

Streeter, J.G. (1985a). Nitrate inhibition of legume nodule growth and activity. I. Long term studies with a continuous supply of nitrate. *Plant Physiology* 77, 321-324.

Streeter, J.G. (1985b). Nitrate inhibition of legume nodule growth and activity. II. Short term studies with high nitrate supply. *Plant Physiology* 77, 325-328.

Summerfield, R.J., Dart, P.J., Huxley, P.A., Eaglesham, A.R.J., Minchin, F.R. and Day, J.M. (1977). Nitrogen nutrition of cowpea (*Vigna unguiculata*). I. Effects of applied nitrogen and symbiotic nitrogen fixation on growth and seed yield. *Experimental Agriculture* 13, 129-142.

Sutherland, J.M., Andrews, M., McInray, S. and Sprent, J.I. (1985). The distribution of nitrate assimilation between root and shoot in *Vicia faba* L. *Annals of Botany* 56, 259-263.

Takano, Y. and Tsunoda, S. (1971). Curvilinear regression of the leaf photosynthetic rate on leaf nitrogen content among strains of *Oryza* species. *Japan. J. Breed.* 21, 69-76.

Taylor, J.D., Day, J.M. and Dudley, C.L. (1983). The effect of *Rhizobium* inoculation and nitrogen fertiliser on nitrogen fixation and seed yield of dry beans (*Phaseolus vulgaris*). *Annals of Applied Biology* 103, 419-429.

Thibodeau, P.S. and Jaworski, E.G. (1975). Patterns of nitrogen utilization in the soybean. *Planta* 127, 133-147.

Thomas, S.M., Hall, N.P. and Merrett, M.J. (1978). Ribulose-1,5-biphosphate carboxylase/oxygenase activity and photorespiration during the ageing of flag leaves of wheat. *Journal of Experimental Botany* 29, 1161-1168.

Thomas, S.M. and Thorne, G.N. (1975). Effect of nitrogen fertilizer on photosynthesis and ribulose-1,5-diphosphate carboxylase activity in spring wheat in the field. *Journal of Experimental Botany* 26, 43-51.

Vest, G., Weber, D.F. and Sloger, C. (1973). Nodulation and nitrogen fixation. In: *Soybeans: Improvement, production and uses* (Ed. by B.E. Caldwell, R.W. Howell and H.W. Johnson), p. 353-390, American Society of Agronomy, Madison, Wisconsin.

Wallace, W. and Pate, J.S. (1965). Nitrate reductase in the field pea (*Pisum arvense* L.). *Annals of Botany* 29, 655-671.

- Waters, S.P., Peoples, M.B., Simpson, R.J. and Dalling, M.J. (1980). Nitrogen redistribution during grain growth in wheat (*Triticum aestivum* L.). I. Peptide hydrolase activity and protein breakdown in the flag leaf, glumes and stem. *Planta* 148, 422-428.
- Weaver, R.W. and Morris, D.R. (1982). Mobilization of labelled N in soybean leaves during early podfill. *Journal of Plant Nutrition* 5, 1099-1108.
- Weil, R.R. and Ohlrogge, A.J. (1972). The seasonal development of and the effect of inter-plant competition on soybean nodules. *Agronomy Abstracts*, p. 39.
- Welbank, P.J., Gibb, M.J., Taylor, P.J. and Williams, E.P. (1974). Root growth of cereal crops. Rothamsted Experimental Station, Report for 1973, part 2, 26-66.
- Wells, R., Ashley, D.A. and Boerma, H.R. (1986a). Physiological comparisons of two soybean cultivars differing in canopy photosynthesis. I. Variation in vertical  $^{14}\text{CO}_2$  labelling and dry weight partitioning. *Photosynthesis Research* 9, 285-294.
- Wells, R., Ashley, D.A., Boerma, H.R. and Reger, B.J. (1986b). Physiological comparisons of two soybean cultivars differing in canopy photosynthesis. II. Variation in specific leaf weight, nitrogen and protein components. *Photosynthesis Research* 9, 295-304.
- Wells, R., Schulze, L.L., Ashley, D.A., Boerma, H.R. and Brown, R.H. (1982). Cultivar differences in canopy apparent photosynthesis and their relationship to seed yield in soybeans. *Crop Science* 22, 886-890.
- Wittenbach, V.A. (1978). Breakdown of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase and changes in proteolytic activity during dark-induced senescence of wheat seedlings.
- Wittenbach, V.A. (1979). Ribulose biphosphate carboxylase and proteolytic activity in wheat leaves from anthesis through senescence. *Plant Physiology* 64, 884-887.
- Wittenbach, V.A., Ackerson, R.C., Giaquinta, R.T. and Hebert, R.R. (1980). Changes in photosynthesis, ribulose biphosphate carboxylase, proteolytic activity and ultrastructure of soybean leaves during senescence. *Crop Science* 20, 225-231.
- Wong, P.P. (1977). Effects of nitrate and carbohydrates on nitrogen fixation activity of legume root nodules. *Plant Physiology* 60, 868-871.
- Wong, P.P. (1980). Nitrate and carbohydrate effects on nodulation and nitrogen fixation (acetylene reduction) activity of lentil (*Lens esculenta* Moench). *Plant Physiology* 66, 78-81.
- Yoshida, S. and Coronel, V. (1976). Nitrogen nutrition, leaf resistance and leaf photosynthetic rate of the rice plant. *Soil*

Science and Plant Nutrition 22, 207-211.

Young, J.P.W. (1982). The time course of nitrogen fixation, apical growth and fruit development in peas. *Annals of Botany* 49, 135-139.

Zeiger, C., Egli, D.B., Leggett, J.E. and Reicosky, D.A. (1982). Cultivar differences in N redistribution in soybeans. *Agronomy Journal* 74, 375-379.