

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2011.05.019

## 内生固氮菌对甘蔗伸长期光合生理特性的影响

吴凯朝<sup>1,2</sup>, 梁俊<sup>2</sup>, 韦莉萍<sup>2</sup>, 罗霆<sup>1,2</sup>,  
邢永秀<sup>1,2</sup>, 李杨瑞<sup>1,2</sup>, 杨丽涛<sup>1,2\*</sup>

(1. 广西大学/广西亚热带生物资源保护和利用重点实验室, 南宁 530005; 2. 广西甘蔗遗传改良重点实验室/  
中国农业科学院甘蔗研究中心/广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁 530007)

**摘要:** 利用联合生物固氮是有效降低甘蔗生产成本的途径之一。在温室无氮栽培条件下, 将内生固氮菌株 A01 分别接种到 6 个不同基因型甘蔗(GT24、GT9、YC84/153、GT18、CP65/357 和 F172)中, 在甘蔗伸长期测定+1 叶片的叶绿素含量(叶绿素 a、叶绿素 b)、光合作用参数净光合速率( $P_n$ )、胞间  $CO_2$  浓度( $C_i$ )、气孔导度( $G_s$ )和蒸腾速率( $T_r$ )和叶绿素荧光参数( $F_v/F_m$  和  $\phi PSIIR$ ), 探讨内生固氮菌 A01 对不同基因型甘蔗光合生理特性的影响。结果表明, 接种内生固氮菌 A01 对叶绿素含量、净光合速率、气孔导度、蒸腾速率在不同程度上有促进的效应; 在暗适应下, 对  $F_v/F_m$  有一定的抑制效应, 但在光适应下, 能提高 PSII 量子效率( $\phi PSIIR$ )。

**关键词:** 甘蔗; 内生固氮菌; 光合作用; 叶绿素荧光

中图分类号: S566.101 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2011)05-0668-06

## Effects of nitrogen fixing bacteria on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in sugarcane at elongating stage

WU Kai-Chao<sup>1,2</sup>, LIANG Jun<sup>2</sup>, WEI Li-Ping<sup>2</sup>, LUO Ting<sup>1,2</sup>,  
XING Yong-Xiu<sup>1,2</sup>, LI Yang-Rui<sup>1,2</sup>, YANG Li-Tao<sup>1,2\*</sup>

(1. Guangxi Key Lab of Subtropical Bioresource Conservation and Utilization, Guangxi University, Nanning 530005, China; 2. Guangxi Key Lab of Sugarcane Genetic Improvement/Sugarcane Research Center of Chinese Academy of Agricultural Sciences/Guangxi Crop Genetic Improvement and Biotechnology Lab, Nanning 530007, China)

**Abstract:** Use of biological nitrogen fixing organisms is an effective approach to reduce the high cost of nitrogen fertilizer in sugarcane production system. The present experiment was conducted to investigate the effects of using nitrogen fixing bacteria (strain A01) on photosynthetic characteristics of different sugarcane genotypes during elongating stage. Six sugarcane varieties, viz., GT24, GT9, YC84/153, GT18, CP65/357 and F172 were grown under nitrogen-free conditions in greenhouse. The endophytic nitrogen fixing bacteria was inoculated to sugarcane plants during seedling stage. And the chlorophyll content, photosynthetic rate ( $P_n$ ), intercellular  $CO_2$  concentration ( $C_i$ ), stomatal conductance ( $G_s$ ), transpiration rate ( $T_r$ ), maximum quantum yield of PSII ( $F_v/F_m$ ) and actual photochemical efficiency of

收稿日期: 2010-12-23 修回日期: 2011-06-01

基金项目: 国家自然科学基金(30660085); 国家科技支撑计划项目(2007BAD30B00); 科技部国际合作项目(2008DFA30600、2009DFA30820); 农业部“948”项目(2009-Z8); 广西自然科学基金(桂科基 0778006-5); 广西科技攻关重点项目(桂科攻 0782004、桂科攻 0895003-2、桂科攻 0992021-2); 广西科技攻关项目(桂科能 0815011); 广西农业科学院基本科研业务专项 [200833(基)] [Supported by the National Natural Science Foundation of China (30660085); the National Key Technology R & D Program(2007BAD30B00); the International S & T Cooperation Program of the Ministry of Science and Technology, China(2008DFA30600, 2009DFA30820); the “948”Program of the Ministry of Agriculture, China (2009-Z8); the Natural Science Foundation of Guangxi Province, China (Guikiji 0778006-5); the Key Technologies R & D Program of Guangxi, China (Guikiji 0782004, Guikiji 0895003-2, Guikiji 0992021-2); the Technologies R & D Program of Guangxi, China (Guikiji 0815011); the Basic Scientific Research Profession Specific Program of Guangxi Academy of Agricultural Sciences(200833(Ji))]

作者简介: 吴凯朝(1979-), 男, 广西贵港人, 博士研究生, 助理研究员, 主要从事甘蔗分子育种研究。

\*通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: liyr@gxu.edu.cn)

PSII( $\phi$ PSIIR) were measured in +1 leaves of sugarcane during elongating stage. The results showed that the nitrogen fixing bacteria increased the chlorophyll content,  $Pn$ ,  $Gs$  and  $Tr$  in the leaves of all the six sugarcane varieties. The chlorophyll fluorescence parameters such as  $Fv/Fm$  ratio was regulated in certain degree under dark adaptation, but  $\phi$ PSIIR was significantly enhanced in plants inoculated with the bacteria. The results suggested high utilization efficiency of nitrogen fixed by the endophytic bacterium.

**Key words:** sugarcane; biological nitrogen fixation; photosynthesis; chlorophyll fluorescence

氮素是甘蔗生长需求量最大的矿质营养元素之一,同时也是甘蔗生长最常见的限制因子。缺氮使甘蔗体内一系列生理过程,如蛋白质的合成、光合作用、呼吸作用等遭到不同程度的破坏,最终影响甘蔗产量的形成。在我国,80%甘蔗种植在干旱坡地上,土壤肥力低,每年需施用大量氮肥,不仅生产成本投入高,而且对土壤和环境造成重大污染。此外,我国甘蔗栽培氮肥施用量( $500\sim 700\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ )明显偏高,是巴西蔗区( $40\sim 60\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ )的10倍以上,但蔗茎单产( $65\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ )却远低于巴西( $80\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ ),这也是我国甘蔗生产成本比国外偏高的主要原因之一。1991年,Boddey等首先通过 $^{15}\text{N}$ 同位素示踪技术证明,接种内生固氮菌后可以满足甘蔗生长所需氮素的60%~80%,甚至可以免施氮肥。所以在甘蔗生产上,若能接种具有高效固氮作用的内生固氮菌至甘蔗栽培品种中并发挥固氮作用,将能大幅度降低甘蔗生产中氮肥的施用量,减少生产成本投入,提高我国蔗糖业的竞争力。

从Döbereiner等(1961)首次从甘蔗根分离到内生固氮菌至今,在全世界的各个甘蔗生产区的不同基因型甘蔗上分离到具有固氮能力的固氮菌,已知分离到的固氮菌包括螺菌、杆菌、弧菌等多种类型(Xing等,2006;Loiret等,2004;Caballero等,2006;罗霆等,2010a)。近年来,我国甘蔗内生固氮菌的研究也取得较大进展,包括固氮甘蔗品种引进(谭裕模等,2002;王伦旺等,2002),甘蔗内生固氮菌的分离和鉴定(苏俊波等,2007),以及甘蔗内生固氮菌在生产应用上的研究(罗霆等,2010b)。关于接种内生固氮菌的研究已表明,接种内生固氮菌株对甘蔗各器官固氮酶活性具有促进作用(黄杏等,2009;欧阳雪庆等,2010),对甘蔗器官生长有积极的诱导效应,促进甘蔗的生长(Bellone等,1997)。在温室无氮栽培条件下,接种内生固氮菌可在不同程度上促进不同基因型甘蔗植株的生长,增加株高、茎径、平均节间长度以及甘蔗的单茎重(吴凯朝等,2010)。但关于接种内生固氮菌对甘蔗光合特性及叶绿素荧光参数方面的研究报道甚少。本研究在前人研究的基础

上,将内生固氮菌株A01(*Pantoea agglomeras*)通过伤口直接浸染接种到不同基因型甘蔗幼苗中,在甘蔗大伸长期(6~7月)测定叶片叶绿素含量、光合作用参数和叶绿素荧光参数,探讨甘蔗内生固氮菌对不同基因型甘蔗的光合生理特性的影响,为甘蔗内生固氮菌在生产上推广应用提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试材料为6个不同基因型甘蔗品种:GT24、GT9、YC84/153、GT18、CP65/357和F172。供试的内生固氮菌菌种为成团泛菌A01(*Pantoea agglomeras*),从GT28根部分离获得,由中国农业科学院甘蔗研究中心提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 材料培养 试验于2009年2月开始进行。将6个甘蔗材料的单芽茎在52℃热水中恒温处理30min后,装入黑色塑料袋在32℃进行催芽2d。选蔗芽萌动良好的种茎在温室使用黑色塑料桶进行砂培。每桶预种5个单芽茎,出苗后定苗3株。在甘蔗幼苗3叶期后每15d施用1000mL无氮Hoagland营养液。

1.2.2 内生固氮菌培养及接种 用无氮Döbereiner液体培养基(Döbereiner,1961)在28℃恒温摇床培养内生固氮菌A01,于甘蔗幼苗3叶期(3月31日),通过伤口侵染(使用微量注射器在甘蔗基部假茎注射50 $\mu\text{L}$ 菌液)将固氮菌接种到甘蔗苗中。

1.2.3 叶绿素含量测定 参照徐华龙(1995)的混合液法。取+1叶距叶环20~30cm叶片去除中脉后剪碎混匀,称取0.2g放入刻度试管,加入混合液(丙酮:无水乙醇:水=4.5:4.5:1)至20mL,然后于暗处静置至叶片完全变白,在紫外-可见分光光度计上测定663、645nm的OD值,根据Arnon公式计算叶绿素a和叶绿素b含量。

1.2.4 光合作用参数和叶绿素荧光参数测定 应用LI-6400-02光合测定系统(美国,LI-Cor公司),在晴

天上午 9:00~12:00,各处理选取 5 株生长良好、无病虫害、叶面积相近的 +1 叶片测定净光合速率( $P_n$ )、气孔导度( $G_s$ )、胞间  $CO_2$  浓度( $C_i$ )、蒸腾速率( $T_r$ )。人工光源,光通量子密度  $2\ 000\ \mu\text{mol photos} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。用 FMS-1/2 调制式荧光仪(英国 Hansatech 公司)测定叶片叶绿素荧光参数  $F_v/F_m$  和  $\phi\text{PSIIR}$ 。用 Microsoft Excel 进行数据统计。

## 2 结果与分析

### 2.1 内生固氮菌对甘蔗叶绿素含量的影响

2.1.1 对叶绿素 a 含量的影响 叶绿素是光合作用中最重要的捕光色素。缺乏氮素,将不利于叶绿素的合成,从而影响甘蔗的光合作用及生长。由表 1 可知,在无氮素培养条件下,各甘蔗品种在接种内生固氮菌 A01 后,伸长期的叶绿素 a 含量均明显高于对照,尤其以 7 月 24 日的 GT94/116、GT9 和 F172 的促进效应更为明显,叶绿素含量比对照分别提高

达到 65.93%、33.94% 和 53.33%。表 1 还可以看出,无氮条件下,接种内生固氮菌 A01 后,各个品种叶片的叶绿素 a 含量随着生育期进程推进有很大的升高趋势,而对照的叶绿素 a 含量在 3 个测定期并没有表现出太大的差异,甚至有降低的趋势。这表明内生固氮菌 A01 很可能已接种成功,并在无氮栽培条件下,在甘蔗体内进行氮素的固定并为甘蔗所利用,从而有利于叶绿素 a 含量提高,为提高光合效率奠定了基础。

2.1.2 对甘蔗叶绿素 b 含量的影响 由表 2 可知,内生固氮菌 A01 对叶绿素 b 的含量影响与对叶绿素 a 的影响略有差异。在不施氮的培养条件下,接种内生固氮菌 A01 后,GT24、GT9、CP65/357 和 F172 的叶绿素 b 含量明显提高,特别是 GT24 和 F172,在 7 月 24 日分别提高 62.96% 和 85.71%。而 YC84/153、GT18 的叶绿素 b 含量分别在 7 月 2 日、24 日低于对照,但在其余两个测定时期叶绿素 b 的含量都明显提高。

表 1 内生固氮菌对甘蔗叶绿素 a 含量的影响  
Table 1 Effect of nitrogen fixing bacteria on Chl. a content of sugarcane

处理 Treatment	日/月(14/6)		日/月(2/7)		日/月(24/7)	
	Chl. a 含量(mg/FW)	相对对照(%)	Chl. a 含量(mg/FW)	相对对照(%)	Chl. a 含量(mg/FW)	相对对照(%)
GT24(T)	1.26±0.04	+5.00	1.33±0.03	+20.91	1.51±0.10	+65.93
GT24(CK)	1.20±0.08	—	1.10±0.07	—	0.91±0.10	—
GT9(T)	1.32±0.01	+26.77	1.36±0.00	+17.24	1.46±0.04	+33.94
GT9(CK)	1.04±0.06	—	1.16±0.03	—	1.09±0.02	—
YC84/153(T)	1.34±0.00	+4.69	1.49±0.00	+4.93	1.97±0.04	+6.49
YC84/153(CK)	1.28±0.05	—	1.42±0.02	—	1.85±0.03	—
GT18(T)	1.21±0.01	+6.14	1.33±0.01	+10.83	1.50±0.00	+2.74
GT18(CK)	1.14±0.09	—	1.20±0.02	—	1.46±0.01	—
CP65/357(T)	1.33±0.01	+8.13	1.41±0.01	+27.03	1.12±0.01	+3.70
CP65/357(CK)	1.23±0.01	—	1.11±0.01	—	1.08±0.06	—
F172(T)	1.38±0.01	+6.98	1.47±0.02	+8.09	1.84±0.07	+53.33
F172(CK)	1.29±0.03	—	1.36±0.01	—	1.20±0.05	—

### 2.2 内生固氮菌对甘蔗光合作用参数的影响

2.2.1 对甘蔗净光合速率( $P_n$ )的影响 从图 1 可知,接种后,在 6 月 13 日,GT24、YC84/153 和 F172 的净光合速率与对照无明显差异,GT18 的净光合速率略高于对照,而 GT9 及 CP65/357 明显低于对照。但在 6 月 29 日和 7 月 21 日的测定中,6 个甘蔗品种叶片的净光合速率均明显高于对照,以对 YC84/153、GT9 和 GT18 的促进效应更为明显。结果表明,接种内生固氮菌不同程度促进了各基因型甘蔗的光合作用,其中以 GT18 的效应最为稳定。

2.2.2 对甘蔗胞间  $CO_2$  浓度( $C_i$ )的影响 从图 2 可

知,在 6 月 13 日,接种了内生固氮菌的 GT24、YC84/153 和 GT18 的胞间  $CO_2$  浓度有所提高,而 GT9、CP65/357 和 F172 则表现相反,略低于对照;在 6 月 29 日,GT24、YC84/153、CP65/357 和 F172 的胞间  $CO_2$  浓度略高于对照,而 GT9 和 GT18 与对照无明显差异;在 7 月 21 日,GT24、GT9、YC84/153、GT18 和 F172 的胞间  $CO_2$  浓度均明显低于对照,CP65/357 与对照无明显差异。也就是说,内生固氮菌在不同时期对不同基因型甘蔗叶片胞间  $CO_2$  浓度的效应存在差异性。

2.2.3 对甘蔗气孔导度( $G_s$ )的影响 由图 3 可知,

表 2 内生固氮菌对甘蔗叶绿素 b 含量的影响  
Table 2 Effect of nitrogen fixing bacteria on Chl. b content of sugarcane

处理 Treatment	6 月 14 日 June 14th		7 月 2 日 July 2th		7 月 24 日 July 24th	
	Chl. b 含量(mg/FW)	相比如对照(%)	Chl. b 含量(mg/FW)	相比如对照(%)	Chl. b 含量(mg/FW)	相比如对照(%)
GT24(T)	0.43±0.02	+4.88	0.46±0.04	+43.75	0.44±0.03	+62.96
GT24(CK)	0.41±0.02	—	0.32±0.03	—	0.27±0.02	—
GT9(T)	0.49±0.04	+58.06	0.43±0.02	+38.71	0.37±0.01	+37.04
GT9(CK)	0.31±0.02	—	0.31±0.01	—	0.27±0.01	—
YC84/153(T)	0.56±0.03	+5.66	0.55±0.03	-6.78	0.53±0.02	+1.92
YC84/153(CK)	0.53±0.02	—	0.59±0.00	—	0.52±0.01	—
GT18(T)	0.41±0.00	+10.81	0.43±0.02	+19.44	0.36±0.00	-2.70
GT18(CK)	0.37±0.07	—	0.36±0.01	—	0.37±0.00	—
CP65/357(T)	0.50±0.01	+13.64	0.43±0.02	+43.33	0.29±0.00	+3.57
CP65/357(CK)	0.44±0.04	—	0.30±0.01	—	0.28±0.01	—
F172(T)	0.53±0.00	+3.92	0.48±0.02	+9.09	0.52±0.02	+85.71
F172(CK)	0.51±0.06	—	0.44±0.02	—	0.28±0.09	—

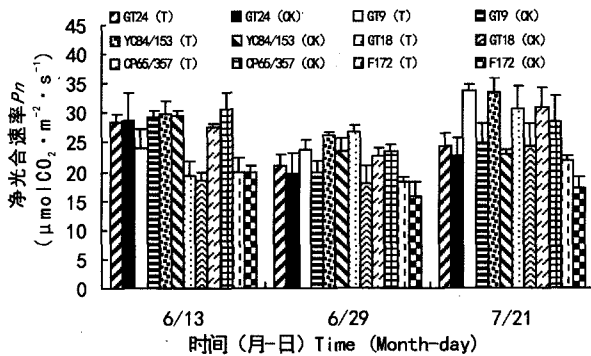


图 1 内生固氮菌对甘蔗叶片净光合速率的影响  
Fig. 1 Effect of nitrogen fixing bacteria on  $P_n$  in leaves of sugarcane

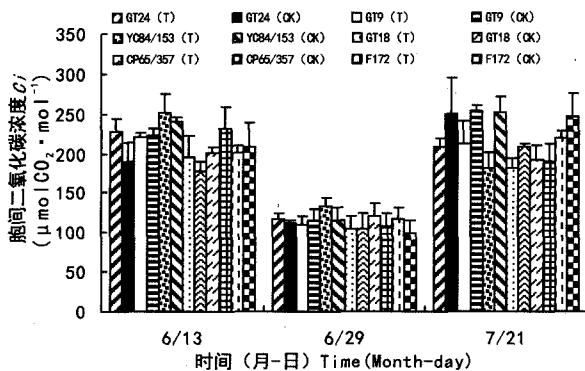


图 2 内生固氮菌对甘蔗叶片胞间二氧化碳浓度的影响  
Fig. 2 Effect of nitrogen fixing bacteria on  $C_i$  in leaves of sugarcane

在甘蔗伸长期的 3 个测定期, 内生固氮菌均明显提高了 GT18、CP65/357 和 F172 的叶片气孔导度; 在

后两个测定期内生固氮菌对 GT24、GT9 和 YC84/153 的叶片气孔导度也有明显促进效应。内生固氮菌对甘蔗叶片气孔导度的提高效应与对净光合速率的效应较为相似。

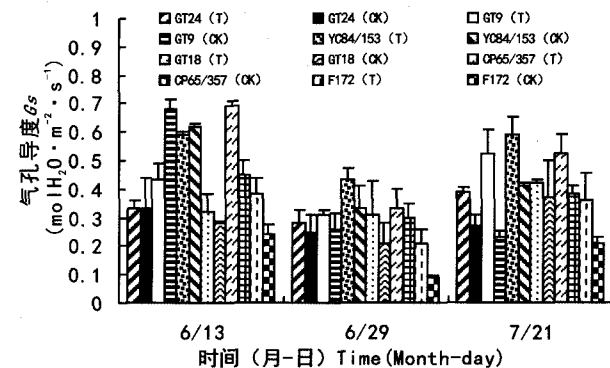


图 3 内生固氮菌对甘蔗叶片气孔导度的影响  
Fig. 3 Effect of nitrogen fixing bacteria on  $G_s$  in leaves of sugarcane

2.2.4 对蒸腾速率( $T_r$ )的影响 蒸腾速率大小体现植物个体运输动力的强弱。由图 4 可知, 在甘蔗早期生长各个时期, 接种内生固氮菌使不同基因型甘蔗的蒸腾速率均明显提高, 尤以对 F172 的促进效应最明显。

### 2.3 内生固氮菌对甘蔗叶绿素荧光参数的影响

2.3.1 对不同基因型甘蔗  $F_v/F_m$  的影响  $F_v/F_m$  是暗适应下 PSII 最大光化学量子效率, 是植物受逆境胁迫最为敏感的生理指标之一。由图 5 看出, 在 6 月 14 日, 接种内生固氮菌的 GT24、YC84/153、GT18 和 F172 的叶片  $F_v/F_m$  高于对照, 随后两个测定期各甘蔗品种的  $F_v/F_m$  均略低于对照。结果

表明,内生固氮菌使甘蔗叶片 PSII 最大量子效率潜能受到了一定影响。

2.3.2 对  $\phi$ PSIIR 的影响  $\phi$ PSIIR 为光适应下 PSII 量子效率,更能体现光照下植物 PSII 的潜能。从图 6 可以看出,在不同时期,内生固氮菌都明显提高甘蔗叶片  $\phi$ PSIIR。显然,内生固氮菌对光照条件下甘蔗叶片的 PSII 量子效率有明显的促进效应,尤以 GT18 和 F172 最为明显。

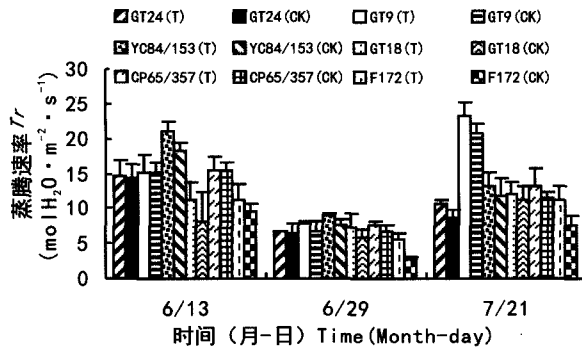


图 4 内生固氮菌对甘蔗叶片蒸腾速率的影响  
Fig. 4 Effect of nitrogen fixing bacteria on  $T_r$  in leaves of sugarcane

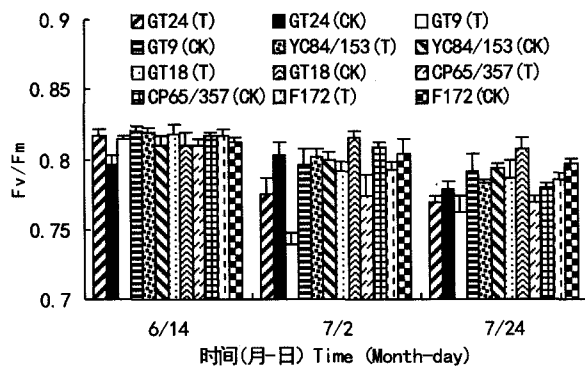


图 5 内生固氮菌对甘蔗叶片  $F_v/F_m$  的影响  
Fig. 5 Effect of nitrogen fixing bacteria on  $F_v/F_m$  in leaves of sugarcane

### 3 讨论

光合作用是绿色植物生长的前提基础。本研究结果表明,在无氮栽培条件下,接种内生固氮菌对甘蔗大伸长期叶片的叶绿素含量、净光合速率、气孔导度、蒸腾速率有不同程度促进作用。而甘蔗叶片的净光合速率大小是衡量植物个体光合作用能力强弱

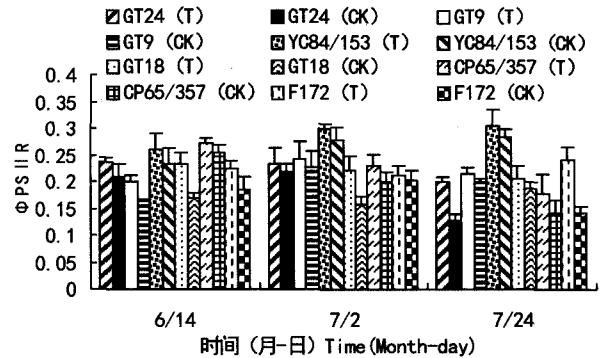


图 6 内生固氮菌对甘蔗叶片  $\phi$ PSIIR 的影响  
Fig. 6 Effect of nitrogen fixing bacteria on  $\phi$ PSIIR in leaves of sugarcane

的重要指标,其影响因子主要为  $C_i$ 、 $G_s$  和  $T_r$ ,在光合作用过程中,这些因子相互协调、协同发挥作用。梁俊等(2005)研究表明,在无氮栽培条件下,巴西固氮品种的光合作用参数明显高于本地栽培品种。本试验结果也得出,不同品种甘蔗在接种内生固氮菌株 A01 后,叶片净光合速率  $P_n$  均明显提高,这可能是为  $C_i$ 、 $G_s$  和  $T_r$  相互协调、协同发挥作用的结果。叶绿素荧光参数也是体现植物光合作用潜力的重要指标,特别是暗适应下和光适应下 PSII 的光量子效率。Horton 等(1994)研究表明,植物在光照条件下,光合作用机构较暗适应条件下会发生变化,非光化学竞争过程也在进行,在能量到达作用中心之前导致天线能量非光学耗散。因此可以认为,接种内生固氮株 A01 后,甘蔗光适应的 PSII 的光量子效率潜能提高,对甘蔗光合作用更为有利。

内生固氮菌株接入甘蔗后,它以甘蔗为寄主,以其所固定的氮素为甘蔗提供氮源。研究表明,甘蔗的内生固氮菌可以满足甘蔗生长所需氮素的 60%~80% (Boddey 等, 1991), 可明显促进甘蔗生长 (Bellone 等, 1997)。之前的研究结果也表明,在无氮栽培条件下内生固氮菌对 F172 株高的促进效应可达到 100 cm (吴凯朝等, 2010)。这些结果暗示,在无氮栽培条件下接种内生固氮菌后,内生固氮菌与甘蔗联合固氮,可为甘蔗生长提供所需的氮素,表现为叶片叶绿素含量提高,叶片光合作用各参数和叶绿素荧光参数都有所改善和提高,为光合作用的提高奠定了基础;另一方面,内生固氮菌以甘蔗为寄主,在甘蔗体内各个器官分布,可能影响甘蔗体内的生态环境,从而对甘蔗体内导管运输和叶片表面气

孔开闭起到调节作用,进而影响甘蔗光合作用。本研究结果还表明,内生固氮菌对不同基因型甘蔗的光合作用有一定的促进效应,但在不同品种间的光合生理效应存在差异,这可能与内生固氮菌与寄主之间的适应性有关,还需进一步探讨。

在我国甘蔗生产中,氮肥施用量偏高是甘蔗生产成本高于国外的主要因素之一,明显降低了我国蔗糖业在国际市场的竞争力。通过接种内生固氮菌的生物固氮方式减少氮肥的施用量,降低我国甘蔗生产成本投入,对提高甘蔗产量和蔗糖业的可持续发展具有重要意义。由于研究还处于初步阶段,各种有关基础研究工作仍需进行,尤其是各种高效固氮菌与我国蔗区的气候条件、寄主的适应性、栽培措施以及施肥等的关系需要进行更为深入的探讨研究,以更好为在甘蔗生产上推广使用内生固氮菌提供参考。

#### 参考文献:

- 徐华龙. 1995. 混合液法测定茶树叶片叶绿素含量[J]. 龙岩师专学报·自然科学版, **13**(3):94-95
- Baldani JI, Caruso L, Baldani VLD, et al. 1997. Recent advances in BNF with non-legume plants [J]. *Soil Biol Biochem*, **29**(5-6):911-922
- Bellone CH, de Bellone SDVC, Pedraza RO, et al. 1997. Cell colonization and infection thread formation in sugar cane roots by *Acetobacter diazotrophicus* [J]. *Soil Biol Biochem*, **29**:965-967
- Boddey RM, Urquiga S, Reis V, et al. 1991. Biological nitrogen fixation associated with sugar cane [J]. *Plant Soil*, **137**:111-117
- Caballero-Mellado J, Martinez-Aguilar L, Paredes-Valdez G, et al. 2004. *Burkholderia unamae* sp. nov, an N<sub>2</sub>-fixing rhizospheric and endophytic species [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, **54**(4):1 165-1 172
- Döbereiner J. 1961. Nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia* Derx in the rhizosphere of sugar cane [J]. *Plant Soil*, **15**(4):211-216
- Hang X(黄杏), Yang LT(杨丽涛), Li YR(李杨瑞). 2009. Effects of inoculating nitrogen fixation bacteria on physiological characteristics of roots in sugarcane(固氮菌接种对甘蔗根系生理特性的影响) [J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), **40**(3):233-237
- Franke IH, Fegan, M, Hayward C, et al. 1999. Description of gluconacetobacter sacchari sp. nov., a new species of acetic acid bacterium isolated of the leaf sheath of sugar cane and from the pink sugar-cane mealy bug [J]. *Syst Bacteriol*, **49**(6):1 681-1 693
- Horton P, Ruban AV, Walters RG. 1994. Regulation of light harvesting in green plants; indication by nonphotochemical quenching of chlorophyll fluorescence [J]. *Plant Physiol*, **106**:415-420
- Liang J(梁俊), Li YR(李杨瑞), Liang ZX(梁朝旭). 2005. The photosynthetic Characteristics of different sugarcane varieties under no nitrogen fertilizing condition(不同甘蔗品种在无氮条件下的光合生理特性) [J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), **21**(8):188-190,207
- Loiret FG, Ortega E, Kleiner D, et al. 2004. A putative new endophytic nitrogen-fixing bacterium *Pantoea* sp. from sugarcane [J]. *J Appl Microbiology*, **97**(3):504-511
- Luo T(罗霆), Ouyang XQ(欧阳雪庆), Yang LT(杨丽涛), et al. 2010a. An endophytic nitrogen-fixing bacterium *Klebsiella* sp. strain L03 from sugarcane; isolation, identification and characterization(1株有固氮能力的甘蔗克雷伯氏菌的分离鉴定及固氮特性) [J]. *Chin J Trop Crops*(热带作物学报), **31**(6):972-977
- Luo T(罗霆), Ouyang XQ(欧阳雪庆), Yang LT(杨丽涛), et al. 2010b. Effect of nitrogen-fixing bacteris inoculation on biological nitrogen fixation in sugarcane by <sup>15</sup>N isotope dilution tecgbuque (<sup>15</sup>N 同位素稀释法研究固氮菌接种对甘蔗生物固氮的影响) [J]. *J Nuclear Agric Sci*(核农学报), **24**(5):1 026-1 031
- Ouyang XQ(欧阳雪庆), Luo T(罗霆), Yang LT(杨丽涛), et al. 2010. Effects of sett-soaking with sugarcane endophytic diazotroph solution on N metabolism related enzymes activities at the early growth stage of sugarcane(甘蔗内生固氮菌液浸种对甘蔗生长前期氮代谢相关酶活性的影响) [J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), **41**(5):416-418
- Su JB(苏俊波), Yang RZ(杨荣仲), Gui YY(桂意云), et al. 2007. Isolation, identification and characteristic of endophytic bacteria with nitrogenase from sugarcane(甘蔗体内具有固氮酶活性细菌的分离、鉴定及相关特性研究) [J]. *Southwest China J Agric Sci*(西南农业学报), **20**(5):1 055-1 059
- Tan YM(谭裕模), Wang LW(王伦旺), Wang TS(王天算), et al. 2002. Study on the sensitivity to nitrogen of sugarcane nitrogen-fixed variety RB72-254 in the field(固氮甘蔗品种 RB72-254 田间肥料敏感试验) [J]. *Guangxi Sugarcane and Cane-sugar*(广西蔗糖), **26**(1):12-15
- Wang LW(王伦旺), Tan YM(谭裕模), Wang TS(王天算), et al. 2002. A preliminary report of regional trials of sugarcane varieties RB72454 and ROC25(甘蔗品种 RB72454 和新台糖 25 号区域品种比试验初报) [J]. *Sugarcane and Canesugar*(甘蔗糖业), (4):5-19
- Wu KC(吴凯朝), Liang J 梁俊, Luo T(罗霆), et al. 2010. Effects of inoculating nitrogen fixing bacteria on agronomic characters in different sugarcane genotypes(接种内生固氮菌对不同基因型甘蔗农艺特性的效应) [J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), **41**(6):528-530
- Xing YX, Yang LT, Huang SL, et al. 2006. Identification of a new nitrogen fixing bacterium strain isolated from sugarcane stalk [J]. *Sugar Tech*, **8**(1):49-53