

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2012.06.011

^{15}N 同位素稀释法评估甘蔗的生物固氮量

周晓舟^{1,2,3,4}, 李杨瑞^{3,4*}, 杨丽涛¹

(1. 广西大学 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 南宁 530004; 2. 广西农业职业技术学院, 南宁 530007; 3. 广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁 530007; 4. 中国农业科学院甘蔗研究中心/农业部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室/广西甘蔗遗传改良重点实验室, 南宁 530007)

摘要: 为评估甘蔗生物固氮量, 采用 ^{15}N 同位素稀释法, 以木薯为参比植物, 进行温室桶栽试验。结果表明: 甘蔗全生育期植株固氮 11.3514% Ndfa, 固氮量每桶 0.9269 g。甘蔗根、茎、叶的固氮百分率和固氮量大小依次为叶>茎>根。叶的固氮百分率(13.2668% Ndfa)略高于植株, 但两者差异不显著。甘蔗植株全氮量中来自空气氮(生物固氮)、肥料氮和土壤氮的比例分别为 11.3514%、7.6857%、80.9629%。甘蔗的氮肥利用率为 58.7583%。甘蔗根、茎、叶各部位均有固氮现象, 生产上可以用叶代替植株来评估甘蔗的生物固氮量。

关键词: 甘蔗; 木薯; ^{15}N 同位素稀释法; 固氮百分率; 定量; 生物固氮

中图分类号: Q945.13 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2012)06-0767-07

Using ^{15}N isotopic dilution method to quantify the biological nitrogen fixation in sugarcane

ZHOU Xiao-Zhou^{1,2,3,4}, LI Yang-Rui^{3,4*}, YANG Li-Tao¹

(1. *State Key Laboratory of Conservation and Utilization of Subtropical Agro-bioresources, Guangxi University, Nanning 530004, China*; 2. *Guangxi Agricultural and Technical Vocational College, Nanning 530007, China*; 3. *Guangxi Key Laboratory Crop Genetic Improvement and Biotechnology, Nanning 530007, China*; 4. *Sugarcane Research Center of Chinese Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Sugarcane Biotechnology and Genetic Improvement, Ministry of Agriculture(Guangxi)/Guangxi Key Laboratory of Sugarcane Genetic Improvement, Nanning 530007, China*)

Abstract: The quantification of biological nitrogen fixation in sugarcane was investigated with ^{15}N isotope dilution technique in greenhouse bucket culture test, using cassava as reference plant. The experimental results showed that Ndfa accounted for 11.3514%, and the nitrogen fixation rate was 0.9269 g/bucket for whole growth duration of sugarcane. Ndfa and the nitrogen fixation amount in different organs of the plant showed leaf>stalk>root. Ndfa in leaf accounted for 13.2668%, a little higher than that in the whole plant, but the difference was not significant. The percentage of nitrogen from air, fertilizer and soil occupying the total nitrogen of the plant was 11.3514%, 7.6857% and 80.9629%, respectively. The nitrogen use efficiency of sugarcane was 58.7583%. It was concluded that all organs of sugarcane could fix nitrogen through biological nitrogen fixation, and leaves could be used to estimate the amount of biological nitrogen fixation in place of whole plant of sugarcane.

Key words: sugarcane; cassava; ^{15}N isotope dilution technique; nitrogen-fixing percentage; quantification; biological nitrogen fixation

收稿日期: 2012-04-03 修回日期: 2012-07-20

基金项目: 国家自然科学基金(30660085, 31171504, 31101122); 国家科技支撑计划项目(2007BAD30B00); 国家国际合作项目(2008DFA30600, 2009DFA30820); 广西自然科学基金(2011GXNSFF018002); 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科产: 1123008-1A, 桂科能 0815011)[Supported by National Natural Science Foundation of China(30660085, 31171504, 31101122); National Key Technology R & D Program(2007BAD30B00); International S & T Cooperation Program of China(2008DFA30600, 2009DFA30820); Natural Science Foundation of Guangxi (2011GXNSFF018002); R & D Program of Guangxi (1123008-1A, 0815011)]

作者简介: 周晓舟(1963-), 女, 广西全州县人, 博士, 教授, 主要从事作物栽培与生理研究, (E-mail)zhxz885656@163.com.

* 通讯作者: 李杨瑞, 男, 博士, 教授, 主要从事甘蔗生理生化和分子生物学研究, (E-mail)liyr@gxaas.net.

早在1961年, Döbereiner就发现甘蔗(*Saccharum officinarum*)存在生物固氮现象。甘蔗体内具有与细菌联合的固氮系统(Loiret等, 2004)。甘蔗固氮是一种内生联合固氮(Boddey等, 1991; 吴凯朝等, 2011)。甘蔗通过联合固氮可获得需氮量的30%~80%(Robert等, 2000)。测定生物固氮的方法主要有乙炔还原法(ARA)、 ^{15}N 同位素稀释法(ID)、 ^{15}N 自然丰度法, 非同位素法、AN法、全氮差值法和酰胺估测法等(Ham, 1978; 陈朝勋等, 2005), 其中ID法是应用最广泛而且比较标准的方法(李香真等, 1997; Danso等, 1993)。

ID法将固氮植物与作为参比的非固氮植物种植在施用相同量 ^{15}N 标记肥料的土壤中, 并假定两种植物按相同比例从土壤和肥料中吸收氮素; 固氮植物通过固定空气氮, 将植物体内来自土壤和肥料的氮稀释, 从而引起与参比植物 $^{15}\text{N}/^{14}\text{N}$ 含量的差异, 并以此估测固氮植物的固氮百分率(% Ndfa)(Danso等, 1993)。因此, ID法能准确区分固氮植物全氮中来自不同氮源(空气、土壤及肥料)的氮量比, 估测固氮植物任何生长时期的生物固氮作用(Danso等, 1993)。ID法已广泛应用于豆科植物的生物固氮研究(Khan等, 1994; 李玉中等, 2002; 黄东风等, 2003; Goh等, 2007)。在非豆科作物上也有应用(姚拓等, 2004; 席琳乔等, 2007)。但在甘蔗上应用较少(Segundo等, 1992; 罗霆等, 2010)。本试验采用ID法, 以木薯为参比植物, 评估甘蔗的生物固氮量, 以期为甘蔗生产氮肥施用和进一步的固氮研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试固氮植物甘蔗, 品种为B8(桂引6号), 由广西甘蔗研究所提供; 非固氮参比植物木薯, 品种为华南205, 由广西农业科学院经济作物研究所提供。

1.2 试验设计

2008年在广西甘蔗研究所玻璃温室进行。采用完全随机试验设计, 桶栽种植, 重复4次, 重复内每作物种4桶, 即甘蔗、木薯各种16桶, 试验共种植32桶。试验用桶为红色塑料中型桶, 桶底内径0.18 m, 桶口内径0.55 m, 内高0.45 m, 容积约0.18 m³; 桶底无孔洞。试验用土取自广西农业职业技术学院校内实训农场0~20 cm的耕作层, 土壤为耕型赤红

壤, 前作玉米。土壤经风干、敲碎、过筛, 每桶装土70 kg。土壤有机质含量为23.86 g/kg, 全氮1.52 g/kg, 全磷1.17 g/kg, 全钾12.05 g/kg, 速效氮117 mg/kg, 速效磷135 mg/kg, 速效钾269 mg/kg, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 8.54 mg/kg, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 4.09 mg/kg, pH值7.24。

施肥处理: 甘蔗、木薯出苗后, 每桶施 ^{15}N -硫酸铵标记肥(丰度15.15%, 由上海化工研究院提供)5.0000 g, 折纯N 1.0695 g/桶。其它时间不施肥。

1.3 试验方法

试验桶装土后用水淋湿、浸润全部土壤, 使播种时土壤处于湿润状态。蔗种和木薯种茎按常规方法进行处理和催芽, 于3月22日播种。甘蔗播2个双芽段, 木薯播1个4芽段; 出苗后, 甘蔗保留2株, 木薯保留1株。4月12日施 ^{15}N -硫酸铵标记肥。5月24日喷施“封螨”(美国阿姆泰克国际生物科学有限公司出品)2000倍液防治红蜘蛛, 7月11日喷施“大杀蚧”(桂林联豪农资有限责任公司出品)1500倍液防治甘蔗红粉蚧。其它按常规管理。

1.4 样品采集与分析

试验期间定期收集枯黄落叶、叶鞘、叶柄, 烘干记录生物产量。2008年12月15日按桶收获, 每桶分为根、茎、叶3部分, 称鲜重。置于105℃杀青30 min, 在75℃下烘至恒重, 再分别称干重。氮同位素样品的采集与处理。重复内混合取样。甘蔗根取全样, 茎取梢部+2~+3节和节间, 叶片和叶鞘取+2~+3叶。木薯根取根和块根全样, 茎取顶部+1~+4节和节间, 叶取收获时为绿色的叶片和叶柄。称鲜重。置于105℃杀青30 min, 在75℃下烘至恒重, 再分别称干重, 粉碎, 过筛。粉碎过筛后的样品寄送中国科学院南京土壤研究所分析检测中心, 测定含氮量和 ^{15}N 原子丰度。

1.5 计算和统计分析

甘蔗固氮百分率(% Ndfa)、固氮量(Ndfa)、肥料利用率(% FU)和土壤氮库的计算参照姚允寅(1988)、张思苏等(1989)、徐福利等(1993)、陈明等(1997)、李香真等(1997)、李海先等(1998)、戴建军等(1999)、黄东风等(2003)、姚拓等(2004)的方法进行。用Excel、DPS软件进行资料处理和统计分析。用新复极差法和t测验法进行差异显著性检验。所有百分率数据在进行统计分析时均进行反正弦平方根转换。

2 结果与分析

2.1 甘蔗和木薯的生物产量(干重)、含氮量及全氮量

2.1.1 生物产量(干重) 甘蔗与木薯相比,根、茎、叶和植株的干重均为甘蔗>木薯,增幅分别为193.01%、67.24%、391.04%、152.54%,甘蔗植株干重极显著高于木薯植株干重。甘蔗各部位之间表

现为叶干重>茎干重>根干重,叶和茎极显著重于根。木薯各部位之间表现为茎干重>叶干重>根干重,三者间差异极显著(表1)。

2.1.2 含氮量 甘蔗与木薯相比,根、茎、叶的含氮量均为木薯>甘蔗,而且甘蔗和木薯的根、茎、叶的含氮量高低顺序均为叶>茎>根。其中甘蔗叶和茎的含氮量极显著高于根,木薯根、茎、叶之间的含氮量差异极显著(表1)。

表1 甘蔗、木薯各部位的生物产量(干重)、含氮量及全氮量
Table 1 Dry weight, N content and total N in the organs of sugarcane and cassava

部位 Organ	干重 Dry weight			含氮量 N content		全氮量 Total N			
	均值 Mean (g/bucket)	变异系数 C. V. (%)	甘蔗比木薯增减 Increase or decrease(%)	均值 Mean (g/bucket)	变异系数 C. V. (%)	均值 Mean (g/bucket)	变异系数 C. V. (%)	甘蔗比木薯增减 Increase or decrease(%)	
甘蔗 Sugarcane	根 Root	21.2875±1.8505 bB	8.6931	193.01	0.7733±0.0711bB	9.1959	0.1657±0.0296 bB	17.6777	22.14
	茎 Stalk	304.4250±17.8815 aA	5.8738	67.24	1.2650±0.0911 aA	7.2019	3.8596±0.4631 aA	11.9992	-13.53
	叶 Leaf	313.6300±25.7881 aA	8.2225	391.04	1.3325±0.0806 aA	6.0466	4.1757±0.3801 aA	9.1022	73.78
	植株 Plant	639.3425±23.1531**	3.6214	152.54	—	—	8.2008±0.7471*	9.1096	18.50
木薯 Cassava	根 Root	7.2650±0.8190 cC	11.2727	—	1.8650±0.1182cC	6.3368	0.1356±0.0179 cC	13.2144	—
	茎 Stalk	182.0325±11.0116 aA	6.0493	—	2.4025±0.1097 bB	4.5644	4.3819±0.4492 aA	10.2521	—
	叶 Leaf	63.8700±16.5552 bB	25.9201	—	3.7775±0.1343 aA	3.5541	2.4029±0.5921 bB	24.6422	—
	植株 Plant	253.1675±19.3610	7.6475	—	—	—	6.9203±0.6939	10.0262	—

注: **对甘蔗和木薯植株干重进行t检验, $t=25.5903$, $P=0.0000$, 差异极显著。*对甘蔗和木薯植株全氮量进行t检验, $t=2.5119$, $P=0.0458$, 差异显著。

Note: Difference of the dry weight between sugarcane and casava was very significant by t-test ($t=25.5903$, $P=0.0000$) and that of the total N was significant ($t=2.5119$, $P=0.0458$).

2.1.3 全氮量 甘蔗与木薯相比,根、叶和植株的全氮量均为甘蔗>木薯,增幅分别为22.14%、73.78%、18.50%,其中甘蔗植株全氮量极显著高于木薯;茎的全氮量为甘蔗<木薯,低13.53%。甘蔗各部位之间表现为叶全氮量>茎全氮量>根全氮量,叶和茎极显著高于根。木薯各部位之间表现为茎全氮量>叶全氮量>根全氮量,三者间差异极显著(表1)。

2.2 甘蔗和木薯的¹⁵N原子百分超及¹⁵N原子加权百分超

¹⁵N原子百分超:甘蔗与木薯相比,根、茎、叶的¹⁵N原子百分超均为甘蔗<木薯。甘蔗各部位之间表现为根>茎>叶,其中根极显著高于叶,茎显著高于叶。木薯各部位之间也表现为根>茎>叶,但三者之间差异不显著。¹⁵N原子加权百分超:甘蔗与

木薯相比较,甘蔗茎和植株<木薯茎和植株,甘蔗叶>木薯叶,甘蔗根与木薯根基本相近;其中甘蔗植株的¹⁵N原子加权百分超显著低于木薯,低11.43%。甘蔗各部位之间表现为茎>叶>根,其中甘蔗茎和叶极显著高于根。木薯各部位之间也表现为茎>叶>根,三者间差异极显著(表2)。

2.3 甘蔗的固氮百分率(% Ndfa)及固氮量(Ndfa)

固氮百分率(% Ndfa):分别用甘蔗、木薯各部位的¹⁵N原子百分超估算甘蔗根、茎、叶的固氮百分率,其大小依序为叶>茎>根(表3),其中叶(13.2668% Ndfa)极显著高于根(4.3427% Ndfa),茎(8.5075% Ndfa)显著高于根。说明在甘蔗根、茎、叶三个部位中,叶的固氮能力最强。

用甘蔗、木薯植株的¹⁵N原子加权百分超估算

甘蔗全株的固氮百分率为 11.3514% Ndfa, 略低于叶的估测值, 低 14.44%, 但 t 检验两者未达差异显著性。因此, 在生长过程中, 可以用甘蔗叶来代替植株评估其生物固氮量。

固氮量(Ndfa): 由表 3 可以看出, 甘蔗植株的

生物固氮量为每桶 0.9269 g。甘蔗根、茎、叶的固氮量大小依次为叶>茎>根, 其中叶(每桶 0.5463 g)和茎(每桶 0.3334 g)极显著高于根(每桶 0.0072 g), 叶又显著高于茎。说明在甘蔗根、茎、叶三个部位中, 叶的固氮量最大。

表 2 甘蔗、木薯各部位的¹⁵N 原子百分超及¹⁵N 原子加权百分超

Table 2 Atom % ¹⁵N excess and atom % ¹⁵N weighting excess in the organs of sugarcane and cassava

部位 Organ	¹⁵ N 原子百分超 Atom % ¹⁵ N excess(%)		¹⁵ N 原子加权百分超 Atom % ¹⁵ N weighting excess(%)		
	均值 Mean	变异系数 C. V. (%)	均值 Mean	变异系数 C. V. (%)	
甘蔗 Sugarcane	根 Root	1.2562±0.0171aA	1.3595	0.0253±0.0028bB	11.1170
	茎 Stalk	1.1912±0.0998 aAB	8.3774	0.5590±0.0432 aA	7.7277
	叶 Leaf	1.0812±0.0435 bB	4.0227	0.5519±0.0525aA	9.5075
	植株 Plant	—	—	1.1363±0.0554	4.8726
木薯 Cassava	根 Root	1.3137±0.0356aA	2.7092	0.0256±0.0008cC	3.2568
	茎 Stalk	1.3012±0.0896 aA	6.8846	0.8253±0.0820 aA	9.9404
	叶 Leaf	1.2487±0.0695 aA	5.5676	0.4312±0.0944 bB	21.8504
	植株 Plant	—	—	1.2829±0.0802 *	6.2531

注: * 对甘蔗和木薯植株¹⁵N 原子加权百分超进行 t 检验, $t=3.0072$, $P=0.0238$, 差异显著。

Note: Difference of the atom % ¹⁵N weighting excess between sugarcane and casava was significant by t-test($t=3.0072$, $P=0.0238$).

表 3 甘蔗的固氮百分率(% Ndfa)及固氮量(Ndfa)

Table 3 Nitrogen-fixing percentage and nitrogen-fixing amount of sugarcane

部位 Organ	固氮百分率 Nitrogen-fixing percentage (%)	变异系数 C. V. (%)	每桶固氮量 Nitrogen fixing amount (g)	变异系数 C. V. (%)
根 Root	4.3427±1.9059 bB	43.8862	0.0072±0.0035 cB	48.2411
茎 Stalk	8.5075±2.5714 aAB	30.2247	0.3334±0.1349 bA	40.4726
叶 Leaf	13.2668±4.6947 aA	35.3867	0.5463±0.1587 aA	29.0431
植株 Plant	11.3514±2.5843	22.7664	0.9269±0.2035	21.9545

注: 对甘蔗叶和甘蔗植株的固氮百分率进行 t 检验, $t=0.7148$, $P=0.5016$, 差异不显著。

Note: The difference of the Nitrogen-fixing percentage between sugarcane leaves and sugarcane plant was not significant by t-test($t=0.7148$, $P=0.5016$).

表 4 甘蔗和木薯的氮肥利用率及土壤氮量

Table 4 N using efficiency and soil nitrogen amount for sugarcane and cassava

作物 Crop	氮肥利用率 N using efficiency			土壤氮量 Soil nitrogen amount		
	百分率(%) Percentage	变异系数 C. V. (%)	甘蔗比木薯增减(%) Increase or decrease	土壤氮量 Soil (g/bucket)	变异系数 C. V. (%)	甘蔗比木薯增减(%) Increase or decrease
甘蔗 Sugarcane	58.7583±2.9554	5.0298	4.63	13.9403±0.6802 *	4.8793	12.76
木薯 Cassava	56.1590±6.7026	11.9351	—	12.3611±0.7731	6.2544	

注: 对甘蔗和木薯的氮肥利用率进行 t 检验, $t=0.7097$, $P=0.5045$, 差异不显著。* 对甘蔗和木薯的土壤氮量进行 t 检验, $t=3.0672$, $P=0.0220$, 差异显著。

Note: Difference of the N using efficiency between sugarcane and casava was not significant by t-test($t=0.7097$, $P=0.5045$) and that of the soil nitrogen amount was significant($t=3.0672$, $P=0.0220$).

2.4 甘蔗和木薯的氮肥利用率及土壤氮量

以植株¹⁵N 原子加权百分超估算甘蔗、木薯的氮肥利用率及土壤氮量, 结果见表 4。甘蔗的氮肥利用率比木薯高 4.63%, 但 t 检验未达差异显著性, 表明甘蔗和木薯对肥料氮具有相似的吸收模式。甘蔗的土壤氮库比木薯高 12.76%, t 检验差异显著。

2.5 甘蔗和木薯来自不同氮源的氮量值及氮量比

2.5.1 氮量值 固氮植物甘蔗植株全氮量中包含空气氮(即甘蔗固氮)、肥料氮及土壤氮 3 种氮源(表 5), 非固氮参比植物木薯只有肥料氮及土壤氮 2 种氮源。甘蔗吸收肥料氮每桶 0.6284 g, 比木薯吸收的肥料氮每桶 0.6006 g 多 4.63%, 但经 t 检验, 两者未达到差异显著性。甘蔗吸收土壤氮每桶

6.6455 g,比木薯吸收的土壤氮每桶 6.3197 g 多 5.16%,但经 t 检验,两者也未达到差异显著性。这说明甘蔗和木薯从肥料和土壤中吸收的氮素总量上基本是一致的,是按相同比例从肥料和土壤中吸收

氮素的。

2.5.2 氮量比 甘蔗植株全氮量中来自空气氮、肥料氮及土壤氮的比例分别为 11.3514%、7.6857%、80.9629%,木薯植株全氮量中来自肥料氮及土壤氮

表 5 甘蔗和木薯植株全氮量中来自不同氮源的氮量值及氮量比

Table 5 Nitrogen amount and nitrogen percentage from different sources in sugarcane and cassava

作物 Crop	植株全 氮量 Total nitrogen (g/bucket)	氮量值 Nitrogen amount						氮量比 Nitrogen percentage					
		空气氮 Nitrogen from air		肥料氮 Nitrogen from fertilizer		土壤氮 Nitrogen from soil		空气氮 Nitrogen from air		肥料氮 Nitrogen from fertilizer		土壤氮 Nitrogen from soil	
		氮量 (g/buc- ket)	变异系数 C. V. (%)	氮量 (g/buc- ket)	变异系数 C. V. (%)	氮量 (g/buc- ket)	变异系数 C. V. (%)	%	变异系数 C. V. (%)	%	变异系数 C. V. (%)	%	变异系数 C. V. (%)
甘蔗 Sugarcane	8.2008± 0.7471	0.9269± 0.2035	21.9545	0.6284± 0.0316	5.0298	6.6455± 0.7121	10.7162	11.3514± 2.5843	22.7664	7.6857± 0.3737	4.8617	80.9629± 2.7020	3.3373
木薯 Cassava	7.1333± 0.5351	—	—	0.6006± 0.0717	11.9351	6.3197± 0.6343	10.0361	—	—	8.6776± 0.5426*	6.2531	91.3224± 0.5426**	0.5942

注:对甘蔗和木薯来自肥料的氮量进行 t 检验, $t=0.7097$, $P=0.5045$, 差异不显著。对甘蔗和木薯来自土壤的氮量进行 t 检验, $t=0.6833$, $P=0.5199$, 差异不显著。对甘蔗和木薯来自肥料氮的比例进行 t 检验, $t=3.0112$, $P=0.0237$, 差异显著。对甘蔗和木薯来自土壤氮的比例进行 t 检验, $t=7.5180$, $P=0.0003$, 差异极显著。

Note: The difference of the nitrogen from fertilizer between sugarcane and casava was not significant by t-test ($t=0.7097$, $P=0.5045$) and the nitrogen from soil was not significant ($t=0.6833$, $P=0.5199$). The difference of the nitrogen ratio from fertilizer between sugarcane and casava was significant by t-test ($t=3.0112$, $P=0.0237$) and the nitrogen ratio from soil was very significant ($t=7.5180$, $P=0.0003$).

的比例分别为 8.6776%、91.3224%。甘蔗由于利用了空气氮,故与木薯相比,来自肥料氮的比例显著低于木薯,来自土壤氮的比例极显著低于木薯。

3 结论与讨论

3.1 参比植物影响甘蔗生物固氮量

用 ID 法测定生物固氮量时,参比植物选择不当会直接影响测定结果的精确性(Danso 等,1993; Witty,1983)。为了减少由参比植物引起的偏差,李香真等(1997)认为在选择参比植物时,应尽量使其与固氮植物具有下列相似的行为特征:从同一土壤库中吸收养分;具有相似的根系类型,相似的氮素吸收类型和生长速率;利用土壤和肥料中的氮素比例相似。根据这一原则,巴西在研究甘蔗固氮量时,曾选择臂形草(*Brachiaria arrecta*)作参比植物(Segundo 等,1992),而在泰国进行的试验(Shotaro 等,2004)采用木薯作参比植物,在中国未见甘蔗上的试验报道。甘蔗和木薯都是周年生长的热带作物,至今为止未见木薯具有固氮活性的报道;而且从本试验结果看,甘蔗和木薯从土壤和肥料中吸收氮素的比例是相似的。

Witty(1983)和 Danso 等(1993)研究指出,在 % Ndfa 较小($<30\%$)时,由参比植物引起的测

定偏差较大;而当 % Ndfa 较大($>80\%$)时,这种偏差较小。豆科植物通常有较高的固氮量,% Ndfa 常大于 80%(West 等,1983),故由选择参比植物引起的误差较小。甘蔗的生物固氮量较豆科植物低,% Ndfa 通常在 30%~80%(Boddey 等,1991; Robert 等,2000);而且变化范围较大,如巴西为 25%~80%(Segundo 等,1992),墨西哥为 10%~67%(Fuentes 等,2004),泰国约为 30%(Shotaro 等,2002)。这可能与选择的参比植物不同有关。

杨荣仲等(2008)以甘蔗脱毒种苗为对照,采用 ^{15}N 同位素稀释法,测得在温室盆栽条件下 B8 的平均固氮百分率为 26.91%,而桂糖 11 号和 ROC16 不具有固氮能力或固氮能力很弱。罗霆等(2010)用 ^{15}N 同位素稀释法研究固氮菌接种对甘蔗生物固氮的影响,在接种 60d 后,ROC22 和 B8 的固氮百分率分别达到 18.43% Ndfa 和 31.28% Ndfa。本试验以木薯为参比植物,同样采用 ^{15}N 同位素稀释法,测得 B8 的固氮百分率为 11.3514%,低于杨荣仲等(2008)和罗霆等(2010)的测定结果,可能与甘蔗品种和试验条件特别是参比植物不同有关,需要进一步研究。

3.2 甘蔗不同部位的固氮能力有差异

目前对甘蔗固氮发生部位及各部位固氮能力强弱尚有不同观点。Ruschel 等(1978)认为甘蔗固氮

最主要的部位是茎, Dong等(1994)认为固氮主要发生在甘蔗的质外体输导组织中, 而 James等(1994)则认为固氮广泛存在于胞间隙、微管组织和通气组织中, 并从死细胞和矿化的细胞传递到全株。甘蔗固氮是内生联合固氮, 凡有内生固氮菌存在的地方, 都能发生固氮作用, 也就是说甘蔗固氮并没有固定不变的场所, 根、茎、叶都能发生固氮作用。甘蔗不同部位的固氮能力是不同的, 就固氮酶活性而言, 总体趋势是根和茎的固氮酶活性水平较高, 叶和叶鞘次之(梁俊, 2006)。但从固氮百分率测定结果看, 罗霆等(2010)测定 ROC22 和 B8 的平均固氮百分率均为叶>茎>根。本研究测得 B8 各部位的固氮百分率也是叶>茎>根, 与罗霆等(2010)的研究结果吻合。这些现象似乎表明: 固氮酶活性高的部位, 固氮百分率反而低。韦莉萍等(2007)曾报道, 甘蔗根中固氮菌的固氮酶活性与叶片和茎中的都呈负相关。非共生的联合固氮由于没有形成特异结构, 宿主与固氮菌之间的关系比较脆弱(Ivan & Yaotseng, 1992), 容易发生改变; 同时, 氮在植物体内是可移动元素, 优先移向生长旺盛部位, 这些都可能会引起甘蔗不同部位的固氮量差异。在本研究中, 叶的固氮百分率略高于植株的固氮百分率, 两者差异不显著, 因此可以用叶代替植株来评估甘蔗的生物固氮作用。

3.3 固氮甘蔗品种可能具有更高的氮肥利用率

甘蔗的氮肥利用率一般为 30%~40%(皇本连等, 2011), 但因品种(詹元裕等, 1984)、植期、土壤类型(詹元裕等, 1984)、肥料种类(王磊等, 2010)、施肥量(韦剑锋等, 2011)、施肥方法(黄绍富等, 2006)、施肥时期(杨声激等, 2010)等不同而不同。詹元裕等(1984)用¹⁵N 同位素示踪法测定两个甘蔗品种 F176 和 F177 的氮效率, 在春植蔗以 125 kg/hm² 氮肥作追肥表施, 结果 F176 对氮的吸收率高达 45.8%, F177 则为 24.2%。本研究同样采用¹⁵N 同位素示踪法, 测得固氮甘蔗品种 B8 的氮肥利用率为 58.7583%, 高于詹元裕等(1984)的研究结果, 说明固氮甘蔗品种可能具有更好的氮利用效率。这一现象值得进一步探讨。

参考文献:

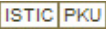
李香真, 陈清. 1997. ¹⁵N 同位素稀释法测定生物固氮量[J]. 核农学通报, 18(6): 271, 291-293
陈朝勋, 席琳乔, 姚拓, 等. 2005. 生物固氮测定方法研究进展[J]. 草原与草坪, (2): 24-26

陈明, 姚允寅, 张希忠. 1997. 不同形态氮素对¹⁵N 同位素稀释法估测苜蓿固氮的影响[J]. 核农学通报, 18(1): 30-33, 40
姚允寅. 1988. 应用¹⁵N 进行土壤肥料和植物营养研究的有关数学运算[J]. 核农学通报, 9(8): 186-189
徐福利, 张金水, 吕殿青. 1993. 对苜蓿共生固氮量测定法的比较研究[J]. 土壤通报, 24(3): 137-139
黄绍富, 黄杰基. 2006. 蔗区土壤肥力现状与甘蔗测土配方施肥[J]. 广西蔗糖, (4): 10-13, 17
梁俊. 2006. 不同甘蔗品种的固氮生理特性[D]. 南宁: 广西大学
詹元裕, 翁铜河. 1984. 应用¹⁵N 研究氮对甘蔗的效率—春植蔗对氮的回收率[J]. 甘蔗糖业, (10): 56-60
Boddey RM, Urquiaga S, Reis V, et al. 1991. Biological nitrogen fixation associate with sugar cane[J]. Plant Soil, 137: 111-117
Dai JJ(戴建军), Cheng Y(程岩). 1999. Study on the differences of nitrogen nutrition of 3 soybean cultivars by using ¹⁵N isotope dilution method(应用¹⁵N 示踪技术对不同品种大豆的三种氮源吸收利用的研究)[J]. J Northeast Agric Univ(东北农业大学学报), 30(3): 225-229
Danso SKA. 1986. Review. Estimation of N₂-fixation by isotope dilution: an appraisal of techniques involving ¹⁵N enrichment and their application[J]. Soil Biol Biochem, 18(3): 243-244
Danso SKA. 1991. Herbage yield and nitrogen-fixation in a triple-species mixed sward of white clover, lotus and fescue[J]. Soil Biol Biochem, 23(1): 65-70
Danso SKA, Hardarson G, Zapata F. 1993. Misconceptions and practical problems in the use of ¹⁵N soil enrichment techniques for estimating N₂ fixation[J]. Plant Soil, 152(1): 25-52
Döbereiner J. 1961. Nitrogen-fixing bacteria of the genus Beijerinckia derx in the rhizosphere of sugar cane[J]. Plant Soil, 15: 211-216
Dong Z, Canny MJ, McCully ME, et al. 1994. A nitrogen-fixing endophyte of sugarcane stems(A new role for the apoplast)[J]. Am Soc Plant Biol, 105(4): 1 139-1 147
Fuentes-Ramirez LE, Jimenez-Salgado T, Abarca-Ocampo IR, et al. 2004. Acetobacter diazotrophicus, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of México[J]. Plant Soil, 154(2): 145-150
Goh KM. 2007. Effects of multiple reference plants, season, and irrigation on biological nitrogen fixation by pasture legumes using the isotope dilution method[J]. Comm Soil Sci Plant Analys, 38(13-14): 1 841-1 860
Ham GE. 1978. Use of ¹⁵N in evaluating symbiotic N₂ fixation of field-grown soybeans[J]. Panel Proceed Ser (IAEA), 151-162
Huang DF(黄东风), Weng BQ(翁伯琦), Luo T(罗涛). 2003. Comparison of the primary methods to determine the ability of nitrogen fixation of legume(豆科植物固氮能力的主要测定方法比较)[J]. Acta Agric Univ Jiangxi(江西农业大学学报), (25): 17-20
Huang BL(皇本连), Yang QH(杨清辉). 2011. Research progress on sugarcane rational fertilizer on detected soil(甘蔗测土配方施肥的研究进展)[J]. Sugar Crops Chin(中国糖料), (1): 60-63
Ivan RK, Yaotseng T. 1992. Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops: Recent advances[J]. Plant Soil, 141(1-2): 93-118

- James EK, Reis VM, Olivares FL, *et al.* 1994. Infection of sugarcane by the nitrogen-fixing bacterium *Acetobacter diazotrophicus* [J]. *Experiment Bot*, **45**(275):757-766
- Khan MK, Yoshida T. 1994. Nitrogen fixation in peanut determined by acetylene reduction method and ^{15}N -isotope dilution technique[J]. *Soil Sci Plant Nutr*, **40**(2):283-291
- Li HX(李海先), Li XM(李新民), Danso SKA. 1998. Use of ^{15}N dilution method for screening soybean lines with high yield and high nitrogen fixation ability(应用 ^{15}N 稀释法筛选高固氮能力的大豆品种)[J]. *Acta Agric Nucl Sin*(核农学报), **12**(5):299-303
- Li YZ(李玉中), Redmann RE, Zhu TC(祝廷成), *et al.* 2002. Nitrogen fixation in leymus chinensis grassland in northeast china(羊草草原豆科牧草生物固氮量研究)[J]. *Acta Agr Sin*(草地学报), **10**(3):164-166
- Loiret FG, Ortega E, Kleiner D, *et al.* 2004. A putative new endophytic nitrogen-fixing bacterium *Pantoea* sp. from sugarcane[J]. *J Appl Microbiol*, **97**(3):504-511
- Luo T(罗霆), Ouyang XQ(欧阳雪庆), Yang LT(杨丽涛), *et al.* 2010. Effect of nitrogen-fixing bacteria inoculation on biological nitrogen fixation in sugarcane by ^{15}N isotope dilution technique(^{15}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 Nucl Agric Sci*(核农学报), **24**(5):1 026-1 031
- Robert MB, José CP, Alexander SR, *et al.* 2000. Use of the ^{15}N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N_2 fixation to sugar cane and other grasses[J]. *Austr J Plant Physiol*, **28**(9):889-895
- Ruschel AP, Victoria RL, Salati E, *et al.* 1978. Nitrogen fixation in sugarcane (*Saccharum officinarum*) [J]. *Blue-green Alg and Asymb Bact*, **26**:297-303
- Segundo U, Kátia HS, Boddey RM, *et al.* 1992. Contribution of nitrogen fixation to sugar cane: nitrogen-15 and nitrogen-balance estimates[J]. *Soil Sci Soc Am J*, **56**(1):105-114
- Shotaro AD, Sompong MC, Srisuda TA, *et al.* 2002. Evaluation of sustainability of sugarcane production in Thailand based on nitrogen fixation, efficiency of nitrogen fertilizer and flow of organic matters[J]. *JIRCAS Work Rep*, **30**:61-64
- Wang L(王磊), Zhou LQ(周柳强), Xie RL(谢如林), *et al.* 2010. N-releasing characteristics of different kinds of controlled-release urea and their effects on the sugarcane(不同控释尿素的氮素释放特性及在甘蔗上的应用研究)[J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), **41**(10):345-348
- Wei JF(韦剑锋), Liang QX(梁启新), Chen CJ(陈超君), *et al.* 2011. Effect of application amount of nitrogen fertilizer(^{15}N) on nitrogen absorption and utilization in sugarcane(施氮量对甘蔗氮素吸收与利用的影响)[J]. *Guangdong Agric Sci*(广东农业科学), (19):66-68
- Wei LP(韦莉萍), Li YR(李杨瑞), Yang LT(杨丽涛). 2007. Effects of molybdenum on nitrogenase activity of nitrogen-fixing bacteria in sugarcane(钼对甘蔗体内固氮菌的固氮酶活性的影响)[J]. *Plant Nutr Fertil Sci*(植物营养与肥料学报), **13**(1):118-122
- West CP, Wedin WF. 1983. Dinitrogen fixation in alfalfa-or-chardgrass pastures[J]. *Agronomy J*, **77**(1):89-94
- Witty JF. 1983. Estimating N_2 -fixation in the field using ^{15}N -labelled fertilizer; some problems and solutions[J]. *Soil Biol Biochem*, **15**:631-639
- Wu KC(吴凯朝), Liang J(梁俊), Wei LP(韦莉萍), *et al.* 2011. Effects of nitrogen fixing bacteria on photosynthesis and chlorophyll fluorescence in sugarcane at elongating stage(内生固氮菌对甘蔗伸长期光合生理特性的影响)[J]. *Guihaia*(广西植物), **31**(5):668-673
- Xi LQ(席琳乔), Zhang DG(张德罡), Yao T(姚拓). 2007. Using ^{15}N isotopic dilution method to determine the quantification of association nitrogen fixation bacteria soil from oat roots(^{15}N 同位素稀释法测定燕麦根际固氮菌固氮量的研究)[J]. *J Nucl Agric Sci*(核农学报), **21**(4):417-420
- Yang RZ(杨荣仲), Tan YM(谭裕模), Gui YY(桂意云), *et al.* 2008. Estimation of biological nitrogen fixation capacity by sugarcane using ^{15}N (^{15}N 测定甘蔗生物固氮能力研究)[J]. *J Anhui Agric Sci*(安徽农业科学), **36**(24):10 405-10 406
- Yang SG(杨声激), Chen CJ(陈超君), Lan LB(蓝立斌), *et al.* 2010. Studies on nitrogen uptake and its distribution in sugarcane using ^{15}N tracer technique(^{15}N 示踪技术应用于甘蔗氮素吸收与分配的研究)[J]. *Guangxi Agric Sci*(广西农业科学), **41**(12):1 310-1 313
- Yao T(姚拓), Pu XP(蒲小鹏), Zhang DG(张德罡), *et al.* 2004. Associative nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere of *Avena sativa* in an alpine region III. Effect on *Avena sativa* growth and quantification of nitrogen fixed(高寒地区燕麦根际联合固氮菌研究 III. 固氮菌对燕麦生长的影响及其固氮量测定)[J]. *Acta Pratacul Sci*(草业学报), **13**(5):10-105
- Yao YY(姚允寅), Chen M(陈明), Zhang XZ(张希忠), *et al.* 1994. Evaluation for dinitrogen fixation of induced wheat nodules by ^{15}N isotope dilution method(用 ^{15}N 同位素稀释法评估诱发结瘤春小麦的固氮作用)[J]. *Chin Nucl Sci Technol Rep*(中国核科技报告):1-10
- Zhang SS(张思苏), Wang ZX(王在序), Gai SR(盖树人), *et al.* 1989. Studied on the absorption of peanut for N fertilizer and the N supplying from soil and nodule bacteria(利用 ^{15}N 对花生吸收化肥土壤供氮和根瘤固氮的研究)[J]. *J Laiyang Agric Coll*(莱阳农学院学报), **6**(1):21-27

15N同位素稀释法评估甘蔗的生物固氮量

作者: 周晓舟, 李杨瑞, 杨丽涛, ZHOU Xiao-Zhou, LI Yang-Rui, YANG Li-Tao
 作者单位: 周晓舟, ZHOU Xiao-Zhou (广西大学亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 南宁530004; 广西农业职业技术学院, 南宁530007; 广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁530007; 中国农业科学院甘蔗研究中心/农业部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室/广西甘蔗遗传改良重点实验室, 南宁530007), 李杨瑞, LI Yang-Rui (广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁530007; 中国农业科学院甘蔗研究中心/农业部广西甘蔗生物技术与遗传改良重点实验室/广西甘蔗遗传改良重点实验室, 南宁530007), 杨丽涛, YANG Li-Tao (广西大学亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 南宁, 530004)

刊名: 广西植物 

英文刊名: Guihaia

年, 卷(期): 2012, 32(6)

被引用次数: 1次

参考文献(43条)

1. 李香真;陈清 [15N同位素稀释法测定生物固氮量](#) 1997(06)
2. 陈朝勋,席琳乔,姚拓,张虎,张德罡 [生物固氮测定方法研究进展](#)[期刊论文]-[草原与草坪](#) 2005(2)
3. 陈明;姚允寅;张希忠 [不同形态氮素对15N同位素稀释法估测苜蓿固氮的影响](#) 1997(01)
4. 姚允寅 [应用15N进行土壤肥料和植物营养研究的有关数学运算](#) 1988(08)
5. 徐福利;张金水;吕殿青 [对苜蓿共生固氮量测定法的比较研究](#) 1993(03)
6. 黄绍富,黄杰基 [蔗区土壤肥力现状与甘蔗测土配方施肥](#)[期刊论文]-[广西蔗糖](#) 2006(4)
7. 梁俊 [不同甘蔗品种的固氮生理特性](#)[学位论文] 2004
8. 詹元裕;翁铜河 [应用15N研究氮对甘蔗的效率-春植蔗对氮的回收率](#) 1984(10)
9. Boddey RM;Urquiaga S;Reis V [Biological nitrogen fixation associate with sugar cane](#) 1991
10. 戴建军,程岩 [应用15N示踪技术对不同品种大豆的三种氮源吸收利用的研究](#)[期刊论文]-[东北农业大学学报](#) 1999(3)
11. Danso SKA [Review. Estimation of N₂-fixation by isotope dilution:an appraisal of techniques involving 15 N enrichment and their application](#) 1986(03)
12. Danso SKA [Herbage yield and nitrogen-fixation in a triplespecies mixed sward of white clover,lotus and fescue](#) 1991(01)
13. Danso SKA;Hardarson G;Zapata F [Misconceptions and practical problems in the use of 15 N soil enrichment techniques for estimating N₂ fixation](#) 1993(01)
14. D(o)bereiner J [Nitrogen-fixing bacteria of the genus Beijerinckia derox in the rhizosphere of sugar cane](#) 1961
15. Dong Z;Canny MJ;McCully ME [A nitrogen-fixing endophyte of sugarcane stems\(A new role for the apoplast\)](#) 1994(04)
16. Fuentes-Ramirez LE;Jimenez-Salgado T;Abarca-Ocampo IR [Acetobacter diazotrophicus, an indoleacetic acid producing bacterium isolated from sugarcane cultivars of México](#) 2004(02)
17. Goh KM [Effects of multiple reference plants, season, and irrigation on biological nitrogen fixation by pasture legumes using the isotope dilution method](#) 2007(13-14)
18. Ham GE [Use of 15 N in evaluating symbiotic N₂ fixation of field-grown soybeans](#) 1978
19. 黄东风;翁伯琦;罗涛 [豆科植物固氮能力的主要测定方法比较](#) 2003(25)
20. 皇本连,杨清辉 [甘蔗测土配方施肥的研究进展](#)[期刊论文]-[中国糖料](#) 2011(1)
21. Ivan RK;Yaotseng T [Biological nitrogen fixation in non-leguminous field crops:Recent advances](#) 1992(1-2)
22. James EK;Reis VM;Olivares FL [Infection of sugarcane by the nitrogen-fixing bacterium Acetobacter diazotrophicus](#) 1994(275)
23. Khan MK;Yoshida T [Nitrogen fixation in peanut determined by acetylene reduction method and 15 N-isotope dilution technique](#) 1994(02)

24. 李海先, 李新民, Seth K. A. Danso 应用¹⁵N稀释法筛选高固氮能力的大豆品种[期刊论文]-核农学报 1998(5)
25. 李玉中, Redmann R. E, 祝廷成, 李建东 羊草草原豆科牧草生物固氮定量研究[期刊论文]-草地学报 2002(3)
26. Loiret FG;Ortega E;Kleiner D;Ortega-Rodes P;Rodes R;Dong Z A putative new endophytic nitrogen-fixing bacterium Pantoea sp from sugarcane[外文期刊] 2004(3)
27. 罗霆, 欧阳雪庆, 杨丽涛, 李杨瑞 ¹⁵N同位素稀释法研究固氮菌接种对甘蔗生物固氮的影响[期刊论文]-核农学报 2010(5)
28. Robert MB;José CP;Alexander SR Use of the ¹⁵N natural abundance technique for the quantification of the contribution of N₂ fixation to sugar cane and other grasses 2000(09)
29. Ruschel AP;Victoria RL;Salati E Nitrogen fixation in sugarcane (Saccharum officinarum) 1978
30. Segundo U;Kátia HS;Boddey RM Contribution of nitrogen fixation to sugar cane:nitrogen-¹⁵ and nitrogen-balance estimates 1992(01)
31. Shotaro AD;Sompong MC;Srisuda TA Evaluation of sustainability of sugarcane production in Thailand based on nitrogen fixation, efficiency of nitrogen fertilizer and flow of organic matters 2002
32. 王磊, 周柳强, 谢如林, 黄金生, 黄美福, 董文斌, 李伏生, 谭宏伟 不同控释尿素的氮素释放特性及在甘蔗上的应用研究[期刊论文]-广西农业科学 2010(4)
33. 韦剑锋, 梁启新, 陈超君, 蓝立斌, 梁和 施氮量对甘蔗氮素吸收与利用的影响[期刊论文]-广东农业科学 2011(19)
34. 韦莉萍, 李杨瑞, 杨丽涛 钼对甘蔗体内固氮菌的固氮酶活性的影响[期刊论文]-植物营养与肥料学报 2007(1)
35. West CP;Wedin WF Dinitrogen fixation in alfalfa-orchardgrass pastures 1983(01)
36. Witty JF Estimating N₂-fixation in the field using ¹⁵N-labelled fertilizer:some problems and solutions 1983
37. 吴凯朝, 梁俊, 韦莉萍, 罗霆, 邢永秀, 李杨瑞, 杨丽涛 内生固氮菌对甘蔗伸长期光合生理特性的影响[期刊论文]-广西植物 2011(5)
38. 席琳乔, 张德罡, 姚拓 ¹⁵N同位素稀释法测定燕麦根际固氮菌固氮量的研究[期刊论文]-核农学报 2007(4)
39. 杨荣仲, 谭裕模, 桂意云, 谭芳, 李杨瑞 ¹⁵N测定甘蔗生物固氮能力研究[期刊论文]-安徽农业科学 2008(24)
40. 杨声澈, 陈超君, 蓝立斌, 谭小丽, 梁和 ¹⁵N示踪技术应用与甘蔗氮素吸收与分配的研究[期刊论文]-广西农业科学 2010(12)
41. 姚拓, 蒲小鹏, 张德罡, 李金花 高寒地区燕麦根际联合固氮菌研究III固氮菌对燕麦生长的影响及其固氮量测定[期刊论文]-草业学报 2004(5)
42. 姚允寅;陈明;张希忠 Evaluation for dinitrogen fixation of induced wheat nodules by ¹⁵N isotope dilution method(用¹⁵N同位素稀释法评估诱发结瘤春小麦的固氮作用 1994
43. 张思苏;王在序;盖树人 利用¹⁵N对花生吸收化肥土壤供氮和根瘤固氮的研究 1989(01)

引用本文格式: 周晓舟, 李杨瑞, 杨丽涛. ZHOU Xiao-Zhou, LI Yang-Rui, YANG Li-Tao ¹⁵N同位素稀释法评估甘蔗的生物固氮量[期刊论文]-广西植物 2012(6)