

盐胁迫下沙枣生物固氮能力及氮素分配研究

魏琦^{1,2}, 武海雯², 刘正祥^{2*}, 李焕勇², 杨秀艳², 张华新²

(1. 北京市林业工作总站, 北京 100029; 2. 国家林业局盐碱地研究中心, 北京 100091)

摘要: [目的] 应用¹⁵N 自然丰度法研究盐胁迫条件下沙枣的生物固氮能力, 并探讨几个耐盐树种的氮素分配情况。 [方法] 通过耐盐树种的室内砂培试验, 确定盐渍生境条件下以空气氮为唯一氮源的沙枣¹⁵N 相对丰度 B 值及其适宜的参比植物; 估测室内和野外盐渍生境中沙枣的生物固氮能力; 并通过测定碳、氮、磷元素含量探讨了耐盐树种的氮素分配情况。 [结果] 室内盐胁迫砂培试验条件下, 沙枣的 B 值为 -1.41‰; 柽柳和白蜡可作为沙枣的参比植物; 沙枣的生物固氮百分率为 55.03%。野外中度盐渍环境中, 沙枣生物固氮百分率为 69.69%。试验条件下, 沙枣、柽柳和白蜡 3 个耐盐树种中, 沙枣植株及其叶、茎、根含氮量最高, 且与其它树种差异显著 ($P < 0.05$); 沙枣植株氮/碳含量比以及氮/磷含量比最高; 沙枣叶、茎和根的氮/磷含量比最高。野外中度盐渍环境中, 沙枣叶的氮/碳含量比以及氮/磷含量比均为最高。 [结论] ¹⁵N 自然丰度法可用于研究盐胁迫条件下沙枣的生物固氮能力, 柽柳和白蜡可作为参比植物; 沙枣在盐胁迫下的固氮能力较强, 是可应用于盐渍土生物改良的优良树种。本文为盐胁迫条件下利用¹⁵N 自然丰度法研究生物固氮作用提供方法参考, 对于盐碱地生物治理中植物材料的选择和耐盐树种资源的综合开发利用具有重要意义。

关键词: 盐胁迫; 沙枣; 生物固氮; 耐盐树种

中图分类号: S791

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2017)06-0985-08

Biological Nitrogen Fixation Ability and Nitrogen Distribution of *Elaeagnus angustifolia* under Salt Stress

WEI Qi^{1,2}, WU Hai-wen², LIU Zheng-xiang², LI Huan-yong², YANG Xiu-yan², ZHANG Hua-xin²

(1. General Forestry Station of Beijing Municipality, Beijing 100029, China;

2. Research Center of Saline and Alkali Land of State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: [Objective] To estimate the biological nitrogen fixation of *Elaeagnus angustifolia* under salt stress and to study the nitrogen distributions of several saline-tolerant trees species. [Method] Saline-tolerant trees were cultivated in greenhouse, and the value of ¹⁵N natural abundance (B) and appropriate reference plants in saline habitat were determined; the biological nitrogen fixation abilities of *E. angustifolia* in greenhouse and field saline habitat were investigated; and the nitrogen distributions of several saline-tolerant trees were obtained by determination of carbon, nitrogen and phosphorus contents. [Result] The results of planting trials showed that the B value of *E. angustifolia* was -1.41‰; *Tamarix chinensis* or *Fraxinus chinensis* could be the reference plant of *E. angustifolia*; the biological nitrogen fixation percentage of *E. angustifolia* was 55.03%. The biological nitrogen fixation percentage of *E. angustifolia* in moderate salinity field was 69.69%. In the experimental condition, among three saline-tolerant tree species of *E. angustifolia*, *T. chinensis* and *F. chinensis*, *E. angustifolia* had the highest nitrogen con-

收稿日期: 2017-03-09

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金(31400571); 国家“十三五”科技支撑计划项目“盐碱逆境高抗稳定植物种质优选技术与示范(2015BAD07B0102)”; 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(CAFYBB2014QB052)。

作者简介: 魏琦(1983—), 女, 博士, 高级工程师, 主要从事林业科技推广工作。E-mail: wei127@163.com

* 通讯作者: 男, 副研究员, 主要从事耐盐碱植物选育与盐碱地生物治理研究。E-mail: xiangzilz@163.com

tents in whole plants, roots, stems and leaves, and the contents were significantly different from other species ($P < 0.05$); the nitrogen and carbon content ratio and the nitrogen and phosphorus content ratio of *E. angustifolia* were the highest; the nitrogen and phosphorus content ratios of leaf, stem and root of *E. angustifolia* were the highest. The nitrogen and carbon content ratio and the nitrogen and phosphorus content ratio of *E. angustifolia* leaves in moderate salinity field were the highest. [Conclusion] ^{15}N natural abundance method can be applied to the study of biological nitrogen fixation ability of *E. angustifolia* under salt stress, and *T. chinensis* and *F. chinensis* can be selected as the reference plants; *E. angustifolia* has relatively strong biological nitrogen fixation ability under salt stress, and it is an excellent tree species for biological improvement of saline soil. This study indicates that ^{15}N natural abundance method can be used to estimate biological nitrogen fixation under salt stress, and the results are significant for the selection of plants used to saline soil bioremediation and comprehensive development and utilization of saline-tolerant trees.

Keywords: salt stress; *Elaeagnus angustifolia*; biological nitrogen fixation; saline-tolerant trees

土地盐渍化是一个世界性的生态和资源难题,据统计,全世界盐碱地面积超过 $8 \times 10^6 \text{ km}^2$ ^[1]。我国盐渍土分布广泛,各种不同类型的盐碱土壤约占国土总面积的 10.3%,其面积约为 $1 \times 10^6 \text{ km}^2$ ^[2],主要集中在华北的黄淮海地区、东北的三江平原和西北地区的大部等干旱、半干旱地区。盐渍土作为重要的土地后备资源,亟待治理、开发和利用。通过生物措施改良盐渍土,既有生态效益,又有经济效益和社会效益,是治理、开发和利用盐渍土的重要途径,已为很多国家和地区接受和采用^[3-5]。种植耐盐固氮树种是进行生物改良盐渍土的有效方法之一。耐盐树种可以在一定的盐胁迫下正常生长,又可以通过生物固氮提供自身生长所需的氮素,还可以改善土壤养分状况,有利于其它植物及微生物的生存、生长,进而促进土壤物理性状的改善,促进营建一定的植物群落。耐盐固氮树种生物固氮作用的研究也越来越受到关注。

沙枣 (*Elaeagnus angustifolia* L.) 为胡颓子科 (Elaeagnaceae) 胡颓子属 (*Elaeagnus* L.) 落叶乔木或小乔木^[6], 别名桂香柳、香柳、银柳, 是我国北方生态脆弱地区分布较广的重要固氮盐土植物。沙枣根系可以与弗兰克氏菌共生形成根瘤共生体系, 是木本非豆科放线菌共生固氮树种。弗兰克氏菌 *Frankia* sp. (*Hippophae*) 是一种共生固氮放线菌, 能够侵染沙枣、沙棘等多种非豆科树种并能在其根部形成根瘤, 其固定的氮可供宿主植物需要, 也是陆地生态系统中输入氮源的主要贡献者。

沙枣主要分布于地中海沿岸、亚洲西部、前苏联和印度等地, 在我国主要分布在广大的西北各省区和内蒙古西部, 少量分布于华北北部、东北西部, 大

致在北纬 34° 以北地区, 山东、河北、天津、山西等省区也有引种栽培。沙枣具有抗风沙、耐盐渍、耐高温、耐贫瘠、易繁殖、适应性强等特点, 是我国北方生态脆弱地区造林绿化、防风固沙的先锋树种, 是盐碱地造林及改造干旱、沙地、荒地的优良树种之一^[7-8]。沙枣作为饲料已有悠久的历史, 还有酿酒、制蜜等食用用途, 其花、果、枝、叶又可入药治疗烧伤、支气管炎、消化不良、神经衰弱等。沙枣是优良的造林、绿化、薪炭、防风、固沙树种, 具有良好的生态、经济、食用和药用价值。

对 NaCl 胁迫下, 沙枣种子萌发、水分与渗透调节、抗氧化防御等研究表明, 沙枣具有良好的耐盐性^[9-11]。沙枣能在滨海含盐量 0.8%~1.2% 的盐碱地正常生长, 但幼苗在 NaCl 浓度大于 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随 NaCl 浓度增大, 叶片生长受抑制越来越明显^[12]。沙枣适应盐渍化土壤, 在硫酸盐盐土上, 全盐量 1.3% 以下尚能生长; 在硫酸盐氯化物盐土上, 全盐量 0.6% 以下时, 才适于造林; 在硫酸盐氯化物盐土上, 全盐量 0.4% 以下, 才适于生长^[13-15]。对沙枣盐碱地引种及造林试验表明, 沙枣能在适度的盐碱胁迫下促进根瘤菌的形成^[16-17]。在盐渍土上种植沙枣, 不但可增加土壤中的含水量, 而且可增加土壤中的空气体积和有机质含量, 提高营养元素含量, 降低土壤 pH 值, 对滨海盐渍土有很好的改良效果^[18-19]。在辽宁滨海盐碱地的研究显示, 沙枣的最大固氮量为 $5.88 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ ^[20]。

近年来, ^{15}N 自然丰度法已逐渐成为一种应用范围较广的定量研究生物固氮的方法, 在国际上日益受到重视, 已广泛应用于陆地生态系统的氮循环研究中^[21]。使用 ^{15}N 自然丰度法具有以下优势: 不需

要采集根瘤,不需要 ^{15}N 标记物,不干扰野外植物和土壤生态系统,不受取样时间和空间的限制^[22-24],并且测量简单^[25]。测定 ^{15}N 丰度即可估测固氮情况,可用于多年生木本固氮植物固氮能力的评估是其不可替代的优点^[26-27]。综合目前固氮测定技术的优缺点及应用范围等,对于研究多年生木本固氮树种, ^{15}N 自然丰度法是较佳的选择^[28]。

研究耐盐固氮树种盐胁迫下生物固氮机理对于盐碱地生物改良中植物材料的选择和综合开发利用具有重要意义。目前在盐渍土条件下利用 ^{15}N 自然丰度法评价耐盐固氮树种固氮能力的研究较匮乏,林用耐盐固氮树种生物固氮方面系统、深入的研究较少。本研究通过耐盐树种的室内砂培试验,对 ^{15}N 自然丰度法在盐胁迫下的应用条件进行优化,确定盐渍土条件下适宜的参比植物;估测室内及野外环境中沙枣的生物固氮能力;并探讨了耐盐树种的氮素分配情况。本研究可以为盐渍土条件下应用 ^{15}N 自然丰度法研究耐盐树种生物固氮作用提供参考,为耐盐固氮树种资源综合利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 室内砂培试验

B值是以空气氮为唯一氮源的固氮植物的 ^{15}N 相对丰度值,是植物仅通过自身固氮得到的那部分氮素。木本植物与草本植物、谷类等农作物之间具有一定的生物学差异,因此选择前人研究的草本植物作为参比植物可能不适合木本植物的研究。B值及参比植物对于应用 ^{15}N 自然丰度法估算生物固氮量有着重要的意义。

本研究通过沙枣不供给氮源的室内砂培试验,获得沙枣盐胁迫条件下应用 ^{15}N 自然丰度法时的B值。由于没有现成的参比植物,因此对于适应于重度盐度环境中的固氮植物沙枣,选取适应于中、重度盐度环境的白蜡、柽柳2种盐碱地常见非固氮植物作为备选参比植物,这些植物具有较好的抗性,耐旱、耐盐碱,根系较发达,与研究的耐盐固氮植物特性相近。

1.1.1 培养方法及条件 营养钵选用上口径27 cm、下口径17 cm、高22 cm的聚乙烯塑料盆,用无纺布将盆底排水孔覆盖防止营养液过流失。每盆中加入等量的河砂基质(4.5 kg \pm 50 g)。选用沙枣、柽柳(*Tamarix chinensis* Lour.)、白蜡(*Fraxinus chinensis* Roxb.)1年生温室培养实生苗。小苗移植入盆,每盆植入1株植株,视基质湿度情况,每7 d左右浇一次水,浇透盆。缓苗20 d,之后选取长势基本一致的健康植株进行试验。试验处理中盐胁迫设置1个处理水平,NaCl浓度为100 mmol \cdot L⁻¹,处理溶液为相应质量的NaCl溶入营养液配制而成。试验处理见表1,每处理6个重复。试验中需要无氮营养液和有氮素营养液^[29-30]。无氮营养液组成见表2,有氮素营养液是在无氮营养液的基础上加入含氮化合物,加入的成分见表3。试验所用药品均为分析纯。盐胁迫当天开始,参试植物沙枣(处理1)及参比植物柽柳、白蜡(处理2、3)添加含盐有氮素营养液。测B值的沙枣(处理4)添加含盐无氮营养液。首次浇灌含盐营养液时浇透盆,之后视基质湿度情况,每7 d左右浇灌1次,每盆浇灌等量含盐营养液。

表1 试验设计

Table 1 Design of experiments

处理 Treatment	植物 Plant	营养液 Nutrient solution	NaCl 浓度 Concentration of NaCl/(mmol \cdot L ⁻¹)
1	沙枣 <i>E. angustifolia</i>	有氮素营养液 Nutrient solution	100
2	柽柳 <i>T. chinensis</i>	有氮素营养液 Nutrient solution	100
3	白蜡 <i>F. chinensis</i>	有氮素营养液 Nutrient solution	100
4	沙枣 <i>E. angustifolia</i>	无氮营养液 Nitrogen-free nutrient solution	100

由于土壤养分状况、水分、温度等环境条件均会对植物的固氮能力产生影响,因此本试验采用室内盆栽的方式进行,试验地点为中国林业科学研究院温室。试验条件为自然光周期,温度控制在白天25℃左右,晚上20℃左右,相对湿度70%~80%,CO₂浓度为360~370 $\mu\text{mol} \cdot \text{mol}^{-1}$ 。

1.1.2 测定项目及方法 首次盐胁迫处理记为0 d,之后第30 d时,取样测定。

(1)叶中 ^{15}N 丰度值。

取各处理植株各枝条上嫩叶,各重复混合后,105℃下杀青10 min,80℃下烘干48 h,粉碎过0.25 mm筛,样品混合均匀,Flash EA1112 HT元素分析仪

及 DELTA V Advantage 同位素比率质谱仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司)分别测定¹⁵N 原子丰度。样品¹⁵N 相对丰度:

表2 无氮营养液成分组成

Table 2 Composition of nitrogen-free nutrient solution

化合物 Compound	质量浓度 Concentration/(mg · L ⁻¹)
KH ₂ PO ₄	22
KCL	155
MgSO ₄ · 7H ₂ O	250
CaCl ₂ · 2H ₂ O	215
EDTA Na ₂	18
NaNO ₃	30
MnSO ₄ · H ₂ O	1
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.25
H ₃ BO ₃	0.25
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.25
Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.05

表3 营养液加入成分组成

Table 3 Composition of nutrient solution complemented

化合物 Compound	质量浓度 Concentration/(mg · L ⁻¹)
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	472.5
KNO ₃	253
NH ₄ NO ₃	40

$$\delta^{15}\text{N} = \frac{\text{atom}\%^{15}\text{N}(\text{sample}) - \text{atom}\%^{15}\text{N}(\text{standard})}{\text{atom}\%^{15}\text{N}(\text{standard})}$$

× 1 000

其中 $\delta^{15}\text{N}$ 为样品¹⁵N 相对丰度, $\text{atom}\%^{15}\text{N}(\text{sample})$ 为样品¹⁵N 原子丰度, $\text{atom}\%^{15}\text{N}(\text{standard})$ 为大气标准¹⁵N 原子丰度(0.366 3%)。

(2) 固氮植物的生物固氮贡献。

$$\% \text{Ndfa} = \frac{100(\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - \delta^{15}\text{N}_{\text{fixing-plant}})}{(\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}} - B)}$$

其中% Ndfa 表示植株体内来自大气中的那部分氮, $\delta^{15}\text{N}_{\text{ref}}$ 表示参比植物¹⁵N 相对丰度值, $\delta^{15}\text{N}_{\text{fixing-plant}}$ 表示固氮植物¹⁵N 相对丰度值, B 值表示以空气氮为唯一氮源的固氮植物的¹⁵N 相对丰度值。

(3) 叶面积、株高和生物量。

采用 Yaxin-1241 叶面积仪(北京雅欣理仪科技有限公司)测定上述植株树叶样品的叶面积。

测定上述参试植株株高,以植物根茎联合处为起点到主茎顶端最高点的距离。

对参试植物沙枣、柽柳、白蜡(处理 1-3)进行取样,取根、茎、叶,在 105℃ 下杀青 1 h, 80℃ 下烘干至恒质量,分别称质量。

植株总生物量 = 根生物量 + 茎生物量 + 叶生物量

(4) 植物的碳、氮和磷含量 植株含碳质量百分

率由 Vario EL III 元素分析仪测定。

上述植株根、茎、叶样品,用 Vario EL III 元素分析仪(德国 Elementar 公司)分别测定各器官含氮质量百分率。

植株氮的含量 = 根生物量 × 根含氮质量百分率 + 茎生物量 × 茎含氮质量百分率 + 叶生物量 × 叶含氮质量百分率

植株含磷的质量百分率通过 H₂SO₄-H₂O₂ 消煮-钼锑抗比色法测定。

(5) 生长季生物固氮量和吸氮量。

植株生长季内的生物固氮量^[31] = 植株氮的含量 × 生物固氮百分率(% Ndfa)

植物生长季内的吸氮量 = 植株生物固氮量 × 固氮植物数量

1.2 野外沙枣生物固氮能力测定

试验地点为天津市大港区滨海耐盐碱植物示范园。土壤 pH8.5, 土壤含盐量 0.4%。以 5 年生耐盐树种沙枣、柽柳和 1 年生白蜡为研究对象,对沙枣、柽柳和白蜡当年生枝叶进行取样,每棵树均在各方向取样,每树种取 6 株重复,取样时间为 7 月上旬。

各树种样品 105℃ 下杀青 10 min, 80℃ 下烘干 48 h, 粉碎过 0.25 mm 筛, 样品混合均匀, 稳定同位素质谱仪分别测定¹⁵N 原子丰度。计算样品¹⁵N 相对丰度及沙枣的生物固氮百分率(% Ndfa), 计算方法同前述。

2 结果与分析

2.1 参比植物的选择

2.1.1 室内砂培试验根瘤情况 首次盐胁迫处理后第 30 d 取样, 固氮植物沙枣生长情况及其根瘤见图 1。由图可看出, 沙枣茎、叶及根长势良好, 根须较密集, 根上长有较多根瘤, 满足了本试验中沙枣植株必须培养出根瘤以进行生物固氮的要求。



图1 沙枣及其根瘤

Fig. 1 *E. angustifolia* and root nodules

2.1.2 B值及参比植物 通过砂培试验测得的植物¹⁵N相对丰度(表4)。沙枣的B值为-1.41‰。

表4 ¹⁵N相对丰度Table 4 Results of δ¹⁵N

植物 Plant	营养液 Nutrient solution	¹⁵ N 相对丰度(±0.2‰) δ ¹⁵ N/‰
沙枣 <i>E. angustifolia</i>	有氮素营养液 Nutrient solution	0.20
柽柳 <i>T. chinensis</i>	有氮素营养液 Nutrient solution	2.37
白蜡 <i>F. chinensis</i>	有氮素营养液 Nutrient solution	1.99
沙枣 <i>E. angustifolia</i>	无氮营养液 Nitrogen-free nutrient solution	-1.41

以试验测定的B值为参数,分别以柽柳、白蜡为参比植物计算盐胁迫下沙枣生物固氮百分率结果见表5。由表5可知,以柽柳、白蜡为参比植物估测的沙枣生物固氮百分率分别为57.41%和52.65%,相差为4.76%。当计算得到的%Ndfa小于30%,或者参比植物的δ¹⁵N值小于4‰时;当%Ndfa大于

70%,或者参比植物的δ¹⁵N值大于6‰时,参比植物的影响可以忽略^[32-33]。由表4看出,试验参比植物的δ¹⁵N值均小于4‰。因此在试验条件下,应用¹⁵N自然丰度法估测沙枣的生物固氮能力时,柽柳和白蜡均可作为参比植物。

表5 生物固氮百分率

Table 5 Results of %Ndfa

%

植物 Plant	参比植物 Reference plant		差值 Difference	均值 Mean value
	柽柳 <i>T. chinensis</i>	白蜡 <i>F. chinensis</i>		
沙枣 <i>E. angustifolia</i>	57.41	52.65	4.76	55.03

2.2 盐胁迫下沙枣生物固氮能力

2.2.1 室内盐胁迫下沙枣生物固氮量 温室砂培条件下,以2.1.2测得的沙枣B值为参数,以柽柳和白蜡为参比植物测定沙枣的生物固氮百分率%Ndfa,取表5中测定的均值55.03%,结合生物量、含氮量等数据,测定沙枣的生物固氮量。

实验结果得出,沙枣单株植株在试验生长季内的生物固氮量平均为0.30g。砂培试验处理1的所有沙枣植株在试验生长季内的总吸氮量为1.80g。

2.2.2 野外中度盐度下沙枣生物固氮能力 以砂培试验测定的沙枣B值为参数,以柽柳、白蜡为参比植物,对野外中度盐渍环境中的沙枣进行生物固氮能力测定,见表6。由表可知,以柽柳、白蜡为参比植物测得的沙枣生物固氮百分率分别为67.36%和72.01%,相差4.65%,平均生物固氮百分率为69.69%。

表6 沙枣生物固氮百分率

Table 6 %Ndfa of *E. angustifolia*

%

参比植物 Reference plant	柽柳 <i>T. chinensis</i>	白蜡 <i>F. chinensis</i>
生物固氮百分率%Ndfa	67.36	72.01
差值 Difference	4.65	
均值 Mean value	69.69	

2.3 盐胁迫下耐盐树种氮素分配

2.3.1 室内砂培试验 (1)树种含氮量 参试耐

盐树种沙枣、柽柳、白蜡植株含氮量见表7。由表看出,试验植株含氮量在9.98~24.77mg·g⁻¹之间,沙枣含氮量最高且与其它树种差异显著($P < 0.05$)。试验植株氮的含量在0.11~0.54g之间,沙枣植株氮的含量最高且与其它树种差异显著($P < 0.05$)。参试植株生物量在6.67~34.47g之间,白蜡植株生物量最高且与其它树种差异显著($P < 0.05$)。参试各树种株高在46.65~118.75cm之间,白蜡株高最高且与其它树种差异显著($P < 0.05$)。各树种叶面积在151.12~665.23cm²之间,白蜡植株叶面积最大且与其它树种差异显著($P < 0.05$)。

(2)树种氮素分配 参试耐盐树种沙枣、柽柳、白蜡植株氮素分配情况见表8。由表看出,各树种植株各器官中叶含氮量最高,在21.03~33.21mg·g⁻¹之间,其次为根、茎。参试植株茎含氮量在7.33~21.57mg·g⁻¹之间,根含氮量在13.59~25.51mg·g⁻¹之间,沙枣叶、茎、根含氮量均最高且均与其它树种差异显著($P < 0.05$)。

沙枣和白蜡植株体内的氮素分配到茎中的最多,分别占植株含氮量的42.93%和52.38%。沙枣和白蜡植株茎生物量相对较大,因此茎的氮素分配比例相对较大。柽柳植株体内的氮素分配到叶中的最多,占植株含氮量的51.81%。沙枣的氮素主要

表7 耐盐树种生长指标

Table 7 The growth indexes of plants tested

指标 Index	沙枣 <i>E. angustifolia</i>	柽柳 <i>T. chinensis</i>	白蜡 <i>F. chinensis</i>
植株含氮量 Nitrogen content of plant/(mg · g ⁻¹)	24.77 ± 0.24a	17.25 ± 0.71b	9.98 ± 0.10c
植株氮的含量 Nitrogen quality in plant/g	0.54 ± 0.02a	0.11 ± 0.01c	0.34 ± 0.02b
生物量 Biomass/g	21.69 ± 1.56b	6.67 ± 0.33c	34.47 ± 1.24a
株高 Plant height /cm	82.00 ± 2.04b	46.65 ± 2.11c	118.75 ± 4.54a
叶面积 Leaf area/cm ²	390.32 ± 13.13b	151.12 ± 7.06c	665.23 ± 32.65a

注:数值 = 平均值 ± 标准误 ($n=6$), 采用邓肯氏新复极差检验法 (DMRT 法) 进行多重比较, 行中相同字母表示差异不显著, 检验的显著性水平为 $P=0.05$ 。Note: Values are mean ± S. E. ($n=6$). Values in a low followed by same letters are not significantly different ($p=0.05$) according to duncan's multiple comparison (DMRT).

存在于茎中, 其次为根、叶; 柽柳的氮素主要存在于叶中, 其次为茎、根; 白蜡的氮素主要存在于茎中, 其次为叶、根。参试植物叶氮的含量占植株氮的含量的 20.75% ~ 51.81%, 柽柳叶氮素分配比例最高且与其它树种差异显著 ($P < 0.05$)。参试植物茎氮的含量占植株氮的含量的 37.22% ~ 52.38%, 白蜡茎氮素分配比例最高且与其它树种差异显著 ($P < 0.05$)。参试植物根氮的含量占植株氮的含量的 10.97% ~ 36.32%, 沙枣根氮素分配比例最高且与其它树种差异显著 ($P < 0.05$)。

试验植株叶氮的含量在 0.06 ~ 0.11 g 之间, 沙

枣叶氮的含量最高; 植株茎氮的含量在 0.04 ~ 0.23 g 之间, 沙枣茎氮的含量最高; 植株根氮的含量在 0.01 ~ 0.20 g 之间, 沙枣根氮的含量最高且与其它树种差异显著 ($P < 0.05$)。参试沙枣植株各器官中茎氮的含量最高, 其次为根、叶; 柽柳叶氮的含量最高, 其次为茎、根; 白蜡茎氮的含量最高, 其次为叶和根。

参试树种单位叶面积氮含量在 0.13 ~ 0.38 g · cm⁻² 之间, 柽柳单位叶面积氮含量最高且与其它树种差异显著 ($P < 0.05$)。

表8 参试树种氮素分配

Table 8 Nitrogen distribution of plants tested

名称 Item	沙枣 <i>E. angustifolia</i>	柽柳 <i>T. chinensis</i>	白蜡 <i>F. chinensis</i>
叶含氮量 Nitrogen content of leaf/(mg · g ⁻¹)	33.21 ± 1.51a	31.78 ± 1.51b	21.03 ± 1.07c
茎含氮量 Nitrogen content of of stem/(mg · g ⁻¹)	21.57 ± 1.03a	10.21 ± 0.46b	7.33 ± 0.36c
根含氮量 Nitrogen content of root/(mg · g ⁻¹)	25.51 ± 1.24a	19.21 ± 0.92b	13.59 ± 0.62c
叶氮素分配比例 Nitrogen distribution ratio in leaf/%	20.75 ± 1.02c	51.81 ± 2.02a	23.88 ± 0.77bc
茎氮素分配比例 Nitrogen distribution ratio in stem/%	42.93 ± 2.01b	37.22 ± 1.84b	52.38 ± 1.40a
根氮素分配比例 Nitrogen distribution ratio in root/%	36.32 ± 1.75a	10.97 ± 0.42c	23.74 ± 1.04b
叶氮的含量 Nitrogen quality in leaf/g	0.11 ± 0.01a	0.06 ± 0.00b	0.08 ± 0.01ab
茎氮的含量 Nitrogen quality in stem/g	0.23 ± 0.01ab	0.04 ± 0.00c	0.18 ± 0.01b
根氮的含量 Nitrogen quality in root/g	0.20 ± 0.01a	0.01 ± 0.00c	0.08 ± 0.01b
单位叶面积氮含量 Nitrogen content per unit leaf area/(g · cm ⁻²)	0.28 ± 0.01b	0.38 ± 0.02a	0.13 ± 0.01c

注:数值 = 平均值 ± 标准误 ($n=6$), 采用邓肯氏新复极差检验法 (DMRT 法) 进行多重比较, 行中相同字母表示差异不显著, 检验的显著性水平为 $P=0.05$ 。

Note: Values are mean ± S. E. ($n=6$). Values in a low followed by same letters are not significantly different ($p=0.05$) according to duncan's multiple comparison (DMRT).

(3) 室内盐胁迫下耐盐树种碳、氮、磷含量比参试耐盐树种沙枣、柽柳、白蜡植株碳、氮、磷含量比见表9。由表看出, 试验植株氮/碳含量比为 0.02 ~ 0.05 之间, 沙枣氮/碳含量比最高。植株各器官中叶氮/碳含量比最高, 其次为根、茎。植株叶氮/碳含量比为 0.05 ~ 0.09 之间, 柽柳叶氮/碳含量比最高。植株茎氮/碳含量比为 0.02 ~ 0.05 之间, 植株

根氮/碳含量比为 0.03 ~ 0.06 之间, 沙枣茎及根氮/碳含量比最高。

试验植株氮/磷含量比为 10.59 ~ 19.20 之间, 沙枣氮/磷含量比最高。植株叶氮/磷含量比为 12.08 ~ 21.94 之间, 茎氮/磷含量比为 9.85 ~ 17.94 之间, 根氮/磷含量比为 7.89 ~ 19.41 之间, 沙枣叶、茎及根的氮/磷含量比最高。

表9 耐盐树种碳、氮、磷含量比

Table 9 Carbon, nitrogen, and phosphorus content ratio of plants tested

名称 Item	沙枣 <i>E. angustifolia</i>	柽柳 <i>T. chinensis</i>	白蜡 <i>F. chinensis</i>
植株氮/碳含量比 N/C Nitrogen and carbon content ratio of plant	0.05	0.04	0.02
叶氮/碳含量比 N/C Nitrogen and carbon content ratio of leaf	0.07	0.09	0.05
茎氮/碳含量比 N/C Nitrogen and carbon content ratio of stem	0.05	0.02	0.02
根氮/碳含量比 N/C Nitrogen and carbon content ratio of root	0.06	0.04	0.03
植株氮/磷含量比 N/P Nitrogen and phosphorus content ratio of plant	19.20	10.59	11.09
叶氮/磷含量比 N/P Nitrogen and phosphorus content ratio of leaf	21.94	12.08	16.90
茎氮/磷含量比 N/P Nitrogen and phosphorus content ratio of stme	17.94	10.08	9.85
根氮/磷含量比 N/P Nitrogen and phosphorus content ratio of root	19.41	7.89	10.38

表10 野外耐盐树种叶碳、氮、磷含量比

Table 10 Carbon, nitrogen, and phosphorus content ratio of plant leaves in moderate salinity environment field

参数 Item	沙枣 <i>E. angustifolia</i>	柽柳 <i>T. chinensis</i>	白蜡 <i>F. chinensis</i>
叶氮/碳含量比 N/C Nitrogen and carbon content ratio of leaf	0.081	0.059	0.078
叶氮/磷含量比 N/P Nitrogen and phosphorus content ratio of leaf	17.68	12.20	11.54

2.3.2 野外试验 野外中度盐渍环境中耐盐树种叶的碳、氮/磷含量比见表10。由表看出,参试树种叶氮/碳含量比为0.059~0.081之间,叶氮/磷含量比为11.54~17.68之间,沙枣叶的氮/碳含量比及氮/磷含量比均最高。

3 讨论

^{15}N 自然丰度法在生物固氮研究中的应用、豆科植物生物固氮以及植物盐胁迫下的耐盐性等研究已较成熟^[34-35],但目前 ^{15}N 自然丰度法应用于盐胁迫条件下的研究资料还较少,尤其是应用于盐渍土条件下评价林用耐盐木本非豆科放线菌共生固氮树种固氮能力的研究较匮乏。 ^{15}N 自然丰度法具有方便简单等很多优势,本文以木本非豆科放线菌共生固氮树种沙枣为研究对象,对 ^{15}N 自然丰度法在盐胁迫条件下的适用性进行了探索,可以为盐胁迫条件下利用 ^{15}N 自然丰度法研究生物固氮作用提供计算参数和理论基础。

确定B值及参比植物等 ^{15}N 自然丰度法的应用条件,使其能够应用于盐渍土壤条件下植物生物固氮能力的评估,是探讨耐盐固氮树种对盐碱地生物改良作用的基础理论研究。沙枣等植物根系与弗兰克氏菌共生形成根瘤共生体系,是非豆科放线菌共生固氮树种;大部分豆科树种根系与根瘤菌属的细菌共生形成根瘤共生体系,是豆科根瘤菌共生固氮树种。不同生物固氮机制类型的耐盐树种在不同盐度胁迫条件下的生物固氮能力是否存在差异,其对不同盐胁迫的响应如何;不同固氮类型的耐盐树种

在盐渍土条件下和非盐胁迫条件下的生物固氮能力是否存在差异等等科学问题,还需要今后做进一步的系统研究和探讨。除柽柳和白蜡外,沙枣适宜的参比植物还有哪些,其它生物固氮树种或其他不同生物固氮类型的植物所适宜的参比植物如何选择,需要后续的研究探讨。

耐盐固氮树种是一类良好的生物改良盐碱地的植物资源,在多种盐胁迫水平或重度盐度条件下,应用 ^{15}N 自然丰度法评价多种不同生物固氮类型的耐盐固氮树种的生物固氮能力还需要今后深入的研究探讨。

4 结论

(1)温室环境中,盐胁迫下的室内砂培试验表明,柽柳和白蜡可作为参比植物用于在试验的盐渍土壤条件下利用 ^{15}N 自然丰度法估算沙枣的固氮能力。试验条件下,以空气氮为唯一氮源的耐盐固氮树种沙枣的 ^{15}N 相对丰度值B值为-1.41‰。试验的盐胁迫条件下沙枣的生物固氮百分率为55.03%,野外土壤中度盐渍环境中,沙枣生物固氮百分率为69.69%。

(2)参试植物中,沙枣植株及其叶、茎、根含氮量最高且与其它树种差异显著($P < 0.05$);沙枣植株氮/碳含量比及氮/磷含量比最高;沙枣叶、茎及根的氮/磷含量比最高。野外中度盐渍环境中沙枣叶的氮/碳含量比及氮/磷含量比均最高。

(3)试验测定的沙枣生物固氮百分率均大于50%,沙枣植株及其叶、茎、根含氮量均较高,且室内

及野外环境中沙枣植株氮/碳含量比及氮/磷含量比均较高,表明沙枣在盐胁迫下的固氮能力较强,是应用于盐渍土生物改良的优良树种。野外环境中测定的沙枣生物固氮百分率高于室内培养的,可能与土壤、大气、水分、光照及温湿度等环境条件以及植物生长时间、体内固氮酶等因素有关。

参考文献:

[1] Munns R, Tester M. Mechanisms of salinity tolerance[J]. Annual Review of Plant Biology, 2008, 59(1): 651-681.

[2] Ci L J, Yang X H. Desertification and its control in China[M]. Beijing: Higher Education Press, 2010.

[3] Akhtar S, Wahid A, Akram M, et al. Some growth, photosynthetic and anatomical attributes of sugarcane genotypes under NaCl salinity [J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2001, 4(3): 439-443.

[4] Djanaguiraman M, Sheeba J A, Shanker A K, et al. Rice can acclimate to lethal level of salinity by pretreatment with sublethal level of salinity through osmotic adjustment[J]. Plant and Soil, 2006, 284(1-2): 363-373.

[5] Li Y L, Su X H, Zhang B Y, et al. Expression of jasmonic ethylene responsive factor gene in transgenic poplar tree leads to increased salt tolerance[J]. Tree Physiology, 2009, 29(2): 273-279.

[6] 中科院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 1979, 25(2): 115-135.

[7] 于玮玮, 阎国荣. 沙枣的资源及研究现状[J]. 天津农学院学报, 2009, 16(2): 46-50.

[8] 刘正祥. 沙枣对氯化钠和硫酸钠胁迫差异性响应的生理机制[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2013, 17.

[9] 刘宝玉, 张文辉, 刘新成, 等. 沙枣和柠条种子萌发期耐盐性研究[J]. 植物研究, 2007, 27(6): 721-728.

[10] 公勤, 齐曼·尤努斯, 艾力江·买买提. NaCl 胁迫对 3 种胡颓子属植物幼苗体内物质积累及水分含量的影响[J]. 新疆农业大学学报, 2008, 31(3): 46-50.

[11] 张桂霞, 李树玲. 盐胁迫对两种沙枣抗氧化酶活性的影响[J]. 北方园艺, 2011, 10: 46-49.

[12] 黄俊华, 买买提江, 杨昌友, 等. 沙枣 (*Elaeagnus angustifolia* L.) 研究现状与展望[J]. 中国野生植物资源, 2005, 24(3): 26-33.

[13] 辛艳伟. 沙枣的开发和利用[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(2): 399-400, 402.

[14] 刘正祥, 张华新, 杨秀艳, 等. NaCl 胁迫下沙枣幼苗生长和阳离子吸收、运输与分配特性[J]. 生态学报, 2014, 34(2): 326-336.

[15] 杨升, 刘涛, 张华新, 等. 盐胁迫下沙枣幼苗的生长表现和生理特性[J]. 福建林学院学报, 2014, 34(1): 64-70.

[16] 丁水林, 赵延茂, 乔来秋. 黄河三角洲地区沙枣引种初报[J]. 山东林业科技, 1999(4): 10-11.

[17] 陶晶, 陈士刚, 李青梅, 等. 耐寒型抗盐碱树种银莓、沙枣引种及应用[J]. 防护林科技, 2007(5): 94-96.

[18] 陈士刚, 陶晶, 秦彩云, 等. 沙枣在吉林苏打盐碱土区的适应性研究[J]. 吉林林业科技, 2014, 43(1): 6-10.

[19] 卢兴霞, 周俊, 杨静慧, 等. 两种林木栽植对滨海重盐碱地化学特性的影响[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2014, 39(9): 37-43.

[20] 于雷, 郑景明, 潘文利, 等. 滨海盐碱地防护林树种固氮特性研究[J]. 辽宁林业科技, 1998(2): 17-19, 50.

[21] 姚凡云, 朱彪, 杜恩在. ^{15}N 自然丰度法在陆地生态系统氮循环研究中的应用[J]. 植物生态学报, 2012, 36(4): 346-352.

[22] Nadelhoffer K J, Shaver G, Fry B, et al. ^{15}N natural abundances and N use by tundra plants[J]. Oecologia, 1996, 107(3): 386-394.

[23] Robinson D. $\delta^{15}\text{N}$ as an integrator of the nitrogen cycle[J]. Trends in Ecology & Evolution, 2001, 16(3): 153-162.

[24] Kahmen A, Wanek W, Buchmann N. Foliar $\delta^{15}\text{N}$ values characterize soil N cycling and reflect nitrate or ammonium preference of plants along a temperate grassland gradient[J]. Oecologia, 2008, 156(4): 861-870.

[25] Templer P H, Arthur M A, Lovett G M, et al. Plant and soil natural abundance $\delta^{15}\text{N}$: indicators of relative rates of nitrogen cycling in temperate forest ecosystems[J]. Oecologia, 2007, 153(2): 399-406.

[26] 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[J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(S1): 17-20.

[27] 陈朝勋, 席琳乔, 姚拓, 等. 生物固氮测定方法研究进展[J]. 草原与草坪, 2005(2): 21-26.

[28] Boddey R. M, Peoples M. B, Palmer B, et al. Use of the ^{15}N natural abundance technique to quantify biological nitrogen fixation by woody perennials[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2000, 57(3): 235-270.

[29] Hoagland D R, Arnon D I. The water culture method for growing plants without soil[J]. California Agriculture Experimental Station Circular, 1950, 347(5406): 357-359.

[30] Sheng O, Song S W, Chen Y J, et al. Effects of exogenous B supply on growth, B accumulation and distribution of two navel orange cultivars[J]. Trees, 2009, 23(1): 59-68.

[31] Bolger T P, Pate J S, Unkovich M J, et al. Estimates of seasonal fixation of annual subterranean clover based pastures using the ^{15}N natural abundance technique[J]. Plant Soil, 1995, 175(1): 57-66.

[32] Unkovich M, Herridge D, Peoples M, et al. Measuring plant-associated nitrogen fixation in agricultural systems[J]. ACIAR. (The Australian Centre for International Agricultural Research), 2008, 136: 258.

[33] 杨子文. 应用 ^{15}N 自然丰度技术量化陇东苜蓿生物固氮的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2010, 43.

[34] Gathumbi S. M, Cadisch G, Giller K. E. ^{15}N natural abundance as a tool for assessing N_2 -fixation of herbaceous, shrub and tree legumes in improved fallows[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2002, 34(8): 1059-1071.

[35] Andrews M, James E K, Sprent J I, et al. Nitrogen fixation in legumes and actinorhizal plants in natural ecosystems: values obtained using ^{15}N natural abundance [J]. Plant Ecology & Diversity, 2011, 4(2-3): 131-140.