

# 绿色革命的曙光

● 非豆科作物固氮研究



聂延富 著

青岛海洋大学出版社

THE DAWN OF GREEN REVOLUTION  
STUDIES ON NITROGEN FIXATION  
FOR NON-LEGUMINOUS CROPS  
BY NIE YAN-FU

# 绿色革命的曙光

非豆科作物固氮研究

聂延富

青岛海洋大学出版社

# 绿色革命的曙光

聂廷富

\*

青岛海洋大学出版社出版

青岛市鱼山路5号

邮政编码:266003

新华书店发行

山东新华印刷厂德州厂印刷

\*

1991年12月第1版 1991年12月第1次印刷

32开(850×1168毫米) 印张17 插页345千字

印数1—1,200

ISBN 7—81026—162—2/S·5

定价:19.50元

## 内 容 提 要

本书介绍生物固氮研究的前沿领域——非豆科农作物结瘤固氮研究的各种方法及其优缺点,发展过程,最新进展和前景展望。其中第一部分为概述,从中可以了解国内外对此项目的研究概况、动态、方法和方向。第二部分是本书作者及其合作者的研究报告,从中可以了解到近十二年来,作者在人工根瘤研究中的一些方法、结果和观点。第三部分是作者同国外学者合作,在国内外刊物上发表的或提供到国际会议上的有关人工根瘤研究的部分论文、摘要或报告(中文、英文或译文)。从中可以了解到国外同行的工作,及相互印证、发展的情况。第四部分是国内外学者及有关会议上和舆论界对本书作者十多年来所进行的工作评价和看法,仅供读者参考。最后附有作者自1979——1990年以来,在诱发非豆科作物结瘤、固氮研究过程中的顺时纪事及未引入本书的国内外学者用作者提出的相同或类似方法进行这方面工作的文献资料,均可供对非豆科作物固氮研究感兴趣者的研究参考。

## 前 言

从法国学者赫尔利格尔(Hellriegel)在 1886 年第 59 届德国科学家和医生大会上,提出关于豆科植物的根瘤能固定大气中(约含 80%)的氮气的报告起开始,生物固氮的研究,迄今在国际上到 1986 年已有 100 年历史,在中国也已有五十多年的历史。

在这一百多年中,科学家对生物固氮进行了广泛深入的研究。除揭示了很多规律性的东西以外,还发现生物固氮作用只限于部分原核微生物。其中,除发现大量豆科植物和根瘤菌结瘤共生固氮外,还发现根瘤菌和弗兰克氏菌也能同少数高等植物形成结瘤共生固氮体系;固氮蓝藻可与红萍在叶片中共生固氮,也与一些裸子和被子植物共生;也发现固氮螺菌等在一些禾本科植物根表面和根的皮层组织中生长,进行联合固氮;田菁根瘤菌在毛茛田菁的茎上形成茎瘤,在有氧环境中固氮;叶瘤有否固氮活性问题有争论。没有发现高等植物有自身固氮和农作物有结瘤固氮的例子。

由于只有自然界存在的结瘤固氮的豆科和少数非豆科植物和后来发现的联合固氮植物才有固氮能力,即将其不能直接吸收利用的,从空气成份中约含 80%的气态氮中,固定制造可供植物吸收利用的氮肥,因而才有增产、肥田的本领。因为氮肥是农业增产的限制因子,也由于农家有机肥料来源有限;氮化肥的生产需要巨额投资,且消耗大量能源,污染环境,破坏生态平衡,加重温室效应,而且产量不足,长期使用还可造成土壤板结;大量的非豆科植物,特别是农作物不能自身固氮也不能结瘤固氮;为了广泛开辟氮肥资源,解决当今世界人口剧增、粮食不足、能源缺乏和摆脱农业对化肥的依赖及化肥生产所引起的不良效果;因而,一个如何能开

辟一条非豆科植物、作物固氮的新途径问题,早已成为长期以来人类的愿望。虽长期来该愿望没有付诸实现,然而,它始终是人类追求的现代农业科学中富有挑战性的前沿研究重大课题之一,一直引起国内外广泛关注。

近 20 多年来,虽然在非豆科作物固氮方面的研究取得一定进展,如:

1. 已能用改造后的根瘤菌侵染玉米、水稻,获得能使其根毛卷曲的豆科结瘤植物的性状;

2. 已将固氮菌引入外生菌根菌中,能形成菌根固氮;

3. 已能使玉米原生质体吸收棕色固氮菌,形成愈伤组织,培育成幼苗固氮,但固氮活性随后消失;

4. 已可使植物愈伤组织和一些固氮微生物联合培养固氮;

5. 已用酶解植物细胞壁法打破根瘤菌或其他固氮微生物侵染植物细胞的障碍,使非豆科植物结瘤;

6. 也曾用 Ti 质粒将苏芸金菌的一种毒素基因导入烟草中表达,因而揭示,也有一种可能,导入固氮基因(nif);

7. 已经获得了将豆科和非豆科植物原生质体融合后的融合子,并希望有可能将其培养成固氮植物;

8. 已使植物细胞原生质体,摄取固氮蓝细菌,并培养到两者共生的烟草再生苗,且已具有联合固氮活性;

9. 已用豆科寄主植物的非变性提取物混合液,提取其中的有关成分,培养相应的根瘤菌,成为转变株,用来处理非豆科种子,并已可引导结瘤固氮;

然而,以上所有的试验,不是停留在细菌和高等植物联合共生阶段,细菌未进入植物细胞内,就是通过细胞融合进入植物细胞内,但或者不能再生出细胞壁,或者最终为再生细胞所排斥,或者通过愈伤组织能培育出固氮幼苗,但随后固氮活性消失。虽然用酶解植物细胞壁法、用豆科幼苗生理活性物质处理法,可使接种菌在

一些非豆科作物上结瘤,甚至固氮。但这二种方法没有大田生产应用意义。而其他一些方法,则仅是几种有可能发展成使非豆科植物结瘤或固氮的希望(形成固氮外生菌根的例子除外)。豆科植物提取物转变根瘤菌株诱瘤法未见进一步的报道,估计也会遇到一些问题。

10. 用 2,4—D 等植物激素类有效诱瘤剂诱瘤法,从 1980 年起,已能诱发豆科植物打破其与根瘤菌的互接族界限结瘤和非豆科作物结固氮根瘤。在田间条件下应用,有时不一定都能结瘤,但很有可能提高联合固氮效果。但该方法虽然可在田间使植物结瘤,细菌也可侵入根瘤皮层深部细胞间隙或通过各种途径侵入细胞中形成类菌体,根瘤有的也出现红色并初步表现出增产效果或刺激生长作用,而且 2,4—D 用量极微,配成溶液后可将其同接种菌混合浇灌在新生幼根上,并结合叶面喷雾及菌液拌种等方法使用,但也同样存在一些问题需研究解决。例如,要预先取得较理想的使用经验:比如,对某种作物,接种哪种菌,可诱发有效瘤?诱瘤的 2,4—D 最低使用浓度多大?在植物哪个生育期使用,用几次适宜、不会引起药害、病理现象,而且能刺激生长增产?在什么土壤条件下,受哪些因子影响,会使植物不结瘤?及如何研究克服等许多问题。可见,用人工方法改造生物,谈何容易。但人类总不能被被动地等待自然的恩赐,只究其所以然,而不去探索规律、能动地向自然索取。

现在,我们正在研究不直接使用 2,4—D 的技术,并已获得初步结果,但尚有待多次重复,最后确定能否用于农业生产。这包括如下几方面的技术:

1. 用某种分解纤维素的细菌、分解果胶的细菌,作为开路先锋菌,混以对某种植物经诱瘤试验证明是结瘤固氮有效的微生物,作为田间接种菌,向植物新生的幼根上使用,以诱发田间根瘤,该试验正在试管中进行。现已获得初步结果。

2. 2,4—D 等诱发根瘤的植物生长调节剂,借设想的生长素对

菌体的定向驯化变异诱瘤作用,以一定浓度和时间,对不同固氮微生物进行处理。用洗去或不洗去诱瘤剂的菌体,在田间接种非豆科作物,以期能结瘤、固氮。用该法在试管内曾获得结瘤效果。

另一方法是,直接接种加诱瘤剂培养处理的菌液。将其浇灌在新生幼根上做诱瘤试验。目前,在试管中也已取得初步效果。也可再次回接原植物,使其结瘤、固氮。

3. 已用 2,4—D 直接诱发的非豆科作物固氮根瘤,带十几个根瘤的一段小麦的根,研成匀浆,接种同品种小麦,在不再加 2,4—D 和接任何菌的条件下,经无菌培养或自然培养,可再次回接,结固氮根瘤,而接种原来未经 2,4—D 处理的同种细菌不结瘤。因此,一旦土壤中这种菌随 2,4—D 诱发根瘤,在植物收获后,残留在土壤中,多到一定数量后,有可能只种同品种植物,不再加 2,4—D 等诱瘤剂,不再接菌,而且只有这种被驯化的菌可专一性地侵入植物根系中结瘤、固氮。这有可能大大缩短了植物同细菌结瘤共生固氮的亿万年的长期自然进化历程。

4. 作者已经发现某些小麦种子、君子兰种子、仙人球和某些蕨类(羊齿植物)的根部球芽细胞中,含有大量内生细菌。可望通过各种遗传工程的方法,将固氮基因转移到这种植物的内生菌中,或注入其中,使其具有固氮活性,但要克服许多困难。

5. 把非豆科植物用豆科生理活性物质诱发的含菌根瘤匀浆,回接其曾结瘤的同品种植物,看能否结瘤固氮,或用从根瘤内分离的菌接种。但对此无法解释生长在大豆根瘤中的根瘤菌,处在大豆丰富的生理活性物质中,为什么不能通过接种这些菌使非豆科植物结瘤的问题。故应对豆科植物提取物诱瘤机理进行深入研究。

本书主要是将作者近十二年来的工作和一些设想的方法加以综合发表;也将近年来,在非豆科植物、作物,固氮研究中的一部分收集到的国内外的资料作为附件,列入本书的参考资料中,以供参考。由于植物自身固氮方面的工作目前无突破性进展,所以本书主

要是关于非豆科作物结瘤固氮方面的工作和已取得的初步结果,只是涉及到,但不包括自然界本身已有的各种共生固氮体系的研究工作在内。

由于篇幅、经费等方面的限制,收编入本集中的论文报告和译文,或外文中的照片和部分文献目录有所删略。因水平所限,书中的缺点、错误和不足之处在所难免,特别是在这项工作的开拓研究过程中,在一些有关的自然规律未探明之前,也难免过早提出一些不正确的观点、理论,甚至一时错误的试验结果,以及后来发表的论文与以前发表的论文有矛盾或修改的地方,均请读者及同行惠予谅解或指正。

这里要向读者说明,本书收进的少部分论文,是我和国内外几位先生合作的产物,这些都是我们共同研究的成果。因此在这些论文前面,都署上了合作者的名字,本人不敢掠他人之美也。大部分没加署名的,则为本人所作。

**聂延富**

1990年10月

于中国山东省济南市山东大学

# 序

## (一)

陈华癸先生和樊庆笙先生在为陈廷伟先生 1989 年主编的、由中国农业科技出版社出版的、第一部《非豆科作物固氮研究进展》一书所写的序言很有教益：陈华癸先生指出：“能不能使根瘤菌或弗兰克氏菌超越自然的宿主范围和更多种植物形成共生固氮体系？能否使自生固氮细菌和植物形成共生固氮体系？能不能使植物自身固氮？这仅仅是空想或科学幻想，还是现在已经具备或尚未具备着手研究的科学技术基础？不同的人有不同的见解，但任何科学见解都需要以已有的知识做为形成见解的基点。这本书收集了一些已有的有关知识的见解，读过之后想必会产生各种不同的反响，一本能引起反响的书就是有价值的书。反响会引起争议，争议往往是新思想和科学实践的先驱。”

樊庆笙先生在其序言中指出：“非豆科作物固氮已是今日生物固氮研究的新方向，要为作物的氮素营养开辟新途径，为农业生产开创新局面。”“自然界已提供了一些实例，在豆科植物与根瘤菌的共生固氮体系外，还有一些其他共生固氮体系，改善了共生者的氮素营养。固氮蓝藻与红萍共生固氮，也与一些裸子和被子植物共生，已是人所共知的事实。在过去二十年中发现有根瘤菌在榆科的 *Parasponia* 根上结瘤固氮；固氮螺菌在一些禾本科植物根的表面和根的皮层组织中生长，进行‘联合’固氮；田菁根瘤菌 (*Azorhizobium Sesbania*) 在毛萼田菁的茎上形成茎瘤，于有氧环境中固氮；

也已有报道在人工诱发的小麦根瘤中引进了根瘤菌和固氮菌；分子遗传学研究已将固氮基因转入大肠杆菌表现了固氮活性。这些研究，已为固氮细菌与高等植物开辟新的共生固氮体系，以及将固氮基因转入绿色植物细胞提供了重要的信息。近代生物技术的迅速发展将有可能在非豆科作物上建立固氮体系，不受大气氧压的阻抑而产生固氮效应。”

从这两位老前辈的论述中，不难看出他们对非豆科作物固氮研究不但十分重视，而且寄予很大希望，采取积极热情的支持态度。

## (二)

本书主要是十二年来作者在这方面探索、研究的心得。有关研究方法上的最新论述和非豆科作物结瘤固氮的有关假说、学说和理论探讨，也有可能引起某些争议。

有争议并不可怕。因为不是所有的见解，都能被严格的、无数次、而又长期、不断发展的科学实践所证明。特别是在一个新的事物的开拓阶段，当对这一事物怎样能成功、怎样必失败的规律性，尚缺乏足够了解的条件下，就迫不及待地肯定一切的做法，是不明智的，也是不科学的。一位科学家应该是一个好的辩证唯物主义者。一些一时被认为是唯心的东西，随着科学水平的发展，后来被证明是完全唯物的事，屡见不鲜。唯物主义者首先要承认客观存在的事实。然后，不是以主观肯定或怀疑的态度，而应是以科学的态度，去深入验证自己的设想，探索它的科学道理，才能有所发现有所前进。对来自各方面的批评意见，都应该认真地加以慎重考虑，积极吸收其正确的方面，修正错误，或设法克服存在的问题和不足，才能使工作有新的起色。

一个真正的科学家的态度应该是实事求是、无所畏惧的辩证

唯物主义的态度,敢于坚持真理,也敢于修正错误的态度。因为无论何时何地永远十全十美的人、文章、事业和理论都是不存在的。真理都是具体的相对的,绝对真理是永远达不到的。作者遵循这种态度对作者本人在本书中撰写的文章中所涉及的材料、方法、结果、讨论,特别是所提出的假说、学说或理论及观点,都应该说是初步探索性的,有待于后人或修改、补充、丰富、发展或批评、批判、指正。只有这样才能保持科学的尊严,并使之最后在理论上有所发展,在实践中获得应用。同时,在这里也必须指出,曾被肯定的东西,不一定都能永远被肯定;曾被否定的东西,有的也不一定永远被否定。检验科学真理的唯一标准,仍然是在某一具体条件下或预先规定的某一范围内,长期的,众多科学家的,反复的科学实践!

最后说一句,作者在十二年的非豆科作物诱发固氮根瘤的探索工作中,深深地体会到,不满足于大自然的恩赐,主动地改造自然并向其索取之不易;难处在于要去探索这一索取能否成功的、自然界本来就存在的、无形的、无人告知你的、客观的规律十分不易。人不能创造规律,人受各种规律的支配,但人可以发现某些规律及其作用并应用之。

**聂延富**

1991年3月于山东大学

1



2



3



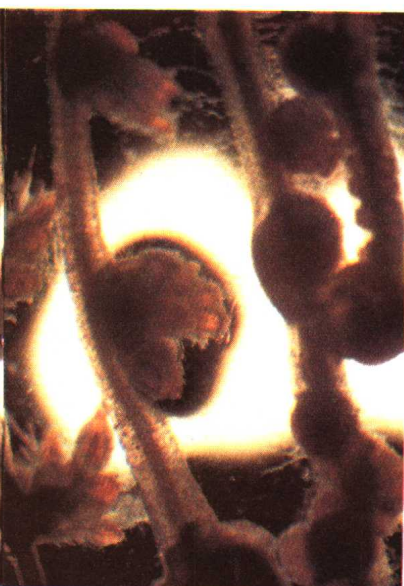
4



5



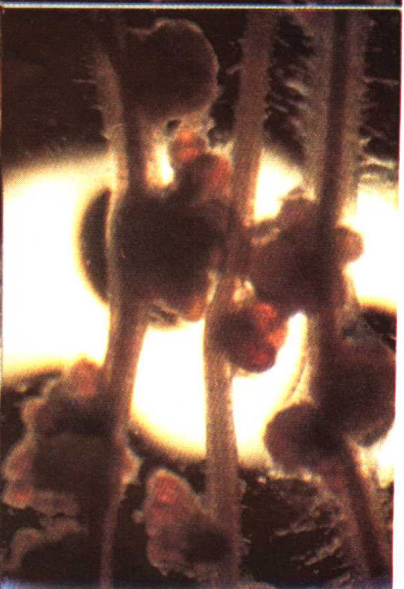
6



7



8



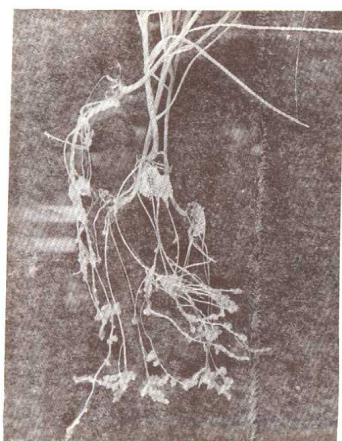
9



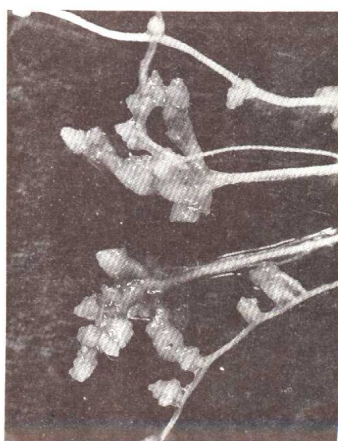
12



10



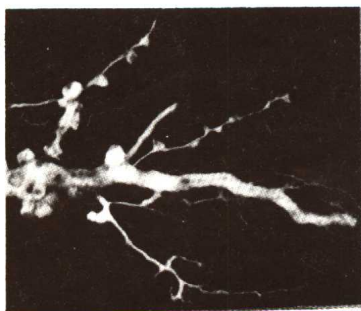
11



15



14



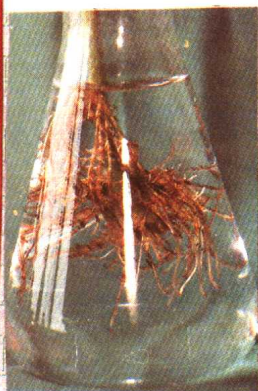
13



17



18



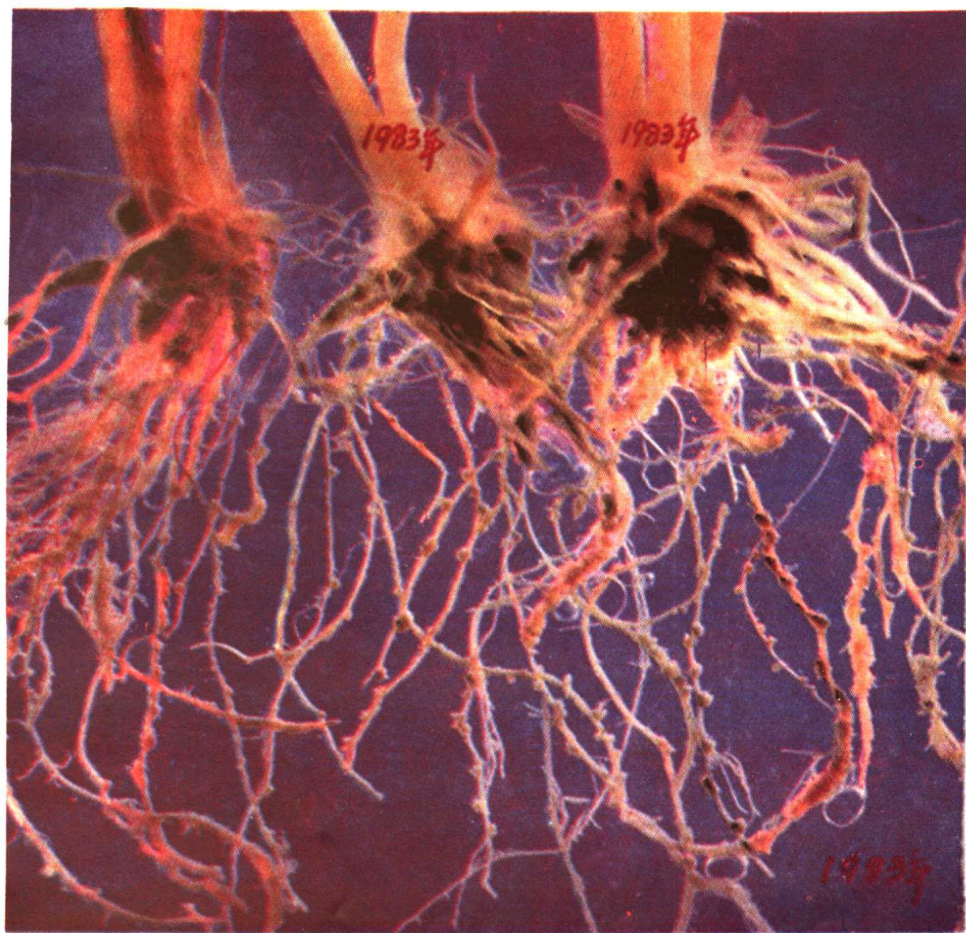
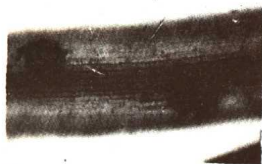
16



19

20

21



22

5