

共生固氮技术手册

豆科植物／根瘤菌



联合国粮食及农业组织

共生固氮技术手册

豆科作物／根瘤菌

联合国粮食及农业组织

1983年 罗马

本刊物使用的名称及所利用的材料并不意味着
联合国粮农组织对于任何国家、领土、城市或地区
或其当局的法律地位或对其边界或国界的划分表示
任何意见。

M-10

ISBN 92-5-501440-4

版权所有。未经版权所有者事先许可，不得以任何形式或以电子、机械、照相复制等任何方法全部或部分翻印本书，或将其存入检索体系，或发送他人。申请这种许可应致函联合国粮农组织出版司司长，说明翻印的目的与范围。地址：意大利，罗马 Via delle Terme di Caracalla, 00100。

© 粮农组织 1983 年

序 言

粮农组织为战胜世界上的饥饿而采取的战略基本上是少花钱，多增产，同时保护自然资源。

综合植物营养是执行该战略最重要的工具之一。在未来的年代里，生物学途径可望对达到这一目标作出实质性的帮助，而共生固氮则是这一进程中的基本内容。然而，要想使这一生物过程达到最佳效率，就必须减少和消除土壤、土壤微生物以及人为的限制因素。

编纂本手册的目的是为了使人们进一步认识到共生固氮在作物生产中的作用，并为人们运用技术提供参考资料，最终目的是使这种技术为农民所用。

鉴于这一问题具有多学科的性质，因此，粮农组织的各技术科室都参与了工作，如：肥料及植物营养处，植物生产及保护司以及土壤资源管理及保护处等。此外，粮农组织还借用了法国研究和技术交流集团(Groupe de recherche et d'échanges technologiques-GRET)的专门知识。而GRET集团由于利用其多学科工作者网，已经拥有适用于实地情况的最新、最有效技术。

然而，生物学研究进展迅速，所以，本手册的设计是为了能够定期更新内容，即用新技术之活页取代那些技术上已经过时的活页，使之适应新的需要。

革新是需要和知识相结合的产物。因此，欢迎提出旨在改进本书内容的任何意见和建议。为此，本书末尾提出了索引4（问题单），作为联络的一种方法，以期对情况的更新有所帮助。

序 言

I 共生固氮生物学概况 - BIOL

- BIOL 1 豆科植物及氮素的循环
- BIOL 2 各种固氮微生物
- BIOL 3 各大生态系统内生物固氮的主要来源
- BIOL 4 共生固氮概况 根瘤菌-豆科植物
- BIOL 5 利用乙炔还原活动估计豆科植物根瘤的固氮酶活动
- BIOL 6 豆科植物根瘤释氢: 限制共生固氮效率的因素

II 耕作制度中的共生固氮 - SYST

- SYST 1 豆 科
- SYST 2 豆科植物的历史及地理起源
- SYST 3 豆科植物的生物学及农学特性
- SYST 4 豆科植物的利用及其经济意义
- SYST 5 油料蛋白植物在轮作中的作用和地位之一瞥

III 根瘤菌 - 类菌体 - RHIZ

- RHIZ 1 根瘤菌的特性及生态

目录 2/3 页

RHIZ	2	在豆科植物根部采收根瘤的取样及保存方法
RHIZ	3	根瘤菌种的分离
RHIZ	4	鉴定根瘤菌的各种方法
RHIZ	5	鉴定根瘤菌的两种血清方法
RHIZ	6	根瘤菌培养基的配制

IV 接种物的配制 - INOC

INOC	1	接种物概况
INOC	2	豆科植物根瘤菌接种物的配制
INOC	3	根瘤菌种的移种
INOC	4	培养基的接种
INOC	5	用液态培养基繁殖根瘤菌的仪器
INOC	6	液态接种物的计数
INOC	7	接种物的质量检查

V 豆科植物接种 - LEGU

LEGU	1	接种概况
LEGU	2	什么豆科植物需要接种
LEGU	3	接种技术
LEGU	4	土壤中的根瘤菌计数
LEGU	5	豆科植物半无菌桶栽法

VI 实 验 - EXPE

- EXPE 1 豆科植物接种试验
(1) 试验设计的基础
- EXPE 2 豆科植物接种试验
(2) 粒用豆科植物的设计
- EXPE 3 豆科植物接种试验
(3) 饲料豆科植物的设计
- EXPE 4 多点接种试验
① 试验设计
- EXPE 5 多点接种试验
② 实验条件及试验后续工作调查
- EXPE 6 “NifTAL” 接种试验
- EXPE 7 变异分析

VII 索 引 - INDEX

- INDEX 1 从事根瘤菌-豆科植物共生固氮研究工作的专门机构一览表
- INDEX 2 根瘤菌种搜集品地址
- INDEX 3 参考文献
- INDEX 4 评价共生固氮手册的问题单

I

共生固氮生物学

概 况

- BIOL -

引 言

氮素和水是农业生产中最常见的限制因素。农民面临的关键问题就是当作物需要氮素的时候,能够向作物提供可吸收的氮素,同时保持土壤中有充足的氮素储备。

土壤中含有大致稳定的有机物质,形成供作物慢慢利用的土壤储备。可以通过下述方法,增加这种环境中的氮素含量:

- (1) 增施有机质(收获残利物、农家肥、牲畜粪便或残体);
- (2) 施用氮肥(硝酸盐,氨,尿素等等);
- (3) 通过非生物固氮(暴雨每年可为每公顷土壤带来10-15公斤氮素),尤其是生物固氮(如固氮细菌(*Azotobacter*),梭菌(*Clostridium*)等自生固氮菌,兰细菌以及与各种植物,特别是豆科植物有联系的共生固氮菌)。

供参阅文献

- AYANABA A. and DART P.J. eds. (1975) *Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics*. J. Wiley and Sons, Chichester, England. 377 p.
- BLONDEAU R. (1981) *Fixation biologique de l'azote atmosphérique*. Vuibert éd. Paris, France. 102 p.
- HENZELL E.F. and WALLIS I. (1977) *Transfer of nitrogen between legumes and other crops*. In: *Biological nitrogen fixation in farming systems of the tropics*. Wiley, Chichester, England.
- VINCENT J.M. (1970) *Manual for the practical study of the root-nodule bacteria*. I.B.P. Handbook N° 15. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 164 p. (In English and Spanish).

土壤中的有机质通过矿化作用（腐殖作用，氨化作用，硝化作用）而发展变化。形成的氨可能由于挥发作用而损失或少量被植物吸收：硝酸盐可能被雨水淋失或被反硝化而成为挥发性气体（氧化氮），但是大部分被植物吸收。

尽管收获物带走使土壤失去大量的氮素，但是，氮肥和豆科植物是保持土壤含有充足氮素的两个主要来源。

豆科植物在氮素循环中的地位（见图）

· 只有在明确了豆科植物如何把氮素带入土壤以后，才能合理地利用这些植物增加土壤的肥力或将其用作互生结合作物。

诚然，一种豆科植物往往每公顷可以固氮200-300公斤，有时甚至更多。但是，只有当作物生长茂盛和土壤天然缺氮时才能作到这一点。甚至经常出现这种情况，即如果某种豆科植物不固定空气中的氮素，而是靠土壤中的结合氮（矿化有机质及肥料）为生，那么这种豆科植物就会耗尽土壤中的氮素。

此外，植株中有60-90%的氮素在收获时被带走。

氮素通过留在田间的残剩物重新回到土壤，但是，植株的地上部分成熟时为了向被收获的籽粒供给养分，失去了大量的氮素。大豆的秸秆和根每公顷可提供35-70公斤氮素。如果把最后的一次收割翻耕入土，苜蓿每公顷可以提供50-80公斤氮素（对法国的有效数据）。

豆科作物的根部似乎不能分泌可供结合作物（例如谷类）利用的大量氮素。但是豆科植物可以通过脱落的叶片（如海地的木豆——玉米结合）或通过农民砍割后扔在土壤上的枝条（如菲律宾的银合欢——玉米或木薯结合，银合欢（*Leucaena*）可以为结合作物提供60-90公斤氮素）而供给氮素。如果在混合饲料地上就地放牧，可以通过家畜的粪便，使豆科植物固定的一部分氮素回到土壤里。

氮素通过：种子(1)，土壤中的各种氮素化合物(2)，生物固定空气中的氮(3)，进入这一循环。

氮素通过：收获物(4)，在该土壤上生活过的牲畜(10)，被带走。在土壤上的损失也包括：火烧(15)，侵蚀(17)，淋洗和挥发(19)，被土壤上的植物吸收(18)，基本上是硝酸盐。被矿化和重新进入循环的是：牲畜粪便(11)，收获物的残剩部分(13)。这就是豆科植物固定的氮进入氮素循环的两个基本途径。

各种固氮
微生物

FAO/GRET 1983年
I BIOL 2 1/4 页
作者: J.J.DREVON

固氮是把 N_2 还原成 NH_3 , 需要能量。HABER-BOSCH 工序利用的是不能再生的矿物燃料。

某些微生物 (如细菌, 兰细菌) 可以利用固氮酶来固定空气中的氮。这种酶的一个重要特性就是氧可以使之失去活性。这些微生物为合成 NH_3 所利用的能量是: 当微生物自生时, 来自土壤中的碳水化合物; 当微生物同植物根际互生时, 来自于根分泌物; 如果是共生关系, 则直接来自于寄主植物。这是一种太阳能, 是通过光合作用衍生为碳水化合物的形式被利用的。这是一种分布在地球表面的可再生能源。

这种生物固氮估计每年为 1.75 亿公吨, 相当于每年地球上固氮总量的 70 %。

固 氮	每年百万公吨
工业固氮 (Haber Bosch)	40
空气固氮 (闪电等等)	10
燃烧 (工业 - 汽车)	20
臭氧化	15
N_2 的生物固氮	175

供参阅文献

- STEWART W.D.P. (1977) Present day nitrogen fixing plants. In: Ambio, 6: 167-173. Pergamon Press ed. Journals Division, Maxwell House, Sairview Park, Elmsford, NY.
- EVANS H.J. University of Oregon Course. Department of Botany and Plant Pathology, Oregon State University, Corvallis, OR 97331, USA.
- HAMDI Y.A. (1982) Application of nitrogen-fixing systems in soil improvement and management. FAO Soils Bulletin 49. FAO, Rome. 188 p.

固氮微生物 (据 STEWART, 1977 年)

生理特点	属	固氮 (N_2) 能力
异养细菌 好气性:	<i>Azotobacter</i> , <i>Beijerinckia</i> <i>Pseudomonas</i> , <i>Azospirillum</i> ... <i>Methylococcus</i> , <i>Methylobacter</i>	有 O_2 存在时固氮。但效率很低, 0.5-1 公斤/公顷/年
兼性好气性	<i>Bacillus</i> , <i>Escherichia</i> <i>Klebsiella</i> , <i>Enterobacter</i> ... <i>Clostridia</i>	仅在无 O_2 存在时固氮。 1 公斤/公顷/年
光合作用自养细菌	<i>Rhodopseudomonas</i> , <i>Chromatium</i> <i>Rhodospirillum</i> ...	仅在含 O_2 低的环境内 固氮
化学自养生物	<i>Thiobacillus</i>	
蓝细菌 (如蓝绿藻)		
有异形细胞丝状细菌	<i>Anabaena</i> , <i>Nostoc</i> ...	10-50 公斤/公顷/年
无异形细胞丝状细菌	<i>Plectonema</i> , <i>Trichodesmium</i>	仅在含 O_2 低的环境下固氮
单细胞	<i>Gloeocapsa</i>	仅有 O_2 存在时固氮量可观
<u>共生固氮</u> <i>Paspalum notatum</i> 根际 <i>Digitaria decumbens</i> 根际 水稻	 <i>Azotobacter paspali</i> <i>Azospirillum lipoferum</i> <i>Azospirillum brasilense</i> <i>Azotobacter</i> , <i>Beijerinckia</i> <i>Pseudomonas</i> , <i>Arthrobacter</i>	 5-10 公斤氮/公顷/年 达 30 公斤氮/公顷/年 20-50 公斤氮/公顷/年
植物的叶际		似乎较低

共生固氮微生物 (据 STEWART, 1977 年及 ALLEN, 1981 年)

小共生生物	大共生生物	固氮能力
根瘤菌	被子植物: 20,000 个种, 豆科植物有根瘤: - 90% 的蝶形花科及 90% 的含羞草科 - 30% 的云实科	平均 200 公斤 N / 公顷 / 年 某些结合为 500 公斤 N / 公顷 / 年
根瘤菌 (豇豆)	被子植物 非豆科植物 (热带) <i>Parasponia</i> <i>(Zygophyllaceae)</i>	40-200 公斤 / 公顷
放线菌 <i>Frankia</i>	被子植物 非豆科植物 <i>Casuarina</i> (热带) <i>Coriaria</i> <i>Purshia</i> , <i>Alnus</i> 杨梅科 (120 个温带种……)	
兰细菌 <i>Anabaena</i> <i>Nostoc</i>	被子植物 裸子植物 <i>Cycas</i> , <i>Bowenia</i> (热带-亚热带)	2-5 公斤 / 公顷 / 年
	地衣	
	苔藓	
	蕨 绿萍 (<i>Azolla</i>)	100-200 公斤 / 公顷 / 年

各种哺乳动物的肠道里（但固氮量较低）和白蚁的腹腔内有固氮细菌存在。

从地球生态系统内的固氮总量来看，主要部分来自于共生系统。这些共生系统为：

- 1 - 根瘤菌 — 豆科植物结合，这些结合在下述情况下可以见到：
 - 在栽培系统中。在轮作制度和常年牧场中或多或少都有豆科植物（其中固氮的 90 % 来自于豆科植物的根瘤）。
 - 在许多天然地区。在这些地区内，有各种豆科植物存在。
估计地球上全部固氮量的 50 % 来自于根瘤菌 — 豆科植物结合。
- 2 - 在水涝系统中的 *Azolla-Anabaena* 结合，尤其是在水稻栽培中。
- 3 - 在某些森林系统，尤其是温带地区的森林系统中，放线菌 — 高等植物结合。

在自生固氮微生物中，只有异形细胞的兰细菌和 *Gleocapsa* 起重要作用，尤其是在土壤被水淹时。

根瘤中的共生固氮细菌比自生固氮细菌和互生结合系统的效率高。其原因是：

- 1 - 根瘤是有一个供应光合产物的内部结构。
 - 2 - 根瘤结构保护根瘤菌，防止其他微生物与之竞争。
 - 3 - 输氧蛋白是 O_2 自由扩散的障碍，因而保护固氮酶；防止氧气与之接触。
 - 4 - 根瘤有一个向寄主植物的地上各部分输送固氮产品的有效系统。
- 自生系统或互生系统仅在外环境条件许可时才固定 N_2 。