

尤崇杓 主编

农业出版社

水稻根际 联合固氮



内 容 简 介

本文集选辑了70年代中期以来,我国水稻根际联合固氮研究的主要论文及有关综述,包括在国内外已发表或将发表的论著,集中反映了我国水稻根际联合固氮研究工作的进展及概貌,也适当介绍国际上的研究成果。全书分为:菌种鉴定及特性、生理生化、遗传学、植物与微生物相互作用、技术与方法应用研究等六个部分,并附常用的培养基配方。本书的研究方法及其论著,以及各项实用方法与技术,不仅适用于水稻根际联合固氮的研究,而且对固氮研究的其他领域都具有一定意义,可供生物学、生物化学、微生物学、遗传学等学科的研究工作者和有关大专院校师生及试验站工作者参考。

前 言

水稻根际的固氮细菌种类繁多，且极为活跃，是一个大有前途的潜在氮源。水稻根际的固氮生物有微好气细菌、厌氧细菌和光合细菌等，联合固氮生物广泛分布于水稻土的不同耕层中，有些与稻根紧密联合，有些则分布在根际，其中有一些可能成为有效的接种剂。

自70年代以来，非豆科植物联合固氮的研究受到世界各国的广泛重视，当前，这一领域的研究正蓬勃发展，而且进展很快，国际间学术交流也日益兴盛，除历届国际固氮会议上设有专项外，迄今还专门召开了五届非豆科植物固氮的国际会议。我国对这项研究也极为重视，十几年来，一些单位相继对水稻联合固氮进行了研究，从“七五”开始，全国还组织了“水稻联合固氮能力开发利用”的高技术项目及其研究组，短短几年，在已有成果的基础上，又在理论和实践上取得了较大的进展。与国际同行相比，我们的研究不仅具有一定的特色，研究水平也毫不逊色。例如，我国在广泛调查和测定的基础上，鉴定并筛选出一批高效的水稻根际联合固氮菌株，而且有的是首次报道，如粪产碱菌，有的则是新种，如稻黄杆菌等。在稻田接种试验上，其面积之大，在世界上也是少有的。我们还对耐铵菌株的选育和基因工程菌株的构建进行了有效的研究，与此同时，还在菌种特性的鉴定上取得了成功的方法和经验，并将生理生化渗透到水稻根际联合固氮菌及光合细菌的研究中，获得了许多宝贵的资料。在分子遗传学的研究上，虽然起步较晚，但已获得了不少有价值的结果。在改革开放政策指引下，我国这个领域的国际交流与合作日益加强，我们的科研成果已引起国外同行的极大关注和重视。所有这一切都说明，我们从学科出发，以任务带动研究工作研究路线是正确的。

自开展“水稻根际联合固氮”研究以来，我国科学工作者在国内外刊物及学术会议上发表了大量的学术论文和研究报告，为了向国内外广大读者系统介绍“水稻根际联合固氮”领域的研究进展，取得的成果，以及应用价值，我们选编了这本书。本书以近年来已发表或将发表的论文为主，同时也精选过去有代表性的论文，而且还编撰了有关综述性文章，适当介绍国外的研究概貌，以便促进这个领域的研究及其实际应用，为减少氮肥用量，保持和提高土壤肥力，减少农业环境污染，提高水稻产量做出贡献。

为加强国际学术交流，书中论文均附有英文摘要，大部分图表也有英文说明。

本文集由尤崇杓、宋鸿遇、丘元盛共同选编，尤崇杓统一整理。

由于编者水平及篇幅所限，难免有缺点错误，敬请读者及作者指正。

编 者

1991.2,

目 录

水稻根际的联合固氮作用	李继平 尤崇杓 (1)
-------------	---------------

一、菌种的鉴定及特性

稻根联合固氮细菌的研究 I. 菌种的分离和鉴定

.....丘元盛 周淑萍 莫小真 王大韪 洪俊华	(13)
--------------------------	--------

稻根联合固氮细菌的研究 II. 粪产碱菌A-15和阴沟肠杆菌E-26的固氮特性

.....丘元盛 周淑萍 莫小真 叶松广 蔡小伟	
.....马陈隆 毛朝安 陈云华 何淑英 邓荣凤	(19)

从水稻种子上分离到一个胶德克斯氏菌的新变种	吴文礼 陈汉清 (23)
-----------------------	----------------

水稻根表固氮螺菌的鉴定	曾宽容 吴 杰 王子芳 (30)
-------------	--------------------

水稻根系联合固氮菌的种类及数量	贾小明 莫文英 钱泽澍 (35)
-----------------	--------------------

二、生理及生物化学

粪产碱菌的培养及其生理特性	尤崇杓 李 信 王有为 朱承志
.....侯景琴 莫小真 罗修和 廖金才 丘元盛	(39)

粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*) 吸收氢和同化CO₂的特性

.....李 信 周法永 尤崇杓	(47)
------------------	--------

粪产碱菌A-15与水稻植物联合共生固氮的一些特性 (英文)

.....丘元盛 莫小真 张跃林 李 信 尤崇杓	(53)
--------------------------	--------

铍培养的粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*) 中固氮酶的生物合成

.....张大达 周法永 李 信 尤崇杓	(55)
----------------------	--------

N₂和NH₄⁺培养下粪产碱菌固氮酶钼铁蛋白的合成及其特性

.....宋 未 张凤瑞 尤崇杓	(61)
------------------	--------

粪产碱菌 (<i>Alcaligenes faecalis</i>) 的反硝化及固氮作用	林 敏 尤崇杓 (68)
--	----------------

固氮阴沟肠细菌 (*Enterobacter cloacae*) 某些生理特性的研究

.....尤崇杓 里景伟 宋 未 张荣菊 周淑萍 叶松广	(75)
------------------------------	--------

Rhodobacter spp. 中谷酰胺合成酶和谷氨酸合成酶参与的固氮酶调节作用

(英文)	宋鸿遇 吴永强 王 星 孙金华 (81)
------------	------------------------

浑球红假单胞菌透性细胞制剂中谷氨酰胺合成酶腺苷态的变构调节 (英文)

.....王 星 宋鸿遇	(87)
--------------	--------

浑球红假单胞菌谷氨酰胺合成酶的调节性质	王 星 宋鸿遇 (98)
---------------------	----------------

2-酮戊二酸对浑球红假单胞菌谷氨酰胺合成酶的变构调节

.....王 星 朱美珍 宋鸿遇	(107)
------------------	---------

浑球红假单胞菌谷氨酰胺合成酶的分离纯化及性质的研究

-王 星 张 浩 宋鸿遇 (114)
- 酰胺态氮瞬间调节荚膜红假单胞菌光合固氮活性的GS传感机制
.....孙金华 贺逸秋 宋鸿遇 (122)
- 浑球红假单胞菌 (*Rhodobacter sphaeroides*) 谷氨酸合酶的纯化及性质
.....邹小鲁 宋鸿遇 (134)
- NH₄⁺或暗导致*Rhodospirillum rubrum*固氮酶活性关闭时氨基酸及核苷酸库的变
化 (英文)李久蒂 胡长征 D.C.Yoch (142)
- 光合细菌*Rhodopseudomonas capsulata* 氢代谢中氢酶与固氮酶相互作用 (英文)
.....宋鸿遇 陈汉才 吴楚淦 陈秉俭 郁宝麟 (156)
- 氧对巴西固氮螺菌 (*Azospirillum brasilense* 玉62) 固氮酶活性的调节作用
.....王继文 李永兴 胡长征 李久蒂 (166)
- 固氮螺菌氢代谢与固氮作用的关系 I. 固氮螺菌放氢现象与吸氢能力的研究
.....王子芳 曾宽容 周亿国 (172)

三、遗传学

- 联合固氮细菌分子遗传研究的进展高盟生 尤崇杓 (179)
- 光合细菌固氮生化遗传研究进展吴永强 宋鸿遇 (190)
- nifA* 基因的固氮调节作用王惠贤 尤崇杓 (201)
- 荚膜红假单胞菌的基因转移子吴永强 宋鸿遇 (213)
- Enterobacter cloacae* 中类 *nifA* 基因的温度敏感性 (英文)朱家壁等 (218)
- 水稻联合固氮菌研究黄懿德等 (223)
- 粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*) 基因文库的构建及含 *nif* 基因阳性克隆的筛选
.....海伟力 郑洪刚 王 斌 尤崇杓 (224)
- 水稻联合固氮菌质粒的鉴定及固氮 (*nif*) 基因定位
.....王惠贤 苑红丽 尤崇杓 (232)
- 肺炎克氏杆菌和褐球固氮菌 *nifA* 基因导入粪产碱菌及其活性表达程 奇等 (239)
- 由质粒介导的浑球红假单胞菌的染色体基因转移吴永强 郁宝麟 宋鸿遇 (244)
- 缺乏固氮活性的浑球红假单胞菌谷氨酰胺合成酶突变株
.....宋鸿遇 吴永强 郁宝麟 (251)
- 由质粒介导的豌豆根瘤菌 (*Rhizobium leguminosarum*) *nifD::Tn5* 向棕色固
氮菌 (*Azotobacter vinelandii*) 的转移王惠贤 尤崇杓 R.C. Van den Bos (259)
- 几种水稻联合固氮菌吸氢酶 (*hup*) 基因的鉴定及分析
.....苑红丽 王惠贤 尤崇杓 (267)

四、水稻与固氮生物相互作用

- 根际联合固氮中植物和细菌的相互作用宋 未 (273)
- 粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*) 与水稻幼苗的联合固氮作用

.....	尤崇杓 丘元盛 (284)
粪产碱菌 (<i>Alcaligenes faecalis</i>) 与水稻根的结合作用	
.....	尤崇杓 肖家祝 李 信 周法永 王有为 (290)
粪产碱菌 (<i>Alcaligenes faecalis</i>) A-15与水稻根的结合作用	
.....	张跃林 莫小真 廖苏华 丘元盛 李 信 王有为 尤崇杓 (294)
几种水稻根际固氮菌与水稻联合共生固氮的研究	
.....	王继文 辛淑英 徐 继 王发珠 李佳格 (298)
水稻非结瘤内生固氮作用 (英文)	尤崇杓 周法永 (305)
水稻根分泌物及其与粪产碱菌的相互作用	林 敏 尤崇杓 (315)
稻黄杆菌 M-Sm-1612 在水稻根内的电镜观察及联合共生固氮的特性	
.....	黄世贞 唐龙飞 张伟光 刘中柱 (323)

五、技术与方法

固氮研究中的 ^{15}N 示踪法	尤崇杓 (329)
乙炔还原-MPN (最可能数) 法测水稻根系固氮菌数的研究	
.....	吴文礼 黄 鹏 陈汉清 (336)
测定固氮生物分布的硼 α 径 法	尤崇杓 肖家祝 周法永 (340)
介绍一种新的半干式免疫转渍法	李永兴 胡长征 王继文 李久蒂 (344)
高纯 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 的制备及其与固氮酶活性的关系	
.....	宋 未 尤崇杓 C.E. McKenna W.G. Gutheil (347)

六、应用研究

水稻接种联合固氮菌的效应	
.....	张春生 李继平 平淑珍 王耀东 刘永正 王惠贤 尤崇杓 (355)
接种 <i>Klebsiella oxytoca</i> 和 <i>Enterobacter cloacae</i> 对水稻-细菌联合固氮的影响	
(英文)	Fuji, T. 黄懿德等 (363)
粪产碱菌和阴沟肠杆菌与水稻联合共生的固 $^{15}\text{N}_2$ 作用	
.....	周淑萍 莫小真 叶松广 蔡小伟 丘元盛 宋 未 里景伟 尤崇杓 (372)
水稻根际固氮量及根系不同部位的固氮活性	莫文英 贾小明 钱泽澍 (377)
不同铵态氮水平对水稻根际固氮活性的影响	钱泽澍 闵 航 莫文英 (383)
水稻根系联合固氮的研究 Ⅲ. 水稻根内分离菌的接种试验	
.....	吴文礼 陈汉清 陈 娟 赵梅娜 林备勇 (389)
水稻根际固氮菌耐氮菌株的田间应用试验	
.....	丘元盛 程锐彦 莫小真 廖苏华 陈立明 李浩华 (397)
耐氮工程固氮菌株安全性问题的探讨	丘元盛 (403)

附 录

常见培养基	(406)
-------------	-------

CONTENTS

The associative nitrogen fixation in the rice rhizosphere	Li Jiping, You Chongbiao (1)
IDENTIFICATION AND CHARACTERIZATION OF BACTERIUM	
Study of nitrogen fixing bacteria associated with rice root	
I. Isolation and identification of organisms.....	Qiu Yuansheng <i>et al.</i> (13)
Study of nitrogen fixing bacteria associated with rice root	
I. The characteristics of nitrogen fixation by <i>Alcaligenes faecalis</i> strain A-15 and <i>Enterobacter cloacae</i> strain E-26	Qiu Yuansheng <i>et al.</i> (19)
A new variety of <i>Derxia gummosa</i> isolated from the rice seeds	Wu Wenli, Chen Hanqing (23)
Identification of <i>Azospirillum</i> spp. on rhizosphere of rice	Zeng Kuanrong, Wu Jie, Wang Zifang (30)
Species and enumeration of nitrogen-fixing bacteria in rice root systems.....	Jia Xiaoming, Mo Wenying, Qian Zeshu (35)
PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY	
Culture and physiological properties of nitrogen-fixer <i>Alcaligenes faecalis</i>	You Chongbiao <i>et al.</i> (39)
H ₂ uptake and carbon dioxide assimilation in <i>Alcaligenes faecalis</i> .	Li Xin, Zhou Fayong, You Chongbiao (47)
Some properties of the nitrogen-fixing associative symbiosis of <i>Alcaligenes faecalis</i> A-15 with rice plants.....	Qiu Yuansheng <i>et al.</i> (53)
Biosynthesis of nitrogenase in NH ₄ ⁺ -grown cells of <i>Alcaligenes faecalis</i>	Zhang Dada <i>et al.</i> (55)
Synthesis and properties of MoFe protein of nitrogenase from N ₂ -grown and NH ₄ ⁺ -grown <i>Alcaligenes faecalis</i>	Song Wei, Zhang Fengrui, You Chongbiao (61)
Denitrification and nitrogen fixation by <i>Alcaligenes faecalis</i>	Lin Min, You Chongbiao (68)
Some physiological properties of nitrogen-fixing bacteria <i>Enterobacter cloacae</i>	You Chongbiao <i>et al.</i> (75)
The involvement of glutamine synthetase and glutamate synthase in the regulation of nitrogenase in <i>Rhodobacter</i> spp.	Song Hongyu, Wu Yongqiang, Wang Xing, Sun Jinhua (81)

- Allosteric regulation of the state of adenylation of glutamine synthetase in permeabilized cell preparations of *Rhodopseudomonas sphaeroides*
.....Wang Xing, Song Hongyu (87)
- Regulatory properties of glutamine synthetase from the phototrophic bacterium *Rhodopseudomonas sphaeroides*.....Wang Xing, Song Hongyu (98)
- Allosteric regulation of glutamine synthetase from *Rhodobacter sphaeroides* by 2-ketoglutarate
.....Wang Xing, Zhu Meizhen, Song Hongyu (107)
- Purification and characterization of glutamine synthetase from phototrophic bacterium *Rhodopseudomonas sphaeroides*
.....Wang Xing, Zhang Hao, Song Hongyu (114)
- GS sensor mechanism of regulation of photosynthetic nitrogen fixation by amide nitrogen in *Rhodopseudomonas capsulata*
.....Sun Jinhua, He Yiqiu, Song Hongyu (122)
- Purification and characterization of glutamate synthase from *Rhodobacter sphaeroides*.....Zou Xiaolu, Song Hongyu (134)
- Changes in amino acid and nucleotide pools of *Rhodospirillum rubrum* during switch-off of nitrogenase activity initiated by NH_4^+ or darkness.....Li Judi, Hu Changzhang, D. C. Yoch (142)
- Relationship between hydrogenase and nitrogenase in hydrogen metabolism of photosynthetic bacterium *Rhodopseudomonas capsulata*
.....Song Hongyu, Chen Hancui, Wu Menggan,
Chen Bingjian, Yu Baolin (156)
- The regulation of nitrogenase activity by oxygen in *Azospirillum brasilense* yu 62.....Wang Jiwen *et al.* (166)
- Relation between hydrogen metabolism and nitrogen fixation in *Azospirillum* spp.....Wang Zifang, Zeng Kuanrong, Zhou Yigui (172)

GENETICS

- Advance in the study on molecular genetics of associative diazotrophs
.....Gao Mengsheng, You Chongbiao (179)
- Advance in the study on the biochemical genetics of nitrogen fixation from photosynthetic bacteria.....Wu Yongqiang, Song Hongyu (190)
- Regulation of nitrogen fixation by *nifA* gene
.....Wang Huixian, You Chongbiao (201)
- Gene transfer agent of *Rhodobacter capsulata*
.....Wu Yongqiang, Song Hongyu (213)
- Temperature sensitivity of a *nifA*-like gene in *Enterobacter cloacae*
.....Zhu Jiabi *et al.* (218)

Study on the nitrogen-fixing bacteria associated with rice plants

.....Huang Yide *et al.* (223)

The construction of genomic library of *Alcaligenes faecalis* and screening of positive clones containing *nif* genes.....

Hai Weili *et al.* (224)

Plasmid visualization and *nif* gene location in several nitrogen-fixing bacteria associated with rice plants

.....Wang Huixian, Yuan Hongli, You Chongbiao (232)

Transfer and expression of *Klebsiella pneumoniae* and *Azotobacter chroococcum*

nif A gene in *Alcaligenes faecalis*.....Cheng Qi *et al.* (239)

Plasmid transfer, chromosome mobilization and genetic linkage in

Rhodopseudomonas sphaeroides.....Wu Yongqiang, Yu Bolin, Song Hongyu (244)

Glutamate synthetase mutant lacking nitrogenase activity in *Rhodo-*

pseudomonas sphaeroides.....Song Hongyu, Wu Yongqiang, Yu Bolin (251)

Transfer of plasmid-borne *Rhizobium leguminosarum* *Nif* D::Tn5 to

Azotobacter vinelandii

.....Wang Huixian, You Chongbiao, R.C. Van den Bos (259)

Identification and analysis of hydrogen uptake (Hup) genes of several associative nitrogen fixing bacteria with rice plant

.....Yuan Hongli, Wang Huixian, You Chongbiao (267)

INTERACTION BETWEEN BACTERIA AND PLANT

Interaction between plant and bacteria in the nitrogen-fixing system

from rhizosphere.....Song Wei (273)

Nitrogen fixation of *Alcaligenes faecalis* in association with rice seedlings

.....You Chongbiao, Qiu Yuansheng (284)

Association of *Alcaligenes faecalis* with rice roots

.....You Chongbiao *et al.* (290)

Association of *Alcaligenes faecalis* A-15 with rice roots

.....Zhang Yaolin *et al.* (294)

Studies on the associative symbiotic nitrogen fixation of rice seedling

inoculated with some nitrogen fixing bacteria isolated from the

rhizosphere of rice.....Wang Jiwen *et al.* (298)

Non-nodular endorhizospheric nitrogen fixation in wetland rice

.....You Chongbiao, Zhou Fayong (305)

Root exudates of rice (*Oryza sativa* L.) and its interaction with

Alcaligenes faecalis.....Lin Min, You Chongbiao (315)

Observation of *Flavobacterium oryzae* sp. nov. M-Sm-1612 in rice roots

under electron microscope and the characteristics of nitrogen

fixation associated with rice.....Huang Shizhen *et al.* (323)

METHODS AND TECHNIQUES

- ^{15}N tracing method in nitrogen fixation.....You Chongbiao (329)
- Acetylene-MPN method in detection the numbers of nitrogen fixers
from rice root systems
.....Wu Wenli, Huang Peng, Chen Hangqing (336)
- Boron α -track method in detection of distribution of nitrogen fixers
.....You Chongbiao, Xiao Jiazhu, Zhou Fayong (340)
- Introduce a new semi-dry trans-blotting
.....Li Yongxing, Hu Changzheng, Wang Jiwen, Li Jiudi (344)
- A method for preparing analytically pure sodium dithionite
.....Song Wei *et al.* (347)

PRACTICAL APPLICATION

- Response of rice to inoculation with diazotrophs
.....Zhang Chunsheng *et al.* (355)
- Effect of inoculation with *Klebsiella oxytoca* and *Enterobacter cloacae* on
dinitrogen fixation by rice-bacteria association
.....Fuji, T., Huang Yide *et al.* (363)
- $^{15}\text{N}_2$ fixation of *Alcaligenes faecalis* and *Enterobacter cloacae* associated
with rice plant.....Zhou Shuping *et al.* (372)
- Amount of nitrogen fixed in rhizosphere of rice plant and nitrogen
fixation activities at different parts of root
.....Mo Wenying, Jia Xiaoming, Qian Zeshu (377)
- Influences of different $\text{NH}_4^+\text{-N}$ levels on the nitrogenase activity in
rhizosphere of rice.....Qian Zeshu, Min Hang, Mo Wenying (383)
- Studies on the associative symbiosis of nitrogen fixation in rice roots
I. Inoculation experiments on nitrogen-fixing bacteria isolated
from the rice roots.....Wu Wenli *et al.* (389)
- Field traits of inoculation of rice with ammonia-resistant strains of
diazotrophs.....Qiu Yuansheng *et al.* (397)
- Approach to the safety of ammonia-resistant engineered diazotrophs
containing foreign plasmid.....Qiu Yuansheng (403)

APPENDIX

- Common culture media in biological dinitrogen fixation research (406)

水稻根际的联合固氮作用

李继平 尤崇杓

(中国农业科学院原子能利用研究所 北京 100094)

水稻 (*Oryza sativa* L.) 是当今世界的主要粮食作物,约一半以上人口以稻米为主食,其总产量始终居各类粮食作物之首。水稻广泛种植于北纬55°—南纬35°,亚洲南部和东南部更为集中,约占全世界水稻种植面积的90%,其中我国和印度的种植面积又占亚洲的一半以上^[1,2]。

我国水稻的种植面积约 $3.0 \times 10^7 \text{ ha}$ ^[3,50],占全国总耕地面积的1/4以上,其产量为粮食总产量的45%^[4]。多年来,随着化肥施用量不断增加,土壤肥力下降,农业环境污染日趋严重,为了改变这种状态,人们对水稻田的氮源问题进行了大量研究,提出了稻田有可能靠自身的固氮作用保持土壤肥力和稻谷产量^[5]。国际水稻研究所通过实验证明,在不施肥的稻田中连续种植40多茬水稻,稻谷产量在中低水平时,尽管每茬水稻带走氮素45—60 kg/ha,然而土壤的氮素水平并没有明显下降^[7]。关于植物根际固氮作用的重要性,50年代就已有报道^[70],70年代以来,联合固氮作用的研究有了引人注目的进展,国内外都相继报道了多种植物根际的联合固氮作用^[9,50],研究方向主要涉及两个方面,即联合固氮作用对植物的有益贡献和联合固氮细菌接种植物后的反应及其反应机理^[43]。水稻根际联合固氮作用也受到普遍重视。应用乙炔还原测定法和¹⁵N示踪技术都已证明,水稻根际固氮生物种类繁多,且极为活跃^[10,51,72,101]。在生物技术飞速发展的今天,对于水稻根际联合固氮作用的潜力及其开发的研究,具有极其重要的意义。由于水稻具有独特的生态环境和生理特性,因此,研究水稻的联合固氮作用就更为复杂,有必要进行深入探讨。

水稻土的微生物学特性

水稻土中含有大量的适应于该环境条件的微生物群,其中以细菌为最多,放线菌次之,真菌较少。这些微生物使土壤发生了许多生物化学变化,主要的生物化学作用是增溶、固定、矿化、固着、氧化和还原,对创造和调节水稻土的肥力起着重要作用。

水稻土中的细菌主要集中在耕作层,每克土壤含细菌数量为 10^2 — 10^7 ,但依土壤肥力的水平而有所不同^[20]。犁底层中微生物数量一般为耕作层的20—50%,犁底层以下细菌数量骤减^[12]。大量试验证明,水稻根际内细菌数量远远高于土壤中细菌数量。采用平板计数测定根际中的细菌密度,通常高达或超过 10^8 数值^[2,60]。尹瑞玲等^[11]研究指出,间歇淹水水稻土耕作层的细菌数量与旱地土壤相似或略高,但长期淹水的水稻土中,菌数较低,二者在细菌种类上大致相同。

水稻土在淹水后,好气性细菌数量很快达到高峰,随着土壤Eh值的变化,好气性细菌的数量逐渐减少,而兼性厌氧性细菌和专性厌氧性细菌的数量增加^[26,71]。好气性细菌与厌氧性细菌的比例是随着土壤水分状况和管理措施而有所变化的(表1)。

表 1 水稻土不同时期细菌数 (1000个/g干土)⁽²⁸⁾

日 期(1957)	土 壤 情 况	好气性细菌	嫌气性细菌	好、嫌*之比
5/24	灌水前	21874	2200	0.10
6/5	灌水后12天	7069	3100	0.43
7/5	分 蘖 (蓄水)	6994	3260	0.52
7/25	圆秆拔节小穗分化 (烤田) 施硫酸铵 (2.5kg/mu)	6554	3490	0.53
8/8	孕 穗 (蓄水)	3377	6400	1.90
8/23	抽 穗一乳熟 (蓄水)	3449	15000	4.33
9/23	后 熟 (排水)	11620	1016	0.87

* 以好气性细菌数量为100。

从水稻土的剖面看,水稻土在淹水后,在上部十分薄的表层中发育出氧化层,其内含有分子态氧,可维持好气性细菌的正常代谢⁽¹¹⁸⁾,硝化作用可在此氧化层中进行⁽¹¹³⁾。而陈华癸⁽²⁰⁾曾指出,硝化细菌不仅在有氧条件下,而且在缺氧情况下同样能繁殖和进行硝化作用。水稻土中硝化细菌的数量比旱地多23—277倍⁽¹²¹⁾。

虽然水稻土在淹水后Eh值下降,土壤几乎经常呈厌氧状态,但是,水稻根系的泌氧功能、灌溉水渗漏,以及烤田落干等,均使土壤的通气条件得到改善,从而使水稻土中存在着大量的好气性细菌,而且主要是硝化细菌、铁氧化细菌、锰氧化细菌、硫氧化细菌、甲烷氧化细菌和氢氧化细菌,它们在水稻土中进行的元素需氧转化反应如表2所示。这些好气性细

表 2 水稻土中微生物进行的主要元素需氧转化反应⁽¹²⁾

细 菌	生 化 反 应
异 养 细 菌	$C_6H_{12}O_6 + 6O_2 \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O$
异 养 细 菌	$CH_3CH_2OH + O_2 \rightarrow CH_3COOH + H_2O$
亚硝化极毛杆菌	$2NH_4^+ + 3O_2 \rightarrow 2NO_2^- + 2H_2O + 4H^+$
硝 化 杆 菌	$2NO_2^- + O_2 \rightarrow 2NO_3^-$
锰 氧 化 细 菌	$Mn^{2+} + O_2 \rightarrow MnO_2$
铁 细 菌	$4Fe^{2+} + 4H^+ + O_2 \rightarrow 4Fe^{3+} + 2H_2O$
<i>Thiobacillus</i> sp.	$2S + 3O_2 + 2H_2O \rightarrow 2H_2SO_4$
贝氏硫细菌	$2H_2S + O_2 \rightarrow 2S + 2H_2O$
甲烷氧化细菌	$CH_4 + 2O_2 \rightarrow CO_2 + 2H_2O$
氢极毛杆菌	$2H_2 + O_2 \rightarrow 2H_2O$

菌,有的适应低氧环境,有的则在特殊条件下发育成特殊种类。水稻根系向介质中扩散气体⁽³³⁻³⁴⁻⁸⁶⁾所形成的特殊根圈氧化带,为好气性细菌提供了有利的生存条件,因此有人提出,硝化细菌可在这氧化圈内进行硝化作用。但是,Arima等人⁽³²⁾认为,根组织本身就具有一种能氧化铵或硝酸盐的酶系统,而不是根际细菌,因此,水稻根际发生的硝化作用还有待进一步研究。

在水稻整个生育期,水稻土多处于淹水状态,土壤中Eh值下降呈厌氧状态,因此,水稻土中厌氧性细菌的生化反应起着重要作用,这些细菌的种类及其还原反应如表3所示。值得一提的是,有机质的嫌气分解,厌氧性的纤维分解细菌对有机质的腐殖化起了重要作用^(1,67)。许多作者报道,由于发酵作用,淹水土壤中产生了各种有机酸类^(52,53,55,53-58,79,83-85,91-94),如甲酸、乙酸、丙酸、丁酸、乳酸和丙酮酸,它们都不同程度地抑制水稻的生长⁽⁸²⁾,

此外, 还有细菌引起的氨基酸、嘌呤、嘧啶和其他含氮化合物的嫌气分解^[8, 9]等等。水稻土剖面各层的物化特性及氮的生化反应如表4所示。

表3 水稻土中微生物进行的嫌气还原反应^[1, 2]

细 菌	生 化 反 应
异 养 细 菌	$C_6H_{12}O_6 \rightarrow 2CO_2 + 2C_2H_5OH$
反 硝 化 细 菌	$C_6H_{12}O_6 + 4NO_3^- \rightarrow 6CO_2 + 6H_2O + 2N_2$
反 硝 化 细 菌	$5CH_3COOH + 8NO_3^- \rightarrow 10CO_2 + 6H_2O + 8OH^- + 4N_2$
硝酸盐还原细菌	$CH_3COOH + NO_3^- \rightarrow 2CO_2 + OH^- + NH_3$
锰 还 原 细 菌	$CH_3COOH + MnO_2 \rightarrow 2CO_2 + Mn^{2+} + 4H^+$
铁 还 原 细 菌	$CH_3COOH + 8Fe^{3+} + 2H_2O \rightarrow 2CO_2 + 8Fe^{2+} + 8H^+$
去 磺 弧 菌	$4H_2 + SO_4^{2-} \rightarrow S^{2-} + 4H_2O$
硫酸盐还原细菌	$2CH_3CHOHCOOH + SO_4^{2-} \rightarrow 2CH_3COOH + 2H_2O + 2CO_2 + S^{2-}$
甲烷极毛杆菌	$CO_2 + 4H_2 \rightarrow CH_4 + 2H_2O$

表4 水稻土剖面各层的物化特性及氮的生化反应

土 层	氧化还原状态	Eh值(mV)	主要化学元素存在形式	氮 的 生 化 反 应	
淹 水 层	氧化状态	500以上	$O_2, NO_3^-, SO_4^{2-}, Fe^{3+}, Mn^{4+}, CO_2, H^+$	藻类和好氧细菌的固氮作用, 硝化作用, 氮的挥发	$N_2 \rightarrow \text{有机氮}$ $NH_4^+ \rightarrow NO_3^- \rightarrow NO_2^-$
氧化表层	氧化状态	500以上	同 上	藻类和好氧细菌的固氮作用, 氨化作用, 硝化作用, 固定化作用	$N_2 \rightarrow \text{有机氮}$ $NH_4^+ \rightarrow NO_3^-$
耕作层和犁底层	还原状态	250以下以至负值	$H_2O, N_2O, N_2, SO_4^{2-}, Fe^{3+}, Fe^{2+}, Mn^{2+}, CO_2, H^+$	厌氧细菌的固氮作用, 氨化作用, 固定化作用, 反硝化作用, 异化的硝酸盐还原作用	$N_2 \rightarrow \text{有机氮}$ 挥发 $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$ 有机氮 $\rightleftharpoons NH_4^+$
淀 积 层	不完全氧化状态	500—300	$O_2, H_2O, NO_3^-, SO_4^{2-}, Fe^{3+}, Mn^{4+}, CO_2, H^+$		
潜 育 层	还原状态	100以下	$H_2O, N_2O, N_2, SO_4^{2-}, S^0, S^{2-}, Fe^{2+}, Mn^{2+}, CO_2, CH_4, H_2$		
根 际	不完全氧化状态	不均匀分布并随生育期而变化	$O_2, H_2O, NO_3^-, N_2O, N_2, S^{2-}, S^0, Fe^{3+}, Fe^{2+}, Mn^{4+}, Mn^{2+}, CO_2$	异养细菌的固氮作用, 氨化作用, 硝化作用, 反硝化作用	$N_2 \rightarrow \text{有机氮}$ $NH_4^+ \rightarrow NO_3^-$ 挥发 $NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$ 有机氮 $\rightleftharpoons NH_4^+$

水稻土中的真菌和放线菌也集中于耕作层中, 每克表土中放线菌的数量约为 $10-10^6$, 真菌为 $0.7-10^{6.25}$ 。它们主要参与有机质, 特别是难以分解的有机质的分解矿化过程, 对土壤中碳、氮物质的循环起着积极的作用。

水稻的联合固氮作用

水稻土具备了好氧和厌氧、光照和非光照的双重环境条件, 因而几乎所有的固氮菌都能在此环境中生存。早在30年代, Sen^[8, 11]在水稻土中发现了异养固氮菌, 但一直没有被人们所重视。70年代以来, Döbereiner等^[40]提出了热带禾本科植物根际的联合固氮作用后, 这一领域的研究工作才蓬勃发展起来。Yoshida等^[10, 21]进一步证实了水稻根际的联合固氮作用, 从此, 有关水稻根际联合固氮作用得到较普遍的重视, 并开始了定向研究。近年来, 国内外都先后报道了从水稻根际分离出大量的固氮菌, 它们的固氮作用在不同程度上是与水稻根系和水稻基部茎段密切联系的, 固氮活性的高低也是随着水稻不同生育期而相应变化的, 这些根际固氮细菌被称为水稻根际联合固氮菌。

(一) 水稻根际联合固氮菌的种类

根据微生物的营养类型, 栖息状况, 以及呼吸作用, 可将水稻根际联合固氮菌划分为以下几种类型 (如表5)。

表5 水稻土中主要固氮菌的种类

1. 光能自养型	
光合固氮细菌	红细菌属 (<i>Rhodobacter</i>); (原为红假单胞杆菌属 <i>Rhodopseudomonas</i>), 红螺菌属 (<i>Rhodospirillum</i>)
2. 异养型	
(1) 自生固氮菌	
好气性固氮菌	固氮菌属 (<i>Azotobacter</i>); 固氮单胞菌属 (<i>Azotomonas</i>)
微好气性固氮菌	德克斯氏菌属 (<i>Derxia</i>) [*] ; 甲基单胞菌属 (<i>Methylomonas</i>)
兼性厌氧性固氮菌	芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>)
专性厌氧性固氮菌	梭菌属 (<i>Clostridium</i>); 脱硫肠状菌属 (<i>Desulfotomaculum</i>); 脱硫弧菌属 (<i>Desulfovibrio</i>)
(2) 联合固氮菌	
好气性固氮菌	拜叶林克氏菌属 (<i>Beijerinckia</i>)
微好气性固氮菌	产碱菌属 (<i>Alcaligenes</i>); 节杆菌属 (<i>Arthrobacter</i>); 固氮螺菌属 (<i>Azospirillum</i>); 黄杆菌属 (<i>Flavobacterium</i>); 假单胞杆菌属 (<i>Pseudomonas</i>)
兼性厌氧性固氮菌	肠杆菌属 (<i>Enterobacter</i>); 克雷伯氏菌属 (<i>Klebsiella</i>)

* 最近报导有从水稻根际中分离得到该菌种^[14]。

水稻根际联合固氮菌中, 常见的有粪产碱菌 (*Alcaligenes faecalis*), 阴沟肠杆菌 (*Enterobacter cloacae*), 催婉克雷伯氏菌 (*Klebsiella oxytoca*), 叶面克雷伯氏菌 (*Klebsiella planticola*), 巴西固氮螺菌 (*Azospirillum brasilense*), 含脂固氮螺菌 (*Azospirillum lipoferum*), 以及红细菌属和拜叶林克氏菌属的菌株^[3, 6, 44, 54, 62]。我国自70年代以来, 已分别从水稻根际分离出粪产碱菌^[6, 9], 肠杆菌属中的若干菌株^[5, 9, 3], 稻黄杆菌^[27], 固氮螺菌^[20],

以及德克氏菌⁽¹⁴⁾等。其中的一些菌株是我国首次发现的,如粪产碱菌,稻黄杆菌。

(二) 固氮菌在水稻田中的数量及分布

Ishizawa等指出,固氮菌在水稻田中的数量高于旱地中的数量,约为 10^3 — 10^7 个细胞/g土。在灌水初期和水稻进入生殖期后,固氮菌的数量有所增加。Matsuguchi等在泰国调查了40多个地区的水稻田后发现,固氮菌的数量为 10^4 — 10^7 个细胞/g土。Thomas-Bauzo等在国际水稻研究所测定的水稻根际固氮菌的数量高于 10^5 个细胞/g土⁽⁹⁷⁾。贾小明等⁽²³⁾在水稻不同生育期分别测定了水稻根际、根表和根内的固氮菌数量,发现在水稻分蘖期根际土壤中,固氮菌的数量最高,为 10^7 个细胞/g鲜土,而到抽穗扬花期时,则以根表固氮菌为最多,可高达 10^9 个细胞/g鲜土。

在水稻田中,固氮菌最主要分布于还原层⁽⁷⁾,自生固氮菌多分布于带有有机质碎屑的土壤团聚体上,而联合固氮菌则存在于水稻根际这一特殊的微环境中。Asanum等⁽⁸⁾指出,水稻幼苗根表面的微生物分布很广,除根尖区外,主要在表皮组织和细胞界面的破裂部位,它们分散并附着在粘液鞘中,或吸附在表皮细胞的表面和根毛上。细菌在根表面的分布是无规则的,在微小的局部会大量堆积,在根表的覆盖比率只占根表面的1—9%⁽⁷⁾或4—10%^(10, 60, 77)。

(三) 联合固氮菌与水稻间的相互关系

1. 水稻根际: 水稻根际是水稻与土壤间关系最为密切的区域,联合固氮菌与水稻间的相互作用主要发生在此区域内。根际可划分为3个部分,即根际土,根表和内根际。根际土通常是指由根表向外伸展1cm以内的土壤,根际土中的微生物数量多呈梯度递减。根表微生物是指那些很松散地附着在根表,用水即可冲洗下来的一群微生物。内根际中的微生物与水稻的关系最为紧密,它们直接生长在根上或根的组织间隙,甚至进入根细胞内,通过水洗的方法是不能将它们与植物分离开来的。

水生植物的根通常具有通气组织,在水分过多时,可通过气孔来调节空气的流通⁽¹⁰⁰⁾。实验表明,水稻植株能向其根系提供分子态氧^(30, 31, 60, 88),根系中的气相占根组织的5—30%,而大麦根中的气相则少于1%⁽³⁷⁾。这种高度发展的空气调节系统是由通气组织和渗透性细胞间隙组成的,在淹水条件下发展到最大程度,因此,在水稻根际形成一个由氧化态的根组织和厌氧性土壤组成的特有的好氧和厌氧界面。由于根际中的固氮菌多属于微好氧、兼性厌氧和厌氧性细菌,所以它们能大量存活并作用于这一特定的微环境中。

对于联合固氮菌在水稻根际中的性质和数量,已经通过显微镜观察、平板培养观察和计数,以及免疫学等生化技术进行了大量的研究。除了联合固氮菌对水稻根系的趋化性,以及附着于根表面的报道外⁽¹⁰⁾,近年来国内外又相继报道了在水稻根组织内,甚至根细胞内发现有联合固氮菌。Diem等⁽⁸⁾发现,固氮螺菌能从表面灭过菌的水稻根中分离出来,这些菌只有在根被压碎后才能得到。Lakshmi等⁽⁸⁾观察到水稻根毛内有固氮螺菌细胞。Patriquin等⁽⁷⁸⁾运用荧光抗体技术证实了固氮螺菌能进入根组织内,甚至皮层内。You等研究指出⁽¹⁰⁴⁾,粪产碱菌接种于水稻根后,不仅能附着水稻根表面,而且部分细菌可以进入水稻根内,甚至根细胞内,并且在根细胞内仍能存活。用这种联合固氮菌接种后的稻根愈伤组织进行培养,结果发现,固氮细菌不仅能在愈伤组织中生长繁殖,而且还能固定 ^15N ,其最大固氮量为 $35.5 \mu\text{g/g干重} \cdot \text{d}$ 。也有报道稻黄杆菌⁽⁴⁷⁾和肠杆菌^(10, 83)能进入根细胞内。钱泽澍等报道了在灭菌后的水稻根系中,仍可分离出 10 — 10^5 个细菌/g鲜根,表明联合固氮菌除聚集于根表

外,还能进入根的内部^[24]。这样的发现也先后在其他植物中得到证实。实验已证明,细胞内菌落的存在是可能的,但它们与植物间的相互作用还有待进一步研究。

2. 水稻对根际联合固氮菌的影响:对微生物来说,植物比土壤有更大的作用。根系分泌物的成分及根系脱落组织的化学成分,在很大程度上决定了该环境中微生物的种类。实验表明,根际微生物的分解能力弱,需要植物根系提供有机物作为碳源。一些植物根的分泌物里有促进微生物生长发育的激素,另一些则分泌有抑制某些微生物生长的抗生物质。不难看出,植物对根际微生物具有选择性,不同植物根际中只含有同它相适应的微生物种类。实验已观察到水稻的不同品种间也表现出这种特异性,同一种联合固氮菌在接种于不同水稻品种时,表现出不同的固氮活性。同样,同一水稻品种对某些联合固氮菌的活性具有刺激作用,而对另一些联合固氮菌则无刺激作用。有时,某种水稻对大部分联合固氮菌均表现出强刺激作用,而另一种水稻却对大部分联合固氮菌无明显反应。这种由于水稻存在表现出的固氮活性的明显差异,充分说明了水稻与固氮菌之间是相互作用的。

植物根系释放出的物质包括根系分泌物和脱落组织,二者都可作为细菌生长的能量和碳、氮来源。对水稻根系分泌物的测定表明^[15],它含有4种有机酸,即乳酸、琥珀酸、柠檬酸和苹果酸,尤以柠檬酸含量最高,此外,还含有3种糖类,即果糖、葡萄糖和蔗糖,另有常见氨基酸15种,其中碱性氨基酸含量最高。除上述物质以外,水稻根分泌物里还含有生物素和硫胺素,以及植物生长调节素,如赤霉素(GA_3)等^[2]。在接种粪产碱菌的实验中进一步发现,水稻根系在与细菌共培养条件下,除分泌赤霉素外,还能分泌植物生长素(IAA)^[15]。

3. 联合固氮菌对水稻的影响:根际微生物对植物的生长和发育有利或有害的影响。由于微生物区系直接覆盖于根表,一般认为,根际微生物有助于一些难溶物质转变为可利用的物质。实验表明,水稻根际有大量能溶解磷酸盐的好氧性和厌氧性细菌存在^[74],它们有利于水稻根系对磷酸盐的吸收。这类给植物生长带来促进作用的根际微生物,通常被称为促进植物生长根际细菌(PGPR Plant Growth-Promoting Rhizobacteria),反之,给植物带来害处的根际微生物称之为有害根际微生物(DRMO Deleterious Rhizosphere Microorganisms)。已有实验证明,水稻联合固氮菌属于PGPR类,它们在接种于水稻后,(1)可提供氮源以促进水稻的生长。例如联合固氮菌有泌氮作用,水稻植株很容易利用和转化这种氮源,并将其运送至植株的各个部位;(2)联合固氮菌本身能分泌植物激素类物质,例如粪产碱菌A-15能分泌植物生长素(IAA) $0.0097\mu\text{g/ml}$,赤霉素(GA_3) $0.0315\mu\text{g/ml}$ ^[16],在固氮螺菌中,也有同样的报道^[37]。这种由固氮菌分泌的植物激素,可以促进植物根系的发育^[46]。Kloepper等^[45,88]还提出,联合固氮菌对植物生长的促进作用,可能主要来自于固氮菌分泌的植物激素的刺激作用,而不是其固氮作用;(3)多数联合固氮菌本身含有硝酸还原酶,在接种植株后,由于这种酶的作用,提高了植物体内氮的含量,以及促进联合固氮作用。从含硝酸还原酶的野生型与缺失硝酸还原酶的突变型对比实验中发现,野生型固氮螺菌比其突变型能更有效地提高植株的干重和氮的含量,并且在低浓度硝酸盐条件下,接种野生型的乙炔还原活性明显高于突变型^[43];(4)联合固氮菌可提高植物对矿物质的吸收。Bashan等人^[40]将巴西固氮螺菌接种于植物种子或幼苗后发现,植株根内有很强的氢质子流出,根际pH值下降。据此可认为,固氮螺菌接种于植物幼苗后,可影响幼苗根表面膜的活性,从而提高植物对矿物质的吸收;(5)一些联合固氮菌在根际具有一定的竞争作用,并能促

进侧根的发展,在与共生固氮菌共同接种时,可能具有协同作用^[61]。

(四) 水稻联合固氮菌的固氮能力

水稻田中,氮素肥力的自然保持是与固氮微生物的固氮作用分不开的。70年代初期,Dommergues和Yoshida等^[96,99]相继报道了在淹水田中,水稻根际的固氮活性比在旱地中更为重要,并提出了这是与水稻根际的异养固氮菌相联系的,此后,采用并改进了各种方法来测定水稻田中固氮微生物的固氮能力,如原位或土柱乙炔还原法,用乙炔还原法换算大田固氮量,以及¹⁵N同位素稀释法。乙炔还原法是一种简易快速的方法,已被广泛用于联合固氮菌固氮能力的测定。水稻田中微生物的固氮作用主要是通过蓝藻和根际联合固氮菌来实现的。Konish和Seino证明了在不施肥的水稻田中,每年从空气中固定的氮至少为20kg/ha^[8],而Burns和Hardy估计为30kg/ha。为了较准确地测定出联合固氮菌在水稻田中的固氮能力,必须除去蓝藻的固氮作用。App和Watanabe等人^[35]在栽种水稻的盆上覆盖一块黑布,用以除去光照,结果证明,除去蓝藻的固氮作用以后,水稻土中净得氮素(即由固氮作用获得的总氮素含量减去硝化作用和氨挥发所损失的氮素含量)仍是增加的,他们认为,其原因是异养固氮菌的固氮作用,而且与水稻的种植分不开。水稻对氮素增加的可能作用被认为是:

(1) 提供有机物; (2) 除去土壤中无机氮成分,减少了土壤中氮素损失的机会,提供了低氮条件,从而有利于水稻根际的固氮作用。Ventura和Watanabe^[90]通过¹⁵N标记试验也同时证明,在水稻植株存在时,土壤氮素的损失可以忽略,而氮素的增加应归功于固氮作用。在盆栽试验中,水稻植株存在时,异养固氮菌的固氮能力为10kgN/ha以下。目前一般认为,每季水稻根际固氮量不会超过10kg/ha。

更进一步的实验表明,水稻根际的固氮作用是随着水稻生育期不同而变化的。乙炔还原活性的高峰多出现在抽穗期^[39,42,78,103],其最高活性为每株每小时 $0.3\mu\text{mol C}_2\text{H}_4$ (温带)^[89,88,90,92,95]和 $2\mu\text{mol}$ (热带)^[39,42,47]。

为了更直接证明水稻的联合固氮作用,将水稻栽种在严格密封的特有装置中水培,并通入¹⁵N₂气体,结果为: (1) 在根系内和带鞘的基部茎节内,发现有大量的¹⁵N; (2) 在暴露于¹⁵N₂气体7天后,固定的¹⁵N转移到生长的组织内似乎很低; (3) ¹⁵N₂气体的渗入值与乙炔还原法估计值几乎相等。由此看来,氮的固定首先是渗入微生物,后经细胞的崩解和分泌作用,逐步将含氮化合物转移给植物细胞^[99]。尤崇杓等^[8]已证明,粪产碱菌在水稻根际所固定的氮,在69小时内有1/3为水稻所利用。莫文英等^[22]测得的每季水稻根际固氮能力为:早稻0.2—0.23kg N/mu/66d,晚稻0.3—0.4kg N/mu/72d,其中早稻固定的氮素有80—90%是在抽穗期至成熟期固定的,而晚稻在此期间只有40—50%。大量田间测定表明,水稻根际固氮活性是随着生态条件、生长季节以及水稻品种诸因素的不同而有很大变化的。

尽管异养固氮菌通常与水稻根系相关联,然而对除去根系的水稻植株进行乙炔还原测定和¹⁵N标记实验时,揭示了水稻幼苗的基部,包括叶鞘和茎段,也是固氮作用的重要部位。一般估计,除去根系的植株,其乙炔还原活性是整体植株乙炔还原活性的10—100%,这主要取决于水稻品种和生长阶段^[99]。Watanabe指出^[96],水稻茎较低部位不仅是固氮菌生存的地方,而且也是固氮作用的活性部位。Panchsakpatana等指出^[69],根际固氮酶活性在根的基部比根尖更大。Ito等人^[58]应用¹⁵N确定了稻茎较低部位(包括外叶鞘、内叶鞘以及根基)是固氮作用的位置。莫文英等^[22]的实验表明,水稻各部位固氮活性的趋势是,埋入土中带