

在土壤管理中 固氮系统的应用



联合国粮食及农业组织 罗马

粮农组织土壤丛书

在土壤管理中 固氮系统的应用

埃及吉萨农业研究中心
水土研究所微生物研究室

Y. A. 哈姆迪著

水土开发处
土壤资源、管理和保护科

联合国粮食及农业组织
1982年 罗马

前 言

由于利用高价的化石能源，矿物肥料的成本日益上涨，供应日益不足，因此对利用有机质再循环和生物固氮提高土壤肥力与生产力方面又重新产生了兴趣。

粮农组织在与瑞典国际开发署的合作下，在这方面起了领先的作用。包括主办了一系列重要的国际会议促进有机物质和生物肥料的使用。这样的会议有：1974年在罗马举行的使用有机物质作肥料的专家磋商会，1976年在曼谷举行的亚洲有机质再循环讲习班，以及1978年在亚历山大举行的近东有机物质及土壤生产力讲习班等。

亚历山大讲习班建议在生物固氮各个方面进一步加强研究、发展、应用，和传播所获得的信息，包括根瘤菌／豆类 and 绿萍／蓝藻的共生系统，以及自生固氮的固氮细菌和蓝藻。

讲习班的代表及特邀演讲人Y·A 哈姆迪博士应要求编写了这份报告，本报告述评了有关农业生物肥料的特点、生产和应用等方面的文献，并介绍了这些方面的情况。

虽然所叙述的某些方法尚有待继续改进，但是将固氮作用各个方面都编辑在这样一本书中，不仅希望能使研究人员，而且也能使那些为整个世界各农业—生态区的土壤改良和管理而进一步发展与改进这些自然系统的推广人员和规划者都感到兴趣，并有助于他们的工作。

致 谢

联合国粮食及农业组织和作者本人对于在本报告准备和编写过程中直接或间接地给予帮助的所有组织及个人表示感谢。

作者还愿意对那些根据本报告需要而提供了研究报告及图片的所有科学家和同事们的协助表示深切的谢意。在本文内容中对这些贡献与资料来源有更具体的谢启，列出了重要课题需要进一步阅读的参考文献。

封面图片：Lab - lab 和稻子生长在一起并向稻谷供应
氮素，在稻子收割后由 Lab - lab 占优势
(粮农组织摄影)

	页 次
1 引 言	1
1·1 概 况	1
1·2 地球上氮素状况	1
1·3 氮的固定	2
1·4 氮素肥料	2
2 生物固氮	5
2·1 前 言	5
2·2 自生固氮有机体	5
2·2·1 细 菌	5
2·2·2 蓝 藻	6
2·3 自生固氮生物与其他有机体的联合共生现象	6
2·3·1 松散的联合	6
2·3·2 与动物的联合	8
2·3·3 包含有形态上改变或适应的联合	8
2·4 生物固氮的生物化学	9
2·4·1 固氮酶的酶系统	9
2·4·2 固氮作用所需的条件	9
3 根瘤菌—豆类植物共生	11
3·1 小共生体 根瘤菌	11
3·1·1 分类学	11
3·1·2 固氮菌的形态学和细胞学	11
3·1·3 固氮菌的培养特点	12
3·1·4 固氮菌的生理学	12
3·1·5 土壤中根瘤菌的生态学	14

3 · 2	大共生体 豆类植物	1 4
3 · 2 · 1	交互接种族	1 4
3 · 2 · 2	根 瘤	1 6
3 · 3	根瘤形成的遗传问题及豆类植物—根瘤菌联合体的固氮作用	2 1
3 · 3 · 1	大共生体、豆类宿主	2 1
3 · 3 · 2	小共生体 根瘤菌	2 1
3 · 4	豆类植物的接种	2 3
3 · 4 · 1	品系选择	2 3
3 · 4 · 2	品系的收集	2 3
3 · 4 · 3	品系的评价	2 3
3 · 4 · 4	细菌的繁殖	2 4
3 · 4 · 5	根瘤菌的载体	2 4
3 · 4 · 6	接种剂的调制	2 7
3 · 4 · 7	接种剂的标准	2 7
3 · 4 · 8	多品系接种剂	2 7
3 · 4 · 9	接种剂质量检验	2 7
3 · 4 · 10	接种剂的应用	2 8
3 · 4 · 11	接种的反应	3 0
3 · 4 · 12	影响接种成功的因素	3 5
3 · 4 · 13	各种豆类的固氮量	3 9
4	蓝 藻	4 5
4 · 1	引 言	4 5
4 · 2	固氮的蓝藻	4 5
4 · 3	分 类	4 5
4 · 4	蓝藻的遗传	4 8
4 · 5	蓝藻固氮酶的位置	4 8
4 · 6	蓝藻的分离和纯化	4 8
4 · 6 · 1	单种藻的培养	4 8
4 · 6 · 2	藻类的无菌培养物	4 9
4 · 6 · 3	藻类培养物的纯度检验	4 9
4 · 6 · 4	蓝藻固氮能力的测定方法	5 0

4·7	蓝藻的增殖率	5 1
4·8	影响蓝藻固氮的生态条件与因素	5 1
4·8·1	分 布	5 1
4·8·2	蓝藻所需的营养	5 2
4·8·3	光	5 3
4·8·4	温 度	5 4
4·8·5	pH	5 4
4·8·6	干 燥	5 4
4·8·7	氧化还原电位	5 5
4·8·8	农 药	5 5
4·8·9	藻类的病原体	5 6
4·8·10	盐渍度	5 6
4·9	蓝藻固氮量	5 7
4·9·1	实验室的条件下	5 7
4·9·2	野外条件下	5 8
4·10	氮素固定后的转移	5 8
4·11	蓝藻产生的维生素和生长物质	5 9
4·12	蓝藻的大量培养	5 9
4·12·1	日本的生产技术	5 9
4·12·2	印度的生产技术	6 1
4·12·3	中国的生产技术	6 2
4·12·4	其他方法	6 3
4·13	藻化或将蓝藻应用于土壤中	6 3
4·13·1	接种蓝藻的方法	6 3
4·13·2	蓝藻对土壤和稻谷产量的影响	6 4
4·13·3	蓝藻对稻子以外其他作物的影响	7 2
5	自生固氮细菌	7 3
5·1	Azotobacteriaceae 分类学	7 3
5·2	Azotobacter 属	7 3
5·3	固氮菌肥料	7 4
5·3·1	历史背景	7 5

5.3.2	固氮菌肥料的生产	7 5
5.3.3	固氮菌肥料的使用	7 5
5.3.4	固氮菌肥料对作物产量的影响	7 6
5.4	<i>Azotobacter paspali</i> 雀稗固氮菌	7 8
5.4.1	固氮的潜在可能性	7 9
5.4.2	固氮酶活动的位置	7 9
5.4.3	田间的固氮量	8 0
5.5	<i>Beijerinckia</i> 拜叶林克氏菌	8 0
5.5.1	分类学	8 0
5.5.2	地理分布	8 1
5.5.3	土壤 pH	8 2
5.5.4	植 被	8 2
5.5.5	在土壤改良方面的意义	8 2
5.5.6	固氮效率	8 2
5.6	<i>Azospirillum</i> 固氮螺菌	8 3
5.6.1	<i>Spirillum lipoferum</i> 的分离	8 4
5.6.2	分类学	8 5
5.6.3	<i>A. lipoferum</i> 的生长位置	8 6
5.6.4	固氮潜力	8 6
5.6.5	固氮率	8 6
5.6.6	温 度	8 6
5.6.7	pH	8 8
5.6.8	氧	8 8
5.6.9	对接种的反应	8 8
6	绿 萍	9 1
6.1	引 言	9 1
6.2	分类学	9 1
6.3	绿萍— <i>Azolla anabaena</i> 联合	9 2
6.4	繁 殖	9 4
6.5	固氮作用	9 4
6.5.1	结合态氮的影响	9 5

6.5.2	固氮效率	96
6.5.3	固氮作用与转化因素	96
6.5.4	藻类固定氮的释放	96
6.5.5	绿萍的光合作用	97
6.5.6	绿萍的生长	97
6.6	绿萍总氮素输入量的估计数	98
6.7	影响绿萍的环境因素	98
6.7.1	水	98
6.7.2	光照	99
6.7.3	温度	99
6.7.4	pH	100
6.7.5	季节与土壤条件	100
6.7.6	接种物的密度	101
6.7.7	营养	101
6.7.8	盐渍度和盐的浓度	103
6.7.9	绿萍的虫害	104
6.7.10	杀虫剂	104
6.8	绿萍虫害的防治	105
6.9	真菌病害	105
6.10	绿萍在农业中的作用	106
6.10.1	绿萍作为绿肥	106
6.10.2	绿萍在田间的生长	107
6.10.3	作物对绿萍的反应	108
6.10.4	绿萍氮素的有效性	109
6.10.5	在水稻下栽培绿萍	109
6.10.6	绿萍在越南水稻轮作中的地位	109
6.10.7	双窄行法	109
6.10.8	对栽培绿萍的建议	112
6.10.9	夏季中需要给绿萍提供的营养	112
6.10.10	绿萍与稻谷的产量	112
6.10.11	绿萍作为饲料	113
6.10.12	绿萍作为杂草	114
6.10.13	绿萍作为改良水质的手段	115

6.10.4 绿萍的其他潜在用途	115
7 有根瘤的非豆类植物	117
7.1 大共生体 植物	117
7.2 内生菌 小共生体	118
7.3 交叉接种类型	120
7.4 瘤	120
7.5 一些非豆类植物的固氮能力	122
7.6 其他非豆类固氮植物	123
8 生物肥料的成本	125
8.1 根瘤菌接种物	125
8.2 藻类接种物	125
附 录	
A. 生物固氮的评定方法	127
A.1 引 言	127
A.2 凯氏法	127
A.3 $^{15}\text{N}_2$ 掺入法	127
A.4 乙炔还原法	129
B. 根瘤菌	133
B.1 根瘤菌的识别与特征	133
B.2 石蕊牛奶反应	133
B.3 根瘤菌生态学研究方法	133
B.4 豆类种子的球化	136
B.5 豆类接种剂的质量控制方法	137
B.6 用于计数根瘤菌的植物种子消毒方法	141

C · 自生固氮菌类	143
D · 蓝 藻	146
D · 1 ^{15}N 示踪元素	146
D · 2 测定蓝藻培养物中的氮	146
D · 3 原位测定固氮能力	147
D · 4 蓝藻的固氮酶活性	147
D · 5 硅胶平板	148
D · 6 叶绿素(a)含量	148
D · 7 土壤中的藻类生物量	148
D · 8 蓝藻的培养溶液	149
D · 9 供稻谷接种用的藻类生产管理办法	153
E · 绿 萍	155
E · 1 绿萍增殖与利用的准则	155
E · 2 大面积的繁殖绿萍	156
E · 3 绿萍的利用	156
E · 4 供绿萍生长的营养液	157
F · 固氮生物的培养物收集品	159
F · 1 根瘤菌的培养物收集	160
F · 2 蓝藻的培养物收集	162
F · 3 固氮菌和固氮螺菌的培养物收集	164
F · 4 绿萍培养物收集	165
参考文献	167

附 图 目 录

页 次

1	生物学固氮关系	7
2	车轴草根毛上的 <i>R. trifolii</i>	17
3	豇豆根瘤的侵入线	18
4	蚕豆根瘤的横剖面	19
5	大豆根瘤的横剖面	19
6	蚕豆细胞中 <i>Rhizobium leguminosarum</i> 的类菌体	20
7	用 <i>R. trifolii</i> 单营养突变型接种的车轴草	22
8	生产根瘤菌液体培养物的简单发酵装置示意图	25
9	蚕豆对接种 <i>R. leguminosarum</i> 的反应	32
10	<i>Trifolium alexandrinum</i> 对接种 <i>R. trifolii</i> 的反应	34
11	某些固氮蓝藻	47
12	藻类在盛土的浅盘中培养	62
13	土壤中接种蓝藻对稻谷生长的效应	68
14	从埃及土壤中分离的 <i>A. chroococcum</i>	74
15	从苏丹土壤中分离的 <i>B. indica</i>	81
16	<i>Azospirillum</i> 菌膜	84
17	从埃及土壤中分离出来的各种 <i>Azospirillum</i> sp 类型	84
18	从玉米根际分离出的 <i>A. lipoferum</i>	85
19	在未消毒的稻 (IB8) 土系统中接种的 3 个固氮菌品系固氮酶活性	90
20	绿萍浮于水面	91
21	<i>Azolla pinnata</i>	93
22	<i>Anabaena azollae</i>	93
23	绿萍生活史	94
24	作物对接种绿萍的反应	108
25	水稻栽培中的双窄行方法	110
26	<i>Myrica gale</i> 根瘤中的感染细胞, 表现了内生菌的泡囊	119
27	<i>Purshia tridentata</i> 和 <i>Alnus glutinosa</i> 的根瘤类型	121
28	在皮层中的初生瘤 (接种后两周) 并开始形成了侧方维管束	121
29	绿萍的繁殖	155

附表目录

	页次
1 1974 年氮素固定量估计数	2
2 世界氮肥产量	3
3 固氮细菌	5
4 澳大利亚的接种率和每粒种子最少根瘤菌数目	28
5 车轴草对 <i>R. trifolii</i> 和颗粒接种剂的反应	30
6 在有过磷酸钙的情况下接种对蚕豆的产量和种子总含氮量的效应	32
7 在印度不同地点的田间试验中, <i>Cajanus cajan</i> 的豆粒产量	33
8 接种各根瘤菌品系的植物在温室试验中的叶重 (g)	34
9 水分紧张状态对于接种在 <i>P. vulgaris</i> 植物上两种 <i>R. phaseoli</i> 品系的根瘤数目、大小和乙炔还原活性的影响	37
10 豆类作物、饲料、绿肥及遮荫树的固氮量	40
11 在埃及条件下各种豆类的固氮量	40
12 豆类作物的固氮量及其对随后的谷物影响	41
13 种植豆类和非豆类作物的土壤氮素变化	41
14 在衬有塑料的矿渣地中三种豆类的固氮	42
15 两种 <i>Desmodium</i> 饲料豆类在和俯仰马唐草混作中所提供的氮素	42
16 在种植前即时掺入绿肥对菜豆产量的影响	43
17 据报导在纯培养中能固定氮的异形细胞蓝藻	46
18 在纯培养中固氮的非异形细胞蓝藻	46
19 几种蓝藻的每日倍增数	51
20 除莠剂对 <i>T. tenuis</i> 的干重、氮和叶绿素含量的影响	55
21 在液体培养中各种蓝藻的固氮量	57
22 由于接种藻类而积累的有机质	58
23 繁殖蓝藻的培养基	60
24 接种 <i>Aulosira fertilissima</i> 对稻谷品种 (T9) 平均生长和产量的影响	64
25 <i>T. tenuis</i> 对稻子品种 498-2 “Aman” 谷粒产量的影响 (Kg/ha)	65
26 在不同氮素水平上接种藻类的稻子 (IR8) 谷粒产量	65

2 7	接种藻类的稻子品种 ASD 5 谷粒产量	66
2 8	<i>T. tenuis</i> 对比哈尔稻子品种 BR34 谷粒产量的影响 (Kg/ha)	66
2 9	接种藻类 <i>T. tenuis</i> 对稻子产量的影响	68
3 0	有磷或无磷情况下氮素和接种藻类对稻子产量的效应	69
3 1	某些肥料和前期作物对稻子产量的效应	70
3 2	在不同土壤中接种藻类和施用氮肥对稻子含氮量的影响	71
3 3	<i>T. tenuis</i> 的藻化与氮磷肥对产量的影响	71
3 4	苏联各地区固氮菌肥料对产量的影响	76
3 5	1949 - 1951 苏联集体农庄使用固氮菌肥料对作物产量的影响	77
3 6	在田间试验中种子接种对小麦粒产量的影响	79
3 7	在各种气候条件下根系与土壤中固氮 <i>Spirillum</i> 的出现率	83
3 8	由根际土壤和各种植物根调制的苹果酸富集培养基中固氮螺菌的出现率	83
3 9	热带牧草在根上和在根际土壤中的固氮酶活性	87
4 0	几种热带植物根和根际土壤 <i>S. lipoferum</i> 富集培养物的固氮酶 (C_2H_2) 活性	87
4 1	对几种作物接种 <i>S. lipoferum</i> 的田间测定	88
4 2	接种和未接种 <i>S. lipoferum</i> 的牧草干物质产量比较	89
4 3	在 19 个玉米和其他植物种或品种上接种及不接种 <i>S. lipoferum</i> 的田间试验	90
4 4	越南常见的各绿萍品种特点	92
4 5	各种结合态氮对乙炔还原的影响	95
4 6	氮的各种浓度对绿萍产量及固氮能力的影响	96
4 7	绿萍增殖率及氮素的增加	98
4 8	不同条件下稻田水的 pH 值对绿萍生长的影响	100
4 9	绿萍在各种 pH 值土壤中的生长	100
5 0	在不同季节和土壤类型上生长的绿萍	101
5 1	在铁 P、K、Ca、Mg 的培养基和加 N 培养基中绿萍的鲜重、全氮和乙炔还原活性	102
5 2	防治绿萍害虫的一些主要杀虫剂	105
5 3	在田间和水泥容器中绿萍及氮素按鲜重计的产量	107
5 4	绿萍各个种在不同地点的产量	107
5 5	绿萍对稻子品种 IR 8 及 Supriya 的水稻田中稻谷与绿萍的产量	108

5 6	一年中大部分时期内生长绿萍的水稻田中稻谷与绿萍的产量	111
5 7	夏季中各种肥料对绿萍繁殖和固氮能力的影响	112
5 8	施磷, 泥浆搅拌和接种绿萍对水稻品种 IR30 的禾秆和谷粒产量的影响	113
5 9	绿萍的化学成分	114
6 0	施用不同比例的绿萍与商业饲料对鸡体重的影响	114
6 1	非豆类固氮被子植物的分类	117
6 2	结根瘤的非豆类被子植物种的数目与分布	118
6 3	各种 <i>Alnus</i> sp (桤木) 的交叉接种	120
6 4	在无结合氮的生根培养基中结瘤植株所积累的氮素	122
6 5	一些非豆类植物固氮作用的田间测定量	123
6 6	固氮作用的测定	128
6 7	根瘤菌主要类型的培养和生化特点以及与土壤杆菌的区别	133
6 8	根瘤菌的结瘤专一性	134

1.1 概 况

为了满足因世界人口急剧增长而对粮食日益增加的需要,矿质肥料和农药已经广泛用于耕地以便提高作物的产量。然而,集约的农业方法由于不仅污染食物同时还污染了空气、土壤和水源系统,带来了不利的有时是灾难性的后果。而且,矿物能源、矿质肥料特别是氮肥,以及滥用肥料也关系到增加成本。

人们认为综合利用化学或物理因素及生物制剂的方法可以改进土壤的生产力。然而,在农业上应用化学制品,如营养素、改良剂、生长调节物质、除莠剂和防治病害的药剂等,会有利或不利地使土壤及微生物发生改变。

根际微生物的活动,部分地取决于气候及土壤物理因素,而后者可以控制用来改变土壤及微生物群丛。防止有害的因素,诸如通过良好的排水防止积水,是根瘤菌与豆科植物有效固氮共生的先决条件。耕地方法影响到很多土壤特性,如通气性、结构、温度和水分状况,所有这些都影响微生物的平衡。接种某些有机体以改变根际菌丛长期来认为在实践中是可能的。根瘤的接种物对作物产量及质量以及对土壤肥力的有益效果受到了广泛的承认,只要能满足适当的条件,对菌根的接种也同样是如此。其他细菌肥料如固氮细菌和溶解磷的细菌在苏联及东欧已被广泛接受。

此外,在非豆科植物上接种联合的固氮螺旋状细菌也是有前途的。对藻化和应用 *azolla-anabaena* 系统已经有了评价,并在印度、菲律宾和越南被接受作为生物肥料。

本报告的目的是说明在土壤改良与管理中应用固氮系统的方法,以及这些方法在增加作物产量上能够取得的成果。有关这个综合系统的其余部分,即关于化学的和物理的处理,主要是着眼于它们与生物固氮系统的相互关系。

1.2 地球上氮素状况

由于核酸、蛋白质和叶绿素中含有氮,所以氮是各种生命最重要的元素。因而,各种细菌、真菌、绿色植物以及各种动物除非得到可接受态的氮,否则不能生长和活动。

大量氮元素以气体状态存在于地球的大气中和溶于海水中,并且以这两种状态存在于土壤及某些岩石中。然而植物和动物本身并不能利用氮元素。因此气态氮虽然存在于植物组织的空间但不能被利用。同样,动物吸入空气而排斥氮。

大多数有机体只能利用结合态氮;如果绿色植物的根能得到硝酸盐或铵盐的供应,则生长良好,在自然条件下,它们通常从土壤中得到它们,如果是水生植物则从水中得到它们。植物