



GU DAN LAN ZAO

固氮蓝藻

黄有馨 刘志礼 主编

.22

农业出版社

固 氮 蓝 藻

黄有馨 刘志礼主编

刘雪娟 方光如 汪 廷 编
苏国峰 严玉洲

农业出版社出版 (北京朝内大街130号)

新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

787×1092 毫米 32 开本 8.25 印张 169 千字
1984 年 7 月第 1 版 1984 年 7 月北京第 1 次印刷
印数 1—2,700 册

统一书号 16144·2749 定价 1.30 元

目 录

导论	1
一、蓝藻和固氮蓝藻	1
二、固氮蓝藻的研究概况	2
第一章 蓝藻的特征及固氮的主要属种	6
一、蓝藻的生态和分布	6
二、蓝藻植物体的形态特征	10
三、蓝藻的繁殖方法	15
四、蓝藻的分类大要	17
五、固氮蓝藻的代表属种	18
第二章 蓝藻的细胞构造及其化学成分	56
一、蓝藻的细胞构造	56
二、细胞壁的超微结构和成分	59
三、类囊体及光合色素	64
四、气泡（假空泡）及其功能	78
五、细胞的主要化学成分	83
六、异形胞	98
第三章 蓝藻的光合作用和碳代谢	105
一、蓝藻光合作用中的光反应	106
二、自养型CO ₂ 的固定	115
三、蓝藻的光异养及对有机化合物的同化作用	121
四、碳代谢	124
五、中间代谢酶	126
六、呼吸作用的电子传递链	130
第四章 蓝藻的固氮作用	139

一、固氮作用机制	139
二、蓝藻的固氮场所及其固定氮素的转移	151
三、外界因素对固氮作用的影响	157
第五章 固氮蓝藻藻种的选育	171
一、藻种的采集与分离	171
二、藻种的鉴定	177
三、藻种的培养与保存	189
第六章 固氮蓝藻的培养与农业应用	207
一、固氮蓝藻的培养与繁殖	207
二、固氮蓝藻在水稻上的利用	226
第七章 满江红的生物固氮	240
一、满江红的分类	241
二、满江红的固氮实质	242
三、满江红的共生腔	243
四、满江红和蓝藻的共生关系	246
五、满江红对藻体异形胞形成频率和固氮力的影响	246
六、萍藻关系的长久性	250
七、满江红的除藻及共生蓝藻的分离	251
八、满江红的固氮能力	254
九、满江红在农业生产中的应用	256

导 论

一、蓝藻和固氮蓝藻

蓝藻又称蓝绿藻(Blue-green algae),是地球上最早出现的绿色自养植物。由于蓝藻的光合作用放出氧气,它是地球形成早期大气氧的主要提供者。特别是由于蓝藻能固定大气中的游离氮并合成各种氮化物,所以它对地壳表面有机物的积累起着重要的作用。同时蓝藻也是重要的造岩和成矿的生物之一。

蓝藻起源古老,然而演化十分缓慢,其细胞的构造、生殖方式和植物体的分化都较简单,这些显示出蓝藻的低级性状。

蓝藻对恶劣环境表现出极强的适应性,在终年无雨的戈壁、常年积雪的高山都可见到蓝藻。蓝藻对高温的忍耐力是惊人的。生活在温泉中的蓝藻可耐74℃的高温。蓝藻是地面上分布最广的一类植物。全世界已报道的蓝藻有2000多种,我国已记载的约有800多种。

固氮蓝藻是指具有明显固氮能力的蓝藻。它们的数量究竟有多少,目前尚很难说,主要原因是人们研究的甚少。至今作过研究或作过固氮力测定的约有150余种和变种。它们分属于色球藻纲(Chroococcophyceae),藻殖段纲(Hormogo-

nophyceae) 和真枝藻纲 (Stigonematophyceae), 其中大多数集中在藻殖段纲中的念珠藻目 (Nostocales) 中。从总体上考虑念珠藻目是研究固氮蓝藻的主要对象。

二、固氮蓝藻的研究概况

固氮蓝藻的研究根据记载早在1889年, Frank就发现, 在光照条件下生长蓝藻的土壤含氮化合物较高, 后来 Beijerinck发现在缺氮水溶液中链状鱼腥藻 (*Anabaena catenula*) 生长得旺盛。直到1928年 Drewes通过纯培养才正式确定点形念珠藻 (*Nostoc punctiforme*) 具有固氮能力。从那时算起固氮蓝藻的研究已达半个多世纪了。人们通过研究和生产实践已经积累了丰富的经验, 取得了许多重要的成果。就总体而言, 前期主要有固氮蓝藻藻种筛选和固氮力测定方法的探索。近20年主要是固氮机理的探讨, 固氮酶活性的测定、分离、提取以及蓝藻细胞结构和功能对于固氮过程有关的生理 (特别是光合和代谢生理) 机制的研究以及固氮蓝藻对农业增产的试验研究等等。

在藻种筛选方面, 从1928年Drewes工作之后, 蓝藻固氮问题日益引起人们的兴趣, 并不断发现新的固氮种类。如1932年 Allison和Morris证实多变鱼腥藻能够固氮, 1939年De从印度水稻田中分离出多变鱼腥藻 (*A. variabilis*)、胶质鱼腥藻 (*A. gelatinicola*)、舟形鱼腥藻 (*A. naviculoides*)。1940年Boltels又发现柱孢鱼腥藻 (*A. cylindrica*) 等6种固氮蓝藻等。由于测定方法的改进, 50—60年代固氮蓝藻新

种源的发现是很迅速的，至1973年Stewart在《蓝绿藻的生物学》(The Biology of the blue-green algae) 一书中综合性评述，记载了120余种。现在已知能够固氮的蓝藻达20多属150余种。我国已报道能固氮的有30余种。这些只是被试验、应用和有记录的种类，实际存在的固氮种类会远远大于这个数字。

在确定蓝藻能够固氮这一事实以后，一个重大的理论突破是对固氮机理和固氮酶的揭示。这方面首先获得成功的是Schneider等1960年第一次利用层理鞭枝藻(*Mastigocladus laminosus*)，制备出无细胞固氮酶。Stewart等指出蓝藻固氮过程中还原剂和ATP的来源是基本的问题，他们的研究结果说明固氮酶只有在还原剂 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 和ATP存在的情况下才有固氮力。在这方面Gorham, Smith, Evans, Bothe, Haystead及Cox, Fay等人在60年代和70年代进行过不少无细胞制剂固氮酶活性及与此相关问题的研究。Winter和Burris, Bulen和Lecomte, Hadfield和Bulen, Kuhl, Talpasayi, Jensen及Steuart和Alexander等人进行过固氮蓝藻ATP形成条件及其有关的生理合成代谢的研究。目前已经知道氮分子合成氨及其化合物所必须的4个基本条件——催化剂，固氮酶（铁钼蛋白和铁蛋白）、还原剂——铁氧还蛋白、能量——三磷酸腺苷。另外，氢离子等方面进行了较深入的研究。由于蓝藻中的共生类型如满江红鱼腥藻(*Anabaena azollae*) 在农业应用上增产效果显著，对其共生和固氮机理方面的研究也较多。如Gerald A. Peters, Steven N. Talley等(1977年)。都先后进行过满江红鱼腥藻共生固

氮机理的研究。固氮蓝藻通过固氮酶的作用将大气中游离的分子氮固定为化合态氮，同时在其生长繁殖过程中不断分泌出氨基酸、糖类、多肽和少量激素等含氮化合物和活性物质，加之固氮蓝藻死亡后释放出大量的氨态氮，从而大大增加土壤肥力。据分析1000斤鲜重蓝藻相当于10—15斤硫酸铵的含氮量、2.6斤的过磷酸钙和18.9斤活性有机物质的肥力。江苏省农业科学院黄有馨等人的肥效试验说明，蓝藻能增产10%左右。P. K. Singh认为蓝藻的固氮潜力可以达到20—60公斤氮/顷/季节。因而固氮蓝藻作为稻田肥料的应用正在引起人们越来越多的重视。

最近国际第四次固氮会议上P. K. Singh对蓝藻固氮提出了下列注意点：

1. 鉴定本地藻类区系，确定其占优势的种类和在不同条件下藻类的繁殖方式以及它们对土壤生物量和氮素供应的作用。

2. 进行蓝藻的生态学研究，测定藻类的生物量和固氮酶活性及其与主要环境因素的关系。对加强生物固氮作用的农业实践和查清其限制因素应给予特别的重视。

3. 用肥料改良土壤物质加强天然生长的蓝藻的固氮作用。

4. 适应不同环境条件、土壤类型和水域的接种剂的生产技术。

5. 研究接种的类型和方法，接种藻类的生长和当地藻类的竞争以及接种藻类与化学氮肥、杀虫剂等的作用。

6. 研究土壤的化学和物理特性的变化，对硝化、反硝化

和氮素挥发损失的影响，以及在田间条件下藻类氮素对作物的有效性。加强应用性研究并推广到不同地区。

7. 加强生理、生化和遗传学的研究，以取得对氮素固定的基本理论及其与藻类生长间的关系的进一步了解。分离具有广泛适应性、高效率的固氮作用、高产的生物量、并能在有氮的条件下固氮的突变体，同时也应研究蓝藻对病虫害的抗性和耐受性。对蓝藻的遗传学、基因交换和转移系统进行研究也是必要的。

我国固氮蓝藻的研究也有较长的历史。30年代我国藻类学家李良庆先生就记载过西藏、青海、内蒙古、江苏、浙江、安徽等省（区）的固氮蓝藻。

中国科学院水生生物研究所黎尚豪先生从50年代后期起就发表了一系列有关固氮蓝藻的研究文章，特别是70年代后期，在湖北省获得了晚稻田大面积放养固氮蓝藻的成功，对我国固氮蓝藻在农业生产上的推广应用起了重要的促进作用。江苏省农业科学院从1976年起也进行了固氮蓝藻的应用研究，他们选育了一些适宜本地区生长、固氮力高、生长繁殖迅速的藻种，提出了干藻粉和干藻吸附剂直接在稻田放养的方法，示范放养了一定的面积，并通过试验确证了固氮蓝藻的增产效果在10%左右。此外，许多科学工作者在固氮蓝藻的研究上也做了大量的工作。

固氮蓝藻的研究和应用，在农业生产上有着重要的意义。但固氮蓝藻的研究和应用还仅是开始，许多问题还有待进一步深入研究。本书旨在为固氮蓝藻的推广应用，促进固氮蓝藻研究的深入作一些贡献。

第一章 蓝藻的特征及固氮的主要属种

一、蓝藻的生态和分布

蓝藻在地面上的分布极为广泛，可归纳为气生、水生和共生三大类型。

(一) 气生 指生长在土壤、岩石、树皮及其它动植物表面。这类蓝藻的水分来源主要靠空气中的水分及短暂的雨水。依据其附着的基物又可分为：

1. 石生 这类蓝藻生于岩石表面，整个生活期水分来源很少，一直是在阳光、高温、严寒、干燥条件下生活，对不良环境的抵抗能力极强，长久不雨也不死亡，一遇雨水即能恢复活动，继续分裂、生长。最普通的有隐球藻属(*Aphanocapsa*)、粘球藻属(*Gloeocapsa*)，真枝藻属、单歧藻属(*Tolypothrix*)等属的许多种，其次是席藻属、颤藻属(*Oscillatoria*)、鞘丝藻属(*Lyngbya*)、束藻属(*Symploca*)、裂须藻属(*Schizothrix*)、念珠藻属等属的少数种。后面的几个属的某些种如果是石生的则要求在多雨或空气湿度相对大些的地区。

2. 墙壁生 这些蓝藻能在古庙、城墙、碉堡等建筑物的墙壁上生长，这些地方较潮湿，日光常受建筑物及树木等遮

蔽，光照不如石生的强烈。许多蓝藻存在时表现为墨绿色、黑色，遇水则呈深蓝绿色。主要有隐球藻属、隐杆藻属 (*Aphanothece*)、粘杆藻属 (*Gloeothece*)、粘球藻属、色球藻属 (*Chroococcus*)、伪枝藻属 (*Scytonema*)、单歧藻属、裂须藻属、颤藻属和束藻属等属的很多种。

3. 土生 这类蓝藻系生在潮湿土壤表面及表层土以下 (包括森林、农田、沟溪旁边等处土壤)。其所在之地湿度比其它气生蓝藻的生活环境为高，但不是沉浸在水中，其水分来源除空气和雨水外，主要靠土壤结构本身的水分。这样的环境中，蓝藻的数量和种类都较多，分属于隐杆藻属、粘球藻属、色球藻属、绿胶藻属 (*Chloroglossa*)、蓝丝藻属 (*Hyella*)、拟念珠藻属 (*Nostocopsis*)、飞氏藻属 (*Fischerella*)、真枝藻属、软管藻属 (*Hapalosiphon*)、双须藻属 (*Dichothrix*)、眉藻属 (*Calothrix*)、筒孢藻属 (*Cylindrospermum*)、胶须藻属 (*Rivularia*)、拟镰藻属 (*Raphidiopsis*)、伪枝藻属、单歧藻属、微毛藻属 (*Microchaete*)、念珠藻属、鱼腥藻属 (*Anabaena*)、颤藻属、水鞘藻属 (*Hydrocoleum*) 等。

(二) 水生 地球表面的海洋、湖泊、池塘、沟渠积水等各种水体都有蓝藻存在。其数量和种类均多于土生的蓝藻。这类蓝藻的特点为经常生活在水中，离开水不能生存和发展或至少不能正常生长，处在相对静止的状态，它们统称为水生蓝藻。

根据它们在水中存在情况又可分为：

1. 底栖 是指生在各种水体底部的泥土、石块上，常见

的有宽球藻属 (*Pleurocapsa*)、胶须藻属等属中的某些种。

2. 沿岸 指生于各种水体岸边临水处或间隙浸水处，常见的有筒孢藻属、鞘丝藻属、颤藻属、念珠藻属等属的一些种。

3. 浮游 这类蓝藻植物体很小，常浮在各种水体的水面，是整个浮游藻类的重要组成分子。其中重要的有：微囊藻属 (*Microcystis*)、隐球藻属、隐杆藻属、粘杆藻属、色球藻属、束球藻属 (*Gomphosphaeria*)、腔球藻属、立方藻属 (*Eucapsa*)、胶刺藻属 (*Gloeotrichia*)、眉藻属、胶须藻属、拟项圈藻属、筒孢藻属、念珠藻属、鱼腥藻属、颤藻属、鞘丝藻属、裂须藻属等属的很多种。其中有20多种在池塘、鱼池中繁生旺盛组成水华 (water-flower, water-bloom)，又叫湖淀。水华严重时对鱼有毒性，为害渔业。

在水生种类中，有些可以在盐度为30%的水体中生活，如鱼腥藻属和颤藻属的某些种。我国青海湖中的藻类主要是蓝藻。

4. 附生 生于各种淡、海水体中较大形的沉水或半沉水的植物体上。主要有：胶须藻属、软管藻属、真枝藻属 (*Stigonema*)、筒孢藻属、微毛藻属 (*Microchaete*)、念珠藻属、织线藻属 (*Plectonema*)、单歧藻属、颤藻属、鞘丝藻属、裂须藻属、束丝藻属、微鞘藻属 (*Microcoleus*)、水鞘藻属、绿胶藻属等属的某些种。

另外有些种类生活在热水出口处和生在温泉中。主要有微囊藻属、隐球藻属、隐杆藻属、粘球藻属、粘杆藻属、色球藻属、飞氏藻属、软管藻属、惠氏藻属 (*Westiella*)、鞭

枝藻属 (*Mastigocladus*)、单歧藻属、双须藻属、眉藻属、织线藻属、念珠藻属、鱼腥藻属、螺旋藻属 (*Spirulina*)、颤藻属、席藻属、束藻属、裂须藻属、微鞘藻属、石囊藻属等属的125种, 它们表现出对高温极强的适应性, 其中少数种可耐高温达80℃, 特称为温泉蓝藻。

(三) 共生 蓝藻的某些属种能和真菌共生形成地衣, 称为地衣蓝藻 (地衣为藻类和真菌共生的复合体植物), 主要有色球藻属、粘球藻属、念珠藻属、真枝藻属、伪枝藻属、胶须藻属等属的一些种。

此外, 有些蓝藻和高等植物共生, 例如满江红鱼腥藻 (*Anabaena azollae*) 和满江红共生; 苏铁鱼腥藻 (*A. cycadae*) 和苏铁共生等。

总之, 蓝藻的分布是极为广泛的, 随着不同的生态环境有不同的种群组合。其很多种类都有一定的生态要求, 同一属的不同种有不同的生态要求, 这是由于特定的环境下物种长期生存适应的结果, 已形成特定的生态习性。

在上列各种生态环境的蓝藻中, 作为现今固氮蓝藻研究和利用的对象, 大多数是属于水生浮游蓝藻和土壤蓝藻及少数植内共生蓝藻, 而特别又以念珠藻目的成员最为重要, 这可能是由于下列原因:

1. 这些种类的植物体易分离, 生长快, 方便研究和利用。

2. 固氮活性相对较明显, 容易得到预期的效果。

应该说蓝藻中作为固氮研究和利用的对象是很多的, 现在所发现的固氮种类只是其中很少的一部分, 上面的这些生

态分布的介绍，目的是希望为固氮蓝藻的研究扩大新种源。

二、蓝藻植物体的形态特征

蓝藻植物体可分为单细胞、群体和丝状体三种类型。

(一) 单细胞蓝藻 蓝藻只有很少种类是单个细胞营独立生活的称为单细胞蓝藻，例如聚球藻属(*Synechococcus*)、集胞藻属(*Synechocystis*)、蓝纤维藻属(*Dictylococcopsis*)等，但实际上这些藻极为少见。

大多数蓝藻在细胞分裂后，其子细胞保持某种联系，数代以后连结成种种不同形式的群体和丝状体。这主要取决于营养细胞的分裂面和分裂后连结的形式。

(二) 群体蓝藻 群体中最简单的形式为群集。这是一些营附生生活的蓝藻，其内生孢子或外生孢子（详见蓝藻的生殖方法）成熟后散放在母体附近萌发成新植物体呈群集状态。

但群体中大多数为胶团性蓝藻。此类蓝藻藻体为胶团块，其中含有少数至多数细胞是随着细胞不断分裂群体中细胞其数目增多，群体增大。大群体中可以含有小群体。细胞、大小群体的外面各自具有明显可见的胶质衣鞘。细胞外面的衣鞘称为

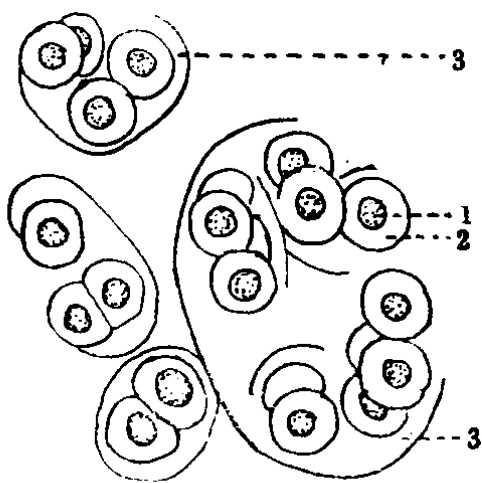


图 1—1 一种群体蓝藻（粘球藻）

1. 细胞； 2. 个体衣鞘； 3. 群体衣鞘。

个体衣鞘，群体外面的衣鞘称群体衣鞘。衣鞘分层（即具层理）或不分层（即不具层理），或者个体衣鞘、小群体衣鞘和大群体衣鞘相融合。色球藻目（Chroococcales）的许多属种即为上述情况，如粘球藻属、色球藻属、隐球藻属（*Aphanocapsa*）等（图1—1）。

此外，还有定形群体的蓝藻，其细胞具2—3个分裂面，群体中的细胞有一定的数目和排列方式，如裂面藻属（*Merismopedia*），细胞具有两个分裂面，以一定数目排成正方或长方形的平面；立方藻属细胞有3个分裂面，以一定的数目排列成立方体形。

（三）丝状体的蓝藻 丝状体的蓝藻系细胞具一个分裂面，经过分裂子细胞互相连接而形成丝状体，此称为藻丝（trichome）或细胞列。细胞通常为圆盘形或圆柱形。藻丝外面具胶鞘或不具胶鞘。胶鞘具层理或不具层理，藻丝与胶鞘合称为丝体（filament）。已发现的固氮蓝藻绝大多数为此种类型。

1. 不分枝的丝状体 藻丝不分枝。藻丝常为单列细胞构成，有下列几种情况：

（1）藻丝细胞除顶端细胞略有差异外，其它细胞基本上同形。

（2）藻丝基部细胞具分化的丝状体。藻丝基部细胞明显分化为棍棒状，营附着生活（图1—2a）。

（3）藻丝具异形胞和藻殖段，无极性分化。念珠藻目中的藻体基本上都是单列细胞构成。藻丝在营养阶段有两种细胞，一种是营养细胞，另一种细胞是异形胞。异形胞的特

点是：①一般为球形、椭圆形、方形或矩形，多数比营养细胞大；②具很厚的包被；③和营养细胞相邻处具有深的收缢并有称为节球“Pore”；

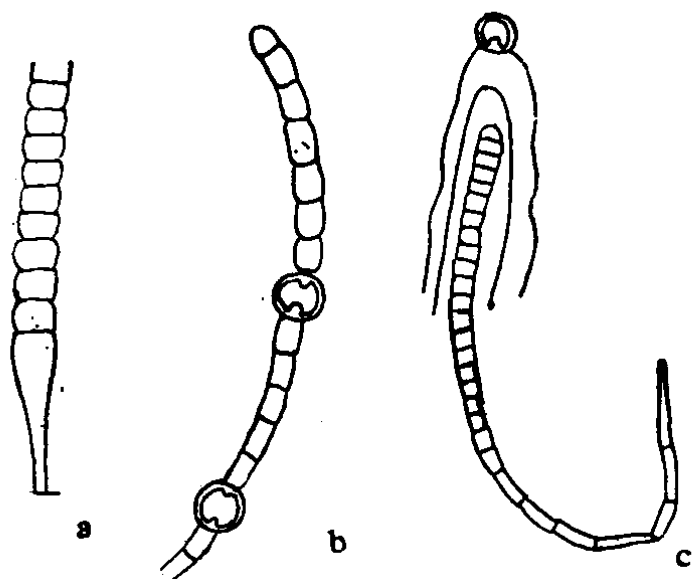


图 1—2 丝状体蓝藻藻体类型

“Polar nodule”或节加厚(Polar thickening)的折光性强的结构，其间

a.基部细胞有分化的丝状藻体；b.具异形胞形成藻殖段的丝状藻体；c.具基生异形胞的丝状藻体。

以胞间联丝相连，以保持异形胞和相邻营养细胞之间的联系；④异形胞内无颗粒状，内含物呈均匀状态，基本无色或带浅蓝绿色。异形胞在藻丝中的位置随种类不同而异，有的在藻丝的两端，如项圈藻 (*Anabaenopsis*)；有的为胞间位，如念珠藻属 (*Nostoc*)、鱼腥藻属。它们在藻丝中单个存在或成串存在 (图1—2b)。

(4) 藻丝具基生异形胞，有极性分化。胶须藻目中的大部分蓝藻，其藻丝基部膨大，末端往往具半球形、三角形的具一个节球的异形胞。近部细胞一般呈圆盘形，直径大于高，向着藻丝顶部细胞直径逐渐变小，至顶端处细胞的高常为直径的数倍，成无色的毛 (图1—2c)。

2. 具分枝的丝状体 藻殖段纲的大部分蓝藻和全部真枝藻纲的蓝藻的丝体都具有分枝。大部分属种具异形胞，异形胞

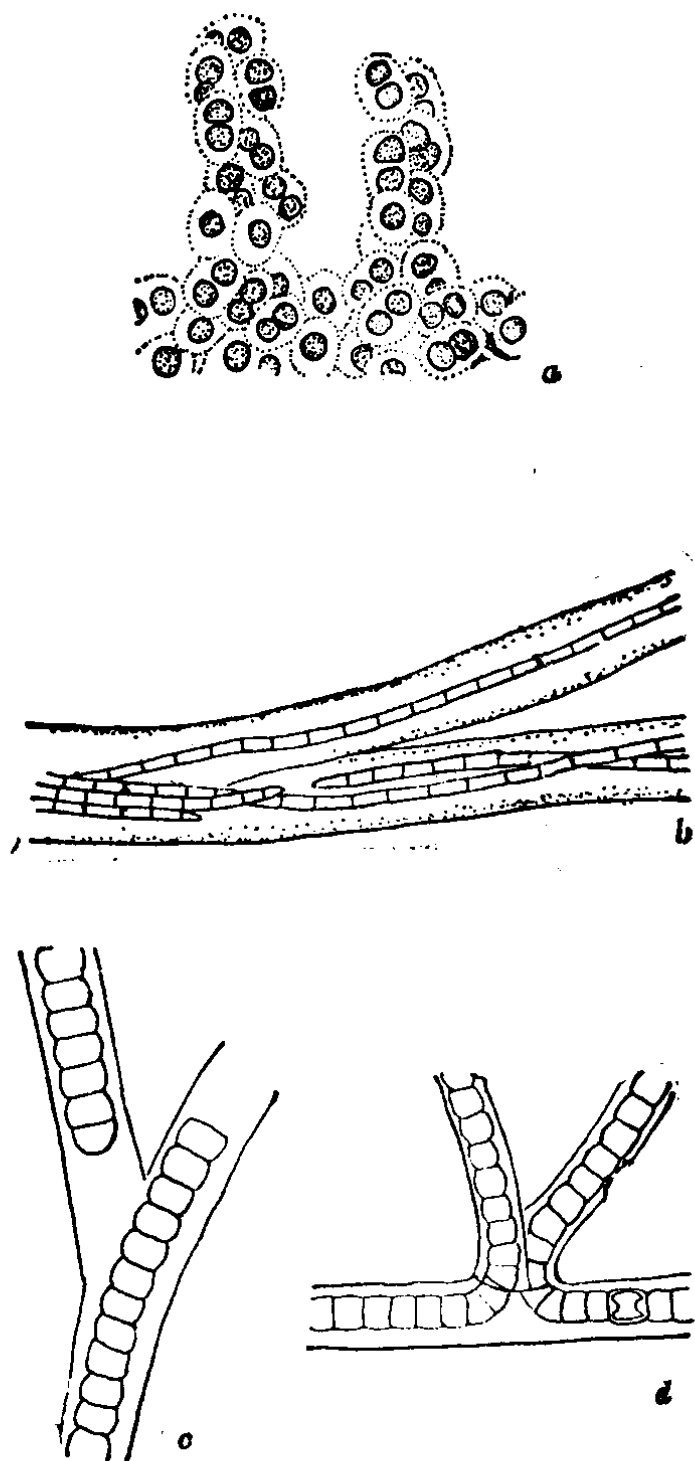


图 1—3 丝状蓝藻的伪枝

a. 石囊藻 (示堆积伪枝); b. 裂须藻; c. 织线藻; d. 伪枝藻。