

我国土壤中固氮细菌的研究及其展望

樊 慶 笙

一、前 言

近十年来,我国土壤微生物学工作者研究土壤中固氮微生物的发育及其固氮作用,初步阐明了一些固氮微生物在土壤中发育和分布的规律,并探讨了它们固氮作用的实效性。这一研究关系着土壤微生物学的一些基本理论,推进了这门学科在我国的发展,也在农业生产中发生了一定的作用。中国科学院在“十年来的中国科学”总结土壤微生物学的研究工作中曾肯定了这方面的成果^[1]。

建国之初,前长春综合研究所微生物学组开始了土壤中好气性固氮菌的研究。华北农业科学研究所、中国科学院土壤研究所土壤微生物组和南京农学院土壤微生物教研组相继开展了土壤中和作物根际好气性固氮菌发育的研究。1954年中国科学院举行土壤微生物学座谈会,曾以好气性固氮菌的研究工作已在国内几个研究单位中进行,稍有基础,建议列为开展土壤微生物研究中的一个主要课题^[2]。十年以来,结合农业生产中推广菌肥的应用,国内许多土壤和农业研究机构以及高等农业院校,进行了好气性固氮菌在土壤中固氮效果规律性的研究,且已推及研究其他固氮微生物在土壤中的作用和应用等问题。在以深耕施肥为中心的改进农业技术措施运动中,广泛地展开了耕地土壤的微生物区系分析,使对于我国各地土壤中好气性固氮菌发育与分布的规律有更多了解,为土壤的肥力指标提供了微生物学的理论根据。

本文就我国有关土壤中固氮细菌的各方面研究,分别论述如下。

二、我国土壤中的固氮细菌的种类

1. 好气性固氮菌

好气性固氮菌在我国各地土壤中分布很广,大多数研究工作也都以这类微生物为主。用 Ashby 无氮甘露醇(或葡萄糖)培养基分离得的固氮菌,

一般都得有圆褐固氮菌(*Azotobacter chroococcum*),这是在我国土壤中发育最多、分布最广的一个好气性固氮菌种。无论在东北的黑土中,西北的黄土中,南方的红壤或滨海盐土中,都以这个种为最普遍。张宪武等^[3]从东北各地土壤样本中分离得 130 个固氮菌菌株,圆褐固氮菌占 83.9%。陈绍芳^[7]在福州近郊水稻田土壤 131 个样本中分离得 62 个圆褐固氮菌菌株。黄有馨等^[11]从江苏各地各种作物田的 38 个土样中分离得 64 个菌株,经鉴定同是一种圆褐固氮菌。但是在各个研究中,也发现有其他种,在东北有拜氏固氮菌(*Azotobacter beijerinckii*, 是圆褐固氮菌的一个菌系)和维氏固氮菌(*Azotobacter vinelandii*)^[3]。福州土壤中也有这两个种^[7],并由陈绍芳发现一个新种称福州固氮菌(*Azotobacter fuzhouensis*)^[9]。此外王祖农^[10]从江西红壤中分离得不产生色素的圆褐固氮菌变种;樊庆笙^[16]也在南京水稻田获得一个产生黄色色素的圆褐固氮菌菌系。黄有馨等^[13]在苏北滨海盐土中分离得耐盐性强的圆褐固氮菌菌系。虽然在过去的研究中,对于各地土壤中固氮菌的分种研究尚不多,但上述一些研究资料,可以说明我国各处农业土壤中除了圆褐固氮菌这一典型种外,也有其他种,而且还发育有一些适应特殊土壤条件的变种或菌系。

2. 嫌气性固氮菌

我国土壤中嫌气性固氮菌的研究很少。吴光复等^[48]曾在东北土壤中分离得 3 个相近于巴斯德梭菌(*Clostridium pastorianum*)的变种,表现在它们发酵糖类的能力不同于典型的巴斯德梭菌,曾称为巴斯德梭菌公主岭变种 A、B 及 C。戴以坚等^[49]分离得一种具有固氮能力的丁酸细菌曾定名为乳酸丁酸颗粒杆菌(*Granulobacter laciobutyricum*)。刘梦筠等^[25]在分析土壤中和作物根际嫌气性固氮菌的发育时,分离了一些菌株,但未曾进行鉴定。目前只有这 3 篇资料,远不能说明我国各地土壤中发育的嫌气性固氮菌的种类。

土壤中固氮细菌种类的研究和鉴定,已有开

始, 对于研究土壤中固氮细菌的作用将提供最基本的资料。

三、土壤中固氮细菌的发育和分布

各类土壤微生物在土壤中的发育和分布很不一致。过去的研究, 几乎都集中于好气性固氮菌, 对于它们的发育和分布规律有所了解。土壤的酸碱度和熟化程度对于好气性固氮菌的发育关系很大。作为典型代表的圆褐固氮菌, 在 pH 值低于 6.0 的生荒土壤中很少发育或完全不发育, 而在熟化的酸性土壤中则常有少量分布, 郝文英等^[30]分析全国各主要类型的自然土壤中的好气性固氮菌时曾得有上列结论。土壤熟化特别在施用较多的有机肥料情况下, 显然因为改善了一些物理条件和营养条件而使固氮菌加强对于酸性土壤的适应^[29,31]。在盐碱性的生荒地土壤中, 圆褐固氮菌的发育量常大, 黄有馨等^[13]在研究苏北滨海盐土中的固氮菌发育量中指出, 盐分含量在 0.18—0.24% 的芦苇地土壤中, 固氮菌的发育量很高, 每克土壤中含菌 1 万个以上, 而在含盐量较低的耕作土壤中固氮菌的数量反而较小, 但是盐分含量超过 0.3% 时, 固氮菌也就很少存在。至于在 pH 值低于 5.0 的酸性土壤中圆褐固氮菌几已绝迹, 有无其他耐酸性的固氮菌种发育, 由于常用于分析工作的培养基都是偏碱性的, 不免有着一定程度的限制性, 在还没有仔细从事酸性土中固氮微生物的研究以前, 很难讨论。虽然在肥力高的土壤中, 好气性固氮菌的发育量常大, 而且分布的土层也深些。但是研究很肥沃的菜园土时, 它们的发育量也不一定是很大的, 甚至还不及附近才进行熟化了三、四年的岗地黄泥土中的发育量, 这说明土壤中有丰盛的微生物区系发育时, 其中固氮菌的数量并不一定按比例增加。微生物区系中各个组成成分之间的关系有互相促进, 也有互相制约, 很显然, 土壤中丰富的含氮有机物质, 促进了许多发酵性细菌和氨化微生物的大量发育时对固氮菌的发育并不有利^[16]。

土壤水分含量对于固氮菌的发育关系很大。一些分析资料都指出, 表层土壤虽然通气好, 有机质含量较高, 但是在水分含量不高的情况下, 其中固氮菌的发育量常不及 10—20 厘米的土层中多。所有研究水稻田土壤中固氮菌发育的报告中都指明水稻田中终年有较大的发育量, 通常比周围旱田中的含量为高^[17,18,27,28,32,34]。合适的水分条

件, 关系着土壤中能源物质以及其他养分的有效转化, 是促进固氮菌发育的一个重要因素^[16,36]。在小麦田中, 土壤含水量保持在 60—70% 时, 土壤中发育的固氮菌量最大^[12,20]。

应用耕翻土壤和施用有机肥料等措施熟化荒地土壤或在熟地土壤上进行深翻和重施有机肥料以加深耕作层, 都能有效地促进其中固氮菌的发育和扩大其分布的深度。在许多丰产田土壤微生物区系分析研究中, 都指出深翻重施有机肥料等措施能使 30—40 厘米土层中固氮菌的发育量提高很多, 但是随着土壤的通气性逐渐变坏, 下层土壤中固氮菌的数量也迅速降低^[5,35,37,38,39,40,42,43,44,45,47]。施用有机肥料对于水稻田中固氮菌的发育有显著的促进作用, 根据王毓庆的材料, 在广东水稻田中, 无论施用厩肥、绿肥或稻草后, 固氮菌的数量都有提高, 厩肥的作用最快最大, 施用后 20 天即提高了 10 倍, 绿肥在施用后一个月达到其促进固氮菌发育的高峰, 而稻草只在两个月后才有显著的效果^[34], 这种差异, 可以陈恩凤等研究有机肥料分解中所指出的, 在纤维素物质分解最盛时期, 固氮菌的发育量最大的事实予以论证^[55]。但是黄隆广等报告, 在江苏的水稻田中, 施用高水平的富氮有机肥料后, 其中固氮菌的发育量不及施用中等水平的为高^[21]。各地土壤的肥力状况不同, 土壤本身的碳氮含量和比例亦有差别, 即使施用相同的肥料, 影响微生物区系的发育情况也不一样, 对于固氮菌的发育影响也不可能一致。

好气性固氮菌在土壤中发育量的季节性变化, 在长江流域和以北的土壤中是很明显的。土温低于 10℃ 的季节中发育量很小; 在南京一带的土壤中, 只有在 4—11 月的 8 个月期间内, 固氮菌数量较大, 而以 6、7、8、9 四个月的土温为最宜。当然它们的发育量受土壤湿度的影响很大, 水稻田土壤中含水量高, 即使在冬季土温已降低, 尚能使固氮菌存活, 且有较高的含量^[16]。

至于固氮菌在土壤中的实际发育量, 许多研究者用稀释土样平面培养法, 根据发育的菌落计算, 每克土壤中的含量, 从几十个至几万个, 即使在合适的土壤条件和温暖季节中, 每克土壤中的含量至多不超过 10 万个。根据菌落计数, 当然不可能很正确, 一般都要比实际含量为小。因为固氮菌在土壤中发育时常集成群体, 也由于细胞外荚膜的粘性, 使菌体细胞常结合成菌胶团, 在稀释

过程中很难使每一个细胞分散,因而在培养基上发育的菌落,很少来自单独的细胞。然而即使一个菌落为粘在一起的几个细胞所发育,其实际数量也只能比计得的数量高几倍,即每克土壤中的实际含菌数最多也不超过几十万。求得固氮菌在土壤中的实际发育量对于正确地估计其固氮效果是很重要的。根据实际分析中所得的发育量数据,对于应用固氮菌肥料后的增产效果自不能作过高的估价。

土壤中固氮菌的发育量和分布决定于土壤中的能源和营养物质,以及其他各种土壤条件,它是土壤微生物区系整体中的一部分,常处于一个动态平衡之中。

嫌气性的固氮菌,在土壤中的发育量较大,分布也广,刘梦筠等^[25]在比较研究水稻田土壤和其附近旱地土壤中的嫌气性固氮菌时,无氮培养基中发育的菌落计数,前者较后者为多,每克水稻田土壤中含菌高达 86 万,后者在 10 万至 30 万之间。在酸性土壤中,这类细菌的发育量也很大,每克土壤中达 20—50 万个。目前已有的资料可以说明,不论在适合于好气性固氮菌发育的土壤中,或在好气性固氮菌几乎不能生长的土壤中,嫌气固氮菌的发育量总是大于好气性固氮菌。

四、作物根际固氮细菌的发育

作物根际固氮细菌的发育,对于促进作物的氮素营养更有直接的影响。十年来,根际好气性固氮菌发育的研究是很多的,指明了作物因种类不同,其根际固氮菌的发育情况也有差别。豆科作物(包括豆科绿肥)都有利于好气性固氮菌在它们根际的发育,其他作物则因种类不同甚至品种不同而有下列三种情况^[14]:

1. 有利于好气性固氮菌在其根际发育的作物——如水稻^[16,27,28]、玉米^[14,26]、山芋^[16]、谷子^[6]、甜菜^[53]、马铃薯^[28,53]等,在这些作物根际土壤中,固氮菌的发育较大于根外土壤。

2. 不利于好气性固氮菌在其根际发育的作物——如小麦^[14,22]、萹苳^[16]等,在根际土壤中固氮菌的发育量通常小于根外土壤,越近根面,固氮菌的发育愈受抑制。

3. 对于固氮菌的发育没有显著的影响——如油菜^[23]、棉花^[14]。

作物的发育时期不同,对于其根际固氮菌的发育的影响也不同,一般大田作物在其营养生长

旺盛时期,根际的固氮菌发育量常较大,这个时期也是根际微生物总发育量最大的时期(虽然种类并不最多)。夏季作物如玉米、棉花、谷子、大豆、水稻等,从苗期开始到开花之前,它们根际的固氮菌发育量常较后期生长中为高,山芋则在形成块根后,根际固氮菌的数量逐渐提高。冬季作物如蚕豆,即使在幼苗期中,土温很低,其根际亦常保持着一个较大的固氮菌数量,而从春后发棵,一直到开花结荚,根际固氮菌的发育量更大。就是对固氮菌有抑制影响的小麦,在其分蘖期内,固氮菌在其根际也能一度不受抑制而象根外土壤中一样发育^[16]。

固氮菌在作物根际的发育,受根分泌物的直接影响,也受因根的影响而发育的其他微生物群的影响。例如,水稻、山芋和豆科作物,根际固氮菌的发育量大,受根分泌物的直接有利影响较大,因为在这些作物的根际,愈近根表,固氮菌发育愈多。其他作物根际的固氮菌数虽多,但由于在近根表处的发育量不大,将不单纯是由于根分泌物的影响,在根际发育的其他微生物群对它们的影响,就成为主要的因素了。

小麦根际的固氮菌发育不好,已有研究指出主要是由于受到在根际发育的其他细菌的抑制作用。在小麦根际微生物区系中占着主要成分的一种极毛杆菌(*Pseudomonas* sp.)对固氮菌有拮抗作用,这种细菌亦发现在萌发的小麦、绿豆、谷子和大豆等种子的周围,它们靠种子渗出的营养物质大量发育,抑制了固氮菌在其周围的发育,从而也抑制了固氮菌在这些萌发的种子周围以及以后幼苗根际的生长^[15]。小麦根际的另外一些非芽孢杆菌如 *Bacterium agile*, *Pseudomonas radiobacter*, *Flavobacterium Solare* 的一些菌系,根据王子芳的研究^[52],对固氮菌也有抑制作用,但 *Bacterium agile* 的另一个菌系,却有刺激固氮菌发育的作用。这些和固氮菌同在作物根际发育的微生物对固氮菌所发生的抑制或促进作用,是通过它们分泌的代谢产物而实现的。作物根部施用有机肥料后,有细菌进行发酵而产生有机酸时,也将抑制固氮菌在其根际的发育。

作物生长期中根分泌物质的变化,关系着根际固氮菌的发育。棉花、玉米、大豆等作物在开花以后,根际的固氮菌数逐渐减少,主要原因是有利于固氮菌发育的根分泌物减少,在根际发育的其他微生物对固氮菌发育的限制就显得增

强了。小麦分蘖期中,根分泌物较多时,亦将减少根际微生物对固氮菌的抑制影响。作物根分泌物对于固氮菌发育的影响,实际上,也是有限的,远不如对其他根际微生物群的影响大。作物根际微生物区系的总发育量大于根外的几十倍至几千倍,一些不生芽孢的杆状菌在根际常作成百或成千倍的增加,而固氮菌即使在适应的作物根际所能提高的数量也只是一、二倍至十多倍。因此固氮菌在作物根际的发育量受根际微生物群的影响,要比根分泌物的直接影响大得多,而和土壤中的情况一样,发育量不能很大,都只占整个微生物区系中的一个极小部分,其固氮效力自不能作过高估计。

施肥能影响固氮菌在作物根际的发育情况。肥料供给了固氮菌的营养,也促进了根际微生物区系的发育,并改变了区系组成的比例。一些研究都指出,施用有机肥料、无机肥料或有机-无机混合肥料,将促进根际固氮菌的发育,改变了作物对于固氮菌在其根际发育的原有影响。凌魁^[22]和刘梦筠^[23]报告,施用有机-无机混合肥料,不仅对小麦和油菜的苗期根际固氮菌的发育有良好影响,也助长了固氮菌在它们抽穗或抽苔和开花期中的发育。棉花^[12,19]、玉米^[38]、马铃薯^[28]、高粱^[37]等在接种固氮菌时结合施用有机肥料,也能使在这些作物根际活动的固氮菌在整个生长季内维持有较高的数量。张宪武^[6]等应用固氮菌肥于谷子,同时施用高水平有机肥料,从苗期开始,根际固氮菌的数量即大大增加,至开花期达最高峰,然后才逐渐下降。但是施用低水平有机肥料,根际的固氮菌数量并无显著提高。而且也发现在施用有机肥料的基础上,增施少量氮肥,有促进固氮菌在谷子根际发育的效果。其他如水稻和小麦丰产的施肥措施,对于根际的固氮菌发育都有相同的有利影响。

五、固氮细菌的固氮效率

用固氮菌的纯种培养方法,震荡培养或静止培养测定的固氮效率,由于菌种不同,或由于不同地区分离的同一种的不同菌系,而有显著的差异,在每消耗1克碳源的基础上,固氮量自5毫克至20毫克不等,张宪武等^[3]从东北分离的固氮菌中四个固氮效率较高的菌株,测定得固氮量平均为8毫克左右(每消耗1克甘露醇)。陈绍芳^[7]测定由福州水稻土中分离的四种固氮菌的固氮能力,

以福州固氮菌为最高,每消耗1克甘露醇,固氮7.9毫克;圆褐固氮菌次之,固氮7.2毫克;再次为维氏固氮菌,固氮6.2毫克;而以拜氏固氮菌为最低,只在5—6毫克之间。黄有馨等^[11]报告,圆褐固氮菌华东6号在两天培养中,固氮达21.0毫克(消耗1克葡萄糖),但在培养后期就没有这样高的效率。这就指明了固氮菌的固氮效率与其发育时期有关,细胞内同化作用愈旺盛,固氮效率也愈高。

在促进固氮菌固氮效率的研究中,磷和钙的需要都已肯定,并也肯定了钼和硼的有效影响,硼和钼的共同作用更为显著,可提高固氮率20—40%^[7,11]。

各种固氮菌固氮作用的最合适pH值亦有研究,圆褐固氮菌以pH7.2—7.6为宜。王祖农^[10]从酸性红壤中分离得的一个耐酸菌系,在降低其培养液的pH时亦将渐降低其固氮效率。在pH5.5时其固氮率只有在pH7.0时的68.31%;在pH5.1时,只有31.77%。但是另一个耐酸的福州圆褐固氮菌,据陈绍芳的研究,则在pH9.0时固氮量最高^[9]。

张宪武等^[4],在研究各种含氮化合物对圆褐固氮菌等3种8株固氮菌固氮能力的影响中指出,每毫升培养液中添加25—75微克酪氨酸、组氨酸、谷氨酸、缬脯氨酸、天门冬酰胺或蛋白胨等可以促进固氮菌的繁殖,增强其固氮能力,最大者可达214%。

用X射线或紫外线处理圆褐固氮菌,可以选得提高固氮率的变异种,刘梦筠等^[24]用15,000伦琴处理圆褐固氮菌液后,存活的细胞发育繁殖时发生的新细胞形状较大,荚膜更厚,菌落发育稍慢,固氮率提高15%。樊庆笙等^[16]用紫外线处理圆褐固氮菌液后会选得一个产生褐色素很快的变种,菌体形态虽然没有显著变化,但固氮率提高了25%。这些变异菌系的提高了的固氮率,在长期培养中能否继续保持,并在用于土壤中时能否同样发挥其高效,尚需进一步研究。

由于固氮菌在土壤中的发育受其周围存在的微生物的影响很大,其固氮效率也必然受其影响。从土壤中分离固氮菌时,常有一种放射极毛杆菌(*Pseudomonas radiobacter*)伴着在固氮菌细胞荚膜上,因而不易得到纯化的固氮菌种,这种伴生菌已经证明对于固氮菌的发育和固氮作用有一定程度的有利影响^[16]。王子芳^[52]指出,发育于小麦根

际的 *Bacterium candidano* 和 *Bacterium agile* No. 10, 能提高固氮菌固氮效率 10% 以上, 应用这些菌的培养液, 也可获得同样效果。这说明了它们的有利影响是通过它们的代谢产物而发生的。这位作者的研究也指出: 这种代谢产物的有利影响并不是由于促进了固氮菌的呼吸强度而加强了固氮作用, 相反地它降低了固氮菌所吸收的氧量。加在固氮菌悬浮液中的含有有效性物质的伴生细菌的培养液愈多, 固氮菌吸收的氧量愈小。由此认为固氮过程和呼吸过程中酶系统没有直接联系, 也不是在同一接触表面上进行和完成的。这种有效性物质促进的固氮效率, 应该作为营养上的刺激, 是在促进菌体发育的基础上实现的。在无氮培养液中, 用含有固氮菌的土壤稀释液接种培养后, 常获得较高的固氮效果。由于其中有嫌气性固氮梭菌与好气性固氮菌的共同发育, 使在营养上互有补益, 而获得更高的固氮量。纯种嫌气性固氮菌的固氮效率低, 在含有 1 克葡萄糖的 100 毫升培养液中, 固氮量只有 1.8—2 毫克^[48], 但是在这方面尚未引起更多的研究。

六、固氮细菌在土壤中的固氮强度

在三角瓶纯培养中测定的固氮率, 不能表明在土壤环境中固氮的实际情况。固氮细菌在土壤的自然环境中的固氮作用受许多因素的复杂影响。许多研究者用土壤培养法测定全氮量的增加, 获得固氮细菌在实际土壤条件中的固氮量, 并分析了固氮细菌在土壤中的自然微生物区系中的活动强度。这些研究结果, 对于正确估计土壤中固氮细菌的作用和应用固氮细菌于生产实践, 提供了比较可靠的依据。

用不灭菌的土壤, 保持其中原有的微生物区系, 通过调节土壤条件的各方面, 例如施用各种不同的肥料, 控制水分和通气情况、改变土温以及应用接种固氮菌等措施, 可以分析土壤状况对于其中固氮作用的实际影响。但是所得到的含氮量提高的结果, 只能是土壤中含有的各种固氮微生物的共同作用, 缺乏对那一类微生物作用的具体分析; 事实上也很难分析, 至多只能根据其中发育的各类固氮微生物的数量, 作出那一类微生物起着主要作用的推论。应用土壤培养法, 再根据从土壤中消耗的碳源物质而计算其固氮强度, 常不能得到象纯种培养在无氮培养液中那样高, 但是也有研究指出, 用肥沃的土壤再加入有效的碳水化

合物, 尤其在用接种法加进一些好气性固氮菌后, 固氮菌可以旺盛地发育, 固定的氮量又会超过纯种的液体培养, 说明了土壤因素对其中固氮微生物的发育和固氮作用关系相当复杂^[16]。

研究者们重视固氮细菌在土壤中的自然存在状态, 亦即是土壤微生物与固氮微生物间的相互关系。用好气性固氮菌接种在土壤中, 让这一种细菌在发育上占优势而突出它的作用, 以测定其在土壤中固氮的最大可能强度, 曾获得含氮量显著增加的结果。进一步的研究, 曾用不同的土壤给以相同的处理, 如供以能源或其他营养物质以及调节土壤的湿度、pH 等, 接种固氮菌, 培养后, 根据固氮菌的发育量和固氮量的多少, 论证各种土壤中原有的微生物区系对固氮菌的影响, 而探讨固氮菌在土壤中固氮的实际情况。张宪武等^[5]以东北黑土及棕壤加入碳源用土培法培养 21 天后, 测定增加的含氮量, 在每 100 克黑土中为 16 毫克, 在每 100 克棕壤中为 2 毫克。贾醉公^[28]以水稻土用泥面培养法, 使土样中原有的好气性固氮菌在泥面上获得良好发育, 测得在半个月內每 100 克土固氮 10 毫克。樊庆笙^[16]以水稻土盛在盆钵内淹水培养, 固氮菌发育较多, 经两个月后, 在加有稻草粉屑的处理中, 全氮量有提高, 即使未加稻草粉屑的对照, 含氮量亦略高, 而接种固氮菌的处理, 由于固氮菌的发育量更大, 显著地提高了原有的固氮强度。上述用泥面培养法和盆钵培养法测定的固氮强度, 前者可以认为绝大部分是好气性固氮菌的作用, 后者则是好气性和嫌气性的固氮细菌的共同作用, 尤其在水稻土的淹水培养中, 嫌气性固氮菌的发育很大, 它的作用, 可能超过了好气性的种类。用黑土及棕色森林土的稀释液分别接种在无氮培养液中以测定在好气条件下和嫌气条件下的固氮强度, 结果指出, 嫌气性固氮细菌所积累的氮量一般都比好气性固氮菌高^[41]。

不同的肥料处理对于不同的土壤中固氮强度有不同的反应, 黑土的全氮含量高, 但有效磷含量低, 在单独施用无机氮肥的处理中, 降低了固氮强度, 单独施用磷肥, 却获得提高固氮量的显著效果。棕壤的全氮含量较低, 但有效磷的含量高, 施用无机氮肥有提高固氮量的显著影响。有机肥料或有机和无机肥料配合施用都提高了这两种土壤中的固氮强度^[41]。由于土壤中存在的固氮细菌数不多, 在一般土壤中适合于固氮细菌发育的碳源物质亦不丰富, 即使在改善土壤耕性后, 其中固

氮细菌的发育量也是不大的,只有在施用有机肥料后在适当的分解过程中,供应了土壤中固氮细菌足够的能源时,才有可能促进它们的发育而发挥其固氮效果。

用土壤培养法研究的结果,肯定了土壤中固氮细菌在自然发育状态中的固氮作用。由于土壤种类和土壤状况不同,其中固氮细菌的发育量不同,固氮强度也有差别。土壤有机质含量高的土壤,如东北黑土(5.95%)和某些水稻土(3—4.5%),在适合于固氮细菌发育的土壤条件中,有较大的固氮强度;土壤有机质含量较低的土壤如东北棕壤(2.85%)或含量很低的土壤如南京黄泥土(1.5%左右),即使调节了土壤状况以适合固氮细菌的发育,其中固氮细菌的发育量也不会很大,固氮量也很有限。

这些研究在土壤的实际状况中进行,具有更实际的意义,在目前是一个主要的途径,深入下去将可能用以摸清土壤中固氮微生物固氮作用的规律性。事实本来也是这样,土壤微生物的作用,只有在土壤的具体条件中才能得到正确的了解。

七、固氮菌肥的应用

从1953年好气性固氮菌肥在东北开始试验应用,曾在甜菜、马铃薯、高粱、谷子、玉米等作物上获得增产5—10%的效果之后,这方面的试验研究,迅速在各地各种作物上展开,以求确定适应于当地土壤和气候条件以及作物种类的有效应用措施。曾在水稻、棉花、玉米、小麦、谷子等主要大田作物上先后获得增产的有效结果^[8,12,14,46,49,53,54]。在大跃进期中,固氮菌肥的应用于大田生产,已广泛推广于全国各地,施用方法、施用量和施用时期亦多有变化,但是在应用效果的调查中,每多增产效果不显著,甚至完全无效的实例^[50,51]。施用后获得增产效果的,由于缺乏分析资料,在总结中也很难肯定是固氮菌肥的作用。于是近年来固氮菌肥的应用,已很少再在农业生产上引起重视。作为科学的实践问题,应该在理论和实践的各方面作更精确的研究,并在效果上作出恰如其分的评。最近两年来,这方面研究是有成果的。阐明了土壤肥力状况对固氮细菌应用的效果有着十分重要的影响,土壤的有机质和氮素含量水平,对固氮细菌在土壤中的良好发育和固氮作用关系很大^[16],而土壤湿度更是施用固氮菌肥后能否在作物整个生长过程中维持其繁殖率和固氮作用的

主要条件。不仔细分析作物生长期中的土壤状况和作物的生长状况,而作出对于施用固氮菌效果的结论是不恰当的;不结合土壤的具体状况而考虑固氮菌肥的施用方法,也很难得到应用效果。张宪武等^[6]在细菌肥料应用条件的研究中,肯定了重施有机肥料的基础上,作物根际固氮细菌的发育量要比施低肥的大,在有机肥料影响下,也能改变一些作物根系对于固氮菌发育的不利影响,而且也指出在施用有机肥料的基础上,施用少量无机氮肥,能促进固氮菌肥的有效性。这些研究结果,进一步论证了接种固氮菌于腐熟的有机肥料中作为合理应用固氮菌肥的有效措施^[11],而水稻田施用固氮菌肥后获有较好效果的事实,也得到了解释。

应用固氮菌肥于各种作物,有人已经从理论上提出了选育适应于各该作物根际发育而且是高效的菌种或菌系的问题,但是研究工作尚未进行。

八、固氮细菌对作物的营养作用

固氮微生物促进作物营养,应当是在其固氮作用的基础上实现的。它们在生活期中的一些代谢产物以及菌体死亡后的分解产物,将是对作物具有营养作用的物质。固氮微生物在土壤中的固氮效果大,正由于它们繁殖的速度快,发育的菌数多,分泌的含氮代谢产物和由菌体细胞分解的产物种类多而数量也大,不仅丰富了土壤中的有效氮含量,而且还因为固氮微生物发育于根的周围,直接供应了作物的氮素营养。好气性固氮菌对作物的营养作用已有一些研究,在其培养液中除分析有氨外,还有许多氨基酸,也有维生素B₁、B₂和B₁₂以及异生长素等。氨和氨基酸或其他含氮有机物质主要供应了作物的氮素营养,而维生素类和生长素类物质更有刺激作物根系或整个植株发育的作用。以固氮菌的纯种培养液处理水稻^[33]、玉米^[26]、小麦、油菜^[33]等种子,均获得了促进发芽和幼苗生长的效果。而在施用固氮菌肥的试验中所得到的对水稻、棉花、高粱、谷子、玉米等苗期生长的有效作用,可以认为是固氮菌在它们根际发育中由其代谢产物所发生的作用。一些试验也指出,作物开花以后,根际固氮细菌的发育量通常已降低,而作物的最后产量仍有所增加。作物在幼苗期及营养生长期得固氮菌的受益,而有较好的发育势,巩固了后期生长的基础,从而获得较

高产量,是可以理解的。也有研究者对于固氮菌营养作用有怀疑^[56]。根据实验中固氮菌每固定10毫克氮即需消耗1克糖,估计每亩土壤中每年因固氮微生物的作用而增加5斤氮时,将消耗有效碳水化合物(糖类)500—1000斤,认为土壤中不可能含有这样多的有效能源单独供固氮菌的消耗。而且土壤中的有效氮含量对于固氮作用还有一定程度的抑制影响。对于固氮菌产生维生素类和生长素类物质,也认为不能作为固氮菌的重要作用,在作物根际微生物群中发育量最大的莫过于根毛杆菌属的一些种,它们是土壤中合成维生素类和生长素类最活跃的类型。由固氮菌所产生的这些物质的种类和数量远不及根毛杆菌,其所能发生的刺激作用自然不能作过高的估计。提出这样不同的论点,确实需要在土壤实际条件下进一步研究而作论断。但是在能源物质问题上,现有的研究结果已指出了固氮菌肥必需结合足量有机肥料的施用才能生效,固氮菌在土壤中发生作用,首先要有机肥料的保证,其次是其他营养物质如磷、钾等。虽然施用的有机肥料中,不可能有500—1,000斤有效性碳水化合物,但是结合作物在生长季节中,分泌到土壤中的水溶性有机物质以及残留在土壤中的作物和杂草的残株断根,一年内进入到土壤中的有机质的总量不是很少的,在土壤微生物的分解过程中,陆续有各种状态的水溶性有机物质生成,以资固氮菌的需用。当然,能被固氮菌利用的实际数量,很难从土壤有机质的分解中得到正确的估计,但是已有研究指出:有机肥料在土壤中分解时,纤维素类物质被分解得愈多时,固氮菌的发育量也愈大^[55]。因此,可以肯定,在有机质含量较高的土壤中或施用较多有机肥料的土壤中,固氮菌发育所需的能源物质是有着落的,只是在土壤微生物间的相互关系中,有的帮助了固氮菌的发育,促进了它们的固氮作用;有的却抑制了固氮菌的发育,并对固氮作用发生不利的影 响,这就不再是能源物质的直接问题了。

九、结 束 语

本文总结了近十年来有关我国土壤中固氮细

菌研究的56篇著述和资料,展示了对于这一类重要的土壤微生物和它们活动的研究已接触到的各个方面,尤其是关于结合农业实践方面的研究获得了一定的成果。现在这项研究工作,已有较好的基础,正待逐步深入,使在农业生产上作出更多的贡献,并为迅速发展年轻的中国土壤微生物学起着更大的作用。展开在面前的课题,首先应当进行的是摸清我国各地土壤中固氮微生物的类型。目前对于嫌气性固氮菌的重视,在理论和实践上都是有重要意义的。在不同的土壤类型和不同的土壤状况中,必然蕴有不同的固氮微生物类型,因为自然土壤或抛荒地土壤中的含氮量能增加的客观事实,启示我们有这样的推论,但是尚须经科学的调查和分析,才能了解其实际。今后对于土壤中其他固氮微生物的分类、生理、生态等各方面的研究,在已有的研究好气性固氮菌的基础上,是容易着手展开的。了解各个土壤中增加氮量起主要作用的微生物类型和它们的实际固氮强度,将为土壤的合理耕作措施提供更确切的依据。

其次,在应用固氮微生物于农业实践的研究中,选育适应于作物根际生存发育的高效菌种或菌系,并在制作菌肥中,研究有利于固氮菌发育和固氮作用的其他土壤微生物混和拌制,而且对不同土壤状况、不同作物,研究其施用方法和施用时期,使能确实应用效果。

第三,过去一些研究已指出,施肥有改变作物根际固氮菌发育情况的效果,而肥料种类和施肥水平又关系着土壤微生物区系的发育和活动方向,也即关系着土壤中固氮微生物的发育和固氮作用的强度。土壤中微生物的任何一种作用都表现为土壤微生物区系活动的整体性。因此,土壤中的碳、氮含量比例研究,不只是一个理论性问题,也成为土壤肥力提高的实践性课题了。

最后,关于固氮细菌的固氮机制的研究,由于需要较高的生物化学和生物物理学的基础,在过去十年中尚未进行,目前中国科学院林业土壤研究所已开始进行这方面的工作。这是一个生物学中的重要课题,这方面工作的进展,无疑地将对固氮作用的研究有所补益。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院編譯出版委员会: 十年来的中国科学——生物学(II)。1949—1959, 116—126 頁(土壤微生物学)。
- [2] 中国科学院土壤微生物学座谈会总结。1954。
- [3] 张宪武、周熙卿、韓静淑: 自生固氮菌的研究。土壤微生物学集刊, 1957 年第一号, 1—10 頁。
- [4] 张宪武等: 氨基酸和蛋白质对好气性固氮菌固氮能力的影响。科学通报, 1957 年 18 期, 570—572 頁。
- [5] 张宪武等: 施肥对土壤中微生物区系組成及其动态影响的研究。1959 年。(未发表資料)
- [6] 张宪武、許光輝、吳尧夫、潘星时: 細菌肥料应用条件的研究。土壤通报, 1962 年 6 期, 20—28 頁。
- [7] 陈紹芳、吳章琴: 1959。福州市郊自生固氮菌的研究。微生物学通訊, 1 卷 1 期, 41—46 頁。
- [8] 陈紹芳等: 123 固氮菌的形态生理及其对水稻产量的影响。福建农学院学报, 1960 年 11 期, 27—33 頁。
- [9] 陈紹芳: 1963。从福州土壤中分离出一个固氮菌新种。土壤学报, 11 卷 1 期, 63—69 頁。
- [10] 王祖农、陈学胜: 1956。需氧性自生固氮菌的耐酸性。植物学报, 5 卷, 339—344 頁。
- [11] 黄有馨、胡志雍: 自生固氮菌的固氮效率初步試驗。土壤微生物学通訊, 1957 年 14—15 期, 5—16 頁。
- [12] 黄有馨、胡志雍: 固氮菌剂应用于小麦及棉花的初步試驗。土壤微生物学通訊, 1957 年 14—15 期, 17—26 頁。
- [13] 黄有馨、胡志雍: 苏北滨海盐土中好气性自生固氮菌的研究。1957。(未发表資料)
- [14] 樊庆笙、黄有馨、郝文英: 固氮菌的有效应用問題。土壤微生物学通訊, 1956 年 12 期, 2—11 頁。
- [15] 樊庆笙: 作物种子及根部对于固氮菌的拮抗性和固氮菌的应用研究。1957 年。(未发表資料)
- [16] 樊庆笙、刘梦筠: 土壤中固氮微生物的发育和固氮作用。南京农学院学术报告論文, 1962 年。
- [17] 樊庆笙、黄隆广: 南京水稻土微生物的初步分析(摘要)。土壤微生物学通訊, 1957 年 14—15 期, 54 頁。
- [18] 黄隆广: 南京稻田土壤耕作层微生物动态的觀察, 土壤通报, 1958 年 2 期, 32—36 頁。
- [19] 黄隆广: 关于細菌肥料对作物增产的作用問題。土壤通报, 1961 年 6 期, 60—62 頁。
- [20] 黄隆广、苏仁杰: 江苏常熟地区細菌肥料的应用效果及一些施用經驗。土壤通报, 1962 年 1 期, 63—64 頁。
- [21] 黄隆广、戴承雍等: 提高細菌肥料(固氮菌)对水稻效果的一些施用研究。土壤通报, 1962 年 3 期, 66—67 頁。
- [22] 凌魁: 小麦根际固氮菌的研究。論文, 1955 年。(摘要)土壤微生物学通訊, 1955 年 7 期, 2 頁。
- [23] 刘梦筠: 油菜根际固氮菌的研究。論文, 1955 年。(摘要)土壤微生物学通訊, 1955 年 7 期, 2 頁。
- [24] 刘梦筠等: X 射綫突变固氮菌的研究。1960 年。(未发表資料)
- [25] 刘梦筠等: 土壤中嫌气性固氮菌的研究。1962 年。(未发表資料)
- [26] 南京农学院土壤微生物組: 有关固氮菌肥效的几个問題。华东农业科学通报, 1960 年 3 期, 9—11 頁。
- [27] 陈华癸: 1957。水稻田土壤中占优势的微生物种类。土壤学报, 5 卷 1 期, 111—116 頁。
- [28] 賈醉公: 1958。水稻田需氧自生固氮的初步研究。土壤学报, 6 卷 2 期, 145—155 頁。
- [29] 郝文英: 紅壤中固氮菌存活条件的初步探討。土壤微生物学通訊, 1956 年 11 期, 9—11 頁。
- [30] 郝文英、樊庆笙: 紅壤中影响固氮菌发育因素的初步試驗(摘要)。土壤微生物通訊, 1957 年 14—15 期, 3—4 頁。
- [31] 曹正邦、樊庆笙: 1957。施用肥料对于紅壤中微生物区系影响的初步分析。土壤学报, 5 卷 3 期, 206—214 頁。
- [32] 曹正邦、郝文英等: 1959。水稻土的微生物学特性(1)华东华中主要类型水稻土中微生物数量及其活动性的研究。土壤学报, 7 卷 3—4 期, 218—226 頁。
- [33] 王毓庆: 1960。固氮菌 *Azotobacter* 在水稻土中的活跃性。农业学报, 11 卷 1 期, 83—89 頁。
- [34] 王毓庆: 1958。固氮菌 *Azotobacter* 对种子发芽影响的研究。农业学报, 9 卷 3 期, 277—283 頁。
- [35] 中国科学院微生物研究所土壤微生物組: 1959。深耕施肥对于土壤微生物的影响。微生物学通訊, 1 卷 3 期, 129—136 頁。
- [36] 中国科学院土壤研究所肥料专业組、江苏无錫农业学校: 1959。草塘泥温制过程中的特点及其肥效的研究。土壤学报, 7 卷 3—4 期, 190—202 頁。
- [37] 沈阳农学院土壤农化系微生物教研組: 在深耕施肥条件下高梁田、水稻田土壤中微生物动态的研究。1959 年。(未发表資料)
- [38] 姜隆后等: 玉米地深翻施肥对土壤微生物区系的影响。1959 年。(未发表資料)
- [39] 中国科学院林业土壤研究所: 深耕施肥对水稻土微生物区系及其动态影响的研究。1959 年。(未发表資料)
- [40] 中国科学院土壤研究所, 丰产总结小組: 1959。深耕对某些土壤性质的影响。土壤学报, 7 卷 1—2 期, 91—101 頁。
- [41] 中国科学院林业土壤研究所: 东北主要土类中微生物区系的研究(第一报)。1957 年。(未发表資料)
- [42] 汪静琴、沈一雨: 深耕施肥对土壤微生物活动的影响。1959 年。(未发表資料)
- [43] 西北农学院微生物教研組: 深翻地小麦試驗田微生物动态的研究工作簡报。1959 年。(未发表資料)
- [44] 东北农学院微生物組: 在高肥深耕的条件下微生物区系变化(初步試驗报告)。东北农学院科学研究报告,

1959年85号(农46)。

- [45] 王书锦等: 不同深度施肥方式对春小麦生长发育、土壤理化性质及微生物活动等的影响。1959年。(未发表资料)
- [46] 王书锦、何锦性: 小麦细菌肥料试验(初稿)。土壤微生物学通讯, 1957年16期, 5—11页。
- [47] 吉林省农业科学院: 深耕(施肥)对淋溶黑土中微生物区系影响的初步分析。1959年。(未发表资料)
- [48] 吴光复等: 嫌气性固氮细菌分离鉴定研究简报。土壤微生物学通讯, 1956年11期, 1—4页。
- [49] 戴以坚、方景依: 丁酸细菌分离培育及丁酸菌肥料用于水稻、甘薯和蔬菜的试验(初报)。华东农业科学通报, 1956年4月号, 217—220页。
- [50] 邵佩、王荷英: 丁酸细菌肥料试验。华东农业科学通报, 1957年5月号, 256—258页。
- [51] 鄧自軸等: 小麦丁酸细菌肥料接种比较试验。华东农业科学通报, 1957年11月号, 581页。
- [52] 王子芳: 1960年。固氮菌与小麦根际细菌相互关系的研究。微生物, 2卷2期, 58—67页。
- [53] 陈云川、陈祖仁: 固氮菌剂拌种试验及其接种后在根际中的变化。土壤微生物学通讯, 1956年12期, 12—15页。
- [54] 吕震霖: 混合细菌剂和自生固氮菌剂对棉花的影响。土壤微生物学通讯, 1956年10期, 9—11页。
- [55] 陈恩凤等: 1960。有机肥料优越性的研究(二)施用有机肥料对土壤肥力、微生物活动作物产量的作用, 土壤学报, 8卷1期, 1—11页。
- [56] 周湘泉: 关于菌肥(固氮菌剂)作用的几个问题的商榷。土壤通报, 1962年4期, 59—60页。