

微生物基础知识讲座



普通微生物学

(六) 微生物的代谢活动 (续)

北京大学制药厂生物化学专业 72 届工农兵学员

第二部分 微生物的氮素代谢

含氮有机物主要是蛋白质和核酸，它们是组成细胞最重要的大分子化合物，在微生物细胞的结构中以及新陈代谢过程中都占有极为重要的地位。另一方面，在土壤中微生物分解与合成含氮有机物的同时，又直接影响到土壤含氮肥料的数量，并和整个自然界中氮循环有着极为密切的关系。我们将结合这部分内容，适当介绍它们与农业及工业发酵应用的情况。

第一节 微生物在自然界氮循环中的作用

自然界中的氮，以分子态氮、有机态氮及无机态氮三种状态存在着，其中分子态氮最多，约占空气的 4/5，整个地球的大气层中据估计约有 4,000 万亿吨。其次是有机态氮化合物，约占 200—250 亿吨。第三是无机态氮(包括氨态氮及硝态氮)，约为 2—2.5 亿吨。这三种氮素在自然界不断互相转化，形成自然界的氮循环。这个循环主要是生物的作用，而微生物起着十分重要的作用。我们的任务就是要掌握氮循环中各个环节变化的规律，以便控制它们朝着有益的方向发展。

氮素循环中各个主要的环节总结如图 1。

一、固氮作用

(一) 生物固氮的意义

微生物在固氮酶的作用下，把分子态氮转化为氨的过程，叫作固氮作用。

自然界中分子态氮虽然含量最多，但不能被植物直接吸收利用。因此，通过固氮作用，使植物不能利用

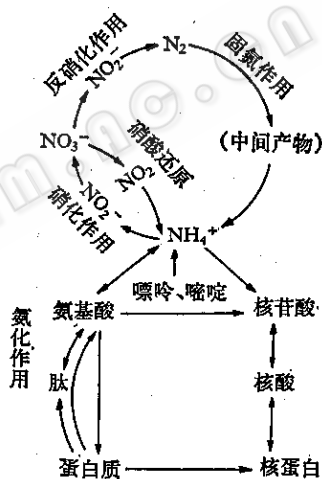


图 1 微生物的氮代谢图解

的氮成为可利用的状态，从而提高了土壤肥力。固氮作用对农业及生物是很重要的。但地球上能进行固氮的微生物很少，每年地球上固定的氮约 1 亿吨，只有地球表面分子态氮的四千万分之一。虽然现在已经可以利用化学工业人工合成氨，但必须在 500℃ 的高温及 300 个大气压的条件下才能进行，转化率仅仅是 7—20%，远远不能满足农业上的需要。因此，近年来生物固氮也引起化学工业界人士的重视，人们从研究生物固氮的机制中得到人工模拟的启示，简化合成氨所采用的高温高压工艺过程，从而能更经济有效地来生产化学肥料。近年来还提出遗传工程的新课题，就是通过对生物固氮遗传基因的研究，希望能扩大固氮生物的范围，使原不能固氮的生物也获得固氮的能力，扩大氮肥来源。由此可见，生物固氮的研究对加速社会主义建设，尽快地把我国农业提高到一个新的水平，都有很重大的意义。

(二) 固氮微生物的种类

微生物中只有少数具有固氮能力，其中包括：(1) 与豆科植物共生的根瘤菌，(2) 与非豆科植物共生的固氮菌，(3) 自生的固氮菌及(4) 自生固氮的蓝藻。

其中研究较多并已被用作固氮菌肥的是根瘤菌和自生固氮菌,下面将重点介绍这两类微生物。

1. 根瘤菌 根瘤菌的固氮作用必须在与豆科植物共生时才能表现出来。不同根瘤菌对其共生对象有高度特异性。我国农业上已经生产和大面积应用的有花生根瘤菌、大豆根瘤菌、豌豆根瘤菌、蚕豆根瘤菌、苕子根瘤菌及紫云英根瘤菌等。根瘤菌增产效果稳定,如花生根瘤菌一般增产 10% 左右,绿肥用根瘤菌鲜草产量增加 10—100% 以上。

根瘤菌的形态和生理特性随其发育的不同阶段而改变。根瘤菌在土壤中受到相应植物根部分泌物的影响,在根系周围营腐生生活而大量繁殖。根瘤菌的分泌物使根毛尖端的细胞壁软化,因而侵入根毛内部。根瘤菌侵入细胞后,向根的中轴延伸,形成线条状的侵入线,大量繁殖,继续侵入,直达根的内皮层。细菌侵入内皮层后,内皮层细胞受根瘤菌刺激后,也加速分裂,逐渐形成了根瘤,根瘤内部形成了输送管道与豆科植物相通。在此根瘤发育初期,根瘤菌是短小杆状,尚无固氮能力,依赖豆科植物供给氮素营养。但此阶段很短,随着根瘤进一步发育,根瘤菌开始固氮,菌体逐渐变大,染色后菌体呈环状,有时一端膨大或分叉,成为梨形、棒槌形、“Y”形或“Y”形,这种形状的菌称为类菌体。此时,植物供给根瘤菌碳素营养,而根瘤菌固定的氮则大部送给植物,形成共生关系。根瘤菌在豆科植物开花期的根瘤内固氮能力最强,可将固定得的 3/4 氮输送给植物。随着植物成熟,根瘤破碎,类菌体崩裂,形成很多杆状和球状细菌,重新进入土壤。

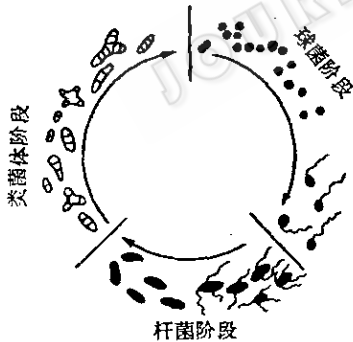


图2 根瘤菌的生活史

根瘤菌呈革兰氏染色阴性反应。固氮时的能量来源及碳素养料以甘露醇和葡萄糖最好,蔗糖、麦芽糖、乳糖和糊精也可利用。对维生素和微量元素敏感,微量的钼和硼可以明显提高固氮效率。生长最适温度为 25—30℃,最适 pH 为 6.5—7.5。

2. 自生好气性固氮菌 营自生生活的固氮菌中有好气性固氮菌、厌气性巴氏梭状芽孢杆菌和兼性厌氧的多粘芽孢杆菌,营光合作用的红螺菌和蓝藻等。目前研究较多、固氮能力较强的是好气性固氮菌及巴氏

梭状芽孢杆菌,其中好气性固氮菌中的圆褐固氮菌,是我国作为菌肥的主要菌种。棕色固氮菌是常用来研究固氮酶的材料。

圆褐固氮菌体形较大,约 2—3 × 3 微米,两端钝圆,通常呈双球“8”字形、偶有单个或成串者。细胞外围有粘液荚膜,没有芽孢。革兰氏染色呈阴性反应。生长最适温度为 25—30℃,最适 pH 为 7.4—7.6。

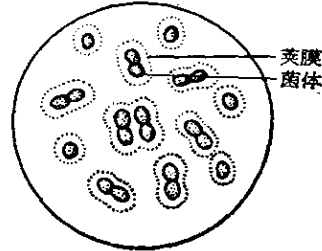


图3 圆褐固氮菌的形态

圆褐固氮菌在固氮时,与根瘤菌相似,需要消耗大量的含碳有机物和氧气,以维持生命活动。固氮菌每消耗一克葡萄糖约可吸收 9—20 毫克氮。如培养基或土壤中含可溶性氨态氮或硝态氮时,则首先利用而不再固氮。在培养基或土壤中加入适量磷酸盐和钙时,有利于生长发育,硼、钼、钒等微量元素能提高固氮能力。

固氮菌在生命活动中分泌一种“生长素”,可促进植物发芽、生根、早熟、增产。

(三) 根瘤菌和固氮菌肥的应用

根瘤菌和固氮菌既然都能增加植物和土壤中氮素养分,所以选择优良菌株,按照细菌生长所需的营养和环境条件,进行扩大培养,制成细菌肥料,已在我国广大农村大面积推广和应用,有明显增产效果。

由于细菌肥料和一般化学肥料性质不同,菌肥的作用不仅决定于施入土壤中微生物的数量和质量,而且也决定于适当使用的方法,以及创造为有关微生物所适应的一系列土壤气候条件和农业技术措施,才能起到肥料的作用。

最常用的菌肥使用法是在播种前用菌肥拌种,根瘤菌因为必须和豆科植物共生,所以必须注意一种根瘤菌剂只能用于相应的豆科植物,否则无效。固氮菌则没有特别的要求。拌种应在阴凉的地方进行。将菌肥按需要量称出(每亩地用固氮菌肥 500 亿个活细胞左右,每亩用根瘤菌剂 2.5—3 亿个活细胞),放在洁净光滑的盆内,用凉水调成糊状,再把种子倒入拌匀,稍阴干即可播种。播种宜在阴天或傍晚,以免日光将菌晒死,并可保持土壤湿润疏松。

固氮菌除用作拌种外,还可在旱地用作底肥、种肥,也可作追肥。在蔬菜等作物移种时,也可将菌肥沾根使用。