

固氮蓝藻干藻种制备及其在稻田中的应用效果

黄有馨 严玉洲 方光如 汪廷 苏国峰

(江苏省农业科学院土壤肥料研究所, 南京)

固氮鱼腥藻“水生 1042”在室内培养条件下的对数生长期为 5 天,在此期间采制的藻种复苏能力最强,固氮活性也高,通过复苏培养 4 天的蓝藻固氮力为 $217.7 \mu\text{mol C}_2\text{H}_4/\text{mg}$ 干藻/小时。

用 5 倍于干藻粉的稻壳、麦壳作吸附材料晒制干藻种,可增强藻种浮力,减少藻种损失,抑制杂藻生长,促进蓝藻繁殖,分别比放养等量纯藻种提高鲜藻产量 83% 和 50%。在不同温度下烘干藻种的结果表明:以 40℃、50℃ 下烘干的干藻种复苏能力最强。

用干藻种进行大田放养,每亩施放 25 斤左右的干藻种,在条件适宜时,7—10 天可增殖鲜藻 1350—1650 斤。

固氮蓝藻既能固氮,又能固碳。许多研究表明,固氮蓝藻可以作为水稻的一种肥源^[1-3]。近年来,我国在这方面的研究进展较快,湖北省已在较大面积上推广应用^[4]。

目前在推广应用中,大多是采用鲜藻下田扩大繁殖的方法。这种方法应用于大面积放养中往往产生藻种供求不能配合的矛盾。我省适宜土池繁殖藻种的时期是 5 月中旬至 6 月下旬,而大面积放养是在双季后作稻的 7—8 月高温季节。这就出现了有藻种无田放,需放藻时又无藻的脱节现象。为此,就必须考虑利用固氮蓝藻干燥后仍保持其生命力的特点^[5],来解决固氮蓝藻大面积放养的问题。本研究的重点是如何大量制备干藻种,提高藻种的存活力和固氮力,以及寻找增进藻种在水田中悬浮力的有效措施,以保证大面积放养的效果。

材料和方法

(一) 藻种及其培养

固氮鱼腥藻 (*Anabaena azotica*) “水生 1042”

藻株,培养液采用“水生 111 号”,培养温度为 30℃,人工光照 5000 lux,昼夜光照 14 小时,固氮力测定为乙炔还原法,按峰高比的方法计算^[6]。

(二) 成份分析

土壤有机质为丘林法,全氮为克氏法,植株全氮和全磷用 H_2O_2 一次硝化,分别以克氏法和钼蓝法测定^[7]。

(三) 采种时期试验

将盛有 50ml 培养液的 200ml 三角瓶灭菌后,接入混合均匀的鲜藻 1ml (折干藻重 4.62 mg),置培养室内培养,每隔一天收集 3 瓶鲜藻,过滤后在培养室内自然晾干,称重,待最后一批收藻后,从各批中称取干藻种 20mg,分别接种于盛有 30ml 培养液的 150ml 三角瓶中,置恒温光照室内培养,试验重复三次。培养 4 天后测定各处理的固氮活性,以了解固氮蓝藻的增殖速度,以及不同生长期采制的干藻种复苏能力。

(四) 温度对藻种活力的影响

将培养好的鲜藻种集中搅拌均匀后分成若干等分,盛于小纸盒内,分别置于 40℃, 50℃, 60℃, 70℃ 的恒温箱内,鼓风烘干,然后称取各处理的藻粉 20mg 重新放养在无氮培养液内,恒温光照培养,并测定其固氮活性。

本文于 1981 年 4 月 25 日收到。

(五) 干藻种的吸附材料选择

藻种制备分五个处理：将 1,000g 鲜藻(晒干率为 3%)分别与 250g 稻壳, 250g 麦壳, 50g 泡沫塑料小颗粒, 400g 砾石等吸附材料混合均匀, 以不加吸附材料为对照, 均经自然晒干备用。田间放养试验小区面积 0.01 亩, 重复二次, 小区种植水稻, 待移栽活棵后将各处理干藻粉分别均匀撒入小区水面。藻种用量按每亩 2.5kg 纯干藻粉计算。

(六) 固氮蓝藻对水稻的增产效果

本试验在双季稻大田进行, 分放藻与不放藻两个处理, 同时作小区试验和大田对比, 小区面积为 1/20 亩, 随机排列, 重复三次, 后季稻品种为南梗 33, 每小区施过磷酸钙 1kg, 每区放鲜藻 3kg, 在生长过程中分 4 期采植株样, 收后采土样进行化学分析。大田试验面积为一亩, 后季稻品种为珍汕 97 × 6185, 放藻区每亩放鲜藻 45kg, 待藻长满田面后耘田倒藻。收割时测产, 并采样考种。

结果与讨论

(一) 制备干藻种的适宜采藻时期

蓝藻的生长曲线可分为三个时期^[8]: 诱导期, 对数生长期和稳定期。根据试验, 鲜藻进入新的培养液后, 15 分钟后即有气泡产生, 并上浮水面, 在第一个小时内便可测出明显的固氮力, 其乙炔还原可达 6.41 nmol C₂H₄/g 干藻/小时, 在 1—10 小

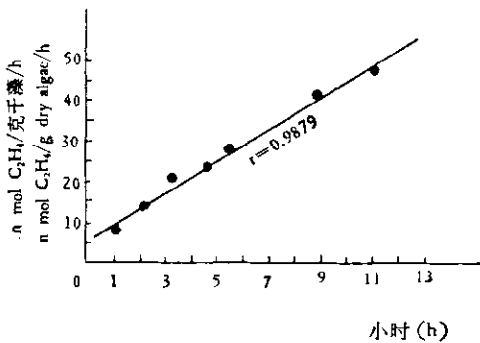


图 1 鲜藻培养后的乙炔还原活性

Fig. 1 Acetylene reduction activity of fresh algae in culture solution

时, 其固氮力呈直线上升。(图 1)

通过分析, 其上升的直线方程式为 $Y = 0.0516 + 0.0489X$, $P < 0.01$, 回归极显著。虽然固氮力直线上升, 但藻体的干物重并未见有多大的增长, 这是因为我们所选用的是已经处于稳定期的藻种, 当把它们接入新的培养液中时, 要用一定的时间来合成已被用尽的各种必要的辅酶或其他细胞成分, 如果选用正处于对数生长期的藻种接种到相同培养环境中时, 这种停滞期将会大大缩短或不存在, 本试验的滞留适应期持续近 24 小时, 此后藻体即进入对数生长期。“水生 1042”藻株在对数生长期, 3 天干藻重可由起始每瓶 4.62mg 猛增至 26.2mg, 每天的细胞分裂率 (K) 为 0.58。至第 5 天干藻重增加到 43.0mg, 每天的细胞分裂率下降为 0.25, 第 7 天至第 11 天内增长速度下降更快, 每天的细胞分裂率只维持在 0.1 左右, 此后干藻重增加甚少, 进入稳定期。(图 2、表 1)

从蓝藻不同生长期中所采制的干藻种, 重新放养后的复苏能力也表现了较大的差异。在对数生长期中采制的干藻种复苏培养 4 天后的固氮力为 217.7 nmol C₂H₄/mg 干藻/小时, 在 5—7 天中采制的干藻

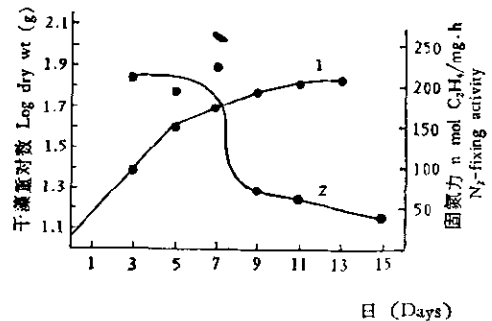


图 2 固氮蓝藻干藻种的复苏能力

1. log 值; 2. 固氮力

Fig. 2 Recovering ability of dried inoculum of N₂-fixing blue-green algae at different stages of growth 1. log dry wt; 2. N₂-fixing activity

表 1 固氮蓝藻的增殖速度及不同时期采制的干藻种复苏后的固氮力

Table 1 Rate of multiplication of blue-green algae and their variations in N_2 -fixing activity after the recovery of dried inoculum prepared at different dates

放藻后天数 Time (days)	干藻产量 (A) (mg/瓶) Dry algae yield (A) (mg/flask)	细胞分裂率 (K) Rate of cell division (K)	复苏培养后的固氮力 (B) N_2 -fixing activity after recovery (B) (n mol C_2H_4 /mg/h)	A × B (nmol C_2H_4 /瓶/小时) (nmol C_2H_4 /flask/h)
0	4.62			
3	26.2	0.58	217.1	5704
5	43.0	0.25	194.8	8376
7	52.6	0.10	233.4	12277
9	63.4	0.09	69.5	4406
11	74.5	0.06	54.0	4023
13	74.4	0	98.7	7343
15	80.9	0.04	37.3	3018

种为 $214.1n \text{ mol } C_2H_4/\text{mg}$ 干藻/小时, 在 7 天以后采制的干藻种复苏后的固氮力明显下降。从表 1 和图 2 可看出, 决定藻种的适宜采制时期应考虑藻的产量 (A) 和复苏后的固氮力 (B) 两方面, 本试验认为这个时期应在藻的直线生长期, 过早或过迟都是不经济的。

(二) 制备干藻时温度对固氮蓝藻活力的影响

在 40°C 和 50°C 温度下通风烘干的藻种复苏生长较好, 固氮力为 $25.01n \text{ mol } C_2H_4/\text{mg}$ 干藻/小时和 $21.01n \text{ mol } C_2H_4/\text{mg}$ 干藻/小时; 而在 60°C 下通风烘干的藻种则明显下降, 在 70°C 下通风烘干的藻种复苏能力比 40°C 下烘干的下降几近一半 ($13.3n \text{ mol } C_2H_4/\text{mg}$ 干藻/小时)。根据以上结果, 鲜藻干制过程中, 温度应不超过 50°C , 最好控制在 40°C 左右。

(三) 制备干藻种中吸附材料的选择

试验结果表明 (图 3、4), 用不同吸附材料制备的干藻种, 放养后其复苏能力和繁殖速度均有明显的差异。其中稻壳吸附的藻粉放养后增殖速度最快, 二天后藻丝铺展面积已达 66%, 第三天达 99%, 第四天即全部铺满水面, 第六天采收鲜藻, 其产

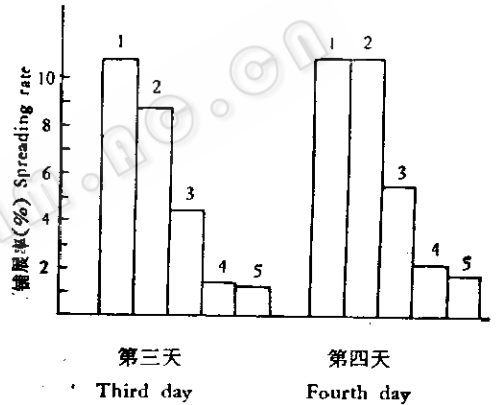


图 3 不同吸附材料的藻粉铺展速度

Fig. 3 Spreading rate of dried inoculum prepared with different adsorptive materials 1. rice hull 2. wheat hull 3. pure algae powder 4. vermiculite 5. foamed plastic grain

量为 $825\text{kg}/\text{亩}$ (除去藻种吸附材料的重量、下同)。以麦壳为吸附材料的藻粉次之, 至第六天测产 $675\text{kg}/\text{亩}$; 而用纯藻种放养的在第六天测产仅为 $450\text{kg}/\text{亩}$, 稻壳藻种和麦壳藻种比纯藻种放养的鲜藻产量分别高 83% 和 50%。

用泡沫塑料颗粒和砾石作吸附材料的藻种, 放养后复苏能力均极差, 生长到第六天尚不能测产, 到第十天时的产量仅分别为 $600\text{kg}/\text{亩}$ 和 $450\text{kg}/\text{亩}$ 。

表 2 放藻对水稻植株全量养分的影响

Table 2 Effect of inoculation of nitrogen-fixing blue-green algae on nutrient contents of rice plant

年分 Year	养分(%) Nutrient	放藻 Inoculated	对照 Control	增加(%) Increase
1978	N	1.01	0.84	20.2
	P ₂ O ₅	0.15	0.13	20.0
1977	N	1.02	0.94	8.5
	P ₂ O ₅	0.34	0.31	9.7

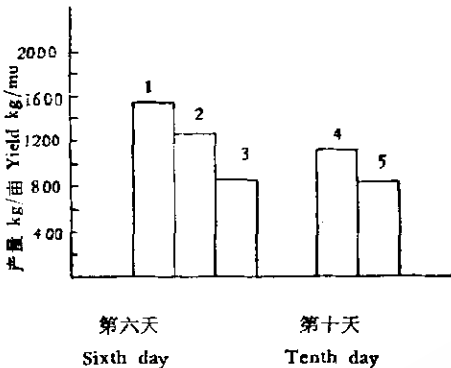


图 4 不同吸附材料的干藻粉放养后的鲜藻产量

1. 稻壳 2. 麦壳 3. 纯藻粉 4. 砭石 5. 泡塑粒

Fig. 4 Yield of fresh algae cultured from dried inoculum prepared with different adsorptive materials 1. rice hull 2. wheat hull 3. pure algae powder 4. vermiculite 5. foamed plastic grain

采用稻壳、麦壳等吸附材料晒制的藻种,比纯藻粉放养的铺展快,主要是因为稻壳、麦壳等吸附材料能在田间抢占水面,为蓝藻的铺展创造了良好的条件,据测定每亩用稻壳,麦壳吸附的藻种 30 斤(含纯藻粉 5 斤),其覆盖水面可分别达 13% 和 29%,再加上水稻植株的荫蔽,共可达 40% 以上的荫蔽度,这就大大减弱了水面的光照强度,使水下的杂藻受到了抑制,为固氮蓝藻的生长创造了适宜的环境。另外,由于采用稻壳、麦壳吸附,使藻粉在田间分散均匀,浮力增强,这也是藻种产量高的原因之一。稻壳的表面有绒毛,较粗糙,因此稻壳所吸附的藻体粘附较牢,不易脱

落,而麦壳表面光滑,吸附力差,所吸附的藻粉易脱落,因此用稻壳为吸附材料时藻的产量较高。至于用泡沫塑料作吸附材料,由于吸水性能极差,洒到田间,漂浮水面,藻丝得不到充足的水分供应而难于复苏生长;砭石则吸水性过强,很易沉入水底,使气体交换受到抑制,得不到适宜的光照而使藻的复苏生长受到阻碍。综上所述,泡沫塑料与砭石不宜作藻种的吸附材料,稻壳、麦壳可就地取材,经济有效,较为适用。

(四) 放养“水生 1042”对水稻的增产效果

稻田放养固氮蓝藻,可以增加氮素营养,提高土壤磷素的有效率。从我们 1977—1978 年的试验结果说明,稻田倒藻后,水稻各生育期中植株氮、磷含量均比对照有明显的增加(表 2)。在放养固氮蓝藻“水生 1042”小区和大田的肥效对比试验中均表现了较好的效果,放藻区比对照区稻谷增产 9.1% (小区)和 9.3% (大田)。

参 考 文 献

- [1] Anil Agarwal: *Nature*, 279: 181, 1979.
- [2] El-Nawawy, A. S. and B. Y. A. Hamdi: Research on blue-green algae in Egypt., In "Nitrogen-living Micro-organisms" (ed. by Stewart, W. D. P.), Cambridge University Press, London, 219—228, 1975.
- [3] 中国科学院水生生物研究所五室藻类实验生态学组: 《水生生物学集刊》,第六卷,科学出版社,北京,1978 年,299—310 页。
- [4] 中国科学院南京土壤研究所: 《中国的土壤》,科学出版社,北京,1978 年,第 434 页。

- [5] 曾继锦等：《水生生物学集刊》，第四卷，科学出版社，北京，1959年，第452—455页。
- [6] 上海植物生理研究所固氮组：植物学报，16(4)：382—384，1974。
- [7] 中国农业科学院江苏分院：土壤肥料分析方法，上海科学技术出版社，1960年，第20—23、164—165页。
- [8] 田宫博、渡边篤：藻類実験法，株式会社南江堂，东京都，昭和40年，195—197。

STUDIES ON THE PROPAGATION OF DRIED INOCULUM OF N_2 -FIXING BLUE-GREEN ALGAE AND ITS APPLICATION IN PADDY FIELD

Huang Youxin Yan Yuzhou Fang Guangru Wang Ting Su Guofeng

(Soil and Fertilizer Institute, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing)

A period of 5—7 days of the log-phase was recognized when the strain Shui-sheng 1042 of the nitrogen-fixing algae (*Anabaena azotic*) was cultured under room conditions (30°C 5000 lux). The recovering ability and the nitrogen-fixing activity of the dried inoculum prepared from the fresh algae mass collected during this period appeared to be the highest in comparison with those collected in other periods. Its nitrogen-fixing activity was 218 n mol C_2H_4 per mg dry inoculum per hour after 4 days in recovering culture.

When rice hull or wheat hull was mixed with algae mass in 5:1 ratio by weight and was dried under sunshine, the floating character of the dried inoculum was increased and the loss of inoculum was reduced. Furthermore, the improved processing may inhibit the growth of other groups of algae and this improve the multiplication of *Ana-*

baena azotic. Their yields of fresh algae increased by 83% and 50% respectively as compared with the pure inoculum with no rice or wheat hull admixing.

The dried inoculum prepared under ventilated condition at 40°C possessed the highest recovering ability. Temperatures not higher than 50°C was recommended for satisfactory drying under sunshine.

When the dried inoculum prepared with hulls of rice or wheat was introduced to paddy field at the rate of about 12.5 kg/mu, 675—825 kg of fresh algae mass per mu was produced within 7—10 days under favorable conditions. This is equivalent to an extra application of 2—2.5 kg N per mu: Both soil fertility and plant growth were improved and an increase of grain yield by 9.1—9.3% was obtained in consequence.