

小麦根际微生物的研究

I. 小麦各主要生育阶段根际细菌数量和组成的变化

張元龍 万金精
(河南农学院, 郑州)

根际细菌的数量组成及其与植物营养关系的研究, 目前已为国际农业和土壤微生物学者所重视。这些微生物除可以引起土壤中有机和无机化合物的转化, 或分泌生长刺激物质、抑制物质来影响植物的营养和生长发育外; 由于根际微生物与作物的特殊关系, 在制定轮作、土壤保健、施用有机或无机肥料以及微生物制剂等方面亦将有巨大的指导意义。为此, 我们结合实习农场七号地小麦丰产栽培的大面积试验, 进行了小麦根际微生物的研究, 主要是小麦各主要生育阶段的根际细菌数量、组成及其变化状况, 以便进一步探讨其生理特性、小麦营养生长的关系和在农业生产实践中控制利用的途径。

一、材料和方法

试验地土壤为浅色草甸土, 土质为粉砂质壤土, pH 7.5—8.0, 有机质含量 0.85—1.37%, 全氮量 0.057—0.086%, 前作物为绿豆, 播前深耕 8 寸, 施底肥——粗大粪 5000 斤/亩, 1961 年 10 月 2 日机械条播, 每亩播量 25 斤, 小麦品种为南大 2419。

根际细菌数量测定是用稀释平板法进行的, 所用培养基有肉羹琼胶、土壤浸出液 + 查彼克 (1:1) 琼胶 (后面简称查彼克) 和以蔗糖为碳源的 Ashby 氏无氮琼胶培养基等三种, 在小麦分蘖初期、越冬前 (分蘖后期)、返青、拔节、抽穗、黄熟等六个阶段分以下四个部位采样测定 (基本上按照 Березова 氏的方法^[1]), 即:

1. 根外土壤: 无根的行间土壤。
2. 根际土壤: 用小麦根上附着的、并可以抖落的土粒分析, 相当于根周围 1 厘米以内的土壤。
3. 近根区: 当根上附着的土粒全部抖落后, 用无菌水振荡洗涤小麦根 3 次, 将洗根水合并, 作为近根区样品。
4. 根区: 洗涤后的小麦根, 在无菌研钵中磨碎, 用无菌水稀释。

所有各样品在肉羹琼胶和查彼克琼胶培养基上用 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 等 3 个稀释度接种, 在 Ashby 氏无氮琼胶培养基上用 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 等 4 个稀释度接种, 每一稀释度接种 3 套平皿, 在 25°C 温箱中培养 3—7 天, 检查结果, 分别计算总菌落数和各优势菌落数, 然后换算成每克干土或每克湿麦根的菌数。

二、结果和讨论

(一) 小麦各主要生育阶段根际细菌数量的变化

小麦各主要生育阶段中, 在 3 种培养基上生长的细菌数量如表 1。

表 1 小麦各生育阶段根际和土壤中的細菌数量 (百万/克)

小麦生育阶段 (日/月)	分蘖初期 (14/XI)	越冬前 (19/XII)	返青期 (15/II)	拔节期 (15/III)	抽穗期 (27/IV)	黄熟期 (24/V)
在肉羹琼胶上生长的細菌数						
根区	22.00	300.00	90.67	39.10	220.13	68.66
近根区	118.67	155.00	198.67	162.00	517.34	24.60
根际区	48.66	49.06	191.34	28.00	182.66	59.34
根外土壤	20.12	27.74	166.46	14.36	77.96	51.54
在查彼克氏琼胶上生长的細菌数						
根区	8.734	130.667	17.200	113.334	589.257	2.400
近根区	62.000	60.000	73.066	110.000	429.356	2.130
根际区	8.534	16.000	11.334	13.266	89.000	7.910
根外土壤	6.546	2.544	8.222	8.434	43.696	0.456
在 Ashby 氏无氮琼胶上生长的細菌数						
根区	4.67	19.60	1.66	1.46	5.33	0.67
近根区	3.40	5.83	1.33	1.93	15.30	0.40
根际区	2.56	1.00	0.67	0.13	3.33	0.71
根外土壤	7.08	0.37	0.60	0.06	1.07	0.13

从表 1 可以看出:小麦根际細菌的总数在小麦整个生长季节中出現两个高峯,其一是在越冬前,相当于小麦冬前分蘖的后期,其二是在第 2 年植物抽穗开花时期(图 1, 图 2 和图 3)。这种变化趋势与根外土壤細菌数量变化不很一致。根外土壤細菌越冬前数量較低,返青期升高;而根区或近根区中細菌数量冬前是一个高峯,返青期不但沒有增加,反而有所降低,特别是在无氮培养基上生长的細菌数量,在越冬前由根区向根外土壤的过渡中,高峯逐漸減低,經少量低落以至大量低落(图 3)。产生这种現象的原因,我們认为应与小麦生长强度和根系发展强度有关,而与土壤条件(温度、湿度和营养状况等)关系較小。

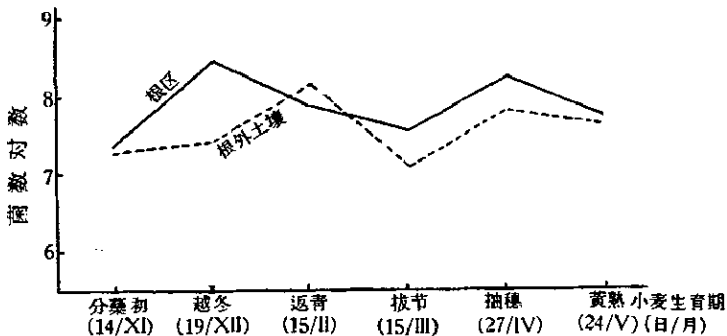


图 1 小麦各生育阶段根区和根外土壤中在肉羹琼胶上生长的細菌数量变化

关于同一土壤中微生物数量受季节、土温以及土壤矿质营养影响的研究,国内外曾有过不少报告^[2,4,7,12,13]。我们的结果也大致相同,即根外土壤細菌数量受土温、水分和营养物质变化的影响较大,返青期土壤温度、土壤有机质和速效磷的含量均較越冬前为高(表 2),对照土壤中細菌数量也较多。而根际細菌的数量变化則与小麦生长强度、特别是根系

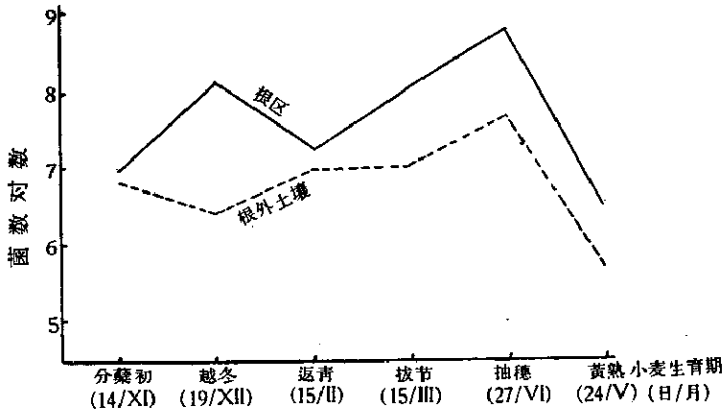


图2 小麦各生育阶段根区和根外土壤中在查彼克氏琼脂上生长的细菌数量变化

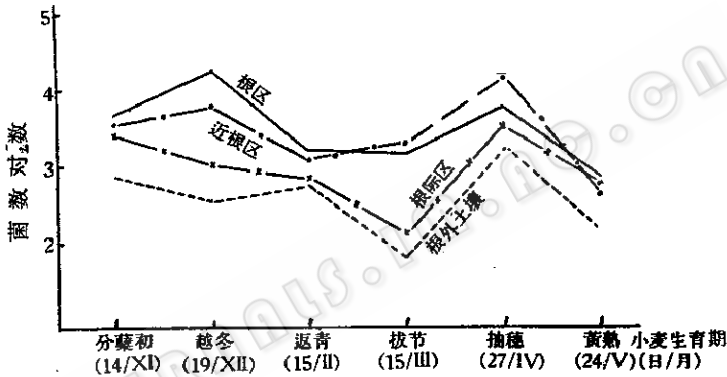


图3 小麦各生育阶段不同根区地带中在 Ashby 氏无氮琼脂上生长的细菌数量变化

表2 小麦生长期間土壤条件的变化状况

测定时期	分蘖初期	越冬前	返青期	拔节期	抽穗期	黄熟期
0—20 厘米土层温度(°C)	8.4—13.1	0.4—4.1	3.0—3.9	8.9—12.1	16.7—19.3	20.8—22.1
土壤水分(%)	17.45	13.71	13.69	16.73	11.64	7.96
全氮量(%)	0.0866	0.0600	0.0600	0.0758	0.0648	0.0874
有机碳(%)	0.930	0.730	1.131	1.09	1.21	1.04
速效氮(毫克/百克土)	7.14	6.44	6.44	6.74	7.32	5.50
速效磷(毫克/百克土)	2.32	2.06	5.40	3.38	2.94	3.42

的发展强度有很大关系^[5,6,8,10,11,15],但所得结果中出现高峯的次數和时期并不一致;有人认为在小麦生长季节,根际细菌的活动只在开花期(Федоров, М. В. 等人)或分蘖末期(Rivière, J.)有一个高峯,也有认为有两个高峯的(Красильников, Н. А.).后者与我们的结果相吻合。

据 Rivière, J. 氏意見^[15],小麦分蘖后期根系分泌物数量增多,含有各种有机酸、氨基酸和糖类,大大刺激了根际细菌的发育。因而,虽在冬季小麦受较低温度的影响,仍较小或较迟緩。小麦在抽穗期中,植物干物质累积率最大,我们的实验结果也证实了这点(表3)。同时这时也是根系发育和合成有机质最强盛的时期^[3],对根际细菌的发育也造成了

表 3 小麦各生育阶段地上部分干物质的积累

生育阶段	越冬前	返青期	拔节期	抽穗期	黄熟期
地上部分干物质重(斤/亩)	123.9	184.0	427.6	1365.0	2277.9
较前阶段增加重(斤/亩)	—	60.1	243.6	937.4	912.9
干物质增加(%)	—	40.46	132.40	219.22	66.90

有利的条件,所以根际细菌的活动最强烈;返青期干物质累积率最小,根际细菌的活动也差;到小麦开花期以后,干物质虽仍有一定的累积,但主要是发生在麦穗中,根系的干物质从乳熟期起即开始降低,分泌物减少,死亡的组织细胞开始加多,根际细菌的数量也下降到较低的水平。这一结果可以间接地说明根际细菌主要是靠根分泌的分泌物而生活,根系生长旺盛,分泌到周围环境中去的物质愈多,细菌生命活动所需要的营养物质和能源也愈充分,细菌的繁殖速度因而增强。至于土壤条件,似乎只是间接地通过小麦生长强度和根系的发展而起作用。

(二) 根际细菌的主要类型及其在小麦生育期间的变化

我们所得的小麦根际细菌的优势种,主要有 4 个类型:

1. CR6111 号菌 在查彼克氏琼胶上形成圆形、淡黄棕色、表面湿润发亮的菌落,并有荧光色素分泌于周围培养基中;在肉羹琼胶上生长良好,菌落淡黄色。细胞为小的杆状,末端稍尖,大小约为 0.4×1.5 微米,无芽孢,革兰氏染色阴性。不发酵糖类,不液化明胶,不水解淀粉,牛奶无变化,能还原硝酸盐为亚硝酸盐。

2. CR6112 号菌 在查彼克氏琼胶上形成半透明粘液状的菌落,在肉羹琼胶上菌落乳白色,有光泽。细胞杆状,略弯曲,大小约为 $0.5-0.8 \times 3.0-3.5$ 微米,着色不均匀,革兰氏阴性,不发酵糖类,不还原硝酸盐,液化明胶力微弱,牛奶无变化,但能水解淀粉。

3. MR6105 号菌 在肉羹琼胶上形成乳白色、圆形、透明、发亮的菌落,细胞为长杆状,大小约 $0.6-0.8 \times 2.0-2.5$ 微米,革兰氏阴性,无芽孢。不还原硝酸盐,不液化明胶,牛奶无变化,可以缓慢发酵葡萄糖、蔗糖和果糖,产酸而不产气;但不能发酵甘露醇、半乳糖、乳糖和麦芽糖。

4. AR6141 号菌 在 Ashby 氏无氮琼胶上形成初为无色透明、后变乳浊的圆形湿润性菌落,对刚果红不着色;在肉羹培养基上生长良好,细胞初为短杆状、后变圆形,细胞直径约 $0.8-1.0$ 微米;产生荚膜,荚膜直径为 $2.0-3.0$ 微米,但在肉羹琼胶上不产生荚膜。迅速发酵葡萄糖、蔗糖、半乳糖、果糖、麦芽糖和甘露醇,产酸和产气;但不发酵乳糖。还原硝酸盐,不液化明胶或液化力微弱,不水解淀粉,牛奶无变化。

以上 4 个优势菌种在小麦各主要生育阶段中的数量变化如表 4。

由表 4 可以看出:根际细菌的 4 个优势菌株中,CR 6111 和 MR 6105 在根外土壤中很少存在,或仅在小麦生育后期有少量存在;CR 6112 和 AR 6141 在根外土壤中虽有一定数量,但远比小麦根际范围内的数量为小。同时,各优势菌种相对数量的变化,也是在小麦分蘖后期和抽穗时期出现两个高峰,与根际细菌总数的变化恰相一致。这说明当根际细菌数量最多的时期,根际细菌种的组成也最单纯。这可能是由于这时高等植物根分

分泌物对根际细菌选择性特别大。

表4 根际细菌各优势菌株在小麦生育期间的数量变化

小麦生育阶段	根 区		近 根 区		根 际 区		根 外 土 壤	
	数 量 (百万/克)	占总菌数%	数 量 (百万/克)	占总菌数%	数 量 (百万/克)	占总菌数%	数 量 (百万/克)	占总菌数%
CR 6111								
分蘖初期	0.40	4.58	17.99	29.02	0.40	4.69	—	—
越冬前	11.35	18.27	3.00	5.00	4.00	25.00	—	—
返青期	3.60	20.93	7.67	10.49	1.73	15.30	—	—
拔节期	34.67	30.59	17.33	15.76	—	—	—	—
抽穗期	207.65	35.14	82.91	19.31	27.60	31.01	—	—
黄熟期	0.086	3.58	—	—	—	—	—	—
CR 6112								
分蘖初期	1.70	19.46	11.34	18.28	0.90	10.55	0.60	9.16
越冬前	36.00	27.55	7.00	11.67	4.00	25.00	0.70	27.52
返青期	2.40	13.95	2.27	3.10	2.13	18.83	0.73	8.93
拔节期	20.66	18.23	21.33	19.36	2.86	21.60	—	—
抽穗期	144.72	24.56	92.48	21.54	27.71	31.13	8.14	18.62
黄熟期	0.37	15.54	0.25	11.74	1.70	21.49	0.11	23.46
MR 6105								
分蘖初期	17.14	77.90	9.34	7.87	0.70	1.44	—	—
越冬前	26.00	8.67	16.00	10.32	6.66	13.58	—	—
返青期	10.66	11.76	4.67	2.35	6.57	3.43	—	—
拔节期	5.00	12.79	19.00	11.65	—	—	—	—
抽穗期	20.67	9.38	59.34	11.47	15.25	8.35	8.00	10.26
黄熟期	0.40	0.58	—	—	10.00	16.85	14.00	27.16
AR 6141								
分蘖初期	4.600	—	3.066	—	4.00	—	0.708	—
越冬前	19.600	—	0.866	—	1.00	—	0.373	—
返青期	1.667	—	1.20	—	0.866	—	0.600	—
拔节期	1.456	—	1.933	—	0.133	—	0.060	—
抽穗期	5.333	—	15.30	—	1.667	—	1.066	—
黄熟期	0.667	—	0.40	—	0.667	—	0.133	—

其次,在小麦生育各阶段也表现了根际细菌优势种的更替;分蘖初期主要是 MR 6105 号菌株占优势,分蘖后期 CR 6112 号菌株逐渐加多,从第二年春季开始一直到抽穗期,占优势的都是 CR 6111 和 CR 6112,但到小麦成熟时期,这三种细菌的相对数量和绝对数量均大大降低,代之而起的是较复杂的微生物区系。从这里也可以看出 CR 6111 菌株与根际效应关系似乎较为密切。

过去,一些研究者^[5,9,14,15]发现在小麦生长不同阶段,各种生理类群的细菌数量不同,细菌生物种别也不相同,但大都认为小麦生长早期阶段对根际细菌的选择性较大^[9,12];我们的结果表明,即使在小麦生长中期或稍微偏后,植物对根际细菌的选择作用仍能表现出

来,只是細菌种羣有所更替罢了。产生这种现象的原因,应当从小麦生长各阶段根分泌物的成分和数量去考虑。

(三) 芽孢杆菌在小麦根际中的存在状况

我們在小麦各生育阶段也特別注意了根际和根外土壤中芽孢杆菌的数量,所得結果如表 5。其中由于每一平皿中菌落过少(不到 1—2 个),有时略去不計。

表 5 小麦各生育阶段根际和根外土壤中芽孢杆菌的数量

小麦生育阶段 (日/月)	根 区		近 根 区		根 际 区		根 外 土 壤	
	数量(百万)	占总菌数%	数量(百万)	占总菌数%	数量(百万)	占总菌数%	数量(百万)	占总菌数%
分蘖初期(14/XI)	—	—	—	—	1.34	2.75	1.12	5.57
越冬前 (19/XII)	—	—	—	—	—	—	2.00	7.86
返青期 (15/II)	—	—	—	—	—	—	20.67	12.41
拔节期 (15/III)	—	—	—	—	—	—	2.66	18.52
抽穗期 (27/IV)	—	—	—	—	—	—	13.41	17.27
黄熟期 (24/V)	9.80	14.28	9.30	37.80	*	*	12.74	24.72

* 有两套平皿均为霉状芽孢杆菌的扩展性菌落所布满。

如表 5 所示,小麦在分蘖初期仅根系附着的土粒中含有少量的芽孢杆菌,以后各阶段在根际范围内为量极少,甚至未有发现;只有到小麦黄熟时期,才在根系附近开始有較大量的出現,并有离根系漸远,数量漸增的趋势。

芽孢杆菌在小麦根系的活动規律說明了在小麦幼苗期根系尚未发达,根分泌物累积較少,对根际微生物的选择性不大,这时在根际土壤中发育的仍为一般土壤細菌;只是在数量上有所增加(根/土率約为 2.4)。待到分蘖盛期,根系分泌物的数量和种类增多^[5],对根际細菌的选择性大大增加;这时以及以后的各阶段均沒有大量的芽孢杆菌,及至小麦接近成熟时,根的干重开始降低^[3],根的死亡組織开始增多,而以分解复杂有机質为特征的芽孢杆菌也就随之出現,并且由土壤中逐步向根系轉移。

从小麦根际細菌的特殊类型在小麦生育期間的变化和芽孢杆菌只有在小麦生长末期才开始出現来看,可以认为典型的根际細菌是依靠活根系的分泌物而生活,不是靠分解根的死亡組織細胞而生活。

三、結 論

(一) 小麦根际細菌的总数在小麦生长季节中有两个高峯,其一是在越冬前,相当于小麦冬前分蘖的后期,其二是在第二年植物抽穗开花时期。

(二) 根际細菌数量的变化与根外土壤細菌数量变化不很一致,根外土壤細菌数量受土温、水分和营养物質变化的影响較大,而根际細菌数量变化則与小麦生长強度,特别是根系的发展有很大关系。

(三) 所分离到的小麦根际細菌 4 个优势类型中, CRC 6111 和 MR 6105 在根外土壤中很少发现,或仅在小麦生育后期有少量存在; CR 6112 和 AR 6141 在根外土壤中虽

有一定数量,但远比小麦根际范围内的数量为少。

(四) 各优势菌种的相对数量也是在小麦分蘖后期和抽穗期出现两个高峰,与根际细菌总数变化规律恰相一致。

(五) 小麦生育各阶段,根际细菌种的更替是:分蘖初期 MR 6105 占优势,分蘖后期 CR 6112 逐渐加多,从返青期到抽穗期主要是 CR 6111 和 CR 6112;小麦接近成熟,3种细菌均大大降低,代之而起的是较复杂的微生物区系。

(六) 芽孢杆菌仅在小麦幼苗期根系附着的土粒中存在,以后各阶段在根际范围内为量极少,只有到黄熟期才在根际有较多量的出现,并有从根表向根外逐渐增加的趋势。

(七) 从根际细菌总数和各特殊类型菌株在小麦生育期间的变化以及芽孢杆菌只在小麦生长末期才开始出现来看,可以认为典型的根际细菌是依靠活根系的分泌物而生活,不是靠分解根的死亡组织细胞而生活。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院林业土壤研究所微生物室主编:土壤微生物分析方法手册,科学出版社,1960.
- [2] 姜隆后等编:微生物在土壤养分转化中的作用,科学出版社,73—74,1962.
- [3] 诺萨托夫斯基:小麦生物学,农业出版社,1956.
- [4] Аристовская, Т. В. и Париккина, О. М.: *Микробиол.*, 27(3): 324—330, 1958.
- [5] Возняновская, Ю. М.: *Микробиол.*, 17(6): 458—462, 1948.
- [6] Красильников, Н. А.: *Микроорганизмы почвы и высшие растения*, Москва, 1958.
- [7] Самцевич, С. А. и Борисова, В. Н.: *Микробиол.*, 30(6): 1033—1041, 1961.
- [8] Федоров, М. В. и Пантош, Д.: *Изв. ТСХА.*, 2(21): 127—136, 1958.
- [9] Федоров, М. В. и Пантош, Д.: *Микробиол.*, 27(3): 316—323, 1958.
- [10] Федоров, М. В. и Пантош, Д.: *Микробиол.*, 27(6): 714—719, 1958.
- [11] Фирсанова, А. Н.: *Тр. ин-та Микробиол. АН СССР*, 11: 63—70, 1961.
- [12] Gyllenberg, H. G.: *Canad. J. Microbiol.*, 3 (2): 131—134, 1957.
- [13] Katznelson, H., Lochhead, A. G. and Timonin, M. I.: *Bot. Rev.*, 14 (9): 543—587, 1948.
- [14] Katznelson, H., Rountt, J. W. and Payne, M. B.: *土壤学译报*, 1957 (1): 88—89, 1957.
- [15] Rivière, J.: *Ann. L'Inst. nat. rech. agron. sér. A, Ann. Agronomiques*, 1960 (4): 397, 1960.

A STUDY OF THE MICROORGANISMS IN THE RHIZOSPHERE OF WHEAT

I. THE VARIATION IN NUMBER AND COMPOSITION OF THE RHIZOSPHERE BACTERIA IN THE PRINCIPAL DEVELOPMENTAL STAGES OF WHEAT

CHANG YUAN-LUNG WANN JIN-JING

(Honan Agriculture Institute, Chengchow)

On light meadow soil in Chengchow, Honan, the variation in number and composition of the rhizosphere bacteria in the various developmental stages of winter wheat was studied.

1. In the growing season of wheat, there are two climaxes or peaks in the number

of rhizosphere bacteria: The first occurs before overwintering or more precisely, in the late tillering period of wheat before winter: the second takes place next year in the spiking or flowering period of the crop.

2. The variation in the number of rhizosphere bacteria of wheat is not the same as that in the control soil. The latter is greatly influenced by such factors as temperature, moisture and nutrition, while the former is mostly related with the vegetative growth of wheat, especially the development of the root system.

3. Among dominant types of wheat rhizosphere bacteria that have been isolated CR6111 and MR6105 are rarely found in the control soil, or may be found only in small number during the later stage of the wheat development. Although there are certain numbers of CR6112 and AR6141 in the control soil, they occur only in insignificant amount.

4. There also appear two peaks or climaxes in the relative numbers of the various dominant types of bacteria in the later tillering stage of wheat. This agrees with the result of studies on the variation of the numbers of wheat rhizosphere bacteria.

5. The changes of the dominant types of rhizosphere bacteria in the various stages of wheat development may be stated as follows: MR6105 is dominant in the beginning of the tillering stage later CR6112 increases by degrees. From the spring growing stage to spiking stage, CR6111 and CR6112 are the major types. As wheat approaches maturing, all the three types of bacteria decrease considerably, and are replaced by more complex microflora.

6. The sporeforming bacteria can only be found in the soil particles attached at the root system of the young seedlings of wheat. After the seedling stage, they become sparse within the rhizosphere. But at full maturing stage of the wheat they exist in a larger number, and show a tendency to increase by degrees from the root surface to the outer area of the root.

7. From the variations in the total numbers and in the dominant types of rhizosphere bacteria at the various developmental stages of wheat, and from the fact that the sporeforming bacteria begin to appear only in the later stage of the development of wheat, it can be seen that the changes are due mainly to the variation in the composition of the exudate from the living root system of the wheat plants.