

水稻根系微生物的主要特性*

陈子英

(中国农业科学院土壤肥料研究所农业微生物研究室,北京)

一、前言

近三十年来,“根际微生物”成了土壤微生物学中的重大课题之一。Березова^[1]曾将根际微生物分为3类:直接生长在根系表面上的根表微生物;生长在近根土壤中的近根微生物与生长在根系周围1厘米以内土壤中的根际微生物。

根际微生物与植物的生长发育有密切的关系,在植物不同的生长发育阶段中,根际微生物的数量和质量有显著的差别^[6,8,9];土壤、气候条件与农业技术措施对根际微生物也有一定的影响^[5,9]。许多研究者认为植物根分泌物是引起根际微生物变化的主要因素。

关于根际微生物种类的组成已经从不同作物种类中分离了许多属于同属、同种的微生物,主要的有假单胞菌、无孢子杆菌、色杆菌、分枝杆菌等,在个别情况下也出现少数的固氮菌、芽孢杆菌、放线菌与酵母菌等^[2,6,8,10]。

前人已经对小麦、玉米、大豆、三叶草、燕麦、向日葵、马铃薯、亚麻等作物进行了许多研究,但对水稻的根际微生物研究较少。1934年 Машковцев^[7]曾经研究过直播水稻幼苗期的微生物学特性,指出在水稻出水前根部分泌许多糖、醇、醛等有机物质,这些物质是某些微生物良好的营养基质。水稻长出水面以后,有机物质的分泌减少而分泌氧气则增加了,由于氧气自根部大量地分泌到水稻土中,使根区的土壤由还原状态转变为氧化。

本工作是研究水稻根系微生物的主要特性,以及不同土壤、施肥等条件对水稻根系微生物的影响。

二、主要研究方法

1. 取样方法 本工作主要研究直接生长在水稻根系上的根系微生物,因此采用连续洗根法^[3],此法经 Федоров 教授改良后主要步骤是:将带泥土的水稻植株自盆栽或大田取回后,用自来水洗掉根上泥土,小心挑出混在根系中的渣滓,用多层滤纸吸干根上的水分,准确地称取1克根系,放入100毫升灭菌水中,在震荡机上冲洗5分钟,用灭菌的玻璃钩将根挑出移到第2个有100毫升灭菌水的锥形瓶中同样震荡冲洗5分钟,再挑出放入第3个同样的锥形瓶中震荡冲洗,如此连续冲洗6次,在第7次冲洗时放入5克灭菌石英砂,震荡冲洗5分钟后,将根挑出放入灭菌的研钵中,加入5克灭菌的石英砂,小心磨碎,倒入第8个盛95毫升灭菌水的锥形瓶中,震荡冲洗5分钟,然后用第8次的悬液进行稀释接种。

2. 菌株氮化能力的测定:培养基成分:蛋白胨10克(氮素1.5克), $MgSO_4$ 0.5克, K_2HPO_4 1.0克, $NaCl$ 0.5克, $FeSO_4$ 0.001克,无氮蒸馏水1000毫升;第1组中加入葡萄糖25克, C:N = 10:1, 第2

* 本工作于1958年在莫斯科季米里亚捷夫农学院 Федоров, М. В. 教授指导下完成;并承中国科学院南京土壤所微生物组与前华东农业科学研究所土化系同志们的帮助。

本文1962年12月3日收到。

組不加葡萄糖，C : N = 3.33:1；保温培养 7 天 (28°C)，用康維皿挥发法测定氨态氮；用别尔特郎法 (Бертран) 测定剩余的糖。

3. 固氮菌的拮抗作用：在灭菌培养皿中倒入无氮培养基，涂上一层浓固氮菌液，用 1 厘米大小的穿孔器打 3 个洞，滴入牛肉膏培养基，接上試驗菌，若有拮抗作用，則小孔周围有 1 无菌圈，可測量其直径的大小来比較拮抗作用的强弱。

4. 土壤氨态氮用 1N KCl 提取，比色测定；可溶性磷用 0.2N HCl 提取，比色测定。

5. 土壤氧化还原势测定：用直径 5 厘米、长 20 厘米的无底玻璃筒垂直插入水稻土中 (約 15—16 厘米)，切断底层土壤，提回室内用电位計分层直接测定 (0—5 厘米，5—15 厘米) 氧化还原电位。

6. 田間处理：甲組：(1) 秈稻，(2) 粳稻；乙組：(1) 无肥区，(2) 亩施堆肥 1564 斤，折合 8 斤氮素；(3) 亩施苔子 1479 斤，折合 8 斤氮素；丙組：(1) 不施肥，(2) 亩施 20 斤硫酸作基肥，20 斤硫酸作穗肥；(3) 亩施 740 斤苔子作基肥，20 斤硫酸作穗肥。乙、丙兩組水稻品种为胜利秈。

三、水稻不同发育阶段中的根系微生物数量变化

水稻根系微生物的研究是按照水稻插秧期、分蘖期、孕穗期、开花期、乳熟期等生长期进行分析，其結果見表 1，無論是粳稻或秈稻，施肥或不施肥，施有机肥或无机肥，水稻根系微生物的数量变化均有一致的趋势。从水稻插秧、分蘖到孕穗期，根系微生物的数量逐渐上升，高峯大都在孕穗期，少数的在分蘖期；低峯都在开花期。之后，除少数处理略有回升外，在大部分情况下都是繼續下降，虽然从孕穗期到乳熟期的時間比較短，但菌数的差别却十分明显。

表 1 水稻不同生长期間好氧細菌細胞數*
(单位:万个細胞/1克鮮根)

水稻生长期	甲 組		乙 組			丙 組		
	粳 稻	秈 稻	无肥区	施堆肥	压綠肥	无肥区	施硫酸	压綠肥
水稻移栽前一天	4.5	14.5	20.8	20.8	20.8	20.8	20.8	20.8
分 蘖 期	59.0	60.0	38.9	80.4	261.0	61.2	182.5	127.2
孕 穗 期	72.8	101.7	88.5	67.7	92.2	122.7	143.5	291.2
开 花 期	16.6	23.8	47.7	52.5	46.7	35.7	86.6	70.0
乳 熟 期	19.5	72.2	19.6	20.4	19.9	53.2	31.2	56.5
平 均	34.5	54.4	43.1	48.4	88.1	58.7	92.9	113.1

* 培养基为：牛肉汁 500 毫升，蛋白胨 10 克，NaCl 5 克，葡萄糖 10 克，加水到 1000 毫升。

在分析菌数的同时，测定了田間試驗中甲組和乙組水稻植株干物質在不同生长期間的重量，并計算了水稻在不同生长阶段中每天合成干物的強度。在甲組，干物質合成快的时期，根系微生物的数量也高 (图 1)；在丙組却是另一种情况，菌数的高峯在水稻生长前期，而水稻合成干物質最快的阶段却在后期。

在亩产子实与稻草高的处理中，根际微生物的数量也高；产量低的处理，菌数也低 (图 2)。看来，根系微生物的变化比非根系土壤微生物更容易反映作物生长的情况。

我們曾对甲組試驗中水稻在不同生长阶段中吸收氮素营养的強度进行了测定，結果表明：在孕穗期每株水稻每天自土壤中吸收 1 毫克左右的氮素，根系微生物的产量高达每克鮮根有 100 多万个細胞；在插秧前与开花后每天吸收氮素的強度比孕穗期低 70—80 倍，

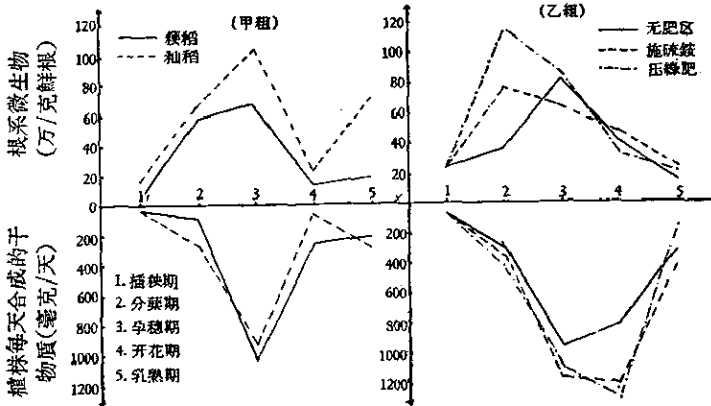


图1 根系微生物数量与水稻植株生长速度的比较

菌数的变化也有类似的趋势(图3)。

在水稻不同生长发育阶段中,我们分析了水稻土壤中的氨态氮、可溶性磷与氧化还原电位的变化,结果见表2。土壤中氨态氮在分蘖时最多,以后下降,孕穗期最少,在后期回升的幅度不大。可溶性磷在整个生长期间无多大变化,后期略有升高。若从水稻生长发育阶段来分析,则看不出水稻根系微生物数量与水稻土中氨态氮和可溶性磷变化的一致性。这主要是由于可

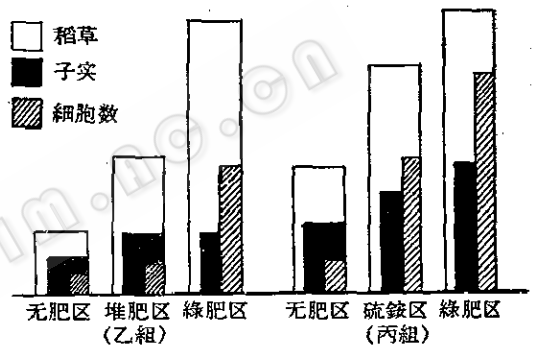


图2 水稻产量与根系微生物数量的比较

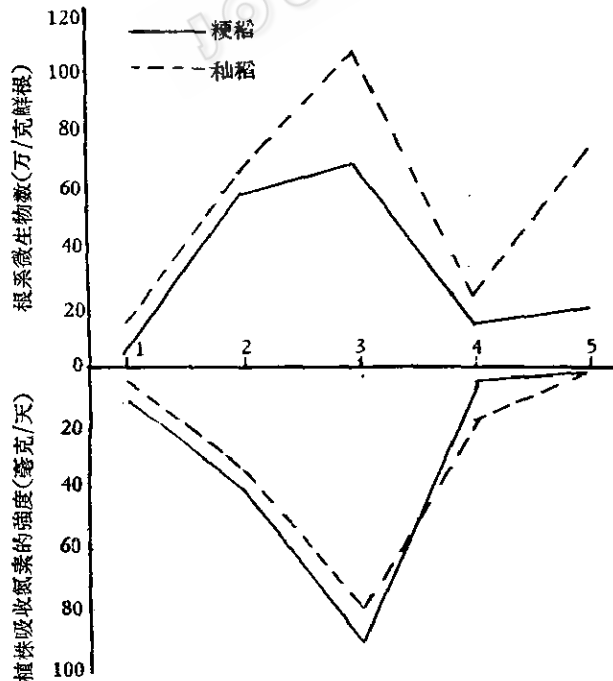


图3 水稻吸收氮素营养的强度与根系微生物数量的比较

溶性养分的积累取决于生成的速度与消耗的速度,只有在生成多、消耗少的情况下才能积累一定数量的可溶性养分,而根系微生物的数量却取决于植物的生长与根部分泌物的质与量。但是,土壤肥力的高低对水稻根系微生物数量有明显的影 响,由于施肥的关系,在丙组试验压绿肥的处理中可溶性氨比其他两处理高,根系微生物的数量也是如此(图4);在甲组试验中秈稻区的可溶性氨和磷总是高于粳稻区,根系微生物的数量也有同样的变化趋势。

灌水插秧后,水稻土壤中的氧化还原电位迅速降低, Eh 值从400毫伏特降到 100 毫伏特左右,孕穗

表 2 水稻土壤中氨态氮、可溶性磷与氧化还原电位的分析结果

試驗組別	田間处理	分析項目(单位)	水 稻 生 长 期				
			插秧期	分蘖期	孕穗期	开花期	乳熟期
甲 組	粳 稻	NH ₄ -N (毫克/100克干土)	—	0.122	0.047	0.073	0.066
		P ₂ O ₅ (毫克/100克干土)	—	5.02	4.46	4.16	6.46
		Eh (毫伏特)	425	153	357	208	137
	籼 稻	NH ₄ -N (毫克/100克干土)	—	0.135	0.059	0.100	0.083
		P ₂ O ₅ (毫克/100克干土)	—	4.58	4.97	5.70	7.74
		Eh (毫伏特)	442	167	327	156	124
丙 組	无肥区	NH ₄ -N (毫克/100克干土)	0.036	0.091	0.040	0.055	0.051
		P ₂ O ₅ (毫克/100克干土)	5.42	7.50	6.36	6.63	6.08
		Eh (毫伏特)	360	132	135	103	99
	施硫酸	NH ₄ -N (毫克/100克干土)	0.068	0.107	0.078	0.064	0.045
		P ₂ O ₅ (毫克/100克干土)	5.72	6.22	10.19	9.38	9.10
		Eh (毫伏特)	200	122	156	137	88
	压綠肥	NH ₄ -N (毫克/100克干土)	0.152	0.099	0.067	0.061	0.045
		P ₂ O ₅ (毫克/100克干土)	6.62	8.05	8.69	10.49	8.89
		Eh (毫伏特)	269	85	107	101	93

注：“Eh”为氧化还原电位。Eh 值系 0—5, 5—15 厘米土层分层测定的平均值。

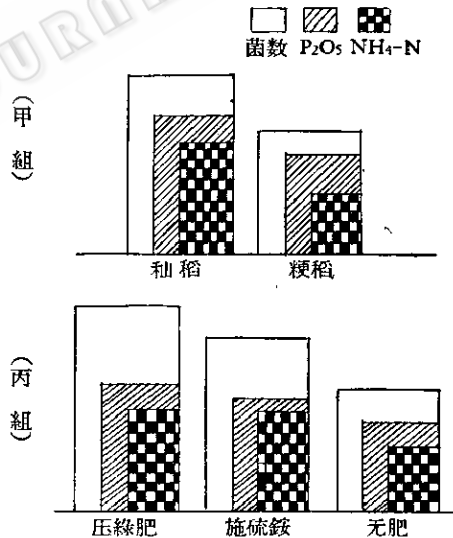


图 4 水稻根系微生物数量与土壤中可溶性养分平均量的比较

期回升到 200 毫伏特，后期又降到 100 毫伏特上下。压綠肥和施堆肥区土壤中的氧化还原电位比无肥区低。稻田土壤中氧化还原电位的这种变化主要是受灌水、施肥和水稻生长阶段的影响。水稻根系微生物的数量变化与水稻土的氧化还原状态无明显关系，因为水稻根系分泌的氧气，“在水稻根系周围 3—5 毫米的区域内……具有氧化的特性”^[7]。

四、水稻根系优势细菌的主要特性

我們从田间和盆栽的水稻根系中分离和描述了 134 株微生物,其中绝大部分是细菌,只有 2 株酵母菌和 2 株真菌,将其中 37 株经常出现和数量高的优势细菌进行了形态和生理的鉴定,根据克拉西里尼可夫的分类法进行了初步的分类,并给了适当的名称,主要有下列 3 组:

第 1 组 有芽孢的粗壮杆菌,细胞大小为 0.8—5 微米、宽为 0.6—1.2 微米,周生鞭毛,革兰氏阳性,大多数菌株能水解明胶,不还原硝酸盐,不分解纤维,在肉汁和其他有机氮素培养基中生长良好,它们在水稻幼苗期(插秧期)很少在根系中出现,但在分蘖和孕穗期占优势,大都属于芽孢杆菌属中的不同种,主要有:

1. *Bac. subtilis* 2 株(菌株 15, 75)。
2. *Bac. mesentericus* 共 4 株(菌株 23, 24, 38, 83)。
3. *Bac. mycoides* 共 2 株(菌株 27, 76)。
4. *Bac. cereus*, *Bac. leptodermis*, *Bac. zooglycicus*, *Bac. coprogenes* 与 *Bac. petasites* 等各 1 株。
5. *Bacillus* sp. 5 株(78, 92, 93, 104, 132)。

第 2 组 无芽孢细小杆菌,细胞长约 0.5—2.7 微米、宽约 0.6 微米,端生鞭毛,革兰氏染色阴性,使肉汁浑浊,生长良好,菌落无皱纹,灰白色或黄色,湿润而有光泽,它们都是假单胞菌属,其中主要有 9 种:

1. *Ps. radiobacter* (13)。
2. *Ps. pantotropha* (12)。
3. *Ps. liquefaciens* (2)。
4. *Ps. multistriata* (126)。
5. *Ps. dacunhae* (91)。
6. *Ps. maidis* (113)。
7. *Ps. salopium* (127)。
8. *Ps. cruciival* (102)。
9. *Ps. sinuosa* (51)。

第 3 组 属于这组的有酵母 2 株、八联球菌 2 株、霉菌 2 株,都不是优势菌株。

我們用分析根系的方法分析了水稻的种子,种子上的菌大都是圆球菌与巨大的染色不均的大杆菌,以及少数的酵母,这些菌在水稻根系中并没有发现过。因此,我们认为水稻根系微生物来源主要是土壤而不是种子。在水稻根系生活的土壤微生物在前期主要是第 2 组中的无孢子杆菌,在水稻生长中后期芽孢杆菌取得了优势,它们的组成变化见表 3。

绝大部分水稻根系微生物菌株都能很好地利用葡萄糖、蔗糖、麦芽糖、甘油与柠檬酸盐;在甘露醇与半乳糖中也能生长;少数的菌株能利用淀粉;所有的实验菌株都不能利用纤维作为碳源。

所有实验菌株都能很好地利用肉汁、蛋白胨、天门冬素等有机含氮物质作为氮源;在氨盐和硝酸盐的培养基中生长不良。

表 3 芽孢桿菌与無芽孢桿菌在水稻不同生長期間的組成比 (%)

分析时期,地点	菌 別	水 稻 生 长 期				
		幼 苗 期	分 蘗 期	孕 穗 期	开 花 期	乳 熟 期
1956 年盆栽	无芽孢杆菌	83	17	3	1	—
	芽孢杆菌	17	83	97	99	—
1957年大田甲組	无芽孢杆菌	100	50	30	65	65
	芽孢杆菌	0	50	70	35	35
1957年大田乙組	无芽孢杆菌	100	34	41	46	43
	芽孢杆菌	0	66	59	54	57

表 4 水稻优势根系細菌的氨化能力

处 理 項 目 菌株名称	C:N = 10:1				C:N = 3.33:1	
	每 100 毫升中 消耗的葡萄糖 (毫克)	每 100 毫升 菌液中的氮 (毫克)	消耗 1 克葡萄 糖所积累的氮 (毫克)	氨化强度 (%)	每 100 毫升 菌液中的氮 (毫克)	氨化强度 (%)
<i>Bac. subtilis</i> (75)	2140	3.0	1.40	2.0	21.3	14.2
<i>Bac. mesentericus</i> (38)	1880	1.5	0.79	1.0	20.4	13.6
<i>Bac. mycoides</i> (27)	0	1.5	—	1.0	43.5	29.1
<i>Bac. mycoides</i> (78)	135	3.0	22.21	2.0	19.6	13.1
<i>Bac. mycoides</i> (92)	200	0	0	0	27.7	16.5
<i>Bac. mycoides</i> (93)	250	1.5	6.00	1.0	17.0	11.3
<i>Bac. mycoides</i> (104)	470	0	0	0	25.2	16.7
<i>Bac. mycoides</i> (132)	420	0	0	0	20.4	13.6
<i>Bac. cereus</i> (33)	100	1.5	15.00	1.0	25.5	17.0
<i>Bac. zooglycicus</i> (17)	2300	0	0	0	17.9	12.0
<i>Bac. petasites</i> (95)	450	1.5	3.30	1.0	22.9	15.3
<i>Ps. liquefaciens</i> (2)	350	0	0	0	24.4	16.3
<i>Ps. maidis</i> (113)	2500	5.5	2.18	3.7	19.6	13.1
<i>Ps. salopium</i> (127)	1500	0	0	0	21.3	14.2
<i>Ps. sinuosa</i> (51)	420	0	0	0	20.4	13.6

我們测定了15种优势細菌的氨化强度(表4)。在 C:N = 3.33:1 的情况下所有实验菌株都能积累大量的氨,培养基中的 13.1—29.1% 氮素被轉化成氨;在 C:N = 10:1 的情况下氨化的能力显著降低,其中 8 株完全没有积累氨,另外的 7 株氨化强度降到了1—2%。主要是由于构成細胞組織的 C:N 与培养基中的 C:N 不同,因此,在第 2 組中由于碳素較少,菌株的生命活动不需要过多的氮素,氨的积累就多;在第 1 組中由于葡萄糖的加入使蛋白胨中的氮素因碳素的同化而使氨的积累减少。因此不难推想:同一种氨化能力強的微生物,如果处于不同的 C:N 的情况下其氨化作用的强度是不同的。

固氮菌在水稻根际土壤中能旺盛生长,但是,無論在田間或盆栽中的水稻根系上没有发现过固氮菌 (*Az. chroococcum*)。为了探索固氮菌在水稻根系中消失的原因,曾試驗了水稻根系优势細菌与固氮菌 (*Az. chroococcum*) 的拮抗作用。固氮菌种来自水稻田中与小麦地中。我們测定了 30 株优势根系細菌,其中有 25 株与固氮菌有拮抗作用。

看来,固氮菌不能在水稻根系上生长的原因主要是由于优势根表细菌的抑制作用,不过这种抑制作用只限于在水稻的根系上。在根区土壤中固氮菌能旺盛生长发育。

五、結 論

水稻根系微生物的数量比一般旱生作物少,数量的高低与水稻生长发育阶段有密切的关系,在分蘖、孕穗期数量较多,开花期数量最少,以后也没有显著升高,初步看来,直接影响水稻根系微生物数量变化的原因是水稻植株在不同生长发育阶段的生理特性;其他如土壤、营养条件等也能影响根系微生物数量的变化。

水稻根系微生物的主要组成是芽孢杆菌,它们在水稻的生长中期占优势;其次是假单胞菌,它们在水稻生长前期占绝对优势;也有少量的酵母、八联球菌等。水稻根系微生物的主要来源是水稻土壤而不是水稻种子。

大部分水稻优势根系微生物具有很强的氨化能力,没有分解纤维和还原硝酸盐的能力;大部分优势根系细菌能抑制固氮菌的生长,这可能是后者在水稻根系中消失的原因。

参 考 文 献

- [1] Березова, Б. Ф.: *Диссертация Б-ка ТСХА*, 1950.
- [2] Возняковская, Ю. М., Жильцова, Г. К.: *Микробиология*, 27(5): 611, 1958.
- [3] Жуковская, П. Н., Тешер, Е. З.: *Труды ТСХА*, В—41, 1949.
- [4] Красильников, Н. А.: *Микробиология*, 3(3):340, 1934.
- [5] Красильников, Н. А.: *Ж. Химизация соц. земледелия*, № 7, 1940.
- [6] Красильников, Н. А., Крисс, А. Е. и Литвинов, М. А.: *Микробиология*, 5 (2):87, 1936.
- [7] Масковцев, М. Ф.: *Труды цент. опыт. рисовой станции НКЗ СССР*, В—6, 1934.
- [8] Федоров, М. В. и Непомилуев, В. Ф.: *Микробиология*, 23(4):431, 1954.
- [9] Федоров, М. В., Понтош, Д.: *Микробиология*, 27(6):714, 1958.
- [10] Худяков, Я. П., Возняковская, Ю. М.: *Микробиология*, 25(2):184, 1956.

ОСНОВНАЯ СПЕЦИФИКА КОРНЕВОЙ МИКРОФЛОРЫ РИСА

Чэнь Цзы-ин

(Лаборатория с.-х. микробиологии Института почвоведения и удобрения АСХН КНР, Пекин)

Количество корневой микрофлоры у риса значительно меньше, чем у суходольных растений. Оно изменяется по фазам развития растения, агротехническим фазам и по почвенным условиям. Корневая микрофлора риса представляет собой спороносные бактерии, большинство которых наблюдается в период от фазы кушения до фазы созревания. Неспороносные бактерии, относящиеся к *Pseudomonas*, имеются в значительном количестве в фазе распада. Источником корневой микрофлоры риса является почвенная микрофлора, а не эпифитная микрофлора семян.

Корневая микрофлора риса обладает высокой аммонифицирующей способностью. Она не способна восстанавливать нитраты и использовать клетчатку. Она угнетает развитие *Az. chroococcum*, и, возможно, вытесняет последних из состава корневой микрофлоры риса.