

礦化有機磷化物的磷細菌

P. A. 蒙基娜

土壤有機質中的磷素必須經過礦化並成爲可溶性狀態時，才能被作物吸收利用。本文介紹如何從有機土壤及微灰化土壤中，分離的細菌可以礦化有機磷素。用選擇的培養基，以卵磷脂 (лецитин) 或核酸 (Нуклеиновая Кислота) 作爲磷素的來源，用威諾格拉斯基 (Виноградский) 矽酸膠的選擇分離，所得菌種經形態和生理特性的鑑定，並通過礦化磷素接種試驗證明，是強度礦化有機磷——卵磷脂或核酸——的磷細菌。分述如下：

(一) 磷細菌的分離和鑑定

1. 培養基的備製——選擇培養基

$(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$	0.5 克
NaCl	0.3 克
KCl	0.3 克
MgSO_4	0.3 克
CaCO_3	5.0 克
FeSO_4	微量
MnSO_4	微量
葡萄糖	10.0 克
水	1,000 毫升

pH 7.0—7.5

將上述培養液 3—5 毫升，加入相當 5 毫克 P_2O_5 之卵磷脂（預溶於 96% 酒精中）或核酸於威諾格拉斯基氏矽酸膠中，高壓殺菌 0.5—1.0 氣壓 20 分鐘。

2. 接種和分離

- (1) 黑土——Каменштейн 試驗場的土壤，pH 接近 6.9。
- (2) 低窪的泥炭土——明斯克 (Минск) 農業研究所沼澤土，pH 接近 6.0。
- (3) 微灰化土——列寧格勒附近的土壤，pH 接近 6.0。

用少量土壤分別接種於上述的選擇的培養基上，保溫 27—34°C，數日後，呈

現出單個的、有粘液的、有延展性的菌落。分別移接於上述培養液的瓊膠斜面上，進行純化，繼續培養。

3. 菌種特性的鑑定

將純化的菌種，根據其形態的和生理的特性歸納為兩個類型：

(1) 從黑土中及低窪泥炭土中選擇分離的純菌以菌種 No. 2, No. 6, No. 7 名之，鑑定如下：

a. 產生孢子 ($1.2 \mu \times 0.7 \mu$)，格蘭氏染色為正體。

6. 較大的橢圓形的桿菌 ($2.6 \sim 6 \mu \times 1.8 \mu$)，生長初期細胞兩端呈圓形、單個的、有厚膜及顆粒狀原形質，有緩慢的活動力。老的細胞一端成尖形，成為圓錐形的細胞，不能活動，成雙的。

B. 需氧性，在很多培養基上進行劃綫培養，生長很好；最適溫度為 37°C 。

r. 液化明膠，穿刺培養 2—3 天後分層生長，形成漏斗狀。

u. 在蛋白胨培養基中，產生少量黃褐色沉澱，培養基不混濁；不產生 H_2S ， NH_3 及淀粉質。

e. 在石蕊牛乳培養液內，呈強酸反應，胰化蛋白質。

ë. 在葡萄糖、蔗糖、乳糖、麥芽糖、單乳糖等合成培養基內，均產酸，不產氣。

ж. 在含 KNO_3 的合成培養基中，生長不佳， NO_3^- 被還原。

3. 培養在馬鈴薯上，初為淺白色，漸呈褐色。

и. 在肉羹瓊膠 (M. П. A.) 和含有有機磷的選擇培養基的瓊膠上，形成淺白色的全緣的菌落，漸呈褐色，但培養基不變色。培養基內如有 CaCO_3 ，則菌落外圍變清，(產酸後溶解 CaCO_3)。

根據以上的特性，此類型的細菌與 *Bacillus megatherium* 相似，但是後者礦化有機磷素的能力很弱。這種分離的細菌類型，可稱為 *Bacillus megatherium* var. *phosphoticum*。

(2) 從灰化土中選擇分離的純菌以菌種 K 名之，鑑定如下：

a. 不產生孢子，格蘭氏染色為負體。

6. 兼有需氧性的細菌，劃綫培養生長得很好，在含有甘油或不含甘油的 M. П. A. 培養基上，劃綫培養，生成為發光的帶，並呈玫瑰色。最適溫度為 27°C 。

B. 較小的桿菌 ($1.8 \sim 2 \mu \times 0.5 \sim 0.7 \mu$)，細胞兩端呈圓形。單獨或成雙存在。

r. 非液化明膠，在肉羹明膠培養基上，菌落為圓形，細小，有黏液，帶有玫

瑰色。

д. 在馬鈴薯培養基上，生長微弱。

е. 在肉羹培養基中（加葡萄糖或不加葡萄糖），成微濁，有白色沉澱於底部，在表面成環狀。

ё. 在石蕊牛乳培養液中，呈鹼性，胰化蛋白質。

ж. 在碳水化合物的合成培養基中，產氣，不產酸。

з. 在肉羹瓊膠和在含有有機磷的選擇培養基上，形成全緣，突起，有光澤的菌落，漸呈淡玫瑰色，與具有圓形孢子組有區別的是，它在選擇培養基上，有 CaCO_3 存在時，菌落沒有澄清的外圈（不產酸，不能溶解 CaCO_3 ）。

и. 在含有 KNO_3 的合成培養基中，生長微弱， NO_3^- 被還原。

к. 分解脂肪，酪酸甘油酯（Трибутирин）及植物油。

根據以上特性，此類型的細菌與 *Serratia Corallina* 相似，可稱為 *Serratia var. phosphaticum*。

（二）由土壤中分離的磷細菌礦化卵磷脂和核酸

為了測定磷細菌礦化有機磷的能力，不能直接應用把細菌培養在瓊膠培養基上，來測定被解放了的磷酸的數量，因為不管用任何精確的方法洗滌，總有相當大數量的磷酸，被瓊膠所吸着。

應用以下的方法來測定磷細菌礦化有機磷的能力，將細沙用鹽酸洗滌，然後洗淨鹽酸，烘乾，加入上述培養液，使水分為飽含蓄水量的50—60%。分裝於250毫升錐形瓶中，每瓶75克，加入相當5毫克 P_2O_5 的卵磷脂或核酸，殺菌後接種分離的純菌種，保溫27—34°C，三、四星期後測定瓶中被礦化的磷素。其結果如表1。

表1 磷細菌對卵磷脂及核酸礦化的能力

	礦化卵磷脂後的 P_2O_5		礦化核酸後的 P_2O_5	
	毫 克	%	毫 克	%
對 照	0	0	微 量	微 量
菌種 NO.2	2.50	50	4.07	81
菌種 NO.6	1.59	31	4.01	80
菌種 NO.7	0.48	17	4.30	86
菌種 K	2.50	50	1.14	22

註：1. 每瓶內原有相當5毫克 P_2O_5 的卵磷脂或核酸。

2. 核酸經過高壓殺菌後，有部分礦化為 P_2O_5 。

以上結果說明不同菌種，在礦化不同有機化物的情況，菌種 No. 2 礦化卵磷脂和核酸的能力都很強，菌種 K 則在礦化卵磷脂時為強，礦化核酸的能力較弱。

在另一個試驗是不加葡萄糖於上述培養液中，各種菌種礦化有機磷化合物——卵磷脂或核酸——的能力，除 No. 7 在核酸中，減低為 66%（在有葡萄糖培養液中為 86%）外，其他與上表結果基本上無差別。

(三) 磷細菌和作物

為了測定所分離的純種磷細菌，在植物利用磷的有機化合物的 P_2O_5 的作用，進行以下的盆栽試驗：

將細沙灼燒，用鹽酸洗滌，然後用水洗淨鹽酸，烘乾後加入選擇培養液將沙浸透，每盆加相當 213 毫克 P_2O_5 的卵磷脂或核酸，並加石灰，調整 pH 到 6.8—7.0。殺菌後，播種消毒的蕎麥種子，一部分盆中接種所分離的各種磷細菌；另一部分盆中不接種磷細菌，作為對照。試驗有十個重複。結果如下表。

表 2 磷細菌礦化有機化合物的磷，在植物的磷的營養上的影響：

	加 卵 磷 脂 盆					加 核 酸 盆				
	乾 物 重		種 籽 重		作物全 磷 量 (毫克)	乾 物 重		種 籽 重		作物全 磷 量 (毫克)
	克	%	克	%		克	%	克	%	
對照 (不接種)	0.45	100	0.085	100	0.86	5.12	100	2.60	100	28.75
接種菌種 No. 2	1.60	355	0.80	941	10.49	8.30	162	4.28	165	50.25
接種菌種 K	1.54	342	0.64	753	9.85	7.54	148	3.54	136	46.84

以上的結果與表 1 頗相符合，由於觀察，於出芽不久在發育上即可看出，經過磷細菌接種的作物，都得到正常的發育，開花結實，對照盆中的植物細小，很少發育，具有黃色的小葉和褐紅色的莖。核酸經過高壓殺菌後，有部分磷素礦化，故在對照盆的蕎麥的生長仍能維持一定程度的發育（比較卵磷脂的對照盆仍較好），但是仍然表現磷素不足的現象。試驗中說明了作物不能直接利用有機磷化合物——卵磷脂和核酸，菌種 No. 2 礦化有機磷的能力很強，並且也說明了，由於參加試驗的細菌，活潑的礦化有機化合物的磷，不僅是保證了本身的營養和發育所需要的磷，而且也用磷營養了植物，提高了植物的產量。

(陳淑筠節譯自蘇聯“微生物學”1950年4月號)