

# 水稻土微生物区系的研究

## II. 稻田灌水前灌水後細菌区系的研究

黄 隆 广

(中国科学院土壤研究所)

前一部分工作<sup>[1]</sup>, 说明了稻田灌水前后各微生物羣变化的情况; 从材料中可以看出, 細菌数量在任何时期都較其他微生物为多, 我們的資料, 細菌約占微生物总数(細菌、真菌、放綫菌) 89—97%。因此, 进一步研究在灌水前后不同时期的細菌区系, 无疑地在理論上和实践上都具有一定的意义。

本文是繼續前报的工作, 对稻田灌水前后的細菌作进一步研究。

### 一、研究材料和方法

本工作在华东农业科学研究所水稻綠肥試驗区进行, 土壤情况前报已有說明。

灌水前后土壤样品采集作細菌分离, 分为四个时期:

(1) 灌水前。試驗地在5月25日开始灌水, 在灌水前1天(5月24日)采土, 进行細菌的分离, 土壤含水量为23.38%。

(2) 灌水后。为了选择具有代表性的时期, 首先我們測定在灌水后細菌数量的变化, 在测数过程并进行細菌菌落的形态和显微镜菌体的观察。只有正确掌握它們的繁殖規律后, 才有可能确定一个較适合的时期。

工作的結果(表1)指出, 在灌水影响下, 灌水第1天直至第5天, 細菌数量迅速減少,

第6天、第7天稍又增加, 第8天、第9天、第10天又复減少。第6、第7两天按照我們的观察, 在量和質上已反映了組成的改变, 說明了适于灌水后新环境的細菌便开始繁殖, 我們就确定灌水后第6天进行細菌分离。

(3) 烤田。水稻栽培过程, 其中有一段时期排水放干, 所謂“烤田”。本試驗地7月18日开始放水烤田, 7月25日又重行灌水, 在灌水前1小时进行了細菌分离。土壤情况: 从外表观察有裂縫, 人站立其上, 土壤不下陷, 有脚印。土壤含水量28.3%。

(4) 烤田后灌水40天, 水稻进入糊熟时

期, 土壤淹水時間較长。

細菌分离: 用平面稀释法。选择在稀释度高的培养皿中出現的菌落, 作为占优势的种类来研究, 整个培养皿的菌落尽力全部分离(部分小菌落經分离后, 不能生长者, 拚弃)。

表1 灌水前后細菌数量的变化

天 数	細菌数量(1000/1克干土)		
	(1956年)	(1957年)	
灌水前 1	24,600	21,874	
灌水后	1	9,060	
	2	11,000	
	5	9,090	
	6	21,100	
	7	21,300	
	8	7,270	
	9	11,900	
	10	12,980	
		7,626	11,336
		8,120	16,608
	14,848	13,220	
	7,069	9,874	

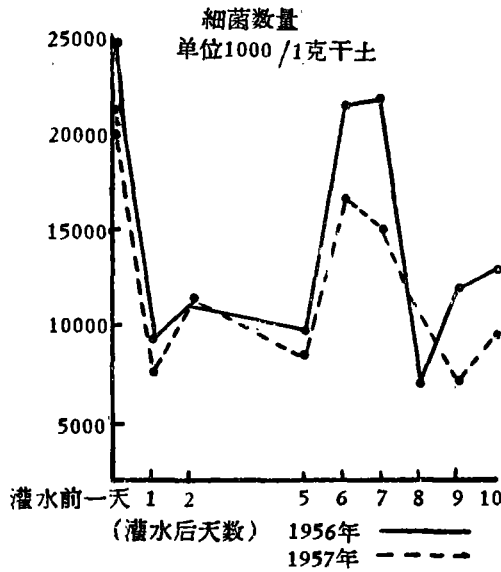


图1 灌水后細菌数量变化

培养基：肉膏蛋白胨琼脂。

細菌鑑定：根据 S. A. B. 細菌純培养研究手册和細菌鑑定手册<sup>[2,3]</sup>。

## 二、結果和討論

### (一)細菌的組成

灌水前分离到 49 株，其中芽孢桿菌 35 株，无芽孢桿菌 13 株，球菌 1 株。芽孢桿菌成为占优势的类羣，占 71.4%。

从表 2 可知，灌水前占优势的細菌，芽孢桿菌以 *Bac. Sp. C3* 占总数 44.9%，次为 *Bac. Sp. C20* 占 6.12%；无芽孢桿菌以 *Ps. denitrificans* 占 6.12%。

灌水后，在灌水的影响下，細菌組成明显的起了变化，无芽孢桿菌成为最优势的类羣，共分离 49 株，其中 33 株是无芽孢桿菌，占 67.3%；芽孢桿菌 7 株，与灌水前比較大大減少，由 71.4% 降低到 14.2%；球菌相对有些增加，有 9 株。

其成份如表 3。

材料指出，灌水后，无芽孢桿菌种类有所增多，有 *Ps. denitrificans*、*Ps. fluorescens*、D24 号以及其他不同的

表 2 灌水前細菌組成

細菌种类	株数	占49株中的百分数
芽孢桿菌		
<i>Bac. Sp. C3</i>	22	44.9
<i>Bac. Sp. C20</i>	3	6.12
<i>Bac. subtilis</i>	2	4.0
<i>Bac. Sp. C59</i>	2	4.0
<i>Bac. Sp. G20</i>	2	4.0
<i>Bac. cereus</i>	1	2.0
<i>Bac. mycoides</i>	1	2.0
<i>Bac. pumilis</i>	1	2.0
<i>Bac. Sp. C48</i>	1	2.0
无芽孢桿菌		
<i>Ps. denitrificans</i>	3	6.12
<i>Ps. fluorescens</i>	1	2.0
<i>Ps. putrefaciens</i>	1	2.0
<i>Achro. liquefaciens</i>	1	2.0
其他不同的細菌种类共計	7	14.2
球菌		
<i>Micrococcus Sp.</i>	1	2.0

24 株无芽孢桿菌。芽孢桿菌完全为 *Bac. Sp. C3*。

烤田,共分离13株。无芽孢桿菌又变为显著减少,仅有 2 株,与灌水后比较,由 67.3%

表 3 稻田土壤灌水后細菌組成

細菌种类	株数	在 49 株中 百分数
芽孢桿菌		
<i>Bac. Sp. C3</i>	7	14.2
无芽孢桿菌		
<i>Ps. denitrificans</i>	2	4.0
<i>Ps. fluorescens</i>	2	4.0
D24	3	6.12
D19	2	4.0
其他不同的細菌种类共計	24	48.9
球菌	9	18.3

降低到 15.3%；芽孢桿菌在此时期又成为占优势的类羣,有 11 株,占总数 84.6%，較灌水前增加 13.2%，而其中 *Bac. Sp. C3* 占 46.1%。結果列表 4。

烤田后灌水 40 天,这个时期芽孢桿菌仍为优势的类羣。在 22 株中有 16 株为芽孢桿菌,占 72.7%，其中 *Bac. Sp. C3* 和 *Bac. Sp. G7* 各占 18%，*Bac. Sp. G32* 占 13.6%。无芽孢桿菌 4 株,占 18%。从百分組成

言,較灌水前减少 8.5%，較烤田期增高 2.7%。結果整理如表 5。

表 4 稻田土壤烤田期細菌組成

細菌种类	株数	在 13 株中 百分数
芽孢桿菌		
<i>Bac. Sp. C3</i>	6	46.1
<i>Bac. Subtilis</i>	2	15.3
<i>Bac. mycoides</i>	1	7.7
其他	2	15.3
无芽孢桿菌		
<i>Ps. denitrificans</i>	1	7.7
F17	1	7.7

表 5 稻田土壤烤田后灌水期細菌組成

細菌种类	株数	在 22 株中 百分数
芽孢桿菌		
<i>Bac. Sp. C3</i>	4	18.0
<i>Bac. Sp. G7</i>	4	18.0
<i>Bac. Sp. G32</i>	3	13.6
<i>Bac. Sp. G31</i>	2	9.0
其他 <i>Bac. Sp.</i>	3	13.6
无芽孢桿菌	4	18.0
<i>Micrococcus flavus</i>	2	9.0

从上面的結果,显然的,在灌水前后不同时期細菌組成在量和質的方面都有明显的不同。值得注意的是：*Bac. Sp. C3* 在各个时期都經常出現,只是在量方面有所差异。

現在,我們將几种主要的細菌,其生理性狀和培养特征用表 6 列出。

表 6 指出：*Bac. Sp. C3* 与其他的細菌,在許多生理性狀上有明显不同。它能利用鉍盐、硝酸盐、尿素,并能腴化牛奶,液化明胶,产生  $H_2S$ ；在碳源上,葡萄糖、蔗糖、乳糖、甘露醇都能产酸,并能水解淀粉,利用檸檬酸盐。在不同时期共分离到不同的菌株 68 株,其余 67 株都没有这样的特点。因此,我們认为,在稻田土壤中,它是值得注意和进一步研究的細菌之一。

## (二)芽孢桿菌在土壤中的状态

从上面的材料,芽孢桿菌在灌水前、烤田期、烤田后灌水 40 天都占优势。它們在土壤中是以什么状态存在的呢？是孢子,还是营养型細胞？即是說,它們在土壤中是否是活跃的状态,这是值得注意的問題。针对这样的目的,我們进行以下的試驗。

用新鮮土壤和經過风干的土壤制成一系列的稀釋悬液,悬液在 80℃ 的温度下,处理 15 分钟,后用平面法測定芽孢細菌的数量。

新鮮土經過这样的温度处理后,土壤中的营养型細胞便死亡,存活的便是芽孢型的

表 6 几种主要細菌的生理性狀和培养特徵

菌 号	菌体形态	革兰氏染色	肉汁生长情况			馬鈴薯面		牛肉膏蛋白胨琼脂			牛奶試驗		
			表面生长	混浊	沉淀	生长情况	顏色	菌落形态(培养 48 小时)	斜面顏色(老菌株)	凝固	胰化	变酸	
Bac. Sp. C3	菌体1.8×0.8μ 孢子橢圓	+	-	+	+	+++	泥褐黃	干燥,湿润,黄色	暗 褐	+	+	+	
Bac. Sp. C20	菌体0.6×2.0μ 孢子橢圓	+	-	-	+	+++	鹿毛	干燥,不圓整,白	灰 白	+	+	+	
Bac. Sp. G31	菌体0.6×1.6μ 孢子梭状	-	-	+	+	-	-	湿润,不圓整,白	浅 白	-	+	+	
Bac. Sp. G32	菌体1.2×1.6μ 孢子橢圓	+	+	+	+	+++	污褐	湿润,不圓整,淡黃	赭 色	+	+	+	
Bac. Sp. G7	孢子較小	-	-	+	+	-	-	湿润,不圓整,橙黃	橙 黃	-	+	+	

菌 号	明胶液化	铵盐利用	硝酸盐还原	硝酸盐利用	吲哚产生	H <sub>2</sub> S 产生	V. P.	尿素利用	葡萄糖变酸	蔗糖变酸	乳糖变酸	淀粉水解	甘露蜜醇	檸檬酸盐利用
Bac. sp. G3	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Bac. sp. C20	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
Bac. sp. G31	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+
Bac. sp. G32	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Bac. sp. G7	+	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	-	-

注：顏色——根据 A. C. Бондарцев 著的色譜(苏联科学出版社)

細菌。

风干土在风干过程中,芽孢細菌的营养型細胞即轉变为芽孢,因此,經過高温处理后,存活的包括芽孢型的細菌和营养型細胞轉入芽孢型的細菌。

試驗結果列表 7：

表 7

单位:1000/-克干土

土 壤 情 况	风干土(孢子型細胞+营养型細胞)	新 鮮 土(孢子型細胞)	孢子型細胞/孢子型細胞+营养型細胞%
灌 水 前	30.9	22.4	72.5
灌 水 后 6 天	22.7	11.7	51.5
水 稻 分 蘗(蓄水)施(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 后 3 日(7月5日)	96.8	23.6	24.4
烤 田	31.2	28.0	89.7
孕 穗(蓄水)施(NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 后 10 日(8月8日)	840.0	22.0	2.6
烤 田 后 灌 水 40 天	42.8	35.5	82.9

从表 7 中反映出：稻田灌排措施和水稻栽培过程影响着芽孢細菌存在的状态,烤田时,芽孢細菌都是芽孢状态;施肥后芽孢細菌都是以营养型細胞状态存在。

應該指出：芽孢細菌的孢子型細胞和营养型細胞是不可分割的联系着,土壤是經常变化的基質,它們亦是随着外界条件的变化而互相轉化。

(三)細菌区系和鉄的轉化

水稻土鉄的移动,曾引起許多研究者的注意。我們將分离到的純菌株,分別进行高鉄

的还原試驗。用 Bromfield<sup>[1]</sup> 的 A 号培养基(成份—— $K_2HPO_4$  0.05 克,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  0.02 克,  $(NH_4)_2SO_4$  0.1 克, 蔗糖 0.5 克,  $CaCO_3$  0.5 克, 酵母粉 0.015 克,  $Fe(OH)_3$  0.05 克, 蒸餾水 100 毫升), 接种后, 在 28°C 下培养二星期, 用 1%  $\alpha\alpha'$ -dipyridyl 的 10% 醋酸試剂檢驗, 如有紅色呈現, 即說明有亚鉄的存在。

試驗的結果列表 8:

表 8

土 壤 情 况	試 驗 菌 株 数	能还原 $Fe^{+++}$ 的細菌	
		株 数	%
灌 水 前	49	44	89.8
灌 水 后 6 天	49	26	53.0
烤 田	13	12	92.3
烤 田 后 灌 水	22	20	90.9

由表 8 可知, 高鉄还原成低鉄, 微生物是起着一定的作用。能够还原高鉄的細菌, 在灌水前后不同时期, 占細菌总数的 53—92.3%。就細菌的成分言, 一共分离到不同的菌种 68 株, 其中有 44 株有还原高鉄的能力, 占 64.7%。显然, 在稻田中高鉄的还原过程, 絕不可低估微生物的作用。

### 三、結 論

1. 稻田的灌排措施, 密切地影响着細菌区系組成的变化。材料指出, 灌水前后各个不同时期, 細菌区系都有它一定的量和质的对比关系。

2. 在这样的土壤条件下, *Bac. Sp. C3* 是占优势的細菌之一。在各个不同时期, 不同程度地經常出現, 它与其他細菌有明显的不同。

3. 水稻栽培过程和稻田灌排措施, 影响着芽孢桿菌在土壤中存在的状态。烤田期都是芽孢状态, 施肥后, 都是营养型的細胞状态存在。

4. 在稻田中高鉄还原过程微生物起着一定的作用。在灌水前后各个不同时期, 能够还原高鉄的細菌, 占細菌总数的 53—92.3%。就細菌的成分言, 一共分离不同的菌种 68 株, 其中 44 株有还原高鉄的能力。

### 参 考 文 献

- [1] 黄隆广: 南京稻田土壤耕作层微生物动态的觀察。土壤通报 2 期, 1958。
- [2] S. A. B.: Manual of methods for pure culture study of bacteria. 1948.
- [3] D. H. Bergey: Manual of determinative bacteriology. 1948.
- [4] S. M. Bromfield: The reduction of iron oxide by Bacteria Australian conference in Soil Sci. Vol. I, 1953.

## ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОФЛОРЫ В РИСОВОЙ ПОЧВЕ II. ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ФЛОРЫ ДО И ПОСЛЕ ОРОШЕНИЯ

Хуан Лун-гуан

(Почвенный институт АН Китая)

1. Мероприятие орошения и дренажа в рисовой почве влияют на изменение состава бактериальной флоры. Полученные материалы показывают, что в разных периодах до и после орошения между количественным и качественным составами бактериальной флоры существует определённое соотношение.

2. При такой же почве в бактериях преобладают *vas. sp. C3*. В разных периодах в разной степени часто появляется ясное отличие *vas. sp. C3* от других бактерий.

3. Процесс земледелия риса и мероприятия орошения и дренажа влияют на виды спороносных бактерий в почве, в "дренажно-сухой" периоде их большинство находится в почве в виде споры, а после внесения удобрения их—в виде вегетативных клеток.

4. Почвенный микроорганизм в железо-восстанавливающей процесс рисовой почвы играет определённую роль. В разных периодах до и после орошения производящие железо-восстанавливающие бактерии приходится 53—92.3% от всего бактериального населения, а по компонентам, выделяющиеся из почвы бактерии в разных периодах всего только 68 культур, а среди них оказывается железо-восстанавливающая способность у 44 культур.