

不同基因型小麦根际细菌及酶活性的动态研究*

李振高 潘映华 李良谟

(中国科学院南京土壤研究所, 210008)

摘 要

本文通过两种土壤、两种不同基因型小麦的盆栽模拟试验, 对与土壤氮素转化有关的根际细菌及酶活性等进行了动态研究。结果表明: 两种不同基因型的小麦根系对氨化细菌和反硝化细菌均有明显的根际效应, 但对自生固氮细菌则为负效应; 亚硝酸细菌差异不明显。两合土中菌数大于红砂土; 在红砂土中未发现自生固氮细菌。小麦根际土中菌数以宝丰 7228 大于郑引 1 号; 根际的优势细菌以革兰氏阴性杆菌为主, 常见的科、属有 *Enterobacteriaceae*、*Pseudomonas* 和 *Acinetobacter*; 此外, 还有 *Bacillus*。小麦根际土壤中硝酸还原酶活性以郑引 1 号 > 宝丰 7228; 还原 NO_3^- 为 N_2O 的酶活性在不同基因型间没有差异; 而根际、根外土壤间存在一定差异。就土壤类型而言, 还原 NO_3^- 为 N_2O 的酶活性以两合土 > 红砂土。在小麦扬花期前, 宝丰 7228 根际的脲酶活性 > 根外土壤; 郑引 1 号则相反; 在成熟期均以根外脲酶活性 > 根际土壤。两种不同基因型小麦根际土壤的硝化作用强度无差异。

关键词 根际微生物, 小麦基因型, 酶活性

根际是植物的根与土壤接触的微域环境, 也是土壤-根系-微生物三者紧密结合相互影响的场所。根际微生物在土壤植物营养物质与植物交换中, 可能起着“微生物膜”的作用¹⁾。多年来, 国内外许多研究者曾为之瞩目, 对禾本科、十字花科等植物根际微生物的数量、组成及 R/S 值的变化作过大量研究^{1-3, 9)}。但对与土壤氮素转化有关的不同基因型小麦根际细菌及酶活性等动态研究的报道至今罕见。本文对这方面进行了研究, 以期进一步探讨其消长规律、酶特性及其与氮素转化的关系。

一、材料与方 法

(一) 供试土壤: 河南封丘的两合土 (pH8.5) 和江西鹰潭的红砂土 (pH4.0)。

(二) 小麦基因型: 宝丰 7228 和郑引 1 号。

(三) 盆栽模拟试验: 在温室进行, 每盆钵装土 1.5kg, 并拌入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 1.18g, K_2HPO_4 0.8g 作为基肥, 适当加水, 保持其最大持水量的 60% 左右。盆钵中央放置 $10 \times 20\text{cm}$ 的尼龙绸袋, 袋中装满土。小麦种子催芽后播入其中, 每盆钵 4 粒。另设不种小麦的盆钵, 同样拌肥装土作为对照, 常规管

* 国家自然科学基金资助项目。

1) 张宪武, 1983: 中国土壤的合理利用和培肥, 中国土壤学会第五次代表大会暨学术年会论文集, 中册, 212-215。

理。

(四) 细菌的分离、测数与鉴定: 分别于小麦的拔节期、抽穗期和成熟期采样分离细菌。酶活性测定分别于小麦分蘖期、拔节期、孕穗期、抽穗期、扬花期和成熟期进行采样。尼龙绸袋中的土作为根际土; 袋外与盆钵间的土作为根外土; 另采不种麦的土为对照土。分离氨化细菌和自生固氮细菌分别用牛肉膏蛋白胨培养基和 Waksman 氏 77 号培养基进行稀释平板测数; 亚硝酸细菌用改良的 Stephensen 氏液体培养基, 以 MPN 法计数; 反硝化细菌用 KNO_3 牛肉膏蛋白胨培养基。上述具体方法详见文献 [3, 4, 10]。

(五) 酶活性和硝化强度分析: 1. 脲酶活性用 A. Ш. Галстян (1965) 改进的蒸馏法^[11]; 2. 硝酸还原酶 ($NO_3^- \rightarrow NO_2^-$) 活性用 2, 4-D 抑制法^[12]; 3. 硝酸还原为 N_2O 的酶活性用 SP-501 型气相色谱仪(具电子捕获鉴定器)测定^[6]; 4. 硝化强度用土壤培养法^[13]。

二、结果与讨论

(一) 小麦各主要生育期根际细菌的消长

从图 1 看出, 在两合土上不同基因型小麦的根际细菌出现的数量高峰均在抽穗期, 只是宝丰 7228 的细菌数高于郑引 1 号。成熟期菌数明显下降, 这与小麦根系的发育强度有密切关系。根系发育的旺盛时期, 同时也是根系分泌物数量增多时期, 大大刺激了根际细菌的繁育, 显示出明显的根际效应, 根际菌量大于根外; 种麦土壤的菌量显著大于不种麦者。但红砂土上不同基因型小麦在整个生长期, 随着生育期的发展, 菌量逐渐下降, 而对照土中菌量较少, 变化也较平稳(图 2), 其原因尚不清楚。以两种类型土壤作比较, 两合土中的氨化细菌、亚硝酸细菌和反硝化细菌等都大大高于红砂土(表 1)。特别是在红砂土中几乎没有亚硝酸细菌, 即使在小麦抽穗期, 其数量也极少。这与红砂土的肥力和 pH 值较低有关^[14], 而肥力较高的两合土之 pH 值较适于亚硝酸细菌生长。有资料报道, 小麦生育期的几个主要阶段, 根际土壤中自生固氮菌总数都大大超过非根际土壤, 而且抽穗

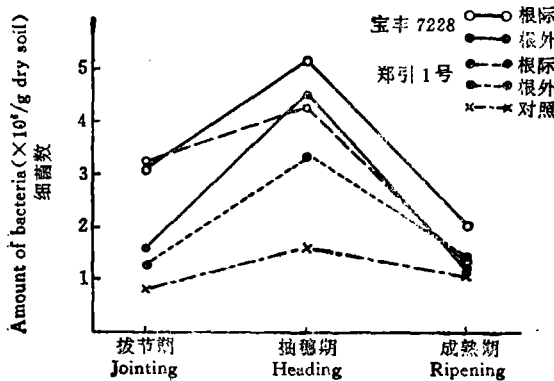


图 1 两合土中小麦各主要生育期细菌数量的变化

Fig. 1 Changes in the amount of bacteria in calcareous soil at main growth stages of wheat

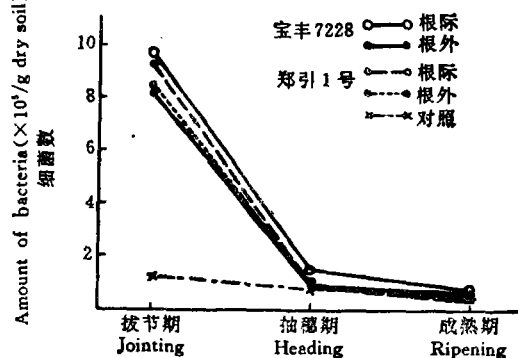


图 2 红砂土中小麦各主要生育期细菌数量的变化

Fig. 2 Changes in the amount of bacteria in sandy red soil at main growth stages of wheat

表1 小麦各主要生育期微生物生理群数量的变化

Table 1 Changes in the amount of microbial physiological group at main growth stages of wheat

土壤 Soil	基因型 Genotype	处理 Treatment	氨化细菌 Ammonifying bacteria			亚硝酸盐细菌 Nitrite bacteria			反硝化细菌 Denitrifying bacteria			自生固氮细菌 ¹⁾ Azotobacter		
			拔节期 Jointing stage	抽穗期 Heading stage	成熟期 Ripening stage	拔节期 Jointing stage	抽穗期 Heading stage	成熟期 Ripening stage	拔节期 Jointing stage	抽穗期 Heading stage	成熟期 Ripening stage	拔节期 Jointing stage	抽穗期 Heading stage	成熟期 Ripening stage
两合土	宝丰 7228	根际土	308.3	506.7	202.9	10.2	21.6	93.9	185.0	337.8	152.2	3.6	6.8	8.5
		根外土	156.6	447.4	121.1	9.7	5.0	86.3	119.8	335.6	90.8	3.8	12.1	14.2
	郑引1号	根际土	320.3	421.6	138.7	1.0	5.6	7.9	233.0	345.0	111.0	3.2	8.3	15.0
		根外土	127.8	326.8	140.6	1.6	10.5	5.1	120.7	251.4	125.0	5.4	10.6	14.4
	对照土		83.5	158.5	117.2	9.8	28.2	4.5	66.8	108.5	109.4	9.3	23.9	11.2
	红砂土	宝丰 7228	根际土	97.0	15.3	8.1	—	0.003	—	80.8	11.0	5.8	—	—
根外土			82.5	10.4	7.7	—	0.004	—	52.5	10.4	3.9	—	—	—
郑引1号		根际土	84.5	9.8	6.1	—	0.001	—	84.5	9.8	3.6	—	—	—
		根外土	92.5	8.4	3.1	—	0.02	—	52.9	3.6	3.1	—	—	—
对照土		13.6	8.4	7.3	—	0.008	—	12.3	4.8	4.9	—	—	—	

1) 为 $\times 10^7$ /克干土,其余为 $\times 10^4$ /克干土。

期和开花期菌数都很高^③。根据我们试验的结果,小麦根际固氮菌的数量相对较少,没有根际效应,而且菌量有随生育期的延长而增加的趋势。说明小麦根系分泌物并非是根际固氮菌能量的一种重要来源。相反,可能根系分泌物的某些组分对自生固氮菌的生长发育有抑制作用。由表 1 还可看出,在红砂土中,无论小麦根际或根外,种麦与不种麦,都未发现自生固氮菌的存在,这同样说明土壤类型对自生固氮菌的生长有直接影响。这种影响大于根系的作用,看来红砂土的 pH 值极不适于自生固氮菌的生长。

(二) 小麦各主要生育期根际优势菌的组成

表 2 表明,小麦各生育阶段,根际细菌主要是革兰氏阴性杆菌占优势,其中广泛出现的有假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、不动细菌属 (*Acinetobacter*)、肠细菌科 (*Enterobacteriaceae*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*)。小麦各生育期不同基因型之间的根际优势菌(属)差异不明显,但随着小麦生育期的变化,优势菌属的百分比出现消长现象,说明与小麦根系的生态环境密切相关。致于不同基因型根际优势种间有无明显差异,尚待进一步研究。

表 2 小麦各主要生育期根际优势菌的组成(%)

Table 2 Composition of dominant bacteria in the rhizosphere at different growth stages of wheat

土壤 Soil	基因型 Genotype	生育期 Growth stage	优势菌科、属 Dominant family or genus			
			<i>Pseudomonas</i>	<i>Acinetobacter</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Bacillus</i>
两合土	宝丰 7228	拔节期	20.0	40.0	—	40.0
		抽穗期	44.4	33.3	—	22.2
		成熟期	37.5	25.0	12.5	25.0
	郑引 1 号	拔节期	25.0	37.5	—	37.5
		抽穗期	42.8	28.6	—	28.6
		成熟期	28.6	28.6	14.2	28.6
红砂土	宝丰 7228	拔节期	20.0	20.0	—	60.0
		抽穗期	25.0	37.5	12.5	25.0
		成熟期	40.0	—	20.0	40.0
	郑引 1 号	拔节期	20.0	40.0	—	40.0
		抽穗期	25.0	50.0	—	25.0
		成熟期	33.3	33.3	—	33.3

(三) 小麦根系对酶活性的动态影响

1. 对脲酶活性的影响: 土壤中的含氮化合物在脲酶的作用下, 能水解成氨和二氧化碳, 而氨是植物氮素营养的直接来源。通过分析根际脲酶活性, 可能了解根际中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 的供应情况。从本试验结果(表 3) 来看, 似乎有这样的趋势, 在扬花期前, 小麦宝丰 7228 根际脲酶活性大于根外土壤; 而小麦郑引 1 号根外脲酶活性大于根际土壤, 原因不详; 而在成熟期均以根外脲酶活性大于根际, 前者为后者的 4—9 倍。

2. 对硝酸还原酶活性的影响: 表 4 表明两合土上的小麦在各生育阶段的根际硝酸还原酶活性明显高于在红砂土上者。在红砂土中几乎没有该酶活性, 即使在小麦孕穗期、扬

表 3 小麦根系对脲酶活性的动态影响

Table 3 Effect of wheat roots on urease activity
(NH_3 , $\mu\text{g/g dry soil} \cdot 24\text{h}$)

土壤 Soil	基因型 Genotype	处理 Treatment	生育期 Growth stage					
			分蘖期 Tillering	拔节期 Jointing	孕穗期 Booting	抽穗期 Heading	扬花期 Flowering	成熟期 Ripening
两合土	宝丰 7228	根际土	17.0	16.8	21.6	12.0	4.3	13.3
		根外土	17.4	8.2	—	8.7	0.9	54.1
	郑引 1 号	根际土	8.7	—	8.7	3.4	18.0	13.5
		根外土	17.0	13.0	21.9	12.2	—	128.3
对照土		8.7	34.2	37.4	83.8	13.2	148.4	
红砂土	宝丰 7228	根际土	34.2	22.3	23.6	19.5	19.1	2.6
		根外土	21.7	4.0	2.6	3.5	27.0	13.1
	郑引 1 号	根际土	22.2	—	17.7	23.0	17.5	13.1
		根外土	19.1	30.8	53.1	4.9	21.3	3.4
对照土		28.9	17.3	7.9	39.0	21.4	21.6	

表 4 小麦根系对硝酸还原酶活性的动态影响

Table 4 Effect of wheat roots on nitrate reductase activity
(NO_2^- - $\text{N}\mu\text{g/g dry soil} \cdot \text{h}$)

土壤 Soil	基因型 Genotype	处理 Treatment	生育期 Growth stage					
			分蘖期 Tillering	拔节期 Jointing	孕穗期 Booting	抽穗期 Heading	扬花期 Flowering	成熟期 Ripening
两合土	宝丰 7228	根际土	2.38	1.46	0.007	0.013	0.018	0.014
		根外土	5.98	2.38	0.014	0.007	0.013	0.220
	郑引 1 号	根际土	6.23	5.60	0.015	0.007	0.013	0.028
		根外土	7.44	5.58	0.012	0.013	0.064	0.011
对照土		4.13	0.021	0.014	0.007	0.018	0.009	
红砂土	宝丰 7228	根际土	—	—	0.011	—	0.009	0.009
		根外土	—	—	0.011	—	0.006	0.009
	郑引 1 号	根际土	—	—	0.014	—	0.009	0.009
		根外土	—	—	0.014	—	0.006	0.013
对照土		—	—	0.014	—	—	0.009	

花期和成熟期有酶活性,也是极微弱的,形成 NO_2^- -N 只有 0.009 — $0.014\mu\text{g/g dry soil} \cdot \text{h}$ 。在两合土上以小麦郑引 1 号根际土中的硝酸还原酶活性高于宝丰 7228,而且两个不同基因型小麦根际土中的硝酸还原酶活性基本上都低于根外土者,特别在小麦生长的前两个时期差异更明显,随着小麦的生长,两个基因型的小麦根际中硝酸还原酶活性都显示出下降趋势。看来,小麦根系对硝酸还原酶活性没有明显的促进作用。

3. 对 NO_3^- 还原为 N_2O 酶活性的影响: 在小麦生长的不同时间内,测定了 NO_3^- 还原为 N_2O 的酶活性。由表 5 看出根外土壤的 NO_3^- 还原为 N_2O 的酶活性大于根际土

壤者,随着小麦生长期延长,差异尤为明显,两个不同基因型的小麦在两种土壤上的趋势完全一致。由表 5 还可看出两合土的酶活性明显高于红砂土。据报道,水稻根系对反硝化活性有正的刺激效应^[2]。而本试验中小麦根系则无此作用,可能由于植物吸收 NO_3^- -N, 根际土中 NO_3^- 浓度减少,而导致根际 NO_3^- 还原为 N_2O 的酶活性下降。

表 5 小麦根系对 NO_3^- 还原为 N_2O 酶活性的动态影响 (培育六天)

Table 5 Effect of wheat roots on denitrifying nitrate reductase (NO_3^- to N_2O) activity ($\text{N}_2\text{O}\mu\text{g}/\mu\text{l}$)

土壤 Soil	基因型 Genotype	处理 Treatment	小麦生长时间(天) Wheat growth time(day)		
			15	22	30
两合土	宝丰 7228	根际土	2.54a	3.24a	2.34b
		根外土	5.98a	6.28a	9.50a
	郑引 1 号	根际土	3.65a	4.02a	2.63b
		根外土	6.11a	4.51a	13.0a
红砂土	宝丰 7228	根际土	—	0.00	0.00
		根外土	—	2.67	2.33
	郑引 1 号	根际土	—	0.00	0.00
		根外土	—	0.43	0.90

Duncan's 复极差统计,表中相同字母表示无差异,不同字母表示有差异 ($P < 0.05$)。

表 6 表明,两个不同基因型小麦根际和根外土壤的硝化强度没有差异,这与陈华葵(1979)报道的根系并不特别影响硝化微生物的数量的结果相符;同时还表明,不同基因型间根际硝化强度也无差异,而在不同土壤之间硝化强度差异极其明显。两合土的硝化强度远大于红砂土者,这与红砂土中亚硝酸细菌数量极少有关。

表 6 小麦根际的硝化作用强度

Table 6 Nitrification intensity of wheat rhizosphere

土壤 Soil	基因型 Genotype	处理 Treatment	硝化作用强度(%) Nitrification intensity
两合土	宝丰 7228	根际土	98.1
		根外土	97.9
	郑引 1 号	根际土	98.2
		根外土	96.1
红砂土	宝丰 7228	根际土	0.87
		根外土	0.78
	郑引 1 号	根际土	0.90
		根外土	0.80

参 考 文 献

1. 陈子英, 1963: 水稻根系微生物的主要特性。微生物学报, 第 9 卷 2 期, 186—192 页。
2. 张元龙、万金精, 1963: 小麦根际微生物的研究。微生物学报, 第 9 卷 2 期, 178—185 页。
3. 李振高、万焕楣、吴留松、乔凤珍, 1987: 水稻根际反硝化细菌生态分布的研究。土壤学报, 第 24 卷 2 期, 120—126 页。

4. 中国科学院南京土壤研究所微生物室编著, 1985: 土壤微生物研究法, 科学出版社。
5. Ф. X. 哈兹耶夫著(郑洪元等译), 1980: 土壤酶活性, 科学出版社。
6. 李良谟、伍期途、周秀如、李振高、潘映华, 1988: 气相色谱测定氧化亚氮的方法及其应用。分析微生物学专辑: 172—176, 科学出版社。
7. 潘映华、李良谟、伍期途、李振高, 1988: 不同利用方式下红壤的硝化和反硝化活性研究。土壤, 第20卷4期, 184—187页。
8. 段俊英、柴明、何秀良、韩静淑, 1984: 春小麦各生育期的根际固氮效应。土壤通报, 第15卷1期, 43—44页。
9. 木村真人, 1981: 水稻根际微生物。化学と生物, 19(7): 473—479。
10. Buchanan, R.E. et al., 1974: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 8th ed. Williams & Wilkins Co., Baltimore.
11. Abdelmegid, H. M. et al., 1987: *Soil Biol. Biochem.* 19(4):421—427.
12. Rovira, A. D., 1965: *Ann. Rev. Microbiol.*, 19:241—266.

DYNAMICS OF BACTERIA AND THEIR ENZYME ACTIVITY IN RHIZOSPHERE OF WHEAT OF DIFFERENT GENOTYPES

Li Zhengao, Pan Yinghua and Li Liangmo

(Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing, 210008)

Summary

The rhizosphere is the microhabitat where plant roots are contacted with soils, and also the region where soils, roots and microbes are closely combined and interacted on each other. The rhizosphere microorganisms may act as a "microbe-membrane" in the exchanges of nutrients between soils and plants.

The dynamics of rhizosphere bacteria related to nitrogen transformation and their enzyme activities were investigated applying simulating pot culture tests with two kinds of soil and two genotypes of wheat in order to understand the regularities of growth and decline of bacteria and their enzyme activities as well as the relations between them and nitrogen transformation.

The results obtained show that the two species of wheat could exert a marked effect on the ammonifying and denitrifying bacteria populations in the rhizosphere. On the contrary, the wheat roots had a negative rhizosphere effect on free-living nitrogen-fixers. The differences of nitrite bacteria population between rhizosphere and non-rhizosphere were insignificant. The number of bacteria in calcareous soil were more than that in sandy red soil, and the free-living nitrogen-fixers were not found in the later. The amount of bacteria in the rhizosphere of genotype Baofen No.7228 wheat was greater than that of genotype Baizhengyin No.1 wheat. During the main periods of wheat growth the predominant bacteria in rhizosphere were Gram-negative rods, with the general family and genus being *Enterbacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* etc., in addition to *Bacillus*. The enzyme activity of NO_3^- -reductase in the rhizosphere of genotype Baizhengyin No.1 was stronger than that in the rhizosphere of genotype Baofen No.7228; and the enzyme activity of reducing NO_3^- to N_2O in rhizosphere had no difference between the two

species of wheat. Both the activity of NO_3^- -reductase and of reducing NO_3^- to N_2O in rhizosphere were larger than those in non-rhizosphere. with regard to the kinds of soil, the activity of reducing NO_3^- to N_2O in calcareous soil was larger than that in sandy red soil, and increased with the growth of wheat, but the activity of NO_3^- -reductase was opposite. Before flowering stage, urease activity in rhizosphere of species Baofen No.7228 was stronger than that in non-rhizosphere, and urease activity in rhizosphere of species Baizhengyin No. 1 was on the contrary. During the maturation stage the urease activity in non-rhizosphere of both genotype wheat was larger than that in rhizosphere, and there was no differences of nitrification tensity in rhizosphere soil between the two genotype wheat.

Key words Rhizosphere microorganisms, Enzyme activity, Wheat genotype