

湖北省几种农业土壤自生固氮菌 生态地理分布的研究*

吳章琦

(中国科学院武汉微生物研究所)

这项工作的主要目的,在于研究湖北省几种农业土壤中,自生固氮菌的类型、数量及其生态地理条件。

一、取样与测定方法

在湖北省内的七种土壤上分别按水田与旱地、荒地与熟地,以及不同作物、不同季节、不同深度等情况采集土壤样品。见表1。

关于土样中自生固氮菌种类和多少的测定方法,我们比较过:(1)稀释法,(2)液体培养法,和(3)土粒法。结果表明土粒法比较好。

土粒法:把琼脂培养基倒入直径9厘米的平皿中,约1—2毫米厚,每个平皿点种25个土粒,每个土粒直径约0.5毫米。每个土样做两个平皿,共50粒。接种后放在28—30℃恒温箱中或相应的室温培养7—14天。观察记载平皿中出现自生固氮菌的种类和数量,并将数量划分为三级,即:26个土粒以上形成菌落的为I级,6—25个土粒之间的为II级,5个土粒以下的为III级。

两种培养基的比较:用100个土样,比较了Starkey^[1]和Becking^[4]两种培养基,试验结果(表2)表明,两种培养基无明显差别。因此,我们采用了其中一种培养基为试验用培养基。

二、试验结果

(一) 自生固氮菌出现种类及其与土壤类型的关系

从大量菌落观察中,区分出三种自生固氮菌菌落类型,分别标志为B、A和AS。从三种菌落类型中各挑出5个培养体,反复纯化,获得了15个较纯的培养体。经参考Hofer^[5], Derx's^[6], Jensen^[8], Красильников^[1]和 Рубенчик^[2]的鉴定资料,判断上述各培养体是: B = *Beijerinckia indica*, A = *Azotobacter chroococcum*, AS = *Azotobacter chroococcum* 的一个变种(见表3)。

根据湖北省几个主要农作区,由北至南,从各种土壤类型中,采集179个土样,用土粒法研究,其结果见表4。

从表4可见, *Azotobacter chroococcum*(A) 以长江以北地区出现为多。 *Beijerinckia*

* 本文在陈华癸教授指导下完成。

表 1 湖北省几种农业土壤样品的采集

地 区	土 壤 名 称	母 质	取 样 时 间	样 品 数
应山县广水区	黄褐土	片麻岩	1962 年 8 月 5 日	11
应山县广水区	黄褐土	片麻岩	1963 年 6 月 12 日	15
应山县广水区	黄褐土	片麻岩	1963 年 7 月 15 日	15
应山县广水区	黄褐土	片麻岩	1963 年 8 月 28 日	16
襄阳县襄北农场	岗地黄土	第四纪褐色粘土	1963 年 2 月 7 日	6
孝感县城关	马肝土	第四纪褐色粘土	1962 年 8 月 7 日	11
孝感县城关	马肝土	第四纪褐色粘土	1963 年 8 月 28 日	6
孝感县城关	马肝土	第四纪褐色粘土	1963 年 9 月 17 日	4
孝感县城关	白善土	第四纪褐色粘土	1963 年 8 月 7 日	6
孝感县城关	白善土	第四纪褐色粘土	1963 年 8 月 28 日	4
沔阳县汉江区	潮沙泥土	泛滥冲积物	1962 年 8 月 20 日	15
蒲圻县城关	紫红土	紫色沙页岩	1962 年 8 月 13 日	4
蒲圻县城关	紫红土	紫色沙页岩	1963 年 8 月 14 日	7
蒲圻县城关	红黄土	石灰岩	1962 年 8 月 9 日	7
蒲圻县城关	红黄土	石灰岩	1962 年 3—12 月	9*
蒲圻县城关	红黄土	石灰岩	1963 年 8 月 22 日	11
蒲圻县城关	红黄土	石灰岩	1963 年 1—12 月	15*
蒲圻县茶菴岭	红黄土	沙页岩	1962 年 8 月 12 日	8
蒲圻县茶菴岭	红黄土	沙页岩	1962 年 3—12 月	28*
蒲圻县茶菴岭	红黄土	沙页岩	1963 年 8 月 22 日	8
蒲圻县茶菴岭	红黄土	沙页岩	1963 年 1—12 月	31*
通城县城关	红黄土	花岗岩	1962 年 8 月 9 日	9
通城县城关	红黄土	花岗岩	1963 年 7 月 16 日	16

* 同田块不同时间多次取样。

表 2 两种培养基*的比較

土 样 数	数量级一致的土样数	相差一级的土样数	菌数菌种均有差异的土样数
100	71	20	9

* 指 Starkey 和 Becking 两种培养基。

表 3 菌种形态与培养特征的鉴定

结果 项目 菌 羣	B	A	AS
菌体形态	初杆状后长椭圆	初杆状后圆形	初杆状后圆形
菌体直径	0.9—1.5	1.5—2.4	1.5—2.2
细胞排列	单个或成对	成对或单个	成对或单个
内含物	无	有	有
运动性	能运动	能运动	能运动
革兰氏染色	阴性	阴性	阴性
膨大脂肪粒	有	无	无
在 Ashby 培养基上的培养特征	菌落圆形,凸起,光滑,粘结,有弹性,可拉成长丝,生长慢,培养初期为白色后为棕红色,生长中等,无色素渗入培养基,无荧光	菌落圆形,凸起,光滑,粘稠或糊状,生长较快,培养初期为白色后转为黑褐色,生长旺盛,无色素渗入培养基,无荧光	菌落圆形,凸起,光滑,粘稠或糊状,生长较快,培养初期为白色后转为淡黄色,生长旺盛,无色素渗入培养基,无荧光
5%NaCl Ashby 培养基上的生长情况	不生长	不生长	不生长

表 4 湖北省几种土壤类型中自生固氮菌的分布

方 向	地 区	土 壤	母 质	土样数	三种固氮菌的土样出现率		
					A	AS	B
北	应山县广水区	黄褐土	片麻岩	57	29	0	8
	襄阳县襄北农场	岗地黄土	第四纪粘土	6	6	0	0
	孝感县城关	马肝土	第四纪褐色粘土	21	19	0	0
	孝感县城关	白善土	第四纪褐色粘土	10	10	0	0
	沔阳县汉江区	潮沙泥土	泛滥冲积物	15	15	0	0
南	蒲圻县城关	紫红土	紫色沙页岩	11	7	0	4
	蒲圻县城关	红黄土	石灰岩	18	14	0	4
	蒲圻县茶庵岭	红黄土	沙页岩	16*	1	7	13
	通县城关	红黄土	花岗岩	25*	6	6	16

* 因其中有些田块土样,同时出现两种固氮菌,故出现率大于土壤总数。

indica(B) 主要出现于湖北省南部的酸性红黄土地区和少量出现于应山县广水区的黄褐土中, *Azotobacter chroococcum* 的一个变种 (AS) 只出现于酸性红黄土的水田中。

(二) 土壤 pH 值与三种自生固氮菌的分布关系

根据 164 个土样的数据,研究了土壤 pH 值与三种自生固氮菌分布的关系。这些土样最低 pH 值范围为 4.0—4.9, 最高 pH 范围为 7.0—8.5, 结果见表 5。

表 5 土壤 pH 对自生固氮菌分布的影响

pH 值范围	土 样 数	三 种 固 氮 细 菌 土 样 出 现 率					
		A		AS		B	
		土 样 数	%	土 样 数	%	土 样 数	%
4.0—4.9	19	1	5	4	21	14	73
5.0—5.4	15	2	13	1	6	12	83
5.5—5.9	31	14	45	6	19	17	54
6.0—6.4	52	30	57	0	0	8	15
6.5—6.9	19	16	84	0	0	1	5
7.0—8.5	28	28	100	0	0	0	0

从表 5 可见, *Azotobacter chroococcum* (A) 与 *Beijerinckia indica* (B) 两者的分布和土壤 pH 值变化的相关性正好是相反的, pH 值愈高, A 类菌愈多; pH 值愈低, B 类菌愈多, 见图 1。

土壤 pH 值不仅影响自生固氮菌在土样中的出现率, 而且也影响着自生固氮菌的数量级, 见表 6。

(三) 土壤利用情况对自生固氮菌分布的影响

土壤熟化对三种自生固氮菌的分布有着明显的影响。在采集的 174 个土壤样品中, 荒地 29 个, 新垦地 24 个, 耕地 121 个。结果表明, 耕地土壤中自生固氮菌的出现率及数量均高于荒地(见表 7)。

从 168 个水田与旱地土壤样品对比分析的结果表明, 水稻土对三种自生固氮菌的存

表 6 土壤 pH 对自生固氮菌出现数量的影响

pH 值范围	土 样 数	三种固氮细菌出现的数量级								
		A			AS			B		
		I*	II	III	I	II	III	I	II	III
4.0—4.9	19	0	0	1	0	2	2	0	6	8
5.0—5.4	15	0	1	1	0	0	1	1	5	6
5.5—5.9	31	3	6	5	0	3	3	0	11	6
6.0—6.4	52	3	20	7	0	0	0	0	4	4
6.5—6.9	19	9	5	2	0	0	0	0	0	1
7.0—8.5	28	25	3	0	0	0	0	0	0	0

* 数量级,见前。

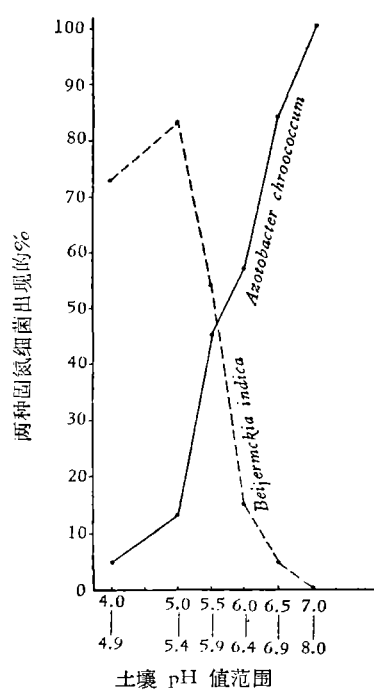


图 1 土壤 pH 值与自生固氮菌分布的关系

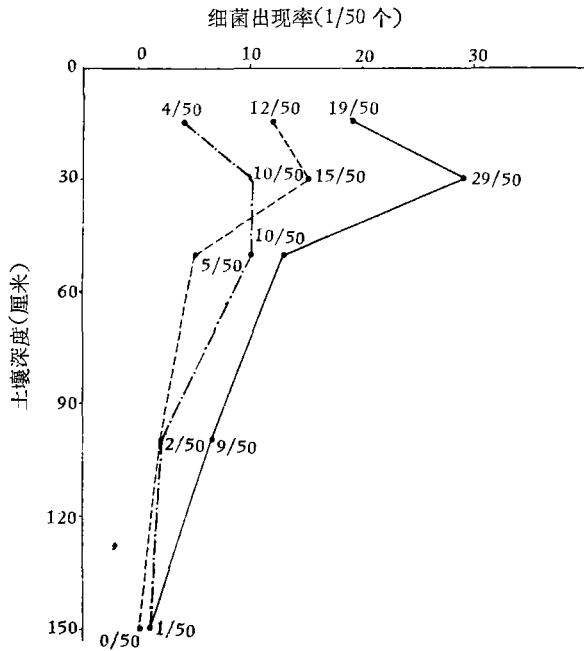


图 2 *Beijerinckia indica* 分布的土壤深度
(三条线分别表示三次重复的结果, 4/50
表示 50 个土粒中有 4 个土粒见菌)

活有着良好的影响。在水田土样中, 不仅出现率高, 菌数也多, 结果见表 8。

(四) 土壤深度对 *Beijerinckia indica* 分布的影响

在一块沙页岩母质上形成的酸性红黄土的小麦耕地(pH 值 5.1) 上, 挖坑 1.5 米, 并分 15、30、50、100、150 厘米 5 层, 分层取样研究, 重复三次的结果, 趋势基本相同(如图 2)。*Beijerinckia indica* 在 30 厘米深度的土壤中数量最多, 其次为 15 厘米深度的土壤。50 厘米以下则随着土壤深度的增加而数量递减, 在 150 厘米深度的土壤中, 仍有少量出现。

表 7 土壤熟化与自生固氮菌分布的关系

土 壤	熟化类型	土 样 数	三种固氮菌土样出现率及数量级									无固氮菌 土 样 数
			A			AS			B			
			I	II	III	I	II	III	I	II	III	
黄褐土	荒 地	17	0	1	1	0	0	0	0	4	0	11
黄褐土	新垦地	11	0	0	2	0	0	0	0	0	2	8
黄褐土	耕 地	30	5	11	6	0	0	0	0	0	2	7
马肝土	荒 地	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
马肝土	耕 地	19	4	10	4	0	0	0	0	0	0	1
白善土	耕 地	10	5	4	1	0	0	0	0	0	0	0
潮沙泥土	耕 地	15	14	1	0	0	0	0	0	0	0	0
红黄土(石灰岩)	荒 地	5	0	2	0	0	0	0	0	0	3	1
红黄土(石灰岩)	新垦地	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
红黄土(石灰岩)	耕 地	13	8	3	1	0	0	0	0	0	0	1
红黄土(花岗岩)	荒 地	3	0	0	2	0	0	0	0	0	0	1
红黄土(花岗岩)	新垦地	8	0	0	0	0	0	0	0	2	3	3
红黄土(花岗岩)	耕 地	14	0	1	3	0	2	4	0	5	6	2
红黄土(沙页岩)	荒 地	2	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0
红黄土(沙页岩)	耕 地	14	0	2	0	1	4	2	1	9	1	0
紫红土	荒 地	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
紫红土	新垦地	4	0	0	1	0	0	0	0	0	4	0
紫红土	耕 地	6	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0

表 8 水田与旱地对自生固氮菌分布的比较

耕地 种类	土 样 数	三 种 固 氮 菌 出 现 的 数 量 级									无固氮菌 土 样 数
		A			AS			B			
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	
水 田	86	30	14	7	2	15	5	1	19	5	2
旱 地	82*	11	21	15	0	0	0	1	8	19	11

* 旱地中不包括荒地。

三、討 論

1. Derr's, Becking 和 Dommergues 等許多研究者^[3,4,6,7,10,11,12,13] 指出 *Beijerinckia* 属固氮細菌的分布,主要局限于热带地区,尤其是在紅壤中。T'chan^[12] 的工作表明, *Beijerinckia* 属的細菌只出現于澳大利亚南緯 17—18 度以北的土壤中,而不出現于南緯 20 度以南的温带地区。

湖北省南起北緯 29°5', 北至北緯 33°20', 属于从温带向亚热带过渡的中低緯度地带。北部有温带的气候特色,农作物与华北相近,东南則偏于亚热带的气候类型,形成紅黃土,生长有典型的亚热带植物,如油茶、甘蔗、楠竹、种双季稻等。这个过渡性的地带,正适合于考証許多研究工作者对 *Beijerinckia* 属細菌生态地理分布的研究。我們的研究結果指出 *Beijerinckia indica* 主要分布在亚热带地区的酸性紅黃土中。这一現象进一步証

实 *Beijerinckia* 属細菌基本上是属于紅壤的固氮菌。但紅壤不仅出現于热带，而也是亚热带的主要土壤类型。所以应该认为它們是热带与亚热带的种类。

此外，在接近温带地区的黃褐土上，*Beijerinckia indica* 也有少量出現。这种土壤是由褐色土、棕壤向紅壤、黃壤过渡的一种土类，类似紅壤的性状。所以 *Beijerinckia indica* 在这类土壤中有少量出現，正好进一步說明这类土壤是一种过渡类型。

2. Derr's^[6] 认为 *Beijerinckia* 属細菌可能与一种热带无根瘤的豆科植物 *Caesalpinaceae* (例如 *Cassipourea*) 起着根外共生作用。Döberlein 及 Alvahya 发现甘蔗根部对 *Beijerinckia* 属細菌生长发育有良好的影响。我們的研究也指出，耕地中的 *Beijerinckia* 属細菌比荒地多。Jensen^[9] 指出这类細菌消耗 1 克蔗糖其固氮量可超过 20 毫克。这样，如果要在紅壤地带施用固氮菌肥料，应该考虑利用 *Beijerinckia* 属固氮細菌的可能性。

四、总 結

1. 湖北省几种主要农业土壤类型中，分布着三种固氮細菌：*Azotobacter chroococcum*，*Azotobacter chroococcum* 变种，*Beijerinckia indica*，其中以 *Azotobacter chroococcum* 分布最广，*Beijerinckia indica* 主要分布于湖北省南部的酸性紅黃土中，而 *Azotobacter chroococcum* 的变种，只出現于酸性紅黃土的水田中。

2. *Azotobacter chroococcum* 主要分布于 pH 6.0 以上的土壤中，*Beijerinckia indica* 主要分布于 pH 5.4 以下的酸性土壤中，在 pH 7.0 以上的土壤中则完全消失。土壤 pH 5.5—6.0 之間是三种固氮菌共同存在的范围。

3. 耕地的固氮菌数量比新垦地及荒地多，而水田固氮菌又比旱地多。

4. 在酸性紅黃土中，*Beijerinckia indica* 主要分布在 30 厘米深的土壤，随着土壤深度的增加則数量减少，但在 150 厘米深的土壤中，仍有少量出現。

5. 本文討論了 *Beijerinckia* 属細菌是属于热带与亚热带紅壤固氮菌种类。并指出，在紅壤地带发展固氮菌肥料应该考虑利用 *Beijerinckia*。

参 考 文 献

- [1] Красильников: 細菌和放线菌的鉴定。581—590 页，科学出版社，1958。
- [2] Рубенчик, Л. И.: К систематике бактерий из семейства *Azotobacteriaceae*. Микроб, 28 (3). 328—335, 1959.
- [3] Altson, R. A.: Studies on *Azotobacter* in malayan soils. *J. Agr. Sci.*, 26: 268—280, 1936.
- [4] Becking, J. H.: Studies on nitrogen-fixing bacteria of the genus *Beijerinckia* (1) Geographical and ecological distribution in soils. *Plant and Soil*, 14: 49—81, 1961.
- [5] Bergy's, Manual of determinative bacteriology. Bailliere, Tindall & Cox. 7th ed., 1957.
- [6] Derr's, H. G.: *Beijerinckia*, a new genus of nitrogen-fixing bacteria occurring in tropical soils. Koninkl. Ned. kad. wetenschap. proc., c. 53, 140—147, 1950.
- [7] Derr's, H. G.: Futher researches on *Beijerinckia*. *Ann. Bogor.*, 1, 1—11, 1950.
- [8] Jensen, H. L.: The magnesium requirements of *azotobacter* and *Beijerinckia*, with some additional notes on the latter genus. *Acta Agr. Scand.*, 4, 224—236, 1954.
- [9] Jensen, H. L.: The influence of molybdcum, calcium and agar on nitrogen fixation by *Azotobacter indium*. *Proc. Linnean Soc. N. S. Wales*, 72, 299—310, 1948.
- [10] Jensen, H. L.: *Azotobacteriaceae*. *Bact. Rev.*, 18, 195—214, 1954.
- [11] Starkey, R. L. and De, P. K.: A new species of *Azotobacter*. *Soil Sci.*, 47: 329—343, 1939.
- [12] Tchan, Y. T.: Studies on nitrogen-fixing bacteria. V. Presence of *Beijerinckia* in northern Australia

and geographic distribution of non-symbiotic N-fixing micro-organisms. Proc. Linnean Soc. N. S. Wales, 78, 171—178, 1953.

- [13] Dommergues, Y.: Distribution des *Azotobacter* et des *Beijerinckia* dans les principaux types de sol de l'ouest africain Ann. l'Institut. Pasteur, 105, 179—187, 1963.

ECO-GEOGRAPHICAL DISTRIBUTION OF THE FREE-LIVING AEROBIC NITROGEN-FIXING BACTERIA IN SEVERAL AGRICULTURAL SOILS OF HUPEH PROVINCE

WU CHANG-CHIH

(Wuhan Institute of Microbiology, Academia Sinica)

SUMMARY

1. Three types of free-living aerobic nitrogen-fixing bacteria, namely, *Azotobacter chroococcum*, an yellow variety of *Az. chroococcum* and *Beijerinckia indica*, were found in seven different agricultural soils of Hupeh Province. *Az. chroococcum* was the most widely distributed type. *B. indica* was found chiefly in the acid red-yellow soil. The yellow variety of *Az. chroococcum* was found only in the paddy soil developed from the acid red-yellow soil.

2. *Az. chroococcum* was found mostly in soils of pH values higher than 6.0, while *B. indica* was found mostly in soils of pH values lower than 5.4, none of the later was found in soils of pH values higher than 7.0. In soils of pH values between 5.5—6.0, all three types of the nitrogen-fixers were found.

3. More nitrogen-fixers were found in the cultivated soils than the unplowed soils or the newly plowed-up soils. More nitrogen-fixers were found in the paddy soils than the upland soils.

4. In the acid red-yellow soils, the quantity of *B. indica* was highest in the uppermost 30 cm soil layer, decreasing with increasing depth. A few cells were ever found in a depth of 150 cm.

5. It was pointed out that *B. indica* was a species of the nitrogen-fixing bacteria adopted to the red soils of the subtropics and the tropics. It was also pointed out that, for the purpose of developing "azotobacterin" in the red soil region, *Beijerinckia* should be taken into serious consideration.