

2号固氮菌株的筛选及其对水稻产量的影响*

陆 杨 森

(皖南农学院,安徽省宣城县)

自 Döbereiner 等报道多年生牧草雀稗与雀稗固氮菌^[1]以来,国内也有玉米^[2]、水稻根系^[3]固氮菌存在的研究报道。从1972—78年,我们筛选出具有较高固氮酶活力、生长繁殖快、对水稻有增产作用的2号固氮菌,现报道如下。

材料与方 法

一、材 料

土壤样品采自安徽省蒙城、涡阳县旱地土壤和万里、湾址、宣城县的水田土壤,共14个。

二、分离与测定方法

1. 分离:用阿须贝(Ashby)培养基,稀释后平皿分离。

2. 酶活力的测定:用凯氏定氮法测定固氮量、用乙炔还原法^[4]测固氮酶活力。

三、应用试验

1. 盆栽试验:取我院农场红壤性水稻土作供试土壤,粉碎后通过孔径3mm筛子,加入石灰、草木灰及过磷酸钙各0.5%。每盆栽土23斤,加等量自来水淹没后使水层2cm。在整个生长发育期内不施用氮肥。水稻品种为矮南早、芜科1号、当选2号,重复试验2—3次。

2. 田间试验:在宁国县粉沙质粘土壤和我院附近生产队的红壤水稻土上进行。土壤的农化性状见表1。试验重复二次。

2号固氮菌肥系在实验室内制备,用液体

表1 土壤的农化性状

地点	有机质(%)	全氮(%)	pH	有效磷(ppm)
宁国县农科所	1.43	0.11	6.48	17.2
宣城县我院附近	1.11	0.08	5.42	2.2

浅层培养。以灭菌泥土作吸附剂,每克土含菌数为2亿。植株含氮量用凯氏定氮法定量。

实 验 结 果

一、2号固氮菌的固氮量

土样经分离获得74株菌,从中选菌落大、生长快、经多次转管培养不退化的菌株4株。其中2号菌选自芜湖湾址红壤水稻田土样中,固氮量为14.74(mg氮/g葡萄糖)。另外三株为4、5、6号,均选自芜湖万里县的土样,其固氮量分别为10.60、10.73、4.4mg氮/g葡萄糖对照(从湖北省农业科学院引入的15号菌株)为12.70mg氮/g葡萄糖。

经过几年的选育分离,2号菌株的生长能力和固氮酶活力仍保持不变,因而淘汰了其他菌株而在以后试验采用了2号菌株。经中国科学院植物研究所用乙炔还原法测定固氮酶活力,2号菌株为2733 n mol N₂/10ml/h,证实了上述结果。

二、2号固氮菌的培养特征、分类鉴定、形态

1. 培养特征:该菌能从空气中自行固氮,在无氮培养基上生长旺盛,生长最适温度为28—30℃,最适pH为7.0,但在弱酸和弱碱性培养液中亦能生长。

该菌在固体培养基上,生长初期菌落呈圆形无色透明,3—4天后逐步变为乳白色,7天以后不产生褐色色素,斜面培养24—48小时即

* 本研究得到中国科学院微生物研究所、病毒研究所、植物研究所、南京土壤研究所及宁国县农业科学研究所和周水平同志帮助,一并致谢。

生长丰满,菌苔较浓厚。

当把该菌接种于无氮培养液中静止培养 2 天后,培养液逐渐变粘稠呈乳白色,4—5 天后培养液呈淡黄绿色,无黑褐色沉淀。如加入微量元素 (B. M.),能显著提高固氮量(67.1%),静止浅层液体培养,接种 3—4 天菌数达到高峰,见图 1。

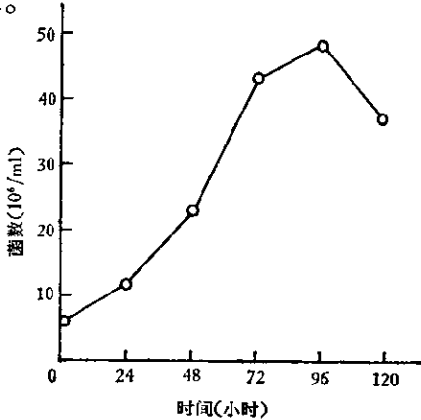


图 1 2 号固氮菌浅层静止培养生长曲线

2. 分类鉴定: 由中国科学院微生物研究所

帮助进行。2 号固氮菌在无氮培养基上生长迅速、良好,呈椭圆形或短粗杆状,形成孢囊,菌落易用接种环挑起、不坚韧,细胞内未见有明显脂肪颗粒,利用甘露醇生长良好,不利用淀粉。根据上述特征定名为维涅兰德固氮菌 (*Azotobacter vinelandii*)。

3. 形态: 经中国科学院南京土壤研究所电镜室取样拍片观察,培养 13—24 小时,呈短杆状,菌体饱满、周身鞭毛,似乎有的已有荚膜(见照片 1, 培养 13 小时, $\times 10000$),革兰氏染色阴性。培养至 48 小时,菌体变成椭圆形,有些菌靠在一起呈“8”字形,有些残留鞭毛,有荚膜(见照片 2, $\times 10000$)。培养 72 小时的菌其形态与 48 小时相似(见照片 3, $\times 10000$)。培养至 8 天,菌体内原生质似乎已收缩,菌体显衰老,但仍有残留鞭毛(见照片 4, $\times 10000$)。

三、2 号固氮菌对水稻的肥效

1. 盆栽试验: 施用 2 号固氮菌肥能增加植株高度、分蘖数、植株鲜重、增加籽粒产量。尤

表 2 2 号固氮菌肥对植株的影响

处理	项目	分蘖数	株高(cm)	地上部分重量(g)	地下部分重量(g)
对照		26	47	40	15
施 2 号菌肥 5g*		26.5	59.5	55.1	19.5
施 2 号菌肥 10g		26.5	66.5	49.5	18.0

* 每克菌肥含菌 2 亿。

表 3 2 号固氮菌液对水稻生长的影响

处理	项目	叶色	株高(cm)	分蘖数	每盆成穗数	鲜重数(g)	增重(%)
对照		黄	53.6	27	24.5	85	—
施菌液 5ml*		黄青色	59.5	33	25	98.5	15.5
施菌液 10ml		浓绿	56.3	31	25.6	94.5	10.8

* 每 ml 含菌 7.5 亿。

表 4 2 号固氮菌肥对双季晚稻的效果

处理	项目	株高(cm)	每盆有效穗数	每盆鲜重(g)	每盆籽粒重(g)
对照施无氮灭菌培养液 20ml		55.5	7	34	2.8
施入菌液 20ml*		63.8	18	68	12

* 每毫升菌液含菌 2.5 亿。

四、2号固氮菌对土壤含菌量和叶片含氮量的影响

1. 对土壤固氮菌含量的影响: 见表7。

表7 2号固氮菌对土壤固氮菌含量的影响

处理*(环/瓶)	结果项目	固氮菌数 (百万/克土)	备注
不接菌		53.5	7天后检查
接5环菌		376	
灭菌后接5环菌		418	

* 均用田间土壤。

结果说明施用2号固氮菌能使土壤固氮菌数量明显增加,接菌的土壤固氮菌数为对照的7倍。盆栽试验也得到相同的结果,对照处理的土壤固氮菌数量为1.5千万/克土,施用2号固氮菌液的土壤含固氮菌9千万/克土。

2. 对水稻叶片含氮量的影响: 施用2号固氮菌肥后,对照叶片含氮量为1.31%,施菌肥的叶片含氮量分别为1.50%和1.56%。这与国外报道相符^[6]。

讨 论

固氮菌肥效的发挥,要特别注意土壤中磷

含量和土壤酸碱度。在宁国地区试验地土壤中有效磷达17ppm, pH为6.48,多年试验增产效果一致。在宣城红壤水稻土中,有效磷量仅2.2ppm, pH5.42,则必须配合施用磷肥、石灰改善土壤条件,才能获得较好的增产效果,这与文献报道一致。

施用2号固氮菌的肥效往往表现在植物生长后期,如减少空壳率和增加千粒重。这一结果与水稻根际固氮活力在分蘖期前很低,而抽穗期至成熟期达到最高峰的情况有关。

参 考 文 献

- [1] Döbereiner, J. and J. M. Day: *J. Gen. Microbiol.* **71**: 103—116, 1972.
- [2] 湖北省微生物研究所生物固氮组: *微生物学报*, **19**(2): 160—165, 1979.
- [3] 钱泽树、莫文英、陈声明等: *浙江农业大学学报*, **7**(2): 15—23, 1981.
- [4] 上海植物生理研究所固氮研究室: *植物学报*, **16**(4): 382—384, 1974.
- [5] Araragi, M., et al.: *Soil Sci. Plant Nutr.*, **25**(2): 235—244, 1979.
- [6] Yoshida, T. and T. Yoneyama: *Soil Sci. Plant Nutr.*, **26**(4): 551—559, 1980.