

# 西藏草毡土中放线菌资源与分类研究

张晓琳 朱铭羲 薛泉宏

(西北农业大学资源与环境科学系, 陕西杨凌 712100)

**摘要** 对采自西藏拉孜、那曲、唐古拉3个地区的草毡土壤样品,用4种培养基分离纯化出158株放线菌,按常规方法进行了初步鉴定。根据形态特征和生理生化特性,除2株菌尚难定属,其余分别归入8个属,其中链霉菌属占绝对优势。此外还对西藏草毡土中放线菌的数量和组成进行了探讨。

**关键词** 西藏,草毡土,土壤放线菌

**中图分类号** S154.383

西藏自治区面积达120多万平方公里,气候冬寒夏凉,封冻期长,无霜期短,海拔高,空气稀薄,降水量少。西藏复杂而独特的生态环境条件决定了西藏微生物区系具有其独特性。对西藏土壤放线菌资源的研究目前尚属空白。本研究对拉孜、那曲、唐古拉3个地区土壤中放线菌的数量进行了测定,共分离纯化出158个菌株,并对它们进行了初步分类鉴定和生理生化特性研究,以期为该地区土壤资源的开发利用提供依据。

## 1 材料与方法

**土壤样品** 1988年6月至9月在西藏拉孜、那曲和唐古拉地区,采集0~32 cm深的土样,供分离放线菌用。

**放线菌的分离纯化与鉴定** 分离纯化选用4种培养基:高氏一号、改良高氏一号、高氏4号和甘油精氨酸培养基。以稀释平板涂抹法分离纯化菌株,按形态特征鉴定到属<sup>[1-2]</sup>。菌株编号前2位为土样号,后面的位数为由该土样中分离的菌株顺序号。生理生化特性按文献<sup>[1]</sup>中要求的主要项目和方法进行测定与描述。测定项目包括:明胶液化、牛奶的凝固与胨化、淀粉水解、纤维素水解、硫化氢试验和拮抗性试验。

**土壤有机质和土壤pH值的测定**<sup>[3]</sup> 土壤有机质测定采用重铬酸钾容量法(Tyurin法),土壤pH值用贝克曼酸度计测定。

## 2 结果与讨论

### 2.1 放线菌的数量

采自作为草场利用的西藏拉孜、那曲和唐古拉地区的草毡土<sup>[4,5]</sup>,是无林高山带嵩草草甸植被下发育的土类。在高山垂直带谱中,上承寒冻土带、下接黑毡土带,为高原亚寒带半湿润气候,年均气温偏低,土壤表层有机质含量较丰富。

用高氏一号培养基测定了3个土样中的放线菌数,结果列于表1。表1显示3个地区

收稿日期 1997-06-12

作者简介 张晓琳,女,1975年生,在读研究生

草毡土中的放线菌数量差异较大。数量最多的是拉孜地区的草毡土,为 59.40 万个/g 干土,其次是那曲草毡土为 1.31 万个/g 干土,唐古拉草毡土中数量最少,仅 0.33 万个/g 干土。土壤是成土因素综合影响的产物,土壤中的微生物数量是土壤水、热、植被等因素的综合反映。绝大多数为异养性微生物的放线菌,在土壤中的活动受着土壤温度、水分、pH 及有机质含量的影响。由测试结果看,3 个土样的有机质含量由高至低,依次为唐古拉草毡土>那曲草毡土>拉孜草毡土,与放线菌数量恰呈相反趋势。表明 3 个土样中的有机质对放线菌数量影响不大。年降水量唐古拉和那曲均在 400~700 mm,拉孜为 300~400 mm,可能因放线菌较细菌耐旱,所以在一定条件下降水量不会显现出对放线菌数量的明显影响。但土壤放线菌菌数却有随土样的立地海拔高度升高而降低,随 pH 值升高而升高的趋势。由土壤的垂直分布看,海拔高度实际表征各土样间土壤温度、水分与植被的差异。3 个土样中拉孜草毡土海拔高度最低,加之 pH 值适宜于放线菌活动,所以数量最多。唐古拉草毡土海拔高度达 4 700 m,封冻期长达半年以上,影响放线菌活动,致使菌数偏低。

表 1 西藏草毡土中放线菌的数量

土样编号	采样地点	采样时间(日/月)	海拔(m)	有机质含量(g/kg)	pH 值	年降水量(mm)	冻结期(月数)	放线菌数量(万个/g)
02	拉孜	25/6	3850	0.99	8.15	300~400	3~4	59.40
05	那曲	6/9	4490	5.94	7.61	400~700	3~4	1.31
09	唐古拉	5/6	4700	7.20	6.00	400~700	>6	0.33

注:放线菌数量以每克干土中的个数记。

## 2.2 放线菌的组成

在 3 个土样中共分离纯化出 158 株放线菌,经鉴定、分类<sup>[2,5]</sup>列于表 2。

表 2 西藏草毡土中放线菌组成

属群名	土样编号			属群名	土样编号		
	02	05	09		02	05	09
链霉菌属 <i>Streptomyces</i>				小单孢菌属 <i>Micromonospora</i>	1		1
白孢类群 <i>Alboporus</i>	12	1	4	诺卡氏菌属 <i>Nocardia</i>		5	1
球孢类群 <i>Globosporus</i>	7	2	7	类诺卡氏菌属 <i>Noardiades</i>	2		
黄色类群 <i>Flavus</i>	9	3	3	马杜拉放线菌属 <i>Actinomadura</i>	1		
粉孢类群 <i>Roseosporus</i>	6			链孢囊菌属 <i>Streptosporangium</i>	2		
淡紫灰类群 <i>Lavendular</i>	4	2	1	链轮丝菌属 <i>Streptocorticium</i>	1		
青色类群 <i>Glaucis</i>	12			游动双孢菌属 <i>Planospora</i>	1(0244号)		
棕灰类群 <i>Cherogriseus</i>	2			未定一	1(0217号)		
绿色类群 <i>Viridis</i>	12			未定二		1(0922号)	
灰红紫类群 <i>Griseorubro-violaceus</i>	14	2					
灰褐类群 <i>Griseofuscus</i>	11	1	2				
金色类群 <i>Aureus</i>	20		4				
总数	109	11	21				

由表 2 结果可见,拉孜土壤的放线菌组成复杂,共分为 7 个属;而那曲、唐古拉土壤中放线菌组成相对简单,分别分离到 2 个属和 3 个属。这是因为拉孜的生态环境条件相对比较适宜于放线菌的生长,而那曲和唐古拉地区海拔较高,不利于放线菌活动。西藏草毡土中,链霉菌属占绝对优势,为放线菌总数的 84.4%,其次是诺卡氏菌属。小单孢菌属也是土壤中常见放线菌。链霉菌属按照《链霉菌鉴定手册》<sup>[6]</sup>的分群标准共分为 11 个类群,其

中主要类群为金色类群,未见蓝色类群和吸水类群。

所获菌株中的 0244 号菌株,形态特征接近游动双孢菌属,但其孢囊孢子个数为 2 或 4 个,这与游动双孢菌属所描述的孢囊孢子为 2 个<sup>[7]</sup>尚有出入,因此,将其暂归入此属。此外,0217 和 0922 号菌株形态也很特殊,在现有记载中未见描述,有待进一步鉴定。

### 2.3 生理生化特征

分离得到的 158 株放线菌全部进行了生理生化特征测定,将某些酶活性或拮抗性较强的链霉菌和几株特殊菌的生理生化特性结果列于表 3。

表 3 供试部分链霉菌和特殊菌的生理生化特征

菌株号	淀粉水解	牛奶凝固与胨化		明胶液化	H <sub>2</sub> S 产生	纤维素分解	拮抗性		
		凝固	胨化				大肠杆菌 1101	金黄色葡萄球菌 1010	棉花枯萎病菌 F10-3
0203	10.3	-	-	-	++++	++	-	2.5	2.6
0206	3.2	-	++	++	-	+	-	11.7	21.0
0214	-	-	-	++++	+++	-	-	-	19.0
0223	21.3	-	-	++	-	-	-	-	-
0247	3.3	++++	+++	-	++++	-	-	22.3	-
0254	0.8	-	++	-	+	-	20.3	30.3	12.7
0256	4.2	-	-	-	++++	-	-	-	17.3
0277	4.7	++++	++	-	-	+	-	-	-
0283	8.0	+	+	++++	+	-	-	-	-
0286	12.2	++++	++	-	-	+	-	13.3	-
0293	9.3	-	++++	+++	-	-	-	-	-
02101	7.0	-	-	-	-	+	-	-	-
02131	1.0	-	-	+	-	+	-	33.3	-
0905	20.3	++	+	++	-	-	-	-	-
0919	11.3	++	++	-	-	-	27.0	27.3	-
0924	5.2	+	+++	+	++++	-	-	-	-
0502	17.0	-	++++	++++	-	-	-	-	-
0505	15.0	-	++++	++	-	-	-	-	-
0510	8.2	+	-	+++	-	-	-	-	-
0214	6.2	-	++++	+++	-	-	-	-	-
0217	12.0	-	-	-	-	-	-	15.7	-
0922	-	-	++++	+++	-	-	-	-	-

注:1. 水解淀粉能力用水解圈与菌落半径之差(mm)来表示。2. 牛奶凝固与胨化 6 d 后测定,明胶液化在 10 d 后测定。3. “-”代表反应阴性;“+、++、+++、++++”分别代表阳性反应由弱到强。4. 试验用菌种由本校微生物教研组提供。

可以看出,西藏草毡土中的放线菌,其淀粉酶、蛋白酶和凝乳酶活性均较强。所有供试菌中仅有 12% 的菌株不水解淀粉,水解圈与菌落半径之差 > 5 mm 的菌株占试验菌株总数的 56.3%,其中 0223 号菌株淀粉水解能力最强,水解圈与菌落半径的差值为 21.3 mm;在牛奶凝固与胨化试验中,6 d 后大约 50% 的菌株均出现凝固与胨化现象,30 d 后,全胨化牛奶的菌株占总数的 81.6%;此外,供试菌还表现出了较强的明胶液化能力,10 d 后液化明胶的菌株占试验菌株总数的 48.4%,30 d 后明胶全部液化的菌株为 50.3%;3 个土样中,那曲草毡土的放线菌淀粉酶、蛋白酶和凝乳酶活性最强,水解淀粉和胨化牛奶的菌株分别为 81.3% 和 93.3%;唐古拉草毡土中的放线菌明胶液化能力在 3 个土样中表现最强,有 79.2% 的菌株液化明胶。

测试结果还表明:3 个土样中,放线菌的  $H_2S$  产生能力和纤维素分解能力相对较弱,产生  $H_2S$  的菌株仅占总数的 24.8%,而仅 35.4% 的菌株具有微弱的纤维素分解能力。这可能是由于西藏草毡土一般为牧地,植被类型为嵩草草甸,而这种植被易于被其他微生物分解,因此,在这样的生态环境下生存的土壤放线菌相应地纤维素分解能力比较弱。

放线菌是抗生素的主要产生菌,从拮抗性结果来看,分离的 158 株菌对真菌的拮抗性普遍较弱,仅一株菌(0293 号)对米曲霉表现出较明显的抑制作用,其抑菌圈半径为 11.3 mm,其余均无抑菌圈或微弱。此外,其抗棉枯萎病原菌的活性也较弱,具明显抑菌圈的菌株占 8.9%。值得一提的是供试菌株对金黄色葡萄球菌表现出了较强的抗菌性,具明显抑菌圈的菌株占总数的 30.3%,其中有 21 株菌的抑菌圈半径大于 15 mm,02131 号菌株产生的抑菌圈最大,为 33.3 mm。供试菌抗大肠杆菌的活性相对较弱,具明显抑菌圈的菌株占 11.0%。总的看来,西藏草毡土中放线菌对细菌的拮抗性能高于对真菌的拮抗性,对革兰氏阳性菌的拮抗性大于对革兰氏阴性菌的拮抗性。

上述结果说明,西藏草毡土中多种放线菌可以产生有用的物质,因此,对其进一步深入研究,选育产淀粉酶、蛋白酶以及抗生素能力强的菌株,对经济建设有重要的实用意义。

#### 参 考 文 献

- 1 阮继生.放线菌分类基础.北京:科学出版社,1977,21~25
- 2 阎逸初.放线菌的分类与鉴定.北京:科学出版社,1991
- 3 南京农学院.土壤农化分析.北京:农业出版社,1981
- 4 中国科学院青藏高原综合科学考察队.西藏土壤.北京:科学出版社,1985
- 5 成延鳌,田均良.西藏土壤元素背景值及其分布特征.北京:科学出版社,1993
- 6 中国科学院微生物研究所放线菌分类组.链霉菌鉴定手册.北京:科学出版社,1975,19~21
- 7 Buchanan R E, Gibbons N E. Bergey's manual of determinative bacteriology (8th Ed). Baltimore, Williams & Wilkins Co, 1974

## A Study on the Classification and Resources of Actinomycetes from Alpine Meadow Soil in Tibet

Zhang Xiaolin Zhu Ming'e Xue Quanhong

(Department of Resources and Environmental Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi, 712100)

**Abstract** In this paper, 158 strains of actinomycetes were isolated from Alpine meadow soil samples collected in Lazi, Naqu and Tang Gula Region in Tibet by spreading the samples on five kinds of agar media. Isolates were identified by conventional procedures. Except for the two undeterminable strains of actinomycetes, the test strains were classified into eight genus on the basis of morphological and physiological characteristics. Streptomyces occupied an absolutely dominant position. The amount and composition of the actinomycetes in the Alpine meadow soil samples in Tibet were also discussed.

**Key words** Tibet, Alpine meadow soil, soil actinomycetes