

西藏土壤放线性菌初步研究

薛泉宏 谭志远 朱铭莪 张晓琳

(西北农业大学资源与环境科学系, 陕西杨凌 712100)

摘 要 采用常规方法研究了西藏 8 个主要土类 11 个土样的土壤放线菌数量、主要属与类群、生理生化特性及拮抗特征。结果表明: ① 西藏不同土类及同一土类不同剖面表层土壤放线菌数量差异很大, 随海拔升高, 冻结期增长, 土壤放线菌数量显著减少; ④西藏土壤放线菌种类简单, 供试菌株分为 5 属, 链霉菌属占优势; ④④供试菌株大部分无明胶液化能力, 约 1/3 无淀粉水解能力, 淀粉水解能力较强者优先仅占 1/3 左右; ④ 供试菌株约有 19% 对革兰氏阳性菌有极强抗性, 约 9% 对棉枯萎菌有较强抗性, 仅有 2% 菌株对革兰氏阴性菌有抗性。

关键词 土壤放线菌, 放线菌资源, 放线菌分类, 西藏

分类号 S154.383

土壤是放线菌生长发育的理想自然基质和重要栖息场所, 土壤生态环境强烈影响着土壤放线菌的类群及生理生化性质。西藏高原是一个特殊的生态区, 被称为“地球第三极”^[1~2]。定居于西藏土壤中的放线菌必然具有鲜明的地域性特点, 但目前对西藏土壤放线菌研究甚少, 本研究将为西藏土壤放线菌资源调查及其系统发育研究提供科学资料。

1 材料与方法

1.1 土壤样品

采样点概况和供试土样基本性质见表 1。

表 1 采样点概况及土样基本性质

土样 编号	土壤 名称	采样 地点	采样 深度/cm	海拔/m	植被	年降水量/mm	年均 温度/	年冻 结期/月	土壤有机质/ (g · kg ⁻¹)	pH
1	沙嘎土	萨嘎	0~17	4900	针茅、蒿草、垫状植被	10~300	-0.2~-0.4	5.5	15.3	7.66
2	沙嘎土	措美	0~18	4720	针茅、冷蒿等	100~300	-0.2~-0.4	5.5	17.4	7.28
3	草毡土	拉孜	0~35	3850	垫状植被	300~400	-2~-6	3~4	9.0	8.15
4	草毡土	那曲	0~20	4490	针茅等	400~700	-2~-6	>6	59.4	7.61
5	草毡土	唐古拉	0~20	4700	蒿草等	400~700	-2~-6	>6	78.5	6.00
6	黑毡土	亚东	10~20	3850	苔草、蒿草等	400~700	-2~-4	3~4	39.3	6.32
7	沼泽土	措勤	8~30	4670	针茅等	560~800	0.6~1.2	6~7	17.4	7.83
8	寒漠土	札达	4~23	5300	针茅等	300~700	-8~-10	>10	19.1	7.20
9	漂灰土	聂拉木	4~14	3120	针叶林(冷杉)	400~600	-5~0	4~5	198.7	4.03
10	暗棕壤	亚东	0~24	3520	针阔叶混交林	600~1100	-1~5	<1	132.2	4.13
11	棕壤	吉隆	0~15	2880	针叶林(松林)	400~500	0~5	<1	58.8	5.36

注: ① 土壤有机质测定采用重铬酸钾容量法^[3], pH 用 Beckman 70 型 pH 计测定。

④年降水量、年均温度及年冻结期温度引自文献[1]。

由表 1 可见, 供试土壤 8 个土类 11 个土样, 采自西藏南部东起那曲—措美, 西至札达, 北起唐古拉, 南至亚东—吉隆一线的广大地区, 采样区覆盖西藏高原近 1/2 地区, 包括了西藏的主要土壤类型。

1.2 方法

分离测数 分离测数用培养基: 高氏 1 号, 改良高氏 1 号, 高氏 4 号, 甘油精氨酸琼脂^[4]。稀释平板法分离测数, 28~30 培养 7~14 d(最长 30 d), 所得菌株经纯化移至高氏 1 号斜面管保存待鉴定。

菌种鉴定 常规方法鉴定到属^[5~6]。插片法观察菌体形态; 琼脂块法测定对金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌(*Escherichia coli*)及棉枯萎菌(*Fusarium vossinfectum* Aek)的拮抗性。拮抗试验用菌由本教研组菌种保藏室提供。

2 结果与分析

2.1 放线菌数量

从表 2 看出, 同一土样 4 种培养基上的放线菌数量不同, 其平均值在不同土样及不同土类间存在很大差异, 如 6 号黑毡土与 3 号草毡土的放线数量分别为 0.01×10^4 个/g 和 52.16×10^4 个/g, 相差 5 000 多倍。对同一土类而言, 不同剖面表层土壤中放线菌数量随生态条件不同呈规律性变化。如草毡土中的放线菌数量按 3 号土>4 号土>5 号土排列, 而采样点海拔高度却恰好是 3 号土<4 号土<5 号, 土壤有机质 3 号土<4 号土<5 号土, 土壤 pH 值 3 号土>4 号土>5 号土, 这些排列顺序具有规律性(表 1)。在莎嘎土(高山草原土)和漂灰土、暗棕壤及棕壤 3 种森林土壤中, 放线菌的数量与生态因子间的关系也呈现出类似的规律性。寒漠土的年冻结时间大于 10 个月, 放线菌数量均值为 0.03×10^4 个/g, 远少于年冻结时间仅为 3~4 个月的 3 号草毡土的放线菌数量(52.16×10^4 个/g)。

表 2 西藏不同类型土壤中放线菌数量 10⁴ 个/g

土样 编号	土壤类型	分离培养基				
		高氏 1 号	改良高氏 1 号	高氏 4 号	甘油精氨酸	平均值
1	莎嘎土	25.90	24.40	19.50	29.90	24.93
2	莎嘎土	1.25	2.48	0.42	0.53	1.17
3	草毡土	59.4	68.4	3.65	77.20	52.16
4	草毡土	1.31	0.70	0	0.34	0.59
5	草毡土	0.33	0.13	0.74	0.46	0.42
6	黑毡土	0	0.05	0	0	0.01
7	沼泽土	5.83	34.4	5.14	3.60	12.24
8	寒漠土	0.05	0	0.07	0	0.03
9	漂灰土	0.24	0.20	0	0.10	0.14
10	暗棕壤	0.28	1.10	2.5	0.18	1.02
11	棕壤	24.1	68.5	20.2	1.35	28.53

由此可知, 西藏土壤中放线菌数量随土壤冻结时间减少、pH 增加而增加(森林土壤系列), 或随海拔高度降低、土壤冻结期缩短、pH 增加而增加(草毡土)。该结果表明, 西藏土壤放线菌数量与生态环境条件有着极为密切的关系。从表 2 还可看到与以上规律不符的现象, 即供试黑毡土的分布高度(3 850 m)与 3 号草毡土一致, 水热条件类似, 土壤放线菌数量在供试土壤中最少, 其原因尚待进一步研究。

2.2 放线菌的属划分

从分离纯化所得 556 株放线菌中, 选出在培养特征上具有一定代表性的 132 株放线菌, 按以形态特征为主定属的原则^[5~6] 鉴定至属(其余菌株尚在鉴定之中), 结果见表 3.

表 3 西藏不同类型土壤中放线菌属划分

编号	属 名	土壤编号											总株数/ 总数的 株 百分数/%	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
1	链霉菌	31	-	21	2	10	1	13	-	2	7	25	112	84.8
2	钦氏菌	-	1	-	-	-	-	-	-	-	1	1	3	2.3
3	诺卡氏菌	-	1	-	-	1	-	-	-	-	1	-	3	2.3
4	小单孢菌	3	-	-	1	1	-	-	1	-	-	-	6	4.5
5	孢囊链霉菌	2	-	4	-	-	-	1	-	-	-	-	8	6.1
	总属数	3	2	2	2	3	1	2	1	1	3	2		

由表 3 看出, 从西藏 8 个土类 11 个土样中分离纯化菌株中选出的 132 个菌株, 分布于链霉菌、钦氏菌等 5 个属中, 链霉菌属菌株占鉴定菌株的 84. 8%, 孢囊链霉菌、小单孢菌分别为 6. 1% 和 4. 5%, 其他 2 个属仅占 4. 6%. 在供试 11 个土样中, 1 号莎嘎土、3 号草毡土和 11 号棕壤的链霉菌分别为 31, 21 及 25 株, 占链霉菌属鉴定菌株的 27. 7%, 18. 8% 和 22. 3%. 2 号莎嘎土和 8 号寒漠土的海拔高度分别为 4 720 和 5 300 m, 年冻结时间分别在 5. 5 或 10 个月以上, 已鉴定菌株中这两个土样无链霉菌, 仅有钦氏菌属、诺卡氏菌属和小单孢菌属. 表明链霉菌属是西藏土壤放线菌的主要属之一.

从表 3 还可看出, 西藏土壤放线菌种类简单. 1 号莎嘎土、5 号草毡土和 10 号暗棕壤均为 3 个属, 黑毡土(6 号)、寒漠土(8 号) 和漂灰土(9 号) 仅有 1 个属. 西藏土壤放线菌种类简单的特点与该地区土壤长期冻结等生态条件相吻合, 也与文献[7] 的研究结果类似.

2.3 链霉菌类群划分

从表 4 看出, 在供试的 112 个链霉菌属菌株中, 共鉴定出 11 个类群, 其中的白孢类群占鉴定链霉菌属菌株的 26. 8%, 黄色类群、青色类群、金色类群和灰褐类群分别占鉴定链霉菌属的 20. 5%, 18. 8%, 8. 0% 及 8. 0%, 其余 6 个类群的菌株占鉴定链霉菌属的 18. 0%. 白孢类群、黄色类群和青色类群共占鉴定链霉菌属的 66. 1%, 为优势类群.

表 4 西藏不同土壤中链霉菌属类群划分

编号	类群 名称	土壤编号及类群数/ 株											总和/ 株	占总数的 百分数/%
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11		
1	白孢类群	15	-	7	-	-	-	5	-	-	2	1	30	26.8
2	黄色类群	5	-	4	1	7	-	2	-	-	-	4	23	20.5
3	青色类群	3	-	5	-	3	-	3	-	-	1	6	21	18.8
4	金色类群	3	-	1	-	-	1	1	-	-	-	3	9	8.0
5	粉红孢类群	2	-	1	-	-	-	1	-	-	-	-	4	3.6
6	淡紫灰类群	-	-	-	1	-	-	-	-	1	-	2	4	3.6
7	绿色类群	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	1	4	3.6
8	蓝色类群	-	-	2	-	-	-	-	-	-	1	0	3	2.7
9	灰红紫类群	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	2	1.8
10	灰褐类群	3	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5	9	8.0
11	吸水类群	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	3	2.7
	总类群数	6	0	7	2	2	1	6	0	2	5	9	11	

从表 4 还可以看出, 供试土壤中链霉菌属组成的复杂程度(用总类群数表示) 与土壤

的生态条件关系密切。在海拔较低, 年冻结时间仅为 4 个月, 年均温度较高的棕壤和 3 号草毡土中, 链霉菌属分别由 9 个和 7 个类群组成, 而在海拔较高, 年冻结时间分别为 5.5 和 10 个月以上的 2 号莎嘎土和寒漠土中, 无链霉菌属出现。黑毡土年冻结期 3~4 月, 链霉菌属仅有 1 个类群(金色类群)。该结果表明, 在西藏土壤中, 海拔愈高, 年均温愈低及年冻结期愈长, 生态环境愈严酷, 链霉菌属组成愈简单。

2. 4 生理生化及抗性特征

供试菌株的明胶液化、淀粉水解及抗性试验结果见表 5. 两种代表菌(05008 号菌和 03112 号菌) 的淀粉水解及对葡萄球菌的拮抗作用见图 1.

表 5 供试菌株明胶液化、淀粉水解及抗性特征

特 性	测定项	程度	标准 ¹	占供试菌株总数的百分数/ %
生化特性	明胶液化	强	5 d 全部液化	7. 0
		弱	20 d 少量液化	11. 6
		无	未液化	81. 4
	淀粉水解	强	$r \geq 5$	34. 9
		弱	$0 < r < 5$	32. 6
		无	$r = 0$	32. 6
拮抗性④	抗 G ⁺ 菌	极强	$r > 20$	18. 6
		强	$5 < r \leq 20$	7. 0
		弱	$0 < r \leq 5$	13. 9
	抗 G ⁻ 菌	无	$r = 0$	60. 5
		强	$r \geq 12$	2. 3
		无	$r = 0$	97. 7
	抗真菌	强	$r \geq 5$	9. 3
		弱	$0 < r < 5$	37. 2
		无	$r = 0$	53. 5

注: ¹ r 代表淀粉水解圈或拮抗圈的半径(mm).
④G⁺ 菌、G⁻ 菌及真菌分别为金黄色葡萄球菌、大肠杆菌和棉枯萎菌。

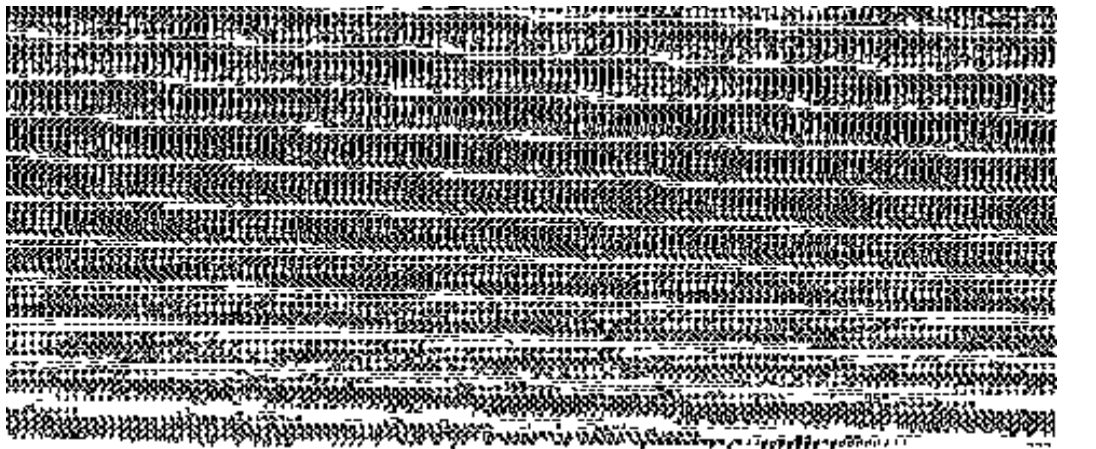


图 1 两种代表菌的淀粉水解及对金黄色葡萄球菌的拮抗作用
A. 淀粉水解(05008 号菌); B. 拮抗作用(03112 号菌)

从表 5 看出,供试菌株的明胶液化能力较差,81.4% 的供试菌株无明胶液化能力,仅有 7.0% 的菌株有较强的明胶液化能力。淀粉水解试验表明,水解能力较强、较弱及无水解能力的菌株分别占供试菌株的 34.9%、32.6% 及 32.6%,少数菌株淀粉水解能力很强(图 1)。革兰氏阳性菌的拮抗试验表明,18.6% 的供试菌株抗革兰氏阳性菌能力极强,整个培养皿的葡萄球菌均被抑制(图 1),对革兰氏阳性菌拮抗作用较弱及较强的菌株分别占供试菌株的 7.0% 和 13.9%,60.5% 的菌株对革兰氏阳性菌无拮抗性。对革兰氏阴性菌的拮抗试验表明,97.7% 的菌株对革兰氏阴性菌无抗性,仅有 2.3% 的菌株抗革兰氏阴性菌。抗真菌试验表明,9.3% 的供试菌株对棉枯萎菌有较强抗性,抗性较弱和无抗性菌株分别占供试菌株的 37.2% 和 53.5%。由此可见西藏土壤中蕴藏着大量有经济价值的放线菌,应在该地区放线菌资源调查及开发利用方面开展进一步研究。

参 考 文 献

- 1 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
- 2 中国科学院青藏高原综合科学考察队. 西藏气候. 北京: 科学出版社, 1985
- 3 文启孝. 土壤有机质研究法. 北京: 农业出版社, 1984
- 4 姜成林, 徐丽华. 微生物学报, 1989, 29(1): 7~14
- 5 阮继生. 放线菌分类基础. 北京: 科学出版社, 1977
- 6 阮继生. 放线菌研究及应用. 北京: 科学出版社, 1990
- 7 徐丽华, 杨宇容, 姜成林. 云南土壤放线菌生态分布的研究. 微生物学报, 1996, 36(3): 220~226

A Study on the Soil Actinomycetes in Tibet

Xue Quanhong Tan Zhiyuan Zhu Ming'e Zhang Xiaolin

(Department of Resources and Environmental Science, Northwestern

Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract The quantity, genus, physiological and biochemical characteristics and antibiotic property of actinomycetes in eight main soil types in Tibet were studied. The results indicated that: ① The quantity of actinomycetes differed in different soil types and in different top horizon of the same soil type. The quantity of actinomycetes decreased with the increasing of elevation and frozen period. ④ The actinomycetes genus was simple. The strains tested were divided into five genus with streptomyces dominant. ④ The strains tested didn't liquefy gelatin. About one third of the strain didn't hydrolyze starch, and one third of the strain had strong starch hydrolysis. ¼ 19 percent of the strain tested had very strong antibiosis to gram-positive bacteria, 9 percent had strong antibiosis to cotton Fusarium wilt (*Fusarium vasinfectum* Aek), and only 2 percent had antibiosis to gram-negative bacteria.

Key words soil actinomycetes, actinomycetes resources, actinomycetes classification, Tibet