

高黎贡山土壤放线菌初步研究

余丽, 晏爱芬 (云南保山师范高等专科学校生化系, 云南保山 678000)

摘要 [目的] 寻找适合高黎贡山特点的放线菌分离方法, 为新种的发现和筛选奠定基础。[方法] 采集高黎贡山海拔 1 500 m 下 7 个土样, 以 $K_2Cr_2O_7$ 为抑制剂, 对高黎贡山土壤放线菌的分布情况进行了初步的研究。[结果] 200 mg/L $K_2Cr_2O_7$ 具有很好的抑菌效果。放线菌种类丰富, 但有机质丰富的土壤中放线菌的分布较耕地、旱地少。供试菌明胶液化培养 5 d 后, 中度液化能力的占 42%。淀粉水解试验表明, 绝大多数供试菌均有较强的水解能力, 淀粉水解直径 ≤ 1 cm 的占 13%, 1~2 cm 的占 40%, >2 cm 的占 47%。[结论] 该研究为进一步对高黎贡山放线菌及微生物资源的研究提供了依据, 也为高海拔微生物资源的调查研究做了方法上的准备。

关键词 高黎贡山; 土壤放线菌; 分布; 水解

中图分类号 S154.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)26-11456-01

Preliminary Study on Soil Actinomycetes from Mt. Gaoligongshan

YU Li et al (Department of Biochemistry, Baoshan Normal Junior College of Yunnan Province, Baoshan, Yunnan 678000)

Abstract [Objective] The aim was to search for the actinomycete separation method suitable for the characteristics of Mt. Gaoligongshan and lay the foundation for the discovery and screen of new species. [Method] 7 soil samples were collected from Mt. Gaoligongshan below 1 500 m altitude and with $K_2Cr_2O_7$ as inhibitor, the distribution of soil actinomycetes from Mt. Gaoligongshan was studied preliminarily. [Result] 200 mg/L $K_2Cr_2O_7$ had good antibacterial effect. Actinomycete had abundant species, but its distribution in the soil with rich organic matter was less than that in plowland and dry land. After gelatin liquefaction of the tested actionmycetes for 5 d, the actionmycetes with moderate liquefaction ability was 42%. The starch hydrolysis test showed that the most tested actionmycetes all had stronger hydrolysis ability. The hydrolysis diameter of starch below 1 cm was 13%, that between 1 cm and 2 cm was 40% and that above 2 cm was 47%. [Conclusion] The research provided the basis for the further study of actinomycetes from Mt. Gaoligongshan and microbial resources, and also made preparation for the survey method for the microbial resources in high altitude.

Key words Mt. Gaoligongshan; Soil actinomycetes; Distribution; Hydrolysis

土壤放线菌是具有巨大应用价值的微生物类群。自 Waksman 和 Umezwa 发现放线菌用途的多样性后, 人们还发现放线菌可作为抗生素、维生素、酶和酶抑制剂的产生菌^[1]。据统计, 现已发现的 4 000 余种抗生素, 有 90% 是由放线菌产生的, 而且放线菌产生的抗生素活性强, 抑菌范围广^[2]。土壤是放线菌生长的良好场所, 许多放线菌都来源于土壤, 但是放线菌易受到土壤其他微生物的影响。所以, 应尽可能分离不同种类放线菌, 排除其他微生物如细菌、真菌的干扰, 创造有利于放线菌生长的条件。在土壤放线菌分离中, 影响放线菌纯化培养的主要原因就是细菌和真菌的污染, 研究结果发现, 可以采取几种措施来抑制细菌和真菌: ①采集土样放置一定时间后让细菌数量降低再进行分离; ②配制适宜浓度的土壤悬浮液; ③利用理想浓度的抑制剂来抑制细菌和真菌的生长; ④土壤进行预处理来杀死一些细菌^[3]。为此, 笔者初步研究了抑制剂的选择及土壤样品的处理等方面, 以期建立土壤放线菌分离的高效、简便、低廉的选择性分离程序, 找到适合高黎贡山特点的放线菌分离方法。

1 材料与方法

1.1 材料 土壤样品采自高黎贡山海拔 1 500 m 下不同土地类型, 取 5~20 cm 处土样装入纸袋, 作好记录。

培养基。高氏一号培养基^[4]: K_2HPO_4 0.5 g, NaCl 0.5 g, $FeSO_4$ 0.01 g, KNO_3 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g, 可溶性淀粉 20 g, 琼脂 20 g, pH 值 7.2~7.4 加 H_2O 定容至 1 L; 明胶液化试验培养基^[5]; 淀粉水解试验培养基^[5]。

1.2 方法

1.2.1 平板涂布培养, 放线菌分离、计数。 根据文献^[6]选择不同浓度(0、150、200 mg/L)的 $K_2Cr_2O_7$ 为抑制剂, 土壤放

置一个月风干。称取磨碎的 5 g 土样放入灭菌三角瓶中, 加入 50 ml 灭菌水, 80 r/min 振荡 30 min, 吸取 0.2 ml 不同土壤悬浮液加入含 $K_2Cr_2O_7$ 的高氏一号培养基平板, 各 3 皿, 均匀涂布, 30 °C 培养。并挑取典型菌落多次分离纯化, 接种于高氏培养基斜面保藏以备进行进一步的鉴定和生理生化研究。

1.2.2 明胶液化能力测定。 将分离得到的典型放线菌接种于明胶培养基表面, 22 °C 下培养, 5、10、20 d 观察液化程度。

1.2.3 淀粉水解试验。 将分离得到的典型放线菌(同明胶试验)接种于淀粉水解培养基平板上, 30 °C 培养 5 d, 观察结果。

2 结果与分析

2.1 放线菌分离结果 放线菌生长特征明显, 菌落成不规则形, 质地致密, 表面呈较紧密的绒状、坚实、干燥、多皱, 菌落较小, 生长缓慢, 颜色多样(表 1)。

2.2 明胶液化能力测定及淀粉水解试验结果 试验结果表明, 供试菌明胶液化 5 d 后中度液化的为 42%; 弱液化的为 28%。其淀粉水解特征见表 1。直径 ≤ 1 cm 的占 13%, 1~2 cm 的占 40%, >2 cm 的占 47%, 表明大多数供试菌有较强的水解能力。

3 结论与讨论

(1) 重铬酸钾在 200 mg/L 浓度时有较好的抑菌效果^[7], 有的放线菌种类出现明显的抑菌圈, 产生的水溶性代谢物也防止了平板的污染。而使用浓度 10% 苯酚作抑制剂的抑菌效果不如重铬酸钾, 从该研究看基本没有抑菌效果。

(2) 从放线菌的分布情况看, 有机质丰富的土壤中放线菌的数量和种类较耕地、旱地的少, 这也与一些文献报道相同。总的来看, 以链霉菌属比例较大, 表现丰富, 有黄色、粉色、黑色、灰褐色、红色、蓝色和灰黄色等类群, 有待进一步鉴定。

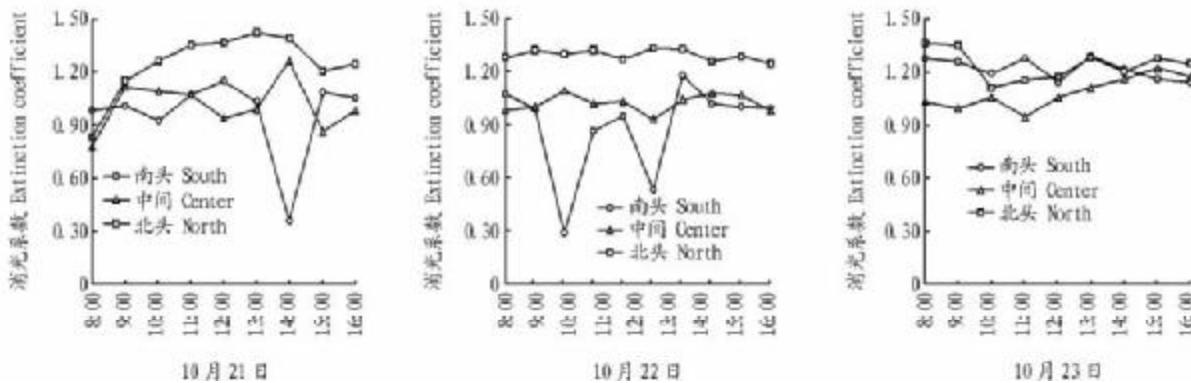


图3 作物群体中消光系数的变化规律

Fig.3 Change laws of the extinction coefficient in crop population

就相对较小了。

3 结论与讨论

(1)在阴天(特别是连阴天)条件下,日照时数较少,室内光照、热量不足是影响作物生长发育不良的主要原因。因此,为了延长光照时间,在可能的范围内应尽量早揭晚盖草苫或棉被等外覆盖物,经常擦拭棚膜,使室内尽可能多地接受太阳辐射量;阴天和寒冷的冬天,只要揭开外覆盖物时不造成冻害就要揭开见光,必要的时候还可以进行人工补光。

(2)日光温室内,太阳辐射的分布明显存在着空间上的差异,据此可以在水平、垂直空间上合理安排作物,形成合理的群体结构,充分利用日光温室内的空间。

(3)目前,生产上普遍应用的日光温室在秋、冬季具有良好的增温、保温效能,并且无论是晴天还是阴天,日光温室内的太阳总辐射量与室外的太阳总辐射量存在着显著的线性相关。据此可以对秋季不同天气条件下、不同时间日光温室内的太阳辐射量进行估算,为合理进行日光温室的光照管理

提供参考,同时菜农也可根据当地天气预报资料对室内作物进行适当管理。

(4)可以通过合理密植来增加群体中光合作用面积,即增加吸收太阳光能的叶面积,来充分利用光能、空间、地力,从而增加植物对太阳能的吸收比例,减少透射、反射和漏射损失,提高植物光能利用率^[6]。

参考文献

[1] SHAHEEN A M, HELAL R M, OMAR N M, et al. Seedling production of some vegetables under plastic houses at different levels of light intensities [J]. *Egyptian Journal of Horticulture*, 1996, 22(2): 175 - 192.
 [2] 郜庆炉, 梁云娟, 段爱旺. 日光温室光照特点及其变化规律研究[J]. *农业工程学报*, 2003, 19(3): 200 - 204.
 [3] 冯秀藻, 陶炳炎. 农业气象学原理[M]. 北京: 气象出版社, 1991: 45 - 52.
 [4] 刘克长, 张继祥, 任宗兴. 日光温室气象条件的观测研究[J]. *山东农业大学学报*, 2001, 32(1): 50 - 54.
 [5] 贺芳芳, 吴元中. 玻璃温室植物层中总辐射分布规律[J]. *气象*, 2001, 27(2): 25 - 28.
 [6] 翁笃鸣, 沈觉成. 农田小气候[M]. 北京: 农业出版社, 1984: 43 - 53.

(上接第 11456 页)

表1 高黎贡山不同土壤中放线菌数量及供试菌淀粉水解特征

Table 1 Quantity of actinomycetes and starch hydrolysis characters of tested strains in different soil types in Mt. Gaoligongshan

| 土样编号 Soil No. | 土壤类型 Soil type | 菌株 Strain | | |
|------------------|------------------------|-----------|--|---|
| | | 种类 Type | 菌落数// × 10 ³ g 土 Colony number | 淀粉水解直径// cm Starch hydrolysis diameter |
| 1 | 岗党, 海拔 1 000 m, 黄棕土 | 7 | 4.70 | 1.5 ~ 1.8 |
| 2 | 曼晃, 海拔 1 100 m, 胶土(桑田) | 10 | 3.75 | 1.2 ~ 2.2 |
| 3 | 马鹿厂, 海拔 1 250 m, 黄砂土 | 7 | 2.75 | 1.5 ~ 2.5 |
| 4 | 大鱼塘, 海拔 1 220 m, 浅黑砂土 | 3 | 3.50 | 0.8 ~ 2.8 |
| 5 | 仙人石, 海拔 1 300 m, 黑土 | 5 | 3.75 | 1.0 ~ 1.2 |
| 6 | 瀑布, 海拔 1 280 m, 黑土, 潮湿 | 3 | 3.50 | 0.8 ~ 1.0 |
| 7 | 旧街, 海拔 1 300 m, 黑土 | 4 | 2.25 | 2.0 ~ 2.5 |

(3)供试菌明胶液化培养 5 d, 液化能力 42% 表现为中度, 28% 表现较弱。淀粉水解试验表明, 绝大多数供试菌均具有较强的水解能力。

(4)高黎贡山蕴藏着丰富的放线菌及多种微生物资源, 该研究为进一步对高黎贡山放线菌及微生物资源的研究提供了方法依据, 也为高海拔微生物资源的调查研究提供了参考。

参考文献

[1] 徐成勇, 袁野, 黎丹辉, 等. 选择性分离放线菌[J]. *无锡轻工大学学报*,

1999, 18(2): 45 - 49.
 [2] 杨宇容, 徐丽华, 李启任, 等. 放线菌分离方法的研究 I. 抑制剂的选择[J]. *微生物学通报*, 1995, 22(2): 88 - 91, 85.
 [3] 史学群, 宋海超, 刘柱. 海南省土壤拮抗放线菌分离方法初探[J]. *中国农学通报*, 2006, 22(10): 431 - 435.
 [4] 郑雅楠, 杨宇, 吕国忠, 等. 土壤放线菌分离方法研究[J]. *安徽农业科学*, 2006, 34(6): 133 - 134, 136.
 [5] 程丽娟, 薛泉宏, 来航线, 等. 微生物实验技术[M]. 西安: 世界图书出版公司, 1988: 22 - 28.
 [6] 杜连群, 路福平. 微生物实验技术[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2006.
 [7] 安德荣, 慕小倩, 赵文军, 等. 土壤放线菌分离中抑制剂的应用研究[J]. *西北农业学报*, 2002, 11(1): 106 - 108.