

# 呼伦贝尔草甸草原优势种群根际微生物多样性研究

高明华, 关洪宇, 杨丽霞

(呼伦贝尔学院 生命科学与化学学院, 内蒙古 呼伦贝尔 021008)

**摘要:** 采用分离培养和生理生化试验等方法, 对呼伦贝尔草甸草原优势种群羊草和贝加尔针茅根际土壤微生物多样性及优势菌株进行了研究。结果表明, 3 类土壤样本微生物总数由高到低依次为: 羊草 > 贝加尔针茅 > 对照组, 但差异不显著 ( $p > 0.05$ ); 样地中呈现: 细菌总数 > 放线菌总数 > 真菌总数, 细菌与放线菌和真菌均呈显著差异 ( $p < 0.01$ )。在羊草根际土壤中分离到的优势菌株为细菌 7 个属 36 株, 放线菌 4 个属 21 株, 真菌 3 个属 17 株。

**关键词:** 微生物数量; 种群; 多样性; 优势菌株

文献标识码: A

文章编号: 1000-288X(2012)06-0250-03

中图分类号: Q938.1

## Diversity of Soil Microbes of Dominant Species in Hulunber Meadow

GAO Ming-hua, GUAN Hong-yu, YANG Li-xia

(School of Life Science and Chemistry, Hulunbeier College, Hulunbeier, Inner Mongolia 021008, China)

**Abstract:** Soil microbes were collected from the root zone of dominant native plants *Leymus chinensis* and *Stipa baicalensis* on Hulunber meadow. The diversity and dominant species of microbes were analyzed based on isolation, culture and biochemical analysis. The results demonstrated that the treatments could be ranked according to the gross amount of microbes in a descending order as: *Leymus chinensis* > *Stipa baicalensis* > Control. However, no significant difference was found among the treatment ( $p > 0.05$ ). In the samples, bacteria had the highest species numbers, actinomyces had the intermediate, and fungi had the lowest ( $p < 0.01$ ). Specifically, 36 colonies of bacteria belonging to 7 genera, 21 colonies of actinomyces belonging to 4 genera, and 17 fungi culturists of 3 genera were identified in the root zone soil of *Leymus chinensis* along.

**Keywords:** number of microbes; population; diversity; preponderant microbes

土壤微生物是草原生态系统的重要组成部分。土壤微生物指标是土壤生态系统变化的预警及敏感指标。土壤微生物参与土壤的物质循环和能量转化, 其变化与土壤肥力及土壤环境状况密切相关, 其数量分布不仅是土壤中有有机养分、无机养分以及土壤通气透水性的反映, 而且也是土壤中生物活性的具体体现, 同时还是土壤微生物群落状态与功能的指标之一<sup>[1]</sup>。此外, 土壤微生物优势菌株的类群和数量也能从另一角度反映土壤生态系统变化的基本状况。为此, 本研究选择呼伦贝尔市陈巴尔虎旗草甸草原自然保护区土壤作为对象, 比较了羊草、贝加尔针茅和对照根际土壤微生物数量, 并对土壤中优势微生物种群进行了分类鉴定, 以期陈旗草甸草原自然保护区土壤微生物多样性和草地畜牧业的可持续发展提供理论依据。

## 1 研究区概况

样地位于呼伦贝尔市陈巴尔虎旗草甸草原自然保护区, 地理位置为北纬  $49^{\circ}33'$ — $49^{\circ}43'$ , 东经  $118^{\circ}50'$ — $118^{\circ}58'$ , 海拔 695~787 m 地带。属中温带半干旱大陆性气候, 冬季严寒漫长, 夏季温暖短促, 年均气温  $-2.6^{\circ}\text{C}$ , 最高、最低气温分别为  $38.4^{\circ}\text{C}$  和  $-49^{\circ}\text{C}$ ; 年积温  $1580\sim 1800^{\circ}\text{C}$ , 无霜期 110 d; 年平均降水量 250~750 mm, 降雨多集中在 7—9 月且变率较大。

草原类型是以羊草 (*Leymus chinensis*)、贝加尔针茅 (*Stipa baicalensis*) 分别为建群种和优势种的草甸草原, 主要伴生种有草地早熟禾 (*Poa sphondylodes*)、蓬子菜 (*Galium verum*) 等。土壤类型为暗栗钙土。

## 2 材料与方法

### 2.1 样品采集

根据地形地貌、海拔高度、植被等特征等分别选择5处有代表性的取样点,在各样点的根区取土样(土壤表层0—20 cm)约0.5 kg,将采集的土样混合放入已消毒的聚乙烯塑料袋,封口,带回实验室立即进行实验。采集的样本为羊草和贝加尔针茅根际土壤及其非根际土壤(对照)。采集时间为2010年7月9日。

### 2.2 土壤 pH 值和含水量测定

将土、水以1:5混合后用精密pH计测定土壤pH值。采用常规的烘干称重法测定土壤含水量<sup>[2]</sup>。

### 2.3 土壤微生物种群数量测定(CFU法)

细菌、放线菌和真菌的活菌计数培养基分别为牛肉膏蛋白胨培养基、高氏1号培养基、孟加拉红培养基,方法见参考文献<sup>[3]</sup>。采用SPSS软件进行方差分析。

### 2.4 土壤优势菌株的分离培养与纯化

以在最高稀释度平板上出现的5~10个菌落作为优势菌株并进行分离与纯化<sup>[3]</sup>。将获得的纯化菌株编号并接种于相应培养基中培养,置于4℃条件下保存,用于分类鉴定。

### 2.5 优势菌株的分类与鉴定

优势菌株的分类鉴定以生理生化特征为主,形态和结构、菌落特征为辅的原则,依据经典的分类方法进行<sup>[4-6]</sup>。

## 3 实验结果

### 3.1 土壤 pH 值和含水量测定

羊草、贝加尔针茅和对照土壤pH值分别为7.23,7.25和7.22;含水量分别为4.76%,4.78%和4.76%。

### 3.2 根际土壤微生物数量比较

由表1可见,在土壤微生物中,细菌的数量基本上较放线菌高出1个数量级,放线菌较真菌高出1个数量级。细菌与放线菌和真菌均呈显著差异( $p < 0.01$ ),说明细菌占优势,放线菌次之,真菌最少。3类土壤样本微生物总数比较:羊草>贝加尔针茅>对照组,但差异不显著( $p > 0.05$ )。

表1 根际土壤微生物数量

数量(个·g <sup>-1</sup> )	细菌/10 <sup>7</sup>	放线菌/10 <sup>6</sup>	真菌/10 <sup>5</sup>
羊草	5.61	3.06	2.36
贝加尔针茅	5.17	3.03	2.47
对照	5.00	2.97	2.27

### 3.3 羊草根际土壤优势分离菌株的鉴定结果

3.3.1 细菌的初步鉴定结果 从根际土壤中分离到的细菌分属7个属,共计36株,其中,芽孢杆菌属(*Bacillus*)17株、假单胞菌属(*Pseudomonas*)10株、固氮菌属(*Azotobacter*)3株、微球菌属(*Micrococcus*)3株、不动杆菌属(*Acinetobacter*)1株、纤维单胞菌属(*Cellulomonas*)1株、土壤杆菌属(*Agrobacterium*)1株。土壤中芽孢型细菌的主要类群有:巨大芽孢杆菌(*B. megaterium*)、枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、软化芽孢杆菌(*B. macerans*)、多粘芽孢杆菌(*B. polymyxa*)、地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*)、环状芽孢杆菌(*B. circulans*)等。

3.3.2 放线菌的初步鉴定结果 从根际土壤中分离到的放线菌分属4个属,共计21株。其中链霉菌属(*Streptomyces*)的菌株有16株,分属5个种,即微白链霉菌(*S. albidus*)5株,产蓝链霉菌(*S. cyanogenus*)4株,绿黄链霉菌(*S. viridoflavus*)3株,灰色链霉菌(*S. griseus*)3株,青蓝链霉菌(*S. caeruleus*)1株,所占比例为76.2%;放线菌属(*Actinomyces*)2株,所占比例为占9.5%;包囊链霉菌属(*Streptocoporangium*)2株,所占比例为占9.5%;诺卡氏菌属(*Nocardia*)有1株,所占比例为占4.8%。

3.3.3 真菌的初步鉴定结果 从根际土壤中分离到的真菌分属3个属,共计17株。其中青霉属(*Penicillium*)有10株,分属3个种,即桔青霉(*P. citrinum*)6株、产黄青霉(*P. chrysogenum*)4株、常见青霉(*P. frequentans*)3株,占整个分离到的真菌所有菌株数的58.8%;曲霉属(*Aspergillus*)有5株,为杂色曲霉(*A. versicolor*),占29.4%;毛霉属(*Mucor*)有2株,所占比例为占11.8%。

## 4 结果讨论

### 4.1 根际土壤微生物及生态服务功能

草原生态系统是由植被系统、土壤系统和土壤微生物系统等部分组成,微生物在生态系统中是主要的分解者,是物质循环和能量流动中的重要一环,在维持草原生态系统平衡中起到重要作用。土壤微生物的多样性是土壤微生物系统的本质特征。

土壤微生物的多样性受土壤养分、水分、环境温度、牧草生长及其枯枝落叶等因素的影响。陈巴尔虎旗草甸草原自然保护区土壤含水量较低,pH值呈偏碱性,微生物数量以细菌占优势,其次是放线菌,真菌最少。细菌的营养类型多样,呼吸机制复杂,代谢旺盛,繁殖快,所以各样地中细菌的数量最多。土壤中的放线菌主要以链霉菌为主。大部分放线菌为好氧

腐生菌,对纤维素、几丁质、固醇类等结构复杂的难降解天然有机物有较强的利用能力。一般土壤中的真菌数量总是小于细菌和放线菌的数量,但由于其孢子、菌核和菌索的忍耐力较强,因此,可广泛分布于各种类型的土壤中。由于土壤中含有大量菌丝等,其生物量会远超过细菌和放线菌,因此在草原生态系统保护上具有重要意义。

#### 4.2 根际土壤优势分离菌株的功能与草原生态系统的保护

(1) 土壤中优势细菌主要有芽孢型细菌和假单胞菌,二者所占比例为 75.0%。芽孢型细菌在土壤物质转化中具有非常重要的作用。芽孢型细菌可促进枯枝落叶的分解,加速土壤中有机质的转化。巨大芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌在固定草地结皮层和不同类型土壤中都有出现且占优势地位,巨大芽孢杆菌可促进有机磷向无机磷转化<sup>[7]</sup>。蜡质芽孢杆菌有较强的氨化能力,能够分解土壤中的含氮有机物,释放出植物容易吸收利用的铵态氮<sup>[8]</sup>。假单胞菌也是土壤中的重要分解菌。

(2) 土壤中优势放线菌主要有链霉菌属、放线菌属、包囊链霉菌属和诺卡氏菌属,其中链霉菌属占 76.2%。土壤中的放线菌多数能分解木质素、纤维素、几丁质、单宁和蛋白质等复杂有机物。放线菌在分解有机物质过程中,除了形成简单化合物以外,还产生一些特殊有机物,如生长刺激物质、维生素、抗菌素及挥发性物质等<sup>[9]</sup>。

(3) 土壤中优势真菌主要有青霉属和曲霉属,二者所占比例为 88.2%。土壤真菌的主要功能是降解

土壤中的有机残体。有多种青霉能分解纤维素、脂肪和芳香族化合物,有的还能固氮;曲霉能分解纤维素、脂肪和芳香族化合物,如单宁,并可作为土壤中磷、钾可给态的指示剂;毛霉能分解果胶、纤维素,能引起蛋白质的氨化,分解木质素<sup>[10]</sup>。青霉和毛霉有较强耐受干旱和贫瘠等恶劣环境条件的特点,因此二者对草地生态系统的保护具有重要意义。

#### [参 考 文 献]

- [1] 张海燕,肖延华,张旭东,等. 土壤微生物量作为土壤肥力指标的探讨[J]. 土壤通报, 2006, 37(3): 422-425.
- [2] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [3] 李振高, 骆永明, 滕应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 71-94.
- [4] 王大稻. 细菌分类基础[M]. 北京: 科学出版社, 1977.
- [5] 瓦克斯曼 S M. 放线菌[M]. 北京: 中国环境出版社, 1987.
- [6] 中国科学院微生物研究所. 常见与常用真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1978.
- [7] 焦如珍, 杨承栋. 杉木人工林不同发育阶段根际与非根际土壤微生物变化趋势[J]. 林业科学, 1999, 35(1): 53-59.
- [8] 熊毅, 李庆逵. 中国土壤[M]. 江苏 南京: 科学出版社, 1987.
- [9] 宋富强. 微生物生态学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008: 22-32.
- [10] 亚历山大·M. 土壤微生物学导论[M]. 广西农学院农业微生物学教研组译. 北京: 科学出版社, 1983.