

简报

吉林省郭前旗

苏打盐土中好气纤维素分解细菌的研究

1. 菌种的分离与鉴定

王祖农

范露兮

(山东大学, 济南)

(中国科学院林业土壤研究所, 沈阳)

好气纤维素分解细菌自从1903年 van Iterson 开始研究以来, 先后有不少学者从事于这方面的研究, 特别是 Hutchinson 和 Clayton^[1], Wino-gradsky^[2], Имшенецкий^[3] 以及 Charpentier^[4], Rivière^[5] 等人, 他们指出, 土壤好气纤维素分解细菌积极参与纤维素物质的分解, 与土壤肥力的提高有相关性。Мишустин^[6] 指出, 好气纤维素细菌可作为土壤熟化程度的指示菌, 因此进一步研究土壤好气纤维素细菌具有重要的实际意义。本文报导我们对吉林省郭前旗苏打盐土中好气纤维素分解细菌的分离与鉴定的初步结果。

材料 在郭前旗苏打盐土上共采了6个土壤样品, 它们是重度碱化草甸盐土的生荒地, 改良后的水稻田, 撩荒地, 轻度碱化草甸盐土的生荒地, 改良后的水稻田, 撩荒地。

方法 试验采用的分离纯化方法可分为两部分, 即丰富培养和菌种纯化。

丰富培养: 用土粒接种法进行, 基础培养基为 Имшенецкий 母液。此法具有很多优点: (1) 在一粒土粒的周围可长出一种或几种纤维素分解细菌, 是水解纤维素平板法, 液体稀释法, 平板涂抹法所不及的; (2) 出现的类群较多; (3) 能较快而准确地把土壤中这些特殊有机体选择出来; (4) 能长出各种不同的色泽, 利于菌群的分离。但是, 不可否认这一方法还存在着某些缺点^[2], 如果用肥沃的耕作土土粒接种在一整块圆形滤纸上时, 往往只要经过48小时的培养, 整个滤纸表面即被运动活泼的菌株所占满, 这样不仅妨碍了其他纤维素分解细菌的生长, 尤其是生长较慢的细菌, 如

纤维粘菌、生孢纤维粘菌、堆囊粘菌的生长, 而且给分离纯化工作带来更多的麻烦, 为了避免这个缺点, 我们将整块滤纸切成小块(0.6×0.6厘米), 等距离地放在固体平板表面, 不使彼此相连, 以限制运动活泼的菌株的蔓延, 一般在每一个固体平板表面放20—30块滤纸, 在每一块滤纸上接种一粒土粒, 放入28℃定温箱内培养。

菌种纯化: 各类好气纤维素分解细菌在营养要求上很不一致, 因此不同菌株的纯化需采用不同的方法, 本试验所采用的方法是先把丰富培养获得的菌斑, 按颜色及菌斑状况之不同, 分别移种到液体的滤纸条上(通过镜检, 把含有疑似纤维粘菌、生孢纤维粘菌、堆囊粘菌等细胞的菌斑外加标记以免在纯化过程中丢失), 反复移种三次, 以逐次淘汰部分杂菌, 增殖纤维素分解细菌, 然后分别在0.5%过滤灭菌葡萄糖和2%淀粉平板上划线, 把长出的单个菌落, 按颜色和菌落特征加以编号, 分别移种到小块滤纸上培养, 鉴别出真正能分解纤维素的菌落, 再在上述两种培养基上反复划线, 直到获得纯种, 一般假单胞菌(*Pseudomonas*)、纤维小杆菌(*Cellulomonas*)、纤维梭菌(*Cellulaccula*)和纤维弧菌(*Cellvibrio*)可用此法纯化。

对于不能在0.5%过滤灭菌葡萄糖和2%淀粉培养基上生长的菌株(如纤维粘菌、生孢纤维粘菌等), 需要利用更低浓度的过滤灭菌葡萄糖(0.1—0.05%)和淀粉(1%)固体平板进行划线, 洋菜浓度亦由1%降低至0.7%, 把能形成子实体的培养物放在24℃定温箱内培养, 箱内保持最大湿

度,有利于子实体的形成,其他菌株可在 28℃ 定温箱内培养,出现单菌落后,通过滤纸小块的验证,再在原来培养基上反复划线,可获纯种。本试验中的纤维粘菌和粘球菌(*Myxococcus*)即用此法获得纯种。

至于生孢纤维粘菌的纯化,不同的研究者采用过不同的方法,如液体稀释法,水解纤维素平板法,糊精平板法,加热法和过滤灭菌的葡萄糖平板法等,我们在单独试验了这些方法没有获得成功之后,采用加热法先淘汰部分伴生菌,然后再用低浓度过滤灭菌的葡萄糖或淀粉平板进行划线,获得了生孢纤维粘菌的纯培养。

用上述方法,从吉林省郭前旗苏打盐土的 6 个土壤样品中获得 58 株菌株,其中属于土壤常见的有 22 株,经鉴定,根据伯杰氏的《细菌鉴定手册》^[8],它们分别属于 7 个属,11 个种。即:

(1) *Pseudomonas lasia* Fuller & Norman

(2) *Pseudomonas erythra* Fuller & Norman

(3) *Cellulomonas gilva* (McBeth) Bergey et al.

(4) *Cellulomonas cellasea* (McBeth) Bergey et al.

(5) *Cellulomonas pusilla* (Kellerman et al.) Bergey et al.

(6) *Cellvibrio fulvus* Stapp & Bortels

(7) *Cellfalcicula fusca* Winogradsky

(8) *Cytophaga albogilva* Fuller & Norman

(9) *Cytophaga deprimata* Fuller & Norman

(10) *Sporocytophaga ellipsospora* Imšenecki

et (Solntzeva) Stanier

(11) *Myxococcus fulvus* (Cohn em. Schroeter) Jahn.

参 考 文 献

- [1] Hutchinson, H. B. & Clayton, J.: *Agric. Sci.*, **9**:141—173, 1919.
- [2] Winogradsky, C. H.: 土壤微生物学(问题和方法), 科学出版社, 閻述初译, 1962。
- [3] Имшенецкий, А. А.: 纤维素微生物学, 科学出版社, 马麟祥等译, 1958。
- [4] Charpentier, M.: *Ann. Inst. Past.*, **99**:153—155, 1960.
- [5] Rivière, J.: *Ann. Inst. Past.*, **101**:253—258, 1961.
- [6] Мишустин, Е.: *Микробиология*, **7**: 427, 1938.
- [7] Breed, R. S., Murray, E. G. D. and Smith, N. R.: *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 7th ed., Bailliere, Tindall and Cox, Ltd., London, 1957.