

云南若干地区土壤放线菌区系及资源考察*

V. 高寒山区的放线菌

姜成林 徐丽华 郭光远

(云南省微生物研究所, 昆明)

云南省西北部是横断山脉的一部分。山脉自北向南,金沙江、澜沧江、怒江穿流其间。该地区的山川走向在我国是特殊的,生物气候条件也比较独特。1986年7月从玉龙雪山、中甸高原及白芒雪山的不同植被、不同海拔高度采集土样,用各种方法分离、鉴定其中的放线菌。

本文讨论了不同来源样品中高温、中温及低温放线菌的数量及组成,低温放线菌的生物、化学特性以及放线菌资源的利用。作者将低温放线菌分为兼性低温放线菌、中等低温放线菌及真正的低温放线菌3个类型。

关键词 放线菌区系;放线菌资源利用;高寒山区;低温放线菌

云南西北部属横断山脉南部地段,高山林立,大川奔流。怒江、澜沧江、金沙江三大峡谷自北向南,梅里雪山、太子雪山、白芒雪山、哈巴雪山耸立其间。在石鼓地区,玉龙雪山挡住了金沙江的去路,造成了金沙江的第一个“V”字形大转弯。在“V”字形的两岸是高耸的哈巴雪山和玉龙雪山,其下是虎跳峡。在“V”字形内是中甸高原,海拔3100—3400m,为我国青藏高原与亚热带常绿阔叶林区的交接地带^[1]。

横断山地区具有特殊的生物气候条件。我国曾组织过横断山生物考察,但对放线菌的考察尚未进行过。我们选择了玉龙雪山、中甸高原和白芒雪山,对放线菌区系及资源进行了研究。

材料和方法

(一) 土样来源

从玉龙雪山、中甸高原及白芒雪山的不同植被、不同海拔高度选择了11个样区,采集15—30cm土层的土壤,5—20点混合为一份样品,共采样100份。1986年7月采集,4—7天后分离放线

菌。

(二) 放线菌分离鉴定

高温放线菌、中温放线菌按姜成林等^[2,3]的方法分离。

低温放线菌用甘油精氨酸琼脂^[3]、改良水解酪素琼脂^[3](加50ppm重铬酸钾)、甘油门冬酰胺琼脂^[4]及土壤浸汁琼脂(白芒雪山4400m处的高山草甸土500g,水2500ml;121℃30分钟,纱布过滤,滤液稀释1倍,加2%琼脂,调pH至7.4),土样稀释10、100倍,每个培养皿涂布0.1ml,分别在8℃和14℃培养33天和56天后挑菌。

放线菌经纯化后,按国内常规方法鉴定到属。

(三) 低温放线菌生物学特性测定

按文献[4—6]的方法测定。

(四) 有用菌的筛选

按文献[7]的方法筛选。

(五) 细胞壁化学分析

按 Backer 等的方法^[8]分析。

结果和讨论

(一) 自然概况

本文于1987年1月5日收到。

* 国家自然科学基金资助的课题。

玉龙雪山位于云南省丽江县城北,金沙江第一个大转弯的南岸,顶峰海拔 5596 m。第 I、II 样区选在其东南坡海拔 2600—3000m 地段,坡度 30—50° 左右。森林保护较好,有机质丰富。主要植物有华山松 (*Pinus armandii*)、高山松 (*P. dansata*)、丽江云杉 (*Picea likiangensis*)、黄背栎 (*Quercus pannosa*) 及高山杜鹃 (*Rhododendrou* sp.) 等。

第 III—IV 样区选在中甸高原中部,中甸县城周围地区。在这片广阔的高原上地势平缓,海拔 3100—3300m。该地年平均气温仅 5.4℃,12—2 月在 0℃ 以下,极端最低温 -25℃。6—9 月的月平均温度分别为 12.6、13.2、12.5、11.1℃,极端最高温度仅 25.1℃。日最低气温低于 0℃ 的日数达 190 天,霜期 165 天。10℃ 积温仅 110 天。年降雨量约 600mm,多雾,蒸发量为 1706mm。该地区属冬天寒冷、夏日凉爽湿润的高寒气候。第 III 样区在中甸高原 30 多公里的地段,为次生性灌木林,主要植物有高山松、华山松、黄背栎、白杨 (*Populus szechuanica*) 及杜鹃等。第 IV 样区是荒地,即非耕种高山牧场,日光比较充足,土壤有机质比较丰富,主要是低矮禾本科杂草,有少数高山杜鹃散布其间。第 V、VI 样区为蔬菜地和旱地,耕种水平低,主要是些高寒作物如十字花科蔬菜、马铃薯、青稞等,产量很低。

第 VII—XI 样区选在白芒雪山自然保护区。白芒雪山位于云南省德钦县境内,顶峰海拔 5137m。西面是澜沧江,与海拔 6740m 的梅里雪山及 6054m 的太子雪山隔水相望。东面山脚 (VII 样区) 是金沙江,河谷下切至海拔 2100m 左右,年平均气温 16.2℃,年降雨量仅 300mm,而蒸发量达此数的 6.8 倍,是云南境内最干旱的地区。水土流失严重,土壤贫瘠,仅分布少

量低矮耐旱植物,如小叶荆 (*Vitex microphylla*)、小叶羊蹄甲 (*Bauhinia faberi* var. *microphylla*)、小叶野丁香 (*Leptodermis microphylla*) 及岷谷木蓝 (*Indigofera lemnicellate*) 等。海拔 3000—4000m 地段的自然景观与山脚完全不同。这里气候寒冷,空气湿度大,土壤有机质极为丰富,森林植被保护较好,垂直分布明显。海拔 3000—3300m (第 VIII 样区) 为高山松、华山松林带。海拔 3300—3500m (第 IX 样区) 为云杉林带。海拔 4000m (第 X 样区) 是冷杉林带与杜鹃矮林带的交界处。海拔 4200—4400m (第 XI 样区) 为高寒灌丛、草甸带^[9]。

(二) 放线菌区系组成

11 个样区土壤放线菌区系的实验结果见表 1、2。

1. 中温放线菌 (Mesophilic actinomycetes)

玉龙雪山海拔 2600m 处 (I 样区) 的放线菌多于 3000m 处 (II 样区),组成都比较简单,只分离到 3 个属。

中甸高原的次生林 (III 样区),放线菌数量较少,但组成比较复杂,分离到 6 个属。荒地 (IV 样区) 分离到 5 个属,旱地 (VI 样区) 4 个属。蔬菜地 (V 样区) 仅 2 个属,而且数量也不多。

白芒雪山的土壤放线菌则是山脚 (VII 样区) 较少。海拔 3000m 处 (VIII 样区) 最多,达 $1531.1 \times 10^3/\text{g}$ 干土重 (下同),海拔升高到 3500m (IX 样区) 时,放线菌大幅度减少,仅 28.5×10^3 。山脚气温高而过于干燥、山顶湿度大而气温太低,海拔 3000m 处则是冬冷夏凉、湿度较大,有机质丰富,植物种类最为复杂的地带。因此,放线菌从山脚至山顶呈现低高低的分布现象。从山脚到海拔 4000m 处分离到的几乎都是链霉菌、小单孢菌、马杜拉放线菌、

表 1 云南高寒山区土壤放线菌区系

Table 1 Actinomycete populations in soil samples from the frigid mountains in Yunnan

属 Genus		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
中温菌 Mesophilic actinomycetes	链霉菌属 <i>Streptomyces</i>											
	白孢类群 <i>Albosporus</i>	26.2	21.0	4.6	1.0	6.2		4.9	85.7			
	黄色类群 <i>Flavus</i>	58.0	6.3		1.0		16.5	2.0	17.0	2.4		
	球孢类群 <i>Globisporus</i>	33.1	1.5	1.1	2.1	135.2	123.0	2.0	1.1			2.2
	粉红孢类群 <i>Roseosporus</i>	13.6	2.9	2.3	9.3	2.1	4.1	71.5	2.1			
	淡紫灰类群 <i>Lavendulae</i>	24.0		12.7	1.1	25.1	2.1	14.7	55.0			
	青色类群 <i>Glaucus</i>	1.2		1.2			2.1	10.8	2.5			
	蓝色类群 <i>Cyaneus</i>			2.3								
	绿色类群 <i>Viridis</i>			1.1				1.0				
	烬灰类群 <i>Cinerogriseus</i>	3.3		1.2								
	灰红紫类群 <i>Griseorubro-violaceus</i>	2.4		5.8	6.3	31.7	66.5	32.4	17.6			2.1
	灰褐类群 <i>Griseofuscus</i>	816.4	339.6	199.6	678.8	452.0	973.7	233.3	486.1	17.5	3.1	8.3
	金色类群 <i>Aureus</i>	765.2	117.4	331.3	339.0	209.3	437.5	757.5	861.7	2.3	2.6	7.6
	吸水类群 <i>Hygroscopicus</i>								2.3			
	总数 Sub-total	1743.4	488.7	563.2	1038.6	861.6	1625.4	1130.1	1531.1	22.2	5.7	20.2
	%	99.9	97.5	98.0	98.8	99.8	98.9	98.4	99.2	77.9	64.0	90.6
中温菌 Mesophilic actinomycetes	孢囊放线菌属 <i>Actinosporangium</i>	1.2		1.2								
	小单孢菌属 <i>Micromonospora</i>		4.4	1.2	7.2	2.1		6.9	9.5	1.1	1.0	2.1
	马杜拉放线菌属 <i>Actinomadura</i>			1.1	2.1		4.1	19.0	2.1	1.3	1.1	
	链孢囊菌属 <i>Streptosporangium</i>			2.3								
	糖多孢菌属 <i>Saccharopolyspora</i>		4.2	5.8	2.1		10.4	2.9	1.0	2.6		
	诺卡氏菌属 <i>Nocardia</i>	1.1			1.1		4.2			1.3	1.1	
	未鉴定 Non-identified		4.0									
	总数 Sub-total	1745.7	501.3	574.8	1051.1	863.7	1644.1	1158.9	1543.7	28.5	8.9	22.3
高温菌 Thermophilic actinomycetes	链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	1.7		0.1	6.8	14.2	9.7	9.8	0.4			
	小单孢菌属 <i>Micromonospora</i>	1.1	0.1	0.6	2.9			0.1				
	马杜拉放线菌属 <i>Actinomadura</i>				0.6			1.8				
	高温放线菌属 <i>Thermoactinomyces</i>	0.1	0.2	0.1	0.1	2.0	0.2		1.8			
	总数 Sub-total	2.9	0.3	0.8	10.4	16.2	9.9	11.7	2.2	0	0	0

* 10²/g 干土(dry wt)

糖多孢菌及诺卡氏菌，尽管它们的数量很不相同，但白芒雪山的放线菌区系可能是同源的。

除白芒雪山海拔 3500 m 以上地段之外，其余样区的链霉菌均占中温菌的 98% 以上，这是高寒山区放线菌区系的一个显著特点。

2. 高温放线菌 (Thermophilic actinomycetes)

就整体而言，高寒山区高温放线菌的数量均比西双版纳热带季节性雨林地区^[40]及元江干热河谷地区^[41]少得多。白芒雪山海拔 3500 m 以上地段没有分离到高温放线菌。所分离到的高温放线菌主要是链霉

表2 玉龙雪山、白芒雪山的低温菌
Table 2 Psychrophilic actinomycetes in soil samples from Yulong Snow Mountain and Baimang Snow Mountain
(10³/g 干土 dry wt)

属 Genus	8℃分离 Isolation at 8℃					12—14℃分离 Isolation at 12—14℃		
	I	II	VIII	IX	X	XI	IX	X
放线菌 Actinomycetes	白孢类群 Albosporus	16.7				2.3	26.8	50.3
	黄色类群 Flavus	3.6					2.8	
	球孢类群 Glohisporus	63.5						
	淡紫灰类群 Lavendulae	1.2						4.0
	灰红紫类群 Griseorubroviolaceus		1.2				2.8	
	灰褐类群 Griseofuscus	26.9	13.2	2.0		5.6	81.3	86.3
	金色类群 Aureus	7.2	8.7		5.5	11.8	147.3	8.3
	吸水类群 Hygroscopicus	1.2						
	总数 Sub-total	120.3	23.1	2.0	5.5	11.2	261.0	144.9
		4.7						
细菌 Bacteria	小草孢菌属 Micromonospora				1.0	2.2	3.3	
	马杜拉放线菌属 Actinomadura					5.6	14.8	
	糖多孢菌属 Saccharopolyspora						10.5	
	诺卡氏菌属 Nocardia				5.5	19.0	289.6	
	总数 Total	125.0	23.1	2.0	5.5	19.0	289.6	144.9
真菌 Fungi	细菌 Bacteria	1080	1170	1185	970	1130	—	—
	真菌 Fungi	1620	930	530	310	400	—	—

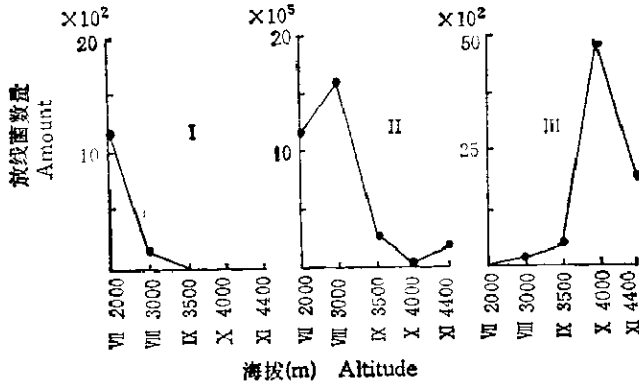


图1 白芒雪山不同海拔高度放线菌的数量

I. 高温放线菌; II. 中温放线菌; III. 低温放线菌。

Fig. 1 The amount of actinomycetes in the soil samples at various altitude above sea level on Baimang Snow Mountain

I. Thermophilic actinomycetes; II. Mesophilic actinomycetes; III. Psychrophilic actinomycetes.

菌属、高温放线菌属及小单孢菌属。因此,初步认为高温放线菌分布的上限可能在海拔 3500m 以下。

3. 低温放线菌 (Psychrophilic actinomycetes)

在 8℃ 分离时,玉龙雪山的低温放线菌是海拔 2600m 处多于 3000m 处,而白芒雪山则是山脚到山顶海拔 4000 m 处逐渐增多,到 4400m 有所减少 (图 1)。所分离到的低温放线菌主要是链霉菌和小单孢菌,只有在第 XI 样区分离到少量糖多孢菌。链霉菌中的低温菌以灰褐、金色类群较为常见。

在 14℃ 分离时,所得结果与中温菌差不多。而且还略超过中温菌,增加的主要是链霉菌和糖多孢菌,这可能包括了部分中温菌和兼性低温菌 (下述)。

从图 1 可以看出,白芒雪山随海拔的升高,高温放线菌逐渐减少,海拔 3500m 以上无高温放线菌;中温放线菌则是海拔 3000m 处最多,海拔 3500m 以上很少;低温放线菌随海拔升高而逐渐增加,到海拔 4400m 处又有所降低。就整体而言,高寒

山区的放线菌区系组成比较单调。

(三) 低温放线菌的生物学特性

目前,许多学者都同意把微生物分为高温菌、中温菌和低温菌。1887 年, Foster 就分离到可在 0℃ 生长的细菌。1941 年, Darling 等^[12]就调查过南极土壤的细菌区系。五十年代以后,各国学者相继开展了低温菌的研究工作^[13-22],但对什么是低温菌的看法并不一致。Morita^[17]把生长温度在 0—20℃,最适生长温度 15℃ (或更低) 的微生物叫低温菌 (Psychrophiles)。另一些学者^[18]则把最低生长温度 0℃,最高生长温度 30℃,最适生长温度 15℃ 的微生物称之为低温菌。

我们对 108 株 8℃、14℃ 分离的放线菌在各种温度下的生长情况进行了试验,结果见图 2。根据这些结果,将它们分为三种类型:

第 1 类型:菌株在 0℃ 能生长,最适生长在 10—28℃, 37℃ 生长差。这是低温放线菌与中温放线菌的过渡类型,它们占总试验菌株的 15%,其中的 2/3 来自玉龙雪山海拔 2600—3000m 地段, 1/3 来自白

芒雪山海拔 4000 m 以上高山草甸。我们称此为兼性低温放线菌 (Facultative psychrophilic actinomycetes)。

第 II 类型：菌株的最适生长温度在 10—28℃, 0℃ 能生长, 37℃ 不能生长。它们占总试验菌株的 73%, 来自玉龙雪山海拔 2600—3000m 地段及白芒雪山海拔 3500—4400m 地段。我们称此类型的菌株为中等低温放线菌 (Moderate psychrophilic actinomycetes)。

第 III 类型：菌株的最适生长温度在 10—14℃, 28℃ 不能生长, 0℃ 能生长, 有的菌株生长中等。它们占总试验菌株的 12%, 均来源于白芒雪山海拔 4000 m 以上地段高山草甸, 在白芒雪山海拔 4000m 以下及玉龙雪山海拔 3000 m 以下未分离到这类菌株。它们之中有 12 株是链霉菌, 1 株是诺卡氏菌。我们称此类型的菌株为真正的低温放线菌 (True psychrophilic actinomycetes)。

从图 2 还可以看出, 来自两座雪山的这些低温放线菌的生长温度和最适生长温度范围均比较宽, 这与一些学者^[23]发现

海洋低温菌的生长温度范围较窄的现象不同。这可能是由于海洋底部的温差小 (通常稳定在 5℃ 左右), 而雪山的温差显然大得多。

根据以上实验结果, 我们把最适生长温度在 15℃ 以下, 最低生长温度在 0℃ 以下的放线菌称之为低温放线菌 (Psychrophilic actinomycetes)。

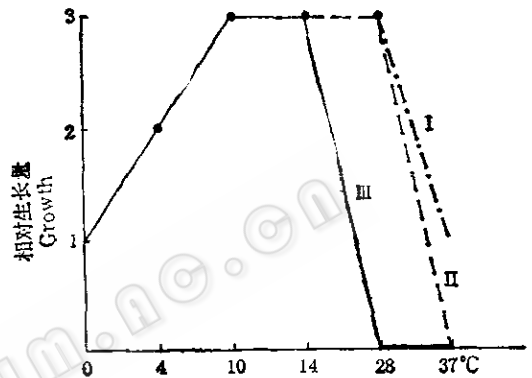


图 2 低温放线菌在不同温度下的生长情况

Fig. 2 The growth of psychrophilic actinomycetes at various temperatures

从表 3 的结果可以看出, 分别有 80 % 和 90 % 的低温放线菌能利用纤维素和明

表 3 低温放线菌的生物学特性

Table 3 Biological characteristics of Psychrophilic actinomycetes

属 Genus	试验菌株数 Number of strains tested	溶菌酶 Lysozyme	淀粉水解 Decomposition of starch	利用纤维素 Utilization of cellulose	水解果胶 Decomposition of pectin	凝乳酶 Milk-clotting enzyme	明 胶 Gelatin		水解酪素 Decomposition of casein	抗菌活性 Antimicrobial activity against	
							生 长 Growth	液 化 Liquefaction		枯草杆菌 <i>B. subtilis</i>	毛 霉 <i>Mucor</i> sp.
链霉菌属 <i>Streptomyces</i>	89	10	17	70	5	11	77	34	47	8	1
小单孢菌属 <i>Micromonospora</i>	1			1			1		1		
糖多孢菌属 <i>Saccharopolyspora</i>	16			11			16				
诺卡氏菌属 <i>Nocardia</i>	2			1			2				
总数 Total	108	10	17	83	5	11	96	34	47	8	1

胶,有 40% 的菌株能水解酪素。这些放线菌水解淀粉、果胶的能力较弱,溶菌作用、抗菌作用也弱。从这些结果来看,高寒山区的放线菌也积极参与动植物残体的降解。但从低温细菌、真菌和放线菌的数量对比(表 2)来看,前两者比放线菌高出 1—2 个数量级。因此,高寒山区有机物的分解,可能主要是细菌和真菌的作用,而放线菌的作用较小。

(四) 放线菌产生的有用物质

筛选了 380 株来自高寒山区的放线菌,只有 13 株产生溶菌酶,49 株产生凝乳酶,59 株产生甘露聚糖酶,24 株产生纤维蛋白溶酶,8 株产生 α -淀粉酶抑制剂,23 株具有抗毛霉活性。除部分菌株产生的凝乳酶活性较高外,其余均较低。看来从高寒山区的放线菌中筛选到产生上述产物的菌株的可能性较小。

由于对低温放线菌的研究较少,对其生物学特性、生态作用以及利用的可能性了解不多,对此值得进一步加以研究。

参 考 文 献

- [1] 刘伦辉等:《横断山生物考察论文集》,科学出版社,北京,pp. 176—184, 1985。
- [2] 姜成林等:水生生物学报,9: 289—291, 1985。
- [3] 姜成林等:微生物学通报,12: 218—220, 1985。
- [4] Shirling, E. B. et al.: *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 16: 313—340, 1966。
- [5] 阮继生:《放线菌分类基础》,科学出版社,北京, 1977。
- [6] 中国科学院微生物研究所细菌分类组:《一般细菌常用鉴定方法》,科学出版社,北京, 1978。
- [7] 姜成林等:微生物学通报,15: 16—19, 1988。
- [8] Backer, B. et al.: *Appl. Microbiol.*, 13: 236—243, 1965。
- [9] 刘伦辉等:云南植物研究,6: 205—216, 1984。
- [10] 徐丽华等:微生物学报,27: 173—177, 1987。
- [11] 徐丽华等:微生物学报,28(3): 193—197, 1988。
- [12] Darling, C. A. et al.: *J. Bacteriol.*, 42: 83—98, 1941。
- [13] Ingraham, J. L.: *ibid.*, 75: 75—80, 1958。
- [14] Straka, R. P. et al.: *ibid.*, 78: 181—185, 1959。
- [15] Straka, R. P. et al.: *ibid.*, 80: 622—625, 1960。
- [16] Stokes, J. L. et al.: *Appl. Microbiol.*, 14: 74—78, 1966。
- [17] Morita, R. Y.: *Bacteriological Reviews*, 39: 144—167, 1975。
- [18] Dommergues, Y. R. et al.: *Advances in Microbial Ecology*, Alexander, M. ed., Plenum Press, New York, 2: 49—104, 1978。
- [19] Inniss, W. E. et al.: *Microbial life in extreme environment*, Kushner, D. J. ed., Academic Press, London, pp. 73—104, 1978。
- [20] Mohr, P. W. et al.: *J. Gen. Microbiol.*, 121: 311—317, 1980。
- [21] Kaminski, J. K. et al.: *Water Res.*, 14: 815—820, 1980。
- [22] Aseyeva, I. V. et al.: *Mikrobiologiya*, 50: 818—820, 1981。
- [23] Grent, W. D. et al.: *Environmental Microbiology*, Blackie, Glasgow and London, pp. 51—67 1981。

THE INVESTIGATION ON ACTINOMYCETE POPULATION AND RESOURCES IN SOME AREA IN YUNNAN*

V. THE ACTINOMYCETES IN THE FRIGID MOUNTAINS

Jiang Chenglin Xu Lihua Guo Guangyuan

(Yunnan Institute of Microbiology, Kunming)

The soil samples were collected from Yulong Snow Mountain, Zhongdian Plateau and Baimang Snow Mountain with various vegetations and altitudes above sea level in July, 1986. The actinomycetes in the samples were isolated and identified by various methods.

This paper discussed the amount and composition of the thermophilic, mesophilic and psychrophilic actinomycetes in the samples taken from various sources, biological and chemical characteristics of the psychrophilic

actinomycetes, and utilization of actinomycete resources. The authors proposed to divide the psychrophilic actinomycetes into three types: I. Facultative psychrophilic actinomycetes; II. Moderate psychrophilic actinomycetes; III. Genuine psychrophilic actinomycetes.

Key words

Actinomycete population; Utilization of actinomycete resources; Frigid mountain; Psychrophilic actinomycetes

* The Projects Supported by the Science Fund of the Chinese Academy of Sciences.