文章编号：1005-0906(2008)03-0112-05

黑土玉米田土壤纤维素分解真菌物种鉴定及分解能力测定

刘淑霞[1],吴海燕[2],吴海文[3],张洪梅[1],范作伟[2]

(1.吉林农业大学资源与环境学院,长春 130118；2.吉林省农业科学院环资中心,长春 130033；3.吉林农业大学中药材学院,长春 130118)

摘　要：2003～2004 年,从 181 个黑土土壤样品中分离出 54 个土壤纤维素分解真菌菌株,经形态鉴定出 14 个属,27 个种,其中桔青霉(*Penicillium citrinum* Thom.)、顶青霉(*Penicillium corylophilum* Dierckx.)和微紫青霉(*Penicillium janthinellum* Biourge.) 为吉林省 3 个新记录种。有 14 个属、24 个种分布在 0～20 cm 土层;11 个属、19 个种分布在 20～40 cm 土层中;两层土壤中共同分布的纤维素分解真菌有 11 个属、16 个种。青霉属(*Penicillium*)和曲霉属(*Aspergillus*)为吉林黑土玉米田土壤纤维素分解真菌的优势属,相对数量分别占 33.33%和 25.93%。桔青霉(*Penicillium citrinum* Thom.)、黑曲霉(*Aspergillus niger v.*Tiegh)、哈茨木霉(*Trichoderma harziamum* Rifai, Mycol.)和绿色木霉(*Trichoderma atroviride* P. karsten, Finl)分解纤维素的能力较强,黑根霉[*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Lind.]和白地霉 (*Geotrichum candidum* Link)分解纤维素的能力较弱。

关键词：黑土;纤维素分解菌;物种多样性

中图分类号：S154.39　　　　**文献标识码**：A

Diversity of Cellouse-decomposing Fungi and the Characteristic of Decomposition Under Planting Corn of Black Soil in Jilin Province

LIU Shu-xia[1], WU Hai-yan[2], WU Hai-wen[3], ZHANG Hong-mei[1], FAN Zuo-wei[2]

(1. *College of Resource and Environmental Science, Jilin Agricultural University, Changchun* 130118;
2. *Resources and Environmental Center, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun* 130124;
3. *College of Chinese Medicinal Materials, Jilin Agricultural University, Changchun* 130118, China)

Abstract: From April in 2003 to December in 2004, the experiment had identified with 14 genera and 27 species , three of them were the new recorded species in Jilin from 181 samples of black soil, they were *Penicillium citrinum* Thom, *Penicillium corylophilum* Dierckx and *Penicillium janthinellum* Biourge. There were 14 genera and 24 species in upper layer soil (0-20 cm), 11 genera and 19 species in the sub-upper layer soil (20 - 40 cm). 11 genera and 19 species were the same in tested soil. *Penicillium* and *Aspergillus* were advantage of cellouse -decomposing microorganisms and the relative volume accounted for 33.33% and 25.93% respectively. The capabilities to decompose of cellulose were different, *Penicillium citrinum* Thom. *Aspergillus niger v.*Tiegh, *Trichoderma harziamum* Rifai, Mycol and *Trichoderma atroviride* P. karsten,Finl were stronger than *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Lind. and *Geotrichum candidum* Link.

Key words: Black soil; Cellouse -decomposing microorganisms; Mycobiota

纤维素分解菌是自然界中能分解纤维素的微生物,包括细菌、真菌和放线菌,主要是好气性纤维分解菌和嫌气性纤维素分解菌[1]。除细菌外,某些真菌与放线菌类群也具有分解纤维素的能力, 而且真菌的分解能力强于细菌和放线菌。真菌中对纤维素作用较强的菌株多是木霉属(*Trichoderma*)、曲霉属(*Aspergillus*)、青霉属(*Penicillium*)和枝顶孢霉属(*Acremonium*)的菌株,特别是绿色木霉(*Trichoderma virde*)及其远缘的菌株 [2]。纤维素分解菌与土壤中其他生理类群之间存在着相互作用。由植物残体带入土壤

收稿日期：2008-05-15
基金项目：吉林农业大学博士后基金
作者简介：刘淑霞(1969-),女,副教授,博士,主要从事植物营养与环境生态研究。E-mail:liushuxia2005824@163.com
吴海燕为本文通讯作者。E-mail:wuhaiyan3175@sohu.com

的纤维素能在纤维素分解菌或其产生的酶作用下将其分解成简单的物质,可以作为自生固氮菌的碳源,增加土壤中自生固氮菌和纤维素分解菌的数量,提高土壤的肥力和熟化程度[3]。纤维素分解菌直接参与土壤碳、氮等营养元素的循环和能量流动,其数量和活性直接关系土壤生态系统的维持和改善。并且,纤维素分解菌是土壤有机残体分解的中心环节,其分解强度反映了土壤微生物对有机残体分解的程度和速度,直接关系到土壤有机质的形成与积累[4]。它们的分布与土壤的性状、土壤的肥力有着密切的关系。

20世纪初,人们开始研究真菌在氮素转化、纤维素分解及腐殖质化中的作用[5]。有关土壤真菌群落的分析工作已有大量报道[6],在不同土壤中已分离出不同的纤维素分解真菌菌株[7,8],对土壤中纤维素分解菌数量动态也进行了研究[9,10]。但对黑土土壤中纤维素分解真菌的研究未见报导。本文就农田黑土土壤纤维素分解真菌的种类和区系组成进行研究,并从分离的纤维素分解菌株中选择了6株进行了性质测定,了解黑土土壤生态机制,丰富我国的纤维素分解菌的种质资源,为提高黑土土壤肥力、科学防治作物病害等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土壤采自吉林省中部地区的榆树、德惠、长春、公主岭等市县的玉米田黑土,采样时间从2003年4月至2004年10月,在玉米的不同生育期采集表层(0~20 cm)及亚表层(20~40 cm)土样181个。样品采用多点混合法,重复3次,装入灭菌袋中,4℃冰箱保存。

1.2 分析方法

维素分解菌数量的测定采用MPN方法[11],其中好气性纤维素分解菌的测定采用依姆歇涅茨基纤维素培养,嫌气性纤维素分解菌的测定采用奥曼梁斯基培养基。纤维素分解菌分离纯化采用赫奇逊培养基,菌种保存采用马铃薯琼脂培养基,鉴定采用羧甲基纤维素钠培养基[12]。

溶解圈的测定采用CMC平板培养基和滤纸平板培养基:将菌种分别点种于CMC平板和滤纸平板上,28℃培养3 d,用0.5 mg/L刚果红染色5 min,倾去染液,测溶解圈直径,并计算CMC酶相对活性(A):A(cm/d)= 溶解圈直径(cm)/ 菌体培养时间。在滤纸平板上,28℃培养10 d,观察各菌株的生长和液化滤纸情况。

对滤纸的分解能力测定:将6支菌种分别接至含有50 mL以滤纸(0.50 g)为唯一碳源的发酵培养基中,28℃、160 r/min振荡培养6 d,测定滤纸失重及纤维素分解率。

2 结果与分析

2.1 吉林省黑土纤维素分解真菌物种多样性

采集吉林省不同地区、不同季节和不同深度的玉米田黑土样品,利用马丁氏培养基、赫奇逊培养基、马铃薯(PDA)培养基和羧甲基纤维素钠平板培养基等进行分离筛选纤维素分解真菌,共分离出54个土壤纤维素分解真菌菌株。经形态鉴定出14个属,27个种,其中吉林省新记录种3个。

表1 吉林省黑土纤维素分解真菌物种多样性鉴定

Table 1 Diversity of cellulose-decomposing fungi in black soil in Jilin province

属 名 Genus name	种 名 Species name
Aspergillus (Mich.) Link 曲霉属	*Aspergillus fumigatus* Fres.烟曲霉
	Aspergillus niger v.Tiegh.黑曲霉
	Aspergillus penicilloides Speg.帚状曲霉
	Aspergillus puniceus Kwon & Fenn.红紫曲霉
	Aspergillus terreus Thom var.aureus Thom & Raper.土曲霉金色变种
	Aspergillus ustus (Bain)Thom & Church.焦曲霉
	Aspergillusversicolor (Vuill.)Tirab. var *.versicolor* 杂色曲霉原变种
Beauveria Vuill.白僵菌属	*Beauveria* sp
Epicoccum Link 附球菌属	*Epicoccum* sp
Fusarium Link 镰孢属	*Fusarium oxysporum* Schlecht.尖镰孢
Geotrichum Link.地霉属	*Geotrichum candidum* Link.白地霉
Mucor Mich. ex Fr.毛霉属	*Mucor hiemalis* Wehmer.冻土毛霉
Myrothecium Tode 漆斑菌属	*Myrothecium* sp
Neurospora Shear et Didge.脉孢菌属	*Neurospora crassa* Shear et Dodge.粗糙脉孢菌

续表1 Continued 1

属 名 Genus name	种 名 Species name
Paecilomyces Bain.拟青霉属	*Paecilomyces inflatus* (Burnside) Carmichael.膨大拟青霉
	Paecilomyces lilacinus (Thom)Samson.淡紫拟青霉
	Paecilomyces varioti Bain.宛氏拟青霉
Penicillium Link 青霉属	*Penicillium citrinum* Thom.桔青霉
	Penicillium corylophilum Dierckx.顶青霉
	111Penicillium decumbens Thom.斜卧青霉
	Penicillium janthinellum Biourge.微紫青霉
	Penicillium implicatum Biourge.纠缠青霉
	*Penicillium purpurogenum stoll.*产紫青霉
	Penicillium restrictum Gilm.et Abbott.局限青霉
	Penicillium rubrum Stoll.红色青霉
	Penicillium spinulosum Thom.小刺青霉
Phialophora Medlar.瓶霉属	*Phialophora* sp
Rhizopus Ehrenb.根霉属	*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Lind.黑根霉(匍枝根霉)
Scopulariopsis Bain.帚霉属	*Scopulariopsis canadensis* Morton & Smith. 加拿大帚霉
Trichoderma Pers.木霉属	*Trichoderma atroviride* P.karsten,Finl.黄绿木霉
	Trichoderma harziamum Rifai,Mycol.哈茨木霉

2.2 吉林省黑土纤维素分解真菌在土壤中的分布

土壤纤维素分解真菌在土壤中的分布见表2和表3。在0~20 cm表层分离到14个属,占分离总属数的100%, 在20~40 cm亚表层分离到11个属占分离总属数的78.57%。其中0~20 cm和20~40 cm两个层次共同分离到11个属,共同属占表层分离属数的78.57%,占亚表层分离属数的100%,占分离总属数的78.57%。

在0~20 cm表层分离到24个种, 占分离总种数的88.89%,在20~40 cm亚表层分离到19个种,占分离总种数的66.67%。其中0~20 cm和20~40 cm两个层次共同分离到16个种, 共同种占表层分离种数的59.26%,占亚表层分离种数的84.21%,占分离总种数的59.26%, 表层和亚表层属有接近4/5相同,但种只有大约3/5相同。说明不同土层深度的纤维素分解菌在种的鉴定上有一定的差异。

表2 土壤纤维素分解真菌系属的组成

Table 2 The main genus of cellulose-decomposing fungi in black soil

属 名 Genus name	深度 Depth		共有属 Samegenus
	0~20 cm	20~40 cm	
Aspergillus (Mich.) Link 曲霉属	+	+	+
Beauveria Vuill.白僵菌属	+	−	−
Epicoccum Link 附球菌属	+	+	+
Fusarium Link 镰孢属	+	+	+
Geotrichum Link.地霉属	+	+	+
Mucor Mich. ex Fr.毛霉属	+	+	+
Myrothecium Tode 漆斑菌属	+	+	+
Neurospora Shear et Didge.脉孢菌属	+	+	+
Paecilomyces Bain.拟青霉属	+	+	+
Penicillium Link 青霉属	+	+	+
Phialophora sp. Medlar.瓶霉属	+	−	−
Rhizopus Ehrenb.根霉属	+	+	+
Scopulariopsis Bain.帚霉属	+	−	−
Trichoderma Pers.木霉属	+	+	+
总 数	14	11	11

注:“+”表示分离到该属;“−”表示未分离到该属。

Notes: “+”indicated that separated to the genera, “−”indicated that did not separated to the genera.

表 3 土壤纤维素分解真菌系种的组成

Table 3 The species of cellulose-decomposing fungi in black soil

种 名 Species name	深 度 Depth		共有种 Same species
	0 ~ 20 cm	20 ~ 40 cm	
Aspergillus fumigatus Fres.烟曲霉	+	+	+
Aspergillus niger v.Tiegh.黑曲霉	+	+	+
Aspergillus penicilloides Speg.帚状曲霉	+	+	+
Aspergillus puniceus Kwon & Fenn.红紫曲霉	+	−	−
Aspergillus terreus Thom var.aureus Thom & Raper.土曲霉金色变种	+	+	+
Aspergillus ustus (Bain)Thom & Church.焦曲霉	−	+	−
Aspergillus versicolor (Vuill.)Tirab.var.*versicolor* 杂色曲霉原变种	+	+	+
Fusarium oxysporum Schlecht.尖镰孢	+	+	+
Geotrichum candidum Link.白地霉	+	+	+
Mucor hiemalis Wehmer.冻土毛霉	+	+	+
Neurospora crassa Shear et Dodge.粗糙脉孢菌	+	+	+
Paecilomyces inflatus (Burnside) Carmichael.膨大拟青霉	+	−	−
Paecilomyces lilacinus (Thom)Samson.淡紫拟青霉	+	+	+
Paecilomyces varioti Bain.宛氏拟青霉	+	+	+
Penicillium citrinum Thom.桔青霉 **	+	+	+
Penicillium corylophilum Dierckx.顶青霉 **	+	−	−
Penicillium decumbens Thom.斜卧青霉	+	−	−
Penicillium janthinellum Biourge.微紫青霉 **	+	−	−
Penicillium implicatum Biourge.纠缠青霉	+	−	−
Penicillium purpurogenum Stoll.产紫青霉	−	+	−
Penicillium restrictum Gilm.et Abbott.局限青霉	+	+	+
Penicillium rubrum Stoll.红色青霉	+	−	−
Penicillium spinulosum Thom.小刺青霉	−	+	−
Rhizopus stolonifer (Ehrenb.) Lind.黑根霉(匍枝根霉)	+	−	−
Scopulariopsis canadensis Morton & Smith.加拿大帚霉	+	+	+
Trichoderma atroviride P.karsten,Finl.黄绿木霉	+	+	+
Trichoderma harziamum Rifai,Mycol.哈茨木霉	+	+	+
总 数	24	19	16

注:"+"表示分离到该种;"−"表示未分离到该种;"**"表示为吉林省新记录种。

Notes: "+"indicated that separated to the species, "−"indicated that did not separated to the species. "**" was the new record species in Jilin province.

2.3 纤维素分解菌性质测定

2.3.1 纤维素分解菌在 CMC-Na 平板上的溶解圈直径的测定

将所分离纯化的菌株在 CMC-Na 平板上接种培养,在分离出单个孢子时,加入刚果红显色液,观察菌落的周围出现透明圈的大小, 以反映菌株产酶能力的强弱。本实验所测定的溶解圈直径是在培养 3 d 后测定的,其结果列于表 4。

表 4 纤维素分解菌的分解能力测定

Table 4 The characters of cellulose-decomposing microorganisms

测定项目 Determination item	菌 株 编 号 Screening number					
	1	2	3	4	5	6
溶解圈直径(cm)	0.82	1.35	1.53	1.65	2.08	1.01
A	0.27	0.45	0.51	0.55	0.69	0.45
滤纸减重率(%)	10.67	15.89	18.12	20.10	21.32	13.45

注:1、黑根霉(*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Lind.)2、桔青霉(*Penicillium citrinum* Thom.)3、黑曲霉(*Aspergillus niger* v.Tiegh) 4、哈茨木霉(*Trichoderma harziamum* Rifai,Mycol.)5、绿色木霉(*Trichoderma atroviride* P.karsten,Finl)6、白地霉 (*Geotrichum candidum* Link)。

由表4可见，所有菌株都能在羧甲基纤维素钠培养基上生长，其中3号、4号、5号菌生长最快，但液化CMC较慢，2号菌可使CMC迅速液化。6种纤维素分解菌的溶解圈直径5号最大，依次为4号、3号、2号、6号和1号菌株。在滤纸平板上，所有菌株生长都比较缓慢，3号、4号、5号和6号菌株能液化滤纸。由此可见，所测定的6种纤维素分解菌中，2号、3号、4号、5号和6号菌株分解纤维素类物质的能力较强，而1号菌分解能力较差。

2.3.2 纤维素分解菌对滤纸分解能力的测定

将所分离筛选的纤维素分解菌接种于以滤纸为唯一碳源的发酵培养基中，培养6 d后测定滤纸减重率(结果见表4)。由表4可见，2号、3号、4号和5号菌分解滤纸能力较强，6d滤纸减重率分别达到15.89%、18.12%、20.1%和21.32%；而1号和6号菌的分解能力较弱，6 d分解纤维素滤纸减重率分别10.67%和13.45%。

从以上分析可见，6株纤维素分解菌中2号桔青霉(*Penicillium citrinum* Thom.)、3号黑曲霉(*Aspergillus niger* v.Tiegh)、4号哈茨木霉(*Trichoderma harziamum* Rifai,Mycol.)和5号绿色木霉(*Trichoderma atroviride* P.karsten,Finl)分解纤维素的能力较强，而1号黑根霉[*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Lind.]和6号白地霉 (*Geotrichum candidum* Link)分解纤维素的能力较弱，6株菌株中5号绿色木霉分解纤维素的能力最强，依次为4号哈茨木霉(*Trichoderma harziamum* Rifai,Mycol.)、3号黑曲霉(*Aspergillus niger* v.Tiegh)、2号桔青霉 (*Penicillium citrinum* Thom.)6号白地霉(*Geotrichum candidum* Link)、1号黑根霉[*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Lind.]。

3 结 论

2003～2004年，从181个黑土土壤样品中分离出54个土壤纤维素分解真菌菌株，经形态鉴定出14个属，27个种。其中青霉属(*Penicillium* Link)的桔青霉(*Penicillium citrinum* Thom.)、顶青霉(*Penicillium corylophilum* Dierckx.) 和微紫青霉 (*Penicillium janthinellum* Biourge.)为吉林省3个新记录种。

在吉林黑土玉米田0～20 cm表层内分布有14个属、24个种土壤纤维素分解真菌，在20～40 cm亚表层土壤分布11个属、19个种纤维素分解真菌，两层土壤中共同分布的纤维素分解真菌有11个属、16个种。青霉属(*Penicillium*)和曲霉属(*Aspergillus*)为吉林黑土玉米田土壤纤维素分解真菌的优势属，相对数量分别占33.33%和25.93%。

对筛选获得的纤维素分解菌性质的测定结果表明，桔青霉(*Penicillium citrinum* Thom.)、黑曲霉(*Aspergillus niger* v.Tiegh)、哈茨木霉(*Trichoderma harziamum* Rifai,Mycol.)和绿色木霉(*Trichoderma atroviride* P.karsten,Finl)分解纤维素的能力较强，而黑根霉[*Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.) Lind.]和白地霉 (*Geotrichum candidum* Link)分解纤维素的能力较弱。

参考文献：

[1] 赵小蓉，等．纤维素分解菌对不同纤维素类物质的分解作用[J]．微生物学杂志，2000，9(3)：12－14．

[2] 孙晓华，罗安程．纤维素分解菌的分离、筛选及其环境适应性初步研究[J]．科技通报，2005，21(2)：236－241．

[3] 周先定．TNA生物固氮对现代生物学及农业生产的意义[J]．农业科技译丛，1994(2)：12－15．

[4] 陈文新．土壤和环境微生物学[M]．北京：北京农业大学出版社，1999．

[5] 张 伟，许俊杰，张天宇．土壤真菌研究进展[J]．菌物研究，2005，3(2)：52－58．

[6] 吕国忠，孙晓东，李 贺．东北地区保护地土壤真菌多样性的研究[J]．大连民族学院学报，2006，30(1)：6－8．

[7] 房 岩，刘东波，夏红梅．纤维素诺卡氏菌HD－86对大分子化合物降解特性的研究[J]．农业与技术，1996，92(3)：46－47．

[8] 张 虹，李 博．纤维素酶产生菌的分离和鉴定[J]．齐齐哈尔师范学院学报，1997，17(4)：62－63．

[9] 钱 成，等．西藏中部农田土壤复退过程中的生物学特性[J]．水土保持学报，2003，12(17)：1－7．

[10] 马丽萍，张德罡，姚 拓．高寒草地不同扰动生境纤维素分解菌数量动态研究[J]．草原与草坪，2005，108：29－33．

[11] 周辉宇，陆文静，王洪涛，等．高效纤维素分解菌生物强化技术在工厂化好氧堆肥中的应用初探[J]．农业环境科学学报，2005，24(1)：182－186．

[12] 戴芳澜．真菌的形态和分类[M]．科学出版社，1987．

(责任编辑：李万良)