

天目山 微生物学 野外实习 手册

袁生 主编



高等教育出版社
HIGHER EDUCATION PRESS

天目山 微生物学 野外实习 手册

Tianmushan
Weishengwuxue
Yewai Shixi Shouce

袁生 主编

编著者 (按姓氏拼音排序)

常福辰 陈双林 何 健 李建宏

闵 航 庞延军 徐德强 袁 生



内容简介

本书是在国家自然科学基金委员会国家基础科学人才培养基金“天目山实习基地建设项目”资助下,由南京师范大学、浙江大学、复旦大学、南京大学、南京农业大学五所高校的微生物学教师联合编写而成的。内容包括土壤微生物、水体微生物、空气微生物、植物体微生物、大型真菌、地衣以及功能性微生物菌株的筛选。本手册尽量从野外实习实际出发设计实习内容,设法将微观世界的微生物用宏观的方法来观察,注重微生物与其周围的生态环境的关系和相互作用,并将微生物学野外实习与大学生科研训练相结合,力图为正在逐渐开展的微生物学野外实习提供一本适用的教材。本书虽取名为“天目山微生物学野外实习手册”,但野外实习内容和方法仍适合于其他地区的微生物学野外实习作参考。

本书适于用作普通高等学校生物科学、生物技术及相关专业微生物学野外实习教材,也可供相关领域科研工作者参考使用。

图书在版编目 (CIP) 数据

天目山微生物学野外实习手册 / 袁生主编. —北京:
高等教育出版社, 2010. 7
ISBN 978 - 7 - 04 - 030526 - 5

I. ①天… II. ①袁… III. ①天目山 - 微生物学 - 教
育实习 - 高等学校 - 教学参考资料 IV. ①Q938. 225. 5 - 45
中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2010) 第 122860 号

策划编辑 吴雪梅 责任编辑 赵晓媛 封面设计 赵 阳
责任绘图 尹 莉 责任印制 张泽业

出版发行	高等教育出版社	购书热线	010 - 58581118
社 址	北京市西城区德外大街 4 号	咨询电话	800 - 810 - 0598
邮政编码	100120	网 址	http://www.hep.edu.cn http://www.hep.com.cn
经 销	蓝色畅想图书发行有限公司	网上订购	http://www.landaco.com http://www.landaco.com.cn
印 刷	北京地质印刷厂	畅想教育	http://www.widedu.com
开 本	787 × 1092 1/16	版 次	2010 年 7 月第 1 版
印 张	8	印 次	2010 年 7 月第 1 次印刷
字 数	210 000	定 价	15.50 元
插 页	4		

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究
物料号 30526 - 00

前言

生物学野外实习是生物学类各专业一个十分重要的实践环节。由于绝大多数微生物体积小、肉眼难以直接观察,因而各高校生物学野外实习通常不包括微生物学野外实习。然而,生物学野外实习不只是为了让学生熟悉和认识各种动植物及其野外识别和鉴定,它的一个主要目的,就是要通过观察实习地点的自然环境和生态特点,了解各种生物在该生态空间中的组成、分布、特性、相互关系,以及它们与其生长环境之间的相互关系和相互作用。而要实现这样一个目标,就需要增加微生物学的野外实习内容。微生物是整个生态系统中十分重要的一环,在自然界物质循环和环境治理方面起着不可替代的作用,可以说,整个生物圈要获得繁荣昌盛的发展,其能量来源主要依赖于太阳,而其元素来源则主要依赖于微生物所推动的物质循环。但笔者也曾发现有同学对一些常见的微生物种类或由其引发的现象都不能辨识,这使我们感到微生物学野外实习的开展势在必行。其实大型真菌、地衣等微生物,在生物学野外实习中随处可见,但多数情况下由于时间和知识所限,教师往往会忽略不讲。我们常常说微生物广泛分布于自然界中,几乎在地球上的任何地方都能够找到微生物,有动植物存在的地方就有微生物存在。而我们到了野外自然的生态环境中,为什么不能让学生看看这样一个生态环境中微生物的真面目呢?至于肉眼难以直接观察微生物的障碍,可以通过观察固体营养平板培养产生的菌落的办法加以克服。我们课堂上会介绍环境因素影响微生物的存在、种群组成、个体数量等,若能利用野外实习机会,让同学们亲手测定和比较一下野外(尤其森林、公园)洁净空气与城市空气中微生物的数量和组成的差异,山泉水、人迹罕至的清洁水体与城市污染水体中的微生物数量和组成的差异,不同土壤类型和不同植被类型的同一土壤的微生物数量和组成的差异,将极大地丰富同学们的感性认知。已知各种功能性微生物资源被广泛应用于工业、农业、医药、能源、食品、环保等领域,许多微生物还是基因工程的载体,利用野外实习机会,安排学生从不同的生境条件下筛选功能性微生物,将有助于增强学生未来挖掘微生物资源的实际动手能力。

在国家自然科学基金委员会国家基础科学人才培养基金“天目山实习基地建设项目”资助下,尤其是在教育部高等学校生物科学与工程教学指导委员会副主任委员乔守怡教授和项目主持人蒋德安教授的提倡和鼓励下,南京师范大学、浙江大学、复旦大学、南京大学、南京农业大学五所高校的微生物学教师,近年来联合尝试在生物学野外实习中增加微生物学野外实习内容,各自在自己的学校进行了野外实习的试点,并于2009年7月底至8月初面向全国“生物学理科基地班”教师和学生开放,联合在天目山地区进行了微生物学野外实习,本书是我们据此撰写而成。袁生(南京师范大学)编写第一章,徐德强(复旦大学)编写第二章,李建宏(南京师范大学)编写第三章,闵航(浙江大学)编写第四章,何健(南京农业大学)编写第五章,陈双林(南京师范大学)编写第六章,常福辰(南京师范大学)编写第七章,庞延军(南京大学)编写第八章,相关老师还分

别编写了书后附录。袁生负责全书的统稿和修订工作。感谢浙江天目山国家级自然保护区管理局副局长杨淑珍高工为本书概论撰写提供天目山自然、水文、地质等背景资料,并提供很多大型真菌照片。由于微生物学野外实习还是一个新生事物,存在很多不足之处和值得进一步改进的地方,欢迎广大教师、学生对本书提出修改补充意见,以便使微生物学野外实习更加成熟,更易于操作。本书虽取名为“天目山微生物学野外实习手册”,但野外实习内容和方法仍适合于其他地区的微生物学野外实习作参考,只不过野外实习具体地点的自然环境、地质、地貌、动植物及微生物群落等会有所改变。

袁 生
2010年4月1日

目 录

第一章 概论	1	一、土壤微生物样品的采集	11
第一节 天目山自然环境简介	1	二、土壤微生物样品中微生物的分离和计数	12
第二节 微生物学野外实习的目的、要求和注意事项	2	主要参考文献	15
一、实习目的	2		
二、实习要求	2	第三章 水体微生物	16
三、注意事项	3	第一节 天目山水体环境特点	16
第三节 微生物学野外实习的组织安排	3	一、水体生态环境及其对水体微生物的影响	16
一、实习的组织	3	二、水体微生物的检测	16
二、实习时间的选择	3	三、天目山水体环境及水体微生物的分布、组成与特点	17
三、实习的方式	3	第二节 水体微生物实习目的和要求	18
第四节 微生物学野外实习的准备工作	4	一、实习目的	18
一、实习器材	4	二、实习要求	18
二、培养基制备	4	第三节 水体微生物样品的采集、处理、培养与观察分析	19
三、试剂配制	5	一、水体微生物样品的采集	19
主要参考文献	5	二、水体微生物的活体观察(悬滴法)	20
第二章 土壤微生物	6	三、水体中细菌总数的测定(平板菌落计数法)	20
第一节 土壤环境特点	6	主要参考文献	21
第二节 土壤微生物的分布与组成	7		
一、土壤微生物的分布	7	第四章 空气微生物	23
二、土壤中微生物种群的组成	9	第一节 天目山空气环境特点	23
第三节 土壤微生物实习目的和要求	11	第二节 空气微生物的来源、生态分布及其影响因素	23
一、实习目的	11	一、空气微生物来源	23
二、实习要求	11	二、空气微生物数量、种类和生态分布的	
第四节 土壤微生物样品的采集、分离和分析	11		

影响因素	24	组成和特点	42
第三节 空气微生物实习目的和		一、天目山大型真菌的组成与特点	42
要求	25	二、天目山大型真菌的生态分布	44
一、实习目的	25	第三节 天目山大型真菌实习目的和	
二、实习要求	25	要求	46
第四节 空气微生物样品的采集、处理、		一、实习目的	46
培养与观察分析	25	二、实习要求	46
一、采样区域的选择	25	第四节 大型真菌标本的采集、处理与	
二、空气微生物样品的采集	28	分析	47
三、空气微生物的培养	29	一、大型真菌标本的采集	47
四、菌落计数	29	二、大型真菌标本的处理	50
主要参考文献	31	三、大型真菌菌种的分离和培养	51
第五章 植物体微生物	32	四、大型真菌标本的鉴定	52
第一节 天目山植物分布特点	32	五、大型真菌标本的保存	56
一、天目山具有非常丰富的植物资源	32	第五节 常见大型真菌分类和天目山	
二、天目山植物资源的地理分布状况	32	主要大型真菌的简介	57
第二节 天目山主要植物体微生物类		一、大型真菌常见类群检索表	57
群及其特点	33	二、天目山主要大型真菌特征简述	62
一、根瘤菌	33	主要参考文献	74
二、菌根真菌	34	第七章 地衣	75
三、内生真菌	35	第一节 地衣简介	75
四、枯枝落叶层中微生物	35	一、地衣的分布环境	75
五、植物病原微生物	36	二、地衣的形态特征	76
第三节 植物体微生物实习目的和		三、地衣的分类	79
要求	37	第二节 天目山地衣的分布特点与	
一、实习目的	37	生态环境	79
二、实习要求	37	第三节 天目山常见地衣介绍	80
第四节 植物体微生物样品的采集、处理、		第四节 天目山地衣实习目的和要求	
培养与观察分析	37		83
一、植物体微生物的采集	37	第五节 地衣标本的采集、制作与	
二、植物体微生物样品的观察与鉴定	38	分类鉴定	84
三、实习报告	38	一、地衣标本的采集	84
主要参考文献	39	二、地衣标本的制作与分类鉴定	85
第六章 大型真菌	41	主要参考文献	85
第一节 大型真菌环境介绍	41	第八章 功能性微生物菌株的筛选	87
第二节 天目山大型真菌的分布、		第一节 功能性微生物及其应用	87

一、微生物工业发酵产品	87	一、含功能性微生物土壤样品的采集	94
二、农业微生物制剂	87	二、功能性微生物的分离与纯化	94
三、微生物药物	87	三、功能性微生物的鉴别	95
四、微生物环境修复剂	88	四、功能性微生物菌株的进一步纯化、 分析与鉴定	99
第二节 功能性微生物筛选的原理和 方法	88	主要参考文献	100
一、功能性微生物样品的采集	88	附录1 微生物菌种保藏	101
二、功能性微生物的富集培养	89	附录2 细菌鉴定	105
三、功能性微生物的分离方法	91	附录3 放线菌鉴定	108
四、功能性微生物的鉴别	92	附录4 酵母菌鉴定	111
第三节 功能性微生物菌株筛选的 实习目的和要求	93	附录5 霉菌鉴定	116
一、实习目的	93		
二、实习要求	94		
第四节 功能性微生物样品的采集、 分离与纯化	94		

第一章

概 论

第一节 天目山自然环境简介

天目山位于浙江省西北部临安市境内,地理位置为 $30^{\circ}18'—30^{\circ}25'N$, $119^{\circ}23'—119^{\circ}29'E$,距杭州市 94 km。天目山由东西两峰组成,东峰大仙顶海拔 1 480 m,称东天目山;西峰仙人顶海拔 1 506 m,称西天目山。西天目山于 1956 年被国家林业局划为森林禁伐区,1986 年经国务院批准为国家级自然保护区,1996 年,被联合国人与生物圈委员会批准成为“联合国教科文组织国际生物圈保护区网络成员”,所辖面积有 4 284 hm^2 。

天目山在区域地质上位于扬子准地台南缘钱塘凹陷褶皱带,山体古老,系下古生界地质构造活动为始,继奥陶纪末褶皱断裂隆起成陆,燕山期火山运动渐成主体,为“江南古陆”一部分。全山出露寒武系、奥陶系、侏罗系、第四系等地层。流纹岩、流纹斑岩、溶结凝灰岩、沉凝灰岩、脉岩兼而有之,但以侏罗系中统黄尖组地层为主,为一套灰—深灰—紫灰色的陆相火山岩。地层厚度为 2 830 ~ 2 910 m。

天目山土壤分有红壤、黄壤、棕黄壤和石灰土四类。红壤分布在海拔 600 ~ 800 m 以下山坡,有黄红壤、乌红壤及幼红壤 3 个亚类。黄壤垂直分布下限在 600 ~ 800 m,上限在 1 100 ~ 1 200 m,有黄壤、乌黄壤及幼黄壤 3 个亚类。棕黄壤主要分布在海拔 1 200 m 以上的地带。石灰土主要分布在青龙山、火焰山、朱陀岭、太子庵等局部地带,有黑色、红色及幼年石灰土 3 个亚类。

天目山夹于长江、钱塘江之间,西天目山南坡之水汇合为天目溪,南流经桐庐入钱塘江;北坡之水汇流入苕溪,经太湖注入长江。天目山保护区内森林覆盖率高,枯枝落叶层厚,森林土壤的水文生态效应良好,自然含水率平均为 50.1%,持水率(24 h 内)平均为 333.3%,持水量平均值为 39.6 t/hm^2 。

天目山属亚热带季风气候,温暖湿润、雨水丰富、光照适宜。四季分明,但春秋季较短,冬夏季偏长。年平均气温 $14.8 \sim 8.8^{\circ}C$;最冷月平均气温 $3.4 \sim -2.6^{\circ}C$,极值最低气温 $-13.1 \sim -20.2^{\circ}C$;最热月平均气温 $28.1 \sim 19.9^{\circ}C$,极值最高气温 $38.2 \sim 29.1^{\circ}C$;无霜期 235 ~ 209 d;年降水量 1 390 ~ 1 870 mm;相对湿度 76% ~ 81%。

天目山自然保护区整个环境质量尚保持天然“本底”性。区内地下水水质类型多为重碳酸型水,矿化度 $<0.1 g/dm^3$,pH 约为 7.0,水质变化主要受地层岩性的影响。上侏罗统黄尖组分布区,为 $HCO_3 - Mg \cdot (Na + K)$ 型水;奥陶系下统、寒武系上统碎屑岩和碳酸盐岩分布区,为 $HCO_3 - Ca$ 型水,两者均属于低钠、低矿化度的优质地下水。保护区地下水、地表水的化学成分分析表明其尚未受到污染,可作为环境保护中水化学成分的“本底”值。保护区内禅源寺、蟠龙

桥附近的生活区,虽受生活燃料、汽车尾气等对大气环境的一定影响,但仍处于十分清洁的状态。测定表明,整个保护区的大气环境质量,符合国家规定的自然保护区一类区所要求的一级标准。

天目山自然保护区地处中亚热带的北缘,植物温带、亚热带的东亚区系成分特征显著,而且热带区系的植物也有分布。在地理成分中,各地理成分在本区的分布是相互混杂和渗透的。区内地势较为陡峭,海拔上升快,气候差异大,植被的分布有着明显的垂直界限,在不同海拔地带上有其特殊的植物群落和物种。区内植物资源丰富,区系复杂,组成的植被类型比较多。依据植物群落的种类组成、外貌结构和生态地理分布,森林植被类型可分为8个植被型和30个群系组,主要类型有:常绿阔叶林是地带性植被,呈散分布在海拔700 m以下的低山丘陵;常绿、落叶阔叶混交林是天目山植被的精华,集中分布于禅源寺附近和海拔850~1 100 m的山坡和沟谷;落叶阔叶林是天目山中亚热带向北亚热带的过渡性植被,主要分布于海拔1 100~1 380 m的高海拔地段;落叶矮林是天目山的山顶植被,分布在海拔1 380 m以上;针叶林是天目山的特色植被,尤以柳杉林最具特色,海拔350~1 100 m均有分布;竹林,主要是毛竹林。数千年的植被演替积累了腐殖质丰富的森林土壤,覆盖全山。据调查,区内共有高等植物246科974属2 160种。不同植被的土壤中微生物群落和种类差异非常大,包括真菌的存在与否及其类群也都受到很大影响。

天目山自然保护区在中国动物地理区划上,属于东洋界中印亚界华中区的东部丘陵平原亚区。由于地理位置特殊,自然环境优越,历史上人为活动相对较少,给野生动物生存及栖息创造了较为良好的条件,许多动物得以保存,区内野生动物资源十分丰富。据不完全统计,区内共有各种野生动物65目465科4 716种。

第二节 微生物学野外实习的目的、要求和注意事项

一、实习目的

1. 实地观察天目山自然环境和生态特点,了解微生物在该生态空间中的组成、分布、特性、相互关系以及它们与环境间的相互作用,认识微生物在生态系统中的重要地位。
2. 通过对比天目山不同人类活动区、不同海拔高度区和不同主要植被区的空气、水体、土壤和植物体微生物的差异,了解环境因素对微生物种群及数量分布的影响,增强环境保护意识。
3. 培养学生野外识别大型真菌、地衣和植物病原菌的能力,微生物样品的野外采集、分离和纯化能力,以及微生物的野外调查和监测能力,为将来从事各种与微生物学相关的工作奠定扎实的基础。

二、实习要求

通过天目山微生物学野外实习,要求掌握以下几个方面内容:

1. 初步掌握天目山主要地区区域的土壤、水体、空气和植物体微生物种类、数量和分布差异;了解天目山微生物三大类菌群(细菌、放线菌和真菌)的多样性,能辨识三大类菌群菌落的基本形态特征和差别;了解和掌握一些土壤、水体、空气和植物体微生物采集的常用方法,熟悉微生物野外调查的工具和使用方法。
2. 初步掌握天目山野外常见的大型真菌和地衣的主要识别特征、生态环境和分类地位,初

步了解和掌握大型真菌和地衣标本的采集、制作和分类鉴定方法。

3. 初步掌握如何从土壤中采样、分离筛选和纯化功能性微生物,初步了解和掌握功能性微生物的菌种保藏和分类鉴定方法。

4. 了解天目山不同区域、温度、湿度等自然因素和人类活动对土壤、水体、空气微生物多样性的影响,评估人类活动对天目山自然保护区的影响。

三、注意事项

1. 不得私自下水游泳,不得私自离队活动,不得私自晚上外出,不得嬉闹追打,不得攀爬悬崖陡壁。

2. 注意防止毒虫、蛇咬,带队教师须带急救蛇药,遇到紧急情况要及时送往医院急救。

3. 要随身携带小型笔记本,作好微生物样品的采集方式和处理过程记录,样品采集地点的自然环境记录。

4. 可能的话携带照相器材,对野外实习的生境、微生物样品发现或采集地点、微生物样品野外观着生状态、地衣、腐木上霉菌菌丝体和蕈菌子实体等进行拍照记录。

5. 要携带好野外实习所需的有关实验材料、器材和工具。

第三节 微生物学野外实习的组织安排

一、实习的组织

有计划地准备和组织,才能顺利地完成野外实习。实习前,要制订详细的野外实习计划,包括学生的分组安排;领队教师、指导教师的分配;实习所需设备和工具的准备;培养基、培养皿的准备;实习基地的联系以及实习前的动员组织等。

由于天目山景区地域较大,采集点之间相距较远,同一小组不可能在同一时间内对天目山景区的各个不同采样点同时进行采样。因此,可以班级为单位进行分组,每组 10~20 人(至少 3~4 人),并设小组长 1 人,负责采样点工作的开展和后期培养、计数和数据整理,由 1~2 位教师带队。

二、实习时间的选择

建议微生物学野外实习安排在天目山景区游客相对较多的时段,如春、夏、秋季,尽量避开冬季。

三、实习的方式

微生物学野外实习可以采用两种方式进行。一种方式是安排独立的 3~5 天的微生物学野外实习;另一种方式是将微生物学野外实习安排在与动植物学野外实习同时进行,不同野外实习小组分别由动物学、植物学和微生物学教师带队分头进行不同的野外实习内容,半天或 1 天进行轮换,这对于每门课程野外实习指导教师不多的学校尤其适用。

白天实习内容主要是在野外了解认识微生物的生态环境,观察和认识大型真菌、地衣、腐生

霉菌和植物体微生物,采集不同生态环境中的含菌样品。晚上则在室内整理标本,显微镜观察,含菌样品的处理,处理好的样品进行微生物培养,根据不同微生物培养类型,于次日或数日后对所培养的微生物进行观察、分析、记录和数据整理。

第四节 微生物学野外实习的准备工作

一、实习器材

1. 水取样器,装水样的灭菌三角瓶或具螺纹盖广口试剂瓶。
2. 土壤取样器,装土样用的干净聚乙烯袋或无菌布袋或铝盒。
3. 灭菌平皿。
4. 含适量玻璃珠的 50 mL 灭菌生理盐水三角瓶(250 mL),或含适量玻璃珠的 10 mL 灭菌生理盐水三角瓶(100 mL)。
5. 灭菌移液管、洗耳球、灭菌试管,或取液器、灭菌取液头(1 mL 和 0.2 mL)、灭菌 1.5 mL 小离心管(置烧杯中)。
6. 灭菌生理盐水(最好使用具螺纹盖广口试剂瓶,便于使用移液枪)。
7. 接种环。
8. 解剖针,解剖刀,镊子。
9. 酒精灯,乙醇棉球。
10. 载玻片,盖玻片。
11. 记号笔。
12. 标本夹。
13. 微波炉。
14. 粗天平,药勺,称量纸。
15. 培养箱(亦可直接室温培养,避免携带不便)。
16. 显微镜,放大镜。
17. 照相机。

二、培养基制备

微生物野外实习需要使用大量固体培养基平皿,建议在实习出发前事先在学校实验室准备好灭菌固体培养基和灭菌平皿。

1. 牛肉膏蛋白胨琼脂培养基(培养一般细菌)

牛肉膏 3 g,蛋白胨 10 g,NaCl 5 g,琼脂 16 g,水 1 000 mL。调 pH 至 7.0~7.2,加热使熔化,最后使其体积为 1 L,分装在 4 个 500 mL 具塞三角瓶中,121 °C 灭菌 20 min。

2. 高氏一号琼脂培养基(培养各种放线菌)

可溶性淀粉 20 g,NaCl 0.5 g,KNO₃ 1 g,K₂HPO₄·3H₂O 0.5 g,MgSO₄·7H₂O 0.5 g,FeSO₄·7H₂O 0.01 g,琼脂 16 g,蒸馏水 1 000 mL。pH 7.2~7.4。配制时,先用少量冷水把可溶性淀粉调成糊状,用文火加热后再加水及其他化合物,待各成分溶解后再补足水至 1 000 mL。分装在 4 个

500 mL 具塞三角瓶中,121 ℃ 灭菌 20 min。临用时向每 250 mL 融化的高氏一号琼脂培养基中加入 1 mL 2.5% $K_2Cr_2O_7$,以抑制细菌和霉菌生长。

3. 马丁氏琼脂培养基(培养一般真菌)

葡萄糖 10 g,蛋白胨 5 g, K_2HPO_4 1 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 g,0.1% 孟加拉红 3.3 mL,蒸馏水 1 000 mL,琼脂 16 g,加热使熔化,最后使其体积为 1 L,分装在 4 个 500 mL 具塞三角瓶中,112 ℃ 灭菌 30 min。临用时每 250 mL 培养基中加入 0.75 mL 1% 链霉素液(用无菌水配制,终质量浓度为 30 $\mu g/mL$)。

三、试剂配制

1. 草酸铵结晶紫溶液

A 液:结晶紫 2 g,95% 乙醇 20 mL。B 液:草酸铵 0.8 g,蒸馏水 80 mL。将 A 液和 B 液混合即成。

2. 0.85% 的无菌生理盐水

称取 8.5 g NaCl 加入到 1 000 mL 水中,溶解后分装灭菌,保存备用。

主要参考文献

- [1] 杨逢春. 天目山自然保护区自然资源综合考察报告[M]. 杭州:浙江科学技术出版社,1992.
- [2] 周德庆. 微生物学实验教程[M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,2006.

袁 生

第二章

土壤微生物

第一节 土壤环境特点

土壤具备了微生物生长发育所需的各种条件,因而是微生物生长繁殖及进行各种生命活动的良好环境。土壤环境特点通常涉及以下几个方面。

1. 土壤中营养物质

土壤内含有大量的有机物,它们来自动植物残体及其分泌物。根据土壤类型不同,土壤中有有机物含量也有较大差异(为土壤总量的1%~1.5%)。此外,土壤中还存在各种无机盐,如土壤水中常含有 NH_4^+ 、 NO_3^- 、 SO_4^{2-} 、 PO_4^{3-} 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^+ 及一些微量元素盐类。另外,土壤中还存在一些微生物所需的维生素和生长促进物质。因此,从微生物的营养物质需求来说,土壤的确提供了较好的营养需求条件。

2. 土壤的 pH

土壤 pH 范围通常在3.5~8.5,其中大多为5.5~8.5,因而可适合大多数微生物的生长繁殖。而那些嗜酸或嗜碱的微生物则可生长在相应的较酸或较碱的土壤中(如专性嗜碱菌可生活在 pH10~11 的土壤中)。

3. 土壤的渗透压

土壤渗透压一般为0.3~0.6 MPa,而不同类群微生物菌体内渗透压也有差异,如革兰氏阴性菌体内的渗透压为0.5~0.6 MPa,而革兰氏阳性菌体内的渗透压为2.0~2.5 MPa。因此土壤对于微生物是等渗或低渗的,这对于微生物营养吸收是极为有利的。

4. 土壤的温度

土壤温度因地区和季节而有所不同。天目山大部分地区土壤温度的变化范围为0~30℃。而在一年的大部分时间内,其温度变化通常在10~25℃,这个温度范围适宜许多微生物生长。由于土壤具有较强的保温性,且越到下层温度越稳定,因此即使在冬季地面被冻结时,一定深度的土壤中仍能保持一定的温度,有利于微生物生长。

5. 土壤里的空气

土壤空气存在于未被水占据的土壤团粒空隙中,其含量随土壤含水量而变化。一般好氧微生物较多生活在土壤团粒间。而团粒内部氧化还原电位较低,因而生活着一些微好氧或厌氧微生物。另外,在渍水土壤中,则以厌氧微生物或兼性厌氧微生物占优势。

6. 土壤的水分

土壤的团粒结构中存在的小孔隙还起着毛细管的作用,具有持水性,为微生物生长提供水

分。如在孔隙率为 30% ~ 50%、排水通畅的土壤中,土粒占 50%,空气占 10%,而水占 40%。而在不同类型的土壤中,水的含量存在一些差异。

7. 土壤的保护层

土壤最上面的几 mm 厚的表层土是保护层,它可使其下面土壤中的微生物免受太阳光中紫外线的直接照射而致死。

从上述各方面特点分析,土壤的确是微生物生长的良好环境。当然土壤的各种特点对不同微生物的影响是有差异的。自然界中土壤的类型、所处的地理环境以及人类在土壤上所从事的活动等都可影响不同微生物的生长状态。

第二节 土壤微生物的分布与组成

一、土壤微生物的分布

土壤具有各种微生物生长需要的营养、水分、空气、温度、酸碱度等条件,因而其中生活着各大类的微生物,如细菌、放线菌、真菌、藻类和原生动物等,它们的数量和种类是极其丰富的(如每 g 肥土中微生物数为几亿到几十亿个,每 g 贫瘠土中微生物数为几百万至几千万个),因而土壤被认为是人类开发利用微生物资源的菌种库。具体可从以下 3 个方面来了解微生物在土壤中的分布情况。

(一) 微生物在不同类型土壤中的分布

由于土壤的营养状况、温度、酸碱度、水分、空气等因素对微生物数量和分布有很大影响,而这些因素在不同类型土壤中是不一样的,因而不同类型土壤中微生物的数量和分布也存在很大差异。如油田和炼油厂附近的土壤中常有较多碳氢化合物,因而这种土壤中常存在较多的分解碳氢化合物的微生物,如某些诺卡氏菌属(*Nocardia*)和假丝酵母菌属(*Candida*)。而森林土壤中则存在较多分解纤维素的微生物,如木霉属(*Trichoderma*)等。另外,动植物残体较多的土壤中,氨化细菌和硝化细菌较多。从各大类微生物在不同类型土壤中数量分布情况看,有机质含量丰富的黑土、草甸土、磷质石灰石和植被茂盛的暗棕壤土中微生物数量较多,而西北干旱的棕钙土、华中与华南地区的红壤和砖红壤、沿海地区的滨海盐土中微生物的数量就相对较少(表 2-1)。

表 2-1 我国各主要类型土壤中微生物数量 单位:10⁴/g 干土

土壤类型	地点	细菌	放线菌	真菌
暗棕壤	黑龙江呼玛	2 237	612	13
棕壤	辽宁沈阳	1 284	39	36
黄棕壤	江苏南京	1 406	217	6
红壤	浙江杭州	1 103	123	4
砖红壤	广东徐闻	507	39	11
磷质石灰土	西沙群岛	2 229	1 105	15
黑土	黑龙江哈尔滨	2 111	1 024	19

续表

土壤类型	地点	细菌	放线菌	真菌
黑钙土	黑龙江安达	1 074	319	2
棕钙土	宁夏宁武	140	11	4
草甸土	黑龙江亚沟	7 863	29	23
娄土	陕西武功	951	1 032	4
白浆土	吉林蛟河	1 598	55	3
滨海盐土	江苏连云港	466	41	0.4

注:据中国科学院南京土壤研究所资料。

(二) 微生物在土壤中的垂直分布

同一土壤的不同深度微生物分布不同,其原因是土壤的不同深度中水分、通气、温度、pH 及紫外线辐射等环境因素均有差异,另外与微生物本身特点也有一定关系。通常土壤表层土可受到紫外线辐射,并缺水,因而导致微生物极易死亡。在 5 ~ 20 cm 土壤层中,微生物数量最多。在植物根系附近,微生物数量更多。在 20 cm 以下的土壤中,通常微生物数量随土层深度增加而减少,至 1 m 深处,减少约 20 倍。至 2 m 深处,每 g 土壤中仅含几个微生物。其主要原因是随着深度增加,该土层中明显缺乏氧气和营养。此外,不同深度土壤中微生物各类群分布也有差异。

(三) 微生物在土壤团粒内外的分布

微生物在土壤团粒内外的分布也有一定规律。从图 2 - 1 中可知,细菌在土壤团粒内部居多,而产芽孢菌在团粒内外部差异不大,放线菌在团粒内部多于外部,真菌则外部多于内部。其原因可能是由于真菌大多为好氧性,个体形态较大,且与细菌相颀颀。另外图 2 - 2 中结果也表明,团粒内外真菌菌相间也存有差异。如曲霉属 (*Aspergillus*) 完全存在于团粒外部,而青霉属 (*Penicillium*) 以外部为主,它们是团粒外部真菌的主要菌群。镰刀霉属 (*Fusarium*) 主要存在于团粒内部,占总数的 70% 以上。

总之土壤类型不同、季节不同及土壤中水分、温度的变化对土壤中微生物数量、种类及分布均有很大影响。在进行土壤微生物检测评价时,不能忽略以上各影响因素。

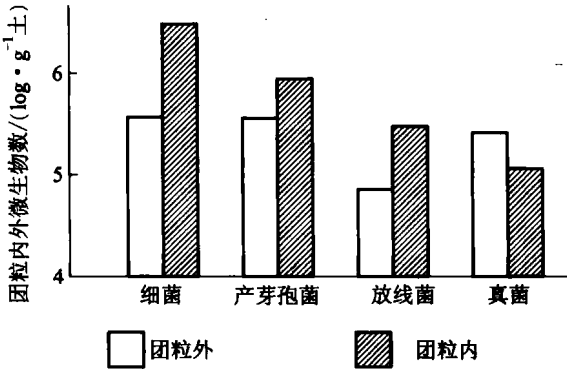


图 2 - 1 土壤团粒内外的微生物数
(引自史家樑等,《环境微生物学》,1993)

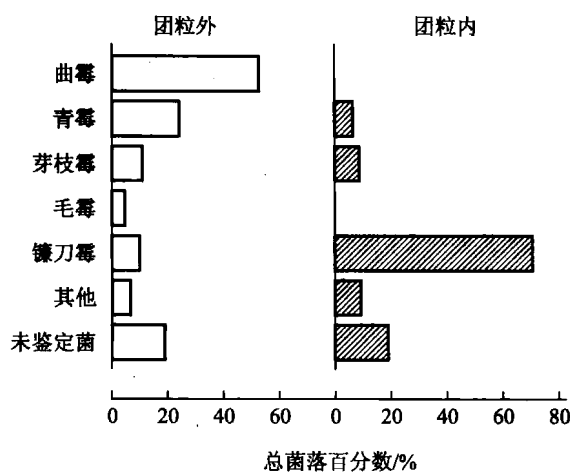


图 2-2 土壤团粒内外的真菌数
(引自史家樑等,《环境微生物学》,1993)

二、土壤中微生物种群的组成

土壤是微生物的大本营,其中普遍分布着数量众多的细菌、放线菌、真菌、藻类和原生动动物等。它们与土壤肥力变化、营养元素的转化及土传性病害的发生有着密切关系。

(一) 土壤中的细菌

土壤中细菌占土壤微生物总量的 70% ~ 90%, 其中大多为异养型细菌, 少数为自养型细菌。其生理类群多样, 常见的有固氮细菌、氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌、硫酸盐还原细菌、产甲烷细菌、纤维素分解细菌等, 其中旱田土壤中能利用糖类的土著细菌数量比水田中的多。土壤中常见细菌属包括芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、梭状芽孢杆菌属 (*Clostridium*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、产碱杆菌属 (*Alcaligenes*)、节杆菌属 (*Arthrobacter*)、短杆菌属 (*Brevibacterium*)、柄杆菌属 (*Caulobacter*)、纤维单胞菌属 (*Cellulomonas*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、黄单胞菌属 (*Xanthomonas*)、土壤杆菌属 (*Agrobacterium*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、棒杆菌属 (*Corynebacterium*)、微球菌属 (*Micrococcus*)、葡萄球菌属 (*Staphylococcus*) 等。并且在不同种类的土壤中它们的相对比例有很大差异。

土壤中的光能自养细菌主要为蓝细菌, 如鱼腥蓝细菌属 (*Anabaena*)、念珠蓝细菌属 (*Nostoc*)、颤蓝细菌属 (*Oscillatoria*)、眉蓝细菌属 (*Calothrix*)、色球蓝细菌属 (*Chroococcus*)、筒孢蓝细菌属 (*Cylindrospermum*)、鞘丝蓝细菌属 (*Lynbya*)、小枝蓝细菌属 (*Microcoleus*)、席蓝细菌属 (*Phormidium*)、织线蓝细菌属 (*Plectonema*)、裂须蓝细菌属 (*Schizothrix*)、伪枝蓝细菌属 (*Scytonema*) 和单歧蓝细菌属 (*Tolypothrix*) 等。以上蓝细菌中, 如念珠蓝细菌在其多细胞丝状体中由于具有形大、厚壁、专司固氮功能的异形胞, 因而该菌不仅在某些土壤生境中固定空气中的氮气, 还能通过光合作用合成有机物, 从而可为其他微生物和高等生物提供氮源和碳源。蓝细菌可在没有植物生长的土壤表面形成表面壳, 从而起到固定土壤的作用。

土壤中还存在许多自生固氮菌可将空气中氮气转化为含氮化合物。此外, 土壤中的某些专性厌氧的梭状芽孢杆菌 (*Clostridium*) 也能固定氮气。根瘤菌 (*Rhizobium*) 和某些植物通过共生进