

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第33卷 第15期 Vol.33 No.15 **2013**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 33 卷 第 15 期 2013 年 8 月 (半月刊)

目 次

前沿理论与学科综述

- 红树林生态系统遥感监测研究进展..... 孙永光,赵冬至,郭文永,等 (4523)
- 基于能值分析方法的城市代谢过程研究——理论与方法 刘耕源,杨志峰,陈 彬 (4539)
- 关于生态文明建设与评价的理论思考 赵景柱 (4552)

个体与基础生态

- 长江口及邻近海域秋冬季小型底栖动物类群组成与分布..... 于婷婷,徐奎栋 (4556)
- 灌河口邻近海域春季浮游植物的生态分布及其营养盐限制..... 方 涛,贺心然,冯志华,等 (4567)
- 春季海南岛近岸海域尿素与浮游生物的脲酶活性..... 黄凯旋,张云,欧林坚,等 (4575)
- 模拟酸雨对蒙古栎幼苗生长和根系伤流量的影响..... 梁晓琴,刘 建,丁文娟,等 (4583)
- 有机酸类化感物质对甜瓜的化感效应..... 张志忠,孙志浩,陈文辉,等 (4591)
- 稻田土壤氧化态有机碳组分变化及其与甲烷排放的关联性..... 吴家梅,纪雄辉,霍莲杰,等 (4599)
- 双氰胺单次配施和连续配施的土壤氮素形态和蔬菜硝酸盐累积变化..... 王煌平,张 青,翁伯琦,等 (4608)
- 不同类型土壤中分枝杆菌噬菌体分离率的比较..... 徐凤宇,苏胜兵,马红霞,等 (4616)
- 模拟酸雨对小麦产量及籽粒蛋白质和淀粉含量及组分的影响 卞雅姣,黄 洁,孙其松,等 (4623)
- 麻花秦艽种子休眠机理及其破除方法 李兵兵,魏小红,徐 严 (4631)
- 4 种金色叶树木对 SO_2 胁迫的生理响应 种培芳,苏世平 (4639)
- 硫丹及其主要代谢产物对紫色土中酶活性的影响..... 熊佰炼,张进忠,代 娟,等 (4649)

种群、群落和生态系统

- 群落水平食物网能流季节演替特征..... 徐 军,周 琼,温周瑞,等 (4658)
- 千岛湖岛屿社鼠的种群数量动态特征..... 张 旭,鲍毅新,刘 军,等 (4665)
- 黄土丘陵沟壑区不同植被区土壤生态化学计量特征..... 朱秋莲,邢肖毅,张 宏,等 (4674)
- 青藏高原高寒草甸退化与人工恢复过程中植物群落的繁殖适应对策..... 李媛媛,董世魁,朱 磊,等 (4683)
- 杉木人工林土壤质量演变过程中土壤微生物群落结构变化..... 刘 丽,徐明恺,汪思龙,等 (4692)
- 不同玉米品种(系)对玉米蚜生长发育和种群增长的影响 赵 曼,郭线茹,李为争,等 (4707)
- 伏牛山自然保护区森林冠层结构对林下植被特征的影响..... 卢训令,丁圣彦,游 莉,等 (4715)
- 内蒙古武川县农田退耕还草对粪金龟子群落的影响 刘 伟,门丽娜,刘新民 (4724)
- 铜和营养缺失对海州香薷两个种群生长、耐性及矿质营养吸收的差异影响 柯文山,陈世俭,熊治廷,等 (4737)
- 新疆喀纳斯国家自然保护区植被叶面积指数观测与遥感估算..... 咎 梅,李登秋,居为民,等 (4744)

景观、区域和全球生态

基于 LUCC 的生态系统服务空间化研究——以张掖市甘州区为例 梁友嘉,徐中民,钟方雷,等 (4758)

人工管理和自然驱动下盐城海滨湿地互花米草沼泽演变及空间差异 张华兵,刘红玉,侯明行 (4767)

基于 PCA 的滇西北高原纳帕海湿地退化过程分析及其评价 尚 文,杨永兴,韩大勇 (4776)

基于遥感和地理信息系统的图们江地区生态安全评价..... 南 颖,吉 喆,冯恒栋,等 (4790)

呼中林区森林景观的历史变域模拟及评价..... 吴志丰,李月辉,布仁仓,等 (4799)

降水时间对内蒙古温带草原地上净初级生产力的影响..... 郭 群,胡中民,李轩然,等 (4808)

研究简报

我国中东部不同气候带成熟林凋落物生产和分解及其与环境因子的关系.....

..... 王健健,王永吉,来利明,等 (4818)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 304 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 32 * 2013-08



封面图说: 石质山区的退耕还林——桂西北地区是我国喀斯特集中分布的地区之一,这里的石漠化不仅造成土地退化、土壤资源逐步消失、干旱缺水和土地生产力下降,而且还导致生态系统退化和植被消亡。桂西北严重的地质生态环境问题,威胁着当地居民的基本生存,严重制约了当地社会经济的发展。增加植被覆盖是防治石漠化的重要举措。随着国家退耕还林、生态移民等治理措施的实施,区域植被碳密度显著增加,生态环境有所好转。图为喀斯特地区农民见缝插针用来耕种的鸡窝地(指小、碎、分散的土地),已经退耕还林了。

彩图及图说提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201204280612

徐凤宇, 苏胜兵, 马红霞, 高云航, 么乃全, 康元环, 刘洪岩, 周鹏, 陆承平, 刘永杰. 不同类型土壤中分枝杆菌噬菌体分离率的比较. 生态学报, 2013, 33(15): 4616-4622.

Xu F Y, Su S B, Ma H X, Gao Y H, Yao N Q, Kang Y H, Liu H Y, Zhou P, Lu C P, Liu Y J. Comparison of isolation rate of mycobacteriophage in the different type soils. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(15): 4616-4622.

不同类型土壤中分枝杆菌噬菌体分离率的比较

徐凤宇^{1,2,3}, 苏胜兵^{1,2}, 马红霞^{1,2}, 高云航^{1,2}, 么乃全^{1,2}, 康元环^{1,2},
刘洪岩¹, 周 鹏¹, 陆承平³, 刘永杰^{3,*}

(1. 吉林农业大学动物科技学院, 长春 130118; 2. 吉林农业大学动物生产及产品质量安全教育部重点实验室, 长春 130118;
3. 南京农业大学动物医学院, 南京 210095)

摘要: 为了解分枝杆菌噬菌体在自然界的生存环境, 深入研究噬菌体在微生态环境中的作用奠定基础。以含柠檬酸和磷酸氢二钠的溶液为提取剂, 从 50 份不同性质土壤中分离、纯化分枝杆菌噬菌体, 电镜观察初步确定其分类; 统计分析土壤类型、酸碱度、含水量、阳离子交换量、有机碳含量对噬菌体分离率的影响。共分离纯化到 13 株尾病毒目肌尾病毒科的分枝杆菌噬菌体。3 种类型土壤的分枝杆菌噬菌体分离率分别为暗棕壤(41.2%)>黄棕壤(25.0%)>褐土(16.7%); 土壤 pH 值、含水量、阳离子交换量对分离率影响呈规律性: pH 值和含水量分别在 7.45—7.95 和 13.7%—21.7% 时分离率最高; 当阳离子交换量为 20.8—28.6 cmol/kg 时, 分离率随之升高而升高; 未见有机碳含量对分离率的影响有明显规律。

关键词: 分枝杆菌噬菌体; 土壤; 分离率

Comparison of isolation rate of mycobacteriophage in the different type soils

XU Fengyu^{1,2,3}, SU Shengbing^{1,2}, MA Hongxia^{1,2}, GAO Yunhang^{1,2}, YAO Naiquan^{1,2}, KANG Yuanhuan^{1,2}, LIU Hongyan¹, ZHOU Peng¹, LU Chengping³, LIU Yongjie^{3,*}

1 College of Animal Science and Technology, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

2 Key Laboratory of Animal Production, Product Quality and Security, Ministry of Education of the People's Republic of China, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China

3 College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

Abstract: Phages are abundant and ubiquitous in nature, and are therefore important components of microbial communities. The investigation on the survival environment of bacteriophage in the nature might lay a foundation for the further study on regulating function of phage in the microecological environment. To understand the ecology of mycobacteriophage, we collected different types of soil samples from three areas in China to determine the isolation rates of phages and analyzed the relationship between isolation rates and four affecting factors in this study. The mycobacteriophages were isolated from 50 soil samples with mixed lysol of citric acid and disodium hydrogen phosphate dodecahydrate as extractant. The isolation result was detected by the double agar method and dipping method. At the same time, pH value, moisture, organic carbon level and cation exchange capacity of samples were measured. Thirteen strains of mycobacteriophages were isolated and named from CJAUS6 to CJAUS18. The morphological observation under the transmission electron microscope showed that, all the isolates have a regular icosahedron head [(86.5±5.83—108±23.2) nm × (83.2±3.04—93.2±5.92) nm] and a contract tail [(73.0±8.36—87.7±1.86) nm × (19.3±1.44—30.7±8.78) nm].

收稿日期: 2012-04-28; 修订日期: 2012-09-11

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail:

nm]. So they can be classified as a member of the order *Caudovirales* and the family *Myoviridae*. The isolation results from five types of soils indicated that the isolation rate (41.2%) from dark brown earth was highest, followed by yellow brown earth (25.0%) and drab soil (16.7%), while no phages were isolated from the heilu soil and brown earth samples. The reason might relate to three factors as follows: firstly, the organic carbon level is the most in the dark brown earth; secondly, the influence of weathering and eluviation on dark brown soil is weaker than that on yellow brown earth and drab soil; thirdly, the dark brown earth in this paper was affected by microclimate. In order to know the relationship between the isolation rate and affecting factors, the two-dimensional coordinates graphs were drawn by means of Microsoft Office Excel Software. The result showed that the isolation rate was the highest when the pH value was between 7.45 and 7.95, and moisture was between 13.7% and 21.7%, and the curve of their relationship was expressed as a same inverted "V" form. When the cation exchange capacity was between 20.8 cmol/kg and 28.6 cmol/kg, the isolation rate had a positive proportion with cation exchange capacity. It is supposed that the way in which cation exchange capacity affects isolation rate might attribute to the change of concentration and composition of anions and cations in the soil solution. And we found the concentration and composition of anions and cations is proportional to the adsorption quantity of phages. There was no obvious correlation between the isolating rate and organic carbon capacity. The results indicated that the soils types and physical and chemical properties of soils might contribute to the isolation rates of mycobacteriophage. Further work will be performed on the relationships between bacteriophage pI and soil pH values, and between water content in soil and the titres of host bacteria.

Key Words: mycobacteriophage; soil; isolation rate

噬菌体(bacteriophage)是寄生于细菌、支原体、螺旋体、放线菌等微生物中的一类病毒,亦称细菌病毒,在自然界分布极广,凡有上述微生物的地方,都有相应噬菌体存在。土壤中含耻垢分枝杆菌,推测土壤中也有耻垢分枝杆菌噬菌体。

耻垢分枝杆菌与结核分枝杆菌相比,生长速度快,只需 48 h 即进入稳定期^[1],而且二者细胞壁结构相似,用耻垢分枝杆菌为模式菌代替结核分枝杆菌等致病性分枝杆菌用于科学研究,既安全又方便,但至今国内分离分枝杆菌噬菌体的报道也很罕见。

病毒于土壤中通常以吸附态和游离态两种形式存在,它们可相互转化,并在转化过程中可引起病毒衰减,故迁移和解吸附两种行为是影响土壤中病毒数量的主要因素。鉴于土壤类型、pH 值、含水量、有机碳、阳离子交换量(CEC)是影响上述两种行为的主要因素,为研究各因素对土壤中噬菌体存在的影响规律,本研究从不同类型土壤中分离耻垢分枝杆菌噬菌体,并以噬菌体分离率为指标进行了具体分析,为研究分枝杆菌噬菌体在土壤中的生存环境及从中分离其他微生物提供参考,也希望能为土壤微生物学和土壤生态学的研究提供有价值的资料。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

50 份不同类型供试土壤,分别采自吉林农业大学园艺花卉实习基地植物根部(1—20 号)、山西省晋中市榆次区田间或野外植物根部(37—50 号)、江苏省南京市南京农业大学及下马坊公园植物根部(21—36 号)。所有土样均采自距表层 10—15 cm 处。

1.2 试验试剂

7H9 液体培养基 按 BD 医疗器械有限公司提供的 Middlebrook 7H9 肉汤培养基制作方法配制;灭菌前向其中加入 1.5% 琼脂粉为 7H9 固体培养基;向其中加入 0.7% 琼脂粉为 7H9 半固体培养基。

噬菌体提取剂 称 $C_6H_8O_7$ (柠檬酸)和 Na_2HPO_4 溶于 36 mL 蒸馏水,使终浓度分别为 5 mmol/L 和 0.05 mmol/L,高压灭菌后室温保存。

噬菌体保存液(SM 液体) ①2% 明胶:2 g 明胶加蒸馏水 100 mL,121 ℃ 灭菌 20 min 后室温保存;②1 mol/L Tris-Cl(pH 值 7.5):Tris 12.11 g 加 H₂O 80 mL,用浓盐酸调节 pH 值至 7.5,再加蒸馏水定容至 100 mL;③SM 液:NaCl 2.9 g+MgSO₄·7H₂O 1.0 g+1 mol/L Tris-Cl(pH 值 7.5)25 mL+2% 明胶 2.5 mL,加 H₂O 定容至 500 mL,121 ℃ 灭菌 20 min 后室温保存备用。

1.3 耻垢分枝杆菌培养

将实验室保存的耻垢分枝杆菌(*M. smegmatis* mc²155)划线分离培养 48 h,挑取单个菌落于 7H9 液体培养基中培养,48 h 后取菌液接入 7H9 培养基中培养 72 h,置 4 ℃ 备用。

1.4 土壤理化性质测定方法

土壤 pH 值用 pH 计(PHS-3C 计)测定;土壤含水量和阳离子交换量依次采用烘干法和乙酸铵法测定^[2];土壤有机碳含量采用重铬酸钾容量法(外加热法)进行测定^[3]。

1.5 噬菌体的分离

参照文献^[4]从土壤中分离噬菌体的方法进行。

取 2 g 土壤放入锥形瓶,加 2 mL 蒸馏水;恒温 4 ℃ 冰箱中孵育 1 d,加入噬菌体提取剂 36 mL(pH 值为 9.4),室温 250 r/min 振荡 30 min,使提取剂与噬菌体充分接触;9 000 r/min 离心 30 min;0.22 μm 微孔滤膜过滤上清液并调节 pH 值至 6.6;将 9 mL 滤液与 10 mL 2 倍浓缩 7H9 液体培养基及 1 mL 菌液混合,37 ℃ 150 r/min 振荡培养 48 h;静置 10 min,调节 pH 值至 9.4,4 ℃ 10 000 r/min 离心 30 min,调节上清液 pH 值至 7.3 后微孔滤膜过滤,点滴法和双层平板法分别检测滤液中的噬菌体。

1.6 噬菌体的纯化

制备双层平板:取耻垢分枝杆菌 72 h 培养液 0.5 mL 与适当稀释的噬菌体原液 0.1 mL 混匀,室温放置 15 min 后加入冷却至 50 ℃ 的半固体培养基,混匀后立即倒入制备好的固体 7H9 培养基上,待琼脂凝固后,37 ℃ 倒置培养 36 h,观察噬菌斑。

纯化:用灭菌牙签挑取形态大小一致、单个独立的典型噬菌斑,置于盛有 1 mL SM 液的 EP 管中,室温放置 1 h 后 4 ℃ 过夜,次日经旋涡振荡器振荡数秒后取 0.1 mL 经适当稀释,重复以上操作制备双层平板纯化。重复此步骤 3—5 次,当每次观察到的噬菌斑大小和形态均匀一致时,即得到纯化的噬菌体。

1.7 噬菌体的电镜观察

取适当稀释的噬菌体,经双层平板培养形成噬菌斑网络后,加入 SM 液,4 ℃ 振荡过夜,洗下噬菌体,11 000 r/min 离心 30 min,取上清液过滤,用 2% 磷钨酸染色 1.5 min,透射电镜观察噬菌体形态、大小。

1.8 计算分离率

$$\text{分离率} = \text{噬菌体分离阳性的土壤样本数} / \text{样本容量} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质测定

经测定,所采集的 50 份土壤样本的类型、部分理化性质结果如表 1。

2.2 噬菌体分离

采用点滴法和双层平板法(图 1)分别检测噬菌体,检测结果显示:用点滴法检测时,有时会出现直径稍小的透明圈的假阳性现象,但用双层平板检测为阴性。说明双层平板法的检测效果好于点滴法。因此本研究以双层平板法检测结果为准,显示暗棕壤组有 7 个样本分离呈阳性,分别是 2、4、6、7、12、15、17 号样本;黄棕壤组有 4 个样本为分离阳性,分别是 22、24、26、31 号样本;褐土组有 2 个样本为分离阳性,分别是 48、50 号样本,棕壤和黑垆土两组中无阳性样本。

2.3 噬菌体纯化

采用双层平板法反复纯化 5 次得到 13 株噬菌体,并将它们分别命名为:CJAUS 6—18。

2.4 噬菌体的电镜观察

在透射电镜下观察噬菌体的形态,所有分离株均为肌尾噬菌体,但大小略有差异(表 2)。CJAUS12 的形

态、大小见图 2。

表 1 供试土壤的类型及理化性质

Table 1 The type, physics and chemistry properties of soils used in the experiment											
序号 No.	类型 Types	pH 值 pH value	含水量 Water /%	有机碳 Organic C (g/kg)	CEC /(cmol/kg)	序号 No.	类型 Types	pH 值 pH value	含水量 Water /%	有机碳 Organic C (g/kg)	CEC (cmol/kg)
1	暗棕壤	8.02	20.0	58.4	24.8	26	黄棕壤	8.56	16.2	40.1	23.7
2	暗棕壤	8.33	15.4	51.6	22.9	27	黄棕壤	5.33	13.6	23.0	23.2
3	暗棕壤	7.77	21.6	41.0	26.9	28	黄棕壤	9.56	16.3	15.2	26.3
4	暗棕壤	8.20	18.3	54.0	25.6	29	黄棕壤	5.68	14.5	12.6	24.2
5	暗棕壤	6.78	15.8	38.9	26.6	30	黄棕壤	5.60	15.2	21.0	22
6	暗棕壤	5.98	19.4	40.2	26.2	31	黄棕壤	8.51	15.8	38.7	24.1
7	暗棕壤	7.39	21.3	69.3	25.1	32	黄棕壤	5.4	17.8	23.5	25.6
8	暗棕壤	8.15	17.6	43.6	25.4	33	黄棕壤	7.21	14.6	32.1	23.9
9	暗棕壤	8.06	18.9	37.4	24.3	34	黄棕壤	4.56	13.9	12.0	21.7
10	暗棕壤	7.7	16.2	43.5	24.5	35	黄棕壤	4.70	13.8	14.8	20.8
11	暗棕壤	7.38	16.7	42.3	22.5	36	黄棕壤	9.02	17.3	21.4	23.5
12	暗棕壤	8.14	20.6	59.9	23.9	37	褐土	7.86	15.7	12.6	25.6
13	暗棕壤	7.30	20.7	69.6	29.1	38	褐土	6.78	14.6	20.1	18.2
14	暗棕壤	8.02	20.1	45.2	31.4	39	褐土	7.23	12.6	11.5	21.5
15	暗棕壤	8.39	18.2	40.8	24.7	40	黑垆土	8.36	11.5	24.7	21.1
16	暗棕壤	7.95	16.9	104.8	31.8	41	褐土	7.58	14.3	32.3	19.3
17	暗棕壤	6.86	16.6	58.9	21	42	褐土	10.23	15.4	13.4	24
18	黄棕壤	4.26	18.5	32.6	23.5	43	褐土	6.75	16.3	21.5	24.9
19	黄棕壤	6.72	15.6	23.5	21	44	褐土	10.13	18.6	11.4	23
20	棕壤	4.73	17.2	11.3	21	45	黑垆土	7.42	10.7	16.2	25.7
21	黄棕壤	3.45	14.5	215	20.9	46	褐土	7.10	12.4	23.5	23
22	棕壤	6.83	16.8	32.6	28.1	47	褐土	6.89	14.5	12.5	23.6
23	棕壤	4.31	17.6	12.6	23.2	48	褐土	8.78	16.8	40.1	26.1
24	黄棕壤	7.26	19.2	39.8	27.5	49	黑垆土	6.68	13.2	12.8	23.6
25	棕壤	5.80	15.6	20.6	25.7	50	褐土	7.53	17.6	34.2	25

表 2 电镜下噬菌体的大小

Table 2 The size of mycobacteriophage viewed by transmission electron microscope					
原编号 Original number	名称 Name	头长 Head length /nm	头宽 Head width /nm	尾长 Tail length /nm	尾宽 Tail width /nm
2	CJAUS6	95.8 ± 5.83	87.5 ± 3.18	82.2 ± 2.34	19.3 ± 1.44
4	CJAUS7	86.9 ± 4.15	83.2 ± 3.04	73.0 ± 8.36	27.3 ± 7.69
6	CJAUS8	108 ± 23.2	91.3 ± 6.18	83.3 ± 14.6	23.6 ± 3.59
7	CJAUS9	99.7 ± 7.59	93.2 ± 5.92	82.1 ± 11.7	27.0 ± 1.82
12	CJAUS10	92.9 ± 3.98	89.6 ± 2.80	84.5 ± 4.54	30.7 ± 8.78
15	CJAUS11	86.5 ± 2.63	85.0 ± 2.82	84.5 ± 2.84	22.0 ± 1.36
17	CJAUS12	95.0 ± 6.31	91.6 ± 1.66	77.3 ± 5.71	23.0 ± 2.26
22	CJAUS13	94.7 ± 3.56	90.6 ± 2.62	76.8 ± 3.26	25.6 ± 2.13
24	CJAUS14	90.9 ± 2.02	88.0 ± 2.89	85.7 ± 3.60	24.5 ± 1.00
26	CJAUS15	92.3 ± 1.35	89.4 ± 3.12	75.4 ± 0.98	26.4 ± 1.52
31	CJAUS16	97.1 ± 3.06	91.1 ± 2.86	87.7 ± 1.86	23.5 ± 1.85
48	CJAUS17	88.4 ± 2.37	87.1 ± 2.37	87.1 ± 2.37	24.2 ± 0.55
50	CJAUS18	94.7 ± 3.26	90.3 ± 1.02	80.3 ± 4.10	24.3 ± 2.03

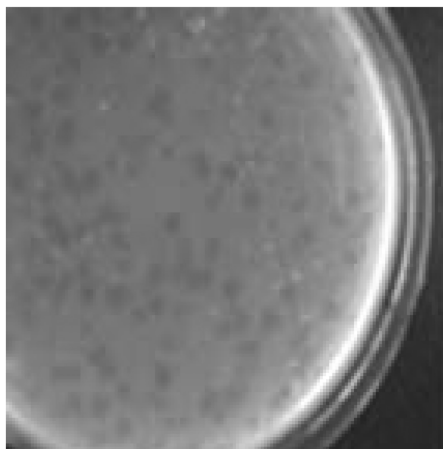


图1 双层平板法检测 CJAUS10 的结果

Fig.1 Plaque of CJAUTES10 detected by using double-floor method

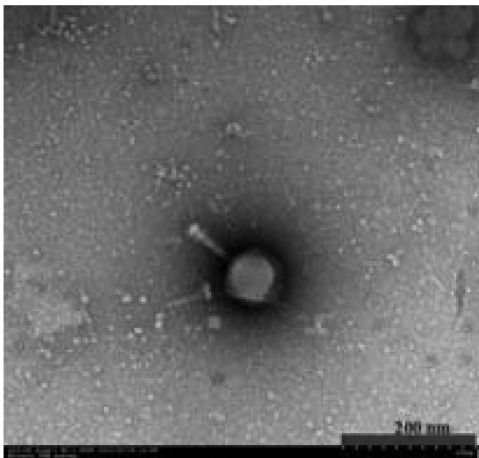


图2 电镜下的 CJAUS12 噬菌体

Fig.2 Morphology of phage CJAUS12

2.5 分离率的计算及比较

2.5.1 不同类型土壤分离率

暗棕壤组的分离率=7/17×100% =41.2%
黄棕壤组的分离率=4/16×100% =25.0%
褐土组的分离率=2/12×100% =16.7%

由本试验结果可知,暗棕壤组的分离率最高,褐土组的分离率最低,推测分枝杆菌噬菌体在暗棕壤中存活率最高。

2.5.2 分离率与土壤理化性质的关系分析

由表1中可知50份土壤样本的pH值,最低为3.45,最高为10.2。分离阳性样本主要集中在5.95—8.95之间,由于5.95—6.45组中只有一个样本,其分离率偶然性较高,故只对其他5组的分离率与土壤pH值的关系进行分析。结果如图3,pH7.45—7.95组的分离率最高(60%),低于此区间时,分离率随pH值的升高而升高,相反,高于此区间时随pH值的升高而降低。

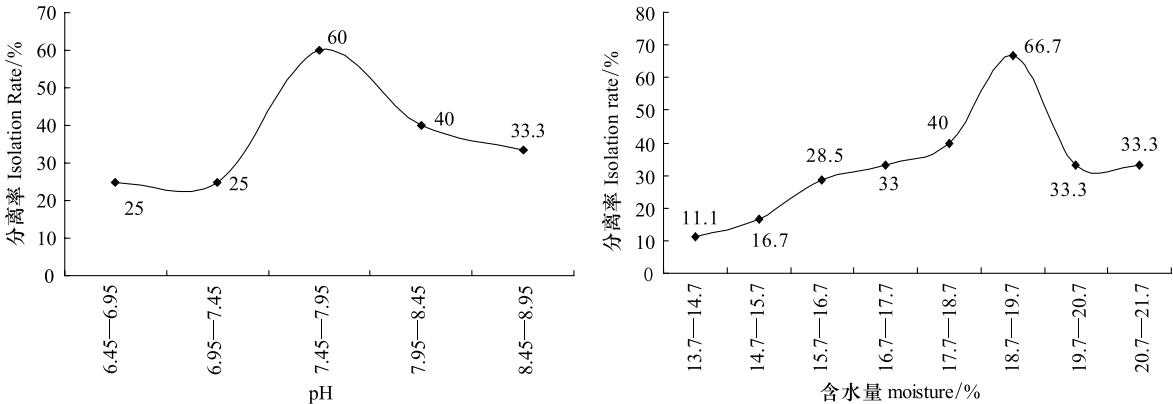


图3 分离率与土壤 pH 值、含水量的关系

Fig.3 The relationship between pH/moisture content of soil and isolating rate

测定所有土壤样本的含水量,最低为10.7%,最高为21.6%;阳性样本主要集中于13.7%—21.7%间;对分离率分析结果显示:18.7%—19.7%组的分离率最高(66.7%),并以此为峰值,峰前随含水量的升高而升

高,峰后随含水量的升高而降低(图3)。

所有供试土壤样本的有机碳含量最低为 11.3 g/kg,最高为 104.8 g/kg(图4)所示;分离阳性样本主要集中在 21.3 g/kg—61.3 g/kg 之间,噬菌体分离率随有机碳的变化规律不明显;如果排除偶然的因素(即去掉样本总数较少的组:51.3 g/kg—56.3 g/kg 和 56.3 g/kg—61.3 g/kg,则分离率随有机碳含量的升高有依次递增的趋势。

所测样本的最低 CEC 为 18.2 cmol/kg,最高为 31.8 cmol/kg;分离阳性样本主要集中在 20.8—28.6 cmol/kg 之间,在此区间内,分离率随 CEC 的升高而呈逐渐上升的趋势(图4)。

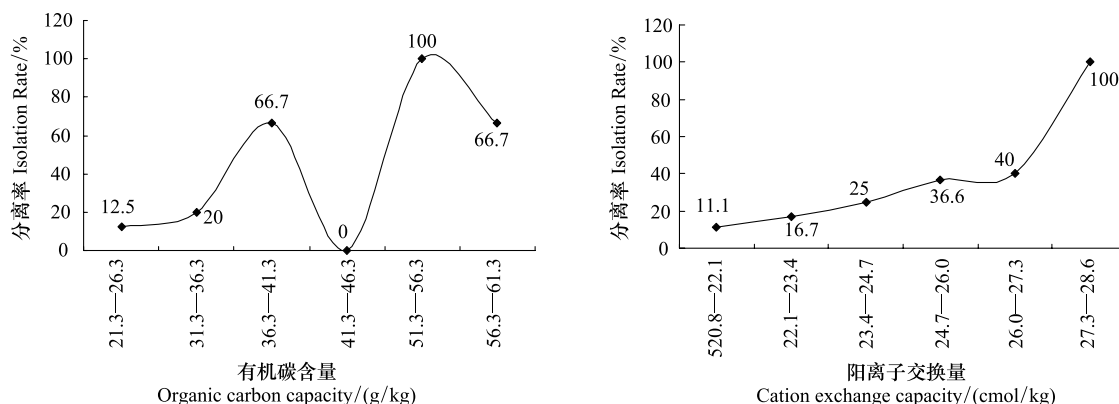


图4 分离率与有机碳、土壤 CEC 的关系

Fig. 4 The relationship between organic matter/CEC of soil and isolating rate

3 讨论

不考虑分离方法对分离率的影响^[4],土壤中含分枝杆菌活噬菌体是成功分离的前提条件,且其中活噬菌体数量决定着分离率高低。本研究从中国境内 3 个省份随机取 50 个土壤样本,经土壤类型鉴定和噬菌体分离试验发现暗棕壤组的分离率较黄棕壤组和褐土组高,这可能与以下 3 方面因素有关:①与黄棕壤和褐土相比,暗棕壤的有机碳含量相对较高,从而减少了微生物之间的代谢竞争^[5],有利于噬菌体的增殖;②由于气候不同,淋溶和风化作用对褐土和黄棕壤表层微生物的生存环境影响较大,进而影响表层活噬菌体的数量,从而影响噬菌体的分离率,而暗棕壤则较少受到这种影响;③本研究的暗棕壤来源于花卉实习基地,环境小气候也在一定程度上影响了分离率。

对分离率随土壤 pH 值的变化规律分析后可知:pH 值在 6.45—8.95 时,随 pH 值的增大,噬菌体分离率先升高后降低,并于 7.45—7.95 之间最大,可能是该类噬菌体的 pI 值位于 7.45—7.95 之间的缘故,当环境 pH 值<pI 时,噬菌体表面带正电,而 pH 值为 4—9 时,土壤颗粒表面主要是负电荷^[6],故而增强病毒的吸附行为,使之不容易随水迁移,维持活噬菌体数量的能力高,分离率也高,反之,分离率则会降低。有资料证明影响土壤对病毒吸附的土壤各种性质中,pH 值的影响最显著^[7],而吸附可通过影响病毒的迁移量进而影响噬菌体的数量,因此笔者认为 pH 值是影响噬菌体分离率的重要因素。

微生物密度和活性往往在高度充满降水和水流的地表和地下环境中较高,而且分化后的地表矿石组分和有机质的丰富程度可以通过微生物的更高和更一致的数量和行为分布得到反映^[5]。因此土壤含水量和有机碳含量对土壤中噬菌体的生存也有影响。图3显示:含水量为 18.7%—19.7% 时分离率最高(66.7%),这可能是因为长时间含水量超过 19.7% 时,宿主菌所需营养成分逐渐向地下迁移或流失,限制了宿主菌活动,而含水量低的土壤又因不能满足微生物代谢活动时对水分的需要,影响噬菌体的分离。虽有资料显示,含水量在 40% 以内,细菌总量随含水量的降低而降低^[8],但笔者认为土壤含水量对细菌的影响因细菌的种类而异。另外,一定范围内,含水量高的土壤还可降低病毒进入气-水界面的机会,从而降低病毒的死亡率^[9-10],进而保护噬菌体的活力和数量,有利于病毒的分离,笔者认为这可能是含水量<18.7% 时分离率随含水量升高而提

高的原因所在。理论上土壤有机碳为宿主菌提供了所需碳源,可增加分枝杆菌噬菌体的数量,且高有机碳含量会增强病毒与土壤颗粒的解吸^[11],因此,选用有机碳含量高的土壤可提高噬菌体的分离率。虽然本研究对分离率水平和有机碳含量的关系分析表明分离率随有机碳增加(减少)并无明显变化规律(图4),有悖于前述规律,但有资料表明有机碳含量对病毒吸附的影响并不一致^[12-14],需综合考虑土壤类型、病毒类型、有机质特性^[15],故此结果可能是土壤类型及其理化性质等综合因素造成的。

CEC 主要通过改变土壤溶液的浓度和阴、阳离子组成两个途径影响土壤对噬菌体的吸附^[16]。二者与土壤对病毒的吸附都成正比例关系,也可以说从 CEC 含量高的土壤中分离到分枝杆菌噬菌体的概率相对较高,但这只局限于某一范围内。如图4所示:本研究中阳性样本只出现在 20.8—28.6 cmol/kg 之间,在此范围内,分离率随 CEC 的升高而升高。

References:

- [1] Shang Z L. Study on the Function of *Rv1246c-Rv1247c* Gene of *M. tuberculosis* in *M. smegmatis* and the Interaction between the Coding Proteins [D]. Chengdu: Sichuan University, 2007.
- [2] Lu R K. The Analysis Method of Soil Agricultural Chemistry. Beijing: China Agricultural Press, 2000: 22-25, 289-290.
- [3] Lao J C. Analysis Handbook of Soil Agricultural Chemistry. Beijing: Agricultural Press, 1988: 234-237.
- [4] Zhang H, Zhao B Z, Zhang J B. Soil virus recovery efficiency of various methods. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(3): 452-458.
- [5] Maier R M, Pepper I L, Gerba C P. Environmental Microbiology//Zhang J Y, Song B Y, Zheng L S, Translation. Beijing: Science Technology Press; 97-99.
- [6] Dowd S E, Pillai S D, Wang S, Corapcioglu M Y. Delineating the specific influence of virus isoelectric point and size on virus adsorption and transport through sandy soils. *Applied Environmental Microbiology*, 1998, 64(2): 405-410.
- [7] Goyal S M, Gerba C P. Comparative adsorption of human enteroviruses, simian rotavirus, and selected bacteriophages to soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 1979, 38(2): 241-247.
- [8] Fu H L, Wang S R, Han S J, Zhang J H, Zhang H H, Dai G H. Influence of wet/dry cycle on soil microbial activity and community flora in broadleaved Korean pine forest in Changbai mountains. *Journal of Northeast Forestry University*, 2009, 39(7): 80-81, 86-86.
- [9] Jin Y, Chu Y J, Li Y S. Virus removal and transport in saturated and unsaturated sand columns. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2000, 43(2): 111-128.
- [10] Chu Y J, Jin Y, Flury M, Yates M V. Mechanisms of virus removal during transport in unsaturated porous media. *Water Resources Research*, 2001, 37(2): 253-263.
- [11] Burge W D, Enkiri N K. Adsorption kinetics of bacteriophage ϕ X-174 on soil. *Journal of Environmental Quality*, 1978, 7: 536-542.
- [12] Moer R S, Taylor D H, Struman L S, Reddy M M, Fuhs G W. Poliovirus adsorption by 34 minerals and soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 1981, 42(6): 963-975.
- [13] Shimizu Y, Sogabe H, Terashima Y. The effects of colloidal humic substances on the movement of non-ionic hydrophobic organic contaminants in groundwater. *Water Science and Technology*, 1998, 38(7): 159-167.
- [14] Bales R C, Li S M, Maguire K M, Yahya M T, Gerba C P. MS-2 and poliovirus transport in porous media; hydrophobic effects and chemical perturbations. *Water Resources Research*, 1993, 29(4): 957-963.
- [15] Schijven J F, Hassanizadeh S M. Removal of viruses by soil passage: overview of modeling, processes, and parameters. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2000, 30(1): 49-127.
- [16] Wang Q Y. Adsorptive Behavior of Viruses to Soils and Its Significance in the Environment [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2006.

参考文献:

- [1] 商正玲. 结核 *Rv1246c-Rv1247c* 基因重组耻垢分枝杆菌及其编码蛋白功能的初步研究 [D]. 成都: 四川大学, 2007.
- [2] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 22-26, 289-290.
- [3] 劳家桢. 土壤农化分析手册. 北京: 农业出版社, 1988: 234-237.
- [4] 张辉, 赵炳梓, 张佳宝. 不同提取方法对土壤中病毒回收率的比较. *土壤学报*, 2008, 45(3): 452-458.
- [5] 梅尔, 佩珀, 格巴. 环境微生物学//张甲耀, 宋碧玉, 郑连爽, 译. 北京: 科技出版社, 97-99.
- [8] 富宏霖, 王生荣, 韩士杰, 张军辉, 张宏浩, 戴冠华. 土壤干湿交替对长白山阔叶红松林土壤微生物活性与区系的影响. *东北农业大学学报*, 2009, 39(7): 80-81, 86-86.
- [16] 王秋英. 土壤中病毒的吸附行为及其环境效应 [D]. 南京: 南京农业大学, 2006.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 33, No. 15 Aug. ,2013(Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- A review on the application of remote sensing in mangrove ecosystem monitoring SUN Yongguang, ZHAO Dongzhi, GUO Wenyong, et al (4523)
- Urban metabolism process based on emergy synthesis: Theory and method LIU Gengyuan, YANG Zhifeng, CHEN Bin (4539)
- Theoretical considerations on ecological civilization development and assessment ZHAO Jingzhu (4552)

Autecology & Fundamentals

- Assemblage composition and distribution of meiobenthos in the Yangtze Estuary and its adjacent waters in autumn-winter season Yu Tingting, XU Kuidong (4556)
- Ecological distribution and nutrient limitation of phytoplankton in adjacent sea of Guanhe Estuary in spring FANG Tao, HE Xinran, FENG Zhihua, et al (4567)
- The distribution of urea concentrations and urease activities in the coastal waters of Hainan Island during the spring HUANG Kaixuan, ZHANG Yun, OU Linjian, et al (4575)
- Effects of simulated acid rain on growth and bleeding sap amount of root in *Quercus mongolica* LIANG Xiaoqin, LIU Jian, DING Wenjuan, et al (4583)
- Allelopathic effects of organic acid allelochemicals on melon ZHANG Zhizhong, SUN Zhihao, CHEN Wenhui, et al (4591)
- Fraction changes of oxidation organic carbon in paddy soil and its correlation with CH₄ emission fluxes WU Jiamei, JI Xionghui, HUO Lianjie, et al (4599)
- Changes of soil nitrogen types and nitrate accumulation in vegetables with single or multiple application of dicyandiamide WANG Huangping, ZHANG Qing, WENG Boqi, et al (4608)
- Comparison of isolation rate of mycobacteriophage in the different type soils XU Fengyu, SU Shengbing, MA Hongxia, et al (4616)
- Effects of different acidity acid rain on yield, protein and starch content and components in two wheat cultivars BIAN Yajiao, HUANG Jie, SUN Qisong, et al (4623)
- The causes of *Gentiana straminea* Maxim. seeds dormancy and the methods for its breaking LI Bingbing, WEI Xiaohong, XU Yan (4631)
- Physiological responses of four golden-leaf trees to SO₂ stress CHONG Peifang, SU Shiping (4639)
- Influence of endosulfan and its metabolites on enzyme activities in purple soil XIONG Bailian, ZHANG Jinzhong, DAI Juan, et al (4649)

Population, Community and Ecosystem

- Seasonal dynamics of food web energy pathways at the community-level XU Jun, ZHOU Qiong, WEN Zhourui, et al (4658)
- Population dynamics of *Niviventer confucianus* in Thousand Island Lake ZHANG Xu, BAO Yixin, LIU Jun, et al (4665)
- Soil ecological stoichiometry under different vegetation area on loess hilly-gully region ZHU Qiulian, XING Xiaoyi, ZHANG Hong, et al (4674)
- Adaptation strategies of reproduction of plant community in response to grassland degradation and artificial restoration LI Yuanyuan, DONG Shikui, ZHU Lei, et al (4683)
- Effect of different *Cunninghamia lanceolata* plantation soil qualities on soil microbial community structure LIU Li, XU Mingkai, WANG Silong, et al (4692)
- Effects of different maize hybrids (inbreds) on the growth, development and population dynamics of *Rhopalosiphum maidis* Fitch ZHAO Man, GUO Xianru, LI Weizheng, et al (4707)
- Effects of forest canopy structure on understory vegetation characteristics of Funiu Mountain Nature Reserve LU Xunling, DING Shengyan, YOU Li, et al (4715)

- Influence of restoring cropland to grassland on dung beetle assemblages in Wuchuan County, Inner Mongolia, China LIU Wei, MEN Lina, LIU Xinmin (4724)
- Cu and nutrient deficiency on different effects of growth, tolerance and mineral elements accumulation between two *Elsholtzia haichouensis* populations KE Wenshan, CHEN Shijian, XIONG Zhiting, et al (4737)
- Measurement and retrieval of leaf area index using remote sensing data in Kanas National Nature Reserve, Xinjiang ZAN Mei, LI Dengqiu, JU Weimin, et al (4744)
- Landscape, Regional and Global Ecology**
- An spatial ecosystem services approach based on LUCC: a case study of Ganzhou district of Zhangye City LIANG Youjia, XU Zhongmin, ZHONG Fanglei, et al (4758)
- Spatiotemporal characteristics of *Spartina alterniflora* marsh change in the coastal wetlands of Yancheng caused by natural processes and human activities ZHANG Huabing, LIU Hongyu, Hou Minghang (4767)
- Process analysis and evaluation of wetlands degradation based on PCA in the lakeside of Napahai, Northwest Yunnan Plateau SHANG Wen, YANG Yongxing, HAN Dayong (4776)
- On eco-security evaluation in the Tumen River region based on RS&GIS NAN Ying, JI Zhe, FENG Hengdong, et al (4790)
- Evaluation and simulation of historical range of variability of forest landscape pattern in Huzhong area WU Zhifeng, LI Yuehui, BU Rencang, et al (4799)
- Effects of precipitation timing on aboveground net primary productivity in inner mongolia temperate steppe GUO Qun, HU Zhongmin, LI Xuanran, et al (4808)
- Research Notes**
- Litter production and decomposition of different forest ecosystems and their relations to environmental factors in different climatic zones of mid and eastern China WANG Jianjian, WANG Yongji, LAI Liming, et al (4818)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是由中国科学技术协会主管,中国生态学学会、中国科学院生态环境研究中心主办的生态学高级专业学术期刊,创刊于 1981 年,报道生态学领域前沿理论和原始创新性研究成果。坚持“百花齐放,百家争鸣”的方针,依靠和团结广大生态学科工作者,探索生态学奥秘,为生态学基础理论研究搭建交流平台,促进生态学研究深入发展,为我国培养和造就生态学科人才和知识创新服务、为国民经济建设和发展服务。

《生态学报》主要报道生态学及各分支学科的重要基础理论和应用研究的原始创新性科研成果。特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评价和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

本期责任副主编 赵景柱

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 33 卷 第 15 期 (2013 年 8 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 15 (August, 2013)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 90.00 元