

• 药材与资源 •

水苏糖对地黄根际土壤微生物失衡的影响

刘 峰¹, 温学森², 刘彦飞², 董其亭³

(1. 青岛市海慈医疗集团药学部, 山东 青岛 266000; 2. 山东大学药学院生药学研究所, 山东 济南 250012; 3. 山东鼎立中药材科技有限公司, 山东 淄博 255000)

摘 要:目的 通过水苏糖铵盐培养液对土壤细菌生长的影响, 证明水苏糖对土壤细菌具有“筛选作用”。方法 采用比浊法, 在初始菌悬液浓度一致的前提下, 每 2 h 于 600 nm 处测定菌悬液的吸光度值并绘制生长曲线, 以定量分析水苏糖对土壤细菌生长的影响情况。结果 大多数土壤细菌不能很好地利用水苏糖, 仅少数土壤细菌在水苏糖培养液中生长良好。结论 大多数土壤细菌不能很好地利用水苏糖作为其能源物质, 因此可能造成根际细菌的种类和数量大幅下降, 仅少数可较好地利用水苏糖的土壤细菌活动旺盛, 这些能够良好利用水苏糖的土壤细菌有可能作为“优势菌”大量繁殖, 从而造成地黄根部土壤微生物失衡。

关键词:地黄; 水苏糖; 土壤细菌

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)12-1871-04

Effect of stachyose on microbiotic disequilibrium in rhizospheric soil of *Rehmannia glutinosa*

LIU Feng¹, WEN Xue-sen², LIU Yan-fei², DONG Qi-ting³

(1. Pharmaceutical Department, Qingdao Hiser Medical Center, Qingdao 266000, China; 2. Institute of Pharmacognosy, College of Pharmacy, Shandong University, Jinan 250012, China; 3. Shandong Dingli Co., Ltd. of Science and Technology for Chinese Medicinal Materials, Zibo 255000, China)

Abstract: Objective To testify the screening function of stachyose on soil bacteria by investigating the bacterial culture in ammonium stachyose medium. **Methods** The turbidimetry was used to determine the absorbance of microbial suspension at 600 nm per 2 h under the same initial concentration of the microbial suspension and to draw their growth curves. **Results** Most of soil bacteria utilized stachyose ineffectively, while only a few of them grown well in ammonium stachyose medium. **Conclusion** Since the major soil bacteria can not take stachyose fully as their energy resources, the species and quantity of rhizobacteria may decrease largely and only a few that utilized stachyose better can develop vigorously. Those rhizobacteria with better utilization of stachyose may multiply so rapidly as potential ones in the rhizosphere of *Rehmannia glutinosa* that the disequilibrium of soil microorganism appears.

Key words: *Rehmannia glutinosa* Libosch; stachyose; soil bacteria

地黄是我国大宗常用中药材之一, 为玄参科植物地黄 *Rehmannia glutinosa* Libosch 的新鲜或干燥块根。在地黄栽培中病毒病和连作障碍是造成地黄大幅度减产和质量变劣的两个主要原因。近年来, 实现了地黄脱毒苗的工厂化生产, 病毒病已经不再是地黄生产的主要威胁因素, 而连作障碍则远未解决。地黄主产区普遍存在连作现象, 其连作障碍主要表现在病害加重、块根细小、产量下滑、质量不稳、种植效益低下等。目前, 有关药用植物连作障碍的研究尚鲜有报道, 从农作物连作的研究现状看, 连作障碍

是一个极其复杂的问题, 涉及土壤养分、土壤理化性状、病害、根际微生物、根系分泌物等多个方面^[1~4]。笔者在借鉴农作物连作障碍研究成果的基础上, 首次从根际微生态失衡的角度来开展地黄连作障碍研究。

水苏糖是地黄块根中积累的主要糖类物质, 其一方面可通过根系分泌或泄漏进入根际土壤, 另一方面也可通过根系脱落物、残根和/或通过雨水淋洗而进入土壤。推测能利用水苏糖作为碳源的微生物将在土壤中占据优势, 而不能利用者则在根际生存竞争中处于劣势, 由于水苏糖的存在而导致土壤中

收稿日期: 2007-02-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30572326)

作者简介: 刘 峰 (1976—), 女, 山东淄博人, 硕士研究生。研究方向为中药现代化。

Tel: (0531) 88382008 E-mail: liufeng0076@163.com

微生物种类和数量的失衡,并进一步影响下一季地黄的生长。本实验对土壤细菌进行了分离纯化,观察了水苏糖对每个细菌分离物生长的影响,以期验证水苏糖是否导致土壤细菌失衡。

1 材料与方

1.1 土样的采集:所采集土壤类型为黄河冲积物发育而成的黄潮土,2005 年 11 月取自济南黄河北岸大桥庄正常耕作大田土,现种植作物为小麦。土壤样品的采集采用对角线三点取样法,每个采样点取土面积为 32 cm²(长×宽=8 cm×4 cm),并用无菌铁铲采集 0~20 cm 土壤层。所采土样装入无菌塑料袋,储存于 4 ℃ 冰箱中。

1.2 土壤细菌的分离、纯化与简单鉴别^[5]:准确称取土样 10 g,放入装有 90 mL 无菌水并放有玻璃珠的 250 mL 三角瓶中,置恒温摇床上振荡 2 h,即得 1×10⁻¹土壤稀释液。将此土壤混悬液依次稀释至 1×10⁻⁶,以涂抹平板培养法将土壤稀释液接种至牛肉膏蛋白胨培养基平板上,置 28 ℃ 恒温培养箱中培养 48 h。从培养平板中挑取菌落特征不同的单个菌落,转接到新鲜牛肉膏蛋白胨培养基中。连续 3 次

转接,确认为单一细菌分离物,根据菌落形态、颜色、含水程度等培养特征,以及细菌大小、形状、革兰染色等显微特征,对细菌分离物逐一编号,甘油管法保存备用。

1.3 水苏糖对土壤细菌生长的影响:选有代表性的细菌分离物 40 个。对照组采用葡萄糖铵盐培养液,实验组采用以水苏糖等量置换葡萄糖而得的水苏糖铵盐培养液。培养前以未接菌的水苏糖铵盐培养液为空白对照,在 600 nm 处将各组初始菌悬液吸光度值调整为 0.033±0.003。以 1 cm 玻璃比色池作为培养容器,每池加入接菌培养液 2 mL,以无菌棉塞封口,置恒温摇床 (28 ℃,180 r/min) 培养,每组设 3 个重复。每 2 h 测定 1 次菌悬液的吸光度,连续测定 20~24 h。

2 结果

2.1 土壤细菌的简单鉴别:对所得 40 个细菌分离物的培养特征进行观察,结果见表 1。大多数供试土壤细菌的表面形状为圆形,湿润,颜色以乳黄色为主,少数细菌还可产生色素。经革兰染色,发现供试土壤细菌主要为 G⁻杆菌。

表 1 土壤细菌分离物单菌落的培养特征及显微观察结果

Table 1 Monocolonial cultural characteristics and microscopic observation of soil bacteria

编号	颜色	透明程度	革兰染色	编号	颜色	透明程度	革兰染色
2	乳黄	稍透明	G ⁺ ,杆菌	4	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌
6	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌	7	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌
8	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌	9	乳黄	稍透明	G ⁻ ,芽孢梭菌
11	乳黄	透明	G ⁻ ,杆菌	12	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌
13	乳黄	透明	G ⁻ ,杆菌	14	乳黄	透明	G ⁻ ,杆菌
16	浅黄	透明	G ⁻ ,杆菌	18	乳黄	稍透明	G ⁻ ,芽孢梭菌
19	乳黄	透明	G ⁻ ,杆菌	20	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌
22	橘黄	透明	G ⁻ ,杆菌	23	乳白	稍透明	G ⁺ ,球菌
24	黄	稍透明	G ⁺ ,杆菌	25	鲜黄	透明	G ⁻ ,杆菌
26	乳黄	稍透明	G ⁻ ,球菌	27	橘黄	透明	G ⁻ ,球菌
28	黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌	29	白	稍透明	G ⁻ ,杆菌
30	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌	31	乳黄	透明	G ⁻ ,杆菌
32	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌	33	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌
34	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌	35	浅棕红	透明	G ⁻ ,杆菌
36	浅朱红	透明	G ⁻ ,杆菌	37	橘红,分泌色素	稍透明	G ⁻ ,杆菌
38	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌	39	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌
40	浅黄	稍透明	G ⁺ ,杆菌	41	浅棕红	透明	G ⁻ ,杆菌
42	乳白	稍透明	G ⁻ ,杆菌	43	浅棕红	稍透明	G ⁻ ,杆菌
44	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌	46	乳黄	透明	G ⁻ ,杆菌
48	乳黄	透明	G ⁻ ,杆菌	49	乳黄	稍透明	G ⁻ ,杆菌

2.2 水苏糖对土壤细菌生长的影响:以培养时间为横坐标,以吸光度值为纵坐标绘制细菌生长曲线。从生长曲线可以看出,0~4 h 时细菌生长处于迟缓期,4~14 h 时为对数增长期,14~24 h 则进入稳定期。典型的几个细菌分离物的生长曲线见图 1。根据稳定期内实验组与对照组菌悬液终时吸光度均值的

比值 (A_{水苏糖}:A_{葡萄糖}),即利用率的不同,将土壤细菌分离物对水苏糖的利用情况可分为 4 种类型。第 1 种类型:在葡萄糖铵盐和水苏糖铵盐培养液中均不能生长或生长不良,如分离物 23、25、27;第 2 种类型:在葡萄糖铵盐培养液中能生长良好,而在水苏糖铵盐培养液中生长不良,如分离物 6、7、14、19

(微生物学杂志), 2005, 25(2): 27-30.

[2] Li C G, Li X M, Wang J G. Effect of soybean continuous cropping on bulk and rhizosphere soil microbial community function [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2006, 26(4): 1145-1149.

[3] Pan Y Q. Simply discuss about the impediment factors of reducing production and the comprehensive treatment of soybean planted continuously [J]. *Chin Agric Sci Bull* (中国农学通报), 2006, 22(1): 147-148.

[4] Hong C Q, Nie Y L. Effects of root exudates on plant nutrition [J]. *Ecol Environ* (生态环境), 2003, 12(4): 508-511.

[5] Microbiological Department, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. *Research Method of Soil Microorganism* (土壤微生物研究法) [M]. Beijing: Science Press, 1985.

[6] Xie W K, Wang X Q, Li B, et al. Study of plant root excreta [J]. *Shandong Forest Sci Technol* (山东林业科技), 2005 (5): 63-67.

[7] Nehl D B, Allen S J, Brown J F. Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective [J]. *Appl Soil Ecol*, 1996, 5: 1-20.

影响桦褐孔菌培养菌丝体水解鞣质积累的因素

杨士钊, 郑维发*

(徐州师范大学 江苏省药用植物生物技术重点实验室, 江苏 徐州 221116)

摘要:目的 探索影响人工培养条件下桦褐孔菌菌丝体水解鞣质积累的因素。方法 以菌丝体干质量和水解鞣质的量为指标, 对不同碳源、氮源、pH 以及不同金属离子作用下的菌丝体干质量和水解鞣质的量进行测定。结果 最适合桦褐孔菌积累水解鞣质的碳、氮源是葡萄糖和蛋白胨, 最佳 pH 是 5.5。Cu²⁺ 在 0.8 mmol/L, Co²⁺ 在 1.6 mmol/L, Zn²⁺ 在 1.6 mmol/L, Mn²⁺ 在 1 mmol/L, NH₄⁺ 在 4 mmol/L 时都能明显地促进水解鞣质的合成。结论 以葡萄糖和蛋白胨为碳、氮源, pH 为 5.5 的培养基有利于桦褐孔菌水解鞣质的积累。Cu²⁺, Co²⁺, Zn²⁺, Mn²⁺ 添加到上述培养基中是进一步提高培养产物水解鞣质积累的有效手段。

关键词:桦褐孔菌; 水解鞣质; 深层发酵

中图分类号: R282.2

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2007)12-1874-05

Factors affecting accumulation of hydrolysable tannins in cultured mycelia of *Inonotus obliquus*

YANG Shi-zhao, ZHENG Wei-fa

(Key Laboratory for Biotechnology on Medicinal Plants of Jiangsu Province, Xuzhou Normal University, Xuzhou 221116, China)

Abstract: **Objective** To study the factors affecting the accumulation of hydrolysable tannins in cultured mycelia of *Inonotus obliquus*. **Methods** Taking dry weight of mycelia and hydrolysable tannin content as index, different carbon and nitrogen sources, pH levels, and metal ions were evaluated for the accumulation of hydrolysable tannins in the submerged culture of *I. obliquus*. **Results** The optimal carbon and nitrogen sources were glucose and peptone. Optimal initial pH value was 5.5. The accumulation of hydrolysable tannins was greatly enhanced in the medium with the presence of Cu²⁺ at 0.8 mmol/L, Co²⁺ and Zn²⁺ at 1.6 mmol/L, Mn²⁺ at 1 mmol/L, and NH₄⁺ at 4 mmol/L when compared to the control. **Conclusion** The accumulation of hydrolysable tannins is maximized in the medium containing glucose and peptone with pH value at 5.5. Supplementation of Cu²⁺, Co²⁺, Zn²⁺, and Mn²⁺ into the medium is an effective method for further increasing the accumulation of hydrolysable tannins in cultured mycelia of *I. obliquus*.

Key words: *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat; hydrolysable tannins; depth fermentation

桦褐孔菌 *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilat 为多孔菌科褐卧孔菌属药用真菌。主要分布于俄罗斯北部、

北欧、中国长白山地区等北纬 40°~50°地区^[1]。长期以来桦褐孔菌在俄罗斯、北欧等国家被广泛用来治

收稿日期: 2007-02-10

基金项目: 江苏省自然科学基金 (BK2006034); 江苏省高校自然科学基金研究计划重大项目 (05KJA36012)

作者简介: 杨士钊 (1976—), 男, 河南南阳人, 徐州师范大学天然产物化学硕士研究生。E-mail: ysz20045@126.com

* 通讯作者 郑维发 Tel/Fax: (0516) 83403179 E-mail: yyzw@xznu.edu.cn

水苏糖对地黄根际土壤微生物失衡的影响

作者: [刘峰](#), [温学森](#), [刘彦飞](#), [董其亭](#), [LIU Feng](#), [WEN Xue-sen](#), [LIU Yan-fei](#), [DONG Qi-ting](#)
作者单位: [刘峰, LIU Feng \(青岛市海慈医疗集团药学部, 山东, 青岛, 266000\)](#), [温学森, 刘彦飞, WEN Xue-sen, LIU Yan-fei \(山东大学药学院生药学研究所, 山东, 济南, 250012\)](#), [董其亭, DONG Qi-ting \(山东鼎立中药材科技有限公司, 山东, 淄博, 255000\)](#)
刊名: [中草药](#) [ISTIC](#) [PKU](#)
英文刊名: [CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS](#)
年, 卷(期): 2007, 38 (12)
被引用次数: 4次

参考文献(7条)

1. [Zou L; Yuan X Y; Li L](#) Effects of continuous cropping on soil microbes on soybean roots[期刊论文]-[微生物学杂志](#) 2005(02)
2. [Li C G; Li X M; Wang J G](#) Effect of soybean continuous cropping on bulk and rhizosphere soil microbial community function[期刊论文]-[生态学报](#) 2006(04)
3. [Pan Y Q](#) Simply discuss about the impediment factors of reducing production and the comprehensive treatment of soybean planted continuously[期刊论文]-[中国农学通报](#) 2006(01)
4. [Hong C Q; Nie Y L](#) Effects of root exudates on plant nutrition[期刊论文]-[生态环境](#) 2003(04)
5. [Microbiological Department, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences](#) [土壤微生物研究法](#) 1985
6. [Xie W K; Wang X Q; Li B](#) Study of plact root excreta[期刊论文]-[山东林业科技](#) 2005(05)
7. [Nehl D B; Allen S J; Brown J F](#) Deleterious rhizosphere bacteria: an integrating perspective[外文期刊] 1996(1)

本文读者也读过(10条)

1. [张艳丽](#), [李洪连](#), [刘春元](#), [袁虹霞](#) 地黄枯萎病生防菌株的筛选研究[会议论文]-2004
2. [解红娥](#), [王娟娟](#), [解晓红](#), [李江辉](#), [陈丽](#), [武宗信](#), [XIE Hong-e](#), [Wang Jiao-juan](#), [XIE Xiao-hong](#), [LI Jiang-hui](#), [CHEN-Li](#), [WU Zong-xi](#) 地黄土壤中主要病原真菌的鉴定及致病性研究[期刊论文]-[山西农业科学](#) 2007, 35(2)
3. [刘志伟](#), [郭勇](#), [张晨](#) 转基因鱼腥藻培养中培养液吸光度与生物量的关系[期刊论文]-[生物技术](#) 2001, 11(2)
4. [王志杰](#), [杜敏](#), [WANG Zhi-jie](#), [DU Min](#) 光度法测细菌纤维的分散性[期刊论文]-[纸和造纸](#) 2005(5)
5. [樊海燕](#), [杨坤](#), [何宁](#), [孙远鹏](#), [孙道华](#), [李清彪](#) 大孔树脂吸附地黄梓醇的特性[会议论文]-2008
6. [宋昱](#), [谢三刚](#), [王玉香](#), [闫建德](#), [吉贞芳](#), [SONG Yu](#), [XIE San-gang](#), [WANG Yu-xiang](#), [YAN Jian-de](#), [JI Zhen-fang](#) 地黄根腐病的诊断及科农牌1号生物制剂对地黄根腐病的防治效果[期刊论文]-[山西农业科学](#) 2006, 34(1)
7. [李自刚](#), [王新民](#), [刘太宇](#), [张晓根](#), [介晓磊](#), [赵跃进](#), [LI Zi-gang](#), [WANG Xin-min](#), [LIU Tai-yu](#), [ZHANG Xiao-gen](#), [JIE Xiao-lei](#), [ZHAO Yue-jin](#) 复合微生物菌肥对怀地黄连作障碍修复机制研究[期刊论文]-[湖南农业科学](#) 2008(5)
8. [陈向敏](#), [董海艳](#), [林巧爱](#), [周丽萍](#), [王乐丹](#) 创伤弧菌优化培养条件的研究[期刊论文]-[温州医学院学报](#) 2003, 33(2)
9. [尹文佳](#), [杜家方](#), [李娟](#), [张重义](#) 连作对地黄生长的障碍效应与机理初探[会议论文]-2008
10. [刘峰](#), [温学森](#), [董其亭](#), [蔡爱民](#) 地黄主要成分水苏糖对土壤细菌的影响[期刊论文]-[中国中药杂志](#) 2007, 32(17)

引证文献(4条)

1. [王学翠](#), [温学森](#), [杨德奎](#) 土壤细菌对地黄试管苗和盆栽苗生长的影响[期刊论文]-[中草药](#) 2009(5)
2. [李振方](#), [杨燕秋](#), [吴林坤](#), [舒阳](#), [赵永坡](#), [黄伟明](#), [张重义](#), [林文雄](#) 地黄强致病型病原菌的分离及其专化型鉴定[期刊论文]

论文]-[中国生态农业学报](#) 2013(11)

3. [李振方](#), [杨燕秋](#), [谢冬凤](#), [朱兰芳](#), [张自冠](#), [黄木极](#), [刘宗泉](#), [张重义](#), [林文雄](#) [连作条件下地黄药用品质及土壤微生态特性分析](#)[期刊论文]-[中国生态农业学报](#) 2012(2)

4. [刘峰](#), [张恒](#), [丁月芳](#), [展翼](#) [梓醇对地黄根际土壤微生物的影响](#)[期刊论文]-[光明中医](#) 2011(9)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200712038.aspx