

杨金红,郭庆元. 新疆奎屯垦区耐砷真菌的分离[J]. 江苏农业科学,2013,41(6):326-327.

新疆奎屯垦区耐砷真菌的分离

杨金红¹, 郭庆元²

(1. 新疆应用职业技术学院生命与资源环境系,新疆奎屯 833200; 2. 新疆农业大学农学院,新疆乌鲁木齐 830052)

摘要:从新疆奎屯垦区 123 团采集的 27 个土壤样品中,分离得到 5 株具有较强耐砷能力的真菌菌株,其中耐砷能力最强的菌株为 KT-3,经形态学鉴定为木霉属(*Trichoderma*)真菌。耐砷试验结果表明:KT-3 菌株最高耐砷浓度为 20 000 mg/L。

关键词:耐砷真菌;分离;耐砷能力

中图分类号: S154.39 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)06-0326-02

在环境污染物中,砷是最常见、危害居民健康最严重的污染物之一,它是一种公认的致癌物质,可以诱导真核生物细胞的形态和结构发生突变^[1-2]。砷化合物毒性顺序为:亚砷酸盐>砷酸盐>甲基砷>二甲基砷>三甲基砷>甜菜碱砷,自然界中的砷污染主要来源于人们的生活和生产^[3],如含砷染料、防腐剂、皮革、农药、化肥的使用,矿渣、废水的排放,以及因泄漏、火灾等意外事故产生的二次污染等。中国也是受砷污染最为严重的国家之一,新疆、内蒙、陕西等省区的砷污染均比较严重^[4]。利用微生物对砷污染土壤进行修复是治理砷污染土壤的研究热点之一,环境中存在的砷虽然不能像有机污染物那样被微生物降解,但却可以通过微生物对砷的氧化/还原、吸附/解吸附、甲基化/去甲基化、沉淀/溶解等作用影响其生物有效性,从而达到降低环境中的砷毒害,修复砷污染环境的目的^[5]。Murugesan 等^[6]将 1 种从茶树上分离得到的真菌用 FeCl₃ (15 mg/L) 浸泡 30 min,然后用于对砷的生物吸附试验,发现溶液中砷的去除率接近 100%,较对照组高出 40%;Dib 等^[7]报道了在高海拔的湿地地区有耐砷、抗抗生素、抗紫外线的菌株发现。王薇等^[8]从活性污泥中筛选出 2 株耐砷菌株,菌株对 As³⁺ 的耐受量达到 500 mg/L,对 As⁵⁺ 的耐受量达到 1 200 mg/L;蒋友芬等^[9]报道了在新疆奎屯垦区筛选出 5 株耐砷菌株;苏世鸣等^[10]报道了从 6 个土壤样品中共分离得到 13 株耐砷真菌。

新疆是我国砷中毒高发区,其中以奎屯垦区砷中毒最为严重^[11]。本试验从新疆奎屯垦区砷污染土壤中分离出耐砷真菌,并通过室内培养进行筛选与耐砷能力研究,并对耐砷真菌进行形态学鉴定,以期对新疆地区耐砷菌的深入研究及采

用微生物治理砷污染土壤提供基础研究资料。

1 材料与方法

1.1 土壤样品的采集与耐砷真菌的分离

2011 年 5 月中旬在奎屯垦区 123 团的四连和六连的棉田和芦苇丛地进行土壤取样,采集的土壤样品经梯度稀释后涂布于含砷浓度为 500 mg/L 的马丁培养基上进行真菌的分离,分离出的真菌经反复纯化后备用。以分析纯 Na₃AsO₄·12H₂O 作为含砷培养基中砷的来源。

1.2 耐砷真菌的鉴定分类方法

在经消毒的载玻片中央滴加 1~2 滴 PDA 或查氏培养基,然后加盖玻片,将分离得到的耐砷真菌菌株接到玻片边缘培养基上,置于消毒的培养皿内 28~30 ℃ 下培养。待菌丝长到盖玻片周围后,每隔 12 h 于显微镜下观察菌丝、分生孢子梗及分生孢子的形态和颜色。根据魏景超等^[12-13]的分类方法进行鉴定。

1.3 耐砷真菌在不同浓度砷胁迫下的生长

本研究采用苏世鸣^[10]的研究方法,即:将直径为 6 mm 的真菌菌饼分别接种到土豆-葡萄糖-蛋白胨(PGP)培养基平板上,4 个直径约为 5 mm 的滤纸片蘸取砷溶液后放置于该菌饼的周围,25 ℃ 下培养,观察真菌菌落生长对不同浓度砷的反应。砷浓度分别为 1 000、3 000、5 000、10 000、20 000、30 000 mg/L。

2 结果与分析

2.1 耐砷真菌的分离

从新疆奎屯垦区 123 团四连和六连的棉田和芦苇丛地进行土壤取样,其中 18 份土样采自棉田,9 份土样品采自芦苇丛荒地,采集的土壤样品经梯度稀释后涂布于含砷浓度为 500 mg/L 的马丁培养基上进行真菌的分离。结果显示,从 27

收稿日期:2012-11-23

基金项目:伊犁师范学院 2011 年度科研基金(编号:2011KTYB012)。作者简介:杨金红(1975—),女,新疆昌吉人,硕士,讲师,从事生物学教学与研究。E-mail:3222651@163.com。

[6]程东美,李松涛,张志祥,等. 常用土壤处理除草剂对哈茨木霉的影响[J]. 江苏农业学报,2009,25(1):216-218.

[7]刘云龙,何永宏,张旭东. 哈茨木霉对辣椒生长的影响[J]. 云南农业大学学报,2002,17(4):345-346.

[8]张旭东,刘云龙,张中义. 木霉生防菌对植物生长的影响[J]. 云南农业大学学报,2001,16(4):299-303.

[9]庄敬华,陈捷,杨长成,等. 生防木霉菌生物安全性评价[J]. 中国农业科学,2006,39(4):715-720.

[10]黄彰欣. 植物化学保护实验指导[M]. 北京:中国农业出版社,1990:52-61.

[11]成元刚,周修任,简在友,等. 几种常用除草剂对木霉菌生长和产孢量的影响[J]. 湖北农业科学,2011,50(10):2005-2007.

份土样中共分离出 5 株耐砷真菌,其中棉田土壤中分离出 4 株,芦苇丛土壤中分离出 1 株。

2.2 耐砷真菌的形态学特征及分类

5 种耐砷真菌的形态学特征见表 1,从芦苇丛土壤中分离

出的耐砷真菌 KT-1 为青霉属真菌;从棉田土壤中分离出的耐砷真菌 KT-2 为青霉属真菌;从棉田土壤中分离出的耐砷真菌 KT-3 为木霉属真菌;从棉田土壤中分离出的耐砷真菌 KT-5 为芽枝霉属真菌。

表 1 5 株真菌的形态学主要特征

| 菌株来源 | 菌株编号 | 主要形态特征 | 分类 |
|------|------|--|-----------------------------|
| 芦苇丛 | KT-1 | 培养 3 d 菌落直径 33 mm,菌落圆形,黄绿色,边缘颜色变浅,分生孢子梗短,顶端膨大,分生孢子近球形。 | 青霉属(<i>Penicillium</i>) |
| 棉田 | KT-2 | 培养 3 d 菌落直径 15 mm,菌落边缘白色,中央蓝绿色,有淡黄色渗出液,分生孢子梗光滑,分生孢子椭圆形。 | 青霉属(<i>Penicillium</i>) |
| 棉田 | KT-3 | 培养 3 d 菌落直径 90 mm,菌丝絮状,初期白色,逐渐形成密实产孢丛束,排成同心轮纹,深绿,厚垣孢子球形多生于基底菌丝中,分生孢子多球形。 | 木霉属(<i>Trichoderma</i>) |
| 棉田 | KT-5 | 培养 3 d 菌落直径 10 mm,菌落圆形,褐绿色,绒状,中央有坚硬凸起,菌落背面蓝黑色。 | 芽枝霉属(<i>Cladosporium</i>) |
| 棉田 | KT-6 | 培养 3 d 菌落直径 55 mm,无孢,成绒毛状,有同心轮纹结构;显微镜下只可见菌丝,有隔。 | — |

2.3 不同浓度砷胁迫下真菌的菌落生长状况

培养 6 d,含砷浓度为 1 000 mg/L 的滤纸片的培养皿里,菌株 KT-2、KT-3、KT-6 的菌丝已将含砷滤纸片完全覆盖,含砷浓度为 3 000 mg/L 的滤纸片的培养皿里,菌株 KT-3、KT-6 的菌丝已将含砷滤纸片完全覆盖,其中 KT-3 表现出良好的耐砷性能,最高耐砷浓度为 20 000 mg/L。

3 讨论

从新疆奎屯垦区 123 团采集的 27 个砷污染土壤样品中,初步分离得到 5 株具有较强耐砷能力的真菌菌株,经形态学鉴定分别为青霉属、木霉属、芽枝霉属真菌,耐砷试验结果表明:菌株 KT-2 可耐砷浓度为 1 000 mg/L,菌株 KT-3、KT-6 可耐砷浓度为 3 000 mg/L,其中 KT-3 表现出良好的耐砷性能,最高可耐砷浓度为 20 000 mg/L。我们在 27 个土样中分离到 5 株耐砷菌株,这与苏世鸣在 6 个土样中分离到 13 株耐砷菌株相比,分离的耐砷菌株少,这可能与我们所采土样的类型只有棉田和芦苇丛地 2 种有关。而蒋友芬对奎屯地区高砷环境耐砷菌的报道中,从水中分离出 5 株耐砷菌株,相对分离的菌株也较少。

在以往的报道中耐砷真菌的种类主要有青霉属、曲霉属、木霉属、镰刀菌属、丝核菌属^[14-15]等,在我们分离到的 5 株菌株中,除了青霉属、木霉属真菌外还出现了芽枝霉属真菌,芽枝霉属真菌以往被认为是一种环境中常见的杂菌。本研究结果还表明木霉属菌株 KT-3 具有良好的耐砷性能,这与苏世鸣的报道相一致。

致谢:感谢新疆农业大学农学院赵振宇教授对真菌进行形态学鉴定!

参考文献:

[1] Tseng W P, Chu H M, How S W, et al. Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan[J]. J Natl Cancer I, 1968, 40(3): 453-463.
[2] Chen Y, Ahsan H. Cancer burden from arsenic in drinking water in Bangladesh[J]. Am J Public Health, 2004, 94(5): 741-744.

[3] 蒋成爱, 吴启堂, 陈杖榴. 土壤中砷污染研究进展[J]. 土壤, 2004, 36(3): 264-270.
[4] 中国环境监测总站. 中国土壤元素背景值[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 1990: 329-492.
[5] Tabak H H, Lens P, Van Hullebusch E D, et al. Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides - 1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport[J]. Reviews in Environmental Science and Biotechnology, 2005, 4: 115-156.
[6] Murugesan G, Sathishkumar M, Swaminathan K. Arsenic removal from groundwater by pretreated waste tea fungal biomass[J]. Bioresource Technology, 2006, 97(3): 483-487.
[7] Dib J, Motok J, Zenoff V F, et al. Occurrence of resistance to antibiotics, UV-B, and arsenic in bacteria isolated from extreme environments in high-altitude (above 4400 m) Andean wetlands[J]. Current Microbiology, 2008, 56: 510-517.
[8] 王薇, 王君琴, 杨洁, 等. 三价砷氧化菌株的筛选及其培养条件初探[J]. 中国地方病学杂志, 2006, 25(1): 100-102.
[9] 蒋友芬, 甘子明, 许晏, 等. 新疆奎屯地区高砷环境中抗砷菌的初步筛选[J]. 中国现代医药杂志, 2009, 11(6): 21-23.
[10] 苏世鸣, 曾希柏, 蒋细良, 等. 高耐砷真菌的分离及其耐砷能力[J]. 应用生态学报, 2010, 21(12): 229-234.
[11] 罗艳丽, 余艳华, 郑春霞, 等. 新疆奎屯垦区土壤砷含量及耐砷植物的筛选[J]. 干旱区资源与环境, 2010, 24(2): 192-194.
[12] 魏景超. 真菌鉴定手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982: 129-649.
[13] 中国科学院微生物研究所《常见与常用真菌》编写组. 常见与常用真菌[M]. 北京: 科学出版社, 1973: 160-210.
[14] 吴佳, 谢明吉, 杨倩, 等. 砷污染微生物修复的进展研究[J]. 环境科学, 2011, 32(3): 817-822.
[15] 曾东, 许振成. 筛选并利用抗砷菌与蜈蚣草互作对砷污染土壤修复作用的研究[C]//中国环境科学学会. 中国环境科学学会学术年会论文集. 北京: 北京航空航天大学出版社, 2009: 616-620.