

文章编号:1673-0062(2012)01-0087-05

水生捕食线虫真菌季节性分布及多样性研究

郝玉娥¹,张铭洋²,谭胜全³,周 艺¹,薛金花¹,向 艳¹,全淑芬¹

(1. 南华大学 公共卫生学院,湖南 衡阳 421001;2. 湖南省怀化铁路疾病预防控制中心,湖南 怀化 418000;
3. 湖南省益阳市沅江市疾控中心,湖南 益阳 413100)

摘 要:从云南滇池附近的三块水稻田和三口鱼塘中分离到的捕食线虫真菌种类比较相似,但从鱼塘中分离到的捕食线虫真菌种类要比水稻田中的少,两个生境中的优势种也不同. 水稻田中,春季和秋季的优势种为 *Arbrostrys conoides*,夏季和冬季的优势种为 *A. oligospora*,秋季的捕食线虫真菌种类最多,春季次之,夏季和冬季最少;鱼塘中,春季、夏季和冬季的优势种均为 *Dactylellina ellipsosporum*,秋季的优势种为 *A. vermicola*. 夏季的捕食线虫真菌种类最多,其他三个季节的捕食线虫真菌种类相差不大. 从湖南湘江衡阳段的 300 份泥土样品中,共分离、鉴定出 17 种水生捕食线虫真菌,东洲岛和新大桥水域分离的水生捕食线虫真菌比李坳水域分离的种数少.

关键词:水生捕食线虫真菌;季节分布;资源调查;多样性

中图分类号:S476+.12 **文献标识码:**A

The Seasonal Fluctuation and Diversity of Aquatic Nematode-trapping Fungi

HAO Yu-e¹,ZHANG Ming-yang²,TAN Sheng-quan³,ZHOU Yi¹,XUE Jin-hua¹,
XIANG Yan¹,QUAN Shu-fen¹

(1. School of Public Health, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China;
2. Railroad Center for Disease Control and Prevention, Huaihua, Hunan 418000, China;
3. Yuanjiang Center for Disease Control and Prevention, Yiyang, Hunan 413100, China)

Abstract:Species of nematode-trapping fungi isolated from three paddy fields and three fish ponds around Dianchi Lake in Yunnan province were compared. Those isolated from the fish ponds were fewer than those from the paddy fields and the dominant species in the two eco-environments were not the same. In the paddy fields *Arbrostrys conoides* was dominant in spring and fall and *A. oligospora* was dominant in summer and winter. Further in

收稿日期:2011-09-15

基金项目:湖南省教育厅科技基金资助项目(09C828)

作者简介:郝玉娥(1978-),女,山西平遥人,南华大学公共卫生学院实验师,硕士研究生. 主要研究方向:功能及病原微生物.

fall, species of nematode-trapping fungi were the most, then in spring, in summer and winter. However, in the fish ponds, *Dactylellina ellipsoforum* was dominant in spring, summer and winter and *A. vermicola*, in fall. In summer, species of nematode-trapping fungi were more than those in any of the rest seasons and the amount of species in the three seasons varied little. From the 300 samples collected in Hengyang part of Xiangjiang River in Hunan province, 17 species of nematode-trapping fungi were isolated and identified. But the amount of the species varied from sample site to site. Those in waters of Dongzhou Island and new Xiangjiang Bridge were more than those in waters of Liao in Xiangjiang River.

key words: aquatic nematode-tapping fungi; seasonal fluctuation; resource investigation; diversity

捕食线虫真菌是一类以营养菌丝特化形成捕食器官捕食线虫的真菌,作为线虫的主要天敌,是自然界中控制、平衡和调节线虫种群的重要生物因子,也是研究开发生物杀线虫剂的重要资源^[1]. 国内外研究多限于陆生捕食线虫真菌,对水生捕食线虫真菌研究相对较少. 由于水中的特殊生活环境,使水生真菌在长期进化过程中很可能形成独特的化学物质合成途径、代谢途径、新的调控机制和新基因,而这些遗传多样性和独特的生物合成能力大多尚未被人类认识和有效利用,故从水生真菌中发现新颖结构次生代谢产物和新基因的机率普遍高于已广泛研究过的普通真菌,且应用价值更高^[2].

捕食线虫真菌受温度、湿度、营养、通气量、线虫等因子的影响,其种群及群落组成在一年四季内呈现一定的变化规律,春季捕食线虫真菌的数量最多,秋季次之,夏季较少,冬季最少^[3-5]. 然而这些大量的研究生境都是陆地环境,而对水环境中的捕食线虫真菌菌的季节性变化还未曾调查.

湘江是注入洞庭湖的四大河流之一,是湖南省流域面积最广、经济价值最高的河流,属长江流域洞庭湖水系. 但有关湘江水生捕食线虫真菌多样性的研究尚属空白,有相当的研究价值. 随着经济的快速发展,湘江水质受污染的程度不断加剧,例如有机物、NH₃-N、总镉、汞、总砷、挥发酚、TP、COD、和氨氮等污染物^[6-8]. 国内外研究证明随着水污染加剧,水生真菌的生物多样性逐渐下降,一些物种因此而消失^[9]. 所以研究湘江水生捕食线虫真菌更具迫切性.

本文针对湘江水生捕食线虫真菌资源以及滇池旁鱼塘和水稻田中的水生捕食线虫真菌的季节性分布展开调查,以期了解这类真菌分布的多样性特征,进而为今后开发新的生物杀线虫剂和毒素奠定基础,并为当地的寄生线虫病的防治技术

体系提供构架和元素.

2 材料与方法

1.1 样品的采集

1.1.1 采集位点及地理特征

三块水稻田和三口鱼塘位于云南省昆明滇池的东部. 湘江一桥:位于衡阳市东洲下游 200 m 处,桥连大庆路和广东路,1955 年建造,是进出衡阳市的咽喉. 东洲岛:位于衡阳市区东南面的湘江中央,长 2 000 m 左右,宽约 200 m,沙滩面积 1.67 hm²,东面水域宽 300 m,西面水域宽 500 m. 该岛四面环水,岛上树木茂密,绿荫浓蔽. 李坳:位于衡阳市市辖区,是湘江支流所在,地域广阔,周围植被茂盛、园田广袤,湘江之流流经此地.

1.1.2 采集方法、采集时间及采样数量

采集方法:在采集位点随机采样. 在自然条件下,3 周内处理完所采回的泥土、浸泡的腐叶和腐枝样品. 否则需放入 4℃ 冰箱保存,可延长至 9 周.

采集时间:2004 年 2 月 22 日,5 月 22 日,8 月 22 日,11 月 22 日;2009 年 9 月 ~ 至 10 月

采样数量:三块水稻田和三口鱼塘 6 个采样点每个季度各采集 30 份样,每个季度共采集 180 份泥土样品或腐败植物的根叶;湘江一桥、东洲岛和李坳各采集 100 份泥土样品.

1.2 水生捕食真菌的分离及鉴定

按照文献^[10]所述方法进行水生捕食真菌的分离,采用以 Scholler^[11]和 Li^[12]为代表的分子系统学分类方法对研究菌株进行分类鉴定.

1.3 数据分析

采用 Shannon-Weiner 指数 (H') 评价淡水生捕食线虫真菌的多样性.

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \ln p_i$$

H' = 物种相似性值 P_i = 第 i 个种所占百分数 S = 采样点的物种数

(每个种在每份样品中无论出现几次,均记为在此样品中分离到 1 次)

2 结 果

2.1 鱼塘和水稻田中的水生捕食线虫真菌资源状况及其季节性分布

2.1.1 不同季节鱼塘和水稻田中水生捕食线虫真菌的资源状况

表 1 和表 2 显示每个季度,从三块水稻田分离到的捕食线虫真菌种类比较相似,三口鱼塘中

分离到的捕食线虫真菌种类也比较相似.但从鱼塘中分离到的捕食线虫真菌种类要比水稻田中的少,两个生境中的优势种也不同.水稻田中,春季和秋季的优势种为 *Arthrobotrys conoides*,检出率分别为 85.3% 和 57.7%,夏季和冬季的优势种为 *A. oligospora*,检出率分别为 78% 和 70%.秋季的捕食线虫真菌种类最多,春季次之,夏季和冬季最少.鱼塘中,春季、夏季和冬季的优势种均为 *Dactylellina ellipsosporum*,检出率分别为 70%、52% 和 30%,秋季的优势种为 *A. vermicola*,检出率为 45%.夏季的捕食线虫真菌种类最多,其他三个季节的捕食线虫真菌种类相差不大.

表 1 三块水稻田捕食线虫真菌资源及随季节变化规律调查结果

Table 1 Aquatic nematode-trapping hyphomycetes and their seasonal change in three paddyfields

稻 田	种	春季		夏季		秋季		冬季	
		种数	检出率	种数	检出率	种数	检出率	种数	检出率
1	<i>Arthrobotrys conoides</i>	25	83%	6	20%	17	57%		
	<i>A. dianchiensis</i>					9	30%		
	<i>A. musiformis</i>					2	7%		
	<i>A. oligospora</i>	7	23%	23	77%	8	27%	21	70%
	<i>A. oligospora var. microspora</i>	1	3%						
	<i>A. sphaeroides</i>	2	7%	2	7%	2	7%		
	<i>A. superba</i>					7	23%		
	<i>A. thaumasium</i>			1	3%				
	<i>A. vermicola</i>					6	20%	2	7%
	<i>Dactylellina ellipsosporum</i>	15	50%	20	67%	7	23%	6	20%
	<i>Da. candidum</i>					2	7%		
	<i>D. panlongna</i>	5	17%						
2	<i>A. conoides</i>	24	80%	7	23%	22	73%		
	<i>A. dianchiensis</i>					6	20%		
	<i>A. musiformis</i>			2	7%			1	3%
	<i>A. oligospora</i>	6	20%	29	97%	6	20%	26	87%
	<i>A. spaeroides</i>			1	3%	2	7%		
	<i>A. superba</i>	1	3%						
	<i>A. vermicola</i>					8	27%	3	10%
	<i>Da. candidum</i>					6	20%		
	<i>Da. ellipsosporum</i>	8	27%	18	60%	12	40%	9	30%
	<i>Dactylella clavata</i>	1	3%						
	<i>D. panlongna</i>	3	10%						
	<i>D. sp2</i>	1	3%						
	<i>D. yunnanensis</i>	1	3%						
3	<i>A. conoides</i>	28	93%	19	63%	13	43%	8	27%
	<i>A. oligospora</i>	8	27%	18	60%	17	57%	16	53%
	<i>A. sphaeroides</i>	1	3%	3	10%	3	17%		
	<i>A. superba</i>					3	10%		
	<i>A. thaumasium</i>			1	3%				
	<i>A. vermicola</i>					11	37%		
	<i>Da. candidum</i>					5	17%		
	<i>Da. cionopagum</i>	1	3%						
	<i>Da. ellipsosporum</i>	16	53%	16	53%	9	30%	2	7%
	<i>D. clavata</i>			1	3%				
	<i>D. panlongna</i>	3	10%						
	<i>D. sp2</i>					5	17%		

表 2 三口鱼塘捕食线虫真菌资源及随季节变化规律调查结果

Table 2 Aquatic nematode-trapping hyphomycetes and their seasonal change in three paddyfields

稻田	种	春季		夏季		秋季		冬季	
		种数	检出率	种数	检出率	种数	检出率	种数	检出率
1	<i>A. oligospora</i>	6	20%	11	37%	2	7%	16	53%
	<i>A. conoides</i>	3	10%						
	<i>A. sphaeroides</i>	1	3%	1	3%				
	<i>A. thaumasium</i>			3	10%				
	<i>Da. ellipsosporum</i>	20	67%	17	57%			6	20%
	<i>D. clavata</i>			2	7%				
	<i>D. panlongna</i>			4	13%				
2	<i>A. conoides</i>	3	10%						
	<i>A. oligospora</i>	2	7%	20	67%			2	7% %
	<i>A. sphaeroides</i>			3	10%				
	<i>A. thaumasium</i>			2	7%				
	<i>A. vermicola</i>					15	50%		
	<i>Da. candidium</i>					2	7%		
	<i>Da. ellipsosporum</i>	25	83%	13	43%	10	33%	12	40%
3	<i>D. panlongna</i>					1	3%		
	<i>A. conoides</i>			3	10%				
	<i>A. oligospora</i>	5	17%	11	37%	1	3%	5	17%
	<i>A. oligospora</i> var. <i>microspora</i>	1	3%						
	<i>A. sphaeroides</i>								
	<i>A. thaumasium</i>			1	3%				
	<i>A. vermicola</i>					12	40%		
	<i>Da. candidium</i>							1	3%
	<i>Da. ellipsosporum</i>	18	60%	17	57%	7	23%	9	30%
	<i>D. clavata</i>			2	7%				

2.1.2 不同季节的水生捕食线虫真菌多样性比较

从图 1 可以看出,捕食线虫真菌多样性有明显的季节变化,但两种采样点的捕食线虫真菌多

样性的季节变化不一致.水稻田中,秋季的捕食线虫真菌多样性最高,春季次之,夏季和冬季最低.而鱼塘中,夏季的捕食线虫真菌多样性稍高一些,其他季节的捕食线虫真菌多样性差不多.

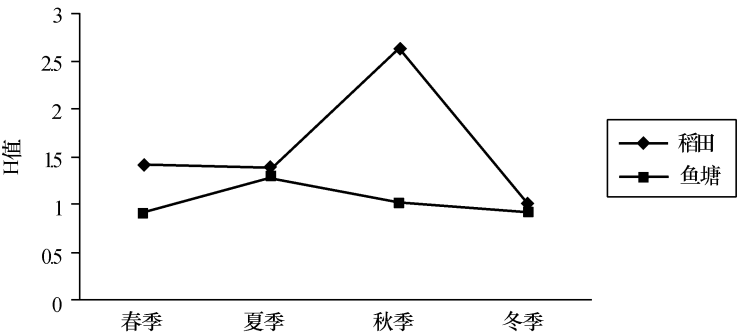


图 1 不同季节水生捕食线虫真菌多样性

Fig.1 Diversity for aquatic nematode-trapping hyphomycetes in different seasons

2.2 湘江衡阳水段水生食线虫菌单顶孢属的资源状况

从 300 份泥土样品中,共分离、鉴定出 17 种水生捕食线虫真菌(见表 3),其中 9 种菌属于 *Arthrobotrys*,5 种菌属于 *Dactylellina*,3 种菌属于

Drechslerella. *A. oligospora*, *A. musiformis*、*Da. ellipsosporum* 和 *A. thaumasium* 为优势种(检出率分别达到 56%、38%、31% 和 24%),而 *A. dactyloides*、*A. megalosporum*、*A. superba*、*Da. candidum*、*Da. sclerohyphum*、*Dr. doedycoides* 为稀疏种(检出率仅

为 1~4%)。在这 17 种菌中,13 种菌产粘性菌网捕器,占总分离到的水生捕食线虫真菌的 50%。东洲岛和新大桥水域分离的水生捕食线虫真菌比李坳水域分离的种数多。

表 3 湘江衡阳段捕食线虫真菌资源调查结果
Table 3 Aquatic nematode-trapping fungi in Hengyang part of Xiangjiang River

种	东洲岛 (检出率)	新大桥 (检出率)	李 坳 (检出率)
<i>A. cystosporium</i>			
<i>A. dactyloides</i>			3%
<i>A. elegans</i>			
<i>A. longiphorum</i>			17%
<i>A. megalosporum</i>			4%
<i>A. musiformis</i>			16%
<i>A. oligospora</i>	54%	56%	14%
<i>A. superba</i>			1%
<i>A. thaumasium</i>			24%
<i>Da. candidum</i>		1%	
<i>Da. cionopagum</i>			6%
<i>Da. ellipsosporum</i>	20%	38%	31%
<i>Da. leptospora</i>	11%		
<i>Da. sclerohyphum</i>		3%	
<i>Drechslerella brochopaga</i>			8%
<i>Dr. coelobrochum</i>			15%
<i>Dr. doedycoides</i>		3%	

3 讨 论

一直以来,尽管研究者很少关注水环境中的捕食线虫真菌,但本研究中所分离、鉴定的大量捕食线虫真菌表明水环境中哺育着大量的此类真菌。通常认为 *A. oligospora* 和 *Da. ellipsosporum* 是土壤中最丰富的捕食线虫真菌,而在对中国的捕食线虫真菌调查中,发现 *A. thaumasium* 也是常见种。本次调查还发现,除 *A. oligospora* 和 *Da. ellipsosporum* 是较丰富的捕食线虫真菌外,*A. conoides* 和 *A. vermicola* 也是检出率较高的捕食线虫真菌。*D. heptameres*^[13] 首次从陆地样品中分离到,并记录为新种,后来,Peach 等^[14] 从鱼塘中腐烂的树叶上也分离到了 *D. heptameres*。Cai 等^[15] 从浸泡在河里竹子上分离到的 58 种菌中,有 18 种真菌在陆生竹子上也分离过。本研究分离到的 26 种菌中,大部分在陆地样品也曾被分离到。这些结果都充分表明同种真菌既生存于水环境中也生存于陆生环境中。导致这种现象的解释有以下两种:第一,可能是由于空气中的真菌直接掉落在水中造成的,或落在小溪中的树叶表面上的真菌进入水中造成的,或由于雨水冲刷岸边的植被或土壤而造成的^[16]。第二,树木、竹子或其他植物含有大量的维管束,这些维管束能捕获大量的空气使这些材料不容易降解,所以,这些材料要成为水生真菌居

住的浸水或真正的沉水物质需要很长的一段时间^[15]。Fryar 等^[17] 的研究也表明,只有沉水树木达到 6 个月,居住其上的真菌群落才能真正的成为水生真菌。

捕食线虫真菌产粘性菌网、粘性分枝、粘球、收缩环和非收缩环等捕器。但在这次调查中发现,分离到的产粘性菌网的捕食线虫真菌占优势。Persmark 等^[3] 和 Su 等^[18] 在调查陆地土壤样品和动物粪便样品中的捕食线虫真菌的研究也得到过类似的结果,他们认为产粘性菌网的捕食线虫真菌需要的营养较少,并且这些真菌生长的快,其腐生能力较强,所以产粘性菌网的捕食线虫真菌占优势。

陆地和水中的土壤生态影响某一特定地点的捕食线虫真菌的多样性和分布,例如,蔬菜和谷类农作物地的土壤中捕食线虫真菌多样性比较低,且优势种多数是腐生的,而森林土、果园和永久牧场的土壤相对来说,其捕食线虫真菌多样性较高,优势种多为腐生性弱的捕食线虫真菌(产收缩环的种类)。所以,可能是因为水稻田和鱼塘生境不同,而导致其真菌多样性的季节变化规律不一致,即水稻田中秋季的捕食线虫真菌种类最多,而鱼塘中夏季相对最多。本次对捕食线虫真菌多样性的季节变化与其他研究结果^[3-5] 不尽相同,提示利用捕食线虫性真菌控制线虫病,首先要从自然界

分离培养出适合本地区自然环境条件下的捕食线虫性真菌菌株,了解捕食线虫性真菌的生存环境及所需条件,调查这类宝贵生物资源的分布情况,分离培养适合本地区气候条件的捕食线虫性真菌是研究捕食线虫性真菌生物防治线虫病的基础和前提条件。

由于水污染越来越严重,导致水生真菌的多样性逐渐下降,尤其重金属和有机污染正在减低陆生和水生生态系统的生物多样性,一些物种将会因水环境的污染而消失。另外,人类活动对水生真菌也造成了许多负面影响^[19]。研究结果也表明,捕食线虫真菌的多样性在污染水环境中的多样性较低,即与远离市区生态环境保持较好且地表植被较丰富的李坳相比,由于东洲岛和新大桥水域采样点为人工修建的堤坝,生境比较单一,且过往船只较多又靠近居民区污染较重,其分离到的菌种数分别仅仅为3种和5种,远少于从李坳采样点分离的11种,这与Hao等^[20]的研究结果相符。Hao等的研究表明在比较单一的人工修建的生境中分离到的捕食线虫真菌相对较少,而在植被丰富、复杂的生境中分离到的捕食线虫真菌较高,且在最复杂,最原始的诸如自然保护区的生境中,相应的捕食线虫真菌的丰富度,多样性指数最高。可见,污染威胁着所有的生物,在很快地使生物资源减少。随着水质的恶化,水生真菌资源也受到威胁。有可能在我们发现某些水生真菌之前,它们就已灭绝。所以调查和保护水生捕食线虫真菌资源是一项紧迫而意义重大的工作。

参考文献:

- [1] 张克勤,刘杏忠,李天飞. 食线虫菌物生物学[M]. 北京:中国科学技术出版社,2001.
- [2] Dreyfuss M M, Chaela I H. The discovery of natural products with therapeutic potential[J]. Dtoneham,1994, 26:49-80.
- [3] Persmark L, Banck A, Jansson H B. Population dynamics of nematophagous fungi and nematodes in an arable soil: vertical and seasonal fluctuations[J]. Soil Biochemistry, 1996, 28:1005-1014.
- [4] 缪作清,刘杏忠. 捕食线虫真菌在北京地区果园中的季节性分布[J]. 菌物系统,2003,22(1):77-81.
- [5] 苏鸿雁. 中甸打日坝牧场捕食线虫真菌资源调查及其季节性分布[J]. 楚雄师范学院学报,2006,21(6):54-57.
- [6] 汤株宁,许智林,文新宇,等. 湘江株洲段水质挥发性有机物污染现状及防治对策研究[J]. 湖南工业大学学报,2008,22(2):63-67.
- [7] 秦普丰,雷鸣,郭雯. 湘江湘潭段水环境主要污染物的健康风险评估[J]. 环境科学研究,2008,21(4):190-195.
- [8] 刘晶,刘强,荣湘民,等. 湖南湘江半年水质评价[J]. 湖南农业科学,2007(2):3-6.
- [9] Tsui K M, Hyde K D, Hodgkiss I J. Colonization patterns of wood-inhabiting fungi on baits in Hong Kong rivers, with reference to the effects of organic pollution[J]. Antonie van Leeuwenhoek,2001,79:33-38.
- [10] 张仕颖,郝玉娥,张克勤. 云南及贵州部分地区淡水生捕食线虫真菌多样性研究[J]. 云南大学学报(自然科学版),2007,29(2):199-207.
- [11] Scholler M, Hagedom G, Rubner A. A revaluation of predatory orbiliaceous fungi[J]. II A new genetic concept[J]. Sydowia,1999,51:89-113.
- [12] Li Y, Hyde K D, Zhang K Q. Phylogenetics and evolution of nematode-trapping fungi (Orbiliaceae) estimated from nuclear and protein coding genes[J]. Mycologia, 2005,97(5):1034-1046.
- [13] Drechsler C. A new nematode-capturing Dactylella and several related hyphomycetes[J]. Mycologia,1943,35:339-362.
- [14] Peach M. Aquatic predacious fungi[J]. Transactions of the British Mycological Society,1950,33:148-153.
- [15] Cai L, Zhang K Q, McKenzie E H C, et al. Freshwater fungi from bamboo and wood submerged in the Liput River in the Philippines[J]. Fungal Diversity,2003,13:1-12.
- [16] Fryar S C, Davies J, Booth W, et al. Succession of fungi on dead and live wood in brackish water in Brunei[J]. Mycologia,2004,96:219-225.
- [17] Ingold C T. More spores from rivers and streams[J]. Transactions of the British Mycological Society,1968,51:137-143.
- [18] Su H Y, Hao Y E, Mo M H, et al. The ecology of nematode-trapping hyphomycetes in cattle dung from three plateau pastures[J]. Veterinary Parasitology,2006,144:293-298.
- [19] Bärlocher F. The ecology of aquatic hyphomycetes[M]. Berlin:Springer-Verlag,1992.
- [20] Hao Y E, Mo M H, Su H Y, et al. Ecology diversity of aquatic nematode-trapping hyphomycetes in southwest of China[J]. Aquatic Microbial Ecology,2005,40:175-181.