

土壤中抑菌放线菌的筛选鉴定及发酵条件研究

晏爱芬, 余丽, 黄鑫 (保山学院资源环境学院, 云南保山 678000)

摘要 采用弹土法从高黎贡山百花岭段土壤中分离到放线菌 38 株, 对分离得到的 38 株放线菌的发酵液进行抑菌活性测定, 其中 H33 菌株对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和白假丝酵母都具有较好的抑菌作用, 其抑菌直径都在 8 mm 以上。通过对 H33 菌株培养特征、显微特征和生理生化特征的研究, 初步鉴定为链霉菌属 (*Streptomyces*)。H33 菌株的最佳发酵培养基为发酵培养基 2 (葡萄糖 0.5 g、蛋白胨 0.25 g、胰胨 0.15 g、NaCl 0.25 g、重铬酸钾 7.5 mg、复合维生素 10 g、水 500 mL, pH 7.2), 最佳发酵时间为 6 d, 最适发酵培养基 pH 为 7.0, 最适培养温度 28 ℃。

关键词 抑菌放线菌; 筛选; 鉴定; 分离纯化; 发酵条件

中图分类号 S154.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)07-0065-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.07.016



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on Screening and Identification of Bacteriostatic Actinomycetes in Soil and Fermentation Conditions

YAN Ai-fen, YU Li, HUANG Xin (School of Resources and Environment, Baoshan University, Baoshan, Yunnan 678000)

Abstract A total of 38 actinomycetes were isolated from the soil in Baihualing section of Gaoligong Mountain by the bombing method, and the antibacterial activity of the 38 isolated actinomycetes was tested. Among them, the H33 strain had good antibacterial effects on *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*, and its antibacterial diameter was all above 8 mm. Through the study of the culture characteristics, microscopic characteristics and physiological and biochemical characteristics of the H33 strain, it was preliminarily identified as *Streptomyces*. The best fermentation medium for H33 strain was fermentation medium 2 (glucose 0.5 g, peptone 0.25 g, tryptone 0.15 g, NaCl 0.25 g, potassium dichromate 7.5 mg, multivitamin 10 g, water 500 mL, pH 7.2), the optimal fermentation time was 6 d, the optimal fermentation medium pH was 7.0, and the optimal culture temperature was 28 ℃.

Key words Antibacterial actinomycetes; Screening; Identification; Isolation and purification; Fermentation conditions

放线菌由于菌落边缘菌丝呈放射状而得名^[1]。在微生物资源中放线菌具有巨大的应用价值, 在它的营养细胞分化成菌丝以及进一步产生孢子的过程中, 细胞代谢会产生各种各样的次生代谢产物, 它们能够合成一些具有专一性功能的物质, 来控制细胞分化和细胞周期, 从而抑制病原菌的生长^[2]。放线菌在自然环境中分布广泛, 如陆地、淡水、动物肠道、植物体等均有分布。其中土壤含水量较低、通风较好、腐殖质丰富, 适宜大量放线菌的生长^[3]。谭悠久等^[4]从土壤中分离抑菌放线菌, 并对分离到的抑菌放线菌进行代谢产物抗菌活性研究; 王东胜^[5]从秦岭主峰太白山北坡土壤中分离抑菌放线菌, 分离到的放线菌具有抑菌作用的可培养菌株达到 56%。高黎贡山百花岭段植被丰富, 土壤腐殖质丰富, 人为干扰较小, 其土壤中含有大量的微生物, 该研究从高黎贡山百花岭段土壤中筛选具有抑菌作用的放线菌, 并对该放线菌进行初步鉴定、发酵条件等研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土壤样品的采集。从高黎贡山百花岭段不同海拔和植被区采集土壤。采集时去除表层土后用铲子铲取 5~10 cm 深度的土壤, 放入自封袋, 写好标签。带回实验室 4 ℃ 保存备用。

1.1.2 供试菌。枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)、金黄色葡萄球菌 (*Staphylococcus aureus*)、大肠杆菌 (*Escherichia coli*)、

白假丝酵母 (*Candida albicans*), 均由保山学院微生物实验室提供。

1.1.3 培养基。高氏 1 号培养基; 牛肉膏蛋白胨培养基 (细菌); PDA 培养基 (真菌); 发酵培养基 1 (液体高氏 1 号培养基); 发酵培养基 2 (葡萄糖 0.5 g、蛋白胨 0.25 g、胰胨 0.15 g、NaCl 0.25 g、重铬酸钾 7.5 mg、复合维生素 10 g、水 500 mL, pH 7.2); 发酵培养基 3 (葡萄糖 2.5 g、乳糖 0.75 g、玉米饼粉 10 g、碳酸钙 1.5 g、蒸馏水 500 mL, pH 7.0)。

1.2 方法

1.2.1 放线菌的分离与纯化。采用弹土分离法分离放线菌。土样风干研碎, 放于已灭菌的滤纸片上, 打开平板皿盖, 用手指弹拨滤纸片背面 (使纸片含菌面保持在平板上方), 盖上皿盖后置 28 ℃ 恒温培养 5~7 d, 挑单菌落进行平板划线, 28 ℃ 恒温培养 5~7 d, 挑取单菌落移接斜面, 28 ℃ 恒温培养 5~7 d, 置于 4 ℃ 保存备用。

1.2.2 菌株发酵液抑菌活性的测定。挑取放线菌接种于 10 mL 液体高氏 1 号培养基中, 放入 28 ℃、160 r/min 振荡恒温培养箱中培养 7 d, 取 1 mL 培养液置于离心机 10 000 r/min 离心 10 min, 上清液用 0.22 μm 滤膜过滤后用于抑菌活性测定^[6]。

采用滤纸片法对分离到的放线菌进行抑菌活性测定。用 1 mL 的移液枪吸取供试菌液 0.2 mL 分别涂布于牛肉膏蛋白胨培养基和 PDA 培养基表面, 用直径为 5 mm 的滤纸片, 蘸取滤液贴于涂满供试菌液的平板上, 每个平板贴 3 张含有滤液的滤纸片, 再贴一片蘸取无菌水的滤纸片作为对照, 平板分别置于 37、28 ℃ 恒温培养 2 d 后, 采用十字交叉法用直尺测量抑菌圈直径, 求平均值^[7-8]。

基金项目 保山学院校级课题“高黎贡山百花岭段土壤抑菌放线菌的筛选、鉴定及发酵研究”(ZKMS201905)。

作者简介 晏爱芬 (1976—), 女, 云南宣威人, 副教授, 硕士, 从事微生物学研究。

收稿日期 2021-06-24

1.2.3 抑菌放线菌的分类鉴定。

1.2.3.1 培养特征观察。将筛选出的放线菌接种于液体高氏1号培养基中,在28℃下培养3、5、7 d分别观察并记录菌株在培养基生长时的菌落形态,不同时间段内的颜色变化和生长情况^[9]。

1.2.3.2 显微特征观察。用已灭菌的盖玻片45°插入培养基中,在盖玻片与培养基的交界处接种放线菌,28℃培养7 d后缓慢拔出盖玻片,用光学显微镜观察记录菌丝体形态。

1.2.3.3 生理生化特征。菌株的生理生化特征参考徐丽华等^[10]的方法进行。

1.2.4 发酵条件的研究。以下试验均用生长速率法测其抑菌率,其方法参照徐方继等^[11]的方法进行。

1.2.4.1 发酵培养基对发酵液抑菌活性的影响。分别取25 mL发酵培养基1、发酵培养基2、发酵培养基3,装入100 mL锥形瓶中灭菌后,接种抑菌放线菌,置于28℃、280 r/min摇床恒温培养6 d后,测其对白假丝酵母的抑菌率,选择出最优发酵培养基^[12]。

1.2.4.2 培养时间对发酵液抑菌作用的影响。保持其他培养条件不变,分别在培养4、5、6、7、8 d后测放线菌发酵液对白假丝酵母的抑菌率,选出最优发酵培养时间。

1.2.4.3 温度对发酵液抑菌活性的影响。取pH为7.0的25 mL发酵培养基装入100 mL锥形瓶中灭菌后,接种抑菌放线菌,分别置于24、28、32、36℃在280 r/min摇床培养6 d后,测出其对白假丝酵母的抑菌率,选出最佳发酵温度。

1.2.4.4 pH对发酵液抑菌活性的影响。利用氢氧化钠(1 mol/L)和盐酸(1 mol/L)将筛选到的液体发酵培养基的pH调至5.0、6.0、7.0、8.0、9.0、10.0,各取25 mL不同初始pH的培养基装入100 mL锥形瓶中灭菌后,接种置于28℃、280 r/min摇床培养6 d后,测出其对白假丝酵母的抑菌率。

2 结果与分析

2.1 土壤中抑菌放线菌的筛选 从采集的土样中共分离纯化到38株放线菌,采用滤纸片法对38株放线菌发酵液进行抑菌活性测定,其中有5株放线菌具有抑菌作用,如表1所示。由表1可知,H33菌株的发酵液对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和白假丝酵母都具有抑菌作用,其中对白假丝酵母的抑菌效果最好,其抑菌圈直径达到11.40 mm。因此,选取H33放线菌进行进一步试验研究。

表1 5株放线菌的发酵液对供试菌的抑菌活性(n=3)

Table 1 The antibacterial activity of the fermentation broth of 5 strains of actinomycetes on the tested bacteria

菌株 Strain	抑菌圈直径 Inhibition zone diameter/mm			
	枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	金黄色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	白假丝酵母 <i>Candida albicans</i>
H7	6.33	—	8.00	—
H20	—	—	9.00	—
H22	—	8.50	—	—
H23	7.50	—	—	8.30
H33	8.17	8.67	—	11.40

2.2 菌株的初步鉴定

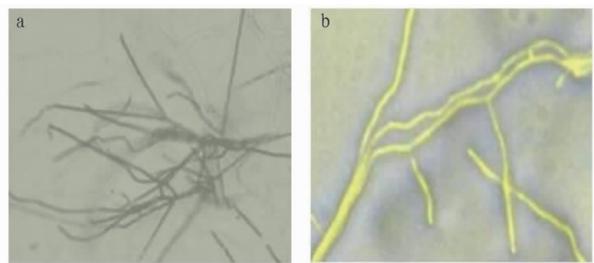
2.2.1 菌落特征。H33菌株菌落特征如图1所示,正面呈现出紫色,反面呈暗红色,菌落的表面褶皱,产生了一定量的水珠,生长状况良好。



图1 H33菌株菌落正面(a)和反面(b)特征

Fig. 1 The front side (a) and back side (b) characteristics of the H33 strain colony

2.2.2 显微特征。在光学显微镜下观察H33菌株的菌丝形态特征如图2所示,气生菌丝丰富,直径较粗、不断裂,颜色为紫灰色;孢子丝螺旋状、右旋;基内菌丝呈暗红色,质地坚韧、无隔膜。



注:a. 40×10倍镜;b. 100×10倍镜

Note:a. 40×10 times lens;b. 100×10 times lens

图2 H33菌株的气生菌丝形态特征

Fig. 2 The morphological characteristics of aerial hyphae of strain H33

2.2.3 生理生化特征。H33菌株的生理生化特征如表2所示,菌株不能使明胶液化,产纤维素酶,能使牛奶凝固和胨化,不产淀粉酶,能利用葡萄糖和蔗糖,不能利用果糖,试验显示H33菌株氮源不能利用丙氨酸和酪氨酸。

表2 H33菌株的生理生化特征

Table 2 Physiological and biochemical characteristics of H33 strain

序号 No.	试验项目 Test item	试验结果 Test result
1	明胶液化	-
2	纤维素水解	+
3	牛奶凝固和胨化	+
4	淀粉水解	-
5	葡萄糖	+
6	果糖	-
7	蔗糖	+
8	酪氨酸	-
9	丙氨酸	-

注:“-”表示阴性反应;“+”表示阳性反应

Note:“-” means negative reaction;“+” means positive reaction

根据菌株 H33 的菌落特征、显微特征、生理生化特征,参照阎逊初^[13]放线菌分类系统,初步鉴定菌株 H33 为链霉菌属(*Streptomyces*)。

2.3 发酵条件的研究

2.3.1 发酵培养基对菌株 H33 发酵液抑菌活性的影响。用 3 种不同发酵培养基对菌株 H33 进行发酵培养,结果发现(表 3),其发酵液对白假丝酵母的抑菌效果最好的是发酵培养基 2,抑菌率达到 40.50%。

表 3 不同培养基对菌株 H33 发酵液抑菌活性的影响

Table 3 The effect of different media on the antibacterial activity of the fermentation broth of strain H33

发酵培养基 Fermentation medium	菌落直径 Colony diameter//mm		对白假丝酵母的抑菌率 Antibacterial rate of <i>Candida albicans</i> //%
	对照 Control	处理 Treatment	
1	14.00	11.30	19.28
2	14.00	8.33	40.50
3	14.00	11.92	14.86

2.3.2 培养时间对菌株 H33 发酵液抑菌活性的影响。从表 4 可以看出,从发酵第 4 天开始至第 6 天,菌体慢慢地产生了一些次级代谢物,发酵液的抑菌活性在缓慢增加;到第 6 天后由于各类营养物质的缺乏和菌体自身代谢活性的降低,自身所产生的一些次级代谢产物也越来越少,发酵液的抗菌活性也随之变弱,所以最佳发酵时间为 6 d,其抑菌率达到 41.54%。

表 4 培养时间对菌株 H33 发酵液抑菌活性的影响

Table 4 The effect of culture time on the antibacterial activity of the fermentation broth of strain H33

培养时间 Culture time//d	菌落直径 Colony diameter//mm		对白假丝酵母的抑菌率 Antibacterial rate of <i>Candida albicans</i> //%
	对照 Control	处理 Treatment	
4	12.75	11.00	13.73
5	13.75	9.75	29.09
6	14.25	8.33	41.54
7	14.00	8.92	36.28
8	14.00	10.08	28.00

2.3.3 温度对菌株 H33 发酵液抑菌活性的影响。H33 菌株在不同温度下发酵,其发酵液对白假丝酵母的抑菌活性如表 5 所示,当发酵温度为 28 ℃ 时,其抑菌效果最好,抑菌率达到 44.07%。

表 5 温度对菌株 H33 发酵液抑菌活性的影响

Table 5 The effect of temperature on the antibacterial activity of the fermentation broth of strain H33

温度 Tempera- ture//℃	菌落直径 Colony diameter//mm		对白假丝酵母的抑菌率 Antibacterial rate of <i>Candida albicans</i> //%
	对照 Control	处理 Treatment	
24	14.75	11.83	19.80
28	14.00	7.83	44.07
32	14.50	11.92	17.80
36	15.00	13.42	10.53

2.3.4 pH 对菌株 H33 发酵液抑菌活性的影响。从表 6 可以看出,H33 菌株在不同的 pH 条件下发酵,其发酵液的活性受 pH 的影响,在 pH 大于 7.0 时,活性逐步降低。抑菌活性较好的是 pH 为 7.0 的发酵液,抑菌率达到 40.50%。

表 6 pH 对菌株 H33 发酵液抑菌活性的影响

Table 6 The effect of pH on the antibacterial activity of the fermentation broth of strain H33

pH	菌落直径 Colony diameter//mm		对白假丝酵母的抑菌率 Antibacterial rate of <i>Candida albicans</i> //%
	对照 Control	处理 Treatment	
5.0	14.50	13.00	10.34
6.0	14.25	11.10	22.10
7.0	14.00	8.33	40.50
8.0	14.50	11.92	17.79
9.0	14.50	12.33	14.97
10.0	15.25	13.25	13.11

3 讨论与结论

放线菌是一种具有应用前景的微生物资源,自然界分布广泛,数量众多,其中与人类关系密切的链霉菌属(*Streptomyces*)最为典型^[14]。马爱爱等^[15]从祁连山老虎沟不同海拔位点的根际土壤中分离纯化放线菌,并对具有抑菌作用的放线菌进行生理及系统发育多样性研究,其中链霉菌属为主要类群。

该研究从高黎贡山百花岭段土壤中分离纯化放线菌,并对分离到的放线菌进行抑菌试验,从中筛选具有抑菌作用的放线菌,菌株 H33 对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和白假丝酵母都具有较好的抑菌效果,抑菌直径都在 8 mm 以上,且对白假丝酵母的抑菌直径在 11 mm 以上。对 H33 菌株的菌落特征、显微特征和生理生化特征分析,可将 H33 菌株初步鉴定为链霉菌属放线菌。通过发酵条件研究菌株 H33 的最佳发酵培养基为发酵培养基 2(葡萄糖 0.5 g、蛋白胨 0.25 g、胰胨 0.15 g、NaCl 0.25 g、重铬酸钾 7.5 mg、复合维生素 10 g、水 500 mL,pH 7.2),最适发酵时间为 6 d,最适发酵初始 pH 为 7.0,最适培养温度为 28 ℃。

参考文献

- [1] 阮继生,黄英.放线菌快速鉴定与系统分类[M].北京:科学出版社,2011:1-6.
- [2] 苏涛,马宗琪,司美茹.鲁西南地区土壤放线菌的生态分布[J].山东农业科学,2006,38(2):57-60.
- [3] 阮继生.放线菌分类基础[M].北京:科学出版社,1977:2-3.
- [4] 谭悠久,彭祯,黄永春.土壤放线菌的选择性分离及其代谢产物抗菌活性评价[J].植物保护,2011,37(1):120-123.
- [5] 王东胜.秦岭主峰太白山北坡 5 种生境中微生物区系及拮抗放线菌资源研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2014.
- [6] 张锦恬.秦岭地区土壤放线菌分离及抑菌活性筛选[D].杨凌:西北农林科技大学,2009.
- [7] 范延辉,王君,王进宾.黄河三角洲贝壳堤放线菌多样性及抑菌活性[J].土壤通报,2016,47(5):1142-1147.
- [8] 詹伟.金钊石斛根际土壤细菌和放线菌分离及抑菌活性研究[D].贵阳:贵州师范大学,2016.
- [9] 李阳,李健强,宋素琴,等.高放射土壤中拮抗放线菌菌株的筛选及鉴定[J].新疆农业科学,2017,54(1):132-139.
- [10] 徐丽华,李文均,刘志恒.放线菌系统学:原理、方法及实践[M].北京:科学出版社,2007.

障能力,筑牢优质粮仓。从源头上杜绝耕地污染,引导农民综合采取秸秆还田、深松整地、减少化肥农药用量、施用有机肥等措施,提升耕地地力。定期开展耕地数量、质量和生态变化动态监管,推进耕地“三位一体”保护。优化农业生产布局,建立完善粮食生产功能区和重要农产品生产保护区,保障粮食安全和农产品供给的特色种植。依托国土空间基础信息平台、国土空间规划“一张图”和自然资源执法综合监管平台严格履行耕地保护责任,压实耕地保护监管责任,加强耕地保护信息化建设,对耕地进行全程在线监督管理。

4.4 开展休耕轮作,保障生态安全 耕地休耕轮作制度是国家落实“藏粮于地,藏粮于技”、促进农业绿色可持续发展的重要举措,根本目标是恢复地力、提升耕地质量、促进耕地生态健康和可持续利用^[17]。2019年新疆重点在塔里木河流域地下水超采区开展轮作休耕试点工作,将耗水量大、靠抽取地下水灌溉的冬小麦休耕,有效遏制地下水超采势头,满足胡杨林正常生长发育的需求。2021年中央一号文件再次提出,坚决守住18亿亩耕地红线,加快推进农业现代化,推进农业绿色发展,健全耕地休耕轮作制度。应对现行新疆地下水超采及水资源压力,在保障人民生活、做好适当补助的前提下,结合现状耕地情况,准确把握耕地轮作休耕制度试点的总体要求,转变农业发展方式,合理安排耕地休耕轮作任务。

参考文献

[1] 建立国土空间规划体系并监督实施《若干意见》发布会[EB/OL].

(上接第64页)

5个驱动因子,识别出城市化以及工业和矿山开发是巢湖流域近10年最为主要的生态系统类型变化的驱动因素,为巢湖流域的生态保护修复与可持续发展提供最新的数据支撑。下一步将根据各类入湖河流流域的典型特征,结合实测数据,开展小流域生态系统(或土地覆被)类型变化的生态环境效应研究。

参考文献

- [1] 安徽省巢湖管理局. 巢湖概况[EB/OL]. (2021-01-18)[2022-01-07]. <http://chglj.hefei.gov.cn/chwh/18009115.html>.
- [2] 马赫,石龙宇,付晓. 泸沽湖生态系统格局变化及其驱动力[J]. 生态学报,2019,39(10):3507-3516.
- [3] 欧阳志云. 我国生态系统面临的问题与对策[J]. 中国国情国力,2017(3):6-10.
- [4] 安徽省水利水电勘测设计研究院,合肥市规划设计研究院,安徽省环境科学研究院. 巢湖综合治理绿色发展总体规划[R]. 合肥,2018.9.
- [5] 合肥市人民政府. 巢湖流域山水林田湖草沙一体化保护和修复工程项目实施方案[R]. 2021.

(上接第67页)

- [11] 徐方继,李桂鼎,李沁元,等. 怒江大峡谷怒江州段土壤放线菌多样性[J]. 微生物学通报,2018,45(2):250-265.
- [12] 方羽生,杨卫华,张洪玲,等. 放线菌对4种病原真菌的拮抗作用初探[J]. 广东农业科学,2001,28(5):39-41.

(2019-05-27)[2021-03-14]. http://www.gov.cn/xinwen/2019-05/27/content_5395215.htm.

- [2] 庄少勤. 新时代的空间规划逻辑[J]. 中国土地,2019(1):4-8.
- [3] 陈磊,姜海. 国土空间规划:发展历程、治理现状与管制策略[J]. 中国农业资源与区划,2021,42(2):61-68.
- [4] 本刊综合. 耕地保护与粮食安全——中央一号文件中的关键词和硬举措[J]. 中国农业综合开发,2021(3):12-16.
- [5] 白世强. 在国土空间规划编制和实施中加强耕地保护[J]. 资源导刊,2020(7):20-21.
- [6] 刘新卫,赵崔莉. 改革开放以来中国耕地保护政策演变[J]. 中国国土资源经济,2009,22(3):11-13.
- [7] LIU X W,ZHAO C L,SONG W. Review of the evolution of cultivated land protection policies in the period following China's reform and liberalization[J]. Land use policy,2017,67:660-669.
- [8] 王文旭,曹银贵,苏锐清,等. 我国耕地保护政策研究:基于背景、效果与未来趋势[J]. 中国农业资源与区划,2020,41(10):40-51.
- [9] 刘丹,巩前文,杨文杰. 改革开放40年来中国耕地保护政策演变及优化路径[J]. 中国农村经济,2018(12):37-51.
- [10] 赵振勇,乔木,吴世新,等. 新疆耕地资源安全问题及保护策略[J]. 干旱区地理,2010,33(6):1019-1025.
- [11] 杨志莹,刘新平,单娜娜,等. 新疆耕地保护机制现状与对策研究[J]. 农业与技术,2015,35(20):68-70.
- [12] 袁晓妮,鲁春阳,吕开云,等. 我国耕地非农业化研究进展及展望[J]. 中国农业资源与区划,2019,40(1):128-133.
- [13] 杜娟. 中美贸易争端对中国农业的影响及启示[J]. 西北农林科技大学学报(社会科学版),2019,19(3):152-160.
- [14] 冯锋,战勇,田志喜. 新疆地区发展大豆生产的可行性和初步建议[J]. 植物学报,2020,55(2):199-204.
- [15] 严金明,赵哲,夏方舟. 后疫情时代中国“自然资源安全之治”的战略思考[J]. 中国土地科学,2020,34(7):1-8.
- [16] 郑旭媛,徐志刚,应瑞瑶. 城市化与结构调整背景下的中国粮食生产变迁与区域异质性[J]. 中国软科学,2014(11):71-86.
- [17] 苏康传,杨庆媛,张忠训,等. 中国耕地差异化休耕模式及技术措施探讨[J]. 农业工程学报,2020,36(9):283-291.

- [6] 安徽省生态环境厅. 2020年安徽省生态环境状况公报[R]. 2021.
- [7] 李忠锋,王一谋,冯毓荪,等. 基于RS与GIS的榆林地区土地利用变化分析[J]. 水土保持学报,2003,17(2):97-99,140.
- [8] 王思远,张增祥,周全斌,等. 近10年中国土地利用格局及其演变[J]. 地理学报,2002,57(5):523-530.
- [9] 刘弘远,张增祥,庄大方,等. 20世纪90年代中国土地利用变化时空特征及其成因分析[J]. 地理研究,2003,22(1):1-12.
- [10] 王思远,刘弘远,张增祥,等. 中国土地利用时空特征分析[J]. 地理学报,2001,56(6):631-639.
- [11] 张永民,赵士洞. 科尔沁沙地及其周围地区土地利用的时空动态变化研究[J]. 应用生态学报,2004,15(3):429-435.
- [12] 牛星,欧名豪. 扬州市土地利用变化的驱动力机制研究[J]. 中国人口·资源与环境,2007,17(1):102-108.
- [13] 郭斌,陈佑启,姚艳敏,等. 土地利用与土地覆被变化驱动力研究综述[J]. 中国农学通报,2008,24(4):408-414.
- [14] 吴晓蕾,唐志尧,崔海亭,等. 北京地区不同地形条件下的土地覆盖动态[J]. 植物生态学报,2006,30(2):239-251.
- [15] 史娜娜,肖能文,王琦,等. 长江经济带生态系统格局特征及其驱动力分析[J]. 环境科学研究,2019,32(11):1779-1789.
- [16] 孔令桥,张路,郑华,等. 长江流域生态系统格局演变及驱动力[J]. 生态学报,2018,38(3):741-749.

- [13] 阎逊初. 放线菌的分类和鉴定[M]. 北京:科学出版社,1992.
- [14] 郑丹,李鹤鸣,韩力. 土壤放线菌资源及其应用[J]. 绿色科技,2021,23(2):183-187,193.
- [15] 马爱爱,徐世健,敏玉霞,等. 祁连山高山植物根际土壤放线菌生物多样性[J]. 生态学报,2014,34(11):2916-2928.