



图2 表面活性剂的浓度与表面张力的关系

2.3 影响生物表面活性剂稳定性的因素

2.3.1 表面活性剂在不同温度下的稳定性 将 100 mg/L 表面活性剂溶液分别加热到不同温度并保持 2 h, 室温时各溶液表面张力的测定结果如表 1 所示。由表 1 可知, 20 ~ 70 °C 之间, 表面活性剂溶液的表面张力随温度的变化不大, 基本保持在 36.2 ~ 37.2 mN/m 之间; 当温度超过 70 °C 以后, 表面张力有较大提高。说明菌株 BS-8 在 20 ~ 70 °C 具有良好的热稳定性。

表 1 不同温度下菌株 BS-8 产生的表面活性剂的稳定性

温度(°C)	表面张力(mN/m)
20	36.8
30	36.2
40	36.6
50	36.9
60	36.8
70	37.2
80	38.6
90	39.8
100	40.7

2.3.2 表面活性剂在不同 pH 值下的稳定性 100 mg/L 表面活性剂溶液在不同 pH 值下保持 2 h, 各溶液表面张力的测定结果如表 2 所示。由表 2 可知, pH 值在 4 ~ 9 之间时, 菌株产生的表面活性剂表面张力随 pH 值的变化不太明显, 基本稳定在 36.5 ~ 37.5 mN/m; 而当 pH 值 < 4 或 pH 值 > 9 时, 表面张力增加, 强酸强碱影响表面活性剂的活性。但总的来说, 菌株 BS-8 产生的表面活性剂有较宽的酸碱范围。

表 2 pH 值对菌株 BS-8 产生的表面活性剂的稳定性的影响

pH 值	表面张力(mN/m)
3	38.3
4	36.9
5	36.6
6	36.8
7	36.9
8	36.8
9	37.2
10	38.3
11	39.8

2.3.3 表面活性剂在不同 NaCl 浓度下的稳定性 将 NaCl 添加到含 100 mg/L 表面活性剂溶液中, 使其成为一系列 NaCl 浓度梯度的溶液, 保持 2 h, 测定各溶液的表面张力, 结

果如表 3 所示。表 3 表明, 表面活性剂溶液的 NaCl 浓度在 1% ~ 6% 之间, 溶液表面张力的变化随盐度的变化很小, 表面张力基本稳定在 36.5 ~ 37.2 mN/m 范围内, 说明菌株 BS-8 产生的生物表面活性剂在 NaCl 浓度为 1% ~ 6% 之间有较强的耐盐性; 当 NaCl 浓度 > 6% 时, 表面张力增幅较大。

表 3 不同盐度下菌株 BS-8 产生的表面活性剂的稳定性

NaCl 浓度 (%)	表面张力(mN/m)
1	36.6
2	36.8
3	36.7
4	36.9
5	36.8
6	37.2
7	38.2
8	38.8
9	40.2

3 结论

菌株 BS-8 的表面活性剂产生方式为生长相关型, 在培养 6 ~ 30 h 时, 随菌体数量的迅速增加, 表面张力从 63.2 mN/m 快速下降为 39.4 mN/m; 之后, 菌体密度缓慢增长, 表面张力持续下降但降速减慢。以葡萄糖为碳源培养菌株 BS-8, 培养液中含脂肽、脂蛋白类表面活性剂, 从培养液中分离、纯化得到表面活性剂的产量为 0.58 g/L, 表面活性剂的 CMC 为 90 mg/L。表面活性剂在 pH 值 4 ~ 9、温度 20 ~ 70 °C、NaCl 浓度 1% ~ 6% 的范围内具有较强的稳定性。

参考文献:

- [1] Benincasa M, Contiero J, Manresa M A, et al. Rhamnolipid production by *Pseudomonas aeruginosa* LBI growing on soapstock as the sole carbon source[J]. Journal of Food Engineering, 2002, 54(4): 283-288.
- [2] Kim H S, Jeon J W, Kim B H, et al. Extracellular production of a glycolipid biosurfactant, mannosylerythritol lipid, by *Candida* sp. SY16 using fed-batch fermentation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2006, 70(4): 391-396.
- [3] Lu J R, Zhao X B, Yaseen M. Biomimetic amphiphiles: biosurfactants[J]. Current Opinion in Colloid and Interface Science, 2007, 12: 60-67.
- [4] Meagher R B. Phytoremediation of toxic elemental and organic pollutants[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2000, 3(2): 153-162.
- [5] 夏铁骑, 常慧萍, 张建清. 产生物表面活性剂石油降解菌的筛选及高效降解菌群的构建[J]. 农业灾害研究, 2013, 3(6): 49-51.
- [6] 曹娟, 徐志辉, 李凌之, 等. 产生物表面活性剂的石油降解菌 *Acinetobacter* BHSN 的研究[J]. 生态与农村环境学报, 2009, 25(1): 73-78.
- [7] 冷凯良, 楚晓珉, 张辉珍, 等. 微生物对石油烃降解代谢产物的分析方法研究[J]. 海洋水产研究, 2001, 22(2): 57-61.
- [8] 董晓燕. 生物化学实验[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 46-47.
- [9] Bordoloi N K, Konwar B K. Microbial surfactant-enhanced mineral oil recovery under laboratory conditions[J]. Colloids and Surfaces B - Biointerfaces, 2008, 63(1): 73-82.
- [10] 郑新伟. 一株生物表面活性剂产生菌的分离及其产物性质的研究[D]. 西安: 西北大学, 2011: 31.

郭成瑾,张丽荣,沈瑞清. 土壤消毒对马铃薯连作田土壤微生物数量的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(10):367-369.

土壤消毒对马铃薯连作田土壤微生物数量的影响

郭成瑾,张丽荣,沈瑞清

(宁夏农林科学院植物保护研究所/宁夏植物病虫害防治重点实验室,宁夏银川 750002)

摘要:利用高温和药剂处理马铃薯连作土壤后种植薯块,采用稀释平板法研究土壤消毒对马铃薯生育期可培养土壤微生物数量的影响。结果表明,各处理马铃薯根际真菌数量随马铃薯生长发育呈上升趋势,细菌数量、放线菌数量随马铃薯生长发育呈先上升后下降趋势;高温处理和正茬处理的细菌数量相对重茬对照变化显著,放线菌数量变化不显著;药剂处理细菌数量、放线菌数量变化幅度平缓;高温处理、正茬土壤、药剂处理土壤真菌数量低于重茬对照。

关键词:马铃薯;连作;土壤微生物;土壤消毒;根际真菌;根际细菌;根际放线菌;播前深耕晒土;覆盖高温闷土

中图分类号: S435.32;S472;S154.36 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)10-0367-02

马铃薯是世界四大粮食作物之一,我国马铃薯种植面积已达 520 万 hm^2 ,占世界的 25%,总产量为 8 000 多万 t,分别占世界和亚洲的 19%、70%,是世界上马铃薯生产第一大国。马铃薯产业是宁夏农业五大战略性主导产业和 13 个优势特色产业之一。据统计,2013 年宁夏马铃薯种植面积达到了 23.5 万 hm^2 ,平均产量达 20 250 kg/hm^2 ,马铃薯产业的综合产值超过 20 亿元。然而随着宁夏马铃薯种植面积的不断扩大,马铃薯轮作倒茬年限逐渐缩短,致使诸多病害的发生逐年加重,从而导致马铃薯产量和产品商品率逐年下降,影响了马铃薯产业发展。马铃薯连作种植导致土壤中病原菌逐年积累,病害严重发生。通过多种方法对土壤进行消毒处理是防治作物病害的主要方法之一。以往研究通过采用化学、物理方法对黄瓜^[1]、西洋参^[2]、马铃薯^[3]、辣椒^[4]、棉花^[5]、烟草^[6]、

葡萄^[7]连作土壤进行灭菌处理,研究其对作物生长及土壤微生物的影响,从而探讨连作障碍发生机理及生产上的应用。本研究通过对马铃薯连作土壤进行消毒处理后种植薯块,研究土壤消毒对马铃薯土壤微生物数量的影响,探讨不同处理方式下土壤微生物菌群数量变化规律,提出防治马铃薯病害措施,以期克服连作障碍提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自连续种植马铃薯超过 3 茬的连作土壤及前茬为两季小麦的正茬土壤,取自宁夏同心县下马关镇,土壤基本理化性状见表 1。

供试马铃薯品种为庄薯 3 号。

表 1 供试土壤理化性状

土壤类型	pH 值	全盐 (g/kg)	有机质 (g/kg)	全氮 (g/kg)	全磷 (g/kg)	全钾 (g/kg)	速效氮 (mg/kg)	速效磷 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)
正茬	8.01	0.74	5.72	0.46	0.49	18.1	48	6.8	150
重茬	8.17	0.54	5.88	0.50	0.46	18.5	43	12.6	135

1.2 试验设计

采用马铃薯盆栽方法,设 4 个处理,分别为处理 1:连作土壤高温干热灭菌处理,160 $^{\circ}\text{C}$ 灭菌 2 h,冷却后在室温下放置 1 d,按照前述方法再灭菌 1 次;处理 2:连作土壤药剂处理,每 100 kg 细土加 0.5 kg 五氯硝基苯(山西运城绿康实业有限公司);处理 3:正茬马铃薯土壤,前茬为两季小麦;CK,对照,连作 3 年马铃薯土壤。播前将带菌马铃薯切块,每块质量约 30 g,每盆种植 1 块,每个处理重复 3 次。所有处理均在播种时施入

底肥(尿素与磷酸二铵质量比为 2:1),整个生育期喷施叶面肥 3 次。

1.3 土壤微生物数量测定

采用稀释平板法^[8]测定土壤中真菌、细菌、放线菌数量。真菌用马丁氏孟加拉红培养基,细菌用牛肉膏蛋白胨培养基,放线菌用改良高氏 1 号培养基,结果以 1 g 鲜土所含微生物菌落形成单位数量(CFU/g)表示。分别于马铃薯苗期(播后 28 d)、成株期(播后 58 d)、盛花期(播后 90 d)、收获期(播后 118 d)取根际土壤,测定微生物种类及数量。

1.4 数据分析

采用 Excel 软件统计数据与作图,采用 DPS 软件对数据进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 土壤消毒对马铃薯根际真菌数量的影响

由表 2 可知,随着马铃薯生长发育,4 个处理马铃薯根际真菌数量都有上升趋势。从苗期开始马铃薯根际土壤真菌数

收稿日期:2014-04-26

基金项目:宁夏自然科学基金(编号:NZ12239);宁夏农林科学院自主研发项目。

作者简介:郭成瑾(1978—),女,陕西宝鸡人,硕士,助理研究员,主要从事马铃薯病虫害防治研究。Tel:(0951)6882370;E-mail:chj.guo@163.com。

通信作者:沈瑞清,博士,研究员,主要从事农作物病虫害防治研究。Tel:(0951)6886819;E-mail:srqzh@sina.com。

量逐渐增加,在收获期均达到最高值。其中,重茬对照土壤真菌数量增长最快,其他 3 个处理收获期土壤真菌数量均比重茬

对照低,高温处理、药剂处理、正茬处理分别比重茬对照减少了 13.00%、28.63%、44.68%。

表 2 土壤消毒对马铃薯根际真菌数量的影响

处理	真菌数量(CFU/g)			
	苗期	成株期	盛花期	收获期
高温处理	77.55 ± 67.16Bb	265.15 ± 65.61Cc	3 554.42 ± 162.88Bb	12 332.09 ± 973.81ABab
药剂处理	157.08 ± 68.02Bb	451.98 ± 112.99Cc	1 341.82 ± 125.63Dd	10 117.18 ± 362.21ABbc
正茬	288.55 ± 71.40Bb	1 254.90 ± 179.71Bb	2 294.71 ± 476.30Cc	7 841.79 ± 1 575.53Bc
重茬对照	817.23 ± 202.21Aa	1 985.02 ± 171.63Aa	4 291.77 ± 60.93Aa	14 175.55 ± 2 566.64Aa

注:同列数据后不同大写、小写字母分别表示在 0.01、0.05 水平上差异显著。下同。

2.2 土壤消毒对马铃薯根际细菌数量的影响

由表 3 可知,随着马铃薯生长发育,4 个处理马铃薯根际土壤细菌数量均呈先上升、后下降的趋势。从苗期开始马铃薯根际土壤细菌数量逐渐增加,均在盛花期达到最高值。其中正茬土壤细菌数量增长最快,盛花期正茬土壤细菌数量比重茬对照增加了 76.43%,高温处理比重茬对照增加了 54.88%,而土

壤药剂处理比重茬对照减少了 22.00%。收获期 4 个处理土壤细菌数量均有下降,正茬土壤细菌数量仍比重茬对照增加了 60.76%,而高温处理和药剂处理土壤细菌数量分别比重茬对照减少了 4.70%、56.46%。总体来看,在整个马铃薯生育期,与重茬对照相比,高温处理和正茬土壤处理细菌数量变化幅度明显,药剂处理变化幅度平缓。

表 3 土壤消毒对马铃薯根际细菌数量的影响

处理	细菌数量(万 CFU/g)			
	苗期	成株期	盛花期	收获期
高温处理	197.74 ± 23.26Aa	242.42 ± 36.53ABbc	828.18 ± 37.45Ab	363.33 ± 61.41Bb
药剂处理	239.54 ± 29.65Aa	350.28 ± 144.26Aab	417.05 ± 65.58Bd	165.98 ± 31.37Cc
正茬	123.66 ± 24.73Bb	450.98 ± 105.45Aa	943.38 ± 33.38Aa	612.88 ± 28.74Aa
重茬对照	66.16 ± 13.48Bc	108.61 ± 12.97Bc	534.71 ± 16.21Bc	381.25 ± 59.12Bb

2.3 土壤消毒对马铃薯根际放线菌数量的影响

由表 4 可知,随着马铃薯生长发育,4 个处理土壤放线菌数量均呈先急速上升、后平缓下降趋势。从苗期开始,马铃薯根际土壤放线菌数量逐渐增加,在成株期达到最高值,之后放线菌数量逐渐下降。成株期时,正茬土壤放线菌数量增长最快,比重茬对照增加了 47.54%;高温处理比重茬对照增加了 8.00%;药剂处理增长缓慢,比对照减少了 68.00%。盛花期

后,4 个处理土壤放线菌数量均下降,其中高温处理土壤放线菌减少缓慢,仍比重茬对照增加 6.81%,而正茬处理和药剂处理土壤放线菌数量减少较快,分别比重茬对照减少了 23.08%、85.27%。总体来看,在整个马铃薯生育期,与对照重茬土壤相比,高温处理和正茬处理放线菌数量变化幅度明显,药剂处理变化幅度平缓。

表 4 土壤消毒对马铃薯根际放线菌数量的影响

处理	放线菌数量(CFU/g)			
	苗期	成株期	盛花期	收获期
高温处理	1 938.66 ± 671.57Aab	17 803.03 ± 7 305.80ABa	13 151.35 ± 1 628.84Aa	5 938.97 ± 1 210.19Aa
药剂处理	1 178.06 ± 1 178.06Ab	5 273.07 ± 652.37Bb	1 813.27 ± 628.14Bc	790.40 ± 684.51Bb
正茬	3 709.89 ± 1 236.63Aa	24 313.73 ± 2 449.02Aa	9 470.21 ± 630.88Ab	1 522.68 ± 659.34Bb
重茬对照	3 502.42 ± 1 167.47Aa	16 479.40 ± 3 945.94ABa	12 312.45 ± 1 218.62Aa	1 386.36 ± 600.31Bb

3 结论与讨论

本研究表明,土壤消毒对马铃薯连作田土壤微生物数量变化有显著影响。马铃薯根际真菌数量随马铃薯生长发育呈上升趋势,细菌数量、放线菌数量随马铃薯生长发育呈先上升后下降趋势。高温处理和正茬土壤的细菌数量相对重茬对照变化幅度显著,药剂处理细菌数量变化幅度平缓;高温处理和正茬土壤的放线菌数量相对重茬对照变化幅度不显著,药剂处理放线菌总体数量较小;高温处理、正茬土壤、药剂处理土壤真菌数量低于重茬对照。

张树生等^[1]、Marschner 等^[9]研究表明,土壤灭菌后种植小麦、黄瓜,土壤微生物群落结构会在很短时间内迅速恢复。本

研究中,高温处理马铃薯连作土壤后,细菌、放线菌数量在成株期到盛花期之间迅速增加,并且高于重茬土壤,真菌数量在马铃薯整个生育期呈上升趋势,表明高温处理土壤后马铃薯根际土壤微生物种群数量在马铃薯生长期能迅速增长。

马铃薯为茄科植物,忌连作,种植一季后合理轮作可有效减少病虫害发生。但目前在宁夏地区,由于产业结构调整,马铃薯连作现象日益加重,轮作种植模式被打破,病害发生日益严重。本研究中,虽然高温处理与正茬土壤在细菌数量存在显著差异,但从整个马铃薯生育期来看,相对于药剂处理和重茬对照,高温处理与正茬土壤马铃薯根际土壤微生物种群数量接近,且变化趋势相同。因此在无法实施轮作措施的情况下,高温处理土壤可作为防治马铃薯病害的重要措施之一。在防治