

# 一株淡紫紫孢菌对聚乙烯地膜降解能力的研究

王蕾<sup>1,2,3</sup>, 惠向娟<sup>1,2,3</sup>, 支慧<sup>1,2,3</sup>, 上官周平<sup>3</sup>, 李玮<sup>1,2,3</sup>

(1. 青海大学农林科学院, 青海 西宁 810016; 2. 农业农村部西宁作物有害生物科学观测实验站, 青海 西宁 810016;

3. 青海省农业有害生物综合治理重点实验室, 青海 西宁 810016)

**摘要:**为得到能够高效降解聚乙烯地膜的菌种资源,以青海大学农林科学院植保所提供的一株有降解聚乙烯潜力的菌株 M2 为研究对象,探究其对不同颜色(白色透明、黑色)聚乙烯地膜的降解能力。经形态学观察和 ITS 测序,确定菌株 M2 属于淡紫紫孢菌(*Purpureocillium lilacinum*)。以不接菌为对照,在 30℃、150 r·min<sup>-1</sup> 摇床培养条件下,分别于培养 30、60 d 各取样一次,利用高分辨场发射扫描电子显微镜、水接触仪和傅里叶变换红外光谱仪分析该菌株对不同颜色聚乙烯地膜的降解效果。扫描电镜观察发现,经过 30 d 的降解,两种地膜均出现微小的破碎现象;经过 60 d 的降解,两种地膜都出现明显的孔洞,表面粗糙度显著增加,黑色地膜被降解的程度更高。通过测定地膜失重率发现,M2 对白色透明地膜降解率为 7.27%,对黑色地膜的降解率可达 8.45%;降解 30 d 后,黑色地膜疏水性较白色透明地膜显著降低 5.51%,降解 60 d 后,黑色地膜疏水性较白色透明地膜显著降低 21.35%。经傅里叶变换红外光谱仪分析,M2 向白色透明膜片稳定的化学结构中引入醚键,黑色膜片则被引入羟基和醚键,黑色膜片的吸收峰强度大于白色地膜。研究初步认定,菌株 M2 对黑色聚乙烯地膜有较好的降解能力。

**关键词:**淡紫紫孢菌;聚乙烯地膜;降解能力;地膜颜色

**中图分类号:**S432.4<sup>+</sup>2;Q949.32 **文献标志码:**A

## Degradation effects of a strain of purple violet spore on polyethylene film

WANG Lei<sup>1,2,3</sup>, HUI Xiangjuan<sup>1,2,3</sup>, ZHI Hui<sup>1,2,3</sup>, SHANGGUAN Zhouping<sup>3</sup>, LI Wei<sup>1,2,3</sup>

(1. Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Qinghai University, Xining, Qinghai 810016, China;

2. Xining Experimental Station for Scientific Observation of Crop Pests, Ministry of Agriculture and

Rural Affairs, Xining, Qinghai 810016, China; 3. Key Laboratory for Comprehensive Control of

Agricultural Pests in Qinghai Province, Xining, Qinghai 810016, China)

**Abstract:** To obtain strain resources that could efficiently degrade polyethylene mulch, a strain M2 with the potential to degrade polyethylene provided by Plant Protection Institute of Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Qinghai University was used as the research object to explore its ability to degrade different colors (white transparent, black) of polyethylene film. The strain M2 was identified as *Purpureocillium lilacinum* by morphological observation and ITS sequencing. Under the condition of 30℃, 150 r·min<sup>-1</sup> shaking culture, 30 d and 60 d sampling once respectively. The degradation effects of the strain on different color polyethylene film were analyzed by high resolution field emission scanning electron microscope, water contact instrument and Fourier transform infrared spectrometer. Scanning electron microscopy showed that after 30 days of degradation, both films showed slight fragmentation. After 60 days of degradation, both films showed obvious holes, the surface roughness increased significantly, and the black film was degraded more obviously. By measuring the weight loss rate of the film, the degradation rate of M2 on white transparent film reached 7.27%, and the degradation rate of black film reached 8.45%, in-

dicating that the degradation ability of M2 to black film was greater than that of white transparent film. After 30 days of degradation, the hydrophobicity of black film was significantly lower than that of white transparent film by 5.51%. After 60 days of degradation, the hydrophobicity of black film was significantly lower than that of white transparent film by 21.35%. In addition, the surface hydrophobicity of both mulches decreased to varying degrees, and the hydrophobicity of black film was significantly reduced. Fourier transform infrared spectrometer analysis showed that M2 introduced ether bonds into the stable chemical structure of white transparent film, while black film was introduced by hydroxyl groups and ether bonds. The absorption peak intensity of black film was greater than that of white film. It was preliminarily determined that strain M2 had good degradation effects on black polyethylene film.

**Keyword:** *purpureocillium lilacinum*; polyethylene film; degradation ability; film color

我国于 20 世纪 70 年代引进农田地膜覆盖技术,该技术已经普遍用于农作物栽培,特别是在北方干旱地区获得广泛应用。近年来,随着粮、棉、油料等作物产量的增加,农用地膜使用量也在年年攀升。地膜覆盖面积从 1982 年的 7 804 hm<sup>2</sup> 增加到 2015 年的 1 834 万 hm<sup>2</sup>。预计到 2024 年,我国农用地膜使用量将达到 200 万 t,覆盖土地面积将达到 2 211 万 hm<sup>2</sup><sup>[1]</sup>。研究表明我国西北地区地膜残留量最多,尤其是在新疆、甘肃,平均地膜残留量分别高达 259.1 kg · hm<sup>-2</sup> 和 136.7 kg · hm<sup>-2</sup><sup>[2]</sup>。监测数据显示,新疆喀什地区农田废弃地膜残留量约 65.7 ~ 236.7 kg · hm<sup>-2</sup>,个别地块的最高残留量达 519.3 kg · hm<sup>-2</sup>,是全国平均水平的 3~5 倍<sup>[3]</sup>。青海省地膜使用的历史较东、中部省区要短,据青海省农牧厅统计,截止 2018 年青海省全膜双垄技术推广达到 1.1 万 hm<sup>2</sup>,主要应用于马铃薯、白菜和辣椒等作物<sup>[4-5]</sup>。不同颜色地膜覆盖透光性不同,对土壤保温性和保水性不同,对作物产量的影响也不同<sup>[6]</sup>。青海属于高海拔地区,紫外线强烈,生产中多使用白色透明地膜。黑色与白色透明双色地膜覆盖技术有维持土壤温度、抑制膜下杂草生长等优点,该技术的投入生产和使用使土壤中地膜残留种类增加,更加难以回收与降解<sup>[7]</sup>。目前实际农业生产中仍以聚乙烯或聚氯乙烯为原料的塑料薄膜应用更加广泛,此类薄膜成分为高分子化合物,分子结构稳定,在自然界中很难被光和热降解;加之地膜越来越薄且容易破碎,导致回收工作难度大大增加。随着地膜使用年限的延长,残留在土壤中的地膜得不到及时回收,残膜量不断累积,造成土壤肥力下降,影响农作物根系生长发育;此外,残膜经过耕作、风力、生物等作用降解形成微塑料颗粒<sup>[8-12]</sup>,对农田土壤环境造成严重污染,不利于农业可持续发展。

近年来,生物降解地膜逐渐开始在实际生产中应用推广,这类地膜一定程度上减轻了聚乙烯地膜

对农田的危害,但其存在成本高、降解过程复杂等缺点,且对土壤生态系统的长期影响具有不确定性<sup>[3]</sup>。目前发现可降解聚乙烯材料的微生物主要为细菌和真菌类,其中真菌以霉菌为主,多为曲霉属真菌。李夏等<sup>[13]</sup>发现桔青霉(*Penicillium citrinum*)有降解低分子量和高分子量聚乙烯粉末的作用,能快速降解侵蚀传统聚乙烯地膜和聚酯类生物降解地膜。Khan 等<sup>[14]</sup>从土壤中分离出一株土曲霉(*Aspergillus tubingensis*),发现其可在聚酯类薄膜上生长并能够降解该类薄膜。Yoshida 等<sup>[15]</sup>从暴露于 PET 的天然微生物群落中分离出一株尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum*),发现其能降解 PET 材料。Das 等<sup>[16]</sup>从固体土壤中分离出的 2 株解淀粉芽孢杆菌(*Bacillus amyloliquefaciens*) BSM-1 和 BSM-2 均能在短时间内降解线性低密度聚乙烯薄膜。

要解决青海省地膜残留问题,最重要的就是筛选分离能高效降解聚乙烯材料的菌种资源。本研究将前期筛选到的一株有降解聚乙烯材料潜力的真菌 M2 进行鉴定,通过测定地膜失重率,观察膜片表面微观特征、表面粗糙度、表面疏水性和表面官能团等变化情况,分析 M2 对聚乙烯地膜的降解能力,以期微生物降解聚乙烯地膜提供菌种资源。

1 材料与方法

1.1 试验材料、仪器与试剂

供试材料:地膜样品为分子量 2 000 的白色透明聚乙烯地膜、黑色聚乙烯地膜;供试菌株 M2 由青海大学农林科学院植物保护研究所提供。

供试仪器:SQ510C 高压蒸汽灭菌锅(日本 YAMATO 公司),ZHPW-70 恒温培养摇床(天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司),GTOP-1000D 恒温培养箱(浙江托普仪器有限公司),MIRA LMS 扫描电子显微镜(捷克 TESCAN 公司),SC7620 溅射镀膜仪(英国 Quorum 公司),Dimension Icon 原子力显

显微镜(德国 Bruker 公司), Nicolet iS20 傅里叶变换红外光谱仪(美国 Thermo Scientific 公司), JY-82 水接触角仪(承德鼎盛试验机检测设备有限公司)。

基础无机盐液体培养基( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ): 硫酸铵 0.4 g, 硝酸铵 1.2 g, 磷酸二氢钾 0.5 g, 磷酸氢二钾 1.5 g, 硫酸镁 0.5 g, 氯化钠 0.5 g, 酵母提取物 0.05 g, 调节 pH 为 7.0~7.2。改良马丁培养基( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ): 酵母浸出粉 2.0 g, 葡萄糖 20.0 g, 蛋白胨 5.0 g, 磷酸氢二钾 1.0 g, 硫酸镁 0.5 g, 调节 pH 为 6.4~6.6。以上培养基均在 121℃ 条件下灭菌 30 min。

## 1.2 测定项目与方法

1.2.1 降解菌株鉴定 形态鉴定: 将目的菌株 M2 接种在改良马丁固体培养基平板上培养 3~5 d, 观察菌株的形态特征并拍照, 在载玻片上滴 1 滴无菌水, 挑取生长期为 5 d 的目的菌株部分菌丝均匀涂抹于无菌水滴中, 光学显微镜下观察菌株的菌体形态、菌丝以及菌株的生长状态并拍照。分子鉴定: 选择 Ezup 柱式真菌基因组 DNA 抽提试剂盒(生工生物工程股份有限公司), 以目的菌株 M2 的基因组 DNA 作为模板, 选择真菌鉴定引物 ITS1 (5'-TCCG-TAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTC-CGCTTATTGATATGC-3') 进行 PCR 扩增<sup>[18]</sup>。PCR 反应条件为: 94℃ 4 min; 94℃ 45 s, 55℃ 45 s, 72℃ 1 min, 30 个循环; 72℃ 延伸 10 min。将 PCR 产物进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳。回收纯化后由上海生工生物公司完成测序, 获取序列后, 登录 NCBI 网站选择 Blast 窗口, 输入获得的基因序列进行同源性序列比对, 用 MEGA 7.0 软件构建系统发育树。

1.2.2 供试样品处理 将白色透明地膜与黑色地膜裁剪为 5 cm×5 cm 大小膜片, 依次在灭菌的 3% KCl 溶液、75 % 酒精中振荡浸泡 30 min 和 15 min, 期间用无菌水冲洗 3 次, 最后置于超净台中用紫外灯照射 1 h, 自然风干后备用<sup>[13]</sup>。

无菌条件下, 将培养好的 M2 菌株接种到含 250 mL 无机盐培养基的三角瓶中, 置于摇床里振荡 ( $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ , 30℃) 培养 5 d, 设 2 个不接菌的无机盐培养基作为对照, 相同条件下培养, 5 d 后在无菌条件下将白色透明地膜与黑色地膜分别接入含 M2 菌株的处理组培养基以及不接菌的对照组培养基, 培养 30 d 和 60 d 后分别取样检测菌株降解效果。

1.2.3 地膜失重率测定 为监测降解过程中地膜的重量变化, 分别在培养 10、30、50、60 d 取样测定地膜的失重率, 试验设置 3 个重复, 以不接菌为对照。取出培养基中的地膜用去离子水反复淋洗, 洗净地膜表面附着的微生物膜, 将洗净的地膜在 40℃

的烘箱中干燥过夜, 冷却至室温后称重。地膜失重率按照下式计算:

失重率(%) = (菌株处理前地膜质量 - 菌株处理后地膜质量) / 菌株处理前地膜质量 × 100%

1.2.4 地膜表面微观特征观察 将培养 30、60 d 的微量地膜样品直接粘到导电胶上, 并使用 Oxford Quorum SC7620 溅射镀膜仪喷金 45 s, 喷金电流为 10 mA; 随后使用 TESCAN MIRA LMS 扫描电子显微镜拍摄样品表面形貌, 观察不同颜色膜片表面的微观特征, 包括是否出现裂纹以及孔洞等破损情况, 形貌拍摄时加速电压为 3 kV, 能谱 mapping 拍摄时加速电压为 15 kV, 探测器为 SE2 二次电子探测器, 放大倍数为 2 000 倍, 拍摄标尺为 5  $\mu\text{m}$ , 通过分析拍摄到的照片分析 M2 菌株对白色透明以及黑色地膜的降解效能。

1.2.5 水接触角测定 将培养 30、60 d 的地膜样品置于 JY-82 接触角测试平台, 利用设备自动滴定系统滴上水滴, 配备光源为可调背光平面平行光源, 放大方式为可连续变焦, 拍摄测试照片, 用量角法测定静水接触角角度, 进而分析 M2 降解下两种膜片表面疏水性的变化<sup>[13]</sup>。

1.2.6 地膜表面化学官能团结构测定 将培养 30、60 d 的地膜样品置于金刚石 ATR 模块中, 波数范围 600~4 000  $\text{cm}^{-1}$ , 扫描 32 次, 分辨率 4  $\text{cm}^{-1}$ , 傅里叶红外光谱仪测定膜片表面的官能团, 用 Origin 分析红外色谱图, 分析降解后膜片表面是否引入新的极性官能团<sup>[19]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 降解菌株 M2 的鉴定

形态鉴定: 经过 5 d 的培养, 菌株 M2 在改良马丁培养基上菌落近圆形, 呈绒毛状, 生长初期为白色(图 1A, 见 222 页), 生长后期为淡紫色(图 1B, 见 222 页); 光学显微镜下分生孢子梗呈树状, 各分支顶端含小梗(图 1C, 见 222 页)。

通过 PCR 扩增, 从菌株 M2 获得 1 294 bp 基因片段; 经过裁剪后, 利用 MEGA 7.0 的邻近法构建系统发育树, 菌株 M2(登录号: MW686879.1) 与淡紫紫孢菌(GU980027.1) 聚为同一分支(图 2)。因此, 结合形态学特征和分子鉴定结果, M2 鉴定为淡紫紫孢菌 *Purpureocillium lilacinum* (异名: 淡紫拟青霉 *Paecilomyces lilacinus*)。

### 2.2 不同颜色地膜失重率分析

聚乙烯地膜的表现降解速率可通过比较地膜的干质量损失来评估。由图 3 可知, 黑色地膜的失



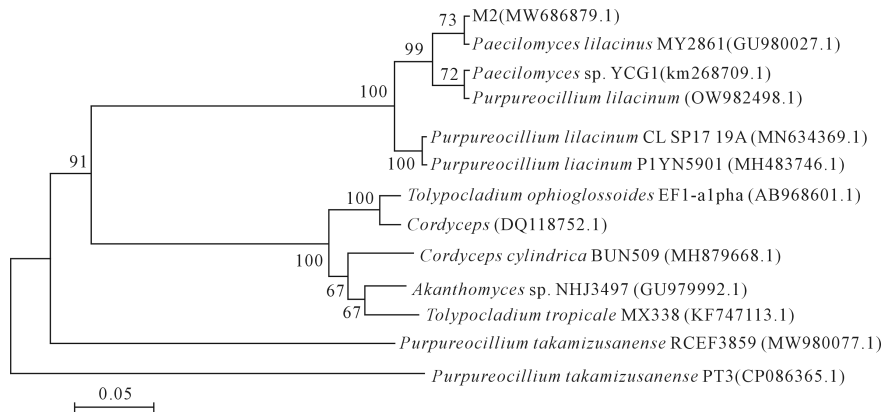


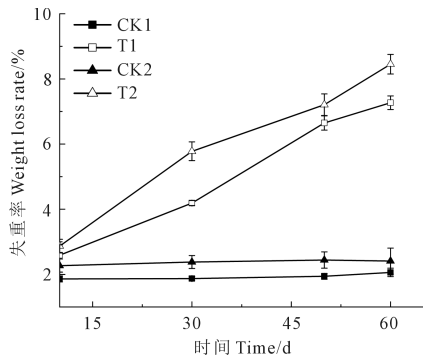
图 2 菌株 M2 的系统发育树图

Fig.2 Phylogenetic tree of strain M2

重率高于白色透明地膜,经过 60 d 的 M2 降解,白色透明地膜失重率为 7.27%,而黑色膜片的失重率可达 8.45%。对照组地膜的少量质量损失可能为其清洗转移时的损失。由此可初步推测,菌株 M2 对聚乙烯地膜具有较好的降解作用。

2.3 不同颜色地膜表面微观特征分析

用扫描电子显微镜观察降解 30、60 d 后的地膜,由图 4 可见,经过 30 d 的 M2 降解处理,未接菌处理的白色透明地膜对照组 (CK1) 表面光滑平整,经过 M2 降解的白色透明地膜 (T1) 出现一定程度的破损;经过 M2 降解 60 d 后,T1 表面开始出现凹槽和孔洞。由图 5 可见,菌株 M2 降解 30 d 后,与未接菌处理的黑色地膜 (CK2) 相比,接菌处理的黑色地膜 (T2) 表面变得明显粗糙,出现较多的微小裂纹与破损,局部高低不平;经过 60 d 的降解后,T2 表面出



注:CK1:未接菌的白色透明地膜;T1:经过 M2 降解的白色透明地膜;CK2:未接菌的黑色地膜;T2:经过 M2 降解的黑色地膜。下同。

Note:CK1: Uninoculated white transparent film; T1: White transparent film degraded by M2; CK2: Uninoculated black film; T2: Black film degraded by M2. The same below.

图 3 地膜的失重率曲线

Fig.3 Weight loss rate curve of plastic film

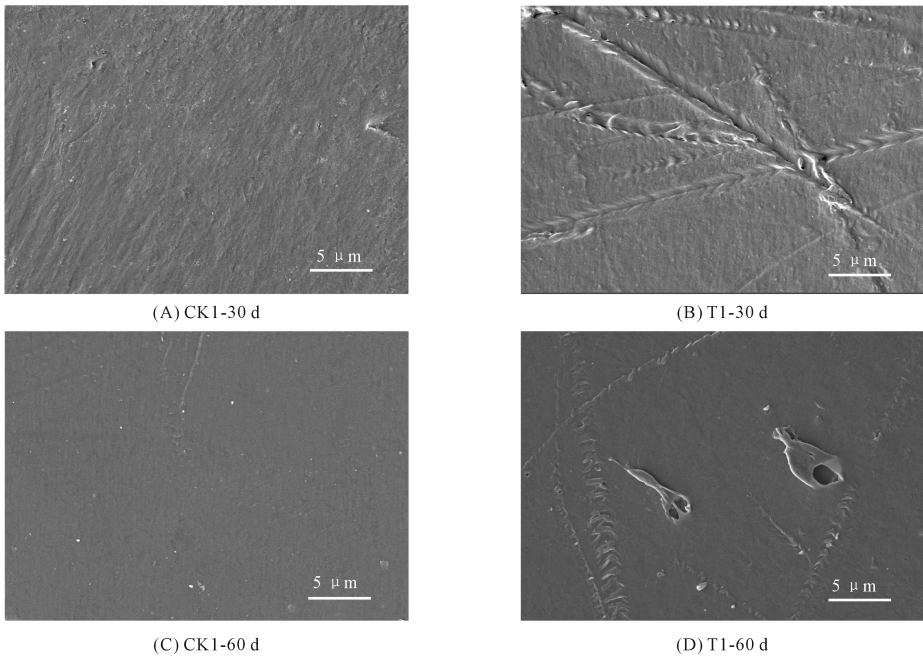


图 4 降解前后白色透明地膜表面的扫描电镜观察结果

Fig.4 Observation results of white transparent film surface by scanning electron microscope



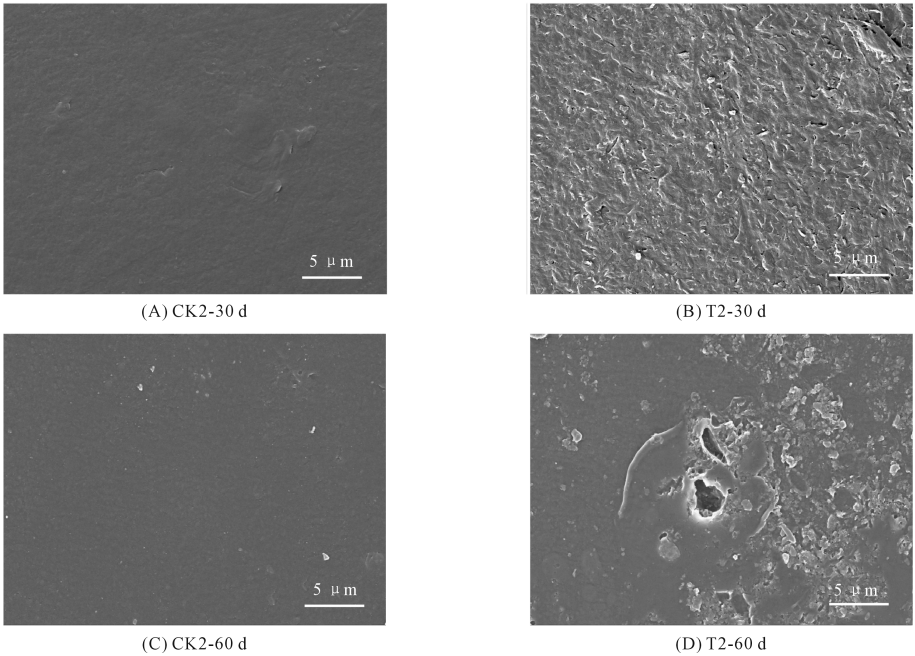


图 5 降解前后黑色地膜表面的扫描电镜观察结果

Fig.5 Observation results of black film surface by scanning electron microscope

现的褶皱和孔洞更加明显。结果说明菌株 M2 对黑色地膜的降解效果更好。

2.4 不同颜色地膜降解前后疏水性分析

地膜的主要成分是聚乙烯,聚乙烯是一种非极性疏水材料,测定膜片表面的水接触角能了解膜片表面疏水性的变化,而疏水性降低是地膜被降解的重要特征<sup>[20]</sup>。如表 1 所示,经过 30 d 的摇床培养,未接菌的白色透明地膜平均水接触角为 85.70°,经 M2 降解后白色透明地膜 T1 的平均水接触角降至 83.60°;摇床培养 60 d 后,白色透明地膜的平均水接触角由 85.66°降至 81.24°。经过 30 d 的降解处理,黑色地膜的平均水接触角由 91.66°降至 84.36°;经过 60 d 的降解处理,黑色地膜的平均水接触角由 94.13°降至 69.18°。由两种膜片表面水接触角的变化可以发现,黑色地膜经过 M2 降解后水接触角显著降低,说明其表面疏水性显著降低,亲水性提高,且随着降解时间的延长,水接触角降低幅度逐渐增大;而白色透明地膜疏水性降低幅度小于黑色地膜,说明菌株 M2 对黑色地膜的降解效果更好,与扫描电镜结果一致。

2.5 不同颜色地膜红外光谱图分析

化合物的红外光谱图可以反映物质所含的官能团种类。将地膜洗净后使用傅里叶红外光谱仪进行化学官能团结构分析,可以推断化合物的结构。聚乙烯是由乙烯和少量 α-烯烃共聚而成,化学结构稳定,因而其难以降解,聚乙烯塑料地膜初步

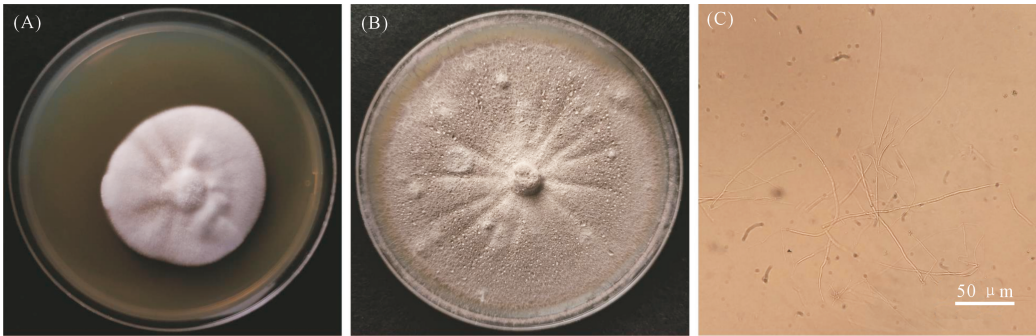
发生降解时,会在外来微生物的作用下引入极性官能团,从而增加其结构的不稳定性,以便后续的降解发生<sup>[13]</sup>。图 6 是未经 M2 降解处理以及 M2 降解处理 30、60 d 后白色透明地膜的红外图谱。3 200~3 400 cm<sup>-1</sup>区域属于羟基 C—OH 的伸缩振动,1 000~1 100 cm<sup>-1</sup>区域属于醚键 C—O—C 的伸缩振动,经过 30 d 的 M2 降解,T1 在 3 200~3 400 cm<sup>-1</sup>和 1 000~1 100 cm<sup>-1</sup>处吸收峰增强幅度均较小;经过 60 d 的降解,T1 在 3 200~3 400 cm<sup>-1</sup>区域吸收峰无明显变化,而在 1 000~1 100 cm<sup>-1</sup>区域吸收峰显著增强,说明白色透明地膜中在降解过程中引入的官能团以醚键 C—O—C 为主。

图 7 为未经 M2 降解处理以及 M2 降解处理 30、60 d 后黑色地膜的红外图谱。经过 30 d 的降解,T2 在 3 200~3 400 cm<sup>-1</sup>的区域吸收峰无明显变化,而在 1 000~1 100 cm<sup>-1</sup>附近吸收峰出现一定程度的增强,说明 M2 在降解黑色地膜过程中引入了新的极性官能团醚键 C—O—C;经过 60 d 的降解,T2 在 3 200~3 400 cm<sup>-1</sup>和 1 000~1 100 cm<sup>-1</sup>附近吸收峰均明显增强,说明 M2 在降解黑色地膜过程中引入了羟基 C—OH 和醚键 C—O—C。两种地膜的处理组与对照组红外图谱的差异表明 M2 对这两种颜色的聚乙烯地膜都有降解侵蚀能力,而经 M2 降解的黑色地膜特征峰强度显著高于白色透明地膜,表明 M2 对黑色地膜的结构稳定性影响更大,更易降解黑色地膜。

表 1 降解前后白色透明地膜与黑色地膜水接触角的变化/(°)

Table 1 The change of water contact angle of white transparent film and black film before and after degradation

| 处理<br>Treatment | 30 d               |                     |                  | 60 d               |                     |                  |
|-----------------|--------------------|---------------------|------------------|--------------------|---------------------|------------------|
|                 | 左接触角<br>Angel-Left | 右接触角<br>Angel-Right | 平均接触角<br>Average | 左接触角<br>Angel-Left | 右接触角<br>Angel-Right | 平均接触角<br>Average |
| CK1             | 84.62±0.26         | 86.77±0.20          | 85.70±0.13       | 85.14±0.29         | 86.17±0.36          | 85.66±0.33       |
| T1              | 82.47±0.12         | 84.73±0.32          | 83.60±0.10       | 80.96±0.32         | 81.53±0.26          | 81.24±0.16       |
| CK2             | 91.47±0.10         | 91.84±0.66          | 91.66±0.38       | 94.13±0.51         | 94.13±0.16          | 94.13±0.25       |
| T1              | 84.75±0.81         | 83.97±0.17          | 84.36±0.49       | 69.57±0.22         | 68.79±0.64          | 69.18±0.21       |



注:A; M2 生长前期菌落形态;B: M2 生长后期菌落形态;C: M2 显微形态。  
Note:A; M2 colony morphology in early growth stage; B: M2 colony morphology in late growth stage; C: M2 micromorphology.

图 1 菌株 M2 的形态结构

Fig.1 Morphological structure of strain M2

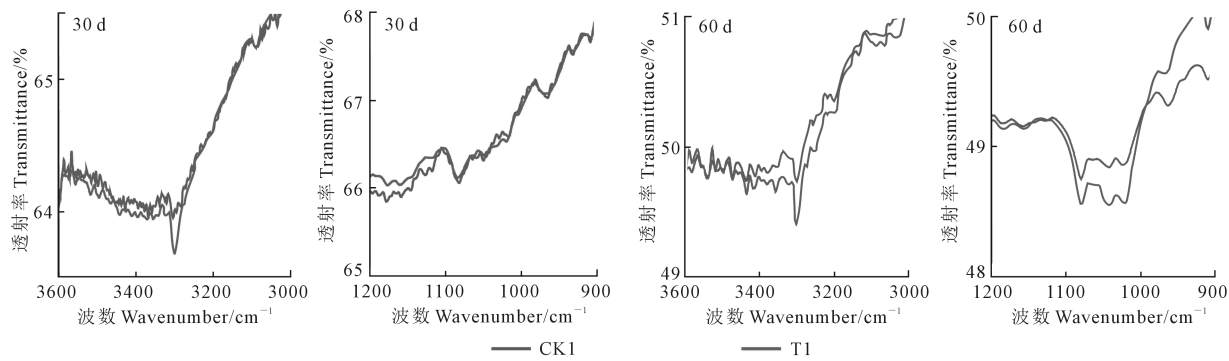


图 6 白色透明地膜傅里叶红外光谱分析结果

Fig.6 Fourier infrared spectrum analysis results of white transparent film

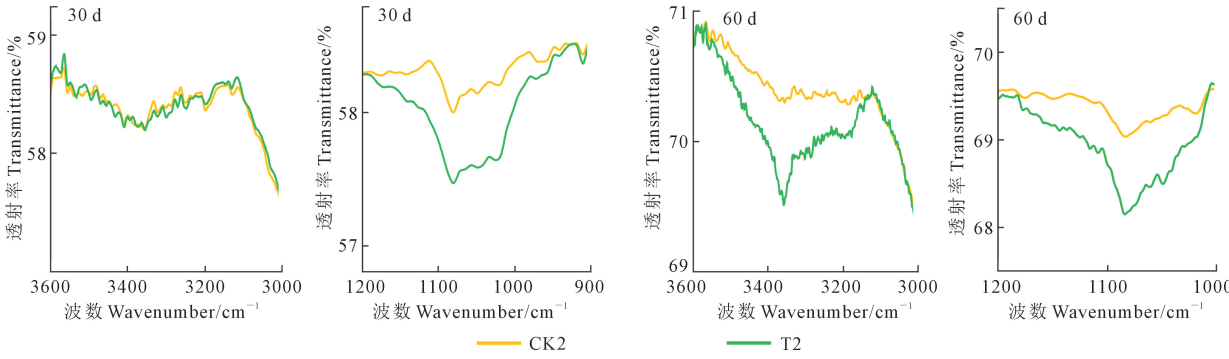


图 7 黑色地膜傅里叶红外光谱分析结果

Fig.7 Fourier infrared spectrum analysis results of black film

### 3 讨 论

聚乙烯地膜是我国农业生产常用的物质资料之一,其带来巨大收益的同时也对环境造成严重污染。青海地区海拔高,气候冷凉,降水较少,土壤肥力处于中等偏下水平,保水保肥能力较差,耕层浅而贫瘠,在实际农业生产中常应用双色聚乙烯地膜增温保墒<sup>[7,21-24]</sup>,由于聚乙烯难以自然降解且不易回收,极易造成“白色污染”。为缓解该地区农田“白色污染”问题,本试验以农业生产常用的白色透明、黑色聚乙烯地膜为研究对象,探究降解菌株 M2 对这两种颜色地膜的降解能力。

经形态学及分子鉴定, M2 是一株淡紫紫孢菌 (*Purpureocillium lilacinum*)。淡紫紫孢菌是一种食线虫真菌,多用于防治植物寄生线虫,淡紫紫孢菌制剂已被广泛用于防控线虫病害<sup>[25-29]</sup>。目前聚乙烯降解菌株主要为曲霉属真菌<sup>[30]</sup>,关于淡紫紫孢菌降解聚乙烯方面的研究尚不多见。本研究通过扫描电镜、水接触仪和傅里叶红外光谱仪测定两种颜色聚乙烯膜片被 M2 降解后的表面微观特征、表面粗糙度、表面疏水性和表面官能团变化,探究了淡紫紫孢菌 M2 对聚乙烯的降解能力。

聚乙烯地膜在降解过程中会发生很多物理、化学表征变化。江婷婷等<sup>[31]</sup>筛选出一株能降解聚乙烯的芽孢杆菌 (*Bacillus aquimaris*),降解 28 d 后, PE 塑料表面出现了明显的孔洞和凹坑,水接触角由 93.54°降至 71.72°,且膜片表面产生新的官能团—C=O。Awasthi 等<sup>[32]</sup>通过扫描电镜观察到,经过肺炎杆菌 (*Klebsiella pneumoniae*) 降解 60 d 后,聚乙烯膜片表面出现许多裂缝和凹槽,红外光谱中在 3 423 cm<sup>-1</sup>处引入了新的官能团。Skariyachan 等<sup>[33]</sup>用配制的牛粪嗜热微生物群落降解聚乙烯,经红外光谱图发现菌株在 1 113 cm<sup>-1</sup>和 1 647~1 716 cm<sup>-1</sup>处引进了新的官能团醚基和羰基。侯丽君<sup>[20]</sup>从长期存在聚乙烯的环境中筛选到 2 株能高效降解聚乙烯的菌株,分别为铜绿假单胞菌 (*Pseudomonas knackmussii*) N1-2 和绿脓杆菌 (*Pseudomonas aeruginosa*) RD1-3,经过 56 d 的菌株降解后,聚乙烯膜片表面出现明显的褶皱和坑洞,且其疏水性显著降低,同时通过红外色谱仪发现这两株菌对聚乙烯的稳定性影响较大,聚乙烯稳定的化学结构中被引入了新的含氧官能团羰基、羧基等。

本试验通过测定地膜的干质量损失发现 M2 降解后,白色透明地膜失重率为 7.27%,黑色膜片的失重率可达 8.45%,直观地体现了 M2 对地膜的降解

能力。通过扫描电子显微镜观察发现,经过 30、60 d 的降解,两种地膜处理组膜片均出现不同程度的裂纹与孔洞,且随着降解时间的延长,膜片表面孔洞与沟壑更明显。白色透明地膜经过菌株 M2 的降解,平均水接触角有一定程度的降低但降幅较小;而黑色地膜的平均水接触角在降解后显著降低,即疏水性显著降低,说明黑色地膜表面在菌株 M2 的作用下可能被氧化产生了亲水基团,有利于菌株大量附着,为其进一步降解地膜提供了条件<sup>[29]</sup>。通过傅里叶红外光谱分析,黑色地膜在降解过程中被引入了新的极性官能团羟基 C—OH 和醚键 C—O—C,而白色透明地膜仅被引入了醚键 C—O—C,说明菌株 M2 更容易影响黑色地膜结构的稳定性。本研究证实了淡紫紫孢菌 M2 对聚乙烯地膜的降解能力,丰富了聚乙烯降解微生物的菌种资源,为进一步开展聚乙烯地膜微生物降解机制研究奠定了重要基础。

### 4 结 论

将青海大学农科院植保所提供的一株有降解聚乙烯潜力的菌株 M2 作为研究对象,通过形态学特征和分子生物学方法鉴定其为淡紫紫孢菌 (*Purpureocillium lilacinum*)。经过 M2 降解后的白色透明地膜和黑色地膜,其表面水接触角变小,亲水性增加;表面微观形貌发生了变化,产生了孔洞、裂痕和凹坑;M2 在降解过程中引入了新的官能团羟基和醚键;通过测定地膜质量损失发现 M2 对白色透明地膜的降解率为 7.27%,对黑色膜片的降解率可达 8.45%。以上结果均表明 M2 可以降解白色透明和黑色聚乙烯地膜,且其对黑色地膜的降解能力更强。

### 参 考 文 献:

- [1] 马蕾,吕金良.我国农用地膜使用现状及回收机制研究[J].农业科技通讯,2019,(11):19-23.  
MA L, LV J L. Research on the current situation and recycling mechanism of agricultural plastic film in China[J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2019,(11):19-23.
- [2] 王海基,王敏,王吉亮,等.新疆农田残膜污染治理技术与防控策略[J].中国农机化学报,2022,43(4):166-174.  
WANG H J, WANG M, WANG J L, et al. Control technology and control strategy of residual film pollution in Xinjiang farmland[J]. Journal of Chinese Agricultural Mechanization, 2022, 43(4):166-174.
- [3] 高欢欢,刘昌文,吐热尼沙·阿布力孜.全生物降解地膜对喀什地区土壤微生物和生态系统的影响研究[J].农业与技术,2022,42(18):108-110.  
GAO H H, LIU C W, ABULIZI T R N S. Effects of fully biodegradable mulch on soil microorganisms and ecosystems in Kashgar[J]. Agriculture



and Technology, 2022, 42(18): 108-110.

[4] 喇中孝. 青海不同生态区马铃薯地膜覆盖栽培技术[J]. 南方农业, 2017, 11(27): 3-4.

LA Z X. Potato film mulching cultivation techniques in different ecological regions of Qinghai [J]. South China Agriculture, 2017, 11 (27): 3-4.

[5] 韩德强. “循环红”线辣椒地膜栽培技术[J]. 北方园艺, 2014,(6): 54-55.

HAN D Q. ‘Xunhuahong’ line pepper plastic film cultivation techniques[J]. Northern Horticulture, 2014,(6): 54-55.

[6] 王晓光, 孔雪梅, 蒋春姬, 等. 不同材质地膜覆盖对花生产量品质的影响及防风蚀效果研究[J]. 干旱地区农业研究, 2017,35(2): 57-61.

WANG X G, KONG X M, JIANG C J, et al. Effects of film with different materials on yield and quality of peanut and wind erosion prevention[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2017,35(2): 57-61.

[7] 王开芳, 赵永德, 施生炳, 等. 高海拔地区马铃薯双色地膜覆盖栽培效果[J]. 中国农技推广, 2021, 37(5): 62-65.

WANG K F, ZHAO Y D, SHI S B, et al. Cultivation effect of potato double-color film mulching in high altitude area[J]. China Agricultural Technology Extension, 2021, 37(5): 62-65.

[8] 黄璐. 聚乙烯地膜残留对作物产量、土壤质量及土壤微生物多样性的影响[D]. 兰州: 兰州大学, 2017.

HUANG L.Impact of polythylene film residues on crop fields, soil quality and soil microbial diversity[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2017.

[9] 常芳红. 地膜残留对玉米产量和土壤理化性质的影响[J]. 农业科技与信息, 2017,(20): 80-82.

CHANG F H. Effects of film residue on maize yield and soil physical and chemical properties[J]. Agricultural Science-Technology and Information, 2017,(20): 80-82.

[10] 王昱皓, 魏芳, 徐立恒. 土壤中微塑料污染的来源、迁移扩散及其生态效应[J]. 安全与环境工程, 2022, 29(5): 132-138, 163.

WANG Y H, WEI F, XU L H. Sources, migration, diffusion and ecological effect of microplastics pollution in soil[J]. Safety and Environmental Engineering, 2022, 29(5): 132-138, 163.

[11] 韩思明. 黄土高原旱作农田降水资源高效利用的技术途径[J]. 干旱地区农业研究, 2002, 20(1): 1-9.

HAN S M. Technical channels of high-efficient utilization of precipitation resource on dry-farming lands in Loess Plateau[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2002, 20(1): 1-9.

[12] 李福, 刘广才, 李诚德, 等. 旱地小麦全膜覆土穴播技术的土壤水分效应[J]. 干旱地区农业研究, 2013, 31(4): 73-78, 98.

LI F, LIU G C, LI C D, et al. Effects of whole film mulching with soil covering and bunch planting on soil water in field of dry-land wheat[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2013, 31(4): 73-78, 98.

[13] 李夏, 顾文杰, 杨少海, 等. 一株地膜降解真菌的筛选及其降解性能分析[J]. 微生物学报, 2019, 59(1): 56-67.

LI X, GU W J, YANG S H, et al. Screening of a plastic mulch film degrading fungus [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2019, 59(1): 56-67.

[14] KHAN S, NADIR S, SHAH Z U, et al. Biodegradation of polyester polyurethane by *Aspergillus tubingensis* [J]. Environmental Pollution, 2017, 225: 469-480.

[15] YOSHIDA S, HIRAGA K, TAKEHANA T, et al. A bacterium that degrades and assimilates poly (ethylene terephthalate) [J]. Science, 2016, 351(6278): 1196-1199.

[16] DAS M P, KUMAR S. An approach to low-density polyethylene biodegradation by *Bacillus amyloliquefaciens* [J]. 3 Biotech, 2015, 5 (1): 81-86.

[17] 雷向荣, 沈硕, 李玮. 3 株氟咯草酮降解菌株的筛选及其生物降解效果研究[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(6): 1231-1240.

LEI X R, SHEN S, LI W. Screening of three strains for degrading flurochloridone and their biodegradation effects[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2021, 37(6): 1231-1240.

[18] 李小杰, 李成军, 姚晨斌, 等. 拮抗烟草疫霉菌的木霉菌株筛选鉴定及防病促生作用研究[J]. 中国烟草科学, 2020, 41(3): 65-70.

LI X J, LI C J, YAO C X, et al. Screening, identification of antagonistic *Trichoderma* spp. against tobacco black shank and its growth promotion effect on tobacco[J]. Chinese Tobacco Science, 2020, 41 (3): 65-70.

[19] 刘佳茜, 侯丽君, 刘婷婷, 等. PBAT 地膜降解菌的筛选及其降解特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(1): 129-136.

LIU J Q, HOU L J, LIU T T, et al. Isolation of PBAT plastic-degrading bacteria and their degradation characteristics [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40(1): 129-136.

[20] 侯丽君. 不同类型塑料降解菌的筛选及降解机理初探[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020.

HOU L J. Screening of different types of plastics degradable microbes and its potential genetic mechanism [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2020.

[21] 王沛媛. 混合菌共培养对聚乙烯地膜降解性研究及降解菌株 *Rhodanobacter soli* DCY45 全基因组序列分析[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2022.

WANG P Y. Degradability of polyethylene mulching film by bacterial co-culture and whole genome sequence analysis of the degradative strain *Rhodanobacter soli* DCY45 [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2022.

[22] 杨凯, 胡庆兰, 王金贵. 青海东部地膜覆盖对土壤固碳能力和肥力水平的影响[J]. 中国农学通报, 2021, 37(33): 105-111.

YANG K, HU Q L, WANG J G. Effects of plastic film mulching on soil carbon fixation capacity and fertility level in eastern Qinghai[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(33): 105-111.

[23] 许显虹, 胥婷婷, 张洋, 等. 地膜覆盖对青海东部旱作农业区春油菜的增产效应[J]. 青海大学学报, 2021, 39(3): 61-66, 87.

XU X H, XU T T, ZHANG Y, et al. Yield-increasing effects of plastic film mulching on the spring rape in the dry farming region of eastern Qinghai [J]. Journal of Qinghai University, 2021, 39(3): 61-66, 87.

[24] 宋明丹, 詹舒婷, 李飞, 等. 覆膜和施生物炭对青海高原春油菜生长、产量和土壤团聚体的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2021,(6): 88-94.

- SONG M D, ZHAN S T, LI F, et al. Effects of film mulching and biochar application on spring oilseed rape growth, yield and soil aggregate structure in the Qinghai Plateau[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2021, (6): 88-94.
- [25] SHARMA A, SHARMA S, YADAV S, et al. Role of Karanja deoiled cake based medium in production of protease and fatty acids by *Paecilomyces lilacinus* 6029[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2014, 118(3): 270-271.
- [26] BRAND D, ROUSSOS S, PANDEY A, et al. Development of a bionematicide with *Paecilomyces lilacinus* to control *Meloidogyne incognita*[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2004, 118(1/3): 81-88.
- [27] WALTERS S A, BARKER K R. Efficacy of *Paecilomyces lilacinus* in suppressing *Rotylenchulus reniformis* on tomato[J]. The Journal of Nematology, 1994, 26(4 Suppl): 600-605.
- [28] 孙漫红, 刘杏忠, 晋治波. 淡紫拟青霉对大豆胞囊线虫卵及 2 龄幼虫的影响[J]. 植物保护学报, 2002, 29(1): 57-61.
- SUN M H, LIU X Z, JIN Z B. Effects of *Paecilomyces lilacinus* on egg hatching and juvenile mortality of *Heterodera glycines*[J]. Journal of Plant Protection, 2002, 29(1): 57-61.
- [29] 张菁, 连清贵, 陈婧, 等. 淡紫拟青霉 QLP12 对感染灰霉病后番茄植株的促生作用及抗病相关酶活性变化[J]. 植物保护学报, 2018, 45(5): 1088-1095.
- ZHANG J, LIAN Q G, CHEN J, et al. The growth-promoting effect and the change of defense enzymes activity by *Paecilomyces lilacinus* QLP12 on tomato infected by *Botrytis cinerea*[J]. Journal of Plant Protection, 2018, 45(5): 1088-1095.
- [30] 罗贝旭. 聚乙烯降解菌的筛选、鉴定和降解特性的研究[D]. 成都: 四川师范大学, 2013.
- LUO B X. Screening and identification of strains degrading polyethylene (PE) and researches on degradation characteristics of LBX-2 strain[D]. Chengdu: Sichuan Normal University, 2013.
- [31] 江婷婷, 丁慧平, 冯丽娟, 等. 降解聚乙烯塑料芽孢杆菌 LC-2 的分离鉴定及降解特性研究[J]. 海洋学报, 2021, 43(2): 9-15.
- JIANG T T, DING H P, FENG L J, et al. Isolation, identification and polyethylene-degrading characteristics of *Bacillus* LC-2[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2021, 43(2): 9-15.
- [32] AWASTHI S, SRIVASTAVA P, SINGH P, et al. Biodegradation of thermally treated high-density polyethylene (HDPE) by *Klebsiella pneumoniae* CH001[J]. 3 Biotech, 2017, 7(5): 332.
- [33] SKARIYACHAN S, SETLUR A S, NAIK S Y, et al. Enhanced biodegradation of low and high-density polyethylene by novel bacterial consortia formulated from plastic-contaminated cow dung under thermophilic conditions[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(9): 8443-8457.
- 
- (上接第 216 页)
- [24] 成志明, 高秀萍, 马爱平, 等. 旱地小麦应用绿色抗旱剂的增产效应及耐旱机制研究[J]. 中国农学通报, 2007, 23(2): 445-448.
- CHENG Z M, GAO X P, MA A P, et al. Study on yield-improving effects by applying the GDR agent and drought-enduring mechanism in winter wheat in dryland[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(2): 445-448.
- [25] 刘英, 王允青, 叶舒娅, 等. 保水剂在江淮丘陵地区棉花、玉米上的应用研究[J]. 安徽农业科学, 2001, 29(2): 172-174.
- LIU Y, WANG Y Q, YE S Y, et al. Research on the application of water holding agent into cotton and maize in Jianghuai region[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2001, 29(2): 172-174.
- [26] 李磐, 冯耀祖, 钟新才. 施用抗旱保水剂对棉花产量与水分利用效率的影响[J]. 新疆农业科学, 2011, 48(6): 1125-1129.
- LI P, FENG Y Z, ZHONG X C. Effects of drought-resistant agents (DRA) and super absorbent polymers (SAP) on the yield and water use efficiency of cotton[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2011, 48(6): 1125-1129.
- [27] 张玉屏, 蔡雪青, 向镜, 等. 不同抗旱剂对水稻生长发育及产量的影响[J]. 中国稻米, 2015, 21(4): 142-146.
- ZHANG Y B, CAI X Q, XIANG J, et al. Effects of different polysaccharide drought-resistant agent on growth and yield of rice[J]. China Rice, 2015, 21(4): 142-146.
- [28] 张建新, 李亚兰, 徐福利, 等. MFB 多功能抗旱剂对小麦产量与品质的影响[J]. 麦类作物学报, 2000, 20(4): 94-96.
- ZHANG J X, LI Y L, XU F L, et al. Effect of drought-tolerance agent MFB on wheat yield and grain quality[J]. Journal of Triticeae Crops, 2000, 20(4): 94-96.
- [29] 吴勇, 高祥照, 杜森, 等. 叶面喷施抗旱剂对冬小麦产量及经济效益的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2012, (4): 79-83.
- WU Y, GAO X Z, DU S, et al. Influence on yield and economic returns on winter wheat by foliar spraying drought resistance agent[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2012, (4): 79-83.
- [30] 伏旭东. 抗旱剂在水稻上的应用效果的研究[J]. 垦殖与稻作, 2003, (5): 29-30.
- FU X D. Applied effect of drought-resistant agent on rice[J]. Reclaiming and Rice Cultivation, 2003, (5): 29-30.
- [31] 莫海涛, 张小勇, 肖传绪, 等. 黑液制备的腐植酸液肥和调理剂的棉花田间应用研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(33): 171-175.
- MO H T, ZHANG X Y, XIAO C X, et al. The study on application of humic acid liquid fertilizer and conditioner made from black liquor in cotton field experiment[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(33): 171-175.
- [32] 席吉龙, 张建诚, 杨娜, 等. 抗旱剂对小麦抗旱性、产量及水分利用效率的影响[J]. 山西农业科学, 2018, 46(7): 1138-1141.
- XI J L, ZHANG J C, YANG N, et al. Effects of drought-resistant agents on drought resistance, yield and water use efficiency of wheat[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2018, 46(7): 1138-1141.