

控制培养基水势的计算法

周德智 游长芬 施亚琴

(中国科学院南京土壤研究所)

土壤水是土壤中生物活动的必要条件。土壤水中溶解着可溶性有机物及大量的无机盐,是微生物很好的营养和能量来源。土壤水的变化和运动影响土壤的通气性和养分的可给性,是影响微生物活动的重要物理因子之一。许多土壤微生物学工作者利用水势(水分势能)进行实验室内水势对微生物生态、生理生化特性等的研究,以便模拟田间自然状态、了解土壤水分与微生物的相互关系,探索微生物在不同水分条件下的活动规律等。有关这方面的工作,国外做的较多^[1]国内目前尚未有报导。近两年来,我们在没有测定水势仪器的条件下,根据数学公式计算出控制培养基水势需用盐的含量,初步建立了室内模拟土壤水势对微生物生长影响的测定方法。本中仅就公式计算依据及计算方法介绍如下。

一、水势概念和计算法的依据

水势是一个已广泛用于定量描述土壤、有机质、植物以及微生物等水的能量状态的基本概念。应用水势术语为阐明土壤—植物—微生物体系的水分关系提供了方便^[1]。

土壤水势的定义各土壤物理学专著中均有论述,在土壤物理学上标志水分能量水平的名称很多,有张力(或吸水力)、扩散压、pF值、势(能)值等。依据的原理有的属于机械力学,有的属于热力学,通常多从普通物理学概念来理解势值术语,因为势值代表由各种力场产生的位能水平,在应用时,可按力源性质划分为若干可以实际测定的组成部分。

土壤水分总势值是各个分势的累加和。各分势可由保持水分或对水分起作用并影响水分能量状态的力所表示出来:

$$\psi_w = \psi_o + \psi_m + \psi_g + \psi_p \dots\dots\dots (1)$$

式中 ψ_w 为总势; ψ_o 为渗透势又叫溶质势; ψ_m 为基质势又叫间质势; ψ_g 为重力势; ψ_p 为压力势。其中渗透势和基质势为主要成分,在土壤—植物—微生物体系中对生理过程所需要水分的运动和有效性具有很大的影响。如果仅从室内实验条件下水势对微生物的影响考虑,水势值为:

$$\psi = \psi_o + \psi_p \dots\dots\dots (2)$$

由于微生物细胞的膨胀收缩关系,压力势为等式的一部分。但在土壤微生物学研究中,通常将 ψ_p 作为零考虑^[1, 2]。因此渗透势是实验室水势研究的主要因子。

渗透势是由溶液中所有离子态或非离子态溶质共同引起的。纯自由水的渗透势为零。在相同温度下,溶质吸引水分子,使自由能降低,因此溶液的水势值为负值。室内试验所用培养基含有各种溶质或胶体,具有基础水势。这种基础水势需要用仪器测定出来或根据文献资料引用^[3]。室内微生物水分关系研究常用的几种培养基基础水势见表1。

水势的单位：近年来多采用巴表示，其他比较常用的有厘米水柱、大气压、pF 值等：

1 巴 = 1030 厘米水柱 (约 1000 厘米水柱)
= 0.9869 大气压 (约 1 个大气压)
= pF 3 *

表 1 几种培养基的基础水势

培 养 基	势 值 (巴)
PDA 琼 脂	-3.6
基础培养基	-1.2
合成营养琼脂	-1.2
V-8 汁琼脂	-2.5
麦芽汁琼脂	-4.8

二、计算式与实例

(一) 计算式

室内土壤微生物的研究大多使用各种加富琼脂培养基。培养基的水势控制一般使用 NaCl、KCl 或不同比例的 NaCl:KCl:Na₂SO₄ 混合盐以及蔗糖等^[3]。如已知实验室所用培养基的基础水势，则可按等式(3)计算，按计算量加入无机盐或糖到培养基中，可得到不同溶质控制的水势值相同的培养基和相同溶质控制的水势值不同的培养基。

$$\psi = -\gamma RTm\phi \dots\dots\dots (3)$$

这里的 R 为气体常数 (0.0831 巴·千克/摩尔·°K)；T 为绝对温度 (°K)； ϕ 为渗透系数；m 为重量克分子浓度 (摩尔/千克)； γ 为每个溶质分子的离子数目。

等式(3)的使用，必须要知道渗透系数 ϕ ，[这可以从 Robinson 和 Stokes (1965)^[5]的专著中引用，现将部分无机盐和糖的渗透系数列于表 2。

表 2 25°C 时 部 分 无 机 盐 或 糖 的 渗 透 系 数^[5]

摩尔浓度	NaCl	KCl	NaNO ₃	KNO ₃	NaH ₂ PO ₄	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄	蔗 糖
0.1	0.932	0.927	0.921	0.906	0.911	0.901	0.606	1.008
0.2	0.925	0.913	0.902	0.873	0.884	0.868	0.562	1.017
0.3	0.922	0.906	0.890	0.851	0.864	0.843	0.540	1.024
0.5	0.921	0.899	0.873	0.817	0.832	0.805	0.522	1.041
1.0	0.936	0.897	0.851	0.756	0.780	0.736	0.525	1.088
2.0	0.983	0.912	0.826	0.669	0.721	—	0.666	1.189
3.0	1.045	0.937	0.810	0.602	0.696	—	0.922	1.288

表 3 渗 透 系 数 计 算 参 数^[4]

温 度 (°C)	$S_f \sqrt{d_o}$	A	10 ² B	10 ³ C	10 ³ D	10 ³ S
0	1.1255	1.3339	0.725	10.69	-0.38	1.6
5	1.1336	1.3621	1.115	11.25	-0.61	1.7
10	1.1422	1.3811	1.580	9.85	-0.40	1.2
15	1.1512	1.3910	1.892	10.16	-0.53	0.98
20	1.1607	1.3923	2.293	9.70	-0.56	0.82
25	1.1705	1.3924	2.655	9.60	-0.69	0.85
30	1.1806	1.3847	3.187	7.68	-0.48	1.3
35	1.1910	1.3785	3.673	5.48	-0.18	1.1
40	1.2016	1.3645	4.176	3.66	0.02	1.4

渗透系数 ϕ 亦可根据下式计算出来：

*土水势的水柱高度厘米数对数的负值。

$$\phi = 1 - \frac{S_f \sqrt{d_0}}{A^3 m} \left[(1 + A \sqrt{m}) - 2 \ln(1 + A \sqrt{m}) - \frac{1}{(1 + A \sqrt{m})} \right] + Bm + Cm^2 + Dm^3 \quad (4)$$

式中 S_f 为Debye-Hückel极点斜率, d_0 为溶液的密度; A 、 B 、 C 、 D 为任意常数。表3为等式(4)的计算参数。

极点斜率 S_f 和溶液密度 d_0 也可由经验式(4)求得:

$$S_f = \frac{\sqrt{2} \times 1.290 \times 10^8 \times 2.30258}{(eT)^{3/2}} \quad (5)$$

ε 为溶液中电解质的电解常数。

$$\varepsilon = 78.54[1 - 4.579 \times 10^{-3}(t - 25) + 11.9 \times 10^{-6}(t - 25)^2 + 28 \times 10^{-9}(t - 25)^3] \quad (6)$$

$$d_0 = 1 - \frac{(t - 3.9863)^2(t + 288.9414)}{508929.2(t + 68.12963)} \quad (7)$$

这里的 t 为摄氏温度($^{\circ}\text{C}$)。温度对溶液中溶质溶解有一定的影响,如果要获得高精度的水势值,则要考虑实验当时的温度影响。表2只给出在 25°C 时的各种溶质的渗透系数值。利用表2的渗透系数计算水势,试验需在 25°C 温度下进行。如果试验不能在 25°C 恒温下进行,则不能使用表2的参数,而必须使用等式(4)计算渗透系数,

(二)应用实例

作为一种应用,采用前面的等式和参数,根据实验的要求和对象选择合适的培养基,计算培养基的水势以供实验研究之用。

PDA (Potato Dextrose Agar)培养基作为实验基础培养基。基础水势为 -3.6 巴,用NaCl作为控制水势的溶质。假定三角瓶装300克培养基,用等式(3)和表2的参数计算,得到不同水势值的NaCl控制水势的PDA培养基。实验时的温度为 25°C 。实验结果见表4。

不同水势值的瓶装培养基须用牛皮纸把瓶口包扎起来灭菌,平皿装培养基须用橡皮筋扎牢后放入塑料袋中以防止水分损失,必要时瓶装培养基于无菌下补充灭菌蒸馏水,以保证水势值的准确性,减少实验误差,获得满意结果。

表4 NaCl 控制的水势值不同的 PDA 培养基

编 号	培养基重(克)	加NaCl量(克)	摩尔浓度(M)	渗透系数(Φ)	计算势值(巴)	总势值(巴)
1	300	0	0	0	0	- 3.6
2	300	1.75	0.1	0.932	- 4.6	- 8.2
3	300	3.51	0.2	0.925	- 9.1	- 12.7
4	300	5.26	0.3	0.922	- 13.8	- 17.4
5	300	8.77	0.5	0.921	- 22.8	- 26.4
6	300	17.53	1.0	0.936	- 46.4	- 50.0
7	300	35.12	2.0	0.983	- 91.0	- 94.6

三、小 结

本文介绍了控制培养基水势的计算方法,在缺乏培养基水势的测试仪器时,采用此方法可以不受测试仪器缺乏的限制,有利于微生物生态研究中模拟自然土壤水势工作的开展,但前提是要知道实验所用培养基的基础水势。表1只给出了五种培养基的基础水势,有待进一步引

(下转第317页)

表1

适宜施氮量与平均适宜施氮量的稻谷产量比较

(单季晚稻, 1982—1985)

年 份	地 点	适宜施氮量 X_0 (斤/亩)	X_0 的产量 Y_0 (斤/亩)	平均适宜施氮量* 的产量 Y_x (斤/亩)	$Y_x - Y_0$ (斤/亩)
1982	吴 县	10.4	936	934	- 2
	吴 县	15.2	1077	1071	- 6
	武 进	9.0	1101	1000	-101
1984	吴 县	15.5	1034	1028	- 6
	吴 县	16.1	843	832	-11
	武 进	6.4	761	783	+22
	武 进	14.2	1085	1085	0
	溧 阳	19.9	921	877	-44
	常 熟	20.2	841	801	-40
	太 仓	18.0	1096	1072	-24
	青 浦	15.9	891	882	- 3
1985	吴 县	18.8	895	870	-25
	吴 县	12.0	779	787	+ 8
	吴 县	19.2	840	805	-35
	吴 县	12.6	757	763	+ 6
	溧 阳	14.4	895	894	- 1
	常 熟	13.9	957	959	+ 2
	沙 洲	15.9	846	836	-10
	吴 江	8.0	762	787	+25
	青 浦	18.2	966	940	-26
	上 海	12.6	916	924	- 8
	长 兴	5.6	586	622	+36
总 和			20537	20297	

* 平均适宜施氮量系由表中22个 X_0 求得, 其值为14.2斤/亩, 供试氮肥系尿素。

(上接第320页)

用文献资料或探讨培养基中各种成分对势值的贡献, 扩大应用各种培养基进行土壤生物学过程的研究。如果知道了培养基的基础水势, 采用算法加入计算量的溶质(一般为无机盐)到培养基中去, 可控制培养基的水势。根据实验的要求, 既可得到相同溶质控制的不同水势值的培养基, 又可以得到不同溶质控制的相同水势值的培养基。使用于控制培养基水势的溶质, 即使在不知道渗透系数的情况下也可用算法进行计算。

土壤微生物的水分关系的研究是微生物生态、生理生化特性等研究的重要组成部分。我国这方面的工作做得很少, 随着测试仪器和实验手段的不断完善, 作为土壤微生物学的重要物理因子之一的水势研究工作将会不断有新的突破。

参 考 文 献

- [1] Soil Science Society of America, Water potential relations in soil microbiology, SSSA Special Publication Number 9, 1-22, 1981.
- [2] Griffin, D. M., Ecology of Soil Fungi, 83-85, Syracuse University Press, 1972.
- [3] Sommers, L. E., Harris, R. F., et al., Phytopathology, 60: 932-934, 1970.
- [4] Lang, A. R. G., Aust. J. Chem., 20: 2017-2023. 1967.
- [5] Robinson, R. A. and Stokes, R. H., Electrolyte solutions, 460-475, Academic Press, New York, 1965.,