

汤鸣强, 吴凤林, 姚源琼. 喷施宝叶面肥对农药胁迫下土壤中常见微生物生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(11): 361–364.

喷施宝叶面肥对农药胁迫下土壤中 常见微生物生长的影响

汤鸣强^{1,2}, 吴凤林², 姚源琼³

(1. 福建农林大学应用生态研究所, 福建福州 350002; 2. 福建师范大学福清分校生物与化学工程系, 福建福清 350300;

3. 福建省建阳市土肥站, 福建建阳 354200)

摘要:采用室内培养法研究叶面肥喷施宝对农药(草甘膦异丙胺盐、三唑磷和乙草胺)胁迫下土壤中常见微生物生长的影响。结果表明,与对照相比,叶面肥喷施宝能促进施用草甘膦异丙胺盐土壤中细菌与放线菌的生长,但受施药时间与使用浓度的影响;叶面肥喷施宝对施用三唑磷土壤的微生物生长影响不显著;能显著促进施用乙草胺土壤中细菌与真菌的生长,但对放线菌生长的影响不显著。

关键词:叶面肥喷施宝;农药胁迫;土壤;微生物

中图分类号: S154.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)11-0361-04

喷施宝产品在国内 30 个省(市、区)1 480 个试验示范点 57 种作物上的试验结果表明,该产品具有良好的增产、提质、抗逆和防病等效果,适用于各种土壤和作物,特别是增产效果显著而稳定^[1]。但迄今为止,有关其作用机理的研究还比较欠缺。微生物在土壤有机质转化、养分循环与释放、物质分解等生物化学过程中起重要作用,是维持土壤生物活性和保持土壤肥力的重要指标。有研究表明,化学农药进入土壤后会对土壤微生物群落和活性产生一定的影响^[2],而这种影响对于土壤肥力的保持却具有十分重大的意义。关于喷施宝叶面肥缓解因施用化学农药而影响土壤微生物群落的研究在国内还未见报道。本试验供试农药为 2 种除草剂(草甘膦异丙胺盐和乙草胺)和 1 种杀虫剂(三唑磷)。草甘膦异丙胺盐是一种广谱灭生性内吸传导型化学除草剂,被广泛用于农业生产中的杂草防治,是全世界农药中销量第一的产品^[3];乙草胺是我国生产最多的 3 种除草剂之一,主要用于玉米、大豆、花生、棉花和甘蔗等种植地;三唑磷是一种广谱有机磷类杀虫、杀螨剂,对水稻、棉花、蔬菜等作物上的鳞翅目害虫有较好的触杀和胃毒作用,为我国广泛应用的农药品种。国内学者就以上 3 种化学农药对土壤微生物生长的影响进行了研究^[4-6]。目前已知乙草胺能改变土壤微生物数量和结构^[6-8],但在施用叶面肥喷施宝情况下,乙草胺对土壤微生物的影响不得而知。本试验通过施用不同浓度化学农药于耕作土壤中,研究 3 种农药对土壤常见微生物的影响,为进一步说明喷施宝促进作物生长与抗病机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 土壤样品 土壤样品为福建农林大学校园内种植蔬菜的普通土壤,该土壤未受农药和肥料影响。其中,总有机质

含量 1.55%,含有 16.1%的沙粒、54.8%的粉粒和 30.1%的黏粒,pH 值 7.62。采取叉花式采样法,分别采集 0~20 cm 表层土壤,充分混匀,过 2 mm 筛,于 4℃下保存备用。

1.1.2 主要药品 喷施宝叶面肥为有机水溶肥料(喷施宝广谱型,塑料软包装,每包 10 mL),广西喷施宝集团有限公司产品。农药包括 41% 草甘膦异丙胺盐水剂(山东绿霸化工股份有限公司)、20% 三唑磷乳油(湖北沙隆达股份有限公司)、90% 乙草胺乳油(山东胜邦绿野化学有限公司)。

1.1.3 培养基 细菌培养基即牛肉膏蛋白胨琼脂培养基:牛肉膏 3.0 g/L,蛋白胨 5.0 g/L,琼脂 18.0 g/L,pH 值 7.0~7.2;放线菌培养基:可溶性淀粉 20.0 g/L, KNO₃ 1.0 g/L, FeSO₄·7H₂O 0.01 g/L, K₂HPO₄ 0.5 g/L, MgSO₄·7H₂O 0.5 g/L, NaCl 0.5 g/L, 琼脂 18.0 g/L;真菌培养基即孟加拉红-马丁氏培养基:葡萄糖 10.0 g/L, 蛋白胨 3.0 g/L, KH₂PO₄ 1.0 g/L, MgSO₄·7H₂O 1.0 g/L, 琼脂 18.0 g/L, 1% 孟加拉红水溶液 3.3 mL。临用时每 100 mL 培养基中加入 1% 链霉素溶液 0.3 mL。

1.1.4 主要仪器 Acculab ALC-210.4 电子天平,德国 Sartorius 公司;pH 211 型酸度计,意大利 HANANA; Milli-Q 超纯水系统,美国 Millipore 公司;SW-CJ-IF 超净工作台,苏净集团苏州安泰空气技术有限公司;DHG-9070A 型电热恒温鼓风干燥箱,上海一恒科技有限公司;ELV-3170 高压灭菌锅,以色列 Tuttnauer;GSP29050MBE 隔水式恒温培养箱,上海博迅实业有限公司医疗设备厂。

1.2 试验设计

试验按田间推荐剂量添加以水稀释的喷施宝叶面肥、41% 草甘膦异丙胺盐水剂、20% 三唑磷乳油和 90% 乙草胺乳油,共设 12 个处理:Ⅰ₁ 为 41% 草甘膦异丙胺盐水剂 246 倍液+喷施宝 2 000 倍液,Ⅱ₁ 为 41% 草甘膦异丙胺盐水剂 123 倍液+喷施宝 1 500 倍液,Ⅲ₁ 为 41% 草甘膦异丙胺盐水剂 246 倍液,Ⅳ₁ 为 41% 草甘膦异丙胺盐水剂 123 倍液;Ⅰ₂ 为 20% 三唑磷乳油 600 倍液+喷施宝 2 000 倍液,Ⅱ₂ 为 20% 三唑磷乳油 500 倍液+喷施宝 1 500 倍液,Ⅲ₂ 为 20% 三唑磷乳

收稿日期:2013-03-29

作者简介:汤鸣强(1966—),男,福建霞浦人,博士,副教授,从事微生物生化与农药污染生物修复的研究。E-mail:mqm-1022@163.com。

油 600 倍液, IV_2 为 20% 三唑磷乳油 500 倍液; I_3 为 90% 乙草胺乳油 300 倍液 + 喷施宝 2 000 倍液, II_3 为 90% 乙草胺乳油 200 倍液 + 喷施宝 1 500 倍液, III_3 为 90% 乙草胺乳油 300 倍液, IV_3 为 90% 乙草胺乳油 200 倍液; 每个处理 3 个重复, 共 12 个小区, 小区面积约为 3 m^2 。设清水对照 (CK)。各处理均兑水 500 mL 后于 2012 年 8 月 10 日施用, 分别在药后第 3 天和第 7 天进行取样, 测定土壤中细菌、放线菌、真菌数量。

1.3 可培养微生物生长量的测定

微生物计数采用稀释平板法, 细菌、放线菌、真菌培养分别采用牛肉膏蛋白胨培养基、高氏一号培养基、孟加拉红 - 马丁氏培养基。将 100 μL 的土壤样品稀释液分别涂布于牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、高氏一号培养基、孟加拉红 - 马丁氏培养基固体平板上, 分别置于 32、28、28 $^{\circ}\text{C}$ 下恒温连续培养 4 ~ 5 d, 当平板上的菌落数在 30 ~ 300 个之间时, 记录每个平板的菌落数。

1.4 数据处理与分析

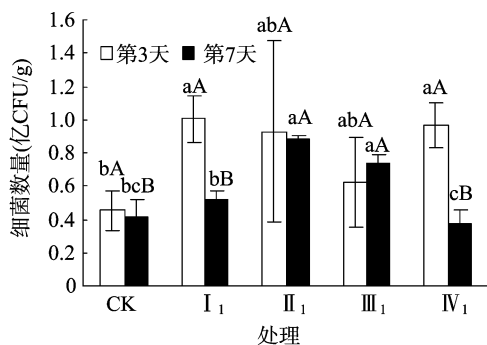
用 Excel 2003 和 SPSS 15.0 软件对数据进行单因素方差分析, 差异显著性分析采用 LSD 多重比较法, 显著水平为 0.05, 极显著水平为 0.01, 数据用“平均值 \pm 标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 喷施宝对施用草甘膦异丙胺盐土壤中微生物数量的影响

2.1.1 喷施宝对施用草甘膦异丙胺盐土壤中细菌数量的影响

图 1 表明, 施用草甘膦异丙胺盐能促进土壤中细菌总数的增加。处理第 3 天, 有无喷施宝的草甘膦异丙胺盐处理对土壤中细菌总数的影响不显著。但处理第 7 天, 添加喷施宝的高浓度处理组 (II_1) 土壤中细菌总数为 0.878 亿 CFU/g; 而没有添加喷施宝的相应处理组 (IV_1) 土壤中细菌总数为 0.377 亿 CFU/g, 二者间差异极显著 ($P < 0.01$), 未添加喷施宝的高浓度处理组细菌绝对总数减少了 57.1%。这可能与喷施宝有利于缓解高浓度草甘膦异丙胺盐对细菌的毒害有关。



不同小写、大写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)、极显著 ($P < 0.01$)。下同。

图1 喷施宝对施用草甘膦异丙胺盐土壤中细菌数量的影响

2.1.2 喷施宝对施用草甘膦异丙胺盐土壤中放线菌数量的影响

图 2 表明, 处理第 3 天, 除添加喷施宝的低浓度草甘膦异丙胺盐处理组 (I_1) 土壤中放线菌总数比对照组多以外, 其他 3 个处理组都比对照组少, 且差异显著 ($P < 0.05$)。说明在较短时间处理下, 草甘膦异丙胺盐对放线菌生长有抑制作用。但处理第 7 天, 加药的 4 个处理的放线菌总数都比对照明显增多, 而且未加喷施宝处理组的放线菌生长量比添加

喷施宝处理组高。由此可知, 喷施宝对施用草甘膦异丙胺盐土壤中放线菌数量的影响因使用时间与使用浓度的不同而不同。

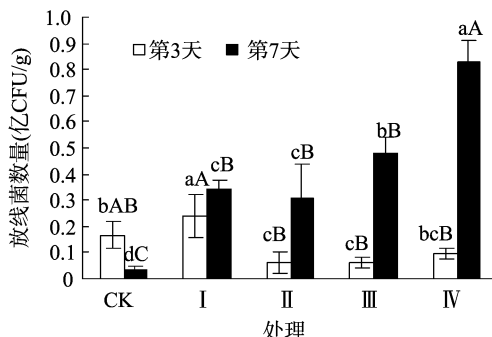


图2 喷施宝对施用草甘膦异丙胺盐土壤中放线菌数量的影响

2.1.3 喷施宝对施用草甘膦异丙胺盐土壤中真菌数量的影响

图 3 表明, 4 个处理的真菌数量极显著少于对照组 ($P < 0.01$), 试验浓度范围内施用草甘膦异丙胺盐能明显抑制土壤中真菌的生长。施药 3 天取样结果表明, 添加喷施宝的低浓度草甘膦异丙胺盐处理组 (I_1) 土壤中真菌的数量为 11.9 万 CFU/g, 极显著多于其他各处理的真菌数量 ($P < 0.01$), 说明喷施宝有利于缓解低浓度草甘膦异丙胺盐对土壤中真菌的毒性作用。施药第 7 天, 与第 3 天相比, 对照组的真菌数量略有下降, 除添加喷施宝的低浓度草甘膦异丙胺盐处理组 (I_1) 外, 其他 3 个处理的真菌数量都显著增加, 但处理间差异不显著。其可能与真菌适应了草甘膦异丙胺盐农药毒性而获得适当增殖有关。喷施宝对施用草甘膦异丙胺盐土壤中真菌生长的促进作用不明显。

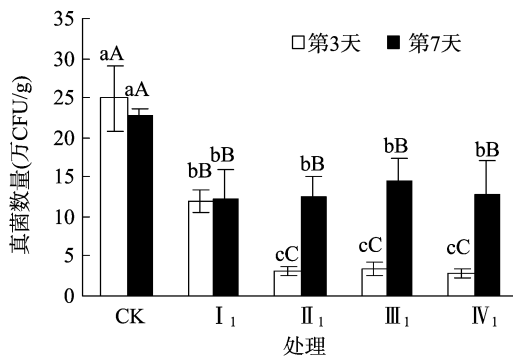


图3 喷施宝对施用草甘膦异丙胺盐土壤中真菌数量的影响

2.2 喷施宝对施用三唑磷土壤中微生物数量的影响

2.2.1 喷施宝对施用三唑磷土壤中细菌数量的影响

图 4 表明, 处理第 3 天, 三唑磷促进了土壤中细菌总数的增加, 而加或不加喷施宝对该农药处理后土壤中细菌总数变化的影响不显著。处理第 7 天, 除对照外, 各处理的细菌总数均较第 3 天少。

2.2.2 喷施宝对施用三唑磷土壤中放线菌数量的影响

图 5 表明, 与对照相比, 在 2 个时间点内除添加喷施宝的低浓度三唑磷处理 (I_2) 能显著促进土壤中放线菌总数增加外, 其他 3 个处理差异不显著 ($P > 0.05$)。说明在低浓度三唑磷 (20% 三唑磷乳油 600 倍液) 处理下, 施用喷施宝有利于减轻三唑磷对土壤中放线菌的毒性, 促进土壤中放线菌的生长。

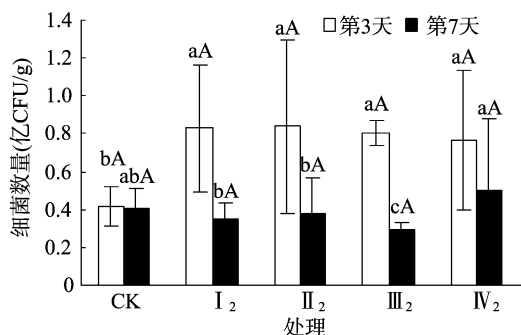


图4 喷施宝对施用三唑磷土壤中细菌数量的影响

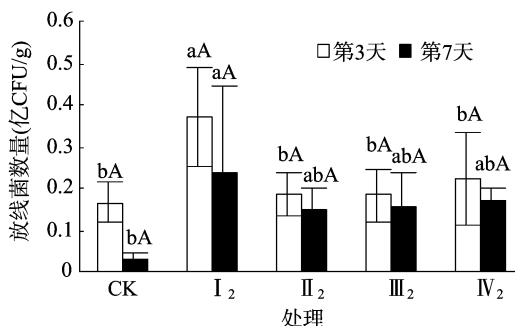


图5 喷施宝对施用三唑磷土壤中放线菌数量的影响

2.2.3 喷施宝对施用三唑磷土壤中真菌数量的影响 图6表明,施药第3天,与对照相比,除高浓度三唑磷处理组(IV₂)土壤中真菌数量没有显著减少外,其他3个处理组均极显著减少($P < 0.01$)。添加了喷施宝的低浓度三唑磷处理(I₂)真菌数量为11.5万CFU/g,未添加喷施宝的低浓度三唑磷处理(III₂)真菌数量为3.4万CFU/g,前者极显著的高于后者($P < 0.01$),说明在低浓度三唑磷(20%三唑磷乳油600倍液)处理中添加喷施宝有利于缓解该杀虫剂对土壤中真菌的抑制作用。施药第7天,除添加喷施宝的高浓度三唑磷处理(II₂)外,其他3个处理的真菌数量恢复到对照水平,且3个处理间差异不显著,说明喷施宝在缓解土壤因施用三唑磷导致的真菌数量的下降方面作用微弱。

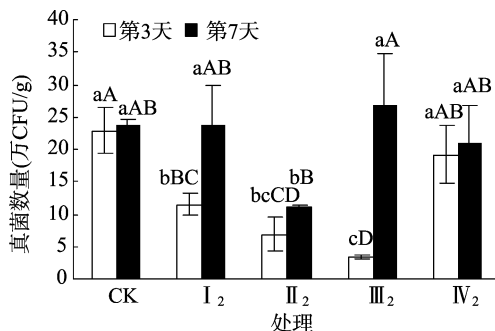


图6 喷施宝对施用三唑磷土壤中真菌数量的影响

2.3 喷施宝对施用乙草胺土壤中常见微生物数量的影响

2.3.1 喷施宝对施用乙草胺土壤中细菌数量的影响 图7表明,处理第3天,添加喷施宝的2个处理的细菌总数分别为0.877亿、0.992亿CFU/g,分别是对照组细菌总数(0.422亿CFU/g)的2.1、2.4倍,添加喷施宝的处理组细菌总数与对照组差异极显著($P < 0.01$)。在低浓度乙草胺

(90%乙草胺乳油300倍液)条件下,未添加喷施宝处理的细菌总数为0.472亿CFU/g,未添加喷施宝的处理细菌总数比添加喷施宝的处理显著减少了46.1%($P < 0.05$);在高浓度乙草胺(90%乙草胺200倍)条件下,未添加喷施宝的处理细菌总数比添加喷施宝的处理显著减少了38.8%($P < 0.05$)。说明在未添加喷施宝情况下,乙草胺的使用对土壤中细菌总数的影响不显著。施药第7天,除未添加喷施宝的低浓度处理组细菌总数明显增加外,其他3个处理的细菌总数都呈下降的趋势。其中,添加喷施宝的高浓度处理组细菌总数极显著高于对照及未添加喷施宝的细菌总数($P < 0.01$)。有文献报道,乙草胺能抑制微生物的呼吸,但乙草胺也能作为土壤中部分细菌的营养而被消耗,从而抵消除草剂本身的毒性。无论如何,在土壤中添加喷施宝能减轻乙草胺的毒性,从而进一步促进细菌的生长。

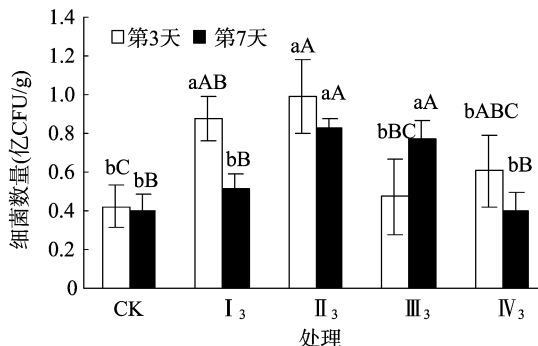


图7 喷施宝对施用乙草胺土壤中细菌数量的影响

2.3.2 喷施宝对施用乙草胺土壤中放线菌数量的影响 图8表明,喷药第3天,除添加喷施宝的低浓度乙草胺处理放线菌总数与对照差异不显著外,其余处理的放线菌总数都显著少于对照组。喷药第7天,所有处理的放线菌总数都极显著超过对照组($P < 0.01$),分别是对照组的29.2、39.8、36.1、35.8倍,但各处理间差异不显著。说明土壤中使用乙草胺的后期能明显促进放线菌的生长,而喷施宝对施用乙草胺的土壤中放线菌生长的影响不显著。

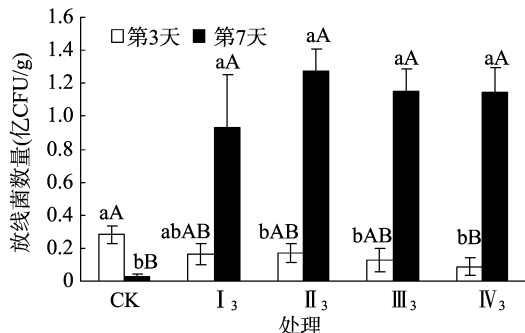


图8 喷施宝对施用乙草胺土壤中放线菌数量的影响

2.3.3 喷施宝对施用乙草胺土壤中真菌数量的影响 图9表明,施药第3天,与对照组相比,各处理组的真菌数量极显著减少($P < 0.01$)。说明乙草胺在处理的早期能明显抑制土壤中真菌的生长与繁殖。在该时间段,添加喷施宝的低浓度乙草胺(90%乙草胺300倍)处理组有利于缓解真菌数量的显著减少。施药第7天,各处理组土壤中的真菌数量都有明显增加的趋势,其中低浓度处理组的真菌数量增加尤其明显。

2 个低浓度处理组的真菌总数分别为 98.4、152.9 万 CFU/g, 而对照组的真菌总数为 23.2 万 CFU/g, 因此, 添加喷施宝的 2 个处理组的真菌总数分别是对照组的 4.24、6.59 倍。添加了喷施宝的高浓度乙草胺 (90% 乙草胺 200 倍) 处理组的真菌数量为 41.2 万 CFU/g, 而未添加喷施宝的高浓度处理组的真菌数量为 11.4 万 CFU/g, 后者比前者减少了 72.4%。说明喷施宝能明显影响施用乙草胺的土壤中的真菌数量, 特别当施用较高浓度乙草胺于土壤中时。

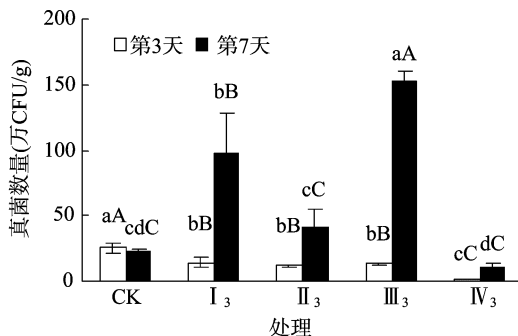


图9 喷施宝对施用乙草胺土壤中真菌数量的影响

3 结论与讨论

叶面肥喷施宝能促进施用草甘膦异丙胺盐的土壤中的细菌与放线菌的生长, 但受施药时间与使用浓度的影响。试验早期, 喷施宝对细菌的影响不明显, 后期未添加喷施宝的处理细菌总数减少了 57.1%。这可能与喷施宝有利于缓解高浓度草甘膦异丙胺盐对细菌的毒害有关, 放线菌生长表现出先抑制后促进的现象。添加喷施宝的低浓度草甘膦异丙胺盐处理组能促进土壤中放线菌总数增加, 该处理组土壤中的真菌数量显著高于其他各处理组, 说明喷施宝有利于缓解低浓度草甘膦异丙胺盐处理对土壤中真菌生长的毒性作用, 这跟文献[5]报道的一致。

邹小明等认为, 在培养初期, 三唑磷对细菌、真菌及放线菌均有不同程度的抑制作用; 对土壤中的细菌先抑制后促进, 对土壤中的真菌一直具有抑制效应, 且抑制效应的持续时间与浓度均呈极显著正相关^[6]。本试验结果表明, 三唑磷对土壤中细菌生长的影响呈先促进后局部抑制生长的变化趋势, 而加或不加喷施宝对三唑磷处理的土壤中的细菌总数变化的影响不显著。在 2 个时间点内, 添加喷施宝的低浓度三唑磷处理能显著促进土壤中放线菌总数增加, 说明在低浓度三唑磷处理下, 施用喷施宝有利于减轻三唑磷对土壤中放线菌生长的毒性, 从而促进土壤中放线菌的生长。三唑磷能显著抑制土壤中真菌的生长, 尽管添加喷施宝的低浓度三唑磷处理组有利于缓和该杀虫剂对土壤中真菌的抑制作用, 但喷施宝在缓解土壤因施用三唑磷导致的真菌数量下降方面的作用微弱。

郭兴华等认为, 乙草胺在短时间内对微生物区系能产生明显抑制作用, 但随着时间增加和污染物的分解, 微生物数量逐渐得到恢复。在短时间抑制过程中, 乙草胺浓度的对数与细菌、放线菌数量有很好的剂量效应关系。而真菌在受到乙草胺污染后, 受抑制现象并不明显, 真菌对乙草胺有较强的抗性^[9]。本试验的施药早期, 喷施宝对乙草胺施用土壤中细菌生长表现出明显的促进作用。施药第 7 天, 除未添加喷施宝的低浓度处理组细菌总数明显增加外, 其他 3 个处理的细菌总数都呈现减少的趋势。其中, 添加喷施宝的高浓度处理组细菌总数多于对照及未添加喷施宝的细菌总数。有文献报道, 乙草胺能抑制微生物的呼吸, 但乙草胺也能作为土壤中部分细菌的营养而被消耗, 从而抵消除草剂本身的毒性^[6]。无论如何, 添加喷施宝于土壤中能减轻乙草胺的毒性, 从而进一步促进细菌的生长。

乙草胺对土壤中放线菌生长的影响, 表现出了先扬后抑的变化趋势。喷施宝对施用乙草胺的土壤中放线菌生长的影响不显著。早期施用乙草胺能显著抑制土壤中真菌的生长与繁殖, 但后期各处理土壤中的真菌数量都有显著增加的趋势, 其中低浓度处理组的真菌数量增加尤其明显。同时, 施药后期添加喷施宝的高浓度乙草胺处理组有利于缓解真菌数量的明显下降, 说明喷施宝对施用乙草胺给土壤中真菌产生的抑制有缓解作用。

参考文献:

- [1] 聂荣荣, 黎华寿, 黄庆, 等. 不同温度下喷施宝对花生萌芽及幼苗生长的效应[J]. 华南农业大学学报: 自然科学版, 2002, 23(1): 5-8.
- [2] Labud V, Garcia C, Hernandez T. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil[J]. Chemosphere, 2007, 66(10): 1863-1871.
- [3] 苏少泉. 草甘膦述评[J]. 农药, 2005, 44(4): 145-149.
- [4] 罗海峰, 齐鸿雁, 张洪勋. 乙草胺对农田土壤细菌多样性的影响[J]. 微生物学报, 2004, 44(4): 519-522.
- [5] 陶波, 蒋凌雪, 沈晓峰, 等. 草甘膦对土壤微生物的影响[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(2): 162-168, 179.
- [6] 邹小明, 朱立成, 肖春玲, 等. 三唑磷的土壤微生物生态效应研究[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(1): 238-242.
- [7] Zhang H, Zhang Q, Zhou Q, et al. Binary-joint effects of acetochlor, methamidophos, and copper on soil microbial population[J]. Bulletin of Environment Contamination and Toxicology, 2003, 71(4): 746-754.
- [8] Li X Y, Zhang H W, Zhou Q X, et al. Effects of acetochlor and methamidophos on fungal communities in black soils[J]. Pedosphere, 2005, 15(5): 646-652.
- [9] 郭兴华, 乔玉辉, 赵晶, 等. 土壤微生物对除草剂乙草胺污染的响应和指示[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(5): 960-963.

(上接第 346 页)

进口葡萄酒进行检疫监管、出运、通关等全过程溯源管理, 不仅可作为问题产品溯源的工具, 还能帮助经销商和消费者了解产品的基本情况。因此, 二维码技术在进口葡萄酒的监管上具有巨大的技术优势和推广前景。

参考文献:

- [1] 朱玉增. 2012 年中国进口葡萄酒的现状与未来趋势[J]. 中国酒, 2013(1): 33-35.
- [2] 朱益刚. 二维码及其在物流领域的应用[J]. 物流技术, 2001(4): 24-26.