

15%多效唑可湿性粉剂对土壤微生物多样性的影响研究

袁志华¹, 程 波¹, 常玉海¹, 马 兴²

(1.农业部环境保护科研监测所, 天津 300191; 2.天津市塘沽区环境保护局, 天津 塘沽 300450)

摘 要:采用田间小区试验方法,研究了 25、50、100、250 mg·L⁻¹ 处理的 15%多效唑可湿性粉剂施药后 1、7、14 d 对土壤细菌、真菌和放线菌数量影响,同时设空白对照。采用稀释平板法测定土壤微生物数量,并利用综合多样性指数评价多效唑对土壤微生物多样性的影响。结果表明,多效唑对土壤微生物的数量影响趋势比较复杂,细菌、真菌和放线菌的数量随着施药时间、施药浓度的变化而变化;方差分析结果表明,100~250 mg·L⁻¹、1~14 d 时和 50~250 mg·L⁻¹、7 d 处理下的细菌数量与对照组细菌数量存在显著性差异($P<0.05$); 100~250 mg·L⁻¹、1 d 和 250 mg·L⁻¹、7、14 d 处理下的真菌数量与对照组存在显著性差异($P<0.05$); 250 mg·L⁻¹ 时、14 d 处理下的放线菌数量与对照组存在显著性差异($P<0.05$);方程拟合结果表明,施药 1 d 时,土壤细菌数量和多效唑施药浓度关系符合 $y = -4.07x + 51.17$ ($R = 0.98$);施药 7 d 时,土壤细菌数量和多效唑施药浓度关系符合指数方程 $y = 122.55e^{-0.7679x}$ ($R = 0.98$);施药为 14 d 时,土壤细菌数量和多效唑施药浓度关系符合指数方程 $y = 133.88e^{-1.0008x}$ ($R = 0.98$)。从多样性指数来看:当施药时间一定时,在 0~50 mg·L⁻¹ 浓度范围内,多样性指数呈下降趋势,而在 50~250 mg·L⁻¹ 浓度范围内,多样性指数呈上升趋势;施药浓度一定时,施药浓度为 25 mg·L⁻¹ 时,多样性指数在供试时间内呈现上升趋势;50~250 mg·L⁻¹ 浓度范围内,多样性指数在供试时间内呈现下降趋势。

关键词:多效唑;土壤微生物数量;生物多样性;影响

中图分类号:X592 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2008)05-1848-05

Influence of Paclobutrazol on Microbial Diversity in Soil

YUAN Zhi-hua¹, CHENG Bo¹, CHANG Yu-hai¹, MA Xing²

(1. Agro-Environment Protection Institute of MOA, Tianjin 300191, China; 2. Tanggu Environmental Protection Bureau, Tianjin 300450, China)

Abstract: As soil microorganisms including bacteria, fungi and actinomycete are regarded as major indicators of soil environmental quality and are very sensitive towards change of the soil environment, a series of plot tests at various dosages of paclobutrazol applied over cole was conducted to reveal the influence of the pesticide on soil biodiversity. The plot tests were designed with application dosages of 25, 50, 100, 250 mg·L⁻¹ and control, respectively. Plate counting method was used to determine the microbial quantities and diversity index H' was applied to appraise the influence of the pesticide on microbial biodiversity in the tested soil. The results showed that the influence of paclobutrazol on soil microorganisms depended on the dosages applied and incubation time. There were significant differences in terms of bacteria numbers among the treatments at dosages of 100~250 mg·L⁻¹ at 1~14 d and at the dosages of 50~250 mg·L⁻¹, at 7 d ($P<0.05$) after application, respectively, in comparison with the control. In addition, significant differences in bacterial numbers among the treatments at application dosages of 100~250 mg·L⁻¹ at 1d and at that of 250 mg·L⁻¹, at 7 d, 14 d ($P<0.05$ respectively in comparison with the control were observed. In terms of actinomycete numbers significant differences among treatments at applied dosages of 250 mg·L⁻¹ at 14 d ($P<0.05$) were found. The relationship between bacterial numbers and paclobutrazol concentrations applied at 1d was in accordance with a function of $y = -4.07x + 51.17$ ($R = 0.98$), at 7 d with that of $y = 122.55e^{-0.7679x}$ ($R = 0.98$) and at 14 d with that of $y = 133.88e^{-1.0008x}$ ($R = 0.98$), respectively. The influence of paclobutrazol on diversity index also changed with paclobutrazol concentration and incubation time exposed, increasing from 0 mg·L⁻¹ to 50 mg·L⁻¹ of paclobutrazol and decreasing from 50~250 mg·L⁻¹ under the given incubation time. Diversity index increased at the dosage of 25 mg·L⁻¹ and decreased at that of 50~250 mg·L⁻¹, respectively, under the given concentration.

Keywords: paclobutrazol; microbial numbers; biodiversity; influence

收稿日期: 2007-08-14

基金项目: 科技部重要技术标准研究 (2002BA906A76)

作者简介: 袁志华 (1977—), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事环境影响评价、农业环境保护工作。E-mail: yzh-77@126.com

通讯作者: 程 波 E-mail: cb59@eyou.com

多效唑(PP333)是 20 世纪 80 年代末由英国 ICI 有限公司开发的一种高效低毒植物生长延缓剂,属三唑类化合物^[1],白色结晶,难溶于水,溶于甲醇、氯仿和丙酮等有机溶剂,熔点 165~166 ℃。多效唑广泛应用于各类作物、果树、棉花、大豆、油菜和花卉等,能抑制植物体内贝壳烯酸氧化酶活性,破坏内源赤霉素的合成,也能促进吲哚乙酸氧化酶的活性,降低内源吲哚乙酸水平以及阻碍乙烯等内源激素的生成,由此能抑制植物营养生长,使株型矮壮,提高植物抗逆性。

土壤微生物是农田土壤生态系统中的重要组成部分,也是土壤环境质量评价的一个主要指标^[2]。土壤微生物量虽然只占土壤有机质的 3%左右^[3],但它却是植物养料转化、有机碳代谢及污染物降解的驱动力,在土壤肥力和生态系统中具有重要的作用。土壤微生物对土壤环境的变化十分敏感,土壤环境的微小变动都会引起其活性变化和多样性的变化^[4]。许多对植物或动物有害的物质如酸害、杀虫剂、重金属等超过一定限度同样会影响或危及土壤微生物^[5,6]。多效唑是强烈生长延缓剂,在通常条件下土壤中半衰期为 0.5~1.0 a,多效唑的施用可能会对土壤微生物多样性产生一定的影响,进而会影响农田土壤生态系统。本文旨在研究不同浓度、不同施用时间后的多效唑对土壤细菌、真菌、放线菌土壤微生物多样性的影响,为评价多效唑对农田土壤生态系统环境质量的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试作物为小油菜,品种为四月曼,购自天津市农业科学院种子站;多效唑,15%可湿性粉剂,产于江苏建农农药化工有限公司。

小区试验在天津市中北镇大棚蔬菜基地进行,供试土壤为中壤质盐化潮土,其基本理化性质见表 1。

1.2 实验设计

本试验采用田间小区(1 m×0.5 m)试验,共设 4 个处理,并设空白对照,15%多效唑可湿性粉剂浓度分别为 0、25、50、100、250 mg·L⁻¹,每个处理设 3 次重复,小油菜于 2005 年 4 月播种,在 3 叶期将多效唑溶

液兑水,一次性均匀喷洒在小油菜上。

1.3 样品采集与测定

施药后 1、7、14 d 用取土器随机采取 0~20 cm 表层土壤样品 1 kg,装入取样袋中,贴好标签,测定土壤微生物种类和数量。土壤微生物数量的测定采用稀释平板法:细菌用牛肉膏蛋白胨培养基;放线菌用高氏一号培养基;真菌用马丁氏(Martin)培养基^[7]。

1.4 微生物多样性指数计算^[8]

根据 Shannon-Wiener 公式: $H=-\sum_{i=1}^s P_i \log_2 P_i$,式中:S 为评价范围内物种数目; P_i 为种 i 的个体在全部个体中的比例;H 为评价范围内的多样性指数。

1.5 数据处理

试验结果利用 SAS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 施药浓度对土壤微生物数量影响分析

根据试验数据,绘制不同施药时间下,多效唑物质的剂量-效应关系曲线。曲线具体情况见图 1~图 3,其中细菌、放线菌数量以 10⁶ 个·g⁻¹ 土计,真菌数量以 10⁴·g⁻¹ 土计。

2.1.1 施药浓度对土壤细菌数量影响分析

由图 1~图 3 可知,多效唑对土壤细菌数量有一定的抑制作用,随着施药浓度的增加,抑制作用逐渐加强。对不同施药浓度进行 t 检验,结果表明:当施药时间为 1 d 和 14 d 时,100~250 mg·L⁻¹ 多效唑影响下

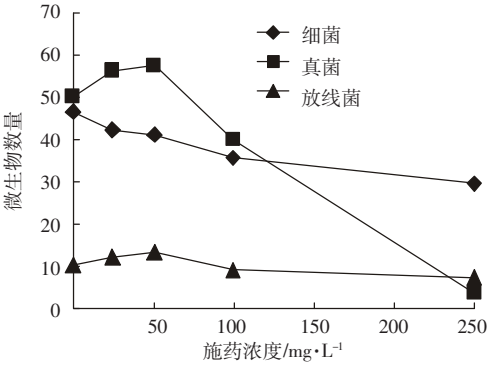


图 1 施药 1 d 时施药浓度对土壤微生物数量影响
Figure 1 Influence of various paclobutrazol dosages on soil microbial biomasses 1 day after application

表 1 供试土壤的基本理化性质
Table 1 Major properties of the tested soil

土壤类型	pH	有机质/g·kg ⁻¹	速效磷/mg·kg ⁻¹	速效钾/mg·kg ⁻¹	无机态氮/mg·kg ⁻¹
中壤质盐化潮土	7.88	32.0	7.12	162	10.21

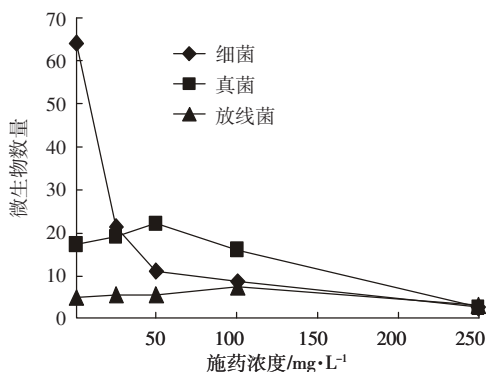


图2 施药7 d时施药浓度对土壤微生物数量影响

Figure 2 Influence of various paclobutrazol dosages on soil microbial biomasses 7 days after application

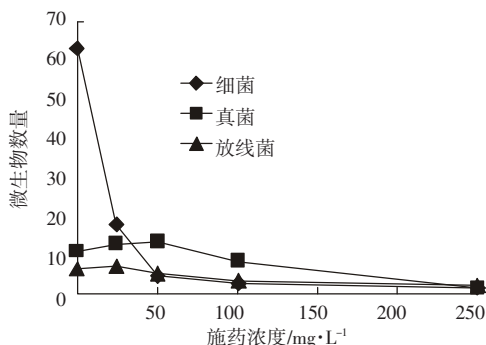


图3 施药14 d时施药浓度对土壤微生物数量影响

Figure 3 Influence of various paclobutrazol dosages on soil microbial biomasses 14 days after application

的细菌数量与对照组细菌数量存在显著性差异($P < 0.05$),即认为100 mg·L⁻¹和250 mg·L⁻¹多效唑对土壤细菌数量具有明显的抑制作用;而施药时间为7 d时,50~250 mg·L⁻¹多效唑影响下的细菌数量与对照组细菌数量存在显著性差异($P < 0.05$)。

通过曲线拟合,施药为1 d时,土壤细菌数量和多效唑施药浓度关系符合直线方程 $y = -4.07x + 51.17$,其中 $R = 0.98$;施药为7 d时,土壤细菌数量和多效唑施药浓度关系符合指数方程 $y = 122.55e^{-0.7679x}$,其中 $R = 0.98$;施药为14 d时,土壤细菌数量和多效唑施药浓度关系符合指数方程 $y = 133.88e^{-1.0008x}$,其中 $R = 0.98$ 。

2.1.2 施药浓度对土壤真菌数量影响分析

由图1~图3可知,多效唑对土壤真菌数量的影响规律不同于细菌。低浓度(0~50 mg·L⁻¹)范围内,随着15%多效唑可湿性粉剂浓度的增加,土壤真菌数量也随之增加,表明低浓度的多效唑对真菌具有一定的刺激作用,浓度为50 mg·L⁻¹的多效唑溶液对真菌数量的影响达到最大,施药后1、7、14 d,真菌数量分

别比对照增加15%、29%、18%;而高浓度范围内(50~250 mg·L⁻¹),随着15%多效唑可湿性粉剂浓度的增加,土壤真菌数量呈现不同程度的降低。对不同施药浓度进行t检验,结果表明:施药时间1 d、100~250 mg·L⁻¹和施药7、14 d时,250 mg·L⁻¹多效唑影响下的真菌数量与对照组真菌数量存在显著性差异($P < 0.05$),即认为上述浓度多效唑对土壤真菌数量具有明显的抑制作用。其中浓度为250 mg·L⁻¹的多效唑对真菌数量的抑制作用尤为明显,施药后1、7、14 d,真菌数量分别比对照降低93%、85%和86%。

2.1.3 施药浓度对土壤放线菌数量影响分析

由图1~图3可知,多效唑对土壤放线菌数量的影响规律比较复杂。低浓度(0~50 mg·L⁻¹)溶液施药1~7 d范围内,随着15%多效唑可湿性粉剂浓度的增加,土壤放线菌数量也随之增加,表明多效唑对放线菌也有一定的刺激作用,浓度为50 mg·L⁻¹的多效唑溶液对放线菌数量的影响分别比对照增加26%、4%、18%。而高浓度范围内(50~250 mg·L⁻¹),随着15%多效唑可湿性粉剂浓度的增加,土壤放线菌数量不同程度的降低。对不同施药浓度进行t检验,结果表明:施药时间为14 d,250 mg·L⁻¹多效唑影响下的放线菌数量与对照组放线菌数量存在显著性差异($P < 0.05$),放线菌数量比对照降低71%。其他施药浓度和施药时间多效唑影响下的放线菌数量与对照组放线菌数量差异均不显著。

从2.1.1~2.1.3结果分析可知,多效唑对土壤微生物数量的影响随着施药浓度和施药时间的不同各有差异,多效唑属于植物生长调节剂,也是农药的一种,许多研究表明,农药对土壤微生物的影响是呈多样化变化趋势,溴苯腈在田间施用量水平时可以使细菌和放线菌增加,而在高浓度时会抑制细菌和放线菌的活性,并且降低真菌的数量^[9];土壤中结合态甲磺隆残留物对土壤细菌、真菌具有明显的刺激作用,而对土壤放线菌有强烈的抑制作用^[10];浓度较低时,二氯喹啉酸可以促进真菌数量的增加;高浓度时,二氯喹啉酸具有抑制作用^[11]。农药对于土壤微生物的影响机理还有待于进一步进行研究。

从图1~图3可以看出,施药浓度为0的对照处理中,细菌、真菌和放线菌在1、7、14 d的测定中也有一定的变化,其中真菌和放线菌随着时间的增加呈现下降趋势,而细菌则随着时间的增加呈上升趋势,对于第1 d、第14 d的变化分别为:真菌降低80%,放线菌降低50%,细菌增加40%,可能是由于温度的变化

而引起土壤中微生物的变化,未见相关研究,具体作用机理有待研究。

2.2 施药时间对土壤微生物数量影响分析

根据试验数据,绘制不同施药浓度下,多效唑物质的剂量-效应关系曲线。曲线具体情况见图 4~图 7,其中细菌、放线菌数量以 10^6 个 $\cdot$ g $^{-1}$ 土计,真菌数量以 10^4 个 $\cdot$ g $^{-1}$ 土计。

由图 4~图 7 可以看出,只有在施药浓度为 25 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 时,放线菌的数量随着时间的变化呈现“V”字形变化,即放线菌的数量随着施药时间呈现先下降后上升的趋势;其余的施药浓度下,真菌、细菌和放线菌的数量均随着施药时间而降低。

对不同施药时间进行 t 检验,结果表明:(1)当施药浓度 100~250 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 、施药时间 1~14 d 时和施药浓度 50~250 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 、施药时间 7 d 时多效唑影响下的细菌数量与对照组细菌数量存在显著性差异($P<0.05$)。(2)施药浓度 100~250 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 、施药时间 1 d 和施药浓度 250 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 、施药时间 7、14 d,多效唑影响下的真

菌数量与对照组真菌数量存在显著性差异($P<0.05$)。(3)施药浓度 250 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 、施药时间 14 d 时,多效唑影响下的放线菌数量与对照组放线菌数量存在显著性差异($P<0.05$)。

2.3 对生物多样性影响分析

土壤微生物数量只反映了总量上的差异,无法表现其在组成或区系上的变化,所以,要反映土壤质量的生物活性还要结合微生物多样性的研究。生物多样性指数是描述生物类型数和均匀度的一个度量指标,它在一定程度上可反映生物群落中物种的丰富程度及其各类型间的分布比例^[9]。根据 Shannon-Wiener 多样性指数公式分别计算了不同施药时间后土壤微生物三大类群多样性指数,绘制多效唑施药浓度-施药时间-多样性指数关系,见图 8。

由图 8 可知,当施药时间一定时,生物多样性指数随着施药浓度的变化呈现先下降后上升的趋势,在 0~50 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 浓度范围内,多样性指数呈下降趋势;在 50~250 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 浓度范围内,多样性指数呈上升趋势。

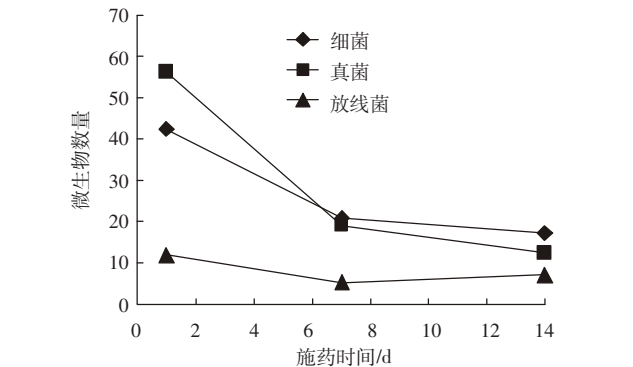


图 4 施药浓度 25 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 下施药时间对土壤微生物数量影响
Figure 4 Influence of paclobutrazol on soil microbial biomasses with various incubation times at the dosage of 25 mg $\cdot$ L $^{-1}$

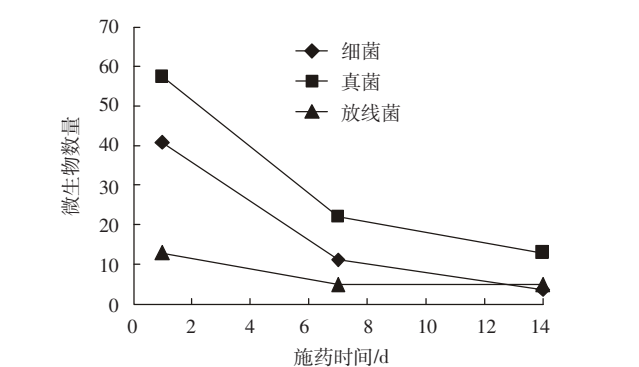


图 5 施药浓度 50 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 下施药时间对土壤微生物数量影响
Figure 5 Influence of paclobutrazol on soil microbial biomasses with various incubation times at the dosage of 50 mg $\cdot$ L $^{-1}$

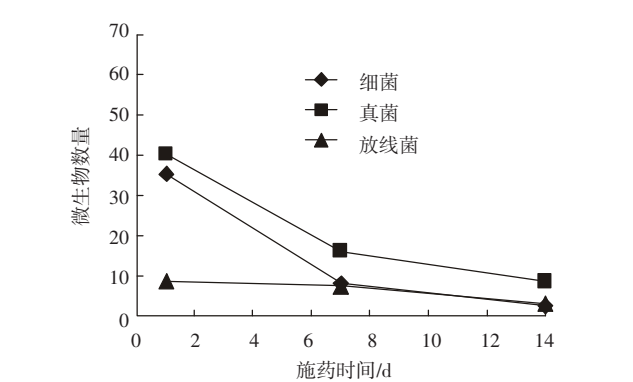


图 6 施药浓度 100 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 下施药时间对土壤微生物数量影响
Figure 6 Influence of paclobutrazol on soil microbial biomasses with various incubation times at the dosage of 100 mg $\cdot$ L $^{-1}$

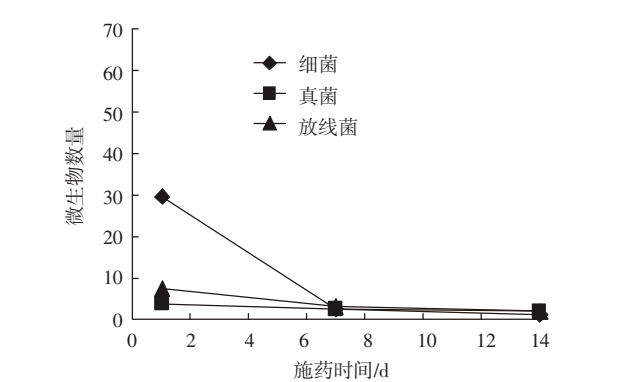


图 7 施药浓度 250 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 下施药时间对土壤微生物数量影响
Figure 7 Influence of paclobutrazol on soil microbial biomasses with various incubation times at the dosage of 250 mg $\cdot$ L $^{-1}$

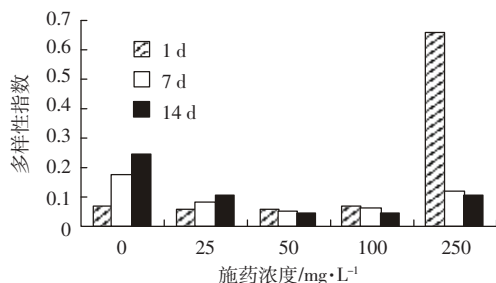


图8 多效唑对生物多样性的影响

Figure 8 Influence of paclobutrazol on soil microbial biodiversity

当施药浓度一定时,多样性指数随着施药时间而呈现一定的变化趋势,施药浓度为 $25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,多样性指数随着施药时间的增加而上升; $50 \sim 250 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度范围内,多样性指数随着施药时间的增加而下降。多样性指数随着施药时间呈现出以上规律可能是由于开始施药多效唑溶液时,土壤环境发生了变化,土壤微生物之间分布和比例会随之变化,稳定性降低,多样性指数下降;而当多效唑的浓度继续增加时,土壤微生物已经对土壤生态系统的变化产生了一定的适应能力,抵抗外来不良环境的影响能力进一步加强,土壤微生物之间分布和比例会产生新的变化,稳定性增强,因而多样性指数也随着上升。

对于空白组,不同的施药时间其多样性指数也呈现不同的变化动态。秦华等研究 DEHP 对土壤微生物多样性指数影响的时候,空白组的多样性指数也呈现不规则的变化动态^[12]。具体的原因尚待研究。

3 结论

(1) 试验结果表明,15%多效唑可湿性粉剂对土壤微生物多样性造成一定的影响。并且其效应随着时间、浓度和微生物的种类不同而有所差异。

(2) 在一定程度上反映土壤微生物生态特征指标的微生物数量和生物多样性指数可作为多效唑污染土壤环境质量变异的参考指标。

参考文献:

- [1] 张淑红. 植物生长延缓剂多效唑在农业上的应用[J]. 垦殖与稻作, 2006(4):59-61.
- ZHANG Shu-hong. The application of the plant growth retardant paclobutrazol on agriculture[J]. *Reclaiming and Rice Cultivation*, 2006(4): 59-61.
- [2] 张健, 杜慧玲, 洪坚平. 苯磺隆、尿素、多效唑对土壤微生物的影

响[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2007,27(1): 58-61.

ZHANG Jian, DU Hui-ling, HONG Jian-ping. Influence of HER, Urea, Trib Enuron-methyl on soil microorganisms[J]. *Journal of Shan xi Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2007,27(1): 58-61.

- [3] 张海燕, 张旭东, 李军. 土壤微生物量测定方法概述[J]. 微生物学杂志, 2005,25(4):95-99.
- ZHANG Hai-yan, ZHANG Xu-dong, LI Jun. Outline of soil microbial biomass measurement methods[J]. *Journal of Microbiology*, 2005,25(4): 95-99.
- [4] 徐阳春, 沈其荣, 冉炜. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物生物量碳、氮、磷的影响[J]. 土壤学报, 2002, 39(1):89-96.
- XU Yang-chun, SHEN Qi-rong, RAN Wei. Effects of zero-tillage and application of manure on soil microbial biomass C,N and P after sixteen years of cropping[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2002,39(1):89-96.
- [5] McGrath S P, Chaudri A M, GiUer K E. Long-term effects of land application of sewage sludge: microorganisms and plants. Trans.15th World Congr.Siol Sci[J]. *Acapulco Mexico*, 1994V3a:517-533.
- [6] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985.54-57.
- Academy of Sciences. Methods of Soil Microorganism [M]. Beijing: Sciences Press, 1985.54-57.
- [7] 骆世明, 彭少麟. 农业生态系统分析[M]. 广州: 广东科技出版社, 1996.39-41.
- LUO Shi-ming, PENG Shao-lin. Agriculture ecosystem analysis [M]. Guang Zhou: Scientific and technological publishing house of Guangdong House, 1996.39-41.
- [8] 章家恩, 刘文高, 胡刚. 不同土地利用方式下土壤微生物数量与土壤肥力的关系[J]. 土壤与环境, 2002,11(2):140-143.
- ZHANG Jia-en, LIU Wen-gao, HU Gang. The relationship between quantity index of soil microorganisms and soil fertility of different land use systems[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2002,11(2):140-143.
- [9] Omar S A, Abdelsater M A. Microbial population and activities in soil treated with pesticides[J]. *Water Air Soil Pollut*, 2001, 127(14):49-63.
- [10] 汪海珍, 徐建民, 谢正苗. 甲磺隆结合残留物对土壤微生物的影响[J]. 农药学报, 2003, 5(2): 69-78.
- WANG Hai-zhen, XU Jian-min, XIE Zheng-miao. Influence of metsulfuron-methyl bound residues on soil Microorganisms[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2003, 5(2): 69-78.
- [11] 吕镇梅, 闵航, 叶央芳. 除草剂二氯喹啉酸对水稻田土壤中微生物种群的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(4):6005-609.
- LU Zhen-mei, MIN Hang, YE Yang-fang. Effect of herbicide quinclorac on microbe populations in a paddy soil [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004,15(4):605-609.
- [12] 秦华, 林先贵, 陈瑞蕊. DEHP 对土壤脱氢酶活性及微生物功能多样性的影响[J]. 土壤学报, 2005,42(5),830-835.
- QIN Hua, LIN Xian-gui, CHEN Rui-Xin. Effects of DEHP on dehydrogenase activity and microbial functional diversity[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2005,42(5):830-835.