

戊唑醇对土壤微生物数量和呼吸强度的影响

崔淑华, 王开运, 洪 营, 郭庆龙, 范 昆

(山东农业大学植保学院农药系, 山东 泰安 271018)

摘 要:采用平板菌落计数法及密闭静置测 CO₂ 法, 分别研究了三唑类杀菌剂戊唑醇对土壤微生物数量和呼吸强度的影响, 以评价其环境生态效应。结果表明, 戊唑醇在 1 和 5 mg·kg⁻¹ 低浓度下对土壤微生物的数量有刺激生长作用, 在 10 mg·kg⁻¹ 高浓度下有抑制其生长的作用, 而且在细菌、放线菌和真菌种类间也存在明显差异, 处理后 8d, 戊唑醇对土壤细菌、真菌仍有很大的刺激作用, 但对放线菌的影响时间较短, 处理后 4 d 即可恢复到正常水平, 至处理后 16 d, 各处理对土壤细菌、放线菌和真菌的影响均恢复到正常水平。戊唑醇对土壤微生物的呼吸强度亦有明显影响, 呈现先抑制后刺激的规律, 处理后 10 d 恢复到正常水平。戊唑醇对土壤微生物的影响是短暂的, 无环境生态副效应。

关键词:戊唑醇; 土壤微生物; 数量; 呼吸

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2005)05-0865-05

Influence of Tebuconazole on the Population and Respiration of the Soil Microbes

CUI Shu-hua, WANG Kai-yun, HONG Ying, GUO Qing-long, FAN Kun

(College of Plant Protection, Shandong Agriculture University, Taian 271018, China)

Abstract: In order to evaluate the environmental safety of the fungicide to the soil, the effect of different concentrations of tebuconazole, a trizole fungicide, on the population and the respiration of the soil microbes were studied by closed or direct absorption and plate culture count method. The result showed that the population of the soil microbes increased when the soil was treated with the lower concentrations (1mg·kg⁻¹, 5 mg·kg⁻¹) of tebuconazole, the stimulated increasing rate of bacteria, fungi and aceinomyces reached 49.45%, 13.28% and 19.41%, 20.95%, 178.44% and 81.97% respectively after 1 day. However, the population decreased under the higher concentration. The restrained rate of the bacteria, aceinomyces and fungi reached 15.17%, 41.60% and 20.95% separately after 1 day. The effects of tebuconazole on the population of the bacteria, aceinomyces and fungi varied with the treatment concentrations. After 8 days, the bacteria and the fungi were largely stimulated, while, the actinomyces returned to the normal lever after 4 days. Each treatment resumed after 16 days. The respiration of the soil was firstly restrained then stimulated when treated with tebuconazole. After 10 days, the respiration of the soil under different treatments restored to the original level.

Keywords: tebuconazole; soil microbes; population; respiration

土壤微生物是土壤生态系统中的重要组成部分, 对土壤肥力的形成、土壤生态系统的物质循环等具有重要的意义。农田施用的化学农药绝大部分散落于土壤中, 势必会对土壤微生物产生影响^[1]。因此, 化学农药在农田施用后对土壤微生物的影响程度已成为评价其生态安全性的一个重要指标, 也是农药环境生态

毒理研究的热点之一^[2,3]。

戊唑醇(tebuconazole) 是新一代三唑类杀菌剂, 具有优良的生物活性, 用量低, 内吸性强, 适用范围广, 对白粉菌属、柄锈菌属、喙孢属、核腔菌属、黑粉菌属和壳针孢菌属引起的病害均能有效防治, 而且持效期长, 对许多单子叶作物、双子叶作物安全, 近年来已成为小麦、玉米、蔬菜等作物上防治植物病害的主导药剂。国内外学者对戊唑醇作用机制、防治效果等方面进行了很多研究^[4-7], 但关于该药剂使用后可对土壤微生物活性所产生的影响尚未见报道。

本文从土壤微生物数量、呼吸强度着手, 初步探

收稿日期: 2004-12-15

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目(2002BA516A12)

作者简介: 崔淑华(1980—), 女, 山东济南人, 硕士研究生, 研究方向为农药毒理与有害生物抗药性。

联系人: 王开运 E-mail: kywang@sdau.edu.cn

讨论了戊唑醇对土壤微生物活性的影响,旨在了解其土壤微生物生态效应,以便为经济合理地施用该药,减少环境污染提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 土壤

土壤采自山东农业大学实验田,为小麦和玉米连作田,从未使用过戊唑醇防治作物病害。取 2~15 cm 耕作层土壤,过 2 mm 筛,土壤为潮褐土,其理化性质为:pH6.39、有机质 15.2 g·kg⁻¹、有效氮 42.98 mg·kg⁻¹、速效钾(氧化钾)81.49 mg·kg⁻¹、速效磷 48.2 mg·kg⁻¹、田间最大持水量 21.9 %。

1.1.2 药品

戊唑醇(纯度 99.0%),山东华阳科技股份有限公司提供。

1.2 试验方法

1.2.1 土壤微生物数量的测定

准确称取戊唑醇 0.01 g,置于 100 mL 容量瓶中,用丙酮溶解,定容备用。试验时按需要用无菌水逐级稀释。取上述土壤 6 份,每份 200 g,其中 3 份分别加入不同剂量的戊唑醇,使之在土壤中的浓度分别为 1、5、10 mg·kg⁻¹,另 3 份相应加入同浓度的丙酮(用无菌水稀释到所需浓度)作为对照,调节土壤的含水量至田间最大持水量的 60%。将土壤分别装入广口瓶中,塞上棉塞,置于 25℃恒温培养箱中培养。每隔一定的时间采用测重法调节土壤含水量,使之恒定。培养后第 1、4、8、16 d 分别取土样检测其中细菌、真菌和放线菌数量。

各类微生物计数均采用平板菌落计数法^[8]。取相当于 10.0 g 烘干土重的处理土样,放入含 90 mL 无菌水的三角瓶内,振荡 10 min,而后用无菌水配制成一系列不同浓度的土壤稀释液。在每一无菌培养皿中加入 0.5 mL 样品稀释液(以每个培养皿中 100 个菌落数的稀释浓度为试验浓度),待选择性琼脂培养基接近凝固时,对号倾注 15 mL 培养基,摇匀制成平板。倒置,于 25℃恒温培养,分别于第 3、5、10 d 计录细菌、真菌、放线菌菌落数目。由各记录的菌落数目计算土样中微生物种群的数量。每一浓度重复 5 次,取平均值。

1.2.2 土壤微生物呼吸强度的测定

采用密闭静置测 CO₂ 法^[8,9],在一个密闭系统中放置新鲜土壤及过量的 NaOH 标准溶液,土壤微生物在

呼吸过程中释放出来的 CO₂ 被 NaOH 吸收,用 HCl 滴定剩余的 NaOH,根据消耗的盐酸量计算释放出的 CO₂ 量。将试验结果换算成每 100 g 干土的 CO₂ 释放量。试验以未施用该药剂的空白土壤为对照,设药剂在土壤中浓度分别为 0、1、5、10、20 mg·kg⁻¹ 共 5 个处理。分别在处理后的第 2、5、7、10、12、15 d 测定 CO₂ 的释放量,每个处理重复 3 次,取平均值。

2 结果与分析

2.1 戊唑醇对土壤微生物数量的影响

戊唑醇对土壤微生物数量影响的测定结果见图 1、图 2、图 3 和表 1。

从和图 1、图 2、图 3 和表 1 可看出,戊唑醇处理土壤后对土壤细菌、放线菌、真菌的影响规律基本相似,都呈现低浓度处理刺激土壤微生物生长,高浓度处理抑制微生物生长的规律,但药剂对土壤细菌、放

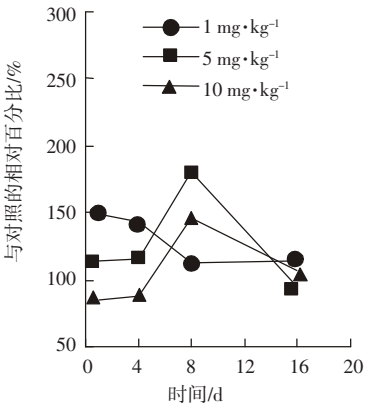


图 1 戊唑醇对土壤细菌数量的影响

Figure 1 Influence of tebuconazole on population of bacteria in the soil

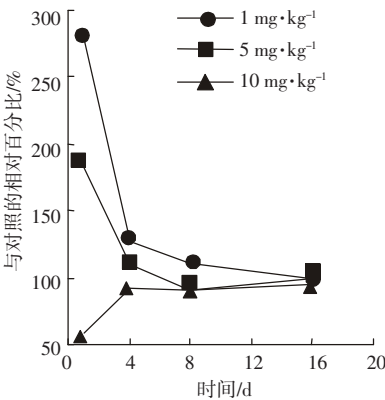


图 2 戊唑醇对土壤放线菌数量的影响

Figure 2 Influence of tebuconazole on population of actinomycetes in the soil

表 1 戊唑醇对土壤微生物数量的影响

Table 1 Influence of tebuconazole on the population of the soil microbes

菌群	处理浓度 /mg · kg ⁻¹	处理后时间/d			
		1	4	8	16
细菌 (×10 ⁷ cfu · g ⁻¹)	CK ₁	0.91 Aa	1.63Ab	1.39Aa	1.80Aa
	1	1.36Aa	2.33Aa	1.57Aa	2.06Aa
	CK ₅	1.28 Aa	4.70 Aa	2.05Ab	4.85Aa
	5	1.45Aa	5.40 Aa	3.71Aa	4.63Aa
	CK ₁₀	1.45Aa	11.80Aa	2.66Ab	7.58Aa
	10	1.23Aa	10.40Aa	3.90Aa	8.13Aa
放线菌 (×10 ⁶ cfu · g ⁻¹)	CK ₁	1.67Ab	2.16Aa	4.79Aa	3.80Aa
	1	4.65Aa	2.74Aa	5.29Aa	3.77Aa
	CK ₅	1.83Ab	3.62Aa	5.62Aa	4.73 Aa
	5	3.33Aa	3.95Aa	5.11Aa	4.68 Aa
	CK ₁₀	4.36Aa	5.50Aa	6.34Aa	5.50 Aa
	10	2.57Ab	5.03 Aa	5.75Aa	5.25 Aa
真菌 (×10 ⁴ cfu · g ⁻¹)	CK ₁	1.70Aa	2.87 Ab	4.50Bb	3.37Aa
	1	2.03Aa	4.33Aa	8.13Aa	3.63Aa
	CK ₅	1.73 Aa	4.60 Aa	5.57Ab	3.77Aa
	5	1.60 Aa	4.33 Aa	7.43Aa	2.83Aa
	CK ₁₀	2.53Aa	5.30Aa	7.60Aa	4.83Aa
	10	2.00Aa	3.40 Bb	6.43Bb	4.97Aa

注:小写字母表示 0.05 水平差异,大写字母表示 0.01 水平差异。

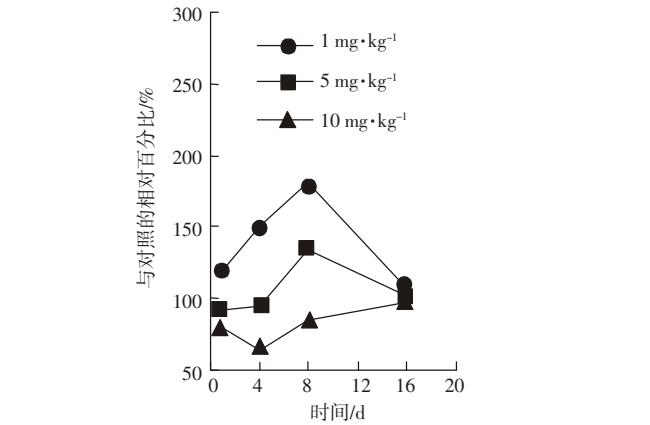


图 3 戊唑醇对土壤真菌数量的影响

Figure 3 Influence of tebuconazole on population of fungi in the soil

线菌、真菌的影响程度又各不相同。

一般情况下,细菌可占土壤微生物总量的 70%~90%,其数量多少是影响土壤微生物总量变化的关键。从表 1 和图 1 看出,戊唑醇处理土壤后 1 d,在 1 和 5 mg·kg⁻¹ 处理的样品中,对土壤细菌分别产生 49.45%和 13.28%的刺激作用,而用高浓度 10 mg·kg⁻¹ 戊唑醇处理,对土壤细菌产生 15.17%的抑制作用。药剂处理后 4 d,各处理间对细菌数量影响作用不大。处理后 8 d,除 1 mg·kg⁻¹ 戊唑醇处理对土壤细菌的刺激作用减弱外,5 和 10 mg·kg⁻¹ 戊唑醇处理则对细菌产生强烈的刺激作用,其刺激程度分别达到 80.98%和

46.62%。处理后 16 d,戊唑醇不同处理浓度对土壤细菌的影响均恢复到正常水平。

戊唑醇处理土壤后,对放线菌的影响明显强于对细菌的影响。从表 1 和图 2 可看出,处理后 1 d,1 和 5 mg·kg⁻¹ 戊唑醇的处理对放线菌的刺激率分别达到 178.44%和 81.97%,10 mg·kg⁻¹ 戊唑醇的处理对土壤放线菌的抑制率为 41.60%。但受抑制的放线菌恢复也较快,处理后 4 d 各处理的放线菌数量均恢复到正常水平。

戊唑醇处理土壤对真菌的影响也很大,1 mg·kg⁻¹ 戊唑醇处理对真菌产生很强的刺激作用,处理后 1、4 和 8 d 的刺激率分别为 19.41%、50.87%和 80.67%。5 mg·kg⁻¹ 戊唑醇处理对真菌则产生先抑制、后刺激、再恢复的变化规律,处理后 1 和 4 d,戊唑醇对真菌产生较小的抑制作用,抑制率分别为 7.51%、5.87%;处理后 8 d,刺激作用升高到 33.39%。10 mg·kg⁻¹ 戊唑醇处理后 1、4 和 8 d,对真菌分别产生 20.95%、35.85%和 15.39%的抑制作用。戊唑醇不同处理浓度处理土壤后 16 d,其对土壤中真菌的影响消失,其数量均恢复到正常水平。

2.2 戊唑醇对土壤微生物呼吸作用的影响

土壤微生物呼吸作用是土壤微生物生命活动中释放出 CO₂ 的过程,其强弱变化是反映微生物活性的重要指标之一。

戊唑醇对土壤微生物呼吸作用影响的测定结果见表 2 和图 4。从中可看出,处理后 0~5 d,不同处理浓度的戊唑醇对土壤微生物呼吸都具有一定的抑制作用。其中 20 mg·kg⁻¹ 戊唑醇对土壤微生物呼吸的抑制率最大,其他处理对微生物呼吸也具有一定的抑制作用,但 1、5 和 10 mg·kg⁻¹ 处理浓度间差异不大。处

理后 5~10 d,不同浓度的戊唑醇对土壤微生物呼吸都具有一定的刺激作用,特别是处理后 7~10 d,各处理浓度对土壤呼吸均产生很强的刺激作用,刺激率为 31.23%~96.85%,药剂浓度越高,对土壤呼吸作用的刺激越强。药剂处理 10 d 之后,戊唑醇各浓度处理的微生物呼吸量都逐渐恢复到正常水平。

表 2 戊唑醇对土壤微生物呼吸作用的影响
Table 2 Influence of tebuconazole on the respiration of the soil microbe

处理后时间/d	CO ₂ 释放量/mg·100 g ⁻¹ 干土				
	CK	1 mg·kg ⁻¹	5 mg·kg ⁻¹	10 mg·kg ⁻¹	20 mg·kg ⁻¹
0~2	60.13 Aa	56.13ABabc	58.67 Aab	54.27ABbc	51.33 Bc
2~5	187.73 Aa	155.47 Aab	162.00Aab	154.67Aab	143.73 Ab
5~7	60.43Cd	66.73Bc	69.67ABbc	71.87Aab	73.33 Aa
7~10	23.47Bb	30.80ABab	36.73ABab	38.87ABab	46.20Aa
10~12	24.20 Aa	26.40 Aa	27.87 Aa	25.67 Aa	27.13 Aa
12~15	29.40 Aa	31.60 Aa	30.87 Aa	32.33 Aa	32.3Aa

注:小写字母表示 0.05 水平差异,大写字母表示 0.01 水平差异。

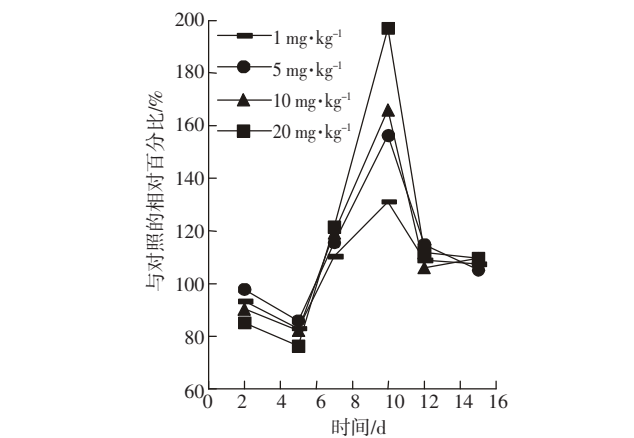


图 4 戊唑醇对土壤呼吸强度的影响

Figure 4 Influence of tebuconazole on the respiration of the soil microbes

3 讨论

(1)目前国内外有关杀菌剂施入土壤后对其微生物数量影响的报道很少。Q. Lin 等^[10]和 Ridge 等^[11]研究了克菌丹、苯来特对微生物数量的影响,证明测定药剂对土壤微生物均有较强的抑制作用,恢复周期也很长。但燕嗣皇等^[12]研究发现,用三唑酮处理土壤可提高土壤木霉、细菌和放线菌的种群密度并削弱其他土壤真菌。本研究证明戊唑醇不同浓度处理土壤后,对土壤细菌、真菌、放线菌初表现低浓度刺激其生长,高浓度抑制其生长的影响,其结果与燕嗣皇等的研究报道较一致。同时发现,戊唑醇对土壤微生物的影响是短暂的,很快就能恢复到正常水平。三唑酮、戊唑醇

等三唑类杀菌剂对木霉菌和枯草芽孢杆菌等还表现出协同作用^[13,14],本研究也证明了戊唑醇在低浓度下表现出的刺激作用,原因可能是低浓度特异性杀菌剂在杀死靶标微生物的同时,能增加非靶标微生物在土壤中的定殖和繁殖,从而刺激了微生物总量的增加。
(2)戊唑醇对土壤微生物呼吸的影响规律为先抑制后刺激,这与国内外的相关研究较一致^[15,16]。按照 Tu^[16]的观点,在戊唑醇施入后土壤呼吸强度出现的刺激效应,可能是有机农药作为碳源和能源被微生物吸收利用的结果。微生物数量的变化与呼吸作用的增强是相对应的,戊唑醇施入后 4~8 d,土壤细菌、真菌数量呈上升趋势,尤其是低浓度戊唑醇处理,土壤细菌、真菌数量大大增加,从而引起土壤呼吸作用的增强。

(3)因戊唑醇原药不溶于水,不易用水直接配制成药液使用,选用丙酮作助溶剂,但丙酮对土壤微生物能产生很大影响,为消除药液中的丙酮对微生物数量的影响,试验中平行设置了相应含量的丙酮水混合液作为对照。

4 结论

戊唑醇处理土壤防治植物真菌病害时,会对土壤微生物的数量和呼吸强度产生明显影响。对其数量表现为低浓度刺激生长高浓度抑制生长的作用,且在细菌、放线菌和真菌种类间的影响也又一定差异性;对呼吸强度的影响则有先抑制后刺激的现象。但戊唑醇对土壤微生物的影响是短暂的,处理后 16 d 其影响完全消失,无环境生态副效应。

参考文献:

- [1] 蔡道基, 江希流, 蔡玉祺. 化学农药对生态环境安全评价研究 I [J]. 农村生态环境, 1986, (2):9-13.
- [2] 国家环保局. 化学农药环境安全评价试验准则[J]. 农药科学与管理, 1990, (2):1-5; (3):3-5; (4):4-9.
- [3] 朱鲁生, 王 军, 林爱军, 等. 二甲戊乐灵的土壤微生物生态效应[J]. 环境科学, 2002, 23(3): 88-91.
- [4] 陈茹梅, 李金玉, 康振生, 等. 戊唑醇对小麦纹枯菌超微结构的影响 [J]. 菌物系统, 2000, 19(3): 389-395.
- [5] Kang Z, Huang L, Krieg U, et al. Effects of tebuconazole on morphology, structure, cell wall components and trichothecene production of *Fusarium culmorum* in vitro[J]. *Pest-management-sci*, 2001, 57(6): 491-500.
- [6] Edwatds S, Pirgozliev S, Hare M, et al. Quantification of trichothecene-producing *Fusarium* species in harvested grain by competitive PCR to determine efficacies of fungicides against fusarium head blight of winter wheat[J]. *American Society for Microbiology*, 2001, 67(4): 1575-1580.
- [7] 吴学宏, 刘西莉, 王 峰, 等. 含戊唑醇种衣剂防治小麦苗期纹枯病的研究[J]. 莱阳农学院学报, 2000, 17(2): 93-97.
- [8] 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, 1985.54-59.
- [9] 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. 216-220.
- [10] Lin Q, Brookes P C. Comparison of substrate induced respiration, selective inhibition and biovolume measurements of microbial biomass and its community structure in unamended, ryegrass-amended, fumigated and pesticide-treated soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 31: 1999-2014.
- [11] Ridge E H, Theodorou C. The effect of soil fumigation on microbial recolonization and mycorrhizal infection [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1972, 4: 295-305.
- [12] 燕嗣皇, 陆德清, 杨玉环. 三种杀菌剂对木霉和整齐小核菌及土壤主要微生物类群的影响[J]. 中国生物防治, 1996, 12(1):29-32.
- [13] 燕嗣皇, 吴石平, 陆德清. 三唑酮对木霉根际竞争定殖的影响[J]. 植物病理学报, 2000, 30(3):266-270.
- [14] 陈志谊, 任海英, 刘永锋. 戊唑醇和枯草芽孢杆菌协同作用防治蚕豆枯萎病及增效机理初探[J]. 农药学报, 2002, 4(4): 40-44.
- [15] 黄耀蓉, 李登煜, 张小平, 等. 五氯酚钠污染土壤的微生物活性及优势菌群研究[J]. 西南农业学报, 1999, 12:39-43.
- [16] Tu C M. Effect of four organophosphorus insecticides on microbial activities in soil.[J]. *Applied Microbiol*, 1970, 19:479-484.