

文章编号: 1000-5692(2006)01-0080-05

8种肥料微生物对化肥和农药的敏感性

陶树兴, 房 薇

(陕西师范大学 生命科学学院, 陕西 西安 710061)

摘要: 采用二倍稀释法研究了生产微生物肥料用的8种细菌对10种化肥和代表不同类别的5种农药的敏感性。实验结果表明: 10种化肥在实验质量浓度达 $200.00\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 对8种细菌均无杀灭作用。化肥中碳酸氢铵抑菌作用最强, 对圆褐固氮菌 *Azotobacter chroococcum* ACCC 8011 抑制作用最大。5种农药在实验质量浓度达 $10.00\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 对实验菌株均无杀灭作用。多菌灵、甲基托布津、溴氰菊酯和阿维菌素对胶质芽孢杆菌 *Bacillus mucilaginosus* ACCC 10013, 圆褐固氮菌 ACCC 8011, 大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* 61A76 和细黄链霉菌 *Streptomyces microflavus* 5406 有一定的抑制作用, 草甘膦对8种细菌都有抑制作用。表2参10

关键词: 肥料微生物; 化肥; 农药; 最低抑菌质量浓度; 最低杀菌质量浓度

中图分类号: S144; Q939.9 文献标识码: A

化学肥料和农药在农业生产中发挥着极其重要的作用, 但近年来大量使用化肥和农药所带来的负效应也日益明显。农业的可持续发展和生态环境的保护, 需要提倡使用有机肥和其他新型肥料^[1~3]。作为一种新型辅助肥料, 微生物肥料在粮食作物、经济作物、果树、林业生产和园林绿化等领域都已受到人们的重视^[4~6]。微生物肥料起作用的是活的微生物, 土壤环境、使用方法等对它的效果有重要影响。目前微生物肥料的基础研究还比较薄弱^[7]。微生物肥料能否与化学肥料混合使用或同时使用? 使用杀虫剂、杀菌剂和除草剂等化学农药是否影响微生物肥料的效果? 本试验研究了细菌肥料生产中常用菌种对10种化学肥料和代表不同类别的5种化学农药的敏感性, 以为微生物肥料的合理使用以及复合肥料的研制提供参考。

1 材料和方法

1.1 实验菌株

蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus* B6371-2, 巨大芽孢杆菌 *Bacillus megatherium* ACCC 10011, 胶质芽孢杆菌 *Bacillus mucilaginosus* ACCC 10013, 圆褐固氮菌 *Azotobacter chroococcum* ACCC 8011, 大豆根瘤菌 *Bradyrhizobium japonicum* 61A76, 细黄链霉菌 *Streptomyces microflavus* 5406, 以上菌种均由中国农业微生物菌种保藏中心 (ACCC) 提供。嗜几丁质芽孢杆菌 *Bacillus chitinolyticus* SNU-D1, 侧孢芽孢杆菌 *Bacillus laterosporus* SNU-X6, 由陕西师范大学生命科学学院微生物学实验室提供。

1.2 化肥

尿素 $\text{H}_2\text{NCONH}_2 \geq 99.0\%$, 硫酸铵 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \geq 99.0\%$, 硝酸铵 $\text{NH}_4\text{NO}_3 \geq 99.0\%$, 硝酸钾 $\text{KNO}_3 \geq 99.5\%$, 碳酸氢铵 $\text{NH}_4\text{HCO}_3 \geq 99.0\%$, 磷酸氢二铵 $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 \geq 98.5\%$, 磷酸二氢钾 $\text{KH}_2\text{PO}_4 \geq$

收稿日期: 2005-04-22; 修回日期: 2005-08-04

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(10474061)

作者简介: 陶树兴, 副教授, 从事应用微生物学研究。E-mail: taoshx@snnu.edu.cn

99.5%, 磷酸氢二钾 $K_2HPO_4 \geq 99.0\%$, 氯化钾 $KCl \geq 99.5\%$, 硫酸钾 $K_2SO_4 \geq 99.0\%$ 。以上均为分析纯试剂。

1.3 农药

多菌灵 (Bavistin, 99%), 甲基托布津 (Thiophanate-methyl, 95%), 溴氰菊酯 (Deltamethrin, 98.5%), 阿维菌素 (Avermectin, 95%), 草甘膦 (Glyphosate, 95%), 代表不同类别的杀菌剂、杀虫剂和除草剂。以上农药标准品均由陕西省化工产品质量监督检验站提供。

1.4 培养基

芽孢杆菌用牛肉膏-蛋白胨培养基^[7], 胶质芽孢杆菌用硅酸盐细菌培养基^[8], 固氮菌用阿须贝氏 (Ashby) 培养基^[8], 根瘤菌培养基^[8], 放线菌培养基^[8]。

1.5 方法

1.5.1 含化肥或农药培养基的制备 采用试管二倍稀释法, 具体操作参考以前的方法^[9]。每种化肥或农药设 10 个梯度。根据各种化肥或农药的溶解度, 有些梯度 (高于溶解度) 是直接将固体化肥或农药粉末与液体培养基混合, 大部分梯度 (低于溶解度) 是将化肥或农药溶液加入双料液体培养基中。培养基中化肥的最终质量浓度依次为 200.00, 100.00, 50.00, 25.00, 12.50, 6.25, 3.13, 1.56, 0.80, 0 (ck) $g \cdot L^{-1}$; 培养基中农药的最终质量浓度依次为 10.00, 5.00, 2.50, 1.25, 0.63, 0.31, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0 (ck) $g \cdot L^{-1}$ 。所有制备过程均采用无菌操作, 每种处理设 3 个重复。

1.5.2 接种培养及抑菌活性观察 将经活化的斜面菌种用生理盐水下洗, 调节细胞数为 2×10^{11} 个 $\cdot L^{-1}$, 向每支装有 6 mL 含化肥或农药培养基的试管中接入 0.1 mL 菌液, 放入 28 $^{\circ}C$ 恒温箱培养。芽孢杆菌培养 48 h, 胶质芽孢杆菌和圆褐固氮菌培养 72 h, 根瘤菌和放线菌培养 7 d。培养结束后肉眼观察记录细菌的生长情况, 同时采用标准平板菌落计数法计数。

1.5.3 抑菌活性结果判定 在试验过程中每种化肥或农药设置不接菌液的对照, 每种细菌不加化肥或农药的未培养对照 (C_1) 和正常培养对照 (C_2)。将处理组与对照组标准平板菌落计数的结果进行比较。取细菌生长量小于或等于不加化肥或农药的未培养对照 (C_1) 的最低质量浓度作为最低抑菌质量浓度; 细菌生长量大于或等于不加化肥或农药的正常培养对照 (C_2) 的最高质量浓度为生长无抑制质量浓度。

1.5.4 杀菌作用观察 抑菌活性测定培养结束后, 从肉眼观察记录细菌未生长 (细菌生长量小于或等于不加化肥或农药的未培养对照) 的试管中取样, 在平板上划线接种, 在 28 $^{\circ}C$ 培养, 芽孢杆菌培养 48 h, 圆褐固氮菌和胶质芽孢杆菌培养 72 h, 根瘤菌和放线菌培养 7 d。培养结束后, 肉眼观察记录细菌的生长情况。划线接种平板和标准平板菌落计数的平板上均没有细菌生长的最低质量浓度即为最低杀菌质量浓度。划线接种平板和标准平板菌落计数的平板上有菌生长时, 同时做革兰氏染色进行鉴别。

2 结果与分析

2.1 10 种化肥对 8 种细菌的杀灭作用

杀菌作用观察实验结果表明, 尿素、硫酸铵、硝酸铵、硝酸钾、碳酸氢铵、磷酸氢二铵、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾、氯化钾和硫酸钾等 10 种化肥在实验质量浓度范围内对蜡状芽孢杆菌 B6371-2, 巨大芽孢杆菌 ACCC 10011, 嗜几丁质芽孢杆菌 SNU-D1, 侧孢芽孢杆菌 SNU-X6, 胶质芽孢杆菌 ACCC 10013, 圆褐固氮菌 ACCC 8011, 大豆根瘤菌 61A76 和细黄链霉菌 5406 这 8 种细菌均无杀灭作用。

2.2 10 种化肥对 8 种细菌的抑制作用

10 种化肥对 8 种细菌的抑制作用实验结果见表 1。从表 1 看出: ①除碳酸氢铵外, 其余 9 种化肥对 8 种细菌的最低抑菌质量浓度都在 50.00 $g \cdot L^{-1}$ 以上, 生长无抑制质量浓度多在 3.13 ~ 6.25 $g \cdot L^{-1}$ 。②碳酸氢铵对 8 种细菌的抑制作用都较强, 最低抑菌质量浓度都在 50.00 $g \cdot L^{-1}$ 以下; 与尿素、硫酸铵、硝酸铵和氯化钾相比, 硝酸钾、磷酸氢二铵、磷酸二氢钾、磷酸氢二钾和硫酸钾等对 8 种细菌的抑制作用相对较弱些。③不同细菌对 10 种化肥的敏感性差别较大。芽孢杆菌有较强抗性, 圆褐固氮菌 ACCC 8011, 大豆根瘤菌 61A76 和细黄链霉菌 5406 对化肥较敏感, 尤其是圆褐固氮菌 ACCC 8011 对

硫酸铵、碳酸氢铵和氯化钾都很敏感。

表 1 10种化肥对8种细菌的抑制作用

Table 1 The inhibitory effect of the ten chemical fertilizers to the eight bacteria

菌 株	尿素		硫酸铵		硝酸铵		硝酸钾		碳酸氢铵	
	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)
	蜡状芽孢杆菌 B6371-2	100.00	6.25	100.00	6.25	100.00	12.50	100.00	12.50	50.00
巨大芽孢杆菌 ACCC 10011	100.00	6.25	100.00	3.13	50.00	6.25	100.00	25.00	25.00	3.13
嗜几丁质芽孢 杆菌 SNU-D1	50.00	3.13	50.00	3.13	100.00	12.50	200.00	12.50	25.00	3.13
侧孢芽孢杆菌 SNU-X6	50.00	1.56	50.00	3.13	50.00	6.25	200.00	12.50	25.00	6.25
胶质芽孢杆菌 ACCC 10013	50.00	3.13	50.00	3.13	50.00	3.13	100.00	12.50	50.00	6.25
圆褐固氮菌 ACCC 8011	50.00	6.25	25.00	3.13	50.00	3.13	100.00	12.50	25.00	1.56
大豆根瘤菌 61A76	50.00	6.25	50.00	6.25	100.00	6.25	100.00	6.25	50.00	6.25
细黄链霉菌 5406	50.00	3.13	50.00	3.13	100.00	6.25	100.00	3.13	50.00	6.25

菌 株	磷酸氢二铵		磷酸二氢钾		磷酸氢二钾		氯化钾		硫酸钾	
	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)
	蜡状芽孢杆菌 B6371-2	100.00	12.50	50.00	3.13	100.00	3.13	200.00	6.25	100.00
巨大芽孢杆菌 ACCC 10011	100.00	12.50	50.00	6.25	100.00	6.25	100.00	6.25	100.00	3.13
嗜几丁质芽孢 杆菌 SNU-D1	50.00	6.25	50.00	6.25	100.00	6.25	200.00	12.50	100.00	6.25
侧孢芽孢杆菌 SNU-X6	50.00	3.13	200.00	12.50	100.00	6.25	100.00	6.25	100.00	3.13
胶质芽孢杆菌 ACCC 10013	50.00	3.13	100.00	6.25	100.00	6.25	100.00	6.25	50.00	3.13
圆褐固氮菌 ACCC 8011	50.00	3.13	50.00	3.13	50.00	3.13	12.50	3.13	50.00	1.56
大豆根瘤菌 61A76	50.00	6.25	100.00	6.25	100.00	6.25	100.00	6.25	50.00	3.13
细黄链霉菌 5406	50.00	6.25	100.00	3.13	50.00	3.13	50.00	3.13	50.00	3.13

2.3 5种农药对8种细菌的杀灭作用

多菌灵、甲基托布津、溴氰菊酯、阿维菌素和草甘膦等5种农药在实验质量浓度范围内对蜡状芽孢杆菌 B6371-2, 巨大芽孢杆菌 ACCC 100111, 嗜几丁质芽孢杆菌 SNU-D1, 侧孢芽孢杆菌 SNU-X6, 胶质芽孢杆菌 ACCC 10013, 圆褐固氮菌 ACCC 8011, 大豆根瘤菌 61A76 和细黄链霉菌 5406 这8种细菌均无杀灭作用。

2.4 5 种农药对 8 种细菌的抑制作用

5 种农药对 8 种细菌的抑制作用实验结果见表 2。从表 2 看出, 在实验质量浓度范围内, 多菌灵、甲基托布津、溴氰菊酯和阿维菌素等对蜡状芽孢杆菌 B6371-2, 巨大芽孢杆菌 ACCC 10011, 嗜几丁质芽孢杆菌 SNU-D1 和侧孢芽孢杆菌 SNU-X6 均无抑制作用, 对胶质芽孢杆菌 ACCC 10013, 圆褐固氮菌 ACCC 8011, 大豆根瘤菌 61A76 和细黄链霉菌 5406 有抑制作用。草甘膦对 8 种细菌都有抑制作用, 尤其对蜡状芽孢杆菌 B6371-2 和侧孢芽孢杆菌 SNU-X6 影响较大。

表 2 5 种农药对 8 种细菌的抑制作用

Table 2 The inhibitory effect of the five pesticides to the eight bacteria

菌 株	多菌灵		甲基托布津		溴氰菊酯		阿维菌素		草甘膦	
	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	最低抑菌 质量浓度/ (g·L ⁻¹)	无抑制 质量浓度/ (g·L ⁻¹)
	蜡状芽孢杆菌 B6371-2	—	—	—	—	—	—	—	—	1.25
巨大芽孢杆菌 ACCC 10011	—	—	—	—	—	—	—	—	2.50	0.16
嗜几丁质芽孢 杆菌 SNU-D1	—	—	—	—	—	—	—	—	5.00	0.31
侧孢芽孢杆菌 SNU-X6	—	—	—	—	—	—	—	—	1.25	0.16
胶质芽孢杆菌 ACCC 10013	5.00	0.63	10.00	1.25	10.00	0.63	10.00	1.25	10.00	1.25
圆褐固氮菌 ACCC 8011	5.00	0.31	5.00	0.63	2.50	0.63	5.00	0.16	5.00	1.25
大豆根瘤菌 61A76	10.00	0.16	5.00	0.31	5.00	0.31	2.50	0.08	5.00	0.31
细黄链霉菌 5406	10.00	0.63	2.50	0.16	2.50	0.16	2.50	0.16	5.00	0.31

说明: “—” 表示农药对该微生物无抑制作用。

3 结果与讨论

本试验所选的 8 种肥料微生物, 其作用除刺激植物生长外, 有的可获得特定的肥料效应, 还有的能拮抗植物病原菌^[2, 10]。实验结果显示不同细菌对 10 种化肥的敏感性差别较大。芽孢杆菌有较强抗性, 圆褐固氮菌 ACCC 8011, 大豆根瘤菌 61A76 和细黄链霉菌 5406 对化肥较敏感, 尤其是圆褐固氮菌 ACCC 8011 对硫酸铵、碳酸氢铵和氯化钾都很敏感。

10 种化肥在实验质量浓度下对 8 种细菌均无杀灭作用。碳酸氢铵对 8 种细菌抑制作用最大, 硝酸钾、磷酸氢二铵、磷酸二氢钾、磷酸二钾和硫酸钾等对 8 种细菌抑制作用相对较弱。

代表不同类别的 5 种化学农药在实验质量浓度下对 8 种细菌均无杀灭作用。5 种农药中对 8 种细菌抑制作用较大的是草甘膦, 尤以对蜡状芽孢杆菌 B6371-2 和侧孢芽孢杆菌 SNU-X6 的影响较大。

尽管这些化肥和农药对 8 种细菌有一定的抑制作用, 但在试验质量浓度范围内无杀灭作用, 而本试验中化肥的质量浓度最高达 200.00 g·L⁻¹, 远高于生产中浇施、滴灌和喷施的质量浓度。本文中农药的质量浓度最高达 10.00 g·L⁻¹, 远高于这 5 种农药在生产中的使用质量浓度。作者认为当这几种化肥和农药采用浇施、滴灌和喷施时, 这几种肥料微生物的制剂可与化肥和农药混合使用, 但尚需做进一步试验。对于果树和林木, 当采用沟施或穴施时, 这几种肥料微生物的制剂与化肥和农药最好分期或在根区的不同位置分别使用。

在土壤环境、有机肥及固体化肥和农药中, 化肥和农药对微生物的作用以及杀细菌农药的抑菌作

用如何, 有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 葛诚. 微生物肥料研究、生产和应用的几个问题[J]. 微生物学通报, 1995, 22 (6): 27—32.
- [2] 葛诚. 微生物肥料生产应用基础[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 1—28.
- [3] 章家恩, 刘文高. 微生物资源的开发利用与农业的可持续发展[J]. 土壤与环境, 2001, 10 (2): 154—157.
- [4] 王素英, 陶光灿, 谢光辉, 等. 我国微生物肥料的应用研究进展[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8 (1): 14—18.
- [5] 李元芳. 微生物肥料及其在蔬菜上的应用[J]. 中国蔬菜, 2001 (5): 1—3.
- [6] 杨承栋, 焦如珍, 孙启武. 森林土壤学科研究进展[J]. 世界林业研究, 2004, 17 (2): 1—5.
- [7] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验: 第3版[M]. 北京: 高等教育出版社, 1999: 214.
- [8] 中华人民共和国农业部. 中华人民共和国农业行业标准: NY227-1994 微生物肥料[S]. 北京: 中国标准出版社, 1994.
- [9] 陶树兴, 薛知文, 杨秋香. 几种食用菌和霉菌对一些抗菌药剂的敏感性研究[J]. 中国食用菌, 1990, 9 (1): 19—20.
- [10] 刘健, 李俊, 葛诚. 微生物肥料作用机理的研究新进展[J]. 微生物学杂志, 2001, 21 (1): 33—36.

Sensitivity of 8 manure bacteria to chemical fertilizer and common pesticide

TAO Shu-xing, FANG Wei

(College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710061, Shaanxi, China)

Abstract: The sensitivity of 8 bacteria used to produce microbial manure to 10 chemical fertilizers and 5 pesticides with double dilution were studied. The results showed that the 8 chemical fertilizers didn't have the sterilization to the 8 strains when the experimental concentration reached $200.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. The bacteriostasis of ammonium bicarbonate was stronger than other fertilizers while its inhibitory action to *Azotobacter chroococcum* ACCC 8011 was the greatest. The 5 pesticides didn't have any sterilization to the experimental strains when the experimental concentration reached $10.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$. The bavistin, thiophanate-methyl, deltamethrin and the avermectin had some inhibition to *Bacillus mucilaginosus* ACCC 10013, *Azotobacter chroococcum* ACCC 8011, *Bradyrhizobium japonicum* 61A76 and *Streptomyces microflavus* 5406, but the glyphosate had inhibitory action to the 8 strains. [Ch, 2 tab. 10 ref.]

Key words: manure bacteria; chemical fertilizer; pesticide; minimal inhibitory concentration; minimal bactericidal concentration