

草甘膦对槟榔园土壤微生物及槟榔生长发育的影响

余凤玉¹, 杨德洁¹, 祝安传², 阎伟¹, 唐庆华¹, 覃伟权¹

(1. 中国热带农业科学院椰子研究所/院士团队创新中心(槟榔黄化病综合防控), 海南文昌 571339; 2. 海南热带海洋学院, 海南三亚 572022)

摘要 [目的] 研究除草剂草甘膦对槟榔园土壤微生物、槟榔幼苗生长及叶绿素的影响。[方法] 在土壤中分别施入田间使用剂量的0倍、1倍、2倍和5倍的草甘膦, 观察其对盆栽槟榔幼苗生长和槟榔园土壤微生物的影响。[结果] 草甘膦对槟榔土壤微生物有显著影响, 低浓度和高浓度对细菌有极显著的抑制作用, 中浓度却有极显著的促进作用; 不同浓度对真菌和放线菌均具有极显著抑制作用。低浓度草甘膦对槟榔幼苗生长有促进作用, 5倍浓度的草甘膦对槟榔幼苗有抑制作用; 对槟榔叶片叶绿素含量无显著影响, 未引起叶片黄化。[结论] 除草剂草甘膦田间正常使用剂量能促进槟榔幼苗生长, 对叶片叶绿素无明显影响, 不引起叶片黄化, 但对土壤微生物有显著抑制作用, 应注意与其他药剂轮换施用, 避免对槟榔园土壤微生物多样性造成不利影响。

关键词 草甘膦; 槟榔; 土壤微生物; 叶绿素

中图分类号 S482.4 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2021)02-0120-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2021.02.032



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Effects of Glyphosate on Soil Microorganisms and Arecanut GrowthYU Feng-yu¹, YANG De-jie¹, ZHU An-chuan² et al (1. Coconut Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Hainan Innovation Center of Academician Team, Wenchang, Hainan 571339; 2. Hainan Institute of Tropical Oceanography, Sanya, Hainan 572000)

Abstract [Objective] To study the effect of glyphosate on soil microorganism, seedling growth and chlorophyll in areca orchards. [Method] Glyphosate 0 times, 1 times, 2 times and 5 times of the field dosage was applied to the soil respectively, and the effects of glyphosate on the growth of areca seedling in pot and soil microorganism in areca plantation were observed. [Result] Glyphosate had a significant effect on areca soil microorganisms, low and high concentrations had a significant inhibition on bacteria, while medium concentrations had a significant promotion; different concentrations had a significant inhibition on fungi and actinomycetes. Glyphosate of low concentration could promote the growth of areca seedlings, 5 times of the dosage of glyphosate used in the field could inhibit the growth of areca seedlings, and had no significant effect on the chlorophyll content of areca leaves, and did not cause the yellow leaves. [Conclusion] The normal dosage of glyphosate in the field can promote the growth of *Areca catechu* seedlings, has no obvious effect on the chlorophyll of leaves, does not cause the leaves to turn yellow, but has a significant inhibitory effect on the soil microorganisms. It should be paid attention to the application of glyphosate in rotation with other chemicals to avoid adverse effects on the soil micro biodiversity of areca plantation.

Key words Glyphosate; Arecanut; Soil microorganisms; Chlorophyll

槟榔(*Areca catechu* L.) 是重要的中药材, 居四大南药之首, 在我国主要分布在海南, 产量约占全国产量的95%以上, 是海南人民的主要经济来源之一^[1]。随着槟榔效益的提高, 槟榔种植面积不断扩大, 病虫害也日趋严重, 危害最为严重的是黄化病, 成为制约槟榔产业发展的主要瓶颈问题。黄化病最早在海南省屯昌县药材场发现, 此后在海南东部、中部和南部山区相继出现并不断蔓延^[1-2]。槟榔黄化有病理性黄化和生理性黄化2种, 病理性黄化由植原体引起, 生理性黄化由缺素、管理不善等原因引起。由于种植户为减少劳动力成本, 常常使用草甘膦等除草剂除草。草甘膦对铁还原酶有抑制作用, 长期频繁使用会造成植物缺铁性黄化^[3]。因此, 有人认为草甘膦也是引起槟榔黄化的原因之一, 但并没有明确的证据证明草甘膦的施用与槟榔黄化有直接关系^[4]。作为槟榔园常用除草剂之一的草甘膦, 是一种内吸传导型除草剂, 通过茎叶吸收后传导至植物各部位, 对多年生杂草非常有效, 是一种非选择性、无残留的灭生性除草剂, 抗草甘膦作物的推广应用, 使得草甘膦的应用范围进一步扩大, 是目前世界上使用量最大、应用范围最广的除草剂^[5-10], 140多个国

家使用, 总用量从1974年的3 200 t/年增加到2014年的825 000 t/年, 预计未来还会继续增加^[10]。

草甘膦的大量使用, 使得人们对其安全性产生了担忧, 并由此开展了大量研究。研究发现, 小剂量的草甘膦可作为植物生长调节剂^[10], 被认为是一种较为环保的除草剂, 但也有研究发现草甘膦或其代谢产物氨甲基膦酸(AMPA)会降低作物叶片叶绿素含量, 影响光合作用^[11-16]。另外有研究认为土壤中残留的草甘膦对土壤微生物有影响^[17-22]。以上研究主要集中在短期作物或木本植物, 而对槟榔等棕榈科植物叶绿素含量及土壤微生物的研究尚未见报道。为了明确草甘膦对槟榔园土壤微生物、槟榔生长及叶绿素含量的影响, 笔者采用槟榔园常用除草剂草甘膦作为研究对象, 研究了其对槟榔根部微生物、槟榔生长及槟榔叶绿素的影响, 旨在为进一步评估草甘膦对槟榔园生态系统及对槟榔黄化是否有影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 除草剂 30%草甘膦铵盐水剂(海利尔药业集团股份有限公司)。

1.2 药剂处理及土样采集 试验地选择在中国热带农业科学院椰子研究所科研试验基地, 试验时间为2019年6月21日至8月23日, 槟榔树为3年大小。药剂浓度为田间推荐使用剂量最高剂量的0倍(CK)、1倍(处理①)、2倍(处理②)

基金项目 海南省重大科技计划项目(ZDKJ201817)。**作者简介** 余凤玉(1978—), 女, 广西博白人, 副研究员, 硕士, 从事棕榈植物病害防控研究。**收稿日期** 2020-05-22; **修回日期** 2020-06-23

和 5 倍(处理③),共 4 个处理。每个处理 5 株槟榔树。药剂处理 60 d 后取样,每个样品均选取 5 株槟榔根部土壤进行混合,充分混匀后作为土壤样品。

1.3 除草剂对土壤微生物的影响 制备土壤稀释液,称取采集的土样 10.0 g,置于装有 90 mL 无菌水的三角瓶中,在 280 r/min 的摇床上,振荡 30 min,然后按不同梯度稀释上清液,细菌分离采用牛肉膏蛋白胨培养基,28 ℃ 培养 2 d 计数;真菌分离选用孟加拉红培养基,28 ℃ 培养 3 d 计数;放线菌分离采用高氏一号培养基,28 ℃ 培养 10 d 计数。

土壤微生物量的计算:采用涂抹平板计数法,记数时选取每皿 20~200 个菌落的平板计数,并按照下列公式计算出土壤中的含菌量^[23]。

$$\text{菌数} = \text{菌落平均数} \times \text{稀释倍数} \times 10 \times \text{鲜土重} / \text{干土重}, \text{单位 CFU/g}$$

1.4 除草剂对槟榔苗期生长的影响 采用盆栽法。在槟榔苗 2~4 片叶时进行根部喷药。药剂使用浓度同“1.2”。每处理重复 5 盆。每盆种植 1 株槟榔苗,每株槟榔苗都选取长势大致均匀的幼苗。

喷药后 7、14、21 d 观察药害症状,主要记录药剂处理区槟榔是否出现退绿、枯黄、斑点、卷曲、畸形、矮小、死苗等现象及其严重程度。62 d 调查所有槟榔植株,测量株高、叶长。计算公式:

$$\text{抑制率} = (\text{对照测定平均值} - \text{处理测定平均值}) / \text{对照测定平均值} \times 100\%$$

1.5 除草剂对槟榔叶绿素的影响 喷药 60 d 进行叶绿素含量测定。叶绿素含量采用丙酮乙醇混合液提取法提取,分光光度法测定。08:30 左右进行样品采集,每个处理选取 5 株生长正常的槟榔,剪取+2 叶相同部位的叶片各装自封袋中,放冰盒中带回实验室,剪碎后,各称取 0.2 g 放入离心管中,加乙醇:丙酮=1:1 的混合提取液 9 mL,在黑暗条件下,静置提取 24 h,摇匀,取上清液用紫外分光光度计分别测定在 663

和 645 nm 波长下的吸光值(OD 值),根据公式计算:

$$\text{叶绿素总含量}(\text{mg/g}) = \frac{(20.2\text{OD}_{645} + 8.02\text{OD}_{663}) \times V(\text{L})}{W(\text{g})}$$

式中, V 为浸提液最终体积, W 为叶片鲜重。

1.6 数据分析 试验数据采用 Microsoft Office Excel 和 SAS (Statistical Analysis System) 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 草甘膦对槟榔土壤微生物的影响 从表 1 可以看出,草甘膦 1 倍浓度和 5 倍浓度均极显著抑制了细菌的生长,2 倍浓度对细菌生长有极显著的促进作用。草甘膦对真菌和放线菌的抑制作用随着浓度的增加而变强,5 倍浓度真菌数量极显著少于对照,各处理浓度放线菌的数量均极显著小于对照,各浓度间差异不显著。

表 1 草甘膦对槟榔根部土壤微生物的影响

Table 1 Effects of glyphosate on soil microorganisms

处理 Treatment	细菌 Bacteria $\times 10^7$ CFU/g	真菌 Fungi $\times 10^5$ CFU/g	放线菌 Actinomycete $\times 10^6$ CFU/g
CK	7.84±0.47 b	4.87±0.41 a	9.15±0.48 a
草甘膦 1 倍 1 times glyphosate	2.79±0.41 d	4.28±0.34 a	7.68±0.27 b
草甘膦 2 倍 2 times glyphosate	10.99±0.32 a	3.92±0.91 ab	7.26±0.17 b
草甘膦 5 倍 5 times glyphosate	6.13±0.40 c	3.08±0.17 b	7.16±0.66 b

注:同列不同小写字母表示不同处理间差异($P < 0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference between different treatments at 0.05 level

2.2 草甘膦对槟榔幼苗生长的影响 喷药后 7、14、21 d 观察槟榔苗生长情况,发现草甘膦对槟榔幼苗未产生药害。从表 2 可以看出,1 倍和 2 倍浓度的草甘膦对槟榔幼苗有一定的促进作用,促进作用随着浓度增加而减少,5 倍浓度的草甘膦对槟榔幼苗生长有抑制作用。

表 2 草甘膦对槟榔幼苗生长的影响

Table 2 Effects of glyphosate on growth of arecanut seedling

处理 Treatment	株高 Plant height cm	株高抑制率 Plant height inhibition rate//%	叶长 Leaf length cm	叶长抑制率 Leaf length inhibition rate//%
CK	71.40±8.56 a	—	51.20±9.58 a	—
草甘膦 1 倍 1 times glyphosate	79.00±9.30 a	-10.64	56.40±8.08 a	-10.16
草甘膦 2 倍 2 times glyphosate	76.40±6.47 a	-7.00	56.20±8.23 a	-9.77
草甘膦 5 倍 5 times glyphosate	69.80±7.60 a	2.24	49.00±5.70 a	4.30

注:同列不同小写字母表示不同处理间差异显著($P < 0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference between different treatments at 0.05 level

2.3 除草剂对槟榔叶绿素的影响 从表 3 可以看出,草甘膦对槟榔苗期叶绿素的抑制作用随着浓度的增加而变大,对低龄槟榔树叶片叶绿素的抑制作用则先降再升后降。喷施草甘膦后,槟榔苗期和低龄树的叶片叶绿素都有所降低,但与对照差异不显著。

3 结论与讨论

土壤微生物是土壤生物群落中重要的组成部分,在生态系统中起着重要作用,是评价农药对生态环境安全性的一个

重要指标^[7]。草甘膦由于能够被土壤中的有机和无机颗粒快速降解,一直被认为对土壤微生物是安全的。但研究表明,草甘膦对土壤微生物有明显的抑制作用。该研究发现槟榔苗期和低龄期根部使用草甘膦 60 d 后,土壤细菌、真菌、放线菌数量均受到明显抑制,但施用 2 倍浓度的土壤细菌数量明显高于对照,这表明土壤细菌对草甘膦具有较强的耐受性或降解能力;各处理浓度的放线菌数量均极显著少于对照,说明放线菌对草甘膦比较敏感,真菌数量随着草甘膦浓度增

加而减少,5倍浓度时,极显著少于对照,因此,槟榔根部土壤三大类群微生物对草甘膦敏感性为放线菌>真菌>细菌。这与多人研究结果相符^[7,17,20]。但 Zabaloy 等^[24]研究草甘膦对阿根廷潘帕斯草原地区土壤微生物群落的影响,结果表明,使用田间正常用量 10 倍的除草剂对土壤微生物活性、细菌密度等影响不大。Roslycky^[25] 214 d 的试验结果表明,低浓度的草甘膦对细菌、真菌、放线菌几乎没有影响,而高浓度的草甘膦放线菌和细菌数量反而增加。研究结果的差异,可能与药剂剂型、作物、土壤类型、生境条件及处理方法等的不同有关。

表3 草甘膦对槟榔叶绿素含量的影响

处理 Treatment	苗期 Seedling stage	低龄槟榔树 Young arecanut
CK	0.48±0.07 a	0.49±0.18 a
草甘膦 1 倍 1 times glyphosate	0.43±0.08 a	0.43±0.07 a
草甘膦 2 倍 2 times glyphosate	0.41±0.04 a	0.46±0.11 a
草甘膦 5 倍 5 times glyphosate	0.37±0.12 a	0.45±0.08 a

注:同列不同小写字母表示不同处理间差异($P<0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant difference between different treatments at 0.05 level

该试验结果显示,低浓度草甘膦对槟榔幼苗生长有促进作用,随着浓度增高,促进作用逐渐降低,5倍浓度的草甘膦对槟榔幼苗有抑制作用。周垂帆等^[26]室内研究草甘膦对杉木幼苗生长发育的影响也发现,低浓度草甘膦对杉木幼苗生长具有一定的促进作用,而高浓度草甘膦则显著抑制幼苗生长。这可能是由于低浓度的草甘膦抑制了木质素等细胞壁物质合成或是诱导产生的活性氧促进了细胞的伸展,而高浓度又造成了活性氧的过度积累对细胞造成损伤而抑制了植株生长^[27-28]。随着草甘膦浓度增加,叶绿素含量先升后降,引起杉木叶片黄化^[26],而在该试验中,草甘膦对槟榔苗期及低龄期槟榔的叶绿素含量虽然有所抑制,但影响不大,没有引起黄化现象。Ozturk 等^[3]认为长期频繁使用草甘膦会造成植物缺铁性黄化,由于该试验是在新种槟榔园开展的,不存在长期频繁使用草甘膦除草剂的情况,所以在槟榔园长期频繁使用草甘膦是否会造成槟榔黄化有待进一步研究。

参考文献

- [1] 张中润,高燕,黄伟坚,等.海南槟榔病虫害种类及其防控[J].热带农业科学,2019,39(7):62-67.
- [2] 董志国,刘立云,王萍,等.槟榔寒害调查研究[J].安徽农学通报,2008,14(14):98-99.
- [3] OZTURK L, YAZICI A, EKER S, et al. Glyphosate inhibition of ferric reductase activity in iron deficient sunflower roots[J]. The new phytologist, 2008, 177(4): 899-906.
- [4] 吴童童,车海彦,曹学仁,等.海南槟榔黄化现象与除草剂残留关系初探[J].热带农业工程,2018,42(1):14-18.
- [5] 曹智,张晶晶,张志恒,等.草甘膦抗性和磷高效吸收复合基因转化玉米的研究[J].甘肃农业大学学报,2019,54(1):42-50.

- [6] 贾芳,崔海兰,李香菊,等.耐草甘膦杂草的研究现状[J].杂草学报,2019,37(1):1-9.
- [7] 赵宝广,闫彩燕,栾凤侠,等.草甘膦的发展与环境安全性评价[J].大豆科技,2019(4):25-33.
- [8] PÁEZ M R, OCHOA-MUÑOZ Y, RODRIGUEZ-PÁEZ J E. Efficient removal of a glyphosate-based herbicide from water using ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) [J/OL]. Biocatalysis and agricultural biotechnology, 2019, 22 [2020-03-05]. https://doi.org/10.1016/j.bcab.2019.101434.
- [9] SUN M J, LI H, JAISI D P. Degradation of glyphosate and bioavailability of phosphorus derived from glyphosate in a soil-water system [J/OL]. Water research, 2019, 163 [2020-03-05]. https://doi.org/10.1016/j.watres.2019.07.007.
- [10] AGOSTINI L P, DETTOGNI R S, DOS REIS R S, et al. Effects of glyphosate exposure on human health: Insights from epidemiological and *in vitro* studies [J/OL]. The science of the total environment, 2020, 705 [2020-03-05]. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135808.
- [11] SERVAITES J C, TUCCI M A, GEIGER D R. Glyphosate effects on carbon assimilation, ribulose biphosphate carboxylase activity, and metabolite levels in sugar beet leaves [J]. Plant physiology, 1987, 85(2): 370-374.
- [12] 原向阳,毕耀宇,王鑫,等.除草剂对抗草甘膦大豆光合作用和蒸腾作用的影响[J].农业现代化研究,2006,27(4):311-313.
- [13] VIVANCOS P D, DRISCOLL S P, BULMAN C A, et al. Perturbations of amino acid metabolism associated with glyphosate-dependent inhibition of shikimic acid metabolism affect cellular redox homeostasis and alter the abundance of proteins involved in photosynthesis and photorespiration [J]. Plant Physiology, 2011, 157(1): 256-268.
- [14] GOMES M P, SMEDBOL E, CHALIFOUR A, et al. Alteration of plant physiology by glyphosate and its by-product aminomethylphosphonic acid: An overview [J]. Journal of experimental botany, 2014, 65(17): 4691-4703.
- [15] 张冬,张宇,王萌,等.草甘膦对植物生理影响的研究进展[J].热带农业科学,2016,36(9):55-61.
- [16] 袁权,左青松,杨光,等.喷施草甘膦对抗草甘膦油菜物质生产的影响[J].安徽农业科学,2017,45(30):18-21.
- [17] 邓晓,李雅琦.草甘膦对土壤微生物影响的研究[J].农药,2005,44(2):59-62.
- [18] 陶波,蒋凌霄,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.
- [19] 朱海霞,宋小娜,李玮,等.2种除草剂对马铃薯地土壤微生物群落的影响[J].安徽农业科学,2013,41(15):6703-6705.
- [20] 陈隆升,陈永忠,彭映赫,等.草甘膦对油茶林土壤微生物数量及酶活性的影响[J].湖南林业科技,2015,42(4):32-35.
- [21] 徐田军,吕天放,赵久然,等.除草剂对不同玉米品种生长发育和产量的影响[J].中国生态农业学报,2018,26(8):1159-1169.
- [22] 吴静,陈岩岩,叶项宇,等.除草剂草甘膦对板栗根际土壤微生物多样性的影响[J].经济林研究,2019,37(3):161-167,187.
- [23] 林先贵.土壤微生物研究原理与方法[M].北京:高等教育出版社,2010:37-38.
- [24] ZABALOY M C, GARLAND J L, GÓMEZ M A. An integrated approach to evaluate the impacts of the herbicides glyphosate, 2,4-D and metsulfuron-methyl on soil microbial communities in the Pampas region, Argentina [J]. Applied soil ecology, 2008, 40(1): 1-12.
- [25] ROSLYCKY E B. Glyphosate and the response of the soil microbiota [J]. Soil biology and biochemistry, 1982, 14(2): 87-92.
- [26] 周垂帆,林静雯,李莹,等.土壤残存草甘膦对杉木幼苗生理及养分吸收的影响[J].林业科学,2017,53(4):56-64.
- [27] RODRIGUEZ A A, GRUNBERG K A, TALEISNIK E L. Reactive oxygen species in the elongation zone of maize leaves are necessary for leaf extension [J]. Plant physiology, 2002, 129(4): 1627-1632.
- [28] DUKE S, CEDERGREEN N, VELINI E D, et al. Hormesis: Is it an important factor in herbicide use and allelopathy? [J]. Outlooks on pest management, 2006, 17(1): 29-33.

(上接第 119 页)

- [25] HUPPERTZ J W, ARENSEN S J, EVANS R H. An application of equity theory to buyer-seller exchange situations [J]. Journal of marketing research, 1978, 15(2): 250-260.
- [26] KO D W, STEWART W P. A structural equation model of resident's atti-

- tudes for tourism development [J]. Tourism management, 2002, 23(5): 521-530.
- [27] 保继刚,孙九霞.社区参与旅游发展的中西差异[J].地理学报, 2006, 61(4):401-413.
- [28] 潘允康,关颖.社区归属感与社区满意度[J].社会学研究,1996(3):42-51.