



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 101164408 B

(45) 授权公告日 2010.08.18

(21) 申请号 200710059787.9

(22) 申请日 2007.09.27

(73) 专利权人 天津师范大学

地址 300074 天津市河西区卫津路 241 号

(72) 发明人 赵树兰 多立安 何托亮

(74) 专利代理机构 天津市杰盈专利代理有限公司
12207

代理人 朱红星

(51) Int. Cl.

A01G 31/00(2006.01)

A01M 17/00(2006.01)

(56) 对比文件

CN 2542038 Y, 2003.04.02, 全文.

CN 2525785 Y, 2002.12.18, 全文.

CN 1520727 A, 2004.08.18, 全文.

审查员 邹妍

权利要求书 1 页 说明书 7 页

(54) 发明名称

废旧橡胶颗粒在防治草坪基质土壤有害线虫中的应用

(57) 摘要

本发明公开了草坪基质填充的废旧橡胶颗粒在防治土壤有害线虫中的应用,它是将粒径为 0.5-1mm 的废旧橡胶粒 5-25 份,接种用土 50-200 份,灭菌土壤 100-300 份混合均匀,然后播种一定量的草坪植物,在接种土壤线虫培植草坪 3 个月后观察,随废旧橡胶粒比例的提高,土壤有害线虫总量显著减少,草坪基质中土壤有害线虫的生长得到明显的抑制,进而达到改善草坪基质质量,控制草坪基质有害线虫的产生,延长草坪的使用寿命,降低草坪管理成本的目的。

1. 一种废旧橡胶颗粒在防治草坪基质土壤有害线虫中的应用,其特征在于,将粒径0.5-1mm 废旧橡胶粒与接种用土及灭菌土壤混合均匀,然后播种一定量的草坪植物;其组成为:

- ①填充废旧橡胶粒 10%的处理采用,200g 接种用土 +50g 废旧橡胶粒 +250g 灭菌土壤;
②含废旧橡胶粒 15%的处理采用,200g 接种用土 +75g 废旧橡胶粒 +225g 灭菌土壤。

2. 如权利要求 1 所述的应用,其中所述草坪植物为黑麦草,其播种量为 1.5-3g,在温室培养时间为 90 天。

3. 如权利要求 1 所述的应用,其中的土壤有害线虫包括:植物食性、植物寄生线虫或杂食性线虫。

4. 如权利要求 3 所述的应用,其中所述的植物食性线虫为:螺旋属、轮属、垫刃属、根结属;杂食性线虫为:矛线属、威尔斯属。

废旧橡胶颗粒在防治草坪基质土壤有害线虫中的应用

技术领域

[0001] 本发明属于建植草坪的园林工艺技术领域,特别是涉及草坪基质填充的废旧橡胶颗粒在防治土壤有害线虫中的应用

背景技术

[0002] 土壤线虫(Soil nematode)作为土壤健康指示生物的研究已成为国际生态学领域研究的热点和前沿课题。土壤线虫具有以下几个特征:(1)线虫是所有多细胞生物中结构最简单和数量最多的,而且它们无处不在;(2)在土壤中,线虫生活在一层薄薄的水膜中,而且它们的可渗性体膜直接与土壤微环境接触;(3)在环境受干扰时,因为迁移能力弱,它们主要通过其他方式的变化(如脱水或禁食状态)度过逆境;(4)线虫占据土壤食物网的很多关键链接,它们的食性广而且可被很多其他生物所食;(5)线虫的身体透明,结构简单易辨;(6)线虫的结构和功能的关系密切;(7)线虫对环境因子的变化十分敏感。土壤线虫是土壤动物中最大的一个类群,全球每年由有害线虫造成的损失达巨大,杀线虫剂有各种化学药剂、有采用杂食性线虫防治的、也有化学药剂与生物防治结合的。

[0003] 废旧橡胶(Waste rubber)是除塑料以外的第二大废旧聚合物材料。废旧橡胶主要来源于废橡胶制品,既报废的轮胎、胶管、胶带、人力车胎、胶鞋、工业杂品等破碎而成。另外一部分来自橡胶厂生产过程中产生的边角余料和废品。处理方式主要有:减少废料、整体使用、再生利用。再生利用主要有两种方法;通过机械方法将废旧橡胶粉碎或研磨成微粒,即所谓的胶粒或胶粉;通过脱硫技术破坏硫化胶化学网状结构制成所谓的再生橡胶。

[0004] 目前废旧橡胶粒已广泛用于建植草坪,它不仅可以提高草坪的弹性,还可以保护运动员在剧烈运动时免受摔伤,可以用于足球场、高尔夫球场等运动场地。中国专利CN2525785, CN2542038均公开了橡胶粒子改良生长着的植被草坪的使用方法,它是将橡胶粒子弹性层撒在生长着的植被草坪上草冠部位的周围,能够最大限度的减少草上运动对草冠部位的损坏,也使得草地上人为的任何剧烈运动对草的伤害减小到最低程度,保证生长着的植被草坪健康生长,绿色和美观,还可使草坪具有柔性、光滑、整齐的表面,在冬季提高土壤的地温。

[0005] 研究表明对草坪添加废旧橡胶粒可以减少土壤密质化、有利于水分在土壤中的移动、能改善土壤的保水性。但最令草坪管理者头痛的是草坪中的有害线虫、病虫害会使草坪变白,变棕色,长势不佳甚至造成草坪成片死亡,为了延长草坪有的使用,常使用杀线虫的各种化学药剂、有采用杂食性线虫防治的、也有化学药剂与生物结合防治的,还有的地方采用超量喷沙农药保养草坪,结果是杀灭了害虫却污染了土壤,特别是雨季,雨水把草坪中残留的农药冲到周边环境,长期以往对人畜造成了严重的伤害。

发明内容

[0006] 本发明的目的在于公开了废旧橡胶颗粒对土壤动物的影响。特别是用于草坪基质填充的废旧橡胶颗粒在防治土壤有害线虫中的应用。

[0007] 本发明人在研制土壤线虫对农田生态系统群落结构的影响和有害线虫、病虫害防治的过程中,意外的发现以填充不同比重的橡胶颗粒基质构建草坪可控制草坪基质土壤线虫发生,基于上述发现进一步进行了大量的实验,利用接种相同数量土壤线虫、填充不同比重的橡胶颗粒基质来构建草坪。在接种土壤线虫培植草坪 3 个月后,实验发现在接种相同数量土壤线虫条件下,土壤有害线虫数量随橡胶颗粒填充比例的增大,有害线虫数量显著减少,土壤有害线虫在各处理之间有明显差异 ($P < 0.05$),植食性线虫及杂食性线虫的差异也达到了显著水平 ($P < 0.05$),PPI、MI、PPI/MI 指数在有废旧橡胶粒的草坪建植体系与无废旧橡胶粒草坪建植体系之间也有显著的差异,这均能很好的反应土壤质量变化的信息。可见,以填充废旧橡胶粒构建草坪建植体系可利于改善草坪基质质量,控制草坪基质土壤有害线虫的发生从而完成了本发明。

[0008] 本发明的具体技术方案如下:

[0009] 一种用于草坪基质填充的废旧橡胶颗粒在防治土壤有害线虫中的应用,其特征在于,将废旧橡胶粒与接种用土及灭菌土壤混合均匀,然后播种一定量的草坪植物;其中粒径为 0.5-1mm 的废旧橡胶粒 5-25 份,接种用土 50-200 份,灭菌土壤 100-300 份。

[0010] 本发明所述的应用,优选的技术方案:取 5-15cm 深层肥沃土壤,均匀混合,将其分成两部分,一部分作为接种用土,一部分在 160°C 下干热灭菌 2h 备用,然后将 100-200 份接种用土与 10-20 份粒径为 0.5-1mm 的废旧橡胶粒及 200-300 份灭菌土壤混合均匀,播种一定量的草坪植物,室温培养观察。

[0011] 本发明更加优选的技术方案:在夏季,取 5cm-15cm 深的层肥沃土壤,均匀混合。将其分成两部分,一部分作为接种用土,一部分在 160°C 下干热灭菌 2h 备用。填充的废旧橡胶颗粒径为 0.5-1mm。用普通塑料花盆作为容器,用于构建草坪建植体系。废旧橡胶粒填充分别为 10% 和 15% 的两个比例:①其中填充废旧橡胶粒 10% 的处理采用,200g 土壤 +50g 废旧橡胶粒 +250g 灭菌土壤。②含废旧橡胶粒 15% 的处理采用,200g 土壤 +75g 废旧橡胶粒 +225g 灭菌土壤。通过加入适量的水之后播种黑麦草,在室内进行培养,播种量为 1.5-3g。在温室内进行栽培培养 90 天。每天补充水份,使土壤含水量总是维持在适宜的范围内。七周后刈割一次并测定叶绿素的含量和干重。培养 14 周后再刈割最后一次,3 个月后,线虫计数。

[0012] 本发明所述的废旧橡胶颗粒由废旧轮胎、胶管、胶带、人力车胎、胶鞋、工业杂品等,也可以是橡胶厂生产过程中产生的边角余料和废品破碎而成。

[0013] 本发明所述的应用,其土壤有害线虫包括:植物食性、细菌食性、植物寄生性或杂食性有害线虫。特别是植物食性或杂食性或植物寄生有害线虫。其中的植物食性有害线虫包括:螺旋属、轮属、垫刃属、根结属;杂食性有害线虫包括:矛线属、威尔斯属等。

[0014] 下面通过详细的实验方法,进一步说明本发明选择不同比重的废旧橡胶颗粒在防治土壤有害线虫中的实际效果。

[0015] 1、草坪建植体系胶粒基质组配

[0016] 当三月初土壤线虫数量较多时,在天津市八里台桥下四个不同的采样点取土样。取土时先掀起 5cm 厚的草坪,往下挖 15cm 深。把土样混合均匀尽快进行线虫的分离和初步计数,不超过 12 个小时。选线虫数最多的样地作为以后实验的取样点。取样时取 5cm-15cm 深的土壤。分成两部分。一部分作为接种用土,一部分在 120°C 下灭菌 2 小时备用。

[0017] 建植草坪用规则为：高 × 上直径 × 下直径 = 8.5cm × 12cm × 9cm 的普通花盆。共十二个花盆分成四个处理。每个处理重复三次。按下表配制基质。设一个对照组，两个实验组（10%，15%），废旧橡胶粒比例分别为 10%、20%。

[0018] 表 1 橡胶粒与土壤基质配制比例（%）

[0019]

配制材料	对照	比例胶粒 10%	比例胶粒 15%
实验土	200	200	200
橡胶粒	0	50	75
灭菌土	300	250	225
基质总重	500	500	500

[0020] 加入适量的水之后播种黑麦草，在室内进行培养，播种量为 1.5-3g。每天补充水分，使土壤含水量总是维持在适宜的范围内。七周后刈割一次并测定叶绿素的含量和干重。培养 14 周后再刈割最后一次。进行测定叶绿素的含量、干重和地下生物量，以及线虫的分离和计数。

[0021] 取土时将花盆上表面与底部的土混合均匀。土壤容重的测定用环刀法。土壤孔隙度的计算公式：

[0022] 土壤孔隙度 = $[(\text{土壤比重} - \text{土壤容重}) / \text{土壤比重}] \times 100\%$ 。

[0023] 土壤比重随土壤质地不同有些差异，但变化不大，因此在生产上应用时中粗略地取其平均值“2.65”。

[0024] 2、土壤线虫的分离方法与鉴定

[0025] (1) 土样分离方法：

[0026] 每个土样称取 150g，用淘洗一过筛一蔗糖梯度密度离心法分离线虫，60℃ 温和热杀死，再加入等量的 2 倍 TAF 固定液固定，然后混匀，倒入标本瓶中，待测。过筛从上到分别为：20 目、400 目、500 目。TAF 固定液的配制方法为：甲醛：三乙醇胺：水 = 7ml：2ml：91ml。

[0027] (2) 线虫的计数方法：每一标本瓶中的固定液都定容为 4ml，摇匀后用吸管吸取 1ml 置于计数皿中，在 OLYMPUS 体视解剖镜下进行分类计数，并在显微镜下进行科属水平的鉴定。依据土壤湿度，将土壤线虫种群数量折算成每 100g 干土的线虫条数。

[0028] 3、橡胶粒基质中土壤线虫种类与营养类群的鉴定结果

[0029] 土壤线虫分为：植物食性 (Plant-parasites nematode)、真菌食性 (Fungivores nematode)、细菌食性 (Bacterivores nematode)、杂食性 (Omnivores-predators nematode) 等 4 个营养类群。本实验共鉴定出 5 目 11 科 13 属的土壤线虫，其中植物寄生线虫营养类群有垫刃目 (Tylenchida) 包括 4 科 4 属，非植物寄生线虫 (Non-Plant-parasites nematode) 包括食真菌营养类群一个目真滑刃目 (Aphelenchida)；细菌食性营养类群一个目小杆目 (Rhabditida) 3 科；杂食性营养类群 2 目 3 科。其中植物寄生线虫是黑麦草根际土壤线虫的优势营养类群，植物寄生线虫中的优势属包括螺旋属 (Helicotylenchus) 和轮属 (Criconemoides)。垫刃目各科属的线虫主要为植物寄生线虫，小杆目各属为细菌食性线

虫 (见表 2)。

[0030] 表 2 橡胶粒基质中土壤线虫科属鉴定结果

[0031]

线虫类群	线虫目 Order	线虫科 Family	线虫属 Genus	c-p 值
[0032]				
	垫刃目	纽带科 Hoplolaimidae	螺旋属 <i>Helicotylenchus</i>	3
植物食性	Tylenchida	环科 Criconematidae	轮属 <i>Criconemoides</i>	3
Plant-parasites		垫刃科 Tylenchidae	垫刃属 <i>Tylenchus</i>	2
		异皮线虫科	根结 <i>Meloidogyne</i>	3
		Heteroderidae		
真菌食性	真滑刃目	真滑刃科 Aphelenchidae	真滑刃 <i>Aphelenchus</i>	2
Fungivores	Aphelenchid			
	a			
	小杆目	头叶科 Cephalobidae	头叶属 <i>Cephalobus</i>	2
细菌食性	Rhabditida		真头叶属 <i>Eucephalobu</i>	2
Bacterivores		小杆科 Rhabditidae	小杆属 <i>Rhabditis</i>	1
		棱咽科 Prismatolaimidae	棱咽属 <i>Prismatolaimus</i>	3
	色矛目	绕线科 Plectidae	威尔斯 <i>Wilsonema</i>	2
杂食性	Chromadori	孔咽科 Aporelaimus	孔咽 <i>Aporcelaimus</i>	3
Omnivores-predator	da 矛线目	矛线科 Dorylaimidae	矛线 <i>Dorylaimus</i>	4
s	Dorylaimida		单齿 <i>Monochus</i>	4

[0033] *C-P 值根据 Bongers (1999)。

[0034] 4、不同处理中土壤线虫营养类群的变化

[0035] 土壤线虫营养类群的变化在总量上有显著差异 ($P < 0.05$)。所鉴定到的 4 个植物食性土壤线虫属在有无废旧橡胶粒之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。在这一类群中螺旋属 (*Helicotylenchus*) 属于优势种群。总的趋势是随加入的废旧橡胶粒比例的增加植食性土壤线虫数逐渐减少。真菌食性土壤线虫只鉴定到一种真滑刃属 (*Aphelenchus*)，土壤线虫数随加入的废旧橡胶粒比例的增加而提高，但各处理之间并没有达到显著性差异 ($P > 0.05$)。

[0036] 细菌食性土壤线虫的优势属为棱咽属 (*Prismatolaimus*) 和头叶属 (*Cephalobus*)。

虽然从数据上看在含胶粒 15% 处理中土壤线虫数量多,但与对照组和含胶粒 10% 处理比较并没有表现出显著差异(见表 3)。

[0037] 表 3 不同处理中土壤线虫总数

[0038]

线虫属 Genus	P=0.05		
	对照组 (无胶粒)	含胶粒 10% 处理	含胶粒 15% 处理
植物食性 Plant-parasites	2654.39±107.00a	2090.37±144.00b	1582.13±217.35c
螺旋属 Helicotylenchus	2390.27±144.42a	2032.65±139.50b	1573.82±217.09c
轮属 Criconemoides	249.60±35.69a	49.77±4.44b	4.97±2.90c
垫刃属 Tylenchus	9.10±0.70a	4.45±1.53b	1.65±1.10c
根结 Meloidogyne	5.45±0.76a	3.50±1.48ab	1.68±1.21b
真菌食性 Fungivores	0.61±0.53a	1.56±1.42a	2.61±2.98a
真滑刃 Aphelenchus	0.61±0.53a	1.56±1.42a	2.61±2.98a
细菌食性 Bacterivores	12.06±3.39a	13.38±4.55a	15.00±2.82a
头叶属 Cephalobus	3.63±0.81a	4.76±1.00a	5.67±1.61a
真头叶属 Aphelenchus	1.20±2.07a	1.63±2.82a	3.00±1.06a
小杆属 Rhabditis	1.80±0.86a	2.84±0.91a	3.36±1.63a
棱咽属 Prismatolaimus	5.45±0.78a	4.14±1.58a	2.96±1.92a
杂食性 Omnivores-predators	14.04±4.97b	16.81±1.87b	32.75±6.62a
威尔斯 Wilsonema	4.57±1.05a	0.00±0.00b	0.00±0.00b
孔咽 Aporcelaimus	3.08±2.87a	5.10±2.53a	4.99±0.94a
矛线 Dorylaimus	6.39±1.10a	4.10±1.41a	0.99±0.97b
单齿 Monochus	0.00±0.00b	7.61±1.03b	26.77±7.23a
总计	2681.12±110.13a	2122.12±148.54b	1632.49±223.30c

[0039] *单位:条/100g 干土。

[0040] 杂食性土壤线虫共鉴定到 4 个属,是唯一一类随废旧橡胶粒比例提高而增加的类群。含胶粒 15% 处理与对照组、含胶粒 10% 处理之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。其中矛线属 (Dorylaimus) 却随废旧橡胶粒比例提高而减少。威尔斯 (Wilsonema) 只有在对照组中找到,在含胶粒的处理中并没有找到,因其为机会主义者,在受污染的环境中以卵蛹的形式存在,所以它们表现出比较耐受污染和环境压力。但单齿 (Monochus) 只在含胶粒的处理中找到,在对照组却没有找到(见表 3),这是由于在废旧橡胶比例高的基质中可利用的有机质含量较少,它们的食性复杂,既可以以植物为食来源,也可以以其他土壤动物或者它们

的尸体为食物来源。

[0041] 5、不同处理中土壤线虫多样性指数

[0042] 多样性指数 (H)、均匀度指数 (J) 对照组明显高于含胶粒的处理组 ($P < 0.05$), 同时丰富度指数 (SR) 随着橡胶粒比例的提高而增加,但在各组之间没有达到差异 ($P > 0.05$)。学者们认为多样性指数、均匀度指数越高,该生态系统就越稳定,因此,对线虫类群来说,对照组的生态系统比填充了废旧橡胶粒的生态系统稳定。优势度指数 (D) 对照组明显的低于实验组 ($P < 0.05$)。含胶粒 15% 处理的 MI 指数显著地高于对照组和含胶粒 10% 处理 ($P < 0.05$), MI 指数主要反应外界因子对该生态系统的影响,这可能与 15% 处理组中含有较高的锌和较低的 pH 值有关,说明含胶粒 15% 处理比其他组所受的污染严重。各组之间的 PPI 指数也达到了显著差异 ($P < 0.05$), 一般认为植物产量与植物寄生线虫成正相关, PPI 主要反应土壤营养对植物产量的影响 (见表 4)。这是由于随基质中废旧橡胶粒比例的提高,基质中可利用的有机质含量减少的原因。

[0043] 表 4 线虫多样性指数

[0044]

Table 4 Index of Nematode Biodiversity

处理	多样性指数 Diversity	均匀度指数 Evenness	丰富度指数 Richness	优势度指数 Dominance	MI 指数 Maturity index	PPI 指数 Plant parasite index
对照	0.43±0.03a	0.18±0.02a	1.22±0.07a	0.80±0.03b	0.03±0.00c	2.97±0.00a
含胶粒 10%	0.25±0.02b	0.10±0.00b	1.31±0.13a	0.92±0.01a	0.04±0.00b	2.95±0.00b
含胶粒 15%	0.22±0.04b	0.09±0.02b	1.40±0.10a	0.93±0.01a	0.10±0.00a	2.91±0.01c

[0045] 6、研究获得结论

[0046] 本研究发现,添加了废旧橡胶粒的土壤基质土壤孔隙度较大,有利于土壤线虫的移动和生活,随废旧橡胶粒比例的提高 (特别是 10% 或 15%) 线虫总量减少,最明显的是植物食性线虫包括:螺旋属、轮属、垫刃属、根结等线虫减少显著,因此,填充废旧橡胶建植草坪是可行的。在合理的一定比例的橡胶颗粒对草坪植物产量的影响并不显著,还可以控制草坪基质土壤线虫的生成,进而降低草坪管理成本。

具体实施方式

[0047] 实施例 1

[0048] 在夏季,取 5cm-10cm 深的层肥沃土壤,均匀混合。将突然分成两部分,一部分作为接种用土,一部分在 160°C 下干热灭菌 2h 备用。

[0049] 用普通塑料花盆作为容器,用于构建草坪建植体系 (规则为:高 × 上直径 × 下直径 = 8.5cm × 12cm × 9cm 的普通花盆)。草坪建植体系不加废旧橡胶粒。实验采用,200g 土壤 + 300g 灭菌土壤,草坪建植用普通塑料花盆作为容器,3 次重复 (胶粒与土壤基质配制比

例见表 5)。草坪植物选择黑麦草,其播种量为 1.5g,植物培养在温室内进行栽培培养 90 天。每天补充水份,使土壤含水量总是维持在适宜的范围内。3 个月后,鉴定出有害线虫(植物食性和杂食性)计数为:2668.43(条/100g 干土)。

[0050] 实施例 2

[0051] 在夏季,取 5cm 深的层肥沃土壤 500g,均匀混合。将其分成两部分,一部分作为接种用土,一部分在 160℃ 下干热灭菌 2h 备用。填充的废旧橡胶颗粒径为 0.50mm。用普通塑料花盆作为容器,用于构建草坪建植体系(规则为:高×上直径×下直径=8.5cm×12cm×9cm 的普通花盆)。废旧橡胶粒填充为 10%,基质中土壤与废旧橡胶粒组配比例为:200g 土壤+50g 废旧橡胶粒(废旧橡胶颗粒径为 0.5mm)+250g 灭菌土壤(胶粒与土壤基质配制比例见表 5)。加入适量的水之后播种黑麦草,在室内进行培养,播种量为 1.5g。在温室内进行栽培培养 90 天。每天补充水份,使土壤含水量总是维持在适宜的范围内。3 个月后,鉴定出有害线虫(植物食性和杂食性)计数为:2107.18(条/100g 干土),其有害线虫是未加废旧橡胶颗粒的 78.97%。

[0052] 实施例 3

[0053] 在夏季,取 5cm 深的层肥沃土壤 500g,均匀混合。将其分成两部分,一部分作为接种用土,一部分在 160℃ 下干热灭菌 2h 备用。填充的废旧橡胶颗粒径为 0.50mm。用普通塑料花盆作为容器,用于构建草坪建植体系(规则为:高×上直径×下直径=8.5cm×12cm×9cm 的普通花盆)。废旧橡胶粒填充为 15%,基质中土壤与废旧橡胶粒组配比例为:200g 土壤+75g 废旧橡胶粒+225g 灭菌土壤(胶粒与土壤基质配制比例见表 5)。加入适量的水之后播种黑麦草,在室内进行培养,播种量为 1.5g。在温室内进行栽培培养 90 天。每天补充水份,使土壤含水量总是维持在适宜的范围内。3 个月后,鉴定出有害线虫(植物食性和杂食性)计数为:1614.88(条/100g 干土),其有害线虫是未加废旧橡胶颗粒的 60.52%。

[0054] 表 5 橡胶粒与土壤基质配制比例(%)

[0055]

配制材料	对照	比例胶粒 10%	比例胶粒 15%
实验土	200	200	200
橡胶粒	0	50	75
灭菌土	300	250	225
基质总重	500	500	500

[0056] 在详细说明的较佳实施例之后,熟悉该项技术人士可清楚地了解,在不脱离上述申请专利范围与精神下可进行各种变化与修改,凡依据本发明的技术实质对以上实施例所作的任何简单修改、等同变化与修饰,均属于本发明技术方案的范围。且本发明亦不局限于说明书中所举实例的实施方式。