

金雷,成明根,黄星,等.不同浓度咪唑乙烟酸对黄棕壤可培养微生物及土壤酶活的影响[J].江苏农业科学,2013,41(7):343-345.

# 不同浓度咪唑乙烟酸对黄棕壤可培养微生物及土壤酶活的影响

金雷,成明根,黄星,张浩,李顺鹏

(南京农业大学生命科学院,江苏南京 210095)

**摘要:**研究了5.0、10.0、20.0、40.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$  咪唑乙烟酸在长时间尺度下(60 d)对黄棕壤可培养微生物和土壤酶活的影响。结果表明,各浓度咪唑乙烟酸均表现出对黄棕壤细菌的抑制,14 d后抑制作用开始解除。高浓度(20.0、40.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )的咪唑乙烟酸处理后7 d对黄棕壤真菌表现出刺激作用,处理后14 d恢复到对照水平。咪唑乙烟酸对黄棕壤放线菌呈明显的抑制作用,这种抑制作用与农药浓度呈正相关。各个浓度的咪唑乙烟酸处理对黄棕壤的呼吸效应都有短暂的抑制。咪唑乙烟酸对黄棕壤过氧化氢酶的影响表现出先抑制后刺激的规律。高浓度的咪唑乙烟酸会提高土壤脲酶的活性,28 d后恢复到正常水平。

**关键词:**咪唑乙烟酸;黄棕壤;土壤微生物;土壤酶活

**中图分类号:** X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)07-00343-03

微生物在土壤环境过程中起重要的作用<sup>[1-3]</sup>。土壤微生物作为农田土壤生态系统的重要组成部分,以及其对环境独特的敏感性,成为检测和评价土壤环境质量的重要生物指标之一<sup>[4-6]</sup>。土壤酶活性的测定被认为是能够反映土壤生态系统变化的最直接方法<sup>[7-8]</sup>,因此土壤酶活性的变化被许多学者用来判断外来物质对土壤的污染程度以及可能对生态环境造成的影响<sup>[9]</sup>。咪唑乙烟酸是我国广泛使用的大豆田除草剂,但由于使用年限的延长,出现了较严重的后茬作物药害的问题,关于该农药的环境行为以及对环境微生物的影响引起了广泛的关注。Perucci等报道了咪唑乙烟酸在推荐剂量下对土壤微生物生物量和微生物多样性没有显著影响<sup>[10-11]</sup>。史伟等研究了30 d内咪唑乙烟酸对土壤中可培养微生物的影响<sup>[12]</sup>。但是由于咪唑乙烟酸残留期在半年以上,需要在更长时间内研究咪唑乙烟酸残留对于土壤微生物的影响。张昌朋等研究了农药的原药和制剂对土壤微生物群落结构的影响<sup>[13]</sup>。由于咪唑乙烟酸在田间的使用量与残留较低,需要进一步研究田间低浓度残留的情况下对于土壤微生物与土壤酶活性的影响。随着咪唑乙烟酸施用年限的延长,该农药对环境生物的影响越来越引起了科技工作者的关注。本研究以黄棕壤为供试土壤,按照田间使用剂量,更加细致地研究了60 d内不同浓度咪唑乙烟酸对土壤中可培养微生物的影响及其动态变化过程,同时研究了不同浓度的咪唑乙烟酸对土壤呼吸作用、过氧化氢酶和脲酶活性的影响,以期为安全、合理使用咪唑乙烟酸、评估咪唑乙烟酸对农田土壤环境影响提

供科学的依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试土壤

供试土壤为黄棕壤,取自南京农业大学试验田,均为未接触过咪唑乙烟酸的表层土壤(0~20 cm),风干过筛( $\Phi = 2\text{ mm}$ )。土壤pH值为6.95,有机质的含量为19.23 g/kg,有机氮、磷、钾的含量分别为1.57、0.35、16.48 g/kg。

### 1.2 供试除草剂和培养基

咪唑乙烟酸原药(有效成分含量为95%以上),购自北京勤诚亦信科技开发有限公司。主要培养基包括:(1)牛肉膏蛋白胨培养基(培养普通细菌用)。牛肉膏5.0 g、蛋白胨10.0 g、NaCl 5.0 g,补充去离子水至1 000 mL,pH值7.0~7.5,121  $^{\circ}\text{C}$ 灭菌30 min。(2)改良高氏1号培养基(培养放线菌用)。KNO<sub>3</sub> 1.0 g、FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.01 g、K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.5 g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g、NaCl 0.5 g、淀粉20.0 g,补充去离子水至1 000 mL,pH值7.0~7.5,121  $^{\circ}\text{C}$ 灭菌30 min。(3)马丁氏培养基(培养真菌用)。KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.0 g、MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0.5 g、葡萄糖10.0 g、蛋白胨5.0 g、1%孟加拉红水溶液3.3 mL,补充去离子水至1 000 mL,pH值自然,121  $^{\circ}\text{C}$ 灭菌30 min。

### 1.3 试验设计

在室内条件下,称取上述经风干的新鲜土各5.0 kg,分别装入底部带有通气孔的塑料小桶中。加入不同浓度的咪唑乙烟酸溶液,混匀,不同处理的终浓度分别为5.0、10.0、20.0、40.0  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,以不加药剂土壤为对照。在整个试验过程中,适时补水,使得土壤含水量为20%,试验温度控制在25  $^{\circ}\text{C}$ ,定时取样测定土壤中微生物种群数量,所有试验均3次重复,采用Duncan's新复极差法进行方差分析<sup>[14]</sup>。

### 1.4 土壤细菌、真菌、放线菌的计数

采用平板活菌计数法,各处理与对照土壤分别进行系列梯度稀释,取合适稀释度的土壤悬液0.1 mL,分别涂布于相应生理群的培养基平板上。细菌平板、放线菌平板、真菌平板

收稿日期:2012-12-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:30900044);江苏省科技厅项目(编号:BE2011783);江苏省南京市科技局项目(编号:201105050)

作者简介:金雷(1987—),男,浙江金华人,硕士,从事环境微生物学研究。

通信作者:黄星,副教授,硕士生导师。Tel:(025)84395326; E-mail:huangxing@njau.edu.cn。

分别在 28 ℃ 下培养 2、5、7 d, 计数。

### 1.5 土壤呼吸强度的测定

土壤呼吸作用的测定采用密闭静置培养法<sup>[15]</sup>。本试验根据土壤含水量折算成 1 g 干土 1 d 产生 CO<sub>2</sub> 的量 (μL)。

### 1.6 土壤过氧化氢酶活性和土壤脲酶活性的测定

土壤过氧化氢酶活性的测定采用 KMnO<sub>4</sub> 滴定法<sup>[16]</sup>, 以 1 g 土壤消耗的 0.1 mol/L KMnO<sub>4</sub> 的量 (mL) 来表示。脲酶活性的测定采用苯酚钠比色法<sup>[16]</sup>, 以 1 d 后 1 g 土壤中的铵态氮 (NH<sub>3</sub>-N) 含量 (μg) 表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 咪唑乙烟酸对黄棕壤细菌的影响

由图 1 可知, 咪唑乙烟酸处理后 14 d, 土壤细菌的生长受到较明显的抑制, 且抑制程度与土壤中的咪唑乙烟酸浓度正相关; 之后, 细菌生长开始逐渐恢复, 处理后 28 d, 细菌数量基本恢复至处理前的水平; 处理后 60 d, 5、10 μg/kg 咪唑乙烟酸处理基本恢复到对照水平。这是因为土壤细菌刚刚接触咪唑乙烟酸时还不适应, 因此刚开始其生长会受到一定的抑制, 但这种影响不是持续性的, 随着咪唑乙烟酸的降解, 咪唑乙烟酸的浓度逐渐降低, 各处理的细菌数量逐渐慢慢恢复。

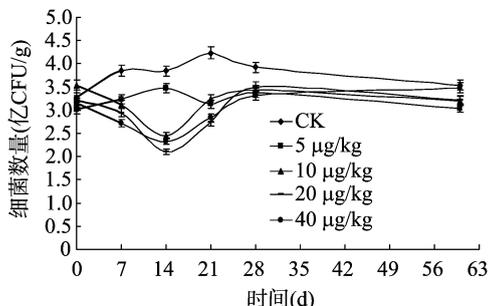


图1 咪唑乙烟酸对黄棕壤细菌数量的影响

### 2.2 咪唑乙烟酸对黄棕壤真菌的影响

图 2 显示, 在整个试验中只有 20、40 μg/kg 咪唑乙烟酸处理在 7 d 后对土壤中的真菌表现出刺激作用, 随后就恢复到对照组水平; 其余处理土壤真菌种群数量与同期对照组均无显著差异。这可能是因为某些真菌能够利用咪唑乙烟酸作为碳源, 促进自身的生长, 也有可能是高浓度的咪唑乙烟酸抑制了细菌和放线菌的生长, 而导致真菌能得到更多的养分进行生长繁殖。但随着时间的延长, 咪唑乙烟酸的浓度逐渐降低, 各处理的真菌数量逐渐慢慢恢复。

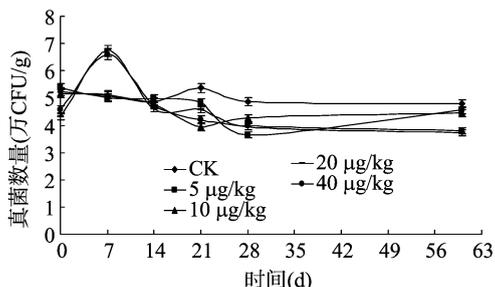


图2 咪唑乙烟酸对黄棕壤真菌数量的影响

### 2.3 咪唑乙烟酸对黄棕壤放线菌的影响

由图 3 可知, 放线菌对各个浓度的咪唑乙烟酸都比较敏

感, 咪唑乙烟酸对放线菌均呈强烈的抑制效应, 这种抑制作用与农药浓度正相关, 各处理土壤放线菌数量显著低于同期对照土壤。试验结果表明, 咪唑乙烟酸残留对土壤放线菌有很大的影响, 放线菌对咪唑乙烟酸比细菌和真菌更敏感, 不容易在咪唑乙烟酸胁迫环境下生长和繁殖, 是咪唑乙烟酸胁迫下的劣势菌群。

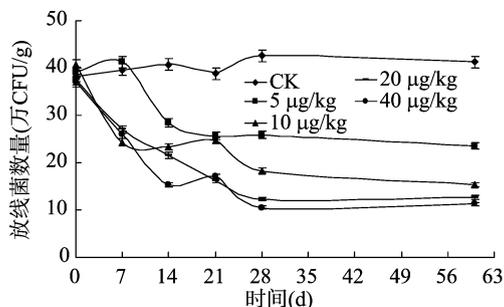


图3 咪唑乙烟酸对黄棕壤放线菌数量的影响

### 2.4 咪唑乙烟酸对黄棕壤呼吸强度的影响

由图 4 可知, 不同浓度的咪唑乙烟酸对土壤呼吸强度的影响不同。当咪唑乙烟酸浓度低于 10 μg/kg 时, 其土壤呼吸强度与对照无显著差异。当咪唑乙烟酸浓度高于 10 μg/kg 时, 土壤呼吸强度在 14 d 内受到强烈抑制, 随后抑制强度减弱, 到 28 d 时, 各处理与对照基本一致。研究表明, 刚开始时咪唑乙烟酸的存在减少了土壤微生物的种群数量, 抑制了土壤微生物的生长, 使土壤呼吸强度受到强烈的抑制。但随着时间延长, 土壤微生物的种群数量开始逐渐恢复, 各处理的土壤呼吸强度逐渐恢复。

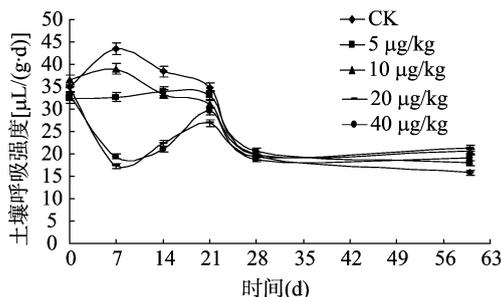


图4 咪唑乙烟酸对黄棕壤呼吸强度的影响

### 2.5 咪唑乙烟酸对黄棕壤过氧化氢酶活性的影响

过氧化氢酶广泛存在于土壤和生物体内, 土壤过氧化氢酶促进过氧化氢的分解, 能有效防止土壤及生物体在新陈代谢过程中产生的过氧化氢所造成的毒害<sup>[17-18]</sup>。施用咪唑乙烟酸的土壤中过氧化氢酶活性表现出先抑制后刺激的变化规律(图 5)。各个浓度咪唑乙烟酸处理的土壤过氧化氢酶在 14 d 内表现出明显的抑制效应, 且抑制作用与咪唑乙烟酸浓度成正相关, 直到处理后 21 d 抑制作用减弱。随着时间的延长, 咪唑乙烟酸的施用还会提高土壤过氧化氢酶活性。这可能是由于咪唑乙烟酸的施用初期对土壤过氧化氢酶活性有一定的抑制作用, 但随着微生物种群的适应, 过氧化氢酶活性得到恢复, 甚至高浓度处理会提高酶活性。

### 2.6 咪唑乙烟酸对黄棕壤脲酶活性的影响

图 6 显示, 施用咪唑乙烟酸后, 土壤脲酶与对照组存在一定的差异。用咪唑乙烟酸处理后 7 d, 低浓度(5、10 μg/kg)处

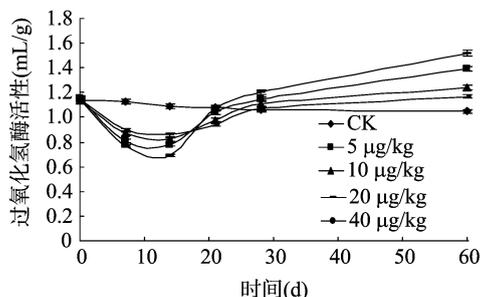


图5 咪唑乙烟酸对黄棕壤过氧化氢酶活性的影响

理土壤脲酶活性无显著变化,而高浓度(20、40  $\mu\text{g}/\text{kg}$ )处理的土壤脲酶活性显著高于对照土壤,随着试验时间的延长,高浓度处理土壤脲酶活性开始慢慢恢复,直到处理后28 d基本恢复到对照水平。这是因为高浓度咪唑乙烟酸对土壤脲酶有一定的刺激作用,随着时间的延长,刺激作用逐渐降低,各浓度处理逐渐恢复到对照的水平。

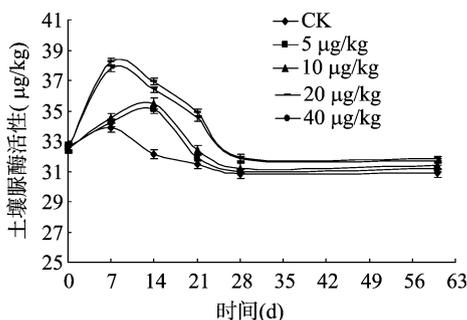


图6 咪唑乙烟酸对黄棕壤脲酶活性的影响

### 3 结论

本试验研究了不同浓度咪唑乙烟酸对黄棕壤可培养的细菌、真菌、放线菌等微生物种群数量的影响及其动态变化过程。结果表明,不同浓度的咪唑乙烟酸对黄棕壤主要可培养微生物种群有不同的影响。各浓度的咪唑乙烟酸短时间内表现出对土壤细菌的抑制,但这种抑制作用在处理14 d后就可以解除,随后表现出一定程度的促进作用。20、40  $\mu\text{g}/\text{kg}$  咪唑乙烟酸处理在处理7 d对土壤中的真菌表现出刺激作用,随后就恢复到对照组水平,其余处理土壤真菌种群数量与同期对照组均无显著差异。咪唑乙烟酸对放线菌均呈强烈的抑制效应,这种抑制作用与农药浓度正相关,各处理土壤放线菌数量显著低于同期对照水平。

浓度低于10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 的咪唑乙烟酸对土壤呼吸强度影响不大,高浓度咪唑乙烟酸对土壤呼吸强度有较强的抑制作用,这种抑制作用14 d后减弱,28 d时土壤呼吸强度恢复到对照水平,说明咪唑乙烟酸对土壤呼吸的抑制效应是短暂的。咪唑乙烟酸对土壤过氧化氢酶和脲酶活性均有一定的影响。咪唑乙烟酸对土壤过氧化氢酶的影响表现出先抑制后刺激的规

律,而且抑制和刺激作用均与咪唑乙烟酸浓度呈正相关。低浓度咪唑乙烟酸处理的土壤脲酶活性无显著变化,而高浓度处理的土壤脲酶活性显著高于于对照,随着试验时间的延长,土壤脲酶活性逐渐恢复。

### 参考文献:

- [1] Bååth E. Effects of heavy metal in soil on microbial processes and populations: a review[J]. Water Air Soil Pollution, 1989, 47(3/4): 335-379.
- [2] 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.
- [3] Yu Y L, Chen Y X, Luo Y M, et al. Rapid degradation of butachlor in wheat rhizosphere soil[J]. Chemosphere, 2003, 50(6): 771-774.
- [4] Marx M C, Wood M, Jarvis S C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33(12/13): 1633-1640.
- [5] Trasar-Cepeda C, Leirós M C, Seoane S, et al. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32(13): 1867-1875.
- [6] 朱鲁生,张玉凤,樊得方. 辛硫磷甲氧菊酯及其混剂对土壤微生物的影响研究[J]. 农业环境保护, 1999, 18(1): 25-27.
- [7] 孟立君,吴凤芝. 土壤酶研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2004, 35(5): 622-626.
- [8] Rajapaksha R M C P, Tobor-Kaplon M A, Bååth E. Metal toxicity affects fungal and bacterial activities in soil differently[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(5): 2966-2973.
- [9] 关松荫,张德生,张志明. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986: 274-338.
- [10] Perucci P, Scarponi L. Effects of the herbicide imazethapyr on soil microbial biomass and various soil enzyme activities[J]. Biology and Fertility of Soils, 1994, 17: 237-240.
- [11] Lupwayi N Z, Harker K N, Clayton G W, et al. Soil microbial biomass and diversity after herbicide application[J]. Canadian Journal of Plant Science, 2004, 84(2): 677-685.
- [12] 史伟,李香菊,刘士阳,等. 咪唑乙烟酸对土壤好氧微生物和酶活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(4): 700-703.
- [13] 张昌朋,刘新刚,徐军,等. 咪唑乙烟酸对土壤微生物生态的影响[J]. 农药, 2010(2): 117-120.
- [14] 金益. 试验设计与统计分析[M]. 北京:中国农业出版社, 2007.
- [15] 蔡玉琪,王珊龄,蔡道基. 甲基异柳磷等四种农药对土壤呼吸的影响[J]. 农村生态环境, 1992(3): 36-40.
- [16] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京:科学出版社, 1987: 228-241.
- [17] 黄智,李时银,刘新会,等. 苯噻草胺对土壤中过氧化氢酶活性及呼吸作用的影响[J]. 环境化学, 2002, 21(5): 481-484.
- [18] 李时银,黄智,倪利晓,等. 毒死蜱及代谢产物对土壤过氧化氢酶活性的影响[J]. 农业环境保护, 2002, 21(6): 553-555.