

李晓楼. 中等强度盐胁迫下噻吩磺隆对土壤微生物及土壤酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(13): 86–89.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.13.024

中等强度盐胁迫下噻吩磺隆对土壤微生物及土壤酶活性的影响

李晓楼

(四川职业技术学院建筑与环境工程系, 四川遂宁 629000)

摘要: 主要研究在中等强度盐胁迫下噻吩磺隆对土壤微生物数量及土壤酶活性的影响, 以期掌握其中的响应规律, 为在盐碱地合理应用噻吩磺隆等除草剂提供基础数据。结果表明: 中等强度盐胁迫可导致放线菌和真菌的数量显著减少, 但对细菌的影响不显著; 在非盐胁迫环境下, 噻吩磺隆对细菌和放线菌均有激活作用, 而对真菌有抑制作用。另外, 盐胁迫能导致土壤蔗糖酶、脲酶、磷酸酶的活性显著降低, 但过氧化氢酶活性显著提高。经相关性分析表明, 放线菌和真菌的数量与土壤蔗糖酶、脲酶、磷酸酶的活性呈正相关; 在非盐胁迫下, 细菌数量的增加与过氧化氢酶活性的提高呈正相关, 但在盐胁迫下无明显规律。

关键词: 盐胁迫; 噻吩磺隆; 土壤微生物; 土壤酶活性

中图分类号: S182; TQ450.2⁺6

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2017)13-0086-04

噻吩磺隆(thifensulfuron-methyl)属于磺酰脲类除草剂, 化学名为 3-(4-甲氧基-6-甲基-1,3,5-三嗪-2-基)-1-(2-甲氧基甲酰基噻吩-3-基)-磺酰脲。它是一种内吸传导型选择性除草剂, 能用于防除大多数阔叶杂草, 对禾本科杂草也有一定的抑制效果。噻吩磺隆已经在农林业及相关领域得到广泛应用, 切实地提高了生产效率, 但也给生态环境带来一些潜在问题, 例如常会伤及一些非目标植物, 并影响土壤微生物结构、土壤酶活性及土壤肥力等, 有时甚至会影响到下茬作物正常生长^[1-3]。

土壤微生物与土壤酶都是土壤的重要组成部分, 它们对土壤的物质循环、能量流动和肥力演变等均有重大影响, 也是土壤生态系统评价的重要指标^[4]。除草剂等农用化学品的使用通常会对土壤微生物及土壤酶产生一系列影响, 甚至干扰土壤的正常功能。据报道, 氯磺隆和砒啶磺隆会抑制土壤固氮螺菌和假单胞菌的生长^[5]; 甲磺隆、氯磺隆和噻吩磺隆可抑制土壤中的荧光假单胞菌^[6]; 四唑磺隆可改变土壤细

菌的群落结构^[7]; 酰胺类除草剂对过氧化氢酶、脱氢酶等多种土壤酶均有不同程度的抑制作用^[8]。因此, 充分掌握噻吩磺隆可能导致的一系列生态效应, 对于合理使用噻吩磺隆等农药具有十分重要的意义。

近年来, 关于噻吩磺隆对生态环境影响的研究主要集中在噻吩磺隆对非靶标植物和土壤微生物的影响以及在环境中的降解速度、降解机制等, 但还没有系统地研究噻吩磺隆对不同微生物及主要土壤酶的影响, 特别是在盐胁迫的特定环境条件下的影响机制。本研究采用传统的微生物培养技术及酶活性测定方法, 研究了盐胁迫条件下噻吩磺隆对土壤微生物数量和土壤酶活性的影响, 为噻吩磺隆的合理应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试剂与供试土壤

噻吩磺隆($\geq 98.5\%$)购自上海市农药研究所; 本研究中所用其他化学试剂均为分析纯或以上级别。土样采自四川省遂宁市麦田, 取土深度 0~20 cm, 室内阴干, 去除树枝等杂物后备用。土壤的理化性质: pH 值为 7.5, 含水量 4.9%, 总氮 0.79 g/kg, 有机质 36.9 g/kg, 总含盐量 0.22%, 阳离子交换量 10.95 cmol/kg。试验时间: 2015 年 9 月至 2016 年 6 月; 土

nov., a close relative of *Bacillus subtilis*, isolated from soil in Death Valley, California [J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1996, 46(2): 470–475.

[17] Gatson J W, Benz B F, Chandrasekaran C, et al. *Bacillus tequilensis* sp. nov., isolated from a 2000-year-old Mexican shaft-tomb, is closely related to *Bacillus subtilis* [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2006, 56(7): 1475–1484.

[18] 黄海婵, 裴娟萍. 枯草芽孢杆菌防治植物病害的研究进展[J]. 浙江农业科学, 2005(3): 213–215, 219.

[19] Bais H P, Fall R, Vivanco J M. *Biocontrol subtilis* against infection of

arabidopsis roots by pseudomonas syringae is facilitated by biofilm formation and surfactin production [J]. Plant Physiology, 2004, 134(1): 307–319.

[20] Julkowska D, Obuchowski M, Holland I B, et al. Comparative analysis of the development of swarming communities of *Bacillus subtilis* 168 and a natural wild type; critical effects of surfactin and the composition of the medium [J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(1): 65–76.

[21] 朱明妍, 刘姣, 杜春梅. 芽孢杆菌生物防治植物病害研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(34): 16635–16638.

收稿日期: 2016-12-21

基金项目: 四川省教育厅重点项目(编号: 13ZA0036)。

作者简介: 李晓楼(1974—), 男, 四川遂宁人, 硕士, 副教授, 主要从事环境微生物相关领域的研究。E-mail: 3141024328@qq.com。

样采集时间为 2015 年 8 月;试验地点:(四川省遂宁市)四川职业技术学院建筑与环境工程系实验室。

1.2 试验设计

将上述土壤置于正方形塑料盆(40 cm×40 cm)中,每个盆中的土壤质量保持一致,其内均匀种植小麦,待小麦高度长至 10~15 cm 时,将其中一组的土壤盐含量调节到 1.0%,通过添加含 NaCl 的水逐步调节至 1.0%,盐含量均以 NaCl 计,本组标记为 S1,并设置 S0 组(不添加 NaCl),共 2 个大组;每组中再施入噻吩磺隆,其浓度设置 3 个级别,分别为 0、0.1、1.0 mg/kg,分别标记为 T0、T1、T2,共计 6 个试验组(S0T0、S0T1、S0T2、S1T0、S1T1、S1T2)。处理完后后将各试验组全部置于人工气候箱中孵育,土壤含水量控制在 18%~20%。孵育后每隔 5 d 定时取样 1 次,测定土壤中各类微生物数量及土壤酶活性^[9-10]。

1.3 测定方法

1.3.1 微生物计数 取 10 g 土壤样品,采用稀释平板计数法进行微生物计数。总细菌数量用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌用查彼克氏培养基,放线菌用改良高氏 1 号培养基。

1.3.2 土壤酶活性测定 重点监测在中等强度盐胁迫下噻吩磺隆对土壤中脲酶、蔗糖酶、磷酸酶和过氧化氢酶活性的影响。土壤脲酶采用靛酚蓝比色法测定,蔗糖酶采用磷钼酸比色法测定,测定过氧化氢酶采用高锰酸钾滴定法,磷酸酶的测定应用磷酸苯二钠比色法。

2 结果与分析

2.1 盐胁迫下噻吩磺隆对土壤中细菌、真菌和放线菌的影响

从图 1 所示数据可以看出,在非盐胁迫的条件下(S0T0、S0T1、S0T2),土壤中噻吩磺隆的浓度升高时,土壤中细菌总数有明显的增加,这可能是由于噻吩磺隆对某些种类的细菌的生长繁殖有激活作用;另外,也能看出其细菌总数随时间推移有增加的趋势,但在后期又逐渐减少,约 30 d 以后恢复到初始状态。在中等强度的盐胁迫条件下(S1T0、S1T1、S1T2),随着噻吩磺隆的浓度逐步升高,土壤中细菌总数未发生明显变化,未观察到在非盐胁迫条件下所见到的噻吩磺隆对细菌的激活作用,这可能是盐胁迫对细菌的抑制作用所致。

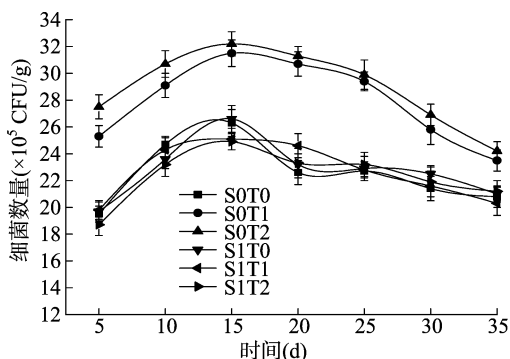


图1 盐胁迫下噻吩磺隆对土壤中细菌数量的影响

在不含噻吩磺隆条件下(比较 S0T0 与 S1T0),中等强度的盐胁迫(1.0% NaCl)对细菌总数无显著影响($P > 0.05$),但这并不意味着细菌的主要类群及其不同种类细菌之间的数量关系没有发生大的变化;盐胁迫通常对细菌有抑制作用,会导致土壤中细菌总数下降,但是也易于让耐盐细菌获得生长

优势;通常土壤细菌约占土壤微生物总量的 70%~80%,其数量的稳定性与土壤的结构及功能密切相关。本研究中未观察到盐胁迫下细菌数量下降的现象,可能与所取土样的理化性质有关,通常来说,孔隙度高、缓冲能力强的土壤中细菌数量的稳定性更高;另外,某些耐盐细菌获得生长优势可能抵消了另一些类型细菌的减少^[11-12]。

从图 2 可以看出,在非盐胁迫的条件下(S0 组),添加噻吩磺隆将导致土壤中放线菌数量有较大幅度的增长,这可能是由于噻吩磺隆对某些种类的放线菌的生长繁殖有激活作用,但是更高浓度的噻吩磺隆并不会进一步提高土壤中放线菌的数量,这与文献报道的甲磺隆及氯嘧磺隆等磺酰脲类除草剂对土壤放线菌的影响结果(主要是抑制效应)并不一致^[13-14];这主要是由于噻吩磺隆在土壤中较其他磺酰脲类除草剂更易降解,降解过程中的中间产物及衍生物对放线菌的生长有激活作用^[15-16]。

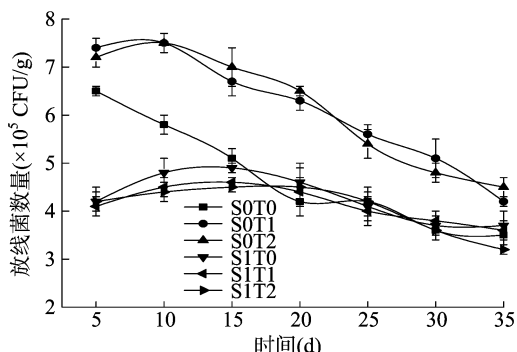


图2 盐胁迫下噻吩磺隆对土壤中放线菌数量的影响

在盐胁迫的条件下(S1 组),放线菌的数量较非盐胁迫条件下有大幅下降,在试验初期尤为显著;另外,改变土壤中噻吩磺隆的浓度,并未导致放线菌数量显著变化,这可能是由于中等程度的盐胁迫对放线菌的抑制作用显著大于其他因素对放线菌所致的激活作用,导致其中的激活作用被掩盖。

从图 3 可以看出,在非盐胁迫的条件下(S0 组),添加噻吩磺隆会导致土壤中真菌数量有较大幅度的降低,并且随着噻吩磺隆浓度的增加,其真菌数量降低的幅度会扩大,表明噻吩磺隆对真菌的生长繁殖有较强的抑制作用,这可能由于噻吩磺隆是支链氨基酸合成抑制剂,也能干扰某些真菌中支链氨基酸的合成,进而影响真菌正常的生长繁殖;另外,噻吩磺隆降解中间物可能也会影响到真菌的生长。通过比较曲线 S0T0 与 S1T0,表明中等程度的盐胁迫会导致土壤中真菌的数量大幅减少,这与文献报道的情况一致^[17-18];比较盐胁迫下不同浓度噻吩磺隆对真菌的影响,测试结果表明,在此条件下不同浓度噻吩磺隆对真菌总数的影响不显著($P > 0.05$),但不能排除有些类型的真菌可能受到抑制,而另有一些甚至受到激活。由于不同种类的真菌对除草剂的敏感性不一样,在真菌总数保持稳定时,除草剂的应用仍然可能会导致土壤中原有的微生物群落系统被打破,进而影响到相关的土壤功能。一般来说,各类微生物的数量在施用不同种类的除草剂后其变化规律并不确定,通常受到土壤性质、除草剂类型与施用浓度以及气候条件等诸多方面的影响^[19-20]。

2.2 盐胁迫下噻吩磺隆对土壤酶活性的影响

土壤蔗糖酶活性通常用于表征土壤生物学活性强度,能

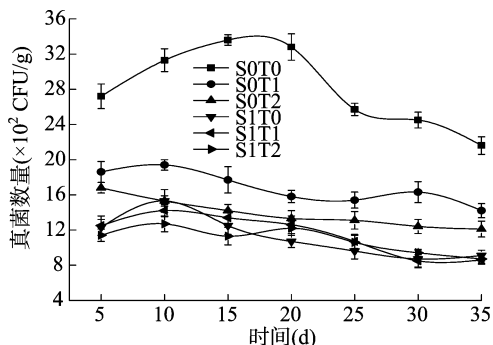


图3 盐胁迫下喹吩磺隆对土壤中真菌数量的影响

反映土壤有机碳转化水平,也是评价土壤熟化程度和肥力水平的重要指标^[21]。图4所示的测试结果表明,在非盐胁迫环境下,不同浓度喹吩磺隆对土壤蔗糖酶活性的影响并不显著($P > 0.05$, S0T0、S0T1 与 S0T2 三者之间差异不显著)。在中等程度的盐胁迫下,土壤蔗糖酶活性会显著降低,这一方面是由于高盐分或高渗透压环境会直接导致蔗糖酶活性的下降,另一方面则是由于盐胁迫下产蔗糖酶的微生物数量或产蔗糖酶的能力下降所致。另外,在中等程度的盐胁迫下随着喹吩磺隆浓度的提高,蔗糖酶的活性也会随之进一步下降,可推测喹吩磺隆与盐胁迫发生协同作用影响到蔗糖酶活性或产酶微生物活性。

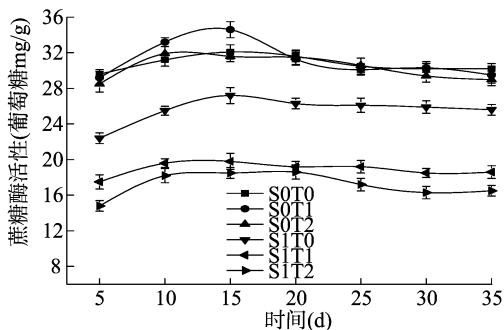


图4 盐胁迫下喹吩磺隆对土壤蔗糖酶活性的影响

图5结果表明,在非盐胁迫环境下,喹吩磺隆的存在会导致土壤脲酶活性下降,但 S0T1 与 S0T2 之间无显著差异($P > 0.05$)。在中等程度的盐胁迫下,土壤脲酶活性会显著降低,但在此条件下喹吩磺隆浓度未对脲酶活性产生显著影响(S1T0、S1T1 和 S1T2 三者之间差异不显著)。这些数据表明喹吩磺隆与盐胁迫都会降低土壤脲酶活性,但中等强度盐胁迫的影响作用更大,比较 S0T0 与 S1T0 发现其在盐胁迫下脲酶活性最大约下降 40%。脲酶与土壤中的氮素循环密切相关,它可将尿素水解为氨,是植物重要的氮素营养来源,如果土壤中脲酶活性降低,将会影响土壤中尿素的利用率,若活性过高,会造成植物氨中毒,对土壤肥力和植物生长也不利,因此,了解农药化肥等农用化学品对土壤脲酶活性的影响对于农林生产及土壤维护具有重要意义^[22-23]。

土壤中过氧化氢酶可以清除生物代谢过程中所产生的过氧化氢,从而解除土壤中过氧化氢积累对生物体的毒害作用。通常土壤过氧化氢酶活性与土壤有机质含量及微生物数量密切相关,与土壤肥力也呈正相关。从图6的数据可以看出,在非盐胁迫的条件下,喹吩磺隆对土壤过氧化氢酶有较强的激

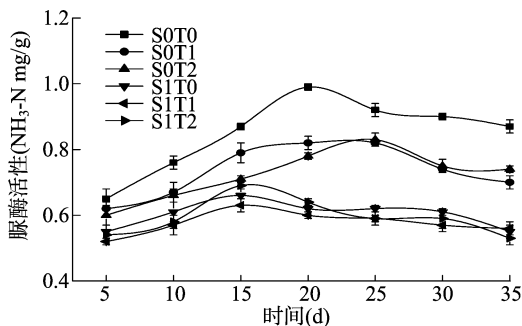


图5 盐胁迫下喹吩磺隆对土壤脲酶活性的影响

活作用,这可能是它激活了土壤微生物产过氧化氢酶的活性;但 S0T1 与 S0T2 之间无显著差异。比较 S0T0 曲线与 S1T0 曲线可知,盐胁迫也对过氧化氢酶活性有激活作用,这主要是由于盐胁迫会影响许多微生物的代谢方式,可能会诱导过氧化氢酶及其他酶类的产生,但是盐胁迫本身通常会降低过氧化氢酶活性^[24]。另外,在盐胁迫下,喹吩磺隆未表现出对过氧化氢酶的激活作用, S1T0、S1T1 与 S1T2 之间的差异均不显著,这表明中等程度的盐胁迫能抑制喹吩磺隆对土壤过氧化氢酶的激活作用。

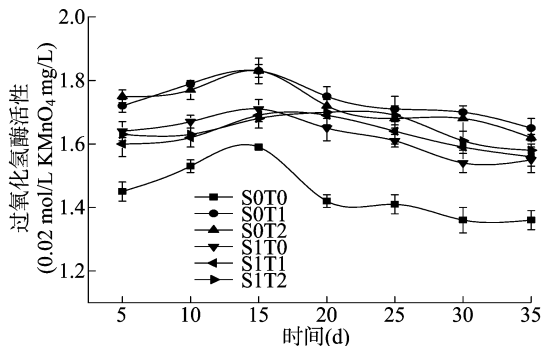


图6 盐胁迫下喹吩磺隆对土壤过氧化氢酶活性的影响

土壤磷酸酶活性高低直接影响着土壤有机磷的分解转化及其生物有效性,可直接反映出土壤磷的基本状况。磷酸酶在土壤磷循环中起重要的作用,它可以将土壤中复杂的有机磷水解成可被生物直接利用的无机磷,从而缓解土壤磷的限制^[25-26]。从图7可知,在未受到盐胁迫的条件下,喹吩磺隆的存在可激活土壤磷酸酶的活性,但这一激活作用主要表现在应用的早期,应用 15 d 后的激活作用并不显著;S0T1 与 S0T2 之间的差异也不显著,表明更高浓度的喹吩磺隆也不能提高这一激活效应。在中等程度盐胁迫下,土壤磷酸酶的活性将大幅度下降,这是由于土壤中较高的盐分会直接导致磷酸酶活性的降低^[27-28]; S1T0、S1T1 和 S1T2 三者之间的差异不显著,喹吩磺隆在此条件下未表现出明显的激活或者抑制效应。

3 讨论与小结

土壤微生物是土壤的重要组成部分,它们对土壤的形成发育、物质循环和肥力演变等均有重大影响。土壤酶来源于土壤微生物、土壤动物、植物根系等,其中微生物是它最主要来源,它在土壤生态系统的物质循环和能量流动方面扮演重要角色,土壤酶活性也能用于分析外源物质对土壤健康的影响^[29]。本研究对各项指标的测试分析表明,中等程度的盐胁迫

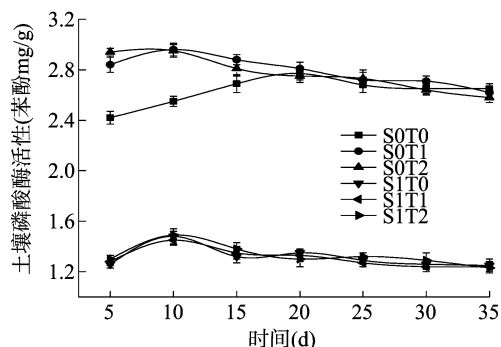


图7 盐胁迫下噻吩磺隆对土壤磷酸酶活性的影响

胁迫可导致放线菌和真菌数量显著减少,但对细菌的影响不显著;在非盐胁迫环境下,噻吩磺隆对细菌和放线菌均有激活作用,而对真菌则表现出抑制作用。盐胁迫及噻吩磺隆对土壤酶的影响更具多样性,具体情况是:盐胁迫能导致土壤蔗糖酶、脲酶、磷酸酶的活性显著降低,但过氧化氢酶活性显著提高;在非盐胁迫条件下,噻吩磺隆对过氧化氢酶和磷酸酶有一定程度的激活作用,对脲酶活性则表现抑制效应,对蔗糖酶无显著影响。经相关性分析表明,放线菌和真菌的数量与土壤蔗糖酶、脲酶、磷酸酶的活性呈正相关;在非盐胁迫下,细菌数量的增加与过氧化氢酶活性的提高呈正相关,但在盐胁迫下无明显规律可循;一系列的数据分析也表明盐胁迫与噻吩磺隆联合存在于土壤中会产生区别于单一因素的生态效应响应。

通常,盐胁迫以及除草剂的应用也会对植物的生长构成一定影响,进而影响到植物根际相关酶的分泌,植物根际产生的酶类通常也是土壤酶的重要组成部分,但在本研究的相关分析中仅考虑了土壤酶与土壤微生物之间的相关性,暂未涉及到土壤酶与植物之间的关系,这需要在后续研究中进一步加以完善,以便更准确地揭示其中的规律,为合理利用除草剂等农用投入品提供基础数据和理论指导。

参考文献:

- [1] 李新安,赵华,李广领,等. 噻吩磺隆在不同类型土壤中的降解行为[J]. 农药,2012,51(1):55-57.
- [2] Jean P, Cambon J B. Mechanism of thifensulfuron - methyl transformation in soil [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(3): 1210-1216.
- [3] 熊兴明,黎理,刘春来,等. 噻吩磺隆在小麦和土壤中的残留降解动态研究[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2009, 35(1): 104-106, 110.
- [4] García - Ruiz R, Ochoa V, Hinojosa M B, et al. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40(9): 2137-2145.
- [5] Forlani G, Mantelli M, Branzoni M, et al. Differential sensitivity of plant - associated bacteria to sulfonylurea and imidazolinone herbicides[J]. Plant and Soil, 1995, 176(2): 243-253.
- [6] Boldt T S, Jacobsen C S. Different toxic effects of the sulfonylurea herbicides metsulfuron - methyl, chlorsulfuron and thifensulfuron - methyl on fluorescent pseudomonads [J]. FEMS Microbiology Letters, 2006, 161(1): 29-35.
- [7] Valle A, Boschini G, Negri M, et al. The microbial degradation of

azimsulfuron and its effect on the soil bacterial community [J].

Journal of Applied Microbiology, 2006, 101(2): 443-452.

- [8] 刘惠君,詹秀明,刘维屏. 四种酰胺类除草剂对土壤酶活性的影响[J]. 中国环境科学, 2005, 25(5): 611-614.
- [9] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [10] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [11] 周玲玲, 孟亚利, 王友华, 等. 盐胁迫对棉田土壤微生物数量与酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 24(2): 241-246.
- [12] Guo Z Y, Tang M Z, Yuan M. Effects of iodosulfuron - methyl sodium on several biological indicators in soil [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2005, 7(1): 88-91.
- [13] 方程冉, 沈东升, 贺永华. 有机毒物甲磺隆胁迫下根际微生物种群生态的动态变化研究[J]. 土壤通报, 2003, 34(4): 340-342.
- [14] 马吉平, 陈庆隆, 陈柳萌, 等. 不同浓度氯嘧磺隆对土壤微生物群落和土壤呼吸强度的影响[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(9): 2593-2596.
- [15] Hugh M, Brown M. Degradation of thifensulfuron - methyl in soil: role of microbial carboxylesterase activity [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1997, 45(5): 961-995.
- [16] 赵卫松. 烟嘧磺隆和噻吩磺隆微生物降解研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- [17] 周玲玲, 孟亚利, 王友华, 等. 盐胁迫对棉田土壤微生物数量与酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 24(2): 241-246.
- [18] 周德平, 吴淑杭, 褚长彬, 等. 盐胁迫对蔬菜地土壤微生物及土壤酶活的毒害效应[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(8): 1602-1607.
- [19] Cai Z Q, Li S S, Zhang W J, et al. Effects of the novel pyrimidinyloxybenzoic herbicide ZJ0273 on enzyme activities, microorganisms and its degradation in Chinese soils [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(6): 4425-4433.
- [20] Pampulha M E, Oliveira A. Impact of an herbicide combination of bromoxynil and prosulfuron on soil microorganisms [J]. Current Microbiology, 2006, 53(3): 238-243.
- [21] 王建成, 冯远娇, 骆世明. Bt 玉米秸秆分解对土壤酶活性和土壤肥力的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(3): 524-528.
- [22] 谢勇波, 周清明, 龚道新. 不同化学农药对土壤脲酶活性的影响[J]. 湖南农业科学, 2010(3): 63-65, 68.
- [23] Li Y H, Gao Y B. Effects of monosulfuron on growth of millet and soil microbial function [J]. Journal of Agro - Environmental Science, 2004, 23(4): 633-637.
- [24] 莫俊杰, 彭诗春, 叶昌辉, 等. 盐胁迫下甘蔗根际土壤微生物量及其酶活性的效应分析[J]. 广东农业科学, 2016, 43(6): 103-108.
- [25] Nannipieri P, Giagnoni L, Landi L, et al. Role of phosphatase enzymes in soil [M]. Phosphorus in Action, Soil Biology, 2011: 215-243.
- [26] Krmer S, Green D M. Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32(2): 179-188.
- [27] 刘雅淑, 孟春风, 刘延鹏, 等. 森林土壤磷酸酶活性变化特征及其影响因素[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(4): 850-854.
- [28] 曲博. 湿地土壤磷酸酶活性对土壤有机磷形态转化的影响研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2015.
- [29] 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.