

· 研究简报 ·

丁草胺对土壤微生物数量和酶活性的影响

单 敏, 虞云龙*, 方 华, 王 晓, 楚小强, 冯 波

(浙江大学 农学院 植物保护系, 浙江 杭州 310029)

摘 要:在模拟土壤生态系统中研究了丁草胺对土壤微生物数量和酶活性的影响。试验表明,低浓度 (2 mg/kg) 和中等浓度 (4 mg/kg) 丁草胺对微生物数量影响不大;而高浓度 (10 mg/kg) 处理则有明显抑制效应,但在 21 d 后也基本恢复到对照水平。丁草胺对土壤酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、脲酶、蔗糖酶均产生了一定的抑制作用,并随浓度升高而增强,随着时间的延长,抑制作用逐渐消失,酶活性恢复至对照水平。丁草胺对土壤过氧化氢酶的影响与其他酶不同,表现出一定的刺激作用。

关键词:丁草胺;微生物;土壤;酶

中图分类号: S154

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303 (2005) 04-0383-04

Effect of Butachlor on Soil Microbial Populations and Enzyme Activities

SHAN Min, YU Yun-long*, FANG Hua, WANG Xiao, CHU Xiao-qiang, FENG Bo

(Department of Plant Protection, College of Agriculture and Biotechnology,
Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

Abstract: The effect of butachlor on soil microbial populations and enzyme activities was investigated in a microcosm mimicking soil ecosystem. The effect of butachlor at rates of 2 mg/kg and 4 mg/kg on soil microbial population is a temporal phenomenon and disappears within a few days. However, butachlor at high rate of 10 mg/kg inhibited soil microbial population significantly till 21 days after treatments. The activities of acid phosphatase, alkaline phosphatase, urease and invertase in soil treated with butachlor were all inhibited. The inhibitory effect disappeared gradually with time, and enzyme activities recovered to the levels of the control without butachlor. The influence of butachlor on catalase was different from acid phosphatase, alkaline phosphatase, urease and invertase, an enhancement effect was observed.

Key words: butachlor; microorganism; soil enzyme

土壤生物学功能的维持很大程度上依赖于土壤微生物生物量及其活性,土壤微生物是土壤生态系统物质循环的重要基础。大量研究表明,土

壤微生物对农药的降解起着重要作用^[1,2]。同时,农药进入土壤后对土壤微生物生物量及其活性也会产生影响,进而影响土壤生物学功能。因此,化

收稿日期: 2005-06-07; 修回日期: 2005-09-01

作者简介: 单敏 (1980-), 女, 安徽人, 硕士研究生, 主要从事农药环境毒理研究; * 通讯作者: 虞云龙 (1964-), 男, 浙江人, 教授, 博士生导师。联系电话: 0571-86971433; E-mail: ylyu@zju.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金 (20377036, 30230250); 国家重点基础研究发展规划 (973 计划) (2002CB410806); 杭州市科技专项 (2002112A08) 资助。

学农药进入土壤后对土壤微生物及其活性的影响成为农药生态安全评价的重要指标之一^[3,4]。丁草胺是一种广泛使用的内吸传导型苯乙酰胺类除草剂,主要用于稻田防除一年生禾本科杂草和莎草科杂草及某些一年生阔叶杂草,也可用于小麦、大麦、玉米、棉花、花生等作物上防除杂草。有关丁草胺在土壤中的吸附-解吸、残留动态、降解及其迁移规律等环境行为已有较为广泛的研究^[2,5-11],但其对生态系统中土壤微生物和酶活性影响的研究较少。

作者研究了模拟土壤生态系统中丁草胺对土壤微生物和土壤酶活性的影响,以了解丁草胺对土壤健康的影响,为其安全性评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

采集浙江大学华家池校区大棚蔬菜地试验田 0~20 cm 的新鲜土样,剔除植物残根和石砾等杂物,过 2 mm 筛备用,实验前于室温下放置 48 h。

1.2 主要仪器及化学试剂

SZX 超净工作台(上海浦东跃欣科学仪器厂);LRH-250-G 光照培养箱(广东省医疗器械厂);RXZ 型智能人工气候箱(宁波江南仪器厂);HZ-9310K 型全温振荡器(太仓市科教器材厂);UV-150-02 型紫外分光光度计(Shimadzu)。

丁草胺(butachlor)标样($\geq 94.7\%$),购自国家质检中心;其他化学试剂均为分析纯。

1.3 土壤处理

称取相当于 1 kg 干土重的新鲜土样置于塑料盆中,添加以水稀释的丁草胺标准溶液,使其在土样中的浓度分别达到 0、20、40、100 mg/kg,并使土壤含水量达最大持水量的 60%,隔 2 d 调节一次,使含水量保持恒定。用锡箔纸覆盖塑料盆,1 d 后于锡箔纸上开内径 1 mm 的 5 个小孔,于人工气候箱(25 ± 1) 黑暗培养。以不加丁草胺的同样处理为对照。每个处理设 3 个重复,药剂处理后分别于 1、7、14、21、30 d 测定土壤微生物数量和酶活性。

1.4 微生物计数

称取 10 g 新鲜土样,按常规平板法培养微生物,用 MPN 法计数。细菌用牛肉膏蛋白胨培养基培养,真菌用查彼克氏培养基培养,放线菌用改良高氏 1 号培养基培养^[12]。

1.5 酶活性的测定

酸性、碱性磷酸酶和脲酶活性的测定参照 Tabatabai 的方法^[13];过氧化氢酶和蔗糖酶活性的测定参照关松荫等描述的方法^[14]。酸性、碱性磷酸酶的活性以单位时间内对硝基苯酚的产生量表示($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$),脲酶活性以单位时间内铵态氮的释放量表示($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$),过氧化氢酶活性以消耗的 KMnO_4 量($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)表示,蔗糖酶活性以 24 h 后产生的葡萄糖的量表示($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。

2 结果与讨论

2.1 丁草胺对微生物数量的影响

丁草胺对土壤中细菌、真菌和放线菌的影响见表 1。

Table 1 Effect of butachlor on total counts of soil bacteria($10^5/\text{g}$), fungi($10^4/\text{g}$) and actinomycetes ($10^5/\text{g}$)

Soil microorganisms	Butachlor / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Days after treatment				
		1	7	14	21	30
Bacteria	0	26.02 $\pm$ 3.51 a	37.72 $\pm$ 14.64 a	48.08 $\pm$ 10.13 a	16.32 $\pm$ 2.49 a	33.27 $\pm$ 17.33 a
	2	51.86 $\pm$ 3.49 b	28.17 $\pm$ 3.60 ab	46.14 $\pm$ 8.77 a	15.99 $\pm$ 3.95 a	36.86 $\pm$ 17.81 a
	4	16.87 $\pm$ 2.90 c	30.13 $\pm$ 5.78 ab	46.44 $\pm$ 13.85 a	17.94 $\pm$ 6.32 a	35.71 $\pm$ 16.25 a
	10	3.39 $\pm$ 0.94 d	17.84 $\pm$ 6.31 b	20.07 $\pm$ 3.72 b	16.71 $\pm$ 2.23 a	24.93 $\pm$ 11.54 a
Fungi	0	18.78 $\pm$ 14.91 a	15.77 $\pm$ 3.75 ab	15.25 $\pm$ 2.47 a	15.94 $\pm$ 4.23 a	12.51 $\pm$ 4.68 a
	2	10.57 $\pm$ 1.39 ab	13.70 $\pm$ 4.62 ac	14.49 $\pm$ 3.52 a	20.63 $\pm$ 3.37 a	11.59 $\pm$ 2.85 a
	4	6.55 $\pm$ 2.08 ab	15.11 $\pm$ 5.32 a	14.56 $\pm$ 3.44 a	20.15 $\pm$ 3.42 a	12.05 $\pm$ 1.41 a
	10	3.79 $\pm$ 1.41 b	5.81 $\pm$ 3.02 c	9.44 $\pm$ 4.25 a	17.10 $\pm$ 7.42 a	13.75 $\pm$ 4.01 a
Actinomycetes	0	17.01 $\pm$ 2.84 a	18.56 $\pm$ 5.09 ac	18.67 $\pm$ 5.24 a	20.06 $\pm$ 3.25 a	19.53 $\pm$ 3.60 a
	2	19.94 $\pm$ 3.44 a	20.14 $\pm$ 3.64 a	26.14 $\pm$ 3.81 a	20.82 $\pm$ 5.95 a	18.95 $\pm$ 5.96 a
	4	45.59 $\pm$ 8.90 b	22.14 $\pm$ 3.64 ab	20.84 $\pm$ 8.58 a	24.22 $\pm$ 6.17 a	15.27 $\pm$ 5.70 a
	10	2.00 $\pm$ 0.35 c	11.43 $\pm$ 2.42 c	18.66 $\pm$ 5.32 a	22.15 $\pm$ 3.21 a	17.13 $\pm$ 2.72 a

Note: All data are means $\pm$ SD of triplicate samples. Values of different treatments followed by the same letter in the same column are not significantly different ($P < 0.05$) from control. The same as in the following table.

试验初期 (1 d),低浓度 (2 mg/kg)丁草胺对细菌表现出显著的刺激作用,随后与对照处理无显著差异;中等浓度 (4 mg/kg)丁草胺处理后 1和 7 d的细菌量低于对照处理,14 d后恢复至对照水平;高浓度 (10 mg/kg)丁草胺处理后 1、7和 14 d的细菌数量明显低于对照处理,21 d后才恢复至对照水平。因此,丁草胺对土壤细菌的影响与其浓度直接相关,高浓度丁草胺对细菌的抑制水平和抑制期均明显超过低浓度丁草胺处理。余柳青等^[15]以 0.7 mg/kg 丁草胺处理,能增加土壤(粉砂壤土)细菌量。陈中云等^[16]的研究表明,1 mg/kg 的丁草胺施用 7 d后能促进水稻田土壤反硝化细菌的生长,但 10 mg/kg 的丁草胺则对土壤反硝化细菌种群数量有明显的抑制作用。

真菌对丁草胺的敏感性低于细菌,低浓度和中浓度丁草胺对真菌数量影响不大,仅在处理后的 1 d表现出一定程度的抑制作用,但高浓度丁草胺

处理土壤中的真菌明显受到抑制,1 d和 7 d时真菌数量显著低于对照,14 d后开始逐渐恢复,21 d达正常水平。

高浓度丁草胺处理对放线菌的影响与真菌类似,但低浓度和中浓度丁草胺处理初期 (1 d)对放线菌的生长产生了一定的刺激作用。

2.2 丁草胺对土壤酶活性的影响

由表 2可见,与对照相比,各浓度丁草胺处理后 1、7和 14 d的土壤酸性磷酸酶均表现出明显的受抑制现象,且受抑制程度与丁草胺浓度呈正相关,浓度越高,酸性磷酸酶活性越低。随着时间的推移,酶活性逐渐恢复,21 d时低浓度和中浓度处理均恢复至对照水平,高浓度处理虽有所恢复但仍低于对照。丁草胺对碱性磷酸酶活性的影响要小于对酸性磷酸酶,低浓度处理土壤中碱性磷酸酶恢复较快,14 d就恢复至对照水平,而中浓度和高浓度处理土壤则需要较长时间 (21 d)。

Table 2 Effect of butachlor on soil enzyme activity

Soil enzyme	Butachlor /mg · kg ⁻¹	Days after treatment				
		1	7	14	21	30
Acid phosphatase /μg p-nitrophenol · g ⁻¹ · h ⁻¹	0	193.35 ±1.96 a	191.70 ±2.70 a	188.71 ±1.16 a	194.61 ±2.07 ab	193.14 ±3.50 a
	2	184.65 ±2.87 b	182.04 ±2.65 b	182.78 ±0.63 b	194.16 ±1.26 ab	192.78 ±0.93 a
	4	184.17 ±0.92 b	178.73 ±2.23 bc	178.41 ±2.15 c	196.09 ±1.99 a	194.22 ±3.62 a
	10	180.88 ±2.94 b	176.84 ±3.19 c	177.89 ±2.43 c	192.67 ±0.98 bc	190.17 ±3.64 a
Alkaline phosphatase /μg p-nitrophenol · g ⁻¹ · h ⁻¹	0	50.44 ±0.82 a	49.24 ±0.53 a	44.58 ±1.18 a	41.09 ±0.76 a	41.08 ±0.94 a
	2	47.46 ±0.35 b	46.98 ±0.44 b	43.02 ±0.98 ac	40.71 ±0.97 a	40.62 ±1.31 a
	4	47.26 ±0.96 b	46.65 ±0.75 b	41.85 ±0.71 bc	40.71 ±1.01 a	41.05 ±0.54 a
	10	42.64 ±0.64 c	41.90 ±0.24 c	41.54 ±1.80 c	40.27 ±0.86 a	38.42 ±1.16 b
Urease /mg NH ₄ -N · g ⁻¹ · h ⁻¹	0	5.66 ±0.34 a	6.86 ±1.11 a	6.24 ±0.47 a	4.65 ±0.54 a	4.17 ±1.01 a
	2	6.36 ±1.29 a	5.90 ±0.81 a	5.98 ±1.16 a	4.02 ±0.99 a	4.32 ±0.65 a
	4	5.41 ±0.46 a	4.05 ±0.71 b	3.55 ±0.72 b	4.03 ±0.30 a	4.12 ±0.35 a
	10	5.05 ±0.52 a	2.76 ±1.00 b	2.10 ±0.54 b	2.24 ±0.95 b	3.71 ±0.52 a
Catalase /mL KMnO ₄ · g ⁻¹	0	0.44 ±0.02 a	0.43 ±0.03 a	0.41 ±0.03 a	0.40 ±0.03 a	0.36 ±0.01 a
	2	0.44 ±0.03 a	0.44 ±0.02 a	0.44 ±0.01 ab	0.40 ±0.02 a	0.38 ±0.02 a
	4	0.44 ±0.02 a	0.48 ±0.03 b	0.45 ±0.02 ab	0.39 ±0.01 a	0.37 ±0.02 a
	10	0.43 ±0.02 a	0.50 ±0.02 b	0.46 ±0.03 b	0.41 ±0.01 a	0.36 ±0.03 a
Invertase /mg glucose · g ⁻¹	0	14.49 ±0.25 a	15.10 ±0.56 a	15.19 ±0.48 a	14.55 ±0.21 a	14.19 ±0.49 a
	2	15.01 ±0.70 a	14.70 ±0.74 a	15.04 ±1.10 a	14.75 ±0.69 a	14.02 ±0.52 a
	4	14.34 ±0.82 a	14.09 ±0.86 ac	15.18 ±0.36 a	14.60 ±0.37 a	14.56 ±0.80 a
	10	10.31 ±0.54 b	12.92 ±0.86 bc	14.96 ±0.55 a	14.38 ±1.12 a	14.20 ±0.34 a

丁草胺处理后 1 d土壤中脲酶活性差异不大,低浓度处理还表现出微弱的刺激作用。7 d后,中浓度和高浓度处理土壤中脲酶活性呈现出明显的受抑制效应,受抑制程度与浓度直接相关,抑制率分别为 41.0%、59.8%。14 d后这种抑制效应依

然很显著,抑制率分别为 43.1%、66.3%。随后,中浓度处理土壤脲酶活性恢复较快,21 d基本达到对照水平,但高浓度处理脲酶活性恢复较慢,30 d时其活性水平仍低于对照。实验结果说明,丁草胺的浓度越高,对脲酶活性的影响越大,以致

于作物不能有效利用尿素,不利于作物生长。

丁草胺处理对土壤过氧化氢酶具有促进作用,其中,处理后 7 d 和 14 d 促进作用较明显,浓度越高刺激作用越强,说明丁草胺具有诱导微生物分泌过氧化氢酶的能力。随着培养时间的延长,丁草胺对过氧化氢酶的刺激作用有所减弱,21 d 后基本恢复到对照水平。10 mg/kg 丁草胺处理对土壤中蔗糖酶的活性表现出明显的抑制作用,1 d 时抑制率为 28.8%,7 d 时抑制率为 14.4%,14 d 后才基本恢复到对照水平。而 2 mg/kg 和 4 mg/kg 的丁草胺在整个实验期内对蔗糖酶活性影响很小,没有表现出显著差异。

3 结 论

丁草胺对土壤微生物的影响随微生物种类和丁草胺浓度而异。细菌对丁草胺最为敏感,真菌次之,放线菌则具有一定的抗性。低浓度丁草胺对土壤微生物影响不大,即使产生一定的抑制作用,在短期内也可以较快恢复;高浓度处理对土壤微生物影响较为明显,且恢复缓慢。丁草胺处理对土壤酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、脲酶、蔗糖酶均产生了一定的抑制作用,这种抑制作用随浓度升高而增强,随着时间的延长,抑制作用逐渐消失,酶活性恢复至对照水平。丁草胺对土壤过氧化氢酶的影响与对其他酶不同,具有一定的刺激作用。

参考文献:

- [1] ZHU Lu-sheng(朱鲁生), WANG Jun(王军), LIN Ai-jun(林爱军), et al 二甲戊乐灵的土壤微生物生态效应[J]. Environ Sci(环境科学), 2002, 23(3): 88-91.
- [2] Yu Y L, Chen Y X, Luo Y M, et al Rapid degradation of butachlor in wheat rhizosphere soil[J]. Chemosphere, 2003, 50: 771-774.
- [3] Marx M C, Wood M, Jarvis S C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2001, 33: 1633-1640.
- [4] Trasar-Cepeda C, Leiros M C, Seoane S, et al Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32: 1867-1875.
- [5] Zheng H, Ye C. Adsorption and mobility of acetochlor and butachlor on soil[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2002, 68: 509-516.
- [6] Chiang H C, Duh J R, Wang Y S. Butachlor, thiobencard, and chlomeoxyfen movement in subtropical soils[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2001, 66: 1-8.
- [7] Zheng H, Ye C. Photodegradation of acetochlor and butachlor in waters containing humic acid and inorganic ion[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2001, 67: 601-608.
- [8] Lin Y J, Lin C, Yeh K J, et al Photodegradation of the herbicides butachlor and ronstar using natural sunlight and diethylamine[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2000, 64: 780-785.
- [9] Chiang H C, Duh J R, Wang Y S. Sorption of herbicides butachlor, thiobencard, and chlomeoxyfen in soils[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 1997, 58: 758-763.
- [10] CAO Ren-lin(曹仁林), JIA Xiao-kui(贾晓葵), HUANG Yong-chun(黄永春), et al 土壤中不同浓度阿特拉津和丁草胺对小白菜生长及残留的影响[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science(植物营养与肥料学报), 2003, 9(4): 452-455.
- [11] ZHENG He-hui(郑和辉), YE Chang-ming(叶常明). 乙草胺和丁草胺在土壤中的移动性[J]. Environ Sci(环境科学), 2001, 22(5): 117-121.
- [12] Nanjing Institute of Soil, Chinese Academy of Science(中国科学院南京土壤研究所微生物室). Soil Microorganism Research Methods(土壤微生物研究法)[M]. Beijing(北京): Science Press(科学出版社), 1985. 44-58.
- [13] Tabatabai M A. Soil enzymes [A]. Weewer R M, Angle S, Bottomley P, et al Methods of Soil Analysis, Part 2 Microbiological and Biochemical Properties[M]. Soil Science Society of America, Wisconsin WI, 1994. 775-833.
- [14] GUAN Song-yin(关松荫), ZHANG De-sheng(张德生), ZHANG Zhiming(张志明). Soil Enzymes and Its Methodology(1st)[土壤酶及其研究法(第1版)]. [M]. Beijing(北京): Agriculture Press(农业出版社), 1986. 274-338.
- [15] YU Liu-qing(余柳青), ZHANG Lei(张雷), HE Sheng-yue(何圣岳), et al 丁草胺药肥对土壤微生物的抑制作用及其增产效果[J]. Chin J Rice Sci(中国水稻科学), 1993, 7(1): 55-57.
- [16] CHEN Zhong-yun(陈中云), M N Hang(闵航), WU Wei-xiang(吴伟祥), et al 农药污染对水稻田土壤反硝化细菌种群数量及其活性的影响[J]. Chin J Appl Ecology(应用生态学报), 2003, 14(10): 1765-1769.

(Ed. JIN S H)