

复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤微生物数量及酶活性的影响

刘华山^{1,2}, 张志勇¹, 韩锦峰^{1*}, 徐淑霞², 毛官杰², 刘 晗¹

(1. 河南农业大学 农学院, 河南 郑州 450002; 2. 河南农业大学 生命科学院, 河南 郑州 450002)

摘要: 通过盆栽试验, 研究复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤中细菌、真菌及放线菌数量和脲酶、蔗糖酶及磷酸酶活性的影响。结果表明, 施入复合菌剂后土壤中真菌、放线菌的数量及脲酶、蔗糖酶、磷酸酶活性均高于受害土壤而低于健康土壤, 而细菌数量明显高于健康土壤。表明复合菌剂能促进二氯喹啉酸的降解, 对受二氯喹啉酸污染的土壤具有修复作用。

关键词: 复合菌剂; 二氯喹啉酸; 土壤; 微生物数量; 土壤酶活性

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)11-0064-05

Effects of Combination Bacteria on Soil Microbial Quantity and Enzyme Activity under Quinclorac Stress

LIU Hua-shan^{1,2}, ZHANG Zhi-yong¹, HAN Jin-feng^{1*},XU Shu-xia², MAO Guan-jie², LIU Han¹

(1. College of Agronomy, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. College of Life Sciences, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: A pot experiment was conducted to study the influence of combination bacteria on the soil microbial quantity (bacteria, fungi, actinomycetes) and the enzyme activity (urease, invertase, neutral phosphatase) under quinclorac stress. The result showed that after addition of the combination bacteria, the quantity of fungi and actinomycetes, and the three enzyme activities were all below the healthy soil and above the contaminated soil, however, the quantity of bacteria was obviously higher than that in the healthy soil, which showed that the combination bacteria could promote the degradation of quinclorac and had a positive remediation on quinclorac-contaminated soils.

Key words: combination bacteria; quinclorac; soil; microbial quantity; enzyme activity

在稻烟轮作地区施用化学除草剂二氯喹啉酸 (quinclorac), 可清除以稗草为主的稻田杂草。此除草剂具有用量少、施用适期宽、对稗草有特效等优点, 但是残效期长^[1], 易造成后茬敏感作物出现叶子线条状、叶片向背翻卷、颜色加深、生物量减少等药害, 严重者甚至整株死亡^[2]。王静等^[3]研究表明, 在我国南方的稻烟轮作地区, 后茬种植烟草的安全间隔期为 1 a, 这极大地制约了稻烟轮作地区的烟叶生产。

复合菌剂指由 2 种或 2 种以上互不拮抗的微生物菌种制成的微生物制剂, 一般具有种类全、配伍合理、功能性强、经济效益高等优良特点^[4]。利用复合微生物菌剂修复受污染的土壤、海水、江河湖泊等生态环境正成为当前研究的热点。李毅然^[5]的研究结果表明, 复合菌剂对受石油污染土壤的石油降解率可达 73.2%; 陈翠雪等^[6]研制的复合菌剂对去除水体中的有机物、氮和磷等污染物具有显著效果; 郭荣君

收稿日期: 2012-06-25

基金项目: 湖南中烟工业有限责任公司科技项目 (2009160507)

作者简介: 刘华山 (1951-), 女, 辽宁盖州人, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草栽培生理研究。E-mail: liuhs602@sina.com

* 通讯作者: 韩锦峰 (1934-), 男, 河南太康人, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草栽培生理研究。E-mail: jinfenghan2002@126.com

等^[7]指出,土壤中微生物种类越丰富,越有利于农药残留的降解。

近年来,人们通过施用微生物菌剂修复,在调控土壤微生物群落的生态环境及改善土壤健康质量等方面已经做了很多研究。张志刚等^[8]研究表明,微生物菌剂可有效改善土壤理化性质,提高土壤酶活性。陈雪丽等^[9]研究发现,在种植黄瓜和番茄的土壤中施入 2 株芽孢杆菌可改变土壤中微生物菌群结构,而土壤中微生物的菌群结构又与土壤酶的活性有着密切的关系^[9-11],土壤酶活性作为衡量土壤健康质量的一个主要指标,其大小能反映出土壤生化反应的强弱。目前利用单一微生物菌剂修复受二氯喹啉酸污染土壤的报道较多,而利用复合微生物菌剂修复受该除草剂污染土壤的报道尚未见到。为此,研究在受二氯喹啉酸污染的土壤中施入复合菌剂后,土壤中微生物数量的动态变化及其对土壤酶活性的影响,以期对稻烟轮作地区的烟叶安全生产提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

复合菌剂由河南农业大学环境微生物实验室筛选提供;50%二氯喹啉酸可湿性粉剂,由江苏绿利来股份有限公司生产;盆栽土取自河南农业大学科教园区,土壤基本肥力特性见表 1。

表 1 供试土壤的基本肥力特性

pH	有机质/ (g/kg)	全氮/ (g/kg)	全磷/ (g/kg)	碱解氮/ (mg/kg)	速效磷/ (mg/kg)	速效钾/ (mg/kg)
7.97	12.93	0.87	0.416	57.433	37.75	164.15

1.2 试验设计

将 2 种菌株分别在 LB 培养基中以 34℃、150 r/min 培养 24 h 后,取出菌液,5 000 r/min 离心收集菌体,以生理盐水重悬,使微生物数量不低于 1×10^{10} cfu/mL,然后将 2 种菌液按体积 1:1 混合制成复合菌剂。

试验设置 3 个处理,分别为:T0(健康土),清水 1 000 mL;T1(受害土),1 000 mL 含 7.2 mg 50%二氯喹啉酸的溶液(模拟大田施用量 900 g/hm²);T2(修复土),500 mL 含 7.2 mg 50%二氯喹啉酸溶液和 500 mL 复合菌剂。将二氯喹啉酸和复合菌剂均匀喷入 18 kg 过筛(2 mm)土中后,装入高 45 cm、直径 35 cm 的塑料盆中,每个处理重复 3 次,放置于阴凉通风处。每隔 7 d 采用烘干称重法测定土壤含水量,及时喷水维持土壤田间最大持水量的 70%。待处理后的第 7 天开始第 1 次取样,取 0~15 cm 土

层的土样待测,以后每隔 7 d 取样 1 次,共取样 4 次。每次取样 2 份,每份 200 g,其中一份土样装入无菌袋中待测微生物数量,另外一份风干至恒质量后过孔径为 0.335 mm 的筛,待测土壤酶活性。

1.3 测定项目及方法

微生物数量的测定采用平板稀释培养法^[12];细菌的培养采用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基^[13];真菌的培养采用含有链霉素的孟加拉红培养基^[14];放线菌的培养用改良高氏一号培养基^[14];土壤脲酶活性的测定参考严昶升^[14]的靛酚蓝比色法,以每 100 g 干土 24 h 产生的 NH₃-N 毫克数表示;蔗糖酶活性按关松荫^[15]的 3,5-二硝基水杨酸比色法测定,以每 100 g 干土 24 h 产生的葡萄糖毫克数表示;磷酸酶活性按姚桃应等^[13]的磷酸苯二钠比色法测定,以每 100 g 干土 24 h 产生的酚毫克数表示。

2 结果与分析

2.1 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤细菌数量的影响

细菌是土壤中分布最广、最常见的原核微生物,它影响到土壤的生化过程、养分循环及生物修复等^[16]。从图 1 可以看出,随着土壤处理天数的增加,受害土(T1)的细菌数量呈现先下降后升高趋势,在 21 d 时达到最低点,之后恢复增长;而健康土(T0)和修复土(T2)的细菌数量总体都呈现先升高后下降的趋势,在处理 14 d 时达到最大值,之后呈现下降趋势,但健康土壤相比修复土壤下降趋势缓慢;3 个处理的土壤中细菌数量表现为修复土>健康土>受害土。表明在受害土壤中施入复合菌剂能明显提高土壤中细菌的数量,而受二氯喹啉酸危害的土壤中细菌数量受到严重抑制。

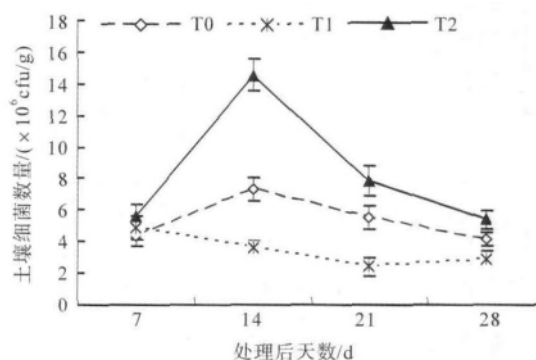


图 1 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤细菌数量的影响

2.2 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤真菌数量的影响

真菌是真核微生物,它在自然界中普遍存在,对

土壤的有机循环和生物修复也很重要^[17]。图 2 显示,随处理时间的延长,3 个处理的土壤真菌数量都呈现不同程度的下降趋势。受害处理的真菌数量明显低于其他 2 个处理,不同处理间真菌数量表现为健康土>修复土>受害土。这一结果表明,二氯喹啉酸对土壤中真菌的生长有抑制作用,而加入复合菌剂后可以缓解其对真菌的抑制,促进真菌数量的恢复。

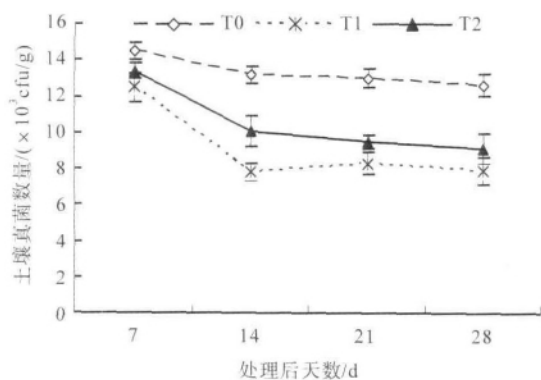


图 2 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤真菌数量的影响

2.3 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤放线菌数量的影响

放线菌是原核生物的一个类群,大多数有发达的分枝菌丝^[17]。从图 3 可见,3 个处理放线菌数量随时间的推移都呈“N”字型变化,均为先上升,14 d 后再下降,之后又上升。不同处理的放线菌数量表现为:健康土>修复土>受害土。表明受二氯喹啉酸污染的土壤中放线菌的生长受到抑制,而加入复合菌剂可增加放线菌数量。

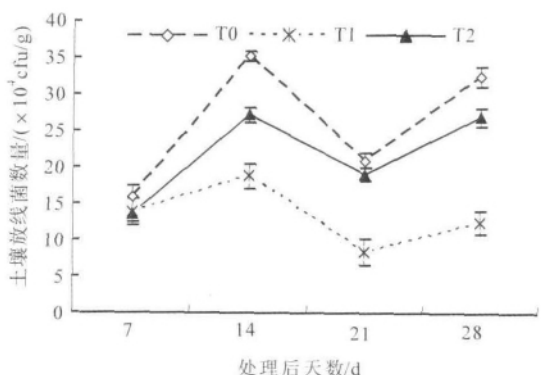


图 3 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤放线菌数量的影响

2.4 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤脲酶活性的影响

脲酶是酰胺水解酶的一种,广泛存在于微生物、植物和动物的细胞中,其活性反映土壤有机态氮的转化能力和土壤无机氮的供应能力^[17]。从图 4 可以看出,3 个处理的脲酶活性随时间的延长都呈现

先降低后升高的趋势,健康土的脲酶活性明显高于受害土,说明施入二氯喹啉酸的土壤中脲酶活性被显著抑制;而施入复合菌剂的受害土壤脲酶活性逐渐得到恢复。脲酶活性大小依次为:健康土>修复土>受害土。表明复合菌剂能够降低二氯喹啉酸对土壤脲酶活性的抑制。

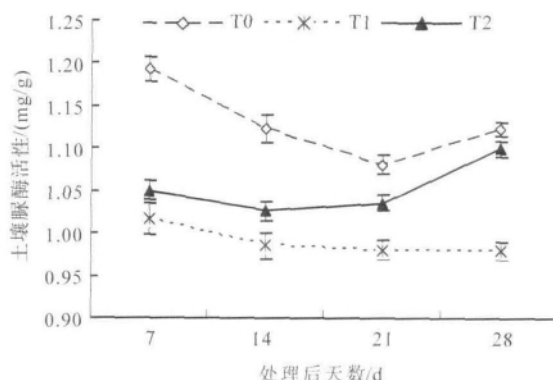


图 4 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤脲酶活性的影响

2.5 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤蔗糖酶活性的影响

蔗糖酶又叫转化酶,是土壤中的一种重要酶类,也是土壤中碳素转化的主要酶类之一,其酶促作用产物是葡萄糖,为植物、微生物提供营养源,其活性强弱也是评价土壤肥力的重要指标^[18]。从图 5 可以看出,随着处理时间的推移,3 个处理的蔗糖酶活性均在第 14 天时达到最低点,随后升高;受二氯喹啉酸危害的土壤蔗糖酶活性受到严重的抑制;在第 28 天时健康土壤和修复土壤的蔗糖酶活性比受害土壤分别高 8.67% 和 5.45%。表明复合菌剂对受害土壤中蔗糖酶活性具有一定的修复效果。

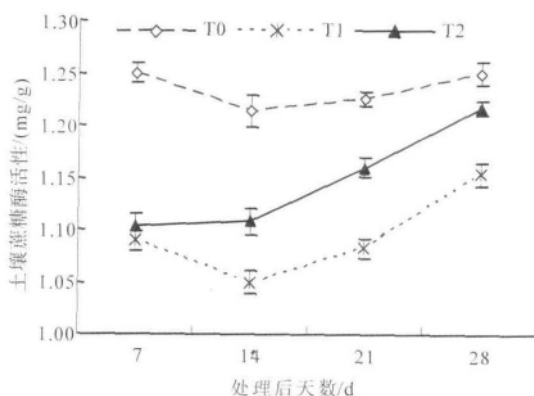


图 5 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤蔗糖酶活性的影响

2.6 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤中磷酸酶活性的影响

土壤磷酸酶是一种能将有机磷化合物转化为植物可吸收的无机磷酸盐的土壤酶类^[19]。随着处理天数的延长,各个处理土壤中的磷酸酶活性逐渐降

低。健康土在 14 d 后中性磷酸酶活性趋于平稳;而受害土中性磷酸酶活性在第 21 天时降至最低值,随后升高;加入复合菌剂的处理第 14 天时磷酸酶活性达到最低值,随后酶活性逐渐增强。在第 28 天时,修复土和受害土的磷酸酶活性分别比健康土低 6.7%和 19.3%。表明加入复合菌剂可修复受害土壤的磷酸酶活性。

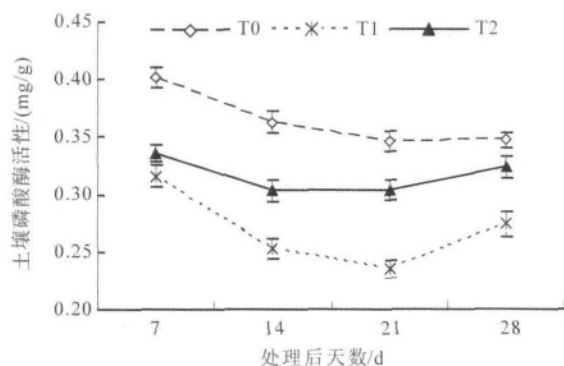


图 6 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下土壤中中性磷酸酶活性的影响

3 结论与讨论

微生物的种群数量和结构在一定程度上反映了土壤的健康质量。本研究结果表明,二氯喹啉酸危害对土壤中细菌、真菌、放线菌数量均有明显的抑制作用,经过一定的时间,细菌、真菌、放线菌均有恢复至正常水平的趋势,这与吕镇梅等^[20]的研究结果类似。曹恩琿等^[21]发现,施入复合菌剂早期可以显著提高土壤中微生物数量,这与本研究结果一致,另外其对提高土壤有机质、碱解氮、速效磷、速效钾等土壤养分的含量,降低土壤酸度等方面亦有贡献。可能是由于加入复合菌剂后,土壤中养分转化效率提高,为微生物的生长提供了充足的 C、N 源,有助于修复土壤中微生物类群的生态环境。本研究中,加入复合菌剂的修复土壤细菌数量高于健康土壤和受害土壤,是由于复合菌剂所采用的菌株均为细菌,对二氯喹啉酸具有一定的降解作用^[22],减少了土壤中二氯喹啉酸的残留量。张广志等^[23]筛选的有机磷农药降解菌在盆栽试验中,30 d 降解率可达到 78%,为微生物群落的生长提供了良好的生长环境。

土壤酶是土壤新陈代谢的重要因素,参与生物化学反应和物质循环,其活性强弱反映土壤的健康质量水平。含有二氯喹啉酸的受害土壤中脲酶、蔗糖酶、中性磷酸酶活性均比健康土和修复土低,这与张昉等^[24]关于苄嘧磺隆和二氯喹啉酸对土壤酶活性影响的研究结果类似;孔凡彬等^[25]研究发现,杀

菌剂烯酰吗啉对土壤脲酶前期表现为抑制作用,第 10 天时开始表现为激活作用,与本试验的结果基本一致。在土壤中加入复合菌剂使二氯喹啉酸部分降解,也是酶活性提高的主要原因,促进了土壤生化反应的进行。加入复合菌剂修复后,脲酶、蔗糖酶及中性磷酸酶活性均表现为健康土>修复土>受害土,说明复合菌剂有助于提高土壤酶的活性,这与刘华山等^[26]的研究结果相一致。

总之,加入复合菌剂不仅增加了土壤中微生物数量而且能改善微生物种群结构,减轻二氯喹啉酸对土壤酶活性的抑制作用,修复土壤农药残留污染,改良土壤生态环境,促进土壤健康质量的提高。但本试验修复处理的各项指标除细菌外其他均低于对照,这与复合菌剂的降解能力有关还是与复合菌剂施用量有关需进一步研究,其效果需在大田验证,以早日解决稻烟轮作地区的二氯喹啉酸危害问题,为保障烟叶安全生产提供依据。

参考文献:

- [1] 王一茹,刘长武. 二氯喹啉酸在稻田水,土壤和作物中残留动态研究[J]. 环境科学,1996,17(1):27-30.
- [2] 王广元,王险峰. 几种除草种对后茬作物的影响[J]. 湖北植保,1999(2):22.
- [3] 王静. 土壤残留二氯喹啉酸引起烟草畸形生长的研究[D]. 广州:华南农业大学,2004.
- [4] 李俊,姜昕,李力,等. 微生物肥料的发展与土壤生物肥力的维持[J]. 中国土壤与肥料,2006(4):1-5.
- [5] 李毅然. 复合菌剂修复石油污染土壤的影响因素研究[J]. 衡阳师范学院学报,2010,31(6):60-63.
- [6] 陈翠雪,谢嘉华,翁祖英,等. 复合微生物菌剂在海水养殖废水中的修复作用[J]. 泉州师范学院学报,2007,5(6):99-102.
- [7] 郭荣君,李世东,章力建. 土壤农药污染与生物修复研究进展[J]. 中国生物防治,2005,21(3):129-135.
- [8] 张志刚,董春娟,高苹,等. 蔬菜残株堆肥及微生物菌剂对设施辣椒栽培土壤的改良作[J]. 西北植物学报,2011,31(6):1243-1249.
- [9] 陈雪丽,王光华,金剑,等. 两株芽胞杆菌对黄瓜和番茄根际土壤微生物群落结构影响[J]. 生态学杂志,2008,27(11):1895-1900.
- [10] Dari K, Bechet M, Blondeau R. Isolation of soil *Streptomyces* strains capable of degrading humic acids and analysis of their peroxidase activity[J]. FEMS Microbiol Ecol,1995,6(2):115-122.
- [11] Maguson M, Craford D L. Comparison of extracellular peroxidase and esterase-deficient mutants of *Strepto-*

- myces viridosporus* T7A[J]. Applied Environmental Microbiology, 1992, 58(3): 1070-1072.
- [12] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985.
- [13] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [14] 严昶升. 土壤肥力研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1988.
- [15] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [16] 黄秀梨. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993.
- [17] 袁玲, 邦俊, 郑兰君, 等. 长期施肥对土壤酶活性和氮磷养分的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1997, 3(4): 300-306.
- [18] 周世萍, 段昌群, 韩青辉, 等. 毒死蜱对土壤蔗糖酶活性的影响[J]. 生态环境, 2005, 14(5): 672-674.
- [19] 辛承友, 朱鲁生, 王军, 等. 阿特拉津对不同肥力土壤磷酸酶的影响[J]. 生态环境, 2004, 13(1): 27-30.
- [20] 吕镇梅, 闵航, 叶央芳. 除草剂二氯喹啉酸对水稻土土壤中微生物种群的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(4): 605-609.
- [21] 曹恩琿, 侯宪文, 李光义, 等. 复合菌剂对盆栽番茄土壤理化性质及微生物活性的影响[J]. 生态环境学, 2011, 20(5): 875-880.
- [22] 刘华山, 左涛, 韩锦峰, 等. 降解菌 HN36 对二氯喹啉酸胁迫下烟草茎尖和叶片超微结构的影响[J]. 植物生态学报, 2012, 3(36): 262-268.
- [23] 张广志, 张新建, 扈进冬, 等. 有机磷农药降解菌的筛选及降解能力测定[J]. 河南农业科学, 2009(3): 63-65.
- [24] 张昀, 关连珠, 胡克伟, 等. 吡啶磺隆二氯喹啉酸对土壤呼吸强度和酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(增刊): 73-76.
- [25] 孔凡彬, 叶晖, 蒋丹丹, 等. 烯酰吗啉对土壤酶活性的影响[J]. 河南农业科学, 2010(12): 54-56.
- [26] 刘华山, 左涛, 韩锦峰, 等. 博德特氏菌 HN36 对土壤酶活性和呼吸强度的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2011(3): 83-86.

(上接第 57 页)

参考文献:

- [1] 王玉洁, 朱维琴, 金俊, 等. 杭州市农田蔬菜中 Cu、Zn 和 Pb 污染评价及富集特性研究[J]. 杭州师范大学学报: 自然科学版, 2010, 9(1): 65-73.
- [2] Tyler G, Balsberg Pahlsson A M, Bengtsson G, et al. Heavy-metal ecology of terrestrial plants, microorganisms and invertebrates[J]. Water, Air & Soil Pollution, 1989, 47(3/4): 189-215.
- [3] 赵小蓉, 杨谢, 陈光辉, 等. 成都平原区不同蔬菜品种对重金属富集能力研究[J]. 西南农业学报, 2010, 23(4): 1142-1146.
- [4] 汪琳琳, 方凤满, 蒋炳言. 中国菜地土壤和蔬菜重金属污染研究进展[J]. 吉林农业科学, 2009, 34(2): 61-64.
- [5] 朱书法, 董铁有, 姜勇. 洛阳市郊区蔬菜地土壤—蔬菜中重金属含量的相关性研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(3): 837-839.
- [6] 李海华, 刘建武, 李树人, 等. 土壤—植物系统中重金属污染及作物富集研究进展[J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(1): 30-34.
- [7] 黄永东, 黄永川, 于官平, 等. 蔬菜对重金属元素的吸收和积累研究进展[J]. 长江蔬菜, 2011(10): 1-6.
- [8] 王军. 沈阳市于洪区蔬菜与土壤中重金属含量分析[J]. 现代农业科技, 2011(5): 274-275.
- [9] 崔旭, 葛元英. 阳高县蔬菜产地土壤重金属含量调查与评价[J]. 山西农业科学, 2009, 37(1): 55-57.
- [10] 李廷亮, 谢英荷, 刘子娇. Cd、Cr、Pb 对几种叶类蔬菜生长状况与品质的影响[J]. 山西农业科学, 2008, 36(4): 20-22.
- [11] 石彦召, 刘小莉, 何晓静. 郑州市郊区菜地土壤及蔬菜中重金属含量状况调查与评价[J]. 陕西农业科学, 2009(1): 44-46.
- [12] 杨磊, 万红友. 郑州市城郊菜地土壤重金属环境质量评价[J]. 河南农业科学, 2011, 40(12): 84-87.