

乙酰甲胺磷对稻田土壤微生物数量和酶活性的影响

肖春玲¹, 周群燕², 张道平¹, 欧阳婧³, 邹小明^{1*}

(1. 井冈山大学 生命科学学院, 江西 吉安 343009; 2. 井冈山大学附属中学, 江西 吉安 343009
3. 吉安市天玉镇文化站, 江西 吉安 343000)

摘要: 在实验室控制条件下, 研究了 0、10、50、100、200 mg/kg 乙酰甲胺磷对土壤中可培养微生物数量及蛋白酶、过氧化氢酶、脲酶活性的影响。结果表明: 在培养初期, 乙酰甲胺磷对细菌生长具有促进作用, 对真菌、放线菌的生长有抑制作用, 均和乙酰甲胺磷浓度呈显著正相关, 但这些影响均可在短期恢复。乙酰甲胺磷对土壤中蛋白酶活性表现出先抑制后恢复的效应, 对过氧化氢酶却表现出先激活后恢复的效应, 而低于 200 mg/kg 的乙酰甲胺磷对脲酶活性影响较小。

关键词: 乙酰甲胺磷; 土壤微生物; 土壤酶

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2009)08-0059-04

Effects of Acephate on Paddy Soil Microbial Populations and Enzyme Activities

XIAO Chun-ling¹, ZHOU Qun-yan², ZHANG Dao-ping¹,
OU Yang-jing³, ZOU Xiao-ming^{1*}

(1. Life Science Department, Jinggangshan University, Ji'an 343009, China; 2. Middle School Affiliated to Jinggangshan University, Ji'an 343009, China; 3. Tianyu Culture Station of Ji'an, Ji'an 343000, China)

Abstract: Acephate (ACEP) is an insecticide used on fruit trees, leaf vegetables, cotton and other horticultural crops to control sucking insects. Influence of ACEP on soil microorganism and enzyme (urease and actinomycetes) activities were studied by traditional microbial cultivation and titration means under the laboratory control condition. ACEP was added to a soil sample at dosages of 0, 10, 50, 100 and 200 mg/kg respectively. The results showed that the impact of ACEP upon the quantity of microbes was short-term action. In the first cultivate stage, the effect of ACEP upon the quantity of soil microbial populations had a correlation with ACEP concentrations. ACEP increased the quantity of bacteria obviously while led the soil fungi and Actinomycetes reduced and then rose again. Under the concentration of test, the activities of proteinase and catalase were activated, and the higher the ACEP concentration the greater and longer the influence. The low concentrations of ACEP (< 200 mg/kg) had faint effects on the activities of urease.

Key words: Acephate; Soil microbe; Soil enzyme

土壤微生物参与土壤中物质的转化和分解, 是生态系统的重要组成部分, 其群落的组成和相关活性对于土壤肥力的保持、土壤生态系统的物质循环等具有重大的意义。有研究表明, 化学农药进入到土壤后会对土壤微生物群落和活性产生一定影

响^[1,2]。有关不同类别农药对土壤微生物群落结构及微生物活性影响的研究较多^[3~7]。

乙酰甲胺磷系由美国 Chevron 公司开发的一种高效、内吸性强的广谱性杀虫剂。它具有胃毒和触杀作用, 适用于蔬菜、果树、水稻等作物害虫的防

收稿日期: 2009-02-25

基金项目: 江西省教育厅科技项目(赣教技字[2007]322); 吉安市 2007 年科技项目; 井冈山大学 2007 年度自然科学基金项目

作者简介: 肖春玲(1962-), 女, 江西吉安人, 教授, 主要从事微生物的教学与科研工作。

通讯作者: 邹小明(1980-), 男, 江西信丰人, 讲师, 在读博士研究生, 主要从事污染土壤微生物生态研究。

治。该药作为甲胺磷的替代品使用范围广,使用量呈逐年增加的趋势。目前,对乙酰甲胺磷的研究,国内外学者主要集中于制备工艺等领域^{8,9)},而有关该药对土壤微生物群落及土壤活性的影响研究尚少。鉴此,以常年耕作的水稻土壤为对象,研究乙酰甲胺磷对水稻土壤微生物数量和土壤酶活性的影响,以了解乙酰甲胺磷污染土壤生物指标和生态环境之间的可能联系,为乙酰甲胺磷在水稻田的科学使用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

采集吉安市郊水稻田 2~20cm 的新鲜土样,去除植物根及其他杂物,风干,过 0.5mm 筛备用。

1.2 试验方法

1.2.1 土样处理 取上述新鲜风干土样,分别装入塑料容器中,添加含有乙酰甲胺磷的标准溶液,使土壤中乙酰甲胺磷浓度分别达到 0(CK)、10、50、100、200mg/kg(干土),并使土壤含水量达最大田间含水量的 60%。用锡箔纸覆盖容器,1d 后开 3 个内直径 1mm 的小孔,在人工气候箱中 25℃ 培养,每个处理设定 3 个重复。于不同浓度乙酰甲胺磷乳液处理后第 3、6、9、12、15、20、25、30 天分别测定土壤微生物数量及土壤酶活性。

1.2.2 土壤微生物数量的测定¹⁰⁾ 微生物数量的测定采用倒平板计数法。细菌、真菌、放线菌分别采用牛肉膏蛋白胨培养基、马丁氏培养基、高氏培养基培养。

1.2.3 土壤酶活性的测定¹¹⁾ 过氧化氢酶活性采

用高锰酸钾滴定法测定,蛋白酶活性采用茚三酮比色法测定,脲酶活性采用比色法测定。

1.3 数据分析

试验数据均为 3 次重复的平均值,采用 SPSS 13.0 作统计处理。

2 结果与讨论

2.1 乙酰甲胺磷对土壤微生物数量的影响

试验结果表明,不同浓度的乙酰甲胺磷均对土壤细菌的生长有影响。第 3 天,细菌浓度与乙酰甲胺磷浓度的 $r=0.949^*$;第 6 天, $r=0.932^*$ 。这表明在培养初期,乙酰甲胺磷可以促进细菌的生长,而且这种促进效应和它的浓度呈显著正相关,但从表 1 可知,乙酰甲胺磷促进细菌生长的持续时间较短。第 3 天,10mg/kg 和 50mg/kg 乙酰甲胺磷处理的细菌数量分别比对照高 15.11% 及 56.59%,第 12 天分别高 0.49% 及 14.43%。较高浓度乙酰甲胺磷(100mg/kg、200mg/kg)处理 12d 后对细菌生长的影响较小。

不同浓度乙酰甲胺磷对放线菌也有显著影响,均表现为先抑制后恢复。第 3 天,放线菌数量与浓度呈极显著负相关($r=-0.978^{**}$);第 9 天,低浓度乙酰甲胺磷对放线菌的生长几乎没有抑制效应。而 100mg/kg 及 200 mg/kg 处理的放线菌数量仅比对照低 16.94% 及 24.60%。

乙酰甲胺磷对于真菌的影响和放线菌比较相似,表现为先抑制后恢复的效应。培养初期,真菌浓度与乙酰甲胺磷浓度呈显著负相关(第 3 天: $r=-0.91^*$,

表 1 乙酰甲胺磷对土壤微生物数量的影响

微生物	乙酰甲胺磷浓度(mg/kg)	处理时间(d)							
		3	6	9	12	15	20	25	30
细菌 ($\times 10^7$ 个/g)	0(CK)	25.8	22.7	20.9	20.1	18.9	17.6	17.0	16.2
	10	29.7	25.5	21.8	20.2	18.7	17.8	17.2	17.0
	50	40.4	46.0	30.8	23.0	19.0	17.5	17.0	16.1
	100	57.6	72.6	52.6	24.0	20.7	18.0	18.0	18.1
	200	63.9	79.2	48.1	25.3	20.8	18.1	17.6	18.0
放线菌 ($\times 10^5$ 个/g)	0(CK)	23.2	24.1	24.8	26.9	28.7	29.3	27.2	26.1
	10	20.2	24.2	24.9	26.8	28.6	29.4	27.0	25.8
	50	18.3	20.7	24.9	26.2	28.0	28.0	27.1	26.0
	100	14.7	16.1	20.6	22.9	27.2	27.9	27.0	25.9
	200	10.2	13.2	18.7	21.9	25.6	29.9	27.3	25.8
真菌 ($\times 10^4$ 个/g)	0(CK)	8.0	9.2	9.0	8.6	8.2	8.0	7.8	7.6
	10	7.2	8.9	9.0	8.9	8.1	7.9	8.2	8.4
	50	6.8	7.8	8.4	8.5	8.3	7.8	7.8	7.5
	100	6.2	6.4	7.7	8.7	8.3	7.8	8.1	8.2
	200	5.8	5.9	7.0	8.2	8.4	8.4	8.2	7.9

注:表中数据均为 3 个重复的平均值

第 6 天: $r = -0.942^*$ 。“r-K 策略”认为, 外来的化学物质可以使得 r 类和 K 类微生物的生长繁殖得到增强和抑制, 不同化学物质所对应的 r 类和 K 类微生物也不同。

2.2 乙酰甲胺磷对土壤酶活性的影响

2.2.1 乙酰甲胺磷对土壤蛋白酶活性的影响

从图 1 可知, 在培养初期, 乙酰甲胺磷的添加对土壤蛋白酶的活性有明显抑制。这种抑制效应与乙酰甲胺磷的添加浓度呈正比。第 12 天, 对照与 200mg/kg 处理的蛋白酶活性分别为 $0.056\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 和 $0.043\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 。分析表明, 蛋白酶活性与乙酰甲胺磷浓度呈显著负相关($r = -0.899^*$)。培养 12d 后, 各处理蛋白酶活性均降低。但与对照相比, 添加了乙酰甲胺磷的处理蛋白酶活性下降幅度较小。因此, 乙酰甲胺磷对土壤蛋白酶活性的影响是先抑制后恢复。土壤蛋白酶是土壤中一种重要的胞外酶, 参与土壤中的氮素循环, 可以作为反映土壤环境质量的指标^[12]。

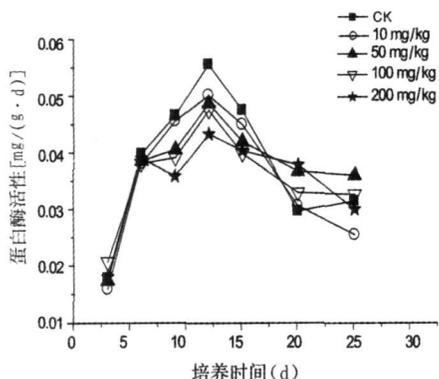


图 1 乙酰甲胺磷对土壤蛋白酶活性的影响

2.2.2 乙酰甲胺磷对土壤过氧化氢酶活性的影响

图 2 表明, 添加 10mg/kg 乙酰甲胺磷对土壤过氧化氢酶活性无明显影响。培养初期, 大于 50mg/kg 的乙酰甲胺磷对该酶活性表现为激活作用, 且浓度越高, 效应越明显。培养 25d 和 30d, 不同处理的过氧化氢酶活性差别较小。因此, 较高浓度的乙酰甲胺磷($> 50\text{mg}/\text{kg}$)对于土壤蛋白酶活性的影响是先激活后恢复。土壤中的过氧化氢酶可以促进过氧化氢的分解, 有利于防止它对生物体产生毒害作用, 同时可以作为评价需氧微生物活性的指标^[13]。

2.2.3 乙酰甲胺磷对土壤脲酶活性的影响

从图 3 可知, 200mg/kg 乙酰甲胺磷对土壤中脲酶活性有激活作用。培养第 6 天, 该处理的脲酶活性为 $0.7606\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$, 而对照为 $0.3454\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$; 而培养 12d 后, 该处理脲酶活性逐渐恢复到对照水平。

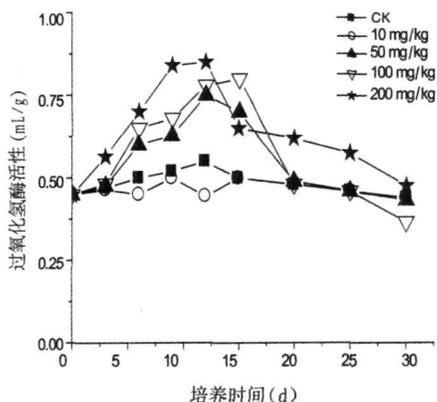


图 2 乙酰甲胺磷对土壤过氧化氢酶活性的影响

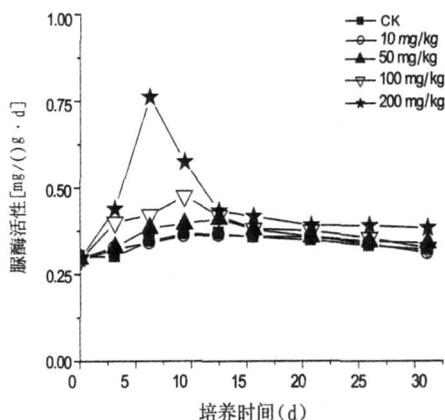


图 3 乙酰甲胺磷对土壤脲酶活性的影响

10、50、100mg/kg 乙酰甲胺磷对土壤脲酶活性影响较小。由于使用过程中乙酰甲胺磷的施用浓度较低, 所以该农药对尿素等肥料的吸收和利用影响不大。

土壤酶主要来自于微生物和植物根系分泌途径^[9], 土壤酶的重要作用在于参与土壤中的物质循环和能量代谢, 并使作为陆地生态系统的重要组成部分的土壤与该生态系统的其他组分有了功能上的联系和使该生态系统得以生存和发展。在乙酰甲胺磷的作用下, 蛋白酶活性受到抑制, 过氧化氢酶活性被激活, 而对土壤中脲酶活性影响较小。试验结果表明, 乙酰甲胺磷对土壤中的微生物数量和酶活性的影响持续时间均较短, 可能是乙酰甲胺磷毒性较低, 且在土壤中的降解速率较大的缘故。

2.3 乙酰甲胺磷污染土壤中微生物数量与酶活性的关系

有研究表明, 不同种类微生物与不同酶活性存在着相关性。土壤中的微生物与土壤酶有着密切的联系, 任何土壤生物的一些异常变化都可以反映在土壤酶活性水平上^[14]。由表 2 可知, 乙酰甲胺磷显著改变了土壤微生物数量与酶活性的相关性。添加 50 mg/kg 乙酰甲胺磷后, 土壤酶活性与土壤真菌数

量呈显著相关,尤其是蛋白酶、脲酶与真菌的相关性变化较大。由于有诸如生物、土壤理化性质、土壤植物等因素影响土壤酶活性,因此也有学者认为,土壤

酶活性与土壤微生物不存在这种相关性^[15]。所以,对于土壤微生物与土壤酶两者的相互关系,还需进一步深入研究。

表 2 乙酰甲胺磷污染土壤中微生物数量与土壤酶活性的相关系数

微生物	CK			50mg/kg		
	蛋白酶	脲酶	过氧化氢酶	蛋白酶	脲酶	过氧化氢酶
细菌	-0.316	-0.233	0.301	-0.432	0.095	0.114
放线菌	0.268	0.424	0.015	0.681	0.247	0.166
真菌	0.562	0.611	0.750*	0.961**	0.888**	0.781*

注:* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

3 结论

1) 研究表明, 试验期内, 乙酰甲胺磷对细菌生长具有促进作用, 对真菌、放线菌的生长有抑制效应, 且均和乙酰甲胺磷浓度呈显著相关, 但这些影响均可在短期恢复。

2) 乙酰甲胺磷对土壤中蛋白酶活性表现出先抑制后恢复的效应, 对过氧化氢酶却表现出先激活后恢复的效应, 而低于 200 mg/kg 的乙酰甲胺磷对脲酶活性影响较小。相关分析表明, 土壤中真菌数量与土壤的蛋白酶及脲酶活性极显著相关, 而与过氧化氢酶活性则显著相关。

参考文献:

- [1] Min H, Chen Z Y, Zhao Y H, *et al.* Effects of trifluralin on soil microbial populations and the nitrogen fixation activities [J]. *Environ Sci Health*, 2001, 36(5): 569—579.
- [2] Valeria Labud, Carlos Garcia, Teresa Hernandez. Effect of hydrocarbon pollution on the microbial properties of a sandy and a clay soil [J]. *Chemosphere*, 2007, 66: 1863—1871.
- [3] M Ros, M Goberna, J L Moreno, *et al.* Molecular and physiological bacteria diversity of a semiarid soil contaminated with different levels of formulated atrazine [J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, 34: 93—102.
- [4] Alexandre G S P, Claudio A. Effect of the pesticide 2, 4-D microbial activity of the soil monitored by microcalorimetry [J]. *Thermochimica Acta*, 2000, 349: 17—22.
- [5] Jose L Moreno, Asuncion Aliaga, Simon Navarro, *et al.* Effects of atrazine on microbial activity in semiarid soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 35: 120—127.
- [6] 邹小明, 朱立成, 肖春玲, 等. 三唑磷的土壤微生物生态效应研究 [J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27(1): 0238—0242.
- [7] 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.
- [8] 熊鹰, 艾秋红, 罗和安. 乙酰甲胺磷萃取工艺研究 [J]. *农药*, 2005, 44(8): 363—367.
- [9] 贺敏, 铁柏清, 戴荣彩, 等. 乙酰甲胺磷水解动力学研究 [J]. *湖南农业大学学报*, 2006, 32(6): 662—664.
- [10] 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: 44—58.
- [11] 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.
- [12] Garcia C, Hernandez T. Biological and biochemical indicators in derelict soils subject to erosion [J]. *Soil Biology Biochemistry*, 1997, 29: 171—177.
- [13] Trasar Cepeda C, Camina F, Leiros M C, *et al.* An improved method to measure catalase activity in soils [J]. *Soil Biology Biochemistry*, 1999, 31: 483—485.
- [14] Kandeler E, Kampichler C, Horak O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 23: 299—306.
- [15] Taylor J P, Wilson B, Mills M S *et al.* Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface and sub soils using various techniques [J]. *Soil Biol Biochem*, 2002, 34: 387—401.