

农药对土壤微生物和酶活性的影响

李霞, 潘开文*, 高平, 王曲, 蔡登高

(1. 四川大学生命科学院, 四川成都610064; 2. 中国科学院成都生物研究所, 四川成都610065)

摘要 为了研究农药对土壤微生物及酶活性的影响和各指标间的相关性。研究5种农药(深蓝、克菌宝、活根菌灭、施净、巧能)对土壤真菌、细菌、放线菌以及土壤中脲酶、脱氢酶、蔗糖酶、磷酸酶活性的影响。农药使土壤微生物在组成多样性上发生了明显变化, 农药对微生物的影响为细菌>放线菌>真菌。施净、深蓝、巧能和活根菌灭对蔗糖酶活性的抑制率在30.30%~21.21%, 巧能和施净对脲酶活性的抑制率达37.67%, 深蓝和施净对蛋白酶活性的抑制率分别为27.27%和18.18%, 施净、深蓝、巧能和活根菌灭对磷酸酶活性的抑制率在22.12%~3.54%, 均达到了显著水平。脱氢酶对5种农药均不敏感。各指标间存在一定的相关性。

关键词 农药; 土壤微生物; 土壤酶; 微生物多样

中图分类号 S482 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)21-06510-03

Effect of the Pesticide on Soil Microbe and Enzyme Activity

LI Xia et al. (School of Life Science, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610064)

Abstract The purpose of the study was to research the effect of pesticides on the soil microbe and enzyme activity and correlation among various indexes. The effects of five pesticides (zineb, copforce, carbendazim, mancozeb and hynexazd) on soil fungi, bacteria, actinomyces and soil urease, dehydrogenase, invertase and phosphates activities were studied. The pesticides caused the obvious change on composition diversity in soil microbes. The effects of pesticides on the soil microbes were bacteria > actinomyces > fungus. The invertase active suppression rates by mancozeb, zineb, hynexazol and carbendazim were 30.30% ~ 21.21%, the urease activity suppression rates by hynexazol and mancozeb were up to 37.67%, the protease activity suppression rates by zineb and mancozeb were 27.27% and 18.18% respectively and the phosphates activity suppression rates by mancozeb, zineb, hynexazol and carbendazim were 22.12% ~ 3.54%. They all reached remarkable level. The dehydrogenase was insensitive to the 5 pesticides. There was some correlation among various indexes.

Key words Pesticide; Soil microbe; Soil enzyme; Microbial diversity

自然和人为因素直接或间接地影响土壤中酶的活性。农药的广泛应用, 使它持续不断地进入土壤环境, 成为人为因素中对土壤酶活性影响最大的因素。

在土壤中, 酶在不同程度上参与土壤环境的全部生命活动, 在作为催化剂时, 它们的催化活性受到环境组成物质的剧烈影响。因此, 土壤生理生化组成上的改变, 比如土壤微生物数量、土壤酶活性的改变可能会直接或间接地对土壤环境产生影响。

农药对土壤微生物及酶活性的影响, 已成为不少国家评价农药生态安全的一个重要指标^[1]。Balich等^[2]也提出一种化学污染物对某一生态系统中微生物的影响, 可以间接反映出该化学品对该生态系统的影响。笔者初步研究了5种应用广泛的农药(深蓝、克菌宝、活根菌灭、施净、巧能)对土壤微生物和土壤酶的影响。

1 材料与方

1.1 材料 5种农药均为市售农药, 分别为深蓝(青岛润生农化有限公司)、克菌宝(新加坡利农私人有限公司)、活根菌灭(山东荣邦化工有限公司)、土壤菌虫——施净(湖北小池化工股份有限公司)和巧能(西安恒田化工科技公司)。

试验土壤采自四川省乐山市犍为县芭沟镇农田, 地理坐标为北纬29°15', 东经103°45', 海拔532 m, 为坪状低山峡谷地貌, 土壤为三迭纪须家河组碳坝泥土, 中上肥力, 排灌条件好, 地势平坦。年平均气温17.5℃, 月均气温7.6℃, 最热月7~8月份, 平均气温26℃左右, 最冷1月, 极端最低气温0

。无霜期333 d, 年均降水量1199~1200 mm。试验设6个处理, 3次重复, 分别施入农药。采取5点取样法, 取0~20 cm耕层土壤, 在室温下风干, 过1 mm筛, 剔除石砾和植物残根等杂物。4℃冰箱保存。

1.2 试验方法 按参考文献[3], 测定土壤和稻秆的理化性质; 土壤pH值测定, 水土比为2.5:1, 电位法测定土壤悬浊液pH值; 有机质测定用重铬酸钾容量法; 全氮的测定用半微量开氏法; 全磷测定用高氯酸-浓硫酸法。

微生物用平板涂抹法测定^[4], 细菌用牛肉膏蛋白胨培养基、真菌用马丁氏培养基、放线菌用改良的高氏一号培养基。

脲酶用苯酚钠次氯酸钠显色法; 脱氢酶活性采用甲萘(TPF)比色法测定; 酸性磷酸酶用磷酸苯二钠比色法; 蔗糖酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法; 蛋白酶采用茚三酮比色法^[5]。

微生物多样性指数(DI)采用Shannon-Wener指数法计算^[6], 计算公式为:

$$DI = - \sum_{i=1}^n P_i \ln P_i$$

式中, P_i 为第*i*个物种在全部样品中的比例, $P_i = n_i / N$, n_i 为第*i*个物种的个体数, N 为物种数。

酶活性抑制率的计算公式^[7]为: 抑制率 = $(A - B) / A \times 100\%$ 。式中, A 为不加农药土壤酶活性, B 为加农药土壤酶活性。采用SPSS 11.5对所有试验结果进行单因素方差分析和相关分析。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质 测定结果见表1。

2.2 农药对土壤微生物数量及多样性的影响 在农药的作用下, 土壤中细菌、真菌、放线菌以及微生物总数均有所减少。农药对土壤细菌数量的影响最大(表2), 与冯波等^[8]研究结果一致。5个农药处理对细菌的效应分别较真菌、放线

基金项目 中国科学院-乐山市院地合作项目(2005BA807B09LA06); 中国科学院西部之光联合学者项目(2001BA606A05-04)。

作者简介 李霞(1982-), 女, 四川雅安人, 硕士研究生, 研究方向: 微生物学。* 通讯作者, E-mail: pankw@cib.ac.cn。

收稿日期 2007-03-23

菌的效应高1.96~2.10、1.0~1.49倍;与对照相比,不同农药处理细菌数量差异都达到了显著水平。土壤微生物总数在不同处理中的差异与细菌相似。

表1 土壤理化性质

处理	pH 值	土壤理化性质			
		有机质 g/kg	有机碳 g/kg	全氮 g/kg	全磷 g/kg
CK	4.39	26.17	15.18	0.98	0.74
巧能	4.31	21.95	12.73	0.87	0.45
活根菌灭	4.30	26.43	15.33	1.11	1.06
克菌宝	4.23	23.17	13.44	0.90	0.71
深蓝	4.20	21.14	12.26	0.78	0.45
施净	4.24	23.97	13.90	0.95	0.68

施净、活根菌灭对细菌数量影响较大,与对照相比,细菌数量减少分别达到了90.91%和87.09%,深蓝和巧能也能显著减少细菌数量,而克菌宝处理细菌数量减少仅为37.00%,差异不显著。

5种农药对真菌的影响相对较小,真菌数量减少都没有达到显著水平。

放线菌除在受巧能处理后数量减少没有达到显著水平外,其他4种农药处理均能明显地抑制放线菌数量,与对照相比,深蓝、活根菌灭、施净、克菌宝处理使放线菌数量分别减少59.73%、57.78%、53.03%、52.77%,差异显著。4种农药处理对放线菌数量影响差异不大。

表2 农药对土壤微生物数量的影响

处理	农药对土壤微生物数量的影响				
	细菌 $\times 10^7/g$	真菌 $\times 10^4/g$	放线菌 $\times 10^4/g$	总数 $\times 10^7/g$	多样性 指数
CK	6.27 a	3.58 a	3.79 a	6.27 a	0.014 8 a
巧能	1.66 b	2.64 a	2.85 ab	1.67 b	0.051 0 a
活根菌灭	0.81 bc	2.92 a	1.60 b	0.82 bc	0.044 5 a
克菌宝	3.95 ab	2.03 a	1.79 b	3.95 ab	0.008 4 a
深蓝	1.32 bc	2.04 a	1.54 b	1.32 bc	0.039 5 a
施净	0.57 c	2.26 a	1.78 b	0.57 c	0.047 6 a

注:表中同列不同小写字母表示在0.05水平差异显著。下表同。

农药处理微生物多样性指数有所升高。不同的农药对供试土壤微生物的组成产生了明显影响,样品的群落组成存在差异。不同农药处理造成了微生物各种群数量的变化,土壤微生物对农药所做出的反应是基于种群的群体性反应,同时从Shannon-Wener多样性指数可看出,不同处理的农药虽然改变了土壤微生物群落结构多样性,但是多样性并不简单地因污染而降低,与杨永华等^[9-10]的报道不一致。鉴于微生物种群之间存在复杂的相互关系,如偏利、协同、共生、偏害、竞争等,其原因可能是一定程度的农药污染能改变原有群落内部的种群之间的竞争关系,导致原始优势种群失去了优势作用,或者是一部分微生物产生的农药抗性保护了其他种群的微生物,从而使土壤微生物群落多样性增加。

2.3 农药对土壤酶活性的影响 由表3可知,与对照相比,经5种农药处理后,脲酶活性都受到了不同程度的抑制。巧能和施净处理对脲酶活性的抑制率为37.67%和20.47%,均达到了显著水平($P < 0.05$),深蓝、活根菌灭、克菌宝处理抑制率分别为15.81%、13.48%、13.0%;5种农药对脱氢酶的抑制作用相对较小,巧能、施净、克菌宝、深蓝和活根菌灭对酶

的抑制率分别为7.69%、7.69%、5.13%、5.13%、2.56%,均未达到显著水平;蔗糖酶活性受5种农药抑制较为明显,除了克菌宝处理对酶活性抑制率没有达到显著水平外,施净、深蓝、巧能和活根菌灭对酶活性的抑制率分别为30.30%、24.24%、21.21%、21.21%,差异均达到了显著水平;与蔗糖酶相似,磷酸酶活性受克菌宝抑制较小,仅为2.65%,而施净、深蓝、巧能和活根菌灭为22.12%、9.73%、8.85%、3.54%,均达到了显著水平($P < 0.05$);蛋白酶活性抑制率在深蓝和施净处理后分别为27.27%、18.18%,酶活性显著降低($P < 0.05$),克菌宝、活根菌灭、巧能对酶活性的抑制率分别为13.64%、13.63%、9.08%,差异不显著。

表3 农药对土壤酶活性的影响

处理	农药对土壤酶活性的影响				
	脲酶活性 ng/g	脱氢酶 μ/g	蔗糖酶 ng/g	磷酸酶 ng/g	蛋白酶 ng/g
CK	2.15 a	0.39 a	0.33 a	1.13 a	0.22 a
巧能	1.34 c	0.36 a	0.26 b	1.03 b	0.20 a
活根菌灭	1.86 ab	0.38 a	0.23 b	1.09 b	0.19 ab
克菌宝	1.87 ab	0.37 a	0.28 ab	1.10 ab	0.19 ab
深蓝	1.81 ab	0.37 a	0.25 b	1.02 b	0.16 b
施净	1.71 b	0.36 a	0.23 b	0.88 b	0.18 b

农药通过影响微生物的多样性组成、生物量和活性,来改变土壤微生物分泌、释放和修饰酶的强度。以上结果说明,施净、巧能对5种土壤酶活性表现出了强抑制作用,虽然对脱氢酶活性的抑制并未达到显著水平,但巧能和施净依然是对酶活性影响较大的两种农药。施净和巧能的有效成分[恶毒灵(3-羟基-5-甲基异恶唑)]是一种杂环类内吸性广谱杀菌剂,与土壤中的铁、铝离子结合,抑制孢子的发芽,特别是对镰刀菌、腐霉菌、丝核菌、苗腐菌、伏革菌和根壳菌等病原菌引起的病害具有极显著的杀灭效果。

深蓝的有效成分代森锌(乙烯双二硫代氨基甲酸锌)在农业上广泛应用于防治微生物引起的病害。绝大多数微生物所固有的脲酶、脱氢酶、蔗糖酶和磷酸酶活性与土壤微生物数量有直接依赖性,微生物数量下降,导致酶活性减弱。

克菌宝的主要成分是王铜(氧氯化铜)和代森锌;活根菌灭的主要成分是代森锰锌(乙烯双二硫代氨基甲酸锰和锌离子的配位络合物)和多菌灵(2-苯并咪唑基氨基甲酸甲酯)。农药主要成分和作用机理的差异,导致了它们对土壤酶的抑制率不同。与代森锌单独作用时相比,代森锌与王铜的混剂对土壤酶的抑制率有所降低。代森锰锌是代森锌的升级产品,抑菌效果优于代森锌,而与代森锌单独作用时相比,代森锰锌与多菌灵的混剂对土壤蔗糖酶和磷酸酶活性的抑制作用显著升高。这一结果与康业斌等^[11-12]的研究结果一致。因此,两种农药成分混合施用,应设法在有效杀菌和降低环境危害中找到最佳混合比例。

2.4 土壤酶活性与微生物数量的相关关系 土壤脲酶活性与脱氢酶、蔗糖酶、蛋白酶、土壤细菌数量和微生物总数呈正相关关系(表4),其中,脲酶活性与脱氢酶活性呈显著正相关,与磷酸酶活性、真菌、放线菌和微生物多样性指数呈负相关,说明土壤酶活性不仅受与其相关的微生物数量的影响,相关酶类也可通过间接关系对其产生影响^[13]。与此相似,

土壤脱氢酶活性与磷酸酶、蛋白酶、细菌数量和微生物总数呈正相关性,与蔗糖酶、真菌数量、放线菌数量和微生物多样性指数呈负相关性。土壤蔗糖酶活性除了与脱氢酶和微生物多样性呈负相关外,与其他指标都呈正相关关系,其中,与细菌数量和微生物总数呈显著正相关。土壤磷酸酶与细菌

数量和微生物总数呈显著正相关性,但与微生物多样性指数呈负相关性。说明提高土壤细菌数量和微生物总数,对提高土壤磷酸酶、蔗糖酶活性具有重要意义。土壤蛋白酶与微生物多样性呈负相关关系,与真菌数量呈显著正相关关系,说明,真菌数量对提高土壤蛋白酶的活性具有重要意义。

表4 土壤酶活性的相关关系

指标	脲酶	脱氢酶	蔗糖酶	磷酸酶	蛋白酶	细菌	真菌	放线菌	微生物总数	Π
脲酶	1.000									
脱氢酶	0.752*	1.000								
蔗糖酶	0.158	-0.014	1.000							
磷酸酶	-0.061	0.033	0.209	1.000						
蛋白酶	0.108	0.177	0.256	0.280	1.000					
细菌	0.200	0.216	0.593*	0.518*	0.398	1.000				
真菌	-0.110	-0.195	0.178	0.164	0.530*	0.199	1.000			
放线菌	-0.394	-0.042	0.251	0.129	0.323	0.344	0.193	1.000		
微生物总数	0.200	0.216	0.593*	0.518*	0.399	1.000*	0.200	0.344	1.000	
Π	-0.394	-0.448	-0.245	-0.480*	-0.204	-0.673*	0.188	-0.580	-0.673*	1.000

土壤微生物数量同时受土壤酶活性和其他微生物数量的双重调节^[14],细菌数量不仅显著地受蔗糖酶、磷酸酶活性的激增作用,其他酶类活性也与细菌数量呈正相关关系,真菌和放线菌数量的增加对细菌数量同样存在促进作用;土壤真菌数量主要受蛋白酶活性促进作用,与脲酶和脱氢酶呈负相关关系。与另外2类微生物不同,放线菌数量与脱氢酶和脲酶呈负相关关系,与其他测定酶类的活性和细菌、真菌数量呈正相关,但相关性均不显著,说明各类别的微生物对各种相关的酶类作用效果不同。

除了真菌数量外,土壤微生物多样性与测定指标都呈负相关关系,与磷酸酶活性、细菌数量和微生物总数呈显著负相关性。由于细菌为土壤微生物的主要构成,所以真菌、放线菌等相对较小的类群数量增加,对微生物多样性的增加有重要意义。这些关系说明,多样性指数主要与特定土壤酶活性和某一类微生物的数量相关,这一结果与柴强等^[13]的研究结果一致。

3 结论

3.1 农药对土壤微生物的影响 在5种农药作用下,细菌、真菌和放线菌数量所占比例都发生了变化,巧能、活根菌灭、深蓝和施净处理的微生物多样性指数都有所升高,说明农药使土壤微生物群落在结构和组成上发生了明显的变化。土壤微生物群落结构多样性受多种因素影响,可能与微生物之间存在的复杂的相互关系有关,并不简单地因农药作用而降低。该试验中农药处理抑制了微生物的生长,总体来看,农药对微生物的影响:细菌>放线菌>真菌。

3.2 农药对土壤酶的影响 在5种农药作用下,土壤脲酶、蔗糖酶、磷酸酶和蛋白酶活性都显著低于对照组酶的活性,然而脱氢酶活性受农药抑制不明显。农药减少了微生物数量,在农药作用过程中改变了土壤微生物区系,进而影响土壤酶活性。研究表明,农药的作用强度随农药品种不同而有所差异,结构组成和作用机理差异导致农药对土壤酶的抑制率不同。要用某个因素来解释土壤酶活性的变化,或者在土壤酶活性变化与引发因素之间建立某种联系是很难的^[15]。土壤酶活性表现的差异既与农药化学成分相关,也与微生物

的种类和含量间可能存在着协同或拮抗效应有关。进一步系统研究农药成分对土壤生物化学性质所造成的影响,将有助于了解农药对环境的负作用。

3.3 土壤酶与土壤微生物的相关关系 土壤脲酶、脱氢酶、蔗糖酶、磷酸酶和蛋白酶与土壤微生物间是有联系的。放线菌数量与脱氢酶和脲酶呈负相关,与其他测定酶类的活性和细菌、真菌数量呈正相关,但相关性均不显著,说明各类别的微生物对各种相关的酶类作用效果不同。脲酶、蔗糖酶、磷酸酶和蛋白酶活性与细菌数量显著相关,脱氢酶与真菌数量显著相关,说明土壤特定微生物种类和数量能显著影响相应酶类的活力。土壤酶活性不仅受与其相关的微生物数量的影响,相关酶类也可通过间接关系对其产生影响。

参考文献

- [1] 朱南文. 乐果对微生物和酶的影响[J]. 上海环境科学, 1997, 16(4): 43-47.
- [2] BAI CHE, STOT G. Developing standard for environmental toxicants the need to consider abiotic environmental factors and microbe mediated ecological processes[J]. Environ Health Perspect, 1983, 49: 345-353.
- [3] 劳家桢. 土壤农化分析手册[M]. 北京: 农业出版社, 1988.
- [4] 沈萍, 范秀容, 李广武. 微生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.
- [5] GUAN S Y. Soil enzymes and their methodology[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1983.
- [6] MAGAURAN A E. Ecological diversity and its measurement[M]. New Jersey: Princeton University Press, 1988: 47-132.
- [7] 郭明, 陈红军, 王春蕾. 4种农药对土壤脱氢酶活性的影响[J]. 环境化学, 2000, 19(6): 523-527.
- [8] 冯波, 单敏, 方华, 等. 百菌清对土壤微生物数量和酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(3): 674-677.
- [9] 杨永华, 姚健, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 微生物学杂志, 2000, 20(20): 23-25, 47.
- [10] 王加龙, 刘坚真, 陈杖榴, 等. 恩诺沙星残留对土壤微生物数量及群落功能多样性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2005, 11(1): 86-89.
- [11] 康业斌. 多菌灵、百菌清对天门冬拟茎点霉的室内联合毒力测定[J]. 植物保护, 2000, 26(2): 42-44.
- [12] 阎颖, 袁星, 樊宏娜. 五种农药对土壤转化酶活性的影响[J]. 中国环境科学, 2004, 24(5): 588-591.
- [13] 柴强, 黄高宝, 黄鹏. 供水及间甲酚对小麦间作蚕豆土壤微生物多样性和酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(9): 1624-1628.
- [14] 吕可, 潘开文, 王进闯, 等. 花椒浸提液对土壤微生物数量和土壤酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(9): 1649-1654.
- [15] SANNINO F, GIANFREDA L. Pesticide influence on soil enzymatic activities[J]. Chemosphere, 2001(45): 417-425.