

复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤微生物及酶活性的影响

刘华山¹, 张志勇², 韩锦峰², 徐淑霞^{1,2}, 毛官杰¹, 袁仕豪³, 易建华³

1 河南农业大学生命科学学院, 河南省郑州市 450002;

2 河南农业大学农学院, 河南省郑州市 450002;

3 湖南中烟工业有限公司技术中心, 湖南长沙 410014

摘要: 为改善稻烟轮作地区的土壤生态环境, 将复合菌剂加入受二氯喹啉酸污染的土壤中, 研究其对烟草根际土壤微生物数量、微生物量 C、微生物量 N 及蔗糖酶和脲酶活性的影响。结果表明加入复合菌剂后, 烟草根际土壤的细菌、真菌、放线菌数量及微生物量 C 和微生物量 N 较健康土和受害土均明显增多, 土壤的蔗糖酶及脲酶活性明显高于受害土而低于健康土。表明复合菌剂对受二氯喹啉酸污染过的土壤有一定的修复作用。

关键词: 复合菌剂; 二氯喹啉酸; 烟草; 根际土壤

doi: 10.3969/j.issn.1004-5708.2014.02.010

中图分类号: S572.06 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-5708 (2014) 02-0065-05

Effects of compound microbial agents on soil microbe and enzyme activities of tobacco rhizosphere under quinclorac stress

LIU Huashan¹, ZHANG zhiyong², HAN Jinfeng², XU Shuxia^{1,2}, MAO Guanjie¹, YUAN Shihao³, YI jianhua³

1 College of Life Sciences, Henan Agriculture University, Zhengzhou 450002, China;

2 College of Agronomy, Henan Agriculture University, Zhengzhou 450002, China;

3 Technology Center, China Tobacco Hunan Industry Co. Ltd., Changsha, Hunan 410014, China

Abstract: Compound microbial agents were applied to quinclorac contaminated soil in tobacco-paddy rotating areas to improve soil ecological environment. Effects of these agents on rhizosphere soil microbe, microbial biomass C, microbial biomass N, invertase and urease activities were investigated. Results showed that the amounts of tobacco rhizosphere soil microbe (bacteria, fungi, actinomycetes), soil microbial biomass C and N in treated soil were increased significantly compared with that in both healthy and contaminated soils. Invertase and urease activities of treated soil were higher than that of contaminated soil but less than that of healthy soil. Compound microbial agents are beneficial in repairing quinclorac-contaminated soils.

Keywords: composite microbial inocula; quinclorac; tobacco; rhizosphere soil

稻田的化学除草剂二氯喹啉酸 (Quinclorac)^[1], 对稻田中的稗草具有特效作用^[2]。由于二氯喹啉酸在土壤中的残留时期长, 易造成后茬烟草生长畸形, 叶子呈线条状、叶片向背翻卷、颜色加深、烟株矮化,

严重者整株死亡。王静等^[3]研究在我国南方稻烟轮作地区, 后茬种植烟草安全间隔为一年左右, 这就制约了稻烟轮作地区的烟叶生产。

微生物复合菌剂是指由两种或两种以上, 互不拮抗的微生物菌种制成的菌剂, 简称复合菌剂。此类菌剂一般具有种类全、配伍合理、功能性强及经济效益高等优点^[4]。利用微生物复合菌剂修复受污染的土壤、海水及江河湖泊等生态环境成为研究的热点, 李毅然等^[5]研究复合菌剂能使石油污染土壤中的石油降解

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—), 教授, 博士生导师, 主要从事烟草栽培生理研究, Email: liuhs602@sina.com

通讯作者: 韩锦峰 (1934—), 教授, 博士生导师, 主要从事烟草栽培生理研究, Email: jinfenghan2002@126.com

收稿日期: 2012-06-25

率可达 73.2%；陈翠雪等^[6]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。

施用复合菌剂修复二氯喹啉酸污染的土壤，提高土壤健康质量等方面前人研究的较少^[8]。本文在二氯喹啉酸污染的土壤中加入复合菌剂，对根际土壤中微生物、微生物量 C、微生物量 N 及相关酶活性进行研究，旨在为稻烟轮作地区的土壤健康修复及烟叶安全生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

复合菌剂由伯德特氏菌 (*Bordetella sp.*) 和假单胞菌 (*Pseudomonas sp.*) 组成，由本课题组筛选提供；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；供试普通烟 (*Nicotiana tabacum*) 品种为 K326；盆栽土取自河南农业大学科教园区，为沙壤土，PH 为 7.97，含有机质 12.93 g·kg⁻¹，全氮 0.87 g·kg⁻¹，全磷 0.42 g·kg⁻¹，碱解氮 57.43 mg·kg⁻¹，速效磷 27.75 mg·kg⁻¹，速效钾 164.15 mg·kg⁻¹。

1.2 试验设计与土样采集

试验设置 3 个处理，每个处理重复 3 次，处理分别为：T0 (健康土)：不施二氯喹啉酸和复合菌剂，只用清水处理；T1 (受害土)：施二氯喹啉酸，有效浓度为 8.5×10² mg·kg⁻¹ (商品推荐量为 0.375 kg·hm⁻²)；T2 (修复土)：施二氯喹啉酸，有效浓度同受害土，2 个单独菌种量各为 3×10¹⁰ 个·g⁻¹ 干土。分别用水，二氯喹啉酸溶液及加入复合菌剂的二氯喹啉酸溶液均匀喷洒到 18 kg 过筛 (2 mm) 的风干土中，拌匀后装入高 45 cm、直径为 35 cm 的塑料盆中，保持土壤田间最大持水量 70%。

将 5 叶期生长健壮一致的烟苗移栽到塑料盆中。待烟苗生长至八叶期时，进行取样，以后每隔 7 天取样一次。收集距离烟株根系 0~0.5 cm 范围内的土壤 (用干净无菌的小刷将根系周围的土刷入无菌袋内)，作为根际土壤。一份新鲜土样装入无菌袋中检测微生物数量、微生物量 C、微生物量 N，另外一份风干至恒重后过筛 (0.355 mm) 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^[9-10]；微生物量碳及微生物量氮采用氯仿熏蒸-K₂SO₄ 提取方法测定^[11]；根际土壤蔗糖酶活性按关松荫^[12]的 3, 5-二硝基水杨酸比色法测定，以每 100 克干土 24 h 产

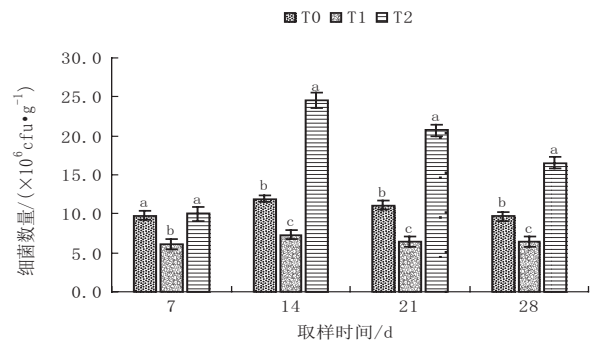
生的葡萄糖毫克数表示；根际土壤脲酶活性的测定参考严昶升^[13]的靛酚蓝比色法，以每 100 克干土 24 h 产生的 NH₃-N 毫克数表示。

1.4 数据分析

本试验数据采用 DPS6.55 数据处理软件，LSD 多重比较法 ($P<0.05$) 进行统计分析，Excel 作图。

2 结果

2.1 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤细菌数量的影响



注：同一时间，字母不同表示处理间差异有统计学意义 ($P<0.5$)。下同。

图 1 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤细菌数量的影响

Fig. 1 Effect of compound microbial agents on rhizosphere soil bacteria under quinclorac stress

由图 1 可知，在第 14d 时根际土壤的细菌数量达到最大值，之后下降。不加复合菌剂的受害土细菌数量明显低于健康土和修复土，加入复合菌剂能明显提高根际土壤中的细菌数量。根际土壤中细菌数量大小依次为：修复土>健康土>受害土。

2.2 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤真菌数量的影响

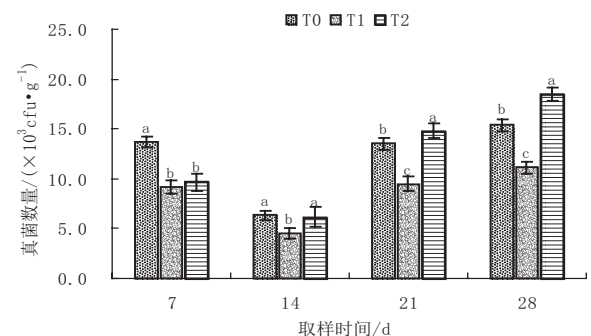


图 2 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤真菌数量的影响

Fig. 2 Effect of compound microbial agents on rhizosphere soil fungi under quinclorac stress

如图 2 所示, 在第 14 d 时烟草根际土壤的真菌数量最低, 之后上升。不加复合菌剂的受害土壤中真菌数量明显比其他两个处理少, 土壤中加入复合菌剂能明显提高烟草根际土壤中的真菌数量。根际土壤中真菌数量依次为: 修复土 > 健康土 > 受害土。

2.3 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际放线菌数量的影响

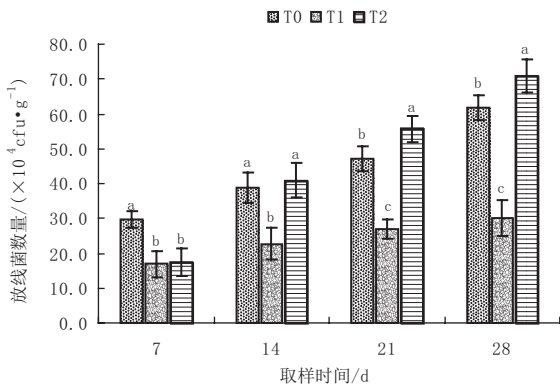


图 3 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤放线菌数量的影响

Fig. 3 Effect of compound microbial agents on rhizosphere soil actinomycetes under quinclorac stress

从图 3 看出, 受二氯喹啉酸污染的土壤放线菌数量明显低于其他的处理, 在含有二氯喹啉酸的土壤中加入复合菌剂后, 有助于提高烟草根际土壤中放线菌的数量, 修复土壤中放线菌的数量随着时间的延长显著增多, 受害土壤虽有增加但趋势缓慢。根际土壤中放线菌数量修复土壤中最多, 健康土次之, 受害土最少。

2.4 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤微生物量 C 的影响

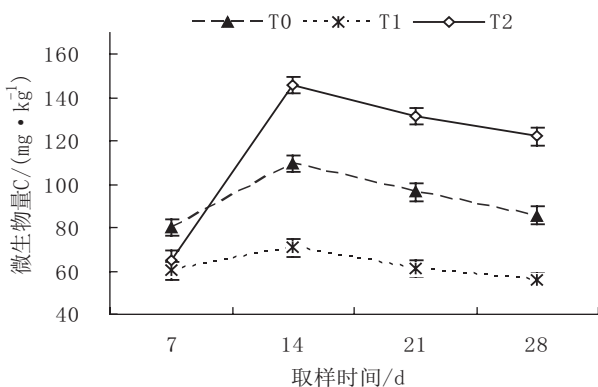


图 4 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤微生物量 C 的影响

Fig. 4 Effect of compound microbial agents on rhizosphere soil microbial biomass C under quinclorac stress

如图 4 所示, 各处理中的土壤微生物量 C 在第 14 d 时达到最大值, 之后逐渐降低。修复土壤中的微生物量 C 含量最高, 健康土次之, 受害土最少。在第 28 d 时, 修复土壤的微生物量 C 分别较健康土和受害土高 42.96% 和 119.20%。说明在含有二氯喹啉酸的土壤中加入复合菌剂后能够提高土壤中微生物量 C, 增加土壤中碳源。

2.5 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤微生物量 N 的影响

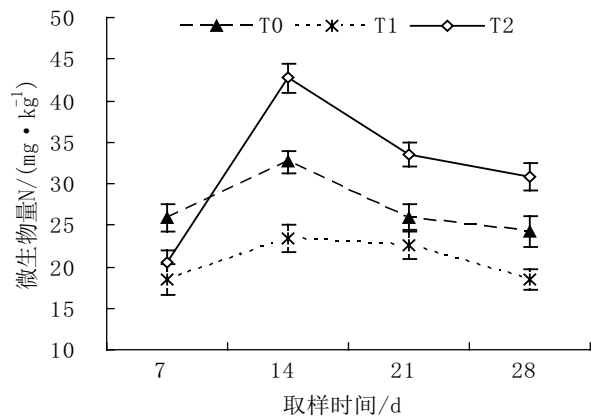


图 5 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤微生物量 N 的影响

Fig. 5 Effect of compound microbial agents on rhizosphere soil microbial biomass N under quinclorac stress

由图 5 可知, 各处理的根际土壤微生物量 N 在第 14 d 时达到最大值。在第 28 d 时, 修复土壤的微生物量 N 分别比健康土壤和受害土壤高 27.16% 和 67.03%。

2.6 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤蔗糖酶活性的影响

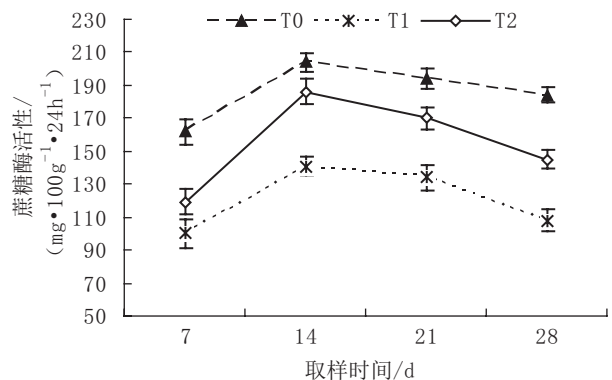


图 6 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤蔗糖酶活性的影响

Fig. 6 Effect of compound microbial agents on rhizosphere soil invertase activity under quinclorac stress

从图6可以看出,3个处理的土壤中蔗糖酶活性在第14天时达到最大值;在第28d时修复土壤中的蔗糖酶活性比受害土提高34.26%。

2.7 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤脲酶活性的影响

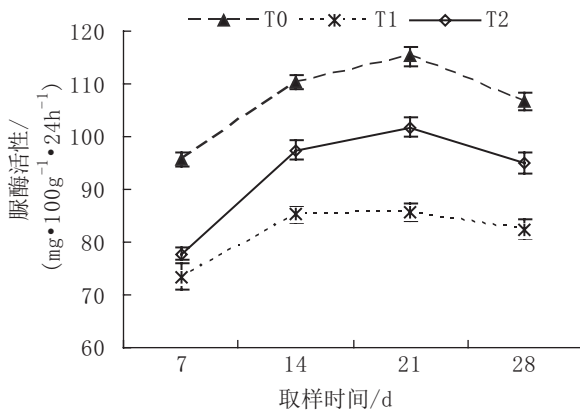


图7 复合菌剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤脲酶活性的影响

Fig. 7 Effect of compound microbial agents on rhizosphere soil urease activity under quinclorac stress

图7显示,二氯喹啉酸对根际土壤脲酶活性有明显的抑制作用;而土壤中施入复合菌剂后土壤脲酶活性逐渐得到恢复,逐渐的趋于健康土壤。脲酶活性强弱依次为:健康土>修复土>受害土。

3 结论与讨论

研究表明:(1)加入菌剂后极大的促进了土壤中微生物的数量,特别是细菌微生物的数量,这与复合制剂本身为细菌微生物有关,同时发现二氯喹啉酸对土壤中不同种类的微生物生长都有不同程度的抑制作用^[14],根际土壤中三种微生物数量均表现为修复土>健康土>受害土。这与他人研究复合菌剂可显著提高根际土壤中微生物(细菌,真菌、放线菌)的数量^[15-16],有助于丰富根际土壤中的微生物群落^[17-18]的结果相吻合;(2)对土壤氮素循环及植物氮素营养起着重要的作用^[19]的土壤微生物量C和N均表现为修复土>健康土>受害土,表明复合菌剂有利于增加根际土壤的微生物量C和N。这与何欢等^[20]研究微生物可提高根际土壤周围C源和N源的利用和转化效率,改善土壤健康和增强土壤肥力;王延军等^[21],李云玲等^[22]发现微生物制剂可有效提高土壤微生物量C和N含量的结果相一致。(3)在受二氯喹啉酸污染的土壤中施加复合菌剂厚能提高烟草根

际土壤蔗糖酶、脲酶活性,表现为健康土>修复土>受害土。同时受害处理的根际土壤蔗糖酶和脲酶活性均受抑制。由于复合菌剂对二氯喹啉酸具有一定的降解作用^[23],减少了根际土壤中二氯喹啉酸的残留量,修复了微生物群落生长的土壤生态环境。表明复合菌剂对受二氯喹啉酸污染的土壤中蔗糖酶和脲酶活性有修复作用,与麻耀华等^[24],张昀等^[25],张志刚等^[26]的研究结果相类似。

总之,在二氯喹啉酸危害的土壤中加入复合菌剂能增加根际土壤中微生物数量,改善微生物种群结构,提高土壤微生物量C、N含量,而且相关土壤酶活性也得到增强,复合菌剂减轻了二氯喹啉酸对土壤的污染。

参考文献

- [1] 王一茹. 新型除草剂快杀稗在水田环境中归宿的研究[J]. 环境科学学报, 1992, 12(3): 261-26.
- [2] 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.
- [3] 王静. 土壤残留二氯喹啉酸引起烟草畸形生长的研究[D]. 华南农业大学硕士学位论文, 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] 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.
- [9] 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.
- [10] 姚槐应, 黄昌勇, 等. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [11] 吴金水, 林启美, 黄巧云, 等. 土壤微生物生物量的测定方法及应用[M]. 北京: 气象出版社, 2006.
- [12] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 1-12.
- [13] 严昶升. 土壤肥力研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1988.
- [14] Min H, Ye Y F, Chen Z Y, et al. Effects of butachlor on microbial populations and enzyme activities in paddy soil

- [J]. *J Environ Sci Health*, 2001, B36(5): 581-595.
- [15] 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.
- [16] Maguson M, Craford D L. Comparison of extracellular peroxidase- and esterase-deficient mutants of *Streptomyces viridosporus* T7A [J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1992, 58(3): 1070-1072.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 郭胜利. 黄土旱塬农田土壤有机碳、氮的演变与模拟 [D]. 西北农林科技大学, 2001.
- [20] 何欢, 王占武, 胡栋, 等. 根系分泌物与根际微生物互作研究进展 [J]. *河北农业科学*, 2011, 15(3): 69-73.
- [21] 王延军, 宗良纲, 李锐, 等. 不同肥料对水稻生长和土壤微生物量的影响 [J]. *浙江农业学报*, 2010, 22(6): 834-838.
- [22] 李云玲, 谢英荷, 洪坚平. 生物菌肥在不同水分条件下对土壤微生物生物量碳、氮的影响 [J]. *应用于环境生物学报*, 2004, 10(6): 790-793.
- [23] 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, 36(3): 262-268.
- [24] 麻耀华, 尹淑丽, 张丽萍. 复合微生态制剂对黄瓜根际土壤微生物数量和酶活性的影响 [J]. *植物保护*, 2012, 38(2): 46-50.
- [25] 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.
- [26] 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.

《烟草科技》2014 年第 4 期目次

• 烟草工艺

- 在气固并流下行床中烟丝的快速干燥动力学分析
..... 王鹏飞, 刘朝贤, 朱文魁, 等
- 卷烟计量型测量系统的分析..... 范胜兴, 喻曦灿, 范湘红
- 再造烟叶物理特性及其对切丝与卷制效果的影响
..... 席年生, 邓国栋, 宋伟民, 等
- 变温干燥过程中烟丝含水率与温度变化特征
..... 段 鸱, 朱文魁, 陈 谦, 等

• 设备与仪器

- FMEA 在卷包工序产品品质风险管理中的应用 黄雯华
- CTD 烘丝机进料系统堵料问题的分析与改进 戴宇昕
- 烟箱品牌视觉检测分拣系统的设计应用..... 王 鹏
- 超高速包装机组 FOCKE779 条烟透明纸整形装置的改进
..... 周奎田, 古劲声, 刘 全

• 烟草化学

- 两种果糖衍生物的合成、卷烟润性能及毒理学试验
..... 陈芝飞, 孙志涛, 芦昶彤, 等
- 烟梗人工醇化过程中主要化学成分的变化
..... 孙 平, 汤朝起, 王 军, 等

- 茶多酚/ β -环糊精复合材料的合成条件对降低卷烟主流烟气 TSNAs 的影响 李朝建, 庄亚东, 廖惠云, 等
- 无溶剂微波萃取没药精油及其在卷烟加香中的应用
..... 潘文亮, 任志强, 刘 波, 等
- 贵州大气压力对卷烟烟气分析结果的影响
..... 张晓瑜, 史训瑶, 韩 伟, 等
- 电感耦合等离子体质谱法测定烟草中的微量硼
..... 郭军伟, 王洪波, 张仕祥, 等
- 冷阱捕集-气相色谱-质谱法测定卷烟主流烟气的苯系物
..... 刘 剑, 姬厚伟, 韩 伟, 等
- 加速溶剂萃取-液相色谱-串联质谱法分析烟叶中的 92 种农药残留
..... 艾 丹, 胡 斌, 潘立宁, 等

• 烟草农学

- 不同 Cd 积累基因型烟草根系分泌低分子量有机酸的差异
..... 商慧文, 陈江华, 张艳玲, 等
- 烟叶 DNA 甲基化特征与化学成分的相关性
..... 赵杰宏, 史跃伟, 杨志晓, 等
- miRNA398 调控烟草 Cu/Zn-SOD 基因的表达
..... 周小龙, 魏春阳, 黄 佳, 等