

三唑磷的土壤微生物生态效应研究

邹小明¹, 朱立成¹, 肖春玲¹, 王能强², 曾建忠¹

(1. 江西省生态环境与资源重点实验室, 井冈山大学, 江西 吉安 343009; 2. 湖南科技大学生命科学学院, 湖南 湘潭 411201)

摘要: 在实验室控制条件下, 研究了三唑磷浓度分别为 0、10、50、100、200 mg·kg⁻¹ 时对土壤微生物数量、土壤基础呼吸及土壤酶活性的影响。结果表明, 三唑磷对细菌、真菌及放线菌在培养初期均有不同程度的抑制作用, 且抑制效应的持续时间与浓度均呈极显著正相关, 对土壤基础呼吸表现出微弱抑制作用; 100、200 mg·kg⁻¹ 浓度的三唑磷对土壤中的细菌先抑制后促进, 对土壤中的真菌一直具有抑制效应, 对土壤中的脲酶及过氧化氢酶活性都有先抑制后激活再恢复的作用, 而低浓度三唑磷对这几种酶活性影响不大。

关键词: 三唑磷; 土壤微生物; 土壤呼吸; 土壤酶

中图分类号: X592 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2008)01-0238-05

Ecological Effect of Triazophos on Soil Microbe

ZOU Xiao-ming¹, ZHU Li-cheng¹, XIAO Chun-ling¹, WANG Neng-qiang², ZENG Jian-zhong¹

(1. Key Lab of Ecological Environment and Resource Development of Jiangxi Province, Jinggangshan University, Ji'an 343009, China; 2. Life Science Department, Hunan University of Technology, Xiangtan 411201, China)

Abstract: Triazophos is an insecticide used on fruit trees, leaf vegetables, cotton and other horticultural crops to control sucking insects. Influence of triazophos on soil microorganism, respiration and enzyme activities were studied by traditional microbial cultivation and titration means under the laboratory control condition. Triazophos was added to soil at dosages of 0, 10, 50, 100, 200 mg·kg⁻¹, respectively. The results showed that the triazophos decreased the quantity of bacteria, fungi and actinomycetes in the first cultivation stage. The duration of inhibition effect had a significant positive correlation with triazophos concentrations ($P < 0.01$). It was found that the soil respiration was slightly inhibited by triazophos, which had a negative correlation with triazophos concentrations ($P < 0.05$). At the concentration of 100, 200 mg·kg⁻¹ triazophos, the numbers of soil bacteria reduced and then rose again. In the same condition, the activities of urease and catalase in soil were all inhibited first, then were stimulated and recovered. However, the low concentrations of triazophos (< 100 mg·kg⁻¹) had little effect on soil enzymes.

Keywords: triazophos; soil microbe; respiration; 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具有十分重大的意义。研究表明, 化学农药进入到土壤后会对土壤的微生物群落和活性产生一定的影响^[1,2], 而这种影响同时又是农药对土壤生态安全的重要评价指标, 所以关于农药对于土壤

微生物群落结构影响及微生物活性的研究较多。已经开展的研究如除草剂 2,4-D, 阿特拉津^[3-7]等多种农药对于土壤微生物组成, 土壤基础呼吸和土壤酶的影响。这些研究结果表明农药的加入对于土壤微生物的组成和土壤活性均存在着不尽相同的效应, 而且这种效应可能与农药浓度、用药时间等其他因素有显著关系。

三唑磷, 化学名称 O,O-二乙基-O-(1-苯基-1,2,4-三唑-3-基)硫代磷酸酯, 是一种广谱有机磷杀虫、杀螨、杀线虫剂, 可用于防治果树、棉花、粮食类作物上的鳞翅目害虫、害螨、蝇类幼虫及地下害虫等; 对

收稿日期: 2007-03-13

基金项目: 国家自然科学基金(30660038); 江西省教育厅科技项目(赣教技字[2007]322); 吉安市 2007 年重点科技指导项目, 井冈山大学 2007 年度自然科学基金项目(JZ0723)

作者简介: 邹小明(1980—), 男, 硕士, 讲师, 主要从事环境微生物学等领域的研究。E-mail: jzxm98@126.com

害虫具有触杀和胃毒作用,渗透性强,杀卵作用明显,因此三唑磷的应用非常普遍。对于三唑磷,目前主要集中在该农药降解菌的筛选,在土壤中的吸附与降解等方面研究^[8-10],而三唑磷对土壤微生物组成及土壤活性方面的研究尚少。本文以未施用农药的土壤为研究对象,研究三唑磷对土壤微生物数量、土壤基础呼吸和土壤酶活性的影响,以了解三唑磷对土壤的污染程度及生态环境造成的可能影响,为三唑磷的科学使用提供基础的理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

采集井冈山学院附近未施用农药的荒地中 2~20 cm 的新鲜土样,去除植物根及其他杂物,风干,过 0.5 mm 筛备用。土壤的理化性质如表 1 所示。

药品,40%三唑磷乳油,市售。

表 1 土壤的化学性质

Table 1 Physical and chemical characters of the studied soil

有机质/g · kg ⁻¹	有效氮/g · kg ⁻¹	速效磷/g · kg ⁻¹	速效钾/g · kg ⁻¹	pH
17.6	132.3	18.43	125.7	7.62

注:测定 pH 水土比为 10:1。

1.2 实验方法

1.2.1 土样处理

取上述处理的新鲜风干土样,分别装入到塑料容器中,添加含有三唑磷的标准溶液,使土壤中三唑磷浓度分别达到 0、10、50、100、200 mg · kg⁻¹ 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,1 d 后开 3 个内直径 1 mm 的小孔,在人工气候箱中 25 ℃ 培养,每个处理设定 3 个重复。不同浓度三唑磷乳液处理后第 3、6、9、12、15、20、25、30 d 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方法^[11]

微生物数量的测定采用倒平板法计数,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、高氏培养基培养计数。

1.2.3 土壤微生物呼吸的测定方法^[12]

采用密闭容器法测定土壤基础呼吸。

1.2.4 土壤酶活性的测定方法^[13]

过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定,蛋白酶采用茚三酮比色法,脲酶活性测定采用比色法。

1.3 实验数据分析

实验数据均为 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 三唑磷对土壤微生物数量的影响

据实验方法,开展三唑磷对于土壤微生物数量的影响,结果如表 2 所示。

与对照相比,不同处理浓度的三唑磷均对于土壤细菌有极显著影响,试验第 9 d 细菌浓度与三唑磷浓度呈极显著负相关 ($P < 0.01$) 关系。在试验期内,三唑磷浓度低于 50 mg · kg⁻¹ 其变化规律是先抑制后恢

表 2 三唑磷对于土壤微生物数量的影响结果

Table 2 Effect of triazophos on total numbers of soil bacteria (10^7 个 · g⁻¹), fungi (10^4 个 · g⁻¹) and actinomycetes (10^5 个 · g⁻¹)

土壤微生物	三唑磷/mg · kg ⁻¹	处理时间/d							
		3	6	9	12	15	20	25	30
细菌/ 10^7 个 · g ⁻¹ · L ⁻¹	0	25.8	22.7	20.9	20.2	18.9	17.6	17.0	16.2
	10	23.7	20.5	19.8	19.1	18.7	18.2	18.0	17
	50	20.4	16.0	19.8	20.0	19	17.2	17.0	16.1
	100	17.6	12.6	12.6	13.0	14.7	15.1	19.6	20.0
	200	13.9	9.2	8.1	12.3	12.8	14.1	15.6	18.9
放线菌/ 10^5 个 · g ⁻¹ · L ⁻¹	0	23.2	24.1	24.8	26.9	28.7	29.3	27.2	26.1
	10	18.2	24.3	24.9	26.2	28.1	28.9	26.7	25
	50	16.3	20.7	24.9	26.2	28	28	26.1	25
	100	10.7	15.1	17.6	19.9	21.2	21.9	23.7	23.9
	200	8.2	11.2	14.7	15.9	17.6	19.9	20.3	21.8
真菌/ 10^4 个 · g ⁻¹ · L ⁻¹	0	8.0	9.2	9.0	8.6	8.2	8.0	7.8	7.6
	10	4.2	4.6	6.6	6.9	7.1	7.9	8.2	8.4
	50	3.9	4.4	5.4	5.9	6.4	7.8	7.8	7.5
	100	3.2	3.4	3.7	3.7	3.8	3.8	4.1	4.2
	200	1.8	1.9	2.0	2.2	2.7	3.0	3.2	3.9

复,而 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度的三唑磷变化规律是先抑制后促进,第 30 d 时细菌浓度分别比对照高 23.45% 及 16.67%。不同浓度三唑磷对放线菌也有显著影响,变化规律均是先抑制后恢复,而且这种具有抑制效应的持续时间与浓度呈现极显著正相关 ($P < 0.01$)。试验第 20 d,低浓度三唑磷几乎没有抑制放线菌生长效应,而 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的放线菌数量分别比对照低 25.26% 及 32.08%;三唑磷对于真菌也有抑制效应。在实验期内,低浓度恢复较快,而高浓度则一直持续这种抑制作用。

2.2 三唑磷对土壤基础呼吸的影响

据实验方法,开展三唑磷对土壤基础呼吸影响的实验,结果如图 1 所示。由图 1 可知,三唑磷对于土壤微生物基础呼吸影响较小,均表现出微弱的抑制作用。在第 15 d,土壤基础呼吸强度与三唑磷浓度表现出显著负相关性 ($P < 0.05$)。实验末期,低浓度三唑磷都恢复到对照水平,而较高浓度的基础呼吸却表现出微弱加强的效应。

土壤微生物利用土壤中的有机质为能源,对其分解后为作物提供可利用的营养。因此,土壤基础呼吸作用是综合反映土壤肥力的一个关键指标,同时它也可以作为农药安全性评价的一个重要内容。根据危害系数法分类^[12],危害系数小于 20 为无实际危害的农药,实验结果表明,供试浓度的三唑磷均为无实际危害农药。

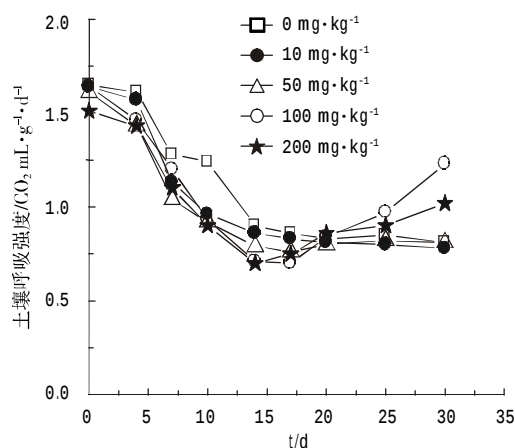


图 1 不同三唑磷浓度下土壤呼吸随时间的变化

Figure 1 Changes of soil respiration with cultivation time at different triazophos concentrations

2.3 三唑磷对土壤酶活性的影响

2.3.1 三唑磷对土壤蛋白酶活性的影响

按实验方法进行处理样品和对照土壤蛋白酶活

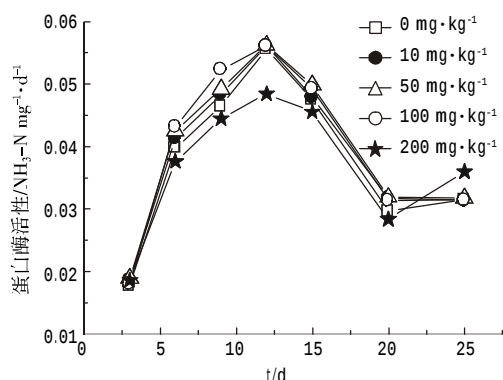


图 2 不同三唑磷浓度下蛋白酶活性随时间的变化

Figure 2 Effect of triazophos concentration on the activity of proteinase under different cultivation times

性的测定,结果如图 2 所示。

由图 2 的实验结果可知,试验前 15 d,除了 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度的三唑磷对于土壤酶活性有抑制作用,其他处理浓度的三唑磷对于土壤蛋白酶活性均表现出微弱的促进作用,同时这种促进作用与三唑磷浓度相关性不大 ($P > 0.05$)。随后的试验结果表明,土壤蛋白酶的活性也逐步地恢复到对照水平。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。因此,该实验结果对于掌握三唑磷对于该环境质量的影响有一定的参考价值。

2.3.2 三唑磷对土壤脲酶活性的影响

据实验方法,测定了吸光度值 (y) 与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度 ($x, 0.1 \text{ mg}$) 关系的标准曲线,相关方程为 $y = 0.0059x + 0.0031$ ($R^2 = 0.9938$)。三唑磷对土壤脲酶活性的影响如图 3 所示。

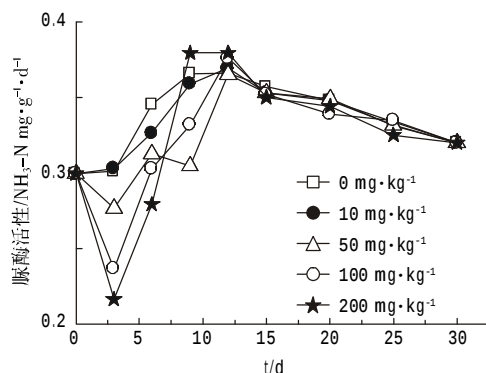


图 3 不同三唑磷浓度下脲酶活性随时间的变化

Figure 3 Effect of triazophos concentrations on the activity of urease under different cultivation times

从图 3 的结果可知,实验前 6 d,三唑磷对于脲酶

的活性有抑制效应。脲酶活性与三唑磷浓度有着显著负相关性 ($P<0.05$)。三唑磷浓度为 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的实验土样在第 9 d 左右脲酶活性显著提高,并且在第 12 d 达到最大酶活性,超过了对照的活性,呈“抑制—激活—恢复”变化。而其他浓度三唑磷则从第 3 d 开始慢慢恢复酶活性。实验第 15 d 至 30 d,通过 t 检验统计分析,所有样品的脲酶活性与对照无显著差异。

脲酶与尿素氮肥水解有密切关系,三唑磷可以抑制脲酶活性表明该物质对提高尿素利用率有重要的意义。过多的施用农药会对环境、土壤肥力等造成负面效应,因此适宜的农药使用量是利用农药为农业生产服务的关键^[14,15]。

2.3.3 三唑磷对土壤过氧化氢酶活性的影响

三唑磷对于土壤过氧化氢酶活性的影响结果如图 4 所示。

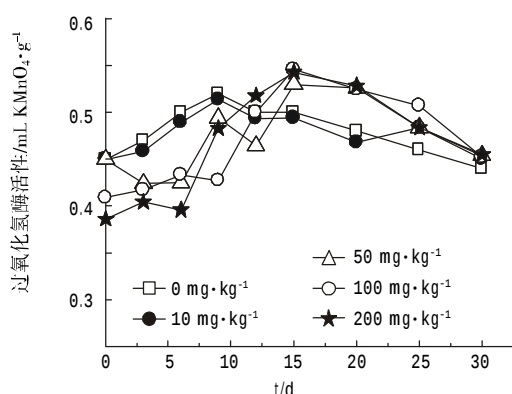


图 4 不同三唑磷浓度下过氧化氢酶活性随时间的变化

Figure 4 Effect of triazophos concentration on the activity of catalase under different cultivation times

图 4 表明,浓度越高的三唑磷对于土壤过氧化氢酶的影响越强烈。三唑磷浓度为 100 、 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的实验土样其过氧化氢酶活性变化与土壤脲酶类似,也呈“抑制—激活—恢复”的变化,第 30 d 过氧化氢酶的活性恢复到对照水平。而低浓度的酶活在试验期间与对照没有太大差别,这可能是由于在三唑磷浓度较

低的情况下,土壤的恢复力较强,可以维持土壤的区系平衡。

土壤中的过氧化氢酶可以促进过氧化氢的分解,有利于防止它对于生物体的毒害作用,同时可以作为评价需氧微生物活性的指标^[16,17],因此本实验结果也表明了三唑磷对于土壤中需氧微生物活性的影响情况。

2.4 三唑磷污染土壤中微生物数量与酶活性的关系

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^[18]。选择 $0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 及 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度的三唑磷,比较其中土壤微生物数量与酶活性的相关关系,结果如表 3 所示。表 3 结果表明, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度的三唑磷显著改变了土壤微生物数量与酶活性的相关关系。在该条件下,土壤蛋白酶活性与土壤细菌数量呈显著负相关性,土壤脲酶活性与土壤中真菌数量及放线菌数量分别呈显著正相关及极显著正相关。

关于土壤微生物数量与土壤酶活性的关系已有相关的研究报道。研究表明,土壤酶活性与土壤中细菌有着显著正相关性,认为不同种类微生物与不同酶活性存在着相关性^[19]。由于有微生物及其他生物、土壤理化性质、土壤植物等多种影响土壤酶活性的因素,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^[20,21]。所以对于土壤微生物与土壤酶两者的相关关系,还需进一步的深入研究。

3 结论

(1) 试验期内,三唑磷对于土壤中的细菌、真菌、放线菌均有抑制作用,且这种抑制效应与持续时间、三唑磷浓度呈显著正相关。其中,高浓度的三唑磷对土壤细菌抑制后有促进作用,对土壤真菌一直具有抑制效应;低浓度三唑磷对细菌和真菌抑制后均恢复到对照水平,但对于放线菌也无明显抑制作用。

(2) 试验初期不同浓度三唑磷对于土壤呼吸强度均表现出微弱抑制效应,在第 15 d 这种抑制作用与三唑磷浓度呈显著正相关性。随后,三唑磷处理土

表 3 土壤微生物数量与土壤酶活性间的相关系数比较

Table 3 Coefficients of correlation between soil microorganisms and soil enzyme activity

微生物类群	$0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$			$100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$		
	蛋白酶	脲酶	过氧化氢酶	蛋白酶	脲酶	过氧化氢酶
细菌	-0.309	-0.228	-0.977**	-0.759*	0.333	0.276
放线菌	0.268	0.738*	0.424	0.276	0.753*	0.670
真菌	0.562	-0.378	0.611	0.33	0.857**	0.601

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

壤的呼吸强度逐步恢复,且高浓度表现出呼吸强度微弱增强的现象。根据危害系数法分类,供试浓度的三唑磷均属于无实际危害农药。

(3)低浓度三唑磷对脲酶、蛋白酶及过氧化氢酶活性影响不大,高浓度三唑磷对这几种酶活性都有抑制作用,其中对脲酶和过氧化氢酶均呈“抑制—激活—恢复”的变化,而对蛋白酶则呈“抑制—恢复”的变化。同时,100 mg·kg⁻¹三唑磷会改变土壤中不同种类微生物与酶活性的相关性。

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]. 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] Ros M, Goberna M, Moreno J L, et al. Molecular and physiological bacteria diversity of a semi-arid 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 on 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] 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.
- [7] Perucci P, Dumontet S, Bufo S A, et al. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass[J]. Biol Fertil Soil, 2000, 32: 17-23.
- [8] 王丽红,张林,陈欢林. 三唑磷降解菌的筛选及其降解途径研究[J]. 生物工程学报, 2005, 21(6): 954-959.
- [9] 戴青华,张瑞福,蒋建东,等. 一株三唑磷降解菌 mp-4 的分离鉴定与降解特性的研究[J]. 土壤学报, 2005, 42(1): 111-115.
- [10] 石利利,单正军,蔡道基. 三唑磷农药在土壤中的降解与吸附特性研究[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(3): 733-736.
- [11] 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.
- [12] 朱鲁生,李光德,张玉凤,等. 马拉硫磷、氰戊聚酯及其混剂对土壤微生物影响研究[J]. 山东农业大学学报, 1998, 28(3):355-360.
- [13] 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.
- [14] Fliehn A. Ecotoxicity of poorly water-soluble substances [J]. Chemosphere, 1997, 35: 295-305.
- [15] Tsiropoulos N G, Miliadis G E. Field persistence residues in onions and soil after herbicide postemergence application in onion cultivation [J]. J Agric Food Chem, 1998, 46 (1): 291-295.
- [16] Garcia C, Hernandez T. Biological and biochemical indicators in derelict soils subject to erosion [J]. Soil Biology Biochemistry, 1997, 29: 171-177.
- [17] 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.
- [18] 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.
- [19] 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.
- [20] 郑洪元. 生态系统研究中土壤呼吸、土壤酶活性及土壤生物量的测定[J]. 生态学杂志, 1986, 5 (1): 50-53.
- [21] 盛伟彤,杨承栋. 关于杉木林下植被改良土壤性质效用的研究[J]. 生态学杂志, 1997, 17 (4): 377-385.