

◆ 残留与环境 ◆

复合菌肥对二氯喹啉酸危害的烟株 根际土壤酶活性的影响

邢国珍¹, 李海霞¹, 孟 南², 郭盘盘¹, 贾然然¹, 吕春芳¹, 刘华山^{1*}

(1.河南农业大学 生命科学院/生物学国家级实验教学示范中心, 郑州 450002; 2. 河南农业大学 风景园林与艺术学院, 郑州 450002)

摘要:为探究不同复合菌肥对二氯喹啉酸危害的土壤中根际酶的修复作用,以‘K326’烟草为材料,采用盆栽试验,测定并比较了施用不同复合菌肥时土壤中根际蔗糖酶、脲酶、纤维素酶、蛋白酶和过氧化氢酶的活性。结果表明,有效含量0.085 mg/kg二氯喹啉酸的受害土壤(T1)中蔗糖酶、脲酶、纤维素酶、蛋白酶和过氧化氢酶活性与对照土壤相比,在处理20 d后,活性分别降低35.45%、64.35%、54.88%、54.88%和60.12%;3种复合菌肥修复处理比上述受害土壤处理在根际土壤蔗糖酶活性方面增加了21.15%、11.93%和31.68%,在脲酶活性方面提高了43.21%、62.25%和136.49%,在纤维素酶活性方面分别升高24.24%、46.64%和87.51%,在蛋白酶活性方面增加了34.42%、51.76%和97.71%,在过氧化氢酶活性方面提升了81.82%、145.45%和181.82%;复合菌肥处理对土壤除蔗糖酶外的其他酶活性的修复效果整体表现为复合菌肥3>复合菌肥2>复合菌肥1。以上结果表明复合菌肥能提高对受二氯喹啉酸危害土壤的酶活性,改善土壤生态环境,对二氯喹啉酸污染的土壤具有缓解修复作用。

关键词:烟草;二氯喹啉酸;危害;复合菌肥;土壤酶活性

中图分类号:X 592 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2022.04.009

Effects of Compound Microbial Fertilizer on Soil Enzyme Activities in Quinlorac-contaminated Rhizosphere Soil of Tobacco

XING Guozhen¹, LI Haixia¹, MENG Nan², GUO Panpan¹, JIA Ranran¹, LV Chunfang¹, LIU Huashan^{1*}

(1.Henan Agricultural University College of Life Science/National Demonstration Center for Experimental Biology Education, Zhengzhou 450002, China; 2. Henan Agricultural University College of Landscape Architecture and Art, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: To explore the effect of compound bacterial fertilizer on the rhizosphere soil enzyme activity of tobacco plants damaged by quinlorac, the pot experiment was used to study the effect of different compound bacterial fertilizer on the activities of invertase, urease, cellulase, proteinase and catalase in the quinlorac-contaminated rhizosphere soil of 'K326' tobacco. The results showed that after the treatment of 20 d, the activities of invertase, urease, cellulase, protease and catalase of quinlorac-contaminated soil(T1) compared with the normal soil decreased by 35.45%, 64.35%, 54.88%, 54.88% and 60.12%, respectively. Compared with T1, the invertase activity of quinlorac-contaminated soil treated by compound bacterial fertilizer 1, 2 and 3 increased by 21.15%, 11.93% and 31.68%, soil urease activity increased by 43.21%, 62.25% and 136.49%, cellulase activity increased by 24.24%, 46.64% and 87.51%, protease activity was increased by 34.42%, 51.76% and 97.71%, catalase activity was increased by 81.82%, 145.45% and 181.82%, respectively. The overall remediation effects of different compound bacterial fertilizers except invertase on soil enzyme activity in order from good

收稿日期:2022-04-15

作者简介:邢国珍(1982—),女,河南新乡人,硕士,实验师,主要从事植物生物化学和分子病理学研究。E-mail:xingguozhen2014@henau.edu.cn

通信作者:刘华山(1951—),女,辽宁盖州人,博士,教授,主要从事烟草生理生化研究。E-mail:liuhs602@sina.com

to weak were as follows: compound bacterial fertilizer 3, 2, 1. It indicated that the compound bacterial fertilizer played an important role in increasing the enzyme activity of soil damaged by quinolorac, improved the soil ecological environment and had obvious alleviation and remediation effect on quinolorac-contaminated soil.

Key words: tobacco; quinclorac; harm; compound microbial fertilizer; soil enzyme activity

二氯喹啉酸(3,7-二氯-8-喹啉羧酸)是一种激素类喹啉酸类除草剂,具有用量少,持效期长和价格低廉等优点而备受关注。因其具有能杀死特定杂草却不伤害靶标农作物的优点,通常作为选择性除草剂用于水稻田中防除稗草和其他禾本科杂草^[1-2],但是其存在着代谢周期长、在自然条件下降解缓慢的缺陷,会在农田土壤和农作物植株中残留,而对环境造成危害。随着农业生产方式的多样化以及土地耕作制度的发展变化,烤烟与稻、高粱以及玉米的多种轮作模式逐渐推广^[3-4],这些种植方式的变化在减轻2种作物病虫害、改良土壤、提高肥力、促进烟粮增收等方面发挥了巨大作用。然而,由于前茬作物如水稻施用二氯喹啉酸除草剂,除草剂的残留会对后茬烟草的生长产生抑制,制约了下茬植烟的生长发育,严重影响烟叶的产量和品质。

二氯喹啉酸残留于烟土壤会导致烟草生长受抑制,叶缘下卷,叶片向背皱缩,叶片狭长呈线状,影响烟叶产量和品质。有研究报道,通过施用生物炭、生石灰等物理方法吸附从而降低其生物可利用性^[5],但是难以消除二氯喹啉酸的危害,并且连续大量使用也可能会影响土壤的基本理化性质。微生物降解技术被认为能有效降解土壤中二氯喹啉酸^[6],这是因为微生物可通过代谢、活化等作用来消解二氯喹啉酸^[7],目前单一微生物菌种在实验室环境和大田环境中对二氯喹啉酸的降解作用有差异,降解效果可能因为环境的变化而下降,因此需要寻找更好的降解方法。

近年来,人们在微生物菌肥修复及调控土壤微生物环境方面做了很多研究。邓建朝^[8]认为温度调节土壤中的微生物和酶活性从而影响土壤中二氯喹啉酸的降解;张志刚等^[9]研究表明,微生物菌肥可改良土壤环境进而调节土壤酶活性。土壤酶活性反映了土壤生物活性以及土壤肥力^[10],土壤中各种酶的总体活性的分析对评价土壤肥力水平有重要意义。

有报道显示,土壤中二氯喹啉酸残留量为0.06 mg/kg时将产生药害^[11],烟田土壤中二氯喹啉酸残留导致烟草药害的临界值为0.05~0.1 mg/kg^[12]。本研究通过向模拟二氯喹啉酸受害植烟土壤中追施适量复合菌肥,探究复合菌肥对受危害的烟草根际土壤

酶活性的修复作用,为生物修复技术的应用提供理论支撑,为烟叶优质适产及经济效益提升提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

烤烟品种为‘K326’,漂浮育苗。50%二氯喹啉酸可湿性粉剂,江苏绿利来股份有限公司;复合菌肥1和复合菌肥2(有效活菌数 ≥ 5.0 亿个/mL),长沙艾格里生物肥料技术开发公司;复合菌肥3(有效活菌数 ≥ 0.2 亿个/g),哈尔滨多伦多农业生物科技有限公司。

土壤取自河南农业大学试验田,土壤pH值为7.97,有机质含量为:12.93 g/kg,碱解氮浓度为:57.43 mg/kg,速效磷浓度为164.15 mg/kg,速效钾浓度为57.43 mg/kg。

1.2 试验设计

试验共设5个处理,T0:正常土壤,清水喷施处理;T1:受害土壤,施用有效含量为0.085 mg/kg二氯喹啉酸;T2:修复土,受害土壤+复合菌肥1(每千克干土中施0.7 mL复合菌肥1);T3:修复土,受害土壤+复合菌肥2(每千克干土中施0.7 mL复合菌肥2);T4:修复土,受害土壤+复合菌肥3(每千克干土中施1.1 g复合菌肥3)。用2 mm孔径钢筛过筛试验土壤,装入盆中(宽 $\times$ 高=20 cm $\times$ 15 cm),土壤持水量为50%~70%,每个处理5株盆栽,重复3次。

将培育至4~5片真叶期生长一致的烟苗移栽至盆中,正常管理。二氯喹啉酸受害症状出现时进行复合菌肥修复处理,5 d后第1次取样,此后每间隔5 d取样一次,共取4次,每个处理取3株。用毛刷将根际土(紧密附着于细小根系表面约2 mm厚度的土壤)收集到无菌袋中封口带回实验室,风干后过筛(孔径为0.335 mm),待测土壤酶活性。

1.3 酶活性的测定方法

土壤中各种酶的活性测定参考关松荫^[13]的方法。采用3,5-二硝基水杨酸比色法测定蔗糖酶活性,以72 h后100 g干土中生成葡萄糖毫克数表示[mg/(100 g $\cdot$ 72 h)];脲酶活性测定采用靛酚蓝比色法测定,于578 nm波长下进行比色,以24 h后100 g土壤中氨态氮的毫克数表示土壤脲酶活性[mg/(100 g $\cdot$ 24 h)];

纤维素酶活性测定采用蒽酮比色法测定,以72 h后100 g干土生成葡萄糖毫克数表示土壤纤维素酶活性 $[\text{mg}/(100 \text{ g} \cdot 72 \text{ h})]$;蛋白酶活性测定采用茚三酮比色法测定,以72 h后100 g干土壤中氨基氮的毫克数表示 $[\text{mg}/(100 \text{ g} \cdot 72 \text{ h})]$;采用0.1 mol/L高锰酸钾滴定法测定过氧化氢酶活性,以24 h后100 g干土壤分解的酚羟基的毫克数表示 $[\text{mg}/(100 \text{ g} \cdot 24 \text{ h})]$ 。

2 结果与分析

2.1 施用不同复合菌肥对受害根际土壤蔗糖酶活性的影响

土壤蔗糖酶主要参与土壤中碳水化合物的转化,其生物活性可以通过土壤中营养物质和土壤的呼吸强度表征^[14]。如图1所示,二氯喹啉酸危害的根际土壤蔗糖酶活性受到严重抑制,在20 d时,与对照土壤相比,根际蔗糖酶活性降低35.45%;复合菌肥处理的根际土壤蔗糖酶活性呈升高趋势,复合菌肥1(T2)、2(T3)和3(T4)处理比受害土壤的根际蔗糖酶活性分别增加了21.15%、11.93%和31.68%,总体活性表现为 $T0 > T4 > T2 > T3 > T1$ 。表明复合菌肥能够提升受害土壤中的蔗糖酶活性,进而缓解二氯喹啉酸对土壤中蔗糖酶活性的抑制,其中复合菌肥3处理的修复效果最好。

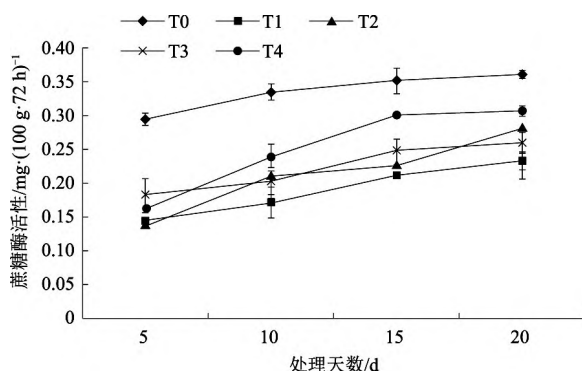


图1 追施不同复合菌肥处理的蔗糖酶活性

2.2 施用不同复合菌肥对受害根际土壤脲酶活性的影响

土壤脲酶是一种酰胺酶,专性降解尿素,脲酶活性与土壤中微生物类群数量、氮素和磷含量以及尿素的水解程度等呈正相关^[15],可以用于评价土壤的肥力状况。从图2看出,不同复合菌肥处理的根际土壤脲酶活性随处理时间增加呈升高趋势,在20 d时,复合菌肥1、2和3处理比受害土壤的烟草根际脲酶活性分别提高了43.21%、62.25%和136.49%,而受害土壤比对照土壤的根际脲酶活性降低64.35%。

土壤脲酶活性总体变化趋势表现为: $T0 > T4 > T3 > T2 > T1$ 。由此表明经复合菌肥处理可以提升受害土壤中的脲酶活性,进而缓解土壤中二氯喹啉酸危害。

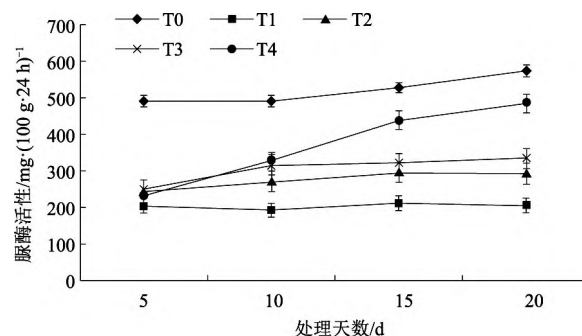


图2 追施不同复合菌肥处理的脲酶活性

2.3 施用不同复合菌肥对受害根际土壤纤维素酶活性的影响

土壤纤维素酶是土壤碳素代谢中的一种重要酶,能够水解纤维素生成纤维二糖,进一步水解成葡萄糖,从而为植物提供可利用的碳源营养物质^[16]。如图3所示,二氯喹啉酸处理的根际土壤纤维素酶活性受到严重抑制,在20 d时,比对照减少了54.88%;随着处理时间的增加,3种复合菌肥处理的根际土壤纤维素酶活性呈升高趋势,在20 d时,复合菌肥1、2和3处理比受害土壤的烟草根际纤维素酶活性分别升高24.24%、46.64%和87.51%,由此可知复合菌肥能够提高受害土壤中的纤维素酶活性,从而缓解二氯喹啉酸对土壤中纤维素酶的抑制作用。

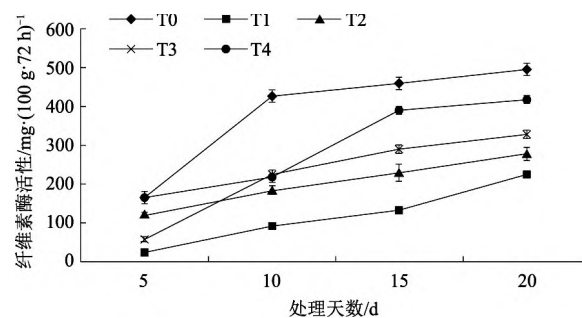


图3 追施不同复合菌肥处理的纤维素酶活性

2.4 不同复合菌肥施用对受害根际土壤蛋白酶活性的影响

根际土壤中的蛋白酶能对土壤中的植物残体和施入的有机肥料进行酶促分解,土壤蛋白酶也是氮素转化的关键酶类,因此,可用蛋白酶来表征土壤的氮素转化进程,进而以其活性的高低来反映土壤中氮素水平。如图4,在20 d时,受害土壤的根际蛋

白酶活性比对照降低54.88%,受到严重抑制;复合菌肥1、2和3处理比受害处理的烟草根际土壤蛋白酶活性分别增加了34.42%、51.76%和97.71%,各种复合菌肥处理之后,根际土壤蛋白酶活性均高于受害处理土壤中的蛋白酶活性,其中菌肥3效果最佳。由此可知复合菌肥能够提高受害土壤中的蛋白酶活性,改善受二氯喹啉酸危害的烟草根际土壤环境。

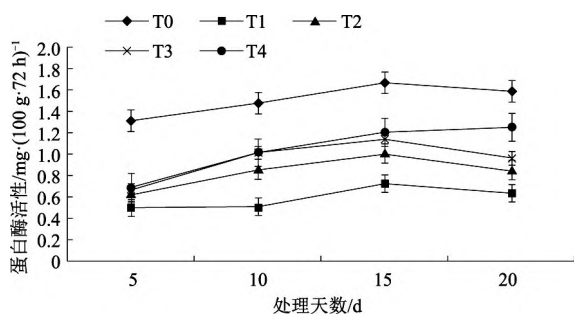


图4 追施不同复合菌肥处理的蛋白酶活性

2.5 不同复合菌肥施用对受害根际土壤过氧化氢酶活性的影响

过氧化氢酶是生物防御系统中的关键酶,可以将过氧化氢分解成水和氧,参与土壤中物质和能量转化,过氧化氢酶的活性可以表征生物活动过程中氧化程度的强弱,也可以作为简单的污染监测指示物^[17]。从图5可知,在20 d时,受害处理比对照土壤中的过氧化氢酶活性降低60.12%;生物菌肥处理的根际土壤过氧化氢酶活性趋势则呈逐渐升高的趋势,在处理20 d后,复合菌肥1、2和3处理的烟草根际过氧化氢酶活性分别比受害土壤提升81.82%、145.45%和181.82%,复合菌肥2和复合菌肥3修复效果明显,可能是过氧化氢酶作为毒性或污染检测指标对解毒效果的灵敏反应。各处理过氧化氢酶活性总体表现为T0>T4>T3>T2>T1,表明受二氯喹啉酸危害的土壤中过氧化氢酶活性受到了明显抑制,向土壤中施入复合菌肥对过氧化氢酶活性具有较强的修复效果。

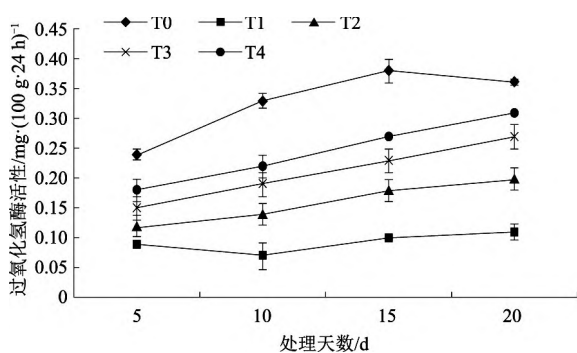


图5 追施不同复合菌肥处理的过氧化氢酶活性

3 结 论

本试验研究结果表明,与正常土壤相比,受二氯喹啉酸残留危害的根际土壤中蔗糖酶、脲酶、纤维素酶、蛋白酶、过氧化氢酶活性明显降低,这与毛官杰等^[18]的研究结果一致,二氯喹啉酸危害下追施不同复合菌肥的处理土壤后的酶活性都高于受害处理而低于对照,这是由于土壤养分增加,土壤中微生物群落结构组成得到了改善,进而提高了土壤各种酶活性,同时表明复合菌肥有助于提高土壤酶活性,缓解了二氯喹啉酸残留对土壤酶活性的抑制,这与刘华山、麻耀华等^[19-20]的研究结果类似。复合菌肥因其富含养分以及具有特定类群的微生物,作为营养物质和根系微生物促进作物生长,提高抵御污染等逆境胁迫能力。

土壤中的各种酶活性可以反映土壤肥力的水平,酶活性的增强同时促进土壤养分的转化过程,提高了土壤肥力。艾童非、刘芳等^[21-22]研究发现,施用微生物菌剂能显著提高土壤脲酶和土壤蔗糖酶的活性。这与本研究结果相似,复合菌肥的配施能够加速有机化合物的分解,为酶促反应提供了底物,从而促进了微生物的分解作用,从而降低二氯喹啉酸的危害,土壤酶也是微生物生长代谢的产物。

养分为植物生长提供了营养,其次是有益的微生物菌群的代谢活动所产生的生物活性物质改善了土壤生态环境,进一步提高了土壤酶活力^[23],加速了土壤中残留的二氯喹啉酸的降解。生物类群的变化能影响土壤中酶的活性、土壤健康及土壤养分转化,因此对稻烟连作土壤中残留二氯喹啉酸污染的修复起到积极作用。微生物菌肥因其具有环境友好、效率高、成本低等特点,是进行土壤环境修复、实现污染农田可持续利用的有效措施,具有广泛应用前景,是未来绿色农业可持续发展的方向。

参考文献

- [1] 贺亚旭, 蒋思捷, 舒小情, 等. 二氯喹啉酸的残留现状及治理对策研究进展[J]. 农药学报, 2021, 23(1): 31-41.
- [2] 李杨, 马智宏, 李冰茹, 等. 我国主要作物中除草剂登记情况及存在问题[J]. 食品安全质量检测学报, 2018, 9(17): 4483-4488.
- [3] 何京亮, 徐三玲, 贺荣华. 宁远县烟稻轮作模式下优质晚稻栽培技术[J]. 湖南农业科学, 2016(3): 16-17.
- [4] 杨晶, 谷子寒, 王元元, 等. 长沙烟稻轮作区烤烟正常与推迟采收条件下的适宜晚稻品种筛选[J]. 中国农学通报, 2016, 32(21): 11-17.
- [5] 张志成, 罗国军, 彭秀斌, 等. 稻草生物炭对甲磺草胺和二氯喹啉酸吸附的影响[J]. 湖南农业科学, 2014(22): 15-18.

- [6] 齐丹, 任立伟, 卢滇楠, 等. 二氯喹啉酸污染土壤生物修复的现状与发展方向[J]. 环境科技, 2016, 29(2): 74-78.
- [7] 张顺, 黄国联, 许家来, 等. 二氯喹啉酸降解菌MC-10的筛选、鉴定及其降解特性[J]. 微生物学报, 2015, 55(1): 80-88.
- [8] 邓建朝. 二氯喹啉酸对烟草致畸机理及畸形恢复研究[D]. 广东: 华南农业大学, 2005.
- [9] 张志刚, 董春娟, 高革, 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用[J]. 西北植物学报, 2011, 31(6): 1243-1249.
- [10] 曹婷婷, 郭振. 土壤酶活性与土壤肥力关系的研究进展[J]. 农业科学, 2019, 9(6): 444-448.
- [11] 杨彩宏, 冯莉, 田兴山, 等. 二氯喹啉酸土壤残留对后茬蔬菜药害测定及修复研究[J]. 广东农业科学, 2016, 43(2): 62-66.
- [12] 张继光, 张忠锋, 张伟峰, 等. 一种烟田中二氯喹啉酸类除草剂残留的综合修复方法: 中国专利: CN, 104871777A[P]. 2015-09-02.
- [13] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 274-323.
- [14] 万忠梅, 宋长春. 小叶章湿地土壤酶活性分布特征及其与活性有机碳表征指标的关系[J]. 湿地科学, 2008, 6(2): 249-257.
- [15] 黄兆玮, 董磊, 王趁义, 等. 新型脲酶抑制剂对土壤脲酶活性和土壤微生物量的影响[J]. 中国水土保持科学, 2021, 19(5): 99-105.
- [16] 李小磊, 刘文菊, 赵全利, 等. 微生物菌剂与2种耕作方式下冬小麦生育期内土壤酶活性的动态变化[J]. 中国农学通报, 2011, 27(3): 20-25.
- [17] 姜虎生, 王宏燕. 不同农药对土壤脱氢酶活性的影响[J]. 辽宁农业科学, 2011, 15(3): 29-31.
- [18] 毛官杰, 孟南, 刘华山, 等. 不同微生物制剂对二氯喹啉酸胁迫下烟草根际土壤生物活性的影响[J]. 江西农业学报, 2014, 26(5): 25-28.
- [19] 刘华山, 张志勇, 韩锦峰, 等. 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[J]. 河南农业科学, 2012, 41(11): 64-68.
- [20] 麻耀华, 易淑丽, 张丽萍, 等. 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.
- [21] 艾童非, 杨鹏九, 费洪波, 等. 微生物菌剂有机肥对植烟土壤环境及烤烟产质量的影响[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(18): 99-102; 119.
- [22] 刘芳, 韩丹, 赵铭钦, 等. 微生物菌剂配施腐殖酸钾对植烟土壤改良及烤烟经济效益的影响[J]. 浙江农业学报, 2017, 29(7): 1064-1069.
- [23] 郭盘盘, 孟南, 刘华山, 等. 复合微生物菌肥对二氯喹啉酸危害下烟草光合特性的修复作用[J]. 河南农业科学, 2016, 45(5): 91-95.

(责任编辑: 金兰)

EPA发布氟啶虫胺胍对濒危物种影响的评估草案

美国环境保护署(EPA)发布了关于氟啶虫胺胍的生物评估草案(BE), 其中包含氟啶虫胺胍对联邦列出的濒危和受威胁(列出)物种以及指定的关键栖息地的潜在影响。BE草案将在60 d内公开征求意见。

Sulfoxaflor于2013年首次注册, 用于防治多种作物难以对付的害虫, 如蚜虫和盲蝽, 是包括氨基甲酸酯、新烟碱类、有机磷酸盐和拟除虫菊酯等农药的替代品。评估草案发现, 总体而言, 与新烟碱类杀虫剂吡虫啉、噻虫胺和噻虫嗪以及有机磷杀虫剂马拉硫磷、毒死蜱和二嗪农等杀虫剂相比, 氟啶虫胺胍对大多数物种的持久性和毒性较低, 这通常会降低对人类的风险健康和环境。

作为评估的一部分, EPA评估了氟啶虫胺胍对美国1 700多个列出的物种和800多个指定的关键栖息地的影响: 不会对36%的所列物种和52%的关键栖息地造成影响; 可能影响但不太可能对30%所列物种和35%的关键栖息地产生不利影响; 可能产生不利影响, 但EPA预测使用不会对27%的所列物种造成危害; 或者不利地改变了9%的关键栖息地和可能产生不利影响, 并且EPA预测使用可能对7%的所列物种造成危害和不利地改变了4%的关键栖息地。

EPA已与注册人讨论, 以确定近期可以实施哪些额外的缓解措施来保护所列物种和重要栖息地。作为回应, 注册人最近提议对氟啶虫胺胍产品标签进行额外修订。EPA可能会考虑除注册人提出的缓解措施之外的缓解措施, 例如添加或增加缓冲液、施加地理使用限制或采用其他方法来减少农药漂移。EPA鼓励公众对提议标签修订和其他可能适当的缓解措施发表意见。

氟啶虫胺胍的背景

2015年, 第九巡回上诉法院撤销了EPA 2013年的氟啶虫胺胍登记注册, 理由是氟啶虫胺胍对蜜蜂的影响的数据不足。法院作出裁决后, EPA于2015年11月12日发布氟啶虫胺胍取消令, 禁止分销或销售氟啶虫胺胍。

2016年, EPA发布了一项新的、有限的氟啶虫胺胍注册, 仅允许将其用于对传粉媒介没有吸引力的作物, 或在最大限度地减少或消除潜在接触蜜蜂的使用情况。这些新的限制实际上消除了和田间接触蜜蜂的机会, EPA能够在保护传粉媒介的同时实现氟啶虫胺胍登记用于某些用途。

2019年, 完成了氟啶虫胺胍对蜜蜂全面风险评估后, EPA扩大了氟啶虫胺胍的注册范围, 将其用于紫花苜蓿、玉米、可可、谷物、菠萝、高粱、人工林、柑橘、棉花、葫芦科植物、大豆和草莓。并且EPA还修订了2016年登记注册的使用说明。(金兰译)