

氯苯、对硝基酚对土壤生物活性的影响^{*}

沈 标 李顺鹏

(南京农业大学微生物学系, 210095)

赵硕伟 刘进军

(镇江市环境科学研究所) (江苏泗洪县土肥站)

摘 要

本文通过对土壤呼吸强度、各微生物生理群的数量以及土壤酶活性的测定,研究了氯苯、对硝基酚对土壤生物活性的影响。实验表明氯苯、对硝基酚对土壤生物活性的影响是复杂的。氯苯在 200mg/kg 以下对土壤呼吸强度,细菌、放线菌及真菌的数量都有一定的刺激作用;而对氨化细菌、硝化细菌以及反硝化细菌则表现出抑制作用;对脲酶、脱氢酶也具有刺激作用,对蔗糖酶则具有轻微的抑制作用;对硝基酚对上述几种酶的活性及各微生物类群大多表现出抑制作用。

关键词 氯苯, 对硝基酚, 微生物, 土壤酶

近年来,由于化学农药的大量使用,给农田生态及人类生存的环境带来了严重的污染。虽然有机磷农药,菊酯类农药被认为是半衰期较短的一类农药,但这些农药中常常含有氯苯及硝基苯或硝基酚基团,而氯苯,硝基酚的毒性较强^[5],在土壤中较难分解因而残留时间较长。本文就氯苯和硝基酚对土壤生物活性的影响进行了初步研究,现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

(1)药品:氯苯、对硝基酚均为分析纯

(2)培养基:牛肉膏蛋白胨培养基,高氏培养基、马丁培养基、硝化细菌培养基、反硝化细菌培养基、氨化细菌培养基的配制参照文献^[1]。

1.2 方 法

(1)细菌、放线菌及真菌数量的测定:采用平板计数法;硝化细菌、反硝化细菌及氨化细菌的数量采用 MPN 法计数。

(2)土壤呼吸强度的测定:采用直接吸收法^[1]。康惠皿外室加入 30g 土壤,再加入一定量的氯苯或

* 国家自然科学基金项目(批准号:39070025)

收稿日期:1995-01-22;收到修改稿日期:1996-04-13

对硝基酚，内室加入 0.1mol / L NaOH 溶液 5ml 作为吸收液，经培养后用酚酞作为指示剂，用 0.1mol / L HCl 滴定，并换算成 CO₂ 产生量。

(3)脲酶活性测定：采用康惠皿法^[1]。康惠皿外室加入 30g 土壤，再加入尿素溶液，内室加 2% H₃BO₃ 作为氨的吸收液，经培养 16 小时后，外室再加入饱和 K₂CO₃ 溶液 5ml，继续培养 3 小时，用甲基红-溴甲酚紫作指示剂，用 0.1mol / L HCl 滴定。

(4)脱氢酶活性测定：采用 TTC 还原法^[1]

(5)蔗糖酶活性测定：参照文献 [1]。

2 结 果

2.1 氯苯和对硝基酚对土壤呼吸强度的影响

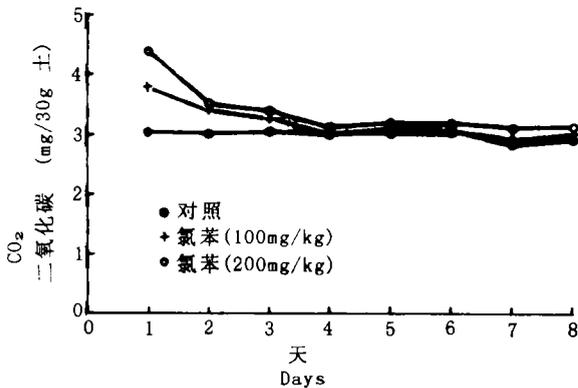


图 1 氯苯对土壤呼吸强度的影响

Fig. 1 The effect of chlorobenzene on soil respiratory intensity

2.2.1 对土壤中细菌总数的影响 细菌数量的变化。当土壤中氯苯在 200mg / kg 时，能刺激细菌总数的增加，细菌数量明显高于对照土壤。而对硝基酚 200mg / kg 处理的土壤其细菌数量低于对照土壤，但随着时间的延长，其差异迅速缩小。

2.2.2 对土壤真菌的影响 土壤中氯苯浓度在 200mg / kg 时，其真菌数量高于对照土壤；而对硝基酚 200mg / kg 处理的土壤其真菌数量基本上是低于对照土壤。说明氯苯对土壤真菌具有刺激作用，而对硝

基酚对土壤呼吸强度的影响见图 1 和图 2，图示表明，当土壤中氯苯浓度为 100mg / kg，200mg / kg 时，土壤呼吸强度有所增加，但随着时间的推移，氯苯对土壤呼吸强度的刺激作用逐渐减弱。而对硝基酚在浓度 100mg / kg 时，其对土壤呼吸强度的刺激作用大于氯苯，但当浓度达到 200mg / kg 时，对土壤的呼吸反而具有明显的抑制作用。

2.2 氯苯和对硝基酚对土壤微生物数量的影响

图 3 为加入氯苯和对硝基酚后，不同时间土壤中

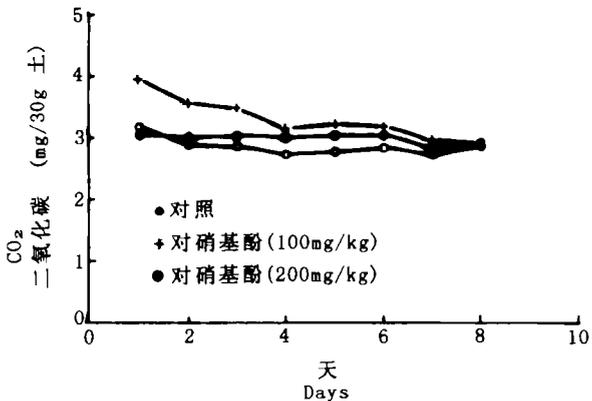


图 2 对硝基酚对土壤呼吸强度的影响

Fig. 2 The effect of nitrophenol on soil respiratory intensity

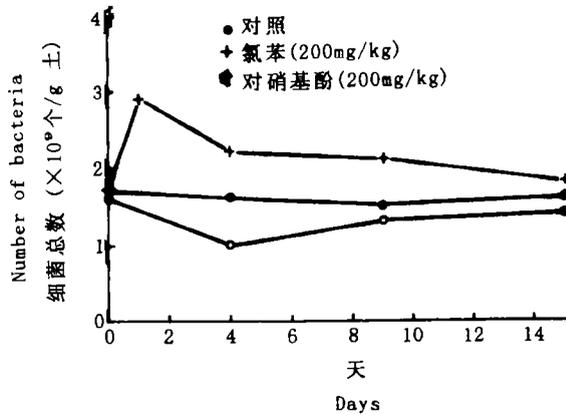


图 3 氯苯、对硝基酚对土壤中细菌的影响

Fig.3 The effect of chlorobenzene and nitrophenol on soil bacteria

基酚对真菌则具有抑制作用, 但随着时间的延长, 其影响逐渐减弱, 土壤中真菌数量逐渐恢复到原来水平(图 4)。

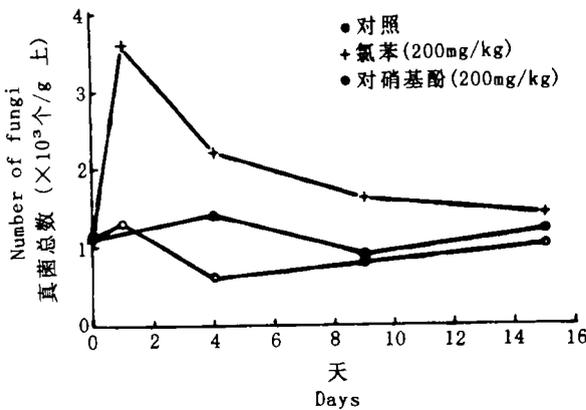


图 4 氯苯、对硝基酚对土壤中真菌的影响

Fig.4 The effect of chlorobenzene and nitrophenol on soil fungi

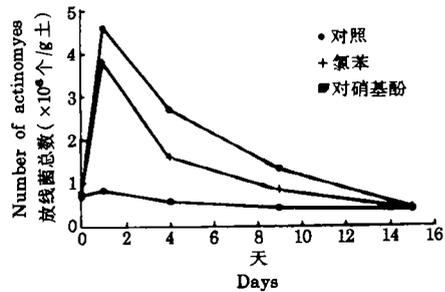


图 5 氯苯、对硝基酚对土壤中放线菌的影响

Fig.5 The effect of chlorobenzene and nitrophenol on soil actinomycetes

2.2.3 对土壤中放线菌的影响 由图 5 可见, 当 200mg / kg 浓度的氯苯和对硝基酚加入土壤后, 对放线菌都有促进作用, 并且对硝基酚的作用大于氯苯, 但经 15 天后, 其影响消失与对照持平。

2.2.4 对土壤中硝化细菌的影响 氯苯、对硝基酚对硝化细菌都具有抑制作用, 且随着浓度的增加, 抑制作用也随之增强, 和氯苯相比, 对硝基酚的抑制作用更强一些(图 6)。

2.2.5 对土壤中氨化细菌的影响 氯苯、对硝基酚对氨化细菌的影响类似于硝化细菌, 但抑制作用的程度远不如对硝化细菌的抑制作用那么强(图 7)。

2.2.6 对土壤中反硝化细菌的影响 对硝基酚对反硝化细菌的抑制作用较强, 且随着浓度的增加抑制作用逐渐增强; 而氯苯在 100mg / kg 时对反硝化细菌却表现出有一定的

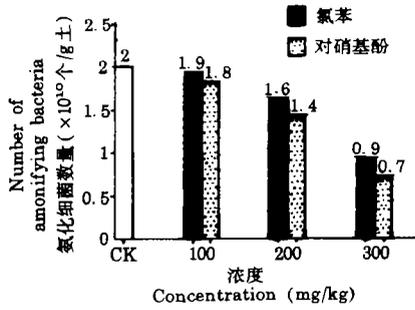
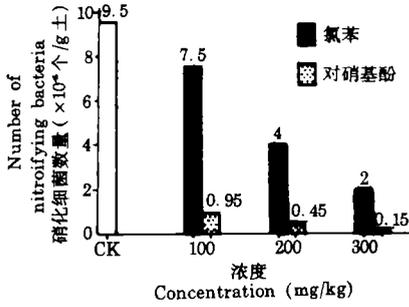


图 6 氯苯、对硝基酚对土壤中硝化细菌的影响

图 7 氯苯、对硝基酚对氨化细菌的影响

Fig. 6 The effect of chlorobenzene and nitrophenol on nitrifying bacteria

Fig.7 The effect of chlorobenzene and nitrophenol on amonifying bacteria

刺激作用, 但当氯苯浓度达 200mg / kg 时与对照相平说明既无抑制也无刺激作用, 当氯苯浓度升至 300mg / kg 时, 对反硝化细菌却表现出抑制作用(图 8)。说明氯苯对反硝化细菌的影响与其浓度有很大关系。

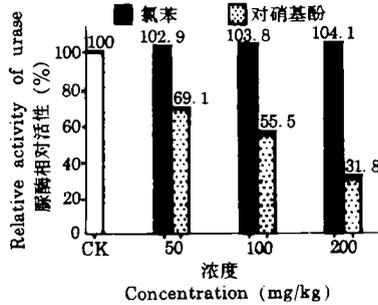
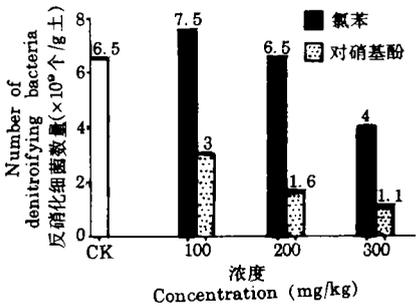


图 8 氯苯、对硝基酚对反硝化细菌的影响

图 9 氯苯、对硝基酚对脲酶活性的影响

Fig. 8 The effect of chlorobenzene and nitrophenol on denitrifying bacteria

Fig.9 The effect of chlorobenzene and nitrophenol on the activity of urease

2.3 氯苯和对硝基酚对土壤酶活性的影响

2.3.1 对土壤中脲酶活性的影响 与对照相比较, 氯苯对脲酶活性具有轻微的刺激作用; 而对硝基酚对脲酶具有明显的抑制作用。当对硝基酚浓度升为 200mg / kg 时, 脲酶活性只有对照土壤的 31.8%(图 9), 可见其毒性是相当大的, 所以在生产实践中应当引起足够重视。

2.3.2 对土壤中脱氢酶的影响 氯苯浓度在 100、200、300mg / kg 时均可使脱氢酶的活性提高, 其对脱氢酶活性的刺激促进作用是随浓度的递增而下降; 对硝基酚在 50mg / kg 时对土壤中脱氢酶有促进作用, 但当浓度超过 150mg / kg 时反而表现出抑制作用(图 10)。这表明对硝基酚对土壤脱氢酶的影响是与它们的浓度密切相关。

2.3.3 对土壤中蔗糖酶活性的影响 由图 11 可看出, 对硝基酚在 200mg / kg 时, 土壤中蔗糖酶活性有所提高, 而氯苯在 200mg / kg 时, 对蔗糖酶活性却具有较轻的抑制作用。

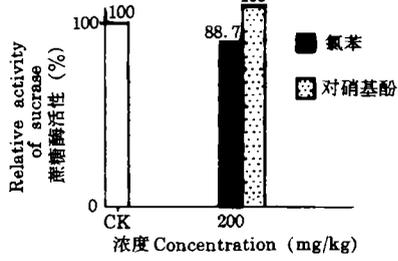
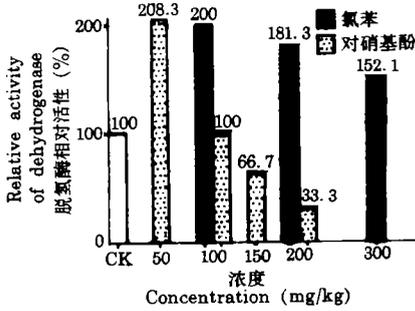


图 10 氯苯、对硝基酚对脱氢酶活性的影响

图 11 氯苯、对硝基酚对土壤中蔗糖酶的影响

Fig. 10 The effect of chlorobenzene and nitrophenol on dehydrogenase activity

Fig. 11 The effect of chlorobenzene and nitrophenol on sucrase activity

3 讨 论

农药等化学有毒物质对微生物的影响一般认为对其生长具有阻抑作用, 但作为营养物质^[1], 由于土壤微生物种类繁多, 因而不但有抑制作用, 同时还具有促进作用也就是说一种化学药物对某些微生物来说具有抑制作用, 但对另外一些微生物来说可能就是很好的营养物质, 因而能促进这类微生物的生长。本试验表明: (1)当土壤中氯苯浓度在200mg / kg 以下时均能促进土壤中细菌、放线菌、真菌总数以及反硝化细菌数量的增加, 这和氯苯能促进土壤呼吸强度的结果是一致的。我们曾经用发光细菌法测定氯苯的生物毒性, 结果表明当氯苯浓度大于180mg / L时, 会强烈抑制发光细菌的发光, 所以应属剧毒的化学物质^[2]。但为什么在土壤中有时不但不产生抑制作用, 反而还具有促进作用? 这很可能是由于土壤的吸附作用使得微生物接触到的药物浓度有所下降以及土壤中存在许多能分解氯苯的微生物类群, 它的分解不但降低了氯苯的毒性, 而且还为许多其它微生物提供了养料, 进而使微生物数量增加, 由于微生物总数的增加, 又导致土壤中脲酶及脱氢酶活性的提高。氯苯对硝化细菌, 氨化细菌具有抑制作用, 这也许是这两类微生物对氯苯特别敏感的缘故; (2)对硝基酚在200mg / kg 时对细菌、真菌总数及硝化细菌、氨化细菌和反硝化细菌均具有不同程度的抑制作用, 这与对硝基酚在200mg / kg 时抑制土壤呼吸强度的结果是一致的。我们用发光细菌法测定对硝基酚的生物毒性, 结果表明, 对硝基酚的生物毒性是相当大的^[2]。当其浓度为10mg / kg 时能使发光细菌的发光强度减少50%, 当其浓度达75mg / kg 时即百分之百地抑制发光细菌的生物发光, 所以它能抑制土壤中大多数微生物的生长。至于对硝基酚刺激放线菌数量的增加, 很可能是由于放线菌对对硝基酚的抗性较强之故。另外也可能当对硝基酚杀死了其它的微生物后, 这些细胞溶解物给放线菌提供了丰富的养料, 从而导致放线菌数量的增加, 这种现象类似于土壤的局部灭菌效应。至于为何对硝基酚能刺激土壤中蔗糖酶活性还需要进一步的研究; (3)氯苯和对硝基酚对土壤微生物的影响还与其浓度有关。因此, 判断一个化合物对土壤微生物的影响, 不仅要考虑微生物的类群, 而且还需考虑其浓度。

参 考 文 献

1. 土壤微生物研究会编, 叶维青译, 1977: 土壤微生物实验法。第 297, 303, 513, 410, 614 页, 科学出版社。
2. 沈 标, 李顺鹏, 1994: 几种化合物的生物毒性和致突变性。南京农业大学资环系编, 农业持续发展的资源环境研究与管理。294—296 页。中国农业科技出版社

**EFFECT OF CHLOROBENZENE AND NITROPHENOL ON
SOIL BIOLOGICAL ACTIVITY**

Shen Biao Li Shunpeng

(Nanjing Agricultural University, Nanjing, 210095)

Zhao Shuwei

(Zhenjiang Environmental Science Institute)

Liu Jinjun

(Sihong soil & fertilizer experimental spot)

Summary

The effect of chlorobenzene and nitrophenol on soil biological activity was studied through analyzing soil respiration intensity, microbial numbers and soil enzyme activities. The results showed that the effect of chlorobenzene and nitrophenol on soil biological activity was complex. Chlorobenzene below 200mg / kg could stimulate soil respiration and total numbers of bacteria, actinomyces and fungi, but inhibit amoniafying bacteria, nitrifying bacteria and denitrifying bacteria. The chlorobenzene below 200mg / kg also stimulated the activities of urease and dehydrogenase but slightly inhibited the activity of sucrose. Nitrophenol below 200mg / kg inhibited the growth of almost all microbes and the activities of several enzyme

Key words chlorobenzene, nitrophenol, soil microbes, soil enzymes