

网络出版时间:2017-12-08 16:25

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2018.02.015

网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20171208.1623.030.html>

烯酰吗啉对土壤呼吸及微生物多样性的影响

周东兴,邓 杰,李 晶,邬欣慧,荣国华,苏 叶,斯琴毕力格

(东北农业大学 资源与环境学院,黑龙江 哈尔滨 150030)

【摘 要】 【目的】研究烯酰吗啉对土壤呼吸强度和微生物多样性的影响,为烯酰吗啉的正确合理应用提供指导和科学依据。【方法】称取 2 kg 供试土壤,在土壤中施用不同含量的烯酰吗啉水溶液,使土壤中烯酰吗啉的初始含量分别为 5,10 和 25 mg/kg,以不施用烯酰吗啉处理为空白组(CK),采用 CO₂ 直接吸收法测定土壤呼吸强度,采用 BIOLOG ECO 法测定土壤微生物群落多样性和碳源利用率(AWCD);最后采用主成分分析法分析不同含量烯酰吗啉对 31 种碳源的利用情况。【结果】与 CK 相比,烯酰吗啉对土壤呼吸强度总体有明显的抑制作用,随着烯酰吗啉含量和施用次数的增加,土壤呼吸强度受抑制程度越大。前两次施用 5,10 mg/kg 烯酰吗啉后对土壤微生物多样性指标影响不显著;第 3 次施用 5,10 mg/kg 烯酰吗啉后,随着土壤中烯酰吗啉的积累,Shannon 物种丰富度指数和 McIntosh 指数与 CK 相比总体显著降低,而 Simpson 优势度指数无显著变化。施用 1~3 次,与 CK 相比,25 mg/kg 的烯酰吗啉处理土壤 Shannon 物种丰富度指数、Simpson 优势度指数及 McIntosh 指数总体显著降低。在第 1 次施用后,低含量(5,10 mg/kg)烯酰吗啉污染对土壤 AWCD 值影响较小,高含量(25 mg/kg)烯酰吗啉对土壤 AWCD 值影响明显,对土壤微生物的代谢活性有明显抑制作用;在第 2 次和第 3 次施用后,与 CK 相比,无论是低含量还是高含量,烯酰吗啉处理土壤 AWCD 值总体显著减小,烯酰吗啉对土壤微生物代谢活性的抑制作用增强。施用烯酰吗啉影响了土壤微生物碳源利用方式和土壤微生物群落结构。【结论】与低含量烯酰吗啉相比,高含量烯酰吗啉对土壤呼吸的抑制作用增大,明显改变了土壤微生物群落多样性。土壤微生物对碳水化合物类碳源利用率明显增大。

【关键词】 烯酰吗啉;土壤呼吸强度;BIOLOG ECO 法;微生物多样性

【中图分类号】 X53

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2018)02-0121-10

Effects of dimethomorph on soil respiration and microbial diversity

ZHOU Dongxing,DENG Jie,LI Jing,WU Xinhui,RONG Guohua,SU Ye,SIQIN Bilige

(College of Resources and Environmental Science,Northeast Agriculture University,Harbin,Heilongjiang 150030,China)

Abstract:【Objective】The study investigated the effects of dimethomorph on soil respiration intensity and microbial diversity to provide guidance and scientific basis for reasonable application of dimethomorph.【Method】Two kg tested soil was collected and dimethomorph at different contents was applied to have initial concentrations of 5,10 and 25 mg/kg,respectively. No application of dimethomorph was used as blank (CK). Soil respiration intensity was measured using CO₂ absorption spectrometry,soil microbial community diversity and carbon source utilization (AWCD) were determined by BIOLOG ECO method. Finally principal component analysis (PCA) was used to analyze the utilization of 31 carbon sources by dimethomorph with different contents.【Result】Compared with CK,dimethomorph had significant inhibitory effect on soil respiration intensity. As the increase of dimethomorph content and number of application,the inhibition of soil respiration intensity increased. The first two application at concentrations of 5 and 10 mg/kg dimethomorph had no significant effects on soil microbial diversity index. After the third application,Shan-

【收稿日期】 2016-12-06

【基金项目】 农业部公益性行业(农业)科研专项(201503116-04)

【作者简介】 周东兴(1972—),男,山东临邑人,教授,博士生导师,主要从事农业生态学研究。E-mail:zhboshi@163.com

non index and McIntosh index significantly reduced while Simpson dominance index had no significant change. Compared with CK, the 25 mg/kg treatment deceased soil species Shannon richness index, Simpson dominance index and McIntosh index overall after 1—3 applications. After the first application, low contents of (5 and 10 mg/kg) dimethomorph had less impact on soil AWCD, while high content (25 mg/kg) dimethomorph had significant effect on soil AWCD and the metabolic activity of soil microorganisms was inhibited. After the second and third applications, soil AWCD decreased greatly in all treatments and inhibition of soil microbial metabolic activity enhanced. Application of dimethomorph affected soil microbial carbon source utilization and soil microbial community structure. 【Conclusion】 Compared with low dimethomorph levels, high dimethomorph levels had higher inhibitory effect on soil respiration, changed the soil microbial community diversity, and increased the utilization rate of carbohydrates carbon sources.

Key words: dimethomorph; soil respiration intensity; BIOLOG ECO method; microbial diversity

棚室作为特殊的生态系统,与露地栽培有较大差别,为病虫生物提供了适宜的环境条件,使病虫生物得以大量滋生,另外害虫和病原菌易产生抗药性,导致农药高频、高剂量的使用^[1-2]。前人研究结果表明,烯酰吗啉的施用会导致葡萄霜霉病菌抗药性急剧增强^[3-4]。此外,由于棚室特殊的生态环境,导致烯酰吗啉在设施作物和土壤中的持久性均远高于露地环境^[5]。烯酰吗啉作为一种内吸型低毒杀菌剂,应用范围广泛,易通过吸附、沉降等作用进入土壤环境并在土壤中残留,进而对土壤环境产生影响。由于频繁施用,导致土壤中烯酰吗啉含量逐渐积累,朴秀英等^[6]发现烯酰吗啉在吉林黑土中的降解半周期为 69 d,属于中等至难降解农药。

土壤微生物学指标在一定程度上反映了土壤的基本状况^[7-9],是评价土壤环境质量的重要指标之一^[10-11],也是反映土壤生态系统的胁迫程度和生态系统对污染承受力的重要依据^[12-13]。孔凡彬等^[14]研究证实,烯酰吗啉对土壤呼吸强度有一定的抑制作用。但是目前关于烯酰吗啉对土壤微生物多样性影响的研究较少。本研究探讨了烯酰吗啉对土壤呼吸强度以及土壤微生物多样性的影响,以期对烯酰吗啉的合理应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试土壤采自东北农业大学园艺试验站(无杀菌剂)。取耕作层(0~20 cm)土壤,采样前先去土壤表面的杂物,过孔径 2 mm 土壤筛备用。土壤基本理化性质如下^[15]:有机质含量 46.5 g/kg,总氮含量 1.10 g/kg,速效磷含量 14.75 mg/kg,速效钾含量 101.00 mg/kg,含水量 26%,pH 6.93。

供试药剂:商品烯酰吗啉(有效成分为 69%,可

湿性粉剂)购自山西运城金大地农贸有限公司;其他试剂均为分析纯试剂。

1.2 试验设计

称取 2 kg 供试土壤,在土壤中施用不同含量的烯酰吗啉水溶液,使土壤中烯酰吗啉的初始含量分别为 5,10 和 25 mg/kg,以不施用烯酰吗啉处理作为空白组(CK),每次处理 3 个重复。将药剂均匀喷洒在土壤表面,每隔 15 d 重复喷施 1 次,共进行 3 次施用处理。调节土壤含水量至土壤持水量的 60%,保持其含水量恒定,置于(28±1)℃的条件下培养 60 d,施用处理后的 45~60 d 为试验恢复期。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 土壤呼吸强度 于每次施用烯酰吗啉后的 7,14 d 以及培养 60 d,采用 CO₂ 直接吸收法^[15]进行土壤呼吸强度测定。

1.3.2 土壤微生物群落多样性 一般采用 BIOLOG ECO 法^[16]分析土壤微生物多样性(用 McIntosh 指数、Shannon 物种丰富度指数、Simpson 优势度指数表征)时,选择的温育时间分别为 96,120,144 和 168 h^[17]。故本研究选择以上温育时间进行分析。

1) McIntosh 指数(U)^[18]。其计算公式为:

$$U = \sqrt{\sum n_i^2}, n_i = C_i - R.$$

式中: n_i 是第 i 孔的相对吸光值, C_i 为第 i 孔在 590 nm 的吸光值, R 为对照孔在 590 nm 的吸光值。

2) Simpson 优势度指数(D)^[19]。其计算公式为:

$$D = \sum \frac{n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}, n_i = C_i - R.$$

式中: n_i 是第 i 孔的相对吸光值, N 是相对吸光值总和, C_i 为第 i 孔在 590 nm 的吸光值, R 为对照孔在 590 nm 的吸光值。

3)Shannon 物种丰富度指数(H)^[20]。其计算公式为:

$$H=-\sum p_i \ln p_i。$$

式中: p_i 为第 i 孔的相对吸光值与整个平板相对吸光值总和的比率。

1.3.3 土壤碳源利用情况 每次施用处理第 1 天采集土样,于(28±1)℃的条件下分别培养 24,48,72,96,120,144 和 168 h 后,采用 BIOLOG ECO 法^[16]测定土壤总碳源利用率(AWCD)。土壤微生物能利用 31 种碳源,而 31 种碳源分为六大类,分别为碳水化合物(β -甲基 D -葡萄糖苷、 D -木糖、 L -赤藻糖醇、 D -甘露醇、 N -乙酰基- D -葡萄糖胺、 D -葡萄糖胺酸、葡萄糖-1-磷酸盐、 D , L - α -甘油、 D -纤维二糖、 α - D -乳糖、 D -半乳糖内酯、 D -半乳糖醛酸)、氨基酸(L -精氨酸、 L -天冬酰胺酸、 L -苯基丙氨酸、 L -丝氨酸、 L -苏氨酸、甘氨酸- L -谷氨酸)、多聚物(吐温 40、吐温 80、 α -环式糊精、肝糖)、酚酸(2-羟苯甲酸、4-羟基苯甲酸)、羧酸(丙酮酸甲脂、 γ -羟基丁酸、衣康酸、 α -丁酮酸、 D -苹果酸)以及胺类(苯乙基胺、腐胺),故本研究分析了土壤微生物对不同种类碳源利用情况,结果以不同种类碳源利用率占 AWCD 的比例表示^[21-22]。参照董立国等^[23]的研究可知温育 96 h 时碳源利用率变化幅度最大,故选取温育 96 h 时不同种类碳源利用率进行分析。此外,为探讨不同含量烯酰吗啉对 31 种碳源利用情况的影响,本研究采用

SPSS 19.0 对烯酰吗啉施用 3 次后土壤温育 96 h 的 31 类碳源利用率进行主成分分析(PCA)。

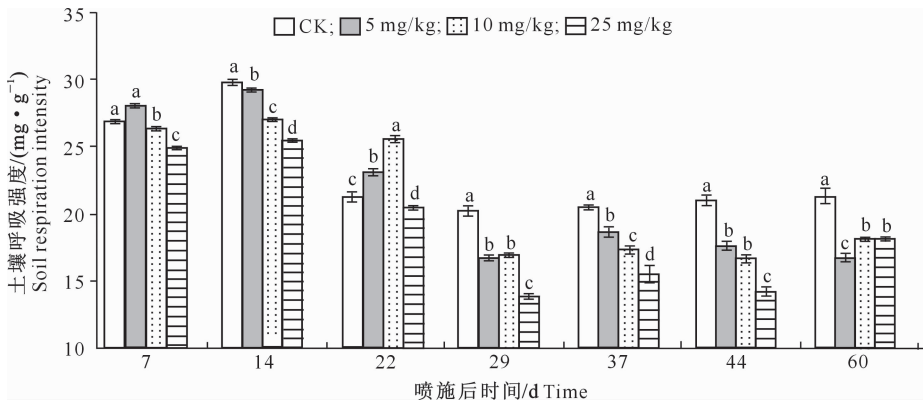
1.4 数据处理与分析

采用 Excel 2013 进行数据处理与分析。

2 结果与分析

2.1 不同含量烯酰吗啉对土壤呼吸强度的影响

图 1 表明,随着施用时间的延长,与 CK 相比,烯酰吗啉对土壤呼吸总体有明显的抑制作用。施用 7 d,当烯酰吗啉含量为 5 mg/kg 时,土壤呼吸强度略有提高,但与 CK 相比,差异不显著;当烯酰吗啉含量为 10,25 mg/kg 时,土壤呼吸强度显著降低。施用 14 d,与 CK 相比,烯酰吗啉处理土壤呼吸强度显著降低,且各处理间差异显著。施用 22 d,与 CK 相比,5,10 mg/kg 烯酰吗啉处理的土壤呼吸强度显著增强,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤的呼吸强度显著降低。施用 29~44 d 后,与 CK 相比,5~25 mg/kg 烯酰吗啉处理的土壤呼吸强度均显著降低,其中 25 mg/kg 烯酰吗啉处理的土壤呼吸强度降幅最大。施用 60 d,与 CK 相比,5~25 mg/kg 烯酰吗啉处理的土壤呼吸强度均显著降低;与施用 29~44 d 后相比,5 mg/kg 烯酰吗啉处理的土壤呼吸强度未见恢复,10~25 mg/kg 烯酰吗啉处理的土壤呼吸强度略有恢复。



图柱上标不同小写字母表示各处理间差异显著($P<0.05$)。图 2 同

Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$). The same for Fig. 2

图 1 不同含量烯酰吗啉对土壤呼吸强度的影响

Fig. 1 Effects of different dimethomorph concentrations on soil respiration intensity

2.2 不同含量烯酰吗啉对土壤微生物群落多样性指数的影响

2.2.1 Shannon 物种丰富度指数 Shannon 物种丰富度指数越大,表明土壤微生物对碳源的利用越多,利用强度越大。由于温育 168 h 与 144 h 时不同

含量烯酰吗啉处理下土壤微生物群落 Shannon 物种丰富度指数的变化规律相同,故温育 168 h 的结果未列出。由图 2 可知,温育 96 h,第 1 次和第 2 次施用处理后,与 CK 相比,5,10 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤的 Shannon 物种丰富度指数无显著变化,而

25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤的 Shannon 物种丰富度指数均显著降低,表明烯酰吗啉对土壤 Shannon 物种丰富度有显著的抑制作用;第 3 次施用处理后,与 CK 相比,各烯酰吗啉处理土壤的 Shannon 物种丰富度指数均大幅度下降,且差异显著。温育 120 h,第 1 次和第 2 次施用处理后,与 CK 相比,5,10,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤的 Shannon 物种丰富度指数均无显著变化;但第 3 次施用处理后,与 CK

相比,5 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤的 Shannon 物种丰富度指数无显著变化,而 10,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤的 Shannon 物种丰富度指数均显著降低。温育 144 h,与 CK 相比,各烯酰吗啉处理土壤的 Shannon 物种丰富度指数无显著变化。整体而言,Shannon 物种丰富度指数受烯酰吗啉影响不大,表明烯酰吗啉对土壤微生物群落丰富度影响较小。

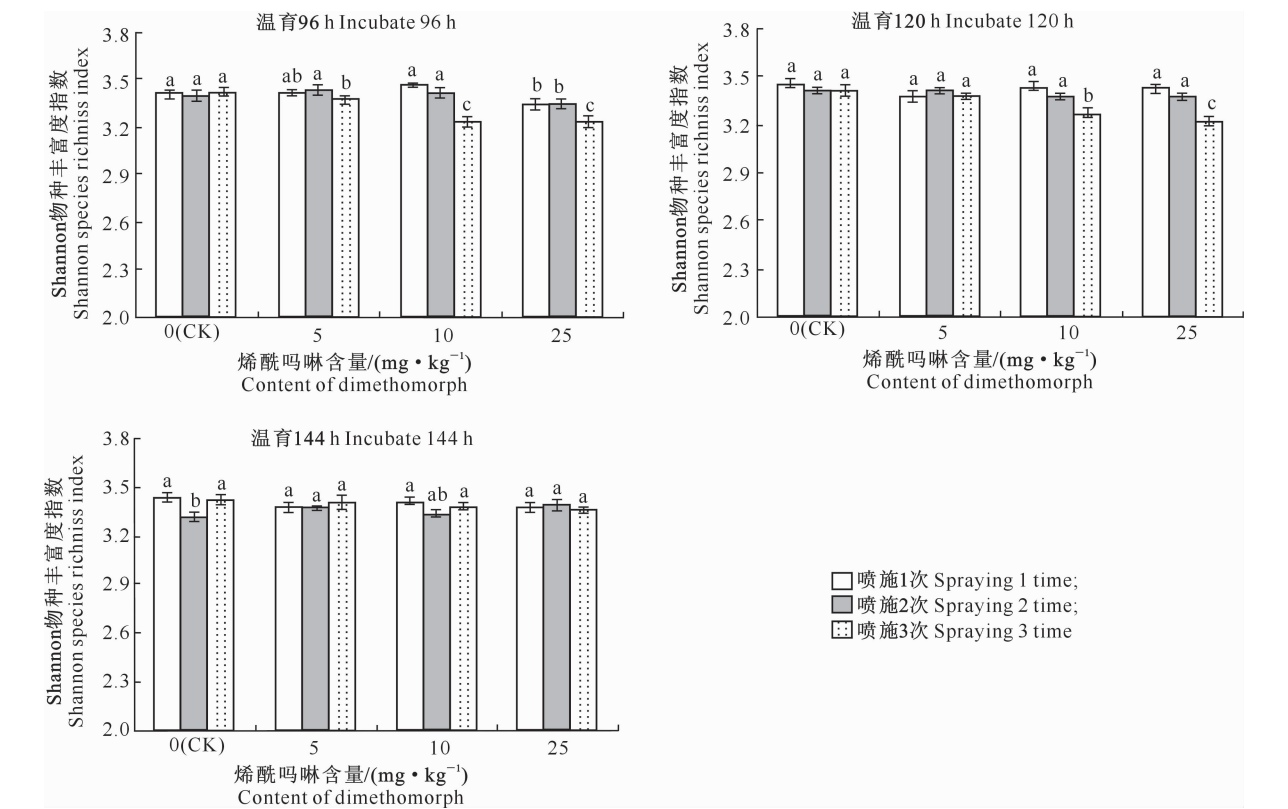


图 2 不同含量烯酰吗啉对土壤微生物群落 Shannon 物种丰富度指数的影响
Fig. 2 Effects of different dimethomorph concentrations on Shannon species richness index

2.2.2 Simpson 优势度指数 由表 1 可知,在同一施用次数和温育时间下,随着烯酰吗啉含量的增加,土壤的 Simpson 优势度指数呈先增加后降低的趋势。第 1 次施用处理后,在同一温育时间下,与 CK 相比,5,10,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤对 Simpson 优势度指数无显著影响。第 2 次施用处理后,在同一温育时间下,与 CK 相比,5,10 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 Simpson 优势度指数无显著变化;25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 Simpson 优势度指数在温育 96 h 无显著变化,但在温育 120,144 和 168 h 时显著降低。第 3 次施用处理后,在同一温育时间下,与 CK 相比,5 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 Simpson 优势度指数无显著变化,10 mg/kg 烯酰吗啉处

理土壤 Simpson 优势度指数在温育 144 和 168 h 显著降低,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 Simpson 优势度指数在温育 120,144,168 h 时显著降低。在第 1 次和第 2 次施用处理后,随着温育时间的延长,各烯酰吗啉处理土壤的 Simpson 优势度指数无明显的变化规律;但是在第 3 次施用处理后,随着温育时间的延长,除 CK 和 5 mg/kg 烯酰吗啉处理外,10,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 Simpson 优势度指数总体降低。随着施用次数的增加,CK 和 5 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 Simpson 优势度指数变化不明显,10,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤在温育 120,144,168 h 时 Simpson 优势度指数总体降低。

表 1 不同含量烯酰吗啉对土壤微生物群落 Simpson 优势度指数的影响
Table 1 Effects of different dimethomorph concentrations on Simpson dominance index

施用次数 Frequency	烯酰吗啉含量/(mg·kg ⁻¹) Content of dimethomorph	温育时间/h Incubation times			
		96	120	144	168
1	0(CK)	0.961±0.031 a	0.963±0.022 a	0.964±0.022 a	0.966±0.038 a
	5	0.967±0.018 a	0.964±0.028 a	0.973±0.029 a	0.967±0.031 a
	10	0.963±0.021 a	0.963±0.036 a	0.966±0.035 a	0.967±0.025 a
	25	0.962±0.017 a	0.966±0.015 a	0.966±0.011 a	0.966±0.036 a
2	0(CK)	0.965±0.045 a	0.964±0.034 a	0.962±0.032 a	0.963±0.031 a
	5	0.967±0.031 a	0.967±0.013 a	0.966±0.014 a	0.967±0.014 a
	10	0.965±0.022 a	0.968±0.036 a	0.964±0.035 a	0.966±0.012 a
	25	0.965±0.023 a	0.956±0.028 b	0.954±0.018 b	0.956±0.026 b
3	0(CK)	0.963±0.012 a	0.963±0.022 a	0.964±0.018 a	0.964±0.042 a
	5	0.967±0.030 a	0.967±0.011 a	0.967±0.011 a	0.966±0.035 a
	10	0.967±0.012 a	0.966±0.036 a	0.951±0.036 b	0.952±0.051 b
	25	0.966±0.036 a	0.952±0.025 b	0.945±0.033 c	0.941±0.045 c

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。表 2 同。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$). The same for table 2.

2.2.3 McIntosh 指数 一般能被利用的碳源种类越多,某些优势明显(碳源利用强度大)的微生物物种群落 McIntosh 指数值越大,常用来衡量群落均一性程度^[24]。由表 2 可知,第 1、2 次施用后,与 CK 相比,5,10 mg/kg 烯酰吗啉处理 McIntosh 指数总体无显著变化,25 mg/kg 烯酰吗啉处理 McIntosh 指数总体显著降低;第 3 次施用后,与 CK 相比,5,10, 25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 McIntosh 指数总体显著降低。第 1、2 次施用后,随着温育时间延长,5, 10,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 McIntosh 指数无明显变化规律;第 3 次施用后,随着温育时间延长, 5,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 McIntosh 指数逐渐增大,而 10 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 McIntosh 指数呈先增大后减小趋势。说明烯酰吗啉的多次施用对土壤均一度产生不同程度的影响,但随着温育时间的延长,影响程度总体减弱。

表 2 不同含量烯酰吗啉对土壤微生物群落 McIntosh 指数的影响
Table 2 Effects of different dimethomorph contents on McIntosh index

施用次数 Frequency	烯酰吗啉含量/(mg·kg ⁻¹) Contents of dimethomorph	温育时间/h Incubation times			
		96	120	144	168
1	0(CK)	1.52±0.008 ab	1.53±0.017 a	1.50±0.025 a	1.52±0.016 ab
	5	1.48±0.016 ab	1.50±0.016 ab	1.52±0.046 a	1.59±0.008 a
	10	1.61±0.005 a	1.52±0.017 ab	1.51±0.005 a	1.49±0.016 ab
	25	1.44±0.010 b	1.45±0.021 b	1.50±0.016 a	1.48±0.021 ab
2	0(CK)	1.50±0.009 ab	1.50±0.012 ab	1.51±0.021 a	1.58±0.021 a
	5	1.49±0.012 ab	1.59±0.008 a	1.52±0.016 a	1.56±0.025 a
	10	1.61±0.016 a	1.45±0.025 b	1.52±0.016 a	1.56±0.029 a
	25	1.23±0.008 c	1.28±0.009 c	1.28±0.012 c	1.34±0.009 bc
3	0(CK)	1.50±0.025 ab	1.50±0.025 ab	1.50±0.017 a	1.49±0.012 ab
	5	1.27±0.029 c	1.39±0.029 bc	1.39±0.005 b	1.41±0.025 b
	10	1.11±0.039 d	1.38±0.012 bc	1.31±0.004 bc	1.28±0.024 c
	25	1.16±0.025 d	1.21±0.092 c	1.21±0.016 c	1.29±0.016 c

2.3 不同含量烯酰吗啉对土壤微生物群落碳源利用的影响

2.3.1 对土壤微生物群落 AWCD 值的影响 AWCD 值反映了土壤微生物的代谢活性^[25],是土壤微生物群落利用碳源的重要指标,其值越大,表明微生物对碳源的利用率越大。由表 3 可知,在第 1 次施用后,与 CK 相比,5,10 mg/kg 烯酰吗啉处理的土壤 AWCD 值无显著变化,表明低含量烯酰吗啉污染对土壤 AWCD 值影响较小;25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤的 AWCD 值总体显著减小,表明高含量烯酰吗啉对土壤 AWCD 值影响明显,对土壤微生物的代谢活性有明显抑制作用。在第 2 次和第 3 次施用后,与 CK 相比,5,10,25 mg/kg 烯酰吗啉处理土壤 AWCD 值总体显著减小,表明随着施用次数的增加,烯酰吗啉对土壤 AWCD 值影响越明显,对土壤微生物代谢活性的抑制作用越强。在同一含量烯酰

吗啉处理下,随着温育时间的延长,土壤的 AWCD 代谢活性的抑制作用减弱。值总体呈增加的趋势,表明烯酰吗啉对土壤微生物

表 3 不同含量烯酰吗啉对土壤微生物群落 AWCD 值的影响
Table 3 Effects of different dimethomorph contents on AWCD value

施用次数 Frequency	温育时间/h Incubation time	烯酰吗啉含量/(mg·kg ⁻¹) Contents of dimethomorph			
		0(CK)	5	10	25
1	24	0.228±0.009 8 a	0.230±0.005 9 a	0.224±0.002 3 a	0.182±0.004 3 b
	48	0.236±0.007 6 b	0.240±0.001 6 ab	0.250±0.003 4 a	0.207±0.006 7 c
	72	0.252±0.015 4 a	0.252±0.019 4 a	0.255±0.008 7 a	0.215±0.007 8 b
	96	0.261±0.015 8 a	0.262±0.026 4 a	0.265±0.004 5 a	0.247±0.004 2 b
	120	0.300±0.024 3 a	0.292±0.032 1 a	0.290±0.014 3 a	0.282±0.032 1 b
	144	0.372±0.034 5 a	0.363±0.014 2 a	0.309±0.021 3 b	0.300±0.034 5 b
	168	0.408±0.048 7 a	0.396±0.032 4 a	0.348±0.042 3 ab	0.311±0.023 4 b
2	24	0.238±0.008 3 a	0.225±0.003 1 a	0.172±0.009 8 b	0.177±0.007 6 b
	48	0.279±0.009 8 a	0.248±0.005 6 b	0.227±0.008 7 c	0.208±0.009 8 d
	72	0.290±0.012 3 a	0.260±0.006 5 b	0.191±0.009 9 c	0.210±0.009 3 c
	96	0.337±0.100 6 a	0.294±0.007 8 b	0.205±0.010 4 c	0.215±0.010 3 c
	120	0.363±0.021 3 a	0.302±0.009 8 b	0.211±0.015 4 c	0.227±0.012 3 c
	144	0.375±0.019 4 a	0.327±0.010 8 b	0.219±0.016 4 d	0.253±0.010 9 c
	168	0.423±0.023 3 a	0.324±0.008 9 b	0.246±0.015 3 c	0.269±0.024 5 c
3	24	0.337±0.009 6 a	0.262±0.009 8 b	0.161±0.012 1 d	0.191±0.001 8 c
	48	0.410±0.009 8 a	0.261±0.013 2 b	0.165±0.012 7 d	0.194±0.010 5 c
	72	0.423±0.010 6 a	0.268±0.010 9 b	0.176±0.017 3 c	0.205±0.023 2 c
	96	0.444±0.013 7 a	0.287±0.014 3 b	0.187±0.018 4 d	0.248±0.019 8 c
	120	0.485±0.017 6 a	0.358±0.016 5 b	0.221±0.019 8 d	0.296±0.037 6 c
	144	0.459±0.019 8 a	0.424±0.017 6 a	0.311±0.020 1 c	0.362±0.032 4 b
	168	0.477±0.020 3 a	0.460±0.019 4 a	0.341±0.019 9 c	0.401±0.023 4 b

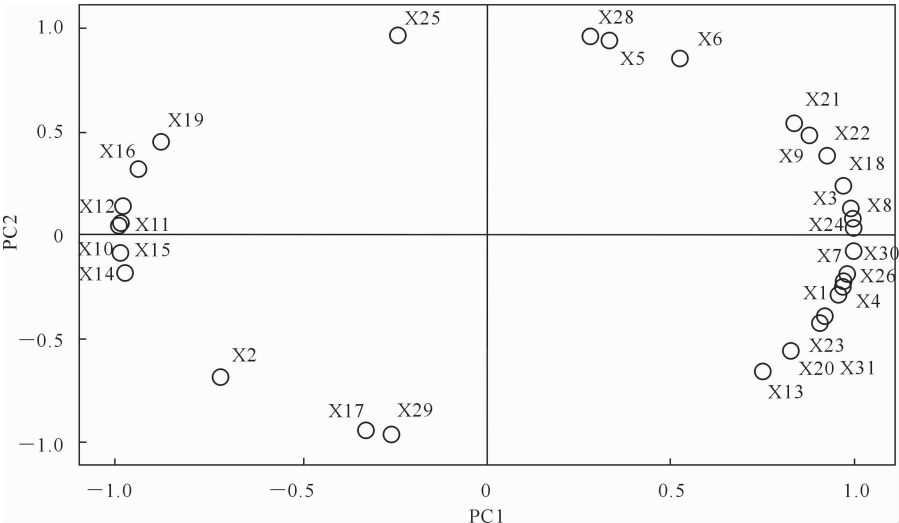
注:同行数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。
Note:Different lowercase letters in same line indicate significant difference ($P<0.05$).

2.3.2 对 6 类碳源利用的影响 表 4 为高频施用烯酰吗啉在温育 96 h 时土壤微生物对 6 类碳源的利用情况。由表 4 可以看出,第 1 次施用处理后,当烯酰吗啉含量为 5 mg/kg 时,土壤微生物对各类碳源利用率差异较小,表明烯酰吗啉对土壤微生物多样性影响较小;当烯酰吗啉含量为 10,25 mg/kg 时,土壤微生物对羧酸利用率较其他碳源明显升高。第 2 次施用处理后,与烯酰吗啉含量为 5 mg/kg 相比,当烯酰吗啉含量为 10,25 mg/kg 时,土壤微生物对碳水化合物、氨基酸以及酚酸类碳源利用率均上升,而羧酸类碳源利用率均下降。第 3 次施用处理后,与第 2 次施用处理相比,5,10,25 mg/kg 烯酰吗啉处理后,土壤微生物对碳水化合物利用率均明显增大,占 AWCD 的比例分别达到 28.36%,28.09%,28.54%;土壤微生物对酚酸、羧酸、氨基酸类碳源利用率均降低,其中对酚酸类碳源利用率降低幅度更明显。在整个施用处理过程中,土壤微生物对多聚物和胺类碳源利用率的变化幅度总体较小。

表 4 不同含量烯酰吗啉处理土壤温育 96 h 后微生物对 6 类碳源利用率占 AWCD 的比例
Table 4 The ratios of six carbon source utilization rates to AWCD 96 h after treatments with different dimethomorph concentrations

碳源种类 Type	施用 1 次 Spraying 1 time			施用 2 次 Spraying 2 times			施用 3 次 Spraying 3 times		
	5 mg/kg	10 mg/kg	25 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	25 mg/kg	5 mg/kg	10 mg/kg	25 mg/kg
碳水化合物 Carbohydrates	17.51	17.22	16.20	19.48	22.57	23.54	28.36	28.09	28.54
氨基酸 Amino acids	17.11	17.60	16.12	17.56	18.95	16.36	16.45	16.03	15.53
多聚物 More polymer	16.93	15.85	23.30	17.15	15.14	19.98	16.44	15.77	19.31
酚酸 Phenolic acids	16.33	16.69	16.00	15.48	14.14	12.57	10.07	11.04	10.34
羧酸 Carboxylic acid	16.04	19.21	13.92	14.48	13.89	12.24	14.80	13.51	10.48
胺类 Amine	16.08	13.43	14.45	15.85	15.31	15.31	13.89	15.56	15.80

2.3.3 对 31 种碳源利用的主成分分析 图 3~5 育 96 h 微生物碳源利用情况的 PCA 结果。分别为 5,10,25 mg/kg 烯酰吗啉 3 次施入土壤后温



X1~X31 分别为丙酮酸甲酯、吐温 40、吐温 80、 α -环糊精、肝糖、D-纤维二糖、 α -D-乳糖、 β 甲基 D-葡萄糖苷、D-木糖、L-赤藻糖醇、D-甘露醇、N-乙酰基-D-葡萄糖胺、D-葡萄糖胺、葡萄糖-1-磷酸盐、D,L- α -甘油、D-半乳糖内酯、D-半乳糖醛酸、2-羟苯甲酸、4-羟基苯甲酸、 γ -羟基丁酸、衣康酸、 α -丁酮酸、D-苹果酸、L-精氨酸、L-天冬酰胺酸、L-苯基丙氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸、甘氨酸-L-谷氨酸、苯乙基胺、腐胺。下同
X1—X31:Pyruvic acid methyl ester,Tween 40,Tween 80, α -cyclodextrin,Glycogen,D-Cellobiose, α -D-lactose, β -methyl-D-glucoside,D-xylose,L-erythritol,D-mannitol,N-acetyl-D-glucosamine,D-galactonic acidy-lactone,Glucose-1-phosphate,D,L- α -glycerol phosphate,D-galacturonic acid,D-galacturonic acid,2-hydroxy benzoic acid,4-hydroxy benzoic acid, γ -hydroxybutyric acid,Itaconic acid, α -ketobutyric acid,D-malic acid,L-arginine,L-asparagine,L-phenylalanine,L-serine,L-threonine,Glycyl-L-glutamic acid,Phenylethyl-amine,Putrescine. The same below

图 3 5 mg/kg 烯酰吗啉施用 3 次处理土壤温育 96 h 的微生物碳源利用 PCA 结果

Fig. 3 PCA analysis of utilization of soil microbial carbon sources 96 h after 3 applications of 5 mg/kg dimethomorph

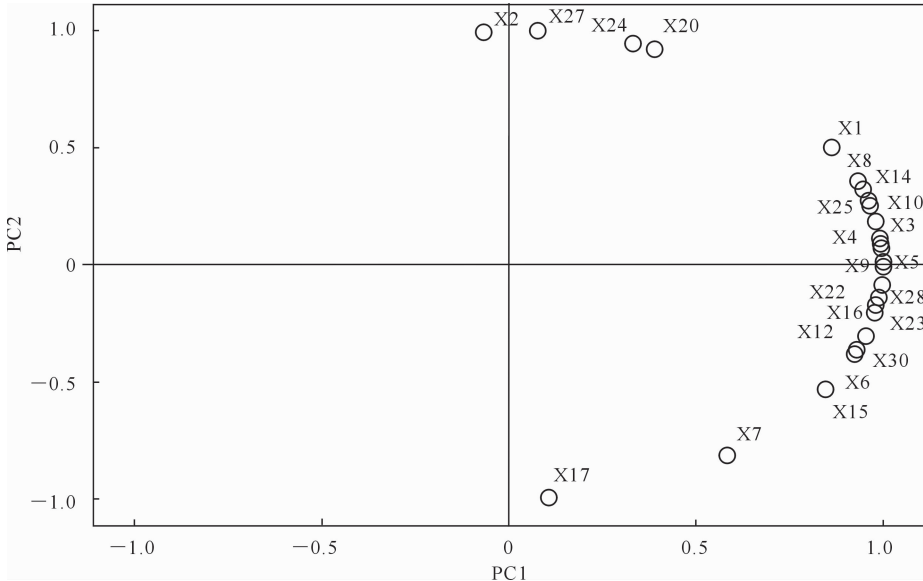


图 4 10 mg/kg 烯酰吗啉施用 3 次处理土壤温育 96 h 的微生物碳源利用 PCA 结果

Fig. 4 PCA analysis of utilization of soil microbial carbon sources 96 h after 3 applications of 10 mg/kg dimethomorph

由图 3 可知,烯酰吗啉含量为 5 mg/kg 时,PCA 分析共提取了 2 个主成分,即 PC1 和 PC2,二者的累积方差贡献率为 100%,其中 PC1 的累积方

差贡献率为 73.396%,水平上分布了 25 种碳源,其中碳水化合物 10 种,氨基酸类和多聚物各 3 种,羧酸类 5 种,酚酸和胺类各 2 种;PC2 上分布了 6 种碳

源。

图 4 显示,烯酰吗啉含量为 10 mg/kg 时,PCA 分析共提取了 PC1 和 PC2 2 个主成分,二者的累积方差贡献率为 100%,其中 PC1 的累积方差贡献率为 77.831%,水平上分布了 25 种碳源,其中碳水化合物 10 种,氨基酸和羧酸类各 4 种,多聚物 3 种,酚酸和胺类各 2 种;PC2 水平上分布了 6 种碳源。

图 5 显示,烯酰吗啉含量为 25 mg/kg 时,PCA

分析共提取出 PC1 和 PC2 2 个主成分,二者的累积方差贡献率为 100%,PC1 和 PC2 分别反映了碳源变异的 61.328%和 38.672%,其中 PC1 水平上分布了 20 种碳源,包括碳水化合物 8 种,氨基酸 6 种,羧酸和胺类各 2 种,酚酸和多聚物各 1 种;PC2 水平上分布了 11 种碳源。说明施用烯酰吗啉后明显改变了土壤微生物的碳源利用方式以及土壤微生物群落结构。

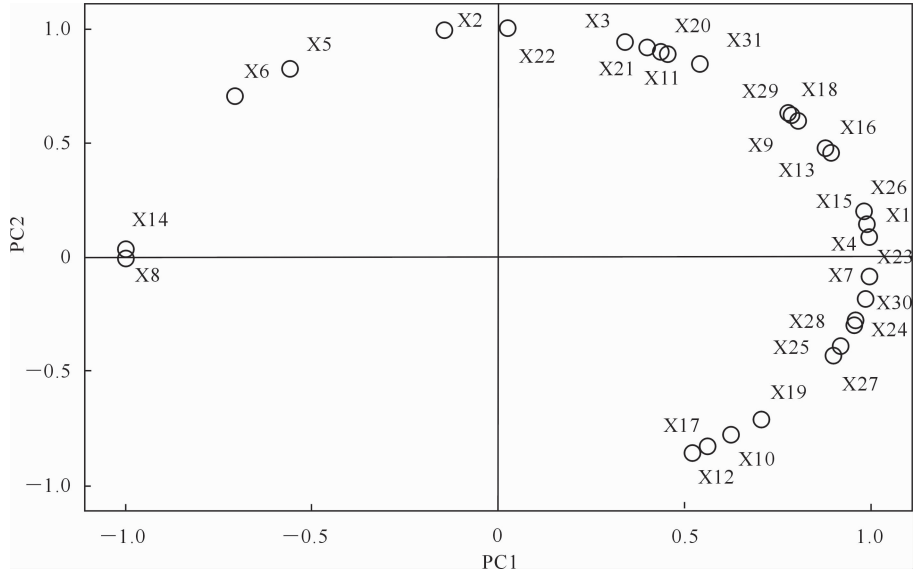


图 5 25 mg/kg 烯酰吗啉施用 3 次处理土壤温育 96 h 的微生物碳源利用 PCA 结果

Fig. 5 PCA analysis of utilization of soil microbial carbon sources 96 h after 3 applications of 25 mg/kg dimethomorph

3 讨 论

本研究结果表明,施用 7 d,低含量(5 mg/kg)烯酰吗啉对土壤呼吸强度有一定促进作用,高含量(10~25 mg/kg)烯酰吗啉对土壤呼吸强度有抑制作用。随着施用时间的延长,与 CK 相比,烯酰吗啉对土壤呼吸总体有明显的抑制作用。Chen 等^[26]发现,杀菌剂对土壤呼吸强度的抑制程度可达到 30%~50%,Silva 等^[27]发现这种抑制作用不超过 50%。本研究中,在试验恢复期,5~25 mg/kg 烯酰吗啉对土壤呼吸强度的抑制作用一直存在,其原因可能是杀菌剂的长期高频施用对土壤微生物存在一定的毒害作用,抑制了土壤微生物活动,甚至杀死土壤微生物,从而导致土壤呼吸强度减弱。

本研究中,前两两次施用 5,10 mg/kg 烯酰吗啉后对土壤微生物多样性指标影响不显著;第 3 次施用 5,10 mg/kg 烯酰吗啉后,随着土壤中烯酰吗啉的积累,Shannon 物种丰富度指数和 McIntosh 指数与 CK 相比总体显著降低,而 Simpson 优势度指数无显著变化。表明多次施用低含量烯酰吗啉累积对

土壤微生物群落物种丰富度以及均一度存在不同程度的抑制作用。这与 Yu 等^[28]和王秀国等^[29]的研究结果类似。不论是第 1 次、第 2 次施用还是第 3 次施用,与 CK 相比,25 mg/kg 含量的烯酰吗啉处理土壤 Shannon 物种丰富度指数、Simpson 优势度指数以及 McIntosh 指数总体显著降低。可见,不论施用几次,高含量烯酰吗啉对土壤微生物的胁迫作用明显,微生物多样性受到显著抑制,这与张超等^[30]的结论一致。其原因可能是高含量烯酰吗啉杀死了土壤真菌,使土壤微生物数量减少,增加了细菌的代谢活性,相应地降低了病原真菌以及真菌分泌物带来的影响。

本研究中,在第 1 次施用后,低含量(5,10 mg/kg)烯酰吗啉污染对土壤 AWCD 值影响较小,高含量(25 mg/kg)烯酰吗啉对土壤 AWCD 值影响明显,对土壤微生物的代谢活性有明显抑制作用;在第 2 次和第 3 次施用后,与 CK 相比,无论是低含量还是高含量,烯酰吗啉处理土壤 AWCD 值总体显著减小,烯酰吗啉对土壤微生物代谢活性的抑制作用增强。本研究结果表明,施用烯酰吗啉改变了土壤

微生物利用碳源的能力及土壤微生物群落结构;随着施用次数的增加,土壤微生物对碳水化合物等碳源的利用率逐渐增加,对羧酸和酚酸类碳源的利用率逐渐下降,表明烯酰吗啉的施用明显影响了土壤微生物群落的碳源利用方式。邵元元等^[31]证实了百菌清对某些单一碳源代谢具有明显的抑制作用。Ibekwe 等^[32]研究证实,土壤熏蒸剂能够显著改变土壤微生物群落的功能多样性。其原因是碳水化合物类碳源能够直接参与到微生物的生命活动中,更容易被利用。同时,被杀死的细菌和真菌也可作为碳源促进土壤其他微生物的生长。

4 结 论

- 1) 烯酰吗啉对土壤呼吸强度总体有明显的抑制作用,且其含量越高、施用次数越多,抑制作用越强。
- 2) 多次施用低含量(5, 10 mg/kg)烯酰吗啉累积对土壤微生物群落物种丰富度以及均一度存在不同程度的抑制作用;而高含量(25 mg/kg)烯酰吗啉不论施用几次,均会对土壤微生物群落多样性产生显著的抑制作用。
- 3) 在第 1 次施用后,只有高含量(25 mg/kg)烯酰吗啉对土壤 AWCD 值影响明显,对土壤微生物的代谢活性有明显抑制作用;在第 2 次和第 3 次施用后,无论是低含量(5, 10 mg/kg)还是高含量(25 mg/kg),烯酰吗啉处理土壤 AWCD 值总体显著减小,表明其对土壤微生物代谢活性的抑制作用显著增强。
- 4) 施用烯酰吗啉影响了土壤微生物碳源利用方式和土壤微生物群落结构,其中土壤微生物对碳水化合物类碳源利用率明显增大。

[参考文献]

[1] 李东坡,武志杰,梁成华,等. 设施土壤生态环境特点与调控[J]. 生态学杂志,2004,23(5):192-197.
Li D P, Wu Z J, Liang C H, et al. Characteristics and regulation of greenhouse soil environment [J]. Chinese Journal of Ecology, 2004, 23(5):192-197.

[2] 尹可锁,吴文伟,郭志祥,等. 保护地蔬菜病虫害发生及土壤农药残留污染状况 [J]. 云南大学学报,2008,30(S1):174-177.
Yin K S, Wu W W, Guo Z X, et al. Protect the vegetable plant diseases and insect pests and the status of the soil polluted by pesticide residues [J]. Journal of Yunnan University, 2008, 30(S1):174-177.

[3] 郑肖兰,傅 帅,郑服从,等. 植物病原菌抗药性研究进展 [J]. 热带农业科学,2011,31(1):86-90.
Zheng X L, Fu S, Zheng F C, et al. Research advances on fungi-

cide resistance in plant pathogens [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2011, 31(1):86-90.

[4] 朱书生,卢晓红,陈 磊,等. 羧酸酰胺类(CAAS)杀菌剂研究进展 [J]. 农药学学报,2010,12(1):1-12.
Zhu S S, Lu X H, Chen L, et al. Research advances in carboxylic acid amide fungicides [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2010, 12(1):1-12.

[5] 汪志新,李菲里,何岸飞,等. 百菌清和毒死蜱在大棚番茄中的分布与降解特征 [J]. 农业环境科学学报,2011,30(6):1076-1081.
Wang Z X, Li F L, He A F, et al. The distribution and degradation of chlorthalonil and chlorpyrifos in tomatoes in greenhouse [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(6):1076-1081.

[6] 朴秀英,陶传江,姜 辉,等. 烯酰吗啉顺反异构体在土壤中的降解动态研究 [J]. 农药学学报,2011,13(2):169-173.
Piao X Y, Tao C J, Jiang H, et al. Study on degradation dynamics of Z-and E-isomers of dimethomorph in soils [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2011, 13(2):169-173.

[7] 罗艺霖,李贤伟,张良辉. 环境因子对林地土壤微生物影响的研究进展 [J]. 四川林业科技,2013,34(5):19-24.
Luo Y L, Li X W, Zhang L H. Advances in researches on effect of environmental factors on soil microbes [J]. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology, 2013, 34(5):19-24.

[8] 党 雯,郇春花,张 强,等. BIOLOG 法测定土壤微生物群落功能多样性预处理方法的筛选 [J]. 中国农学通报,2015,31(2):153-158.
Dang W, Gao C H, Zhang Q, et al. Screening of preprocessing methods of BIOLOG for soil microbial community functional diversity [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(2):153-158.

[9] Zhang C P, Xu J, Liu X G, et al. Impact of imazethapyr on the microbial community structure in agricultural soils [J]. Chemosphere, 2010, 81(6):800-806.

[10] Quaak F C A, Kuiper I. Statistical data analysis of bacterial t-RFLP profiles in forensic soil comparisons [J]. Forensic Science International, 2011, 210(1/2/3):96-101.

[11] Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria [J]. Ecology, 2007, 88(6):1354.

[12] 魏书精,罗碧珍,魏书威,等. 森林生态系统土壤呼吸测定方法研究进展 [J]. 生态环境学报,2014,23(3):504-514.
Wei S J, Luo B Z, Wei S W, et al. Methods of measuring of soil respiration in forest ecosystems: a review [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2014, 23(3):504-514.

[13] 柴 曦,梁存柱,梁茂伟,等. 内蒙古草甸草原与典型草原地下生物量与生产力季节动态及其碳库潜力 [J]. 生态学报,2014,34(19):5530-5539.
Chai X, Liang C Z, Liang M W, et al. Seasonal dynamics of belowground biomass and productivity and potential of carbon sequestration in meadow steppe and typical steppe in Inner Mongolia China [J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(19):5530-5539.

- [14] 孔凡彬,徐瑞富,谢国红,等. 烯酰吗啉对土壤微生物的安全性评价 [J]. 湖北农业科学,2010,49(4):848-850.
Kong F B,Xu R F,Xie G H,et al. Effects of dimethomorph on respiration of microbe and its security evaluation [J]. Hubei Agricultural Sciences,2010,49(4):848-850.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京:中国农业出版社,2000.
Bao S D. Soil agricultural chemistry analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press,2000.
- [16] Classen A T,Boyle S I,Haskins K E,et al. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi:plate type and incubation temperature influences on contrasting soils [J]. Fems Microbiology Ecology,2003,44(3):319-328.
- [17] Li H,Li Rossi,Federico. Differentiation of microbial activity and functional diversity between various biocrust elements in a heterogeneous crustal community [J]. Catena,2016,147:138-145.
- [18] 刘根林,戚金亮,喻德越,等. 根际箱种植富含硫氨基酸转基因大豆对土壤硫转化酶活性及微生物功能多样性的影响 [J]. 农业环境科学学报,2014,33(1):103-110.
Liu G L,Qi J L,Yu D Y,et al. Effects of sulfur amino acids-rich transgenic soybean on sulfur transforming enzyme activity and micro-bial functional diversity in soil [J]. Journal of Agro-Environment Science,2014,33(1):103-110.
- [19] 时 鹏,高 强,王淑平,等. 玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性的影响 [J]. 生态学报,2010,30(22):6173-6182.
Shi P,Gao Q,Wang S P,et al. Effects of continuous cropping of corn and fertilization on soil microbial community functional diversity [J]. Acta Ecologica Sinica,2010,30(22):6173-6182.
- [20] Shannon C E. A mathematical theory of communication [J]. AcmSIGMOBILE Mobile Computing and Communications Review,2001,5(1):3-55.
- [21] Grove J A,Kautola H,Javadpour S,et al. Assessment of changes in the microorganism community in a biofilter [J]. Biochemical Engineering Journal,2004,18(2):111-114.
- [22] Li L,Liu M,Li Y L. Changes in dissolved organic matter composition and metabolic diversity if bacterial community during the degradation of organic matter in swine effluent [J]. Environmental Science and Pollution Research,2016,23(13):13498-13507.
- [23] 董立国,蒋 齐,蔡进军,等. 基于 BIOLOG ECO 技术不同退耕年限苜蓿地土壤功能微生物多样性分析 [J]. 干旱区研究,2011,28(4):630-637.
Dong L G,Jiang Q,Cai J J,et al. Analysis on functional diversity of edaphon communities in *Medicago sativa* fields of different growth years based on BIOLOG-ECO plates [J]. Arid Zone Research,2011,28(4):630-637.
- [24] 徐秋芳,姜培坤,邬奇峰,等. 集约经营板栗林土壤微生物量碳与微生物多样性研究 [J]. 林业科学,2007,43(3):15-19.
Xu Q F,Jiang P K,Wu Q F,et al. Effects of intensive management on soil microbial biomass and functional diversity in *Castanea mollissima* stands [J]. Scientia Silvae Sinicae,2007,43(3):15-19.
- [25] Howard P J A. Analysis of data from BIOLOG plates: comments on the method of garland and mills [J]. Soil Biology and Biochemistry,1998,29(11/12):1755-1757.
- [26] Chen S K,Edwards C A,Subler S. Effects of the fungicides benomyl,captain and chlorothalonil on soil microbial activity and nitrogen dynamics in laboratory incubations [J]. Soil Biology and Biochemistry,2001,33(14):1971-1980.
- [27] Silva J P,Sousa S,Rodrigues J. Adsorption of acid orange 7 dye in aqueous solutions by spent brewery grains [J]. Separation and Purification Technology,2004,40(3):309-315.
- [28] Yu Y L,Chu X Q,Pang G H. Effects of repeated applications of fungicide carbendazim on its persistence and microbial community in soil [J]. Journal of Environmental Sciences,2009,21(2):179-185.
- [29] 王秀国,王一奇,严 虎,等. 多菌灵重复施用对其持久性及土壤微生物群落功能多样性的影响 [J]. 土壤学报,2010,47(1):131-137.
Wang X G,Wang Y Q,Yan H,et al. Effects of repeated application of carbendazim on its persistence and diversity of soil microbial community under field conditions [J]. Acta Pedologica Sinica,2010,47(1):131-137.
- [30] 张 超,朴东欣,张 鑫,等. 棉隆对辣椒疫霉病的防治及对土壤微生物群落的影响 [J]. 植物保护学报,2015,42(5):834-840.
Zhang C,Piao D X,Zhang X,et al. Effects of dazomet on *Phytophthora capsici* and microbial communities in the field trials [J]. Journal of Plant Protection,2015,42(5):834-840.
- [31] 邵元元,王志英,邹 丽,等. 百菌清对落叶松人工防护林土壤微生物群落的影响 [J]. 生态学报,2011,31(3):819-829.
Shao Y Y,Wang Z Y,Zou L,et al. Effect of chlorothalonil on soil microbial communities of *Larix artificial* shelter-forest [J]. Acta Ecologica Sinica,2011,31(3):819-829.
- [32] Ibekwe A M,Papiernik S K,Gan J,et al. Impact of fungicides on soil microbial communities [J]. Applied and Environmental Microbiology,2001,67(7):3245-3257.