

四、结 束 语

综上所述,可得出下面几点粗浅的看法。

(一) 元素的地球化学特性、沉积物类型及各颗粒组的物质成分是诸元素在本区沉积物各颗粒组中含量分配的主要影响因素。其中沉积物类型的影响较为显著,反映上述元素以自然源为主的特征。

(二) 沉积物中植物碎屑作为 Cu、Pb、Mn 的富集体和搬运载体对本区沉积物中 Cu、Pb、Mn 的富集和含量分布有明显的影

响。

(三) 本区沉积物中的生物残体对 Cr、Ti、V 三个元素富集不明显。而 Cr、Ti 在

粒径 $<0.04\text{mm}$ 的 III 组中相对较为富集。

(四) 根据上述元素在沉积物中的含量分布、悬浮物中的含量情况以及各颗粒组中含量分配特征,目前九龙江口沉积物中重金属以自然来源为主,还看不出人为污染的影响。

参 考 文 献

- [1] Filipek, L. H. and Own, R. M., *Chem. Geol.*, **26**, (1/2), 105(1979).
- [2] Dossis, P. and L. J. Warren, *Environ. Sci. Technol.*, **15**(12), 1451—1455(1981).
- [3] 康纳, J. J. 沙克立特, M. T., (王景升等译), 美国大陆某些岩石、土壤、植物及蔬菜的地球化学背景值, 科学出版社, 1980 年。

有机氯农药六六六对固氮微生物的影响

陆娟子 罗清修 成放晴* 叶汉迟*

(中国科学院武汉病毒研究所)

六六六的施用对土壤固氮微生物的影响,在我国报道较少。国外有人曾研究过有机氯农药对土壤微生物的影响。Fletcher 和 Bollen^[1]用 200 和 1000 ppm 的艾氏剂处理土壤后,土壤细菌增加;Horn^[2]用艾氏剂以 250 ppm 处理土壤,细菌数量无变化。他还发现,用 50ppm 的氯丹处理土壤,细菌的数量增加;Eno 和 Everett^[3]把包括氯丹的十种有机氯农药以 12.5、50、100ppm 浓度处理土壤,细菌数量无变化;Wilson 和 Choughri^[4]以 2% 的 DDT 处理土壤,发现它对豆科植物根瘤的形成无影响。在涂有农药的琼脂斜面上根瘤长势良好,但据 Payne 和 Fuhs^[5]研究,每放施 103 磅 DDT,豆科植物根瘤减少,有些作者将六六六加到琼脂培养基里,结果有的细菌被抑制而有的反而刺激生长。

本试验旨在探讨农药对固氮微生物及土

壤肥力的影响。

材 料 与 方 法

一、菌种和培养基

试验所用菌种来源及培养基见表 1。

二、六六六农药及处理

六六六的 α 、 β 、 γ 及 δ 四个异构体采用含量为 90—99% 的纯标准品。工业品原粉为各种异构体的混合物,含六六六约 70%,以无水酒精作溶剂,配成一定浓度的六六六酒精液,对培养基进行处理。

1. 苹果酸钠半固体和液体培养基的处理

把 3 毫升的半固体培养基和 9 毫升的液体培养基分别装入 8 毫升的血清瓶和 18×18 毫米的试管中,以 15 磅灭菌,然后用 50 微升

* 华中农学院实习生。

本实验得到王子芳、周亿闰等同志协助,特此致谢。

表 1 菌种来源及培养基

固氮菌 作用类型	菌 种	来源处	生长培养基
联合固氮	<i>Spirillum lipoferum</i> 99	中国科学院 武汉病毒研究所 固氮组	Döbereiner 氏 的苹果酸钠半 固体无氮培养 基*
自生固氮	<i>Azotobacter vinelandii</i> UW	威斯康星大学 〔美〕 细菌系	修改的 Burk 无氮培养基
共生固氮 (快生型)	<i>Rhizobium astragali</i> 106	华中农学院 固氮研究室	BHY 培养基
共生固氮 (慢生型)	<i>Rhizobium japonicum</i> JM-31	华中农学院提供 的美国菌种	RGY 培养基

* 固体和液体要加入 0.04% 的酵母汁。

的微量注射器注入一定量的六六六，使其在培养基中的最终浓度分别为 10、(20)、30、50、70、100ppm (为消除溶剂量不等的影响，在各浓度中应作相应地补充)。摇匀后置 30℃ 恒温箱中一天，使农药、酒精和培养基充分混合。

2. 修改的 Burk 半固体及液体培养基的处理

培养基以 8 磅灭菌后同上方法处理，使六六六在培养基中的最终浓度分别为 10、50、100、150、200、250 和 300ppm。

3. RHY 液体培养基的处理
处理方法同 1，处理浓度同 2。

4. RGY 固体培养基的处理

将试管培养基溶解后于 45℃ 左右用药处理，摇匀、摆斜面，其他同 2。

三、菌数的测定

在含农药的液体培养基接入 1 毫升菌悬液，摇匀，置 30℃ 培养。*Spirillum lipoferum* 99 培养 5 天，*A. vinelandii* UW 及 *R. astragali* 106 培养 3 天。取 1 毫升按常规的混菌稀释平板法测菌数。

四、固氮酶活力的测定

1. *S. lipoferum* 99 和 *A. vinelandii* UW

用半固体培养测酶活力^[6]。在含有农药的培养基里接入 1 滴新鲜菌液，摇匀，30℃ 下 99 号菌株培养 48 小时，UW 号菌株培养 15 小时，换上胶塞，注入 0.8 毫升乙炔转化 1 小时，用 0.25 毫升的注射器将样吸满刻度，在气相色谱仪上测定在固氮酶作用下乙炔还原成乙烯的数量，以表示酶活，单位用乙烯毫微克分子/瓶/小时。气相色谱仪系国产 102G 型，柱长 1 米，内径 0.4 毫米，固定相为 GD × 502，氢焰离子化鉴定器。

2. *R. japonicum* JM-31 用固体培养测酶活力

在含农药的斜面上接新鲜菌液 0.2 毫升，摇匀，30℃ 培养 9 天，换胶塞，注入乙炔 3 毫升，转化 1 天，于气相色谱仪上测乙烯产量，单位用乙烯毫微克分子/瓶/天。

结 果 与 讨 论

一、六六六对联合固氮菌-含脂刚螺菌 (*Spirillum lipoferum* 99) 的影响

以六六六对此菌进行了菌数、固氮酶活力及培养特征影响的试验。结果表明，较低浓度下，六六六对 99 菌株的酶活与生长数量就有明显的影响。六六六的各种异构体及工业品原粉对菌体的作用强度又各有不同 (图 1、图 2、表 2)。

从图 1、图 2 可以看出：六六六对酶活的抑制强度依次为：工业品 $> \delta > \alpha > \gamma > \beta$ ；对细菌生长抑制强度依次为： $\delta > \gamma > \text{工业品} > \alpha > \beta$ 。这说明酶活的降低并不完全因菌数减少所致。因此，我们认为六六六不仅能抑制菌数的增长，而且对 99 菌株的固氮酶活力具有直接的影响。

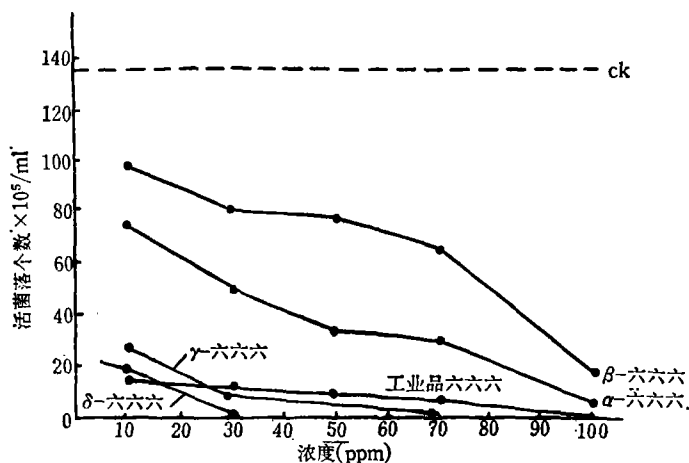
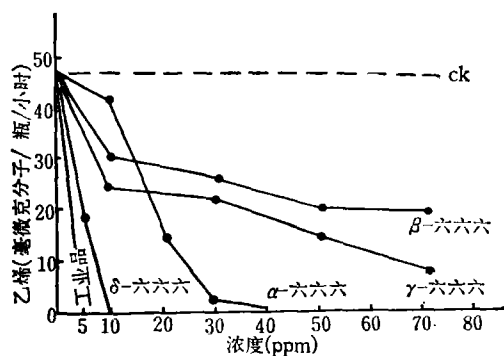
根据 Fitzhush^[7]报道，在动物体内六六六的毒性依次是 $\beta > \alpha > \gamma > \delta$ 。然而对 99 菌株生长抑制力依次为 $\delta > \gamma > \alpha > \beta$ 。因此认为六六六异构体的毒性依作用对象不同而异。

六六六工业原粉对 99 菌株影响较大，在 5ppm 时，就测不出该菌的固氮酶活，而对照

表 2 99 菌株在 Döberiner 液体培养基中产碱与长膜情况

农药及浓度 (ppm)	B.T.B. 转色	长膜	农药及浓度 (ppm)	B.T.B. 转色	长膜	农药及浓度 (ppm)	B.T.B. 转色	长膜	备 注
CK	+++	+++							99 菌株在生长过程中能产碱从而使培养液中的 B. T. B 转变成蓝色
工业品:			β -BHC:			δ -BHC:			
10	+++	+++	10	+++	+++	5	++	+	
30	+++	++	30	+++	+++	10	+	-	
50	+++	++	50	+++	++	20	+-	-	
70	++	+	70	+++	++	30	+-	-	
100	+-	-	100	++	+	50	-	-	
α -BHC:			γ -BHC:						
10	+++	+++	10	+++	+				
30	+++	++	30	++	-				
50	+++	++	50	+	-				
70	+++	+	70	+-	-				
100	++	+-	100	-	-				

* +++: 强 ++: 中 +: 弱 -: 无.

图 1 六六六工业原粉及四个异构体对 *Spirillum lipoferum* 99 数量的影响图 2 六六六工业原粉及四个异构体对 *Spirillum lipoferum* 99 固氮酶活力的影响

样酶活却较高(73.56 毫微克分子/瓶/小时)。

本试验中,产碱与长膜试验的观察结果与菌数测定结果相符,这更进一步证明 99 菌株的数量与农药的浓度呈负相关。

二、六六六对自生固氮菌——棕色固氮菌 (*Azotobacter vinelandii* UW) 的影响

六六六大约在 150ppm 时才开始对此菌的数量及酶活发生影响,酶活比对照下降 27%,菌数下降 61%(图 3、图 4)。

10ppm 时此菌的数量比对照略高,增长 3%。这进一步证明,在较低浓度范围内,六

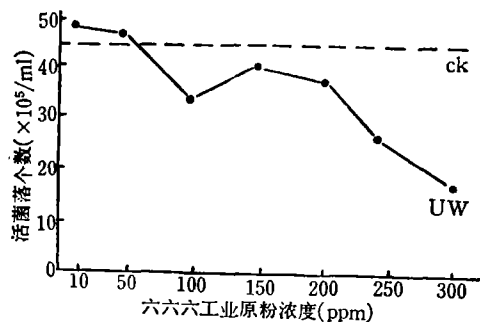


图3 六六六工业原粉对 *Azotobacter vinelandii* UW 菌数的影响

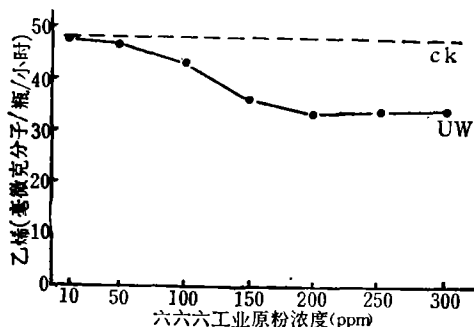


图4 六六六工业原粉对 *Azotobacter vinelandii* UW 固氮酶活力的影响

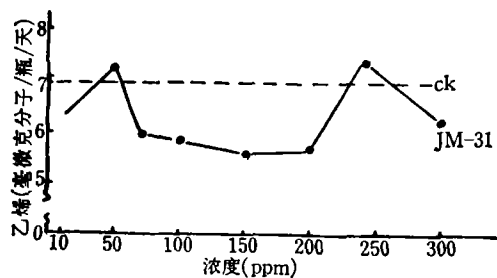


图5 六六六工业原粉对 *Rhizobium japonicum* JM-31 固氮酶活力的影响

六六六对此菌的酶活与数量并无明显的影响。但是随着浓度的升高,六六六对此菌的影响也会有所增强。

三、六六六对共生固氮菌——根瘤菌 (*Rhizobium astragali* 106 及 *Rhizobium japonicum* JM-31) 的影响

用紫云英根瘤菌 (*Rhizobium astragali* 106) 作菌数测定,用大豆根瘤菌 (*Rhizobium japonicum* JM-31) 作酶活测定,得出如下结

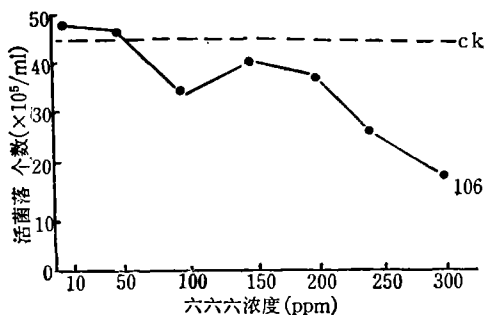


图6 六六六工业原粉对 *Rhizobium astragali* 106 数量的影响

果: 六六六在较低浓度下对它们影响不大, JM-31 菌株在 300ppm 时, 酶活仅降低 4%, 而在 50ppm 和 250ppm 时, 却分别增加 3% 和 5% (图 5)。

在对 106 菌株的测数中, 当六六六为 250 ppm 时, 菌数才有较明显的下降 (约 40%, 见图 6)。

与此同时, 对花生根瘤菌 009 菌株做过一次酶活影响的测定, 其结果与大豆根瘤菌 JM-31 的结果基本相同。

综上所述, 六六六对固氮微生物影响的大小依农药型号、农药结构、处理浓度和微生物种类的不同而异。根据一般土壤六六六残留量多在 1ppm 以下而论, 在普通耕作条件下, 土壤中六六六残留对上述几种固氮菌的生长和固氮作用不会引起明显的影响。

参 考 文 献

- [1] Fletcher, D. W. and Bollen, W. B., *Appl. Microbiol.*, **2**, 349 (1954).
- [2] Horn, G. C., *Soil Sci. Soc. of Florida Proc.*, **12**, 62—67 (1952).
- [3] Eno, C. F. and Evertett, P. H., *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, **22**, 235 (1958).
- [4] Wilson, J. K. and Choudhri, R. S., *J. Econ. Entomol.*, **39**, 573 (1946).
- [5] Payne, M. G. and Fults, J. L. *Some Jour. Amer. Soc. Agron.*, **39**, 52—55 (1947).
- [6] 湖北省微生物研究所生物固氮组, *微生物学报*, **19** (2), 160—165 (1979).
- [7] 《农药残留影响及其测定方法》, 4 页, 上海科学技术文献出版社, 1980 年。