几种典型除草剂对冬麦田 N₂O 排放 及其相关土壤生化因子的影响

陈林梅,孙青,陈玲,蒋静艳*

(南京农业大学资源与环境科学学院,南京 210095)

摘 要:通过田间原位观测试验,研究了几种典型除草剂单/混施对冬麦田 N₂O 排放及其土壤生化因子的影响。结果表明:在除草剂施用后的 10 d 内,乙草胺和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵都显著抑制了 N₂O 的排放(P<0.05),其 N₂O 排放通量均值较对照降低了50%左右,精噁唑禾草灵和苯磺隆处理 N₂O 排放通量均值分别比对照减少 28.6%和 26.0%,但未达到显著水平(P>0.05);在余下的测定期内,乙草胺、苯磺隆、精噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵对麦田 N₂O 排放都无显著影响,其 N₂O 排放通量均值分别为对照的 95.3%、101.8%、92.5%和 88.7%。乙草胺对土壤脲酶活性一直有激活作用(P<0.05),精噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵表现为抑制激活交替作用,而苯磺隆对土壤脲酶活性基本无影响。在除草剂施用后的 10 d 内,N₂O 排放通量与土壤水分 WFPS (P<0.01)、土壤反硝化细菌数量(P<0.01)以及土壤氨氧化细菌数量(P<0.05)呈显著正相关关系,与可溶性有机碳含量呈显著负相关关系(P<0.05),与土壤硝化细菌、土壤硝态氮和铵态氮含量以及脲酶活性无显著相关关系(P>0.05)。乙草胺和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵能显著降低麦田 N₂O 的排放,主要源于明显降低了土壤中反硝化细菌数量,混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵还明显降低了氨氧化细菌数量。苯磺隆和精噁唑禾草灵对麦田 N₂O 排放无显著影响,主要是对氨氧化细菌和反硝化细菌表现为促进抑制的交替作用。关键词:乙草胺;苯磺隆;精噁唑禾草灵;N₂O 排放;硝化反硝化

中图分类号: X171.5 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2014)07-1450-10 doi:10.11654/jaes.2014.07.028

Effects of Herbicides on N₂O Emissions and Soil Biochemical Parameters in Winter-Wheat Field

CHEN Lin-mei, SUN Qing, CHEN Ling, JIANG Jing-yan*

(College of Resource and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract; Research has shown that herbicides may inhibit non-target soil microbes and their biochemical processes. Here we conducted an experiment to examine the effects of herbicide applications on N_2O emissions and related biochemical parameters in a winter—wheat soil. Applying acetochlor(AC) and tribenuron—methyl(TBM) and fenoxaprop—P-ethyl(FE) mixture significantly decreased N_2O emissions by approximately 50% in the first ten days following herbicides application(P<0.05), while fenoxaprop—P-ethyl(FE) or tribenuron—methyl (TBM) alone reduce N_2O emissions by 28.6% and 26.0%, respectively, compared to the control, but they were not statistically significant (P>0.05). For the remaining sampling days, AC, TBM, FE and TBM+ FE all had no significant effects on N_2O emissions. The average N_2O flux was respectively 95.3%, 101.8%, 92.5% and 88.7% of the control. Soil urease activity was always enhanced by AC during measurement period(P<0.05), while was inhibited initially but stimulated afterwards by FE or TBM+ FE. TBM did not influence urease activity(P>0.05). In the first ten days of herbicide application, N_2O fluxes were correlated positively with soil water-filled pore space(WFPS), denitrifying bacteria(DNB)(P<0.01) and ammonia—oxidizing bacteria (AOB)(P<0.05), but negatively with soil dissolved organic carbon(DOC)(P<0.05). Due to less abundance of DNB in AC and TBM+FE plots and AOB in TBM+FE plots, N_2O emissions were significantly inhibited in AC and TBM+FE. TBM or FE had no significant effects on N_2O emissions from the wheat field, mainly due to their alternative promotion and inhibition of AOB and DNB. More studies are necessary to better understand the effects and mechanisms of different herbicides on N_2O emissions.

Keywords; acetochlor; tribenuron-methyl; fenoxaprop-P-ethyl; N2O emissions; nitrification and denitrification

收稿日期:2013-12-19

基金项目:国家自然科学基金(40975091;41375150)

作者简介:陈林梅(1988—),女,硕士研究生,主要研究方向为环境污染与全球变化。E-mail:2011103046@njau.edu.cn

^{*}通信作者:蒋静艳 E-mail:lilacjjy@njau.edu.cn

全球变暖和有机污染加剧是当今极其重要的环 境问题,已经引起国内外学术界的广泛关注。全球变 暖源于大气中温室气体的不断增加,而 N₂O 是重要的 温室气体之一,其百年全球增温潜势是 CO₂的 298 倍,60%来源于农业活动,尤其是氮肥的大量使用凹。 土壤 N₂O 主要产生于硝化反硝化过程^[2],因此所有影 响土壤硝化反硝化过程的农业管理措施如水肥管理、 耕作方式、农用化学品等皆会影响土壤 N₂O 的排放。 农药的大量使用是有机污染加剧的主要原因之一,尤 其近些年来我国随着农村劳动力的减少,农田化学除 草剂使用量不断增加,在2008年其施用面积已达7× 107 hm², 并以每年 200 万 hm² 的速度不断扩大^[3]。大量 除草剂在防除目标物田间杂草的同时,也会对非目标 物如土壤微生物、土壤酶活等产生一定的影响。研究 表明,除草剂能够抑制或促进硝化反硝化作用[5-6]。除 草剂特丁津在酸性和中性土壤中抑制了硝化微生物 活性,降低了硝态氮含量,而在碱性土壤中则增加了 硝态氮含量,亚硝态氮含量不受影响6;施用草甘膦和 百草枯抑制了加入有机质的土壤 N₂O 的产生^[7]。也有 研究表明,施用除草剂氟磺隆短期内能降低土壤 N₂O 的排放图,而通过一年的田间原位试验结果却表明,除 草剂氟磺隆能促进草地施肥土壤 N₂O 的排放^[9]。丙草 胺和苄嘧磺隆单施和混施对水稻田 CH4 和 N₂O 排放 也有影响,单独喷施苄嘧磺隆和丙草胺都减少了 CH4 和 N₂O 的排放, 而混合使用则增加了 CH₄ 和 N₂O 的 排放[10]。

小麦是我国三大粮食作物之一,迄今为止有关麦 田喷施除草剂对NoO排放的影响报道尚少。本研 究通过田间原位观测试验,研究了典型除草剂施用 对冬麦田 N₂O 排放及与产 N₂O 相关的土壤生化因子 的影响,旨在揭示典型除草剂对麦田 N₂O 产生与排放 影响的机理,为深入理解农用化学品对农田温室气体 的影响及正确评估除草剂的生态环境效应提供科学 依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点与供试材料

试验于 2011 年 11 月 20 日到 2012 年 5 月 25 日 在江苏省南京市南京农业大学江浦试验农场(31°52′ N,118°50′E)进行,该试验点地块平整,长期稻麦轮 作。土壤质地为粘土,pH(土:水=1:2.5 浸提)为 6.7,总 有机碳和全氮含量分别为 20.3 g·kg⁻¹ 和 1.7 g·kg⁻¹,容 重为 1.1 g·cm⁻³。

供试除草剂品种是根据除草剂作用机制分类,结 合我国目前需求量,选择了各代表酰胺类、磺酰脲类 和氨基甲酸酯类3种商用除草剂乙草胺、苯磺隆和精 噁唑禾草灵进行单施试验,同时还结合生产实践上的 施用情况选择了商用的苯磺隆和精噁唑禾草灵混剂 进行混施试验(表 1)。以不施除草剂只施氮肥为对照 (N),各除草剂处理代码分别为 N+AC,N+TBM,N+FE 和 N+TBM+FE。

1.2 试验设计

供试小麦品种为灌 99-8、以表 1 中 4 种除草剂 作为处理,不施除草剂作为对照。每小区面积为10 m×4 m,每处理 3 个重复,小区随机排列,小区之间有 50 cm 宽田埂隔离带。生长季田间管理记载见表 2。整 个生育期施化学氮肥总量约为 230 kg N·hm⁻²,不施有 机肥。施肥方式皆为均匀撒施。

表 2 冬小麦生长季试验田间管理

Table 2 Log of field activities during winter-wheat growing season

时间/年-月-日	生育期及农田管理
2011-11-20	播种
2011-11-22	基肥,复合肥(15%N、15%P ₂ O ₅ 、15%K ₂ O)375 kg·hm², 折合 56.3 kg N·hm²
2012-2-12	追肥,尿素 375 kg·hm ⁻² ,折合 172.5 kg N·hm ⁻²
2012-3-18	除 N 处理外各处理按表 1 用量喷施除草剂
2012-4-19	均匀喷施杀虫剂蚜螨浆虫净和杀菌剂 5%井冈霉素
2012-5-25	收获

表 1 供试除草剂品种、来源和常规用量

Table 1 Variety, source and common dosage of tested herbicides

除草剂品种	代码	有效成分(剂型)	厂家	田间常规推荐用量
对照,不施除草剂	N			
乙草胺(Acetochlor)	N+AC	900 g·L ⁻¹ (乳油)	江苏绿利来股份有限公司	$1500~\text{mL} \cdot \text{hm}^{-2}$
苯磺隆(Tribenuron-methyl)	N+TBM	10%(可湿性粉剂)	江苏省激素研究所	$225~\mathrm{g}\cdot\mathrm{hm}^{-2}$
精噁唑禾草灵(Fenoxaprop-P-ethyl)	N+FE	10%(乳油)	浙江海正化工股份有限公司	750 mL·hm ⁻²
苯磺隆+精噁唑禾草灵 (Tribenuron-methyl+ Fenoxaprop-P-ethyl)	N+TBM+FE	TBM2.4%+FE6.6%(可湿性粉剂)	江苏金凤凰农化有限公司	80 g·hm ⁻²

1.3 样品测定

1.3.1 气体样品采集与分析

土壤-作物系统 N₂O 气体样品的采集与分析采用静态箱-气相色谱法^[11]。气体采样箱为不锈钢材料制成,横截面积为 0.5 m×0.5 m,箱体高度随作物高度而增加。将无底不锈钢底座于小麦播种前埋入土壤中。底座上有 3 cm 深的凹型槽,采样时将采样箱罩在不锈钢底座凹型槽上,将凹型槽内注满水与采样箱密封,箱内装有微型风扇以保持气体均匀混合。在除草剂施用后第 2 d 开始采样,每周采样 2 次,采样时间为上午 8:00—11:00。除草剂施入后的前 10 d 内加密采样,即每 2~3 d 采样 1 次,10 d 后改为每星期采样 2 次。各采样点每次采样 3 个,每个间隔 10 min,样品量为 60 mL。

样品的 N_2O 混合比用改装的 Agilent 4890D 气相色谱仪检测。 N_2O 测定所用载气为 99.999%高纯氩甲烷(Ar_2 : CH_4 =95:5),检测器为电子捕获检测器(ECD),检测温度为 330 C。通过对每组 3 个样品的 N_2O 混合比与相对应的采样间隔时间(0、10、20 min)进行直线回归,可求得该采样点的 N_2O 排放速率。继而根据大气压力、气温、普适气体常数、采样箱的有效高度和 N_2O 分子量等,求得单位面积的排放量。假定采样箱横截面积为 A,有效高度为 H,则箱内空气体积 V=AH。温室气体排放通量 F 为:

$F = \rho \times V \times dC/dt/A$

- $=M\times P/R/(273+T)\times V/A\times dC/dt$
- $=H\times M\times P/R/(273+T)\times dC/dt$

式中: ρ 为 N₂O 气体的密度,g·L⁻¹;M 为 N₂O 的摩尔质量,44 g·mol⁻¹;R 为普适气体常数,8.314 Pa·m³·mol⁻¹· K⁻¹;T 为采样时箱内平均气温, \mathbb{C} ;P 为采样点大气压力,通常视为标准大气压,即 P=1.013×10⁵ Pa;H 为采样箱的有效高度,m;dC/dt 为采样过程中密闭箱内N₂O 的浓度变化率,10-9·min⁻¹。

每次气体样品采集的同时,采用浙江托普仪器有限公司生产的土壤温湿度计(TZS-W)测定田间土壤湿度。根据土壤容重将所测土壤水分换算为土壤充水孔隙度(WFPS)。

1.3.2 土壤样品采集及分析

除草剂施入后的前 10 d 内加密采样,即每 2~3 d 采 1 次土样,采气体样品的同时采集土样,之后每星 期采 1 次土样,在小麦成熟收获前 1 个月内,每 2 星 期采 1 次土样。在各小区采用梅花形布点法多点采集 土样(0~20 cm),每个小区制成混合样,尽快测定,来

不及测定的置于4℃冰箱保存备用。

用重量法测定土壤含水量;采用 N 流动分析仪 (BRANT LOEBBE) 测定所有土壤的 NH_4^2 —N 和 NO_5^2 —N 含量 $^{[12]}$,即称取过 2 mm 筛的新鲜土样 12.0 g,于 250 mL 塑料瓶,加入 100 mL 氯化钙浸提液,振荡 1 h,马上过滤,滤液直接上 N 流动分析仪测定 NH_4^4 —N 和 NO_5^2 —N 含量。采用靛酚兰比色法 $^{[13]}$ 测定所有土壤的脲酶活性,其活性以 24 h 后 1 g 土壤中 NH_3 —N 的毫克数表示。

结合除草剂对 N₂O 排放的影响重点选择了施用除草剂后 1 个月内 6 次土壤样品进行硝化反硝化微生物数量及土壤可溶性有机碳(DOC)含量的测定,同时还测定了小麦收获时(5 月 25 日)土壤硝化反硝化的微生物数量。土壤氨氧化细菌(AOB)、硝化细菌(NOB)和反硝化细菌(DNB)数量的测定采用最大或然数法(MPN 法)^[14]。土壤可溶性有机碳含量采用TOC仪测定,即准确称取 10 g 过 2 mm 筛的土壤新鲜样品于 100 mL 离心管中,每份土样 3 次重复。土样按土水比 1:5 比例与水混合,以 250 r·min⁻¹ 振荡 30 min,在离心机上以 4000 r·min⁻¹ 离心 20 min,上清液倒入装有 0.45 mm 滤膜的过滤器中用循环水真空泵减压过滤(压力为-0.09 MPa),采用德国耶拿分析仪器股份公司生产的 Analytikjena multi N/C 2100 测定 DOC浓度。

1.4 数据分析

实验结果用算术均值和标准误表示测定结果的精密度,利用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS16.0 软件进行数据统计检验。采用两因素方差分析除草剂、采样时间及其交互效应对 N₂O 排放通量及各土壤因子的影响。

2 结果与分析

2.1 不同除草剂对麦田 N₂O 排放通量的影响

不同除草剂的施用没有改变麦田 N₂O 排放的时间变化规律,在整个测定期只有一个明显的排放峰值出现(3月23日),其他时间 N₂O 的排放都较低(图1)。因降雨时空变化较大,测定期内土壤湿度 WFPS变化幅度也较大,为38.4%~77.5%。氮肥和土壤水分是农田 N₂O 排放最主要的影响因素^[15],因最后一次施肥为2月12日,距第一次测定 N₂O 排放通量时已过去一个多月,故本试验中影响 N₂O 排放的主要土壤因子是土壤湿度。当土壤 WFPS 为最高值时,N₂O 排放 出现峰值。以除草剂种类和时间对 N₂O 排放通量作两

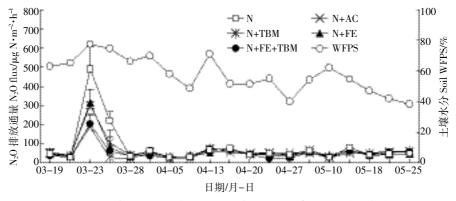


图 1 不同除草剂处理小麦地 N₂O 排放通量和土壤 WFPS 的动态变化

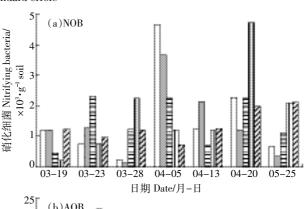
 $Figure \ 1 \ \ Variations \ in \ N_2O \ fluxes \ and \ soil \ WFPS \ during \ winter \ wheat \ growing \ season \ after \ herbicide \ applications.$

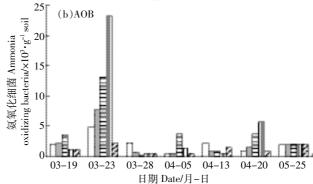
The vertical bars are standard errors

因素方差分析,结果表明,在施除草剂后的10d内不 同处理间有极显著差异(P<0.01),其他时间段无显著 差异(P>0.05)。计算除草剂施用后的 10 d 内各处理 的 N₂O 排放通量均值可知,对照、乙草胺、苯磺隆、精 噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵分别为 (148.9 ± 32.4) , (73.5 ± 20.2) , (106.3 ± 9.2) , (110.1 ± 23.1) μgN·m⁻²·h⁻¹ 和 (76.4±13.3)μgN·m⁻²·h⁻¹,4 种除草剂 处理的平均通量分别为对照的 49.4%、71.4%、74.0% 和 51.3%。其中, 苯磺隆与精噁唑禾草灵处理的 N₂O 排放虽然较对照均值水平降低了,但未达统计学上显 著影响水平(P>0.05);而乙草胺和混剂苯磺隆+精噁 唑禾草灵则显著抑制了 N_2O 的排放(P<0.05), 较对照 减少了一半左右。除草剂施用10 d 后至小麦收获期 间,乙草胺、苯磺隆、精噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精 噁唑禾草灵处理的 N₂O 平均排放通量分别为对照的 95.3%、101.8%、92.5%和88.7%,4种除草剂对N₂O排 放影响都没有达到显著差异水平(P>0.05)。进一步计 算整个测定期内 N₂O 排放的均值,结果是乙草胺、苯 磺隆、精噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵处 理的平均通量分别为对照的 65.0%、81.8%、76.9%和 65.0%。苯磺隆与精噁唑禾草灵单施未显著减少 N₂O 的排放,但混剂和乙草胺处理显著减少了35%左右的 N₂O 排放。

2.2 不同除草剂对土壤中硝化细菌、氨氧化细菌和反硝化细菌数量的影响

同一除草剂处理不同测定时间下土壤 NOB、AOB 和 DNB 数量不同(图 2)。在同一测定时间,不同除草剂处理下土壤 NOB、AOB 和 DNB 数量的变化也不同,但在小麦生长后期(5 月 25 日),各处理间 AOB和 DNB 数量几乎无差异。





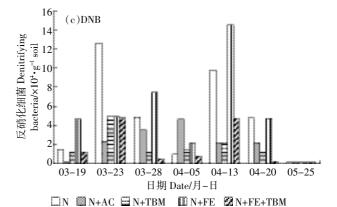


图 2 不同处理不同时期土壤硝化细菌、氨氧化细菌和反硝化细菌数量的变化

Figure 2 Variations of number of soil NOB, AOB and DNB during winter wheat growing season after herbicide applications

图 2a 显示各除草剂处理与对照相比,对 NOB 均 表现为促进抑制的交替影响,直到收获期,各处理间 NOB 皆有差异。尤其单施苯磺隆与精噁唑禾草灵对 NOB 影响幅度较大,反映为施用后第2d就有明显抑 制效应,随后表现为促进抑制的交替影响。图 2b 显 示,与对照相比乙草胺处理的 AOB 数量在施入后的 第2d无明显变化,第5d明显增多,而后降低直至无 明显差异的变化趋势;而混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵 对 AOB 影响与乙草胺不同,一直表现为抑制作用,直 至小麦成熟期其 AOB 才与对照数量相当。单施苯磺 隆与精噁唑禾草灵对 AOB 也表现为促进抑制的交替 影响。对 DNB 来说(图 2c), 乙草胺和苯磺隆都基本 表现为抑制作用(除4月5日),而精噁唑禾草灵除3 月23日即N₂O排放峰值日外对DNB基本表现为促 进作用。混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵对 DNB 的影响则 一直表现为抑制作用。假设以施除草剂后 10 d 内和 1 个月内的对照各因子的每次测定数值作为基准值,计 算各除草剂处理各次测定数值与对照的比值并进行 平均,可知除草剂施用后 10 d 内,对于 NOB 来说, AC、TBM、FE 和 FE+TBM 处理的比值(平均值)分别 为 1.07、2.93、3.67 和 2.54; 对于 AOB 来说,4 种除草 剂处理的比值(平均值)分别为 0.98、1.49、1.86 和 0.41; 对于 DNB 来说,4 种除草剂处理的比值(平均 值)分别为 0.39、0.49、1.73 和 0.44。比较各比值大小 可知,FE 处理对 3 种微生物都基本表现为促进效应, TBM 处理对 NOB 和 AOB 也表现为促进效应,而对 DNB 表现为抑制效应, AC 和 FE+TBM 处理对 DNB 都表现为抑制效应,此外 FE+TBM 处理对AOB 也基 本是抑制效应。除草剂施用后 1 个月内,对于NOB 来 说,AC、TBM、FE和FE+TBM处理的比值(平均值)分 别为 1.05、1.80、2.39 和 1.61; 对于 AOB 来说,4 种除

草剂处理的比值(平均值)分别为 0.97、2.77、2.43 和 0.63; 对于 DNB 来说,4 种除草剂处理的比值(平均 值)分别为 1.08、0.58、6.51 和 0.43。比较各比值大小 可知 FE+TBM 处理对 AOB 和 DNB 基本是抑制效应, 而 FE 处理对三类微生物基本上仍以促进效应为主。 无论是对 NOB、AOB 还是 DNB 的影响,混剂苯磺隆+ 精噁唑禾草灵处理与单施苯磺隆或精噁唑禾草灵的 变化并不同步。

2.3 不同除草剂对脲酶活性的影响

图 3 显示不同除草剂处理的土壤脲酶活性的变 化。从图中可看出,乙草胺处理的土壤脲酶活性一直 较对照高。以除草剂种类和时间对土壤脲酶活性作两 因素方差分析,结果表明:在除草剂施用后的10d内, 与对照相比,苯磺隆、精噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精 噁唑禾草灵处理的土壤脲酶活性无显著差异(P> 0.05),而乙草胺显著促进土壤脲酶活性(P<0.05)。除 草剂施用10d以后至5月10日之间,与对照相比,乙 草胺、精噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵都 显著促进了土壤脲酶活性(P<0.05),而苯磺隆处理的 土壤脲酶活性没有达到显著差异(P>0.05)。在收获 期,除混剂处理依旧抑制土壤脲酶活性外(P<0.05), 其他除草剂对土壤脲酶活性已无显著影响(P>0.05)。 同前,假设以除草剂施用后的10d内和1个月内的对 照各组分的每次测定平均数值作为基准值,计算各除 草剂处理各次测定数值与对照的比值然后平均(以下 同),可得除草剂施用后的10d内,AC、TBM、FE和 FE+TBM 处理的该平均值分别为 1.12、0.96、1.02 和 1.00,说明乙草胺是对照的 1.12 倍,其他除草剂处理 与对照相差不大,尤其是混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵 对脲酶活性基本无影响。除草剂施用后的1个月内, AC、TBM、FE 和 FE+TBM 处理的比值(平均值)分别为

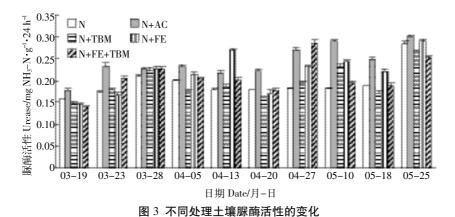


Figure 3 Variations of soil urease activity during winter wheat growing season after herbicide applications

1.22、0.99、1.14 和 1.11,说明乙草胺、精噁唑禾草灵和 混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵对土壤脲酶活性有轻微促 进效应,而苯磺隆对脲酶活性基本表现为无影响。

2.4 不同除草剂对土壤铵态氮、硝态氮和可溶性有机 碳含量的影响

2.4.1 对土壤 NH;-N 和 NO;-N 含量的影响

图 4 为不同处理土壤 NH4-N 和 NO3-N 含量的 动态变化图。图 4a 显示各处理 NO3-N 含量均在 3 月 23 日出现一峰值,随后逐渐降低,4月13日后含量很 小。各处理 NH‡-N 含量也是 4 月 13 日之前变幅较 大,之后数值较小,变幅也小(图 4b)。以除草剂种类 和时间对土壤 NH4-N 和 NO3-N 含量作两因素方差 分析,结果表明:4月20日前各处理土壤 NHI-N和 NO₃-N 含量差异显著(P<0.05),4 月 20 日后处理间 差异不显著(P>0.05)。除草剂施用后的 10 d 内, AC、 TBM、FE 和 FE+TBM 处理的铵态氮与对照比值(平均 值)分别为 0.93、0.80、0.84 和 0.91, 说明各除草剂处 理的铵态氮含量均小于单施氮处理,表现明显的为3 月 23 日各除草剂处理的土壤 NHI-N 值皆显著低于 对照(P<0.05), 为对照的 53%~63%; 而 AC、TBM、FE

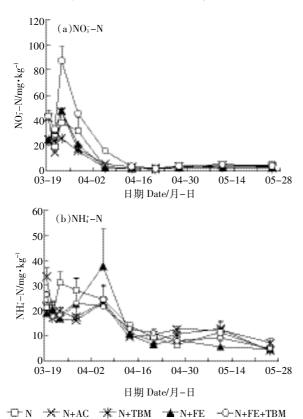


图 4 不同处理土壤 NO3-N 和 NH4-N 含量的动态变化 Figure 4 Variations of soil NO₃-N and NH₄-N contents during

winter wheat growing season after herbicide applications

和FE+TBM 处理的硝态氮与对照比值(平均值)分别 为 1.09、0.87、1.16 和 1.82, 说明混剂苯磺隆+精噁唑 禾草灵处理的 NO3-N 含量较高。除草剂施用后的 1 个月内,AC、TBM、FE 和 FE+TBM 处理的铵态氮与对 照比值(平均值)分别为 0.90、0.81、0.87 和 0.90,也均 小于 1,即与除草剂施用后的 10 d 内结果一样,各除 草剂处理均小于单施氮处理;而 AC、TBM、FE 和 FE+ TBM 处理的硝态氮与对照比值(平均值)分别为 1.36、 0.93、1.12 和 2.24,说明乙草胺和混剂苯磺隆+精噁唑 禾草灵处理的 NO3-N 含量较高。

2.4.2 对土壤可溶性有机碳含量的影响

图 5 显示不同处理土壤可溶性有机碳含量的动 态变化。两因素方差分析结果表明:4月13日前不同 除草剂处理之间及各次独立测定之间 DOC 均有极显 著差异(P<0.01)。在除草剂施用后的第1d,乙草胺和 混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵显著降低了 DOC 的含量 (P<0.05),而单施苯磺隆和精噁唑禾草灵则显著增加 了土壤 DOC 值(P<0.05)。在 3 月 23 日即 N₂O 排放峰 值日,所有处理的 DOC 含量较其他时间为最低,即除 草剂乙草胺、苯磺隆、精噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精 噁唑禾草灵处理的 DOC 含量最低,分别为对照的 71.9%、40.7%、95.0%和 33.9%。 随后混剂和精噁唑禾 草灵处理的 DOC 值较对照又有所上升,而其他 2 种 除草剂与对照相比没有显著差异(P>0.05)。除草剂施 用后的 10 d 内, AC、TBM、FE 和 FE+TBM 处理的 DOC 与对照比值(平均值)分别为 0.87、0.87、1.70 和 0.96, 精噁唑禾草灵处理的 DOC 含量一直较高。除草剂施 用后的1个月内,AC、TBM、FE和FE+TBM处理的 DOC 与对照比值(平均值)分别为 0.90、0.83、1.40 和 1.15,精噁唑禾草灵和混剂处理的 DOC 都较对照高。

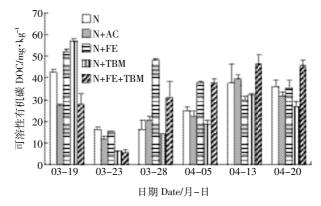


图 5 不同处理土壤可溶性有机碳含量的变化

Figure 5 Variations of soil dissolved organic carbon during winter wheat growing season carbon after herbicide applications

2.5 不同除草剂处理下 N_2O 排放通量与各土壤生化 因子的相关性分析

N₂O 作为中间产物主要由土壤 NH[±]氧化成 NO₂及 反硝化过程产生[16-17],在自养硝化过程中氨氧化通常 被认为是限速步骤,对 N₂O 的产生起重要作用[18-19]。因 此, AOB 和 DNB 在 N₂O 产生中起决定性作用。同时 土壤矿质 N(NH4-N+NO3-N)和土壤 DOC 可作为土 壤微生物活动的底物,为微生物生长提供速效基质, 其含量的变化影响 N2O 的排放量[20-21]。因除草剂对 N₂O 排放通量显著影响期为除草剂施用后 10 d 内,将 此阶段内的 N₂O 排放通量和各土壤生化因子进行相 关分析(以 DOC 测定日期为准的前 10 d 内数据),其 Pearson 相关系数见表 3。N2O 排放通量与 DNB 数量 和土壤水分 WFPS 极显著正相关(P<0.01),与AOB 数量显著正相关(P<0.05),与 DOC 含量显著负相关 (P<0.05), 而与 NOB 数量、NH₄-N 和 NO₃-N 含量以 及脲酶活性无显著相关性(P>0.05)。由 N₂O 排放峰值 日即3月23日的各处理 N₂O 排放通量与土壤生化因 子相关分析可知, 当日各处理 N₂O 排放通量与土壤 DNB 数量和 NH_4^*-N 含量显著正相关(P<0.05, n=5), 而与土壤其他生化因子的含量无关(P>0.05,n=5)。逐 步回归分析可得回归方程 F_{N,0}=127.61+0.002 9 DNB $(R^2=0.845, P=0.017, n=5)$, 表明当日 84.5%的 N₂O 排 放取决于反硝化细菌数量的变化。3月23日各除草剂 处理的土壤 NHI-N 含量和 DNB 数量皆显著低于对 照(P<0.05),尤其乙草胺和混剂苯磺隆+精噁唑禾草 灵处理的土壤 NH[‡]-N 含量仅为对照的一半左右, DNB 数量分别为对照的 18.7%和 37.7%。

此外,将除草剂对 N₂O 排放显著影响期内(除草剂施用后 10 d 内) 的 N₂O 排放通量和土壤各生化因子进行平均,发现 N₂O 的平均排放通量与反硝化细菌平均数量在 0.01 水平上显著正相关(图 6),同时从图 6 中也能明显看出乙草胺、苯磺隆和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵明显降低了该时期反硝化细菌的数量。

3 讨论

本试验结果显示,不同除草剂对麦田 N₂O 排放的

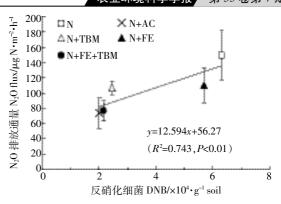


图 6 3 月 19—28 日 N₂O 的平均排放通量与反硝化细菌 平均数量的相关关系

Figure 6 Relationship between average N₂O fluxes and denitrifying bacterial number from March 19 to 28

影响不同,主要表现在乙草胺和混剂苯磺隆+精噁唑 禾草灵在除草剂施用后的 10 d 内显著抑制了麦田 N₂O 的排放,而苯磺隆和精噁唑禾草灵处理的 N₂O 排 放量与对照相比都没有达到显著差异。丁洪等^[2]研究 的除草剂乙草胺+莠去津、丁草胺+莠去津和噻磺+乙 草胺能显著或极显著降低氮肥产生的 N₂O 排放量; Das 等^[10]研究也表明同属磺隆类的苄嘧磺隆显著抑制 了水稻田中 N₂O 的排放,但针对本研究中的除草剂对 N₂O 排放的影响还没有具体的相关报道。

不同除草剂对麦田各土壤因子的影响持续时间和程度不同,这可能与除草剂的化学结构、用量以及在土壤中的转化和降解产物毒性有关,同时其在土壤中的降解过程又受环境因素如水分、温度和植物根系分泌物的影响。本试验结果表明,除草剂施用后 10 d内,各除草剂对 3 种微生物数量都有影响且影响程度不一,如乙草胺和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵还抑制了AOB;精噁唑禾草灵对 3 种微生物都以促进效应为主。除草剂施用后 1 个月内,乙草胺对土壤 AOB 的作用表现为先促进后抑制规律;单施苯磺隆与精噁唑禾草灵对 AOB 表现为促进抑制的交替影响,而混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵对 AOB 和 DNB 一直表现为抑制作用。之后到小麦收获期,各除草剂对 AOB 和 DNB已无影响,而对 NOB 和脲酶影响的持续时间较长,一

表 3 所有处理 N_2O 排放通量与土壤因子时间变化的相关系数(n=15)

Table 3 Pearson correlation coefficients of N₂O fluxes with soil parameters (*n*=15)

土壤因子	NOB	AOB	DNB	DOC	NH_4^+-N	NO_3^N	UREASE	WFPS
N₂O 排放通量	0.129	0.630*	0.700**	-0.521*	0.067	0.333	0.473	0.795**

注:*表示在 0.05 水平上显著;**表示在 0.01 水平上显著。

Note: * and ** indicate the significance at 0.05 and 0.01 levels, respectively.

直到收获期皆有明显影响。这可能与硝化细菌和脲酶 对除草剂较敏感[23-24]有关。Li 等[25]也报道乙草胺对 AOB 有先促进后抑制作用。除草剂对硝化反硝化细 菌表现为无影响、促进或抑制、或促进抑制交替作用, 其时空变化主要取决于除草剂化学结构及其降解产 物的毒性作用[25-27]。单施苯磺隆与精噁唑禾草灵对硝 化反硝化细菌的影响与混施的影响趋势不同,是否是 降解产物间的相互作用还有待进一步的研究。有报道 认为在室内模拟不同除草剂剂量条件下,乙草胺对土 壤脲酶活性既有抑制作用[24],也有激活作用[28]。在田间 推荐剂量条件下,本研究发现乙草胺无论是在施用后 10 d 内、1 个月内还是整个测定期内对麦田土壤脲酶 活性都一直表现为激活作用。张宇四通过盆栽大豆实 验也发现乙草胺对大豆根际土壤脲酶活性始终保持 促进作用,并随乙草胺用量的增加而增强。本研究中 苯磺隆无论是在施用后 10 d 内、1 个月内还是整个测 定期内对麦田脲酶活性基本无影响,与王正贵等[30]的 报道一致。除草剂对土壤脲酶活性的影响一般应表现 为低浓度诱导高浓度抑制的规律,但关于机理解释有 多种[28], 尚不清楚哪种解释更合理。虽然本试验中除 草剂的施用时间与施用氮肥时间不一致,对尿素氮水 解的影响未能体现出来,但对脲酶活性的影响效应判 断对尿素水解的影响有一定参考价值。

各除草剂处理对土壤 NH4-N、NO3-N 和 DOC 含 量影响的持续时间基本相同,除草剂施用1个月后基 本无影响,这应与小麦生育期有关。4月20日已进入 小麦的抽穗期,经过前期小麦的营养生长,土壤有效 氮养分被大量吸收,养分含量下降;同时小麦进入生 殖生长期后根系活性降低,除草剂对根系分泌物 (DOC 的主要部分)的影响也无法明显表现出各除草 剂处理对土壤 NHI-N 和 NO3-N 含量的影响,可能是 直接影响了与N素转化有关的植物、土壤微生物及酶 活性,从而间接改变了 NH;-N 和 NO;-N 含量[31]。有报 道表明施用乙草胺能改变AOB的群落结构[26],施用乙 草胺和苄嘧磺隆能改变水稻幼苗的氮代谢[3],或许我 们依旧未全面了解施入乙草胺等除草剂后一些与土 壤氮素转化相关的微生物群落及酶活性的变化,这可 能是导致除草剂改变土壤有效氮含量的根本原因。值 得一提的是,尽管在本研究中乙草胺促进了脲酶的活 性,但其 NH4-N 值无论在除草剂施用后 10 d 内还是 1个月内都基本较对照低,其原因有待进一步研究。 各除草剂处理对土壤 DOC 含量的影响应与植物生长 及除草剂本身的降解有关。除草剂除草效果不同,小 麦生长会有差异,则根系活性亦有差异。除草剂本身 的降解产物是否作为有效性碳源,也改变土壤 DOC 的含量,而土壤 DOC 又是土壤微生物直接可利用的 主要物质和能量来源。碳氮物质的改变反过来可能改 变土壤微生物的群落与结构。本研究中,精噁唑禾草 灵在施用后 10 d 内和 1 个月内 DOC 含量都较高,混 剂处理在施用后 1 个月内的 DOC 含量也较高,原因 可能是它们的除草效果较好(精噁唑禾草灵和混剂苯 磺隆+精噁唑禾草灵处理的小麦产量分别为对照的 1.12 倍和 1.18 倍),小麦长势旺盛,根系分泌物较多, 故其 DOC 含量基本都比对照高。

在本研究中,除草剂施用后的10d内N2O排放 通量与 DNB 数量极显著正相关,与 AOB 数量显著正 相关,这正可以解释为什么施除草剂后10 d 内乙草 胺和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵都显著抑制了 DNB。 混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵还抑制了 AOB, 而乙草胺 对 AOB 没有显著性影响,两者却都显著抑制了 N₂O 的排放;虽然苯磺隆显著促进 AOB 的同时抑制了 DNB,但对 N₂O 排放影响却没有达到显著差异。另外, 3月23日(即 N₂O 排放峰值日)N₂O 排放以反硝化为 主是由土壤 WFPS 决定的,当日土壤 WFPS 为77.5%。 Bateman 和 Baggs^[33]发现,土壤湿度 WFPS 70%以上 N₂O 由反硝化过程产生,而在 35%~60% 时硝化是 N₂O产生的主导过程,本研究与此一致。图 5显示在 3 月 23 日所有处理的 DOC 含量为最低, 说明 DOC 作 为异养微生物 DNB 的 C 源被大量消耗,进一步印证 了上述结果,同时也解释了为什么表 3 中 N₂O 的排放 与 DOC 负相关。再者,尽管混剂苯磺隆+精噁唑禾草 灵处理当日具有较高的 NO₃-N 含量,其 AOB 和 DNB 数值却较低,可能是其 N₂O 排放也较低的原因。也就 是说,N₂O 的产生取决于底物和微生物活性交互效应 的结果, 当底物充沛时, N₂O 的产生主要取决于微生 物的活性^[2]。本研究测定后期 N₂O 排放较低,主要是 底物有效氮被小麦利用后降至较低水平,同时试验地 所处区域 2012 年上半年降水较少, 土壤水分偏低, AOB 数量减少所致。至于混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵 处理的土壤 NO3-N 含量为什么在施后的半个月内高 于其他处理,其原因尚无法解释,有待进一步研究。本 研究中,无论是 N₂O 排放峰值日的逐步回归方程还是 除草剂施用后 10 d 内的逐步回归方程皆表明 AOB 和 DNB 是 N2O 排放的决定性因子。当然, WFPS 是控 制土壤 AOB 和 DNB 数量变化的主控因子,自然也是 N₂O 排放的主要驱动因子之一。

综上并结合图 2 和图 6 可知, 乙草胺和混剂苯磺 隆+精噁唑禾草灵处理能显著降低麦田 N₂O 的排放, 主要源于它们明显降低了土壤中反硝化细菌数量,同 时混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵还显著降低了氨氧化细 菌数量,抑制了土壤硝化反硝化作用。鉴于除草剂品 种的多样性以及生态毒性的复杂性,且本研究只进行 一季麦田试验,其对温室气体的影响及其机理还需展 开长期系统的研究。

结论

在相同的气候和土壤条件下,不同除草剂对麦田 N₂O 排放的影响及与产 N₂O 有关的土壤生化因子的 影响不同。在田间推荐剂量条件下,施用乙草胺和混 剂苯磺隆+精噁唑禾草灵后 10 d 内能显著减少麦田 N₂O 的排放, 而单施苯磺隆和精噁唑禾草灵对麦田 N₂O 的排放没有显著性影响; 喷施除草剂 10 d 以后, 乙草胺、苯磺隆、精噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精噁唑 禾草灵对麦田 N₂O 排放的影响都没有达到显著差异。 在除草剂喷施后的10d内,乙草胺和混剂苯磺隆+精 噁唑禾草灵明显降低了反硝化细菌数量,同时混剂苯 磺隆+精噁唑禾草灵还降低了氨氧化细菌数量,抑制 了土壤硝化反硝化作用,是显著降低 N₂O 排放的主要 原因。单施苯磺隆和精噁唑禾草灵对氨氧化细菌和反 硝化细菌表现为促进抑制交替作用。此外,在整个测 定期内乙草胺对土壤脲酶活性基本表现为激活作用, 精噁唑禾草灵和混剂苯磺隆+精噁唑禾草灵表现为抑 制激活交替作用,而苯磺隆对脲酶活性基本无影响。

参考文献:

- [1] IPCC Climate change 2007: The physical science basis.//Solomon S, Qin D, Manning M, et al (Eds.), Contribution of Working Group 1 to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Chang Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom; New York, NY, USA. 2007.
- [2] Firestone M K, Davidson E A. Microbiological basis of NO and N2O production and consumption in soil[M]// Andreae M O, Schimel D S. Exchange of trace gases between terrestrial ecosystems and the atmosphere. Wiley, Chichester, 1989, 47: 7-21.
- [3] 张泽溥. 除草剂在中国大陆农田的应用[J]. 农药学学报, 2009, 11(增 刊): 50-55.
 - ZHANG Ze-pu. The herbicide application in the mainland of China[J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2009, 11(Suppl): 50-55.
- [4] 丁 洪,郑祥洲,雷俊杰,等.除草剂对土壤温室气体排放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(2): 435-439.
 - DING Hong, ZHENG Xiang-zhou, LEI Jun-jie, et al. Effects of herbicides on greenhouse gases emission from vegetable plantation soil [J].

- ${\it Journal of Agro-Environment Science}, 2012, 31 (2): 435-439.$
- [5] Somda Z C, Phatak S, Mills H. Nitrapyrin, terrazole, atrazine and simazine influence on denitrification and corn growth[J]. Journal of Plant Nutrition, 1990, 13(9): 1195-1208.
- [6] Kara E, Arli M, Uygur V. Effects of the herbicide Topogard on soil respiration, nitrification, and denitrification in potato-cultivated soils differing in pH[J]. Biology and Fertility of Soils, 2004, 39(6): 474-478.
- [7] Kyaw K M, Toyota K. Suppression of nitrous oxide production by the herbicides glyphosate and propanil in soils supplied with organic matter [J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2007, 53(4): 441-447.
- [8] Kinney C A, Mandernack K W, Mosier A R. Laboratory investigations into the effects of the pesticidesmancozeb, chlorothalonil, and prosulfuron on nitrous oxide and nitric oxide production in fertilized soil[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2005, 37(5): 837-850.
- [9] Kineey C A, Mosier A R, Ferrer I, et al. Effects of the herbicides prosulfuron and metolachlor on fluxes of CO2, N2O, and CH4 in a fertilized Colorado grassland soil[J]. Journal of Geophysical Research: Atmospheres, 2004, 109(D5): D05304.
- [10] Das S, Ghosh A, Adhya T K. Nitrous oxide and methane emission from a flooded rice field as influenced by separate and combined application of herbicides bensulfuron methyl and pretilachlor[J]. Chemosphere, 2011, 84(1): 54-62,
- [11] Wang Y S, Wang Y H. Quick measurement of CH4, CO2 and N2O emissions from a short-plant ecosystem[J]. Advances in Atmospheric Sciences, 2003, 20(5): 842-844.
- [12] 苏 涛, 司美茹, 王朝辉,等. 土壤矿质氮分析方法的影响因素研究 [J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(6): 1238-1242. SU Tao, SI Mei-ru, WANG Zhao-hui, et al. Effects of pretreatment, shaking and conserving method and extracting solution on results for soil mineral nitrogen[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2005, 24(6): 1238-1242.
- [13] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M].北京:中国农业出版社, 1986. GUAN Song-yin. Soil enzyme and research method[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1986.
- [14] 李阜棣, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学实验技术[M]. 北京:中国农 业出版社, 1996. LI Fu-di, YU Zi-niu, HE Shao-jiang. Experimental technology of agricultural microbiology[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1996.
- [15] 孙志强, 郝庆菊, 江长胜, 等. 农田土壤 N2O 的产生机制及其影响 因素研究进展[J]. 土壤通报, 2010, 41(6): 1524-1530. SUN Zhi-qiang, HAO Qing-ju, JIANG Chang-sheng, et al. Advances in the study of nitrous oxide production mechanism and its influencing factors in agricultural soil[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2010, 41 (6): 1524-1530.
- [16] Nakajima Y, Ishizuka S, Tsuruta H, et al. Microbial processes responsible for nitrous oxide production from acid soils in different land-use patterns in Pasirmayang, central Sumatra, Indonesia[J]. Nutrient Cycling in Agroecosystems, 2005, 71(1): 33-42.
- [17] Wunderlin P, Mohn J, Joss A, et al. Mechanisms of N2O production in biological wastewater treatment under nitrifying and denitrifying conditions [J]. Water Research, 2012, 46(4): 1027-1037.

- [18] Kowalchuk G A, Stephen J R. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology[J]. Annual Reviews in Microbiology, 2001, 55: 485–529.
- [19] Deboer W, Kowalchuk G. Nitrification in acid soils: Micro-organisms and mechanisms [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33 (7-8): 853-866
- [20] Stevens R J, Laughlin R J. Measurement of nitrous oxide and di-nitrogen emissions from agricultural soils[J]. Nutrient Cycling in Agroe – cosystems, 1998, 52(2-3): 131–139.
- [21] Yao Z, Zhou Z, Zheng X, et al. Effects of organic matter incorporation on nitrous oxide emissions from rice—wheat rotation ecosystems in China[J]. Plant and Soil, 2010, 327(1-2): 315–330.
- [22] 丁 洪, 王跃思. 除草剂对氮肥反硝化损失与 N₂O 排放的影响[J]. 中国环境科学, 2004, 24(5): 596-599. DING Hong, WANG Yue-si. Influence of herbicides on denitrification loss of nitrogen fertilizer and emission of N₂O[J]. *China Environmental*
- [23] Edwards C A, Pimentel D. Impact of herbicides on soil ecosystems[J]. Critical Reviews in Plant Sciences, 1989, 8(3): 221–257.

Science, 2004, 24(5): 596-599.

- [24] 张 昀, 可 欣, 张广才,等.乙草胺对土壤脲酶动力学特征的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(4): 915-921. ZHANG Yun, KE xin, ZHANG Guang-cai, et al. Effects of acetochlor on soil urease kinetic characteristics[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2012, 18(4): 915-921.
- [25] Li X, Zhang H, Wu M, et al. Impact of acetochlor on ammonia-oxidizing bacteria in microcosm soils[J]. *Journal of Environmental Sciences China*, 2008, 20(9): 1126–1131.
- [26] Lo C C. Effect of pesticides on soil microbial community[J]. Journal of Environmental Science and Health Part B, 2010, 45(5): 348–359.

- [27] Dictor M C, Baran N, Gautier A, et al. Acetochlor mineralization and fate of its two major metabolites in two soils under laboratory conditions [J]. Chemosphere, 2008, 71(4): 663–670.
- [28] 彭 星, 刘嫦娥, 段昌群, 等. 四种除草剂对土壤脲酶活性的影响研究[J]. 现代农药, 2009, 8(6): 31-36.
 PENG Xing, LIU Chang-e, DUAN Chang-qun, et al. Effect of four herbicides on urease activity in soil[J]. *Modern Agrochemicals*, 2009, 8 (6): 31-36.
- [29] 张 字. 豆田除草剂对大豆根际土壤微生物及酶活性的影响[D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2007.
 ZHANG Yu. Influence of herbicides on soybean rhizosphere soil microorganism and enzyme activity[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2007.
- [30] 王正贵, 封超年, 郭文善, 等. 除草剂苯磺隆对麦田土壤酶活性的影响[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(2): 391–394.

 WANG Zheng-gui, FENG Chao-nian, GUO Wen-shan, et al. Effects of tribenuron-methly on soil enzymes activities in wheat field[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2010, 30(2): 391–394.
- [31] Chen S K, Edwards C A, Subler S. A microcosm approach for evaluating the effects of the fungicides benomyl and captan on soil ecological processes and plant growth[J]. Applied Soil Ecology, 2001, 18(1): 69–82.
- [32] Huang H, Xiong Z T. Toxic effects of cadmium, acetochlor and bensulfuron-methyl on nitrogen metabolism and plant growth in rice seedlings [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2009, 94(2-3): 64-67.
- [33] Bateman E, Baggs E. Contributions of nitrification and denitrification to N₂O emissions from soils at different water-filled pore space[J]. Biology and Fertility of Soils, 2005, 41(6): 379–388.