

除草剂单用与混用对土壤微生物活性的影响

李克斌^{1,2}, 蔡喜运¹, 刘维屏¹

(1. 浙江大学环境科学研究所, 浙江 杭州 310029; 2. 西北大学化学系, 陕西 西安 710069)

摘要: 在实验室条件下, 通过观测投加农药土壤中的细菌、真菌数和土壤呼吸强度的变化, 研究了灭草松、莠去津、灭草松 + 莠去津及灭草松 + 莠去津 + 表面活性剂对土壤微生物活性的影响。结果表明, 莠去津、灭草松在 10 倍推荐用量下会使土壤细菌数略有减小, 真菌数略有增加, 细菌/真菌数之比减小; 莠去津 + 灭草松与他们单用时对土壤呼吸的影响无显著差别, 但添加表面活性剂后, 土壤呼吸增强且持续时间延长。

关键词: 灭草松; 莠去津; 表面活性剂; 微生物数; 呼吸; 混用

中图分类号: X172 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672 – 2043(2004)02 – 0392 – 04

Influences of Single and Combined Herbicides on Soil Microbial Activity

LI Ke-bin^{1,2}, CAI Xi-yun¹, LIU Wei-ping¹

(1. Institute of Environmental Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 2. Department of Chemistry, Northwest University, Xi'an 710069, China)

Abstract: Effect of pesticides on the soil microbial activity is considered as an indicator of their ecologic security. The side effects of bentazone and atrazine in mono – component and multi – component systems on the soil microflora were monitored by incubating herbicides in near rhizosphere and control soil under 30 °C and 60% maximal water holding capacity in dark over 50 days. During the period of incubation, the microbial population and evolution of CO₂ were monitored simultaneously at frequent intervals. The obtained results indicated that 10 times field – rate application of atrazine or bentazone resulted in a slight increase in bacterial population, a slight decrease in fungal population and an apparent decrease in the ratio of total bacterium to fungi. There was no significant difference between the effects of single herbicide and their mixture on soil respiration, but addition of surfactant in herbicides complex could enhance the soil respiration.

Keywords: bentazone; atrazine; surfactant; microbial population; respiration; combination

据统计, 我国平均每年农药施用面积达 1.5 亿 hm²^[1, 2], 施用量达到 50 ~ 60 万 t, 其中约有 80% 直接进入土壤环境^[3]。农药使用面较广, 移动性和土壤降解半衰期变化较大, 对动植物的作用具有选择性且毒性较高, 进入环境后极易对农田生态及水体造成污染, 所以其环境行为日益受到人们的关注。

微生物是农田土壤的重要组成部分, 对土壤肥力的形成、土壤生态系统的物质循环等具有重要意义, 同时对农药等有机污染物在土壤中的降解发挥主要作用。因此, 化学农药在农田使用后对土壤微生物的

影响已成为其生态安全评价的重要指标^[4]。目前复配农药的使用一直呈上升趋势, 但农药复配可能对环境与土壤生态系统存在新的残留危害, 而除草剂混用对土壤微生物指标的影响鲜见报道。

灭草松能有效防治绝大部分阔叶杂草, 但不杀禾本科杂草, 在与阿特拉津混用后, 可同时有效地防除阔叶杂草和禾本科杂草, 且各自的用量减至常量的 2/5, 仍然取得很好的效果, 是一种有推广前景的玉米田苗后除草剂^[5]。本文主要研究(1)灭草松 + 莠去津混合及添加少量表面活性剂后对土壤微生物的影响; (2) 比较混用与单用对土壤微生物影响的差异性。

1 材料与方法

1.1 土壤采集

收稿日期: 2003 – 07 – 08

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30270767)

作者简介: 李克斌(1968—), 男, 博士生, 主要从事有机污染物环境行为和治理技术研究。E – mail: kebinli@163.com

联系人: 刘维屏

供试土壤于 2002 年 10 月采自浙江大学华家池校区至少连续 2 年种植玉米的试验田。采集玉米行间未种植作物的表层土壤(0 ~ 15 cm)于保鲜袋中,带回实验室,过筛(孔径 <2 mm),作为对照土壤(CT 表示)。以作物为中心,5 cm 为半径铲出该范围内整个土块,抖落大块土壤后的作物根系连同与之紧密黏附的土壤置于保鲜袋带回实验室,收集附着在玉米根系上的土壤,过筛(孔径 <2 mm),作为根围土壤(RH 表示)。2 种土样过筛后装入保鲜袋,储存在 4 ℃ 下,1 个月内使用。土壤样品的基本性质为:有机质 3.64%,粘粒 24.18%,沙粒 0.53%,粉沙 75.3%,pH = 7.04。

1.2 试剂

灭草松,提纯后纯度 > 98% (江苏建湖农药厂提供);莠去津,纯度 ≥ 99% (美国 Chemical Service);蛋白胨,牛肉膏,琼脂,葡萄糖,均为 BR 级(上海化学试剂公司);NaCl₂, H₃PO₄, NaOH, HCl, MgSO₄ · 7H₂O, KH₂PO₄, CH₃OH, CH₂Cl₂ 除 CH₃OH 为 HPLC 级外,其余均为 AR 级;硫酸链霉素,100 万单位(华北制药股份有限公司);孟加拉红。

1.3 土壤培养

先称取 2 份 25.0 g 干土,加入莠去津、灭草松的甲醇储备液,使农药浓度为 0.5 mg · g⁻¹(干土),放入通风柜待甲醇挥发完后使用。称 4 份 1 500 g (湿度 = 17.4%,干基)的过筛根围土和 2 份 1 500 g (湿度 = 14.1%,干基)的非根围土。取土壤深度 5 cm,土壤密度 1.5 g · cm⁻³,按照灭草松 + 莠去津推荐用量的 10 倍计算土壤中莠去津、灭草松最终加入量为 8.5 mg · kg⁻¹。

4 份根围土分别加入灭草松 (RH - B)、莠去津 (RH - A)、莠去津 + 灭草松 (RH - AB)、灭草松 + 莠去津 + 表面活性剂 Tween - 20 (0.4 g) (RH - ABS)。2 份非根围土作为对照,分别加入莠去津 (CT - A) 和灭草松 (CT - B)。具体过程简述如下:在待培养的土壤中加入拌有一定量农药的干土,搅拌后连续过筛 5 次使农药均匀混合。然后装入 2 L 的烧杯,加入去离子水调节土壤含湿量为最大持水量 60% (或 29.1% 以干基计),搅拌均匀,然后用聚乙烯薄膜封口,在塑料膜上刺一些小孔供透气用。放入 25 ℃ 恒温培养箱避光培养,每隔一定时间进行称重,加水保持土壤含湿量。在预定时间称取约 30 g 湿土测定微生物数量。

1.4 土壤呼吸

采用碱吸收法^[6],称 5 份 50.0 g 的 RH (湿度

18.8%,干基)和 3 份 50.0 g CT (14.1%,干基)于 8 个 50 mL 小烧杯,加入 1 g 葡萄糖和少量水,在 25 ℃ 预培养 1 周后取出。除根围土和非根围土各留 1 个做参比外,其余加入灭草松、莠去津、灭草松 + 莠去津、灭草松 + 莠去津 + 表面活性剂,使农药量与上述 CT - A, CT - B, RH - A, RH - B, RH - AB, RH - ABS 同,调节土壤湿度为 29.1% (干基)后每一样品连同一个装有 20 mL 0.1 mol · L⁻¹ NaOH 小烧杯和灭菌水的小烧杯一起放入 1 000 mL 密封方瓶。在 25 ℃ 恒温培养箱避光培养 34 d,定时取出并更换 NaOH 吸收液,用 0.1 mol · L⁻¹ HCl 滴定吸收液,以酚酞为指示剂。

1.5 微生物计数

细菌、真菌采用平板计数法^[7]。细菌用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基:牛肉膏 3.0 g,蛋白胨 5.0 g,琼脂 18.0 g,水 1.0 L, pH 7.0 ~ 7.2;真菌用马丁氏培养基:蛋白胨 5.0 g, MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g, KH₂PO₄ 1.0 g,琼脂 18.0 g,葡萄糖 10.0 g,水 1 L, 3.3 mL 1% 孟加拉红, 3.0 mL 1% 硫酸链霉素。测定 CT、RH 及 CT - A、CT - B、RH - A、RH - B、RH - AB、RH - ABS 在培养过程细菌、真菌数动态变化。

2 结果与讨论

2.1 农药对细菌数的影响

一般情况下,细菌可占土壤微生物总量的 70% ~ 80%,其数量高低常左右着土壤微生物总量的变化^[4]。RH、CT 土壤中微生物数及施用农药对其数量影响的动态变化见表 1。从表 1 中结果可见,土壤细菌数基本处于同一数量级,在 7 左右;真菌数处在 4 ~ 5 个数量级左右;RH 中的细菌、真菌数比 CT 中的稍大,两者的细菌数存在明显差异 (one - way ANOVA, $P = 0.5947$)。RH 在分别施用莠去津和灭草松之后的前 15 d 中土壤细菌数有所增加;施加莠去津 + 灭草松时细菌数基本无变化,而施加莠去津 + 灭草松 + Tween - 20 时细菌数减小。在第 23 d 时,分别施用灭草松和莠去津的 RH 土壤细菌数恢复到施药前,而施用莠去津 + 灭草松、莠去津 + 灭草松 + 表面活性剂的 RH 土壤细菌数少于施药前。4 种用药方式下,第 38 d 时 RH 中细菌数已显著小于初始值 ($P < 0.05$)。CT 中细菌数的变化趋势同 RH,加入农药后的前 15 d 中土壤细菌数稍有增加,然后减少。

CT 中细菌数明显少于 RH 中的细菌数 ($P = 0.011$),不过两者差别并不太大。R/S 即植物每克根际土壤中所含的微生物数与对照土的相应值的比,用

表 1 根围土与非根围土在施用农药后细菌和真菌数的动态变化

土壤		0 d	15 d				23.8 d				37.8 d			
			A	B	A + B	A + B + S	A	B	A + B	A + B + S	A	B	A + B	A + B + S
RH	细菌数	7.57		7.65	7.60	7.37	7.54	7.58	7.36	7.38	6.98	7.02	7.05	7.10
		7.84												
CT	真菌数	4.83	5.06	4.85	5.12	5.04	5.03	4.84	4.90	4.90	5.11	4.98	5.16	5.28
	细菌数	7.15	7.71	8.04	nd	nd	7.25	7.86	nd	nd	7.07	7.06	nd	nd
	真菌数	4.50	5.08	5.28	nd	nd	5.11	4.95	nd	nd	5.26	5.16	nd	nd

注: A 莠去津; B 灭草松; A + B 莠去津 + 灭草松; A + B + S 莠去津 + 灭草松 + 表面活性剂; 表内数值为 log(CFU g⁻¹)。

来衡量根际效应,一般在 5~20 之间,有时可达 100 以上^[8]。RH 和 CT 的 R/S 值为 2.6。这是由于本实验中的 RH 并不是严格意义上的根际土,根际土通常指植物根面 1~2 mm 内的土壤,而 RH 土壤是植物根上所带土壤的全部,因此微生物数量与非根际土差别不大,但 RH 和 CT 反映了全部玉米田的土壤情况。

2.2 农药对真菌数的影响

RH 和 CT 的真菌数变化与细菌数的变化不同。施药后土壤中的真菌数比施用前增加,并且土壤真菌数随用药时间的延长一直在增加。使用莠去津后土壤中真菌数的增加比使用灭草松的增加程度大。每种除草剂对细菌-真菌比有不同的影响^[9]。施用莠去津后土壤中细菌数/真菌数随时间的减小要比灭草松的快,莠去津施用后第 38 d 时 RH 和 CT 土壤中细菌数/真菌数分别为 74 和 64;灭草松的分别为 109 和 79。这表明莠去津和灭草松对土壤细菌、真菌的影响不同,莠去津、灭草松对细菌可能是致命的,但对真菌则有促进生长的作用。

2.3 农药对土壤呼吸强度的影响

土壤呼吸作用强度是衡量土壤微生物总活性的指标。RH 和 CT 土壤在施用和未施用农药后不同时呼吸作用的相对变化如图 1~3。由图 1 可知, RH 在使用莠去津、灭草松、莠去津 + 灭草松和莠去津 + 灭草松 + 表面活性剂后,土壤呼吸作用首先表现为刺激增强,而后被抑制,最后逐渐恢复。灭草松、莠去津 + 灭草松对 RH 呼吸作用的影响基本一致,大约在第 6 d 后施药土壤释放的 CO₂ 小于对对照,而莠去津则出现在第 7.5 d。施用莠去津 + 灭草松 + 表面活性剂后, RH 土壤呼吸抑制大概出现在第 12 d。莠去津、灭草松和表面活性剂共用对 RH 土壤呼吸刺激增强、持续时间延长。

CT 土壤使用莠去津后未观察到初期土壤呼吸作用刺激增强现象,从第 2 d 到 35 d 全表现为土壤呼吸作用被抑制,见图 2。灭草松对 CT、RH 土壤呼吸作用

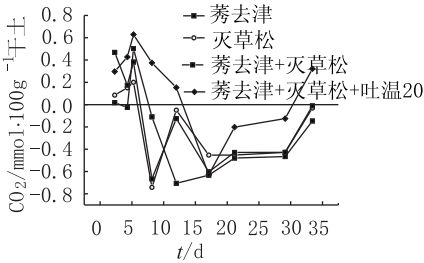


图 1 不同施药方式对根围土呼吸的影响
Figure 1 Effects of different herbicide application methods on soil respiration near rhizosphere

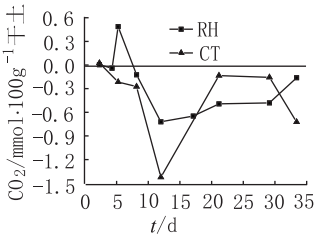


图 2 莠去津对根围土和对照土壤呼吸的影响
Figure 2 Effects of atrazine on soil respiration near rhizosphere and control soil

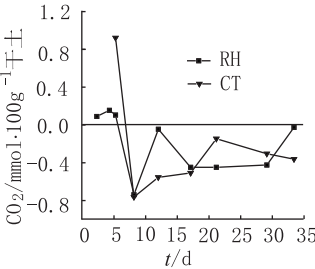


图 3 灭草松对根围土和对照土壤呼吸的影响
Figure 3 Effects of bentazone on soil respiration near rhizosphere and control soil

初期为刺激增强,在第 6 d 后表现为抑制减弱,见图 3。如果呼吸强度和土壤微生物生物量呈正相关,那么以上结果表明部分微生物被农药杀死或活性受到抑制。

关于莠去津对土壤微生物影响的报道较多,不过说法不一。如:莠去津在推荐用量下会抑制土壤微生物种群;开始时抑制分解纤维素的微生物,而经过 2 到 3 个月后,就促进他们的发展;有时没有初期的抑制阶段;玉米播种时施用莠去津,不仅有时候减少,而且有时也会增加土壤固氮细菌数量;一些作者指出均三氮苯类衍生物在田间浓度下,不影响硝化作用,而另有实验表明其对硝化杆菌有影响^[10]。灭草松对土壤微生物影响尚未见报道,还有待进一步详细研究。

3 结论

(1) 莠去津和灭草松在 10 倍推荐用量下会使土壤细菌数略有减少,真菌数略有增加,细菌/真菌比值减小。

(2) 莠去津、灭草松在 10 倍推荐用量下单独使用时对土壤呼吸强度的作用表现为:起初刺激增强,而后抑制,最后恢复。莠去津和灭草松混用与单用对土壤呼吸的影响无显著差别,但添加表面活性剂 Tween-20 后,土壤呼吸增强且时间延长。

参考文献:

- [1] 华小梅,单正军. 我国农药的生产、施用及其污染环境因子分析[J]. 环境科学进展, 1996, 4(2): 33-35.
- [2] 单正军,朱忠林,华小梅,等. 我国农药环境污染及管理现状[J]. 环境保护, 1997, 6: 35-38.
- [3] 林玉锁,龚瑞忠,朱忠林. 农药与生态环境保护[M]. 北京:化学工业出版社, 2000.
- [4] 朱南文,胡茂林,高廷耀. 甲胺磷对土壤微生物活性的影响[J]. 农业环境保护, 1999, 18(1): 4-7.
- [5] 冯巨忠,刘泰安. 灭草松玉米田除草研究[J]. 农药, 1990, 29(5): 59-60.
- [6] 许光辉,郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京:农业出版社, 1986. 227.
- [7] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京:科学出版社, 1985:48-59.
- [8] 潘学冬. 作物根际土壤中丁草胺的降解及其生物强化[D]. 杭州:浙江大学, 2002.
- [9] Wardle D A, Parkinson D. Effect of three herbicides on soil microbial biomass and activity[J]. *Plant and Soil*, 1990, 122(1): 21-28.
- [10] 何希树译. 除草剂对土壤微生物的影响[J]. 农药译丛, 1989, 11(3): 23-26.