

土壤中残留毒死蜱的作物效应

汪立刚^{1,2}, 蒋新¹, 颜冬云¹, 王芳¹, 卞永荣¹, 吴金水², 李新爱²

(1. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008; 2. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 长沙 410125)

摘要:应用盆栽实验和室内分析方法,研究了红壤中残留毒死蜱农药对小麦、油菜苗生长及其对农药吸收的影响。结果表明,红壤中残留毒死蜱初始浓度为 1~10 $\mu\text{g/g}$, 20d 后,小麦苗地上部吸收的浓度可达 0.257~4.50 $\mu\text{g/g}$,油菜苗地上部吸收浓度可达 0.249~2.02 $\mu\text{g/g}$;红壤中残留毒死蜱浓度低于 10 $\mu\text{g/g}$,对小麦苗地上部鲜重没有显著影响,低于 5 $\mu\text{g/g}$,对油菜苗地上部鲜重没有显著影响;残留毒死蜱在油菜苗根际的降解比非根际快 1.4~4.2 倍;油菜苗根际土细菌、真菌数量分别是非根际土的 3.18 倍、1.84 倍,而放线菌数量差异不大;根际土比非根际土 pH 值低约 0.19~0.23。

关键词:红壤;毒死蜱;残留;油菜;小麦

中图分类号: X131.3 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2006)02-0366-05

Effect of Chlorpyrifos Residue in Red Soil on Crops

WANG Li-gang^{1,2}, JIANG Xin¹, YAN Dong-yun¹, WANG Fang¹, BIAN Yong-rong¹, WU Jin-shui², LI Xin-ai²

(1. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China)

Abstract: The pot cultivation experiment method, integrating with laboratory analysis, was employed for exploring the influence of chlorpyrifos residue in red soil on growth of wheat and oil-seed rape seedlings, and the uptake of crops to chlorpyrifos residue. The results show that, wheat seedlings and oil-seed rape seedlings can absorb chlorpyrifos residue from soil to reach the concentration of 0.257~4.50 $\mu\text{g/g}$ and 0.249~2.02 $\mu\text{g/g}$, respectively, 20 days later since chlorpyrifos was introduced into the pots, on condition that the initial concentration of chlorpyrifos residue in red soil was 1~10 $\mu\text{g/g}$. The initial concentration of chlorpyrifos residue in red soil equivalent to or below 10 $\mu\text{g/g}$ has not significant influence on growth of wheat seedlings. Similarly, the concentration equivalent to or below 5 $\mu\text{g/g}$ has not significant influence on growth of oil-seed rape seedlings. The degradation rate in oil-seed rape rhizosphere soil is 1.4~4.2 times more than in that in unvegetated soil. The amount of bacterium and fungus in oil-seed rape rhizosphere is 3.18 times and 1.84 times as much as these in unvegetated soil, respectively. However, there is no substantial difference of actinomycetes between in rhizosphere soil and in unvegetated soil. Compared with unvegetated soil, pH in rhizosphere soil is lowered by 0.19~0.23.

Key words: red soil; chlorpyrifos; residue; wheat; oil-seed rape

目前我国的农药产量已列世界第一位^[1]。有统计数字表明,我国每年的农药使用量按有效成分计,高达 $50 \times 10^4 \sim 60 \times 10^4 \text{t}$,而有机磷农药占到近一半的使用量。农药的不合理使用,导致 $907 \times 10^4 \text{hm}^2$ 耕地受到不同程度的农药污染^[2,3]。使用的农药通过各种途径污染土壤,造成粮食和蔬菜污染,进而危害人体健康,已受到各国政府和公众的广泛关注^[4,5]。

毒死蜱属于广谱性有机磷杀虫剂,在土壤中残留期较长。它广泛用于防治作物和果树上的多种害虫,还用于家庭防治蚊子、蟑螂及家畜体表的小牛蝇和虱子。毒死蜱的致毒机理是引起胆碱酯酶的抑制,高浓度暴露可造成呼吸麻痹和死亡^[6]。以往的研究表明,田间喷洒的农药只有 10% 粘附在作物上,80%~90% 的农药量将最终进入土壤^[7,8]。而有关土壤中残留毒死蜱农药造成的作物影响的研究报道十分有限^[9],关于毒死蜱在水体环境中的消解及在

水生生物体内富集的研究相对较多^[10~13]。因此,研究土壤中残留毒死蜱的作物效应,不仅有利于全面准确弄清农产品污染的来源,进而采取相应的调控措施,而且可以阐明土壤中残留毒死蜱对作物影响的机理。

1 材料与方法

供试土壤为红壤,取自江西省鹰潭中国科学院农业生态试验站,土壤为 0~20cm 表层土。供试土壤性质如表 1。

盆栽实验:供试小麦品种为宁麦 9 号,油菜品种为秦油 7 号。供试小盆高 10cm,内径 13cm;小麦均

收稿日期: 2005-01-05; 修订日期: 2005-04-15

基金项目: 国家杰出青年科学基金项目(40325001); 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB415203, 2002CB410805); 中国科学院知识创新工程重大项目(KZCX1-SW-01-14)

作者简介: 汪立刚(1969~),男,博士,副研究员,主要从事土壤有机污染物分析及降解研究, E-mail: lgwang0827@yahoo.com.cn

匀播在盆内,每盆播种 20 粒,定苗 18 株,2004-03-02 日播种,40d 后随灌水向盆中加不同浓度(0.1、10 μ g/mL)的毒死蜱农药,播种 55d 后收获.油菜做根袋培养实验,根袋内径 3.4cm,高 10cm.2004-02-16 播种.油菜苗播在根袋内,每盆播种 15 粒,定苗 10 株;播种后 30d 随灌水向盆中加于不同浓度(0、1.5、10 μ g/mL)的毒死蜱农药,播种后 50d 收获.收获时从盆中取出根袋,将土壤分离出来,分别取根际和非根际土 4 份各 20g,2 份新鲜土样用于测定微生物量,水分含量,另 2 份风干后过 2mm 筛,用于测定农药残留量和土壤 pH 值.盆栽培养实验安排在装有镱灯的培养温室中,每天早上 9:00 将镱灯打开,下午 5:00 关闭;白天温度保持在 22℃,晚上温度保持在 18℃.供试土壤过 2mm 筛,每 kg 土施 N 0.04g、P₂O₅ 0.15g、K₂O 0.15g,每盆内装土 1300g,其中用作油菜苗试验的根袋内装土 340g,根袋内土壤为根际土,根袋外 2.5cm 以远土壤为非根际土;根袋由 300 目尼龙网制成,呈圆柱状,内径 3.4cm,高 10cm,置于盆中央.

表 1 供试土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical characters of soil used

土壤	pH	OM ¹⁾ / g·kg ⁻¹	粘粒 / %	粉粒 / %	沙粒 / %	CEC ²⁾ / cmol·kg ⁻¹
红壤	4.62	13.5	45	34	21	18.17

1) OM 为有机质含量; 2) CEC 为阳离子交换量

实验所用的毒死蜱是由德国 Dr. Ehrenstorfer GmbH 生产的色谱纯标样;正己烷由上海陆都化学试剂厂生产,乙酸乙酯、丙酮、石油醚,由南京化学试剂一厂生产.硅胶由中国科学院大连化学物理研究所生产.无水硫酸钠、盐酸由南京化学试剂一厂生产.活性炭由中国林科院林产化工研究所活性炭厂生产.以上所用的化学试剂均为分析纯.活性炭用来去除植物样品中的色素,用前需进行酸化处理;处理方法为:称取 20g 活性炭,用盐酸(3mol/L)浸泡过夜,抽滤后用水洗至无氯离子,在 120℃烘干备用.实验时以不加农药为对照.

植物样品的处理方法:洗净后的新鲜植物样品擦干后,匀质化;称 10.0g 匀质化样品于 50mL 离心管中,加入一定量的农药后,摇匀,静置;再加 15~20g 无水硫酸钠,摇匀后再加 20mL 乙酸乙酯,剧烈摇动后放在振荡器上恒温水浴振荡 0.5h;样品经滤纸过滤后,取 10mL 滤液于 40 mL 离心管中,再加入 0.05~0.2g 酸化活性炭(根据不同植物色素含量的多少而定),再次恒温水浴振荡 0.5h,再次过滤,

滤液经旋转浓缩至 0.5mL,然后过固相萃取柱(填料为硅胶),用 15mL 乙酸乙酯淋洗,收集淋出液于 25mL 梨形瓶中,旋转浓缩至 1mL,再转移到 1mL 容量瓶中,定容待测.用这种方法测得的植物样品中毒死蜱的回收率为 103%~118%.

HP6890 气相色谱仪配氮磷检测器(NPD),HP-5MS 5% (Phenyl Methyl Siloxane) 毛细管柱,长 30m,内径 0.25mm,厚度 0.25 μ m.载气为氮气,流速为 22.4mL/min,燃气为氢气,流速为 4mL/min,空气流速为 60mL/min,柱前压为 85.7kPa.升温程序为:起始温度 60℃保持 1min,然后以 12℃/min 上升到 140℃,再以 8℃/min 上升到 300℃,保持 5min.进样口和检测器温度分别为 250℃和 320℃,进样体积为 1 μ L.实验中所用旋转蒸发仪由上海生化仪器厂生产,真空泵由美国 Gast 制造公司生产,超声波水槽由中国恒高 T&D 公司生产,所用 Sigma2-16K 离心机由德国 Sigma 公司生产.

硅胶在 130℃下烘 24h,在干燥器中冷却后,加 1.5%的去离子水部分去活.固相萃取柱的制备:空的固相萃取柱底部放置一垫片,加入 1g 1.5% 去活的硅胶,用玻璃柱将硅胶压紧实后放置第 2 个垫片,然后加入 1g 无水硫酸钠,用玻璃柱将无水硫酸钠层压紧实后放置第 3 个垫片.垫片孔径 5~10 μ m.制备好的固相萃取柱用 4mL 的正己烷洗 2 次,加压使正己烷快速通过固相萃取柱,以赶走内部的气体.

土壤中毒死蜱的提取、纯化:加内标马拉硫磷(10ng/ μ L) 100 μ L 于 5g 土的样品中,再加 25mL 石油醚/丙酮(2:1),恒温(20℃)水浴振荡 2h,转移至 50mL 离心管中离心 10min(2000r/min),取上清液 20mL 到 50mL 梨形瓶中,旋转浓缩至 0.5mL,样品过固相萃取柱,用 10mL 石油醚/丙酮(2:1)洗脱.洗脱液收集于 25mL 梨形瓶中,旋转浓缩至 1.00mL,转移到 1.00mL 容量瓶中定容待测.用这种方法测得的土壤中毒死蜱的回收率为 81%~100%.

土壤 pH 的测定方法:称取通过 2mm 筛孔的风干土样 10.00g 于 50mL 高型烧杯中,加入 25mL 无二氧化碳的水.用玻璃棒剧烈搅拌 2~3min,静置 30min,用 PXJ-IC 数显离子计测定.

2 结果与讨论

2.1 红壤中残留毒死蜱对小麦苗生长的影响

由图 1 可以看出,当土壤中最初残留毒死蜱浓度为 1 μ g/g、10 μ g/g 时,小麦苗的鲜重分别比对照降低 3.19%、5.67%,但差异都没达到显著水平.

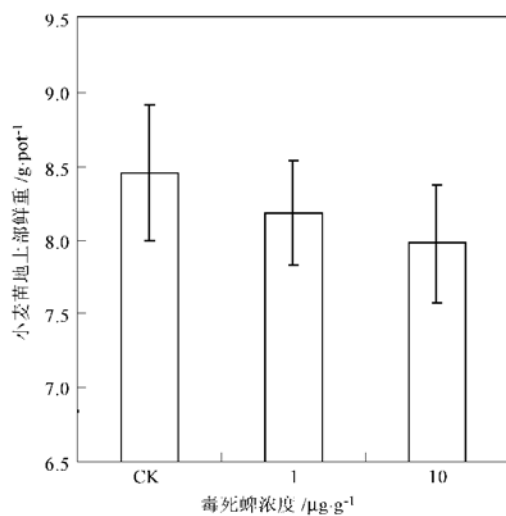


图1 红壤中不同残留浓度毒死蜱对小麦苗鲜重的影响

Fig. 1 Effect of chlorpyrifos residue in red soil on fresh weight of wheat seedlings

由图2可知,当红壤中最初残留毒死蜱浓度为1、10μg/g的条件下,小麦苗地上部毒死蜱浓度分别可达到0.257、4.50μg/g,说明土壤中残留浓度越高,地上部吸收越多。

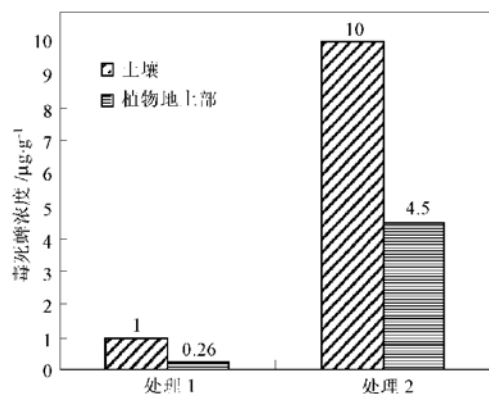


图2 土壤中残留毒死蜱浓度与小麦苗地上部含量的比较

Fig. 2 Comparison on chlorpyrifos concentrations in soil and wheat seedlings

2.2 红壤中残留毒死蜱对油菜苗生长的影响

由图3可知,当土壤中最初残留毒死蜱浓度为1、5、10μg/g时,油菜苗地上部鲜重分别比对照降低2.91%、5.05%、9.71%;土壤中残留毒死蜱浓度为1、5μg/g时,油菜苗地上部鲜重与对照差异不显著;土壤中残留毒死蜱浓度为10μg/g时的油菜苗地上部鲜重与对照、残留浓度为1μg/g时的油菜苗地上部鲜重差异显著。

由图4可以看出,当土壤中最初残留的毒死蜱

浓度为1、5、10μg/g时,油菜苗地上部吸收浓度分别为0.249、1.14、2.02μg/g,也即土壤中残留浓度越高,地上部积累浓度也越高。土壤中最初残留毒死蜱浓度越高,油菜苗地上部吸收量也越大。这一研究结果与植物对土壤中其它有机污染物的吸收规律相同^[14~19]。

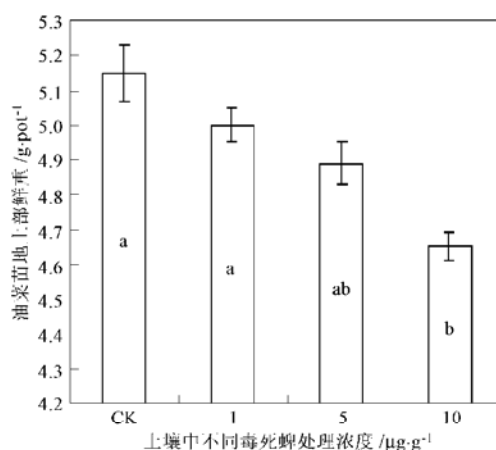


图3 红壤中不同毒死蜱处理浓度对油菜苗鲜重的影响

Fig. 3 Effect of chlorpyrifos residue in soil on fresh weight of oil rape seedlings

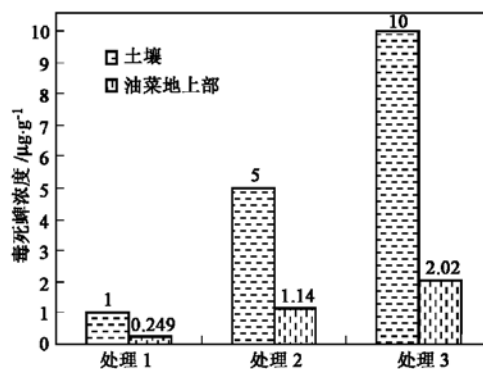


图4 红壤中不同毒死蜱处理浓度与油菜苗地上部含量的比较

Fig. 4 Comparison on chlorpyrifos concentration in soil and oil rape seedlings

这一研究结果证明了作物从土壤中吸收残留毒死蜱农药,并在作物体内达到较高的浓度。长期以来,一些文献常常认为,在蔬菜和粮食生产中,收获前15~20d不使用农药对农产品是安全的^[20~26]。而本研究表明,在使用过农药的土壤上,即使不再使用农药,20d以后,植物通过吸收土壤中残留的农药,在地上部分仍能达到较高的浓度。因此,要达到减少农产品污染的目的,不仅要注意农药的喷施过程,同时也要重视残留在土壤中的农药。

2.3 收获时油菜苗根际和非根际土中残留毒死蜱

浓度的比较

由图 5 可以看出,油菜苗收获时,根际土中的农药残留量显著低于非根际土中的农药残留量。当土壤中初始残留浓度为 $1.5, 10 \mu\text{g/g}$, 到收获时非根际土中的农药残留量分别为 $0.3048, 0.9595, 2.45 \mu\text{g/g}$, 而根际土中的农药残留浓度分别为 $0.05837, 0.3935, 0.7242 \mu\text{g/g}$, 非根际土中的农药残留量浓度分别是根际土的 5.22 倍、2.44 倍、3.38 倍。土壤初始残留浓度为 $1.5, 10 \mu\text{g/g}$ 时,油菜苗吸收的毒死蜱总量也分别只有 $1.25, 5.58, 9.39 \mu\text{g}$ 。即使油菜苗从土壤中吸收的毒死蜱全部来自根际土,对根际土 (340g) 中农药残留浓度的贡献为 $0.00367, 0.0170, 0.0276 \mu\text{g/g}$, 仅为油菜苗收获后根际土中农药残留浓度的 6.28%、4.31%、3.81%, 因此,植物吸收的量是很少的。说明油菜苗根际对土壤中残留毒死蜱有很显著的加速降解作用。利用植物来提高微生物对土壤中有害污染物的降解,一直是人们感兴趣的研究内容^[27]。其他的研究者也提出根际土比非根际土对其它农药有加速降解的作用^[28-31]。根际区域是土壤中外源污染物进入食物链的第一个重要屏障,根际效应不仅加速了有机污染物的分解,而且减少了植物对污染物的吸收积累。因此,根际对污染物的转化仍将是研究的热点。

2.4 油菜苗根际土(R)与非根际土(N)中微生物量和 pH 的差异

由图 6 可知,根际土(R)和非根际土(N)中细菌差异最大,根际土细菌数量是非根际土的 3.18 倍,其次是真菌数量,根际土真菌数量是非根际土的 1.84 倍;而放线菌数量差异最小,根际土放线菌数量仅比非根际土多 4.88%。马健等的研究也表明,

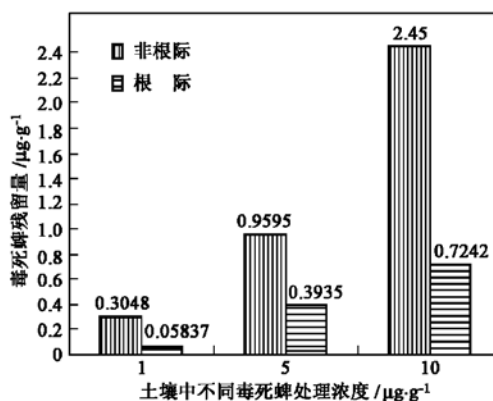


图 5 根际和非根际土中农药降解差异比较

Fig. 5 Comparison of chlorpyrifos degradation between rhizosphere and nonrhizosphere

小麦根际细菌数量是非根际土的 2~3 倍^[32]。引起根际土壤中细菌和真菌数量显著增加的原因是:油菜苗根系细胞有大量分泌物和脱落物,如氨基酸、多糖等,为微生物提供了丰富的碳源以及营养物质,使得根际微生物繁殖速度加快,同时非根际土壤微生物也向根际积聚,因此根际微生物量迅速增加^[33,34]。根际是土壤中降解外源有机物的最佳环境,这是因为某些微生物能够利用这些物质作为碳源和营养源。虽然农药对微生物生长有消极影响,但当大量农药污染物进入土壤后,细菌能够适应这种逆境,并快速增生和繁殖,进而快速降解污染物^[35]。

由图 7 可以看出,根际土(R)比非根际土(N)的 pH 为低。在土壤中残留毒死蜱浓度为 $1 \mu\text{g/g}, 5 \mu\text{g/g}, 10 \mu\text{g/g}$ 的条件下,根际土(R)比非根际土(N)的 pH 分别降低 0.19、0.19、0.23 个 pH 单位。引起根际土 pH 降低的原因是:油菜苗根系细胞的很多

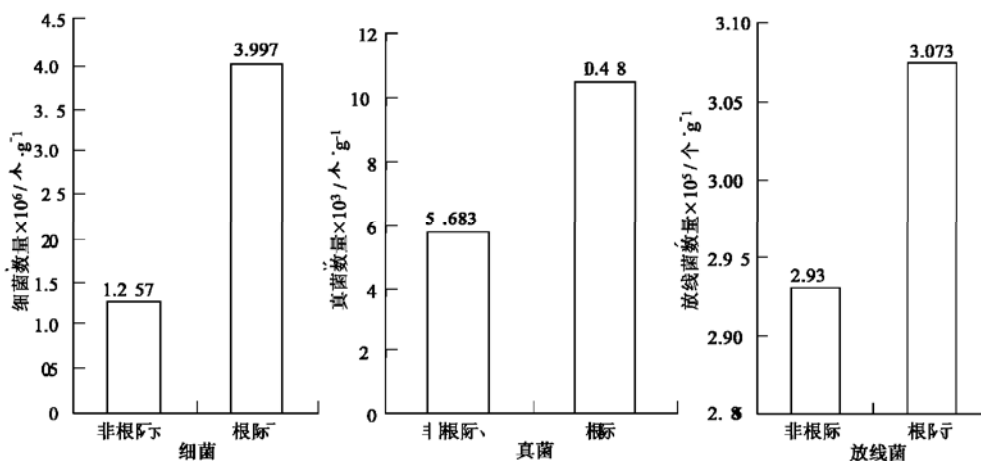


图 6 根际土和非根际土中微生物量的比较

Fig. 6 Comparison of microbial number between rhizosphere soil and nonrhizosphere soil

分泌物、脱落物以及微生物分解产物为酸性物质,根系在吸收养分离子的过程中也会释放出质子,因此会加速根际土壤变酸。这一研究结果与常见文献中的报道是一致的^[33]。

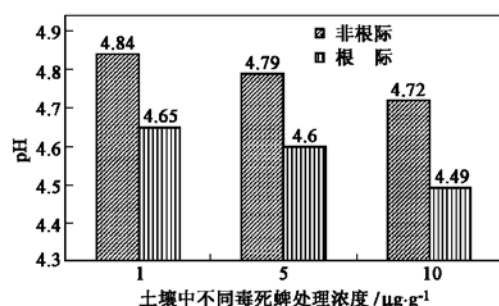


图7 根际土(R)和非根际土(N)pH的比较

Fig. 7 Comparison of pH between rhizosphere soil and nonrhizosphere soil

3 结论

土壤中残留的毒死蜱能够被小麦、油菜苗吸收并进入其地上部,当土壤中残留的有机磷农药浓度越高,作物幼苗吸收的量也越多;与非根际区相比,油菜苗根际区域对残留的毒死蜱有显著的加速降解作用,根际土中细菌数量增加最多,真菌数量次之,而放线菌数量差异不大,根际土 pH 明显下降。也可能正是因为根际土中微生物量增加,加速了对残留毒死蜱的降解。

参考文献:

- [1] 业内综述:化工产品须注意深层次问题[J]. 化工周刊, 2004, 5: 7.
- [2] 吴春华,陈欣. 农药对农区生物多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(2): 341~ 344.
- [3] 关锐捷. 中国农业生态环境状况综述[J]. 中国农村研究, 2001, 21: 1~ 4.
- [4] 郭明,唐素英,白红进. 农用化学物质对土壤的污染状况与控制措施[J]. 新疆环境保护, 1999, 3: 48~ 51.
- [5] 冯秀琼. 农药残留分析技术进展概况[J]. 农药, 1998, 37(2): 8~ 10.
- [6] Guardino X, Obiols J, Rosell MG, *et al.* Determination of chlorpyrifos in air, leaves and soil from a greenhouse by gas chromatography with nitrogen-phosphorus detection, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis [J]. J. Chroma. A., 1998, 823: 91~ 96.
- [7] 华小梅,单正军. 我国农药生产、使用状况及其影响因子分析[J]. 环境科学进展, 1996, 4(2): 33~ 45.
- [8] 戈峰,曹东风,李典谟. 我国化学农药使用的生态风险性及其减少对策[J]. 植保技术与推广, 1997, 12(2): 35~ 37.
- [9] Racke K D. Environmental fate of chlorpyrifos [J]. Rev. Environ. Contam. Toxicol., 1993, 131: 1~ 154.
- [10] Lal S, Lal R. Bioaccumulation, metabolism and effects of DDT, fenitrothion and chlorpyrifos on *Saccharomyces cerevisiae* [J]. Arch. Environ. Contam. Toxicol., 1987, 16: 753~ 757.
- [11] Lal S, Saxena D M, Lal R. Uptake, metabolism and effects of DDT, fenitrothion and chlorpyrifos on *Tetrahymena pyriformis*

- [J]. Pestic Sci., 1987, 21: 181~ 191.
- [12] Lal S, Saxena D, Lal R. Bioconcentration and metabolism of DDT, Fenitrothion and chlorpyrifos by the blue green algae *Anabaena* sp. and *Aulosira fertilissima* [J]. Environ. Pollut., 1987b, 46: 187~ 196.
- [13] Spacie A, Hamelink J L. Bioaccumulation [A]. In: Rand P M, Petrocelli S R (eds). Fundamentals of aquatic toxicology: Methods and applications [M]. NY: Hemisphere Publishers, 1985. 497~ 534.
- [14] He Y, Sun T, Ou Z, *et al.* Fate of 1, 2, 4-trichlorobenzene (1, 2, 4-TCB) in soil-rice paddy system [J]. Chemosphere, 1996, 32(7): 1381~ 1389.
- [15] Fries S D, Marrow G B. Chlorobiphenyl movement from soil to soybean plants [J]. J. Agri. Food Chem., 1981, 29: 757~ 759.
- [16] Paterson S, Mackey D, Taam D, *et al.* Uptake of organic chemicals by plants: a review of processes, correlation and models [J]. Chemosphere, 1990, 21: 297~ 331.
- [17] Ryan J A, Bell R M, Davidson J M, *et al.* Plant uptake of non-ionic organic chemicals from soils [J]. Chemosphere, 1988, 17: 2299~ 2323.
- [18] Streck H J, Weber J B. Behaviour of polychlorinated biphenyls (PCBs) in soils and plants [J]. Environ. Pollut., 1982, 28: 291~ 312.
- [19] Wang M J, Jones K C. Behaviour and fate of chlorobenzenes (CBs) introduced into soil-plant systems by sewage sludge application: A Review [J]. Chemosphere, 1994, 28(7): 1325~ 1360.
- [20] 顾沫英,汤铎. 蔬菜无公害防治原则[J]. 植物医生, 2000, 13(2): 42.
- [21] 韦宁. 浅谈蔬菜残留农药引起中毒的成因及防治[J]. 广西预防医学, 2001, (7) 增刊, 71~ 72.
- [22] 刘加廷,戚从清. 蔬菜施药技术要点[J]. 安徽农业, 2002, 1: 22.
- [23] 周湘宁. 蔬菜施药应做到安全有效[J]. 湖南农业, 1994, 7: 12.
- [24] 陶清华. 蔬菜喷药后多久可采食[J]. 西北园艺, 1997, 3: 37.
- [25] 孙东立,杜欣谊,程春芝,等. 蔬菜残留农药简单去除方法及施用农药注意事项[J]. 现代化农业, 2002, 5: 17~ 18.
- [26] 郭小斌. 蔬菜用药须谨慎[J]. 云南农业, 1999, 1: 15.
- [27] Anderson T A, Guthrie E A, Walton B T. Bioremediation in the rhizosphere [J]. Environ. Sci. Technol., 1993, 27: 2630~ 2636.
- [28] Anderson T A, Kruger E L, Coats J R. Enhanced degradation of a mixture of three herbicides in the rhizosphere of a herbicide-tolerant plant [J]. Chemosphere, 1994, 28: 1551~ 1557.
- [29] Shimp J F, Tracy J C, Davis L C, *et al.* Beneficial effects of plants in the remediation of soil and groundwater contaminated with organic materials [J]. Environ. Sci. Technol., 1993, 23(1): 41~ 77.
- [30] Anderson T A, Guthrie E A, Walton T. Bioremediation in the rhizosphere [J]. Environ. Sci. Technol., 1993, 27: 2630~ 2636.
- [31] Anderson T A, Coats J R. Screening rhizosphere soil samples for the ability to mineralize elevated concentrations of atrazine and metolachlor [J]. J. Environ. Sci. Health, (B), 1995, 30: 473~ 484.
- [32] 马健,王周琼,李述刚. 小麦根际 pH、细菌数量、有机质变化研究[J]. 干旱区研究, 1998, 15(2): 66~ 69.
- [33] 张福所,曹一平. 根际动态过程与植物营养[J]. 土壤学报, 1992, 29(3): 239~ 250.
- [34] 刘芷宇. 根际研究法[M]. 南京:江苏科技出版社, 1997.
- [35] Martenson A M. Effects of agrochemicals and heavy metals on fast-growing rhizobia and their symbiosis with small-seeded legumes [J]. Soil Biol. Biochem., 1992, 5: 435~ 445.