

二甲戊乐灵的土壤微生物生态效应

朱鲁生¹, 王军¹, 林爱军¹, 张俊², 赵秉强² (1. 山东农业大学资源与环境学院, 泰安 271018, E-mail: lszhu@sdau.edu.cn; 2. 中国农业科学院土壤肥料研究所, 北京 100081)

摘要:研究了二甲戊乐灵对土壤微生物活性的影响. 结果表明:二甲戊乐灵 $1.5, 10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 3 个浓度处理所释放的 CO_2 与对照无明显差异;该药对纤维素在土壤中的降解表现出促进作用,纤维素在 5 和 $10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 2 处理中的半衰期分别比 CK 提高 1.32 和 2.14 倍;二甲戊乐灵对脱氢酶的活性有一定的激活作用,其激活强度和作用时间随处理浓度升高而加剧和延长;二甲戊乐灵对土壤脲酶的影响表现出先抑制后激活的现象,抑制和激活的程度及持续的时间与处理浓度成正比.

关键词:二甲戊乐灵;土壤微生物;呼吸强度;纤维素;脱氢酶;脲酶

中图分类号:X172 文献标识码:A 文章编号:0250-3301(2002)03-04-0088

Ecological Effect of Pendimethalin on Soil Microbe

Zhu Lusheng¹, Wang Jun¹, Lin Aijun¹, Zhang Jun², Zhao Bingqiang² (1. College of Resources & Environment, Shandong Agricultural University, Taian 271018, China E-mail:lszhu@sdau.edu.cn; 2. Soil and Fertilizer Institute, CAAS, Beijing 100081, China)

Abstract: The effect of pendimethalin, a herbicide, on microbial activity in soil was studied here. The results showed that the amount of emission CO_2 from three treatment of $1, 5$ and $10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ of pendimethalin had no significant differences from the CK. The study of the influences on the degradation of the cellulose demonstrated that pendimethalin can stimulate the cellulose degradation in the soil. In contrast to the CK, the half life ($T_{0.5}$) of $5, 10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ treatments were increased to 1.32 times and 2.14 times, respectively. The activities of dehydrogenase were activated in some degrees, and the higher the pendimethalin concentration the greater and longer the influence. The results also showed that the soil urease activity was restrained, and then, was stimulated by pendimethalin. The level and the sustained time of inhibition and stimulation was proportional to the concentration of the treatment.

Key words: pendimethalin; soil microbe; respiration; cellulose; dehydrogenase; urease

土壤微生物是土壤生态系统中的重要组成部分,对土壤肥力的形成、土壤生态系统的物质循环等具有重要的意义.农田施用的化学农药大部分散落于土壤中,从而对土壤微生物产生一定的影响.因此,化学农药在农田施用后对土壤微生物的影响已成为评价其生态安全性的一个重要指标,也是农药生态毒理学研究的热点之一.有关化学农药对土壤微生物的影响有许多报道^[1~7].二甲戊乐灵(pendimethalin)是一种二硝基苯胺类除草剂,国内外已对其微生物降解及其对一些菌类的影响进行了研究^[8,9,11],但其对土壤微生物生态活性的影响研究较少.本文从其对土壤呼吸强度、纤维素分解强度及对土壤脱氢酶和脲酶的影响进行了研究,旨在了解其土壤微生物生态效应,以便为经济合理

的施用该药,减少环境污染提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 材料

(1) 土壤 土壤采自山东农业大学实验农场.经调查,该土壤没有使用过二甲戊乐灵农药.取 2~20cm 土壤,过 2mm 筛,土壤为棕壤,其理化性质为 pH7.62,有机质 $17.6 \text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,有效氮 $132.3 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,速效钾 $125.7 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,速效磷 $18.43 \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,田间最大持水量 18.46%.

(2) 药品 二甲戊乐灵(97.1%).

基金项目:科技部社会公益研究专项基金项目(编号:177)及山东农业大学博士后项目

作者简介:朱鲁生(1963~),男,山东曲阜人,博士,教授,主要从事农药生态毒理研究.

收稿日期:2001-04-19;修订日期:2001-08-29

1.2 试验方法

(1) 土壤微生物呼吸强度的测定 本试验采用密闭静置测 CO₂ 法^[7], 在一个密闭系统中放置新鲜土壤及过量的 NaOH 标准溶液, 土壤微生物在呼吸过程中释放出来的 CO₂ 被 NaOH 吸收, 用 HCl 滴定剩余的 NaOH, 根据消耗的盐酸量计算释放出的 CO₂ 量, 实验结果换算成每 100g 干土的 CO₂ 释放量. 实验设未施用该药剂的空白土壤对照 (CK) 和药剂在土壤中浓度分别为 1.5、10 μg·g⁻¹ 的 3 个处理, 分别在处理后的第 2、5、7、10、12、15、17、20 d 测定 CO₂ 的释放量, 重复 3 次, 取平均值.

(2) 土壤纤维素分解强度的测定 采用平面皿埋布法^[2], 将已知重量的布片埋于不同浓度药剂处理的土壤中, 于 30 ± 1 °C 生化培养箱中培养, 由于土壤中纤维素分解菌的作用, 布条重量减轻, 定期取出布条称重, 以布片失重率表示土壤纤维素分解作用强度. 试验设无该药剂的空白对照 (CK) 和该药剂在土壤中浓度分别为 5 μg·g⁻¹、10 μg·g⁻¹ 的 2 个浓度处理, 于处理后第 0、1、2、5、7、10、15、20、25、30、35、40、45、50、55、60 d 取样测定, 重复 3 次, 取平均值.

(3) 土壤脱氢酶活性的测定 利用三苯基四氮唑氯化物为氢的受体, 当它接受氢后生成

红色的甲替, 然后用比色法测定所生成的甲替量 (TF, μg·g⁻¹ 干土) 用以表示酶的活性^[2,4]. 同时做标准曲线和空白对照, 得到的标准曲线方程为 $Y = 0.0001451 X + 0.0038$ ($R = 0.9998$). 该试验设空白土壤对照 (CK) 和该药剂在土壤中浓度分别为 10、20、50 μg·g⁻¹ 的 3 个浓度处理, 分别在处理后第 1、4、8、16、24 d 取样测定, 重复 3 次, 取平均值.

(4) 土壤脲酶活性的测定 采用靛酚蓝比色法^[4,6]. 该法以尿素为基质, 根据酶促产物——氨在碱性基质中与苯酚及次氯酸钠作用生成蓝色的靛酚, 靛酚蓝的生成数量与氨浓度成正比来进行定量分析. 同时做标准曲线和空白试验, 得到的标准曲线方程为 $Y = 0.0297 X + 0.0015$ ($R = 0.9982$). 试验设无该药剂的空白对照 (CK) 和该药剂在土壤中浓度分别为 1、5、10、20、50、100 μg·g⁻¹ 的 6 个浓度处理, 分别在处理后第 0、1、2、4、6、8、10 d 取样测定, 重复 3 次, 取平均值.

2 结果与讨论

2.1 二甲戊乐灵对土壤呼吸作用的影响

二甲戊乐灵对土壤微生物呼吸作用影响的测定结果见表 1.

从表 1 可以看出, 加入二甲戊乐灵的 3 个

表 1 二甲戊乐灵对土壤微生物呼吸的影响

Table 1 Effect of pendimethalin on the respiration of the soil

处理/μg·g ⁻¹	CO ₂ 释放量 / mg·100g ⁻¹ 干土							
	0 ~ 2d	2 ~ 5d	5 ~ 7d	7 ~ 10d	10 ~ 12d	12 ~ 15d	15 ~ 17d	17 ~ 20d
CK	33.65	45.98	15.34	24.00	18.31	17.94	15.28	20.63
1	24.49	39.46	27.09	23.50	15.59	16.82	12.53	19.86
5	31.05	28.33	29.32	26.72	14.84	14.23	11.00	14.52
10	32.04	33.88	34.05	24.74	10.64	16.45	11.46	12.37

浓度处理中, 在前 2 个测定时期内, 土壤中 CO₂ 释放量均低于对照, 在土壤微生物对药剂适应后, 其活性增高, 放出的 CO₂ 高于对照, 且浓度越高越明显, 在随后的测定时期内又都趋于平缓.

为比较 3 个不同浓度处理与对照之间的差异, 通过 *t* 检验进行统计分析, 结果表明, 二甲戊乐灵各浓度处理之间及其与对照组中 CO₂ 释

放量无明显差异, 即二甲戊乐灵对土壤微生物的呼吸作用没有明显影响. 根据危害系数法的分级方法^[7], 计算得 3 个浓度的危害系数分别为 8.67、2.34、0.98, 均小于 20, 属于无实际危害级的农药.

2.2 二甲戊乐灵对纤维素分解强度的影响

二甲戊乐灵对纤维素分解强度的影响结果如表 2.

表 2 二甲戊乐灵对纤维素分解强度的影响

Table 2 Effect of pendimethalin on the decomposition of the cellulose

处理/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	2d	5d	7d	10d	15d	20d	25d	30d	35d	40d	45d	50d	55d
CK	5.6	18.8	27.2	32.2	40.7	47.9	55.6	60.8	67.2	78.3	88.0	91.7	95.0
5	13.9	34.7	40.5	53.8	62.9	70.0	79.7	82.2	84.6	89.9	93.8	96.6	
10	11.5	35.1	50.6	62.2	70.9	77.4	85.6	92.4	93.2	96.6			

纤维素分解率是指分解的纤维素与原来纤维素质量的比值.从表 2 可以看出,二甲戊乐灵对于土壤微生物分解纤维素具有“激活效应”.纤维素在土壤中的分解符合二级降解模型^[15],将表 2 中数据进行回归计算,得纤维素在 0.5、10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 3 个浓度处理中的降解半衰期分别为 22.5、13.9 和 10.5 d,处理浓度越高,纤维素分解越快.5 和 10 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 2 个处理的半衰期分别比对照提高 1.32 和 2.14 倍.说明二甲戊乐灵对纤维素分解具有一定的促进作用.

纤维素在土壤中分解是酶的作用,而酶是由一定的微生物活动产生的.目前,国内外报道分解纤维素能力较强的是一些丝状真菌,如木霉(*Trichoderma*)和芽孢杆菌(*Bacillus*)及其一些伴生菌株^[3].二甲戊乐灵对纤维素分解的促进作用究其根源可能是二甲戊乐灵能被这种类型菌株所利用,作为它们的营养物质,刺激它们的活性且使其数量增加,这也就使它们所产生的纤维素酶量增加,最终表现出二甲戊乐灵的使用加速了纤维素的分解^[8~10].二甲戊乐灵对土壤纤维素分解的促进作用能否加快杂草死亡后的分解或田间秸秆的分解,及能否对土壤中的腐殖质或有机质的含量有所贡献及贡献

程度如何还有待进一步研究.

2.3 二甲戊乐灵对土壤脱氢酶活性的影响

二甲戊乐灵对土壤脱氢酶活性的影响试验结果见表 3.

脱氢酶能催化有机物质的脱氢反应,它对包括农药在内的许多化学物质比较敏感.从表 2 可以看出二甲戊乐灵在开始就对脱氢酶产生了一定的激活效应,且在整个实验周期内各处理脱氢酶总体活性均比对照高.而且二甲戊乐灵浓度越高酶活性也越大,即脱氢酶的酶活性与二甲戊乐灵的浓度呈一定的相关性.从总体趋势上看,对照组的酶活性也有下降的趋势,这可能是因为土壤中可利用的基质逐渐减少的原因.

表 3 二甲戊乐灵对土壤脱氢酶活性的影响(TF)/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Table 3 The effect of pendimethalin on the activity of dehydrogenase in the soil

处理/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	1d	4d	8d	16d	24d
CK	97.96	204.90	187.87	178.57	90.21
10	14.26	310.31	104.16	206.47	113.46
20	54.56	364.57	235.92	206.47	115.01
50	60.67	311.87	460.67	366.12	144.46

2.4 二甲戊乐灵对土壤脲酶活性的影响

二甲戊乐灵对土壤脲酶活性的影响结果如表 4 示.

表 4 T 二甲戊乐灵对土壤脲酶活性的影响(37℃,24h)/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$

Table 4 The effect of pendimethalin on the soil urease

处理/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0d	1d	2d	4d	6d	8d	10d
CK	151.73	146.13	142.75	144.03	133.13	134.29	137.62
1	151.73	145.52	137.63	148.95	138.26	136.99	138.78
5	152.38	144.71	131.94	150.34	146.12	142.88	140.52
10	152.14	141.80	131.84	154.28	152.49	140.75	141.54
20	150.50	133.45	127.63	124.77	127.86	131.43	149.15
50	149.58	130.36	104.21	117.10	122.48	131.42	156.10
100	147.88	126.42	109.72	104.90	113.22	122.84	155.36

以二甲戊乐灵各浓度处理与对照组的相对百分比为纵坐标,以时间为横坐标作图,如图 1

所示.从表 4 及图 1 可以看出,二甲戊乐灵处理土壤后,土壤脲酶的活性开始表现为抑制作用,且抑制程度及持续的时间与处理的浓度成正比例.然后抑制作用逐渐减弱,并逐渐表现出一定的刺激作用,刺激作用出现的时间与处理浓度成反比,刺激强度与处理浓度成正比例.

其中 1.5、10、 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3 个浓度,在处理后的前 3 天表现为抑制作用,第 3 天左右开始表现出刺激作用,且逐渐增强,在第 6 天左右逐渐减弱并趋于平缓;20、50、 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 3 个浓度抑制作用持续到第 8 天左右,然后表现为刺激作用,预计其刺激作用与前 3 个低浓度处理的趋势相同,即刺激作用逐渐加强,达到一定程度后逐渐恢复到正常水平.

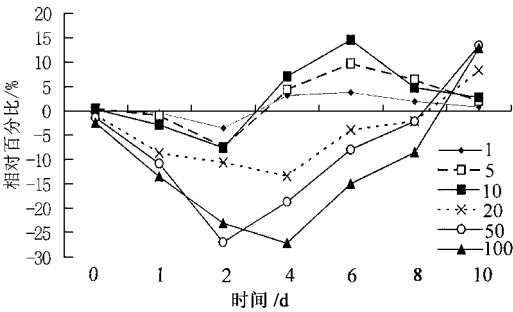


图 1 二甲戊乐灵对土壤脲酶活性的抑制-激活率

Fig.1 The restrain-activation probability of pendimethalin on the soil urease

在生产上,农药对土壤脲酶活性的抑制作用既有利也有弊,一方面可以利用这一点来延缓尿素的分解率,提高尿素的利用率;另一方面,农药在土壤中不仅会毒杀有害的杂草或害虫,但也会毒杀有益的生物,破坏土壤中正常运行的生物化学过程,造成环境污染.所以在施用农药时,既要考虑它的有益效果,又要考虑它对土壤酶活性的抑制作用,农药用量不宜过大,否则会对土壤肥力和农作物生长产生潜在的后果,适宜的农药用量是施用农药的关键^[10~14].

一般来说,农药很少对土壤微生物总量有持久的影响,除非施用了大量的或烈性的农药.但是,它能改变微生物种群间的相互关系,广义地说,农药能通过抑制某一类微生物的生长而

刺激另一类微生物的生长.因此,化学农药对土壤微生物的影响还有很多工作需要研究.

参考文献:

- 1 Tu CM. Effect of four organophosphorous insecticides on microbial activities in soil[J]. Appl. Microbiol., 1970, 19(3): 479 ~ 484.
- 2 Blum U. The value of model plant-microbe-soil systems for understanding processes associated with allelopathic interaction: one example[C]. Allelopathy: Organisms, Processes and Applications. Washington DC: American Chemical Society, 1995, 127 ~ 131.
- 3 Tworokski TJ, Welker WV. Effect of twelve annual applications of diuron, simazine, and terbacil on a soil microbe community in West Virginia[J]. Proc Annu Meet Northeast Weed Sci Soc., 1996, 50: 2 ~ 6.
- 4 El-Shanshoury AER, El-Sououd SMA, Awadalla OA. Effects of Streptomyces corchorusii, Streptomyces mutabilis, pendimethalin, and metribuzin on the control of bacterial and Fusarium wilt of tomato[J]. Can. J Bot., 1996, 74(7): 1016 ~ 1022.
- 5 Blumhorst MR, Weber JB, Swain LR. Efficacy of selected herbicides as influenced by soil properties[J]. Weed Technol. J Weed Sci Soc Am., 1990, 4(2): 279 ~ 283.
- 6 Barriuso E, Houot S, Serra WC. Influence of compost addition to soil on the behavior of herbicides[J]. Pesti Sci., 1997, 49(1): 65 ~ 75.
- 7 朱鲁生,李光德,张玉凤等.马拉硫磷、氰戊聚酯及其混剂对土壤微生物影响研究[J].山东农业大学学报, 1998, 28(3): 355 ~ 360
- 8 Isensee AR, Dubey PS. Distribution of pendimethalin in an aquatic microecosystem.[J] Bull Environ. Contam. Toxicol., 1983, 30(2): 239 ~ 244.
- 9 Kulshrestha G, Singh SB. Influence of soil moisture and microbial activity on pendimethalin degradation[J]. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1992, 48(2): 269 ~ 274.
- 10 Fliedner A. Ecotoxicity of poorly water-soluble substances [J]. Chemosphere, 1997, 35: 295 ~ 305.
- 11 Singh SB, Kulshrestha G. Microbial degradation of pendimethalin[J]. J. Environ. Sci., Health Part B, 1991, 26(3): 309 ~ 321.
- 12 龚平, Beudert G. 多效唑的土壤微生物生态效应[J].环境科学, 1996, 17(4): 36 ~ 38.
- 13 Jhonen BG, Drew EA. Ecological effects of pesticides of soil microorganisms[J]. Soil Sci., 1977, 123(5): 319 ~ 324.
- 14 Tsiropoulos NG, Miliadis GE. Field persistence studies on pendimethalin residues in onions and soil after herbicide postemergence application in onion cultivation[J]. J. Agric. Food Chem., 1998, 46(1): 291 ~ 295.
- 15 Zimdahl R L, Catizone P. Degradation of pendimethalin in soil [J]. Weed Sci., 1984, 32(3): 408 ~ 412.