

2,4-D 丁酯胁迫下土壤微生物对外源物质的响应

胡学峰¹,杜慧玲²

(1. 山西农业大学 资源与环境学院,山西 太谷 030801;2. 山西农业大学 文理学院,山西 太谷 030801)

摘要:为了解 2,4-D 对土壤微生物生态特征效应。通过盆栽试验,采用三因素完全随机设计,平板菌落计数法对不同时间土样进行土壤细菌、放线菌、真菌数量的测定。研究了 2,4-D 胁迫下添加尿素、多效唑对土壤微生物的影响,揭示了土壤细菌、放线菌、真菌在 2,4-D 胁迫下添加尿素、多效唑的动态变化。结果表明,高浓度 2,4-D 胁迫下,1~60 d 明显抑制了细菌的生长,对放线菌、真菌的生长呈先刺激后抑制的作用,直到第 60 天 3 种菌均未恢复到对照水平;低浓度 2,4-D 胁迫下,1~60 d 对细菌、放线菌、真菌均呈抑制效应。添加尿素、多效唑刺激了土壤细菌、放线菌、真菌的繁殖,2,4-D+尿素、2,4-D+尿素+多效唑 2 种处理对 3 种菌的刺激效应更为显著,与对照相比,对细菌和放线菌的刺激效应极显著,在 1~60 d 平均最高激活率达 396.5%和 125.9%。

关键词:2,4-D;土壤微生物;多效唑;尿素

中图分类号:S154 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2009)05-0179-05

The Responses of Soil Microbes to Exogenous Materials Under 2,4-D Stress

HU Xue-feng¹,DU Hui-ling²

(1. College of Resource and Environment, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China;

2. College of Science, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: This experiment was carried out in pot culture test, by using three-factor completely randomized design and plate culture count to measure the number of soil bacteria, actinomycetes and fungus sampled at different time. This research studied the influences when adding carbamide and under 2,4-D stress on soil microbes, which revealed the dynamic changes of soil bacteria, actinomycetes and fungus when adding carbamide and under 2,4-D stress. The results showed that significant inhibition to growth of soil bacteria were found from one to sixty days under high-concentration 2,4-D stress, but for actinomycetes and fungus stimulation at first then inhibition later, three bacteria didn't recovery to the level of control until 60th day; However, under low-concentration 2,4-D stress, inhibiting effects appeared to all these three bacteria from 1 to 60 days. So it is concluded that adding carbamide and could stimulate the reproduction of bacteria, actinomycetes and fungus, and stimulating effects to the three bacteria of mixed 2,4-D and carbamide or mixed 2,4-D and carbamide and were more significant. Compared with the control, the stimulating effects to bacteria and actinomycetes were significant at 0.01 level, the average highest activation rate reached 396.5 percent and 125.9 percent from 1 to 60 days.

Key words: 2,4-D; Soil microorganisms; Paclobutrazol; Urea

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对土壤微生物的影响已成为其生态安全评价的重要指标^[1-4]。

2,4-D 丁酯(以下简称 2,4-D)是人类最早使用的一种有机氯除草剂,具有选择性强、杀草谱广、用量少、成本低等特点,而用于农作物除草,环境效应一直是人们关注的课题之一。目前农药混配使用呈上升趋势,而除草剂与植物生长调节剂、肥料的混配使用对土壤微生物的影响鲜见报道。

收稿日期:2009-06-21

基金项目:山西省自然基金项目(20041095);山西农业大学博士基金项目(412559)

作者简介:胡学峰(1984-),男,助教,硕士,主要从事土壤环境的研究。

通讯作者:杜慧玲(1966-),女,教授,博士,主要从事农药环境毒理和作物化学调控的研究。

本试验主要研究山西省石灰性褐土小麦种植条件下,2,4-D 添加多效唑、尿素对土壤微生物种群数量的动态影响,并比较混用与单用对土壤微生物影响的差异性,旨在了解 2,4-D 对土壤微生物生态特征效应,为环境质量评价指标体系的建立以及经济合理地施用 2,4-D,减少环境污染提供科学的理论依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试土壤采自山西农业大学试验地,为石灰性褐土,质地为中壤,未使用过除草剂。采集 0~20 cm 土壤样品,晾干后过 3 mm 筛,充分混匀,选择 30 cm ×26 cm 的塑料盆,每盆装土 15 kg。土壤理化性状为:有机质 16.85 g/kg,全氮 0.96 g/kg,碱解氮 12.87 mg/kg,速效磷 15.58 mg/kg,速效钾 129.41 mg/kg, pH 8.3。

供试冬小麦品种为 190,由山西农业大学试验农场提供。2,4-D 由山东胜邦绿野化学有限公司生产;15%多效唑可湿性粉剂由盐城市磺隆实业有限公司生产;尿素(N 46%)由山西焦化集团有限公司生产。

1.2 试验设计与实施

试验采用三因素完全随机设计,其中因素 2,4-D 有 3 个水平(CK,D1=5.0 mg/kg,D2=50.0 mg/kg),因素多效唑有 2 个水平(CK,750 g/hm²),因素尿素有 2 个水平(CK,300 kg/hm²)。共 12 个处理组合:

对照(CK); 低浓度 2,4-D(D1)(5.0 mg/kg);

高浓度 2,4-D(D2)(50.0 mg/kg); 多效唑(X)(750 g/hm²); 低浓度 2,4-D(5.0 mg/kg)+多效唑(750 g/hm²)(D1X); 高浓度 2,4-D(50.0 mg/kg)+多效唑(750 g/hm²)(D2X); 尿素(300 kg/hm²)(N); 低浓度 2,4-D(5.0 mg/kg)+尿素(300 kg/hm²)(D1N); 高浓度 2,4-D(50.0 mg/kg)+尿素(300 kg/hm²)(D2N); 多效唑(750 g/hm²)+尿素(300 kg/hm²)(XN);^⑪低浓度 2,4-D(5.0 mg/kg)+多效唑(750 g/hm²)+尿素(300 kg/hm²)(D1XN);^⑫高浓度 2,4-D(50.0 mg/kg)+多效唑(750 g/hm²)+尿素(300 kg/hm²)(D2XN)。每个处理 3 次重复。

各试验均于小麦返青后拔节前进行处理,处理后 1,3,7,14,28,60 d 进行采样,测定土壤细菌、放线菌、真菌的数量。各种微生物按《土壤微生物研究法》^[5]中的合成培养基配制培养,采用平板菌落计数法计数。

1.3 数据处理

试验数据采用 SAS 8.1 软件进行方差分析,用 Duncan 极差法进行平均数的显著性检验。

2 结果与分析

2.1 土壤细菌对 2,4-D 添加尿素和多效唑的动态响应

表 1 方差分析结果表明,2,4-D、多效唑、尿素对土壤细菌生长的主效应、二因素、三因素交互效应差异达显著或极显著水平。2,4-D 添加尿素、多效唑对土壤细菌数量的动态影响及各处理之间的多重比较结果见表 2。

表 1 土壤细菌方差分析结果

Tab. 1 F-value variance analysis results of soil bacteria

变异原因 Source	处理时间/d Treatments time					
	1	3	7	14	28	60
2,4-D	17.73 **	96.87 **	130.94 **	775.60 **	918.27 **	127.84 **
多效唑(MET)	18.12 **	5.29 *	3.24	213.45 **	279.51 **	1.67
尿素(UREA)	528.18 **	1 199.52 **	861.25 **	5 297.30 **	4 838.63 **	987.22 **
2,4-D ×MET	26.75 **	16.43 **	5.78 **	19.12 **	7.79 **	4.45 *
2,4-D ×UREA	35.92 **	75.89 **	37.36 **	483.06 **	1 212.70 **	54.50 **
MET ×UREA	0.72	1.67	0.35	45.06 **	589.06 **	11.39 **
2,4-D ×MET ×UREA	27.08 **	23.30 **	9.11 **	123.55 **	1 505.13 **	105.98 **

注:*.在 5%水平差异显著;**.在 1%水平差异显著。其余表 3,5 同。

Note: *. Significant at 0.05 level; Significant at 0.01 level. The same as Tab. 3 and Tab. 5.

由表 2 可知,在整个过程中,各处理细菌数量均呈增加—降低的变化规律,2,4-D 处理与对照相比呈抑制效应,抑制率高达 93.45%。2,4-D+多效唑的处理与 2,4-D、多效唑处理相比呈刺激效应,其细菌数量关系为:D2X>D1X>X>D1>D2(除第 7 天)。2,4-D+尿素与对照以及 2,4-D 处理相比,呈极显著的刺激效应,细菌数量关系为:D2N>D1N>

N>CK>D1>D2。2,4-D+尿素+多效唑的处理与对照及 2,4-D 处理相比,对细菌呈极显著的刺激效应,与对照相比最高激活率达 340%,具体表现为:D2XN>D1XN>XN>CK>D1>D2。在 1~60 d 各处理与对照相比,细菌数量平均改变了-50.8%,-76.7%,-4.64%,24.7%,70.5%,96.9%,215.3%,396.5%,152.4%,247.5%,340.1%。2,4-D

胁迫极显著地抑制了细菌繁殖,且随着 2,4-D 浓度的增加抑制作用增强。添加多效唑、尿素极显著地刺激了细菌的繁殖,说明 2,4-D 添加尿素、多效唑可

以减缓甚至消除 2,4-D 对细菌的毒害作用,并且对于缓解高浓度 2,4-D 的毒害作用更为有效。

表 2 土壤细菌对 2,4-D 添加尿素和多效唑的动态响应

Tab. 2 Dynamic response of soil fungi to 2,4-D with adding carbamide and paclobutrazol							×10 ⁶ /g
处理 Treatments	处理时间/ d Treatments time						
	1	3	7	14	28	60	
CK	3. 16 fDE	5. 11 eDE	7. 44 gFG	12. 67 hH	27. 38 gF	8. 08 fE	
D1	1. 63 gEF	2. 38 fgEF	5. 52 gG	7. 70 iH	7. 93jI	6. 27 fgEF	
D2	0. 19 hF	0. 45 gF	6. 99 gFG	0. 83 jI	2. 01 kJ	4. 42 gF	
X	2. 68 fgE	3. 45 efE	6. 19 gG	23. 12 gG	17. 24 iH	8. 20 fE	
D1X	0. 17 hF	4. 44 efDE	11. 88 gF	29. 55 fF	20. 99 hG	12. 58 eD	
D2X	0. 45 hF	7. 22 dD	17. 06 fE	37. 86 eE	30. 59 fF	15. 67 dD	
N	7. 24 bcBC	13. 32 cC	20. 72 deDE	39. 80 eE	28. 96 fgF	15. 63 dD	
D1N	7. 92 bB	19. 19 bB	29. 49 cC	65. 88 cC	52. 20 cC	26. 62 cC	
D2N	5. 96 dC	24. 53aA	41. 28 aA	109. 29 aA	99. 53 aA	36. 39 aA	
XN	4. 33 eD	15. 13 cC	23. 84 dD	58. 76 dD	34. 84 eE	24. 25 cC	
D1XN	6. 66 cdBC	14. 60 cC	35. 08 bB	96. 45 bB	44. 54 dD	24. 51 cC	
D2XN	9. 60 aA	25. 29 aA	44. 84 aA	111. 87aA	58. 53 bB	30. 83 bB	

注:同列数据后不同大写字母表示处理间差异极显著 ($P<0.01$),不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。其余表 4,6 同。
Note :Different big letter significance at 0.01 leve ;Different small letter significance at 0.05 level ;The same as Tab.4 and Tab. 6.

表 3 土壤放线菌方差分析结果

Tab. 3 F-value variance analysis results of soil actinomyces						
变异原因 Source	处理时间/ d Treatments time					
	1	3	7	14	28	60
2,4-D	11. 88 **	121. 47 **	100. 98 **	713. 16 **	88. 56 **	93. 56 **
多效唑 (MET)	28. 24 **	2. 93	96. 33 **	793. 43 **	126. 37 **	126. 96 **
尿素 (UREA)	7. 53 **	46. 69 **	283. 07 **	3 108. 18 **	920. 10 **	201. 76 **
2,4-D ×MET	7. 26 **	0. 78	49. 55 **	507. 82 **	85. 17 **	17. 02 **
2,4-D ×UREA	16. 44 **	95. 39 **	14. 61 **	373. 77 **	19. 15 **	27. 49 **
MET ×UREA	0. 06	83. 15 **	82. 49 **	95. 64 **	0. 61	0. 50
2,4-D ×MET ×UREA	1. 53	78. 59 **	1. 81	76. 66 **	47. 44 **	2. 38

表 4 土壤放线菌对 2,4-D 添加尿素和多效唑的动态响应

Tab. 4 Dynamic response of soil actinomyces to 2,4-D with adding carbamide and paclobutrazol							×10 ⁴ /g
处理 Treatments	处理时间/ d Treatments time						
	1	3	7	14	28	60	
CK	4. 61deCDE	8. 14deDE	15. 36fgEFG	28. 17fF	19. 27fF	8. 04eE	
D1	8. 30bB	3. 14fF	5. 66iI	8. 80iI	14. 22hG	4. 65fF	
D2	7. 46bBC	25. 19aA	13. 95ghFHG	12. 62hH	9. 77iH	7. 88eE	
X	4. 18deDE	8. 02deDE	11. 42hH	18. 68gG	16. 35gF	12. 90dD	
D1X	6. 90bcBCD	8. 80dDE	12. 48hGH	19. 19gG	19. 31fF	16. 08bcBC	
D2X	12. 04aA	16. 70bB	20. 06cdCD	39. 68cC	25. 81eDE	16. 51bBC	
N	5. 02deCDE	9. 55dCD	16. 65efDEF	29. 70fF	25. 27eCD	13. 98cdCD	
D1N	4. 47deCDE	7. 72deDE	18. 61deCDE	34. 13eE	27. 28dCD	15. 89cdCD	
D2N	3. 64eE	6. 61eE	16. 36efgEF	38. 32cdCD	28. 35cdCD	17. 28bB	
XN	6. 06bcdBCDE	9. 67dCD	21. 82cC	36. 92dD	29. 75bcBC	16. 55bBC	
D1XN	7. 18bcBCD	11. 94cC	26. 12bB	57. 92bB	31. 22bB	17. 10bBC	
D2XN	7. 23bcBCD	15. 36bB	34. 74aA	66. 30aA	38. 49aA	26. 75aA	

2.2 土壤放线菌对 2,4-D 添加尿素和多效唑的动态响应

方差分析结果表明(表 3),在 1~60 d,2,4-D 与尿素对土壤放线菌生长的交互效应达极显著差异水平,而 2,4-D 与多效唑交互效应以及 2,4-D、尿素和多效唑三因素交互效应未全部达显著或极显著差异

水平。2,4-D 添加尿素、多效唑对土壤放线菌数量的动态影响及各处理之间的多重比较结果见表 4。

由表 4 可知,除 2,4-D 处理,其余处理在整个过程中均呈增加-降低的波动规律,第 14 天达到最大,第 60 天放线菌数量均高于对照,比对照增加 60.5%~232%。最初 3 d,D2N、D2XN 处理与 D2 处

理相比,呈抑制效应,抑制率 3.08 % ~ 73.8 %,之后呈刺激效应,激活率为 33.5 % ~ 423.2 %,D2X 处理只有第 1 天呈抑制效应,其余时间均呈激活效应;而 D1X、D1N、D1XN 处理与 D1 处理相比只在第 1 天表现为抑制效应,抑制率 13.5 % ~ 46.1 %,其余时间均呈激活效应,最高激活率达 558.2 %。1 ~ 60 d 与对照相比,各处理放线菌数量平均变化了 - 46.4 %, - 8.04 %, - 14.4 %, - 0.99 %, 56.5 %, 19.8 %, 29.3 %, 32.3 %, 44.5 %, 81.2 %, 125.9 %,可见添加多效唑、尿素,以 2,4-D + 尿素 + 多效唑处理激活效应为最佳。

2.3 土壤真菌对 2,4-D 添加尿素和多效唑的动态响应

方差分析结果(表 5)表明,14 ~ 60 d,2,4-D、多效唑、尿素主效应以及二因素、三因素交互效应均达显著或极显著水平。2,4-D 添加尿素、多效唑对土

壤真菌数量的动态影响及各处理之间的多重比较结果见表 6。

由表 6 可知,与 2,4-D 处理相比,2,4-D 与尿素、多效唑、尿素 + 多效唑复合处理,1 ~ 60 d(除 D2X 处理在第 1 天外)均呈显著或极显著的刺激效应。与对照相比,除 D2 处理在最初 3 d 呈激活效应,D1、D2 处理在其余时间均呈显著或极显著的抑制效应,抑制率为 26.2 % ~ 100 %;而 D1X、D2X(除 D2X 第 1 天),D1N、D2N 在最初 14 d,呈显著或极显著的刺激效应,28 ~ 60 d 呈抑制效应,抑制率为 0.60 % ~ 75.6 %,比 D1、D2 处理抑制率降低。这可能是添加多效唑、尿素降低了 2,4-D 的毒性,随着时间的延长,农药降解而真菌不适应其降解产物使真菌数量减少。2,4-D + 尿素 + 多效唑处理在最初 3 d 表现为激活效应,第 3 天呈极显著的激活效应,激活率为 237.3 % 和 274.5 %,之后呈抑制效应。

表 5 土壤真菌方差分析结果

Tab. 5 F-value variance analysis results of soil fungi

变异原因 Source	处理时间/ d Treatments time					
	1	3	7	14	28	60
2,4-D	7.32 **	81.76 **	57.01 **	75.09 **	57.33 **	13.44 **
多效唑(MET)	19.30 **	0.02	0.15	40.42 **	280.47 **	63.21 **
尿素(UREA)	5.43 *	107.65 **	4.13 *	4.09 *	91.26 **	32.07 **
2,4-D xMET	4.28 *	8.70 **	62.11 **	99.97 **	109.66 **	72.62 **
2,4-D xUREA	6.66 **	37.98 **	21.53 **	107.51 **	181.18 **	46.42 **
MET xUREA	0.78	5.73 *	47.78 **	4.74 *	135.65 **	109.59 **
2,4-D xMET xUREA	0.65	2.63	60.92 **	14.81 **	36.34 **	3.51 *

表 6 土壤真菌对 2,4-D 添加尿素和多效唑的动态响应

Tab. 6 Dynamic response of soil fungi to 2,4-D with adding carbamide and paclobutrazol

×10³/g

处理 Treatments	处理时间/ d Treatments time					
	1	3	7	14	28	60
CK	1.96bcABC	4.87hGH	8.43bBC	10.10cD	18.28aA	21.93aA
D1	0.00dC	2.07hH	0.50eE	2.99fG	8.22deE	12.02deDE
D2	2.57abAB	9.71fgEF	4.79cdD	7.45dE	8.96dE	9.98eE
X	0.99cdBC	8.13gFG	4.11dD	3.39fFG	2.51fF	1.63gG
D1X	2.72abAB	20.06bAB	9.55bB	14.59aAB	17.01aAB	17.40bBC
D2X	0.00dC	9.97fgEF	18.05aA	13.78abAB	7.41eE	5.35fF
N	2.67abAB	12.36efDE	9.80bB	13.90abAB	17.86aA	20.42aAB
D1N	2.54abAB	18.94bcB	9.31bB	15.32aA	18.39aA	13.89cdCD
D2N	3.81aA	23.46aA	9.84bB	10.68cCD	13.00cD	11.41deDE
XN	1.75bcBC	14.56deC	6.36cCD	8.47dDE	14.16bcBC	15.79bcC
D1XN	1.66bcBC	16.43cdBC	3.75dD	5.27eF	8.27deD	10.35eDE
D2XN	2.31bcAB	18.21bcBC	8.76bBC	12.37bBC	15.29bBC	17.69bBC

3 结论与讨论

周新文^[6]在二苯醚类除草剂对土壤微生物及酶活性影响的研究中认为,土壤中最能适应该环境的微生物将在空间和营养竞争中占优势,但随着农药降解代谢物的变化和增多,原先适应的优势菌种可能因无法利用这些降解产物为营养物质而受到抑

制,同时却激活了新的优势菌种的繁殖,并且这种反复变化的现象在农药污染土壤中是非常普遍的。Soulas^[7]也曾指出,土壤环境中能以农药为能源物质的降解菌和其他非降解菌之间存在明显的拮抗作用,并且这种拮抗作用可能导致那些具有协同降解作用的微生物减少;而随着农药的降解,降解菌和非降解菌之间对土壤中营养物质的竞争加剧,降解菌

的数量将会减少乃至消失。有研究表明,长期使用苯氧基乙酸类除草剂对微生物数量只会产生轻微影响,反复使用 2,4-D 能使细菌数量降低约 50%,而真菌和放线菌数量都不受影响^[8]。

本试验结果显示,除草剂 2,4-D 对土壤微生物生态效应不容忽视。2,4-D 对土壤细菌、放线菌、真菌主要呈抑制效应,且对细菌和真菌的影响具有持久性效应,可能导致土壤微生物群落结构发生变化。而微生物结构的改变可能破坏土壤中正常的生物化学过程,乃至对土壤肥力及农作物生长造成潜在的危害。2,4-D 处理中添加尿素、多效唑刺激了土壤细菌、放线菌、真菌的生长繁殖,与未添加尿素、多效唑相应浓度 2,4-D 处理相比,促进了土壤细菌、放线菌、真菌的生长;与对照相比,细菌、放线菌表现为极显著的刺激效应,真菌的激活效应不显著,主要表现为抑制效应,但抑制效应小于 2,4-D 处理。添加尿素、多效唑能增加土壤微生物的数量,减缓甚至消除 2,4-D 对土壤微生物的毒害作用。这与苯磺隆添加尿素、多效唑的结论一致^[9]。所以,土壤微生物群落可用作表示除草剂污染土壤生态环境效应的评价指标。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 朱鲁生,王 军. 乙草胺和莠去津对土壤微生物的影响及安全性评价[J]. 土壤与环境,2000,9(1):71-72.
- [3] Marx M C,Wood M,Jarvis S C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils[J]. Soil Biology Biochemistry,2001,33:1633-1640.
- [4] 杨青华,韩锦峰. 棉田不同覆盖方式对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 土壤学报,2005,42(2):348-351.
- [5] 中国科学院南京土壤研究室. 土壤微生物研究法[M]. 北京:科学出版社,1985:41-58.
- [6] 周新文. 二苯醚除草剂氟磺胺草醚、乙氧氟草醚对土壤微生物、酶活性的影响[D]. 杭州:浙江农业大学,1998.
- [7] Soulas G. Mathematical model for microbial degradation of pesticides in soil[J]. Soil Biology and Biochemistry,1982,14:107-115.
- [8] Biederbeck V O,Cambell C A,Smith A E. Effects of long-term 2,4-D field applications on soil biochemical processes[J]. Environ Qual,1987,16:257-262.
- [9] 杜慧玲,郭平毅. 尿素和多效唑对苯磺隆胁迫土壤微生物数量的影响[J]. 山西农业科学,2009,37(6):45-49.