

丁草胺对水稻土甲烷释放和厌氧细菌的影响*

赵宇华 梅其志 陈美慈 闵航

(浙江农业大学生物科学系 杭州 310029)

近年来,我国水稻田的化除面积增加很快,除草剂的使用已成为一种必不可少的手段。因而除草剂大量使用的环境污染问题日益突出^[1],对生态系统的平衡产生威胁性影响^[2],引起农产品农药含量超标,或者即使不超标也由于食物链的生物富集最终进入人体危害健康。除草剂致癌、致突变和致畸胎的事实不胜枚举^[3,4]。除草剂在水稻田使用,至少有 70% 进入土壤,直接影响土壤微生物的生长和代谢^[5]。目前很少研究涉及到除草剂与厌氧微生物生长和代谢的关系。本试验旨在通过探讨丁草胺对水稻土中厌氧细菌的影响,为合理施用丁草胺提供微生物学依据。

1 材料和方法

1.1 基本设置

试验分为两组。

第一组,取 2~15cm 土层的水稻土 1.5kg,共 7 份,分别装入 2000ml 的三角瓶,覆盖 5cm 水层,编号为 I (1)、II (2, 3, 4) 和 III (5, 6, 7)。I (1) 为对照,不加丁草胺; II (2, 3, 4) 三只三角瓶内丁草胺浓度为 0.2mg / kg 干土; III (5, 6, 7) 三只三角瓶内丁草胺浓度为 0.4mg / kg 干土。7 只三角瓶同时置于 30℃ 恒温室培养。

第二组,8 只 1000ml 厌氧血清瓶内分别加入厌氧细菌培养基 20ml,然后加不同剂量的丁草胺,使其浓度为 0; 0.1; 0.5; 1.0; 2.0; 4.0; 8.0; 10.0 ($\times 10^{-6}$),再接入 2g 水稻土,置于 30℃ 恒温室培养。

1.2 培养基

按照改良的 Hungate 技术配制各类群厌氧细菌培养基,配方见文献 [6]。

1.3 测定方法

发酵性细菌、产氢产乙酸细菌和产甲烷细菌采用三次重复 MPN 法,生长指标分别为氢、乙酸、甲烷。102G 气相色谱仪测定 H_2 和 CH_4 ,热导检测器,外标法。103G 气相色谱仪测定乙酸,氢焰离子检测器,外标法。

1.4 电镜观察

用无菌玻璃棒取少许水稻土,均匀地涂布于样品扫描台上,自然晾干,在 IB-5 与离子溅射仪上涂铂依合金,用 Amray-1000B 扫描电镜观察并拍摄。

2 结果和讨论

2.1 丁草胺对水稻土甲烷释放量的影响

在正常农田施药量的情况下 (60% 丁草胺乳油 50~100ml / 亩),随着丁草胺浓度的增加,对土壤甲

* 本研究为国家自然科学基金和浙江省教委科研基金资助项目。

本文于 1997 年 3 月 17 日收到。

烷释放量表现出明显的抑制作用(表 1)。但随着时间的推移,抑制作用逐渐减弱,施药 16d 时,土壤甲烷排放量恢复至正常水平。以上结果表明,丁草胺能影响产甲烷活性。

表1 丁草胺对水稻土甲烷释放的影响

时 间 (d)	每瓶甲烷释放量(ml CH ₄ / d)		
	农 药 浓 度(×10 ⁻⁶)		
	0	0.2	0.4
7	1.58	0.30	0.15
12	10.38	9.11	7.00
16	11.11	11.20	11.10
20	15.47	15.38	15.90

药 18d 后, 含 4.0; 8.0; 10.0 (×10⁻⁶) 的培养物释放甲烷量开始恢复或恢复至正常水平。

2.3 丁草胺对水稻土中产甲烷各类群细菌和硫酸盐还原细菌数量的影响

从表 3 可见, 水稻中按正常量施用丁草胺, 在施药 12d 时, 产甲烷细菌减少一个数量级, 而对产氢产乙酸细菌的生长具有一定的刺激作用, 发酵性细菌和硫酸盐

还原菌数量保持不变。当施药 22d, 发酵性细菌和产氢产乙酸细菌利用丁草胺及其降解产物, 在数量上有一定程度的增加。这些结果与表 1 相符。

2.4 丁草胺对培养基中厌氧细菌的影响

在培养基中同时接种和加入丁草胺, 观察到丁草胺对产甲烷细菌生长有明显抑制作用(表 4), 由于产甲烷细菌数量的下降, 产甲烷过程偶联关系的破坏, 导致甲烷释放减少(表 2)。而发酵性细菌、产氢

2.2 丁草胺对富集培养物甲烷释放的影响

表 2 表明, 随着丁草胺浓度的提高, 在 2 周内, 培养物产甲烷受到明显抑制, 丁草胺浓度为 0.1 × 10⁻⁶ 时即对甲烷释放产生影响。当丁草胺浓度为 10 × 10⁻⁶, 在加药后的 14d 内几乎不产甲烷。加

表2 丁草胺对富集物甲烷释放的影响

丁草胺浓度 (×10 ⁻⁶)	每瓶甲烷释放量(ml CH ₄ /d)					
	培 养 时 间 (d)					
	2	6	10	14	18	22
0	990	1170	475	363	134	354
0.1	550	341	161	385	66	106
0.5	150	175	148	226	92	23
1.0	87	76	125	142	38	15
2.0	55	15	150	44	34	34
4.0	19	0	11	0	142	148
8.0	6	2	45	14	102	140
10.0	4	0	29	0	108	53

表3 丁草胺对水稻土中的厌氧细菌的影响

		细菌数量(细胞数/g干土)					
		培 养 时 间 (d)					
生 理 类 群	0	12			24		
		农 药 浓 度 ($\times 10^{-6}$)					
		0	0.2	0.4	0	0.2	0.4
发酵性细菌	1.12×10^7	1.07×10^7	1.05×10^7	4.17×10^7	3.09×10^7	2.45×10^8	4.37×10^8
产氢产乙酸细菌	3.39×10^6	1.45×10^6	1.45×10^7	1.41×10^7	4.68×10^7	5.37×10^8	4.57×10^8
产甲烷细菌	4.26×10^6	7.5×10^6	9.33×10^5	3.63×10^5	6.61×10^6	4.37×10^6	4.37×10^6
硫酸盐还原细菌	9.33×10^6	2.14×10^5	3.24×10^5	1.86×10^6	5.75×10^5	6.03×10^5	5.62×10^5

表4 丁草胺对培养基中厌氧细菌的影响

生 理 类 群	细 菌 数 量(细胞数/ g干土)			
	培养时间(d)			
	I		II	
	农药浓度($\times 10^{-6}$)			
	0	2.0	0	2.0
发酵性细菌	3.02×10^6	1.15×10^6	9.12×10^7	5.50×10^8
产氢产乙酸细菌	1.15×10^5	1.82×10^5	1.12×10^6	3.02×10^6
产甲烷细菌	4.57×10^4	$.46 \times 10^3$	1.35×10^5	4.68×10^4
硫酸盐还原细菌	1.05×10^3	2.75×10^3	4.47×10^3	1.02×10^4

产乙酸细菌和硫酸盐还原细菌对丁草胺耐受性较强,在施药 11d 后,菌数恢复至正常水平或略有上升。

2.5 水稻土厌氧微生物的电镜观察

在室内淹水放置 22d 后,水稻土呈小颗粒,多孔洞和缝隙,表面凹凸不平,菌体稀疏,多为杆状菌。在含 0.2×10^{-6} 丁草胺的水稻土中,菌体相对密集,孔洞缝隙中镶嵌着球菌、杆菌。在含 0.4×10^{-6} 丁草胺的水稻土中可发现土壤颗粒表面菌体密集,以杆菌和球菌为主,也有丝状菌,部分表面丝状菌交织成网状结构。

参 考 文 献

- [1] 汤树德,李汉昌,石昌波. 土壤学报, 1984, 21: 95~103.
- [2] Moorman T B. *J. Prod Agric*, 1989, 2: 14~23.
- [3] Gu J D, Berry D F. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57: 2622~2627.
- [4] Gu J D, Berry D F. *Appl Environ Microbiol*, 1992, 58: 2667~2669.
- [5] Vonk J W. *Toxicol Environ Chem*, 30: 241~248.
- [6] 钱泽澍. 闵航. 沼气发酵微生物学. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1986. 240~267.

EFFECT OF BUTACHLOR ON CH₄ EMISSION AND ANAEROBES IN PADDY SOIL

Zhao Yuhua Mei Qizhi Chen Meici Min Hang

(Department of Biological Science, Zhejiang Agricultural University, Hangzhou 310029)

Abstract Effects of butachlor on CH₄ emission and the count of anaerobes in paddy soil or in the media were studied. The results obtained showed that CH₄ emission and growth of methanogens would be greatly affected at field rates of butachlor within 2 weeks, but this adverse effects would disappear as time went on. CH₄ emission and methanogenic activities would be retarded by butachlor in media for longer time. The amount of butachlor available to act upon anaerobes depended on application rate and method of application.

Key words Butachlor, Paddy soil, Anaerobes