

3 种铜制剂对作物种子的生态毒性效应

徐 钰^{1,2}, 刘兆辉², 江丽华², 张 民¹

(1.作物生物学国家重点实验室,山东农业大学资源与环境学院,山东 泰安 271018;2.山东省农业科学院土壤肥料研究所,山东 济南 250100)

摘 要:采用生物培养试验,测定了棕壤条件下,美国铜基杀菌剂 Kocide2000(KCD)、波尔多液营养保护剂(BNPP)和硫酸铜(CS)3种铜制剂对作物(小麦、番茄、油菜)种子发芽、根茎伸长和发芽种子质量抑制的生态毒性效应。结果表明,铜制剂对3种作物种子根的伸长抑制率均明显大于对种子发芽、茎伸长和发芽种子质量的抑制率。统计分析表明,铜制剂施用浓度与植物发芽指数的相关系数最高,其次是根伸长抑制率。可以植物发芽指数、根伸长为指标研究铜制剂污染毒性与植物响应的剂量及效应关系。不同植物对铜制剂污染物的毒性响应应具有明显差异,3种植物对铜制剂的敏感顺序为油菜>番茄>小麦,油菜可用作铜制剂污染土壤毒理诊断的指示植物。此外,由于铜制剂自身性质的不同,作物对其毒性响应不同,尤以对CS最敏感,BNPP和KCD次之。因此,在评价粉剂型铜制剂对环境的影响时,应充分考虑其自身的特点。

关键词:铜制剂;作物种子;发芽;根茎伸长;生态毒性

中图分类号:X503.231 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)10-2010-07

Eco-Toxicological Effects of Three Kinds of Copper-Based Pesticides on Crop Seeds

XU Yu^{1,2}, LIU Zhao-hui², JIANG Li-hua², ZHANG Min¹

(1. State Key Laboratory of Crop Biology, College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China; 2. Institute of Soil and Fertilizer, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Ji'nan 250100, China)

Abstract: A biological incubation experiment was conducted to testify the inhibition effect of three copper-based pesticides——Kocide 2000 (KCD), Bordeaux nutrition protective powder (BNPP) and Bordeaux mixture (BDM)——on rates of seed germination, root and stem elongation, and quality of sprouting seed for three plants (wheat, tomato and cole) in brown soil. Results indicated that the inhibition effect on rates of three pesticides on root elongation of plant were greatest, compared to that on seed germination, stem elongation and quality of sprouting seed. Statistical analyses showed that correlation coefficient between rate of copper-based pesticides and seed germination index was the greatest, followed by inhibition rate of root elongation. Thus, plant germination index and root elongation could possibly be used as indices to investigate the relationship between pesticide toxicity and plant response. Plant varieties responded to copper toxicity varied significantly. The sensitivity of to copper-based pesticides was cole>tomato>wheat; therefore, cole could be used as indicative plant to diagnose the toxicity of copper-based pesticide on soil quality. Furthermore, plants responded differently to three copper-based pesticides due to its own characteristics, plants being more sensitive to CS than to BNPP and KCD. Thus, the characteristics of copper-based pesticides should be taken into full consideration to appraise its impact on environment.

Keywords: copper-based pesticide; plant seed; germination; root and stem elongation; eco-toxicity

在铜素杀菌剂中,传统波尔多液是历史最为悠久的杀菌剂,但传统波尔多液在配制、使用、储存等方面存在诸多缺陷,因此国内外都在开发和研制波尔多液

的替代产品。美国 Kocide 系列产品及山东农业大学研制生产的新型波尔多液营养保护剂是目前国内外传统波尔多液的理想替代产品,即能增强其防治病菌效果,还可减少一定的喷药量及喷药次数,并且使用、运输及存储方便。

然而,铜制剂有效成分属无机重金属元素,在环境中移动性差,不易降解,长期大量使用易造成农田土壤的铜污染,进而通过生物链给人类和动物健康

收稿日期:2009-02-16

基金项目:山东农科院创新基金(2007ycx023-01);国家“948”项目(201054);教育部“高等学校骨干教师资助计划”[教技司(2000)65号]

作者简介:徐 钰(1981—),女,博士,主要从事土壤环境化学与植物营养研究。E-mail: flying-e@163.com。

通讯作者:张 民 E-mail: mzhang@sdau.edu.cn

带来危害^[1],因此重金属的污染监测和防治日益受到人们的关注。利用高等植物的生长状况监测土壤污染程度,是从生态学角度衡量土壤健康状况、评价土壤质量的重要方法之一。近几年国外利用陆生高等植物进行毒性试验已有所增加,主要有种子发芽试验、根伸长抑制试验及植物早期生长试验^[2-4]。随着土壤污染生态毒理学评价要求的日益增加,毒理试验方法已用于评价土壤中重金属的生物毒性及生物可利用性^[5-6]。

两种铜制剂在作物上的杀菌防病效果已有所报道^[7-10],而其对环境的影响程度如何还鲜有见闻。尤其是波尔多液营养保护剂作为一种新开发研制的铜制剂,如果不作深入的探讨而盲目推广产品,必然会违反可持续发展理念,也将造成不应有的损失。因此,本文以山东省的典型土壤——棕壤为供试土壤,研究并比较了波尔多液营养保护剂(BNPP)、美国 Kocide2000(KCD)和五水硫酸铜(CS)对油菜、番茄和小麦 3 种作物种子发芽、根茎伸长和发芽种子质量的影响,确定不同作物种子对铜制剂的敏感性,以期筛选铜制剂污染敏感指示植物和评价指标以及评价环境中施用不同铜制剂后的污染状况提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤

棕壤采自泰安市省庄镇栗子峪村村北山坡,土壤基本理化性状为:pH 5.50(水:土=1:1)、有机质 17.00 g·kg⁻¹、EC 47.20 μS·cm⁻¹、碱解 N 35.66 g·kg⁻¹、速效 K 26.72 g·kg⁻¹、速效 P 13.64 g·kg⁻¹、有效 Cu 0.51 g·kg⁻¹、全 Cu 30.96 g·kg⁻¹。

1.1.2 供试药剂

山东农业大学实验室和中试车间自行研制的波尔多液营养保护剂(BNPP),美国 GRIFFIN 公司生产的 Kocide2000(KCD),五水硫酸铜(CuSO₄·5H₂O)。

1.1.3 供试作物

油菜(上海青)、番茄(毛粉 802F1)及小麦(济麦 19 号)。

表 1 BNPP 和 KCD 产品中主要元素含量

Table 1 Content of main element in BNPP and KCD

项目	全 Cu/%	全 Ca/%	全 Fe/%	全 Zn/%	Cu 的浸出率/%
BNPP	31.2	7.2	0.40	0.38	0.22
KCD	33.0	2.1	0.19	—	7.06

1.2 试验设计与方法

1.2.1 试验设计

称取 50 g 风干土壤分别与 3 种供试铜制剂混匀后置于 9 cm 直径的玻璃培养皿中,配制成铜浓度为 0、200、400、800、1 600、3 200 mg·kg⁻¹ 6 个水平,用蒸馏水调节至一定含水量,将其置于恒温培养箱中 25℃下平衡 48 h 后,用医用镊子将供试种子(油菜 15 粒·皿⁻¹,小麦及番茄均为 20 粒·皿⁻¹)均匀播于土壤中,盖好玻璃培养皿,置于恒温培养箱中 25℃培养。油菜和番茄分别于培养第 3、7 d 测定发芽势和发芽率,第 7 d 结束时测量种子根和茎的伸长及发芽种子质量;小麦分别于培养第 2、4 d 测定发芽势和发芽率,第 4 d 结束时测量种子根和茎的伸长及发芽种子质量。

1.2.2 测定指标

以种子幼根长达种子长的 1/2 为发芽标准,油菜和番茄的发芽势和发芽率分别为播种后 3 和 7 d 时的发芽种子数占供试种子数的百分比;小麦的发芽势和发芽率分别为播种后 2 和 4 d 时的发芽种子数占供试种子数的百分比。油菜和番茄根长为种子根中主根的最大长度,小麦根长为生出根的总和;在试验结束时称发芽种子的质量为幼苗质量。

发芽指数=(处理种子发芽率×处理种子平均根长)/(对照种子发芽率×对照种子平均根长)

根伸长抑制率=[(对照种子平均根长-处理种子平均根长)/对照种子平均根长]×100%

茎伸长抑制率=[(对照种子平均茎长-处理种子平均茎长)/对照种子平均茎长]×100%

质量抑制率=[(对照种子平均质量-处理种子平均质量)/对照种子平均质量]×100%

1.2.3 测定方法

土壤重金属有效态含量采用 DTPA 提取-AAS 法^[11],全铜含量的测定参照 Zhu 和 Alva 介绍的方法^[12]。

1.3 数据统计

所得数据采用美国 SAS 软件进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 铜制剂对种子发芽的影响

随 3 种铜制剂施用量的增加,逐渐表现出对油菜种子发芽势、发芽率和发芽指数的抑制作用(表 2)。以种子发芽势为例,当施用浓度为 200 mg·kg⁻¹ 时, BNPP、KCD、CS 处理下发芽势分别为 82.22%、75.56%、62.22%,施用浓度进一步增加到 1 600 mg·kg⁻¹ 时,仅

表 2 不同处理对油菜种子发芽的影响

Table 2 Effects of different treatments on germination of cole seed

Items	Cu/mg·kg ⁻¹					
	0	200	400	800	1 600	3 200
发芽势/%	BNPP	82.22AB	82.22AB	84.44A	57.78E	48.89F
	KCD	82.22AB	75.56AB	73.33BC	66.67CD	46.67F
	CS	62.22DE	48.89F	24.44G	6.67H	0.00H
发芽率/%	BNPP	82.22AB	82.22AB	84.44A	80.00AB	57.78CD
	KCD	82.22AB	75.56AB	77.78AB	82.22AB	60.00C
	CS	71.11B	48.89D	24.44E	6.67F	0.00F
发芽指数	BNPP	0.40C	0.22EF	0.14G	0.08H	0.04I
	KCD	1.00A	0.43B	0.27D	0.23E	0.19F
	CS	0.10H	0.04I	0.01JK	0.00K	0.00K

分别为 57.78%、66.67%、6.67%，显著低于对照。3 种发芽指标相比，铜制剂对发芽指数的影响最为显著，Cu²⁺浓度在 200 mg·kg⁻¹ 时均显著低于对照，尤其是对 CS 发芽指数的抑制率高达 90%。3 种铜制剂相比，BNPP 和 KCD 对油菜种子发芽指标的抑制率远小于 CS 处理，如 CS 处理下 Cu²⁺浓度达 400 mg·kg⁻¹ 时，对油菜发芽势和发芽率的抑制率已达 50%。

3 种铜制剂对番茄种子发芽的抑制趋势与油菜相似(图 1)，其中对发芽指数的抑制作用最强，BNPP、KCD、CS 对番茄发芽指数 IC₁₀ 的浓度分别为 48.87、96.40、11.05 mg·kg⁻¹，可以看出，BNPP 和 KCD 对番茄种子发芽的影响明显小于 CS。相关分析表明，3 种铜制剂浓度与番茄发芽势和发芽指数显著相关，且均为对数相关；而与发芽率无相关性。

铜制剂对小麦发芽的抑制作用随制剂施用量的升高而增加，但抑制作用小于番茄和油菜(图 2)。3 种铜制剂对小麦种子的发芽势及发芽率均无显著影响(CS 除外)，只明显抑制了小麦种子的发芽指数，其中 BNPP 和 KCD 施用浓度与发芽指数为多项式相关($R_{BNPP}^2=0.9800$, $R_{KCD}^2=0.9853$)，而 CS 为对数相关，相关系数 $R^2=0.8550$ 。

可见，CS 对 3 种作物发芽的抑制最显著，BNPP 与 KCD 的作用相当。这与产品的形态有关，BNPP 与 KCD 均为颗粒铜制剂，溶解缓慢，进入土壤后铜的完全释放需要一定时间，因此有效态铜含量低；而 CS 以可溶性铜盐形态施入土壤，有效态铜含量显著高于前两者，再次 CS 施入土壤后引起土壤 pH 降低(数据未列出)，对种子的发芽有一定影响。不同作物对铜制剂的敏感度不同，铜制剂对 3 种植物发芽抑制强弱的顺序为油菜>番茄>小麦。此外，3 种作物发芽势、发芽

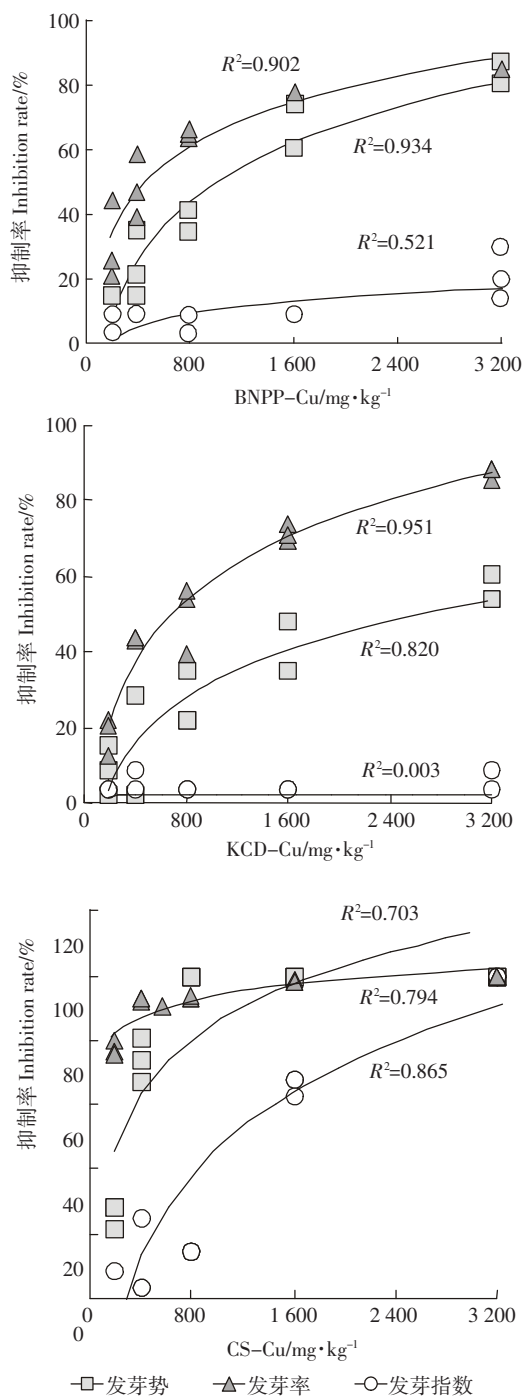


图 1 不同处理对番茄种子发芽的影响

Figure 1 Effects of different treatments on germination of tomato seed

率与发芽指数抑制率与 Cu²⁺浓度相关性分析可知，后者与 Cu²⁺浓度的相关性普遍高于前两者的相关性。这可能与种子发芽和根生长过程有关：由于种子发芽过程受胚内养分供应，Cu²⁺对种子发芽的毒害作用被部分掩盖，而根从一开始就完全暴露于土壤中，其生长和发育过程受土壤条件控制^[13-14]。因此，其对土壤 Cu²⁺

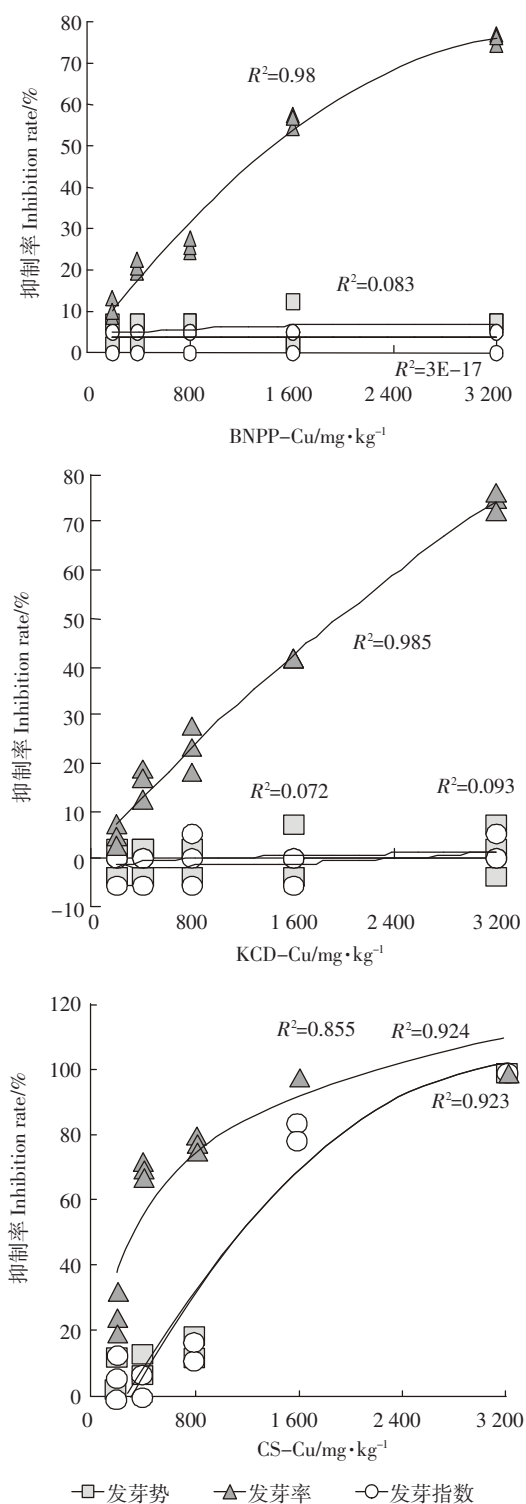


图2 不同处理对小麦种子发芽的影响

Figure 2 Effects of different treatments on germination of wheat seed

污染的反应更敏感。发芽指数是发芽率与根伸长相结合的指标,较发芽势与发芽率能更好地反映铜制剂对作物发芽的影响。

2.2 铜制剂对作物种子根茎伸长的影响

3种铜制剂对油菜根和茎的伸长均有抑制作用,且抑制率随 Cu^{2+} 浓度的升高而增加,其中CS处理对油菜根茎伸长的抑制效应远高于BNPP和KCD处理(图3)。

例如,以剂量-效应关系作图所得结果进行回归分析,当CS处理土壤中铜总量为 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,根和茎的伸长抑制率分别高达 87.96% 和 39.13%;而BNPP和KCD对根茎伸长的抑制率分别为 60.14%、52.88% 和 23.25%。还可以看出,3种铜制剂对油菜根伸长的抑制效应大于对茎伸长的抑制效应。而且,油菜根和茎伸长抑制率与3种铜制剂的 Cu^{2+} 浓度

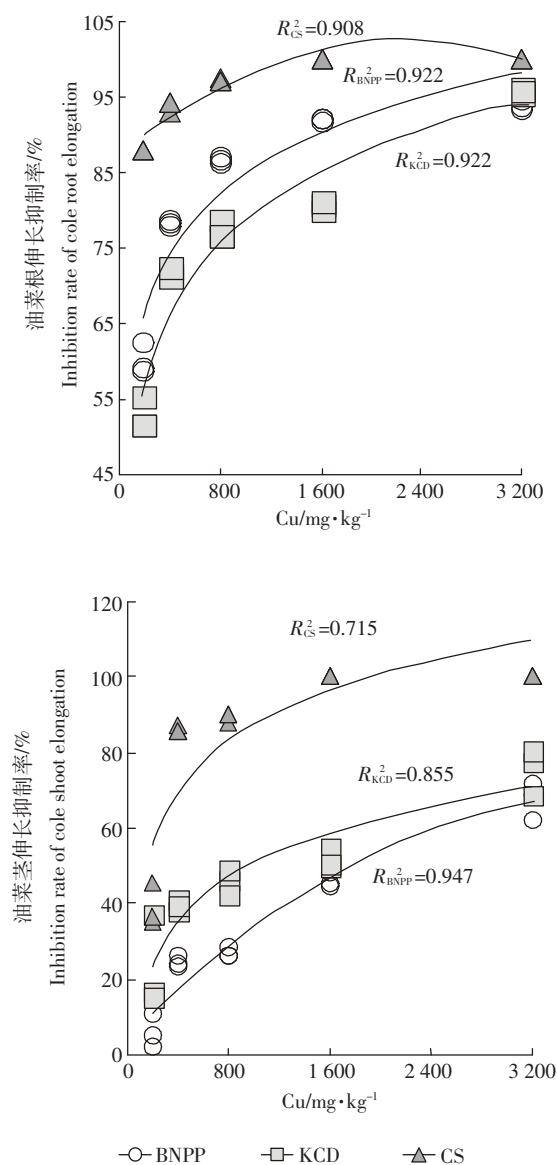


图3 铜制剂对油菜根茎伸长抑制率的影响

Figure 3 Effects of copper-based pesticides on root and stem elongation of cole

均呈对数相关,且前者的相关性好于后者。可见,根较茎的生长对铜制剂更敏感。

从图4可以看出,铜制剂对番茄根和茎伸长的影响类似于油菜种子,3种铜制剂中仍以CS对番茄根和茎伸长的抑制作用最大。 Cu^{2+} 浓度达 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,CS处理下根伸长抑制率为76.99%,而BNPP和KCD分别为27.99%和16.85%,铜制剂对根伸长的抑制明显高于对茎伸长的抑制。回归分析表明,根和茎伸长抑制率与铜制剂 Cu^{2+} 浓度有正相关,前者的相关系数高于后者。棕壤上3种铜制剂施铜量与番茄根伸

长为对数相关,与番茄茎伸长为多项式相关。

铜制剂亦抑制小麦根和茎的伸长(图5),其对根伸长抑制率的影响大于茎伸长抑制率,这与刘宛等的研究结果相似^[15]。BNPP和KCD处理下根和茎伸长抑制率与铜浓度为二次多项式相关(根中 $R_{\text{BNPP}}^2=0.981$, $R_{\text{KCD}}^2=0.991$;茎中 $R_{\text{BNPP}}^2=0.978$, $R_{\text{KCD}}^2=0.955$),CS处理下根和茎伸长抑制率与铜浓度为对数相关($R_{\text{根}}^2=0.863$, $R_{\text{茎}}^2=0.874$),且铜浓度与根伸长抑制率的相关系数高于茎。小麦受害毒性阈值(抑制率>10%)浓度 $\text{KCD}>\text{BNPP}>\text{CS}$ 。

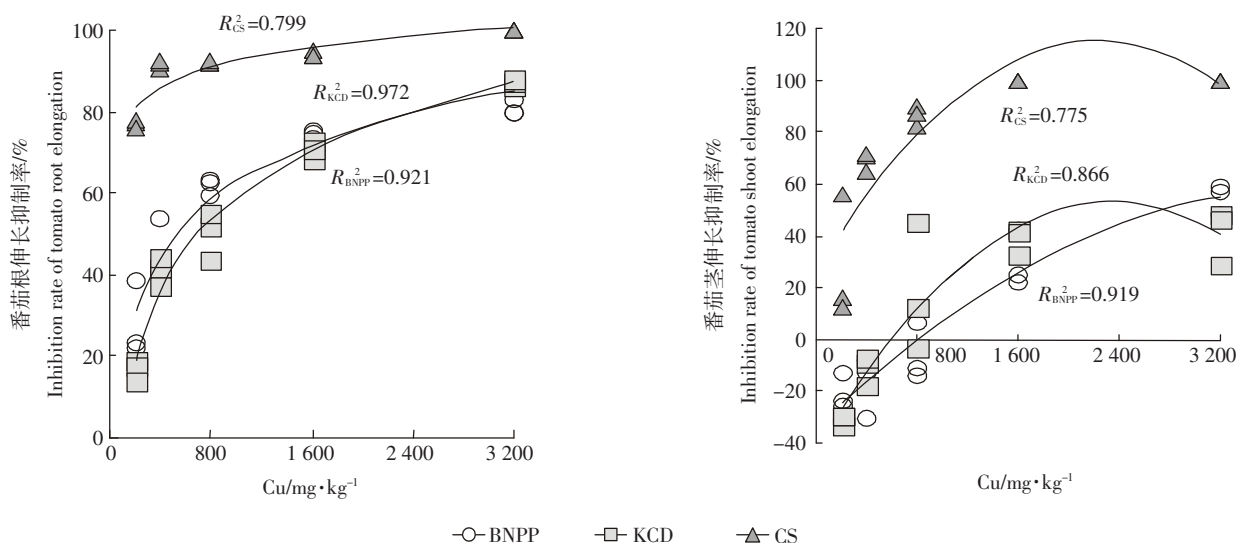


图4 铜制剂对番茄根茎伸长抑制率的影响

Figure 4 Effects of copper-based pesticides on root and stem elongation of tomato

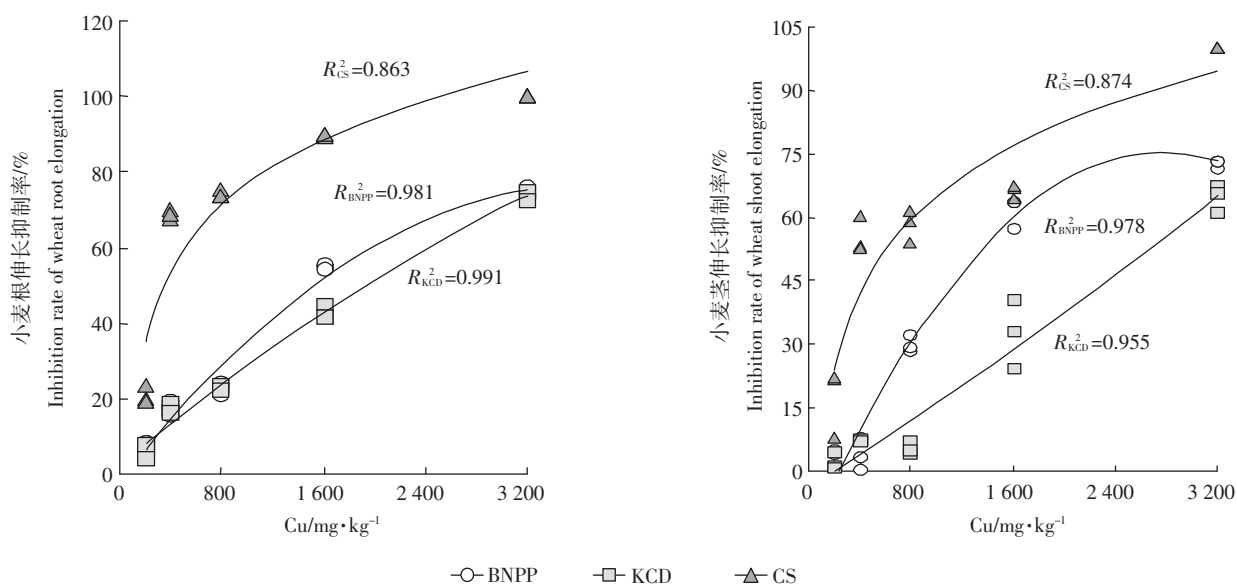


图5 铜制剂对小麦根茎伸长抑制率的影响

Figure 5 Effects of copper-based pesticides on root and stem elongation of wheat

综上所述,铜制剂对根伸长的抑制率显著大于对茎伸长的抑制率,且前者与铜浓度的相关性高于后者,因此可用根伸长抑制率为指标研究铜制剂毒性与铜浓度的关系。3种供试铜制剂对植物根和茎伸长抑制率基本服从于 $CS > BNPP \geq KCD$ 的规律。这可能与铜制剂本身性质不同有关,BNPP和KCD为颗粒状粉剂在水中的溶解度低,而CS为水溶性铜盐;此外,BNPP和KCD还含有添加剂等物质,因此会对植物的生物毒性效应有所差别。植物对铜制剂毒性相应有一定规律性,以BNPP处理下根伸长为例,油菜受污染的毒性阈值最低(IC_{10} 为 $11.45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),其次为番茄(IC_{10} 为 $49.62 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),而小麦最大(IC_{10} 为 $327.26 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)。由此可见,油菜对铜制剂最为敏感。

2.3 铜制剂对发芽种子质量的影响

以油菜、番茄、小麦发芽种子质量抑制率与铜制剂铜浓度作图6可以看出, Cu^{2+} 浓度与3种作物种子质量抑制率显著相关。其与小麦种子质量抑制率为二次多项式相关,与油菜和番茄种子质量抑制率均呈对数相关。同种作物对3种铜制剂的敏感程度不同,尤对CS最为敏感。例如,当施铜量为 $800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,CS处理番茄种子质量抑制率高达62.02%,KCD和BNPP处理下分别为24.61%和16.71%。此外,3种作物对铜制剂的敏感程度亦不同,引起植物受害的毒性阈值(抑制率 $>10\%$)差别较大。以BNPP为例,其对油菜、番茄、小麦种子质量抑制率分别为10.43%、9.16%和8.73%时,BNPP中 Cu^{2+} 浓度分别为200、400和400 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。铜制剂对3种作物种子质量抑制的强弱排序为油菜 $>$ 番茄 $>$ 小麦。油菜对铜制剂污染的毒性响应最敏感。

3 结论

(1)铜制剂对作物发芽、根茎伸长及幼苗质量均有显著抑制作用,由于铜制剂自身性质的不同,尤以可溶性铜盐CS处理下对植物的影响最为突出,而颗粒粉剂型BNPP与KCD因其铜溶解度低而对上述指标的影响作用小。因此,在评价粉剂型铜制剂对环境的影响时,应充分考虑其自身的特点。

(2)铜制剂施用浓度与作物发芽指数的相关系数最高,其次是根伸长抑制率。可以植物发芽指数、根伸长为指标,研究铜制剂污染毒性与植物响应的剂量及效应关系。

(3)不同植物对铜制剂污染物的毒性响应具有明显差异,3种植物对铜制剂的敏感顺序为油菜 $>$ 番

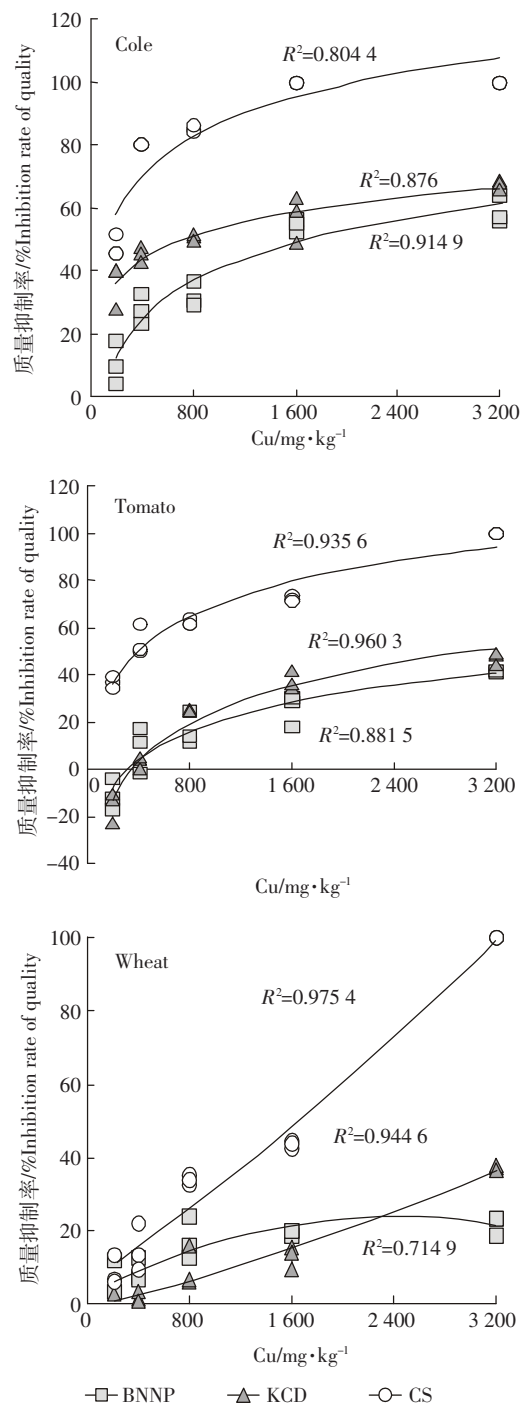


图6 不同处理对发芽种子质量的影响

Figure 6 Effects of different treatments on inhibition rate of quality of germinated seeds

茄 $>$ 小麦。可将油菜作为铜制剂污染土壤毒理诊断的指示植物。

参考文献:

- [1] 倪吾钟, 马海燕, 余 慎, 等. 土壤-植物系统的铜污染及其生态健康效应[J]. 广东微量元素科学, 2003, 10(1): 1-5.

- NI Wu-zhong, MA Hai-yan, YU Shen, et al. Copper pollution in soil-plant systems and its ecological and health effects[J]. *Guangdong Trace Elements Science*, 2003, 10(1): 1-5.
- [2] International Organization for Standardization (ISO). Soil quality-Determination of the effects of pollutants on soil flora. Part1: method for the measurement of inhibition of root growth[C]. Sweden; ISO, 1993; 11269-1.
- [3] International Organization for Standardization (ISO). Soil quality-Determination of the effects of pollutants on soil flora. Part2: Effects of chemicals on the emergence and growth of higher plants[C]. Sweden: ISO, 1995; 11269-2.
- [4] OECD (Organization for Economic Cooperation and Development). OECD guidelines for testing of chemicals[S]. Paris, France; European Committee, 1984; 208-209.
- [5] 刘登义, 王友保. Cu、As 对作物种子萌发和幼苗生长影响的研究[J]. 应用生态学报, 2002, 13(2): 179-182.
- LIU Deng-yi, WANG You-bao. Effects of Cu and as on germination and seedling growth of crops[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(2): 179-182.
- [6] 郁 达, 沈宗根, 张恒泽, 等. 汞对萝卜种子发芽及幼苗某些生理特性的影响[J]. 西北植物学报, 2004, 24(2): 231-236.
- YU Da, SHEN Zong-gen, ZHANG Heng-ze, et al. Effects on some physiological characters of seedling and germination of radish seeds after treated with Hg^{2+} [J]. *Acta Botanica Boreal-Occidentalia Sinica*, 2004, 24(2): 231-236.
- [7] 徐 振. 铜基营养杀菌剂的合成工艺及其作物效应研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2005.
- XU Zhen. Synthesis technics and effects of copper-based nutritional protective powder on plants[D]. Tai'an; Master's thesis of Shandong Agricultural University, 2005.
- [8] 段路路. 波尔多液营养保护剂矫治植物缺铁锌症状及生物效应研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2006.
- DUAN Lu-lu. Effects of bordeaux nutritional protective powder on iron and zinc deficiency and biological activity of plants[D]. Tai'an; Master's thesis of Shandong Agricultural University, 2006.
- [9] 董连发. 用可杀得防治柑桔疮痂病[J]. 中国南方果树, 1997, 26(2): 23.
- DONG Lian-fa. Citrus scab controlled by kocide[J]. *Fruit Trees in Southern China*, 1997, 26(2): 23.
- [10] 周国珍, 朱国芳. 从可杀得 101 到可杀得 2000[J]. 湖北植保, 1999(2): 34.
- ZHOU Guo-zhen, ZHU Guo-fang. From kocide101 to kocide2000[J]. *Hubei Plant Protection*, 1999(2): 34.
- [11] 南京农业大学主编. 土壤农化分析[M]. 北京: 农业出版社, 1986; 106-275.
- Nanjing Agricultural University Editor-in-Chief. Agricultural soil analysis[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986; 106-275.
- [12] Zhu B, Alva A K. Distribution of trace metals in soils sandy soils under citrus production[J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1993, 57: 350-355.
- [13] 宋雪英, 宋玉芳, 孙铁珩, 等. 柴油污染土壤对小麦种子萌发及幼苗生长的生态毒性效应 [J]. 农业环境科学学报, 2006, 25 (3): 554-559.
- SONG Xue-ying, SONG Yu-fang, SUN Tie-heng, et al. Soil-based ecotoxicity of diesel oil contamination to seed germination and seedling growth of wheat[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25 (3): 554-559.
- [14] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 重金属对土壤中小麦种子发芽与根伸长抑制的生态毒性[J]. 应用生态学报, 2002, 13(4): 459-462.
- SONG Yu-fang, ZHOU Qi-xing, XU Hua-xia, et al. Eco-toxicology of heavy metals on the inhibition of seed germination and root elongation of wheat in soils[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(4): 459-462.
- [15] 刘 宛, 宋玉芳, 周启星, 等. 氯苯胁迫对小麦种子发芽和幼苗生长的影响[J]. 农业环境保护, 2001, 20(2): 65-68.
- LIU Wan, SONG Yu-fang, ZHOU Qi-xing, et al. Effect of chlorobenzene-stress on seed germination and seedling growth of wheat[J]. *Agriculture Environmental Protection*, 2001, 20(2): 65-68.