

有机物料水溶性有机物对草萘胺生态毒性影响的研究

马爱军^{1,2}, 周立祥¹, 何任红²

(1. 南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏农林职业技术学院, 江苏 句容 212400)

摘 要: 采用生物培养方法, 研究了绿肥、猪粪及污泥中的水溶性有机物(DOM)对土壤中草萘胺生态毒性的影响。结果表明, 土壤中草萘胺浓度 $5 \sim 60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 与植物种子的发芽指数呈显著负相关性 $r = -0.9519^{**}$, 与根长抑制率呈显著正相关性 $r = 0.9848^{**}$; 不同来源的 DOM 均会降低草萘胺的生态毒性, 影响程度为猪粪> 污泥> 绿肥; 植物根伸长抑制率与 DOM 浓度有显著的负相关性 $r_{\text{绿肥}} = -0.9633^{**}$, $r_{\text{猪粪}} = -0.8933^{*}$, $r_{\text{污泥}} = -0.8509^{*}$ 。

关键词: 水溶性有机物(DOM); 草萘胺; 生态毒性; 发芽指数; 根伸长抑制率

中图分类号: X131.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672 - 2043(2004)05 - 1021 - 04

Effects of Dissolved Organic Matter on Eco - Toxicity of Napromide in Soil

MA Ai-jun^{1,2}, ZHOU Li-xiang¹, HE Ren-hong²

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Jiangsu Polytechnic College of Agriculture and Forestry, Jurong 212400, China)

Abstract: Along with application of organic manure, the effects of DOM on the behavior of pollutants were paid more attention. To evaluate the effect of DOM on eco - toxicity of Napropamide in soil, biological experiments were performed by using a typical orthic yellow - brown earth soil and three types of DOM, extracted from a green mamure (GM), pig manure (PM) and sewage sludge (SS). The experiments were carried at 25 °C. The results showed that there was a significantly negative relationship between the germination indexes and the concentrations of napropamide ($r = -0.9519^{**}$, a significantly positive relationship between the inhibition rates of root elongation and that of napropamide ($r = 0.9848^{**}$). The results indicated that eco - toxicity of Napropamide was reduced in the presence of three DOM and inhibition degree on plant elongation was PM> SS> GM. DOM affects Napropamide eco - toxicity by complexing hydrophobic component with the organic chemicals that enhanced pollutant mobility and reduces its bioavailability. It may be suggested that dissolved organic matter (DOM) reduce adsorption of hydrophobic organic pollutants in soils and enhance their mobility by either competing or complexing with organic pollutants molecules in sorption site.

Keywords: Dissolved organic matter; napropamide; eco - toxicity; germination index; inhibition rate of root elongation

水溶性有机物(dissolved organic matter, 简称DOM), 是陆地生态系统和水生生态系统中极为活跃的有机组分, 对污染物环境化学行为具有显著影响。有研究表明, DOM 通过与农药竞争土壤表面的吸附位点或与其结合成稳定的络合物, 以减少其在土壤上的吸

附, 从而使农药得到活化^[1~3]。

农药作为土壤中的主要污染物之一, 直接影响着环境质量和人类健康。活化后的污染物在环境中更易引起广泛迁移, 但是其生态毒性是否也会发生改变? 迄今为止有关这方面的研究报道尚不多见。利用高等植物生长状况诊断土壤污染, 已成为土壤诊断的重要方法之一。目前已建立的高等植物毒理试验方法有根伸长抑制试验、种子发芽试验和植物幼苗早期生长试验^[4]。为此本文采用植物根伸长抑制试验的方法, 研究了农业土壤中普遍施用的绿肥、猪粪及污泥中的

收稿日期: 2004 - 03 - 17

基金项目: 国家自然科学基金资助 (30170537, 20377024)

作者简介: 马爱军 (1969—), 女, 讲师, 博士研究生, 主要研究方向为环境污染化学。E - mail: maaijun2@163.com

联系人: 周立祥, E - mail: lxzhou@njau.edu.cn

DOM 对除草剂草萘胺生态毒性的影响,旨在为污染土壤的生物诊断及评价污染物对生态系统的潜在危害提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 材料与试剂

丙酮为分析纯。草萘胺原药由江苏如东农药厂提

供,纯度≥95%。供试绿豆种子(*phaseolus aures L.* 品种 VC-3762)购自句容市种子公司。供试土壤为下蜀黄土母质发育的黄棕壤,采自江苏农林职业技术学院实习农场(0~20 cm),风干后磨细备用,土壤理化性状见表 1。供试有机物料为猪粪、绿肥(嫩蚕豆)、污泥。猪粪和污泥分别取自南京农业大学猪场和无锡芦村污水处理厂,绿肥为苗期的蚕豆(*Vicia faba L.*)地上部,所有物料风干后磨细过 60 目筛后备用。

表 1 供试土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the tested soils

土壤类型	pH (H ₂ O)	阳离子交换量 /cmol(+)·kg ⁻¹	有机质含量 /g·kg ⁻¹	全 N 量 /g·kg ⁻¹	砂粒/% 1~0.05 mm	粉粒/% 0.05~0.001 mm	粘粒/% <0.001 mm
黄棕壤	6.30	17.10	9.87	0.68	5.64	64.84	29.52

1.1.2 主要仪器设备

恒温培养箱、TOC 仪(TOC-5000A,岛津)、高速冷冻离心机(BECKMAN J2-HS)、THZ-C 恒温振荡器、直径 90 mm 的玻璃培养皿。

1.2 试验方法

1.2.1 有机物料中水溶性有机物(DOM)的提取

猪粪、绿肥(嫩蚕豆)、污泥与超纯水分别按照一定的固液比(即重量比,猪粪和污泥为 10:1,绿肥为 40:1),在 25℃下 200 r·min⁻¹的水平恒温振荡机上振荡 16 h 后,以 12 000 r·min⁻¹的高速在离心机上低温(4℃)离心 20 min,上清液过 0.45 μm 的滤膜后即为备用的 DOM 液,其水溶性有机碳(DOC)浓度采用 TOC 仪测定^[5]。

1.2.2 草萘胺对绿豆种子发芽率、发芽指数^[6]及根伸长抑制试验^[7]

称取 50 g 风干土壤 24 份分别置于 90 mm 直径的玻璃培养皿中,将一系列不同浓度的草萘胺丙酮溶液均匀地加入培养皿中,放在通风橱中暗处使丙酮挥发至干,使土壤中草萘胺浓度为 0、5、10、20、30、40、50、60 mg·kg⁻¹。用去离子水调节土壤含水量至最大持水量的 60%,再将绿豆种子均匀播种于土壤中,盖好玻璃培养皿,置于恒温培养箱中 25℃暗处培养。当对照种子发芽率>90%(本试验发芽率>93%)、根长达 30 mm 时结束试验(约 48 h)。测定各处理根长及发芽率,计算其发芽指数。每个处理 15 粒种子,设 3 次重复。确定根伸长抑制率(inhibition rate,IR)达 10%~60%的浓度区间。

1.2.3 DOM 种类和浓度对草萘胺生态毒性影响试验

根据 1.2.2 试验结果,选择抑制率为 50%的草萘胺浓度区间(经试验得出该浓度为 30 mg·kg⁻¹),

在此浓度基础上按照 DOM 含量为 0、40、80、120、160、200 mg C·kg⁻¹土的浓度梯度加入不同的 DOM 溶液,在与 1.2.2 相同条件下进行根伸长抑制试验,测定各处理的植物根长度,统计各处理发芽率及其发芽指数。

为观测微生物可能对 DOM 和草萘胺分解的影响,在本试验中设置了微生物的影响试验,即在加入 120 mg C·kg⁻¹土的 DOM 提取液的土样中增加一组灭菌处理(湿热灭菌),与未灭菌的自然土壤进行比较。

2 结果与讨论

2.1 草萘胺对绿豆种子发芽率、发芽指数及根伸长抑制的剂量-毒性效应

试验结果表明,绿豆种子的发芽率与草萘胺的浓度无相关性,在本试验浓度范围内草萘胺对绿豆种子的发芽基本上没有影响,各处理发芽率都≥90%,这可能是种子在萌发过程中由于受到胚内养分的供应,各种酶活性的加强,代谢作用旺盛,对农药的毒性具有一定的抗性;而绿豆种子籽粒较大,其对农药毒性的抵抗力就更强。

图 1 是以草萘胺的浓度与种子的发芽指数作的相关图。由图 1 可以看出,发芽指数与草萘胺的浓度呈显著的负相关 $r = -0.9519^{**}$,随着草萘胺浓度的增大,发芽指数逐渐下降,如在浓度为 5 mg·kg⁻¹时发芽指数为 86.29%,10 mg·kg⁻¹时为 55.41%,40 mg·kg⁻¹时下降到 48.83%,表明其毒性在逐渐增强。这主要是根从一开始就直接与草萘胺接触,并通过根吸收使草萘胺直接进入植物体内,从而对根的伸长产生较大的抑制作用。因此,根对农药污染的反应更直接、更敏感。

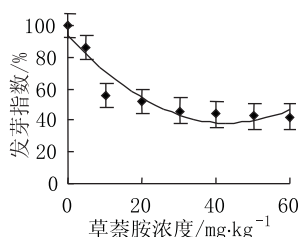


图 1 草萘胺对绿豆种子发芽指数的影响

Figure 1 The change of seed germination indexes in the presence of napropamide

以绿豆根伸长抑制率对草萘胺浓度作图。由图 2 可见, 绿豆根伸长抑制率与草萘胺浓度呈显著正相关关系 $r = 0.9848^{**}$ 。在根长抑制率为 13.7% 时, 草萘胺的浓度为 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 受害的阈值 (抑制率 > 50%) 所对应的草萘胺浓度为 $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

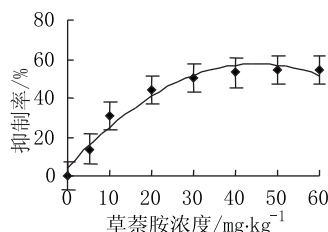


图 2 草萘胺对绿豆根长抑制率的影响

Figure 2 Effects of various concentrations of Napropamide on inhibition rates of root elongation of mung bean

草萘胺是酰胺类除草剂, 用于芽前或土壤处理, 可以抑制植物的多个代谢过程。双子叶植物的主要吸收部位是根, 其次是幼芽^[8]。在本试验中从绿豆根受害形态上看, 不仅根长受到抑制, 而且根径变细, 根尖扭曲。这可能是由于根与草萘胺的接触, 并通过根吸收使农药进入植物体内, 抑制了发芽种子 α -淀粉酶及蛋白酶的活性, 从而对根的伸长产生了较大的抑制作用。

2.2 不同浓度的 DOM 溶液对草萘胺生态毒性的影响

从图 3 可以看出, 在土壤中加入 DOM 提取液后草萘胺对种子的发芽指数有较大的上升, 说明加入 DOM 后草萘胺对植物的毒害作用逐渐减弱。猪粪对种子的发芽指数的影响效果最明显 $r = 0.9058^*$, 污泥的影响效果次之 $r = 0.9794^{**}$, 绿肥的影响效果最小 $r = 0.5973$; 在 DOM 达 $200 \text{ mgC} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 种子发芽指数分别上升了 11.10%、4.42%、2.51%。

由图 4 可见, 土壤加入 DOM 提取液后草萘胺的生态毒性减弱, 表现为绿豆的根伸长抑制率均呈下降趋势, 并且猪粪提取液中的 DOM 对抑制率的影响最大, 污泥次之, 绿肥的最小; 随着土壤中 DOM 提取液

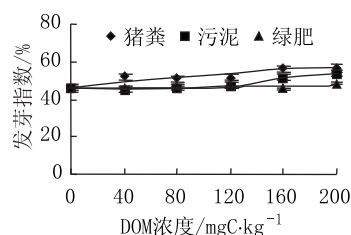


图 3 不同浓度的 DOM 溶液对绿豆种子发芽指数的影响

Figure 3 The change of the seed germination indexes under different DOM concentrations

浓度的增加, 绿豆根伸长抑制率逐渐下降, 两者有较好的负相关性 $r_{\text{绿肥}} = -0.9633^{**}$, $r_{\text{猪粪}} = -0.8933^*$, $r_{\text{污泥}} = -0.8509^*$ 。

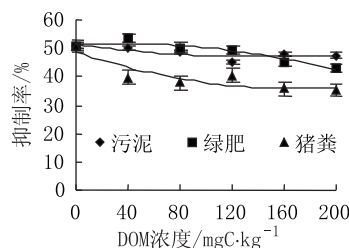


图 4 不同浓度的 DOM 溶液对草萘胺抑制率的影响

Figure 4 The change of inhibition rates of root elongation under different DOM concentrations

研究还发现猪粪和污泥提取液中 DOM 在低浓度时 ($<120 \text{ mgC} \cdot \text{kg}^{-1}$) 抑制率下降比较快, 此后下降幅度有所缓和, 而绿肥变化规律与之相反。例如当土壤来自猪粪、污泥和绿肥的 DOM 浓度为 $120 \text{ mgC} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土时, 绿豆根伸长抑制率分别下降了 10.24%、5.39% 和 1.42%, 而当 DOM 的浓度高达 $200 \text{ mgC} \cdot \text{kg}^{-1}$ 土时, 抑制率的降幅分别为 15.51%、3.13% 和 7.80%。这与占新华等的试验结果相一致^[9]。

2.3 微生物对草萘胺生态毒性的影响

DOM 对草萘胺生态毒性的影响可能与微生物活动有关。因为酰胺类除草剂在土壤中主要通过微生物的作用进行降解与消失, DOM 的加入可能会促进土壤微生物的活动, 加快对草萘胺的生物降解, 从而降低其毒性。但从图 5 可看出, 将自然土壤灭菌, 排除微生物影响后, DOM 仍能降低草萘胺的毒性。表现在灭菌土中加入 DOM 后根长抑制率仍呈下降趋势, 猪粪、污泥及绿肥中的 DOM 分别使根长抑制率降低了 6.73%、11.22% 和 2.72%, 总的变化趋势与未灭菌土相类似。

据此推测, DOM 降低草萘胺生态毒性可能与其疏水性有关。DOM 是一类成分复杂的物质, 由 2 种理化性质决然不同的组分组成——可移动的亲水性

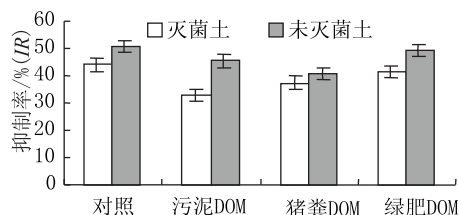


图 5 微生物对土壤中草萘胺生态毒性的影响

Figure 5 The influence of microorganisms on eco-toxicity of napropamide in soil

组分和非移动性的疏水性组分。不同来源的 DOM 由于其组成及性质不同,在对污染物的行为影响上存在一定差异。猪粪、污泥和绿肥 DOM 中疏水性组分所占比例分别为 54.65%、51.38% 和 21.58%^[10],草萘胺又具有一定的疏水性(20℃时水溶解度为 73 mg·L⁻¹),能与 DOM 中分子量大的疏水性组分结合成性质稳定的络合物,提高了可溶性^[11-13]。在纯溶液体系中 DOM 能提高疏水性污染物的可溶性和迁移性,使其更容易被植物根部吸收,从而使污染物毒性得到加强^[14]。然而在本试验中土壤中草萘胺生态毒性非但没提高,反而下降,并且疏水性组分含量相对较高的猪粪和污泥对生态毒性的影响比绿肥的大,可能的机理是:

(1) DOM 的加入提高了土壤水势,从而降低疏水性污染物的生态毒性^[7]。土壤中加入 DOM 后,其疏水组分与草萘胺结合,提高了污染物的移动性和可溶性,从而提高土壤水势,使毛管水上升受阻,表层土壤含水量低,致使位于土壤表层的绿豆种子生长受抑制。

(2) 虽然疏水性 DOM 可以和草萘胺结合,增加其溶解性,但草萘胺与大分子的 DOM 结合后,未必可以通过根表的生物膜进入植物体内影响植物的生长发育,进而影响根的伸长,因此溶解后的草萘胺不一定是生物学有效的。不同来源的 DOM 分子量分布不同,导致对草萘胺生物有效性的差异。

3 结论

(1) 生物培养试验表明,草萘胺对绿豆种子的发芽率几乎没有影响,但对种子的发芽指数及根的伸长有明显的抑制作用,说明草萘胺是一种低毒性的农药(只影响根的生长而不影响发芽);草萘胺浓度越大抑制效果越明显,而 DOM 的存在则会降低其生态毒性。

(2) 不同 DOM 溶液相比较,含疏水性组分多的 DOM 对草萘胺生态毒性的降低程度大,本试验 3 种有机物料中,猪粪与污泥降低生态毒性的程度大,绿肥的影响小;同一 DOM 相比较,浓度越高其降低毒性的程度越大。

(3) DOM 降低草萘胺生态毒性的机理可能与其疏水性质有关,因为 DOM 促进微生物降解草萘胺而降低其生态毒性的作用很微弱。

参考文献:

- [1] Xinjiang Huang, Linda S Lee. Effects of Dissolved Organic Matter from Animal Waste Effluent on Chlorpyrifos Sorption by Soils[J]. *J Environ Qual*, 2001, 30: 1258 - 1265.
- [2] Celis R E Barriuso and S Houot. Sorption and adsorption of Atrazine by sludge - Amended soil: dissolved organic matter effects[J]. *J Environ Qual*, 1998, 27: 1348 - 1356.
- [3] F Flores - Céspedes, E González - Pradas, M Fernández - Pérez, et al. Effects of Dissolved Organic Carbon on Sorption and Mobility of Imidacloprid in Soil[J]. *J Environ Qual*, 2002, 31: 880 - 888.
- [4] 孙铁珩,宋玉芳. 土壤污染的生态毒理诊断[J]. 环境科学学报, 2002, 22(6): 689 - 695.
- [5] 占新华,周立祥,沈其荣,黄焕忠. 污泥堆肥过程中水溶性有机物光谱学变化特征[J]. 环境科学学报, 2001, 21(4): 470 - 474.
- [6] 张雪英,周立祥,沈其荣,等. 城市污泥强制通风堆肥过程中的生物学和化学变化特征[J]. 应用生态学报, 2002, 13(4): 467 - 470.
- [7] 宋玉芳,许华夏,任丽萍,等. 土壤重金属对白菜种子发芽与根伸长抑制的生态毒性效应[J]. 环境科学, 2002, 23(1): 103 - 107.
- [8] 张玉聚,陈国参. 除草剂混用原理与应用技术[M]. 北京:中国农业出版社, 1999. 24 - 25.
- [9] 占新华,周立祥,万寅婧. 水溶性有机物对土壤中菲的生态毒性影响及其机制研究[J]. 环境科学, 2004(已录用).
- [10] Zhou L X and Wong J W C. Behavior of heavy metals in soils: effect of dissolved organic matter[A]. In: Selimand H M, Kingery W L. Geochemical and hydrology reactivity of heavy metals in soils[C]. Lewis publishers, 2003. 245 - 269.
- [11] 李本昌. 农药残留量实用检测方法手册[M]. 北京:中国农业科技出版社, 1995. 494.
- [12] Nelson S D, Farmer W J, Letey J, et al. Stability and mobility of napropamide complexed with dissolved organic matter in soil column[J]. *J Environ Qual*, 2000, 29: 1856 - 1862.
- [13] Williams C F, Agassi M, Letey J, et al. Facilitated transport of napropamide by dissolved organic matter through soil columns[J]. *Soil Sci Soc Am J*, 2000, 64: 590 - 594.
- [14] 吴鑫. 可溶性有机物对绿麦隆环境行为的影响[D]. 南京:南京农业大学硕士学位论文, 2003.