

文章编号:1003-8701(2012)04-0030-03

2,4-D 在厌氧条件下土壤中的降解

王翔¹,郭健¹,张恒星²,马腾达¹,张浩^{1*},王国林³

(1. 吉林农业大学资源与环境学院,长春 130118; 2. 陕西省西安热力研究院有限公司,西安 710032;
3. 63850 部队后勤部,吉林 白城 137000)

摘要 2,4-二氯苯氧酸(2,4-D)是一种世界上广泛应用的除草剂,能够存在于多种土壤环境中,但在某些厌氧条件下会被降解转化。本实验研究了 2,4-D 在棕壤和黑钙土两种不同土壤中的降解速率及 CO₂ 的释放。在两种土壤中分别加入质量为 1 mg/kg 的 2,4-D,培养 55 d 后,对 2,4-D 的降解率进行了测定。结果表明,两种土壤的矿化程度没有明显不同,2,4-D 的矿化程度均达到 70%~80%,而在有氧与厌氧两种不同条件下,土壤中 2,4-D 的降解存在区别,有氧条件下 2,4-D 在棕壤和黑钙土中完全降解分别需要约 50 d 和 45 d,而厌氧条件下,在两种土壤中完全降解均需要 50~60 d。

关键词 2,4-D,厌氧条件,淹水土壤,矿化作用

中图分类号:S482.4

文献标识码:A

Degradation of the Herbicide 2,4-D in Anaerobic Soil Conditions

WANG Xiang¹, GUO Jian¹, ZHANG Heng-xing², MA Tengda¹, ZHANG Hao^{1*}, WANG Guo-lin³

(1. College of Resources and Environment, Jilin Agricultural University, Changchun 130118;

2. Shannxi Province Xi'an Thermal Academy Co, Ltd. Xi'an 710032;

3. Logistics Department of 63850 Army, Baicheng 137000, China)

Abstract: 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) is a herbicide widely used in the world. The compound persists under most environmental conditions, yet it is rapidly transformed under certain anaerobic conditions. A experiment was conducted to determine the degradation of 2,4-D and CO₂ evolution in brown earth and chernozems. 2,4-D was added to each soil at rates of 1mg/kg of soil. After 55 days of incubation, degradation of the 2,4-D was measured. The results showed that extent of mineralization was about 70-80%, with no significant differences between the two soils. Degradation of 2,4-D was difference under aerobic condition as compared to anaerobic conditions for two soils. Under aerobic conditions, all of 2,4-D was degraded in brown earth and chernozem in approximately 45d and 50d respectively. While under anaerobic conditions, the degradation needed 50-60d.

Keywords: 2,4-D; Anaerobic conditions; Flooded soil; Mineralization

化学农药进入土壤中,使土壤生态系统发生变化,同时对环境造成了许多污染。尽管如此,农药在世界各国的使用量仍在逐年增长,许多农药残留在土壤中,造成土壤质量下降,因此研究农药降解极为重要^[1-2]。

2,4-D 是一种防除阔叶杂草的除草剂,主要在谷类植物和其他农作物上广泛使用。它能够被土壤中大多数微生物所降解,因此在土壤中的残留量较低^[3]。但 2,4-D 在水中的溶解性较高,可以达到 600 mg/L,25℃^[4],使用后,过量的 2,4-D 很容易迁移到地下水中,经过长时间的积累,在表层水的测定中都会发现较大含量的 2,4-D 及其降解产物 2,4-DCF^[5]。Christian 等人^[6]研究发现,2,4-D 的降解以一级反应速率每天 0.24 的指数增长,并且没有滞后期。2,4-D 降解产物中难以降

收稿日期:2012-04-16

基金项目:吉林省国际科技合作计划项目(20120742)

作者简介:王翔(1988-),男,在读硕士,主要从事农药环境降解微生物研究。

通讯作者:张浩,女,教授,博士,E-mail:haozhang100@163.com

解的有毒物质严重威胁着生态环境,因此对 2,4-D 的降解研究已经逐渐受到人们的关注,厌氧生物降解是较为理想的降解途径^[7]。因此,对除草剂 2,4-D 的有效降解过程的研究是极其必要的。本试验对 2,4-D 在有氧和厌氧条件下的降解及 CO₂ 的释放量进行了探讨,为该药剂安全合理使用提供了科学依据。

1 材料和方法

1.1 供试药品

2,4-D(纯品,0.25 g,标准品),购自上海安谱公司;2,4-D 稳定 ¹⁴C 同位素标准品,购自北京中西远大科技有限公司;甲醇(色谱纯)、二氯甲烷(分析纯),实验所用溶剂和水均为优级纯。

1.2 供试土壤

两种土壤为黑钙土和棕壤,风干后过 4 mm 筛备用。棕壤 pH 为 6.50,有机质含量为 11.2 g/kg,盐基饱和度为 91.5%;黑钙土 pH 为 7.60,有机质含量为 25.7 g/kg,盐基饱和度为 65.4%。

1.3 实验设计

取 120 mL 的血清瓶作为反应瓶,分别向其中加入 15 g 湿润土壤和 20 mL 无氧水。实验中所用的水为去离子水,100℃煮沸处理赶出其中水溶性氧。然后加入 2,4-D 标准溶液使土壤处理最终浓度为 10 mg/kg。一份在厌氧条件下加入氮气,另一份处理中土壤在好氧条件下添加无氧水。在 2.5 cm 厚的丁基胶塞一头连接盛有 2 M/L 氢氧化钾(200 mL)的二氧化碳收集器,用不锈钢丝悬挂在反应瓶塞上。加入 2,4-D 后,用反应塞立刻密封处理。所有血清瓶均在无光条件处理,培养温度为(25±3)℃,所有实验设 3 次重复。

1.4 取样

按上述处理样品,土壤按 3、6、9、12、18、23、30、40、50、55、60 d 取样。测定氢氧化钾吸收 2,4-D 在降解反应过程中生成的 CO₂。水样经过离心后用 0.2 μm 聚偏氟乙烯膜过滤。土壤样品提取用甲醇和水的混合液(体积比为 80:20)100 mL,震荡提取 1 h,在铺有助滤剂的布氏漏斗上减压抽滤,后取 10 mL 样品置于 250 mL 分液漏斗中,用二氯甲烷 30 mL,30 mL,30 mL 萃取 3 次,滤液收集到 250 mL 圆底烧瓶中旋转近干,最后用 10 mL 甲醇定容,过 0.25 μm 有机滤膜,滤液待液相色谱测定。

1.5 2,4-D 的测定

2,4-D 使用高效液相色谱仪(Agilent 1100)分

析,进样量 100 μL,色谱柱为 250 mm×5 mm×10 μm 的 C18 柱,紫外检测器,测定波长为 230 nm,流动相为甲醇:水:磷酸=85:15:0.1%(v/v),流速为 0.7 mL/min,在此液谱条件下,2,4-D 的保留时间为 10.20 min。CO₂ 测定使用 TRI-CARB 液体闪烁分析仪。

1.6 统计分析

使用 DPS 分析软件对实验数据进行统计分析。

2 结果和讨论

2.1 2,4-D 的矿化

一些实验已经表明 2,4-D 在土壤中的主要转化途径为水解、甲基化和环断裂^[8-9]。本实验两种土壤中 2,4-D 的降解中主要发生矿化作用产生 CO₂。2,4-D 在两种土壤中不同时间所释放的 CO₂ 量不同,具体的 CO₂ 释放量与时间的关系见图 1。由图 1 可以看出,土壤培养 30 d 后,2,4-D 在黑钙土中的矿化率为 45%,在棕壤中只有少量矿化。而反应 55 d 之后,两种土壤中 2,4-D 的矿化程度均在 70%~80%之间,两者无显著差异,这与已报道的耕作土壤中的矿化率相符合。Arnaud Boivin 报道标记过的,不同添加量的 2,4-D 经过短期降解后矿化率为 50%~60%^[10]。在降解一段时间后,矿化速度明显加快,在矿化过程中 2,4-D 含量有一定的限定因素。本实验中,两种土壤含有相同的天然微生物,未被处理的土壤中微生物种群在分解少量 2,4-D 的过程中起到非常重要的作用。微生物根据相对比例数和土壤类型的不同,直接将除草剂作为碳源或氮源分解使用,或产生共代谢作用来降解 2,4-D^[11]。2,4-D 在土壤中的矿化率与土壤有机质含量、微生物数量或细菌的总量呈现正相关^[12]。能够降解 2,4-D 的微生物包括多个微生物物种,它们联合作用,涵盖不同的生物降解过程。

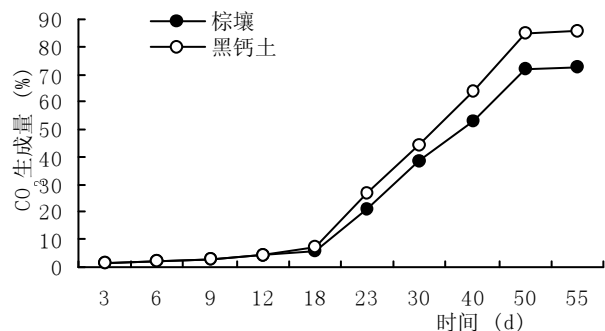


图 1 2,4-D 在两种土壤中经处理 55 d CO₂ 释放量

2.2 2,4-D 降解动力学

在有氧和厌氧两种不同条件下, 2,4-D 在两种土壤中的降解量存在明显不同, 其具体关系见图 2 和图 3。由图 2 和图 3 可以看出, 在有氧条件下, 2,4-D 在棕壤和黑钙土两种土壤中的降解率是 100%, 所用时间分别为 45 d 和 50 d, 在无氧条件下降解率是 100%, 所用时间为 50~60 d。由此

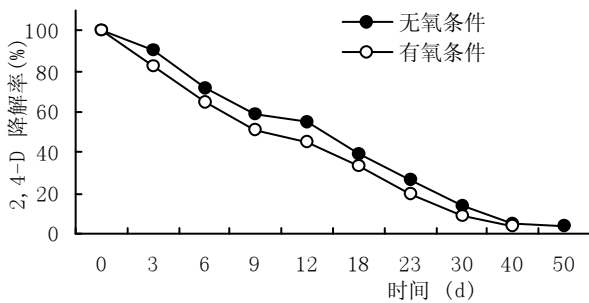


图 2 棕壤中 2,4-D 降解曲线

研究表明 2,4-D 在土壤中的降解可能只是部分降解, 其主要降解产物 2,4-二氯苯酚可能更容易被土壤吸附^[13-14]。经过 55 d 降解, 2,4-D 在棕壤和黑钙土中没有发现其他残留物。在两种土壤中, 2,4-D 的溶解性较高, 其矿化的同时提高了残留物的吸附, 造成两种土壤的化学性质的快速下降。

表 1 加入乙醇(2 mM)10 d 对土壤中 2,4-D 降解的影响

处理	CO ₂ 生成浓度(%)	
	棕壤	黑钙土
空白	62.81	40.90
乙醇	60.41	35.75

在无氧条件下添加含碳化合物可以导致一些微生物活性的改变^[15-16]。实验结果见表 1。从表 1 可以看出, 10 d 之后 2,4-D 在棕壤和黑钙土中的降解率分别为 62.81% 和 40.9%, 加入乙醇之后棕壤和黑钙土的降解率为 60.41% 和 35.75%。因此, 可以证明乙醇在 2,4-D 的降解过程中有一定影响。

参考文献:

- [1] Hayes, W.J. Pesticides Studies in Man. Williams and Wilkins, Baltimore (London). 1982.
- [2] Gintautas PA, Dabiel SR, Macalady DL. Phenoxyalkanoic acid herbicides in municipal landfill leachates [J]. Environ. Sci. Technol. 1992(26): 517-521.
- [3] Jeanette Gaultiera, Annemieke Farenhorsta, Jason Cathcartb, et al. Degradation of [carboxyl-14C] 2,4-D and [ring-U-14C] 2,4-D in 114 agricultural soils as affected by soil organic carbon content [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008(40): 217-227.
- [4] Rodrigues, B.N., Almeida, F.S. Guia de herbicidas. Londrina, PR. 2005.
- [5] Tatiane M. Silva¹, Maria I. Stets¹, André M. Mazzetto¹. Degradation of 2,4-D herbicide by microorganisms isolated from brazilian contaminated soil [J]. Brazilian Journal of i-

可以看出, 2,4-D 在无氧条件下的降解速率比有氧条件下要慢。实验数据表明除草剂 2,4-D 在黑钙土中的降解比在棕壤降解速率慢。2,4-D 在厌氧条件下, 棕壤中的降解一级动力学方程为 $C=229.76e^{-0.3733t}$, 相关系数为 $r=0.9478$, 黑钙土中一级动力学方程 $C=182.17e^{-0.3455t}$, 相关系数 $r=0.9865$ 。

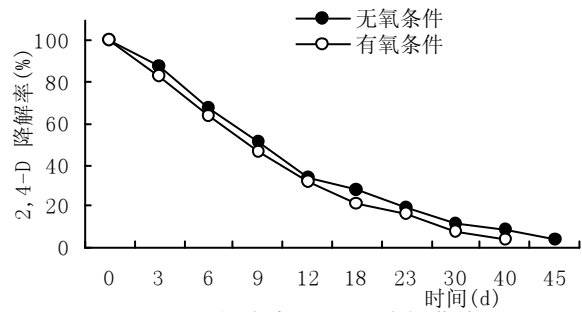


图 3 黑钙土中 2,4-D 降解曲线

crobiology, 2007(38): 522-525.

- [6] Christian Z. Christof B, Thomas F. Fate of herbicides mecoprop, dichlorprop, and 2,4-D in aerobic and anaerobic sewage sludge as determined by laboratory batch studies and enantiomer-specific analysis [J]. Biodegradation, 1999(10): 271-278.
- [7] Jennifer J. Crawford, Gerald K. Sims, et al. Dissipation of the Herbicide [¹⁴C] Dimethenamid under Anaerobic Conditions in Flooded Soil Microcosms [J]. Agric. Food Chem., 2002(50): 1483-1491.
- [8] Jason M. Caifen xu, Joseph M. Trifluralin degradation under Microbiologically Induced Nitrate and Fe(III) Reducing Conditions Environ [J]. Sci. Technol, 2000(34): 3148-3152.
- [9] Roberts T.R. Metabolic pathways of agrochemicals, vol 1. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, 1998: 735-739.
- [10] Vieuble Gonod, L, Chenu C., Soulas, G. Spatial variability of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) mineralisation potential at a millimeter scale in soil [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35 (3): 373-382.
- [11] Soulas, G. Degradation biologique d'un herbicide l'acide 2,4-dichlorophenoxyacétique (2,4-D) dans le sol, aspects cinétiques. Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy, 1990: 177.
- [12] Greer L. E., J. A. Robinson D. R. Shelton. Kinetic comparison of seven strains of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degrading bacteria. Appl. Environ. Microbiol, 1992 (58): 1027-1030.
- [13] Pieper, D. H., W. Reineke, K.-H. Engesser, et al. Metabolism of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid and 2-methylphenoxyacetic acid by Alcaligenes eutrophus JMP 134. Arch. Microbiol, 1988(150): 95-102.
- [14] Soulas, G., Fournier, J.C.. Soil aggregate as a natural sampling unit for studying behavior of microorganisms in the soil: application to pesticide degrading microorganisms [J]. Chemosphere, 1981, 10(4): 431-440. (下转第 35 页)

1 d 内,试验菌株处于生长的迟缓期,是适应新环境的过程,第 1~6 d 内,是菌体的旺盛生长阶段,试验菌株可能以 PT 作为营养物质,因而菌株对 PT 的降解与菌体的生长具有一定的相关性,到了第 6 d 之后,试验菌株进入衰亡期,对 PT 的降解率也开始呈下降趋势。

3 结论与讨论

3.1 试验菌株 NY-9 在 35℃、5 d 时,对 PT 的降解率可达 79.85%。从而得到一株能高效降解 PT 的菌株,为今后利用微生物降低农残的技术奠定了科学基础,还可用于有机磷农药生产企业污水的处理^[12]。

3.2 菌株在降解 PT 的过程中,受到温度、溶氧、PT 初始浓度、菌浓、时间、pH、外加碳源^[13]等诸多因素的影响,此次试验是以选定的温度(35℃)、PT 质量浓度(100 mg/L)、菌浓(10%)、pH(7.0)进行研究的,详细的相关因素的优化还有待于进一步研究。

3.3 PT 降解菌是以 PT 为碳源,通过共代谢作用^[4],将农药中对硫磷转化为低毒或无毒物质,而使农药降低(失去)毒性,生成的 CO₂、H₂O、HNO₃ 等物质可被植物生长所利用,减少了水和化肥的施用,起到了多重功效,这是其它化学处理法无法比拟的。

3.4 有的微生物本身含有可降解该农药的酶基因,有的微生物本身并无可降解该农药的酶基因,但在农药环境中基因发生重组或改变,产生新的降解酶系^[1],因此 NY-9 降解 PT 的分子机制有待进一步研究。

3.5 有机磷农药的微生物降解途径主要有氧化、还原、脱氢、水解、脱卤、缩合、脱羧、异构化、合成等几种类型^[15],目前研究较多的主要有甲胺磷、甲基对硫磷等^[16]。而菌株 NY-9 对乙基对硫磷的降

解途径及代谢产物有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 刘维屏. 农药环境化学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2006: 205-207.
- [2] 刘勇, 付荣恕, 任宗明. 2 种有机磷农药联合胁迫下日本青鳉的逐级行为响应[J]. 环境科学, 2010, 31(5): 1328-1332.
- [3] Karanth S, Olivier K, Liu J, et al. In vivo interaction between chlorpyrifos and parathion in adult rats sequence of administration can markedly influence toxic outcome[J]. Toxicology and Applied Pharmacology, 2001, 177(9): 247-255.
- [4] Yang C, Dong M, Yuan Y, et al. Reductive transformation of parathion and methyl parathion by *Bacillus* sp. [J]. Biotechnol Lett, 2007, 29 (3): 487-493.
- [5] 梁伊丽, 曾富华, 卢向阳. 有机磷农药的微生物降解研究进展[J]. 微生物学杂志, 2004, 24(6): 51-55.
- [6] 王占利, 王克柱, 高乐全, 等. 一株苯噻磺降解菌的分离筛选与鉴定[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(25): 11880-11881.
- [7] 沈萍, 陈向东. 微生物学实验(第四版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2008.
- [8] 姜红霞, 王圣惠, 薛庆杰, 等. 甲基对硫磷降解菌 *Alcaligenes*.sp.YcX-20 的分离鉴定及降解性能研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(5): 962-965.
- [9] 李海雷, 孙宏春, 张奇志, 等. 节杆菌属甲基对硫磷的降解菌株 L-W 的分离及降解特性[J]. 核农学报, 2008, 22(2): 192-195.
- [10] 姜彬慧, 史艳芳, 李志明, 等. 一株对硫磷降解菌的诱变复壮研究[J]. 安全与环境学报, 2008, 8(6): 9-13.
- [11] 张威, 唐纲岭, 刘惠民, 等. 烟草中含硫有机磷杀虫剂残留量的测定[J]. 烟草科技, 2006(4): 27-30.
- [12] 刘云焕, 陈东海. 微生物降解有机磷农药的研究进展[J]. 北方环境, 2005, 30(1): 22-24.
- [13] 王永杰, 李顺鹏, 沈标, 等. 有机磷农药广谱活性降解菌的分离及其生理特性研究[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(2): 42-45.
- [14] 崔中利, 李顺鹏, 何健. 甲基一六〇降解菌 J5 的分离及降解性状研究[J]. 农村生态环境, 2001, 17(3): 21-25.
- [15] 何霞, 红娟. 微生物降解有机磷农药残留的研究进展[J]. 山西化工, 2011, 31(4): 27-29.
- [16] 李福后, 王伟霞. 微生物降解有机磷农药的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(22): 10659-10661.

(上接第 32 页)

- [15] Heijman, C. G., Griender, E., Holliger, C., Schwarzenbach, R. P. Environ. Sci. Technol. 1995(29): 775.

- [16] Lovley, D. R., Phillips, E. J. P. Appl. Environ. Microbiol. 1986(51): 683.