

УДК 631.46

Н. З. ТОЛКАЧЕВ, И. К. ЗУБКО

**ВЛИЯНИЕ ГЕРБИЦИДОВ НА АКТИВНОСТЬ
НЕСИМБИОТИЧЕСКОЙ АЗОТФИКСАЦИИ**

Изучено влияние различных концентраций 13 гербицидов на активность несимбиотической азотфиксации в дерново-подзолистой почве и черноземе ацетиленовым методом. Концентрации гербицидов, близкие к полевым дозам, существенно не изменяли активности азотфиксации в почвах, а высокие концентрации аминной соли 2,4-Д и 2М-4ХМ сильно ингибировали этот процесс.

В последние годы интенсивно изучается роль несимбиотической азотфиксации в балансе азота различных экосистем. Имеются данные, позволяющие утверждать, что размеры фиксации атмосферного азота свободноживущей микрофлорой почвы при благоприятных условиях могут быть значительно выше, чем считали до сих пор. Многие работы посвящены исследованию зависимости этого процесса от таких факторов, как свойства почвы, температура, влажность, аэрация, удобрения, севообороты [1—3, 5—8]. В то же время действие применяемых в сельском хозяйстве пестицидов на несимбиотическую азотфиксацию почвы практически не изучалось. Литературные сведения освещают в основном влияние пестицидов на состав и численность различных азотфиксирующих микроорганизмов в почвах, а не на их активность [4].

Нами проведено исследование непосредственного влияния различных гербицидов, производных 2,4-Д, мочевины и триазина на активность несимбиотической гетеротрофной азотфиксации в почве. В полевых условиях невозможно определить прямое действие гербицидов на процесс несимбиотической азотфиксации вследствие значительных экологических изменений, которые обусловлены прямым и косвенным влиянием гербицидов на все звенья почвенного биоценоза. Опыты проводили в лабораторных условиях.

В опытах использовали технические препараты натриевой и аминной солей 2,4-Д, 2М-4ХМ, симазина и 9 химически чистых гербицидных фенолмочевин — активного начала гербицидов монурона, диурона, каторана, фенурона, метурина, арезина, линурона, паторана и небурона. Действие гербицидов на несимбиотическую азотфиксацию изучали в дерново-подзолистой легкосуглинистой почве (Ленинградская обл.) и черноземе обыкновенном среднесуглинистом (Ворошиловградская обл.). Образцы почв отбирали осенью из пахотного слоя и хранили в полиэтиленовых пакетах при естественной влажности в холодильнике (5°). Обе почвы хорошо окультурены, имеют близкое содержание гумуса, общего азота и отличаются высокой биологической активностью (табл. 1).

В составе азотфиксирующей микрофлоры дерново-подзолистой почвы отсутствует азотобактер, численность олигонитрофильных микроорганизмов и актиномицетов в ней вдвое меньше, чем в черноземе, но общая численность бактерий несколько больше и мобилизационные процессы при равных условиях протекают более энергично.

Для усиления жизнедеятельности азотфиксирующей гетеротрофной микрофлоры в почву вносили в качестве источника углерода глюко-

Таблица 1

Агробиологическая характеристика почв

Показатель	Дерново-подзолистая почва	Чернозем обыкновенный
Гумус, %	4,2	4,3
pH (солевой)	6,0	7,6
Общий азот, %	0,25	0,28
Легкогидролизуемый азот, мг/100 г почвы	9,2	7,8
Численность микрофлоры на 1 г почвы:		
бактерии $\cdot 10^5$	17,6	11,2
плесневые грибы $\cdot 10^2$	25,3	28,5
актиномицеты $\cdot 10^3$	41,8	88,3
олигонитрофилы $\cdot 10^3$	4,6	10,6
азотобактер $\cdot 10$	Нет	35,4
<i>Clostridium pasteurianum</i> $\cdot 10^2$	61,8	49,6
Нитрификационная способность почвы, мг азота/100 г почвы за 14 суток	15,6	9,3
«Дыхание почвы», CO_2 мг/м ² в час	62,0	45,0

Примечание. Численность микроорганизмов и активность мобилизационных процессов в почвах определяли по методикам, принятым во ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии.

зу — 2 мг/г почвы. В течение недели каждые сутки определяли величину фиксации атмосферного азота с нарастающим итогом в черноземе и в дерново-подзолистой почве (табл. 2).

В первую неделю после внесения глюкозы чернозем обладает меньшей интенсивностью несимбиотической азотфиксации и большей биоло-

Таблица 2

Динамика азотфиксации при внесении в почву глюкозы, мг азота на 1 кг почвы в сутки

Почва	Время инкубации (сутки)						
	1	2	3	4	5	6	7
Дерново-подзолистая	0,097	5,92	6,76	7,15	9,21	9,72	9,90
Чернозем обыкновенный	0,072	1,26	1,52	3,59	4,67	5,45	6,52

гической инертностью в сравнении с дерново-подзолистой почвой. Максимум усиления азотфиксирующей активности в дерново-подзолистой почве отмечен на 2-е сутки инкубации, а в черноземе — только на 4-е сутки. Исходя из этих данных, мы определяли активность фиксации азота почвенной микрофлорой на 4-е сутки опыта, когда она была высокой в обеих почвах.

Активность азотфиксации учитывали ацетиленовым методом, т. е. по скорости восстановления ацетилена в этилен [8]. Соотношение восстановленного ацетилена и фиксированного азота условно считали равным 3:1. Количество образовавшегося этилена определяли на газовом хроматографе «Цвет 1-64» с пламенно-ионизационным детектором.

Исследуемые гербициды вносили в почву в виде водных растворов или суспензий из расчета 5, 50, 100, 1000 мг/кг. Почву перемешивали, высушивали до воздушно-сухого состояния и просеивали через сито с отверстиями 1 мм. Навеску почвы (5 г) помещали в специальные сосу-

ды объемом 15 см³, добавляли в качестве энергетического материала глюкозу, увлажняли почву до 60% от полной влагоемкости и помещали открытые сосуды во влажную камеру на трое суток при 25°. На 4-е сутки сосуды закрывали резиновыми пробками со специальными зажимами и вводили 0,1 атмосферы избыточного давления ацетилена. Реакционные сосуды инкубировали в темноте 24 часа при 25°. Затем реакцию останавливали добавлением 1 мл реактива Неслера, который подавляет жизнедеятельность микроорганизмов и связывает непрореагировавший ацетилен. Для каждого варианта брали не менее шести повторностей, а каждый эксперимент дублировали.

Внесение в почву гербицидов в концентрации 5 мг/кг (доза, которая может иметь место в практике сельского хозяйства) не вызывало су-

Таблица 3

Влияние гербицидов на азотфиксирующую активность почвы, мг азота на 1 кг почвы в сутки

Препараты гербицидов	Дерново-подзолистая почва			Чернозем обыкновенный		
	5	50		5	50	
Контроль без гербицидов	6,70			3,66		
Концентрация, мг/кг почвы	5	50		5	50	
Натриевая соль 2,4-Д	7,02	5,69		3,91	3,62	
Аминная соль 2,4-Д	4,64	0,02		2,88	0,00	
2М-4ХМ	6,19	0,37		3,69	0,16	
Симазин	6,76	5,14		3,72	2,68	
Контроль 2	4,70			3,90		
Концентрация, мг/кг почвы	5	100	1000	5	100	1000
Небурон	4,57	4,30	3,89	3,78	3,99	4,14
Диурон	4,50	4,76	4,66	3,82	3,62	3,96
Которан	4,76	4,66	4,39	3,62	4,02	3,80
Линурон	4,51	4,67	2,00	3,68	4,37	2,30
Монурон	4,58	4,66	4,67	4,16	3,92	3,99
Паторан	4,74	4,72	2,04	4,03	4,02	2,50
Арезин	4,92	4,74	1,20	3,69	3,86	3,69
Фенурон	4,32	4,79	4,06	3,64	4,28	2,10
Метурип	4,70	5,02	3,52	4,17	4,08	4,34

ществленных отклонений азотфиксирующей активности почв от контроля, за исключением аминной соли 2,4-Д, которая снизила несимбиотическую азотфиксацию в черноземе на 21% и в дерново-подзолистой почве — на 30% (табл. 3). Следует отметить, что хотя избирательные дозы данного гербицида значительно ниже, чем испытанная концентрация, в полевых условиях может наблюдаться угнетение несимбиотической азотфиксации, потому что локальные концентрации гербицидов отклоняются от среднегектарной нормы в 10 раз и более. Поэтому мы изучали воздействие на несимбиотическую азотфиксацию повышенных концентраций гербицидов.

Высокие концентрации аминной соли 2,4-Д и 2М-4ХМ практически полностью ингибировали несимбиотическую азотфиксацию в обеих почвах, тогда как натриевая соль 2,4-Д не оказала существенного влияния на этот процесс в черноземе и незначительно снизила активность азот-

фиксации в дерново-подзолистой почве (табл. 3). Высокие концентрации симазина оказали слабоингибирующее действие, уменьшив азотфиксацию на 23—27% в сравнении с контролем. Что касается гербицидных фенолмочевин, то все изучаемые концентрации небурана, диурана, которана и монурона не снижали активности несимбиотической азотфиксации ни в черноземе, ни в дерново-подзолистой почве. Другие гербициды этой группы ингибировали азотфиксацию только в концентрации 1000 мг/кг. Линурон и паторан угнетали азотфиксацию в обеих почвах, арезин и метурин проявляли токсическое действие только в дерново-подзолистой почве, а фенурон — в черноземе. Следовательно, действие гербицидов на азотфиксацию в почве зависело как от химиче-

Таблица 4

Токсичность гербицидов в отношении несимбиотической азотфиксации

Гербициды	ИК ₅₀ , мг/кг почвы		ИК ₁₀₀ , мг/кг почвы	
	дерново-подзолистая почва	чернозем обыкновенный	дерново-подзолистая почва	чернозем обыкновенный
Аминная соль				
2,4-Д	13,8	14,8	58	50
2М-4ХМ	25,1	25,8	90	90
Симазин	875	>2000	>2000	>2000
Линурон	847	1798	>2000	—
Паторан	960	>2000	>2000	—
Арезин	620	>2000	>2000	—
Фенурон	891	486	>2000	1000
Метурин	2227	2328	3700	>5000

ской структуры гербицидов, так и от свойств изучаемой почвы. В табл. 3 гербицидные фенолмочевины расположены в порядке увеличения их растворимости в воде (от 4,8 до 8000 мг/л). Определенной зависимости между растворимостью и токсичностью гербицидов в отношении несимбиотической азотфиксации не обнаружено.

Для характеристики токсичности тех гербицидов, которые вызывали значительное угнетение азотфиксации, определяли концентрации, ингибирующие процесс на 50 и 100% (ИК₅₀, ИК₁₀₀). В почву вносили возрастающие концентрации гербицидов в диапазоне 10—2000 мг/кг (метурин — до 5000 мг/кг). ИК₅₀ рассчитывали по формуле Беренса, ИК₁₀₀ — графически.

Из исследуемых гербицидов наиболее токсичными были аминная соль 2,4-Д и 2М-4ХМ, их ингибирующие концентрации (ИК₅₀, ИК₁₀₀) почти совпадали на обеих почвах. Токсическое действие симазина и производных мочевины в отношении несимбиотической гетеротрофной азотфиксации гораздо слабее действия производных 2,4-Д и, кроме того, в значительной степени зависит от свойств почвы. В черноземе ингибирующий эффект симазина, линурона, арезина и паторана меньше, чем в дерново-подзолистой почве, а ингибирующий эффект фенурона — наоборот.

Выводы

1. Обычно применяемые в сельском хозяйстве дозы гербицидов не оказывают непосредственного токсического действия на несимбиотическую фиксацию атмосферного азота почвенной микрофлорой.
2. Повышение дозы аминной соли 2,4-Д и 2М-4ХМ могут ингибировать несимбиотическую азотфиксацию, изменяя тем самым баланс азота в почве.

Литература

1. *Емцев В. Т., Захарова С. Н.* Анаэробная фиксация азота в почве. Изв. ТСХА, вып. 3, 1973.
2. *Мальцева Н. И.* Азотфиксирующая активность основных почв УРСР. Микробиол. ж., вып. 35, 1973.
3. *Мишустин Е. Н., Калининская Т. А., Шемаханова Н. М.* Фиксация атмосферного азота микроорганизмами. Изв. АН СССР. Сер. биол., 1973, № 6.
4. *Ранков Васил.* Пестицидите и биологичната фиксация на атмосферен азот. Природа, год. 23, кн. 3, 1974, София.
5. *Федоров М. В.* Биологическая фиксация азота атмосферы. М., 1952.
6. *Paul E. A., Myers R. I., Rice W. A.* Nitrogen fixation in grassland and associated cultivated ecosystems. Plant and soils, Sp. v., 1971.
7. *Nutman P. S.* Perspectives in biological nitrogen fixation. Sci. Prog., v. 53, 1971.
8. *Hardi W. F., Burns R. C., Holsten R. D.* Application of the acetylene to ethylene reduction assay for measurement of nitrogen fixation. Soil Biol. Biochem., v. 5, 1973.

ВНИИ сельскохозяйственной
микробиологии
Ленинград

Дата поступления
23.1.1976 г.

N. Z. TOLKACHEV. I. K. ZUBKO

EFFECT OF HERBICIDES ON THE ACTIVITY OF NONSYMBIOTIC NITROGEN FIXATION

A study has been carried out by the acetylene method under laboratory conditions with two soils of the effect of 13 herbicides on the nonsymbiotic process of nitrogen fixation. The used rates of herbicides did not affect the process and the increase of concentration of the 2,4-D derivatives were considerably more toxic than the carbamide and triasine substituents.
