

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОГО РАЗЛОЖЕНИЯ СИМАЗИНА В ПОЧВЕ

Л. Г. МАЙОРОВА, Е. Н. МАКСИМОВА, В. Т. ЕМЦЕВ

(Кафедра микробиологии)

Симазин относится к триазинам, которые по своему значению и объему применения занимают одно из первых мест среди гербицидов. Триазины в основном не оказывают вредного действия на человека, животных и микроорганизмы, однако их остатки, довольно долго сохраняющиеся в почве, могут причинять существенный вред последующим культурам. Эти соединения могут сохранять свою активность от 2 до 18 мес в зависимости от используемых количеств, типа почвы, климатических особенностей [6].

Передвижение, скорость инактивации и доступность симазина растениям во многом зависят от его адсорбции в почве, в которой принимают участие как органическая, так и минеральная части последней, но основная роль принадлежит органическому веществу [1]. Большой адсорбционной способностью обладают гуминовые кислоты, лигнин, крахмал, хитин, целлюлоза [7], солома [2], зеленые удобрения [8]. На адсорбцию также сильно влияют внешние факторы: pH среды, влажность, температура [8–10].

Изменение содержания симазина в почве может также происходить в результате его разложения (детоксикации). В литературе указываются на два основных пути детоксикации — химический и микробиологический.

Результаты исследований ряда авторов свидетельствуют о большой роли микроорганизмов в разложении триазинов [11, 12]. Доля участия химических и микробиологических процессов в детоксикации триазинов зависит от условий среды. При высоких температурах и низких значениях pH (ниже 5,5) доминирующим фактором инактивации является химический гидролиз. При нейтральной кислотности возрастает роль бактериального разложения. В литературе отмечается ведущая роль грибов в разложении триазинов [1, 11].

По данным сотрудников нашей кафедры, в элевтических условиях, где единственным источником С и N служит симазин, развиваются микроорганизмы автохтонной группы: *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Micromonospora*, *Bacillus*.

Для уменьшения длительности сохранения триазином в почве используются активированный уголь, целлюлоза, лигнин, полисульфиды [3], однако их применение связано с большими затратами. Ускорить исчезновение триазинов в почвенном растворе можно с помощью искусственного полива, а также путем перепахивания почвы [4]. Но наиболее действенным способом, позволяющим избавить почву от остаточных ко-

личеств триазинов, является использование органических удобрений. Их внесение стимулирует кометаболическое разрушение триазинов микроорганизмами при введении дополнительных субстратов. Стимуляторами могут быть различные органические соединения (подстилочный и жидкий навоз, солома, свежие растительные остатки, компости и т. д.). Так как подстилочный и жидкий навоз наиболее доступен и часто применим в практике, то целесообразность его использования в качестве стимулятора биоразложения симазина в почве очевидна.

В задачу наших исследований входили первичная оценка токсического эффекта симазина по отношению к различным группам почвенных микроорганизмов и установление оптимальных доз навоза, способствующих интенсивному разложению симазина в почве.

Материал и методы исследований

В лабораторном опыте использовалась дерново-подзолистая среднесуглинистая почва с pH_{KCl} 5,7, в которую вносили NPK из расчета 150 кг д. в. на 1 га, известня — по $\frac{2}{3}$ гидролитической кислотности. Доза симазина — 4 кг/га д. в. (1,3 мг/кг). Содержание сухого вещества в жидким навозе — 3 %, в подстилочном — 25 %.

Схема опыта следующая: 1-й вариант — NPK; 2-й — NPK + симазин; 3-й и 4-й — то же, что во 2-м варианте + соответственно 100 и 300 т подстилочного навоза на 1 га; 5-й и 6-й варианты — то же, что во 2-м варианте + соответственно 100 и 300 т жидкого навоза на 1 га.

Почву смешивали с удобрениями, органическими добавками, вносили препарат и увлажняли до 60 % ПВ. Затем набивали ею 5-килограммовые сосуды и высевали семена кукурузы. В каждом сосуде выращивали по 3 растения. Кукурузу убирали в стадии молочной спелости початка. Микробиологические анализы проводили через 3, 25, 90 сут. после посева. Для изучения активной микрофлоры почвы с внесенными симазином и органическими добавками был применен метод стекол обрастаания Холодного в модификации Рыбалкиной и Кононенко, однако вместо КАА среды на стекла наносили минеральную среду Виноградского с добавлением симазина. Состав минеральной среды: KNO_3 — 2,5 г, K_2HPO_4 — 1, $MgSO_4$ — 0,5, $NaCl$ — 0,5, $FeSO_4$ — 0,01, $Mg_2(SO_4)_3$ — 0,01, agar — 5 г, дистиллированная вода — 200 мл. На каждое стекло наносили по 25 мг пестицида.

Стекла вставляли в почву (по 6 стекол в каждом варианте). Через 25, 40, 90 сут стекла вынимали, подсушивали на воздухе и фиксировали, затем окрашивали карболовым эритрозином. Через 3 мес после уборки кукурузы в почве определяли остаточное количество симазина методом тонкослойной хроматографии.

Одновременно был заложен полевой опыт в совхозе «Память Ильича» Пушкинского района Московской области на дерново-подзолистой среднесуглинистой почве, где в течение 4 лет выращивали монокультуру кукурузы. Ежегодно после посева применяли симазин в дозе 2,5 кг д. в. на 1 га. Одновременно вносили компост — 60 т/га и минеральные удобрения (кг д. в. на 1 га): аммофос — 100, калийную соль — 100, безводный аммиак — 150.

Опытное поле из-под кукурузы, предварительно обработанное полной нормой NPK, было разделено на 4 участка. На первый участок вносили 300 т жидкого навоза на 1 га (содержание сухого вещества 8%). На второй участок навоз вносили из расчета 150 т/га, на третий — 75 т/га, четвертый участок служил контролем. После внесения удобрений поле перепахивали и сразу же отбирали образцы почвы для определения остаточного количества симазина и микробиологического анализа. Спустя месяц проводили повторный анализ образцов почвы со всех участков. Количество симазина и численность микроорганизмов определяли теми же методами, что и в вегетационном опыте.

Результаты и их обсуждение

Результаты микробиологических анализов, проведенных в лабораторном опыте, показали (табл. 1), что симазин незначительно снижал численность микроорганизмов, использующих минеральный и органический азот, при этом возрастала доля споровых микроорганизмов, что говорит об их большей устойчивости к действию симазина. Незначительный ингибирующий эффект снимался через 25 сут.

При внесении навоза обсеменность почвы микроорганизмами повышалась. В вариантах с жидким и подстилочным навозом в дозе 100 т/га численность микроорганизмов увеличивалась, в варианте с 300 т/га через 3 сут их численность не была выше, чем при внесении 100 т навоза на 1 га, что связано, по-видимому, с высокой концентрацией аммиака в нем. В дальнейшем (через 90 сут) численность микроорганизмов при внесении 300 т навоза на 1 га резко возрастила.

Симазин не снижал общего количества микроорганизмов, растущих на НА (табл. 2).

Применение навоза способствовало повышению численности группы автохтонной микрофлоры. Количество микроорганизмов увеличивалось главным образом за счет *Arthrobacter*, *Micromonospora* и *Nocardia*.

Изучение активной микрофлоры на стеклах показало, что через 25 сут обрастание их микроорганизмами было крайне редко.

Таблица 1
Численность микроорганизмов, использующих минеральный и органический азот (тыс. на 1 г абсолютно сухой почвы), при внесении симазина и навоза.
Лабораторный опыт

| Вариант опыта | МПА | | КАА | |
|----------------------------|------------------|----------|------------------|----------------|
| | общее количество | споровые | общее количество | активно-мицеты |
| Через 3 сут после внесения | | | | |
| 1 | 5 014 | 380 | 5 300 | 350 |
| 2 | 2 250 | 1113 | 3 727 | 180 |
| 3 | 12 054 | 920 | 18 250 | 820 |
| 4 | 18 360 | 850 | 10 880 | 700 |
| 5 | 15 250 | 2088 | 20 000 | 650 |
| 6 | 18 070 | 2516 | 16 814 | 414 |
| Через 25 сут | | | | |
| 1 | 3 080 | 400 | 4 972 | 1012 |
| 2 | 3 059 | 1034 | 3 000 | 1163 |
| 3 | 8 104 | 520 | 10 486 | 2412 |
| 4 | 9 643 | 850 | 13 972 | 2460 |
| 5 | 9 300 | 3000 | 9 720 | 2070 |
| 6 | 13 000 | 4850 | 10 100 | 2828 |
| Через 90 сут | | | | |
| 1 | 4 649 | 850 | 2 920 | 400 |
| 2 | 5 253 | 1250 | 3 900 | 320 |
| 3 | 18 720 | 1100 | 6 524 | 600 |
| 4 | 37 440 | 1800 | 14 200 | 653 |
| 5 | 26 015 | 2300 | 9 720 | 790 |
| 6 | 42 400 | 4540 | 28 514 | 900 |

Через 40—90 сут вокруг частиц симазина появились более многочисленные кокки и мелкие плохо прокрашенные палочки. Во всех вариантах с навозом численность клеток микроорганизмов значительно превышала их количество в вариантах без органики. Качественный состав микроорганизмов оставался прежним — мелкие палочки и кокки, характерные для почвы спороносные формы и крупные неспоровые палочки отсутствовали. Это подтверждает участие особой группы микроорганизмов в разложении симазина. Вероятно, на стеклах обрастания мы наблюдали очень мелкие споры *Micromonospora*, а также мелкие кокки и палочки *Nocardia*. Наличие в почве дополнительного источника азота в вариантах с навозом способствовало развитию этих микроорганизмов.

Симазин оказался токсичен для протей. В вариантах с препаратом простейшие не обнаруживались, в то время как в контроле (без симазина) появлялись многочисленные цисты простейших. Добавление навоза снимало токсический эффект на протей.

Наиболее важным и объективным показателем активности процессов разложения симазина является содержание остаточного его количества в почве. Наименьшее количество симазина в почве было при внесении

Таблица 2

**Численность микроорганизмов, растущих на НА (тыс. на 1 га абсолютно сухой почвы),
при внесении симазина и навоза. Лабораторный опыт**

| Вариант | Общее количество | Mycobacterium | Arthrobacter | Nocardia | Micromonospora |
|-----------------------------|------------------|---------------|--------------|----------|----------------|
| Через 25 сут после внесения | | | | | |
| 1 | 2841 | 1417 | 358 | 48 | — |
| 2 | 4683 | 2014 | 602 | 44 | 21 |
| 3 | 4381 | 1557 | 952 | 149 | 63 |
| 4 | 6963 | 2418 | 1759 | 367 | 74 |
| 5 | 5462 | 2292 | 982 | 219 | 69 |
| 6 | 6423 | 1900 | 2119 | 269 | 40 |
| Через 90 сут | | | | | |
| 1 | 3780 | 1041 | 214 | 30 | 14 |
| 2 | 4013 | 2165 | 838 | 45 | 35 |
| 3 | 4694 | 1594 | 687 | 250 | 150 |
| 4 | 8539 | 1435 | 1101 | 385 | 80 |
| 5 | 6030 | 1017 | 2800 | 200 | 106 |
| 6 | 7325 | 1700 | 2119 | 663 | 93 |

подстилочного и бесподстилочного навоза в дозе 100 т/га — соответственно 0,01 и 0,02 мг д. в. на 1 га, во 2-м варианте его содержалось 0,2, в 6-м — 0,1 мг д. в. на 1 га.

Наибольший урожай кукурузы также получен в вариантах с жидким и подстилочным навозом в дозе 100 т/га (табл. 3).

Таким образом, данные лабораторного опыта подтвердили результаты исследований, проведенных ранее на кафедре микробиологии Тимирязевской академии, согласно которым группа автохтонных микроорганизмов участвует в деградации симазина. Навоз как источник дополнительного субстрата создает благоприятные условия для развития автохтонной микрофлоры: *Arthrobacter*, *Nocardia* и *Micromonospora*.

В полевом опыте численность микроорганизмов, использующих минеральный азот, в день запашки органических удобрений на участках с навозом была выше, чем в контроле, что связано с большой обсемененностью микроорганизмами жидкого навоза (табл. 4). Этого не наблюдалось на МПА.

Через месяц после внесения навоза, особенно в норме 300 т/га, резко возросла численность микроорганизмов, растущих на МПА. Количество микроорганизмов на КАА

значительно увеличилось лишь в варианте с 300 т навоза на 1 га, в других вариантах число их не изменилось по сравнению с исходным.

Общее исходное количество микроорганизмов, растущих на НА, мало возрастало при повышении дозы навоза.

Более интересные данные получены при сравнении численности микроорганизмов в почве через 1 мес после внесения навоза и

Таблица 4

**Численность микроорганизмов,
использующих минеральный
и органический азот
(тыс. в 1 г абсолютно сухой почвы)
при внесении симазина
и жидкого навоза. Полевой опыт**

| Вариант | МПА | КАА | |
|---------------------------|-------|------------------|--------------|
| | | общее количество | актиномицеты |
| NPK+симазин | 2 046 | 885 | 109 |
| То же +навоз, 75 т/га | 2 338 | 2 900 | 666 |
| То же +навоз, 150 т/га | 5 431 | 4 716 | 1781 |
| То же +навоз, 300 т/га | 1 778 | 3 192 | 784 |

Исходное содержание

| | | | |
|---------------------------|-------|-------|------|
| NPK+симазин | 2 046 | 885 | 109 |
| То же +навоз, 75 т/га | 2 338 | 2 900 | 666 |
| То же +навоз, 150 т/га | 5 431 | 4 716 | 1781 |
| То же +навоз, 300 т/га | 1 778 | 3 192 | 784 |

Через 1 мес после внесения

| | | | |
|---------------------------|--------|--------|-----|
| NPK+симазин | 1 384 | 2 278 | 307 |
| То же +навоз, 75 т/га | 16 128 | 2 022 | 768 |
| То же +навоз, 150 т/га | 17 992 | 7 440 | 750 |
| То же +навоз, 300 т/га | 76 800 | 41 986 | 253 |

**Сухая и сырья масса кукурузы (г)
при внесении симазина и навоза.
Лабораторный опыт**

| Вариант | Сырая масса | Сухая масса |
|---------|-------------|-------------|
| 1 | 238,09 | 52,80 |
| 2 | 222,89 | 42,28 |
| 3 | 281,12 | 62,04 |
| 4 | 275,20 | 47,01 |
| 5 | 324,59 | 67,70 |
| 6 | 278,12 | 55,25 |

Таблица 5

Численность микроорганизмов, растущих на НА (тыс. в 1 г абсолютно сухой почвы),
при внесении симазина и жидкого навоза. Полевой опыт

| Вариант | Общее количество | Mycobacterium | Arthrobacter | Nocardia | Micromonospora |
|----------------------------|------------------|---------------|--------------|----------|----------------|
| Исходное содержание | | | | | |
| NPK+симазин (фон) | 1208 | 470 | 630 | 46 | 31 |
| Фон+навоз, 75 т/га | 1826 | 502 | 843 | 30 | 40 |
| Фон+навоз, 150 т/га | 5484 | 1049 | 1326 | 128 | 178 |
| Фон+навоз, 300 т/га | 4005 | 930 | 1538 | 24 | 39 |
| Через 1 мес после внесения | | | | | |
| NPK+симазин (фон) | 1588 | 824 | 191 | 104 | 34 |
| Фон+навоз, 75 т/га | 6475 | 2247 | 980 | 451 | 87 |
| Фон+навоз, 150 т/га | 4610 | 2673 | 312 | 405 | 434 |
| Фон+навоз, 300 т/га | 4782 | 3007 | 503 | 165 | 434 |

на 1 га возросло. Особенно заметно увеличилось количество микромоноспор. В противоположность этому численность *Arthrobacter* в указанных вариантах снизилась в 3—4 раза.

Уменьшение численности *Arthrobacter* через 1 мес в полевых опытах не противоречит возрастанию численности этой группы через 3 мес в лабораторном опыте, так как развитие этих микроорганизмов может начаться в более поздние сроки, чем у *Nocardia* и *Micromonospora*, за счет использования менее доступных продуктов деградации симазина.

Остаточное количество симазина в исходных почвенных образцах контрольного варианта было в 2 и более раза выше, чем в почве с навозом, что говорит о большой адсорбционной способности последнего как органического удобрения. Увеличение содержания симазина в почве в конце опыта связано, по-видимому, с его десорбцией вследствие повышения влажности почвы во время взятия образцов.

Таблица 6
Содержание симазина в почве
(мг д. в. на 1 кг почвы) при внесении
жидкого навоза. Полевой опыт

| Вариант | Исходное содержание | Через 1 мес после внесения |
|----------------------|---------------------|----------------------------|
| NPK+симазин | 0,20 | 0,20 |
| То же+навоз, 75 т/га | 0,10 | 0,15 |
| » + » 150 т/га | 0,10 | 0,13 |
| » + » 300 т/га | 0,08 | Сл. |

исходного содержания (табл. 5). И если общее количество микроорганизмов рассматриваемой группы через месяц практически не изменилось по сравнению с исходным в тех же вариантах, то число клеток, относящихся к родам *Micromonospora*, *Nocardia*, при внесении 150—300 т навоза Наименьшая концентрация симазина от-

мечена в варианте с 300 т навоза на 1 га, следовательно, в почве этого варианта условия для разложения препарата были наиболее благоприятные.

Таким образом, в полевом опыте подтверждлись выводы, полученные в лаборатории, о стимулирующем действии навоза на скорость деградации симазина. Расхождения в оптимальных нормах связаны со спецификой и длительностью лабораторных и полевых исследований. Повышенная концентрация аммиака при внесении 300 т навоза на 1 га в условиях лабораторного опыта оказалась, по-видимому, лимитирующим фактором. Напротив, в поле, вероятно, аммиак быстро вымывается и улетучивается, что приводит к интенсификации жизнедеятельности специфической микрофлоры и разложению симазина.

Выводы

1. Симазин вызывал незначительное снижение численности почвенных микроорганизмов, использующих минеральный и органический азот. Слабый ингибирующий эффект снимался через 25 сут. При этом симазин не угнетал развитие автохтонной группы микроорганизмов.

2. Применение жидкого навоза стимулировало развитие микроорганизмов, использующих минеральный и органический азот. В то же время навоз, не увеличивая общего количества микроорганизмов автохтонной группы, вызывал изменения в видовом составе: возрастила численность *Arthrobacter*, *Nocardia*, *Micromonospora*, т. е. тех групп микроорганизмов, которые принимают участие в деградации симазина.

3. В полевых условиях оптимальной нормой жидкого навоза, при которой симазин быстро разлагается, является 300 т/га.

ЛИТЕРАТУРА

- Круглов Ю. В., Масленникова В. Г. Разложение и распределение ^{14}C симазина в почве. — Агрохимия, 1975, № 6, с. 112—115.
- Круглов Ю. В., Масленникова В. Г. Влияние расти-

тельных остатков на детоксикацию симазина в почве. — Химия в сельск. хоз-ве, 1976, № 7, с. 53—55. — 3. Кросби Д., Минг Ю-Ли. Фотохимические реакции разложения гербицидов. — В кн.: Разложение гербицидов (Под ред. П. Керни и Д. Кауфман). М.: Мир, 1971. — 4. Моттис Г. Я. Химическая борьба с сорняками в древесной школе на черноземах. — Лесное хоз-во, 1971, № 8, с. 40—43. — 5. Масленникова В. Г., Круглов Ю. В. Разложение симазина (^{14}C) в культуре *Aspergillus fumigatus*. — Бюл. ВНИИСХ, 1970, № 14, вып. 4, 1970, с. 32—34. — 6. Справочник по пестицидам (Под ред. Л. И. Медведь. Киев: Урожай, 1974. — 7. Dunigan E. P., Melntosh T. H. — Weed Sci., 1971, vol. 19, N 3, p. 219—282. — 8. Walber A. — Weed Abstracts, 1970, vol. 19, p. 1335. — 9. Lavy T. L. — Soil Sci. Soc. of Amer., 1968, vol. 32, N 3, p. 377—380. — 10. Hurle K. B., Tread V. H. — Weed Res., 1972, vol. 4, p. 119—124. — 11. Kaufman D. D., Blake J. — Soil Biol. Biochem., 1970, vol. 2, p. 73—80. — 12. Hance R. J., Chesters G. — Soil Biol. Biochem., 1969, vol. 1, N 4, p. 309—315.

Статья поступила 7 апреля 1982 г.

Summary

It was shown that the application of simazine causes an inconsiderable decrease in the population of soil microorganisms consuming mineral and organic nitrogen. Slight inhibiting effect is over in 25 days. Simazine does not inhibit the development of autochthonous group of microorganisms.

Application of liquid manure encourages the development of microorganisms consuming mineral and organic nitrogen and causes changes in specific composition of autochthonous group, content of simazine in the soil being reduced. The optimum rate of liquid manure for rapid decomposition of simazine in the soil is 300 tons per hectare.