

杀虫双对土壤酶活性影响的研究*

和文祥^{1, 2}, 蒋 新¹, 卞永荣¹, 王 芳¹

(1 中国科学院南京土壤研究所, 江苏 南京, 210008; 2 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘 要] 采用模拟方法探讨了杀虫双污染土壤酶活性的变化规律。结果表明, 杀虫双对土壤脲酶、多酚氧化酶和过氧化物酶具有明显的抑制作用, 在低浓度时酶活性抑制幅度较大, 高浓度时抑制幅度较小。土壤酶活性的生态剂量 ED₅₀ 结果发现, 土壤脲酶活性的 ED₅₀ 值最小, 反映出脲酶对杀虫双反应最敏感, 建议采用土壤脲酶活性作为土壤杀虫双污染程度的监测指标; 此外获得了土壤中杀虫双污染浓度的 ED₅₀ 值: 楼土和红壤分别为 1.301 和 0.526 g/kg。转化酶活性表现在杀虫双低浓度时激活, 在高浓度时抑制的变化规律。

[关键词] 土壤酶; 杀虫双; 生态剂量
[中图分类号] S154.2 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2782(2002)01-0013-05

杀虫双^[1]是 70 年代由我国自行研制开发的农药新品种, 属沙蚕毒素类农药, 是取代六六六类的重要品种, 化学名称为 2-N-二甲氨基-1, 3-双硫代磷酸钠基丙烷。常用来防治危害水稻、蔬菜、果树等的包括螟虫、苞虫、蚜虫在内的多种害虫, 防效较好。但在实际应用中, 由于有效率较低, 约 80% 的施用量直接进入土壤等环境中, 故其产生的负面效应如土壤残留污染、农产品品质下降等已引起人们关注。

酶^[2]作为土壤的重要组成部分, 是土壤中生物化学反应的直接参与者, 其活性高低可反映土壤营养物质转化、能量代谢、污染物降解等过程能力的强弱^[3], 特别是脲酶、转化酶、多酚氧化酶等。国内外学者对土壤酶与农药的关系进行了一些研究^[4~6], 但结果随农药种类、土壤类型等不同而有明显差异, 且

鲜见杀虫双与土壤酶关系的报道。本研究通过模拟试验, 探讨土壤酶与杀虫双污染间的关系, 以期为土壤农药污染的监测、降解及环境保护提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

质量分数 18% 的杀虫双水剂由江苏省农药质量监督中心提供。土样 1~3 号采自西北农林科技大学资源环境学院 1977 年开始的长期肥料定位试验地, 4~6 号采自江西鹰潭中国科学院红壤生态试验站, 2000 年采集 5~20 cm 土样, 风干, 过 1 mm 筛, 保存备用。

1.2 测定方法

用常规方法^[7]分析土壤理化性质(见表 1)。

表 1 供试土壤的理化性质

Table 1 The physicochemical properties of soils tested

土壤 Soil	编号 No.	肥力水平 Fertility level	粘粒/ (g · kg ⁻¹) Clay	粉粒/ (g · kg ⁻¹) Silt	砂粒/ (g · kg ⁻¹) Sand	有机质/ (g · kg ⁻¹) O. M	全氮/ (g · kg ⁻¹) T. N	全磷/ (g · kg ⁻¹) T. P	阳离子 代换量/ (cmol · kg ⁻¹) CEC	pH
楼土 Lou soil	1	厩肥 Manure	175	760	65	27.70	1.62	2.51	15.06	8.16
	2	化肥 Chemical fertilizer	194	723	83	19.30	1.12	1.97	14.08	8.25
	3	无肥 Non-fertilizer	184	765	51	16.20	0.75	1.71	13.24	8.48
红壤 Red soil	4	高肥 High fertility	370	436	194	13.30	0.72	1.48	11.60	4.91
	5	中肥 Middle fertility	323	394	283	11.40	0.67	1.23	10.10	5.07
	6	低肥 Low fertility	278	393	329	10.90	0.59	0.95	8.56	5.53

注: 粘粒、粉粒和砂粒的粒径分别为 < 0.0002, 0.0002~0.050 和 > 0.050 mm。
Note: Diameter of clay, silt and sand soil is < 0.0002, 0.0002~0.050 and > 0.050 mm respectively.

[收稿日期] 2001-06-21
[基金项目] 中国科学院知识创新工程重要方向资助项目(KZCXZ-401); 国家重点基础研究发展规划项目(G1999011801-3)
[作者简介] 和文祥(1968-), 男, 陕西黄龙人, 博士, 副教授, 主要从事土壤生物化学和生态毒理学研究。E-mail: hewenxiang@sina.com

表 1 中 pH 测定的水土质量比为 2.5:1, 捞土采用蒸馏水, 红壤为 1 mol/L KCl, 并据理化性质将红壤划分为高、中、低 3 个肥力水平。比色法^[8]测定土壤酶活性: 脲酶采用靛酚蓝法, 转化酶采用 3, 5-二硝基水杨酸法, 多酚氧化酶和过氧化物酶采用乙醚萃取法; 活性单位分别以形成 NH_3 -N、葡萄糖和紫色没食子酸的量来表示。

1.3 试验方法

5.00 g 土样加入 1 mL 甲苯 15 min 后, 添加 5 mL 不同浓度(0.00, 0.10, 0.50, 1.00, 10.00, 50.00 g/kg)的杀虫双水溶液, 混匀后 30 min, 分别加入酶促反应的底物和缓冲液^[8], 恒温(30 或 37 °C)培养, 定时取样, 比色法测定酶活性。

2 结果与讨论

2.1 杀虫双对土壤脲酶的影响

土壤脲酶是唯一一种作用于尿素肥料的水解酶类。表 2 表明: ①供试土样脲酶活性随土壤肥力并未表现出规律性变化, 如 3, 4 号土样有机质和全氮分别为 16.20, 13.30 和 0.75, 0.72 g/kg, 但脲酶活性的大小则相反, 分别为 28.54 和 46.28 $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$, 这与许多学者^[9]所得结论相悖。但当将 6 个供试土样按照不同生态区划分后, 可以发现肥力水平越高, 土壤脲酶活性越大, 这佐证了作者^[10]得到的只有同一生态区土样脲酶活性才可表征土壤肥力水平高低的结论, 揭示出环境条件如温度、酸碱度、水分等对

脲酶活性特征具有重要影响。②添加杀虫双后, 脲酶活性明显降低, 这与关松荫等^[4]对 21 种农药研究的结论基本一致, 且随浓度增加而酶活性减小, 表明杀虫双可明显抑制土壤脲酶活性。③采用多种模型对杀虫双浓度(C)与脲酶活性(U)关系进行拟合, 结果见表 3。从表 3 可见, $U = 1/(\beta_1 \times C + \beta_0)$ 能较好地表征二者间的关系, 方程均达到极显著相关水平, 表明脲酶活性在一定程度上可表征土壤受杀虫双的污染水平; 由表 2 还可看出, 在杀虫双浓度较低时脲酶活性降幅较大, 浓度增加活性降幅减缓, 反映出土壤脲酶对杀虫双比较敏感。④同一生态区随土壤肥力水平降低, 拟合方程系数增大, 单位杀虫双浓度改变引起酶活性的降幅增大, 杀虫双毒性越强, 佐证了土壤理化性质对脲酶具有保护作用。⑤计算获得了脲酶活性的生态剂量^[11] ED_{50} (当脲酶活性降幅为 50% 时的杀虫双浓度), 土壤肥力越高, 土壤对杀虫双的缓冲和对酶的保护作用越强, 土壤酶受到的毒害作用越小, ED_{50} 越大; 供试捞土和红壤的 ED_{50} 平均值为 1.301 和 0.526 g/kg, 由于其是酶活性大幅度降低的农药施用量, 可初步作为土壤污染的临界浓度值。⑥农药的加入降低了脲酶活性, 即减缓了土壤中尿素转化成氨的速度, 而喷洒农药时正是作物生长速度最快的时期, 此时需要的营养最多, 可见杀虫双的加入导致作物肥料供应出现亏缺, 肥料利用率降低。

表 2 供试土壤脲酶活性

Table 2 The urease activity in soils tested

编号 No.	杀 虫 双 浓 度 / (g · kg ⁻¹) Dimehypo concentration						$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$
	0.00	0.10	0.50	1.00	10.0	50.0	
1	52.12	46.67	35.57	24.66	15.24	5.80	
2	49.34	42.76	33.45	21.65	14.13	4.88	
3	28.54	27.56	17.81	16.25	8.61	2.30	
4	46.28	41.63	35.41	22.46	7.44	3.33	
5	41.13	36.66	28.69	19.95	5.19	2.23	
6	19.30	18.91	16.19	14.73	3.46	1.14	

表 3 土壤脲酶活性与杀虫双浓度间的拟合方程

Table 3 The regression equation between soil urease activity and dimehypo concentrations

编号 No.	$U = 1/(\beta_1 \times C + \beta_0)$		相关系数 Correlation coefficient	ED_{50}
	β_1	β_0		
1	0.0155	0.0198	0.982**	1.277
2	0.0180	0.0210	0.981**	1.167
3	0.0240	0.0350	0.982**	1.458
4	0.0546	0.0362	0.980**	0.663
5	0.0835	0.0439	0.981**	0.526
6	0.1650	0.0641	0.996**	0.389

2.2 杀虫双对土壤转化酶的影响

转化酶是土壤中碳素转化的主要酶类之一, 它可将土壤中的蔗糖转化为葡萄糖, 供微生物等利用。从表 4 可以看出, 在同一生态区, 供试土壤转化酶活性随肥力水平升高而增加; 杀虫双的加入对转化酶的影响与脲酶有所区别, 即杀虫双低浓度时激活而高浓度时抑制转化酶活性, 将此转折浓度称为酶活性的拐点浓度, 搂土厩肥、化肥和无肥处理时酶活性的拐点浓度分别为 0.50、1.00 和 0.10 g/kg, 红壤的

拐点浓度较高, 4、5 号土样为 10.00 g/kg, 6 号为 0.50 g/kg, 这可能是由于红壤长期使用杀虫双类农药, 导致土壤中产生了大量的抗性菌株, 在 10 g/kg 浓度以下, 微生物并未受到强烈毒害, 分泌固定的转化酶数量没有减少, 表观上转化酶活性随浓度增大而持续增加, 当浓度大于 10.00 g/kg 时酶活性减小。这也可从杀虫双浓度 50.00 g/kg 时搂土酶活性为零得到证实。

表 4 供试土壤转化酶活性

Table 4 The invertase activity in soils tested							$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$
编号 No.	杀虫双浓度/ $(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$ Dimehypo concentration						
	0.00	0.10	0.50	1.00	10.0	50.0	
1	1.531	1.512	1.609	1.260	1.241	0.000	
2	0.910	1.013	1.116	1.148	0.823	0.000	
3	0.742	0.806	0.784	0.781	0.497	0.000	
4	0.104	0.154	0.120	0.112	0.128	0.045	
5	0.088	0.094	0.106	0.109	0.112	0.062	
6	0.054	0.133	0.141	0.072	0.057	0.030	

2.3 杀虫双对土壤多酚氧化酶的影响

多酚氧化酶是一种重要的氧化还原酶类, 它与土壤有机组分中芳香族化合物的转化, 将土壤中的酚类物质氧化生成醌, 醌与氨基酸等通过一系列生物化学过程缩合成最初的胡敏酸分子, 同时它与土壤中的某些酚类污染物的降解能力密切相关。由

土壤多酚氧化酶活性(表 5)可以看出, 南方土壤酶活性未检出, 由于南方红壤的形成环境呈现多雨、偏酸等特征, 不利于分泌多酚氧化酶微生物的生长发育, 故酶活性很难检出; 而北方土壤酶活性则相反, 表明搂土中有机质转化速度较快, 作用较强, 故有机质含量较高(表 1)。

表 5 供试土壤多酚氧化酶活性

Table 5 The polyphenol oxidase activity in soils tested							$\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$
编号 No.	杀虫双浓度/ $(\text{g} \cdot \text{kg}^{-1})$ Dimehypo concentration						
	0.00	0.10	0.50	1.00	10.0	50.0	
1	25.09	24.72	21.09	22.03	18.21	13.02	
2	13.14	11.49	10.75	10.34	8.50	6.51	
3	8.10	7.99	7.02	6.55	6.35	6.26	
4, 5, 6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	

注: ND 为未检出。

Note: ND expresses enzyme activity that is not determined

杀虫双的加入导致多酚氧化酶活性降低, 且随浓度增加酶活性持续减小, 采用 $U = 1/(\beta_1 \times C + \beta_0)$ 进行拟合, 搂土除无肥外其余处理方程达极显著相

关(表 6), 揭示出杀虫双明显抑制土壤有机质等的转化, 减缓土壤碳源物质循环。同时计算得到了酶活性的生态剂量 ED_{50} , 其较土壤脲酶的值大。

表 6 土壤多酚氧化酶活性与杀虫双方程的拟合结果

Table 6 The regression equation between soil polyphenol oxidase activity and dimehypo concentration				
编号 No.	$U = 1/(\beta_1 \times C + \beta_0)$		相关系数 Correlation coefficient	ED_{50}
	β_1	β_0		
1	0.007	0.044	0.969**	6.450
2	0.013	0.091	0.940**	6.853
3	—	—	—	—

2 4 杀虫双对土壤过氧化物酶的影响

过氧化物酶能够氧化土壤有机质,在腐殖质的形成过程中具有重要作用。表 7 表明, 塋土酶活性大于红壤,反映出塋土由于土壤 pH 呈中性或偏碱性,加之降雨较少,有利于微生物的生长发育,因而分泌到土壤中的酶数量较多,且塋土的酶主要载体——有机质含量大于红壤,故最终表现为塋土酶活性值较高;而且同一生态系统中土壤过氧化物酶活性随

肥力水平升高而增加。

杀虫双导致土壤过氧化物酶活性降低,且随浓度增加,酶活性减小。对其进行拟合,方程呈极显著相关关系(表 8),表明土壤过氧化物酶也受到杀虫双的抑制作用;并计算了不同条件下过氧化物酶的 ED₅₀ 值,其规律性不明显,塋土随肥力升高而降低,红壤则随肥力升高而增大,其原因有待进一步研究。

表 7 供试土壤过氧化物酶活性

Table 7 The peroxidase activity in soils tested							mg/(g · h)
编号 No.	杀虫双浓度/(g · kg ⁻¹) Dimehypo concentration						
	0.00	0.10	0.50	1.00	10.0	50.0	
1	39.25	37.33	37.41	34.13	25.41	15.10	
2	27.30	26.06	22.39	23.03	17.34	10.82	
3	17.95	17.92	15.64	14.91	11.68	10.22	
4	12.30	10.73	10.08	8.80	7.67	5.63	
5	10.36	10.61	10.69	8.83	8.08	4.32	
6	9.85	8.75	7.88	7.53	7.47	4.01	

表 8 土壤过氧化物酶与杀虫双的拟合结果

Table 8 The regression equation between soil peroxidase activity and dimehypo concentration					
编号 No.	$U = 1/(\beta_1 \times C + \beta_0)$		相关系数 Correlation coefficient	ED ₅₀	
	β_1	β_0			
1	0.008	0.028	0.991**	3.481	
2	0.010	0.042	0.983**	3.990	
3	0.008	0.063	0.872*	8.440	
4	0.016	0.099	0.938**	6.030	
5	0.027	0.099	0.993**	3.674	
6	0.026	0.116	0.980**	4.394	

比较土壤脲酶、多酚氧化酶、过氧化物酶活性的生态剂量 ED₅₀ (表 3, 6, 8) 后发现,当酶活性降低 50% 时,土壤脲酶所需要的杀虫双浓度值最低,多酚氧化酶最高,揭示出土壤脲酶对杀虫双的毒害最敏感;塋土和红壤脲酶活性的 ED₅₀ 平均值分别为 1.301 和 0.526 g/kg,由于此时酶活性降幅高达 50%,故其可作为土壤杀虫双污染的临界浓度。

综上所述,杀虫双对土壤脲酶、多酚氧化酶和过氧化物酶具有明显的抑制作用,可采用 $U = 1/(\beta_1 \times C + \beta_0)$ 表征酶活性与杀虫双浓度间存在的定量关系,并计算得到了土壤酶活性的生态剂量 ED₅₀。建议采用土壤脲酶活性作为杀虫双污染水平的监测指标;土壤转化酶则表现为先激活后抑制的规律性变化。

[参考文献]

[1] 靳伟. 杀虫双在稻田的残留动态[J]. 土壤, 1992, 24(5): 252- 259.
[2] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
[3] Nannipieri P, Bollag J M. Use of enzymes to detoxify pesticides-contaminated soils and waters[J]. J Environ Qual, 1991, 20: 510- 517.
[4] 关松荫. 农药对土壤酶活性的抑制作用[J]. 土壤通报, 1992, 23(5): 232- 233.
[5] 郑巍, 刘惠君, 刘维屏. 吡虫啉及代谢物对土壤过氧化氢酶活性的影响[J]. 中国环境科学, 2000, 20(6): 524- 527.
[6] Liliana Gianfreda, Filomena Sannino, Antonio Violante. Pesticide effects on the activity of free, immobilized and soil invertase[J]. Soil Biol & Biochem, 1995, 27(9): 1201- 1208.
[7] 南京农学院. 土壤农化分析[M]. 北京: 农业出版社, 1982.
[8] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1987.

- [9] 关松荫 我国主要土壤剖面土壤酶活性[J]. 土壤学报, 1984, 21: 368- 381.
- [10] 和文祥, 朱铭莪 陕西主要土壤脲酶活性与肥力关系研究[J]. 土壤学报, 1997, 34(4): 392- 398
- [11] Doleman P, Haanstra L. Short and long term effects of heavy metals on urease activity in soil[J]. Biol Fertil Soils, 1986, 2: 213- 218

Study on soil enzyme activity effected by dimethypo

HE Wen-xiang^{1,2}, JIANG Xin¹, BIAN Yong-rong¹, WANG Fang¹

(1 Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing, Jiangsu 210008, China; 2 College of Resources and Environment, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

Abstract The fluctuations of soil enzyme activity under different dimethypo concentrations were studied in simulated conditions. The results showed that dimethypo could remarkably inhibit the activity of soil urease, polyphenol oxidase and peroxidase in Lou soil and Red soil sampled in North and South China, respectively, enzyme activity has largely inhibited at low dimethypo concentration, less inhibited at high dimethypo concentration. ED₅₀, the ecological dimethypo dose at 50% reduction of soil enzyme activity, was calculated to express the sensitivity of soil enzyme to dimethypo. ED₅₀ of dimethypo for urease in Lou soil and Red soil were 1.301 and 0.526 g/kg respectively. It can be known according to ED₅₀ that soil urease is the most sensitive to dimethypo among all tested soil enzyme. It is very interesting that soil invertase is activated and its activity is enhanced at low concentration of dimethypo, and then is inhibited at high concentrations.

Key words: soil enzyme; dimethypo; ecological dose

· 简 讯 ·

《西北农林科技大学学报(自然科学版)》入选“中国期刊方阵”

根据科学技术部《关于公布科技期刊方阵名录的通知》[国科发财字(2001)340号],由科学技术部和新闻出版总署组织的评选结果已经揭晓,由我校主办或出版的22种期刊中,包括《西北农林科技大学学报(自然科学版)》在内,有4种期刊榜上有名。

建设“中国期刊方阵”,是新世纪推进我国期刊发展的重大战略举措。“中国期刊方阵”以我国现有的8725种期刊为基础,选取其中10%~15%的“双高”、“双奖”、“双百”和“双效”期刊组成中国优秀期刊方阵。“中国期刊方阵”汇集了全国的优秀期刊,它的产生可以充分发挥名刊、大刊、重点期刊的优势和示范作用,推动我国科技期刊质量的全面提高,促进我国期刊“精品战略”的实施,缩短我国期刊与国际知名期刊的差距,增强我国期刊的竞争力。

在本次评选活动中,陕西省共有28种期刊入选“中国期刊方阵”,我校入选的另外3种期刊是《干旱地区农业研究》、《昆虫分类学报》和《西北植物学报》。

(温晓平 供稿)