第 40 卷 第 2 期
2003 年 3 月

土 壤 学 报
ACTA PEDOLOGICA SINICA

Vol. 40, No. 2
Mar., 2003

均三氮苯类除草剂对土壤酶活性的影响*

刘惠君 刘维屏 杨炜春 薛 斌
(浙江大学环境科学研究所, 杭州 310027)

摘 要 研究了均三氮苯类除草剂扑灭通和氰草津各 0、1、10、100 μg g^{-1}和扑灭通+ 氰草津 50+ 50 μg g^{-1}对土壤过氧化氢酶活性和多酚氧化酶活性的影响, 结果表明扑灭通和氰草津施用后对过氧化氢酶活性和多酚氧化酶活性均有一定的激活作用, 氰草津对过氧化氢酶和多酚氧化酶的激活作用比扑灭通的激活作用更强。两者混施没有产生明显的协同作用。

关键词 扑灭通, 氰草津, 过氧化氢酶, 多酚氧化酶
中图分类号 X131.3

均三氮苯类除草剂是目前全世界广泛使用的一类低毒高效的旱田除草剂, 研究者们已经对这类化合物的环境物理化学行为和微生物降解行为作了大量的研究[1~6]。农药的微生物降解作用的实质是酶促反应, 植物根系及其残体, 土壤动物及其遗骸和微生物均能分泌酶, 土壤中的酶同生活着的微生物一起推动着物质转化, 在碳、氮、硫、磷等各元素的生物循环中起着重要的作用。因此, 土壤中酶的活性可以作为判断土壤生化过程的强度及评价土壤肥力的指标。许多学者研究了常用农药对土壤酶活性的影响[7,8]。对于扑灭通和氰草津的研究报导多集中在水体中的物理化学行为以及残留的去除[9,10]。

本文研究了两种常用均三氮苯类除草剂扑灭通、氰草津对土壤中两种重要酶—过氧化氢酶和多酚氧化酶活性的影响, 来了解这两种农药可能对土壤生态系统造成的冲击, 并且反映一定浓度下两种农药的协同效应。

1 实验方法

1.1 供试土壤

采集浙江大学花园内 2~ 10 cm 耕作层土壤, 风干过 0.8 mm 筛备用, 土壤为网纹简育湿润富铁土, 其理化性质为: pH 为 7.10; 有机质含量为 18.4 g kg^{-1}。

1.2 供试农药

扑灭通(Prometone) 和氰草津(Bladex) 标准品(纯度> 99%) 由美国 Chemical service 公司提供, 其化学结构式见图 1。

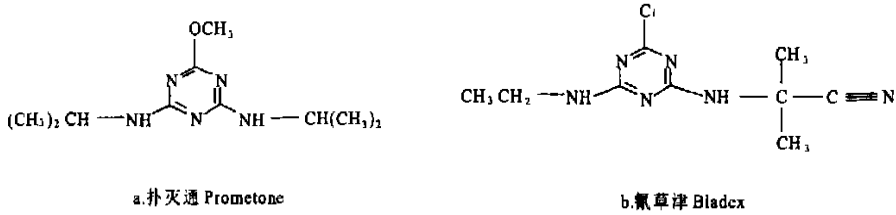

图 1 扑灭通和氰草津化学结构式
Fig. 1 Structural formula of prometone and bladex

* 浙江省教委基金资助项目
收稿日期: 2001- 07- 10; 收到修改稿日期: 2002- 01- 29

1.3　试验方法

称取 1 200 g 供试土壤共八份, 分装于 800 ml 烧杯中, 分别加入不同剂量的农药, 使得在土壤中的浓度为 Prometone、Bladex 各 0、1、10、100 μg g^{-1}; Prometone+ Bladex: 50+ 50 μg g^{-1}。将上述试样的含水量调到土壤最大持水量的 60%, 恒温培养。实验平行设置 3 组, 定期取样检测。

1.4　分析方法

过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定, 多酚氧化酶活性采用邻苯三酚比色法测定[11]。

2　结果和讨论

为了明确扑灭通和氰草津对土壤过氧化氢酶活性和土壤多酚氧化酶活性影响的各个实验结果之间的差异显著性, 对所获得的实验结果进行多重比较, 采用新复极差测验[12], 比较结果列于表 1 和表 2。

2.1　扑灭通和氰草津对过氧化氢酶的活性影响

由生物统计结果表 1 和图 2 可以看出, 扑灭通施用后, 各浓度对土壤过氧化氢酶活性有普遍的激活作用。施药后头几天, 低浓度扑灭通对过氧化氢酶活性的激活作用稍大些, 4 d 时, 1 μg g^{-1}处理的试样与对照相比, 其激活程度达到了极显著水平; 8 d 后, 高浓度扑灭通的激活作用增大, 100 μg g^{-1}的处理与对照相比也达到极显著水平, 其激活程度达到了 123.8%, 17 d 其激活程度达到了 129.1%。这是由于高浓度的扑灭通能更长时间提供微生物生长所需的碳源和能源, 微生物代谢旺盛, 释放出来的酶的数量和活性均有一定的增加, 从而使土壤酶的活性保持。34 d 后, 各浓度与对照处理土壤过氧化氢酶的活性有所下降, 且基本一致, 没有达到显著水平。这可能是由于经过长时间的培养后, 土壤中的通气状况恶化, 可提供的农药及土壤中其它营养物质的消耗和有害代谢产物的积累[13], 使得土壤微生物及其酶的活性降低。

表 1　扑灭通、氰草津对过氧化氢酶活性影响的差异显著性统计结果

Table 1　The notability of the difference in effect of prometon and bladex on catalase activity

天数 Days	处理 Treatment	活性 Activity (ml g^{-1})	x_i= 3.4	x_i= 3.41	x_i= 3.46	x_i= 3.65	x_i= 3.71	x_i= 3.78	x_i= 3.96
1	6	4.12	0.72**	0.71**	0.66**	0.47*	0.41*	0.34	0.16
	5	3.96	0.56**	0.55**	0.50*	0.31	0.25	0.18	
	7	3.78	0.38*	0.37	0.32	0.13	0.07		
	8	3.71	0.31	0.30	0.25	0.06			
	2	3.65	0.25	0.24	0.19				
	4	3.46	0.06	0.05					
	3	3.41	0.01						
	1	3.40							
			x_i= 5.06	x_i= 5.41	x_i= 5.43	x_i= 5.48	x_i= 5.50	x_i= 5.52	x_i= 5.58
4	2	5.62	0.56**	0.21	0.19	0.14	0.12	0.10	0.04
	5	5.58	0.52**	0.17	0.15	0.10	0.08	0.06	
	6	5.52	0.46*	0.11	0.09	0.04	0.02		
	4	5.50	0.44*	0.09	0.07	0.02			
	8	5.48	0.42*	0.07	0.05				
	7	5.43	0.37	0.02					
	3	5.41	0.35						
	1	5.06							
			x_i= 3.36	x_i= 3.50	x_i= 3.65	x_i= 4.04	x_i= 4.16	x_i= 4.20	x_i= 4.21
8	7	4.26	0.90**	0.76**	0.61*	0.22	0.10	0.06	0.01
	5	4.21	0.85**	0.71**	0.56*	0.17	0.05	0.01	
	8	4.20	0.84**	0.70**	0.55*	0.16	0.04		
	4	4.16	0.80**	0.66**	0.51	0.12			
	2	4.04	0.68**	0.54	0.39				
	6	3.65	0.29	0.15					
	3	3.50	0.14						
	1	3.36							

续表

天数 Days	处理 Treatment	活性 Activity ($ml\ g^{-1}$)	x_i= 3.66	x_i= 3.92	x_i= 3.95	x_i= 4.19	x_i= 4.25	x_i= 4.26	x_i= 4.38
13	4	4.40	0.74**	0.48*	0.45*	0.21	0.15	0.14	0.02
	5	4.38	0.72**	0.46*	0.43	0.19	0.13	0.12	
	8	4.26	0.60**	0.34	0.31	0.07	0.01		
	7	4.25	0.59**	0.33	0.30	0.06			
	3	4.19	0.53*	0.27	0.24				
	2	3.95	0.29	0.03					
	6	3.92	0.26						
	1	3.66							
			x_i= 4.06	x_i= 4.08	x_i= 4.37	x_i= 4.76	x_i= 4.82	x_i= 4.86	x_i= 5.24
17	5	5.36	1.30**	1.28**	0.99**	0.60*	0.54*	0.50	0.12
	4	5.24	1.18**	1.16**	0.87**	0.48	0.42	0.38	
	8	4.86	0.80**	0.78**	0.49	0.10	0.04		
	7	4.82	0.76**	0.74**	0.45	0.06			
	6	4.76	0.70**	0.68*	0.39				
	2	4.37	0.31	0.29					
	3	4.08	0.02						
	1	4.06							
			x_i= 2.98	x_i= 3.25	x_i= 3.28	x_i= 3.34	x_i= 3.42	x_i= 3.47	x_i= 3.56
21	5	3.61	0.63**	0.36	0.33	0.27	0.19	0.14	0.05
	7	3.56	0.58**	0.31	0.28	0.22	0.14	0.09	
	4	3.47	0.49*	0.22	0.19	0.13	0.05		
	8	3.42	0.44	0.17	0.14	0.08			
	3	3.34	0.36	0.11	0.06				
	2	3.28	0.30	0.05					
	6	3.25	0.27						
	1	2.98							
			x_i= 2.88	x_i= 3.01	x_i= 3.20	x_i= 3.26	x_i= 3.37	x_i= 3.40	x_i= 3.59
27	5	3.68	0.80**	0.67**	0.48	0.42	0.31	0.28	0.09
	4	3.59	0.71**	0.58*	0.39	0.33	0.22	0.19	
	7	3.40	0.52*	0.39	0.20	0.14	0.03		
	8	3.37	0.49	0.36	0.17	0.11			
	2	3.26	0.38	0.25	0.06				
	3	3.20	0.32	0.19					
	1	3.01	0.13						
	6	2.88							
			x_i= 2.66	x_i= 2.77	x_i= 2.80	x_i= 2.86	x_i= 2.88	x_i= 2.94	x_i= 3.04
34	7	3.12	0.46*	0.35	0.32	0.26	0.24	0.18	0.08
	5	3.04	0.38	0.27	0.24	0.18	0.16	0.10	
	8	2.94	0.28	0.17	0.14	0.08	0.06		
	2	2.88	0.22	0.11	0.08	0.02			
	4	2.86	0.20	0.09	0.06				
	6	2.80	0.14	0.03					
	1	2.77	0.11						
	3	2.66							

各处理为: 1-ck; 2, 3, 4-1 $\mu g\ g^{-1}$, 10 $\mu g\ g^{-1}$, 100 $\mu g\ g^{-1}$扑灭通; 5, 6, 7-1 $\mu g\ g^{-1}$, 10 $\mu g\ g^{-1}$, 100 $\mu g\ g^{-1}$氰草津; 8-50+ 50 $\mu g\ g^{-1}$扑灭通+ 氰草津

与扑灭通类似, 不同浓度的氰草津施用后对土壤过氧化氢酶的活性也有不同程度的激活, 且激活程度普遍强于扑灭通对土壤过氧化氢酶的激活程度。施用后第 1 天, 各处理浓度氰草津对过氧化氢酶活性的激活作用与对照相比均达到极显著和显著水平, 10 $\mu g\ g^{-1}$氰草津与对照相比, 激活程度达 121.2%。在实验初期, 低浓度处理(1 $\mu g\ g^{-1}$和 10 $\mu g\ g^{-1}$) 对过氧化氢酶活性激活程度比高浓度处理(100 $\mu g\ g^{-1}$) 要强; 第 8d 高浓度处理的酶活性增强, 其激活程度与对照相比达到 129.8%, 达极显著水

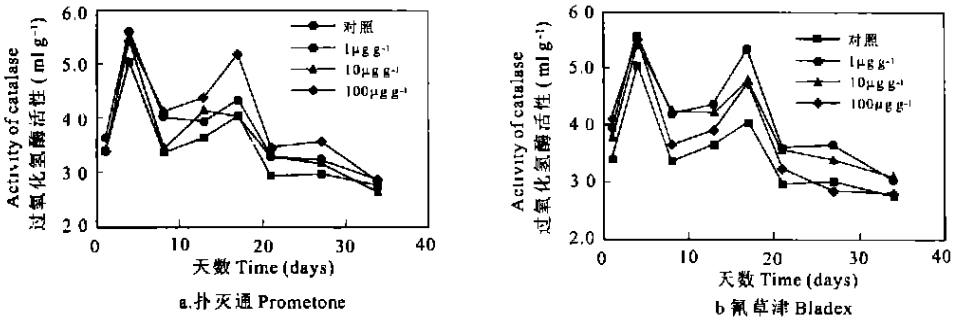

图 2　扑灭通和氰草津对土壤过氧化氢酶的活性影响

Fig. 2　Effect of prometone and bladex on soil catalase

平。到第 27 d, 激活程度减小, 过氧化氢酶活性降低, 第 34 d, 各浓度处理的酶活性基本与对照一致。

2.2　扑灭通和氰草津对土壤多酚氧化酶活性的影响

由统计表 2 及图 3 可见, 第一天各浓度处理均表现出一定的抑制作用, 100 $\mu g\ g^{-1}$的扑灭通和 1 $\mu g\ g^{-1}$的氰草津对多酚氧化酶活性的抑制与对照相比达到极显著水平; 第四天逐渐恢复, 100 $\mu g\ g^{-1}$ 的氰草津表现出较强的激活作用, 其激活作用与其他各处理相比, 均达到了极显著水平; 第 8d, 各处理普遍被激活, 100 $\mu g\ g^{-1}$的氰草津的激活程度为对照处理的 153% ; 此后, 各浓度处理继续保持激活状态, 第 21 d 激活程度减小, 第 34 d 各处理对多酚氧化酶活性的影响基本恢复。无论是扑灭通还是氰草津都是先抑制多酚氧化酶活性, 然后激活, 说明扑灭通和氰草津施用于土壤后对土壤多酚氧化酶活性有一定的抑制作用, 但土壤微生物很快适应, 使多酚氧化酶活性恢复或增强。但低浓度的使用, 其碳源很快被利用完, 使酶活性又有一定程度的下降, 而高浓度的使用由于能更长时间地提供微生物生长所需的碳源和能源, 从而使土壤酶活性保持, 表现在 100 $\mu g\ g^{-1}$的扑灭通和氰草津在整个实验阶段均保持较强的激活影响。相比而言, 氰草津对土壤多酚氧化酶活性的激活作用较强, 特别是 100 $\mu g\ g^{-1}$的氰草津的施用, 使酶活性大大增强。实验表明, 土壤微生物能更好地利用氰草津。

比较扑灭通和氰草津的处理结果显示, 氰草津对过氧化氢酶和多酚氧化酶活性的激活程度普遍大于扑灭通的激活作用。这两种农药对土壤酶活性作用的差异, 可能与农药的结构有关系。前人研究了均三氮苯类化合物的结构与活性的关系后指出, N-烷氨基的变化可以增大此类化合物的生物活性及降解能力的变化范围。如 2-氯-4, 6-双(烷氨基) 均三嗪的除草活性随氨基上碳原子数目增加而减低, 含 2~ 3个原子时活性最高, 而含两个不同烷氨基的衍生物的活性比含有两个相同烷氨基衍生物的活性高, 在烷氨基上引入烷基、环丙基以及腈基等, 具有较高的活性[1, 6]。扑灭通含有两个相同的丙氨基, 而氰

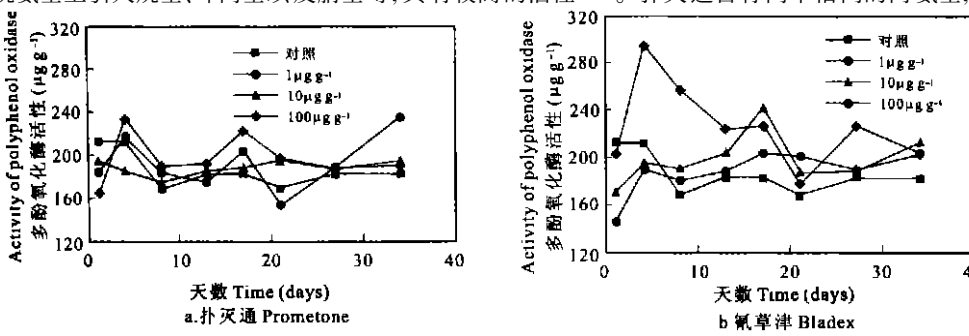

图 3　扑灭通和氰草津对土壤多酚氧化酶活性的影响

Fig. 3　Effect of prometone and bladex on soil polyphenol oxidase

草津的两个烷氨基不同,一个是乙氨基,另一个是1-氰基-1-甲基乙胺基,并且在结构中引入了腈基和氯原子,氰草津比扑灭通的活性更强些。

表 2 扑灭通、氰草津对多酚氧化酶活性影响的差异显著性统计结果

Table 2 The notability of the difference in effect of prometon and bladex on polyphenol oxidase activity

天数 Days	处理 Treatment	活性 Activity ($\mu g\ g^{-1}$)	x_i= 145.1	x_i= 164.9	x_i= 170.3	x_i= 183.8	x_i= 190.1	x_i= 194.5	x_i= 202.7
1	1	212.9	67.8**	48.0**	42.6*	29.1	22.8	18.4	10.2
	7	202.7	57.6**	37.8*	32.4	18.9	12.6	8.2	
	3	194.5	49.4**	29.6	24.2	10.7	4.4		
	8	190.1	45.0**	25.2	19.8	6.3			
	2	183.8	38.7*	18.9	13.5				
	6	170.3	25.2	5.4					
	4	164.9	19.8						
	5	145.1							
			x_i= 185.3	x_i= 191.1	x_i= 196.4	x_i= 208.5	x_i= 212.9	x_i= 218.7	x_i= 233.2
4	7	295.2	109.9**	104.1**	98.8**	86.7**	82.3**	76.5**	62.0**
	4	233.2	47.9*	42.1	36.8	24.7	20.3	14.5	
	2	218.7	33.4	27.6	22.3	10.2	5.8		
	1	212.9	27.6	21.8	16.5	4.2			
	8	208.5	23.2	17.4	12.1				
	6	196.4	11.1	5.3					
	5	191.1	5.8						
	3	185.3							
			x_i= 168.4	x_i= 175.1	x_i= 180.5	x_i= 183.5	x_i= 189.4	x_i= 190.4	x_i= 205.6
8	7	257.7	89.3**	82.6**	77.2**	74.2**	68.3**	67.3**	52.1*
	8	205.6	37.2	30.5	25.1	22.1	16.2	15.2	
	6	190.4	22.0	15.3	9.9	6.9	1.0		
	4	189.4	21.0	14.3	8.9	5.9			
	2	183.5	15.1	8.4	3.0				
	5	180.5	12.1	5.4					
	3	175.1	6.7						
	1	168.4							
			x_i= 175.2	x_i= 180.4	x_i= 183.3	x_i= 185.4	x_i= 189.1	x_i= 193.0	x_i= 203.7
13	7	223.5	48.3*	43.1*	40.2*	38.1	34.4	30.5	19.8
	6	203.7	28.5	23.3	20.4	18.3	14.6	10.7	
	4	193.0	17.8	12.6	9.7	7.6	3.9		
	5	189.1	13.9	8.7	5.8	3.7			
	3	185.4	10.2	5.0	2.1				
	1	183.3	8.1	2.9					
	8	180.4	5.2						
	2	175.2							
			x_i= 183.3	x_i= 188.7	x_i= 203.2	x_i= 204.6	x_i= 223.5	x_i= 226.9	x_i= 242.4
17	8	246.8	63.5**	58.1**	43.6*	42.2*	23.3	19.9	4.4
	6	242.4	59.1**	53.7**	39.2*	37.8*	18.9	15.5	
	7	226.9	43.6*	38.2*	23.7	22.3	3.4		
	4	223.5	40.2*	34.8	20.3	18.9			
	2	204.6	21.3	15.9	1.4				
	5	203.2	19.9	14.5					
	3	188.7	5.4						
	1	183.3							

续表

天数 Days	处理 Treatment	活性 Activity ($\mu g\ g^{-1}$)	x_i= 154.8	x_i= 169.3	x_i= 178.3	x_i= 88.1	x_i= 188.7	x_i= 196.4	x_i= 197.9
21	5	202.7	47.9*	33.4	24.4	14.6	14.0	6.3	4.8
	4	197.9	43.1*	28.6	19.6	9.8	9.2	1.5	
	3	196.4	41.6*	27.1	18.1	8.3	7.7		
	6	188.7	33.9*	19.4	10.4	0.6			
	8	188.1	33.3	18.8	9.8				
	7	178.3	23.5	9.0					
	1	169.3	14.5						
	2	154.8							
			x_i= 183.8	x_i= 188.0	x_i= 188.2	x_i= 189.6	x_i= 190.0	x_i= 190.1	x_i= 193.0
27	7	227.9	44.1*	39.9*	39.7*	38.3*	37.9*	37.8*	34.9
	8	193.0	9.2	5.0	4.8	3.4	3.0	2.9	
	5	190.1	6.3	2.1	1.9	0.5	0.1		
	2	190.0	6.2	2.0	1.8	0.4			
	6	189.6	5.8	1.6	1.4				
	3	188.2	4.4	0.2					
	4	188.0	4.2						
	1	183.8							
			x_i= 184.3	x_i= 191.6	x_i= 195.4	x_i= 204.2	x_i= 205.6	x_i= 212.9	x_i= 214.3
34	4	237.1	52.8*	45.5*	41.7*	32.9	31.5	24.2	22.8
	6	214.3	30.0	22.7	18.9	10.1	8.7	1.4	
	8	212.9	28.6	21.3	17.5	8.7	7.3		
	7	205.6	21.3	14.0	10.2	1.4			
	5	204.2	19.9	12.6	8.8				
	3	195.4	11.1	3.8					
	2	191.6	7.3						
	1	184.3							

各处理为: 1-ck; 2, 3, 4-1 $\mu g\ g^{-1}$, 10 $\mu g\ g^{-1}$, 100 $\mu g\ g^{-1}$扑灭通; 5, 6, 7-1 $\mu g\ g^{-1}$, 10 $\mu g\ g^{-1}$, 100 $\mu g\ g^{-1}$氰草津; 8-50+ 50 $\mu g\ g^{-1}$扑灭通+ 氰草津

2.3 扑灭通和氰草津对土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶活性影响的协同效应

综合表 1、表 2 和图 4 可以看出, 50 $\mu g\ g^{-1}$扑灭通和 50 $\mu g\ g^{-1}$氰草津混合施用, 与 100 $\mu g\ g^{-1}$氰草津和 100 $\mu g\ g^{-1}$扑灭通单独施用对土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶活性的影响相比, 所起的激活作用没有达到显著差异。这两种农药混合施用没有产生明显的协同效应。

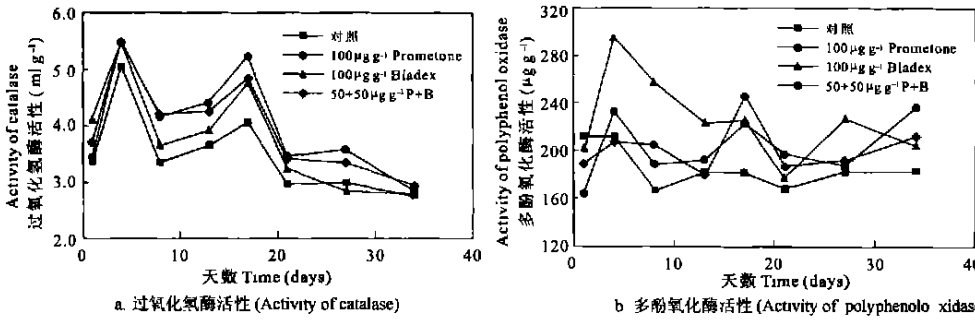

图 4　扑灭通和氰草津对土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶的活性影响的协同效应

Fig. 4　The synergistic effect of prometone and bladex on soil catalase and polyphenol oxidase

3 结　论

不同浓度的扑灭通和氰草津施用后, 均对土壤过氧化氢酶活性和多酚氧化酶活性产生不同程度的

激活作用。氰草津对土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶活性的激活作用强于扑灭通的激活作用。扑灭通和氰草津混用对土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶的活性没有明显的协同作用。施用扑灭通和氰草津不会对土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶造成不利影响,对土壤生态系统影响很小。

参考文献

1. Walker A, Grawford D V. The role of organic matter in adsorption of the triazine herbicides by soil. *In*: Isotopes and Radiation in Soil Organic Matter Studies. Int. Atomic Energy Agency, Vienna, 1968. 95~ 105
2. Abdellah Yassir, Bernard Lagacherie, Sabine Houot, *et al*. Microbial aspects of atrazine biodegradation in relation to history of soil treatment. Pestic. Sci., 1999, 55: 799~ 809
3. Gan J, Becker R L, Koskinen W C, *et al*. Degradation of atrazine in two soils as a function of concentration. J. Environ. Qual., 1996, 25(9~ 10): 1 064~ 1 072
4. Stephanie J Feakin, Blackdum E, Burns R G. Biodegradation of s-triazine herbicides at low concentrations in surface waters. Wat. Res., 1994, 28(11): 2 289~ 2 296
5. Ram M Behki, Shahamat U Khan. Degradation of atrazine, propazine, and simazine by *Rhodococcus* strain B-30^{+}. J. Agric. Food Chem., 1994, 42(5): 1 237~ 1 241
6. Raphi T Mandelbaum, Lawrence P Wackett *et al*. Mineralization of the s-triazine ring of atrazine by stable bacterial mixed cultures. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(6): 1 695~ 1 701
7. Tu C M. Influence of ten herbicide on activities of microorganisms and enzymes in soil. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1993, 51(1): 30~ 39
8. Tu C M. Effect of fungicides, captafol and chlorothalonil, on microbial and enzymatic activities in mineral soil. J. Environ. Sci. Health, 1993, B28(1): 67~ 80
9. Socias-Viciana M M, Hermosin M C, Cornejo J. Removing prometon from water by clays and organic clays. Chemosphere, 1998, 37(2): 289~ 300
10. Asare D K, Sitze D O, Monger C H, *et al*. Impact of irrigation scheduling practices on pesticide leaching at a regional level. Agriculture Water Management, 2000, 43(3): 311~ 325
11. 许光辉, 郑洪元主编. 土壤微生物分析方法手册. 北京: 农业出版社, 1986. 255~ 258
12. 南京农业大学编. 田间试验和统计方法. 北京: 农业出版社, 1985
13. Tu C M. Effect of four nematocides on activities of microorganisms in soil. Applied Microbiology, 1970, 19(3): 479~ 484

EFFECT OF TRIAZINE ON SOIL ENZYME ACTIVITY

Liu Hui-jun Liu Wei-ping Yang Wei-chun Xue Bin

(Institute of Environmental Science, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China)

Summary

Influence of trazine prometone and bladex on soil catalase and polyphenol oxidase activities was investigated at concentration of 0, 1, 10, 100 μg g^{-1} and prometon+ bladex 50+ 50μg g^{-1} respectively. Results showed that both prometone and bladex can stimulate the activities of soil catalase and polyphenol oxidase, and bladex has stronger effect than prometone. The mixing application of two triazines hasn't displayed obviously synergistic effect.

Key words Prometone, Bladex, Catalase, Polyphenol oxidase