

## 杀虫剂啉虫脒对旱地土壤酶活性及呼吸强度的影响\*

姚晓华<sup>1,2</sup> 闵航<sup>1†</sup> 袁海平<sup>1</sup>

(1 浙江大学生命科学院, 杭州 310029)

(2 广西大学农学院, 南宁 530005)

**摘要** 通过对土壤呼吸强度和土壤酶活性的测定, 研究了新型杀虫剂啉虫脒对旱地土壤生物活性的影响。试验结果表明啉虫脒的施用对土壤呼吸强度和磷酸酶有显著抑制作用, 且随施用浓度的增加而抑制作用增强。啉虫脒施用 2 周后能激活脱氢酶的活性, 对过氧化氢酶和脲酶的影响与施用浓度无明显的关系。在施用后前期, 啉虫脒对蛋白酶活性没有显著影响, 但自第 4 周后显示出抑制作用。

**关键词** 杀虫剂; 啉虫脒; 土壤酶; 呼吸强度

**中图分类号** X172 **文献标识码** A

土壤酶在有机物矿化及碳、氮、硫、磷等各元素的生物循环中起着重要的作用, 其活性反映了土壤中进行的各种生物化学过程的动向和强度<sup>[1]</sup>, 而土壤酶活性易直接或间接受自然或者人为因素的影响<sup>[2]</sup>。农药是土壤生态系统中最常见的一种异源物质, 很容易影响土壤酶活性<sup>[3]</sup>。Tu 研究表明, 杀虫剂 Dowco 429X 在使用后 7d 内, 脲酶活性降低, 之后呈上升趋势, 而脱氢酶活性则不受影响<sup>[4]</sup>。闵航等在研究除草剂苯噻草胺和二氯喹磷酸对土壤酶影响时发现, 前者强烈地抑制脲酶活性, 但对磷酸酶具有刺激作用, 而且这种刺激作用是随着苯噻草胺使用浓度的增加而增强<sup>[5]</sup>; 后者使用初期高浓度对水稻田土壤蛋白酶、过氧化氢酶、磷酸酶、脲酶活性均有一定抑制作用, 而且施药浓度越高, 受抑制程度越强, 且高浓度施用后需要较长时间酶活性才得以恢复<sup>[6]</sup>。有研究发现, 氯苯在 200 mg kg<sup>-1</sup> 以下对土壤脲酶、脱氢酶具有刺激作用, 对蔗糖酶活性则具有轻微的抑制, 对硝基苯酚对上述几种酶的活性表现出抑制作用<sup>[7]</sup>。

杀虫剂啉虫脒 (acetamiprid) 是继吡虫啉后又一种氯代烟碱类杀虫剂, 对半翅目 (蚜虫、叶蝉、蚱虫等)、鳞翅目 (小菜蛾、潜叶蛾、纵卷叶螟)、鞘翅目 (天牛、猿叶虫等)、缨翅目 (蓟马类) 昆虫均有效。对害虫具有触杀和胃毒作用, 并具有卓越的内吸活性, 因此是一种高效、广谱、安全、作用机制新颖的杀虫剂。

由于其作用机理与现有的杀虫剂不同, 所以对有机磷、氨基甲酸酯以及拟除虫菊酯类杀虫剂产生较强抗性的害虫亦有效, 被认为是有机磷杀虫剂的理想替代品, 目前已被广泛应用于果园、菜地、棉田等经济作物种植中。

作为一种新型杀虫剂, 国内仅是对其合成工艺、杀虫效果及制剂的含量测定有所报道<sup>[8,9]</sup>, 国外则侧重于其杀虫机理的研究<sup>[10]</sup>。有报道<sup>[11]</sup>称啉虫脒对水蚤极毒, 对鱼类高毒, 对藻类低毒, 但是啉虫脒施用后对土壤酶活性及呼吸强度的影响国内外尚未见报道。

本文报道了啉虫脒对土壤脱氢酶、过氧化氢酶、磷酸酶、蛋白酶、脲酶活性及土壤呼吸强度的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 土壤

土壤样品为采自浙江临平一从未施用过啉虫脒的长期种植旱作的灰潮土。取 2~15 cm 耕作层新鲜土样, 风干, 过 1 mm 筛, 混匀备用。供试土壤理化性质为: pH 7.84, 有机质含量 15.2 g kg<sup>-1</sup>, 全氮 1.8 g kg<sup>-1</sup>, 全磷 5 g kg<sup>-1</sup>, 全钾 18.7 g kg<sup>-1</sup>。

### 1.2 啉虫脒

3% 的啉虫脒乳油由上海东风农药厂提供。

\* 国家自然科学基金项目 (30370048) 资助

† 通讯作者, Tel. 0571-86971287, E-mail: minhang@zju.edu.cn

作者简介: 姚晓华 (1971~), 女, 陕西扶风人, 博士生, 讲师, 主要从事环境微生物学的研究, 已发表论文 2 篇

收稿日期: 2004-11-26; 收到修改稿日期: 2005-04-12

### 1.3 试验设置

取经上述处理的新鲜风干土, 称取 1.5 kg, 分别装入相同的带有通气玻璃管的塑料小桶(上口直径 179 mm, 底面直径 134 mm, 高 161 mm)中, 将含水量调到最大田间持水量的 60%, 以模拟田间环境, 于 28℃ 预培养 2 周。随后分别加入不同剂量的 3% 的啉虫脒乳油, 使终浓度为: 0、0.5、5.0、50 mg kg<sup>-1</sup> 干土。继续培养, 定期取样测定土壤酶活性及土壤呼吸强度。在整个试验阶段, 适时补水, 以保持田间持水量。每个处理设 3 次重复。

### 1.4 测定方法

土壤脱氢酶活性测定采用 TTC 还原法, 以 TTC 的还原产物三苯基甲 (TF) 形成量表示 (TF μg g<sup>-1</sup>)<sup>[12]</sup>。过氧化氢酶活性测定采用高锰酸钾滴定法, 以消耗的 0.1 mol L<sup>-1</sup> 高锰酸钾溶液的量表示 (0.1 mol L<sup>-1</sup> KMnO<sub>4</sub> ml g<sup>-1</sup>)<sup>[13]</sup>。磷酸酶活性测定采用苯磷酸二钠法, 以生成酚的量来表示 (Phenol mg g<sup>-1</sup>)<sup>[14]</sup>。蛋白酶活性测定采用白明胶水解法, 以生成甘氨酸的量表示 (Glycine mg g<sup>-1</sup>)<sup>[14]</sup>。脲酶活性测定采用尿素水解法, 以生成的氨态氮的量来表示 (NH<sub>5</sub>N mg g<sup>-1</sup>)<sup>[14]</sup>。土壤呼吸强度测定采用气相色谱法, 以产生二氧化碳的量表示 (CO<sub>2</sub> ml g<sup>-1</sup>)<sup>[15]</sup>。

结果采用 Duncan's 新复极差法和 t 检验进行统计分析,  $p < 0.05$  被认为差异显著。

## 2 结果与讨论

### 2.1 啉虫脒对旱地土壤脱氢酶活性的影响

啉虫脒对旱地土壤脱氢酶的影响见图 1。由图可见, 在第 1、2 周内, 啉虫脒对土壤脱氢酶有轻微的抑制。从第 3 周开始, 施药浓度为 0.5 mg kg<sup>-1</sup> 和 5 mg kg<sup>-1</sup> 干土土样的酶活性开始被激活, 而此时施用

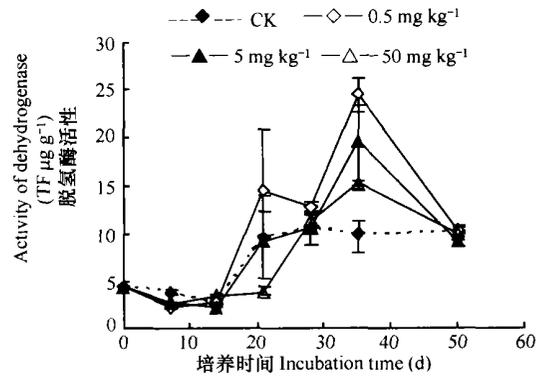


图 1 啉虫脒对旱地土壤脱氢酶活性的影响

Fig 1 Effect of acetamiprid on activity of dehydrogenase in upland soil

浓度最高的土样, 酶活性仍然处于被抑制状态。直到第 4 周开始, 施用浓度为 50 mg kg<sup>-1</sup> 干土土样的酶活性才逐渐接近 CK。此后各个处理土样脱氢酶活性继续被激活, 激活的程度与施用浓度成反比。35 d 之后, 三个处理土样的脱氢酶活性均开始下降, 在试验结束时, 处理土样的酶活性与 CK 基本持平。

### 2.2 啉虫脒对旱地土壤过氧化氢酶活性的影响

从图 2 可以看出, 使用啉虫脒后, 各个处理和 CK 土样的过氧化氢酶活性都迅速下降, 到第 2 周时达到最低, 以后虽有不同程度的起伏变化, 但始终都远低于起始水平; 并且在整个变化过程中, 三个处理土样与对照土样之间的过氧化氢酶活性没有显著性差异 ( $p > 0.05$ ), 这表明过氧化氢酶的变化与啉虫脒的施用浓度关系不大。这一结果与郑巍等研究的另一种烟碱类杀虫剂吡虫啉对土壤过氧化氢酶的影响结果稍有不同。他们研究发现低浓度的吡虫啉对土壤过氧化氢酶活性的影响是先抑制再激活最后恢复稳定, 而高浓度吡虫啉则激活了土壤过氧化氢酶活性<sup>[16]</sup>。

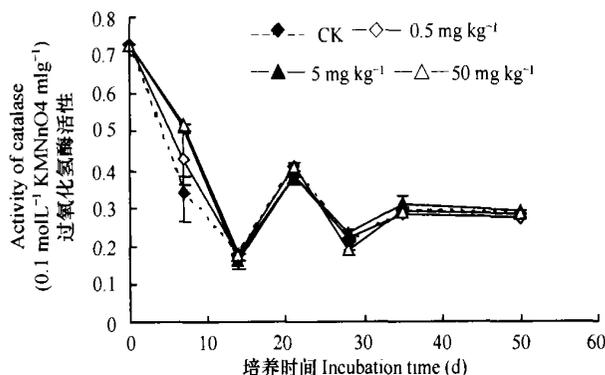


图 2 啉虫脒对旱地土壤过氧化氢酶活性的影响

Fig 2 Effect of acetamiprid on activity of catalase in upland soil

### 2.3 啞虫脒对旱地土壤磷酸酶活性的影响

啞虫脒对旱地土壤磷酸酶活性的影响见图3。从总体上看,高浓度的啞虫脒对旱地土壤磷酸酶活性有明显的抑制作用。在第1周,浓度为5 mg kg<sup>-1</sup>、50 mg kg<sup>-1</sup>的啞虫脒显著地抑制了磷酸酶的活性,而0.5 mg kg<sup>-1</sup>的啞虫脒只是轻微抑制了磷酸酶活

性。第2周以后,两个高浓度处理土样的磷酸酶活性虽然有所上升,但是与对照相比,仍然处于显著抑制状态( $p < 0.05$ ),而施用啞虫脒浓度为0.5 mg kg<sup>-1</sup>干土土样的酶活性仍然与对照无显著的差异(第4周除外)。从第5周开始,各个处理土样的磷酸酶酶活开始趋于对照水平。

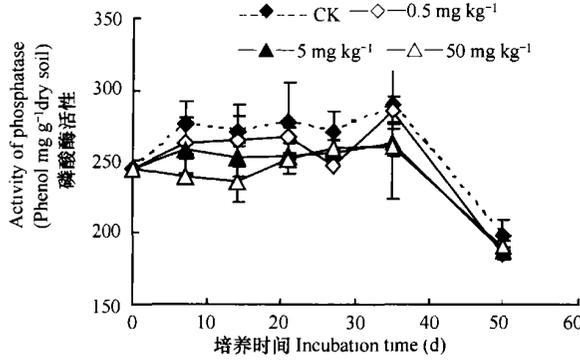


图3 啞虫脒对旱地土壤磷酸酶活性的影响

Fig. 3 Effect of acetamiprid on activity of phosphorase in upland soil

### 2.4 啞虫脒对旱地土壤蛋白酶活性的影响

施用啞虫脒后的第1周,三个处理土样蛋白酶活性与对照之间没有显著差异(图4)。第2周均受到刺激开始上升,然后就迅速下降。经统计发现,三个处理土样之间及与对照的蛋白酶活性均没有显著差异,这表明啞虫脒引起的土壤蛋白酶活性变化与

啞虫脒使用浓度没有多大的关系。从第4周开始,处理土样的蛋白酶活性均受到了不同程度的抑制,其中施用浓度为50 mg kg<sup>-1</sup>干土土样酶活性受到了显著的抑制( $p < 0.05$ )。这种抑制作用或许与啞虫脒在土壤中的代谢有关。

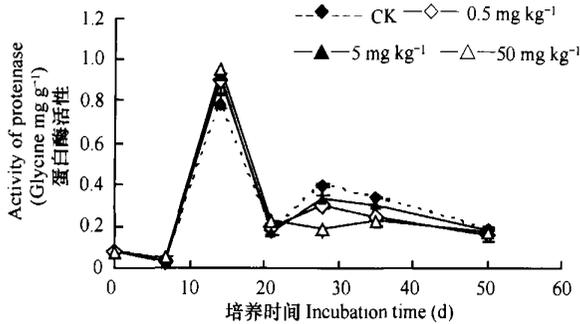


图4 啞虫脒对旱地土壤蛋白酶活性的影响

Fig. 4 Effect of acetamiprid on activity of proteinase in upland soil

### 2.5 啞虫脒对旱地土壤脲酶活性的影响

从图5中可以看出,脲酶活性在前2周的变化与施用啞虫脒关系不大,因为三个处理土样的酶活性与对照之间没有显著的差异( $p > 0.05$ )。从第3周开始,脲酶活性受到轻微刺激,然而三个处理土样之间的酶活性没有显著性差异( $p > 0.05$ ),这表明刺激作用与啞虫脒的施用浓度之间无统计学上的意义。在试验后3周,三个处理土样的脲酶活性变化

趋势与对照基本相似,且各个处理之间及处理与对照土样之间的酶活性均无显著差异。

### 2.6 啞虫脒对旱地土壤呼吸作用的影响

啞虫脒对旱地土壤呼吸作用的影响结果见图6。从图上可以看出,啞虫脒对土壤的呼吸有抑制作用,并且施用浓度越高,抑制效应越明显。在施用后的第1周,处理土样的呼吸强度与对照土样呼吸强度没有显著性的差异。从施用第2周开始,所有处

理土壤的呼吸作用都受到强烈抑制, 呼吸强度明显下降, 并且抑制强度与施用浓度成正比。在试验的后期, 抑制效应减缓, 处理土样的呼吸强度有所回

升, 趋于对照水平。这表明呼吸强度的恢复, 经历了较长的时间(大约 20d)。

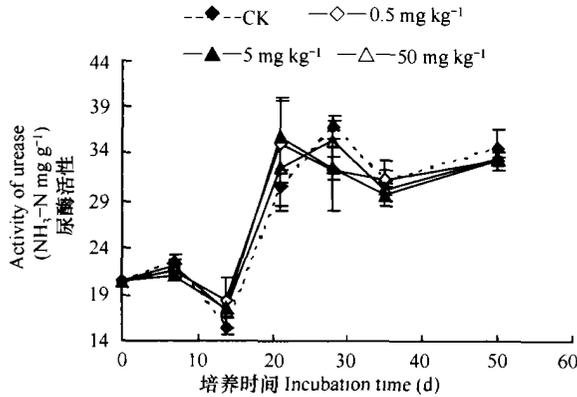


图 5 啶虫脒对旱地土壤脲酶活性的影响

Fig. 5 Effect of acetamiprid on activity of urease in upland soil

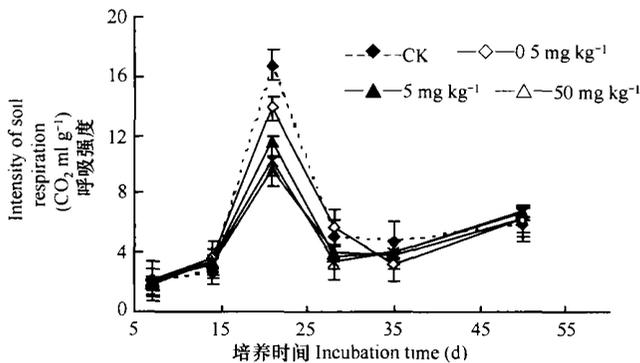


图 6 啶虫脒对旱地土壤呼吸强度的影响

Fig. 6 Effect of acetamiprid on soil respiration in upland soil

### 3 结 论

从试验结果看, 施用浓度为  $0.5 \text{ mg kg}^{-1}$ 、 $5 \text{ mg kg}^{-1}$  和  $50 \text{ mg kg}^{-1}$  的啶虫脒对土壤磷酸酶和呼吸强度的影响较大。在 50 d 的试验过程中, 处理土样的磷酸酶始终处于被抑制的状态, 并且这种抑制程度与用药浓度成正比关系。处理土样的呼吸强度在啶虫脒施用后的 4 周内被强烈地抑制, 虽然在试验的后期, 呼吸强度恢复到与对照相近的水平, 但是恢复过程经历了比较长的时间。在试验浓度范围内, 啶虫脒对脱氢酶的影响可归结为“轻微抑制—刺激与激活—恢复稳定”的过程。三种浓度处理土样的过氧化氢酶和脲酶的变化趋势基本上与对照相似, 表明这两种酶活性的变化与啶虫脒所选择的使

用浓度关系不大。不同浓度的啶虫脒在施用后前期对土壤蛋白酶没有显著影响, 使用后期则具有抑制作用。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] Tu C.M. Influence of five pyrethroid insecticides on microbial population and activity in soil. *Microbial Ecology*, 1980, 5: 321~ 327
- [ 2 ] Gianfreda L, Bollag J.M. Influence of natural and anthropogenic factors on enzyme activity in soil. In: Stotzky G, Bollag J.M. eds. *Soil Biochemistry*. New York: Marcel Dekker, 1996. 123~ 193
- [ 3 ] Min H, Ye Y.F, Chen Z.Y. Effects of butachlor on microbial populations and enzyme activities in paddy soil. *J. Environ. Sci. Health, Part B*, 2001, 36(15): 581~ 595
- [ 4 ] Tu C.M. Effect of four experimental insecticides on enzyme activities and levels of adenosine triphosphate in mineral and organic soils. *J. Environ. Sci. Health, Part B*, 1990, 25(6): 787~ 800
- [ 5 ] 叶央芳, 闵航, 周湘池. 苯噻草胺对水田土壤呼吸强度和酶活

- 性的影响. 土壤学报, 2004, 41(1): 93~ 96. Ye Y F, Min H, Zhou X C. Effects of mefenacet on microbial respiration and enzyme activities in paddy soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(1): 93~ 96
- [ 6 ] Lü Z M, Min H, Ye Y F. Short term influences of herbicide quinclorac on enzyme activities in flooded paddy soil. *Pedosphere*, 2004, 14(1): 71~ 76
- [ 7 ] 沈标, 李顺鹏, 赵硕伟, 等. 氯苯、对硝基酚对土壤生物活性的影响. 土壤学报, 1997, 34(3): 309~ 314. Shen B, Li S P, Zhao S W, *et al.* Effect of chlorobenzene and nitrophenol on soil biological activity (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1997, 34(3): 309~ 314
- [ 8 ] 莫建初, 滕立, 刘文军, 等. 测试条件对啶虫脒毒土柱防白蚁效果的影响. 农药学报, 2003, 5(2): 53~ 58. Mo J C, Teng L, Liu W J, *et al.* Influences of test conditions on the effects of acetamiprid against *Reticulitermes flaviceps* (Oshima) (In Chinese). *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2003, 5(2): 53~ 58
- [ 9 ] 毕富春. 用SE-30大口径毛细管柱定量分析啶虫脒. 农药, 2001, 40(10): 19. Bi F C. Quantitative analysis of acetamiprid by a wide bore capillary column coated with SE-30 (In Chinese). *Pesticide*, 2001, 40(10): 19
- [ 10 ] Takao I, Naoki M, Michael R, *et al.* Mechanism for the differential toxicity of neonicotinoid insecticides in the honey bee, *Apis mellifera*. *Crop Protection*, 2004, 23: 371~ 378
- [ 11 ] 胡双庆, 尹大强, 陈良燕. 吡虫清等4种新农药的水生态安全性评价. 农村生态环境, 2002, 18(4): 23~ 26. Hu S Q, Yin D Q, Chen L Y. Safety evaluation of four new pesticides in aquatic ecosystem (In Chinese). *Rural Eco Environment*, 2002, 18(4): 23~ 26
- [ 12 ] 朱南文, 闵航, 陈美慈, 等. TTC-脱氢酶测定方法的探讨. 中国沼气, 1996, 14(2): 3~ 5. Zhu N W, Min H, Chen M C, *et al.* The study of determination on TTC dehydrogenase activity (In Chinese). *China Biogas*, 1996, 14(2): 3~ 5
- [ 13 ] 中国科学院南京土壤研究所主编. 土壤微生物研究法. 北京: 科学出版社, 1985. 263. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Ed. *Method of Soil Microorganisms* (In Chinese). Beijing: Science Press, 1985. 263
- [ 14 ] 严昶升. 土壤肥力研究方法. 北京: 农业出版社, 1988. 277~ 279. Yan C S. *Method of Soil Fertility* (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1988. 271~ 279
- [ 15 ] Lü Z M, Min H, Ye Y F. Influences of quinclorac on culturable microorganisms and soil respiration in flooded paddy soil. *Biomedical and Environment Sciences*, 2003, 16: 314~ 322
- [ 16 ] 郑巍, 刘惠君, 刘维屏. 吡虫啉及代谢产物对土壤过氧化氢酶活性的影响. 中国环境科学, 2000, 20(6): 524~ 527. Zheng W, Liu H J, Liu W P. Influence of pesticide imidacloprid and its metabolites on catalase activity in soil (In Chinese). *China Environmental Science*, 2000, 20(6): 524~ 527

## EFFECTS OF ACETAMIPRID ON ENZYMATIC ACTIVITIES AND RESPIRATION OF UPLAND SOIL

Yao Xiaohua<sup>1,2</sup> Min Hang<sup>†</sup> Yuan Haiping<sup>1</sup>

(1 College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

(2 College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China)

**Abstract** Effect of a new pesticide, acetamiprid, on biological activity in upland soil was studied through analysis of soil enzyme activities and soil respiration. The results show that acetamiprid obviously affected soil respiration and phosphatase activity, and the higher the concentration was, the stronger the inhibitive effect was. The activity of dehydrogenase was enhanced in two weeks after acetamiprid application. Variance of urease and catalase showed no distinct relationship with the application rate. The activity of proteinase was not significantly affected within the first two weeks after acetamiprid application but was from the 4th week.

**Key words** Pesticide; Acetamiprid; Soil enzyme; Soil respiration