

· 研究论文 ·

1, 3-二氯丙烯对土壤脲酶和蔗糖酶活性的影响

范 昆¹, 王开运^{*}, 王 东¹, 夏晓明¹, 洪 莹²

(1. 山东农业大学 植物保护学院, 山东 泰安 271018; 2 中国农业大学 理学院, 北京 100094)

摘 要: 通过室内培养试验研究了 1, 3-二氯丙烯对土壤中脲酶和蔗糖酶活性的影响。结果表明, 高剂量 (200 和 500 $\mu\text{g/g}$) 1, 3-二氯丙烯对土壤脲酶先表现为抑制作用, 后表现为激活作用; 低剂量 (1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/g}$) 处理则表现为激活-抑制-激活作用, 且抑制、激活程度及持续时间与处理浓度成正相关。各浓度 1, 3-二氯丙烯对土壤蔗糖酶活性影响的变化规律基本一致: 处理后第 1 d 均表现为激活作用, 随培养时间延长, 激活作用逐渐减弱, 20 d 后蔗糖酶活性又有大幅增长趋势, 至第 30 d 达到最高点, 40 d 后出现抑制作用。

关键词: 1, 3-二氯丙烯; 脲酶; 蔗糖酶; 酶活性

中图分类号: S154.2; S482.6

文献标识码: A

文章编号: 1008-7303(2006)02-0139-04

The Effect of 1, 3-Dichloropropene on Activities of Soil Urease and Invertase

FAN Kun¹, WANG Kai-yun^{*}, WANG Dong¹, XIA Xiao-ming¹, HONG Ying²

(1. College of Plant Protection Shandong Agricultural University, Tai'an 271018 China;

2. College of Science China Agricultural University, Beijing 100094 China)

Abstract The effects of 1, 3-dichloropropene on the activities of soil urease and invertase were studied in lab. The result showed that the effects of high concentrations (200, 500 $\mu\text{g/g}$) of 1, 3-dichloropropene on the activities of soil urease were first inhibition and then stimulation. Low concentrations (1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/g}$) of 1, 3-dichloropropene showed stimulation-inhibition-stimulation. The level and sustained time of inhibition and stimulation were proportional to the concentrations of the treatment. The effects of all concentrations on the activities of soil invertase took the similar change regulation. It showed stimulation at 1 d after treatment. Along with the prolongation of the culture time, the stimulation activities got weaker gradually. After 20 d, the activities of soil invertase were in the direction of increasing and reached maximum value at 30 d after treatment, then showed inhibition after 40 d.

Key words 1, 3-dichloropropene; urease; invertase; enzyme activity

自 1956 年首次发现 1, 3-二氯丙烯 (1, 3-dichloropropene) 于播种前熏蒸处理土壤具有杀线

虫活性以来^[1], 国外学者就其对土壤害虫、植物病原菌和杂草的防治效果进行了大量的研究^[2-5]。

收稿日期: 2005-12-26; 修回日期: 2006-04-05.

作者简介: 范昆 (1980-), 女, 山东新泰人, 硕士研究生; * 通讯作者: 王开运 (1954-), 男, 山东滕州人, 教授, 博士生导师, 主要从事农药毒理及有害生物抗药性研究。联系电话: 0538-8242345; E-mail: kywang@sdau.edu.cn

基金项目: 国家“十五”科技攻关项目 (2001BA509B08).

由于该药尚未在国内推广使用, 相关研究报道甚少。溴甲烷是一种广谱性的土壤熏蒸剂, 因对臭氧层具有破坏作用, 全球将于 2015 年全面淘汰该药^[1]。1, 3-二氯丙烯已成为替代溴甲烷的重要土壤熏蒸杀线虫剂之一, 近年来其用量持续增长, 仅美国 2000 年的用量就高达 20 000 t。但也有人认为, 大量持续使用 1, 3-二氯丙烯可能会影响土壤营养循环、土壤肥力和农产品品质, 造成一系列环境生态问题^[6]。土壤作为毒性化合物的容纳场所, 任何影响土壤性质的因素都将对土壤中酶的活性有不同程度的影响^[7]。土壤脲酶和蔗糖酶是主要的土壤酶类, 其活性与土壤肥力有直接关系, 但目前国内外尚未见 1, 3-二氯丙烯对土壤脲酶、

蔗糖酶活性影响的报道。本研究旨在明确使用 1, 3-二氯丙烯后对土壤中两种酶的影响规律, 从而间接了解该药剂对土壤肥力状况的影响。

1 材料与方法

1.1 土壤

采自山东省泰安市良庄镇东延东村番茄大棚中, 属棕壤, 未使用过 1, 3-二氯丙烯, 也未使用过其他土壤熏蒸剂。采用 5 点取样法, 取 0~20 cm 耕作层土壤, 过 1 mm 筛, 剔除瓦砾和植物残根等杂物, 采用常规方法^[8]测定其理化性质 (见表 1)。

Table 1 The physical and chemical character of the soils studied

Soil type	pH	Organic matter /(g/kg)	Total N /(g/kg)	Total P /(g/kg)	Total K /(g/kg)	Available N /(mg/kg)	Available P /(mg/kg)	Available K /(mg/kg)
Pa in soil	6.9	15.3	1.06	0.63	16.8	93.5	22.3	90.2

1.2 药剂

质量分数为 97% 的 1, 3-二氯丙烯 (1, 3-dichloropropene) 原油 (山东淄博鲁达化工有限公司产品)。

1.3 土壤脲酶活性测定

采用靛酚蓝比色法^[9]。以尿素为基质, 根据酶促产物氨在碱性基质中与苯酚及次氯酸钠作用生成蓝色的靛酚, 其生成数量与氨浓度成正比来进行定量分析。同时做标准曲线、无基质对照和无土壤对照试验。土壤中药剂的处理浓度为 1, 10, 50, 100, 200, 500 $\mu\text{g/g}$ 以不加药剂处理为空白对照 (CK), 分别在处理后 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 d 测定脲酶活性。重复 3 次。脲酶活性以 24 h 后 100 g 土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毫克数来表示, 并计算 1, 3-二氯丙烯对土壤脲酶活性的抑制-激活率:

$$\text{抑制-激活率}(\%) = (b - a) / a \times 100$$

式中, a 为不加 1, 3-二氯丙烯处理的土壤脲酶活性; b 为 1, 3-二氯丙烯处理后的土壤脲酶活性。

1.4 土壤蔗糖酶活性测定

采用 3, 5-二硝基水杨酸 (DNS) 比色法^[10]。以蔗糖为基质, 根据酶促产物葡萄糖与 3, 5-二硝基水杨酸生成的有色化合物 3-氨基-5-硝基水杨酸的量进行比色测定。同时做标准曲线、无基质对照和无土壤对照试验。药剂处理浓度、空白对照、取样测定时间、重复次数及抑制-激活率计算方法同 1.3 节。蔗糖酶活性以每克烘干土所产生的葡

萄糖的毫克数来表示。

1.5 数据分析

采用 DPS 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 1, 3-二氯丙烯对土壤脲酶活性的影响

所得标准曲线方程为:

$$Y = 233.7x + 0.03940 \quad (r = 0.9975)$$

从图 1 可以看出: 1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/g}$ 4 个浓度处理初期 (如第 1 d) 对土壤脲酶均有一定程度的激活作用, 之后激活作用逐渐减弱, 表现为抑制作用, 说明土壤成分对外来污染物 (1, 3-二氯丙烯) 有一定的缓冲能力, 但缓冲能力有限。而后, 抑制作用逐渐减弱, 再次表现为激活作用, 且激活作用出现的时间和激活程度与处理浓度成负相关。而 200 和 500 $\mu\text{g/g}$ 的 1, 3-二氯丙烯对土壤脲酶的活性开始表现为抑制作用, 且抑制程度与处理浓度成正相关, 然后抑制作用逐渐减弱, 并表现出一定的激活作用, 之后逐渐趋于平缓。

各浓度 1, 3-二氯丙烯处理后的 6~10 d, 其对脲酶活性均表现为抑制作用, 且抑制率达到最大值, 各处理间差异显著 ($P < 0.05$); 处理后 20~30 d 对脲酶的激活作用达到或接近最大值, 各处理间差异显著 ($P < 0.05$)。说明采用土壤脲酶活性作为土壤生态毒理学评价指标时, 观察添加 1, 3-二氯丙烯后 6~10 d 及 20~30 d 时土壤脲酶活性的变化是最重要的。

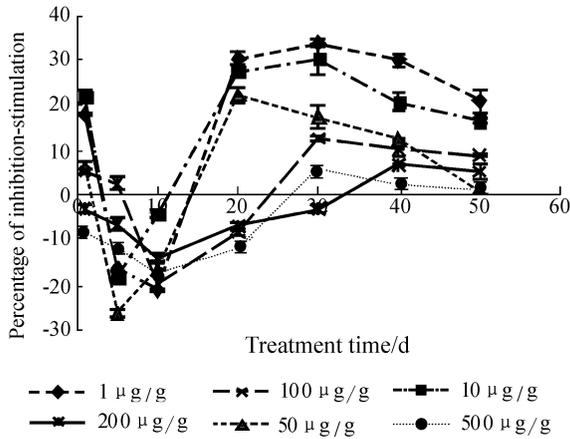


Fig 1 The percentage of inhibition-stimulation of 1, 3-dichloropropene on the activity of soil urease

2.2 1, 3-二氯丙烯对土壤蔗糖酶活性的影响

所得标准曲线方程为:

$$Y = 11.54x + 0.08560 (r = 0.9969).$$

从图 2 可以看出, 各浓度 1, 3-二氯丙烯对土壤蔗糖酶活性影响的变化规律基本一致, 处理后第 1 d 均表现为激活作用, 随着时间的延长, 激活作用逐渐减弱。这可能是因为 1, 3-二氯丙烯被土壤微生物分解、利用, 从而促进了土壤微生物自身的生长, 使微生物细胞合成酶的数量增加, 因此表现为激活作用; 但随着处理时间的延长, 1, 3-二氯丙烯不断被微生物分解, 在土壤中的含量下降, 对酶的激活作用也就不断降低。至第 20 d 后, 蔗糖酶活性大幅度增长, 且至 30 d 时达到最高点, 酶活性比处理初期的高, 说明蔗糖酶对 1, 3-二氯丙烯具有较强的拮抗作用^[11]。40 d 后拮抗作用减弱, 蔗糖酶的活性逐渐下降至出现抑制作用。

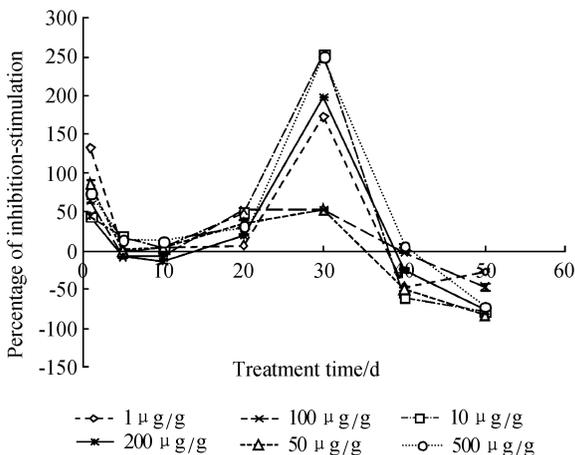


Fig 2 The percentage of inhibition-stimulation of 1, 3-dichloropropene on the activity of soil invertase

2.3 田间不同使用浓度下 1, 3-二氯丙烯对土壤脲酶、蔗糖酶的影响

结果见图 3。

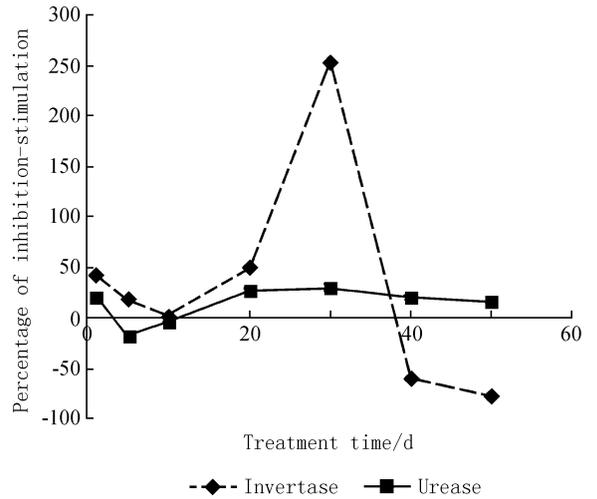


Fig 3 The percentage of inhibition-stimulation of 1, 3-dichloropropene on the activities of soil invertase and urease

1, 3-二氯丙烯田间防治番茄根结线虫的推荐使用剂量为 120 kg/hm^2 , 相当于添加剂量为 $10 \mu\text{g/g}$ 。在该剂量下, 除处理后 6~10 d 1, 3-二氯丙烯对土壤脲酶表现为抑制作用, 延缓了土壤中尿素的分解外, 其他时间均表现为激活作用, 能够促进土壤氮养分的有效转化。处理后至第 37 d 以内, 1, 3-二氯丙烯对土壤蔗糖酶活性均表现为激活作用, 且至第 30 d 时激活作用最大, 37 d 以后开始表现为抑制作用。由于此时药剂已经散失, 微生物活性变化可能是其自身调控的结果, 但存活微生物会将死去微生物作为碳源生长, 活性会逐渐恢复, 因此不会长期影响土壤微生物的整体活性^[12]。要明确最终活性下降的程度及活性何时回升尚需进一步研究。

3 讨论

用 1, 3-二氯丙烯熏蒸土壤, 一方面可以有效杀灭土壤中的线虫、病原菌、杂草, 提高作物产量, 另一方面也会影响土壤中的生命活动和化学过程^[10], 因此, 1, 3-二氯丙烯施用后对土壤微生物的影响是评价其生态安全性的一个重要指标。作者研究了 1, 3-二氯丙烯使用一定时间后对土壤脲酶和蔗糖酶活性的影响, 发现在防治番茄根结线虫的推荐使用剂量下, 其对土壤脲酶表现出激活作用趋势, 表明该药剂作为土壤熏蒸剂使用可能有

利于提高土壤肥力。

土壤脲酶能促进土壤尿素分子中酰胺碳氮键的水解,生成的氨是植物氮素营养来源之一,在氮肥利用和土壤氮素代谢方面有重要的意义^[10, 13]。王金花等^[14]报道,低浓度莠去津(1.5 mg/kg)在使用初期对土壤脲酶有一定的激活作用,随后表现为抑制作用;高浓度(10, 20, 50, 100 mg/kg)在整个处理期间对土壤脲酶均有明显的抑制作用,而且抑制程度与莠去津浓度呈正相关。和文祥等^[15]研究了杀虫双(2.5, 5.0, 10.0, 20.0, 50.0 g/L)对南方红壤和北方黄壤土壤脲酶活性的影响,发现脲酶活性显著被抑制,且被抑制程度随杀虫双浓度的增加而增大。李永红等^[10]研究发现,添加单啞磺隆 90 d后,对土壤脲酶活性有着较低剂量抑制、较高剂量激活、更高剂量无影响的作用规律。

本实验结果表明,200 $\mu\text{g/g}$ 的1,3-二氯丙烯处理土壤后,对脲酶的活性在前33 d表现为抑制作用,500 $\mu\text{g/g}$ 处理后前27 d表现为抑制作用,然后抑制作用逐渐减弱,表现为一定的激活作用;其他剂量(1, 10, 50, 100 $\mu\text{g/g}$)处理后第1 d表现为激活作用,随后至第3 d表现为抑制作用,且抑制程度及持续时间与处理浓度成正相关,至第10 d后抑制作用逐渐减弱,并逐渐转变为激活作用,且激活作用出现的时间及强度均与处理浓度成负相关。这说明1,3-二氯丙烯对土壤脲酶的抑制是一种暂时现象,经过一段时间后,酶活性就能得到一定程度的恢复;其中脲酶活性有短暂升高阶段,可能与药剂分解后增加了碳源,从而提高了微生物的活性有关。

土壤蔗糖酶活性不仅能够表征土壤生物学活性强度,也可以作为评价土壤熟化程度和肥力水平的指标^[16]。蔗糖酶广泛存在于土壤中,是表征土壤生物学活性的重要酶,也是反映土壤有机碳转化的一个重要酶,能催化蔗糖分子中果糖基的 β -葡萄糖苷键裂解,使蔗糖水解成葡萄糖和果糖^[7]。李永红等^[10]报道,单啞磺隆处理组土壤蔗糖酶活性接近或超过对照,说明在使用单啞磺隆一定时间后土壤中蔗糖酶活性不会受到不良影响。辛承友等^[17]研究表明,莠去津处理浓度为20 mg/kg时,对土壤蔗糖酶的激活作用最大,可能是因为该条件下莠去津对土壤微生物生长具有刺激作用,从而提高了土壤蔗糖酶的活性。本实验结果表明,处理后第1 d,各浓度1,3-二氯丙烯对土壤蔗糖酶活性均表现为激活作用,该作用将有利于土壤有机组分的转化,促进作物生长;随处理

时间的延长,激活作用逐渐减弱,20 d后,酶活性又有大幅增高趋势,至30 d时达到最大值,40 d后酶活性逐渐下降至出现抑制作用。

参考文献:

- [1] World Health Organization. Environmental Health Criteria 146 [M]. America World Health Organization, 1976.
- [2] C sino A S, Johnson W C, Johnson A W. A lternative fumigants for methyl bromide in tobacco and pepper transplant production [J]. Crop Protection, 1997, 16(6): 585-594.
- [3] Basile M, Lamberti F, Russo G. Efficacy and toxicity of 1,3-dichloropropene in nematode control in vineyards [J]. Vignevini, 1990, 17(11): 53-56.
- [4] Zhang X W, Q ian X L, Liu J W. Evaluation of the resistance to root-knot nematode of watermelon germ plasma and its control [J]. J Fruit Sci, 1989, 6(1): 33-38.
- [5] Stirling G R, Vawdrey L L, Shannon E L. Effect of 1,3-dichloropropene on *Mebiolgyne incognita* in an organically amended soil [J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 1989, 29(2): 223-232.
- [6] Robert S, Dungan A, Ihekwe m, et al. Effect of propargyl bromide and 1,3-dichloropropene on microbial communities in an organically amended soil [J]. Microbiology Ecology, 2003, 43: 75-87.
- [7] CHU Hai-yan (褚海燕), ZHU Jian-guo (朱建国), XIE Zu-bin (谢祖彬). 镧对太湖地区水稻土若干水解酶活性的影响 [J]. Chinese Rare Earths (稀土), 2002, 23(3): 41-43.
- [8] LU Ru-kun (鲁如坤). Soil Agro-chemical Analysis Method (土壤农化分析方法) [M]. Beijing (北京): China Agricultural Science and Technology Press (中国农业科技出版社), 2000, 146-204.
- [9] ZHU Lu-sheng (朱鲁生), WANG Jun (王军), LIN Ai-jun (林爱军). 二甲戊乐灵的土壤微生物生态效应 [J]. Environmental Science (环境科学), 2002, 23(3): 88-91.
- [10] LI Yong-hong (李永红), GAO Yu-bao (高玉葆). 土壤中单啞磺隆对谷子生长及土壤微生物若干生化功能的影响 [J]. J Agro-enviro Sci (农业环境科学学报), 2004, 23(4): 633-637.
- [11] DUAN Xue-jun (段学军), MIN Hang (闵航). Cd胁迫下稻田土壤微生物活性与酶活性综合研究 [J]. J Agro-enviro Sci (农业环境科学学报), 2004, 23(3): 422-427.
- [12] GONG Ping (龚平). 多效唑的土壤微生物生态效应 [J]. Environmental Science (环境科学), 1996, 17(4): 36-38.
- [13] CHU Hai-yan (褚海燕), ZHU Jian-guo (朱建国), XIE Zu-bin (谢祖彬). 稀土元素镧对红壤脲酶、酸性磷酸酶活性的影响 [J]. Agro-environmental Protection (农业环境保护), 2002, 19(4): 193-195.
- [14] WANG Jin-hua (王金花), ZHU Lu-sheng (朱鲁生), WANG Jun (王军). 除草剂阿特拉津对土壤脲酶活性的影响 [J]. Chin J Applied Ecology (应用生态学报), 2003, 14(12): 2281-2285.
- [15] HE Wen-xiang (和文祥), JIANG Xin (蒋新), YU Gui-fen (余贵芬). 杀虫双对土壤脲酶活性特征的影响 [J]. Acta Pedologica Sinica (土壤学报), 2003, 40(5): 750-755.
- [16] WANG Jian-wu (王建武), FENG Yuan-jiao (冯远娇), LUO Shiming (骆世明). Bt玉米秸秆分解对土壤酶活性和土壤肥力的影响 [J]. Chin J Applied Ecology (应用生态学报), 2005, 16(3): 524-528.
- [17] XIN Cheng-you (辛承友), ZHU Lu-sheng (朱鲁生), WANG Jun (王军). 阿特拉津对不同肥力土壤蔗糖酶活性的影响 [J]. J Agro-enviro Sci (农业环境科学学报), 2004, 23(3): 479-483.

(Ed. TANG J)