

单嘧磺隆对土壤呼吸脱氢酶和转化酶活性的影响

李永红¹, 高玉葆²

(1.南开大学元素有机化学研究所, 天津 300071; 2.南开大学生命科学学院, 天津 300071)

摘要:通过室内培养研究了不同浓度单嘧磺隆对土壤呼吸强度和土壤脱氢酶活性、转化酶活性的影响。结果表明,单嘧磺隆的影响随单嘧磺隆浓度和作用时间的不同而异,田间推荐剂量下单嘧磺隆对土壤呼吸强度、土壤脱氢酶活性和转化酶活性没有显著持续不良影响。低浓度单嘧磺隆($<0.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)在试验初期轻微刺激土壤微生物的活性,随培养时间延长刺激作用消失;高浓度单嘧磺隆($>4.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)在试验初期显著抑制土壤微生物活性,对土壤呼吸强度的抑制率最高为26.55%,培养12 d以后抑制作用消失,土壤呼吸强度恢复到对照水平。极高浓度单嘧磺隆($25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)显著抑制土壤转化酶和脱氢酶活性,在25 d试验周期内抑制率分别为5.53%~51.72%和16.06%~21.76%。田间推荐剂量单嘧磺隆($0.025\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)对土壤转化酶有短暂的抑制作用,最高抑制率为20.23%,对脱氢酶没有明显影响。0.25和 $2.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单嘧磺隆在试验不同时期对土壤酶活性有轻微刺激作用或抑制作用。第8 d时,单嘧磺隆显著抑制土壤转化酶活性,且抑制作用和单嘧磺隆浓度表现出正相关($r=0.95$),试验结束时单嘧磺隆的影响减弱。

关键词:单嘧磺隆; 土壤呼吸; 土壤微生物; 脱氢酶; 转化酶

中图分类号:X592 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2005)06-1176-06

Effects of Monosulfuron on Respiration, Hydrogenase and Invertase Activity in Soil

LI Yong-hong, GAO Yu-bao

(1.The Research Institute of Elemento-Organic Chemistry, Nankai University, Tianjin 300071, China; 2.College of Life Science, Nankai University, Tianjin 300071, China)

Abstract: Effects of monosulfuron, a novel sulfonylurea herbicide, on respiration, hydrogenase and invertase activity of the soil were studied in lab. In the treatments of 0.16 and $0.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, a slightly stimulative effect on soil respiration was observed at early stage of the experiment (0~7 days) and the effect disappeared afterwards. High concentrations of monosulfuron (higher than $4.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) inhibited activity of soil microorganisms significantly and the highest inhibition percentage of carbon dioxide emission was as much as 26.55%. The soil respiration activity recovered after incubation for 12 days. In the treatment of $25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, an obvious inhibition on soil invertase and hydrogenase was observed, and the inhibition percentage of enzyme activity was 5.53%~51.72% and 16.06%~21.76%, respectively. The treatment of $0.025\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ monosulfuron inhibited the activity of invertase in the early stage (the inhibition percent was as much as 20.23%), but had no effect on hydrogenase. In the treatments of 0.25 and $2.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$, the activity of the enzymes were inhibited or increased during different period of test. Monosulfuron inhibited invertase activity obviously on the 8th day, and there was a positive correlation with the dosage of monosulfuron ($r=0.95$). The influence of monosulfuron decreased at the end of the experiments. It is therefore concluded that the herbicide monosulfuron in normal use may not cause persistent and significant effect on respiration and activity of invertase and hydrogenase of the soil.

Keywords: monosulfuron; soil microorganism; hydrogenase; invertase; soil respiration

土壤微生物是生态系统的重要组成部分,对物质循环和土壤肥力的形成有重要意义。农药对土壤微生物活动的影响是环境生物学和生态毒理学领域的研究热点之一,也是国家管理部门进行农药安全评价的重要内容。土壤呼吸作用能直接反映土壤微生物活动,土壤中的酶来自生物体(主要是土壤微生物),参与催化土壤物质循环的重要化学反应。研究农药对土

壤呼吸及土壤酶活性的影响是农药生态风险评价中的重要内容。有关磺酰脲类除草剂对土壤微生物活动以及功能的研究虽已有较多报道^[1-12],但仅涉及部分结构,其中苄嘧磺隆、玉嘧磺隆、氯嘧磺隆、烟嘧磺隆等报道相对较多,尚不全面。关于磺酰脲类除草剂对土壤转化酶活性影响的报道仅见一篇^[13]。因为化合物结构、土壤性质、研究条件以及研究指标等不同,不同报道的结果也存在差异,目前比较公认的结论是在正常剂量下磺酰脲类除草剂对土壤呼吸作用、硝化作用和

收稿日期:2005-02-09

作者简介:李永红(1971—),女,在职博士生,主要从事农药环境生物学方面研究。E-mail: bioassay@nankai.edu.cn

脱氢酶活性等影响不大,即使有影响也很短暂,很快得以恢复^[1-3,5,11-12]。

单啞磺隆是我国自主开发的新型磺酰脲类除草剂,以 30~60 g·hm⁻² 剂量施用可以有效防除小麦、玉米和谷子田双子叶杂草和大部分单子叶杂草^[4]。迄今仅见到关于单啞磺隆的作物安全性、稳定性和土壤残留的报道。鉴于磺酰脲化合物结构的细微变化就改变其环境行为及效应,对具有特殊单取代结构的单啞磺隆的相关研究有重要意义。

本文选择表征土壤微生物活性和土壤肥力的常用指标,系统研究了单啞磺隆对土壤微生物呼吸强度、土壤酶脱氢酶和转化酶活性影响的剂量效应关系以及变化动态,旨在了解其对土壤微生物的生态效应,为增进磺酰脲类除草剂环境效应的了解提供素材,为单啞磺隆的合理使用以及风险评价提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试药剂

单啞磺隆: N-[2' -(4' -甲基)啞啞基]-2-硝基苯磺酰脲, 99.6%, 由国家农药工程中心(天津)提供。

1.2 土壤

采自天津市静海县农田表层 0~15 cm 土壤(中粘土),土壤采集后立即分拣去除杂质,过 2 mm 筛,于塑料袋中冷藏保存。土壤 pH8.4(土水比为 1:2.5),阳离子代换量 14.26 cmol·kg⁻¹,比重 2.568 g·cm⁻³,全氮 6.71%,碱解氮 86.24 mg·kg⁻¹,速效钾 222.98 mg·kg⁻¹,速效磷 8.02 mg·kg⁻¹,有机质 4.84%,颗粒组成为砂粒 6%、粉粒 52%、粘粒 42%。

1.3 试验方法

1.3.1 单啞磺隆对土壤呼吸强度的影响

本文选用密闭法(直接吸收法)测定^[6]:称取 50 g 土壤,放于 50 mL 小烧杯中,缓慢均匀滴加 0.2 g·mL⁻¹ 葡萄糖溶液 5 mL,放置一段时间后用玻璃棒搅匀。在 25℃±2℃恒温箱中预培养 7 d。加入不同剂量的除草剂溶液(含有 0.2%的二甲基甲酰胺和 0.2 mg·mL⁻¹ 的 Tween 20),并补水至田间持水量(添加浓度分别为 0、0.16、0.8、4、100 μg·g⁻¹ 及浓度为 0 的含助剂对照),置于 1.5 L 磨口标本瓶中,同时放入含 35 mL 0.1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液的烧杯。每个处理设 3 个重复。于 25℃±2℃恒温处培养。第 2、4、7、10、12、17 d 取出小烧杯,换进盛有新鲜 NaOH 的小烧杯,继续培养。立即用 0.2 mol·L⁻¹ 的 HCL 滴定。按公式[1]计算 100 g 土壤的 CO₂ 释放量:

$$W=(B-D)\times C\times 44\times 100/A\tag{1}$$

式中:W 为每 100 g 干土 CO₂ 释放量,mg; B 为空白值; D 为滴定值; C 为盐酸摩尔浓度; A 为干土重,g。

1.3.2 单啞磺隆对土壤酶活性的影响

1.3.2.1 土壤的培养条件

以烘干土为基础计算尿素和单啞磺隆的添加剂量。按照每 100 g 土壤添加 25 mg 尿素氮的剂量,往快速风干土壤样品中加入适量尿素溶液,稍混匀后冷藏备用。5 g 干重的土壤中加入 4 mL 不同浓度的单啞磺隆丙酮溶液,风干后,加入待混土壤样品中,补水至田间持水量的 60%,混匀后冷藏 4 d,使样品更均匀。将样品转入 100 mL 三角瓶,用封口膜封口,25℃±2℃恒温处培养。单啞磺隆浓度分别为 0、0.025、0.25、2.5 和 25 μg·g⁻¹。设 3 个重复。定期称重补水并采集土壤样品测定土壤脱氢酶和转化酶活性。

1.3.2.2 土壤转化酶活性测定

参考文献[17]方法略加改动,葡萄糖测定采用二硝基水杨酸(DNS)法。简述如下:反应在 10 mL 具刻度试管中进行。1 g 土壤样品中加入 2 mL 蒸馏水,混匀,加入 0.2 mL 甲苯处理 15 min。而后,加入 3 mL 溶于 0.2 mol·L⁻¹、pH 5.5 的磷酸缓冲液的 5%蔗糖溶液,混匀,用封口膜封口后于 37℃±0.5℃温箱内反应。设不加土壤和不加蔗糖的对照处理。反应 21 h 后,加入 38℃蒸馏水至 10 mL,混匀后继续培养 1 h。取上清液 1 mL 加入 DNS 试剂 1 mL,沸水浴 5 min 以后用流水冲洗降温,定容至 10 mL,于 540 nm 测定吸光度。以每 g 烘干土产生的葡萄糖的 mg 数表示土壤转化酶活性。

1.3.2.3 土壤脱氢酶活性测定^[18]

在 0.5 g 土壤中,加入 0.25 mL 0.005 kg·L⁻¹ 葡萄糖溶液和 0.1 mL 0.03 kg·L⁻¹ TTC 溶液,27℃±1.0℃反应 24 h。加入 5 mL 甲醇,剧烈振荡 5 min,4 000 r·min⁻¹ 离心 5 min。上清液于波长 485 nm 处测定吸光度。以每 g 烘干土产生的三苯基甲脞的 μg 数表示土壤脱氢酶活性。

2 结果

2.1 单啞磺隆对土壤呼吸的影响

不同剂量单啞磺隆处理后土壤 CO₂ 释放动态详见表 1。助剂(二甲基甲酰胺和 Tween20)的加入对土壤 CO₂ 的释放影响很小,在试验进程中接近或略低于未处理样品。试验初期的 2 d 内,土壤中单啞磺隆

浓度不超过 $0.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 时, CO_2 释放量略高于未处理土壤和含助剂对照; 至 4 d 以后不超过 $0.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单噻磺隆处理的土壤 CO_2 释放量与未处理土壤和含助剂对照相比差别不明显。0~12 d 内, 土壤中单噻磺隆的浓度等于或超过 $4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 后, CO_2 的释放量持续显著低于未处理土壤和含助剂对照, 单噻磺隆浓度越高差异越大; 12 d 以后各处理间土壤呼吸差异不显著。

分析试验期间土壤 CO_2 累计释放量的差异可以看出, 未处理土壤、含助剂对照、 $0.16\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 等 4 种处理无显著差异; $4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $100\text{ }\mu\text{g}\cdot$

g^{-1} 单噻磺隆对土壤 CO_2 的释放有一定的抑制作用, 见图 1, 对 CO_2 释放总量的抑制率分别为 8.46% 和 13.07%, 见表 2。

2.2 单噻磺隆对土壤转化酶的影响

土壤中添加单噻磺隆后土壤转化酶活性变化动态如图 2 所示。在试验期间, 未处理土壤的转化酶活性在前 4 d 变化不明显, 至 12 d 前表现出缓慢上升的趋势, 12 d 以后有波动, 处于相对较高水平。 $0.025\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 和 $0.25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单噻磺隆处理后土壤转化酶变化趋势与未处理土壤相比略有不同, 0~8 d 时呈略有

表 1 土壤中 CO_2 释放量的变化(以干土计)($\times 10^{-2}\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
Table 1 Changes of CO_2 emission from the soil ($\times 10^{-2}\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ dry soil)

剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0~2 d	2~4 d	4~7 d	7~10 d	10~12 d	12~17 d	合计
100	53.66**	54.65**	79.83**	80.44**	57.72**	112.38	438.69
4	59.49**	60.18**	90.27**	81.61**	58.34**	112.07	461.95
0.8	76.76**	74.92	95.18*	84.13	63.25	112.99	507.23
0.16	75.53*	74.30	100.09	84.74	63.32	113.60	511.60
0"	73.08	73.08	99.48	83.51	63.13	112.38	499.93
0	74.30	74.30	100.09	84.93	62.94	114.22	510.79

注: * $P<0.05$; ** $P<0.01$ 。0 为空白对照, 加入等量蒸馏水; 0" 为含助剂对照, 加入配置单噻磺隆溶液使用的溶剂(二甲基甲酰胺)和乳化剂(Tween20)。

表 2 单噻磺隆对土壤中 CO_2 释放量的影响(抑制百分数, 以加入含助剂的样本为对照)
Table 2 Effects of Monosulfuron on CO_2 emission from the tested soil (Inhibition percentage, compared with the soil containing DMF and Tween 20)

剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0~2 d	2~4 d	4~7 d	7~10 d	10~12 d	12~17 d	合计
100	26.55	25.21	19.75	3.68	8.56	0.00	13.07
4	18.57	17.65	9.26	2.28	7.59	0.27	8.46
0.8	-5.04	-2.52	4.32	-0.74	-0.19	-0.55	-0.51
0.16	-3.36	-1.68	-0.62	-1.47	-0.29	-1.09	-1.38
0"	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
0	-1.68	-1.68	-0.62	-1.69	0.29	-1.64	-1.22

说明: 同表 1。

下降的趋势, 8 d 时显著低于未处理土壤, 而后酶活性开始上升, 在 12 d 时和未处理土壤一致达到较高水平并进入平台期, 单噻磺隆的影响消失。 $2.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单噻磺隆处理土壤后, 转化酶活性在前 4 d 略微上升, 而后下降, 在第 8 d 时显著低于未处理土壤, 之后酶活性显著增加并在 12 d 时达到较高水平。与未处理对照不同的是, 在 12 d 以后, 该处理土壤转化酶活性仍有增加的趋势, 并在试验结束时略高于未处理土壤。 $25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单噻磺隆处理后土壤中转化酶活性始终低于未处理土壤, 随时间进程的变化趋势与其他浓度处理相似, 同样也是 8 d 前缓慢降低, 而后快速增加进入平台期。

2.3 单噻磺隆对土壤脱氢酶的影响

土壤中添加单噻磺隆对土壤脱氢酶活性的影响

如图 3 所示。在试验周期内, 未处理土壤的脱氢酶活性在干土中三苯基甲腈的含量为 $2.0\sim 3.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的范围内波动变化, 第 4 d 时脱氢酶活性达到最高而后下降, 至 8 d 时进入波谷, 19 d 时出现略低于第 1 个峰值的次高峰。 $0.025\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单噻磺隆处理后土壤中脱氢酶活性变化趋势与未处理土壤相似, 差异不显著, 仅在 4 d 和 19 d 2 个峰值时有略低于未处理土壤的趋势。 $0.25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单噻磺隆处理后, 土壤脱氢酶活性变化趋势显著不同, 在 19 d 前活性一直不变, 19 d 以后活性下降, 24 d 时活性与未处理土壤相当。 $2.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单噻磺隆处理后在前 8 d 土壤脱氢酶活性持续下降, 而后活性缓慢上升于 19 d 时达到峰值, 且峰值略高于未处理土壤, 之后活性下降但仍然高于未处理土壤。 $25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单噻磺隆处理后土壤脱氢酶活性始终

显著低于未处理土壤,变化趋势也有差异,在 8 d 时达到峰值并开始下降后,至 19 d 活性保持在同一水平,变化不明显,此后活性下降。

3 讨论

前期结果表明单啞磺隆使得谷子生长 90 d 以后的土壤的脱氢酶活性、转化酶活性、脲酶活性以及纤维素分解能力发生变化^[13]。为了系统研究单啞磺隆对土壤微生物生态效应的剂量效应关系,充分评价其潜在风险,同时也为评价误用、泄露等极端情况下的超级风险提供信息,本文采用了 0.16、0.8、4.0 及 100 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 的浓度梯度,分别相当于单啞磺隆田间推荐使用剂量的 7、35、175 和 4 375 倍田间使用剂量 ($60\text{ g}\cdot\text{hm}^{-2}$, 10 cm 厚土层中的平均浓度为 $23\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$) 研究单啞磺隆对土壤呼吸的影响。为了便于和其他磺酰脲

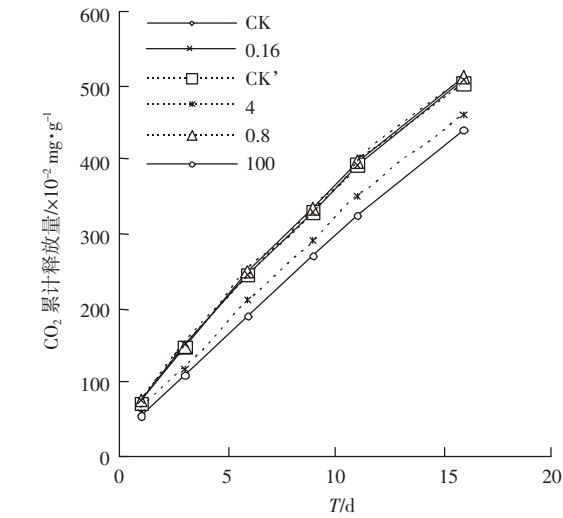


图 1 单啞磺隆对土壤 CO₂ 释放的影响

Figure 1 Effect of monosulfuron on total CO₂ emission from soil

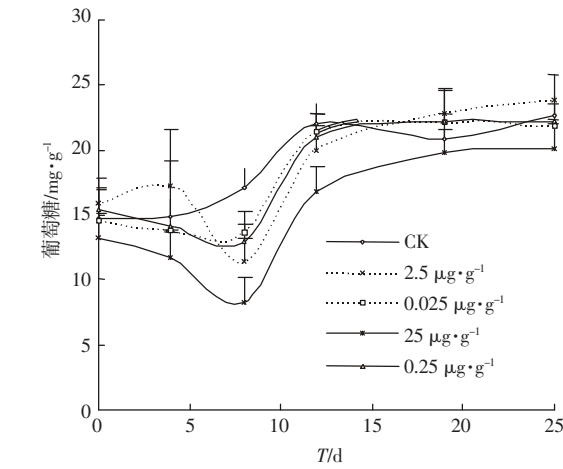


图 2 单啞磺隆对土壤转化酶的影响

Figure 2 Effect of Monosulfuron on soil invertase activity

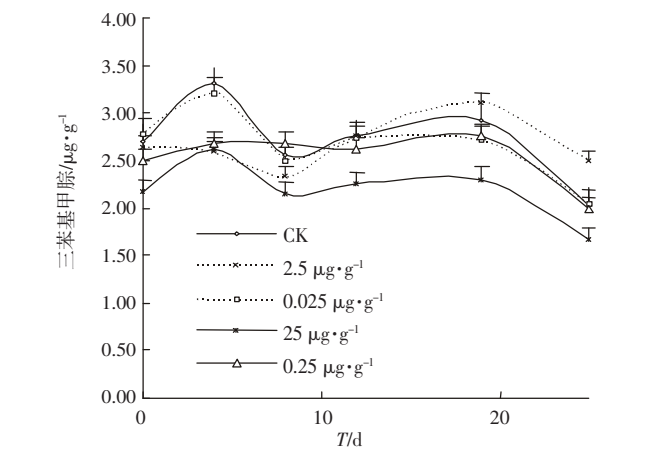


图 3 单啞磺隆对土壤脱氢酶的影响

Figure 3 Effect of Monosulfuron on soil dehydrogenase activity

类除草剂相互印证,特别采用了田间推荐剂量、10、100 和 1 000 倍的剂量梯度研究了单啞磺隆对土壤脱氢酶活性和转化酶活性的影响。

3.1 单啞磺隆对土壤呼吸的影响

土壤呼吸作用是土壤微生物生命活动中释放出 CO₂ 的过程。土壤微生物分解土壤中的有机物,释放出 CO₂ 和矿质养分,是生态系统中物质能量循环的重要环节,对 CN 的生态平衡起协调作用,既是土壤微生物活动的直接表现,也反映土壤矿化能力。已有玉啞磺隆 (Rimsulfuron)^[3,6]、氟啞磺隆 (Primisulfuron methyl)^[3]、苄啞磺隆 (Bensulfuron)^[8]、醚磺隆 (Cinosulfuron)^[8]、醚苯磺隆 (Triasulfuron)^[3,8] 等磺酰脲类除草剂对不同土壤呼吸影响的报道。醚苯磺隆、玉啞磺隆和氟啞磺隆 3 种磺酰脲类除草剂在接近田间推荐剂量 10 和 250 倍的剂量时,对休耕 5 a 的意大利沙壤土 (pH6.5) 的呼吸未表现出负效应,且高剂量 (250 倍) 在一定时间 (持续 8 d 至 20 d) 内使土壤微生物活性显著增加^[3]。单啞磺隆对土壤呼吸的作用随剂量的不同效应也不同,低浓度单啞磺隆 ($0.8\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 以下) 在试验初期表现出短暂而轻微的刺激作用;极高浓度的单啞磺隆 ($4.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 以上) 在试验过程中表现出一定程度的抑制作用,这种抑制作用随时间延续逐渐减弱,至 12 d 以后作用不明显。高浓度单啞磺隆的抑制作用与剂量有直接关系,浓度越高抑制作用越强、持续时间也越长。这一研究结果一方面说明与其他磺酰脲类除草剂一样,在常规使用剂量下单啞磺隆对土壤呼吸作用没有显著不良影响,合理使用单啞磺隆不会对土壤微生物活性造成长时间显著的影响;另一方面也说明在极端高浓度条件下单啞磺隆会对该土壤的呼吸作用产生持续性不良影响,这种效应和土壤性

质、环境条件的关系有待于进一步研究。

为了模拟田间喷施情况,试验中加入单啞磺隆的同时也引入了少量的溶剂二甲基甲酰胺和乳化剂 Tween 20。溶剂乳化剂等助剂进入土壤后对农药分子的行为和效应产生影响,同时也直接对土壤微生物产生作用。助剂仅在试验初期对土壤呼吸作用有轻微的抑制作用,从整个试验周期看来影响很小。2 种助剂和单啞磺隆 3 种有机分子共同进入土壤后,助剂使低

浓度单啞磺隆的刺激作用减弱,高浓度单啞磺隆的抑制作用增强,见表 3。助剂与单啞磺隆对土壤呼吸作用的效应是否有协同作用还需要进一步研究。

3.2 单啞磺隆对土壤呼吸影响的评价

在试验条件下,高达 100 μg·g⁻¹ 的单啞磺隆在 0~12 d 内对土壤的呼吸作用表现出一定程度的抑制作用,抑制率在试验开始时较高,为 26.55%,随时间延续抑制作用逐渐减弱,至试验结束时抑制作用消

表 3 单啞磺隆对土壤中 CO₂ 释放量的影响(抑制百分数,以加入蒸馏水的样本为对照)

剂量/μg·g ⁻¹	0~2 d	2~4 d	4~7 d	7~10 d	10~12 d	12~17 d	合计
100	27.78	26.45	20.24	5.29	8.29	1.61	14.12
4	19.93	19.00	9.81	3.91	7.31	1.88	9.56
0.8	-3.31	-0.83	4.91	0.94	-0.49	1.08	0.70
0.16	-1.66	0.00	0.00	0.22	-0.60	0.54	-0.16
0"	1.64	1.64	0.61	1.67	-0.30	1.61	2.13
0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

说明:同表 1。

失,土壤呼吸强度恢复到对照水平。由此看来,极高浓度单啞磺隆对土壤呼吸强度仅表现出短暂的一定程度的抑制作用,始终不能使土壤呼吸强度下降 50%。无论按照安全系数法、田间用量等级划分法以及危害系数法^[29],对土壤呼吸而言,单啞磺隆属于无实际危害农药。

3.3 单啞磺隆对土壤转化酶的影响

转化酶存在于所有土壤中,能催化蔗糖分子中果糖残基内的 β-葡萄糖苷碳原子的化学键裂解,使蔗糖水解成葡萄糖和果糖。土壤转化酶活性与土壤中的腐殖质、水溶性有机质和粘粒的含量以及微生物的数量及其活动呈正相关,是用来表征土壤的熟化程度和肥力水平的常用指标。前期工作中发现,土壤中单啞磺隆初始浓度为 2 至 32 倍田间剂量时,在种植谷子 90 d 以后,土壤转化酶活性接近或超过对照土壤^[13]。表 4 给出了单啞磺隆处理后土壤转化酶活性的抑制百分率。第 8 d 时单啞磺隆显著抑制土壤转化酶活性,抑制率 20.23%~51.72%,抑制率和单啞磺隆浓度呈显著正相关($r=0.95$)。田间推荐剂量(0.025 μg·g⁻¹)和 10 倍剂量(0.25 μg·g⁻¹)下单啞磺隆对土壤转化酶的影响趋势一致,在试验初期有抑制作用,抑制作用在第 8 d 时达到最高,此后抑制作用逐渐降低,至试验结束时土壤转化酶活性恢复到未处理土壤水平。100 倍田间剂量单啞磺隆(2.5 μg·g⁻¹)在试验初期和末期对土壤转化酶有一定的刺激作用,酶活性最高相

当于未处理土壤的 108.64%,仅 8~12 d 时表现为抑制作用。1 000 倍田间剂量单啞磺隆(25 μg·g⁻¹)持续抑制土壤转化酶活性,抑制作用在 8 d 时达到最高,此后有逐渐减弱的趋势。

3.4 单啞磺隆对土壤脱氢酶的影响

脱氢酶能催化有机物质的氧化反应,可以来源于所有的生物类群,因此土壤中的脱氢酶活性既反映土壤的物质代谢能力也可以间接反映土壤中微生物生物量。在浸水 21 d 后 5 和 10 倍剂量苄啞磺隆(ben-sulfuron-methyl)显著抑制水稻土(pH4.74,粉壤土)脱氢酶活性,抑制率分别为 6.9 %和 10.3 %,土壤脱氢酶含量与化合物剂量呈负相关^[11]。在田间推荐剂量下玉啞磺隆对粉黏壤土(pH8.1)土壤脱氢酶活性没有影响;高剂量(10 和 100 倍剂量)抑制土壤脱氢酶活性,高温、高湿度抑制更显著,抑制率接近 20%;随培养时间延长,土壤脱氢酶活性抑制率逐渐降低^[5]。土壤中单啞磺隆初始浓度为 2 至 32 倍田间剂量时,在种

表 4 单啞磺隆对土壤转化酶活性的影响(抑制百分数,以未处理土壤为对照)

剂量/μ g · g ⁻¹	0 d	4 d	8 d	12 d	19 d	25 d
25.0	10.24	20.69	51.72	23.46	5.53	11.16
2.5	-8.64	-16.68	33.43	9.36	-8.81	-5.35
0.25	-5.13	4.82	24.79	4.76	-5.95	1.65
0.025	0.69	6.89	20.23	2.92	-6.14	3.01

植谷子 90 d 以后,土壤脱氢酶活性显著受到抑制,抑制率超过 30%^[13]。

本试验研究了田间推荐剂量、10、100 和 1 000 倍剂量下单啞磺隆对土壤脱氢酶在 25 d 内的变化情况。结果表明,和玉啞磺隆一样,在田间推荐剂量下单啞磺隆对土壤脱氢酶影响没有明显影响,10 和 100 倍剂量仅在实验初期显著抑制土壤脱氢酶活性,第 4 d 时抑制作用最明显,抑制率分别达到 18.59%和 21.47%,见表 5。与玉啞磺隆不同的是,在试验后期 100 倍剂量单啞磺隆使土壤脱氢酶活性超过未处理土壤,19 d 和 25 d 时活性分别为未处理土壤的 106.21%和 123.53%,表现出增益作用。当单啞磺隆浓度为 1 000 倍超高剂量时,土壤脱氢酶活性受到持续抑制作用,抑制率为 16.06%~21.16%。本结果说明,前期试验中土壤脱氢酶活性的显著抑制作用不是单啞磺隆直接对土壤微生物活性或对土壤酶作用的结果,反映了土壤、作物和除草剂相互作用的综合结果。

从本试验结果来看,单啞磺隆和其他磺酰脲类除草剂一样,合理使用情况下对土壤的呼吸作用没有持续显著抑制作用,亦即单啞磺隆对土壤中总的微生物活性没有显著不良影响。合理使用的单啞磺隆对土壤脱氢酶活性和转化酶活性亦无显著影响。

4 结 论

(1)在试验浓度范围内,单啞磺隆对供试土壤的呼吸作用没有持续显著抑制作用,亦即单啞磺隆对土壤中总的微生物活性没有显著不良影响,属于无实际危害农药。

(2)第 8 d 时,单啞磺隆显著抑制土壤转化酶活性,且抑制作用和单啞磺隆浓度表现出正相关 ($r=0.95$); 不超过 10 倍田间推荐剂量单啞磺隆($0.025\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)对土壤转化酶的抑制作用很短暂,处理 12 d 以后抑制作用消失。

(3)田间推荐剂量单啞磺隆($0.025\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)对脱氢酶活性没有明显影响。 0.25 和 $2.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ 单啞磺隆在

表 5 单啞磺隆对土壤脱氢酶活性的影响(抑制百分数,以未处理土壤为对照)

剂量/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	0 d	4 d	8 d	12 d	19 d	25 d
25.0	19.51	20.76	16.06	18.33	21.16	18.54
2.5	2.22	21.47	9.00	-0.02	-6.21	-22.53
0.25	7.29	18.59	-4.88	4.61	5.24	2.30
0.025	-3.05	2.86	2.70	0.38	7.04	-0.37

试验不同时期对土壤脱氢酶活性有轻微刺激作用或抑制作用,效应持续时间短暂。

(4)极高浓度单啞磺隆($25\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)持续显著抑制土壤转化酶和脱氢酶活性。

参考文献:

[1] Dumontet S P, Perucci A Scopa, Ricciardi A. Sulfonyleureas: Preliminary Study on the effect on selected microbial strains and soil respiration [J]. *Soil Sci*, 1993, 1:193-198.

[2] Junnila S, Heinonen-Tanski H, Ervio L R, et al. Phytotoxic persistence and microbiological effects of chlorsulfuron and metsulfuron in Finnish soils.[J]. *Weed Res*, 1994, 34:413-423.

[3] Dinelli G, Vicari A, Accinelli C. Degradation and side effects of three sulfonyleurea herbicides in soil [J]. *Journal of Environmental Quality*, 1998, 27:1459-1464.

[4] Ismail B S, Yapp K F, Omar O. Effects of metsulfuron-methyl on amylase, urease, and protease activities in two soils [J]. *Aust J Soil Res*, 1998, 36:449-456.

[5] Perucci Piero, Vischetti Costantino, Battistoni Fabrizio. Rimsulfuron in a silty clay loam soil: effects upon microbiological and biochemical properties under varying microcosm conditions [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31(2):195-203.

[6] Perucci P, Dumontet S, Bufo S A, et al. Effects of organic amendment and herbicide treatment on soil microbial biomass[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2000, 32(1):17-23.

[7] El-Ghamry A M, Huang C Y, Xu J M. Combined effects of two sulfonyleurea herbicides on soil microbial biomass and N-mineralization [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2001, 13(3):311-317.

[8] Allievi L, Gliotti C. Response of the bacteria and fungi of two soils to the sulfonyleurea herbicide cinosulfuron [J]. *J Environ Sci Health B*, 2001, 36(2):161-175.

[9] El-Ghamry A M, Xu J M, Huang C Y, Gan J. Microbial response to bensulfuron-methyl treatment in soil[J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(1):136-139.

[10] Michael J L. Environmental fate and impacts of sulfometuron on watersheds in the southern United States[J]. *J Environ Qual*, 2003, 32(2): 456-465.

[11] Xie X M, Liao M, Huang C Y, et al. Effects of pesticides on soil biochemical characteristics of a paddy soil [J]. *J Environ Sci (China)*, 2004, 16(2):252-255.

[12] Saeki Masao, Toyota Koki. Effect of bensulfuron-methyl (a sulfonyleurea herbicide) on the soil bacterial community of a paddy soil microcosm[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2004, 40(2):110-119.

[13] 李永红,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]. 农业环境科学学报, 2004, 23(3):633-637.

[14] 李正名,贾国峰,王玲秀,等. 防治玉米田杂草组合[P]. CN1106393A, 1995. 1-5.

[15] 姚 斌,汪海珍,徐建民,等. 除草剂对水稻土微生物的影响[J]. 环境科学学报, 2004, (2):173-178.

[16] 蔡道基. 农药对土壤微生物活性影响[A]. 见:蔡道基编著. 农药环境毒理学研究[C]. 北京:环境科学出版社, 1999. 175-180.

[17] 中国科学院南京土壤研究所土壤微生物研究室. 土壤微生物研究法[M]. 北京:科学出版社, 1985.

[18] G Carbonell, M V Pablos, P Garcia, et al. Rapid and cost-effective multiparameter toxicity tests for soil microorganisms[J]. *The Science of the Total Environment*, 2000, 247:143-150.