

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20141024001

谷盼妮, 王美娥, 陈卫平. 环草隆对城市绿地重金属污染土壤有机氮矿化、基础呼吸及相关酶活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2015, 10(6): 80-92
Gu P N, Wang M E, Chen W P. Effects of siduron on organic nitrogen mineralization, basal respiration and related enzyme activities in heavy metal polluted urban soil [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2015, 10(6): 80-92 (in Chinese)

环草隆对城市绿地重金属污染土壤有机氮矿化、基础呼吸及相关酶活性的影响

谷盼妮^{1,2}, 王美娥^{1,*}, 陈卫平¹

1. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085

2. 中国科学院大学, 北京 100039

收稿日期: 2014-10-24 录用日期: 2014-12-18

摘要: 城市土壤重金属和有机污染物复合污染广泛存在, 而城市草坪除草剂的应用使城市绿地土壤的农药污染问题成为了新的关注点。为了准确评价城市绿地重金属污染土壤的农药污染生态风险, 选择不同重金属污染程度的土壤为研究对象, 以土壤有机氮矿化量、基础呼吸以及土壤酶活性为指标, 采用室内模拟试验方法, 探讨了草坪除草剂环草隆污染对土壤微生物的生态毒理效应。结果表明: (1) 土壤有机氮矿化、基础呼吸、芳基硫酸酯酶和碱性磷酸酶对重金属和环草隆污染响应较为敏感, 脲酶和蔗糖酶对重金属和环草隆污染不敏感。(2) 环草隆浓度为 0~1 000 mg·kg⁻¹ 范围内, 和污染较轻的样点 N 土壤的碱性磷酸酶活性抑制(激活)率的线性相关关系显著, 和污染较为严重的样点 D 和 G 土壤的芳基硫酸酯酶活性抑制(激活)率的线性关系显著。(3) 土壤中环草隆对样点 D 和 G 土壤芳香硫酸酯酶活性、对样点 N 土壤碱性磷酸酶活性抑制(激活)率的 EC₁₀ 分别为 568 mg·kg⁻¹、1 306 mg·kg⁻¹(抑制值)和 56 mg·kg⁻¹(激活值)、99 mg·kg⁻¹, EC₅₀ 分别为 1 901 mg·kg⁻¹、3 806 mg·kg⁻¹、2 321 mg·kg⁻¹。以上研究结果能够为城市土壤重金属和农药复合污染生态风险评价提供基础数据和技术方法。

关键词: 城市绿地重金属污染土壤; 环草隆; 氮矿化; 基础呼吸; 土壤酶; 剂量-效应关系

文章编号: 1673-5897(2015)6-080-13 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effects of Siduron on Organic Nitrogen Mineralization, Basal Respiration and Related Enzyme Activities in Heavy Metal Polluted Urban Soil

Gu Panni^{1,2}, Wang Meie^{1,*}, Chen Weiping¹

1. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Received 24 October 2014 accepted 18 December 2014

Abstract: Combined pollution of heavy metals and organics in urban soil is ubiquitous. Herbicide such as siduron is frequently used in lawn management and pollution of these pesticides in urban soil has become a new focus. In this research, different heavy metal polluted urban soils were selected to evaluate the ecological risk of siduron pollution based on laboratory simulation experiments. Effects of siduron on soil organic nitrogen mineralization, basal

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(41271503)

作者简介: 谷盼妮(1989-), 女, 硕士生, 研究方向为土壤污染生态风险评价, E-mail: gupanniyue@126.com

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: mewang@cees.ac.cn

respiration and soil enzyme activities were studied. It was suggested that: (1) The soil organic nitrogen mineralization, basal respiration, arylsulfatase and alkaline phosphatase activities were sensitive to heavy metal and siduron pollution, while urease and invertase activities were insensitive. (2) In the range of siduron concentrations from 0 mg·kg⁻¹ to 1 000 mg·kg⁻¹, significant linear correlations were observed between siduron concentrations and the inhibition (activation) rates of alkaline phosphatase activity in slightly heavy metal polluted soil N. Significant linear relationships were also observed between siduron concentrations and the inhibition (activation) rates of arylsulfatase activities in soil D and G which were more seriously heavy metal polluted. (3) The EC₁₀s of the effect of siduron on the inhibition (activation) rates of arylsulfatase activities in soil D and G and on the inhibition (activation) rates of alkaline phosphatase activity in soil N were 568 mg·kg⁻¹, 1 306 mg·kg⁻¹(inhibiting value) and 56 mg·kg⁻¹(activation value), 99 mg·kg⁻¹, respectively. And EC₅₀s were 1 901 mg·kg⁻¹, 3 806 mg·kg⁻¹, 2 321 mg·kg⁻¹, respectively. The above results can provide basic data and technical methods for the ecological risk assessment of compound pollution of heavy metals and pesticide in urban soil.

Keywords: heavy metal polluted urban soil; siduron; nitrogen mineralization; basal respiration; soil enzyme; dose-effect relationship

城市土壤是城市生态系统的最主要组成成分,城市土壤退化也是城市生态环境问题中的一个关键环节。城市绿地土壤的主要生态服务功能体现在吸纳、滞留和转化污染物,在化学饱和之前对污染物起着净化作用,其次是为绿色植物、土壤动物和微生物提供栖息地和能量,因此,城市绿地土壤对城市的可持续发展具有重要意义^[1]。

草坪生态系统作为一个具有自净功能的子系统,已成为城市生态系统的重要组成部分,近年来,北京市的草坪面积一直呈高速增长态势,平均每年新增草坪面积约 150 多万 m²,截止到 2008 年底北京市草坪总面积已达到 14 733 万 m²,人均拥有草坪面积量居全国前列。草坪面积的快速增长在美化城市环境、为人们提供更多休闲运动场所的同时,由于在养护过程中使用了大量化肥农药,对大气、水体和土壤产生的农药面源污染问题日显突出^[2]。而土壤重金属污染是城市绿地土壤的重要特征之一^[3-4],对于怎样应对在应用草坪生态系统过程中所产生的一些问题是当前在大规模进行城市生态建设中值得认真探索和解决的重要课题^[5]。

在北方地区,草坪中禾本科杂草的主要种类为马唐、稗草、狗尾草和牛筋草,它们普遍表现为种子寿命长及非连续性萌发造成发生不整齐,繁殖率高,分蘖和根系扩展快,抗药性强,具有比草坪草更高的抗逆性和竞争力,其存在严重影响观瞻和草坪草的管理。目前对于禾本科杂草防除常用的草坪除草剂品种有消禾、消杂、镉莎、环草隆等。其中,环草隆是北方城市应用较为广泛的一种冷季型草坪播后苗前

最优秀的草坪除草剂,制剂为 50% 可湿性粉剂,对草坪种子的萌发无不良影响,可以有效地控制狗尾草、止血马唐、毛雀麦和稗草。Martens 和 Bremner^[6]研究了 9 种苗前除草剂和 9 种苗期除草剂对土壤中尿素的水解和尿素氮的硝化作用的影响,结果表明,在某一尿素氮浓度下,只有环草隆对土壤的硝化作用没有影响。Fields 和 Hemphill^[7]的研究也表明,环草隆能减少一些土壤固氮菌的数量,对土壤固氮作用产生影响,但不会破坏土壤的氮素平衡。可见,环草隆对土壤的干扰程度相对较小。

至今为止对草坪除草剂的生态环境效应研究大多关注于对地下水的生态风险,Starrett 等^[8]对草坪除草剂 2,4-D 等的研究结果表明,草坪灌溉频率对除草剂的往下迁移具有重要影响,灌溉频繁容易导致 2,4-D 的向下淋溶。Hixson 等^[9]对草坪除草剂西马津的研究结果表明,在草坪生态环境中,西马津由于较强的生物降解作用以及与土壤有机质的紧密结合导致其淋溶比例极小。早期的研究结果表明,环草隆淋溶较少,较多累积于表层土壤,生物降解速率中等,对一些土壤细菌如 *Azotobacter* sp. 和 *Chlorella vulgaris* 的生长具有抑制作用^[7,10]。而关于环草隆的其他生态效应和环境行为如对土壤微生物毒性效应的报道相对较少。

氮的矿化作用是由微生物直接参与的将土壤有机氮转化为无机 NH₄⁺ 的生物化学过程,矿化氮的高低反映了土壤有机氮的矿化能力和氮的生物有效性^[11]。土壤呼吸是表征土壤质量和肥力的重要生物学指标,它反映了土壤生物活性和土壤物质代谢的

强度。土壤酶广泛存在于土壤中,它与土壤微生物一起共同推动土壤代谢过程^[12],容易受到外来环境的影响。Rajapaksha 等^[13]认为,土壤酶活性是最能直接反映土壤环境质量状况的指标。土壤脲酶直接参与土壤中含氮有机化合物的转化,其活性强度与土壤氮素供应水平密切相关。土壤芳基硫酸酯酶能酶促土壤有机硫的矿化,在硫素的生物化学循环和植物的硫营养中具有重要的作用,是反映土壤质量的一个重要生物学指标。土壤蔗糖酶直接参与土壤碳素循环,其活性反映了土壤有机碳积累与分解转化的规律。土壤碱性磷酸酶是碱性土壤有机磷矿化的主要动力。所有的这些指标的单独或综合变化都能够反映土壤生态功能的变化,因此在指示土壤生态功能生态效应中具有重要作用。

在土壤污染生态风险评价中,污染物剂量与生态效应之间的定量关系极为重要。由于生物学反应在较长时间内或者较广污染物浓度范围内一般呈非线性,因此,使生物指示物反应法评估土壤污染风险变得较为复杂。本研究以常用草坪除草剂环草隆为例,通过其对土壤微生物活性及土壤酶活等方面的影响研究,试图筛选出一个或几个对环草隆污染敏感的与土壤生态功能有关的指标,同时确定其与土壤污染物浓度之间呈线性关系的污染物浓度范围,为准确定量污染物剂量与土壤生态功能效应之间的相关关系,为城市土壤污染的生态风险评价提供理论基础和数据支持。

1 材料与方法 (Materials and methods)

1.1 仪器与试剂

仪器:激光粒度仪 Malvern Master Sizer 2000 (Malvern Co., England), Elementar Vario EL III (Hanau Germany), 紫外分光光度计 UV-1700 (Shimadzu, Japan), 多功能酶标仪 SPECTRA max 190 (Molecular Devices Co., America)。

试剂:环草隆,50%可湿性粉剂;重金属含量测定所用试剂为国产优级纯试剂;其他步骤所用试剂为国产分析纯试剂。

1.2 供试土壤

土壤取自北京市南馆公园,采用五点混合采样法采取 0~20 cm 表层土壤,选取不同重金属污染程度的 3 个样点 N、D、G(污染程度:N<D<G)分别采样。土样去除石块及植物根系后,过 2 mm 筛,一部分新鲜土壤样品装入无菌自封袋置于 4 °C 冰箱保存,用于培养,供各试验指标分析;一部分土壤样品

风干,用于土壤理化性质分析。

1.3 实验方法

1.3.1 试验设计及土壤处理

环草隆建议施用量:50%环草隆可湿性粉剂 4.5~13.5 kg·ha⁻¹。按 10 kg·ha⁻¹计算每千克土壤中环草隆实际施用量得值 3.33 mg·kg⁻¹,在此基础上以每增加一个数量级的方式确定本实验环草隆添加浓度为:0、3、30、300、1 000 mg·kg⁻¹。称取 300 g 新鲜土壤于 500 mL 三角瓶中,将环草隆用蒸馏水溶解配制成相应浓度的水溶液添加到供试土壤中,反复搅拌,充分混合,使污染物在土壤中分布均匀。将土壤含水量调至田间持水量的 60%,覆盖无菌封口膜,置于 25 °C 恒温培养箱中避光培养。每隔 2~3 天用称重法调节土壤含水量,实验持续时间为 32 d,分别于培养第 1、7、15、32 天取样测定。将其中一部分土壤风干,用于土壤脲酶、芳基硫酸酯酶、蔗糖酶和碱性磷酸酶活性测定,其余新鲜土壤用于土壤有机氮矿化量、基础呼吸的测定,每处理重复 3 次。

1.3.2 测定方法

土壤理化性质的测定:土壤质地划分为粘粒、粉粒、砂粒,0.5 mol·L⁻¹ NaPO₃ 处理后,用激光衍射系统 Malvern Master Sizer 2000 (Malvern Co., England) 测定。测定 pH 的土水比为 1:5,土样与去离子水充分混匀,静置 30 min 后测定。土壤有机碳的测定选用盐酸处理法^[14],预处理后,使用元素分析仪 Elementar Vario EL III (Hanau Germany) 测定有机碳含量。

土壤重金属含量的测定:取过 100 目的土壤样品 0.25 g,用土壤环境监测技术规范(HJ/T 166—2004)中的 HCL-HNO₃-HF-HClO₄ 法消解土壤,消解产物加 1~3 滴体积比为 1:1 盐酸,用超纯水定容至 50 mL,用石墨炉原子吸收分光光度计测定 Cd 含量,用 ICP-MS 测定 Cu、Pb 和 Zn 含量。

土壤酶活性测定:脲酶活性测定采用苯酚钠-次氯酸钠比色法^[15],生成的 NH₃-N 在酶标仪波长 578 nm 处比色,酶活性用 μg·NH₃-N(g·3 h)⁻¹ 表示。芳基硫酸酯酶活性的测定选用氢氧化钠-氯化钙比色法^[16],生成的 n-硝基酚在酶标仪波长 400 nm 处比色,酶活性用 μg·n-硝基酚(g·3 h)⁻¹ 表示。蔗糖酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[17],生成的 3-氨基-5-硝基水杨酸在酶标仪(SPECTRA max 190)波长 508 nm 处比色,酶活性用 mg·葡萄糖(g·12 h)⁻¹ 表示。碱性磷酸酶活性测定采用磷酸苯二钠比色

法^[18],生成物用酶标仪在波长 660 nm 处比色,酶活性用 $\mu\text{g}\cdot\text{酚}(\text{g}\cdot 24\text{ h})^{-1}$ 表示。

土壤有机氮矿化量采用厌气培养法^[19],铵态氮用 KCL 浸提-靛酚蓝比色法于紫外分光光度计(UV-1700)波长 625 nm 处比色测定。

土壤基础呼吸采用密闭碱液吸收法^[18]。

1.3.3 结果计算

土壤微生物及土壤酶活各指标受环草隆影响的抑制(激活)率采用如下公式计算:

$$R = (b-a)/a \times 100\%$$

式中: R 为抑制(激活)率(%),正值表示激活作用,负值表示抑制作用; a 为对照组测定值; b 为环草隆处理组测定值。

1.3.4 实验数据分析

采用 SPSS 18.0 软件进行单因子回归分析、多重比较和相关分析; DPS 7.05 软件进行方差分析

(ANOVA); Sigmaplot 12.0 软件作图。

2 结果与分析 (Results and analysis)

2.1 方差分析

不同样点土壤、培养时间和环草隆浓度对各试验指标影响的方差分析结果见表 1。由表 1 可知,不同样点土壤、培养时间和环草隆浓度对土壤微生物各指标的影响均达到极显著水平($P < 0.01$)。

2.2 不同样点土壤对各试验指标的影响

各样点土壤基本理化性质与重金属含量见表 2。如表 2 所示,3 个样点土壤的 pH 值都大于 8,为碱性土壤;有机碳含量高低顺序为:G>D>N,最高含量为 1.94%;样点 D 土壤粘粒含量最低只有 1.97%,其他 2 种土壤的粘粒含量都超过了 20%;样点 N 在 3 个样点土壤中 4 种重金属含量均最低,然而除了 Pb 含量未达到一级标准以外,Cd 的含量超过了一

表 1 不同样点土壤、培养时间和环草隆浓度对试验指标的方差分析

Table 1 Variance analysis of different soils, culture time and siduron concentrations to experimental indexes

	有机氮矿化量 Organic nitrogen mineralization	土壤基础呼吸 Soil basal respiration	脲酶活性 Urease activity	芳香硫酸 酯酶活性 Arylsulfatase activity	蔗糖酶活性 Invertase activity	碱性磷酸酶活性 Alkaline phosphatase activity
土壤 Soil	0.0001**	0.0001**	0.0004**	0.0001**	0.0001**	0.0001**
培养时间 Culture time	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**
环草隆浓度 Siduron concentrations	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0001**	0.0002**

注:** $P < 0.01$ 。

Note: ** $P < 0.01$.

表 2 供试土壤基本理化性质与重金属含量

Table 2 Basic physicochemical properties and heavy metal contents of the tested soils

样点 Sampling point	酸碱度 pH	有机碳/% SOC/%	粘粒 ($< 2\ \mu\text{m}$)/% Clay	镉/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Cd/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	铜/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Cu/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	铅/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Pb/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	锌/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Zn/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
N	8.44	1.14	21.65	0.22	108	18	382
D	8.45	1.41	1.97	0.33	337	89	1 122
G	8.30	1.94	27.90	0.92	1 425	279	4 797
一级标准 Primary standard	-	-	-	0.20	35	35	100
二级标准 Secondary standard	-	-	-	0.60	100	350	300
三级标准 Three level standard	-	-	-	1.0	400	500	500

级标准, Cu 和 Zn 含量超过了二级标准。样点 D 土壤 Cd 和 Pb 含量都超过了一级标准, Cu 超过了二级标准, Zn 含量远远高于三级标准, 达到了污染水平。样点 G 土壤中 Cd 含量接近三级标准, Pb 接近二级标准, 而 Cu 和 Zn 含量分别为三级标准 4 倍和 10 倍左右。根据 Hakanson 指数法^[20], 样点 N、D 和 G 土壤重金属综合污染指数分别为 8.89、17.2 和 57.8。

不同样点土壤间各试验指标背景值的多重比较结果见表 3。由表 3 可以看出, 各样点土壤间微生物指标大多存在显著差异, 样点 G 土壤的氮矿化量和土壤基础呼吸显著高于 N 和 D, 而样点 N 土壤的脲酶、芳基硫酸酯酶、蔗糖酶及碱性磷酸酶活性都显著高于 D 和 G。

对样点 N、D 和 G 土壤基本理化性质、重金属

含量及综合污染指数与各试验指标背景值的相关性分析见表 4。土壤基本理化性质 pH 值、有机碳及粘粒含量是影响土壤微生物活性的最重要指标。如表 4 所示, 氮矿化量、土壤基础呼吸和芳基硫酸酯酶活性与 pH 和有机碳含量呈显著和极显著相关关系, 其中, 氮矿化量和土壤基础呼吸与 pH 呈负相关, 与有机碳呈正相关, 随着 pH 增加和有机碳含量的降低, 氮矿化量和土壤基础呼吸降低; 而芳基硫酸酯酶则相反, 与 pH 呈正相关, 与有机碳呈负相关, 即, 随着 pH 值的增加和有机碳含量的降低, 芳基硫酸酯酶活性增加。另外, 氮矿化量还与粘粒含量呈显著正相关, 随着粘粒含量的增加, 氮矿化量增加。脲酶、蔗糖酶和碱性磷酸酶活性与这 3 种土壤理化性质相关性不显著。

表 3 不同样点土壤对试验指标的多重比较

Table 3 Multiple comparisons of different soils on experimental indexes

样点 Sampling point	有机氮矿化量 /(mg·kg ⁻¹) Organic nitrogen mineralization /(mg·kg ⁻¹)	土壤基础呼吸 /(mg·kg ⁻¹) Soil basal respiration /(mg·kg ⁻¹)	脲酶活性 /(μg·g ⁻¹) Urease activities /(μg·g ⁻¹)	芳基硫酸酯酶活性/(μg·g ⁻¹) Arylsulfatase activities /(μg·g ⁻¹)	蔗糖酶活性 /(mg·g ⁻¹) Invertase activities /(mg·g ⁻¹)	碱性磷酸酶活性/(μg·g ⁻¹) Alkaline phosphatase activities/(μg·g ⁻¹)
N	7.35±1.03 b	89.5±3.81 b	78.9±2.27 a	111±2.53 a	8.88±1.03 a	573±8.91 a
D	2.45±0.33 c	100±3.11 b	43.1±2.52 b	58.1±0.65 b	3.16±0.12 b	435±19.3 b
G	14.3±1.24 a	118.±5.82 a	50±6.58 b	26.7±0.88 c	2.81±0.16 b	403±13.8 b

注: $P<0.05$ 。

Note: $P<0.05$.

表 4 各样点土壤基本理化性质、重金属含量和综合污染指数与试验指标间相关性分析

Table 4 Correlation analysis of the basic physicochemical properties, heavy metal contents and the comprehensive pollution indexes of different soils and experimental indexes

	有机氮矿化量 Organic nitrogen mineralization	土壤基础呼吸 Soil basal respiration	脲酶 Urease activity	芳基硫酸酯酶 Arylsulfatase activity	蔗糖酶 Invertase activity	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase activity
酸碱度 pH	-0.852**	-0.760*	0.318	0.720*	0.485	0.598
有机碳 SOC	0.674*	0.939**	-0.426	-0.802**	-0.640	-0.657
粘粒 Clay	0.921**	0.353	0.453	-0.084	0.237	0.116
镉 Cd	0.839**	0.941**	-0.443	-0.860**	-0.642	-0.728*
铜 Cu	0.826**	0.941**	-0.466	-0.872**	-0.659	-0.747*
铅 Pb	0.768*	0.966**	-0.543	-0.915**	-0.729*	-0.801**
锌 Zn	0.829**	0.941**	-0.460	-0.869**	-0.655	-0.743*
综合污染指数 Comprehensive pollution index	0.829**	0.942**	-0.460	-0.869**	-0.656	-0.742*

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

Note: * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

氮矿化量和土壤基础呼吸与 4 种重金属含量及其综合污染指数都成显著和极显著的正相关关系,随着重金属浓度的增加和综合污染指数的升高,氮矿化量和土壤基础呼吸增加;而芳基硫酸酯酶和碱性磷酸酶活性与 4 种重金属含量及其综合污染指数呈显著和极显著的负相关关系,随着重金属浓度的增加和综合污染指数的升高,这 2 种酶的活性降低。脲酶和蔗糖酶活性与这 4 种重金属含量及其综合污染指数的相关性不显著。

因此,脲酶和蔗糖酶活性与本研究所选的土壤的基本理化性质及重金属含量相关性都不显著。

2.3 环草隆污染对各微生物指标的影响

2.3.1 环草隆污染对土壤有机氮矿化量的影响

由图 1 可知:(1)培养第 1 天和第 7 天,3 个样点土壤氮矿化量抑制(激活)率均表现出一定浓度梯度效应,随环草隆浓度的升高而升高,样点 N 呈现抑制-激活趋势,而样点 D 和 G 土壤的氮矿化量从低浓度到高浓度基本处于激活状态。培养第 15、32 天,3 个样点土壤氮矿化量抑制(激活)率的剂量-效应关系变得不明显。(2)样点 D 土壤培养第 15 天时最大添加浓度 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 氮矿化量激活率最大,

达到 1 500%,3 个土壤的氮矿化量抑制率在 $3\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 环草隆处理下达到最大,均为-100%,但是出现的时间不同,样点 N 出现在第 1 天,样点 G 出现在第 7 天,样点 D 出现在第 32 天。因此,培养第 1 天和第 7 天的土壤氮矿化量对环草隆污染响应较为敏感,并且表现为明显的剂量-效应关系。

土壤氮素矿化是有效氮主要来源之一,土壤有机质通过微生物分解、氨化、硝化等途径转化成不同形态氮供植物吸收利用。除草剂的施入对土壤微生物数量及其活性产生影响从而影响土壤氮的矿化和转化^[22]。本实验低浓度($3\sim 30\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)环草隆随处理时间变化都或多或少对 3 个样点土壤氮矿化量产生了抑制作用。EL-Ghamry 等^[23]研究表明,2 种砒啶磺隆除草剂对土壤碳、氮矿化有抑制作用。徐建民等^[11]的室内研究结果也表明,氯磺隆、甲磺隆和苄嘧磺隆等磺酰脲类除草剂均明显降低了氮的矿化量。Kizildag 等^[24]对甲氧咪草烟的研究也发现,甲氧咪草烟处理的土壤 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量显著低于对照土壤。而 Haney 等^[25]研究却发现,培养条件下除草剂阿特拉津和草甘膦对土壤碳、氮矿化有促进作用。这又与本实验高浓度($300\sim 1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)的处理结果一致。

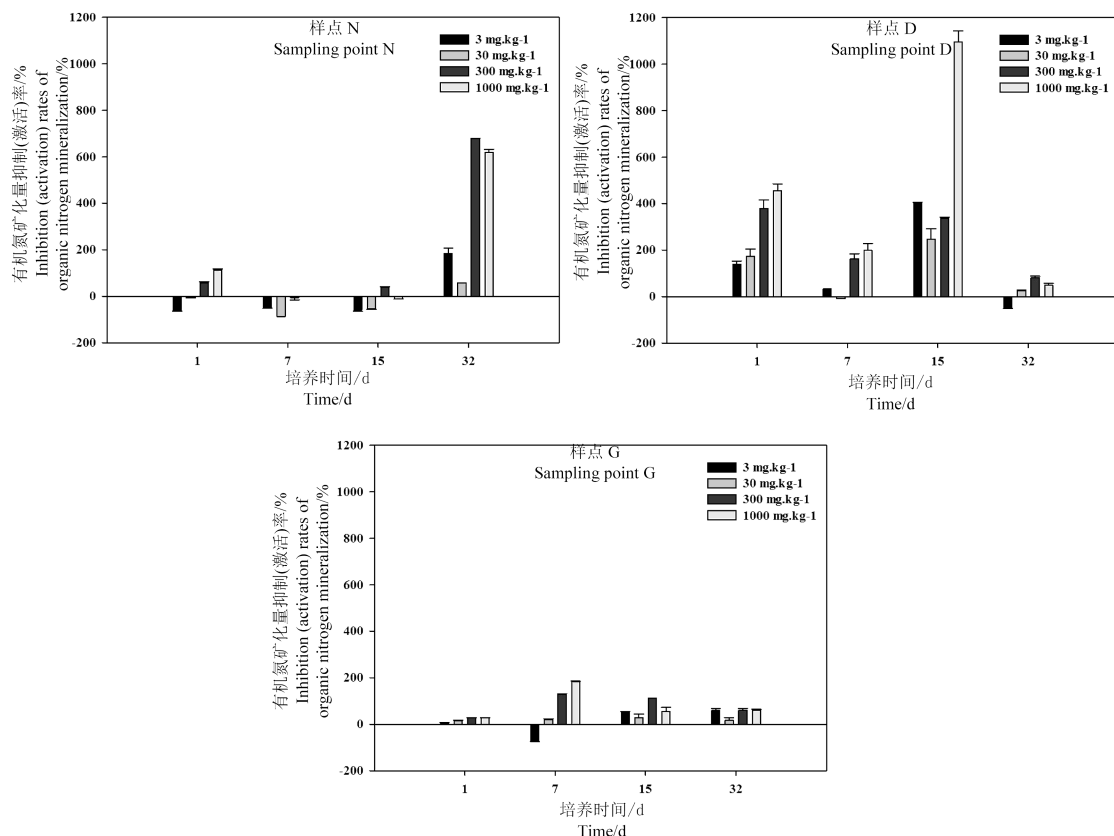


图 1 环草隆污染对土壤有机氮矿化量的影响

Fig. 1 The effects of siduron pollution on soil organic nitrogen mineralization

2.3.2 环草隆污染对土壤基础呼吸的影响

环草隆污染对土壤基础呼吸的影响见图2。由图2可以看出:(1)培养第1天,环草隆与样点N土壤基础呼吸抑制(激活)率呈现良好的剂量-效应关系,随环草隆浓度的升高,呈现抑制-激活趋势。样点G土壤基础呼吸抑制(激活)率也表现一定浓度梯度效应,随环草隆浓度升高,抑制(激活)率也有一定程度升高,但是 $30\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 两个浓度的效应差异不是很明显,而样点D土壤基础呼吸抑制(激活)率的变化则比较复杂。培养第7、15、32天,3个样点土壤基础呼吸抑制(激活)率变化均无明显的剂量-效应关系。培养第32天,3个样点土壤基础呼吸抑制(激活)率相较前几天都变小了,这可能与微生物自身的耐受作用有关^[26],也可能是环草隆在土壤中经过一段时间的平衡后,由于土壤颗粒的吸附、固定等物理化学作用,其生物有效性逐步下降^[27]。(2)培养第7天,样点D和G土壤基础呼吸均在最低添加浓度 $3\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处出现3个样点中最大抑制率-65%,最大激活率则出现在培养第1天样点N土壤的最高添加浓度 $1000\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处,为65%。

综上所述,培养第1天的土壤基础呼吸对环草隆污染响应较为敏感,并且表现出明显的剂量-效应关系。

除草剂对土壤基础呼吸的影响随环境条件的变化有不同表现。Sun等^[28]通过室内培养实验,研究了添加不同氮源条件下我国典型旱地除草剂对农田土壤呼吸和 N_2O 排放的影响,结果表明,在添加 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 氮源条件下,莠去津和百草枯对土壤呼吸无显著影响,草甘膦显著抑制了土壤呼吸,苯磺隆和乙草胺显著促进了土壤呼吸;在添加尿素的条件下,百草枯、莠去津和乙草胺对土壤呼吸无显著影响,草甘膦显著抑制了土壤呼吸,苯磺隆显著促进了土壤呼吸。姜虎生等^[29]的研究表明,乙草胺、丁酯、春多多、氟乐灵4种除草剂对土壤呼吸强度的影响表现为激活-抑制-恢复趋势。

2.3.3 环草隆污染对土壤脲酶活性的影响

由图3可知:(1)培养第7天,样点N土壤脲酶活性抑制(激活)率表现浓度梯度效应,随环草隆浓度的升高,其抑制(激活)率随之降低,呈现激活-抑制趋势,而样点D和G土壤脲酶活性抑制(激活)率的

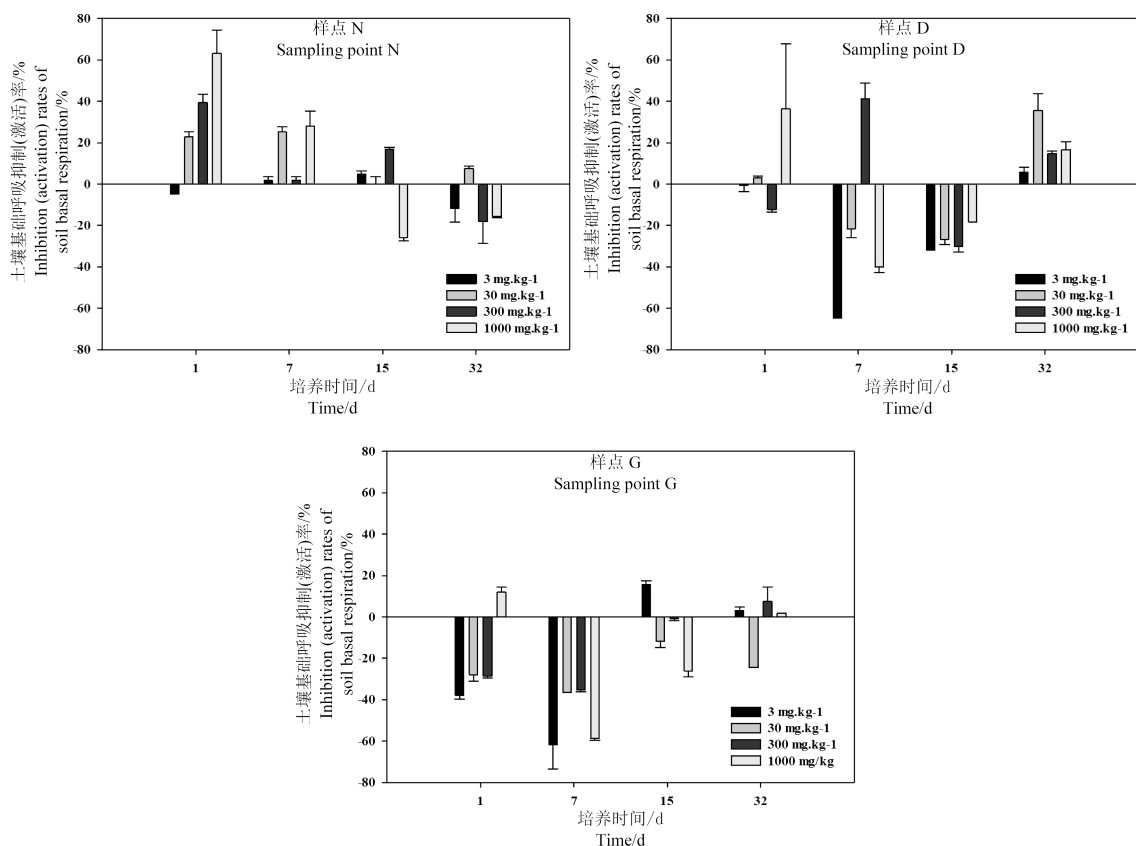


图2 环草隆污染对土壤基础呼吸的影响

Fig. 2 The effects of siduron pollution on soil basal respiration

变化均无明显的剂量-效应关系。培养第 1、15、32 天,3 个样点土壤脲酶活性抑制(激活)率的变化均没表现出梯度效应。(2)最大抑制率分别出现在培养第 7 天的样点 N 土壤最高浓度 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和培养第 1 天样点 D 土壤的 $300\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 浓度处,值为 -25%。最大激活率则在培养第 7 天的样点 D 土壤 $30\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 浓度处出现,值为 60%。综上可知,脲酶活性对环草隆污染不敏感。

脲酶是土壤中最活跃的水解酶类之一,广泛存在于细菌、真菌和高等植物中,能水解土壤中的尿素,释放出供作物利用的铵。环草隆对土壤脲酶活性的影响,培养前期以激活作用为主,随处理时间延长和环草隆浓度升高,抑制效应越来越明显。彭星等^[30]在实验室模拟条件下研究乙草胺和丁草胺这 2 种酰胺类除草剂对脲酶活性的影响时,发现均对脲酶活性有激活作用,这与本试验中酰胺类除草剂环草隆的研究结果一致。吴小毛等^[31]也发现敌草胺在低浓度时对脲酶活性有激活作用。

2.3.4 环草隆污染对土壤芳基硫酸酯酶活性的影响

环草隆污染对土壤芳基硫酸酯酶活性的影响见

图 4。由图 4 可以看出:(1)整个培养期,样点 N 土壤芳基硫酸酯酶活性抑制(激活)率均表现出一定浓度梯度效应,随环草隆浓度的升高,其抑制(激活)率有一个降低的过程,整体呈现激活-抑制趋势。样点 D 土壤芳基硫酸酯酶活性抑制(激活)率的变化在培养第 7 天表现出一定浓度梯度效应,随环草隆浓度的升高,抑制(激活)率降低,环草隆浓度与抑制(激活)率之间存在良好剂量-效应关系。样点 G 在培养 7 天以后土壤芳基硫酸酯酶活性抑制(激活)率均呈现出一定的浓度梯度效应。(2)整个培养期,最高添加浓度 $1\ 000\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 对 3 个样点土壤芳基硫酸酯酶活性均表现抑制效应,且抑制率随培养时间有增强趋势。3 个样点土壤芳基硫酸酯酶活性最大抑制率出现在培养第 32 天样点 G 的最高添加浓度,值为 -45%,3 个样点最大激活率差别不大,均为 20%。综上所述,芳基硫酸酯酶这一指标对环草隆污染比较敏感,尤其在处理后的第 7 天在 3 种土壤中都表现出明显的剂量-效应关系。

芳基硫酸酯酶能将有机硫化物水解成植物可吸收利用的无机形态,在土壤硫循环中发挥重要作用。

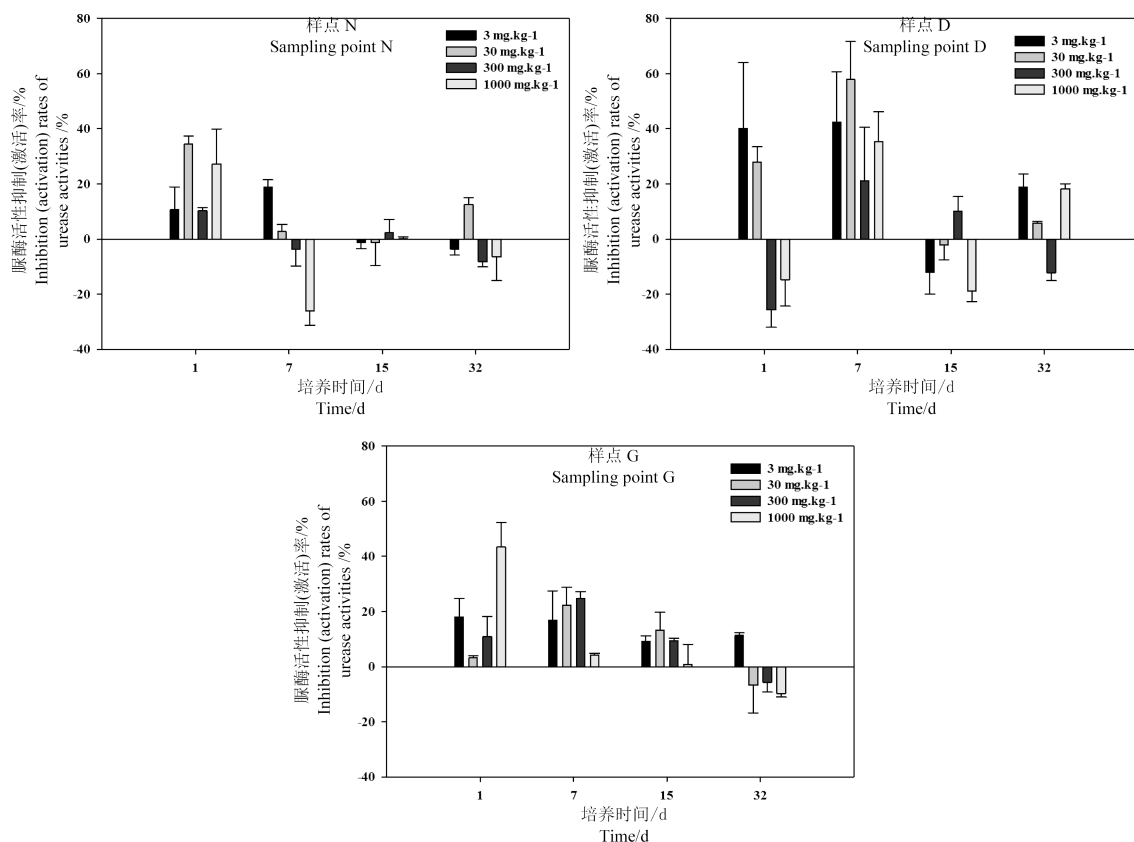


图 3 环草隆污染对土壤脲酶活性的影响

Fig. 3 The effects of siduron pollution on soil urease activities

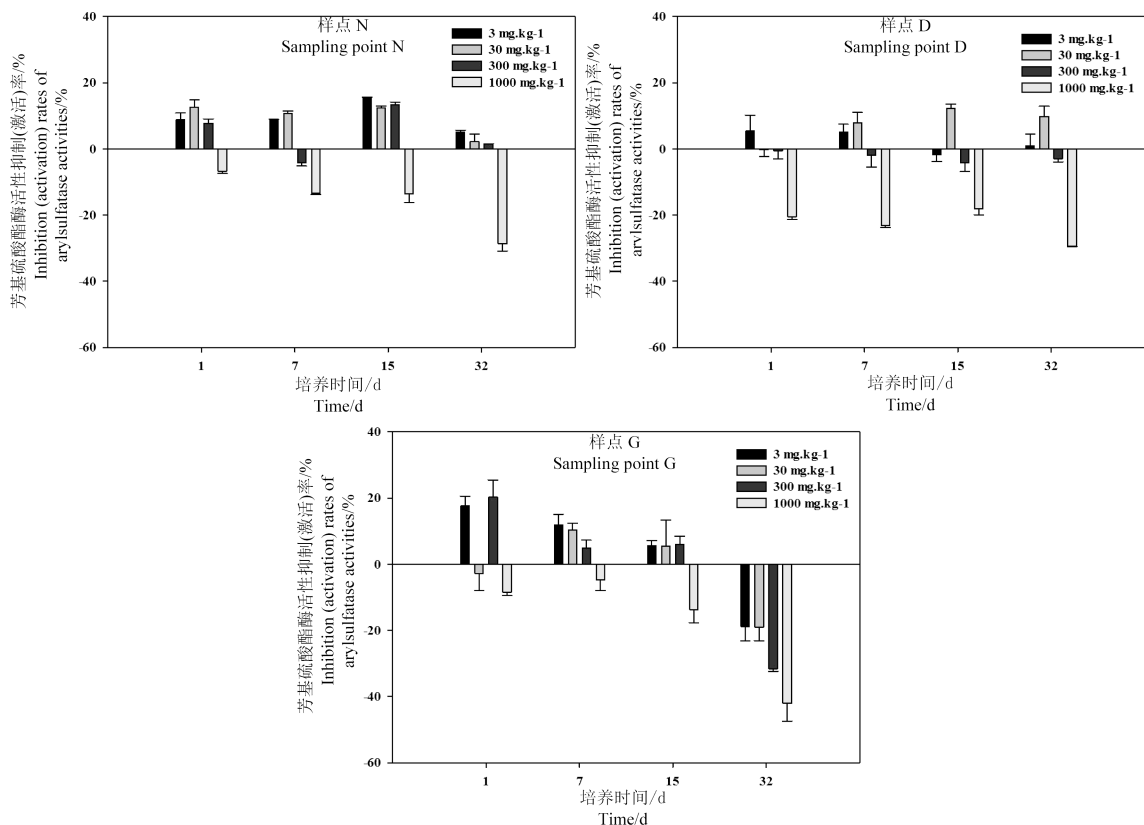


图4 环草隆污染对土壤芳基硫酸酯酶活性的影响

Fig. 4 The effects of siduron pollution on soil arylsulfatase activities

本实验环草隆高浓度(1 000 mg·kg⁻¹)处理对3个样点土壤芳基硫酸酯酶活性均表现为抑制效应,这与Bacmaga等^[32]的研究有相似结果。

2.3.5 环草隆污染对土壤蔗糖酶活性的影响

从图5可以看出:(1)整个培养期,3个样点土壤蔗糖酶活性抑制(激活)率浓度效应均不明显。(2)样点D土壤蔗糖酶活性受到的抑制效应最明显,最大抑制率分别出现在培养第15天的最低添加浓度3 mg·kg⁻¹和最高添加浓度1 000 mg·kg⁻¹,值为-13%。样点N在3个样点中呈现蔗糖酶活性最大激活率,于培养第1天的300 mg·kg⁻¹浓度处达到最大33%。由此可见,环草隆对蔗糖酶影响的剂量-效应关系不明显。

蔗糖酶属水解酶类,许多低聚糖均可被催化水解,对土壤碳循环有重要意义^[33]。环草隆对蔗糖酶活性的影响,高浓度(1 000 mg·kg⁻¹)处理随处理时间的延长,逐渐由激活转变为抑制,可以看出,大剂量的使用环草隆会对土壤蔗糖酶活性产生抑制。Sannino和Gianfreda^[34]研究了草甘膦、百草枯、莠去津、西维因4种农药对不同土壤酶活性的影响,研究

结果表明,莠去津对几乎所有土壤的蔗糖酶活性都有抑制作用。李永红和高玉葆^[35]也发现,高浓度的单啉磺隆对土壤蔗糖酶活性也有显著的抑制效应。

2.3.6 环草隆污染对土壤碱性磷酸酶活性的影响

由图6可知:(1)培养第1天,3个样点土壤碱性磷酸酶对环草隆的反应都很小。培养第7天,除了样点D土壤的最高浓度处理以外,3个土壤的碱性磷酸酶活性抑制(激活)率表现一定浓度梯度效应,随环草隆浓度升高,抑制(激活)率也升高,存在剂量-效应关系。培养第15、32天,浓度梯度效应不明显。(2)最大抑制率出现在培养第15天样点D土壤的300 mg·kg⁻¹浓度,值为-58%,3个样点最大激活率差别不大,均为40%。综上所述,培养第7天的土壤碱性磷酸酶对环草隆污染响应较为敏感,并且表现为明显的剂量-效应关系。

磷酸酶也属于水解酶类,土壤中的有机磷通常在土壤磷酸酶的酶促作用下才能转化为植物可吸收利用的形态。培养第1天,较高浓度(30~1 000 mg·kg⁻¹)环草隆对样点N和G土壤碱性磷酸酶活性表现出抑制效应,说明样点N和G土壤碱性磷酸酶对

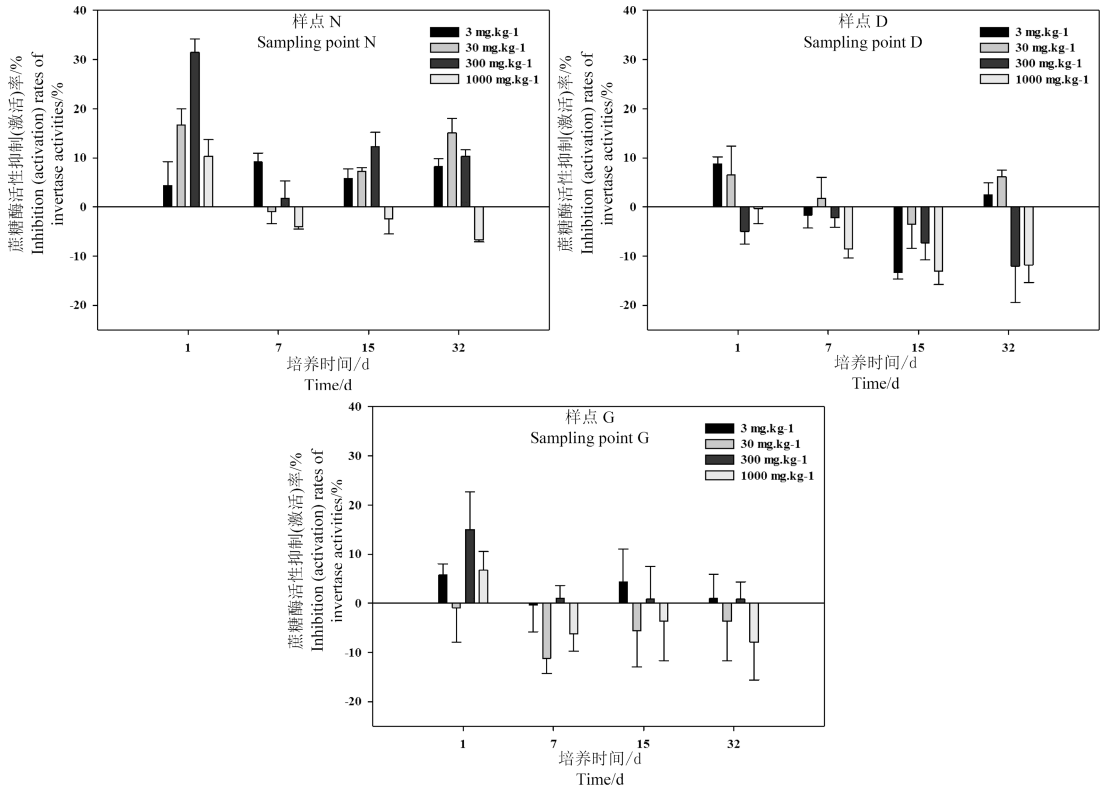


图 5 环草隆污染对土壤蔗糖酶活性的影响

Fig. 5 The effects of siduron pollution on soil invertase activities

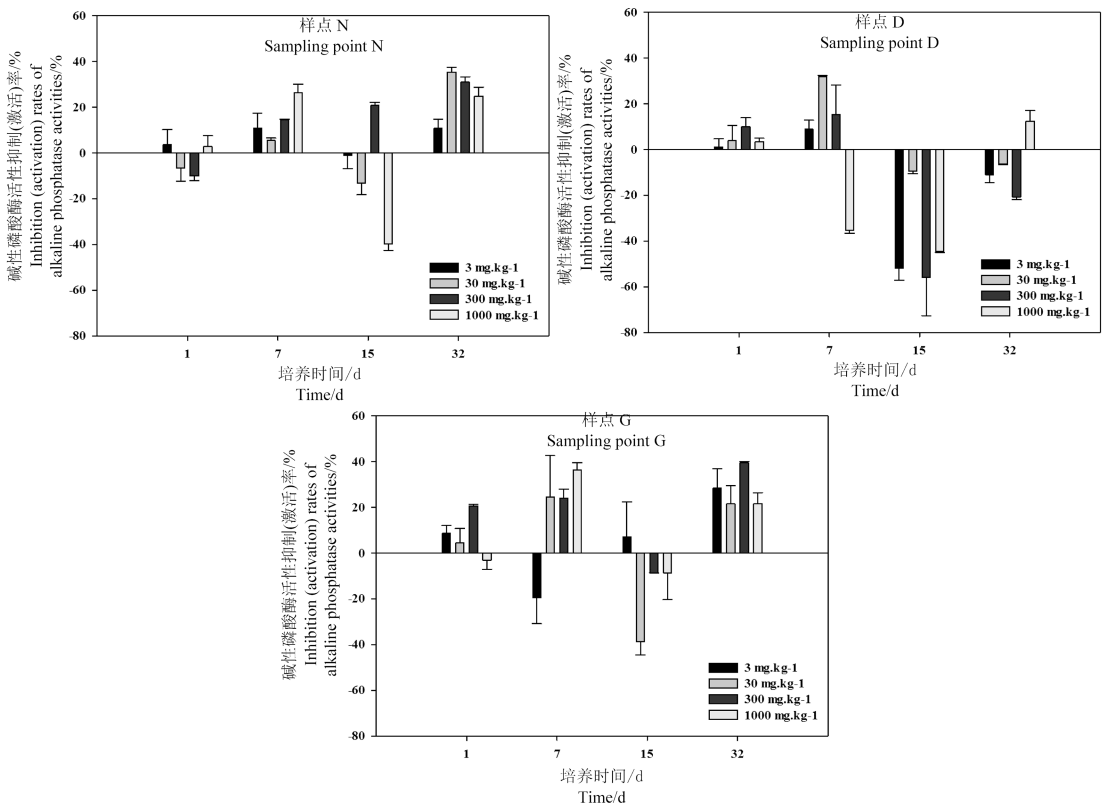


图 6 环草隆污染对土壤碱性磷酸酶活性的影响

Fig. 6 The effects of siduron pollution on the activities of soil alkaline phosphatase

较高浓度环草隆比较敏感,姜伟丽等^[36]对草甘膦的研究也有类似结果。

不同除草剂对土壤微生物种群、酶活性的影响不同,影响程度与除草剂使用的剂量有关。Tu^[37]在实验室培养条件下研究了 8 种除草剂对土壤微生物和酶的影响,结果表明,不同除草剂对微生物和酶活性影响表现有所不同。李咏玲等^[38]通过小麦盆栽实验研究了除草剂苯磺隆和 2,4-D 对小麦生长过程中土壤微生物的影响,结果表明,苯磺隆和 2,4-D 对土壤微生物量碳、氮的影响主要与处理的浓度和时间有关。除草剂的效应与土壤的理化性质、水分、温度等因素也有关,因此同类型甚至同种除草剂的效果也会不同。Malkomes^[39]用砒啶磺隆研究除草剂对土壤碳、氮的影响,结果表明,在 6 种土壤中只有 2 种土壤表现为促进氮矿化作用。由此可见,不论是在实验室培养还是盆栽或大田条件下,除草剂对土壤微生物活性都会产生影响,但随实验条件、土壤条件、除草剂种类的不同,影响效果不同,不同实验指标对除草剂的反应也不一样。因此,对除草剂使用

的生态效应评价应建立在更为广泛的实验基础上^[22]。

2.3.7 环草隆与土壤芳基硫酸酯酶、碱性磷酸酶活性抑制(激活)率剂量-效应关系研究

根据以上结果,将培养第 7 天的土壤芳基硫酸酯酶、碱性磷酸酶活性抑制(激活)率与环草隆浓度作回归分析,结果见表 5。环草隆浓度与污染较为严重的样点 D 和 G 土壤芳基硫酸酯酶活性抑制(激活)率呈现出显著的线性相关关系,而在污染程度较轻的样点 N 土壤中,环草隆浓度则与碱性磷酸酶活性抑制(激活)率呈现出显著的线性相关关系。此外,样点 D 和 G 土壤芳基硫酸酯酶、样点 N 土壤碱性磷酸酶的线性方程截距分别为 7.04、10.9、8.22,均在 10 左右,说明在不加入环草隆的情况下,这 2 种酶活性的变化范围较小。由拟合方程计算可得,土壤中环草隆对样点 D 和 G 土壤芳基硫酸酯酶活性、对样点 N 土壤碱性磷酸酶活性抑制(激活)率的 EC₁₀ 分别为 568 mg·kg⁻¹、1 306 mg·kg⁻¹(抑制值)和 56 mg·kg⁻¹(激活值)、99 mg·kg⁻¹,EC₅₀ 分别为 1 901 mg·kg⁻¹、3 806 mg·kg⁻¹、2 321 mg·kg⁻¹。

表 5 土壤芳基硫酸酯酶活性抑制(激活)率、碱性磷酸酶活性抑制(激活)率与环草隆浓度之间的关系
Table 5 Relationships between the inhibition (activation) rates of arylsulfatase and alkaline phosphatase activities and siduron concentrations

样点 Sampling point	拟合方程式 Fitting equation	决定系数 R^2	P	EC ₁₀ / (mg·kg ⁻¹)		EC ₅₀ / (mg·kg ⁻¹)		
				抑制值 Inhibiting value	激活值 Activation value	抑制值 Inhibiting value	激活值 Activation value	
				芳基硫酸酯酶 Arylsulfatase activity	N D G	$Y=-0.023X+8.21$ $Y=-0.03X+7.04$ $Y=-0.016X+10.9$	0.89 0.99 0.98	0.057 0.005 0.008
碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase activity	N D G	$Y=0.018X+8.22$ $Y=-0.057X+24.1$ $Y=0.035X+4.71$	0.92 0.84 0.43	0.039 0.083 0.345	- - -	99 - -	- - -	2 321 - -

通讯作者简介:王美娥(1975-),女,博士,副研究员,长期以来从事土壤重金属、农药单一复合污染过程与生态效应研究,已发表 SCI 论文十余篇,其中第一作者 8 篇,中文核心数篇。

参考文献 (References):

[1] 张甘霖. 城市土壤的生态服务功能演变与城市生态环境保护[J]. 科技导报, 2005, 23(3): 16-19
Zhang G L. Ecological services of urban soils in relation to urban ecosystem and environmental quality [J]. Science

and Technology Review, 2005, 23(3):16-19 (in Chinese)
[2] 高飞, 车少臣. 城市绿地化学农药面源污染控制与无公害城市绿地建设[J]. 北京园林, 2009, 25(89): 41-43
[3] Chen T B, Zheng Y M, Lei M, et al. Assessment of heavy metal pollution in surface soils of urban parks in Beijing, China [J]. Chemosphere, 2005, 60(4): 542-551
[4] Lu Y, Gong Z T, Zhang G L, et al. Concentrations and chemical speciations of Cu, Zn, Pb and Cr of urban soils in Nanjing, China [J]. Geoderma, 2003, 115(1-2): 101-111

- [5] 陈仕贵, 黄璜, 杨知建, 等. 应用草坪生态系统于城市生态建设的思考[J]. 草业科学, 2007, 24(6): 76-79
- [6] Martens D A, Bremner J M. Effects of preemergence and postemergence herbicides on urea hydrolysis and nitrification of urea nitrogen in soil [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1994, 17(4): 309-313
- [7] Fields M L, Hemphill D D. Influence of siduron and its degradation products on soil microflora [J]. *Weed Science*, 1968, 16(4): 417-419
- [8] Starrett S K, Christians N E, Al Austin T. Movement of herbicides under two irrigation regimes applied to turfgrass [J]. *Advances in Environmental Research*, 2000, 4(2): 169-176
- [9] Hixson A C, Shi W, Weber J B, et al. Soil organic matter changes in turfgrass systems affect binding and biodegradation of simazine [J]. *Crop Science*, 2009, 49(4): 1481-1488
- [10] Belasco I J, Langsdorf W P. Synthesis of C¹⁴-Labeled siduron and its fate in soil [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1969, 17(5): 1004-1007
- [11] 徐建民, 黄昌勇, 安曼, 等. 磺酰脲类除草剂对土壤质量生物学指标的影响[J]. 中国环境科学, 2000, 20(6): 491-494
Xu J M, Huang C Y, An M, et al. Effect of sulfonylurea herbicides on biological indicators characterizing the soil quality [J]. *China Environmental Science*, 2000, 20(6): 491-492 (in Chinese)
- [12] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 1-11
- [13] Rajapaksha R M C P, Tobor-Kaplon M A, Baath E. Metal toxicity affects fungal and bacterial activities in soil differently [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(5): 2966-2973
- [14] Nam J J, Thomas G O, Jaward F M, et al. PAHs in background soils from Western Europe: Influence of atmospheric deposition and soil organic matter [J]. *Chemosphere*, 2008, 70(9): 1596-1602
- [15] Gosewinkel U, Broadbent F. Conductimetric determination of soil urease activity [J]. *Communications in Soil Science & Plant Analysis*, 1984, 15(11): 1377-1389
- [16] Tabatabai M, Bremner J. Arylsulfatase activity of soils [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1970, 34(2): 225-229
- [17] Frankeberger W, Johanson J. Method of measuring invertase activity in soils [J]. *Plant and Soil*, 1983, 74(3): 301-311
- [18] 许光辉, 郑元洪. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986: 226-227, 274-279
- [19] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2008: 58-59
- [20] 李章平, 陈玉成, 杨学春, 等. 重庆市主城区土壤重金属的潜在生态危害评价[J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2006, 28(2): 227-230
Li Z P, Chen Y C, Yang X C, et al. Assessment of potential ecological hazard of heavy metals in urban soils in Chongqing City [J]. *Journal of Southwest Agricultural University: Natural Science*, 2006, 28(2): 227-230 (in Chinese)
- [21] 国家环境保护总局. GB15618—1995 土壤环境质量标准[S]. 北京: 中国标准出版社, 1995
- [22] 丁洪, 张玉树, 郑祥洲. 除草剂对土壤氮素循环的影响[J]. 生态环境学报, 2011, 20(4): 767-772
Ding H, Zhang Y S, Zheng X Z, et al. Review on the effect of herbicides on soil nitrogen cycle [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(4): 767-772 (in Chinese)
- [23] EL-Ghamry A M, Huang C Y, Xu J M. Combined effects of two sulfonylurea herbicides on soil microbial biomass and N-mineralization [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2001, 13(3): 311-317
- [24] Kizildag N, Sagliker H, Cenkseven S, et al. Effects of imazamox on soil carbon and nitrogen mineralization under Mediterranean climate [J]. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 2014, 38(3): 334-339
- [25] Haney R L, Senseman S A, Krutz L J, et al. Soil carbon and nitrogen mineralization as affected by atrazine and glyphosate [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 35(1): 35-40
- [26] 邓欢, 李小方, 黄益宗, 等. 土壤微生物污染诱导群落耐性研究进展[J]. 生态毒理学报, 2008, 3(5): 428-437
Deng H, Li X F, Huang Y Z, et al. Pollution induced community tolerance in soil microbial community: A review [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3(5): 428-437 (in Chinese)
- [27] Gianfreda L, Sannino F, Violante A. Pesticides effects on the activity of free, immobilized and soil invertase [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(9): 1201-1208
- [28] Sun Q, Shi C X, Shi K, et al. Effects of typical herbicides on soil respiration and N₂O emissions from soil added with different nitrogen fertilizers [J]. *Environmental Science*, 2012, 33(6): 1994-1999
- [29] 姜虎生, 王宏燕. 除草剂对土壤脱氢酶活性及呼吸强度的影响[J]. 吉林农业科学, 2011, 36(5): 53-55
Jiang H S, Wang H Y. Effect of herbicides on dehydrogenase activity in soil and soil respiration [J]. *Journal of Jilin Agricultural Sciences*, 2011, 36(5): 53-55 (in Chi-

- nese)
- [30] 彭星, 刘嫦娥, 段昌群, 等. 四种除草剂对土壤脲酶活性的影响研究[J]. 现代农药, 2009, 8(6): 31-36
Peng X, Liu C E, Duan C Q, et al. Effect of four herbicides on urease activity in soil [J]. Modern Agrochemicals, 2009, 8(6): 31-36 (in Chinese)
- [31] 吴小毛, 龙友华, 李荣玉, 等. 除草剂敌草胺胁迫下土壤酶的活性动态响应[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(8): 116-118
Wu X M, Long Y H, Li R Y, et al. Dynamic responses of activities of enzyme in soil to herbicide napropamide contamination [J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2013, 41(8): 116-118 (in Chinese)
- [32] Bacmaga M, Wyszowska J, Borowik A, et al. Response of fungi, beta-glucosidase, and arylsulfatase to soil contamination by Alister Grande 190 OD, Fuego 500 SC, and Lumax 537.5 SE herbicides [J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2014, 23(1): 19-25
- [33] 沈芳芳, 袁颖红, 樊后保, 等. 氮沉降对杉木人工林土壤有机碳矿化和土壤酶活性影响[J]. 生态学报, 2012, 32(2): 517-527
Shen F F, Yuan Y H, Fan H B, et al. Effects of elevated nitrogen deposition on soil organic carbon mineralization and soil enzyme activities in a Chinese fir plantation [J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(2): 517-527 (in Chinese)
- [34] Sannino F, Gianfreda L. Pesticide influence on soil enzymatic activities [J]. Chemosphere, 2001, 45(4-5): 417-425
- [35] 李永红, 高玉葆. 单啞磺隆对土壤呼吸脱氢酶和转化酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(6): 1176-1181
Li Y H, Gao Y B. Effects of monosulfuran on respiration, hydrogenase and invertase activity in soil [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2005, 24(6): 1176-1181 (in Chinese)
- [36] 姜伟丽, 马小艳, 彭军, 等. 除草剂草甘膦对棉田土壤酶活性的影响[J]. 棉花学报, 2014, 26(5): 431-437
Jiang W L, Ma X Y, Peng J, et al. Effects of glyphosate on soil enzyme activities in cotton fields [J]. Cotton Science, 2014, 26(5): 431-437 (in Chinese)
- [37] Tu C M. Effect of some herbicides on activities of microorganisms and enzymes in soil [J]. Journal of Environmental Science and Health, Part B: Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes, 1992, 27(6): 695-709
- [38] 李咏玲, 张天宝, 王惟帅, 等. 苯磺隆和 2, 4-D 对盆栽小麦土壤微生物量碳、氮的影响[J]. 核农学报, 2012, 26(4): 705-709
Li Y L, Zhang T B, Wang W S, et al. Influence of tribenuron-methyl and 2, 4-D on soil microbial biomass C (carbon), N (nitrogen) of potted wheat [J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2012, 26(4): 705-709 (in Chinese)
- [39] Malkomes H P. Influence of the sulfonylurea herbicide "Groppler" on the carbon and nitrogen mineralization in soil [J]. Zentralblatt Fur Mikrobiologie, 1990, 145(7): 529-538

