

氧化乐果对土壤酶活性的影响

和文祥^{1,2}, 郑粉莉^{1,2}, 田海霞¹

(¹西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌 712100; ²中国科学院水利部水土保持研究所, 陕西杨凌 712100)

摘要:【目的】氧化乐果是当今世界农业生产上施用的主要农药之一, 为粮食增产提供了重要保障。但大量施用带来的环境污染、农产品品质降低等问题愈来愈受到人们的关注, 因此开展其土壤生态毒理效应研究在理论和实践上具有重要意义。【方法】采用室内模拟方法, 分析了不同氧化乐果污染浓度(0.0、0.5、1.0、5.0、10.0 g a. i. ·kg⁻¹)下, 土壤中影响碳、氮、磷循环的三大水解酶(转化酶、脲酶和碱性磷酸酶)活性。【结果】氧化乐果可显著抑制土壤脲酶活性, 关系达到显著或极显著负相关; 土壤脲酶活性可作为监测土壤污染程度的指标之一; 模型 $U=A/(1+B \times C)$ 的较好拟合揭示出氧化乐果对土壤脲酶机理为完全抑制作用; 从土壤脲酶角度计算获得土壤受氧化乐果轻微、中度和严重污染的临界含量分别为0.32、2.88和11.43 g a. i. ·kg⁻¹; 而在供试氧化乐果浓度下, 转化酶和碱性磷酸酶的最大变幅分别不超过18.61%和8.36%, 揭示出转化酶和碱性磷酸酶对氧化乐果不敏感。【结论】在表征土壤氧化乐果的污染程度方面土壤脲酶最适; 土壤酶与农药之间关系受到酶种类、农药品种、土壤性质等因素的影响。

关键词: 氧化乐果; 土壤酶; 生态剂量

Effect of Omethoate on Soil Enzyme Activities

HE Wen-xiang^{1,2}, ZHENG Fen-li^{1,2}, TIAN Hai-xia¹

(¹College of Resources and Environment, Northwest Agricultural and Forest University, Yangling 712100, Shaanxi; ²Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resources, Yangling 712100, Shaanxi)

Abstract: 【Objective】 Omethoate is a major pesticide that is widely used in agricultural production in the world, and it has made an important contribution to grain production increase. Its negative influence of widely use on environment pouation has been concerned by peoples as the environment is worse and the quality of agricultural products are reduced. It is necessary and important to study soil ecological toxicity of pesticides in theory and application. 【Method】 By indoor simulation, soil enzyme activities, for example, soil invertase, urease and alkaline phosphatase, which catalyze carbon, nitrogen and phosphate nutrient cycling, were assayed in soil samples polluted by different omethaoate concentrations. 【Result】 Omethaoate could remarkably inhibit soil urease activity, their relationship reached significant and remarkable significant correlation between soil urease activity and omethaoate concentration. Soil urease activity could be one of the indexes to monitor soil pollution by omethaoate. The model $U=A/(1+B \times C)$ was a better regression equation and it showed their reaction mechanism was a full inhibition between soil urease and omethaoate. The acquired critical concentrations were 0.32, 2.88 and 11.43 g a.i. ·kg⁻¹ respectively with soils polluted slightly, medium and seriously by omethaoate. The maximum change was less than 18.61% and 8.36% for soil invertase and alkaline phosphatase activity respectively. Soil invertase and alkaline phosphatase were not sensitive to omethaoate. 【Conclusion】 Soil urease is better than invertase and alkaline phosphatase to be one of indexs of soil polluted by omethaoate. The relationship between soil enzymes and pesticides is influenced by many factors such as enzyme types, pesticide variety and soil properties.

Key words: omethaoate; soil enzyme; ecological dose

收稿日期: 2009-01-10; 接受日期: 2009-06-26

基金项目: 中国科学院西部行动计划(二期)(KZCX2-XB2-05-03)、西北农林科技大学创新团队建设计划项目(01140202)、国家自然科学基金项目(40301022)

作者简介: 和文祥(1968—), 男, 陕西黄龙人, 副教授, 博士, 研究方向为土壤生态毒理及土壤生物化学。Tel: 029-87080050; E-mail: wxhe1968@163.com

0 引言

【研究意义】农药是解决全球粮食问题的重要保障之一,每年中国农药的生产和使用量居世界第二位,约为 50~60 万 t^[1-2],土地面积为 2.8 亿 hm² 以上。其中有机氯类农药由于难降解及“三致性”等缺陷,在生产上已被淘汰或禁用,有机磷类农药得到了发展。据统计^[3],目前杀虫剂中有机磷类占 70%,其中剧毒类又占 70%。氧化乐果由于良好内吸传导性,被广泛用于防治各类刺吸式口器害虫,效果较好。但由于农药的 60%~70% 都进入土壤等环境中^[4],有时会在局部表层土壤产生大量的农药残留,污染浓度会达到很高,因而施用导致的负面效应如土壤、水体污染,粮食品质降低,对人畜健康等产生严重潜在威胁等愈来愈受到人们普遍关注,所以氧化乐果的土壤环境效应是许多学者研究的重要内容之一。土壤酶参与了土壤中发生的所有生化反应,推动了营养物质转化、能量代谢和污染物质的净化等过程的进行^[5-10]。【前人研究进展】近 20 年来,国内外学者对土壤酶与农药间关系开展了研究^[11-17],获得的结论不尽一致,如扑灭通

和氰草津激活土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶^[11];丙环唑(propiconazole),丙溴灵(profenofos),丙草胺(pretilachor)对土壤磷酸酶、脱氢酶和脲酶最大抑制率分别为 46.6%、47% 和 62%^[12];土壤脲酶受到杀虫剂显著抑制^[13];氧化乐果显著抑制脱氢酶活性^[14]。可见农药对土壤酶作用包括激活、抑制和无关 3 种类型,且影响因素较多。【本研究切入点】有关氧化乐果与土壤酶活性、特别是水解酶类关系的报道较少。【拟解决的关键问题】为此本文拟通过模拟试验,开展氧化乐果对土壤中碳、氮、磷循环的三类水解酶(脲酶、转化酶和碱性磷酸酶)活性研究,探讨两者间关系,为环境保护和农业可持续发展提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

采自西北农林科技大学资源环境学院 1977 年开始的长期肥料定位试验地壤土(土垫旱耕人为土,Earth-Cumuli-Orthic Anthrosols),先去除 0~5 cm 表层,后采集 5~15 cm 土层的土样,风干,过 1 mm 尼龙筛备用。常规方法测定土壤化学性质^[18],结果见表 1。

表 1 供试土样的化学性质

Table 1 The chemical properties of the soils tested

编号 No.	处理 Treatment	有机质 O.M (g·kg ⁻¹)	全氮 Total N (g·kg ⁻¹)	全磷 Total P (g·kg ⁻¹)	碱解氮 Alk-hydr N (mg·kg ⁻¹)	速效磷 Avail P (mg·kg ⁻¹)
1	无肥 Control	15.12	1.02	0.700	51.63	6.84
2	化肥 Chemical fertilizer	15.98	1.067	0.78	55.13	14.63
3	休闲 Fallow	16.63	1.19	0.867	60.81	29.34
4	低秸 Low-straw	17.20	1.10	0.76	54.25	13.05
5	中秸 Mid-straw	18.73	1.36	0.78	71.75	17.43
6	高秸 High-straw	20.15	1.44	0.82	86.19	17.10
7	堆肥 Manure	22.49	1.49	1.02	87.94	51.18

1.2 供试农药

40%氧化乐果(o,o-二甲基-S-甲基氨基甲酰基甲基硫代磷酸酯)乳油由河北新兴化工有限公司出品。

1.3 试验方法

向 5.0 g 土样中加入 1 ml 甲苯后,添加不同浓度(0.0、0.5、1.0、5.0、10.0 g a.i.·kg⁻¹)的氧化乐果溶液,混匀 30 min 后,分别加入酶促反应的底物和缓冲液(脲酶: 10% 尿素溶液 10 ml 和 pH 6.7 磷酸缓冲液 20 ml; 转化酶: 15 ml 8% 蔗糖溶液 pH 5.5 磷酸缓冲液 5 ml; 碱性磷酸酶: 1% 的磷酸苯二钠溶液 20 ml),

37℃ 恒温培养,定时取样比色法分别测定土壤酶活性^[19]。每处理重复 3 次,并设无土壤和无底物处理为对照。脲酶、转化酶和磷酸酶活性单位分别以 NH₃-N、葡萄糖、Ph(OH) 的量表示。

1.4 数据处理

线性拟合和多元统计分析等采用 Excel 和 DPS 统计分析软件进行。

2 结果与分析

2.1 氧化乐果对土壤脲酶活性的影响

供试土壤脲酶活性见表 2, 可看出, (1) 在氧化乐果浓度为 $0.5 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1} \text{ a.i.}$ 时, 除对低粘和堆肥处理土壤脲酶有激活作用外, 其余均为抑制作用。如 7 号土样无农药处理的脲酶活性为 $48.21 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, $0.5 \text{ g a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$ 浓度为 $49.61 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$, 增幅为 2.90%, 这可能是由于土壤有机质是酶的载体, 肥力水平越高, 有机质含量越大, 对土壤酶被保护的能力越强, 同时对农药等外源污染物的缓冲作用也越显著, 因此能有效抵抗农药的抑制作用的缘故, 但影响幅度较小。(2) 随农药浓度增加, 土壤脲酶活性持续降低, 而且在氧化乐果浓度 $1.0 \text{ g a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$ 以上时, 土壤脲酶活性达到极显著差异, 表明在供试土壤中氧化乐果较高浓度时, 氧化乐果对脲酶具有明显的抑制作用。如当浓度达到 $10 \text{ g a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时, 1 号土样脲酶活性降幅达到 68.15%, 7 号的为 64.07%, 表明由于氧化乐果的毒性较强, 在很短时间

内就会对土壤脲酶产生毒害作用, 而且由于氧化乐果在土壤中吸附等作用较弱, 进入土壤后会很快与酶作用, 瞬时完成影响。因此氧化乐果对土壤脲酶的影响与土壤肥力水平的关系相对较小。(3) Speir 等^[20-21] 从米氏动力学方程推导出的 As^{5+} 抑制土壤酶活性的两种模型: $U=A/(1+B\times C)$ 和 $U=A\times(1+D\times C)/(1+B\times C)$, 可用来拟合外源污染物浓度 (C) 与土壤酶活性 (U) 之间的关系, 并分别赋予其重要的信息, 即可反映的机理分别为完全抑制和部分抑制作用; 其中 A、B、D 为在一定底物浓度下受到抑制常数 K_i 、最大反应速度 V_{\max} 和米氏常数 K_m 以及抑制类型等共同作用下形成的复合参数, A 为污染物浓度为 0 时土壤酶活性理论值。为此本文对氧化乐果浓度 (C) 与脲酶活性 (U) 间关系采用多种模型 $U=A+B\times C$ 、 $U=A/(1+B\times C)$ 和 $U=A\times(1+D\times C)/(1+B\times C)$ 进行拟合, 结果见表 3。可

表 2 供试土壤脲酶活性

Table 2 Soil urease activities of soils tested ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)

氧化乐果浓度 Omethoate concentration ($\text{g a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$)	土样编号 Soil sample No.						
	1	2	3	4	5	6	7
0.0	33.47±0.31A	30.80±1.13B	31.35±0.96B	38.58±1.32B	44.55±1.61A	48.66±2.00A	48.21±2.20A
0.5	31.07±0.51B	29.57±0.95B	35.02±1.05A	45.79±1.71A	41.76±1.52B	39.63±1.80B	49.61±2.10A
1.0	34.25±0.49A	34.89±1.21A	31.18±0.95B	38.05±1.63B	34.55±1.50C	47.75±1.92A	47.38±2.10A
5.0	26.49±1.10C	22.31±0.71C	22.45±0.78C	21.51±0.93C	29.67±0.95D	33.57±1.52C	34.30±1.93B
10.0	10.66±0.98D	13.19±0.50D	16.54±0.70D	10.66±0.52D	16.67±0.91E	16.34±1.50D	17.32±1.14C

表 3 土壤脲酶活性 (U) 与氧化乐果浓度 (C) 的拟合方程

Table 3 The regression equations between soil urease activity (U) and omethoate concentration (C)

土样 Soil sample	拟合方程 Regression equation	生态剂量 Ecological dose ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)			相关系数 Correlation coefficients
		ED ₁₀	ED ₅₀	ED ₉₀	
1	$U = -22.252\times C + 34.531$	1.55	7.76	13.95	-0.970**
	$1/U = 0.0608\times C + 0.0245$	0.45	4.03	36.29	0.929**
2	$U = -19.273\times C + 32.512$	1.69	8.43	15.21	-0.955*
	$1/U = 0.0441\times C + 0.0286$	0.72	6.48	58.32	0.970**
3	$U = -17.304\times C + 33.018$	1.91	9.54	17.19	-0.966**
	$1/U = 0.0309\times C + 0.0293$	1.05	9.45	85.05	0.991**
4	$U = -32.737\times C + 41.721$	1.27	6.37	11.43	-0.963**
	$1/U = 0.0697\times C + 0.0199$	0.32	2.88	25.92	0.983**
5	$U = -25.248\times C + 41.772$	1.65	8.27	14.85	-0.935*
	$1/U = 0.035\times C + 0.0222$	0.71	6.39	57.51	0.971**
6	$U = -29.919\times C + 47.063$	1.57	7.86	14.13	-0.960**
	$1/U = 0.0382\times C + 0.0189$	0.55	4.95	44.55	0.951**
7	$U = -32.398\times C + 50.055$	1.55	7.72	13.95	-0.996**
	$1/U = 0.0366\times C + 0.0177$	0.54	4.84	43.74	0.966**

$df=n-2=3$, $r_{0.05} = 0.878$, $r_{0.01} = 0.934$

看出 $U=A \times (1+D \times C)/(1+B \times C)$ 无法拟合, 其余两个 $U=A/(1+B \times C)$ 和 $U=A+B \times C$ 模型达到了显著或极显著负相关关系, 揭示出土壤脲酶可较好表征土壤中氧化乐果的污染程度; 同时 $U=A/(1+B \times C)$ 模型拟合效果较好, 从侧面表明了氧化乐果对土壤脲酶的机理为完全抑制作用, 其中包括完全竞争抑制或完全非竞争性抑制。(4) 由拟合方程可计算得到土壤生态剂量 ED_{10} 、 ED_{50} 和 ED_{90} 值, 其分别代表土壤轻微、中度和严重污染时外源污染物的浓度^[21-22]。可看出采用 $U=A/(1+B \times C)$ 模型得到的 ED_{10} 、 ED_{50} 值较小, 而 ED_{90} 的值较大, 其范围分别为 $0.32 \sim 1.05$ 、 $2.88 \sim 9.45$ 和 $25.92 \sim 85.05 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$; 而采用 $U=A+B \times C$ 模型得到的 ED_{90} 值范围为 $11.43 \sim 17.19 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 远小于前面模型获得的生态剂量值。揭示出一方面模型 $U=A/(1+B \times C)$ 更适合应用于土壤中污染物的生态毒理评价; 另一方面, 根据剂量越小, 反应越敏感的原则, 获得在本地碱性土壤上, 土壤受到氧化乐果轻微、中度和严重

污染的临界浓度分别为 0.32 、 2.88 和 $11.43 \text{ g a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.2 氧化乐果对转化酶活性的影响

土壤转化酶作为土壤碳素转化的重要酶类, 供试土壤转化酶活性见表 4。其显示出: (1) 氧化乐果对转化酶活性的影响规律不明显。1、2、3 号土样转化酶活性减小, 降幅较大, 如 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度时, 降幅分别为 15.56% 、 18.61% 和 13.56% , 而剩余土样转化酶呈现跳跃式变化, 变化规律不明显, 4、5、6、7 号土样酶活性的最大变幅为 6.35% 、 16.13% 、 14.57% 和 11.85% 。表明有机肥培肥土样转化酶受氧化乐果的影响较小。(2) 随氧化乐果浓度增加, 1 号土样的土壤转化酶活性逐渐降低, 相关系数为 -0.854 , 未达到显著相关; 其余土样转化酶活性随浓度增加变化的规律性不强, 显著性差异分析反映出各个浓度间的差异性随土壤类型和农药浓度有较大差别, 无一致性变化, 揭示出氧化乐果对土壤转化酶活性无明显的规律性影响, 即土壤转化酶对氧化乐果反应不敏感。

表 4 供试土壤的转化酶活性

Table 4 The invertase activity in soils tested ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)

氧化乐果浓度 Omethoate concentration($\text{g a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$)	土样编号 Soil sample No.						
	1	2	3	4	5	6	7
0.0	0.694±0.022A	1.29±0.09A	1.18±0.10A	1.26±0.12A	1.55±0.10B	1.51±0.08A	2.11±0.12A
0.5	0.652±0.024A	1.11±0.10B	1.12±0.11A	1.18±0.11B	1.86±0.17A	1.29±0.05B	1.86±0.06C
1.0	0.641±0.021A	1.15±0.12B	1.05±0.09B	1.22±0.13A	1.35±0.10C	1.31±0.05B	1.86±0.07C
5.0	0.587±0.022B	1.18±0.11B	1.05±0.10B	1.33±0.15A	1.51±0.08B	1.49±0.08A	1.97±0.05B
10.0	0.586±0.025B	1.05±0.10C	1.02±0.09B	1.18±0.10B	1.30±0.05C	1.57±0.08A	2.17±0.10A
最大增幅 Maximum increse (%)	-	-	-	5.56	20.00	3.97	2.84
最大降幅 Maximum decrease (%)	15.56	18.61	13.56	6.35	16.13	14.57	11.85

最大增幅、降幅均是以 0 浓度为对照

The maximum decrease and increase were the ratio between treatment and control enzymatic activity

2.3 氧化乐果对土壤碱性磷酸酶活性的影响

土壤磷酸酶可将土壤有机磷转化为被植物吸收利用的无机磷, 因而在土壤磷素循环中发挥着十分重要的作用。碱性磷酸酶是三种磷酸酶(酸性、中性和碱性)的一种, 是碱性土壤中存在的主要磷酸酶类型。氧化乐果对土壤碱性磷酸酶活性的影响见表 5。由其可看出, (1) 氧化乐果的加入导致土壤碱性磷酸酶活性变化不一, 如 $0.5 \text{ g a.i.} \cdot \text{kg}^{-1}$ 浓度时, 1、3、4、6 号土样碱性磷酸酶活性略有增加, 增幅为 $0.4\% \sim 3.0\%$, 而其余土样的降幅范围为 $2.49\% \sim 3.20\%$, 可见土壤碱性磷酸酶活性的变化幅度都很小, 说明碱性磷酸酶对

氧化乐果不敏感。(2) 随氧化乐果浓度增加, 供试土壤的碱性磷酸酶活性变化规律不明显, 总是在对照值附近徘徊变化, 最大幅度见表 5, 为 $-8.36\% \sim 7.95\%$; 显著差异性检验也反映出相同的结果。表明在供试条件下, 氧化乐果对碱性磷酸酶的毒性较小, 反应不敏感, 这可能是由于氧化乐果属于有机磷农药引起的。

(3) 由各土样的变化可以看出, 土壤有机质含量和土壤肥力水平与氧化乐果对碱性磷酸酶毒性影响关系不密切, 这可能主要是由于在碱性条件下氧化乐果不稳定引起的, 同时氧化乐果的分解或者转化也会对土壤中磷含量产生影响。

表 5 供试土壤碱性磷酸酶活性

Table 5 The alkaline phosphatase activity in soils tested ($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$)

氧化乐果浓度 Omethoate concentration ($\text{g a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$)	土样编号 Soil sample No.						
	1	2	3	4	5	6	7
0.0	9.99±0.09A	11.24±0.15B	10.67±0.13B	12.41±0.09A	13.12±0.18A	14.22±0.18B	16.63±0.19A
0.5	10.03±0.17A	10.96±0.15B	10.99±0.12A	12.48±0.09A	12.70±0.08C	14.46±0.16B	16.21±0.19A
1.0	9.78±0.05B	11.31±0.16AB	11.02±0.10A	11.98±0.08B	12.66±0.11C	13.58±0.18C	15.24±0.15B
5.0	9.82±0.05B	11.81±0.16A	11.09±0.12A	12.41±0.10A	12.90±0.06B	15.35±0.11A	15.53±0.17B
10.0	10.38±0.15A	11.73±0.20A	11.16±0.10A	12.12±0.08A	12.55±0.11C	15.24±0.15A	15.56±0.18B
最大增幅 Maximum increase (%)	3.90	5.07	4.59	0.56	-	7.95	-
最大降幅 Maximum decrease (%)	2.10	2.49	-	3.46	4.35	4.50	8.36

3 讨论

氧化乐果作为主要的农药品种之一，其用量的60%~80%都进入了土壤等环境中，必然会与土壤酶等发生反应。但国内外学者对氧化乐果的土壤酶效应研究较少。笔者的研究表明，不同土壤酶种类对氧化乐果的反应有较大差别，其中脲酶受到显著抑制，揭示出土壤脲酶可表征土壤氧化乐果污染的程度，并据拟合方程 $U=A/(1+B\times C)$ ，反映出二者作用机理为完全抑制，其中包括完全竞争抑制或完全非竞争性抑制；计算得到供试土壤中氧化乐果轻度、中度和严重污染的临界浓度分别为 0.32、2.88 和 11.43 $\text{g a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$ ；而碱性磷酸酶和转化酶则反应较为迟钝，变化的规律性不明显，这与一些学者对土壤酶与其它农药等的研究结果较一致^[14-17]，说明农药的土壤酶效应受到众多因素的影响，包括农药种类、用量，土壤类型、肥力水平以及土壤酶种类等，对其关系有待进一步深入研究。

4 结论

氧化乐果对土壤生化活性会产生明显的影响，其中土壤脲酶受氧化乐果显著抑制，二者达显著或极显著负相关关系。揭示出土壤脲酶活性可作为监测土壤污染程度的指标之一。模型 $U=A/(1+B\times C)$ 拟合结果说明氧化乐果对土壤脲酶的机理为完全抑制作用，既包括竞争性抑制，也包括非竞争性抑制。从土壤脲酶角度计算获得土壤受氧化乐果轻微、中度和严重污染的临界浓度分别为 0.32、2.88 和 11.43 $\text{g a.i.}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。氧化乐果对土壤转化酶及碱性磷酸酶的影响较弱。在供试氧化乐果浓度下，转化酶和碱性磷酸酶的最大变幅分别不超过 18.61% 和 8.36%。反映转化酶和碱性磷酸酶对氧化乐果不敏感。

References

- [1] 肖 军, 赵景波. 农药污染对生态环境的影响及防治对策. 安徽农业科学, 2005, 33(12): 2376-2377.
Xiao J, Zhao J B. Influence and countermeasures of pesticide pollution on the eco-environment. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2005, 33(12): 2376-2377. (in Chinese)
- [2] 叶亚平, 单正军. 我国农药环境管理现状及对策研究. 农村生态环境, 2002, 18 (1): 62-64.
Ye Y P, Shan Z J. Status and countermeasures for management of pesticide in China. *Rural Eco-Environment*, 2002, 18 (1): 62-64. (in Chinese)
- [3] 和文祥, 蒋 新, 朱茂旭, 卞永荣. 杀虫双对土壤磷酸酶的毒性效应. 应用与环境生物学报, 2002, 8(6): 658-661.
He W X, Jiang X, Zhu M X, Bian Y R. Toxic effect of dimehypo on soil phosphatase activity. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2002, 8(6): 658-661. (in Chinese)
- [4] 崔 键, 马友华, 赵艳萍, 董建军, 石润圭, 黄文星. 农业面源污染的特性及防治对策. 中国农学通报, 2006, 22(1): 335-337.
Cui J, Ma Y H, Zhao Y P, Dong J J, Shi R G, Huang W X. Characteristic and countermeasures for control and prevention of multiple area-pollution in agriculture. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2006, 22(1): 335-337. (in Chinese)
- [5] 和文祥, 朱铭莪. 陕西土壤脲酶与土壤肥力关系研究. 土壤学报, 1997, 34(1): 42-47.
He W X, Zhu M E. Relationship between urease activity and fertility of soils in Shaanxi province. *Acta Pedologica Sinica*, 1997, 34(1): 42-47. (in Chinese)
- [6] Nannipieri P, Bollag, J M. Use of enzymes to detoxify pesticides-contaminated soils and waters. *Journal of Environmental Quality*, 1991, 20: 510-517.
- [7] 李 娟, 赵秉强, 李秀英, Hwat Bing So. 长期有机无机肥料配施

- 对土壤微生物学特性及土壤肥力的影响. 中国农业科学, 2008, 41(1): 144-152.
- Li J, Zhao B Q, Li X Y, Hwat Bing So. Effects of long-term combined application of organic and mineral fertilizers on soil microbiological properties and soil fertility. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(1): 144-152. (in Chinese)
- [8] Deng S P, Parham J A, Hattey J A, Babu H D. Animal manure and anhydrous ammonia amendment alter microbial carbon use efficiency, microbial biomass and activities of dehydrogenase and amidohydrolases in semiarid agroecosystems. *Applied Soil Ecology*, 2006, 33: 258-268.
- [9] 周礼恺. 土壤酶学. 北京: 科学出版社, 1987.
- Zhou L K. *Soil Enzymology*. Beijing: Science Press, 1987. (in Chinese)
- [10] 樊 军, 郝明德. 黄土高原旱地轮作与施肥长期定位试验研究 II. 土壤酶活性与土壤肥力. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(2): 146-150.
- Fan J, Hao M D. Study on long-term experiment of crop rotation and fertilization in the loess Plateau II. Relationship between soil enzyme activities and soil fertility. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2003, 9(2): 146-150. (in Chinese)
- [11] 刘惠君, 刘维屏, 杨炜春, 薛 斌. 均三氮苯类除草剂对土壤酶活性的影响. 土壤学报, 2003, 40(2): 286-292.
- Liu H J, Liu W P, Yang W C, Xue B. Effect of triazine on soil enzyme activity. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(2): 286-292. (in Chinese)
- [12] Kalam A, Tah J, Mukherjee A K. Pesticide effects on microbial population and soil enzyme activities during vermicomposting of agricultural waste. *Journal of Environmental Biology*, 2004, 25(2): 201-208.
- [13] 和文祥, 蒋 新, 余贵芬, 卞永荣. 杀虫双对土壤脲酶活性特征的影响. 土壤学报, 2003, 40(5): 750-755.
- He W X, Jiang X, Yu G F, Bian Y R. Effect of Dimehypo on soil urease activity. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(5): 750-755. (in Chinese)
- [14] 郭 明, 陈红军, 王春蕾. 4 种农药对土壤脱氢酶活性的影响. 环境化学, 2000, 19(6): 523-527.
- Guo M, Chen H J, Wang C L. Effect on soil dehydrogenase activity of four pesticides. *Environmental Chemistry*, 2000, 19(6): 523-527. (in Chinese)
- [15] 杨 敏, 李 岩, 王红斌, 那艳蕊, 保艳敏. 除草剂草甘膦对土壤过氧化氢酶活性的影响. 土壤通报, 2008, 39(6): 1380-1383.
- Yang M, Li Y, Wang H B, Na Y R, Bao Y M. Effects of glyphosate on catalase activities in soil. *Chinese Journal of Soil Science*, 2008, 39(6): 1380-1383. (in Chinese)
- [16] 和文祥, 姚敏杰, 孙丽娜, 孙铁珩. 呋喃丹对土壤酶活性的影响. 应用生态学报, 2007, 18 (8): 1921-1924.
- He W X, Yao M J, Sun L N, Sun T H. Effects of furadan on soil enzyme activity. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(8): 1921-1924. (in Chinese)
- [17] Sannino F, Gianfreda L. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere*, 2001, 45: 417-425.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析(第3版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- Bao S D. *Agricultural Chemistry Analysis for Soil (3rd Edition)*. Beijing: China Agriculture Press, 2000. (in Chinese)
- [19] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986.
- Guan S Y. *Soil Enzyme and Its Research Methods*. Beijing: China Agriculture Press, 1986. (in Chinese)
- [20] Speir T W, Kettles H A, Parshotam A, Searle P L, Vlaar L N C. Simple kinetic approach to determine the toxicity of As[V] to soil biological properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31: 705-713.
- [21] Speir T W, Kettles H A, Parshotam A, Searle P L, Vlaar L N C. A simple kinetic approach to derive the ecological dose value, ED₅₀, for the assessment of Cr(VI) toxicity to soil biological properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(6): 801-810.
- [22] Welp G, Brümmner G W. Toxicity of increased amount of chemicals and the dose-response curves for heterogeneous microbial populations in soil. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1997, 37: 37-44.

(责任编辑 李云霞)