

外源硒(Se^{4+} 和 Se^{6+})污染对土壤酶活性的影响

吴雄平, 武体侠, 付冬冬, 段曼莉, 魏 威, 梁东丽

(西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:利用盆栽试验,研究了不同浓度、不同价态外源硒(Se^{4+} 、 Se^{6+})对连续种植小白菜土壤中过氧化氢酶、脱氢酶、脲酶和碱性磷酸酶活性的影响,为土壤硒污染的生态风险评价和管理提供科学依据。结果表明:低浓度硒对土壤酶活性有不同程度的激活效应,而高浓度硒对4种土壤酶均产生抑制作用;外源硒对脲酶及脱氢酶活性的抑制作用大于碱性磷酸酶和过氧化氢酶。外源 Se^{4+} 及 Se^{6+} 浓度与土壤脲酶活性间都存在显著的负相关($P<0.01$),且同浓度两个价态硒差异显著($P<0.05$),说明脲酶可作为土壤硒污染程度的生态风险评价的生物指标;而过氧化氢酶、脱氢酶及碱性磷酸酶只能表征一定时间段内土壤硒污染的程度。土壤酶的 ED_{50} (生态剂量)均随硒施入时间的延长而增大,以脲酶的 ED_{50} 值最小, Se^{6+} 的 ED_{50} 小于 Se^{4+} ,生态毒性大于 Se^{4+} 。

关键词: 硒污染; 硒酸盐(Se^{6+}); 亚硒酸盐(Se^{4+}); 土壤酶活性; 抑制率; ED_{50}

中图分类号: X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2010)08-1526-08

Effects of Selenate and Selenite Pollution on Soil Enzymes Activity

WU Xiong-ping, WU Ti-xia, FU Dong-dong, DUAN Man-li, WEI Wei, LIANG Dong-li

(College of Resources and Environment, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: The eco-toxicology effects of selenate and selenite pollution on catalase, dehydrogenase, urease and alkaline phosphatase in red-oil soil were studied through pot culture experiments under continually planting celery pakchoi (*Brassica pekinensis*). The results showed that both low concentration selenium added as selenate and selenite had stimulate effects on all tested soil enzyme activity, while the highest concentration of those two selenium forms had the biggest inhibition effects on soil enzymes activity. Selenate and selenite pollution had stronger inhibitory action on urease and dehydrogenase activity than on alkaline phosphatase and catalase activity. There was a significant negative correlation between inhibition rate of urease and selenium concentrations added as selenate or selenite, so it was feasible to use inhibition rate of urease as a biomarker of selenium ecological risk assessment. On the contrast, soil catalase, dehydrogenase and alkaline phosphatase activity only could indicate pollution extent during some period time after pollution. Selenium concentration that induced enzyme activity declined to 50% (Eco-toxicology dose, ED_{50}) raised with increasing application time, eco-toxicology effects of selenate and selenite continually decreased with application time increasing. Among four tested enzymes, urease was the most sensitive one to selenium pollution and had the smallest ED_{50} value. Selenate had bigger eco-toxicology effects than selenite.

Keywords: selenium pollution; selenate(Se^{6+}); selenite(Se^{4+}); enzyme activity; inhibition rate; ED_{50}

硒对人和动物来说是必需的营养元素,其缺乏和过量都与人和动植物的健康有着密切关系^[1-3]。土壤中硒按价态可划分为元素态硒、硒化物、亚硒酸盐、硒酸盐、有机硒和挥发态硒^[4],其中硒酸和亚硒酸是作物吸

收硒的主要形式^[5]。土壤酶是土壤生物化学反应的催化剂,其大小反映了土壤中进行的各种生物化学过程的强度与方向。用土壤酶作为判断污染物对生物潜在毒性的手段已引起国内外学者的关注,许多学者对有关 Cu、Zn、Hg、Cd、Pb、Sb 及 In 等重金属与土壤酶活性的关系进行了广泛的研究^[6-12],但土壤硒对土壤酶活性的影响国内外报道很少,且多局限于外源亚硒酸盐或元素硒在短期内对土壤酶活性的影响^[13-17]。本研究从这一方面出发,利用盆栽试验研究了不同价态

收稿日期:2009-12-23

基金项目:国家支撑计划项目(2008BADA4B09)

作者简介:吴雄平(1984—),女,广西灵山人,主要从事土壤硒环境化学转化方面的研究。

通讯作者:梁东丽 E-mail: donliliang2005@yahoo.com

(Se^{4+} 和 Se^{6+})、不同浓度外源硒污染土壤在连续种植小白菜条件下土壤酶活性的变化,旨在找出土壤硒污染与土壤酶生态毒理效应的关系,为完善土壤硒污染酶监测指标体系、土壤硒污染的生态风险评价和管理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

土样采自陕西杨凌西北农林科技大学南校区试验田。土壤的 pH 7.75, CEC 23.34 $\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, 黏粒 39.5%, 碳酸钙 55.00 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有机质 16.33 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮 1.112 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全硒 0.531 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。供试硒分别为硒酸钠试剂(6 价硒)和亚硒酸钠试剂(4 价硒)。供试作物为小白菜,品种为秦白 2 号。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

试验共设 11 个处理,分别为:对照(CK),以硒酸钠态或亚硒酸钠态硒形式分设 2.5、5.0、10.0、20.0、40.0 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 各 5 个硒浓度,每个处理重复 4 次,共 44 盆。盆栽试验每盆装土 14 kg,每千克土壤施入 0.15 g N、0.033 g P。连续种植小白菜 4 茬,每茬 1 个月左右,小白菜收获后每盆分别取 0~15 cm 土壤,剔去根系、自然风干、过 2 mm 筛后,用于土壤酶活性的测定。对应取样时间分别是硒施入土壤后的 33、66、105 d 和 143 d。

1.2.2 测定方法

土壤脲酶、过氧化氢酶活性测定用关松荫等的方法^[18];土壤脱氢酶参看 Chander 等的方法^[19],土壤磷酸酶用赵兰坡等的方法^[20],土壤理化性质用常规分析方法^[21]。

1.3 数据处理

为了定量描述在一定硒浓度下的抑制作用,采用酶活性抑制率予以表征^[22]:

抑制率=(1-处理样品的酶活性/对照样品的酶活性)×100%

按照土壤酶活性降幅将污染程度划分为 3 个等级:抑制率小于 25%为轻度污染,25%~45%为中度污染,大于 45%为重度污染^[23]。此外,为了反映土壤酶活性(E)随硒浓度(C)的变化情况,采用 $E=a+bC$ 模型进行拟合,并根据拟合方程计算出土壤酶的生态毒理剂量 ED_{50} ^[24],即引起土壤酶活性降低 50%时的土壤硒浓度。

所有数据用 SPSS 13.1 软件中 SNK 法进行统计处理。

2 结果与分析

2.1 Se^{4+} 、 Se^{6+} 对土壤过氧化氢酶活性的影响

土壤过氧化氢酶能促进过氧化氢的分解,有利于防止其对生物体的毒害作用。当过氧化氢酶活性偏低时,容易对土壤和生物产生毒害作用^[25]。

Se^{4+} 和 Se^{6+} 处理的土壤过氧化氢酶活性随硒施入时间的增加,呈先增加后减小的趋势,在施入 66 d 后酶活性达最大值而后逐渐回落(图 1)。

在 Se^{4+} 、 Se^{6+} 施入 33 d 时土壤过氧化氢酶活性随硒浓度变化不稳定,在抑制与激活效应间波动;此后随施入时间的延长,低浓度 Se^{4+} ($\leq 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)除在 143 d 对土壤过氧化氢酶有激活效应外,均同高浓度 Se^{4+} ($\geq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)一样对土壤过氧化氢酶产生抑制作用,但抑制率均不超过 10%。各浓度 Se^{6+} 在施入 66 d 时对土壤过氧化氢酶产生激活效应,且这种效应随 Se^{6+} 浓度增大稍有增加;而在硒施入 105 d 和 143 d 后 Se^{6+} 对过氧化氢酶活性产生抑制作用,其最大抑制率小于 23%。因此,本试验所设置的 Se^{4+} 、 Se^{6+} 浓度对土壤过氧化氢酶均属轻度污染水平。同一处理土壤过氧化氢酶活性随时间的变化依次为 66 d $\approx$ 105 d > 133 d > 33 d ($P < 0.05$);不同浓度 Se^{4+} 或 Se^{6+} 土壤过氧化氢酶活性间均无显著差异;同浓度 Se^{4+} 和 Se^{6+} 处理土壤过氧化氢酶活性也无显著差异。

Se^{4+} 及 Se^{6+} 浓度与土壤过氧化氢酶活性相关分析表明,仅在 Se^{4+} 施入土壤 143 d 后土壤过氧化氢酶活性与硒浓度间呈极显著负相关,方程为 $E=3.177-0.005C$ ($P < 0.01$),此时 ED_{50} 高达 317.7 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,其余时间土壤过氧化氢酶活性与硒浓度间均无显著性相关。说明土壤过氧化氢酶活性不宜作为硒污染土壤的敏感性指标。

2.2 Se^{4+} 、 Se^{6+} 对土壤脱氢酶活性的影响

脱氢酶是胞内酶,能够酶促有机物质脱氢,起着氢的中间传递体的作用,其活性的大小直接反映了土壤微生物的数量和活性。随硒施入时间的延长, Se^{4+} 各浓度处理的土壤脱氢酶活性呈先增后减的趋势(图 2 上),且酶活性峰值出现时间随浓度的不同而各异, $\text{Se}^{4+} \leq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的处理酶活性峰值出现在 66 d 时,而 $\text{Se}^{4+} \geq 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 酶活性峰值滞后出现在 105 d 时。 Se^{4+} 施入土壤 66 d 时,低浓度时(2.5~10 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)为激活效应,且这种效应随硒浓度的增加而减弱;高浓度硒(20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)为抑制作用,且抑制率随 Se^{4+} 浓度增大而增强,但最大值不超过 11%。 Se^{6+} 各处理的土壤脱氢

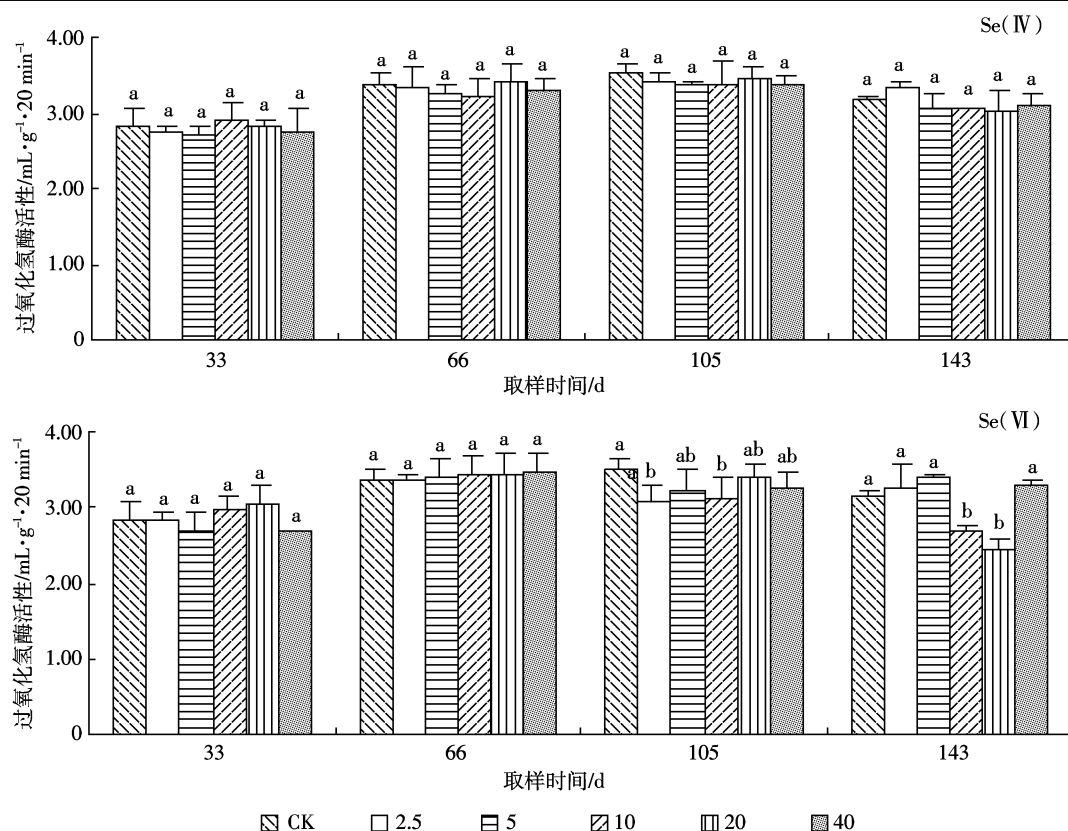
图 1 Se 对土壤过氧化氢酶活性的影响

Figure 1 The effect of selenium treatments on soil catalase activities

酶活性最大值均出现在 66 d 时(图 2 下),此后当 Se^{6+} 浓度 $\leq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,土壤脱氢酶活性随施入时间的延长呈减小的趋势,而 $\text{Se}^{6+} \geq 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理的酶活性随时间变化不大。

Se^{4+} 及 Se^{6+} 施入土壤 33 d 时,除最高浓度处理($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)土壤脱氢酶活性的抑制率分别为 13.93%和 29.27%外,其余硒浓度处理均对脱氢酶产生激活效应,但最大激活率均小于 16%。此后,随施入时间增长, Se^{4+} 及 Se^{6+} 均对土壤脱氢酶活性产生抑制作用,相同硒浓度下 Se^{6+} 对脱氢酶的抑制作用显著大于 Se^{4+} ($P < 0.05$), Se^{4+} 最高浓度处理在 143 d 时对脱氢酶抑制率为 15.34%;而 Se^{6+} 最高浓度处理在 105 d 时对脱氢酶的抑制率达 49.28%, Se^{6+} 浓度 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理在 143 d 时抑制率达 70.72%,即随着 Se^{6+} 施入时间的延长,其抑制率逐渐增大,引起抑制作用的 Se^{6+} 浓度逐渐降低。 Se^{4+} 及 Se^{6+} 对土壤脱氢酶活性的抑制作用分别可达轻度和重度污染水平。同一处理土壤脱氢酶活性随时间的变化依次为 66 d > 105 d $\approx$ 133 d > 33 d ($P < 0.05$)。不同浓度两种价态硒对土壤脱氢酶活性的影响以 Se^{6+} 显著大于 Se^{4+} ($P < 0.05$)。 Se^{4+} 在施入 33 d 与 66

d 以及 Se^{6+} 在施入 105 d 时硒浓度与土壤脱氢酶活性呈极显著的负相关性,方程分别为 $E = 72.986 - 0.292C$ ($r = -0.570, P < 0.01$)和 $E = 78.801 - 0.301C$ ($r = -0.586, P < 0.01$), $E = 68.234 - 0.631C$ ($r = -0.623, P < 0.01$),对应的 ED_{50} 分别为 125、131 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 54 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,亦即 Se^{4+} 处理土壤在 33 d 及 66 d 时的 ED_{50} 为 Se^{6+} 在 105 d 时的 2.3~2.4 倍。说明 Se^{4+} 和 Se^{6+} 对土壤脱氢酶活性的影响不仅存在着剂量效应,还存在着时间效应。

2.3 Se^{4+} 、 Se^{6+} 对土壤脲酶活性的影响

脲酶是一种作用于线性酰胺的 C-N 键(非肽)的水解酶,这种酶能催化尿素水解为二氧化碳和氨,在土壤酶中,脲酶是唯一对一种矿物质肥料——尿素的转化有重大影响的酶,其活性影响着土壤 N 素代谢状况。

Se^{6+} 对土壤脲酶活性的影响随施入时间的延长呈逐渐增大的趋势(图 3 下),与之不同的是:当 $\text{Se}^{4+} \leq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,土壤脲酶活性在 66 d 时达到最大,于 105 d 时有所下降,之后在 143 d 时又呈上升的趋势;当 $\text{Se}^{4+} \geq 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时脲酶活性随施入时间增加呈逐渐增大的趋势(除了最高浓度处理外)(图 3 上)。同一

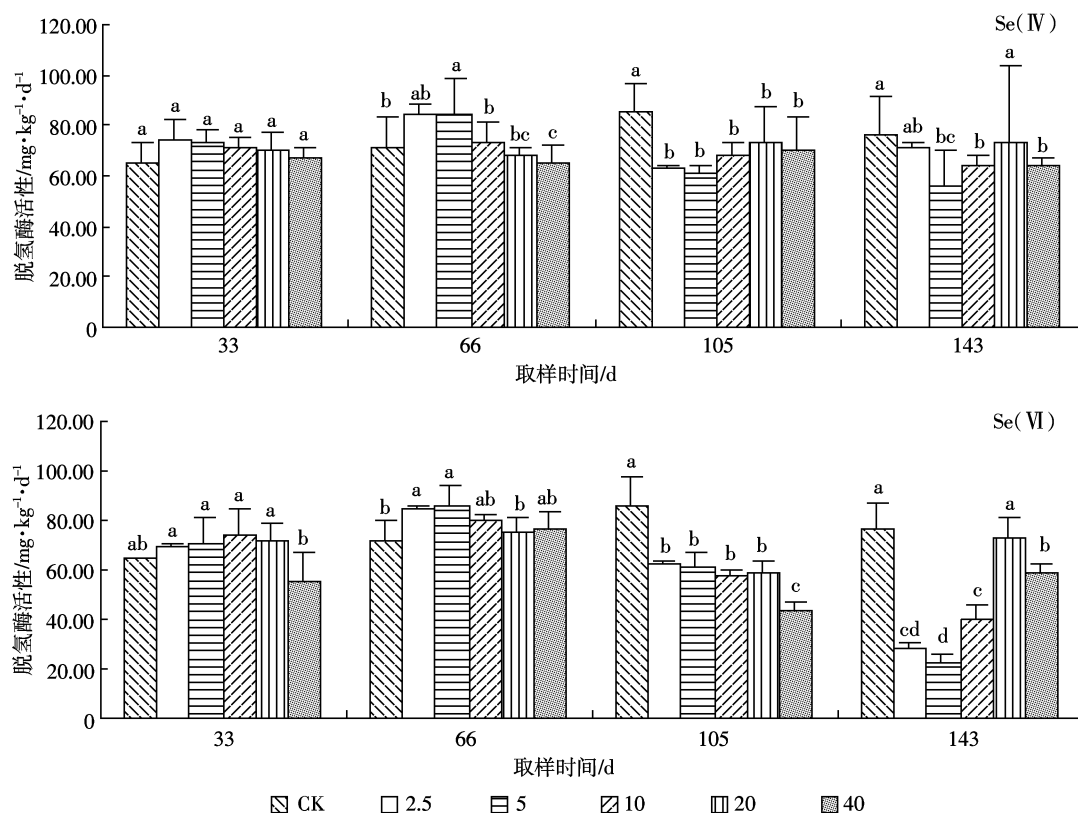


图2 Se对土壤脱氢酶活性的影响

Figure 2 The effect of Se on soil dehydrogenase activities

处理土壤脲酶活性随时间的变化依次为 133 d>33 d $\approx$ 105 d>66 d ($P<0.05$)。

土壤硒污染对土壤脲酶活性抑制率见表1。 Se^{4+} 除在66 d时在最低浓度($2.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)下对土壤脲酶有轻微的激活效应外,其余浓度均为抑制效应。在施入33 d及66 d后土壤脲酶抑制率随外源 Se^{4+} 浓度的增高而增大,这两个时间段对脲酶的抑制率范围分别为9.81%~29.84%和4.35%~19.30%,污染介于轻度及中度水平。而硒施入105 d及143 d后对土壤脲酶活性的抑制作用随着 Se^{4+} 浓度的增大,呈先减后增的趋势,其中105 d后的最大抑制率在 $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时为30.24%,143 d后的最大抑制率在 $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时则为22.71%。

Se^{6+} 对脲酶的抑制率随硒浓度的增大而增加,随施入时间的增长而降低。在施入时间143 d前,各 Se^{6+} 处理均对土壤脲酶产生抑制作用,其中33 d时 Se^{6+} 在 $40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时对土壤脲酶的抑制率达50.44%,在硒施入66、105 d时脲酶最大抑制率分别比33 d时下降了12%。在硒施入143 d时低浓度($1\sim 10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) Se^{6+} 对土壤脲酶有激活效应,最大激活率可高达23.43%;而

高浓度 Se^{6+} ($20\sim 40 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)对脲酶活性有抑制效应,但最大抑制率比33 d时下降了17%,说明随硒施入时间的延长, Se^{6+} 对土壤脲酶活性的抑制作用减弱,以致低浓度时出现激活效应,而高浓度下的抑制率也趋于减小。

将 Se^{4+} 、 Se^{6+} 浓度(C)与土壤脲酶活性(E)相关分析发现(表2),除施入硒105 d时硒浓度与土壤酶活性间无显著相关外,其余时间下两种不同形态的外源硒浓度与土壤酶活性间都存在着显著负相关,由此可见,土壤脲酶活性可作为 Se^{4+} 、 Se^{6+} 污染土壤的敏感性指标。 Se^{4+} 、 Se^{6+} 污染土壤的 ED_{50} 均随着施入时间的增长而增大,说明硒对土壤脲酶活性的影响不仅存在剂量效应,还存在时间效应。相同的施入时间, Se^{4+} 污染土壤的 ED_{50} 为 Se^{6+} 的2.1~2.8倍,同浓度 Se^{4+} 对土壤脲酶活性的抑制作用显著小于 Se^{6+} ($P<0.05$)。

2.4 Se^{4+} 、 Se^{6+} 对土壤碱性磷酸酶活性的影响

土壤碱性磷酸酶能促进有机磷化合物分解和将聚磷酸盐水解为正磷酸盐供给作物吸收,在土壤磷素的生物化学循环过程中起重要作用。随施入时间的增加, Se^{4+} 各浓度的土壤碱性磷酸酶活性呈随之上升的

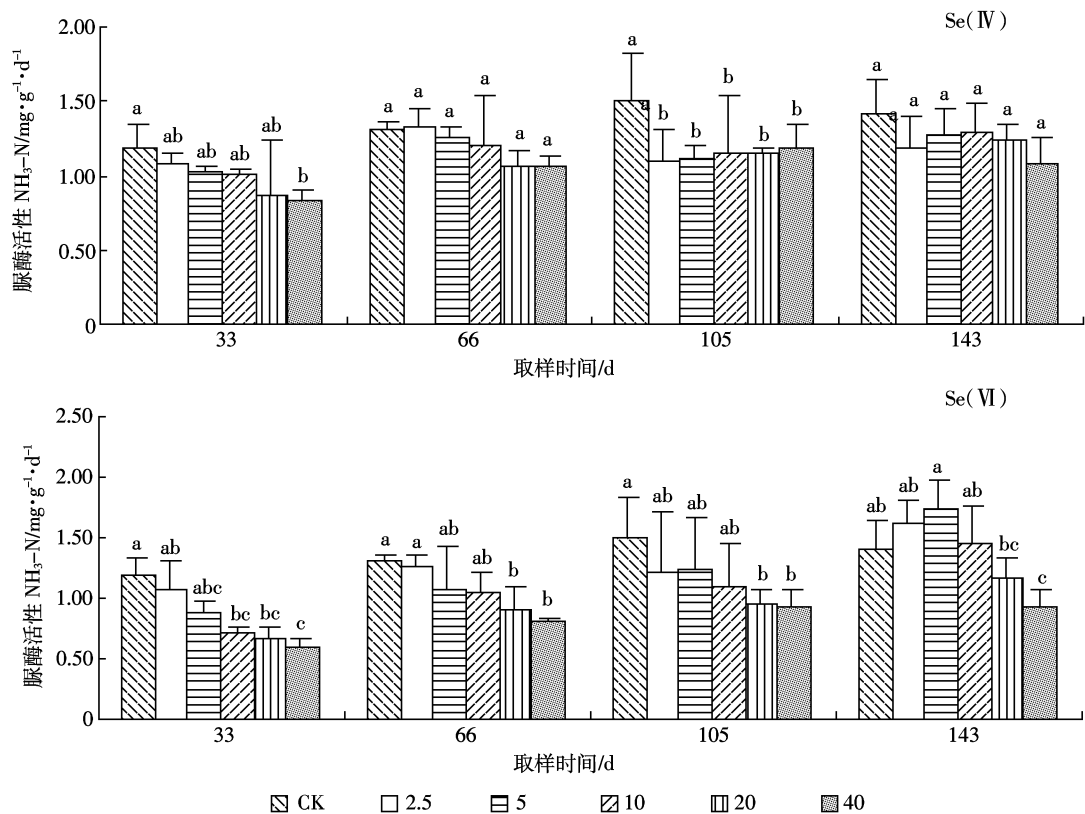


图 3 Se 对土壤脲酶活性的影响
Figure 3 The effect of Se on soil urease activities

表 1 不同外源硒下土壤脲酶活性的抑制率(%)
Table 1 Inhibition rate of soil urease activity under different selenium(%)

时间/d	$\text{Se}^{4+}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$					$\text{Se}^{6+}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$				
	2.5	5	10	20	40	2.5	5	10	20	40
33	9.81	13.17	15.70	27.00	29.84	10.44	26.21	39.02	44.31	50.44
66	-0.94	4.35	8.24	18.51	19.30	2.74	18.10	19.77	29.91	38.53
105	26.93	30.24	23.61	24.11	21.61	19.51	18.47	26.54	37.22	38.52
143	15.39	9.43	8.20	11.53	22.71	-14.41	-23.43	-3.72	17.19	33.27

表 2 土壤脲酶与硒浓度间的拟合结果
Table 2 Correlations between the concentrations of Se and the activities of soil urease

时间/d	Se^{4+}			Se^{6+}		
	拟合方程 $E=a+bC$	相关系数 r	$\text{ED}_{50}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	拟合方程 $E=a+bC$	相关系数 r	$\text{ED}_{50}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
33	$E=1.097-0.007C$	-0.663**	78.36	$E=1.076-0.005C$	-0.754**	35.87
66	$E=1.284-0.006C$	-0.641**	107.00	$E=1.262-0.014C$	-0.640**	45.07
105	$E=1.197-0.002C$	-0.172	-	$E=1.257-0.019C$	-0.356	-
143	$E=1.313-0.015C$	-0.522*	131.30	$E=1.605-0.017C$	-0.721**	47.21

趋势(图 4 上);而 Se^{6+} 的碱性磷酸酶活性则表现为低浓度范围内 ($1\sim10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) 上升至 105 d 时有所下降,之后又呈上升趋势,当 $\text{Se}^{6+}\geq20\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,土壤

碱性磷酸酶活性持续上升(图 4 下)。
 Se^{4+} 对土壤碱性磷酸酶活性的最大抑制作用均出现在最高浓度($40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)时,但其抑制率均不超过

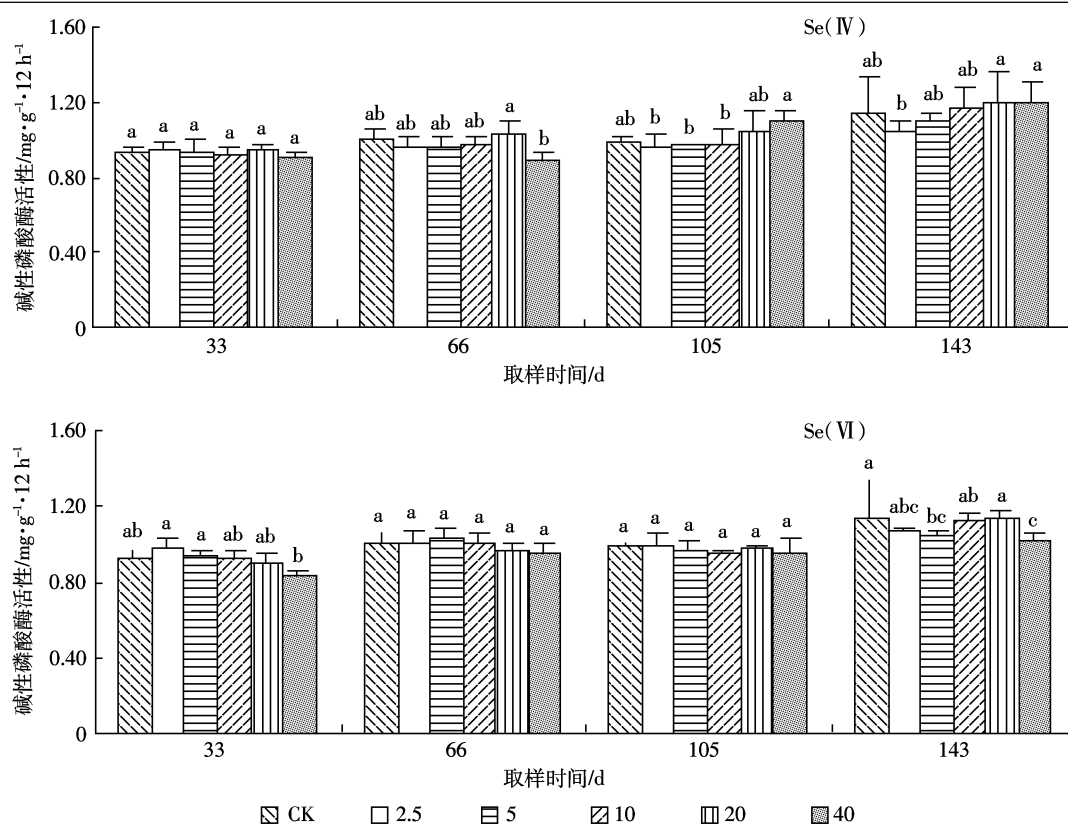


图4 Se对土壤碱性磷酸酶活性的影响

Figure 4 The effect of Se on soil alkaline phosphatase activities

12%,属轻度污染水平。施入33 d及66 d时 Se^{4+} 除在浓度为 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时对土壤碱性磷酸酶产生轻微的激活效应外,其余各浓度处理均为抑制作用,且抑制率随 Se^{4+} 浓度的增加呈先减小后增大的变化趋势。而后随施入时间的延长,土壤碱性磷酸酶活性在抑制效应与激活效应间波动。

Se^{6+} 浓度 $2.5 \sim 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 在施入土壤33 d时对土壤碱性磷酸酶活性有轻微的激活效应,而当 $\text{Se}^{6+} \geq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,随 Se^{6+} 浓度的增大对土壤碱性磷酸酶活性的抑制作用逐渐增强,在 Se^{6+} 最高浓度 $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时达最大抑制率10.15%。硒施入66 d时土壤碱性磷酸酶活性的变化不稳定,表现为 $1 \sim 2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时对酶有抑制作用,而后随 Se^{6+} 浓度的增大对酶活性产生激活作用,但当 Se^{6+} 浓度增大到 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时又出现抑制作用;硒施入105 d和143 d时各 Se^{6+} 浓度处理均对土壤碱性磷酸酶表现为抑制作用,但最大抑制率不超过12%,均属于轻度污染水平。同一处理土壤碱性磷酸酶活性随时间的变化依次为 $133 \text{ d} > 105 \text{ d} \approx 66 \text{ d} > 33 \text{ d}$ ($P < 0.05$)。不同浓度两种价态硒对土壤碱性磷酸酶活性的影响无显著差异。

Se^{4+} 污染土壤在33 d及66 d的硒浓度与土壤碱性磷酸酶活性分别有显著的负相关,方程分别为 $E = 0.947 - 0.002C$ ($r = -0.610, P < 0.01$)和 $E = 0.989 - 0.002C$ ($r = -0.452, P < 0.05$), ED_{50} 分别为 $237 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $247 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,说明 Se^{4+} 污染对土壤碱性磷酸酶活性的影响也存在着剂量和时间效应。 Se^{6+} 污染土壤只有在33 d时外源硒浓度与土壤碱性磷酸酶活性存在显著负相关, $E = 0.943 - 0.003C$ ($r = -0.605, P < 0.01$), ED_{50} 为 $157 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。 Se^{4+} 污染土壤的 ED_{50} 为 Se^{6+} 污染土壤的1.5倍,说明同浓度 Se^{6+} 毒性大于 Se^{4+} ,但其差异未达显著水平。

3 讨论

外源硒在连续种植小白菜的条件下对土壤酶活性的影响因外源硒的种类、浓度和土壤酶的种类不同而不同。随着施入时间的延长, Se^{4+} 、 Se^{6+} 的有效性或毒害作用不同,最终导致对土壤酶活性的影响在施入后不同时间反映各异。

Nowak 研究表明^[10],在 Se^{4+} 施入14 d时土壤过氧化氢酶活性呈先增大后减小的趋势,酶活性变化不稳

定。与其研究结果相似,本试验发现低浓度的 Se^{4+} ($\leq 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)对过氧化氢酶产生轻微的激活效应,而高浓度的 Se^{4+} ($\geq 20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)则产生抑制作用, Se^{4+} 施入土壤143 d后对土壤过氧化氢酶的影响才显示一定规律,但其 ED_{50} 高达 $317.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,用以作为土壤硒污染的指标不切实际。同浓度 Se^{4+} 和 Se^{6+} 对土壤过氧化氢酶活性影响无显著差异,说明土壤过氧化氢酶不宜作为 Se^{4+} 、 Se^{6+} 污染的敏感性指标。

有研究提议将土壤脱氢酶活性作为评价稀土元素污染土壤环境的敏感指标^[20],本研究表明 Se^{6+} 对土壤脱氢酶活性的抑制作用显著大于 Se^{4+} ($P < 0.05$),且随着 Se^{6+} 施入时间的延长,其对脱氢酶活性抑制率逐渐增大,能够诱发抑制作用发生的 Se^{6+} 浓度逐渐降低。说明土壤脱氢酶在一定的时间段内可用来表征土壤硒污染情况。

随着施入时间的延长, Se^{4+} 、 Se^{6+} 对土壤脲酶的抑制作用有减弱的趋势,这与Nowak^[16]随着培养时间的延长, Se^{4+} 对土壤脲酶活性的抑制作用增强的结果不同,可能是由于两个试验的研究条件不同,Nowak是在无作物培养条件下研究硒对土壤酶活性的影响,而本研究结果是在连续种植小白菜的条件下获得的。随植物生长过程中对硒的持续吸收,以及根系分泌物对土壤硒转化和有效性的影响,导致种植和培养条件下土壤酶活性变化结果不同,这有待于进一步的实验研究。

Se^{4+} 对土壤碱性磷酸酶活性的影响表现不稳定,在施入后105 d及143 d时在激活效应及抑制效应两者间波动,可能是由于当土壤中重金属达到一定质量分数时,大部分土壤微生物死亡,而小部分微生物在有毒物质污染下仍能生存下来,自行繁殖,从而对胁迫产生了抗性和耐受性^[27-28]。这与林匡飞得到的 Se^{4+} 污染对土壤碱性磷酸酶的影响结果相一致^[14]。

外源硒施入土壤后,在土壤中发生各种化学和生物化学转化,相对于 Se^{6+} , Se^{4+} 更容易被土壤中的粘土矿物吸附而降低其有效性。 Se^{4+} 对土壤脱氢酶、脲酶、碱性磷酸酶活性的 ED_{50} 值为 Se^{6+} 的1.5~2.8倍,说明 Se^{6+} 的生态毒性大于 Se^{4+} 。这可能是由于硒取代硫与酶活性部位相结合,形成稳定的化学键^[29],而6价态硒所形成的配合物的稳定程度大于4价态硒所致。

4 结论

(1)低浓度硒对土壤过氧化氢酶、脱氢酶、脲酶及碱性磷酸酶活性有不同程度的激活效应,高浓度(40

$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的 Se^{4+} 、 Se^{6+} 均对土壤酶活性产生最大的抑制作用。外源硒对脲酶及脱氢酶活性的抑制作用大于碱性磷酸酶和过氧化氢酶。

(2)外源 Se^{4+} 及 Se^{6+} 浓度与土壤脲酶活性间都存在显著的负相关($P < 0.01$),且同浓度两个价态硒差异显著($P < 0.05$),说明脲酶活性可作为土壤硒污染程度的生态风险评价的生物指标;而过氧化氢酶、脱氢酶及碱性磷酸酶活性只能表征一定时间段内土壤硒污染的程度。

(3)土壤酶的 ED_{50} (生态剂量)均随硒施入时间的延长而增大,两种价态硒对4种酶 ED_{50} 值影响的顺序均为:过氧化氢酶>碱性磷酸酶>脱氢酶>脲酶,说明外源硒对土壤脲酶影响最大; Se^{6+} 的 ED_{50} 小于 Se^{4+} ,生态毒性大于 Se^{4+} 。

参考文献:

- [1] Wiber C G. Toxicology of selenium: A review[J]. *Clin. Toxicol*, 1980, 17: 171-230.
- [2] Rayman M P. Selenium in cancer prevention: a review of the evidence and mechanism of action[J]. *Proceedings of the Nutrition Society*, 2005, 64: 527-542.
- [3] 张丽珊, 朱岩, 可夫, 等. 东北大骨节病区主要土壤腐植酸硒与大骨节病关系的研究[J]. *应用生态学报*, 1990, 1(4): 333-337.
ZHANG Li-shan, ZHU Yan, KE Fu, et al. Study on relations between Kaschin-Beck disease and content of selenium bounded by humic acids in soil in Northeast China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1990, 1(4): 333-337.
- [4] 董广辉, 武志杰, 陈利军, 等. 土壤-植物生态系统中硒的循环和调节[J]. *农业系统科学与综合研究*, 2002, 18(1): 65-68.
DONG Guang-hui, WU Zhi-jie, CHEN Li-jun, et al. Cycling and regulation of selenium in soil-plant ecosystem [J]. *System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture*, 2002, 18(1): 65-68.
- [5] Fio J L, Fuji R, Deverel S J. Selenium mobility and distribution in irrigated and nonirrigated alluvial soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1991, 55: 1313-1320.
- [6] 杨红飞, 严密, 姚婧, 等. 铜、锌污染对油菜生长和土壤酶活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2007, 18(7): 1484-1490.
YANG Hong-fei, YAN Mi, YAO Jing, et al. Impact of Cu and Zn pollution on rape growth and soil enzyme activity[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(7): 1484-1490.
- [7] 和文祥, 黄英锋, 朱铭莪, 等. 汞和镉对土壤脲酶活性的影响[J]. *土壤学报*, 2002, 39(3): 412-420.
HE Wen-xiang, HUANG Ying-feng, ZHU Ming-e, et al. Effect of Hg and Cd on soil urease activity[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(3): 412-420.
- [8] 史长青. 重金属污染对水稻土酶活性的影响[J]. *土壤通报*, 1995, 26(1): 34-35.
SHI Chang-qing. The effect of heavy metal on enzyme activity in paddy

- soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1995, 26(1):34-35.
- [9] Olga Mikanova. Effects of heavy metals on some soil biological parameters[J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2006, 88:220-223.
- [10] Tomoyoshi Murata, Masami Kanao-koshikawa, Takejiro Takamatsu. Effects of Pb, Cu, Sb, In and Ag contamination on the proliferation of soil bacterial colonies, soil dehydrogenase activity, and phospholipid fatty acid profiles of soil microbial communities[J]. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2005, 164:103-118.
- [11] Lee In-sook, Kim Ok kyung, Chang Yoon-young, et al. Heavy metal concentrations and enzyme activities in soil from a contaminated Korean Shooting Range[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2002, 94(5):406-411.
- [12] Bernhard J Majer, Dagmar Tscherko, Albrecht Paschke, et al. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: A comparative investigation[J]. *Mutation Research*, 2002, 515:111-124.
- [13] 闫峰, 吴雄平, 梁东丽, 等. 外源重金属 Cr、Cu、Se 和 Zn 对壤土酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008, 36(7):91-98.
- YAN Feng, WU Xiong-ping, LIANG Dong-li, et al. Influences of different concentrations of exterior heavy metals Cr, Cu, Se and Zn on three soil enzymes in Lou soil[J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2008, 36(7):91-98.
- [14] 林匡飞, 徐小清, 金霞, 等. 土壤硒污染对土壤酶的生态毒理效应[J]. 中国环境科学, 2005, 25(增刊):94-97.
- LIN Kuang-fei, XU Xiao-qing, JIN Xia, et al. Eco-toxicology effects of soil selenium pollution on soil enzyme[J]. *China Environmental Science*, 2005, 25(Suppl.):94-97.
- [15] 董广辉, 陈利军, 武志杰, 等. 外源硒对大豆产量、植株氮磷含量及土壤酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(5):776-780.
- DONG Guang-hui, CHEN Li-jun, WU Zhi-jie, et al. Effect of exogenous selenium on soybean yield and its total N and P contents and on soil enzyme activities[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(5):776-780.
- [16] Nowak J, Kaklewski K, Klodka D. Influence of various concentrations of selenic acid(IV) on the activity of soil enzymes[J]. *The Science of the Total Environment*, 2002, 291:105-110.
- [17] Janina Nowak, Krzysztof Kaklewski, Marek Ligocki. Influence of selenium on oxidoreductive enzymes activity in soil and in plant[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36:1553-1558.
- [18] 关松荫, 张德生, 张志明. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986:297-313.
- GUAN Song-yin, ZHANG De-sheng, ZHANG Zhi-ming. Soil enzymes and its research method[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986:297-313.
- [19] Chander K, Brookes P C. Is the dehydrogenase assay invalid as a method to estimate microbial activity in copper-contaminated soils[J]. *Soil Biology & Biochemist*, 1991, 23:909-915.
- [20] 赵兰坡, 姜岩. 土壤磷酸酶活性测定方法的探讨[J]. 土壤通报, 1986, 17(3):138-141.
- ZHAO Lan-po, JIANG Yan. Study of determination method of soil phosphatase[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1986, 17(3):138-141.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000:432-437.
- BAO Shi-dan. Analysis of soil and agricultural chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000:432-437.
- [22] 和文祥, 朱铭莪, 张一平. 土壤脲酶与汞关系中的作物效应[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2002, 30(2):68-72.
- HE Wen-xiang, ZHU Ming-e, ZHANG Yi-ping. Crop effect on the relationship between soil urease activity and mercury[J]. *Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition)*, 2002, 30(2):68-72.
- [23] 和文祥, 马爱生, 武永军, 等. 砷对土壤脲酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(5):895-898.
- HE Wen-xiang, MA Ai-sheng, WU Yong-jun, et al. Effect of arsenic on soil urease activity[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(5):895-898.
- [24] 杨春璐, 孙铁珩, 和文祥, 等. 汞对土壤酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(3):620-624.
- YANG Chun-lu, SUN Tie-heng, HE Wen-xiang, et al. Effect of Hg on soil enzyme activity[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(3):620-624.
- [25] 焦坤, 李德成. 蔬菜大棚条件下土壤性质及环境条件的变化[J]. 土壤, 2003(2):94-97.
- JIAO Kun, LI De-cheng. Changes in soil properties and environment in vegetable green houses[J]. *Soil*, 2003(2):94-97.
- [26] 褚海燕, 朱建国, 谢祖彬. 镉对红壤转化酶、过氧化氢酶和脱氢酶活性的影响[J]. 中国环境科学, 2001, 21(1):77-80.
- CHU Hai-yan, ZHU Jian-guo, XIE Zhu-bin. Effects of rare earth element lanthanum on the activities of invertase, catalase and dehydrogenase in red soil[J]. *China Environmental Science*, 2001, 21(1):77-80.
- [27] Kandeler E, Tscherko D, Bruce K D, et al. Structure and function of the soil microbial community in microhabitats of a heavy metal polluted soil[J]. *Biol Fertil Soils*, 2000, 32:390-400.
- [28] Insam H. Effect of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(4):691-694.
- [29] Tabatabai M A. Effects of trace elements on urease activity in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1977, 9:9-13.