

铜铬复合污染对有、无作物种植的土壤酶活性影响

魏 威, 王 丹, 王松山, 梁东丽

(西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:用盆栽实验和室内分析相结合的方法,研究了 Cu、Cr 单一和复合污染对土壤酶活性的影响,旨在为土壤重金属复合污染的生物酶学评价提供参考依据。结果表明,在相同污染水平下,除 Cr 最低浓度(Cr_5)处理对土壤过氧化氢酶有激活作用外,其余各浓度的 Cu、Cr 单一和复合污染均对供试的土壤脲酶、碱性磷酸酶、过氧化氢酶和硝酸还原酶活性产生抑制作用。4 种酶相比较,Cu、Cr 复合污染对过氧化氢酶活性抑制最小,而对土壤硝酸还原酶活性抑制最大。各处理有作物种植的土壤脲酶和碱性磷酸酶活性抑制率均大于相应的无作物种植处理,而土壤过氧化氢酶和硝酸还原酶的抑制率却小于无作物对照。有作物处理的 4 种供试酶活性抑制率与对应的无作物处理间均存在显著差异($P<0.01$)。无论是否有作物种植,Cu、Cr 复合污染对土壤脲酶、碱性磷酸酶活性抑制率产生不同程度的协同作用,对土壤过氧化氢酶有一定的拮抗作用。无作物种植时,Cu、Cr 复合污染对土壤的硝酸还原酶活性抑制率为协同作用,而有作物种植时则为拮抗作用。建议以土壤脲酶和碱性磷酸酶活性来共同表征 Cu、Cr 复合污染毒害作用的大小。

关键词:复合污染;Cu;Cr;酶活性;抑制率

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)10-1971-08

Eco-toxicology Effects of Cu-Cr Co-contamination on Soil Enzymes with and Without Plants

WEI Wei, WANG Dan, WANG Song-shan, LIANG Dong-li

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

Abstract: Pot experiments and laboratory analysis were carried out to study Cu, Cr single and combined pollution influence on soil enzyme activities. The aim was to provide theoretical basis for biological enzyme evaluation of heavy metal cation-anion co-contamination in soil. The results showed that the same pollution level Cu and Cr singly or combined had inhibited effects on activity of urease, alkaline phosphatase, catalase and nitrate reductase. while in the $5\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ Cr treatment, the activity of catalase was promoted. Catalase was the least sensitive enzyme to Cu-Cr cocontamination, while soil nitrate reductase was the most sensitive one to Cu-Cr cocontamination. Inhibition rates of urease and alkaline phosphatase activities in the planted treatment were larger than the non-crop control treatment. However, inhibition rate of catalase and nitrate reductase activities in the planted treatment were smaller than those in the non-crop control treatment. There was extremely significant difference in the planted treatment of all enzymes, compared with the non-plant treatment. Whether having plants or not, Cu and Cr combined pollution showed a certain synergism on the inhibition rate of soil urease and alkaline phosphatase activities, a certain antagonism on the inhibition of soil catalase activity, and a certain synergism on nitrate reductase activity in non-crop control treatment, furthermore there was a certain antagonism on nitrate reductase activity in the planted treatment. Urease and alkaline phosphatase activities were suggested to characterize the degree of Cu and Cr combined pollution in soil.

Keywords: co-contamination; Cu; Cr; enzyme activities; inhibition rate

随着工农业的发展,大量含有重金属的废水、废渣通过各种途径污染农田。铜、铬元素不论对植物还是对人体都是有利有弊的。铜有累积性,过量的铜会

阻碍植物的生长、降低农产品品质^[1]。低浓度 Cr^{6+} 能提高植物体内酶活性与葡萄糖含量;高浓度铬则阻碍植物水分和营养物质向地上部输送,且破坏代谢作用而抑制作物生长^[2]。铜、铬元素在土壤中,前者以金属阳离子的形式存在,后者以金属阴离子酸根(Cr^{6+})或者氢氧化物(Cr^{3+})的形式出现,当它们同时存在时,其在土壤中的相互作用必然会影响到两者在土壤中的迁移、转化、生物有效性和生态毒性。

收稿日期:2010-04-03

基金项目:国家支撑计划项目(2008BADA4B09);西北农林科技大学“创新团队建设计划”

作者简介:魏 威(1985—),女,北京人,硕士研究生,主要从事土壤环境化学研究。E-mail:ww493808125@126.com

通讯作者:梁东丽 E-mail:dongliliang2005@yahoo.com

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^[3]。用土壤酶活性来判断污染物对生物潜在毒性的手段近年来已引起国内外学者的广泛关注^[4-5],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研究,证明土壤酶活性是反映土壤重金属污染程度的有效指标^[6-14]。但现有的研究多集中在模拟培养条件下金属复合污染对土壤酶活性的影响,很少涉及对作物生长可能带来的影响。本研究从这一方面出发,以盆栽小白菜为供试作物,试图查明有、无作物生长两种条件下 Cu、Cr 复合污染对土壤酶活性的影响,旨在为重金属 Cu-Cr 复合污染的土壤环境质量的生物学评价提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

土样采自陕西杨凌西北农林科技大学南校区试验田,土壤类型为壤土,其基本理化性质见表 1。供试土壤的全 Cu 含量为 $21.53 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,全 Cr 含量为 $1.43 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。土壤理化性质测定参照常规分析法^[15]。

供试作物为小白菜(pakchoi, *Brassica chinensis*),品种是秦白 2 号。铜和铬均为分析纯化学试剂,铜用 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$,铬用 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 。

1.2 实验设计与处理

Cu、Cr 浓度设置依据预实验结果选择根长抑制率 10%~60% 的浓度区间(数据未给出)。铜浓度设置为 0、200、400、800 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 4 个水平;铬浓度设置为 0、5、20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 3 个水平,试验共设 12 个处理(表 2),每个处理重复 4 次。

具体方法是:每个处理称取过 5 mm 筛的风干土 3 500 g 于塑料盆中,按照处理将铜、铬配成溶液(铜以 Cu^{2+} 形式加入,铬以 Cr^{6+} 形式加入),用小型喷雾器均匀喷入土壤中,并充分混匀,在 25 °C 恒温培养箱中平衡 10 d。每个重复称取平衡好的土壤 650 g,于直径为 12 cm、高 15 cm 的塑料盆中进行盆栽实验。每盆播种 20 粒小白菜种子,10 d 后间苗,每盆留幼苗 15 株。在温室条件下生长,每日称重浇水,控制土壤含水量为田间持水量的 70%,30 d 后收获,采集土壤样品,带回实验室,剔除残渣、石块等,风干、过 2 mm 筛,用于土壤酶活性的测定。

1.3 土壤酶活性测定方法

土壤中脲酶活性的测定采用比色法^[16],以 24 h 后 1 g 土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毫克数表示,单位是 $[\text{mgNH}_3\text{-N} \cdot (\text{g} \cdot \text{d})^{-1}]$;土壤中碱性磷酸酶活性用磷酸苯二钠比色法测定^[17],以生成的酚量来计算,单位是酚 $[\text{mg} \cdot (\text{kg} \cdot 12 \text{ h})^{-1}]$;土壤中过氧化氢酶活性用 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KMnO_4 容量法测定^[16],以 20 min 后 1 g 土壤的 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高锰酸钾的毫升数表示,单位是 $[0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{KMnO}_4 \text{ mL} \cdot (\text{g} \cdot 20 \text{ min})^{-1}]$;土壤中硝酸还原酶活性用比色法测定^[18],单位是 $[\text{mgNO}_2\text{-N} \cdot (\text{kg} \cdot \text{d})^{-1}]$,均为约定单位。

1.4 数据分析

采用 SPSS13.0 统计分析软件做图表处理和 DPS7.0 统计分析软件进行多重比较统计分析。

2 结果与分析

2.1 铜、铬污染对土壤酶活性的影响

2.1.1 铜、铬污染对土壤脲酶活性的影响

不同重金属处理有、无作物种植情况下对土壤脲

表 1 供试土壤的理化性质

Table 1 Soil chemical and physical properties of tested soil

pH	有机质 organic matter/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	土壤 CEC/ $\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	CaCO_3 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	无定形铁 Amorphous Fe/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	络合态铝 Complex Al/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	络合态铁 Complex Fe/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	粘粒含量 Clay content/%
7.75	16.330	23.34	54.997	845.3	25.4	24.0	39.5

表 2 铜、铬单一和复合污染浓度处理($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Table 2 Experimental design for single and combined chromium and copper($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

处理号 No.	处理 Treatment	Cu 浓度 Cu Con.	Cr 浓度 Cr Con.	处理号 No.	处理 Treatment	Cu 浓度 Cu Con.	Cr 浓度 Cr Con.
1	CK	0	0	7	Cu400Cr5	400	5
2	Cu200	200	0	8	Cu800Cr5	800	5
3	Cu400	400	0	9	Cr20	0	20
4	Cu800	800	0	10	Cu200Cr20	200	20
5	Cr5	0	5	11	Cu400Cr20	400	20
6	Cu200Cr5	200	5	12	Cu800Cr20	800	20

酶抑制率见图 1。铜单一污染处理土壤脲酶活性随 Cu 浓度的升高呈下降趋势,各处理间的差异达显著水平($P<0.05$),Cu200、Cu400 和 Cu800 处理土壤脲酶活性分别较对照下降了 30.1%、47.2%和 50.7%。铬单一污染处理土壤脲酶活性也随铬浓度的增大呈下降趋势,Cr5 和 Cr20 处理土壤脲酶活性分别较对照处理下降了 10.9%和 26.5%。脲酶活性与外源 Cu 浓度和 Cr 浓度均呈显著负相关($P<0.01$),相关系数分别为-0.620 和-0.655。

为了定量描述一定浓度重金属对土壤酶的抑制作用,用酶活性抑制率(定浓抑制率)予以表征^[7]:

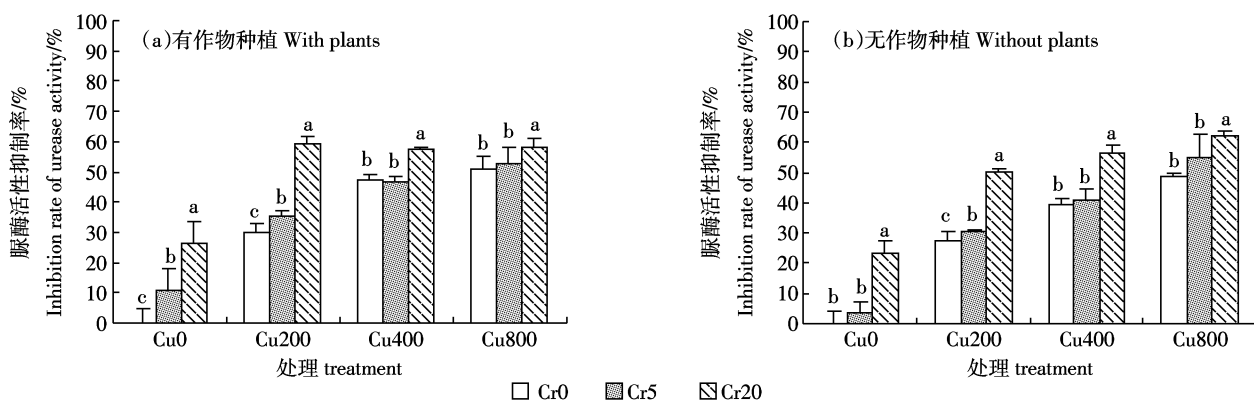
$$\text{酶的定浓抑制率} = \left(1 - \frac{\text{处理的土壤酶活性}}{\text{对照土壤酶活性}}\right) \times 100\%$$

由图 1(a)可知,有作物低浓度铬处理(Cr5)和单一铜污染处理的土壤脲酶活性抑制率均随铜浓度的增加而增大;高浓度铬处理(Cr20)对脲酶活性抑制率达到最大为 26.5%,Cu200、Cu400和Cu800 处理的

脲酶抑制率分别为 59.3%、57.2%和 58.3%,不同铜浓度处理间几乎无差异。无作物各处理的脲酶活性变化规律与对应的有作物处理相同(图 1(b)),但是脲酶活性抑制率却低于有作物种植时。相同重金属浓度下,Cu、Cr 复合处理的脲酶活性抑制率均高于单一污染处理,而 Cu 单一污染对脲酶的抑制作用大于 Cr 单一污染。

2.1.2 铜、铬污染对土壤碱性磷酸酶的影响

图 2(a)和图 2(b)分别是有、无作物种植情况下 Cu-Cr 污染对土壤碱性磷酸酶抑制率的影响。由图可见,Cu、Cr 单一污染对碱性磷酸酶影响的变化趋势与脲酶基本一致,且变化趋势更明显。单一铜污染 Cu200、Cu400 和 Cu800 处理碱性磷酸酶活性分别较对照下降了 40.3%、59.0%和 74.9%,碱性磷酸酶活性与外源 Cu 浓度呈显著负相关,相关系数为-0.872($P<0.01$);单一铬污染对碱性磷酸酶活性的影响随 Cr 浓度增加呈下降趋势,Cr5 和 Cr20 处理的碱性磷酸酶



注:图中 a, b, c...表示处理间存在 95%的显著性差异,以下各图中相同

Note: letter a, b, c... means reaches at 95% significance. The same below.

图 1 铜铬污染对有无作物土壤脲酶活性的影响

Figure 1 The effects of Cu-Cr pollution on soil urease with and without plants

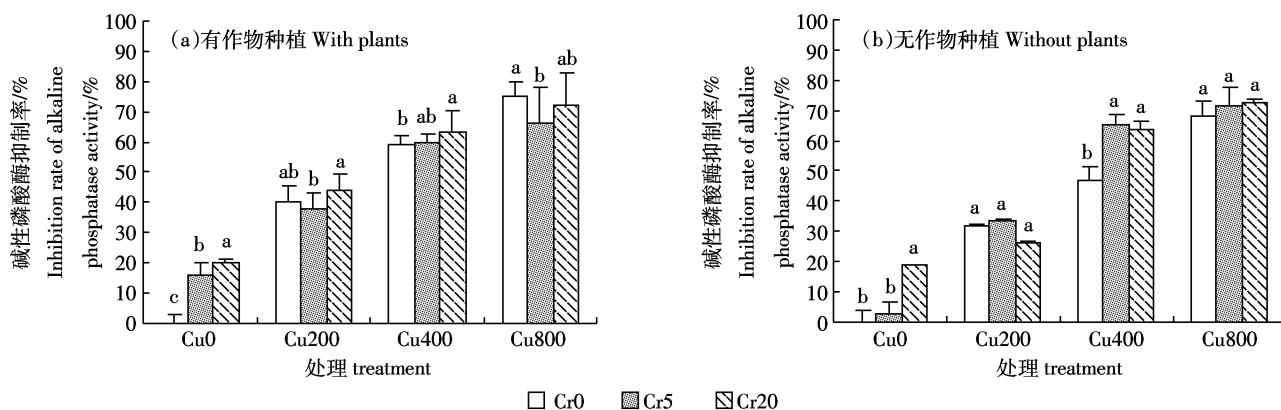


图 2 铜铬污染对有无作物土壤碱性磷酸酶活性的影响

Figure 2 The effects of Cu-Cr pollution on soil phosphatase with and without plants

活性分别较对照下降了 15.4% 和 27.3%。

与对照(CK)相比,所有重金属处理土壤碱性磷酸酶活性都有不同程度的降低,且碱性磷酸酶活性抑制率随金属浓度的增加而增大,以铜最高浓度处理(Cu800)的土壤碱性磷酸酶活性为最低,酶活性抑制率高达 74.9%。碱性磷酸酶抑制率变化呈现 Cu、Cr 复合污染 $\geq$ Cu 单一污染>Cr 单一污染。有作物处理土壤碱性磷酸酶活性低于无作物对照处理,两者随浓度的变化趋势与脲酶相同。

2.1.3 铜、铬污染对土壤过氧化氢酶的影响

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,其活性大小与土壤有机质的转化速度有密切关系。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^[9]。与脲酶和碱性磷酸酶的影响不同(图 3),单一低浓度铬污染处理(Cr5)对土壤过氧化氢酶活性有激活效应,其余所有处理对土壤过氧化氢酶活性的影响则不显著,各处理的土壤过氧化氢酶活性随添加外源重金属浓度的增加呈下降的趋势,过氧化氢酶活性与外源 Cu 浓度和 Cr 浓度均呈显著负相关,相关系数分别为-0.763 和-0.481($P<0.01$)。

最高浓度复合污染处理(Cu800Cr20)过氧化氢酶活性抑制率达到最大为 17.3%。其余各处理土壤过氧化氢酶活性抑制率总体呈现 Cu、Cr 复合污染>Cu 单一污染>Cr 单一污染的规律,有作物处理的土壤过氧化氢酶活性抑制率小于同浓度的无作物处理(图 3(a))。无作物处理过氧化氢酶的抑制率也呈现出与有作物种植相同的规律,即以 Cu、Cr 复合污染最大,其次是 Cu 单一污染,最小的是 Cr 单一污染处理(图 3(b))。

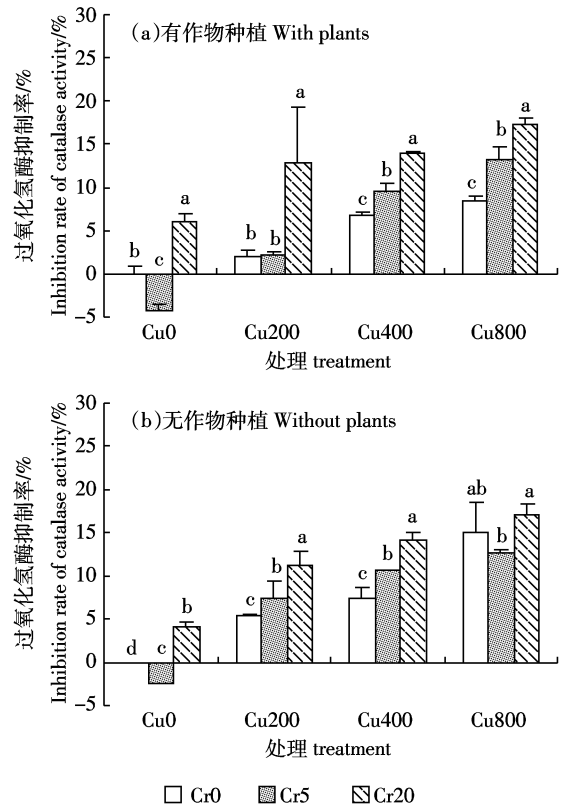


图 3 铜铬污染对有无作物对土壤过氧化氢酶活性的影响

Figure 3 The effects of Cu-Cr pollution on soil catalase with and without plants

2.1.4 铜、铬污染对土壤硝酸还原酶的影响

图 4(a)和图 4(b)分别给出了有、无作物种植情况下不同浓度 Cu-Cr 污染对土壤硝酸还原酶的影响。由图可见,与对照(CK)相比,除 Cu200Cr0、Cu0Cr5 处理外,其余处理土壤硝酸还原酶活性随金属浓度增大都有不同程度的下降。铜单一污染对硝酸还原酶呈现显著的抑制作用,Cu200、Cu400 和 Cu800 处理土壤硝

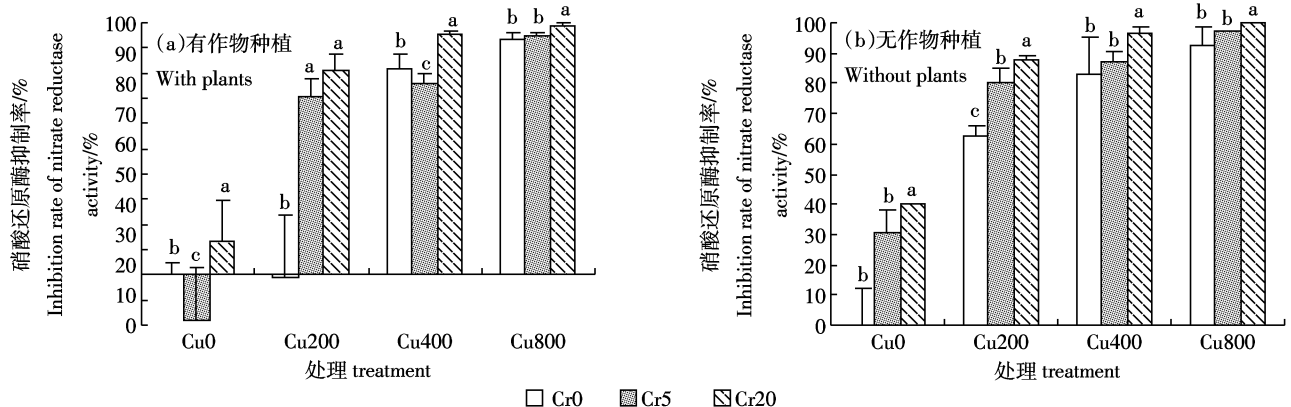


图 4 铜铬污染对有无作物土壤硝酸还原酶的影响

Figure 4 The effects of Cu-Cr pollution on soil nitratase with and without plants

酸还原酶活性分别较对照处理下降了 29.1%、79.1% 和 95.9%。铬单一污染对土壤硝酸还原酶活性的影响与此相反,Cr5 和 Cr20 处理土壤硝酸还原酶活性分别较对照下降了 31.3%和 3.8%,高浓度 Cr(Cr20)对土壤硝酸还原酶的抑制效应反而减小。且单一 Cu 污染对硝酸还原酶活性的影响大于单一 Cr 污染处理。硝酸还原酶活性与外加 Cu 浓度和 Cr 浓度均呈显著负相关($P<0.01$),相关系数分别为-0.578 和-0.390。

在所有处理中以 Cu-Cr 最高浓度(Cu800Cr20)处理土壤硝酸还原酶活性最低为 1.12[mg·(kg·d)⁻¹],硝酸还原酶活性抑制率达到最低(98.7%)。低浓度 Cu 和 Cr 单一污染(亦即 Cu200 和 Cr5 处理)对土壤硝酸还原酶活性有促进作用,土壤硝酸还原酶活性抑制率分别为-1.0%和-18.0%。有作物处理的土壤硝酸还原酶活性的抑制率小于无作物对照。Cu 和 Cr 复合污染对硝酸还原酶的抑制率>单一 Cu 污染处理>单一 Cr 污染处理。

2.2 铜、铬污染对土壤酶活性净变化量的影响

为了更清楚地了解 Cu-Cr 复合污染对土壤酶活性的影响是否存在交互作用,采用下式计算酶活性(E)的净变化量(ΔE)^[20]:

$$\Delta E = (E_{Cu+Cr} - E_{CK}) - (E_{Cu} - E_{CK}) - (E_{Cr} - E_{CK})$$

式中: E_{Cu+Cr} 为一定浓度 Cu、Cr 复合处理土壤酶活性; E_{Cu} 和 E_{Cr} 分别为相应浓度的 Cu 和 Cr 单独处理土壤酶活性; E_{CK} 为无 Cu、Cr 处理土壤酶活性。

如果 $\Delta E=0$,Cu 和 Cr 之间表现为加和作用;如果 $\Delta E>0$,Cu 和 Cr 之间表现为协同作用;如果 $\Delta E<0$,Cu、Cr 之间表现为拮抗作用。Cu 和 Cr 复合污染处理

土壤的脲酶、碱性磷酸酶、过氧化氢酶和硝酸还原酶活性的净变化量如表 3。

由表 3 可看出,有、无作物的所有处理的土壤脲酶活性的净变化量 ΔE 均大于 0,且 ΔE 值较大,即 Cu 和 Cr 复合污染对土壤脲酶活性的影响表现出较强的协同作用。除 Cu200Cr20 复合处理外,同等浓度处理下,有作物处理的土壤脲酶的 ΔE 值均显著大于无作物对照,如 Cu200Cr5 处理,有作物和无作物处理土壤脲酶净变化量分别为 137 mg NH₃·(kg·d)⁻¹ 和 18 mg NH₃-N·(kg·d)⁻¹,前者是后者的 7.61 倍,说明有作物存在时 Cu 和 Cr 对脲酶活性的协同作用显著大于无作物时。

与土壤脲酶的净变化量 ΔE 变化情况相似,无论是否有作物种植,Cu 和 Cr 复合污染处理土壤碱性磷酸酶活性的净变化量 ΔE 均大于 0,且 ΔE 值显著高于其他 3 种供试酶(表 3),亦即 Cu 和 Cr 复合污染对土壤碱性磷酸酶活性表现出强的协同作用。有作物处理的土壤碱性磷酸酶 ΔE 值均大于无作物对照,如 Cu200Cr5 有作物处理和无作物处理的土壤碱性磷酸酶净变化量分别为 254.78 mg·(kg·d)⁻¹ 和 17.24 mg·(kg·d)⁻¹,说明有作物处理下,Cu-Cr 对碱性磷酸酶的协同作用显著大于无作物处理。

与脲酶和碱性磷酸酶的酶活性净变化量不同,Cu-Cr 复合污染所有处理土壤过氧化氢酶活性的净变化量 ΔE 均小于 0,且绝对值较小,即 Cu-Cr 复合污染对土壤过氧化氢酶活性表现出较弱的拮抗作用,且有作物处理的土壤过氧化氢酶 ΔE 值均小于对应浓度的无作物处理。

表 3 Cu-Cr 污染处理的土壤酶活性的净变化量 ΔE

Table 3 Net change of tested enzymes activity with Cu and Cr treatment

处理 Treatment/ mg·kg ⁻¹	脲酶活性 Urease activity/ mg NH ₃ -N·(g·d) ⁻¹		碱性磷酸酶活性 Alkaline phosphatase activity/mg·(kg·d) ⁻¹		过氧化氢酶活性 Catalase activity/ 0.1 mol·L ⁻¹ KMnO ₄ mL·g ⁻¹		硝酸还原酶活性 Nitrate reductase activity/mgNO ₂ -N·(kg·d) ⁻¹	
	有作物 With plant	无作物 Without plant	有作物 With plant	无作物 Without plant	有作物 With plant	无作物 Without plant	有作物 With plant	无作物 Without plant
Cu200Cr5	0.14	0.02	254.78	17.24	-0.2	-0.2	-77.64	16.51
Cu200Cr20	-0.07	0.01	237.04	323.24	-0.22	-0.08	-59.62	18.27
Cu200Cr60	-	0.30	-	79.24	-	-0.06	-	93.80
Cu400Cr5	0.29	-0.23	202.92	-206.82	-0.31	-0.25	-10.49	34.05
Cu400Cr20	0.41	-0.13	222.92	31.58	-0.05	-0.11	-0.23	32.65
Cu400Cr60	-	0.66	-	134.88	-	-0.08	-	85.77
Cu800Cr5	0.22	0.06	335.98	-4.92	-0.39	-0.04	-16.69	33.44
Cu800Cr20	0.41	0.24	323.94	191.24	-0.13	0.09	6.95	41.93
Cu800Cr60	-	728	-	328.06	-	0.18	-	98.26

注:Cr 浓度为 60 mg·kg⁻¹ 及与该浓度复合的所有处理,植株均死亡。下同。

由表 3 还可看出,在所有种植作物处理中,除最高浓度处理(Cu800Cr20)外,其余处理的土壤硝酸还原酶活性净变化量 ΔE 均小于 0,即 Cu-Cr 复合污染对土壤硝酸还原酶活性表现出一定的拮抗作用;但与此相反,无作物对照中所有处理土壤硝酸还原酶活性的净变化量 ΔE 均大于 0,且 ΔE 值较大,即在无作物种植时 Cu-Cr 复合污染对土壤硝酸还原酶显现较强的协同作用,值得指出的是:铜铬复合污染对土壤硝酸还原酶活性的影响在有、无作物种植情况下截然不同。

3 讨论

重金属的复合污染比单一污染要复杂的多,两种重金属在土壤胶体表面所发生的离子交换作用、氧化还原作用及与有机和无机配位体发生的配位作用均能改变土壤中重金属的形态,进而也改变着重金属的生物有效性和毒性^[21]。研究证明铬和铅之间存在着明显的拮抗作用,推测可能是由于 $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$ 和 Pb^{2+} 结合生成沉淀,致使复合污染物的毒性减弱的缘故^[22]。在含镉的培养液中,一定浓度铬的加入减弱了镉对种子的毒害作用;而在含铬的溶液中加入镉后,则种子抑制指数呈先下降后上升的趋势^[22]。也有研究把 Cd 和 As 之间的拮抗作用归因于共存时离子活性的减小,从而使得作物对 Cd 的吸收明显减少^[23]。我们的实验证明, Cu、Cr 单一和复合污染对脲酶、碱性磷酸酶、过氧化氢酶和碱性磷酸酶活性的影响均为 Cu-Cr 复合污染 > Cu 单一污染 > Cr 单一污染处理。

对比发现, Cu-Cr 复合污染条件下,土壤中 4 种供试酶活性变化不尽相同,其中以过氧化氢酶活性变化幅度最小,对 Cu、Cr 复合污染最不敏感;土壤硝酸还原酶活性变幅最大,对 Cu、Cr 复合污染最敏感;土壤脲酶和碱性磷酸酶活性变化情况相似,但土壤碱性磷酸酶对 Cu、Cr 复合污染的敏感程度大于土壤脲酶活性。与沈桂琴等^[24]的研究结果相似,所有重金属处理土壤碱性磷酸酶活性较对照处理都有不同程度的降低,且碱性磷酸酶活性抑制率随金属浓度的增加而增大。与曹靖等^[25]和 Huang 等^[26]的研究结果相似,本研究发现 Cu、Cr 单一及复合污染对土壤过氧化氢酶影响不大, Marc 等也发现土壤过氧化氢酶活性对重铬酸钾的响应不敏感^[27];低浓度 $\text{Cr}(5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1})$ 对土壤过氧化氢酶活性有刺激作用,这与已有的一些研究结果相同^[3,28]。究其原因,前者可能是由于重金属与土壤酶没有专一性对应关系,因而过氧化氢酶活性没有受

到影响^[29];后者可能是由于酶作为蛋白质,需要一定量的重金属离子作为辅基, Cr 的加入能促进酶活性中心与底物间的配位结合,使酶分子及其活性中心保持一定的专性结构,改变酶催化反应的平衡性质和酶蛋白的表面电荷,从而可增强酶活性^[29]。与铬不同,低浓度铜对供试的所有酶并未表现出刺激作用,原因是本实验设定的铜最低浓度($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)为国家土壤环境质量标准中的二级污染指标,在这种情况下铜对土壤生物产生胁迫作用,因而土壤各供试酶的活性均低于对照处理。

相同金属浓度下,有作物处理的土壤脲酶和土壤碱性磷酸酶活性均低于无作物处理,且土壤过氧化氢酶和硝酸还原酶活性均高于无作物处理,说明用无作物模拟状态的酶活性变化来评价重金属污染对土壤生态的影响是不全面的。有作物种植情况下各个土壤酶活性变化与无作物种植时的不同源于两个方面:其一,有作物生长时因为根系分泌物的产生为根际微生物生长提供了主要碳源和能源^[30],另外根系分泌的有机酸使得土壤的 pH 下降^[31],土壤酸度的变化对土壤酶活性的影响不同,脲酶和碱性磷酸酶活性随 pH 的下降而下降^[32],过氧化氢酶和硝酸还原酶活性随 pH 下降逐渐增大^[33]。其二,土壤根系分泌物中氢离子的增多,在一定程度上抑制了土壤对重金属元素的吸附作用,也就对土壤中重金属元素起到活化作用,这无疑增大了其毒害作用^[34],但是不同的供试酶对重金属的毒害作用的敏感程度不同,对此还有待于进一步的试验研究。

4 结论

(1)与对照(CK)相比,有无作物种植情况下重金属 Cu、Cr 单一及复合污染均对 4 种土壤酶活性表现为抑制作用,且以 Cu-Cr 复合污染 > Cu 单一污染 > Cr 单一污染处理。4 种酶相比较,以 Cu、Cr 复合污染对过氧化氢酶活性影响最小;对土壤硝酸还原酶活性影响最大。低 $\text{Cr}(5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1})$ 浓度处理对土壤过氧化氢酶的活性有激活作用。

(2)有作物处理的土壤脲酶和土壤碱性磷酸酶活性均小于无作物处理,亦即脲酶和土壤碱性磷酸酶活性的抑制率大于无作物对照;与此相反,有作物处理的土壤过氧化氢酶和硝酸还原酶活性的抑制率却小于无作物对照。

(3)无论有无作物, Cu 和 Cr 复合污染对于土壤脲酶活性和土壤碱性磷酸酶表现出较强的协同作用,

对土壤过氧化氢酶表现出较弱的拮抗作用;无作物种植时 Cu、Cr 复合污染对土壤的硝酸还原酶活性抑制率为协同作用,而有作物种植时却为拮抗作用。

(4)建议以土壤脲酶和碱性磷酸酶活性共同来表征 Cu、Cr 复合污染。

参考文献:

- [1] 林义章, 徐 磊. 铜污染对高等作物的生理毒害作用研究[J]. 中国生态农业学报, 2007, 15(1):201-204.
LIN Y-Z, XU L. Physiological toxicity of copper pollution to higher plant[J]. *Chinese Journal Eco-Agriculture*, 2007, 15(1):201-204.
- [2] 周 敏, 王安群. 土壤的重金属污染危害及防治措施[J]. 职教与成教, 2006, 4:20-121.
ZHOU M, WANG A-Q. Harmfulness and countermeasures for heavy metal pollution in soil[J]. *Career and Adult Education*, 2006, 4:120-121.
- [3] 曹 慧, 孙 辉, 杨 浩, 等. 土壤酶活性及其对土壤质量的指示研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(1):105-109.
CAO H, SUN H, YANG H, et al. A review soil enzyme activity and its indication for soil quality [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2003, 9(1):105-109.
- [4] Kandeler E, Tschirko 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.
- [5] Hinojosa M B, Carreira J A, Garcia R R, et al. Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal-contaminated and reclaimed soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36:1559-1586.
- [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 H-F, YAN M, YAO J, 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, 朱铭哉, 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 W-X, HUANG Y-F, ZHU M-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 C-Q. Effects of heavy metals on paddy soil enzyme activity[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1995, 26(1):34-35.
- [9] Mikanova O. Effects of heavy metals on some soil biological parameters [J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2006, 88:220-223.
- [10] Tomoyoshi M, Masami K K, Takejiro T. 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 I S, Kim O K, Chang Y Y, 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 M, Dagmar T, Albrecht P, 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] Wang J H, Lu Y T, Ding H, et al. Effect of cadmium alone and in combination with butachlor on soil enzymes[J]. *Environ Geochem Health*, 2007, 29:395-403.
- [14] 高大翔, 郝建朝, 金建华, 等. 重金属汞、镉单一胁迫及复合胁迫对土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3):903-908.
GAO D-X, HAO J-CH, JIN J-H, et al. Effects of single stress and combined stress of Hg and Cd on soil enzyme activities[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3):903-908.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第3版. 北京:中国农业出版社, 2000:432-437.
BAO Sh-D. Analysis method for soil agro-chemistry [M]. 3rd edition. Beijing:China Agriculture Press, 2000:432-437.
- [16] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986:274-339.
GUAN S-Y. Soil Enzyme and research method [M]. Beijing:China Agricultural Press, 1986:274-339.
- [17] 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 L-P, JIANG Y. Discussion about analysis method for soil phosphatase activity[J]. *China Journal of Soil Science*, 1986, 17(3):138-141.
- [18] 武志杰, 雋英华, 陈利军, 等. 硝酸还原酶发明专利申请公布说明书, 申请号 200710010680. 5
WU Z-J, JUN Y-H, CHEN L-J, et al. An analysis method for soil nitrate reductase[P]. China, 200710010680. 5. 2007-3-21.
- [19] 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 K, LI D-Ch. Changes in soil properties and environment in vegetable greenhouses[J]. *Soil*, 2003(2):94-97.
- [20] 周启星. 复合污染生态学[M]. 北京:中国环境科学出版社, 1995:25-29.
ZHOU Q-X. Combined-pollution ecology [M]. Beijing:China Environmental Science Press, 1995:25-29.
- [21] Huang Y Z, H Y, Liu Y X. Combined toxicity of copper and cadmium to six rice genotypes[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21:647-653.
- [22] 任安芝, 高玉葆. 铅、镉、铬单一和复合污染对青菜种子萌发的生物学效应[J]. 生态学杂志, 2000, 19(1):9-22.
REN A-Z, GAO Y-B. Effects of single and combinative pollutions of lead, cadmium and chromium on the germination of *Brassica chinensis* L[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2000, 19(1):9-22.
- [23] Liu X-L, Zhang S-Z, Shan X Q, et al. Combined toxicity of cadmium and arsenate to wheat seedlings and plant uptake and antioxidative enzyme responses to cadmium and arsenate co-contamination[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 68:305-313.
- [24] 沈桂琴, 廖瑞章. 重金属、矿物油对土壤酶活性的影响[J]. 农业环境保护, 1987, 6(3):24-27.
SHEN G-Q, LIAO R-ZH. Effects of heavy metal, non-metal and mineral oil on soil enzyme activity[J]. *Agriculture Environmental Protection*,

- 1987, 6(3): 24-27.
- [25] 曹 靖, 贾红磊, 徐海燕, 等. 干旱区污灌农田土壤 Cu、Ni 复合污染与土壤酶活性的关系[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(5): 1809-1814.
- CAO J, JIA H-L, XU H-Y, et al. Relationships between soil enzymatic activities and Cu-Ni compounds pollution in the wastewater irrigated farmland in arid region[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(5): 1809-1814.
- [26] Huang S H, Peng B, Yang Z H, et al. Chromium accumulation, microorganism population and enzyme activities in soils around chromium-containing slag heap of steel alloy factory[J]. *Trans Nonferrous Met Soc China*, 2009, 19: 241-248.
- [27] Dazy M, Béraud E, Cotellet S, et al. Antioxidant enzyme activities as affected by trivalent and hexavalent chromium species in *Fontinalis antipyretica* Hedw[J]. *Chemosphere*, 2008, 73: 281-290.
- [28] 林匡飞, 徐小清, 郑 利, 等. 土壤铬污染对土壤酶活性的生态毒理效应[J]. 土壤学报, 2005, 42(1): 106-110.
- LIN K-F, XU X-Q, ZHENG L, et al. Eco-toxicological effects of Cr-pollution on soil enzyme activity in soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2005, 42(1): 106-110.
- [29] 和文祥, 朱铭莪, 张一平. 土壤酶与重金属关系的研究现状[J]. 土壤与环境, 2000, 9(2): 139-142.
- HE W-X, ZHU M-E, ZHANG Y-P. Recent advance in relationship between soil enzymes and heavy metals[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(2): 139-142.
- [30] He Y, Shen D, Fang C, et al. Effects of methylmercury on the microbial population and enzyme activities in wheat rhizosphere soil[J]. *Journal of Environmental Science & Health*, 2006, 41: 269-284.
- [31] 李春俭. 高级植物营养学[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2008: 58-59.
- LI C-J. Advanced plant nutrition[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2008: 58-59.
- [32] 曾路生, 崔德杰, 李俊良, 等. 寿光大棚菜地土壤呼吸强度、酶活性、pH 与 EC 的变化研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 15 (4): 865-870.
- ZENG L-S, CUI D-J, LI J-L, et al. Changes of respiration, enzyme activities, pH and EC in greenhouse vegetable soils in Shouguang[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15 (4): 865-870.
- [33] 娄翼来, 关连珠, 王玲莉, 等. 不同植烟年限土壤 pH 和酶活性的变化[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13 (3): 531-534.
- LOU Y-L, GUAN L-Z, WANG L-L, et al. Changes of pH and enzyme activities in soils for different tobacco cropping years[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2007, 13 (3): 531-534.
- [34] 戴树桂. 环境化学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 280.
- DAI S-G. Environmental chemistry[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006: 280.