

# 菲对土壤酶活性的影响

宫璇<sup>1,2</sup>, 李培军<sup>1,3</sup>, 张海荣<sup>1</sup>, 郭伟<sup>1,2</sup>, 焦晓光<sup>1,2</sup>

(1. 中国科学院沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039; 3. 沈阳环境工程重点实验室, 辽宁 沈阳 110041)

**摘要:** 采用室内培养方法, 选择菲作为 PAHs 代表物, 探讨了菲与土壤酶活性之间的关系。结果表明, 当菲的添加浓度  $> 100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 添加菲后的 3 d 时间里, 土壤中脲酶活性有被抑制的现象; 添加菲后的 7 d 时间里, 土壤中脱氢酶活性被抑制, 土壤磷酸酶的活性却被激活; 当菲的添加浓度为  $100 \sim 2400 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 土壤过氧化氢酶活性没有显著变化。土壤脲酶、脱氢酶、磷酸酶的活性可以作为菲污染土壤的生态毒理指标, 并且观察它们在添加菲后的第 1 d 到第 7 d 的变化最为重要。

**关键词:** 菲; 土壤酶活性; 生态毒理指标; 抑制; 激活

**中图分类号:** X131.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2004)05-0981-04

## Effects of Phenanthrene Contamination on Enzyme Activity in Soil

GONG Xuan<sup>1,2</sup>, LI Pei-jun<sup>1</sup>, ZHANG Hai-rong<sup>1</sup>, GUO Wei<sup>1,2</sup>, JIAO Xiao-guang<sup>1,2</sup>

(1. Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. Key Laboratory of Shenyang Environmental Engineering, Shenyang 110041, China)

**Abstract:** Soil enzymes play important role in circle of carbon, nitrogen and phosphorus, which are concerned with metabolic processes in soil system, such as soil occurrence and development, fertility formation in soil, nutrition material transformation, organic matter decomposing, contaminations degradation and so on. Soil enzyme activity can reflect intensities and directions of many biochemical processes, and is affected by those lots of environmental factors are physical, chemical, biological ingredient and so on. Therefore, soil enzyme activity can be considered as a kind of eco-toxicological indicators that assess contaminative degree and effects of external materials on soil environment that. PAHs' toxicity and carcinogenic characteristics have been paid attention to human attaches gradually. Phenanthrene is selected as a representative pollution of PAHs in this experiment. The dynamic changes of soil enzyme activities were researched under condition of phenanthrene exposure. The relationship between enzyme activities and different phenanthrene concentrations were investigated, and sensitive enzymes are considered as eco-toxicological indicators for soil diagnoses of PAHs contamination. The results showed that under condition of phenanthrene concentration  $> 100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , urease activity and dehydrogenase activity were inhibited within 3 days and 7 days respectively. However, the activity of phosphatase was activated by phenanthrene. There is no significant change of catalase activity in the phenanthrene with range of 100 to 2400  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  in the period of 28 day. It was concluded that soil urease activity, dehydrogenase activity, and phosphatase activity may be considered as diagnoses indicators of soil contamination with phenanthrene, and the most sensitive period of the diagnoses was from the first day to the seventh day after phenanthrene exposure.

**Keywords:** phenanthrene; soil enzyme activity; eco-toxicological indicator; inhibition; activation

土壤酶在土壤碳、氮、磷循环过程中具有重要的

作用, 它们参与土壤系统中许多重要代谢过程。土壤酶的活性反映了土壤中进行的各种生物化学过程的强度和方向。土壤酶的活性易受环境中物理、化学和生物等诸因素的影响, 尤其在污染条件下土壤酶的活性变化很大, 因此土壤酶活性作为一项生态毒理学指标, 被许多学者用来判断外来物质对土壤的污染程度

收稿日期: 2004-03-04

基金项目: 中国科学院知识创新工程资助项目(KZCX2-SW-416);

国家自然科学基金重点项目(20337010); 中科院所创新项目(SLYQY0412)

作者简介: 宫璇(1978—), 女, 硕士, 研究方向为污染生态学。

以及可能对生态环境造成的影响。杨志新等的研究表明,重金属对土壤酶活性的抑制效应顺序是 Cd> Zn> Pb,脲酶对重金属的抑制作用最为敏感,并且重金属对于土壤酶活性的抑制是一种暂时的现象,经过一段时间以后,酶活性能得到一定程度的恢复,恢复时间与重金属对土壤酶抑制强度的大小呈正相关;Cd、Zn、Pb 共存对脲酶的影响表现出协同抑制负效应的特征,对过氧化氢酶的影响却表现出一定的拮抗作用,对转化酶和碱性磷酸酶的影响主要随 Cd 浓度的增加而降低<sup>[1]</sup>。刘树庆(1996)认为脲酶和过氧化氢酶的活性与 Pb、Cd 的相关显著性最好<sup>[2]</sup>,所以用脲酶和过氧化氢酶的活性作为判别土壤重金属 Pb、Cd 污染

程度的主要生化指标是可行的。但多环芳烃对土壤酶活性影响的研究少有报道,加之多环芳烃的致癌、致畸、致突变性逐渐受到重视,所以选择多环芳烃中的代表物——菲作为污染物,探讨其与土壤酶活性之间的关系是十分必要的,可为用土壤酶活性作为非污染的生态毒理指标提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 供试土壤

供试土壤为黑土,采自黑龙江省海伦县。风干后研磨,过 2 mm 筛备用。土壤基本化学性质见表 1。

表 1 供试土壤的基本性质

Table 1 Basic chemical properties of the tested soil samples

土类	有机质/g·kg <sup>-1</sup>	全 N/g·kg <sup>-1</sup>	全 P/g·kg <sup>-1</sup>	全 K/g·kg <sup>-1</sup>	速 N/mg·kg <sup>-1</sup>	速 P/mg·kg <sup>-1</sup>	速 K/mg·kg <sup>-1</sup>	pH
黑土	40.70	2.11	3.99	18.97	277.72	17.55	123.09	6.52

#### 1.1.2 供试试剂

菲,Fluka 公司产品,纯度大于 90%。

### 1.2 基本操作

#### 1.2.1 预培养

取风干土样 1 kg 装入瓷盆中(直径 9.5 cm、高 10.5 cm),加入蒸馏水至土壤田间持水量,编号,称每个瓷盆和土样的总质量,每天依照称量记录补充损失水分,预培养一周。

#### 1.2.2 实验设计

实验设 5 个处理,每个处理 3 次重复。添加污染物后的第 1、3、7、14、28 d 取样,测土壤中脲酶、脱氢酶、过氧化氢酶和磷酸酶的活性。实验设计见表 2。

### 1.3 测定方法

脲酶、脱氢酶、过氧化氢酶和磷酸酶活性的测定方法分别是:尿素残留法<sup>[3]</sup>、TTC 法<sup>[4]</sup>、滴定法<sup>[5]</sup>和比色法<sup>[5]</sup>。

表 2 实验设计

Table 2 Design of the present experiment

处理号	PHE1	PHE2	PHE3	PHE4	PHE5
菲的添加量/μg·kg <sup>-1</sup>	100	300	600	1 200	2 400

### 1.4 数据处理

数据处理、多重比较采用 SPSS11.0 软件进行<sup>[6]</sup>。

## 2 结果与讨论

### 2.1 多重比较的结果

本次实验的多重比较分析是利用 SPSS11.0 软件的 One - Way ANOVA 过程进行分析的,多重比较的方法是以空白作为对照,以添加污染物的处理与空白对照进行比较,分析处理的土壤酶活性与对照的土壤酶活性之间的差异是否显著,详细结果见表 3。

### 2.2 实验结果

表 3 各处理与空白对照比较的结果

Table 3 Result of comparing every treatments against CK

处理号	脲酶					脱氢酶					过氧化氢酶					磷酸酶				
	1	3	7	14	28	1	3	7	14	28	1	3	7	14	28	1	3	7	14	28
	/d					/d					/d					/d				
PHE1	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-
PHE2	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
PHE3	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
PHE4	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
PHE5	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-

注: + 表示处理的土壤酶活性与对照的土壤酶活性之间的差异显著; - 表示处理的土壤酶活性与对照的土壤酶活性之间的差异不显著; d 表示天数。

### 2.2.1 菲对土壤脲酶活性的影响

由图 1 可以看出, 添加污染物后的第 1 d, 5 个处理的脲酶活性均显著地低于空白对照。当土壤中菲的添加浓度为  $100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 土壤中的脲酶活性降低了 14%, 并且抑制作用随着菲的添加量增加而增强, 即抑制作用依次为: PHE5 > PHE4 > PHE3 > PHE2 > PHE1。第 3 d 时, PHE1 和 PHE2 的土壤脲酶活性与空白对照的差异不显著, PHE3 脲酶活性与空白对照相比, 脲酶活性降低了 11%, 与第 1 d 相同, 抑制作用随着处理中菲的添加量的增加而增强。PHE1 和 PHE2 中菲的添加量较低, 所以对土壤酶活性影响的时间也较短。在菲处理 7 d 以后, 每个处理与空白对照的差异均不显著, 这说明脲酶的活性得到了恢复。由表 3 和图 1 可以看出, 土壤里添加菲后的第 1 d, 每个处理的脲酶活性变化都是最显著的, 这就说明用土壤脲酶活性作为菲污染土壤的生态毒理指标时, 观测添加菲后第 1 d 土壤脲酶活性的变化是最重要的。

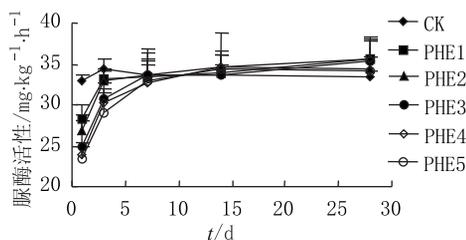


图 1 菲对脲酶活性的影响

Figure 1 Effects of PHE (phenanthrene) on urease activity

### 2.2.2 菲对土壤脱氢酶活性的影响

从图 2 可以看出, 添加菲后的第 1 d, PHE1 与空白对照相比, 土壤脱氢酶活性降低了 30%, 每个处理中脱氢酶活性降低的程度依次为: PHE5 > PHE4 > PHE3 > PHE2 > PHE1。除了第 28 d 的 PHE2 以外, 各个处理的脱氢酶活性均低于空白对照, 这说明向土壤中添加菲, 对土壤脱氢酶的活性会产生抑制作用。由于脱氢酶活性与微生物的种类、数量有显著的联系<sup>[7]</sup>, 而非的添加, 使微生物的种类、数量发生了改变, 所以菲的添加可以使土壤脱氢酶的活性被抑制。

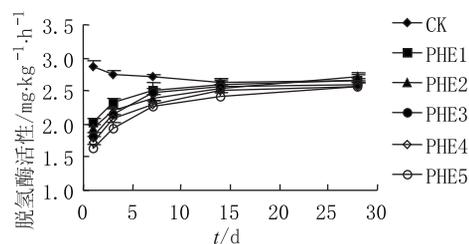


图 2 菲对脱氢酶活性的影响

Figure 2 Effects of PHE on dehydrogenase activity

### 2.2.3 菲对过氧化氢酶活性的影响

从图 3 和表 3 中可看出, 各处理与对照之间的差异均不显著。这说明在试验条件下向土壤中添加菲, 对土壤过氧化氢酶的活性没有影响。过氧化氢酶被看作是好氧微生物的指示物(这种酶在厌氧微生物中不存在), 并且过氧化氢酶活性与好氧微生物的数量、土壤肥力有着密切联系<sup>[8]</sup>。因此, 可以认为向土壤中添加菲对土壤中好氧微生物的影响不大, 所以土壤中过氧化氢酶的活性也没有显著变化。

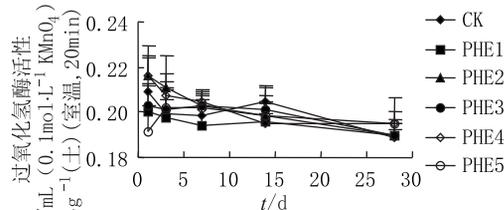


图 3 菲对过氧化氢酶活性的影响

Figure 3 Effects of PHE on catalase activity

### 2.2.4 菲对磷酸酶活性的影响

由图 4 所示, 土壤中添加菲后的第 1 d, PHE1 与空白对照相比, 磷酸酶活性增加了 18%, PHE5 增加了 31%, 其他处理也有相应增加。这表明菲对土壤磷酸酶活性有激活作用, 激活作用的大小顺序依次为: PHE5 > PHE4 > PHE3 > PHE2 > PHE1。随着时间的推移, 各个处理的磷酸酶活性逐渐降低, 激活作用逐渐消失。第 14 d 时, 5 个处理的脱氢酶活性与对照之间的差异均不显著。根据表 3 与图 4 的结果可以看出, 菲的添加, 对土壤磷酸酶活性有一定的激活作用, 而且这种作用会随着添加浓度的增加而增强, 说明土壤磷酸酶活性对菲的反应敏感, 土壤磷酸酶活性可以作为菲污染土壤的生态毒理指标。

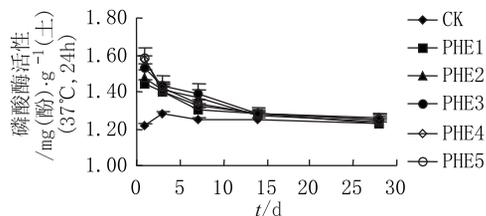


图 4 菲对磷酸酶活性的影响

Figure 4 Effects of PHE on phosphatase activity

## 3 结论

(1) 土壤中添加菲之后对土壤酶活性的影响效果不同。菲的添加, 对土壤脲酶、脱氢酶活性有抑制作用; 对土壤磷酸酶活性有激活作用; 菲的添加浓度为  $100 \sim 2400 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 对土壤过氧化氢酶活性影响

不显著。

(2) 一些学者进行菲污染土壤的生态毒性实验中, 当菲的添加浓度为  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  数量级时, 对高等植物根伸长产生抑制作用<sup>[9]</sup>。结果表明, 当菲的添加浓度为  $100 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 土壤脲酶、脱氢酶和磷酸酶的活性就会发生很大的变化, 这说明土壤脲酶、脱氢酶和磷酸酶的活性对菲的反应敏感, 即土壤脲酶、脱氢酶和磷酸酶活性适合作为菲污染土壤的生态毒理指标。

(3) 菲对土壤脲酶、脱氢酶和磷酸酶活性的影响的作用时间不同。菲对土壤脲酶活性产生抑制作用的时间为 7 d 以前; 菲对土壤脱氢酶的活性产生抑制作用的时间为 14 d 以前; 菲对土壤磷酸酶活性产生激活作用的时间为 14 d 以前。

(4) 菲添加后的第 1 d, 每个处理中土壤脲酶、脱氢酶和磷酸酶的活性与空白对照差异最显著, 说明利用土壤脲酶、脱氢酶和磷酸酶活性作为菲污染土壤的生态毒理指标, 观察它们在添加菲后第 1 d 的变化是最重要的。

#### 参考文献:

[1] 杨志新, 刘树庆. 重金属 Cd、Zn、Pb 复合污染对土壤酶活性的影

响[J]. 环境科学学报, 2001, 21(1): 60 - 63.

[2] 刘树庆. 保定市污灌区土壤的 Pb、Cd 污染与土壤酶活性关系研究[J]. 土壤学报, 1996, 33(2): 175 - 182.

[3] 鲁如坤. 土壤农业化学与分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.

[4] Tabatabai M A. Soil Enzymes[A]. In: Weaver R W, Angle J R, Bottomley P S, et al. Methods of Soil Analysis: Microbiological and Biochemical Properties[C]. Part 2. SSSA Book Ser. 5 Soil Science Society of America, Madison, WI, 775 - 833.

[5] 关松荫, 等. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.

[6] 张文彤. SPSS 11 统计分析教程[M]. 北京: 北京希望电子出版社, 2002.

[7] Dhruva Kumar Jha, Sharma G D, Mishra R R. Soil microbial population numbers and enzyme activities in relation to altitude and forest degradation[J]. *Soil Boil Biochem.*, 1992, 24(2): 761 - 767.

[8] Margesin R, Walder G, Schinner F. The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil[J]. *Acta Biotechnol.*, 2000, 20: 313 - 333.

[9] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 菲、芘、1,2,4-三氯苯对土壤高等植物根伸长抑制的生态毒性效应[J]. 生态学报, 2002, 22(11): 1945 - 1950.