

Cr³⁺对土壤脲酶活性特征的影响

和文祥^{1,2}, 王娟¹, 田海霞¹, 郑粉丽^{1,2}

(1.西北农林科技大学资环学院, 陕西 杨凌 712100; 2.中国科学院水利部 西北水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100)

摘要:采用模拟方法对 Cr³⁺的土壤脲酶效应进行了研究,结果表明,土壤 pH 对 Cr³⁺的生态毒性有重要影响;酸性土壤脲酶受到显著抑制,活性及动力学特征参数与 Cr³⁺浓度间达显著或极显著负相关,而且模型 $U=\beta_0/(\beta_1\times C+1)$ 揭示其间机理为完全抑制,动力学则进一步细化为非竞争性抑制;获得土壤轻微和中等度污染时的生态剂量 ED₁₀ 和 ED₅₀ 分别为 50.59 和 865.7 mg·kg⁻¹;酸性土壤中脲酶活性、 $V_{\max}$ 、 k 可作为土壤 Cr³⁺污染的监测指标之一,而碱性土壤则反应不敏感,其随铬浓度增加,脲酶活性及动力学参数呈先增加后降低的规律性变化,总体变幅较小;两类土壤的差别可能主要是由于土壤环境引起了不同价态铬转变的缘故。

关键词:Cr³⁺;土壤脲酶;动力学;生态剂量;pH

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)11-2343-05

Effect of Trivalent Chromium on Soil Urease Activity Characteristics

HE Wen-xiang^{1,2}, WANG Juan¹, TIAN Hai-xia¹, ZHENG Fen-li^{1,2}

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

Abstract:Chromium was one of four major polluted heavy metals in environment; there were big difference in ecological toxicity among different species chromium. By indoor simulations, soil urease activity and kinetic characteristics were studied in soils polluted by Cr³⁺, the results showed as follows. Soil pH had the most important influence on Cr³⁺ ecological toxicity, soil urease was inhibited by Cr³⁺ in acid soil samples, there were remarkable or significantly negative correlation between soil urease characteristics (such as activity, $V_{\max}$, $V_{\max}/K_m$ and k values) and Cr³⁺ concentrations. The reaction mechanism was fully inhibition by the regression equation $U=\beta_0/(\beta_1\times C+1)$ between soil urease activity (U) and Cr³⁺ concentrations (C), furtherly it was no-competitive inhibition by urease kinetic parameters analyse. The ecological dose ED₁₀ and ED₅₀ were 50.59 and 865.7 mg·kg⁻¹ when soil was slight and medium polluted by Cr³⁺ respective in acid soils. Soil urease activities, $V_{\max}$, $V_{\max}/K_m$ and k could be monitor indexes of polluted by Cr³⁺ in acid soils. In alkaline soils, soil urease is not sensitive to Cr³⁺. urease characteristics parameters were less change during Cr³⁺ concentrations tested, that activated at the lower concentrations and inhibited at the higher concentrations. It was because Cr species and state may be changed in the difference environmental conditions (such as acid soils and alkaline soils).

Keywords:chromium(Ⅲ); soil urease; kinetic; ecological dose; pH

铬是自然环境中的四大污染元素之一,每年约 35~42 万 t^[1-2]铬渣等是其污染的主要来源,结果必然导致土壤、地下水、河流等的污染。据报道严重污染土壤中铬含量可高达 4 000 mg·kg⁻¹^[3],最终会通过食物

链对植物、动物和人造成严重毒害,因而被美国 EPA 列为 129 种优先控制污染物之一。同时 Cr 价态较多,其中最常见 Cr³⁺和 Cr⁶⁺的毒性差异很大,动物等试验表明 Cr⁶⁺的生态毒性是 Cr³⁺的 100~1 000 倍^[4]。土壤脲酶作为土壤的重要组成部分,几乎参与了土壤中所有的生化反应,在养分循环、能量代谢及污染土壤修复等过程中发挥重要作用^[5-7]。土壤脲酶是唯一作用于尿素肥料的酶类,国内外报道较多,提出了一些可以监测土壤污染、土壤肥力等的酶指标^[8],但鲜见不同价态 Cr 的酶效应报道,而且结果差异较大,如 Samborska A

收稿日期:2009-03-05

基金项目:西北农林科技大学“青年学术骨干人才支持”计划;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(01140202)

作者简介:和文祥(1968—),男,陕西黄龙人,副教授,博士,博士生导师,从事土壤生态毒理及土壤生物化学方面研究。

E-mail:wxhe1968@163.com

等^[9]发现 Cr³⁺对纯脲酶的毒性要强于 Cr⁶⁺,其生态剂量 ED₅₀ 分别为 0.2 和 0.4 mg·kg⁻¹。故有必要对不同价态铬特别是 Cr³⁺进入土壤后的酶效应进行研究。本文拟采用模拟方法对 Cr³⁺污染后土壤脲酶活性的分析,借助动力学手段,探讨 Cr³⁺与土壤脲酶间的关系及作用机理,最终为环境污染监测和防治提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试土样

红壤(筒育湿润富铁土 Hap udic ferrisols)和褐土(钙积干润淋溶土 Cal-Ustic Luvisols)2005 年分别采自江西鹰潭市中国科学院红壤实验站和陕西渭南市郊区。采样时,先去除 0~5 cm 表层后,五点法取 5~20 cm 耕层土样,混匀风干,过 1 mm 尼龙筛后备用。常规方法测定土壤理化性质,结果见表 1。

1.2 试验方法

5.00 g 土样加入 1 mL 甲苯 15 min 后,添加 5 mL 不同浓度(0、250、500、1 000、2 500、5 000Cr³⁺ mg·kg⁻¹)的铬溶液(CrCl₃),混匀后 30 min,加入不同浓度(0.005、0.010、0.050、0.100 mol·L⁻¹)尿素溶液 10 mL 和 pH 6.7 柠檬酸盐缓冲液 20 mL。37 ℃培养,定期取样,靛酚蓝比色法测定脲酶活性^[10],以形成 NH₃-N 的量表示其活性。每处理重复 3 次,并设无底物和无土壤处理作为对照。

1.3 数据处理

土壤酶动力学参数 K_m、V_{max} 和 k 的概念和计算见作者文献^[11-12]。

2 结果与讨论

2.1 铬对土壤脲酶活性的影响

0.100 mol·L⁻¹ 尿素浓度下供试土壤脲酶活性(图 1)显示:

(1)脲酶活性随土壤有机质含量增加而增大,如

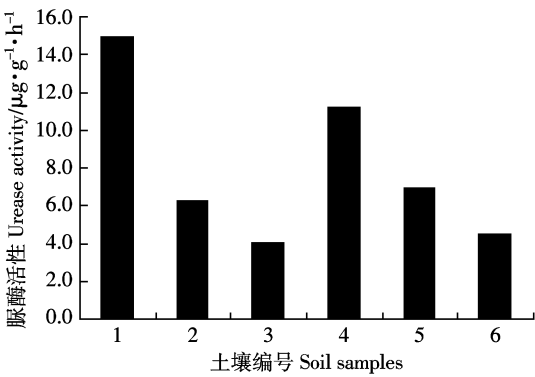


图 1 供试土壤脲酶活性

Figure 1 Urease activity of soil tested

4、5、6 号土样脲酶活性分别为 11.16、6.90 和 4.46 μg·g⁻¹·h⁻¹,5 和 6 号土样有机质和脲酶活性分别是 4 号土样的 52.16%、34.13%和 61.83%、39.96%。这主要是因为土壤酶是以吸附态与土壤有机质和粘粒结合在一起,故 4 号土壤具有较高的酶活性,佐证了“在同一生态区,土壤脲酶活性在一定程度上可指示土壤肥力水平”的结论^[6,13]。

(2)由表 2 可看出,随铬浓度增加、酸性土壤脲酶活性降低,碱性土壤脲酶活性呈先增加,后降低的规律性变化,两土类的最大降幅分别为 52.40%~80.00% 和 11.67%,表明 Cr³⁺对两类土壤的作用截然不同,揭

表 2 供试土壤脲酶活性(μg·g⁻¹·h⁻¹)

Table 2 Soil urease activity in soils tested(μg·g⁻¹·h⁻¹)

编号 No.	铬浓度 Cr concentration/mg·kg ⁻¹					
	0	250	500	1 000	2 500	5 000
1	14.94	13.23	10.52	7.11	2.85	1.47
2	6.26	4.84	3.66	2.59	1.22	0.25
3	4.05	3.18	2.16	0.81	0.35	0.17
4	11.16	12.03	11.96	11.83	10.83	9.86
5	6.90	7.28	7.37	6.97	7.55	6.37
6	4.46	4.57	4.96	5.25	5.08	4.10

表 1 供试土样的理化性质

Table 1 The physical-chemical properties of tested soil

土样 Soil samples	编号 No.	粘粒 Clay/ %	粉粒 Silt/ %	砂粒 Sand/ %	有机质 O.M/ %	全氮 TN/ g·kg ⁻¹	全磷 TP/ g·kg ⁻¹	碱解氮 Alk-hydrolyzabe N/ mg·kg ⁻¹	CEC/ cmol·kg ⁻¹	pH
红壤	1	46.76	17.16	36.08	20.02	1.43	0.66	126.70	14.48	6.22
	2	40.75	16.59	42.66	8.22	0.69	0.45	61.85	6.23	5.49
	3	36.69	17.49	45.82	9.60	0.83	0.34	57.38	13.22	5.65
褐土	4	17.98	34.00	48.02	25.46	1.75	1.05	107.56	12.09	8.28
	5	19.76	17.54	62.70	13.28	1.26	0.73	34.70	6.25	8.12
	6	19.97	24.23	55.80	8.69	0.53	0.50	43.45	6.71	8.43

示出土壤性质特别是 pH 的影响十分重要。

(3)2 号和 3 号土样的抑制率大于 1 号。揭示有机质和粘粒含量较高土壤对铬具有明显的缓冲作用,即土壤肥力水平越高,对铬的缓冲作用越强,抑制率相对越小。

(4)采用 $U=\beta_0/(\beta_1 \times C+1)$ 、 $U=\beta_0+\beta_1 \times C$ 等模型对红壤脲酶活性(U)与 Cr^{3+} 浓度(C)进行拟合,结果(表 3)显示:两者均达到极显著负相关,揭示土壤脲酶活性可作为红壤受 Cr^{3+} 污染程度的监测指标之一。

(5)模型 $U=\beta_0/(\beta_1 \times C+1)$ 拟合结果表明它们的机理为完全抑制作用(包括竞争性抑制和非竞争性抑制)^[14]。

(6)碱性土壤的二者关系可用抛物线拟合(表 4),结果达显著或极显著相关。揭示出北方土壤脲酶活性对铬反应较为复杂,既有微弱的激活,也有抑制作用。这可能是由于在碱性条件下其变化与酸性土壤有所差异导致的。

(7)由拟合方程计算得到红壤脲酶生态剂量(Ecological Dose)ED₁₀ 和 ED₅₀, 其分别代表土壤生化活性降低 10%和 50%时的外源污染物的含量,也可表征轻微和严重污染程度时土壤外源污染物的浓度^[14]。由表 3 可见,1、2 和 3 号土壤脲酶最小 ED₁₀ 值分别为

表 3 脲酶活性与铬浓度的拟合方程

Table 3 The regression equations between soil urease activity and Cr concentrations

编号 No.	模型	$\beta_1(\times 10^{-3})$	β_0	相关系数 Correlation coefficient	ED ₁₀	ED ₅₀
					/mg·kg ⁻¹	
1	$U=\beta_0/(\beta_1 \times C+1)$	0.126 4	0.040 1	0.997**	879.0	7 911.4
2		0.743 7	-0.172 4	0.947**	149.4	1 344.6
3		1.155 2	0.052 8	0.998**	96.2	865.7
1	$U=\beta_0+\beta_1 \times C$	-2.574	12.322	0.896*	478.7	2 393.6
2		-1.042 7	4.744 2	0.888*	455.0	2 275.0
3		-0.662 0	2.807 3	0.791	424.1	2 120.3

注:自由度 $n-2=4$, $r_{0.05}=0.811$, $r_{0.01}=0.917$, 下同。

表 4 碱性土壤脲酶活性与三价铬浓度的拟合方程

Table 4 The regression equations between alkaline soil urease activity (U) and Cr concentrations (C)

编号 No.	拟合方程 Regression equation $U=a \times C^2 + b \times C + d$			相关系数 Correlation coefficient
	$a(\times 10^6)$	$b(\times 10^3)$	D	
4	-0.06	-0.09	11.744	0.901**
5	-0.10	0.40	6.997 7	0.864**
6	-0.10	0.70	4.542 9	0.943**

478.7、149.4 和 96.2 mg·kg⁻¹, 3 号土样 ED₁₀ 值比 1 号土样小 79.90%; ED₅₀ 值分别为 2 393.6、1 344.6 和 865.7 mg·kg⁻¹。揭示出红壤铬轻微和严重污染时的临界浓度为 96.2 和 865.7 mg·kg⁻¹。

2.2 铬对脲酶酶促反应动力学参数的影响

动力学是研究土壤酶促反应机制的重要手段之一^[11], 米氏常数 K_m 表征酶与底物结合的牢固程度, 当 K_m 值小时, 酶与底物结合牢固, 亲和力就大。最大反应速度 $V_{\max}$ 是总酶量的量度, 可表征酶-底物复合物分解为酶和产物的速率, 是实现某种酶过程的土壤潜在能力的容量指标。有学者认为, $V_{\max}/K_m$ 是酶促反应初速度的重要指标, 可作为土壤肥力的指标之一。反应速度常数 k 则在本质上反映酶促反应是“快”还是“慢”, 其值与底物浓度无关。

供试土壤脲酶动力学参数见表 5, 可看出:

(1) 供试土样脲酶的 K_m 值处于 1.481~7.135 mmol·L⁻¹, 最大相差不超过 4.82 倍, 即 K_m 是处于同一数量级的, 这是由于土壤脲酶来源比较单一, 即主要来源于微生物的缘故。

(2) 铬的加入导致红壤脲酶 $V_{\max}$ 值急速降低, 1、2、3 号土样的最大降幅分别达 74.8%、74.3% 和 77.0%, 表明铬的加入显著减缓了脲酶-尿素复合物解离为酶和产物(氨)的速度, 并由随 Cr 浓度增加, 土壤脲酶 K_m 基本不变、 $V_{\max}$ 减小的规律性变化, 揭示出铬对土壤脲酶的作用机理为非竞争抑制。前面采用土壤酶活性得到的是完全抑制作用, 可见动力学手段更能细化它们之间的作用机理。

(3) 随铬浓度增大, 红壤脲酶 $V_{\max}$ 、 $V_{\max}/K_m$ 和 k 值逐渐减小, 相关分析(表 6)显示除 2 号土壤脲酶的 $V_{\max}/K_m$ 外, 其余处理均达显著或极显著负相关, 说明铬从本质上减缓了脲酶酶促反应的速度, 土壤脲酶对铬污染是比较敏感的; 在酸性土壤中, 脲酶 $V_{\max}$ 、 $V_{\max}/K_m$ 和 k 值都可和酶活性一起作为铬污染程度的监测指标。

(4) 同样我们计算土壤脲酶参数值降幅为 10% 时的生态剂量 ED₁₀ 值(表 6), 可看出, 采用 $V_{\max}/K_m$ 拟合获得的 ED₁₀ 值较小, 说明脲酶的 $V_{\max}/K_m$ 值对 Cr^{3+} 较为敏感, 同时得到红壤轻微污染的临界浓度为 50.59 mg·kg⁻¹。

(5) 碱性土壤随加入铬量的增加, 脲酶 $V_{\max}$ 值呈现先增加后减小的规律性变化, 但总体变化较小, 说明从机理上 Cr^{3+} 对碱性土壤酶机理上影响不大, 这与酶活性的变化规律一致。

表 5 供试土壤脲酶动力学参数
Table 5 Kinetic parameters of urease of soils tested

编号 No.	参数 parameter	铬浓度 chromium concentration(mg·kg ⁻¹)					
		0	250	500	1 000	2 500	5 000
1	$K_m/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	2.785	3.452	2.678	2.594	6.008	4.857
	$V_{\text{max}}/\mu\text{mol}\cdot(\text{Lgh})^{-1}$	20.848	20.552	17.487	13.013	8.801	5.259
	$V_{\text{max}}/K_m(\times 10^{-3})$	7.487	5.953	6.531	5.017	1.465	1.083
	$k/\times 10^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$	2.688	2.369	2.300	1.768	0.756	0.505
2	$K_m/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	1.481	1.833	1.603	2.430	3.737	4.384
	$V_{\text{max}}/\mu\text{mol}\cdot(\text{Lgh})^{-1}$	5.903	5.187	3.915	2.351	1.449	1.025
	$V_{\text{max}}/K_m(\times 10^{-3})$	3.985	2.830	2.443	0.967	0.388	0.234
	$k/\times 10^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$	1.017	8.130	0.648	0.334	0.160	0.108
3	$K_m/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	1.846	1.670	2.114	3.774	7.109	6.958
	$V_{\text{max}}/\mu\text{mol}\cdot(\text{Lgh})^{-1}$	4.791	3.928	3.491	2.607	1.758	1.101
	$V_{\text{max}}/K_m(\times 10^{-3})$	2.595	2.352	1.652	0.691	0.247	0.158
	$k/\times 10^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$	0.747	0.638	0.518	0.288	0.139	0.091
4	$K_m/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	2.664	2.800	2.960	2.799	3.638	3.778
	$V_{\text{max}}/\mu\text{mol}\cdot(\text{Lgh})^{-1}$	18.395	19.633	19.661	19.520	18.342	16.094
	$V_{\text{max}}/K_m(\times 10^{-3})$	6.906	7.013	6.642	6.973	5.041	4.260
	$k/\times 10^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$	2.421	2.522	2.455	2.521	2.045	1.771
5	$K_m/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	4.421	4.409	4.247	5.529	7.135	6.938
	$V_{\text{max}}/\mu\text{mol}\cdot(\text{Lgh})^{-1}$	12.660	13.035	13.151	16.189	15.724	13.439
	$V_{\text{max}}/K_m(\times 10^{-3})$	2.863	2.956	3.096	2.928	2.204	1.937
	$k/\times 10^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$	1.320	1.349	1.397	1.519	1.234	1.110
6	$K_m/\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$	1.951	1.803	1.832	2.371	3.396	3.725
	$V_{\text{max}}/\mu\text{mol}\cdot(\text{Lgh})^{-1}$	7.672	7.866	8.405	9.091	9.703	8.059
	$V_{\text{max}}/K_m(\times 10^{-3})$	3.931	4.363	4.588	3.835	2.857	2.164
	$k/\times 10^{-3}\cdot\text{h}^{-1}$	1.196	1.276	1.356	1.332	1.227	0.964

表 6 酸性土壤脲酶动力学参数与铬浓度的关系
Table 6 Regression analyze between acid soil urease kinetic parameters and Cr concentration (C_{Cr})

土样 Soil sample	动力学参数 Kinetic parameter	拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficients	ED ₁₀ /mg·kg ⁻¹
1	V_{max}	$V_{\text{max}}=19.156-0.003\ 1\times C_{\text{Cr}}$	-0.934**	617.94
	V_{max}/K_m	$V_{\text{max}}/K_m=6.577\ 3-0.013\times C_{\text{Cr}}$	-0.917**	50.59
	k	$k=2.412\ 2-0.000\ 4\times C_{\text{Cr}}$	-0.933**	603.05
2	V_{max}	$V_{\text{max}}=4.671\ 2-0.000\ 9\times C_{\text{Cr}}$	-0.843 1*	519.02
	V_{max}/K_m	$V_{\text{max}}/K_m=2.792\ 3-0.000\ 6\times C_{\text{Cr}}$	—	—
	k	$k=0.761\ 6-0.000\ 2\times C_{\text{Cr}}$	-0.834*	380.80
3	V_{max}	$V_{\text{max}}=3.958\ 2-0.000\ 7\times C_{\text{Cr}}$	-0.907*	565.45
	V_{max}/K_m	$V_{\text{max}}/K_m=1.985\ 9-0.000\ 5\times C_{\text{Cr}}$	-0.813*	397.18
	k	$k=0.590\ 8-0.000\ 1\times C_{\text{Cr}}$	-0.858*	590.8

综上所述,Cr³⁺对土壤脲酶活性的影响首先取决于土壤 pH。在酸性土壤中,土壤脲酶活性及动力学参数受到 Cr³⁺的显著抑制作用,其间关系达到显著或者极显著负相关,揭示其间机理主要为非竞争性抑制;获得了从土壤生化活性角度得到的轻微和中度污染时的生态剂量 ED₁₀ 和 ED₅₀ 值分别为 50.59 和

865.7 mg·kg⁻¹。而碱性土壤脲酶在供试浓度范围内,总体表现对 Cr³⁺不敏感,影响变幅不超过 12%。

参考文献:

[1] 吕新之. 铬污染与防治[J]. 菏泽师专学报, 1985, 20(2):78-80.
LV Xin-zhi. The prevention and cure of the pollution by chromium[J].

- Journal of Heze Teachers College*, 1985, 20(2):78-80.
- [2] 杜 良, 王金生. 铬渣毒性对环境的影响与产出量分析[J]. 安全与环境学报, 2004, 4(2):34-37.
DU Liang, WANG Jin-sheng. Environmental impact of chromic slag and analysis of chromic slag's output[J]. *Journal of Safety and Environment*, 2004, 4(2):34-37.
- [3] Pellerin C, Booker S M. Reflections on hexavalent chromium; health hazards of an industrial heavy weight[J]. *Environ Health Perspect*, 2000, 108: A407-A409.
- [4] Malgorzata Grabarczyk, Mieczyslaw Korolczuk, Katarzyna Tyszczyk. Extraction and determination of hexavalent chromium in soil samples[J]. *Annl Bioanal Chem*, 2006, 386:357-362.
- [5] 张丽莉, 陈利军, 刘桂芬, 等. 污染土壤的酶学修复研究进展[J]. 应用生态学报, 2003, 14(12):2342-2346.
ZHANG L L, CHEN L J, Liu G F, et al. Advance in enzymological remediation of polluted soils[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(12):2342-2346.
- [6] 周礼恺. 土壤酶活性的总体在评价土壤肥力水平中的作用[J]. 土壤学报, 1983, 20(4):413-417.
Zhou L K. Effect of soil enzyme activity on evaluation to soil fertility level [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1983, 20(4):413-417.
- [7] 和文祥, 陈会明, 冯贵颖, 等. 汞铬砷元素污染土壤的酶监测研究[J]. 环境科学学报, 2000, 20(3):338-343.
He W X, Cheng H M, Feng G Y, et al. Study on enzyme index in soils polluted by mercury, chromium and arsenic[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2000, 20(3):338-343.
- [8] Burns, Richard G, Dick, Richard. Enzymes in the environment: activity, ecology and applications[M]. New York: Marcel Dekker Inc, 2002:495-527.
- [9] Samborska A, Stepniewska Z, Stepniewski W. Influence of different oxidation states of chromium (VI, III) on soil urease activity[J]. *Geoderma*, 2004, 122(2-4):317-322.
- [10] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1987:132-134.
Guan S Y. Soil enzyme and its research methods[M]. Beijing: Agricultural Press, 1987:132-134.
- [11] 和文祥, 朱铭菽. 陕西土壤脲酶与土壤肥力关系研究 II. 土壤脲酶的动力学特征[J]. 土壤学报, 1997, 34(1):42-52.
He W X, Zhu M E. Relationship between urease activity and fertility of soils in shaanxi province, II kinetic characteristics[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1997, 34(1):42-52.
- [12] 和文祥, 韦革宏, 武永军, 等. 汞对土壤酶活性的影响[J]. 中国环境科学, 2001, 21(3):279-283
HE W X, WEI G H, WU Y J, et al. Soil enzyme activity effected by Hg [J]. *China Environmental Science*, 2001, 21(3):279-283.
- [13] 和文祥, 朱铭菽. 陕西土壤脲酶活性与土壤肥力关系分析[J]. 土壤学报, 1997, 34(4):392-397.
He W X, Zhu M E. Relationship between urease activity and fertility of soils in shaanxi province[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1997, 34(4):392-397.
- [14] Speir T W, Kettles H A, Parshotam A, et al. A simple kinetic approach to derive the ecological dose value, ED₅₀, for the assessment of Cr(VI) toxicity to soil biological properties[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(6):801-810.