

高氯酸盐和铬复合污染对土壤酶活性及微生物数量的影响

段雄伟, 刘亚玲, 黎华寿, 贺鸿志, 陈桂葵*

(华南农业大学 农业部华南热带农业环境重点实验室, 广东省高等学校农业生态与农村环境重点实验室, 广州 510642)

摘要:通过室内模拟控制试验,研究了高氯酸盐和铬单一及复合污染在不同时间对农田土壤酶活性和微生物数量的影响。结果发现:在处理前期,随着高氯酸盐、铬及其复合污染浓度的增加,土壤多酚氧化酶活性显著增加;单一高氯酸盐处理对土壤过氧化氢酶活性无显著性影响,中、高浓度的六价铬单一处理及其复合处理显著降低了土壤过氧化氢酶活性;土壤脲酶活性与污染物浓度表现出明显的低促高抑的关系;单一高氯酸盐处理在第2 d显著促进了土壤蔗糖酶活性,单一铬、高氯酸盐与铬复合处理在第8 d对土壤蔗糖酶活性有显著的抑制效应;随着处理时间的延长,四种土壤酶活性逐渐恢复,到第30 d基本都趋于对照组水平。在整个试验过程中,高氯酸盐与铬的单一及其复合处理显著降低了土壤中真菌的数量。高浓度处理组在实验前期显著降低了土壤中放线菌和细菌的数量,但到第30 d时,其数量基本已恢复至对照水平。研究表明,高氯酸盐和铬污染在初期对土壤酶活性以及土壤微生物数量有显著的影响,随着土壤中耐性菌群的富集生长,土壤酶活性会逐渐恢复到正常,其中细菌和放线菌在这两种污染物的修复中起着主要作用。

关键词:高氯酸盐;六价铬;土壤酶;微生物数量

中图分类号:Q945.78 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)02-0322-10 doi:10.11654/jaes.2014.02.017

Effects of Combined Pollution of Perchlorate and Hexavalent Chromium on Soil Enzyme Activities and Microbial Population

DUAN Xiong-wei, LIU Ya-ling, LI Hua-shou, HE Hong-zhi, CHEN Gui-kui*

(Key Laboratory of Agro-Environment in the Tropics, Ministry of Agriculture, P.R. China, South China Agricultural University; Key Laboratory of Agroecology and Rural Environment of Guangdong Regular Higher Education Institutions, Guangzhou 510642, China)

Abstract: Perchlorate and hexavalent chromium often enter soil via irrigation. A simulated control experiment was conducted to study the joint effects of perchlorate and hexavalent chromium on soil enzyme activities and microbial population over time. At the early stage of the experiment, polyphenol oxidase activity was found to increase significantly with increasing concentrations of perchlorate and/or chromium. Catalase activity was not affected by perchlorate alone, but significantly decreased by hexavalent chromium at medium or high concentrations and combined perchlorate and hexavalent chromium ($P < 0.05$). Urease activity was promoted at low but inhibited at high concentrations. Invertase activity was enhanced significantly by perchlorate during the first 2 days, but was reduced by perchlorate, hexavalent chromium or their combinations at the 8th day. However, the activities of four soil enzymes were all restored to the initial levels at the 30th day. During the experiment, soil fungi population reduced significantly in single and combined treatments of perchlorate and chromium. The population of bacteria and actinomycete decreased significantly under high concentrations at the early stage of the experiment, but were all back to the control levels at the 30th day. The bacteria were tolerant to perchlorate and chromium and became dominant species, causing enzyme activities return to the control levels. The results indicate that bacteria and actinomycete play a crucial role in bioremediation of these two pollutants.

Keywords: chromium; perchlorate; soil enzyme activity; soil microbial population.

收稿日期:2013-07-11

基金项目:广东省自然科学基金项目(S2011010001055);国家自然科学基金项目(30700099);863项目(2013AA102402)

作者简介:段雄伟(1989—),男,硕士研究生,主要从事污染生态、环境生态学研究。E-mail:xiongweiduan@qq.com

*通信作者:陈桂葵 E-mail:guikuichen@scau.edu.cn

高氯酸盐是一种内分泌干扰剂,较低浓度即可干扰甲状腺的正常功能,从而影响人体正常的新陈代谢,阻碍人体正常的生长和发育,尤其是对孕妇和儿童的危害更大^[1-2],美国 EPA 推荐其口服摄入安全剂量为每天每千克体重 $0.7 \mu\text{g}$ ^[3]。高氯酸盐来源广泛,自然源主要为大气光化学反应而形成^[4],人工合成的高氯酸盐广泛应用于皮革加工、橡胶制造、涂料生产、润滑油添加剂、烟花炮竹生产、电镀等行业,并且是固体火箭推进剂的主要成分^[5-6]。高氯酸盐的广泛使用与排放带来了严重的污染:如美国早期测定受人为污染地区的地下水中 ClO_4^- 浓度可达几百甚至上千 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[7],美国德州 MacGregor 地区土壤中 ClO_4^- 浓度高达 $1.8\times 10^6 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ^[8];日本、韩国、印度等国家也陆续报道了水体、土壤、植物和食品(如牛奶、蔬菜、水果、婴儿配方奶粉乃至营养品等)以及体液(母乳、唾液和尿液)等介质中都含有不同浓度水平的 ClO_4^- ^[9-13]。近年来研究表明,高氯酸盐污染在我国也是普遍存在的^[14-18]。

铬是农业土壤中最主要的重金属污染物,其来源广泛,包括大气降尘、畜禽粪便、城市污泥、污灌和化肥等途径^[19-20]。据调查,我国重金属污染的农田超过 2000 万 hm^2 ,占我国耕地的 1/5,其中铬的污染甚为严重^[21]。我国部分污灌区土壤存在明显的铬累积趋势,稻田土壤中铬含量的升高最为明显^[22],农业部环保监测系统曾对全国 24 个省市 320 个严重污染区 548.2 万 hm^2 土地调查发现,大田类农产品污染超标面积占污染区农田的 20%,其中重金属超标占污染土壤和农作物的 80%^[23]。

高水溶性、低吸附性和高流动扩散性的高氯酸盐可通过灌溉用水进入农田与重金属形成复合污染。土壤酶是土壤生态系统的核心,参与土壤中一切生化反应过程,加之其稳定、敏感的特性,其活性的大小变化能从一定程度上反映出受试土壤的污染状况^[24-25]。很多学者提出能否在不同污染物浓度下,依据对应的土壤酶活性变化规律,来评估和指示土壤环境中目标化学物质的污染程度^[26-27]。本实验研究高氯酸盐与铬的单一及复合污染对模拟水淹农田土壤中各类酶活性以及微生物数量的影响,以期为农田土壤高氯酸盐和

铬复合污染的治理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

本实验所用土壤采自华南农业大学增城朱村试验基地番茄与水稻轮作的农田,取 0~20 cm 的土样,风干后过 1 mm 尼龙筛,保存备用。其基本理化性质见表 1。

1.2 实验设计

称取混合均匀供试土壤 150 g 置于 250 mL 的塑料杯中(上口径 90 mm×下口径 65 mm×高 60 mm),分别加入高氯酸盐溶液(以分析纯高氯酸钾配制)和六价铬溶液(以分析纯重铬酸钾配制),充分混匀,使土壤中高氯酸盐的最终浓度分别为 0、1、20、100、500 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (分别用 P0、P1、P20、P100、P500 表示),铬的最终浓度分别为 0、1、10、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (分别用 C0、C1、C10、C100 表示),复合污染组采取完全随机组合设计(表 2),每个处理设 3 个重复。土壤含水量为田间最大持水量的 60%,于 25 °C 生化培养箱中培养。每隔 1 d 用称重法调节含水量,使含水量在实验期间保持恒定。分别在试验的第 2、8、15、30 d 取样测定土壤多酚氧化酶、过氧化氢酶、蔗糖酶和脲酶的活性,在第 2、30 d 分别测定微生物数量。

1.3 测定方法

多酚氧化酶的测定采用邻苯三酚比色法,以 2 h 后 1 g 土壤中紫色没食子素的毫克数表示;过氧化氢酶活性的测定采用 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的高锰酸钾滴定法,以 20 min 后 1 g 土壤消耗的 0.05 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ KMnO_4 溶液的毫升数表示;蔗糖酶活性的测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法,以 5 h 后 1 g 土壤中葡萄糖毫克数表示;脲酶的测定采用靛酚蓝比色法,以 24 h 后 1 g 土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毫克数表示^[28]。土壤微生物数量测定采用平板菌落计数法,以 1 g 土壤的菌落数($\text{cfu}\cdot\text{g}^{-1}$)计数^[29]。

1.4 数据分析

采用 Microsoft Excel 和 SPSS16.0 进行计算和统计分析,采用 Two-way Anova 进行方差分析,并用

表 1 试供土壤的基本理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of tested soil

项目 Item	pH	有机质 Organic matter/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	碱解氮 Available N/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	有效磷 Available P/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	有效钾 Available K/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	全氮 Total N/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全磷 Total P/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全钾 Total K/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	ClO_4^- Perchlorate/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	总铬 Total Cr/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Cr(VI)Hexavalent Chromium/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
含量 Content	5.29	16.04	67.24	110.80	49.94	1.581	1.285	27.24	未检出	39.14	未检出

Duncan 法进行差异显著性检验($P=0.05$)。

2 结果与分析

2.1 单一及复合污染对土壤酶活性的影响

2.1.1 对多酚氧化酶活性的影响

土壤中芳香族有机化合物转化为腐殖质组分的过程中,氧化酶特别是多酚氧化酶起着重要作用,多酚氧化酶的活性与土壤腐殖化程度呈负相关。不同处

理条件下土壤多酚氧化酶活性见表3。

实验结果表明,在处理的前15 d,随着高氯酸盐、铬及其复合污染浓度的增加,多酚氧化酶活性也显著增加,分别从对照组的1.277、3.069 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 增加到C100+P500处理组的14.115、10.035 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 。多酚氧化酶活性与污染物浓度呈正相关,其中C100+P500处理组在第2 d时高达对照组的14倍。随着时间的延长,各处理组的土壤多酚氧化酶活性逐渐降低且恢复

表2 试验设计处理组

Table 2 Experimental design of treatment group

Cr(VI)/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	ClO ₄ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$				
	0	1	20	100	500
0	0	P1	P20	P100	P500
1	C1	P1+C1	P20+C1	P100+C1	P500+C1
10	C10	P1+C10	P20+C10	P100+C10	P500+C10
100	C100	P1+C100	P20+C100	P100+C100	P500+C100

注:P代表高氯酸盐,C代表六价铬,后面的数字代表其处理浓度。下同。

表3 各处理组土壤在不同处理时间的多酚氧化酶活性($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 3 Soil polyphenol oxidase activity of different treatments at different time($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)

处理 Treatment	取样时间 Sample time			
	2 d	8 d	15 d	30 d
0	1.277±0.263hB	3.069±0.434ghAB	1.974±0.527fB	3.168±0.498abcdeA
P1	3.268±0.456fA	2.272±0.100hA	2.272±0.100fA	3.666±0.815abcA
P20	2.770±0.100fgB	3.964±0.199fgA	1.974±0.100fB	2.671±0.456cdefgB
P100	7.248±0.434dA	7.348±0.263cA	2.571±0.697efB	2.969±0.456bcdefB
P500	9.438±0.263cB	12.623±0.434aA	4.561±0.527cdC	4.462±0.790aC
C1	0.780±0.199hC	2.073±0.172hB	1.377±0.263fC	2.770±0.199bcdefA
C10	3.467±0.263fA	2.272±0.398hAB	2.571±0.263efAB	2.073±0.517defgB
C100	7.846±0.100dA	6.950±0.359cdB	4.263±0.100cdC	3.168±0.263abcdeD
C1+P1	1.277±0.199hB	2.272±0.199hA	2.571±0.263efA	1.277±0.359gB
C1+P20	1.874±0.100ghBC	4.860±0.263efA	2.272±0.263fB	1.277±0.398gC
C1+P100	3.168±0.263fAB	4.064±0.554fgA	2.571±0.199efB	2.969±0.345bcdefAB
C1+P500	3.666±0.434fA	3.964±0.263fgA	3.666±0.263deA	1.576±0.398fgB
C10+P1	3.467±0.605fA	3.069±0.359ghAB	2.173±0.398fAB	1.775±0.172efgB
C10+P20	2.870±0.434fgAB	3.268±0.597ghAB	4.064±0.434cdA	2.372±0.345cdefgB
C10+P100	3.168±0.653fBC	4.362±0.199fgAB	4.561±0.100cdA	2.372±0.299cdefgC
C10+P500	4.760±0.622eA	4.959±0.527efA	4.064±0.653cdAB	2.471±0.263cdefgB
C100+P1	9.338±0.263cA	6.651±0.949cdB	4.462±0.456cdC	3.069±0.199abcdeC
C100+P20	10.831±0.100bA	5.756±0.605deB	5.955±0.517abB	3.467±0.100abcdC
C100+P100	11.528±0.263bA	6.253±0.345cdB	5.159±0.697bcBC	4.163±0.456abC
C100+P500	14.115±0.263aA	10.035±0.359bB	6.751±0.653aC	3.566±0.456abcD
F值 F value				
P	105.66**	71.89**	16.28**	2.14
C	557.64**	89.43**	46.02**	16.73**
P×C	14.96**	19.49**	1.99	1.92

注:表中数据为平均值±标准误;小写字母不同表示同一列数据有显著性差异,大写字母不同表示同一行数据有显著性差异(Duncan 检验, $P<0.05$);*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$ 。下同。

到对照组水平。

2.1.2 对过氧化氢酶活性的影响

土壤过氧化氢酶活性与土壤呼吸强度和土壤微生物活动相关,在一定程度上反映了土壤微生物过程的强度。研究结果(表 4)表明,在整个试验过程中,单一高氯酸盐处理对土壤过氧化氢酶活性无显著性影响。在试验的第 2 d,低浓度的六价铬单一处理(C1)及其复合处理(C1+Px)对土壤过氧化氢酶活性无显著性影响,但中、高浓度的六价铬单一处理(C10 和 C100)及其复合处理(C10+Px 和 C100+Px)则显著降低了土壤过氧化氢酶活性。随着处理时间的延长,各处理组逐渐与对照组无显著性差异。

2.1.3 对蔗糖酶活性的影响

土壤蔗糖酶活性与土壤中腐殖质、水溶性有机质以及微生物的数量及其活动呈正相关,随着土壤熟化程度的提高,蔗糖酶活性亦增强。实验结果见表 5。

研究结果显示,单一高氯酸盐处理在第 2 d 时显著促进了土壤蔗糖酶活性,但在其他时间时则与对照

组无显著性差异。单一铬、高氯酸盐与铬复合处理均是在第 8 d 时对土壤蔗糖酶活性有显著的抑制效应,在第 2、15、30 d 时则与对照组无显著性差异。

2.1.4 对脲酶活性的影响

土壤的脲酶活性与土壤的微生物数量、有机质含量、全氮和速效氮含量呈正相关,人们常用土壤的脲酶活性表征土壤的氮素状况。研究结果(表 6)表明,加入污染物的第 2 d,土壤脲酶活性与污染物浓度表现出明显的低促高抑的关系。其中,中低浓度复合处理组 C1+P20、C1+P100 的促进效果尤为明显,而高浓度复合处理组 C100+P100、C100+P500 的脲酶活性则被强烈抑制,仅约为对照组的 10%。随着处理时间的延长,这种低促高抑的现象逐渐缓和且向对照组水平靠拢,到第 30 d 时除 P500、C100 两个单一处理组显著低于对照组外,其他处理组与对照比均无显著性差异。

2.1.5 对土壤酶活性影响的方差分析

将土壤各种酶活性变化与高氯酸盐浓度、六价铬

表 4 各处理组土壤在不同处理时间的过氧化氢酶活性($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)
Table 4 Soil catalase activity of different treatments at different times($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)

处理 Treatment	取样时间 Sample time			
	2 d	8 d	15 d	30 d
0	0.851±0.031abB	1.115±0.038aA	0.617±0.010aC	0.488±0.033abD
P1	0.853±0.017abA	1.015±0.094abA	0.655±0.031aB	0.513±0.057aB
P20	0.913±0.016aA	0.966±0.070abA	0.675±0.058aB	0.522±0.039aB
P100	0.811±0.107abA	0.955±0.049abA	0.541±0.023abcB	0.480±0.030abB
P500	0.744±0.074bcB	0.929±0.026abA	0.540±0.030abcC	0.513±0.002aC
C1	0.910±0.013aA	1.051±0.078aA	0.568±0.075abcB	0.454±0.020abcdB
C10	0.669±0.040cdB	1.011±0.019abA	0.621±0.034aB	0.459±0.032abcdC
C100	0.452±0.019eB	0.919±0.020abA	0.524±0.101abcB	0.372±0.028defB
C1+P1	0.835±0.015abA	0.909±0.061abA	0.548±0.077abcB	0.484±0.029abB
C1+P20	0.739±0.002bcB	0.973±0.074abA	0.551±0.041abcC	0.466±0.008abcC
C1+P100	0.842±0.020abA	0.924±0.140abA	0.567±0.031abcB	0.514±0.013aB
C1+P500	0.817±0.003abA	0.907±0.126abA	0.589±0.046abB	0.513±0.013aB
C10+P1	0.655±0.090cdB	1.100±0.044aA	0.606±0.046aB	0.411±0.028bedeC
C10+P20	0.651±0.077cdB	1.019±0.021abA	0.618±0.049aB	0.446±0.015abcdC
C10+P100	0.535±0.020deB	1.031±0.065abA	0.593±0.067abB	0.443±0.050abcdB
C10+P500	0.574±0.031deB	0.924±0.058abA	0.504±0.057abcBC	0.384±0.027cdefC
C100+P1	0.488±0.021eB	0.989±0.033abA	0.397±0.067cBC	0.337±0.006efgC
C100+P20	0.493±0.032eB	0.988±0.045abA	0.528±0.058abcB	0.321±0.010fgC
C100+P100	0.527±0.019deB	0.948±0.017abA	0.528±0.027abcB	0.283±0.016gC
C100+P500	0.467±0.024eB	0.805±0.074bA	0.414±0.050bcBC	0.271±0.013gC
F 值 F value	P	2.366	1.391	0.426
	C	74.659**	5.602**	47.58**
	PxC	1.522	0.628	1.497

浓度、时间因素进行方差分析的结果(表7)显示,三种因素对多酚氧化酶、过氧化氢酶和脲酶活性的影响都达到了显著水平,除高氯酸盐对蔗糖酶的影响未达到显著水平外,其他两种因素对蔗糖酶的影响也达到了显著水平。三种因素交互作用及其两两交互作用对多酚氧化酶和脲酶的影响也达到了显著水平。

2.2 对土壤微生物数量的影响

实验结果(表8)表明,在第2 d除P1、P20、C1+P1、C1+P20四个处理组外,其他所有处理组的土壤真菌数量都显著低于对照组,到第30 d,大部分处理组的土壤真菌数量仍然显著低于对照组,说明在整个试验过程中土壤真菌被污染物抑制且难以恢复。放线菌数量在单一铬、C10+P500及C100+Px处理条件下的第2 d较对照组有显著性降低,其他组无显著差异,进入第30 d除了P20处理组相比对照组有显著增加外,其他组虽放线菌数量高于对照组,但无显著差异。在细菌数量变化方面,实验第2 d,单一高氯酸盐处理对细菌数量表现出低促高抑的现象,单一铬处理、C10+Px则只表现出促进作用,其他处理组与对照组无显著性差异,到实验结束时所有处理组的细菌数量

均高于对照组,但仅有C1+P1、C10+P1、C10+P20处理组的差异达到显著水平。由此可见,放线菌、细菌在污染过程中耐受菌群形成较快,表明在高氯酸盐和铬污染土壤的修复过程中放线菌、细菌起着重要作用。

3 讨论

3.1 对土壤酶活性的影响

土壤中一切代谢活动都与土壤酶密切相关,土壤酶活性的变化能在短时间内反映出土壤环境的变化^[30-32]。诸多研究表明重金属Cd、Pb、Cr和Cu等对水解酶系的脲酶、蔗糖酶等均有不同程度的低促高抑的作用^[33-35]。其可能原因是脲酶、蔗糖酶等水解酶其蛋白质的构建过程需要一定的重金属离子(如Cu²⁺、Zn²⁺等)作为辅基,低浓度的重金属离子恰当地补充构建需要,从而促进酶促反应中酶分子与底物的结合,或者是由于低浓度的重金属离子对微生物有刺激作用,微生物的增长使得酶分子分泌增加,进而提高酶活性;而超过阈值浓度的重金属离子则抑制微生物的生长,或使蛋白分子的构象或基团(如-SH、-NH₂、-OH、-COOH等)发生变异,导致酶分子与重金属离子络

表5 不同处理组土壤在不同处理时间的蔗糖酶活性(mg·g⁻¹)
Table 5 Soil sucrase activity of different treatments at different times(mg·g⁻¹)

处理 Treatment	取样时间 Sample time			
	2 d	8 d	15 d	30 d
0	0.482±0.053cdB	1.043±0.037aA	0.300±0.050bcdefgC	0.382±0.054bcdeBC
P1	0.913±0.012aA	0.948±0.207abA	0.252±0.040cdefgB	0.534±0.200abcAB
P20	0.887±0.127abA	0.787±0.040abcdA	0.208±0.053efgB	0.317±0.057cdeB
P100	0.739±0.019abcA	0.900±0.122abcA	0.204±0.030efgB	0.360±0.043bcdeB
P500	0.534±0.029cdB	0.826±0.008abcdA	0.182±0.012fgC	0.173±0.040eC
C1	0.700±0.103abcdA	0.687±0.016bcdeA	0.252±0.076cdefgB	0.182±0.012eB
C10	0.704±0.181abcA	0.112±0.023hC	0.330±0.064bcdefgBC	0.469±0.024abcdAB
C100	0.591±0.098bcdA	0.378±0.122fghA	0.465±0.097abA	0.600±0.177abA
C1+P1	0.504±0.076cdAB	0.687±0.083bcdeA	0.260±0.036cdefgC	0.339±0.055cdeBC
C1+P20	0.526±0.027cdA	0.439±0.035efgB	0.239±0.013defgC	0.252±0.008deC
C1+P100	0.595±0.044bcdA	0.630±0.030cdefA	0.313±0.042bcdefgB	0.313±0.016cdeB
C1+P500	0.569±0.004cdAB	0.652±0.045cdefA	0.508±0.064aB	0.365±0.026bcdeC
C10+P1	0.504±0.037cdA	0.160±0.060ghB	0.156±0.061gB	0.469±0.060abcdA
C10+P20	0.495±0.050cdA	0.243±0.068ghB	0.343±0.072abcedefAB	0.508±0.076abcdA
C10+P100	0.443±0.019cdA	0.286±0.042ghA	0.421±0.030abcA	0.469±0.126abcdA
C10+P500	0.382±0.008dAB	0.195±0.035ghC	0.317±0.040bcdefgB	0.447±0.020abcdA
C100+P1	0.682±0.094abcdA	0.395±0.109fghB	0.474±0.040abAB	0.643±0.040aAB
C100+P20	0.900±0.273abA	0.391±0.064fghB	0.460±0.026abAB	0.500±0.047abcdAB
C100+P100	0.604±0.047bcdA	0.604±0.138defA	0.378±0.076abcdeA	0.539±0.015abcA
C100+P500	0.526±0.033cdA	0.395±0.117fghA	0.400±0.042abcdA	0.465±0.019abcdA
F值 F value				
P	2.529	1.45	0.918	1.706
C	4.747**	59.68**	12.876**	11.748**
PxC	2.269*	1.095	2.798**	1.045

表 6 各处理组土壤在不同处理时间的脲酶活性(μg·g⁻¹)
Table 6 Soil urease activity of different treatments at different times(μg·g⁻¹)

处理 Treatment	取样时间 Sample time			
	2 d	8 d	15 d	30 d
0	34.644±2.803fgB	63.200±5.601bcA	34.142±2.617abcdeB	22.343±1.222bcdefgC
P1	53.045±8.568cdeB	79.199±2.953aA	35.336±6.727abcdBC	25.031±4.010abcdefC
P20	49.935±4.023cdeB	79.199±4.766aA	28.765±3.588bcdefgC	40.713±1.077aB
P100	59.783±4.496cdB	70.349±1.285abA	39.518±2.717abcC	30.259±3.179abcdC
P500	18.576±2.592hB	50.946±0.780deA	15.921±2.495efgB	3.226±0.395hC
C1	50.712±5.624cdeB	76.817±3.417aA	33.992±1.942abcdeC	32.798±4.856abcC
C10	41.470±4.984efgA	31.585±2.719ghAB	42.505±2.717abA	20.103±10.090cdefgB
C100	19.651±3.474hAB	21.104±3.164iAB	33.096±10.903bcdefA	5.915±2.552ghB
C1+P1	63.152±6.968cA	50.265±2.252deAB	28.616±2.692bcdefgC	36.681±6.890abBC
C1+P20	86.476±7.675bA	51.116±0.614deB	20.252±1.045defgC	28.317±1.222abcdeC
C1+P100	111.874±3.428aA	58.094±3.189cdB	32.499±2.210bcdefC	38.025±1.942abC
C1+P500	55.118±2.743cdeA	36.138±5.380fgB	11.440±1.865gC	15.025±1.440defghC
C10+P1	32.166±1.830gAB	38.308±5.153fgA	37.726±9.983abcdA	15.772±3.161defghB
C10+P20	46.884±1.782defA	44.439±4.115efA	43.252±0.684abA	29.512±13.830abcdA
C10+P100	33.519±2.935gA	43.252±0.523efA	51.466±8.962aA	10.992±7.285fghB
C10+P500	43.696±2.255efgA	37.320±3.598fgA	33.246±10.274bcdefAB	15.473±1.811defghB
C100+P1	13.079±1.663hiB	22.291±1.101hiAB	28.914±7.515bcdefgA	17.564±1.722cdefghAB
C100+P20	14.125±2.371hiC	34.947±3.788fgA	22.940±2.742cdefgB	11.291±1.302fghC
C100+P100	3.073±0.790iB	20.115±0.198iA	20.999±3.787cdefgA	16.070±1.516defghA
C100+P500	4.865±0.790iB	16.754±1.370iA	15.473±1.696fgA	12.038±3.512efghA
F 值 F value	P	18.17**	15.641**	6.764**
	C	187.013**	181.302**	10.643**
	PxC	13.288**	8.458**	0.739
				2.648*

表 7 土壤酶活性的方差分析
Table 7 Analysis of variance of soil enzymatic activities

变异来源 Source of variance	多酚氧化酶 Polyphenol oxidase			过氧化氢酶 Catalase			蔗糖酶 Sucrase			脲酶 Urease		
	F 值 F value	显著水平 Sig.		F 值 F value	显著水平 Sig.		F 值 F value	显著水平 Sig.		F 值 F value	显著水平 Sig.	
P	128.726	0		5.262	0.001		1.507	0.202		32.197	0	
C	392.081	0		51.762	0		19.984	0		149.571	0	
T	175.33	0		429.908	0		54.077	0		122.856	0	
PxC	15.975	0		1.126	0.342		2.486	0.005		8.131	0	
P×T	16.181	0		0.622	0.821		1.936	0.034		2.752	0.002	
C×T	65.075	0		10.117	0		25.065	0		44.034	0	
P×C×T	6.844	0		0.856	0.701		1.424	0.073		3.915	0	

注:表中 P 代表高氯酸盐,C 代表六价铬,T 代表时间。

合^[33],降低酶活性。本实验中土壤脲酶活性在高氯酸盐和铬的作用下也呈现出低促高抑的变化规律。由于高氯酸盐对于土壤酶活性影响的研究报道尚少,高氯酸盐如何引起水解酶低促高抑的现象还有待深入探讨。本实验中蔗糖酶活性,除单一高氯酸盐处理组第 2 d 出现明显促进作用,其他组均无显著差异,与其他人的研究结果有一定差异,至于这是否与土壤 pH 值、有机质等有关,有待进一步研究。

魏威、Marc 等的研究指出重铬酸钾对过氧化氢

酶活性影响不大,可能由于与过氧化氢酶没有专一对应关系,不参与过氧化氢酶的合成或反应过程,从而不影响酶蛋白分子的官能团结构和性能^[34, 36-37]。而本实验的结果表明,中、高浓度的六价铬单一处理(C10 和 C100)及其复合处理(C10+Px 和 C100+Px)对过氧化氢酶活性有显著抑制作用,高氯酸盐单一处理则对过氧化氢酶活性无显著影响。与前人的研究结果有所差异,可能是实验条件差异造成的,如魏威等所用土壤本底的 pH 值为 7.75,本实验所用土壤的 pH 值

表8 各处理组土壤在不同处理时间的微生物数量($\text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$)
Table 8 Microbial number of different treatments at different times($\text{cfu} \cdot \text{g}^{-1}$)

处理 Treatment	取样时间(真菌 10 ³) Sample time(fungus)		取样时间(放线菌 10 ⁵) Sample time(bacteria)		取样时间(细菌 10 ⁷) Sample time(actinomycete)		
	2 d	30 d	2 d	30 d	2 d	30 d	
0	6.9±0.2a	12.7±0.2ab	2.7±0.4a	21.1±2.3bc	7.2±0.7def	10.2±1.1d	
P1	6.2±0.5abcd	13.1±1.4a	2.4±0.2abcd	28.2±2.3abc	10.6±0.6d	13.1±0.8abcd	
P20	6.0±0.2abcde	10.9±1.2abcd	2.4±0.2abcd	33.3±4.3a	5.9±0.6f	14.5±0.9abcd	
P100	5.6±0.7cdef	9.5±0.3cdefg	2.7±0.5ab	27.2±0.9abc	6.6±0.7def	20.2±5.6abcd	
P500	5.2±0.5cdefg	10.2±0.7cdefg	2.3±0.4abcd	26.2±4.1abc	5.5±0.0f	14.4±2.6abcd	
C1	5.8±0.2bcdef	11.8±0.6abc	1.7±0.5bc	17.9±2.2c	7.3±0.8def	12.6±1.5ed	
C10	5.4±0.3cdefg	9.7±0.6cdefg	1.7±0.3cde	25.0±4.1abc	20.9±1.6ab	13.6±2.2abcd	
C100	5.2±0.3cdefg	7.7±0.5g	1.8±0.2bcde	31.2±2.4ab	17.1±0.7bc	22.9±7.8abcd	
C1+P1	6.3±0.2abc	10.5±1.3bcdef	1.9±0.3abcde	24.7±2.5abc	7.6±0.9def	26.1±1.6abc	
C1+P20	6.8±0.7ab	9.9±0.3cdefg	2.6±0.3abc	26.5±4.2abc	6.1±0.5ef	13.1±1.8abcd	
C1+P100	5.4±0.2cdefg	10.6±0.7bcde	2.0±0.2abcde	28.8±1.6abc	4.8±0.2f	17.5±2.4abcd	
C1+P500	4.4±0.3ghi	9.6±0.2cdefg	2.3±0.1abcd	18.5±2.9c	6.4±1.2def	12.9±1.9bcd	
C10+P1	5.1±0.1efg	9.1±0.4cdefg	1.9±0.3abcde	21.4±2.5abc	16.0±3.8c	26.5±2.5ab	
C10+P20	4.8±0.2fgh	8.3±0.3cdefg	2.0±0.2abcde	23.3±1.8abc	20.5±0.9ab	26.9±2.2a	
C10+P100	5.4±0.3cdefg	9.7±0.8cdefg	2.0±0.2abcde	20.2±3.1bc	20.4±1.3ab	23.1±5.5abcd	
C10+P500	6.3±0.2abc	9.4±0.3cdefg	1.6±0.2de	27.3±6.8abc	23.0±1.2a	18.5±5.5abcd	
C100+P1	5.2±0.1defg	9.9±1.7cdef	1.3±0.1e	21.4±5.2abc	14.3±0.7c	21.3±8.4abcd	
C100+P20	5.3±0.4cdefg	8.2±0.2ef	1.1±0.3e	23.8±5.4abc	7.3±1.3def	11.2±1.8d	
C100+P100	3.9±0.2hi	8.0±0.5f	1.1±0.1e	24.9±3.2abc	6.9±0.5def	20.1±6.9abcd	
C100+P500	3.7±0.2i	7.8±0.2g	1.2±0.2e	26.2±2.3abc	10.2±1.8de	20.1±1.8abcd	
<i>F</i> 值 <i>F</i> value	P	6.471**	3.239*	0.305	5.261**	2.121	
	C	14.768**	14.818**	16.82**	125.618**	3.098*	
	P×C	4.508**	1.468	1.041	1.581	4.85**	1.354

为5.29。在中碱性环境中,重铬酸钾能催化过量的过氧化氢分解,在酸性环境,重铬酸根离子可氧化少量存在的过氧化氢^[38],因此重铬酸钾可能与过氧化氢酶存在酶促底物竞争关系,使得含中、高浓度六价铬处理组的酶活性强度由于酶促底物浓度的减少而减弱,其具体的原因还有待进一步研究。

关于多酚氧化酶的研究多集中于植物体内,对土壤中该酶研究报道的尚少。外源污染物对黑麦草、杨树等植物体内的多酚氧化酶都表现出低促高抑的浓度效应,随着时间的延长逐渐恢复正常水平^[39-40]。本实验研究结果与之相似,多酚氧化酶活性随处理组污染物浓度的增加而增加,当试验周期延长至30 d后,基本上所有处理组多酚氧化酶活性均趋于对照组水平,可能由于高浓度的六价铬随时间的延长浓度下降,毒性降低($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理组在第30 d下降至 $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 左右),或者微生物群对外界刺激形成抗性,从而使得多酚氧化酶活性随实验周期延长而接近对照组水平,本实验中其他三种土壤酶也存在类似现象。本实验中未能出现对多酚氧化酶活性的高浓度抑制作

用,可能由于污染物设定的浓度剂量还没有达到该物质对多酚氧化酶活性有抑制作用的阈值。

不同种类的污染物与各类型的土壤酶活性的变化规律存在着一定的相关性,选择不同种类的土壤酶来指示化学物质浓度变化或污染程度是可行的^[30-31,41]。20世纪末在国外开始研究如何运用土壤酶作为污染指标,如Parkhurst等^[42]发现酶的敏感性对各微量元素的抑制反应有所不同,特别是芳基硫酸酯酶甚为敏感,并指出其活性可被用作土壤重金属的敏感指标;Yeates等^[43]也提出,土壤酶活性可作为新西兰被污染的牧场土壤的污染指标。本实验研究结果显示,多酚氧化酶、脲酶对高氯酸盐、六价铬两种污染物较为敏感,可考虑作为高氯酸盐、铬的敏感指标。然而,土壤中较多的环境因素影响污染物理化性质和土壤酶活性的稳定性,诸多研究结果表明土壤的理化性质(如土壤水分、温度、空气、团聚体、有机质、矿质元素、pH值等)与土壤酶的活性变化均有着密切的相关性^[44-47]。也正是由于土壤系统中各因素之间的相互作用错综复杂,土壤酶活性作为污染程度的指标仍存在一定的

争议^[48]。如需建立一套对指定区域的评估体系,不仅要求研究者对当地区域的土壤环境有相当的了解,而且必须以拥有较为全面的数据为基础。本实验仅研究了高氯酸盐和六价铬两种污染物在模拟条件下短时间内的土壤酶活性变化规律,且浓度范围不够全面,故需谨慎用于污染评估。

此外,本实验采用的试剂其阳离子均为钾离子,势必在实验过程中土壤中的钾离子相对较为富余(加入最大浓度约为 $7 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$)。据相关研究报道,适量的钾肥能促进作物的生长发育,而富 K 对于农作物没有不良影响,如单一施钾肥对小麦主要的基础品质指标无显著影响^[49];低浓度($1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$)的钾离子对于玉米种子的萌发、玉米的脱氢酶活性等有一定的促进作用,而 10 、 $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度较对照则无显著差异^[50]。笔者在前期的水稻实验中也发现 2 、 $4 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 KCl 对水稻的生长发育无不良影响。然而,目前有关钾离子对土壤酶活性影响方面的研究鲜有报道,不同钾离子浓度对土壤酶活性是否存在影响?是促进、抑制或者无影响?有待进一步研究。

3.2 对土壤微生物数量的影响

污染物在土壤中不断累积势必会影响微生物数量及其群落结构,从而减弱微生物在土壤中的作用,进而降低土壤质量。由于土壤微生物的重要性,其数量变化是土壤稳定性的一个表征,能在一定程度上反映出土壤环境变化^[26]。由此,微生物参数常常作为土壤质量评价指标和环境变化监测指标^[51-52]。本实验结果表明,真菌数量在高氯酸盐、铬加入后有显著下降,且难以恢复到对照水平;放线菌、细菌在实验前期存在高浓度抑制效果,当实验到第 30 d 其数量恢复较快,基本趋于对照水平,这与多数研究结果一致^[52-53]。由此可以看出,放线菌、细菌在污染环境中易形成耐性菌种,并且在绝大多数修复研究中筛选得到的菌株也多属于放线菌和细菌^[6,54]。据有关报道统计,筛选出来的重金属修复菌种主要有假单胞菌属、埃希氏菌属、芽胞杆菌属、肠杆菌属、硫酸盐还原菌和链霉菌等细菌和放线菌,它们主要运用自身的还原酶系把高毒价态还原成低毒价态,或者通过新陈代谢生成某些还原物质(如 S 、 H_2S 、 Fe^{2+} 等)间接还原重金属,或者分泌具有絮凝活性的物质与重金属相互凝聚沉淀,以降低生态毒性^[55]。现已发现的高氯酸盐降解菌则均为厌氧或兼性厌氧菌,其中绝大多数属于 *Dechloromonas* 菌属。目前研究已完成 *Dechloromonas aromatica* 全基因序列,可知高氯酸盐的降解过程在厌氧环境中依次

经过高氯酸盐还原酶、氯酸盐还原酶、亚氯酸盐还原酶, ClO_4^- 逐次被分解成 ClO_3^- 、 ClO_2^- 、 Cl^- 和 O_2 , 添加适宜的电子供体,降解菌发挥的降解效果更好^[6]。加之土壤中放线菌、细菌数量庞大,优势菌种一旦建立,其修复潜力巨大。

4 结论

(1) 高氯酸盐和铬污染在初期对土壤多酚氧化酶、过氧化氢酶、蔗糖酶和脲酶活性都有显著的影响,但随着处理时间的延长,四种土壤酶活性逐渐恢复,到第 30 d 基本都与对照组无显著性差异,说明土壤酶活性会随着污染延续时间的不同而变化。

(2) 在处理初期,土壤微生物数量均随污染物浓度的增加而减少,真菌、放线菌尤为明显,到第 30 d 放线菌、细菌可恢复至对照组水平,甚至高于对照组,但大部分处理组的土壤真菌数量仍然显著低于对照组,说明耐受高氯酸盐和铬的菌群是放线菌和细菌。

(3) 土壤酶活性对于高氯酸盐、铬浓度变化的敏感性大于微生物数量变化,其中多酚氧化酶、脲酶尤为敏感,可考虑作为考察高氯酸盐、六价铬污染程度的指标。

参考文献:

- [1] Stokstad E. Debate continues over safety of water spiked with rocket fuel[J]. *Science*, 2005, 307(5709): 507.
- [2] Leung A M, Pearce E N, Braverman L E. Perchlorate, iodine and the thyroid [J]. *Best practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2010, 24: 133-141
- [3] US EPA. Interim drinking water health advisory for perchlorate. [2013-03-07] http://www.epa.gov/safewater/contaminants/unregulated/pdfs/healthadvisory_perchlorate_interim.pdf, 2008.
- [4] Rao B, Anderson T A, Redder A, et al. Perchlorate formation by ozone oxidation of aqueous chlorine/oxy-chlorine species: Role of Cl_2O , radicals [J]. *Environmental Science and Technology*, 2010, 44(8): 2961-2967.
- [5] Charnley G. Perchlorate: Overview of risks and regulation [J]. *Food and Chemical Toxicology*, 2008, 46: 2307-2315.
- [6] 方齐乐, 陈宝梁. 高氯酸盐污染土壤及地下水的植物微生物修复研究进展 [J]. *环境科学学报*, 2011, 31(8): 1569-1579.
FANG Qi-le, CHEN Bao-liang. A review of phyto-microbial remediation of perchlorate-contaminated soil and ground water [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2011, 31(8): 1569-1579
- [7] Coates J D, Achenbach L A. Microbial perchlorate reduction: Rocket-fuelled metabolism [J]. *Nature Microbiology*, 2004, 2(7): 569-580.
- [8] Smith P N, Theodorakis C W, Anderson T A, et al. Preliminary assessment of perchlorate in ecological receptors at the Longhorn Army Ammunition Plant (LHAAP), Karnack, Texas [J]. *Ecotoxicology*, 2001, 10: 305-313.
- [9] Dyke J V, Ito K, Obitsu T, et al. Perchlorate in dairy milk comparison of

- Japan versus the United States[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 41: 88–92.
- [10] Kosaka K, Asami M, Matsuoka. Occurrence of perchlorate in drinking water sources of metropolitan area in Japan[J]. *Water research*, 2007, 41: 3474–3482.
- [11] Her N, Kim J S, Yoon Y M. Perchlorate in dairy milk and milk-based powdered infant formula in South Korea[J]. *Chemosphere*, 2010, 81: 732–737.
- [12] Yang M J, Her N. Perchlorate in soybean sprouts (*Glycine max* L. Merr.), water dropwort (*Oenanthe stolonifera* DC.), and lotus (*Nelumbo nucifera* Gaertn.) root in South Korea[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59: 7490–7495.
- [13] Kannan K, Praamsma M L, Oldi J F. Occurrence of perchlorate in drinking water, groundwater, surface water and human saliva from India[J]. *Chemosphere*, 2009, 76: 22–26.
- [14] 刘勇建, 牟世芬, 林爱武, 等. 北京市饮用水中溴酸盐、卤代乙酸及高氯酸盐研究[J]. *环境科学*, 2004, 25(2): 51–55.
LIU Yong-jian, MOU Shi-fen, LIN Ai-wu, et al. Investigation of bromate, haloacetic acids and perchlorate in Beijing's drinking water[J]. *Environmental Science*, 2004, 25(2): 51–55.
- [15] Shi Y L, Zhang P, Wang Y W, et al. Perchlorate in sewage sludge, rice, bottled water and milk collected from different areas in China[J]. *Environment International*, 2007, 33(7): 955–962.
- [16] Wu Q, Zhang T, Sun H W, et al. Perchlorate in tap water, groundwater, surface waters, and bottled water from China and its association with other inorganic anions and with disinfection byproducts[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2010, 58(3): 543–550.
- [17] 史亚利, 高健民, 李 鑫, 等. 浏阳河水、底泥和土壤中高氯酸盐的污染[J]. *环境化学*, 2010, 29(3): 388–391.
SHI Ya-li, GAO Jian-min, LI Xin, et al. The investigation of perchlorate pollution level in Liuyang River water, sediment and its nearby soil[J]. *Environmental Chemistry*, 2010, 29(3): 388–391.
- [18] 姜 苏, 李院生, 马红梅, 等. 环境中高氯酸盐的来源、污染现状及其分析方法[J]. *地球科学进展*, 2010, 25(6): 617–624.
JIANG Su, LI Yuan-sheng, MA Hong-mei, et al. Source, pollution status and analytical methods of perchlorate in the environment[J]. *Advances in Earth Science*, 2010, 25(6): 617–624.
- [19] Muchuweti M, Birkett J W, Chinyanga E, et al. Heavy metal content of vegetables irrigated with mixtures of wastewater and sewage sludge in Zimbabwe: Implications for human health[J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2006, 112(1): 41–48.
- [20] 陈同斌, 黄启飞, 高 定, 等. 中国城市污泥的重金属含量及其变化趋势[J]. *环境科学学报*, 2003, 23(5): 561–569.
CHEN Tong-bin, HUANG Qi-fei, GAO Ding, et al. Heavy metal concentrations and their decreasing trends in sewage sludges of China[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2003, 23(5): 561–569.
- [21] 宋 波, 高 定, 陈同斌, 等. 北京市菜地土壤和蔬菜铬含量及其健康风险评估[J]. *环境科学学报*, 2006, 26(10): 1707–1715.
SONG Bo, GAO Ding, CHEN Tong-bo, et al. A survey of chromium concentrations in vegetables and soils in Beijing and the potential risks to human health[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(10): 1707–1715.
- [22] 郑袁明, 陈同斌, 郑国砥, 等. 北京市不同土地利用方式下土壤铬和镍的积累[J]. *资源科学*, 2005, 27(6): 162–166.
ZHENG Yuan-ming, CHEN Tong-bin, ZHENG Guo-di, et al. Chromium and nickel accumulations in soils under different land uses in Beijing municipality[J]. *Resources Science*, 2005, 27(6): 162–166.
- [23] 周启星, 宋玉芳. 污染土壤修复原理与方法[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 4–12.
ZHOU Qi-xing, SONG Yu-fang. The principles and methods of contaminated soil remediation[M]. Beijing: Science Press, 2004: 4–12.
- [24] 周礼恺, 张志明, 曹承绵, 等. 土壤的重金属污染与土壤酶活性 [J]. *环境科学学报*, 1985, 5(2): 176–184.
ZHOU Li-kai, ZHANG Zhi-ming, CAO Cheng-mian, et al. Heavy metal pollution and enzyme activity of soil[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1985, 5(2): 176–184.
- [25] 王 新, 周启星. 土壤重金属污染生态过程、效应及修复[J]. *生态科学*, 2004, 23(3): 278–281.
WANG Xin, ZHOU Qi-xing. The ecological process, effect and remediation of heavy metals contaminated soil[J]. *Ecologic Science*, 2004, 23(3): 278–281.
- [26] 韩桂琪, 王 彬, 徐卫红, 等. 重金属 Cd、Zn、Cu、Pb 复合污染对土壤微生物和酶活性的影响[J]. *水土保持学报*, 2010, 24(5): 238–242.
HAN Gui-qi, WANG Bin, XU Wei-hong, et al. Effects of heavy metal combined pollution on soil microbial indicators and soil enzymatic activity[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(5): 238–242.
- [27] 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. Effects of Hg on soil enzyme activity[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(3): 620–624.
- [28] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1987.
- [29] 章家恩. 生态学常用实验研究方法与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007.
ZHANG Jia-en. Exploration on the reform of undergraduate course of ecology experiment method and technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007.
- [30] 和文祥, 谭向平, 王旭东, 等. 土壤总体酶活性指标的初步研究 [J]. *土壤学报*, 2010, 47(6): 1232–1236.
HE Wen-xiang, TAN Xiang-ping, WANG Xu-dong, et al. Study on total enzyme activity index in soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47(6): 1232–1236.
- [31] 张涪平, 曹凑贵, 李 苹, 等. 藏中矿区重金属污染土壤的微生物活性变化[J]. *生态学报*, 2010, 30(16): 4450–4459.
ZHANG Fu-ping, CAO Cou-gui, LI Ping, et al. Effects of heavy metal pollution on microbial activities of mining soils in central Tibet[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(16): 4450–4459.
- [32] 荆延德, 何振立, 杨肖娥. 汞污染对水稻土微生物和酶活性的影响[J]. *应用生态学报*, 2009, 20(1): 218–222.
JING Yan-te, HE Zhen-li, YANG Xiao-e. Effects of Hg contamination on paddy soil microbial and enzymatic activities[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(1): 218–222.
- [33] 孟庆峰, 杨劲松, 姚荣江, 等. 单一及复合重金属污染对土壤酶活性的

- 影响[J]. 生态环境学报, 2012, 21(3):545-550.
- MENG Qing-feng, YANG Jing-song, YAO Rong-jiang, et al. Influence of single and combined pollutions of heavy metal on soil enzyme activity[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2012, 21(3):545-550.
- [34] 魏 威, 王 丹, 王松山, 等. 铜铬复合污染对无作物种植的土壤酶活性影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(10):1971-1978.
- WEI Wei, WANG Dan, WANG Song-shan, et al. Eco-toxicology effects of Cu-Cr Co-contamination on soil enzymes with and without plants[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(10):1971-1978.
- [35] 黄云凤, 高 扬, 毛 亮, 等. Cd、Pb 单一及复合污染下土壤酶生态抑制效应及生态修复基准研究[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(11):2258-2264.
- HUANG Yun-feng, GAO Yang, MAO Liang, et al. The ecological inhibition effect of soil enzyme activity and ecological restoration baseline under Cd and Pb single and combined pollution[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(11):2258-2264.
- [36] Dazy M, Béraud E, Cotellet S, et al. Antioxidant enzyme activities as affected by trivalent and hexavalent chromium species in *Fentinalis antipyrretica* Hedw[J]. *Chemosphere*, 2008, 73:281-290.
- [37] 和文祥, 朱铭菽, 张一平. 土壤酶与重金属关系的研究现状[J]. 土壤与环境, 2009, 9(2):139-142.
- HE Wen-xiang, ZHU Ming-e, Zhang Yi-ping. Recent advance in relationship between soil enzymes and heavy metals[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2009, 9(2):139-142.
- [38] 何法信. 谈谈重铬酸钾与过氧化氢的反应[J]. 化学通报, 1985, 5:54-57.
- HE Fa-xing. The reaction between $K_2Cr_2O_4$ and H_2O_2 [J]. *Chemistry*, 1985, 5:54-57.
- [39] 卢晓丹, 高彦征, 凌婉婷, 等. 多环芳烃对黑麦草体内过氧化物酶和多酚氧化酶的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(5):1969-1973.
- LU Xiao-dan, GAO Yan-zheng, LING Wan-ting, et al. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbon on POD and PPO in *Lolium multiflorum* Lam.[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(5):1969-1973.
- [40] 汤 方, 赵文亮, 左胜涵, 等. 农药胁迫对杨树多酚氧化酶的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2012, 36(6):81-84.
- TANG Fang, ZHAO Wen-liang, ZUO Sheng-han, et al. Effect of pesticide stress on polyphenol oxidase in poplars[J]. *Journal of Nanjing Forestry University(Natural Science Edition)*, 2012, 36(6):81-84.
- [41] Liu S Q. Relationship between soil Pb and Cd pollution and enzyme activities in wastewater after irrigated area in Baoding City[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1996, 32(2):175-182.
- [42] Parkhurst C E. Bioindicators of soil health[M]. United Kingdom. Oxon: CAB International, 1997.
- [43] Yates G W, Orchard V A, Speir T W, et al. Impact of pasture contamination by copper, chromium, arsenic timber preservation on soil biological activity[J]. *Biol Fert Soils*, 1994, 18:200-208.
- [44] Sannino F, Gianfreda L. Pesticide influence on soil enzymatic activities[J]. *Chemosphere*, 2001, 45:417-425.
- [45] Wang X C, Lu Q. Beta-glucosidase activity in paddy soils of the Taihu Lake region, China[J]. *Pedosphere*, 2006, 16(1):118-124.
- [46] Taylor J P, Wilson B, Mills M S, et al. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface and subsoils using various techniques[J]. *Soil Biol Biochem*, 2002, 34:387-401.
- [47] 唐玉姝, 魏朝富, 颜廷梅, 等. 土壤质量生物学指标研究进展 [J]. 土壤, 2007, 39(2):157-163.
- TANG Yu-mei, WEI Chao-fu, YAN Ting-mei, et al. Biological indicator of soil quality: A review[J]. *Soils*, 2007, 39(2):157-163.
- [48] 王 涵, 高树芳, 陈炎辉, 等. 重金属污染区土壤酶活性变化:以福建龙岩新罗区特钢厂污水灌溉区为例[J]. 应用生态学报, 2009, 20(12):3034-3042.
- WANG Han, GAO Shu-fang, CHEN Yan-hui, et al. Changes of soil enzyme activities in heavy metals polluted region: A case study in a wastewater-irrigated agricultural area near a smelter in Xinluo District of Longyan City, Fujian Province[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(12):3034-3042.
- [49] 李友军, 熊 瑛, 骆炳山. 氮、钾及其互作对两种质型小麦品质性状的影响[J]. 干旱地区农作物研究, 2006, 24(2):44-47.
- LI You-jun, XIONG Ying, LUO Bing-shan. Effects of nitrogen, potassium and their interactions on quality characteristics of two different gluten wheat cultivars[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2006, 24(2):44-47.
- [50] 杨建肖, 王桂荣, 张永升, 等. 钾对玉米种子萌发及其生理特性的影响[J]. 华北农学报, 2008, 23(4):145-148.
- YANG Jian-xiao, WANG Gui-rong, ZHANG Yong-sheng, et al. The effect of potassium on germination and physiological characteristics of maize seed[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2008, 23(4):145-148.
- [51] 张 慧, 党 志, 姚丽贤, 等. 镉比单一污染和复合污染对土壤微生物生态效应的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(6):2225-2230.
- ZHANG Hui, DANG Zhi, YAO Li-xian, et al. Eco-toxicological effect of cadmium and pyrene combined and simplex pollution on soil microbe[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, 26(6):2225-2230.
- [52] 李小林, 颜 森, 张小平, 等. 铅锌矿区重金属污染对微生物数量及放线菌群落结构的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(3):468-475.
- LI Xiao-lin, YAN Sen, ZHANG Xiao-ping, et al. Response of microbe quantity and actinomycetes community of heavy metal contaminated soils in leadzinc mine[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(3):468-475.
- [53] 段学军, 盛清涛, 闵 航. Cd 胁迫对淹水稻田土壤微生物种群数量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(3):432-437.
- DUAN Xue-jun, SHENG Qing-tao, MIN Hang. Effects of Cd^{2+} on microbial populations in submerged paddy soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2005, 24(3):432-437.
- [54] 徐卫华. 微生物还原 $Cr(VI)$ 特性与机理研究[D]. 长沙: 湖南大学, 2007.
- XU Wei-hua. Research on characteristics and mechanisms of microbial $Cr(VI)$ reduction[D]. Changsha: Hunan University, 2007.
- [55] 黄顺红. 铬渣堆场铬污染特征及其铬污染土壤微生物修复研究[D]. 长沙: 中南大学, 2009.
- HUANG Shun-hong. Characteristics of chromium pollution at chromium-containing slag site and chromium(VI) bioremediation in the contaminated soil[D]. Changsha: Central South University, 2009.