

Cu Cd Pb Zn 对酸性耕作土壤 3 种酶活性的影响

王 涵¹, 王 果¹, 林清强², 陈惠娜¹, 罗蕾华¹

(1.福建农林大学资源与环境学院, 福建 福州 350002; 2.福建师范大学生命科学学院, 福建, 福州 350108)

摘 要:采用添加外源重金属和室内培养的方法,研究了 Cu、Cd、Pb、Zn 对 1 个酸性耕作土壤中脲酶、蛋白酶和过氧化物酶活性的影响。Cu 添加浓度为 50、100、200、400、600 mg·kg⁻¹, Cd 添加浓度为 1、5、10、15、20 mg·kg⁻¹, Pb 添加浓度为 100、300、500、800、1 200 mg·kg⁻¹, Zn 添加浓度为 50、100、200、400、800 mg·kg⁻¹。结果表明, Cu、Cd、Pb、Zn 对脲酶以抑制作用为主, 4 种重金属对酶毒性大小依次为 Cu>Cd>Zn≥Pb, 但在培养末期抑制作用都趋于减弱。Pb、Cu、Cd、Zn 在前 17 d 的培养中使蛋白酶活性急剧降低, 以后蛋白酶活性维持在此较低水平上。短时间内(3 d)Zn 对过氧化物酶具有强烈的抑制作用, 但总体看来 4 种重金属对过氧化物酶活性的影响均较小。上述结果表明, 脲酶对农田土壤 Cu 污染具有指示作用, 蛋白酶对农田土壤 4 种重金属污染都具有指示作用, 过氧化物酶仅对土壤 Zn 的短期污染具有指示作用。

关键词:重金属; 土壤酶; 污染指示

中图分类号: X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2009)07-1427-07

The Effects of Cu, Cd, Pb and Zn on the Activities of Urease, Protease and Peroxidase in Acid Cultivated Soil

WANG Han¹, WANG Guo¹, LIN Qing-qiang², CHEN Hui-na¹, LUO Lei-hua¹

(1.College of Resources and Environment, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2.College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fujian 350108, China)

Abstract: The influence of Cu, Cd, Pb, Zn addition on the activities of urease, protease and peroxidase in an cultivated soil was studied by indoor incubation. The added dose is 50, 100, 200, 400, 600 mg·kg⁻¹ for Cu, 1, 5, 10, 15, 20 mg·kg⁻¹ for Cd, 100, 300, 500, 800, 1 200 mg·kg⁻¹ for Pb, 50, 100, 200, 400, 800 mg·kg⁻¹ for Zn, respectively. The results showed that Cu, Cd, Pb and Zn mainly inhibited the activity of urease of which the inhibition effect decreased in the order of Cu>Cd>Zn≥Pb. The inhibition of the four metals on the the activity of urease weakened during the final incubation period. The activity of protease was decreased dramatically in the early 17 days of incubation by adding the four metals and maintained the low activity afterwards. The four metals showed relatively weak inhibition effects on the activity of peroxidase except for Zn which markedly decreased the peroxidase activity in the early three days. The above results suggested that the activity of urease could be the indicator of soil Cu pollution, that of protease could be the indicator of Cu, Cd, Pb and Zn pollution of soil, and that of peroxidase could only indicate short-term Zn pollution of soil.

Keywords: heavy metal; soil enzymes; pollution indication

重金属是一类对土壤环境危害严重的污染物。以往农田土壤重金属污染监测大多从土壤-植物体系的角度出发, 考察重金属污染是否对农作物造成危害。这并不能全面反映重金属对农田生态系统的危害。土壤酶是一类由土壤动物、微生物、植物根系分泌产生的生物活性物质, 在土壤 C、N、P、S 等物质循环上具

有重要意义。考察重金属污染对土壤酶活性的影响能反映重金属对土壤品质的伤害程度及是否影响农田土壤的可持续利用。

土壤脲酶能分解尿素, 蛋白酶作用底物为蛋白质, 二者与土壤氮循环密切相关。过氧化物酶参与土壤碳循环, 与土壤腐殖质形成有关, 也是土壤中一种重要的酶。Chang 等的研究表明, 脲酶、蛋白酶活性与土壤有机物质含量呈显著线性相关^[1]。熊汉锋等的研究表明, 多酚氧化酶的活性与土壤 C、N、P 有密切关系^[2]。可见上述 3 种土壤酶对土壤肥力均有指示作用, 重金属污染可能影响土壤酶功能的发挥。Hemida

收稿日期: 2008-09-02

基金项目: 福建省土壤环境质量基准研制(2003Y026)

作者简介: 王 涵(1970—), 男, 博士研究生, 主要从事土壤生态方面的研究。E-mail: wanghan702@163.com

通讯作者: 王 果 E-mail: gwang572003@yahoo.com.cn

等对 2 种土壤外源添加 Cu、Zn, 结果发现, 2 种土壤中脲酶活性都受到抑制^[3]。García-Gil 等的研究表明, 长期施用含有重金属的城市废弃物使土壤脲酶活性降低^[4]。滕应等的研究表明, 尾矿区重金属污染降低了脲酶、蛋白酶等土壤酶活性。作者认为, 可采用土壤酶活性来表征矿区土壤的重金属污染状况^[5]。一些研究者还建议将脲酶、蛋白酶作为重金属污染环境的恢复指标^[6]。较少研究涉及重金属对过氧化物酶的影响, 鉴于过氧化物酶在土壤碳循环中的重要性, 有研究的意义。土壤酶与众多土壤理化性质相关, 土壤酶对重金属的敏感性随土样理化性质差异存在明显差别, 酶活性差异是土壤理化性质与重金属共同作用的结果^[7]。由于应用土壤酶监测重金属污染尚处于起步阶段, 实际运用还有一定困难, 有必要就重金属对不同土壤中不同种类土壤酶的影响进行研究。

南方农田土壤多数属酸性土。酸性条件下土壤重金属有效态含量增加, 有可能加剧重金属对生物的危害^[8]。为探讨类似环境下重金属对农田土壤酶活性的影响及其随时间的变化, 我们采用 pH 较低的农田土壤外源添加 Cu、Cd、Pb、Zn, 室内培养, 研究几种重金属对脲酶、蛋白酶及过氧化物酶活性的影响, 为类似环境的土壤质量评价提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土壤采自福建省龙岩市新罗区铁山镇富溪村。此地远离城市, 附近无明显污染源。土壤位于坡麓, 母质为坡积物, 属于潴育型水稻土, 常年水稻与蔬菜轮作, 采样时地表作物为蔬菜。采集耕作层土壤(≤ 20 cm), 经风干后, 去除石块和植物残体, 过 2 mm 筛。供试土壤的主要性质: 全氮 $1.65 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 碱解氮 $118.35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全磷 $0.57 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效磷 $32.28 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全钾 $30.92 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效钾 $26.83 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有机质 $40.83 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, pH 4.77, 粗砂粒 29.68%, 细砂粒 35.73%, 粉粒 17.88%, 黏粒 16.71%。

1.2 试验设计

将 Cu、Cd、Pb、Zn 的醋酸盐分别配制成含 Cu、Cd、Pb、Zn 浓度分别为 2.5、0.1、5、2.5 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的金属盐溶液。取 80 g 过 2 mm 筛的风干土壤置于 150 mL 聚乙烯塑料杯中, 分别加入一定量上述配制好的各种金属盐溶液, 混合均匀, 加水调节至土壤田间最大持水量 60%, 最终形成 Cu、Cd、Pb、Zn 4 种金属的单因

素处理系列。其中 Cu 处理系列的含 Cu 量分别为 50、100、200、400 和 600 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 分别以 Cu50、Cu100、Cu200、Cu400、Cu600 表示。Cd 处理系列的含 Cd 量分别为 1、5、10、15 和 20 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 分别以 Cd1、Cd5、Cd10、Cd15、Cd20 表示。Pb 处理系列的含 Pb 量分别为 100、300、500、800 和 1 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 分别以 Pb100、Pb300、Pb500、Pb800、Pb1200 表示。Zn 处理系列的含 Zn 量分别为 50、100、200、400 和 800 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 分别以 Zn50、Zn100、Zn200、Zn400、Zn800 表示。同时设置不添加重金属的土壤对照, 以 CK 表示。外源重金属的有效性会随时间推移而降低, 逐渐达到平衡状态。由于土壤酶对外源污染物的反应主要表现在前期, 本研究不能采用等外源重金属的有效性达到平衡时再研究其对土壤酶的影响, 而是重点研究添加前期的影响。上述各个系列的各处理均设 15 个重复。保鲜膜封口, 膜上开孔通气。将塑料杯放置于 $25 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中培养。培养过程调节土壤水分, 使之维持恒定。第 3、10、17、31、52 d 分别从每个处理中取 3 个培养杯(3 个重复), 采用杯中新鲜土样进行脲酶及脱氢酶活性测定, 同时测定重金属有效态变化。

1.3 重金属有效态及土壤酶活性的测定

脲酶、蛋白酶及多酚氧化酶活性测定参考关松荫编写的《土壤酶及其研究法》一书进行^[9], 3 种酶活性测定均采用比色法。重金属有效态测定采用 DTPA 浸提-原子吸收分光光度法进行。

1.4 数据分析

所有数据采用 Excel 2003 及 SPSS 13.0 进行分析处理, 其中均数间多重比较采用 SNK 法进行, 显著水平设为 0.05。

2 结果与讨论

2.1 Cu、Cd、Pb、Zn 有效性的变化

从表 1 可见, 各重金属有效量在培养过程中逐渐下降。培养前期重金属有效量降低的较为强烈, 随后逐渐趋缓, 培养 1 个月左右, 外源重金属都达到较稳定的状态。比较 52 d 重金属有效量与添加量可知, Cu 有效量降低幅度最大, Pb、Zn 次之, Cd 的降低幅度最小。对 4 种重金属添加量与不同培养天数的有效量相关性进行相关分析后发现, 相关系数介于 0.933~1 之间。可见尽管不同培养天数的重金属有效量有所变化, 但重金属添加量是控制有效量的关键因素。为了使分析简化和易于理解, 以下主要采用重金属添加量进行探讨。

表 1 不同培养时间土壤重金属的有效量

Table 1 Available amounts of the heavy metals in the soils at different incubation time

处理	不同培养天数的重金属有效量/mg·kg ⁻¹				
	3 d	10 d	17 d	31 d	52 d
Cu50	31.24	26.57	25.84	22.86	20.29
Cu100	55.01	53.01	51.41	43.91	42.43
Cu200	101.04	86.15	85.85	81.12	75.33
Cu400	130.23	125.98	125.68	117.11	116.43
Cu600	142.9	138.61	138.6	134.57	131.79
Cd1	0.82	0.62	0.38	0.25	0.27
Cd5	5.25	3.48	3.16	2.49	2.43
Cd10	8.56	7.34	6.11	5.51	5.69
Cd15	11.31	10.86	9.69	8.66	7.97
Cd20	15.41	13.94	13.8	11.9	12.38
Pb100	95.52	86.76	74.53	66.14	52.47
Pb300	228.7	203.89	184.13	168.59	160.3
Pb500	332.38	312.96	302.35	221.19	186.73
Pb800	494.09	411.81	377.77	356.31	332.26
Pb1200	578.5	525.15	520.49	455.1	449.6
Zn50	56.49	26.02	52.81	81.18	77.16
Zn100	91.96	87.53	86.53	100.31	84.53
Zn200	142.40	142.40	144.99	147.78	127.73
Zn400	235.35	225.55	220.56	209.33	196.76
Zn800	305.20	294.24	297.44	288.92	278.29

2.2 Cu、Cd、Pb、Zn 对脲酶活性的影响

由表 2 可见,培养第 3 d,Cu 对脲酶呈抑制作用,高添加量 Cu 处理的抑制作用尤强。17 d 左右,高 Cu 处理对脲酶活性的抑制作用表现得更明显。培养后期不同处理间脲酶活性差异趋小,但高 Cu 处理依然表现出较强的抑制作用。纵观培养过程不同浓度 Cu 处理的酶活性变化趋势可发现,Cu 对脲酶的抑制率大致随添加浓度的上升而增加,以培养的第 17 d 为例,Cu50、Cu100、Cu200、Cu400、Cu600 处理的酶活性分

表 2 Cu 对脲酶活性的影响

Table 2 Effect of Cu addition on the activities of soil urease

处理	不同培养天数的脲酶活性/氨基氮 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$				
	3 d	10 d	17 d	31 d	52 d
Cu50	1 515.2b	641.4a	18 471.4ab	18 872.9a	10 717.9b
Cu100	1 328.1c	675.9a	20 644.7a	21 418.9a	9 713.2c
Cu200	1 211.3c	523.2a	16 476.7abc	18 504.9a	9 524.5c
Cu400	1 074.2d	428.8a	14 588.1bc	16 344.2a	8 392.5d
Cu600	1 026.7d	548.9a	12 148.1c	14 926.9a	8 781.2d
CK	2 054.3a	534.1a	21 728.1a	24 032.9a	12 522.3a

注:同一培养天数具相同字母的差异不显著($P<0.05$),以下同。

别是对照酶活性的 85%、95%、76%、67%、56%,显示脲酶对 Cu 污染敏感性较高,与 Hemida 等的研究结论较为一致^[3]。

培养第 3 d,Cd 处理抑制了脲酶活性,但抑制作用较同一时期 Cu 处理小(表 3)。培养第 10 d,一些 Cd 处理(Cd5、Cd15、Cd20)微弱刺激了酶活性,其余处理(Cd1、Cd10)酶活性与对照相近。统计分析显示,10~31 d 期间 Cd 处理与对照组之间酶活性无显著差异,表明土壤脲酶活性已恢复,第 52 d 不同 Cd 处理对脲酶活性并无太大影响,以上情况说明 Cd 对脲酶毒性较小。比较 Cd 与 Cu 的抑制效果可知,在添加浓度范围内 Cd 对脲酶活性的抑制作用较 Cu 小。

表 3 Cd 对脲酶活性的影响

Table 3 Effect of Cd pollution on the activities of soil urease

处理	不同培养天数的脲酶活性/氨基氮 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$				
	3 d	10 d	17 d	31 d	52 d
Cd1	1 414.8c	516.6a	20 936.7a	21 168.9a	11 760.2bc
Cd5	1 698.6b	617.7a	19 492.1a	18 893.6a	11 404.9c
Cd10	1 800.2b	569.4a	17 024.1a	19 186.9a	12 449.5a
Cd15	1 352.5c	653.7a	23 724.7a	19 969.6a	12 216.2ab
Cd20	1 413.5c	610.5a	19 771.4a	20 062.9a	11 660.2bc
CK	2 054.3a	534.1a	21 728.1a	24 032.9a	12 522.3a

不同 Pb 处理在土壤培养第 3 d 抑制了脲酶活性(表 4)。多重比较表明,10~31 d 期间不同处理间脲酶活性并无太大差异,然而在培养末期(52 d)Pb 处理对脲酶出现轻微的激活作用,这说明 Pb 毒性相对较其他重金属弱。

表 4 Pb 对脲酶活性的影响

Table 4 Effect of Pb pollution on the activities of soil urease

处理	不同培养天数的脲酶活性/氨基氮 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$				
	3 d	10 d	17 d	31 d	52 d
Pb100	1 627.7c	471.9a	16 884.1b	20 634.9a	13 186.7b
Pb300	1 324.5d	744.8a	19 491.4ab	19 584.9a	13 946.7b
Pb500	910.3f	510.8a	17 256.7ab	20 996.2a	13 840.7b
Pb800	1 083.7e	598.7a	18 482.1ab	24 416.2a	13 244b
Pb1200	1 763.7b	437.4a	19 224.7ab	22 309.6a	14 828.7a
CK	2 054.3a	534.1a	21 728.1a	24 032.9a	12 522.3c

3 d 以及 31 d 左右,Zn 处理对脲酶产生轻微的抑制作用。总体上 Zn 处理对土壤脲酶的抑制作用不太强,除了个别处理(Zn50)外,其余 Zn 处理土壤的脲酶活性在大部分培养时期都与对照土壤较为接近(表 5)。上述结果与前人研究结论存在一定差异^[3]。

由试验结果可知,重金属有效态下降与脲酶活性

表 5 Zn 对脲酶活性的影响

Table 5 Effect of Zn addition on the activities of soil urease

处理	不同培养天数的酶活性/氨基氮 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$				
	3 d	10 d	17 d	31 d	52 d
Zn50	1 600.1b	724.6a	9 636.7b	21 680.2a	8 593.9e
Zn100	1 651.7b	518.1a	21 458.1a	23 318.9a	12 126.6d
Zn200	1 733.7b	620.8a	21 938.1a	20 310.9a	14 603.2a
Zn400	1 724.4b	688.5a	22 651.4a	21 956.2a	14 121.9b
Zn800	1 721.9b	535a	20 887.4a	20 488.9a	12 647.2c
CK	2 054.3a	534.1a	21 728.1a	24 032.9a	12 522.3cd

变化间联系并不紧密,可见培养过程影响酶活性变化的因素较多,金属有效态含量变化只是其中之一。短期内 4 种金属离子均在不同程度上抑制了脲酶活性。总体评价 4 种重金属离子对脲酶的毒性,大致得出如下规律: $\text{Cu}>\text{Cd}>\text{Zn}\geq\text{Pb}$ 。从结果还可以看出,无论添加何种重金属,其毒性作用在培养末期已趋于减弱,可能是相关微生物恢复及重金属有效态下降的综合结果。有研究指出脲酶活性是土壤污染的一个敏感指标^[10],而 Efron 等的研究表明,Cu、Cd、Pb 3 种重金属都抑制了土壤脲酶活性^[11]。但从本研究结果来看,除了 Cu,其余重金属离子对脲酶活性的影响均有限,毒性并不太大,随着培养时间推移,脲酶活性很快得到了恢复。

2.3 Cu、Cd、Pb、Zn 对蛋白酶活性的影响

数据分析显示,3~10 d 期间,对照土与 Cu 处理土的脲酶活性存在显著性差异($P<0.05$),说明这一时期 Cu 处理对蛋白酶产生明显的抑制作用。其中土壤培养第 3 d 对酶的剂量效果较为明显,Cu50、Cu100、Cu200、Cu400、Cu600 处理的酶活性分别是对照的 82%、79%、66%、63%、66%。17~31 d 期间,Cu600、Cu400 处理的蛋白酶活性显著高于对照($P<0.05$),说明其刺激了蛋白酶活性。第 52 d,Cu 处理与对照土壤酶活性存在显著差异($P<0.05$),说明 Cu 明显抑制蛋白酶活性,但不同 Cu 处理间酶活性差异不大(图 1)。

土壤培养 3~10 d,Cd 处理对蛋白酶有一定程度的抑制作用,第 10 d,Cd1、Cd5、Cd10、Cd15、Cd20 处理的酶活性分别是对照土的 83%、67%、65%、62%、64%,多重比较显示,对照与 Cd 处理土壤的酶活性存在显著差异($P<0.05$),可见 Cd 处理明显抑制了酶活性。17~31 d 期间,Cd 处理与对照土壤的酶活性较为接近。第 52 d 所有 Cd 处理显著抑制了蛋白酶活性($P<0.05$)(图 2)。

1~31 d 期间,Pb 处理仅微弱抑制了蛋白酶活性(图 3)。31~52 d 期间,对照土壤的蛋白酶活性大幅回

升,而 Pb 处理的蛋白酶活性依然保持在较低水平,表现出较强的抑制作用,不同浓度 Pb 处理的蛋白酶活性差异不显著。

3~10 d 期间,低浓度 Zn 处理(Zn50、Zn100)对蛋白酶影响不大,但 Zn200、Zn400、Zn800 处理土壤的酶活性降幅较大。其中第 3 d 和第 10 d Zn800 处理的抑制率分别为 35.8%和 24.5%。多重比较显示,17~31 d 不同处理间酶活性无显著差异。第 52 d,对照土壤的蛋白酶活性明显回升,Zn 处理则对蛋白酶表现出较强的抑制作用(图 4)。

培养过程金属有效态下降与蛋白酶活性变化间联系并不紧密。比较 4 种重金属对蛋白酶活性的抑制效果可见,Pb 的抑制作用最弱。4 种重金属在 3~17 d 期间对酶活性均起抑制作用,说明外源重金属的添加迅速抑制了酶活性。在此期间 Cu、Cd 的抑制作用较强,而 Pb 与 Zn 的抑制作用较弱。17~31 d 期间,重金属处理接近对照土壤间酶活性,可能与重金属有效态下降及相关微生物的恢复有关,但随后重金属处理土壤的蛋白酶一直处于较低活性状态,没有恢复的态势,而对照处理的蛋白酶活性则迅速恢复,说明外源重金属的长期污染对蛋白酶会产生明显的抑制作用。

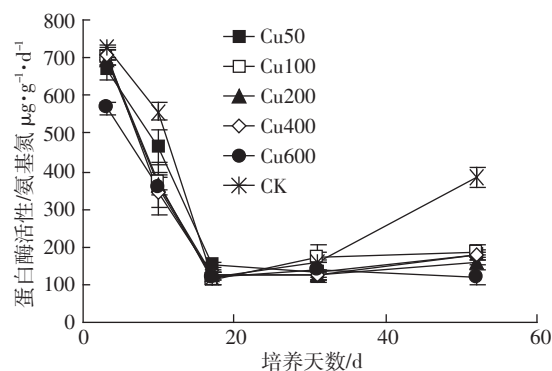


图 1 Cu 对蛋白酶活性的影响

Figure 1 Effect of Cu pollution on the activities of protease

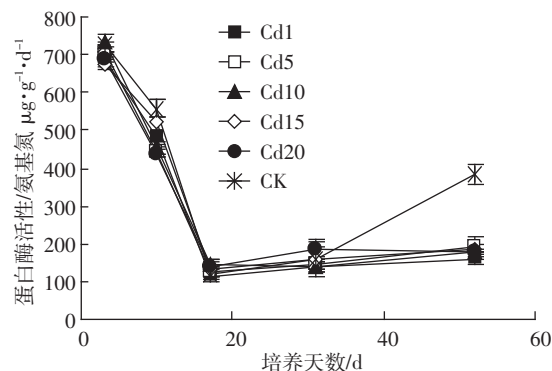


图 2 Cd 对蛋白酶活性的影响

Figure 2 Effect of Cd pollution on the activities of protease

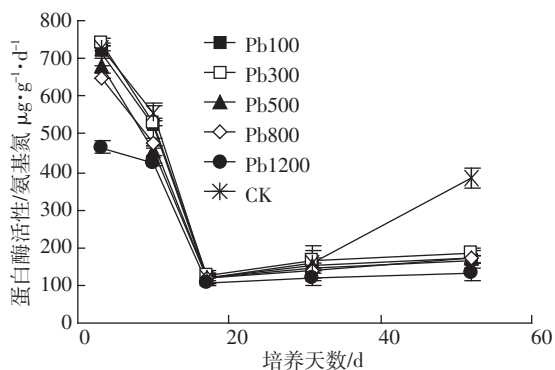


图3 Pb对蛋白酶活性的影响

Figure 3 Effect of Pb pollution on the activities of protease

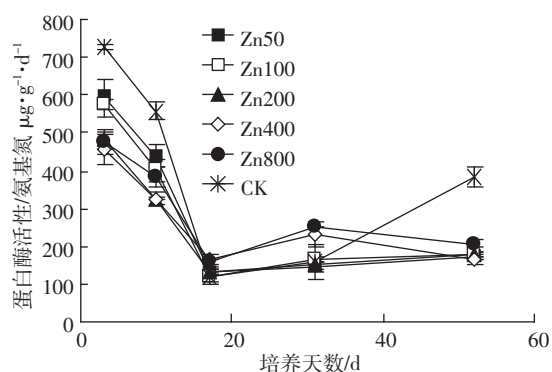


图4 Zn对蛋白酶活性的影响

Figure 4 Effect of Zn pollution on the activities of protease

用^[12-13],因此蛋白酶活性对于重金属长期污染的农田土壤具有一定指示作用。

2.4 Cu、Cd、Pb、Zn对过氧化物酶活性的影响

土壤培养3~10 d期间,Cu处理都抑制了过氧化物酶活性,抑制作用大致随着Cu添加量的增加而增强(表6)。17~31 d期间,Cu50、Cu100处理刺激了过氧化物酶活性,而高Cu处理则对酶活性起抑制作用,中等浓度Cu处理(Cu200)的酶活性几乎与对照土壤一致。重金属对土壤酶活性“低促高抑”的现象同样被其他研究者所观察到^[14]。培养52 d左右,低浓度Cu激活作用消失,所有的Cu处理重新抑制了酶活性,且抑制作用随Cu添加量增加而增强。

3~10 d期间,Cd处理刺激了过氧化物酶活性(表7)。多重比较显示,17~31 d不同处理之间无明显差异。52 d左右,Cd处理显著抑制了酶活性($P<0.05$)。但是上述Cd对过氧化物酶的激活或抑制作用与Cd浓度间无明显相关性。

整个培养过程,大多数Pb处理之间以及Pb处理与对照间的过氧化物酶活性并无多大差异,可见Pb处理对土壤过氧化物酶影响较为有限(表8)。

培养第3 d,Zn处理强烈抑制了过氧化物酶活性,其中Zn50、Zn100、Zn200、Zn400、Zn800处理的抑制率分别为46%、24%、45%、36%、89%(表9)。10 d左右,Zn的抑制强度大幅下降,Zn处理酶活性与对照酶活性接近。17 d左右,Zn处理微弱激活了酶活性。从31 d以后直到培养结束,Zn处理轻微抑制了过氧化物酶活性。

培养过程金属有效态下降与过氧化物酶活性变化间联系并不紧密。综上所述:Pb对过氧化物酶活性影响最小;短时间内(3 d)Cu及Zn对过氧化物酶都产生较为明显的抑制作用,其中Zn的短期抑制效果更强;当培养时间较长(52 d)时,Cu及Cd对酶的抑制效果较Pb、Zn强。从结果还可以看出,到培养结束

表6 Cu对过氧化物酶活性的影响

Table 6 Effect of Cu pollution on the activities of peroxidase

处理	不同培养天数的酶活性/没食子素 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$				
	3 d	10 d	17 d	31 d	52 d
Cu50	1 306.9bc	1 431.7a	1 493.0a	2 006.3a	1 697.7a
Cu100	1 400.9b	1 397.7a	1 493.3a	2 031.3a	1 731.9a
Cu200	1 224.1c	1 421.0a	1 399.3a	1 734.3ab	1 611.2ab
Cu400	1 125.7c	1 214.6b	1 244.6b	1 592.3b	1 403.1c
Cu600	1 161.3c	1 214.2b	1 217.4b	1 525.1b	1 485.7bc
CK	1 536.3a	1 471.9a	1 409.8a	1 731.8ab	1 786.5a

表7 Cd对过氧化物酶活性的影响

Table 7 Effect of Cd pollution on the activities of peroxidase

处理	不同培养天数的酶活性/没食子素 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$				
	3 d	10 d	17 d	31 d	52 d
Cd1	1 942.1a	1 648.5a	1 311.1a	1 557.7a	1 468.6b
Cd5	1 650.0b	1 672.5a	1 337.9a	1 647.8a	1 482.9b
Cd10	1 603.1b	1 748.4a	1 347.0a	1 746a	1 508.6b
Cd15	1 569.0b	1 650.1a	1 381.1a	1 671.8a	1 507.3b
Cd20	1 722.9b	1 616.6a	1 417.5a	1 630.8a	1 597.1b
CK	1 536.3b	1 471.9b	1 409.8a	1 731.8a	1 786.5a

表8 Pb对过氧化物酶活性的影响

Table 8 Effect of Pb pollution on the activities of peroxidase

处理	不同培养天数的酶活性/没食子素 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$				
	3 d	10 d	17 d	31 d	52 d
Pb100	1 359.4a	1 526.8a	1 415.5a	1 679.1ab	1 503.2b
Pb300	1 559.1a	1 485.7a	1 498.6a	1 593.2b	1 681.2ab
Pb500	1 530a	1 463.0a	1 426a	1 625.1b	1 552.5b
Pb800	1 535.4a	1 492.6a	1 512.6a	1 610.7b	1 853a
Pb1200	1 513.6a	1 489.2a	1 422.3a	1 683.5ab	1 831.8a
CK	1 536.3a	1 471.9a	1 409.8a	1 731.8a	1 786.5a

表 9 Zn 对过氧化物酶活性的影响

Table 9 Effect of Zn pollution on the activities of peroxidase

处理	不同培养天数的酶活性/没食子素 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 2\text{ h}^{-1}$				
	3 d	10 d	17 d	31 d	52 d
Zn50	832.0b	1 413.9ab	1 412.0b	1 728.6a	1 658ab
Zn100	1 169.5b	1 364.2ab	1 554.1a	1 751.6a	1 670.5ab
Zn200	842.1b	1 393.3ab	1 452.6b	1 710.6a	1 687.6ab
Zn400	988.6b	1 415.1ab	1 583.0a	1 611.5a	1 585.9ab
Zn800	171c	1 299.4bab	1 607.8a	1 538.4a	1 519.2b
CK	1 536.3a	1 471.9a	1 409.8b	1 731.8a	1 786.5a

为止,几种重金属对过氧化物酶主要起抑制作用,但抑制强度不大。上述结果表明,长期的重金属污染对农田土壤过氧化物酶活性存在一定影响,但影响程度不大。

2.5 土壤酶活性指示农田土壤重金属污染的可行性

在添加试验中,土壤酶活性的恢复可能与外源重金属有效态的下降有关。就本研究而言,重金属在土壤中的平衡可在较短时间内完成,因此至 1 个月左右,有效量的变化对酶活性的影响较小。上述情况表明,3~17 d 左右酶活性的变化能反映重金属对本研究土壤生化过程的急性影响。31~52 d 左右酶活性变化可能能够反映重金属对生化过程较长时期的影响,但这个结论还需要进一步验证。

一般认为重金属通过以下 2 条途径抑制土壤酶活性:一方面重金属与酶的直接作用,使酶活性基团或是空间结构受到破坏而降低其活性;另一方面则通过抑制土壤微生物的生长繁殖,减少微生物体内酶的合成与分泌量,最终导致土壤酶活性的下降^[15]。

本研究结果表明,土壤酶对重金属的指示作用与重金属种类有关。尽管从重金属有效态变化来看,研究土壤对 Cu 的固持能力最强,但 3 种土壤酶对 Cu 都有着较强的指示作用,这反映在 Cu 对酶活性长时间较大幅度的抑制,且极少出现 Cu 刺激酶活性增长的现象。上述情况说明,Cu 对研究土壤中的土壤酶毒性较强。可能 Cu 不仅直接抑制了土壤酶活性而且抑制了微生物增长,所以培养期间 Cu 处理土壤的酶恢复迹象较弱。但实际应用时应考虑到农田土壤 Cu 污染程度,且农田土壤一般具有较高含量的有机质,而高含量有机质有可能固持土壤中 Cu 元素^[16],从而降低 Cu 的毒害作用,何种土壤酶适合作为 Cu 污染指标需要进一步的田间观察。Cd 是土壤环境中毒性较强的元素之一,在本研究浓度范围内 Cd 对脲酶和过氧化物酶均具有一定程度的刺激作用,对过氧化物酶

的刺激作用较强。其他研究者也曾观察到 Cd 刺激土壤酶活性的现象^[17]。Cd 对脲酶及过氧化物酶活性的刺激作用主要发生在培养前期,后期消失转成抑制作用,说明长期 Cd 污染可能对土壤酶产生抑制作用。考虑到本研究土壤对 Cd 的固持能力较弱,须注意 Cd 污染。4 种重金属中 Pb 对 3 种土壤酶的影响力最弱,除了蛋白酶外,Pb 对土壤酶活性的抑制在培养结束时基本消失。Pb 对土壤酶毒性较弱的现象也被其他研究所证明^[18],因此,须谨慎选择农田 Pb 污染的指示酶。在本研究中,培养 31~52 d 期间,Zn 对蛋白酶的抑制作用较强,但 Zn 处理土壤的脲酶与过氧化物酶活性已经逐步恢复。由于研究土壤 Zn 平衡需时较短,说明 Zn 污染土壤酶活性的恢复与 Zn 有效量变化关系不大,可能与通过一段时间培养诱导了相关微生物的抗性有关^[19]。因此随着土壤微生物种群恢复,土壤酶活性也得到恢复。

综上所述,脲酶、蛋白酶、过氧化物酶对农田土壤 Cu 污染都具指示作用:脲酶与蛋白酶的指示作用较强;蛋白酶对农田土壤 Cd 污染具有指示作用,脲酶、过氧化物酶是否适合作为 Cd 污染指标需要进一步观察;蛋白酶对农田土壤 Pb 污染具有指示作用;过氧化物酶对土壤 Zn 急性污染具有指示作用,且较为灵敏,蛋白酶活性适合作为 Zn 污染指标。

3 结论

(1) 培养过程 Cu、Cd、Zn、Pb 对脲酶以抑制作用为主,对土壤脲酶抑制作用依次为:Cu>Cd>Zn≥Pb,但抑制作用在培养末期都趋向减弱,反映脲酶对重金属污染的逐步适应。比较而言,Cu 对脲酶的抑制作用最强,因此脲酶对农田土壤 Cu 污染具指示作用。

(2) 4 种重金属中 Pb 对蛋白酶抑制作用最弱,3~17 d 期间 Pb 处理与对照酶活性较为接近,而同一时期 Cu、Cd、Zn 均较明显地抑制了蛋白酶活性。较长一段培养时间,4 种重金属都抑制了蛋白酶活性,说明重金属不但直接抑制酶活性,还制约土壤中相关微生物生长繁殖,因此蛋白酶活性没有恢复的态势。蛋白酶对农田土壤这 4 种重金属的污染都具有指示作用。

(3) 4 种重金属中 Pb 对过氧化物酶影响最小。短时间内(3 d)Zn 对过氧化物酶具有强烈的抑制效果,适合作为 Zn 污染的短期指标。比较脲酶与蛋白酶,整个培养过程 4 种重金属对过氧化物酶的影响相对较小,过氧化物酶对重金属长期污染的指示作用需进一步考察。

参考文献:

- [1] Chang E H, Chung R S, Tsai Y H. Effect of different application rates of organic fertilizer on soil enzyme activity and microbial population[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2007, 53(2): 132–140.
- [2] 熊汉锋, 黄世宽, 陈治平, 等. 梁子湖湿地土壤酶初步研究[J]. 生态环境, 2006, 15(6): 1305–1309.
- XIONG Han-feng, HUANG Shi-kuan, CHEN Zhi-ping, et al. Soil enzyme activities of wetland in Liangzi Lake[J]. *Ecology and Environment*, 2006, 15(6): 1305–1309.
- [3] Hemida S K, Omar S A, Abdel-Mallek A Y. Microbial populations and enzyme activity in soil treated with heavy metals[J]. *Water Air and Soil Pollution*, 1997, 95: 13–22.
- [4] García-Gil J C, Plaza C, Soler-Rovira P, et al. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(13): 1907–1913.
- [5] 滕 应, 黄昌勇, 龙 健, 等. 铜尾矿污染区土壤酶活性研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(11): 1976–1980.
- TENG Ying, HUANG Chang-yong, LONG Jian, et al. Enzyme activities in soils contaminated by abandoned copper tailings[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(11): 1976–1980.
- [6] 董 军, 杨清伟, 栾天罡, 等. PbZn 矿冶区植被恢复地土壤酶的活性特征[J]. 应用与环境生物学报, 2006, 12(2): 200–202.
- DONG Jun, YANG Qing-wei, LUAN Tian-gang, et al. Activity characteristics of soil enzyme in restored areas of lead-zinc mining and smelting circumjacent districts[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2006, 12(2): 200–202.
- [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 Wen-xiang, CHEN Hui-ming, FENG Gui-ying, et al. Study on enzyme index in soils polluted by mercury, chromium and arsenic[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2000, 20(3): 338–343.
- [8] 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 Wen-xiang, ZHU Ming-e, ZHANG Yi-ping. Recent advance in relationship between soil enzymes and heavy metals[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(2): 139–142.
- [9] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 1–353.
- GUAN Song-yin. Soil enzyme and research methods for soil enzyme[M]. Beijing: Agricultural Press, 1986: 1–353.
- [10] Guettes R, Dott W, Eisentraeger A. Determination of urease activity in soils by carbon dioxide release for ecotoxicological evaluation of contaminated soils[J]. *Ecotoxicology*, 2002, 11(5): 357–364.
- [11] Effron D, De la Horra A M, Defrieri R L, et al. Effect of cadmium, copper, and lead on different enzyme activities in a native forest soil[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2004, 35: 1309–1321.
- [12] Lorenz N, Hintemann T, Kramarewa T, et al. Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(6): 1430–1437.
- [13] Crecchio C, Curci M, Pizzigallo M D R, et al. Effects of municipal solid waste compost amendments on soil enzyme activities and bacterial genetic diversity[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(10): 1595–1605.
- [14] 王玉军, 周东美, 孙瑞娟, 等. 土壤中草甘膦与镉的交互作用对 3 种土壤酶活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2006, 1(1): 58–63.
- WANG Yu-jun, ZHOU Dong-mei, Sun Rui-juan, et al. Effects of glyphosate and Cd interaction on the activities of several soil enzymes[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1(1): 58–63.
- [15] 王焕校. 污染生态学(第 2 版)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002: 261.
- WANG Huan-xiao. Pollution ecology (2 edition) [M]. Beijing: Higher Education Press, 2002: 261.
- [16] 徐俊祥, 董文瑞. 永久性及其长期渍水的水稻土中铜的供给情况和铜肥效果[J]. 土壤学报, 1989, 26(2): 149–157.
- XU Jun-xiang, DONG Wen-rui. Copper status of permanently waterlogging and long-termed waterlogging paddy soils and response of rice to copper fertilizer[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1989, 26(2): 149–157.
- [17] 曾路生, 廖 敏, 黄昌勇, 等. 镉污染对水稻土微生物量、酶活性及水稻生理指标的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2162–2167.
- ZENG Lu-sheng, LIAO Min, HUANG Chang-yong, et al. Effects of Cd contamination on paddy soil microbial biomass and enzyme activities and rice physiological indices[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(11): 2162–2167.
- [18] Marzadori C, Ciavatta C, Montecchio D, et al. Effects of lead pollution on different soil enzyme activities[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 22: 53–58.
- [19] Holtan-Hartwig L, Bechmann M, Høyås T R, et al. Heavy metals tolerance of soil denitrifying communities: N₂O dynamics[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(8): 1181–1190.