

网络出版时间:2012-07-18 10:59

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20120718.1059.023.html>

Cr⁶⁺ 的土壤酶效应研究

李 天^a, 来航线^b, 和文祥^b, 吕家珑^b

(西北农林科技大学 a 生命科学学院, b 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 **【目的】** 研究 Cr⁶⁺ 对不同土壤酶活性的影响, 为建立土壤重金属铬污染评价的酶学指标提供依据。**【方法】** 以我国主要土壤类型中的酸性红壤、碱性褐土和风沙土不同肥力的土壤为供试土样, 采用室内模拟方法, 研究添加不同含量 Cr⁶⁺ 溶液后, 土壤转化酶、纤维素酶、脲酶、碱性磷酸酶、芳基硫酸酯酶和脱氢酶活性的变化规律。**【结果】** 添加 Cr⁶⁺ 后, 随着 Cr⁶⁺ 含量的增加, 除褐土高肥力和风沙土低肥力土样, 其他土样脲酶活性总体呈降低趋势; 除了褐土高肥力土样, 其他土样转化酶活性总体呈降低趋势; 各土样碱性磷酸酶活性的变化规律不明显; Cr⁶⁺ 的加入, 明显抑制了土壤纤维素酶、芳基硫酸酯酶、脱氢酶及总体酶活性, 通过拟合模型计算得到, 代表酸性土壤的红壤 Cr⁶⁺ 污染生态剂量(ED₁₀)最小值分别为: 纤维素酶 186 mg/kg、芳基硫酸酯酶 2.6 mg/kg、脱氢酶 3.8 mg/kg, 代表碱性土壤的褐土和风沙土 Cr⁶⁺ 污染 ED₁₀ 分别为: 纤维素酶 162 mg/kg、芳基硫酸酯酶 11.7 mg/kg、脱氢酶 8.1 mg/kg。**【结论】** 土壤有机质对 Cr⁶⁺ 含量具有明显的缓冲作用; pH 对 Cr⁶⁺ 的生态毒性有一定影响, 不同土壤酶在酸碱性不同的土壤中表现出对 Cr⁶⁺ 轻度污染的敏感程度不一致, 其中酸性土壤中芳基硫酸酯酶对 Cr⁶⁺ 的毒害反应更敏感, 碱性土壤中脱氢酶对 Cr⁶⁺ 的毒害反应更敏感, 2 种酶均可作为表征 Cr⁶⁺ 毒害的酶指标。

【关键词】 Cr⁶⁺; 土壤酶; ED₁₀; 总体酶活性

【中图分类号】 S154.2

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2012)08-0171-08

Effects of Cr⁶⁺ on soil enzyme activity

LI Tian^a, LAI Hang-xian^b, HE Wen-xiang^b, Lü Jia-long^b

(a College of Life Sciences, b College of Natural Resources and Environment,
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** Influences of Cr⁶⁺ on different soil enzymes activity were studied to provide a fundamental groundwork for foundation of enzymology assessment index of soil polluted by heavy metals. **【Method】** Red soil, cinnamonl, sandy soil, which are main soil types in China, were sampled. By using laboratory simulation method, soil invertase, cellulase, urease, alk-phosphatase, arylsulfatase and dehydrogenase activity were studied under different Cr⁶⁺ contents. **【Result】** As Cr⁶⁺ content increased, soil urease activity reduced overall except for low fertility cinnamon soil and high fertility sandy soil; Soil invertase activity reduced overall except for low fertility cinnamon soil; Soil alk-phosphatase activity did not show identical trend; Soil cellulose, arylsulfatase, dehydrogenase and total enzyme activity reached significant negative correlation with Cr⁶⁺ content, ED₁₀ on red soil was 186 mg/kg (cellulase), 2.6 mg/kg (arylsulfatase), 3.8 mg/kg (dehydrogenase), ED₁₀ on cinnamonl soil and sandy soil was 162 mg/kg (cellulase), 11.7 mg/kg (arylsulfatase), 8.1 mg/kg (dehydrogenase). **【Conclusion】** Soil organic matter had buffering effect for pol-

* [收稿日期] 2012-01-04

[基金项目] 公益性行业(农业)科研专项(200903015); 国家“863”高新技术研究与发展计划项目(2012AA100602)

[作者简介] 李 天(1986—), 男, 陕西汉中, 在读硕士, 主要从事土壤生物化学研究。E-mail: litian0077@yahoo.cn

[通信作者] 和文祥(1968—), 男, 陕西黄龙人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事土壤生态毒理及土壤生物化学研究。
E-mail: wxhe1968@163.com

lution by Cr^{6+} , pH had certain influence on eco-toxicity of Cr^{6+} , soil enzyme in different types of soil showed different sensitivity, arylsulfatase in acidic soil was more sensitive but dehydrogenase in alkaline soil was more sensitive, and they both could be index to monitor soils polluted by Cr^{6+} .

Key words: Cr^{6+} ; soil enzymes; ED_{10} ; total enzyme activity

重金属是造成土壤污染的主要来源,铬是四大污染元素之一,我国工矿企业每年产生(35~42)万 t 铬渣^[1-2],这些铬渣会导致土壤、地下水、河流等的污染,其中污染土壤的铬含量为 1.04~3 015 mg/kg^[3]. 铬在土壤中以 Cr^{6+} 和 Cr^{3+} 2 个价态存在,其生物毒性相差 100~1 000 倍^[4-5]. 铬污染不仅降低了土壤的生产水平及作物的产量和品质^[6-8],而且还会随食物链的富集威胁到人畜健康.

酶是土壤的重要组成部分,也是土壤生态系统的核心之一^[9],其参与了土壤中的所有生化反应,推动了营养物质的循环转化、能量代谢和污染物质净化等^[9-10]. 近 20 年来,国内外学者采用土壤酶开展了重金属生态毒理方面的研究,获得了一些污染监测指标,如土壤脲酶、脱氢酶、磷酸酶等^[11-14],但由于重金属种类、土壤类型、肥力水平等的差异,研究结果不尽相同. Wyszowska 等^[11]认为, Cr^{6+} 含量为 50 mg/kg 时,土壤脱氢酶、脲酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶活性会受到抑制;闫峰等^[12]则认为,当土壤中 Cr^{6+} 含量为 225 mg/kg 时,其对土壤过氧化氢酶活性的激活作用达到最大; Samborska 等^[13]发现, Cr^{3+} 对脲酶的抑制作用要强于 Cr^{6+} , Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 对脲酶的生态剂量(ED_{50})分别为 0.2 和 0.4 mg/kg; 和文祥等^[14]认为,铬显著抑制了土壤碱性磷酸酶活

性,其中 Cr^{3+} 的抑制作用远强于 Cr^{6+} , 土壤 Cr^{3+} 和 Cr^{6+} 轻度污染时的临界含量分别为 151 和 1 132 mg/kg. 可见,前人关于土壤酶活性与重金属 Cr^{6+} 的关系研究结果不尽相同. 本研究拟采用室内模拟方法,分析 Cr^{6+} 对土壤 C、N、P、S 循环及与微生物活动密切相关的关键酶(土壤转化酶、纤维素酶、脲酶、碱性磷酸酶、芳基硫酸酯酶、脱氢酶)活性的影响,探讨 Cr^{6+} 与主要土壤酶间的剂量-效应关系,从中筛选出对 Cr^{6+} 敏感的酶类,探明不同土壤 Cr^{6+} 的污染临界含量,以期为土壤污染监测治理、环境保护及农业可持续发展等提供依据.

1 材料与方法

1.1 供试土样

供试土样分别为采自江西鹰潭的红壤(简育湿润富铁土, Hap Udic Ferrisols)、陕西黄龙的褐土(简育干润淋溶土, Hapli-Ustic argosols)和榆林的风沙土(干旱砂质新成土, Aridi-Sandic Primosols), 每种土壤分别包括 2 个不同肥力水平的土样. 采样时,先去除 0~5 cm 表层土后,用五点法采集 5~20 cm 土层土样,混匀后风干,过孔径 1 mm 尼龙筛,保存备用. 用常规方法测定土样的化学性质^[15], 结果见表 1.

表 1 供试土样的化学性质

Table 1 Chemical properties of soils tested

供试土样 Soil samples	编号 No.	有机质/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) O. M	全氮/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Total N	碱解氮/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) A. N	全磷/ ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$) Total P	pH	阳离子交换量/ ($\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$) CEC
红壤 Red soil	1	20.02	1.43	126.70	0.66	6.51	14.48
	2	9.60	0.83	57.38	0.34	5.30	13.22
褐土 Cinnamon soil	3	26.07	0.77	101.93	1.83	7.82	8.05
	4	14.59	0.38	61.33	0.80	8.00	7.41
风沙土 Sandy soil	5	17.63	0.31	60.37	0.44	8.06	4.49
	6	0.92	0.02	5.87	0.22	8.43	1.63

1.2 试验方案

向 5.00 g 土样中加入 1 mL 甲苯,15 min 后添加 5 mL 不同含量的 $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ 溶液(其中在转化酶、纤维素酶、脲酶、碱性磷酸酶活性测定中,添加 Cr^{6+} 含量分别为 0,250,500,1 000,2 000,3 000 和 4 000 mg/kg;在芳基硫酸酯酶、脱氢酶活性测定中,添加 Cr^{6+} 含量分别为 0,25,50,100,150,200 和 250

mg/kg),混匀维持 30 min 后,加入相应的底物和缓冲液,37 ℃培养 4 或 8 h 后,取样测定土壤转化酶、纤维素酶、脲酶、碱性磷酸酶、芳基硫酸酯酶和脱氢酶活性^[8],以上 6 种酶活性单位分别用加入葡萄糖、葡萄糖、铵态氮、酚、三苯基甲腈和对硝基酚的量($\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$)来表示,每处理重复 3 次,设无底物、无土壤处理作为空白对照.

1.3 指标计算与方程拟合

生态剂量 (Ecological dose, ED_{10}) 指土壤酶活性降低 10% 时, 外界污染物的含量, 可表征土壤轻度污染时外源污染物的临界含量^[16]。总体酶活性指标 $E_t = \sum X_i / \bar{X}$, 其中 X_i 为供试样品第 i 种酶活性的实测值, $\bar{X}$ 为同种酶活性的平均值^[17]。

借鉴 Speir 等^[18] 从米氏动力学方程推导出的 As^{5+} 抑制土壤酶活性模型 $U = A / (1 + B \times C)$, 拟合外源污染物含量 (C) 与土壤酶活性 (U) 间的关系, 并赋予其机理为完全抑制作用, 其中 A 、 B 为一定底物浓度下, 受到抑制常数 K_i 、最大反应速度 V_{max} 和米氏常数 K_m 以及抑制类型等共同作用形成的复合参数。当模型 $U = A / (1 + B \times C)$ 不适用时, 可以用经验公式即指数曲线模型 $U = A \times e^{B \times C}$, 来拟合外源污染物含量 (C) 与土壤酶活性 (U) 间的关系, 其中 A 、 B 为模型参数, 该模型不仅可以对已知结果拟合, 也可以用来预测特定土壤酶活性 (U) 所对应的污染物含量 (C)^[19]。

以上指标的计算和方程拟合在 EXCEL 和 DPS7.05 软件中完成。

2 结果与分析

2.1 Cr⁶⁺ 对土壤转化酶活性的影响

转化酶是影响土壤碳素循环的酶类, 其可将蔗糖催化为葡萄糖, 对增加土壤中易溶性营养物质起作用。表 2 显示, Cr^{6+} 加入土壤后, 当其含量为 250 mg/kg 时, 除 3 号土样转化酶活性略升外, 其他土样均降低, 表明 Cr^{6+} 对土壤转化酶活性具有抑制作用。随着 Cr^{6+} 含量增加, 3 号土样转化酶活性总体呈升高趋势, 而 1、2、4 号土样转化酶活性持续下降; 5、6 号土样转化酶活性呈波动性变化, 但总体呈降低趋势。当加入 Cr^{6+} 含量相同时, 同一类型土壤中, 有机质含量高的土样转化酶活性较高, 表明有机质对土壤转化酶活性与重金属含量间的关系具有重要影响, 这一方面是由于土壤酶主要是以吸附态存在, 有机质对土壤酶具有保护作用; 另一方面是由于有机质对重金属具有吸附固定作用, 从而降低了重金属的毒性, 减弱了重金属对土壤酶活性的抑制作用。

表 2 不同含量 Cr⁶⁺ 作用下供试土样转化酶活性的变化
Table 2 Soil invertase activity affected under different Cr⁶⁺ contents μg/(g·h)

供试土样 Soil samples	编号 No.	Cr ⁶⁺ /(mg·kg ⁻¹)						
		0	250	500	1 000	2 000	3 000	4 000
红壤 Red soil	1	304.75±3.70 a	181.35±6.66 b	175.60±7.39 bc	174.29±2.59 bc	167.49±4.81 cd	161.74±4.07 de	153.37±1.11 e
	2	94.79±5.85 a	71.18±1.89 b	67.71±1.13 bc	63.18±1.13 cd	61.98±0.94 cd	61.18±1.70 d	53.98±1.32 e
褐土 Cinnamon	3	961.43±14.17 bc	965.60±72.02 bc	880.45±20.07 c	920.52±34.34 c	1 043.24±54.31 ab	1 042.41±15.35 ab	1 111.70±59.03 a
	4	790.42±63.59 a	758.55±39.44 a	729.52±25.76 ab	648.12±16.90 bc	612.26±11.27 cd	557.62±46.69 d	562.17±1.61 cd
风沙土 Sandy soil	5	288.74±1.52 a	182.45±0.76 d	153.34±3.54 e	254.98±5.81 b	256.76±3.28 b	199.42±1.52 c	154.59±2.27 e
	6	17.57±3.33 a	12.34±2.96 ab	11.94±2.03 ab	7.24±3.14 bc	4.36±0.18 c	8.81±2.77 bc	12.60±0.74 ab

注: 同行数据后标不同字母者表示差异显著 ($P < 0.05$)。表 3、5、7、8、10 同。
Note: Different capital letters in the same row mean significant difference at $P = 5\%$ level in different Cr^{6+} concentration. It is the same with table 3、5、7、8、10.

拟合结果表明, 模型 $U = A / (1 + B \times C)$ 或 $U = A \times e^{B \times C}$ 均不能很好地拟合土壤转化酶活性与 Cr^{6+} 含量的关系 (拟合方程未列出), 表明转化酶不能很好地表征土壤 Cr^{6+} 污染程度的大小。

2.2 Cr⁶⁺ 对土壤纤维素酶活性的影响

纤维素酶可将纤维素分解为葡萄糖, 也是碳素循环的一个重要酶。由表 3 可以看出, 除 3 号土样外, Cr^{6+} 明显抑制了其他土样的纤维素酶活性, 并且纤维素酶活性随着 Cr^{6+} 含量的增加总体呈下降趋势, 反映了 Cr^{6+} 的抑制作用明显增强。当 Cr^{6+} 含量为 4 000 mg/kg 时, 各土样纤维素酶活性降幅分别为 6 号 (81.90%) > 2 号 (74.14%) > 5 号 (69.71%) > 4

号 (50.52%) > 1 号 (43.67%)。
采用模型 $U = A / (1 + B \times C)$ 拟合土壤脲酶活性 (U) 与 Cr^{6+} 含量 (C) 之间的关系, 结果 (表 4) 表明, 除 3 号土样外, 其他土样纤维素酶活性与 Cr^{6+} 含量间均呈显著 ($P < 0.05$) 或极显著负相关 ($P < 0.01$), 表明土壤纤维素酶活性在一定程度上可表征土壤受 Cr^{6+} 污染程度的大小, 且 Cr^{6+} 作用机理为完全抑制作用。土壤 Cr^{6+} 轻度污染 ED_{10} 为 162 ~ 703 mg/kg, 其中代表酸性土壤的红壤 Cr^{6+} 轻度污染 ED_{10} 最小为 186 mg/kg, 代表碱性土壤的褐土和风沙土 Cr^{6+} 轻度污染 ED_{10} 最小为 162 mg/kg。

表 3 不同含量 Cr^{6+} 作用下供试土样纤维素酶活性的变化

Table 3 Soil cellulase activity affected under different Cr^{6+} contents

$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$

供试土样 Soil samples	编号 No.	$\text{Cr}^{6+}/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$						
		0	250	500	1 000	2 000	3 000	4 000
红壤 Red soil	1	5.77±0.24 a	5.77±0.05 a	5.22±0.05 b	4.15±0.43 c	3.50±0.19 d	3.36±0.48 d	3.25±0.14 d
	2	3.79±0.05 a	2.95±0.10 b	2.54±0.10 c	1.73±0.48 d	1.07±0.14 d	1.48±0.34 e	0.98±0.10 e
褐土 Cinnamon	3	2.83±0.31 a	2.78±0.50 a	2.38±0.06 a	4.03±1.63 a	3.54±0.06 a	3.14±0.25 a	2.65±0.94 a
	4	1.94±0.30 a	1.26±0.18 ab	1.60±0.06 ab	1.14±0.24 ab	1.43±0.66 ab	0.96±0.36 b	0.96±0.24 b
风沙土 Sandy soil	5	1.75±0.00 a	1.24±0.05 abc	1.31±0.53 ab	0.60±0.10 bc	0.60±0.10 bc	0.56±0.53 bc	0.53±0.19 c
	6	1.05±0.34 a	0.74±0.19 ab	0.47±0.00 bc	0.36±0.05 bc	0.33±0.10 bc	0.29±0.15 bc	0.19±0.28 c

表 4 不同土样纤维素酶活性与 Cr^{6+} 含量的拟合方程

Table 4 Regression equations between different soil cellulase activity and Cr^{6+} content

供试土样 Soil samples	编号 No.	拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	$ED_{10}/$ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
红壤 Red soil	1	$U=5.50/(1+2.20 \times 10^{-4}C)$	-0.943**	505
	2	$U=2.98/(1+5.96 \times 10^{-4}C)$	-0.890**	186
褐土 Cinnamon	3	$U=2.92/(1-8.77 \times 10^{-6}C)$	0.085	—
	4	$U=1.58/(1+1.58 \times 10^{-4}C)$	-0.805*	703
风沙土 Sandy soil	5	$U=1.23/(1+3.68 \times 10^{-4}C)$	-0.862*	302
	6	$U=0.76/(1+6.84 \times 10^{-4}C)$	-0.954**	162

注:自由度 $n-2=5$, $r_{0.05}=0.755$, $r_{0.01}=0.875$ 。“*”表示相关性达显著水平,“**”表示相关性达极显著水平,表 6,9,11,13 同。
Note:Freedome $n-2=5$, $r_{0.05}=0.755$, $r_{0.01}=0.875$ 。“*” means significant correlation,“**” means remarkably significant correlation,it is the same with table 6,9,11,13.

2.3 Cr^{6+} 对土壤脲酶活性的影响

脲酶是惟一一种对尿素肥料水解起作用的酶类,其影响土壤的氮素循环,其活性在一定程度上改变土壤氮肥的利用率。由表 5 可以看出,未添加外源 Cr^{6+} 时,同一类型土壤的脲酶活性随着有机质含

量的增加而明显增大,其与有机质含量呈显著正相关($r=0.76^*$)。加入 Cr^{6+} 后,随着 Cr^{6+} 含量的增加,除 3 号和 6 号土样脲酶活性总体呈增加趋势外,其他土样脲酶活性总体呈降低趋势。可见,不同类型土壤的脲酶活性变化规律有差异。

表 5 不同含量 Cr^{6+} 作用下供试土样脲酶活性的变化

Table 5 Soil urease activity affected under different Cr^{6+} contents

$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$

供试土样 Soil samples	编号 No.	Cr ⁶⁺ /(mg·kg ⁻¹)						
		0	250	500	1 000	2 000	3 000	4 000
红壤 Red soil	1	12.33±0.20 c	12.52±0.11 bc	13.87±0.11 a	13.24±0.16 ab	11.05±0.64 d	11.11±0.02 d	9.59±0.53 e
	2	2.62±0.27 a	2.13±0.13 b	2.02±0.04 b	2.25±0.04 b	1.32±0.20 c	1.03±0.11 cd	0.68±0.18 d
褐土 Cinnamon	3	54.79±1.04 c	55.69±2.04 c	55.29±0.52 c	60.96±1.33 d	61.87±0.81 ab	61.70±1.90 ab	64.32±0.19 a
	4	17.43±0.04 ab	17.03±0.01 b	17.85±0.63 a	16.97±0.33 b	17.25±0.04 ab	16.83±0.07 b	16.88±0.00 b
风沙土 Sandy soil	5	46.76±0.26 a	45.06±0.10 b	43.46±0.26 c	43.25±0.03 c	43.39±0.36 c	41.11±0.43 d	39.95±0.16 e
	6	6.78±0.01 c	6.74±0.08 c	6.92±0.04 b	7.03±0.03 a	7.06±0.04 a	7.07±0.06 a	7.14±0.04 a

采用模型 $U = A/(1+B \times C)$ 拟合土壤脲酶活性(U)与 Cr^{6+} 含量(C)之间的关系,结果(表 6)显示,除 4 号土样外,其他土样脲酶活性与 Cr^{6+} 含量间呈显著($P<0.05$)或极显著相关关系($P<0.01$),

且 Cr^{6+} 对 1、2 和 5 号土样脲酶为完全抑制作用,而对 3 号和 6 号土样表现为激活效应,可能是由于土壤性质的差异所致。

表 6 不同土样脲酶活性与 Cr^{6+} 含量的拟合方程

Table 6 Regression equations between different soil urease activity and Cr^{6+} contents

供试土样 Soil samples	编号 No.	拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	$ED_{10}/$ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
红壤 Red soil	1	$U=13.35/(1+8.01 \times 10^{-5}C)$	-0.884**	1 387
	2	$U=3.05/(1+9.15 \times 10^{-4}C)$	-0.963**	121
褐土 Cinnamon	3	$U=55.56/(1-3.89 \times 10^{-5}C)$	0.897**	2 337
	4	$U=17.39/(1-8.70 \times 10^{-6}C)$	0.610	—
风沙土 Sandy soil	5	$U=45.45/(1+3.64 \times 10^{-5}C)$	-0.935**	3 053
	6	$U=6.83/(1-1.37 \times 10^{-5}C)$	0.855*	6 636

此外,由于作为蛋白质,酶需要一定量的重金属离子作为辅基,Cr⁶⁺ 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,从而增强了酶活性^[20]。代表酸性土壤的红壤 Cr⁶⁺ 轻度污染 ED₁₀ 最小为 121 mg/kg,代表碱性土壤的褐土和风沙土 Cr⁶⁺ 轻度污染 ED₁₀ 最小为 2 337 mg/kg。

2.4 Cr⁶⁺ 对土壤碱性磷酸酶活性的影响

磷酸酶是磷素循环中催化有机磷为无机态磷的酶类,其活性对提升土壤中磷的有效性具有重要意义。从表 7 可以看出,未添加 Cr⁶⁺ 时,同一类型土

壤的碱性磷酸酶活性随有机质含量的增加而增大,其与有机质、全磷含量呈显著正相关($r=0.76^*$, $r=0.92^{**}$)。加入 Cr⁶⁺ 后,其明显激活了 2、3 号土样的碱性磷酸酶活性,抑制了 4、5 号土样的碱性磷酸酶活性,对 1、6 号土样的碱性磷酸酶活性影响不明显。这可能是由于抗性微生物的出现导致分泌的土壤酶含量增加,以及土壤中有机质等理化性质不同综合影响的结果。

拟合结果表明,模型 $U=A/(1+B\times C)$ 或 $U=A\times e^{B\times C}$ 均不能很好地拟合土壤碱性磷酸酶活性与 Cr⁶⁺ 含量的关系(拟合方程未列出),表明碱性磷酸酶不能很好地表征土壤 Cr⁶⁺ 污染程度的大小。

表 7 不同含量 Cr⁶⁺ 作用下供试土样碱性磷酸酶活性的变化
Table 7 Soil alk-phosphatase activity affected under different Cr⁶⁺ contents μg/(g·h)

供试土样 Soil samples	编号 No.	Cr ⁶⁺ /(mg·kg ⁻¹)						
		0	250	500	1 000	2 000	3 000	4 000
红壤 Red soil	1	21.47±1.22 b	26.10±0.15 a	26.63±2.74 a	18.89±2.74 b	14.69±0.15 c	19.10±0.30 b	25.56±0.61 a
	2	2.03±0.66 de	1.35±0.10 e	2.14±0.20 de	2.46±0.25 cd	3.32±0.15 c	4.43±0.10 b	7.59±0.71 a
褐土 Cinnamon	3	136.16±1.83 cd	144.98±0.61 ab	134.76±0.76 d	142.29±4.11 abc	139.39±4.56 bcd	141.54±0.30 abc	146.92±2.43 a
	4	76.61±3.88 a	73.52±0.87 ab	71.73±0.68 bc	70.91±0.49 bcd	68.02±1.07 cde	67.54±0.00 de	64.11±0.58 e
风沙土 Sandy soil	5	52.65±3.63 a	52.97±2.79 a	47.51±3.40 ab	48.92±2.48 ab	48.68±0.76 ab	44.65±1.57 b	43.79±0.34 b
	6	1.96±0.21 a	1.79±0.33 a	2.09±0.03 a	2.15±0.00 a	1.79±0.33 a	1.68±0.18 a	2.06±0.12 a

2.5 Cr⁶⁺ 对土壤芳基硫酸酯酶活性的影响

芳基硫酸酯酶参与土壤和植物的硫素循环,可将土壤中有机态硫转化为供植物吸收的无机态硫。表 8 显示,加入 Cr⁶⁺ 后,各土样芳基硫酸酯酶活性均显著降低。同一类型土壤中,有机质含量高的芳基硫酸酯酶活性降幅较小,有机质含量低的土样降

幅较大,说明土壤有机质对芳基硫酸酯酶具有保护作用。当 Cr⁶⁺ 含量为 250 mg/kg 时,供试土样芳基硫酸酯酶活性降幅为 53.19%~100%,红壤芳基硫酸酯酶活性降幅较大,说明 Cr⁶⁺ 对酸性土壤的生态毒性要强于碱性土壤。

表 8 不同含量 Cr⁶⁺ 作用下供试土样芳基硫酸酯酶活性的变化
Table 8 Soil arylsulfatase activity affected under different Cr⁶⁺ contents μg/(g·h)

供试土样 Soil samples	编号 No.	Cr ⁶⁺ /(mg·kg ⁻¹)						
		0	25	50	100	150	200	250
红壤 Red soil	1	9.60±0.41 a	3.65±0.60 b	0.41±0.63 c	0.12±0.20 c	0.26±0.23 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c
	2	1.75±0.08 a	0.59±0.08 b	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.00±0.00 c	0.05±0.09 c	0.00±0.00 c
褐土 Cinnamon	3	20.69±0.74 a	14.39±0.82 b	14.48±0.26 b	12.02±0.94 c	10.44±0.87 c	10.90±1.54 c	0.77±1.46 d
	4	16.08±0.78 a	9.06±0.39 b	7.92±0.56 c	4.89±0.84 d	4.58±0.23 d	3.91±0.37 d	2.23±0.44 e
风沙土 Sandy soil	5	6.73±0.05 a	4.15±0.12 b	3.75±0.24 bc	3.09±0.44 bc	3.60±0.17 cd	2.85±0.29 d	3.15±0.42 cd
	6	0.06±0.00 a	0.02±0.00 b	0.02±0.02 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.01±0.01 b	0.01±0.01 b

采用模型 $U=A\times e^{B\times C}$ 对芳基硫酸酯酶活性 (U)与 Cr⁶⁺ 含量(C)间的相关性进行拟合,结果见

表 9。

表 9 不同土样芳基硫酸酯酶活性与 Cr⁶⁺ 含量的拟合方程
Table 9 Regression equations between different soil arylsulfatase activity and Cr⁶⁺ content

供试土样 Soil samples	编号 No.	拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	ED ₁₀ / (mg·kg ⁻¹)
红壤 Red soil	1	$U=2.718e^{-0.004c}$	-0.858 *	2.6
	2	$U=0.344e^{-0.031c}$	-0.819 *	3.4
褐土 Cinnamon	3	$U=24.878e^{-0.009c}$	-0.782 *	11.7
	4	$U=12.098e^{-0.007c}$	-0.958 **	15.1
风沙土 Sandy soil	5	$U=4.855e^{-0.002c}$	-0.756 *	52.7
	6	$U=0.027e^{-0.009c}$	0.714	—

从表 9 可以看出,除 6 号土样外,其他土样芳基硫酸酯酶活性与 Cr^{6+} 含量间的相关性达显著或极显著负相关,且 Cr^{6+} 对芳基硫酸酯酶为完全抑制作用(包括竞争性抑制和非竞争性抑制),表明芳基硫酸酯酶在一定程度上可表征土壤 Cr^{6+} 污染程度的大小。代表酸性土壤的红壤 Cr^{6+} 轻度污染 ED_{10} 最小为 2.6 mg/kg,代表碱性土壤的褐土和风沙土 Cr^{6+} 轻度污染 ED_{10} 最小为 11.7 mg/kg。说明芳基硫酸酯酶对 Cr^{6+} 污染较为敏感,可以作为表征 Cr^{6+} 毒害的土壤酶指标之一。

表 10 不同含量 Cr^{6+} 作用下供试土样脱氢酶活性的变化
Table 10 Soil dehydrogenase activity affected under different Cr^{6+} contents $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$

供试土样 Soil samples	编号 No.	$\text{Cr}^{6+}/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$						
		0	25	50	100	150	200	250
红壤 Red soil	1	0.71±0.16 a	0.02±0.02 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b
	2	0.95±0.18 a	0.00±0.04 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.04±0.00 b	0.09±0.00 b	0.00±0.00 b
褐土 Cinnamon	3	1.63±0.15 a	0.74±0.02 b	0.65±0.03 b	0.46±0.04 c	0.25±0.02 d	0.22±0.09 d	0.09±0.02 e
	4	1.59±0.05 a	0.61±0.03 b	0.36±0.02 c	0.16±0.05 d	0.12±0.01 de	0.07±0.01 ef	0.04±0.01 f
沙土 Sandy soil	5	0.88±0.00 a	0.33±0.00 b	0.25±0.01 c	0.19±0.03 d	0.12±0.00 e	0.13±0.01 e	0.05±0.00 f
	6	0.14±0.00 a	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.01±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b	0.00±0.00 b

采用模型 $U = A \times e^{B \times C}$ 对脱氢酶活性(U)与 Cr^{6+} 含量(C)间的相关性进行拟合,结果(表 11)显示,1、3、4、5 号土样脱氢酶活性与 Cr^{6+} 含量间的相关性达极显著负相关,揭示出脱氢酶在一定程度上可作为表征土壤污染程度的指标,且为完全抑制作用。计算得到 Cr^{6+} 对土壤脱氢酶的 ED_{10} 为 3.8~

2.6 Cr^{6+} 对土壤脱氢酶活性的影响

作为表征土壤微生物活性的生物学指标之一,脱氢酶通常用于揭示土壤微生物的效应。由表 10 可以看出,加入 Cr^{6+} 后,各供试土样脱氢酶活性均显著降低,其中 1、2 和 6 号土样脱氢酶活性在 Cr^{6+} 含量分别为 50、25、25 mg/kg 时受到完全抑制;3、4、5 号土样脱氢酶活性在 Cr^{6+} 含量为 25 mg/kg 时受到了一定抑制,土壤脱氢酶活性降幅分别为 54.60%、61.64%和 62.50%。

11.7 mg/kg,其中代表酸性土壤的红壤 Cr^{6+} 轻度污染 ED_{10} 最小为 3.8 mg/kg,代表碱性土壤的褐土和风沙土 Cr^{6+} 轻度污染 ED_{10} 最小为 8.1 mg/kg。说明脱氢酶对 Cr^{6+} 污染较为敏感,可以作为表征 Cr^{6+} 毒害的酶指标之一。

表 11 不同土样脱氢酶活性与 Cr^{6+} 含量的拟合方程

Table 11 The regression equations between different soil dehydrogenase activity and Cr^{6+} content

供试土样 Soil samples	编号 No.	拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	$ED_{10}/$ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
红壤 Red soil	1	$U = 0.118e^{-0.028c}$	-0.932**	3.8
	2	$U = 0.111e^{-0.006c}$	0.618	—
褐土 Cinnamon	3	$U = 1.226e^{-0.01c}$	-0.975**	10.5
	4	$U = 1.107e^{-0.013c}$	-0.965**	8.1
风沙土 Sandy soil	5	$U = 0.528e^{-0.009c}$	-0.932**	11.7
	6	$U = 0.006e^{-0.013c}$	0.713	—

2.7 Cr^{6+} 对土壤总体酶活性的影响

由于不同种类酶对铬的污染反应有所差异,为了了解土壤酶整体的效应,本研究采用了不同 Cr^{6+}

含量处理下的土壤转化酶、纤维素酶、脲酶、碱性磷酸酶活性来计算 Et 值,结果见表 12。

表 12 不同含量 Cr^{6+} 作用下供试土样总体酶活性的变化

Table 12 Soil total enzyme activity affected under different Cr^{6+} contents

供试土样 Soil samples	编号 No.	$\text{Cr}^{6+}/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$						
		0	250	500	1 000	2 000	3 000	4 000
红壤 Red soil	1	4.65	4.40	4.19	3.48	2.96	2.97	2.96
	2	2.27	1.76	1.56	1.17	0.82	1.03	0.82
褐土 Cinnamon	3	9.27	9.49	8.82	10.14	10.22	10.06	10.24
	4	5.52	5.01	5.10	4.59	4.58	4.17	4.11
风沙土 Sandy soil	5	4.77	4.15	3.92	3.88	3.89	3.53	3.32
	6	0.89	0.72	0.60	0.54	0.51	0.51	0.48

从表 12 可以看出,加入 Cr⁶⁺ 后,除 3 号土样 *Et* 值略有升高外,其他土样 *Et* 值均降低。同一类型土壤中,用相同含量的 Cr⁶⁺ 处理时,有机质含量高的土样 *Et* 值大于有机质含量低的土样,并且随着 Cr⁶⁺ 含量的增加,有机质含量低的土样 *Et* 值的降幅大于有机质含量高的土样,这主要是由于高有机质含量的土壤对 Cr⁶⁺ 污染具有较强的缓冲能力。

采用模型 $U=A/(1+B\times C)$ 对 Cr⁶⁺ *Et* 值(*U*)

和 Cr⁶⁺ 含量(*C*)进行拟合,结果(表 13)显示,除 3 号土样外,其他土样 *Et* 值与 Cr⁶⁺ 含量间呈显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)负相关,揭示出 *Et* 值在一定程度上可反映土壤受 Cr⁶⁺ 污染的程度,且其相关系数比单一酶活性高。代表酸性土壤的红壤 Cr⁶⁺ 轻度污染 *ED*₁₀ 最小为 317 mg/kg,代表碱性土壤的褐土和风沙土 Cr⁶⁺ 轻度污染 *ED*₁₀ 最小为 788 mg/kg。

表 13 不同土样总体酶活性与 Cr⁶⁺ 含量的拟合方程

Table 13 The regression equations between different soil total enzyme activity and Cr ⁶⁺ content				
供试土样 Soil samples	编号 No.	拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	<i>ED</i> ₁₀ / (mg·kg ⁻¹)
红壤 Red soil	1	$U=4.31/(1+1.29\times10^{-4}C)$	-0.905**	861
	2	$U=1.75/(1+3.5\times10^{-4}C)$	-0.872*	317
褐土 Cinnamon	3	$U=9.32/(1-2.8\times10^{-5}C)$	0.715	—
	4	$U=5.21/(1+5.21\times10^{-5}C)$	-0.945**	2 133
风沙土 Sandy soil	5	$U=4.33/(1+8.66\times10^{-5}C)$	-0.910**	1 283
	6	$U=0.7/(1+1.41\times10^{-4}C)$	-0.844*	788

3 结 论

1)土壤有机质对 Cr⁶⁺ 污染具有明显的缓冲作用,有机质含量高的土壤,对 Cr⁶⁺ 污染的缓冲作用强,Cr⁶⁺ 对其土壤酶活性抑制作用较小。

2)添加 Cr⁶⁺ 后,随着 Cr⁶⁺ 含量的增加,除 3 号和 6 号土样脲酶活性总体呈增加趋势外,其他土样脲酶活性总体呈降低趋势,且变化规律有差异;除 3 号土样外,其他土样转化酶活性总体呈下降趋势;而各土样碱性磷酸酶活性的变化规律不明显。本研究所用模型未能很好地拟合土壤转化酶、碱性磷酸酶活性与 Cr⁶⁺ 含量的关系,表明这 2 种酶不能很好地表征土壤 Cr⁶⁺ 污染程度的大小。

3)添加 Cr⁶⁺ 后,明显抑制了土壤纤维素酶、芳基硫酸酯酶和脱氢酶活性,采用 $U=A/(1+B\times C)$ 或 $U=A\times e^{B\times C}$ 模型拟合了土壤酶活性与 Cr⁶⁺ 含量之间的关系,拟合方程均达显著($P<0.05$)或极显著水平($P<0.01$),揭示出以上 3 种酶活性均可表征土壤 Cr⁶⁺ 污染的程度,且影响机理为完全抑制作用。代表酸性土壤的红壤 Cr⁶⁺ 污染最小 *ED*₁₀ 分别为:纤维素酶 186 mg/kg、芳基硫酸酯酶 2.6 mg/kg、脱氢酶 3.8 mg/kg,代表碱性土壤的褐土和风沙土 Cr⁶⁺ 污染最小 *ED*₁₀ 分别为:纤维素酶 162 mg/kg、芳基硫酸酯酶 11.7 mg/kg、脱氢酶 8.1 mg/kg。根据剂量越小越敏感的原则,可知芳基硫酸酯酶和脱氢酶对 Cr⁶⁺ 污染更为敏感,均可作为表征 Cr⁶⁺ 毒害的酶指标。

4)总体而言,*Et* 值随着 Cr⁶⁺ 含量的增加而下

降,并且有机质含量低的土样 *Et* 值的降幅大于有机质含量高的土样;经模型拟合可知,代表酸性土壤红壤 Cr⁶⁺ 轻度污染时的 *ED*₁₀ 最小为 317 mg/kg,代表碱性土壤的褐土和风沙土 Cr⁶⁺ 轻度污染 *ED*₁₀ 最小为 788 mg/kg。

5)从拟合结果可以看出,土壤 pH 对 Cr⁶⁺ 的生态毒性有一定影响,不同土壤酶在酸碱性不同的土壤中表现出对 Cr⁶⁺ 轻度污染的敏感程度不一致,其中在酸性土壤中芳基硫酸酯酶对 Cr⁶⁺ 的毒害反应更敏感,在碱性土壤中脱氢酶对 Cr⁶⁺ 的毒害反应更敏感。

[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.
Lü X Z. The prevention and cure of the pollution by chromium [J]. Journal of Heze Teachers College,1985,20(2):78-80. (in Chinese)

[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 L, Wang J S. Environmental impact of chromic slag and a-nalysis of chromic slag's output [J]. Journal of Safety and En-vironment,2004,4(2):34-37. (in Chinese)

[3] Dai J, Becquer T, Rouiller J H, et al. Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DT-PA extractable metals in soils [J]. Soil Biol Biochem,2004,36: 91-98.

[4] Arun K S, Carlos C, Herminia L T, et al. Chromium toxicity in plants [J]. Environment International,2005,31(5):739-753.

[5] Grabarczyk M, Korolczuk M, Tyszczyk T. Extraction and de-termination of hexavalent chromium in soil samples [J]. Annl Bioanal Chem,2006,386:357-362.

- [6] 陈英旭,何增耀,吴建平,等. 外源铬在土壤中的形态转化 [J]. 农业环境保护, 1995, 14(3): 105-110.
Chen Y X, He Z Y, Wu J P, et al. Transformations of fortified Cr in soils [J]. Agro-environmental Protection, 1995, 14(3): 105-110. (in Chinese)
- [7] 王 夔. 生命科学中的微量元素 [M]. 北京: 中国计量出版社, 1991.
Wang K. Trace Element in life science [M]. Beijing: China Es-timate Press, 1991. (in Chinese)
- [8] 李汉卿. 环境污染与生物 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科技出版社, 1985: 168-169.
Li H Q. Environmental pollution and organism [M]. Haerbin: Heilongjiang Science and Technology Press, 1985: 168-169. (in Chinese)
- [9] Tabatabai M A, Dick W A. Enzymes in soil research and devel-opments in measuring activities [M]. Burns R G, Dick R P. En-zymes in the environment activity ecology and applications. New York, USA: Marcel Dekker Inc, 2002: 567-595.
- [10] Caldwell B A. Enzyme activities as a component of soil biodi-versity: A review [J]. Pedobiologia, 2005, 49(6): 637-644.
- [11] Wyszowska J, Kurcharski J, Lajszner W. The effects of cop-per on soil biochemical properties and its interaction with oth-er heavy metals [J]. Polish Environ Stud, 2006, 15: 927-934.
- [12] 闫 峰, 吴雄平, 梁东丽, 等. 外源重金属 Cr、Cu、Se 和 Zn 对壤土酶活性的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2008, 36(7): 91-98.
Yan F, Wu X P, Liang D L, et al. Influences of different con-centrations of exterior heavy metals Cr, Cu, Se and Zn on three soil enzymes in Lou soil [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat Sci Ed, 2008, 36(7): 91-98. (in Chinese)
- [13] Samborska A, Stepniewska Z, Stepniewski W. Influence of dif-ferent oxidation states of chromium(Ⅵ, Ⅲ) on soil urease ac-tivity [J]. Geoderma, 2004, 122(2/4): 317-322.
- [14] 和文祥, 王 娟, 高亚军, 等. 不同价态铬的土壤碱性磷酸酶效应模拟研究 [J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(1): 104-109.
He W X, Wang J, Gao Y J, et al. Effect of different valences chromium on soil alk-phosphatase characteritics [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(1): 104-109. (in Chi-nese)
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
Bao S D. Agricultural chemistry analysis for soil [M]. 3th ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000. (in Chinese)
- [16] Doelman P, Haanstra L. Short- and long-term effects of heavy metals on phosphatase activity in soils [J]. Biology and Fertil-ity of Soils, 1989, 8(3): 235-241.
- [17] 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 W X, Tan X P, Wang X D, et al. Study on total enzyme ac-tivity index in soils [J]. Acta Pedagogical Sinica, 2010, 47(6): 1232-1236. (in Chinese)
- [18] Speir T W, Kettle H A, Parshotan A, et al. Simple kinetic ap-proach to examine the toxicity of As (Ⅴ) to soil biological properties [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31: 705-713.
- [19] 杨贵洪, 刘荷花, 林凯平. 社区健康服务中心诊疗人次变化趋势的指数曲线拟合分析 [J]. 中国全科医学, 2010, 13(13): 1398-1400.
Yang G H, Liu H H, Lin K P. Analysis of exponential curve fitting about changing trend of numbers diagnosed and treated patients in community health center [J]. Chinese General Practice, 2010, 13(13): 1398-1400. (in Chinese)
- [20] 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 Environ-mental Sciences, 2000, 9(2): 139-142. (in Chinese)