

网络出版时间:2013-09-22 17:09

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20130922.1709.029.html>

不同价态砷的土壤碱性磷酸酶效应研究

王紫泉^{a,c}, 黎惠智^a, 窦凯歌^a, 和文祥^{a,c}, 韦革宏^b

(西北农林科技大学 a 资源环境学院, b 生命科学学院, c 农业部西北植物营养与农业环境重点实验室, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】砷是土壤污染的主要元素之一, 研究 As^{5+} 、 As^{3+} 单一和复合污染对土壤碱性磷酸酶活性的影响, 揭示其对土壤碱性磷酸酶的作用机理, 为砷污染监测提供理论依据。【方法】采集江西鹰潭红壤、陕西榆林风沙土、陕西杨凌塬土各 2 个肥力水平的土样为供试土壤, 采用室内模拟法, 研究不同含量 As^{5+} 、 As^{3+} 以及二者复合污染下供试土壤碱性磷酸酶活性的变化。【结果】 As^{5+} 和 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 均能抑制土壤碱性磷酸酶活性, 随 As^{5+} 和 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 含量的增加, 相对碱性磷酸酶活性持续减小; 采用模型 $E = A / (1 + B \times C)$ 可较好表征相对碱性磷酸酶活性 (E) 与砷含量 (C) 间的关系 (A 、 B 为参数), 揭示出土壤碱性磷酸酶活性可作为表征土壤 As^{5+} 和 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 污染程度的监测指标, 且 As^{5+} 和 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 对碱性磷酸酶活性的作用机理为完全抑制作用 (包括竞争性抑制和非竞争性抑制)。 As^{3+} 对土壤相对碱性磷酸酶活性影响较小。 As^{5+} 与 As^{3+} 之间存在一定的交互作用, 除了低肥力水平红壤及塬土中 As^{5+} 和 As^{3+} 含量均小于 50 mg/kg 时二者表现为协同作用外, 在其他供试土壤中均为拮抗作用。不同供试土壤 As^{5+} 的生态剂量 ED_{10} 和 ED_{50} 差异较大, 砷对土壤造成轻度污染的含量为 25 mg/kg。【结论】土壤碱性磷酸酶可作为土壤 As^{5+} 及 As^{5+} 与 As^{3+} 复合污染程度的监测指标。

[关键词] 砷; 价态; 碱性磷酸酶; 生态剂量; 土壤

[中图分类号] S154.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1671-9387(2013)10-0185-08

Effects of arsenic valences on soil alkaline phosphatase activity

WANG Zi-quan^{a,c}, LI Hui-zhi^a, DOU Kai-ge^a, HE Wen-xiang^{a,c}, WEI Ge-hong^b

(a College of Natural Resources and Environment, b College of Life Sciences, c Key Laboratory of Plant Nutrition and Agro-environment in Northwest China, Ministry of Agriculture, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】Arsenic is one of the main soil pollution elements. We studied the effects of As^{5+} , As^{3+} alone and $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ on soil alkaline phosphatase activity, to reveal the reaction mechanism of arsenic on soil alkaline phosphatase activity. 【Method】Soil samples were red soil (sampled from Yingtan Jiangxi), sand soil (sampled from Yulin, Shaanxi), and loess soil (sampled from Yangling, Shaanxi). Indoor simulation method was adopted to study the variation of soil alkaline phosphatase activity affected by different contents of As^{5+} , As^{3+} and $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$. 【Result】 As^{5+} and $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ combined pollution significantly inhibited soil alkaline phosphatase activity. The relative alkaline phosphatase activity decreased as the increase of contents of As^{5+} and $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$. The model $E = A / (1 + B \times C)$ regressed the relationship of soil relative alkaline phosphatase activity (E) and arsenic content (C) (A and B are two parameters), revealed that soil alkaline phosphatase activity could be as an index to monitor soil As^{5+} and $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ pollution. The reaction mechanism of As^{5+} and $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ on soil alkaline phosphatase activity was com-

[收稿日期] 2012-12-06

[基金项目] 西北农林科技大学基本科研业务费科技创新重点项目; 国家“863”高新技术研究与发展计划项目(2012AA101402); 西北农林科技大学大学生科技创新项目

[作者简介] 王紫泉(1989—), 男, 四川雷波人, 在读博士, 主要从事土壤生态毒理研究。E-mail: ziquan1989@163.com

[通信作者] 和文祥(1968—), 男, 陕西黄龙人, 教授, 博士生导师, 主要从事土壤生物化学和生态毒理研究。

E-mail: wxhe1968@163.com

pletely inhibition,including competitive and noncompetitive inhibition. As^{3+} had less effect on soil relative alkaline phosphatase activity. As^{5+} and As^{3+} had interactions on soil alkaline phosphatase activity. It was synergy effect in red soil and lou soil when As^{5+} and As^{3+} contents were less than 50 mg/kg and antagonism effect in other soil samples. Ecological dose ED_{10} and ED_{50} of As^{5+} differed a lot among soil samples. The critical content of arsenic slight pollution to soil was 25 mg/kg.【Conclusion】Soil alkaline phosphatase activity was an index to monitor soil pollution by As^{5+} and $As^{5+} + As^{3+}$.

Key words: arsenic; valence; alkaline phosphatase; ecological dose; soil

砷是一种毒性很强的类金属元素,土壤砷主要来源于大气沉降、工矿区废水、含砷农药使用等^[1]。据统计,1998 年全球砷排放量达到 8.2×10^4 t,导致个别地区污染土壤中砷含量高达 7 610 mg/kg^[2],较砷背景值高出 1 267 倍。我国重金属污染形势十分严峻,受镉、砷、铅等污染的耕地面积近 2.0×10^7 hm²,占耕地总面积的 1/5 以上^[3-4],云南、贵州、内蒙、山西等地区是砷污染的重灾区^[5-6]。砷不仅危及农业生产的安全,而且污染地下水源,并随食物链富集对人畜健康造成威胁,因此其一直是各国政府和学者关注的课题之一^[7-8]。

土壤酶作为土壤成分之一,在物质转化、能量循环以及污染物去除等方面发挥着重要作用,被称为土壤生态系统的核心之一。近 20 年来,国内外学者对砷的土壤酶效应进行了初步探讨,结果不外乎激活、抑制和无关 3 种^[9-10]。和文祥等^[11]认为,砷加入土壤 1 年后能激活脲酶活性;有研究认为,砷浓度与脲酶活性显著负相关,磷酸酶活性与水溶态、交换态砷含量显著负相关,但与总砷量不相关^[12-14];Lorenz 等^[15]发现,砷对磷酸酶活性无影响。可见,前人关于砷对土壤酶效应的研究结果并不一致。砷在土壤环境中主要以 As^{5+} 与 As^{3+} 2 种价态存在,其中 As^{5+} 的移动性较 As^{3+} 弱,对生物的毒性小^[16-17],前

人的研究大多只考虑单一价态砷的污染,不同价态砷的土壤酶效应则鲜见报道。因此,有必要开展不同价态砷污染条件下土壤酶活性效应的研究。

本试验采用室内模拟方法,研究不同价态砷污染后土壤碱性磷酸酶活性的变化特征,分析 As^{3+} 与 As^{5+} 间的交互作用,揭示砷含量与酶活性间的剂量-效应关系,探讨 As^{3+} 与 As^{5+} 对土壤碱性磷酸酶的作用机理,以期对砷污染的监测和修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

As^{3+} 和 As^{5+} 分别为 $NaAsO_2$ 和 $Na_3AsO_4 \cdot 12H_2O$,均为 AR 级。

供试土壤为采自江西鹰潭市中国科学院红壤生态试验站的红壤(筒育湿润富铁土,Hap Udic Ferrisols)、陕西榆林市的风沙土(干旱砂质新成土,Aridi-Sandic Primosols)和杨凌区的壤土(土垫旱耕人为土,Eum Orthic Anthrosols)各 2 个肥力水平的土样。采样时先去除 0~5 cm 表层土,采样深度为 5~20 cm,将土样混匀风干,过孔径 1 mm 尼龙筛备用。采用常规方法^[18]测定土壤基本理化性质,结果见表 1。

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of tested soils

土样 Soil samples	编号 No.	砂粒/% Sand	粉粒/% Silt	粘粒/% Clay	有机质/ (g·kg ⁻¹) O. M	全氮/ (g·kg ⁻¹) T. N	碱解氮/ (mg·kg ⁻¹) A. N	全磷/ (g·kg ⁻¹) T. P	CEC/ (cmol·L ⁻¹)	pH
娄土 Lou soil	1	22.26	43.62	34.12	23.66	1.78	141.28	1.59	16.91	7.99
	2	34.37	30.06	35.57	22.07	1.56	75.55	1.56	16.99	7.90
风沙土 Sand soil	1	62.09	23.31	14.60	19.46	0.51	101.39	1.04	7.28	8.13
	2	82.33	9.24	8.43	0.92	0.02	5.87	0.22	1.63	8.94
红壤 Red soil	1	46.76	17.16	36.08	20.02	1.43	126.70	0.66	14.48	6.22
	2	36.69	17.49	45.82	9.60	0.83	57.38	0.34	13.22	5.65

注:测定 pH 时水土体积质量比(V:m)为 2.5:1。

Note:The ratio of water to soil (V:m) is 2.5:1.

1.2 试验方案

1.2.1 不同含量 As^{5+} 对土壤碱性磷酸酶活性的影响 称取 3.00 g 土样,加入 3 mL 不同质量浓度

As^{5+} 溶液,使 As^{5+} 在土壤中的含量分别为 0,25,50,100,200,300,400,500 mg/kg,混匀 30 min 后,添加磷酸苯二钠溶液 25 mL,37 ℃ 培养 8 h 后用比

色法^[19]测定土壤碱性磷酸酶活性,每处理重复 3 次,并设无底物和无土壤处理为对照。土壤碱性磷酸酶活性单位以形成的酚量($\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$)表示。

1.2.2 不同含量 As^{3+} 对土壤碱性磷酸酶活性的影响 称取 3.00 g 土样,加入 3 mL 不同质量浓度 As^{3+} 溶液,使 As^{3+} 在土壤中的含量分别为 0,25,50,100,200,300,400,500 mg/kg ,其余操作步骤同 1.2.1。

1.2.1。

1.2.3 As^{5+} 与 As^{3+} 复合污染对土壤碱性磷酸酶活性的影响 称取 3.00 g 土样,分别加入 1.5 mL 不同质量浓度 As^{5+} 和 As^{3+} 溶液,使 As^{5+} 和 As^{3+} 在土壤中的含量分别为 0,25,50,100,200,300,400,500 mg/kg ,其余操作步骤同 1.2.1。

1.3 数据处理

1)相对酶活性的计算。相对酶活性=处理酶活性/对照酶活性。

2)复合污染交互效应的计算^[20-23]。首先计算砷对土壤酶的预测抑制率(PI): $PI=A_i+(1-A_i)\times B_i$,其中 A_i 、 B_i 分别为 As^{5+} 、 As^{3+} 的抑制率(抑制率=1-处理酶活性/对照酶活性)。然后将 $\text{As}^{5+}+$

As^{3+} 复合污染的实际抑制率(AI)与 PI 比较,若 $AI>PI$,则表示 As^{5+} 与 As^{3+} 之间有协同作用;若 $AI<PI$,则表示 As^{5+} 与 As^{3+} 之间有拮抗作用;若 $AI=PI$,则互不影响。 AI 与 PI 的差值越大,交互作用越强。

采用 DPS 7.05 和 Microsoft Excel 2007 软件进行方差分析和多重比较。

2 结果与分析

2.1 供试土壤碱性磷酸酶活性的差异

由图 1 可见,不同土样间的碱性磷酸酶活性差异较大,大多差异达极显著水平,如风沙土 1 号碱性磷酸酶活性最高,为 110.64 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$;风沙土 2 号最低,仅为 3.49 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$,二者相差 31.7 倍。相关分析显示,土壤碱性磷酸酶活性仅与土壤全磷含量显著正相关($r=0.829^*$),与土壤其他理化性质关系不显著。这可能是供试土壤来自不同生态区的缘故。佐证了一些学者的结论^[24-25],即来自不同生态区土壤的酶活性应分开进行分析。

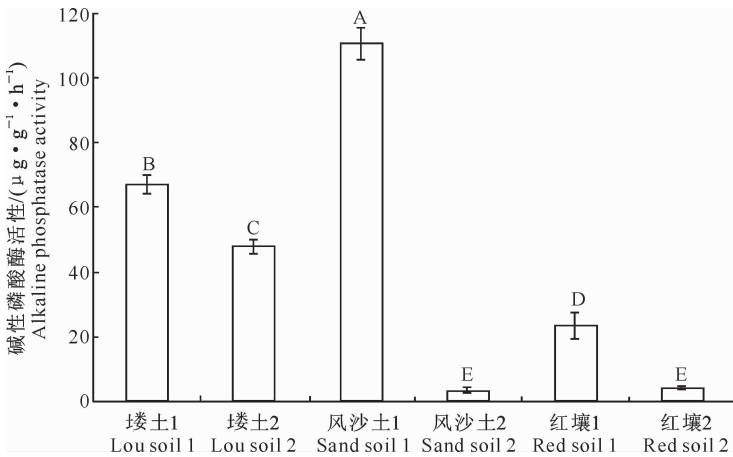


图 1 供试土壤碱性磷酸酶活性的比较

图柱上标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)

Fig. 1 Alkaline phosphatase activities of soil tested

Different capital letters on bars indicate significant differences at $P<0.01$

2.2 不同含量 As^{5+} 对土壤相对碱性磷酸酶活性的影响

表 2 显示, As^{5+} 加入土壤后,土壤相对碱性磷酸酶活性均降低,当 As^{5+} 含量为 100 mg/kg 时,供试土样相对碱性酶活性降幅为 7%~27%,表明 As^{5+} 抑制了土壤碱性磷酸酶活性。当 As^{5+} 含量由 0 增加至 500 mg/kg 时,不同土壤间相对碱性磷酸酶活性变化差异较大,如红壤 2 号的降幅较大,最高可达 65%;而楼土的相对碱性磷酸酶活性降幅较

小,最高仅为 31%。

借鉴 Speir 等^[13] 从米氏动力学方程推导出的 As^{5+} 抑制土壤酶活性模型 $E=A/(1+B\times C)$ 和线性模型 $E=a+b\times C$,拟合 As^{5+} 含量(C)与土壤相对碱性磷酸酶活性(E)间的关系。前式中, 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,其中 A 是 As^{5+} 含量为 0 mg/kg 时土壤相对碱性磷酸酶活性的理论值;后式中, a 、 b

为参数。拟合结果表明,As⁵⁺ 含量与土壤相对碱性磷酸酶活性均呈极显著负相关(表 3),其中以模型 $E=A/(1+B\times C)$ 的相关系数值较大,拟合结果更好。模型一方面揭示了土壤碱性磷酸酶活性在一定程度上可表征土壤 As⁵⁺ 污染的程度;另一方面揭示

了 As⁵⁺ 与土壤碱性磷酸酶之间的作用机理为完全抑制作用,包括竞争性抑制和非竞争抑制。主要原因可能是[AsO₄]³⁻ 与[PO₄]³⁻ 结构相似,其可与磷竞争性结合土壤碱性磷酸酶的活性位点^[13]。

表 2 As⁵⁺ 对供试土壤相对碱性磷酸酶活性的影响
Table 2 Effect of As⁵⁺ on relative activity of soil alkaline phosphatase

As ⁵⁺ / (mg · kg ⁻¹)	娄土 Lou soil		风沙土 Sand soil		红壤 Red soil	
	1	2	1	2	1	2
0	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a
25	1.01 a	0.92 ab	0.91 b	0.84 b	0.79 bc	0.94 a
50	0.97 a	0.91 ab	0.90 b	0.73 b	0.87 ab	0.94 a
100	0.93 ab	0.85 bc	0.88 b	0.73 b	0.89 ab	0.77 ab
200	0.85 bc	0.76 cd	0.80 c	0.59 c	0.77 bc	0.73 ab
300	0.80 cd	0.74 d	0.79 c	0.50 c	0.77 bc	0.50 bc
400	0.73 de	0.69 d	—	—	0.74 bc	0.38 c
500	0.71 e	0.73 d	0.71 d	0.50 c	0.65 c	0.35 c

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$);“—”. 未检测。表 4,5 同。
Note: Values followed by different lowercase letters in the same column indicate significantly different at $P<0.05$; “—”. Not determined.
The same table 4 and 5.

表 3 土壤相对碱性磷酸酶活性(E)与 As⁵⁺ 含量(C)的拟合方程

		$E=A/(1+B\times C)$			
土样 Soil sample		拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	ED ₁₀ / (mg · kg ⁻¹)	ED ₅₀ / (mg · kg ⁻¹)
娄土 Lou soil	1	$E=1.01/(1+9.11\times10^{-4}C)$	-0.995**	122	1 098
	2	$E=0.93/(1+7.45\times10^{-4}C)$	-0.920**	149	1 342
风沙土 Sand soil	1	$E=0.94/(1+6.61\times10^{-4}C)$	-0.969**	168	1 513
	2	$E=0.85/(1+16.91\times10^{-4}C)$	-0.923**	66	591
红壤 Red soil	1	$E=0.91/(1+7.26\times10^{-4}C)$	-0.876**	153	1 377
	2	$E=1.12/(1+43.74\times10^{-4}C)$	-0.981**	25	229

		$E=a+b\times C$			
土样 Soil sample		拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	ED ₁₀ / (mg · kg ⁻¹)	ED ₅₀ / (mg · kg ⁻¹)
娄土 Lou soil	1	$E=1.00-6.35\times10^{-4}C$	-0.988**	167	833
	2	$E=0.93-5.38\times10^{-4}C$	-0.904**	186	930
风沙土 Sand soil	1	$E=0.94-4.99\times10^{-4}C$	-0.942**	188	940
	2	$E=0.85-8.80\times10^{-4}C$	-0.863**	94	472
红壤 Red soil	1	$E=0.91-4.83\times10^{-4}C$	-0.842**	182	910
	2	$E=0.97-13.74\times10^{-4}C$	-0.982**	69	346

注:自由度 $f=n-2=6$, $r_{0.05}=0.707$, $r_{0.01}=0.834$ 。表 6 同。
Note:Freedom $f=n-2=6$, $r_{0.05}=0.707$, $r_{0.01}=0.834$. The same table 6.

生态剂量(Ecological Dose)ED₁₀、ED₅₀ 分别表示污染物对生物活性抑制(或激活)10%和 50%时污染物的浓度,常作为污染物轻度和中度污染的临界值。在 $E=A/(1+B\times C)$ 模型中,供试土壤 As⁵⁺ 污染 ED₁₀ 和 ED₅₀ 分别为 25~168 和 229~1 513 mg/kg,其中红壤 2 号的 ED₁₀ 和 ED₅₀ 均最小,风沙土 1 号的 ED₁₀ 和 ED₅₀ 均最大,表明土壤性质指标中,pH、有机质等对 As 毒性有重要影响。根据剂量越小越敏感的原则,本研究认为土壤轻度污染的

As⁵⁺ 临界含量为 25 mg/kg,这与我国土壤环境质量标准二级标准中水田 25 mg/kg、旱地 30 mg/kg (pH 6.5~7.5)较为相近。As⁵⁺ 对土壤中度污染的临界含量为 229 mg/kg 。ED₁₀ 和 ED₅₀ 与土壤有机质含量显著正相关($r=0.758^*$),表明土壤有机质含量越高,对砷的吸附能力越强,砷的生物有效性越低,同时对土壤酶的保护作用越强,即土壤中高含量有机质有利于缓冲砷对土壤碱性磷酸酶的毒性。

2.3 不同含量 As³⁺ 对土壤相对碱性磷酸酶活性的影响

As³⁺ 对土壤相对碱性磷酸酶活性的影响结果见表 4。表 4 显示,除红壤 2 号土样外,其余土壤相对碱性磷酸酶活性为 0.90~1.12,且绝大多数处理间差异均未达到显著水平,揭示出土壤磷酸酶活性受 As³⁺ 影响较小,对 As³⁺ 敏感性较差。随着 As³⁺ 含量增加,不同土壤相对碱性磷酸酶活性变化差异较大,如撙土 1 号和风沙土 1 号相对碱性磷酸酶活性略有降低,当 As³⁺ 含量为 500 mg/kg 时,相对碱性磷酸酶活性降幅分别为 9%和 10%;撙土 2 号和风沙土 2 号土壤相对碱性磷酸酶活性先增加后降低;而红壤相对碱性磷酸酶活性波动较大,变化规律不明显。但总体来看,当 As³⁺ 含量在 0~500

mg/kg 时,As³⁺ 对土壤相对碱性磷酸酶活性的影响较小。红壤 2 号土壤的相对碱性磷酸酶活性变化幅度较大,主要是因为该土样对照碱性磷酸酶活性较小,仅为 4.08 μg/(g·h),但多重比较结果显示,不同 As³⁺ 含量处理土壤相对碱性磷酸酶活性差异均未达到显著水平,表明不同含量 As³⁺ 对红壤 2 号土样相对碱性磷酸酶活性影响较小。这可能是由于 As³⁺ 在土壤中主要以游离态存在,而土壤碱性磷酸酶是以吸附态与土壤有机质和黏粒结合在一起,所以 As³⁺ 进入土壤后,与土壤碱性磷酸酶结合时障碍较多,导致 As³⁺ 对土壤碱性磷酸酶影响较小。这也佐证了 Juma 等^[26] 得到的 25 μmol/g(1 873 mg/kg) As³⁺ 对土壤磷酸酶活性抑制率不足 10%的结论。

表 4 As³⁺ 对供试土壤相对碱性磷酸酶活性的影响
Table 4 Effect of As³⁺ on relative activities of soil alkaline phosphatase

As ³⁺ / (mg·kg ⁻¹)	撙土 Lou soil		风沙土 Sand soil		红壤 Red soil	
	1	2	1	2	1	2
0	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 bc	1.00 a
25	0.99 ab	1.07 a	0.97 ab	1.03 a	1.02 bc	1.11 a
50	0.98 ab	1.03 a	0.97 ab	1.02 a	1.07 ab	1.27 a
100	0.98 ab	0.97 a	0.95 ab	1.00 a	1.12 a	1.29 a
200	0.97 ab	0.97 a	0.93 ab	0.94 a	0.96 c	1.38 a
300	0.96 ab	0.98 a	0.91 b	0.97 a	1.02 bc	1.39 a
400	0.95 ab	0.98 a	0.93 ab	1.01 a	1.07 ab	0.93 a
500	0.91 bc	0.94 a	0.90 b	0.91 a	0.95 c	1.35 a

2.4 As⁵⁺ 与 As³⁺ 复合污染对土壤相对碱性磷酸酶活性的影响

As⁵⁺ 与 As³⁺ 复合污染下供试土壤相对碱性磷酸酶活性见表 5。表 5 显示,As⁵⁺ 与 As³⁺ 复合污染后,土壤相对碱性磷酸酶活性减小,表明 As⁵⁺ 与 As³⁺ 共同存在时抑制了土壤碱性磷酸酶活性。当含量均为 200 mg/kg 时,风沙土 1 号土壤的相对碱性磷酸酶活性由高到低为 As³⁺ (0.93)>As³⁺+As⁵⁺ (0.84)>As⁵⁺ (0.80),其他土样除红壤 2 号外也表现出类似的变化规律,这可能是由于 As³⁺ 对土

壤碱性磷酸酶的毒性较弱,在一定程度上减弱了复合污染中 As⁵⁺ 对碱性磷酸酶活性的抑制作用。风沙土 2 号和红壤 1 号土样中,As⁵⁺ 与 As³⁺ 复合污染处理的土壤相对碱性磷酸酶活性大于单一 As⁵⁺ 处理,其余除红壤 2 号土样外,As⁵⁺ 与 As³⁺ 复合污染处理的土壤相对碱性磷酸酶活性与 As⁵⁺ 处理的比较接近。砷含量大于 400 mg/kg 后,红壤 2 号土样碱性磷酸酶活性未检测出,揭示出 As⁵⁺ 与 As³⁺ 复合污染的毒害程度与土壤性质关系较大。

表 5 As⁵⁺ 与 As³⁺ 复合污染对供试土壤相对碱性磷酸酶活性的影响
Table 5 Effect of As⁵⁺+As³⁺ on relative activity of soil alkaline phosphatase

As ⁵⁺ / (mg·kg ⁻¹)	As ³⁺ / (mg·kg ⁻¹)	撙土 Lou soil		风沙土 Sand soil		红壤 Red soil	
		1	2	1	2	1	2
0	0	1.00 a	1.00 a	1.00 a	1.00 ab	1.00 ab	1.00 a
25	25	0.94 ab	0.97 ab	0.98 a	0.95 ab	0.97 ab	0.76 a
50	50	0.90 b	0.92 ab	0.92 ab	1.01 a	1.08 a	0.23 bc
100	100	0.86 bc	0.89 b	0.93 a	1.00 ab	1.05 ab	0.39 b
200	200	0.86 b	0.80 c	0.84 bc	0.97 ab	0.84 ab	0.03 c
300	300	0.78 cd	0.75 cd	0.79 c	0.89 bc	0.95 ab	0.06 c
400	400	0.75 d	0.75 cd	0.79 c	0.80 cd	0.90 ab	0.00 c
500	500	0.75 d	0.69 d	0.77 c	0.73 d	0.80 b	0.00 c

2 个模型拟合结果(表 6)显示,除红壤中 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 含量与土壤相对碱性磷酸酶活性显著相关外,其余土样中二者相关性均达极显著水平,表明相对碱性磷酸酶活性也可表征 As^{5+} 与 As^{3+} 复合污染的程度,复合污染对碱性磷酸酶活性的抑制机理为完全抑制作用。用模型 $E=A/(1+B\times C)$ 进行拟合时,与 As^{5+} 相比,除红壤 2 号外,其余土样中 As^{5+} 与 As^{3+} 复合污染的 ED_{10} 和 ED_{50} 较大,如风沙

土 2 号中 As^{5+} 的 ED_{10} 、 ED_{50} 分别为 66 和 591 mg/kg , As^{5+} 与 As^{3+} 复合污染的 ED_{10} 、 ED_{50} 分别为 310 和 2 789 mg/kg ,后者是前者的 4 倍多,表明 As^{3+} 与 As^{5+} 竞争吸附位点,一定程度上改变了土壤对 As^{5+} 的吸附状态和 As^{5+} 的生物有效性,从而减小了 As^{5+} 对碱性磷酸酶活性的影响,使 ED 值增大。

表 6 土壤相对碱性磷酸酶活性(E)与 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 含量(C)的拟合方程

		$E=A/(1+B\times C)$			
土样 Soil sample		拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	$\text{ED}_{10}/$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	$\text{ED}_{50}/$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
楼土 Lou soil	1	$E=0.95/(1+3.02\times10^{-4}C)$	-0.956**	368	3 313
	2	$E=0.97/(1+4.15\times10^{-4}C)$	-0.979**	268	2 410
风沙土 Sand soil	1	$E=0.97/(1+2.99\times10^{-4}C)$	-0.954**	372	3 348
	2	$E=1.04/(1+3.59\times10^{-4}C)$	-0.928**	310	2 789
红壤 Red soil	1	$E=1.03/(1+2.41\times10^{-4}C)$	-0.774*	461	4 151
	2	$E=1.55/(1+6.35\times10^{-2}C)$	-0.737*	2	16

		$E=a+b\times C$			
土样 Soil sample		拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	$\text{ED}_{10}/$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	$\text{ED}_{50}/$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
楼土 Lou soil	1	$E=0.95-2.29\times10^{-4}C$	-0.936**	413	2 063
	2	$E=0.96-2.95\times10^{-4}C$	-0.964*	326	1 631
风沙土 Sand soil	1	$E=0.97-2.32\times10^{-4}C$	-0.945**	418	2 088
	2	$E=1.02-2.61\times10^{-4}C$	-0.935**	391	1 957
红壤 Red soil	1	$E=1.03-2.02\times10^{-4}C$	-0.769*	509	2 545
	2	$E=0.63-8.08\times10^{-4}C$	-0.787*	78	388

在一定条件下, As^{5+} 和 As^{3+} 在土壤中会共存,为了解 As^{5+} 与 As^{3+} 之间是否存在交互作用,对土壤碱性磷酸酶活性的变化进行了计算,结果(表 7)显示,楼土 1、2 号在 As^{5+} 与 As^{3+} 含量均 ≤ 50 mg/kg 时,砷对土壤碱性磷酸酶活性的实际抑制率(AI)大于预测抑制率(PI),说明 As^{5+} 与 As^{3+} 之间有协同作用;当 As^{5+} 与 As^{3+} 含量均 > 100 mg/kg

时,实际抑制率均小于预测抑制率, As^{5+} 与 As^{3+} 之间相互拮抗。在风沙土 1、2 号和红壤 1 号土样中,实际抑制率均小于预测抑制率,表明 As^{5+} 与 As^{3+} 之间是拮抗关系。在红壤 2 号土样中, As^{5+} 与 As^{3+} 对土壤碱性磷酸酶活性的实际抑制率远远大于预测抑制率,说明 As^{5+} 与 As^{3+} 之间有协同作用,并且作用明显。

表 7 As^{5+} 与 As^{3+} 对供试土壤碱性磷酸酶活性的交互作用

Table 7 Interaction effect of As^{5+} and As^{3+} on soil alkaline phosphatase

$\text{As}^{5+}/$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	$\text{As}^{3+}/$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	楼土 1 Lou soil 1		楼土 2 Lou soil 2		风沙土 1 Sand soil 1		风沙土 2 Sand soil 2		红壤 1 Red soil 1		红壤 2 Red soil 2	
		PI	AI	PI	AI	PI	AI	PI	AI	PI	AI	PI	AI
0	0	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
25	25	0.00	0.06	0.02	0.03	0.12	0.02	0.13	0.05	0.19	0.03	-0.04	0.24
50	50	0.05	0.10	0.06	0.08	0.13	0.08	0.26	-0.01	0.07	-0.08	-0.19	0.77
100	100	0.09	0.14	0.18	0.11	0.16	0.07	0.27	0.00	0.00	-0.05	0.01	0.61
200	200	0.18	0.14	0.26	0.20	0.26	0.16	0.45	0.03	0.26	0.16	-0.01	0.97
300	300	0.23	0.22	0.27	0.25	0.28	0.21	0.52	0.11	0.21	0.05	0.31	0.94
400	400	0.31	0.25	0.32	0.25	—	0.21	—	0.20	0.21	0.10	0.65	1.00
500	500	0.35	0.25	0.31	0.31	0.36	0.23	0.55	0.27	0.38	0.20	0.53	1.00

表 7 显示 As^{5+} 与 As^{3+} 之间以拮抗作用为主,产生拮抗作用的原因可能有:1) As^{5+} 与 As^{3+} 都能与

土壤碱性磷酸酶的活性部位结合,两者相互竞争结合位点;2)在共存体系中, As^{5+} 对 As^{3+} 的吸附影响

较大, As^{5+} 有更强的竞争吸附能力^[27], 从而使溶液中 As^{5+} 浓度相对降低; 3) 土壤溶液带负电, 砷与土壤产生静电排斥^[28], 使溶液中砷浓度增加, 土壤对 As^{3+} 的吸附能力较小, 使得溶液中 As^{3+} 的含量更大, 因此拮抗作用越明显。 As^{5+} 与 As^{3+} 对土壤碱性磷酸酶活性的影响可能与有机质含量有关, 虽然有研究表明, 可溶性有机质能够减小黏土矿物对 As^{5+} 的吸附, 增加土壤溶液中砷的含量^[29], 但是这部分砷可以被有机质提供的位点结合而使溶液中砷的有效性降低, 从而对碱性磷酸酶活性的影响降低。从表 7 还可以看出, 在有机质含量高的娄土 1 号、娄土 2 号、风沙土 1 号、红壤 1 号土样中, As^{5+} 与 As^{3+} 复合污染的预测抑制率与实际抑制率相差不大, 拮抗作用较弱; 在有机质含量低的风沙土 2 号土样中, As^{5+} 与 As^{3+} 复合污染的预测抑制率与实际抑制率相差较大, 拮抗作用较强, 碱性磷酸酶活性受到的影响比 As^{5+} 单独污染小。表明有机质能够降低 As^{5+} 与 As^{3+} 复合污染之间的拮抗作用, 但对土壤碱性磷酸酶活性不利; 有机质含量高的土壤对 As^{5+} 的缓冲作用强, 能够减小 As^{5+} 对碱性磷酸酶活性的抑制毒害, 因此需要综合考虑有机质的影响。

3 结 论

不同价态砷对土壤碱性磷酸酶活性影响有较大差异, 抑制效果为 $\text{As}^{5+} > \text{As}^{5+} + \text{As}^{3+} > \text{As}^{3+}$, 其中 As^{5+} 和 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 复合污染显著抑制了碱性磷酸酶活性, 这可能是因为 $[\text{AsO}_4]^{3-}$ 与 $[\text{PO}_4]^{3-}$ 结构相似, 作为竞争性抑制剂抑制了碱性磷酸酶活性。 As^{3+} 对土壤碱性磷酸酶活性影响较小, 这主要与 As^{3+} 的存在状态等有关; 模型 $E = A / (1 + B \times C)$ 可更好地表征碱性磷酸酶活性与 As^{5+} 及 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 的关系, 揭示出土壤碱性磷酸酶在一定程度上可表征土壤 As^{5+} 及 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 的污染程度, As^{5+} 及 $\text{As}^{5+} + \text{As}^{3+}$ 的作用机理为完全抑制作用。计算获得的 As^{5+} 对不同供试土壤间的生态剂量 ED_{10} 和 ED_{50} 差异很大, 其中从土壤酶角度来看, 土壤轻度污染的砷含量为 25 mg/kg; As^{5+} 的 ED 值与土壤有机质含量呈显著正相关关系; As^{5+} 与 As^{3+} 复合污染主要表现为拮抗作用, 并且有机质含量高的土壤 As^{5+} 与 As^{3+} 的交互作用较弱。总体来看, 土壤有机质含量越高, 肥力越高, 砷对土壤碱性磷酸酶活性的影响越小。

〔参考文献〕

[1] Smith S, Naidu R, Alston A M. Arsenic in the soil environment; A

- review [J]. *Advances in Agronomy*, 1998, 64: 149-195.
- [2] 张昆峰, 宋卫锋, 钟宜航. 粤北某市“土法炼砷”土壤中化学砷污染的研究 [J]. *广东化工*, 2006, 33(12): 76-77, 88.
- Zhang K F, Song W F, Zhong Y H. Research on chemical pollution arsenic of soil with indigenous method in north Guangdong [J]. *Guangdong Chemical Industry*, 2006, 33(12): 76-77, 88. (in Chinese)
- [3] 骆永明, 滕 应. 我国土壤污染退化状况及防治对策 [J]. *土壤*, 2006, 38(5): 505-508.
- Luo Y M, Teng Y. Status of soil pollution degradation and countermeasures in China [J]. *Soils*, 2006, 38(5): 505-508. (in Chinese)
- [4] 顾继光, 周启星, 王 新. 土壤重金属污染的治理途径及其研究进展 [J]. *应用基础与工程科学学报*, 2003, 11(2): 143-151.
- Gu J G, Zhou Q X, Wang X. Reused path of heavy metal pollution in soils and its research advance [J]. *Journal of Basic Science and Engineering*, 2003, 11(2): 143-151. (in Chinese)
- [5] Zhang H. Heavy-metal pollution and arseniasis in hetao region, China [J]. *Ambio*, 2004, 33(3): 138-140.
- [6] 金银龙, 梁超轲, 何公理, 等. 中国地方性砷中毒分布调查(总报告) [J]. *卫生研究*, 2003, 32(6): 519-540.
- Jin Y L, Liang C K, He G L, et al. Study on distribution of endemic arsenism in China [J]. *Journal of Hygiene Research*, 2003, 32(6): 519-540. (in Chinese)
- [7] Sancha A M, O'Ryan R. Managing hazardous pollutants in Chile; Arsenic [J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2008, 196: 123-146.
- [8] Amitava M, Kumar S M, Amir H M, et al. Arsenic contamination in groundwater: A global perspective with emphasis on the Asian scenario [J]. *Journal of Health Population and Nutrition*, 2006, 24(2): 142-163.
- [9] 和文祥, 朱铭铭, 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): 139-142.
- He W X, Zhu M E, Zhang Y P. Recent advance in relationship between soil enzymes and heavy metals [J]. *Soil and Environmental Science*, 2000(9): 139-142. (in Chinese)
- [10] 陈 静, 王学军, 朱立军. pH 对砷在贵州红壤中的吸附的影响 [J]. *土壤*, 2004, 36(2): 211-214.
- Chen J, Wang X J, Zhu L J. Effect of pH on adsorption and transformation of arsenic in red soil in Guizhou [J]. *Soils*, 2004, 36(2): 211-214. (in Chinese)
- [11] 和文祥, 马爱生, 武永军, 等. 砷对土壤脲酶活性影响的研究 [J]. *应用生态学报*, 2004, 15(5): 895-898.
- He W X, Ma A S, Wu Y J, et al. Effect of arsenic on soil urease activity [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(5): 895-898. (in Chinese)
- [12] Bhattacharyya P, Tripathy S, Kim K, et al. Arsenic fractions and enzyme activities in arsenic-contaminated soils by groundwater irrigation in West Bengal [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2008, 71(1): 149-156.
- [13] Speir T W, Kettles H A, Parshotam A, et al. Simple kinetic approach to determine the toxicity of As [V] to soil biological

- properties [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31(5): 705-713.
- [14] Wang Q S, He M C, Wang Y. Influence of combined pollution of antimony and arsenic on culturable soil microbial populations and enzyme activities [J]. Ecotoxicology, 2011, 20(1): 9-19.
- [15] 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.
- [16] Monique B, Frimmel F H. Arsenic-a Review. Part I: Occurrence, toxicity, speciation, mobility [J]. Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 2003, 31(1): 9-18.
- [17] Jain C K, Ali I. Arsenic: Occurrence, toxicity and speciation techniques [J]. Water Research, 2000, 34(17): 4304-4312.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. Bao S D. Soil agrochemistry analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000. (in Chinese)
- [19] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986: 309-313. Guan S Y. Soil enzymes and their research methods [M]. Beijing: Agriculture Press, 1986: 309-313. (in Chinese)
- [20] Megharaj M, Rao A P, Rao A S, et al. Interaction effects of carbaryl and its hydrolysis product, 1-naphthol, towards three isolates of microalgae from rice soil [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 1990, 31(4): 293-300.
- [21] Megharaj M, Venkateswarlu K, Rao A. Interaction effects of insecticide combinations on the growth of *Scenedesmus bijugatus* and *Synechococcus elongatus* [J]. Plant and Soil, 1989, 114(2): 159-163.
- [22] Tanya, Cáceres, He W X, et al. Toxicity of chlorpyrifos and TCP alone and in combination to *Daphnia carinata*: The influence of microbial degradation in natural water [J]. Water Research, 2007, 41(19): 4497-4503.
- [23] Stratton, Glenn W. Effects of the herbicide atrazine and its degradation products, alone and in combination, on phototrophic microorganisms [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1984, 13(1): 35-42.
- [24] 刘淑英. 有机无机肥配施对灌耕灰钙土碱性磷酸酶和土壤磷素的影响 [J]. 土壤通报, 2011, 42(3): 670-675. Liu S Y. Effects of organic and inorganic fertilization on alkaline-phosphatase and soil phosphates in the irrigated farming sierozem [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2011, 42(3): 670-675. (in Chinese)
- [25] 和文祥, 朱铭莪. 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): 392-398. He W X, Zhu M E. Relationship between urease activity and fertility of soils in Shaanxi province [J]. Acta Pedologica Sinica, 1997, 34(4): 392-398. (in Chinese)
- [26] Juma N G, Tabatabai M A. Effects of trace elements on phosphatase activity in soils [J]. Soil Sci Soc Am, 1977, 41(2): 343-346.
- [27] 王永, 徐仁扣, 王火焰. 可变电荷土壤对 As(Ⅲ) 和 As(V) 的吸附及二者的竞争作用 [J]. 土壤学报, 2008, 45(4): 622-627. Wang Y, Xu R K, Wang H Y. Adsorption and competitive adsorption of As(Ⅲ) and As(V) on three variable charge soils [J]. Acta Pedologica Sinica, 2008, 45(4): 622-627. (in Chinese)
- [28] 陈娟, 何云晓, 冉琼. 重金属污染下土壤酶活性的研究进展 [J]. 安徽农业科学, 2009, 37(21): 10083-10084. Chen J, He Y X, Ran Q. Progress of studies on soil enzyme activity under heavy metal contamination [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2009, 37(21): 10083-10084. (in Chinese)
- [29] Mohapatra, Debasish, Mishra D, et al. Effect of dissolved organic matter on the adsorption and stability of As(V) on manganese wad [J]. Separation and Purification Technology, 2006, 49(3): 223-229.

(上接第 184 页)

- [15] 李阳兵, 魏朝富, 谢德体, 等. 岩溶山区植被破坏前后土壤团聚体稳定性研究 [J]. 中国农学通报, 2005, 21(10): 232-234. Li Y B, Wei C F, Xie D T, et al. The features of soil water-stable aggregate before and after vegetation destruction in Karst mountains [J]. China Agriculture Science Bulletin, 2005, 21(10): 232-234. (in Chinese)
- [16] 戴全厚, 刘国彬, 薛 蕊, 等. 侵蚀环境退耕撂荒地水稳性团聚体演变特征及与土壤养分效应 [J]. 水土保持学报, 2007, 21(2): 61-64. Dai Q H, Liu G B, Xue S, et al. Dynamics of soil water stable aggregates and relationship with soil properties on abandoned arable land in eroded hilly loess plateau [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2007, 21(2): 61-64. (in Chinese)
- [17] Wardle D A, Bardgett R D, Klironomos J N. Ecological linkages between aboveground and belowground biota [J]. Science, 2004, 304: 1629-1633.
- [18] Carter M R. Soil quality for sustainable land management, organic matter and aggregation interactions that maintain soil function [J]. Agron J, 2002, 94: 38-47.
- [19] Olk D C, Gregorich E G. Overview of the symposium proceedings, "meaning pools in determining soil carbon and nitrogen dynamics" [J]. Soil Sci Soc Am J, 2006, 70: 967-974.