

# 汞对土壤酶活性的影响\*

杨春璐<sup>1,2,3</sup> 孙铁珩<sup>1,2\*\*</sup> 和文祥<sup>1</sup> 陈 苏<sup>2,3</sup>

(<sup>1</sup> 沈阳大学环境工程重点实验室, 沈阳 110044; <sup>2</sup> 中国科学院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; <sup>3</sup> 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要** 利用室内模拟方法,研究了重金属 Hg 对不同土样脲酶、转化酶和中性磷酸酶活性的影响. 结果表明, Hg 可显著地抑制土壤脲酶和转化酶的活性,但不同土样 Hg 对两种酶活性的抑制程度有很大差别. HgCl<sub>2</sub> 浓度与两种酶活性之间的关系均可用对数方程很好地描述 ( $P < 0.05$ ). 4 个土样的脲酶 ED<sub>50</sub> (生态剂量) 分别为 87.99、5.47、24.05 和 19.88 mg · kg<sup>-1</sup>; 转化酶的 ED<sub>50</sub> 分别为 76.68、727.49、236.52 和 316.59 mg · kg<sup>-1</sup>. 脲酶对 Hg 污染比转化酶敏感; 有机质对土壤酶活性有一定的保护作用. 除连续 2 年施用大量有机肥的草甸棕壤土样中 Hg 对中性磷酸酶有显著的激活作用外 ( $P < 0.05$ ), 其它土样无显著变化, 表明中性磷酸酶活性对 Hg 污染反应不敏感.

**关键词** 汞 土壤 脲酶 转化酶 中性磷酸酶

**文章编号** 1001-9332(2007)03-0620-05 **中图分类号** S154.2 **文献标识码** A

**Effects of Hg on soil enzyme activity.** YANG Chun-lu<sup>1,2,3</sup>, SUN Tie-heng<sup>1,2</sup>, HE Wen-xiang<sup>1</sup>, CHEN Su<sup>2,3</sup> (<sup>1</sup>Key Laboratory of Environmental Engineering, Shenyang University, Shenyang 110044, China; <sup>2</sup>Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China; <sup>3</sup>Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2007, 18(3): 620-624.

**Abstract:** With simulation test, this paper studied the effects of Hg on the activities of urease, invertase and neutral phosphatase in four soils. The results showed that Hg inhibited soil urease and invertase activities markedly, but its inhibitory effect differed with test soils. There was a significant logarithmic correlation between the concentration of HgCl<sub>2</sub> and the activities of these two enzymes ( $P < 0.05$ ). In test soils, the ED<sub>50</sub> of urease activity was 87.99, 5.47, 24.05 and 19.88 mg · kg<sup>-1</sup>, and that of invertase activity was 76.68, 727.49, 236.52 and 316.59 mg · kg<sup>-1</sup>, respectively. Urease was more sensitive than invertase to Hg contamination, while organic matter had a protective effect on soil enzymes. Soil neutral phosphatase was not sensitive to Hg contamination, except that it was significantly activated by Hg in the meadow brown soil applied with plenty of organic fertilizer.

**Key words:** Hg; soil; urease; invertase; neutral phosphatase.

## 1 引 言

土壤重金属污染是我国乃至世界范围内普遍关注的环境问题之一. 评价其污染水平, 传统方法多采用总量和有效量指标, 前者与植物吸收量相关性有时不够好, 后者由于采用方法繁多造成可比性较差, 且两个指标均存在技术设备要求较高的缺点. 近年

来用土壤酶作为判断污染物对生物潜在毒性的手段已引起国内外学者的关注<sup>[1,10-11,17-18]</sup>, 用其监测重金属污染的方法目前已有研究<sup>[2,4-6,9,19]</sup>, 而且此方法被证实与传统方法相比具有操作简便、反应快捷、灵敏等优点. 但该方法的研究仍处于起步阶段, 尚未形成完整的体系, 已有研究结果也不完全一致, 离实际应用还有很大差距. 由于土壤是一个极其复杂的有机体, 不同地区土壤中酶的来源、土壤对酶及重金属的吸附固定能力等均存在很大差异<sup>[3,12]</sup>, 这必然导致重金属与土壤酶之间关系的极大不同, 因此, 广泛采集土壤样品及增加土壤酶的研究种类是完善这

\* 国家重点基础研究发展规划项目(2004CB418506)、国家自然科学基金重点项目(20337010)、国家自然科学基金项目(40301022)和沈阳大学沈阳环境工程重点实验室基金资助项目(03001).

\*\* 通讯作者. E-mail: thsun@iae.ac.cn

2006-02-23 收稿, 2007-01-07 接受.

表 1 供试土壤基本理化性质

Tab. 1 Basic physico-chemical properties of test soils

土样编号 Soil No.	土壤类型 Soil type	有机质 Organic matter ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	pH	全氮 Total nitrogen ( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	全磷 Total phosphorus ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	阳离子 交换量 CEC ( $\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	砂粒 Sand (%)	粉粒 Silt (%)	粘粒 Clay (%)
1	草甸棕壤 Meadow brown soil <sup>a</sup>	26.4	5.94	2.14	338.42	13.30	54	30	16
2	草甸棕壤 Meadow brown soil <sup>b</sup>	20.7	6.19	2.08	171.99	15.35	62	20	18
3	黑土 Black soil <sup>c</sup>	31.6	6.26	2.62	669.84	28.05	29.8	38.2	32
4	黑土 Black soil <sup>d</sup>	29.4	6.71	2.57	632.96	23.00	22	42	36

a)连续 2 年施用大量有机肥 With 2-year organic manure application; b)常年不施肥 Unfertilized; c)荒地 Bare land; d)大田 Field.

一方法体系的必经之路. 近年来,我国东北地区重金属(包括汞)污染问题日益显示出来,但鲜见该地区土壤酶与重金属之间关系的报道. 本研究以东北地区有代表性的草甸棕壤和黑土为对象,研究了土壤中 3 种酶活性和重金属 Hg 之间的关系,旨在为完善土壤汞污染酶监测指标体系、控制土壤汞污染提供理论依据.

## 2 材料与方法

### 2.1 供试土壤

1 号和 2 号土样采自中国科学院沈阳生态试验站长期肥料定位试验基地(41°32'N, 122°23'E),是连续 2 年施用大量有机肥(鸡粪)和常年不施肥的 2 个草甸棕壤;3 号和 4 号分别采自黑龙江省黑河市嫩江县临江乡的荒地(49°9'N, 125°12'E)和大田(49°10'N, 125°16'E),土壤类型为黑土. 供试土壤均未受污染,采集深度 5~20 cm. 土样风干混匀后,过 1 mm 尼龙筛,挑除植物残体,备用. 供试土壤基本理化性质见表 1.

### 2.2 试验方法

在 5.00 g 土样中,加入 1 ml 甲苯,静置 15 min(杀死土壤微生物),然后加入 5 ml 不同浓度(0、1.25、2.5、5、10 和 20  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) $\text{HgCl}_2$  溶液,混匀,30 min 后测定土壤酶活性. 脲酶活性采用靛酚兰比色法测定<sup>[3]</sup>;转化酶用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定<sup>[3]</sup>;中性磷酸酶活性用磷酸苯二钠比色法(2)测定<sup>[3]</sup>. 3 种酶活性分别以每克土每小时将尿素水解成  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  的量或将蔗糖转化成葡萄糖的量或将磷酸苯二钠转化成酚的量表示. 每处理重复 3 次,并以无底物(排除土壤和试剂中混杂的  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、葡萄糖和酚引起的误差)和无土处理作为对照. 各处理的酶活性均为减去对照所得值,用均值  $\pm$  标准偏差表示.

土壤全氮含量用元素分析仪测定;全磷测定方法见文献<sup>[15]</sup>;土壤 pH 值用电位法(水:土=2.5:1)测定;有机质用  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  氧化法测定;阳离子交换量

用  $\text{NH}_4\text{OAc}$  交换法测定;机械组成用比重计法测定<sup>[13]</sup>.

## 3 结果与分析

### 3.1 土壤酶活性

供试 4 个土样的脲酶、转化酶和中性磷酸酶活性见表 2. 从表 2 可以看出,不同土壤酶活性有很大差异,土壤脲酶和中性磷酸酶活性大小顺序为 3 号 > 1 号 > 4 号 > 2 号;转化酶活性大小顺序为 3 号 > 4 号 > 2 号 > 1 号.

表 2 供试土壤酶活性

Tab. 2 Enzymatic activities of test soils ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )

土样编号 Soil No.	脲酶 Urease	转化酶 Invertase	中性磷酸酶 Neutral phosphatase
1	16.65 $\pm$ 0.56	444.3 $\pm$ 13.90	129.3 $\pm$ 4.34
2	4.35 $\pm$ 0.44	674.2 $\pm$ 17.80	115.3 $\pm$ 1.47
3	17.49 $\pm$ 0.01	1276.4 $\pm$ 2.78	155.2 $\pm$ 6.19
4	13.55 $\pm$ 0.70	779.1 $\pm$ 4.92	118.1 $\pm$ 3.67

除草甸棕壤的转化酶外,在同一类型土壤中,有机质含量较高的土壤表现出相对较高的酶活性. 这是由于土壤酶主要被有机质和粘粒吸附和固定<sup>[3,9]</sup>,而同一类型土壤的机械组成比较相近(表 1),因此有机质含量较高的土壤吸附和固定的脲酶较多,故表现出酶活性较高. 不同土壤类型间可比性较差,这可能是由于土壤矿物组成等不同,对酶的吸附固定能力不同所致. 上述结果与和文祥等<sup>[7-8]</sup>对陕西土壤的研究结果类似.

### 3.2 Hg 对土壤脲酶活性的影响

添加  $\text{HgCl}_2$  后,土壤脲酶活性明显受到抑制. 不同  $\text{HgCl}_2$  浓度处理间土壤脲酶活性差异均极显著( $P < 0.01$ )(表 3). 表 3 中脲酶活性用以对照为参比的相对值表示,即未添加  $\text{HgCl}_2$  时测定的土壤脲酶活性值为 1. 从表 3 可以看出,随着  $\text{HgCl}_2$  浓度的增加,抑制作用有增强的趋势,除个别处理外,各浓度之间差异均显著.  $\text{HgCl}_2$  浓度为 1.25  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,同一类型土壤之间土壤脲酶活性降幅相差不大,

表3 Hg对土壤脲酶活性的影响\*

Tab.3 Effect of Hg on soil urease activity ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )

土样编号 Soil No.	HgCl <sub>2</sub> 浓度 HgCl <sub>2</sub> concentration ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )						
	0	1.25	2.5	5	10	20	40
1	1.00a	0.87b	0.93c	0.79d	0.70e	0.60f	0.61f
2	1.00a	0.88b	0.71c	0.49d	0.29e	0.24e	0.02f
3	1.00a	0.83b	1.05a	0.69c	0.64c	0.53d	0.40e
4	1.00a	0.83b	0.86b	0.68c	0.59c	0.45d	0.39d

\* 酶活性 = 处理酶活性/CK 酶活性 Enzymatic activities = Treatment enzymatic activities/CK enzymatic activities. 每行不同字母表示差异显著 Values within each rank with different letters differed significantly ( $P < 0.05$ ). 下同 The same below.

如1、2号土样分别为13%和12%，3、4号土样均为17%。随着HgCl<sub>2</sub>浓度的继续增大，抑制效应差异趋于明显；当HgCl<sub>2</sub>浓度增至40 mg·kg<sup>-1</sup>时，1~4号土样脲酶活性分别比对照降低39%、98%、60%和61%。Hg与酶活性部位中的巯基和咪唑配位体结合，形成非常稳定的化学键，使部分酶失活<sup>[19]</sup>。

从表3还可看出，除2号土样外，其余土样在HgCl<sub>2</sub>浓度为2.5 mg·kg<sup>-1</sup>时脲酶活性有所回升，3号土样甚至比对照高了5%。据报道，Hg<sup>2+</sup>极易与土壤组分（主要是有机、无机颗粒）发生吸附、络合和沉淀反应<sup>[20]</sup>。Hg进入土壤后95%以上能迅速被土壤吸持或固定<sup>[14]</sup>，这可能导致部分被吸附的脲酶分子被置换出来，使酶活性有一定的增强，从而缓解了Hg对脲酶的抑制效应；随着Hg浓度的增加，释放的脲酶分子数量增加缓慢，这可能是土壤脲酶在添加低浓度Hg时有所回升的原因。

将HgCl<sub>2</sub>浓度与土壤脲酶活性进行对数方程拟合，结果发现4个土样均达到显著或极显著负相关。其方程如下：

$$U_1 = -0.099 \ln x + 0.943 \quad (r = 0.936, P < 0.01) \quad (1)$$

$$U_2 = -0.243 \ln x + 0.912 \quad (r = 0.991, P < 0.01) \quad (2)$$

$$U_3 = -0.155 \ln x + 0.912 \quad (r = 0.885, P < 0.05) \quad (3)$$

$$U_4 = -0.144 \ln x + 0.932 \quad (r = 0.973, P < 0.01) \quad (4)$$

式中， $x$ 为HgCl<sub>2</sub>浓度( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )， $U_1$ — $U_4$ 分别为1~4号土样的脲酶活性。根据相应方程计算出土壤脲酶的生态剂量<sup>[16]</sup>(ED<sub>50</sub>值，即生物活性降低50%时的污染物浓度)分别为87.99、5.47、24.05和19.88 mg·kg<sup>-1</sup>。

从4个土样的ED<sub>50</sub>值及方程的斜率可看出：Hg

在2号土样中的抑制作用最大；在1号土样中最小；4号略大于3号土样，其处于1号和2号土样中间。这一结果说明：1)同一类型土壤有机质含量较高的脲酶对Hg表现出较强的缓冲作用，而含量较少的则非常敏感。这可能是由于土壤有机质对Hg<sup>2+</sup>有较强的吸附固定能力，可以保护部分土壤脲酶免受Hg<sup>2+</sup>的抑制所致；2)对于常年不施肥的自然土壤，黑土中脲酶抗汞污染的能力较草甸棕壤强，如3号、4号土壤脲酶ED<sub>50</sub>值分别是2号土壤的4.40和3.63倍，而施加有机肥后的1号草甸棕壤ED<sub>50</sub>值大幅度提高，是2号土壤的16.09倍，说明施用有机肥不仅可以改善土壤肥力，而且能够大大提高土壤脲酶抗重金属汞污染的能力。

将未施肥处理的2、3和4号土壤ED<sub>50</sub>值与陕西塬土<sup>[6]</sup>(ED<sub>50</sub>值为6.00 mg·kg<sup>-1</sup>)比较，发现草甸棕壤抗汞污染能力与塬土相似，而黑土则强于塬土。另外，虽然本试验采用的两类土壤和我们以前研究过的陕西塬土中脲酶活性均与HgCl<sub>2</sub>浓度存在显著或极显著的相关关系，即3种土壤脲酶活性均可在一定程度上用于表征土壤汞污染程度，但草甸棕壤和黑土更适合于用对数方程描述(其它方程描述效果较差，数据未列出)，而陕西塬土则用线性方程描述良好，这说明地域上的差异将导致土壤酶监测指标体系并非是建立一个简单而通用的方程就可以解决的，要完善这一体系还需要在污染物对不同土壤类型酶活性的影响规律方面做大量工作。

### 3.3 Hg对土壤转化酶活性的影响

添加HgCl<sub>2</sub>后土壤转化酶活性受到明显抑制，4个土样不同HgCl<sub>2</sub>浓度处理之间的差异均极显著( $P < 0.01$ ) (表4)。从表4可以看出，Hg使土壤转化酶活性受到抑制。随着Hg浓度的增加，酶活性抑制作用增强，不同浓度处理之间大多存在显著差异。当HgCl<sub>2</sub>浓度为40 mg·kg<sup>-1</sup>时，4个土样转化酶活性分别下降35%、22%、33%和31%。

在加入低浓度Hg时，草甸棕壤转化酶有激活

表4 Hg对土壤转化酶活性的影响

Tab.4 Effect of Hg on soil invertase activity ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )

土样编号 Soil No.	HgCl <sub>2</sub> 浓度 HgCl <sub>2</sub> concentration ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )						
	0	1.25	2.5	5	10	20	40
1	1.00a	1.11b	0.96ac	0.91c	0.73d	0.65e	0.65e
2	1.00a	1.02a	1.03a	0.89b	0.78c	0.80c	0.78c
3	1.00a	0.96b	0.91c	0.75d	0.75d	0.71e	0.67f
4	1.00a	0.99a	0.90b	0.84c	0.77d	0.74d	0.69e

现象. 例如,  $\text{HgCl}_2$  浓度  $1.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 1 号土样酶活性有 11% 的增幅;  $\text{HgCl}_2$  浓度为  $1.25$  和  $2.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 2 号土样酶活性分别有 2% 和 3% 的增幅; 随着 Hg 浓度的继续增加, 酶活性逐渐降低, 这与 Hg 对脲酶活性影响类似.

将  $\text{HgCl}_2$  浓度的对数与土壤转化酶活性进行拟合. 结果表明, 4 种土壤的  $\text{HgCl}_2$  浓度与土壤转化酶活性呈显著或极显著负相关, 其相关方程如下:

$$I_1 = -0.141 \ln x + 1.112 \quad (r = 0.971, P < 0.01) \quad (5)$$

$$I_2 = -0.083 \ln x + 1.045 \quad (r = 0.913, P < 0.05) \quad (6)$$

$$I_3 = -0.083 \ln x + 0.955 \quad (r = 0.949, P < 0.01) \quad (7)$$

$$I_4 = -0.085 \ln x + 0.987 \quad (r = 0.988, P < 0.01) \quad (8)$$

式中,  $x$  为  $\text{HgCl}_2$  浓度 ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),  $I_1$ — $I_4$  分别为 1~4 号土样的转化酶活性. 由对数拟合方程计算出的 4 个土样转化酶  $\text{ED}_{50}$  值分别为 76.68、727.49、236.52 和 316.59  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 即 1 号土样转化酶对 Hg 最为敏感, 然后是 3 号、4 号, 2 号土样反应最为迟钝, 这一结果与上述脲酶结果存在很大差异, 这可能与不同土样 2 种酶的活性存在差异有关.

以上结果表明, 土壤转化酶与 Hg 浓度之间存在很好的相关性, 即转化酶活性在一定程度上也可表征 Hg 污染状况. 和文祥等<sup>[6]</sup>研究表明, 转化酶对汞污染反应比较迟钝, 其原因可能是供试土壤的地区差异所致. 例如, 本试验的供试土壤为东北地区的草甸棕壤和黑土, 转化酶活性很高, 而和文祥等所采用的壤土酶活性只有  $3.13 \sim 20.10 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ , 这说明不同生态区的土壤转化酶活性差异很大, 对污染物的反应也不尽相同.

### 3.4 Hg 对土壤中中性磷酸酶活性的影响

除 1 号土样加 Hg 处理与对照间的中性磷酸酶活性存在显著差异 ( $P < 0.05$ ) 外, 其余土样中性磷酸酶活性差异不显著 (表 5). 从表 5 可以看出, 土壤

添加 Hg 后, 1 号土样有一定的激活作用, 在 Hg 浓度为  $1.25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 酶活性激活 25%, 随着 Hg 浓度的持续增加, 激活作用缓慢增强, 至浓度为  $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 激活 37%; 其它土样的酶活性变化不大, 各处理之间的差异均不显著. 这说明土壤中中性磷酸酶对汞污染不敏感.

## 4 结 语

综上所述, 有机质对污染物和土壤酶活性关系有一定的影响. 有机质含量高的土壤缓冲 Hg 对酶的抑制效应能力较强; Hg 对土壤脲酶和转化酶均有明显的抑制作用, 脲酶和转化酶活性与 Hg 浓度呈显著或极显著对数负相关, 但两种土壤酶在不同土样中的抑制效应存在差异, 说明两种酶活性均可表征土壤 Hg 污染的程度. 从  $\text{ED}_{50}$  值来看, 脲酶较转化酶对 Hg 更为敏感; Hg 对土壤中中性磷酸酶活性的影响不显著.

## 参考文献

- [1] Benitez E, Nogales R, Elvira C, et al. 1999. Enzyme activities as indicators of the stabilization of sewage sludges composting with *Eisenia foetida*. *Bioresource Technology*, **67**: 297–303
- [2] Doelman P, Haanstra L. 1986. Short- and long-term effects of heavy metals on urease activity in soils. *Biology and Fertility of Soils*, **2**: 213–218
- [3] Guan S-Y (关崧荫). 1987. Soil Enzyme and Its Research Method. Beijing: Agricultural Press. (in Chinese)
- [4] He W-X (和文祥), Chen H-M (陈会明), Feng G-Y (冯贵颖), et al. 2000. Study on enzyme index in soils polluted by mercury, chromium and arsenic. *Acta Scientiae Circumstantiae* (环境科学学报), **20**(3): 338–343 (in Chinese)
- [5] He W-X (和文祥), Ma A-S (马爱生), Wu Y-J (武永军), et al. 2004. Effect of arsenic on soil urease activity. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), **15**(5): 895–898 (in Chinese)
- [6] He W-X (和文祥), Wei G-H (韦革宏), Wu Y-J (武永军), et al. 2001. Soil enzyme activity effected by Hg. *China Environmental Science* (中国环境科学), **21**(3): 279–283 (in Chinese)
- [7] He W-X (和文祥), Zhu M-E (朱铭莪), 1997. Study on relation between urease and fertility of soils in Shanxi. II. Soil urease kinetic characteristics. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), **34**(1): 42–52 (in Chinese)

表 5 Hg 对土壤中中性磷酸酶活性的影响

Tab.5 Effect of Hg on soil neutral phosphatase activity ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )

土样编号 Soil No.	HgCl <sub>2</sub> 浓度 HgCl <sub>2</sub> concentration ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )						
	0	1.25	2.5	5	10	20	40
1	1.00a	1.25b	1.21b	1.24b	1.25b	1.38b	1.37b
2	1.00a	1.11a	1.05a	0.98a	0.98a	1.08a	1.04a
3	1.00a	1.01a	0.97ab	0.91b	0.98ab	0.99ab	0.99ab
4	1.00a	1.00a	0.94a	0.93a	0.93a	0.89a	0.88a

- [ 8 ] He W-X ( 和文祥 ), Zhu M-E ( 朱铭莪 ). 1997. Relationship between urease activity and fertility of soils in Shanxi province. *Acta Pedologica Sinica* ( 土壤学报 ), **34**( 4 ): 392 - 398 ( in Chinese )
- [ 9 ] He W-X ( 和文祥 ), Zhu M-E ( 朱铭莪 ), Zhang Y-P ( 张一平 ). 2002. Effects of mercury and cadmium on the activity of urease in soils. I. Urea concentration. *Chinese Journal of Applied Ecology* ( 应用生态学报 ), **13**( 2 ): 191 - 193 ( in Chinese )
- [ 10 ] Hinojosa MB, García-Ruíz R, Viñegla B, *et al.* 2004. Microbiological rates and enzyme activities as indicators of functionality in soils affected by the Aznalcóllar toxic spill. *Soil Biology and Biogeochemistry*, **36**( 10 ): 1637 - 1644
- [ 11 ] Hinojosa MB, Carreira JA, García-Ruíz R, *et al.* 2004. Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal-contaminated and reclaimed soils. *Soil Biology and Biogeochemistry*, **36**( 10 ): 1559 - 1568
- [ 12 ] Ladd JN, Bulter JA. 1975. Humus-enzyme systems and synthetic organic polymer enzyme analogs// Paul EA, McLaren AD, eds. *Soil Biochemistry*. Vol. 4. New York: Marcel Dekker: 143 - 194
- [ 13 ] Li Y-K ( 李酉开 ). 1983. *The Routine Analytical Method of Soil Agricultural Chemistry*. Beijing: Science Press. ( in Chinese )
- [ 14 ] Liao Z-J ( 廖自基 ). 1989. *Harm, Transport and Transformation of Trace Heavy Metal Element in the Environment*. Beijing: Science Press: 49 - 56 ( in Chinese )
- [ 15 ] Nanjing Agricultural College ( 南京农学院 ). 1980. *Soil Agrochemical Analysis*. Beijing: Agricultural Press. ( in Chinese )
- [ 16 ] Renella G, Ortigoza ALR, Landi L, *et al.* 2003. Additive effects of copper and zinc on cadmium toxicity to phosphatase activities and ATP content of soil as estimated by the ecological dose (  $ED_{50}$  ). *Soil Biology and Biochemistry*, **35**: 1203 - 1210
- [ 17 ] Skiba U, Wainwright M. 1982. Assay of urease activity in marine sands - Its use as an indicator of sewage contamination of beaches. *Enzyme and Microbial Technology*, **4**( 5 ): 310 - 312
- [ 18 ] Yang YH, Wang ZJ, Yang, MH, *et al.* 2006. Inhibitive determination of mercury ion using a renewable urea biosensor based on self-assembled gold nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*, **114**( 1 ): 1 - 8
- [ 19 ] Zhou L-K ( 周礼恺 ), Zhang Z-M ( 张志明 ), Cao C-M ( 曹承绵 ), *et al.* 1985. Soil enzyme activity affected by heavy metals pollution in soil. *Acta Scientiae Circumstantiae* ( 环境科学学报 ), **5**( 2 ): 176 - 183 ( in Chinese )
- [ 20 ] Zhu X-C ( 朱小翠 ), Qing C-L ( 青长乐 ), Pi G-J ( 皮广洁 ). 1996. Study on mercury fractions and their influencing factors in soils. *Acta Pedologica Sinica* ( 土壤学报 ), **33**( 1 ): 94 - 100 ( in Chinese )

---

**作者简介** 杨春璐,女,1978年生,博士研究生.主要从事污染生态学研究,已发表论文8篇. E-mail: ycl\_78@yahoo.com.cn

**责任编辑** 梁仁禄

---