

# 镉污染对水稻土微生物量、酶活性及水稻生理指标的影响\*

曾路生<sup>1</sup> 廖敏<sup>1\*\*</sup> 黄昌勇<sup>1</sup> 罗运阔<sup>2</sup>

(<sup>1</sup> 浙江大学环境与资源学院资源科学系, 杭州 310029; <sup>2</sup> 江西农业大学国土资源与环境学院, 南昌 330045)

**【摘要】** 水稻盆栽条件下,研究了外源Cd不同处理对土壤微生物学指标、土壤酶活性及部分水稻生理指标的影响。结果表明,土壤微生物量C和N开始随Cd浓度增加而上升,到一定浓度时则随Cd浓度增加而下降,其转折点因土壤性质有所差异。同时土壤酶活性变化规律与土壤微生物量C、N变化规律相似,但其转折点浓度因土壤类型及土壤酶种类不同而有差异。Cd污染后的变异系数依次为:脱氢酶>酸性磷酸酶>脲酶。土壤呼吸作用强度和代谢熵都随Cd浓度增大而缓慢增加。水稻叶绿素含量随Cd处理浓度增加表现出先上升后下降,其转折点受供试土壤性质不同而不同;脯氨酸含量与过氧化物酶活性随着Cd处理浓度增大而增加。Cd污染后水稻生理指标的变异系数在黄松田水稻土中依次为过氧化物酶活性>叶绿素含量>脯氨酸含量;黄红壤性水稻土中依次为过氧化物酶活性>脯氨酸含量>叶绿素含量。相关分析表明,种植水稻条件下Cd污染对土壤微生物量、酶活性及水稻生理指标的影响是相辅相成的。

**关键词** 水稻土 Cd污染 土壤微生物量 土壤酶活性 水稻生理指标

**文章编号** 1001-9332(2005)11-2162-06 **中图分类号** X171.5 **文献标识码** A

**Effects of Cd contamination on paddy soil microbial biomass and enzyme activities and rice physiological indices.** ZENG Lusheng<sup>1</sup>, LIAO Min<sup>1</sup>, HUANG Changyong<sup>1</sup>, LUO Yunkuo<sup>2</sup> (<sup>1</sup>Department of Resources Science, College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; <sup>2</sup>College of Land Resources and Environment, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China). -Chin. J. Appl. Ecol., 2005, 16(11):2162~2167.

A pot experiment with rice under submerged condition showed that with the increase of Cd concentration, soil microbial biomass carbon ( $C_{mic}$ ) and nitrogen ( $N_{mic}$ ) increased initially but decreased at a certain concentration, and the turning points varied with different soil types. Soil enzyme activities had the similar variation trend with soil  $C_{mic}$  and  $N_{mic}$ , and the turning points varied with different soil types and soil enzymes. The variation coefficients were in order of dehydrogenase activity > acid phosphatase activity > urease activity. Soil respiration rate and metabolic quotient increased tardily with increasing cadmium concentration. The chlorophyll content of rice increased initially but decreased then with the increase of Cd contamination, and the turning points differed with different soil types. Rice proline content and peroxidase activity were enhanced gradually with increasing cadmium concentration. The variation coefficients of rice physiological indices on paddy soils derived from silty loam and clayed red earth were in order of peroxidase activity > chlorophyll content > proline content, and peroxidase activity > proline content > chlorophyll content, respectively. Correlation analysis indicated that there was a close correlation between the variations of soil microbial biomass and enzymatic activities and rice physiological indices under Cd contamination.

**Key words** Paddy soil, Cd contamination, Soil microbial biomass, Soil enzymatic activity, Rice physiological indices.

## 1 引言

土壤微生物与土壤酶不仅推动土壤有机质的矿质分解和土壤养分C、N、P、S等的循环与转化,还是表征土壤质量的重要生物学指标,能较敏感地反映出土壤环境的微小变化<sup>[9]</sup>。水稻土主要分布在我国广大南方地区。该地区经济发达,同时又是有色金属矿产集中分布区域。随着工农业生产的发展和有色金属矿产的开采,大量有色金属已泄露到环境中,造成水稻种植区局部已受到重金属的严重污染<sup>[5]</sup>。其

中,Cd是典型的重金属之一,毒性强,危害大。Cd污染后,不仅引起土壤微生物与土壤酶活性的变化,进而改变土壤肥力<sup>[18]</sup>,而且还直接影响水稻生理指标,进而影响水稻产量与质量。Cd通过食物链传递最终在人体富集,危害人类健康<sup>[26]</sup>。相关研究目前大多数局限于Cd污染后的土壤微生物与土壤酶活

\* 国家自然科学基金项目(40201026, 40371063)和国家重点基础研究发展规划资助项目(2002CB410804)。

\*\* 通讯联系人。

2005-01-20收稿,2005-06-22接受。

性的变化,或对水稻生长发育的影响,而缺乏把水稻-Cd-土壤微生物相互作用、相互影响而形成的整个体系来研究.鉴于此,研究了不同浓度的外源 Cd 处理对土壤微生物、土壤酶活性和水稻生理指标的影响,以及其变化间的相互联系,以期评价其在土壤-水稻体系中的生态风险.

## 2 材料与方法

### 2.1 供试土壤及预处理

供试土壤为采自浙江大学华家池试验场的黄松田水稻土(普通筒育水耕人为土)和德清黄红壤性水稻土(普通筒育水耕人为土),取表层 0~20 cm 土,自然风干后过 3.2 mm 筛,备用,其基本理化性质见表 1.分别称取 5.0 kg 相当于烘干土重的风干土样,置于系列 80 cm<sup>2</sup>×20 cm 塑料盆钵中,

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Characteristics of the soil used

土壤 Soil types	pH (H <sub>2</sub> O)	总有机碳 TOC (g·kg <sup>-1</sup> )	速效磷 Avail. P (mg·kg <sup>-1</sup> )	全 N Total N (g·kg <sup>-1</sup> )	阳离子交 换量 CEC (cmol·kg <sup>-1</sup> )	Cd 全量 Total Cd (mg·kg <sup>-1</sup> )	有效态 Cd Avail. Cd (mg·kg <sup>-1</sup> )	颗粒组成 Size composition(%)		
								2.0~0.02 mm	0.02~0.002 mm	<0.002 mm
HS <sup>1)</sup>	5.97	11.55	39.57	1.00	14.59	0.743	0.106	65.0	28.8	6.2
HH <sup>2)</sup>	5.12	29.69	10.63	2.56	12.47	0.725	0.036	22.5	57.0	20.5

1)黄松田水稻土 Paddy soil derived from silty loam;2)黄红壤性水稻土 Paddy soil derived from clayed red earth.下同 The same below.

### 2.3 样品采集

由于水稻刚移栽的前期,正处于扎根与恢复阶段,生长还不稳定,而水稻生长后期已逐渐衰老,生理指标没有代表性.水稻移栽 1 个月时,正处于分蘖旺期,水稻-土壤-重金属-微生物之间相互作用、相互影响的关系已趋于稳定.因此,土壤样品于淹水预培养 15 d 后,在移栽水稻秧苗的 30 d 采集.用特制的注射取样器,多次、多点抽取 0~10 cm 的表层土壤样品,集中于塑料袋中,用玻璃棒拌均,制成混合土样,测定土壤微生物生物量 C、N,呼吸作用强度及土壤酶活性.

同时采集水稻倒 3 叶,放入垫有纱布的托盘中,带回室内,分析叶绿素含量、脯氨酸含量及过氧化物酶活性.

### 2.4 分析方法

土样的基本理化性质采用常规分析方法<sup>[11]</sup>;Cd 全量采用氢氟酸-浓硝酸-高氯酸消化,Cd 有效态采用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCL 提取,二者均用石墨炉原子吸收分光光度计测定;土壤微生物量 C 用氯仿熏蒸、0.5 mol·L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 提取,TOC-500 自动分析仪测定<sup>[24]</sup>;土壤微生物量 N 用氯仿熏蒸、0.5 mol·L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 提取,经消化用连续流动分析仪测定<sup>[3]</sup>;土壤呼吸作用强度采用室内密闭培养、0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 碱液吸收法测定<sup>[16]</sup>;土壤中脲酶活性用苯酚钠比色法测定;酸性磷酸酶活性用磷酸苯二钠比色法测定;脱氢酶活性用 TTC 比色法测定<sup>[8]</sup>.叶绿素含量用丙酮乙醇混和液提取,比色法测定;脯氨酸含量用磺基水杨酸提取,茚三酮比色法测定;过氧化物酶活性用愈创木酚法测定<sup>[28]</sup>.

### 2.5 数据处理

实验数据采用软件 SPSS 11.5 及 Microsoft Excel 2000

外源添加 CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O,设 CK、1、3、8、15 和 30 mg·kg<sup>-1</sup> (纯 Cd 计)6 个处理,重复 3 次.同时分别拌入 0.4 g·kg<sup>-1</sup> 尿素,0.4 g·kg<sup>-1</sup> 的磷酸氢二钾做基肥,混均,淹水培养 15 d 后移栽水稻.

### 2.2 水稻栽培

试验在浙江大学华家池校区网室进行.供试品种为杂交水稻浙农 7 号,由浙江大学农业与生物技术学院提供.精选饱满种子,清水预浸稻种 2 d,用 40% 的福尔马林消毒 3 h,再用清水冲洗净,放入下垫滤纸的培养皿中,保持一定湿度,于培养箱中 25 ℃ 催芽 1 周,然后播种到苗床中.将秧龄为 25 d 的秧苗移栽到装有淹水 15 d 预培养土样的塑料盆钵中,每钵定苗 4 株.整个生育期始终保持水深 2 cm,移栽后 15 d(苗期至分蘖期)各追肥 0.2 g·kg<sup>-1</sup> 尿素和 0.2 g·kg<sup>-1</sup> 磷酸氢二钾,重复 3 次.

处理.

## 3 结果与讨论

### 3.1 Cd 处理对土壤微生物生物量 C、N 及代谢熵的影响

在种植水稻、淹水土壤条件下,黄松田水稻土与黄红壤性水稻土中微生物量 C 开始随 Cd 处理浓度增加而上升,到一定浓度后转为下降(表 2).其中,黄松田水稻土在 1 mg·kg<sup>-1</sup> 处理时开始出现下降,但与对照相比,8 mg·kg<sup>-1</sup> 处理时出现抑制作用;而黄红壤性水稻土在 3 mg·kg<sup>-1</sup> 处理时出现下降,但在 30 mg·kg<sup>-1</sup> 处理时出现抑制作用.受土壤性质的影响,黄红壤性水稻土中微生物量约为黄松田水稻土的 15 倍.变异系数的大小反映了土壤受到污染后土壤微生物对污染物的敏感程度.黄松田水稻土变异系数明显大于黄红壤性水稻土,说明黄松田水稻土受到同等程度的 Cd 污染后土壤微生物将遭到更大的伤害.

2 种土壤的微生物量 N 都在 1 mg·kg<sup>-1</sup> 处理时出现转折现象.在黄松田水稻土中,微生物量 C 与微生物量 N 的变化是同步的,而在黄红壤性水稻土中却不同步.与对照相比,在黄松田水稻土中 8 mg·kg<sup>-1</sup> 处理出现了抑制作用,而在黄红壤性水稻土中 30 mg·kg<sup>-1</sup> 处理时仍起激活作用.黄红壤性水稻土

表 2 Cd 处理对土壤微生物生物量 C、N 及代谢熵的影响

Table 2 Effects of cadmium treatment on soil microbial biomass carbon and microbial biomass nitrogen and metabolic quotient

微生物活性 Microbial activities	土壤类型 Soil types	Cd 处理 Cd treatment (mg·kg <sup>-1</sup> )						平均值 Mean	变异系数 CV (%)
		CK	1	3	8	15	30		
微生物量 C C <sub>mic</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	HS	67.47b <sup>1)</sup> ± 1.01 <sup>2)</sup>	75.66a ± 2.07	68.21b ± 2.48	57.16c ± 3.04	46.56d ± 1.19	38.99e ± 2.84	58.25	21.26
HH	895.75cd ± 16.41	924.16b ± 13.67	967.51a ± 14.47	924.16b ± 11.01	916.91bc ± 13.90	884.57d ± 16.58	918.84	3.22	
微生物量 N N <sub>mic</sub> (mg·kg <sup>-1</sup> )	HS	20.46b ± 1.17	23.46a ± 0.66	21.16b ± 1.43	19.41bc ± 0.93	17.95c ± 0.45	13.46d ± 1.16	19.32	17.13
HH	72.51e ± 2.08	91.56a ± 1.11	87.41b ± 1.54	82.23c ± 1.08	80.83c ± 1.24	77.22d ± 1.15	81.96	7.99	
呼吸强度 Respiration rate (CO <sub>2</sub> -Cg·kg <sup>-1</sup> ·h <sup>-1</sup> )	HS	9.08e ± 0.13	9.51d ± 0.08	9.82c ± 0.11	10.03bc ± 0.19	10.22b ± 0.16	10.85a ± 0.13	9.92	5.86
HH	5.32e ± 0.07	5.85d ± 0.15	5.98cd ± 0.13	6.15c ± 0.13	6.41b ± 0.13	6.69a ± 0.13	6.07	7.53	
代谢熵 Metabolic quotient (h <sup>-1</sup> )	HS	0.14d ± 0.001	0.14d ± 0.002	0.14d ± 0.004	0.18c ± 0.006	0.22b ± 0.004	0.28a ± 0.002	0.18	30.34
HH	0.006c	0.006c	0.006c	0.007b	0.007b	0.008a	0.01	1.97	

1)同一行不同小写字母表示 LSD 检验差异达显著水平 ( $P < 0.05$ ) The different letters in the same line indicate significant difference at  $P < 0.05$  level according to LSD test, the same below; 2)标准差 Standard deviation. 下同 The same below.

中微生物量 N 明显高于黄松田水稻土, 变异系数小于黄松田水稻土. 2 种土壤的呼吸作用强度随处理浓度增加而缓慢上升, 与微生物量 C、N 不同的是, 黄松田水稻土呼吸作用强度要高于黄红壤性水稻土, 但两者变异系数差异不大 (表 2). 随着 Cd 处理浓度的增加, 土壤代谢熵在黄松田水稻土中缓慢增加, 但在 8 mg·kg<sup>-1</sup> 以下处理差异不显著. 黄红壤性水稻土中土壤代谢熵大大小于黄松田水稻土, 且 15 mg·kg<sup>-1</sup> 处理开始差异并不显著. Cd 污染后, 上述土壤微生物指标的敏感程度随土壤性质不同而有差异, 在黄松田水稻土中敏感程度依次为代谢熵 > 微生物量 C > 微生物量 N > 土壤呼吸强度; 在黄红壤性水稻土中依次为微生物量 N > 土壤呼吸强度 > 微生物量 C > 代谢熵.

土壤微生物量 C、微生物量 N、土壤呼吸强度及代谢熵是反映土壤质量与土壤退化的重要微生物学指标<sup>[25]</sup>. 当水稻土受到污染后上述微生物学指标必然会发生一定的变化. 与对照相比, 低浓度的 Cd 污染使土壤微生物量 C、微生物量 N 有一定量的增加, 到一定浓度时随 Cd 浓度增加而减少. 这一现象被许多研究所证实<sup>[6]</sup>. Cd 是一种微量元素, 低浓度时可促进土壤微生物生长, 增加微生物总量, 但当 Cd 浓度继续增加时, 其毒性增强, 进而抑制了土壤微生物的生长<sup>[14]</sup>. 土壤微生物量 C、N 在黄红壤性水稻土中变化不一致, 可能是 Cd 污染使土壤微生物区系发生变化所致<sup>[27]</sup>. 土壤呼吸强度是反映土壤环境胁迫程度的微生物活性指标. 在水稻生长影响下, Cd 污染后土壤呼吸作用增强, 被认为是一种应激反应. 土壤代谢熵是微生物活性的重要指标之一, 即用来定量表征单位生物量的微生物在单位时间里代谢能力的大小. 土壤环境受到胁迫或干扰的条件下, 微生物为了维持生存, 可能需要更多的能量, 而使土壤微生物代谢活性发生不同程度的反应. 重金

属污染后所造成的环境胁迫, 使土壤微生物活动需要更多的能量, 从而导致代谢熵的增加<sup>[15]</sup>.

在正常条件下, 土壤中的微生物生物量 C、N 与该土壤的有机 C 含量呈正相关, 丰富的 C 源基质能转化成较多的土壤微生物生物量. 而土壤呼吸作用与代谢熵是土壤微生物活性强弱的表现, 其大小除与土壤微生物生物量有关外, 还与土壤质地、矿物组成、pH 变化及环境胁迫 (如土壤污染等) 密切相关. 因此, 土壤微生物生物量大, 并不等于其生物活性强. 供试土壤中, 黄红壤性水稻土有机 C 含量较高, 可导致土壤微生物生物量的增多. 但同时该土壤颗粒组成中以粉粒和粘粒为主, 保水能力强, 通气性差, 不利于土壤微生物的能量代谢活动<sup>[1]</sup>, 所以出现了土壤微生物生物量较高, 但其呼吸强度与代谢熵反而较低的现象.

### 3.2 Cd 处理对土壤酶活性的影响

Cd 不同处理对土壤酶活性的影响见表 3. 随着 Cd 处理浓度增加, 土壤酶活性逐渐增强, 但到一定浓度时转为逐渐减弱, 其转折浓度随土壤类型及土壤酶种类不同而有差异. 脲酶、酸性磷酸酶及脱氢酶活性变化的转折浓度在黄松田水稻土中分别是 8、1 和 15 mg·kg<sup>-1</sup>, 而在黄红壤性水稻土中分别是 15、3 和 3 mg·kg<sup>-1</sup>. 但 2 种土壤的脲酶和脱氢酶活性在 Cd 各处理中均高于对照, 而酸性磷酸酶活性在 30 mg·kg<sup>-1</sup> 处理时出现抑制作用. 黄红壤性水稻土中 Cd 不同处理的土壤酶活性均高于黄松田水稻土. 从变异系数来看, 2 种土壤的土壤酶活性对 Cd 污染的敏感程度依次为: 脱氢酶 > 酸性磷酸酶 > 脲酶.

土壤酶与土壤微生物关系密切. 土壤中一些酶由微生物分泌, 并和微生物一起参与土壤中物质循环和能量流动. 一些酶由水稻根系分泌, 受水稻生命活动所支配, 所以土壤酶与土壤微生物的变化规律并不一致. 土壤酶活性的大小与重金属污染程度存

表 3 Cd 处理对土壤酶活性的影响

Table3 Effects of cadmium treatment on soil enzyme activities

土壤酶活性 Soil enzyme activities	土壤类型 Soil types	Cd 处理 Cd treatment(mg·kg <sup>-1</sup> )						平均值 Mean	变异系数 CV(%)
		CK	1	3	8	15	30		
脲酶 <sup>1)</sup> Urease	HS	0.33c±0.01	0.34c±0.01	0.37ab±0.01	0.38a±0.02	0.37ab±0.01	0.35bc±0.01	0.36	6.60
	HH	0.53c±0.02	0.55bc±0.01	0.56abc±0.01	0.58ab±0.01	0.59a±0.04	0.58ab±0.02	0.56	4.88
酸性磷酸酶 <sup>2)</sup> Acid phosphatase	HS	1.03b±0.09	1.32a±0.11	1.16ab±0.12	1.14ab±0.10	1.13ab±0.08	1.02b±0.11	1.20	15.31
	HH	2.61c±0.15	3.10b±0.08	3.67a±0.16	2.73c±0.07	2.67c±0.11	2.23d±0.08	2.84	16.90
脱氢酶 <sup>3)</sup> Dehydrogenase	HS	0.12c±0.02	0.12c±0.02	0.15c±0.01	0.20b±0.03	0.24a±0.01	0.15c±0.01	0.16	30.06
	HH	0.18c±0.01	0.31a±0.02	0.33a±0.02	0.26b±0.01	0.25b±0.01	0.23b±0.01	0.26	20.38

1)脲酶活性单位 Urease activity unit:  $\text{NH}_3^+ \cdot \text{N} \cdot \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 37 °C; 2)酸性磷酸酶活性单位 Acid phosphatase activity unit:  $\text{Phenol} \cdot \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 37 °C; 3)脱氢酶活性单位 Dehydrogenase activity unit:  $\text{TPF} \cdot \text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ , 37 °C.

表 4 Cd 处理对水稻部分生理指标的影响

Table4 Effects of cadmium treatment on rice part physiological indices

生理指标 Physiological indices	土壤类型 Soil types	Cd 处理 Cd treatment(mg·kg <sup>-1</sup> )						平均值 Mean	变异系数 CV(%)
		CK	1	3	8	15	30		
叶绿素含量 Chlorophyll(mg·g <sup>-1</sup> FW)	HS	4.38 <sup>c</sup> ±0.16	4.47 <sup>c</sup> ±0.13	5.33 <sup>a</sup> ±0.13	5.56 <sup>a</sup> ±0.11	4.94 <sup>b</sup> ±0.19	4.41 <sup>c</sup> ±0.11	4.85	10.24
	HH	4.64bc±0.17	4.76b±0.16	5.33a±0.11	4.66 <sup>bc</sup> ±0.08	4.47 <sup>c</sup> ±0.14	4.46 <sup>c</sup> ±0.31	4.72	6.80
脯氨酸含量 Proline( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)	HS	49.47e±0.83	50.56 <sup>e</sup> ±0.47	53.66 <sup>d</sup> ±0.54	56.66 <sup>c</sup> ±0.45	59.32 <sup>b</sup> ±0.76	63.98 <sup>a</sup> ±0.76	55.61	9.36
	HH	39.69 <sup>e</sup> ±0.82	40.00 <sup>e</sup> ±0.59	42.28 <sup>d</sup> ±0.84	44.35 <sup>c</sup> ±0.83	47.86 <sup>b</sup> ±0.63	51.55 <sup>a</sup> ±0.47	44.29	9.99
过氧化物酶活性 POD ( $\text{O}_2 \cdot \text{D}_{470} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ FW)	HS	134.52 <sup>a</sup> ±1.00	138.03e±2.75	160.51 <sup>d</sup> ±1.00	167.04 <sup>c</sup> ±3.33	183.01 <sup>b</sup> ±3.09	216.53 <sup>a</sup> ±3.33	166.58	17.24
	HH	192.01 <sup>a</sup> ±1.76	216.01 <sup>d</sup> ±3.06	232.53 <sup>c</sup> ±2.00	258.54 <sup>b</sup> ±2.25	262.03 <sup>b</sup> ±2.02	269.03 <sup>a</sup> ±3.18	238.33	11.97

在一定的相关性<sup>[22]</sup>. 土壤脲酶、酸性磷酸酶及脱氢酶是土壤受重金属污染后反应比较敏感的酶类<sup>[17]</sup>, 能够敏感地反映重金属对土壤微生物活性的毒性效应<sup>[2]</sup>. 脱氢酶活性的测定被认为是检测无机污染物对土壤微生物的毒性效应最为敏感的指标. 试验中采用鲜土样测定, 更客观地反映了 Cd 污染后淹水条件下土壤酶活性的变化. 黄红壤性水稻土中的土壤酶活性要高于黄松田水稻土, 这可能是黄红壤性水稻土中有机质及粘粒含量较多, 土壤对重金属的吸附能力较强, 从而降低了 Cd 污染的生物有效性的缘故<sup>[4]</sup>.

### 3.3 Cd 处理对水稻部分生理指标的影响

水稻叶绿素含量随 Cd 处理浓度增加先上升后下降, 其转折点在黄松田水稻土中出现在  $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处理, 此浓度处理开始差异显著, 且各处理的水稻叶绿素含量均高于对照(表 4). 在黄红壤性水稻土中, 其转折点为  $3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处理,  $8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处理开始差异不显著, 到  $15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  处理已低于对照. 2 种土壤中水稻的叶绿素含量差异不大, 但在黄松田水稻土中有较大的变异系数. 水稻叶片中脯氨酸含量随着 Cd 处理浓度增大而逐渐增加, 各处理间差异显著. 黄松田水稻土中水稻脯氨酸含量高于黄红壤性水稻土, 变异系数在 2 种土壤中差异不大. 水稻叶片中过氧化物酶活性随 Cd 处理浓度增大也逐渐增强, 且各处理间差异较显著(表 4). 黄红壤性水稻土中水稻过氧化物酶活性较强, 且变异系数较小. 从试验可知, Cd 污染后水稻生理指标的敏感程

度在黄松田水稻土中依次为过氧化物酶活性 > 叶绿素含量 > 脯氨酸含量; 黄红壤性水稻土中依次为过氧化物酶活性 > 脯氨酸含量 > 叶绿素含量.

Cd 污染后水稻细胞内吸收的  $\text{Cd}^{2+}$  离子不仅能与酶活性中心或蛋白质中的巯基结合, 而且还能取代金属蛋白中的必需元素 ( $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Zn}^{2+}$  和  $\text{Fe}^{2+}$ ) 导致生物大分子构象改变, 酶活性丧失及必需元素缺乏, 干扰细胞的正常代谢过程, 这是重金属对细胞毒害的主要原因<sup>[19]</sup>.  $\text{Cd}^{2+}$  过多对植物产生严重损害, 可以强烈抑制细胞和整个植株的生长, 引起植物失绿和叶绿素总量下降. Van Assche 等<sup>[23]</sup>认为, 这是由于  $\text{Cd}^{2+}$  抑制原叶绿素酸酯还原酶活性引起的.

植物体内的游离脯氨酸含量增加是植物对逆境胁迫的一种生理生化反应. 它既可能是植物细胞结构和功能受损伤的表现, 又可能是植物对逆境胁迫的适应性反应, 可以作为细胞质渗透调节物质, 稳定生物大分子结构和作为能量库调节细胞氧化还原势等作用, 还具有清除活性氧的功能. 因此, 随着 Cd 处理浓度的增大, 水稻体内的游离脯氨酸分泌增多, 通过保护酶的空间结构为生化反应提供足够的自由水及生化和生理活性物质, 从而对细胞起了保护作用, 可减少因环境胁迫而引起的伤害<sup>[7]</sup>.

过氧化物酶在植物体内广泛存在, 并具有多种生理功能, 对环境变化反应灵敏, 其活性上升是植物对逆境的适应性反应, 可利用它作为鉴别环境污染对植物毒性及临界含量的指标<sup>[21]</sup>. 过氧化物酶是作

表5 Cd处理后水稻部分生理指标与土壤微生物生物量及土壤酶活性的相关关系

Table 5 Correlations between rice part physiological indices and soil microbial biomass and soil enzyme activities after cadmium treatment ( $n = 18$ )

土壤类型 Soil types	水稻生理指标 Rice physiological indices	微生物量 C $C_{mic}$	微生物量 N $N_{mic}$	土壤呼吸强度 Respiration rate	脲酶 Urease	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	脱氢酶 Dehydrogenase
HS	叶绿素含量 <sup>1)</sup>	0.08	0.16	0.13	0.79**	0.06	0.54*
	脯氨酸含量 <sup>2)</sup>	-0.93**	-0.85**	0.98**	0.44	-0.08	0.52*
	过氧化物酶活性 <sup>3)</sup>	-0.92**	-0.88**	0.97**	0.38	-0.11	0.43
HH	叶绿素含量	0.80**	0.52*	-0.29	-0.26	0.87**	0.70**
	脯氨酸含量	-0.31	-0.26	0.93**	0.72**	-0.54*	-0.13
	过氧化物酶活性	-0.04	0.04	0.95**	0.80**	-0.31	0.14

1) Chlorophyll ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$  FW); 2) Proline ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  FW); 3) POD ( $\text{O} \cdot \text{D}_{470} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$  FW). \*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ .

物三大保护酶类之一,能清除细胞中的自由基,防止膜脂过氧化.当水稻遭到Cd污染后,水稻组织产生和清除活性氧的能力失去平衡,活性氧含量增加,膜脂过氧化作用加强,从而使光合速率下降,蛋白质和叶绿素丧失,可导致叶片衰老或死亡<sup>[20]</sup>.

### 3.4 生理指标与土壤微生物生物量及土壤酶活性的关系

Cd处理后水稻部分生理指标与土壤微生物生物量及土壤酶活性的相关关系因土壤性质不同而有差异(表5).在黄松田水稻土中,水稻叶绿素含量与土壤脲酶及脱氢酶活性呈显著正相关,与其余土壤微生物指标相关不明显.水稻叶片脯氨酸含量及过氧化物酶活性与土壤微生物生物量C、N呈显著负相关,与土壤的呼吸作用强度呈显著正相关,与土壤酶活性相关不大.

在黄红壤性水稻土中,水稻叶绿素含量与土壤微生物生物量C、N及酸性磷酸酶和脱氢酶活性呈显著正相关.水稻叶片脯氨酸含量及过氧化物酶活性与土壤的呼吸作用强度及脲酶活性呈显著正相关,与酸性磷酸酶活性呈负相关,与其余土壤微生物指标相关不明显.

Cd污染后水稻地下部分的土壤微生物活动影响水稻地上部分生理指标的变化,这种影响同时受土壤性质的制约<sup>[10]</sup>.在黄松田水稻土中,土壤有机质、全N及粘粒含量较少,Cd污染后生物有效性较高,使受环境胁迫作用反应较敏感的水稻生理指标(如过氧化物酶活性及脯氨酸含量与土壤微生物量及呼吸作用)相关性较好,而反应较不敏感的水稻生理指标(如叶绿素含量)相关性较差.土壤脲酶可促进尿素水解,脱氢酶能酶促进有机物质的脱氢作用,二者均有助于土壤释放 $\text{N}^{[13]}$ ,有利于水稻叶绿素的合成,与叶绿素含量有较好的相关性.相反,在黄红壤性水稻土中,土壤有机质及粘粒含量较多,使Cd污染后生物有效性较低,对土壤微生物的毒害较轻<sup>[14]</sup>.因此,过氧化物酶活性及脯氨酸含量与土壤微生物生物量C、N相关性小.Cd污染加强了土壤呼吸作用和水

稻的过氧化物酶活性,促使水稻脯氨酸增加,使二者达显著正相关.土壤有机质及全N较多,脱氢酶活性强,均有助于为水稻生长提供较多的N源,有利合成叶绿素.酸性磷酸酶可加速土壤有机P的脱P速度<sup>[12]</sup>,有利于水稻生长和叶绿素的合成.

## 4 结 论

在水稻生长、土壤淹水的盆栽条件下,外源重金属Cd污染对土壤微生物、土壤酶及水稻生理指标均产生不同程度的影响.土壤微生物量C、N开始随Cd处理浓度增加而上升,到一定浓度时转为下降.其中,在黄松田水稻土中,1  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理为转折点,8  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理产生抑制作用;在黄红壤性水稻土中,转折点分别为3和1  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理,抑制作用分别为30  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和>30  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理;2种土壤的呼吸作用强度和代谢熵都随处理浓度增大而缓慢增加.Cd处理后的敏感程度,在黄松田水稻土中为代谢熵>微生物量C>微生物量N>土壤呼吸强度;在黄红壤性水稻土中为微生物量N>土壤呼吸强度>微生物量C>代谢熵.

土壤酶也是开始随Cd处理浓度增加而上升,到一定浓度时转为下降.脲酶、酸性磷酸酶及脱氢酶活性变化的转折点浓度在黄松田水稻土中分别是8、1和15  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,而在黄红壤性水稻土中分别是15、3和3  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ .但2种土壤的脲酶和脱氢酶活性在Cd各处理中均高于对照,而酸性磷酸酶活性在30  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理时出现抑制作用.2种土壤的土壤酶活性对Cd污染的敏感程度依次为脱氢酶>酸性磷酸酶>脲酶.

Cd处理后水稻叶绿素含量表现为先上升后下降,其转折点,在黄松田水稻土中出现在8  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理,且各处理的水稻叶绿素含量均高于对照.在黄红壤性水稻土中,其转折点为3  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理,到15  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 处理时叶绿素含量已低于对照.脯氨酸含量与过氧化物酶活性随Cd处理浓度增大而增加.Cd污染后水稻生理指标的敏感程度在黄松田水稻

土中依次为过氧化物酶活性 > 叶绿素含量 > 脯氨酸含量; 而黄红壤性水稻土中依次为过氧化物酶活性 > 脯氨酸含量 > 叶绿素含量。

相关分析表明, Cd 处理后, 在黄松田水稻土中水稻叶绿素含量与土壤脲酶及脱氢酶活性呈显著正相关; 过氧化物酶活性及脯氨酸含量与土壤微生物量 C、N 呈显著负相关, 与土壤呼吸作用呈显著正相关。在黄红壤性水稻土中, 水稻叶绿素含量与土壤微生物量 C、N, 土壤酸性磷酸酶及脱氢酶活性呈显著正相关; 过氧化物酶活性及脯氨酸含量与土壤呼吸作用强度及脲酶活性呈显著正相关。

#### 参考文献

- Alvarez R, Diaz RA, Barbero N, et al. 1995. Soil organic carbon, microbial biomass and CO<sub>2</sub>-C production from three tillage systems. *Soil Tillage Res*, **33**: 17~28
- Aoyama M, Nagumo T. 1996. Factors affecting microbial biomass and dehydrogenase activity in apple orchard soils with heavy metal accumulation. *Sol Sci Plant Nutr*, **42**: 821~831
- Brookes PC, Landman A, Pruden G. 1985. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol Biochem*, **17**(6): 837~842
- Chander K, Brookes PC. 1995. Microbial biomass dynamics following addition of metal enriched sewage sludge to a sandy loam. *Soil Biol Biochem*, **27**: 1409~1421
- Chen H-M (陈怀满). 1996. Heavy Metal Contamination in Soil-Plant System. Beijing: Science Press. 112~189(in Chinese)
- Chen S-H (陈素华), Sun T-H (孙铁珩), Zhou Q-X (周启星). 2002. Interaction between microorganisms and heavy metals and its application. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **13**(2): 239~242 (in Chinese)
- Chien HF, Kao CH. 2000. Accumulation of ammonium in rice leaves in response to excess cadmium. *Plant Sci*, **156**: 111~115
- Guan S-Y (关松荫). 1987. Soil Enzyme and Its Research Methods. Beijing: Agricultural Press. 274~339(in Chinese)
- Huang C-Y (黄昌勇). 2000. Soil Science. Beijing: China Agricultural Press. 192~214(in Chinese)
- Huang CY, Khan KS, Xie ZM. 1998. Effects of cadmium lead and their interaction on the size of microbial biomass in a red soil. *Soil Environ*, **1**(3): 227~236
- Institute of Soil Science, CAS (中国科学院南京土壤研究所). 1980. Methods on Soil Physics and Chemistry. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press. 410~490(in Chinese)
- Kang HJ, Freeman C. 1999. Phosphates and arylsulphatase activities in wetland soils: Annual variation and controlling factors. *Soil Biol Biochem*, **31**: 449~454
- Lose S, Tabatabai MA. 1999. Urease activity of microbial biomass in soils. *Soil Biol Biochem*, **31**: 205~211
- Liao M (廖敏), Huang C-Y (黄昌勇). 2002. Microbial biomass affected by cadmium with the occurrence of organic acids in red soil. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **13**(3): 300~302(in Chinese)
- Long J (龙健), Huang C-Y (黄昌勇), Teng Y (滕应), et al. 2003. Microbial eco-characteristics of reclaimed mining wasteland in red soil area of Southern China I. Effects on soil microbial activity. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **14**(11): 1925~1928(in Chinese)
- Lu L-K (鲁如坤). 1999. Assay on Agro-Chemical Properties of Soil. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press. 74~77(in Chinese)
- Marzadori C. 1996. Effects of lead pollution on different soil enzyme activities. *Biol Fert Soils*, **22**: 53~58
- Moreno JL, Hernandez T, Perez A, et al. 2002. Toxicity of cadmium to soil microbial activity: Effect of sewage sludge addition to soil on the ecological dose. *Appl Soil Ecol*, **21**: 149~158
- Salt DE, Prince RC, Pickering IJ, et al. 1995. Mechanisms of cadmium mobility and accumulation in Indian Mustard. *Plant Physiol*, **109**: 1427~1443
- Scandalios JG. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutases. *Plant Physiol*, **101**: 7~12
- Shah K, Kumar RG, Verma S. 2001. Effect of cadmium on lipid peroxidation, superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Sci*, **161**: 1135~1144
- Tyler G. 1998. Heavy metals in soil biology and biochemistry. In: Paul EA, Ladd JN, eds. *Soil Biochemistry*. New York: Marcel Dekker.
- Van Assche F, Clijsters H. 1990. Effects of metal on enzyme activity in plants. *Plant Cell Environ*, **13**: 195~206
- Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol Biochem*, **19**: 703~707
- Xu J-M (徐建民), Huang C-Y (黄昌勇), Elghamry AM, et al. 2000. Effect of sulfonylurea herbicides on biological indicators characterizing the soil quality. *China Environ Sci (中国环境科学)*, **20**(6): 491~494(in Chinese)
- Yao HY, Xu JM, Huang CY. 2003. Substrate utilization pattern, biomass and activity of microbial communities in a sequence of heavy metal-polluted paddy soils. *Geoderma*, **115**: 139~148
- Yu S (俞慎), He Z-L (何振立), Huang C-Y (黄昌勇). 2003. Advance in the research of soil microorganisms and their mediated process under heavy metal stress. *Chin J Appl Ecol (应用生态学报)*, **14**(4): 618~622(in Chinese)
- Zhang X-Z (张宪政). 1987. Research Methods on Crop Physiology. Beijing: Agricultural Press. 274~339(in Chinese)

作者简介 曾路生,男,1966年生,博士生.主要从事环境生物与生物化学研究,发表论文 12 篇. Tel: 0571-86022312; E-mail: Zengls@163.com