

## 铅污染对土壤微生物及酶活性的影响

洪春来<sup>1</sup>, 贾彦博<sup>2</sup>, 王润屹<sup>1</sup>, 杜培生<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>浙江省嘉兴市农业科学研究院, 嘉兴 314016; <sup>2</sup>杭州市质量技术监督检测院, 杭州 310009;

<sup>3</sup>东阳市江北街道办事处, 东阳 322134)

**摘要:**为筛选出土壤铅污染的敏感微生物及酶学指标,通过室内培养试验,该文研究了土壤铅污染对土壤微生物基础呼吸及土壤脲酶、脱氢酶、酸性磷酸酶的影响,结果表明,随着土壤铅添加浓度的提高,土壤微生物基础呼吸呈现出上升的趋势,土壤脲酶则随着铅浓度的增加呈现出不断下降趋势,土壤脱氢酶活性则在低浓度下上升而随着添加浓度的进一步提高迅速降低,可见,这两种酶对土壤铅毒害反应灵敏,可以作为土壤铅污染评价的指标,而土壤磷酸酶则对铅浓度的变化没有表现出明显的统计规律性,不适宜作为土壤铅污染评价的酶学指标。

**关键词:**铅;土壤微生物;土壤酶;评价指标

**中图分类号:**X53 **文献标识码:**A

### The Effect on Soil Microbe and Enzymes of Lead Pollution

Hong Chunlai<sup>1</sup>, Jia Yanbo<sup>2</sup>, Wang Runyi<sup>1</sup>, Du Peisheng<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>Jiaying institute of Agricultural Science, Jiaying 314016;

<sup>2</sup>nstitute of Calibration and Testing for Quality and Technical Supervision, Hangzhou 310009;

<sup>3</sup>Jiang Bei Subdistrict, Dongyang 322134)

**Abstract:** To sift a optimum and sensitive evaluating indicator of soil Pb pollution. The soil incubation experiment was carried out to study the effect on soil microbe and enzymes under Pb addition. The results showed that there are discrepant effects of heavy metals on soil enzymes. Soil basal respiration increased with increasing Pb loading, however, the activity of urease markedly declined with increasing Pb loading. Dehydrogenase activity slightly increased at low level of Pb and decreased at higher level, which indicated that the two kinds of soil enzymes activity is feasibility to act as index of Pb pollution. There are not statistical regularity between the soil phosphatase activity and Pb addition, which shows that soil phosphatase is not available to act as an index to evaluate Pb pollution.

**Key words:** lead, microbe, soil enzymes, index

近年来用土壤酶作为判断污染物对生物潜在毒性的手段引起了国内外学者的关注,用其监测重金属污染的方法目前也已有较多的研究,而且此方法被证实与传统方法相比具有操作简便,简明快捷、灵敏等优点<sup>[1-3]</sup>。但该方法的研究仍处于起步阶段,尚未形成完成的体系,已有的研究结果也不完全一致,距离实际的应用还有很大的差距。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>[4]</sup>,这必然导致重金属与土壤酶之间关系的极大的不同,因此,笔者参考前人的研究结果,选择土壤微生物基础呼吸、土壤脲酶、脱氢酶、酸性磷酸酶等作为土壤重金属铅污染的评价指标的可能性。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验时间、地点

室内培养和分析测定试验于2006年9~11月在浙

**基金项目:**嘉兴市科技计划项目“土壤-蔬菜系统中重金属污染的预警与监控机制”(2005AY3001);国家重点基础研究规划项目“化学污染物在主要农田生态系统中的生物-环境行为与调控”(2002CB410800)。

**第一作者简介:**洪春来,男,1976年出生,博士,主要从事环境污染防治与农产品安全等方面的研究工作。通信地址:314016浙江省嘉兴市秀洲区双桥嘉兴市农业科学研究院。Tel: 0573-83778004, E-mail: spring76212@yahoo.com.cn。

**收稿日期:**2008-09-10, 修回日期:2008-10-09。

江省嘉兴市农业科学研究院内进行。

### 1.2 供试土壤

供试土壤为青紫泥, 采自浙江省嘉兴市农业科学研究院试验大棚, 其基本理化性质见表 1。

表 1 供试土壤的基本理化性状

主要物理化学组成	青紫泥
有机质/%	40.09
全氮/%	00.235
全磷/%	0.0704
碱解氮/(mg·kg <sup>-1</sup> )	128.4
有效磷/(mg·kg <sup>-1</sup> )	17.2
有效钾/(mg·kg <sup>-1</sup> )	126.4
阳离子交换量 CEC/(cmol·kg <sup>-1</sup> )	19.28
全铅/(mg·kg <sup>-1</sup> )	47.3
pH	5.91

### 1.3 试验设计

土壤重金属处理水平分别为 CK, 50, 100, 250, 500, 1000, 1500 mg/kg; 用喷雾法逐步混匀, 并调节水分含量至田间最大持水量的 40% 左右, 将混匀后的土壤放入大塑料桶(直径 25 cm、高 30 cm)中, 覆盖保鲜膜保持水分, 定期补水使土壤含水量维持在田间最大持水量的 40% 左右。每个处理重复 3 次。置于温室内培养 1 个月, 使土壤各组间重金属元素达到平衡, 分析土壤基础呼吸强度, 另取土壤自然风干磨细过 60 mm 筛用于土壤酶的测定<sup>[5]</sup>。

### 1.4 测定分析

1.4.1 土壤基础呼吸的测定方法 称 20 g 鲜土于 500 ml 的三角瓶中, 将装有 5 ml 浓度为 1 mol/L NaOH 溶液的小吸收瓶置于三角瓶中, 加盖密封, 25℃ 恒温下培养 24 h, 之后取出 NaOH 吸收瓶, 加入 4 ml 浓度为 0.5 mol/L BaCl<sub>2</sub> 溶液及酚酞指示剂, 用标定好的稀盐酸滴定至无色, 测定吸收的 CO<sub>2</sub>, 即为土壤微生物呼出的 CO<sub>2</sub>。同时做空白对照试验。

1.4.2 土壤脱氢酶的测定 称取风干土样 1.00 g 于 50 ml 的塑料离心管中, 加入 0.50 ml 的 0.5% 葡萄糖溶液, 混匀, 再加入 0.20 ml 的 3% TTC 溶液, 混匀后在 27℃ 的培养箱中暗室培养 24 h。培养完毕加 2 滴浓硫酸终止反应, 加入 10 ml 甲醇, 彻底混匀(盖上盖子, 上下摇动)。而后, 在 2 500 g 下离心 5 min, 将上清液过滤, 在 485 nm 下比色, 记录吸收值。

1.4.3 土壤脲酶的测定 取 10 g 风干土样置于 100 ml 容量瓶中, 用 2 ml 甲苯处理。15 min 后, 往瓶中注入 10 ml 10% 的尿素溶液和 20 ml 柠檬酸盐缓冲液(pH6.7)。仔细混合后, 将瓶在 38℃ 的水恒温箱中放置

3 h。培养结束后, 用热至 38℃ 的水稀释至刻度(甲苯应浮在刻度以上)。摇荡并将悬液过滤。对每一土样, 设置用水代替基质的对照。对整个试验, 进行无土壤基质的对照, 以检验试验的纯度。取 1 ml 滤液置于 50 ml 容量瓶中。用蒸馏水稀释至 10 ml, 然后加入 4 ml 苯酚钠溶液, 并立即加入 3 ml 次氯酸钠溶液。加入每一试剂后, 均将混合物仔细混合。20 min 后, 将混合物的体积稀释至刻度。用 1 cm 的液槽, 在比色计上于波长 578 nm 处测定颜色的深度。靛酚的青色能在 60 min 内保持稳定。

1.4.4 土壤磷酸酶的测定 称取 10 g 土, 置于 100 ml 容量瓶中。加 2 ml 甲苯处理, 加筛塞轻轻摇 15 min。再加入 10 ml 苯二钠和 10 ml 缓冲液(pH6.5), 仔细摇匀后放入恒温箱, 在 37℃ 下培养 24 h。同时对每一土样都设置用水代替基质的对照。用 38℃ 的蒸馏水将容量瓶中混合物稀释至刻度, 再用致密滤纸过滤。取 1 ml 滤液于 100 ml 容量瓶中, 加 5 ml pH9.6 硼酸盐缓冲液, 用蒸馏水稀释至 25 ml, 加 1 ml 氯代二溴对苯醌亚胺试剂, 仔细混匀, 静置 20 min。用蒸馏水将瓶中混合物稀释至刻度, 在波长 578 nm 处测定各样品的消光值。

## 2 结果与分析

### 2.1 重金属铅添加对土壤微生物基础呼吸的影响

图 1 描述了土壤铅添加对土壤微生物基础呼吸作用的影响。由图上可以看出, 随着重金属元素添加浓度的增加, 土壤微生物基础呼吸表现为低浓度下随着重金属浓度的增加, 土壤基础呼吸作用迅速增强, 而随着铅处理浓度进一步提高, 土壤基础呼吸作用缓慢上升并逐渐趋向平稳, 土壤基础呼吸在重金属胁迫下增强作用可能用以满足土壤微生物对重金属产生耐性后的能量需求<sup>[6]</sup>。

### 2.2 重金属铅添加对土壤酶的影响

图 2, 图 3, 图 4 分别反应了土壤铅添加对土壤脱氢酶、土壤脲酶、土壤磷酸酶的影响, 由图可知, 随着重金属添加浓度的增加, 土壤脲酶呈现出不断下降的趋势, 而土壤脱氢酶则在低浓度铅处理下表现为促进作用, 而随着重金属浓度的进一步提高表现为逐渐下降的趋势。土壤磷酸酶则对重金属的添加没有表现出明显的规律性。研究发现, 铅胁迫对土壤脲酶、脱氢酶、磷酸酶的影响与其它一些研究者的结果较为一致<sup>[7]</sup>。胡荣桂(1990)的试验发现, 向红壤中投入 Pb 的质量分数为 750 mg/kg 时对脲酶有显著抑制作用, 而低浓度 Pb 则有激活作用<sup>[8]</sup>。沈桂琴等的研究显示 Pb 对土壤脲酶、转化酶、磷酸酶和蛋白酶活性有明显的抑制作用, 同时发现“抗性酶活性”现象, 认为当重金属在土壤达到一定质量分数时, 大部分微生物死亡, 而一小部分微生

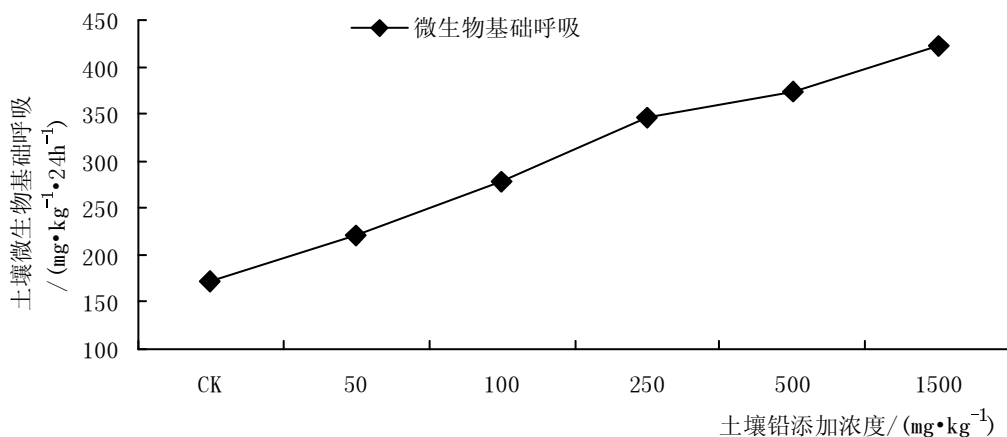


图1 土壤铅添加对微生物基础呼吸的影响

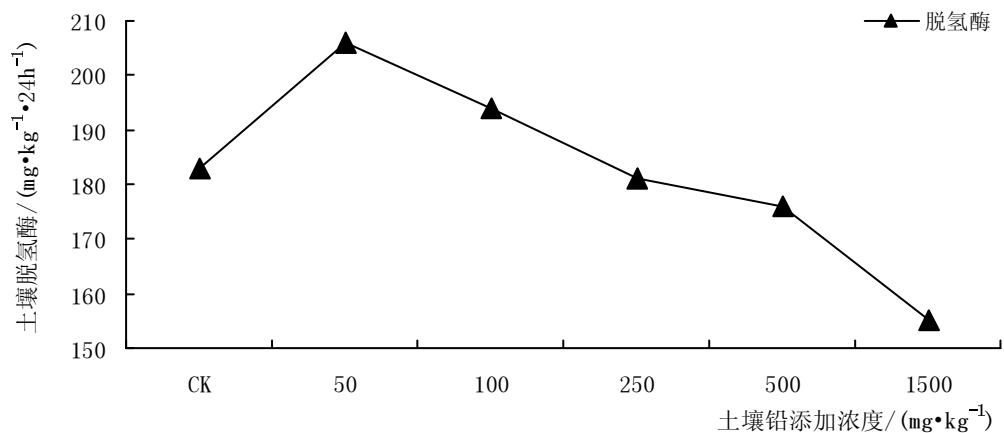


图2 土壤铅添加对脱氢酶的影响

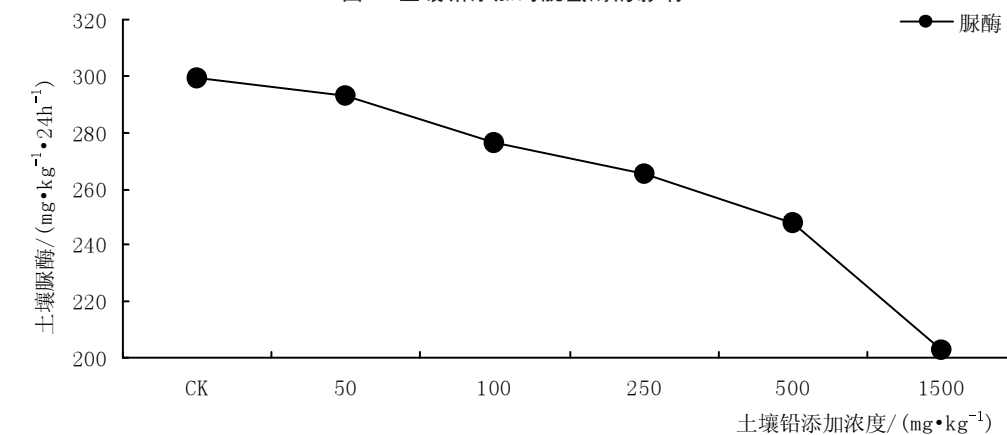


图3 土壤铅添加对脲酶的影响

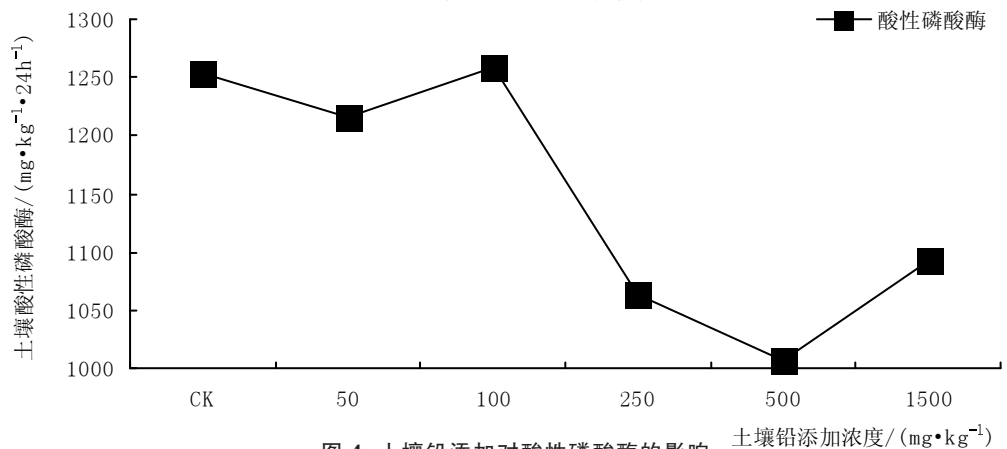


图4 土壤铅添加对酸性磷酸酶的影响

物在有毒物质污染下能生存下来,自行繁殖,从而产生抗性酶活性,表观上酶活性值降低后又增大,有时还会出现多个抗性峰<sup>[9]</sup>。如本研究中的土壤脱氢酶在铅添加浓度为 50 mg/kg 的时候出现了一次抗性峰,而土壤磷酸酶分别在铅添加浓度为 100 mg/kg 和 500 mg/kg 的时各出现一次抗性峰。

### 3 讨论与结论

铅是造成土壤重金属污染的重要元素,具生化毒性。由本试验结果可以看出,土壤脲酶、土壤脱氢酶对重金属的浓度增加表现较为敏感,适于作为土壤重金属污染评价的敏感指标,而土壤磷酸酶则对土壤重金属的污染反映不够灵敏,不适于作为土壤重金属污染评价的敏感指标。统计分析还表明,土壤脲酶、脱氢酶与土壤铅添加量呈现出显著的负相关性,相关系数分别达到 -0.97, -0.88。根据《土壤环境质量标准》<sup>[10]</sup>规定当土壤酶活性的抑制率大于 25% 时,脲酶、酸性磷酸酶的临界浓度分别为 1066 mg/kg 和 2120 mg/kg; 这个结果与其他研究者所得出的土壤酶监测指标差异较大<sup>[3,4]</sup>,其原因主要是由于酶类型、土壤性质等不同而导致的。特别是对于土壤体系,由于其中的物理、化学、生物及重金属等成分间的关系十分复杂,目前的工作还有待于深入开展。

另一方面,研究还发现,在同种土壤(青紫泥)上,用微生物及酶学指标推算得到的土壤铅的临界值与用其它方法得到的铅临界指标也存在很大的差异, Hong et al 在盆栽小白菜条件下分别以植物毒性临界值(蔬菜生物量下降 10%) 和蔬菜铅含量的最大允许限值作为评价指标得到土壤中铅的临界浓度分别为 900

mg/kg 和 537 mg/kg<sup>[11]</sup>, 均明显低于本研究结果的浓度值。可见,土壤微生物和酶作为评价土壤铅污染指标的敏感性并没有在本研究中得到充分的验证,当然,这是由于试验研究中所选用的土壤微生物和酶的种类毕竟还十分有限,随着对其它更多土壤微生物和酶学指标的广泛筛选,其作为土壤铅污染评价指标的优势才可能进一步得到体现。

### 参考文献

- [1] Brookes P C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biol Fertil Soils*, 1995, 19: 269-279.
- [2] Kizilkaya R. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavymetals [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2004, 40: 95-102.
- [3] 李江遐, 杨肖娥, 何振立, 等. 铅污染水稻土的微生物活性. *农业环境科学学报*, 2006, 25(5): 1198-1201.
- [4] 张一平, 朱铭莪, 和文祥. 土壤酶与重金属关系的研究现状. *土壤与环境*, 2000, 9(2): 139-142.
- [5] 关荫松. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [6] Giller K E, Witter E, Mc Grath S P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30: 1389-1414.
- [7] 史长青. 重金属污染对水稻土酶活性的影响. *土壤通报*, 1995, 26(1): 34-35.
- [8] 胡荣桂, 李玉林, 彭佩钦. 重金属 Cd、Pb 对土壤生化活性影响的初步研究. *农业环境保护*, 1990, 9(4): 6-9.
- [9] 沈桂琴, 廖瑞章. 重金属、非重金属、矿物油对土壤酶活性的影响. *农业环境保护*, 1987, 6(3): 24-27.
- [10] 夏家淇. 土壤环境质量标准详解[M]. 北京: 科学出版社, 1996: 84-85.
- [11] Hong C L, Jia Y B, Yang X E, et al. Assessing lead thresholds for phytotoxicity and potential dietary toxicity in selected vegetable crops. *Bull Environ Contam Toxicol*. 2008, 80: 356-361.