

Cr³⁺、Ni²⁺单一及复合污染对水稻土酶活性的影响

任宗玲¹, 黄丽芸², 李永涛¹, 戴 军¹

(1 华南农业大学 资源环境学院, 广东 广州 510642; 2 广东省农业科学院 科技情报研究所, 广东 广州 510640)

摘要:在室内恒温培养条件下,研究了外源 Cr³⁺、Ni²⁺单一及复合污染对水稻土脲酶、酸性磷酸酶及过氧化氢酶活性的影响.结果表明,低浓度 Ni²⁺处理对脲酶、酸性磷酸酶有不同程度的激活作用,而对过氧化氢酶起一定的抑制作用;中、高浓度 Ni²⁺及各污染水平的 Cr³⁺、Cr-Ni复合污染处理对3种酶活性均表现为抑制作用;Ni²⁺处理对土壤酶活性的抑制效应顺序为脲酶>酸性磷酸酶>过氧化氢酶;Cr³⁺和Cr-Ni复合污染处理对脲酶活性的抑制效应最大,对过氧化氢酶、酸性磷酸酶活性的抑制效应相似;Cr-Ni复合污染处理对脲酶、酸性磷酸酶主要表现为协同作用,对过氧化氢酶则主要在污染初期表现为协同作用.

关键词:Cr³⁺; Ni²⁺; 单一污染; 复合污染; 水稻土; 酶活性

中图分类号:X825

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2010)04-0016-06

Effects of Single and Combined Pollution of Cr³⁺ and Ni²⁺ on Soil Enzyme Activities in Paddy Soil

REN Zong-ling¹, HUANG Li-yun², LI Yong-tao¹, DAI Jun¹

(1 College of Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2 Institute of Scientific and Technical Information, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

Abstract:The effects of single and combined pollution of Cr³⁺ and Ni²⁺ on the activities of urease, acid phosphatase and catalase in paddy soil were investigated through the lab-scale experiment by artificially controlling temperature and humidity. The results showed that urease and acid phosphatase activities were stimulated under low added Ni²⁺ concentration in single Ni²⁺ treatments, while the activities of the three enzymes in the rest treatments were all inhibited. Ni²⁺ inhibited the enzyme activities in the order of urease > acid phosphatase > catalase, while the enzyme activities were inhibited by Cr³⁺ and Cr-Ni combined pollution in the following order of urease > catalase ≈ acid phosphatase. The characteristics of Cr-Ni combined pollution for urease and acid phosphatase mainly exhibited synergistic effect; However, it largely pointed out synergistic effect for catalase in the early period of culture.

Key words:Cr³⁺; Ni²⁺; single pollution; combined pollution; paddy soil; enzyme activity

Cr³⁺和Ni²⁺是我国农田土壤环境质量评价的8项重金属控制指标中的2项指标^[1]. Cr³⁺和Ni²⁺都是人体和动物必需的微量元素, Ni²⁺还是某些高等植物的必需营养元素,但同时Ni²⁺也是一种致癌的极毒元素,高浓度的Cr³⁺、Ni²⁺均会对生物体产生毒害作用^[2-3]. 土壤中Cr、Ni的主要来源包括采矿、冶

炼、电镀等行业排放的废气沉降、施用污泥及化肥、污灌等^[4-5]. 随着我国工农业迅速发展,其含量在区域农田土壤环境中呈增加趋势^[6].

重金属进入土壤后,会对土壤生态造成不可逆的破坏,使土壤中原有的生物群落、生理生化过程发生变化^[7]. 土壤酶是由土壤微生物的活动、植物根系

收稿日期:2009-09-09

作者简介:任宗玲(1984—),女,博士研究生;通信作者:戴 军(1958—),男,教授,博士;E-mail:jundai@scau.edu.cn

基金项目:法国-中国先进研究计划资助项目(PRA E03-02);广东省自然科学基金(032255);华南农业大学校长基金(4200-K05181);农业部生态农业重点开放实验室开放课题(2009K14)

分泌物和动植物残体腐解过程中释放到土壤中的一类具有催化能力的生物活性物质,它与土壤微生物一起共同推动土壤代谢过程^[8].土壤酶活性与土壤微生物活性关系密切,其活性大小可敏感地反映土壤中生化反应的方向和程度^[9].有研究表明土壤酶的活性对环境胁迫反应高度敏感,已成为指示土壤环境状况最敏感的微生物参数之一^[10].目前,国内外就重金属元素复合污染对土壤酶活性的影响进行了广泛的研究,但这些研究多是关于Hg、Cd、Pb、Cu等重金属的复合污染,且多是基于旱地土壤重金属污染的酶效应研究^[11-12].

本文通过实验室内培养试验,研究了Cr³⁺、Ni²⁺单一及复合污染下水稻土中脲酶、酸性磷酸酶及过氧化氢酶活性的动态变化,初步探讨了Cr³⁺、Ni²⁺及其复合污染对不同土壤酶产生的不同效应,寻求表征水稻土Cr³⁺、Ni²⁺单一及复合污染的指示酶,以期评价稻田土壤重金属污染环境质量和确立稻田土壤重金属Cr³⁺、Ni²⁺污染的早期预警指标提供依据.

1 材料与方法

1.1 供试土壤

河流冲积物上发育的水稻土,采自华南农业大学教学农场试验田.在30 m × 30 m范围内选择5个代表性采样点,每样点采集0~20 cm的新鲜土壤10 kg,混合均匀.样品自然风干后,研磨过2 mm筛备用.土壤的基本理化性质为:pH 5.27,有机质13.26 g · kg⁻¹,总氮1.44 g · kg⁻¹,CEC 5.06 cmol · kg⁻¹,总铬26.60 mg · kg⁻¹,总镍15.70 mg · kg⁻¹,粘粒(<0.002 mm)质量分数38.70%.

1.2 研究方法

Cr³⁺、Ni²⁺单一处理各设置4个水平,分别为0(CK)、100(Cr100或Ni100)、250(Cr250或Ni250)和500(Cr500或Ni500)mg · kg⁻¹;Cr-Ni复合污染处理为Cr100+Ni100、Cr100+Ni250、Cr100+Ni500、Cr250+Ni100、Cr250+Ni250、Cr250+Ni500、Cr500+Ni100、Cr500+Ni250、Cr500+Ni500,以纯Cr、Ni计,每处理重复4次.重金属Cr³⁺、Ni²⁺以硝酸盐形态提供.

称取100 g过2 mm筛的供试土壤,装于500 mL的密封塑料瓶中.根据处理要求向土壤中加入不同浓度的Cr³⁺、Ni²⁺溶液,充分混匀后调节土壤水分至60%饱和含水量.平衡稳定24 h后,将密封塑料瓶置于(28 ± 1) °C的恒温培养箱中,用称量法每隔3 d调节1次土壤水分以保持土壤湿度.整个培养试验持续168 d,分别于第7、28、84、168 d取样测定土壤脲

酶、酸性磷酸酶和过氧化氢酶活性.

1.3 土壤酶活性的测定

土壤脲酶采用苯酚钠比色法测定,酶活性以37 °C恒温培养24 h后1 g土壤中NH₃-N的毫克数表示;酸性磷酸酶采用磷酸苯二钠比色法测定,酶活性以37 °C恒温培养24 h后1 g土壤中酚的毫克数表示;过氧化氢酶采用KMnO₄容量法测定,酶活性以每克土壤消耗的0.1 mol · L⁻¹ KMnO₄毫升数表示;具体方法参见文献[8,13].

1.4 数据统计分析

采用酶活性抑制率(The percentage of inhibition, PI)定量描述一定浓度重金属对土壤酶的抑制作用^[14]:PI = [(对照样品的土壤酶活性 - 处理样品的土壤酶活性) / 对照样品的土壤酶活性] × 100%.

为了解释Cr³⁺、Ni²⁺共存对土壤酶活性是否存在交互作用,采用下式计算酶活性(U)的净变化量(ΔU)^[15]:ΔU = (U_{Cr+Ni} - U_{CK}) - (U_{Cr} - U_{CK}) - (U_{Ni} - U_{CK}),式中:U_{Cr+Ni}为一定浓度Cr³⁺、Ni²⁺复合处理土壤酶活性;U_{Cr}和U_{Ni}为相应浓度的Cr³⁺和Ni²⁺单独处理土壤酶活性;U_{CK}为对照处理的土壤酶活性.如果ΔU = 0,则Cr³⁺和Ni²⁺之间表现为加和作用;ΔU > 0,则Cr³⁺和Ni²⁺之间表现为协同作用;ΔU < 0,则Cr³⁺和Ni²⁺之间表现为拮抗作用.

试验数据采用Microsoft Excel 2003处理,利用SPSS 16.0进行方差分析.

2 结果与分析

2.1 Cr³⁺、Ni²⁺单一及复合污染对水稻土脲酶活性的影响

由表1可知,各处理的土壤脲酶活性随着培养时间的延长而呈逐步升高的趋势;而与对照相比,各浓度Cr³⁺、Ni²⁺单一或复合处理后土壤脲酶活性抑制率随着培养时间的延长呈增加的趋势. Cr³⁺和Ni²⁺单一污染处理中,与CK相比,除了低浓度镍(100 mg · kg⁻¹)对水稻土脲酶活性有一定激活作用之外,其余各污染水平的重金属均对脲酶活性产生不同程度的抑制作用,其中大多数处理的脲酶活性受到的抑制作用达显著水平.脲酶活性在整个培养期内随着重金属含量增加而降低,且均在500 mg · kg⁻¹ Cr³⁺和Ni²⁺污染处理下第7 d达到最低,分别为0.05和0.09 mg · g⁻¹,抑制率在第84 d达到最大值. Cr-Ni复合污染中,与CK相比,整个培养期中各处理的土壤脲酶活性均显著降低,并在Cr500+Ni500处理下第28 d达到最低值0.02 mg · g⁻¹;抑制率达到最大.在相同重金属浓度和相同培养时间

下,脲酶活性抑制率总体呈现 Cr - Ni 复合污染 > 污染水平下, Cr - Ni 复合污染比单一污染具有更高的 Cr^{3+} 单一污染 > Ni^{2+} 单一污染的规律,反映出在相同毒性,而单一污染条件下呈现 Cr^{3+} 的毒性大于 Ni^{2+} .

表1 水稻土不同重金属处理的脲酶活性¹⁾

Tab.1 Urease activity in paddy soil with different levels of heavy metal treatments

处理	7 d		28 d		84 d		168 d	
	酶活性/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	抑制率 (PI)/%	酶活性/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	抑制率 (PI)/%	酶活性/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	抑制率 (PI)/%	酶活性/ ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	抑制率 (PI)/%
CK	0.16 ± 0.01abc	0.00	0.19 ± 0.01b	0.00	0.47 ± 0.05a	0.00	0.55 ± 0.00a	0.00
Cr100	0.17 ± 0.02a	-6.25	0.16 ± 0.01bc	15.79	0.27 ± 0.07bc	42.55	0.33 ± 0.02bc	40.00
Cr250	0.10 ± 0.03f	37.50	0.16 ± 0.02c	15.79	0.27 ± 0.06bc	42.55	0.32 ± 0.01bc	41.82
Cr500	0.05 ± 0.00h	68.75	0.10 ± 0.01d	47.37	0.10 ± 0.08f	78.72	0.26 ± 0.04cd	52.73
Ni100	0.17 ± 0.01ab	-6.25	0.25 ± 0.02a	-31.58	0.27 ± 0.06b	42.55	0.64 ± 0.18a	-16.36
Ni250	0.15 ± 0.02bcd	6.25	0.18 ± 0.02bc	5.26	0.28 ± 0.10b	40.43	0.35 ± 0.10bc	36.36
Ni500	0.09 ± 0.01fg	43.75	0.16 ± 0.00c	15.79	0.24 ± 0.02bcd	48.94	0.30 ± 0.11bc	45.45
Cr100 + Ni100	0.14 ± 0.02cde	12.50	0.17 ± 0.00bc	10.53	0.25 ± 0.04bc	46.81	0.34 ± 0.08bc	38.18
Cr100 + Ni250	0.15 ± 0.02bcd	6.25	0.15 ± 0.01c	21.05	0.25 ± 0.01bc	46.81	0.35 ± 0.02bc	36.36
Cr100 + Ni500	0.12 ± 0.01e	25.00	0.10 ± 0.05d	47.37	0.18 ± 0.04cde	61.70	0.40 ± 0.07b	27.27
Cr250 + Ni100	0.14 ± 0.00de	12.50	0.11 ± 0.04d	42.11	0.26 ± 0.04bc	44.68	0.27 ± 0.05cd	50.91
Cr250 + Ni250	0.12 ± 0.01e	25.00	0.11 ± 0.02d	42.11	0.22 ± 0.07bcde	53.19	0.27 ± 0.01cd	50.91
Cr250 + Ni500	0.12 ± 0.01e	25.00	0.06 ± 0.01e	68.42	0.21 ± 0.02bcde	55.32	0.32 ± 0.03bc	41.82
Cr500 + Ni100	0.09 ± 0.01fg	43.75	0.10 ± 0.02d	47.37	0.16 ± 0.02def	65.96	0.28 ± 0.01cd	49.09
Cr500 + Ni250	0.07 ± 0.02gh	56.25	0.03 ± 0.00f	84.21	0.20 ± 0.02bcde	57.45	0.18 ± 0.02de	67.27
Cr500 + Ni500	0.07 ± 0.02gh	56.25	0.02 ± 0.01f	89.47	0.15 ± 0.02ef	68.09	0.16 ± 0.01e	70.91

1) 同列数据后凡是有一个小写字母相同者,表示在 0.05 水平差异不显著($n=4$, Duncan's 法).

由表 2 可知,第 7 d,除 Cr100 + Ni100、Cr100 + Ni250 处理的 $\Delta U < 0$ 外,其余复合污染处理均表现出 Cr^{3+} 与 Ni^{2+} 间存在较弱的协同作用,即 Cr^{3+} 和 Ni^{2+} 同时存在时的毒性略大于它们以相同浓度单独存在时的毒性之和;第 28 d,几乎所有复合污染处理的 ΔU 均小于 0,且 ΔU 较小,说明 Cr^{3+} 与 Ni^{2+} 复合污染表现较弱的拮抗作用,即 Cr^{3+} 和 Ni^{2+} 同时存在时的毒性稍小于它们以相同浓度单独存在时的毒性

表2 不同培养时间下 Cr - Ni 复合处理的水稻土脲酶活性的净变化量

Tab.2 Net change of urease activity in paddy soil with Cr-Ni combined treatment in different incubation time

处理	脲酶活性净变化量(ΔU)/($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)			
	7 d	28 d	84 d	168 d
Cr100 + Ni100	-0.04	-0.05	0.18	-0.08
Cr100 + Ni250	-0.01	0.00	0.17	0.22
Cr100 + Ni500	0.02	-0.03	0.14	0.32
Cr250 + Ni100	0.03	-0.11	0.19	-0.14
Cr250 + Ni250	0.03	-0.04	0.14	0.15
Cr250 + Ni500	0.09	-0.07	0.17	0.25
Cr500 + Ni100	0.03	-0.06	0.26	-0.07
Cr500 + Ni250	0.03	-0.06	0.29	0.12
Cr500 + Ni500	0.09	-0.05	0.28	0.15

之和;第 84 d,所有复合污染处理均表现出强烈的协同作用;而在第 168 d,除低浓度 Ni^{2+} ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的 3 个复合污染处理 $\Delta U < 0$,其余复合污染处理仍表现出较强的协同作用.

2.2 Cr^{3+} 、 Ni^{2+} 单一及复合污染对水稻土酸性磷酸酶活性的影响

结果显示(表 3),不同 Cr^{3+} 、 Ni^{2+} 处理下,水稻土酸性磷酸酶活性变化情况与脲酶相似.大多数处理的土壤酸性磷酸酶活性随着培养时间的延长而增加,第 84 d 达到最大值后再降低. Cr^{3+} 和 Ni^{2+} 单一污染中,除了低浓度 Ni^{2+} ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 对水稻土酸性磷酸酶活性在污染初期有不显著的激活作用之外,其余大部分污染水平的重金属均对酶活性产生一定的抑制作用,且酶活性在整个培养期内随着重金属含量增加而降低;酸性磷酸酶活性均在 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cr^{3+} 和 Ni^{2+} 污染水平下受到的抑制作用最大,酶活性分别在第 7 和 168 d 达到最低值 1.47 和 $2.07 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Cr - Ni 复合污染中,与 CK 相比,除 Cr100 + Ni500 处理第 168 d 的酸性磷酸酶活性显著增加外,各处理的酶活性均不同程度的降低,并在 Cr500 + Ni500 处理下第 168 d 达到最低值 $1.01 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$,抑制率也达到最大.在相同重金属浓度和相同培养时间下,酸性磷酸酶活性抑制率总体也呈

现 Cr-Ni 复合污染 > Cr³⁺ 单一污染 > Ni²⁺ 单一污染 的规律. 对比表 1 和表 3 可发现, 在相同重金属处理和相同培养时间下, 水稻土脲酶活性抑制率绝大部分都比酸性磷酸酶活性抑制率高, 这表明 Cr³⁺、Ni²⁺ 对水稻土脲酶的抑制作用强于酸性磷酸酶, 即土壤脲酶对土壤中的 Cr³⁺ 和 Ni²⁺ 胁迫更加敏感.

表3 水稻土不同重金属处理的酸性磷酸酶活性¹⁾

Tab.3 Acid phosphatase activity in paddy soil with different levels of heavy metal treatments

处理	7 d		28 d		84 d		168 d	
	酶活性/ (mg · g ⁻¹)	抑制率 (PI)/%	酶活性/ (mg · g ⁻¹)	抑制率 (PI)/%	酶活性/ (mg · g ⁻¹)	抑制率 (PI)/%	酶活性/ (mg · g ⁻¹)	抑制率 (PI)/%
CK	2.85 ± 0.28ab	0.00	2.72 ± 0.08ab	0.00	4.58 ± 0.20a	0.00	3.45 ± 0.23b	0.00
Cr100	2.85 ± 0.32ab	0.00	2.83 ± 0.09a	-4.04	4.33 ± 1.03ab	5.46	3.22 ± 0.15b	6.67
Cr250	1.79 ± 0.26cd	37.19	2.31 ± 0.22c	15.07	3.72 ± 0.64bcd	18.78	3.21 ± 0.12b	6.96
Cr500	1.47 ± 0.28d	48.42	2.06 ± 0.34d	24.26	2.88 ± 0.34efg	37.12	3.15 ± 0.42b	8.70
Ni100	3.40 ± 1.45a	-19.30	2.79 ± 0.15a	-2.57	4.09 ± 0.47abc	10.70	3.26 ± 0.56b	5.51
Ni250	2.37 ± 0.14bc	16.84	2.79 ± 0.03a	-2.57	3.18 ± 0.16defg	30.57	2.09 ± 0.34c	39.42
Ni500	2.42 ± 0.39bc	15.09	2.63 ± 0.08ab	3.31	3.11 ± 0.19defg	32.10	2.07 ± 0.35c	40.00
Cr100 + Ni100	2.61 ± 0.22b	8.42	2.75 ± 0.10ab	-1.10	3.76 ± 0.59bcd	17.90	3.21 ± 0.19b	6.96
Cr100 + Ni250	2.42 ± 0.24bc	15.09	2.69 ± 0.23ab	1.10	3.45 ± 0.29cdef	24.67	2.98 ± 0.49b	13.62
Cr100 + Ni500	2.35 ± 0.17bc	17.54	2.60 ± 0.08ab	4.41	3.63 ± 0.19bcde	20.74	4.13 ± 0.28a	-19.71
Cr250 + Ni100	2.46 ± 0.07bc	13.68	2.68 ± 0.07ab	1.47	3.27 ± 0.30defg	28.60	3.13 ± 0.39b	9.28
Cr250 + Ni250	2.63 ± 0.08b	7.72	2.50 ± 0.05bc	8.09	3.15 ± 0.37defg	31.22	2.39 ± 0.70c	30.72
Cr250 + Ni500	2.38 ± 0.07bc	16.49	2.37 ± 0.09c	12.87	3.27 ± 0.29defg	28.60	3.17 ± 0.29b	8.12
Cr500 + Ni100	1.54 ± 0.06d	45.96	2.36 ± 0.03c	13.24	3.00 ± 0.54defg	34.50	3.33 ± 0.63b	3.48
Cr500 + Ni250	1.75 ± 0.26cd	38.60	2.01 ± 0.21d	26.10	2.63 ± 0.38fg	42.58	1.39 ± 0.42d	59.71
Cr500 + Ni500	1.34 ± 0.28d	52.98	1.58 ± 0.17e	41.91	2.49 ± 0.88g	45.63	1.01 ± 0.29d	70.72

1) 同列数据后凡是有一个小写字母相同者, 表示在 0.05 水平差异不显著 ($n=4$, Duncan's 法).

由表 4 可知, 第 7 d, 除小部分复合污染处理的 $\Delta U < 0$, 表现出一定的拮抗作用外, 大多数复合污染处理表现出 Cr³⁺ 与 Ni²⁺ 间存在不同程度的协同作用; 第 28 d, 除 250 mg · kg⁻¹ Cr³⁺ 的 3 个复合污染处理及 Cr100 + Ni100 处理仍表现出协同作用外, 其余处理 $\Delta U < 0$, 表现出一定的拮抗作用; 第 84 和 168 d, 绝大部分的复合污染处理均表现出强烈的协同作用.

表4 不同培养时间下 Cr-Ni 复合处理的水稻土酸性磷酸酶活性的净变化量

Tab.4 Net change of acid phosphatase activity in paddy soil with Cr-Ni combined treatment in different incubation time

处理	酸性磷酸酶活性净变化量(ΔU)/(mg · g ⁻¹)			
	7 d	28 d	84 d	168 d
Cr100 + Ni100	-0.79	-0.15	-0.08	0.18
Cr100 + Ni250	0.05	-0.21	0.52	1.12
Cr100 + Ni500	-0.07	-0.14	0.77	2.29
Cr250 + Ni100	0.12	0.30	0.04	0.11
Cr250 + Ni250	1.32	0.12	0.83	0.54
Cr250 + Ni500	1.02	0.15	1.02	1.34
Cr500 + Ni100	-0.48	0.23	0.61	0.37
Cr500 + Ni250	0.76	-0.12	1.15	-0.40
Cr500 + Ni500	0.30	-0.39	1.08	-0.76

2.3 Cr³⁺、Ni²⁺ 单一及复合污染对水稻土过氧化氢酶活性的影响

如表 5 所示, 与 CK 相比, 整个培养期中, 不同污染处理对过氧化氢酶都表现出不同程度的抑制作用, 且污染处理的酶活性抑制率基本均在第 84 d 达到最低. Cr³⁺ 和 Ni²⁺ 单一污染中, 各处理的土壤过氧化氢酶活性均随着培养时间的延长而增加; 与 CK 相比, 除第 84 d, 其余培养期内过氧化氢酶活性大体均随着重金属含量增加而逐渐降低; 酶活性均在 500 mg · kg⁻¹ Cr³⁺ 和 Ni²⁺ 污染水平下第 7 d 达到最低值, 分别为 0.50 和 0.65 mL · g⁻¹, 抑制率分别在第 7 和 28 d 达到最大值. Cr-Ni 复合污染中, 100 mg · kg⁻¹ Cr³⁺ 的复合污染处理过氧化氢酶活性随着培养时间的延长而增加, 而 250、500 mg · kg⁻¹ Cr³⁺ 的复合污染处理过氧化氢酶活性则呈现出逐渐增加至第 84 d 达到最大值后再下降的趋势. Cr-Ni 复合污染中, 过氧化氢酶活性在 Cr500 + Ni500 处理下第 168 d 达到最低值 0.13 mL · g⁻¹, 抑制率也达到最大. 在相同重金属浓度和相同培养时间下, 过氧化氢酶活性抑制率同样呈现 Cr-Ni 复合污染 > Cr³⁺ 单一污染 > Ni²⁺ 单一污染的规律. 与表 1 和表 3 对比

发现,相同培养时间下, Cr^{3+} 单一污染和Cr-Ni复合污染处理水稻土过氧化氢酶活性抑制率几乎都比脲酶低,与酸性磷酸酶活性相似,这表明3种土壤酶中,脲酶对土壤中的 Cr^{3+} 和 Ni^{2+} 胁迫最敏感,其次是过氧

化氢酶和酸性磷酸酶.而在 Ni^{2+} 单一污染除第7 d,其他培养阶段的过氧化氢酶活性抑制率显著低于其他2种酶,3种土壤酶活性抑制率大体表现为:脲酶>酸性磷酸酶>过氧化氢酶.

表5 水稻土不同重金属处理的过氧化氢酶活性¹⁾

Tab.5 Catalase activity in paddy soil with different levels of heavy metal treatments

处理	7 d		28 d		84 d		168 d	
	酶活性/ ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	抑制率 (PI)/%	酶活性/ ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	抑制率 (PI)/%	酶活性/ ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	抑制率 (PI)/%	酶活性/ ($\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$)	抑制率 (PI)/%
CK	0.83 ± 0.00a	0.00	0.87 ± 0.03a	0.00	0.97 ± 0.01ab	0.00	1.13 ± 0.05ab	0.00
Cr100	0.71 ± 0.05b	14.46	0.82 ± 0.03b	5.75	0.95 ± 0.01bcd	2.06	0.99 ± 0.07cd	12.39
Cr250	0.62 ± 0.05de	25.30	0.72 ± 0.03d	17.24	0.95 ± 0.01cd	2.06	0.86 ± 0.09ef	23.89
Cr500	0.50 ± 0.07g	39.76	0.57 ± 0.03fg	34.48	0.95 ± 0.01bcd	2.06	0.83 ± 0.15ef	26.55
Ni100	0.66 ± 0.05bcd	20.48	0.89 ± 0.01a	-2.30	0.97 ± 0.01a	0.00	1.24 ± 0.01a	-9.73
Ni250	0.69 ± 0.05bc	16.87	0.87 ± 0.01a	0.00	0.96 ± 0.01abc	1.03	1.13 ± 0.06ab	0.00
Ni500	0.65 ± 0.01cd	21.69	0.66 ± 0.04e	24.14	0.95 ± 0.01bcd	2.06	1.06 ± 0.06bc	6.19
Cr100 + Ni100	0.71 ± 0.01b	14.46	0.80 ± 0.02bc	8.05	0.96 ± 0.01abc	1.03	1.14 ± 0.01ab	-0.88
Cr100 + Ni250	0.57 ± 0.02ef	31.33	0.78 ± 0.01c	10.34	0.94 ± 0.01d	3.09	1.10 ± 0.01bc	2.65
Cr100 + Ni500	0.56 ± 0.00f	32.53	0.82 ± 0.01b	5.75	0.91 ± 0.01e	6.19	1.09 ± 0.04bc	3.54
Cr250 + Ni100	0.57 ± 0.01ef	31.33	0.57 ± 0.01fg	34.48	0.91 ± 0.01e	6.19	0.94 ± 0.06de	16.81
Cr250 + Ni250	0.53 ± 0.04fg	36.14	0.54 ± 0.01gh	37.93	0.91 ± 0.01e	6.19	0.81 ± 0.07f	28.32
Cr250 + Ni500	0.56 ± 0.01fg	32.53	0.59 ± 0.02f	32.18	0.91 ± 0.01e	6.19	0.68 ± 0.01g	39.82
Cr500 + Ni100	0.42 ± 0.04h	49.40	0.40 ± 0.01i	54.02	0.92 ± 0.01e	5.15	0.38 ± 0.13h	66.37
Cr500 + Ni250	0.42 ± 0.04h	49.40	0.53 ± 0.01h	39.08	0.91 ± 0.01e	6.19	0.47 ± 0.08h	58.41
Cr500 + Ni500	0.44 ± 0.03h	46.99	0.31 ± 0.01j	64.37	0.88 ± 0.02f	9.28	0.13 ± 0.10i	88.50

1) 同列数据后凡是有一个小写字母相同者,表示在0.05水平差异不显著($n=4$, Duncan's法).

表6的结果显示,第7 d,各复合污染处理 ΔU 几乎均大于0,说明Cr-Ni复合污染表现出一定的协同作用,且Cr500 + Ni500处理下的协同作用表现最为强烈;第28和84 d,大多数复合污染处理的 ΔU 小于0,且第84 d的 ΔU 均很小,说明 Cr^{3+} 和 Ni^{2+} 复合污染表现不同程度的拮抗作用,且第84 d表现出的

表6 不同培养时间下Cr-Ni复合处理的水稻土过氧化氢酶活性的净变化量

Tab.6 Net change of catalase activity in paddy soil with Cr-Ni combined treatment in different incubation time

处理	过氧化氢酶活性净变化量 $\Delta U/(\text{mL} \cdot \text{g}^{-1})$			
	7 d	28 d	84 d	168 d
Cr100 + Ni100	0.17	-0.04	0.01	0.04
Cr100 + Ni250	0.00	-0.04	0.00	0.11
Cr100 + Ni500	0.03	0.21	-0.02	0.17
Cr250 + Ni100	0.12	-0.17	-0.04	-0.03
Cr250 + Ni250	0.05	-0.18	-0.03	-0.05
Cr250 + Ni500	0.12	0.08	-0.02	-0.11
Cr500 + Ni100	0.09	-0.19	-0.03	-0.56
Cr500 + Ni250	0.06	-0.04	-0.03	-0.36
Cr500 + Ni500	1.12	-0.05	-0.05	-0.63

拮抗作用较弱;第168 d,除低浓度 Cr^{3+} ($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的3个复合污染处理 $\Delta U > 0$,其他 Cr^{3+} 和 Ni^{2+} 复合污染处理仍表现出拮抗作用,且拮抗作用随着重金属含量增加而增强.

3 讨论与结论

在农业生态环境中,重金属的污染多为多元素共存所造成的复合污染,而且各重金属之间可能同时存在协同、拮抗、屏蔽及独立的作用^[16],所以重金属复合污染不仅与单一元素污染的相互作用机理不同,而且对土壤酶活性的影响也更为复杂^[12].

本研究结果表明,低浓度的 Ni^{2+} 处理对水稻土脲酶、酸性磷酸酶有不同程度的激活作用,而对过氧化氢酶表现出一定的抑制作用;中、高浓度 Ni^{2+} 污染及各污染水平的 Cr^{3+} 、Cr-Ni复合污染对3种酶均表现为抑制作用,且在相同培养时间和相同重金属浓度下,3种酶的活性抑制率都呈现Cr-Ni复合污染> Cr^{3+} 单一污染> Ni^{2+} 单一污染的规律.重金属对酶活性的抑制机理可能有2个方面:其一可能是重金属对土壤酶活性产生直接作用,使酶的活性基团、空间结构受到破坏从而降低其活性;其二是重金

属能抑制土壤微生物的生长繁殖,减少微生物体内酶的合成和分泌量,最终导致土壤酶活性降低^[17]。另外,低浓度 Ni²⁺ 对脲酶和酸性磷酸酶的激活作用与罗虹^[18]、蔡信德^[19] 等人的结果一致,前者可能是因为 Ni²⁺ 是脲酶的必需元素,因此低浓度 Ni²⁺ 促进了脲酶的合成,对脲酶活性有刺激作用^[19];而后者可能是因为低浓度 Ni²⁺ 的加入促进了酸性磷酸酶活性中心与底物的配位结合,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,从而增强其活性^[20]。3种土壤酶的活性在整个培养期内都有所升高,且基本均表现出随着培养时间的延长而增加的趋势,这可能与土壤微生物对污染物的忍耐力和适应性有关^[21]。

本研究还发现,水稻土脲酶、酸性磷酸酶和过氧化氢酶对 Cr³⁺、Ni²⁺ 单一污染和 Cr-Ni 复合污染敏感性顺序并不相同。Ni²⁺ 单一污染中, Ni²⁺ 对过氧化氢酶的抑制作用明显弱于其他2种酶,酶的敏感顺序为脲酶>酸性磷酸酶>过氧化氢酶;而在 Cr³⁺ 单一污染和 Cr-Ni 复合污染中,酶的敏感顺序为脲酶最敏感,其次是过氧化氢酶、酸性磷酸酶;该结果与前人的研究结论一致^[19,22]。Cr-Ni 复合污染对脲酶、酸性磷酸酶表现为协同作用,对过氧化氢酶则主要在污染初期表现为协同作用,而在其余培养阶段表现为拮抗作用,其作用机制有待于进一步研究。

有研究表明^[23],采用综合酶活性作为预示土壤重金属污染状况指标可能较单一酶活性更为可行。从本研究结果表明,供试水稻土中的脲酶和酸性磷酸酶对 Cr³⁺、Ni²⁺ 及其复合污染敏感,可综合2种酶的活性变化,作为评价和预测水稻土铬、镍污染的敏感指标。

参考文献:

- [1] 国家环境保护局科技标准司. GB15618-95 土壤环境质量标准[S]. 北京:中国标准出版社,1995.
- [2] 李金枝,朱建华. 铬与健康[J]. 广东微量元素科学, 1997,4(8):8-10.
- [3] 蔡信德,仇荣亮,陈桂珠. 镍污染对土壤微生物的生态效应[J]. 生态科学,2004,23(3):273-277.
- [4] 蔡立梅,黄兰椿,周永章,等. 珠江三角洲典型区农业土壤铬的空间结构及分布特征[J]. 农业环境科学学报, 2009,28(1):60-65.
- [5] NICHOLSON F A, SMITH S R, ALLOWAY B J, et al. An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales[J]. Science of the Total Environment, 2003,311(1-3):205-219.
- [6] 廖金凤. 电镀废水中铜锌铬镍对农业环境的影响[J]. 农村生态环境,1999,15(4):52-55.
- [7] 白建峰,林先贵,尹睿,等. 蚯蚓对 As 污染土壤酶活性及其 P 养分的影响[J]. 土壤通报,2007,38(5):978-983.
- [8] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986:274-339.
- [9] 王新,周启星. 土壤重金属污染生态过程、效应及修复[J]. 生态科学,2004,23(3):278-281.
- [10] MAJER B J, TSCHERKO D, PASCHKE A, et al. Effects of heavy metal contamination of soils on micronucleus induction in *Tradescantia* and on microbial enzyme activities: A comparative investigation [J]. Mutation Research, 2002, 515(1-2):111-124.
- [11] 曹靖,贾红磊,徐海燕,等. 干旱区污灌农田土壤 Cu、Ni 复合污染与土壤酶活性的关系[J]. 农业环境科学学报,2008,27(5):1809-1814.
- [12] 黄峥,闵航,吕镇梅,等. 铜离子与铜镉离子复合污染对稻田土壤酶活性的影响研究[J]. 浙江大学学报:农业与生命科学版,2006,32(5):557-562.
- [13] 周礼凯,张志明. 土壤酶活性的测定方法[J]. 土壤通报,1980,11(5):37-38.
- [14] ACOSTA-MARTINEZ V, TABATABAI M A. Arylamidase activity in soils: Effect of trace elements and relationships to soil properties and activities of amidohydrolases[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2001,33(1):17-23.
- [15] 周启星. 复合污染生态学[M]. 北京:中国环境科学出版社,1995:25-29.
- [16] 孟昭福,薛澄泽,张增强,等. 土壤中重金属复合污染的表征[J]. 农业环境保护,1999,18(2):87-91.
- [17] 陈怀满. 环境土壤学[M]. 北京:科学出版社,2005:252-254.
- [18] 罗虹,刘鹏,宋小敏. 重金属镉、铜、镍复合污染对土壤酶活性的影响[J]. 水土保持学报,2006,20(2):94-96.
- [19] 蔡信德,仇荣亮,汤叶涛,等. 外源镍在土壤中的存在形态及其与土壤酶活性的关系[J]. 中山大学学报:自然科学版,2005,44(5):93-97.
- [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.
- [21] INSAM H. Effect of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1996,28(4):691-694.
- [22] 张桂山,贾小明,马晓航,等. 山东棕壤重金属污染土壤酶活性的预警研究[J]. 植物营养与肥料学报,2004,10(3):272-276.
- [23] 杨志新,刘树庆. 重金属 Cd、Zn、Pb 复合污染对土壤酶活性的影响[J]. 环境科学学报,2001,21(1):60-64.