



铬(Ⅲ)污染对土壤酶活性的影响

张瑞华¹, 孙会芳², 王 蕾¹

(1. 天津科技大学理学院, 天津 300457; 2. 天津科技大学海洋科学与工程学院, 天津 300457)

摘要: 在实验室模拟条件下, 研究3种铬(Ⅲ)染毒水平(0.2、1、5 g/kg)的土壤, 在不同染毒时间(1、5、10、15、20 d)下, 土壤过氧化氢酶、碱性磷酸酶、脲酶活性的变化, 以期对铬(Ⅲ)污染土壤的环境风险评价、环境修复提供酶学指标。结果表明, 铬(Ⅲ)的存在对土壤脲酶的活性总体起激活作用, 但随染毒时间的延长活性逐渐降低。对碱性磷酸酶而言, 3个染毒水平第1天均表现为抑制作用, 且抑制程度与染毒水平成正比, 其余染毒水平或染毒时间, 表现为不规则的激活或抑制作用, 到实验结束的20 d时, 染毒土壤(1、5 g/kg)酶活性与未染毒土壤酶活性接近, 表现出对铬(Ⅲ)具有一定的耐受性。过氧化氢酶的活性对铬(Ⅲ)的存在较为敏感, 其活性与染毒水平(除1、5 d外)呈显著负相关, 可考虑将过氧化氢酶的活性作为土壤铬(Ⅲ)污染评价和预测的生物监测指标。

关键词: 土壤污染; 铬污染; 土壤酶

中图分类号: X131.3

文献标志码: A

文章编号: 1672-6510(2013)02-0019-04

Influence of Chromium (Ⅲ) Contamination on Soil Enzyme

ZHANG Ruihua¹, SUN Huifang², WANG Lei¹

(1. College of Science, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China;

2. College of Marine Science and Engineering, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Abstract: The effect of chromium (Ⅲ) on three soil enzymes, such as catalase, phosphatase and urease, were studied under simulated conditions so as to provide some fundamental information for enzymological assessment index of environmental risk evaluation and remediation. The activities of the three soil enzymes were detected in three degrees of chromium (Ⅲ) contaminated soil (0.2, 1, 5 g/kg) and in different contaminated periods (1, 5, 10, 15, 20 d). The results indicate that chromium (Ⅲ) acts as an activator of urease most of the time, but the activity of urease reduces gradually with the increase of contamination time. The activity of phosphatase was restrained on the first day in all the three levels of contaminated soil, and the extent of restraint was closely related to the level of contamination. After that, the activity of phosphatase was accelerated or restrained in different contaminated soil or contamination period. Phosphatase became tolerant of chromium (Ⅲ) when the experiment was over 20 days later, because the enzyme activity in the contaminated soil (1, 5 g/kg) was close to that in the uncontaminated soil. Whereas, catalase was sensitive to chromium (Ⅲ), and its activities showed a remarkably inverse correlation with contamination levels, so its catalase activity can be used as a primary biochemical parameter to evaluate and assess chromium (Ⅲ) contaminated soil.

Key words: soil contamination; chromium pollution; soil enzyme

铬污染是土壤重金属污染的重点之一, 许多土壤修复方法和手段大多针对毒性及迁移性较大的铬(VI)污染, 如不能将其从土壤中彻底去除, 则将铬(VI)转化为迁移性和可利用性较小的铬(Ⅲ)^[1-3], 但对修复后土壤的生态功能和生态风险评价却关注较

少。如何有效指示和监测重金属带来的土壤污染, 及评价修复后土壤的生态功能, 应该是研究土壤污染控制与治理的前提^[4-8]。土壤酶积极参与陆地生态系统中的物质循环及能量转化, 与土壤生物、土壤理化性质和环境条件密切相关, 常用土壤过氧化氢酶、磷酸

收稿日期: 2012-08-27; 修回日期: 2012-10-16

基金项目: 天津科技大学引进人才科研启动基金资助项目(20070421); 天津科技大学理学院科技创新课题

作者简介: 张瑞华(1971—), 女, 内蒙赤峰人, 副教授, ruixue0422@163.com.

酶、蔗糖酶、脲酶、蛋白酶和多酚氧化酶活性之间的关系来评价土壤的肥力. 重金属离子对土壤酶活性产生的抑制或激活作用, 影响土壤养分释放及从土壤中获得养分的作物生长, 因此土壤酶活性的测定将有助于判断土壤重金属污染程度及其对作物生长的影响, 其对重金属的敏感性可作为土壤重金属污染的生物指标^[9]. 有许多研究者^[10-14]提出以土壤酶活性来判别土壤重金属污染状况.

在目前的有关重金属对土壤酶影响的研究报道中, 过氧化氢酶、脲酶、磷酸酶通常作为重点研究检测对象. 如有人建议用过氧化氢酶作为镉污染水平的指标^[10], 脲酶活性可作为汞污染的生化监测指标^[10], 磷酸酶活性对锌污染极为敏感^[11]. 不同重金属对土壤酶的影响也有不同, 关注较多的重金属有镉、汞、铜、锌, 对铬的研究多针对铬(VI). 如闫峰等^[12]的研究表明铬(VI)对过氧化氢酶有激活作用, 对磷酸酶和脲酶起抑制作用, 黄铮等^[13]的研究表明铜对稻田土壤的过氧化氢酶、磷酸酶、脲酶均起抑制作用, 杨春璐等^[14]的研究表明, 汞对脲酶有显著的抑制作用, 而中性磷酸酶的活性对汞不敏感. 因此, 本文旨在研究受关注较少的铬(III)对3种土壤酶——脲酶、磷酸酶、过氧化氢酶活性的影响, 为铬污染土壤的质量评价、生物治理及环境修复指标提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 土壤样品的采集及前处理

土壤取自天津科技大学泰达校区花园黄壤土, 去除杂草及碎屑, 过 2 mm 筛, 风干并测定其理化性质后, 进行后续实验操作.

1.2 实验设计

实验在培养箱中进行, 土壤用孔径为 0.1 mm 的筛子筛分, 用三氯化铬染毒, 使土壤铬(III)染毒水平(不计背景值)分别为 0.2、1、5 g/kg 3 种情况, 取每种染毒水平土壤 30 g 装入锥形瓶中, 加入 90 g 蒸馏水, 并称出总质量, 放入培养箱中, 在 25 °C 下分别培养 1、5、10、15、20 d. 在培养阶段, 不断补充蒸馏水与原来的质量一致. 染毒土壤从培养箱中取出后, 滤掉溶液, 分析土壤酶活性, 每个样品进行 3 个平行实验. 同时以空白土壤作对比.

1.3 分析方法

1.3.1 土壤理化性质及铬含量测定

土壤 pH、有机质、含水率均采用国家标准分析

方法; 土壤总铬含量采用高锰酸钾氧化法、二苯基碳酰二肼显色分光光度法测定.

1.3.2 土壤酶活性测定方法

采用文献[15]中的测定方法进行酶活性测定: 脲酶采用苯酚钠、次氯酸钠比色法; 过氧化氢酶采用高锰酸钾滴定法; 碱性磷酸酶采用苯酚、安替比林比色法.

1.3.3 数据处理

实验数据采用 Excel 2003 和 SPSS17.0 两种软件进行处理.

2 结果与讨论

2.1 未染毒土壤理化性质

所采土壤的理化性质见表 1, 其中有机质含量 2.7%, pH 7.27, 略显碱性. 总铬背景值为 650 mg/kg, 铬(VI)未检出, 即土壤背景值中的铬为三价态形式存在. 实验用土壤铬含量高于国家三级土壤标准(400 mg/kg), 可能与校园建在盐碱地上, 校园绿化用土均为异地(或有轻微污染)转移而来有关.

表 1 供试土壤性质

Tab. 1 Properties of tested soil

指标	数值
有机质/%	2.7
pH	7.27
总铬/(mg·kg ⁻¹)	650
铬(VI)/(mg·kg ⁻¹)	未检出
脲酶活性/(μg·h ⁻¹ ·g ⁻¹)	18.1
碱性磷酸酶活性/(μg·h ⁻¹ ·g ⁻¹)	7.33
H ₂ O ₂ 酶活性/(μg·min ⁻¹ ·g ⁻¹)	295

2.2 脲酶活性变化

现有的文献报道中, 脲酶的活性在重金属存在下, 大多受到抑制. 如 Yang 等^[16]的报道表明, Zn、Cd、Pb 无论是单独存在还是复合存在, 均不同程度地抑制了脲酶的活性. 本实验的铬污染土壤脲酶活性变化如图 1 所示. 铬(III)存在下, 不同染毒水平土壤脲酶活性整体随时间延长呈降低的趋势. 前 10 d 脲酶活性快速下降, 之后活性变化趋势减缓, 并趋于稳定. 在实验的 20 d 内, 不同染毒水平土壤脲酶活性, 除第 1 天 0.2 g/kg、第 20 天 5 g/kg 的染毒土脲酶活性小于未染毒土活性外, 其他染毒土壤脲酶活性均大于未染毒土的脲酶活性, 与现有的文献报道不尽相同. 染毒水平为 1 g/kg 的染毒土脲酶活性总体一直高于其他土壤的活性, 染毒水平 5 g/kg 的染毒土脲酶

活性略小于 1 g/kg 的培养土,但 10 d 后差距拉大,到 20 d 时已低于未染毒土. 染毒水平为 0.2 g/kg 的染毒土脲酶活性下降速率最慢,说明这个染毒水平对脲酶活性影响较小. 而未染毒土的酶活性在前 5 d 降低,之后趋于稳定,可能是未染毒土背景值中铬(III)对脲酶起一定的抑制作用.

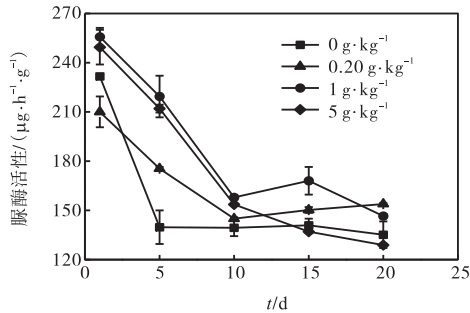


图1 Cr(III)存在下土壤脲酶活性变化

Fig. 1 Changes of soil urease activity in the presence of Cr(III)

2.3 碱性磷酸酶活性变化

Huang 等^[17]的研究表明,碱性磷酸酶活性与土壤中总铬的含量呈正相关,而铬(VI)对碱性磷酸酶的活性略有抑制作用,但未对铬含量与碱性磷酸酶活性的动态变化作相关研究. 铬(III)存在下碱性磷酸酶的活性变化如图2所示.

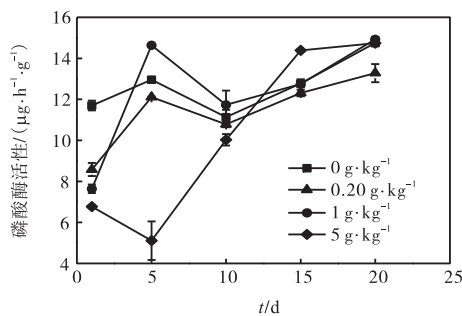


图2 Cr(III)存在下土壤碱性磷酸酶活性变化

Fig. 2 Changes of soil alkaline phosphatase activity in the presence of Cr(III)

1 d 时染毒土壤碱性磷酸酶活性均低于未染毒土壤的酶活性,且随着土壤染毒水平的提高而降低,表明铬(III)的存在抑制了碱性磷酸酶的活性,抑制程度与铬(III)的染毒水平成正比. 随着时间的延长,碱性磷酸酶活性逐渐升高, 0.2 g/kg 的染毒土的碱性磷酸酶活性与未染毒土的酶活性的变化趋势一致,这可能是由于染毒水平较低,接近土壤背景值(650 mg/kg)的原因,但抑制作用已明显体现出来. 1 g/kg 的染毒土的碱性磷酸酶活性尽管在第 1 天下降很大,但随后快速上升,5 d 时上升为最高值,随后变化趋势与未

染毒土的趋势相同,到 15 d 后变化趋势几乎与未染毒土重合. 5 g/kg 的染毒土的碱性磷酸酶活性在第 5 天时活性最低,随后活性一直呈上升趋势,15 d 后趋于稳定,到 20 d 时与未染毒土活性接近. 这些变化趋势表明尽管铬(III)的存在对碱性磷酸酶活性有抑制或激活作用,但同时碱性磷酸酶对铬(III)也有一定的耐受能力.

目前关于重金属对酶活性的抑制机理普遍的看法有两个,一个是重金属与酶的活性点位存在与底物的竞争性抑制,另一个是重金属的存在抑制了土壤微生物的生长和繁殖,从而降低了微生物体内酶的合成与分泌,使土壤酶活性下降. 而有学者也发现“抗性酶活性”现象,即当重金属浓度达到一定,土壤中大量微生物死亡时,有一小部分微生物生存下来,产生抗性酶活性,表观上酶活性值降低又增大. 土壤碱性磷酸酶活性的变化或许正是这些作用的结果.

2.4 过氧化氢酶活性变化

重金属对过氧化氢酶的影响报道不尽一致. 如 Belyaeva 等^[18]的研究表明过氧化氢酶活性受重金属的影响较小,而 Khan 等^[19]的研究报道则为过氧化氢酶活性在 Cd、Pb 存在下略受抑制,抑制程度与 Cd、Pb 的浓度成正比. 本实验中铬(III)存在下过氧化氢酶的活性变化如图3所示.

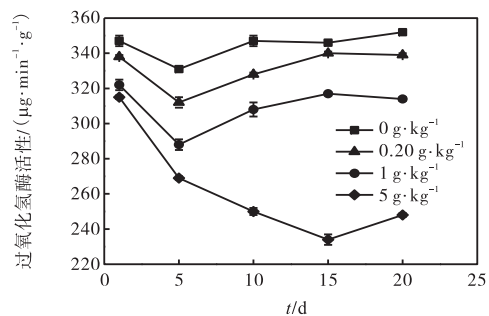


图3 Cr(III)存在下土壤过氧化氢酶活性变化

Fig. 3 Changes of soil catalase activity in the presence of Cr(III)

本研究的结果表明在铬(III)存在下,土壤过氧化氢酶的活性均受到抑制,抑制程度随土壤染毒水平的提高而增大. 除 5 g/kg 的染毒土外,其余染毒土壤的过氧化氢酶活性变化趋势与未染毒土过氧化氢酶活性变化趋势一致,为先下降后升高最后趋于稳定的趋势,而 5 g/kg 的染毒土过氧化氢酶活性一直为下降趋势,15 d 后尽管有所升高,但仍远低于其他染毒水平及未染毒土壤. 这表明尽管过氧化氢酶对铬也有一定的耐受性,但耐受能力均不如脲酶和碱性磷酸酶,对外源铬的加入更敏感. 通过对过氧化氢酶相关性

分析发现,除第 1 天、第 5 天外,第 10、15、20 天过氧化氢酶活性与土壤染毒水平呈显著的负相关,其相关方程分别为: $E = 335.4 - 17.5x$ ($r = -0.952, P < 0.05$), $E = 343.4 - 22.0x$ ($r = -0.997, P < 0.01$), $E = 343.5 - 19.5x$ ($r = -0.972, P < 0.05$) (式中: E 为过氧化氢酶活性, $\mu\text{g}/(\text{min}\cdot\text{g})$; x 为土壤染毒水平, g/kg)。由此得出其酶活性生态剂量 ED_{50} 值分别为 9.6、7.8、8.8 g/kg 。因此可以考虑将过氧化氢酶活性作为铬(Ⅲ)污染水平的生物监测指标。

2.5 铬(Ⅲ)对土壤酶活性影响对比

为定量描述铬(Ⅲ)对土壤酶活性的影响,采用酶

活性抑制率(定浓抑制率)予以表征,定浓抑制率 = $(1 - \text{处理样品的酶活性}/\text{对照样品的酶活性}) \times 100\%$, 结果见表 2。可以看出,在 3 个染毒水平土壤中,除 0.2 g/kg 染毒水平(第 1 天)、5 g/kg 染毒水平(第 15、20 天)外,铬(Ⅲ)对脲酶活性主要起激活作用,相同染毒水平第 5 天激活程度最大。磷酸酶活性在 3 个染毒水平下,除第 1 天被抑制,且抑制程度与染毒浓度的增高而加大外,其余染毒时间呈现不规律的激活或抑制作用。过氧化氢酶在 3 个染毒水平下均被抑制,抑制程度与染毒水平成正比。

表 2 Cr(Ⅲ)对土壤酶活性的抑制率

Tab. 2 Inhibition effects of Cr(Ⅲ) on the activities of soil enzymes

t/d	抑制率(脲酶)/%			抑制率(磷酸酶)/%			抑制率(过氧化氢酶)/%		
	0.2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	1 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	1 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	1 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
1	8.62	-10.34	-5.17	23.05	33.33	41.03	2.74	7.07	9.16
5	-22.22	-54.17	-47.22	6.82	-13.65	43.16	5.70	12.83	18.57
10	-2.85	-12.86	-10.00	5.30	-18.40	10.55	5.54	11.26	28.08
15	-5.63	-18.31	4.23	4.54	0	-11.36	1.89	8.64	32.85
20	-14.92	-8.96	4.48	11.77	0	1.97	3.74	10.88	29.56

3 结 论

(1) 铬(Ⅲ)的存在,对土壤酶活性均产生一定的影响,影响程度随染毒浓度、染毒时间、土壤酶种类的不同而不同。

(2) 对土壤脲酶而言,低浓度铬的存在起激活作用,高浓度则起抑制作用,无论激活还是抑制作用,随染毒时间的变化趋势不明显;对土壤磷酸酶而言,随不同染毒水平或培养时间表现为激活或抑制作用。因此上述两种酶可能不适合作为土壤铬污染的检测指标。

(3) 土壤过氧化氢酶活性对铬的存在较为敏感,在实验中的 3 个染毒水平下其活性均被抑制,抑制程度与染毒水平成正比,可作为土壤铬污染的检测指标。

参考文献:

[1] 王新新,张颖,王元芬. 底泥铬污染的纳米铁粉修复及其土壤酶活性动态[J]. 生态环境, 2008, 17(6): 2207-2211.
 [2] 林立金,朱雪梅,邵继荣,等. 锌铬复合污染对水稻不同生育期土壤酶活性的影响[J]. 核农学报, 2007,

21(6): 623-629.
 [3] Wyszowska J. Soil contamination by chromium and its enzymatic activity and yielding[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2002, 11(1): 79-84.
 [4] 和文祥,陈会明,冯贵颖,等. 汞铬神元素污染土壤的酶监测研究[J]. 环境科学学报, 2000, 20(3): 338-343.
 [5] Renella G, Ortigoza A L R, Landi L, et al. Additive effects of copper and zinc on cadmium toxicity on phosphatase activities and ATP content of soil as estimated by the ecological dose (ED_{50}) [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2003, 35(9): 1203-1210.
 [6] Samborska A, Stepniewska Z, Stepniewski W. Influence of different oxidation states of chromium(VI, Ⅲ) on soil urease activity[J]. Geoderma, 2004, 122(2/3/4): 317-322.
 [7] Kızılkaya R, Aşkın T, Bayraklı B, et al. Microbiological characteristics of soils contaminated with heavy metals [J]. European Journal of Soil Biology, 2004, 40(2): 95-102.
 [8] Hinojosa M B, Carreira J A, García-Ruiz R, et al. Soil moisture pre-treatment effects on enzyme activities as indicators of heavy metal-contaminated and reclaimed soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(10): 1559-1568.

(下转第 27 页)