

砷对土壤微生物及土壤生化活性的影响*

杨居荣 任 燕 刘 虹 王力平

(北京师范大学环境科学研究所 北京 100875)

摘 要

通过模拟试验及污染现场调查,研究了砷对土壤微生物、土壤酶活性及土壤呼吸作用的影响,综合砷对农作物、土壤微生物的影响效应,拟定了土壤中砷的生态基准。

关键词 土壤砷; 微生物; 生化活性

砷是伴生于铜、铝、锌等硫化矿物中的类金属元素。随着矿产的开发、冶炼及火山活动等,常使埋藏于地下的砷进入环境,加之地热发电以及一些高科技产品的开发、制作等,使砷成为污染环境的重要的物质之一。

砷并非是生命的必需元素,过量的砷可引起生物体受害,这方面以农作物为对象的研究居多,而有关砷对土壤微生物及土壤代谢活性影响的研究相对较少。

通过模拟试验和实际污染农田土壤的调查,研究了砷对土壤微生物、土壤代谢及土壤生化活性的影响。

1 调查区土壤环境特征

调查区土壤类型为灰钙土,是我国西北地区半干旱气候条件下发育的地带性土壤,成土母质是黄土与黄土性物质,粘土矿物以伊利石为主,并有一定的蒙脱石、绿泥石和高岭石等。成土过程以弱腐殖化、通体钙化为特征,剖面中有石膏和易溶盐累积。土壤质地粗疏,有机质含量普遍较低,一般在20g/kg以下,其主要理化性状列于表1。

表1 试验土壤的主要理化性状

pH	有机质 (g/kg)	CaCO ₃ (g/kg)	全N (g/kg)	全P (g/kg)	全K (g/kg)	1μm粘粒 (g/kg)	砷含量 (mg/kg)
8.7	17.3	116.9	1.01	0.43	12.1	266.0	15.21

2 研究方法

2.1 田间调查 调查区位于甘肃省白银有色金属矿区,调查以网格状均匀布点采样,网格面积为2km×2km,采集0—20cm层土壤,测定土壤微生物量及代谢活性状况,并分析土壤含砷量。

2.2 测定盆栽土壤的微生物状况 在栽培农作物的盆栽土壤中,投加不同数量的

* 本文是国家“七·五”攻关课题的部分内容,许嘉琳、殷学慧、陈燕丰、蒙宇同志及北京市农科院张美庆同志参加了工作。

Na₂HAsO₄, 使其成为不同浓度梯度. 测定其微生物数量、酶活性及土壤呼吸作用强度等.

2.3 土壤微生物计数方法 利用平板计数法测定其中真菌、细菌、放线菌及固氮菌的数量.

2.4 土壤酶及代谢活性的测定方法 测定脲酶用奈氏比色法; 测定碱性磷酸酶用磷酸苯二钠法⁽¹⁾; 测定蛋白酶用茚三酮比色法⁽¹⁾; 测定土壤呼吸作用用 CO₂ 容量法⁽¹⁾, 测定纤维分解强度用埋片法; 测定固氮作用强度用土壤培养法.

3 结果与讨论

3.1 砷污染土壤中微生物的数量变化

有关投加不同浓度砷的盆栽土壤中细菌、真菌及放线菌数量列于表 2. 从中看出, 砷对三大菌的数量均有不同程度的抑制作用, 以对细菌和放线菌的影响明显. 当砷的投加量在 5—40mg/kg 时, 即可使细菌总数降低 50%.

表 2 As 对土壤微生物总数的影响 (存活率, %)

投加量 (mg/kg)	0	5	10	20	40	60	100	200
细菌	100	3	0.3	4	170	20	26	0.8
真菌	100	59	63	111	132	202	95	270
放线菌	100	82	61	73	65	50	61	35

随砷投加量的增加, 放线菌存活率呈下降趋势, 当砷投加量 > 60mg/kg 时, 即可使其数量降低 50%. 砷对真菌的影响规律不很清晰, 这可能与诱导抗性菌株的出现有关.

对污染农田土壤的调查结果表明, 土壤中砷的数量与三大菌数量的关系不很清晰, 这与调查区土壤受砷及多种重金属的混合污染, 影响土壤微生物数量的因素较多, 其间的剂量、效应关系复杂有关. 但在调查中发现细菌、真菌、放线菌总数最低值出现于同一地块, 该调查点的砷及重金属含量均较高, 其中 Pb 为 700mg/kg, Cu 为 169.1mg/kg, Cd 为 17.75mg/kg, As 为 40.48mg/kg. 由于受多种重金属的污染, 使该点三大菌的数量均明显降低.

测定结果(19 个样点)表明, 土壤中固氮菌的数量变动于 0.3×10^6 — 3.1×10^6 之间, 经相关分析, 土壤中固氮菌的数量与土壤全砷含量呈显著负相关, $r = -0.5678$ ($n = 17$, $p < 0.05$), 相关式为:

$$y = 1.2676 - 0.0066x \quad (y \text{ 为固氮菌数} / 10^6, x \text{ 为土壤中 As 含量, mg/kg}).$$

这说明砷可引起土壤有益微生物固氮菌数量的改变, 进而影响土壤的正常代谢功能.

3.2 砷污染对土壤酶活性的影响

3.2.1 砷对脲酶、碱性磷酸酶和蛋白酶活性的影响

表 3 砷对土壤脲酶、碱性磷酸酶和蛋白酶活性的影响

投加砷量 (mg/kg)	脲酶活性		碱性磷酸酶活性		蛋白酶活性	
	NH ₄ -N (mg/100g 土·24h)	相对活性 (%)	P ₂ O ₅ (mg/100g 土·24h)	相对活性 (%)	酪氨酸 (mg/g 土·24h)	相对活性 (%)
0	77.83	100	72.86	100	7.86	100
10	51.17	65.7	—	—	0.86	10.9
20	63.79	81.9	57.21	78.5	3.43	43.6
30	—	—	23.73	32.6	10.10	128.5
40	51.29	65.9	19.78	27.2	2.06	26.2
60	74.05	95.1	—	—	9.85	125.3
100	62.58	80.4	0.16	0.22	7.54	95.9
200	72.93	91.7	19.65	27.0	7.48	95.2

脲酶、磷酸酶和蛋白酶属于水解酶系，它们参与土壤中有机物质的转化，把高分子化合物水解为植物和微生物可利用的无机营养物质。因此，研究这些酶活性的变化对于了解土壤生态系统质量状况有重要意义。

表3列出了砷污染土壤中三种酶的活性。从中可见，砷对脲酶活性有一定抑制作用，当投加砷量 $>10\text{mg/kg}$ 时，脲酶活性就有所下降，但变化不呈规律性；砷对碱性磷酸酶活性的影响也很明显，当砷投加量为 30mg/kg 时，即可使酶活性下降50%以上；当砷投加量为 $10\text{—}20\text{mg/kg}$ 时，蛋白酶活性抑制率达25%以上。

3.2.2 砷对脱氢酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶的影响

这几种酶均属于氧化还原酶类，它们在土壤的物质和能量转化中占有很重要的地位，参与土壤腐殖质组分的合成，也参与土壤形成过程，了解砷对土壤氧化还原酶系的影响，有助于阐明砷对土壤肥力状况的影响。

表4表明，砷对脱氢酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶的活性均有不同程度的抑制作用。在本试验投加砷量范围内，脱氢酶活性普遍降低，抑制率可达 $10\text{—}20\%$ 。当投加量 $>5\text{mg/kg}$ 时，多酚氧化酶的活性可能降低 $5\text{—}20\%$ 。过氧化氢酶对砷也较敏感，当投加量 $>5\text{mg/kg}$ 时，就有可能使酶活性抑制率达到25%。

表4 砷对脱氢酶、多酚氧化酶、过氧化氢酶活性的影响

投加砷量 (mg/kg)	脱氢酶		多酚氧化酶		过氧化氢酶	
	甲胺 ($\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$)	相对活性 (%)	投食子酸 ($\text{mg/g}\cdot\text{h}$)	相对活性 (%)	KMnO_4 ($\text{ml/g}\cdot 20\text{min}$)	相对活性 (%)
0	0.170	100	8.548	100	39.0	100
5	0.150	88.2	8.220	96.2	31.0	79.5
10	0.143	84.1	10.275	120.2	42.3	108.3
20	0.156	91.8	8.780	102.7	29.5	75.6
40	0.133	78.2	6.900	80.7	37.5	96.2
60	0.155	91.2	7.005	82.0	31.0	79.5
100	0.147	86.5	8.595	100.6	32.0	82.1
200	0.139	81.8	8.500	99.4	32.0	82.1

以上结果说明，砷可抑制土壤酶活性，甚至导致酶失活。有关研究表明⁽²⁾，砷及重金属对酶活性的抑制作用可能在于使酶蛋白沉淀，导致酶失活；也可能由于其与某些酶分子的巯基和胺基结合，从而一定程度地抑制了酶的活性。由于土壤是一个复杂的自然体系，除受投加砷量的影响外，还受土壤有机质、pH、粘粒组成等因素的影响，致使试验中，未呈现酶活性随砷浓度增加而递减的简单线性规律。在大田调查中，由于污染因素更为复杂，土壤肥力差异较大，其规律性也不明显，但砷能对土壤酶活性产生抑制作用则是肯定无疑的。

3.3 砷污染对土壤呼吸及土壤代谢强度的影响

3.3.1 砷对土壤呼吸作用的影响

表5 砷对土壤呼吸强度的影响(盆栽试验)

投加量 (mg/kg)	0	5	10	20	40	60	100	200
相对呼吸 强度(%)	100	103.9	95.4	97.0	98.6	101.5	51.6	25.4

表5结果表明，砷对土壤呼吸有明显的抑制作用，随着投加砷量的增加，土壤呼吸强度明显下降，两者呈显著的负相关，相关系数 r 为 -0.9366^{**} ($n=8$)。这种变化趋势与前述砷对土壤微生物数量的影响是一致的。当土壤砷投加量达 100mg/kg 时，土

壤呼吸强度的抑制率可达50%。

大田调查也得到同样结果,在典型调查区内,土壤呼吸强度变化于11.69—45.8mg CO₂/20g土·48h之间,将呼吸强度与土壤含砷量进行相关分析,也得到二者显著负相关的结果,其相关式为:

$y = 28.5689 - 0.0937x$, $r = -0.4854^*$ ($P < 0.05$, $n = 19$), 式中 x 代表土壤砷的总量, y 代表土壤呼吸强度。

土壤呼吸作用代表了土壤代谢强度,它与微生物数量有关,也与土壤有机质水平, N、P 转化强度, 土壤 pH、中间代谢产物等因素有关,任何限制性因素存在,都可能影响土壤生态系统的物质与能量代谢,呼吸强度也随之改变,从本文结果可见,砷也是其影响因素之一,二者之间的显著相关关系,说明土壤呼吸强度变化是指示土壤砷污染的重要指标。

3.3.2 砷对土壤固氮强度和纤维分解强度的影响

表6结果表明,砷对土壤固氮强度有抑制影响,当砷投加量 $> 30\text{mg/kg}$ 时,即可能使固氮强度下降约50%。砷对土壤纤维分解强度的影响以砂砾质灰钙土中为甚,当砷投加量 $> 100\text{mg/kg}$ 时,纤维分解强度的抑制率可达60%以上。

表6 砷对小麦根际土壤固氮强度和纤维分解强度的影响(盆栽试验)

投加量 (mg/kg)	固氮强度		纤维分解强度			
	强度 (%)	对照比 (%)	普通灰钙土		砂砾质灰钙土	
			强度(%)	对照比(%)	强度(%)	对照比(%)
0	0.014	100	42.5	100	66.9	100
10	0.017	121	40.0	94	11.4	17
20	0.015	107	49.5	116	77.5	116
30	0.007	50	50.0	118	16.3	24
40	0.007	50	42.8	100	83.0	124
60	0.005	36	41.3	97	0	0
100	0.013	93	47.8	112	26.4	39
200	0.009	64	53.5	126	0	0

3.4 土壤中砷的生态基准

土壤基准的确定是一项十分复杂的工作,其原因主要在于土壤不同于大气和水体,它不直接与人接触,显然不能象大气和水体那样以单一生物(或人体)毒理学指标作为依据;其次土壤是一个复杂自然体,污染物在其中的运行受到各种因素的制约,其生物有效性有很大差别,因此仅依据单一生物的毒理学指标确定基准,并在此基础上制定土壤标准,则难以作到安全可靠。

根据砷对土壤微生物系统、土壤酶系统、土壤呼吸和代谢作用的影响,并结合砷对农作物污染效应⁽³⁾的研究结果,从保护土壤生态系统的整体功能出发,确定砷的土壤生态基准,这比仅依据单一污染效应确定基准更为安全。

根据土壤砷污染对农作物的影响效应,以农作物减产10%和农产品中砷的残留量不至达到食品卫生标准为依据,可确定砷在土壤—农作物单体系的基准值为25mg/kg和50mg/kg。

综合砷对土壤细菌、真菌、放线菌数量的影响,以其数量减半(半致死剂量)为依据,可确定砷对土壤微生物系统的基准为5—60mg/kg之间。

(下转第109页)

