

## 锌铬复合胁迫对大豆根际土壤酶活性的影响<sup>①</sup>

金 倩<sup>1,2</sup>, 刘 静<sup>1</sup>, 林立金<sup>3</sup>, 朱雪梅<sup>1\*</sup>, 黄金龙<sup>4</sup>, 涂 培<sup>5</sup>

(1 四川农业大学环境学院, 成都 611130; 2 四川绵竹市富新镇人民政府, 四川绵竹 618200; 3 四川农业大学果蔬研究所, 成都 611130;

4 四川省崇州市街子镇人民政府, 四川崇州 611200; 5 成都植物园, 成都 610083)

**摘 要:**为研究不同 Zn、Cr 复合胁迫对大豆根际土壤酶活性的影响,在盆栽条件下,采用添加外源 Zn、Cr 的方法,测定了大豆根际和非根际土壤脲酶活性、过氧化氢酶活性、蔗糖酶活性。结果表明,不同 Zn、Cr 处理对大豆根际土壤脲酶活性有显著抑制效果,在 Zn、Cr 浓度分别为 500、400 mg/kg 时,大豆根际土壤脲酶活性为最低。随 Zn、Cr 浓度的增加,大豆根际土壤过氧化氢酶活性呈现先升高后降低的趋势,在 Zn、Cr 浓度分别为 0、300 mg/kg 时,达最大值,比对照提高 14.80%;在 Zn、Cr 浓度分别为 500、400 mg/kg 时,仅为 2.38 ml/(g·h),是最小值,比对照降低 44.38%。随 Zn、Cr 浓度增加,大豆根际土壤蔗糖酶活性也呈现类似趋势,在 Zn、Cr 浓度分别为 0、90 mg/kg 时,达最大值 3.65 (mg/g·d),比对照提高 9.87%;在 Zn、Cr 浓度分别为 500、400 mg/kg 时,达到最小值 1.80 (mg/g·d),比对照降低 45.8%。同时结合偏相关分析结果发现,Zn、Cr 对 3 种土壤酶活性均产生了协同抑制效应,且 Zn 的抑制作用大于 Cr。

**关键词:** 锌; 铬; 大豆; 土壤酶活性

**中图分类号:** S565.1; S154; X53

土壤酶是参与土壤生化反应的一类蛋白质,由于其稳定、敏感的特性,其活性的高低是反映土壤肥力的一个生物指标,也是作为判别重金属污染程度及其对作物危害的指标之一<sup>[1-3]</sup>。土壤酶对重金属的敏感性各不相同<sup>[4-5]</sup>,沈桂琴和廖瑞章<sup>[6]</sup>发现 Cr 对土壤脲酶、蛋白酶活性有激活作用,Hg、Cd、Pb 具有明显抑制作用;林玉锁<sup>[7]</sup>研究显示,在土壤过氧化氢酶、脲酶和转化酶中,脲酶对重金属最敏感。然而,当前大多研究仅针对土壤自身对重金属的响应。在农田生态系统中,作物与土壤是密不可分的,作物根际是土壤微生态系统的主要组成部分<sup>[8]</sup>,重金属进入土壤后影响土壤养分及微环境,从而影响作物的生长,土壤酶活性大小可灵敏地反映土壤中这些反应的强度和方向,因此研究重金属与作物根际土壤酶活性的关系十分必要。有研究发现,5 mg/kg Cd 胁迫可抑制大豆和蓖麻根际土壤多种酶活性,但对曼陀罗、玉米和棉花根际土壤多种酶活性具有促进作用<sup>[9]</sup>。也有研究发现,随着 Cd 浓度的提高,苋菜收获后土壤中蔗糖酶活性呈现先显著增加后显著降低的趋势,脲酶活性则

呈现先显著降低后显著增加的趋势<sup>[10]</sup>。这说明不同重金属对不同作物根际土壤酶活性的影响是不完全相同的。大豆是中国重要粮食作物之一,由于四川省土壤重金属污染日益严重,导致大豆的产量及品质均受到严重的影响。近年来,国内外相关研究提出了土壤脲酶、蔗糖酶、过氧化氢酶活性等作为重金属污染指标<sup>[11]</sup>。鉴于此,本文就成都平原常见的重金属 Zn、Cr 污染进行研究<sup>[12]</sup>,从土壤微生态系统角度探讨不同浓度 Zn、Cr 胁迫对大豆根际土壤酶的影响,研究大豆根际土壤酶对 Zn、Cr 污染的响应规律,以期为重金属污染大豆的土壤肥力及重金属污染变化程度的鉴定提供可参考的生物指标,为大豆安全生产提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

供试土壤为紫色湿润锥形土(紫色土),采自四川农业大学雅安校区农场农田,基本理化性质:pH 7.62,有机质 23.12 g/kg,全氮 1.69 g/kg,全磷 1.05 g/kg,全钾 21.92 g/kg,碱解氮 130.2 mg/kg,速效磷 21.56 mg/kg,

基金项目:四川省科技厅 2008 年科技支撑计划项目(2008FZ0180)资助。

\* 通讯作者(zhubroad@163.com)

作者简介:金倩(1988—),女,四川绵竹人,硕士研究生,主要从事环境变迁与土壤修复研究。E-mail: 532913839@qq.com

速效钾 43.79 mg/kg。土壤重金属背景值：Zn 全量 72.87 mg/kg、Cr 全量 59.61 mg/kg。土壤理化性质及重金属含量均按照鲍士旦<sup>[13]</sup>的方法测定。

供试大豆品种为科源二号，具有生长期短、植株矮小、适合盆栽的特性。

试验于 2010 年 3—6 月在四川农业大学雅安校区农场农田进行，为 2 因素 4 水平随机区组试验。A 因素为不同浓度的 Zn：0(A0)、100(A1)、250(A2)、500(A3) mg/kg；B 因素为不同浓度的 Cr：0(B0)、90(B1)、300(B2)、400(B3) mg/kg。采用 ZnCl<sub>2</sub> 和 CrCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O 作为重金属污染处理，浓度根据《土壤环境质量标准 GB15618-1995》<sup>[14]</sup>设计(表 1)。

表 1 土壤环境质量标准值(GB15618-1995)  
Table 1 The standard values of the soil environmental quality (GB15618-1995)

| 等级 | Cr (mg/kg) | Zn (mg/kg) |
|----|------------|------------|
| 一级 | 90         | 100        |
| 二级 | 300        | 250        |
| 三级 | 400        | 500        |

土壤风干磨碎，过 5 mm 筛后装入塑料盆 (32.5 cm × 25 cm)，每盆装土约 8.35 kg。同时按照 N：P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>：K<sub>2</sub>O = 0.15：0.18：0.12 的用量施入底肥 (尿素、过磷酸钙、硫酸钾)。采用根袋法分离根际土壤和非根际土壤。用 300 目孔径尼龙纱网将盆子分为上下两部分，上部用 300 目孔径尼龙纱网封底，并装 200 g 土，为方便以后取土，尼龙纱网留出一部分在盆的四周。其余的土在尼龙纱网分隔下，位于盆的下部。尼龙网袋上部开口，用于种植大豆，保证大豆的根系全部限制在尼龙纱网袋中。用喷撒的方式将各处理浓度的重金属溶液加入土壤，混匀，放置 4 周后移苗，每盆 3 株，重复 3 次。其他栽培管理采用统一的常规管理方式。

1.2 测定内容与方法

于大豆盛花期(种植 70 天后)采集尼龙网纱内土壤作为根际土，用于测定土壤 3 种常见的土壤酶活性 (土壤脲酶、过氧化氢酶及蔗糖酶活性)。土壤脲酶、过氧化氢酶及蔗糖酶活性分别采用苯酚钠比色法、高锰酸钾滴定法、3，5-二硝基水杨酸比色法测定<sup>[15]</sup>。

1.3 数据处理与分析

数据处理和作图采用 OriginPro 8.1，方差分析和偏相关分析采用 SPSS17。

2 结果与分析

2.1 锌铬复合胁迫对大豆根际土壤脲酶活性的影响

从图 1 可以看出，单一 Zn 处理(A0B0、A1B0、A2B0、A3B0)下，低浓度 Zn(100 mg/kg)对大豆根际和非根际土壤脲酶活性有明显的促进作用，达到最大值，分别为 2.40、0.95 mg/(g·d)；当 Zn 浓度 > 100 mg/kg，表现为显著的抑制作用。单一 Cr 处理(A0B0、A0B1、A0B2、A0B3)对大豆根际和非根际土壤脲酶活性表现为显著的抑制作用，对照处理表现出最大值。

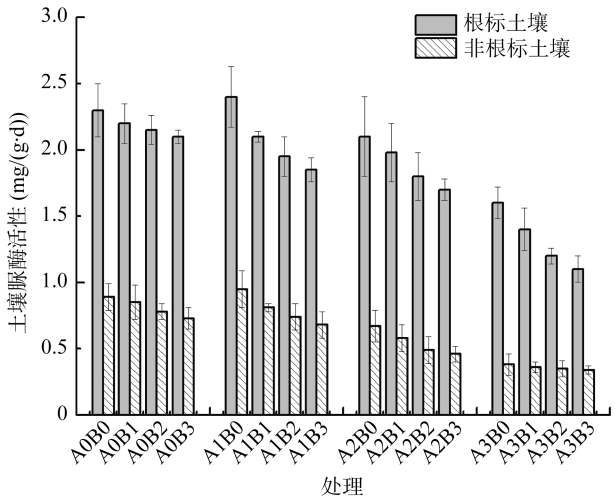


图 1 锌铬复合胁迫对大豆根际土壤脲酶活性的影响  
Fig. 1 Effects of Zn and Cr compound stress on soil urase activities of soybean rhizosphere

Zn、Cr 复合胁迫对大豆根际和非根际土壤脲酶活性表现为抑制作用。当 Zn 浓度为 100、250 和 500 mg/kg 时，根际和非根际土壤脲酶活性随着 Cr 浓度的增加而显著降低；当 Cr 浓度为 90、300 和 400 mg/kg 时，土壤脲酶活性随着 Zn 浓度的增加呈现降低的趋势；在 Zn、Cr 复合胁迫中，大豆根际和非根际土壤脲酶活性的最大值分别为 2.20 和

表 2 土壤锌铬浓度与大豆根际土壤酶活性的偏相关分析  
Table 2 Partial correlations between Zn, Cr contents and soil enzyme activities of soybean rhizosphere

| 重金属 | 土壤脲酶活性   |          | 土壤过氧化氢酶活性 |          | 土壤蔗糖酶活性  |          |
|-----|----------|----------|-----------|----------|----------|----------|
|     | 根际       | 非根际      | 根际        | 非根际      | 根际       | 非根际      |
| Zn  | -0.945** | -0.963** | -0.931**  | -0.925** | -0.956** | -0.955** |
| Cr  | -0.850** | -0.773** | -0.623*   | -0.582*  | -0.701** | -0.654*  |

注：r<sub>0.05</sub>(13)= 0.514，r<sub>0.01</sub>(13)= 0.641。

0.85 mg/(g·d),表明在本试验浓度范围内,Zn、Cr 协同抑制了大豆根际土壤脲酶活性。这与杨志新和刘树庆<sup>[16]</sup>研究结果类似。同时,从偏相关分析(表 2)可以看到,Zn 对土壤脲酶活性的偏相关系数绝对值大于 Cr,说明在复合胁迫中,Zn 的抑制作用更明显。

整体来看,本试验根际土壤脲酶活性高于非根际土壤脲酶活性。根际土壤脲酶活性值范围为 1.07 ~ 2.39 mg/(g·d),在 A1B0 处理中,根际土壤脲酶活性达到最大值,比对照提高 4.04%;A3B3 处理中根际土壤脲酶活性为最小值,比对照降低 53.35%。非根际土壤脲酶活性值范围为 0.34 ~ 0.95 mg/(g·d),非根际土壤脲酶活性分别在 A1B0 和 A3B3 处理中达到最大值、最小值。

## 2.2 锌铬复合胁迫对大豆根际土壤过氧化氢酶活性的影响

从图 2 可以看出,单一 Zn 处理下,大豆根际土壤过氧化氢酶活性表现为先上升再下降的趋势,在 Zn 浓度为 100 mg/kg 时,达最大值 4.71 ml/(g·h);单一 Cr 处理下,大豆根际土壤过氧化氢酶活性表现出同样的趋势,在 Cr 浓度为 300 mg/kg 达最大值 4.95 ml/(g·h)。

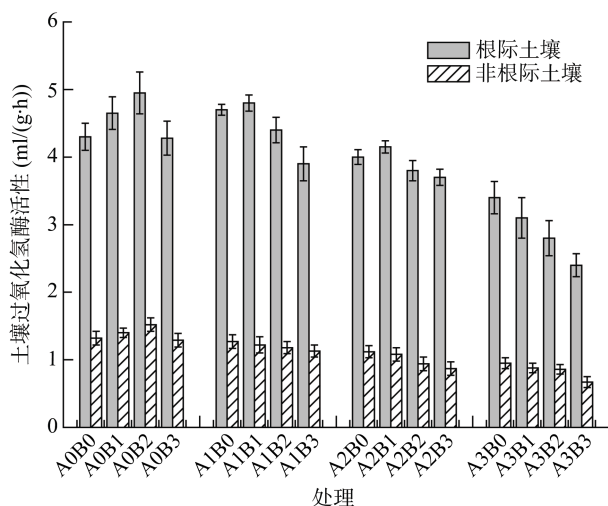


图 2 锌铬复合胁迫对大豆根际土壤过氧化氢酶活性的影响

Fig. 2 Effects of Zn and Cr compound stress on soil catalase activities of soybean rhizosphere

Zn、Cr 复合胁迫对大豆根际和非根际土壤过氧化氢酶活性的影响基本一致。在 Zn 浓度分别为 100 和 250 mg/kg,低浓度的 Cr(0 ~ 90 mg/kg)对土壤过氧化氢酶活性具有促进作用,此时,Zn、Cr 对大豆根际土壤过氧化氢酶活性具有协同促进作用;当 Cr 浓度  $\geq 300$  mg/kg 时,Zn、Cr 对土壤根际过氧化氢

酶活性则具有显著抑制作用。在 Zn 浓度为 500 mg/kg 时,随着 Cr 浓度的增加,土壤过氧化氢酶活性显著降低,此时 Zn、Cr 表现为协同抑制作用。在 Cr 浓度为 90 mg/kg 时,随着 Zn 浓度的上升,土壤过氧化氢酶活性略有上升,当 Zn 浓度超过 100 mg/kg 时,土壤过氧化氢酶活性开始下降,且随着 Zn 浓度的增加,下降幅度逐渐增加。这与闫峰等<sup>[17]</sup>的研究结果类似。说明 Zn、Cr 对土壤过氧化氢酶活性的作用并不是单纯的协同或拮抗。从偏相关分析(表 2)可以看出,Zn 对土壤过氧化氢酶活性的偏相关系数绝对值大于 Cr,说明在复合胁迫中,Zn 的抑制作用更明显。

整体来看,土壤过氧化氢酶活性表现为大豆根际 > 非根际。根际过氧化氢酶活性值为 2.38 ~ 4.92 ml/(g·h),土壤过氧化氢酶活性在 A0B2 处理中达到最大值,比对照提高 14.80%;在 A3B3 处理中为最小值,比对照降低 44.38%。非根际土壤过氧化氢酶活性值为 0.67 ~ 1.52 ml/(g·h),分别在 A0B2 和 A3B3 处理中达到最大值、最小值。

## 2.3 锌铬复合胁迫对大豆根际土壤蔗糖酶活性的影响

从图 3 可以看出,单一 Zn 处理对大豆根际和非根际土壤蔗糖酶活性均具有抑制作用;单一 Cr 处理下,Cr 浓度升高对大豆根际和非根际土壤蔗糖酶活性表现为先促进后抑制。

Zn、Cr 复合胁迫对大豆根际和非根际土壤蔗糖酶活性的影响也基本一致,在 Zn 浓度为 100 mg/kg,Cr 浓度  $\leq 90$  mg/kg 时,随着 Cr 浓度的增加土壤蔗糖酶活性逐渐增大,Zn、Cr 表现为协同促进;当 Cr 浓度  $> 90$  mg/kg 时,Zn、Cr 对大豆根际土壤蔗糖酶活性具有协同抑制作用;在 Zn 浓度为 250、500 mg/kg 时,随着 Cr 浓度的增加,土壤蔗糖酶活性显著降低,此时 Zn、Cr 表现为协同抑制作用。在 Cr 浓度为 90、300、400 mg/kg 时,随着 Zn 浓度的上升,土壤蔗糖酶活性显著下降,说明此时 Zn、Cr 表现为协同抑制作用。这与刘娇等<sup>[18]</sup>研究结果相似。同样,从偏相关分析(表 2)可以看出,Zn 对土壤蔗糖酶活性的偏相关系数绝对值大于 Cr,说明在复合胁迫中,Zn 的抑制作用更明显。

整体来看,土壤蔗糖酶活性表现为大豆根际 > 非根际。根际土壤蔗糖酶活性值为 1.81 ~ 3.65 mg/(g·d);非根际土壤蔗糖酶活性值为 0.38 ~ 1.08 mg/(g·d)。大豆根际和非根际土壤蔗糖酶活性分别在 A0B1 和 A3B3 处理中达到最大值、最小值。

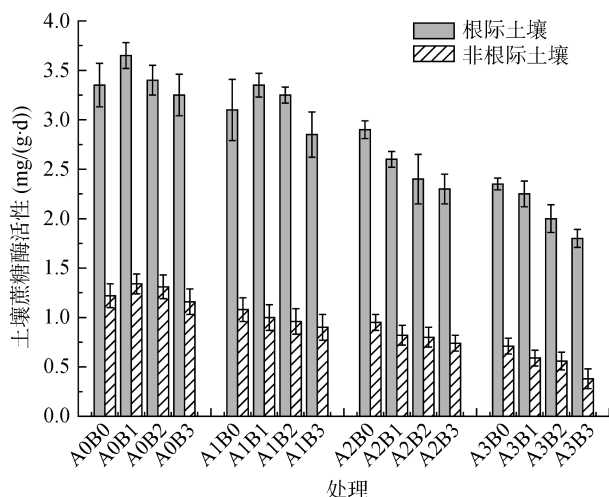


图 3 锌铬复合胁迫对大豆根际土壤蔗糖酶活性的影响

Fig. 3 Effects of Zn and Cr compound stress on soil sucrase activities of soybean rhizosphere

### 3 讨论

重金属胁迫条件下,土壤酶活性不仅仅表现出抑制作用<sup>[19-20]</sup>,在某些低浓度时也会呈现促进作用<sup>[21]</sup>,在本研究中也类似结果,出现了酶活性被激发的现象,可能因为 Zn、Cr 的加入促进酶活性中心与底物间的配位结合,使酶分子及其活性中心保持专性,改变酶催化反应的平衡性质及蛋白表面的电荷,从而增强其活性<sup>[22]</sup>。也可能是因为低浓度的 Zn、Cr 对微生物活性有刺激作用<sup>[23-24]</sup>,从而促进土壤酶活性,但是这种刺激作用是有一定浓度范围的,当超过了这个临界值,重金属对土壤酶活性产生明显的抑制作用。

随着重金属浓度的提高,土壤脲酶和蔗糖酶活性明显受到抑制,这与杨正亮和冯贵颖<sup>[20]</sup>、孟庆峰等<sup>[25]</sup>的研究结果一致。这可能是因为高浓度重金属抑制微生物的生长繁殖,减少其体内酶的合成和分泌<sup>[26]</sup>,也可能是因为微生物为了适应高浓度的重金属离子,将更多的能量用于合成胞内和胞外金属耦合蛋白或参与微生物表层的生物化学反应<sup>[27]</sup>。

综上所述,低浓度的 Zn、Cr 胁迫刺激土壤酶活性的增加,高浓度的 Zn、Cr 胁迫明显抑制土壤酶活性,Zn、Cr 协同抑制土壤脲酶、过氧化氢酶和蔗糖酶活性,且 Zn 的作用更大。同时,两种重金属对土壤酶活性产生抑制作用的临界浓度存在差异。

#### 参考文献:

[1] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京: 科学出版社, 1987  
[2] 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, 121

[3] 季轶群, 王子芳, 高明, 魏朝富, 罗友进. 重金属 Cu、Zn、Pb 复合污染对紫色土壤酶活性的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26(6): 293-296  
[4] 和文祥, 朱铭, 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  
[5] Bastida F, Zsolnay A, Hernández T, García C. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective[J]. Geoderma, 2008, 147(3-4): 159-171  
[6] 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[J]. 农业环境保护, 1987, 6(3): 24-27  
[7] 林玉锁. 土壤对重金属缓冲性能的研究[J]. 环境科学学报, 1995, 15(3): 289-293  
[8] 常学秀, 文传浩, 王焕校, 沈其荣. 锌厂 Pb 污染农田小麦根际与非根际土壤酶活性特征研究[J]. 生态学杂志, 2001, 20(4): 5-8  
[9] 杨珍平, 郝教敏, 卜玉山, 高志强, 苗果园. Cd 胁迫对 5 种植物体内 Cd 积累及根际土壤特性的影响[J]. 水土保持学报, 2011, 25(6): 186-192  
[10] 李素霞, 谢朝阳, 胡承孝, 龚丽, 杨苗, 晏文峰, 李梦维. 氮磷交互作用对苋菜土壤酶活性的影响[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(4): 845-847  
[11] 尹君, 高如泰, 刘文菊, 林祖良. 土壤酶活性与土壤 Cd 污染评价指标[J]. 农业环境保护, 1999, 18(3): 130-132  
[12] 朱雪梅, 邵继荣, 林立金, 将小军, 杨远祥, 张青松. 锌铬复合污染对稻米品质的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6): 2 297-2 302  
[13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000  
[14] 中华人民共和国环境保护部. 土壤环境质量标准(GB15618-1995)[S]. 北京: 中国标准出版社, 1995  
[15] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京: 科学出版社, 1987  
[16] 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, 1(21): 60-63  
[17] 闫峰, 吴雄平, 梁东丽, 张兴昌, 邱莉萍. 外源重金属 Cr、Cu、Se 和 Zn 对土壤酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008, 36(7): 91-98  
[18] 刘姣, 曹靖, 南忠仁, 王胜利, 胡小娜, 陈家胜. 白银市郊区重金属复合污染对土壤酶活性的影响[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 2010, 46(5): 39-43  
[19] 高大翔, 郝建朝, 金建华, 崔晓星, 李丹, 孙书洪, 刘惠芬. 重金属汞、镉单一胁迫及复合胁迫对土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 903-908  
[20] 杨正亮, 冯贵颖. 重金属对土壤脲酶活性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2002, 20(3): 41-43  
[21] 王娟, 和文祥, 孙铁珩. 铜对土壤脲酶活性特征的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2007, 35(11): 135-140  
[22] Marzadori C, Ciavatta C, Montecchio D, Gessa C. Effects of lead pollution on different soil enzyme activities[J]. Biology and Fertility of Soils, 1996, 22(1-2): 53-58  
[23] 高秀丽, 邢维芹, 冉永亮, 周卫东, 李立平. 重金属积累对土壤酶活性的影响[J]. 生态毒理学报, 2012, 7(3): 331-336  
[24] 曾路生, 廖敏, 黄昌勇, 罗运阔. 镉污染对水稻土微生物量、酶活性及水稻生理指标的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2 162-2 167

- [25] 孟庆峰, 杨劲松, 姚荣江, 余世鹏, 张春银, 吉荣龙. 单一及复合重金属污染对土壤酶活性的影响[J]. 生态环境学报, 2012, 21(3): 545–550
- [26] Huang Q, Shindo H. Effects of copper on the activity and kinetics of free and immobilised acid phosphatase[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32(13): 1 885–1 892
- [27] Renella G, Mench M, Landi L, Nannipieri P. Microbial activity and hydrolase synthesis in long-term Cd-contaminated soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(1): 133–139

## Effects of Compound Pollution of Zinc (Zn) and Chromium (Cr) on Soil Enzyme Activities of Soybean Rhizosphere

JIN Qian<sup>1,2</sup>, LIU Jing<sup>1</sup>, LIN Li-jin<sup>3</sup>, ZHU Xue-mei<sup>1\*</sup>, HUANG Jin-long<sup>4</sup>, TU Pei<sup>5</sup>

(1 College of Environmental Sciences, Sichuan Agricultural University, Chengdu, 611130, China; 2 Fuxin Town People's Government, Mianzhu, Sichuan 618200, China; 3 Institute of Pomology and Olericulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu, 611130, China; 4 Jiezi Town People's Government, Chongzhou, Sichuan 611200, China; 5 Chengdu Botanical Garden, Chengdu, 610083)

**Abstract:** A pot experiment was carried out using the addition of exogenous Zn and Cr to study the different concentrations of zinc and chromium on soil enzyme activities of soybean rhizosphere. The results showed that different Zn and Cr concentrations had significant inhibitory effect on the soil urease activity, and its activity was lowest in 500 mg/kg Zn and 400 mg/kg Cr. With increase concentrations of Zn and Cr, the soil catalase activity increased firstly and then decreased, the maximum was in 0 mg/kg Zn and 300 mg/kg Cr, which increased by 14.80% compared with the control; while the minimum (2.38 ml/(g·h)) was in 500 mg/kg Zn and 400 mg/kg Cr, which was by 44.38% lower than the control. The soil sucrase activity showed a similar trend with that of catalase activity, it reached the maximum (3.65 mg/(g·d)) in 0 mg/kg Zn and 90 mg/kg Cr, which increased by 9.87% compared with the control; while the minimum (1.80 mg/(g·d)) was in 500 mg/kg Zn and 400 mg/kg Cr, which was by 45.8% lower than the control. Partial correlation analysis found that Zn and Cr had synergistic inhibitory effect on the activities of the three enzymes, and the effect of Zn was higher than Cr.

**Key words:** Zinc (Zn); Chromium (Cr); Soybean; Soil enzyme activity