

doi:10.6041/j.issn.1000-1298.2016.11.024

# 外源砷在石灰性土壤中的形态与土壤酶活性研究

王进<sup>1,2</sup> 杨明凤<sup>1,2</sup> 褚贵新<sup>2</sup>

(1. 乌兰乌苏农业气象试验站, 石河子 832003; 2. 新疆生产建设兵团绿洲生态农业重点实验室, 石河子 832003)

**摘要:** 通过设置不同价态(五价砷 As(V)、三价砷 As(III))、不同浓度梯度砷(0、10、20、50、100、180、280、450、800 mg/kg)的室内模拟试验,研究了 As(V)、As(III)在石灰性土壤中的化学形态特征及其与 5 种土壤酶(过氧化氢酶、多酚氧化酶、蛋白酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶)活性间的关系。结果表明:随着外源砷添加量的增加,土壤中交换态砷 AE-As 含量增加,而钙型砷 Ca-As、铁型砷 Fe-As、铝型砷 Al-As 含量有减少趋势,且主要以 Ca-As 存在。土壤酶活性则表现为:2 种价态的砷对过氧化氢酶的活性均表现为抑制作用,抑制率高达 57.4%。As(V)对多酚氧化酶活性表现为明显的激活作用,As(III)对多酚氧化酶有抑制作用。As(V)、As(III)对碱性磷酸酶的活性影响表现为“低砷促进,高砷抑制”。通过对砷的各化学形态和土壤酶活性的非线性分析表明:在 As(V)处理试验中,AE-As 对蔗糖酶有显著的刺激作用,其生态毒性也最强(ED<sub>50</sub>为 17.97 mg/kg)。故在北方石灰性污染土壤中,把交换态 As 与蔗糖酶活性共同作为评价土壤 As 污染程度的主要生化指标是可行的。通过主成分分析可发现,当 As(V)的浓度达到 50 mg/kg、As(III)的浓度达 10 mg/kg 时,土壤微生物的功能结构发生了变化,50 mg/kg 和 10 mg/kg 可作为 As(V)、As(III)对土壤微生物学性质影响的临界值。

**关键词:** 砷; 石灰性土壤; 形态; 土壤酶活性

**中图分类号:** X53      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-1298(2016)11-0179-06

## Form and Soil Enzyme Activities of Exogenous Arsenic in Calcareous Soil

Wang Jin<sup>1,2</sup> Yang Mingfeng<sup>1,2</sup> Chu Guixin<sup>2</sup>

(1. Wulanwusu Agrometeorological Experiment Station of Xinjiang, Shihezi 832003, China)

(2. Key Laboratory of Oasis Eco-agriculture of the Xinjiang Production and Construction Corps, Shihezi 832003, China)

**Abstract:** In this paper, a different valence states (As(V) and As(III)) and different concentrations (0 mg/kg, 10 mg/kg, 20 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 180 mg/kg, 280 mg/kg, 450 mg/kg and 800 mg/kg) of arsenic simulated experiment was set up to study the relationship between characteristics of chemical forms of arsenic and five soil enzyme activities (catalase, polyphenol oxidase, protease, alkaline phosphatase and invertase). Results indicated that AE-As concentration was increased and Ca-As, Fe-As and Al-As concentrations were decreased with the increase of the added amounts of both As(V) and As(III). Meanwhile, calcium bound As(Ca-As) occupied the biggest proportion in the total. Soil enzyme activity was characterized by: two valence states of arsenic on the activity of catalase were characterized by inhibition, and inhibition rate was as high as 57.4%. As(V) showed the obvious activity of polyphenol oxidase activation, but the As(III) had inhibitory effect on polyphenol oxidase. As(V) and As(III) had effect on the activity of alkaline phosphatase of “low arsenic promotes, high arsenic suppression”. The chemical speciation of arsenic and nonlinear analysis indicated that AE-As had a significant stimulus for sucrase in As(V) processing, and its ecological toxicity was the strongest (ED<sub>50</sub> was 17.97 mg/kg). So for calcareous soil pollution in the north, taking the exchange state As and

收稿日期: 2016-04-13 修回日期: 2016-08-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(41205085)和国家人事部留学回国人员研究项目(2009LX002)

作者简介: 王进(1979—), 男, 副研究员, 主要从事农业气象及农业资源高效利用研究, E-mail: apple6405@sohu.com

通信作者: 褚贵新(1969—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事作物营养与分子生态研究, E-mail: chuguixin@shzu.edu.cn

invertase activity as the main indexes of evaluation was feasible. Through principal component analysis, when the concentration of As(V) was up to 50 mg/kg, and the concentration of As(III) was 10 mg/kg, the function of soil microbial structure was changed. The two concentrations can be used as the critical values for affecting soil microbiology properties.

**Key words:** arsenic; calcareous soil; form; enzyme activity

## 引言

砷是在土壤、水体、大气中广泛存在的一种有毒且致癌的非金属元素。砷化物的开采和冶炼、工业废弃物的排放、煤的燃烧等人为活动往往导致土壤砷含量升高,造成土壤污染。施用含砷的农药、化肥和有机肥是农业土壤砷污染的主要原因,如磷肥的含砷量为 20 ~ 50 mg/kg,这些含砷产品的大量使用,将导致砷在农田环境中大量积累,进而对土壤、地下水及饮用水造成严重污染。同时更为关键的是砷在土壤中主要以无机态形式存在,砷酸盐是其主要成分,多为三价和五价化合物<sup>[1-2]</sup>,其生物毒性不仅与其价态和总量有关,更大程度上取决于它们的化学形态<sup>[3-4]</sup>。砷的大量积累不但导致土壤性质发生改变,而且影响作物的产量和品质。砷在作物中的大量积累最终将通过食物链影响人类健康。如何有效指示和监测土壤砷污染,已引起人们的极大关注。

土壤酶是土壤中具有催化能力的“特殊有机体”,积极参与土壤养分循环、物质和能量转化等过程,可较敏感地反映土壤中发生的生物化学变化强度和方向,再加上土壤酶的稳定性和敏感性,故可作为土壤重金属污染的监测指标,并能判别土壤重金属污染程度。目前已有发现可用脲酶、过氧化氢酶的活性作为镉 Cd、铅 Pb 污染程度的生化指标<sup>[5-7]</sup>。脱氢酶、转化酶和过氧化氢酶可反映 As、Pb 对土壤污染的程度<sup>[8]</sup>,但并未指出哪种化学形态的重金属对土壤酶活性的影响最大、关系最密切。有关不同重金属的各种化学形态与土壤酶活性间关系的报道,大都集中在对 Cu、Zn、Pb、Cd 等的研究<sup>[9-10]</sup>,而关于 As 的研究鲜有报道。本文通过室内模拟试验,研究 As(V)、As(III)在石灰性土壤中的形态变化特征及其与土壤酶活性间的关系,从而为完善 As 污染的酶监测方法提供科学的理论依据。

## 1 材料与与方法

### 1.1 供试土壤

供试土壤采自新疆奎屯 123 团 22 连(84°34'53"E, 44°58'52"N),土壤质地为砂壤土,主要取 0 ~ 20 cm 表层土壤,鲜土去除可见杂质,过 2 mm 土筛后备用。其理化性质:全砷的本底值为 37.94 mg/kg,土壤 pH 值

为 8.76,土壤电导率 EC 为 0.269  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ,有机质质量比为 5.14 g/kg。

### 1.2 供试剂

五价砷采用分析纯  $\text{Na}_3\text{AsO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ,三价砷使用分析纯  $\text{As}_2\text{O}_3$ ,按照其中砷含量的比例,配制所需浓度的砷溶液备用。

### 1.3 试验方法

称量 2 kg 过筛的土壤置于平板上,将配置好的 2 种价态的砷溶液分别单独装入喷壶,边喷洒边搅拌土壤,使其混合均匀,然后装在上口直径 20 cm、底面直径 11 cm、高 15 cm 塑料花盆中。试验设置 As(V)和 As(III)2 个处理,每个处理设置 9 个水平:砷浓度为 10、20、50、100、180、280、450、800 mg/kg,并以不加砷为对照(CK),各处理重复 3 次。所有处理于人工气候室(25  $\pm$  2)°C 黑暗条件下连续培养 30 d,整个培养期间,通过称量法补充水分,保持 60% 田间持水量。于 2015 年 4 月 30 日进行取样,分析测定 As(V)和 As(III)进入土壤后各形态含量和相关土壤酶活性。

### 1.4 研究方法及数据处理

#### 1.4.1 土壤中各形态砷的测定

按 ONKEN 等<sup>[11]</sup>和陈同斌等<sup>[12]</sup>的方法进行,其中交换态砷(AE-As)用 1 mol/L  $\text{NH}_4\text{Cl}$  浸提,铝型砷(Al-As)用 0.5 mol/L  $\text{NH}_4\text{F}$  浸提,铁型砷(Fe-As)用 0.1 mol/L NaOH 浸提,钙型砷(Ca-As)用 0.25 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$  浸提,各浸提液中的砷含量均使用电感耦合等离子体原子发射光谱法 ICP-AES 测定。

#### 1.4.2 土壤生物学性状测定

过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定<sup>[13]</sup>,活性以 20 min 后 1 g 土壤消耗 0.02 mol/L 高锰酸钾的用量(mL)表示;多酚氧化酶采用比色法<sup>[13]</sup>,活性以 2 h 后 1 g 土壤中紫色没食子素的量(mg)表示;蔗糖酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定<sup>[13]</sup>,活性以 24 h 后 1 g 土壤水解底物生成葡萄糖的量(mg)表示;蛋白酶采用 Folin 试剂比色法<sup>[14]</sup>,活性以 2 h 后 1 g 土壤水解底物生成酪氨酸的量( $\mu\text{g}$ )表示;碱性磷酸酶采用 2,6-二溴靛氯亚胺比色法<sup>[14]</sup>,活性以 3 h 后 1 g 土壤水解底物生成的苯酚的量( $\mu\text{g}$ )表示。

### 1.4.3 数据处理

采用 Excel 2003、相关分析用 GraphPad Prism 5.0, 土壤酶的功能多样性分析采用 Primer 6 进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤中砷的形态分布特征

土壤中砷的毒性不仅与其含量有关, 还与其在土壤中的有效性和结合的形态有关。如图 1 所示, 其分布趋势由多到少为 Ca-As、Fe-As、Al-As、AE-As, Ca-As 的含量(质量分数)相对较高, 主要因为北方碱性土壤主要以 Ca 胶体为主。随着外源砷 As(V)、As(III) 加入量的增加, 土壤中砷的形态总体表现为: AE-As 呈增加趋势, Ca-As、Fe-As、Al-As 呈减少趋势。外源加入 As(V), 经过 30 d 的培养后, Ca-As、Fe-As、Al-As、AE-As 质量分数分别为 31.9% ~ 38.3%、21.5% ~ 30.7%、17.3% ~ 22.3%、15.9% ~ 24.1%; 在 As(III) 处理下, Ca-As、Fe-As、Al-As、AE-As 质量分数分别为 22.9% ~ 40.2%、17.2% ~ 30.7%、17.2% ~ 28.0%、7.4% ~ 27.3%。

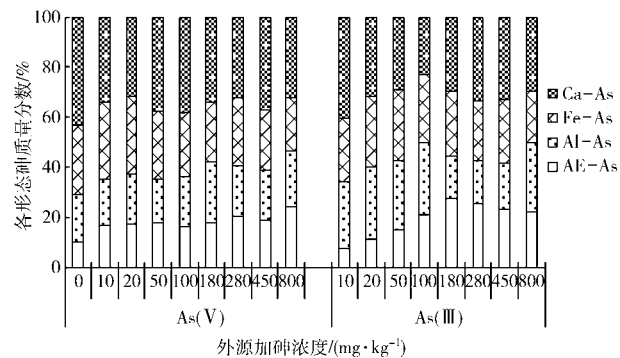


图 1 土壤中砷的形态分布

Fig. 1 Distribution of different forms of As in soil

### 2.2 不同价态、不同浓度 As 对土壤酶活性的影响

多酚氧化酶和过氧化氢酶属于氧化还原酶类, 在土壤的物质和能量转化中占有很重要的地位, 参与土壤腐殖质的合成与土壤形成过程, 如表 1 所示, 砷对过氧化氢酶的活性表现为抑制作用。在 As(V) 处理试验中, As(V) 浓度为 0 ~ 100 mg/kg 时, 各处理间过氧化氢酶活性差异不显著; 在 180 ~ 800 mg/kg 范围内, 过氧化氢酶的活性较对照处理显著降低, 抑制率高达 57.4%; 在加 As(III) 量的范围内, 过氧化氢酶的活性随砷浓度的增加显著降低, 抑制率为 21.4% ~ 51.4%; As(III) 的抑制作用强于 As(V)。当 As(V) 的浓度达到  $1.80 \times 10^{-4}$  mg/kg 时, 多酚氧化酶活性表现为明显的激活作用; As(III) 对多酚氧化酶有抑制作用, 随着砷浓度的增加抑制作用减弱。

磷酸酶、蛋白酶、蔗糖酶属于水解酶系, 它们参与有机物质的转化, 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物活性有重要意义。As(V) 对蛋白酶的活性影响不大, 抑制率为 6.2% ~ 25.1%。As(III) 对蛋白酶活性有显著的抑制作用, 如当 As(III) 的浓度为 450 mg/kg 时, 碱性磷酸酶的活性降低了 26%。

As(V)、As(III) 对碱性磷酸酶活性的影响表现为“低砷促进, 高砷抑制”。在 As(V) 处理试验中, 在 10 ~ 50 mg/kg 浓度范围内, 碱性磷酸酶活性随浓度的升高显著升高, 但在 280 ~ 800 mg/kg 时却降低, 呈现出“低砷促进, 高砷抑制”的效应。在 As(III) 处理条件下, 碱性磷酸酶活性在 10 mg/kg 时活性最高, 达到 104.2  $\mu\text{g/g}$ 。当 As(III) 添加量在 20 ~ 800 mg/kg 时, 碱性磷酸酶的活性随浓度的升高而显著降低。

As(V)、As(III) 对蔗糖酶活性的影响表现为明显的促进作用。在 As(V) 处理试验中, 蔗糖酶活性较对照处理增强了 13.8% ~ 124.3%, 且蔗糖酶的活性随砷浓度的增加而升高。As(III) 对蔗糖酶的活性增强了 71.4% ~ 234.6%, As(III) 的刺激作用明显强于 As(V)。

表 1 外源砷对土壤酶活性的影响

Tab. 1 Effect of outer source arsenic on soil enzyme activities

不同价态砷	加砷浓度/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	过氧 化氢酶/ ( $\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$ )	多酚 氧化酶/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	碱性 磷酸酶/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )	蔗糖酶/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	蛋白酶/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )
As(V)	0	1.00 <sup>a</sup>	1.42 <sup>ef</sup>	79.9 <sup>cd</sup>	3.64 <sup>d</sup>	201.3 <sup>a</sup>
	10	0.92 <sup>abc</sup>	1.50 <sup>de</sup>	70.2 <sup>d</sup>	4.14 <sup>cd</sup>	188.9 <sup>ab</sup>
	20	0.93 <sup>abc</sup>	1.31 <sup>f</sup>	72.5 <sup>d</sup>	4.69 <sup>bcd</sup>	174.8 <sup>ab</sup>
	50	0.98 <sup>ab</sup>	1.35 <sup>f</sup>	128.5 <sup>a</sup>	6.40 <sup>abc</sup>	205.5 <sup>a</sup>
	100	1.03 <sup>a</sup>	1.35 <sup>f</sup>	103.8 <sup>b</sup>	6.47 <sup>ab</sup>	168.0 <sup>ab</sup>
	180	0.82 <sup>bc</sup>	1.64 <sup>c</sup>	82.0 <sup>d</sup>	8.16 <sup>a</sup>	138.8 <sup>b</sup>
	280	0.77 <sup>c</sup>	1.58 <sup>cd</sup>	99.0 <sup>bc</sup>	7.25 <sup>a</sup>	177.0 <sup>ab</sup>
	450	0.89 <sup>bc</sup>	2.03 <sup>a</sup>	91.4 <sup>cd</sup>	7.94 <sup>a</sup>	152.5 <sup>ab</sup>
800	0.43 <sup>abd</sup>	1.85 <sup>b</sup>	85.0 <sup>bcd</sup>	7.77 <sup>a</sup>	150.9 <sup>ab</sup>	
As(III)	0	1.00 <sup>a</sup>	79.9 <sup>bc</sup>	79.9 <sup>bc</sup>	3.64 <sup>d</sup>	201.3 <sup>a</sup>
	10	0.76 <sup>bc</sup>	104.2 <sup>a</sup>	104.2 <sup>ab</sup>	9.41 <sup>ab</sup>	177.8 <sup>abc</sup>
	20	0.72 <sup>bcd</sup>	89.9 <sup>bc</sup>	89.9 <sup>abc</sup>	10.36 <sup>ab</sup>	172.6 <sup>abc</sup>
	50	0.71 <sup>bcd</sup>	69.7 <sup>b</sup>	69.7 <sup>c</sup>	8.88 <sup>bc</sup>	170.9 <sup>abc</sup>
	100	0.62 <sup>d</sup>	82.7 <sup>bc</sup>	82.7 <sup>bc</sup>	10.65 <sup>ab</sup>	194.0 <sup>ab</sup>
	180	0.69 <sup>bcd</sup>	88.7 <sup>bc</sup>	88.7 <sup>abc</sup>	6.23 <sup>cd</sup>	157.8 <sup>bc</sup>
	280	0.78 <sup>b</sup>	88.9 <sup>bc</sup>	88.9 <sup>abc</sup>	12.17 <sup>a</sup>	173.5 <sup>abc</sup>
	450	0.65 <sup>cd</sup>	116.4 <sup>a</sup>	116.4 <sup>a</sup>	10.43 <sup>ab</sup>	149.1 <sup>c</sup>
800	0.48 <sup>e</sup>	87.1 <sup>bc</sup>	87.1 <sup>bc</sup>	8.43 <sup>bc</sup>	160.8 <sup>bc</sup>	

注: 数据为 3 次重复的平均值, 数值后不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

### 2.3 土壤砷形态与土壤酶活性的相关性

采用 GraphPad Prism 5 的  $y = \text{bottom} + (\text{top} - \text{bottom}) / (1 + 10^{(\lg \text{EC}_{50} - x) * \text{hillslope}})$  方程将各种形态砷浓度的对数与土壤酶的相对活性(相对酶活性等于处理酶活性与 CK 酶活性比值)进行非线性回归分析。在外源添加 As(V) 试验中,蔗糖酶、多酚氧化酶活性与 AE-As、Ca-As、Fe-As、Al-As 具有良好的非线性拟合关系,其方程见表 2。从表 2 可知 AE-As、Ca-As、Fe-As、Al-As 的蔗糖酶的  $\text{ED}_{50}$  ( $\text{ED}_{50}$  值,即酶活性降低 50% 时所需的重金属的浓

度,简称重金属生态剂量)值分别为 17.97、30.88、18.18、30.70 mg/kg,即 AE-As 的蔗糖酶的生态毒性最大,其次是 Al-As、Fe-As、Ca-As 对蔗糖酶的生态毒性最小。各种形态砷对碱性磷酸酶的生态毒性由小到大依次为:  $\text{ED}_{50(\text{AE-As})}$ 、 $\text{ED}_{50(\text{Al-As})}$ 、 $\text{ED}_{50(\text{Fe-As})}$ 、 $\text{ED}_{50(\text{Ca-As})}$ ,其中 AE-As、Al-As 的  $\text{ED}_{50}$  小于 100 mg/kg,而 Fe-As 和 Ca-As 的  $\text{ED}_{50}$  大于 120 mg/kg。各种形态砷对蔗糖酶的生态毒性比相应的碱性磷酸酶强。

表 2 AE-As、Ca-As、Al-As、Fe-As 浓度与土壤酶活性的拟合方程(As(V))

Tab. 2 Fitting equations between enzyme activity and AE-As, Ca-As, Al-As and Fe-As concentrations (As(V))

酶类型	各形态砷	拟合方程	决定系数 $R^2$	$\text{ED}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	显著水平
蔗糖酶	AE-As	$y_1 = 0.9774 + \frac{1.1826}{1 + 10^{3.6589 - 2.863x_1}}$	0.7553	17.97	$p < 0.01$
	Ca-As	$y_1 = 0.6363 + \frac{1.5457}{1 + 10^{2.9487 - 1.979x_2}}$	0.7444	30.88	$p > 0.05$
	Al-As	$y_1 = 0.7234 + \frac{0.7222}{1 + 10^{2.5910 - 6.091x_3}}$	0.7454	18.18	$p < 0.01$
	Fe-As	$y_1 = 0.9455 + \frac{1.2085}{1 + 10^{4.9661 - 3.36x_4}}$	0.7425	30.70	$p > 0.05$
多酚氧化酶	AE-As	$y_2 = 0.9818 + \frac{0.3822}{1 + 10^{6.6217 - 3.401x_1}}$	0.7594	88.53	$p > 0.05$
	Ca-As	$y_2 = 0.9804 + \frac{0.3886}{1 + 10^{9.1107 - 4.145x_2}}$	0.7922	157.90	$p > 0.05$
	Al-As	$y_2 = 0.9801 + \frac{0.3869}{1 + 10^{12.176 - 6.091x_3}}$	0.8171	99.90	$p > 0.05$
	Fe-As	$y_2 = 0.9812 + \frac{0.3908}{1 + 10^{7.7266 - 3.519x_4}}$	0.7572	120.80	$p > 0.05$

注:  $y_1$  为蔗糖酶的活性,  $y_2$  为多酚氧化酶的活性,  $x_1 \sim x_4$  分别为 AE-As、Ca-As、Fe-As、Al-As 浓度的对数,下同。

在 As(III) 处理试验中,AE-As 与多酚氧化酶、Ca-As 与蛋白酶和碱性磷酸酶、Fe-As 与碱性磷酸酶没有显著的非线性关系,如表 3 所示,通过对重金属生态剂量  $\text{ED}_{50}$  的分析表明,AE-As 的生态毒

性最大,  $\text{ED}_{50}$  为 22.9 mg/kg,而 Ca-As 对蛋白酶的剧变抑制浓度 ( $\text{ED}_{50}$ ) 值为 99.2 mg/kg, Fe-As ( $\text{ED}_{50} = 115.5$ ) 对碱性磷酸酶的生态毒性略大于 Ca-As ( $\text{ED}_{50} = 116.4$ )。

表 3 AE-As、Ca-As、Al-As、Fe-As 浓度与土壤酶活性的拟合方程(As(III))

Tab. 3 Fitting equations between enzyme activity and AE-As, Ca-As, Al-As and Fe-As concentrations (As(III))

酶类型	各形态砷	拟合方程	决定系数 $R^2$	$\text{IC}_{50}/(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	显著水平
多酚氧化酶	AE-As	$y_1 = 0.8153 + \frac{0.0894}{1 + 10^{20.4046 - 8.86x_1}}$	0.0902	22.9	$p > 0.05$
蛋白酶	Ca-As	$y_2 = 0.7762 + \frac{0.1363}{1 + 10^{7.365x_2 - 14.7079}}$	0.2618	99.2	$p > 0.05$
	Ca-As	$y_3 = 1.067 + \frac{0.26}{1 + 10^{24.7094 + 11.98x_3}}$	0.3347	116.4	$p > 0.05$
碱性磷酸酶	Fe-As	$y_4 = 1.073 + \frac{0.254}{1 + 10^{26.427 - 12.81x_4}}$	0.3307	115.5	$p > 0.05$

### 2.4 土壤生物功能结构与多样性对砷浓度的响应

土壤酶在土壤物质转化过程和不同转化阶段发挥着各自的功能,因此总体酶活性可表征土壤微生物功能多样性。在 As(V) 处理试验中,5 种酶活性主成分特征显示第 1 主成分的方差贡献率为

47.1%,加上第 2 主成分的方差贡献率达 88.4%。由此可见,用第 1、2 主成分即可代表系统内的变异状况。由主成分的组成因素可知,对第 1 主成分贡献率最高的是蛋白酶,第 2 主成分主要反映了碱性磷酸酶变异信息,因此这 2 种酶活性的强弱可以反

映 As(V) 的污染状况。而在 As(III) 处理中, 第 1 主成分的方差贡献率为 50.5%, 第 2 主成分的方差贡献率为 27.3%, 第 3 主成分的方差贡献率为 19.0%, 累计方差贡献率达 96.8%。蔗糖酶在第 1 主成分上有较高的载荷, 是主成分分异作用的主要酶类, 与 As(V) 试验有所差别。

土壤微生物群落功能多样性主成分分析如图 2 所示, 在 As(V) 试验中, 在相似度为 97.5% 的情况

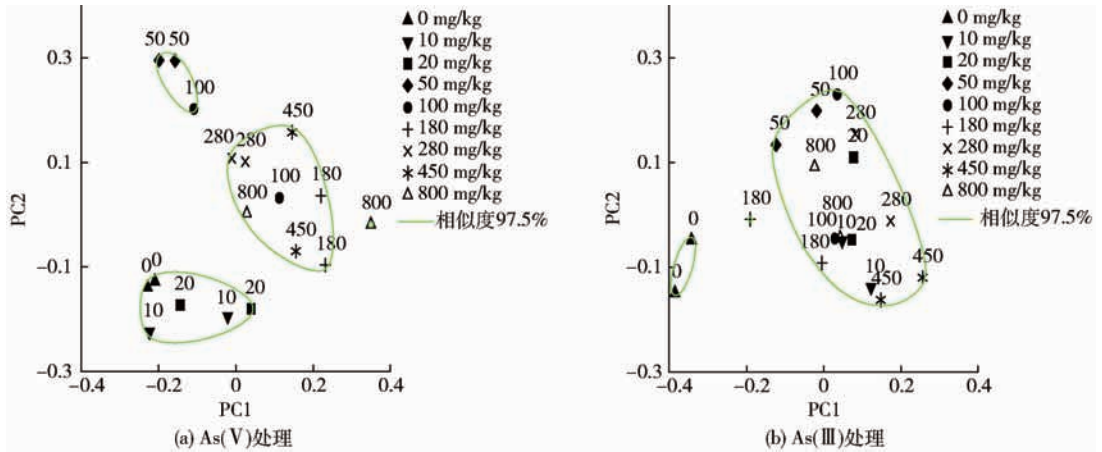


图 2 不同砷浓度条件下土壤生物功能主成分分析

Fig. 2 PCA of soil biological functional structure at different As levels

### 3 讨论

已有研究表明, As 等重金属可作为土壤酶的辅基, 从而增强酶的活性, 即有激活作用; 也可能与酶分子的巯基和胺基结合, 导致酶的活性降低, 即有抑制作用; As 与土壤酶没有专一的对应关系, 酶活性没有受到影响。脱氢酶、多酚氧化酶的活性在 As 的浓度小于 180 mg/kg 时, 表现为抑制作用, 这与杨居荣等<sup>[15]</sup>人的研究结果类似, As(V) 可降低脱氢酶和过氧化氢酶的活性。相反, 砷对蔗糖酶有刺激作用, 且随着外源 As(V) 添加量的增加, 蔗糖酶的活性显著增加。何念祖等<sup>[8]</sup>和 NICOLA LORENZ 等<sup>[8]</sup>研究发现砷对蔗糖酶有促进作用, 甚至呈显著正相关。FLIEBBAO 等<sup>[16]</sup>和 KANDELER 等<sup>[17]</sup>认为蔗糖酶参与碳水化合物的分解, 在高砷环境下微生物需要更多的碳水化合物来维持生命和进行修复过程。前人的研究表明 As 对蛋白酶的影响较小, 既无显著刺激亦无显著抑制作用<sup>[15, 18-19]</sup>, 本研究表明蛋白酶的活性较对照处理降低 6.2% ~ 21.0% 且没有显著差异。谢思琴等<sup>[18]</sup>表明当砷浓度大于 80 ~ 160 mg/kg 时, 砷对磷酸酶的活性有显著刺激作用。NICOLA LORENZ 等研究表明当砷的浓度达 300 mg/kg 时碱性磷酸酶的活性较对照处理显著降低。As(V)、As(III) 对碱性磷酸酶的活性影响表现为“低砷促进,

下可以把不同的 As(V) 处理分为小于 20 mg/kg、50 ~ 100 mg/kg、180 ~ 800 mg/kg 3 组, 说明当 As(V) 的添加量大于 50 mg/kg 时, 土壤微生物群落功能多样性发生了变化。外源添加 As(III) 试验中, 在 97.5% 相似度的情况下可以把不同的 As(III) 处理分为 2 组: 对照组 (0 mg/kg) 和 10 ~ 800 mg/kg。土壤酶对 As(III) 的含量梯度响应非常敏感, 加 As(III) 会使土壤微生物群落功能结构发生显著的变化。

高砷抑制”。SPEIR 等<sup>[19]</sup>和 JUMA 等<sup>[20]</sup>指出磷酸酶对砷污染敏感的原因是砷酸和磷酸具有相似的结构, 且 As(III) 和硫形成共价键, 去偶联氧化磷酸化, 进而干扰蛋白质的形成。

### 4 结论

(1) 随着外源砷浓度的增加, AE-As 含量增加, 而 Ca-As、Fe-As、Al-As 的含量则有减少趋势, 且主要以 Ca-As 形式存在。

(2) As 可降低过氧化氢酶、多酚氧化酶、蛋白酶的活性, 而对蔗糖酶表现为激活作用, 碱性磷酸酶则表现为“低砷刺激, 高砷抑制”, 土壤酶对 As(III) 污染较 As(V) 敏感。

(3) 通过对砷的各化学形态和土壤酶活性的非线性分析表明: 在 As(V) 处理试验中, AE-As 对蔗糖酶有显著的刺激作用, 其生态毒性也最强 (ED<sub>50</sub> 为 17.97 mg/kg)。故在北方石灰性污染土壤中, 可把交换态 As 与蔗糖酶活性共同作为评价土壤 As 污染程度的主要生化指标。

(4) 通过主成分分析可发现, 当 As(V) 的浓度达到 50 mg/kg, As(III) 的浓度达 10 mg/kg 时, 土壤微生物的功能结构发生了变化, 50 mg/kg 和 10 mg/kg 可作为 As(V)、As(III) 对土壤微生物学性质影响的临界值。

## 参 考 文 献

- 1 GEISZINGER A, GOSSLER W, KIJHNELT D. Determination of arsenate compounds in earthworms[J]. *Environmental Science and Technology*, 1998, 32(15): 2238 - 2243.
- 2 HUANG Zechun, CHEN Tongbin, LEI Mei, et al. Direct determination of arsenic species in arsenic hyper accumulator plants by EXAFS[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46(1): 46 - 50.
- 3 刘清, 王子健, 汤鸿霄. 重金属形态与生物毒性及生物有效性关系的研究进展[J]. *环境科学*, 1996, 17(1): 89 - 92.  
LIU Qing, WANG Zijian, TANG Hongxiao, et al. Research progress in heavy metal speciation and toxicity and bioavailability of heavy metals[J]. *Environmental Science*, 1996, 17(1): 89 - 92. (in Chinese)
- 4 MA Lena Q, RAO Gade N. Chemical fractionation of cadmium, copper, nickel, and zinc in contaminated soils [J]. *Journal of Environmental Quality*, 1997, 26(1): 259 - 264.
- 5 史长青. 重金属污染对水稻土壤酶活性的影响[J]. *土壤通报*, 1995, 26(1): 34 - 35.
- 6 刘树庆. 保定市污灌区土壤的 Pb、Cd 污染与土壤酶活性关系研究[J]. *土壤学报*, 1996, 33(2): 175 - 182.  
LIU Shuqing. Relationship between soil Pb and Cd pollution and enzyme activities in waste water irrigated area of Baoding city[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1996, 33(2): 175 - 182. (in Chinese)
- 7 周礼恺, 张志明, 曹承绵, 等. 土壤的重金属污染与土壤酶活性[J]. *环境科学学报*, 1985, 5(2): 176 - 184.  
ZHOU Likai, ZHANG Zhiming, CAO Chengmian, et al. Heavy metal pollution and enzymatic activity of soil[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1985, 5(2): 176 - 184. (in Chinese)
- 8 何念祖, 史建华, 林玉胜. 砷和铅对土壤酶活性的影响[J]. *环境科学学报*, 1987, 7(4): 498 - 501.  
HE Nianzu, SHI Jianhua, LIN Yusheng. Effects of As and Pb on the enzymatic activities in soils [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1987, 7(4): 498 - 501. (in Chinese)
- 9 刘霞, 刘树庆, 唐兆宏. 潮土和潮褐土中重金属形态与土壤酶活性的关系[J]. *土壤学报*, 2003, 40(4): 581 - 587.  
LIU Xia, LIU Shuqing, TANG Zhaohong. The relationship between heavy metal forms and soil enzymatic activities in alluvial meadow soils and meadow cinnamon soils[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(4): 581 - 587. (in Chinese)
- 10 杨红飞, 严密, 王友保, 等. 安徽主要水稻土中重金属形态分布与土壤酶活性研究[J]. *土壤*, 2007, 39(5): 753 - 759.  
YANG Hongfei, YAN Mi, WANG Youbao, et al. Activities of soil enzymes related to forms and distribution of heavy metals in paddy soil in Anhui Province[J]. *Soil*, 2007, 39(5): 753 - 759. (in Chinese)
- 11 ONKEN B M, ADRIANO D C. Arsenate availability in soil with time under saturated and sub-saturated conditions [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61(3): 746 - 752.
- 12 陈同斌, 武斌, 廖晓勇, 等. 石灰性土壤中砷形态分级方法的比较及其最佳方案[J]. *环境科学学报*, 2006, 26(9): 1467 - 1473.  
CHEN Tongbin, WU Bin, LIAO Xiaoyong, et al. Comparison of five methods for fractionation of calcareous soil contaminated with arsenic[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2006, 26(9): 1467 - 1473. (in Chinese)
- 13 关松荫. 土壤酶学研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- 14 吴金水, 林启美, 黄巧云. 土壤微生物生物量测定方法及其应用[M]. 北京: 气象出版社, 2006.
- 15 杨居荣, 任燕, 刘虹, 等. 砷对土壤微生物及土壤生化活性的影响[J]. *土壤*, 1996(2): 101 - 109.  
YANG Jurong, REN Yan, LIU Hong, et al. Effect of arsenic on soil microbiology and biochemical activity[J]. *Soils*, 1996(2): 101 - 109. (in Chinese)
- 16 FLIEBBACH A, MARTENS R, REBER H H. Soil microbial biomass and microbial activity in soils treated with heavy metal contaminated sewage sludge[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26(9): 1201 - 1205.
- 17 KANDELER E, KAMPICHLER C, HORAK O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 23(3): 299 - 306.
- 18 谢思琴, 顾宗濂, 吴留松. 砷, 镉, 铅对土壤酶活性的影响[J]. *环境科学*, 1990, 8(1): 19 - 23.  
XIE Siqin, GU Zonglian, WU Liusong. Influence of As, Cd and Pb on soil enzyme activity[J]. *Environmental Science*, 1990, 8(1): 19 - 23. (in Chinese)
- 19 SPEIR T W, KETTLES H A, PARSHOTAM A, et al. Simple kinetic approach to determine the toxicity of As(V) to soil biological properties[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31(5): 705 - 713.
- 20 JUMA N G, TABATABAI M A. Effects of trace elements on phosphates activity in soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1977, 41(2): 343 - 346.