

四种绿化树种土壤酶活性对不同浓度多环芳烃的响应

朱 凡, 田大伦, 闫文德, 王光军, 梁小翠, 郑 威

(中南林业科技大学生态教研室, 湖南 长沙 410004)

摘要:多环芳烃(PAHs)是一类广泛存在于环境中的有机污染物, 由于其致癌性和致突变性而受到广泛关注。采用盆栽实验, 在 3 种多环芳烃污染水平(重度 L_3)、(中度 L_2)、(轻度 L_1) 下, 研究了樟树(*Cinnamomum camphora*)、广玉兰(*Magnolia grandiflora*)、栎树(*Koelreuteria bipinnata*)、马褂木(*Liriodendron chinense*)南方 4 种绿化树种的土壤酶活性在 6 个月后的响应差异。结果表明:在不同 PAHs 污染水平下, 磷酸酶活性表现为 $L_2 > L_3 > L_1$; 多酚氧化酶和过氧化氢酶的趋势一致, 表现为 $L_3 > L_1 > L_2$ 。土壤酶活性在 4 个树种间有明显差异, 在 L_1 污染水平下, 各土壤酶活性表现为马褂木 > 广玉兰 > 樟树 > 栎树; 在 L_2 污染水平下, 各土壤酶活性表现为栎树 > 马褂木 > 樟树 > 广玉兰; 而在 L_3 污染水平下, 表现为马褂木 > 樟树 > 广玉兰 > 栎树。不同 PAHs 水平下的多酚氧化酶活性呈极显著差异($P < 0.01$), 过氧化氢酶活性呈显著差异($P < 0.05$), 而磷酸酶活性变化率受污染物浓度影响不显著。此外, 土壤酶活性与微生物相关性不显著。土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶可以作为土壤污染程度的评价指标。

关键词:多环芳烃; 土壤酶活性; 磷酸酶; 过氧化氢酶; 多酚氧化酶

文章编号:1000-0933(2008)09-4195-08 中图分类号:Q142, Q945, Q948, X171 文献标识码:A

The response of soil enzymatic activity to PAHs contamination for four urban afforestation species

ZHU Fan, TIAN Da-Lun, YAN Wen-De, WANG Guang-Jun, LIANG Xiao-Cui, ZHENG Wei

Research Section of Ecology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(9): 4195 ~ 4202.

Abstract: Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) are a kind of organic pollutants which exist in environments chronically, they are of particular concern because some are potent toxins and some can be highly persistent in the environment, also pose a carcinogenesis risk to humans. The aim of this trial was to quantify the responses of soil enzyme activity during the phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) under laboratory control. In the experiments 4 tree species including *Cinnamomum camphora*, *Magnolia grandiflora*, *Koelreuteria bipinnata*, *Liriodendron chinense*, from subtropical China were elected and planted separately in the pots in which soils were treated with diesel oil to three concentration levels of PAHs ($L_1 < L_2 < L_3$). Throughout the 180-d experiment of soil phosphatase, polyphenol oxidase and hydrogen peroxidase activity were monitored. Under different concentration of PAHs, the order of phosphatase activity was $L_2 > L_3 > L_1$, the order of polyphenol oxidase and hydrogen peroxidase activity was $L_3 > L_1 > L_2$. There are

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30571487, 30771700); 国家林业局“948”资助项目(2007-4-19); 湖南省科技厅重点资助项目(06FJ3083, 05NK3026); 湖南省杰出青年基金资助项目(07JJ1004); 中南林业科技大学青年科学研究基金资助项目(07024B)

收稿日期:2008-01-07; **修订日期:**2008-06-20

作者简介:朱凡(1973~), 女, 湖南郴州人, 副教授, 主要从事城市生态学研究。E-mail: forestranger33@hotmail.com

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30571487, 30771700), the “948” project of State Forestry Administration (No. 2007-4-19), the Urban Forest Ecological Key Laboratory of Hunan Province (No. 06FJ3083, 05NK3026), the Preeminence Youth Foundation of Hunan Province (No. 07JJ1004), and the Youth Research Foundation of CSUFT (No. 07024B)

Received date: 2008-01-07; **Accepted date:** 2008-06-20

Biography: ZHU Fan, Associate professor, mainly engaged in urban ecology. E-mail: forestranger33@hotmail.com

difference in enzymatic activities among 4 tree species. Treated with L_1 , the order of 4 tree species was *Liriodendron chinense* > *Magnolia grandiflora* > *Cinnamomum camphora* > *Koelreuteria bipinnata*; treated with L_2 , the order of 4 tree species was *Koelreuteria bipinnata* > *Liriodendron chinense* > *Cinnamomum camphora* > *Magnolia grandiflora*; treated with L_3 , the order of 4 tree species *Liriodendron chinense* > *Cinnamomum camphora* > *Magnolia grandiflora* > *Koelreuteria bipinnata*. The change ratio of polyphenol oxidase and hydrogen peroxidase activity showed significant difference with PAHs concentration. The soil enzymes showed few correlation with soil microbes. The activities of soil polyphenol oxidase and hydrogen peroxidase can be regarded as indexes to assess PAHs contaminated soil.

Key Words: PAHs; soil enzyme activity; phosphatase; hydrogen peroxidase; polyphenol oxidase

多环芳烃(Polycyclic Aromatic Hydrocarbons, PAHs)是指分子中含有两个或两个以上苯环的烃类化合物,其中 16 种被美国环保署确定为优先控制的有机污染物质^[1]。环境中的多环芳烃主要由有机物质的不完全燃烧^[2],包括生物和石化燃料的燃烧,火山爆发和地质成岩过程产生;石油泄漏^[3]和废水排放^[4]也会增加环境中 PAHs 的含量,而土壤是 PAHs 的主要环境归宿库。因此 PAHs 污染土壤及污染土壤的生态恢复等问题引起了人们的关注^[5~7]。

植物对土壤中多环芳烃有修复作用^[8,9],在植物修复过程中,酶对土壤污染物的修复作用优势明显。其主要机理是通过微生物源酶的作用分解转化土壤中的有机污染物成为简单的无机物,以达到净化土壤的目的^[10]。同样地植物的存在促进了生物化学反应中酶的能力。

土壤酶类参与土壤中大部分复杂的生物化学过程,起到高效催化作用^[11]。土壤受污染后,酶活性变化很大,许多研究表明,重金属^[12,13]、农药^[14]和其它污染物^[15]对土壤酶活性具有较大的影响。近年来,国外学者展开了土壤酶活性与多环芳烃污染关系的研究,主要集中在脱氢酶、磷酸酶、脲酶和蛋白酶活性对多环芳烃污染的生态效应^[16,17],及将土壤酶活性作为评价土壤质量监测指标的研究^[18],但是将土壤酶活性作为污染物的生态毒性指标还缺乏足够的理论支撑^[19]。国内在这方面的研究仅是通过实验室模拟的方式研究 PAHs 单一组分对土壤酶活性的影响^[20,21]及污水灌溉对稻田土壤酶活性^[22]的影响,那么目前报道土壤酶活性在修复过程中的变化还很少。

本文选择南方城市 4 种常见的木本树种,研究植物修复过程中,土壤酶活性对不同浓度的多环芳烃的响应规律,找出与多环芳烃污染程度关系密切的酶,旨在为修复多环芳烃绿化树种的选择及应用酶活性作为污染物的生态毒性指标提供理论数据。

1 实验材料与方法

1.1 实验地概况

实验地设在湖南省长沙市中南林业科技大学城市生态站实验室内,实验室系不锈钢微框架结构的温室,面积 22m × 6m。实验室地处东经 112°48',北纬 28°03'。当地年平均气温 16.8 °C,极端最高气温 40.6 °C,最低气温 -12 °C,年平均降雨量 1400 mm。无霜期为 270 ~ 300 d,日照时数年均 1677.1 h,属典型的亚热带湿润季风气候。

1.2 试验材料

实验土壤为湖南省株洲市夕阳红苗圃园土壤与中南林业科技大学长沙校区土壤的混合土,混合比例:1:1,自然风干,过 5mm 筛,待用。

实验采用 4 种南方城市常见的绿化树种,樟树(*Cinnamomum camphora*)、广玉兰(*Magnolia grandiflora*)、栎树(*Koelreuteria bipinnata*)、马褂木(*Liriodendron chinense*)均为 1 年生实生苗,来源于长沙黄兴镇苗木基地。

供试污染物:EPA-PAHs,用市售 0 号柴油代替。在陆地上使用的中程燃油中,柴油的芳烃和 PAHs 含量最高^[23],因此用柴油代替 PAHs 具有一定的科学依据。

1.3 试验设计

按照 $2\text{g 油} \cdot \text{kg}^{-1}\text{土}$ 、 $10\text{g 油} \cdot \text{kg}^{-1}\text{土}$ 、 $50\text{g 油} \cdot \text{kg}^{-1}\text{土}$ 的比例,将风干过筛后的实验土壤与柴油充分混合,放置 48h 以平衡,使之形成 3 个 PAHs 不同胁迫等级:轻度污染水平(L_1) $77.79\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、中度污染水平(L_2) $186.35\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、重度污染水平(L_3) $371.79\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。然后分装到圆形塑料盆中,移栽生长发育良好的苗木。每个树种每个污染水平下重复 3 株,以不种植植物污染土壤作为对照。实验于 2006 年 10 月 28 日开始进行,于 2007 年 4 月进行了一次性采样,历时 6 个月。对处理土壤的理化性质、PAHs 含量、土壤酶活性及微生物数量进行测定(表 1)。

表 1 供试土壤的基本情况

Table 1 General situation of the studied soil

处理 Treatment	PAHs 含量 PAHs concentration ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	pH	总有机碳 Total organic matter ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全氮 Total N ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	土壤含水量 Water content (%)	酶活性 Enzymatic activity		
						过氧化氢酶 Hydrogen peroxidase	多酚氧化酶 Polyphenol oxidase	磷酸酶 Phosphatase
L_1	77.79	5.01	19.06	1.35	18.3	0.89	0.0019	58.27
L_2	186.35	4.98	23.36	1.29	16.7	0.62	0.00097	62.23
L_3	371.79	4.86	46.26	1.16	17.0	0.65	0.00049	58.96

1.4 测定方法

土壤中 PAHs 的含量:首先经样品前处理(索氏提取、旋转蒸发、柱层析、氮吹),浓缩至 1ml,然后用 Agilent 6890GC/5973MS 气质联用仪测定 PAHs 含量。仪器的条件:

$$60\text{ }^{\circ}\text{C} \xrightarrow{15\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}} 100\text{ }^{\circ}\text{C} (5\text{ min}) \xrightarrow{8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}} 210\text{ }^{\circ}\text{C} (3\text{ min}) \xrightarrow{2\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{min}} 290\text{ }^{\circ}\text{C} (5\text{ min})$$

色谱柱为 HP-5 毛细管色谱柱 $30\text{ m} \times 0.25\text{ mm}$ 。不分流进样,气化温度 $280\text{ }^{\circ}\text{C}$,载气为高纯 He。

土壤 pH 值用 PXS-270 型离子计测定,土壤有机碳采用重铬酸钾氧化法,土壤全氮采用凯氏定氮法,土壤含水量采用烘干法^[24]。

微生物数量的测定用稀释平板菌落计数法。细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌采用孟加拉红-马丁氏琼脂培养基,放线菌采用改良高氏一号培养基。细菌、真菌、放线菌均采用混菌法接种,接种后置 $28\sim 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 生化培养箱内培养,分别在 24、48 h 及 4~5 d 内检查并进行 CFU (Colony Forming Unit) 计数^[25]。菌落计数方法见《环境工程微生物检验手册》^[26]。

土壤酶活性:分析项目包括过氧化氢酶、磷酸酶、多酚氧化酶。过氧化氢酶-高锰酸钾滴定法,过氧化氢酶活性以 20min 后 1g 土壤的 $0.02\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高锰酸钾的毫升数表示($0.02\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KMnO}_4\text{ ml} \cdot \text{g}^{-1}$)。多酚氧化酶-碘量滴定法,多酚氧化酶活性以用于滴定相当于 1g 土壤的滤液的 $0.005\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ I}_2$ 的毫升数表示($0.005\text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ I}_2\text{ ml} \cdot \text{g}^{-1}$)。磷酸酶—磷酸苯二钠比色法,磷酸酶活性以 2h 后 100g 土壤中 P_2O_5 的毫克数表示($\text{P}_2\text{O}_5\text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$)^[11]。

1.5 数据处理

研究所获得的数据采用 SPSS13.0 进行相应的统计和分析,用 EXCEL 做图。

2 结果

2.1 不同污染水平下对土壤酶活性的影响

3 种酶对不同污染浓度的反映表现出明显差异,但是酶在不同树种不同污染水平下变化趋势较一致(图 1)。4 种树种的土壤磷酸酶在 L_2 下活性最大,在 L_3 次之,在 L_1 最小;而多酚氧化酶和过氧化氢酶的趋势一致,均在 L_3 下活性最强,在 L_1 次之,在 L_2 最小。研究显示低和高浓度的多环芳烃对磷酸酶都有抑制作用,也就是说多环芳烃在一定范围内对磷酸酶有激活作用,但是低于或高于这个范围都将抑制其活性。而且磷酸酶在不同污染水平下变化幅度相对多酚氧化酶和过氧化氢酶小,表明多酚氧化酶和过氧化氢酶比磷酸酶对多环芳烃

含量的变化要敏感。

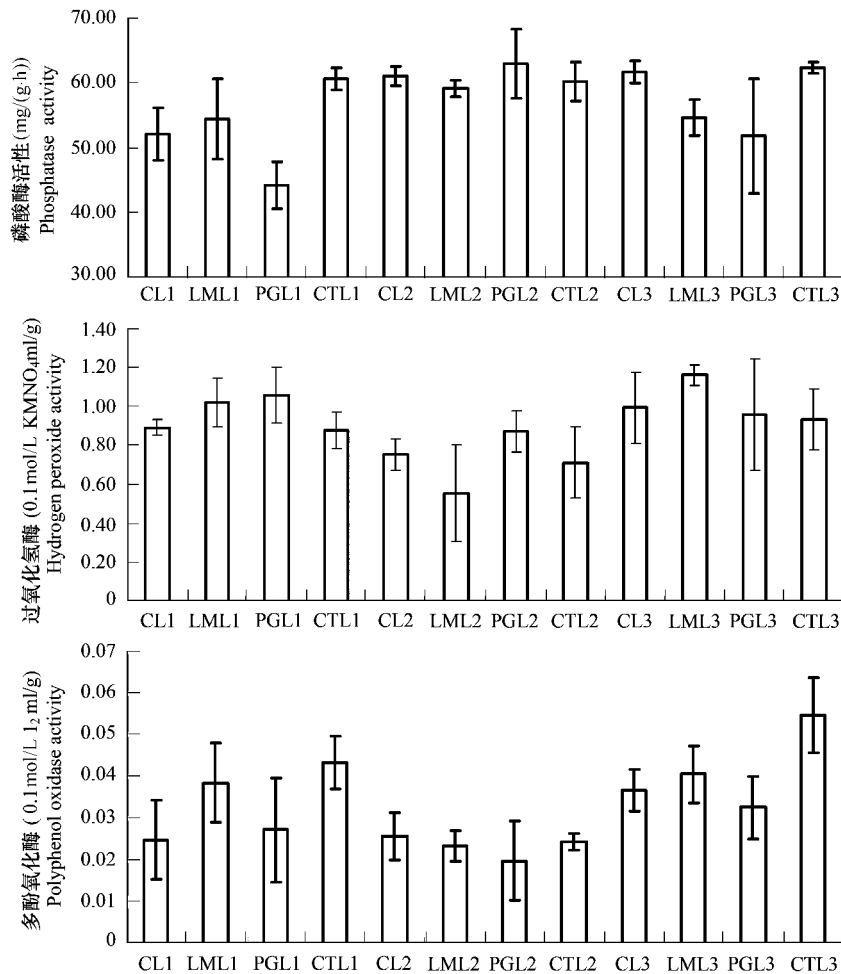


图1 在不同 PAHs 浓度水平下各个树种土壤酶活性

Fig. 1 Soil enzyme activity response to different concentration of PAHs under 4 different tree species

CL1, LML1, PGL1, CTL1 分别表示樟树, 广玉兰, 栎树, 马褂木在多环芳烃 L₁ 水平下酶活性; CL2, LML2, PGL2, CTL2 表示在 L₂ 水平下酶活性; CL3, LML3, PGL3, CTL3 表示在 L₃ 水平下酶活性; CL1-3, LML1-3, PGL1-3, CTL1-3: enzyme activity in the soil separated from *Cinnamomum camphora*, *Magnolia grandiflora*, *Koelreuteria bipinnata* and *Liriodendron chinense* under from low PAH level (L₁) to high PAH level (L₃)

同树种间同种酶活性有差异(图1)。磷酸酶活性在 L₁ 污染水平下, 马褂木 > 广玉兰 > 樟树 > 栎树; 在 L₂ 污染水平下, 栎树 > 樟树 > 马褂木 > 广玉兰; 在 L₃ 污染水平下, 马褂木 > 樟树 > 广玉兰 > 栎树。过氧化氢酶活性在 L₁ 污染水平下, 栎树 > 广玉兰 > 樟树 > 马褂木; 在 L₂ 污染水平下, 栎树 > 樟树 > 广玉兰 > 马褂木; 在 L₃ 污染水平下, 广玉兰 > 樟树 > 栎树 > 马褂木。多酚氧化酶活性在 L₁ 污染水平下, 马褂木 > 广玉兰 > 栎树 > 樟树; 在 L₂ 污染水平下, 马褂木 > 樟树 > 广玉兰 > 栎树; 在 L₃ 污染水平下, 马褂木 > 广玉兰 > 樟树 > 栎树, 由此可见种植栎树的土壤中磷酸酶活性变化幅度最显著。在 PAHs 的最低浓度(L₁) 和最高浓度(L₃) 下, 它与其它 3 个树种的相比, 磷酸酶活性最小, 而中等浓度(L₂) 下, 它的活性最大。种植马褂木的土壤中多酚氧化酶的活性在多环芳烃的 3 个浓度下, 始终是所有树种中最大的, 而过氧化氢酶活性则刚好相反, 始终是最小的。

4 个树种总的土壤酶活性(表2), 在 L₁ 污染水平下, 为马褂木 > 广玉兰 > 樟树 > 栎树; 在 L₂ 污染水平下, 为栎树 > 马褂木 > 樟树 > 广玉兰; 在 L₃ 污染水平下, 为马褂木 > 樟树 > 广玉兰 > 栎树。种植植物的土壤酶活性均高于无植物污染土壤。

表 2 不同污染水平下总的酶活性及其变异系数

Table 2 The soil enzyme activities and their coefficient of variation (CV) of different tree species under the different concentration of PAHs

处理 Treatment	樟树 <i>Cinnamomum camphora</i>	广玉兰 <i>Magnolia grandiflora</i>	栎树 <i>Koelreuteria bipinnata</i>	马褂木 <i>Liriodendron chinense</i>	对照 CK
L ₁	17.69 ± 1.36	18.53 ± 2.11	15.12 ± 1.28	20.53 ± 0.61	13.68 ± 0.24
L ₂	20.60 ± 0.54	19.93 ± 0.52	21.30 ± 1.8	20.88 ± 0.63	12.25 ± 0.47
L ₃	20.88 ± 0.63	18.65 ± 0.94	17.61 ± 3.03	21.13 ± 0.35	10.22 ± 0.28

2.2 土壤酶活性变化率与 PAHs 污染浓度的关系

方差分析表明,在 95 % 置信度情况下,多酚氧化酶活性的变化率与多环芳烃不同浓度间呈极显著差异关系($P < 0.01$),过氧化氢酶活性变化率与多环芳烃不同浓度呈显著差异关系($P < 0.05$),而磷酸酶活性变化率受污染物浓度影响不显著,不同树种在各个污染水平下酶活性间差异不显著(表 3)。

表 3 酶活性变化率与多环芳烃浓度间的方差分析

Table 3 Mean-variance Analysis between change ratio of enzymatic activity and PAHs concentration

处理 Treatment	樟树 <i>Cinnamomum camphora</i>			广玉兰 <i>Magnolia grandiflora</i>			栎树 <i>Koelreuteria bipinnata</i>			马褂木 <i>Liriodendron chinense</i>		
	HPA	POA	PA	HPA	POA	PA	HPA	POA	PA	HPA	POA	PA
	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio	变化率 Change ratio
L ₁	0 *	12.74 **	-0.1	0.132 *	20.36 **	-0.06	0.173 *	14.14 **	-0.24	-0.03 *	23.00 **	0.04
L ₂	0.24 *	25.54 **	-0.02	0.18 *	23.16 **	-0.05	0.41 *	19.35 **	0.01	0.15 *	24.09 **	-0.03
L ₃	0.05 *	73.69 **	0.05	-0.07 *	81.72 **	-0.07	-0.12 *	65.59 **	-0.12	0.06 *	110.69 **	0.06

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 酶活性的变化率 = (6 个月土壤酶活性 - 修复前土壤酶活性) / 修复前土壤酶活性 × 100% Change ratio of enzymatic activity = (the final enzymatic activity - the original enzymatic activity) / the original enzymatic activity × 100%; HPA: 过氧化氢酶 Hydrogen peroxide, POA: 多酚氧化酶 Polyphenol oxidase, PA: 磷酸酶 Phosphatases

2.3 土壤酶与土壤微生物的关系

土壤细菌、真菌、放线菌是土壤生态系统中微生物区系的主要组成成分。本研究中,各种微生物区系的数量比例差异很大,各种污染水平下,细菌平均占微生物总数的 53.1% ~ 98.3%,放线菌占 1.34% ~ 39.66%,真菌占 0.31% ~ 7.23%。可见即使土壤污染严重,细菌仍然在土壤中微生物类群中占优势。从图 2 还可以看出,栎树和马褂木随着多环芳烃浓度的增加,细菌、真菌、放线菌数量的变化趋势一致的,细菌数量随着污染浓度的增加先下降后增加,表现出高浓度的多环芳烃对细菌生长具有刺激作用,真菌和放线菌的数量随着污染浓度的增加而下降。樟树土壤中,放线菌对土壤污染物的不同含量表现很敏感,而广玉兰土壤中,细菌对土壤污染物的不同含量表现敏感,因为二者随着污染物含量的改变,菌类数量增减幅度变化很明显。

通过酶与微生物的相关分析(表 4),证明土壤微生物的数量多少与土壤酶的活性强弱关系不明显,与 Frankenberger^[27] 与 Gallo^[28] 在研究森林土壤中酶与微生物的关系的结果一致。

2.4 土壤污染的评价指标分析

为了更好地分析多环芳烃不同污染浓度与土壤酶活性和微生物的复杂关系,从而选择用于土壤污染程度的评价指标,对土壤酶、微生物 6 个指标进行了主成分分析(表 5)。从表 5 可以看出,需要 2 个主成分才可解释超过 85% 的信息。第一主成分主要反映了土壤真菌和放线菌的信息,方差贡献率为 59.586%;第二主成分主要反映了土壤过氧化氢酶、多酚氧化酶活性和土壤细菌的信息,方差贡献率为 40.414%。从评价土壤受污染的角度看,土壤酶扮演着重要的角色,其中过氧化氢酶和多酚氧化酶是可选的指标。

3 讨论

酶作为土壤的组成部分,其活性的大小可较敏感地反映土壤中生化反应的方向和强度,是探讨污染生态效应的有效途径之一^[8,29]。本研究中发现磷酸酶在不同污染浓度间变化幅度相对多酚氧化酶和过氧化氢酶

小,且酶活性变化率与多环芳烃污染浓度呈不显著关系,而多酚氧化酶和过氧化氢酶活性却对土壤中多环芳烃含量变化较为敏感,成显著差异关系^[22,30]。可能因为这2种酶属于氧化还原酶,均参与烃类化合物及其代谢中间产物在土壤中的降解过程,特别是多酚氧化酶与土壤中芳烃和酚类的降解密切相关^[31,32],而多环芳烃在转化后又参与了酶促反应^[33]。宫旋^[20,21]等在土壤中分别填加100、300、600、1200 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和2400 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 浓度的菲、芘污染物,发现随着浓度的增加,对磷酸酶激活作用越强,对过氧化氢酶活性影响不显著。很多重金属污染研究也表明,土壤磷酸酶对不同重金属污染物的浓度变化都十分敏感,而且呈较好的相关性,可以用来作为土壤污染的评价指标^[34~37]。本研究与上述研究结果不符可能原因是植物的存在,使得酶活性发生了变化。黑麦草能增强土壤中多酚氧化酶的活性,可提高其对菲的降解率^[8];紫花苜蓿修复苯[并(a)]芘时,低浓度(1 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和中浓度(10 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)下根际土壤与非根际土壤之间在多酚氧化酶和脱氢酶上没有差别,而高浓度(100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)下根际土壤两种酶的活性显著提高^[38]。

土壤是一个不断进行着复杂生物化学反应的生态系统,土壤微生物扮演着重要的作用^[39],且土壤酶与土壤微生物之间存在密切关系^[40,41]。但是在本研究中,酶活性与微生物平板计数法测值之间关系也不明显。原因可能是:一是微生物平板计数法不是土壤微生物精确的测量方法,因为微生物在培养的过程中都是以选择性培养基作为基础的。二是土壤酶的测定,特定的土壤酶都有它的专性反映,因而在一个特定的时间里,只有

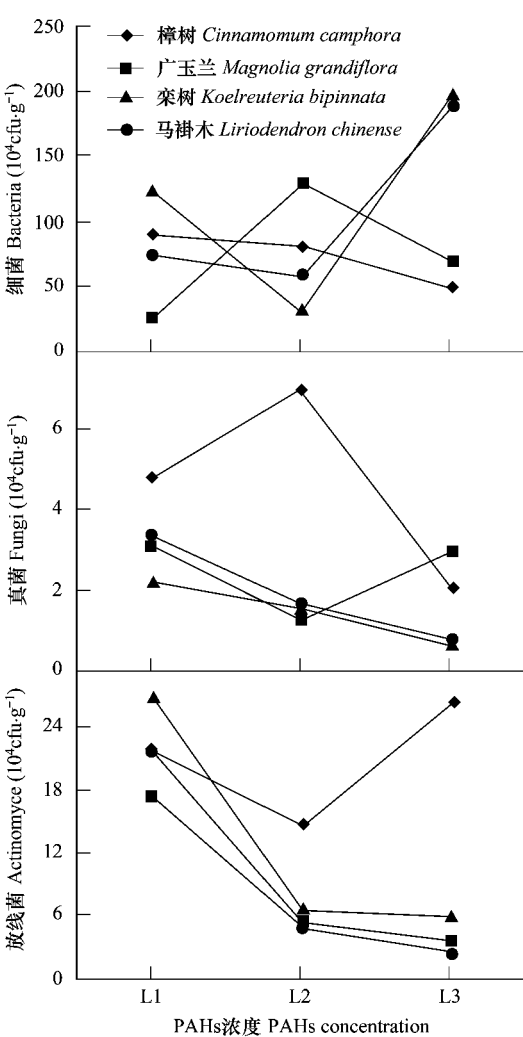


图2 不同多环芳烃(PAHs)浓度下微生物数量
Fig. 2 The amounts of soil microbes of different PAHs concentrations

表4 土壤酶与微生物的相关性分析

Table 4 The relationship among the soil enzyme activity and microbes			
土壤酶 Soil enzyme	细菌 Bacteria	真菌 Fungi	放线菌 Actinomyce
过氧化氢酶 Hydrogen peroxide	-0.005	-0.089	0.245
多酚氧化酶 Polyphenol oxidase	0.293	-0.184	-0.058
磷酸酶 Phosphatases	-0.249	-0.028	-0.358

* $P < 0.05$, * * $P < 0.01$

表5 不同多环芳烃污染程度的土壤信息系统主成分分析

Table 5 The principal component analysis of soil information system in different PAHs concentration			
项目 Item	第一主成分 1st Component	第二主成分 2nd Component	
特征根 Eigenvalues	3.575	2.425	
方差贡献率 Rate of variance	59.586	40.414	
累积贡献率 Cumulative rate	59.586	100	

$X_1 \sim X_3$ 分别代表过氧化氢酶、磷酸酶、多酚氧化酶; $X_4 \sim X_6$ 分别代表细菌、真菌、放线菌 $X_1 - X_3$ represent hydrogen peroxidase, Phosphatase, polyphenol oxidase. $X_4 - X_6$ represent bacteria, fungi, actinomyce

很少一部分生物群落拥有所要观测的酶。三是植物种类的不同,不同的植物,根释放的分泌物和酶也不同,高等植物根际微生物的数量很大程度上取决于植物根分泌物中所含糖类有机酸氨基酸等物质的数量和种类,这些分泌物越多,微生物生长越旺盛^[42]。根分泌物对根际微生物活性的影响不仅提高已存微生物的数量和活性,而且能选择性地影响微生物的生长,使根际不同微生物的相对丰度发生改变^[43]。

酶活性在空间也有差异,在不同污染水平下,种植树种的各种土壤酶活性均高于对照土壤,这一结果反映种植植物后,土壤的微生态环境得到了一定改善。但在同一污染水平下种植不同树种的同一酶活性都有差异,有的相差达 50% 以上,这可能由于不同树种导致土壤理化性质发生不同变化所造成的,许多研究都表明了土壤中的酶会随着 TOC, pH 的变化而变化^[44,14]。实验中还发现不同植物的根系在污染的状况下,发育程度差异很大,根区范围内根系量明显不同,林木生长水平会影响土壤的状况,这些因素也可能导致酶活性的差异。今后的研究中,还应测试土壤理化性质,分析其与土壤酶活性的关系。另外,研究中选择的四种树种为南方常见的绿化林木,在长期多环芳烃污染的情况下,它们的生长会发生变化,那么酶活性也可能随之发生变化,因此本研究中是反映了特定生长阶段酶活性,其长期的变化规律有待进一步研究。

4 结论

(1) 在 3 种多环芳烃污染水平下,4 个树种同种酶对污染物的浓度变化表征趋势较一致,磷酸酶活性为 $L_2 > L_3 > L_1$; 多酚氧化酶和过氧化氢酶活性为 $L_3 > L_1 > L_2$ 。总的土壤酶活性顺序,在 L_1 污染水平下为马褂木 > 广玉兰 > 樟树 > 栎树; 在 L_2 污染水平下为栎树 > 马褂木 > 樟树 > 广玉兰; 在 L_3 污染水平下为马褂木 > 樟树 > 广玉兰 > 栎树。

(2) 在本实验条件下,土壤酶与微生物之间没有相关性。即使在多环芳烃污染严重情况下,细菌仍然在土壤中微生物类群中占优势。

(3) 多环芳烃对土壤酶活性有一定的影响。多酚氧化酶和过氧化氢酶比磷酸酶对多环芳烃含量的变化要敏感,土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶活性的变化率与多环芳烃不同污染浓度呈显著差异关系,土壤磷酸酶活性变化率与多环芳烃污染浓度呈不显著关系。从上述结论及主成分分析得出,土壤过氧化氢酶和多酚氧化酶可以作为土壤污染程度的评价指标。

References:

- [1] Ribes A, Grimalt J O, Garcia C J T, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbons in mountain soils of the subtropical atlantic. *Journal of Environmental Quality*, 2003, 32: 977—987.
- [2] Sims R C, Overcash M R. Fate of polynuclear aromatic compounds (PNAs) in soil-plant systems. *Residue Rev*, 1983, 88: 1—68.
- [3] Tam N F Y, Ke L, Wang X H, *et al.* Contamination of polycyclic aromatic hydrocarbons in surface sediments of mangrove swamps. *Environmental Pollution*, 2001, 114: 255—263.
- [4] Jiries A, Hussain H, Lintelmann J. Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in wastewater, sediments, sludge and plants in Karak Province, Jordan. *Water Air Soil Pollut*, 2000, 121: 217—228.
- [5] Wilcke W. Polycyclic aromatic hydrocarbons in soil: a review. *J Plant Nutr Soil Sci*, 2000, 163: 229—248.
- [6] Wang X J, Ren L R, Dai Y N, *et al.* Contents of PAH compounds in different types of soils in Tianjin area. *Geographical Research*, 2003, 22 (3): 360—366.
- [7] Sun T H, Song Y F, Xu H X, *et al.* Plant bioremediation of PAHs and mineral oil contaminated soil. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1999, 10 (2): 225—229.
- [8] Ding K Q, Luo Y M, Liu S L, *et al.* Remediation of phenanthrene-citranubated soil by growing *Lolium multiflorum* Lam. *Soils*, 2002, 4: 233—236.
- [9] Patryk O, Stanislaw B. Polycyclic aromatic hydrocarbons content in shoots and leaves of willow (*Salix viminalis*) cultivated on the sewage sludge-amended soil. *Water, Air and Soil Pollution*, 2005, 168: 91—111.
- [10] Chen Y C. Engineers of bioremediation to polluted environment. Beijing: Chemical Industry Press, 2003. 137—165.
- [11] Guan S Y. Soil enzyme and its study methods. Beijing: China Agriculture Press, 1986. 309—327.
- [12] Leir s M C, Trasas-Cepeda C, García-Fernandez F, *et al.* Defining the validity of a biochemical index of soil quality. *Biol. Fertil. Soils*, 1999, 30: 140—146.
- [13] Long J, Huang C Y, Teng Y, *et al.* Preliminary study on soil microbes and soil biochemical activities in mining wasteland. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23 (3): 496—503.
- [14] Sannino F, Gianfreda L. Pesticide influence on soil enzymatic activities. *Chemosphere*, 2001, 45: 417—425.
- [15] Frankenberger W T, Johanson J B. Influence of crude oil and refined petroleum products on soil dehydrogenase activity. *J. Environ. Qual.* 1982, 11: 602—607.
- [16] Margesin R, Walder G, Schinner F. The impact of hydrocarbon remediation (diesel oil and polycyclic aromatic hydrocarbons) on enzyme activities and microbial properties of soil. *Acta Biotechnol*, 2000, 20: 313—333.
- [17] Stanislaw B, Jolanta E B, Patryk O. Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Geoderma*, 2004, 118: 221—232.
- [18] Pascual J A, Garcia C, Hernandez T, *et al.* Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biol. Biochem.* 2000, 32: 1877—1883.
- [19] Insam H. Developments in soil microbiology since the mid 1960s. *Geoderma*, 2001, 100: 389—402.
- [20] Gong X, Li P J, Zhang H R, *et al.* Pyrene contamination and soil enzyme activity. *Rural Eco-Environment*, 2004, 20 (3): 53—55, 59.

- [21] Gong X, Li P J, Zhang H R, *et al.* Effects of Phenanthrene Contamination on Enzyme Activity in Soil. *Journal of Agro-environmental Science*, 2004, 23(5): 981–984.
- [22] Zhang J, Zhang H W, Cong F, *et al.* Effects of long term PAHs containing wastewater irrigation on lowland rice soil enzyme activities and microbial populations. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(8): 1193–1198.
- [23] Song X Y, Song Y F, Sun T H, *et al.* Soil-based ecotoxicity of diesel oil contamination to seed germination and seedling growth of wheat. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(3): 554–559.
- [24] Tian D L. Located research method in Chinese Fir plantation ecosystem. Beijing: China Science Press, 2004. 142–311.
- [25] Edited by Soil Research Institute of Chinese Academy of Science. Research methods of edaphon. Beijing: China Science Press, 1985. 40–65.
- [26] Yu Y X, Wu G Q, Meng X T. The measurement book of environmental engineering microbe. Beijing: China Environmental Science Press, 1990. 136–138.
- [27] Frankenberger W T, Dick W A. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil Sci Soc Am J*, 1983, 47: 945–951.
- [28] Gallo M, Amonette R, Lauber C, *et al.* Microbial community structure and oxidative enzyme activity in nitrogen-amended north temperate forest soils. *Microbial Ecology*, 2004, 48: 218–229.
- [29] Zhou L K. Soil enzymes. Beijing: China Science Press, 1987.
- [30] Rossel D. Use of enzymes in soil ecotoxicology: a case for dehydrogenase and hydrolytic enzymes. In: Taradellas J ed. *Soil Ecotoxicology*. Lewis Publishers, 1997. 179–197.
- [31] Gramss G, Kirsche B, Voigt K D, *et al.* Conversion rates of five polycyclic aromatic hydrocarbons in liquid cultures of fifty-eight fungi and the concomitant production of oxidative enzymes. *Mycol Res*, 1999, 103: 1009–1019.
- [32] Novotny C, Erbanova C P, Dadek V, *et al.* Extracellular oxidative enzyme production and PAH removal in soil by exploratory mycelium of white rot fungi. *Biodegradation*, 1999, 10: 159–164.
- [33] Baran S, Bielinska J E, Oleszczuk P. Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons. *Geoderma*, 2004, 118: 221–232.
- [34] Kandeler E, Kampichler C, Horak O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biol. Fertil. Soils*, 1996, 23: 299–306.
- [35] He W X, Cheng H M, Feng G Y, *et al.* Study on enzyme index in soils polluted by mercury, chromium and arsenic. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2000, 20(3): 338–343.
- [36] Tan Q L, Hu C X, Zhou H J, *et al.* Forms of heavy metal in sewage sludge and its effects on soil enzymes activities of alluvial soil. *Journal of Huazhong Agricultural*, 2002, 21(1): 36–39.
- [37] Teng Y, Huang C Y, Long J, *et al.* Enzyme activities in soils contaminated by abandoned copper tailings. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(11): 1976–1980.
- [38] Liu S L, Luo Y M, Cao Z H, *et al.* Degradation of benzo[a]pyrene in soil with arbuscular mycorrhizal alfalfa. *Environmental Geochemistry and Health*, 2004, 26(2): 285–293.
- [39] Li Y M, Hu J C, Wang S L, *et al.* Function and application of soil microorganisms in forest ecosystem. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15: 1943–1946.
- [40] Cao H, Sun H, Yang H, *et al.* A review soil enzyme activity and its indication for soil quality. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2003, 9(1): 105–109.
- [41] Frankenberger W T, Dick W A. Relationships between enzyme activities and microbial growth and activity indices in soil. *Soil Sci Soc Am J*, 1983, 47: 945–951.
- [42] Huan W N. Physiology of root excretions and its significance in agriculture. *Plant Physiology Communications*, 1987, 6: 66–70.
- [43] Steer J, Harris J A. Shift in the microbial community in rhizosphere and non-rhizosphere soils during the growth of *Agrostis stolonifera*. *Soil. Biol. Soil Chem.*, 2000, 32: 869–878.
- [44] Boopathy R. Factors limiting bioremediation technologies. *Bioresour. Technol.* 2000, 74: 63–67.

参考文献:

- [6] 王学军, 任丽然, 戴永宁, 等. 天津市不同土地利用类型土壤中多环芳烃的含量特征. *地理研究*, 2003, 22(3): 360–366.
- [7] 孙铁珩, 宋玉芳, 许华夏, 等. 植物法生物修复 PAHs 和矿物油污染土壤的调控研究. *应用生态学报*, 1999, 10(2): 225–229.
- [8] 丁克强, 骆永明, 刘世亮, 等. 黑麦草对非污染土壤修复的初步研究. *土壤*, 2002, 4: 233–236.
- [10] 陈玉成. 污染环境生物修复工程. 北京: 化学工业出版社, 2003. 137–165.
- [11] 关松荫. 土壤酶及其研究方法. 北京: 中国农业出版社, 1986. 309–327.
- [13] 龙健, 黄昌勇, 滕应, 等. 矿区废弃地土壤微生物及其生化活性. *生态学报*, 2003, 23(3): 496–503.
- [20] 宫璇, 李培军, 张海荣, 等. 土壤的芘污染与土壤酶活性. *农村生态环境*, 2004, 20(3): 53–55, 59.
- [21] 宫璇, 李培军, 张海荣, 等. 非对土壤酶活性的影响. *农业环境科学学报*, 2004, 23(5): 981–984.
- [22] 张晶, 张惠文, 丛峰, 等. 长期灌溉含多环芳烃污水对稻田土壤酶活性与微生物种群数量的影响. *生态学杂志*, 2007, 26(8): 1193–1198.
- [23] 宋雪英, 宋玉芳, 孙铁珩, 等. 柴油污染土壤对小麦种子萌发及幼苗生长的生态毒性效应. *农业环境科学学报*, 2006, 25(3): 554–559.
- [24] 田大伦. 杉木林生态系统定位研究方法. 北京: 科学出版社, 2004. 142–311.
- [25] 中科院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法. 北京: 科学出版社, 1985. 44–46.
- [26] 俞毓馨, 吴国庆, 孟宪庭. 环境工程微生物检验手册. 北京: 中国环境科学出版社, 1990. 136–138.
- [29] 周礼恺编. 土壤酶学. 北京: 科学出版社, 1987.
- [35] 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. *环境科学学报*, 2000, 20(3): 338–343.
- [36] 谭启玲, 胡承孝, 周后建, 等. 城市污泥中的重金属形态及其对潮土酶活性的影响. *华中农业大学学报*, 2002, 21(1): 36–39.
- [37] 滕应, 黄昌勇, 龙健, 等. 铜尾矿污染区土壤酶活性研究. *应用生态学报*, 2003, 14(11): 1976–1980.
- [39] 李延茂, 胡江春, 汪思龙, 等. 森林生态系统中土壤微生物的作用与应用. *应用生态学报*, 2004, 15: 1943–1946.
- [40] 曹慧, 孙辉, 杨浩, 等. 土壤酶活性及其对土壤质量的指示研究进展. *应用与环境生物学报*, 2003, 9(1): 105–109.
- [42] 黄维南. 植物根系的分泌生理及其在农业上的意义. *植物生理学通讯*, 1987, 6: 66–70.