DOI:10.16258/j.cnki.1674-5906.2010.07.008

生态环境学报 2010, 19(7): 1659-1662

Ecology and Environmental Sciences

基于土壤酶活性变化的铅污染土壤修复基准

陈苏 1,2，孙丽娜 1\*，晁雷 3，周启星 2，孙铁珩 1,2

1. 沈阳大学区域污染环境生态修复教育部重点实验室，辽宁 沈阳110044；
2. 中国科学院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重点实验室，辽宁 沈阳 110016；3. 辽宁省环境科学研究院，辽宁 沈阳 110031

摘要：近年来, 污染土壤修复技术发展很快, 而污染土壤修复标准的建立则相对迟缓。为了推进我国该领域的工作, 对铅胁 迫下土壤酶活性（如过氧化氢酶, 磷酸酶, 脲酶）随时间的变化进行了研究, 以确定棕壤土中铅的土壤修复基准。结果表明: 土 壤中的铅能够刺激土壤中过氧化氢酶活性的增加, 但随着土壤铅浓度的增加, 这种刺激作用逐渐减小。土壤过氧化氢酶活性 不宜作为铅污染土壤的生物标记物。土壤磷酸酶活性没有一致的变化规律, 土壤磷酸酶活性不能作为铅污染土壤的生物标记 物。在整个实验时间范围内，土壤脲酶活性与土壤中铅的浓度具有明显的剂量-效应关系（*P*<0.01）, 土壤脲酶活性可以作为铅 污染土壤生物标记物。以土壤脲酶抑制率降低25%为依据，确定棕壤中铅的土壤修复基准为94 mg・kg-1,以土壤脲酶抑制率降 低45%为依据，确定棕壤中铅的土壤修复基准为178 mg・kg-1。

关键词：铅；过氧化氢酶；磷酸酶；脲酶；修复基准

中图分类号：X52 文献标识码：A 文章编号：1674-5906 （2010） 07-1659-04

基金项目：辽宁省教育厅重点实验室项目（LS2010110）;国家自然科学基金重点项目（40930739）;中科院沈阳应用生态研究所陆地生态过程重 点实验室开放基金项目；国家水体污染控制与治理科技重大专项（2008ZX07208-005, 2008ZX07208-003）

作者简介：陈苏（1979年生），女，副教授，博士，主要研究方向为退化生态系统的修复。E-mail: [mailchensu@yahoo.com.cn](mailto:mailchensu@yahoo.com.cn)

\*通讯作者：孙丽娜（I960年生），女，教授，博士，主要研究方向为污染环境修复。E-mail: mailsydx @yahoo.com.cn 收稿日期：2010-05-26

当前，污染土壤修复工程的研究已成为国际上 污染生态学和和环境工程学的学科前沿和重要研 究内容，污染土壤修复技术得到了迅速发展［1,2］，国 内外关于污染土壤修复方法的文献一直呈上升趋 势, 但是对于污染土壤修复标准制定却远远落后于 修复方法的研究，这就很难说清楚土壤修复到什么 程度可以认为是清洁的。特别是在我国，随着人民 生活水平和环境意识的提高，对污染土壤修复的逐 步重视，污染土壤修复效果的检验与评价已成为检 验污染土壤修复工程实际效果的瓶颈［3,4］。近年来美 国、加拿大、澳大利亚等发达国家先后建立了适合 本国国情的污染土壤修复标（基）准［3］。但是，由 于自然地质状况，土地使用历史, 经济发展状况等 原因，各国的土壤修复标准阈值存在很大差距，完 全套用国外的土壤修复标准不现实，也是不可行 的。建立适合我国土壤的修复基准可以更好的指导 污染土壤修复方法的选用和修复工程的实施，更好 的评价修复工程实际效果，进一步缩小我国在污染 土壤治理方面与国外发达国家的差距。

土壤修复基准的建立，需要通过土壤生态系统 中不同食物链结构中敏感代表者的生理变化来确 定。土壤中一切生物化学过程都离不开土壤中各类 酶的参与［5］，同时土壤酶活性是衡量土壤生物学活 性和土壤健康的重要指标［6］。本文以东北土壤环境 中主要的重金属污染物之一铅为研究对象，研究铅 对土壤过氧化氢酶、中性磷酸酶和脲酶活性的影响 及其定量表征，以期为我国污染土壤修复基准的建 立提供科学理论依据。

1. 材料与方法
   1. 供试土壤：草甸棕壤，采自中国科学院沈阳生 态站，为休耕地，未使用任何化学品已10 a,属清 洁土壤，采样深度为0〜20 cm （表层），基本理化性 质见表1。

表1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the test soil

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| pH | 有机质/% | 砂粒/% | 粉粒/% | 粘粒/% | 重金属Pb含量/  （mg-kg-1） |
| 6.5 | 1.55 | 21.4 | 46.5 | 32.1 | 18.35 |

供试药品：铅为CH3COO）2・3H2O,分析纯。

* 1. 试验设计

称取过1 mm筛的风干土壤样品500 g于20 cmx20 cm的塑料盆中，在自然条件下加水预培养10 do根据污染调查所获土壤中可能出现的铅质量分 数的范围［7,8］，设置6个不同的试验值0, 35, 70, 100, 150, 300 mg・kg-1。称取相应质量的醋酸铅水溶液于 塑料盆中，充分搅拌均匀后静置。自加入铅起于第 1天、第3天、第7天、第13天和第24天分别测定土 壤中过氧化氢酶、磷酸酶和脲酶的活性。由于水分 对酶活性有较大影响，通过每天称重加水的方法， 保持每个处理塑料盆中持水量不变。每个处理设3 次重复。

1.3分析方法

土壤中过氧化氢酶的测定采用高锰酸钾滴定 法［9］，土壤磷酸酶采用磷酸苯二钠比色法测定［10］， 土壤脲酶采用靛酚蓝比色法测定［11］。整个试验设无 土壤处理作为对照,每处理重复3次。除特殊值外， 结果为3次重复的平均值。

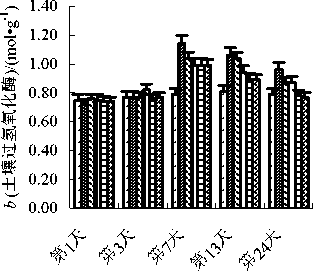
1. 结果与讨论

2.1 不同浓度铅对土壤过氧化氢酶的影响 过氧化氢酶属于氧化还原酶类，是人们研究的 第一种土壤酶［5］。过氧化氢酶的活性与土壤有机质 含量有关，人们很早就建议用土壤过氧化氢酶的活 性作为土壤肥力指标［12］。不同浓度铅胁迫下土壤过 氧化氢酶活性在不同阶段的动态变化如图 1 所示。

对培养过程中各处理组土壤过氧化氢酶活性所有 数据进行单向方差分析，并用LSD法对各处理组平 均值进行差异显著性比较，结果表明：培养1d和

1. d，各处理组过氧化氢酶活性几乎没有变化，各处 理组与对照相比没有显著差异（*P*>0.05 ）。以上结果 表明，过氧化氢酶对土壤重金属铅胁迫并不敏感， 在培养的最初阶段，在实验浓度范围内，过氧化氢 酶活性并没有显著的变化。在培养的7 d,各处理 组过氧化氢酶活性显著高于对照（*P*<0.05）, 土壤中 铅质量分数为35 mg-kg-1时，过氧化氢酶活性最高, 此后随着土壤铅质量分数的增加，土壤过氧化氢酶 活性逐渐降低，当土壤铅质量分数大于100 mg-kg-1 后，过氧化氢酶活性保持不变。相关分析表明，各 处理过氧化氢酶活性与土壤铅质量分数之间不具 有显著的相关性（*P*>0.05）。以上结果表明，在培养 一段时间后，在试验范围内土壤铅能够刺激土壤中 过氧化氢酶活性增加，但随着土壤 Pb 质量分数的 增加，这种刺激作用逐渐减小。培养13 d和24 d， 各处理组过氧化氢酶活性变化趋势与 7 d 基本一 致。从图1 中可以看出对照土壤样品中过氧化氢酶 活性在培养过程中变化不大。而其它各处理质量摩 尔浓度均出现随着培养时间先升高，后降低的过 程。这说明在一定的浓度范围内，重金属铅能够刺 激土壤过氧化氢酶活性的提高，其原因可能有两个 方面，一是铅能够刺激土壤微生物大量增殖，导致 微生物合成的过氧化氢酶增加，二是作为底物诱导 了酶活性的提高［13］。但这种刺激是有一定浓度限制 的，当土壤铅质量分数较高时，随着培养时间延长 这种刺激转变成抑制。

过氧化氢酶是一种重要的氧化还原酶，在脱毒 过程中发挥着重要的作用，并且与耗氧微生物的活 性紧密相关。在实验的时间和铅质量分数范围内土



□ 0

035

070

□ 100

日150

0300

图1铅处理下土壤过氧化氢酶活性变化(0.1 mol・L-1KMnO4)mol・g-1, x 轴下的字母为LSR多重比较结果，显著性水平为5%

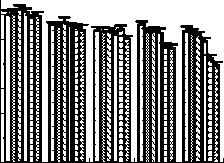
Fig.1 Effect of lead on the activities of catalase(0.1 mol・L-1KMnO4) mol・g-1. Letters under x-axis refer to the difference at significance level *P*<0.05(LSR test) among different treatments

壤的过氧化氢酶，随着处理时间和铅质量分数的变 化而变化，甚至出现低于对照的现象，并不能表现 为特定的生物信号［14］，所以土壤过氧化氢酶活性不 能作为铅污染土壤的生物标记物。

1. 不同浓度铅对土壤磷酸酶的影响

磷酸酶依据酶促反应的最适 pH 可分为酸性、 中性和碱性磷酸酶三种。实验中的供试土壤属于中 性土壤，故在实验中选择测定中性磷酸酶活性来表 征铅对土壤磷酸酶的影响。土壤磷酸酶活性如图 2 所示，经过 1 d 处理，土壤铅质量分数在 35~100 mg-kg-1时土壤中性磷酸酶活性高于对照，土壤铅质 量分数在150〜300 mg-kg-1时土壤中性磷酸酶活性 低于对照。但各处理与对照之间没有显著性差异 （*卩*>0.05）。经过3 d处理，土壤磷酸酶活性没有一致 的变化规律。土壤铅质量分数为70 mg-kg-1时，磷 酸酶活性高于对照，其它处理浓度磷酸酶活性低于 对照，各处理与对照之间没有显著性差异（*P*>0.05）o 经过 7 d 处理，土壤磷酸酶活性没有一致的变化规

140.00



120.00

100.00

80.00

60.00

40.00

20.00

0.00

圈35

070

□ 100

口 150

圈300

图2铅处理下土壤磷酸酶活性变化yg・g-1・h-1，x轴下的字母为LSR  
多重比较结果, 显著性水平为 5%

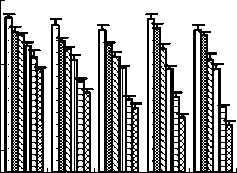
Fig.2 Effect of lead on the activities of phosphatase yg・g-1・h-1. Letters under x-axis refer to the difference at significance level *P*<0.05(LSR test) among different treatments

律。土壤铅质量分数为150 mg・kg-1时，磷酸酶活性 高于对照，其它处理浓度磷酸酶活性低于对照，各 处理与对照之间没有显著性差异(*卩*>0.05)。随着处 理时间的延长，土壤磷酸酶活性不再表现为不规律 的波动。经过13~24 d处理，土壤磷酸酶活性随着 土壤铅质量分数的升高而降低。但土壤铅质量分数 在35〜100 mg・kg-1时，土壤磷酸酶活性与对照之间 没有显著性差异(*P*>0.05)。土壤铅质量分数在 150〜300 mg・kg-1时，土壤磷酸酶活性明显低于对照 (*P*<0.05)。

磷酸酶是土壤中的主要酶类之一，土壤学研究 表明该酶是以无机磷形式存在的［15］。该水解性酶的 酶促作用能够加速有机磷的脱磷速度，提高土壤磷 素的有效性，土壤磷酸酶活性可以表征土壤的肥力 状况，特别是磷素肥力状况。但从实验结果可以看 出，随着土壤铅质量分数的增加，土壤中性磷酸酶 活性变化没有一定规律，因此中性磷酸酶活性不适 于表征土壤铅的污染状况。

1. 不同浓度铅对土壤脲酶的影响

土壤脲酶随土壤中铅质量分数的变化如图3所 示，对于土壤中铅的各个处理浓度，不论处理几天 土壤脲酶活性始终低于对照。对不同测量时间的多 重比较显示，经铅处理1，3, 7 d后,不同处理土壤 脲酶活性与对照相比有显著差异(*卩*<0.05 )。当土壤 中铅质量分数为35 mg・kg-1时，经过13 d和24 d处 理，土壤脲酶活性与对照相比不具有显著差异 (*P*>0.05)，当土壤中铅质量分数为70〜300 mg・kg-1 时，经过13 d和24 d处理，土壤脲酶活性与对照 相比具有显著差异(*P*<0.05)o在整个实验时间范围 内，土壤脲酶活性始终低于对照，且与土壤中铅的 质量分数呈正相关(*P*<0.05),具有明显的剂量-效 应关系，所以土壤脲酶活性可以作为铅污染土壤生 物标记物。



40.00

35.00

OJ)

30.00

25.00

20.00

15.00

10.00

□ 0

越35

* 70
* 100

曰150

300

00

00

50

图3铅处理下土壤脲酶活性变化NH3-N ^g-g-1-h-1, x轴下的字母为  
LSR多重比较结果，显著性水平为5%

^

Fig.3 Effect of lead on the activities of urease NH3-N yg・g-1・h-1. Letters under x-axis refer to the difference at significance level *P*<0.05(LSR test) among different treatments

由于脲酶活性的变化是土壤理化性质和铅共 同作用的结果，因而较好地表征了土壤铅污染状 况。在重金属污染地区，将微生物量与土壤酶活性 的测定联合起来共同判定该地区的污染程度，要比 用微生物量C或C02吸释放率等作单独指标来判定 污染程度更敏感［12］，所以可以用土壤脲酶的活性作 为判明土壤重金属铅污染程度的生化指标。

2.4 修复基准的确定 不同土壤酶对于土壤中铅污染的敏感程度和 相关性是不同的。脲酶对土壤铅污染比较敏感，所 以选用脲酶作为评价土壤铅污染的指标。由图4可 知，根据当土壤脲酶的抑制率达到25%的时候土壤 中的铅质量分数为94 mg・kg-1，当土壤脲酶的抑制 率达到 45%的时候土壤中的铅质量分数为 178 mg・kg-1。当然这仅仅是针对东北地区草甸棕壤进行 的研究。土壤脲酶活性与土壤的理化性质之间有着 密切的关系，当土壤的pH值、有机质含量、N的 含量、P的含量等发生变化时，土壤脲酶活性都会 发生相应的变化。

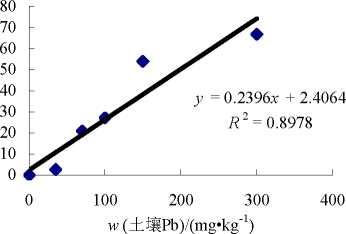


图4 Pb处理下培养24天后土壤脲酶抑制率的变化

Fig.4 The change of urease after culture 24 day

1. 结论
2. 在培养一段时间后，在实验范围内的土壤 铅质量分数能够刺激土壤中过氧化氢酶活性的增 加，但随着土壤铅质量分数增加，这种刺激作用逐 渐减小。土壤过氧化氢酶活性不能作为铅污染土壤 的生物标记物。
3. 随着培养时间的延长，土壤磷酸酶活性没 有一致的变化规律。土壤过氧化氢酶活性不能作为 铅污染土壤的生物标记物。
4. 在整个实验时间范围内，土壤脲酶活性始 终低于对照，且与土壤中铅的质量分数极显著相关 *(P*<0.01),具有明显的剂量-效应关系，所以土壤脲 酶活性可以作为铅污染土壤生物标记物。
5. 以土壤脲酶抑制率降低25%为依据，确定棕 壤中铅的土壤修复基准为94 mg・kg-1；以土壤脲酶抑 制率降低45%为依据，确定棕壤中铅的土壤修复基 准为 178 mg・kg-1。

参考文献：

1. 孙铁珩，周启星，李培军，等.土壤污染形成机理与修复技术[M]. 北京: 科学出版社, 2005: 100-110.

SUN Tieheng, ZHOU Qixing, LI Peijun, et al. Forming mechanism of soil pollution and repair systems [M]. Beijing: Science Press, 2005: 100-110.

1. 何冰，杨肖娥，魏幼璋.铅污染土壤的修复技术[J].广东微量元素 科学, 2001, 8(9): 12-17.

HE Bing, YANG XiaoE, WEI Youzhang. Remediation of lead-contaminated soil[J]. Trace Elements Science, 2001, 8(9): 12-17.

1. 晁雷，周启星，陈苏.建立污染土壤修复标准的探讨[J].应用生态 学报, 2006, 17(2): 331-334.

CHAO Lei, ZHOU Qixing, CHEN Su. An approach to the establish­ment of remediation standards for contaminated soils[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2006, 17(2): 331-334.

1. 周启星.污染土壤修复标准建立的方法体系研究[J].应用生态学 报, 2004, 15(2): 316-320.

ZHOU Qixing. Methodology of enacting standards for remediation of contaminated soils[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2004, 15(2): 316-320.

1. 周礼凯.土壤酶学[M].北京：科学出版社，1987: 107-240.

ZHOU Likai. Soil enzymolog[M]. Beijing: Science Press, 1987: 107-240.

1. Chen Chengli, Liao Min, Huang Changyong. Effect of combined pollution by heavy metals on soil enzymatic activites in areas polluted by tailings from Pb-Zn-Ag mine[J]. Journal of Environmental Science, 2005, 17(4): 637-640.
2. 晁雷, 周启星, 陈苏, 等. 施用猪粪农田重金属分布迁移和污染评价 [J]. 辽宁工程技术大学学报, 2006, 25(6): 951-954.

CHAO Lei, ZHOU Qixing, CHEN Su, et al. Distribution, transfer and pol­lution assessment of heavy metals in farmland with swine manure ap­plied[J] . Journal of Liaoning Technical University, 2006, 25(6): 951-954.

1. 晁雷, 周启星, 崔爽, 等. 铅与对二氯苯复合污染对小麦和大白菜 种子发芽和幼苗期生长的毒性[〕]•生态学杂志，2006, 25(8): 944-949.

CHAO Lei, ZHOU Qixing, CUI Shuang, et al. Joint toxicity of Pb2+ and PDB on seed germination and seedling growth of *Triticum aes- tiuce* and *Brassica Pekimensis*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2006, 25(8): 944-949.

1. WANG F X, CHEN P. Soil enzyme activities under agroforestry sys­tems in northern Jiangsu province[J]. Forest Studies in China, 2004, 6(2):21-26.
2. XU D M, LIU G S, XU J, et al. Effects of lanthanum and cerium on acid phosphatase activities in two soils[J]. Journal of Rare Earths, 2004, 22(5): 725-728.
3. NOWAK J, KAKLEWSKI K, KLODKA D. Influence of various con­centrations of selenic acid (W) on the activity of soil enzymes[J]. The Science of the Total Environmen, 2002, 291: 105-110.
4. CHEN S K, EDWARDS C A, SUBLER S. A microcosm approach for evaluating the effects of the fungicides benomyl and captan on soil ecological processes and plant growth[J]. Applied Soil Ecology, 2001, 18: 69-82.
5. BADULA L, PACHA J, SLIWA U. Effect of zinc and copper on soil enzyme activity[J]. Acta Biol Katowice, 1980: 375: 128-142.
6. 李培军, 熊先哲, 杨桂芬, 等. 动物生物标志物在土壤污染生态学 研究中的应用[J].应用生态学报,2003, 14(12): 2347-2350.

LI Peijun, XIONG Xianzhe, YANG Guifen, et al. Application of ter­restrial invertebrates biomarkers in soil pollution ecology study[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003, 14(12): 2347-2350.

1. HUANG Q Y, CHEN W L, GIANFREDA L, et al. Adsorption of acid phosphatase on minerals and soil colloids in presence of citrate and phosphate[J]. Pedosphere, 2002, 12(4): 339-348.

Probabilistic remediation criterions of contaminated soil for lead derived from  
soil enzyme activities

CHEN Su1,2, SUN Lina1\*, CHAO Lei3, ZHOU Qixing2, SUN Tieheng1,2

1. Key Laboratory of Regional Environment and Eco-remediation (Shenyang University), Ministry of Education, Shenyang 110044, China;
2. Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, China;
3. Liaoning Academy of Environmental Sciences, Shenyang 110031, China

**Abstract:** Remediation technology for contaminated soils is being developed rapidly in recent years, but establishment of polluted soil remediation criterion is developed slowly. In order to accelerating the work in this field, the changes of soil enzyme activities (such as catalase, phosphatase and urease) with the time under the menace of lead were studied to obtain a remediation criterion for lead in soil. Results showed that the existence of lead in soil stimulated the increasing of the activities of catalase in soil. With the increasing of concentration of lead the stimulation was decreased little by little. The activities of catalase in soil was not suitable as the biomarkers of lead. The activities of phosphatase in soil had no uniform change rule with lead in soil and it could not be consid­ered as biomarkers of stress by Pb in soil. During the whole experiment time there are dose-response relationships (*p*<0.01) between the activities of urease in soil and the concentration of lead in soil. The activities of urease in soil could be considered as biomarkers of stress by lead. With the point where activities of urease dropped by 25% set as the critical point for soil lead pollution in brown soil, the critical value is 94 mg^kg'1 for lead. And with the point where activities of urease droped by 45% set as the critical point for soil lead pollution in brown soil, the critical value is 178 mg・kg-1.

**Key words:** lead; catalase; phosphatase; urease; remediation criterion