

铜与草甘膦单一污染和复合污染对水稻土酶活性的影响

程凤侠, 司友斌, 刘小红

(安徽农业大学资源与环境学院, 安徽 合肥 230036)

摘要:通过实验室培养试验,研究了铜与草甘膦单一污染和复合污染对水稻土中淀粉酶、脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶活性的影响。结果表明,铜与草甘膦单一和复合污染对土壤中4种酶活性的影响效果明显不同。当铜单一污染时,抑制淀粉酶、脲酶、磷酸酶的活性,对过氧化氢酶活性的影响是低浓度激活高浓度抑制;而草甘膦单一污染时,对4种酶活性的影响是:激活淀粉酶和脲酶,抑制过氧化氢酶,对磷酸酶活性的影响则是低浓度激活高浓度抑制。铜和草甘膦复合污染,显著改变了铜或草甘膦单一污染对土壤酶的毒性效应。即复合污染对过氧化氢酶的毒性大于单一污染;对淀粉酶、脲酶和磷酸酶的毒性,小于铜单一污染,但大于草甘膦。方差分析结果表明,不同铜浓度间和不同草甘膦浓度间4种酶活性差异均达到极显著水平($P<0.01$);铜和草甘膦交互浓度间,淀粉酶和脲酶活性差异分别达到了显著水平和极显著水平,其他2种酶活性差异不显著。

关键词:铜;草甘膦;复合污染;酶活性

中图分类号:X503.231 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2009)01-0084-05

Effects of Both Single and Combined Pollution of Copper and Glyphosate on Enzyme Activity in Paddy Soil

CHENG Feng-xia, SI You-bin, LIU Xiao-hong

(School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: The effects of both single and combined pollution of Cu and glyphosate on the activities of amylase, urease, phosphatase and catalase in paddy soil were studied under laboratory incubation condition. The results showed that there existed significant differences in effects of between single and combined pollution on soil enzyme activity. When the soils were treated with Cu, the activities of amylase, urease and phosphatase were inhibited; the catalase activity was stimulated with low concentration of Cu while inhibited with high concentration of Cu. When the soils were treated with glyphosate, the activities of amylase and urease were stimulated, the activity of catalase was inhibited, and phosphatase activity was stimulated at low concentration of glyphosate while inhibited at high concentration of glyphosate. It was found that there was a significantly interaction between Cu and glyphosate in case of combined pollution. The toxicity effect on catalase activity followed the order of combined pollution of Cu and glyphosate>glyphosate>Cu. The toxicity effects on the activities of amylase, urease and phosphatase followed the order: Cu>combined pollution of Cu and glyphosate>glyphosate. Analysis of variance also indicated that there were significant differences in soil enzyme activities in the contents of Cu or glyphosate ($P<0.01$). Between the interaction of Cu and glyphosate, the difference of amylase and urease was extremely significant, and the difference of phosphatase and catalase was not significant.

Keywords: Cu; glyphosate; combined pollution; enzyme activity

草甘膦(Glyphosate, GPS)属有机磷除草剂,具有广谱性和良好的内吸传导性能,是20世纪70年代开发出来的最为成功的一种除草剂^[1]。自推广以来,草甘膦一直是世界上用量增长最快的农药,是一个真正的全球性除草剂。草甘膦的大量使用,一方面对保证我

国农业高产丰收起到了重要的作用,而另一方面必然会对土壤生物化学过程产生一定影响。

铜是植物生长发育必需的微量元素之一。但随着近年来农业生产上含铜杀菌剂的大量使用和工业“三废”排放量的增加,环境中铜含量增加。铜在土壤不能被微生物降解,故在土壤中残留时间长,残留率高^[2]。而农业环境中铜含量过高,会对作物造成危害,甚至会通过食物链危害人体健康^[3]。检测土壤中酶活性,能够了解复杂有机物质的分解强度与简单物质再合成强度,为判断土壤肥力演变趋势,定向培育高肥力土壤提供理论依据^[4]。国内对重金属或农药单一污

收稿日期:2008-02-06

基金项目:安徽省科技攻关计划(07010302212);安徽省优秀青年科技基金(06041082)

作者简介:程凤侠(1980—),女,硕士研究生,主要从事重金属和农药复合污染的生态毒理研究。

通讯作者:司友斌 E-mail:ybsi2002@yahoo.com.cn

染对土壤中酶活性影响的报道不少^[5-7],但关于重金属和农药复合污染对土壤酶活性影响的报道却很少见。而现实土壤中的污染多数都是复合污染,因此,研究复合污染对土壤生物和酶活性的影响具有更重要的科学意义和实践价值。

本文旨在探讨铜与草甘膦单一污染与复合污染对水稻土酶活性的影响规律。其中,淀粉酶能使淀粉水解生成糊精和麦芽糖,是参与自然界碳循环的一种重要的酶;脲酶广泛存在于土壤中,其酶促产物——氨是植物氮源之一,研究土壤脲酶转化尿素的作用及其调控技术,对提高尿素氮肥利用率有重要意义;磷酸酶不但对土壤磷素的有效性具有重要作用,它还与土壤碳、氮含量呈正相关,与有效磷含量及 pH 也有关,磷酸酶活性是评价土壤磷素生物转化方向与强度的指标;过氧化氢酶酶促过氧化氢的分解,有利于防止它对生物体的毒害作用,另外,过氧化氢酶还与土壤有机质含量和微生物数量有关,且土壤肥力因子与过氧化氢酶活性成正比例。因此,通过对这 4 种酶活性的检测,能够间接反映复合污染对土壤肥力状况的影响。

1 材料与方法

1.1 药品和试剂

草甘膦(95%)由安徽省化工研究院提供,其他试剂均为分析纯。

1.2 供试土壤

采集安徽省和县稻田 0~20 cm 耕层土壤,风干后过 1 mm 尼龙筛备用。供试土壤基本理化性质见表 1。

表 1 供试土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of soil tested

pH	有机质/ g·kg ⁻¹	全氮/ g·kg ⁻¹	速效磷/ mg·kg ⁻¹	速效钾/ mg·kg ⁻¹	CEC/ cmol·kg ⁻¹	Cu/ mg·kg ⁻¹
7.5	28.4	1.82	5.0	67	17.5	1.25

1.3 实验设计

称取供试土壤 150 g 于 250 mL 锥形瓶中,分别加入草甘膦溶液和铜离子($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 配制)溶液,充分混匀。使土壤中毒草甘膦的最终浓度分别为 0、20、40、60、80、100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,铜的最终浓度分别为 0、30、60、120、240、480 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,土壤含水量为田间最大持水量的 60%,塞上棉塞,于 25 °C 生化培养箱中培养。每隔 1 d 用称重法调节含水量,使含水量在实验期间保持恒定。15 d 后取样测定其中淀粉酶、脲酶、磷酸酶

和过氧化氢酶活性。

1.4 测定方法

淀粉酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法^[4],以 1 g 土壤 24 h 产生的麦芽糖量(mg)表示;脲酶活性采用苯酚钠比色法^[4],以 1 g 土壤 24 h 产生的氨量(mg)表示;磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法^[8],以 1 g 土壤 12 h 产生的酚量(mg)表示;过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法^[4],以 1 g 土壤 20 min 后滴定的 0.1 $\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 高锰酸钾溶液毫升数表示。

1.5 数据处理

应用 Excel、SAS 软件进行数据分析处理。抑制率的计算公式为:

$$\text{抑制率} = (A - B) / A \times 100\%$$

式中:A 为空白土壤酶活性,B 为加 Cu 或草甘膦或两者复合污染时土壤酶活性。负值表示激活作用,正值表示抑制作用,数值的大小表明作用的大小。

2 结果与讨论

2.1 铜与草甘膦单一污染和复合污染对土壤酶活性的影响

2.1.1 铜与草甘膦单一污染对土壤酶活性的影响

以铜含量为横坐标,酶活性为纵坐标作图,铜与草甘膦对土壤酶活性影响结果见图 1~图 4。由图中结果可以看出,GPS 单独作用时,对水稻土中的淀粉酶和脲酶都有显著的激活作用,且随 GPS 含量增大,激活强度增大。与对照相比(无 Cu 和 GPS),GPS 对淀粉酶和脲酶的激活率最高分别达到 57.78% 和 115.91%。这可能是由于微生物能够利用 GPS 作为碳

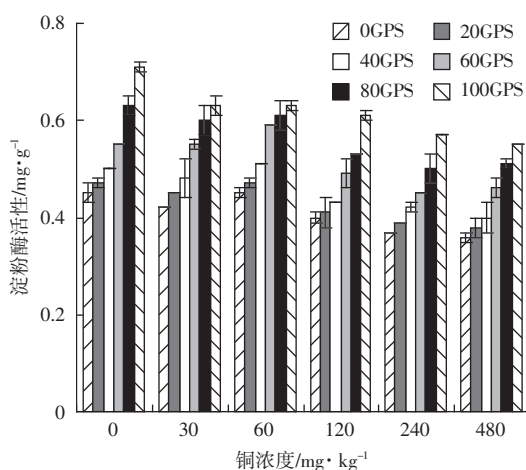


图 1 铜与草甘膦单一及复合污染对稻田土壤淀粉酶活性的影响
Figure 1 Effects of both single and combined pollution of copper and glyphosate on the activity of amylase in paddy soil

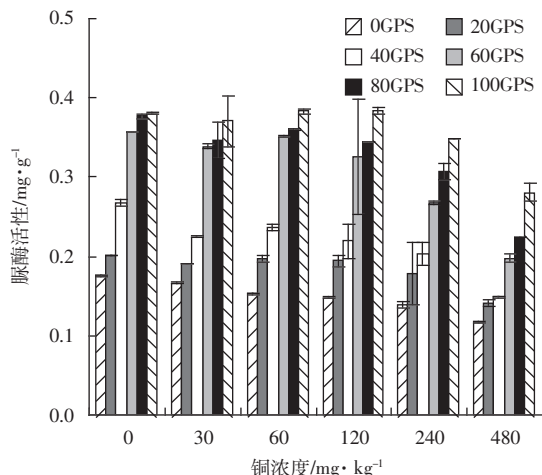


图2 铜与草甘膦单一及复合污染对稻田土壤脲酶活性的影响
Figure 2 Effects of both single and combined pollution of copper and glyphosate on the activity of urease in paddy soil

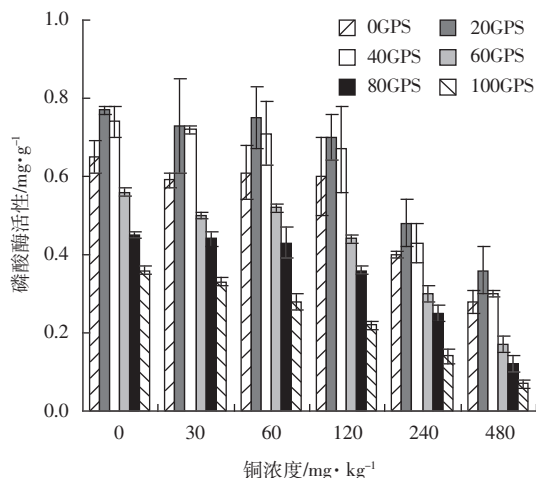


图3 铜与草甘膦单一及复合污染对稻田土壤磷酸酶活性的影响
Figure3 Effects of both single and combined pollution of copper and glyphosate on the activity of phosphatase in paddy soil

源、氮源和能源,刺激自身的生长,从而激活淀粉酶和脲酶活性。GPS 对磷酸酶活性的影响是低浓度激活高浓度抑制,这可能是因为低浓度 GPS 能够作为磷源和能源,促进微生物生长,对磷酸酶有一定的激活作用,又因为 GPS 中存在磷酸基,而大量磷酸基的存在会降低土壤中磷酸酶活性,故当 GPS 达一定浓度时开始抑制磷酸酶活性。GPS 抑制过氧化氢酶活性,且浓度越大,抑制作用越明显,抑制率最高达 53.85%,原因可能是能够分泌过氧化氢酶的微生物受到 GPS 的毒性作用,而导致大量死亡,GPS 浓度越大,微生物受到的毒性抑制就越大。

当 Cu 单独作用时,对水稻土中的淀粉酶、脲酶

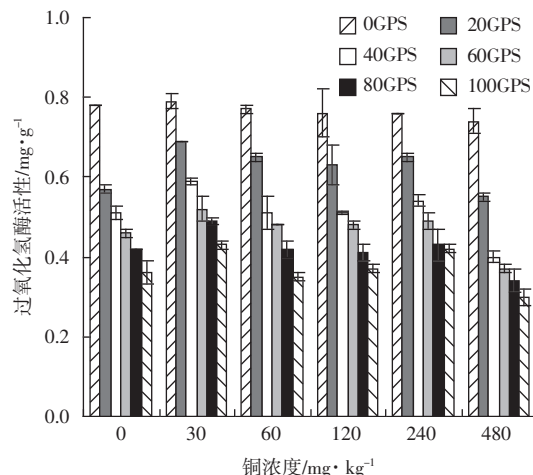


图4 铜与草甘膦单一及复合污染对稻田土壤过氧化氢酶活性的影响

Figure 4 Effects of both single and combined pollution of copper and glyphosate on activity of catalase in paddy soil

和磷酸酶活性都表现出显著的抑制作用,抑制率最高分别达到了 20.00%、33.52%和 56.92%。重金属对土壤酶活性的抑制作用机理,可能是重金属与酶活性分子中的活性部位-SH 和含咪唑的配体等结合,形成了较稳定的络合物,产生了与底物的竞争性抑制作用;或者是由于重金属抑制了土壤微生物的生长和繁殖,减少体内酶的合成和分泌,从而导致了土壤酶活性下降^[9]。铜污染土壤过氧化氢酶活性的变化则是,先略有升高再缓慢降低,这一现象原因可能是:酶作为蛋白质,需要一定量的金属离子作为辅基,少量 Cu 的加入能促进酶的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一定的专性结构,改变酶催化反应的平衡性质和酶蛋白的表面电荷,从而增强酶活性^[10];而随着 Cu 含量的增加又开始抑制过氧化氢酶活性,这可能是由于酶蛋白在重金属作用下发生沉淀作用的缘故。

2.1.2 铜与草甘膦复合污染对土壤酶活性的影响

从图 1~图 4 可以看出,Cu 和 GPS 复合污染对水稻土中 4 种酶活性的影响趋势,与 Cu 和 GPS 分别单独作用时有所不同。复合污染对淀粉酶和脲酶活性的影响与 GPS 单独作用时相似,都是随着 GPS 含量增加,酶活性增强,但由于 Cu 的作用,复合污染对淀粉酶和脲酶的激活程度没有 GPS 单独作用时强。而复合污染与 Cu 单一污染相比,淀粉酶和脲酶活性则大大增强,如 Cu 单一污染含量为 480 mg·kg⁻¹时,对淀粉酶和脲酶的抑制率分别为 20.00%和 33.52%,加入 GPS 后抑制率逐渐降低,当 GPS 含量为 100 mg·kg⁻¹

时,复合污染对淀粉酶和脲酶的激活率分别达 22.22%和 59.66%。即对于淀粉酶和脲酶来说,复合污染毒性小于 Cu 单独作用时毒性,原因可能是 GPS 和 Cu 发生了络合,从而减弱了 Cu 对淀粉酶和脲酶的抑制作用。

复合污染对磷酸酶活性的影响与 Cu 单一污染相比,随着 GPS 含量增加,对磷酸酶活性先激活再抑制,其中复合污染对磷酸酶的最高激活率为 15.38%;而与 GPS 单一污染相比,复合污染抑制磷酸酶活性,且最高抑制率达 89.23%,比 Cu 和 GPS 单独作用时的最高抑制率分别增加了 32.31%和 44.61%,即复合污染的毒性比 Cu 和 GPS 单一污染时要大,说明 Cu 和 GPS 之间发生了协同作用。复合污染与 Cu 单独污染相比,显著抑制了过氧化氢酶活性,随着 GPS 含量增加,对过氧化氢酶抑制作用增大,且最大抑制率达 61.54%;而与 GPS 单独污染相比,当铜含量在 30~240 mg·kg⁻¹ 范围内,对过氧化氢酶活性的抑制率下降,即少量 Cu 的加入缓解了 GPS 对过氧化氢酶的毒性,当铜含量为 480 mg·kg⁻¹ 时,复合污染对过氧化氢酶的抑制作用增大,但不显著。

2.2 铜与草甘膦单一污染和复合污染对水稻土酶活性影响的方差分析

铜与草甘膦单一污染和复合污染对水稻土酶活性影响的方差分析结果见表 2。由表 2 可见,在 99% 置信区间下,GPS 与 Cu 分别单独作用对淀粉酶、脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶活性影响的 F 值均大于临界值 $F_{0.01}(5,36)=3.57$,说明不同 GPS 浓度间和不同 Cu 浓度间 4 种酶活性均有极显著性差异。其中 GPS 浓度间对 4 种酶活性的影响程度为:过氧化氢酶>脲酶>淀粉酶>磷酸酶,而 Cu 浓度间对 4 种酶活性的影响程度则为:磷酸酶>淀粉酶>脲酶>过氧化氢酶。Cu 与 GPS 浓度间对磷酸酶活性影响的 F 值分别为 120.70 和 131.77,说明它们对土壤磷酸酶的影响程度

比较接近,而对于其他 3 种酶来说,GPS 的影响程度要远大于 Cu。同时还可以从方差分析表中看出,Cu 与 GPS 浓度互作间淀粉酶和脲酶活性分别呈现显著和极显著差异,而其他 2 种酶活性差异不显著。

3 结论

(1)铜单一污染时,对水稻土中的淀粉酶、脲酶和磷酸酶都具有显著的抑制作用,对过氧化氢酶活性的影响是低浓度激活高浓度抑制;而草甘膦单一污染时,对 4 种酶活性的影响是:激活淀粉酶和脲酶,抑制过氧化氢酶,对磷酸酶活性的影响则是低浓度激活高浓度抑制。

(2)铜和草甘膦复合污染与铜单一污染相比,草甘膦的存在减弱了铜对土壤中淀粉酶、脲酶和磷酸酶活性的抑制作用,增强了对过氧化氢酶活性的抑制。即复合污染对过氧化氢酶的毒性大于单一污染;对淀粉酶、脲酶和磷酸酶的毒性,小于铜单一污染,但大于草甘膦。

(3)对在 99% 置信区间计算所得的 F 值进行比较可知,不同铜浓度间、不同草甘膦浓度间 4 种酶活性的差异均达到极显著水平,其中草甘膦对 4 种酶活性的影响程度为:过氧化氢酶>脲酶>淀粉酶>磷酸酶,而铜对 4 种酶活性的影响程度则为:磷酸酶>淀粉酶>脲酶>过氧化氢酶。铜和草甘膦互作浓度间,淀粉酶和脲酶活性差异分别达到了显著水平和极显著水平,其他 2 种酶活性差异不显著。

参考文献:

- [1] 刘桂琴,程景胜,彭永康. 有机磷除草剂草甘膦(GPS)对作物细胞遗传学毒性效应的研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(2):387-391.
LIU Gui-qin, CHENG Jing-sheng, PENG Yong-kang. Effects of organo-phosphine herbicide glyphosate on cyto-genetical toxicity in grass[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(2):387-391.
- [2] 张国良. 外源铜对小麦萌发生长的影响[J]. 淮阴工学院学报, 2003,

表 2 方差分析表
Table 2 Analysis of variance

变异来源	自由度	差方和				均方				F 值			
		淀粉酶	脲酶	磷酸酶	过氧化氢酶	淀粉酶	脲酶	磷酸酶	过氧化氢酶	淀粉酶	脲酶	磷酸酶	过氧化氢酶
Cu	5	0.13	0.09	1.31	0.11	0.03	0.02	0.26	0.02	95.61**	70.10**	120.70**	32.48**
GPS	5	0.40	0.43	1.43	1.23	0.08	0.09	0.29	0.25	285.69**	325.04**	131.77**	351.10**
GPS×Cu	25	0.01	0.02	0.05	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	1.89*	2.62**	0.96	1.66
误差	36	0.01	0.01	0.08	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00				
总和	71	0.55	0.55	2.87	1.40								

注: $F_{0.05}(5,36)=2.48$, $F_{0.01}(5,36)=3.57$, $F_{0.05}(25,36)=1.81$, $F_{0.01}(25,36)=2.34$ 。* 和 ** 分别表示 0.05 和 0.01 的显著水平。

- 12(1):51-54.
- ZHANG Guo-liang. Effect of external copper on the sprouting of wheat seed and growth of wheat seedling[J]. *Journal of Huaiyin Institute of Technology*, 2003, 12(1):51-54.
- [3] 邵云, 姜丽娜, 李春喜, 等. Cu^{2+} 对小麦种子萌发和幼苗生长的影响[J]. 河南农业科学, 2005(1):13-16.
- SHAO Yun, JIANG Li-na, LI Chun-xi, et al. Effects of Cu^{2+} on seed germination and seedling growth of wheat[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2005(1):13-16.
- [4] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986. 278-323.
- Guan Song-yin. Soil enzyme and its research methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986. 278-323.
- [5] 辛承友, 朱鲁生, 王军, 等. 阿特拉津对不同肥力土壤磷酸酶的影响[J]. 生态环境, 2004, 13(1):27-30.
- XIN Cheng-you, ZHU Lu-sheng, WANG Jun, et al. Effects of atrazine on soil phosphatase under different soil fertility[J]. *Ecology and Environment*, 2004, 13(1):27-30.
- [6] 腾春红, 陶波. 除草剂氯嘧磺隆对土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(5):1294-1298.
- TENG Chun-hong, TAO Bo. Effects of chlorimuron-ethyl on soil enzymes activities[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(5):1294-1298.
- [7] 藤应, 黄昌勇, 龙健, 等. 铜尾矿污染区土壤酶活性研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(11):1976-1980.
- TENG Ying, HUANG Chang-yong, LONG Jian, et al. Enzyme activities in soils contaminated by abandoned copper tailings[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(11):1976-1980.
- [8] 赵兰坡, 姜岩. 土壤磷酸酶活性测定方法的探讨[J]. 土壤通报, 1986, 17(3):138-141.
- ZHAO Lan-po, JIANG Yan. Discussion on measurements of soil phosphatase[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1986, 17(3):138-141.
- [9] 胡著邦, 汪海珍, 吴建军, 等. 镉与苄嘧磺隆除草剂单一污染和复合污染土壤的微生物生态效应[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2005, 31(2):151-156.
- HU Zhu-bang, WANG Hai-zhen, WU Jian-jun, et al. Ecological effects of both single and combined pollution of Cd and bensulfuron-methyl on soil microorganisms[J]. *Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.)*, 2005, 31(2):151-156.
- [10] 储玲, 王友保, 丁佳红, 等. 铜对三叶草-土壤酶系统的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(12):2413-2417.
- CHU Ling, WANG You-bao, DING Jia-hong et al. Effects of copper pollution on trifolium repens growth and soil enzyme activities[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(12):2413-2417.