

叶绿醇对铅污染土壤酶活性及土壤铅有效态影响

于培鑫¹, 潘芳慧¹, 王友保^{1,2}, 李 晶^{1,3}

(1.安徽师范大学生命科学学院,安徽 芜湖 241000; 2.安徽师范大学生物环境与生态安全安徽省高校省级重点实验室,安徽 芜湖 241000;3.蚌埠医学院生命科学学院,安徽 蚌埠 233000)

摘要: 采用土培盆栽试验,研究了在铅污染土壤中添加叶绿醇对土壤酶活性和土壤铅离子有效态的影响,探讨了不同处理时间下叶绿醇对铅污染土壤的缓解作用。结果表明:短时间内在土壤中添加叶绿醇对土壤过氧化氢酶、蔗糖酶和碱性磷酸酶活性具有促进作用,对土壤脲酶活性具有抑制作用,且每种酶对叶绿醇的敏感程度不同,其中碱性磷酸酶最为敏感;随着处理时间延长土壤中过氧化氢酶活性、脲酶活性和铅离子有效态降低,蔗糖酶活性和碱性磷酸酶活性显著升高;土壤重金属铅浓度为 600 mg/kg 时,叶绿醇浓度为 50 mg/kg 蔗糖酶活性最强,比空白对照组高出 122.28%;当土壤中叶绿醇浓度为 250 mg/kg 时,土壤碱性磷酸酶活性最高,是空白对照组的 251.61%。总之,在铅污染的土壤中添加叶绿醇后能改变土壤酶活性,降低土壤中铅的有效态,并且随着培养时间的延长,叶绿醇对铅污染土壤的修复效果逐渐降低。

关键词: 铅污染土壤; 叶绿醇; 土壤酶活性; 有效态铅含量

中图分类号: X173;X53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-2242(2019)05-0358-06

DOI: 10.13870/j.cnki.stbcxb.2019.05.052

Effects of Phytol on Soil Enzyme Activity and Lead Availability in Lead-contaminated Soil

YU Peixin¹, PAN Fanghui¹, WANG Youbao^{1,2}, LI Jing^{1,3}

(1.College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu, Anhui 241000;

2.Provincial Key Laboratory of Biotic Environment and Ecological Safety in Anhui,

Wuhu, Anhui 241000; 3.College of Life Sciences, Bengbu Medical College, Bengbu, Anhui 233000)

Abstract: A pot experiment was carried out to study the effects of applying phytol to lead(Pb)-contaminated soil on soil enzyme activity and Pb availability, and the alleviation effects of phytol to the Pb-contaminated soil under different treatment time were discussed. The results showed that adding phytol to soil in a short time promoted the activities of soil catalase, sucrase and alkaline phosphatase, while inhibited soil urease activity. Moreover, each enzyme had different sensitivity to phytol, among which alkaline phosphatase was the most sensitive. With the prolongation of treatment time, the activities of catalase and urease as well as available Pb content in the soil decreased, while the activities of invertase and phosphatase increased significantly. When the Pb concentration was 600 mg/kg in soil and the phytol concentration was 50 mg/kg, sucrase activity was the strongest, which was 122.28% higher than that of the blank control. Additionally, when the phytol concentration was 250 mg/kg in the soil, the activity of phosphatase was the strongest, which was 251.61% of the blank control. In conclusion, the addition of phytol to Pb-contaminated soil could change soil enzyme activity and reduce the content of available Pb in the soil. What's more, with the prolongation of culture time, the alleviation effect of phytol on Pb-contaminated soil reduced gradually.

Keywords: lead contaminated soil; phytol; soil enzyme activity; available lead content

我国现阶段土壤铅污染十分严重。铅矿的开采活动^[1-2]、工业生产过程中排放的含铅废水^[3]、化肥农药的过度使用^[4]、交通运输中车辆尾气排放、铅蓄电池的使用等均造成土壤铅污染^[5]。由于人类活动造

成的土壤重金属污染因其具有去隐蔽性、表聚性强、修复困难^[6]等特点成为世界范围内的热门话题^[7-9],如何高效快速的修复土壤重金属污染带来的一系列生态环境问题也成为各国学者^[10-11]研究的热点。

收稿日期:2019-03-20

资助项目:国家自然科学基金项目(31070401);安徽省高校自然科学基金重大项目(KJ2018ZD033);安徽省高校自然科学基金重点项目(KJ2018A1000);重要生物资源保护与利用研究安徽省重点实验室基金项目

第一作者:于培鑫(1993—),女,黑龙江绥化人,硕士研究生,主要从事污染生态研究。E-mail:peixiny1003@163.com

通信作者:王友保(1974—),男,安徽肥西人,教授,博士,博士生导师,主要从事修复生态研究。E-mail:wyb74@126.com

土壤被重金属铅污染后,土壤结构、土壤肥力等均受到严重影响,进而影响农作物质量和产量,过量的重金属铅富集在作物中,通过食物链传递给人类直接或间接食用,成为影响人类健康的重要杀手。土壤酶活性对重金属敏感,可以很好地指示土壤重金属污染^[12],也可以作为土壤健康的生物指标和各种污染物对土壤质量的不良影响评价指标,因此,土壤酶活性的指示作用得到了广泛的应用。

叶绿醇属于一种天然的线性二萜脂肪醇,是叶绿素的重要组成部分,也是合成维生素 K 和维生素 E 的中间体^[13],维生素 K 对植物的生长发育具有明显的促进作用^[14];维生素 E 具有较强的抗氧化作用,可以很好地保护植物的光合作用系统^[15]。叶绿醇具有高疏水性,可作为表面活性剂广泛应用^[13]。有研究^[16-17]表明,在植物挥发油成分及根系分泌物中检测出存在大量的叶绿醇,尤其是当植物根系受到逆境胁迫时,根系会分泌叶绿醇抵抗逆境环境。本试验通过向铅污染土壤中添加叶绿醇,探讨叶绿醇对铅污染土壤中土壤酶活性及铅离子有效态的影响,为植物的重金属耐性机制探讨和铅污染土壤的修复提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤于 2017 年 8 月 10 日采于安徽师范大学赭山校区后山山坡(31°20′19″N,118°22′09″E),土壤为黄棕壤;供试土壤的 pH 为 5.920,电导率为 106.000 $\mu\text{S}/\text{cm}$,氧化还原电位为-160.200 mV,总氮、总磷、有机质含量分别为 0.930,0.884,13.55 g/kg,总铅含量为 44.550 mg/kg。

除去土壤中的残枝、石砾的杂物后混合均匀,自然风干,磨细过 3 mm 筛备用。试验所使用试剂均为分析纯。

1.2 试验设计

采用直径为 14.8 cm,深为 9.8 cm 塑料花盆进行盆栽试验,根据我国土壤铅含量的二级标准并参照世界土壤铅平均含量值,设置重金属铅污染土壤浓度为 600,1 200 mg/kg。每个花盆装土 0.8 kg,将其与硝酸铅溶液混合均匀后,平衡放置 2 周后,根据预实验测定吊兰根系分泌物时发现,吊兰根系分泌物中,叶绿醇相对含量为 1.5%~2.5%,据此,设计添加的叶绿醇含量分别为 0,10,50,250,500 mg/kg,上述每个处理组设置 3 个重复。保持实验室平均温度在 15℃,每天适量浇水,保持土壤湿度,培养 7,21 天后取出土壤,风干、磨碎过筛(0.1 mm)置于 0~4℃保存,用于测定于土壤酶活性及重金属铅的有效态。

1.3 测定方法

土壤酶活性测定参照松松荫^[18]《土壤酶及其研究方法》测定方法:过氧化氢酶活性测定采用 0.1

mol/L KMnO_4 滴定法;蔗糖酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法;脲酶活性测定采用苯酚钠比色法;碱性磷酸酶活性测定磷酸苯二钠比色法;土壤有效态铅含量测定采用 $\text{DTPA}-\text{CaCl}_2-\text{TEA}$ (二乙三胺五乙酸-氯化钙-三乙醇胺)联合提取法提取,并用原子光谱法测定。为避免其他重金属污染,将试验中所使用的容器在使用前均采用 2% HNO_3 浸泡 24 h。

1.4 数据处理

采用使用 Excel 软件进行数据处理和绘图;使用 SPSS 19.0 进行试验数据的处理和分析。

2 结果与分析

2.1 添加不同浓度的叶绿醇对铅污染土壤过氧化氢酶的影响

土壤过氧化氢酶活性影响土壤有机质的含量^[19],在土壤中加入叶绿醇之后,经过短时间的处理,土壤中过氧化氢酶的活性出先升高后逐渐降低,但均显著高于不添加叶绿醇的处理组(表 1, $P<0.01$)。随着土壤铅浓度的升高,过氧化氢酶活性逐渐降低,说明土壤中过氧化氢酶活性与重金属铅含量呈负相关,但处理组间不存在显著差异性($P>0.05$)。当叶绿醇的添加量为 50 mg/kg 时,土壤中过氧化氢酶活性达到峰值后随着叶绿醇浓度的升高逐渐下降。随着处理时间的延长,培养 21 天时,土壤中过氧化氢酶在不添加任何物质的空白对照组中活性最高;不添加叶绿醇的处理组均高于添加叶绿醇处理组;添加叶绿醇的各处理组土壤过氧化酶活性与短时间处理趋势大体一致,均呈现先升高后降低的趋势;土壤中不添加重金属铅或重金属铅浓度为 600 mg/kg 时,不添加叶绿醇处理组与添加叶绿醇处理差异显著($P<0.05$);当土壤中重金属铅浓度为 1 200 mg/kg 时,不添加叶绿醇处理组与添加叶绿醇处理间差异不显著($P>0.05$)。

表 1 不同处理下土壤过氧化氢酶活性变化

单位:mg/kg				
培养 时间/d	叶绿醇浓度/ (mg·kg ⁻¹)	CK	600 mg/kg	1200 mg/kg
7	0	0.53±0.05Ba	0.54±0.02Ba	0.53±0.04Ba
	10	0.64±0.02Aa	0.64±0.01Aa	0.62±0.03Aa
	50	0.66±0.04Aa	0.65±0.01Aa	0.62±0.02Aa
	250	0.64±0.01Aa	0.62±0.02Aa	0.60±0.02Aa
	500	0.63±0.05Aa	0.61±0.02Aa	0.61±0.03Aa
21	0	0.71±0.06Aa	0.66±0.06Aa	0.64±0.05Aa
	10	0.55±0.05Ba	0.53±0.01Ba	0.56±0.05Aa
	50	0.59±0.08Ba	0.60±0.06Aa	0.58±0.01Aa
	250	0.49±0.05Ba	0.53±0.05Ba	0.56±0.05Aa
	500	0.48±0.04Ba	0.50±0.03Ba	0.54±0.07Aa

注:同一行中的不同小写字母表示同一铅浓度下不同处理时间显著性差异($P<0.05$);同一列不同大写字母表示同一时间不同铅浓度处理下显著性差异($P<0.05$)。下同。

对比 2 个处理时期(表 2),各处理组之间不存在

显著差异性($P>0.05$)。2 个处理时期的土壤过氧化氢酶与重金属铅浓度呈现负相关,相关性系数分别为 -0.774 , -0.557 , -0.845 。由此可以推测,随着培养时间延长,土壤中过氧化酶活性被抑制。未添加任何物质的 CK 处理组土壤过氧化氢酶活性最高,在重金属铅污染的土壤中添加叶绿醇,短时间可以刺激土壤中过氧化氢酶的活性,使其升高,但随着处理时间的延长叶绿醇被土壤生物分解或被重金属抑制活性丧失,从而降低了其对过氧化氢酶的刺激作用。

表 2 不同处理时间过氧化氢酶配对 t 检验

土壤中 Pb^{2+} 浓度/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	t	P
CK	0.924	0.408
600	1.088	0.338
1200	0.678	0.535

2.2 添加不同浓度的叶绿醇对铅污染土壤蔗糖酶的影响

土壤蔗糖酶对土壤中易溶性营养素具有重要作用,一般土壤肥力越强,蔗糖酶活性越高^[20]。在土壤中加入叶绿醇 7 天后,测定土壤中蔗糖酶活性。由表 3 可知,在重金属浓度不变的情况下,土壤中蔗糖酶活性随着添加叶绿醇浓度的升高呈现先升高后降低的趋势,且均高于不添加叶绿醇的处理组;当添加的叶绿醇浓度为 50 mg/kg 时土壤蔗糖酶活性最强,与各处理组间存在显著差异($P<0.05$)。当土壤中添加叶绿醇含量不变,土壤重金属铅浓度为 600 mg/kg 时蔗糖酶活性高于不添加重金属铅的处理组,但随着铅浓度升高,蔗糖酶活性开始下降,且低于不添加重金属的处理组。从表 3 还可以发现,在叶绿醇浓度为 50 mg/kg 土壤重金属铅浓度为 600 mg/kg 时土壤中蔗糖酶活性最强,比空白对照组的蔗糖酶活性高出 122.28%;土壤重金属铅浓度为 1 200 mg/kg 时土壤蔗糖酶活性最低,仅为空白对照组的 33.55%。由此推测,一定浓度的重金属铅存在可以有效地刺激土壤蔗糖酶活性使其升高,但土壤中铅含量过高,会严重抑制土壤中蔗糖酶活性;土壤中加入叶绿醇后,叶绿醇对土壤蔗糖酶活性作用效果表现为低浓度促进,高浓度抑制;研究表明,一定浓度的重金属与一定浓度的叶绿醇可以共同作用使土壤蔗糖酶活性增强。

经过长时间的处理,土壤中蔗糖酶的活性均显著升高。当土壤中不添加重金属铅和土壤中铅浓度为 600 mg/kg 时,加入少量的叶绿醇,土壤蔗糖酶活性与不添加叶绿醇的处理组活性接近,呈上下波动,不存在差异性($P>0.05$);但随着叶绿醇添加量的增多,当叶绿醇浓度为 250 mg/kg 时,土壤蔗糖酶活性升高;当在叶绿醇浓度为 500 mg/kg 时,蔗糖酶活性与 250 mg/kg 时,蔗糖酶活性相比呈下降趋势,但高于不添加叶绿醇或添加少量叶绿醇的处理组,并与其他处理组存在显著差异($P<0.01$);当土壤中叶绿

醇浓度为 250 mg/kg,重金属铅浓度为 600 mg/kg 时土壤中蔗糖酶活性最强;当土壤中重金属铅含量为 1 200 mg/kg 时,不添加叶绿醇的处理组蔗糖酶活性最低,随着添加叶绿醇浓度的升高呈先升高后降低的趋势,各处理间不存在差异性($P>0.05$);将 2 个处理时间的土壤酶进行配对检验(表 4),均呈现差异性且蔗糖酶活性与重金属铅浓度呈现正相关。当土壤中添加叶绿醇浓度不变时,随着土壤铅浓度的升高,蔗糖酶活性的变化趋势与短时间处理趋近一致,呈现先上升后下降的趋势。出现此现象的原因可能是:土壤中低浓度的叶绿醇在长时间的培养下,被土壤中微生物消耗、分解,从而降低了其对土壤酶活的刺激;同时叶绿醇分解会转化成生育酚、叶绿素等物质^[21],为土壤提供营养物质,更好地促进蔗糖酶的活性,使其含量升高。

表 3 不同处理下土壤蔗糖酶活性变化

单位:mg/kg				
培养 时间/d	叶绿醇浓度/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	CK	600 mg/kg	1200 mg/kg
7	0	9.02±0.34Bab	10.49±2.65Ca	5.99±0.55Cb
	10	14.39±1.83ABa	16.70±2.63ABa	9.17±1.59Bb
	50	18.50±4.68Aa	21.07±0.66Aa	12.98±0.18Ab
	250	17.24±1.76Aa	20.05±4.59Aa	9.30±1.31Bb
	500	12.17±2.22ABa	13.76±1.10CBa	7.81±0.50BCb
21	0	35.21±7.85Ba	39.40±12.64Ba	25.07±11.51Aa
	10	34.14±1.98Ba	37.49±3.67Ba	28.70±6.69Aa
	50	35.43±6.11Ba	40.14±6.64Ba	30.65±7.62Aa
	250	52.49±1.17Aa	59.56±3.34Aa	36.33±8.81Ab
	500	47.42±2.11Ab	53.63±2.13Aa	31.63±1.76Ac

表 4 不同处理时间蔗糖酶配对 t 检验

土壤中 Pb^{2+} 浓度/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	t	P
CK	-12.646	0**
600	-11.697	0**
1200	-12.404	0**

注: ** 表示极显著性差异($P<0.01$)。下同。

2.3 添加不同浓度的叶绿醇对铅污染土壤脲酶的影响

土壤脲酶和土壤氮素的转化息息相关,脲酶的活性可以提高氮肥的利用率^[22]。经过 7 天培养后测定土壤中脲酶的活性。由表 5 可知,当土壤中不添加重金属铅时,随着土壤中添加叶绿醇浓度的升高,土壤脲酶活性出现先降低后升高而后又降低的趋势;在添加叶绿醇浓度为 50 mg/kg 时,土壤脲酶活性最高且高于不添加叶绿醇的处理组;其他浓度下,土壤脲酶的活性均小于不添加叶绿醇的处理组,各处理组间存在显著差异($P<0.05$)。土壤中重金属铅浓度为 600 mg/kg 时,土壤中脲酶活性的变化趋势与不添加重金属铅时趋近一致,土壤中脲酶活性均高于不添加重金属铅的处理组。当土壤中重金属铅含量为 1 200 mg/kg 时,土壤中脲酶的活性随着添加叶绿醇的浓

度呈现下降趋势,当叶绿醇浓度为 500 mg/kg 时,土壤脲酶活性最低,仅是同浓度下不添加叶绿醇的处理组的 37.37%,不添加任何叶绿醇的处理组与其他处理组间存在极显著性差异。由此推测土壤中含有适

当浓度的重金属铅和叶绿醇时,可以促进土壤脲酶的活性,使其升高,从而改善土壤质量,但土壤中重金属铅含量过高时会使叶绿醇失活,添加叶绿醇已经不能很好地改善重金属铅污染带给土壤的伤害。

表 5 不同处理下土壤脲酶活性变化 单位:mg/kg

培养时间/d	叶绿醇浓度/(mg·kg ⁻¹)	CK	600 mg/kg	1200 mg/kg
7	0	168.09±15.92Aa	173.85±14.41Aa	173.54±11.03Aa
	10	161.92±12.83Aa	172.10±5.82Aa	85.73±10.58Bb
	50	174.77±6.02Aa	185.77±50.58Aa	88.40±18.70Bb
	250	118.43±4.68Ba	144.44±3.30ABa	81.72±31.14Bb
	500	91.08±14.08Ca	96.12±32.92Ba	47.17±12.36Ba
21	0	167.88±17.30Ab	230.19±14.68Aa	161.61±8.33Ab
	10	101.56±15.81Ba	124.49±7.54Ca	81.21±4.49Bc
	50	106.60±5.35Bb	148.04±8.99Ba	71.95±10.65BCb
	250	79.25±1.25BCb	96.12±8.28Da	60.03±1.60CDc
	500	65.48±13.19Ca	90.05±3.68Db	56.74±4.03Da

经过 21 天的长时间处理,测定土壤中脲酶活性。当土壤中不添加重金属铅时,不添加叶绿醇的空白对照组脲酶含量最高,随着添加叶绿醇浓度的升高,脲酶活性整体呈下降趋势;当添加叶绿醇浓度为 50 mg/kg 时,土壤脲酶活性稍高于叶绿醇浓度为 10 mg/kg 时的脲酶活性。土壤中重金属铅浓度为 600 mg/kg 时,土壤中脲酶活性的变化趋势与不添加重金属铅的脲酶活性变化趋势一致,且添加重金属铅的处理组脲酶活性均高于不添加重金属铅的处理组,各处理组间存在显著性差异($P<0.05$)。当土壤中重金属铅含量为 1 200 mg/kg 时,土壤中脲酶的活性随着添加叶绿醇的浓度呈现下降趋势,与短时间处理下土壤脲酶活性变化趋势一致,各处理组间存在显著性差异($P<0.05$)。由 2 个处理时间段土壤中脲酶活性配对 t 检验(表 6)可以发现,2 个处理时期,土壤中脲酶活性与重金属铅浓度均呈正相关,且当土壤不添加重金属铅的时,存在显著性差异($P<0.05$)。

2.4 添加不同浓度的叶绿醇对铅污染土壤碱性磷酸酶的影响

土壤磷酸酶是评价土壤磷素生物有效性的重要指标^[23]。测定处理 7 天的土壤碱性磷酸酶活性,由表 7 可

知,当土壤中不添加重金属铅时,随着添加叶绿醇浓度的升高,土壤中碱性磷酸酶活性呈现先升高后降低的趋势,在添加的叶绿醇浓度为 500 mg/kg 时,碱性磷酸酶活性最低,低于不添加任何物质的对照组且与其他处理组间存在显著差异($P<0.05$)。当土壤重金属铅浓度为 600,1 200 mg/kg 时,碱性磷酸酶的活性随着添加叶绿醇浓度的升高,整体呈上升趋势,酶活均高于不添加叶绿醇的处理组;当叶绿醇浓度为 250 mg/kg 时,土壤脲酶活性最高。当土壤中不添加重金属铅,叶绿醇浓度为 500 mg/kg 时,土壤碱性磷酸酶活性低于对照组,加入重金属铅后,土壤碱性磷酸酶含量显著高于对照组。推测可能原因是:不存在重金属铅时,短时间内添加高浓度叶绿醇可能抑制碱性磷酸酶酶活,当土壤中存在一定浓度的铅时,会与高浓度的叶绿醇共同作用,促进了碱性磷酸酶的活性,使其升高。

表 6 不同处理时间脲酶配对 t 检验

土壤中 Pb ²⁺ 浓度/(mg·kg ⁻¹)	t	P
CK	3.098	0.036 *
600	0.809	0.464
1200	1.658	0.173

注: * 表示显著性差异。

表 7 不同处理下土壤碱性磷酸酶活性变化 单位:mg/kg

培养时间/d	叶绿醇浓度/(mg·kg ⁻¹)	CK	600 mg/kg	1200 mg/kg
7	0	55798±7987Ab	73575±5684Ba	31869±5819Bc
	10	58105±4680 Ab	74615±2939Ba	45213±12156ABb
	50	60909±9062Ab	86557±4437ABa	46796±6818ABc
	250	64664±6867Aa	96735±2049Ab	57743±9226Aa
	500	41775±4141Ba	91397±12069Ab	50822±10587ABa
21	0	55985±7291Ca	71546±11857Ca	57116±8278Aa
	10	81091±3482BCa	76748±14681Ca	118907±46630Ba
	50	100225±28138Ba	154552±7654ABa	132975±25314Ba
	250	141298±10912Aa	196846±14031Ab	1498470±14990Ba
	500	70687±9062BCa	117731±56322BCa	129627±21938Ba

经过长时间处理后,测定碱性磷酸酶活性与短时间处理变化情况基本一致,均表现出低浓度促进高浓度抑制,且各处理组均高于空白对照组的酶活;当土壤中叶绿醇浓度为 250 mg/kg、重金属铅浓度为 600 mg/kg 时土壤中碱性磷酸酶活性最高,是空白对照组的 251.61%。2 个处理时期的土壤碱性磷酸酶活性与重金属铅浓度呈现正相关,对比 2 个处理时间可以发现,随着处理时间的延长,土壤中碱性磷酸酶活性显著升高;当土壤中重金属铅含量为 1 200 mg/kg 时,2 个时间 *t* 检验(表 8)存在极显著性差异($P<0.01$)。推测其可能原因是:在植物生长过程中,叶绿醇会不断的分解和合成叶绿素,通过细胞代谢途径为植物生长提供营养。因此,长时间的处理下,叶绿醇分解为土壤微生物提供营养,使得碱性磷酸酶活性升高。

2.5 添加不同浓度的叶绿醇对铅污染土壤中有效态铅离子含量的影响

土壤中铅的有效性对土壤环境变化十分敏感,极

易被生物吸收,为土壤生物带来严重危害。处理 7 天后,土壤中不添加重金属铅时,随着添加叶绿醇浓度的升高,土壤中有效态铅含量出现先降低后升高的趋势(表 9);当添加叶绿醇浓度为 250 mg/kg 时,土壤中铅有效态最低;与 50 mg/kg 时铅有效态不存在差异性($P>0.05$),与其他处理组存在显著性差异($P<0.05$)。当土壤中重金属铅浓度为 600 mg/kg 时,加入叶绿醇后,土壤中铅有效态呈现先下降后上升的趋势,均低于土壤中仅含有铅的处理组;当加入叶绿醇浓度为 250 mg/kg 时,土壤中有效态铅含量最低,是仅含有铅的处理组的 75.93%。当土壤中重金属铅浓度为 1 200 mg/kg 时,土壤有效态铅含量随着添加叶绿醇浓度的升高呈现逐渐降低的趋势。

表 8 不同处理时间碱性磷酸酶配对 *t* 检验

土壤中 Pb ²⁺ 浓度/(mg·kg ⁻¹)	<i>t</i>	<i>P</i>
CK	-2.315	0.100
600	-1.974	0.120
1200	-9.153	0**

表 9 不同处理下土壤铅有效态变化

单位:mg/kg

培养时间/d	叶绿醇浓度/(mg·kg ⁻¹)	CK	600 mg/kg	1200 mg/kg
7	0	6.64±1.19ABc	341.35±24.05Ab	708.92±79.09Aa
	10	6.58±0.56ABc	325.98±2.55Ab	712.89±39.98Aa
	50	5.80±0.26Bc	286.97±10.53Bb	611.22±47.53ABa
	250	5.13±0.59Bc	237.08±3.27Cb	551.55±35.46Ba
	500	7.54±0.44Ac	298.45±5.29Bb	548.75±32.96Ba
21	0	7.51±0.64Ac	544.58±57.39Ab	1080.58±180.85Aa
	10	3.21±0.37Bc	539.63±86.98Ab	972.25±100.00ABa
	50	3.22±0.38Bc	494.98±26.77Ab	697.25±43.30Ca
	250	2.89±0.51Bc	413.52±22.13Ab	822.25±25.00BCa
	500	3.39±0.70Bc	506.72±80.03Ab	863.92±38.19BCa

经过 21 天长时间处理,当土壤中不添加铅时,与空白对照组相比,加入叶绿醇的处理组铅有效态显著下降;当加入叶绿醇浓度为 250 mg/kg 时,土壤中有效态铅含量最低。当土壤中重金属铅浓度为 600 mg/kg 时,加入叶绿醇后,土壤有效态铅含量与短时间处理时变化一致,各处理组间存在显著性差异($P<0.05$)。当土壤中重金属铅浓度为 1 200 mg/kg 时,加入叶绿醇后,土壤中铅有效态含量和重金属添加量为 600 mg/kg 时变化趋势一致;当加入叶绿醇浓度为 50 mg/kg 时,土壤中有效态铅含量最低,各处理组间存在显著性差异($P<0.05$)。对比 2 个重金属浓度,随着土壤中重金属浓度的增加,土壤中有效态铅含量对叶绿醇的敏感度升高,随着土壤中重金属浓度升高,有效态铅含量出现最低值时,叶绿醇的浓度梯度降低。由 2 个处理时间段土壤中脲酶活性配对 *t* 检验(表 10)可以发现,土壤添加重金属铅时,2 个处理时间存在显著性差异($P<0.05$)。对比 2 个处

理时间可以发现,随着处理时间的增加,铅有效态含量升高,推测其可能原因是:游离的叶绿醇通常是叶绿体的次要成分,在其活化形式下,叶绿醇携带 2 个与羟基结合的磷酸基团,可以和铅离子结合,降低铅有效态^[21]。随着处理时间的增加,土壤中添加的叶绿醇被土壤中的微生物分解、消耗,为土壤中的微生物提供了营养物质,微生物活动可能分泌出一些酸类物质,从而使铅离子转化为相对活跃的有效态。

表 10 不同处理时间土壤铅有效态对 *t* 检验

土壤中 Pb ²⁺ 浓度/(mg·kg ⁻¹)	<i>t</i>	<i>P</i>
CK	-2.678	0.055
600	9.525	0.001**
1200	5.513	0.005**

3 结论

(1)土壤中添加叶绿醇对土壤过氧化氢酶、蔗糖酶和碱性磷酸酶活性具有促进作用,对土壤脲酶具有抑制作用,其作用大小表现为碱性磷酸酶>脲酶>蔗

糖酶>过氧化氢酶。

(2)2 个处理时期的土壤过氧化氢酶与重金属铅浓度呈现负相关,蔗糖酶、脲酶和碱性磷酸酶与重金属铅浓度呈现正相关。当土壤中重金属铅浓度为 600 mg/kg 时各土壤酶活性高于不添加重金属和重金属浓度过高的处理组;过氧化氢酶、蔗糖酶和脲酶活性对低浓度叶绿醇敏感,当添加叶绿醇浓度为 50 mg/kg 时,过氧化氢酶、蔗糖酶和脲酶活性最高;土壤碱性磷酸酶活性对高浓度叶绿醇更敏感,当添加叶绿醇浓度为 250 mg/kg 时,土壤碱性磷酸酶活性最高。

(3)随着添加叶绿醇浓度的升高,土壤有效态铅含量降低,且土壤中铅有效态对高浓度叶绿醇敏感,当土壤中重金属铅浓度为 600 mg/kg 叶绿醇浓度为 250 mg/kg 时,土壤中铅离子有效态的转化效率最低。综上可知,添加叶绿醇可以有效抑制重金属铅转化为有效态,从而防止有效态铅离子含量过高,降低其与动植物结合,减少其对动植物和土壤的污染危害。

参考文献:

[1] Foulds S A, Brewer P A, Macklin M G, et al. Flood-related contamination in catchments affected by historical metal mining: An unexpected and emerging hazard of climate change [J]. *Science of the Total Environment*, 2014,476/477:165-180.

[2] Zhang X, Yang L, Li Y, et al. Impacts of lead / zinc mining and smelting on the environment and human health in China [J]. *Environmental Monitoring & Assessment*, 2012,184(4):2261-2273.

[3] 郑晓明,张守伟.中国有色金属工业废水污染特征分析[J].*中国锰业*,2017,35(3):142-144.

[4] 陈丽娜,艾绍英,杨少海,等.农田土壤铅污染的固定修复技术研究进展[J].*广东农业科学*,2010,37(10):27-28.

[5] Picard F, Chaouki J. NaClO / NaOH soil oxidation for the remediation of two real heavy-metal and petroleum contaminated soils [J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*,2017,5(3):2691-2698.

[6] 薛永,王苑嫫,姚泉洪,等.植物对土壤重金属镉抗性的研究进展薛永[J].*生态环境学报*,2014,23:528-34.

[7] Hu B, Chen S, Hu J, et al. Application of portable XRF and VNIR sensors for rapid assessment of soil heavy metal pollution [J]. *PLoS One*, 2017, 12 (2): e0172438.

[8] Huang Y, Chen G, Xiong L, et al. Current situation of heavy metal pollution in farmland soil and phytoremediation application [J]. *Asian Agricultural Research*, 2016,8(1):22-24.

[9] 黄占斌,焦海华.土壤重金属污染及其修复技术[J].*自然杂志*,2012,34(6):350-354.

[10] Wuana R A, Okieimen F E. Heavy metals in contaminated soils: A review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation [J]. *International Scholarly Research Network, ISRN Ecology*, 2011: e402647.

[11] 黄益宗,郝晓伟,雷鸣,等.重金属污染土壤修复技术及其修复实践[J].*农业环境科学学报*,2013,32(3):409-417.

[12] Gao Y, Miao C Y, Xia J, et al. Plant diversity reduces the effect of multiple heavy metal pollution on soil enzyme activities and microbial community structure [J]. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 2012,6(2):213-223.

[13] Pandi S, Karthik C, Hema S. Phytol-a biosurfactant from the aquatic weed *Hydrilla verticillata* [J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*,2019,17:736-742

[14] 姜凌,张春义.植物维生素生物强化进展[J].*生物技术进展*,2016,6(6):381-388.

[15] 齐圆晖.大豆尿黑酸叶绿醇转移酶(HPT)基因的分离与功能分析[D].长春:长春理工大学,2008.

[16] 靳晓琳.缺镁胁迫下柑橘幼苗 cDNA-AFLP 分析[D].福州:福建农林大学,2013.

[17] 杨蕾.盐胁迫下发状念珠藻抗氧化系统及蛋白质、脂质的研究[D].济南:齐鲁工业大学,2013.

[18] 关松荫.土壤酶及其研究法[M].北京:农业出版社,1986.

[19] Maharjan M, Sanaullah M, Razavi B S, et al. Effect of land use and management practices on microbial biomass and enzyme activities in subtropical top-and sub-soils [J]. *Applied Soil Ecology*,2017,113:22-28.

[20] 李猛,张恩平,张淑红,等.长期不同施肥设施菜地土壤酶活性与微生物碳源利用特征比较[J].*植物营养与肥料学报*,2017,23(1):44-53.

[21] Katharina G, Jill R, Peter D. Phytol metabolism in plants [J]. *Progress in Lipid Research*,2019,74:1-17.

[22] 张体彬,展小云,冯浩.盐碱地土壤酶活性研究进展和展望[J].*土壤通报*,2017,48(2):495-500.

[23] 张艺,王春梅,许可,等.模拟氮沉降对温带森林土壤酶活性的影响[J].*生态学报*,2017,37(6):1956-1965.