

不同锌浓度有机肥对土壤酶活性及微生物数量的影响

杨 玖^{1,2} 谷 洁^{2*}

(1.攀枝花市环境监测中心站,四川 攀枝花 617000;2.西北农林科技大学资源与环境学院,陕西 杨凌 712100)

摘要 采用室内培养方法,探究了含不同质量浓度(600、1 200、1 800 mg/kg)锌的有机肥对土壤酶活性及微生物的影响。结果表明:(1)在整个培养阶段,含锌的有机肥总体显著抑制土壤脲酶、蔗糖酶、脱氢酶和过氧化氢酶活性,对碱性磷酸酶活性影响不显著;随着有机肥中锌浓度的增大,脲酶、脱氢酶、蔗糖酶活性总体显著降低。(2)整个培养阶段,含1 800 mg/kg锌的有机肥促进土壤中真菌增长;对土壤中细菌总体也有促进作用;对土壤中放线菌呈先抑制后激活的作用,最后趋于稳定。

关键词 有机肥 锌 微生物数量 酶活性

DOI:10.15985/j.cnki.1001-3865.2017.04.013

Effects of organic materials containing zinc on enzyme activity and soil microbes YANG Jiu^{1,2}, GU Jie². (1. Panzhihua Environmental Monitoring Center, Panzhihua Sichuan 617000; 2. College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling Shaanxi 712100)

Abstract: The changes of enzyme activity soil and microbe number in soil with addition of fertilizer containing different concentrations (600, 1 200, 1 800 mg/kg) of the heavy metal zinc were studied by the indoor cultivation. The result showed that the urease activity, invertase activity, dehydrogenase activity and catalase activity were obviously reduced, after the organic fertilizer containing zinc was applied into the soil. While zinc had no significant effect on the activity of the soil alkaline phosphatase. With the concentrations of zinc increasing, urease activity, dehydrogenase activity and invertase activity were decreased significantly. During the culture stage, the organic fertilizer containing 1 800 mg/kg zinc promoted the amount of fungi and bacteria. The effects of zinc in the organic fertilizer on the amount of actinomycetes were mainly for activation and presented "inhibition-activation" tendency and then finally trends to be stable.

Keywords: fertilizer; zinc; microbe number; soil enzyme activity

有机肥在现代农业中占有极其重要的地位,是无公害农业和绿色食品生产中的主要肥料。随着我国农业的发展,随之产生了大量的农业有机废弃物。肥料化是处理农业有机废弃物经济有效的措施之一。畜禽粪便、动植物残体等富含有机质的副产品资源是生产商品有机肥的重要来源,这些物料所制成的有机肥虽然可提供有机质和部分微量元素,但目前的有机肥已发生了质的变化,存在着严重的安全隐患。目前,由于饲料厂和养殖场普遍采用高铜、高铁和高锌等微量元素作为饲料添加剂,少量元素被动物吸收,大约有95%(质量分数)以上的重金属随着尿液粪便排出体外,导致畜禽粪便中重金属含量增加,进一步导致以畜禽粪便作为原料的有机肥中重金属含量增加。研究表明,有机肥料中锌、铜、镉、铅分别为0.75~459.87、0.11~164.95、

0.02~6.56、0.07~35.93 mg/kg^[1]。土壤酶作为土壤组分中最活跃的有机成分之一,其活性不仅能反映土壤微生物活性,而且能表征土壤养分转化和运移能力,是评价土壤肥力、生态环境质量优劣的重要参数之一^[2]。目前,有关含重金属污染的有机肥对土壤酶活性的影响研究较少,主要集中在猪粪、鸡粪等未经处理的有机肥直接施入土壤的影响^[3],同时我国目前还没有堆肥中重金属限量的相关标准,但在欧洲很多国家,则制定了堆肥中重金属的限量标准^[4-5]。通过向自制有机肥(猪粪和小麦秸秆堆腐后的有机肥)中添加重金属锌,笔者研究了施用含不同浓度锌的有机肥对土壤酶活性及微生物数量的影响,从而进一步研究了含锌有机肥在土壤环境中的生态效应及其对生态环境的潜在危害,同时也为有机肥的安全施用、环境监测与保护提供依据。

第一作者:杨 玖,女,1989年生,硕士,助理工程师,主要从事环境监测工作。*通讯作者。

表 1 有机肥与土壤的化学性质
Table 1 Chemical properties of the organic fertilizer and soil

材料	有机碳/(g·kg ⁻¹)	全氮/(g·kg ⁻¹)	全磷/(g·kg ⁻¹)	全钾/(g·kg ⁻¹)	全锌/(mg·kg ⁻¹)
有机肥	406.91	1.653	1.933	7.788	41
土壤	21.53	0.528	1.133	13.730	85

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用硫酸锌为分析纯。有机肥以猪粪(不含任何饲料添加剂)和小麦秸秆为原料在静态堆肥发酵罐中堆制而成。向所得的有机肥中添加不同含量的硫酸锌溶液即制得含不同浓度锌的有机肥。供试土壤采自西北农林科技大学新天地无公害蔬菜生产试验基地的表层(0~20 cm)土,为壤土。有机肥与土壤的化学性质见表 1。

1.2 试验设计

1.2.1 含锌有机肥的制备及试验处理

根据报道,由猪粪为原料生产的有机肥中锌为 40.5~2 286.8 mg/kg^[6-7]。本试验设置 4 个处理:(1)CK 处理,腐熟后的有机肥,未添加外源污染的锌,即为对照;(2)T1 处理,腐熟后的有机肥中锌为 600 mg/kg;(3)T2 处理,腐熟后的有机肥中锌为 1 200 mg/kg;(4)T3 处理,腐熟后的有机肥中锌为 1 800 mg/kg。每处理设 3 个重复。恒温培养箱中培养 7 d,使得有机肥中微生物菌落达到平衡稳定。

1.2.2 土壤培养试验

土壤于避光处风干,过 2 mm 筛,备用。按 5% (质量分数)加入有机肥,混匀后倒入 2 L 的烧杯中,每烧杯装有 1.5 kg 土壤。调节田间持水量 60%,用 parafilm 封口膜将烧杯口盖住,留 6~8 个直径为 1 mm 的小洞在封口膜上,使烧杯内气体和外界流通,以保持微生物活性。恒温培养箱中黑暗培养,培养温度为(25±1)℃,培养过程中损失的水分通过称重法补充。培养第 10、20、30 天分别取样分析。土壤样品经 2 mm 过筛,4℃保存,测定相关指标。

1.3 测定方法

土壤中有机碳采用重铬酸钾法测定,全氮采用凯氏法测定,全磷采用钒钼黄比色法测定,全锌采用火焰原子吸收分光光度法(HCl+HNO₃+HClO₄消解)测定、全钾采用火焰光度计法测定^[8]。

土壤酶活性分析测定参照文献[9]。蔗糖酶活性测定采用 3,5-二硝基水杨酸比色法,以 1 g 土壤 24 h 产生的葡萄糖质量表示;脲酶活性测定采用苯酚钠比色法,以 24 h 内 1 g 土壤中产生的氨氮质量

表示;碱性磷酸酶活性测定采用磷酸苯二钠比色法,以 24 h 内 1 g 土壤中产生的酚质量表示;过氧化氢酶活性测定采用高锰酸钾滴定法,以 1 g 土壤培养 1 min 消耗的 0.1 mol/L KMnO₄ 的体积表示,培养 20 min;脱氢酶活性测定采用三苯基氯化四唑(TTC)比色法,以 1 h 内 1 g 土壤中生成三苯基甲臜(TF)的质量表示。土壤中细菌、真菌和放线菌数量采用稀释平板法测定。

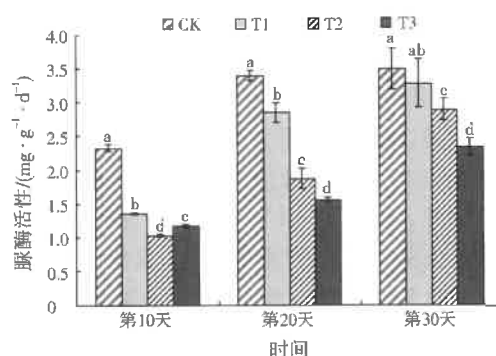
1.4 数据处理

数据采用 Microsoft Excel 2003 及 The SAS System for Windows V8 进行处理;利用 DPS v7.05 版进行差异显著性分析,差异显著性检验方法是最小显著性差异检验法(LSD)。

2 结果与分析

2.1 不同锌浓度有机肥对土壤中脲酶活性的影响

随着有机肥中锌浓度的增大,脲酶活性总体逐渐降低,这跟杨红飞等^[10]研究结果相似;但随着时间的延长,脲酶活性均提高(见图 1)。这可能是由于土壤培养试验所设置的环境条件(温度及湿度等)较自然条件更有利于微生物的生长所致。



注:不同字母表示差异显著($P<0.05$),相同字母表示差异不显著。图 2 至图 5、表 2 至表 4 同。

图 1 施用不同锌浓度有机肥对土壤中脲酶活性的影响
Fig.1 The influence of organic fertilizer added with Zn on soil urease activities

2.2 不同锌浓度有机肥对土壤中碱性磷酸酶活性的影响

土壤中碱性磷酸酶活性直接影响着土壤中有有机磷的分解转化及其生物有效性。由图 2 可以看出,施肥 10 d 后,T1 处理的碱性磷酸酶活性显著高于

CK及其他处理,表明低质量浓度(600 mg/kg)的锌激活了碱性磷酸酶的活性;锌质量浓度 $\geq 1\ 200$ mg/kg时,抑制碱性磷酸酶活性。其原因可能:(1)有机肥中的有机物与锌发生络合或吸附反应,使得锌的有效性降低,削弱了锌的生物毒性;(2)含锌有机肥的施入可提高土壤中微生物种群的多样性,增强土壤的新陈代谢能力,使得部分对锌有抵抗力的耐性菌种随时间的增加逐渐生长和繁殖^[11]。各处理对碱性磷酸酶活性的抑制作用在培养第20天时达到最大;第30天,各处理中碱性磷酸酶活性较第20天略有升高,这与向彬等^[12]研究一致。

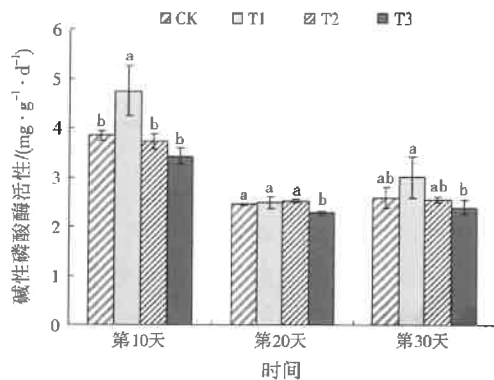


图2 施用不同锌浓度有机肥对土壤中碱性磷酸酶活性的影响

Fig.2 The influence of organic fertilizer added with Zn on soil alkaline phosphatase activities

2.3 不同锌浓度有机肥对土壤中蔗糖酶活性的影响

由图3可以看出,各处理中土壤蔗糖酶活性随着培养时间的延长呈现下降趋势。培养第30天,各处理蔗糖酶活性达到最低值,且随着锌浓度的增大,各处理间蔗糖酶活性差异显著,其活性分别较第10天减少了74.7%、75.8%、88.3%、93.0%。整个培养期间,含锌有机肥对土壤中蔗糖酶活性具有显著的抑制作用。

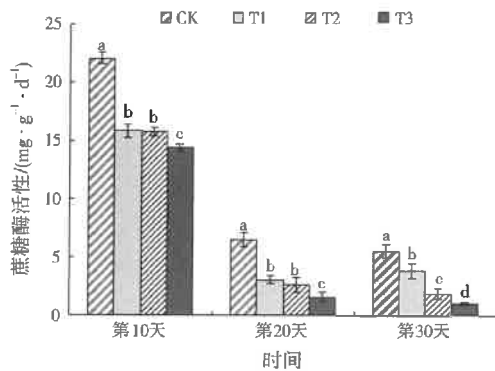


图3 施用不同锌浓度有机肥对土壤中蔗糖酶活性的影响

Fig.3 The influence of organic fertilizer added with Zn on soil invertase activities

2.4 不同锌浓度有机肥对土壤中脱氢酶活性的影响

脱氢酶是土壤氧化代谢和微生物活性的指示者,是与呼吸过程、活细胞有关的重要胞内酶。有学者发现可用脱氢酶活性作为土壤微生物活性的指示者^[13]。由图4可见,CK处理土壤中脱氢酶活性显著高于其他处理。在整个培养时期,随着锌浓度的增大,脱氢酶活性降低。第20天,各处理脱氢酶活性升高,较第10天增加了75.4%、46.4%、173.4%和192.7%,这可能与有机肥在土壤中的降解速率等有关。

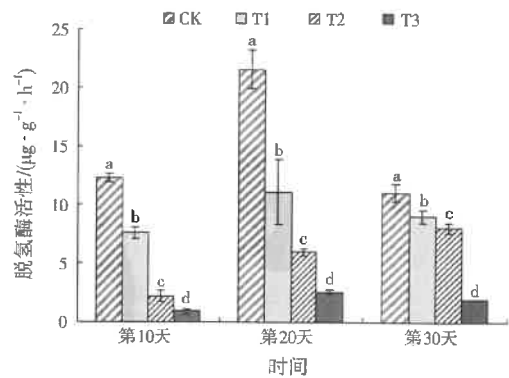


图4 施用不同锌浓度有机肥对土壤中脱氢酶活性的影响

Fig.4 The influence of organic fertilizer added with Zn on soil dehydrogenase activities

2.5 不同锌浓度有机肥对土壤中过氧化氢酶活性的影响

土壤过氧化氢酶促进过氧化氢的分解以防止其对生物体的毒害作用。由图5可知,施入含锌有机肥土壤中过氧化氢酶活性显著低于CK处理,表明有机肥中的锌可抑制过氧化氢酶活性。在整个培养阶段,T2处理对过氧化氢酶活性的抑制作用最大;T1、T3处理抑制作用较小,两者间差异总体不显著。T3处理对过氧化氢酶活性抑制作用总

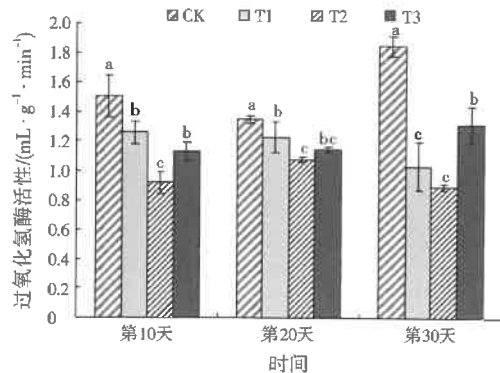


图5 施用不同锌浓度有机肥对土壤中过氧化氢酶活性的影响

Fig.5 The influence of organic fertilizer added with Zn on soil catalase activity

体比 T1、T2 处理弱,其原因可能有:(1)有机肥中的有机质可在一定程度上阻碍重金属离子与酶的活性中心或其他基团结合而降低酶的活性^[14],从而减缓了锌对过氧化氢酶活性的抑制作用;(2)高浓度锌的有机肥处理中可能产生了耐性菌株,从而缓解了过氧化氢酶活性的抑制作用。

2.6 不同锌浓度有机肥对土壤中真菌的影响

由表 2 可以看出,培养第 10 天,T1、T2 处理中土壤真菌显著低于 CK、T3 处理,即 T1、T2 处理呈现了一定的抑制作用。第 20 天,T2、T3 处理中土壤真菌显著高于 CK 处理,土壤真菌呈现了一定的激活作用,其激活率分别为 140.7%、184.3%;T1 处理表现出了一定的抑制作用,其抑制率为 56.5%。第 30 天,T1、T3 处理表现出一定的激活作用。同时,在培养过程中,菌落特征大部分相似,且呈优势菌落,这有可能是土壤中产生了大量的耐性菌株,使得土壤真菌数量增加,种类减少。

表 2 含锌有机肥对土壤真菌的影响¹⁾
Table 2 Effects of organic fertilizers added with Zn on soil fungi

处理	真菌/(10 ³ cfu·g ⁻¹)		
	第 10 天	第 20 天	第 30 天
CK	1.08±0.02 a	1.08±0.04 c	1.22±0.36 b
T1	0.64±0.07 b	0.47±0.06 d	3.11±0.68 a
T2	0.57±0.14 b	2.60±0.20 b	1.55±0.13 b
T3	1.15±0.01 a	3.07±0.12 a	3.34±0.26 a

注:1)样本数为 3,表 3、表 4 同。

2.7 不同锌浓度有机肥对土壤细菌的影响

由表 3 可以看出,与 CK 处理相比,施入含锌有机肥后的第 10 天,T2、T3 处理对土壤细菌呈现了一定的抑制作用,其抑制率分别为 50.9%、21.8%;第 20 天,T3 处理对土壤细菌呈现了一定的激活作用;第 30 天,各处理均表现出显著的激活作用,其激活率分别为 236.2%、68.9%、122.4%。含高浓度锌有机肥对土壤细菌有一定的激活作用,可能的原因是土壤中产生了大量的耐性菌,并形成优势菌种。

表 3 含锌有机肥对土壤细菌的影响
Table 3 Effects of organic fertilizers added with Zn on soil bacteria

处理	细菌/(10 ⁷ cfu·g ⁻¹)		
	第 10 天	第 20 天	第 30 天
CK	3.67±0.94 a	1.57±0.04 b	0.58±0.16 c
T1	3.80±0.10 a	0.96±0.11 c	1.95±0.26 a
T2	1.80±0.20 b	1.01±0.06 c	0.98±0.19 b
T3	2.87±0.64 ab	3.13±0.12 a	1.29±0.36 b

2.8 不同锌浓度有机肥对土壤放线菌数量的影响

由表 4 可以看出,与 CK 处理相比,施加含锌有机肥后的第 10 天,随着锌浓度的增加,土壤放线菌

逐渐减少,表现出抑制的作用,T1~T3 处理的抑制率分别为 12.8%、19.9%、40.4%;与第 10 天相比,第 20 天,各处理放线菌均有上升的趋势,且 T3 处理中放线菌显著高于 CK 处理,对土壤放线菌呈激活作用,其激活率为 12.1%;第 30 天,CK、T2、T3 处理土壤放线菌数量无显著性差异,但 T1 处理表现出显著的激活作用。

表 4 含锌有机肥对土壤放线菌的影响
Table 4 Effects of organic fertilizers added with Zn on soil actinomycetes

处理	放线菌/(10 ⁵ cfu·g ⁻¹)		
	第 10 天	第 20 天	第 30 天
CK	1.41±0.03 a	2.89±0.10 b	2.55±0.23 b
T1	1.23±0.23 b	2.24±0.14 c	4.66±0.24 a
T2	1.13±0.23 c	1.76±0.08 d	3.13±0.83 b
T3	0.84±0.04 d	3.24±0.14 a	3.21±0.82 b

3 讨 论

有机肥中的重金属以金属离子或与无机、有机物生成化合物形式存在。重金属对土壤酶的作用有:(1)重金属离子作为酶合成的辅基,改变酶催化反应平衡性质和酶蛋白的表面电荷,促进微生物生长和酶合成;(2)重金属作用酶的底物从而诱导了酶活性^[15];(3)由于一些微生物能在高浓度的重金属环境下生存,产生了抗性酶活性,菌落数量、结构发生变化从而影响酶活性^[16]。重金属与土壤酶没有专一性对应关系^[17]。

含锌有机肥对土壤中碱性磷酸酶活性影响相对不大,对另外 4 种土壤酶(过氧化氢酶、脱氢酶、脲酶和蔗糖酶)活性有不同程度的影响。重金属对土壤酶活性的影响较复杂。由于重金属进入土壤后,重金属可溶态含量较高,对微生物有一个明显的抑制作用,但随着时间推移,重金属的固定作用增强,土壤可溶态重金属含量降低,微生物逐渐适应土壤环境,微生物数量、活性、群体结构也逐渐趋于稳定。

综上所述,有机肥中不同浓度锌对不同土壤酶活性的作用不同,且各种酶之间可能存在一定的关系,很难利用某些土壤酶活性的变化来指示某一特定重金属污染,不仅是因为不同时间各处理对土壤酶活性影响的差异没有明显的规律,土壤酶活性受其他环境因素的影响;且土壤微生物的种类和数量又在某种程度上决定土壤酶的来源^[18]。因此,寻找一个敏感、合适的植物指标来直观地检测土壤重金属污染,仍是环境污染学和土壤酶学的主要研究方向之一。

4 结 论

(1) 随着培养时间的延长,含不同浓度锌的有机肥对土壤酶活性表现出不同的作用。在整个培养阶段,含锌的有机肥总体显著抑制土壤脲酶、蔗糖酶、脱氢酶和过氧化氢酶活性,对碱性磷酸酶活性影响不显著;随着有机肥中锌浓度的增大,脲酶、脱氢酶、蔗糖酶活性总体显著降低。

(2) 不同培养阶段,含不同浓度锌的有机肥对土壤中微生物的数量影响各不相同。在整个培养阶段,含1 800 mg/kg锌的有机肥促进土壤中真菌增长;对土壤中细菌总体也有促进作用;对土壤中放线菌呈先抑制后激活的作用,最后趋于稳定。

参考文献:

- [1] 陈林华,倪吾钟,李雪莲,等.常用肥料重金属含量的调查分析[J].浙江理工大学学报,2009,26(2):223-227.
- [2] 和文祥,陈会明,冯贵颖,等.汞铬砷元素污染土壤的酶监测研究[J].环境科学学报,2000,20(3):338-343.
- [3] 田野,刘善江,陈桂梅,等.有机肥料中重金属对农田土壤的影响[J].广州化工,2010,38(12):192-193.
- [4] BRINTON W F. An international look at compost standards[J].Bicycle,2001,42(4):74-76.
- [5] 李书田,刘荣乐.国内外关于有机肥料中重金属安全限量标准的现状与分析[J].农业环境科学学报,2006,25(增刊):777-782.
- [6] 刘乐荣,李书田,王秀斌,等.我国商品有机肥料和有机废弃物中重金属的含量状况与分析[J].农业环境科学学报,2005,24(2):392-397.
- [7] 程旭艳,王定美,乔玉辉,等.中国商品有机肥重金属分析[J].环境污染与化学,2012,34(2):72-76.
- [8] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [9] 关松荫.土壤酶及其研究法[M].北京:中国农业出版社,1987.
- [10] 杨红飞,严密,姚婧,等.铜、锌污染对油菜生长和土壤酶活性的影响[J].应用生态学报,2007,18(7):1484-1490.
- [11] SEAKER E M, SOPER W E. Municipal sludge for mine spoil reclamation: I. Effects on microbial populations and activity[J].Journal of Environmental Quality,1988,17(4):591-597.
- [12] 向彬,王彬,徐卫红,等.重金属 Cd、Zn、Cu、Pb 对土壤微生物和酶活性的影响[J].氨基酸和生物资源,2012,34(3):4-8.
- [13] 邵兴华,徐金仁,张建忠,等.长期施肥对旱地红壤肥力和酶活性的影响[J].生态环境学报,2011,20(2):266-269.
- [14] RENELLA G, MENCH M, GELSOMINO A, et al. Functional activity and microbial community structure in soils amended with bimetallic sludges[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005,37(8):1221-1229.
- [15] 陈苏,孙丽娜,晁雷,等.基于土壤酶活性变化的铅污染土壤修复基准[J].生态环境学报,2010,19(7):1659-1662.
- [16] 洪春来,贾彦博,王润屹,等.铅污染对土壤重金属及酶活性的影响[J].中国农学通报,2008,24(12):304-307.
- [17] 和文祥,朱铭莪,张一平.土壤酶与重金属关系的研究现状[J].土壤与环境,2000,9(2):139-142.

- [18] 万忠梅,宋长春.土壤酶活性对生态环境的响应研究进展[J].土壤通报,2009,40(4):951-955.

编辑:黄 苇 (收稿日期:2016-03-04)

(上接第 397 页)

- [13] 陈春霄,姜霞,战玉柱,等.太湖表层沉积物中重金属形态分布及其潜在生态风险分析[J].中国环境科学,2011,31(11):1842-1848.
- [14] 范文宏,张博,张融,等.锦州湾沉积物中重金属形态特征及其潜在生态风险[J].海洋环境科学,2008,27(1):54-58.
- [15] DAVIDSON C M, THOMAS R P, MCVEYS E, et al. Evaluation of a sequential extraction procedure for the speciation of heavy metals in sediments[J].Analytica Chimica Acta,1994,291(3):277-286.
- [16] CHEE K Y, AHMAD I, CHING H L, et al. Interpretation of copper and zinc contamination in the aquatic environment of peninsular Malaysia with special reference to a polluted river, Sepang River[J].Wetland Science,2007,5(4):311-321.
- [17] 韩倩,张丽娟,胡国成,等.中山高平工业园区周边水体沉积物中重金属污染特征及生态风险评价[J].农业环境科学学报,2015,34(8):1563-1568.
- [18] TEASDALE P R, APTE S C, FORD P W, et al. Geochemical cycling and speciation of copper in waters and sediments of Macquarie Harbour, Western Tasmania[J].Estuarine, Coastal and Shelf Science,2003,57(3):475-487.
- [19] 张芬,杨长明,潘睿捷.青山水库表层沉积物重金属污染特征及生态风险评价[J].应用生态学报,2013,24(9).
- [20] 崔元俊,李肖鹏,董建,等.山东烟台金矿区及城镇周边土壤重金属化学形态分布及转化[J].物探与化探,2013,37(6):1101-1106.
- [21] 韩春梅,王林山,巩宗强,等.土壤中重金属形态分析及其环境学意义[J].生态学杂志,2005,24(12):1499-1502.
- [22] SEIDEMANN D E. Seidemann metal pollution in sediment of Jamaica Bay, New York, USA - an urban estuary[J].Environmental Management,1991,15(1):73-81.
- [23] 地里拜尔·苏里坦,艾尼瓦尔·买买提,蔺娟.土壤中铁锰的形态分布及其有效性研究[J].生态学杂志,2006,25(2):159-160.
- [24] 章明奎,方利平,周翠.污染土壤中有有机质结合态重金属的研究[J].生态环境,2005,14(5):650-653.
- [25] 毛竹,王浩.土壤重金属形态分布特性及其影响因素[J].科技资讯,2013(8):163-164.
- [26] 汪斌,庄严,谭建新,等.低浓度富里酸对底泥重金属铅的生物有效性影响[J].农业环境科学学报,2006,25(5):1182-1187.
- [27] 李晓宁,高明,慈恩.重庆市植烟土壤有效态微量元素含量评价[J].中国生态农业学报,2007,15(3):25-28.
- [28] 刘爱明,杨柳,庄红波,等.生态环境中重金属的化学形态转化及影响因素研究[J].安徽农业科学,2011,39(22):4-5.
- [29] 郭平,谢忠雷,康春莉,等.利用化学萃取法研究长春市土壤重金属化学形态及其影响因素[J].吉林大学学报(理学版),2005,43(1):116-120.
- [30] 钟晓兰,周生路,黄明丽,等.土壤重金属的形态分布及其影响因素[J].生态环境学报,2009,18(4):1266-1273.
- [31] 卢少勇,焦伟,金相灿.滇池内湖滨带沉积物中重金属形态分析[J].中国环境科学,2010,30(4):491-492.

编辑:黄 苇 (收稿日期:2016-03-28)