

# 铅锌矿区土壤微生物区系及酶活性调查

王建坤, 张小平, 周薇

(四川农业大学资源环境学院, 四川 雅安 625014)

**摘要:**通过对四川省汉源县富泉乡万顺铅锌矿区土壤微生物区系及微生物活性的调查,结果表明,铅锌矿区土壤几种重金属含量明显高于临近非矿区土壤。该矿区土壤微生物区系组成和微生物活性显著不同于临近非矿区土壤,随着重金属含量的增加,土壤微生物数量、微生物多样性指数、微生物生物量碳以及纤维素分解强度均显著降低,但土壤基础呼吸却明显升高;土壤脲酶、碱性磷酸酶、多酚氧化酶对铅锌矿较为敏感,而蔗糖酶和过氧化氢酶受到的抑制作用不明显。

**关键词:**土壤;重金属;微生物;酶活性;铅锌矿区

中图分类号: X32 021

文献标识码: B

文章编号: 1006-2009(2009)04 - 0023 - 05

## Investigation on Soil Microflora and Microbial Activities from a Lead-zinc Mining Area

WANG Jian-kun, ZHANG Xiao-ping, ZHOU Wei

(College of Resources and Environment, Sichuan Agricultural University, Yaan, Sichuan 625014, China)

**Abstract:** The soil microflora and microbial activities were investigated from a lead-zinc mining area in Hanyun county of Sichuan. The results showed the contents of heavy metals from a lead-zinc mining area were higher than those in non-polluted soils. The soil microflora and microbial activities changed significantly in soils polluted by heavy metals. The soil microorganisms quantities, microbial diversity index, microbial biomass carbon and the cellulose decomposition strength significantly reduced with increasing of heavy metal concentration, but the soil basal respiration rate were positively enhanced. The soil urease, alkaline phosphatase and polyphenol oxidase in the lead-zinc mining area were sensitive. The invertase and catalase were not obvious inhibited to the heavy metals.

**Key words:** Soil; Heavy metals; Microorganisms; Enzyme activity; Lead-zinc mining area

矿产资源的大量开发和无序开采,使大量土壤遭重金属污染而退化。铅锌矿区污染对植物的影响研究较多,但对矿区微生物的影响研究却少见报道。

土壤质量是土壤物理、化学和生物学性质综合作用的结果,土壤生物学性质能敏感地反映出土壤质量的变化,是土壤质量评价不可缺少的指标<sup>[1-4]</sup>。现以四川省汉源县富泉乡万顺铅锌矿区为研究对象,通过对该矿区土壤微生物指标的研究,探讨铅锌矿区重金属污染与土壤微生物之间的内在关系,为同类污染矿区土壤环境质量评价提供科学依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 研究区概况

试验所选矿区为四川省汉源县富泉乡万顺铅锌矿区,位于四川省流沙河下游左岸,地理位置在北纬 29°23',东经 102°38',矿区内地貌呈中山、丘陵,海拔为 800 m—1 200 m。四季气候变化明显,春冬多晴少雨,夏秋雨量集中,年平均气温 17.9℃,年均降雨量 780 mm,年均日照 1 475.8 h,无霜期 300 d。土壤类型主要为黄壤,矿区主要植被为芭茅草 (*Miscanthus sinensis Anderss.*)、指叶凤

收稿日期: 2008 - 12 - 25;修订日期: 2009 - 04 - 08

作者简介:王建坤(1983—),男,四川自贡人,硕士研究生,主要从事土壤与环境微生物方面的研究。

尾蕨 (*Pteris dactylina*)、蜈蚣草 (*Pteris vittata* L)、狗牙根 (*Cynodon dactylon*)、细叶茼蒿草 (*Achnanthes chinensis*)和地毯草 (*Axonopus compressus*)。

1.2 采样区的选择及采样

根据污染情况设置 8 个取样区,土样编号为 1—8 号,1 号(尾矿堆积区)、2 号(矿口 1)、3 号(矿口 2)、4 号(进山口)、5 号(弃渣场)、6 号(运输区)、7 号(选矿厂)、8 号(离矿区 2 000 m 的

非矿区土壤)。每个采样区按 S 形布点,取 0 cm—20 cm 土层混合土样,装入无菌袋中,贴上标签,立即带回实验室。带回实验室后,一部分放在阴凉通风处,风干后磨细过筛,装入瓶内,用于测定土壤理化性质、重金属含量以及酶活性;用于微生物分析的样品放 4℃ 冰箱中,并尽快分析。供试土壤基本情况见表 1,供试土壤重金属含量见表 2。

表 1 供试土壤基本情况

土样号	采样点	海拔 h/m	地理位置	pH 值	有机碳 /(g · kg <sup>-1</sup> )	全氮 /(g · kg <sup>-1</sup> )	含水率 /%
1	临时堆矿区	963	N29°23'38.5", E102°38'07.3"	7.71	4.61	0.10	7.11
2	矿口 1	1 006	N29°23'43.7", E102°38'11.3"	8.06	2.86	0.05	4.22
3	矿口 2	1 013	N29°23'46.6", E102°38'13.5"	7.51	4.22	0.09	5.64
4	进山口	852	N29°23'51.9", E102°38'02.3"	7.79	5.51	0.12	6.95
5	弃渣场	925	N29°23'44.5", E102°38'07.6"	7.75	3.96	0.09	5.53
6	运输区	870	N29°23'57.6", E102°38'05.7"	8.01	2.91	0.07	6.24
7	厂区办工区	889	N29°23'51.0", E102°38'05.8"	7.68	5.10	0.11	4.60
8	离矿区 2 000 m	842	N29°23'16.9", E102°38'09.4"	7.83	7.04	0.14	9.45

表 2 供试土壤重金属含量

土样号	全量				有效量			
	Zn	Pb	Cd	Cu	Zn	Pb	Cd	Cu
1	1.13 × 10 <sup>4</sup>	4.64 × 10 <sup>3</sup>	171	47.3	792	886	3.57	3.40
2	9.70 × 10 <sup>3</sup>	3.72 × 10 <sup>3</sup>	84.0	22.9	417	606	2.01	0.71
3	7.36 × 10 <sup>3</sup>	3.57 × 10 <sup>3</sup>	56.0	12.3	343	491	2.87	0.44
4	4.58 × 10 <sup>3</sup>	1.69 × 10 <sup>3</sup>	77.0	11.5	194	322	2.67	0.38
5	1.49 × 10 <sup>3</sup>	583	61.0	8.98	134	75.4	0.93	0.50
6	968	375	12.6	10.3	99.7	56.9	1.00	0.34
7	866	228	15.1	8.94	88.1	49.9	0.90	0.71
8	92.3	24.1	4.43	10.4	10.0	6.76	0.86	0.48
平均值	4.55 × 10 <sup>3</sup>	1.85 × 10 <sup>3</sup>	60.2	16.6	260	312	1.85	0.87

1.3 研究方法

1.3.1 土壤基本理化性质和重金属含量的测定

土壤基本理化性质采用常规分析方法进行测定<sup>[5]</sup>。土壤 Pb、Zn、Cu、Cd 全量用 HNO<sub>3</sub> + HCl + HF(7.5 mL + 2.5 mL + 2 mL)消化,原子吸收分光光度法测定,土壤 Pb、Zn、Cu、Cd 有效态含量采用 DTPA 提取剂提取 [ (液) (土) = 5 : 1 ], 原子吸收分光光度法测定。

1.3.2 土壤微生物区系分析

细菌、放线菌、真菌和藻类的数量测定采用稀释平板法<sup>[6]</sup>,原生动物数量测定采用直接计数法<sup>[7]</sup>。

1.3.3 土壤微生物活性的分析

采用熏蒸 - 浸提法对土壤微生物生物量碳测定<sup>[8]</sup>,土壤基础呼吸采用密闭培养碱液吸收滴定法<sup>[9]</sup>,纤维素分解作用采用埋布片法<sup>[10]</sup>。土壤酶活性分别采用不同的方法进行测定<sup>[11]</sup>,脲酶用苯酚钠比色法,蔗糖酶用 3,5 - 二硝基水杨酸比色法,磷酸酶用磷酸苯二钠比色法,过氧化氢酶用高锰酸钾滴定法,多酚氧化酶用碘量滴定法。

1.4 数据处理

物种多样性的研究方法和测度指数比较多,现根据各测度指数特点及取样数据类型,选择应用 Shannon - Wiener 指数  $H = - \sum P_i \cdot \ln P_i$  和 Smp-

son 指数  $D = 1 - P_i^2$ 。以上两式中  $P_i$  是第  $i$  个类群的多度比例, 可以用  $P_i = n_i / N$  求出;  $n_i$  是第  $i$  个类群的菌株数;  $N$  为全部类群的菌株数之和<sup>[12-13]</sup>。试验数据采用 SPSS (V13. 0) 统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 重金属污染对土壤微生物组成及多样性的影响

#### 2.1.1 不同污染程度的微生物数量变化

不同污染程度土壤微生物数量见表 3。

表 3 不同污染程度土壤微生物数量

土样号	细菌	放线菌	真菌	藻类	原生动物	总数
1	0.65 ×10 <sup>5</sup>	0.14 ×10 <sup>5</sup>	0.15 ×10 <sup>4</sup>	0.32 ×10 <sup>2</sup>	0.12 ×10 <sup>2</sup>	0.81 ×10 <sup>5</sup>
2	0.71 ×10 <sup>5</sup>	0.19 ×10 <sup>5</sup>	0.17 ×10 <sup>4</sup>	0.35 ×10 <sup>2</sup>	0.10 ×10 <sup>2</sup>	0.92 ×10 <sup>5</sup>
3	1.01 ×10 <sup>5</sup>	0.34 ×10 <sup>5</sup>	0.27 ×10 <sup>4</sup>	0.71 ×10 <sup>2</sup>	0.15 ×10 <sup>2</sup>	1.38 ×10 <sup>5</sup>
4	1.82 ×10 <sup>5</sup>	0.61 ×10 <sup>5</sup>	0.47 ×10 <sup>4</sup>	0.79 ×10 <sup>2</sup>	0.27 ×10 <sup>2</sup>	2.48 ×10 <sup>5</sup>
5	2.86 ×10 <sup>5</sup>	1.02 ×10 <sup>5</sup>	0.77 ×10 <sup>4</sup>	0.95 ×10 <sup>2</sup>	0.37 ×10 <sup>2</sup>	3.96 ×10 <sup>5</sup>
6	7.43 ×10 <sup>5</sup>	3.45 ×10 <sup>5</sup>	0.95 ×10 <sup>4</sup>	1.32 ×10 <sup>2</sup>	0.32 ×10 <sup>2</sup>	11.0 ×10 <sup>5</sup>
7	9.47 ×10 <sup>5</sup>	5.24 ×10 <sup>5</sup>	1.22 ×10 <sup>4</sup>	1.19 ×10 <sup>2</sup>	0.45 ×10 <sup>2</sup>	14.8 ×10 <sup>5</sup>
8	17.6 ×10 <sup>5</sup>	12.2 ×10 <sup>5</sup>	2.33 ×10 <sup>4</sup>	4.41 ×10 <sup>2</sup>	1.10 ×10 <sup>2</sup>	30.0 ×10 <sup>5</sup>

由表 3 可见, 在不同污染程度下, 土壤微生物的数量组成变化明显, 与非矿区 (8 号) 土壤相比, 细菌、放线菌、真菌、藻类、原生动物数量平均值分别下降 80.60%, 87.08%, 75.48%, 81.76%, 76.88%, 对照土样的微生物总数为矿区土样平均值的 5.95 倍。土壤重金属与土壤微生物数量相关性见表 4。

多样指数, 见图 1 和图 2。

表 4 土壤重金属与土壤微生物数量相关性 (n=8)

重金属	细菌	放线菌	真菌	藻类	原生动物	总数
全量 Zn	-0.742	-0.668	-0.795	-0.628	-0.708	-0.714
Pb	-0.740	-0.625	-0.633	-0.823	-0.703	-0.712
Cd	-0.720	-0.661	-0.726	-0.611	-0.624	-0.698
Cu	-0.429	-0.372	-0.493	-0.383	-0.425	-0.407
有效量 Zn	-0.668	-0.609	-0.723	-0.596	-0.651	-0.646
Pb	-0.709	-0.636	-0.764	-0.600	-0.674	-0.681
Cd	-0.698	-0.629	-0.732	-0.553	-0.628	-0.671
Cu	-0.304	-0.263	-0.357	-0.303	-0.306	-0.288

p < 0.05。

由表 4 可见, 土壤重金属含量与微生物数量呈一定负相关关系。高浓度的重金属对微生物数量有很大的影响, 明显降低了土壤微生物区系的大小, 细菌对重金属最为敏感, 数量降幅最大, 真菌数量降幅最小, 这可能是由于作为初级真核生物的真菌对环境的适应力和抗逆性较强<sup>[14]</sup>。

#### 2.1.2 不同污染程度的微生物多样性指数变化

根据 Shannon - Wiener 和 Simpson 多样性指数公式分别计算了不同污染程度的土壤微生物类群

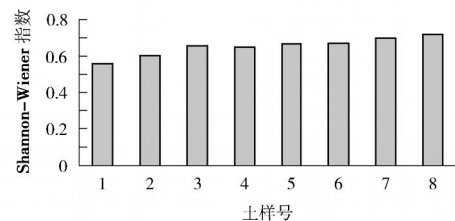


图 1 Shannon - Wiener 指数的变化

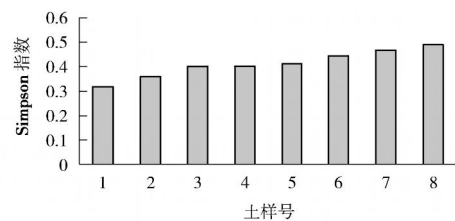


图 2 Simpson 指数的变化

由图 1、图 2 可见, 8 个采样区微生物多样性指数大小不一致, 非矿区土壤的多样性指数最大, 重金属越高的地区, 多样性指数越小, 说明在矿区这种比较贫瘠的土壤中重金属是微生物多样性最大的影响因素。

#### 2.2 土壤重金属污染对微生物生物量碳、基础呼吸及纤维素分解强度的影响

不同污染程度微生物特性的变化见表 5。

由表 5 可见, 与对照相比, 1—7 号土样微生物生物量碳分别是对照的 14.23%, 14.25%, 21.37%,

表 5 不同污染程度微生物特性的变化

土样号	微生物生物量碳 /(mg · kg <sup>-1</sup> )	基础呼吸 (CO <sub>2</sub> - C) /[ (μg · g <sup>-1</sup> ) · h]	纤维素分解 强度 /%
1	25.3	0.458	7.56
2	25.3	0.504	8.18
3	38.0	0.413	12.2
4	50.6	0.367	14.5
5	63.3	0.321	14.3
6	88.7	0.183	19.1
7	114	0.229	23.2
8	178	0.137	35.3

28.52%, 35.66%, 49.96%, 64.27%, 说明在目前污染程度下, 重金属对土壤微生物生物量碳有抑制作用, 这与 Kandeler 等<sup>[15]</sup>的报道相一致。微生物生物量碳的下降一定程度上削弱了矿区土壤碳的周转速率和循环速率。

矿区土壤呼吸作用明显升高, 与土壤重金属含量呈正相关关系, 1—7 号土样分别是对照土样的 3.34 倍、3.68 倍、3.01 倍、2.68 倍、2.34 倍、1.34 倍、1.67 倍。重金属污染能引起微生物生物量的下降, 而呼吸量的增加则被认为是微生物对逆境的一种反应机理。在这种逆境下, 微生物维持其正常的生命活动就需要消耗更多的能量, 导致土壤微生物对能源碳的利用效率降低。在矿山土壤中虽然微生物量较低, 但微生物的生理活动却非常活跃, 呼吸强度升高, 对能量的消耗速率加快, 但利用效率明显不如对照土壤。

土壤的纤维素分解强度与重金属含量表现出负相关的趋势, 矿区土壤与非矿区土壤相比, 分别下降 34.39% ~ 78.57%, 导致土壤中碳素营养循环速率减弱, 从而降低了土壤中有效养分的供应强度, 造成地上部分仅以大量耐重金属植物密集生长的现状。土壤重金属与微生物特性相关性见表 6。

表 6 土壤重金属与微生物特性相关性 (n = 80)

重金属	微生物生物量碳	基础呼吸	纤维素分解强度
全量	Zn - 0.811	0.921	- 0.806
	Pb - 0.806	0.907	- 0.795
	Cd - 0.758	0.809	- 0.774
	Cu - 0.513	0.605	- 0.552
有效量	Zn - 0.737	0.803	- 0.757
	Pb - 0.778	0.880	- 0.776
	Cd - 0.734	0.779	- 0.696
	Cu - 0.368	0.432	- 0.417

p < 0.05; p < 0.01.

由表 6 可见, 土壤中 Pb、Zn、Cd 与微生物生物量碳、纤维素分解强度呈显著负相关, 与土壤呼吸作用呈显著正相关。

### 2.3 重金属污染对土壤酶活性的影响

#### 2.3.1 对土壤水解酶活性影响

土壤中脲酶、蔗糖酶、磷酸酶为水解酶。表 7 表明, 对照土壤的脲酶和蔗糖酶活性分别为矿区土壤的 2.08 ~ 20.75 倍、1.04 ~ 1.22 倍, 说明脲酶对重金属复合污染非常敏感, 而各采样区蔗糖酶活性变化不明显, 有报道指出用土壤脲酶活性作为预测土壤重金属脲酶复合污染程度的主要生化指标具有一定可行性<sup>[16]</sup>。分析表明, 土壤碱性磷酸酶对重金属复合污染较敏感, 对照土壤的碱性磷酸酶活性为矿区土壤的 1.21 ~ 18.60 倍, 从而削弱了矿区土壤的供 P 能力。同时, 土壤碱性磷酸酶活性还是一个表征土壤管理系统效果和土壤有机质含量的重要指标。

表 7 不同污染程度土壤酶活性

土样号	脲酶	蔗糖酶	碱性磷酸酶	过氧化氢酶	多酚氧化酶
1	0.08	1.15	0.06	0.05	0.10
2	0.09	1.10	0.05	0.07	0.15
3	0.15	1.19	0.12	0.08	0.21
4	0.31	1.22	0.14	0.09	0.42
5	0.54	1.24	0.27	0.09	0.62
6	0.68	1.21	0.77	0.11	0.57
7	0.80	1.29	0.72	0.12	0.68
8	1.66	1.34	0.93	0.12	1.04

脲酶活性单位: NH<sub>3</sub> - N mg/g; 蔗糖酶活性单位: mg/g; 碱性磷酸酶活性单位: mg/g; 过氧化氢酶活性单位: 0.1 mol/L KMnO<sub>4</sub> mL/g; 多酚氧化酶活性单位: 0.01 mol/L I<sub>2</sub> mL/g.

#### 2.3.2 对土壤氧化还原酶活性的影响

土壤中过氧化氢酶、多酚氧化酶为氧化还原酶。

由表 7 可见, 各采样区过氧化氢酶活性变化较小, 说明重金属对过氧化氢酶活性影响不大, 而多酚氧化酶活性变化明显, 对照土壤的多酚氧化酶活性的平均值是矿区土壤的 1.53 ~ 10.40 倍。土壤重金属与土壤酶活性相关性见表 8。

由表 8 可见, 重金属含量与土壤酶活性呈显著或极显著关系, 单个的重金属含量与土壤过氧化氢酶显著性很高, 土壤是多种重金属复合在一起, 所以复合污染与酶活性的关系方面的基础理论有待进一步研究。

表 8 土壤重金属与土壤酶活性相关性 (n = 8)

重金属	脲酶	蔗糖酶	碱性磷酸酶	过氧化氢酶	多酚氧化酶
全量 Zn	-0.795	-0.856	-0.838	-0.940	-0.917
Pb	-0.792	-0.832	-0.833	-0.933	-0.917
Cd	-0.720	-0.692	-0.806	-0.942	-0.779
Cu	-0.489	-0.593	-0.513	-0.809	-0.642
有效量 Zn	-0.721	-0.755	-0.732	-0.933	-0.844
Pb	-0.764	-0.808	-0.806	-0.942	-0.893
Cd	-0.732	-0.640	-0.791	-0.842	-0.823
Cu	-0.357	-0.376	-0.368	-0.676	-0.484

p < 0.05; p < 0.01.

### 3 结论

(1) 矿区土壤受重金属污染影响,其微生物的总数下降,主要微生物类群数量明显减少,微生物多样性指数明显降低。

(2) 重金属复合污染明显降低微生物生物量碳和纤维素分解强度,但土壤呼吸作用却随着土壤重金属含量的增加而升高。矿区重金属对几种土壤酶的影响程度不同,对脲酶、碱性磷酸酶、多酚氧化酶抑制明显,而对蔗糖酶和过氧化氢影响不明显。

(3) 土壤微生物区系及其微生物活性变化能够较灵敏、有效地指示矿区土壤环境质量变化。

#### [参考文献]

[1] 龙健, 黄昌勇, 滕应, 等. 我国南方红壤矿山复垦土壤的微生物特性研究 [J]. 水土保持学报, 2002, 16 (2): 126 - 128.

[2] 史德明, 韦启潘, 梁音, 等. 中国南方侵蚀土壤退化指标体

系研究 [J]. 水土保持学报, 2000, 14 (3): 1 - 9.

[3] 蒙莉娜, 李志建, 郑新奇. 基于 HRS 和 GIS 的城市污染场地动态监测原理分析 [J]. 环境监测管理与技术, 2009, 21 (2): 18 - 21.

[4] 唐文清, 曾荣英, 冯泳兰, 等. 湘江 (衡阳段) 河流沉积物中重金属潜在生态风险评价 [J]. 环境监测管理与技术, 2008, 20 (5): 25 - 27.

[5] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.

[6] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法 [M]. 北京: 科学出版社, 1985.

[7] 宁应之, 沈韞芬. 珞珈山森林土壤原生动物的生态学研究及土壤原动物定量方法探讨 [J]. 动物学杂志, 1996, 17 (3): 225 - 232.

[8] 林启美, 吴玉光, 刘焕龙. 熏蒸法测定土壤微生物量碳的改进 [J]. 生态学杂志, 1999, 18 (2): 63 - 66.

[9] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1986.

[10] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2006.

[11] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986.

[12] 张从. 环境评价教程 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002.

[13] 熊清华, 艾怀森. 高黎贡山自然与生物多样性研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2006.

[14] 许光辉, 李振高. 微生物生态学 [M]. 南京: 东南大学出版社, 1991.

[15] KANDELER E, LUFTENEGGER G, SCHWAR S. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities [J]. Biology and Fertility of Soils, 1997 (23): 299 - 306.

[16] 杨志新, 刘树庆. 重金属 Cd, Zn, Pb 复合污染对土壤酶活性的影响 [J]. 环境科学学报, 2001, 21 (1): 60 - 63.

### · 简讯 ·

## 英国公布迄今最细致的气候变化预测报告

新华网消息,英国研究人员最近公布了一份气候变化预测报告,将整个英国以 25 km<sup>2</sup> 为单位分成小块,预测各地可能受气候变化的影响,这是迄今世界上最细致的气候变化预测报告。

据英国《自然》杂志网站日前报道,英国气象局等机构的研究人员用了约 400 个气候变化预测模型,对相关数据进行综合分析后写出了这份报告。报告显示,到 2080 年,英国西北部将有更多洪水,而东南部的降雨却可能减少 22%。伦敦的温度将上升 2 ~ 6 ,当地海平面也会上升 36 cm。

研究人员说,联合国政府间气候变化专门委员会相关预测报告是以 300 km<sup>2</sup> 为单位,美国曾以 25 km<sup>2</sup> 为单位进行过地方性的气候变化预测。但以 25 km<sup>2</sup> 为单位对整个国家进行完整的气候变化预测,这还是第一次。

在气候变化预测中,用作单位的面积越小,预测越困难。一些专家认为,25 km<sup>2</sup> 已达到了现有气候预测科学手段的极限。

摘自 www. jshh. gov. cn 2009 - 06 - 26