

不同土层土壤酶活性对重金属汞和镉胁迫的响应

卢显芝¹, 金建华², 郝建朝¹, 高大翔¹, 张丽楠¹, 刘惠芬¹, 赵建宁³

(1.天津农学院农学系, 天津 300384; 2.天津农学院水利系, 天津 300384; 3.农业部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要 通过室内模拟重金属污染土壤,研究了不同浓度 Hg、Cd 单一胁迫及 Hg+Cd 复合胁迫对不同土层(0~20 cm 和 20~40 cm)土壤脲酶、过氧化氢酶和转化酶活性的影响。结果表明,不同土壤酶对 Hg 和 Cd 胁迫的响应并不一致,Hg 对土壤脲酶和转化酶的影响较大,Cd 对过氧化氢酶的作用更显著。转化酶对 Hg、Cd 胁迫的响应因处理浓度不同而表现为抑制或激活作用。相关分析显示,脲酶活性可作为土壤 Hg 及 Hg+Cd 污染程度的生化监测指标;而过氧化氢酶活性可以作为 Cd 污染的指标。同一重金属浓度胁迫下,0~20 cm 土层的土壤酶活性明显高于 20~40 cm 土层的土壤酶活性。Hg、Cd 胁迫对 0~20 cm 土壤脲酶和过氧化氢酶的抑制作用小于 20~40 cm 相应土壤酶活性,高浓度 Hg 和低浓度 Cd 对 0~20 cm 土壤转化酶表现为抑制作用,而对 20~40 cm 土壤转化酶却表现为激活作用。

关键词 汞;镉;土壤酶活性;不同土层土壤

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)09-1844-05

Responses of Soil Enzyme Activities in Different Soil Layers to Single and Combined Stress of Hg and Cd

LU Xian-zhi¹, JIN Jian-hua², HAO Jian-chao¹, GAO Da-xiang¹, ZHANG Li-nan¹, LIU Hui-fen¹, ZHAO Jian-ning³

(1.Department of Agronomy, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 2.Department of Hydraulic Engineering, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 3.Institute of Agro-Environmental Protection, Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China)

Abstract The single and combined effects of two heavy metals(Hg, Cd) applied to 0~20 cm and 20~40 cm soil samples on activities of soil urease, catalase and invertase were studied. The concentrations of Hg²⁺, Cd²⁺ and Hg+Cd were 0, 0.312 5, 0.625, 1.25, 2.50 mg·kg⁻¹, 0, 25, 62.5, 125.0, 187.5 mg·kg⁻¹, 0, 25.312 5, 63.125, 126.25,190.0 mg·kg⁻¹, respectively. The three enzymes responded differently to Hg and/or Cd stress, the activity of soil urease was significantly inhibited under Hg stress, Cd showed obvious inhibitory effect on the catalase, while the change of invertase activity varied with the concentration of Hg and/or Cd. The correlation analysis demonstrated that urease activity may be used as a biochemical indicator for monitoring Hg pollution and compound pollution of Cd and Hg, and soil catalase activity may be used as a biochemical indicator for monitoring Cd pollution. Under the same concentration of heavy metals, the soil enzyme activity in 0~20 cm soil layer was significantly higher than that in the 20~40 cm soil layer. The inhibition effects of Hg, Cd on soil urease and catalase in 0~20 cm were lighter than those in 20~40 cm, which related to the higher organic content in 0~20 cm soil; while, high concentration of Hg and low concentration of Cd could inhibit the invertase activity in 0~20 cm soil but stimulate that in 20~40 cm soil.

Keywords: mercury; cadmium; soil enzyme activity; different soil layers

土壤酶作为土壤的有机成分,驱动着土壤的代谢过程,参与土壤的发生与发育、土壤肥力的形成和净化等,其活性受到土壤 pH、土壤有机质、土壤养分及

微生物种类等因素的影响。土壤重金属离子对土壤酶活性产生抑制或激活作用,进而影响土壤养分释放及从土壤中获取养分的作物生长,因此土壤酶活性的测定将有助于判断土壤重金属污染程度及其对作物生长的影响^[1]。土壤酶对重金属的敏感性可作为土壤重金属污染的生物指标^[2-6]。而重金属复合污染对土壤酶活性的影响更符合实际、更具有实用价值^[7]。

不同的栽培和管理措施都会影响土壤酶的空间变异和生物活性的变化^[8-10]。关于土壤酶活性与肥力

收稿日期:2009-04-08

基金项目:天津市科委科技攻关重大课题(06YFGZNC06700);中央级公益性科研院所基本科研业务类专项(2009-ZJN-11)

作者简介:卢显芝(1961—),女,辽宁朝阳人,副教授,主要从事生物技术的教学与研究工作。E-mail:nxylxz@163.com

通讯作者:刘惠芬 E-mail:liuhuifen@eyou.com

等的关系已有报道^[11,12],重金属对土壤酶活性的影响与土壤性质有关^[13,14],但对重金属胁迫下不同土层土壤的酶活性变化还未见报道。本文研究 Hg、Cd 单一及复合胁迫对土壤脲酶、过氧化氢酶和转化酶活性的影响,比较重金属胁迫下不同土层土壤酶活性的变化规律,旨在为土壤重金属污染的监测与评价提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 供试土壤

试验地位于天津市西青区辛口镇的冬小麦-夏玉米轮作区。玉米收获后用五点法采集 0~20 cm 和 20~40 cm 新鲜土样,然后去除植物残体,过 2 mm 筛,混合均匀置于封口袋中,调节水分含量使土壤持水量保持在 50%左右。土壤属中壤质潮土, pH8.4(H₂O), 0~20 cm 土壤有机质含量 16.72 g·kg⁻¹,全氮 1.13 g·kg⁻¹,全磷 0.98 g·kg⁻¹,有效磷 10.07 mg·kg⁻¹; 20~40 cm 土壤有机质含量 14.02 g·kg⁻¹,全氮 1.03 g·kg⁻¹,全磷 0.87 g·kg⁻¹,有效磷 8.11 mg·kg⁻¹。

1.2 重金属处理

本试验设置 15 个处理,每个处理 3 次重复。将 HgCl₂、CdCl₂ 溶液分别添加到 500 g 土样中,使 Hg²⁺ 的最终浓度为 0、0.312 5、0.625、1.25、2.50 mg·kg⁻¹ (分别记为 CK、Hg1、Hg2、Hg3、Hg4),Cd²⁺ 的浓度为 0、25、62.5、125.0、187.5 mg·kg⁻¹ (分别记为 CK、Cd1、Cd2、Cd3、Cd4),Hg、Cd 复合胁迫的浓度为 0、25.312 5、63.125、126.25、190.0 mg·kg⁻¹ (分别记为 CK、合 1、合 2、合 3、合 4),充分混匀,维持土壤持水量。

1.3 测定方法

酶活性测定参见关松荫的《土壤酶及其研究法》^[15]。脲酶活性以 24 h 后 1 g 土壤中 NH₃-N 的毫克数表示,过氧化氢酶活性以 20 min 后 1 g 土壤的 0.1 mol·

L⁻¹ 高锰酸钾的毫升数表示,转化酶活性以 24 h 后 1 g 土壤中葡萄糖的毫克数表示。

1.4 数据处理

利用 SPSS 11.5 对数据进行统计分析,用 Duncan 检验进行平均数的比较。

2 结果与分析

2.1 重金属 Hg、Cd 单一及混合胁迫对土壤脲酶活性的影响

土壤脲酶活性的高低是土壤肥力形成的重要指标,其活性可以反映土壤无机氮的供应能力。有学者研究提出用脲酶活性作为土壤 Hg 污染的评价指标^[2,16]。如表 1 所示,0~20 cm 和 20~40 cm 土层的脲酶活性都在 Hg₂ 浓度条件下显著下降,且随着 Hg 浓度的增加,抑制作用显著增强;而 Cd 单一胁迫下,0~20 cm 与 20~40 cm 土层的土壤脲酶活性均无显著变化;复合胁迫对土壤脲酶的抑制作用显著,0~20 cm、20~40 cm 土层的脲酶活性都在合 1 浓度条件下显著下降,且随着浓度的增加,抑制作用显著增强。同一重金属胁迫处理下,0~20 cm 土层的土壤脲酶活性均显著高于 20~40 cm 土层的土壤脲酶活性。

2.2 重金属 Hg、Cd 单一及复合胁迫对土壤过氧化氢酶活性的影响

过氧化氢酶的活性可表征土壤腐殖化强度大小和有机质积累程度^[10]。土壤过氧化氢酶活性与土壤微生物活动相关,其活性可以表征土壤总的生物活性。重金属对土壤微生物生物量有抑制作用,因而必将影响土壤过氧化氢酶活性。

Hg 胁迫处理对 0~20 cm 土层的土壤过氧化氢酶活性的影响不显著,而对 20~40 cm 土层的过氧化氢酶活性具有显著的抑制作用。Cd 单一胁迫对土壤过氧化氢酶活性均表现为抑制作用。随着 Hg+Cd 浓度

表 1 Hg、Cd 单一胁迫及复合胁迫对土壤脲酶活性的影响(mg·g⁻¹)

Table 1 Effects of single stress of Hg, Cd and combined stress of Hg and Cd on soil urease activities(mg·g⁻¹)

处理	土层		处理	土层		处理	土层	
	0~20 cm	20~40 cm		0~20 cm	20~40 cm		0~20 cm	20~40 cm
CK	7.86±0.124 a	5.20±0.407 a	CK	7.86±0.124 a	5.20±0.407 a	CK	7.86±0.124 a	5.20±0.407 a
Hg1	7.54±0.375 ab	4.78±0.361 a	Cd1	7.91±0.270 a	5.17±0.161 a	合 1	5.59±0.430 b	4.16±0.137 b
Hg2	6.64±0.409 b	2.10±0.587 b	Cd2	7.48±0.262 a	4.87±0.495 a	合 2	5.38±0.789 b	2.10±0.534 c
Hg3	3.89±0.753 c	1.25±0.182 c	Cd3	7.74±0.182 a	4.87±0.124 a	合 3	3.26±0.499 c	0.95±0.064 d
Hg4	1.88±0.254 d	0.78±0.089 d	Cd4	7.64±0.179 a	5.09±0.020 a	合 4	1.29±0.175 d	0.45±0.109 d

注 同列不同字母表示差异显著(P<0.05),下同。

Note: Means followed by the same letters within a column for a given measurement were not significantly different at P<0.05, the same as below.

的增加,各个处理土层的土壤过氧化氢酶活性均有下降的趋势。同一重金属胁迫处理下,0~20 cm 土层的土壤过氧化氢酶活性均高于 20~40 cm 土层的土壤过氧化氢酶活性(见表 2)。

2.3 重金属 Hg、Cd 单一及复合胁迫对土壤转化酶活性的影响

土壤转化酶广泛存在于土壤中,直接参与土壤有机质的代谢过程^[11],其活性反映了土壤有机碳累积与分解转化的规律,左右着土壤的碳循环。由表 3 可知,高浓度的 Hg 胁迫对 0~20 cm 的土壤转化酶具有显著的抑制作用,而 20~40 cm 土层的土壤转化酶活性只有 Hg3 和 Hg4 两个处理间差异显著;Cd 单一胁迫对土壤转化酶均表现为刺激作用,Cd3、Cd4 处理的 0~20 cm 土壤转化酶活性显著高于对照和轻度胁迫,20~40 cm 土壤转化酶活性的变化也呈相似的变化趋势,0~20 cm 土层的土壤转化酶活性只在高浓度的 Hg+Cd 时表现为抑制作用,但是与对照相比抑制作用不显著;而 Hg 和 Cd 复合胁迫对 20~40 cm 土层的土壤转化酶无显著影响;同一重金属处理下,土壤转化酶的活性表现为 0~20 cm 土层高于 20~40 cm 土层。

2.4 Hg、Cd 对土壤脲酶、过氧化氢酶和转化酶活性影响的比较

为定量描述在一定重金属浓度下的抑制作用,采用酶活性抑制率(定浓抑制率)予以表征^[2],定浓抑制率=[1-处理样品的酶活性/对照样品的酶活性]×

100%。表 4 结果表明,Hg 对 0~20 cm 土壤脲酶活性的抑制率为 4.10%~76.13%,Cd 为-0.59%~4.85%,二者复合胁迫处理为 28.95%~83.57%,20~40 cm 土壤的脲酶活性变化相似,Hg、Cd 及复合胁迫的抑制率分别为 8.05%~84.94%、0.56%~6.40%和 20.01%~91.43%,均表现为 Hg+Cd>Hg>Cd,但重金属胁迫对 20~40 cm 脲酶的抑制率高于相应的 0~20 cm 土壤。同时随着重金属浓度的增加,脲酶的定浓抑制率增大。重金属处理对过氧化氢酶的抑制呈现不同的趋势,0~20 cm 和 0~40 cm 土壤均表现为 Cd>Hg+Cd>Hg,且对 20~40 cm 土壤过氧化氢酶活性的抑制率高于相应处理的 0~20 cm 土壤。重金属对转化酶的影响比较复杂,低浓度的 Hg 与 Hg+Cd 和高浓度的 Cd 处理使 0~20 cm 土壤转化酶活性提高,而各处理对 20~40 cm 土壤转化酶均表现为激活作用(除 Hg4 和合 4 处理外)。

3 讨论

3.1 不同土壤酶对 Hg、Cd 单一胁迫和复合胁迫的响应

不同重金属对土壤酶活性的作用效果不同,重金属对土壤酶活性的抑制作用可能是其与酶分子中的活性部位——巯基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,最后导致了土壤酶活性下降^[17]。

表 2 Hg、Cd 单一胁迫及复合胁迫对土壤过氧化氢酶活性的影响 (mL·g⁻¹)

Table 2 Effects of single stress of Hg, Cd and combined stress of Hg and Cd on soil catalase activities(mL·g⁻¹)

处理	土层		处理	土层		处理	土层	
	0~20 cm	20~40 cm		0~20 cm	20~40 cm		0~20 cm	20~40 cm
CK	2.55±0.104 a	2.25±0.029 a	CK	2.55±0.104 a	2.25±0.029 a	CK	2.55±0.104 a	2.25±0.029 a
Hg1	2.30±0.137 a	1.98±0.023 b	Cd1	1.81±0.031 b	1.48±0.074 b	合 1	2.02±0.081 b	1.72±0.024 b
Hg2	2.36±0.127 a	1.88±0.023 c	Cd2	1.70±0.052 b	1.23±0.041 c	合 2	1.88±0.066 b	1.56±0.016 c
Hg3	2.41±0.081 a	1.78±0.042 c	Cd3	1.75±0.061 b	1.13±0.017 c	合 3	1.91±0.091 b	1.44±0.029 d
Hg4	2.34±0.054 a	1.86±0.037 d	Cd4	1.68±0.118 b	1.23±0.011 c	合 4	1.96±0.043 b	1.46±0.018 d

表 3 Hg、Cd 单一胁迫及复合胁迫对土壤转化酶活性的影响 (mg·g⁻¹)

Table 3 Effects of single stress of Hg, Cd and combined stress of Hg and Cd on soil invertase activities

处理	土层		处理	土层		处理	土层	
	0~20 cm	20~40 cm		0~20 cm	20~40 cm		0~20 cm	20~40 cm
CK	26.80±2.51 a	5.09±0.43 ab	CK	26.80±2.51 b	5.09±0.43 d	CK	26.80±2.51 b	5.09±0.43 b
Hg1	29.75±1.45 a	5.70±0.33 ab	Cd1	22.18±0.42 b	5.54±0.36 cd	合 1	35.49±0.55 ab	6.16±0.48 b
Hg2	10.65±0.06 b	6.08±0.40 ab	Cd2	18.95±1.03 b	7.24±0.40 bc	合 2	38.81±9.27 a	5.80±0.94 b
Hg3	7.44±1.99 b	6.69±1.28 a	Cd3	36.43±0.52 a	8.21±0.23 b	合 3	24.79±0.76 b	5.16±0.39 b
Hg4	5.31±0.30 b	4.55±0.89 b	Cd4	35.94±0.33 a	11.89±0.09 a	合 4	24.06±1.74 b	4.47±0.18 b

表 4 Hg、Cd 和 Hg+Cd 对土壤脲酶、过氧化氢酶和转化酶活性的抑制率(%)

Table 4 The inhibition effects of Hg, Cd and Hg+Cd stress on activities of soil urease, catalase and invertase(%)

重金属处理	脲酶抑制率		过氧化氢酶抑制率		转化酶抑制率	
	0~20 cm	20~40 cm	0~20 cm	20~40 cm	0~20 cm	20~40 cm
CK	0	0	0	0	0	0
Hg1	4.10	8.05	9.78	11.75	-11.00	-11.89
Hg2	15.61	59.57	7.42	16.33	60.27	-19.41
Hg3	50.50	75.99	5.46	20.65	72.25	-31.31
Hg4	76.13	84.94	8.05	17.09	80.19	10.70
Cd1	-0.59	0.56	28.94	34.27	17.25	-8.71
Cd2	4.85	6.40	33.37	45.26	29.31	-42.00
Cd3	1.60	6.34	31.21	49.62	-35.90	-61.04
Cd4	2.81	2.21	34.24	45.48	-34.09	-133.37
合 1	28.95	20.01	20.57	23.45	-32.44	-21.00
合 2	31.54	59.63	26.27	30.57	-44.78	-13.88
合 3	58.52	81.83	25.01	36.05	7.50	-1.24
合 4	83.57	91.43	23.05	35.11	8.57	12.29

将重金属处理浓度(C)与土壤酶活性(U)用 $U=1/(\beta_1 \times C + \beta_0)$ 模型进行拟合^[18], 结果发现, 土壤脲酶活性在 Hg 处理和 Hg 与 Cd 复合胁迫处理的 0~20 cm 土壤达到极显著负相关($P < 0.01$), 相关方程分别为 $U=1/(0.4566 \times C + 0.1625)$ 和 $U=1/(0.0107 \times C - 0.0216)$, 过氧化氢酶活性在本试验各个处理下均不显著, 0~20 cm 土壤转化酶活性与 Hg 处理浓度呈极显著负相关($R^2=0.9302$), 20~40 cm 土壤转化酶活性与 Cd 处理浓度呈极显著正相关($R^2=0.959$), 相关方程分别为 $U=1/(0.0642 \times C + 0.0373)$ 和 $U=1/(-0.0006 \times C + 0.4907)$, 其他均不显著。

有研究表明, Hg 的生态毒性较 Cd 要强^[4], 而本试验结果表明, 不同土壤酶对 Hg 和 Cd 胁迫的响应并不一致, Hg 对土壤脲酶和转化酶的影响较大, 而 Cd 对过氧化氢酶的作用更显著。这与杨志新等^[19]研究中随着 Cd、Zn 浓度的增加土壤脲酶、过氧化氢酶活性明显降低和周礼恺^[20]研究中随着 Hg 浓度的增加过氧化氢酶活性降低的结果一致。有研究显示土壤脲酶、转化酶、碱性磷酸酶和蛋白酶活性均受到 Hg、Cd、Pb 胁迫的抑制, 而脲酶的反应最为敏感^[21]。结合相关分析和平均数的比较结果, 脲酶和转化酶活性在一定程度上可表征土壤 Hg 和 Hg+Cd 污染状况, 而过氧化氢酶活性可以作为 Cd 污染的指标。而转化酶对 Hg、Cd 胁迫的响应因处理浓度不同而表现为抑制或激活作用, 可能不宜作为土壤重金属污染的监测指标, 这与杨春璐等^[22]的研究结果不尽相同。

3.2 不同土层土壤酶活性对重金属 Hg、Cd 胁迫的响应

杨招弟^[19]的研究显示随着土层的增加, 磷酸酶、转化酶活性均显著降低, 过氧化氢酶、脲酶、脱氢酶 3 种酶在土壤中均具有表层大, 深层小的分布特点。本试验结果表明, 同一重金属浓度条件下, 0~20 cm 土层的土壤脲酶、过氧化氢酶和转化酶活性都高于 20~40 cm 土层的酶活性。Haanstra L 和 Doelman P^[14]的研究表明, 重金属 ED_{50} 值随土壤有机质含量增加而增加, 这是因为有机质可影响重金属移动性, 进而影响其生态毒性。Xu 等^[24]也报道了在 3 种土壤中添加 Hg 和 Cu, 其对 ACPase 活性的抑制效应随土壤有机质和 pH 的不同而不同, 有机质含量高、pH 低的土壤, 酶活性受抑制强。本试验中, 同一重金属 Hg、Cd 胁迫对 0~20 cm 土壤脲酶和过氧化氢酶的抑制作用小于 20~40 cm 相应土壤酶活性(表 4), 与 0~20 cm 土壤较 20~40 cm 土层有机质含量高有关; 而高浓度 Hg 和低浓度 Cd 对 0~20 cm 土壤转化酶表现为抑制作用, 而对 20~40 cm 土壤转化酶却表现为激活作用, 其作用机理还有待于探讨。

参考文献:

- [1] 尹 君, 高如泰, 刘文菊, 等. 土壤酶活性与土壤 Cd 污染评价指标[J]. 农业环境保护, 1999, 18(3):130-132.
YIN Jun, GAO Ru-tai, LIU Wen-ju, et al. Soil enzyme activities and pollution evaluation on Cd in soil[J]. *Agro-Environment Protection*, 1999, 18(3):130-132.

- [2] 王 新, 周启星. 土壤重金属污染生态过程、效应及修复[J]. 生态科学, 2004, 23(3): 278-281.
WANG Xin, ZHOU Qi-xing. The ecological process, effect and remediation of heavy metals contaminated soil[J]. *Ecological Science*, 2004, 23(3): 278-281.
- [3] 滕 应, 黄昌勇, 龙 键, 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.
- [4] 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.
HE Wen-xiang, CHEN Hui-ming, FENG Gui-ying, et al. Study on enzyme index in soils polluted by mercury, chromium and arsenic[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2000, 20(3): 338-343.
- [5] Brookers P C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1995, 19(4): 269-279.
- [6] Banerjee M R, Burton D L, Depoe S. Impact of sewage sludge application on soil biological characteristics[J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 1997, 66(3): 241-249.
- [7] 罗 虹, 刘 鹏, 宋晓敏. 重金属镉、铜、镍复合污染对土壤酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2006, 20(3): 254-258.
LUO Hong, LIU Peng, SONG Xiao-min. Effect of compound pollution of Cd, Cu and Ni on soil enzyme activities[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2006, 20(3): 254-258.
- [8] 曹 慧, 杨 浩, 孙 波, 等. 不同种植时间菜园土壤微生物生物量和酶活性变化特征[J]. 土壤, 2002(4): 197-200.
CAO Hui, YANG Hao, SUN Bo, et al. Changes of soil microorganism biomass and enzyme activities in garden soils of different planting time [J]. *Soil*, 2002(4): 197-200.
- [9] 贺明荣, 冷寿慈. 桃粮间作条件下的土壤养分状况与生物活性[J]. 土壤通报, 1994, 25(4): 188-189.
HE Ming-rong, LENG Shou-ci. Soil nutrients and biological activities under intercropping of peach and food crops[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1994, 25(4): 188-189.
- [10] DORAN J W. Defining soil quality for a sustainable environment[G]. Madison, Wisconsin: Soil Society of America Special Publication, 1994, 35: 32-34.
- [11] 高 明, 周保同, 魏朝富, 等. 不同耕作方式对稻田土壤动物、微生物及酶活性的影响研究[J]. 应用生态学报, 2004, 15(7): 1177-1181.
GAO Ming, ZHOU Bao-tong, WEI Chao-fu, et al. Effect of tillage system on soil animal, microorganism and enzyme activity in paddy field [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(7): 1177-1181.
- [12] 刘建新, 王 鑫, 杨建霞. 覆草对果园土壤腐殖质组成和生物学特性的影响[J]. 水土保持学报, 2005, 19(4): 93-95.
LIU Jian-xin, WANG Xin, YANG Jian-xia. Effects of covering straw in orchard on humus composition and biological characteristics[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2005, 19(4): 93-95.
- [13] Kandel E, Kampichler C, Horak O, et al. The influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1997, 23(3): 299-306.
- [14] Haanstra L, Doelman P. An ecological dose-response model approach to short and long-term effects of heavy metals on arylsulphatase activity in soil [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1991, 10(1): 18-23.
- [15] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1987: 35-46.
GUAN Song-yin. Soil enzymes and their study method[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1987: 35-46.
- [16] Jianguan Wang, Yitong Lu, Guoqing Shen. Combined effects of cadmium and butachlor on soil enzyme activities and microbial community structure[J]. *Environmental Geology*, 2007, 51: 1221-1228.
- [17] 刘树庆. 保定市污灌区土壤的 Pb、Cd 污染与土壤酶活性关系研究 [J]. 土壤学报, 1996, 33(2): 175-182.
LIU Shu-qing. Relationship between soil Pb and Cd pollution and enzyme activities in waste water irrigated area of Baoding City[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1996, 33(2): 175-182.
- [18] 高大翔, 郝建朝, 金建华, 等. 重金属汞、镉单一胁迫及复合胁迫对土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 903-908.
GAO Da-xiang, HAO Jian-chao, JIN Jian-hua, et al. Effects of single stress and combined stress of Hg and Cd on soil enzyme activities[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(3): 903-908.
- [19] 杨志新, 刘树庆. Cd、Zn、Pb 单因素及复合污染对土壤酶活性的影响[J]. 土壤与环境, 2000, 9(1): 15-18.
YANG Zhi-xin, LIU Shu-qing. Effects of single element and compound pollution of Cd, Zn and Pb on soil enzyme activities[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(1): 15-18.
- [20] 周礼恺, 张志明, 曹承绵. 土壤的重金属污染与土壤酶活性[J]. 环境科学学报, 1985, 5(2): 176-183.
ZHOU Li-kai, ZHANG Zhi-ming, CAO Cheng-mian. Heavy metal pollution and soil enzyme activity[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 1985, 5(2): 176-183.
- [21] Insam H. Effect of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1996, 28(4): 691-694.
- [22] 杨春璐, 孙铁珩, 和文祥, 等. 汞对土壤酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(3): 620-624.
YANG Chun-lu, SUN Tie-heng, HE Wen-xiang, et al. Effect of Hg on soil enzyme activities[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(3): 620-624.
- [23] 杨招弟, 蔡立群, 张仁陟, 等. 不同耕作方式对旱地土壤酶活性动态变化的影响[J]. 土壤通报, 2008, 39(3): 514-517.
YANG Zhao-di, CAI Li-qun, ZHANG Ren-zhi, et al. Soil enzymatic activities under different tillage practices in dryland[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2008, 39(3): 514-517.
- [24] Xu Dong-mei, Chen Bo, Liu Wen-li, et al. Effect of Hg and Cu on the activities of soil acid phosphatase[J]. *Zhejiang Univ Sci A*, 2007, 8(7): 1157-1163.