

毛雪飞,吴羽晨,张家洋. 重金属污染对土壤微生物及土壤酶活性影响的研究进展[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):7-12.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.003

# 重金属污染对土壤微生物及土壤酶活性影响的研究进展

毛雪飞,吴羽晨,张家洋

(新乡学院生命科学与技术系,河南新乡 453003)

**摘要:**土壤微生物是地球土壤的重要组成部分,其整体状态对地球物质循环与化学能量转换具有极其重要的生态学意义,是全球学者十分关注的土壤系统因子。现有研究结果显示,土壤微生物生物量与群落结构、基础呼吸、微生物商、CO<sub>2</sub> 代谢商、营养物质矿化作用、土壤酶活性等都受到了重金属污染的影响。本文针对近年来该领域取得的一些新研究进展作一综述,目的在于对寻找可行的土壤重金属污染的环境监测指标研究有所裨益。

**关键词:**重金属污染;土壤微生物;土壤酶活性;研究进展

**中图分类号:** X53      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0007-05

在土壤生态系统中,微生物承担着重要的生态系统功能,主要包括生物化学物质循环、能量流动、营养物质运转、动植物健康维持、环境污染净化等,一旦土壤生态系统遭受污染,其微生物的种群结构与动态、生理生化性质以及酶系统活性都会有相应变化,在一定程度上反映土壤乃至整个生态系统的健康状况。近年来,随着金属冶炼与化工等行业的迅速发展,污水灌溉、农药和化肥的大量使用以及土壤重金属污染问题已严重威胁到人类社会的可持续发展。据相关数据显示,我国有近 0.2 亿 hm<sup>2</sup> 的耕地受到镉、砷、铅等重金属污染,由此减产的粮食超过 0.1 亿 t,受到土壤重金属污染的农作物所生产的粮食高达 0.12 亿 t,由此造成的直接和间接经济损失至少为 200 亿元<sup>[1]</sup>。相关报道指出,辽宁省沈阳市张士灌区因使用遭受镉污染水源灌溉造成灌区农田污染面积达到 2 533 hm<sup>2</sup>,其中严重污染的农田面积占 13% 以上<sup>[2]</sup>,给当地农业造成巨大经济损失。江西省大余县使用污染水源灌溉引起 5 500 hm<sup>2</sup> 耕地被镉污染,其中严重污染面积达 660 hm<sup>2</sup>,占该区域土地污染面积的 12%<sup>[3]</sup>。此外,土壤重金属污染还会通过生物富集作用危害人类的健康及畜牧业所生产的产品安全<sup>[4]</sup>。湖南省株洲地区为重金属污染的重灾区,当地群众的血、尿中镉含量是正常人的 2~5 倍,且自 2011 年以来更有血铅中毒事件频发<sup>[5]</sup>。另外,土壤重金属更因其在土壤中不易被降解、污染很难清除而成为环境污染的严重问题之一<sup>[6-8]</sup>,因此急需寻求土壤重金属污染的环境监测与防治的有效措施。本文就其研究进展进行总结,以期对土壤重金属污染监测提供理论依据。

## 1 重金属对土壤微生物生物量的影响

土壤是微生物栖息的最重要的生活环境之一,为微生物

的生长发育提供了大量的碳源、氮源等营养元素。土壤微生物的数量和种类都十分丰富,主要种类有细菌、放线菌、真菌和藻类等。土壤微生物作为地下食物网最初的分解者,参与土壤有机质的分解、腐殖质的形成、土壤养分的转化循环等,是土壤有机质和土壤养分碳、氮、磷、硫等转化和循环的动力。

### 1.1 微生物生物量的概念与实践意义

土壤微生物的生物量(简称 MB)是指土壤中活植物除外体积小于 5 000 μm<sup>3</sup> 的生物总量。土壤的微生物生物量可以表征参与调控土壤中物质能量循环以及有机质转化所对应生物量的数量。微生物生物量氮和碳具有转化迅速的特点,对重金属污染反应敏感,是比较理想的评价重金属污染程度的指标<sup>[9]</sup>。

### 1.2 土壤微生物量测定方法

土壤微生物生物量是一种在土壤有机质含量中最易变化且摆动幅度最大的土壤生物学指标,其变化在某种程度上可反映微生物肥力的变化、土壤污染的程度以及土壤耕作制度等。近些年来,虽然一些学者对土壤微生物生物量的各种测定方法进行了比较系统的研究比较,力求寻找一种快速、简单、高效、准确、适应性强的微生物量测定方法,但至今未取得比较明显的进展。目前,在该领域广泛应用的方法主要有三氯甲烷熏蒸浸提法(FE)、三氯甲烷熏蒸培养法(FI)、基质诱导呼吸法(SIR)、精氨酸诱导氨化法和三磷酸腺苷(ATP)法等。试验中一般采用熏蒸浸提法测定土壤微生物生物量碳,来表征土壤微生物生物量。

三氯甲烷熏蒸浸提法(FE)的原理是:用三氯甲烷熏蒸处理土壤后,土壤中的微生物被杀死,其细胞内容物释放到土壤中之后土壤中的可提取碳、氨基酸、氮、磷和硫等物质含量大幅度提高,之后通过测定浸提液中碳含量便可得出土壤中微生物的生物量。

三氯甲烷熏蒸培养法(FI)原理基于以下 5 个假设:(1)假设被杀死的微生物生物量中的碳的分解速度比活体微生物中碳分解速度快;(2)假设熏蒸灭菌处理很完全;(3)假设未熏蒸灭菌的土壤,在培养过程中微生物死亡数量极小,可以忽略不计;(4)假设所有土壤中被熏蒸杀死的微生物,在培养期

收稿日期:2014-05-30

基金项目:河南省科技攻关(编号:132102310307);河南省新乡市重点科技攻关计划(编号:ZG14035)。

作者简介:毛雪飞(1970—),女,河南新乡人,硕士,副教授,主要从事生物学研究。E-mail:skxsyzr@163.com。

通信作者:张家洋,硕士,讲师,主要从事生态学研究。E-mail:13526543844@163.com。

间被分解的比例都一样,即所有的土壤可以共用相同的转换系数  $K_c$ ; (5) 假设熏蒸灭菌处理不影响土壤物理和化学性质。目前所用的方法是基于土壤经三氯甲烷熏蒸处理后,再进行培养时有大量的  $\text{CO}_2$  释放出来,所释放的  $\text{CO}_2$  来源于被三氯甲烷熏蒸杀死的微生物,空白对照为不熏蒸土壤在培养期间所释放的  $\text{CO}_2$  量,土壤微生物生物量碳为二者之间的差值。该方法最大的困难是空白的选择,目前还没有统一的想法,而且该方法不能用于含有大量易分解有机物的土壤,也不适用于  $\text{pH}$  值  $< 4.5$  的酸性土壤,用于石灰性土壤和渍水土壤时也要谨慎。

基质诱导呼吸法原理(SIR):该方法基于纯培养的理论,研究发现,在土壤中葡萄糖投入量充足,使微生物生物量酶系统达到饱和时, $\text{CO}_2$  的释放速率与微生物生物量呈线性相关。根据该关系可以迅速测定土壤中微生物的生物量。

精氨酸诱导氨化法(AIA):精氨酸是 20 种必需氨基酸之一,微生物同化精氨酸的方法主要有精氨酸氨基转移途径、精氨酸-尿酶或精氨酸酶-尿素酰胺酶途径、1/4 精氨酸脱羧途径、精氨酸脱氨基途径。除了精氨酸氨基转移途径外,铵是其他 3 个途径的最终产物。Alef 等发现,土壤中 50 种微生物能利用精氨酸作为其碳源和氮源,在一定条件下,土壤中微生物生物量与精氨酸氨化速率呈正比例关系<sup>[10-11]</sup>。Hund 等认为,可以用精氨酸氨化速率作为有机污染对土壤微生物影响的表征指标<sup>[12]</sup>。

### 1.3 相关研究进展

大量研究表明,土壤中重金属的污染程度与土壤微生物的生物量具有明显的相关性<sup>[13]</sup>。有学者在研究水稻土(铜锌冶炼厂附近)中微生物群落生物量与重金属复合污染的关系时发现,重金属胁迫对土壤微生物生物量碳、氮的影响与重金属含量具有显著负相关特征<sup>[14]</sup>。赵祥伟等在浙江省富阳市环山乡距离某冶炼厂小高炉分别为 20、40、100、200 m 处采集农田土样,经研究发现,随着离冶炼厂小高炉距离越远(即各重金属元素污染指数越小),土壤微生物量碳含量则呈现上升的趋势,与距离高炉 20 m 处相比,40、100、200 m 处的土壤微生物量碳含量分别是 20 m 处的 1.30、2.37、2.71 倍<sup>[15]</sup>。滕应等研究发现,浙江铅锌银矿区土壤的微生物量与可培养的细菌数量均显著降低<sup>[16-17]</sup>。杨元根等在英国阿波丁市的土壤调查中发现,虽然由于人为活动的影响该市土壤中重金属元素 Cu、Pb、Zn、Ni 已有显著积累并导致土壤微生物生物量下降,但结果显示该市区土壤微生物生理活动和呼吸强度明显高于相对应的农村土壤中相应的生物生理活动和呼吸强度,微生物的这种抗逆性与重金属元素的有效态密切相关,土壤微生物虽然为了维持其正常的生理活动须要消耗更多的碳源,但对碳源的利用效率却明显降低<sup>[18]</sup>。滕应等在室内培养条件下对重金属复合污染红壤的微生物活性及群落功能多样性进行研究,结果显示重金属复合污染对供试红壤微生物生物活性及其群落功能多样性的影响表现为加和作用、拮抗作用以及协同作用<sup>[19]</sup>。

近期有研究表明,不同土壤微生物对同种重金属污染的敏感性各不相同,同种重金属对不同土壤微生物种群数量的影响也具有差异<sup>[20]</sup>。吴春艳等研究发现,土壤微生物种群对  $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Cd}^{2+}$  的敏感度从强到弱依次为真菌 > 放线菌 > 细菌、

放线菌 > 细菌 > 真菌。但由于重金属与土壤微生物所处环境的物理化学性质各不相同, $\text{Cu}^{2+}$  对土壤微生物种群的影响存在一定的差异<sup>[21]</sup>。程东祥等研究发现,重金属对微生物群落数量影响因化学形态、土壤理化性质以及微生物类型的不同而有明显差异。例如,碳酸结合态 Pb 含量与放线菌种群数量,有机结合态 Cu 含量与细菌、放线菌和微生物总数,碳酸盐结合态 Zn 含量与放线菌、微生物总数,铁锰氧化物结合态、有机结合态 Zn 含量与细菌、放线菌和微生物总数,碳酸盐结合态 Ni 与放线菌群落总量均呈显著正相关,而真菌与各化学形态重金属含量却呈不显著相关<sup>[22]</sup>。程东祥等还通过偏相关分析方法进行研究,结果表明微生物与土壤重金属相关性受土壤理化性质的明显影响,并且在特定情况下有必要排除土壤理化性质影响<sup>[22]</sup>。纪玉琨等发现,不同时期及土层深度也会影响重金属污染效应<sup>[23]</sup>。

## 2 重金属对土壤微生物群落结构的影响

### 2.1 微生物群落结构的概念及其对表征土壤状况的贡献

微生物群落结构是指群落内各种微生物在时间和空间上的配置状况。良好的配置状况能提高群落的稳定性,使其良性发展。由于重金属的介入,这种良性发展趋势就会被影响。微生物群落结构的动态变化是最具潜力的敏感的生物指标,它能及时预测土壤养分及土壤环境质量的变化<sup>[24]</sup>。

### 2.2 有关微生物群落结构的研究方法与研究进展

近年来有关微生物群落结构的研究方法不断增加,尤其是分子生物学方法的创新,主要是基于 16S rDNA 扩增后进行电泳图谱分析方法应用最为广泛,其中比较精确的是随机扩增多态性(RAPD)方法与 PCR 扩增变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)技术。此外,更可对微生物群落结构从基因水平上进行更全面的分析,再加上磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)分析技术和碳素利用(BIOLOG)法等进行补充,从不同角度更好地对重金属污染条件下的微生物群落结构的变化进行较为深入的研究<sup>[25]</sup>。

### 2.3 相关研究进展

王秀丽等采用 BIOLOG 生态盘测对微生物群落结构进行研究,发现 BIOLOG 盘的颜色变化速率、总体的平均吸光度与土壤的污染严重程度大体上呈负相关<sup>[14]</sup>。磷脂脂肪酸分析技术是一种不需要经过培养就能获得土壤中微生物信息的方法,在一定程度上土壤中的 PLFA 组成和含量的变化可以作为反映土壤中微生物量和群落动态变化的指标。磷脂脂肪酸存在于活细胞的细胞膜中,不同属的微生物通过不同生化途径而形成不同的 PLFAs,对其进行提取,并依据其中的特征脂肪酸指示微生物种类<sup>[9]</sup>。吴建军等应用磷脂脂肪酸分析技术研究重金属复合污染与水稻土微生物生物量和群落结构的相关性,结果表明土壤重金属污染程度与土壤微生物碳氮比(C/N)呈负相关,与土壤中真菌相对含量呈正相关,与放线菌与革兰氏阴性菌含量呈负相关趋势。说明重金属污染能改变土壤微生物群落状态,使得土壤微生物生物量随着污染程度的升高,向 C/N 的值低的微生物优势群落转化。同时,土壤微生物的群落动态变化为真菌相对含量增加,放线菌与革兰氏阴性菌含量减少,而细菌和革兰氏阳性菌的相对含量出现较小幅度波动,变化不大<sup>[17]</sup>。赵祥伟等利用变性梯度凝胶电

泳技术分析土壤微生物群落的总 DNA 中 16S rDNA, 分析长期受重金属复合污染的农田土壤的微生物群落遗传多样性变化。变性梯度凝胶电泳结果显示, 样品的图谱在条带数目和位置上有一定的差异, 但组成样品微生物群落的细菌种数与重金属污染程度之间并没有负相关关系, 表明土壤微生物群落遗传多样性并不是简单地随着污染程度的变大而降低<sup>[15]</sup>。陈承利等结合 BIOLOG 和 PLFA 法进行研究, 结果显示, 微生物群落代谢剖面 (AWCD) 及群落丰富度 Shannon 指数、均匀度指数均显著低于无污染对照土壤, 且随着 Cd、Pb 污染程度变大, 革兰氏阳性菌与阴性菌脂脂肪酸比值上升, 真菌和放线菌类脂脂肪酸的相对含量增加<sup>[26]</sup>。郭星亮等研究发现, 轻度和中度污染能提高微生物的丰富度、多样性及均匀度, 而重度污染条件下土壤微生物群落的丰富度多样性及均匀度降低, 土壤微生物群落优势度的指数最高, 说明土壤微生物群落在重度污染条件下有明显优势菌种出现<sup>[27]</sup>, 这与吴建军等有关优势菌种的说法<sup>[17]</sup>一致, 为重金属胁迫机制, 可为重金属的微生物修复技术提供科学依据<sup>[1]</sup>。以上应用不同方法从不同的方向初步证明了重金属污染导致群落结构变异性增大, 而降低了群落的稳定性。

值得指出的是, 虽然这些方法在一定条件下能够对土壤微生物群落变化进行测定, 但仍存在一些不足。如 BIOLOG 生态盘仅对快速生长的一部分微生物鉴定效果明显, 对生长速度较缓的微生物鉴定并不理想; 利用微孔中的碳源完全代表生态系统中的实际碳源类型也存在一定弊端; 而且由于 BIOLOG 板内近中性的缓冲体系、高浓度的碳源以及使用生物毒性的指示剂均可能影响试验结果<sup>[28]</sup>。PLFA 图谱从种的水平上只能鉴定到属, 并且土壤微生物生长发育及外界环境条件变化 (如 pH 值和温度等) 对磷脂脂肪酸的组成和浓度也具有一定的影响<sup>[8]</sup>。PCR-DGGE 法一般只能分离约 500 bp 的 DNA 片段, 也存在分离片段较小的问题<sup>[29]</sup>。因此, 在研究中应把多种技术方法综合应用, 多方位考量, 同时不断寻找更简便快捷的技术方法, 为研究工作的精确性提供保障。

### 3 重金属对土壤微生物生理生化作用的影响

重金属污染土壤后会对微生物生物量、群落结构、微生物商 ( $C_{mic}/C_{org}$ )、 $CO_2$  代谢商 ( $q_{CO_2}$ )、微生物基础呼吸、氮循环、凋落物分解生理、生化参数产生影响。土壤微生物生理生化作用在土壤生态系统的形成、功能演变过程中成为必不可少的要素, 这些参数的变化能够反映土壤质量的健康状况<sup>[25]</sup>。

#### 3.1 土壤生理生化作用类型

土壤生理生化作用类型主要包括土壤基础呼吸作用、土壤微生物商、土壤中有机氮素的矿化作用、固氮作用、硝化及反硝化作用以及凋落物相关生化分解等。土壤基础呼吸作用能反映土壤有机碳的矿化速率以及微生物的呼吸活性, 是研究土壤重金属污染对微生物影响用得较多的微生物参数之一。土壤微生物商可作为评价重金属污染对土壤生态系统功能和土壤质量影响的重要指标。土壤中有有机氮素的矿化作用、固氮作用、硝化及反硝化作用  $q_{CO_2}$  用来表征单位生物量的微生物在单位时间里的呼吸作用<sup>[26]</sup>。凋落物的分解是一个复杂的生理生化过程, 涉及多种微生物与生理生化反应, 因此

其动态可直接反映土壤微生物的生理生化状态。

#### 3.2 相关研究进展

有研究表明, 土壤被重金属元素污染后, 土壤微生物呼吸速率发生变化 (降低或增加),  $q_{CO_2}$  则明显升高, 而  $C_{mic}/C_{org}$  的值降低<sup>[30-31]</sup>。因为在一般情况下, 土壤重金属污染程度低时对  $CO_2$  的释放具有促进作用, 但高浓度重金属污染土壤对  $CO_2$  的释放不利, 土壤微生物呼吸速率则会显著下降<sup>[32]</sup>。 $C_{mic}/C_{org}$  的值变化可能是由于其数值大小不仅与土壤微生物生物量有关, 还同时受土壤质地、矿物组成、变化及环境胁迫 (如土壤污染等) 等环境因素的干扰<sup>[20]</sup>。 $q_{CO_2}$  增加可能由于在土壤受重金属污染的情况下, 当微生物量降低时, 微生物群落需要更多的能量来维持自身生存, 从而使微生物的代谢特性发生不同程度的变化, 更多的  $CO_2$  被释放, 导致土壤基础呼吸和微生物代谢加剧<sup>[33]</sup>。陈朝琼等针对矿渣场进行研究, 结果表明, 与对照土壤相比, 土壤微生物呼吸速率减弱,  $C_{mic}/C_{org}$  的值下降,  $q_{CO_2}$  明显升高<sup>[34]</sup>, 这与龙健等的研究结论<sup>[35]</sup>一致。而荆延德等通过盆栽试验对水稻土的黄红壤和小粉壤研究有不同的发现, 随着处理浓度的增加, 2 种土壤的呼吸作用强度均先缓慢上升而后下降, 且各处理浓度的呼吸作用强度均高于对照。黄红壤的  $q_{CO_2}$  随处理浓度的增加而增加, 小粉壤变化规律则不明显。2 种土壤的微生物商均表现为低浓度时上升, 高浓度时下降, 当达到一定浓度后再次反弹上升<sup>[20]</sup>。曾路生等得出微生物呼吸强度随重金属浓度增加提高的结论<sup>[36-37]</sup>。

重金属污染对土壤中固氮作用、有机氮素的矿化作用、硝化及反硝化作用均产生影响。龙健等发现, 重金属污染土壤中由于参与含氮有机物转化的酶活性减弱而影响氮营养循环<sup>[35]</sup>。陈朝琼等的研究结果也证明, 土壤酶活性的减弱导致矿渣场土壤碳素、氮素、磷素营养的循环和周转率的降低<sup>[34]</sup>。Brookes 等在针对施用污泥的土壤中固氮菌固氮作用的研究中发现, 在土壤重金属污染程度很低的条件下, 土壤中固氮菌的固氮强度下降了 50%, 且高浓度重金属污染土壤中微生物的固氮量是低浓度污染土壤的 0.1 倍<sup>[38]</sup>。Wilke 在研究 12 种污染物对氮素转化的长期影响时发现, 除硒和锡外, 其他 (砷、铍、溴、镉、铬、氟、铅、汞、硒、锡、钒和镍) 污染物均能抑制氮的矿化作用<sup>[39]</sup>。

凋落物分解速度减慢可以作为土壤微生物活性下降的表征指标<sup>[27]</sup>。王建坤等发现, 土壤的重金属含量与纤维素分解强度表现出负相关, 与非矿区土壤相比, 矿区土壤纤维素分解强度下降 34.39% ~ 78.57%<sup>[37]</sup>。Yao 等对加拿大 Sudbury 冶炼厂 (排放的废气中主要含镍和铜) 附近 8 km 的范围内进行研究, 结果显示, 被调查的 3 种树木的凋落叶在 851 d 内分解率是对照地区的 79% ~ 83%<sup>[40]</sup>。

此外, 重金属污染还会影响土壤微生物群落利用碳源底物的能力。滕应等发现, 铅锌银尾矿区重金属复合污染会导致土壤微生物群落利用有关碳源底物的能力下降<sup>[16]</sup>。龙健等发现, 铜矿废弃矿区土壤微生物群落利用碳源的能力均受抑制<sup>[35]</sup>。郭星亮等在铜川煤矿区研究土壤微生物群落代谢和酶活性受当地重金属污染的影响时发现, 轻度、中度污染会激活土壤微生物群落对碳源的利用; 而在重度污染的情况下, 土壤微生物群落对碳源的利用表现出抑制效应的增强<sup>[27]</sup>。

## 4 重金属对土壤酶活性的影响

### 4.1 土壤酶的概念及其与重金属的相关性

土壤酶是土壤中一类具有高度催化作用的蛋白质<sup>[41]</sup>,主要参与土壤中各种生物的化学过程,其活性是反映土壤中生化反应状态的指标<sup>[42]</sup>。大量研究表明,重金属对土壤酶活性的影响很大并且因重金属种类、浓度以及土壤理化性质、土壤酶的种类而不同,不同污染元素之间还存在拮抗作用或协同作用<sup>[1]</sup>。

### 4.2 土壤酶种类

目前发现的土壤酶大概有 50~60 种,研究较多的有氧化还原酶、水解酶、转移酶和裂解酶。其中,氧化还原酶包括脱氢酶、葡萄糖氧化酶、醛氧化酶、脲酸氧化酶、联苯氧化酶等,具有氧化脱氢等作用;水解酶包括羧基酯酶、芳基酯酶、酯酶、磷酸酯酶、核苷酸酶等,具有水解酯等功能;转移酶包括葡聚糖蔗糖酶、果聚糖蔗糖酶、氨基转移酶等,具有转移糖基或氨基作用;裂解酶包括天冬氨酸脱羧酶、谷氨酸脱羧酶、芳香族氨基酸脱羧酶等,具有裂解氨基酸作用。

### 4.3 常用研究方法

目前用来揭示重金属污染与酶活性关系的研究方法大多数采用多元回归分析法<sup>[43-44]</sup>。

### 4.4 相关研究进展

#### 4.4.1 土壤中不同程度重金属污染对土壤酶活性的影响

重金属对土壤酶活性的影响很大程度上受污染程度的影响,一般表现为随重金属处理浓度的增加,土壤酶活性逐渐增强,但到一定浓度时又逐渐减弱,其拐点浓度随土壤类型及土壤酶种类以及污染元素的不同而不同<sup>[42]</sup>。如荆延德等通过盆栽试验研究 2 种水稻土中不同汞处理的微生物学和酶学效应时发现,小粉土中使脲酶、酸性磷酸酶及脱氢酶活性发生变化的拐点浓度分别是 0.5、0.5、2.0 mg/kg,而黄红壤则均为 1 mg/kg<sup>[20]</sup>。沈桂琴等研究发现,土壤转化酶、碱性磷酸酶、脲酶和蛋白酶的活性明显受土壤中重金属污染物 Hg、Cd、Pb 的抑制,而以上 4 种酶的活性可被 Cr 激活,其中脲酶的反应最敏感,其最终结果表明,Hg、Cd、Pb 等 3 种重金属的临界质量分数分别为 115、310、500 mg/kg<sup>[45]</sup>。郭星亮等研究发现,土壤重金属污染程度与土壤中脲酶、蛋白酶、碱性磷酸酶以及过氧化氢酶活性均呈负相关。蔗糖酶和纤维素酶可被中等污染程度以下的污染重金属激活,土壤中的土壤蔗糖酶和纤维素酶活性被污染物抑制<sup>[27]</sup>。林匡飞等发现,土壤中锆的含量在 2~200 mg/kg 之间时对脲酶的抑制作用较强,对脱氢酶、转化酶活性、碱性磷酸酶的抑制作用不明显,对土壤中过氧化氢酶和脲酶活性有明显的抑制作用<sup>[46]</sup>。

4.4.2 重金属复合污染对土壤酶活性的影响 由于重金属对土壤污染往往具有复合性,对土壤中酶的影响更复杂,并非简单的相加,而是通过交互作用表现出协同、拮抗或屏蔽等作用<sup>[43,47-48]</sup>。林志新等的研究结果显示,Cd、Zn、Pb 共存时对过氧化氢酶表现出一定的拮抗作用或屏蔽作用,对脲酶的影响表现出协同抑制负效应的特征,对转化酶和碱性磷酸酶的影响主要随 Cd 浓度的增加而降低<sup>[44]</sup>。李江遐等在研究陵尾矿重金属污染情况时发现,当地重金属复合污染抑制对土壤酶活性的效应从强到弱依次为 Mn > Pb > Cu > Zn<sup>[49]</sup>。林立金

等曾针对锌铬复合污染对水稻不同生育期土壤酶活性的影响进行研究,结果表明,在水稻分蘖期,土壤中脲酶、转化酶的活性与土壤中锌铬浓度的变化呈负相关,但在孕穗期及灌浆结实期则呈显著的正相关<sup>[50]</sup>。荆延德等也证明,在水稻土中土壤酶活性对汞胁迫的敏感程度从强到弱依次为脲酶 > 脱氢酶 > 酸性磷酸酶<sup>[20]</sup>。

4.4.3 土壤理化性质与重金属共同作用对重金属污染的影响 在自然状态下,土壤理化性质与重金属共同影响重金属污染对土壤酶活性的干扰作用,因此不同种类的土壤酶对重金属的敏感性受土壤理化性质明显影响。和文祥对陕西西安的污灌区和杨凌清灌区不同理化性质土样中的 56 种酶的活性进行研究,结果表明,各种酶活性随着样地与土壤理化性质的不同而显现出明显的差异<sup>[51]</sup>。

4.4.4 其他研究结论 李德生等研究发现,Cu 不会影响脱氢酶活性,脱氢酶不能表征土壤 Cu 污染的程度<sup>[52]</sup>。刘霞等证明,在潮土中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 酶、转化酶活性受残留态和碳酸结合态 Cd 的重要影响,交换态 Pb 对脲酶活性、铁锰氧化物结合态 Pb 对碱性磷酸酶活性显著负相关<sup>[53]</sup>。

## 5 存在问题

随着近年来针对土壤重金属污染问题的研究不断加深,作为土壤生态系统重要组成部分的土壤微生物对环境污染的敏感性已被广泛认知,并且多种方法的应用和改进也不断推动着研究的发展,研究已经取得许多成果,但同时由于微生物种类的多样性及其参与过程的复杂性,关于重金属污染对土壤微生物以及土壤酶活性的影响、土壤重金属污染的相关机理等的研究仍存在以下 3 方面的问题:(1)实验室培养试验无法严格地模拟自然状态的重金属污染过程,造成两者出现质的差异。由于在实验室中对土壤中微生物进行培养试验时是一次性大量加入重金属,因此会产生短期触杀效应,由此可造成试验结果与自然状态相关数据的巨大差异<sup>[54]</sup>。(2)土壤重金属污染效应除受重金属元素本身特征影响外,土壤植物根际效应、土壤类型、气候等也会对其产生干扰,而对这方面的研究还较少,同时需要寻求更加便捷、准确的试验技术方法进行深入研究<sup>[55-56]</sup>。(3)因为土壤重金属污染是一个复杂的过程,在进行土壤环境评价监测时不应仅采用单一的生物学指标评价土壤的污染程度,应结合传统的生物学指标和微生物群落结构的评价,把微生物的这些参数联系起来(如微生物生物量和土壤有机质之间的关系或微生物生物量与基础呼吸的比率等),建立完善的土壤微生物指示重金属污染状况评估体系。

## 6 展望

为了更全面、更系统地认识和应用重金属污染对土壤微生物的影响,还需要进一步从以下 3 个方面开展研究工作:(1)全方位普及分子手段的应用。目前对土壤微生物的研究多集中于生态特征层面,需要更深入地结合分子手段对土壤微生物种群之间的关系,以及土壤微生物维持和稳定生态系统的机理进行研究。(2)应以土壤微生物量为基础的动力学过程、土壤微生物相互作用介导的有机质降解过程、微生物与矿物的相互作用、土壤-植物根系-微生物之间的相互作用

为主要研究对象,进一步揭示相关作用的机制。(3)深入探讨微生物过程与环境污染修复之间的关系,完善土壤环境质量指标体系,为进一步治理土壤重金属污染以及被重金属污染的土壤生态系统的修复提供理论依据。

#### 参考文献:

- [1] 顾继光,周启星,王 新. 土壤重金属污染的治理途径及其研究进展[J]. 应用基础与工程科学学报,2003,11(2):143-151.
- [2] 吴燕玉,周启星,田均良. 制定我国土壤环境标准(汞、镉、铅和砷)的探讨[J]. 应用生态学报,1991,2(4):344-349.
- [3] 王凯荣. 我国农田镉污染现状及其治理利用对策[J]. 农业环境保护,1997,16(6):35-39.
- [4] 李 芳,钱秋芳. 土壤重金属污染研究进展[J]. 安徽农学通报,2011,17(10):80-82,202.
- [5] 谭 剑,范春生,张丽娜. 土壤“中毒”:重金属污染进入“集中多发期”[N]. 经济参考报,2011-10-14(5).
- [6] 赵艳红. 土壤重金属污染的生物修复技术研究进展[J]. 吉林农业,2012,6(3):225-226.
- [7] 李瑞美,何炎森. 重金属污染与土壤微生物研究概况[J]. 福建热作科技,2003,28(4):41-43.
- [8] 张 妍,崔骁勇,罗 维. 重金属污染对土壤微生物生态功能的影响[J]. 生态毒理学报,2010,5(3):305-313.
- [9] 蒋先军,骆永明,赵其国. 重金属污染土壤的微生物学评价[J]. 土壤,2000,32(3):130-134.
- [10] Alef K, Kleiner D. Arginine ammonification, a simple method to estimate microbial activity potential in soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1986, 18(2):233-235.
- [11] Alef K, Kleiner D. Applicability of arginine ammonification as an indicator of microbial activity in different soils[J]. Biology and Fertility of Soils, 1987, 5(2):148-151.
- [12] Hund K, Zelles L, Scheunert I, et al. Acritical estimation of methods for measuring side effects of chemicals on micro-organisms in soil[J]. Chemosphere, 1988, 17(6):1183-1188.
- [13] 李小林,颜 森,张小平,等. 铅锌矿区重金属污染对微生物数量及放线菌群落结构的影响[J]. 农业环境科学学报,2011,30(3):468-475.
- [14] 王秀丽,徐建民,姚槐应,等. 重金属铜、锌、镉、铅复合污染对土壤环境微生物群落的影响[J]. 环境科学学报,2003,23(1):22-27.
- [15] 赵祥伟,骆永明,滕 应,等. 重金属复合污染农田土壤的微生物群落遗传多样性研究[J]. 环境科学学报,2005,25(2):186-191.
- [16] 滕 应,黄昌勇,骆永明,等. 铅锌银尾矿区土壤微生物活性及其群落功能多样性研究[J]. 土壤学报,2004,41(1):113-119.
- [17] 吴建军,蒋艳梅,吴翰萍,等. 重金属复合污染对水稻土微生物生物量和群落结构的影响[J]. 土壤学报,2008,45(6):1102-1109.
- [18] 杨元根, Patersoln E, Campbell C. 城市土壤中重金属元素的积累及其微生物效应[J]. 环境科学,2001,22(3):44-48.
- [19] 滕 应,黄昌勇,骆永明,等. 重金属复合污染下红壤微生物活性及其群落结构的变化[J]. 土壤学报,2005,42(5):819-828.
- [20] 荆延德,何振立,肖杨娥. 汞污染对水稻土微生物和酶活性的影响[J]. 应用生态学报,2009,20(1):218-222.
- [21] 吴春艳,陈 义,闵 航,等.  $\text{Cd}^{2+}$  和  $\text{Cu}^{2+}$  对水稻土微生物及酶活性的影响[J]. 浙江农业科学,2006(3):303-307.
- [22] 程东祥,张玉川,马小凡,等. 长春市土壤重金属化学形态与土壤微生物群落结构的关系[J]. 生态环境学报,2009,18(4):1279-1285.
- [23] 纪玉琨,李广贺,万金颖. 污灌区土壤重金属对土壤微生物影响的研究[J]. 农业环境科学学报,2006,25(增刊1):118-120.
- [24] 孙 波,赵其国,张桃林,等. 土壤质量与持续环境 III. 土壤质量评价的生物学指标[J]. 土壤,1997,29(5):225-234.
- [25] 张永利,戴九兰,王仁卿,等. 土壤重金属污染的微生物生态效应研究进展[J]. 生态科学,2007,26(2):186-190.
- [26] 陈承利,廖 敏,曾路生. 污染土壤微生物群落结构多样性及功能多样性测定方法[J]. 生态学报,2006,26(10):3404-3412.
- [27] 郭星亮,谷 洁,陈智学,等. 铜川煤矿区重金属污染对土壤微生物群落代谢和酶活性的影响[J]. 应用生态学报,2012,23(3):798-806.
- [28] 滕 应,骆永明,李振高. 污染土壤的微生物多样性研究[J]. 土壤学报,2006,43(6):1018-1026.
- [29] 马悦欣, Holmstrom C, Jeremy W, 等. 变性梯度凝胶电泳(DGGE)在微生物生态学中的应用[J]. 生态学报,2003,23(8):1561-1569.
- [30] 王发园. 土壤重金属污染对微生物多样性的影响[J]. 安徽农业科学,2008,36(18):7827-7828,7861.
- [31] 陈芝兰,张涪平,王忠红,等. 西藏当雄拉屋矿区污染土壤微生物及其活性研究[J]. 生态环境学报,2010,19(8):1912-1917.
- [32] 高焕梅,孙 燕,和林涛. 重金属污染对土壤微生物种群数量及活性的影响[J]. 江西农业学报,2007,19(8):83-85.
- [33] 王 嘉,王仁卿,郭卫华. 重金属对土壤微生物影响的研究进展[J]. 山东农业科学,2006,12(1):101-105.
- [34] 陈朝琼,严 平,魏 敏,等. 攀枝花矿渣场重金属污染对土壤微生物学指标的影响[J]. 安徽农业科学,2007,35(18):5504-5506.
- [35] 龙 健,黄昌勇,滕 应,等. 矿区重金属污染对土壤环境质量微生物学指标的影响[J]. 农业环境科学学报,2003,22(1):60-63.
- [36] 曾路生,廖 敏,黄昌勇,等. 镉污染对水稻土微生物量、酶活性及水稻生理指标的影响[J]. 应用生态学报,2005,16(11):2162-2167.
- [37] 王建坤,张小平,周 薇. 铅锌矿区土壤微生物区系及酶活性调查[J]. 环境监测管理和技术,2009,21(4):23-27.
- [38] Brookes P C, McGrath S P. Effect of metal toxicity on the size of the soil microbial biomass[J]. Journal of Soil Science, 1984, 35(2):341-346.
- [39] Wilke B M. Long-term effects of different inorganic pollutants on nitrogen transformations in a sandy cambisol[J]. Biology and Fertility of Soils, 1989, 7(3):254-258.
- [40] Yao H Y, Xu J M, Huang C Y. Substrate utilization pattern, biomass and activity of microbial communities in a sequence of heavy metal-polluted paddy soils[J]. Geoderma, 2003, 115(1/2):139-148.
- [41] 周礼恺. 土壤酶学[M]. 北京:科学出版社,1987.
- [42] 罗 虹,刘 鹏,宋小敏. 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(2):94-96,121.
- [43] 李廷强,朱 恩,肖杨娥,等. 超积累植物东南景天根际土壤酶活性研究[J]. 水土保持学报,2007,21(3):112-117.
- [44] 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,2001,23(1):60-63.

梁利国,陈 凯,谢 骏. Toll 样受体及其对水生动物疾病调控作用的研究进展[J]. 江苏农业科学,2015,43(5):12-15.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.05.004

# Toll 样受体及其对水生动物疾病调控作用的研究进展

梁利国<sup>1</sup>, 陈 凯<sup>1,2</sup>, 谢 骏<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心/农业部淡水渔业和种质资源利用重点实验室, 江苏无锡 214081;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** Toll 样受体 (Toll-like receptors, TLRs) 是近年来倍受关注的一类模式识别受体 (pattern recognition receptors, PRRs), 在病原识别、介导机体免疫反应中发挥着重要作用。本研究对 Toll 样受体的发现、种类、结构、分布、配体及其信号转导途径与功能、在水生动物疾病调控中的作用进行了概述, 以期进一步了解 TLRs 在水生动物疾病中所起的关键作用。

**关键词:** Toll 样受体; 水生动物; 信号转导; 疾病调控

**中图分类号:** S941.4    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1002-1302(2015)05-0012-04

宿主对病原体的防御反应主要依靠免疫系统。免疫系统分为先天性免疫和获得性免疫 2 种, 其中获得性免疫以 T 细胞和 B 细胞为媒介且仅存在于哺乳动物体内, 而先天性免疫在无脊椎动物到脊椎动物体内普遍存在<sup>[1]</sup>。Toll 样受体是一种广泛存在于哺乳动物、昆虫及植物体内的天然免疫分子, 属于高度保守的蛋白家族成员, 最早于 1988 年在果蝇体内发现。后期研究显示, 该受体在病原微生物识别、机体免疫等方面具有重要意义<sup>[2]</sup>。

## 1 TLRs 的种类、结构及分布

迄今为止, 果蝇体内的 TLRs 在先天免疫中的作用被广泛探讨, 9 种 TLRs 先后被发现于果蝇体内并进行了后续研究。之后又在人体、小鼠及真菌中克隆出 10 种 TLRs 的同源

序列。所有的 TLRs 蛋白都属于 I 型横跨膜蛋白, 具有相同的结构特征, 由胞外区、跨膜段和胞内区 3 部分组成。胞外区富含亮氨酸重复序列 (leucine-rich repeats, LRR) 并有 1 个富含半胱氨酸的区域。胞内有 1 个被称为 Toll/IL-1 (Toll/interleukin-1, TIR) 的高度保守区域<sup>[3]</sup>。

2000 年, 鱼类首个 TLR 超家族成员分离出来。其后, TLRs 陆续从河豚<sup>[4]</sup>、斑马鱼<sup>[3]</sup>和牙鲆<sup>[5]</sup>中分离出来, 并证实鱼类不仅具有哺乳类所有 TLR 种类的同源基因, 还具有几个在哺乳类尚未发现的 TLR 种类<sup>[6]</sup>。学者们在河豚基因组的研究中, 通过与人类相关基因的对比, 并未发现人类 *TLR4* 的同源序列, 这意味着河豚可能缺少 *TLR4* 基因<sup>[4]</sup>; 而在随后关于斑马鱼的研究中发现, 其 *TLR4* 分子有 2 个亚型, 这说明 *TLR4* 分子的缺失并非存在于鱼类的普遍现象<sup>[7]</sup>。

TLRs 在淋巴组织和非淋巴组织均有表达, 但 TLRs 在不同的组织和细胞表达量有所不同。泛生型主要是 TLR1, 广泛分布于多核细胞、单核细胞、巨噬细胞、淋巴细胞、内皮细胞、NK 细胞、成纤维细胞及树突状细胞等多种细胞表面。局限型包括 TLR2、TLR4 和 TLR5, 主要分布于髓系单核细胞, 其中外周血白细胞的表达最为丰富。特异型即 TLR3, 仅存在于树突状细胞表面<sup>[8]</sup>。

收稿日期: 2014-05-31

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项 (编号: CARS-46-10);

江苏省水产三新工程 (编号: D2013-5)。

作者简介: 梁利国 (1984—), 男, 河北唐山人, 硕士, 助理研究员, 主要从事水产动物病原微生物学研究。E-mail: lianglg@ffrc.cn。

通信作者: 谢 骏, 研究员, 主要从事细菌性病害生态防控技术的研究。E-mail: xiej@ffrc.cn。

[45] 沈桂琴, 廖瑞章. 重金属、非金属、矿物油对土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 1987, 6(3): 24-27.

[46] 林匡飞, 徐小清, 郑 利, 等. 土壤镉污染对土壤酶活性的生态毒理效应[J]. 土壤学报, 2005, 42(1): 106-110.

[47] 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.

[48] 杭小帅, 王火焰, 周健民, 等. 电镀厂附近土壤重金属污染特征及其对微生物与酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(11): 2133-2138.

[49] 李江遐, 张 军, 谷勋刚, 等. 尾矿区土壤重金属污染对土壤酶活性的影响[J]. 土壤通报, 2010, 41(6): 1476-1478.

[50] 林立金, 朱雪梅, 邵继荣, 等. 锌铬复合污染对水稻不同生育期土壤酶活性的影响[J]. 核农学报, 2007, 21(6): 623-629.

[51] 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.

[52] 李德生, 孟 丽, 李海茹. 重金属污染对土壤酶活性的影响研究进展[J]. 天津理工大学学报, 2013, 29(2): 60-64.

[53] 刘 霞, 刘树庆, 唐兆宏. 潮土和潮褐土中重金属形态与土壤酶活性的关系[J]. 土壤学报, 2003, 40(4): 581-587.

[54] 俞 慎, 何振立, 黄昌勇. 重金属胁迫下土壤微生物和微生物过程研究进展[J]. 应用生态学报, 2003, 14(4): 618-622.

[55] 牟新利, 郭 佳, 刘少达, 等. 三峡库区农林土壤重金属形态分布于污染评价[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(9): 314-317.

[56] 龚 平, 孙铁珩, 李培军. 重金属对土壤微生物的生态效应[J]. 应用生态学报, 1997, 8(2): 218-224.