

基于原位酶谱技术镉污染土壤青葙根际酶活性空间分布特征研究

刘泽蕙¹, 刘杰^{1,3}, 舒毅¹, 赖才星¹, 蒋旭升¹, Asfandyar Shahab¹, 俞果^{1,2,3*}

(1. 桂林理工大学, 广西环境污染控制理论与技术重点实验室, 广西 桂林 541006; 2. 清华大学环境学院, 北京 100084;

3. 桂林理工大学, 广西岩溶地区水污染控制与用水安全保障协同创新中心, 广西 桂林 541006)

摘要: 【目的】为探明土壤镉污染对超富集植物青葙根际酶活性空间分布特征的影响。【方法】基于土壤酶谱技术, 对镉污染土壤和非污染土壤中青葙根际 β -葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶分布情况进行原位高分辨分析。【结果】 β -葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶活性较高的热点区域都集中在青葙根系分布的区域, 且在根尖处浓度较高。在污染土壤和非污染土壤中, 青葙根部中心位置 β -葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶活性灰度值都显著高于距离根中心 2 mm 处酶活性灰度值。镉污染土壤青葙根部中心位置 β -葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶活性灰度值相较于非污染土壤, 分别降低了 5% 和 3%。【结论】青葙根际土壤酶活性的空间分布具有显著的异质性, 与根系分布密切相关, 且土壤镉污染显著抑制了 β -葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶的活性。

关键词: 土壤酶谱; 青葙; 镉污染; 酶活性空间分布

中图分类号: X53 文献标识码: A 文章编号: 0564-3945(2024)04-1137-06

DOI: 10.19336/j.cnki.trtb.2023112106

刘泽蕙, 刘杰, 舒毅, 赖才星, 蒋旭升, Asfandyar Shahab, 俞果. 基于原位酶谱技术镉污染土壤青葙根际酶活性空间分布特征研究 [J]. 土壤通报, 2024, 55(4): 1137 - 1142

LIU Ze-hui, LIU Jie, SHU Yi, LAI Cai-xing, JIANG Xu-sheng, Asfandyar Shahab, YU Guo. Spatial Distribution of Enzyme Activities in the Rhizosphere of *Celosia argentea* Linn. in Cd-contaminated Soil Using *in-situ* Soil Zymography[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2024, 55(4): 1137 - 1142

【研究意义】植物修复技术 (Phytoremediation) 是一种低成本、低能耗、环境友好的原位修复技术, 在重金属污染土壤修复领域极具应用潜力^[1]。青葙 (*Celosia argentea* Linn.) 是本课题组在国内发现和报道的镉超富集植物, 具有分布广泛、生长迅速、适应能力强、易于人工繁殖和一年多次收割等诸多优点, 在土壤镉污染的植物修复领域表现出极高的应用前景^[2-3]。近年来, 本课题组以青葙为研究对象, 围绕农艺调控、分子机制、根际效应等方向开展了一系列研究, 并取得了一些成果^[4-6]。为更好地将青葙应用于生产实践, 仍需对其生理生化机制开展深入研究。【前人研究进展】土壤酶 (soil enzyme) 是土壤中具备生物催化功能的蛋白质类化合物, 其活性是评价土壤健康状况的重要指标^[7]。例如, 在土壤碳循环中 β -葡萄糖苷酶能将纤维素水解为葡萄糖, 进而为植物提供碳源, 而酸性磷酸酶在土壤磷循环

中能促进磷酸盐的生成^[8]。研究发现, 土壤酶在土壤, 尤其是植物根际土壤中的分布具有高度的异质性, 即使在几厘米的微小区内分布也并不均匀^[9]。传统的非原位土壤酶活性检测方法 (分光光度法、滴定法、荧光法等), 往往采用破坏性取样方法, 无法真实反映土壤酶活性的空间分布特征, 具有较大的局限性^[10]。近年来, 土壤酶谱这一原位高分辨技术被引入土壤生态学领域后, 在国内外受到了广泛的关注, 为土壤酶活性研究提供了新的视角^[11]。例如, Razavi 等^[12]通过土壤酶谱技术研究了植物根系对土壤酶活性空间分布的影响, 发现亮氨酸氨基肽酶、酸性磷酸酶、 β -葡萄糖苷酶和纤维二糖水解酶在玉米根尖区域具有很高的活性, 可能是由于根尖生成的根系分泌物促进了微生物活动。【本研究切入点】土壤镉污染通常会抑制土壤酶活性, 进而影响土壤中碳氮磷循环, 而植物根系能通过分泌有机酸、氨

收稿日期: 2023-12-06; 修订日期: 2024-02-21

基金项目: 国家自然科学基金 (52200189) 和广西科技计划项目 (2021GXNSFBA220055, GuikeAB21220049)

作者简介: 刘泽蕙 (1997-), 女, 广东惠州人, 硕士研究生, 主要从事重金属污染土壤植物修复研究。E-mail: 1667167313@qq.com

*通讯作者: E-mail: yuguo@glut.edu.cn

基酸、糖类物质提高根际土壤酶活性, 缓解重金属的毒害作用^[3]。本课题组前期研究发现, 利用青葙对矿区镉污染土壤进行为期一年半的田间修复实验后, 土壤中磷酸酶等酶活性显著提高^[6]。虽然国内外学者已针对土壤重金属与酶活性的关系开展了较多研究, 但目前关于重金属对超富集植物根际酶活性空间分布特征影响的研究报道很少。通过土壤酶谱这一原位高分辨技术能实现根际微区环境中酶活性的二维可视化, 为揭示植物修复过程中的根际效应提供原位和直观的表征手段。【拟解决的问题】本研究基于原位土壤酶谱技术, 研究镉胁迫下超富集植物青葙根际与土壤碳循环和磷循环密切相关的 β -葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶空间分布特征, 以期为提高植物修复效率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试植物

青葙种子取自桂林市阳朔县兴坪镇思的村铅锌矿尾砂库。选取颗粒饱满的种子, 用 10% 的 H_2O_2 溶液浸泡消毒后, 用蒸馏水冲洗并在育苗盘中播种培养, 将育苗盘置于温室大棚中, 保持白天平均温度 25℃, 夜间平均温度 18℃, 光照强度 300 $\mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, 日平均光照时间 12 h, 相对湿度 70% ~ 75%。种子萌发后, 每天固定时间浇水, 待青葙幼苗长出 4~6 片嫩叶且植株高度超过 4 cm 时, 移栽大小一致的幼苗到根箱进行试验。

1.2 供试土壤

供试土壤采自桂林市阳朔县兴坪镇思的村铅锌矿尾砂库污染农田 0~20 cm 表层 (110°15' E, 24°45' N) 以及污染农田附近未受到尾砂库污染的山坡荒地 0~20 cm 表层。将采集的土壤样品在阴凉处自然风干, 去除树枝等杂物, 磨碎过 2 mm 筛, 用 HNO_3 - H_2O_2 法消解, 用电感耦合等离子体发射光谱仪 (PerkinElmer Optima 7000 DV) 测定土壤镉含量。土壤基本理化性质见表 1。

1.3 试验设计

根箱试验于 2022 年 4~6 月于桂林理工大学重金属污染植物修复试验基地进行。准确称取 1.0 kg 的土壤, 充分混匀后装于自制的根箱中 (高 15 cm × 长 12 cm × 宽 4 cm), 根箱的一个侧面可以打开。选择大小一致的青葙幼苗移栽到根箱中, 每个根箱 1 株, 每个处理 3 个平行, 每天固定时间浇水使水分含量保持一定范围, 并将根箱种植青葙的一侧倾斜

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 The basic physicochemical properties of the soil in this study

指标 Index	非污染土壤 Non-polluted soil	污染土壤 Polluted soil
pH	5.82 ± 0.26	6.06 ± 0.19
有机质 (g kg^{-1})	10.1 ± 1.12	15.3 ± 1.25
铵态氮 (mg kg^{-1})	23.9 ± 2.65	16.0 ± 1.77
有效磷 (mg kg^{-1})	5.85 ± 0.68	9.22 ± 1.25
速效钾 (mg kg^{-1})	91.2 ± 9.60	145 ± 12.6
总镉 (mg kg^{-1})	0.47 ± 0.08	4.90 ± 0.93
有效镉 (mg kg^{-1})	0.06 ± 0.01	2.19 ± 0.25

45°放置, 4 周后首先进行土壤酶谱实验, 然后收取植物根、茎、叶, 以及非根际土壤。

1.4 土壤酶谱操作程序和图像分析

通过优化 Razavi 等^[12] 的方案, 将有机滤膜裁剪为符合根箱侧面青葙根系分布范围的大小 (高 10 cm × 12 cm), 将底物 4-甲基伞形酮 (4-Methyl umbelliferone, MUF) 溶解于 10 mM 的 MES ($C_6H_{13}NO_4SNa_{0.5}$, pH = 6.5) 缓冲溶液中, 将有机滤膜浸泡在底物溶液中至饱和。将滤膜取出平整地贴在根际土壤界面上, 使其紧密接触, 避光 1 h 后剥离滤膜并小心地去除滤膜上的土壤颗粒。将滤膜转移到暗室中, 使用平板光极设备进行拍摄, 调整激发波长为 355 nm, 发射波长为 460 nm, 固定滤膜与紫外光源的距离, 通过相机进行拍摄, 底物在特定酶的水解下出现荧光 (图 1)。

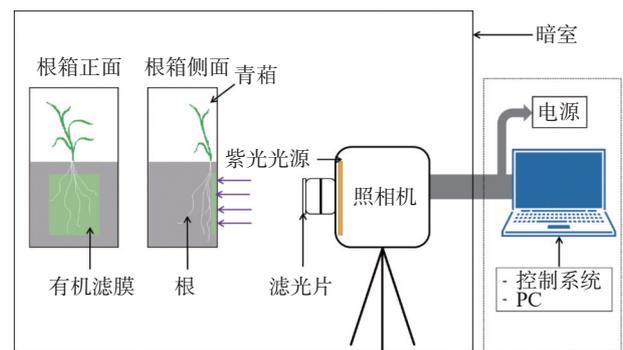


图 1 土壤酶谱装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of the experimental setup

根据底物的标准曲线量化酶谱图, 即配制 MUF (0、0.01、0.2、0.4、0.6、1、4、6、8 mmol L^{-1}) 的梯度溶液, 将 4 cm × 4 cm 的滤膜浸泡其中, 用与样品相同的方式拍摄, 通过 Matlab 软件对图像进行处理, 用单位面积滤膜吸收的 MUF 溶液量来计算酶活性大小。同时通过 Matlab 软件将图片转化为 16 度灰色图像, 校正相机噪声, 以空白样品的灰度值

为背景值, 将背景值从酶谱图中减掉后, 再将灰度图像转换为彩色网状图片。

为了进一步定量研究青葙根系对土壤酶活性空间分布情况的影响, 选取独立的侧根, 以该根部中心点为中心, 在垂直于根生长的方向上作垂线, 提取垂线上距离根中心点 2 mm 左右距离内酶活性的灰度值, 绘制距离根部中心不同距离酶活性的一维散点图。

1.5 青葙生物量和镉含量的测定

收获植物后, 植物的株高和根长直接用尺子测量, 随后用洁净的剪刀将其分为根、茎、叶 3 部分, 用自来水反复冲洗, 再用 10 mM 的 EDTA 溶液冲洗, 将根、茎、叶在烘箱中 70℃ 烘干至恒重后用电子天平测其生物量(干重)。烘干后的植物样品用 HNO₃ + HClO₄ (5:3, v:v) 法消解, 通过电感耦合等离子体发射光谱仪 (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometer, ICP-OES) 测根、茎、叶中的

镉含量。所有试剂均为优级纯, 采用国家标准参比物质 (GBW10010) 和平行空白样本进行质量控制, 样品回收率在 93% ~ 105%。

1.6 数据处理

用 Matlab 和 Image J 软件绘制酶谱图, 用 Origin 软件绘制酶谱的一维分布图, 用 Excel 2016 计算数据的平均值和标准偏差, 用 SPSS 18.0 中的方差分析 (ANOVA) 和最小显著差数法 (LSD) 在 $P < 0.05$ 水平下进行显著差异性分析。

2 结果与分析

2.1 土壤镉污染对青葙生长的影响

表 2 为镉污染土壤中青葙生物量、株高和根长的变化情况。结果表明, 与无污染对照组相比, 镉污染对青葙地上部和根部的生物量没有显著影响。但镉污染使青葙的株高显著降低了 18.2%, 使根长显著增加了 43.8% ($P < 0.05$)。

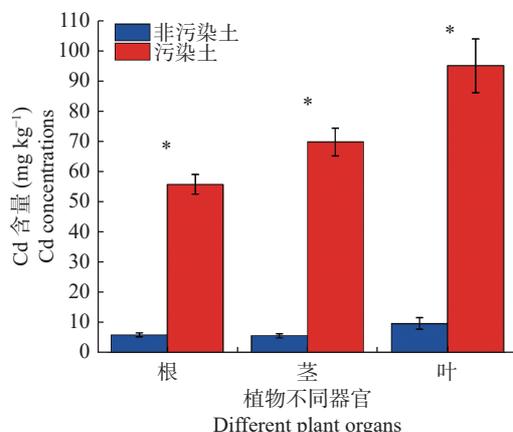
表 2 污染土壤和非污染土壤中青葙的生物量(干重)和株高

土壤 Soil	生物量 (g) Biomass (g)		株高 (cm) Plant height (cm)	根长 (cm) Root length (cm)
	地上部 Shoot	根部 Root		
非污染土	1.56 ± 0.12 a	0.65 ± 0.08 a	18.95 ± 1.25 a	7.55 ± 0.84 b
污染土	1.41 ± 0.13 a	0.71 ± 0.11 a	15.50 ± 1.08 b	10.86 ± 1.13 a

注: 不同小写字母表示同列不同土壤青葙生长数据差异显著, $P < 0.05$

2.2 青葙根、茎、叶中的镉含量

图 2 为污染土壤和非污染土壤中青葙根、茎、叶中的镉含量。结果表明, 污染土壤中青葙根、茎、



注: *表示数值间存在统计学上的显著差异 ($P < 0.05$)

图 2 污染土壤和非污染土壤中青葙根、茎、叶中镉含量

Fig.2 The Cd concentrations in the roots, shoots, and leaves of *Celosia argentea* in polluted soil and non-polluted soil

叶中的镉含量分别达到了 55.69 ± 3.22 、 69.80 ± 4.57 、 $94.9 \pm 8.79 \text{ mg kg}^{-1}$, 显著高于无污染对照组。

2.3 污染土壤和非污染土壤中青葙根际土壤酶活性空间分布

图 3、图 4 为污染土壤和非污染土壤中青葙根际 β -葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶活性的空间分布酶谱图, 其中红色、黄色、绿色、蓝色表明酶活性从高到低。结果显示, 两种酶活性的空间分布具有显著的异质性, 在镉污染土壤和非污染土壤中, β -葡萄糖苷酶活性、酸性磷酸酶活性较高的热点区域都集中在青葙根系分布的区域, 且在根尖处浓度较高。

图 5、图 6 为污染土壤和非污染土壤中距根部不同距离 β -葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶活性分布散点图。结果表明, 根际区域土壤酶活性显著高于非根际。对于 β -葡萄糖苷酶, 非污染土壤中青葙根部中心位置酶活性灰度值比距离根中心 2 mm 处酶活性灰度值高 8% ~ 11%, 镉污染土壤中根部中心位置酶活性灰度值比距离根中心 2 mm 处酶活性灰度值高 4% ~ 7%。

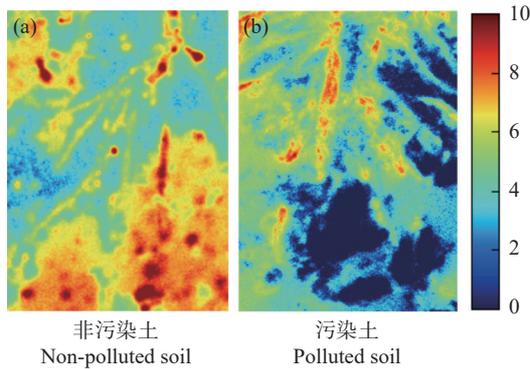


图 3 污染土壤和非污染土壤中 β -葡萄糖苷酶活性灰度值分布情况

Fig.3 The spatial distribution of the grey values of β -glucosidase in the polluted soil and non-polluted soil

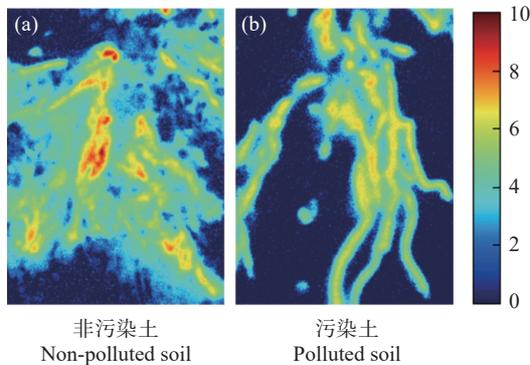


图 4 污染土壤和非污染土壤中酸性磷酸酶活性灰度值分布情况

Fig.4 The spatial distribution of the grey values of acid phosphatase in the polluted soil and non-polluted soil

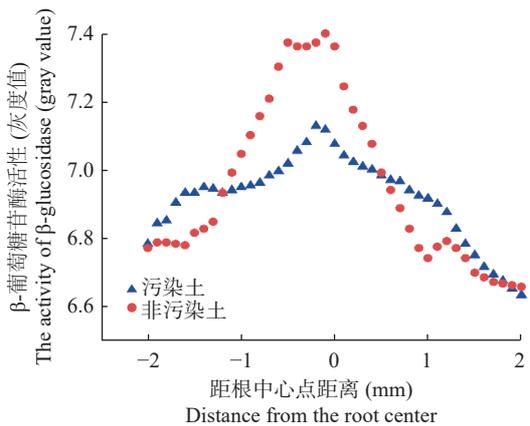


图 5 污染土壤和非污染土壤中距根部不同距离 β -葡萄糖苷酶活性分布散点图

Fig.5 The one-dimensional distributions of β -glucosidase at different distance from the roots in the polluted soil and non-polluted soil

此外，镉污染土壤中，根部中心位置 β -葡萄糖苷酶灰度值相较于非污染土壤，降低了 5%。对于酸性磷

酸酶，非污染土壤中根部中心位置酶活性灰度值比距离根中心 2 mm 处酶活性灰度值高 4%~5%，镉污染土壤中根部中心位置酶活性灰度值比距离根中心 2 mm 处酶活性灰度值高 9%~22%。镉污染土壤中酸性磷酸酶活性的平均灰度值相较于非污染土壤，降低了 3%。

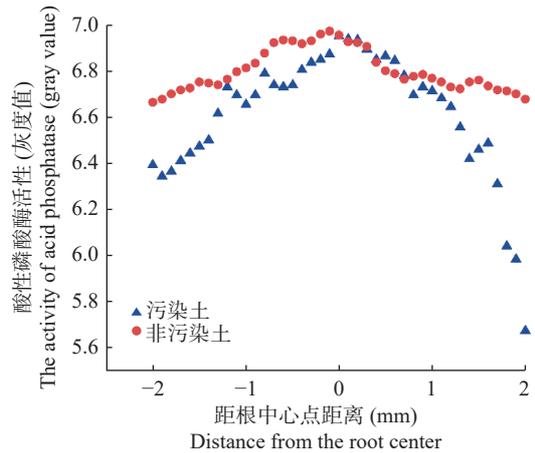


图 6 污染土壤和非污染土壤中距根部不同距离酸性磷酸酶活性分布散点图

Fig.6 The one-dimensional distributions of acid phosphatase at different distance from the roots in the polluted soil and non-polluted soil

3 讨论

土壤酶是土壤中物质转化和元素循环的重要参与者与驱动者，对土壤理化性质的改变具有较高的敏感性^[14]。因此，土壤酶活性不仅能反映土壤的健康状况，也可作为表征土壤重金属污染程度的敏感指标。本研究通过土壤酶谱这一原位高分辨技术，选取与土壤碳、磷循环密切相关的 β -葡萄糖苷酶活性、酸性磷酸酶为研究对象，研究了镉污染土壤中超富集植物青葙根际酶活性的空间分布特征。本研究发现，青葙根际酶活性的热点区域与其根系的分布基本重合（图 3、图 5），这与前人的研究基本一致^[15]。例如，Razavi 等^[12]发现玉米根际 β -葡萄糖苷酶、纤维二水解酶、亮氨酸氨基肽酶和磷酸酶的活性分布与其根系的生长方向密切相关，且在根部顶端区域酶活性更高。Duan 等^[16]在铜污染土壤中，苜蓿根际酸性磷酸酶的活性在根尖区域达到最高，与本研究结果相似。姜振峰等^[17]发现大豆根际 β -葡萄糖苷酶活性与根系表型密切相关，延根系基部到根尖逐渐增加，在根尖区域达到最高。研究表明，植物根系分泌物中的酶能直接补充根际土壤酶含量，

同时根系分泌物含有的碳、磷等营养物质能促进根际微生物活动和有机质的分解, 更进一步提高了微生物对酶的分泌作用^[18]。部分植物根尖位置根系分泌物的释放和渗出较根部其他位置更多, 进而提高了该区域土壤酶活性。 β -葡萄糖苷酶能通过水解葡萄糖苷键释放出葡萄糖, 与土壤中与碳循环密切相关^[19]。本研究发现, 相较于非污染土壤, 镉污染土壤中青苜蓿根际 β -葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶的活性受到了明显的抑制 (图 4、图 6), 这可能是土壤镉的毒性作用使土壤微生物的活性下降。李兴国等^[20]发现土壤镉污染对土壤中放线菌活性、脲酶活性、酸性磷酸酶活性均有显著的抑制作用。一般认为重金属会引起蛋白质性质变化, 与酶底物发生复杂化学反应, 降低酶活性^[21]。但也有研究发现, 重金属胁迫下土壤酶活性相较于未污染土壤反而有所提高。例如, Duan 等^[22]通过土壤酶谱技术研究了土壤酶活性对重金属复合污染的响应, 发现污染土壤中苜蓿根际 β -葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶活性显著高于非污染对照组, 这与本研究的结果不同。土壤酶活性对重金属胁迫的响应受到重金属毒性、酶自身特性以及土壤性质的影响, 导致重金属与土壤酶活性之间的关系十分复杂, 且重金属对土壤酶活性存在低剂量激活和高剂量抑制现象, 这可能是实验结果不同的原因^[23]。

本研究中, 污染土的有机质、有效磷和速效钾含量显著高于非污染土壤 (表 1), 这可能是土壤重金属污染之外, 另一个影响 β -葡萄糖苷酶活性、酸性磷酸酶活性变化的因素。高风等^[24]研究了喀斯特地区不同植被恢复模式下土壤养分与酶活性之间的相互关系, 发现土壤有机质、全氮、速效钾、速效氮和速效磷与土壤酶活性存在显著相关性, 这些理化性质指标能通过改变土壤物质循环、能量流动和新陈代谢等影响土壤酶活性。当土壤中氮磷等营养成分含量较高时, 能促进植物根系分泌更多的酶, 并提供酶促反应底物, 可能提高土壤酶活性^[25]。我们的研究结果表明, 虽然污染土的部分养分含量高于非污染土, 但污染土壤中青苜蓿根际 β -葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶的活性仍显著低于非污染土壤, 这说明与土壤养分潜在的促进作用相比, 重金属污染对土壤酶活性的抑制作用占据了主导地位。

4 结论

青苜蓿根际 β -葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶活性的空间分布特征与根系密切相关, 且在根尖区域较高,

这可能是根尖位置根系分泌物释放较多导致的。土壤镉污染显著抑制了青苜蓿根际 β -葡萄糖苷酶和酸性磷酸酶的活性。

参考文献:

- [1] Wei Z H, Le Q V, Peng W X, et al. A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403: 123658.
- [2] Liu J, Mo L, Zhang X, et al. Simultaneous hyperaccumulation of cadmium and manganese in *Celosia argentea* Linn. *International Journal of Phytoremediation*, 2018, 20(11): 1106-1112.
- [3] 姚诗音, 刘杰, 王怡璇, 等. 青苜蓿对镉的超富集特征及累积动态研究[J]. *农业环境科学学报*, 2017, 36(8): 1470 - 1476.
- [4] Yu G, Liu J, Long Y, et al. Phytoextraction of cadmium-contaminated soils: comparison of plant species and low molecular weight organic acids[J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2019, 22(4): 383 - 391.
- [5] Yu G, Ullah H, Wang X, et al. Integrated transcriptome and metabolome analysis reveals the mechanism of tolerance to manganese and cadmium toxicity in the Mn/Cd hyperaccumulator *Celosia argentea* Linn[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 443: 130206.
- [6] Yu G, Jiang P, Fu X, et al. Phytoextraction of cadmium-contaminated soil by *Celosia argentea* Linn. : A long-term field study[J]. *Environmental Pollution*, 266: 115408.
- [7] 王理德, 王方琳, 郭春秀, 等. 土壤酶学研究进展[J]. *土壤*, 2016, 48(1): 12 - 21.
- [8] 刘深妍, 李凤麟, 鲁静丽, 等. 我国主要有色金属矿区周边农田土壤酶活性及影响因素[J]. *农业环境科学学报*, 2022, 41(12): 2797 - 2804.
- [9] Spohn M, Carminati A, Kuzyakov Y. Soil zymography-A novel in situ method for mapping distribution of enzyme activity in soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, 58: 275 - 280.
- [10] 邵文山, 李国旗. 土壤酶功能及测定方法研究进展[J]. *北方园艺*, 2016(9): 188 - 193.
- [11] Guber A, Kravchenko A, Razavi B S, et al. Quantitative soil zymography: Mechanisms, processes of substrate and enzyme diffusion in porous media[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 127: 156 - 67.
- [12] Razavi B S, Zarebanadkouki M, Blagodatskaya E, et al. Rhizosphere shape of lentil and maize: Spatial distribution of enzyme activities[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2016, 96: 229 - 237.
- [13] Lin H, Liu C, Li B, et al. *Trifolium repens* L. regulated phytoremediation of heavy metal contaminated soil by promoting soil enzyme activities and beneficial rhizosphere associated microorganisms[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 402: 123829.
- [14] 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.
- [15] Schofield E J, Brooker R W, Rowntree J K, et al. Plant-plant competition influences temporal dynamism of soil microbial enzyme activity[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 139: 107615.
- [16] Duan C, Razavi B S, Shen G T, et al. Deciphering the rhizobium inoculation effect on spatial distribution of phosphatase activity in the rhizosphere of alfalfa under copper stress[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 137: 107574.
- [17] 姜振峰, 李珊珊, 温明星, 等. 大豆苗期根系根际酶谱原位分析 [J]. 东北农业大学学报, 2022, 53(11): 1 – 9.
- [18] 丁 娜, 林 华, 张学洪, 等. 植物根系分泌物与根际微生物交互作用机制研究进展 [J]. 土壤通报, 2022, 53(5): 1212 – 1219.
- [19] 程 雄, 王利英, 李文彦, 等. 猪场废弃物和解磷菌、蚯蚓联合施用对旱坡地土壤碳循环相关酶的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(12): 2479 – 2485.
- [20] 李兴国, 律 泽, 张 驰, 等. 吐纳麝香与 Cd 污染对土壤微生物数量及酶活性的影响 [J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(8): 1720 – 1729.
- [21] Su H F, Zhang Y Z, Lu Z C, et al. A mechanism of microbial sensitivity regulation on interventional remediation by nanozyme manganese oxide in soil heavy metal pollution[J]. 2022, 373: 133825.
- [22] Duan C J, Fang L C, Yang C L, et al. Reveal the response of enzyme activities to heavy metals through in situ zymography[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 156: 106 – 115.
- [23] 谭向平, 何金红, 郭志明, 等. 土壤酶对重金属污染的响应及指示研究进展 [J]. 土壤学报, 2023, 60(1): 50 – 62.
- [24] 高 风, 文仕知, 韦铄星, 等. 桂西北石漠化区不同植被恢复类型对土壤理化性质、酶活与真菌群落多样性的影响 [J]. 浙江农业学报, 2023, 35(10): 2425 – 2435.
- [25] 张琳, 王自荣, 朱绍宇, 等. 不同海拔金佛山方竹林土壤酶活性与土壤理化性质的关系 [J]. 西部林业科学. 2022, 51(04): 125-133.

Spatial Distribution of Enzyme Activities in the Rhizosphere of *Celosia argentea* Linn. in Cd-contaminated Soil Using *in-situ* Soil Zymography

LIU Ze-hui¹, LIU Jie^{1,3}, SHU Yi¹, LAI Cai-xing¹, JIANG Xu-sheng¹, Asfandyar Shahab¹, YU Guo^{1,2,3*}

(1. Guangxi Key Laboratory of Environmental Pollution Control Theory and Technology, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China; 2. School of Environment, Tsinghua University, Beijing 100084, China; 3. Collaborative Innovation Center for Water Pollution Control and Water Safety in Karst Area, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China)

Abstract: [Objective] The aim was to investigate the influence of soil cadmium (Cd) contamination on the spatial distribution of β -glucosidase and acid phosphatase in the rhizosphere of Cd hyperaccumulator *Celosia argentea* Linn. [Method] The in-situ soil zymography was used to obtain the distribution of β -glucosidase and acid phosphatase in the rhizosphere of *C. argentea* in Cd-polluted soil and non-polluted soil. [Result] The Results showed that the hot spots of β -glucosidase and acid phosphatase were along entire root of *C. argentea*, which were relatively higher at the root tips. In both the polluted and non-polluted soils, the grey value of β -glucosidase and acid phosphatase at the root center were significantly higher than those 2 mm away from the root center. In Cd-polluted soil, the grey value of β -glucosidase and acid phosphatase in the root center decreased by 5% and 3% when compared to that in the non-polluted soil. [Conclusion] The results showed that the spatial distribution of soil enzyme activities was closely related to the root distribution. Soil Cd contamination had a significant negative influence on the soil enzyme activities.

Key words: Soil zymography; *Celosia argentea* Linn.; Cadmium; Spatial distribution of the enzyme activity

[责任编辑: 刘轶飞]