



请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

# 吐纳麝香与Cd污染对土壤微生物数量及酶活性的影响

李兴国,律泽,张驰,王刚

引用本文:

李兴国, 律泽, 张驰, 王刚. 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.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0249

# 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

# 佳乐麝香与镉污染对土壤微生物和酶活性的影响

赵芷玉, 律泽, 魏炜, 韩晓墨 农业环境科学学报. 2021, 40(8): 1738-1745 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0277

镉污染土壤中吐纳麝香的生物有效性及其评价

徐慧琳,曾文炉,陈翠红,周启星 农业环境科学学报.2016,35(6):1021-1027 https://doi.org/10.11654/jaes.2016.06.001

外源Cd胁迫对红壤性水稻土微生物量碳氮及酶活性的影响

郭碧林,陈效民,景峰,张晓玲,杨之江,刘巍,刘文心 农业环境科学学报. 2018, 37(9): 1850-1855 https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0344

盐胁迫下甲维盐·毒死蜱对菜田土壤微生物生态效应研究 袁敏, 唐美珍, 罗彦鹤, 常文韬, 闫佩, 宋兵魁, 邢志杰, 赵晶磊, 廖光龙 农业环境科学学报. 2015(10): 1936–1942 https://doi.org/10.11654/jaes.2015.10.014

铜胁迫下磺胺嘧啶对土壤呼吸及酶活性影响分析

李明珠, 廖强, 董远鹏, 刘喜娟, 孟子霖, 李梦红, 刘爱菊 农业环境科学学报. 2019, 38(9): 2121-2128 https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0044



关注微信公众号,获得更多资讯信息

#### 农业环境科学学报 Journal of Agro-Environment Science

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.

LI X G, LÜ Z, ZHANG C, et al. Joint effects of tonalide and cadmium on quantity of soil microorganisms and enzyme activities[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2022, 41(8): 1720-1729.



# 吐纳麝香与Cd污染对土壤微生物数量及酶活性的影响

李兴国1, 律泽1\*, 张驰1, 王刚2

(1. 沈阳建筑大学市政与环境工程学院, 沈阳 110168; 2. 辽宁省易派环保职业培训学校, 沈阳 110033)

摘 要:吐纳麝香(AHTN)为药品与个人护理品(PPCPs)类新型污染物之一,其能够与重金属镉(Cd)通过污水灌溉和污泥利用进入到土壤环境。本研究采用平板菌落计数、荧光qPCR、土壤酶活性测定以及联合效应分析,探究AHTN和Cd污染对土壤中微生物数量和酶活性的影响。结果表明:AHTN与Cd单一、复合污染对土壤中细菌均表现为显著抑制作用;随着AHTN浓度增加,对土壤真菌由促进作用转变抑制作用,对土壤中放线菌表现为显著抑制作用,可将放线菌作为AHTN污染的早期预警指标。AHTN单一及与Cd复合污染对土壤脲酶活性均表现为显著抑制作用(第1天除外);随着AHTN浓度增加,对酸性磷酸酶活性从促进作用转变为抑制作用;在第1天对蔗糖酶表现为促进作用,之后均转为抑制作用。AHTN与Cd复合污染联合毒性效应,对土壤细菌和放线菌数量表现为拮抗作用;对真菌数量随着AHTN浓度升高表现为拮抗-协同-拮抗现象;随着暴露时间延长,对土壤脲酶活性由拮抗转为协同作用,对酸性磷酸酶活性和蔗糖酶由协同转为拮抗作用。

关键词:吐纳麝香(AHTN);镉(Cd);复合污染;微生物数量;土壤酶活性

中图分类号:X53;X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)08-1720-10 doi:10.11654/jaes.2022-0249

#### Joint effects of tonalide and cadmium on quantity of soil microorganisms and enzyme activities

LI Xingguo<sup>1</sup>, LÜ Ze<sup>1\*</sup>, ZHANG Chi<sup>1</sup>, WANG Gang<sup>2</sup>

(1. School of Municipal and Environmental Engineering, Shenyang Jianzhu University, Shenyang 110168, China; 2. Liaoning Yipai Environmental Protection Vocational Training School, Shenyang 110033, China)

Abstract: Tonalide (AHTN) is a new pollutant of pharmaceuticals and personal care products. Along with the heavy metal cadmium (Cd), AHTN enters the soil through sewage irrigation and sludge utilization. The present study analyzed the effects of AHTN and Cd pollution on the number of microorganisms and enzyme activities in soil by using plate colony counting, fluorescence qPCR, soil enzyme activity determination and combined effect analysis. It showed that individual and combined pollution of AHTN and Cd significantly inhibited soil bacteria. In addition, the effect on soil fungi changed from promotion to inhibitory with the increase of AHTN concentration. Soil actinomycetes were significantly inhibited. These findings indicated the potential of actinomycetes as early warning indicators of AHTN pollution. AHTN alone and combined with Cd exhibited significant inhibition of soil urease activity (except for the first day). Acid phosphatase activity was significantly inhibited by increasing AHTN concentrations. Sucrase activity was promoted on day 1 but inhibited thereafter. The combined toxic effects of AHTN and Cd pollution antagonized the viability of soil bacteria and actinomycetes, which was antagonized–synergistic–antagonistic for fungi with increasing AHTN concentration. With prolonged exposure, the joint toxicity effect of AHTN and Cd on urease activity changed from antagonistic to synergistic. For acid phosphatase and sucrase, the activity changed from synergistic to antagonistic.

Keywords: tonalide(AHTN); cadmium(Cd); co-contaminated; microorganisms count; soil enzyme activity

开放科学OSID

收稿日期:2022-03-15 录用日期:2022-04-25

作者简介:李兴国(1998-),男,辽宁鞍山人,硕士研究生,从事土壤污染研究。E-mail:1406276057@qq.com

<sup>\*</sup>通信作者:律泽 E-mail:lvze\_2006@163.com

基金项目:辽宁省教育厅基础研究项目(lnjc201910)

Project supported: The Basic Research Project of Liaoning Provincial Educational Department, China(Injc201910)

吐纳麝香(AHTN)因其气香浓郁且持久,作为定 香调香的香料,广泛应用于高档香水、化妆品和洗衣 液等日用化工品中。化妆品工厂和居民日常洗涤废 水排放至城市污水处理厂处理后,通过污水灌溉和污 泥返田,进入土壤环境并不断累积,使其在土壤中的 含量越来越高。目前发现污水处理厂所排放的污泥 中AHTN最大含量为169.284 mg·kg<sup>-1[1]</sup>;AHTN在广东 省污水处理厂干质量污泥中含量为4498 μg·kg<sup>-1[2]</sup>, BESTER<sup>33</sup>检测德国一家污水处理厂的进水和污泥中 AHTN浓度发现,进水浓度约为580 ng·L<sup>-1</sup>,污泥中含 量为1500 ng·L<sup>-1</sup>, REINER 等<sup>[4]</sup>检测美国两家污水处 理厂进水和污泥中AHTN浓度,发现其在废水中的最 大浓度高达2 590 ng·L<sup>-1</sup>,在污泥中其最大含量为 16.8 mg·kg<sup>-1</sup>。由于AHTN在环境中难以被快速降解, 含量日益升高,且AHTN具有易生物富集特性,持续 暴露于土壤环境中,对生态环境的威胁越来越大。 AHTN 不仅能加快人体乳腺癌细胞的扩散<sup>[5]</sup>,并且具 有雌激素作用<sup>16</sup>。此外,AHTN导致人血清白蛋白功 能受损,二者之间相互作用可能影响蛋白质的正常 结构和活性<sup>[7]</sup>。蚯蚓在一定浓度的 AHTN 环境中生 存,会促进其体内金属硫蛋白和谷胱甘肽的合成,表 明AHTN会对土壤环境造成潜在生态风险<sup>[8]</sup>。水体 中的AHTN浓度会通过氧化应激作用导致斑马贻贝 的氧化和遗传损伤,并且在暴露于高浓度AHTN时 会导致原发性遗传损伤。

土壤重金属污染毒性强、分布广、治理难,具有生物累积性。当其进入到土壤环境中,土壤微生物难以将其快速降解,在土壤中蓄积造成污染,改变土壤条件,使土壤肥力下降,土壤生态环境遭受严重破坏。 且因其强生物富集特性,对农作物造成影响,经食物链危害人体健康。2020年我国生态环境状况公报土 壤污染状况详查显示,重金属污染是导致农田土地质 量下降的主要原因,其中Cd排在首位。重金属均具 有较强的生物毒性,Cd更是世界公认的毒性最强的 重金属之一<sup>[10]</sup>。最近的调查显示,我国城市污泥中重 金属 Cd 的最大含量为10.5 mg·kg<sup>-1[11]</sup>,且在华北平原 污灌区13 m 深的土壤中检测到 Cd 的含量高达 3.8 mg·kg<sup>-1[12]</sup>。

污水灌溉和污泥回用是AHTN和Cd进入到土壤 环境的共同途径,长时间累积会造成土壤污染,因此 土壤中二者复合污染较为普遍。目前国内外对 AHTN与Cd复合污染的研究主要集中在陆生生物, 对于二者复合污染对土壤微生物的影响研究较少。 AHTN与Cd通过在小麦片叶和根系中产生活性氧胁 迫,对小麦造成氧化性损伤<sup>[13]</sup>。WANG等<sup>[14]</sup>研究了 AHTN与Cd联合暴露对赤子爱胜蚓的影响。土壤酶 和土壤微生物影响植物生长所需养分的吸收,能够敏 感地反映土壤环境变化<sup>[15]</sup>,在土壤生态系统中起重要 作用。为探究AHTN与Cd复合污染对土壤微生物生 态毒理作用机理,本研究采用平板菌落计数和荧光定 量qPCR,测定AHTN与Cd单一及复合污染下土壤细 菌、真菌、放线菌数量变化及土壤脲酶、酸性磷酸酶和 蔗糖酶活性变化,并研究了复合污染对微生物数量和 酶活性的联合毒性效应,为评价AHTN的生态健康风 险提供科学依据。

# 1 材料与方法

### 1.1 供试土壤

供试土壤采集于辽宁省沈阳市石佛寺灌渠渠首 (42°8.611′N,123°20.705′E),取农用地上层(0~20 cm)的新鲜土壤,现场处理后带回实验室。具体土壤 理化性质如下:土壤类型为棕壤,pH为5.92,含水量 为15.32%,有机质含量2.48%,速效氮含量38 mg・ kg<sup>-1</sup>,速效钾含量158 mg·kg<sup>-1</sup>,有效磷含量17.5 mg・ kg<sup>-1</sup>,AHTN含量16.45 µg·kg<sup>-1</sup>,Cd含量0.68 mg·kg<sup>-1</sup>。

1.2 供试药品

吐纳麝香(AHTN)购自上海源叶生物科技公司, 纯度为95%。

# 1.3 试验方法

1.3.1 土壤染毒试验

称取 1.18 kg 过 2 mm 筛土壤(相当于 1 kg 干土) 于塑料花盆中,定期浇水,保持土壤水分,使用透气膜 将其密封,防止发生蒸腾作用而减少水分,也防止细 菌等杂质进入。土壤在恒温培养箱(25 ℃)预培养 7 d。试验设置 4 个 AHTN 含量,分别为0、100、500 mg· kg<sup>-1</sup>和1000 mg·kg<sup>-1</sup>,2 个 Cd 含量,分别为0、10 mg· kg<sup>-1</sup>,共8个处理组。每个处理组设3个平行试验,共 24 个样本。采用土壤暴露法进行染毒。

1.3.2 盆栽试验

将染毒土样充分搅拌混合,待丙酮完全挥发后, 将稳定后的土壤均匀置入花盆内,将龙葵种子播种其 中,共种植24盆。当龙葵高度约2 cm时定苗,最终每 盆保留6株生长趋势相同的幼苗。花盆在室外随机 放置 80 d,挪动花盆位置使其发生不规则变化。不定 期浇水,土壤水分恒定保持为田间持水量的60%。 1.3.3 样品采集与处理

1721

每隔20d(1、20、40、60d和80d)进行一次土壤样 品采样,共采样5次,样品采自表层土壤下深度约为3 cm处根周土壤,并测定其微生物数量以及土壤酶活性。

## 1.4 测定方法

1.4.1 土壤微生物测定方法

(1)微生物测定

采用固体平板稀释涂布培养计数法,细菌、真菌 和放线菌分别采用牛肉膏蛋白胨培养基、马丁培养基 和高氏培养基进行培养<sup>116</sup>。

(2)微生物总数测定

微生物总数的测定采用荧光 qPCR 法。DNA 提取:使用 Fast DNA-SPIN KitForSoil 试剂盒,从 0.5 g土 壤中提取基因组 DNA,并将其溶于 50 μL 水中,保存 温度为-20 ℃。测定基因的拷贝数:采用荧光定量 qPCR 测定细菌 16S rRNA、真菌 18S rRNA 和放线菌 特异基因的拷贝数(以单位质量干土计)。制作标准 曲线,样品中的基因拷贝数根据所得标准曲线计算 后,换算成每克干土的基因拷贝数。

1.4.2 土壤酶活性测定方法

土壤脲酶、蔗糖酶和酸性磷酸酶活性分别采用苯酚钠法、3,5-二硝基水杨酸法和对硝基酚比色法测定<sup>[17]</sup>。

#### 1.5 数据分析

菌种/酶活性抑制率计算公式: 抑制率=(对照-处理)/对照×100% AHTN和Cd复合污染作用模式方程:

 $P(E)=P_1+P_2-P_1\times P_2/100$ 

式中:P(E)为理论预测抑制率,%; $P_1$ 为AHTN引起的抑制率,%; $P_2$ 为Cd引起的抑制率,%。P(T)为实际检测的抑制率(%),对P(E)和P(T)进行差异显著性分析,若检测值P(T)大于预测值P(E),则二者联合作用模式显著的为协同作用,反之,显著的为拮抗作用。

试验数据采用 DPS 7.5 进行平均值和标准差计算,利用 Turkey 多重比较进行差异显著性分析。显著性水平和极显著水平分别为 P<0.05 和 P<0.01。采用 Origin 8.5 制图。

# 2 结果与分析

# 2.1 AHTN与Cd污染对土壤中微生物数量的影响

分别以时间T(1、20、40、60 d和80 d)、污染物Cd 浓度(0、10 mg·kg<sup>-1</sup>)和污染物AHTN浓度(0、100、500 mg·kg<sup>-1</sup>和1000 mg·kg<sup>-1</sup>)为研究因子,通过土壤细菌、 真菌和放线菌活性抑制率的三因素方差分析,分析各 个因子的主效应,研究一阶交互效应和二阶交互效应 对土壤微生物的影响。不同浓度的AHTN与Cd单 一、复合污染处理对土壤细菌、真菌和放线菌活性抑 制率的影响均达到极显著水平,土壤微生物抑制率随 处理时间的变化也极显著(P<0.01)。

2.1.1 对土壤中细菌的影响

如图1所示,AHTN单一污染显著抑制土壤中的 细菌数量,抑制率随AHTN浓度的增加而增加。100 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN对细菌抑制率变化范围为24.14%~ 52.04%;500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN对土壤细菌生长数量抑制 率变化范围为43.66%~69.07%;1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 对土壤细菌数量抑制率变化范围为58.50%~88.69%。

AHTN与Cd复合污染与AHTN单一污染对细菌的影响一致,均表现显著抑制作用,即随着AHTN浓度增加,其对细菌抑制率也增加。100 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染对细菌抑制率为48.56%~73.76%;500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染对细菌抑制率为48.56%~73.76%;500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染对细菌抑制率为61.30%~89.20%。Cd单一污染显著抑制细菌生长,其抑制率为24.05%~48.43%。AHTN与Cd单一、复合污染对土壤中细菌均表现为显著抑制作用。

在第40天时,100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN单一 污染对细菌抑制率分别为41.59%、65.67%、88.69%,与 Cd复合污染对细菌抑制率分别为73.76%、76.55%、 89.20%;在第80天时,100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 单一污染对细菌的抑制率分别为24.14%、56.80%、 85.57%,与Cd复合污染对细菌的抑制率分别为





52.72%、65.96%、86.48%, AHTN与Cd复合污染对细菌的抑制率大于其对应浓度AHTN单一污染。 2.1.2 对土壤中真菌的影响

如图 2 所示, AHTN 单一污染下, 100 mg·kg<sup>-1</sup>和 500 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN 在前 60 d 对土壤中的真菌产生 促进作用, 其抑制率分别为-12.75%~-35.32% 和 -6.51%~-64.36%, 1 000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 对真菌表现出 抑制作用, 其抑制率为12.75%~72.05%。

如图2所示,100 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染促进土壤中的真菌生长,其抑制率在-6.38%~-71.33%,500 mg·kg<sup>-1</sup>和1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染对土壤中的真菌产生抑制作用,其抑制率为6.38%~51.39%和28.27%~68.58%。Cd单一污染对真菌表现为抑制作用,其抑制率为17.82%~47.82%。

对于土壤真菌,100、500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN单一及与 Cd复合污染对其生长由促进转为抑制,而1000 mg· kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd单一、复合污染显著抑制其生长。随 着AHTN浓度增加,AHTN单一及与Cd复合污染对土 壤真菌生长逐渐从促进转变为抑制。







Figure 2 The influence of AHTN and Cd contamination on the number inhibition rate of fungi in soil

### 2.1.3 对土壤中放线菌的影响

如图3所示,AHTN单一污染下,3种浓度AHTN 均显著抑制土壤中放线菌生长,100、500、1000 mg· kg<sup>-1</sup>AHTN抑制程度分别为9.98%~24.50%、15.04%~ 47.28%、29.49%~56.24%,表明AHTN浓度越高,抑制 程度越严重。

AHTN与Cd复合污染显著抑制了土壤放线菌的 生长,100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染对 其抑制率分别为12.29%~52.74%、23.53%~65.05%、





Figure 3 The influence of AHTN and Cd contamination on the number inhibition rate of actinomyces in soil

37.82%~70.14%,抑制效果随着 AHTN 浓度的增加而 增强。Cd单一污染对其抑制率为8.19%~63.19%,显 著抑制其生长。AHTN与Cd单一、复合污染均显著 抑制土壤中放线菌生长。

不同浓度 AHTN 与 Cd 复合污染对放线菌的抑制 率大于其对应浓度 AHTN 单一污染(第1天除外)。 2.1.4 对微生物基因拷贝数的影响

(1)细菌16SrRNA基因拷贝数

方差分析结果表明,与CK相比,1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN单一处理及100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup>的AHTN与Cd复合污染的细菌基因拷贝数表现出显著差异(P<0.05),对细菌均表现为促进作用,分别高于CK组65.75%、51.26%、64.14%、82.76%(图4),表明细菌拷贝数随着AHTN浓度的升高而增加。

(2)真菌18SrRNA基因拷贝数

方差分析结果表明,与CK相比,除500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN单一入与Cd复合 污染外,真菌基因拷贝数显著升高(P<0.05),表现为 促进作用(图4)。真菌基因拷贝数随着AHTN浓度升 高而增加。

(3)放线菌基因拷贝数

方差分析结果表明,与CK相比,AHTN单一及与Cd复合污染对放线菌基因拷贝数表现出显著差异(P<0.05),对放线菌表现为抑制作用。100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN抑制率分别为38.46%、50.01%、54.81%,Cd单一污染抑制率为26.92%,100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染抑制率分别为60.38%、75.19%、77.12%(图4),放线菌基因拷贝数随

1723

# 1724



不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05) Different lowercase letters indicate significant differences among treatments(P<0.05)

#### 图4 AHTN与Cd污染对土壤微生物基因拷贝数的影响

Figure 4 The influence of AHTN and Cd contamination on the copy number of soil microorganisms gene

# 着AHTN浓度升高而减少。

# 2.2 AHTN与Cd污染对土壤酶活性的影响

分别以时间T(1、20、40、60、80 d)、污染物Cd浓度(0、10 mg·kg<sup>-1</sup>)和污染物AHTN浓度(0、100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup>)为研究因子,进行土壤脲酶、酸性磷酸酶和蔗糖酶活性抑制率的三因素方差分析,分析各个因子的主效应,研究一、二阶交互效应对土壤酶活性的影响。不同浓度的AHTN与Cd单一、复合污染对土壤脲酶、酸性磷酸酶和蔗糖酶活性抑制率的影响均达到极显著水平,土壤微生物抑制率随处理时间的变化也极显著(P<0.01)。

#### 2.2.1 对土壤中脲酶活性的影响

如图 5 所示, AHTN 单一污染对土壤脲酶表现为 抑制作用, 100 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 在处理周期(1、20、40、 60、80 d)内的抑制率分别为 5.36%、25.10%、43.81%、 21.58%、11.71%; 500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 的抑制率分别为 15.55%、27.86%、50.69%、33.88%、38.07%; 1 000 mg· kg<sup>-1</sup>AHTN 的抑制率分别为 26.46%、33.03%、61.34%、 62.52%、73.31%。

100、500、1 000 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN 与 Cd 复合污染在 第1天促进土壤脲酶活性,其抑制率分别为-162.02%、 -165.07%和-36.49%,而在其余时间均表现为抑制作 用,100 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 与 Cd 复合污染在其余时间(20、 40、60、80 d)的抑制率分别为 2.10%、50.43%、 50.58%、15.18%; 500 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN 与 Cd 复合污染





图 5 AHTN与Cd污染对土壤中脲酶活性抑制率的影响 Figure 5 The influence of AHTN and Cd contamination on the

inhibition rate of urease activities in soil

的抑制率分别为 33.96%、71.21%、55.86%、22.09%; 1 000 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN 与 Cd 复合污染的抑制率分别为 46.16%、73.53%、57.82%、27.56%。可以看出,在第40 天时,复合污染抑制率达到最大值,这表明复合污染 此时毒性达到最大。Cd 单一污染对土壤脲酶活性作 用为先抑制后促进,1、20、40、60、80 d抑制率分别为 9.05%、-19.36%、-30.54%、-44.03%、-48.83%。

在第40天时,100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN单一污染对土壤脲酶的抑制率分别为43.81%、50.69%、61.34%,与Cd复合污染的抑制率分别为50.43%、71.72%、73.53%,抑制作用随AHTN浓度升高而增强, 且二者复合污染对土壤脲酶的抑制率大于其对应浓度AHTN单一污染的。

AHTN单一及与Cd复合污染均显著抑制土壤脲 酶活性(第1天除外)。

2.2.2 对土壤中酸性磷酸酶活性的影响

如图 6 所示,100 mg·kg<sup>-1</sup>和 500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 单一污染对土壤酸性磷酸酶表现为促进作用,其在 1、20、40、60、80 d抑制率分别为-69.99%、-5.24%、 -90.85%、-21.05%、-15.79%和-22.69%、-23.87%、 -47.60%、-29.22%、-1.31%,1 000 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN单 一污染对土壤酸性磷酸酶在第 1天和第 20天时表现 为促进作用,其抑制率为-2.93%和-23.00%,40、60、 80 d时转为抑制作用,抑制率分别为 12.35%、44.21% 和 60.36%。

如图 6 所示,对于土壤酸性磷酸酶,100 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN 与 Cd 复合污染显著促进其活性,在1、20、 40、60、80 d抑制率分别为-29.20%、-25.63%、-9.80%、 -4.68%、-5.23%,500 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN 与 Cd 复合污染 在1、20、40 d促进其活性,其抑制率分别为-38.32%、-3.11%、-18.20%,第60天和第80天转变为抑制作用,抑制率分别为41.64%和11.44%;土壤酸性磷酸酶活性在1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染下受到显著抑制,在1、20、40、60、80 d抑制率分别为5.21%、7.42%、12.35%、43.93%、43.05%。Cd单一污染仅在80 d表现为抑制作用,其余时间为促进作用。

100、500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN单一污染和100 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN与Cd复合污染能够促进土壤酸性磷酸酶活 性,500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染与1000 mg· kg<sup>-1</sup>AHTN单一污染表现为先促进后抑制,1000 mg· kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染始终表现为抑制作用。随 着AHTN浓度增加,AHTN单一及与Cd复合污染对土 壤酸性磷酸酶活性均为先促进后抑制。



图 6 AHTN与Cd 污染对土壤中酸性磷酸酶活性抑制率的影响 Figure 6 The influence of AHTN and Cd contamination on the inhibition rate of acid phosphatase in soil

# 2.2.3 对土壤中蔗糖酶活性的影响

如图 7 所示,与对照组 CK 相比,AHTN 单一污染 在第 1 天对蔗糖酶表现为促进作用,100、500、1 000 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN 抑制率分别为-201.72%、-72.31%、 -56.78%;在其他时间表现为抑制土壤蔗糖酶活性, 20、40、60 d和 80 d,100 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 对其抑制率分 别为 39.09%、10.60%、34.99%和 36.63%,500 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN 对其抑制率分别为 34.66%、21.19%、51.35%和 53.10%,1 000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 对其抑制率分别为 27.85%、40.22%、64.31%和 63.03%。

如图7所示,在第1天,AHTN与Cd复合污染促进土壤蔗糖酶活性,之后均显著抑制,100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN与Cd复合污染在第1天的抑制率分别为-87.98%、-89.80%、-38.43%;在20、40、60、80 d,



图 7 AHTN与Cd污染对土壤中蔗糖酶活性抑制率的影响 Figure 7 The influence of AHTN and Cd contamination on the inhibition rate of invertase in soil

100 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复合污染对其抑制率分别为 65.41%、23.36%、44.06%、42.81%,500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 对其抑制率分别为71.83%、30.82%、51.51%、53.35%, 1 000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN对其抑制率分别为77.13%、 40.58%、65.40%、66.84%。Cd单一污染显著抑制了其 活性(第1天除外)。3种浓度AHTN与Cd复合污染 均在20d时达到抑制率的最大值,表明复合污染在 20d时对蔗糖酶毒性最大。

对于土壤蔗糖酶,AHTN与Cd复合污染与AHTN 单一污染作用效果相似,即在第1天促进蔗糖酶活 性,在其他时间抑制蔗糖酶活性。AHTN与Cd复合 污染对土壤蔗糖酶抑制率大于AHTN单一污染(第1 天除外)。

#### 2.3 AHTN与Cd复合污染对土壤微生物的联合效应

如表1所示,AHTN与Cd复合污染对土壤中细菌 抑制率的实测值 P(T)显著低于预测值 P(E)(P< 0.05),说明AHTN与Cd复合污染对土壤细菌联合毒 性效应表现为拮抗作用。

100 mg·kg<sup>-1</sup>和1 000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 与 Cd 复合污 染对土壤中真菌抑制率的实测值 P(T)显著低于预测 值 P(E)(P<0.05),说明 AHTN 与 Cd 复合污染对土壤 真菌联合毒性效应表现为拮抗作用。500 mg· kg<sup>-1</sup>AHTN 与 Cd 复合污染对土壤中真菌抑制率的实 测值 P(T)显著高于预测值 P(E)(P<0.05),说明 AHTN 与 Cd 复合污染对土壤真菌联合毒性效应表现 为协同作用。AHTN 与 Cd 复合污染对土壤中放线菌 抑制率的实测值 P(T)显著低于预测值 P(E)(P<0.05),说明 AHTN 与 Cd 复合污染对土壤的线菌联合 毒性效应表现为拮抗作用(40 d时 500 mg·kg<sup>-1</sup>除外)。

#### 

#### 表1 不同时间下 AHTN 与 Cd 复合污染对土壤微生物数量抑制率预测值和检测值的比较

#### Table 1 Comparison of predicted and detected values of inhibition rate of soil microbial population by AHTN and

# Cd combined pollution under different time

微生物种类 Microorganism specy	处理 Treatment	1 d	20 d	<b>40</b> d	<b>60</b> d	80 d
细菌	AHTN100+Cd10	*(-)	*(-)	(-)	**(-)	(+)
	AHTN500+Cd10	**(-)	**(-)	*(-)	**(-)	(-)
	AHTN1000+Cd10	**(-)	**(-)	*(-)	**(-)	*(-)
真菌	AHTN100+Cd10	(-)	*(-)	(-)	**(-)	*(-)
	AHTN500+Cd10	(+)	**(+)	(+)	**(+)	(-)
	AHTN1000+Cd10	(+)	*(-)	(+)	**(-)	*(-)
放线菌	AHTN100+Cd10	**(-)	(-)	(+)	**(-)	(-)
	AHTN500+Cd10	*(-)	(-)	*(+)	(+)	*(-)
	AHTN1000+Cd10	**(-)	(+)	(-)	(-)	*(-)

注:\*表示P<0.05;\*\*表示P<0.01;"+"表示协同作用;"-"表示拮抗作用。下同。

Note:\* means P<0.05; \*\* means P<0.01; "+" means synergistic; "-" means antagonistic. The same below.

#### 表2 不同时间下 AHTN 与 Cd 复合污染对土壤酶活性抑制率预测值和检测值的比较

Table 2 Comparison of predicted and detected values of soil enzyme activity inhibition rate by AHTN and

Cd combined pollution under different time

土壤酶种类 Soil enzyme specy	处理 Treatment	1 d	20 d	40 d	<b>60</b> d	80 d
脲酶	AHTN100+Cd10	**(-)	(-)	**(+)	**(+)	*(+)
	AHTN500+Cd10	**(-)	**(+)	*(+)	**(+)	(+)
	AHTN1000+Cd10	**(-)	**(+)	**(+)	*(+)	*(+)
酸性磷酸酶	AHTN100+Cd10	*(+)	(+)	*(+)	**(+)	*(-)
	AHTN500+Cd10	**(-)	**(+)	**(+)	**(+)	**(-)
	AHTN1000+Cd10	(-)	**(+)	*(+)	**(+)	**(-)
蔗糖酶	AHTN100+Cd10	**(+)	*(-)	*(-)	**(-)	**(-)
	AHTN500+Cd10	**(+)	(+)	(-)	**(-)	**(-)
	AHTN1000+Cd10	**(+)	**(+)	**(-)	*(-)	**(-)

# 2.4 AHTN与Cd复合污染对土壤酶活性的联合效应

如表2所示,AHTN与Cd复合污染在第1天时对 土壤脲酶活性抑制率的实测值P(T)显著低于预测值 P(E)(P<0.05),20d以后土壤脲酶活性抑制率的实测 值P(T)均显著高于预测值P(E)(P<0.05)。通过比 较预测值P(E)与实测值P(T),表明AHTN与Cd复合 污染对土壤脲酶活性联合毒性效应在第1天表现为 拮抗作用,20 d以后均为协同作用。

对土壤酸性磷酸酶,在前 60 d,AHTN 与 Cd 复合 污染对其抑制率的实测值 P(T)显著高于预测值 P(E)(P<0.05)(第1天除外);80 d时,实测值 P(T)均显著 低于预测值 P(E)(P<0.05)。根据预测值 P(E)与实 测值 P(T)比较,可知 AHTN 与 Cd 复合污染对土壤酸 性磷酸酶活性联合毒性效应 60 d前表现为协同作用 (第1天除外),在 80 d表现为拮抗作用。 在1d时,100、500、1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复 合污染对土壤蔗糖酶活性抑制率的实测值P(T)显著 高于预测值P(E)(P<0.05),表明AHTN与Cd复合污 染对土壤蔗糖酶活性联合毒性效应表现为协同作用, 在40、60 d和80 d时,对土壤蔗糖酶活性抑制率的实 测值P(T)显著低于预测值P(E)(P<0.05),表明 AHTN与Cd复合污染对土壤蔗糖酶活性联合毒性效 应表现为拮抗作用。比较预测值P(E)与实测值P(T), 可知AHTN与Cd复合污染对土壤蔗糖酶活性联合毒 性效应在第1天表现为协同作用,40 d后转变为拮抗 作用。

# 3 讨论

本研究中,100 mg·kg<sup>-1</sup>和500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN单一 污染及其与Cd复合污染促进土壤中的细菌和真菌生

长。其原因是微生物在 AHTN 与 Cd 暴露下,逐渐适 应了外来污染物,在此条件下,微生物具有降解有机 物的能力,通过与氧结合一系列催化反应,形成环氧 化合物,再水解转化为微生物自身个体生长所需的碳 源和能量[18]。在此"刺激"后,酶活性增加,促进微生 物生长发育。当环境中AHTN浓度过高时,即使微生 物能够通过自身调节来适应和抵抗AHTN的胁迫,但 其各方面生长代谢过程均受到影响,生理生命活动受 到抑制,导致其数量下降<sup>[19]</sup>。本研究中AHTN单一及 其与Cd复合污染显著抑制了土壤放线菌生长,与佳 乐麝香和Cd单一、复合处理对土壤放线菌作用一致, AHTN 与佳乐麝香结构相似,其存在可能降低放线菌 体内某种转运体的活性,使有害物质贮存在放线菌体 内,抑制放线菌生长[20]。

沈国清等[21]研究发现,菲和Cd复合污染抑制了 蔗糖酶的活性,闫雷等<sup>[22]</sup>研究发现土霉素与Cd复合 污染也抑制了蔗糖酶活性,与本试验结果相似。本研 究中,AHTN单一及与Cd复合污染在第1天均促进了 土壤蔗糖酶活性,长期暴露后抑制了其活性。Cd能 刺激土壤蔗糖酶,加速底物的配位结合,进而加快了 酶催化反应,促进蔗糖酶活性,随暴露时间延长,Cd 可能占据酶分子活性中心或结合酶分子的活性部位, 导致酶活性降低<sup>[23]</sup>。此外 AHTN 是一种典型疏水有 机物,与多环芳烃具有一定的相似性,能够以被动扩 散的方式通过植物细胞膜,且有助于重金属Cd进入 细胞,提高了Cd的生物有效性。此外,蔗糖酶能提高 易溶性营养物质在土壤中的含量,AHTN因其疏水性 导致溶解较少,土壤对AHTN的吸附固定增加,蔗糖 酶活性受到抑制<sup>[24]</sup>。律泽<sup>[25]</sup>研究发现佳乐麝香与Cd 复合污染在前2周促进土壤脲酶活性,之后转为显著 抑制作用,与本试验结果相似。本研究中AHTN单一 及与Cd复合污染显著抑制土壤脲酶活性。刘慧君 等四研究发现酰胺类除草剂使脲酶活性部位构象发 生变化,二者发生结合作用,形成一个结合位点,抑制 了脲酶的活性,AHTN与脲酶分子之间可能也存在此 种作用机制。WANG等凹研究了丁草胺与镉复合污 染对土壤磷酸酶的影响,发现两种污染物对土壤酸性 磷酸酶的活性影响取决于土壤中两种污染物浓度配 比,与本试验结果相似,不同浓度的AHTN与Cd复合 污染对土壤酸性磷酸酶表现出不同的作用,100、500 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN单一污染和 100 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN与Cd复 合污染促进土壤酸性磷酸酶活性,500 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN 与Cd复合污染与1000 mg·kg<sup>-1</sup>AHTN单一污染对其 1727

活性由促进转为抑制,1000 mg·kg<sup>-1</sup> AHTN与Cd复合 污染抑制其酶活性。该结果符合周启星等[28]提出的复 合污染作用机理与污染物的种类及浓度组合、污染物 的结构与性质、污染时间以及生物种类等多种因素直 接相关的理论。

AHTN 与Cd复合污染对土壤脲酶、酸性磷酸酶 和蔗糖酶联合毒性效应结果不一致的原因可能是受 试生物的细胞结构存在差异,对各类化合物的敏感性 不同,脲酶、酸性磷酸酶和蔗糖酶分别对土壤中氮、有 机磷、有机质的迁移转化敏感,应对长期暴露的污染 物所产生的生理活动也不同,且耐受性存在差别,因 此复合污染后对其联合毒性作用也不尽相同[29]。本 研究中,AHTN与Cd复合污染对土壤脲酶活性联合 毒性效应在第1天表现为拮抗作用,20d以后均为协 同作用,该结果与陈芳等<sup>[30]</sup>的研究结果一致,其原因 可能是在暴露初期,有机物和重金属相结合,降低了 重金属在环境中毒性,表现为拮抗作用,随着暴露时 间延长,二者复合污染破坏了生物的细胞结构[25], AHTN 与佳乐麝香具有相似结构,均为脂溶性化合 物,能扰乱细胞膜功能,使其逐渐丧失抵御外来物质 的能力[30],使污染物更容易进入微生物细胞,抑制微 生物的生长,并且AHTN还会扰乱生物体的防御系 统,进而增强重金属镉的毒性。此外,AHTN能够抑 制外向转运蛋白,降低细胞对外源化学物质的抵御能 力,继而加剧外源物质的毒性[31],使联合毒性效应转 变为协同作用。胡著邦等<sup>[32]</sup>对Cd与苄嘧磺隆复合污 染的研究结果表明,随着暴露时间的延长,微生物生 物量氮先上升后下降,联合效应由协同作用转变为拮 抗作用, MOREAU等[33]认为, 菲对Zn的拮抗作用可能 是因为菲改变了溶酶体膜的稳定性及功能,从而影响 了溶酶体解除Zn毒害的作用。本研究酸性磷酸酶和 蔗糖酶联合毒性也由协同作用转变为拮抗作用,可能 是AHTN也产生了相似作用,激活某种物质影响了 Cd的毒害作用。因此对于本研究中AHTN和Cd复合 污染联合毒性效应机理有待进一步的研究。

# 4 结论

(1)平板菌落计数结果表明,AHTN与Cd单一、 复合污染对土壤中细菌表现为显著抑制作用;随着 AHTN浓度增加,对真菌由促进作用转变抑制作用; 对土壤中放线菌均表现为显著抑制作用。AHTN与 Cd 复合污染对放线菌的抑制率大于其对应浓度 AHTN单一污染(第1天除外)。荧光 qPCR 法结果表

明,细菌和真菌拷贝数随 AHTN 浓度升高而增加, 放线菌拷贝数随 AHTN 浓度升高而减少,对放线菌表 现出显著抑制作用。放线菌的平板菌落计数与荧光 qPCR 法得出的结论一致,即放线菌对 AHTN 敏感, AHTN 对放线菌具有毒害作用,可将放线菌作为 AHTN 污染的早期预警指标。

(2)AHTN单一及与Cd复合污染对土壤脲酶活 性均表现为显著抑制作用(第1天除外);随着AHTN 浓度增加,对酸性磷酸酶活性从促进作用转变为抑制 作用;在第1天对蔗糖酶表现为促进作用,之后均转 为抑制作用。AHTN与Cd复合污染对土壤蔗糖酶抑 制率大于AHTN单一污染(第1天除外)。

(3)通过比较预测值与实测值,发现AHTN与Cd 复合污染联合毒性效应对土壤细菌和放线菌数量表现 为拮抗作用,对真菌数量随着AHTN浓度升高表现为拮 抗-协同-拮抗现象,对土壤脲酶活性在第1天时表现为 拮抗作用,20d以后均为协同作用;对土壤酸性磷酸酶活 性在60d前表现为协同作用(第1天除外),在终点80d 表现为拮抗作用;对土壤蔗糖酶活性第1天表现为协同 作用,40d之后均为拮抗作用。

#### 参考文献:

- [1] 桂红艳, 曾祥英, 盛国英, 等. 污水处理厂污泥中多环麝香的初步研究[J]. 环境科学学报, 2006, 26(9):1576-1580. GUI H Y, ZENG X Y, SHENG G Y, et al. Preliminary study on polycyclic musks in sewage sludge[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2006, 26(9):1576-1580.
- [2] ZENG X Y, CAO S X, ZHANG D L, et al. Levels and distribution of synthetic musks and polycyclic aromatic hydrocarbons in sludge collected from Guangdong Province[J]. *Journal of Environmental Science* and Health(Part A), 2012, 47(3):389–397.
- [3] BESTER K. Retention characteristics and balance assessment for two polycyclic musk fragrances (HHCB and AHTN) in a typical German sewage treatment plant[J]. *Chemosphere*, 2004, 57(8):863–870.
- [4] REINER J L, BERSET J D, KANNAN K. Mass flow of polycyclic musks in two wastewater treatment plants[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2007, 52(4):451-457.
- [5] BITSCH N, DUDAS C, KORNER W, et al. Estrogenic activity of musk fragrances detected by the E-screen assay using human MCF-7 cells
  [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2002, 43 (3):257-264.
- [6] SEINEN W, LEMMEN J G, PIETERS R H H, et al. AHTN and HHCB show weak estrogenic—but no uterotrophic activity[J]. *Toxicology letters*, 1999, 111(1/2):161–168.
- [7] XIANG H, SUN Q, WANG W, et al. Study of conformational and functional changes caused by binding of environmental pollutant tonalide to human serum albumin[J]. *Chemosphere*, 2021, 270:129431.
- [8] 李钰, 王轲, 朱琳, 等. 吐纳麝香长期暴露下蚯蚓体内金属硫蛋白和

### 农业环境科学学报 第41卷第8期

谷胱甘肽变化[J]. 环境科学与技术, 2012, 35(3):59-62, 89. LIY, WANG K, ZHU L, et al. Metallothionein and glutathionein contents variation in *Eisenia fetida* exposed by AHTN in long-term condition[J]. *Environmental Science and Technology*, 2012, 35(3):59-62, 89.

- [9] PAROLINI M, MAGNI S, TRAVERSI I, et al. Environmentally relevant concentrations of galaxolide (HHCB) and tonalide (AHTN) induced oxidative and genetic damage in dreissena polymorpha[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 285:1–10.
- [10] RAI P K, LEE S S, ZHANG M, et al. Heavy metals in food crops: Health risks, fate, mechanisms, and management[J]. *Environment International*, 2019, 125:365-385.
- [11] 耿源濛,张传兵,张勇,等.我国城市污泥中重金属的赋存形态与 生态风险评价[J]. 环境科学, 2021, 42(10):4834-4843. GENG Y M, ZHANG C B, ZHANG Y, et al. Speciation and ecological risk assessment of heavy metal (loid)s in the municipal sewage sludge of China[J]. Environmental Science, 2021, 42(10):4834-4843.
- [12] YANG S S, FENG W Z, WANG S Q, et al. Farmland heavy metals can migrate to deep soil at a regional scale: A case study on a wastewater-irrigated area in China[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 281: 116977.
- [13] CHEN C H, ZHOU Q X, CAI Z, et al. Effects of soil polycyclic musk and cadmium on pollutant uptake and biochemical responses of wheat (*Triticum aestivum*)[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2010, 59(4):564–573.
- [14] WANG W, ZHANG Y, WANG X, et al. Effect of joint exposure to polycyclic musk and cadmium on glutathione and metallothionein in *Eisenia foetida*[J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2011 (4): 396– 402.
- [15] 滕应, 骆永明, 李振高. 土壤重金属复合污染对脲酶、磷酸酶及脱 氢酶的影响[J]. 中国环境科学, 2008(2):147-152. TENG Y, LUO Y M, LI Z G. Kinetics characters of soil urease, acid phosphotase and dehydrogenase activities in soil contaminated with mixed heavy metals [J]. China Environmental Science, 2008(2):147-152.
- [16] 许光辉,郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京:北京农业出版社, 1986: 103-104, 108-110. XUGH, ZHENGHY. Soil microbiological analysis methods manual[M]. Beijing: Beijing Agriculture Press, 1986: 103-104, 108-110.
- [17] 关松荫. 土壤酶及其研究方法[M]. 北京:中国农业出版社, 1986, 274-276, 294-297, 312-313. GUAN S Y. Soil enzymes and their research methods[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1986; 274-276, 294-297, 312-313.
- [18] 刘志培, 刘双江. 我国污染土壤生物修复技术的发展及现状[J]. 生物工程学报, 2015, 31(6):901-916. LIU Z P, LIU S J. Development of bioremediation in China: A review[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2015, 31(6):901-916.
- [19] BARAN S, BIELIŃSKA J E, OLESZCZUK P. Enzymatic activity in an airfield soil polluted with polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *Geoderma*, 2004, 118(3):221-232.
- [20] 律泽, 胡筱敏, 安婧, 等. 佳乐麝香和镉复合污染对土壤中放线菌数量的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(6):1501-1507. LÜ Z, HU X M, AN J, et al. Joint effects of galaxolide and cadmium on actinomy-

cetes quantities in soils[J]. Chinese Journal of Ecology, 2014, 33(6): 1501–1507.

- [21] 沈国清, 陆贻通, 洪静波, 等. 菲和镉复合污染对土壤微生物的生态毒理效应[J]. 环境化学, 2005, 24(6):662-665. SHEN G Q, LU Y T, HONG J B, et al. Ecotoxicological effect of phenanthrene and Cd combined pollution on soil microbe[J]. Environmental Chemistry, 2005, 24(6):662-665.
- [22] 闫雷, 毕世欣, 赵启慧, 等. 土霉素及镉污染对土壤呼吸及酶活性的影响[J]. 水土保持通报, 2014, 34(6):101-108. YAN L, BIS X, ZHAO Q H, et al. Effects of oxytetracycline and Cd pollution on soil respiration and enzyme activity[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2014, 34(6):101-108.
- [23] 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(2):139-142. HE W X, ZHU M E, ZHANG Y P. Recent advance in relationship between soil enzymes and heavy metals[J]. Soil and Environmental Sciences, 2000(2):139-142.
- [24] 赵芷玉,律泽,魏炜,等. 佳乐麝香与镉污染对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(8):1738-1745. ZHAO ZY, LÜZ, WEIW, et al. Joint effects of galaxolide and cadmium on the quantity of soil microorganisms and enzyme activities[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(8):1738-1745.
- [25] 律泽. 佳乐麝香与镉复合污染对土壤微生物生态效应的影响[D]. 哈尔滨:东北大学, 2017. LÜ Z. The influence of HHCB and Cd co-contaminated on the ecological effect of microbes in soil[D]. Harbin:Northeastern University, 2017.
- [26] 刘惠君, 刘维屏. 酰胺类除草剂与脲酶的相互作用机制研究[J]. 浙 江大学学报(农业与生命科学版), 2004, 30(2):210-214. LIU H J, LIU W P. The reaction mechanism of acetanilide herbicides with urease[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 2004, 30(2):210-214
- [27] WANG J H, DING H, LU Y T, et al. Combined effects of cadmium

and butachlor on microbial activities and community DNA in a paddy soil[J]. *Pedosphere*, 2009, 19(5):623-630.

- [28] 周启星, 程云, 张倩茹, 等. 复合污染生态毒理效应的定量关系分析[J]. 中国科学(C辑:生命科学), 2003, 33(6):566-573. ZHOU Q X, CHENG Y, ZHANG Q R, et al. Quantitative relationship analysis of ecotoxicological effects of compound pollution[J]. Science in China (Series C), 2003, 33(6):566-573.
- [29] 邓铁柱,苏丽敏,袁星.乙草胺与Cu,Zn对发光菌和斑马鱼胚胎的 联合毒性效应[J].环境化学,2007,26(6):741-744. DENGTZ, SULM,YUANX. Joint toxicity of acetochlor and Cu, Zn to photobac terium phosphoreum and zebrafish(*B. rerio*) embryos[J]. *Environmental Chemistry*, 2007, 26(6):741-744.
- [30] 陈芳, 周启星. 城市土-水界面污染流条件下加乐麝香和镉对鲫鱼的联合毒性[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2009, 35(2): 228-236. CHEN F, ZHOU Q X. Joint toxic effects of galaxolide and cadmium on *Carassius auratus* under polluting flow conditions containing soil-water interfaces from urban areas[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2009, 35(2):228-236.
- [31] LUCKENBACH T, CORSI I, EPEL D. Fatal attraction: Synthetic musk fragrances compromise multixenobiotic defense systems in mussels[J]. Marine Environmental Research, 2004, 58:215-219.
- [32] 胡著邦, 汪海珍, 吴建军, 等. 镉与苄嘧磺隆除草剂单一污染和复合污染土壤的微生物生态效应[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2005, 31(2): 36-41. HU Z B, WANG H Z, WU J J, et al. Ecological effects of both single and combined pollution of Cd and bensulfuron methyl on soil microorganisms[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 2005, 31(2): 36-41.
- [33] MOREAU C J, KLERKS P L, HAAS C N. Interaction between phenanthrene and zinc in their toxicity to the sheepshead minnow (*Cyprin*odon variegatus) [J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1999:251-257.

(责任编辑:叶飞)