

李明珠, 廖强, 董远鹏, 等. 铜胁迫下磺胺嘧啶对土壤呼吸及酶活性影响分析[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(9): 2121–2128.

LI Ming-zhu, LIAO Qiang, DONG Yuan-peng, et al. Effect of sulfadiazine on soil respiration and enzyme activity under copper stress[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(9): 2121–2128.

铜胁迫下磺胺嘧啶对土壤呼吸及酶活性影响分析

李明珠¹, 廖强¹, 董远鹏¹, 刘喜娟¹, 孟子霖², 李梦红², 刘爱菊^{2*}

(1. 山东理工大学农业工程与食品科学学院, 山东 淄博 255091; 2. 山东理工大学资源与环境工程学院, 山东 淄博 255091)

摘要:为探究铜污染胁迫下磺胺嘧啶对土壤呼吸及酶活性的影响, 本文选取环境中检出率较高的典型抗生素磺胺嘧啶(Sulfadiazine, SDZ)和重金属铜(Cu)为研究对象, 设SDZ5(5 mg·kg⁻¹)、SDZ10(10 mg·kg⁻¹)及SDZ5+Cu200(5 mg·kg⁻¹ SDZ+200 mg·kg⁻¹ Cu)、SDZ5+Cu500(5 mg·kg⁻¹ SDZ+500 mg·kg⁻¹ Cu)、SDZ10+Cu200(10 mg·kg⁻¹ SDZ+200 mg·kg⁻¹ Cu)、SDZ10+Cu500(10 mg·kg⁻¹ SDZ+500 mg·kg⁻¹ Cu) 6个处理, 分别采用密闭法和酶试剂盒法测定SDZ单一及其与Cu复合污染处理下土壤呼吸作用及土壤酶活性的变化情况。结果表明, 在试验设计浓度下, 培养第7 d时, SDZ单一污染对土壤呼吸作用有明显的促进作用, 而Cu的加入进一步促进了土壤的呼吸作用; 但随着培养时间的延长, 各污染处理的促进作用逐渐减弱, 在培养第28 d时又恢复至对照水平。土壤脱氢酶对SDZ单一及其Cu复合污染较为敏感, 在整个试验培养期内, 各污染处理中其活性均受到了显著的抑制($P < 0.05$)。土壤磷酸酶对SDZ污染胁迫存在一定的耐受性和滞后性, 其中, 5 mg·kg⁻¹ SDZ处理对土壤磷酸酶活性未产生显著的影响, 10 mg·kg⁻¹ SDZ仅在培养的第14、28 d对土壤磷酸酶产生显著的抑制作用; 但SDZ和Cu复合污染对土壤磷酸酶则产生了显著的抑制作用。对于土壤脲酶, 5 mg·kg⁻¹ SDZ在培养前期无显著影响, 培养14 d以后则表现显著的刺激作用; 10 mg·kg⁻¹ SDZ除在第7 d有明显刺激作用外对土壤脲酶并未产生显著影响, 且200 mg·kg⁻¹ Cu复合添加并未改变SDZ对土壤脲酶的影响, 但其与500 mg·kg⁻¹ Cu复合污染在培养7、14 d和28 d对土壤脲酶则产生了显著的抑制作用。5 mg·kg⁻¹ SDZ对β-葡萄糖苷酶存在显著的刺激作用, 但SDZ与500 mg·kg⁻¹ Cu复合污染则对β-葡萄糖苷酶产生显著的抑制作用。本研究表明, 土壤呼吸对SDZ单一及其与Cu复合污染胁迫响应与污染物浓度及暴露时间密切相关; 不同土壤酶对SDZ单一及其与Cu复合污染的响应存在较大差异, 土壤脲酶对各污染处理表现出较强的耐受性; 但相比之下, 脱氢酶对SDZ单一及与Cu复合污染较敏感, 可以作为评价土壤SDZ单一及与Cu复合污染程度的敏感性指标, 而土壤磷酸酶和β-葡萄糖苷酶则仅对SDZ与Cu复合污染较为敏感。

关键词:磺胺嘧啶; 铜; 土壤酶活性; 土壤呼吸

中图分类号: S154.2 文献标志码: A 文章编号: 1672-2043(2019)09-2121-08 doi:10.11654/jaes.2019-0044

Effect of sulfadiazine on soil respiration and enzyme activity under copper stress

LI Ming-zhu¹, LIAO Qiang¹, DONG Yuan-peng¹, LIU Xi-juan¹, MENG Zi-lin², LI Meng-hong², LIU Ai-ju^{2*}

(1. School of Agricultural Engineering and Food Science, Shandong University of Technology, Zibo 255091, China; 2. School of Resources and Environment Engineering, Shandong University of Technology, Zibo 255091, China)

Abstract: In this study, sulfadiazine(SDZ) and copper(Cu) were chosen as typical pollutants to investigate their combined effects on soil microbial respiration and soil enzyme activities. The following six soil contamination treatments were established: SDZ5(5 mg·kg⁻¹), SDZ10(10 mg·kg⁻¹), SDZ5+Cu200(5 mg·kg⁻¹ SDZ and 200 mg·kg⁻¹ Cu), SDZ5+Cu500(5 mg·kg⁻¹ SDZ and 500 mg·kg⁻¹ Cu), SDZ10+Cu200(10 mg·kg⁻¹ SDZ and 200 mg·kg⁻¹ Cu), and SDZ10+Cu500(10 mg·kg⁻¹ SDZ and 500 mg·kg⁻¹ Cu). SDZ significantly promoted soil respiration at 7 days of incubation, and copper co-addition significantly strengthened this effect, which, however, gradually weakened and returned to the control level at the 28th day of incubation. Moreover, throughout the incubation period, soil dehydrogenase activity was strongly

收稿日期: 2019-01-11 录用日期: 2019-05-05

作者简介: 李明珠(1994—), 女, 山西晋城人, 硕士研究生, 主要从事土壤污染生态毒理学研究。E-mail: 16503060362@stumail.sdut.edu.cn

*通信作者: 刘爱菊 E-mail: aijvliu@sdut.edu.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目(41671322, 41771348); 山东省自然科学基金项目(ZR2015DM010); 校城融合支持计划(2016ZBXC102)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(41671322, 41771348); The Natural Science Foundation of Shandong Province(ZR2015DM010); SDUT & Zibo City Integration Development Project(2016ZBXC102)

($P < 0.05$) inhibited by all of the contamination treatments, including SDZ single amendments and co-addition of Cu. Soil phosphatase activity showed a certain degree of tolerance and hysteresis to SDZ pollution, as there was no significant effect of $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ on soil phosphatase activity, and $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ induced significant inhibition only after 14~28 days of incubation; however, the combined pollution of SDZ and Cu resulted in significant ($P < 0.05$) inhibition on soil phosphatase throughout the experiments. In contrast to dehydrogenase and phosphatase, urease activity was not significantly influenced by the treatments SDZ5 and SDZ5+Cu200, and only inhibited by treatment with SDZ10 on the 7th day of incubation and by treatment with SDZ along with $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu at the 7th, 14th, and 28th day of incubation. Addition of $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ significantly stimulated β -G-glucosidase activity, which was greatly inhibited by treatment with SDZ and $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu. Therefore, it could be concluded that the response of soil respiration to SDZ and its co-pollution with Cu was closely related to the concentration of the pollutants and exposure time. Further, soil enzymes showed different responses to SDZ and its co-pollution with Cu, which were greatly affected by the amounts of the pollutants. In contrast, dehydrogenase was more sensitive to SDZ single and Cu + SDZ combined pollution, which could be used as an indicator to evaluate these types of contaminants. However, soil phosphatase and β -G-glucosidase were only sensitive to the combined pollution with SDZ and heavy metals.

Keywords: sulfadiazine; Cu; soil enzyme activity; soil respiration

长期以来,抗生素和Cu、Zn等微量元素作为饲料添加剂被广泛应用于畜禽养殖;然而,动物对这些物质的利用率较低,导致它们大部分随粪尿排出体外,并最终通过各种途径进入土壤,使得土壤中的抗生素与重金属的复合污染问题日趋凸显^[1-2]。

土壤微生物及其酶活性是维持土壤微生物活性的重要组分,是反应土壤质量和健康状况的重要生物学指标^[3-4]。研究表明,土壤呼吸作用能够整体反映出所含微生物的总活性,是判定土壤系统新陈代谢能力的一个重要环节;土壤酶活性在土壤物质循环和能量转化过程中具有重要作用,其中,磷酸酶可以促进土壤有机磷化合物的分解,催化土壤有机磷化合物矿化,脲酶能够调节土壤中的氮素转化, β -葡萄糖苷酶是微生物将纤维素分解为葡萄糖的限制酶,而土壤脱氢酶属于氧化还原酶系,可以反映土壤微生物新陈代谢的整体活性^[4-6]。同时,与其他土壤指标相比,土壤呼吸及其酶活性对于环境污染物的响应更为敏感,能够更快地对土壤生态系统和质量变化做出预警^[3]。因此,利用土壤呼吸以及酶活性等生物学指标来研究土壤重金属和抗生素等污染物的毒性效应已成为近几年科学家们研究的热点。闫雷等^[7]通过研究土霉素及Cd污染对土壤呼吸及酶活性的影响后发现,土霉素与Cd复合污染对土壤呼吸呈现抑制激活作用,对脲酶主要呈现抑制作用,对磷酸酶活性的影响则出现一定的波动性。刘爱菊等^[8]也研究表明,与磺胺甲基嘧啶单独污染处理相比,在 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu 协同污

染下,土壤呼吸作用和脲酶活性明显增加。

抗生素与重金属复合污染对微生物的影响不仅与污染物浓度相关,也与污染物种类及其暴露时间等密切相关^[9]。目前,更多的研究主要集中在污染更严重、毒性更大的Pb、Cr等重金属上,对于人体必需的微量元素Cu却少有关注,而有研究表明过量的Cu对于生物体也会造成危害;此外,磺胺类抗生素的使用量也在逐年增加,尤其在畜禽养殖方面,已有研究发现畜禽体内及其排泄物中磺胺类抗生素达到了较高水平^[10-11]。同时,探究两种污染物的联合作用对土壤微生物活性的影响,以及在不同胁迫时间下土壤呼吸和酶活性的变化情况研究也鲜有报道。为此,本文以环境中检出率较高的磺胺类抗生素磺胺嘧啶和典型微量元素Cu作为主要污染物,采用室内培养的方法研究了不同培养时间下,污染土壤中微生物呼吸以及酶活性的变化规律,以期开展抗生素与重金属复合污染的环境风险评价和污染防治提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土样采自山东省平度市的荒地中表层0~20 cm的土壤,在40 m×40 m范围内分5点混合采样。采集土壤拣去大块砂砾、动植物残体后,置于阴凉处避光自然风干,过20目筛备用。土壤样品的基本理化性质见表1。

表1 土壤的基本理化性质

Table 1 Physico-chemical properties of the collected soils

土壤 Soil	pH	有机碳 OC/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	阳离子交换量 CEC/ $\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	黏粒含量 Clay/%	总氮 TN/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	总磷 TP/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	速效磷 OP/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Cu/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	Zn/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	SDZ/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
褐土	5.75±1.34	16.50±0.77	21.00±2.90	74.75±3.32	0.89±0.07	5.47±1.14	16.65±2.18	26.32±1.67	73.88±0.21	0

1.2 试验方法

在正式染毒试验前,将风干处理后的供试土壤含水量调节至田间最大持水量的20%,并在 25 ± 2 °C恒温培养箱内预培养7 d。待微生物恢复活性后,分别称取土样200 g(以干土算)于500 mL灭菌塑料瓶中,然后加入不同浓度的CuSO₄和SDZ溶液使土壤中SDZ和Cu²⁺含量分别为0、5、10 mg·kg⁻¹(干土)和0、200、500 mg·kg⁻¹(干土)。为了确定土壤实际污染物浓度与设定浓度的一致性,在染毒平衡完成后对每个处理的土壤样品进行了Cu和SDZ的测定,具体浓度值见表2。同时加入蒸馏水调节各处理土壤的含水量至田间最大持水量的60%,混匀后放入 25 ± 2 °C恒温培养箱内培养,并通过称重法定期往培养瓶中添加蒸馏水补充损失的水分,在培养第1、7、14、28 d和60 d分别取样测定土壤的呼吸作用及磷酸酶、脲酶、脱氢酶、β-葡萄糖苷酶的活性。

1.3 测试方法

土壤基本理化性质测定采用常规分析方法^[12]。其中土壤有机质(OC)用重铬酸钾水合热法;土壤pH采用电极法进行测量;土壤阳离子交换量(CEC)用乙酸铵法测定;黏粒含量用激光粒度仪测定(体积百分数);土壤全氮用开氏消煮法,全磷用酸溶-钼锑抗比色法测定,速效磷采用适用于酸性土壤的盐酸-氟化铵法进行测定。土壤中Cu²⁺含量采用HF-HNO₃-HCl-HClO₄微波消解与ICP-MS测定的方法分析^[13]。土壤中SDZ采用1.0%甲酸-甲醇(7:3, V/V)提取,过0.42 μm滤膜并用液相色谱法测定其含量^[14]。

土壤基础呼吸用密闭法^[15]测定,并参照王凤花等^[16]的研究方法,使用影响率来表示SDZ单一及SDZ与Cu复合污染对土壤呼吸作用的影响,即根据空白与处理滴定盐酸之差计算CO₂释放量,再将结果转化

为每100 g干土释放CO₂的量,mg;各处理与对照比较得影响率的计算公式(1),其中,正值表示刺激或激活,负值表示抑制。采用微池板比色法用酶标仪(F200 PRO, TeCan, 瑞士)测定各处理中土壤脲酶、磷酸酶、β-葡萄糖苷酶和脱氢酶的活性。微量法土壤酶试剂盒购自苏州科铭生物技术有限公司,磷酸酶采用中性磷酸酶试剂盒。

$$\text{影响率} = \frac{\text{处理值} - \text{对照值}}{\text{对照值}} \times 100\% \quad (1)$$

1.4 数据处理

试验数据用Excel 2010进行基本处理,呼吸作用以及酶活性的柱形图采用Origin Pro 8.0完成。利用SPSS 20.0软件对数据进行分析。其中,采用单因素方差分析法对各处理土壤呼吸作用影响率以及土壤酶活性数据的差异进行分析;采用主成分分析(PCA)法,对SDZ单一及其与Cu复合污染处理与土壤酶活性之间的相关性进行分析。

2 结果与分析

2.1 SDZ和Cu对土壤呼吸作用的影响

图1a为5 mg·kg⁻¹ SDZ及其与Cu复合污染处理对土壤呼吸作用的影响,在培养第1 d,各处理土壤呼吸强度略有减弱,但不显著($P>0.05$);在培养第7 d,各处理土壤呼吸作用影响率均有显著增加($P<0.05$);之后,尽管SDZ5+Cu500处理在培养28 d土壤呼吸作用受到显著抑制,但随培养时间的延长,各处理对土壤呼吸作用的影响率均呈现逐渐恢复的趋势。由此可知,5 mg·kg⁻¹ SDZ添加对土壤微生物呼吸代谢具有一个短暂的胁迫过程,且该胁迫作用过程并未因Cu复合添加而发生显著改变;在培养后期,其与500 mg·kg⁻¹ Cu的复合污染处理对土壤微生物呼吸具有一定的抑制作用。图1b为10 mg·kg⁻¹ SDZ及其与Cu复合污染处理对土壤呼吸作用的影响,与5 mg·kg⁻¹ SDZ处理相比,在整个培养期间,10 mg·kg⁻¹ SDZ均未对土壤微生物呼吸产生显著的影响($P<0.05$);对于10 mg·kg⁻¹ SDZ和Cu复合污染处理,在培养第7 d,200 mg·kg⁻¹ Cu复合添加显著加强SDZ对土壤呼吸的促进作用($P<0.05$),500 mg·kg⁻¹ Cu复合污染对土壤微生物呼吸的影响并不显著;但在培养第28 d,10 mg·kg⁻¹ SDZ与500 mg·kg⁻¹ Cu的复合污染处理对土壤微生物呼吸也同样表现出显著的抑制作用。

以上结果分析表明,SDZ单一及其与Cu复合污染对土壤微生物呼吸代谢的影响与其培养时间及添

表2 Cu和SDZ添加及实测浓度

Table 2 Added and measured concentrations of Cu and SDZ

试验样品 Experimental samples	添加SDZ Added rate of SDZ/ mg·kg ⁻¹	测定SDZ Measured concentration of SDZ/ mg·kg ⁻¹	添加Cu Added rate of Cu/ mg·kg ⁻¹	测定Cu Measured concentration of Cu/ mg·kg ⁻¹
CK	0	0	0	25.83
SDZ5	5	5.36	0	23.51
SDZ10	10	9.97	0	21.25
SDZ5+Cu200	5	4.75	200	221.32
SDZ5+Cu500	10	9.63	200	216.49
SDZ10+Cu200	5	4.81	500	514.97
SDZ10+Cu500	10	10.47	500	507.82

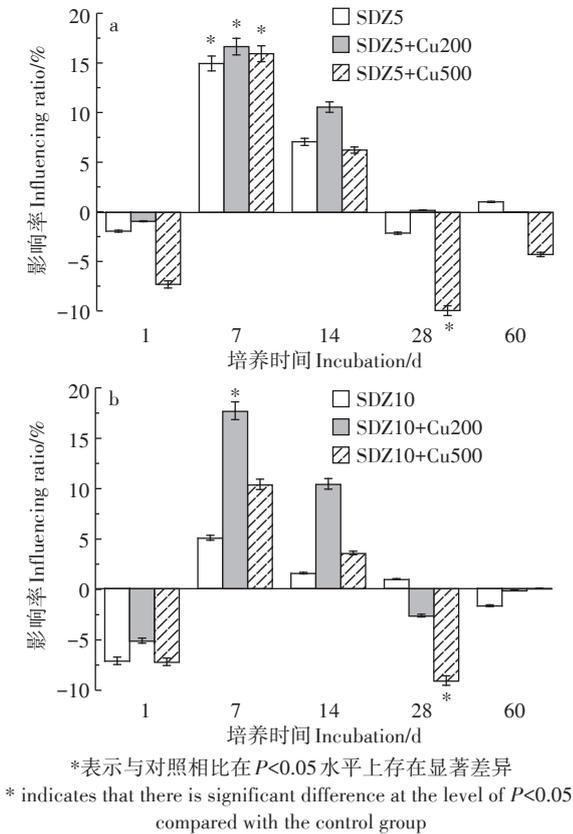


图1 SDZ和Cu对土壤呼吸作用的影响

Figure 1 Effects of SDZ and Cu on soil respiration

加剂量密切相关。即随着培养时间增加,各试验处理对土壤微生物呼吸影响呈现抑制-促进-与对照持平的发展趋势;其中,在培养第7 d呈现显著的促进作用。对于SDZ单一污染处理,5 mg·kg⁻¹添加剂量对土壤微生物呼吸的影响显著大于10 mg·kg⁻¹污染处理。对于SDZ和Cu复合污染处理,在培养前期,Cu复合添加对5 mg·kg⁻¹ SDZ污染处理的土壤微生物呼吸的影响不显著,但可显著加重10 mg·kg⁻¹ SDZ处理对土壤呼吸的影响;在培养后期,SDZ和Cu复合污染对土壤微生物呼吸的影响则主要取决于Cu的添加剂量。

2.2 SDZ和Cu对土壤酶活性的影响

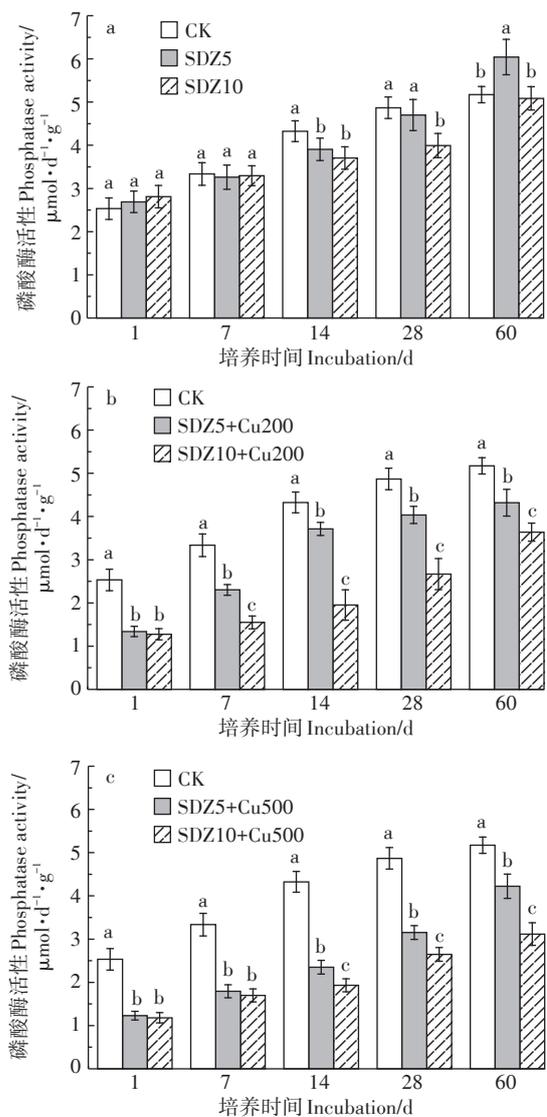
2.2.1 对磷酸酶活性的影响

由图2a可以看出,在培养的前期(第1 d和第7 d),SDZ添加对土壤磷酸酶活性无显著影响($P > 0.05$)。在培养第14 d,10 mg·kg⁻¹ SDZ处理中土壤磷酸酶活性为3.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$,显著低于对照组,表明土壤磷酸酶受到显著抑制($P < 0.05$),且这种抑制作用延续至第28 d。但在培养等60 d,SDZ5和SDZ10处理中土壤磷酸酶的活性分别达到了5.7 $\mu\text{mol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ 和5.1 $\mu\text{mol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$,SDZ5显著高于($P < 0.05$)对照组(5.2 $\mu\text{mol}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$),SDZ10与对照组差异不显著($P >$

0.05);表明随着培养时间延长,SDZ对土壤磷酸酶的毒性作用逐渐减小。

SDZ和Cu复合污染对磷酸酶活性的影响如图2b、图2c所示,与对照组相比,SDZ和Cu复合污染对土壤磷酸酶有显著的抑制作用($P < 0.05$);且在同一SDZ处理浓度下,500 mg·kg⁻¹ Cu复合污染处理对土壤磷酸酶的抑制作用显著大于200 mg·kg⁻¹ Cu复合污染处理,即随着SDZ和Cu的污染程度的加重,二者对土壤磷酸酶的协同抑制作用也逐渐加强(图2b、图2c)。

由上述分析可知,本研究中SDZ对土壤磷酸酶活



不同小写字母表示相同培养时间下处理间差异显著($P < 0.05$)。下同

The different lowercase letters indicate significant differences among treatments at the same incubation time ($P < 0.05$). The same below

图2 SDZ和Cu对土壤磷酸酶活性的影响

Figure 2 Effects of SDZ and Cu on soil phosphatase activity

性的影响不显著,但是其与Cu复合污染可显著抑制土壤磷酸酶活性,表明土壤磷酸酶对二者复合污染具有一定的敏感性。

2.2.2 对脲酶活性的影响

由图3a可知,SDZ添加对土壤脲酶具有显著的促进作用,尤其是在培养7 d之后;并且 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ对土壤脲酶的促进作用显著大于其 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 污染处理。由图3b、图3c可知, $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu与SDZ复合添加对土壤脲酶具有显著的促进作用;而对于 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu与SDZ复合处理,在培养前期(第1 d和7 d)二者对脲酶具有显著的抑制作用,但在培养7 d之后,土壤脲酶活性仅在 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu与 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ复合污染处理中受到显著的抑制,但随着培养时间的增加脲酶活性又逐渐恢复。由此可知,土壤脲酶对SDZ及其与Cu复合污染胁迫不敏感。

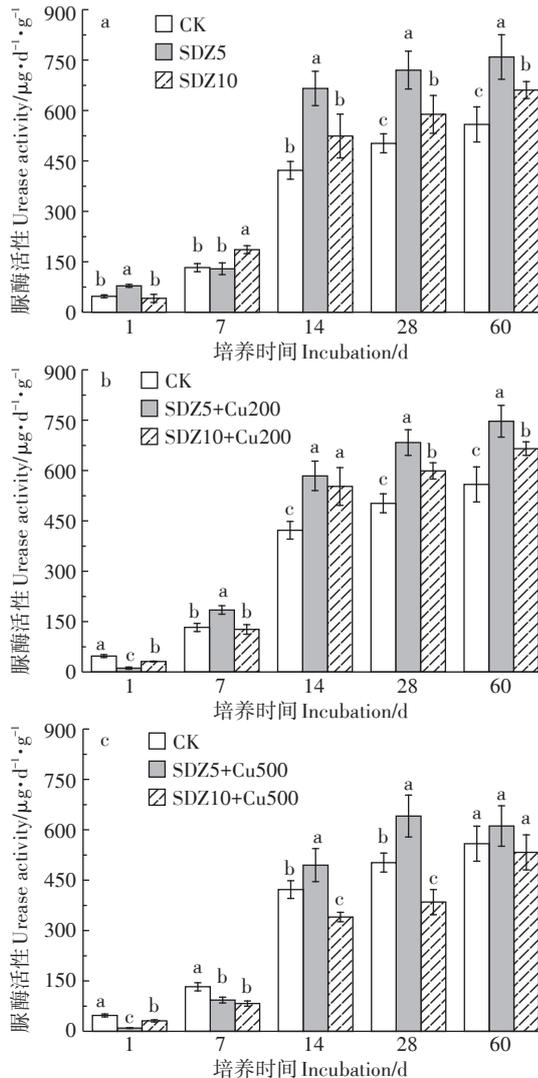


图3 SDZ和Cu对土壤脲酶活性的影响

Figure 3 Effects of SDZ and Cu on soil urease activity

2.2.3 对 β -葡萄糖苷酶活性的影响

图4a为SDZ单一胁迫下 β -葡萄糖苷酶在不同培养时间的响应情况,结果表明,除培养60 d以外,其余培养时间点 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ处理组的 β -葡萄糖苷酶活性均显著高于对照组,呈现显著的促进作用。而 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ处理的 β -葡萄糖苷酶活性均低于对照处理,呈现受抑制的趋势,且培养第7、28 d和60 d,其抑制作用达到了显著水平,表明 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ在培养后期可对 β -葡萄糖苷酶产生显著的抑制作用。

由图4b可知, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ与 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu复合污染处理中 β -葡萄糖苷酶活性显著高于对照处理组,呈现显著的促进作用($P < 0.05$);而 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ SDZ与 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ Cu复合污染处理中 β -葡萄糖苷酶活性则明显低于对照处理,且在污染培养后期(第28 d

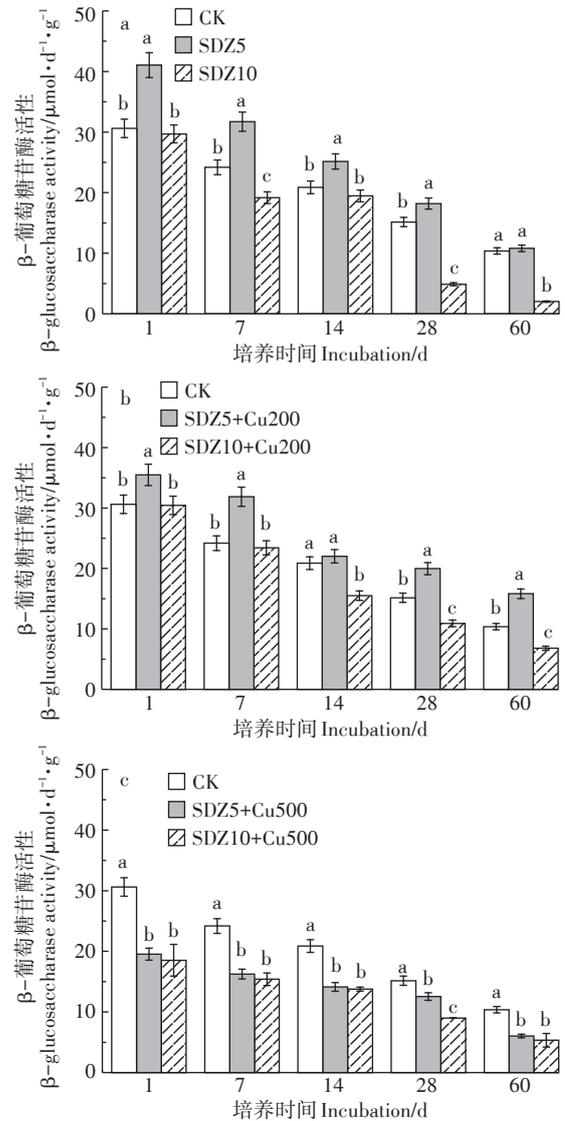


图4 SDZ和Cu对土壤 β -葡萄糖苷酶活性的影响

Figure 4 Effects of SDZ and Cu on soil β -G-glucosidase activity

和60 d)达到显著水平。然而,500 mg·kg⁻¹ Cu与SDZ复合污染处理与对照处理相比,土壤β-葡萄糖苷酶活性均呈现显著降低;且500 mg·kg⁻¹ Cu与10 mg·kg⁻¹ SDZ复合污染处理中土壤酶活性降低更为明显(图4c)。表明高剂量SDZ和Cu复合污染组合可对土壤β-葡萄糖苷酶产生显著的抑制作用。

2.2.4 SDZ和Cu对脱氢酶活性的影响

SDZ单一污染对土壤脱氢酶活性的影响如图5a所示,除5 mg·kg⁻¹ SDZ处理组在培养的第14 d土壤脱氢酶活性显著高于对照组外,SDZ其余各处理在整个培养期间均对土壤脱氢酶产生显著的抑制作用($P < 0.05$),且这种抑制程度随着SDZ污染浓度的升高而增加,表明土壤脱氢酶对SDZ的污染较为敏感。对于SDZ与Cu复合污染处理,与5 mg·kg⁻¹ SDZ单一污染

处理相比,200 mg·kg⁻¹ Cu的添加并未改变其对土壤脱氢酶的影响(图5b);而500 mg·kg⁻¹ Cu与SDZ复合污染对土壤脱氢酶产生了较为明显的协同抑制作用(图5c);尤其在培养的第1 d和60 d,10 mg·kg⁻¹ SDZ和500 mg kg⁻¹ Cu处理中土壤脱氢酶活性较对照组相比降低了59.95%。

以上分析可知,在试验设计浓度下,除土壤脱氢酶外,SDZ单一污染基本不会对其他土壤功能酶产生明显的影响;但Cu的复合添加则显著抑制土壤磷酸酶、β-葡萄糖苷酶以及土壤脱氢酶的活性。这表明SDZ与Cu复合污染对土壤生态功能的影响显著大于SDZ单一污染,应给予充分的重视。

3 讨论

3.1 SDZ和Cu对土壤呼吸的影响

本研究通过定期测定各处理土壤CO₂的释放量,探究了Cu和SDZ胁迫下土壤呼吸作用的变化情况。结果表明,在SDZ单一及与Cu复合污染下,各处理土壤呼吸作用在整个培养期均主要呈现出抑制-促进-抑制的发展趋势,且SDZ5、SDZ5+Cu200、SDZ5+Cu500和SDZ10+Cu200四组处理的呼吸作用均在培养第7 d时呈激活状态,并达到显著水平($P < 0.05$)。这与已有的研究结果相符,王凤花等^[16]通过研究三氯生与Cd单一及复合污染对土壤呼吸的影响后发现,三氯生与Cd单一及复合污染在培养第7、14、28 d和56 d时,土壤呼吸呈现激活、抑制、抑制和激活的生态效应。Usman等^[17]也在研究了Cd对土壤呼吸作用的影响后发现,在Cd胁迫的整个培养阶段,土壤呼吸作用主要呈激活-抑制的发展趋势,且在培养第7 d时土壤呼吸作用显著增强。这可能是因为在污染胁迫前期(7 d),土壤微生物虽然在Cu和SDZ的胁迫下受到抑制,但土壤可利用碳较多,为土壤微生物的生长提供了能量来源,从而让土壤呼吸作用在整体上表现为激活状态。不过,随着培养时间的增加,土壤可利用碳被消耗殆尽,一部分微生物在Cu和SDZ的毒性作用下被抑制或杀死,因此,在培养中、后期各处理土壤呼吸作用主要表现为抑制状态。此外,本研究中,在培养第60 d时,各处理土壤呼吸速率受到的抑制作用有减小的趋势,且在5 mg·kg⁻¹ SDZ处理中还表现为轻微的促进作用,这可能是由于长时间的SDZ和Cu胁迫,导致土壤中产生了对于两种污染物的耐药菌株,同时,前期被杀死的微生物在后期被分解利用,又为这部分耐药菌株的生长提供了物质基础,由此增

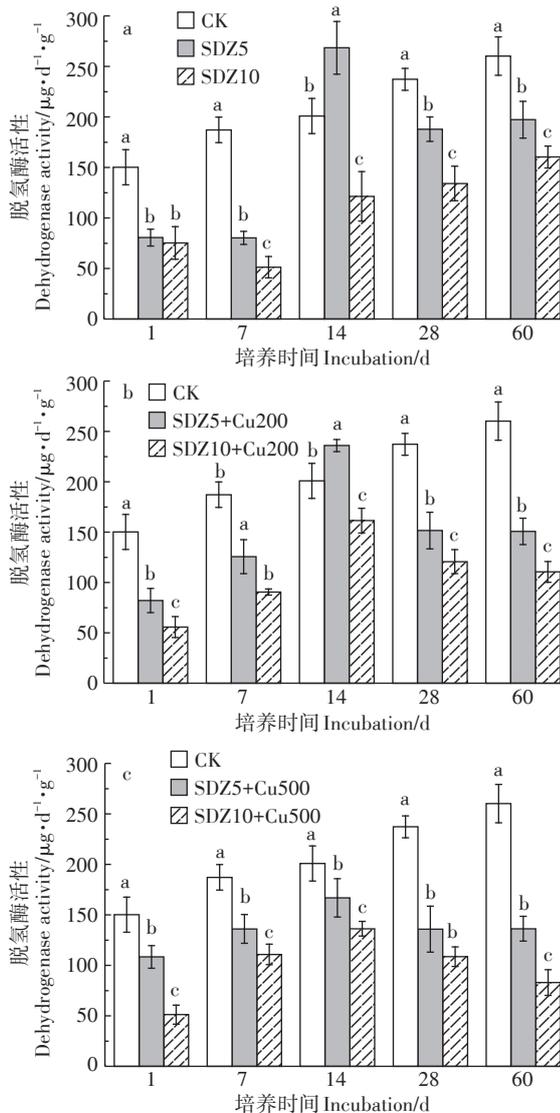


图5 SDZ和Cu对土壤脱氢酶活性的影响

Figure 5 Effects of SDZ and Cu on soil dehydrogenase activity

强了土壤呼吸作用^[19]。

3.2 SDZ和Cu与土壤酶活性的相关性分析

抗生素单一及其与重金属复合污染对土壤酶的影响也一直是土壤污染生态效应关注的热点之一。在本研究中,SDZ单一及其与Cu复合污染胁迫的效应与土壤酶种类、污染物浓度及其暴露时间密切相关^[10]。为此,本文采用主成分分析(PCA)法,对SDZ单一及其与Cu复合污染处理和土壤酶活性之间的相关性进行了分析,以系统分析SDZ与Cu复合污染联合作用效应以及各土壤酶对不同污染处理的敏感性差异,结果如图6所示。

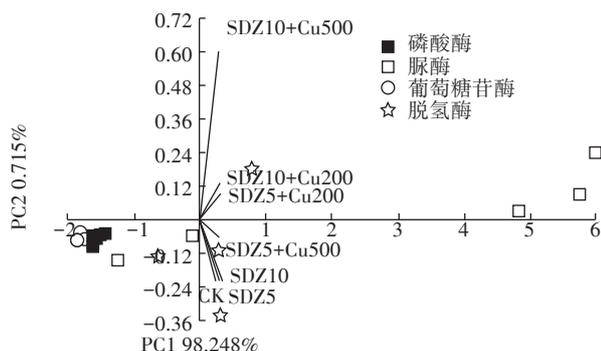


图6 SDZ和Cu对土壤酶活性的影响

Figure 6 Effects of SDZ and Cu on soil enzyme activities

由图6中各SDZ单一及其与Cu复合污染处理距离原点距离的长短及其在各象限中的分布可知,SDZ单一污染处理与对照处理之间存在显著的正相关关系。这表明本研究中SDZ单一污染对土壤酶活性的影响受其暴露浓度的影响较小,主要取决于原土壤的酶活性。此外,由各污染处理与原点之间的连线距离可知,SDZ与Cu复合污染对土壤酶活性的影响与二者浓度组合有密切的关系,低浓度复合污染条件下土壤酶活性低于单一污染,表现为拮抗作用,而高浓度复合污染组合则主要表现为协同抑制作用。其中,10 mg·kg⁻¹ SDZ与500 mg·kg⁻¹ Cu复合污染处理对土壤酶活性影响最大。傅海霞等^[9]认为抗生素与重金属复合污染对土壤酶的相互作用可表现为联合抑制效应、一定的激活效应或无相互影响,这与复合污染物的种类、组合浓度以及土壤类型等因素密切相关。

此外,由土壤酶在PCA分析图中的分布可知,不同土壤酶对SDZ及其Cu复合污染胁迫的敏感性不同。脲酶主要沿X轴正向延伸,其在各污染处理延伸线上垂直投影距离较长,表明土壤脲酶对SDZ及其Cu复合污染胁迫具有一定的抗性。相关研究也有类似的结论,如杨玖^[6]的研究表明,一定浓度的SMZ(磺

胺二甲嘧啶)可以提高堆肥中脲酶活性;赵保真^[20]发现随着SDZ浓度的增加,其与Cu复合污染对脲酶活性的影响表现为“激活-抑制”趋势;刘爱菊等^[8]研究也发现低剂量Cu和磺胺甲嘧啶复合污染对土壤脲酶的胁迫影响较小。

但是,相比之下,土壤脱氢酶则主要沿Y轴分布,其在各污染处理延伸线上的垂直投影距离最短,表明土壤脱氢酶对SDZ及其与Cu复合污染胁迫最为敏感。然而,土壤磷酸酶和β-葡萄糖苷酶主要沿X轴负向延伸,且其在各处理延伸线上投影距离处于土壤脲酶和脱氢酶之间。这表明土壤磷酸酶和β-葡萄糖苷酶对SDZ及其与Cu复合污染胁迫的敏感性高于脲酶,低于土壤脱氢酶。综合以上分析可知,在本研究中土壤脱氢酶是反映SDZ单一及其与Cu复合污染的最为敏感性指标,刘爱菊等^[8]考察了磺胺甲基嘧啶和Cu协同污染下对土壤中脲酶、脱氢酶等指标的影响,也发现土壤脱氢酶对磺胺甲基嘧啶-Cu协同污染较为敏感。

4 结论

(1)Cu胁迫下土壤呼吸对SDZ复合污染胁迫响应与二者污染浓度组合及培养时间有关。在培养前期,Cu与SDZ复合污染对土壤呼吸的影响主要取决于SDZ的添加浓度;而在培养后期,二者复合污染则主要取决于Cu的添加浓度。

(2)SDZ单一污染对土壤酶活性的影响受其暴露浓度的影响较小,主要取决于原土壤的酶活性;Cu胁迫下可显著加重SDZ对土壤酶活性的抑制作用,且随着二者污染浓度组合的增加而加重。

(3)不同土壤酶对SDZ及其Cu复合污染胁迫的敏感性不同。其中,土壤脱氢酶对SDZ及其与Cu复合污染胁迫最为敏感,其次为土壤磷酸酶和β-葡萄糖苷酶,而土壤脲酶对SDZ及其Cu复合污染胁迫具有一定抗性。

参考文献:

- [1] 王 瑾, 韩剑众. 饲料中重金属和抗生素对土壤和蔬菜的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2008, 24(4): 90-93.
WANG Jin, HAN Jian-zhong. Effects of heavy metals and antibiotics in feed on soil and vegetables[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2008, 24(4): 90-93.
- [2] 刘艳萍, 刘鸿雁, 吴龙华, 等. 贵阳市某蔬菜地养殖废水污灌土壤重金属、抗生素复合污染研究[J]. 环境科学学报, 2017, 37(3): 1074-1082.

- LIU Yan-ping, LIU Hong-yan, WU Long-hua, et al. Co-contamination of heavy metals and antibiotics in soils under husbandry wastewater irrigation in Guiyang City[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2017, 37(3):1074-1082.
- [3] Gülser F, Erdoğan E. The effects of heavy metal pollution on enzyme activities and basal soil respiration of roadside soils[J]. *Environmental Monitoring & Assessment*, 2008, 145(1/2/3):127-133.
- [4] Xu Y, Yu W, Ma Q, et al. The combined effect of sulfadiazine and copper on soil microbial activity and community structure[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 134(Dec. Pt. 1):43-52.
- [5] 刘淑英. 不同施肥对西北半干旱区土壤脲酶和土壤氮素的影响及其相关性[J]. *水土保持学报*, 2010, 24(1):219-223.
- LIU Shu-ying. Effect of different fertilization on soil urease and soil nitrogen in the semi-arid region of northwest China and its correlation[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(1):219-223.
- [6] 杨 玖. 磺胺类抗生素与锌对堆肥过程中酶活性及微生物群落结构多样性的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2014.
- YANG Jiu. Effects of sulfonamides antibiotics and zinc on enzyme activity and microbial community structure diversity in the process of composting[D]. Yangling: Northwestern University of Agriculture and Forestry Science and Technology, 2014.
- [7] 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 lei, BI Shi-xin, ZHAO Qi-hui, et al. Effects of doxycycline and cadmium pollution on soil respiration and enzyme activity[J]. *Water and Soil Conservation Bulletin*, 2014, 34(6):101-108.
- [8] 刘爱菊, 刘 敏, 李梦红, 等. Cu、抗生素协同污染对土壤微生物活性的影响[J]. *生态环境学报*, 2013, 22(11):1825-1829.
- LIU Ai-ju, LIU Min, LI Meng-hong, et al. Effects of combined pollution of Cu and antibiotics on soil microbial activity[J]. *Journal of Ecological Environment*, 2013, 22(11):1825-1829.
- [9] 傅海霞, 刘 怡, 董志英, 等. 抗生素与重金属复合污染的生态毒理效应研究进展[J]. *环境工程*, 2016, 34(4):60-63.
- FU Hai-xia, LIU Yi, DONG Zhi-ying, et al. Progress in the study of ecotoxicological effects of antibiotic and heavy metal combined pollution [J]. *Environmental Engineering*, 2016, 34(4):60-63.
- [10] 凌文翠, 范玉梅, 方瑶瑶, 等. 京津冀地区畜禽养殖业抗生素污染现状分析[J]. *环境工程技术学报*, 2018, 8(4):390-397.
- LING Wen-cui, FAN Yu-mei, FANG Yao-yao, et al. Antibiotics pollution of livestock and poultry breeding in Beijing-Tianjin-Hebei region[J]. *Journal of Environmental Engineering Technology*, 2018, 8(4):390-397.
- [11] Aga D S, Seamus O, Steve E, et al. Determination of the persistence of tetracycline antibiotics and their degradates in manure-amended soil using enzyme-linked immunosorbent assay and liquid chromatography-mass spectrometry[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2005, 53(18):7165-7171.
- [12] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 2000:224-226.
- LU Ru-kun. Agricultural chemical analysis of soil[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000:224-226.
- [13] 彭 杨, 吴 婧, 巢静波, 等. 土壤/沉积物中14种金属元素的ICP-MS准确测定方法[J]. *环境化学*, 2017, 36(1):175-182.
- PENG Yang, WU Jing, CHAO Jing-bo, et al. Accurate determination of 14 metals in soil/sediment by ICP-MS[J]. *Environmental Chemistry*, 2017, 36(1):175-182.
- [14] 李彦文, 莫测辉, 赵 娜, 等. 高效液相色谱法测定水和土壤中磺胺类抗生素[J]. *分析化学*, 2008, 36(7):954-958.
- LI Yan-wen, MO Ce-hui, ZHAO Na, et al. HPLC method for the determination of sulfonamides in water and soil[J]. *Analytical Chemistry*, 2008(7):954-958.
- [15] 王金花, 朱鲁生, 王 军, 等. 4种典型抗生素对土壤微生物呼吸的影响[C]. //泰安:第四届全国农业环境科学学术研讨会论文集, 2011:333-337.
- WANG Jin-hua, ZHU Lu-sheng, WANG Jun, et al. Effects of four typical antibiotics on soil microbial respiration[C]. //Tai'an: Proceedings of the 4th National Symposium on Agricultural and Environmental Sciences, 2011:333-337.
- [16] 王凤花, 张振国, 贾 文. 三氯生与镉单一及复合污染对土壤呼吸和酶活性的影响[J]. *土壤学报*, 2018, 55(2):422-431.
- WANG Feng-hua, ZHANG Zhen-guo, JIA Wen. Effects of single-factor and combined contamination of triclosan and cadmium on respiration and enzyme activity of soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2018, 55(2):422-431.
- [17] Usman A R A. Influence of NaCl-induced salinity and Cd toxicity on respiration activity and Cd availability to barley plants in farmyard manure-amended soil[J]. *Applied & Environmental Soil Science*, 2015, 2015:1-8.
- [18] Mang L, Kui X. Effect of pyrene and cadmium on microbial activity and community structure in soil[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(4):491-497.
- [19] 巫 杨, 陈东辉, Smith L, 等. 磺胺甲恶唑和甲氧苄氨嘧啶在土壤中的好氧降解及对微生物呼吸的影响[J]. *环境化学*, 2011, 30(12):2015-2021.
- WU Yang, CHEN Dong-hui, Smith L, et al. Aerobic degradation of sulfamethoxazole and trimethoprim in soil and its effect on microbial respiration[J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 30(12):2015-2021.
- [20] 赵保真. Cu-磺胺嘧啶单一及复合污染的生态毒性效应研究[D]. 焦作:河南师范大学, 2012.
- ZHAO Bao-zhen. Study on the ecological toxicity effect of Cu-sulfadiazine single and compound pollution[D]. Jiaozuo: Henan Normal University, 2012.