

菲和镉复合污染对土壤微生物的生态毒理效应*

沈国清 陆贻通** 洪静波 程国华

(上海交通大学资源环境科学系, 上海, 201101)

摘 要 以土壤酶活性和微生物数量作为生态毒理指标, 通过模拟试验, 比较分析多环芳烃菲和重金属镉单一与复合污染对土壤微生物的生态毒理效应. 结果表明, 菲和镉复合污染对土壤蔗糖酶、脲酶和脱氢酶均具有协同抑制作用; 而对磷酸酶和微生物的数量具有拮抗抑制作用. 菲和镉复合污染及菲单一污染对土壤微生物的活性抑制率从大到小依次为: 放线菌>真菌>细菌; 镉单一污染则为: 真菌>细菌>放线菌.

关键词 菲, 镉, 复合污染, 土壤微生物, 生态毒理效应.

重金属和多环芳烃是土壤环境中两类重要污染物, 往往同时或先后进入土壤环境形成复合污染, 长期以来, 国内外对重金属和多环芳烃的单独污染以及不同重金属之间复合污染的微生物生态毒理效应进行了较多的研究^[1~5], 但对二者复合污染研究报道较少.

本研究以多环芳烃菲和重金属镉为目标污染物, 通过室内模拟试验, 探讨了两者的复合污染对土壤生态毒理学指标——土壤酶活性和微生物数量的影响, 以期为我国土壤复合污染环境毒理学及其生态环境风险评价提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 供试土壤

土壤取自上海交通大学七宝校区实验农场, 属我国南方水稻土, 采样深度为 0—20cm, 土壤主要理化性状列于表 1.

表 1 供试土壤理化性状
Table 1 Physical and chemical properties of the tested soils

pH	有机质	全氮	全磷	CEC	机械组成 /%		
	(g•kg ⁻¹)	(g•kg ⁻¹)	(g•kg ⁻¹)	(cmol•kg ⁻¹)	砂粒	粉粒	粘粒
8.18	16.17	1.14	1.36	15.60	51.49	28.37	20.14

将土样过 2mm 筛, 分为四个处理组, 每个处理重复 3 次: 1 号处理组: 无污染空白对照; 2 号处理组: 向土壤中投加菲的二氯甲烷溶液, 使菲的终浓度为 50mg•kg⁻¹; 3 号处理组: 向土壤中投加醋酸镉, 使镉离子的终浓度为 10mg•kg⁻¹; 4 号处理组: 向土壤中依次投加菲的二氯甲烷和醋酸镉溶液, 使菲和镉离子的终浓度分别达到 50mg•kg⁻¹和 10mg•kg⁻¹. 将各处理组的土样充分混匀, 分装于土壤培养罐中 (每罐 800g) 室温培养.

整个试验过程中使土壤湿度保持在最大持水量的 60% 左右. 于培养的第 7, 14, 21, 28, 35, 49 天分别测定土壤的各项生态毒理学指标, 并与对照组相比, 计算其抑制率 (%).

1.2 测定方法

土壤蔗糖酶活性: 3,5-二硝基水杨酸法; 土壤脲酶活性: 苯酸钠比色法; 土壤脱氢酶活性: 三苯基四唑氮氯化物法; 土壤磷酸酶活性: 对硝基酚比色法; 土壤微生物数量: 平板稀释计数法.

采用 Excel 2000 对试验数据进行统计分析.

* 国家 973 项目 (2004CB41850)、国家自然科学基金项目 (20337010) 和上海市基础研究重点项目 (04JC14051) 资助.

** 通讯联系人 E-mail: ytl@sjtu.edu.cn

2 结果与讨论

2.1 菲-镉复合污染对土壤酶活性的影响

图 1 显示了镉和菲复合污染对土壤蔗糖酶、脲酶、脱氢酶和磷酸酶活性的影响。由图 1 可见，菲和镉复合污染对蔗糖酶表现出明显的抑制效应。整个培养期间，菲和镉复合污染处理的土壤中，蔗糖酶活性一直处于抑制状态，平均抑制率为 53.57%，而菲、镉单一污染对蔗糖酶活性的平均抑制率分别为 3% 和 6.57%，复合污染表现为协同抑制作用。其中培养第 14 天和第 35 天最为明显。培养 14d 时，菲、镉单一污染对蔗糖酶均表现为激活作用，酶活性分别为对照的 145% 和 127%，而在复合污染条件下，则表现出强烈的抑制效应，酶活性仅为对照的 23%。培养到第 35 天时，菲、镉单一污染下蔗糖酶活性分别为对照的 142% 和 172%，而两者复合污染条件下，蔗糖酶活性为对照的 72%，表现出明显的协同抑制作用。

菲和镉复合污染土壤中的脲酶活性相对于单一污染表现出同样的协同抑制作用，其变化趋势与两者单一污染一致。整个培养期间，菲、镉单一污染对脲酶的平均抑制率分别为 -2.57% 和 6.43%，复合污染平均抑制率达 16.57%，大于两者单一污染之和。

菲和镉复合污染对脱氢酶活性的研究表明，随着处理时间的变化，脱氢酶先后呈现出激活和抑制效应。培养到第 14 天，复合污染对脱氢酶表现为激活作用，其活性为对照的 230%，随后活性逐渐降低直至试验结束，最大抑制率为 76%（49d）。与单一污染相比，菲和镉复合污染在第 28 天时表现为显著的协同抑制效应，其中，菲单一污染条件下酶活性为对照的 270%，镉单一污染下为 180%，均为激活作用，而两者复合污染则表现为强烈的抑制效应，抑制率达 20%。

在整个试验过程中，菲和镉复合污染及单一污染对磷酸酶活性均表现为抑制效应，并且复合污染抑制效应的持续时间比单一污染长。第 28 天时，菲和镉复合污染与镉单一污染条件下磷酸酶的活性均达到最低点，分别为对照的 53% 和 32%。到第 35 天时，菲单一污染条件下磷酸酶的活性达到对照的 48%，为整个试验过程中酶活性最低点。此后菲、镉单一污染下磷酸酶的活性仍表现为抑制作用，但这种抑制作用渐渐减弱，酶活性开始回升，然而菲磷酸酶镉复合污染下的活性一直徘徊在对照的 60% 上下，未见回升，可见，菲和镉复合污染比单一污染的对磷酸酶的抑制效应时间更长。

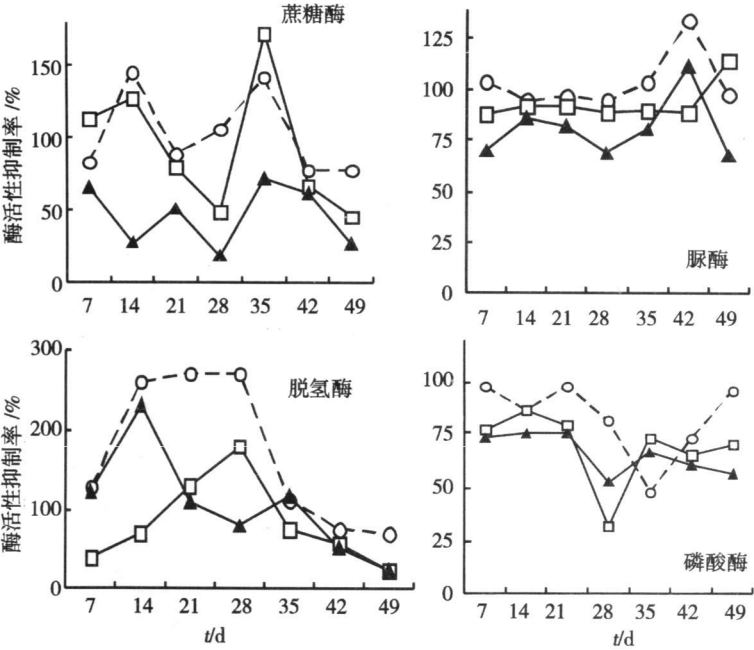


图 1 菲、镉复合污染对土壤酶活性的相对抑制作用
□ 镉 Cd ○ 菲 ▲ (菲 + 镉)

Fig. 1 Combined effect of phenanthrene and Cd on enzyme activities in soil

2.2 菲和镉复合污染对土壤微生物种群的影响

菲和镉复合污染对土壤中细菌、放线菌和真菌数量的变化动态见图 2。由图 2 可见, 菲、镉单一污染与复合污染对土壤细菌、放线菌和真菌生长的影响随培养时间的不同呈现不同的规律。菲单一污染的土壤中, 培养 14d, 细菌和放线菌的数量分别增长到对照的 148% 和 117%, 随后逐渐下降, 而真菌数量在 28d 内一直处于抑制状态, 以后逐渐增加。整个培养期间细菌、放线菌和真菌的平均抑制率分别为 18.14%、40.43% 和 20.43%, 由此可见, 菲单一污染对土壤微生物数量的抑制率从大到小依次为放线菌>真菌>细菌。镉污染土壤中, 细菌和真菌的数量在整个培养期间一直处于抑制状态, 而放线菌的数量除了第 14 天有所增加外, 其余时间亦处于抑制状态, 镉单一污染对细菌、放线菌和真菌的平均抑制率分别为 25.43%、17.86% 和 50.86%, 因此, 镉对土壤微生物数量抑制率从大到小依次为: 真菌>细菌>放线菌。菲和镉复合污染对三种微生物数量(第 42 天除外)均表现出明显的抑制作用, 平均抑制率分别为: 细菌 41.71%、放线菌 49.29%、真菌 44.86%, 抑制率大小依次为: 放线菌>真菌>细菌。

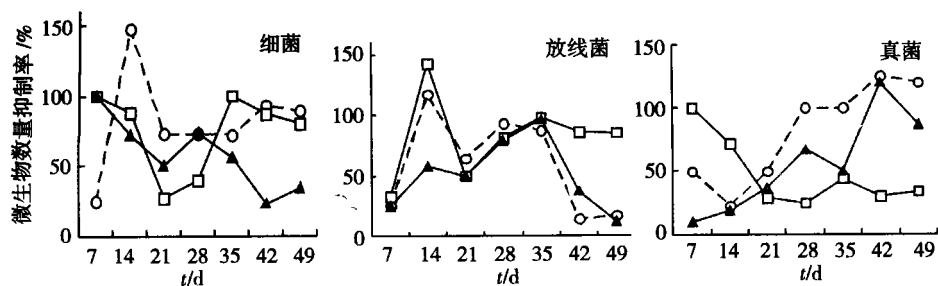


图 2 菲-镉复合污染对土壤微生物种群数量的抑制作用
□镉 Cd ○菲 ▲(菲+镉)

Fig. 2 Effects of phenanthrene and Cd compound pollution on microbial community in soil

2.3 菲和镉复合污染对土壤酶活性及其微生物种群的交互作用

表 2 列出了试验过程中菲、镉单一污染和复合污染的平均抑制率及其交互作用类型。由表 2 可见, 菲和镉复合污染对土壤生态毒理学指标的抑制率从大到小依次为: 蔗糖酶>放线菌>真菌>细菌>磷酸酶>脲酶>脱氢酶。通过比较复合污染抑制率的实测值和理论值(二者单一污染抑制率之和), 菲和镉复合污染对土壤蔗糖酶、脲酶和脱氢酶交互作用的类型表现为协同抑制作用(实测值大于理论值), 其中以蔗糖酶和脱氢酶尤为显著。对这种现象 Skkema 等^[16]提出了毒作用麻醉(narcotic mode of toxic action)假设, 认为多环芳烃等一些脂溶性化合物可以同微生物细胞膜上的脂溶性分子结合, 从而影响了细胞膜的结构和通透性。Gogolev^[17]等采用琼脂平板技术, 研究了 Zn、Cd、Cu 和茚蒽对土壤微生物的相互作用, 认为茚蒽可以改变细胞膜的通透性, 提高重金属对微生物的毒性。即使是低剂量的茚蒽和重金属, 当它们单一污染时, 对微生物无影响, 而复合污染时, 则毒性明显增加。因此, 受 PAHs 污染的土壤, 重金属很容易进入微生物细胞, 从而, 影响和干扰其正常的功能^[17, 8]。

表 2 菲和镉复合污染对土壤微生物的交互作用
Table 2 Interaction between phenanthrene and Cd on soil microbe

污染物	土壤酶活性抑制率 /%				土壤微生物数量抑制率 /%		
	蔗糖酶	脲酶	脱氢酶	磷酸酶	细菌	放线菌	真菌
菲	-3	-2.57	-69.57	16.71	18.14	40.43	20.43
镉	6.57	6.43	22.14	30.29	25.43	17.86	50.86
菲+镉(理论)	3.57	3.86	-47.43	47.00	43.57	58.29	71.29
菲+镉(实测)	53.57	16.57	-5.29	33.71	41.71	49.29	44.86
交互作用类型	协同	协同	协同	拮抗	拮抗	拮抗	拮抗

本试验结果显示，对胞外分泌蔗糖酶、脲酶和脱氢酶的土壤微生物而言，菲会增强镉的毒性，一个可能的原因是在菲的作用下，镉离子更容易从有关微生物细胞膜空隙渗透入细胞，从而产生毒害作用。与此相反，菲和镉复合污染对土壤微生物数量和磷酸酶却表现为拮抗作用（复合污染抑制率实测值 < 理论值）。有关重金属和多环芳烃复合污染产生拮抗作用的机理还有待于进一步研究。

3 结论

(1) 菲和镉复合污染土壤中蔗糖酶和脲酶均表现出明显的毒性效应，且复合污染对两种酶产生协同抑制作用；而对脱氢酶先后表现出激活和毒性效应，污染物交互作用类型亦为协同抑制作用；菲和镉复合污染及单一污染对磷酸酶活性都表现为毒性效应，但复合污染毒性效应的持续时间比单一污染更长，污染物交互作用类型为拮抗抑制作用。

(2) 菲和镉复合污染及菲单一污染对土壤微生物活性抑制率从大到小依次为：放线菌 > 真菌 > 细菌；而镉单一污染则为：真菌 > 细菌 > 放线菌。污染物对三种微生物的交互作用类型均为拮抗抑制作用。

参 考 文 献

[1] 沈国清, 陆贻通, 周培, 土壤环境中重金属和多环芳烃复合污染研究进展. 上海交通大学学报 (农业科学版), 2005 23 (1) : 102- 106

[2] 罗厚枚, 王宏康, 土壤重金属复合污染对作物的影响. 环境化学, 1994 13 (5) : 427- 243

[3] 周启星, 吴燕玉, 熊先哲, 重金属 Cd- Zn对水稻的复合污染和生态效应. 应用生态学报, 1994 5 (4) : 438- 441

[4] 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. 环境科学学报, 2001 21 (1) : 60- 63

[5] 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. 农业环境科学学报, 2003 22 (1) : 60- 63

[6] Sikken a J De Bont JAM, Poolman B Interactions of CyclicHydrocarbons w ith BiologicalM embrane J Biol Chem., 1994, 269 8022- 8028

[7] Gogo lev A, Wilke B M, Combination Effects of Heavy Metals and Fluoranthene on Soil Bacteria Biol Fertil Soils, 1997, 25: 274- 278

[8] Maliszewska- K ondybach B Sm reczak B Habitat Function of Agricultural Soils as Affected by Heavy Metals and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Contam ination. Environm ent International, 2003 28: 719- 728

ECOTOXICOLOGICAL EFFECT OF PHENANTHRENE AND Cd COMBINED POLLUTION ON SOIL MICROBE

SHEN Guo- qing LU Yi- tong HONG Jing- bo CHENG Guo- hua
(Department of Resource and Environm ent Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201101)

ABSTRACT

The effects of phenanthrene and cadmium (Cd) combined and simplex pollution on soil enzyme activities (sucrase urease dehydrogenase phosphatase) and microbial community were studied by simulative experiment The results showed that there existed synergistic inhibiting effect on sucrase urease and dehydrogenase and antagonistic inhibiting effect on phosphatase and soil microbial community under the compound pollution of phenanthrene and Cd The order of inhibiting rate of soil microbial activity under phenanthrene and Cd combined pollution and phenanthrene simplex pollution were proved to be actinomycetes> fungi> bacteria, the order under Cd simplex pollution is fungi> bacteria> actinomycetes

Keywords phenanthrene, cadmium, combined pollution, microbe, ecotoxicological effect