

Respond Process of the Soil Phosphatase Activity to Carbendazim and Cd Contamination Singly and Combined

Xuhui LI^{1,2}, Qixing ZHOU², Xiaoyin SUN^{1,2}, Wenjie Ren^{1,2}

¹ Key Laboratory of Terrestrial Ecological Process, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang, China

² Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing, China

³ Key Laboratory of Pollution Processes and Environmental Criteria (Ministry of Education), College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin, China

Email: iaclxh@gmail.com, zhouqx523@yahoo.com

Abstract: The responding process of the soil phosphatase activity to carbendazim and cadmium contamination singly and combined was investigated in two typical soils of the northeastern China. The contamination of carbendazim/Cd suppressed the phosphatase activity at the beginning and ending of the incubation, while it enhanced the recovering process in the metaphase of the incubation. The suppression ratios of phosphatase activity under the carbendazim concentration of 30 mg/kg in burozem and phaeozem were 21% and 55%, respectively, after incubated for 3 days, and the data were -59% and -21% on the 17th day, respectively. In the treatment of 25 mg/kg Cd, the suppression ratios of phosphatase activity were 24% and 30% in burozem and phaeozem on the 3rd day, respectively, while the data were -36% and -16% on the 17th day. Carbendazim had stronger influence in the combined contamination than Cd. The responding tendency of phosphatase to combined contamination of carbendazim and Cd was similar in the soils tested, but the responding extent was quite different. The combined contamination had more powerful influence in the recovering process of phosphatase activity but weaker influence in the suppressing process during the beginning of the incubation in burozem than that in phaeozem. In the treatment of 30 mg/kg carbendazim and 25 mg/kg Cd, the lowest suppression ratio of phosphatase activity in burozem was -177%, which was found on the 17th day, while the data in phaeozem was -39% and was found at the 7th day. On the 3rd day, the suppression ratio of phosphatase activity in burozem was 75% while in phaeozem the data was 23%.

Keywords: carbendazim; cadmium; phosphatase; burozem; phaeozem

土壤磷酸酶对多菌灵-镉单一及复合污染的响应

李旭辉^{1,2}, 周启星^{1,3}, 孙小银^{1,2}, 任文杰^{1,2}

¹ 中国科学院沈阳应用生态研究所中国科学院陆地生态过程重点实验室, 沈阳, 中国, 110016

² 中国科学院研究生院, 北京, 中国, 100049

³ 南开大学环境科学与工程学院环境污染过程与基准教育部重点实验室, 天津, 中国, 300071

Email: liaclxh@gmail.com, zhouqx523@yahoo.com

摘要: 以两种东北地区典型土壤为研究对象, 研究了土壤磷酸酶活性对多菌灵-镉单一及复合污染的响应过程。多菌灵和 Cd 在强化了土壤磷酸酶恢复的同时, 抑制了其培养初期和最终活性。多菌灵 30mg/kg 处理中, 培养第 3 天棕壤和黑土中土壤磷酸酶活性抑制率分别为 21%和 55%, 第 17 天磷酸酶活性抑制率分别为-59%和-21%; Cd 25mg/kg 处理中, 培养 3 天磷酸酶活性抑制率为 24%和 30%, 培养 27 天磷酸酶活性抑制率分别为-36%和-16%。复合污染中多菌灵的影响明显高于 Cd。棕壤和黑土中磷酸酶对两者复合污染的响应过程规律类似但响应幅度不同。棕壤中磷酸酶活性恢复过程中多菌灵-Cd 复合污染的强化作用高于黑土。当多菌灵浓度为 30mg/kg, Cd 浓度为 25mg/kg 时, 棕壤中最低磷酸酶活性抑制率出现在第 17 天, 可达-117%, 而黑土磷酸酶活性抑制率出现在第 7 天, 仅有-39%。黑土中磷酸酶活性受抑制程度高于棕壤。培养第 3 天, 黑土磷酸酶活性抑制率可达 75%, 而棕壤仅有 23%。

关键词: 多菌灵; 镉; 磷酸酶; 棕壤; 黑土

1 引言

作为城市新鲜蔬菜、水果的主要产地, 城乡结合部环境质量与人体健康密切相关。由于地理位置特点, 城

资助信息: 863 计划(No.2009AA06Z316); 国家自然科学基金重点基金(No. 40930739)

乡结合部土壤环境同时受到城市工业化生产中大量废气、废水、废渣和农业生产中大量施用的化肥和农药带来的影响。复杂的污染源使得城乡结合部土壤一旦受到污染大多为复合污染。来自农业污染源的农药和工业及采矿等的重金属复合污染是较为常见的污染形式。较之某种污染物单一污染，复合污染的机理及对人体健康的影响更为复杂，更需要深入的研究^[1]。

多菌灵(methyl-2-benzimidazole carbamate, MBC)是一种最常用的苯并咪唑类杀菌剂，广泛应用于由真菌引起的各类植物病害的预防与治疗^[2,3]。大量研究表明，多菌灵会使睾丸、附睾重量减轻，精子数量减少、质量下降。进一步研究表明，多菌灵会除去未成熟的精细胞，会使生精小管发育停滞，最严重是会引起动物睾丸发育完全停止，引起不育症^[4,5]。同时，作为一种可能的内分泌干扰剂，多菌灵的生殖和遗传毒性受到越来越多的关注^[6]。

作为一种国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer)确定的致癌物质，镉(Cd)由于具有较高的活性和毒性^[7]，易于通过食物链积累与人体从而对人体健康产生很大的危害^[8]。长期食用含镉食物会影响钙和磷的代谢，引起肾、肺、肝等内脏器官的病理变化，诱发骨质疏松、软骨病和肾结石等疾病^[9]，也有可能引起“骨痛病”^[10]。

土壤酶是土壤的重要组成部分，是由微生物、动植物活体分泌以及有动植物残体、遗骸分解释放于土壤中的具有催化能力的生物活性物质。通过研究外来物质对土壤酶的影响，评价土壤生态环境，或将其作为一项生态毒理学指标，判断外来物质对土壤的污染程度以及可能对生态环境造成的影响，是近年来活跃的研究领域。土壤磷酸酶能促进有机磷化合物水解，在生态系统磷元素循环与周转中发挥重要作用。本文通过研究两种东北典型土壤中磷酸酶活性对多菌灵-Cd 单一/复合污染的影响，分析多菌灵-Cd 对土壤环境的影响。

2 材料与方法

2.1 土壤理化性质

试验中所用土壤样品分别为棕壤和黑土。棕壤采集自中国科学院沈阳生态试验站(41°31' N and 123°41' E)，黑土采集自中国科学院海伦农业生态试验站(47°26' N and 126°38' E)。两种土壤样品均为表层土(0-20cm)。土样采集后，风干并过2mm尼龙筛备用。供试土壤理化性质如表1所示：

Table 1 Basic physical and chemical characteristics of tested soils

表 1 供试土壤理化性质

土壤性质 Soil characteristics	土壤类型 Soil type	
	棕壤 Burozem	黑土 Phaeozem
pH (水土比=1:2.5)	5.70	6.32
有机碳 Organic C (%)	1.14	3.29
有机氮 Organic N (%)	0.11	0.24
碳氮比 C/N	10.59	13.48
阳离子交换量 CEC(cmol kg ⁻¹)	17.99	48.21

2.2 试验方法

棕壤和黑土各有 9 个处理，分别为 CK (MBC 0 mg/kg, Cd 0 mg/kg), T1 (MBC 0 mg/kg, Cd 5 mg/kg), T2 (MBC 0 mg/kg, Cd 25 mg/kg), T3 (MBC 6 mg/kg, Cd 0 mg/kg), T4 (MBC 6 mg/kg, Cd 5 mg/kg), T5 (MBC 6 mg/kg, Cd 25 mg/kg), T6 (MBC 30 mg/kg, Cd 0 mg/kg), T7 (MBC 30 mg/kg, Cd 5 mg/kg), T8 (MBC 30 mg/kg, Cd 25 mg/kg)。每个处理设 3 个平行。实验过程中每天补充水分保持土壤含水率为土壤田间最大持水量 50%左右避光培养。

磷酸酶采用磷酸苯二钠比色法测定，通过公式(1)计算抑制率分析多菌灵-Cd 单一/复合污染的影响。

$$\text{抑制率} = \frac{A-B}{A} \times 100\% \quad (1)$$

式中，A 为 CK 中土壤磷酸酶活性，B 为处理后土壤磷酸酶活性。

3 结果与讨论

3.1 土壤磷酸酶对多菌灵污染的响应

不同浓度多菌灵对土壤磷酸酶的抑制率如图 1 所示。第 3 天磷酸酶激活率除棕壤 MBC 6 mg/kg 略小于 0 外，抑制率均为正值。这说明土壤磷酸酶活性受到抑制，且抑制程度随多菌灵浓度的升高而增加。黑土中土壤磷酸酶受抑制程度高于棕壤，当多菌灵浓度为 30 mg/kg 时，抑制率高达 55%。抑制率随时间增长而降低，棕壤和黑土磷酸酶活性抑制率分别在第 7 天和

第 17 天变为负值，即 Cd 对磷酸酶有激活作用。磷酸酶抑制率在第 17 天降到最低。此时，棕壤磷酸酶活性抑制率分别为-23%和-59%，黑土磷酸酶活性抑制率为-45%和-21%。随后，磷酸酶抑制率逐渐升高至大于 0。

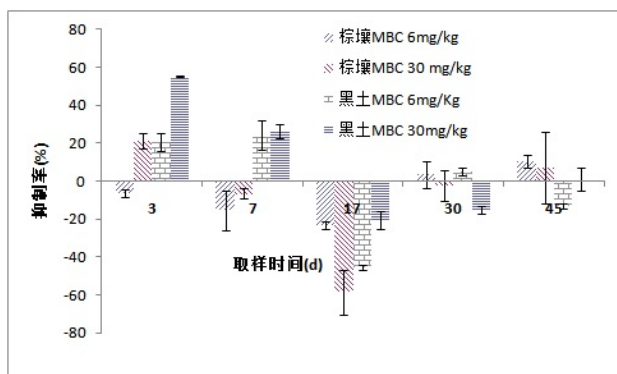


Fig. 1 Responds of the phosphatase to MBC contamination

图 1 磷酸酶对多菌灵污染的反应

实验中两种土壤添加多菌灵前均未经过预培养，磷酸酶活性随培养时间的增长而增加。实验中期磷酸酶活性抑制率为负值，这说明多菌灵的存在加速了土壤磷酸酶的恢复。随后出现抑制率逐渐升高，最终大于 0 的现象显示了多菌灵污染最终会对磷酸酶的活性起抑制作用。

3.2 土壤酶磷酸对 Cd 污染的反应

土壤磷酸酶对 Cd 污染的反应如图 2 所示。第 3 天时，两种土壤磷酸酶活性都受到抑制，抑制率分别为 14%，24%，22%和 30%。黑土受抑制程度高于棕壤。两种土壤中磷酸酶抑制率均呈先降低后升高趋势，但拐点出现时间不同。棕壤 Cd 5mg/kg 处理磷酸酶抑制率在第 7 天达到最低，为-39%，在第 45 天时抑制率升高至 19%；Cd 25 mg/kg 处理磷酸酶抑制率在第 17 天降至-36%的最低值后逐渐升高，第 45 天抑制率升高至-10%。黑土 Cd 5mg/kg 处理磷酸酶抑制率在第 7 天降至最低值-47%，第 45 天时升高到 6%；25mg/kg 处理抑制率在第 30 天将至最低，此时抑制率为-27%，第 45 天抑制率升高至 5%。

与多菌灵污染类似，培养初期和后期 Cd 污染对磷酸酶活性有抑制作用，这与文献报导一致^[11,12]。实验中期 Cd 污染增强了土壤磷酸酶的恢复，但最大强化作用出现的时间同时受土壤类型和 Cd 浓度的影响。

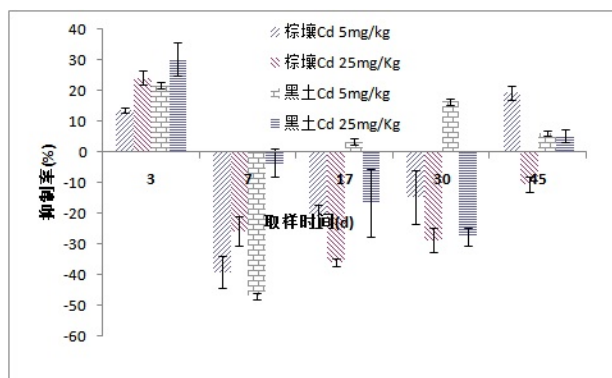


Fig. 2 Responds of the phosphatase to Cd contamination

图 2 磷酸酶对 Cd 污染的反应

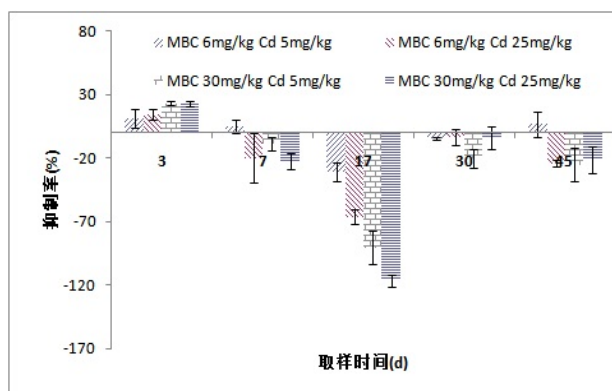


Fig. 3 Responds of the phosphatase in Burozem to combined contamination of MBC and Cd

图 3 棕壤中磷酸酶对多菌灵-Cd 复合污染反应

3.3 磷酸酶对多菌灵-Cd 复合污染的反应

图 3 给出了棕壤磷酸酶对多菌灵 Cd 复合污染的反应情况。第 3 天时，棕壤磷酸酶活性抑制率随多菌灵和 Cd 的浓度升高由 11%增加到 23%，且多菌灵浓度的增加对磷酸酶活性的抑制更强。磷酸酶活性抑制率在第 17 天达到最低后逐渐升高，即复合污染强化了磷酸酶活性的恢复，但最终会抑制其活性。

黑土中磷酸酶活性变化情况(图 4)与棕壤中类似。第 3 天时磷酸酶活性抑制率为 30%-74%，多菌灵的作用远大于 Cd。磷酸酶活性抑制率随时间先下降后升高，拐点出现时间与多菌灵和 Cd 浓度有关。多菌灵 6mg/kg 处理中，Cd 浓度为 5mg/kg 时，拐点出现在第 17 天；10mg/kg 时拐点出现在第 30 天。多菌灵 30mg/kg 处理中，拐点出现在第 7 天。

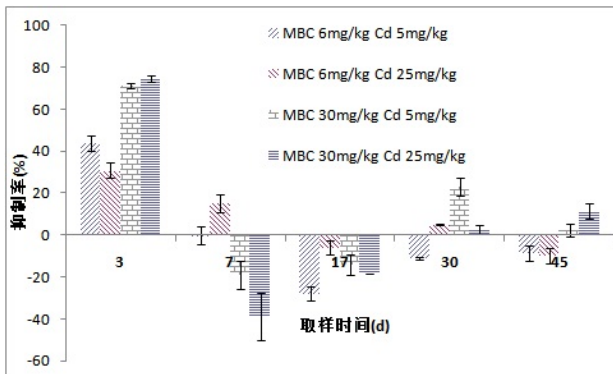


Fig. 4 Responds of the phosphatase in Phaeozem to combined contamination of MBC and Cd

图4 黑土中磷酸酶对多菌灵-Cd 复合污染响应

两种供试土壤中多菌灵-Cd 复合污染对磷酸酶活性影响情形与单一污染类似，培养初期和后期对磷酸酶活性有抑制作用，对培养中期磷酸酶活性的恢复有强化作用。

虽然两种土壤中磷酸酶活性对多菌灵-Cd 复合污染响应过程大致相同，但响应幅度差别很大。棕壤中磷酸酶活性恢复过程中多菌灵-Cd 复合污染的强化作用远高于黑土。当多菌灵浓度为 30mg/kg，Cd 浓度为 25mg/kg 时，棕壤中最低磷酸酶活性抑制率出现在第 17 天，可达-117%，而黑土磷酸酶活性抑制率出现在第 7 天，仅有-39%。黑土中磷酸酶活性受抑制程度远高于棕壤。培养第 3 天，黑土多菌灵 30mg/kg，Cd 25mg/kg 处理磷酸酶活性抑制率可达 75%，而相同处理的棕壤仅有 23%。

4 结论

(1) 多菌灵和 Cd 均可以促进两种供试土壤中磷酸酶活性的恢复，但对其最终活性有一定的抑制作用；

(2) 多菌灵-Cd 复合污染对磷酸酶活性影响情形与单一污染类似，培养初期和后期对磷酸酶活性有抑制作用，对培养中期磷酸酶活性的恢复有强化作用，

但响应幅度差别较大。棕壤总磷酸酶恢复过程中的强化作用更明显而黑土中磷酸酶活性受抑制程度更大。

References (参考文献)

- [1] Zhou, Q. X., Kong, F. X., Zhu, L., 2004. Ecotoxicology. Beijing, Science Press (in Chinese)
周启星,孔凡祥,朱琳,2004.生态毒理学[M].北京,科学出版社
- [2] Berglof, T., Van Dung T., Kylin, H., Nilsson, I., 2002. Carbendazim sorption-desorption in Vietnamese soils. Chemosphere 48, 267-273. Yang, C.I., et al., Single and joint effects of pesticides and mercury on soil urease[J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, 19(2), P210-216.
- [3] Giry, G., Ayele, J., Gauthier, C., 2001. Removal of carbendazim from fruit conditioning waters by adsorption on different materials [J]. Environmental Technology 22, 803-811.
- [4] Yu, G., Guo, Q., Xie, L., Liu, Y., Wang, X., 2009. Effects of subchronic exposure to carbendazim on spermatogenesis and fertility in male rats [J]. Toxicology and Industrial Health 25, 41-47.
- [5] Rajeswary, S., Kumarana, B., Ilangovan, R., Yuvaraj, S., Sridhar, M., Venkataraman, P., Srinivasan, N., Aruldas, M. M., 2007. Modulation of antioxidant defense system by the environmental fungicide carbendazim in Leydig cells of rats [J]. Reproductive Toxicology 24, 371-380.
- [6] Lu, S. Y., Liao, J. W., Kuo, M. L., Wang, S. C., Hwang, J. S., Ueng, T. H., 2004. Endocrine-disrupting activity in carbendazim-induced reproductive. and developmental toxicity in rats [J]. Journal of Toxicology and Environmental Health-Part a-Current Issues 67, 1501-1515.
- [7] International Agency for Research on Cancer Monographs, vol. 58, Cadmium. 1993. IARC Press, Lyon, pp. 119-238.
- [8] Johnson, M. S., Eaton, J. W. Environmental contamination through residual trace dispersal from a derelict lead-zinc mine [J]. Journal of Environmental Quality, 1980, 9: 175-179.
- [9] McLaughlin, M. J., Williams, C. M. J., McKay A.. Effect of cultivar on uptake of cadmium by potato tubers [J]. Australian Journal of Agricultural Research, 1994, 45: 1483-1495.
- [10] Kjellström, T., Nordberg, GF. A kinetic model of cadmium metabolism in the human being [J]. Environmental Research, 1978, 16: 246-269.
- [11] Yu, S., Liao, M., Huang, C. Effects of cadmium and mercury combined pollution on soil urease and acid phosphatase activities [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008,19:1841-1847.(in Chinese)
于寿娜, 廖敏, 黄昌勇.镉、汞复合污染对土壤脲酶和酸性磷酸酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19:1814-1847
- [12] Yang, Z.X., Liu, S.Q., Zheng, D.W., Feng, S.D. Effects of cadmium, zinc and lead on soil enzyme activities[J]. Journal of Environmental Sciences-China,2006,18:1135-1141.