DOI: 10.11766/trxb201810110437

三氯生和三氯卡班对水稻土好氧氮转化及N₂O排放的影响^{*}

陈顺涛1,2 朱同彬3 陈建秋17 单 军27 颜晓元2

(1中国药科大学工学院,南京 210009)

(2中国科学院南京土壤研究所,南京 210008)

(3中国地质科学院岩溶地质研究所/自然资源部、广西岩溶动力学重点实验室,广西桂林 541004)

摘要 三氯生(Triclosan, TCS)和三氯卡班(Triclocarban, TCC)是典型的药品与个人护 理用品,在土壤生态系统中被广泛检出,且存在增加土壤微生物抗药性及抑制土壤呼吸的潜在风险, 但目前有关TCS和TCC对土壤氮转化过程及氧化亚氮(N₂O)排放的影响尚不清楚。基于此,采用室 内培养实验和¹⁵N稀释-富集法,结合氮转化数值模型,研究了不同浓度梯度下TCS(2和5 mg·kg⁻¹) 和TCC(1和2 mg·kg⁻¹)的单独及联合存在对水稻土氮初级转化速率以及N,O排放的影响。结果表明, 1 mg·kg⁻¹ TCC及5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC处理对水稻土氮素的矿化-同化无显著影响,其余TCS 和TCC处理均显著促进了氮的矿化--同化循环。此外,TCS和TCC处理显著降低了自养硝化速率、硝态 氮的微生物固定速率以及硝酸盐异化还原成铵(Dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA) 速率(2 mg·kg⁻¹ TCS处理及5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC对DNRA速率无显著影响)。值得关注的 是, TCS和TCC单一和联合处理均显著增加了N₂O的累积排放量, 其累积排放量为对照的1.13倍~1.44 倍。本研究表明、TCS和TCC改变了水稻土好氧氮转化过程、可能对稻田生态系统氮循环产生不利影 响; TCC和TCS对水稻土N,O排放的促进作用也增加了稻田生态系统对温室效应和臭氧层破坏的潜在贡 献,因此,未来评价TCS和TCC土壤生态风险时,应考虑其对氮转化过程和N₂O排放的潜在影响。 关键词 三氯生;三氯卡班;¹⁵N示踪;数值模型;硝化;N₂O

中图分类号 S19 文献标识码 A

药品与个人护理用品(Pharmaceutical and personal care products, PPCPs)是一类新型的环境有机污染物,而三氯生(Troclosan, TCS)和三氯卡班(Triclocarban, TCC)是其中的典型代表。TCS和TCC作为两种广谱的抗菌剂,已被广泛添加于日化用品如香皂、洗发膏、牙膏、洗手液以及

化妆品等^[1]。由于TCS和TCC广泛、大量的使用 以及污水处理厂对此类物质去除效率的限制^[2], 使得其在环境中被频繁地检出,特别是在活性污泥 中,TCS的平均浓度为34.9 mg·kg⁻¹,而TCC的浓 度可达到10.2 mg·kg^{-1[3-4]}。近年来,由于水资源 的短缺,处理污水的农田灌溉以及活性污泥的农田

收稿日期: 2018-10-11; 收到修改稿日期: 2018-12-04; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2018-12-29

^{*} 中国科学院南京土壤研究所"一三五"计划和领域前沿项目(ISSASIP1653)和国家自然科学基金项目(41571289, 21876207)共同资助 Supported by the "135" Plan and Frontier Project of the Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences (No. ISSASIP 1653) and the National Natural Science Foundation of China (Nos. 41571289 and 21876207)

[†] 通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: cjqer@163.com; shanjun@issas.ac.cn

作者简介: 陈顺涛(1994—),男,陕西安康人,硕士研究生,主要从事药物对农田关键氮素转化过程的影响研究。 E-mail: CPUchenst@163.com

利用已经成为美国等发达国家重要的农业实践, 但TCS和TCC会随着污水及污泥进入土壤生态系统,具有很大的潜在环境风险,因此受到了持续的 关注。

TCS和TCC具有一定的生态毒性。研究表明, mg·L⁻¹浓度水平的TCS和TCC即可对食细菌秀丽 隐杆线虫产生显著的生理和生殖毒性^[5],此外, 研究也显示,TCC、TCS以及甲基三氯生(Me-TCS)能在蜗牛和藻类体内生物蓄积,并产生生物 放大效应^[6-7]。重金属和TCS复合污染效应的研究 表明,铜、锌与TCS的复合污染均显著减少了土 壤微生物生物量,并增加了土壤微生物的代谢活 性^[8]。王凤花等^[9]发现,TCS与镉单一及复合污 染对土壤呼吸呈现激活一抑制一激活的生态效应, 并显著抑制土壤蔗糖酶活性。Waller和Kookana^[10] 也发现,当TCS的浓度超过10 mg·kg⁻¹时,土壤的 呼吸作用受到了显著抑制。因此可以预期,土壤中 普遍存在的TCS和TCC对土壤中的元素转化和生态 系统服务功能会产生潜在影响。

在稻田生态系统, 氮素是水稻产量的主要限 制性营养元素,为了提高水稻产量,氮肥经常会被 过量使用^[11]。在好氧条件下,肥料中的氮素通过 微生物的作用将会转化为各种形态氮,而各形态氮 素之间的转化速率控制了各种形态的氮在土壤中含 量的变化^[12]。当TCS和TCC随处理污水和活性污 泥进入水稻田时,由于其抗菌的性质,可能会对 稻田土壤氮转化过程产生影响。例如,有研究显 示, 5 mg·kg⁻¹和50 mg·kg⁻¹的TCS分别显著抑制了 砂土和黏土中的土壤净硝化活性^[10]。N₂O作为土 壤硝化反应的中间产物也可能受到TCS和TCC暴露 的影响,但目前有关TCS和TCC对稻田土壤N₂O排 放影响的研究尚未见诸报道。此外,以往有关外源 污染物对土壤氮转化过程影响的研究大多仅关注其 对氮素净转化速率(如净矿化和净硝化速率等)的 影响, 而对于控制氮形态含量变化的各个过程的初 级转化速率的影响则鲜有涉及。考虑到土壤氮素在 作物生长和环境效应中的重要性及TCS和TCC在土 壤环境的广泛检出,很有必要从氮素初级转化过程 角度开展TCS和TCC对土壤氮转化过程的影响。近 年来,随着¹⁵N同位素示踪技术和模型数值优化算 法的发展^[13-14],使得同时量化土壤中多个氮素转 化过程初级转化速率成为可能,为准确测定土壤氮 素实际转化速率提供了可靠手段。为此,本文采用 ¹⁵N同位素稀释法结合Müller等^[13]提出的氮转化数 值模型,系统地研究不同浓度梯度下TCS和TCC单 一或联合存在对水稻土好氧氮转化过程及N₂O排放 的影响,以期为合理评价TCS和TCC的土壤环境风 险及稻田氮素管理提供科学借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻土采自中国科学院常熟农业生态试验 站水稻田,施氮肥量为300 kg·hm⁻²(以N计,下 同),采样时间为2017年11月,采样时稻田处于 休闲期。采样深度为0~20 cm,采集后的鲜土过 2 mm筛,4℃保存备用。三氯生(纯度大于99%, TCS)和三氯卡班(纯度大于97%,TCC)购于 Sigma-Aldrich(上海,中国),丙酮购于南京化 学试剂股份有限公司,三氯生和三氯卡班的丙酮储 备溶液于4℃冰箱保存备用。

1.2 ¹⁵N示踪实验

本研究采用¹⁵N成对标记技术测定土壤中多个 氮素转化过程的初级速率^[13],实验操作参考Zhu 等^[15]的研究,实验中TCS和TCC的浓度设置参 考土壤和底泥中的实际检出浓度^[16-17]。首先, 称取相当于30g干土重的新鲜土样于250mL三角 瓶中,再加入1 mL的TCS、TCC以及TCS和TCC 混合丙酮储备液(丙酮含量小于0.5%),使其在 土壤中的浓度分别达到2和5 mg·kg⁻¹ TCS、1和 $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TCC}$, $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TCS} + 1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ TCC}$ 和5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC,同时将不加抗 菌剂的处理作为空白对照(CK),每个处理设 置三个重复。每个处理采用¹⁵NH₄NO₃(¹⁵N丰度 为10.3%)和NH4¹⁵NO3(¹⁵N丰度为10.3%)成对 标记,¹⁵NH₄NO₃和NH₄¹⁵NO₃以溶液形式加入三角 瓶中,加入量为1 mL,加入的标记液尽可能均匀 地分布于土壤,其中,NH₄⁺-N和NO₃⁻-N含量均为 50 mg·kg⁻¹(以N计,下同)干土。同时加入2.5 mL 蒸馏水,调节土壤含水量至50%WHC(田间持水 量)。随后,用保鲜膜将三角瓶封口,扎上小孔以 便通气,最后在20℃恒温培养箱中培养96h。

分别于加入标记液后的0.5、24、48和96 h随 机从培养箱中取出各处理的样品,加入150 mL 2

mol·L⁻¹ KCl溶液,于20℃/250 r·min⁻¹下振荡提取 1 h,过滤,提取液保存于4℃冰箱中,并于一周 内完成测定。提取液中NH⁺₄-N和NO⁻₃-N的测定用 MgO-戴氏合金蒸馏法,即先在部分提取液中加入 MgO蒸出NH⁺₄,之后加入戴氏合金,将NO⁻₃还原为 NH⁺蒸出,馏出液均用硼酸+混合指示剂(甲基红 +溴甲酚绿)吸收液吸收,0.02 mol·L⁻¹标准硫酸 滴定,可得到提取液中NH⁺₄-N和NO⁻₃-N的含量。酸 化后的蒸馏液在80℃浓缩,然后用同位素比质谱 仪(MAT-251, SerCon质谱公司,英国)测定¹⁵N 丰度。

1.3 土壤氮初级转化速率和净硝化速率的计算

土壤氮的初级转化速率依据Müller等^[13]的 氮素转化模型结合马尔柯夫链蒙特卡洛随机采 样方法(Markov chmin Monte Carlo Metropolis algorithm, MCMC) 计算方法得出, 共包括8 个初级转化速率: (1)有机氮矿化为铵态氮 (M_{Norg}); (2) 铵态氮固定为有机氮(I_{NH4}); (3) 铵态氮的释放(R_{NH4a});(4) 铵态氮的吸 附(A_{NH4}); (5)自养硝化(O_{NH4}); (6)异养 硝化(O_{Norg}); (7)硝态氮固定为难分解有机氮 (I_{NO3}); (8)硝态氮异化还原为铵(DNRA)。 本研究所用的7种处理土壤氮的初级转化速率符合 一级或者二级动力学方程。土壤氮的初级转化速率 的运算采用MCMC法,通过连续调整模型和实测 $\dot{\mathbf{N}}\mathbf{H}_{4}^{+}-\mathbf{N}$ 和 $\mathbf{N}\mathbf{O}_{3}^{-}-\mathbf{N}$ 的浓度及¹⁵N丰度, 使拟合值最 小化,避免局域最小值问题,确保模型运算过程中 找到真正的全局最小值。此外,根据硝态氮总产生 速率(O_{NH4}+O_{Norg})减去硝态氮总消耗速率(I_{NO3}+ DNRA) 计算得出净硝化速率。

1.4 N₂O含量的测定

称取相当于10 g干土重的新鲜土样于120 mL 血清瓶中,然后在瓶口贴上封口膜,20℃室内预 培养一天。结束后,向血清瓶中加入0.5 mL 0.036 mol·L⁻¹硝酸钾溶液,使得水稻土中N的浓度达到 50 mg·kg⁻¹。在考察TCS和TCC单一作用时,TCS 的浓度梯度为0.01、0.1、1、2和5 mg·kg⁻¹;TCC 的浓度梯度为0.01、0.05、0.1、1和2 mg·kg⁻¹。 联合作用实验中,其浓度梯度(TCS+TCC, mg·kg⁻¹)为0+0、0.01+0.01、0.1+0.05、1+0.1、 2+1和5+2。此外,将不加抗菌剂的处理作为对 照,每个处理设置3个重复,共需48个血清瓶。 加入蒸馏水,调节土壤含水量至65%最大持水量 (WHC),贴上封口膜,扎孔,保证通气。继续 于20℃的恒温培养箱中培养96 h。

分别在加入抗菌剂后0.5、24、48和96 h采集 N₂O气体样品,每次采集气样前先去掉封口膜,用 铝盖密封血清瓶。真空泵抽真空8 min后充入室内 空气1 min,置于20℃恒温培养箱中培养3 h后, 采集血清瓶上部气体,每次抽取气样前用注射器 反复抽提瓶内气体3次以混匀气体,所采集的气 样用配备电子捕获检测器(ECD)的气相色谱仪 (Agilent 7890A,美国)测定。以高纯氮气作为 载气,流速25 mL·min⁻¹,使用不锈钢分离柱(内 径为2 mm,长度3 m),填充材料为Porapak Q (80~100目),分离柱工作温度为55℃,检测器 工作温度为330℃。

N₂O产生速率的计算式如下:

$$V_{\rm N_{20}} = \frac{\mathrm{d}c}{\mathrm{d}t} \times \frac{M}{V_{\rm m}} \times V \times \frac{273}{273 + T} \times \frac{1}{m} \qquad (1)$$

式中, V_{N_2O} 表示N₂O的产生速率,mg·kg⁻¹·h⁻¹;dc/dt 为单位时间内血清瓶内气体浓度增加量,mg·kg⁻¹·h⁻¹; V_m 为气体的摩尔体积,22.4 L·mol⁻¹;*M*为摩尔质 量,28 g·mol⁻¹(N₂O-N);*V*是血清瓶上部有效 空间体积,m³;*m*为烘干土重,kg;*T*为测定气体 时的温度,℃。N₂O累积排放量为前后2次采样测 定的排放通量平均值与时间间隔乘积的累加。

1.5 数据处理

利用SPSS 19.0软件中的单因素方差分析 (One-way ANOVA)(最小显著差异法(LSD) 及邓肯法(Duncan)检验)方法对不同处理下氮 的初级转化速率、净硝化速率、N₂O排放速率以及 N₂O累积排放量的差异进行显著性分析,显著性水 平设置为P<0.05。TCS和TCC的浓度与N₂O累积排 放量之间的关系采用皮尔森(Pearson)相关进行 分析。

2 结 果

TCS和TCC处理下水稻土无机氮库含量及¹⁵N 丰度

TCC和TCS各种处理下,水稻土¹⁵NH₄NO₃ 和NH₄¹⁵NO₃处理NH₄⁺-N和NO₃⁻-N含量变化趋势一

报

致, 整个培养过程, 土壤NH⁺-N含量呈降低趋势而 NO₃-N含量呈升高趋势(图1)。培养96 h后, TCC和TCS各处理下土壤的实测净硝化速率为正 值,其中,5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC处理 的实测净硝化速率最小($6.02 \text{ mg·kg}^{-1} \cdot d^{-1}$), 而 2 mg·kg⁻¹ TCC处理最大(7.81 mg·kg⁻¹·d⁻¹)。与 模型值相比,实测净硝化速率与其无显著性差异 (P>0.05)。5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC处理 的实测净矿化速率为负值($-0.47 \text{ mg·kg}^{-1} \cdot d^{-1}$), 而其余处理均为正值(0~0.75 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 2 mg·kg⁻¹ TCS处理的实测净矿化速率最大。图2显 示,整个培养过程¹⁵NH₄NO₃处理土壤NH₄⁺-N库的 ¹⁵N丰度显著降低(P<0.05),而NO₃-N库的¹⁵N丰度 显著升高(P<0.05)。NH₄¹⁵NO₃处理土壤NH₄⁺-N 库的¹⁵N丰度略有提高, 而NO₃-N库的¹⁵N丰度显著 降低(P<0.05)。

2.2 TCS和TCC处理下水稻土氮的初级转化速率 和净硝化速率

根据Müller等^[13]的¹⁵N转化模型,可计算出8 个土壤氮的初级转化速率,结果发现,添加了TCS 和TCC的水稻土氮的转化过程发生了显著改变(表 1)。与CK的总矿化速率(1.67 mg·kg⁻¹·d⁻¹(以N 计,下同))相比,除1 mg·kg⁻¹ TCC和5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC 处理外,其余的TCS和TCC 单一及联合处理均显著(P<0.05)增加了总矿化 速率(2.07~2.37 mg·kg⁻¹·d⁻¹)。此外,与CK相 比(0.71 mg·kg⁻¹·d⁻¹),除了1 mg·kg⁻¹ TCC处理 外,其余抗菌剂处理均显著(P<0.05)增加了水稻 土的总同化速率(1.06~2.15 mg·kg⁻¹·d⁻¹)。水稻 土的总同化速率随着TCS和TCC单一处理添加剂量 的增加而增加,具有剂量效应,而TCS和TCC的联 合处理则并未观察到明显的剂量效应。2 mg·kg⁻¹ TCC处理以及TCS和TCC联合处理显著(P<0.05) 抑制了铵的吸附速率,其余处理虽然也对铵的吸附 速率有所抑制,但并不显著。与CK相比, TCS和 TCC单一和联合处理均有提高铵释放速率的趋势, 但影响并不显著(表1)。

TCS和TCC处理显著改变了水稻土硝态氮的 总产生和总消耗过程。根据计算结果,CK和所有 处理的异养硝化速率为0,说明该水稻土很可能 缺少异养硝化菌。CK处理的自养硝化速率为8.67 mg·kg⁻¹·d⁻¹,而TCS和TCC单一及联合处理均显



注: 0、2TCS和5 TCS分别代表对照、2和5 mg·kg⁻¹ 三氯生 (TCS); 1TCC和2 TCC分别代表1和2 mg·kg⁻¹ 三氯卡班 (TCC); 2+1TCS+TCC和5+2 TCS+TCC分别代表2 mg·kg⁻¹ TCS+1 mg·kg⁻¹ TCC和5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC。函 中误差线为标准差,下同Note: In the legend, 0, 2 TCS and 5 TCS stands for Control, 2 and 5 mg·kg⁻¹ Triclosan (TCS), respectively; 1 TCC and 2 TCC for 1 and 2 mg·kg⁻¹ Triclocarban (TCC); 2+1 TCS+TCC and 5+2 TCS+TCC for 2 mg·kg⁻¹ TCS+1 mg·kg⁻¹ TCC and 5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCS+1 mg·kg⁻¹ TCC and 5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCS, and bars for standard deviations (*n* = 3).The same below

图1 三氯生和三氯卡班添加处理下土壤铵态氮和硝态氮 含量的实测值(点)和模型模拟值(线)变化

Fig. 1 Measured (Dots) and simulated (Line) concentrations of $\rm NH_4^+$ and $\rm NO_3^-$ in soil during the 96 h of incubation relative to treatment

著 (P < 0.05)抑制了自养硝化速率 (6.22 ~ 8.21mg·kg⁻¹·d⁻¹),抑制率为5.30% ~ 28.31%。自养 硝化速率随着TCS单一处理及TCS和TCC联合处 理浓度的增加而减小(TCS: r=-0.98, P=0.00; TCS+TCC: r=-0.97, P = 0.00),而TCC单一处 理则无明显的剂量关系。与CK的硝态氮固定速率 (0.50 mg·kg⁻¹·d⁻¹)相比,TCS和TCC单一及联 合处理均显著 (P < 0.05)抑制了硝态氮的固定, 其抑制率为78.04% ~ 96.11%。CK和抗菌剂处理中 均存在硝态氮异化还原成铵(DNRA)的过程, 2 mg·kg⁻¹TCS及5 mg·kg⁻¹TCS+2 mg·kg⁻¹TCC处



培养时间 Incubation time /h

图2 TCS和TCC处理下土壤¹⁵N-NH₄⁺和¹⁵N-NO₃⁻实测值(点)和模拟值(线)变化

Fig. 2 Measured and simulated concentration of 15 N-NH₄⁺ and 15 N-NO₃⁻ in soils spiked with 15 NH₄NO₃ and NH₄ 15 NO₃ separately during the 96 hours of incubation relative to treatment

表1 TCS和TCC添加对水稻土氮素初级转化速率及净硝化速率的影响

Table 1 Effects of TCS and TCC (alone or in combination) on N preliminary transformation rate/($mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$) and net nitrification rate/
($mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$) in the paddy soil relative to treatment

处理 Treatment	M _{Norg} (1)	I _{NH4} (2)	O _{NH4} (2)	$R_{\rm NH4a}$ (1)	A _{NH4} (1)	I _{NO3} (1)	DNRA(1)	净硝化速率 Net nitrification rate
0	$1.67 \pm 0.32b$	$0.71 \pm 0.38b$	$8.67 \pm 0.06b$	$0.08 \pm 0.04a$	0.21 ± 0.08a	0.5 ± 0.11a	0.41 ± 0.16a	7.76 ± 0.40a
2TCS	2.15 ± 0.31a	1.41 ± 0.55a	8.21 ± 0.15a	$0.14 \pm 0.08a$	0.17 ± 0.15 a	$0.03 \pm 0.17b$	0.58 ± 0.16a	7.60 ± 0.07 a
5 TCS	$2.07 \pm 0.68a$	2.13 ± 0.76a	6.57 ± 0.11a	$0.13 \pm 0.07a$	$0.15 \pm 0.05a$	$0.03 \pm 0.21b$	$0.28 \pm 0.07 b$	$6.26 \pm 0.22b$
1 TCC	$1.62 \pm 1.14b$	$0.51 \pm 0.27b$	7.83 ± 0.12a	$0.11 \pm 0.06a$	$0.12 \pm 0.07a$	$0.11 \pm 0.19b$	$0.23 \pm 0.09 b$	$7.49 \pm 0.13b$
2 TCC	2.37 ± 0.79a	$1.06 \pm 0.48a$	$8.05 \pm 0.07a$	$0.14 \pm 0.03a$	$0.05 \pm 0.06b$	$0.02 \pm 0.16b$	$0.06 \pm 0.05b$	7.97 ± 0.17a
2 TCS+1 TCC	2.17±0.36a	2.15±0.35a	$7.05{\pm}0.08a$	0.10±0.1a	$0.09{\pm}0.07b$	$0.07{\pm}0.19b$	$0.14{\pm}0.1b$	$6.84{\pm}0.09b$
5 TCS+2 TCC	1.02±0.54b	1.57±0.57a	6.22±0.11a	0.09±0.04a	$0.09{\pm}0.07b$	0.07±0.21b	0.43±0.16a	5.72±0.14b

注: M_{Norg} , 有机氮矿化为铵态氮; I_{NH4} , 铵态氮固定为有机氮; O_{NH4} , 自养硝化; R_{NH4a} , 铵态氮的释放; A_{NH4} , 铵态氮的吸附; I_{N03} , 硝态氮固定为难分解有机氮; DNRA, 硝酸盐异化还原成铵。括号内数字表示各氮转化过程的反应动力学的级数。表中数值均为 均值 ± 标准差 (n = 3)。同一列不同字母表示不同处理与对照相比呈显著性差异 (P < 0.05) Note: M_{Norg} , Mineralization of organic N to NH_4^+ ; I_{NH4} , Immobilization of NH_4^+ to organic N; O_{NH4} , Autotrophic nitrification; R_{NH4a} , Release of adsorbed NH_4^+ ; A_{NH4} , Adsorption of NH_4^+ to recalcitrant organic N; DNRA, Dissimilatory NO_3^- reduction to NH_4^+ . The numbers in brackets represent orders in reaction kinetics of nitrogen transformation processes, separately. Values in the table are means plus or minus standard deviations (n = 3). Different letters in the same column indicate significant difference (P < 0.05) between treatments and control

理提高了DNRA的速率,但并不显著,其余的抗菌 剂处理均显著(P<0.05)抑制了DNRA的速率, 抑制率为31.99%~85.02%。2 mg·kg⁻¹ TCC处理促 进了净硝化,但并不显著,其余的TCS和TCC处理 均显著(P<0.05)抑制了净硝化速率,抑制率为 2.44% ~ 26.19% .

2.3 TCS和TCC处理下水稻土N₂O的排放速率和 累积排放量

TCS和TCC的添加显著改变了水稻土N₂O的排放速率(图3)。培养0.5 h,与对照相比

(8.81×10⁻³ mg·kg⁻¹·h⁻¹), TCS和TCC单一及联 合处理均显著(P<0.05)提高了水稻土N₂O的排放 速率(11.52~13.83×10⁻³ mg·kg⁻¹·h⁻¹),且随着 TCS、TCC以及TCS和TCC联合处理浓度的增加, N₂O的排放速率也随之增加,具有剂量效应。培 养至24 h, 对照处理N₂O的排放速率为1.56×10⁻³ mg·kg⁻¹·h⁻¹, 与0.5 h相比, N₂O的排放速率有所 下降,此时,所有TCS和TCC单一及联合处理的 排放速率在1.53~2.65×10⁻³ mg·kg⁻¹·h⁻¹之间。 TCC单一处理以及TCS和TCC联合处理均显著地 (P<0.05)提高了水稻土N₂O的排放速率,而TCS 单一处理仅在2和5 mg·kg⁻¹时显著(P < 0.05)提高 了N₂O排放速率。随着培养时间的延长,对照处理 N₂O的排放速率(1.82×10⁻³ mg·kg⁻¹·h⁻¹)有所上 升, 2和5 mg·kg⁻¹ TCS单一处理、2 mg·kg⁻¹ TCC 单一处理以及2 mg·kg⁻¹ TCS+1 mg·kg⁻¹ TCC和5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC处理显著(P<0.05) 提高了其排放速率,其余的抗菌剂处理无显著影 响。当培养至96h,与对照相比,所有的TCS和TCC 单一及联合处理的N₂O排放速率均无显著变化。



注:图中数值均为均值 ± 标准差(n = 3);星号表示抗菌剂 处理N₂O排放与对照相比呈显著性差异,P<0.05。下同Note: Values are means plus or minus standard deviations (n = 3); Asterisk indicates significant differences (P<0.05) from that of the control. The same below

图3 TCS和TCC添加对水稻土N₂O排放速率的影响



图4显示,所有TCS和TCC单一及联合处理均 显著(P<0.05)增加了水稻土N₂O的累积排放量。 对照水稻土N₂O的累积排放量为0.26 mg·kg⁻¹,TCS 和TCC单一和联合处理的累积排放量在0.30~0.38 mg·kg⁻¹之间,提高了12.04%~43.11%。TCS和 TCC单一处理N₂O的累积排放量分别为对照处理的 1.13倍~1.42倍和1.13倍~1.44倍;TCS和TCC联 合处理N₂O累积排放量为对照处理的1.17倍~1.44 倍。TCS和TCC单一及联合处理中,水稻土N₂O的 累积排放量随着TCS和TCC添加量的增加而显著增 加,呈现明显的剂量效应。



图4 TCS和TCC添加对水稻土N₂O累积排放量的影响 Fig. 4 Effects of TCS and TCC (alone or in combination) on cumulative N₂O emission from the paddy soil relative to treatment

3 讨 论

3.1 TCS和TCC处理对水稻土矿化-同化循环及硝 化作用的影响

氮是限制水稻生产的营养元素,而水稻土中的 氮通常以有机态氮和无机态氮两种形式存在。研究 发现,某些植物可直接利用土壤中的有机态氮如氨 基酸,但可供绝大多数作物吸收利用的氮仍以无机 态氮为主^[18-19]。土壤中无机态氮的供应包括供氮 量及供氮过程两个方面,其中,供氮过程是评价供 氮能力的重要指标。自然界中,土壤氮素的矿化-同化循环是两个重要环节,也是决定供氮能力的 重要因素^[20]。本研究发现,与对照相比,TCS和 TCC处理的总矿化速率有所增加(表1)。当水稻 土中加入TCS和TCC后,由于其广谱抗菌的性质, 部分微生物被杀死,可溶性细胞质如糖类、氨基 酸和肽类就会从死亡细胞中泄漏出来,而存活的 微生物可利用这部分营养源^[21]。由于这部分营养 源更加容易分解,发生矿化的微生物工作效率可 能会更高,因此,TCS和TCC处理反而提高了水稻 土的矿化速率。Ingham 和Coleman^[22]发现,土壤 微生物可将链霉素和放线菌酮直接作为碳源和氮 源,而TCS和TCC与其有类似的官能团以及抗菌作 用,因此,TCS和TCC也可能为微生物提供了碳源 和氮源,提高了微生物的活性,这有待进一步研究 证实。

传统观点认为, 硝化作用是硝化细菌以CO,作 为碳源,将铵态氮转化为硝态氮,并获得能量的过 程,而近期研究发现,在酸性土壤中,有机氮也可 直接被氧化为硝态氮,即异养硝化作用^[23-24]。本 研究发现, 对照以及TCS和TCC单一及联合处理的 异养硝化速率为0,说明水稻土中很可能缺少异养 硝化菌。图5中,所有TCS和TCC单一及联合处理 的自养硝化速率均受到了显著抑制。自养硝化分两 个阶段完成,即氨氧化过程和亚硝酸氧化过程,氨 氧化作用也被称为亚硝化作用,是硝化过程的限速 步骤^[25],因此,以往对硝化过程的研究主要集中 在氨氧化过程。本研究中, TCS和TCC处理可能抑 制了氨氧化菌(氨氧化古菌和氨氧化细菌)或者亚 硝化细菌的活性。Waller和Kookana^[10]发现,当 TCS在砂土中的浓度超过5 mg·kg⁻¹,将会抑制土 壤的净硝化活性,这与本文的研究结果一致。值得 关注的是、TCS和TCC单一及联合处理对净硝化速 率的影响结果与对自养硝化速率的影响基本一致, 可能的原因是,与硝态氮的总产生(自养硝化和异 养硝化)相比, 硝态氮的总消耗速率(硝态氮的固 定以及DNRA过程)很小,因而, 硝态氮的总产生 速率是净硝化速率较高的主导因素。土壤中氮的同 化是指无机氮被微生物同化吸收进入有机氮库的过 程,其中,微生物同化铵态氮进入有机氮库的过程 即为铵态氮的同化,是评价土壤保氮能力的一个重 要指标。TCS处理以及TCS和TCC的联合处理均显 著促进了水稻土铵态氮的同化,而1 mg·kg⁻¹ TCC 处理对其速率无显著影响, 2 mg·kg⁻¹ TCC处理显 著提高了铵态氮的同化速率,这说明低浓度TCC处 理未达到效应值。TCS和TCC单一及联合处理抑制 了自养硝化过程,这可能为铵态氮的同化提供了底 物,从而增加了其同化速率。Booth等^[26]发现, 土壤中铵态氮的微生物同化速率与氮的矿化速率显 著正相关,但在本研究中,有机氮的矿化与铵态氮 的同化并无显著的相关性,这可能与土壤的理化性 质等有关系。

TCS和TCC处理对水稻土硝态氮固定及 DNRA过程的影响

硝态氮的固定(I_{NO3})是一个消耗硝态氮的过 程,可以避免硝态氮的过度累积。对照处理的I_{NO3} 是TCS和TCC单一及联合处理的4.5倍~25倍,这 可能是因为TCS和TCC是广谱抗菌剂,微生物需要 较多的能量去适应存在抗菌剂的胁迫环境,因此, 与对照硝态氮的同化速率相比,TCS和TCC单一 及联合处理的I_{NO3}几乎可以忽略。铵态氮的同化速 率为硝态氮同化速率的1.4倍~71.0倍,这与Low 等^[27]的研究结果一致,说明土壤微生物更倾向 于铵态氮的同化。对于另一个消耗硝态氮的过程



注:图中加号表示抗菌剂处理提高了氮转化速率,减号表示降低了氮转化速率,问号表示抗菌剂处理对氮转化的影响不显 著Note: The sign of (+) means antimicrobial agent had positive effect on N transformation rate, the sign of (-) means they had negative effect and question mark (?) means their effects were insignificant. ① Heterotrophic, ② Autotrophic nitrification

图5 不同抗菌剂对水稻土氮素初级转化速率的影响示意 图

Fig. 5 Schematic of the effects of antimicrobial agents, separately, on soil N preliminary transformation rate in the paddy soil

DNRA来说,2 mg·kg⁻¹TCS处理对其无显著影响, 而5 mg·kg⁻¹TCS处理显著抑制了DNRA速率,说明 TCS对DNRA过程的抑制有剂量效应,而TCC处理 均显著抑制了DNRA速率,说明参与DNRA过程的 微生物对TCC更敏感。

3.3 TCS和TCC处理对水稻土N₂O排放的影响

N₂O是一种受人类活动影响的重要温室气体, 在自然或耕作土壤中,硝化和反硝化是土壤中N₂O 的主要来源。除此之外,化学反硝化、硝化细菌反 硝化、硝态氮异化还原成铵(DNRA)以及羟胺的 化学分解等过程均能产生N₂O^[28]。与对照相比, TCS和TCC处理显著地促进了N₂O的排放,是对照 N₂O累积排放量的1.13倍~1.44倍, TCS和TCC促 进N₂O排放的具体机制尚待进一步研究,一种可能 的解释是土壤氮转化微生物部分利用TCS和TCC作 为碳源,从而促进了N₂O的排放^[29]。本文中,在 对照与抗菌剂处理的水稻土中,均发现了DNRA 过程,这也说明TCS和TCC处理促进N₂O的排放也 可能是通过对DNRA过程的影响产生的。以往研究 认为,DNRA过程的发生需要严格厌氧的环境及高 含量碳源供给,但近期一些研究表明,DNRA过 程的发生对环境条件的要求可能并不像过去认为 的那样严格,相比于反硝化,DNRA 对氧气的存 在并不十分敏感,在好氧情况下, DNRA较反硝 化更具竞争力^[30-31],在并不完全厌氧的热带和温 带森林土壤中具有很高的初级DNRA 转化速率, 并且DNRA 是这些土壤中硝酸根的主要消耗过 程^[32-33]。目前尚不清楚TCS和TCC处理促进N₂O 产生的具体途径,需要进一步探索其促进N₂O排放 的机理,可能的一种解释是TCS和TCC处理选择性 地抑制了非典型N₂O还原型(nosZ II) 微生物的活 性^[34]。

4 结 论

TCS和TCC的添加改变了水稻土好氧氮转化 过程,1mg·kg⁻¹TCC单一处理及2mg·kg⁻¹TCC+ 5mg·kg⁻¹TCS联合处理对水稻土氮素的矿化-同化 无显著影响,其余TCS和TCC处理均促进了氮的 矿化-同化循环。此外,TCS和TCC处理显著降低 了自养硝化速率、硝态氮的微生物固定速率以及 DNRA速率(其中,2mg·kg⁻¹TCS处理对DNRA 速率无显著影响)。值得注意的是,与对照相 比,在实验周期内(4天),TCS和TCC处理显 著地促进了N₂O的排放,其累积排放量为对照的 1.13倍~1.44倍。TCS和TCC添加增加了水稻土 N₂O的排放,可能影响稻田生态系统对臭氧层破坏 及温室效应的贡献。因此,未来评价TCS和TCC土 壤生态风险时,应重视其对好氧氮转化过程及N₂O 排放的影响。

致 谢 感谢中国地质科学院岩溶地质研究 所杨霖、罗柳玲、李菁等同学在¹⁵N示踪实验给予 的帮助;感谢中国科学院南京土壤研究所柴延超、 李进芳、马舒坦等同学在N₂O排放实验上给予的 帮助。

参考文献

- Ying G G, Yu X Y, Kookana R S. Biological degradation of triclocarban and triclosan in a soil under aerobic and anaerobic conditions and comparison with environmental fate modelling. Environmental Pollution, 2007, 150 (3): 300-305
- Heidler J, Sapkota A, Halden R U. Partitioning, persistence, and accumulation in digested sludge of the topical antiseptic triclocarban during wastewater treatment. Environmental Science and Technology, 2006, 40 (11): 3634-3639
- [3] Cha J, Cupples A M. Triclocarban and triclosan biodegradation at field concentrations and the resulting leaching potentials in three agricultural soils. Chemosphere, 2010, 81 (4): 494-499
- [4] Chu S G, Metcalfe C D. Simultaneous determination of triclocarban and triclosan in municipal biosolids by liquid chromatography tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography A, 2007, 1164 (1/2): 212-218
- [5] Lenz K A, Pattison C, Ma H. Triclosan (TCS) and triclocarban (TCC) induce systemic toxic effects in a model organism the nematode *Caenorhabditis* elegans. Environmental Pollution, 2017, 231 (Part 1): 462-470
- [6] Coogan M A, Edziyie R E, La Point T W, et al. Algal bioaccumulation of triclocarban, triclosan, and methyl-triclosan in a North Texas wastewater, treatment plant receiving stream. Chemosphere, 2007, 67 (10): 1911-1918
- [7] Coogan M A, La Point T W. Snail bioaccumulation

of triclocarban, triclosan, and methyltriclosan in a North Texas, USA, stream affected by wastewater treatment plant runoff. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008, 27 (8): 1788–1793

- [8] Gielen G J H P, Schaik A P V, Northcott G, et al. Effect of copper and zinc on microbial tolerance to triclosan in two soil types. Journal of Soils and Sediments, 2016, 16 (7): 1944-1959
- [9] 王凤花,张振国,贾文,等.三氯生与镉单一及复合 污染对土壤呼吸和酶活性的影响.土壤学报,2018, 55(2):422-431
 Wang F H, Zhang Z G, Jia W, et al. Effects of

single-factor and combined contamination of triclosan and cadmium on respiration and enzyme activity of soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2018, 55 (2): 422-431

- [10] Waller N J, Kookana R S. Effect of trilcosan on microbial activity in Australian soils. Environmental Toxicology and Chemistry, 2009, 28 (1): 65-70
- Galloway J N, Dentener F J, Capone D G, et al. Nitrogen cycles: Past, present, and future. Biogeochemistry, 2004, 70 (2): 153-226
- Ishii S, Ikeda S, Minamisawa K, et al. Nitrogen cycling in rice paddy environments: past achievements and future challenges. Microbes and Environments, 2011, 26 (4): 282-292
- [13] Müller C, Rütting T, Kattge J, et al. Estimation of parameters in complex ¹⁵N tracing models by Monte Carlo sampling. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39 (3): 715-726
- [14] Lan T, Han Y, Cai Z C. Comparison of gross N transformation rates in two paddy soils under aerobic condition. Pedosphere, 2017, 27 (1): 112-120
- [15] Zhu T B, Dang Q, Zhang J B, et al. Reductive soil disinfestation (RSD) alters gross N transformation rates and reduces NO and N₂O emissions in degraded vegetable soils. Plant and Soil, 2014, 382 (1/2): 269-280
- [16] Chalew T E, Halden R U. Environmental exposure of aquatic and terrestrial biota to triclosan and triclocarban. Journal of the American Water Resources Association, 2010, 45 (1): 4-13
- Butler E, Whelan M J, Sakrabani R, et al. Fate of triclosan in field soils receiving sewage sludge.
 Environmental Pollution, 2012, 167 (6): 101-109
- Schimel J P, Bennett J. Nitrogen mineralization:
 Challenges of a changing paradigm. Ecology, 2004, 85 (3): 591-602

- Paungfoo-Lonhienne C, Visser J, Lonhienne T G A, et al. Past, present and future of organic nutrients. Plant and Soil, 2012, 359 (1/2): 1-18
- [20] Murphy D V, Recous S, Stockdale E A, et al. Gross nitrogen fluxes in soil: Theory, measurement and application of N-15 pool dilution techniques. Advances in Agronomy, 2003, 79 (6): 69-118
- [21] Badalucco L, Pomare F, Grego S, et al. Activity and degradation of streptomycin and cycloheximide in soil. Biology and Fertility of Soils, 1994, 18 (4): 334-340
- Ingham E R, Coleman D C. Effects of streptomycin, cycloheximide, fungizone, captan, carbofuran, cygon, and PCNB on soil microorganisms. Microbial Ecology, 1984, 10 (4): 345-358
- Zhang J B, Cai Z C, Zhu T B. N₂O production pathways in the subtropical acid forest soils in China. Environmental Research, 2011, 111 (5): 643-649
- [24] Stange C F, Spott O, Arriaga H, et al. Use of the inverse abundance approach to identify the sources of NO and N₂O release from Spanish forest soils under oxic and hypoxic conditions. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 57 (3): 451-458
- [25] Kowalchuk G A, Stephen J R. Ammonia-oxidizing bacteria: A model for molecular microbial ecology. Annual Review of Microbiology, 2001, 55 (1): 485-529
- Booth M S, Stark J M, Rastetter E. Controls on nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: A synthetic analysis of literature data. Ecological Monographs, 2005, 75 (2): 139-157
- [27] Low A P, Stark J M, Dudley L M. Effects of soil osmotic potential on nitrification, ammonification, N-assimilation, and nitrous oxide production. Soil Science, 1997, 162 (1): 16-27
- Butterbach-Bahl K, Baggs E M, Dannenmann M, et al. Nitrous oxide emissions from soils: How well do we understand the processes and their controls? Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences, 2013, 368 (1621): 20130122
- [29] 周晓丽,王琳,张艺磊,等. 硝态氮源及碳源有效性 对土壤N₂O和CO₂排放的影响. 农业资源与环境学报, 2016,33(2):170—175
 Zhou X L, Wang L, Zhang Y L, et al. Effect of

the availability of nitrate nitrogen and carbon source on N_2O and CO_2 emission from soil (In Chinese). Journal of Agricultural Resources and Environment, 2016, 33 (2) : 170–175

- [30] Bengtsson G, Bergwall C. Fate of ¹⁵N labelled nitrate and ammonium in a fertilized forest soil. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32 (4): 545-557
- [31] Roberts K L, Eate V M, Eyre B D, et al. Hypoxic events stimulate nitrogen recycling in a shallow saltwedge estuary: The Yarra River estuary, Australia. Limnology and Oceanography, 2012, 57 (5): 1427-1442
- [32] Silver W L, Thompson A W, Reich A, et al. Nitrogen cycling in tropical plantation forests:

Potential controls on nitrogen retention. Ecological Applications, 2005, 15 (5): 1604-1614

- [33] Rütting T, Huygens D, Müller C, et al. Functional role of DNRA and nitrite reduction in a pristine south Chilean Nothofagus forest. Biogeochemistry, 2008, 90 (3): 243-258
- [34] Semedo M, Song B, Sparrer T, et al. Antibiotic effects on microbial communities responsible for denitrification and N₂O production in grassland soils. Frontiers in Microbiology, 2018 (9): Article 2121

Influence of Triclosan and Triclocarban on Aerobic N Transformation and N₂O Release in Paddy Soil

CHEN Shuntao^{1,2} ZHU Tongbin³ CHEN Jianqiu^{1†} SHAN Jun^{2†} YAN Xiaoyuan²

(1 The School of Engineering, China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

(2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

(3 Institute of Karst Geology, CAGS, Karst Dynamics Laboratory, MLR and Guangxi, Guilin, Guangxi 541004, China)

Abstract [Objective] Triclosan (TCS) and triclocarban (TCC), are typical pharmaceutical and personal care products (PPCPs) that are extensively detected in soil, posing potential risks of raising soil microbes' drug resistances and inhibiting soil respirations. However, so far little is known about their influences on soil gross N transformation processes and N₂O emissions in soil. [Method] In view of this, an indoor incubation experiment was carried out using the ¹⁵N diluting-enriching method coupled with a N transformation numerical model to investigate influences of TCS and TCC, applied alone or in combination, at varying rates on preliminary N transformation rate and N₂O release rate in paddy soil. [Result] Results show that the treatment of applying 1 mg·kg⁻¹ TCC or 5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC did not have much influence on N mineralization-assimilation in the paddy soil, but all the other treatments did quite reversely (P < 0.05). Besides, all the TCC and TCS treatments significantly inhibited autotrophic nitrification, microbial immobilization of nitrate and dissimilatory nitrate reduction to ammonium (Dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA), except for the treatment of applying 2 mg·kg⁻¹ TCS or 5 mg·kg⁻¹ TCS+2 mg·kg⁻¹ TCC. It is noteworthy that all the treatments (P < 0.05) increased cumulative emission of N₂O significantly or by 1.13 ~ 1.44 folds as compared with the control. [Conclusion] All the findings in this study suggest that TCS and TCC alter aerobic N transformation processes, which may bring about adverse effects on N recycling in the paddy field ecosystem, and promote N₂O emission, which may enhance the potential contribution of the paddy field ecosystem to greenhouse effect and damage of the ozone layer. Therefore, in evaluating soil ecological risks of TCS and TCC in future, it is essential to take into account their potential influences on N transformation and N₂O emission.

Key words Triclosan; Triclocarban; ¹⁵N-tracing; Numerical model; Nitrification; N₂O

(责任编辑:陈荣府)