

# 土壤中的土霉素对蔗糖酶活性的影响

权 刚

(咸阳职业技术学院, 陕西 咸阳 721000)

**摘 要:**近年来,随着累积在土壤中的抗生素逐渐增多,土壤生态环境的污染问题日益显著。针对土霉素的增多来探索其对土壤生态环境的影响,主要研究了对蔗糖酶活性的影响,通过提取用土霉素培养的不同浓度不同时期的土样,测定土壤中葡萄糖的含量,以此表征蔗糖酶的活性。试验表明,通过残留累积在土壤中的土霉素对蔗糖酶的活性影响比较明显。

**关键词:**土霉素;土壤;蔗糖酶;影响

在土壤中,有一类活性物质,被称为土壤酶,它是由部分微生物及动植物的活体分泌物、残体分解物、遗骸分解物等组成的,具有一定催化能力的活性物质。它对促成土壤的发育熟化程度,提升土壤的肥力水平等方面都有重要的作用。土壤酶的种类繁多,根据其在土壤中的功能主要分为水解酶类、裂合酶类、氧化还原酶类和转移酶类等四大类,它们各自在土壤发育过程中都有不同的作用。在水解酶类中,有一种能够促进土壤中的蔗糖通过水解作用形成葡萄糖和果糖的重要活性物质,称为蔗糖酶(亦称转化酶)。当土壤中的有机质、N、P 等元素,和微生物数量增多时,土壤的呼吸强度亦随之增强,同时,蔗糖转化为葡萄糖和果糖的转化率也越高,蔗糖酶的活性也就越高。它的存在,主要是通过酶促转化作用,将植物、微生物等体内的蔗糖,转化为葡萄糖,供其使用促进自身生长。因此,土壤中蔗糖酶的含量及其活性,影响着土壤的熟化程度和肥力状况,也是土壤状况评价的重要因子。

抗生素的种类繁多,有一种四环素类抗生素,在我国畜禽养殖中被广泛使用,主要用作饲料添加剂的抗菌药物土霉素。动物在生长过程中,摄入体内的土霉素有 20% 会被身体吸收,剩余部分则通过粪尿等方式,被排出体外,而这些粪尿又通过腐殖质肥料、沤肥等方式,作为肥料进入农田土壤,污染土壤生态环境。土霉素残留在土壤中,并不能及时降解,会随着时间的推移不断累积,而种植在土壤上的各类农作物及各类植物又会吸收一部分,最终由人类食用而进入体内,如果长期食用此类食物,会导致身体抗药性增加,关键时刻药物

无法发挥效用。

目前国内探索影响土壤环境生态的因素,更多关注的是重金属、有机物、农药等,同时,还将它们作为生态毒理指标之一,研究这些物质在土壤中的残留累积、污染情况,以及土壤生态环境的影响情况等内容。而对于抗生素类药物对土壤的污染,以及用土壤酶活性来评价土壤生态环境却少有研究。

鉴于以上情况,试验设计在采样土壤中,混入浓度递增的土霉素溶液,模拟土壤生长环境,进行暗箱培养,并定量补充土样水分,通过提取、测定不同时期的土样,并用葡萄糖含量来表示蔗糖酶的活性,对照空白分析对土壤蔗糖酶活性的影响,并以此为研究土壤生态环境污染提供参考。

## 1 试验材料与试验方法

### 1.1 试验材料材料

仪器设备:电热恒温培养箱、摇床振荡器、离心机、电热恒温水浴锅、756 型紫外可见分光光度计等。供试材料:土霉素(Oxytetracycline Hydrochloride, OTC),分子式: $C_{22}H_{24}N_2O_9 \cdot HCl$ 。分子量:496.90,纯度 98.9%。

试验用土采自咸阳职业技术学院周边村镇(南北季村),采用棋盘法取 0~20 cm 的耕层土壤。土壤采回后,将大块压碎,再过 2 mm 筛,筛后土样室内风干后分装编号。

### 1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 风干土样在试验之前,用蒸馏水调节土样含水量,调至最大田间持水量的 40% 左右即可,装入密封袋内,模拟土壤生长环境,将土样置于 25℃ 的电热恒温培养箱中,暗箱培养一

收稿日期:2018-05-22 修回日期:2018-07-20

项目来源:土霉素对土壤蔗糖酶活性的影响,项目编号:2015KYA04(咸阳职业技术学院项目)。

作者简介:权刚(1985-),男,陕西咸阳人,硕士,讲师,主要从事资源环境及风景园林方面的教学及科研工作。

周,作为新鲜土样备测。在供试新鲜土样中加入浓度递增的土霉素溶液,配制成含量为 0、10 mg·kg<sup>-1</sup>、17.8 mg·kg<sup>-1</sup>、32.6 mg·kg<sup>-1</sup>、56.2 mg·kg<sup>-1</sup>、100 mg·kg<sup>-1</sup> (0、0.02、0.035、0.065、0.113、0.201 mol OTC·L<sup>-1</sup>) 的试验用土。将各梯度浓度的试验用土称取 250 g,放置于 500 mL 的烧杯中,并在土壤样品中滴入蒸馏水,调节土壤水分的含量,保持在最大持水量的 50%,之后,将调节好的土壤样品,放置于 25℃ 电热恒温培养箱中进行暗箱培养。培养期间,每周用重量差减法计算损失的水分,用蒸馏水补充土样水分,并适当通气,保持土壤活性。测定时,分别取第 3、7、14、21、28、56 和 112 d 的土样进行测定,测定葡萄糖的含量。

1.2.2 测定方法 土样处理:取出土样充分混合后,采用四分法缩减,干燥、过筛进行测定。

测定方法:采用水杨酸比色法。称取 5 g 土样,加入三角瓶中(容量 50 mL),向其中加入浓度为 8% 的蔗糖溶液 15 mL,再滴入磷酸缓冲液 5 mL (pH5.5) 和甲苯 5 滴,混合后置于摇床,充分摇匀后,于恒温箱中在 37℃ 下,培养 24 h。培养完成后,将土样用离心进行过滤,取上层滤液 1 mL 置于容量瓶中(容量 50 mL),然后,向滤液中滴入还原剂 3,5-二硝基水杨酸 3 mL,置于恒温水浴锅中,100℃ 的恒温加热 5 min,取出后用

流动的自来水将容量瓶冷却 3 min,用蒸馏水定容至 50 mL,将比色皿在 756 型紫外可见分光光度计上于 508 nm 比色测定。

表示方法:蔗糖酶活性用 24 h 后土样中葡萄糖的含量 mg·g<sup>-1</sup> 来表示。

1.2.3 抑制率的计算 抑制率即影响作用,表示土霉素对土壤蔗糖酶的影响。

抑制率大于零,表明土霉素的存在对土壤中蔗糖酶的活性具有促进作用;抑制率小于零,则表明土霉素的存在对土壤对蔗糖酶的活性具有抑制作用。负号仅代表抑制,数值大小表明抑制的程度。

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

式中:A—空白对照的土壤蔗糖酶活性

B—加入土霉素后的土壤蔗糖酶活性

## 2 试验结果与分析

按照上述测定方法,分别测定了第 3、7、14、21、28、56、112 天的土样中葡萄糖含量,参照空白试验,结果表明:土样中的土霉素浓度不同,测定出的葡萄糖含量也不同,表征的蔗糖酶的活性也不同。如图 1 所示,在第 3 天时,处理过的土样,其蔗糖酶活性与对照水平相同;在第 7 天到第 56 天中,蔗糖酶的活性均低于对照水平;直到第 112 天时,蔗糖酶的活性又回到对照土样的水平。

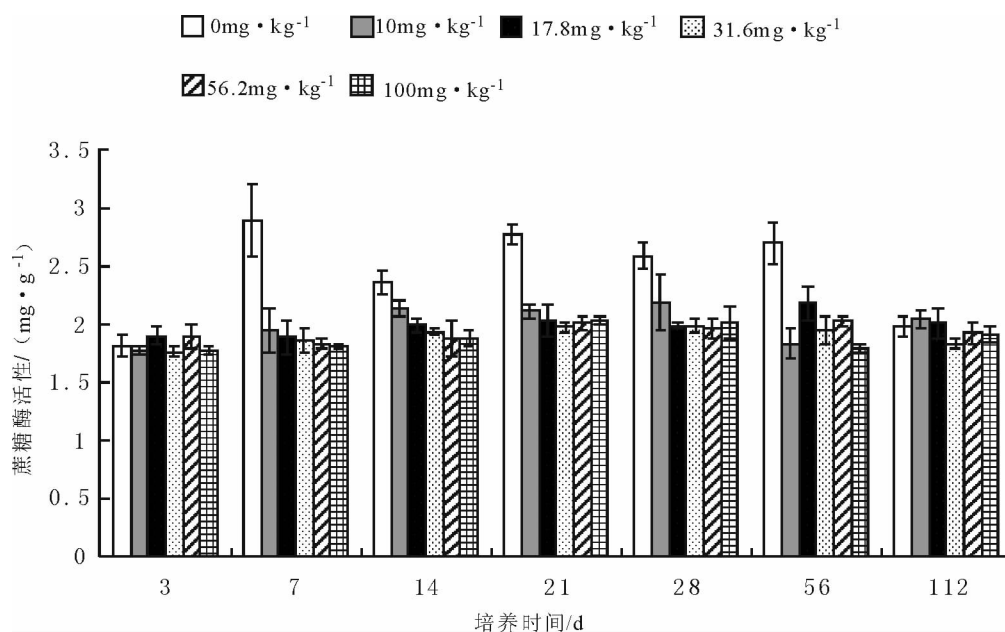


图 1 蔗糖酶活性换算结果

按照抑制率的计算方法,分别计算了第 3、7、14、21、28、56、112 天的处理土样对蔗糖酶的抑制率,如图 2 所示。从图 2 得出,在对土样处理后,土霉素的浓度不同,培养时间不同,其抑制情况也

不同。第 3 天的土样测定结果显示,蔗糖酶活性几乎没有受到影响;第 7 天的土样测定结果显示,蔗糖酶的活性受到了强烈的影响,表现为抑制,其浓度最小的土样抑制率为 33%,浓度最大的土样

抑制率为 37%;在培养的第 14 天,抑制作用稍有下降,但随着土霉素浓度增高,它对蔗糖酶活性抑制作用也越大,土霉素的浓度在  $56.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,对蔗糖酶的活性影响较为强烈,表现为抑制作用,抑制率均为:20%;从第 21 天、第 28 天、第 56 天的测定结果可以看出,蔗糖酶的活性仍然受到了强烈的影响,表现为抑制作用;通过测定第 112 天的土样,土霉素对蔗糖酶的活性影响较小,没有表现出明显的抑制作用,蔗糖

酶的活性与第 3 天的水平相当。甚至在低浓度的土样中,土霉素对蔗糖酶的活性反而产生了促进作用,蔗糖酶活性为 3%;但高浓度的土样中,土霉素对蔗糖酶的活性还是表现为较小的抑制作用。整体上看,在对土样暗箱培养 7 d 后,土霉素对蔗糖酶活性的影响,均表现为抑制作用,而且随着时间增长,抑制作用一直存在,直到第 112 天时,土样中的蔗糖酶活性才回到了初始对照水平。

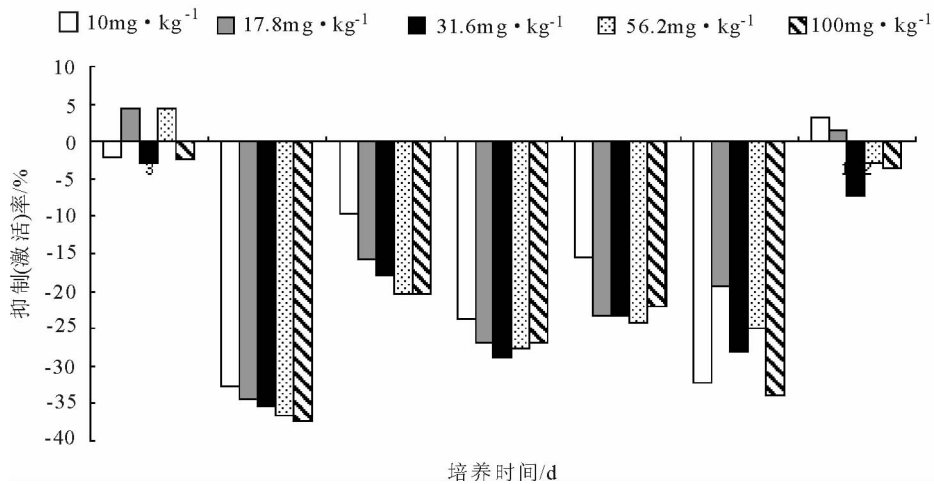


图 2 蔗糖酶活性抑制率换算结果

试验表明,在培养的第 7~56 d 里,所有土样中,不同浓度的土霉素都对土壤蔗糖酶的活性产生了影响,表现出明显的抑制作用;直到第 112 天时,土样中的蔗糖酶活性回到初始水平。由此可见土霉素对土壤中蔗糖酶的活性具有较大影响,这种影响与土霉素在土壤中残留时间有关,而且作用时间是比较长的。

### 3 讨论

通过对土壤进行加工处理,添加不同浓度的土霉素,进行暗箱培养,在不同的时间点测定土壤中蔗糖酶的活性。从试验数据以及对空白分析,土霉素的存在确实对土壤蔗糖酶的活性有影响,在初期表现不明显,从第 7 天开始,表现出较强的抑制作用,而且作用时间较长,直到第 112 天的时候,蔗糖酶的活性又回到了初始水平。

综上所述,土壤中的土霉素确实对蔗糖酶的活性有影响,更多的为抑制作用。此外,土霉素的降解时间较长,很容易在土壤中累积,呼吁大家应尽量减少抗生素类药物的使用,改善土壤的生态环境。

### 参 考 文 献:

[1] 周礼恺. 土壤酶与植物营养以及与农药的相互作用

[J]. 土壤学进展,1981,18-27.

- [2] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社,1983.
- [3] 关松荫. 土壤酶与土壤肥力[J]. 土壤通报,1980,11(06):41-44.
- [4] 哈兹耶夫. 土壤酶活性[M]. 北京:科学出版社,1980.
- [5] 曹慧,孙辉,杨浩,孙波,赵其国. 土壤酶活性及其土壤质量的指示研究进展[J]. 应用与环境生物学报,2003,9(01),105-109.
- [6] 唐启义和冯明光. 数据处理系统[M]. 北京:中国农业出版社,1997.
- [7] 沈萍,范秀容,李广武. 微生物学实验[M]. 北京:高等教育出版社,2002.
- [8] 潘攀,杨俊诚,邓仕槐,等. 土壤-植物体系中农药和重金属污染研究现状及展望[J]. 农业环境科学学报,2011,30(12):2389-2398.
- [9] 刘霞,刘树庆,唐兆宏. 潮土和潮褐土中重金属形态与土壤酶活性的关系[J]. 土壤学报,2003,40(04):581-587.
- [10] 关松荫. 土壤酶活性影响因子的研究:I. 有机肥料对土壤中酶活性及氮磷转化的影响[J]. 土壤学报,1989(01):72-78.
- [11] 万忠梅,吴景贵. 土壤酶活性影响因子研究进展[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2005,33(06):87-92.