

甲磺隆对土壤微生物多样性的影响*

姚斌 徐建民[†] 张超兰

(浙江大学水土资源与环境研究所, 杭州 310029)

EFFECT OF METSULFURON-METHYL ON MICROBIAL DIVERSITY IN PADDY SOIL

Yao Bin Xu Jianmin Zhang Chaolan

(Institute of Soil and Water Resources and Environmental Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China)

关键词 甲磺隆; 土壤; 微生物群落; 多样性指数

中图分类号 S154.37

文献标识码 A

甲磺隆是国内外现阶段广泛使用的一种新型除草剂, 用量少、生物活性高、对人畜低毒等是它的显著特点。已有研究者就该种除草剂在正常用量下对土壤呼吸作用^[1]、硝化作用^[2]、土壤酶活性^[3]、土壤微生物生物量^[4]等进行了研究。相比较而言, 甲磺隆除草剂污染区土壤微生物多样性变化的研究鲜见报道。BIOLOG 碳素利用法是一种较为先进的研究不同环境下的土壤微生物群落结构和多样性的方法^[5]。该方法已广泛应用于鉴定和分析不同体系中的土壤微生物群落结构^[5]、同一土壤不同作物栽培条件下的微生物群落结构^[6]、重金属污染土壤微生物群落结构分析^[7]等方面。然而利用 BIOLING 微平板对农药污染土壤微生物群落多样性影响的研究却鲜见报道。鉴于此, 本研究在人为设定的甲磺隆除草剂污染浓度(10 mg kg⁻¹)下采用碳源利用法(BIOLINGTM ECOMicroPlate)测定实验室培养条件下土壤微生物种群对甲磺隆除草剂污染的动态响应, 旨在揭示不同培养时期甲磺隆除草剂对土壤微生物群落结构和多样性的影响。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土壤为黄筋泥水稻土, 采自浙江省龙游县, 表层(0~20 cm)新鲜土样采集后拣去植物残体, 分

成两部分, 一部分土样直接过 2 mm 筛, 混合均匀, 供培养试验用。另一部分土样风干后, 研磨过筛, 用于土壤基本性质的测定。供试土壤的 pH 为 4.96, 有机碳和全氮分别为 6.05 g kg⁻¹和 1.5 g kg⁻¹, 阳离子交换量为 9.0 cmol kg⁻¹, 粗砂、细砂、粉砂和粘粒分别占 4.5%、70.9%、3.0% 和 21.6%。

1.2 供试除草剂

甲磺隆由江苏省激素研究所提供, 纯度 ≥92%。

1.3 除草剂污染土样的制备

将过 2 mm 筛的供试土样从 4℃冰箱中取出, 置于 25℃恒温生化培养箱预培养 7 d, 称取相当于 100 g 烘干土样的新鲜土样放入 250 ml 三角瓶, 加去离子水调节土壤含水量到田间最大含水量的 40%, 然后准确加入 1 000 μg ml⁻¹的甲磺隆的甲醇溶液 1.0 ml, 待甲醇挥发并搅匀土壤后加橡皮塞, 制得 10 mg kg⁻¹甲磺隆污染土样; 于 25℃恒温生化培养箱中进行暗培养, 重复 3 次。培养过程中损失的水分通过称重法给以补充, 培养后第 2 天、10 天和 30 天取样进行微生物多样性分析。

1.4 土壤微生物碳源利用多样性分析(BIOLINGTM)

土壤微生物碳源利用多样性应用 BIOLINGTM 生态测试板(ECO MicroPlate, 美国 Matrix Technologies Corporation 生产)测定。称取相当于 10 g 烘干土重的新鲜土样加入内有 100 ml 无菌水的三角瓶中, 加无菌棉

* 国家自然科学基金(40171051)、浙江省自然科学基金(RC99032)和高校优秀青年教师奖励基金资助

[†] 通讯作者, E-mail: jxu@mail. hz. zj. cn

作者简介: 姚斌(1973~), 男, 汉族, 博士研究生。研究方向为土壤化学与环境

收稿日期: 2002-10-10; 收到修改稿日期: 2003-05-26

花塞, 在 200 r min^{-1} 下振荡 30 min, 然后, 按逐步稀释法, 依次稀释为 10^{-2} 、 10^{-3} 梯度液。用 10^{-3} 稀释液接种生态测试板, 接种量为 150 μl , 每样一板(3 次重复)将接种好的测试板加盖在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下培养 7 d, 每天用 BIOLOG 自动读数装置在 590 nm 下读数。

1.5 多样性指数应用模型

Shannon、Simpson 和 McIntosh 多样性指数被应用于本研究土壤微生物碳源利用多样性的计算^[8]。

1.6 统计分析

所有数据用 Microsoft $\text{\textcircled{C}}$ Excel 2000 计算处理, 主成分分析由 SAS $\text{\textcircled{C}}$ Release 6. 12⁽¹⁾ 完成。

2 结果与讨论

2.1 甲磺隆对微生物整体活性的影响

BIOLOGTM 生态测试板 (ECO MicroPlate) 动态测定结果表明, 微生物群落结构在污染土壤和对照土壤中有很大区别, 主要表现对平均吸光值的影响和对 BIOLOG 代谢剖面的影响。平均吸光值 (Average Well Color Development, AWCD) 可作为微生物整体活

性的有效指标^[5]。连续 1 周每隔 24 小时 BIOLOGTM 生态测试板的 AWCD 值 (平均吸光值) 表明两种处理土壤微生物群落反应速度和最终能达到的程度有所不同 (图 1)。对照土壤 AWCD 值较甲磺隆处理土壤高。Garland 等认为土壤微生物群落酶联反应速度和最终能达到的程度与群落能利用单一碳底物的微生物的数目和种类有关^[5]。因此对照土壤和甲磺隆污染土壤微生物群落的组成上是有所不同的。对培养第 2 天、第 10 天和第 30 天 3 次取样进行可重复双因素方差分析, 结果表明培养取样第 2 天对照土壤和甲磺隆处理土壤 AWCD 值不存在明显差异 ($F_{2d}= 2.14 < F_{0.05}= 4.6$), 可以认为甲磺隆除草剂对土壤微生物整体活性影响不明显。培养第 10 天及第 30 天取样测试数据表明, 甲磺隆处理土壤 AWCD 值显著低于对照土壤 ($F_{10d}= 8.33 > F_{0.05}= 4.6$; $F_{30d}= 13.49 > F_{0.05}= 4.6$), 可以认为甲磺隆除草剂对土壤微生物整体活性产生明显影响。甲磺隆污染土壤微生物群落所含的能利用 BIOLOG ECO 微平板上的碳底物的微生物要远少于无污染的对照土壤。

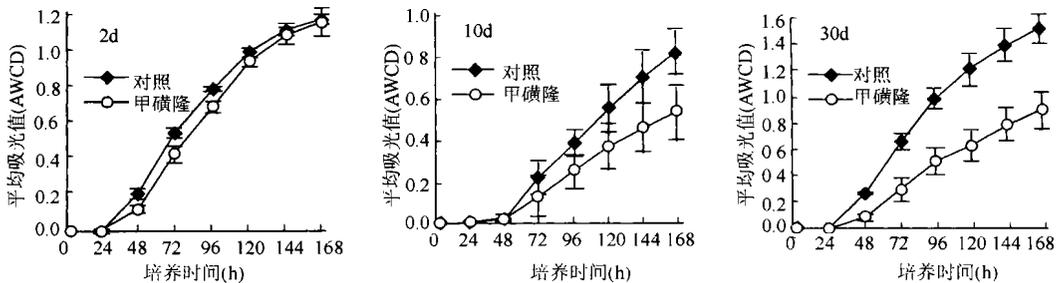


图 1 微生物培养过程中平均吸光值(AWCD)变化

2.2 土壤微生物群落多样性的分析

利用各个碳源吸收值通过 Shannon、Simpson 和 McIntosh 多样性指数模型计算可以获得底物利用多样

性指数^[8]。采用反应 96 h 的数据计算。其中在计算 Simpson 指数时, 数据扩大了 1 000 倍以防止出现负数。三次取样 96 h 土壤微生物多样性指数计算数据见表 1。

表 1 土壤微生物多样性指数

处理	Simpson 指数	Shannon 指数	McIntosh 指数
CK2	19.59 ± 0.66	3.07 ± 0.01	5.54 ± 0.09
CL2	16.34 ± 0.83	2.94 ± 0.08	5.18 ± 0.05
CK10	12.72 ± 0.33	2.65 ± 0.02	4.11 ± 0.16
CL10	7.60 ± 0.10	2.31 ± 0.09	2.17 ± 0.27
CK30	22.14 ± 0.25	3.20 ± 0.02	6.52 ± 0.11
CL30	14.30 ± 0.12	2.80 ± 0.04	4.24 ± 0.17

注: 表中数据为测定样本平均值, CK 代表对照处理, CL 代表甲磺隆处理, 2、10 和 30 为取样时间

不同的多样性指数实际反映了土壤微生物群落多样性的不同侧面。Magurran 指出 Shannon 指数受群落物种丰富度影响较大, Simpson 指数则较多反映了群落中最常见的物种^[8]。Atlas 指出 McIntosh 指数则是群落物种均一性的度量^[9]。经 *t* 检验表明第 2 天取样不同土壤处理所使用的多样性指数中仅 McIntosh 指数存在显著性差异($p < 0.05$)。Simpson 指数和 Shannon 指数之间不存在显著性差异, 甲磺隆处理土壤微生物群落多样性与对照土壤微生物群落多样性差异不显著。第 10 天不同处理土样 Simpson 指数存在极显著差异($p < 0.05$), Shannon 指数和 McIntosh 指数存在显著差异($p < 0.05$), 此结果一方面表明甲磺隆对土壤微生物群落中最常见物种产生显著抑制作用, 另一方面表明甲磺隆对土壤微生物群落中利用碳底物微生物物种均一度上造成显著差异。第 30 天取样不同处理土样 Simpson 指数和

McIntosh 指数之间均存在极显著差异($p < 0.01$), Shannon 指数之间存在显著差异($p < 0.05$), 此结果表明施用 30 d 后甲磺隆对土壤微生物种群中最常见物种及土壤微生物种群中利用碳底物微生物物种均一度造成显著差异。

2.3 土壤微生物碳源利用多样性的主成分分析

应用主成分分析(PCA)来分析微生物碳源利用多样性被认为是最好的解释方法^[10]。图 2 为甲磺隆处理水稻土培养不同时期土壤微生物对生态测试板上 31 种碳源利用(培养 96 h 后读数)的 PCA 计算结果。培养第 2 天, 土壤微生物的碳源利用对甲磺隆污染响应不明显, 对照处理与甲磺隆处理不能很好的分离, 表明甲磺隆对土壤微生物的碳源利用影响不大。培养第 10 天及第 30 天, 对照处理与甲磺隆处理有很好的分离, 表明培养 10 d 以后甲磺隆污染明显影响了土壤微生物的碳源利用。

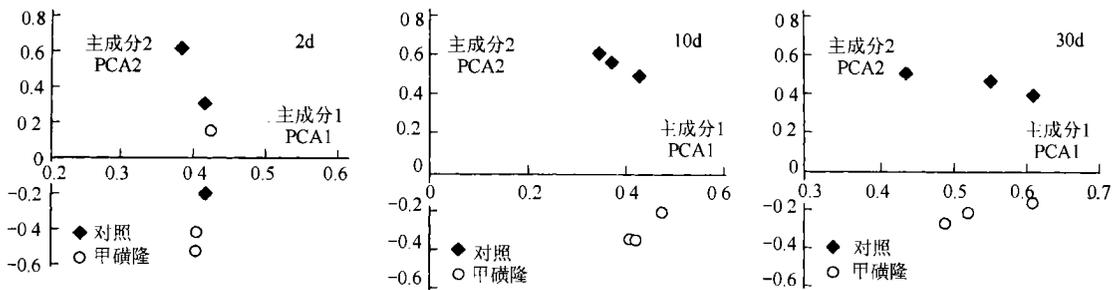


图 2 甲磺隆处理水稻土微生物碳源利用特性的主成分分析

3 结论

甲磺隆除草剂在使用浓度较高时(10 mg kg^{-1})明显降低土壤微生物多样性, 并且这种抑制效果随时间而变化: 培养初期影响不显著, 随培养时间的推移甲磺隆对土壤微生物多样性的影响加剧。其具体影响机制有待进一步研究。

参考文献

- [1] Junnila S, Heinonen-Tanski H, Ervö L R, *et al.* Phytotoxic persistence and microbiological effects of chlorsulfuron and metsulfuron in Finnish soils. *Weed Research*, 1994, 34: 413~423
- [2] Berger B M, Bernd T, Meme H J, *et al.* Effects of crop management on the fate of three herbicides in soil. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 1996, 44: 1900~1905
- [3] Dinelli G, Vicari A, Accinelli C. Degradation and side effects of

three sulfonylurea herbicides in soil. *Journal of Environmental Quality*, 1998, 27: 1459~1464

- [4] 徐建民, 黄昌勇, 安曼, 等. 磺酰胺类除草剂对土壤质量生物学指标的影响. *中国环境科学*, 2000, 20(6): 491~494
- [5] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of patterns of community-level sole carbon source utilization. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1991, 57: 2351~2359
- [6] Zak J C, Willing M R, Moorhead D L, *et al.* Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biol. Biochem.*, 1994, 26: 1101~1108
- [7] Baath E, Diaz-Ravina M, Frostegard A, *et al.* Effect of metal rich sludge amendments on the soil microbial community. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, 64: 238~245
- [8] Magurran A E. *Ecological diversity and its measurement*. Princeton, N. J: Princeton University Press, 1988. 141~162
- [9] Atlas R M. Diversity of microbial community. *Advanced Microbiology Ecology*, 1984, 7: 19~47
- [10] Garland J L. Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities. *Soil Biol. Biochem.*, 1996b, 28: 223~230