

甲磺隆污染土壤的微生物生态效应

姚 斌¹, 徐建民², 尚 鹤¹, 张超兰³

(1.中国林业科学研究院森林生态环境重点实验室, 北京 100091; 2.浙江大学土水资源与环境研究所, 浙江 杭州 310029; 3.广西大学农学院, 广西 南宁 530005)

摘 要:通过实验室培养试验研究了甲磺隆除草剂对土壤微生物活性和多样性的影响。结果表明,甲磺隆除草剂 10 mg·kg⁻¹ 浓度处理释放的 CO₂ 与对照无明显差异,根据危害系数法的分级方法其属于无实际危害级农药;甲磺隆除草剂处理土壤微生物生物量碳、氮测定结果显示,甲磺隆除草剂 10 mg·kg⁻¹ 浓度处理在初始阶段明显降低土壤微生物生物量碳、氮,随培养时间延长土壤微生物生物量先有所恢复,随后又有所下降,在 30 d 后其变化趋于平缓;甲磺隆除草剂对土壤微生物群落结构和多样性产生一定影响,其影响随培养时间不同而异,反映出微生物学指标在一定程度上可作为除草剂污染土壤环境质量变异的有效指标。

关键词:甲磺隆; 土壤微生物; 呼吸强度; 微生物生物量

中图分类号:X172 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-2043(2005)03-0557-05

Ecological Effect of Metsulfuron-methyl on Soil Microbe

YAO Bin¹, XU Jian-min², SHANG He¹, ZHANG Chao-lan³

(1. Key Laboratory of Forest Ecology, Environment and Protection, CAF, Beijing 100091, China; 2. Institute of Soil and Water Resources and Environmental Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029, China; 3. Agricultural College, Guanxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: An incubation experiment was conducted to study the dynamic response of soil microbial activity in a paddy soil taken from paddy field added metsulfuron-methyl of 10 mg·g⁻¹ soil. The amount of emission CO₂, microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen and microbial diversity were determined during the incubation. These soil microbial features varied with the incubation time. There existed no significant difference in the amount of emission CO₂ between the treatment and the control. Microbial biomass C and N decreased in the early culture period, compared with the control, decreasing averagely 14.58% and 24.69% on the 7 day; while, after 14 days of culturing, the microbial biomass C and N increased. The structure of microbial community also changed after metsulfuron-methyl application, as indicated by Biolog data and Canonical Variate Analyses of Biolog community metabolic profiles. Soil microbial metabolic profiles (AWCD) values decreased from 1 day to 14 day after herbicide application, and then it recovered slowly after 14 days. It was suggested that the decline of soil microbial community functional diversities would occur in the soil contaminated by herbicides. So the microbial activities can effectively indicate soil environmental quality transition from contaminated soil to uncontaminated soil.

Keywords: metsulfuron-methyl; soil microbe; biomass; diversity

土壤微生物是土壤生态系统中物质和能量循环的主要参与者,其活动是衡量生态系统各功能是否正常的一个重要方面,对土壤肥力的形成、土壤生态系统的物质循环等具有重要的意义。农田施用的化学农

药大部分散落于土壤中,从而对土壤微生物产生一定的影响。因此,化学农药在农田施用后对土壤微生物的影响已成为评价其生态安全性的一个重要指标,也是农药生态毒理研究的热点之一。有关化学农药对土壤微生物的影响有许多报道^[1-3],但长期以来,有关污染物对土壤微生物影响的研究主要集中在旱作土壤和重金属方面^[4,5],涉及到农药对水稻土微生物活性和群落结构多样性的研究很少,甚至被忽略。甲磺隆是常用的除草剂,国内外已对其微生物降解及其对一

收稿日期:2004-12-17

基金项目:国家自然科学基金项目(40171051);国家林业局“948”项目(2002-16);中国林业科学研究院森林生态环境重点实验室基金资助

作者简介:姚 斌(1973—),助研,博士,主要从事土壤生物化学,环境影响与评价等方面研究。E-mail:aemn21@forestry.ac.cn

些菌类的影响进行了研究^[6,7]。本文从其对水稻土的呼吸强度、微生物生物量碳、氮和微生物多样性等方面的影响进行了研究,旨在了解其土壤微生物生态效应,以便为经济合理地施用甲磺隆除草剂,减少环境污染提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 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,混和均匀,供实验室培养用;另一部分土样风干后,研磨过筛,用于土样基本性质的测定。供试土壤的 pH 值为 4.96,有机碳和全氮分别为 6.1 和 1.51 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%。

1.1.2 药品

甲磺隆由江苏省激素研究所提供,纯度≥92%。

1.2 试验方法

1.2.1 土壤微生物呼吸强度的测定

本试验采用密闭静置测 CO₂ 法^[8]。试验设对照(CK)和除草剂污染土壤(除草剂浓度为 10 mg·kg⁻¹)2 种处理,分别在处理后 5、10、15、20、25、30、35、40、45 d 测定 CO₂ 的释放量,重复 3 次,取平均值。

1.2.2 微生物生物量碳测定

参照 Brookes 等的方法^[9]测定,试验设对照(CK)和除草剂污染(除草剂浓度为 10 mg·kg⁻¹)2 种处理,分别在处理后 1、3、7、14、21、30、45、60、90 d 提取测定微生物生物量碳,重复 3 次,取平均值。其间第 7、14、30、60 d 同时取样测定土壤微生物碳源利用多样性。

1.2.3 微生物生物量氮测定

土壤微生物生物量(茛三酮反应氮)测定采用改进的 Öhlinger 法测定^[10],试验设计及测定液提取方法同微生物生物量碳测定。

1.2.4 微生物多样性测定

土壤微生物碳源利用多样性应用 BIOLOGTM 的生态测试盘(ECO MicroPlate)测定^[11]。试验设计同土壤微生物量测定,处理后 7、14、30、60 d 取样测定土壤微生物多样性。

1.3 统计分析

所有数据用 Microsoft Excel 2000 计算处理,典型变量分析采用 Genstart5.3(NAGLTD, Oxford, UK) 软件完成。

2 结果与讨论

2.1 甲磺隆对土壤微生物呼吸作用的影响

甲磺隆对土壤微生物呼吸作用影响的测定结果见表 1。从表 1 可以看出,加入甲磺隆的处理中,在前两个测定时段内,土壤中 CO₂ 释放量均高于对照,这可能是在此期间土壤微生物对加入的除草剂有一适应过程,土壤微生物对加入除草剂适应后,其活性增

表 1 甲磺隆对土壤微生物呼吸的影响
Table 1 Effects of metsulfuron-methl on the respiration of the soil

项目	试验过程中 CO ₂ 释放量/mg·100g ⁻¹ 干土								
	0~5 d	5~10 d	10~15 d	15~20 d	20~25 d	25~30 d	30~35 d	35~40 d	40~45 d
CK	111.31	44.18	39.78	26.09	29.32	31.67	19.91	19.87	19.16
C 甲磺隆	103.93	50.16	34.97	24.91	20.19	19.62	14.49	15.21	15.86

加,导致放出的 CO₂ 高于对照。在随后的测定时期,甲磺隆处理土壤 CO₂ 释放量减少,且低于对照土壤。20 d 后各处理 CO₂ 释放趋于平缓。

为比较甲磺隆处理与对照之间的差异,通过 *t* 检验进行统计分析。结果表明,甲磺隆处理与对照 CO₂ 释放量无明显差异,即甲磺隆除草剂对土壤微生物的呼吸没有明显影响。根据危害系数法的分级方法^[12],计算得甲磺隆 10 mg·kg⁻¹ 浓度处理的危害系数为 2.08,小于 20,属于无实际危害级的农药。

2.2 甲磺隆对微生物生物量碳、氮的影响

甲磺隆对土壤微生物生物量碳(C_{mic})和生物量氮

(N_{mic})的影响随培养时间的变化趋势如图 1。结果表明培养最初 7 d 甲磺隆处理微生物生物量碳有所下降,培养第 1 d 取样,对照和甲磺隆处理的 C_{mic} 值分别为 224.4 和 231.1 mg·kg⁻¹,培养第 7 d 取样,对照和甲磺隆处理的 C_{mic} 值分别为 213.3 和 182.2 mg·kg⁻¹,甲磺隆处理的 C_{mic} 值比对照下降了 14.58%。甲磺隆处理培养第 7~30 d 微生物生物量上升,30 d 后微生物生物量下降,变化趋缓。受除草剂的影响土壤微生物生物量氮(N_{mic})随时间的变化趋势与生物量碳的变化基本一致。结果显示,甲磺隆进入土壤后导致微生物生物量氮发生变化,培养 0~7 d 微生物生物量氮明显下

降,培养第7 d 甲磺隆处理生物量氮为 $4.88 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,与对照($6.48 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)相比下降了 24.69%。甲磺隆处理培养 7~30 d 微生物量呈上升趋势,30 d 以后生物量下降变化趋缓。

一些研究表明,土壤微生物生物量随着除草剂施用量的增加而降低,尤其是高浓度的除草剂会显著抑制微生物的活性,但也有一些除草剂并不影响或增加土壤微生物的生物量^[13,14]。本研究中,在最初 7 d 培养时间内,甲磺隆除草剂显著降低微生物生物量碳、氮。甲磺隆处理微生物生物量的降低可能与该类除草剂的生物毒性有关,据报道该类除草剂在土壤中即使浓

度很低,其毒性也会显著抑制作物的生长^[15]。培养 14 d 以后,甲磺隆除草剂对土壤微生物的影响随时间的变化趋势可能与该类除草剂在土壤中的降解速率有关。据报道甲磺隆在土壤中降解很快,其半衰期仅为 8~36 d^[16]。本研究中甲磺隆在最初的 14 d 内对微生物生物量影响显著,可以认为当甲磺隆在土壤中降解后,其母体对微生物和作物的毒性随之降低。

2.3 甲磺隆对土壤微生物多样性的影响

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^[17]。甲磺隆对土壤微生物生物多样性的影响见图 2。培养第 7 d

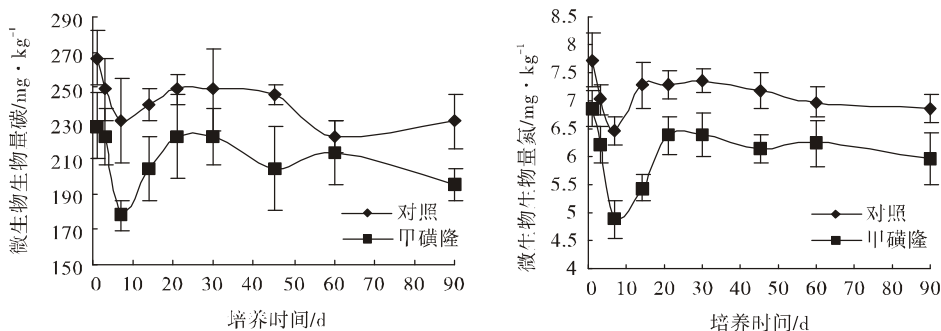


图1 甲磺隆对微生物生物量碳、氮的影响

Figure 1 Effects of metsulfuron-methyl on C and N of microbial biomass

取样,甲磺隆处理的 AWCD 值在整个培养期间与对照差异显著(t 检验, $P < 0.05$),对照土样的 AWCD 显著高于甲磺隆处理。此结果表明甲磺隆处理微生物群落多样性低于对照。培养第 14 d 取样,对照和除草剂处理土样 AWCD 值又发生明显变化:培养前 80 h 甲磺隆处理 AWCD 值大于对照,80 h 后对照 AWCD 值大于甲磺隆处理。培养前 14 d 取样分析结果表明,此阶段甲磺隆处理降低了土壤微生物多样性,减少了能利用有关碳底物的微生物数量,或影响了微生物对碳源的利用。第 30 和 60 d 取样,甲磺隆处理 AWCD 值与对照没有明显差异。这反映了甲磺隆污染土壤中微生物活动强度提高,碳源消耗增加。此结果说明经 30 d 培养,甲磺隆除草剂可以导致土壤微生物的数目和种类的变化,而微生物群落多样性的变化在一定程度上反映了除草剂对土壤环境质量的影响。

为了进一步探讨不同除草剂加入后土壤微生物群落结构的变化情况,对除草剂培养第 7、14、30、60 d 取样 BIOLOG 数据进行标准化变化后实施典型变量分析(Canonical Variate Analyses)。BIOLOG 数据的典型变量的因子载荷通常反映了微生物群落的生理轮廓,是其群落结构和功能多样性的具体体现^[17]。

图 3 为甲磺隆处理在不同取样时间土壤微生物

对生态测试板上 31 种碳源利用 (培养 96 h 读数) 的 CVA 计算结果。结果显示,除草剂处理和对照土样在 31 种碳源构建的典型变量坐标体系中存在明显的空间分异。从图 3 中第 7 和第 14 d 取样分析的 CV2 轴可见,甲磺隆处理土壤在 CV2 轴上的得分值明显低于对照。从分析结果 CV2 轴的因子组成来看, CV2 主要反映了一些碳水化合物(糖类)、不饱和长链脂肪酸和氨基酸碳源的利用情况。可见,除草剂处理土壤微生物对碳源的选择性利用与对照存在明显差异,反映了除草剂污染土壤微生物利用能源碳的种类发生了转移,这也暗示了除草剂污染土壤生态系统丧失微生物群落功能正常化所需的生化特征,因而除草剂污染土壤生境微生物的群落结构和功能多样性会发生相应的变化。培养第 30 和 60 d 甲磺隆处理与对照不能很好分离,此结果表明甲磺隆对微生物的碳源利用影响不大。结合图 2 可推知培养 30 d 后甲磺隆处理土壤中的微生物可能已适应了外加除草剂的影响,土壤微生物种群恢复到了一个相对稳定的水平。表明典型变量因子载荷分析更直观、更实际地证实了除草剂污染环境土壤微生物的不稳定性,相对于无污染土壤其群落结构已发生显著的变化,且其影响随时间的推移而有所缓解。

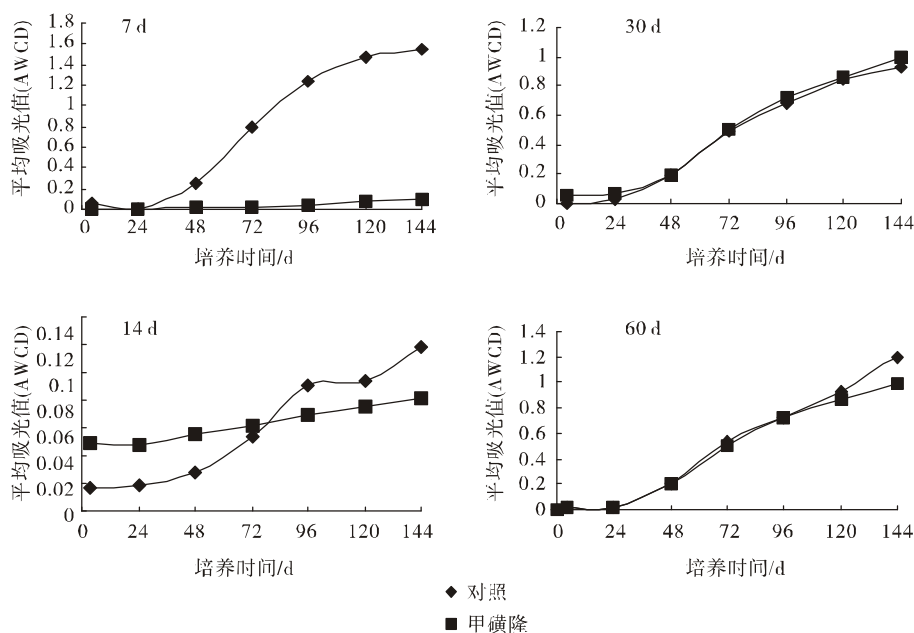
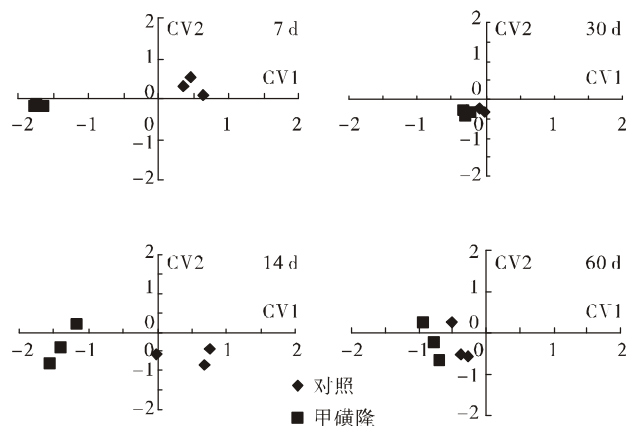


图 2 不同培养时间微生物对碳源的利用程度

Figure 2 Utilization of carbon sources by microorganisms at different incubation time

图 3 除草剂加入土壤不同培养时间后土壤微生物
典型变量因子载荷Figure 3 Canonical variation factors loading for soil microbes
under different culturing times after adding metsulfuron-methyl

3 结论

(1) 以 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 施入土壤中的甲磺隆对微生物的呼吸没有明显影响。根据危害系数法的分级方法其属于无实际危害级农药。

(2) 较高浓度的甲磺隆施入土壤后对微生物生物量产生一定影响, 除草剂施入初期(0~7 d)土壤微生物碳、氮显著降低, 随培养时间的推移微生物生物量有所恢复, 甲磺隆处理土壤培养 7~30 d 微生物量有所恢复, 30 d 后微生物量下降且变化趋缓。

(3) Biolog 测定结果表明, 甲磺隆以较高浓度施入土壤导致微生物多样性发生变化, 变化趋势随培养时间而异: 在初期 1~14 d, 甲磺隆处理土壤的微生物群落结构及其功能多样性发生了显著变化, 甲磺隆污染对水稻土环境微生物生态产生了一定的破坏作用; 在 30 d 以后其影响趋缓。

参考文献:

- [1] Tworkoski T J, Welker W V. Effect of twelve annual applications of diuron, simazine, and terbacil on a soil microbe community in West Virginia[J]. *Proe Annu Meet Northeast Weed Sci Soc*, 1996, 50: 2-6.
- [2] Barriuso E, Houot S, Serra WC. Influence of compost addition to soil on the behavior of herbicides[J]. *Pesti Sci*, 1997, 49(1): 65-75.
- [3] Blumhorst M R, Weber J B, Swain L R. Efficacy of selected herbicides as influenced by soil properties[J]. *Weed Technol J Weed Sci Soc AM*, 1990, 4(2): 279-283.
- [4] Baath E, Diaz-Ravina M, Frostegard A. Effect of metal-rich sludge amendments on the soil microbial community[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, 64: 238-245.
- [5] Chander K and Brookes P C. Plant inputs of carbon to metal contaminated soil and effects on soil microbial biomass[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1991b, 23: 1169-1177.
- [6] Ghani A, Wardle D A. Fate of ^{14}C from glucose and the herbicide metsulfuron-methyl in a plant-soil microcosm system[J]. *Soil Biol Biochem* 2001, 33, 71-76.
- [7] Abdullah AR, Sinnakkannu S, Tahir NM. Adsorption, desorption, and mobility of metsulfuronmethyl in Malaysian agricultural soil[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2001, 66: 762-769.
- [8] 中国科学院南京土壤研究所微生物室编. 微生物研究法[M]. 北京:

561	姚 斌等:甲磺隆污染土壤的微生物生态效应	2005年 6 月
科学出版社, 1985.		
[9]	Brookes P C,et al. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil[J]. <i>Soil Boil Biochem</i> , 1985, 17: 837–842.	microbial biomass of the soil [J]. <i>Zeitschrift fur Pflanzenkrnkheiten und Pflanzenschutz</i> , 1984,10:203–210.
[10]	Öhinger R. Indirect estimation of microbial biomass[A]. In: Schinner F, Ohlinger R, Kandeler E and Margesin R eds.Methods in Soil Biology [C]. <i>Spring–Verlag Berlin Heidelberg</i> , 1995.57–62.	[14] Wardle D A, Parkinson D. Relative importance of the effect of 2,4–D, glyphosate and environmental variables on the soil microbial biomass [J]. <i>Plant and Soil</i> , 1991,134(2):209–219.
[11]	Lawlor K, Knight BP, Barbosa–Jefferson VL, Lane PW, Lilley AK, Paton GI, McGrath SP, O’ Flaherty SM and Hirsch PR. Comparison of methods to investigate microbial populations in soils under different agricultueal management[J]. <i>FEMS Microbial Ecol</i> , 2000, 33: 129–137.	[15] kotoula–Syka E, Eleftherohorinos I C, Gagianas A A, et al. Phytotoxicity and persistence of chlorsulfuron, metsulfuron–methyl, trisulfuron and tribenuron–methyl in three soils [J]. <i>Weed Research</i> ,1993,33: 355–367.
[12]	蔡道基, 江希流, 蔡玉祺. 化学农药对生态环境安全评价研究 I: 化学农药对土壤微生物的影响与评价[J]. <i>农村生态环境</i> , 1986, (2):9–13.	[16] James T K, Klaffenbach P, Holland P T,et l. Degadation of primisul-furon–methyl and metsulfuron–methyl in soil [J]. <i>Weed Research</i> , 1995,35:113–120.
[13]	Nowak A A. Mathematical model for the effect of monolinuron on the	[17] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of simples of microbial communities using patterns of potential C source utilization [J]. <i>Soil Biol Biochem</i> , 1996, 28:213–221.