

酸性矿山废水污染的水稻田土壤中 重金属的微生物学效应

李永涛¹, Thierry Becquer², Cécile Quantin³, Marc Benedetti⁴,
Patrick Lavelle², 戴 军^{1*}

(1. 华南农业大学资源环境学院, 广州 510642; 2. 法国发展与合作研究院热带土壤生态及生物多样性研究室, 巴黎, 法国;
3. 南巴黎大学地学部, 巴黎, 法国; 4. 皮埃尔玛丽居里大学地球化学与金属实验室, 巴黎, 法国)

摘要: 采样调查了广东大宝山地区受酸性采矿废水长期污染的亚热带水稻田的土壤理化性质, 重金属 Cu、Pb、Zn、Cd 的全量及其 DTPA 浸提量, 以及微生物生物量及其呼吸活性等指标。利用主成分和逐步回归分析了影响土壤重金属的有效性及其微生物学效应的因素。结果表明: 土壤富含硫, 强酸性, 有机碳、全氮较低, 4 种金属的全量普遍超标。DTPA 可提取态金属含量较高, 不仅与其全量呈显著正相关, 而且与土壤酸度和粘粒含量正相关, 和 Mn 含量负相关。过量的金属显著降低了土壤微生物生物量 C/N、微生物商、生物量 N/全 N 比, 并抑制了微生物呼吸强度和对有机碳的矿化率, 导致了土壤 C/N 比的升高。同时, 金属对微生物群落及生理代谢指标, 如微生物生物量 C/N 比和代谢商的影响不显著。DTPA 可提取态金属, 特别是 DTPA-Cu 是导致微生物生物量和活性指标变化的主要因素。以有机碳(或全氮)为基数的复合微生物指标降低了土壤性质差异造成的干扰, 较单一指标更能准确指示微生物对金属胁迫的反应。土壤硫没有对金属有效性和微生物指标产生明显影响, 但其氧化过程可能引起酸化和金属离子的释放。

关键词: 重金属污染; 水稻土; 微生物; 有机碳矿化; 广东大宝山

Effects of heavy metals on microbial biomass and activity in subtropical paddy soil contaminated by acid mine drainage

LI Yong-Tao¹, Thierry Becquer², Cécile Quantin³, Marc Benedetti⁴, Patrick Lavelle², DAI Jun^{1*} (1. College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, 510642, Guangzhou, China; 2. Biodiversité et Fonctionnement des Sols, IRD, France; 3. Université Paris Sud XI FRE Orsay/ Terre 2566 Bat. 504 91405 Cedex France; 4. Laboratoire de Géochimie et Métallogénie / Université Pierre et Marie Curie, France). *Acta Ecologica Sinica*. 2004, 24(11): 2430~2436.

Abstract: Soil samples were collected from long-term metal-contaminated rice field in Dabao Shan area of Guangdong province, China. Soil physico-chemical properties, total contents and DTPA extractable fractions of Cu, Pb, Zn and Cd, and microbial biomass and organic carbon mineralization were investigated to analyze their relationships. Principal component analysis and stepwise regression were employed to characterize availability of heavy metals, microbial responses and their effect factors in the studied soil. The results showed that irrigation with acid mine drainage since end of 1960s resulted in high sulfur content, strong acidity, relatively low organic carbon and total nitrogen, as well as high contents of heavy metals and their DTPA

基金项目: 法国中国先进研究计划资助项目(PRA E03-2); 广东省自然科学基金资助项目(032255); 华南农业大学新学科扶持基金资助项目(4200-K03226)

收稿日期: 2004-08-09; **修订日期:** 2004-10-18

作者简介: 李永涛(1970~), 男, 山东莱州人, 硕士, 讲师, 主要从事土壤生态学研究。

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: daijun@pub.guangzhou.gd.cn

致谢: 本研究得到翁源县农业局、新江镇政府的大力支持; 华南农业大学资源环境学院的梁中龙、范秀丹老师对野外采样, 朱夕珍、刘远金、郑少玲老师, 研究生张池、刘科学及其他环境工程、土壤实验室相关人员对样品分析提供了大量协助, 特此致谢

Foundation item: France-China Advanced Research Project (No. E03-2); Natural Science Foundation of Guangdong Province (No. 032255); Development Foundation of Advanced Subjects of South China Agricultural University (No. 4200-K03226)

Received date: 2004-08-09; **Accepted date:** 2004-10-18

Biography: LI Yong-Tao, Master, lecturer, mainly engaged in soil ecology. E-mail: yongtao@pub.guangzhou.gd.cn

extractable fractions. DTPA extractable metals were not only influenced principally by their total contents, but also were positively related to soil acidity and clay contents, and were negatively correlated with soil Mn contents. Excessive heavy metals remarkably reduced soil microbial biomass carbon, biomass nitrogen, ratio of biomass carbon to organic carbon and ratio of biomass nitrogen to total nitrogen. Metals also inhibited microbial respiratory activity and rate of mineralization of soil organic carbon, finally led to increase in soil C/N. In contrast, elevated heavy metals did not significantly influence microbial biomass C/N and metabolic quotient (qCO_2), which are considered as parameters of microbial community composition and physiological metabolism. Stepwise regression indicated that DTPA extractable metals, especially DTPA-Cu, were major factors affecting microbial biomass and carbon mineralization, rather than total contents. Apart from close relationship between metals and microbial indices, some soil physico-chemical characteristics, such as organic carbon and total nitrogen, were highly associated with microbial biomass carbon, nitrogen and soil basal respiration. Some linked microbial indices including ratio of biomass carbon to organic carbon, ratio of biomass nitrogen to total nitrogen, and CO_2 evolution per unit organic carbon, can decrease the blurring effect of soil spatial variability on study of metal stress. Our results further showed that metal indices were involved in regression models of influencing factors of such linked parameters, while most of soil physico-chemical parameters were eventually excluded from the models. It demonstrates that these linked indices could serve as microbial indicators of metal stress. In addition, soil sulfur did not show pronounced effect on availability of metals and change in soil microorganism. However, oxidation of sulfide was regarded as important cause of metal ion loose and acidification. Soil physico-chemical characteristics may indirectly influence microbial biomass and carbon mineralization through their effects on availability of heavy metals.

Key words: heavy metal contamination; paddy soil; microbial biomass; organic carbon mineralization; Dabao Shan
文章编号:1000-0933(2004)11-2430-07 中图分类号:X172 文献标识码:A

土壤重金属不仅影响微生物数量和活性,改变土壤生态系统的机能^[1],还能通过作物吸收进入食物链,危害人类健康^[2]。评价重金属的生态毒性,必须研究金属的有效性及其对生物的影响^[3]。金属的有效性不仅与其形态有关,也受土壤条件等多种因素影响^[4]。同时,微生物在土壤有机质分解、营养物质循环和作物利用等方面起着重要作用^[5]。由于对环境胁迫的敏感性要比土壤动物和植物高得多^[4],微生物也成为评价土壤环境变化的重要指标^[6]。因此,研究重金属的微生物学效应成为了当前国际研究的热点之一。但是,以往的研究多集中在实验室模拟,或是对森林、草地土壤及旱地农田的监测。由于实验方法、土壤类型、金属有效性、外部干扰和微生物群落的差异,大量不同或相反的微生物反应趋势被报道^[4,7]。实验室外源加入重金属造成的微生物短期急性触杀,或在某类土地或土壤类型上的金属胁迫机制,并不能准确反映其它土地或土壤类型长期逐步积累的金属胁迫导致的微生物种群规模、活性、结构、耐性和适应性的变化^[7]。水稻是世界上最重要的农作物之一,淹水栽培和高强度耕作形成了水田复杂的土壤化学和微生物群落反应,使水稻土壤成为独特的农业生态系统^[8],但对水田土壤的重金属微生物学效应还较少国内外报道。本文旨在研究粤北大宝山酸性矿山废水长期污染的水稻土壤重金属含量及其有效性,分析其对微生物生物量和有机碳矿化的影响,以丰富该领域的研究结果和确定重金属胁迫下水田土壤的微生物特性。

1 材料与方法

1.1 调查区描述与采样

研究区位于广东省北部大宝山铜硫矿、褐铁矿及铅锌矿露天采矿区下游约6km处(24°30'N, 113°45'E)。20世纪60年代末开始的酸性含硫重金属矿山废水污灌,造成该地区水稻土壤不同程度的污染。本研究在同一灌溉系统内,地形、土壤和耕作条件相近的水田内选取5个采样点,各距离60m,按离污灌水源主要入口的距离由近到远依次编号。每点在1m²范围内随机采集3个独立的土壤样品作为重复,采样深度0~10cm。部分土壤样品室温风干粉碎,过2mm筛,用以分析土壤pH、粘粒含量和DTPA可浸提的金属。另一部分样品磨细全部过0.15mm筛,用以测定有机C、总N、全S和金属全量,其余样品保持湿润,4℃储存,用于微生物指标的测定。

1.2 土壤理化性质和金属的测定

供试土壤酸碱度用pH仪(PHS-3C)按1:2.5土水比浸提测定。总有机C、总N及全S用CHN元素分析仪(1108 Carlo Erba)干烧测定。小于0.002mm的粘粒含量在用H₂O₂去除有机质后用吸管法测定。土壤Cu、Pb、Zn、Cd以及Ca、Fe、Mn全量分析采用HF-HNO₃-HClO₄消煮,原子吸收分光光度法测定^[9]。DTPA可提取态的Cu、Pb、Zn和Cd的测定采用在样品调至平均土壤pH范围^{另见数据}mol/L DTPA+0.01mol/L CaCl₂+0.1mol/L TEA振荡浸提1h,原子吸收分光光度法测定^[10]。

1.3 微生物生物量C和N的测定

土壤微生物生物量C和N的测定采用氯仿熏蒸-硫酸钾浸提法^[11]。土壤样品用无酒精氯仿28℃黑暗真空条件下熏蒸24 h,与不熏蒸的对照样品同时用0.5 mol/L K₂SO₄按质量与体积比1:5土液比振荡浸提30 min(200r/min)。5100 g 力下离心10 min后过滤。浸提液中的有机C采用重铬酸钾消化法测定^[12],总N采用碱性过硫酸钾氧化将N转化成NO₃-N后用紫外分光光度法测定^[13]。生物量C(*B_c*)和N(*B_n*)分别按下列公式计算: $B_c = E_c/0.38^{[11]}$, $B_n = E_n/0.45^{[14]}$,其中*E_c*和*E_n*分别为熏蒸和对应不熏蒸样品的浸提液中的有机C和总N的差值。

1.4 土壤呼吸强度指标的测定

采用NaOH吸收法测定标准条件下微生物碳源矿化过程中CO₂产生量^[15]。50 g土壤样品(干重)调至60%田间持水量并稳定24h后,在28℃黑暗条件下1 L玻璃瓶中密封培养,用NaOH吸收瓶中产生的CO₂,分别在1、2、4、7、14、21 d和28 d后用适量1 mol/L BaCl₂沉淀碱吸收瓶的CO₃²⁻,用标准酸滴定剩余的NaOH以计算CO₂产生量,以确定土壤基础呼吸。分别以单位有机C和单位生物量C产生的CO₂量来确定各培养阶段的有机C矿化率和微生物代谢商。

1.5 统计分析

数据统计利用SPSS 11.5.0 (SPSS Inc.)和ADE-4^[16]进行。Tukey LSD用以比较样点间金属和微生物指标的差异显著性。主成分分析用以对各变量和各样点间的关系进行多变量分析。多元逐步回归分析用以筛选影响金属有效性和微生物变化的决定因素。

2 结果分析

2.1 土壤理化性质及重金属含量

由表1可见,供试水稻土壤呈强酸性,平均pH值为2.9。土壤有机碳和总氮含量较低,分别变化于4.7~15.3g/kg和0.3~1.4 g/kg之间。土壤平均C/N为11.1。各样点土壤硫平均从6.2~205 g/kg显著变化,靠近灌渠的样点硫含量极高。小于0.002 mm粘粒含量在147~325 g/kg之间。土壤Ca、Fe、Mn的含量分别在1037~2572 mg/kg,86~111 g/kg,132~332 mg/kg之间变化。

表1 供试土壤主要理化性质

Table 1 Main physico-chemical characteristics of soil samples

采样点 Sample plot	pH 值	有机碳 Organic C (g/kg)	全氮 Total N (g/kg)	土壤 C/N C/N	全硫 S (g/kg)	粘粒 <0.002mm Clay (g/kg)	钙 Ca (mg/kg)	铁 Fe (g/kg)	锰 Mn (mg/kg)
1	2.2±0.1	4.7±0.1	0.3±0.0	13.7±0.6	205.0±16.1	149±47	2572±146	111±1.6	132±2.6
2	2.3±0.1	4.7±0.1	0.5±0.1	10.7±2.0	62.7±0.6	147±23	1567±31	111±2.2	332±6.6
3	2.8±0.1	12.8±1.6	1.2±0.1	10.5±0.3	29.9±7.5	325±42	1225±58	99±3.8	159±6.2
4	3.6±0.1	7.4±1.4	0.8±0.0	9.5±2.0	17.0±2.0	232±47	1458±172	109±1.6	261±11.7
5	3.5±0.3	15.3±0.6	1.4±0.1	11.1±0.5	6.2±1.5	283±0	1037±104	86±3.4	145±6.1

平均值±标准差, *n*=3 Mean± standard deviation, *n*=3

表2显示,5个采样点土壤中Cu、Pb、Zn和Cd的全量均值分别在641~2752,338~1092,279~356,2.5~5.5 mg/kg之间。各样点土壤中4种金属普遍污染严重,而以Cu最为突出。DTPA—Cu、—Pb、—Zn和—Cd均值分别为57.5到170.3,30.2到156.7,24.1到75.3,0.18到0.75 mg/kg。Tukey LSD检验(表2)表明,各样点间的金属全量和DTPA浸提量存在显著差异。

表2 土壤重金属全量和DTPA浸提态含量(mg/kg)

Table 2 Total and DTPA extractable heavy metal contents of soil samples

采样点 Sample plot	全铜 Total Cu	DTPA—铜 DTPA—Cu	全铅 Total Pb	DTPA—铅 DTPA—Pb	全锌 Total Zn	DTPA—锌 DTPA—Zn	全镉 Total Cd	DTPA—镉 DTPA—Cd
1	2752±65d	170.3±15.5b	1092±44e	156.7±16.3c	338±12bc	65.3±12.4b	4.0±0.5b	0.39±0.15a
2	1875±38c	118.8±8.3b	517±10b	65.4±1.3b	356±7c	75.3±0.5b	5.5±0.1c	0.75±0.06b
3	1054±72b	79.9±2.2a	833±53d	86.8±21.7b	341±11bc	68.3±8.8b	3.8±0.4b	0.38±0.09a
4	763±38a	57.5±9.5a	339±29a	30.2±0.0a	329±5b	41.6±5.4a	2.7±0.0a	0.18±0.05a
5	641±76a	63.1±1.3a	652±74c	31.6±0.9a	279±8a	24.1±1.1a	2.5±0.1a	0.18±0.05a

同列金属指标不同的小写字母表示各采样点间Tukey LSD检验差异达显著水平(*P*<0.05) Different letters following means in one column indicated significant differences by Turkey LSD (*P*<0.05);平均值±标准差, *n*=3 Mean± standard deviation, *n*=3

2.2 土壤微生物生物量及其呼吸强度指标

供试土壤的微生物指标如表3所示,各样点土壤微生物生物量C和N均值分别为13.1~101.1 mg/kg,1.5~14.3 mg/kg之间。生物量C与有机C之比(微生物商)在0.3%~0.9%之间,生物量N/全氮比从0.4%~1.8%,而生物量C/N在4.6~9.0之

间。各采样点 28d 培养累计的土壤基础呼吸均值在 58.9 到 504.6 mgCco₂/kg soil 之间,相应的有机碳矿化率为 0.45 到 1.53 mgCco₂/(g C_{TOC}·d),微生物代谢商为 4.5 到 5.6mgCco₂/mg C_{bio}。Tukey LSD 检验(表3)表明,除了代谢商外,上述微生物指标在各样点间的差异显著。同时,有机碳矿化率变化曲线(图1)显示了 28d 培养期间各样点矿化率的动态变化。在适宜的水分和温度条件下,供试土壤微生物需要 4 天的培养时间才能从较低的活性状态达到最高的碳基质利用水平,以支持代谢恢复初期较高的能量需求。之后,有机碳矿化率开始下降,在 14d 后基本达到稳定水平。

表3 土壤微生物指标
Table 3 Soil microbial indices(0~10cm)

采样点 Sample plot	微生物量 C Biomass C (mg/kg)	微生物商 Biomass C /TOC (%)	微生物量 N Biomass N (mg/kg)	生物量 N/全 N Biomass N /Total N (%)	微生物 C/N Biomass C/N	土壤基础呼吸 Basal respiration (mg Cco ₂ /kg soil)	有机碳矿化率 C mineralization (mg Cco ₂ /(gC _{TOC} ·d)	微生物代谢商 qCO ₂ (mgCco ₂ /mgC _{bio})
1	13.1±1.8a	0.3±0.0a	1.5±0.0a	0.4±0.0a	9.0±1.5b	58.9±14.8a	0.45±0.12a	4.5±0.6a
2	24.5±8.2ab	0.5±0.2ab	2.8±0.2a	0.6±0.1a	8.6±2.3b	131±14.0a	0.99±0.09b	5.6±1.2a
3	77.6±28.6c	0.6±0.3ab	12.7±6.3b	1.1±0.7ab	6.4±1.2ab	321±58.9b	0.89±0.06b	4.6±2.1a
4	67.0±19.9bc	0.9±0.3b	14.3±2.9b	1.8±0.4b	4.6±0.4a	317±59.5b	1.53±0.19c	5.1±2.2a
5	101.0±9.7c	0.7±0.1ab	12.1±3.3b	0.9±0.3ab	8.6±1.4b	505±38.4c	1.18±0.05b	5.0±0.7a

同列微生物指标不同小写字母表示各采样点间 Tukey LSD 检验差异达显著水平($P<0.05$) Different letters following means in one column indicated significant differences by Turkey LSD ($P<0.05$);平均值±标准差, $n=3$ Mean±standard deviation, $n=3$

2.3 土壤、金属和微生物指标间的关系

对土壤、金属和微生物指标进行主成分分析以确定三者的相互关系。获得的第一(PC1)和第二主成分(PC2)的累计方差贡献率达到 76.3%,说明这 2 个独立的主成分变量可以反映 25 个原始变量的大部分信息(图 2)。

PC1 和 PC2 的空间载荷图(图 2a)表明:土壤、金属和微生物指标三者间总体上存在密切关系。PC1 与 4 种重金属的全量和 DTPA 提取态含量、土壤矿物元素 Ca、Fe、S 以及土壤 C/N 呈显著正相关,而与微生物指标,包括生物量 C、N、微生物商、生物量 N/全 N 比、土壤基础呼吸、有机碳矿化率,以及土壤理化指标,包括 pH、有机 C、全 N 和粘粒含量显著负相关。PC1 反映了在本研究条件下,重金属对土壤微生物生物量及其对有机碳利用能力显著的抑制关系。PC2 与微生物生物量 C/N、代谢商显著负相关但与土壤 Mn 正相关,反映了微生物的群落和代谢特性,而该类指标与金属含量相关不显著。各变量中,金属全量及其 DTPA 浸提量之间,土壤 S 与酸度、Ca、Cu、Pb 之间,以单位土壤重为基数的

的微生物生物量 C、N、基础呼吸之间及其与土壤有机 C、全 N 之间都表现出极显著正相关关系(相关系数阵未列出, $P<0.001$)。同时,主成分得分图显示(图 2b);各样点根据其在空间载荷图的 PC1 和 PC2 信息被明显区分开。样点间金属和微生物属性差异达极显著水平($P<0.00001$)。从样点 5 到样点 1,随着到灌渠距离的缩短,土壤 pH、有机 C、全 N、粘粒含量下降,矿物元素 Ca、Fe、S,以及金属的全量和 DTPA 浸提量显著增加,而微生物量和有机碳矿化率显著降低。

以 4 种金属的 DTPA 浸提量为因变量,以金属全量和土壤理化指标为自变量,同时,以微生物指标作因变量,以土壤理化指标和金属指标作自变量,分别进行逐步回归分析,剔除间接和干扰性因素,确定对有效态金属和微生物指标最重要和直接的影响因素。所得拟合模型均达到极显著水平(表 4)。结果表明:影响 4 种金属的 DTPA 浸提量的最终因素以金属全量为主,土壤理化性质也有显著的影响。其中,DTPA—Cu 的含量与其全量和粘粒含量正相关,DTPA—Pb 与 Pb 和 Cu 的全量正相关,与 Mn 含量负相关。DTPA—Zn 与其全量正相关,而和 pH 负相关。而 DTPA—Cd 只与其全量正相关。微生物指标的影响因素,除了生物量 C,影响微生物量指标的最终因素都是 DTPA—Cu,而影响呼吸和矿化的因素是 DTPA—Cu、DTPA—Cd、总 Pb 和总 Zn。土壤 pH、有机 C、Fe、Mn 对以单位土壤重为基数的微生物指标的影响显著,而对以有机 C(或全 N)重为基数的复合指标的影响不显著。表明 DTPA 态 Cu 是影响微生物量和有机 C 矿化率的决定因素。另外,土壤 S 没有进入上述任何回归模型,也没有任何自变量进入以微生物 C/N 和代谢商为因变量的回归模型。

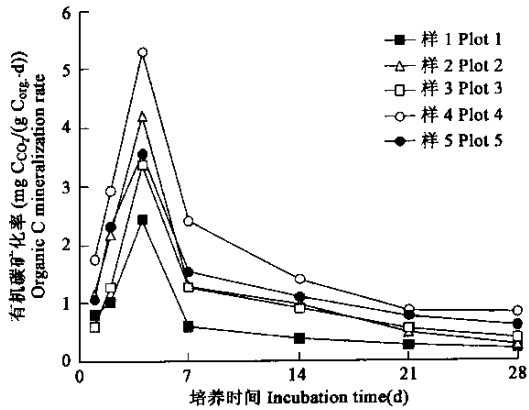


图1 供试土壤 28d 培养期间的有机碳矿化率变化曲线

Fig.1 Soil organic C mineralization rate during incubation
各样点 3 个重复的平均值 means of three replicates for each sampling plot from 1 to 5

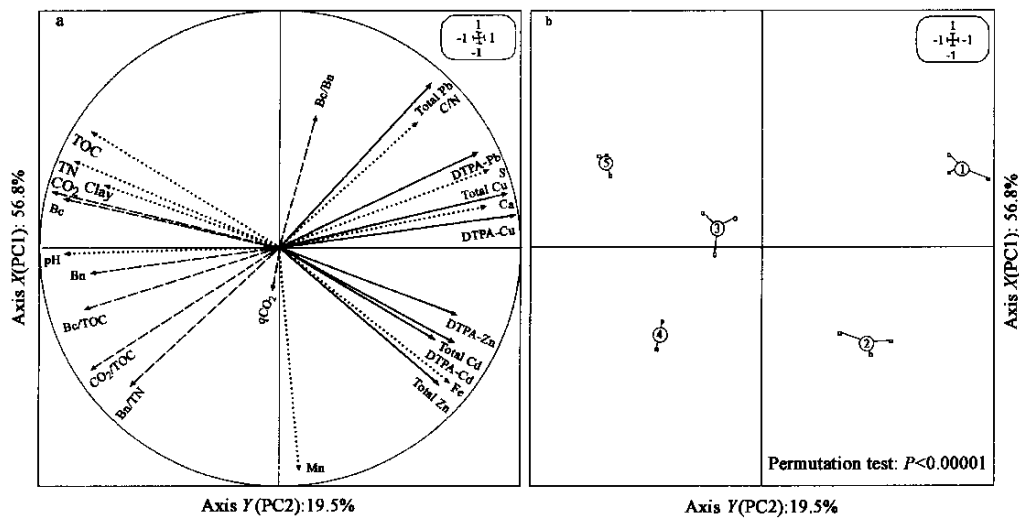


图2 供试土壤各变量的主成分分析

Fig. 2 PCA of variables in polluted paddy soil

(a) PC1 和 PC2 主成分载荷图;土壤、金属和微生物变量分别以下列矢量箭头表示: $\dashrightarrow$ $\rightarrow$ $\longrightarrow$;变量间的余弦角度代表其相关关系,变量在主成分轴上的投影长短代表了对主成分的贡献; CO_2 :基础呼吸; CO_2/TOC :碳矿化率; Bc :生物量碳; Bc/Bn :生物量 C/N 比; Bc/TOC :微生物商; Bn :生物量氮; Bn/TN :生物量氮/全氮比; C/N :土壤 C/N 比; qCO_2 代谢商; TN :全氮; TOC :有机碳;(b) 5 个样点及其 3 个重复的主成分得分图 (a) Loading plot of PC1 and PC2; Soil characteristics, heavy metals and microbial indices were symbolized by $\dashrightarrow$ $\rightarrow$ $\longrightarrow$, respectively; Smaller angles between variables represented better correlation, and longer projection onto axis reflected bigger contribution to PCs; (b) Score plot of soil sampling plots

表 4 土壤重金属的 DTPA 浸提量和微生物指标的影响因素的多元(逐步)回归模型

Table 4 Stepwise regression models of factors affecting DTPA extractable metals and microbial indices			
多元(逐步)回归分析模型 Stepwise regression models		决定系数 R^2	P
重金属的DTPA 浸提量 DTPA extractable heavy metals			
DTPA-Cu=−7.6+0.06(total Cu)+0.1(Clay)		0.97	0.000
DTPA-Pb=16.3+0.038(total Pb)+0.043(total Cu)−0.14(Mn)		0.90	0.000
DTPA-Zn=−54.4+0.45(total Zn)−13.5(pH)		0.86	0.000
DTPA-Cd=−0.31+0.19(total Cd)		0.89	0.000
微生物指标 Microbial indices			
Biomass C=−6.0+74.9(total N)		0.76	0.000
Biomass/organic C=0.011−0.000046(DTPA—Cu)		0.57	0.001
Biomass N=20.1−0.12(DTPA—Cu)		0.67	0.001
Biomass N/total N=−0.01−0.00013(DTPA—Cu)+0.00031(Fe)		0.64	0.002
Respiration/organic C =57.2−0.07(DTPA-Cu)−0.03(total Pb)−10.4(DTPA—Cd)		0.95	0.000
Basal respiration =−40.0−0.85(total Zn)+92.2(pH) +26.0(organic C)+0.4(Mn)		0.99	0.000

* 没有显著性指标进入以生物量 C/N 和代谢商为因变量的回归模型 No significant parameters entered the regression models of biomass C/N and metabolic quotient (dependents)

3 讨论

酸性矿山废水污染是世界范围的环境问题^[17]。长期的污灌导致了供试土壤强酸性、高含硫、有机 C 和全 N 的显著差异,以及高浓度的重金属全量和 DTPA 浸提量的土壤环境。前人的研究表明,金属全量虽然被广泛用于土壤重金属污染评价标准,但并不能完全准确地反映金属的有效性、被生物吸收累积的能力及其危害程度^[18]。而 DTPA 能快速简便地浸提出土壤中被认为是更具生物有效性的水溶性、交换态、吸附态、有机固定态和部分氧化态的金属^[19]。本文的结果(表 4)也显示,抑制供试水稻土壤微生物生物量及其呼吸强度的主要因素是 DTPA 态金属,而不是其全量。

多种因素影响金属的 DTPA 浸提量,其中金属全量是影响 DTPA 态含量的决定因素,而土壤理化性质也起重要作用。土壤

酸度和粘粒分别对 DTPA 态 Zn 和 Cu 含量升高有促进作用,而 Mn 对 DTPA 态 Pb 含量有抑制。这是由于土壤酸性能显著提高金属的溶解性,被认为是影响金属活性的最重要因素^[20]。同时,粘粒比表面积大,带负电荷为主,具较强的阳离子吸附能力,能与酸溶解的金属离子形成弱静电吸附,减少水田淹水和灌排对金属离子的淋洗流失,成为有效态金属的库^[21]。Fe、Mn 氧化物与金属离子的强亲合性导致难可逆的固定态氧化物的生成,能降低金属的有效性^[22]。Zn 和 Cd 相对高的溶解性和流动性^[23]在强酸性淹水条件下得到强化,因此较少受到土壤组分的吸附和固定。回归分析表明,尽管供试土壤全 S 含量高、差异大,但并没有对金属的 DTPA 浸提量和微生物指标产生显著影响。这证明了 S 结合态金属的有效性较低,并难以被 DTPA 浸提出的特性^[24]。大量的还原态 S 多以 FeS、CuS、PbS 等形态存在,暴露在土壤表面时,易氧化生成大量 SO_4^{2-} 和 H^+ , 释放出金属离子。这是导致矿山废水和土壤强酸性的重要原因^[17]。

重金属的毒性不仅取决于金属的有效性,也与生物的敏感性有关^[4,7]。微生物生物量反映了微生物种群的规模,是土壤有机质中的活性组分。土壤呼吸是微生物矿化有机质、利用养分的产物,其强度反映了微生物的代谢能力和活性^[25]。多数研究报道了金属对微生物生物量不同程度的抑制作用,而随着金属浓度的增加,呼吸强度升高、降低或不变的结果都曾被报道^[4,7]。在未污染的土壤,微生物生物量 C 约占土壤有机 C (即微生物商) 的 2%~3%^[26] 或 1%~5%^[27],而本研究供试土壤的微生物商的均值只有 0.6%。同时,金属含量与微生物生物量、呼吸强度指标显著负相关,表明土壤金属对微生物的种群大小和有机碳矿化能力起到了显著的抑制作用。这一点也被随着金属含量的升高而提高的土壤 C/N 比所证实。这是由于过量的金属会使微生物蛋白质变性、阻碍细胞膜合成,影响代谢和功能,引起微生物生存力和竞争力下降,最终导致微生物种群大小和活性发生变化^[28]。

另一方面,有机碳等土壤理化性质与微生物量 C、N 和土壤基础呼吸的密切相关,土壤理化性质模糊了微生物指标与金属胁迫的关系的研究。一些复合指标可以减少土壤性质差异的影响,被认为是更准确指示土壤环境变化的微生物指标^[6]。逐步回归分析进一步排除了土壤属性差异对微生物商、微生物生物量 N/全 N 比、有机 C 矿化率可能的影响,表明金属含量,特别是 DTAP—Cu 是导致供试水稻土壤微生物量减少和土壤有机碳矿化率受抑制的根本原因。因此,相对于单一的微生物指标,上述复合指标可以作为指示类似土壤重金属污染的敏感微生物指标。这也说明,土壤特性主要通过影响金属的有效性来间接影响微生物种群大小和活性。另一方面,代谢商反映了微生物群落的生理代谢特性,而由于微生物种群间 C/N 的差异,如真菌的 C/N 比 (10~15) 高于细菌 (3.5)^[25],因此代谢商和微生物 C/N 比能够在一定程度反映微生物群落的变化^[29]。一些研究报告了金属污染导致了高的微生物 C/N 比^[29]、真菌/细菌比^[30]和代谢商^[7],这被解释为真菌比细菌具有更强的抗逆性^[31]。同时,污染条件下低的微生物 C/N^[32]和代谢商^[33]也被观察到。本文结果显示,随着金属浓度的改变,这两个指标并没有显著的变化。这可能由于供试土壤的金属浓度普遍都在较高水平,长期的高浓度污染导致微生物群落被少数高耐性的种群所主导,并处于相对稳定状态。

References:

- [1] Cortet J, Vauflery A G D, Balaguer N P, *et al.* The use of invertebrate soil fauna in monitoring pollutant effects. *Eur. J. Soil Biol.*, 1999, **35**: 115~134.
- [2] Li F L, Shan X Q, Zhang T H, *et al.* Evaluation of plant availability of rare earth elements in soils by chemical fractionation and multiple regression analysis. *Environ. Pollu.*, 1998, **102**: 269~277.
- [3] Peijnenburg W, Jager T. Monitoring approaches to assess bioaccessibility and bioavailability of metals: Matrix issues. *Ecotox. Environ. Safe.*, 2003, **56**: 63~77.
- [4] Vig K, Megharaj M, Sethunathan N, *et al.* Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review. *Adv. Environ. Res.*, 2003, **8**: 121~135.
- [5] Paul E A and Clark F E, *Soil Microbiology and Biochemistry*, Academic Press, San Diego, CA., 1989.
- [6] Brookes P C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biol. Fertil. Soils*, 1995, **19**: 269~279.
- [7] Giller K E, Witter E, McGrath S P. Toxicity of heavy metals to micro-organisms and microbial processes in agricultural soils: a review. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, **30**: 1389~1414.
- [8] Liesack W, Schnell S, Revsech N P. Microbial of flooded rice paddies. *FEMS Microbial Reviews*, 2000, **24**: 625~645.
- [9] Amacher M C, Nichel Cadium, and Lead. In: D. L. Sparks ed. *Methods of soil analysis: chemical methods*. Part 3. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, 1996. 739~745.
- [10] Lindsay W L, Norvell W A. Equilibrium relationships of Zn^{2+} , Fe^{2+} , Ca^{2+} and H^+ with EDTA and DTPA in soils. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.*, 1969, **33**: 62~68.
- [11] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 1987, **19**: 703~704.
- [12] I S O. *Soil quality determination of soil microbial biomass Part 2: fumigation extraction method*. International Organization for

Standardization, Geneve, Switzerland,1997.

[13] Cabrera M L, Beare M H. Akaline persulfate oxidation for determinning total nitrogen in microbial biomass extracts. *Soil Sci. Soc. Am. J.* , 1993, **57**: 1007~1012.

[14] Jenkinson D D. Determination of microbial biomass carbon and nitrogen in soils. In: J. R. Wilson ed. *Advances in Nitrogen Cycling in Agricultural Ecosystems*. Wallingford: CAB International, 1988. 368~386.

[15] Wang W J, Dalal R C, Moody P W, *et al.* Relationships of soil respiration to microbial biomass, substrate availability and clay content. *Soil Biol. Biochem.* , 2003, **35**: 273~284.

[16] Thioulouse J, Chessel D, Doleadec S, *et al.* ADE-4: a multivariate analysis and graphical display software. *Stat. comput* , 1997, **7**: 75~83.

[17] Johnson D B, Hallberg K B. The microbiology of acidic mine waters. *Res. Microbiol.* , 2003, **154**: 466~473.

[18] Morel J L. Bioavailability of trace elements to terrestrial plants. In: J. Tarradellas, Bitton, G. , Rossel, D eds. *Soil Ecotoxicology*. Lewis, Boca Raton, 1997. 141~178.

[19] Lavelle P, Spain A V. *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 2001. 211~239.

[20] Sanders J R, McGrath S P, Adams T M. Zinc, copper and nickel concentrations in ryegrass grown on sludge-contaminated soils of different pH. *J. Sci. Food Agr.* , 1986, **37**: 961~968.

[21] Stewart M A, Jardine P M, Barnett M O, *et al.* Influence of Soil Geochemical and Physical Properties on the Sorption and Bioaccessibility of Chromium(III). *J. Environ. Qual.* , 2003, **32**: 129~137.

[22] Kabata-Pendias A, Pendias H. *Trace Elements in Soils and Plants*. CRC Press, Boca Raton, FL. , 1992.

[23] Morera M T, Echeverria J C, Mazkieran C, *et al.* Isotherms and sequential extraction procedures for evaluating sorption and distribution of heavy metals in soils. *Environ. Pollut.* , 2001, **113**: 135~144.

[24] Morse J W. Chemical influences on trace metal-sulfide interactions in anoxic sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* , 1999, **63**(19): 3373~3378.

[25] Paul E A, Clark F E. Components of the soil biota. In: E. A. Paul, Clark, F. E. eds. *Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press, London, 1996. 71~107.

[26] Anderson T H, Domsch K H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. *Soil Biol. Biochem.* , 1989, **21**: 471~479.

[27] Dai J, Becquer T, Rouiller J H, *et al.* Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA—extractable metals in soils. *Soil Biol. Biochem.* , 2004a, **36**: 91~98.

[28] Leita L, Denobili M, Muhlbachova G, *et al.* Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation. *Bioil. Fert. Soils* , 1995, **19**: 103~108.

[29] Dai J, Becquer T, Rouiller J H, *et al.* Influence of heavy metals on C and N mineralisation and microbial biomass in Zn—, Pb—, Cu—, and Cd—contaminated soils. *Appl. Soil Ecol.* , 2004b, **25**: 99~109.

[30] Joergensen R G, Anderson T H, Walters V. C and N relationships of the soil microbial biomass in soils of beech (*Fagus sylvatica* L.) forests. *Biol. Fert. Soils* , 1995, **19**: 141~147.

[31] Hiroki M, Effects of heavy metal contamination on soil microbial population. *Soil Sci. Plant Nutr.* , 1992, **38**: 141~147.

[32] Wang X L, Yao H Y, Xie Z M. Effects of Cu, Zn, Cd and Pb compound contamination on soil microbial community. *Acta Scientiae Circumstantiae* , 2003, **23**(1): 22~27.

[33] Insam H, Hutchinson T C, Reber H H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil microflora. *Soil Biol. Biochem.* , 1996, **28**: 691~694.

参考文献:

[32] 王秀丽,徐建民,姚槐应,等. 重金属铜、锌、镉、铅复合污染对土壤环境微生物群落的影响. 环境科学学报, 2003,**23**(1):22~27.