

湘江流域农田土壤微生物群体 降解 666 的能力及其调节

顾宗濂 吴留松 谢思琴 张水铭

(中国科学院南京土壤研究所)

摘 要

湘江沿岸11个县土壤中能以666为唯一碳源的菌数平均36.2万个/克干土。种稻土壤淹水84天平均降解所加20微克/克干土666的98.4%，4个异构体也降解很快。灭菌土即便淹水84天，所加666也几乎不减少。种稻土壤不淹水84天只平均降解所加20微克/克干土666的43.5%， β -666只平均降解14.1%。但当种稻季节，此残留666又会迅速降解，表明本区种稻土壤对666的“自净”能力强。

不淹水土壤含水率对微生物降解666有明显影响。使降解率从60%陡降的临界含水率为20%。这是因为含水量影响了微生物呼吸活性所致。

淹水土壤溶解氧对微生物降解666有明显影响。对于湘江流域种稻土壤来说，以淹水条件下含微量 O_2 ，对降解666最为有利。该水分条件可通过农田管水措施来达到。

从60年代以来，学者们曾对渍水、非渍水土壤中微生物对 *r*-666 的降解作用作过较多的实验室研究(Raghu等, 1969; Sethunathun等, 1969; Yoshida等, 1970; Allen, 1955; Mathur等, 1977; Engst, 1977; MacRae等, 1969; 顾宗濂等, 1981)，分离到了若干种降解 *r*-666的微生物，鉴定了多种 *r*-666的微生物代谢产物。

然而，以往很少研究区域或流域土壤中微生物群体降解含有4个异构体的商品666的特征和规律以及影响这种降解的因素。为此，在研究本地区土壤中666的微生物降解时，着力在上述方面作进一步探讨，以便为调控土壤中有机氯农药的残留、防止其对土壤、水体环境的污染提供依据。

一、材料和方法

1981年前，本地区有机氯农药使用量占农药总用量的80%，666是以与甲基1605形成混合剂的形式施入土壤的。因此，在全流域除普查有机氯农药残留量(另见报道)外，还于每县选有代表性的点抽查土壤微生物群体降解666的能力。于1980年在湘江中游沿岸3县(祁阳、衡阳、衡山)采土样，于1981年在湘江上游4县(兴安、全州、道县、零陵)、下游4县(湘潭、株洲、长沙、湘阴)沿岸采土样。土样均属红壤性水稻土，取土0—5厘米深。

按常规好气平板分离法，对土壤中能以666为唯一碳源的微生物分离计数。分离培养基用的是 Tonomura 制订的无碳培养基 (Tonomura等, 1965)。考虑到本区农田绝大多数种

植水稻,旱作大多也种在与水稻轮作的稻田土壤上,故试验均采用这类土壤。降解能力测验于大试管或三角瓶内进行。取土样10克,既模拟水稻种植期间的降解,即造成土壤淹水状况,又模拟水稻收获后落干期间的降解,即给土壤加水至接近饱和,加666后一律于25—28℃下培养。定期补充蒸发损失的水分,于0、28、56、84天测定土样内666的含量。以相同条件的灭菌土为对照。供试土样的加药量(微克/克干土)为: α -666 3, β -666 7, γ -666 4, δ -666 6, 总计20。该剂量高于一般土壤内666的残留量。做了土壤含水率、溶解氧量对降解能力影响的试验。

供试土样(312#, 10克)水分含量作4种处理:35%、20%、10%风干,土样内加商品666 442微克/克干土,内含 α -666 292, β -666 38, γ -666 70, δ -666 42微克/克干土,28℃培养,于0、28、56、84天测定土样内666含量。在培养的同时,测定土壤中微生物呼吸释放的CO₂量,以了解降解菌群体的活性和农药降解的速度与程度。这是Bartha等(1965)和Parr等(1969)所采用的方法。为便于比较CO₂测定结果,前期采用不通气法(Bartha等,1965),后期采用通空气法(Parr等,1969)。

供试土样(69#, 10克)溶解氧作4种处理:通N₂至饱和后断绝气体交流、通N₂、通空气、自然敞口接触空气。一律淹水3厘米深。土样内加商品666 442微克/克干土,内含 α -666 292、 β -666 38、 γ -666 70、 δ -666 42微克/克干土。28℃培养,于14、28天测定土样内666含量。在这一期间,连续用CY-2型测氧仪测溶解氧变化。此后又对69#土样按传统厌氧菌分离方法(陈华癸,1963)(通N₂、用焦性没食子酸的碱性溶液吸收系统中游离氧、用美蓝作指示剂)分离厌氧菌(注:本试验所通N₂气均为气相色谱载气用高纯氮,含氮99.9999%)。

二、结果和讨论

一般认为,当化学药剂可作为一种营养源而为微生物所利用时,微生物就可分解该化合物(Walker, 1975)。因此,首先有必要对全流域能以商品666为唯一碳源的微生物数量作一普查,以便对其土壤中666降解菌的多少作出评价。从沿江所有县共23个采样点采集的32个土样好气分离结果表明,能以632微克/克土商品666为唯一碳源的菌数平均为36.2万个/克干土,其范围为0.25—185.4万个/克干土,可见这类菌的数量要比土壤中常规菌的总量小得多;而且地方不同,菌量可以相差很大。尽管如此,这些菌仍是促使湘江流域土壤中666降解的基础。含菌量低的往往是用药量少的地方,而含菌量高的往往是高剂量用药的地方,例如,所测含菌量高限185.4万个/克干土,正是在衡山县沙头农药厂周围被农药毒害致死的桔林地里。表明用666多的地方,具有降解666能力的菌量高。

为了评价全流域土壤微生物群体降解666的能力,2年来对全流域11个县所取的土样,分别模拟种稻季节的水分条件(有淹水层,共20个采样点)和水稻收获后落干季节的水分条件(无淹水层,共14个采样点),做了降解能力的测定。结果表明(图1、2),全流域种稻土壤在淹水条件下微生物群体降解666的能力很强,淹水28天即平均降解所加666的90.6%(范围在54.9—98.7%),淹水84天则平均降解98.4%(范围在95.6—99.5%),而灭菌土即便淹水84天,所加入的666也几乎不减少。值得注意的是在淹水条件下,4个异构体均

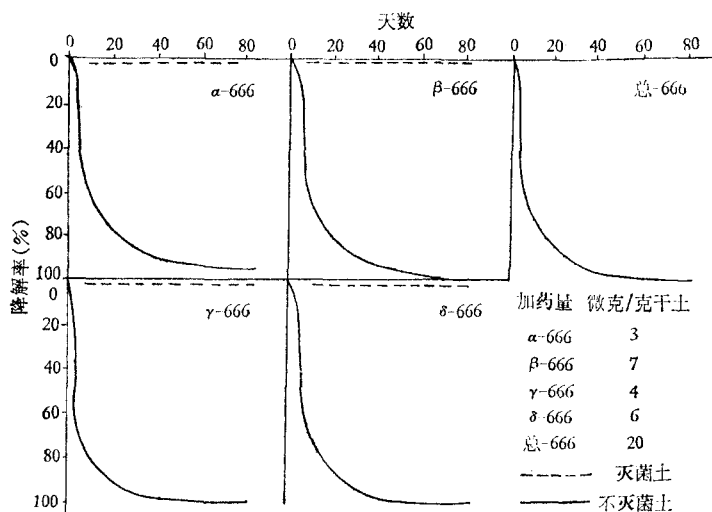


图 1 种稻土壤淹水田微生物群体对666的平均降解率
(全流域11个县20个采样点的平均值)

fig. 1 average degradation rate of BHC by microbial population in soils of planting rice under flooding

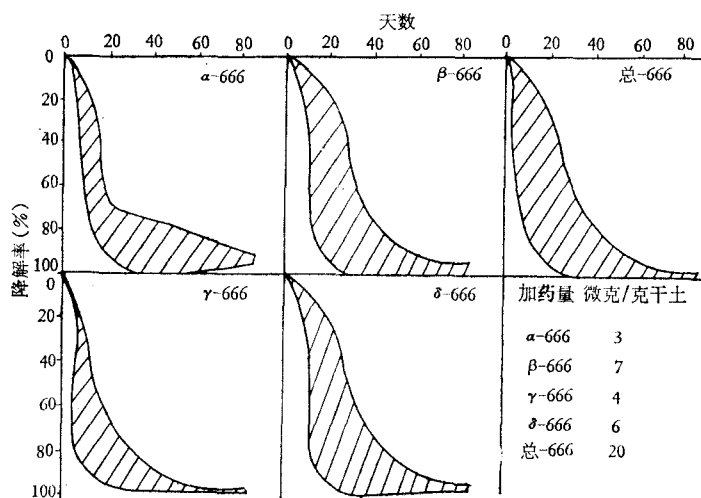


图 2 种稻土壤淹水时微生物群体对 666 的降解率范围
(全流域11个县20个采样点)

fig. 2 range of the degradation rate of BHC by microbial population in
soils of planting rice under flooding

降解得很快。降解得最快的属 γ -666。在旱地中难降解的 β -666，在淹水28天后也平均降解了89.2%（范围在40.1—98.4%），84天后平均降解了98.8%（范围在93.4—100%）。由于测试中加入土样的666剂量较高（总量为20微克/克干土），因此，全流域种稻土壤在淹水条件下微生物所具有的这种能力，足以防止因过量用药而引起的污染。

种稻土壤在非淹水条件下微生物群体降解 666 的能力比淹水条件下低得多（图3,4）。经

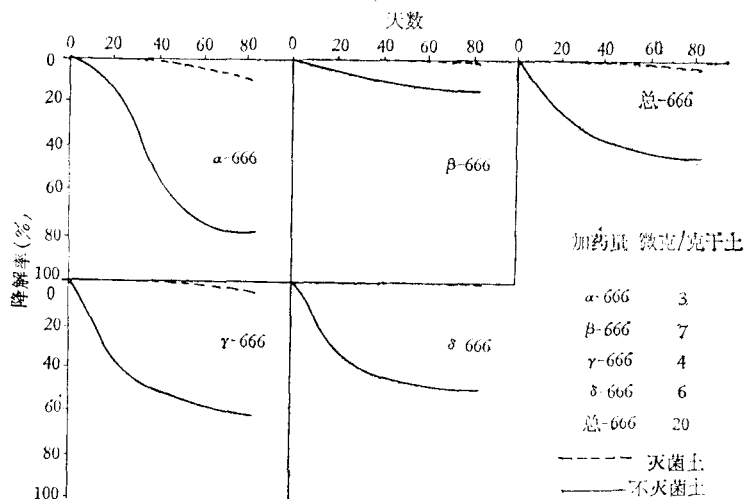


图3 种稻土壤不淹水时微生物群体666的平均降解率
(全流域11个县14个采样点的平均值)
fig. 3 average degradation rate of BHC by microbial population in soils of
planting rice under non-flooding

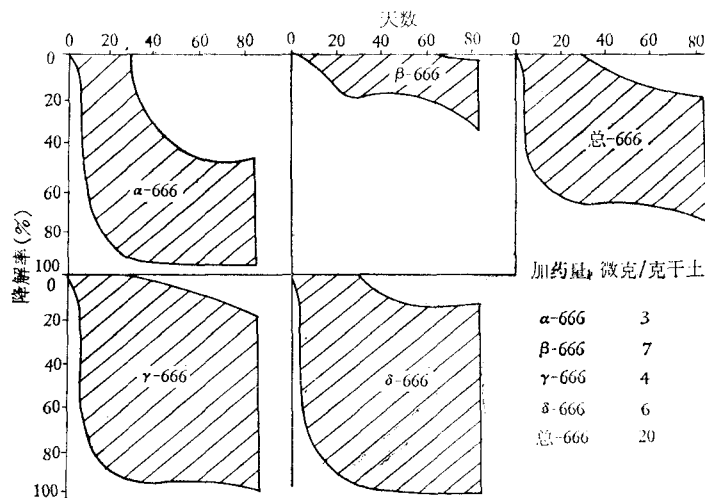


图4 种稻土壤不淹水的微生物群体对666的降解率范围
(全流域11个县14个采样点)
fig. 4 range of the degradation rate of HBC by microbial population in soils of
planting rice under non-flooding

过84天,只平均降解了所加666的43.5% (范围在20.6—75.5%)。同期灭菌土中666减少了2.8%,证明依然是微生物在起降解作用。非淹水条件下降解得最慢的是 β -666,84天只平均降解了14.1% (范围在1.7—34.2%)。各异构体平均降解率的顺序为: γ (77.6%) $>$ γ (60.7%) $>$ δ (49.4%) $>$ β (14.1%)。再对比淹水与非淹水条件下的降解率范围(图2.4),可以见到,无论是666总体还是各异构体,淹水均比不淹水小得多,以84天的降解率高低限差值(%之差)为例:

	α -666	β -666	γ -666	δ -666	总-666
淹水	5.0	6.6	1.7	3.9	3.9
不淹水	48.3	32.5	77.3	86.4	54.9

这表明,淹水条件下各采样点土样的降解趋势十分一致(84天降解率范围在95.6—99.5%,图2),而非淹水条件下各采样点土样的降解趋势则很不一致(84天降解率范围在20.6—75.5%,图4),表明可以存在强烈降解的土壤,也可以同时存在高度滞留的土壤,但这样的土壤值种稻季节,在淹水条件下高残留的666又会迅速降解。这就是本地区种稻土壤666残留量总的来说不高的原因。从环境自净能力的角度来看,也表明本区种稻土壤对666农药的“自净”能力是强的。

从上面已可看出,淹水与不淹水的土壤中微生物群体对666的降解能力差异巨大。其实,在不淹水条件下,土壤含水率的差异也可引起降解率的显著差异。实验证明,微生物群体对666的降解随土壤含水率的增高而增高,而且,这种影响规律对于有杀虫活性的 γ -666来说尤为显著。对于 β -666则不显著(图5)。以84天的降解率为例, γ -666在土壤含水35%时降解率

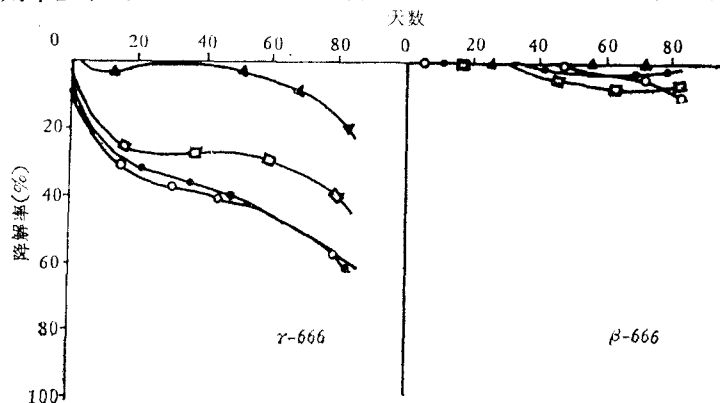


图5 土壤水分对微生物降解666的影响(312*土样,采自衡山县)
fig.5 influence of soil moisture on the microbial degradation of BHC
○—○35% ●—●20% □—□10% ▲—▲风干土
加药量(微克/克干土): β -666 37.9; γ -666 70

最大,达63.0%;含水20%与35%的降解率相近;而当含水10%时,降解率陡降为45.2%;风干土更减至23.1%。因而,使 γ -666降解率从60%左右陡降的临界含水率为20%。4种水分条件下经过84天的 β -666降解率差异既不明显,也无规律。

为了了解土壤含水率影响 γ -666降解速率的本质,测定了4种含水率下加了666的土壤中微生物呼吸活性(图6)。许多学者都证明,它可代表降解菌群体的活性(Bartha等,1965; Parr等,1969)。测定结果表明,水分条件对土壤微生物呼吸活性的影响很大。以培养84天为例,含水率35%的土壤微生物呼吸释放 CO_2 累计量为354毫升,含水率20%与35%相近,为367毫升,只当含水率10%时 CO_2 累计量才发生陡降,变为208毫升,风干土则更降为72毫升。由此可见,使微生物呼吸活性陡降的土壤水分界限和使 γ -666降解率从60%左右陡降的土壤水分界限相同,也是20%。这一规律,不仅在培养到84天时如此,在培养的全过程均如此;不仅在培养的前35天用不通气法(Bartha等,1965)测定是如此,在后49天用通气法(Parr等,1969),测定也如此。证明这一规律的出现与选用哪个测定方法无关,而由土壤

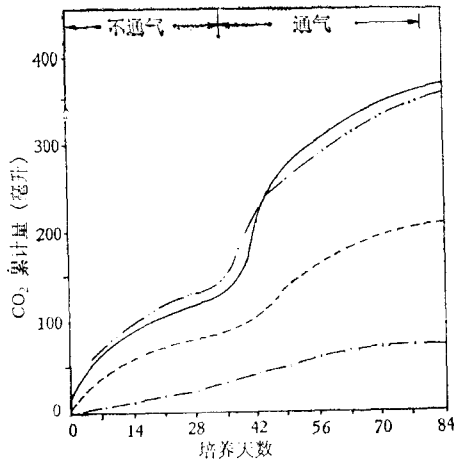


图 6 土壤水分对微生物呼吸活性的影响
 (312*土样, 采自衡山县, 测前以666为唯一碳原的
 菌数为185万/克干土)
 fig. 6 influence of soil moisture on the activity of
 microbial respiratory
 .. 35% — 20% - - - 10% · - · 风干土

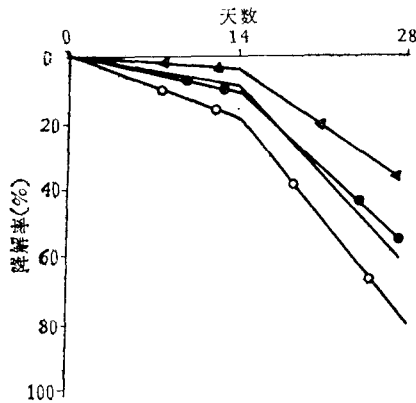


图 7 土壤溶解氧对微生物降解666的影响
 (69*土样, 采自湘潭县)
 fig.7 influence of dissolved oxygen in soils on
 the microbial degradation of BHC
 ▲——▲断绝气体交流 ●——●通 N₂ ———通空气
 ○——○自然接触空气
 加药量: 微克/克干土; 商品: 666, 442; 土壤淹水深度:
 3 厘米

加 666 后微生物在不同水分条件下的呼吸本性所决定。不同水分条件下土壤微生物呼吸活性与 γ -666 降解率变化规律的一致性, 证明不同水分下 γ -666 降解率之所以不同, 是由于水分条件影响了微生物呼吸活性乃至降解活性的结果。

这一结果告诉我们, 对于已被 666 污染的旱地 (包括果木经济林地) 土壤, 采用湿润灌溉, 将有利于 666 的微生物降解, 从而减轻乃至消除污染。

连续两年用本区土壤做试验表明, 淹水土壤中溶解氧对微生物群体降解 666 有显著影响。从图 7、8 看出: (1) 淹水土壤自然接触空气 (模拟田间淹水土壤含氧状况), 可使供试土壤含氧保持近于

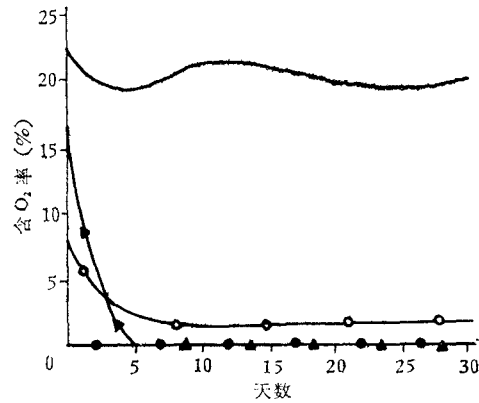


图 8 不同处理的土壤溶解氧的变化
 (69*土样, 采自湘潭县)
 fig.8 change of the content of dissolved
 oxygen in soils of different treatment
 ▲——▲断绝气体交流 ●——●通 N₂ ———通空气
 ○——○自然接触空气
 加药量: 微克/克干土; 商品: 666, 442; 土壤淹水深度:
 3 厘米

2% 的低水平, 使 666 经历微氧降解过程。结果, 28 天降解了 666 总量的 81.3%。表明土壤中微量氧分子的存在有利于 666 的降解。(2) 淹水土壤通空气, 可使供试土壤溶氧量达到饱和 (含氧 20% 左右), 使 666 经历好氧降解过程。结果, 28 天降解了 666 总量的 61.1%。过去的多次试验曾证明, 湿润土壤水分条件下经历的好氧降解过程, 666 的降解率也是相当高的 (顾宗濂等, 1981; Bradbury 等, 1963; Yule 等, 1967)。(3) 淹水土壤通 N₂ 气, 可使供试土壤溶氧量降为零, 使 666 经历厌氧降解过程。结果, 28 天降解了 666 总量的 56.2%。表明本区土

壤处于厌氧并不能使666降解达到最佳水平。(4) 淹水土壤通 N_2 气至饱和后切断土壤系统内外气体交流, 虽然同样可使供试土壤溶氧量降为零, 但28天只降解了 666 总量的38.2%。这可能是由于该条件下微生物呼吸释放 CO_2 (即呼吸作用) 受到一定程度的阻碍所致。好在自然土壤的施药层实际不会出现断绝气体 (CO_2 或 O_2) 交流的情况。

由上可见, 淹水土壤 4 种含氧条件下的 666 降解率依次为: 自然接触空气造成微氧条件 > 通空气造成好氧条件 \approx 通 N_2 气造成厌氧条件 > 通 N_2 气至饱和后切断土壤系统内外气体交流。这一实验结果, 有一定的实践意义。它告诉我们, 对于湘江流域的种稻土壤来说, 在淹水条件下含有微量氧时, 可以最有利于 666 的降解。由于一般稻田的淹水层都是自然接触空气的, 也就具备了这样的微氧条件。这也可能是本区稻田土壤 666 残留量普遍较低的一个原因。

另一方面, 如果厌氧条件最有利于本区稻田渍水土壤中 666 的微生物降解, 则应在厌氧条件下从该土壤中分离出大量可以 666 为唯一碳源的厌氧专性降解菌。然而事实相反, 按传统厌氧菌分离法 (陈华癸, 1963) 多次分离均一无所获。而在微氧 (按一般淹水稻田表层土壤平均含 O_2 水平: 5%) 条件下即可分离到相当数量 (平均: 18.9 万个/克干土) 的 666 降解菌。这一结果, 从土壤微生物学角度进一步佐证了本区淹水稻田土壤自然接触空气造成微氧条件最有利于土壤 666 降解的论点。当然, 这不是说, 在任何地区的土壤中, 微需氧菌群 (Microaerophile) 是降解 666 的主要菌群。仅就渍水土壤而言, 既有人分离到了厌氧性 γ -666 降解菌 (Sethunathun 等, 1969), 也有人用模拟装置 (自动淋滤装置) 做试验, 在连续加水淋洗 6 个月的土壤中分离到了好氧性 γ -666 降解菌 (Yule 等, 1967)。

至于使淹水种稻土壤的施药层常保持微量的氧以促进残留 666 降解, 如果利用流动的江河水结合水稻生长的需要定期灌溉, 更换田里的积水是不难达到的。对于被 666 污染的旱地, 凡可植稻者可通过水旱轮作措施来消除污染, 不能植稻者 (如: 果木经济林) 可结合植物生长需要定期灌溉园林土地, 也可收到减轻乃至消除污染的效果。

参 考 文 献

- 陈华癸 1963 微生物学实验. 第58页. 农业出版社。
顾宗濂等 1981 旱地加水可促进微生物对 γ -666的降解. 土壤学报 18(3):273-280。
Allen, J. 1955 Loss of biological efficiency of cattledipping wash containing benzene hexachloride. *Nature* 159:1131.
Bartha, R. and D. Pramer 1965 "note". *Soil Sci.* 100:68.
Bradbury, F.R. 1963 The systemic action of Benzene Hexachloride seed dressings. *Ann. Appl. Biol.* 52:361.
Engst, R., Macholz, R.M. and Kujawa, M. 1977 Recent state of Lindane metabolism. *Residue Reviews* 68:59.
MacRae, I.C., K. Raghu and E.M. Bautista 1969 Anerobic degradation of the insecticide Lindane by *Clostridium* sp. *Nature* 221:859.
Mathur, S.H. and J.G. Saha 1977 Degradation of ^{14}C -Lindane in mineral and humus soils.
Parr, J.F. and S. Smith 1969 A multi-pupose manifold assembly: use in evaluating microbiological effects. *Soil Sci.* 107:271.
Raghu, K. and J.C. MacRae 1969 Biodegradation of the Gamma isomer of Benzene Hexachloride in submerged soils. *Science* 154:263.
Sethunathun, N., Bautista, E.M. and Yoshida, T. 1969 Degradation of Benzene Hexachloride by a soil bacterium. *Can. J. Microbiol.* 15:1348.
Tonomura, K., Futai F., Tanable, O. and T. Yomaka, 1965 Defluorination of monofluoroacetate by bacteria. Part I. *Agr. Biol. Chem. (TOKYO)* 29:124.

- Walker, N. 1975 *Soil Microbiology*, p. 181, edited by walker, N., Butterworths, London and Boston.
- Yoshida, T. and Castro, T.F. 1970 Degradation of γ -BHC in rice soils. *Soil Sci. Socie. Amer. Proc.* 34:440.
- Yule, W.N., M.Chiba, and H.V.Morly, 1967 Fate of insecticide residues, decomposition of Lindane in soil. *J. Agr. Food Chem.* 15:1000.

THE DEGRADATION CAPABILITY OF BHC BY THE MICROBIAL POPULATION IN THE FARMLAND SOIL OF XIANG JIANG RIVER BASIN AND ITS CONTROL

Gu Zonglian Wu Liusong Xie Siqin Zhang Shuiming

(*Institute of Soil Science, Academia Sinica, Nanjing*)

The assay of the degradative capability of BHC by the microbial population in the soil of Xiang Jiang River basin showed that the amount of the microbial population able to use BHC as a sole carbon source in soils of this region averaged 362×10^3 cells/g. dry soil, ranging from $2.5 \times 1854 \times 10^3$ cells/g. dry soil. The amount of this kind of special population bears direct relation to β -BHC residues. When the test soils was flooded for 28 days, the degradation rate of BHC added to soils in $20\mu\text{g/g}$. dry soil was 90.6% on an average, and for 84 days, it was 98.4% on an average. Meanwhile, the four isomers of BHC were all degraded quickly. However, even if the sterile soil was flooded for 84 days, the BHC added was hardly any reduction.

The degradation capability of BHC by microbial populati on greatly lowered under non-flooded soil conditions. 43.5% of the BHC added to soils in $20\mu\text{g/g}$. dry soil was degraded on an average after 84 days, of which 14.1% of the β -BHC added was only degraded on an average. However, such BHC residues would be degraded fast under flooded soil conditions when the season of planting rice came on. It is just one of causes that the amount of BHC residues in the paddy soil of this region is no high on the whole, which indicates that the "self-clean" ability of BHC by the paddy soil of this region is high. As for non-flooded soil, its degradation rate of γ -BHC was greatly influenced by soil moisture content, which it increased with. The critical moisture content which made the degradative rate of γ -BHC decreasing suddenly from about 60%, was 20%.

The microbial degradation of BHC was remarkably influenced by the soluble oxygen in flooded soil. A small oxygen content in the flooded paddy soil of this region will be of greatest advantage to BHC degradation. It may be correlated to the degradative population of BHC in the paddy soil of this region predominating with microphilic bacteria. Such conditions of soil moisture and soluble oxygen may be controlled by field moisture managements.