

DOI: 10.5846/stxb201803160522

李昌宁, 李建宏, 姚拓, 徐万里, 冉福, 张建贵, 李琦. 熏蒸剂溴甲烷对农田土壤微生物的影响. 生态学报, 2019, 39(3): - .

Li C N, Li J H, Yao T, Xu W L, Ran F, Zhang J G, Li Q. Effects of the fumigant methyl bromide on farmland soil microbial community structure and ecological processes. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(3): - .

熏蒸剂溴甲烷对农田土壤微生物的影响

李昌宁^{1,2}, 李建宏^{1,2}, 姚拓^{1,2,*}, 徐万里³, 冉福^{1,2}, 张建贵^{1,2}, 李琦^{1,2}

1 甘肃农业大学草业学院, 兰州 730070

2 草业生态系统教育部重点实验室, 兰州 730070

3 镇原县农业技术推广中心, 庆阳 745000

摘要: 土壤微生物是反应土壤健康状况最敏感的生物学指标, 溴甲烷残留不仅消耗臭氧层, 影响生态平衡, 还会造成土壤质量恶化和微生物群落结构的变化。为明确溴甲烷对农田土壤微生物群落结构及生态过程的影响, 以兰州市红古区连续两年种植草莓的土壤为研究对象, 测定熏蒸剂溴甲烷处理后土壤微生物量碳、基础呼吸、诱导呼吸和微生物代谢熵等相关指标, 并运用磷脂脂肪酸法 (PLFA) 测定不同类群微生物的变化。结果表明: 经溴甲烷熏蒸处理至培养结束 (第 90 天) 时土壤微生物基础呼吸和诱导呼吸分别下降 0.6% 和 16.2%, 并且与对照皆差异显著 ($P < 0.05$); 微生物量碳培养结束时与对照差异显著 ($P < 0.05$), 且减少 5.6%; 总体上微生物基础呼吸、诱导呼吸和微生物量碳都呈现先下降后逐渐恢复的趋势; 微生物代谢熵 (qCO_2) 第 15 天后都高于对照, 但随培养时间延长, 处理组和对照组的差值逐渐降低, 到培养期结束仍未恢复, 相差 5.1%。溴甲烷对土壤细菌 (B)、真菌 (F) 和革兰氏阴性菌 (GN)、革兰氏阳性菌 (GP) 都存在抑制作用; B、F 含量分别较对照下降 0.64%—8.72%、0.03%—5.61%; 到培养期结束时, GP 的量下降 0.26%, GN 下降 10.42%, GN 对溴甲烷的敏感性强于 GP, 且 GN 的变化具有滞后性; 溴甲烷处理降低了 B/F 和 GN/GP, 但对 GN/GP 影响比对 B/F 的更为显著, 土壤微生物压力指数增加。综上, 说明施用溴甲烷使农田土壤微生物受到了长期的、持续的外源压力胁迫, 溴甲烷在对有害微生物杀死的同时, 也对有益微生物造成极大的伤害, 不利于土壤优良性状的保持, 使土壤中微生物丰富度和多样性下降。因此, 实际应用中应充分考虑溴甲烷对土壤微生物带来的负面影响。

关键词: 溴甲烷; 熏蒸; 土壤微生物; PLFA; 微生物呼吸

Effects of the fumigant methyl bromide on farmland soil microbial community structure and ecological processes

LI Changning^{1,2}, LI Jianhong^{1,2}, YAO Tuo^{1,2,*}, XU Wanli³, RAN Fu^{1,2}, ZHANG Jiangu^{1,2}, LI Qi^{1,2}

1 College of Prataculture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China

2 Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education, Lanzhou 730070, China

3 Zhenyuan Center of Agricultural Technology Extension, Qingyang 745000, China

Abstract: Methyl bromide is a commonly used insecticide and fungicide, which is typically used for the fumigation of farmland soil. Methyl bromide residues not only deplete the ozone layer and affect ecological balance but also contribute to the deterioration of soil quality and changes in the community structure of soil microorganisms, which are sensitive biological indicators of soil health. In order to clarify the effect of methyl bromide on the microbial community structure and ecological processes in farmland soil, we examined soil planted with strawberry in the Hong-gu District of Lanzhou City over two consecutive years, and measured related indicators such as soil microbial biomass carbon, basic respiration, induced

基金项目: 草业生态系统教育部重点实验室暨甘肃省草学优势学科开放课题 (2017-M-03); 甘肃农业大学人才专项项目 (2017RCZX-04)

收稿日期: 2018-03-16; **网络出版日期:** 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yaotuo@gsau.edu.cn

respiration, and microbial metabolic entropy. The mechanisms of different microbial groups were determined using the phospholipid fatty acid (PLFA) method. The results indicated that over a culture period of 90 days following methyl bromide fumigation treatment, microbial basal respiration and induced respiration decreased by 0.6% and 16.2%, respectively, which were significantly different from the control values ($P < 0.05$). At the end of the microbial carbon culture, there was a 5.6% decrease in biomass carbon, which was significantly different from the control value ($P < 0.05$). Generally, microbial basal respiration, induced respiration, and microbial biomass carbon all showed a trend of gradual recovery after an initial decline, and microbial metabolic entropy (qCO_2) was higher than that of the control on the 15th day. However, the difference between the treatment group and the control group decreased gradually with the prolongation of culture time, although it had still not recovered at the end of the culture period, the difference being 5.1%. Methyl bromide has inhibitory effects on soil bacteria (B), fungi (F), gram-negative bacteria (GN), and gram-positive bacteria (GP). The soil contents of bacteria and fungi decreased by 0.64%—8.72% and 0.03%—5.61% respectively, in response to methyl bromide treatment. By the end of the training period, the amounts of GP and GN had decreased by 0.26% and 10.42%, respectively. The sensitivity of GN to methyl bromide was stronger than that of GP, although the change in GN was delayed. Methyl bromide treatment reduced both B/F and GN/GP ratios, although the effect on the GN/GP ratio was more significant than that on the B/F ratio, and there was an increase in the soil microbial pressure index. In summary, our findings indicate that the application of methyl bromide exerts long-term and persistent exogenous pressure stress on farmland soil microorganisms. Methyl bromide kill harmful microorganisms, and also cause considerable harm to beneficial microorganism, which is unfavorable to the maintenance of favorable soil conditions and decreases the richness and diversity of microorganisms in the soil. Accordingly, the negative effects of methyl bromide on soil microorganisms should be fully considered in practical applications.

Key Words: methyl bromide; fumigation; soil microorganism; PLFA; microbial respiration

在农业生产中,化学农药是防治植物土传病虫害的主力军,其作用不言而喻,虽然2016—2017年我国农药用量趋于下降,但总量仍很大^[1]。大量农药使用后,大部分主要集中在土壤中进行生物降解和转化,这些农药不免污染土壤,影响土壤健康,甚至造成土壤退化。溴甲烷(Methyl bromide)广泛用于土壤消毒,对真菌、细菌、土传病毒、昆虫、螨类、线虫和啮齿动物以及杂草的防治有所向披靡的作用^[2],但溴甲烷过量残留不仅消耗臭氧层,而且造成土壤质量恶化,影响生态平衡。根据《蒙特利尔议定书》哥本哈根修正案,发达国家于2005年淘汰,发展中国家于2015年淘汰,装运前检疫熏蒸和必要用途豁免除外^[3]。

为淘汰溴甲烷,联合国环境规划署(United Nations Environment Program, UNEP)组织各国专家成立了“溴甲烷替代技术选择委员(Methyl Bromide Technical Options Committee, MBTOC)”, MBTOC对各种溴甲烷替代产品评估得出结论:目前在土壤消毒方面尚无一种物质能够完全替代溴甲烷,也没有一种物质能达到溴甲烷广谱的应用效果,因此溴甲烷仍在各国被广泛使用在一些必要用途^[4-5]。在此背景下,评估溴甲烷对土壤微生物之影响是一件非常重要的工作。土壤微生物是反映土壤健康状况最敏感的生物学指标^[6],微生物在土壤发育、环境净化及维持生态平衡^[7]等方面发挥着重要作用,且在农药降解和生物转化过程中发挥着核心作用^[8]。其群落结构和功能的变化可以间接反映出土壤污染物的严重程度及可持续发展^[9]。目前溴甲烷的研究主要集中在半衰期以及对大气、水体等影响方面,但对土壤健康以及土壤微生物影响机制(如真菌和细菌,革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌会如何响应溴甲烷的胁迫)尚缺乏研究^[10-12]。

磷脂脂肪酸(PLFA)分析是一种快速测定土壤微生物群落结构常用的方法,根据不同类群的微生物含有指示性PLFA各异,通过提取、分离及检测这些不同指示性PLFA,可定量反映不同类群微生物的变化,能够可靠的评价微生物群落差异^[13-14]。本文选取农田土壤为实验材料,采用田间试验的方法,系统研究农田土壤真菌和细菌,革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌在溴甲烷胁迫下所产生的响应,为评价溴甲烷对土壤的生态风险提

供微生物学诊断依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况与试验设计

本试验在甘肃省兰州市红古区(36°16'23"N,103°0'38"E)草莓种植地进行,该区年均气温 7.6℃,全年 7 月份最热,1 月份最冷,年均降水量 327.7—349.9 mm,年蒸发量 1507.8 mm,试验地土壤 pH 为 6.8—7.4,试验地已连续种植草莓两年。熏蒸试验在事先搭建的密封小拱棚内进行,溴甲烷用量为 65 g/m²(按产品说明书推荐使用量,溴甲烷纯度为 98.5%,生产厂家为郑州星岛化工科技有限公司),于 2016 年 3 月 14 日开始进行熏蒸处理,熏蒸开始后,保持拱棚密封 72 h,之后揭开拱棚通风,分别于施药第 3 天(揭棚膜当天)、7 天、15 天、30 天、60 天、90 天采集土样(预实验表明 90 天时溴甲烷的影响完全消失),测定土壤微生物基础呼吸、诱导呼吸、微生物量碳、代谢熵(qCO_2)、土壤微生物群落结构(PLFA)。对照地与实验地在同一地块,前茬、肥力均相同,中间设置 5 m 宽隔离带,对照和试验地均设三次重复,每一试验小区面积均为 3 m×3 m。鉴于土壤中微生物数量的垂直分布一般是上层大于下层,本试验取 0—10 cm 土壤,用直径为 3.5 cm 的土钻按照 5 点法取样,去除表面植被,最后将土样混匀,剔除根系和土壤入侵物,运用“四分法”选取 1 kg 土样装入无菌样品采集袋中,冷藏带回实验室于-80℃超低温冰箱保存,用于土壤微生物的 PLFA 分析。

1.2 实验方法

1.2.1 土壤微生物呼吸测定

在实验室无菌操作台中将土样混匀、过 2 mm 筛,用于各项指标的测定。基础呼吸参照卢虎的方法^[15-16],具体为:称取 20 g 新鲜土样,调节土壤含水量至田间持水量的 60%用透气性良好的纱布将土样包起来悬于培养瓶上方,然后吸取 0.05 mol/L 的 NaOH 溶液 20 mL 放入培养瓶中,迅速将培养瓶加盖密封,于 25℃恒温培养 24 h,测定 CO₂ 释放量,同时设一空白处理作为对照。诱导呼吸的测定先称取 20.0 g 新鲜土壤后往其内添加 200 mg 葡萄糖,其余步骤与基础呼吸测定方法相同。

1.2.2 土壤微生物生物量碳的测定采用氯仿熏蒸浸提法^[16]

土壤微生物量碳(Soil microbial biomass carbon,SMBC)SMBC 测定计算公式为:

$$SMBC \text{ (mg/kg)} = (EC - EC_0) / 0.38$$

式中, EC 、 EC_0 分别为熏蒸和未熏蒸土壤浸提液中有机碳含量,0.38 为校正系数。

1.2.3 土壤微生物代谢熵

土壤微生物代谢熵(qCO_2)为土壤微生物呼吸(MR)与土壤微生物生物量碳(MBC)的比值,其计算公式为: $qCO_2 = MR / MBC$ ^[17]。

1.2.4 土壤微生物群落结构的测定(PLFA 测定)

(1)土壤中脂肪酸的提取方法:土壤中脂肪酸的提取和检测主要分为 4 步,提取、分离、酯化、GC-MS 分析^[18]。

(2)分析条件:色谱柱:HP-5 MS (Agilent Technologies, Inc; 60 m 0.250 mm)。升温程序为:140℃保留 3 min,以 4℃/min 升温速率升到 190℃,190℃保留 1 min,3℃/min 升温速率升到 230℃,230℃保留 1 min,以 2℃/min 升温速率升到 250℃,250℃保留 1 min,以 10℃/min 升温速率升到 280℃,280℃保留 5 min。以 MS Scan 模式全扫描,扫描范围 50—500,离子源 EI⁺。磷脂脂肪酸(PLFA)分类结果见表 1。

1.3 数据处理

试验数据采用 SPSS 20.0 统计软件进行重复测量方差(ANOVA of repeated measurement date)分析,用 Microsoft Excel 2010 软件绘图。

表 1 特征磷脂脂肪酸 (PLFA) 分类

Table 1 Classifications of phospholipids fatty acid (PLFA) signatures

磷脂脂肪酸分类 Classification of PLFAs	特征磷脂脂肪酸 PLFAs signature	文献来源 Document source
革兰氏阴性菌 Gram-negative bacteria	16:1 ω 7c, cy17:0, cy19:0	[19]
革兰氏阳性菌 Gram-positive bacteria	i15:0, a15:0, i16:0, i17:0	[19]
细菌 Bacteria	14:0, i15:0, a15:0, i15:0, i16:0, i16:0, i17:0, 16:1 ω 7c, cy17:0, 17:0, 18:0, cy19:0, 20:0	[19]
真菌 Fungi	18:1 ω 9c, 18:1 ω 9t, 18:2 ω 6	[20]
压力指数 Stress level	(cy17:0 + cy19:0)/(16:1 ω 7c + 18:1 ω 7c)	[20]

2 结果与分析

2.1 溴甲烷对土壤微生物呼吸的影响

溴甲烷的施用对土壤基础呼吸产生了明显的影响,熏蒸处理后,土壤基础呼吸强度迅速下降,第 3 天时(熏蒸完成当天),与对照相比,处理组土壤基础呼吸强度下降了 28.5%,随培养时间延长,处理组土壤基础呼吸逐渐恢复,与对照组差值逐渐降低,但恢复过程较为缓慢,到第 60 天处理组与对照组相比仍相差 1.67%,直到第 90 天,二者的差值为 0.6%,并且差异显著($P < 0.05$)(图 1)。诱导呼吸测定结果显示了相似的变化趋势,在溴甲烷处理后,土壤诱导呼吸被严重抑制,处理组在第 7 天、第 30 天、第 60 天差异不显著外($P > 0.05$),其余各天差异显著($P < 0.05$)。整个培养期内,处理组的土壤诱导呼吸强度都明显低于对照组,且其恢复过程比土壤基础呼吸的恢复过程更为缓慢,直到培养期结束(90 天)时,处理组与对照组相比,土壤诱导呼吸的强度仍相差 16.2%(图 2)。

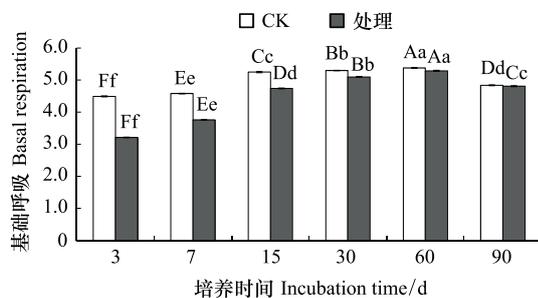


图 1 溴甲烷对土壤基础呼吸的影响

Fig.1 Effects of methyl bromide on soil basal respiration

图中大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),小写字母表示差异显著($P < 0.05$),数据为平均值加减标准误;CK:对照,control;T:处理,Treatment

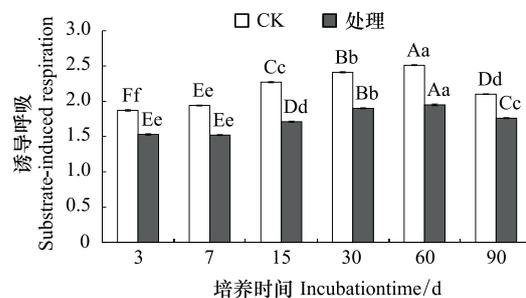


图 2 溴甲烷对土壤诱导呼吸的影响

Fig.2 Effects of methyl bromide on soil induced respiration

2.2 溴甲烷对土壤微生物量碳的影响

与对照相比,溴甲烷对土壤微生物量碳存在抑制作用,且在整个培养期内,抑制作用始终存在,除第 7 天差异不显著外($P > 0.05$),其余各处理差异显著($P < 0.05$),在培养至第 15 天时,微生物量碳下降明显,之后缓慢回升,且处理时间越长,与对照组的差别越小,到第 90 天时达到了 5.6%。这说明经过溴甲烷熏蒸处理,土壤中的微生物量碳会下降,随着时间延长,微生物量碳开始缓慢恢复,直至培养结束,仍未完全恢复(图 3)。

2.3 溴甲烷对土壤微生物代谢熵的影响

微生物代谢熵是指示外界环境胁迫的指标。在培养的第 3 天和第 7 天,处理组土壤微生物代谢熵都低于对照组,其余各天处理组土壤微生物代谢熵都高于对照组,溴甲烷熏蒸处理显著增加了土壤微生物代谢熵。

但随着培养时间延长,处理组和对照组的差值逐渐降低,在培养结束时(第 90 天)仅相差 5.1%(图 4)。

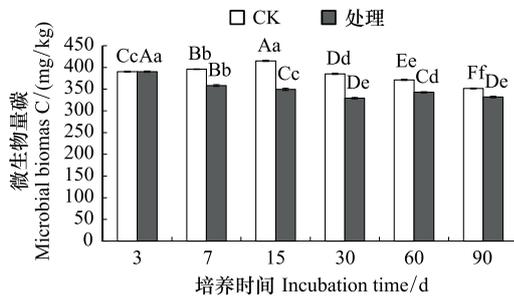


图 3 溴甲烷对土壤微生物量碳的影响

Fig.3 Effects of methyl bromide on soil microbial biomass carbon

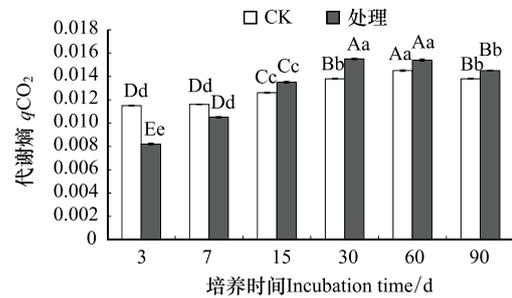


图 4 溴甲烷对土壤微生物代谢熵的影响

Fig.4 Effects of methyl bromide on metabolic entropy of soil microorganism

2.4 溴甲烷对土壤细菌、真菌的影响

溴甲烷对土壤中细菌存在抑制作用,整个培养期内,溴甲烷处理土壤后处理组细菌含量较对照下降 0.64%—8.72%,总体上随着培养时间的延长,细菌含量表现出逐渐增加趋势,但其含量一直低于对照组,直至培养结束没有恢复到对照水平(图 5)。在整个培养阶段内,除第 3 天外,真菌显著被抑制,表明真菌对溴甲烷也同样敏感,第 60 天以后真菌含量出现下降趋势(图 6)。

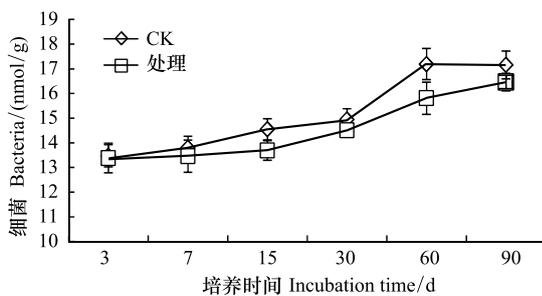


图 5 溴甲烷对土壤细菌的影响

Fig.5 Effects of methyl bromide on Soil Bacteria

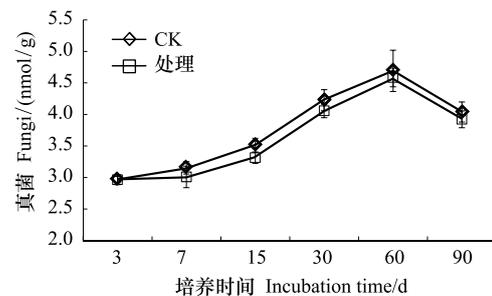


图 6 溴甲烷对土壤真菌的影响

Fig.6 Effects of methyl bromide on soil fungi

2.5 溴甲烷对土壤微生物群落结构的影响

GN 整体呈现先下降后增加的趋势,第 7 天开始,处理组土壤中 GN 的数量低于对照,整个培养期内,其都被显著抑制,且没有恢复,在第 15 天时抑制作用最大,下降 12.6%(图 7)。GP 从第 7 天到第 60 天都被显著抑制。到培养期结束,GP 的量下降 0.26%,GN 下降 10.42%,说明 GN 的变化具有滞后性(图 8)。土壤中细菌/真菌(即 Bacteria/Fungi,简称 B/F)和革兰氏阴性菌/革兰氏阳性菌(GN/GP)值常用来评价不同处理间土壤微生物群落结构的差异。B/F 在培养过程中呈现先降低后增加的趋势,在培养第 60 天时比值最低下降 6.29%(图 9)。溴甲烷处理也改变了土壤 GN/GP,但对 GN/GP 的影响比对 B/F 的影响更为显著(图 10)。

2.6 溴甲烷对土壤微生物压力指数的影响

溴甲烷处理下,土壤微生物压力指数显著提高。除第 3 天,第 60 天外,整个培养期内处理组压力指数始终高于对照,说明施用溴甲烷后,土壤微生物受到了持续的外源压力胁迫,使微生物群落结构的压力指数显著升高(图 11)。

2.7 溴甲烷对土壤总 PLFA 的影响

在 90 天的培养过程中,处理组土壤微生物总 PLFA 含量较对照下降 0.54%—6.86%,总体上随着培养时间的延长,PLFA 表现出从低到高的增长趋势,但不同的培养时间段略有差异,在第 60 天时,PLFA 的值最高,

之后呈下降趋势。在整个培养时间内,溴甲烷显著抑制总体 PLFA(图 12)。

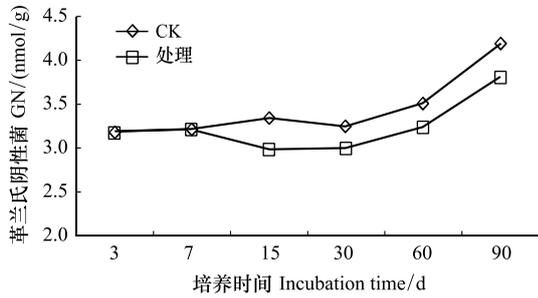


图 7 溴甲烷对土壤革兰氏阴性细菌的影响

Fig.7 Effect of methyl bromide on soil gram-negative bacteria

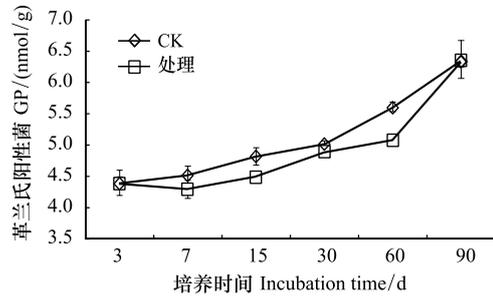


图 8 溴甲烷对土壤革兰氏阳性细菌的影响

Fig.8 Effects of methyl bromide on soil gram positive bacteria

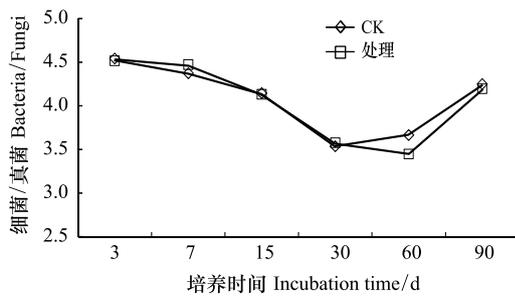


图 9 溴甲烷对土壤 B/F 的影响

Fig.9 Effect of methyl bromide on soil B/F

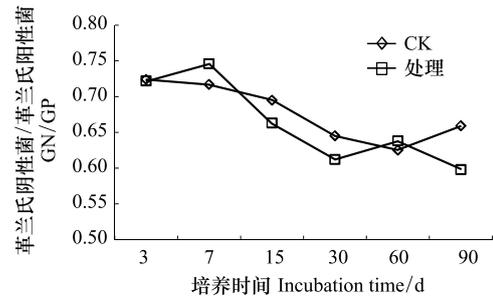


图 10 溴甲烷对土壤 GN/GP 的影响

Fig.10 Effects of methyl bromide on soil GN/GP

2.6 溴甲烷对土壤微生物压力指数的影响

溴甲烷处理下,土壤微生物压力指数显著提高。除第 3 天,第 60 天外,整个培养期内处理组压力指数始终高于对照,说明施用溴甲烷后,土壤微生物受到了持续的外源压力胁迫,使微生物群落结构的压力指数显著升高(图 11)。

2.7 溴甲烷对土壤总 PLFA 的影响

在 90 天的培养过程中,处理组土壤微生物总 PLFA 含量较对照下降 0.54%—6.86%,总体上随着培养时间的延长,PLFA 表现出从低到高的增长趋势,但不同的培养时间段略有差异,在第 60 天时,PLFA 的值最高,之后呈下降趋势。在整个培养时间内,溴甲烷显著抑制总体 PLFA(图 12)。

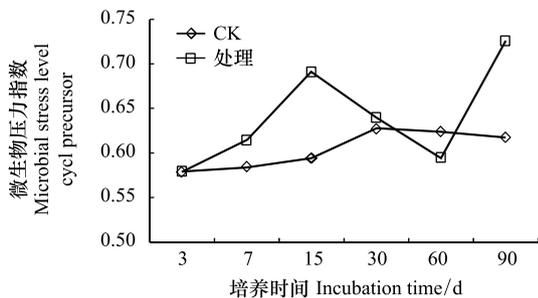


图 11 溴甲烷对土壤微生物压力指数的影响

Fig.11 Effects of methyl bromide on soil microbial pressure index

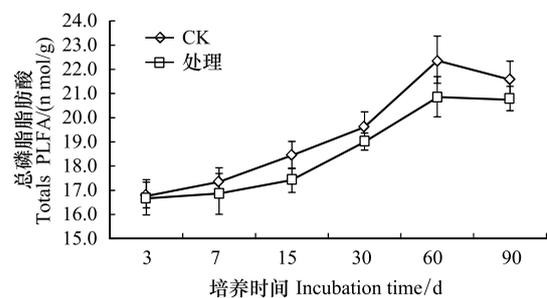


图 12 溴甲烷对土壤总 PLFA 的影响

Fig.12 Effect of methyl bromide on total PLFA in Soil

3 讨论

3.1 溴甲烷对土壤微生物生态过程的影响

试验发现溴甲烷对土壤微生物量碳存在抑制作用,在熏蒸处理第 15 天时,土壤微生物量碳下降至 15.7%,此时微生物量碳下降值最大,且处理时间越长,与对照的差别越小。可能的原因是溴甲烷熏蒸产生的蒸汽能同微生物体内的巯基结合,使微生物内的多种酶类产生渐逆和不可逆的抑制作用,致使土壤微生物量碳的代谢过程减弱;截止第 90 天,仍与对照相差 5.6%,可能是溴甲烷熏蒸产生的蒸汽生成强酸性物质,使细胞肿胀腐烂或脱水,细胞内蛋白质沉淀,细胞中毒死亡,微生物代谢过程减慢^[21]。因此,溴甲烷熏蒸处理能够显著降低微生物量碳的含量,张成霞、南志标^[22]发现土壤微生物量碳对环境变化敏感,能够较早地指示生态系统功能之变化,土壤微生物组成及活性改变会导致微生物固碳能力下降。此外,本研究发现,在 90 天的培养过程中,土壤细菌和真菌的数量都呈下降趋势,土壤微生物生存受到胁迫,微生物压力指数增大,细菌和真菌的变化范围分别为 0.64%—8.72% 和 0.03%—5.61%,且细菌数量锐减具有滞后性。表明溴甲烷对某些敏感的细菌和真菌存在严重毒害作用,从而导致敏感菌群大量死亡,究其原因,可能是细菌对熏蒸剂溴甲烷的敏感性大于真菌,致使细菌的均匀度和丰富度降低的幅度大于真菌^[23];吴小虎研究表明农药甲霜灵对土壤微生物总体活性具有抑制作用,但随着时间的延长,土壤微生物会逐渐适应胁迫环境^[15]。Tanaka^[24]和燕平梅^[23]研究表明用熏蒸剂熏蒸土壤后不仅目标微生物被抑制,还使非目标微生物、尤其细菌类型受到强烈的抑制,这也与本研究溴甲烷处理后细菌和真菌都被显著抑制,其细菌丰度下降最为明显具有一定的相似性。本研究还发现从第 15—90 天,处理组土壤微生物代谢熵都高于对照组,在培养结束时(第 90 天)任相差 5.1%,说明用溴甲烷熏蒸后,微生物呼吸所消耗碳的比例增大,而用于建造微生物细胞碳的比例相对减少,使土壤代谢效率和有机质活性较低,不利于土壤优良性状的保持^[25]。故熏蒸剂溴甲烷不仅改变土壤中微生物群落结构,还使土壤呼吸作用减弱,其物质代谢减慢,降低了微生物碳代谢过程,影响到土壤生态系统进程^[26-27]。

3.2 溴甲烷对土壤微生物群落结构的影响

试验发现 GN 对溴甲烷的敏感性强于 GP,并且 GN 的恢复时间比 GP 长,而 GP 从第 7—60 天都被显著抑制。到培养期结束时,GP 下降 0.26%,GN 下降 10.42%,说明 GN 的变化具有滞后性。可能的原因是 GN 细胞壁较为复杂,不仅含有肽聚糖,其细胞壁外还有由脂多糖、磷脂和脂蛋白等若干种蛋白质组成的外膜能够有效的阻止或减缓有害物质或恶劣环境对细胞的迫害,从而保护细胞的正常生长代谢,而 GP 细胞壁结构简单,只含有 90% 肽聚糖和 10% 磷壁酸,其对抗外界环境变化的缓冲能力较弱^[27]。Li 等研究表明,施用溴甲烷对 GN 的影响时间长于 GP,而且可以影响土壤微生物的多样性^[28],这也与本试验的结果相吻合。另外,本研究发现 GN 在第 30 天后较对照而言抑制作用逐渐减弱,这是由于 GN 对外界环境有较强的耐性,在 GN 适应了溴甲烷的熏蒸胁迫后能利用外界的碳源促进自身的生长所致^[29],罗玮等^[27]分离的一株 GN(铜绿假单胞菌 *Pseudomonas aeruginosa*)能够以乙草胺为碳源对其降解率达到 72%—80%,其他药物的实验也得出了相似的结论,说明 GN 会利用熏蒸剂溴甲烷为碳源进行分解作用,从而刺激 GN 的生长,此时表现出丰富度、均匀性和多样性都呈增长的趋势^[30-31]。

4 结论

熏蒸剂溴甲烷使土壤微生物基础呼吸和诱导呼吸受到抑制,土壤微生物量碳含量减少,代谢熵(qCO_2)增加,且对诱导呼吸和微生物量碳的影响更大,具有滞后性。溴甲烷能够减少 PLFA 含量,显著抑制 B 和 F 丰度,降低 GN 和 GP 的多样性,使土壤微生物的压力指数增加,土壤微生物受到了长期的、持续的外源压力胁迫,但对 GN/GP 的影响比对 B/F 的影响更为显著。虽然土壤有自净能力,但这这一过程较为缓慢,因此,实际应用中应充分考虑溴甲烷对土壤微生物带来的负面影响。

参考文献 (References):

- [1] 吴孔明. 中国农作物病虫害防控科技的发展方向. 农学学报, 2018, 8(1): 35-38.
- [2] Hsieh H S, Pignatello J J. Modified carbons for enhanced nucleophilic substitution reactions of adsorbed methyl bromide. Applied Catalysis B: Environmental, 2018, 233: 281-288.
- [3] 李雄亚, 曹塿程. 国内外溴甲烷必要用途豁免趋势发展. 中国蔬菜, 2017, (11): 7-9.
- [4] Mayfield E N, Norman C S. Moving away from methyl bromide: political economy of pesticide transition for California strawberries since 2004. Journal of Environmental Management, 2012, 106: 93-101.
- [5] Johnson J A, Walse S S, Gerik J S. Status of alternatives for methyl bromide in the United States. Outlooks on Pest Management, 2012, 23(2): 53-58.
- [6] Yang Q, Lei A P, Li F L, Liu L N, Zan Q J, Shin P K S, Cheung S G, Tam N F Y. Structure and function of soil microbial community in artificially planted *Sonneratia apetala* and *S. caseolaris* forests at different stand ages in Shenzhen Bay, China. Marine Pollution Bulletin, 2014, 85(2): 754-763.
- [7] Shi Y, Grogan P, Sun H B, Xiong J B, Yang Y F, Zhou J Z, Chu H Y. Multi-scale variability analysis reveals the importance of spatial distance in shaping Arctic soil microbial functional communities. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 86: 126-134.
- [8] Ye X L, Dong F, Lei X Y. Microbial resources and ecology-microbial degradation of pesticides. Natural Resources Conservation and Research, 2018, 1(1): 22-28.
- [9] Becerra-Castro C, Lopes A R, Vaz-Moreira I, Silva E F, Manaia C M, Nunes O C. Wastewater reuse in irrigation: a microbiological perspective on implications in soil fertility and human and environmental health. Environment International, 2015, 75: 117-135.
- [10] Shennan C, Muramoto J, Koike S, Baird G, Fennimore S, Samtani J, Bolda M, Dara S, Daugovish O, Lazarovits G, Butler D, Roskopf E, Kokalis-Burelle N, Klonsky K, Mazzola M. Anaerobic soil disinfestation is an alternative to soil fumigation for control of some soilborne pathogens in strawberry production. Plant Pathology, 2018, 67: 51-66.
- [11] 裴赛峰, 张昉. 吹扫捕集-气相色谱/质谱法测定饮用水中的 10 种三卤甲烷. 中国卫生检验杂志, 2018, 28(11): 1299-1302+1305.
- [12] 曹塿程, 刘晓漫, 郭美霞, 王秋霞, 李园, 欧阳灿彬, 颜冬冬. 作物土传病害的危害及防治技术. 植物保护, 2017, 43(2): 6-16.
- [13] Zaady E, Ben-David E A, Sher Y, Tzirkin R, Nejidat A. Inferring biological soil crust successional stage using combined PLFA, DGGE, physical and biophysiological analyses. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(5): 842-849.
- [14] 李欣攻, 左易灵, 薛子可, 张琳琳, 赵丽莉, 贺学礼. 不同荒漠植物根际土壤微生物群落结构特征. 生态学报, 2018, 38(8): 2855-2863.
- [15] 吴小虎. 氟磺胺草醚对土壤微生物多样性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014.
- [16] 卢虎. 祁连山不同退化草地土壤微生物特性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2015.
- [17] 立天宇, 康峰峰, 韩海荣, 高晶, 宋小帅, 于舒. 冀北辽河源自然保护区土壤微生物碳代谢特征对凋落物分解主场效应的响应. 应用生态学报, 2015, 26(7): 2159-2166.
- [18] Li W T, Wu M, Liu M, Jiang C Y, Chen X F, Kuzyakov Y, Rinklebe J, Li Z P. Responses of soil enzyme activities and microbial community composition to moisture regimes in paddy soils under long-term fertilization practices. Pedosphere, 2018, 28(2): 323-331.
- [19] 韦应莉, 曹文侠, 李建宏, 张爱梅, 李小龙, 马周文. 不同放牧与围封高寒灌丛草地土壤微生物群落结构 PLFA 分析. 生态学报, 2018, doi: 10.5846/stxb201706301182.
- [20] Hammesfahr U, Heuer H, Manzke B, Smalla K, Thiele-Bruhn S. Impact of the antibiotic sulfadiazine and pig manure on the microbial community structure in agricultural soils. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(7): 1583-1591.
- [21] Gullino M L, Camponogara A, Gasparrini G, Rizzo V, Clini C, Garibaldi A. Replacing methyl bromide for soil disinfestation: the Italian experience and implications for other countries. Plant Disease, 2003, 87(9): 1012-1021.
- [22] 张成霞, 南志标. 土壤微生物生物量的研究进展. 草业科学, 2010, 27(6): 50-57.
- [23] 燕平梅, 乔宏萍, 赵文婧, 陈燕飞, 单树花, 曹塿程. 溴甲烷熏蒸对土壤反硝化作用及 nosZ 型反硝化微生物群落结构的影响. 微生物学报, 2015, 55(1): 73-79.
- [24] Tanaka S, Kobayashi T, Iwasaki K, Yamane S, Maeda K, Sakurai K. Properties and metabolic diversity of microbial communities in soils treated with steam sterilization compared with methyl bromide and chloropicrin fumigations. Soil Science and Plant Nutrition, 2003, 49(4): 603-610.
- [25] 周焱, 徐宪根, 王丰, 阮宏华, 汪家社, 方燕鸿, 吴焰玉, 徐自坤. 武夷山不同海拔梯度土壤微生物生物量、微生物呼吸及其商值(qMB, qCO_2). 生态学杂志, 2009, 28(2): 265-269.
- [26] 沈萍, 陈向东. 微生物学(第八版). 北京: 高等教育出版社, 2016: 126-129.
- [27] 罗玮, 姜宏亮, 马浩. 一株乙草胺降解菌的分离及其降解特性研究. 微生物学通报, 2016, 43(12): 2678-2685.
- [28] Li J, Huang B, Wang Q X, Li Y, Fang W S, Han D W, Yan D D, Guo M X, Cao A C. Effects of fumigation with metam-sodium on soil microbial biomass, respiration, nitrogen transformation, bacterial community diversity and genes encoding key enzymes involved in nitrogen cycling. Science of the Total Environment, 2017, 598: 1027-1036.
- [29] Liu J, Xia H J, Wang J Z, Zhang W L. Bioactive characteristics of soil microorganisms in different-aged orange (citrus reticulata) plantations. Agricultural Science & Technology, 2012, 13(6): 1277-1281, 1286-1286.
- [30] 张红, 吕永龙, 辛晓云, 史艳飞, 明宾. 杀虫剂类 POPs 对土壤中微生物群落多样性的影响. 生态学报, 2005, 25(4): 937-942.
- [31] Jiang J D, Li S P. Microbial Degradation of chemical pesticides and bioremediation of pesticide-contaminated sites in China//Luo Y M, Tu C, eds. Twenty Years of Research and Development on Soil Pollution and Remediation in China. Singapore: Springer, 2018: 655-670.