

## 研究简报

 $Zn^{2+}$ 对土壤微生物碳、呼吸强度的影响陈 浮<sup>\*1</sup> 曹 慧<sup>2</sup> 濮励杰<sup>1</sup> 彭补拙<sup>1</sup><sup>(1)</sup> 南京大学城市与资源学系水土模拟实验室, 南京 210093)<sup>(2)</sup> 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)关键词:  $Zn^{2+}$  微生物碳 呼吸强度 时间效应  
分类号: S154.2 0614.24\*1

Zn 是典型的人类活动源元素之一, 工业化进程加剧了 Zn 对农田生态系统污染的威胁<sup>[1]</sup>。最初, 重金属是否污染判断标准采用  $X + 2S$  ( $X$  为该元素背景值,  $S$  为标准偏差)<sup>[2]</sup>。国际通用土壤质量标准界定之后, 将生物量下降 60% 作为重金属元素的临界浓度<sup>[3]</sup>。一些研究表明, Cu、Pb、Cd、Hg 等进入土壤之后, 微生物群落多样性发生改变<sup>[4]</sup>, 导致微生物生物量和呼吸速率降低或显著增加<sup>[5]</sup>, 酶的活性受严重损害<sup>[6]</sup>, 微生物生态参数  $C_{mic}/C_{org}$  降低, 代谢熵  $q_{CO_2}$  则明显升高<sup>[7]</sup>。对  $Zn^{2+}$  的研究侧重于生物毒理作用<sup>[8]</sup>,  $Zn^{2+}$  污泥添加后土壤微生物量的变化<sup>[9]</sup>、酶的生物活性<sup>[10]</sup> 及复合污染等<sup>[11]</sup>。但  $Zn^{2+}$  污染后土壤微生物碳、呼吸强度的动态变化及与土壤结合形态关系的报道很少。本文侧重分析土壤微生物碳、呼吸强度对  $Zn^{2+}$  的剂量反应及时间效应, 讨论土壤微生物对  $Zn^{2+}$  荷载的敏感程度及群落结构变化。

## 1 实验部分

## 1.1 土壤样品与试验设计

采自吴县市横泾镇旺山村农田的表层土壤过 2mm 筛, 剔除所有植物碎片、根系、石子和土壤动物等, 储存在 4℃ 的冷库中备用。土壤含水量、田间持水量 (WHC)、pH 值、有机质含量及其机械组成用常规土壤化学方法测定<sup>[12]</sup>。

取约 10kg 土样 6 份, 5 份装入圆桶后在滚筒机上滚动, 用喷雾瓶均匀地喷施硫酸锌溶液, 使  $Zn^{2+}$

的最终加入浓度达到 50, 100, 200, 300, 500mg · kg<sup>-1</sup> 土, 1 份作为对照。6 份样品分别装入培养桶里, 维持 50% 的田间持水量, 用 Parafilm 膜封住桶口, 保证能发生气体交换但没有水分损失, 在 25℃ 的微生物培养室中培养 16 周, 不同时段分别取样测定。

## 1.2 测定方法与统计分析

土壤微生物生物量采用氯仿熏蒸—0.5mol · L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 溶液提取法测定<sup>[13]</sup>。土壤微生物对碳源利用采用铬分析 (Biolog analysis) 方法, 共测试 128 种碳源<sup>[14]</sup>。取培养 8 周、16 周后土壤, 密封置于 25℃ 微生物培养室中, 每天用 595nm 波长, 自动读盘机 (Bio-Tek Instruments, Inc., Winooski, VT) 上用 Microlog Rel 3.5 软件 (Hayward Biolog Co., CA, USA) 进行读数 9d 和数据收集。土壤孔隙水用离心法在 3600r · min<sup>-1</sup>, 27℃, Brake9 条件下离心 30min 提取, 提取液中 Zn 的浓度用 ICP-AES 测定<sup>[15]</sup>, 再用 Microtox 仪检测大肠埃希氏菌 (*Escherichia coli*, *E. coli*) 发光菌株对土壤孔隙水的生物反应<sup>[16]</sup>。

所有样品均设有 3 个重复, 数据统计分析采用 SPSS 8.0 的主成分分析 (Principal components analysis, PCA) 软件包 (SPSS Ltd., USA)。

## 2 结果与讨论

土壤样品为中偏酸性、有机质含量中等的壤土, 基本性质测定结果如表 1。

收稿日期: 2001-09-05。收修改稿日期: 2001-09-27。

国家自然科学基金重点资助项目 (No. 49831070)。

\* 通讯联系人。E-mail: chenfu@nju.edu.cn

第一作者: 陈 浮, 男, 27 岁, 博士, 讲师; 研究方向: 土壤化学。

表 1 土壤样品的理化性质

Table 1 Basic Physical and Chemical Characteristics of Soil Sample

pH(CaCl <sub>2</sub> )	organic matter/%	soil water/%	water holding capacity/%	component/%		
				clay	silt	sand
5.2	3.0	28.5	54.1	27	49	24

### 2.1 $Zn^{2+}$ 对土壤微生物碳的影响

土壤添加  $Zn^{2+}$  后, 微生物碳明显降低, 并随  $Zn^{2+}$  浓度增加, 降低幅度增大。培养 1 周后, 当  $Zn^{2+}$  浓度为  $100\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时, 微生物碳显著降低,  $500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时降低幅度达到 35.7%; 第 2 周后, 添加 50、 $100\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的土壤微生物碳发生反弹, 5 周后再次下降, 9 周后与对照之间变化不显著。添加  $200\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  仅第 2 周出现上升, 之后一直下降, 与对照之间变化显著。添加  $300、500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  后开始迅速下降, 第 4 周后达到平衡状态。图 1 反映  $\leq 100\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  低浓度  $Zn^{2+}$  进入土壤的早期阶段对微生物碳具有显著的刺激作用, 随着时间的延长, 刺激作用越来越不明显;  $\geq 300\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  高浓度  $Zn^{2+}$  对土壤微生物碳具有显著的抑制作用, 尽管随时间延长出现减弱趋势, 但抑制作用仍十分显著。

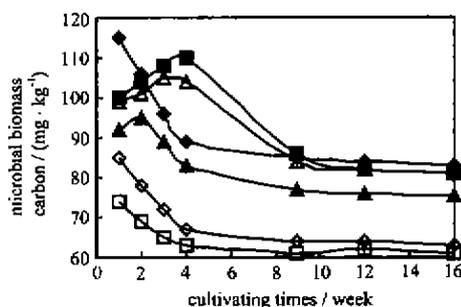


图 1 土壤微生物碳的动态变化

Fig. 1 Dynamic changes of microbial biomass carbon in soil  
 $Zn^{2+}$  concentration / ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ):  $\blacklozenge$ : 0;  $\blacksquare$ : 50;  
 $\triangle$ : 100;  $\blacktriangle$ : 200;  $\diamond$ : 300;  $\square$ : 500

### 2.2 $Zn^{2+}$ 对土壤微生物呼吸强度的影响

图 2 显示, 添加  $Zn^{2+} \leq 100\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时对土壤呼吸强度有少量的刺激作用, 随着浓度的增加,  $Zn^{2+}$  对呼吸强度产生抑制作用并不断增强,  $200\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时达到显著水平,  $500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时最大抑制率高达 45.3%。低浓度处理土壤, 早期阶段呼吸强度急剧下降, 6 周后缓慢降低并逐渐达到平衡状态。与对照相比, 添加 50、 $100\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$   $Zn^{2+}$  土壤的呼吸强度第 2 周出现轻微的反弹; 添加  $200\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$   $Zn^{2+}$  的土壤, 4 周后下降平缓并逐渐趋于平衡。  $\geq 300、$

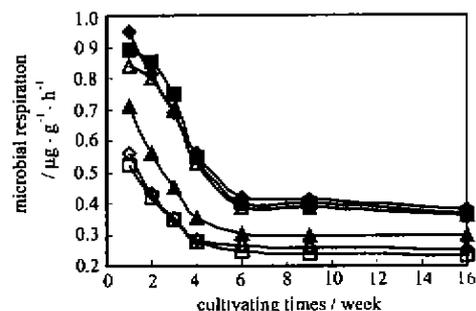


图 2 土壤微生物呼吸强度的动态变化

Fig. 2 Dynamic changes of microbial respiration in soil  
 $Zn^{2+}$  concentration / ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ):  $\blacklozenge$ : 0;  $\blacksquare$ : 50;  
 $\triangle$ : 100;  $\blacktriangle$ : 200;  $\diamond$ : 300;  $\square$ : 500

$500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$   $Zn^{2+}$  对呼吸强度在整个培养时期内均有很强的抑制作用且无法消除, 16 周后呼吸强度下降仍达显著水平。

### 2.3 $Zn^{2+}$ 对土壤微生物群落结构的胁迫

Biolog 分析结果的 PCA 分析显示微生物群落对不同威胁程度下碳源利用的响应, 它是反映微生物生理轮廓和微生物群落结构的有效手段<sup>[17]</sup>。图 3 显示, 培养 8 周后, 4d 内不同处理土壤对能源碳的利用顺序为  $100 > 50 > 0 > 200 > 300 > 500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 4d 后顺序变为  $50 > 100 > 200 > 0 > 300 > 500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。16 周后微生物 2d 内对能源碳利用极小, 但利用差异较大。除  $50\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  添加外, 16 周后各种处理的土壤微生物对能源碳的利用均低于 8 周前的土壤。说明培养 8 周后土壤微生物对碳源的消耗更多、更快。

选取 3、6、9d 三个时点, 对 Biolog 数据进行标准化变换后实施 average well color development (AWCD) 分析, AWCD 对 Biolog 总变化的解释率为 85.6% ( $p < 0.05$ )。仅列出主因子 PC1-PC2 分析结果(图 4): 8 周后 Biolog 数据在因子载荷图上的载荷量均比较小, PC1、PC2 的解释率  $< 40\%$ 。3d 时, 对照数据分布于 PC1 因子的正端, 50、100、 $200\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  添加的投影点分布于零点附近向四周扩散, 300、 $500\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  添加的投影点分布于 PC1 因子的负端。6、9d 因子图上不同  $Zn^{2+}$  添加量间的差异更加

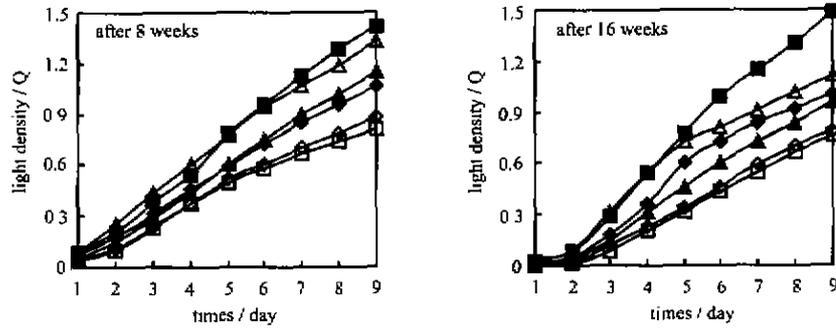


图 3 添加  $Zn^{2+}$  后培养不同时间土壤微生物对碳源的平均利用程度

Fig. 3 Average value in consuming carbon source of microbial in different phases after  $Zn^{2+}$  added  
 $Zn^{2+}$  concentration / ( $mg \cdot kg^{-1}$ ): ◆: 0; ■: 50; △: 100; ▲: 200; ◇: 300; □: 500

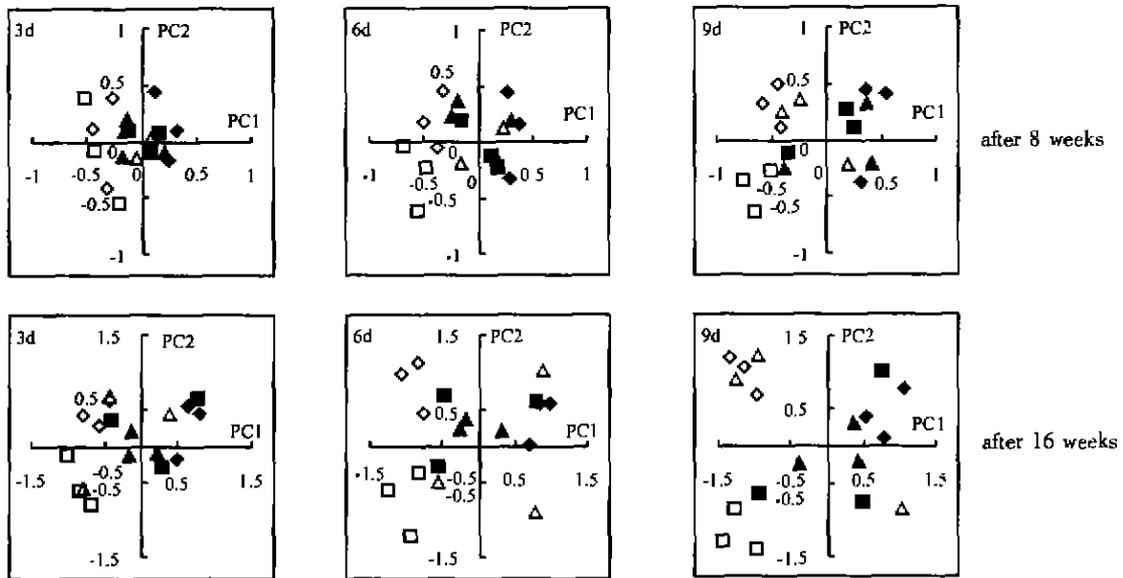


图 4  $Zn^{2+}$  添加后土壤微生物 Biolog 结果的典型变量主因子载荷

Fig. 4 PCA plots of substrate utilization patterns of carbon source soil microbial community estimated using biolog data adjusted for AWCD  
 $Zn^{2+}$  concentration / ( $mg \cdot kg^{-1}$ ): ◆: 0; ■: 50; △: 100; ▲: 200; ◇: 300; □: 500

显著, 载荷量增大。300、500 $mg \cdot kg^{-1}$  的投影点分布发生明显分化, 300 $mg \cdot kg^{-1}$  添加量向 PC2 的正端移动, 500 $mg \cdot kg^{-1}$  添加量向 PC2 的负端移动; 16 周培养后, Biolog 数据的载荷量显著加大, 主因子 PC1、PC2 的解释率增高。3d 时, 高、低浓度和对照不同处理的数据可以明显地区分开, 6、9d 后则更加显著。

随着培养时间和 Biolog 读数时间的延长, 不同处理方式在载荷图上的区别越来越显著。图 4 反映不同浓度  $Zn^{2+}$  处理后土壤微生物的群落结构发生了明显的改变, 且随时间的延长越来越显著, 反映高浓度  $Zn^{2+}$  添加对微生物群落结构的损伤具有长期

性、延续性。

#### 2.4 $Zn^{2+}$ 与土壤的结合形态及生物效应

$Zn^{2+}$  进入土壤后, 可溶于土壤溶液、吸附于胶体表面、闭蓄于土壤矿物、或与其它物质反应发生沉淀。土壤对重金属元素的自净能力取决于该元素与土壤结合的强度, 土壤 pH 值、有机质含量、质地及三氧化二物含量是最重要的控制因素。测定表明, 土壤  $Zn^{2+}$  背景值为 31.5 $mg \cdot kg^{-1}$ , 交换态、碳酸态、有机态、铁锰态和残渣态的比重分别为 0.6%、3.9%、11.4%、15.6% 和 68.5%, 可以判定土壤样品自身的转化能力和固定能力很强<sup>[1]</sup>。 $Zn^{2+}$  进入土壤后很容易被有机质、铁锰化物固定或发生化学反应转化

表2 不同时间土壤孔隙水中  $Zn^{2+}$  浓度及对 *E. coli* 发光度的影响Table 2  $Zn^{2+}$  Concentration of Soil Water and Influence on *E. coli* in Different Testing Phases

$Zn^{2+}$ added /( $mg \cdot kg^{-1}$ )	after 4 weeks		after 8 weeks		after 16 weeks	
	water-soluble $Zn^{2+}$ /( $mg \cdot L^{-1}$ )	descent ratio of glow/%	water-soluble $Zn^{2+}$ /( $mg \cdot L^{-1}$ )	descent ratio of glow/%	water-soluble $Zn^{2+}$ /( $mg \cdot L^{-1}$ )	descent ratio of glow/%
0	0.025	1.0	0.021	0.9	0.015	0.8
50	0.074	21.3	0.054	19.2	0.047	18.9
100	0.227	27.8	0.145	23.5	0.089	21.8
200	0.558	35.6	0.461	32.4	0.327	29.2
300	1.314	46.5	0.833	39.7	0.612	37.1
500	2.596	61.4	1.246	44.6	0.985	41.0

为残渣态, 有效性降低或丧失<sup>[18]</sup>。

表2显示, 随添加浓度增高, 土壤孔隙水中游离态  $Zn^{2+}$  浓度亦升高。但添加浓度高达  $300mg \cdot kg^{-1}$  时, 土壤孔隙水中  $Zn^{2+}$  含量仅为  $1.314mg \cdot L^{-1}$ 。培养4周后 *E. coli* 发光度下降靠近半抑制量  $EC_{50}$ , 但随培养时间的延长, 土壤孔隙水中游离态  $Zn^{2+}$  浓度下降, 对发光菌的抑制作用下降。因此,  $Zn^{2+}$  对土壤微生物的作用集中于进入土壤的早期阶段, 后期越来越不明显。 $Zn^{2+}$  胁迫下的微生物产生逆抗性, 导致早期微生物碳增加、呼吸强度变大, 但随时间  $Zn^{2+}$  被逐渐固定或转化, 失去有效性, 微生物又逐渐恢复正常生理活动。因此, 出现  $50、100mg \cdot kg^{-1}$   $Zn^{2+}$  添加土壤微生物碳、呼吸强度上升, 利用碳源高于对照样品;  $\geq 300mg \cdot kg^{-1}$  处理土壤中过高的  $Zn^{2+}$  浓度抑制了微生物正常的生理活动, 因此对碳源利用又很低。微生物为了适应这种逆境, 不得不改变群落结构, 因此, Biolog 因子载荷图上不同  $Zn^{2+}$  处理的差异越来越明显。

### 3 结 论

低浓度  $Zn^{2+}$  对土壤微生物碳、呼吸强度有刺激作用, 高浓度  $Zn^{2+}$  则有明显的抑制作用并随浓度升高而增强。尽管高浓度  $Zn^{2+}$  对土壤微生物碳、呼吸强度乃至群落结构的影响具有长期性, 但主要发生在  $Zn^{2+}$  进入土壤的早期阶段。添加  $300mg \cdot kg^{-1}$   $Zn^{2+}$  时, 土壤微生物碳、呼吸强度、群落结构、碳源消耗等均发生了显著变化, 它可以作为土壤受  $Zn^{2+}$  污染的临界值。

### 参 考 文 献

- [1] CHEN Huai-Man(陈怀满) *Heavy Metal in Soil and Plant Ecosystem* (土壤-植物系统中的重金属污染), Beijing: Science Press, 1996, p64.
- [2] XU Jia-Ling(许嘉琳), YANG Ju-Rong(杨居荣) *Heavy Metal in Terrestrial Ecosystem* (陆地生态系统中的重金属), Beijing: Chinese Environmental Science Press, 1995, p45.
- [3] HE Zhen-Li(何振立) *Turang(Soils)*, 1997, 1, 8.
- [4] Kelly J. J. *Journal of Environmental Quality*, 1998, 27(3), 609.
- [5] Kaperman R. G. *Soil Biology and Biochemistry*, 1997, 29(2), 179.
- [6] Deng S., Tabatabai M. A. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(2), 977.
- [7] Fliessbach A. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26(9), 1201.
- [8] Brookes P. C., McGrath S. P. *Journal of Soil Science*, 1984, 35, 341.
- [9] Rost U., Joergensen R. G., Chander K. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(4), 633.
- [10] Tyler G. *Plant and Soil*, 1974, 41, 303.
- [11] Fliessbach A., Martens R., Reber H. H. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26, 1201.
- [12] Chen F., Peng B., Bao H. *Journal of Geographical Science*, 2001, 11(1), 93.
- [13] Wu J., Campbell C. *Soil Biology and Biochemistry*, 1990, 22(8), 1167.
- [14] Fang C., Radosevich M., Jeffrey J. F. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(2), 679.
- [15] LI Fang(李 芳), YANG Xiu-Huan(杨秀环), TANG Bao-Ying(唐宝英) *Guangpuxie He Guangpu Fenxi(Spectroscopy and Spectral Analysis)*, 2000, 20(4), 501.
- [16] Pankhurs C. E., Doube B. M., Gupta V. S. R. *Bioindicators of Soil Health*, CAB international: Wallingford, 1996, p397.
- [17] Blume H. P. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 1991, 22, 161.
- [18] YANG Yuan-Geng(杨元根), Paterson E., Campbell C. *Ziran Kexue Jinzhan(Progress in Natural Science)*, 2001, 11(3), 248.

[1] CHEN Huai-Man(陈怀满) *Heavy Metal in Soil and Plant Ecosystem* (土壤-植物系统中的重金属污染), Beijing:

## Effects of $Zn^{2+}$ on Microbial Biomass Carbon and Respiration in Soil

CHEN Fu<sup>\*1</sup> CAO Hui<sup>2</sup> PU Li-Jie<sup>1</sup> PENG Bu-Zhuo<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Laboratory of Soil and Water Stimulating Department of Urban and Resources Science, Nanjing University, Nanjing 210093)

(<sup>2</sup>Institute of Soil Research, Chinese Academy of Science, Nanjing 210009)

Effects of Zinc on microbial biomass carbon, respiration, and community structure in rice soil were studied. Six samples were added concentrations between 50 and 500mg Zn kg<sup>-1</sup> soil. The results show that low concentration can promote the growth of microbial biomass carbon in the easily stage of Zn added, but high concentration can inhibit the growth of microbial biomass carbon. The inhibition is strengthened with increasing concentration and the critical concentration of Zn is about 200mg · kg<sup>-1</sup>. Analysis of the Biolog data by PCA indicated that microbial community structure I had changed, microbial has much more rapid in consuming carbon sources, and have long lasting adverse effects under the stress of Zn contamination. All these changes are correlation with soil binding capacity.

**Keywords:** Zn contamination    microbial biomass carbon    respiration    temporal availability