

S154.3
~~X443~~
X53
苏格兰阿伯丁城市土壤的微生物特性研究Paterson E¹
杨元根¹ E. Paterson² C. Campbell²

(1. 中国科学院地球化学研究所, 贵阳 550002; 2 The Macaulay Land Use Research Institute, Aberdeen, UK AB15 8QH)

摘要: 在重金属的胁迫下, 阿伯丁市城市土壤中微生物特征发生了显著的变化, 与农村土相比, 微生物基底呼吸作用明显增强, 但微生物生物量却显著降低, 微生物生理参数 C_{mic}/C_{org} 、 qCO_2 值明显升高, Biolog 数据显示城市土壤对能源碳的消耗量和速度显著升高, 而且对能源碳的利用方式发生了改变, 但利用效率却明显降低, 反映出微生物特性可作为城市土壤环境质量变异的有效指标。

关键词: 城市土壤; 微生物特性; 重金属污染

能源碳, 实验

中图分类号: S154.3; X53

文献标识码: A

文章编号: 1000-4734(2000)04-0342-07

作者简介: 杨元根, 男, 1965年生, 研究员, 1994年毕业于中国科学院地球化学研究所, 获博士学位, 主要从事环境地球化学、矿床地球化学研究。

近年来城市土壤的研究一直是人们关注的焦点^[1]。许多研究表明: 微量元素特别是重金属元素在城市土壤中已有大量的积累^[2,3], 其中 Cu、Pb、Zn、Cd 等被认为是典型的人为活动源元素^[4,5], 并对其在城市环境中的源-运移(物理、化学变化)-沉降进行了模式探讨^[6]。但目前对城市土壤中微生物的研究相对比较薄弱^[7]。现有研究表明: 土壤微生物不仅直接影响着土壤的肥力水平^[8], 而且微生物活性及其生物量的周转、微生物对有机碳利用率均是反映土壤环境质量标准的重要指标^[9]。因此本文拟从这个角度探讨阿伯丁市土壤中微生物对城市土壤环境变化的响应及其生态和环境评价意义。

1 实验方法

1.1 土壤样品的采集

选择阿伯丁市区的主要交通要道街道两旁及市内主要公园作为采样地点, 采样方法详见 Paterson^[10], 本次研究各采集了 14 个路边和公园土壤样品, 为了对比, 同时也采集了 14 个农村地区的土壤样品, 它们具有相同的母质来源和隶属于同一土类。

1.2 样品处理

所有的湿样均过 2mm 的不锈钢筛, 并拣出可见的植物碎片等杂质, 取 100g 左右的分样, 在 30℃ 左右的温室中风干, 在 Laborette 27 型旋转式缩分器上缩分后, 供土壤 pH 值测定之用, 其余的样品储存在 4℃ 的冷库中作土壤含水量、烧失量测定及微生物研究之用。

1.3 土壤基本性质的测定

pH 值分别用 1:3 的去离子水和 0.01mol/L $CaCl_2$ 溶液浸提, 振荡平衡 20h, 读数 1min; 含水量在 107℃ 下用烘干恒重法测定, 然后在 900℃ 马弗炉中烘 12h 测定烧失量, 并据此计算土壤总有机碳含量。

1.4 微生物基底呼吸量的测定

采用 Baath 等^[11]的方法, 用 Perkin Elmer F33 型气相色谱仪测定其中 CO_2 的含量, 仪器的工作条件为温度 100℃, 工作气体氮气的压力为 2MPa, Porapak 色谱柱, 标准气体为由 Scotty Specialty Gases 生产的含 CO_2 为 993 μ l/L 的氮气。

1.5 微生物生物量的测定

采用熏蒸-提取法^[12], 用 100 ml 0.5 mol/L K_2SO_4 溶液提取, 提取液分别按以下方法进行稀释, 空白: 5ml 提取液加 5ml 5% ($NaPO_3$)₆ (事先

收稿日期: 2000-03-24

基金项目: 中国科学院王宽诚留学基金

用浓 H_3PO_4 调 pH 至 2); 未熏蒸: 3.5ml 提取液加 3.5ml 5% $(NaPO_4)_6$ 加 3.5ml 去离子水; 熏蒸: 2ml 提取液加 2ml 5% $(NaPO_4)_6$ 加 6ml 去离子水, 然后用 TOC 分析仪测定稀释液中有机碳含量, 从而求得微生物生物量 C_{mic} 。

以上所有参数的测定均重复三次。

1.6 微生物对单一能源碳利用(Biolog)测定

与常规结合 GN 盘和 MT5 盘的方法不同, 本研究采用修改了的 Biolog MT 盘-污染物 MT8 盘, 主要包括脂肪酸类和芳香化合物等 15 种碳源, 这样一个盘就可以进行 6 个样品的 Biolog 测

试, 具体的碳源组成见表 1。操作时称取 10g 鲜土加入盛有 100ml 灭菌去离子水的 250ml 的三角瓶中, 在手腕式振荡机上全速振荡 10min。每取出 5ml 至 45ml 振荡液, 剩余液即在灭菌去离子水中进行 10 倍系列的稀释直至 10^{-3} 稀释度, 然后离心 10min (1 500r/min, 15℃, Brake9), 小心地在 MT8 盘的每个孔中接种 150 μ l 上清液, 然后用塑料袋密封后放置在 25℃ 的微生物培养室中, 并在不同的时间段用 590nm 的波长, 在英国 Crawley 生产的 VMAX 自动读盘机上利用 Microlog Rel3.5 软件(美国加州 Hayward Biolog 公司生产)进行读数和数据收集。

表 1 MT8 盘中碳源的分布

Table 1. Carbon source distribution in MT8 plates

序号	样品 1		样品 2		样品 3		样品 4		样品 5		样品 6	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	空白	苯甲酸 165	空白	苯甲酸 165	空白	苯甲酸 165	空白	苯甲酸 165	空白	苯甲酸 165	空白	苯甲酸 165
B	葡萄糖 60*	肉豆蔻酸 90	葡萄糖 60	肉豆蔻酸 90	葡萄糖 60	肉豆蔻酸 90	葡萄糖 60	肉豆蔻酸 90	葡萄糖 60	肉豆蔻酸 90	葡萄糖 60	肉豆蔻酸 90
C	L-天门冬素 60	棕榈酸 80	L-天门冬素 60	棕榈酸 80	L-天门冬素 60	棕榈酸 80	L-天门冬素 60	棕榈酸 80	L-天门冬素 60	棕榈酸 80	L-天门冬素 60	棕榈酸 80
D	水杨酸 150	硬脂酸 75	水杨酸 150	硬脂酸 75	水杨酸 150	硬脂酸 75	水杨酸 150	硬脂酸 75	水杨酸 150	硬脂酸 75	水杨酸 150	硬脂酸 75
E	甲苯酸 150	棕榈油酸 80	甲苯酸 150	棕榈油酸 80	甲苯酸 150	棕榈油酸 80	甲苯酸 150	棕榈油酸 80	甲苯酸 150	棕榈油酸 80	甲苯酸 150	棕榈油酸 80
F	萘酸 125	油酸 75	萘酸 125	油酸 75	萘酸 125	油酸 75	萘酸 125	油酸 75	萘酸 125	油酸 75	萘酸 125	油酸 75
G	原儿茶酸 130	亚油酸 75	原儿茶酸 130	亚油酸 75	原儿茶酸 130	亚油酸 75	原儿茶酸 130	亚油酸 75	原儿茶酸 130	亚油酸 75	原儿茶酸 130	亚油酸 75
H	p-OH 苯甲酸 150	亚麻酸 75	p-OH 苯甲酸 150	亚麻酸 75	p-OH 苯甲酸 150	亚麻酸 75	p-OH 苯甲酸 150	亚麻酸 75	p-OH 苯甲酸 150	亚麻酸 75	p-OH 苯甲酸 150	亚麻酸 75

注: * 计量单位为 μ l。

1.7 数据处理

所有的统计分析均由英国牛津 NAG Ltd. 的 Genstat Rel5.3 统计软件完成。

以上所有工作均在英国麦考莱(Macaulay)土地利用研究所完成。

2 研究结果

2.1 土壤微生物基底呼吸作用

表 2 列出了不同地区土壤微生物基底呼吸作用强度的测定结果, 从相关系数可以看出, 不同时间段内微生物呼吸作用释放的 CO_2 含量之间达到极显著相关性, 表明在整个土壤培养过程中微生物作用释放的 CO_2 并没有发生泄露, 测定的结果能很好地反映土壤微生物实际呼吸作用的强

度; 从图 1 可以看出, 不同地区土壤微生物的呼吸强度以路边土最高, 公园土次之, 农村土最低, t 检验(显著性分布检验)均显示达 95% 的差异性显著水平, 表明城市土壤的微生物呼吸强度明显高于农村土壤。

2.2 微生物生物量

图 1 显示三类土壤的微生物生物量呈现农村土 > 公园土 > 路边土的变化规律, t 检验显示显著的差异性。土壤微生物生物量通常代表着土壤微生物的群体水平, 反映了土壤同化和矿化能力的大小, 是土壤肥力的有效标志^[8]。以上结果表明从农村土到城市土壤, 其微生物生物量显著降低, 土壤肥力水平下降。

2.3 微生物生态生理参数

土壤微生物量碳与总有机碳的比值: $C_{mic}/$

C_{org} 和代谢商(即微生物基底呼吸作用强度与微生物生物量的比值: $qCO_2 = R_{mic}/C_{mic}$)是反映生态系统变化及应变状况的可靠微生物参数。图1说明路边土的 C_{mic}/C_{org} 值明显大于公园土和农村土, t 检验显示其差异性达到 99% 的极显著水平, 而公园土与农村土则没有显著的差异性;

C_{mic}/C_{org} 值通常与有机质含量或微生物活动密切相关, 有机质分解, C_{mic}/C_{org} 值升高^[13], 而 C_{mic}/C_{org} 值的降低通常与低水平、稳定态的微生物活动有关^[14], 可见路边土高的 C_{mic}/C_{org} 值一方面反映了土壤有机质含量的贫瘠, 另一方面反映其土壤微生物活动的不稳定性。

表 2 土壤微生物基底呼吸量测定结果

Table 2. Measurements of microbial basal respiration

采样地区	样号	呼吸量/ $\mu g(CO_2) \cdot g^{-1}$				相关性 (R^2)	呼吸速率 $\mu g(CO_2) \cdot g^{-1} \cdot h^{-1}$
		$t=0$ h	$t=2$ h	$t=4$ h	$t=6$ h		
公园	site1	4.732	6.323	7.610	9.163	0.996	0.729 1
	site2	3.805	4.827	5.540	6.241	0.988	0.401 1
	site4	3.597	5.044	5.598	6.641	0.962	0.484 3
	site6	4.373	5.774	6.771	7.492	0.976	0.517 8
	site8	3.591	5.242	6.209	7.361	0.982	0.614 0
	Site11	3.345	4.875	6.354	7.370	0.991	0.677 6
	Site14	3.773	5.073	5.979	7.103	0.989	0.544 7
	Site17	3.723	4.941	7.227	8.597	0.977	0.845 5
	Site18	3.936	5.131	7.388	9.106	0.985	0.888 3
	Site22	3.392	4.356	6.132	7.214	0.975	0.662 1
	Site25	3.571	5.200	7.557	9.667	0.991	1.032 3
	Site27	3.507	4.737	7.292	7.916	0.938	0.789 0
	Site28	3.399	4.311	6.713	8.006	0.968	0.811 1
	Site29	2.826	3.713	5.982	6.812	0.959	0.711 3
路边	Site31	4.929	6.788	8.327	9.595	0.991	0.776 8
	Site40	3.660	5.052	6.089	7.045	0.986	0.559 6
	Site47	2.849	4.148	5.225	6.092	0.986	0.540 4
	Site51	3.878	5.578	7.070	8.950	0.994	0.835 4
	Site54	2.680	3.592	4.337	5.078	0.996	0.396 9
	Site57	3.275	5.550	7.174	8.840	0.991	0.916 0
	Site64	3.033	4.176	4.983	6.104	0.977	0.500 9
	Site65	3.213	4.823	6.697	7.769	0.975	0.777 1
	Site68	2.825	3.778	6.036	7.174	0.974	0.765 3
	Site69	2.685	3.896	6.184	7.591	0.977	0.850 4
	Site73	2.653	4.200	7.184	8.184	0.966	0.978 9
	Site75	2.417	3.779	5.879	7.500	0.991	0.832 2
	Site76	2.447	3.637	5.006	5.921	0.977	0.589 5
	Site78	2.616	4.136	6.421	8.093	0.984	0.935 8
农村地区	CS1	3.659	4.770	5.941	6.647	0.970	0.506 8
	CS2-1	3.488	4.723	5.625	6.567	0.971	0.500 3
	CS2-2	2.843	4.135	5.507	6.979	0.991	0.689 0
	CS3-1	2.893	4.119	5.088	5.934	0.981	0.504 6
	CS3-2	3.739	4.095	5.473	6.416	0.927	0.4705
	CS4	3.259	4.322	5.343	6.131	0.988	0.481 9
	CS5-1	3.444	4.988	6.949	8.474	0.990	0.852 6
	CS5-2	3.891	6.271	8.917	10.891	0.993	1.185 4
	CS6-1	3.214	4.562	6.155	7.057	0.985	0.656 1
	CS6-2	2.420	3.854	4.762	6.066	0.963	0.592 3
	MLUR11	3.014	4.174	5.446	6.457	0.991	0.580 0
	MLUR12	2.876	3.987	5.462	6.302	0.982	0.580 1
	MLUR13	2.539	3.523	4.691	5.402	0.981	0.487 9
	MLUR14	2.747	3.583	4.822	6.252	0.977	0.587 7

三类土壤的代谢商(qCO_2)也呈现类似的变化规律, 路边土>公园土>农村土, 差异性均达到极显著水平; qCO_2 变化的一个重要原因是环境

协变导致微生物生理状态的改变^[15], 以上差异性反映了与农村地区相比, 城市土壤微生物的代谢能力发生了明显的改变。

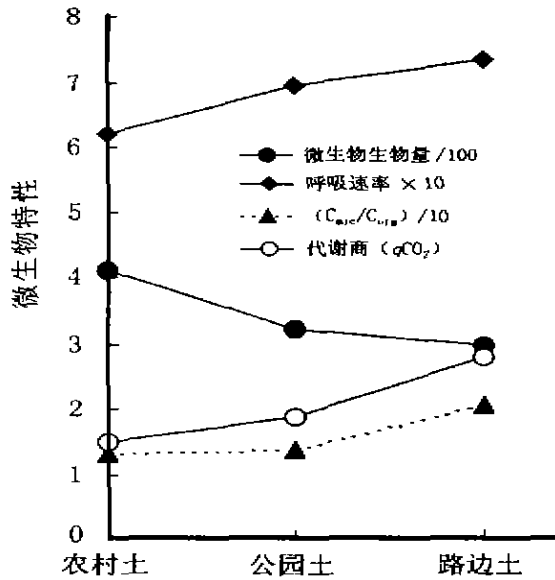


图 1 不同土类微生物特征的变化

Fig. 1. Microbial parameters of the three groups of soil

2.4 相关性分析

三类土壤基本性质的测定结果列于表 3。对三类土壤的微生物指标与土壤特性间进行了相关性分析(表 4),结果表明,土壤微生物的呼吸速率与土壤 pH 值间的相关性很弱。对于农村土而言,微生物呼吸主要与土壤含水量成极显著正相关性,其次为土壤总有机碳的含量;而公园土则主要与土壤有机碳含量成极显著相关性;路边土则与土壤特性间的相关性都很弱。这反映未受污染的正常条件下土壤微生物的呼吸速率主要与土壤有机质及水分含量有关,而有机质及水分则正是土壤微生物生存和生长的必要条件,但在城市环境下,这种关系则不复存在。

土壤微生物生物量的大小通常受土壤含水量、有机质含量及 pH 值的控制^[16],本研究同样显示了微生物生物量与土壤有机质含量的密不可分性,其次受含水量的控制,但与 pH 间关系不显著。

表 3 供试土壤基本理化性质及其重金属含量

Table 3. Basic properties of soils and their heavy metal contents

		含水量/%	烧失量/%	总有机碳/%	pH _{H₂O}	pH _{CaCl₂}	重金属含量/mg·kg ⁻¹		
							Cu	Pb	Zn
农村土	最大值	26.30	15.75	5.63	6.83	6.36			
	最小值	18.93	8.11	1.99	5.13	4.53			
	平均值	22.19	11.10	3.41	5.80	5.10	4.8	18.4	39.2
	标准偏差	2.38	2.44	1.16	0.38	0.42	2.6	5.6	4.7
公园土	最大值	28.28	13.60	4.60	6.45	5.94			
	最小值	18.85	7.21	1.56	4.54	3.69			
	平均值	23.91	9.34	2.58	5.28	4.46	27.0	94.4	58.4
	标准偏差	3.13	2.05	0.98	0.52	0.64	6.4	21.0	7.6
路边土	最大值	24.92	12.48	4.07	7.09	5.98			
	最小值	12.17	4.13	0.09	4.91	3.91			
	平均值	21.62	9.15	2.49	5.73	4.76	44.6	172.9	113.2
	标准偏差	3.03	2.07	0.98	0.70	0.71	11.0	33.3	14.6

表 4 微生物指标与土壤特性间相关性

Table 4. Correlation between microbial parameters and soil properties

		pH _{H₂O}	pH _{CaCl₂}	含水量	总有机碳
呼吸速率	公园土	-0.096	-0.092	0.310	0.711**
	农村土	-0.457	-0.333	0.691**	0.542*
	路边土	-0.338	-0.337	0.562*	0.554*
微生物生物量	公园土	-0.096	-0.109	0.435	0.523*
	农村土	-0.220	-0.101	0.629*	0.569*
	路边土	0.427	0.518*	-0.909**	-0.752**
C _{mic} /C _{org}	公园土	0.120	0.124	-0.363	-0.805**
	农村土	-0.019	-0.117	-0.155	-0.824**
	路边土	0.383	0.379	-0.448	-0.439
(qCO ₂)代谢商	公园土	-0.007	0.012	0.032	0.513
	农村土	-0.605*	-0.537*	0.478	0.210

注: * 表示达到 95% 的显著水平; ** 则表示达到 99% 的极显著水平。

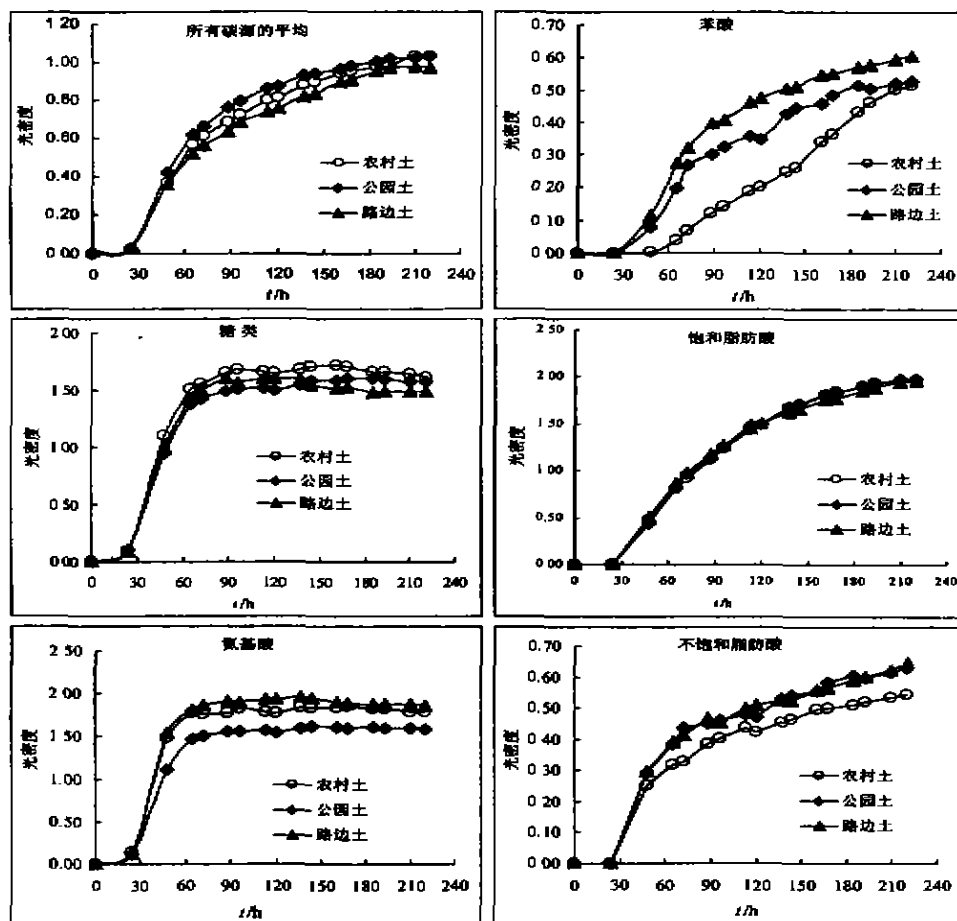


图 2 不同时间内微生物对不同碳源的消耗

Fig. 2. Microbial consumption of different kinds of carbon in different times.

C_{mic}/C_{org} 主要与土壤总有机碳含量有关(随总有机碳含量的升高而显著降低),与土壤含水量亦有一定的负相关性,特别是路边土的 C_{mic}/C_{org} 与含水量亦有极显著的负相关性;与 pH 值的相关性总体不大,但是从农村土到公园土、路边土,其相关性由弱负相关性变为弱正相关性,甚至是显著的正相关性。

qCO_2 值则表现为与土壤总有机碳及含水量没有显著的相关性;与 pH 的关系则表现为从农村土到公园土、路边土,有显著的负相关性到弱的正相关性,这与 C_{mic}/C_{org} 的变化规律基本一致。正常情况下 qCO_2 与土壤 pH 值呈负相关关系^[17],故表 4 中农村土的 qCO_2 与其 pH 值呈显著的负相关关系,但是对于城市土壤而言,人为的扰动使其 pH 值往往偏高^[1]。尽管在较高 pH 值胁迫下,其 qCO_2 和 C_{mic}/C_{org} 值却普遍高于农村地区土壤(图 1),这与 Beyer 等^[18]的结果完全一致,表明人为活动的胁迫导致土壤微生物的新陈代谢加快。

2.5 微生物对能源碳的利用(Biolog)

从图 2 可见,三类土壤微生物对能源碳的平均消耗量以农村土最低,而路边土最高。在 24~65h 内碳水化合物、氨基酸最先被消耗,利用量最多;而 65h 后微生物主要利用苯酸、饱和和不饱和长链脂肪酸。不同土类微生物对不同碳源的利用亦各不相同。碳水化合物的利用以农村土为主,氨基酸则以路边土为高。虽然三类土壤微生物对苯酸的利用均很低,但相对而言,路边土最高,农村土最低。而对饱和长链脂肪酸的利用虽都很高,但土类间差别很小,不饱和长链脂肪酸则以农村土最低。可见三类土壤微生物对能源碳的选择性利用各有区别,农村土优先利用碳水化合物,公园土则以饱和长链脂肪酸为主,而路边土则以氨基酸和苯酸为其主要能源,这反映出城市土壤中微生物群落的结构和功能多样性发生了显著改变,使其丧失了生态系统功能化所需普遍的生化特征^[19]。

3 讨论

阿伯丁市地处英国的东北部,重工业极不发达,已有研究表明,城区土壤中重金属 Cu、Pb、Zn 的含量与农村土相比已有严重积累,并与交通密度密切相关,特别是路边土、公园土中 Pb 的含量分别是农村土的 10 倍和 5 倍(表 3)^[10]。通常情况下,微生物基底呼吸强度与土壤微生物生物量呈明显的正相关性,所以农村土中两者间的相关性达到极显著水平(相关系数为 0.865),而在城市土壤中其相关性则变差(公园土为 0.724,路边土仅为 0.491),而且土壤有机碳含量从农村土到路边土逐渐降低(平均值分别为农村土 3.41%,公园土 2.58%,路边土 2.49%),反映了在重金属胁迫下微生物的呼吸量显著增加,而微生物生物量却显著减少。同样地,微生物的生态生理参数与微生物生物量间的相关性也发生了显著的变化。路边土的 C_{mic}/C_{org} 、 qCO_2 值与微生物生物量间的相关性达到显著的负相关(相关系数分别为 -0.564 和 -0.740),而对于公园土和农村土则这种相关性却不成立,特别是农村土,这种相关性虽不显著,但相关系数却为正值,这说明城市环境下重金属的胁迫导致土壤中微生物生物量的大小并不能很好地对应于微生物生理活动的强度,微生物为了维持其活性,需要消耗更多的能源碳,所以图 2 中路边土之微生物对能源碳的总平均消耗最快,特别是 48h 以后能源碳的消耗呈现显著

的差异,消耗程度达到光密度值为 0.8 时,路边土只需要 97h,而公园土、农村土则分别为 112 和 131h,在此光密度值,单位时间内单位微生物生物量对能源碳的利用量^①分别为路边土 1.12、公园土 0.86 和农村土 0.44 $mg(C) \cdot h^{-1} \cdot g^{-1}$,反映了在重金属胁迫下,路边土中微生物对能源碳的利用速度最快,消耗量最大,可见虽然农村土微生物生物量最高,但对能源碳的利用量最少,而路边土的微生物生物量最低,但其对能源碳的利用量却最多,反映了正常情况下低水平、稳态的微生物活动在重金属胁迫下产生不稳定性,导致对能源碳的消耗量更大,而利用效率却明显低下;另外重金属的污染也能导致微生物群落结构和功能多样性的改变^[20],反映在 Biolog 上,致使城市土壤微生物对能源碳优先利用的种类发生了转移,从而导致微生物对能源碳利用率的降低。

4 结论

从以上研究可以看出,城市环境中人为活动导致阿伯丁市土壤中重金属含量明显升高,并使土壤微生物的呼吸量显著增加,而微生物生物量却明显降低,微生物生理活动强度(代谢商、 C_{mic}/C_{org})有所增加,并改变了微生物利用能源碳的种类,从而导致微生物虽然消耗更多的能源碳,但对能源碳的利用效率却明显降低。反过来,微生物参数是指示城市土壤重金属污染的灵敏、有效和可靠的指标。

参 考 文 献

- [1] Bullock P and Gregory P J. Soils: a neglected resource in urban areas [A]. Bullock P, Gregory P J. *Soils in the Urban Environment* [M]. Oxford, UK: Blakwell, 1991. 1~4.
- [2] Chen T B, Wong J W C and Zhou H Y, et al. Assessment of trace metal distribution and contamination in surface soils of Hong Kong [J]. *Environment Pollution*, 1997, 96(1):61~68.
- [3] Lottermoser B G. Natural enrichment of topsoils with chromium and other heavy metals, Port Macquarie, New south wales, Australia [J]. *Australian Journal of Soil Research*, 1997, 35:1165~1176
- [4] Ratha D S and Sahu B K. Source and distribution of metals in urban soil of bombay, India using multivariate statistical techniques [J]. *Environmental Geology*, 1993, 22:276~285.
- [5] Wilcke W, Muller S and Kanchanakool N, et al. Urban soil contamination in Bangkok: heavy metal and aluminum partitioning in topsoils [J]. *Geoderma*, 1998, 86(3-4):211~228.
- [6] Charlesworth S M and Lees J A. The distribution of heavy metals in deposited urban dusts and sediments, coventry, England [J]. *Environmental Geochemistry and Health*, 1999, 21(2):97~115
- [7] Lizuka T, Yamanaka S and Nishiyama T, et al. Isolation and phlogenetic analysis of aerobic copiotrophic ultramicrobacteria from urban soil [J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 1998, 44:75~84

① 单位时间内单位微生物生物量对能源碳的利用量 = $(C_{org} \cdot C_{mic})^{-1} \cdot \frac{dOD}{dt}$, OD 为光密度值。