杰 2014年 第9卷 第3期 475-482

Asian Journal of Ecotoxicology

Vol. 9, 2014 No.3, 475-482

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20131125001

张 帆 /白 玲 郭瑞子 / 等. 洛克沙胂暴露胁迫对土壤微生物群落结构特征的影响[J]. 生态毒理学报, 2014, 9(3): 475-482

Zhang F, Bai L, Guo R Z, et al. Effects of roxarsone residue on the microbial community structure in soil [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2014, 9(3):

洛克沙胂暴露胁迫对土壤微生物群落结构特征的影响

张 帆¹, 白 5^{1} , 郭瑞子¹, 马 3^{2} , 孙永学^{1,*}

- 1. 国家兽药安全评价(环境评估)实验室 华南农业大学 广州 510642
- 2. 广东海洋大学农学院动物医学系 湛江 524088

收稿日期: 2013-11-25 录用日期: 2014-01-15

摘要:采用磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)方法,分析了洛克沙胂残留对土壤微生物群落结构的影响特征。结果表 明 在整个采样周期中,每克土壤总 PLFA 含量在洛克沙胂胁迫影响下出现明显降低,且存在一定的剂量依赖效应。经主成分 分析 第 1 周 洛克沙胂低浓度组 $(w=15 \text{ mg}^{ullet} \text{kg}^{ullet})$ 土壤微生物群落结构和对照组差异不明显 第 $2 \cdot 3 \cdot 5 \cdot 8$ 周 各组土壤微生物 群落结构多样性的类型差异显著,其中高浓度组 $(w=150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^4)$,与对照组差异最大。结果表明,洛克沙胂可致土壤微生物 群落结构多样性改变、暴露浓度越高其作用越强。同时,洛克沙胂对土壤微生物群落结构多样性的影响还表现出时间差异, 在暴露胁迫的后期(第5、8周) 洛克沙胂的影响逐步减弱,可能与洛克沙胂在土壤中发生化学结构改变和降解有关。

关键词: 洛克沙胂; 土壤微生物量碳; 群落结构; 磷脂脂肪酸

文章编号: 1673-5897(2014)3-475-08 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

Effects of Roxarsone Residue on the Microbial Community Structure in Soil

Zhang Fan¹, Bai Ling¹, Guo Ruizi¹, Ma Yi², Sun Yongxue^{1,*}

- 1. National Laboratory of Safety Evaluation (Environmental Assessment) of Veterinary Drugs, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China
- 2. Department of Veterinary Medicine of Agricultural College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China

Received 25 November 2013 accepted 15 January 2014

Abstract: By using phospholipid fatty acid (PLFA) approach, the structural characteristics of soil microbial community caused by residue of roxarsone was studied. The results showed that the total PLFA in soil in treatment was significantly decreased after 1 week exposure in a dose-dependent manner, except in the lower roxarsone treatment (i.e., w = 15 mg • kg⁻¹). The difference between control and treatments appeared to be larger with increase of the roxarsone concentration. It was concluded that the structure of soil microorganisms have been affected by the residue of roxarsone in soil and the effectiveness could be enhanced with exposure time and concentrations. It was proposed that the time dependent variation in structure of soil microorganisms could be caused by the chemical conversion and degradation of roxarsone in soil.

Keywords: roxarsone; soil microbial community; phospholipid fatty acid

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172368); 广东省自然科学基金项目(S2011010001090)

作者简介: 张 帆(1989-) ,女 .硕士研究生 .研究方向为兽医药理学与毒理学 .E-mail: 1105407779@qq.com

^{*} 通讯作者(Corresponding author) ,E-mail: sunyx@scau.edu.cn

洛克沙胂(roxarsone)是一种有机胂类化合物,作为畜禽专用抗菌、促生长的饲料添加剂已在我国得到广泛使用,研究表明,畜禽摄入有机胂添加剂后在胃肠道吸收少、体内蓄积时间很短、残留量低,80%~90%以原形通过粪便排泄到体外。一个养殖规模为2亿羽肉鸡场,每年向环境排放8t以上的砷^[1]。兽药随动物粪、尿等排泄物进入生态环境,污染环境土壤、表层水体等,并通过食物链影响植物、动物和微生物的正常生命活动,或在植物中富集,最终将影响人类的健康^[23]。洛克沙胂污染土壤后使其质量降低、农作物产量减少,最终经过土壤物质循环降解可能转化成无机砷形式而造成更严重的危害。

土壤中的磷脂大部分以活体生物的组分形式出 现 磷脂脂肪酸(PLFA) 即为甲基化土壤中提取磷脂 成分后得到的脂肪酸产物 它具有属的特异性 不同 的微生物能够通过不同生化途径形成不同的 PLFA, 根据不同微生物特定磷脂脂肪酸标记物的种类和组 成比例可了解土壤微生物群落结构多样性变化[4]。 相对于传统的微生物学分析方法,磷脂脂肪酸分析 技术是一种不需要通过分离和培养土壤微生物,并 且能更全面揭示土壤中微生物的生物量和生态结 构 是一种更为快速、简便、精确的微生物分析方 法^[5]。PLFA 技术被广泛运用于土壤微生物群落结 构的分析中,可动态检测土壤污染暴露与恢复过程 中微生物的变化,为污染土壤的修复提供理论科学 依据[6-7]。本试验通过在土壤中添加不同浓度洛克 沙胂 借助磷脂脂肪酸方法 分析土壤微生物群落结 构的变化特征 明确土壤微生物群落结构多样性类 型的差异程度,了解洛克沙胂对土壤微生物群落的 影响强度 探索洛克沙胂污染与土壤微生物细胞指 标之间的内在联系,以揭示洛克沙胂在环境中残留 对土壤微生物学性状的影响,为评估和监控洛克沙 胂对土壤环境的早期污染和生态毒理学效应提供理 论依据。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 材料

洛克沙胂原料药 ,含量 98.5% 购自广州惠华动物保健品有限公司。土壤采自华南农业大学试验田 $20\sim100~cm$ 土层的匀质土壤 ,色深 ,质细 ,基本理化性状为: 有机碳 $48.35\pm3.52~g^{\bullet}kg^{\dagger}$,总氮 $2.38\pm0.19~g^{\bullet}kg^{\dagger}$,总磷 $12.27\pm1.99~g^{\bullet}kg^{\dagger}$,总钾 $0.15\pm0.04~g^{\bullet}kg^{\dagger}$,pH 6.2 ± 0.55 。供试土壤未检测出洛克沙胂

残留。

1.2 方法

1.2.1 土壤处理

新鲜土样过 4 mm 筛后于室温下放置 3 d ,分装到 5 L 的塑料桶中 ,每桶装 3 kg 鲜土 ,按每 3 kg 鲜土加入 50 mL 不同浓度的洛克沙胂溶液混匀 ,使药物含量分别为(以 As 计): I 组 15 mg \cdot kg \cdot 、II 组 75 mg \cdot kg \cdot 、III 组 150 mg \cdot kg \cdot ,每处理设 3 次重复。将土壤含水量调至饱和持水量的 50%,并用湿布盖于土表,置于室温(20 \cdot ~25 \cdot C)下培养。培养过程中为了保持土壤湿度不变,损失的水分通过称重法补充。各组设 3 个重复。于处理后第 $1\cdot 2\cdot 3\cdot 5\cdot 8$ 周分别采取培养土壤进行分析。

1.2.2 磷脂脂肪酸法测定土壤微生物群落

1.2.2.1 磷脂脂肪酸分离和提取步骤: 取 5 g 土壤分别加入 4.0 mL 磷酸缓冲液、5.0 mL 氯仿、10 mL 甲醇 震荡 2 h 2 500 r · min · 离心 10 min · 转移上清液,再向土壤中加入相同体积的磷酸缓冲液、氯仿和甲醇溶液 震荡 1 h 离心 。合并 2 次上清液 。氮气吹干,过硅胶柱,洗脱液依次采用氯仿 5 mL,丙酮 10 mL,甲醇 5 mL。 收集甲醇相,氮气吹干。再加入 0.2 mol · L · 的氢氧化钾、甲醇各 1 mL,最后用正己烷萃取,收集正己烷相,定容至 100 μ L,用于气相色谱质谱仪的测定。

1.2.2.2 气相质谱条件设置: 2010QP ,GC-MS 联用 仪 GC 分析条件: 色谱柱为 DB5MS ,进样口温度 250 ℃ 载气为氦气 ,采用无分流形式 ,流速 0.8 mL•min⁻¹。升温程序: 100 ℃保温 1 min; 100 ℃ ~190 ℃ 1 min 升温 5 ℃; 190 ℃ 保温 1 min; 190 ℃ ~230 ℃ 1 min 升温 3 ℃; 230 ℃ 保温 1 min; 230 ℃ ~290 ℃ 1 min 升温 10 ℃; 290 ℃ 保温 2 min。

1.2.2.3 磷脂脂肪酸的鉴定: 磷脂脂肪酸(PLFA)的鉴定见有关方法^[8]。脂肪酸的命名以脂肪酸碳总数开始,常用的命名格式为 X:YωZ(c/t),其中,X 是总碳数,后面跟一个冒号,Y 表示双键数,ω表示甲基末端 Z是距离甲基端的距离 c 表示顺式空间构造,t 表示反式空间构造,前缀"i"和"a"代表支链的顺式异构和反式异构,"Me"代表甲基,"OH"代表羟基,"cy"代表环丙基。脂肪酸含量测定以正十九烷脂肪酸甲酯(19:0)为内标,色谱峰面积定量。细菌总生物量以 PLFA i15:0 a15:0 ,15:03OH ,il6:0 ,16:1ω7c ,16:1ω9c ,a17:0 ,il7:0, cyl7:0 ,18:1ω7c ,cyl9:0 之和估算; 革兰氏阴性菌生物量以 16:1ω7c ,16:1ω9c ,cyl7:0

0 ,18:1 ω 7c ω 19:0 之和估算; 革兰氏阳性菌生物量以 i15:0 ,a15:0 ,15:03 OH ,i16:0 ,a17:0 ,i17:0 之和估算; 真菌生物量根据 18:2 ω 6 ,18:1 ω 9c 的总浓度来估算; 放线菌生物量根据 18:10 Me 的总浓度来估算 $^{[9-1]}$ 。

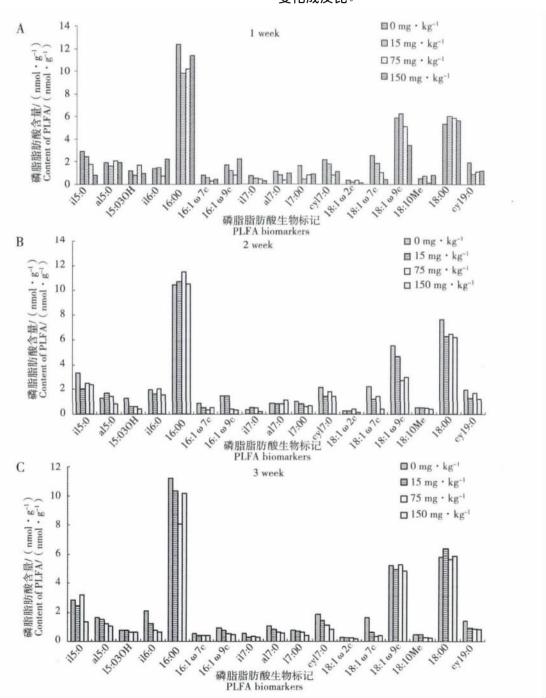
1.2.3 数据处理

采用 Microsoft Excel 2007 处理数据 ,SPSS 11.5 软件进行统计分析和主成分分析 ,采用单因素方差分析检验不同处理之间的差异(LSD $\alpha=0.05$)。所有数据均为平均值 \pm 标准误。

2 结果(Results)

2.1 磷脂脂肪酸各指标变化

第1周不同处理组土壤中各类磷脂脂肪酸的含量见表1,第1、2、3、5和8周洛克沙胂对土壤各类磷脂脂肪酸的影响见图1。由图1显示定性与定量的17种磷脂脂肪酸(PLFAs)随着洛克沙胂浓度增加各自变化的情况,与对照组相比,洛克沙胂处理的各浓度组检测出的大多数脂肪酸都出现不同程度的减少,且17种脂肪酸的含量变化大多数与药物浓度的变化成反比。



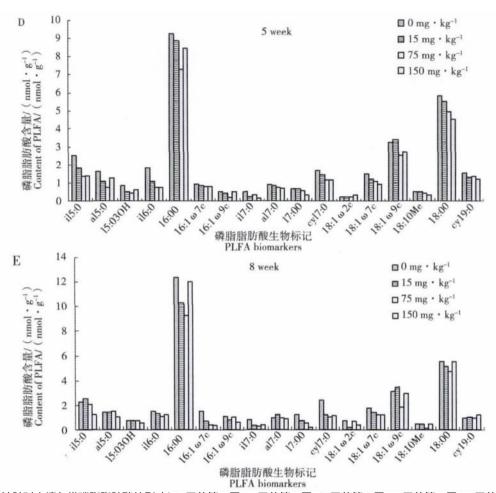


图 1 洛克沙胂对土壤各类磷脂脂肪酸的影响(A 用药第 1 周; B 用药第 2 周; C 用药第 3 周; D 用药第 5 周; E 用药第 8 周) 注: 同磷脂脂肪酸生物标记数据无相同字母者 表示差异显著(p < 0.05)。

Fig. 1 The effects of roxarsone treatments on each PLFA content (A, after treated with roxarsone 1 week; B, after treated with roxarsone 2 weeks; C, after treated with roxarsone 3 weeks; D, after treated with roxarsone 5 weeks; E, after treated with roxarsone 8 weeks)

Note: the data in same PLFA biomarker without the same letter means have significant difference (p < 0.05).

表 1 第 1 周不同处理组土壤中各类磷脂脂肪酸的含量

Table 1 The effects of roxarsone treatments on each PLFA content in the first week

磷脂脂肪酸类别	磷脂脂肪酸含量/(nmol•g ⁻¹) Content of PLFA/(nmol•g ⁻¹)						
Kinds of PLFA	0 mg•kg ⁻¹	15 mg•kg ⁻¹	75 mg•kg ⁻¹	150 mg•kg ⁻¹			
i15:0	3.36 ± 0.25	3.38 ± 0.27	3.44 ± 0.40	3.57 ± 0.51			
a15:0	2.03 ± 0.15	2.10 ± 0.24	2.07 ± 0.13	2.20 ± 0.15			
15:03OH	0.90 ± 0.07	0.97 ± 0.08	0.93 ± 0.11	0.94 ± 0.15			
il6:0	2.35 ± 0.17	1.62 ± 0.12	1.79 ± 0.18	2.47 ± 0.12			
16:00	13.34 ± 0.98	13.51 ± 1.12	13.14 ± 0.97	16.59 ± 0.62			
16:1ω9c	0.65 ± 0.06	0.61 ± 0.07	0.52 ± 0.03	0.66 ± 0.02			
16:1ω7c	1.18 ± 0.09	1.22 ± 0.18	1.11 ± 0.09	1.24 ± 0.05			
i17:0	0.53 ± 0.04	0.59 ± 0.03	0.67 ± 0.12	0.32 ± 0.01			
a17:0	1.19 ± 0.09	1.24 ± 0.08	1.26 ± 0.31	1.27 ± 0.04			
17:00	2.83 ± 0.40	0.98 ± 0.11	0.89 ± 0.07	1.17 ± 0.06			
cy17:0	2.31 ± 0.18	1.94 ± 0.14	1.95 ± 0.15	2.61 ± 0.08			
18:2ω6	0.35 ± 0.04	0.39 ± 0.05	0.34 ± 0.04	0.18 ± 0.01			
18:1ω7c	3.04 ± 0.22	1.96 ± 0.13	1.04 ± 0.10	0.56 ± 0.04			
18:1ω9c	6.16 ± 0.60	5.75 ± 0.68	5.38 ± 0.57	3.48 ± 0.59			
18:10Me	0.62 ± 0.05	0.85 ± 0.09	0.82 ± 0.06	0.96 ± 0.07			
18:00	8.93 ± 0.73	6.45 ± 0.50	6.27 ± 0.77	8.25 ± 0.50			
cy19:0	2.03 ± 0.15	1.17 ± 0.08	1.13 ± 0.08	1.42 ± 0.06			

2.2 PLFA 总量及不同土壤微生物 PLFA 表征含量的变化

洛克沙胂处理组在不同采样时间的土壤微生物 PLFA 总量变化见图 2。结果表明,在整个采样周期里,每克土壤总的 PLFA 含量在洛克沙胂的影响下明显减少,而且存在剂量依赖效应。第 1、2、3、5、8

周 添加洛克沙胂各组的 PLFA 总量均与对照组差异显著(p < 0.05); 第 1、2、3、5 周各组的 PLFA 总量随着药物作用时间的延长逐渐降低 ,第 8 周各组的 PLFA 总量开始增加。

洛克沙胂对不同土壤微生物的影响见表2 G^{\dagger} 菌的 PLFA 表征含量比 G^{\dagger} 菌的含量高。第 $1\sqrt{2}\sqrt{3}\sqrt{5}$ 、

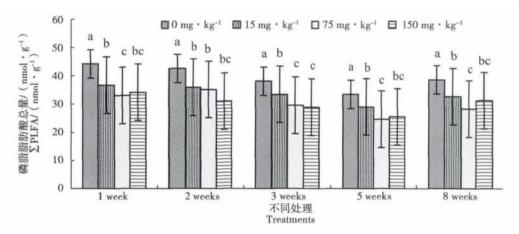


图 2 不同处理的磷脂脂肪酸总量

注: 同采样时间数据无相同字母者 表示差异显著(p<0.05)。

Fig. 2 Contents of total PLFAs contents for each treatment

Note: the data in same time without the same letter means have significant difference (p < 0.05).

表 2 第 1 周不同处理组土壤中各类磷脂脂肪酸的含量

Table 2 Content of PLFA biomarker of different soil microorganisms for each treatment

时 间/W Treatment time/W	##548	PLFA 表征含量/(nmol • g - 1) Content of PLFA biomarker/(nmol • g - 1)					
	药物含量(mg•kg ⁻¹)						
	Content of roxarsone — (mg•kg ⁻¹)	G ⁺	G -	G + /G -	真菌 Fungi	放线菌 Actinobacteria	
	0	11.00 ± 0.89a	8.99 ± 0.68a	1.22	6.50 ± 0.64a	$0.62 \pm 0.05a$	
1	15	$9.90 \pm 0.26a$	$6.23 \pm 0.32b$	1.59	$6.30 \pm 0.04a$ $6.14 \pm 0.70a$	$0.85 \pm 0.09a$	
	75	$10.15 \pm 0.78a$	$5.06 \pm 0.30b$	2.01	5.73 ± 0.61 ab	$0.82 \pm 0.06a$	
	150	$10.77 \pm 0.60a$	$5.41 \pm 0.09b$	1.99	$3.67 \pm 0.59b$	$0.96 \pm 0.07b$	
2	0	$10.77 \pm 0.00a$ $10.29 \pm 1.49a$	8.67 ± 1.18a	1.19	7.07 ± 0.390 $7.07 \pm 1.32a$	$0.62 \pm 0.06a$	
	15	$10.27 \pm 0.48a$ $10.57 \pm 0.48a$	7.98 ± 0.60 ab	1.32	5.26 ± 0.97 ab	$0.62 \pm 0.00a$ $0.61 \pm 0.05a$	
	75	$10.57 \pm 0.48a$ $10.56 \pm 0.84a$	5.98 ± 0.48 bc	1.77	3.10 ± 0.23 bc	$0.49 \pm 0.04a$	
	150	9.87 ± 1.98a	$4.68 \pm 0.44c$	2.11	$1.40 \pm 0.25c$	$0.45 \pm 0.04a$ $0.45 \pm 0.11a$	
3	0	$8.63 \pm 0.75a$	$6.75 \pm 0.53a$	1.28	$5.98 \pm 0.51a$	$0.49 \pm 0.02a$	
	15	$8.33 \pm 0.69a$	$4.29 \pm 0.38b$	1.94	4.81 ± 0.56 ab	$0.36 \pm 0.02a$	
	75	$7.56 \pm 1.14a$	3.35 ± 0.29 bc	2.26	$4.23 \pm 0.55b$	0.30 ± 0.036	
	150	$7.17 \pm 1.05a$	$2.75 \pm 0.22c$	2.61	$3.41 \pm 0.43b$	$0.23 \pm 0.01c$	
5	0	$8.28 \pm 0.94a$	$6.37 \pm 0.56a$	1.30	$4.22 \pm 0.15a$	0.23 = 0.01e $0.51 \pm 0.04a$	
	15	$7.17 \pm 0.52a$	5.47 ± 0.49 ab	1.31	3.87 ± 0.29 ab	$0.49 \pm 0.01a$	
	75	$6.07 \pm 1.50a$	$4.64 \pm 0.35b$	1.31	3.08 ± 0.36 bc	$0.44 \pm 0.06a$	
	150	$6.20 \pm 0.78a$	$4.62 \pm 0.30b$	1.34	$2.63 \pm 0.40c$	$0.31 \pm 0.02b$	
8	0	$8.02 \pm 0.51a$	$5.89 \pm 0.33a$	1.36	$4.45 \pm 0.09a$	$0.49 \pm 0.05a$	
	15	$7.57 \pm 0.67a$	$5.56 \pm 0.27a$	1.36	$3.99 \pm 0.18a$	$0.49 \pm 0.07a$	
	75	$7.30 \pm 0.58a$	$5.14 \pm 0.43a$	1.42	$2.37 \pm 0.32b$	$0.44 \pm 0.03a$	
	150	$6.66 \pm 0.77a$	4.89 ± 0.14 a	1.36	$2.55 \pm 0.25b$	$0.45 \pm 0.03a$	

注: 同采样时间数据无相同字母者 表示差异显著(p<0.05)。

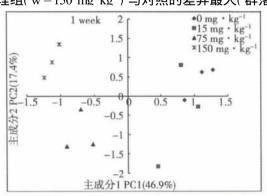
Note: the data in same time without the same letter means have significant difference (p < 0.05).

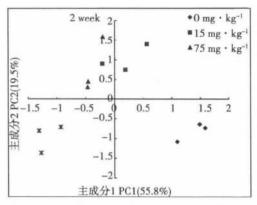
8 周 添加洛克沙胂各组的 G^{+} 菌的 PLFA 表征含量均与对照组差异不显著; 第 $1 \cdot 2 \cdot 3 \cdot 5$ 周 ,各组的 G^{-} 菌的 PLFA 表征含量均与对照组差异显著 (p < 0. 05) ,第 8 周 ,各组的 G^{-} 菌的 PLFA 表征含量与对照组差

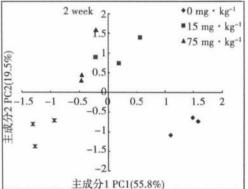
异不显著。结果表明,洛克沙胂的土壤暴露胁迫对 G¯菌的抑制作用比对 G¯菌和放线菌的抑制作用 强 不同时间各种浓度的药物处理对 G¯菌和放线菌的影响变化不明显,对 G¯菌的影响在试验后期 (第8周) 开始减弱。不同采样时间低浓度组($w=15 \text{ mg}^{\bullet}\text{kg}^{-1}$)的真菌 PLFA 表征含量均与对照组差异不显著,高浓度洛克沙胂($w=150 \text{ mg}^{\bullet}\text{kg}^{-1}$)使真菌 PLFA 显著降低,第 $1 \cdot 2 \cdot 3 \cdot 5 \cdot 8$ 周,高浓度处理组的 真菌 PLFA 含量分别是对照组 PLFA 含量的 $56.46\% \cdot 19.80\% \cdot 57.02\% \cdot 62.32\%$ 和 57.30%。

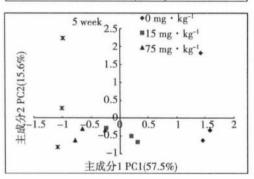
2.3 磷脂脂肪酸的主成分分析

土壤微生物种群结构是表征土壤生态系统群落结构和稳定性的重要参数,17种脂肪酸的含量变化结果形成了描述微生物群落结构特征的多元向量,不易直观比较,对17种脂肪酸进行主成分分析结果表明:土壤微生物群落的结构多样性类型差异明显。









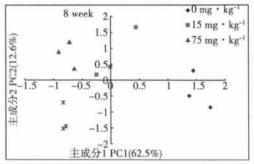


图 3 不同处理土壤微生物群落结构主成分分析 (A 用药第1周; B 用药第2周; C 用药第3周; D, 用药第5周; E 用药第8周)

Fig. 3 Principal component analysis of soil microbial community structure from different treatments

(A, after treated with roxarsone 1 week; B, after treated with roxarsone 2 weeks; C, after treated with roxarsone 3 weeks; D, after treated with roxarsone 5 weeks; E, after treated with roxarsone 8 weeks)

构相差最远)。结果表明 培养前中期各浓度处理组之间都有明显的类型差异 后期(第5.8周)差异不显著。

3 讨论(Discussion)

磷脂脂肪酸分析技术是一种不需要经过培养就 能获得土壤中微生物信息的方法,是通过提取微生 物细胞膜中的磷脂成分 定量后得到总磷脂含量(单 位: nmol • g 1) 是新兴起来的一种表征微生物生物量 的方法。磷脂脂肪酸是除古细菌外,几乎所有微生 物细胞膜磷脂的组成成分 具有属的特异性 不同属 的微生物通过不同生化途径而形成不同的 PL-FAs^[12-13] 因此土壤中 PLFAs 组成和含量的变化在一 定程度上可反映土壤中微生物量和群落的动态变 化。对其进行提取,并依据其中的特征脂肪酸指示 的微生物种类,如细菌、真菌、放线菌及革兰氏阳 (阴)细菌等,可对土壤中微生物群落结构及其数量 进行表征,可鉴别土壤微生物群落结构多样性变化。 PLFA 法分析得到的信息不仅可以表征微生物在量 上的变化 还可以依据其中特征脂肪酸所指示的特 定微生物类型的变化 揭示微生物群落结构伴随外 界环境变化的响应动态[14-15] 如: 农田耕作措施或施 肥作用影响下微生物群落结构变化[16] ,重金属污染 对于微生物群落结构变化的影响和不同植被影响下 微生物群落结构的改变等[17],可应用于动态检测土 壤污染与恢复过程中微生物的变化,为污染土壤的 修复提供理论科学依据[18-19]。

关于土壤重金属污染对微生物生态影响的研究 较多,Frostegård等[14]研究表明重金属污染导致了土 壤中 il5:0 ,il7:0 ,16:lω5 ,16:lω7 等磷脂脂肪酸的减 少 ,而 i16:0 ,brl7:0 ,brl8:0 和 cyl7:0 等磷脂脂肪酸有 所增加; 阎姝等[20]研究显示重金属污染下土壤微生 物群落结构发生了明显的变化,细菌和真菌 PLFA 的变化幅度达到 30% 以上 革兰氏阳性菌与革兰氏 阴性菌的脂肪酸比值升高。本实验结果与以上所显 示的金属污染土壤的 PLFA 结果存在异同。洛克沙 胂的土壤暴露胁迫对 G 菌的抑制作用比对 G i 菌和 放线菌的抑制作用强 不同时间各种浓度的药物处 理对 G * 菌和放线菌的影响变化不明显; 不同采样 时间低浓度($w=15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 处理组的真菌 PLFA 表 征含量均与对照组差异不显著 高浓度洛克沙胂(w =150 mg•kg⁻¹) 使真菌 PLFA 显著降低。洛克沙胂 本身具有杀菌和球虫的作用 进入生态环境后最终 会降解成可溶于水的无机砷类物质,无机砷是毒性 较大的类金属。重金属作为一种重要的常见污染 物、对微生物的毒害作用主要表现在两个方面,一是它们极易同一些生物大分子如酶的活性中心,以及极性电子基团如蛋白质上的巯基、核苷酸上的碱基、磷酸基等结合,导致这些生物大分子失活;其次,金属大都不能被生物分解,进入生物体内后与金属硫蛋白 类金属硫蛋白和小分子量的配体如甘氨酸 件磺酸等结合 极易在生物体内蓄积 最终引起微生物死亡。土壤微生物数量减少,PLFA量即降低。

洛克沙胂 PLFA 主成分分析 ,明显区分了不同浓度洛克沙胂影响下的群落结构类型分异程度 ,具体表现在随着污染程度的增加 ,其在主成分分布图上向 X 轴的负方向延伸 ,洛克沙胂浓度越高则与对照组相距越远; 第 1 周时低浓度组与对照组差异不显著 ,自第 2 周以后低浓度组与对照组可以明显分开 ,说明随着培养时间的延长洛克沙胂的毒性增强;在不同采样时间 ,中、高浓度组与对照组各自明显分开 ,差异显著说明中高浓度洛克沙胂改变了土壤微生物结构; 第 5、8 周时 ,不同浓度洛克沙胂组相互间的结构差异程度减轻。

实验结果表明,洛克沙胂显著降低了土壤微生 物各类磷脂脂肪酸和 PLFA 总量 ,导致土壤微生物 群落结构分异明显,且存在一定的剂量依赖效应,洛 克沙胂浓度越高 Σ PLFA 越低 其中 150 mg \cdot kg $^{-}$ 的 洛克沙胂处理影响最大。由此可见,洛克沙胂可致 土壤微生物群落结构多样性改变 ,暴露浓度越高其 作用越强。原因是洛克沙胂杀菌而导致土壤微生物 量降低 浓度越大杀菌能力越强。同时 洛克沙胂对 土壤微生物群落结构多样性的影响还表现出时间差 异 在暴露胁迫的早、中期(第1、2、3周),对照组和 各药物处理组之间存在明显的差异变化 在暴露胁 迫的后期(第5、8周),各药物处理组间的土壤微生 物群落结构的分异逐渐缩小,这可能是随着时间延 长 土壤中洛克沙胂逐渐降解或化学结构改变 浓度 降低 影响减弱 从而逐渐恢复土壤微生物生态平 衡 ,也可能是土壤中一些对洛克沙胂有一定耐受性 的细菌增殖 使微生物总量增加。

通讯作者简介: 孙永学(1969—), 男, 博士, 教授, 研究方向: 兽药安全性评价、生态毒理学。

参老文献:

[1] Chen T, Liu X, Zhu M Z, et al. Identification of trace element source and associated risk assessment in vegetable soils of the urban-rural transitional area of Hangzhou [J].

- China. Environmental Pollution, 2008, (151): 67 68
- [2] 马驿, 陈杖榴. 恩诺沙星对土壤微生物群落代谢功能 多样性的影响[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(3): 446 – 452 Ma Y, Chen Z L. Effects of enrofloxacin on the functional diversity of soil microbial communities [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2010, 5(3): 446 – 452 (in Chinese)
- [3] 王连生. 环境有机化学[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004
- [4] Panl Ea C F. Soil Microbiology and Biochemistry [M]. London: Aeademie Press, 1996, 35 – 70
- [5] Peterson S O, Klug M J. Effect of sieving storage and incubation temperature on the phospholipid fatty acid profile of a soil microbial community [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60(6): 2421 2430
- [6] 夏志超, 孔垂华, 王朋, 等. 杉木人工林土壤微生物群落结构特征[J]. 应用生态学报, 2012, 23(8): 2135 2140 Xia Z C, Kong C H, Wang P, et al. Characteristics of soil microbial community structure in Cunninghamia lanceolata plantation [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(8): 2135 2140
- [7] Laura V, Javier del C, Ricardo G, et al. Intact phospholipid and quinone biomarkers to assess microbial diversity and redox state in microbial mats [J]. Microbial Ecology, 2010, 60(1): 226 – 238 show all 4 hide
- [8] Frostagård Å, Tunlid A, Bååth E. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and activity of microbial communi– ties from two soil types experimentally to different metals exposed heavy [J]. Applied and Environmental Microbiolo– gy, 1993, 59(10): 3605 – 3617
- [9] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: A review [J]. Biology and Fertility of Soils, 1999, 29(2): 111 129
- [10] Findlay R H ,Dobbs F C. Quantitative description of microbial communities using lipid analysis. Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology [M]. Boca Raton: Lewis Publishers, 1993: 271 284
- [11] 郑佳, 张良, 沈才洪, 等. 浓香型白酒窖池微生物群落 结构特征[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1020 - 1026 Zheng J, Zhang L, Shen C H, et al. Characteristics of microbial community structure in Luzhou-flavor fermentation pits

- [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(4): 1020- 1026 (in Chinese)
- [12] 张秋芳, 刘波, 林营志, 等. 土壤微生物群落磷脂脂肪酸 PLFA 生物标记多样性[J]. 2009, 29(8): 4127 4137 Zhang Q F, Liu B, Lin Y Z, et al. The diversity of phospholipid fatty acid (PLFA) biomarker for the microbial community in soil [J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(8): 4127 4137 (in Chinese)
- [13] Fernandes M F, Saxena J, Dick R P. Comparison of whole-cell fatty acid (MIDI) or phospholipid fatty acid (PLFA) extractants as biomarkers to profile soil microbial communities [J]. Microbial Ecology, 2013, 66(1): 145 157
- [14] Frostegård A, Bååth E. The use of phospholipids fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil [J]. Biology and Fertility of Soils, 1996: 22(1-2), 59 65
- [15] 白震,何红波,张威,等.磷脂脂肪酸技术及其在土壤 微生物研究中的应用[J]. 生态学报,2006,26(7):2387-2394
 - Bai Z, He H B, Zhang W, et al. PLFAs technique and its application in the study of soil microbiology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(7): 2387 2394
- [16] 刘波, 胡桂萍, 郑雪芳, 等. 利用磷脂脂肪酸(PLFAs) 生物标记法分析水稻根际土壤微生物多样[J]. 中国水稻科学, 2010: 24(3), 278 288

 Liu B, Hu G P, Zheng X F, et al. Analysis on microbial diversity in the rhizosphere of rice by phospholipid fatty

acids biomarkers [J]. China Journal of rice science, 2010:

[17] 蒋艳梅. 重金属 Cu Zn Cd Pb 复合污染对稻田土壤微生物群落结构与功能的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2007

24(3), 278 - 288

- [18] Bossio D A, Scow K M, Gunapala N, et al. Determinants of soil microbial communities: Effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles [J]. Microbial Ecology, 1998, 36(1): 1 12
- [19] McKinley V L, Peacock A D, White D C. Microbial community PLFA and PHB responses to ecosystem restoration in tallgrass prairie soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(10): 1946 1958
- [20] 阎姝, 潘根兴. 重金属污染降低水稻土微生物商并改变 PLFA 群落结构[J].生态环境, 2008: 17, 1828 1832

♦