

镉、铬、汞对土壤真菌的影响*

钟雪美 汤代良

(西北农学院土壤农化系)

镉、铬、汞是环境中主要的重金属污染物。它们进入土壤后,通常难以随水淋滤,也不易被微生物所降解,而往往残留于土壤耕作层被生长的植物吸收,影响人体健康。因此重金属污染物对植物的残留积累已引起世界各国的关注,研究报道也较多。污染物进入土壤后,它们常常改变土壤中的一些化学过程和物理状况,对微生物发生影响,从而影响土壤肥力和土壤营养元素的转化。真菌是土壤微生物主要类群之一,它的变化情况,无疑是衡量土壤污染程度的标志之一,可是这方面报道甚少。本研究以土壤作为营养基质,人工模拟加入不同浓度的镉、铬、汞,观察其对真菌生长的影响,并对西安市郊区污水灌溉土壤进行了真菌数测定。以探讨在模拟试验中土壤真菌的变化规律,解释污染土壤真菌的变化,为有关方面制定农用污灌的标准,提供一些生物学方面的参考。

材 料 与 方 法

(一) 模拟试验

1. 供试土样

土样于1983年6月采自西安市郊区水流公社班家三队未经污水灌溉过的垆土(0—15厘米表土)。土壤pH值8.30,有机质含量1.31%。采回土样风干,并用2毫米孔径过筛,然后混合均匀,在冰箱内保存备用。

2. 培养基: 用酸性察氏(Zapek)培养基。

3 供试重金属: 用化学纯的硫酸镉($3\text{CdSO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$)、重铬酸钾($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)和氯化汞(HgCl_2)进行试验。

4. 试验方法

将风干土样装入直径9厘米的无菌皿内,每皿装52克,相当于干土约50克。采用人工施加单项污染物的方式,分别配制成含镉、铬、汞量为0、20、50、100、200、500、1000ppm的处理土样,每处理重复三次,使土壤含水量保持在20%左右。然后将各处理的土壤样品置于28℃下恒温培养,培养期间定量补水。按10天、20天、30天不同时间测定真菌数。测数方法采用稀释平板涂抹法。稀释度用 10^{-1} 。

* 本文经薛澄泽、肖俊璋副教授审阅并提出修改意见,特此致谢。

(二) 西安市污灌区土壤真菌数的调查

1982年,我们在西安市郊区谭家公社、红旗公社、未央公社及潘家公社采集非污灌和污灌田块土样22个。测定了有机质含量和pH值(重金属含量数据参照西安市农业环境保护监测站资料)。分析了真菌数量及其主要类群组成。

结果与分析

(一) 镉、铬、汞对土壤真菌的影响

为了分析镉、铬、汞三种重金属对真菌毒性的强弱、抑菌浓度的范围以及其毒性在土壤中的持续时间,我们将试验结果进行了方差分析和回归分析。微生物真菌的平板计数可用波松(Poisson)分布型^[1]进行统计处理,所以在方差分析前对试验数据进行了平方根变换。经F检验,重金属(A)间的F值:培养10天的为17.966**,20天的为13.330**,30天的为2.690;浓度(B)间的F值:培养10天的为7.329**,20天的为6.169**,30天的为1.769;A×B的F值:培养10天的为4.381**,20天的为3.140**,30天的为0.73。由于培养10天及20天的“A×B”F值达极显著水平,故用新复极差法检验进行了多重比较,结果见表1。回归分析见表2。

从表1、表2可以看出:

(1)用镉(CdSO_4)处理的土壤,其含镉量在0—1000ppm浓度范围内,真菌数量变化不明显。这说明土壤污染镉对真菌毒性不大。可是将真菌接种于含镉(CdSO_4)的平板培养基上,镉对真菌的毒性是明显的。我们曾用西安地区分离获得的44株真菌菌株作试验,在琼脂培养基中添加 Cd^{++} ,其浓度在20ppm时,44株真菌中有2.3%菌株受抑制;添加 Cd^{++} 的浓度在50ppm时,就有47.8%的菌株不生长,这说明镉对真菌是具有抑制作用的。镉在琼脂培养基上和在地表中所表现对真菌毒性的差异性,是因为镉进入土壤后,易被土壤胶体吸附、沉淀或络合固定^[2],而使镉的毒性降低所致。

铬和汞进入土壤后10天,在0—200ppm浓度范围内对真菌影响不明显,而在500—1000ppm浓度下具有抑菌作用,但汞的抑菌作用比铬的抑菌作用要强。这与纯培养条件下的结果是一致的。我们通过44株真菌菌株试验,在琼脂培养基中添加2ppm Cr^{6+} 对试验菌株无影响,添加5ppm时有2.3%真菌菌株受抑制,添加20ppm时有41%真菌菌株不生长;若添加 Hg^{2+} (HgCl_2)2ppm就有9.9%真菌菌株受抑制,添加20ppm时有61%菌株不生长,从而可以看出这三种重金属对真菌的毒性是汞>铬>镉。

(2)铬和汞对真菌的毒性随着时间的推移而降低。铬处理土壤培养10天后,铬的浓度每增加1ppm,其真菌数量减少8个;培养20天后铬的浓度每增加1ppm,其真菌数减少7.3个;培养30天,铬浓度的增加与真菌数量的减少不明显。汞处理土壤10天后,汞的浓度每增加1ppm,真菌数量要减少11.2个;培养20天后汞的浓度每增加1ppm,真菌数减少11个;至30天后无差异。方差分析结果亦是在培养30天后,无论是重金属(A)间,或是浓度(B)间,以及A×B的互作对真菌数量均无显著差异。分析真菌数量无显著差异

* 表示0.05水平显著; ** 表示0.01水平显著。(下同)

表 1 处理组合间的多重比较 (新复极差测验)

10 天											
处 理 组 合	真 菌 数 (10 ³ 个 克干土)		处 理 组 合	真 菌 数 (10 ³ 个 克干土)		处 理 组 合	真 菌 数 (10 ³ 个 克干土)				
A ₁ B ₇	4.551	a	A	A ₂ B ₁	4.010	ab	AB	A ₃ B ₃	3.661	bc	ABC
A ₁ B ₂	4.220	ab	A	A ₃ B ₁	4.010	ab	AB	A ₃ B ₄	3.609	bc	ABC
A ₁ B ₆	4.110	ab	AB	A ₁ B ₄	3.990	ab	AB	A ₂ B ₃	3.575	bc	ABC
A ₁ B ₅	4.084	ab	AB	A ₂ B ₄	3.877	abc	AB	A ₂ B ₆	3.182	cd	BC
A ₂ B ₂	4.014	ab	AB	A ₃ B ₂	3.874	abc	AB	A ₂ B ₇	2.820	d	CD
A ₃ B ₅	4.013	ab	AB	A ₂ B ₅	3.859	abc	AB	A ₃ B ₆	2.753	d	CD
A ₁ B ₁	4.010	ab	AB	A ₁ B ₃	3.846	abc	AB	A ₃ B ₇	2.130	e	D
20 天											
A ₁ B ₃	4.802	a	A	A ₃ B ₁	4.471	abc	AB	A ₂ B ₆	4.093	bc de	ABC
A ₁ B ₇	4.741	ab	A	A ₃ B ₂	4.417	abc	ABC	A ₃ B ₄	4.069	cde	ABC
A ₁ B ₄	4.569	abc	AB	A ₁ B ₆	4.364	ab cd	ABC	A ₃ B ₅	3.979	cde	ABC
A ₂ B ₂	4.533	abc	AB	A ₁ B ₂	4.299	ab cd	ABC	A ₂ B ₆	3.932	cde	ABC
A ₂ B ₄	4.530	abc	AB	A ₁ B ₅	4.296	ab cd	ABC	A ₃ B ₆	3.724	de	BC
A ₁ B ₁	4.471	abc	AB	A ₃ B ₃	4.266	ab cd	ABC	A ₂ B ₇	3.594	e	C
A ₂ B ₁	4.471	abc	AB	A ₂ B ₃	4.233	abc de	ABC	A ₃ B ₇	2.853	f	D

注: A表示重金属: A₁—镉, A₂—铬, A₃—汞。
B表示重金属浓度(PPM): B₁—0, B₂—20, B₃—50, B₄—100, B₅—200, B₆—500, B₇—1000。
小写字母表示0.05水平显著, 大写字母表示0.01水平显著, 相同字母表示无显著差异。

表 2 真菌数与重金属浓度之间关系

重 金 属	培 养 时 间	相 关 系 数 (r)	回 归 方 程
镉	10天	0.829*	$\hat{y} = 15.923 + 0.0043x$
	20天	0.305	
	30天	0.52	
铬	10天	-0.917**	$\hat{y} = 15.594 - 0.008x$
	20天	-0.918**	$\hat{y} = 19.763 - 0.0073x$
	30天	-0.626	
汞	10天	-0.923**	$\hat{y} = 15.262 - 0.0112x$
	20天	-0.985**	$\hat{y} = 19.122 - 0.011x$
	30天	0.165	

注: y—真菌数 (10^3 个/克干土)

x—重金属浓度 (ppm)

的原因是: 一方面是重金属镉、铬、汞进入土壤后, 易被土壤吸附、固定, 或者是形态发生了变化。如毒性大的六价铬被还原为毒性小的三价铬和氯化汞变为其它形态汞和元素汞等[3,4,5]; 另一方面是真菌本身产生了抗性, 所以单纯从真菌总数量比较并无显著差异。据观察在未加入重金属的对照皿中, 菌落类型比较多, 平均在10种以上, 而经高浓度重金属处理过的土壤, 菌落类型明显减少, 一般为3—4种真菌, 甚至在含重金属的浓度500ppm和1000ppm的土样里只见到青霉和曲霉的菌落, 这说明高浓度的镉、铬、汞污染土壤, 会使土壤中真菌组成上遭到破坏。

(二) 三类主要真菌耐毒性比较

不同种类的真菌因其生理特性不同, 对几种重金属的耐毒性各有差异。为了查明土壤中青霉菌 (Penicillium)、曲霉菌 (Aspergillus) 和镰刀菌 (Fusarium) 对镉、铬、汞等重金属的耐毒能力, 我们以不加重金属 (对照) 的真菌数作为100, 分别统计在浓度500ppm和1000ppm的含重金属土壤中, 三类真菌的数量与对照相比作为相对存活率, 其存活率的大小作为耐毒性指标, 其结果见表3。

从表3可以看出, 青霉、曲霉和镰刀菌等三类土壤真菌耐镉能力都较强。特别是青霉菌, 有些青霉菌株能在含镉 ($CdSO_4$) 150ppm的琼脂平板上生长正常。

青霉对铬和汞比较敏感, 而这种敏感性只在处理10天的土壤中表现出来。随着处理时间的延长而逐渐产生抗性, 大量繁殖, 至处理土壤30天与对照相比无显著差异。

表3 重金属对三类真菌的毒性比较

重金属元素		存活百分率(%)								
浓度 (ppm)	名称	Penicillium			Aspergillus			Fusarium		
		10天	20天	30天	10天	20天	30天	10天	20天	30天
0	对照	100	100	100	100	100	100	100	100	100
300	Cd	91.7	105.1	96.5	97.1	92.4	101.3	118.4	73.6	67.6
	Cr	67.4	99.3	111.0	78.7	78.7	119.4	47.6	52.2	53.4
	Hg	66.4	79.7	109.3	37.9	76.7	58.2	8.5	44.1	24.8
1000	Cd	135.6	118.1	109.1	109.7	79.9	117.6	138.2	69.8	66.9
	Cr	48.3	71.4	98.2	83.1	80.0	104.3	25.1	17.3	9.1
	Hg	44.5	62.0	94.1	25.2	45.1	49.6	5.7	17.2	0

曲霉对汞敏感,用汞处理土壤10天,其存活率只有对照的37.9%和25.2%,至30天也只有对照的一半左右。但曲霉比较耐铬,有些曲霉能在含 Cr^{6+} 100ppm的琼脂培养基上生长。

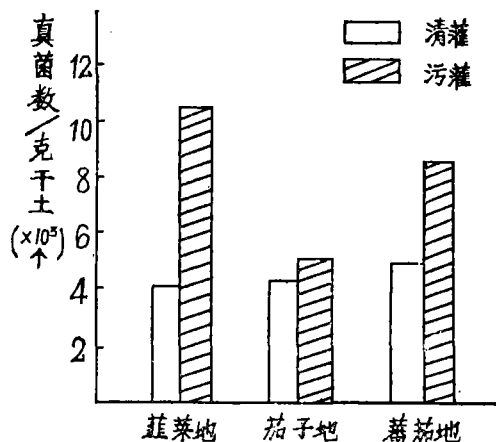
镰刀菌对铬和汞的耐毒能力比青霉和曲霉要弱,在含 Cr^{6+} 和 Hg^{2+} 500ppm和1000ppm的高浓度土壤中,其存活率只有对照的5.7—25.1%,甚至不生长。因此这三类真菌之间相比,青霉和曲霉对镉、铬、汞的耐毒能力较强。

(三)西安市污水灌溉对真菌的影响

为了合理利用污水的水肥资源,保护农业环境,我们对西安市郊区的四个公社非污灌和污灌22块地土样进行分析测定,其结果如下:

1. 蔬菜地污灌对真菌的影响

于1982年7月23日从谭家公社红色19队(污灌15年)和白花村(清水灌)等6块菜地采得的土样,其每克干土中的真菌数(见上图);于1982年8月12日从红旗公社王家斜(污灌)和神鹿坊试验站(清灌)等6块菜地采得的土样,其每克干土的总真菌数和三类主要真菌数见表4。



六块菜地土壤含真菌数

表 4 菜地不同灌溉方式对真菌影响 单位:10³个/克干土

作物 名称	灌溉 方式	真菌 总数	其 中 主 要 真 菌			有机质 含量 %	土壤 pH值
			Penicillium	Aspergillus	Fusarium		
韭 菜	清灌	8.46	1.53	0.93	4.23	1.86	8.29
	污灌	8.93	2.00	1.29	2.64	2.49	8.28
茄 子	清灌	6.39	2.73	1.47	1.32	1.21	8.30
	污灌	14.88	1.93	2.08	9.57	2.43	8.19
蕃 茄	清灌	27.49	0.89	0.90	—	1.17	8.20
	污灌	37.62	0.94	0.94	—	2.36	8.06

注:污灌——是红旗机械厂排出污水。
清灌——是清水灌溉。

从上图和表 4 可以看出:①凡污水灌溉的菜地,其真菌总数均比清水灌溉的菜地为多,这与污灌地有机质及养分含量高,有利于真菌滋生繁殖有关。②在同是污灌或清灌的不同蔬菜地,其真菌数量有明显的差异,这可能由于各种蔬菜的吸肥能力和土壤中有有机质含量以及根际微生物不同所致。③根据有关资料报道^[6],这两个公社所采集的菜地土样,镉属未污染区或轻度污染区,含量在 0.85ppm 左右;铬属未污染区,其含量在 41—55ppm;汞的含量均为未检出,也就是说这三种重金属含量均在模拟试验浓度以下,未达到抑制真菌生长的水平。因此污灌菜地的真菌数量与重金属之间无明显关系。

2. 不同污灌年限的粮作地对真菌的影响

于 1982 年 10 月 11 日从未央公社和汉城公社不同污灌年限的玉米地中采得的土样,进行了真菌数的测定。测得污灌 10 年、20 年、25 年和 30 年的真菌数分别是每克干土含 4500 个、5100 个、4600 个和 4400 个。虽然污灌 30 年的真菌数有下降,但与镉、铬、汞含量无关系。因为该土样的三种重金属的含量均在模拟试验抑菌浓度以下。

结 论 与 讨 论

1. 土壤污染镉、铬、汞三种重金属后对真菌的毒性不同,其中镉在 1000ppm 浓度范围内对真菌毒性不明显。铬和汞对真菌的毒性随浓度的提高而毒性增强,随时间的推移而毒性减弱,这与它们进入土壤后形态发生变化,由毒性大的六价铬转变为三价铬、二价汞变为其它形态汞或元素汞等有关。

2. 土壤中的青霉 (Penicillium)、曲霉 (Aspergillus) 和镰刀菌 (Fusarium) 对重金属有不同的耐毒性:对镉的耐毒性都较强;对铬的耐毒性曲霉>青霉>镰刀菌;对汞的耐毒性,青霉>曲霉>镰刀菌。

3. 西安市郊区的污灌土壤, 由于镉、铬、汞的含量尚未达到抑制真菌生长的浓度, 污灌后土壤有机质及养分含量又普遍提高, 既增强土壤对重金属的吸附能力, 又促使真菌生长繁殖, 故真菌数量明显提高。

4. 根据西安市农业环境保护监测站提出的西安市粮菜土壤重金属污染暂定标准, 西安市污灌区虽有少数土样含重金属的量超过暂定标准, 但均在抑制真菌生长的浓度范围以下, 因此应用丝状真菌作为污染物的指示菌有无实用价值, 以及用何种微生物作为重金属污染物的指示菌有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] [日]微生物研究法讨论会编:《微生物学实验法》, 科学出版社, 1981年, 158页。
- [2] 熊毅:《土壤农化参考资料》, 1975年, 第二期, 8—19页。
- [3] 穆从如等:《中国环境科学》, 1982年, 第一期, 19—23页。
- [4] Spangler, W. J. et al. Science, 1973年。
- [5] Wood, J. M. Science, 1974年。
- [6] 易静秀整编:《西安市污灌区农业环境质量初步评价》(内部资料), 1982年。

Effects Of Cd/Cr/Hg On Soil Funguses

Zhong Xue-mei Tang Dai-liang

(the Northwestern College of Agriculture)

Abstract

Cd/Cr/Hg are the major pollutants of heavy metals in the environment. When funguses were cultured on Zapek medium, the bacteriostasis percentage of Cd/Cr/Hg with concentration of 20PPm was 2.3%/41%/61% respectively. Since the soil colloids have different absorbed ability of heavy metals as well as heavy metals may have different toxicity to funguses in the soils, Cd in the range of 0-1000PPm has no apparent bacteriostasis upon funguses; Cr and Hg in the range of 0-200ppm have no effects upon the numbers of funguses, but in the range of 500-1000ppm, they have bacteriostasis upon funguses with Hg bacteriostasis being stronger than that of Cr.

As the time goes on, the existence of Cr and Hg in the soils will reduce their toxicity to funguses, but after 30 days, both of Cr and Hg will have no apparent bacteriostasis upon funguses. There are three types of funguses in the soils: Penicillium, Aspergillus and Fusarium. Their toxicity resistance to Cd is much stronger and their toxicity tolerance to Cr is Aspergillus>Penicillium>Fusarium; to Hg Penicillium>Aspergillus>Fusarium.