

# 水稻土微生物生物量的测定方法

顾希贤

(中国科学院南京土壤研究所)

土壤微生物生物量常被作为植物所需营养元素的转化因子和资源库而日益受到人们的重视<sup>[1]</sup>。而测定土壤微生物生物量的方法当首推氯仿熏蒸—培养法<sup>[2]</sup>。该法是根据被杀死的微生物细胞因矿化作用而释放的CO<sub>2</sub>量的激增来估计微生物生物量的。但熏蒸杀菌作用受多种因素,尤其是土壤水分的影响。所以,Ross指出,用此法所测得的土壤微生物生物量之所以随季节而异,实际上是由于在不同季节里土壤含水量不同所致,即土壤微生物生物量与土壤含水量呈负相关。这是因为潮湿土壤中微生物不容易被熏蒸剂所杀死,即使已被杀死的,其矿化作用也因土壤含水量过大而受阻碍,测得的微生物生物量将必然偏低<sup>[3]</sup>。

本文研究了适用于测定水稻土微生物生物量的方法,并分析了不同类型水稻土微生物生物量在肥力上的意义。

## 一、材料和方法

**(一)供试土壤** 供试土壤为水稻土。分别采自上海宝山;江苏南京、溧阳、武进、常熟、吴县、吴江;云南昆明;广西南宁及河南封丘等地(均在麦收后至种稻前这段时间采集)。样品经挑去粗的植物残体并过孔径为2毫米的筛后,除立即用以测定微生物生物量外,再称出两份土样,一份加水至最大持水量的55%(作为旱地);另一份加水至达1厘米厚的水层(作为渍水土壤),在室温下培育8周后,作杀菌试验和测定生物量。

**(二)杀菌剂** (1)环氧丙烷(化学纯);(2)氯仿(分析纯,已去除乙醇)。

### **(三)杀菌方法**

1. 熏蒸法:称取250克土于400毫升烧杯中,置于已放有50毫升氯仿的真空干燥器内,加盖后在真空泵下抽气至氯仿剧烈沸腾为止,于28℃下放置24小时后,打开干燥器盖,取出盛氯仿的容器,重新盖上盖子,于水泵下抽气,如此反复进行3次后,移至真空泵下抽空,亦反复进行3次,以充分驱除土壤中氯仿。

2. 直接加入法:称取250克土于400毫升广口瓶中,直接加氯仿或环氧丙烷,充分混匀后塞上塞子,置28℃下培养24小时后,去塞,并按上述方法驱除杀菌剂。

### **(四)测定方法**

1. 微生物生物量碳的测定:称取已驱除杀菌剂的土壤和未经杀菌剂处理的同一土壤各50克于带侧管的容量为500毫升的三角瓶中,侧管内加1mol/L NaOH溶液10毫升,立即塞上橡皮塞,在28℃下培养10天后,吸出侧管内NaOH溶液于150毫升三角瓶中,以蒸馏水洗侧管3次,洗液一并加入三角瓶中,总体积控制在约30毫升内,以1mol/L HCl滴定至酚酞褪色后,加入甲基橙指示剂1滴,再用0.1mol/L HCl标准溶液滴定至浅红色。按下式计算每克

土壤的微生物生物量碳( $\mu\text{g}$ ):  $B = \frac{F}{Kc}$  式中: B - 生物量中碳的 $\mu\text{g}$ ;

F = 分解的激发量,即用氯仿处理后的土壤释放出的 $\text{CO}_2\text{-C}$ 的量,与未经氯仿处理的土壤,在同样时间释放的 $\text{CO}_2\text{-C}$ 量之差; Kc = 微生物生物量碳矿化为 $\text{CO}_2\text{-C}$ 系数,通常采用0.41。

2. 微生物数量:按平板法计数<sup>[4]</sup>。

## 二、结果和讨论

### (一) 杀菌方式对测定不同含水量土壤中微生物生物量的影响

试验表明,氯仿熏蒸法测得的渍水土壤的微生物生物量远比旱地低(表1),这似与平板

表1 土壤水分状况对熏蒸法测定微生物生物量\*的影响

土 壤	旱 地	渍 水
黄 泥 土	603	197
竖头乌栅土	719	294
青 紫 泥	1164	304
马 肝 土	457	82.7

\* 单位为微克/克土。

表2 土壤水分状况对微生物数量的影响( $10^4$ 个/克土)

土 壤	细 菌		真 菌	
	旱地	渍水	旱地	渍水
黄 泥 土	760	300	2.27	0.43
竖头乌栅土	8243	2650	5.93	1.83
青 紫 泥	2080	198	12.8	0.59
马 肝 土	1509	699	10.8	3.92

法测得的微生物数量趋势相一致(表2)。但据Kanazawa报道,用ATP法测得的渍水期水稻土的微生物生物量的增大,是与水稻土中嫌气微生物数量的增多相一致的<sup>[5]</sup>,而嫌气微生物数量的增加可能与氯仿熏蒸时杀菌不完全有关。为此,我们用平板法测定了经氯仿熏蒸后的渍水土和旱地中微生物的数量,并与未熏蒸土作比较,计算杀菌率。结果表明,经氯仿熏蒸

表3 土壤水分对氯仿熏蒸杀菌效果的影响(杀菌%)

土 壤	黄泥土	竖头乌栅土	青紫泥	马肝土	细 菌		真 菌	
					旱地	渍水	旱地	渍水
黄泥土	89.0	83.0	97.8	89.0	8.0	34.3	20.0	25.0
竖头乌栅土	100	99.0	94.5	99.0	99.0	78.1	99.2	99.7

后,渍水土壤中细菌残留65—92%,真菌残留0.3—22%;而旱地土壤中细菌仅残留2.2—17%,真菌残留更少,只有0—5.5%(表3)。显然,氯仿熏蒸法对渍水土壤中细菌的杀伤效果很差。但据估计,细菌一般应占土壤微生物生物量的1/4—1/10<sup>[6]</sup>,从这个估计来看,氯仿熏蒸法测得的微生物生物量似乎是偏低了。

表4 杀菌剂直接加入土壤中的杀菌率(%)

杀菌剂	100克湿土加入量(ml)	细 菌	真 菌
氯 仿	0.2	25.5	84.7
	0.5	42.9	99.4
	1.0	49.2	97.7
	2.0	53.1	99.9
	4.0	56.7	99.9
环氧丙烷	2.0	99.9	100
	10.0	99.9	100

为了有效地杀死渍水土壤中细菌,我们将氯仿和环氧丙烷二种杀菌剂分别以不同量直接加入渍水马肝土中,经充分混匀后,在28℃下放置24小时,然后反复抽气,以驱除杀菌剂,再用平板法测定土壤中残留的细菌和真菌数量,计算杀菌率。结果表明,氯仿用量为湿土重的0.5%时,真菌大部分被杀死,用量为湿土重的1.0%以上时,细菌有50%以上被杀死,若再加大氯仿用量,杀菌

率并没有显著提高；环氧丙烷的杀菌效果高于氯仿，用量为湿土重的5%时，可杀死土壤中所有的真菌和绝大部分（99.9%）细菌（表4）。但是，由于环氧丙烷难以从土壤中完全驱除掉，而残留于土壤中的环氧丙烷在被微生物分解时又将干扰微生物生物量碳的测定，所以此杀菌剂不宜用于微生物生物量碳的测定，只适用于标记碳和生物量氮、磷的测定〔7〕。

根据上述结果，我们选用氯仿，以熏蒸和直接加入（加入量为湿土重的1%）形式处理渍水土壤，并测定各自的生物量。结果表明，直接加入法测得的微生物生物量较熏蒸法高2—3倍（表5），但与用熏蒸法测得的旱地生物量接近（表1）。尽管如此，由表6可以看出，即使氯仿直接加入渍水土壤，仍不能将细菌全部杀死，尚残留52%。由于细菌占土壤微生物生物量的10—25%，因此，直接加入法测得的渍水土壤微生物生物量只是较接近于实际量。

## （二）不同类型水稻土旱作期的微生物生物量

以氯仿熏蒸法测得的旱作期水稻土的微生物生物量表明，不论何种类型的水稻土，其生物量的大小与土壤有机质含量呈正相关，二者的相关系数达极显著水准（ $r=0.88^{**}$ ， $n=10$ ）微生物生物量碳占土壤有机碳的1.12—5.15%（表7）。

表7 不同类型水稻土（旱作期）微生物生物量

土 壤	采样地点	有机碳%	微生物生物量碳(μg/g土)	生物量碳为土壤有机碳%
黄淤土	河南封丘	0.69	77.2	1.12
乌沙土(漏水型)	上海宝山	1.11	298	2.69
板浆白土(侧渗)	江苏溧阳	1.13	409	3.62
马肝土(侧渗)	江苏南京	1.48	567	3.83
小粉白土(侧渗)	江苏武进	1.75	540	3.09
黄泥土(爽水)	江苏吴县	1.93	510	2.64
竖头乌栅土(囊水)	江苏常熟	1.91	608	3.18
青紫泥(囊水)	江苏吴江	2.48	1278	5.15
黄泥田	广西南宁	1.31	312	2.76
黄泥田	云南昆明	2.48	585	2.80

注： $r=0.88^{**}$  ( $p<0.01$   $n=10$ )

如果将土壤的呼吸速率（ $\mu\text{gCO}_2\text{—C/g土}\cdot\text{天}$ ）和土壤有机碳的比值作为土壤有机质的分解速率（ $\mu\text{gCO}_2\text{—C/g有机C}\cdot\text{天}$ ），而将土壤的呼吸速率与微生物生物量碳的比值（ $\mu\text{gCO}_2\text{—C}/\mu\text{g生物量C}$ ）作为呼吸活性比，则可以明显反映出土壤的微生物活性和土壤的肥力状况。由表8看出，马肝土、黄泥田的有机质分解速率为696—857 $\text{CO}_2\text{—C}/\mu\text{g有机C}$ ，表明这类土壤中有机质容易分解，周转期短；青紫泥、板浆白土中有机质分解速率只有231—306 $\text{CO}_2\text{—C}/\mu\text{g有机C}$ —

表5 熏蒸法和直接加入法测定渍水土壤微生物生物量比较(μg/g土)

处理方法	黄泥土	竖头乌栅土	青紫泥	乌沙土
熏蒸法	197	294	304	76.6
直接加入法	500	635	964	158

表6 处理方法对氯仿杀菌作用的影响(马肝土)

土壤水分状况	处理方法	残 留 %	
		细菌	真菌
旱地	熏蒸法	11	0.04
	直接加入法	21	0.05
渍水	熏蒸法	75	0.26
	直接加入法	52	0.21

表8 不同类型水稻土有机质分解速率及呼吸活性比

土壤类型	采样地点	土壤有机C(%)	分解速率CO <sub>2</sub> -C $\mu$ g/g有机C	呼吸活性比 (CO <sub>2</sub> -C $\mu$ /生物量C $\mu$ )	
囊水水稻土	青紫泥	江苏 吴江	2.48	231	0.07
侧渗水稻土	板浆白土	江苏 溧阳	1.13	306	0.27
滞水水稻土	小粉白土	江苏 武进	1.75	326	0.11
囊水水稻土	竖头乌栅土	江苏 常熟	1.91	367	0.12
爽水水稻土	黄泥土	江苏 吴县	1.93	313	0.13
侧渗水稻土	马肝土	江苏 南京	1.48	725	0.22
漏水水稻土	乌沙土	上海 宝山	1.11	502	0.17
	黄泥田	广西 南宁	2.09	696	0.21
	黄泥田	云南 昆明	2.48	857	0.25

C $\mu$ g/g有机C, 表明这类土壤中的有机质较难分解, 其周转期较长; 与之相应的是, 前者[的微生物活性较后者高2—3倍, 即前者的呼吸活性比为0.21—0.25CO<sub>2</sub>-C $\mu$ g/生物量C $\mu$ g, 而后者仅0.07—0.09CO<sub>2</sub>-C $\mu$ g/生物量C $\mu$ g(表8)。

### 三、结 语

以氯仿熏蒸法测定旱作期水稻土微生物生物量可以得到较好结果。反映了生物量与土壤有机质含量呈正相关, 占有有机碳的1.12—5.15%。黄泥田、马肝土、乌沙土的有机质分解速率高, 呼吸活性比大, 而青紫泥、板浆白土的有机质分解速率低, 呼吸活性比小。表明前者有机质的可分解性和微生物活性较后者高。

氯仿熏蒸法不宜用于测定渍水土壤的微生物生物量, 而直接加入氯仿能有效地杀死土壤中真菌和大部分细菌, 从而可以测得接近于实际量的微生物生物量。至于所得结果与平板法所得结果不一致的问题, 有待进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] Schnurer, J., et al., Soil Biol. Biochem., 17: 611-618, 1985.
- [2] Jenkinson, D. S., et al., Soil Biol. Biochem., 8: 209-213, 1976.
- [3] Ross, D. J., Soil Biol. Biochem., 19:397-407, 1987.
- [4] 中国科学院南京土壤研究所微生物室编著, 土壤微生物研究法, 54—57页, 科学出版社, 1985.
- [5] Kanazawa, S., Transaction XIII, Congress of the international Society of Soil Science, 592-593, 1986.
- [6] Anderson, J. P. E., et al., Soil Sci., 130:211—216, 1986.
- [7] Kassim, G., et al., Soil Sci Soc. Amer. J., 45: 1106-1112, 1981.