

高寒草地的微生物氮素生理群区系研究

刁 治 民

(青海畜牧兽医学院 西宁 810000)

摘 要

本文讨论了海晏县天然草地微生物氮素生理群的变化规律及生物学特性。试验结果表明, 氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌和固氮菌随土壤深度增加而递减, 具有明显的垂直分布规律。季节变化对草地植被、土壤湿度、温度和有机质含量的影响较大。

关键词 高寒草地; 微生物氮素生理群; 区系

海晏县是青海省重点牧区, 有草原面积 375.53 万亩, 可利用草地面积 367.14 万亩^①。但由于长期重利用轻保护, 超载过牧, 不合理的农垦和其他自然(草原鼠害、蝗虫危害、风沙危害等)及人为因素的作用, 致使草地严重退化(草地退化面积达 124.10 万亩, 其轻度退化、中度退化、重度退化面积分别为 79.36 万亩, 38.03 万亩, 5.37 万亩), 天然草地产草量和质量明显下降。从生态学角度出发, 草原生态系统中能量和物质失去平衡, 长期入不敷出。据资料载^②, 草地土壤的“少氮缺磷”已严重地影响牧草的生长和畜牧业的稳定发展。因此了解草地土壤中氮素平衡的动态是十分重要的, 本文对天然草地土壤微生物氮素生理群的区系组成及生物学特性进行了初步研究, 现将试验结果整理如下。

1 自然概况

海晏县位于青海湖东北隅, 北纬 36° 43'—37° 39', 东经 100° 23'—101° 21', 海拔高度 3196—4586m, 东接门源县和大通县, 西连刚察县, 北与祁连县毗邻。

境内气候相对而言, 东暖西寒, 南热北冷, 东润西干, 南燥北湿, 年降水量 377mm, 5月、7月、9月、11月降水量分别为 34.8mm、84.0mm、61.90mm、3.5mm; 年平均蒸发量最大可达 1600mm, 年均温度 -0.5℃—-5℃; 5、7、9、11月平均温度分别为 6.8℃、11.6℃、6.6℃、-7.4℃, >0℃积温 1528.6℃, >5℃积温 1298.8℃, >10℃积温 484.0℃, 年总辐射量约 620.1kJ/cm², 年日照时数 2743—2578 小时, 年湿润系数 0.58, 相对湿度 45—60%^①。无绝对无霜期。从南到北、从低到高, 可分为冷温半干旱、干旱、凉温半湿润、冷寒湿润等四个气候区, 不同气候区相应地分布有风沙土、栗钙土、黑钙土、高山草甸土、高山灌丛草甸土等。天然草地植被可分为荒漠草原草地类、山地草原草地类、高寒草甸草地类、高寒灌丛草甸草地类和沼泽草甸草地类。

2 材料和方法

^①青海省草原总站, 资料选编第一辑, 1982, 111—131。

2.1 土样采集 1991—1992年分别为5、7、9和11月下旬在荒漠草原草地、山地草原草地、高寒草甸草地、高寒灌丛草甸草地和高寒沼泽草甸草地各采取土样1次。土样分0—15cm、15—30cm和30—45cm 3层采集，分别装入无菌试管及无菌塑料袋中，置于冰箱保存，并尽快分离各类微生物数量及种类。

2.2 土壤悬液的制备 准确称取10g土样于250ml三角瓶中，加入90ml无菌水及60粒玻璃珠轻轻振荡配制成 10^{-1} 悬液，然后再根据需要稀释成一系列稀释度的土壤悬液。

2.3 微生物氮素生理群数量测量 氮素生理群数量测定采用液体稀释培养计数法⁽²⁻⁴⁾。

2.4 土壤微生物鉴定 按参考文献[5]进行。

3 结果与分析

3.1 草地类型与氨化细菌

草原的任何演变，在土壤微生物的组成及活性上都有所反映，有时甚至造成明显的影响。氨化细菌是土壤中一个庞大的生理群，可以在各种条件下转化有机物质，因此，在土壤含氮有机物质分解中起着十分重要的作用。

由表1可以看出，在草地土壤中氨化细菌的数量以高寒灌丛草甸草地 > 高寒沼泽草甸草地 > 山地草原草地 > 高寒草甸草地 > 荒漠草原草地。

表1 草地类型与氨化细菌的数量 ($\times 10^3$ 个/g干土)

土壤深度 (cm)	荒漠草原草地				山地草原草地				高寒草甸草地				高寒灌丛草甸草地				高寒沼泽草甸草地			
	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月
0-15	176.8	1473	368.2	157.7	1252	3875	2459	747.5	597.3	2979	968.6	235.4	1483	4276	5464	112.6	113.6	3999	462.6	928.0
15-30	38.89	378.1	97.50	14.25	817.3	1701	685.2	167.5	298.7	1528	145.7	87.19	1215	2759	3275	735.3	898.0	2146	307.9	598.2
30-45	7.57	25.78	8.59	3.57	189.3	1058	149.2	35.45	15.47	59.87	74.11	24.35	741.2	1286	745.8	375.4	752.8	1052	707.1	345.9
平均	74.40	625.6	158.1	58.44	752.8	2212	1098	316.8	303.8	1522	396.1	115.7	701.3	2773	3162	745.5	928.9	2399	280.4	624.0

氨化细菌在表层土壤中数量大，随土壤深度的增加而逐渐减少。在牧草生育期，随着土壤温度的不断提高和土壤水分的不断增加，氨化细菌数量也随之增长。7—9月，氨化细菌数量大，活性强，为植物提供了氮素营养。11—5月，氨化细菌数少，活性弱。

参与氨化作用的微生物主要有荧光假单胞菌(*Pseudomonas fluorescens*)，普通变形杆菌(*Proteus vulgaris*)，枯草芽胞杆菌(*Bacillus subtilis*)，巨大芽胞杆菌(*Bacillus megaterium*)，解磷大芽胞杆菌(*Bac. Megaterium Var. Phospticum*)，多粘芽胞杆菌(*Bacillus polymyxa*)，霉状芽胞杆菌(*Bac. cereus var. mycoides*)，生胞尿素八叠球菌(*Sporosarcina ureae*)。在沼泽草甸草地中以厌气性细菌为主；在高寒灌丛草甸草地土壤中好气性氨化细菌较多，亚表层以厌气性细菌为主，在山地草原草地，放牧过度，则以厌气性细菌为主；荒漠草原草地土壤有机质相对较少，以自养型化能细菌为主，还有兰细菌，同时存在有好气性细菌和厌气性细菌。

高寒草地由于冷季长，气温低，微生物处于休眠或半休眠状况，分解含氮有机物质能力弱。6、7、8月，随气温的上升微生物活动加速，加快了含氮有机物质的分解。由于暖季短，有机物质的分解仍然有限，因此，造成了高寒草地有机物质的大量积累。

3.2 草地类型与硝化细菌

由表2可以看出，硝化细菌(包括亚硝酸细菌和硝酸细菌)在各种草地土壤中的数量以高寒灌丛草甸草地 > 高寒草甸草地 > 山地草原草地 > 高寒沼泽草甸草地 > 荒漠草原草地。从

总体来说,硝化细菌数量较少,这就导致土壤中铵态氮的积累,较好地保持了土壤肥力,有利于牧草生长。

表2 草地类型与硝化细菌的数量 ($\times 10^2$ 个/g干土)

土壤深度 (cm)	荒漠草原草地				山地草原草地				高寒草甸草地				高寒灌丛草甸草地				高寒沼泽草甸草地			
	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月
0-15	4.58	48.76	25.21	9.25	14.94	99.44	66.24	22.81	42.75	78.89	98.14	42.15	109.8	217.6	95.45	45.24	14.56	66.72	35.63	17.54
15-30	0.65	5.72	1.23	0.45	3.99	10.25	4.89	0.24	9.15	11.26	29.85	3.75	27.35	107.3	47.82	29.97	8.75	35.14	15.14	1.23
30-45	0.32	2.14	0.76	0	4.12	8.15	2.48	0.01	2.94	8.56	14.68	0.16	0.57	13.07	4.26	0.25	0.97	4.56	3.23	0.19
平均	1.85	13.87	9.07	3.23	7.68	39.28	24.54	7.69	18.28	32.9	47.56	15.35	45.92	112.7	49.18	25.15	8.09	35.47	18.00	6.32

参与硝化作用的细菌主要有亚硝酸极毛杆菌属(*Nitrosomonas*),亚硝酸球菌属(*Nitrococcus*),亚硝酸螺菌属(*Nitrospira*),亚硝酸叶菌属(*Nitrosolobus*),硝酸杆菌属(*Nitrobacter*),土壤杆菌(*Agrobacterium*),芽胞杆菌(*Bacillus sp.*),假单胞杆菌(*Pseudomonas sp.*)等。

硝化作用的强弱受理化因子的制约, pH 是影响硝化作用的主要因子。草地土壤 pH 值偏高⁽²⁾,因而,硝化作用较弱。在过度放牧,土壤板结,氧气不足的草地,很少有氨的氧化,在完全缺氧时,硝化过程即中止;水分是影响土壤通气状况的因子之一,在渍水的沼泽草甸土上, O₂ 的扩散受到了限制,硝化细菌数量少,硝化作用甚弱或被抑制。

温度、湿度、植物和无机营养之间的相互影响,在很大程度上决定于季节的影响,在一年中,硝酸盐含量最大的时间并不一定与主要微生物的最强活动相一致。因为牧草的呼吸,微生物的固定作用和淋溶都会降低草地土壤硝酸盐的含量。在高寒草地硝酸盐的形成通常是在夏季和秋季(7—9月),而在春冬季节最慢。但每年的湿度和温度之波动明显地改变季节的影响。

3.3 草地类型与反硝化细菌

反硝化作用是土壤氮素损失的一个重要途径。在干旱、半干旱地区,反硝化作用是较弱的。但并不排除在个别草地或局部范围内形成厌气微区,导致反硝化作用的进行。尤其是草地过度放牧,造成土壤板结时容易发生。因此,草地反硝化作用是不容忽视的,反硝化细菌在草地土壤中的数量分布是:高寒沼泽草甸草地 > 山地草原草地 > 高寒草甸草地 > 高寒灌丛草甸草地 > 荒漠草原草地(表3)。

由表3可以看出,在7—9月0—15cm反硝化作用比较强,而在春冬季节15—30cm反硝化细菌数量大,在干旱的春季,表层土壤强烈的好气造成亚表层土壤反硝化细菌的发展。

表3 草地类型与反硝化细菌的数量 ($\times 10^4$ 个/g干土)

土壤深度 (cm)	荒漠草原草地				山地草原草地				高寒草甸草地				高寒灌丛草甸草地				高寒沼泽草甸草地			
	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月	5月	7月	9月	11月
0-15	15.34	107.5	278.6	129.8	50.20	251.9	452.6	85.14	45.37	119.3	207.6	40.19	35.79	115.5	205.7	9.58	104.6	297.5	459.3	75.68
15-30	39.24	147.6	357.7	78.75	108.5	375.3	756.2	125.8	98.76	375.2	376.9	112.8	92.75	259.6	395.6	37.5	275.9	425.2	695.9	197.6
30-45	15.61	85.74	45.82	7.35	58.01	128.8	135.7	28.60	75.11	160.3	189.8	12.50	39.17	137.9	125.5	10.25	75.05	125.9	96.75	35.97
平均	23.4	113.6	227.3	71.95	72.23	252.0	448.2	79.83	73.08	198.3	258.1	55.15	55.90	171.0	242.2	19.11	151.9	282.8	417.3	103.1

参与反硝化作用的细菌主要有反硝化微球菌(*Micrococcus Denitrificans*),铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*),地衣芽胞杆菌(*Bacillus lichoniformis*),反硝化单胞菌(*Pseudo-*

monas denitrificans), 反硝化色杆菌(*Chromobacterium sp.*), 紫色杆菌(*Chromobacterium violaceum*)等。反硝化细菌是厌气性的, 在无硝酸盐时进行好氧生长, 有硝酸盐时进行厌氧生长。因此, 在水分少, 通气好的土壤中是不会发生反硝化作用和硝酸盐积累; 在水分多, 通气不好的土壤中则发生反硝化作用, 例如在沼泽草甸土中反硝化细菌数量较大; 在 pH 偏高, 有机质含量丰富, 过度放牧的草地上反硝化作用也较强烈, 氮素损失亦较多。

反硝化作用明显地受有机质性质和数量, 通气性、水分状况、pH 值、温度等的制约。草地土壤有机质含量高, 在重度放牧, 造成厌氧条件下, 由反硝化作用引起的氮素损失量将随土壤有机质含量的增加而增多。这是草地土壤缺氮的重要原因。沼泽草甸草地, 可分解的有机质数量较多, 渍水期间, 大部分土层变为还原层, 因而反硝化细菌生长旺盛, 造成土壤氮素的损失。

3.4 草地类型与固氮微生物

3.4.1 好气性自生固氮菌的区系分析: 由表 4 可以看出, 好气性自生固氮菌在草地中的数量分布是: 高寒灌丛草甸草地 > 高寒草甸草地 > 高寒沼泽草甸草地 > 山地草原草地 > 荒漠草原草地。

表 4 草地类型与固氮菌的数量 ($\times 10^3$ 个/g 干土)

菌名		好气性自生固氮菌				厌气性固氮菌			
		5	7	9	11	5	7	9	11
荒漠草原草地	0-15*	43.84	227.3	135.8	14.95	16.85	39.31	27.52	6.06
	15-30	27.95	87.52	45.85	9.58	29.45	31.29	20.10	9.98
	30-45	6.52	58.12	17.52	3.25	7.62	12.34	14.12	3.84
	平均	26.10	124.3	66.39	9.26	17.97	27.65	20.58	6.63
山地草原草地	0-15	68.45	378.3	213.2	105.1	29.71	232.5	248.2	190.0
	15-30	37.17	215.6	118.0	60.71	36.04	461.9	319.2	48.65
	30-45	8.29	75.54	34.94	20.15	13.59	117.2	64.54	13.57
	平均	37.97	223.1	122.0	61.98	26.45	270.5	210.6	84.08
高寒草甸草地	0-15	69.25	499.4	346.0	78.18	21.56	31.58	28.62	6.05
	15-30	45.18	361.9	124.9	45.36	2278	41.85	32.57	17.56
	30-45	16.95	121.4	23.27	2.45	10.54	16.86	12.89	0
	平均	43.79	327.6	164.7	42.00	18.29	30.10	24.69	7.87
高寒灌丛草甸草地	0-15	108.3	617.5	485.6	75.60	29.57	194.2	128.9	54.35
	15-30	89.59	428.5	338.5	50.47	37.58	434.8	214.8	137.3
	30-45	29.87	40.68	86.54	9.86	19.25	195.2	112.9	19.34
	平均	75.93	362.3	303.5	48.64	28.80	274.7	152.1	70.32
高寒沼泽草甸草地	0-15	69.87	524.5	264.4	19.82	37.81	342.2	278.3	51.29
	15-30	57.10	264.7	158.8	24.23	140.5	575.6	351.9	178.9
	30-45	27.15	179.2	55.27	14.49	20.54	38.65	25.68	70.21
	平均	51.37	322.8	159.4	19.51	66.29	318.8	218.6	100.1

* 土壤深度(cm)

好气性自生固氮菌主要有固氮菌属(*Azotobacter*), 假单胞菌属(*Azomonas*), 拜氏菌属(*Beijerinckia*), 德氏菌属(*Derxia*), 固氮螺菌(*Azospirillum sp.*)等。兼厌气性固氮菌有多粘芽胞杆菌(*Bacillus polymyxa*), 浸软芽胞杆菌(*Bacillus macerans*), 环状芽胞杆菌(*Bacillus circulans*), 阴沟肠杆菌(*Enterobacter colacae*), 肺炎克氏杆菌(*Klebsiella pneumoniae*), 粪产碱

杆菌(*Alcaligenes faecalis*)及光合固氮微生物等。

固氮兰细菌,如链珠藻属(*Nostoc*),柱胞藻属(*Cylindrospermum*)等在草地土壤中起着重要作用。在荒漠草原草地,亚麻色单歧藻(*Tolypothrix byssoidea*),圆球链珠藻(*Nostoc sphaericum*),长鞘微鞘藻(*Microleus veginatus*),对提高草地肥力有积极作用。兰细菌在山地草原草地和荒漠草原草地,下雨时变得十分活跃。当水分的供应对光合作用的生物群体有利时出现暂时性的生长,有相当部分的 N_2 可被固定,而固定的 N_2 可作为微生物的分泌物而释放出来,其余部分在细胞解体时释放出来,这些元素矿质化被牧草所利用。如地耳(*Nostoc commune*),在定居点可引起氮素积累,有利于提高土壤氮素水平。

3.4.2 厌气性固氮菌在草地中的区系分析:试验结果表明,厌气性固氮微生物在草地土壤的数量分布是:高寒沼泽草甸草地>山地草原草地>高寒灌丛草甸草地>高寒草甸草地>荒漠草原草地(表4)。

严格厌气性固氮菌主要有假单胞菌(*Pseudomonas sp.*),固氮梭菌属(*Clostridium*)等,而固氮梭菌有丁酸梭菌(*Cl. butylicum*),巴氏梭菌(*Cl. pasteurianum*),丙酮丁醇梭菌(*Cl. acetobutylicum*),嗜乳酸醋酸菌(*Cl. lactoacetophilum*),蚀果胶梭菌(*Cl. pectinovorum*)等。在丁酸菌群中,最重要的是巴氏梭菌,其固氮力较强。

固氮梭菌是以营养细胞固氮,转变为芽胞后不再固氮,在草地土壤自然条件下,它们常以芽胞状态存在于土壤中,除 N_2 外,常利用有机或无机态氮,当化合态氮满足需要时,就不再固氮。固氮梭菌在表层土壤存在较少,在亚表层渍水土壤中较多。但在通气良好的高寒灌丛草甸土壤里固氮梭菌数量并不减少,但多以芽胞形态存在。雨后,芽胞发芽,细胞的数量很快增多,固氮梭菌适于在中性或偏碱环境下生活,要求土壤含水量高,所以高寒牧区干旱缺水,是限制固氮微生物发挥其固氮作用的一个重要因子。

根据试验结果,我们认为,草地土壤中氮素损失主要是通过反硝化作用,其次是氨化作用(氮素损失有部分通过 NH_3 挥发掉),而氮素的来源主要是植物有机氮的积累,生物固氮所占比例少,但植物有机氮的最终来源是生物固氮。因此,要提高草地土壤氮素水平,从宏观角度考虑,应当合理利用草原,增加和恢复天然植被覆盖率;建立人工半人工草地,人工播种豆科牧草,增加草原群落豆科牧草的比例,强调科学放牧。此外,在生物固氮方面,应进行豆科牧草根瘤菌有效应用技术的研究,从现有的野生豆科牧草中分离选育有较高侵染力和固氮活性的根瘤菌;引进优良根瘤菌剂接种等方法来解决天然草地土壤缺氮问题,以促进青海省畜牧业生产的进一步发展。

参 考 文 献

- [1] 向理平、杨大珍、向卫东,简明青海手册,青海省高原地理研究所,西宁小桥新宁印刷厂印刷,1989,40-70。
- [2] 中国科学院南京土壤研究所微生物室编,土壤微生物研究法,北京科学技术出版社,1985,44-51,57-59,110-133。
- [3] (日)土壤微生物研究会编(叶雄青等译),土壤微生物实验法,北京科学出版社,1983,294-316,388-391。
- [4] (日)微生物研究讨论会编(陈光胜等译),微生物实验法,北京科学出版社,1981,160-162。
- [5] R.E.布坎南、N.E.吉本斯等编,伍杰细菌鉴定手册(第八册),科学出版社,1984。