

土壤质量与持续环境

Ⅲ. 土壤质量评价的生物学指标^{*}

孙 波 赵其国 张桃林 俞 慎

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要

土壤生物是维持土壤质量的重要组成部分,土壤生物学指标能敏感地反映土壤质量的变化,是土壤质量评价指标体系中不可缺少的组成部分,但目前仍十分缺乏这方面的指标。本文对《土壤质量与持续环境》(美国土壤学会1994年发行)一书中土壤质量评价的生物学指标进行了评述。

关键词 土壤质量;评价;生物学指标

评价土壤质量和健康十分复杂,需要考虑土壤的多重功能,而且要把土壤物理、化学和生物学性质结合起来。据估计,整个地球有500到1000万种植物、动物和微生物,土壤中的生物是维持土壤质量的重要组成部分,它们调节着土壤动植物残体和施入土壤的有机物质及其他有害化合物的分解、生物化学循环(包括生物固氮作用)和土壤结构的形成等过程。土壤生物学性质能敏感地反映出土壤质量和健康的变化,是土壤质量评价不可缺少的指标。但由于这方面的评价指标繁多,测定困难,因此至今未能对这方面的研究达成共识,并提出其常规的测定项目和测定方法。为了解这个领域的最新进展,本文对《土壤质量与持续环境》(美国土壤学会1994年发行)一书中土壤质量评价的生物学指标进行了评述。

1 土壤质量的微生物指标

1.1 土壤微生物群落的组成和多样性

土壤微生物是土壤生态系统中养分源和汇的一个巨大的原动力,在植物凋落物的降解、养分循环与平衡、土壤理化性质改善中起着重要的作用,一个高质量的土壤应该具有良好的生物活性和稳定的微生物种群组成。土壤微生物是最有潜力的敏感性生物指标之一,在农田系统中,微生物群落可以早在土壤有机质变化被测定之前对土壤的变化提供可靠的直接证据。土壤微生物十分复杂,地球上存在的微生物可能超过18万种,其中包含了26900种藻类、30800种原生动物、4760种细菌、1000种病毒和46983种真菌,1克土壤就包含了10000个不同的生物种。

土壤微生物具有景观变异性,所有的微生物种群数量一般随着土壤深度的增加而降低,其中真菌数量的降低幅度较细菌高。在表土一根层中存在着真核生物(Macroorganisms)和微生物,而渗流层(vadose zone)和蓄水层主要是微生物,渗流层中的微生物密度、活性受某一特定

^{*} 国家自然科学基金资助项目(49631010)。感谢王兴祥对编译工作的帮助。

区域的土壤有机物质含量和净水含量影响。微生物的变异性还反应在它们控制的土壤生物过程中。Robertson 等的研究表明 N 转化过程具有很大的空间依赖性,主要反映在景观表层,因此采样距离必须小于 1 米以减少变异性^[1]。

土壤真菌影响土壤团聚体的稳定性,是土壤质量的重要微生物指标。Eash 等通过测定麦角甾醇(Erosterol)含量和显微测量菌丝长度监测真菌的生长,研究了毛壳菌(*Chaetomium sp.*)对两种不同质地土壤湿团聚体稳定性的影响。结果表明,在粉壤质土壤中接种毛壳菌后,麦角甾醇含量增加,菌丝长度也比未接种的土壤增加了 1 倍,而在粘壤中,接种真菌后菌丝长度增加 8 倍。土壤团聚体的湿平均重量直径(Wet mean weight diameter, WMD)的增加与菌丝长度和土壤麦角甾醇含量增加呈显著的正相关。接种毛壳菌的土壤中,团聚体的 WMD 显著高于高压灭菌未接种的土壤,这表明真菌在土壤的团聚作用中起着重要的作用。在高压灭菌后的土壤中加入紫苜蓿残茬并不能明显增加土壤团聚作用,说明其他研究报道的加入残茬改善土壤团聚体的效应,并非由残茬本身引起,而可能是由于残茬促进真菌生长的结果。地表残茬覆盖虽能吸收雨能,但更重要的是提供了土壤真菌生长的基质,真菌菌丝的生长又促使土壤颗粒形成更大的团聚体^[2]。

土壤微生物群落的多样性是反映系统受干扰后细小变化的重点监测因子。恢复一个受干扰的生态系统,如矿山复垦,不仅要恢复植被,还要恢复微生物群落。研究表明,采过油的页岩土壤微生物数量很低,细菌种类很少,纤维分解能力很弱。移植表土后,土壤中的异养好气型细菌、放线菌、氨氧化菌、固氮菌和真菌数量显著增加。对退化土壤的改造往往始自对菌根植物进行菌根接种和增加土壤中的真菌数量。在印度沙漠地区,沙丘固定使得其真菌、细菌和放线菌的数量增加了 200 倍,施用农家肥能明显增加沙漠土壤的微生物数量,尤其是真菌。因此,土壤微生物的多样性可反映重建区域的生态扰动的类型和程度^[1]。

研究土壤微生物和土壤质量间的相关性可在三个层次上进行:种群(population)、群落(community)和生态系统。要切实了解土壤微生物在土壤质量中的作用,必须对描述和监测土壤中微生物组成和功能的方法进行探讨,这些方法常可分为两种,一种用于估测生态系统间的差异,另一种用于估测生态系统内群落的结构。近来一些新方法可以在原位条件下进行微生物群落结构的测定,这些方法提供了评价土壤质量的微生物组成指标,而这些指标应该在生态系统层次上和所有的土壤性状进行综合。

1.2 土壤微生物多样性(microbial diversity)的测定方法

微生物多样性指标可以作为生物指标描述微生物群落的稳定性、微生物群落生态学机理以及自然或人为干扰对群落的影响,对微生物多样性的评价还可进一步揭示土壤质量在微生物数量和功能上的差异,但是土壤中微生物种群组成资料的缺乏严重限制了这些指标的应用。以往的工作着重研究了一些特殊土壤微生物对有毒化合物的降解能力,对于微生物多样性调查方法的研究总体上看一直比较缓慢,以下是测定微生物多样性的常用方法^[1]。

1.2.1 培养法——测定底物利用的差异

分离法是将土壤稀释后接种到特定的培养基中,然后对菌落进行计数,以此测定土壤微生物种群的结构。该法的前提是微生物群落的变化可以反映在种群差异上,而且这些种群能被培养。分离法获得的多样性数据在一定程度上决定于提取的方法和选用的培养基类型,而且许多可以离体存活的土壤微生物无法用现有的分离方法进行培养。Torsvik 等研究表明 99.5—99.9% 的土壤细菌不能在实验室中用培养基分离。

细胞的维持和生长需要能量、碳源和多种无机离子,底物利用是所有群落中微生物存活、

生长和竞争的关键,因此特殊微生物对底物利用的多样性和特殊性可以用于微生物的鉴定。Kennedy测定了太平洋西北部一个历时6年的虫害综合防治系统中土壤微生物的种群及其活性,发现土壤微生物对底物的利用方式和对环境胁迫的反应随土壤的利用历史而改变。从轮作(小麦与其他作物)耕翻3年的土壤中分离到的细菌,较从小麦连作免耕或轮作免耕中分离的细菌对碳源底物的利用率低,抗逆性弱;而从小麦连作耕翻和轮作免耕处理的土壤中分离的细菌,较从种植其他作物的土壤中分离的细菌对碳源底物的利用范围广。

BIOLOGY 氧化还原技术可代替传统的个体分离法(individual isolates)评价微生物在群落水平上的结构。先将养分和指示剂一起置于平板(microtiter plate)的小孔内,然后将稀释后的细胞悬液接种到各个小孔中,由于微生物利用了养分会引起指示剂的颜色变化,以此检测分离出的微生物对96种养分源的利用方式,并判断其组成。

1.2.2 培养法——其他分类方法

很多分类方法,如蛋白形态法(protein profiles)、质粒形态法(plasmid profiles)、生化和代谢特性法(biochemical and metabolic characterization)以及自体抗生素反应评价法(IAR, Intrinsic antibiotic resistance evaluations)等都以土壤提取分离纯化技术为基础,并与微生物种群相对应,形成可以反映生态系统的扰动的生物多样性指标。研究表明,温度和湿度等小气候条件的长期影响导致了山坡上微生物的独特分布,这种分布模式可反映在IAR和质粒形态的差异上。

1.2.3 脂肪酸甲基酯分析法

脂肪酸甲基酯分析法(fatty acid methyl esters, FAME)对种群结构的评价是以磷酸酯脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)的类型分析为基础的。对大多数的微生物而言,PLFA是细胞壁结构的稳定组成成分,分析脂肪酸的特性可分辨微生物的属和种。首先用溶剂从土壤提取磷酸脂,然后甲基化(methanolysis)形成PLFA,经纯化后用气相色谱进行分析,这样可以直接对微生物的种群结构作出评价,而无需进行生物培养。Zelles等应用这一方法研究了8种不同作物种植系统的土壤微生物群结构,发现FAME可以反映微生物群落的结构差异和长期田间管理措施的影响。脂肪酸测定与分类评价中的核酸分析相似,总体上与Bergey手册中的细菌种属相对应。其他脂类,如磷酸脂(phospholipids)、糖脂(glycolipids)、碳氢化合物(hydrocarbons)和类异戊二烯苯醌(isoprenoid quinones)也可用于细菌的多样性分析。

1.2.4 核酸测定法(nucleic acid profiles)

核酸测定法是从土壤中直接提取分析DNA,通过分析DNA的不均匀性反映种群的结构特征。Torsvik等利用种群DNA重组动力学测定土壤中染色体组(genomes)的数量,这种方法的优点是可以变性DNA单链(denatured single-stranded DNA)的重组速率(reassociation rate)测定样品中DNA的不均匀性(sequence heterogeneity)。变性的DNA可以重组,其速率决定于相同DNA链的浓度。种群的差异越大,重组时间越长。这一方法还未用于检测微生物种群结构对环境干扰的响应关系。

对于数量少且培养困难的土壤微生物来说,提取和检测其DNA十分困难,这时可以用聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)来扩增总DNA中的特殊片段。PCR法可以从两个方面进行:一是用特定引物(specific primers)扩增总体生物DNA中的确定DNA片段,二是用随机引物(random primers)来随机扩增DNA片段(RAPD),后者可用于检测细菌种间的性质差异。DNA提取结合NDA-DNA杂交法(hybridization)可以检测土壤中的特殊基因,这种方法主要用于鉴别控制有机物分解代谢的基因,但也可用于研究种群动力学和评价种群中某

种功能的出现或丧失。

1.3 土壤微生物生物量

微生物生物量常被用于评价土壤的生物学性状,因为它能代表参与调控土壤中能量和养分循环以及有机物质转化的对应微生物的数量。土壤微生物量(microbial biomass, MB)与土壤有机质含量密切相关,而且土壤微生物量碳(MBC)或微生物量氮(MBN)转化迅速,能在检测到土壤总碳或总氮的变化之前表现出较大的差异,是更具敏感性的土壤质量指标。

Fauci 和 Dick 自 1931 年起在哥伦比亚盆地研究中心开始了一项残留物利用的田间试验(Residue Utilization Plots, RUPs),研究小麦-休闲轮作制中残留物利用对 MB 的影响,以验证 MB 作为一个土壤指标的潜在能力。1989 年他们采集了休闲期的田间试验土壤样品供温室盆栽(玉米),研究了有机氮肥(豌豆藤、牛粪和家禽粪)和无机氮肥(NH_4NO_3)对 MB 的影响。长期试验的结果表明,RUPs 中施有机肥处理的土壤 MBC 比不施肥和施无机氮肥处理的高,无机氮肥处理虽然增加了田间秸秆碳的投入,但并不能改变 MB 的大小,与不施肥处理相当。温室盆栽试验的结果表明,短期的土壤有机肥改良能对 MB 产生较大的影响,然而长期施用有机肥的 RUPs 土壤依然比其他处理的土壤具有较高的 MBC,只是差异不显著而已。因此,MBC 对长期和短期施肥管理都很敏感,可作为一个生物学评价指标,但短期施肥能掩盖长期施肥的效果,故取样方法需要标准化,以降低时间、环境和人为因素的干扰。另外,MB 还能反映有机物料的组成(C/N 比)的影响。在实际应用中,MB 并不是一个通用的唯一指标,应该和其他指标结合起来评价土壤的质量^[3]。

测定土壤微生物量的方法包括直接显微计数、测定细菌胞壁酸(nuramic acid)含量和测定真菌几丁质(chitin)或麦角甾醇含量等方法。直接观察法可以研究土壤中存在的微生物形态学类型,但无法获得不同微生物种群的活性水平。生理学方法被广泛用于微生物总量的测定,包括熏蒸培养法(fumigation-incubation)和底物诱导呼吸法(substrate-induced respiratory response)。生物化学方法也被用于微生物量的测定,如精氨酸氨化法(arginine ammonification)和土壤 ATP 含量法。这些方法都能测出土壤间的差异,以及农田生态系统中耕作、施肥和农药对微生物生物量的影响,但没有一种方法能准确地测定土壤的生物量。它们都是表示微生物种群活性或数量的一个指标,都能反映微生物种群的差异或变化,各有其优缺点,在微生物分析中具有重要的地位。本世纪的 20 年代起,开始研究细菌类脂化合物(lipids)在测定微生物组成和功能上的应用;70 年代后 White 和 Freman 完善了磷酸酯法,并用于测定深层土壤(2m)中的微生物量。因为死细胞中的磷酸酯极易被活细胞利用而迅速转化,所以磷酸酯总量可用来表示活生物量的大小。磷酸酯法用有机溶剂从环境样品中提取类脂化合物,优点是能够同时测得微生物量的大小和群落的组成^[1]。

1.4 土壤微生物活性

土壤微生物活性表示了土壤中整个微生物群落或其中的一些特殊种群的状态。在免耕的农田生态系统中,微生物活性随土壤深度的变化很大,一般表层土壤中的微生物活性最大;然而在耕翻的农田生态系统中,微生物活性在整个耕作层中相当一致。土壤微生物活性可以用多种方法来评价,但许多方法由于没有考虑生物量大小与微生物种群活性间的相关关系,因而只能测定微生物的总体活性变化,不能测定微生物种群内的差异。

代谢商($q\text{CO}_2$)能同时表示微生物量的大小或活性,可以用于研究环境变化对微生物群落的影响。这种方法起源于 Odum 的生态系统演替理论,即总的呼吸量与总生物量之比随时间或生态系统的演替而降低。在土壤微生物系统中,可以用基础呼吸量(basal respiration)和微

生物生物量之比表示 $q\text{CO}_2$, 即每单位的微生物生物量碳 (C_{micr}) 的基础呼吸量 ($\text{CO}_2 - \text{C}$, g/小时)。Anderson 和 Domsch 研究表明, $q\text{CO}_2$ 是反映农作系统(单作或轮作)和温度状况对土壤微生物影响的敏感指标, 轮作系统中土壤的 $q\text{CO}_2$ 较单作系统低, 说明轮作系统比较稳定和成熟。Insam 和 Haselwandter 通过对不同发育阶段冰川冰碛土(glacial moraine soils)的比较研究, 发现 $q\text{CO}_2$ 随土壤年龄而降低, 但随着土壤开垦而增加, 说明 $q\text{CO}_2$ 是能反映土壤演替的很好的指标^[1]。

综上所述, 评价土壤微生物状态的方法很多, 但很少有人去定义一个完整的微生物学评价指标体系。微生物生物量法被用作常规的土壤质量指标, 一般来说, 生理学方法尤其是熏蒸法较其他方法更为合适。 $q\text{CO}_2$ 测定法看起来也是可行的, 但作为常规测定项目之前还需要更多的数据。对土壤微生物多样性状况的常规检测方法是了解土壤系统受侵扰影响的关键, 然而这些方法仍处于实验室阶段。目前的任务是确定一套评价土壤质量中的生物部分的最小参数集, 这些指标应同时考虑生物学过程和种群多样性, 能反映侵扰的影响, 准确评价系统的功能, 揭示时间或空间上的差异, 而且应该是廉价和快速的。但是不能期望用一个方法就能适合所有的状态, 需要根据评价的具体目的筛选每一项指标, 并与土壤物理和化学分析相结合。

2 土壤质量的土壤酶活性指标

2.1 土壤酶的类型和功能

在土壤中很难区分土壤酶的来源, 土壤酶绝大多数来自于微生物, 动物和植物也是来源之一, 但土壤微动物对土壤酶的贡献十分有限。植物既能分泌胞外酶, 也能刺激微生物分泌酶。进入土壤的植物残体也含有酶, 并在其分解中起作用。土壤酶分为两类, 一类是与游离的增殖细胞相关的生物酶(biotic enzymes), 主要分布在细胞质中、外周胞质空间(periplasmic space)和细胞的外表面; 另一类是与活细胞不相关的非生物酶(abiotic enzymes), 主要包括在细胞生长和分裂过程中分泌的酶、细胞碎屑和死细胞中包含的酶、来自活细胞或细胞溶解进入土壤溶液的酶, 它们能稳定地吸附于粘粒内外表面, 或者通过吸附(adsorption)、包含(entrapment)和聚合(copolymerization)存在于土壤腐殖质胶体内。

土壤是一个不断进行着复杂生物化学反应的体系, 而土壤酶催化了这些生化反应。胞内酶对于土壤微生物的生命过程十分重要。尽管有些酶只能在游离的细胞内起作用, 但绝大多数土壤酶在土壤溶液、死细胞、细胞碎屑或土壤基质中仍起着作用(作用时间很短)。目前对土壤非生物酶的功能和作用还不甚了解, 这方面的测定存在两个困难: 一是由于非生物酶与土壤基质复合在一起, 在提取过程中常常失去其原有特性, 而且测定土壤非生物酶活性时无法与活体微生物的活性区分开; 二是不清楚非生物酶在原位状态下催化底物的程度。Burns 推测在微生物无法直接利用的难溶或大分子物质的水解催化反应上, 微生物和固定酶之间存在着空间上的相互关系。如果这一推测成立, 那么土壤生物酶和非生物酶活性对土壤质量都起了重要的作用。

在土壤中已发现 50—60 种酶, 研究较多的是氧化还原酶、转化酶和水解酶。一些水解酶和转化酶对土壤有机质的形成和养分循环具有重要作用, 主要包括碳循环中的淀粉酶、纤维分解酶、脂肪酶、硫代葡萄糖苷酶和蔗糖酶; 氮循环中的蛋白酶、酰胺酶、脲酶和脱氨酶; 磷循环中磷酸酶; 硫循环中的芳基硫酸酯酶^[4]。

2.2 土壤酶活性与土壤微生物活性的关系

60 年代起就已开展酶活性与土壤微生物活性之间相互关系的研究, 但早期的研究结果发

现两者间无相关性。一方面是由于当时测定微生物活性的方法不合适,与培养基质有关的微生物计数结果不能准确反应其活性;另一方面是由于只有少量的微生物种群在其生命周期的所有阶段存在某种特定的土壤酶,而且土壤酶活性是生物和非生物酶活性的总和,因此有可能土壤中的微生物数量很少而土壤却具有很高的非生物酶活性,导致土壤酶活性与微生物活性无关。随着微生物和酶分析方法的改进,许多研究结果表明土壤酶活性与土壤生物参数间有很好的相关性。Frankenberger 和 Dick 研究了 10 种土壤中的 11 种酶,发现碱性磷酸酶、酰胺酶和过氧化氢酶活性与土壤微生物呼吸量和总生物量显著相关,但与微生物平板计数无关,其他研究也证实了土壤微生物活性与脱氢酶、纤维分解酶、蛋白酶、磷酸酶和脲酶活性间的相关性。自 1956 年 Lenhard 开始,脱氢酶活性就被用于评价微生物活性,这种酶是胞内酶,其活性与氧的消耗以及细菌群的活性密切相关。但 Sparling 在 1981 年发现脱氢酶活性与生物量以及其他生物活性没有相关性^[4]。

2.3 土壤酶活性作为土壤肥力指标

50 年代起,欧洲和前苏联学者将土壤酶活性作为土壤肥力指标。由于土壤酶测定方法上的缺陷,以往的研究结果常常相互抵触。近年来的研究表明,在自然生态系统或低投入的农田生态系统中,土壤酶活性或其他生物指标与植物生物量产量密切相关,但在高投入的人为系统中,一些因子干扰了两两者间的相互关系。例如养分和水的大量投入会极大地刺激植物生长,使得植物生长量与土壤微生物不相关。Yaroshevich 的研究表明,投入有机肥能增强土壤的呼吸作用和酶活性,投入无机肥抑制了土壤生物活性,但是只要养分充足,无论施用有机肥还是无机肥,作物的产量都相同。

已有研究表明土壤团聚体稳定性与土壤微生物生物量呈显著相关。如果有机物质分解菌是土壤酶的重要来源,那么土壤酶活性和土壤结构参数间就可能存在相关关系。Dick 等发现森林土壤的容重与脱氢酶、磷酸酶和芳基硫酸酯酶活性之间呈显著的负相关。Martens 等发现土壤酶活性与土壤容重呈负相关,而与水分入渗速率呈正相关。如果土壤酶活性与土壤结构间存在稳定的相关性,就可以用相对简便的土壤酶活性指标替代其他繁琐的物理结构指标。

土壤酶活性的重要作用并不是仅仅测定每秒的生物学活性,而是作为反映管理措施和环境因子引起的土壤生物学和生物化学变化的指标,尤其是非专一性和水解性的土壤酶活性(如蛋白酶活性和荧光乙酸酶的水解活性)十分适合作这种指标。土壤酶活性对土壤的不同耕作管理措施(如残留物管理、土壤压实、耕翻和作物轮作等)十分敏感。Martens 等在长期试验中发现,作物轮作系统中土壤酶活性比单作系统高;施用有机肥,如动物厩肥、绿肥、作物秸秆和城市垃圾等增加了土壤酶的活性,虽然有机肥中常常含有酶,但土壤酶活性的增加主要是由于施入的有机物质刺激了微生物的活性引起的。

土壤质量指标应该具有时间性,即在较短时间内反映出土壤质量的变化。土壤酶活性的变化常常发生在数月或一年内,因此酶活性可以比土壤有机质更早地反映出土地管理措施的影响。Dick 和 Miller 发现,经过 2 年的不同管理(烧杂草、不烧杂草、牧草单作和轮作),土壤总碳量没有变化,但硫代葡萄糖苷酶活性差异显著。此外,土壤质量指标在季节内和季节间的变异不能过大,否则结果无法解释。有关这方面的田间试验结果相对较少。Martens 等的研究表明,在 31 个月的试验过程中,施用不同有机物处理的土壤酸性磷酸酶活性的稳定性明显好于不施肥的处理。其他的一些结果也表明,耕作条件下大多数土壤酶活性的年际间变异很小,但是氢化酶和淀粉酶的季节性变化较大。因此,在确定土壤质量的酶活性指标前,需对其季节性稳定性进行筛选。

利用土壤酶活性评价干扰对土壤质量的影响时,需要与参照系或特定地区状况进行比较。为了简化评价步骤,合理评价某个时刻的土壤质量,有些研究者提出了一些综合指标。Stefanie 等曾提出一个生物肥力指标(biological index of fertility, BIF):

$$\text{BIF} = (\text{DH} + k\text{CA})/2$$

式中, DH 为脱氢酶活性, CA 为过氧化氢酶活性, k 为系数。Beck 提出了酶数量(enzymae number, EAN)指标:

$$\text{EAN} = 0.2(\text{DH} + \text{CA}/10 + \text{AP}/40 + \text{PR}/2 + \text{AM}/20)$$

式中, DH 为脱氢酶活性(gTPF/10kg/27h), CA 为过氧化氢酶活性(% O₂/3min), AP 为碱性磷酸酶活性(mgPNP/10kg/5h), PR 为蛋白酶活性(g 氨基 N/10kg/16h), AM 为淀粉酶活性(% 淀粉分解/10g/16h)。Beck 计算了不同土壤的 EAN 值,发现耕作土壤的变幅为 1—4,草地和森林土壤为 2—8。此外,Perucci 还提出了水解系数(hydrolyzing coefficient, HC),即土壤水解的荧光乙酸盐(μ mol)与加入的荧光乙酸盐(μ mol)的比值(在 0 和 1 之间)。他研究了城市垃圾对土壤 HC 的影响,发现每年加入 30 和 90Mg/ha 的垃圾,3 年后土壤 HC 由 0.142 分别上升到 0.218—0.367 和 0.245—0.442;土壤的 BIF 与土壤酶活性或微生物生物量 C 无显著相关。而土壤的 EAN 和 HC 与微生物生物量 C 呈显著相关^[4]。

对于酶活性指标,目前研究的重点是寻找一个相对或统一的指标,它不需要通过在时间上的多次测定或在处理间的比较来作解释。土壤生物活性的变化很大,例如管理良好的砂性土壤中生物学活性虽然理想,但仍较管理不良的粘质土壤的生物学活性低。这就要求我们评价土壤质量是采用生物学活性系数或比率,而不是用单纯的土壤酶活性指标。对于土壤酶,酶活性和有机碳或粘粒含量的比值比较合适。土壤酶活性与作物产量间没有一致的相关性,施肥和灌溉等因素可能只影响植物的生产力而不影响土壤的生物学活性。统一指标的进一步目标是要与植物生产力相关,因此这个指标必须是土壤生物学、化学和物理学重要参数的综合。

2.4 土壤酶分析方法的标准化

在用土壤酶活性作为土壤质量指标时,必需对酶分析方法和程序的标准达成一致。分析土壤酶活性是将一定量的土壤加入到已知浓度的底物中,测定底物的消失速率或产物的产生量。在酶分析过程中抑制微生物增殖的试剂也会影响土壤酶的活性,例如常用的抑制剂甲苯对一些氧化还原酶有抑制作用,但对其他酶的影响很小。使用甲苯时分析必需在几小时内完成,时间过长微生物会增殖。酶分析测定时,还需限定温度、pH 缓冲剂和培养时间等操作条件。由于分析是在底物充足的理想条件下进行的,因此得到的结果是潜在的酶活性,不能表示酶在原位条件下的活性。尽管一些试验测定了静态土壤样品的酶活性,但其结果会受到样品搅拌和振荡的影响。

土壤样品的预处理和贮藏也是影响土壤酶活性的重要因素。风干土样和田间新鲜土样都可用于土壤酶活性的测定,后者能更好地提供田间状态下的结果。风干过程通常降低了土壤酶的活性,也有一些酶的活性增加。从分析角度讲,风干简化了土样的处理过程,但是否需要风干取决于酶对风干的敏感性和分析的目的。风干处理有利于非生物活性酶的测定,而田间新鲜样品有利于土壤溶液或活细胞中外酶(exoenzymes)的测定。风干处理能消除土壤新近添加物对酶活性的刺激作用,通过测定与土壤基质复合的酶的活性反映土壤酶的长期生物学活性。

土壤中无机成分对底物的催化作用使得土壤酶活性的结果偏高。例如测定过氧化氢酶的底物 H₂O₂ 能被无机组分分解。Dick 和 Deng 发现 11% 的硫氰酸酶活性与无机催化作用有关。

因此利用土壤酶活性作土壤质量指标时需要估计这种无机催化作用的影响^[4]。

综上所述,由于土壤酶反应过程相对简单、迅速,并且按既定的程序进行;土壤酶活性对环境条件和耕作管理等因素造成的土壤变化十分敏感;土壤的非生物酶活性可以提供管理措施对土壤长期影响的信息,因此土壤酶的潜在活性可作为土壤质量的评价指标。在土壤酶活性被用作土壤质量指标之前,土壤样品的预处理、分析过程、测定单位必须标准化。此外,还需要在不同的生态系统中和长期土壤管理地区进行系统研究,选择最合适的土壤酶活性指标,并且证实和解释这些指标作为独立的土壤质量指标,或作为统一的综合指标的一个组分的原因。

3 土壤质量的动物指标

生态学指标是指在特定地区的植物或动物,它们的出现显示了某种环境条件的存在。一般选择生态系统中的代表性生物种群作为生态学指标,用它们的变化来代替系统中的其他生物组分,这些指标生物应满足以下几个条件:能及时和精确地反映系统的变化;能反映某些方面的生态系统功能;经济易得;在分布上具有同一性并且在环境中表现出时空分布的独特性。土壤动物影响着土壤中的一些重要过程,如土壤有机质分解、养分循环和土壤结构形成等,因此可作为土壤质量的评价指标。

3.1 土壤动物和土壤过程(soil processes)

土壤动物是由一群大小差异很大的生物组成的,从直径几个毫米(原生动动物)到几个厘米(陆地蜗牛)或长度超过一米(长蚯蚓)。虽然很多脊椎动物显著影响着土壤的某些性质,但从生物量和数量上来说,土壤动物仍以无脊椎动物为主。土壤动物的大小和生活方式,尤其是它们的运动和摄食方式,决定了它们影响土壤过程的方式和程度。

土壤微生物(microfauna)的个体大小 $<100\mu\text{m}$,如原生动物门、线虫纲和轮虫纲生物,是存在于土壤团粒表面水膜中的水生生物。由于个体细小,它们对土壤结构的直接作用很小,但是它们与土壤微生物间的营养关系影响着土壤养分的有效性。原生动物和一些游离的线虫以土壤细菌和真菌为食,其摄食的强度影响了微生物的数量和微生物生物量的转化速率,从而影响了土壤有机物质的矿化和养分的有效性。

土壤中型动物(mesofauna)的个体大小在 $100-2000\mu\text{m}$ 之间,包括螨虫(蜱螨亚纲)、弹尾目、小昆虫(昆虫纲)、蜘蛛(蛛形纲)以及与蚯蚓属于同一个寡毛纲的线蚓科。这些生物形成的不同食物链在土壤过程中起了十分重要的作用。如食细菌动物(bacterivores)和食真菌动物(fungivores)以微生物为食;杂食动物(omnivores)和食肉动物(predators)以其他中型动物为食;食腐动物(detritivores)以植物残体或碎屑为食,增加了有机物质的表面积,促进了微生物的侵染,从而加速了有机物质的降解和矿化;线蚓科等较大的中型动物通过钻洞和排泄球状排泄物产生团粒,增加了水分的人渗和土壤孔隙度。

土壤大型动物(macrofauna)和巨大型动物(megafauna)的个体大小 $>200\mu\text{m}$,对土壤性质的直接作用最大,包括蚂蚁(蚁科)、白蚁(等翅目)、端足目、等足目、蜈蚣(唇足亚纲)、千足虫(倍足亚纲)、昆虫的成虫和幼虫(昆虫纲)、蚯蚓、蜗牛和蛞蝓(软体动物门)。土壤大型动物粉碎和重新分配了土壤剖面中有机残留物,增加了有机物质对微生物活动的表面积的有效性,因此这种作用在一些土壤中可以增加有机物质的分解和养分在根区的有效性。一些大型土壤动物,尤其是蚂蚁、白蚁和蚯蚓,能够通过形成大孔隙和团粒显著地改善土壤结构,影响土体内的人渗作用、导水率和溶质淋移,并且增强了土壤的环境污染的缓冲能力。总之,土壤动物的活动影响了土壤中的大多数过程,因此土壤动物的数量、多样性或活性能够作为土壤质量的有用

指标^[5]。

3.2 土壤质量的动物指标

本世纪初, Kolkwitz 和 Marsson 在污水生物系统(saprobien system)中开始系统研究利用生物群落的变化作为环境变化的指标。他们根据耐性指示生物的存在或缺失对有机污染区进行分级分区, 这个分类系统随后不断被修改用以评价水体质量。近年来人们对持续农业、土壤污染和土壤恢复方面的兴趣日益增加, 不少研究者开始尝试用土壤动物作为评价土壤质量的生物指标。Ohtonen 等发现工业化学物质的释放减少了顺风区的土壤动物数量; Krivolutzkii 和 Pokarxhevskii 也发现切尔诺贝尔事故中放射性物质泄漏减少了污染区的土壤动物数量。Koehler 对比研究了污染区和非污染区土壤动物群落的差异, 发现一些种或生物组合对于污染有响应, 可以作为干扰的生物指标。Beckman 研究了干扰发生后生物指标的响应时间, 结果表明由于土壤螨类扩散能力较差、增殖周期较长, 相对于其他中型动物而言它在干扰系统中定居时间较迟。

土壤动物指标可分为三类。第一类是在个体和种群水平上, 包括个体的行为、形态学和生理学指标, 以及种群数量和生物量、种群的出生率、死亡率和生长速度。第二类是在群落水平上, 包括功能组指标, 营养组的食物链和食物网, 多样性方面的种类丰度、优势种等。第三类是生物学过程, 包括重金属和有机污染物的生物积累, 有机质的分解、C 和养分的矿化, 土壤结构的形成(如动物洞穴、排泄物分解与土壤团聚体、有机物质混合及再分布)。从生物水平上来说, 土壤动物的行为、生物化学、形态学、生理学、病理学、生长和繁殖的变化可以用作灵敏的诊断指标, 但必须根据环境条件选择合适的参数。土壤动物种相对丰度的变化是一个很好的指标, 但要证明这种变化是由于干扰而非自然条件变化所引起的^[5]。

研究表明: 线虫个体小, 生长周期短, 对食物供应的变化响应迅速; 线虫可在干燥条件下生存, 并在恢复潮湿后复活; 线虫的种群相对稳定, 其变化可以反映系统受干扰的变化; 线虫种群的变化通常反映了营养结构的变化; 线虫的功能或营养结构很容易鉴别, 这些特性决定了它可作一个重要的生物指标。已往农业生态系统中的研究大多集中于具有经济意义的植物寄生线虫, 没有对非共生线虫群落进行广泛研究。Bohlen 和 Edwards 利用玉米田间试验和大豆盆栽试验研究了土壤线虫营养组对养分输入的反应关系, 养分输入处理包括: 无机 N 肥(NH_4NO_3)、牛粪肥和豆科作物残茬覆盖。研究表明, 施用有机肥增加了食真菌和食细菌线虫的密度, 残茬覆盖对食真菌线虫密度的增加幅度最大, 食细菌线虫密度在残茬覆盖和牛粪肥处理中都大量增加, 而在无机 N 肥处理中没有显著变化。植物残茬处理中食真菌线虫的数量和比例均比牛粪处理高, 其原因是由于土壤中有有机物质的组成不同。土壤中牛粪肥分解以细菌占主导地位, 而植物残茬中的难分解物质含量较高, 促进了真菌的生长, 因而食真菌线虫的密度更高。植物寄生线虫和杂食性线虫密度比食真菌和食细菌线虫低一个数量级, 试验结果表明在无机 N 肥处理中, 植物寄生线虫的数量显著高于牛粪和残茬覆盖处理, 而在残茬覆盖处理中杂食性和捕食线虫密度略高于其他处理。总之, 土壤中输入养分的数量以及有机物质的有效性和组成影响了土壤中线虫群落的结构和变化^[6]。

在复杂的土壤生物群落中, 土壤动物间的养分关系是沿食物链(food chains)或食物网(food webs)进行的养分和能量的流动。因此土壤食物网的结构和功能可以作为一个指标, 评价管理措施引起土壤质量的变化。一些研究表明, 农田系统中免耕和耕翻条件下的以真菌为基础的食物网有明显差异。

多样性指标常用于测定群落结构的变化, 很少用于土壤动物方面的研究。这些指标是在

大量信息基础上总结而得,费时费力,很少提供土壤变化机制方面的信息,而且往往无法对变化进行预测估计。

土壤动物对土壤结构的影响可能是评价土壤质量的最好的长期指标。在土壤动物中研究最多的是蚯蚓,蚯蚓对土壤有机质转化和土壤结构形成有重要作用。大量的研究表明,土壤质地、湿度、pH、耕翻、作物残留物、化学添加剂等都能影响它的种群和丰度,因而是土壤质量变化的一个极其重要的指标。例如 Graefe 利用蚯蚓和线蚓科种群结构作土壤湿度和酸度的指标。

土壤中植物残体的降解速率、土壤气体(CO_2 、 N_2O 、 CH_4 等)和土壤酶活性受土壤动物直接或间接的影响,可作为土壤动物变化的指标。Wolters 发现动植物残体中养分的分解、释放是受土壤动物强烈影响的一个多步骤土壤过程,这些过程及其产物和参与的生物都已被用作土壤质量的指标。

土壤动物指标的应用有三方面的限制:一是耐性动物可能存在于未受干扰的系统中;二是环境条件和干扰因素一样可限制土壤动物种群的分布;三是把土壤动物分为耐性(tolerant)、正常(facultative)和非耐性(intolerant)三类是主观的,因为耐性标准随环境条件不断变化。此外,利用土壤动物指标评价土壤质量还涉及到两个重要问题,一个是土壤动物指标的选择,必须根据不同问题选择监测的个体、群落功能和过程;另一个是评价土壤质量必须选择一个基准点或参照点,其关键是能评价土壤质量的动态变化而不是仅能评价土壤本身的健康或质量^[5]。

土壤动物个体、群落或过程的变化与土壤功能的相应变化之间存在十分密切的关系。因此,需要根据与植物生长、土壤水分分配和降低土壤环境污染的相关性,以及评价目的和目标区的环境条件,选择评价土壤质量的生物学、化学和物理学土壤性质指标体系,以此评价管理措施在过去、现在和将来对土壤质量的影响。实际上根据特定状况确定一套兼顾广泛性和专一性的最简单的土壤性质评价指标体系比寻找一个绝对的统一指标更有意义和更实用。

参 考 文 献

- [1] Turco, R.F. et al., Defining Soil Quality for a Sustainable Environment, 73 - 90, Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1994.
- [2] Eash, N. S., et al., Defining Soil Quality for a Sustainable Environment, 221 - 228, Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1994.
- [3] Fauci, M. F. and R.P. Dick, Defining Soil Quality for a Sustainable Environment, 229 - 234, Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1994.
- [4] Richard P. Dick, Defining Soil Quality for a Sustainable Environment, 107 - 124, Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1994.
- [5] Linden, D. R. et al., Defining Soil Quality for a Sustainable Environment, 91 - 106, Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1994.
- [6] Bohlen, P. J. and C. A. Edwards, Defining Soil Quality for a Sustainable Environment, 235 - 244, Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin, USA, 1994.