

不同种植时间菜园土壤微生物 生物量和酶活性变化特征

曹 慧 杨 浩 孙 波 赵其国

(中国科学院南京土壤研究所 南京 210008)

摘 要 土壤生物学指标能够反映土壤质量在各种自然和人为作用下的微小变化,是敏感的土壤质量指标。本文以太湖地区高强度开发为背景,研究了不同利用年限的菜园土壤微生物生物量 C 和酶活性的变化特征。研究表明,菜园土壤随着利用年限的不断增加,土壤养分逐渐升高,土壤脲酶活性、土壤微生物生物量 C 与土壤有机质、全 N、全 P 之间具有良好的线性关系,土壤纤维素酶活性随菜地利用时间增加有上升的趋势,它们能较好地地区别不同利用年限的菜地土壤,可以作为敏感的土壤生物学指标。但土壤转化酶活性与土壤养分的变化没有明显的相关性。

关键词 土地利用;土壤肥力;土壤微生物生物量;土壤酶活性

长期以来,土壤理化性质一直被用来作为表征土壤肥力质量的指标。特别是土壤有机质,被看作是反映土壤肥力质量的一个综合指标,是土壤各种营养元素特别是 N、P 的重要来源。但土壤有机质的变化比较缓慢,难以反映土壤遭受干扰时的各种短期的、微小的变化^[1]。随着世界人口的不断增加,土壤资源面临着越来越大的压力,因而,寻找某些敏感的土壤质量指标,是近年来土壤科学的一个主要研究内容。在这一方面,已经对土壤微生物生物量和酶活性等土壤生物学性质开展了大量地研究工作,并取得了相当多的研究成果^[2-4]。

土壤微生物生物量和土壤酶活性以及其它生物学参数与土壤理化性质之间具有较好的关联性,在土壤生态系统扰动后存在显著的长期与短期响应,尤其在一个没有管理的生态系统,或者是一个低投入的农业生态系统中,这种关系更为明显。土壤微生物生物量和土壤酶活性也能在某种程度上反映环境污染物(重金属、农药和酸沉降等)的影响,能区别不同的农业管理方式。但土壤微生物生物量和酶活性能否反映人为干扰强度较大的土壤生态系统,能否作为土壤质量指标,在这一方面,不同研究得出的结果并不相同^[5,7];在研究区域上,对亚热带丘陵地区不同土地利用类型、不同环境条件下的土壤酶活性特征研究甚少^[8]。本项目分析了土壤微生物生物量 C 和参与 C、N 循环的 3 种酶活性,通过比较不同土地利用方式条件下土壤微生物生物量和酶活性特征,探讨土壤微生物生物量和土壤酶活性作为土壤肥力质量的可行性,试图为高强度农业开发背景下的太湖丘陵地区的土壤质量演变提供某些早期的、敏感的土壤生物学指标。

1 材料与方法

1.1 供试土壤样品与采样方法

供试土壤采集于江苏苏州市吴中区(原吴县市)旺山村,采样时间为 2000 年 8 月。分别选择土地利用 3 年、4 年、5 年、20 年和 30 年的菜园地进行采样,土壤样品为混合土

样,即用直径 4cm 的土钻采集 0~20cm 土层,每个土样由 8~10 个采集点的土壤混合而成。样品采集后除去植物根系、石块等,分为两部分处理:一部分土样风干、研磨,用于土壤的化学和酶活性的测定;另一部分土样过 4mm 筛,保存在冰箱(4℃左右)内,1 周内测定土壤微生物生物量 C。

1.2 土壤样品的测定

1.2.1 土壤样品的化学分析 土壤 pH 采用电位法(水提),土壤有机质高温外热重铬酸钾氧化—外加热法,土壤全 N 采用开氏法,土壤水解性 N 采用碱解扩散法,具体方法参考土壤农业化学分析方法^[9]。

1.2.2 酶活性的测定^[10]

土壤脲酶活性的测定:取 5 g 风干土,置于 50ml 三角瓶中,加 1ml 甲苯。15min 后加入 10 ml 10% 尿素液和 20ml pH6.7 柠檬酸缓冲液。摇匀后在 37℃ 恒温箱中培养 24h。过滤后取 0.3ml 滤液注入 50ml 容量瓶中,加蒸馏水至 20ml,再加 4ml 苯酚钠溶液和 3ml 次氯酸钠溶液,随加随摇匀。20min 后显色,定容。同时配制 N 的标准溶液,按过滤液相同的方法显色和定容。1h 内在分光光度计上于波长 578nm 处比色,单位为 NH_4^+ mg / (g 土 · 24h)。

土壤纤维素酶活性的测定:分别取不同浓度标准葡萄糖溶液 1ml 移于 25ml 容量瓶中,加 3ml 二硝基水杨酸溶液。将容量瓶放在沸腾水浴上 5min,然后迅速冷却 3min。定容,15min 后在分光光度计上于波长 540nm 处比色测定。以光密度值为纵坐标,以葡萄糖浓度为横坐标。绘制标准曲线。称 10g 土壤置于 50ml 三角瓶中,加 20ml 1% 羧甲基纤维素溶液、5ml pH5.5 磷酸盐缓冲液及 1.5ml 甲苯,将三角瓶放在 37℃ 恒温箱中培养 72h,同时做空白对照。培养结束后,过滤并定容。取 1ml 滤液,然后按与做标准曲线的相同步骤测定,单位为葡萄糖 $\mu\text{g}/(\text{g 土} \cdot 24\text{h})$ 。

土壤转化酶的测定:与土壤纤维素酶活性相同步骤绘制葡萄糖标准曲线。称 5g 土壤置于 50ml 三角瓶中,加 15ml 8% 蔗糖溶液、5ml pH 5.5 磷酸盐缓冲液及 5 滴甲苯,将三角瓶放在 37℃ 恒温箱中培养 24h,同时做对照。培养结束后,过滤。取 1ml 滤液,然后按与做标准曲线的的步骤相同。土壤转化酶活性的单位为葡萄糖 $\mu\text{g}/(\text{g 土} \cdot 24\text{h})$ 。

1.2.3 土壤微生物生物量 C 的测定 称取新鲜土壤 20g,按土水比 2.5:1 加入 50ml 0.5mol/L K_2SO_4 ,振荡 30min,过滤。与此同时,称取另一份相同的土壤,放入真空干燥器中,内置一装有 50ml 无酒精 CHCl_3 的烧杯,用真空泵抽至 CHCl_3 沸腾并保持 2min,在 25℃ 的恒温培养箱中,土壤被 CHCl_3 熏蒸 24h,熏蒸结束后,用真空泵抽气法除去土壤中 CHCl_3 ,用 0.5mol/L K_2SO_4 提取熏蒸的土壤^[11]。用改良费尔恩法^[12]测定提取液中的有机 C。土壤微生物生物量 C 以熏蒸和未熏蒸土壤提取液中有机 C 的差值乘以换算系数得到,土壤微生物生物量 C 系数为

2.64^[13],单位是 mg/kg。

表 1 土壤样品的化学性质

利用年限 (年)	pH	有机质 (g/kg)	全 N (g/kg)	全 P (g/kg)	水解 N (mg/kg)	速效 P (mg/kg)
3	6.57	17.50	0.83	0.47	154.06	53.32
4	6.75	18.85	1.11	0.68	166.90	85.75
5	6.40	20.80	1.30	1.09	314.53	155.23
20	7.16	25.00	1.44	1.24	198.99	175.92
30	7.00	27.10	1.89	1.51	224.67	246.89

2 结果与分析

2.1 菜园土壤养分随不同利用时间的变化特点

从表 1 可以看出,菜园土壤随着种植年限的不断增加,土壤

养分含量是逐渐上升的。3 年菜地土壤有机质为 17.50 g/kg,30 年后增至 27.10 g/kg,增加

54.86%。土壤全 N、全 P 和速效 P 亦有稳定的增加。菜园土壤养分的增加，主要是各种人为作用的影响，尤其是菜园土壤大量施用人畜粪尿、有机垃圾和其它有机残体的结果。一些研究甚至提出菜园土壤可以用速效 P 含量、人工腐殖厚度以及有机质含量作为菜园土壤系统分类的指标^[14]。

2.2 不同种植时间菜园土壤微生物生物量和酶活性的变化特点

随着土壤养分含量的增加，土壤微生物生物量和酶活性也发生了明显的变化。图 1 表明，经过 30 年蔬菜的种植，土壤微生物生物量 C 由 3 年菜地的 210.11mg/kg 上升到 535.99 mg/kg，增加 1.55 倍。显然，土壤微生物生物量 C 与有机质相比，更能敏感地指示菜园土壤发生的各种变化。

不同土壤酶活性随菜园土壤利用年限的增加有所差别。土壤脲酶直接参与土壤中含 N 有机化合物的转化，其活性强度常用来表征土壤 N 素供应程度^[15]。土壤脲酶活性从 3 年菜地的 68.88 到 30 年 158.92

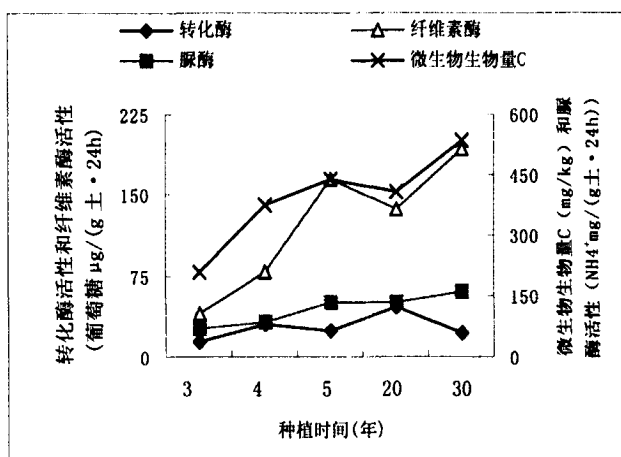


图 1 不同利用时间土壤有机质微生物生物量 C

NH_4^+ mg/(g 土 · 24h)，增加 1.31 倍。土壤纤维素酶活性也呈波动上升的趋势，即菜园土壤纤维素酶活性从 3 年到 5 年迅速增加，20 年后反而降低，30 年的菜园土壤纤维素酶活性又略有上升。土壤转化酶活性对土壤养分没有良好的响应。

2.3 土壤微生物生物量 C 和酶活性与土壤养分的关系

土壤养分含量，尤其是土壤有机质是土壤微生物重要的 C 源和 N 源，而土壤微生物的种类和数量又在某种程度上决定土壤酶的来源。为了探讨土壤养分与土壤微生物生物量以及酶活性之间的关系，将上述土壤性质间的相关系数矩阵列于表 2。

表 2 菜园土壤微生物生物量 C 和酶活性与土壤养分的相关系数

	有机质	全 N	全 P	水解 N	速效 P	转化酶	脲酶	纤维素酶	微生物量 C
有机质	1.00								
全 N	0.96*	1.00							
全 P	0.96**	0.97**	1.00						
水解 N	0.29	0.41	0.54	1.00					
速效 P	0.96**	0.99**	0.99**	0.51	1.00				
转化酶	0.39	0.24	0.35	0.01	0.26	1.00			
脲酶	0.92*	0.95*	0.99**	0.63	0.98**	0.32	1.00		
纤维素酶	0.84	0.92*	0.96*	0.74	0.95*	0.22	0.98**	1.00	
微生物量 C	0.83	0.94*	0.92*	0.58	0.92*	0.28	0.92*	0.94*	1.00

* : $p < 0.05$; ** : $p < 0.01$ 。

从表 2 可以看出，土壤脲酶与土壤养分之间的相关性最好，它与土壤有机质、全 N、全 P 和速效 P 之间都存在着显著相关，相关系数分别为 0.92、0.95、0.99 和 0.98。其次是土壤纤维素酶活性和土壤微生物生物量 C，它们与全 N、全 P 和速效 P 之间都存在着显著相关。但土壤转化酶活性与土壤各种养分之间没有良好的相关性。

土壤酶活性之间, 以及土壤酶活性与土壤微生物生物量 C 之间也存在着某种关联, 这集中体现在土壤脲酶活性、土壤纤维素酶活性与土壤微生物生物量 C 之间。如土壤微生物生物量 C 与土壤脲酶活性、纤维素酶活性之间的相关系数为 0.92 和 0.94, 达显著相关。

3 结 论

通过对太湖流域丘陵地区菜园土壤不同利用时间条件下的土壤微生物生物量 C 和 3 种土壤酶活性的比较分析, 探讨了土壤微生物生物量 C 和 3 种酶活性作为土壤肥力质量指标的可能性。

(1) 菜园土壤随着利用时间的不断增加, 土壤养分含量逐渐升高。其中, 土壤速效 P 和全 P 的增加幅度最高, 其次为土壤全 N 和水解 N, 而土壤有机质的增加幅度相对较小。

(2) 土壤微生物生物量 C、土壤脲酶活性和土壤纤维素酶活性与土壤有机质、土壤全 P 和速效 P 之间存在良好的线性关系, 它们性能较好地区分出不同种植时间的菜地土壤, 并且比土壤有机质变化幅度更大, 因而能更为敏感地指标土壤质量的变化。

(3) 土壤微生物生物量 C、土壤脲酶活性和土壤纤维素酶活性之间同样存在着显著的相关性, 但土壤脲酶和纤维素酶在多大程度上来源于土壤微生物, 植物对这类酶活性的影响如何, 这些问题还有待进一步探讨。

参 考 文 献

- 1 Sparling GP. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic matter carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Aust J Soil Res.*, 1992, 30:195~207
- 2 Brookes PC, Landman A, Pruden G and Jenkinson DS. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 1985, 17, 837~842
- 3 Powlson DS, Brookes PC and Christensen BT. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation. *Soil Biol. Biochem.*, 1987, 19:159~164
- 4 俞慎, 李勇, 王俊华等. 土壤微生物生物量作为红壤质量生物指标的探讨. *土壤学报*, 1999, 36(3): 413~422
- 5 周礼恺. 土壤酶活性的总体在评价土壤肥力水平中的作用. *土壤学报*, 1983, 20(4): 413~417
- 6 Zantua, MI and Bremner JM. Preservation of soil samples for assay of urease activity. *Soil Biol. Biochem.*, 1975, 7:297~299
- 7 Verstraete W and Voets JP. Soil microbial and biochemical characteristics in relation to soil management and fertility. *Soil Biol. Biochem.* 1977, 9: 253~258
- 8 Piao HC, Liu GS, Wu YY et al. Relationships of soil microbial biomass carbon and organic carbon with environmental parameters in mountainous soils of southwest China. *Biol Fertil Soils*, 2001, 33:347~350
- 9 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999
- 10 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986
- 11 许光辉, 李振高. 微生物生态学. 南京: 东南大学出版社, 1991
- 12 杜丽娟, 文启孝. 应用费尔恩法测定氯化钠盐土或底土中的有机碳. *土壤*, 1982, 14(4): 149~151
- 13 Vace ED, Brookes PC and Jenkinson DS. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 1987, 19(6):703~707
- 14 张民, 马丽, 李文庆, 贾继文, 陈宝成. 我国菜园土壤的资源特点与持续利用. *山东农业大学学报*, 1999, 30(4): 317~322
- 15 杨玉盛, 何宗明, 俞新妥等. 杉木林取代阔叶林后土壤微生物学活性变化的研究. *应用与环境生物学学报*. 1997, 3 (4):313~318