

土壤微生物生物量作为红壤质量生物指标的探讨*

俞慎 李勇 王俊华 车玉萍 潘映华 李振高

(中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要 本文测定了中国科学院红壤生态实验站内林地、不同施肥制度的红壤旱地和受有机农药污染地的土壤微生物生物量,探讨了土壤微生物生物量作为红壤生态系统土壤质量生物指标的可行性。结果表明,土壤微生物生物量能够灵敏地反映出不同植被对红壤生态系统的修复或重建作用,反映了不同施肥制度对红壤可耕地培肥作用的差异,以及检测出多效唑和杀虫脒对土壤的污染。因此,土壤微生物生物量可以作为红壤生态系统土壤质量的生物指标。

关键词 微生物生物量,土壤质量生物指标,红壤

中图分类号 S154.36

在自然土壤中生存着大量的微生物群,它们进行着一系列正常健康土壤所必需的生物化学反应和作用。土壤微生物参与土壤的碳、氮、磷、硫等元素的循环过程和土壤矿物的矿化过程;对土壤结构,尤其是团聚体的形成及其稳定性起着决定性的作用;同时也影响了植物根系和地上部分的生长^[1]。在土壤质量的演变过程中,土壤微生物具有相对较高的转化能力,因而土壤微生物可以作为灵敏的指示指标,能较早地预测土壤有机物的变化过程^[2]。土壤微生物学研究者一直致力于寻找合适的土壤生物指标来反映土壤的生物活性(土壤质量的一个重要方面)。由于土壤微生物的生境庞大,使得土壤微生物区系的分析研究工作十分耗时费力。近年来,土壤微生物工作者致力于寻找既能反映土壤微生物的区系结构和功能,又能找到简单快速的土壤微生物区系研究方法或间接指标。

土壤微生物生物量一直被世界各国学者作为土壤质量的生物指标进行研究和探讨。它和土壤微生物区系、土壤呼吸强度、土壤酶活性、土壤微生物多样性等,常被研究者进行比较研究^[3,4]。许多学者研究发现土壤微生物生物量与土壤肥力和土壤健康有十分紧密的关系,比如土壤微生物生物量和潜在的土壤可利用氮之间存在着显著的正相关,这已被厌氧培养或其它方法多次证实^[2]。土壤微生物生物量测定方法的不断改进和简化^[5,6],也使得土壤微生物生物量的研究更加深入。

* 国家自然科学基金重点项目(批准号:49631010)子课题

收稿日期:1997-08-06;收到修改稿日期:1998-05-23

本文应用熏蒸直接提取法分析测定了中国科学院红壤生态实验站内的三个长期定位试验地(林地、不同施肥制度的红壤旱地和受有机农药污染地)的土壤微生物生物量,探讨了土壤微生物生物量作为红壤区土壤质量生物指标的可行性和以之来监测红壤生态系统的恢复和土壤肥力的改善状况的可能性。

1 材料和方法

1.1 供试土壤和采样方法

供试土壤为江西省鹰潭市中国科学院红壤生态试验站内的第四纪红壤,土壤样品为混合土样(采自 0~20cm 土层,由 10 点采集样混合而成)。土样置于冰箱(4℃左右)内,1 周内完成分析工作。

1.1.1 林地 该长期定位试验启动于 1989 年,主要研究不同植被对红壤生态系统重建或进行生物修复的作用。我们仅采集了该试验中的 4 个处理,即 3 种不同的林地和对照荒地处理。4 种不同植被分别为自然的野草荒地、马尾松(*Pinus massoniana* Lamb.)林、小叶栎(*Quercus chenii* Nakai)林、马尾松和小叶栎混合林。采样时间分别为 1995 年 3 月和 8 月、1996 年 8 月。

1.1.2 不同施肥制度的红壤旱地¹⁾ 红壤旱地不同施肥制度长期定位试验也启动于 1989 年,供试作物为花生。该长期定位试验目的在于探索不同施肥制度对红壤旱地的培肥和增产作用。我们采集了其中的对照(原始荒地、未处理)、常规氮磷钾(尿素 49.5kg/hm²,氯化钾 75kg/hm²,钙镁磷肥 315kg/hm²)、秸秆(常规氮磷钾+稻草 3,000kg/hm²)、绿肥(常规氮磷钾+鲜萝卜菜 15,000kg/hm²)和厩肥(常规氮磷钾+猪粪 15,000kg/hm²)5 个处理,小区重复 4 次。采样时间为 1996 年 8 月。

1.1.3 红壤有机农药污染地 有机农药的定位试验布置于 1993 年,农药为多效唑(*Pacloutrazol*)和杀虫脒(*Chlordimeform*)。处理分别为:多效唑设有对照(不施)和 0.15mg/kg·a 2 种浓度和花生、水稻两种作物处理;杀虫脒设有对照(不施)、0.25mg/kg·a 和 1.00mg/kg·a 3 个浓度,作物为水稻,小区重复 3 次。花生和水稻试验的施肥量都为尿素 325kg/hm²,氯化钾 300kg/hm²,钙镁磷肥 750kg/hm²。该试验主要研究多效唑和杀虫脒这两种农业有机化学物质引起的土壤污染对作物生长的影响和它们在土壤中的降解。采样时间为 1996 年 8 月,土样为 3 个重复之混合土样。

供试土壤的基本性质见表 1。

1.2 分析方法

1.2.1 土壤全碳、全氮和 pH 的测定 全碳测定方法为重铬酸钾容量法,全氮测定方法为凯氏消煮-半微量蒸馏法,pH 以 2.5:1 的水土比用 PHS-3 酸度计(上海第二分析仪器厂)测定。

1.2.2 土壤微生物生物量碳氮的熏蒸和提取 以水土比 2.5:1 加入 0.5mol/L K₂SO₄溶液,在往复振荡机上振荡 30 分钟,干滤纸过滤,滤液置于冰箱中保存备用。同时,取另 1 份土样放入真空干燥器中,内置一装有 50 毫升氯仿的烧杯,密封后用真空泵抽至氯仿沸腾 1 分钟,尔后密闭,将干燥器放入 25℃左右的恒温培养箱中培养 24 小时,次日,将氯仿移去,如前提取待测液。

1.2.3 K₂SO₄提取液的碳氮测定 用改良费尔恩法^[7]测定提取液中的全碳含量,用凯氏消煮-半微量蒸馏法测定提取液的全氮含量,详见 Brookes 等文献 [5]。

土壤微生物生物量碳氮含量以熏蒸和未熏蒸的土壤 0.5mol/L K₂SO₄提取液的碳氮含量的差值乘以

1) 来自于鲁如坤先生和钱承梁先生的红壤站田间试验。

表1 供试土壤的基本性质

Table 1 Basic properties of red soils for three long-term experiments

采样时间	试验地及处理		土壤全碳	土壤全氮		
Sampling time	Land for experiment and treatment		Total carbon	Total nitrogen	pH	
			(C, g/kg)	(N, g/kg)		
1995.3		荒地	3.16	0.49	4.88	
		马尾松林	9.06	0.99	4.61	
		小叶栎林	9.31	0.97	4.60	
		混合林地	5.20	0.66	4.62	
1995.8	林地	荒地	5.13	0.51	/	
		马尾松林	10.73	0.84	/	
		小叶栎林	13.56	1.14	/	
		混合林地	7.98	0.53	/	
1996.8		荒地	5.37	0.57	/	
		马尾松林	13.93	1.11	/	
		小叶栎林	13.92	1.16	/	
		混合林地	7.89	0.74	/	
1996.8	不同施肥 制度红壤 旱地	对照	1.39	0.154	3.89	
		氮磷钾	3.05	0.206	5.44	
		秸秆	4.60	0.348	5.18	
		绿肥	5.05	0.411	5.31	
		厩肥	6.37	0.531	5.54	
1996.8	红壤有机 农药污染地	花生	CK	9.35	0.75	5.87
		多效唑	0.15mg/(kg·a)	9.90	0.78	5.75
			水稻	CK	8.48	0.99
		杀虫脒	0.15mg/(kg·a)	7.00	1.03	5.21
			CK	9.32	0.94	4.72
		1.00mg/(kg·a)	8.16	0.91	4.92	
5.85	0.57	4.62				

系数计算得到,土壤微生物生物量碳系数为 2.64^[6],微生物生物量氮系数为 1.85^[5]。

2 结果和讨论

2.1 不同植被覆盖下的红壤微生物生物量碳、氮

土壤微生物生物量碳、氮虽然在土壤全碳和全氮含量中所占的比例很小,一般只有百分之几,但它是土壤有机质中最为活跃的部分,它调节着土壤养分的释放和吸储,对提高土壤养分的生物有效性和利用率起着积极的作用。因此,土壤微生物生物量可以反映出土壤养分有效性状况以及土壤生物活性,即土壤质量的一个重要方面。

不同的植被覆盖下红壤微生物生物量碳的含量差异很大。以单一的马尾松和小叶栎处理的土壤微生物生物量碳含量最高,其次是马尾松和小叶栎的混合林地,自然杂草覆盖

的荒地最小(图1)。经LSD统计表明,单一的马尾松和小叶栎处理间无显著性差异,但它们与混合林地、荒地处理间的差异达到极显著。引起这一差异的主要原因是由于不同植物所诱导形成的根际微生物区系上的差异。

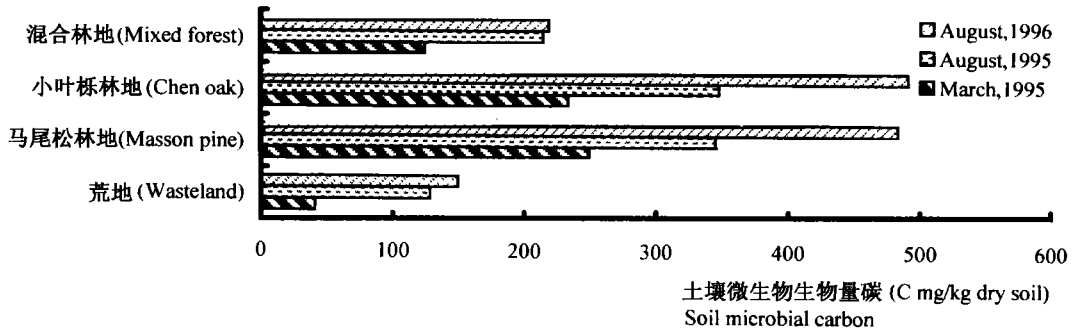


图1 4种不同植被覆盖下的红壤微生物生物量碳

Fig.1 Soil microbial biomass carbon in red soil under four types of vegetation cover

土壤微生物生物量氮的结果与碳的趋势相似(图2),即单一的马尾松和小叶栎处理土壤微生物生物量氮含量大于混合林处理,大于荒地处理。同样,单一马尾松和小叶栎处理与混合林和荒地间的LSD检验结果达到极显著。

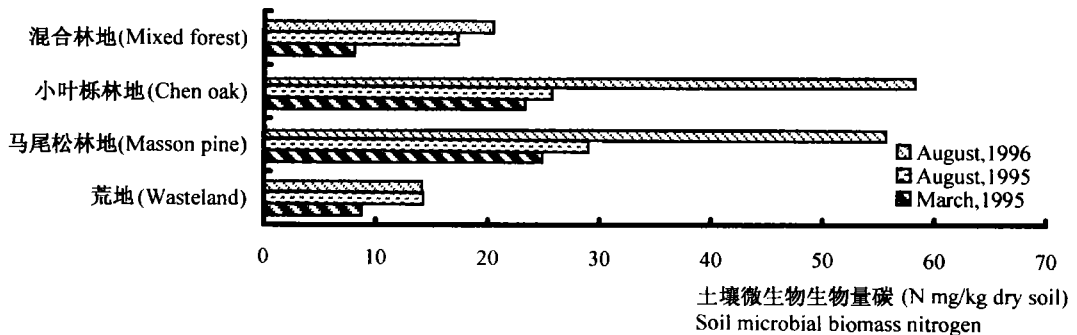


图2 4种不同植被覆盖下的红壤微生物生物量氮

Fig.2 Soil microbial biomass nitrogen in red soil under four types of vegetation cover

图1和图2中3次采样的土壤微生物生物量碳、氮结果的趋势基本一致的。土壤微生物生物量碳、氮含量和植被覆盖的时间有一定的关系。1995年的两次采样的结果表明,夏季(8月)土壤微生物生物量碳、氮的含量要明显高于春季(3月),4种不同植被处理的趋势一致。1995年和1996年8月份的结果则暗示了单一马尾松和小叶栎的处理土壤微生物生物量碳、氮含量随时间明显增加的趋势(分别较1995年8月增加土壤微生物生物量碳40%、41%和土壤微生物生物量氮92%、126%),混合林处理略有增加;荒地处理的土壤微生物生物量碳有所增长,而土壤微生物生物量氮则变化不大,这可能与自然杂草覆盖下土壤微生物区系比较稳定有关。

表 2 林地长期试验各处理的微生物生物量碳、氮占土壤全碳、氮含量百分比

Table 2 Ratios of B_C to T_C and B_N to T_N in all treatments of long-term reforested experiment

采样时间 Sampling time	处理 Treatment	B_C/T_C (%)	B_N/T_N (%)
1995.3	荒地	1.31	1.78
	马尾松林	2.75	2.51
	小叶栎林	2.51	2.41
	混合林地	2.39	1.22
1995.8	荒地	2.50	2.79
	马尾松林	3.22	3.45
	小叶栎林	2.56	2.26
	混合林地	2.68	3.27
1996.8	荒地	2.78	2.48
	马尾松林	3.47	5.02
	小叶栎林	3.53	5.03
	混合林地	2.77	2.77

4 种不同植被处理的土壤微生物生物量碳、氮含量分别为土壤碳、氮全量的 1.31%~3.53% 和 1.22%~5.03%(表 2), 结果与已有的报道是一致的。同时, 表 2 的结果表明所有处理的土壤微生物生物量碳、氮占土壤碳、氮全量的比例 (B_C/T_C 和 B_N/T_N) 夏季(8 月)较春季(3 月)高, 并且 B_C/T_C 比 1996 年夏季要高于 1995 年夏季。4 种植被下土壤的全氮含量则在三次采样中有所波动, 而土壤全碳含量有略增的趋势(表 1), 这些变化可能与三次采样不定点或采样时土壤状况不同有关。因此, 土壤微生物生物量碳、氮的试验处理效应较土壤碳、氮全量的变化更为灵敏和明显。有资料报道因人为因素或其它干扰引起的土壤性质的变化, 土壤有机质含量需几年或几十年甚至上百年才能反映出来^[2], 土壤微生物生物量则可以在相对较短的时间内监测土壤的变化, 较早地反映或预示土壤的变化。微生物生物量已被许多学者接受为因人为管理导致的土壤变化的灵敏的土壤生物性质指标之一^[3]。

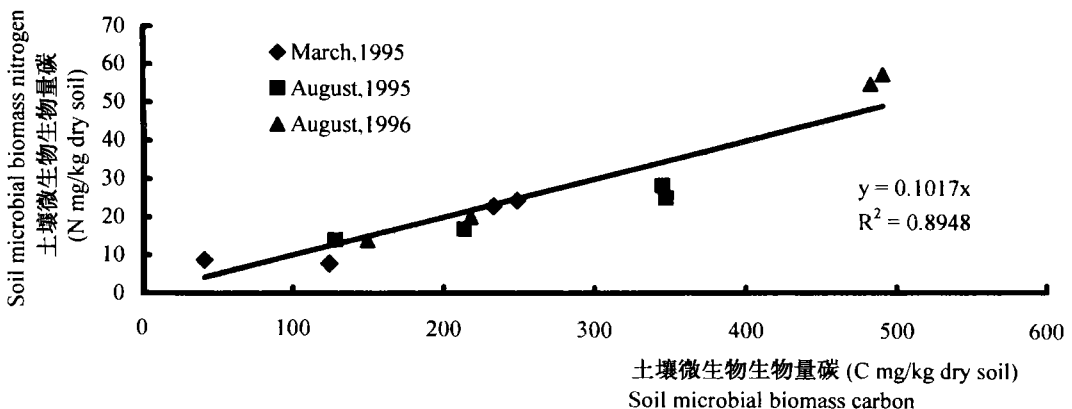


图 3 3 次采样林地土壤微生物生物量碳氮的相关性

Fig.3 Correlation between soil microbial carbon and nitrogen in the forest land for three times of sampling

另外,三次采样的土壤微生物生物量碳氮之间相关关系(图 3)表明,土壤微生物生物量碳氮之间呈较好的线性关系($R^2 = 0.8948, n=12, p<0.01$)。由此可见,土壤微生物生物量碳、氮所反映土壤质量的变化是一致的。

综上所述,土壤微生物生物量对红壤生态系统土壤的变化十分敏感,能直接反映植被恢复对修复或重建红壤生态系统的作用。

2.2 不同施肥制度对红壤微生物生物量碳、氮含量的影响

不同施肥制度对作物生长和土壤性质的变化具有直接的关系。众所周知,化肥能提供作物生长所需的速效性养分,而有机肥则能缓慢而持续地供应养分并有利于土壤物理性结构的改善和作物品质的提高。5 种不同的施肥处理——厩肥、绿肥、秸秆、氮磷钾和对照的结果表明,红壤的微生物生物量碳、氮含量对不同施肥制度处理的影响相当灵敏(图 4 和图 5)。5 种不同施肥制度下的红壤微生物生物量碳、氮含量差异以同一趋势存在,即厩肥 > 绿肥和秸秆 > 氮磷钾 > 对照,并经方差分析多项比较,差异达到极显著。厩肥、绿肥、秸秆和氮磷钾处理土壤微生物生物量碳和氮分别为对照的 8.53、5.79、5.65、3.35 倍和 4.11、3.36、3.21、2.47 倍。不同施肥制度引起土壤微生物生物量差异的主要原因可能是不

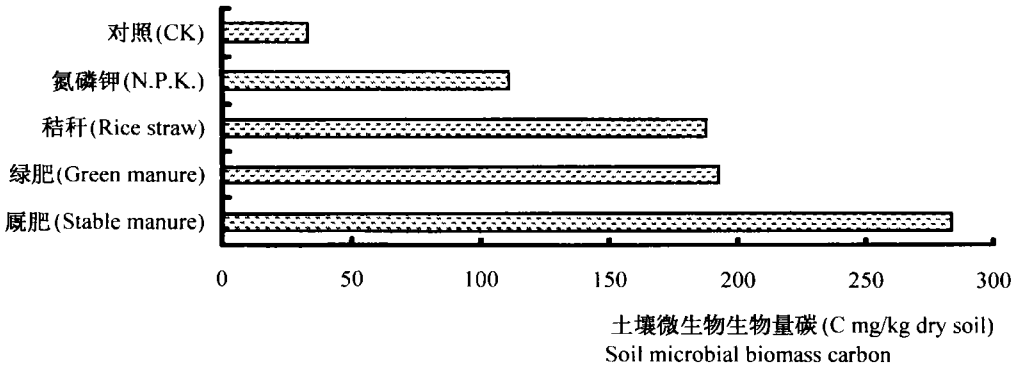


图4 不同施肥制度对红壤微生物生物量碳的影响

Fig.4 Effect of several fertilization systems on the microbial biomass carbon of red soil

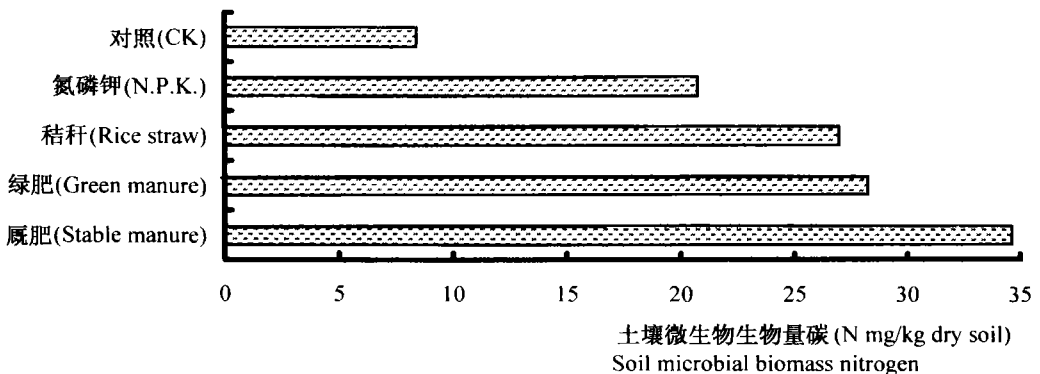


图5 不同施肥制度对红壤微生物生物量氮的影响

Fig.5 Effect of several fertilization systems on the microbial biomass nitrogen of red soil

同肥源投入的养分组成不同。该长期定位田间试验的施肥制度是在相同的常规氮磷钾的基础上根据不同的有机肥处理添加不同的有机物质。引起土壤微生物变化的主要原因则是有机肥投入带来了大量的碳源,使土壤微生物大量增殖,并分解有机物质,提供植物所需的养分,从而土壤微生物数量大增,反映在土壤微生物生物量上则是含量增加。

土壤微生物生物量也反映了各有机肥间的差异(图 4 和图 5),以厩肥处理高于秸秆和绿肥,并达到统计学显著水平。这可能与有机肥源的组成成分和 C/N 比的差异而引起的土壤微生物群数量的差异。表 3 的微生物生物量碳氮比和土壤碳氮比显示了不同有机肥投入引起的土壤和微生物的变化。土壤碳氮比厩肥处理最小,其次是绿肥,秸秆最大;氮磷钾处理碳氮比则相当于有机肥处理的对照,因为有机肥处理是在氮磷钾处理的基础上进行的。而土壤微生物生物量碳氮比则是厩肥大于秸秆和绿肥,氮磷钾处理更低。从结果可以看出,在施用氮磷钾的基础上,影响土壤微生物生长的是土壤生物可利用碳的含量而不是氮。当不同碳氮比和组成不一的有机肥投入土壤时,厩肥提供了大量的生物有效性碳,促使土壤微生物大量增殖,土壤微生物生物量也增加。土壤微生物生物量碳氮比较高,而绿肥和秸秆次之(图 4,5),土壤碳氮比则相反。

表 3 不同施肥制度长期试验各处理的 B_C/T_C 、 B_N/T_N 、 B_C/B_N 和 T_C/T_N 比

Table 3 Ratios of B_C/T_C 、 B_N/T_N 、 B_C/B_N and T_C/T_N in all treatments of long-term experiments of different fertilization systems

处理 Treatment	B_C/T_C (%)	B_N/T_N (%)	B_C/B_N	T_C/T_N
对照	2.39	5.46	3.95	9.03
氮磷钾	3.65	10.07	5.36	14.81
秸秆	4.08	7.75	6.96	13.22
绿肥	3.81	6.88	6.82	12.29
厩肥	4.45	6.52	8.19	12.00

同样,土壤微生物生物量碳、氮仅为土壤碳、氮全量的 2.39%~4.45% 和 5.46%~10.07% (表 3),较不同林地处理略高。氮磷钾处理提供了大量的速效氮,土壤微生物生物量氮占土壤全氮的比例最大,但微生物生物量碳占全碳的比例较有机肥处理要小。氮磷钾处理基础上增施不同有机肥的土壤微生物生物量碳占土壤碳全量的结果也证实了上述的结果,即厩肥处理提供较多的生物有效性碳,刺激土壤微生物的大量增殖,其微生物生物量碳占土壤全碳比例大于秸秆和绿肥处理。秸秆和绿肥处理则相差不大。

因此,投入不同肥源首先引起了土壤微生物群的不同响应,而土壤微生物生物量则可以直接地反映出这一差异,体现了不同施肥制度对土壤性质的影响。

2.3 多效唑和杀虫脒污染红壤的微生物生物量碳

多效唑和杀虫脒等有机农用物质投入土壤,也会影响土壤微生物的生存和繁殖。多效唑是一类植物生长延缓剂,它对土壤微生物有低毒,在土壤中的残留时间较长,尤其是旱地。杀虫脒属高毒性农药,对土壤微生物具有毒性。因此,当多效唑和杀虫脒施入土壤时,土壤微生物有中毒反应,通过对土壤微生物生物量的测定就可以检测到它们对土壤微生物的毒害。

花生和水稻的田间试验结果表明(图6),多效唑对土壤微生物的毒害十分明显,尤其是稻田土壤。使用量 $0.15\text{mg/kg} \cdot \text{a}$ 多效唑的土壤其土壤微生物生物量碳明显低于不施处理,花生地土壤微生物生物量碳降低约 20mg C/kg 干土,水田土壤则降低 30mg C/kg 干土以上,分别较对照降低约 13% 和 19%。由此可见,使用多效唑导致了土壤微生物生物量直接的响应。

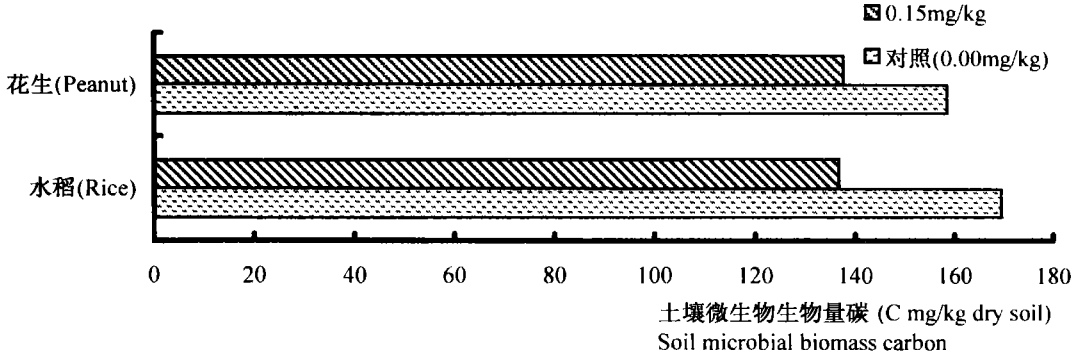


图6 在旱地(花生)和水田(水稻)中多效唑对土壤微生物生物量碳的影响

Fig.6 Effect of Pacloutrazol contamination on the microbial biomass carbon of red soil planting peanut (dry land) and/or rice (paddy soil)

杀虫脒的水稻田间试验结果表明(图7),土壤微生物生物量碳含量随杀虫脒使用浓度的提高而降低。正常使用量 ($0.20\text{mg/kg} \cdot \text{a}$) 处理土壤微生物生物量碳较不施处理降低约 5%,而使用量 5 倍于正常量的则较不施者降低 18%。同样,杀虫脒也能引起土壤微生物生物量的变化。

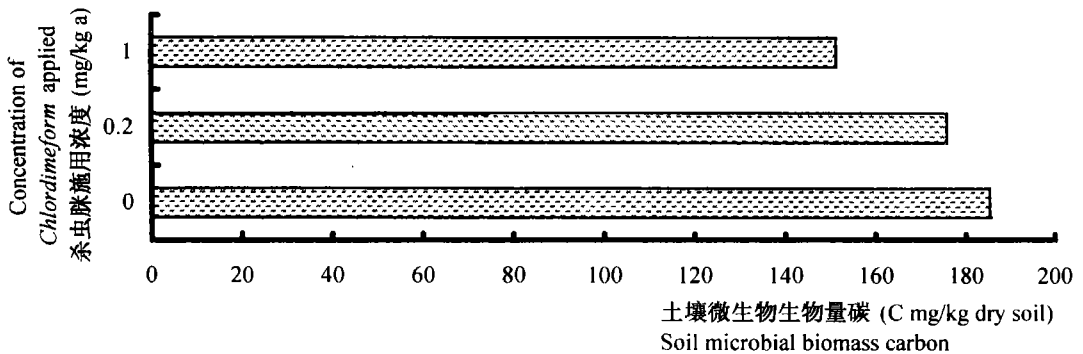


图7 杀虫脒污染对植稻红壤微生物生物量碳的影响

Fig.7 Effect of Chlordimeform contamination on microbial biomass carbon of red soil planting rice

由此可见,土壤微生物生物量能较灵敏地检测出土壤被多效唑和杀虫脒污染的程度。因此,应用土壤的一些生物指标来建立农用有机物质对土壤污染状况的分级评价系统是具有可行性的。

3 结 论

从红壤的三个不同类型的定位试验的土壤微生物生物量的结果可以看出,土壤微生物生物量敏感地反映了不同处理间的差异。它既能灵敏地指示不同植被对红壤生态系统修复或重建的作用,又能极明显地体现不同施肥制度对红壤培肥作用的差异,并且可以灵敏地检测出多效唑和杀虫脒对红壤生态系统的污染。因此,土壤微生物生物量完全可以作为红壤地区土壤质量的生物指标。但是,土壤微生物生物量只反映了土壤微生物在总量上的差异,而无法表现土壤微生物在组成或区系上的变化,所以,要反映土壤质量的生物活性还要结合土壤微生物多样性的研究。

参 考 文 献

1. Sparling G P. Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. In Pankhurst C E, Doube B M, Gupta V V S R. ed. *Biological Indicators of Soil Health*. CAB INTERNATIONAL. 1997 97~119
2. Powlson D S, Brookes P C, Christensen B T. 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
3. Pankhurst C E. Biological indicators of soil health and sustainable productivity. In Greenland D J, Szabolcs I. ed. *Soil Resilience and Sustainable Land Use*. 1994. 331~351
4. Turco R F, Kennedy A C, Jawson M D. Microbial indicators of soil quality. In Doran J W et al. ed. *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. by Madison, Wisconsin, USA. 1994. 73~90
5. Brookes P C, Andrea Landman, Pruden G, Jenkinson D S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biol Biochem.*, 1985, 12(6): 837~842
6. Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.*, 1987, 19(6): 703~707
7. 杜丽娟,文启孝,张晓华.应用费尔恩法测定氯化钠盐土或底土中的有机碳. *土壤*, 1984, 14(4): 149~151

STUDY ON THE SOIL MICROBIAL BIOMASS AS A BIO-INDICATOR OF SOIL QUALITY IN THE RED EARTH ECOSYSTEM*

Yu Shen, Li Yong, Wang Jun-hua, Che Yu-ping, Pan Ying-hua, Li Zhen-gao

(*Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008*)

Summary

The soil microbial biomass carbon and nitrogen were measured in three long-term experiments, the different vegetation remediation experiment in the red earth ecosystem, the experiment of red earth highland with different fertilization systems and the pollution experiment of Pacloutrazol and Chlordimeform, in the Red Earth Ecosystem Experimental Station, Academia Sinica. Results showed that soil microbial biomass could be sensible to indicate the effects of four types of vegetation on the bio-remediation of the degraded red earth ecosystem, to show the different effect of fertilization system on the fertility of red arable lands and to detect the pollution of *Pacloutrazol* and *Chlordimeform* applied to the red earth. Thus, the conclusion that soil microbial biomass may be as a bio-indicator of soil quality in the red earth ecosystem could be drawn.

Key words Soil microbial biomass, Bio-indicator of soil quality, Red earth

* Supported by the National Natural science Foundation of China, No.:49631010