

鼎湖山自然保护区不同林型下土壤微生物 生物化学过程强度的研究*

I、不同土壤含碳物质的矿化与土壤微生物 的代谢活性和生物量

邓邦权 吕禄成**

(广东省土壤研究所)

鼎湖山位于我省中部,地处亚热带南缘,气候、土壤和植被都呈现南亚热带自然地理特征。这里保存着比较完整的天然植被,生物资源丰富,早已被划定为国家自然保护区,并于1979年被列入世界自然保护区网,成为联合国教科文组织“人与生物圈”的森林生态系统定位研究站。

微生物的存在和活动,组成生态系统结构与功能。它们对有机化合物的无机化还原过程,是生态系统物质能源循环中一个极其重要的环节。在物质能量转化方面,它们也比高等植物、动物起着更大的作用〔3〕。查明本区土壤微生物的存在和活动状况,及由之而引起的土壤生物化学过程的变化,对认识生态系统中物质能量的转移、平衡,指导山地资源的开发利用都有重要意义。

不同微生物个体的大小和内含物质容量,可有数十以至百倍之差,仅限于对微生物个体数目或组成的一般了解,已难于满足生态系统物质能量平衡定量研究的需要。近些年来,以微生物内含物质为基础的微生物生物量及其与土壤物质、能量“库”“流”关系的检测和研究已有了新的进展〔6—16〕。这对改进我们的工作,深化有关研究是有益的。

为了满足有关检测研究的需要,我们首先对区内几种主要土壤在不同条件下碳素代谢矿化情况作了比较,研究了它们之间微生物代谢活性的差异,分析和论证了 Jenkinson 的熏杀法对土壤微生物生物量检定的有效性和变通用之于本区土壤检测的可行性;进一步用实际测定的结果,比较研究了不同土壤微生物生物量的差异及其与其他土壤性质的关系,评价了这一指标用于生态系统研究的实际意义。

一、材料和方法

(一) 土壤 我们主要研究不同林型下的几种赤红壤,其pH在3.9—4.7之间,有机质含量2.9—5.4% (详见表1),一般测定中还包括区外其他类型土壤。土样从样

* 中国科学院科学基金资助课题。

** 工作承陆发熹,何金海先生指导,参加工作的尚有潘超美,王德琼,杜绍元和李大文同志。

表 1. 鼎湖山几种土壤的性质

Table 1. Some properties of soils from Ding Hu Shan sampling plots

| 样地号 Sampling plot no. | 土壤及植被 Soil and vegetation | 深度 Depth (cm) | pH (H ₂ O) | 有机质 O.M. (%) | 全氮 Tot.N (%) | 全磷 Tot.P (%) | 代换量 C.E.C. (m.e./100g) |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------------------|
| I | 厚层水化赤红壤——阔叶林 Thick layer hydro lateritic red earth - broad leaf forest | 0 - 15 | 3.9 | 5.40 | 0.199 | 0.059 | 21.61 |
| II | 薄层赤红壤——阔叶林、混交林 Thin layer lateritic red earth - mixed of broad - leaf and coniferous forest | 0 - 15 | 4.3 | 4.46 | 0.161 | 0.049 | 12.10 |
| III | 薄层赤红壤——针叶林 Thin layer lateritic red earth - coniferous forest | 0 - 15 | 4.5 | 5.43 | 0.170 | 0.045 | 14.45 |
| IV | 厚层赤红壤——垦耕地(梯田) Thick layer lateritic - cleavage terrace | 0 - 15 | 4.7 | 2.92 | 0.120 | 0.046 | — |

地以多点混合四分法取得。均采其微生物集生的表层，过2—3毫米筛孔后以塑料袋封装，置冰箱下层（近5.0°C）暂存备用。

（二）试样处理和培养 试验检测包括不添加和添加能源物质（0.2%葡萄糖）及不杀菌和杀菌（氯仿熏杀）两组对照处理。熏杀是用除净乙醇重蒸过的氯仿与土样同置于近负1个大气压的真空干燥器中，以氯仿蒸汽熏20小时左右，取出氯仿后抽气清除余留氯仿蒸汽再以1.0%的鲜土接种。各种处理试样按培养检测时间要求，置于容积（立方厘米）5倍（短时间）至10多倍（长时间）于土重（克）的容器中，调水分至最大持水量的60%，胶塞密封，在30°C下进行培养。

（三）分析方法 试样释出的CO₂，短期培养的用气相色谱法^[2]，长时间培养的用碱吸收法测定。碱吸收法中剩余碱量是在有过量BaCl₂存在下用标准酸滴定的。微生物生物量测算的原则和依据，文中另有讨论，具体操作方法将另文介绍，其他土壤性质和生化活性的测定，均按有关手册^[1, 5]介绍的方法进行。

二、结果及讨论

（一）不同林型下土壤碳素矿化过程的比较

不同林地土壤内源（不加外源物质）和添加外源物质培养过程CO₂释放情况的比较见图1。其中内源代谢过程14天内释出CO₂总量（单位：毫克/100克土）为：阔叶林162.7，混交林90.31，针叶林125.08。对内源物质的代谢能力和相应的微生物活性为：阔叶林土壤>针叶林土壤>混交林土壤。添加了葡萄糖的每种土壤，CO₂的释放量都显著增加，而且都表现为培养前期（三天内）释放速率的迅速增大，表明加入其中的易利用碳源，在培养条件下迅速地为微生物所利用、矿化。头两天CO₂释放的速率（单位：毫克/100克土/天）为：阔叶林130.96、混交林73.47和针叶林土壤117.59。由此可见，对外加能源的代谢能力和活性，同样是阔叶林土壤>针叶林土壤>混交林土壤。

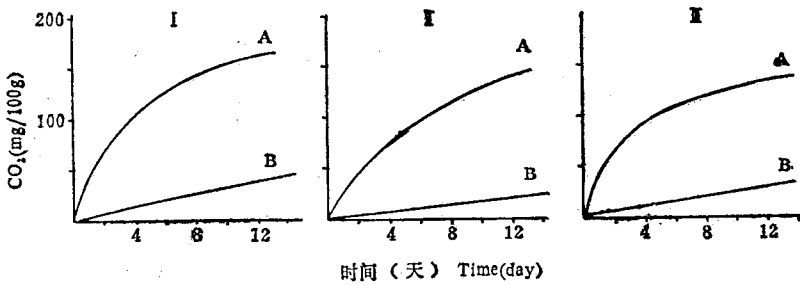


图1. 添加(A)和不添加(B)葡萄糖的不同土壤培养过程CO₂的释放

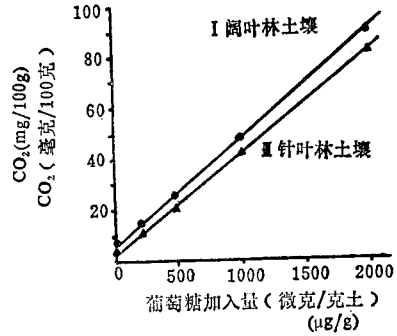
Fig. 1 Process of CO₂ evolved from different soils amended with (A) and without (B) glucose in incubation

- | | | |
|------------------------|-------------------|------------------------|
| I. 阔叶林土壤 | II. 混交林土壤 | III. 针叶林土壤 |
| Broad-leaf forest soil | Mixed forest soil | Coniferous forest soil |

培养过程土壤释出CO₂的数量 不仅反映其中微生物代谢活性的高低,同时也反映土壤中含碳能源物质数量的多少。对添加不同量能源物质(葡萄糖)经短期培养(24小时)的土壤检测结果(图2)表明,CO₂释放量随能源物质添加量的增大而增大,呈近直线正相关。

图2. 加入葡萄糖对土壤CO₂生成量的影响(30°C, 24小时)

Fig. 2 Effects of adding glucose on the CO₂ evolved by soils incubated (30°C, 24hr.)



虽然加入同量的能源,因土壤及其原有能源含量和微生物活性不同,CO₂释放量有所差异,但通过不加能源的对照检测,消除了这些差异的影响。能源加入量的多少,可以从CO₂释放量的大小作出判断。

不难看出,土壤碳素的矿化(CO₂的释放)强度,是反映土壤微生物存在和活动状况有效而灵敏的指标。根据不同条件下土壤CO₂释放强度(数量或速率)的差异,可以了解其中微生物的生理、生化活性、代谢能力以至土壤或微生物体中含碳能源物质的丰缺和变化情况。

(二) 不同土壤微生物碳的矿化过程

土样经过熏杀处理,留在其中的微生物残体所含的各种糖类、氨基酸等物质,无异于给土壤中的微生物(随后接种繁殖的微生物)增添了易利用的含碳能源。这种情况下,将会产生类似于给土壤添加葡萄糖的效应,导致培养过程CO₂释放强度的增大。熏杀与不熏杀试样的对比检测结果(图3)已经证明,每种土壤经过熏杀处理,培养前期CO₂释放速率都迅速升高,整个过程CO₂总的释放量也显著增加。

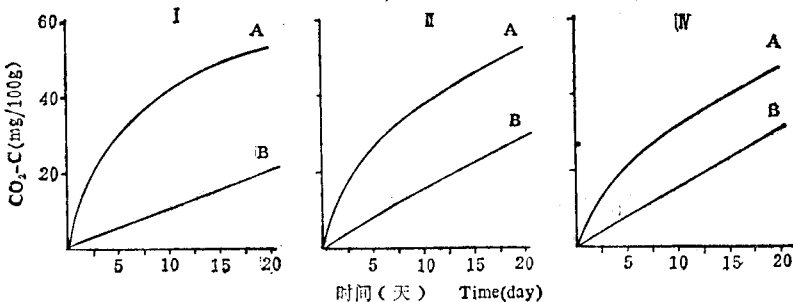


图3 不同土壤熏杀样(A)与不熏杀样(B)培养过程CO₂-C的释放

Fig. 3 Process of CO₂-C evolved from different soils fumigated (A) and unfumigated (B) in incubation

I. 阔叶林土壤

Broad-leaf forest soil

III. 针叶林土壤

Coniferous forest soil

IV. 垦耕地土壤

Clearage soil

上述熏杀样比对照样增加释出的 CO_2 ，显然是来自留存于土壤中原有微生物残体的矿化。这样，熏杀样与对照样释出 $\text{CO}_2\text{-C}$ 的差值，也就是随矿化过程释出的原来微生物体中的生物-C量。几种土壤的生物-C释放过程见图4。从图中可看出，生物-C释放的速率和数量均以阔叶林土壤为最高，针叶林土壤次之，垦耕地土壤最低，它们10天内的释放量（单位：毫克/100克土）分别为26.8，22.5，和14.2。

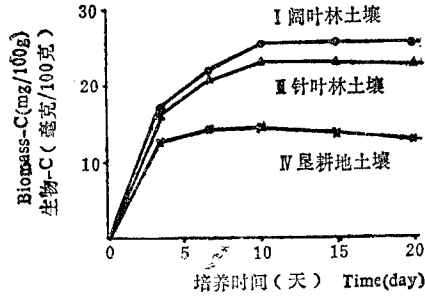


图4 不同土壤培养过程生物-C的释放

Fig. 4 Process of biomass C evolved from different soils in incubation

试验表明，土壤中加入能源物质的数量越大，培养过程增加释出的 CO_2 越多，同样，土壤中原有微生物生物量越大，生物-C矿化释出量也越多，上列数据也就表明土壤中原有微生物的生物量，阔叶林土壤>针叶林土壤>垦耕地土壤。这和土壤微生物活性、代谢能力的相对高低是一致的。这种一致性，表明了Jenkinson的熏杀法用于测定本区土壤微生物生物量的有效性和可行性。

(三) 生物-C的矿化率与土壤微生物生物量

土壤微生物生物量，通常以微生物生物-C的总量(Bc)来代表，前述生物-C的矿化值(Fc)只其中一部分，其总值还要根据同条件下土壤微生物生物-C的矿化率(Kc)来计算。即 $Bc = Fc / Kc$ 。矿化率Kc，也就是释出生物-C占土壤中总生物-C的百分率。它是在相同实验条件下，以 ^{14}C 标记的微生物体加到土壤中实测得到的经验值。Jenkinson以及其他工作者先后测得培养10天的Kc值，大都是在0.3—0.5之间[6, 10, 11]。他们的试验报道表明，真菌的Kc略高于细菌；较高温度下测得Kc值稍高于较低温度；近中性土壤中所测Kc值也高于酸性土壤。其中Anderson较全面考虑了多种因素在22°C下测得的 $Kc = 0.41$ [6]或Jenkinson据此建议改用25°C $Kc = 0.45$ [10]用于实际测算所得的结果，与直接计数及ATP（三磷酸腺甙）定量法测得结果都有较好的一致性[10]，已为有关工作者所公认，并广泛用之于一般土壤微生物生物量的测算。但对酸性较强的土壤，Jenkinson则强调Kc值应比近中性土壤要小些[10]。根据我们的实验和上述情况，针对华南气温偏高，土壤偏酸的特点。我们选取了30°C， $Kc = 0.41$ ，作为本区酸性较强(pH>5.0)土壤微生物生物-C总量的测算条件和依据。

据此测得本区几种土壤的微生物生物-C含量列于表2。两次测得的生物-C的相对高低，均与前面测得的微生物活性完全一致。生物-C含量最高的阔叶林土壤为58.5—65.3毫克/100克土，其次是针叶林和混交林土壤，含量分别为42.2—44.6和39.4—40.0毫

表 2. 不同土壤中微生物生物量的测算结果

Table 2 Determination and calculation of microbial biomass in the soils

| 样地号 Sampling plots no | 采样日期 Sampling date | CO ₂ -C释放 (毫克/百克/10天) | | 释出生物-C Evolved biomass-C (毫克/100克) | 土壤生物-C Soil biomass-C C(A-B)/0.41 (毫克/100克) | 15公分土层生物-C Biomass-C in 15cm (公斤/公顷) | 总有机碳中的 生物-C Biomass-C in total organic-C (%) |
|--------------------------|-----------------------|----------------------------------|-----------------------|------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------|
| | | 熏杀(A) Fumigated | 不熏杀(B) Unfumigated | | | | |
| I | April | 37.99 | 11.20 | 26.76 | 65.34 | 1143.45 | 2.09 |
| | July | 44.27 | 20.28 | 23.99 | 58.51 | 1023.93 | 1.80 |
| II | April | 26.30 | 9.74 | 16.65 | 40.39 | 706.83 | 1.56 |
| | July | 23.65 | 7.51 | 16.41 | 39.36 | 688.80 | 1.52 |
| III | April | 36.96 | 18.70 | 18.26 | 44.54 | 779.45 | 1.41 |
| | July | 28.93 | 11.64 | 17.67 | 42.15 | 737.63 | 1.34 |
| IV | April | 28.47 | 16.80 | 11.67 | 28.46 | 498.05 | 1.68 |
| | July | 24.69 | 11.88 | 12.81 | 31.24 | 546.70 | 1.84 |

—• 0-15厘米土层, 每公顷重按1750吨计。

Assuming weight of 0-15 cm layer to be 1750t./ha

表 3. 土壤微生物生物量 (生物 - C 毫克/百克土) 与土壤性质间的相关系数

Table 3 Coefficients of correlation between microbial biomass - C and soil properties
(biomass - C mg 100g⁻¹ soil)

| 土壤性质 Soil properties | 呼吸强度 Respiratory capacity (Co ₂ mg 100g ⁻¹) | 氨化强度 Ammonifying capacity (NH ₄ -N mg 100g ⁻¹) | 脲酶活性 Urease activity (NH ₄ - N mg 100g ⁻¹) | 有机质含量 O.M. (%) | 全氮量 Total N (%) | 全磷量 Tot. P (%) |
|-------------------------|--------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| 样数 (N) | 14 | 8 | 6 | 22 | 22 | 22 |
| 相关系数 (r) | 9.8533 *** | 0.8201 ** | 0.9404 ** | 0.9012 *** | 0.8995 *** | 0.5887 ** |

* * * * * 分别示相关达极显著和非常显著水平。
Significant at 0.01 and 0.001 level respectively.

克/100克土，含量最低的垦耕地只是28.5—31.2毫克/100克土，它们占土壤总有机碳的比例都在1.3—2.1%之间。

上述这些数值，与Jenkinson^[11]在英国洛桑地区石灰性林地土壤测得可高达110毫克/100克占有有机-C近3.0%及Ross^[15]在新西兰近中性永久草场土壤测得最高达278毫克/100克，占有有机-C3.3%相比虽然显得较低，但与他们测得其它土壤及Ayanaba在尼日利亚⁽⁸⁾和Oades在澳大利亚⁽¹⁴⁾近中性的林地和垦耕地土壤测得结果多在15—76毫克/100克土，占有有机-C的1.0—3.0%却是处于同一水平，因此认为用这一方法测得的结果来指示本区土壤的微生物生物量是可行的。

(四) 土壤微生物生物量与有机物来源和其它土壤性质的关系

土壤微生物的滋生活动，需要有机能源物质，其生物量的大小，决定于这些物质的来源和补给的丰缺情况。我们测得有机残物补给来源比较丰富的阔叶林下土壤，微生物生物量最大，而补给来源比较短缺的垦耕地土壤，生物量则最小。有机残物的分解和矿化，都是通过微生物包括其细胞内外各种酶所催化的各种生化过程来实现的，这些过程的强弱和有关产物的积累，显然与微生物生物量的大小有关。根据有关测定结果所作的相关分析(表3)表明：土壤微生物生物量与土壤呼吸强度、氨化强度、脲酶活性以及土壤有机质、全氮和全磷量的相关性都达到了极显著的水平($P < 0.01$)，其中与呼吸强度、有机质和全氮含量的相关非常显著($P < 0.001$)。这与Ayanaba⁽⁸⁾、Oades⁽¹⁴⁾和Ross⁽¹⁵⁾所作类似相关分析中所得的结果极其相似。

不难看出，用上述方法测得的土壤微生物生物-C量或生物量，不但标志着土壤微生物体内基础物质含量多少，同时反映了土壤微生物生理活性、代谢能力和土壤中物质能量存贮水平的高低。这样一个指标，用之于土壤营养和生态系统物能平衡的定量研究，是有其特定意义的。

结 束 语

土壤微生物是生态系统组成中一个重要的生物群体，它们对生态系统中物质、能量不仅起积极的转化作用，同时有着相对稳定的存贮功能。我们检测研究的土壤微生物生物量，就是判断这个物质、能量贮库库容量大小的一个重要指标。经过我们检验和论证，并作了适当修改的Jenkinson的生物量熏杀检测法，已被应用于对本区土壤微生物的定位检测研究。这个贮库物质、能量库容的大小和变化，将随着检测工作的延广而得到更加周详的了解，这个贮库输出和输入的物质、能量流的大小和变化，也将成为我们进一步研究的内容。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院南京土壤研究所, 1978: 土壤理化分析。上海科技出版社。
- [2] 邓邦权等, 1985: 土壤呼吸作用强度的气相色谱检测。农业测试分析, 2 (2) : 11—14。
- [3] 许光辉, 1980: 森林生态系统研究中的微生物学问题。森林生态系统研究, 第 1 期, 247—255 页。
- [4] 何金海等, 1982: 鼎湖山自然保护区之土壤。热带亚热带森林生态系统研究, 第 1 集, 25—38 页。
- [5] 郑洪元、张德生等, 1982: 土壤动态生物化学研究法。科学出版社。
- [6] Anderson J. P. E. et al. 1978: Mineralization of bacteria and fungi in soil chloroform-fumigated soil. *Soil Biol. Biochem.* 10: 207—213.
- [7] Anderson J. P. E. et al., 1978: A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10: 215—221.
- [8] Ayanaba A. 1976: The effects of clearing and cropping on the organic reserves and biomass of tropical forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 8: 519—525.
- [9] Elliott, E. T. et al., 1984: Mineralization dynamics in fallow dryland wheat plots colorado. *Plant and Soil*, 76: 149—155.
- [10] Jenkinson D. S. and J. N. Ladd, 1981: Microbial biomass in soil measurement and turnover. In *Soil Biochemistry Vol. 5* Ed. E. A. Paul and J. N. Ladd Marcel Dekker, New York.
- [11] _____ and D. A. Powlson, 1976: The effects of biocidal treatment on metabolism in soil V, A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* 8: 209—213.
- [12] _____ and J. M. Oades, 1979: A method for measuring adenosine triphosphate in soil. *Soil Biol. Biochem.* 11: 193—197.
- [13] Marumoto J. et al., 1982: Mineralization of nutrient from soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 14: 469—475.
- [14] Oades J. M. and D. A. Jenkinson, 1979: The adenosine triphosphate content of the soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 11: 201—204.
- [15] Ross D. J. et al., 1980: Microbial biomass estimation in soil from Tussock grasslands by three biochemical procedures. *Soil Biol. Biochem.* 12: 375—383.
- [16] Williams, B. L. et al., 1984: Extractable N and P in relation to microbial biomass in U. K. acid organic soils. *Plant and Soil*, 76: 139—148.

STUDY OF MICROBES AND BIOCHEMICAL ACTIVITY OF DIFFERENT
FOREST SOILS IN DING HU SHAN BIOSPHERE RESERVE

1. Microbial activity and biomass in relation to mineralization of carbonaceous matter of different forest soils

Deng Bang-quan Lü Lu-cheng

(Institute of Soil Science of Guangdong Province)

Abstract

The samples of topsoil were collected from the different forest soils of Ding Hu Shan Biosphere Reserve. The pH value and organic matter contents of the soils were respectively ranged from 3.9 to 4.7 and from 2.9% to 5.4%. The soils microbial activities which were evaluated on basis of the rate of CO_2 evolved from the mineralization of carbonaceous matter by soil samples amended with and without glucose were arranged in order as broad-leaf forest soil > coniferous forest one > mixed forest one. The evolved CO_2 from the sample fumigated by CHCl_3 was obviously more than the unfumigated sample. The size of value of evolved CO_2 differed from fumigated and unfumigated samples had shown that evolved biomass C of different forest soils was also arranged as broad-leaf forest soil > coniferous forest one > clearance one.

According to Jenkinson's fumigation method modified by 30°C $K_c=0.41$, the soil biomass C was also arranged in like order in above as broad-leaf forest soil > coniferous forest one > mixed forest one > clearance one. The contents of biomass C in forest soils and clearance soil were about 40-65 and 28-31mg/100g dry soil respectively. The values of biomass C was generally agreed to that the foreign worker's value resulted in neutral soil under similar condition at same level. The correlation of biomass C with several soil properties, such as respiratory ca-

capacity, ammonifying capacity, urease activity and total contents of O. M., N and P, were very close. The coefficients of them were all significant at $P < 0.01$ or 0.001 level. So the method modified by us using to estimate the microbial biomass C of local acid soils in our stationary observation was considered to be effective and feasible. That the obtained microbial biomass C was used as an index to investigate the equilibrium of energy and material in soils will be more significant than the amount of microbes in numbers.