

长期不同施肥下太湖地区黄泥土蚯蚓的多样性、蛋白质含量与氨基酸组成的变化

向昌国^{1,2}, 张平究¹, 潘根兴^{1,*}, 邱多生³, 储秋华³

(1. 南京农业大学农业资源与生态环境研究所, 南京 210095; 2. 吉首大学旅游学院, 湖南 张家界 217000;

3. 江苏省吴江市农业生态办公室, 苏州 222300)

摘要: 水稻土在不同施肥管理下的土壤质量及其生态系统功能的变化是当前土壤学和农业生态学的关注领域。对太湖地区一个 15a 的长期不同施肥处理下稻田进行了蚯蚓群落的调查采样, 并测定了蚯蚓蛋白质含量和氨基酸组成。供试水稻土中共检出 7 种蚯蚓。长期不同施肥措施影响了蚯蚓的群落结构, 单施化肥下农田蚯蚓的种类和数量明显减少, 多样性指数和丰富度明显降低, 且蚯蚓总氨基酸的含量和大部分种类氨基酸含量降低, 同时蚯蚓中分子量小于 25kd 的蛋白质含量降低, 而分子量 33kd 附近的蛋白质含量明显增加; 相反, 长期化肥配合秸秆还田和配施猪粪趋向于提高蚯蚓蛋白质含量或氨基酸含量。看来, 农田中蚯蚓不但在种群变化上, 而且在体内生命活性物质组成上均响应稻田不同施肥措施下的土壤环境变化。

关键词: 长期试验; 蚯蚓; 氨基酸和蛋白质; 水稻土; 施肥措施; 生物多样性

文章编号: 1009-0933(2006)06-1667-08 中图分类号: Q143, Q958.1, S154 文献标识码: A

Changes in diversity, protein content and amino acid composition of earthworms from a paddy soil under long-term different fertilizations in the Tai Lake Region, China

XIANG Chang-Guo^{1,2}, ZHANG Ping-Jiu¹, PAN Gen-Xing^{1,*}, QIU Duo-Sheng³, CHU Qiu-Hua³ (1. Institute of Resources, Ecosystem and Environment of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. College of Junking Sciences, Jishou University, Zhangjiajie, Hu'nan 217000, China; 3. Bureau of Ecological Agriculture of Wujiang Municipality, Suzhou 222300, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26 (6): 1667~ 1674.

Abstract: Influence of the agricultural management practices on soil quality and the ecosystem functions has been an increasing concern in soil science and ecology with sustainable agriculture. This study deals with the soil earthworm community changes under different fertilization schemes in a paddy soil under long-term different fertilizations. The studied soil is located in Wujiang Municipality, Jiangsu Province, China and had been cultivated under rice-rape rotation since 1987. The treatments are as follows: no fertilizer application (NF); chemical fertilizer only (CF); chemical fertilizer plus rice straw return (CSF) and chemical fertilizer plus pig manure (CMF). The amount of chemical fertilizer per year is N as urea 28.5 kg/hm², P₂O₅ as super phosphate 3.0 kg/hm², KCl 5.6 kg/hm² and that of rice straw return is 300 kg FW/hm² and of manure 1120 kg FW/hm² respectively. The soil earthworms were collected and counted in the field from different fertilizer treated plots after rape harvest in May 2004, and their taxonomic groups examed under binocular stereoscope at laboratory. The earthworm body was crashed and protein separated by cell crusher, and the protein molecules with different sizes were analyzed by electrophoresis. Futhermore, another portion of

基金项目: 国家自然科学基金重点资助项目(40231016); 国家“西部生态环境”重大研究计划资助项目(90202017)

收稿日期: 2005-04-08; 修订日期: 2005-10-27

作者简介: 向昌国(1964~), 男, 湖南张家界人, 博士, 主要从事土壤生态研究。

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: gspan@njau.edu.cn

Foundation item: The project was supported by National Natural Science Foundation of China(No.40231016, 90202017)

Received date: 2005-04-08; **Accepted date:** 2005-10-27

Biography: XIANG Chang-Guo, Ph. D., mainly engaged in soil ecology.

earthworms collected was hydrolyzed and the aliquots were subjected to amino acid auto-analyzer. The results showed that totally 7 species of earthworms were recognized in the paddy field with the number varying with different fertilization treatments. The earthworm community structure was much affected by the fertilization practice. Under chemical fertilization only, both number of earthworm species and quantity of individuals were significantly smaller than under the other treatments. Furthermore, there was an obvious decrease in the total amino acid and contents of most amino acids of the earthworms under chemical fertilization only compared to of those under combined fertilization of chemical and organic fertilizers. Whereas, chemical fertilizers in combination with rice straw return increased earthworm amino acid content, while long term pig manure application tended to increase earthworm protein content. As a molecular footprint, long-term chemical fertilization caused reduction of the content of protein with MW less than 25 kD but significant increase in that of protein with molecule size around 33 kD. This study demonstrated that different fertilization affect not only earthworm population but also diversity and richness in the paddy soil after 16 years of treatment and that long term chemical fertilization only may impact soil fauna community and thus, influence the paddy ecosystem functioning as of yield stability. This study implicated also that not only the community structure but also the amino acid metabolism as life functioning of earthworm in cropland soils may pose significant responses to the agricultural management practices.

Key words: long term trial; soil earthworm; amino acid and protein; paddy soil; biodiversity; fertilization

土壤动物是土壤生态系统中的主要消费者,与土壤质量有密切的关系^[1]。Lal 首先注意到土壤动物对热带生态系统中土壤的性质及功能的影响^[2],而近年来对于土壤动物种群在生态系统退化和恢复中的变化十分关注^[3]。Bauble 等提出土壤大动物可以作为反映土壤环境条件变化的生物指示^[4]。蚯蚓属寡毛纲后孔寡毛目的土壤动物,其终年穴居图中,迁移相对较弱,土壤中蚯蚓种群及多样性变化可以作为灵敏地响应与土壤环境污染和生态系统退化有关的生态系统健康水平的生物指示^[5,6],并主要集中其与土壤质量、农药和重金属污染的关系的研究^[7-9]。国内的工作如郭永灿等对蚯蚓的重金属毒理与显微病理研究^[10]和邢协加等对农药污染下的蚯蚓呼吸作用研究^[11]。而对于蚯蚓体内生物活性物质组成的变化的研究作为生物标志物的研究不断增多。花日茂等^[12]研究了稀土对蚯蚓体内氨基酸含量的影响,Nadeau 等^[13]研究了正蚓(*Lumbricus terrestris*)分别暴露于氯乙酰胺、五氯酚和重金属(Pb、Cd、Cu 和 Hg)分别污染的土壤中,发现污染下蚯蚓中肠组织中相应诱发出 Hsp-70,属于敏感的环境污染生物标志物。但长期施肥措施对土壤蚯蚓种群及生物指示物的变化的影响尚未有报道。

水稻土是我国长期水耕利用下的特殊土壤,在当今高投入高产出下其质量的变化及其环境效应一直受到我国土壤学者的重视^[14,15]。太湖地区水稻耕作栽培具有悠久的历史,20 世纪 90 年代以来水稻产量保持在 8t/hm² 以上,但化肥施用量不断提高,而有机培肥不断弱化,其质量的变化及其环境和生态问题受到科学界和社会的日益关注^[16]。虽然土壤生物已作为土壤质量的关键指标^[17],并且已经阐明了长期不同施肥下水稻土微生物量和微生物基因的变化^[18],但对土壤中蚯蚓与水稻土土壤质量与生态系统健康的关系还缺乏深入研究。本文报道对太湖地区一个长期不同肥料施用水稻土蚯蚓类群调查,并测定其中蛋白质和氨基酸含量,讨论种群变化和生物活性物质变化与长期不同施肥的关系,试图为不同人为利用下水稻土土壤质量的演变及生物多样性变化的认识提供依据,为水稻土的合理施肥和利用管理提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 供试土壤与长期肥料处理

供试蚯蚓采于太湖地区水稻土肥料长期试验定位实验田,其位于江苏省吴江市金家坝前厅村(N:31°05'900";E:120°46'924"),试验始于 1987 年。该地年降雨量约 1100mm,土壤为黄泥土(潜育性水稻土,Fe-accumulic Stagnic Anthrosol^[19])。耕层(0~15cm)原土 pH 为 5.6,黏粒(<2μm)含量为 302.9 g/kg,阳离子交换量 20.5cmol(+)/kg,容重 1.2g/cm³,原土有机碳 14.33g/kg。试验期间一直实行免耕稻-油轮作,设置 4 个不同的长期施肥处理,分别是不施肥区(NF)、单施化肥区(CF)、化肥配施秸秆区(CSF)和化肥配施猪粪区(CMF),

每个处理设置 3 个重复。1987 年测定的土壤基本性状如表 1 所示。施肥处理情况及 2002 年采样测定的各小区土壤养分情况如表 2 所示。

表 1 供试长期试验土壤基本性质(1987 年测定)

Table 1 Basic properties of the studied soil sampled and tested in 1987

土层深度 Depth (cm)	有机碳 TOC(g/ kg)	全氮 Total N(g/ kg)	pH(H ₂ O)	黏粒 Clay (< 2μm, g/ kg)	CEC(mol/ kg)
0~ 5	16. 40	1. 72	5. 60	249. 30	20. 20
5~ 15	16. 00	1. 68	6. 00	279. 70	20. 90

表 2 供试不同小区表层土壤(0~ 15cm) 的养分情况与施肥处理^[18]

Table 1 Fertilizer treatments and basic properties of the studied soil

处理 Treatment	pH (H ₂ O)	有机碳 Organic C(g/ kg)	全氮 Total N(g/ kg)	全磷 Total P(g/ kg)	施肥量(kg FW/ (hm ² · a)				
					秸秆 St _{raw}	猪灰 Pig manure	N	P ₂ O ₅	秸秆 St _{raw}
无肥 NF	6. 13	16. 54	1. 65	0. 24	0	0	0	0	0
化肥 CF	5. 93	16. 85	1. 87	0. 37	0	0	28. 5	3. 0	0
常规 CMF	5. 74	17. 75	1. 91	0. 72	0	1120	28. 5	3. 0	0
秸秆 CSF	5. 88	16. 79	1. 87	0. 37	300	0	28. 5	3. 0	300

1.2 蚯蚓采集与分类

供试蚯蚓土壤耕作层(0~ 20cm) , 调查和采样于 2004 年 5 月油菜收割未种水稻前进行。在不同施肥处理的试验田块中随机选取 1m² 样块, 每小区 3 次重复。手检法收集(不包括近孔寡毛目) , 计数, 活体连土带回实验室分类, 蚯蚓的鉴定与分类参照《中国动物图谱——环节动物》^[20]。

1.3 蚯蚓体内蛋白质与氨基酸测定

1.3.1 蛋白质的测定 体内蛋白质的分离和测定采用电泳法, 参照《实用分子生物学方法手册》完成^[21]。

(1) 样品处理 在采集的不同小区的蚯蚓群体中随机选取白颈腔环蚓(*Metaphire californica*) 成体 10 条, 洗净, 剪碎, 混匀, 取 2 ml 放入指形管中。预处理如下: 加入匀浆用石英砂, 用 FP120HY-230 型细胞破碎仪振动 20s(振速 6. 5 次/ s) 2 次。4℃下离心(12000 r/ min) 15min。取其上清液 0. 08 ml 加 pH 6. 8 缓冲液 0. 08 ml, 在恒温金属浴中 100℃下变性 5min。用 EC250_90 型电泳仪, 电泳液为 5 倍甘氨酸溶液, 200 V/ 15mA 电泳 1h。

(2) 电泳胶的制备

①12% 分离胶的制备 水, 1. 6 ml; 30% 丙烯酰胺(ACR) , 2. 0 ml; 1. 5 mol/ L TRIS(三羟甲基氨基甲烷) 碱(pH 8. 8, 1. 3ml) 。10% SDS(十二烷基硫酸钠) 0. 5 ml, TEMED(N, N, N, N′-四甲基乙二胺) 0. 002 ml。

②5% 积层胶的制备 水: 0. 68 ml, 30% ADR(脂质体包裹阿霉素) 0. 17 ml, 1 mol/ L TRIS 碱(pH6. 8) : 0. 13 ml。

③染色与脱色 考马斯亮兰染色 2h, TBST[10 mmol/ L TRIS, 150 mmol/ L NaCl (pH 8. 0) 和 0. 05% 山梨醇脂脂肪酸酯三种物质混合液] 液脱色 30min。分析测定工作在青岛国家外来动物检疫中心完成。

1.3.2 氨基酸的测定 氨基酸测定按照丁雅韵等^[22]介绍的分析方法进行。随机选取不同处理小区中采得的白颈腔环蚓成体 10 条, 洗净, 65℃烘 6h 后称重, 再烘 3h 称至恒重。用碾钵磨碎, 烘 2h。称 40 mg 蚯蚓样放入水解管中, 加入 6 mol/ L HCL 10 ml, 抽真空后, 用酒精喷灯将管封闭, 110℃下水解 24h, 离心(10000 r/ min) 15min。上清液定溶至 200 ml。

测定仪器与条件: 日立 835_50 型氨基酸自动分析仪。柱温 53℃, 柱长 150 mm, 直径 2. 6 mm, 所用树脂为磺酸型阳离子交换树脂(# 2619) , 泵 1 流速为 0. 255 ml/ min, 压力为 80~ 120 kg/ cm², 泵 2 流速为 0. 3 ml/ min, 压力为 15~ 30 kg/ cm², 每次测定自动进样 50μl, 标准样品购自(美国) FLUKA 公司提供。分析测定工作在江苏省农科院测试中心完成。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓种群的组成和多样性

2.1.1 蚯蚓种群的组成 由于长期的精耕细作和水旱轮作, 黄泥土已成为太湖地区高产稳产的主要农田土

壤。在供试水稻土中共检出蚯蚓分属钜蚓科、链蚓科和正蚓科 3 科,远环蚓属、微蠕属、腔环蚓属、爱胜属、杜拉属和异唇属等 4 属,有如下 7 个种:湖北远环蚓(*Amyntas hupeiensis*)、无锡微蠕蚓(*Microscolex wuxiensis*)、白颈腔环蚓(*Metaphire californica*)、威廉腔环蚓(*Metaphire guillelmi*)、日本杜拉蚓(*Dravida japonica*)、背暗异唇蚓(*Allolobophora caliginosa*)和赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)。但不同施肥措施下蚯蚓种群数的差异较大(如图 1)。化肥配施秸秆的处理和化肥配施猪粪的处理下全部 7 种蚯蚓都存在;而长期单施化肥下(化肥区)仅检出 3 种蚯蚓。化肥区和无肥区均未检出常见种类日本杜拉蚓(*Dravida japonica*),该种蚯蚓的食性是食用腐烂的有机物。化肥区还未见湖北远环蚓(*Amyntas hupeiensis*)和稀有种类无锡微蠕蚓(*Microscolex wuxiensis*)、背暗异唇蚓(*Allolobophora caliginosa*)。秸秆区和常规区的蚯蚓数量相近,分别为 17 个/m² 和 16.9 个/m²,而无肥区减少为 13.3 个/m²,化肥区的蚯蚓数量仅达 3 个/m²,只相当于常规区和秸秆区的 18%。这些说明不施肥下仅主要影响了蚯蚓的数量,而单施化肥不但减少了蚯蚓的数量,而且还大大减少了多个蚯蚓种群的存在。

2.1.2 蚯蚓种群多样性指数和丰富度 土壤动物的丰富度和多样性是反映土壤动物群落水平分布差异的重要指标,本文多样性指数和丰富度采用以下公式计算:

$$\text{丰富度 } d = (s - 1) / \ln N$$

式中, S 为总类群数, N 为总个体。

$$\text{多样性指数 } H = - \sum_{i=1}^s P_i \ln P_i$$

式中, $p_i = \frac{N_i}{N}$, N 为总个体数, N_i 为第 i 类群的个体。

2.2 白颈腔环蚓(*Metaphire californica*) 氨基酸含量

由白颈腔环蚓(*Metaphire californica*) 酸水解后共获得 17 种氨基酸和游离氨,其相对的组成示于表 3。不同小区其总氨基酸含量的变化是:秸秆区(26.68%) > 无肥区(24.65%) > 常规区(23.89%) > 化肥区(22.47%)。各种氨基酸中苯丙氨酸、丙氨酸、甘氨酸、谷氨酸、赖氨酸、精氨酸、亮氨酸、丝氨酸、苏氨酸、天门冬氨酸、缬氨酸和异亮氨酸也有相同的趋势,蛋氨酸是无肥区 > 常规区 > 秸秆区 > 化肥区,脯氨酸是秸秆区 > 常规区 > 化肥区 > 无肥区,胱氨酸是秸秆区和常规区 > 化肥区和无肥区,酪氨酸是无肥区 > 常规区 > 秸秆区 > 化肥区,组氨酸是常规区、化肥区和秸秆区 > 无肥区。说明长期施用化肥的农田蚯蚓总氨基酸的含量和大部分种类氨基酸含量降低,即使结合大量施用有机肥的常规区同样如此;秸秆还田有利于蚯蚓氨基酸含量的增加;无论是施用有机肥、化肥或者化肥结合有机肥施用都使组氨酸含量增加,使酪氨酸含量降低。

2.3 白颈腔环蚓(*Metaphire californica*) 蛋白质含量与分子量变化

白颈腔环蚓(*Metaphire californica*) 是供试水稻土的常见蚯蚓种类之一,也是本次调查的优势种之一。本次测得供试不同小区的白颈腔环蚓的蛋白质分子量介于 7kd~ 175kd。从图 3 看出,不同的施肥措施影响供试蚯蚓不同分子量蛋白质的含量,采自常规区和秸秆区的白颈腔环蚓相对于采自无肥区和化肥区含较多的分子量 7kd~ 25kd 之间的蛋白质;而对于分子量 25kd~ 33kd 之间的蛋白质含量而言,无肥区白颈腔环蚓中主要是小分子量部分,而常规区和秸秆区白颈腔环蚓中不同分子量的蛋白质分布较均匀,而化肥区的白颈腔环蚓主要含有分子量 33kd 附近的蛋白质;特别地,在分子量 33kd~ 83kd 之间,无肥区、化肥区和秸秆区有两条明显的蛋白质条带,而化肥区则缺失。这指示了长期不同施肥下同种蚯蚓的蛋白质代谢发生了变化,长期单施化肥下稻田白颈腔环蚓中分子量小于 25kd 的蛋白质含量下降,而分子量 33kd 附近的蛋白质含量增加,并且不再

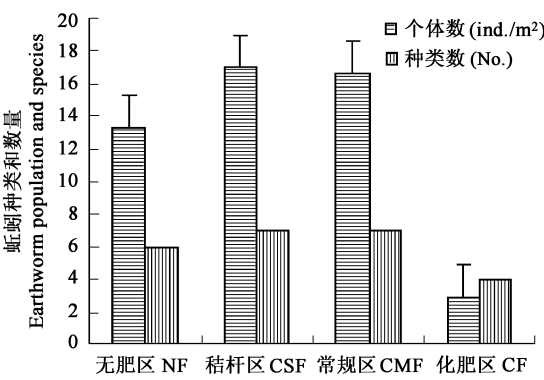


图 1 不同施肥小区蚯蚓种类和数量的分布

Fig. 1 Earthworm population and species under different fertilizations

出现分子量 33kd~ 83kd 之间的蛋白质。相反,长期化肥配施秸秆和猪粪使白颈腔环蚓中蛋白质分子量集中于25kd~ 33kd 之间。

3 讨论

3.1 蚯蚓种群的变化与稻田施肥的关系

关于不同施肥下土壤生物区系变化的研究报道很多。本研究结果说明,稻田单施化肥下,无论是蚯蚓的数量还是种类都比不施肥下的低。而无肥区与化肥配施有机肥的处理相比,只是数量较低,多样性基本持平。这说明土壤中蚯蚓的多样性更受到人类活动干扰的影响。而我们先前的工作表明,无肥区的微生物量与化肥区相近,但基因多样性明显高于化肥区,又显著低于化肥配施有机肥的处理^[18]。因此,相对于微生物来说蚯蚓作为土壤中大型动物对于施肥的干扰较不敏感。

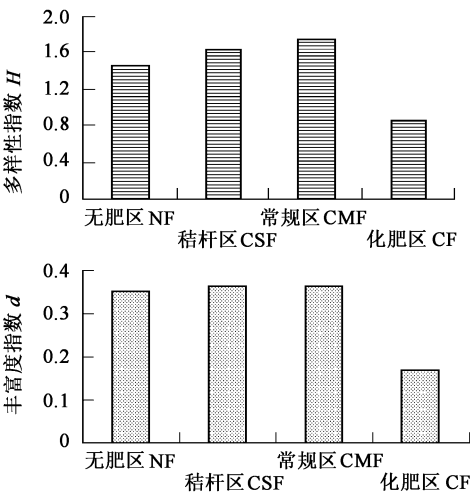


图2 不同施肥小区蚯蚓多样性指数(H)和丰富度(d)的变化
Fig.2 Change of earthworm diversity and abundance in different plots

表3 不同小区白颈腔环蚓体内氨基酸含量(%)

Table 3 Composition (%) of amino acids of *Metaphire californica*

氨基酸 Amino acid	化肥区 CF	常规区 CFM	无肥区 NF	秸秆区 CFS
苯丙氨酸 Phenylalanine	1.05	1.12	1.14	1.23
丙氨酸 Alanine	1.35	1.35	1.40	1.59
蛋氨酸 Methionine	1.18	1.34	1.52	1.33
脯氨酸 Proline	0.89	0.90	0.85	1.04
甘氨酸 Glycine	1.21	1.25	1.35	1.47
谷氨酸 Glutamic acid	2.99	3.18	3.24	3.75
胱氨酸 Cystine	0.86	0.77	0.88	0.78
精氨酸 Arginine	1.43	1.60	1.69	1.85
赖氨酸 Lysine	1.52	1.62	1.67	1.84
酪氨酸 Tyrosine	0.88	1.00	1.04	0.92
亮氨酸 Leucine	1.71	1.83	1.89	2.16
丝氨酸 Serine	1.06	1.12	1.16	1.27
苏氨酸 Threonine	1.03	1.10	1.12	1.21
天门冬氨酸 Aspartic acid	2.21	2.37	2.41	2.68
缬氨酸 Valine	1.36	1.42	1.49	1.56
异亮氨酸 Isoleucine	1.19	1.36	1.39	1.44
组氨酸 Histidine	0.56	0.57	0.41	0.56
氨基酸总量 Total amount	22.47	23.89	24.65	26.68

一些研究表明,不同施肥下蚯蚓生物量与种群的变化与土壤养分变化有关。乔玉辉等^[23]在华北旱地的实验结果认为,单施化肥下土壤中无机养分的骤然增加不利于蚯蚓的生存和竞争。有研究指出,在酸沉降影响下,土壤N素额外增加后使蚯蚓生物量减少,其原因是N素增加直接刺激了微生物数量大增,而蚯蚓在与微生物对N的竞争中处于劣^[24],同时蚯蚓赖以生存的有机物源减少也增加了蚯蚓的竞争压力,而降低了蚯蚓的种群数和多样性指数^[25]。另外一些研究认为,单施化肥下土壤理化性质变差,蚯蚓的生存环境受到影响,尤其是降低了土壤孔隙度而影响蚯蚓的种群数量^[8]。在本试验条件下,无肥区蚯蚓数量反而高于化肥区,说明蚯蚓数量与作物直接输入的有机物残留没有明显的关系,但化肥配施有机物的处理中蚯蚓数量大大增加与作物秸秆和猪粪的施入而直接提供的蚯蚓食物有关。统计分析表明,施化肥的各小区的蚯蚓多样性变化与其中的有机质的增加存在明显的关系,而与氮素的变化关系不明显(图4),这与上述的一些研究结果相一致。

因此,不同施肥下有机质的状况的改变可能是影响蚯蚓生存和竞争的主要因素。看来,化肥配施有机肥和秸秆还田是太湖地区高产水稻水土保持和提高土壤质量的良好施肥措施。

3.3 不同施肥下稻田蚯蚓种群多样性与生产力稳定性

对于农田来说,生态系统稳定性的关键是生产力的稳定性。各试验小区的 1997~2002 年间水稻产量变化如图 5 所示。这里,以历年产量的变率来衡量生产力的稳定性。无肥区因为没有施用肥料,水稻产量呈逐年下降的趋势,而且产量也相对较低,常规和秸秆两个区之间产量基本无明显差异,产量较高而且变率明显较小。而纯施用化肥的小区产量变幅从 $9.0\text{ t}/(\text{hm}^2\cdot\text{a})$ 到 $5.25\text{ t}/(\text{hm}^2\cdot\text{a})$,试验期间产量总体呈下降的趋势,产量变异系数高达 20%。对本试验中水稻产量变异系数与各区蚯蚓多样性指数作相关性分析,发现蚯蚓多样性指数越高水稻产量越稳定(图 6)。Mäder 等前人对旱地有机农业生态系统的研究提出,土壤微生物多样性是生态系统稳定性的极好指示^[26],先前的结果指出了不同施肥下微生物基因多样性与稻田产量的稳定性具有很好的关系。这里的结果也揭示了蚯蚓作为土壤动物区系的重要组成部分,其多样性在很大程度上左右着生产力的稳定性。因此,化肥配施有机肥促进了土壤动物多样性的保持和提高,从而有利于稻田生态系统维持和稳定的初级生产力。

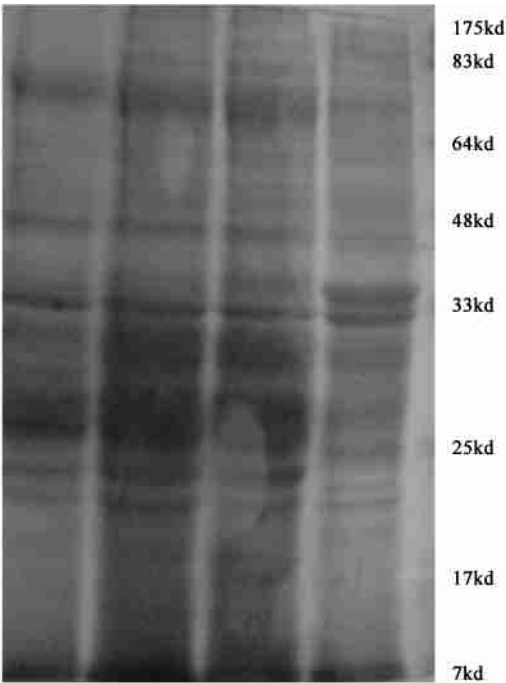


图3 白颈腔环蚓(*Metaphire californica*) 蛋白质条带
Fig. 3 *Metaphire californica* protein bands

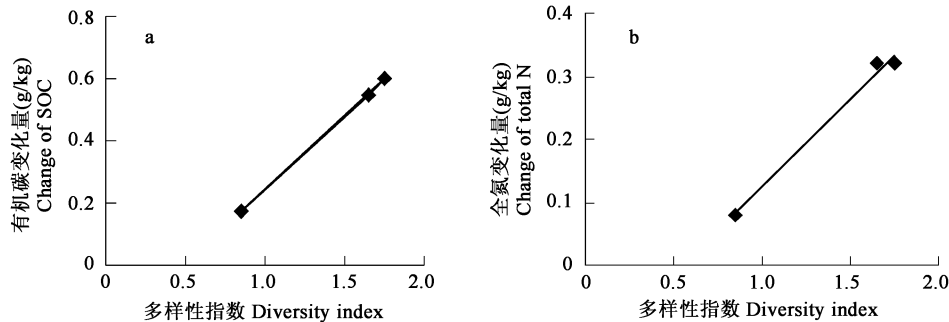


图4 施化肥小区的蚯蚓多样性指数与土壤养分变化的关系

Fig. 4 Relationship between earthworm diversity and soil C, N changes under different fertilization
a. 与土壤有机碳 with organic carbon; b. 与土壤全氮 with total N

3.3 蚯蚓体内蛋白质、氨基酸含量与组成作为稻田生态系统生物标志物

近几年对于利用陆生脊椎动物作为生物标志物评价外源污染物对土壤生态系统的不利效应的研究越来越多^[27, 28]。探讨利用热激蛋白(Hsp) 做于土壤生态系统的生物标志物, 重点对 Hsp-70 进行研究, 并在土壤和水生环境的研究上有了一定的进展^[13, 29]。这里没有在不同施肥处理土壤中检出蚯蚓的热激蛋白(Hsp-70)。这可能是由于土壤是各种污染物的汇, 蚯蚓等土壤无脊椎动物长期处于不同肥料的影响下, 在长期的不断适应中不再产生对污染物短期冲击有灵敏反应的热激蛋白。图 3、图 4 的资料可以看出, 长期单施化肥明显降低了蚯蚓氨基酸的含量, 并且在分子量 33kd 附近的蛋白质含量明显增加, 这种变化与土壤中氮素的积累并不存在对应关系。这种现象是否可以代表肥料处理下不同土壤条件改变对但蚯蚓蛋白质和氨基酸代谢的影响特征, 并且用来指示稻田生态系统在长期不同肥料处理下的生态功能变化还有待进一步研究。

4 结论

(1) 在太湖地区一块处于长期不同施肥的黄泥土稻田中共检出的蚯蚓由 4 科 5 属 7 种。长期不施肥只是使蚯蚓的数量明显减少, 但对蚯蚓的种类数影响不大; 而长期化肥配施有机肥提高了蚯蚓的种类和数量, 相反, 长期单施化肥不利于蚯蚓的生存, 一些稀有种消失, 多样性明显丧失;

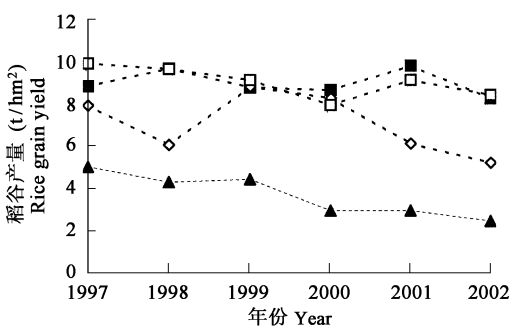


图 5 不同施肥区水稻产量年际变异性

Fig. 5 Grain yield variability of treated plots for the last 6 years

▲, 无肥区 NF; ◇, 化肥区 CF; □, 秸秆区 CFS; ■, 常规区 CMS

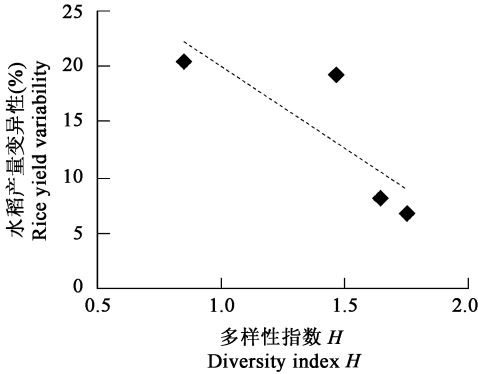


图 6 蚯蚓多样性指数与稻谷产量变异的关系

Fig. 6 Correlation of earthworm diversity to grain yield variability

(2) 供试水稻土中蚯蚓的多样性受到长期不同施肥的影响。长期化肥配施有机肥下蚯蚓的多样性指数和丰富度均较高, 但长期单施化肥使蚯蚓的多样性指数和丰富度明显降低; 蚯蚓的多样性与稻田生产力的稳定性存在密切关系;

(3) 蚯蚓体内蛋白质含量和氨基酸组成也明显响应长期施肥措施。长期单施化肥下蚯蚓小分子量蛋白质(小于 25kd) 含量降低, 分子量 33kd 附近蛋白质明显增加。单施化肥使蚯蚓总氨基酸的含量和大部分种类氨基酸含量降低, 长期施用有机肥和秸秆还田下蚯蚓蛋白质和氨基酸含量提高。但还不清楚是否是不同施肥下蚯蚓的蛋白质和氨基酸代谢出现了变化。

References:

[1] Handrix P F. Soil Fauna. In: Sumner M E (Editor in-chief), Handbook of Soil Science. Section C. Soil Biology and Biochemistry. Boca Raton-London-New York-Washington D C, 2000: C45~ C85.

[2] Lal R. Effects of macrofauna on soil properties in tropical ecosystems. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1988, 24(1~ 3): 101~ 116.

[3] Cuny J P, Good J A. Soil fauna degradation and restoration. In: Lal, R. and Stewart, B. A. Soil Restoration. In: Lal R, Stewart B A (eds.). Advances in Soil Science, Vol 17. Michigan, USA: Springer Verlag, 1992. 171~ 203.

[4] Bauble B M, Schmitt O. Can the abundance or activity of soil macrofauna be used to indicate the biological health of soils? In: Panthers C(ed.). Biological Indicators of Soil Health. London, UK: CAB International, 1997. 265~ 295.

[5] Spurgeon D J, Hopkin S P. Seasonal variation in the abundance, biomass and biodiversity in soils contaminated with metal emissions from a primary smelting works. Journal of Applied Ecology, 1999, 36: 173~ 183.

[6] Scott-Fordsmand J J, Weeks J M. Biomarkers in Earthworms. Review of Environmental Contamination and Toxicology, 2000, 165: 117~ 159.

[7] Lukkari T, Taavitsainen M, Soimasuo M, Oikari A, Haimi J. Biomarker responses of the earthworm *Aporrectodea tuberculata* to copper and zinc exposure: differences between populations with and without earlier metal exposure. Environmental Pollution, 2004, 129(3): 377~ 386.

[8] Stovel R J, Whalley W R, Harris P J, et al. Spatial variation in soil compaction, and the burrowing activity of the earthworm *Aporrectodea caliginosa*. Biology and Fertility of Soils, 2003, 43(5): 360~ 365.

[9] Ville P, Roch P, Cooper E L, et al. Immune-Modulator Effects of Carbaryl and 2, 4 D in the Earthworm *Eisenia fetida andrei*. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 1997, 32(2): 291~ 297.

[10] Guo Y C, Wang Z Z, Zhang Y M. Observation of the effect of heavy metal pollution on pheretima californicas stomach-intestinal mucosa injuring by using scanning electron microscope. Journal of Chinese Electron Microscopy Society, 1994, 13(2): 84~ 89.

[11] Xing X J, Wang Z Z, Zhang Y M, et al. The effect of toxicity of dimethoate pesticide to respiration intensity of soil animal. Journal of Natural Science of Human Normal University, 1998, 21(1): 89~ 92.

- [12] Hua R M, Zhang Z L, Wu X N, *et al.* Effects of rare earth elements on amino acid contents in earthworms. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(10):1787~ 1789.
- [13] Nadeau D, Corneau S, Plante L. Evaluation for Hsp-70 as biomarker of effect of pollutants on the earthworm *Lumbricus terrestris*. *Cell Stress Chaperones*, 2001, 6(2): 153~ 163.
- [14] Li L Q, Zhang J W, Pan G X, *et al.* Chang of available pool of heavy metals in paddy soils under human land use impacts from the Taihu Lake region. *Chinese Journal of Environmental Science*, 2003, 24(3): 101~ 104.
- [15] PAN G X, JIAO S J, LI L Q. Effect of long-term fertilization practices on mobility of phosphorus in a Huangnitu paddy soil receiving low P input in the Taihu lake region, Jiangsu Province. *Chinese Journal of Environmental Science*, 2003, 24(3):91~ 95.
- [16] Zhao Q G. Environmental quality and agricultural security of Jiangsu Province. *Soils*, 2002, 1: 1~ 8.
- [17] Pan G X. *Soil Science of Earth Surface System*. Beijing: China Geology Press, 2000. 47~ 55.
- [18] Zhang P J, Li L Q, Pan G X, *et al.* Influence of long-term fertilizer management on topsoil microbial biomass and genetic diversity of a Paddy soil from the Tai Lake region, China. *Acta Ecologica Sinica*, 24(12): 2819~ 2824.
- [19] Gong Z T. *Chinese Soil Taxonomy*. Beijing: China Science Press, 1999. 109~ 192.
- [20] Chen Y. *Chinese Animal's Atlas-Tache Animal*. Beijing: China Science Press, 1959. 2~ 16.
- [21] Li Y M, Zhao Y Q. *Method Manua of Practical Molecule Biology*. Beijing: Science Press, 2001. 325~ 354.
- [22] Ding Y Y, Xie M X, Kang J. Quantitative Analysis of Amino Acids in Protein Hydrolysates. *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 2002, 30(4): 418~ 421.
- [23] Qiao Y H, Cao Z P, Wang B Q, *et al.* Impact of soil fertility maintaining practice on earthworm population in low production agro-ecosystems in North China. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(4): 700~ 705.
- [24] Xu G L, Mo J M, Zhou G Y, *et al.* Relationship of soil fauna and N cycling and its response to N deposition. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(11): 2454 ~ 2463.
- [25] Alexei V, Tiunov A, Scheu S. Carbon availability controls the growth of detritivores (*Lumbricidae*) and their effect on nitrogen mineralization. *Oecologia*, 2004, 138(1): 83~ 90.
- [26] Mäder P, Fließbach A, Dubois D. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*, 2002, 293: 1694~ 1697.
- [27] Yin W Y. *Soil Animals of China*. Beijing: Science Press, 2000. 20~ 21.
- [28] Li P J, Xiong X Z, Yang G F, *et al.* Application of terrestrial invertebrates in soil pollution ecology study. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(12): 2347~ 2350.
- [29] Sanders B M. Stress proteins in aquatic organisms an environmental perspective. *Critical Review on Toxicology*, 1993, 23: 49~ 75.

参考文献:

- [10] 郭永灿, 王振中, 张友梅. 土壤中重金属污染对白颈环毛蚓胃肠道粘膜的扫描电镜观察. *电子显微学报*, 1994, 13(2): 84~ 89.
- [11] 邢协加, 王振中, 张友梅, 等. 乐果农药污染对土壤动物呼吸强度的影响. *湖南师范大学自然科学学报*, 1998, 21(1): 89~ 92.
- [12] 花日茂, 张自立, 吴新安, 等. 稀土对蚯蚓体内氨基酸含量的影响. *应用生态学报*, 2003, 14(10): 1787~ 1789.
- [14] 李恋卿, 郑金伟, 潘根兴, 等. 太湖地区不同土地利用影响下水稻土重金属有效性库变化. *环境科学*, 2003, 24(3): 101~ 104.
- [15] 潘根兴, 焦少俊, 李恋卿, 等. 低施磷水平下不同施肥对太湖地区黄泥土磷迁移性的影响. *环境科学*, 2003, 24(3): 91~ 95.
- [16] 赵其国, 周炳中, 杨浩. 江苏省环境质量与农业安全问题研究. *土壤*, 2002, 1: 1~ 8.
- [17] 潘根兴. *地球表层系统土壤学*. 北京: 地质出版社. 47~ 55.
- [18] 张平究, 李恋卿, 潘根兴, 等. 长期不同施肥下太湖地区黄泥土表微生物碳氮量及基因多样性变化. *生态学报*, 24(12): 2819~ 2824.
- [19] 龚子同. *中国土壤系统分类: 理论—方法—实践*. 北京: 科学出版社, 1999. 109~ 192.
- [20] 陈义. *中国动物图谱——环节动物*. 北京: 科学出版社, 1959. 2~ 16.
- [21] 李永明, 赵玉琪. *实用分子生物学方法手册*. 北京: 科学出版社, 2001. 325~ 354.
- [22] 丁雅韵, 谢孟峡, 康娟. 蛋白质水解液中氨基酸组成的定量分析. *分析化学*, 2002, 30(4): 418~ 421.
- [23] 乔玉辉, 曹志平, 王宝清, 等. 不同培肥措施对低肥力土壤生态系统蚯蚓种群数量的影响. *生态学报*, 2004, 24(4): 700~ 705.
- [24] 徐国良, 莫江明, 周国逸, 等. 土壤动物与 N 素循环及对 N 沉降的响应. *生态学报*, 2003, 23(11): 2454~ 2463.
- [27] 尹文英. *中国土壤动物*. 北京: 科学出版社, 2000. 20~ 21.
- [28] 李培军, 熊先哲, 杨桂芬, 等. 动物生物标志物在土壤污染生态学研究中的应用. *应用生态学报*, 2003, 14(12): 2347~ 2350.