

互花米草 (*Spartina alterniflora*) 草场 土壤微生物生态分布及某些酶活性的研究

孙炳寅

(南京大学大米草及海滩开发研究所)

朱长生

(南京大学生物化学系)

摘 要

种植互花米草的盐沼土中,细菌、放线菌和真菌的数量比对照盐沼土中多。就不同深度来说,10—30厘米土层中,细菌数最多。细菌总数的增减趋势是:夏秋两季最多,冬春两季较少。在各生理类群中,氯化细菌占优势,固氮细菌、硝化细菌次之,反硝化细菌和硫酸盐还原细菌最少。内源呼吸作用强度、添加葡萄糖后的呼吸作用强度、氧化丙酮酸的能力和氧化多酚化合物的能力皆显示出同样的趋势,即三年生草场土壤中生物活性最强,光滩土壤中生物活性最弱。在光滩土壤中,脲酶和过氧化氢酶活性很低,而种植互花米草的土壤中这两种酶活性较强,但与种植年限和季节变化无显著相关性。

关键词:互花米草,微生物,生态分布,酶。

一、前 言

互花米草是分布在潮间带滩面上的优势高等植物,原产美国东部海岸。1979年引入我国。数年来我们对其生物学、生态学诸方面进行了较系统的研究。鉴于国内外尚未见有关报道,作者在两年内(1985—1986年)在试验场地定期采样进行了分析研究。本文报道这项研究的初步结果。

二、实 验 方 法

1. 样品采集 在江苏省滨海县海堤管理所附近同一区域海滩,在光滩和1年生、2年生和3年生草场内,分别按不同深度采样,用冰瓶装存,10小时内带回实验室进行各项指标分析测定

2. 实验室测定分析 (1) 微生物学分析^[1] 细菌总数:肉膏蛋白胨琼脂平板表面涂沫法。真菌总数:Martin培养基平板表面涂沫法。放线菌总数:高氏一号合成培养基平板表面涂沫法。硝化细菌数、反硝化细菌数、固氮细菌数、氯化细菌数、硫酸盐还原细菌数:采用三管重复稀释法计数。其中,厌氧细菌培养在厌氧条件下。

(2) 土壤呼吸作用强度测定^[2] 用华勃氏呼吸计(Warburg氏仪器)测压法,分别测定不同处理条件下,土壤释放CO₂和吸收O₂量,求出呼吸商。

(3) 酶活性分析^[3] 过氧化氢酶活性:以过氧化氢为基质,滴定法求出相当于被分解的过氧化氢的0.1mol的KMnO₄量。脲酶活性:扩散法,以48小时后1克土壤中NH₄-N的

本文于1987年1月17日收到。

毫克数表示。

三、结果分析

1. 不同互花米草草场土壤微生物生态分布

于1985年5月29日、7月2日、9月21日和1986年2月20日4次采样,测定各土壤样品中的各大类微生物总数、生态分布、季节变化及主要生理类群。其结果分别列于表1、表2、表3(4次采样测定结果大致趋势相似)。

表1 盐沼土中土壤微生物垂直分布

Table 1 The vertical distribution of soil microbes in salt marshes

采样地点	土层 (厘米)	细菌 (10^6 个/克)	放线菌 (10^6 个/克)	真菌 (个/克)
光滩	0—15	0.20	0.03	—
	15—30	0.61	未测到	—
	30—45	0.10	0.02	—
1年生草场	0—15	1.35	0.06	—
	15—30	4.30	0.10	10
	30—45	0.89	0.10	5
2年生草场	0—15	1.40	0.13	1
	15—30	2.85	0.15	4
	30—45	1.21	0.08	—
3年生草场	0—15	1.56	0.15	—
	15—30	3.31	0.11	6
	30—45	1.15	0.06	—

由表1可得以下规律:(1)就三大类微生物总数而言,总的趋势是互花米草草场下土壤微生物数量远比光滩土壤中微生物数量多。这在一定程度上说明了草场下的土壤熟化程度提高了。(2)就土层各层次的数量分布来说,15—30厘米土层中数量最多,0—15厘米土层中数量次之,15—45厘米土层中数量最少。

三大类微生物中,细菌数量最多。对其进行的周年数量变动调查,结果列于表2。

表2数据指出:细菌总数增减趋势是:夏、秋季最多,冬、春季较少。细菌总数与米草季节生长期呈一定相关性。

各草场下土壤微生物按生理类群组成列于表3。

由表3可见,各草场下土壤微生物氨化细菌占优势比例;硝化细菌、固氮细菌次之;反硝化细菌和硫酸盐还原菌最少。草场下细菌各类群的特征是氨化细菌、固氮细菌明显增多。与一般淹水系统中的情况不同的是,反硝化细菌数量较少,这可能是潮间带的潮水周期性涨落,适当延长了土壤通气时间。

2. 不同草场下土壤呼吸作用强度的变化

土壤呼吸主要是由土壤微生物的生命活动所引起的。如果在土壤中添加有效碳和氮作为

表2 盐沼土中细菌数量的季节变化

Table 2 The seasonal variation of bacteria numbers in salt marshes

采样地点	季节间数量变化 (10^6 个/克)			
	85.5.29	85.7.3	85.9.21	86.2.20
光滩	0.31	0.61	0.65	0.10
1年生草场	1.21	4.30	4.12	0.96
2年生草场	1.30	2.85	3.25	0.86
3年生草场	1.19	3.31	3.31	1.03

* 土层深度为15—30厘米。

表3 盐沼土中微生物生理类群组成

(10^3 个/克土,深度15—30厘米)

Table 3 The physiological groups of microbes in different salt marshes
(10^3 /gram dry soil, depth: 15—30cm)

地点	氨化菌	硝化菌	固氮菌	反硝化菌	硫酸盐还原菌
光滩	60.5	19.60	0	0.30	0.85
1年生草场	201.0	72.45	2.35	1.40	1.08
2年生草场	318.2	72.45	4.20	1.80	1.75
3年生草场	239.0	19.95	3.15	1.33	1.60

能源及营养源,则土壤潜在的生物活性被激发,呼吸作用增强, Hanson^[11]认为,利用土壤呼吸强度的变化,可以阐明土壤氧化代谢的能力和方向。

本实验试图从内源呼吸、葡萄糖氧化、丙酮酸氧化和多酚类氧化诸方面探讨上述问题,试验结果列于表4(三次重复)。

表4 盐沼土中土壤呼吸作用强度

Table 4 The soil respiration intensity of different salt marshes

地 点	内源呼吸			土壤代谢葡萄糖能力			土壤代谢丙酮酸能力			土壤代谢多酚化合物能力		
	(微升/10克土·24小时)			(微升/10克土·24小时)			(微升/10克土·24小时)			(微升/10克土·24小时)		
	O ₂	CO ₂	RQ	O ₂	CO ₂	RQ	O ₂	CO ₂	RQ	O ₂	CO ₂	RQ
光 滩	5.81	6.10	1.05	10.46	11.30	1.08	9.92	12.30	1.24	21.67	0.60	0.30
1年生草场	20.91	25.30	1.21	41.29	51.20	1.24	39.08	51.20	1.31	25.23	27.20	0.88
2年生草场	23.11	30.50	1.32	48.47	60.10	1.24	54.50	98.10	1.80	95.14	35.20	0.37
3年生草场	23.52	33.40	1.42	44.35	61.20	1.38	48.85	97.20	1.98	69.31	40.20	0.58

从表4可以看出,内源呼吸作用的变化、添加葡萄糖、丙酮酸后呼吸作用强度的变化,皆呈现出种植互花米草草场土壤中的呼吸作用强于光滩土壤,这表明种植互花米草后的土壤总的生物活性较高,而且随着种植年限增长而递增,这有助于我们了解不同土壤代谢能力。

土壤对多酚化合物的氧化能力,同样以种植互花米草草场下的土壤较强,而光滩土壤极其微弱,因为多酚化合物主要是由植物残体的分解产生,草场土壤植物残体丰富,而贫瘠的光滩土壤中没有植物残体,前者对多酚化合物潜在氧化能力较强,而后者较弱。

上述结果表明,在供试的土壤样品中,无论是内源呼吸,还是添加基质时的呼吸作用强度,皆以种植互花米草草场土壤最强,光滩土壤最弱。这说明草场土壤不仅总的生物活性强,而且潜在的生物活性也较强。

3. 互花米草草场下土壤酶活性的变化

我们对互花米草草场土壤和光滩土壤中存在的有代表性的氧化还原酶(过氧化氢酶)和水解酶(脲酶)的酶活性进行了周年测定,其结果列于表5。

表5结果表明:(1)种植互花米草草场土壤中脲酶和过氧化氢酶的活性都比光滩土壤中的酶活性强,这是由于栽种了互花米草,土壤中有有机碎屑增多,脲酶活性增强,说明了土壤中有有机碎屑分解强度增高,其结果是土壤中的有机氮含量增高;过氧化氢酶活性提高,表明了腐殖质再合成强度增强,导致了土壤中有有机物含量增加。上述结果表

表5 盐沼土壤酶活性*

Table 5 Salt marshes soil enzyme activities

采 样 地 点	时 间 (年·月·日)	酶 类	
		脲 酶 N-NH ₃ 毫克/1克·48小时	过氧化氢酶 0.1mol KMnO ₄ 消耗量 毫升/1克干土
光 滩		6.60	4.60
1年生草场	1985.5.29	10.50	15.20
2年生草场		11.60	17.00
3年生草场		—	—
光 滩		4.90	1.20
1年生草场	1985.7.2	16.50	18.00
2年生草场		16.80	21.20
3年生草场		—	—
光 滩		3.90	6.40
1年生草场	1985.9.21	24.23	29.10
2年生草场		26.80	20.00
3年生草场		15.60	31.00
光 滩		3.70	8.20
1年生草场	1986.2.20	12.20	15.80
2年生草场		14.00	20.20
3年生草场		11.50	18.50

* 土层深度0—50厘米。

明, 草场土壤中物质转化在较强烈地进行。(3) 就季节来说, 土壤酶活性不呈现明显的差异, 即土壤温度对上述两种酶没有明显影响。

四、讨 论

1. 土壤中酶是土壤中生物活动的产物, 土壤酶活性反映土壤中生物代谢和物质转化状况, 所以土壤酶活性可以表征土壤中正在进行着的各种生物化学过程的方向和程度, 因此, 德国学者Herbet早在1963年就把土壤酶活性作为土壤活性和土壤生产力的指标^[5]; 也有人认为土壤酶活性就是生物活性, 土壤酶活性与土壤肥力成正相关^[6-8]。我们认为土壤酶活性的测定是在实验室人工模拟条件下进行的, 所得结果只能在某些程度上反映土壤的潜在生物学活性, 不能准确表示土壤自然状态下许多生物化学过程的实际情况, 土壤酶活性只能作为土壤熟化程度的一种辅助指标。

土壤中酶的种类很多, 至于哪几种酶可以反映土壤熟化程度, 有些作者^[6-8]以蛋白酶、转化酶、接触酶和多酚氧化酶活性作为土壤熟化和肥力水平的指标。作者认为在鉴定一般生物活性和土壤肥力状况时, 可以测定下述酶中的任一种, 如转化酶、脲酶、脱氢酶和过氧化氢酶等。本实验选用了两种酶——脲酶和过氧化氢酶作为测定指标, 它们已可以表示土壤的生化活性, 特别是过氧化氢酶, 它可表示土壤氧化过程的强度, 而土壤的氧化程度又造成了土壤有机质的合成及其有效化有关的土壤动力学现象, 无论在哪一种土壤中, 它们的活性都能表示出该土壤氧化还原能力的特点, 所以, 它们的活性强弱可作为衡量土壤中氧化过程的方向和强度的指标, 而且土壤中过氧化氢酶活性与土壤微生物生命活动的强度相关^[6]。

2. 土壤中过氧化氢酶和脲酶的活性与土壤的呼吸作用强度存在明显的相关性, 过去许多学者证实了这一点^[6,8-9], 我们的结果也证实了这一结论。

3. 关于土壤微生物数量与土壤酶的活性关系, 有关报道提法是不一致的, 某些学者认为土壤微生物数量与土壤酶活性有直接相关性, 有些学者不认为存在这种相关性。我们的结果是, 土壤中细菌的总量与酶活性没有相关性, 它们的变化不规律, 这可能一方面是由于细菌各生理类群多的缘故, 另一方面土壤酶的来源, 除微生物外, 还有其它生物的缘故。

4. 关于土壤微生物数量与土壤肥力的关系, 一般认为, 土壤肥力与土壤中的细菌、真菌、放线菌呈正相关。我们认为它们的总数量只能代表这些类群的存活状况, 由于某一类群中包括各生理上明显的不同种属, 它们对土壤的作用方式各异, 有些作用还是对抗的, 如大多数固氮细菌都能进行反硝化作用, 即同一种细菌能进行两种完全相反的作用——固氮作用与反硝化作用^[10]。因此, 用它们来反映土壤肥力状况是不确切的, 土壤肥力的生物指标应包括: 微生物量、酶活性大小、呼吸作用强度和生物量等。综合这些指标, 互花米草的种植具有改良土壤的效果。

参 考 文 献

- [1] 陈绍铭等, 1985, 《水生微生物学实验法》。第68—98页, 海洋出版社。
- [2] 郑洪元等, 1982, 《土壤动物生物化学研究法》。第1—60页, 科学出版社。
- [3] Ф. X. 哈兹耶夫 (郑洪元等译), 1980, 《土壤酶活性》。第19页、第108页, 科学出版社。
- [4] Hanson, R. B., 1977, Comparison of nitrogen fixation activity in tall and short *Spartina alterniflora* salt marsh soil. *Applied and Environmental Microbiology* 33:596—603.

- [5] Herbert, R.A., 1975, Heterotrophic nitrogen fixation in shallow estuarine sediments, *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 18:215—225.
- [6] 许光辉等, 1984, 长白山北坡自然保护区森林土壤微生物生态分布及其生化特性的研究, *生态学报*, 4(3):207—223.
- [7] 周礼凯等, 1979, 黑土酶活性, 中国土壤学会论文集.
- [8] Malaren, A.D. (闵光康等译), 1984, 《土壤生物化学》, 第222页, 农业出版社.
- [9] Craven, D.R. and D.M.Karl, 1984, Microbial RNA and DNA synthesis in marine sediments *Marine Biology* 82:129—139.
- [10] Teal, I.M., 1979, Nitrogen fixation by rhizosphere and free-living bacteria in salt marsh sediments, *Limnol. Oceanogr.*, 24(1):126—132.

A STUDY ON ECOLOGICAL DISTRIBUTION OF MICROORGANISMS AND SOME BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS IN THE *SPARTINA ALTERNIFLORA* MARSH SOIL

Sun Bingyin

(Institute of *Spartina* and Tidal Land Development, Nanjing University)

Zhu Changsheng

(Biochemical Department of Nanjing University)

To find out the interrelationships between *S. alterniflora* and its particular ecological environment, comparative studies on ecological distribution of soil microbes in one-, two- and three-year-old, *S. alterniflora* marsh soil of Binghai, Jiangsu, were carried out in a 2-year-duration (1985—1986). Respiration Quotient(RQ), enzyme activity and their interrelationships were also determined. In the soil of *S. alterniflora* planting salt marsh, numbers of bacteria, actinomycetes and microfungi were found more than in unvegetated soil. The number of bacteria varied with depth, maximum occurring in 15—30 cm from the top soil in summer and autumn, alternated with relatively small numbers during spring and winter. Ammonifying bacteria predominate with less azotobacter and nitrifying bacteria and the least denitrifying bacteria and sulfate reducing bacteria. RQ were measured for endogenous respiration, respiration by adding glucose, the capacity of oxidizing pyruvic acid and polyphenol compounds. Results showed similar trends, i.e., the highest RQ occurring in 3 years old *S. alterniflora* marsh soil. Urease and perhydrogenase activities were very low in barren unvegetated soil whereas their activities were observed to be rather high without significant variations in one-, two- and three-year-old marsh soil and without seasonal variation.

Key words: *Spartina alterniflora*, ecological distribution of microorganisms, enzyme,