

微生物和蚯蚓的协同作用对土壤肥力影响的研究*

张立宏 许光辉

(中国科学院沈阳应用生态研究所)

摘 要

本文研究了原来土壤、蚯蚓消化道内含物和蚯蚓粪便中微生物种类、数量的动态变化;比较测定了蚓粪和原土壤几种重要的土壤酶的活性变化以及土壤的几种肥力指标的变化。

研究表明:不同的有机物质含量的土壤在通过蚯蚓消化道时,微生物的数量和种类总是趋于减少;氮化细菌、磷细菌和好气性纤维素分解菌的数量也减少;在蚯蚓粪便中,细菌数量、氮化细菌、磷细菌和好气性以及厌氧性纤维素分解菌的数量有明显的增加;放线菌和真菌总数未增加,甚至稍有减少。蚯蚓粪便比原土壤的过氧化氢酶和蛋白酶活性有所增加;土壤的全氮、速效氮、速效磷和腐殖质含量有明显的增加。蚯蚓粪便中土壤肥力有明显的增加。

关键词: 微生物, 蚯蚓, 细菌, 土壤。

土壤微生物和土壤动物是生态系统中物质的分解者,它们的协同作用在物质循环中有着重要的意义。本文通过对蚯蚓体内和体外微生物种类和数量的动态变化过程的研究,进一步证明蚯蚓在改良和培肥土壤中有微生物的重要贡献,是两者协同作用的结果。

一、材料与方 法

1. 材料来源 供试土壤采自沈阳市东陵区一菜地,肥力情况见表6。供试蚯蚓是人工养殖的品种,属赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)。蚯蚓预先培养在发酵过的牛粪土中。

2. 土壤处理 将土壤通过2mm的筛子,用自来水冲洗20分钟,冲掉部分有机质,此为处理1;原土壤只是通过筛子为处理2;土壤先过筛,然后按200:1的比例向土壤添加牛肉膏,混匀,此为处理3。上述三种处理的土壤装盆,将用于培养蚯蚓。

3. 测定样品的收集和处理 (i)原土壤、蚯蚓消化道前、中、后段内含物和蚓粪的收集和菌悬液的制备:把预先培养在牛粪中的蚯蚓成体挑出来,放到清水中浸泡2小时,消除部分消化道内含物。然后将蚯蚓投放到装有上述三种处理的土壤的盆钵中,同时用不加蚯蚓的土壤作为对照,恒温(28℃)恒湿下培养5天。收集上层的蚯蚓粪便和对照中的原土壤。然后挑出盆土中的蚯蚓,用清水洗掉表面浮土,用0.2%的汞水溶液将蚯蚓表面灭菌。在无菌条件下,将蚯蚓断成前、中、后等长的三段,将内含物制成 10^{-1} — 10^{-7} 系列浓度的悬浮液。(ii)不同粪龄样品的收集和菌悬液的制备:用大搪瓷盘装满筛过的土壤,挑取预先培养的蚯蚓成体,在清水中浸洗2小时,投放到大搪瓷盘中,在恒温恒湿条件下培养,每隔一定时间将产生的蚓粪收拢到一起,做好标记,再继续培养,继续照此收拢新产生的蚓粪。依此下去,就收集到粪龄分别3小时,38小时,86小时,158小时,244小时,480小时的蚓粪,制

* 本文承蒙郑洪元、芦耀波、刘增柱、张淑贤和黄福珍先生的指导和帮助,特此致谢。
本文于1987年7月18日收到。

成 10^{-1} — 10^{-6} 系列浓度的悬浮液。

4. 测定内容和方法 (i) 微生物的鉴定和计数参考文献[1—5]。(ii) 生化活性的分析参考文献[6]。(iii) 土壤肥力指标的测定参考文献[1]。

二、结果和讨论

研究结果显示: 在三种处理的土壤中细菌数量变化的趋势是相同的(图1)。原土壤进入

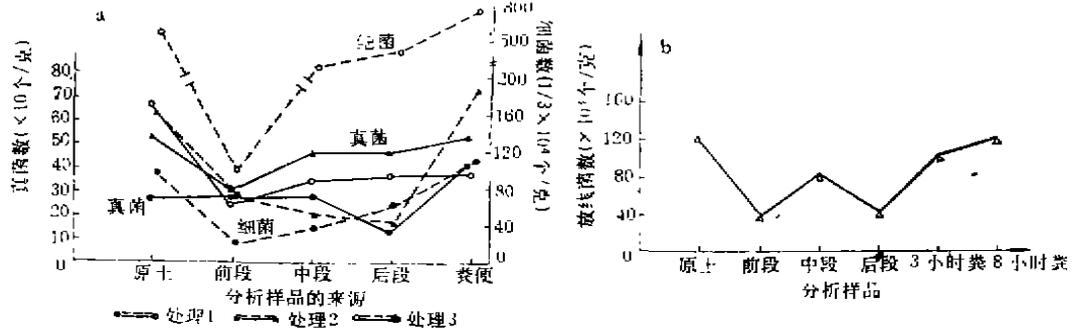


图1 三种处理的土壤中蚯蚓体内外细菌的数量变化

a—bacteria and fungi

b—actinomyces

Fig. 1 The change of the number of bacteria, fungi and actinomyces in the interior and exterior of earthworm guts in three soils

蚯蚓消化道内,细菌的数量开始显著地下降,以后又逐渐回升,蚓粪排出体外后,其细菌数量继续增加,超过了原土壤中的数量。真菌和放线菌的数量变化趋势与细菌相同(图1a, 1b)。由此可见,土壤中有机物质越多,蚯蚓体内外的细菌越多。

不同粪龄的蚓粪中,所含的微生物数量不同。新排出体外3小时的蚓粪中,细菌的数量低于原土壤,以后随时间的增加,细菌数量开始增加。在86小时时,蚯蚓粪便中细菌的数量最多,以后开始出现下降的趋势,下降到与原土壤中细菌的数量相接近时,开始小范围内上下波动(图2)。蚓粪中放线菌和真菌的数量变化不大。

氨化细菌、磷细菌和好气性纤维素细菌在蚯蚓体内和体外的数量变化趋势与细菌总数的变化是一致的,详见表1。

由于蚯蚓的影响,通过蚯蚓消化道的细菌、放线菌和真菌发生了优势种群组成的变化(表2),这表明蚯蚓吞食土壤的过程改变了土壤微生物的数量和种群的组成。

用新鲜蚓粪与原土壤进行比较测定,结果表明:原土壤经过蚯蚓消化道后,其中的过氧化氢酶、蛋白酶活性有显著增加,纤维素酶和磷酸酶活性没有明显的变化(表5)。而以全氮、速效氮、速效磷和腐殖质为主要指标的土壤肥力有明显的增加(表6)。蚯蚓粪便中细菌数量的增加是暂时的,一定的时间(约158小时)后又恢复到原土中细菌数量的水平。对氨化细菌、磷细菌、好气性纤维素菌和厌氧性尿纤维素分解菌的测定与细菌总数的测定结果是一致的。有机质越丰富的土壤,细菌的数量增加得越多,增加所持续的时间也越长,对加速土壤有机质的分解和转化的作用也更大。

从厌氧性细菌的分析过程中发现,所分离到的绝大多数是芽孢杆菌属,属于兼性厌氧性细菌,因此可能由于培养条件的限制,使蚯蚓消化道内专性厌氧性细菌没有被计数。据报道:

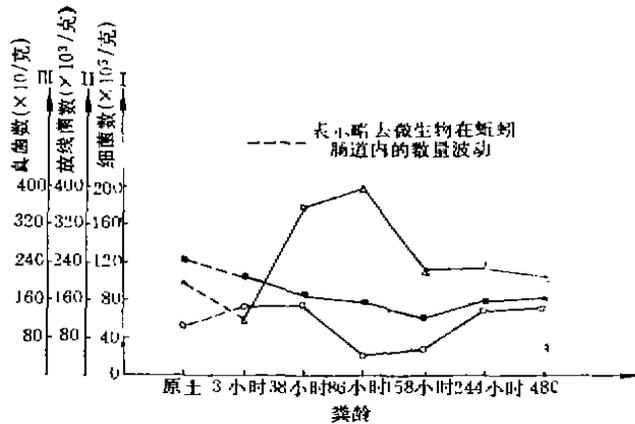


图2 蚓粪中细菌、放线菌、真菌的数量变化
Fig. 2 The change of the number of bacteria, fungi and actinomycetes in the casts of earthworms

蚯蚓的消化道好象恒化培养器，土壤中的细菌可以在其中增殖数倍^[1]。而消化道内的专性厌氧性细菌可能是蚯蚓富集养分的原因之一。

新鲜蚓粪中过氧化氢酶，蛋白酶的活性有明显的增加。这些酶可能是蚯蚓消化道内的微生物产生的。无疑这些酶活性的增加是蚯蚓粪便中肥力增加的又一个原因。

研究还进一步证实了蚯蚓粪便中全氮、速效氮、速效磷和腐殖质的含量都比原土壤明显地增加^[7]。蚯蚓

表1 蚯蚓体内外几种生理类群微生物的数量变化
Table 1 The change of the number of several physiological groups of bacteria in the interior and exterior of earthworm guts

| 样品 | 生理类群 | 氯化细菌 ($\times 10^4$ /克鲜土) | 磷细菌 ($\times 10^4$ /克鲜土) | 好气性纤维素菌 ($\times 10^5$ /克鲜土) | 厌气性纤维素菌 ($\times 10^4$ /克鲜土) |
|-------------|------|-------------------------------|------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| 原土 | | 4000 | 87.6 | 5.0 | 1.3 |
| 前段 | | 30.0 | 26.6 | 1.8 | 70.0 |
| 中段 | | 1.3 | 34.0 | 1.6 | 0.9 |
| 后段 | | 5.0 | 65.3 | 20.0 | 1.3 |
| 粪便 | | 140000 | 208.3 | 180.0 | 30.0 |
| 粪便比原土增加 (%) | | 3500 | 236.6 | 310 | 230.7 |

表2 比较优势的细菌属在蚯蚓体内外的变化
Table 2 The change of the number of dominant bacteria in the interior and exterior of earthworm guts

| 细菌属名 | 样品 | | 前段 | | 后段 | | 粪便 | |
|----------------------------------|-----|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----|------|
| | 原土 | ($1/3 \times 10^3$ /克) (%) | | |
| 醋酸杆菌属 (<i>Acetobacter</i>) | 4 | 2.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.6 |
| 纤维单孢菌属 (<i>Cellulomonas</i>) | 1 | 0.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 棒状杆菌属 (<i>Corynebacterium</i>) | 0 | 0 | 32 | 27.3 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 假单孢菌属 (<i>Pseudomonas</i>) | 58 | 38.2 | 0 | 0 | 4 | 5.8 | 8 | 4.5 |
| 芽孢杆菌属 (<i>Bacillus</i>) | 14 | 9.2 | 2 | 7.1 | 21 | 30.2 | 25 | 14.0 |
| 土壤杆菌属 (<i>Agrobacterium</i>) | 4 | 2.6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 10 | 5.7 |
| 沙雷氏菌属 (<i>Serratia</i>) | 15 | 9.9 | 8 | 1.7 | 30 | 43.2 | 80 | 45.2 |
| 节杆菌属 (<i>Arthrobacter</i>) | 2 | 1.3 | 5 | 4.5 | 10 | 14.4 | 2 | 1.1 |
| 黄杆菌属 (<i>Flavobacterium</i>) | 2 | 1.3 | 0 | 0 | 1 | 1.4 | 3 | 1.7 |
| 埃希氏菌属 (<i>Escherichia</i>) | 13 | 8.6 | 17 | 14.9 | 0 | 0 | 15 | 7.5 |
| 黄单孢菌属 (<i>Xanthomonas</i>) | 1 | 0.7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.6 |
| 链球菌属 (<i>Streptococcus</i>) | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1.4 | 0 | 0 |
| 弧菌属 (<i>Vibrio</i>) | 0 | 0 | 46 | 41.4 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 乳酸杆菌属 (<i>Lactobacillus</i>) | 38 | 25.1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 0.6 |
| 其它 | 0 | 0 | 6 | 5.4 | 3 | 4.3 | 31 | 17.4 |
| 总计 | 152 | 100 | 116 | 100 | 69 | 100 | 177 | 100 |

表 3 链霉菌各类群在几种对比样品中的变化及优势度

Table 3 The change of the number of dominant streptomyces groups in samples

| 类群属名 | 样 品 | | 前 段 | | 后 段 | | 粪 便 | |
|---|-----------------------|------|-----------------------|------|-----------------------|------|-----------------------|------|
| | ($2 \times 10^3/g$) | (%) |
| 白胞类群 (<i>Albosporus</i>) | 38 | 21.5 | 10 | 12.5 | 7 | 14.6 | 17 | 20.9 |
| 黄色类群 (<i>Flavus</i>) | 63 | 34.0 | 54 | 63.0 | 24 | 50.0 | 6 | 7.4 |
| 吸水类群 (<i>Hygroscopicus</i>) | 4 | 2.3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 金色类群 (<i>Aureus</i>) | 45 | 25.5 | 10 | 12.5 | 7 | 14.6 | 33 | 40.7 |
| 绿色类群 (<i>Viridis</i>) | 18 | 9.1 | 1 | 1.2 | 6 | 12.5 | 9 | 11.1 |
| 灰红紫类群 (<i>Griseorubrovioletaceus</i>) | 1 | 0.6 | 2 | 2.5 | 0 | 0 | 6 | 7.4 |
| 兰色类群 (<i>Cyanus</i>) | 0 | 0 | 1 | 1.2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 粉红孢类群 (<i>Roseosporus</i>) | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 3 | 3.7 |
| 青色类群 (<i>Glaucus</i>) | 9 | 5.0 | 2 | 2.5 | 4 | 8.3 | 7 | 8.6 |
| 总 计 | 175 | 100 | 80 | 100 | 48 | 100 | 81 | 100 |

表 4 蚯蚓体内外真菌属的数量和优势度

Table 4 The change of the number of dominant fungi genera in the interior and exterior of earthworm guts

| 属 名 | 样 品 | | 中 段 | | 粪 便 | |
|-------------------------------|-------------------|------|-------------------|------|-------------------|------|
| | ($\times 10/g$) | (%) | ($\times 10/g$) | (%) | ($\times 10/g$) | (%) |
| 青霉属 (<i>Penicillium</i>) | 61 | 52.1 | 39 | 63.9 | 50 | 72.3 |
| 曲霉属 (<i>Aspergillus</i>) | 5 | 4.2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| (<i>Trichoderma</i>) | 9 | 7.7 | 4 | 6.5 | 4 | 5.8 |
| 地霉属 (<i>Geotichum</i>) | 28 | 23.8 | 13 | 21.3 | 12 | 17.3 |
| 短梗霉属 (<i>Aureobasidium</i>) | 1 | 0.8 | 1 | 1.6 | 0 | 0 |
| 毛霉属 (<i>Mucor</i>) | 1 | 0.8 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 未知菌 | 12 | 10.2 | 4 | 6.5 | 3 | 4.4 |
| 总 计 | 117 | 100 | 61 | 100 | 69 | 100 |

表 5 原土和蚯蚓粪便中几种酶活性比较

Table 5 Comparing the intensity of oxygen absorption in original soils with in casts

| 样品 | 酶名称 | 过氧化氢酶 ($0.1\text{mol KMnO}_4/\text{ml/g}$) | 蛋白酶 (酚氨酸 mg/g) | 纤维素酶 (葡萄糖 $\mu\text{g/g}$) | 磷酸酶 (600nm 处OD) |
|-------|-----|---|-----------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 原土 | | 438.74 | 0.275 | 34.5 | 0.337 |
| 粪便 | | 461.25 | 0.580 | 34.5 | 0.338 |
| 增加百分比 | | 5.10 | 110.800 | 0 | 0.300 |

表 6 原土和粪便肥力比较

Table 6 Comparing the activity of several enzymes in original soils with in casts

| 样品 | 项目 | 全N (%) | 速N (mg/10g) | 速P (mg/100g) | 腐殖质 (%) |
|--------|----|--------|-------------|--------------|---------|
| 原土 | | 0.090 | 6.85 | 4.80 | 1.77 |
| 粪便 | | 0.115 | 10.09 | 7.20 | 2.04 |
| 增加 (%) | | 27.8 | 49.3 | 50 | 15.2 |

粪便还富集了土壤微量元素、维生素 B_{12} 、多糖物质等^[7,8,11]。只有微生物才有合成维生素 B_{12} 和多糖物质的活性, 综上所述可以看出, 蚓粪中土壤养分的富集与蚯蚓消化道内和蚓粪中的微生物有关。

三、小 结

土壤经过蚯蚓消化道以后, 好气性细菌有暂时的增加; 氨化细菌、磷细菌、好气性和厌氧性纤维素菌的数量都有显著地增加; 蚯

蚓消化道内有很多厌气性和好气性微生物；蚓粪中过氧化氢酶和蛋白酶活性有很大增加；全氮、速效氮、速效磷和腐殖质含量也有显著地增加，这些说明微生物和蚯蚓的协同作用有利于增加土壤肥力和改良土壤。

参 考 文 献

- [1] Went, J.C., (1963), In J. Doekson & J. Ven Drift (eds.), *Soil Organism*, North Holland publishing Co. Amsterdam. Influence of earthworms on the number of bacteria in the soil, 260—265.
- [2] 中国科学院林业土壤研究所微生物室编, 1960, 《土壤微生物分析方法手册》, 科学出版社, 第11—34页。
- [3] 中国科学院微生物研究室细菌分类组编, 1978, 《一般细菌常用鉴定方法》, 科学出版社, 第1—12页。
- [4] 阮继生著, 1977, 《放线菌分类基础》, 科学出版社, 第18—20页。
- [5] 板野新夫 甘杨声, 1955, 转化土壤中不溶性有机磷和无机磷化合物为可溶性磷酸盐的细菌 [细菌的分离和鉴定, 土壤学报 3(2):91—97.]
- [6] 魏景超著, 1982, 《真菌鉴定手册》, 上海科学技术出版社, 第405—645页
- [7] Parle, J.N., 1963, Micro-organisms in the intestine of earthworms; A microbiological study of earthworm casts; *J. Gen. Microbiol.* 31, 1—22.
- [8] Edwards, C.A., & I.B. Lofty, 1977, *Biology of earthworm* 2nd Ed. xviii + 333p London, England (Dish in USA by Halsted Press/Wiley New York, N.Y.) 206—252.

EFFECTS OF MICROORGANISMS IN SYNCHRONIZATION WITH EARTHWORMS ON THE FERTILITIES OF SOIL

Zhang Lihong Xu Guanghui

(Institute of Applied Ecology, Academia Sinica, Shen Yang)

The dynamics of microbial variety and quantity were comparatively studied in the original soil with that in the gut-contents of earthworms and the casts. The respiratory intensity, the activity of several soil enzymes and the soil fertilities were also comparatively determined in the original soil with those in the casts. The results indicate that the genera or groups and the number of bacteria, actinomycetes and fungi in the three samples were decreased during the passage through earthworm gut. The number of ammonifiers, phospholytic bacteria, aerobic cellulolytic bacteria and anaerobic cellulolytic bacteria were also decreased in the gut-contents. The total number of bacteria and the number of ammonifiers, phospholytic bacteria, aerobic cellulolytic bacteria and anaerobic cellulolytic bacteria in the casts were increased compared with in original soil and the gut-contents. They reached maximum on about the third day of the cast age. However, the number of actinomycetes and fungi did not either increased or decreased. The intensity of respiration and activity of catalase and proteinase were higher in the cast than in the original soil. In the soil affected by synchronization of microorganisms with earthworm, the fertilities were increased, including the amount of total nitrogen, available phosphorus and humus. It was obvious that the synchronous effect of microbes and earthworm resulted in increasing soil fertility.

Key words: microbial, earthworms, bacteria, soil.