

DOI: 10.5846/stxb201311202775

王斌, 蒋洋杨, 焦加国, 刘满强, 陈欢, 胡锋, 李辉信. 蚯蚓活动对土壤氨基酸组分及含量的影响. 生态学报, 2015, 35(14): 4816-4823.

Wang B, Jiang Y Y, Jiao J G, Liu M Q, Chen H, Hu F, Li H X. Effects of earthworm on constituent and amount of amino acid in soil. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(14): 4816-4823.

蚯蚓活动对土壤氨基酸组分及含量的影响

王 斌^{1,2}, 蒋洋杨¹, 焦加国¹, 刘满强^{1,3}, 陈 欢¹, 胡 锋¹, 李辉信^{1,3,*}

1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095

2 安徽省农业科学院农业工程研究所, 合肥 230031

3 江苏省有机固体废弃物资源化协同创新中心, 南京 210095

摘要:通过室内培养试验,研究了赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)和威廉环毛蚓(*Metaphire guillelmi*)对土壤氨基酸组分及含量的影响,并探讨了两种不同生活型蚯蚓作用效果的异同。结果表明:蚯蚓活动可显著改变土壤氨基酸含量,爱胜蚓作用下土壤酸解氨基酸和游离氨基酸分别增加 5.08 g/kg 和 7.72 mg/kg,环毛蚓作用下土壤酸解氨基酸和游离氨基酸分别增加 3.86 g/kg 和 4.44 mg/kg。各处理酸解氨基酸均以中性氨基酸所占比例为最大(平均 51.9%),酸性氨基酸次之(平均 23.3%),而含硫氨基酸(平均 14.4%)及碱性氨基酸最少(平均 10.4%)。各处理游离氨基酸同样以中性氨基酸为主,平均 54.4%,而以碱性氨基酸含量最少,平均仅为 7.2%。蚯蚓活动并未改变土壤氨基酸可检出种类,各处理分别检测出 16 种酸解氨基酸和 14 种游离氨基酸。土壤酸解氨基酸和游离氨基酸组分含量在蚯蚓作用下均有明显改变;加入爱胜蚓后土壤酸解氨基酸组分中天冬氨酸、精氨酸、甲硫氨酸、丙氨酸、赖氨酸和甘氨酸增幅较高,均在 85.7%以上,缬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、谷氨酸、亮氨酸、酪氨酸和组氨酸增幅较小在 40.7%—62.7%间波动;加入环毛蚓后土壤酸解氨基酸组分中甲硫氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、酪氨酸和丙氨酸增幅较大,均在 71.9%以上,甘氨酸、精氨酸、异亮氨酸增幅适中,分别为 56.8%、55.6%和 54.9%;丝氨酸、亮氨酸、苏氨酸、谷氨酸、组氨酸和苯丙氨酸增幅最小,均在 40%以下;游离氨基酸组分中组氨酸、精氨酸、甘氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和丙氨酸在加入爱胜蚓后增加的幅度较大,增幅在 150.0%以上,增幅较为缓和的氨基酸组分有天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、缬氨酸、谷氨酸和苯丙氨酸,介于 58.8%—92.1%之间;环毛蚓作用下,天冬氨酸、精氨酸、丝氨酸和异亮氨酸增幅最大,分别为 184.2%、173.3%、163.0%和 116.6%;苏氨酸、亮氨酸、缬氨酸和甘氨酸增幅较缓,介于 52.3%—92.7%之间;谷氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸和甲硫氨酸增幅较低,均在 33.1%之下;而半胱氨酸在蚯蚓作用下显著降低,降幅为 11.8%。对比两种生活型蚯蚓作用效果可知,土壤氨基酸总含量及各组分含量在爱胜蚓和环毛蚓作用下的增加或减少趋势相同(土壤酸解氨基酸组分缬氨酸除外),但改变幅度却存在明显差异,总体而言,爱胜蚓作用效果优于环毛蚓。

关键词:蚯蚓;土壤;酸解氨基酸;游离氨基酸

Effects of earthworm on constituent and amount of amino acid in soil

WANG Bin^{1,2}, JIANG Yangyang¹, JIAO Jiaguo¹, LIU Manqiang^{1,3}, CHEN Huan¹, HU Feng¹, LI Huixin^{1,3,*}

1 College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China

2 Institute of Agricultural Engineering, Anhui Academy of Agricultural Science, Hefei 230031, China

3 Jiangsu Collaborative Innovation Center for Solid Organic Waste Resource Utilization, Nanjing 210095, China

Abstract: The research was investigated to explore the effects of two types of earthworm (*Eisenia foetida* and *Metaphire guillelmi*) on content and constituent of soil amino acids in lab. The main results were as follows: 1) The content of soil amino acids was modified by addition of earthworm, as the amount of acidic hydrolysable amino acid in soil was increased 5.08 g/kg and 3.86 g/kg by activities of *Eisenia foetida* and *Metaphire guillelmi* respectively, and content of free amino

基金项目:国家自然科学基金(41171206)

收稿日期:2013-11-20; 网络出版日期:2014-09-09

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

acid was enhanced 7.72 mg/kg and 4.44 mg/kg in addition of *Eisenia foetida* and *Metaphire guillelmi* respectively. 2) The proportion of neutral amino acid to acid hydrolysable amino was the largest (average 51.9%), the acidic amino acid took the second place (average 23.3%), while the sulfur-containing and basic amino acid made up only 14.4% and 10.4% respectively. So was the free amino acid, as neutral amino acid played the primary part of 54.4%, and basic amino acid accounted just for 7.2%. 3) Earthworm activities did not alter the species of amino acid, of which 16 sorts of acid hydrolysable amino acid and 14 kinds of free amino acid were detected. 4) The constituent content of acid hydrolysable amino acid in soil was affected significantly by the activities of earthworm; with addition of *Eisenia foetida*, the aspartic acid, arginine, methionine, alanine and lysine were increased above 85.7%, while the valine, threonine, serine, glutamic acid, leucine, tyrosine and histidine had 40.7%—62.7% increasing. In the treatment of *Metaphire guillelmi*, methionine, lysine, aspartic acid, tyrosine and alanine were enhanced significantly at least 71.9%; glycine, arginine and isoleucine had been increased 56.8%, 55.6% and 54.9% respectively; the smallest increasing below 40% appeared in serine, leucine, threonine, glutamic acid, histidine and phenylalanine. 5) Addition of earthworm changed the constituent content of free amino acid obviously in the same time; under *Eisenia foetida* activities, the histidine, arginine, glycine, leucine, isoleucine and alanine had the greatest growth (more than 150%), but aspartic acid, threonine, serine, valine, glutamic acid and phenylalanine were increased gently of 58.8%—92.1%. Because of addition of *Metaphire guillelmi*, a significant increasing of 184.2%, 173.3%, 163.0% and 116.6% appeared in aspartic acid, arginine, serine and isoleucine respectively; The growth of threonine, leucine, valine and glycine were from 52.3% to 92.7%; The increasing of glutamic acid, histidine, phenylalanine, alanine and methionine were below 33.1%, while cysteine decreased significantly with 11.8%. Obviously, two biotypes of earthworm showed the same trend in total and constituent content of soil amino acid, but there are significant differences in intensity. Overall, *Eisenia foetida* did better than *Metaphire guillelmi*.

Key Words: earthworm; soil; acidic hydrolyzable amino acid; free amino acid

作为土壤中一类重要的化合物,氨基酸占土壤中全氮的 15%—60%^[1],是土壤氮素循环和作物养分供给过程中重要的“库”和“源”,可通过矿化作用提供可利用氮源来不断地满足作物氮素营养的需求^[2],也可以被植物直接吸收利用;同时它还是一种植物生长调节剂,作为前体通过土壤微生物代谢途径合成植物生长激素,进而刺激植物生长,调节植物生理过程^[3];此外,它也是微生物重要的营养源之一,对土壤微生物群落结构、数量和活性均有直接影响。氨基酸是土壤微生物、植物及环境因子交互作用的平衡产物,研究土壤中氨基酸的组分及含量变化规律,对研究土壤中氮的来源及转化,及其对作物生理生态变化的影响均有重要的实际意义。因而,国外学者在土壤氨基酸的研究方面做了不少工作,但是主要集中在环境、气候、耕作方式、施肥方式、作物等因素对土壤中氨基酸组成和含量的影响方面^[4-7],很少有研究涉及到土壤动物特别是蚯蚓对土壤氨基酸的影响。据研究,蚯蚓对土壤肥力以及土壤生物学性质均有着明显的改善作用^[8],并能够促进植物养分吸收和生长发育^[9],通过其掘穴、排粪、搅动及其他活动可以明显改变土壤理化性质,改变土壤生物群落结构,从而影响土壤养分循环^[10-11];被誉为是土壤生态系统工程师的蚯蚓在土壤生态系统中起着重要且不可替代的作用^[12-14]。鉴于此,本文中采取赤子爱胜蚓(寡毛目正蚓科爱胜蚓属,食碎屑类表栖型蚯蚓)和威廉环毛蚓(寡毛目巨蚓科环毛蚓属,食土类深栖型蚯蚓)两种不同生活型的蚯蚓作用于土壤后,利用氨基酸分析仪详细测定了被作用土壤酸解氨基酸及游离氨基酸的组分及含量的变化,同时对比分析了两种蚯蚓间作用效果的异同,为进一步揭示蚯蚓的生态功能机理和开发利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

(1)供试土壤 土壤于采自江苏省南京市江宁区麒麟门菜地(N 32°05', E 118°93'),土壤类型为黄棕壤,

采样深度为 0—20 cm。本地块长期 (10a 以上) 施用以猪粪为主的农家肥, 种植作物为白菜、生菜、辣椒和番茄等蔬菜。土壤基本养分性质为: 有机碳含量为 26.9 g/kg, 全氮 2.3 g/kg, 全磷 1.5 g/kg, 速效磷 182.7 mg/kg。

(2) 供试蚯蚓 本实验使用赤子爱胜蚓 (*Eisenia foetida*) (食碎屑型) 和威廉环毛蚓 (*Metaphire guillelmi*) (食土型) 两种不同生活型蚯蚓。赤子爱胜蚓购自江苏省南京市江北某蚯蚓养殖场, 威廉环毛蚓采自江苏省南京市麒麟门菜地。所有供试蚯蚓均要经过筛选, 必须为有环带的成年蚓, 赤子爱胜蚓的体重控制在 0.21—0.32 g, 威廉环毛蚓体重控制在 4.34—5.86 g。蚯蚓采集后, 经过纯净水洗净后在黄棕壤土中养殖一周。

(3) 培养容器 圆柱形半透明塑料容器 (底径 10 cm×高 12.4 cm), 其下端密封, 上端在加入蚯蚓后用透气膜封口。

1.2 试验设计

本试验于南京农业大学土壤生态实验室进行, 共设置 3 个处理, 每个处理 4 个重复。① CK: 500.0 g 供试土壤, 不加蚯蚓。② EE: 500.0 g 供试土壤, 加赤子爱胜蚓 (80 条, 平均体重 0.25 g, 共 20g)。③ EM: 500.0 g 供试土壤, 加威廉环毛蚓 (4 条, 平均体重 5 g, 共 20g)。两种生活型蚯蚓添加的总生物量保持一致, 加入蚯蚓后, 盆钵内蚯蚓密度为采样地区蚯蚓密度的 2 倍 (养殖场和菜地中蚯蚓密度都比较高, 室内培养试验设计时又将密度提高了 1 倍)。

1.3 试验方法

1.3.1 采样方法

将供试土壤均匀置于 12 个塑料培养容器中, 每个容器内装入 500.0 g。调整每个容器内容物的含水量为 30% 后将容器放置于暗处预培养 3d。3d 后, 按照上述试验设计在每个容器中加入相应的蚯蚓。所有处理蚯蚓添加完成后用透气膜封口以防止蚯蚓逃逸 (膜上用大头针刺空以保证空气交换)。最后将处理好的容器放在 (22±0.5)℃ 的暗处, 培养 30d。在培养时, 每隔两天用补重法为每个处理补水以保持土壤的含水量稳定。培养结束后, 每个处理破坏性采样, 手工挑出蚯蚓和蚯蚓粪 (只有赤子爱胜蚓处理有蚓粪) 后将容器内剩余土壤混匀并储存在 -20℃ 冰箱内, 以供测定分析。

1.3.2 分析方法

(1) 土壤氨基酸测定 采用最常用的酸解法分析^[15], 具体如下: 土壤采集后, 风干混匀后并将部分土样研细, 过 2 mm 筛后用以测定氨基酸含量。准确称取土壤 2.0 g, 加入 10 mL 盐酸 (6 mol/L), 在 110℃ 下封管水解 20 h 后取出冷却, 将水解液过滤到蒸发皿中, 并用少量蒸馏水多次淋洗残渣, 随后, 在水浴锅 (40—50℃) 上干燥滤液, 干燥后的残留物用 2—3 mL 去离子水溶解, 蒸干。如此重复进行 2—3 次, 使 HCl 完全挥发, 最后一次蒸干后, 用 pH 2.2 的缓冲液溶解定容后, 经 H 型酸性阴离子交换树脂柱纯化, 用氨基酸分析仪测定各种氨基酸的组分和含量。

(2) 土壤游离氨基酸测定 准确称取土样 10 g 于 100 mL 离心管中, 加入 40 mL 纯净水, 混匀。在 20℃ 条件下, 摇床中震荡 2h, 转速为 200 r/min。然后在 4500 r/min 转速下离心 20 min 后取上清液过 0.45 μm 滤膜后备用。将制备好的 DOM 置于蒸发皿上在 50℃ 烘箱中蒸干。用 1.5 mL 纯净水溶解蒸干的残渣, 加 4mL 氯仿, 混匀, 将液体倒入离心管中, 再用 2 mL 氯仿冲洗蒸发皿 2 次。3000 r/min 离心 20 min, 小心吸取上清液 1 mL 于 1.5 mL 离心管中 4℃ 冰箱保存, 用氨基酸分析仪测定各种氨基酸的组分和含量^[16]。

1.3.3 数据统计方法

采用 SPSS 软件进行数据分析, 采用单因素方差分析评价处理之间的显著差异, 采用最小显著极差法 (LSD) 进行平均值多重比较。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓生物量

在培养期结束时, 所有处理中两种生活型蚯蚓生物量和数量均无显著变化。爱胜蚓和环毛蚓生物量生物

量分别下降 3% 和 6%; 两种蚯蚓数量在整个培养过程中均无变化。

2.2 蚯蚓活动对土壤酸解氨基酸的影响

2.2.1 蚯蚓活动对土壤酸解氨基酸总量的影响

接种蚯蚓可显著提高土壤酸解氨基酸的总含量, 和对照相比, EE 和 EM 处理中酸解氨基酸总含量分别提高了 5.07 g/kg 和 3.86 g/kg (图 1)。爱胜蚓对土壤酸解氨基酸总量的提升效果明显强于环毛蚓。

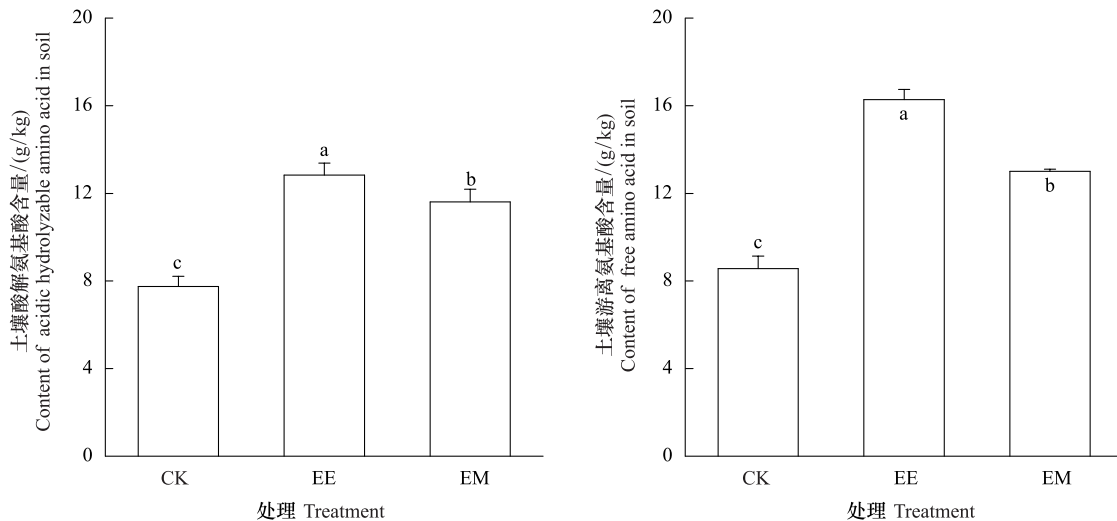


图 1 蚯蚓活动对土壤酸解氨基酸及游离氨基酸总量的影响

Fig.1 Effects of earthworm on acidic hydrolyzable amino acid and free amino acid in soil

CK: 不加蚯蚓; EE: 加赤子爱胜蚓; EM: 加威廉环毛蚓; 图中不同小写字母表示处理间差异在 $P < 0.05$ 水平显著

2.2.2 蚯蚓活动对土壤酸解氨基酸种类及含量的影响

氨基酸可以分为酸性、碱性、中性和含硫氨基酸等 4 类 (表 1)。其中, 中性氨基酸为优势组分、所占比例最高, 在 S、EE 和 EM 处理中, 中性氨基酸分别占各自氨基酸总量的 55.4%、50.5% 和 49.9%; 碱性氨基酸含量最少, 在上述处理中分别占各自氨基酸总量的 10.2%、10.2% 和 10.8%。4 类氨基酸在蚯蚓作用后的含量相对于对照均有增加, EE 处理酸性、碱性、中性和含硫氨基酸含量分别增加 1.39、0.52、2.19 g/kg 和 0.97 g/kg; EM 处理中分别增加 0.79、0.46、1.5 g/kg 和 1.11 g/kg。对比两种不同生活型蚯蚓作用效果可知, 爱胜蚓对土壤酸性、碱性、中性 3 类氨基酸的提升效果均强于环毛蚓。

蚯蚓活动并未改变土壤酸解氨基酸的种类组成, S、EE 和 EM 处理土壤中可检测出的酸解氨基酸种类均为 16 种 (表 1)。S 处理中以谷氨酸、苯丙氨酸、半胱氨酸和天冬氨酸为主, 这 4 种氨基酸的含量总和占土壤中酸解氨基酸总量的 40.8%。蚯蚓活动改变了土壤酸解氨基酸的优势组分, EE 和 EM 处理中优势氨基酸组分为谷氨酸、甲硫氨酸、天冬氨酸和苯丙氨酸, 其总和分别占土壤中酸解氨基酸总量的 43.6% 和 43.1%, 和对照相比甲硫氨酸取代半胱氨酸成为优势组分。3 个处理土壤中酸解氨基酸含量最高和最低组分相同, 分别为谷氨酸和精氨酸。

蚯蚓活动可以明显改变土壤酸解氨基酸各个组分的含量。土壤中接种爱胜蚓以后, 共有 15 种氨基酸含量显著提高, 增幅较大的组分为甲硫氨酸、天冬氨酸、精氨酸、丙氨酸、甘氨酸和赖氨酸, 增幅均在 85.7% 以上, 其中甲硫氨酸增幅高达 373.3%; 缬氨酸、亮氨酸、酪氨酸、谷氨酸、苏氨酸、组氨酸及丝氨酸增幅适中, 在 40.7%—62.7% 之间; 增幅最小的为异亮氨酸和苯丙氨酸, 分别为 39.2% 和 27.8%; 而半胱氨酸在爱胜蚓作用下显著下降 0.15 g/kg, 下降幅度达 25.4%。环毛蚓作用下, 共有 14 种土壤酸解氨基酸显著升高, 其中甲硫氨酸、赖氨酸、天冬氨酸、酪氨酸和丙氨酸增幅较大, 均在 71.9% 以上, 甲硫氨酸增幅更高达 403.3%; 甘氨酸、精氨酸、异亮氨酸增幅适中, 分别为 56.8%、55.6% 和 54.9%; 丝氨酸、亮氨酸、苏氨酸、谷氨酸、组氨酸和苯丙氨酸增幅最小, 均在 40% 以下, 其中苯丙氨酸增幅只有 16.5%; 缬氨酸和半胱氨酸在环毛蚓作用下分别降低 0.04 g/kg

和 0.11 g/kg(缬氨酸下降水平未达显著)。

表 1 蚯蚓活动对土壤酸解氨基酸种类及含量的影响

Table 1 Effects of earthworm on the type and content of acidic hydrolyzable amino acid in soil

氨基酸种类 Amino acids	酸解氨基酸含量 Content of acidic hydrolyzable amino acid/(g/kg)		
	CK	EE	EM
酸性氨基酸 Acidic amino acid			
天冬氨酸 Asp	0.56±0.03 c	1.38±0.06 a	1.06±0.07 b
谷氨酸 Glu	1.22±0.06 c	1.79±0.02 a	1.51±0.07 b
总和 Total	1.78±0.05 c	3.17±0.07 a	2.57±0.15 b
碱性氨基酸 Basic amino acid			
赖氨酸 Lys	0.21±0.02 c	0.39±0.06 b	0.46±0.01 a
组氨酸 His	0.41±0.03 c	0.58±0.01 a	0.50±0.07 b
精氨酸 Arg	0.18±0.01 c	0.35±0.02 a	0.28±0.01 b
总和 Total	0.79±0.07 b	1.31±0.09 a	1.25±0.10 a
中性氨基酸 Neutral amino acid			
苏氨酸 Thr	0.50±0.04 c	0.73±0.06 a	0.65±0.05 b
丝氨酸 Ser	0.54±0.04 b	0.76±0.04 a	0.74±0.04 a
甘氨酸 Gly	0.37±0.03 c	0.69±0.05 a	0.58±0.04 b
丙氨酸 Ala	0.32±0.04 c	0.62±0.05 a	0.55±0.05 b
缬氨酸 Val	0.51±0.06 b	0.83±0.03 a	0.47±0.06 b
亮氨酸 Leu	0.53±0.04 b	0.82±0.04 a	0.72±0.01 a
异亮氨酸 Ile	0.51±0.04 c	0.71±0.05 b	0.79±0.02 a
酪氨酸 Tyr	0.21±0.03 b	0.32±0.03 a	0.38±0.04 a
苯丙氨酸 Phe	0.79±0.04 c	1.01±0.08 a	0.92±0.02 b
总和 Total	4.29±0.30 c	6.48±0.38 a	5.79±0.31 b
含硫氨基酸 Sulfur-containing amino acid			
半胱氨酸 Cys	0.59±0.03 a	0.44±0.03 c	0.48±0.01 b
甲硫氨酸 Met	0.30±0.03 c	1.42±0.03 b	1.51±0.04 a
总和 Total	0.89±0.05 c	1.86±0.05 b	2.00±0.13 a

CK: 不加蚯蚓;EE: 加赤子爱胜蚓;EM: 加威廉环毛蚓;同一行中不同小写字母表示各处理间存在显著性差异($P<0.05$)

两种不同生活型蚯蚓作用土壤后,氨基酸组分含量的变化趋势是相同的(缬氨酸除外),但是两种蚯蚓的作用的强弱程度却存在一定差异。环毛蚓对甲硫氨酸、异亮氨酸、酪氨酸和赖氨酸的作用效果显著优于赤子爱胜蚓的作用效果;而对于其他 11 种组分,爱胜蚓的作用效果更佳。

2.3 蚯蚓活动对土壤游离氨基酸的影响

2.3.1 蚯蚓活动对土壤游离氨基酸总量的影响

土壤游离氨基酸总量在蚯蚓作用下显著提高(图 1),S、EE 和 EM 处理游离氨基酸总含量分别为 8.56、16.28 mg/kg 和 13.00 mg/kg,爱胜蚓和环毛蚓分别使土壤游离氨基酸含量提高 90.1%和 51.9%。对比两种不同生活型蚯蚓作用效果可知,爱胜蚓作用效果显著高于环毛蚓。

2.3.2 蚯蚓活动对土壤游离氨基酸种类及含量的影响

四类氨基酸里所占比例最高的为中性氨基酸,S、EE 和 EM 处理比例分别为 50.7%、55.0%和 57.5%;碱性氨基酸含量最少,3 个处理比例分别为 3.2%、13.3%和 4.6%。酸性、碱性和中性氨基酸在蚯蚓作用后显著增加,爱胜蚓和环毛蚓分别使酸性、碱性、中性氨基酸显著增加 1.32 mg/kg 和 1.17 mg/kg,1.85 mg/kg 和 0.29 mg/kg,4.61 mg/kg 和 3.14 mg/kg;而含硫氨基酸含量在两种蚯蚓作用下分别减少 0.06 mg/kg 和 0.16 mg/kg,但差异未达显著水平。对比两种不同生活型蚯蚓作用效果可知,爱胜蚓作用效果略强。

根据表 2 结果可知,土壤可检测出的游离氨基酸种类较酸解氨基酸少,3 个处理都只能检测出 14 种,酪氨酸和赖氨酸并未检出。两种生活型蚯蚓并未改变土壤游离氨基酸的种类。S、EE 和 EM 3 个处理中优势氨基酸组分均为半胱氨酸、谷氨酸、苯丙氨酸和丝氨酸,这 4 种氨基酸的含量总和分别占各自土壤游离氨基酸总量的 62.0%、47.2%和 56.9%。3 个处理土壤中游离氨基酸含量最高的组分分别为半胱氨酸、谷氨酸和丝氨酸。

酸,含量分别为 1.69、2.35 mg/kg 和 2.42 mg/kg。含量最少的组分均为异亮氨酸。

表 2 蚯蚓活动对土壤游离氨基酸种类及含量的影响

Tabal 2 Effects of earthworm on the type and content of free amino acid in soil

氨基酸种类 Amino acids	游离氨基酸含量 Content of free amino acid/(mg/kg)		
	CK	EE	EM
酸性氨基酸 Acidic amino acid			
天冬氨酸 Asp	0.38±0.03 c	0.73±0.06 b	1.08±0.14 a
谷氨酸 Glu	1.39±0.04 c	2.35±0.03 a	1.85±0.01 b
总和 Total	1.76±0.05 b	3.08±0.05 a	2.93±0.15 a
碱性氨基酸 Basic amino acid			
赖氨酸 Lys	0	0	0
组氨酸 His	0.15±0.03 b	1.34±0.08 a	0.29±0.04 b
精氨酸 Arg	0.15±0.01 c	0.81±0.06 a	0.41±0.02 b
总和 Total	0.31±0.04 c	2.16±0.10 a	0.60±0.05 b
中性氨基酸 Neutral amino acid			
苏氨酸 Thr	0.42±0.01 b	0.78±0.08 a	0.81±0.14 a
丝氨酸 Ser	0.92±0.13 c	1.63±0.06 b	2.42±0.24 a
甘氨酸 Gly	0.44±0.05 c	1.50±0.03 a	0.67±0.02 b
丙氨酸 Ala	0.29±0.04 b	0.80±0.02 a	0.36±0.03 b
缬氨酸 Val	0.62±0.05 c	1.05±0.06 a	0.98±0.06 b
亮氨酸 Leu	0.22±0.03 c	0.75±0.04 a	0.35±0.01 b
异亮氨酸 Ile	0.12±0.02 c	0.37±0.03 a	0.26±0.00 b
酪氨酸 Tyr	0	0	0
苯丙氨酸 Phe	1.31±0.18 c	2.08±0.26 a	1.64±0.07 b
总和 Total	4.34±0.38 c	8.95±0.35 a	7.48±0.15 b
含硫氨基酸 Sulfur-containing amino acid			
半胱氨酸 Cys	1.69±0.05 a	1.62±0.06 a	1.49±0.07 b
甲硫氨酸 Met	0.45±0.09 a	0.47±0.02 a	0.50±0.01 a
总和 Total	2.15±0.13 a	2.09±0.06 ab	1.99±0.01 b

和对照相比,接种蚯蚓后土壤游离氨基酸各个组分含量发生明显改变。土壤游离氨基酸在爱胜蚓作用下共有 13 种组分升高(除甲硫氨酸外差异均达显著),其中组氨酸、精氨酸、甘氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和丙氨酸提高幅度较大,均在 150.0%以上,尤其以组氨酸增幅最高为 793.3%;天冬氨酸、苏氨酸、丝氨酸、缬氨酸、谷氨酸和苯丙氨酸增幅较为平缓,介于 58.8%—92.1%之间;增幅最小的是甲硫氨酸,仅增加 4.4%;而半胱氨酸在爱胜蚓作用下降低 0.07mg/kg,但其差异未达显著水平。环毛蚓作用下,同样有 13 种氨基酸升高(除丙氨酸和甲硫氨酸外差异均达显著),其中天冬氨酸、精氨酸、丝氨酸和异亮氨酸增幅最大,分别为 184.2%、173.3%、163.0%和 116.6%;苏氨酸、亮氨酸、缬氨酸和甘氨酸增幅较缓,介于 52.3%—92.7%之间;谷氨酸、组氨酸、苯丙氨酸、丙氨酸和甲硫氨酸增幅较低,均在 33.1%之下,其中甲硫氨酸增幅仅为 11.1%;而半胱氨酸在蚯蚓作用下显著降低,降幅为 11.8%。

对比两种生活型蚯蚓作用效果可知,氨基酸各组分含量在爱胜蚓和环毛蚓作用下的增加或减少趋势相同,但幅度却存在明显差异。天冬氨酸和丝氨酸在环毛蚓作用下增加幅度较大,和爱胜蚓相比,两种氨基酸分别多增加 92.1%和 85.9%;谷氨酸、组氨酸、精氨酸、甘氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸、异亮氨酸和苯丙氨酸则是在爱胜蚓的作用下增加效果更强;两种蚯蚓对苏氨酸的增加效果差异未达显著水平;而半胱氨酸的减少效果以环毛蚓更大。

3 讨论

氨基酸是土壤生态系统中最为重要的化合物之一,它是土壤有机氮的重要组成部分,是植物和土壤微生物的重要营养源,并直接影响着土壤肥力和供氮能力,在土壤营养循环过程中占据着重要的位置^[3,17]。土壤

中的氨基酸主要来源于微生物、动植物及其代谢产物,如土壤有机质的降解,动植物的分泌或微生物的合成^[17],其数量大小取决于气候、凋落物、植被、土壤类型、土壤动物和耕作方式等多种因素的综合作用^[18],而蚯蚓也是影响土壤氨基酸的因素之一。本文研究结果表明,蚯蚓活动可以显著增加土壤酸解氨基酸和游离氨基酸的含量,造成这个结果的原因可能有以下几个方面:(1)蚯蚓体主要由蛋白质组成,接种的蚯蚓为土壤生态系统引入大量蛋白质,而蚯蚓死亡分解后会导致土壤氨基酸的增加(本文中蚯蚓未死亡,但生物量降低导致土壤系统中蛋白质含量增加);(2)蚯蚓活动会分泌大量的胶粘物质,通过代谢进入土壤中,这些代谢物质中含有大量可溶性氨基酸^[19],导致土壤氨基酸含量增加;(3)氨基酸是微生物可以直接利用的氮源之一,同时又是微生物合成的产物,微生物在消耗氨基酸的同时又在生成氨基酸,而蚯蚓可以通过改变微生物群落、数量和活性间接对土壤氨基酸产生影响^[20];(4)凋落物的分解和植物根系分泌是土壤氨基酸的直接来源,蚯蚓通过挖掘、吞食等活动可以加强凋落物分解和植物根系分泌氨基酸的能力,从而间接增加土壤氨基酸含量;(5)蚯蚓可以通过分泌、代谢等途径改变土壤的 pH、DOC 含量及碳水化合物含量,从而间接改变土壤氨基酸的含量^[21]。

游离氨基酸是存在于土壤溶液和空隙中以可溶性游离状态存在的氨基酸,虽然含量微小,但周转快,通量大,可被植物和微生物直接利用,因而在土壤养分循环过程中起着极其重要的作用^[22]。本研究发现,土壤游离氨基酸总含量在两种生活型蚯蚓作用下分别提高 90.2% 和 51.9%,和酸解氨基酸总量的提升幅度相比,提升幅度提高 24.7% 和 2.1%,这说明蚯蚓活动不仅提高了土壤中氨基酸的总量,更提高了游离氨基酸在土壤总氨基酸中所占比例,这对增加土壤可利用氮通量,提高微生物和植物的氮利用率均有积极作用,在一定程度上,揭示了蚯蚓活动促进植物生长和提升土壤微生物活性和数量的内在原因。

S、EE 和 EM 处理土壤酸解氨基酸以中性氨基酸含量为最高,酸性氨基酸次之,而含硫氨基酸及碱性氨基酸最少。这与自然条件下土壤氨基酸比例相似,陈水挟等的研究表明,我国闽北各种类型土壤均以中性氨基酸为主,占氨基酸总量的 60%—75%,酸性氨基酸次之(20%—40%),而碱性和含硫氨基酸最少。这说明,蚯蚓活动并未改变土壤中酸性、中性、碱性和含硫氨基酸组分的比例,而是以相似的比率均衡提升了 4 种类型氨基酸的含量。土壤酸解氨基酸的优势组分在蚯蚓作用下发生明显改变,处理后的土壤酸解氨基酸优势组分由谷氨酸、苯丙氨酸、半胱氨酸和天冬氨酸转变为谷氨酸、甲硫氨酸、天冬氨酸和苯丙氨酸,和对照相比甲硫氨酸取代半胱氨酸成为优势组分之一。甲硫氨酸与生物体内各种含硫化合物的代谢密切相关,是体内活性甲基和硫的主要来源,土壤生态系统中接种大量的蚯蚓后,蚯蚓生物的降低和代谢活动的急剧增强可能是甲硫氨酸显著增加的原因,具体途径有待进一步研究。

研究结果表明,两种不同生活型蚯蚓均可对土壤氨基酸产生影响,土壤氨基酸总含量及各组分含量在爱胜蚓和环毛蚓作用下的增加或减少趋势相同(土壤酸解氨基酸组分缬氨酸除外),但改变幅度却存在明显差异。总体而言,爱胜蚓作用效果优于环毛蚓,这可能和爱胜蚓及环毛蚓的形态、掘穴特征和取食习惯的差异有关,这些差异最终导致了两种蚯蚓对土壤氨基酸作用的不同^[23],爱胜蚓表现更佳可能和其体型小,更加适应实验室小型培养容器有关。

土壤氨基酸含量的增加有利于土壤生态系统朝着稳定健康的方向发展。首先,它是植物重要的氮营养来源之一,可被植物直接吸收利用,氨基酸含量的大幅提高,可缩短植物吸收氮源的效率和时间,打破生态系统氮矿化速率的限制,促进根系对氮源的吸收,影响植物的生长发育,进而影响整个土壤生态系统的生产力;其次,氨基酸还是土壤氮循环中重要的一环,氨基酸经过微生物氨化作用生成铵态氮,铵态氮在微生物经过硝化作用生成硝态氮,氨基酸的矿化作用、硝化作用和氨化作用相互影响相互调节共同影响土壤中氮的转化,其含量的增加可改变整个土壤生态系统中无机氮的含量;再次,土壤氨基酸可通过提供养分和活化养分两个途径提高土壤速效养分的含量;此外,土壤氨基酸含量的提高可以增加有机碳源的多样性,可促进土壤微生物多样性的恢复,改善微生物群落结构和功能,抑制植物病原菌的种群数量,提高植物的抗病害能力,减少连作障碍;同时,通过改变微生物数量、活性及为土壤酶创造良好的反应环境两个途径提升土壤酶的活性和数量,改

善土壤理化性质,提升土壤质量。总之,土壤氨基酸的增加不仅促进了植物的生长发育,抑制了土传植物病原菌的定殖与存活,而且在土壤生态系统中化学元素矿化、土壤肥力保持与改善、能量转化和物质循环等方面发挥着至关重要的积极作用^[16-17,24-26]。目前,普遍认为蚯蚓对土壤肥力条件的改善及随后植物生长的促进是主要原因,是蚯蚓通过生理代谢和生物扰动对土壤有机质、土壤酸度、土壤团聚结构和土壤生物活性等影响的总体表现,通过考察蚯蚓作用后氨基酸含量的变化及对土壤生态系统带来的影响,可以在一定程度上揭示蚯蚓影响土壤生态系统的作用机制。

参考文献 (References):

- [1] 杨绒,严德翼,周建斌,汪文霞,马勤安. 黄土区不同类型土壤可溶性有机氮的含量及特性. 生态学报, 2007, 27(4): 1397-1403.
- [2] Jones D L, Darrah P R. Amino-acid influx at the soil-root interface of *Zea mays* L. and its implications in the rhizosphere. Plant and Soil, 1994, 163(1): 1-12.
- [3] 张强,陈明昌,程滨,杨治平,丁玉川,刘平. 植物与土壤的氨基酸营养研究进展. 山西农业科学, 2001, 29(1): 42-44.
- [4] 李世清,李生秀,李东方. 长期施肥对半干旱农田土壤氨基酸的影响. 中国农业科学, 2002, 35(1): 63-67.
- [5] 鲁子豫,王文颖,王启基. 江河源区高寒嵩草草甸土壤氨基酸成分和含量特征分析. 土壤通报, 2008, 39(6): 1302-1306.
- [6] 徐阳春,沈其荣,茆泽圣. 长期施用有机肥对土壤及不同粒级中酸解有机氮含量与分配的影响. 中国农业科学, 2002, 35(4): 403-409.
- [7] 施书莲,周克瑜,杨文醒. 土壤剖面不同粒级中氨基酸组成特征. 土壤, 1998, 30(4): 209-213.
- [8] 李典友,潘根兴,向昌国,褚清河,丁玉川. 土壤中蚯蚓资源的开发应用研究及展望. 中国农学通报, 2005, 21(10): 340-347.
- [9] Gilot-Villenave C, Lavelle P, Ganry F. Effects of a tropical geophagous earthworm, *Millsonia anomala*, on some soil characteristics, on maize-residue decomposition and on maize production in Ivory Coast. Applied Soil Ecology, 1996, 4(3): 201-211.
- [10] 陶军,张树杰,焦加国,李沙,刘满强,胡锋,李辉信. 蚯蚓对秸秆还田土壤细菌生理菌群数量和酶活性的影响. 生态学报, 2010, 30(5): 1306-1311.
- [11] 张宝贵. 蚯蚓与微生物的相互作用. 生态学报, 1997, 17(5): 556-560.
- [12] Lavelle P, Bignell D, Lepage M. Soil function in a changing world; the role of invertebrate ecosystem engineers. European Journal of Soil Biology, 1997, 33(4): 159-193.
- [13] Dai J, Becquer T, Henri R. Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(1): 91-98.
- [14] Wang D D, Li H X, Hu F. Role of earthworm-straw interactions on phytoremediation of Cu contaminated soil by ryegrass. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(4): 1292-1298.
- [15] 李世清,李生秀,杨正亮. 不同生态系统土壤氨基酸氮的组成及含量. 生态学报, 2002, 22(3): 379-386.
- [16] Görs S, Rentsch D, Schiewer U, Karsten U, Schumann R. Dissolved organic matter along the eutrophication gradient of the Darß-Zingst bodden chain, Southern Baltic Sea I. Chemical characterisation and composition. Marine Chemistry, 2007, 104(3/4): 125-142.
- [17] 马林. 植物对氨基酸的吸收和利用. 西南科技大学学报, 2004, 19(1): 102-107.
- [18] Nancy R, Werdin P, Kielland K, Boone R D. Soil amino acid composition across a boreal forest successional sequence. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(6): 1210-1220.
- [19] Zhang S J, Hu F, Li H X. Effects of earthworm mucus and amino acids on subcellular distribution and chemical forms of cadmium in tomato seedlings. Bioresource Technology, 2009, 100(17): 4041-4046.
- [20] 王丹丹,李辉信,魏正贵,刘满强,王霞,胡锋. 蚯蚓和秸秆对铜污染土壤微生物类群和活性的影响. 应用生态学报, 2007, 18(5): 1113-1119.
- [21] 王斌,李根,陈欢,焦加国,刘满强,蒋洋杨,胡锋,李辉信. 蚯蚓作用下土壤化学组成和性状的动态变化. 水土保持学报, 2013, 27(3): 273-277.
- [22] 郭新春,曹裕松,邢世和. 闽北3种人工林土壤游离氨基酸组成及其差异研究. 江西师范大学学报:自然科学版, 2013, 37(3): 310-315.
- [23] Langmaack M, Schrader S, Rapp-Bernhardt U, Kotzke K. Quantitative analysis of earthworm burrow systems with respect to biological soil-structure regeneration after soil compaction. Biology and Fertility of Soils, 1999, 28(3): 219-229.
- [24] 李俊华,沈其荣,褚贵新,危常州,乔旭,杨兴明. 氨基酸有机肥对棉花根际和非根际土壤酶活性和养分有效性的影响. 土壤, 2011, 43(2): 277-284.
- [25] 张树生,杨兴明,黄启为,徐阳春,沈其荣. 施用氨基酸肥料对连作条件下黄瓜的生物效应及土壤生物性状的影响. 土壤学报, 2007, 44(4): 689-694.
- [26] 崔雄维,刀静梅,樊仙,张跃彬,刘少春,郭家文,李如丹. 氨基酸复合微肥对甘蔗产质量及土壤有效态微量元素的影响. 中国农学通报, 2011, 27(27): 215-219.