

高寒草甸生态系统土壤微生物 对磷素转化作用的研究*

耿博闻 赵宝莲 杨涛

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁, 810001)

摘 要

本文研究了高寒草甸生态系统中3种植被土壤中微生物对磷素的转化作用、液体培养中pH值的变化与磷素的释放作用,并对溶磷细菌作了分离和数量统计。结果表明,磷素的转化作用和溶磷细菌的数量有明显的季节性动态,其变化规律为:温度高季节>温度低季节;金露梅灌丛>矮嵩草草甸>杂类草草甸;0—10厘米层>10—20厘米层>20—40厘米层;有机磷>无机磷。在液体培养中,随着培养时间的增加,培养基中的pH值下降,可溶性磷的含量上升。

关键词: 磷素的转化作用; 土壤微生物; 高寒草甸生态系统

磷素是生物体的一种必需营养元素。土壤中的磷以各种各样的有机态或无机态的形式存在,且大部分高度不溶,植物不能直接吸收,必须通过化学或生物的转化作用,变为可溶态的有效磷才能被植物吸收利用。土壤中磷素的转化作用以微生物转化为主。本文报道了不同植被类型土壤中微生物对磷素转化作用的强度及季节性动态规律。

一、材料和方法

1. 土壤样品的采集

从1989年5月—10月共采集土壤样品5次。样地为:矮嵩草草甸(*Kobresia humilis* meadow);金露梅灌丛(*Potentilla fruticosa* shrub);杂类草草甸(Forbs meadow)。采样在样地随机选取3个样点,先除去地表的植被,然后用土钻分别取0—10、10—20、20—40厘米层的土样,除去其中的石块,根等异质,按层次分别取等份装入无菌铝盒。

2. 土壤磷素转化作用的测定

参照中国科学院南京土壤所微生物室(1985)的方法进行。

* 本文在李家藻研究员指导下完成,鲍新奎副研究员,姜文波、曹广明先生给予大力支持,谨此一并致谢。

本文1993年9月7日收到。

3. 不同培养时间培养基中pH值和有效磷释放的测定

培养基成分(克): $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0.5; NaCl 0.2, 葡萄糖 10.0; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 0.5; 微量元素溶液1.0毫升; 蒸馏水1000毫升; pH 7.4。微量元素溶液的成分(克): H_3BO_3 5.0; NaBr 0.5; ZnSO_4 0.2; AlCl_3 0.15; 蒸馏水 1000毫升。

将3种植被不同层次的 10^{-2} 土壤悬液1毫升分别接种于含上述培养液50毫升的三角烧瓶中, 充分摇匀, 在28—30℃下静置恒温培养。3次重复。于开始培养后的第3、6、9、12、15天测定, 用pH S-3型酸度计测定其酸碱度, 用光电比色法测定有效磷, 然后计算出有效磷含量。

4. 土壤有机质百分含量的测定

用重铬酸钾法测定(中国土壤学会土壤农化专业委员会, 1983)。

5. 溶磷细菌数量的统计

采用溶磷细菌选择培养基(中国科学院南京土壤研究所微生物室, 1985)统计溶磷细菌, 牛肉膏蛋白胨培养基统计细菌总数。

二、结果与讨论

(一) 磷素的转化及季节性动态

表 1 不同土壤深度磷素转化活性(%) 的季节性动态

Table 1 Seasonal dynamics of Phosphorus transformation activity (%) in different soil depth

采样日期 Sampling date	无机磷 Inorganic phosphorus			有机磷 Organic phosphorus		
	土壤深度(厘米) Soil depth(cm)					
	0—10	10—20	20—40	0—10	10—20	20—40
金露梅灌丛 <i>Potentilla fruticosa</i> Shrub						
8/V	1.241	1.032	0.276	6.218	5.955	4.468
22/VI	8.605	5.308	4.254	10.092	8.557	6.981
31/VII	12.371	9.781	6.148	20.822	17.550	13.556
5/IX	6.398	5.238	5.409	13.668	8.769	4.532
16/X	1.393	1.387	2.185	2.674	0.652	0.487
矮嵩草草甸 <i>Kobresia humilis</i> meadow						
8/V	0.778	0.126	0.198	3.622	2.455	0.414
22/VI	5.605	3.563	2.834	2.468	1.436	1.230
31/VII	9.398	7.175	5.457	5.962	1.877	1.134
5/IX	4.180	3.664	4.020	5.096	1.258	0.694
16/X	1.191	1.127	1.212	0.460	0.473	0.556
杂类草草甸 Forbs meadow						
24/V	0.094	0.061	0.015	3.622	2.455	0.414
22/VI	2.409	2.063	1.717	2.468	1.436	1.230
31/VII	5.201	3.919	3.175	5.962	1.877	1.134
5/IX	4.579	3.552	3.621	5.096	1.258	0.694
16/X	0.765	0.722	0.824	0.460	0.473	0.556

由表1可知, 在3种植被类型土壤中, 磷素的转化作用有以下特征:

(1) 磷素的转化强度在不同植被类型的土壤之间有明显的差异。以金露梅灌丛最高, 矮嵩草草甸次之, 杂类草草甸最低。据测定, 3种植被土壤中有有机质含量是有差异的(表2)。但磷素的转化强度却具有相同的规律, 即在有机质含量高的土层中, 磷素的转化作用较强, 反之较弱。但磷素转化作用强弱还受到土壤温度的制约。5月和10月土壤温度低, 土壤中各种微生物的生命活动很微弱或处于停止状态, 磷素的转化作用也相应处于很微弱或停止状态。这时土壤有机质的含量对磷素的转化作用影响不大。当土温升高时, 影响较大。

表 2 海北高寒草甸生态系统三种植被土壤有机质含量 (%) 的测定

Table 2 Organic material content (%) in the soils of three

vegetations in Haibei alpine meadow

植被类型 Vegetations	土壤深度(厘米)soil depth(cm)		
	0—10	10—20	20—40
金露梅灌丛 <i>Potentilla fruticosa</i> shrub	14.689	8.887	5.204
矮嵩草草甸 <i>Kobresia humilis</i> meadow	11.663	7.959	4.574
杂类草草甸 Forbs meadow	9.626	4.955	3.014

从表1看出, 矮嵩草草甸20—40厘米土层, 杂类草草甸的10—20和20—40厘米土层的磷素转化活性全年很低。杂类草草甸的10—20, 20—40厘米层无明显的季节性动态规律。表2表明, 矮嵩草草甸的20—40厘米土层有机质含量为4.57%, 杂类草草甸10—20厘米为4.95%, 20—40厘米层为3.01%, 远比其它植被土层的低。土壤有机质不但是土壤中溶磷微生物的能源和碳源, 而且是有机磷转化作用中磷素的总库。当土壤有机质含量低时, 有机磷转化活性也低。Brock(1974)认为: “土壤中微生物的活动力在含有丰富有机质的表层和靠近植物根系的区域为最大。而在土壤的深层, 微生物的数量和活性一般都很小”。因此, 土壤有机质含量与微生物对土壤中磷素的转化作用之间有密切的关系。土壤磷素转化作用还受土壤通气状况的影响。Ronald等(1981)认为: 土壤有机质的分解在土壤的表层主要靠好气性微生物进行, 一般在有氧的情况下, 才能强烈分解有机质, 产生二氧化碳、氨、磷酸根离子、水等物质。而在土壤的深层, 有机质的分解靠嫌气性细菌进行, 在嫌气性条件下分解有机质的速度很慢, 而且分解不完全。因此, 在土壤的深层, 有机磷的转化作用与土壤的表层相比较要慢得多。

(2) 磷素的转化作用有明显的季节性动态。从5—7月逐渐上升, (7月份达到最高峰, 以后又逐渐下降。磷素的转化作用也表现出明显的层次性规律, 0—10厘米层>10—20厘米层>20—40厘米层。这个结果与Vernon等(1977)在美国的Pawee和Mata-dor半干旱草原定位站的研究结果一致, 有机磷的矿化作用和无机磷的转化作用随着土壤深度的增加而减小。在无机磷的转化作用中, 在0—10厘米土层温度微生物对磷素的转化作用有着较为密切的关系, 但随着土壤深度增加, 相关性逐渐减小(表1, 3)。

表 3 1989年5—10月海北高寒草甸生态系统土壤月平均温度
 Table 3 Mean monthly soil temperature (°C) of the Station
 of Haibei Alpine meadow Ecosystem from May to Oct. in 1989

土壤深度(厘米) Soil depth (cm)	月 份 Month					
	5 May	6 June	7 July	8 Aug.	9 Sept.	10 Oct.
0—10	8.2	11.3	14.9	13.9	10.7	4.1
10—20	4.6	8.4	12.4	11.9	9.6	4.2
20—40	2.2	6.6	11.1	11.2	9.8	5.2

(3) 有机磷的转化作用特点:

1) 有机磷与无机磷的转化相比, 与土壤温度关系更为密切。而且随着土壤深度的增加变化很小。这是由于微生物的生命活动受到周围环境中种种理化因素的制约和调控 (Ronald et al., 1981), 而在土壤的深层, 这些理化因素因不易受到干扰而比较稳定。有机磷的转化作用是微生物通过分泌各种胞外磷酸酶, 分解各种含磷有机物而释放出被束缚的磷素, 而完成转化作用的。酶对外界环境条件的要求较高, 外界环境条件的改变常常可使酶的活性降低甚至失活。因此, 有机磷的转化作用与土壤温度之间的关系更为密切。

2) 金露梅灌丛土壤中有有机磷的转化强度远比其它两种植被的要高, 这与其土壤有机质的含量远比其它两种植被高有关。

3) 有机磷的转化在杂类草草甸的10—20, 20—40厘米层的季节性动态不明显 (表1), 全年的转化活性都很低。在金露梅灌丛和矮嵩草草甸0—10厘米土层有较厚的草皮层, 含有大量的植物根系及死根, 在草皮层之下有很厚的有机质层 (乐炎舟等, 1982)。根分泌物、死根及腐殖质中含有的大量活性有机质为微生物进行生命活动提供了充足的能源和碳源 (Merchx等, 1985), 且通气状况好, 又值6—9月土壤温度较高, 为溶磷微生物创造了良好的活动基础。

有机磷素的转化作用是微生物通过分泌能够分解各种有机磷化合物 (如磷蛋白、磷脂、磷酸肌醇等) 的胞外酶, 在酶的作用下完成转化作用的。而无机磷素的转化是通过微生物的生命活动分泌有机酸, 降低了环境中的pH值, 使不溶性的各种磷酸盐类化合物释放出被束缚的磷酸根离子来完成转化作用的, 有机酸也可以通过螯合难溶磷酸盐中的钙、铁等金属离子而释放出被束缚的磷酸根离子 (Sperber, 1958), 因此, Agnihotri (1970) 认为, 在无机磷的转化过程中, 有机酸的性质要比有机酸的浓度更为重要。

杂类草草甸中无论是有机磷的转化还是无机磷的转化作用, 虽然也有层次性动态, 但均较弱 (表1)。因杂类草草甸为矮嵩草草甸退化形成, 牧草生长稀疏, 土壤有机质含量低, 鼠类打洞使土壤上下翻动, 破坏了土壤的层次性结构等原因造成。

(二) 不同植被不同土壤深度溶磷微生物溶磷过程中可溶性磷的释放和培养液中 pH 值的变化

在培养的第3天培养液中pH值已从7.4下降到5—6, 并且还在继续下降 (表4), 可

表 4 不同土壤深度溶磷微生物溶磷过程中可溶性磷的释放及pH值的变化
 Table 4 Release of soluble Phosphate and change of pH by Phosphate dissolving microorganism in different soil depth

培养天数 Incubation days	磷的释放(ppm) ppm P released			pH值的变化 Change of pH		
	土壤深度(厘米) Soil depth(cm)					
	0—10	10—20	20—40	0—10	10—20	20—40
金露梅灌丛 <i>Potentilla fruticosa</i> shrub						
3	101.55	85.59	62.72	5.19	6.02	6.37
6	204.21	189.31	171.23	4.12	4.36	5.90
9	306.34	264.85	223.89	4.20	4.11	5.33
12	289.31	265.91	217.51	4.33	3.93	4.81
15	261.12	215.38	194.63	4.31	3.99	4.36
矮嵩草草甸 <i>Kobresia humilis</i> meadow						
3	90.38	76.55	56.34	5.50	6.19	6.39
6	184.53	154.74	132.96	4.62	5.36	5.68
9	257.40	224.95	209.00	4.64	4.73	5.42
12	257.93	196.76	194.51	4.58	4.50	5.46
15	247.29	171.76	149.95	4.59	4.53	5.66
杂类草草甸 Forbs meadow						
3	78.14	56.87	41.44	6.38	6.44	6.38
6	169.63	131.87	120.17	5.84	6.20	6.39
9	221.76	204.21	186.34	5.63	6.14	6.39
12	220.17	198.36	170.48	5.14	6.09	6.38
15	190.91	151.02	153.68	5.20	5.93	6.38

溶性磷的释放与积累从第3天起开始增加,直到第9天达到最高峰,之后开始缓慢下降,这个结果与Taha等(1969);Molla(1984)的实验结果一致。由于培养基中营养成分有所消耗,有害代谢产物的积累导致溶磷活性下降(Rao等,1982;Molla,1984),另一方面,微生物利用了一部分所溶解的磷,以满足其本身生长发育的需要。所以9天后可溶性磷的释放与积累逐渐下降。当微生物的溶磷速度大于微生物利用磷的速度时,环境中便有可溶性磷的积累。培养基中的pH值在培养开始的1—6天急速下降(表4)。以后,随着培养时间的增加,下降速度逐渐变缓,甚至略有上升。这是因为在开始培养的初期。培养基中各种营养成分的比例较为适宜,微生物的生长繁殖和各种代谢活动十分旺盛,并产生大量的有机酸等次生代谢产物,使培养基中pH值迅速下降。之后,由于培养基中葡萄糖的大量消耗,使能源和碳源开始变的不足,微生物细胞开始利用这些有机酸作为能源和碳源,使培养基中的有机酸浓度降低,pH值有所回升。

尽管测得的高寒草甸生态系统土壤中磷素的转化活性不低,但土壤中实际有效磷含量很低,仅为0.03—0.83%(乐炎舟等,1982),其原因为:

(1) 磷素的转化作用强的时候也正是植物生长旺盛的季节,所转化的有效磷大多很快就被植物吸收利用。

(2) 该生态系统的土壤大多为偏碱性,部分转化的可溶性磷素很容易与环境中的钙、铁、铝等金属离子结合重新变为不溶性的磷酸盐(Piccini等,1987)。

(3) 由于该系统土壤温度有半年处在冰点以下,微生物处于不活动状态,实际进

行磷素转化作用的时间很短。因此，土壤中有效磷的积累很少。

(三) 溶磷细菌的分离统计

(1) 土壤中溶磷细菌数量很少，只占细菌总数的千分之二以下(表5)，有机磷细菌的数量大于无机磷细菌的数量。

(2) 随着土壤温度的升高，溶磷细菌的数量增加(表3, 5)，随着土壤深度的增加，溶磷细菌的数量急剧下降。

(3) 在3种植被中，金露梅灌丛的溶磷细菌数量最多，矮嵩草草甸次之，杂类草草甸最少。

曾用多种培养基筛选能产生溶磷圈的溶磷微生物。但是发现在高寒草甸生态系统中，这类微生物的数量极少，在300多个平板中才出现3个具有溶磷圈的菌落。Arora等(1979)的研究认为，许多溶磷微生物在固体培养基上并不显现溶磷圈，但能在液体培养基测定出溶磷活性。

表5 海北高寒草甸生态系统1989年5—7月份土壤中溶磷细菌和细菌总数统计(10⁴细胞/克干土)

Table 5 Count of Phosphorus dissolving bacteria and total bacteria numbers (10⁴ cells/g dry soil) in the soil of Haibei alpine meadow ecosystem from May to July in 1989

土壤深度 (厘米)	细菌总数			无机磷细菌			有机磷细菌		
	Bacteria numbers			Inorganic P bacteria number			Organic P bacteria number		
	5 May	6 June	7 July	5 May	6 June	7 July	5 May	6 June	7 July
金露梅灌丛 <i>Potentilla fruticosa</i> shrub									
0—10	1340	2960	6970	3.25	3.24	5.71	4.27	12.73	14.81
10—20	684	1010	1525	0.56	1.11	1.63	2.28	5.25	6.02
20—40	94	69	329	0.21	1.12	0.18	0.17	1.17	2.91
矮嵩草草甸 <i>Kobresia humilis</i> meadow									
0—10	1290	3880	5740	1.28	3.71	7.12	5.24	12.82	14.12
10—20	528	718	1260	0.76	1.47	0.95	2.14	4.38	5.34
20—40	107	92	541	0.16	0.83	0.22	0.62	2.07	1.15
杂类草草甸 Forbs meadow									
0—10	746	918	1850	0.35	0.97	2.28	3.28	4.23	6.27
10—20	79	35	219	0.12	0.22	0.45	0.27	1.51	2.01
20—40	12	36	5.8	0.12	0.21	0.12	0.11	0.32	0.89

参 考 文 献

- 中国土壤学会土壤农化专业委员会, 1983, 土壤农业化学常规分析方法, 科学出版社, 99—100.
- 中国科学院南京土壤研究所微生物室, 1985, 土壤微生物研究法, 科学出版社.
- 乐炎舟、左克成、张金霞、赵宝莲、王在模、郭建华, 1981, 高寒草甸生态系统定位站的土壤类型及基本特点, 高寒草甸生态系统, 甘肃人民出版社, (1):19—33.
- Agnihotri, V.P., 1970, Solubilization of insoluble phosphates by some fungi isolated from nursery seedbeds. *Can. J. Microbiol.* 16:877—880.
- Arora, D. & A. C. Gaur, 1979, Microbial Solubilization of Different Inorganic Phosphates, *Indian J. Exp. Biol.*, 17:1258—1261.

- Brock, D. T., 2nd Ed., 1974, *Biology of Microorganism*. Press Prentice Hall, Inc. Campbell, R. 2nd Ed. (1983). *Microbial Ecology*. Press Blakwell Scientific Publications.
- Merckx, R., A. D. Hartog et al., 1985, Turnover of root-derived material and related microbial biomass formation in soils of different texture. *Soil Bio. Biochem.* 17 (4):565—596.
- Molla, M. A. Z., A. A. Chowdhury, A. Islam and S. Hoque, 1984, Microbial mineralization of organic phosphate in soil. *Plant and Soil.* 78:393—399.
- Piccini, D. & R. Azcon, 1987, Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vecicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the utilization of Bayovar rock phosphate aifalfa plant using a sand-vermiculite medium. *Plant and Soil.* 101:45—50.
- Rao, A. V., B. Venkaeswarlu and P. Kaul, 1982, Isolation of a Phosphate Dissolving Soil Actinomycete. *Current Science*, 51 (23):1117—1119.
- Ronald, M. A. & Bartha, R., 1981, *Microbial Ecology: Fundamentals and applications*. Press Addison-Wesley-Publishing Company.
- Sperber, J. I., 1958, Solution of Mineral Phosphates by Soil Bacteria. *Nature*, No. 4593, 994—995.
- Taha, S. M. et al., 1969, Activity of phosphate-dissolving bacteria in Egyptian soils. *Plant and Soils.* 31:149—160.
- Vernon, C. C., et al., 1977, Simulation of phosphorus cycling in semiarid grassland. *Ecology* 58 (1):1—15.

STUDY ON THE PHOSPHORUS TRANSFORMATION IN THE SOIL OF HAIBEI ALPINE MEADOW ECOSYSTEM

Geng Bowen, Zhao Baolian and Yang Tao

(Northwest Plateau Institute of Biology,

The Chinese Academy of Sciences, Xining, 810001)

This paper deals with microbial transformation of organic and inorganic phosphorus in the soils of *Potentilla fruticosa* shrub, *Kobresia humilis* meadow and Forbs meadow in the Haibei Alpine Meadow Ecosystem Research Station, the numbers of phosphorus dissolving bacteria in the soils of different depth of the three vegetations, the change of pH value and the releasing of soluble phosphorus of the insoluble materials in liquid culture were tested. The results indicate:

1. For both organic and inorganic phosphorus transformation activity, the seasonal dynamics of various soil depths are significant in the soils of the three vegetations in Haibei Alpine Meadow Ecosystem Research Station.

2. The numbers of phosphorus dissolving bacteria in the soils and the phosphorus transformation have the same patterns, *Potentilla fruticosa* shrub > *Kobresia humilis* meadow > Forbs meadow, 0—10cm > 10—20cm > 20—40cm of different soil depth and warm season > cold season.

3. In liquid culture, soluble phosphorus releasing increase and pH decrease as time goes on.

Key words: Phosphorus transformation; Soil microorganism; Alpine meadow Ecosystem.