

长期施用化肥对红壤性水稻土中微生物 生物量、活性及群落结构的影响^①

乔洁^{1,2}, 毕利东², 张卫建¹, 沈仁芳², 张斌^{2*}, 胡锋¹, 刘艳丽^{1,2}

(1 南京农业大学资源与环境学院, 南京 210095; 2 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要: 利用化肥长期定位试验, 研究了施肥对土壤微生物生物量、活性及其群落结构的影响。结果表明: 与不施肥相比, 长期施用化肥不仅增加了土壤微生物生物量, 而且导致了土壤微生物群落结构的分异。其中, 有机无机配施处理和 2 倍 NPK 配施处理显著提高了土壤有机质含量、全 N 含量、土壤微生物生物量和土壤微生物活性。NPK 均衡施肥处理对土壤有机质、土壤微生物生物量及其活性的影响小于非均衡施肥的处理 (NP、NK、N、P、K), 适当增施 K 肥有利于提高土壤微生物中真菌的比例。

关键词: 水稻土; 微生物生物量; 微生物活性; 微生物群落; 长期试验

中图分类号: S154.3; S157.4

土壤微生物是生态系统的重要组成部分, 不仅直接参与土壤 C、N 等元素的循环过程和土壤矿物质的矿化过程, 还对土壤结构, 尤其是土壤团聚体的形成及其稳定性起着决定性的作用^[1]。不同类群的微生物在土壤中的作用不尽相同, 真菌是土壤中主要的微生物之一, 在生态系统功能中起到很重要的作用。土壤真菌能够固结、矿化土壤养分, 在分解有机质的同时在土壤颗粒间形成菌丝桥, 促进土壤团聚体的形成^[2-4], 有效地提高土壤结构和土壤团聚体稳定性^[5-6], 同时, 真菌产生的多糖体也具有增加矿物质和保持水分的能力^[3]。麦角固醇是大多数子囊菌类、担子菌类等真菌细胞膜中的重要组成成分, 可作为土壤微生物群落中真菌生物量的标记物^[7]。

红壤水稻土广泛分布于我国南方, 由于矿物释放的养分十分有限, 植物生长所需的养分主要靠肥料投入。长期施用不同化肥不仅可以改变土壤理化性质, 提高土壤团聚体稳定性^[8], 亦使土壤微生物群落结构、数量和活性发生变化^[9-10], 影响土壤肥力和土壤生产力。目前国内外有关土壤微生物对长期施用不同化肥的响应方面的研究主要集中在旱地, 就水田土壤微生物方面的报告还较少。本文的研究目标是研究长期施用化肥对红壤性水稻土中土壤微生物生物量、活性及其群落结构的影响, 以为土壤生产力的评价与培育提

供理论依据, 也为区域性农田土壤肥料管理提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

红壤水稻土肥料长期定位试验设在江西省红壤研究所内 (116°26' E, 28°37' N), 海拔 26 m, 亚热带季风气候, 年平均气温 17.7 °C, 月平均最高气温 29.0 °C, 月平均最低气温 5.0 °C, 年均降雨量 1400 mm。试验始于 1981 年早稻, 共设 9 个处理: 不施肥 (CK)、有机无机配施 (NPKOM)、双倍氮磷钾 (2NPK)、氮磷钾 (NPK)、氮磷 (NP)、氮钾 (NK)、氮 (N)、磷 (P)、钾 (K), 重复 3 次。肥料用量及施肥方式分别为: 水稻单季施用 N 90 kg/hm², P₂O₅ 45 kg/hm², K₂O 75 kg/hm², 二级量加倍, 有机肥 22.5 t/hm² (早稻施新鲜紫云英, 晚稻施猪粪)。有机肥和钙镁磷肥作基肥施用, 尿素和氯化钾在水稻返青后和分蘖盛期分两次追肥。

1.2 样品的采集与处理

供试土样于 2005 年 7 月早稻收割后采集, 土样取自 0~10 cm 的耕层土壤, 用自封袋密封带回实验室, 挑去植物残根和石块, 过 2 mm 筛, 4 °C 冰箱保存, 供分析用。供试土壤的理化性质见表 1。

①基金项目: 国家“973”计划 (2005CB121107) 和国家自然科学基金 (40371059、30571094) 资助。

* 通讯作者 (bzhang@issas.ac.cn)

作者简介: 乔洁 (1980—), 女, 吉林白山人, 硕士研究生, 主要从事土壤生物物理及其恢复生态学研究。E-mail: jqiao@issas.ac.cn

表 1 供试土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the tested soil

处理	体积质量 (g/cm ³)	孔隙度 (%)	pH (H ₂ O)	有机 C (g/kg)	全 N (g/kg)	C/N
CK	1.08	54	4.9	16.92	2.11	13.8
NPKOM	0.99	56	4.9	21.36	2.47	14.9
2NPK	0.99	57	5.0	19.51	2.25	15.0
NPK	1.05	57	4.9	18.96	2.17	15.0
NP	1.03	57	4.9	19.36	2.12	15.7
NK	1.01	57	4.9	19.50	2.15	15.7
N	1.04	56	4.8	19.77	2.10	16.3
P	1.02	56	4.8	19.12	2.13	15.5
K	1.08	54	4.7	19.17	2.16	15.3

1.3 测定方法

土壤体积质量(容重):环刀法测定;土壤孔隙度:通过土壤体积质量换算;土壤 pH 值:电位计法测定;土壤有机质:高温外热重铬酸钾氧化容量法测定;土壤全 N:半微量开氏法测定^[11]。

土壤微生物生物量 C、N:采用氯仿熏蒸浸提法(FE)测定。具体步骤为取新鲜土样,去除植物根系,过 2 mm 孔筛,分别在氯仿熏蒸前后用 K₂SO₄ 溶液浸提土壤,提取液中的有机 C 用费尔思法测定^[12],提取液中的 N 采用半微量开氏法测定。微生物生物量 C、N 的换算系数分别为 0.38、0.45^[11]。

土壤 CO₂ 释放量:室内密闭培养法。称取 50 g 新鲜土壤于 500 ml 培养瓶中,并将土壤均匀地平铺于瓶底部,然后将盛有 5 ml 0.2 mol/L NaOH 溶液的吸收瓶放到培养瓶中,将培养瓶盖瓶盖,密封。在 28 ℃ 培养箱内培养 24 h 后,将培养瓶中的吸收瓶取出,加入 2 mol/L BaCl₂ 溶液 2 ml,加酚酞指示剂 1 滴,用 0.05 mol/L 标准 HCl(用硼砂标定其浓度)滴定至红色消失即可。同时做空白对照^[11]。

土壤真菌中麦角固醇含量:根据土壤有机质含量称取 1~3 g 鲜土,加入 20 ml KOH-醇溶液(甲醇:乙醇=1:3),漩涡振荡,然后在水浴锅中 75 ℃ 皂化 1h,冷却至室温,再加入 5 ml 双蒸水,离心,上清液转入分液漏斗中,加 25 ml 环己烷,萃取、分液,将上层环己烷转移至浓缩瓶中,用旋转蒸发仪 40 ℃ 条件下蒸干,用甲醇洗浓缩瓶并定容于 1 ml 容量瓶中待测^[13-15]。用高效液相色谱仪测定。色谱条件为色谱柱 CLC-ODS (150 × 6 mm)、流动相甲醇(100%)、流速 1.5 ml/min、检测器为紫外检测器、检测波长 283 nm。采用外标法按峰面积进行定量。

1.4 统计分析

数据处理采用 Microsoft Excel 2000 进行;不同处

理之间进行方差分析(ANOVA)及其差异水平通过最小显著差数法(LSD)检验,所有数学统计均通过 SPSS 11.0 进行;作图采用 Origin Pro7.5 进行。

2 结果与分析

2.1 土壤微生物生物量 C、N

土壤微生物生物量是土壤有机质中最活跃和最易变化的部分。图 1 显示了不同处理下土壤微生物生物量 C、N 差异。土壤微生物生物量 C 变化范围是 1089.5 ~ 1585.6 mg/kg。除 NPK 处理外,其余各施肥处理土壤微生物生物量 C 含量均显著高于 CK。其中 NPKOM 处理最高,比 CK 高 46%。土壤微生物生物量 N 变化范围是 63.3 ~ 125.2 mg/kg, NPKOM 和 2NPK 处理显著高于 CK,尤其是 2NPK 处理比 CK 高 97% 以上。其余 N、P、K 单施处理间及其与 CK 之间不存在显著性差异,这与 Kanazawa 等^[16]、Lynch 和 Panting^[17]、Goyal 等^[18]和张彦东等^[19]的研究结果一致。施肥后植物生长加快,根系生物量及根系分泌物增加,可能促进土壤微生物生长,从而普遍提高了土壤微生物生物量^[20-21]。有机无机肥配合施用下,不仅通过促进作物生长而显著增加土壤有机物投入,而且有机肥的施入直接带入了大量活的微生物和有机物质(表 1),为土壤微生物提供了充足的能量和养分。

长期施用不同的化肥不仅影响微生物总量,而且对微生物群落结构也有一定的直接或间接影响^[22],从而导致土壤微生物生物量 C、N 对化肥施用的响应趋势不一致。

不同施肥处理对土壤微生物生物量 C、N 占土壤有机 C、全 N 的比例的影响效果不同(表 2)。2NPK 配施处理土壤微生物生物量 C、N 占土壤有机 C、全 N 的比例分别比 CK 高 5.4% 和 75.3%。可见,红壤地区适当增施化肥有利于提高土壤微生物总量。NPK 均衡

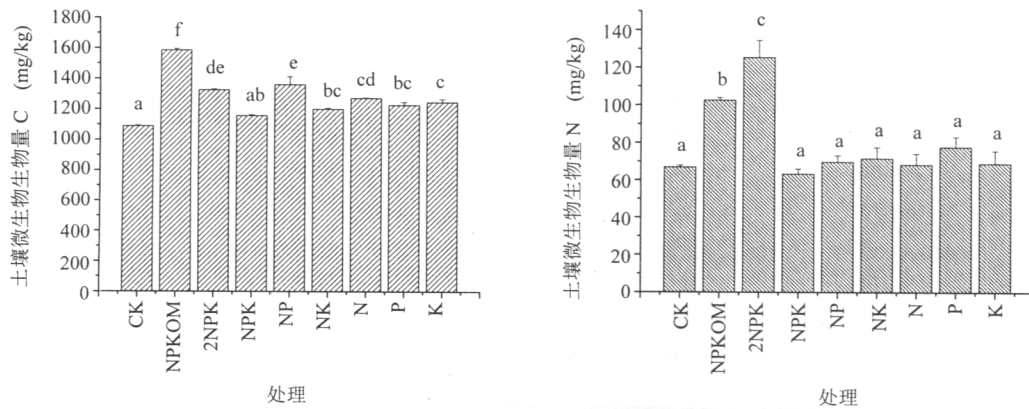


图 1 长期施用不同化肥下土壤微生物生物量 C、N (平均值+SE)

Fig. 1 Soil microbial biomass carbon and nitrogen in different treatments

表 2 长期施用不同化肥下土壤微生物生物量 C、N 在有机 C、全 N 中的比例 (%)

Table 2 Ratios of soil microbial biomass carbon and nitrogen to soil organic carbon and total nitrogen in different treatments

	CK	NPKOM	2NPK	NPK	NP	NK	N	P	K
C	6.44	7.42	6.79	6.10	6.98	6.20	6.52	6.20	6.51
N	3.18	4.15	5.57	2.91	3.29	3.34	3.26	3.65	3.20

施肥处理土壤微生物生物量 C、N 含量及其在土壤有机 C、全 N 中的比例均低于非均衡施肥处理(NP、NK、N、P、K)，这与李秀英等^[23]研究结果类似。这可能是由于长期的 NPK 配合施用，土壤养分均衡，植物生长迅速，微生物周转快，使得土壤微生物生物量 C、N 易矿化，为作物提供 C 素和 N 素^[24-26]。但 NP 配施处理土壤微生物生物量 C 在土壤有机 C 中的比例高于其他施用化肥的处理，这表明 P 可能是该地区土壤微生物的关键作用因子，长期补充 N、P 增加了土壤有机质含量，提高了土壤微生物生物量及其活性^[16-18, 27]。

2.2 土壤 CO₂ 释放量

土壤 CO₂ 释放量是衡量土壤微生物活性的总指标。由图 2 可以看出，除 NPK 和 NK 处理与 CK 没有差异外，其余各施肥处理土壤 CO₂ 释放量均显著高于 CK。NPKOM 处理土壤 CO₂ 释放量最高，比 CK 高 80% 以上。NP 配施处理土壤 CO₂ 释放量高于其他施用化肥的处理，各化肥单施处理间土壤 CO₂ 释放量没有显著差异，但单施 P 肥的处理略高于单施 N 肥、K 肥的处理。土壤微生物生物量 C 的含量与土壤 CO₂ 释放量显著相关 ($r = 0.503^*$)。有机无机肥料配合施用下，有机肥直接给微生物提供了丰富、易利用的养分元素，微生物活性高。而一般土壤中有机质腐殖化程度较高，能被微生物直接利用的 C 源含量较低，微生物活性较低^[28]，Dick^[29]的研究也发现类似的趋势。NPK 配施处

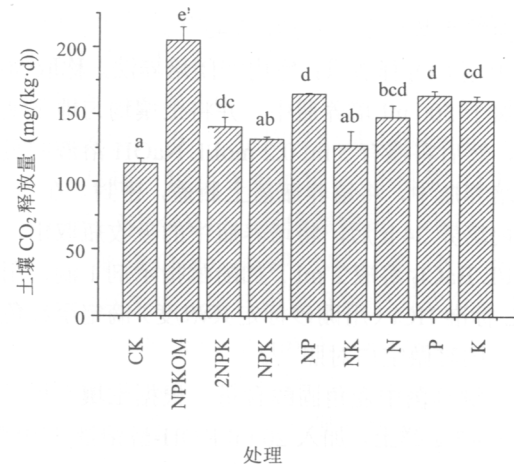
图 2 长期施用不同化肥下土壤 CO₂ 释放量 (平均值 + SE)

Fig. 2 Soil respiration rate influenced by different chemical fertilization

理微生物活性低于其他各施肥处理，可能是因为 NPK 配施处理有机 C 含量低导致的。

2.3 土壤微生物群落结构

由于微生物种群对不同化肥的响应差异，长期施用不同的化肥，不仅土壤微生物总量会有所变化，而且也会引起微生物群落结构的变化^[30-31]。由图 3 和图 4 可以看出，各处理麦角固醇-C 含量为 0.3 ~ 0.6 μg/g。

2NPK 处理麦角固醇-C 含量显著高于 CK, 但其他处理与 CK 没有差异 ($P>0.05$)。除 NPKOM 和 NP 配施处理外, 其他处理麦角固醇-C 与土壤微生物生物量 C 的比值 (图 4) 均高于 CK。其中 2NPK、NK 配施处理最高, K、NPK 处理次之。这些结果表明: 长期施用不同的化肥, 不仅为真菌提供了生活所必需的营养元素和丰富的食源, 促进了真菌的繁殖, 而且改变了红壤性水稻土中微生物群落结构。NPKOM 和 NP 配施处理可能更有利于真菌以外的其他微生物的繁殖。适当增施 K 肥, 可能有利于真菌比例的提高。土壤真菌在土壤生态系统功能中起到很重要的作用, 它通过促进土壤团聚体的形成而显著地提高土壤质量, 如真菌中泡囊状菌根起到稳定大团聚体的作用, 因为它有助于贯穿土壤基质, 延展植物根系^[27]。

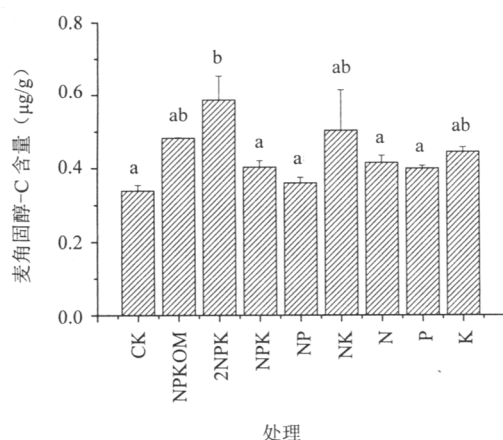


图3 长期施用不同化肥下土壤真菌中麦角固醇-C 的含量 (平均值 + SE)

Fig. 3 Soil ergosterol-C concentration influenced by different chemical fertilization

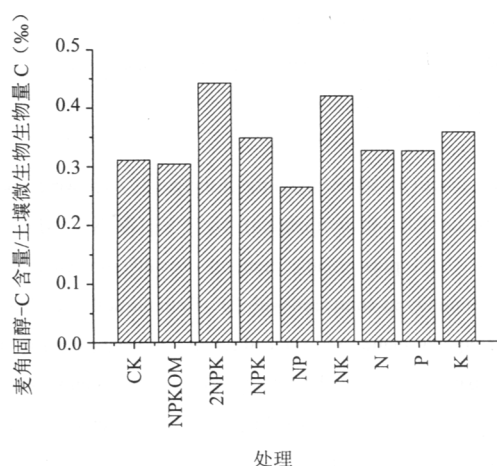


图4 长期施用不同化肥下麦角固醇-C 与微生物生物量 C 的比值

Fig. 4 Ratio of soil ergosterol-C concentration to soil microbial biomass carbon in different treatments

3 结论

对于供试的红壤性水稻土, 有机无机配施处理提高了土壤微生物生物量 C、N 含量, 土壤微生物活性及其土壤微生物生物量 C 在有机 C 中的比例, 但对土壤真菌影响不显著, 有可能降低土壤真菌在土壤微生物中的比例。与 NPK 配施处理相比, 2NPK 配施处理显著增加了土壤微生物生物量和真菌生物量 (分别增加了 14.6% 和 97.8%), 这说明适当增加施肥有利于土壤微生物的繁殖, 能够增加土壤真菌在土壤微生物中的比例, 进而可能有利于改善土壤结构、增加土壤肥力、提高作物产量。N 肥、P 肥和 K 肥均有利于土壤微生物的繁殖, 但 K 肥似乎对土壤真菌生物量的影响更大。

参考文献:

- [1] 俞慎, 李勇, 王俊华, 车玉萍, 潘映华, 李振高. 土壤微生物生物量作为红壤质量生物指标的探讨. 土壤学报, 1999, 36(3): 387-394
- [2] Cambardella CA, Elliott ET. Particulate soil organic matter across a grassland cultivation sequence. Soil, 2001, 15(4): 99-102
- [3] 冯固, 张玉凤, 李晓林. 丛枝菌根真菌的外生菌丝对土壤水稳性团聚体形成的影响. 水土保持学报, 2001, 15(4): 99-102
- [4] Guggenberger G, Elliott ET, Frey SD, Six J, Paustian K. Microbial contributions to the aggregation of a cultivated grassland soil amended with starch. Soil Biol. Biochem., 1999, 31: 407-419
- [5] Birgitte N, Leif P. Influence of arbuscular mycorrhizal fungion soil structure and aggregate stability of vertisol. Plant and Soil, 2000, 218: 173-183
- [6] Tisdall JM, Oades JM. The effect of crop rotation on aggregation in a red - brow earth. Aust. J. Soil Res., 1980, 18: 423-433
- [7] West AW, Grant WD, Sparling GP. Use of ergosterol, diaminopimelic acid and glucosamine content of soils to monitor changes in microbial populations. Soil Biol. Biochem., 1987, 19: 607-612
- [8] 李江涛, 张斌, 彭新华, 赖涛. 施肥对红壤性水稻土颗粒有机有机物形成及团聚体稳定性的影响. 土壤学报, 2004, 41(6): 912-917
- [9] Abbott LK, Murphy DV. Soil Biological Fertility. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2003
- [10] 李忠佩, 焦坤, 林心雄, 程励励. 施肥条件下瘠薄红壤的生物化学性状变化. 土壤, 2003, 35 (4): 304-310
- [11] 鲁如坤主编. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业出版社, 2000
- [12] 杜丽娟, 文启孝, 张晓华. 应用费尔思法测定氯化钠盐土或底土中的有机碳. 土壤, 1982, 14(4): 149-157
- [13] Morten K, Erland B. Estimation of conversion factors for fungal biomass determination in compost using ergosterol and PLFA 18:2ω6,9. Soil Biol. Biochem., 2004, 36: 57-65
- [14] Montgomery HJ, Monreal CM, Young JC, Seifert KA. Determination of soil fungal biomass soil ergosterol analyses. Soil Biol.

- Biochem., 2000, 32: 1207–1217
- [15] Eash NS, Stahl PD, Parkin TB, Karlen DL. A simplified method for extraction of ergosterol from soil. *Soil Biol. Biochem.*, 1996, 28: 468–471
- [16] Kanazawa S, Asakawa S, Takai Y. Effect on fertilizer and manure application on microbial numbers, biomass, and enzyme activities in volcanic ash soils. I. Microbial numbers and biomass carbon. *Soil Science and Plant Nutrition*, 1988, 34: 429–439
- [17] Lynch JM, Panting M. Effects of season, cultivation and nitrogen fertilizer on the size of the soil microbial biomass. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1982, 33: 249–252
- [18] Goyal S, Mishra MM, Hooda IS, Singh R. Organic matter-microbial biomass relationships in field experiments under tropical conditions: Effects of inorganic fertilization and organic amendments. *Soil Biol. Biochem.*, 1992, 24: 1081–1084
- [19] 张彦东, 孙志虎, 沈有信. 施肥对金沙江干热河谷退化草地土壤微生物的影响. *水土保持学报*, 2005, 19(2): 88–91
- [20] Goyal S, Chander K, Munda MC, Kapoor KK. Influence of inorganic fertilizers and organic amendments on soil organic matter and soil microbial properties under tropical conditions. *Biol. Fertil. Soils*, 1999, 29: 196–200
- [21] Šimek M, Hopkins DW, Kalčík J, Pícek T, Šantrůčková H, Staňa J, Trávník K. Biological and chemical properties of arable soils affected by long-term organic and inorganic fertilizer applications. *Biol. Fertil. Soils*, 1999, 29: 300–308
- [22] 孔维栋, 朱永官, 傅伯杰, 陈保冬, 童依平. 农业土壤微生物基因与群落多样性研究进展. *生态学报*, 2004, 24(12): 2894–2900
- [23] 李秀英, 赵秉强, 李絮花, 李燕婷, 孙瑞莲, 朱鲁生, 徐晶, 王丽霞, 李小平, 张夫道. 不同施肥制度对土壤微生物的影响及其与土壤肥力的关系. *中国农业科学*, 2005, 38(8): 1591–1599
- [24] Powlson DS, Brookes PC, Christensen BT. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due straw incorporation. *Soil Biol. Biochem.*, 1987, 19: 159–164
- [25] 王兴任, 李洁茹, 苏德纯, 曹一平, 毛达如. 北京石灰性潮土长期轮作的磷肥合理运筹. *中国农业大学学报*, 1994, 4(5): 43–49
- [26] 宋建国, 王晶, 林杉. 用连续流动分析仪程度土壤微生物态氮的方法研究. *植物营养与肥料学报*, 1999, 5(3): 282–287
- [27] Karlen DL, Rosek MJ, Gardner JC (黄毅编译). 备用地保护项目对土壤质量的影响. *水土保持科技情报*, 2000 (2): 1–3
- [28] Alde'n L, Demoling F, Bååth E. Rapid method of determining factors limiting bacterial growth in soil. *Appl. Environ. Microb.*, 2001, 67: 1830–1838
- [29] Dick RP. A review: Long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1992, 40: 25–36
- [30] Lovell RD, Jarvis SC, Bardgett RD. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: Effects of management changes. *Soil Biol. Biochem.*, 1995, 27: 969–975
- [31] Hatch DJ, Lovell RD, Antil RS, Jarvis RS, Owen PM. Nitrogen mineralization and microbial activity in permanent pastures amended with nitrogen fertilizer or dung. *Biol. Fertil. Soils*, 2000, 30: 288–293

Effects of Long-Term Chemical Fertilization on Soil Microbial Biomass, Activity and Community in Paddy Soil in Red Soil Region of China

QIAO Jie^{1,2}, BI Li-dong², ZHANG Wei-jian¹, SHEN Ren-fang², ZHANG Bin², HU Feng¹, LIU Yan-li^{1,2}

(1 College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China;

2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: Effects of long-term chemical fertilization on soil microbial biomass, activity and community of the paddy soils were studied by a long-term fertilization experiment setup in 1981. The experiment has 9 treatments, i.e. CK (no fertilization), N, P, K, NP, NK, NPK (different combination of N, P, and K), 2NPK (double NPK application rate) and NPKOM (NPK plus organic manure). Results showed that fertilizer application increased soil microbial biomass, and led to diversion of soil microbial community as compared with CK. Both the soil microbial biomass and microbial activity increased in Treatment NPKOM due to the increase in soil organic matter and total nitrogen. However, the soil microbial biomass and activity were depressed in Treatment NPK, balanced fertilization, as compared with other chemical fertilization treatments (NP, NK, N, P and K). The ergosterol data showed that the proportion of fungi in soil microbial community was increased in Treatments K and NK. The results suggested that chemical fertilization may increase soil microbial properties through changing the carbon input.

Key words: Paddy soil, Microbial biomass, Microbial activity, Microbial community, Long-term experiment