植物营养与肥料学报 2013,19(5):1224-1233
Journal of Plant Nutrition and Fertilizer doi: 10.11674/zwyf.2013.0523

生物有机肥对秦巴山区核桃园土壤微生物群落和酶活性的影响

孙 薇[1], 钱 勋[1], 付青霞[1], 胡 婷[1], 谷 洁[1,2], 王小娟[1], 高 华[1,2*]
(1 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌 712100; 2 陕西省循环农业工程技术研究中心, 陕西杨凌 712100)

摘要: 采用大田试验,探讨生物有机肥对秦巴山区核桃园土壤微生物群落结构及其代谢、酶活性和土壤理化性质的影响。结果表明,施入生物有机肥可改变土壤微生物群落结构,改变微生物对各大类碳源的利用,提高微生物碳源利用率、物种多样性和丰富度,常规施肥对土壤微生物群落结构影响不显著。生物有机肥可显著提高土壤蔗糖酶、酸性磷酸酶和脱氢酶活性,但对过氧化氢酶的影响不显著;常规施肥可提高土壤脲酶和脱氢酶活性,对其他酶活性没有显著影响。生物有机肥可显著提高土壤有机质, 全量氮、磷、钾和速效磷含量,提高土壤 pH 值,使土壤理化性质得到改善;常规施肥也可在一定程度上提高土壤养分含量,但其效果不如生物有机肥。

关键词: 生物有机肥; 微生物群落; 酶活性; 土壤理化性质
中图分类号: S144; S154.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-505X(2013)05-1224-10

Effects of bio-organic fertilizer on soil microbial community and enzymes activities in walnut orchards of the Qinling-Bashan Region

SUN Wei[1], QIAN Xun[1], FU Qing-xia[1], HU Ting[1], GU Jie[1,2], WANG Xiao-juan[1], GAO Hua[1,2*]
(*1 Collage of Resource and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;*
2 Research Center of Recycle Agricultural Engineering and Technology of Shaanxi Province, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: A field experiment was conducted in Qinling-Bashan Region of Shaanxi province to investigate the influence of different fertilization treatments on soil microbial community, enzymes activities and soil nutrients in walnut orchards. There were three treatments, control (CK), conventional fertilizer treatment (T1) and bio-organic fertilizer treatment (T2). The effect of bio-organic fertilizer addition on microbial community metabolic profiles was analyzed with the Biolog (ECO Microplate) method. The results show that the average well color development (AWCD), Shannon index and richness index (S) of microbial community of the T2 treatment are all significantly higher than those of the T1 treatment. Utilization of six carbon source types by soil microbial community shows that the soil microbial community of the bio-organic fertilizer treatment enhances consumption of all the six carbon source types, which indicates the soil microbial community function is changed to some extent. Principal components analysis demonstrates that there are larger differences on utilization of carbon substrates by soil microbial community between the T2 and CK treatment and between the T1 and control, which indicates that the function of soil microbial community is modified by fertilization regimes. The soil sucrase, acidic phosphatase and dehydrogenase activities are improved significantly, and soil urease activity is changed significantly after the application of bio-organic fertilizer in comparison with the control, while soil catalase activities are similar between the two treatments. The contents of total soil nitrogen, total phosphorus, total potassium and available phosphorus of the T2 treatment are significantly higher than those of the CK. In addition, soil pH is increased in the T2 treatment, and decreased in the T1 treatment in comparison with CK treatment. It is concluded that application of

收稿日期: 2013-01-16 **接受日期:** 2013-04-29
基金项目: 国家林业局科技推广项目([2010]39); 国家自然科学基金(40871119, 41171203); 农业部"948"项目(2010-Z20)资助。
作者简介: 孙薇(1987—),女,山东淄博人,硕士研究生,主要从事环境微生物方面的研究。E-mail: sunwei20090@163.com
* 通信作者 E-mail: gaohua@163.com

bio-organic fertilizer could not only change the function of microbial community, improve the activities of soil sucrase, acidic phosphatase, urease and dehydrogenase, but also increase the contents of soil nutrients.

Key words: bio-organic fertilizer; microbial community; enzyme activity; soil physical and chemical characteristics

近年来,集约化农业虽然推动了农业生产率和作物产量的大幅度提高,但长期大量施用化肥和化学农药,致使土壤肥力下降,影响土壤微生物和酶活性,从而影响作物的产量和品质[1]。生物有机肥是指利用特定功能微生物与畜禽粪便、农作物秸秆等为原料,经无害化腐熟混合处理而成的一类具有微生物功能和有机肥效应的肥料[2]。生物有机肥集生物肥和有机肥的优点于一体,既有利于增产增收、改善农产品品质,又可培肥土壤、减少无机肥料用量[3]。近年来的研究表明,生物有机肥能够调节土壤中微生物区系组成,增强土壤酶的活性,使土壤向着健康方向发展[4-5]。

Biolog 检测法是一种通过测试微生物对不同碳源利用能力及其代谢差异,反映微生物群体水平的生理轮廓以及描述微生物群落功能多样性的分析方法[6]。1991 年, Garland 和 Mills[7]首次将这种方法应用于土壤微生物群落的研究,此后该方法被广泛用于区别不同环境条件下土壤微生物群落结构的差异[8-10]。陈琳[11]等研究表明,含铜有机肥对土壤微生物原有群落结构造成了损伤。目前国内外关于有机肥对土壤质量的影响已有部分研究,但生物有机肥对土壤微生物群落影响的相关研究较少。邵丽[12]等在盆栽试验条件下,采用 Biolog 技术研究了生物复混肥对土壤微生物功能多样性的影响,其结果表明生物复混肥的施用比等养分量的有机无机复混肥处理能显著提高土壤微生物群落对碳源的利用率、微生物群落的丰富度和功能多样性。Zhang Qichun [13]等人用 Biolog ECO 板分析了不同施肥处理土壤微生物群落结构,表明猪粪 + 化肥处理和秸秆 + 化肥处理微生物群落代谢活性和数量显著高于化肥和不施肥处理。土壤酶是土壤的一个重要组成部分,主要来自于土壤微生物、植物和动物的活体或残体,参与了土壤环境中的一切生物化学过程,与有机物质分解营养物质循环能量转移环境质量等密切相关。Liu En-ke[14]等大田试验表明,有机肥的施入增加了土壤脱氢酶、碱性磷酸酶、β - 葡萄糖酶和脲酶活性。张静[15]等进行盆栽试验,结果表明施用生物有机肥处理土壤脲酶、磷酸酶、过氧化氢酶和蔗糖酶的活性均高于对照和普通有机肥的处理。

本试验所在地—秦巴山区是陕西优质核桃生产区域之一。目前秦巴山区的核桃园管理粗放,农民以施化肥为主,施肥盲目性很大,不仅增加了生产成本,而且效果不佳。在试验区设置了不同施肥处理试验,探讨生物有机肥对土壤微生物群落功能多样性的作用机理及其对土壤酶活性、土壤理化性质的影响,旨在阐明生物有机肥对土壤质量的影响,为指导核桃施肥、提高核桃产量质量提供依据。

1　材料与方法

1.1　供试材料及试验设计

试验于 2011 年在陕西省洛南县石门镇进行(108°50′～109°36′E, 33°25′～36°56′N),供试核桃品种为中林 5 号,栽培密度 4 m × 5 m,树龄 9 年。试验地土壤有机质含量 21.75 g/kg、全氮 0.54 g/kg、全磷 0.62 g/kg、全钾 17.64 g/kg、速效氮 23.71 mg/kg、速效磷 0.88 mg/kg、速效钾 248 mg/kg, pH 值 6.17。供试生物有机肥为西北农林科技大学资源环境学院制作的生物有机肥,其有益微生物(主要为解磷菌及解钾菌)数量为 2.8×10^8 cfu/g,有机质含量 28.3%、氮(N)3.8%、磷(P_2O_5) 2.6%、钾(K_2O)3.1%。试验设 3 个处理: CK,不施肥;T1,常规施肥,施肥量为复合肥 1350 kg/hm^2(复合肥含 N 15%、$P_2O_5$15%、K_2O 15%);T2,施生物有机肥,施肥量为 5325 kg/hm^2(以化肥养分氮含量折算施用等养分生物有机肥,即 N 202.5 kg/hm^2、$P_2O_5$138 kg/hm^2、K_2O 165 kg/hm^2),小区面积 60 m^2,3 次重复,随机区组排列。肥料于 2011 年 3 月 20 日一次施入,方法为将肥料均匀地撒在树冠内外的地面上,树冠内 2/3,树冠外 1/3,施肥后深翻入土。

于核桃收获后(2011 年 10 月 11 日),采用蛇形 5 点取样法取 0—20 cm 土壤样品,将新鲜土样装入无菌袋,用于微生物群落和土壤酶活性的测定;部分土样风干,根据测定指标的要求分别过不同孔径筛,用于土壤理化性质的测定。

1.2　测定项目和方法

1.2.1 微生物群落生理轮廓(CLPPs)的测定　取相当于 5.0 g 风干土样的新鲜土样加入装有 45 mL 无

菌生理盐水的三角瓶中,160 r/min 振荡 30 min,得到样品微生物悬浮液。静置片刻后取上清液,在超净工作台上,采用十倍稀释法,将其用无菌生理盐水稀释至浓度为 10^{-3},接种微生物悬浮液于 ECO 微平板(ECO MicroPlate, 美国 Marix Technologies Corporation)中,每孔 150 μL。将接种的 ECO 板装入聚乙烯盒中置于28℃暗箱培养(每个土样做3次重复);连续培养 240 h,每 12 h 用 Biolog 自动读数装置在 590nm 下读数[16]。

1.2.2 土壤酶活性的测定 土壤酶活性的测定参考关松荫[17]的相关方法。土壤蔗糖酶活性采用3,5-二硝基水杨酸比色法;酸性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法;过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法;多酚氧化酶活性采用邻苯三酚比色法;脱氢酶活性采用氯代三苯基四唑(TTC)法测定。

1.2.3 土壤理化性质的测定 参考鲍士旦[18]的相关方法。土壤 pH 值采用水土比 1∶5、pH 计(PDS-3C)测定;有机质采用重铬酸钾—外加热法;土壤全氮采用凯氏定氮法;土壤全磷采用 $HClO_4-H_2SO_4$ 消煮—钼锑抗比色法;土壤全钾采用 NaOH 熔融—火焰光度计法;速效氮用 1 mol/L KCl 浸提—流动注射分析仪测定;速效磷用 0.5 mol/L $NaHCO_3$ 浸提—钼锑抗比色法;速效钾用 NH_4OAc 浸提—火焰光度计法测定。

1.3 数据处理

1.3.1 采用孔平均颜色变化率法(Average Well-Color Development, AWCD)测定土壤微生物利用单一碳源的能力。AWCD 的计算公式为 AWCD = Σ(Ci-R)/31

式中:Ci 为各反应孔在 590 nm 下的光密度值;R 为 ECO 板对照孔 A1 的光密度值;Ci-R 小于零的孔,计算中记为零,即 Ci - R ≥ 0;每种碳源反应孔的平均颜色变化率 AWCDi = Ci-R,代谢指纹图谱中的 AWCDi 值为3次重复平均值[19]。

1.3.2 群落 Shannon 指数(H) $H = -\Sigma(Pi \times \ln Pi)$

式中:Pi = (Ci-R)/Σ(Ci-R),表示有碳源的孔与对照孔 A1 的光密度值之差与整板总差的比值。

1.3.3 群落丰富度指数(S)用碳源代谢孔的数目(AWCD > 0.2 则代表该孔碳源被利用,该孔即为反应孔)表示群落丰富度指数[20]。

1.3.4 群落 Shannon 均匀度 E = H/lnS

式中:H 指群落 Shannon 指数;S 指丰富度指数。

采用 Microsoft Excel 2003 对数据进行处理,用 DPS 7.05 和 SPSS 19.0 软件进行统计分析和差异显著性检验(LSD 法)。

2 结果与分析

2.1 不同施肥处理对核桃园土壤微生物群落结构的影响

2.1.1 土壤微生物的碳源利用效率 AWCD (average well color development)是微平板上反应孔的平均吸光值,其随时间的变化是微生物对碳源利用强度的反映,也是微生物活性的一个有效指标[21],最终的 AWCD 值与土壤微生物群落中能利用单一碳源的微生物种类和数目有关。

由图 1 可见,3 个处理的 AWCD 值在 24 h 前数值很小,碳源基本未被微生物利用;而 24 h ~ 36 h 过程中各处理间 AWCD 值开始区分;36 h ~ 264 h 各处理 AWCD 值呈上升趋势,微生物开始大量利用碳源,且区分明显。24 h ~ 264 h 期间,T2 处理 AWCD 值一直高于其他处理,CK 处于中间水平,T1 处理值最低。由于整个温育过程中各处理 AWCD 值均处于上升过程,因此选取普遍采用 96 h 的 AWCD 进行方差分析。结果表明,T2 处理 96 h 的

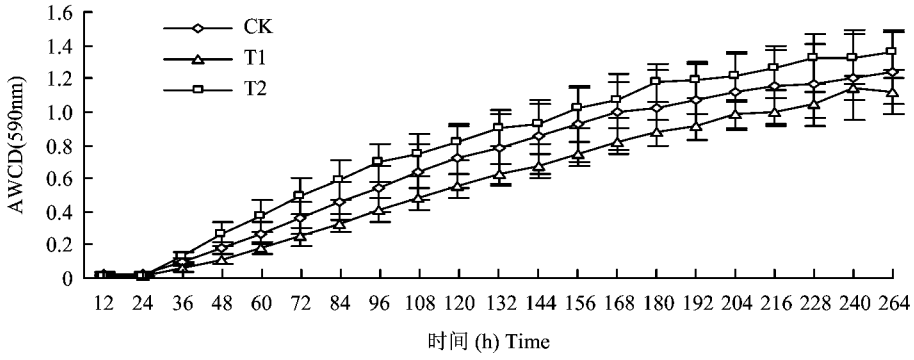

图1 三个处理的平均颜色变化率

Fig.1 AWCD of the three treatments

AWCD 值显著高于 CK 和 T1 处理($P<0.05$),但 CK 和 T1 处理间差异不显著。说明生物有机肥的施入可以提高土壤微生物整体代谢活性和数量,常规施肥有降低土壤微生物整体代谢活性和微生物数量的趋势。

2.1.2 土壤微生物群落功能多样性的分析　土壤微生物群落结构和组成的多样性与均匀性是衡量生态系统稳定和健康的一个重要指标。从表 1 可以看出,温育 96 h 后,3 个处理间 Shannon 指数、Shannon 均匀度和丰富度指数均达到显著差异水平($P<0.05$)。由此可见,生物有机肥的施入提高了土壤微生物的物种多样性和丰富度,原因是生物有机肥中添加了对照和化肥中不存在的功能菌株,这些菌株在生物有机肥施入土壤后适应了土壤环境并大量繁殖;降低了微生物群落均匀度,这是因为生物有机肥的施入使某些菌株大量繁殖并成为优势菌株。常规施肥有降低物种丰富度的趋势。以上结果说明,生物有机肥的施入可以提高微生物多样性和丰富度,使整个系统更加稳定,化肥的施入则使微生物种类减少,破坏了生态系统的稳定性。

表 1　土壤微生物群落功能多样性

Table 1　Diversity and evenness indices of soil microbial communities

处理 Treatment	Shannon 指数 Shannon index	Shannon 均匀度 Shannon evenness	丰富度指数 Richness index
对照 Blank control (CK)	2.17 ±0.02 b	1.00 ±0.02 a	18.33 ±2.34 ab
常规施肥 Conventional fertilizer (T1)	2.27 ±0.06 b	1.02 ±0.02 a	14.67 ±2.03 b
生物有机肥 Bio-organic fertilizer (T2)	2.89 ±0.04 a	0.69 ±0.01 b	23.67 ±1.20 a

注(Note):同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant different among treatments at the 5% level.

2.1.3 微生物对六大类碳源代谢的分析　取 96 h 六大类碳源的 AWCD 值进行分析,由图 2 可以看出,CK 与 T1 处理对各类碳源代谢水平显著低于 T2 处理,且主要利用类型有所差异。各处理土壤微生物均对多聚物类碳源利用最多,CK 与 T1 处理对各类碳源代谢情况基本一致,均为除多聚物类外,对多胺类和糖类碳源代谢能力较强;T2 处理对六大类碳源利用程度由大到小依次为多聚物类 > 多酚化合物类 > 氨基酸类 > 多胺类 > 糖类 > 羧酸类,对 CK 与 T1 处理利用较多的多胺类和糖类碳源反而利用较少,且相对于 CK 处理,T1 处理对各大类碳源的代谢有减弱的趋势。说明生物有机肥改变了土壤微生物对六大类碳源的利用情况,在一定程度上改变了土壤微生物群落结构,提高了微生物群落对多酚化合物

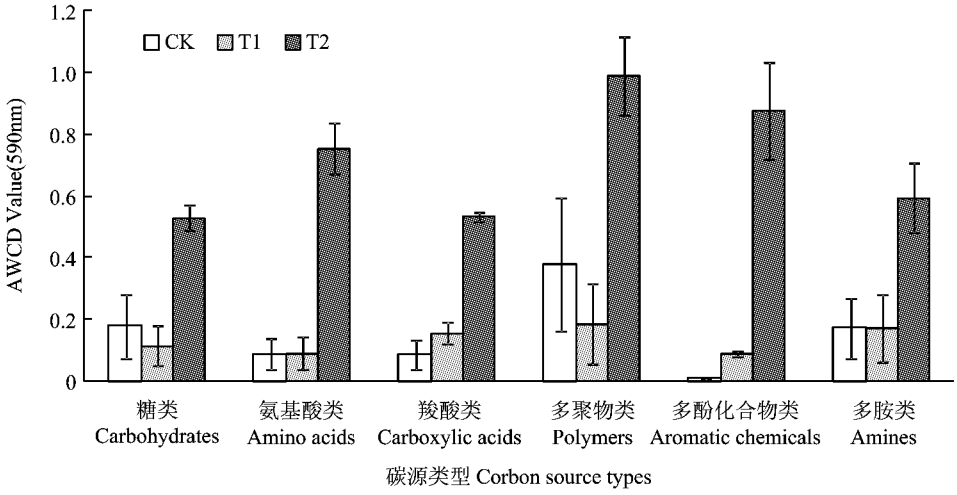

图 2　不同施肥土壤微生物 6 大类碳源代谢分析

Fig.2　Six carbon source types utility analysis of soil microbial community in different fertilization treatments

类和氨基酸类碳源的利用能力,增加了利用这两种碳源的微生物数量或种类,施用化肥对土壤微生物对不同碳源类型的利用影响不大。

2.1.4 微生物群落功能主成分分析 取96h的数据进行主成分分析,PC1和PC2的累积方差贡献率为52.47%。由图3可知,CK和T1处理对碳源代谢情况类似,均处于第二象限,T2处理处于第四象限,PC1和PC2很明显的将T2处理与其他处理分开。根据PCA因子载荷得分表(表2),对PC1贡献大的碳源有D-甘露醇、L-苯丙氨酸、i-赤藓糖醇、γ-羟丁酸和N-乙酰-D葡萄糖氨,对PC2贡献率大的碳源有1-磷酸葡萄糖、D-纤维二糖和苯乙胺,其中D-甘露醇、i-赤藓糖醇、N-乙酰-D葡萄糖氨、1-磷酸葡萄糖和D-纤维二糖为糖类,说明区分3个处理微生物群落代谢的主要因素是对于糖类利用的差异。PC2可以将T2处理与T1、CK处理显著区分开,但T1与CK不能被PC2区分开,对照PC2因子载荷知,施用生物有机肥后,会降低利用1-磷酸葡萄糖、D-纤维二糖和苯乙胺的微生物活性,常规施肥与不施肥对这类微生物影响不大。PC1可以将T1、T2、CK 3个处理明显区分开,由对照PC1因子载荷可知,施用生物有机肥能显著提高利用D-甘露醇、L-苯丙氨酸、i-赤藓糖醇、γ-羟丁酸和N-乙酰-D葡萄糖氨微生物的活性,施用化肥则会显著降低这类微生物的活性。常规施肥和生物有机肥都能改变土壤微生物群落结构,且相比施化肥处理,施用生物有机肥对土壤微生物群落结构的影响更加显著。

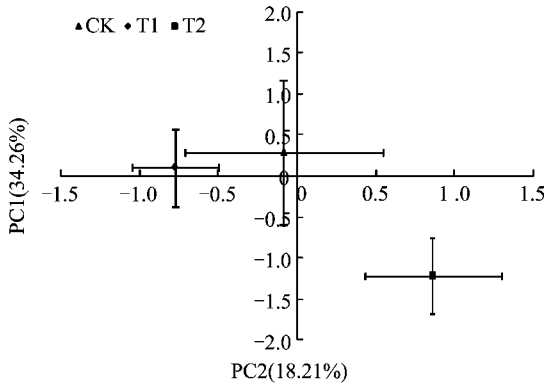

图3 不同施肥处理的土壤微生物群落的主成分分析

Fig.3 Principal components analysis of soil microbial community in different fertilization treatments

表2 与PC1和PC2相关性高的主要碳源

Table 2 Substrates with high correlation coefficients for PC1 and PC2 in PCA on the substrates utilization patterns of microbial communities

主成分1 PC 1	相关系数 r	主成分2 PC 2	相关系数 r
D-甘露醇 D-Mannitol	0.941	1-磷酸葡萄糖 glucose-1-phosphate	0.941
L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	0.896	D-纤维二糖 D-cellobiose	0.815
i-赤藓糖醇 i-Erythritol	0.879	苯乙胺 Phenethylamine	0.803
γ-羟丁酸 4-hydroxy-butyric acid	0.862		
N-乙酰-D葡萄糖氨 N-Acetyl-D(+)-glucosamine	0.841		

2.2 不同施肥处理对核桃园土壤酶活性的影响

2.2.1 不同施肥处理对核桃园土壤水解酶活性的影响 T2处理的土壤蔗糖酶活性和酸性磷酸酶活性均高于其他处理(见表3),其中,T2处理的土壤蔗糖酶活性较CK和T1处理分别提高了56.0%和21.4%,显著高于CK处理($P<0.05$),与习惯施肥处理没有形成显著差异。说明施用生物有机肥可以提高土壤蔗糖酶活性,在一定程度上提高了土壤肥力。张鹏[22]等同样发现生物有机肥可以提高土壤蔗糖酶活性。土壤酸性磷酸酶活性值由大到小依次为T2(1.73)>CK(1.34)>T1(1.31),T2处理的土壤磷酸酶活性显著高于CK和T1处理,CK与T1处理间未形成显著性差异。这是由于化肥中含无机磷成分,与酶促反应产物相同,不利于酶促反应向正方向进行,所以施用化肥处理的土壤酸性磷酸酶活性降低,低于生物有机肥和对照处理,这与张辉[23]等的研究一致。

与土壤蔗糖酶活性和酸性磷酸酶活性趋势不

同,各处理土壤脲酶活性表现为 T1(3.84) > T2(3.14) > CK(1.81),且差异达到极显著水平($P < 0.01$)。这是因为常规施肥处理施入的尿素对土壤脲酶起刺激作用,大大提高了其土壤脲酶活性,而生物有机肥将大量有机质带入土壤,同样激发了土壤脲酶活性。

2.2.2 不同施肥处理对核桃园土壤氧化还原酶活性的影响　各处理间过氧化氢酶活性均无显著差异(表3)。其中,常规施肥处理的过氧化氢酶活性值最高(3.72),其次为生物有机肥处理(3.64),最后为对照(3.63)。这可能是由于化肥对微生物产生一定的毒害作用,从而激发了过氧化氢酶的活性。尤彩霞等[24]研究发现,不同有机肥处理对温室土壤表层过氧化氢酶活性的影响不是很明显。

由表3还可以看出,T2 与 T1 处理土壤脱氢酶活性均较高,分别达到了 1.47 TF μg/(g·h)和 1.34 TF μg/(g·h),分别比 CK 处理高出 156.2% 和 135.1%,均与 CK 处理差异极显著($P < 0.01$),T2 与 T1 之间无显著差异。说明生物有机肥和常规施肥均可提高土壤脱氢酶活性,而施用生物有机肥的土壤脱氢酶活性略高于常规施肥的土壤。Christine H. Stark[25]等人研究结果显示施用有机肥处理的土壤脱氢酶活性比常规施肥高;申进文[26]等人指出,脱氢酶活性与土壤活性有机质呈显著正相关关系,而生物有机肥的施入提高了土壤活性有机质含量,因此,生物有机肥处理土壤脱氢酶活性最高。

表3　不同施肥处理土壤酶活性

Table 3　Soil enzyme activities of different fertilizer treatments

土壤酶 Soil enzyme	对照(CK) Blank control	常规施肥(T1) Conventional fertilizer	生物有机肥(T2) Bioorganic fertilizer
蔗糖酶活性 Invertase activity [Glucose mg/(g·d)]	39.49 ±1.61 bA	43.56 ±2.07 abA	48.81 ±2.52 aA
酸性磷酸酶活性 Acidic phosphatase activity [Phenol mg/(g·d)]	1.34 ±0.07 bAB	1.31 ±0.04 bB	1.73 ±0.07 aA
脲酶活性 Urease activity [NH_4^+ mg/(g·d)]	1.81 ±0.05 cC	3.84 ±0.04 aA	3.14 ±0.09 bB
过氧化氢酶活性 Catalase activity [0.01 mol/L $KMnO_4$ mL/(g·20 min)]	3.63 ±0.03 aA	3.72 ±0.04 aA	3.64 ±0.05 aA
脱氢酶活性 Dehydrogenase activity [TF μg/(g·h)]	0.57 ±0.05 bB	1.34 ±0.08 aA	1.47 ±0.02 aA

注(Note):同行数据后不同小、大写字母分别表示处理间差异达5%和1%显著水平 Values followed by different small and capital letters in same row mean significantly different at the 5% and 1% levels, respectively.

2.3　不同施肥处理对土壤理化性质的影响

表4显示,T2 处理与其他处理相比,除速效氮外,其他指标均为最高值;T1 处理速效氮含量最高;CK 处理土壤各养分含量最低。各处理间土壤速效氮和速效钾含量均无显著差异。由其他指标来看,CK 处理养分含量均显著低于 T1、T2 处理,且与 T2 处理的差异达到极显著水平($P < 0.01$)。T1 处理与 T2 相比,土壤有机质含量低了 7.5%,差异显著;全氮、全磷、全钾和速效钾含量均与 T2 差异不显著;pH 值降低了 0.10,差异极显著;速效氮含量高,达到 27.73 mg/kg,原因是化肥中氮素含量高,提高了土壤 NO_3^- 和 NH_4^+ 的含量。值得一提的是,T2 处理的速效磷含量较 CK 和 T1 处理分别高 238.8% 和 111.8%,差异极显著,可能是由于生物有机肥中所含的溶磷菌作用于土壤中难溶或不溶的磷并使其产生大量速效磷。由表4还可以看出,施用生物有机肥可显著提高土壤有机质、速效磷含量和 pH 值,使土壤理化性质得到改善,常规施肥与不施肥相比也可在一定程度上提高土壤养分含量,但其效果不如生物有机肥。胡诚[27]等人研究表明,长期施用生物有机肥可以显著提高土壤养分含量,施用化肥可一定程度提高土壤全氮和速效养分含量。韦茂贵[28]指出,施用生物有机肥后,改善了土壤物理性状,增加了土壤的有机质、碱解氮、速效磷和速效钾含量。

表4 不同施肥处理下的土壤理化性状

Table 4 Soil physical and chemical characteristics in different fertilizer treatments

指标 Indexes	对照(CK) Blank control	常规施肥(T1) Conventional fertilizer	生物有机肥(T2) Bio-organic fertilizer
pH	6.18 ±0.01 bA	6.12 ±0.01 cB	6.22 ±0.01 aA
有机质 Organic matter(g/kg)	21.33 ±0.15 bB	22.30 ±0.12 bB	23.97 ±0.03 aA
全氮 Total nitrogen(g/kg)	0.52 ±0.00 bB	0.64 ±0.00 aA	0.64 ±0.00 aA
全磷 Total phosphorus(g/kg)	0.57 ±0.01 bB	0.77 ±0.01 aA	0.79 ±0.01 aA
全钾 Total potassium(g/kg)	17.60 ±0.01 bB	17.65 ±0.01 aA	17.65 ±0.01 aA
速效氮 Available nitrogen(mg/kg)	23.09 ±5.27 aA	27.73 ±1.81 aA	26.70 ±1.45 aA
速效磷 Available phosphorus(mg/kg)	0.85 ±0.09 cB	1.36 ±0.14 bB	2.88 ±0.05 aA
速效钾 Available potassium(mg/kg)	257 ±19 aA	231 ±8 aA	266 ±15 aA

注(Note):同行数据后不同小、大写字母分别表示处理间差异达5%和1%显著水平 Values followed by different small and capital letters in same row mean significantly different at the 5% and 1% levels, respectively.

3 讨论

生物有机肥是在有机、无机复混肥的基础上接种有益微生物而生产的一种肥料,既能在作物生长前期快速提供作物一定的速效养分,又可在作物生长过程中,通过微生物的生命活动分解有机质和矿物质释放养分,或固定空气中的游离氮,不断地供作物生长需要,发挥速效和长效兼有的作用[29]。

土壤微生物是土壤生态系统中的重要组成部分,其群落的组成和活性对土壤肥力的保持具有重要意义。本文用 Biolog 方法研究了施用生物有机肥对土壤中微生物群落代谢的影响,结果表明,生物有机肥处理的 ELISA 反应颜色变化率(AWCD)、微生物群落 Shannon 指数和丰富度指数(S)显著高于施用化肥处理,并与不施肥处理间的 Shannon 指数差异显著,Shannon 均匀度显著低于其他处理,表明生物有机肥提高了土壤微生物整体代谢能力和数量,且提高物种多样性和丰富度,即生物有机肥将土壤中本不存在的微生物带入土壤,还可使某些菌株形成优势菌群,这些菌株很可能是生物有机肥中所添加的功能微生物。Chen Sheng-nan[30]等人的大田试验表明,接种微生物菌剂可显著提高土壤 AWCD 值与丰富度指数,且改变土壤微生物功能多样性。Bo Liu[31]等用 Biolog 方法研究了土壤微生物群落功能多样性,结果表明有机肥处理的 Shannon 指数与碳源利用率均极显著高于化肥处理。微生物对六大类碳源代谢图谱表明,相对于对照处理,施用生物有机肥处理的土壤微生物加强了对六大类碳源,尤其是多聚物类碳源的利用能力,这可能是因为生物有机肥所添加的菌株利用多聚物类碳源的能力较强或多为利用该种碳源的菌株。常规施肥处理对各类碳源的利用能力与对照相比较低,但整体趋势相似。因此,生物有机肥改变了土壤微生物对六大类碳源的利用情况,在一定程度上改变了土壤微生物群落功能。邵丽[32]等通过对六大类碳源代谢分析发现,生物复混肥处理的土壤微生物碳代谢群落结构与其他处理有所不同。主成分分析结果与 AWCD 值、六大类碳源的利用情况相似,常规施肥和有机肥都能改变土壤微生物群落功能,且生物有机肥处理的微生物群落结构与对照处理差异更大,起分异作用的碳源种类主要为糖类。Ajay Nair[33]等用 PCA 分析 Biolog 数据,得到相似结论,即施用有机肥对土壤微生物活性和功能多样性产生了显著影响。

土壤酶活性作为一个敏感的生化指标,能够反映土壤质量在时间序列或各种不同条件下的变化,在植物营养物质的转化中起重要作用,酶活性会随着施肥种类、管理与耕作方式、作物种类、土壤水分和环境条件的变化而受到影响;大量研究表明施有机肥可增加土壤酶活性[34-35]。本研究显示,施入生物有机肥后土壤蔗糖酶、酸性磷酸酶和脱氢酶活性均得到显著提高,其中,蔗糖酶活性、脱氢酶活性与 Biolog 结果一致。蔗糖酶是以蔗糖为酶促基质的,而 Biolog 主成分分析显示,生物有机肥处理的土壤微生物对糖类利用较多,糖类水解后形成蔗糖,因此蔗糖酶活性增高;另外,碳水化合物与有机酸(Biolog 碳源)可以作为氢的供体,生物有机肥处理

土壤微生物的 AWCD 值显著高于其他处理,也说明此处理土壤脱氢酶活性较高;土壤酸性磷酸酶活性的提高可能是由于生物有机肥中含解磷菌。生物有机肥的施用对土壤过氧化氢酶活性的提高较小,这与袁玲[36]等的研究结果一致,但也有研究认为施用有机肥对过氧化氢酶活性的提高显著[37],这可能是由于所研究的土壤类型、施肥方式及肥料用量不同的缘故;土壤脲酶活性比常规施肥处理低,是因为化肥中尿素的施入对土壤脲酶起刺激作用,大大提高了其土壤脲酶活性。常规施肥处理则仅提高了土壤脲酶和脱氢酶活性,对其他土壤酶活性的影响不显著。

长期施用有机肥在提高土壤全量和速效养分等方面有良好的作用[38];张夫道等[39]在一些长期试验中发现,施有机肥料区土壤含氮量均高于化肥区和不施肥区。施用生物有机肥相对不施肥处理土壤养分含量有明显变化,土壤理化性质得到改善。随生物有机肥的施入,土壤 pH 显著升高,土壤有机质、全氮、全磷、全钾含量均显著提高,其中土壤 pH 值和有机质含量升高是核桃产量和品质提高的重要因素。土壤速效养分也表现出类似趋势,尤其是土壤速效磷含量高,这可能主要是因为生物有机肥中含有解磷菌,可作用于土壤中难溶或不溶的磷并使土壤释放出大量速效磷,而土壤速效钾含量变化不大,可能与土壤速效钾含量高,解钾菌所释放的速效钾不足以使生物有机肥处理速效钾含量高于其他处理有关。虽然化肥也可使土壤养分得到一定提高,但提高效果不如生物有机肥,且施用化肥使土壤 pH 值降低,不利于核桃的生长。

总之,相对于不施肥处理来说,生物有机肥处理增加了土壤养分含量,提高了微生物群落的物种丰富度,增强了土壤微生态系统的稳定性,使土壤酶活性向有利于核桃生长的水平靠近;Shannon 均匀度显著低于其他处理,是否土壤中功能微生物成为优势种群还有待通过 DGGE、克隆等分子生物学手段进行研究。常规施肥处理虽在一定程度上提高了土壤养分含量,但降低了微生物群落物种丰富度和土壤生态系统的稳定性,其对土壤酶活性的影响不显著。

4　结论

1)生物有机肥提高了土壤微生物整体代谢能力且提高了物种多样性和丰富度,改变了土壤微生物对六大类碳源的利用情况,在一定程度上改变了土壤微生物群落功能。主成分分析结果表明,常规施肥和生物有机肥都能改变土壤微生物群落功能,起分异作用的碳源种类主要为糖类。

2)施生物有机肥后土壤蔗糖酶、酸性磷酸酶和脱氢酶活性均得到显著提高,土壤脲酶活性低于常规施肥处理;常规施肥处理则仅提高了土壤脲酶和脱氢酶活性。

3)施生物有机肥可显著提高土壤有机质、全量氮、磷、钾和速效磷含量,提高土壤 pH,使土壤理化性质得到改善。常规施肥虽然可以提高土壤养分含量,但效果不如生物有机肥。

参 考 文 献:

[1] Smit B, Rapport D J, Wichert G *et al*. Agroecosystem health: Analysis and assessment [M]. Guelph, Ontario, Canada: University of Guelph, 1998. 1-14.

[2] 徐立功. 生物有机肥对番茄生长发育及产量品质的影响[D]. 泰安:山东农业大学硕士学位论文, 2006.
Xu L G. Effect of bio-organic fertilizer on the growth, yield and quality of tomato[D]. Tai'an: Ms thesis of Shandong Agriculture University, 2006.

[3] Larkin R, Griffin T. Control of soil borne potato diseases using Brassica green manures[J]. Crop Prot., 2007, 26: 1067-1077.

[4] 蔡燕飞, 廖宗文, 章家恩, 等. 生态有机肥对番茄青枯病及土壤微生物多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(3): 349-353.
Cai Y F, Liao Z W, Zhang J E *et al*. Effect of ecological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microbial diversities[J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2003, 14(3): 349-353.

[5] 李红丽, 李清飞, 郭夏丽, 等. 调节土壤微生态防治烟草青枯病[J]. 河南农业科学, 2006, (2): 57-60.
Li H L, Li Q F, Guo X L *et al*. Adjust the soil microecology and prevent of tobacco bacterial wilt [J]. J. Henan Agric. Sci., 2006, (2): 57-60.

[6] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization [J]. Soil Biol. Biochem., 1996, 28: 213-221.

[7] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1991, 57: 2351-2359.

[8] Jeffery S B, Daniel P R, Estelle R C. Microbial community structure and function in the spermosphere as affected by soil and seed type[J]. NRC Canada, 1999, 45: 138-144.

[9] 杜茜, 卢迪, 马琨. 马铃薯连作对土壤微生物群落结构和功能的影响[J]. 生态环境, 2012, 21(7): 1252-1256.
Du Q, Lu D, Ma K. Effect of potato continuous cropping on soil microbial community structure and function [J]. Ecol. & Environ., 2012, 21(7): 1252-1256.

[10] 张志明，许艳丽，韩晓增，李晓慧. 连续施肥对农田黑土微生物功能多样性的影响[J]. 生态学报，2012，31(3)：647-651.
Zhang Z M, Xu Y L, Han X Z, Li X H. Effects of continuous fertilization on microbial functional diversity in blank soil under cropland[J]. Acta Ecol. Sin., 2012, 31(3): 647-651.

[11] 陈琳，谷洁，高华，等. 含铜有机肥对土壤酶活性和微生物群落代谢的影响[J]. 生态学报，2012，32(12)：3912-3920.
Chen L, Gu J, Gao H *et al*. Effects of organic materials containing copper on soil enzyme activity and microbial community[J]. Acta Ecol. Sin., 2012, 32(12): 3912-3920.

[12] 邵丽，谷洁，张社奇，等. 生物复混肥对土壤微生物功能多样性和土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报，2012，31(6)：1153-1159.
Shao L, Gu J, Zhang S Q *et al*. Effects of bio-compound fertilizer on corn soil microbial community and enzyme activities[J]. J. Agro-Environ. Sci., 2012, 31(6): 1153-1159.

[13] Zhang Q C, Imran H S, Xu D T *et al*. Chemical fertilizer and organic manure inputs in soil exhibit a vice versa pattern of microbial community structure[J]. Appl. Soil Ecol., 2012, 57: 1-8.

[14] Liu E K, Li X, Shen Q R, Xu Y C. Enzyme activity in water-stable soil aggregates as affected by long-term application of organic manure and chemical fertilizer[J]. Pedosphere, 2013, 23(1): 111-119.

[15] 张静，杨江舟，胡伟，等. 生物有机肥对大豆红冠腐病及土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报，2012，31(3)：548-554.
Zhang J, Yang J Z, Hu W *et al*. Effect of biological organic fertilizer on soybean red crown rot and soil enzyme activities[J]. J. Agro-Environ. Sci., 2012, 31(3): 548-554.

[16] Aimée T C, Sarah I B, Kristin E H *et al*. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils[J]. FEMS Microbiol. Ecol., 2003, 44: 319-328.

[17] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京：农业出版社，1986. 275-332.
Guan X Y. Soil enzymes and its methodology[M]. Beijing: Agricultural Publishing House, 1986. 275-332.

[18] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京：中国农业出版社，2007. 30-108.
Bao S D. Soil and agro-chemistry analysis (3rd Ed)[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2007. 30-108.

[19] Paul C S, Stephen C H, Sarah I B, John M S. Red alder (*Alnus rubra*) alters community-level soil microbial function in conifer forests of the Pacific Nortwest, USA[J]. Soil Biol. Biochem., 2005, 37: 1860-1868.

[20] Fisk M C, Ruether K F, Yavitt J B. Microbial activity and functional composition among northern peatland ecosystems[J]. Soil Biol. Biochem., 2003, 35: 591-602.

[21] 徐华勤，肖润林，邹冬生，等. 长期施肥对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报，2007，27(8)：3355-3361.
Xu H Q, Xiao R L, Zhu D S. Effect of long term fertilization on functional diversity of soil microbial community of the tea plantation[J]. Acta Ecol. Sin., 2007, 27: 3355-3361.

[22] 张鹏，贾志宽，路文涛，等. 不同有机肥施用量对宁南旱区土壤养分、酶活性及作物生产力的影响[J]. 植物营养与肥料学报，2011，17(5)：1122-1130.
Zang P, Jia Z K, Lu W T *et al*. Effects of organic fertilization rate on soil nutrient, enzyme activity and crop productivity in semi-arid areas of southern Ningxia[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2011, 17(5): 1122-1130.

[23] 张辉，李维炯，倪永珍. 生物有机无机复合肥对土壤性质的影响[J]. 土壤通报，2006，37(2)：273-277.
Zhang H, Li W J, Ni Y Z. Effects of biological-organic-inorganic compound fertilizer on soil properties[J]. Chin. J. Soil Sci, 2006, 37(2): 273-277.

[24] 尤彩霞，陈清，任华中，等. 不同有机肥及有机无机配施对日光温室黄瓜土壤酶活性的影响[J]. 土壤学报，2006，43(3)：521-523.
You C X, Chen Q, Ren H Z *et al*. Effect of organic manure with and without urea-dressing on soil enzyme activities in greenhouse growing cucumber[J]. Acta Pedol. Sin., 2006, 43(3): 521-523.

[25] Christine H S, Leo M C, Maureen O C. Differences in soil enzyme activities, microbial community structure and short-term nitrogen mineralization resulting from farm management history and organic matter amendments[J]. Soil Biol. Biochem., 2008, 40: 1352-1363.

[26] 申进文，沈阿林，张玉亭，霍云凤. 平菇栽培废料等有机肥对土壤活性有机质和土壤酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报，2007，13(4)：631-636.
Shen J W, Shen A L, Zhang Y T, Huo Y F. Effects of different organic fertilizers on soil labile organic matter and enzyme activity[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2007, 13(4): 631-636.

[27] 胡诚，曹志平，罗艳蕊，马永良. 长期施用生物有机肥对土壤肥力及微生物生物量碳的影响[J]. 中国生态农业学报，2007，15(3)：48-51.
Hu C, Cao Z P, Luo Y R, Ma Y L. Effect of long-term application of microorganismic compost or vermicompost on soil fertility and microbial biomass carbon[J]. Chin. J. Eco-Agric., 2007, 15(3): 48-51.

[28] 韦茂贵，罗兴录，黄秋凤. 生物有机肥对木薯产量及土壤理化性状的影响[J]. 中国农学通报，2011，27(9)：242-248.
Wei M G, Luo X L, Huang Q F. Effects of bio-organic fertilizer on the root tubers yield of cassava and the physical and chemical character of soil[J]. Chin. Agric. Sci. Bull., 2011, 27(9): 242-248.

[29] 张欣，叶可辉，李修炼，汪小霞. 两种不同生物有机肥对苹果产量和品质效应研究[J]. 陕西农业科学，2011，(4)：42-44.
Zhang X, Ye K H, Li X L, Wang X X. Effect of two bio-organic fertilizers on apple yield and quality[J]. Shaanxi J. Agric.

Sci., 2011, (4): 42-44.

[30] Chen S N, Gu J, Gao H, Qin Q J. Effect of microbial fertilizer on microbial activity and microbial community diversity in the rhizosphere of wheat growing on the Loess Plateau[J]. Afr. J. Microbiol. Res., 2011, 5(2): 137-143.

[31] Liu B, Cong T, Hu S *et al*. Effect of organic, sustainable, and conventional management strategies in grower fields on soil physical, chemical, and biological factors and the incidence of southern blight[J]. Appl. Soil Ecol., 2007, 37: 202-214.

[32] 邵丽, 谷洁, 张社奇, 等. 生物复混肥对土壤微生物群落功能多样性和微生物量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(6): 746-751.
Shao L, Gu J, Zhang S Q *et al*. Effects of bio-compound fertilizer on soil microbial community functional diversity and microbial biomass[J]. Chin. J. Eco-Agric., 2012, 20(6): 746-751.

[33] Ajay N, Mathieu N. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system[J]. Appl. Soil Ecol., 2012, 58: 45-55.

[34] Leiros M C, Gil S F, Trasarcepeda M C at el. Soil recovery at the meirama opencast lignite mine in northwest Spain: A comparison of the effectiveness of cattle slurry and inorganic fertilizer[J]. Water, Air, Soil Poll, 1996, 91: 109-124.

[35] 曾玲玲, 张兴梅, 洪音, 刘德福. 长期施肥与耕作方式对土壤酶活性的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2008, (2): 28-29.
Zeng L L, Zhang X M, Hong Y, Liu D F. Effect of long-term fertilization and tillage system on soil enzyme activities[J]. Soils Fert. Sci. China, 2008, (2): 28-29.

[36] 袁玲, 杨邦俊, 郑兰君, 刘学成. 长期施肥对土壤酶活性和氮磷养分的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1997, 3(4): 300-306.
Yuan L, Yang B J, Zheng L J, Liu X C. Effects of long-term fertilization on enzymatic activities and transformation of nitrogen and phosphorus in soil[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 1997, 3(4): 300-306.

[37] 任祖淦, 陈玉水, 唐福钦, 等. 有机无机肥料配施对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1996, 2(3): 279-283.
Ren Z G, Chen Y S, Tang F Q *et al*. Effect of inorganic fertilizer combined with organic manure on the microflora and enzyme activities in paddy soil[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 1996, 2(3): 279-283.

[38] 林葆, 林继雄, 李家康. 长期施肥的作物产量和土壤肥力变化[J]. 植物营养与肥料学报, 1994, 1(1): 17.
Lin B, Lin J X, Li J K. The changes of crop yield and soil fertility with long-term fertilizer application[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 1994, 1(1): 17.

[39] 张夫道. 长期施肥条件下土壤养分的动态和平衡—Ⅱ. 对土壤氮的有效性和腐殖质氮组成的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1996, 2(1): 39-48.
Zhang F D. Dynamic and balance of soil nutrients under long-term fertilization conditions Ⅱ. Effect on soil N availability and composition of humus N[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 1996, 2(1): 39-48.