

黄腐酸肥料对小麦根际土壤微生物多样性和酶活性的影响

刘佳欢¹, 王倩¹, 罗人杰², 陈喜², 孙淑娟^{1*}

(1 山东农业大学资源与环境学院, 山东泰安 271018;

2 山东农业大学水利土木工程学院, 山东泰安 271018)

摘要:【目的】研究不同用量黄腐酸肥料对根际土壤微生物和土壤酶活性的影响, 为黄腐酸肥料的研究与应用提供理论依据。【方法】以小麦为试验作物进行了盆栽试验。黄腐酸肥料的施用量(含黄腐酸 20.6%)为 0、2、6、10 g/kg, 除 CK 外其他处理施等量复合肥(N-P₂O₅-K₂O 15-10-20), 种子薄覆土壤后, 再施入处理所需黄腐酸肥料。小麦播种 40 天后, 采集小麦根际土壤, 采用稀释平板涂抹法测定了土壤微生物种群数量, Biolog-Eco 生态板测定了微生物功能多样性, 常规方法测定了相关土壤酶活性。【结果】黄腐酸肥料施用量为 0、2 g/kg 时小麦种子发芽率均为 100%, 而施用黄腐酸肥料 6、10 g/kg 时, 种子发芽率分别为 97%、91%, 四个处理间差异不显著。施用黄腐酸肥料, 土壤中细菌、真菌和放线菌数量显著增加, 在黄腐酸肥料施用量为 6 g/kg 时达到最大值。施用黄腐酸肥料对四种土壤酶的活性均有促进作用, 尤其对过氧化氢酶活性的促进作用最为显著。当黄腐酸肥料的施用量为 10 g/kg 时, 小麦根际土壤中脲酶、酸性磷酸酶、过氧化氢酶和蔗糖酶的活性均达到最大值。施用黄腐酸肥料 6、10 g/kg, 土壤微生物的总体活性, 物种的丰富度和均匀度、群落的多样性以及根际土壤微生物呼吸强度显著增加, 施用 10 g/kg 黄腐酸肥料时效果最佳。【结论】在 40 天的试验周期内, 施用黄腐酸肥料能有效增加土壤中细菌、真菌和放线菌的数量, 显著改善微生物群体功能, 增加脲酶、酸性磷酸酶、过氧化氢酶和蔗糖酶活性。但是, 只有在黄腐酸肥料施用量达 6 g/kg 后才有显著的效果。

关键词: 黄腐酸肥料; 微生物数量和功能; 土壤酶活性; 呼吸强度

Effect of fulvic acid fertilizer on microbial diversity and enzyme activity in wheat rhizosphere soil

LIU Jia-huan¹, WANG Qian¹, LUO Ren-jie², CHEN Xi², SUN Shu-juan^{1*}

(1 College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China;

2 College of Water Conservancy and Civil Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: 【Objectives】 This study investigated the effects of fulvic acid fertilizer application on rhizosphere soil microorganisms and soil enzymes with wheat, providing theoretical and data reference for the research and application of fulvic acid fertilizer. 【Methods】 In this study, wheat was used as the experimental crop and the application amount of fulvic acid fertilizer (20.6% fulvic acid content) was 0, 2, 6 and 10 g/kg. All treatments except CK were applied with the same amount of compound fertilizer (15-10-20). After the seeds were thinly covered with soil, the fulvic acid fertilizer that was needed for treatment was applied. After 40 days of wheat sowing, wheat rhizosphere soil was collected, and the number of soil microbial population was determined by dilution plate smear method, microbial functional diversity was determined by biolog-eco ecological plate, and soil enzyme activity was determined by conventional method. 【Results】 Within the application of 0 and 2 g/kg fulvic acid fertilizers, the germination rate of wheat seeds was 100%. However, the seed germination rate decreased about 3%, 9% when the application of fulvic acid fertilizer was 6 and 10 g/kg. There was no significant difference among the four treatments. With the application of fulvic acid fertilizer on the basis of compound

收稿日期: 2018-09-06 接受日期: 2019-09-04

基金项目: 山东农业大学泉林黄腐酸肥料工程实验室开放基金(QL2016-25)。

联系方式: 刘佳欢 E-mail: liujiahuan@sdau@163.com; * 通信作者 孙淑娟 Tel: 0538-8242549, E-mail: sunsjnk@sdau.edu.cn

fertilizer, the number of bacteria, fungi and actinomycetes in soil increased significantly, and finally reached the maximum when the application amount of fulvic acid fertilizer reached 6 g/kg. The activity of four soil enzymes was promoted by fulvic acid fertilizer, especially for catalase, which was found the most significant effect. And the activities of urease, acid phosphatase, catalase and sucrase in wheat rhizosphere soil reached the maximum when the application amount of fulvic acid fertilizer reached 10 g/kg. Within the application of 6 g/kg, 10 g/kg fulvic acid fertilizer, the overall activity of soil microorganisms, species richness and evenness, diversity of community, and the respiration intensity of rhizosphere soil microorganisms were increased significantly. And when the application of fulvic acid fertilizer reached 10 g/kg, the best effect was obtained. 【Conclusions】 The research showed that the application of fulvic acid fertilizer within the 40 days experiment period increased effectively bacteria, fungi and actinomycetes in soil, improved significantly the function of microbial population, and increased the activity of urease, acidic phosphatase, catalase and sucrose enzyme. However, significant results were achieved only when fulvic acid fertilizer was applied up to 6 g/kg.

Key words: fulvic acid fertilizer; microorganism quantity and function; soil enzyme activity; respiration intensity

我国是一个人口众多的农业大国, 随着人口增长和生活水平的不断提高, 人们对粮食和农作物的需求量随之增长, 同时肥料的施用量也急剧增长。由于施肥不均衡和过度施肥, 重大量元素肥料、轻中微量元素肥料, 重化肥、轻有机肥, 重氮肥、轻磷钾肥等问题突出^[1-2], 给农业和生态环境造成了不良影响和严重后果。

黄腐酸是一种天然的有机大分子化合物的混合物, 在自然界中稳定存在。对于肥料来说, 黄腐酸可以充当复合材料(大、中、小分子)、功能材料(氮素提取和活性钾促进)、抗逆材料(如抗旱、抗寒、抗涝、抗病虫害等功能材料)和络合材料或螯合材料^[3]。因为黄腐酸具有刺激和调节作物生长, 改良土壤理化性质, 提高肥料利用率, 增强作物的抗逆性等特点, 已广泛应用于小麦、玉米、棉花等作物上, 并取得了良好的效果。本研究所使用的黄腐酸肥料是一种带有活性微生物的有机菌剂肥料, 兼有生物肥和有机肥的优点, 既可以增产增收, 改良土壤, 又可以培肥土壤, 提高土壤酶活性, 改善土壤微生物群落结构, 同时还可以提高作物品质, 减少病害。

土壤微生物和土壤酶在土壤的物质转化和能量流动过程中起着极其重要的作用。土壤微生物的数量与土壤有机质的分解和矿质元素的转化有关, 同时还影响着植物对氮、磷等营养元素的吸收和利用。土壤酶主要来自于植物根系和土壤生物的分泌物, 其活性常作为土壤生物活性及土壤综合性状的表征, 其中脲酶、磷酸酶活性反映了土壤中氮、磷的转化强度。目前, 有许多文献在添加了微生物菌

剂的有机肥料对作物生长状况、增产效果以及土壤微生物数量和功能及土壤酶活性等方面进行了深入地研究^[4-8]。李江^[9]利用 Biolog 法研究了丛枝菌根和复合基质对矿区微生物群落和功能多样性的影响, 发现在复垦基质中添加 30% 的污泥然后接种丛枝菌根真菌, 可以显著提高土壤中微生物的群落功能多样性。解媛媛等^[10]研究发现, 添加了微生物菌剂的肥料可以显著提高土壤酶活性。王义等^[11]研究了丛枝菌根真菌对采煤塌陷地的玉米生长发育的影响, 发现在接种了菌根真菌后复垦土壤酸性磷酸酶活性明显提高, 并且玉米根际土壤微生物数量明显增加。马忠明等^[12]研究表明在农田定位施肥条件下, 土壤过氧化氢酶和蔗糖酶活性皆明显提高。刘骁蓓等^[13]研究发现配施有机肥可以有效改善土壤营养环境, 为微生物提供大量的营养和能源, 从而更有利于微生物的生长和繁殖。本研究主要测定了小麦根际土壤中微生物的数量及功能多样性, 以及土壤中酸性磷酸酶、过氧化氢酶、脲酶、蔗糖酶的活性, 为制定科学的施肥制度和构建健康的土壤环境提供依据。本研究所使用的 Biolog 法可以有效测定土壤微生物对不同碳源的利用能力和代谢能力, 在一定程度上能够反映土壤微生物群落多样性状况^[14]。本研究所选用的植物是小麦, 小麦是我国北方最常见的粮食作物, 筛选适用于小麦的有机肥料, 对改良土壤及提高产品品质, 具有重要意义。

本文通过模拟自然环境的盆栽试验, 研究在无机肥的基础上增施不同量的黄腐酸肥料对小麦根际土壤的土壤酶活性和微生物数量、功能多样性的影响, 旨在充分展示黄腐酸肥料的安全性, 找出良好

的施肥方式,同时也为有机肥的安全施用、环境监测与保护提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验作物为小麦 (*Triticum aestivum* L.), 品种为金麦 22 号, 供试土壤来自南校试验田 (117° 12' E, 36° 19' N), 土壤理化性质为有机质 15.3 g/kg、速效钾 117 mg/kg、全氮 1.36 g/kg、速效磷 18.5 mg/kg、pH 7.2。

试验所用黄腐酸肥为山东泉林嘉有肥料有限责任公司生产的黄腐酸肥料, 肥料主要成分为 20.6% 的黄腐酸、有机质 56.9%、水分 0.3%、有效活菌 1.2%。试验所用常规肥为来自五洲丰农业科技有限公司的普通复合肥 (N-P₂O₅-K₂O 15-10-20)。

1.2 试验设计

试验为盆栽试验, 试验以农用复合肥为对照, 在农用复合肥基础上增施黄腐酸肥料。采用盆钵 (规格 30 cm × 50 cm) 种植小麦, 每盆装土 2.5 kg。精选大小一致、颗粒饱满的小麦种子, 每盆播种 15 粒。

将农用复合肥作为基肥, 与部分土壤 (约为 1.9 kg) 充分混合后装盆。施入农用复合肥后, 在盆钵中加入少量土壤 (约为 0.1 kg) 使种子与肥料隔离开, 避免烧种, 最后将不同量的黄腐酸肥料与剩余土壤 (约为 0.5 kg) 充分混合后装盆。复合肥肥料和黄腐酸肥料的具体添加比例如表 1 所示, 共设 5 个处理, 每个处理设置 3 次重复。种植小麦后的盆钵放置在挖有浅坑的试验田内, 模拟自然环境。播种后根据

表 1 试验各处理复合肥和腐殖酸肥料用量 (g/kg)

Table 1 Application amount of compound and fulvic acid fertilizers in each treatment of the experiment

处理 Treatment	复合肥肥料 Compound fertilizer	黄腐酸肥料 Fulvic acid fertilizer
CK	—	—
NPK	1.5	—
NPKF2	1.5	2
NPKF6	1.5	6
NPKF10	1.5	10

注 (Note): CK—不施用肥料 No fertilizer input; NPK—氮磷钾复合肥对照 NPK compound fertilizer control (N-P₂O₅-K₂O = 15-10-20); F—嘉有黄腐酸肥料 Fulvic acid fertilizer (containing Fulvic acid 20.6%, OM 56.9%, Moisture 0.3%, Active bacteria strain 1.2%).

田间持水量的具体情况 [出芽期间, 土壤含水率保持在 100%, 出芽后, 根据天气及小麦的生长状况适量浇水使土壤含水率保持在 60% (约为两天一次)], 定期清除杂草。

1.3 样品采集与分析

小麦种子发芽初期记录发芽率。生长 40 天后, 用五点取样法设计采样点, 在 5—10 cm 处采集小麦根部周围土壤, 将采用抖土法取得的土壤混合均匀, 放入无菌自封袋中, 立即带回实验室, 采集的土壤风干过 2 mm 筛后保存待测。

土壤细菌、真菌、放线菌数量采用稀释平板涂抹法进行测定。细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基, 平板计数采用 10⁻³、10⁻⁴ 土壤稀释液涂板; 真菌采用孟加拉红培养基, 真菌的计数用 10⁻¹、10⁻² 土壤稀释液; 放线菌的计数用 10⁻³、10⁻⁴ 土壤稀释液涂板, 培养基用高氏一号培养基^[15]。土壤微生物功能多样性采用 31 种碳源的生态板 (Biolog-Eco) 进行测定分析。土壤中过氧化氢酶的测定使用高锰酸钾滴定法, 脲酶的测定采用靛酚蓝比色法, 酸性磷酸酶的测定使用磷酸苯二钠比色法^[16], 蔗糖酶活性的测定用 3,5-二硝基水杨酸比色法, 即 DNS 试剂还原糖法。土壤微生物呼吸强度的变化采用 NaOH 吸收法测定。

2 结果与分析

2.1 黄腐酸肥料对小麦种子发芽率的影响

CK、NPK、NPKF2、NPKF6、NPKF10 处理小麦种子发芽率依次为 100%、100%、100%、97%、91%。CK、NPK、NPKF2 处理的小麦种子发芽率皆为 100%, 这说明低浓度的黄腐酸肥料的施用不会影响小麦种子的发芽率。但当黄腐酸施用量达到 6 g/kg 及以上时, 种子发芽率出现降低现象, NPKF6、NPKF10 处理种子发芽率减少了约 3%、9%。这表明, 当黄腐酸肥料的施用量较高时, 会抑制小麦种子发芽, 施用量越高, 抑制作用越显著。试验表明一定范围内黄腐酸不会影响小麦的发芽。这与肖雪君等^[17]研究的高浓度微生物肥液处理小辣椒种子后抑制种子发芽率的结果相符。

2.2 黄腐酸肥料对小麦根际土壤微生物数量的影响

由图 1 可以看出, 各个处理细菌数量随着施肥时间的延长而增加, 各处理间差异也较为明显, 尤其是在第 20 天时, 不施黄腐酸处理的细菌数量较少, 施 2、6、10 g/kg 黄腐酸肥料的处理细菌数量明

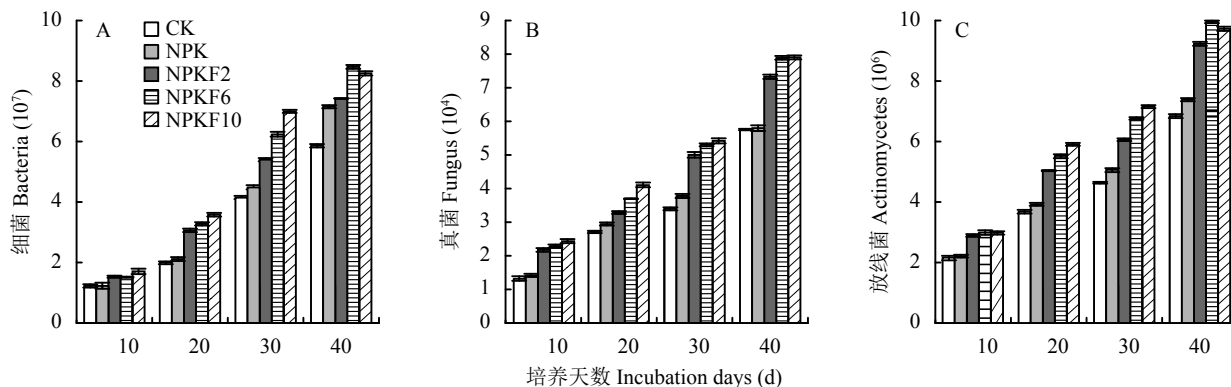


图 1 不同施肥处理对小麦根际土壤微生物数量的影响

Fig. 1 Effects of different fertilizer treatments on microbial biomass in the wheat rhizosphere soil

显增加。此后, 随着黄腐酸肥料施用时间的延长, 细菌数量均增加, 且施 2、6、10 g/kg 黄腐酸肥料的处理细菌数量明显增加, 显著高于 NPK 处理, 40 天时, 施用 6 g/kg 黄腐酸肥料的处理细菌数量达到最高值 8.47×10^7 个, 显著高于其他处理。

土壤中真菌数量变化如图 1 所示, 施用黄腐酸肥料 6、10 g/kg 的处理在开始后第 20、30、40 天时, 土壤中真菌的数量均显著高于不施黄腐酸肥料的处理, 此后, 土壤真菌数量继续增长, 虽然施用黄腐酸肥料 6、10 g/kg 处理间的土壤真菌数量差异变小, 但仍然显著高于其他处理组。这说明黄腐酸肥料在一定的时间和施用量范围内, 为真菌的生长繁殖提供了适宜的环境, 但是土壤中真菌的数量只随着黄腐酸肥料施用量的增加、施用时间的延长而增加。

由图 1 可知, 整个试验周期内放线菌数量的变化各处理间差异明显。在第 20、30、40 天, 施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 三个处理土壤中放线菌数量均显著高于不施黄腐酸组。在 40 天时, 施用 6 g/kg 黄腐酸肥料的处理放线菌数量达到最高值。

微生物是土壤生命有机体的重要组成部分, 也是土壤活性养分的暂时储存库, 微生物数量的变化能够充分反映温度、水分、养分以及施肥等农业措施对土壤环境的影响。从不同量的黄腐酸肥料对这“三大菌”的影响趋势规律上看, 基本上随黄腐酸肥料施用量的增加其促进程度也增强, 也就是说, 施肥可以增加土壤中的微生物数量。在本研究中, 随施肥时间的延长, 各个处理的微生物数量都有不同程度的增长。由此可以看出, 黄腐酸肥料的施用不仅可以增加土壤中营养元素含量, 为土壤微生物提供了充足的矿物养分, 可促进微生物的生长和繁

殖, 增加土壤微生物数量, 同时黄腐酸肥料的施用也增加了土壤中的植物残留和根系分泌物的种类和数量, 为土壤中微生物提供了更适宜的栖息环境, 从而促进了土壤三大菌的生长和繁殖。与此同时, 黄腐酸肥料的施用也在一定程度上增加了土壤中有有机质和有效养分的含量, 为土壤微生物尤其是异养微生物的生长和代谢提供了能源, 从而有利于微生物的生长和繁殖^[18]。

2.3 黄腐酸肥料对小麦根际土壤酶活性的影响

由图 2A 可知, 与不施黄腐酸肥料的处理相比, 施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 的处理土壤脲酶活性均显著增加, 但施用黄腐酸肥料 6、10 g/kg 的两个处理间脲酶活性差异不显著。

由图 2B 可以看出, 施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 的处理均显著促进了土壤中酸性磷酸酶的活性, 但三个处理间差异不显著, 施用黄腐酸肥料 6 g/kg 的处理比施用黄腐酸肥料 10 g/kg 的处理土壤中酸性磷酸酶活性略有减少, 为 1.23 mg/(g·d)。说明施用黄腐酸肥料有利于植物根系在低磷环境下分泌酸性磷酸酶的活性增加, 同时又能够促进土壤中的有机磷化合物的代谢和再利用, 从而提高土壤中的有机磷有效性, 有利于植物生长。

从图 2C 可以看出, 施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 的处理间差异较小, 但都比 NPK 处理酶活性增加, 且随着黄腐酸肥料施用量的增加, 过氧化氢酶活性也随之增加, 施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 处理的土壤中过氧化氢酶活性均高于 NPK 处理, 且当黄腐酸肥料施用量达到 10 g/kg 时, 过氧化氢酶活性显著高于其他处理, 为 10.87 mg/(g·d), 远远高于只施用复合肥的处理。说明黄腐酸肥料的施用对小麦根际土壤具有显著影响, 适量的黄腐酸肥料可以

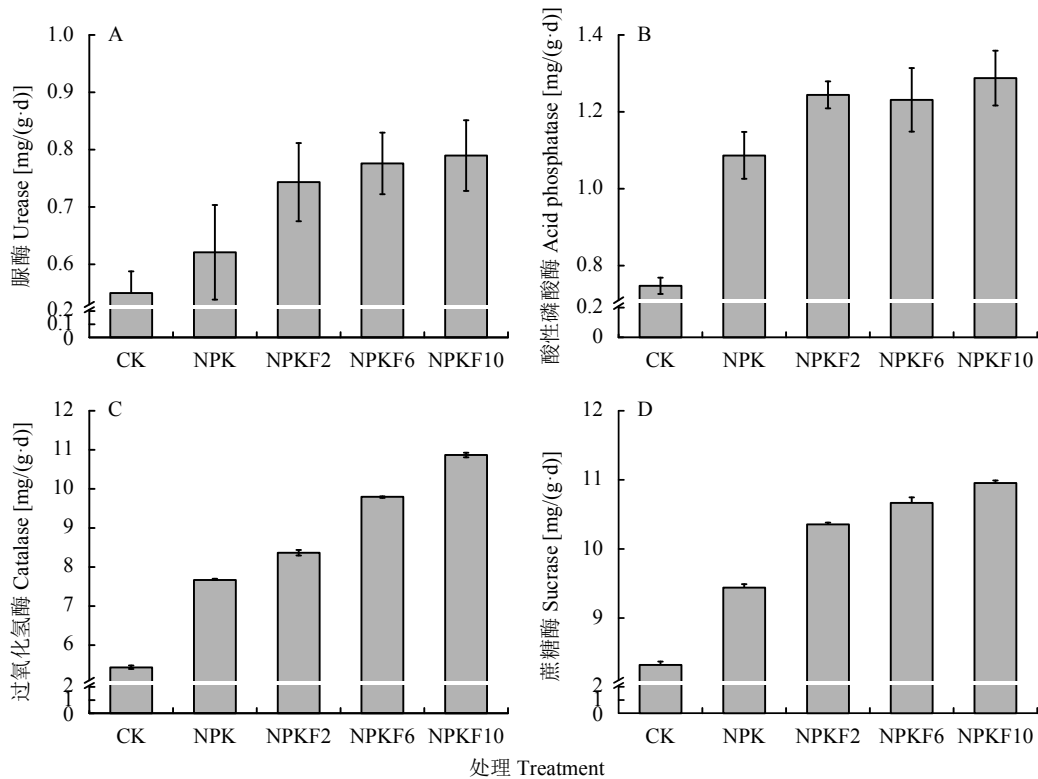


图 2 不同施肥处理对小麦根际土壤酶活性的影响

Fig. 2 Effects of different fertilizer treatments on soil enzyme activity in the wheat rhizosphere soil

有效提高土壤中的过氧化氢酶活性，从而提高土壤腐殖质化强度，加快土壤有机质化速度。

从图 2D 可以看出不同施肥水平对土壤蔗糖酶的影响不同。在施用了黄腐酸肥料后，土壤中蔗糖酶的活性明显增加。与前三种酶相似，且施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 的处理蔗糖酶的活性均高于 NPK 处理和 CK，随着黄腐酸肥料施用量的增加，土壤中蔗糖酶的活性也略有增加，当黄腐酸肥料施用量达到 10 g/kg 时，蔗糖酶活性达到最大值，为 10.95 mg/(g·d)。说明施用适量的黄腐酸肥料有利于提高土壤蔗糖酶活性，增加土壤中易溶性营养物质，从而提高土壤肥力，促进小麦生长。

2.4 黄腐酸肥料对小麦根际土壤微生物功能多样性的影响

图 3 可以看出，培养 24 小时的不同处理下的小麦根际土壤微生物在 Biolog-Eco 平板上的平均颜色变化率 (AWCD) 没有产生明显差异；第 48 小时时施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 的处理与只施用复合肥的 NPK 相比较均增长，施用黄腐酸肥料 2、6 g/kg 的处理之间差异并不明显；第 72 小时，施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 的处理与 NPK 处理相比较

均产生了大幅度增长，施用黄腐酸肥料 6、10 g/kg 的处理增长较 NPK 处理更明显；第 96 小时和第 120 小时时施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 的处理与 NPK 处理相比较，均产生了大幅度增长，且施加黄腐酸肥料的处理比只施了常规肥的处理，平均颜色变化率增长幅度更大，表明微生物的整体代谢活性逐渐增强；除了第 24 小时和第 48 小时外，其余各组对照均显示平均颜色变化率 (AWCD) 随着黄腐酸肥料施用量的增加而增加，且各浓度处理之间存在较大差异。随着时间的增长，同一处理，小麦根际土壤微生物在 Biolog-Eco 平板上的平均颜色变化率增加。说明施用黄腐酸肥料能有效增加小麦根系活性，促进分泌物增加，促进根际土壤微生物的代谢活性，增强根际微生物利用碳源的能力。

由图 3 可知，各个处理的小麦根际土壤微生物群落的 Shannon 均匀度无明显差异，但 Shannon 均匀度随着黄腐酸肥料施用量的增加而增加，表明在一定的浓度范围内施用黄腐酸肥料能提高小麦根际土壤微生物群落的均匀度。施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 的处理与只施用复合肥的 NPK 处理相比，小麦根际土壤微生物群落的 Shannon 指数增幅明显，施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 的处理 Shannon 指数

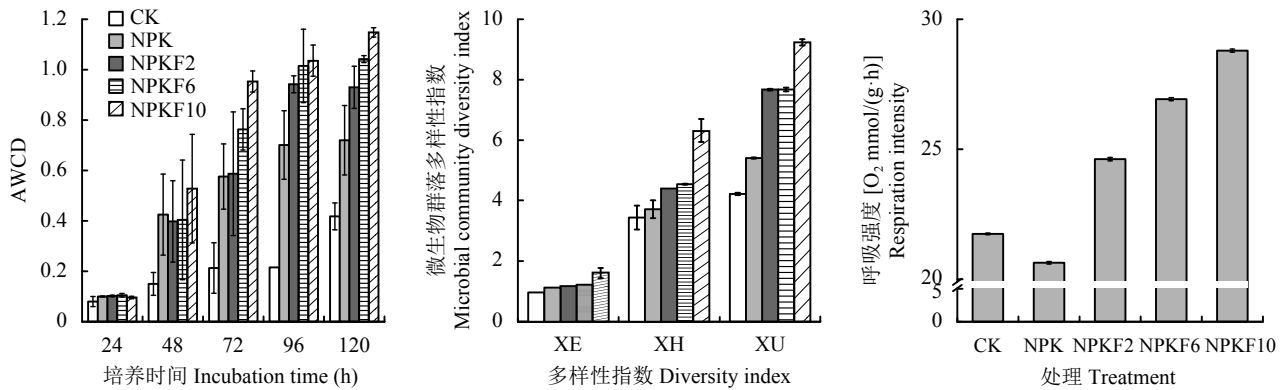


图3 不同施肥处理小麦根际土壤微生物 Biolog-eco 平板平均颜色变化率 (AWCD)、群落多样性指数及呼吸强度
Fig. 3 Average well color development (AWCD), diversity indices and respiration intensity of microbes in the wheat rhizosphere soil

[注 (Note): XE—Shannon 均匀度, Shannon evenness; XH—Shannon 指数, Shannon index; XU—McIntosh 指数, McIntosh index.]

均明显高于 NPK 处理, 而且 Shannon 指数随着黄腐酸肥料施用量的增加而增加, 表明在一定的浓度范围内黄腐酸肥料能提高小麦根际土壤微生物群落物种的丰富度, 施用黄腐酸肥料对土壤微生物的多样性有显著影响; 施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 处理的 McIntosh 指数明显高于 NPK 处理, 且 NPKF2、NPKF6 处理之间无明显差异, 但 McIntosh 指数总体上随着黄腐酸施用量的增加而增加, 表明在一定的浓度范围内黄腐酸肥料能提高小麦根际土壤微生物群落的物种多样性。

施用黄腐酸肥料能提高小麦根际土壤微生物功能的多样性, 且随时间的延长, 土壤微生物的总体活性呈增长的趋势, 根际土壤微生物群落的丰富度、物种的均匀度和群落的多样性都相应的增加。

相同试验条件下, 三个多样性指数的变化规律基本一致, 根际土壤微生物群落的 Shannon 均匀度、Shannon 指数、McIntosh 指数总体上随着黄腐酸肥料施用量的增加而增大。这可能是因为施用黄腐酸肥料一段时间后, 肥料中含有的有益菌群逐渐适应了土壤环境并大量繁殖, 随着小麦生长周期的延长, 各处理的土壤微生物 McIntosh 指数逐渐增大^[19]。施用黄腐酸处理的 McIntosh 指数明显高于其他处理, 表明黄腐酸肥料的施用可提高物种的均匀度, 使系统更加稳定。

通过图3可以看出, 施用黄腐酸肥料 2、6、10 g/kg 处理的小麦根际土壤微生物呼吸强度明显高于 NPK 处理, 且呼吸强度随着黄腐酸肥料施用量的增加而增大, 在施用量达到 10 g/kg 时, 微生物呼吸强度达到最大值, 为 O₂ 28.79 mmol/(g·h), 说明了施用的黄腐酸肥料在一定的浓度范围内能提高小麦根际

土壤微生物群落呼吸强度。NPK 处理呼吸强度较其他处理小, 为 O₂ 20.61 mmol/(g·h), 可能是因为仅施常规肥情况下, 土壤中微生物活动受到抑制, 进而影响了微生物的呼吸作用。

总的来说, 施用常规肥和黄腐酸肥料后, 丰富了土壤中 N、P、K 及其他营养元素的含量, 促进了微生物的生长繁殖, 进而增强了其自身的生命活动, 从而增强了微生物的呼吸作用, 因为微生物需要依靠呼吸作用产生的能量来维持自身的生活。

3 讨论

本研究旨在了解在短期种植的小麦土壤中施入不同量的黄腐酸肥料对土壤微生物和土壤酶活性的影响, 而土壤酶活性、微生物数量可以从不同角度表征土壤肥力水平。

土壤微生物参与有机质矿化、养分循环、毒物分解和腐殖质合成等多种土壤生化反应, 与土壤肥力密切相关^[20-22], 对维系土壤健康极为重要^[23-24]。本试验采用稀释平板计数法和 Biolog-Eco 微平板相结合的方法研究了不同施肥处理下小麦根际微生物的变化。结果表明, 施用黄腐酸肥料后, 三大菌的数量随时间的延长, 都有明显的增加趋势, 最后的数量增长趋势为 NPKF6 > NPKF10 > NPKF2 > NPK > CK(图1), 说明施用黄腐酸肥料促进了细菌、真菌、放线菌的繁殖生长, 提高根际微生物的多样性。这与前人的研究结果一致^[25]。在不施任何肥料的条件下 (CK 组), 细菌、真菌、放线菌主要是靠小麦根系的生命活动和代谢活动所产生的化合物和土壤中原有的养分来维持生长的, 然而小麦的萌芽和生长也需

要养分, 土壤中的养分含量有限, 因此土壤中的微生物量会减少^[26]。而施用黄腐酸肥料后, 其中含有的微生物菌群促进了养分的转化, 为土壤中微生物的生长繁殖提供了大量的养分和能量, 从而使土壤中三大菌的数量显著增加, 同时土壤中的细菌、放线菌数量的明显增加促进了土壤和肥料中有机物质转化, 为微生物的代谢作用提供了必要的营养元素^[27]。复合肥和黄腐酸肥料的配合施用, 更能促使细菌、真菌、放线菌的数量增加, 并使其成为根际土壤的优势菌群, 提高土壤微生物的数量多样性, 使根际微生物区系向健康的方向发展。

土壤酶是土壤中植物根系分泌、动植物残体分解和土壤微生物代谢的产物, 可以直接参与土壤腐殖质的分解与合成, 以及土壤碳、氮等养分的转化^[28]。张静等^[29]研究发现, 施用生物有机肥后, 土壤蔗糖酶、脲酶和酸性磷酸酶活性均高于对照。本研究的结果与此一致, 施用黄腐酸肥料后, 各个处理脲酶、酸性磷酸酶、过氧化氢酶、蔗糖酶的活性均出现显著增加, 且 NPKF10 的酸性磷酸酶、过氧化氢酶的活性增加最为显著。在本试验条件下, 施用的黄腐酸肥料增加了土壤中的有机质, 为过氧化氢酶发挥作用提供了适宜的场所和条件, 使试验土壤过氧化氢酶的活性显著提高。试验土壤中蔗糖酶显著增加, 是由于黄腐酸肥料中的有机物料增加了土壤有机质, 提供了充足的酶促反应的基质, 加快了有机碳的转化^[30-31], 刺激了蔗糖酶活性的升高。在施用不同量黄腐酸肥料 40 天后, 土壤中酸性磷酸酶、脲酶的活性随施用量的增加, 呈现较稳定的增长趋势, 其中脲酶活性的增长趋势为 NPKF10 > NPKF6 > NPKF2 > NPK > CK(图 2 A), 这与田小明等^[32]的研究一致。说明有机质含量高的黄腐酸肥料对脲酶和酸性磷酸酶的活性提高最为有效, 而单施复合肥的处理土壤脲酶和酸性磷酸酶活性的增加并不显著, 这说明施用的黄腐酸肥料有效改善了土壤微生物的生活环境, 为微生物的生命活动提供了大量的养分和能量^[33], 促使微生物分泌更多的脲酶, 同时施用黄腐酸肥料为脲酶的酶促反应提供了大量的基质, 使其活性增强, 从而为处于低磷环境中的小麦提供了大量的氮素和磷素^[34-35], 有利于其生命活动的进行。施用黄腐酸肥料处理的根际土壤中四种酶活性显著增加, 这是植物根系分泌土壤酶和微生物数量增加的结果。

土壤微生物群落 AWCD 值反映了土壤微生物利用碳源的能力和微生物代谢活性的大小, 其值越

高, 则表示土壤微生物代谢活性越高^[36]。土壤微生物 Shannon 指数反映了微生物群落物种变化度和差异度, McIntosh 指数是群落物种均一性的度量^[37]。本研究结果表明, 施用黄腐酸肥料处理在短期内可提高土壤微生物 AWCD 值和 McIntosh 指数, NPKF10 处理的效果最佳, 表明 NPKF10 处理土壤微生物的整体代谢能力有所增加, 物种多样性和均匀度也有增加。刘艳霞等^[38]研究也表明, 土壤中施入生物有机肥处理的土壤微生物 Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均高于 CK。本研究结果与之相似。随着施用黄腐酸肥料时间的增加, 土壤微生物呼吸作用增强, 代谢活性也随之增强, 而且不同程度的增加了土壤有机质的分解, 为微生物生长繁殖提供了大量的营养物质, 进而促进了微生物的功能发展^[39]。

因此, 黄腐酸肥料和复合肥配合施用提高了土壤微生物的整体代谢能力, 有效改善了小麦根际土壤的生态环境, 从而促进多种微生物的生长繁殖, 丰富种群, 增加密度。黄腐酸肥料中的有益菌群可以活化土壤矿质养分, 提高小麦对多种营养元素的吸收和利用, 促进其根系生长, 而根系可以向根际土壤分泌更多的土壤酶, 并聚集大量的微生物, 同时为微生物的代谢活动提供充足的营养物质, 而微生物的死亡和根部细胞脱落都会促使细胞内的相关酶进入土壤, 增加土壤酶活性^[40-42]。

4 结论

施用黄腐酸肥料可以改善土壤营养环境, 为土壤微生物的生命活动提供充足的养分和能源, 增强呼吸作用, 从而促进微生物生长繁殖, 丰富种群, 增加密度, 有效改善土壤微生物群落功能, 并且在短期内可以提高土壤蔗糖酶、过氧化氢酶、脲酶和酸性磷酸酶活性。

黄腐酸肥料用量超过 10 g/kg 会对小麦种子的发芽率产生影响, 产生“烧苗”现象。因此, 综合考虑, 黄腐酸肥料的最佳施用量为 6 g/kg。

致谢: 山东农业大学泉林黄腐酸肥料工程实验室开放基金(QL2016-25) 和水利土木工程学院孙甲玉、刘凯传、陈国栋等同学在样品测试与分析中给予帮助, 特此感谢!

参考文献:

- [1] 王宜伦, 张许, 谭金芳, 等. 农业可持续发展中的土壤肥料问题与对策[J]. 中国农学通报, 2011, 24(11): 278-281.

- Wang Y L, Zhang X, Tan J F, *et al.* Problem and solutions of soil and fertilizers in agricultural sustainable development[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 24(11): 278–281.
- [2] Ben L. Principles of plant-microbe interactions: Microbes for sustainable agriculture[M]. Switzerland: Springer International Publishing, 2015.
- [3] 周少丽. 黄腐酸研究进展[J]. 广州化工, 2015, 3(8): 41–42.
Zhou S L. Research progress on fulvic acid[J]. Guangzhou Chemical Industry, 2015, 3(8): 41–42.
- [4] 王琴, 李顺, 黄启滨. 黄腐酸有机肥料在水稻上应用效果[J]. 现代化农业, 2016, (441): 30–31.
Wang Q, Li S, Huang Q B. Effect of fulvic acid organic fertilizer on rice[J]. Modernization of Agriculture, 2016, (441): 30–31.
- [5] 张志成, 程闯胜, 任树梅, 等. 黄腐酸喷施方式对玉米耗水及生长的影响研究[J]. 灌溉排水学报, 2015, 34(4): 100–104.
Zhang Z C, Cheng C S, Ren S M, *et al.* Effects of the spraying method of yellow humic acid on corn water consumption and physiological growth[J]. Journal of Irrigation and Drainage, 2015, 34(4): 100–104.
- [6] 回振龙, 李朝周, 王蒂, 等. 黄腐酸改善连作马铃薯生长发育及抗性生理的研究[J]. 草业学报, 2013, 22(4): 130–136.
Hui Z L, Li C Z, Wang D, *et al.* A study on the use of fulvic acid to improve growth and resistance in continuous cropping of potato[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2013, 22(4): 130–136.
- [7] 孙克刚, 郭良进, 和爱玲, 等. 黄腐酸有机肥不同用量对花生的增产效果研究[J]. 化肥工业, 2015, (2): 81–84.
Sun K G, Guo L J, He A L, *et al.* Study of yield-increasing of different usage amount of fulvic acid organic fertilizer on peanuts[J]. Fertilizer Industry, 2015, (2): 81–84.
- [8] 胡燕燕, 纪春茹, 马金平, 等. 大豆黄腐酸复合肥应用效果试验[J]. 试验报告, 2014, (4): 132–133.
Hu Y Y, Ji C R, Ma J P, *et al.* Application effect test of soybean fulvic acid compound fertilizer[J]. Test Report, 2014, (4): 132–133.
- [9] 李江. 矿区复垦土壤微生物群落和功能多样性分析[J]. 广东化工, 2011, 7(38): 18–20.
Li J. Analysis of microbial community and function diversity in mining reclamation soil[J]. Guangdong Chemical Industry, 2011, 7(38): 18–20.
- [10] 解媛媛, 谷洁, 高华, 等. 微生物菌剂酶制剂化肥不同配比对秸秆还田后土壤酶活性的影响[J]. 水土保持研究, 2010, 17(2): 233–238.
Xie Y Y, Gu J, Gao H, *et al.* Dynamic changes of soil enzyme activities in microorganism inoculants, enzymes and chemical fertilizers in different proportions after straw returning soil[J]. Research of Soil and Water Conservation, 2010, 17(2): 233–238.
- [11] 王义, 李少朋, 陈铸, 等. 丛枝菌根真菌对采煤塌陷地玉米生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2013, 41(30): 12113–12115.
Wang Y, Li S P, Chen C, *et al.* Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on the growth of maize in mining subsidence[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(30): 12113–12115.
- [12] 马忠明, 杜少平, 王平, 等. 长期定位施肥对小麦-玉米间作土壤酶活性的影响[J]. 核农学报, 2011, 25(4): 796–801.
Ma Z M, Du S P, Wang P, *et al.* Effects of long-term located fertilization on soil enzymatic activities for wheat-maize intercropping in irrigated desert soils[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2011, 25(4): 796–801.
- [13] 刘骁蓓, 涂仕华, 孙锡发, 等. 秸秆还田与施肥对稻田土壤微生物量及固氮菌群落结构的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(17): 5210–5218.
Liu X B, Tu S H, Sun X F, *et al.* Effect of different fertilizer combinations and straw return on microbial biomass and nitrogen-fixing bacteria community in a paddy soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(17): 5210–5218.
- [14] 郑华, 欧阳志云, 方治国, 等. BIOLOG在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用[J]. 土壤学报, 2004, 41(3): 456–461.
Zheng H, Ouyang Z Y, Fang Z G, *et al.* Application of BIOLOG to study on soil microbial community functional diversity[J]. Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(3): 456–461.
- [15] 林先贵. 土壤微生物研究质理与方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010. 362–364.
Lin X G. Soil microbial research principles and methods[M]. Beijing: Higher Education Press, 2010. 362–364.
- [16] 李莹飞, 耿玉清, 周红娟, 等. 基于不同方法测定土壤酸性磷酸酶活性的比较[J]. 中国生态农业学报, 2016, 24(1): 98–104.
Li Y F, Geng Y Q, Zhou H J, *et al.* Comparison of soil acid phosphatase activity determined by different methods[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2016, 24(1): 98–104.
- [17] 肖雪君, 周青平, 田莉华, 等. 不同浓度微生物复合肥对燕麦种子发芽的影响[J]. 草业与畜牧, 2016, (4): 9–13.
Xiao X J, Zhou Q P, Tian L H, *et al.* The effects of microbial compound fertilizer with different concentration on oat seed germination[J]. Prataculture & Animal Husbandry, 2016, (4): 9–13.
- [18] 陈晓芬, 李忠佩. 不同施肥处理对红壤水稻土团聚体有机碳、氮分布和微生物生物量的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(5): 950–960.
Chen X F, Li Z P. Effects of different fertilizations on organic carbon and nitrogen contents in water-stable aggregates and microbial biomass content in paddy soil of subtropical China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(5): 950–960.
- [19] 刘海, 杜如万, 赵建, 等. 施肥对烤烟根际土壤酶活性及细菌群落结构的影响[J]. 烟草科技, 2016, 49(10): 1–8.
Liu H, Du R W, Zhao J, *et al.* Effects of fertilization on enzyme activities and bacterial community structures in rhizosphere soil of flue-cured tobacco[J]. Tobacco Science & Technology, 2016, 49(10): 1–8.
- [20] 郁洁, 蒋益, 徐春森, 等. 不同有机物及其堆肥与化肥配施对小麦生长及氮素吸收的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(6): 1293–1302.
Yu J, Jiang Y, Xu C M, *et al.* Effects of combined application of inorganic fertilizer with straw and pig slurry and their compost on wheat growth and nitrogen uptake[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2012, 18(6): 1293–1302.
- [21] 陈尧, 郑华, 石俊雄, 等. 施用化肥和菜籽粕对烤烟根际微生物的影响[J]. 土壤学报, 2012, 49(1): 208–213.
Chen Y, Zheng H, Shi J X, *et al.* Effects of chemical fertilizer and rapeseed meal on microorganisms in the rhizosphere of flue-cured tobacco seedlings[J]. Acta Pedologica Sinica, 2012, 49(1): 208–213.
- [22] 卜洪震, 王丽宏, 尤金成, 等. 长期施肥管理对红壤稻田土壤微生物

- 量碳和微生物多样性的影响[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(16): 3340–3347.
- Bu H Z, Wang L H, You J C, *et al.* Impact of long-term fertilization on the microbial biomass carbon and soil microbial communities in paddy red soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(16): 3340–3347.
- [23] 王平, 李凤民, 刘淑英. 长期施肥对土壤生物活性有机碳库的影响[J]. *水土保持学报*, 2010, 24(1): 224–228.
- Wang P, Li F M, Liu S Y. Effects of long-term fertilization on soil biologically active organic carbon pool[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(1): 224–228.
- [24] 刘玉环, 赵静, 秦嘉海, 等. 功能性生物活性肥配方筛选及对土壤理化性质和马铃薯经济效益的影响[J]. *土壤*, 2014, 46(3): 572–576.
- Liu Y H, Zhao J, Qin J H, *et al.* Screening of functional biological fertilizer formula and its effects on soil properties and economic benefits of potato[J]. *Soils*, 2014, 46(3): 572–576.
- [25] 袁英英, 李敏清, 胡伟, 等. 生物有机肥对番茄青枯病的防效及对土壤微生物的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(7): 1344–1350.
- Yuan Y Y, Li M Q, Hu W, *et al.* Effect of biological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microorganism[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(7): 1344–1350.
- [26] 侯化亭, 张丛志, 张佳宝, 等. 不同施肥水平及玉米种植对土壤微生物生物量碳氮的影响[J]. *土壤*, 2012, 44(1): 163–166.
- Hou H T, Zhang C Z, Zhang J B, *et al.* Effects of fertilization and maize growing on soil microbial biomass carbon and nitrogen[J]. *Soils*, 2012, 44(1): 163–166.
- [27] 张云伟, 徐智, 汤利, 等. 不同有机肥对烤烟根际土壤微生物的影响[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(9): 2551–2556.
- Zhang Y W, Xu Z, Tang L, *et al.* Effects of different organic fertilizers on the microbes in rhizospheric soil of flue-cured tobacco[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(9): 2551–2556.
- [28] Zhang Q, Zhou W, Liang G, *et al.* Distribution of soil nutrients, extracellular enzyme activities and microbial communities across particle size fractions in a long-term fertilizer experiment[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 94: 59–71.
- [29] 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]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(3): 548–554.
- [30] Mikhailouskaya N, Bogdevitch I. Relations of enzyme activities with different fractions of soil organic matter[J]. *Polish Journal of Soil Science*, 2009, 42: 175–182.
- [31] 马晓霞, 王莲莲, 黎青慧, 等. 长期施肥对玉米生育期土壤微生物量碳氮及酶活性的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(17): 5502–5511.
- Ma X X, Wang L L, Li Q H, *et al.* Effects of long-term fertilization on soil microbial biomass carbon and nitrogen and enzyme activities during maize growing season[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(17): 5502–5511.
- [32] 田小明, 李俊华, 王成, 等. 连续3年施用生物有机肥对土壤养分、微生物生物量及酶活性的影响[J]. *土壤*, 2014, 46(3): 481–488.
- Tian X M, Li J H, Wang C, *et al.* Effects of continuous application of bio-organic fertilizer for three years on soil nutrients, microbial biomass and enzyme activity[J]. *Soils*, 2014, 46(3): 481–488.
- [33] 张恩平, 谭福雷, 王月, 等. 氮磷钾与有机肥配施对番茄产量品质及土壤酶活性的影响[J]. *园艺学报*, 2015, 42(10): 2059–2067.
- Zhang E P, Tan F L, Wang Y, *et al.* Effects of NPK fertilizers and organic manure on nutritional quality, yield of tomato and soil enzyme activities[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(10): 2059–2067.
- [34] Frostegard A, Tunlid A, Baath E. Use and misuse of PLFA measurements in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(8): 1621–1625.
- [35] 孙家骏, 付青霞, 谷洁, 等. 生物有机肥对猕猴桃土壤酶活性和微生物群落的影响[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(3): 829–837.
- Sun J J, Fu Q X, Gu J, *et al.* Effects of bio-organic fertilizer on soil enzyme activities and microbial community in kiwifruit orchard[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(3): 829–837.
- [36] 覃潇敏, 郑毅, 汤利, 等. 玉米与马铃薯间作对根际微生物群落结构和多样性的影响[J]. *作物学报*, 2015, 41(6): 919–928.
- Qin X M, Zheng Y, Tang L, *et al.* Effects of maize and potato intercropping on rhizosphere microbial community structure and diversity[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, 41(6): 919–928.
- [37] Zhang W W, Xu J, Dong F S, *et al.* Responses of microbial community functional diversity to bensulfuron-methyl in paddy soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(9): 1749–1754.
- [38] 刘艳霞, 李想, 曹毅, 等. 抑制烟草青枯病型生物有机肥的田间防效研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(5): 1203–1211.
- Liu Y X, Li X, Cao Y, *et al.* Effect of bioorganic fertilizer on enzyme activity and ultra micro-structure of xylem vessel in tobacco[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(5): 1203–1211.
- [39] 孙婧, 田永强, 高丽红, 等. 秸秆生物反应堆与菌肥对温室番茄土壤微环境的影响[J]. *农业工程学报*, 2014, 30(6): 153–164.
- Sun J, Tian Y Q, Gao L H, *et al.* Effects of straw biological reactor and microbial agents on physicochemical properties and microbial diversity of tomato soil in solar greenhouse[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2014, 30(6): 153–164.
- [40] 李娟, 赵秉强, 李秀英, 等. 长期不同施肥条件下土壤微生物量及土壤酶活性的季节变化特征[J]. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15(5): 1093–1099.
- Li J, Zhao B Q, Li X Y, *et al.* Seasonal variation of soil microbial biomass and soil enzyme activities in different long-term fertilizer regimes[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15(5): 1093–1099.
- [41] He Z Q, Zhang H L. Applied manure and nutrient chemistry for sustainable agriculture and environment[M]. Berlin: Netherlands: Springer, 2014.
- [42] 赵青云, 王华, 王辉, 等. 施用生物有机肥对可可苗期生长及土壤酶活性的影响[J]. *热带作物学报*, 2013, 34(6): 1024–1028.
- Zhao Q Y, Wang H, Wang H, *et al.* Effects of different bio-organic fertilizer application on cacao plant growth and soil enzyme activities[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2013, 34(6): 1024–1028.