

不同施肥处理对黄泥土微生物生物量碳氮和酶活性的影响^①

路磊^{1,2}, 李忠佩^{1*}, 车玉萍¹

(1 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 通过室内培育实验, 研究了不同施肥处理对黄泥土微生物生物量 C、N 和脲酶、酸性磷酸酶、蔗糖酶活性的影响。培养过程中, 单施化肥处理土壤微生物生物量 C、N 均呈下降趋势, 施用有机肥处理的土壤微生物量 C 前期升高至一定水平后或保持稳定、或呈下降趋势, 而微生物生物量 N 总体均呈下降趋势; 不同施肥处理的脲酶活性呈前期上升后期下降趋势, 而酸性磷酸酶和蔗糖酶则单施化肥处理呈上升趋势、配施有机肥处理呈下降趋势。与对照处理相比, 单施化肥处理显著降低土壤微生物生物量 C、N, 高量施用化肥处理还显著降低土壤脲酶活性, 但对酸性磷酸酶和蔗糖酶活性的影响并不明显。秸秆施用可显著提高土壤微生物生物量 C、N 和酶活性, 特别是高量施用秸秆的效果更明显。施用猪粪由于同时带入了大量的活性养分, 对土壤微生物生物量 C、N 和酶活性的影响尚难评价。在高度集约农业利用下, 继续保持较高的化肥施用量并不利于土壤生物质量的维护和提高, 而秸秆直接还田才是保持土壤健康状态的有效措施。

关键词: 施肥; 黄泥土; 微生物生物量碳氮; 酶活性

中图分类号: S154.2

近 30 多年来, 我国农业集约化程度显著提高, 化肥的施用极大地促进了农业生产的发展。但是, 由于长期超量施用化肥, 农田养分特别是 N、P 处于盈余状态已达非常明显的程度, 有些省份尤其是我国东部经济发达地区农田 P 素的盈余甚至超过 300%^[1], 这对生态系统本身和环境都带来了巨大压力, 以各种形式表现的土壤质量退化现象不断显现^[2], 严重影响土壤生态系统的稳定性及其功能的发挥。如何防止高度集约农业利用导致的土壤退化, 保护和改善生态环境, 提高土壤生产力, 是我国农业发展过程中面临的一项艰巨而紧迫的任务。

土壤微生物活动和土壤酶促作用是土壤有机质和养分转化的主要驱动力。施肥和其他农艺活动可以显著地造成土壤微生物生物量和酶活性变化, 是土壤质量变化的灵敏指标^[3-5]。一些研究表明, 土壤微生物生物量和酶活性与总 N 输入呈正相关, 长期施用无机 N 肥和 P 肥可增加土壤微生物量 C 和 N^[6-8]; 但另一些研究也表明, 短期施用无机 N 肥对土壤酶活性和微生物生物量的影响有限, 而长期施用无机 N 肥甚至会降低土壤微生物活性^[9-11]。总体

来说, 目前关于施肥对土壤微生物生物量和酶活性的影响已经开展了大量的研究, 但结论并不一致; 特别是在长期施用化肥已造成养分严重富余的情况下, 继续大量施肥对土壤微生物生物量和酶活性的影响并不清楚。本文采用长期保持较高施肥量和土壤肥力水平的太湖地区水稻土(黄泥土), 通过布置室内培育试验, 研究不同施肥处理对高肥力水稻土微生物生物量和酶活性的影响, 结果可为制订集约农业利用下的合理施肥措施提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自江苏省常熟市, 为发育于河湖相沉积物的黄泥土(Hapli-Stagnic Anthrosols)表层土壤, 是该区域典型的水稻土类型, 轮作制为稻麦两熟, 施肥和作物产量均为该区的高水平, pH 6.39, 有机 C 含量 17.3 g/kg, 全 N 1.65 g/kg, 速效 N 65.0 mg/kg, 代表了该区土壤的高肥力水平。样品风干, 挑去肉眼可见的细根后过 2 mm 筛备用。

供试秸秆和猪粪为收获后的麦秆和经腐熟后的

①基金项目: 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KZCX3-SW-417)资助。

* 通讯作者(zhpli@mail.issas.ac.cn)

作者简介: 路磊(1981—), 女, 山东济宁市人, 硕士研究生, 主要从事土壤生物化学的研究。E-mail: llu@mail.issas.ac.cn

猪粪,均取自当地。经阴晾并低温烘干后过 40 目筛备用。秸秆的有机 C 和全 N 含量为 433.1 g/kg 和 2.84 g/kg,猪粪的有机 C 和全 N 含量为 303.5 g/kg 和 31.4 g/kg。

1.2 试验方案

试验设对照 (CK, 不施肥)、常规施肥 (NPK, 施肥量为 N 120 mg/kg、 P_2O_5 30 mg/kg、 K_2O 120 mg/kg)、0.5 倍常规施肥 (0.5NPK)、3 倍常规施肥 (3NPK)、常规施肥 + 0.5% 秸秆 (NPK+0.5JG)、常规施肥 + 2% 秸秆 (NPK+2JG)、常规施肥 + 0.5% 猪粪 (NPK+0.5ZF)、常规施肥 + 2% 猪粪 (NPK+2ZF) 等 8 个处理。

称取 300 g 过 2 mm 筛的风干土若干份,按试验处理中的添加量与过 40 目筛的秸秆和猪粪充分混匀,置于 650 ml 塑料瓶中。添加一定浓度的 N、P、K 水溶液 (肥料种类分别为尿素、磷铵、氯化钾),使达到各处理要求的肥料用量和 60% 的田间饱和持水量 (不足时用蒸馏水补充),塑料瓶用保鲜膜封口以保持水分不致快速蒸发,膜上针扎小孔若干以保证通气,于 $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下恒温培养,培养过程中及时补充蒸发的水分。在培养的第 7、14、21、28、35、49、59、69 天取样,每次每处理取 3 次重复。样品保持新鲜状态,尽快测定土壤微生物生物量和酶活性。若暂时不能测定,则在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下保存。

1.3 分析方法

土壤与有机物料中的有机 C 和全 N 含量用碳氮元素分析仪测定。土壤微生物生物量 C、N 用熏蒸提取法测定^[12]。称取 30 g 新鲜土壤于培养皿中,置于已放置 50 ml 氯仿的真空干燥器内,抽气至氯仿剧烈沸腾,在 $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下放置 24 h 后打开干燥器盖,取出盛氯仿的容器,复盖好盖子,于真空泵下抽空,以驱除土壤中的氯仿。称取熏蒸后的土样 20 g,加入 0.5 mol/L K_2SO_4 50 ml,振荡提取 0.5 h。采用未熏蒸土壤进行同样提取操作。用费恩法测定提取液中的有机 C 含量^[13],用蒸馏法测定提取液中的全 N 含量^[14]。根据熏蒸和未熏蒸处理土壤提取液中有机 C、全 N 含量之差,分别乘以系数 2.64 (微生物生物量 C)、1.85 (微生物生物量 N),求得微生物生物量 C、N。土壤中蔗糖酶用 3,5-二硝基水杨酸比色法、脲酶用靛酚比色法、酸性磷酸酶用对硝基苯磷酸钠法测定^[15]。

2 结果与讨论

2.1 不同施肥处理下土壤微生物生物量 C、N 的动

态变化

土壤微生物生物量作为土壤养分转化的活性库或源,其高低可部分反映土壤微生物活动的强弱和养分转化速率的快慢,是土壤生物质量变化的灵敏指标。施肥对土壤微生物生物量有显著影响。结果表明 (图 1A),不同的施肥处理培养过程中土壤微生物生物量 C 的动态变化有明显差异。CK 在培养的前期 (4 周),土壤微生物生物量 C 略有下降,但整个培养期中差异并不显著。单施化肥处理,整个培养期间土壤微生物生物量 C 均呈下降趋势,特别是高量施用化肥的处理 (3NPK),下降的程度最明显,培养结束时仅为培养 1 周时的 58%。低量施用秸秆处理,培养过程中土壤微生物生物量 C 略有下降,差异不明显;但高量施用秸秆处理,6 周前保持稳定,其后明显升高,培养结束时为培养 1 周时的 136%。而施用猪粪处理,培养 7 周前,土壤微生物生物量 C 呈升高趋势,其后则显著下降,但培养结束时仍比培养 1 周时的水平高 12% 和 28%。

不同施肥处理之间土壤微生物生物量 C 的差异在不同的培养阶段表现各异 (图 1A)。培养前期 (1 周),不同化肥处理及与 CK 之间土壤微生物生物量 C 没有显著差异;但培养结束时,不同化肥处理之间土壤微生物生物量 C 变化顺序为:CK>NPK>0.5 NPK>3NPK,且差异极显著 ($P<0.01$)。培养前期 (1 周),施用猪粪的处理土壤微生物生物量 C 显著低于 CK 和单施化肥处理,但在培养 7 周时却达到了 CK 的 1.8 倍和 1.3 倍,而在培养结束时与 CK 和化肥处理 (NPK) 差异不显著。高量施用秸秆处理,在整个培养期中土壤微生物生物量 C 均高于其他处理,培养结束时为 CK 和 NPK 处理的 160% 和 204%。

不同施肥处理培养过程中土壤微生物生物量 C 的动态变化反映了物料分解特性和养分供应对微生物活动的影响。由于本项试验所采用的土壤具有较高的养分含量水平,继续添加特别是高量施用化肥,使土壤中保持较高的速效养分浓度,并不利于微生物的生长活动^[16-17]。施用的秸秆由于 C/N 高,前期分解可能受 N 素限制而影响微生物活动,但培养后期分解速度加快而释放大量养分,促进了微生物生长^[18-19]。施用腐熟的猪粪,带入了大量的微生物和活性养分,但在培养后期高浓度的活性养分反而不利于微生物活动。

培养过程中,CK 和单施化肥处理土壤微生物生物量 N 动态变化与土壤微生物生物量 C 相似,CK

变化不明显，而单施化肥处理在整个培养期间呈下降趋势，0.5 NPK、NPK、3 NPK 处理培养结束时的水平仅分别为培养 1 周时的 31.5%、39.8%、13.9%（图 1B）。施用猪粪的处理培养前期土壤微生物生物量 N 有升高趋势，但培养 3 周（NPK + 2ZF 处理）或 5 周（NPK + 0.5ZF 处理）后呈下降趋势，培养结束时甚至低于培养 1 周时的水平，在培养过程中其变化特征与土壤微生物生物量 C 略有不同但总体相近。施用秸秆处理，土壤微生物生物量 N 却呈下降趋势，在培养 5 周后才基本保持稳定，这与土壤微生物生物量 C 有明显不同，主要的原因仍可能是与秸秆的分解特性有关，但具体的作用机理尚不清楚。

不同施肥处理之间土壤微生物生物量 N 的差异在不同的培养阶段也表现各异（图 1B）。培养 1 周时，除 3 NPK 处理外，其余处理的土壤微生物生物量 N 均高于 CK，不同处理之间的变化顺序为：NPK + 2JG > NPK + 0.5JG > NPK + 2ZF > 0.5NPK > NPK + 0.5ZF > NPK > CK > 3 NPK。培养结束时，除 NPK + 2JG 处理外，其他处理的土壤微生物生物量 N 均低于 CK，特别是 3 NPK 处理，仅为 CK 的 7%。

总体来看，经过近 70 天的培养后，除高量施用秸秆处理外，其他处理的土壤微生物生物量 C、N 均低于 CK，可见，即使施用秸秆、猪粪的处理，配施的化肥对微生物生长的抑制作用仍表现得很明显。

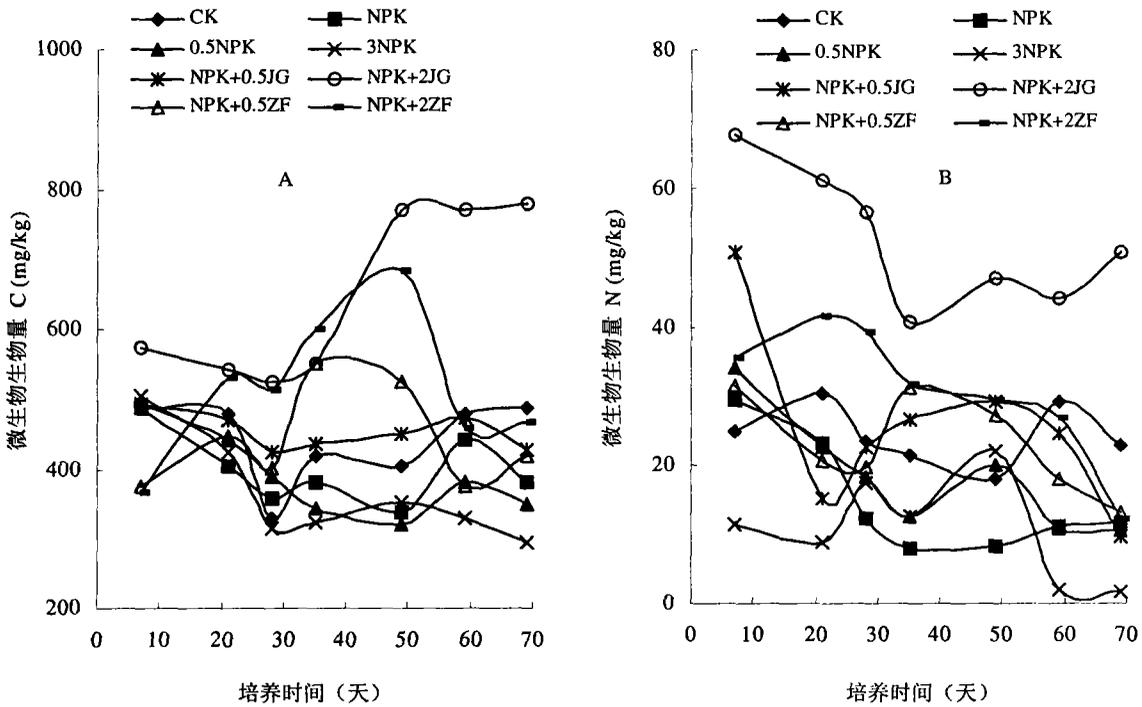


图 1 不同施肥处理培养过程中土壤微生物生物量 C (A) 和 N (B) 的动态变化

Fig. 1 Changes in soil microbial biomass C (A) and N (B) under different fertilization treatments during incubation

2.2 不同施肥处理下土壤酶活性的动态变化

培养过程中脲酶活性的动态变化因不同施肥处理而异（图 2 A）。CK 和单施化肥处理，在培养 7 周前，脲酶活性呈上升趋势，其后则趋于下降直至培养结束。而配施有机肥处理的脲酶活性，在培养 3 周前呈上升趋势；而从 3 周至 7 周培养期，基本保持稳定；7 周后略呈下降趋势。与培养 1 周时相比，各处理培养结束时的脲酶活性水平均有提高，其中 CK 提高 205%；0.5 NPK, 132%；NPK, 63%；3 NPK, 147%；NPK + 0.5JG, 183%；NPK + 2JG,

282%；NPK + 0.5ZF, 164%；NPK + 2 ZF, 71%。

培养 1 周时，单施化肥处理的脲酶活性与 CK 没有显著差异，但配施有机肥的处理则脲酶活性显著高于 CK。在整个培养期中，配施有机肥的处理，脲酶活性均显著高于 CK，特别是在培养 7 周时，NPK + 2JG 和 NPK + 2ZF 处理的脲酶活性比 CK 高 235% 和 53%。在培养 1 周以后的各个时期，单施化肥的处理脲酶活性均低于 CK，培养 7 周时 3NPK 处理的脲酶活性仅为 CK 的 49%。

图 2 B 结果表明，培养过程中 CK 与单施化肥

处理的酸性磷酸酶活性有增加的趋势，但统计检验并未达到显著性水平；而配施有机肥的处理酸性磷酸酶活性呈下降趋势，培养结束时 NPK + 0.5JG、NPK + 2JG、NPK + 0.5ZF、NPK + 2ZF 处理的酸性磷酸酶活性分别为培养 1 周时的 56.9%、43.7%、70.8%、68.9%。

培养前期不同施肥处理的酸性磷酸酶活性差异最明显。培养 1 周时，NPK + 0.5JG、NPK + 2JG、

NPK + 0.5ZF、NPK + 2ZF 处理的酸性磷酸酶活性分别比 CK 高 128.7%、251.2%、71%、119.0%。这主要是由于有机肥料本身较高的酸性磷酸酶活性所致。有机肥料的施用带入了大量的细胞酶，随着有机物料的分解，细胞酶水解而致酶活性下降^[5]。至培养结束时，各处理之间酸性磷酸酶活性差异不显著。

由图 2 C 可以看出，培养过程中蔗糖酶活性变化与酸性磷酸酶类似。CK 和单施化肥的处理在

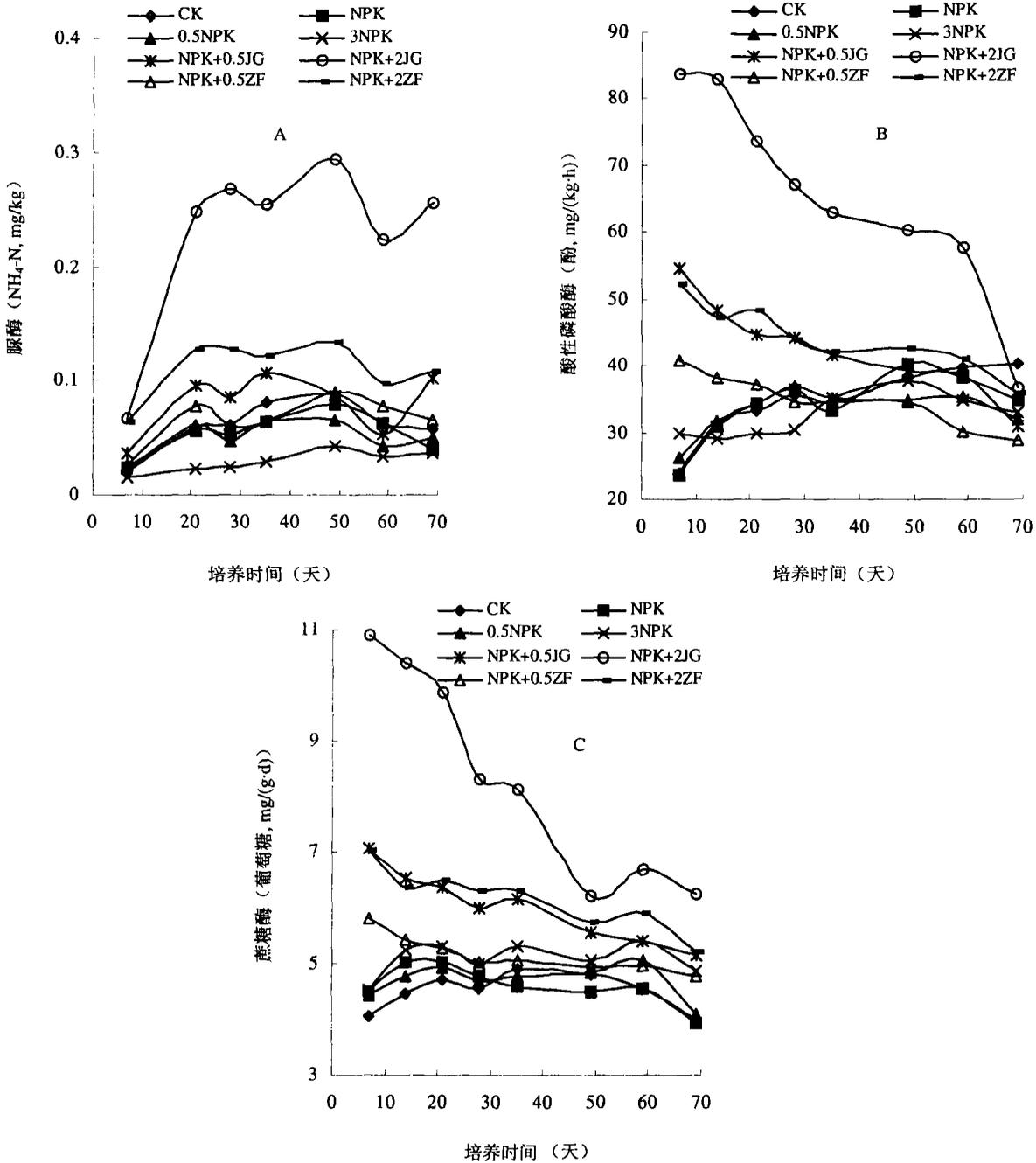


图 2 不同施肥处理培养过程中土壤脲酶 (A)、酸性磷酸酶 (B) 和蔗糖酶 (C) 活性的动态变化

Fig. 2 Changes in soil urease (A), acid phosphatase (B) and invertase (C) activities under different fertilization treatments during incubation

整个培养过程中蔗糖酶活性差异不显著。由于蔗糖酶活性能够反映土壤的熟化程度和肥力水平,其活性并不始终与土壤的微生物数量一致,具有一定的稳定性。而配施有机肥的处理蔗糖酶活性呈下降趋势,这也主要是有机物料分解过程中细胞酶水解所致^[5]。

培养前期,配施有机肥的处理由于提供了更多的酶促反应基质,显著提高了蔗糖酶活性。但至培养结束时,除 NPK + 2JG 处理外,其他处理与 CK 的差异并不显著。

2.3 土壤微生物生物量 C、N 与酶活性变化的相互关系

相关性分析表明,土壤脲酶活性与酸性磷酸酶、蔗糖酶活性变化无显著相关性,但酸性磷酸酶与蔗糖酶活性在整个培养过程中均表现出极显著相关($P < 0.01$),这说明土壤中酸性磷酸酶与蔗糖酶在培养过程中表现出类似的变化趋势。

在整个培养过程中只有脲酶活性总体上与土壤微生物生物量 N 呈显著的正相关关系,脲酶与微生物生物量 C 无显著性相关关系,这是因为脲酶是一种酰胺酶,对土壤 N 循环有独特作用,可酶促有机物质中的 C、N 键水解,其活性提高有利于土壤中稳定性较高的有机 N 向有效态 N 转化,改善土壤 N 素供应状况。而与土壤微生物生物量 C 的动态变化的相关性不显著,说明土壤脲酶在培养期间的变化与土壤微生物生物量 C 的动态变化不同步,尽管微生物生物量 C 高的土壤脲酶活性高,但并不完全按照相应幅度和同向变化。

3 结论

(1) 培养过程中土壤微生物生物量 C、N 的动态变化因不同施肥处理而有明显差异。单施化肥处理,整个培养期间土壤微生物生物量 C、N 均呈下降趋势。施用有机肥处理,土壤微生物生物量 C 前期升高,达到一定水平后或保持稳定,或呈下降趋势;而微生物生物量 N 总体均呈下降趋势。

(2) 培养过程中,不同施肥处理的脲酶活性呈前期上升后期下降趋势,而酸性磷酸酶和蔗糖酶则单施化肥处理呈上升趋势、配施有机肥处理呈下降趋势。

(3) 单施化肥处理显著降低土壤微生物生物量 C、N,高量施用化肥处理还显著降低土壤脲酶活性,但对酸性磷酸酶和蔗糖酶活性的影响并不明显。秸

秆施用可显著提高土壤微生物生物量 C、N 和酶活性,特别是高量施用秸秆的效果更明显。施用猪粪由于同时带入了大量的活性养分,对土壤微生物生物量 C、N 和酶活性的影响尚难评价。

(4) 高度集约农业利用下,长期大量施用化肥导致土壤的养分呈明显富余状态,继续保持较高的化肥施用量并不利于土壤生物质量的维护和提高^[20-21],而秸秆的直接还田利用是保持生态系统健康状态的有效措施,应当大力提倡和实行。

参考文献:

- [1] 曹志洪. 科学施肥与中国的粮食安全. 土壤, 1998, 30 (2): 59-63
- [2] 刘慧. 我国土地退化类型与特点及防治对策. 资源科学, 1995 (4): 26-32
- [3] 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环中和环境质量评价中的意义. 土壤, 1997, 29 (2): 61-69
- [4] Sparling GP. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. Australian Journal of Soil Research, 1992, 30: 195-207
- [5] 关松萌. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986, 61-141
- [6] 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. 植物营养与肥料学报, 1997, 3 (4): 300-306
- [7] 徐阳春, 沈其荣, 冉炜. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物生物量碳、氮、磷的影响. 土壤学报, 2002, 39 (1): 89-95
- [8] 张英, 褚秋华, 邱多生, 徐小波, 徐向东. 11 年连续肥料处理对水稻土碳、氮及微生物量的影响. 南京农业大学学报, 2001, 24 (4): 112-114
- [9] 王继红, 刘景双, 于君宝, 王金达. 氮磷肥对黑土玉米农田生态系统土壤微生物量碳、氮的影响. 水土保持学报, 2004, 18 (2): 35-38
- [10] 侯彦林, 王曙光, 郭伟. 尿素施肥量对土壤微生物和酶活性的影响. 土壤通报, 2004, 35 (6): 303-305
- [11] 张成娥, 梁银丽. 不同氮磷施肥量对玉米生育期土壤微生物量的影响. 中国生态农业学报, 2001, 9 (2): 72-74
- [12] Vance ED, Brookes PC, Jenkinson DS. An extraction method for measuring microbial biomass. Soil Biol. Biochem., 1987, 19: 703-707

- [13] 杜丽娟, 文启孝, 张晓华. 应用费尔恩法测定氯化钠盐土或底土中的有机碳. *土壤*, 1982, 14 (4): 149-153
- [14] 文启孝主编. *土壤有机质研究法*. 北京: 农业出版社, 1984
- [15] 郑洪元, 张德生. *土壤动态生物研究法*. 北京: 科学出版社, 1982
- [16] Bardgett RD, Whitlaker JB, Frankland JC. The effect of collembolan grazing on fungal activity in differently managed upland pastures: a microcosm study. *Biol. Fertil. Soils*, 1993, 16 (4): 255-262
- [17] Lovell RD, Jarvis SC, Bardgett RD. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: effects of management changes. *Soil Biol. Biochem.*, 1995, 27 (7): 969-975
- [18] Wardle DA. A comparative assessment of factors which influence microbial biomass carbon and nitrogen levels in soil. *Biological Review*, 1992, 67: 321-358
- [19] 杨青华, 韩锦峰. 棉田不同覆盖方式对土壤微生物和酶活性的影响. *土壤学报*, 2005, 42 (2): 348-351
- [20] 何文寿. 设施农业中存在的土壤障碍及其对策研究进展. *土壤*, 2004, 36 (3): 235-242
- [21] Yang CM, Yang LZ and Yan TM. Chemical and microbiological parameters of paddy soil quality as affected by different nutrient and water regimes. *Pedosphere*, 2005, 15 (3): 369-378

Effects of Different Fertilization Treatments on Soil Microbial Biomass and Enzyme Activities in Hapli-Stagnic Anthrosols

LU Lei^{1,2}, LI Zhong-pei¹, CHE Yu-ping¹

(1 *Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China;*

2 *Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*)

Abstract: Soil microbial biomass and some enzyme activities in Hapli-Stagnic Anthrosols under different fertilization treatments were investigated by the incubation experiments in the laboratory. Soil microbial biomass C and N under chemical fertilizer application increased during the incubation period, while soil microbial biomass C increased in the early period of the incubation and then remained stable or decreased, and soil microbial biomass N increased generally under the treatments of chemical fertilizer mixed with organic manure. Soil urease activity under different treatments increased in the early period of the incubation and decreased lately, and acid phosphatase and invertase activities increased under chemical fertilizer application and decreased under the treatments of chemical fertilizer mixed with organic manure during the incubation. Compared with the CK (without fertilizer application), the chemical fertilizer application reduced significantly the soil microbial biomass and soil urease activity, especially under high amount of chemical fertilizer application, but influenced insignificantly acid phosphatase and invertase. Straw application increased significantly soil microbial biomass and enzyme activities, especially under high amount of straw application. However, the influence of pig manure on soil microbial biomass and enzyme activities was still uncertain because of high nutrient input with its application. It suggested that high amount of chemical fertilizer applied continuously is not favourable for the highly-intensified agriculture to maintain and increase soil biological quality, but straw directly-returned to soil may be an effective measure to maintain soil healthy state.

Key words: Incubation experiment, Fertilization, Soil microbial biomass, Enzyme activity, Hapli-Stagnic Anthrosols