

长期冬种绿肥对红壤性水稻土微生物特性及酶活性的影响^①

杨曾平^{1,2}, 高菊生³, 郑圣先^{2*}, 聂军², 徐明岗³, 谢坚², 廖育林²

(1 湖南农业大学资源与环境学院, 长沙 410128; 2 湖南省土壤肥料研究所, 长沙 410125;

3 中国农业科学院农业资源与区划研究所, 北京 100081)

摘要: 以农业部衡阳红壤环境重点野外科学观测基地长期冬种绿肥稻田为平台, 研究了双季稻种植区长期冬种绿肥下红壤性水稻土微生物特性及酶活性与土壤质量的关系, 阐明了长期冬种绿肥翻压下土壤健康的微生物指标功能。研究分析了 26 年冬种不同绿肥的红壤性水稻土微生物学参数之间的差异及其提升土壤肥力的作用, 结果表明, 与冬季休闲处理相比, 长期冬种绿肥翻压处理的微生物种群数量、微生物生物量碳 (SMBC)、微生物生物量氮 (SMBN)、土壤呼吸、脲酶、转化酶和脱氢酶活性都有所提高, 代谢熵 (qCO_2) 降低, 以长期冬种紫云英翻压处理效果最明显。微生物种群数量、SMBC、脲酶、脱氢酶与土壤总有机碳 (TOC)、全氮 (TN)、速效氮 (AN)、缓效钾 (SLK) 和速效钾 (AK) 呈显著或极显著相关; TOC, TN, AN, SLK, AK, 微生物种群数量, 脲酶、转化酶、脱氢酶活性与水稻产量呈显著正相关关系。长期冬种绿肥翻压能明显地改善红壤性水稻土的微生物特性与酶活性, 提高土壤肥力。

关键词: 长期试验; 绿肥; 水稻土; 微生物特性; 酶活性

中图分类号: S154.3

绿肥是一种养分完全的优质生物肥源, 在提供农作物所需养分、改善农田生态环境和防止侵蚀及污染方面均有良好作用。绿肥含有 15%~20% 的有机物, 翻压后可推动土壤有机质的矿化分解和土壤养分的循环与转化, 在提高土壤肥力和作物养分吸收中起着重要的作用, 减少了后作水稻化肥的施用量。翻压绿肥是保持和提高土壤质量及其可持续利用的农业措施之一。翻压的绿肥种类不同, 土壤微生物的种群、数量和活性不同, 导致土壤酶活性也不同, 而这些差异又会对土壤物理、化学和生物性质以及生产力产生重要影响。国内外学者对翻压绿肥下土壤生物和生物化学性质方面曾作过大量研究。王丽宏等^[1]的研究表明, 冬季种植黑麦草和紫云英对稻田土壤细菌、真菌和放线菌种群数量的影响明显。一些研究者证明, 翻压绿肥对稻田土壤中脲酶、蔗糖还原酶、磷酸酶和过氧化氢酶存在明显的促进作用^[2-5]。红壤性水稻土是在长期水耕熟化过程中, 经过一系列物理、化学和生物的作用而形成的一种人为水耕土, 相关研究受到长期重视, 但就目前而言, 长期施肥对土壤肥力、微生物性质的影响的研究较多, 而长期冬种不同绿肥对这种水稻土

微生物特性及酶活性的影响的研究很少。本研究以农业部衡阳红壤环境重点野外科学观测试验站红壤性水稻土为研究对象, 探讨长期冬种油菜、紫云英和黑麦草等绿肥对双季稻种植下红壤性水稻土微生物特性及酶活性的影响, 以期提升水稻土肥力和提高农田利用率提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点描述与试验设计

本研究在农业部衡阳红壤环境重点野外科学观测试验站的基地中进行。监测基地位于湖南省祁阳市, 地理位置 111°52'32"E, 26°45'42"N, 海拔 150~170 m。年平均温度为 17.8℃, 大于 10℃的积温为 5 648℃, 年降雨量 1 290 mm, 年日照 1 613 h, 年平均总辐射 4 549.38 MJ/m², 无霜期 293 天, 灾害性天气主要是 4—6 月的暴雨和 8—10 月期间的季节性干旱。

长期定位试验于 1982 年开始, 试验区种植制度主要为双季稻冬闲制度。土壤为第四纪红土发育的水稻土 (粉质轻黏土), 土壤分类为普通筒育水耕人为土。试验前土壤 (IS) (0~15 cm) 理化性质为: pH 6.6,

①基金项目: 公益性行业 (农业) 科研专项经费 (201103005) 和国际植物营养研究所 (IPNI) 项目 (Hunan-14) 资助。

* 通讯作者 (shengxianzheng@foxmail.com)

作者简介: 杨曾平 (1971—), 女, 湖南新晃人, 副研究员, 博士研究生, 主要从事植物营养与施肥的研究。E-mail: yzp55168@163.com

有机碳 (TOC) 13.09 g/kg, 全氮 (TN) 1.58 g/kg, 全磷 (TP) 0.82 g/kg, 全钾 (TK) 11.5 g/kg, 碱解氮 (AN) 156 mg/kg, 速效磷 (AP) 7.2 mg/kg, 速效钾 (AK) 75 mg/kg, 缓效钾 (SLK) 123 mg/kg。试验设有 4 个处理: ① 稻-稻-冬闲 (R-R-WF); ② 稻-稻-油菜 (R-R-RP); ③ 稻-稻-紫云英 (R-R-MV); ④ 稻-稻-黑麦草 (R-R-RG)。每处理重复 3 次, 随机区组排列, 小区面积 37.5 m² (2.5 m × 15.0 m)。每个小区之间用 60 cm 水泥埂隔开, 区组之间用水泥埂隔开。在 1982—2007 年期间, 早、晚稻每季水稻总施肥量 (基肥 + 追肥) 按 N 153.0 kg/hm², P₂O₅ 84.0 kg/hm², K₂O 129.0 kg/hm² 施入, 所有处理早、晚稻作基肥的化肥品种为复合肥 (日本产, N、P₂O₅、K₂O 养分含量分别为 14-14-14), 追肥为尿素 (N 69.0 kg/hm²) 和氯化钾 (K₂O 45.0 kg/hm²)。基肥于水稻移栽前施入, 追肥在移栽后 6 ~ 10 天时施入。冬季播种的绿肥作物品种为油菜、紫云英、黑麦草, 于每年晚稻收割前 10~15 天将种子撒于小区, 紫云英播种量为 37.5 kg/hm², 油菜播种量 7.5 kg/hm², 黑麦草播种量 15.0 kg/hm²。种植油菜、紫云英、黑麦草小区的鲜草在次年早稻移栽前 15 天全部翻压入各自的小区内。每季水稻收获后的稻草全部从小区移走 (稻桩除外)。冬种绿肥不施肥。水稻品种 (组合) 为常规水稻或杂交水稻。

1.2 土壤采样及样品处理

于 2007 年晚稻收获后采集土壤样品, 取样之前, 移走小区内的杂草和稻草残留物, 用不锈钢土钻从 4 个处理 (每处理 3 个重复) 共 12 个小区内随机采取 10 个点 0~15 cm 耕层土壤, 剔除石砾和植物残根等杂物, 混合制样后分成 2 份。一份立即装入塑料袋中, 松散扎紧以保证有足够的通气性和防止水分损失, 运回室内贮藏于 4℃ 冰箱内直至微生物和酶活性分析为止。另一份土壤经风干, 磨细, 过 1 mm 筛备化学分析之用。

1.3 测定方法

1.3.1 微生物和生物化学分析 土壤微生物数量采用固体平板法进行分离测定。细菌、真菌、放线菌分别用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、马丁氏培养基和改良高氏 1 号培养基进行选择培养, 稀释平板法计数^[6]。土壤微生物生物量碳 (SMBC)、氮 (SMBN) 采用氯仿熏蒸浸提测定法^[7]。土壤呼吸按照文献^[8]的方法测定。

脲酶活性按 Tabatabai^[9]的方法测定。称新鲜土 10 g, 加入 2 ml 甲苯, 10 ml 100 g/kg 尿素溶液和 20 ml

pH 6.8 柠檬酸-磷酸缓冲液, 于 38℃ 下培养 3 h。培养结束后, 用 38℃ 水稀释至 100 ml, 摇荡, 过滤, 测定 400 nm 处的吸光度。脲酶活性按释放 NH₃-N mg/(kg·3h) 表示。

转化酶按 Tabatabai^[9]的方法测定。称取 3 g 新鲜土壤 (<2 mm) 于 50 ml 离心管中, 加 2 ml 甲苯, 10 min 后加 10 ml 10 g/kg 蔗糖溶液, 于 37℃ 恒温箱中培养 7 天后离心。取 1 ml 上清液加 3 ml 95% 乙醇和 1 滴 10 g/kg 氯化钙溶液, 离心。倾去上清液, 沉淀重新溶于 1 ml 去离子水中, 反复进行 3~4 次。最后将沉淀转移至 60~70℃ 水浴上, 蒸干, 冷却后, 溶于 2 ml 煮沸的去离子水中。取 0.5 ml 该溶液移于比色管中, 加 5 ml 酸性试剂和 1 ml 间苯二酚溶液, 塞紧后在沸水浴加热 12 min, 冷却后测定 450 nm 处的吸光度。转化酶活性按转化果糖 mg/(g·7d) 表示。

脱氢酶按 Casida 等^[10]的方法测定。称取 20 g 新鲜土壤, 加入 0.2 g CaCO₃、2 ml 10 g/kg 三苯基四氮氯化物, 于 30℃ 培养 24 h。培养结束后, 加入 25 ml 甲醇, 摇匀, 过滤。残渣用少量甲醇洗涤数次, 直到滤液无色。合并滤液及洗液, 定容至 50 ml, 测定 460 nm 处的吸光度。脱氢酶活性按释放 H⁺ ml/(kg·d) 表示。

1.3.2 化学分析 土壤化学性质采用常规分析法测定^[11]。pH 值用 5:1 水土比浸提测定; TOC 用重铬酸钾容量法测定; TN 用浓硫酸消煮-凯氏定氮法测定; AN 用碱解扩散法测定; TP 用氢氧化钠熔融-钼锑抗比色法测定; AP 用 NaHCO₃ 浸提-钼锑抗比色法测定; TK 用氢氧化钠熔融-火焰光度法测定; AK 用 NH₄OAc 浸提-火焰光度法测定; SLK 用硝酸煮沸浸提-火焰光度法测定。

1.4 统计分析

数据经 Excel2003 整理后, 采用 SPSS13.0 软件进行方差 (One-way ANOVA) 分析, 不同处理之间多重比较采用 Duncan 新复极差方法, 然后经过 t 检验 (p < 0.05)。绘图用 Excel2003 完成。

2 结果与分析

2.1 长期冬种绿肥对红壤性水稻土微生物种群数量的影响

土壤微生物是土壤有机无机复合体的重要组成部分, 其数量直接影响土壤的生物化学活性及土壤养分的组成与转化, 是土壤肥力的重要指标之一^[12]。连续 26 年种植水稻后, 不同处理耕层土壤的细菌数量存在很大差异。长期冬种绿肥翻压处理土壤细菌数量均高

于冬季休闲处理(图 1)。在长期冬种绿肥翻压处理中,以 R-R-MV 处理对土壤细菌数量的增加效果最明显,其次是 R-R-RP 和 R-R-RG 处理。尽管土壤中的真菌数量不及细菌多,各处理中,土壤真菌数量趋势与细菌数量大体一致,长期冬种绿肥翻压处理的真菌数量均高于冬季休闲处理。土壤放线菌数量介于细菌和真菌之间。同样,长期冬种绿肥翻压处理土壤放线菌数量高于冬季休闲处理,但增幅因不同绿肥翻压处理而异。R-R-MV 处理土壤放线菌数量的增幅高于 R-R-RP 和

R-R-RG 处理。

从微生物种群组成来看,不同绿肥翻压处理的细菌、真菌和放线菌在总微生物数量中所占比例不同,R-R-RG 处理的细菌数量占微生物总量的 97.8%,放线菌占 2.1%,真菌最少,仅占 0.10%;R-R-RP 处理的细菌、放线菌和真菌占总微生物数量中的比例分别为 96.6%、3.3% 和 0.05%;R-R-MV 处理的放线菌和真菌的比例有所增大,而细菌所占比例减小,细菌、放线菌和真菌所占比例分别为 95.8%、4.1% 和 0.11%。

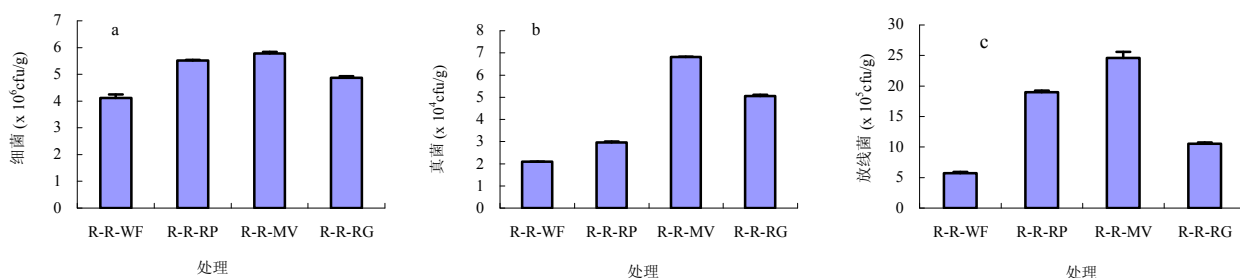


图 1 长期冬种绿肥对红壤性水稻土微生物数量的影响(图中误差线代表的数值为 SD,下同。)

Fig. 1 Effects of long-term winter planting-green manure on amounts of soil microbe of reddish paddy soil

2.2 长期冬种绿肥对红壤性水稻土土壤微生物生物量、土壤呼吸和微生物熵的影响

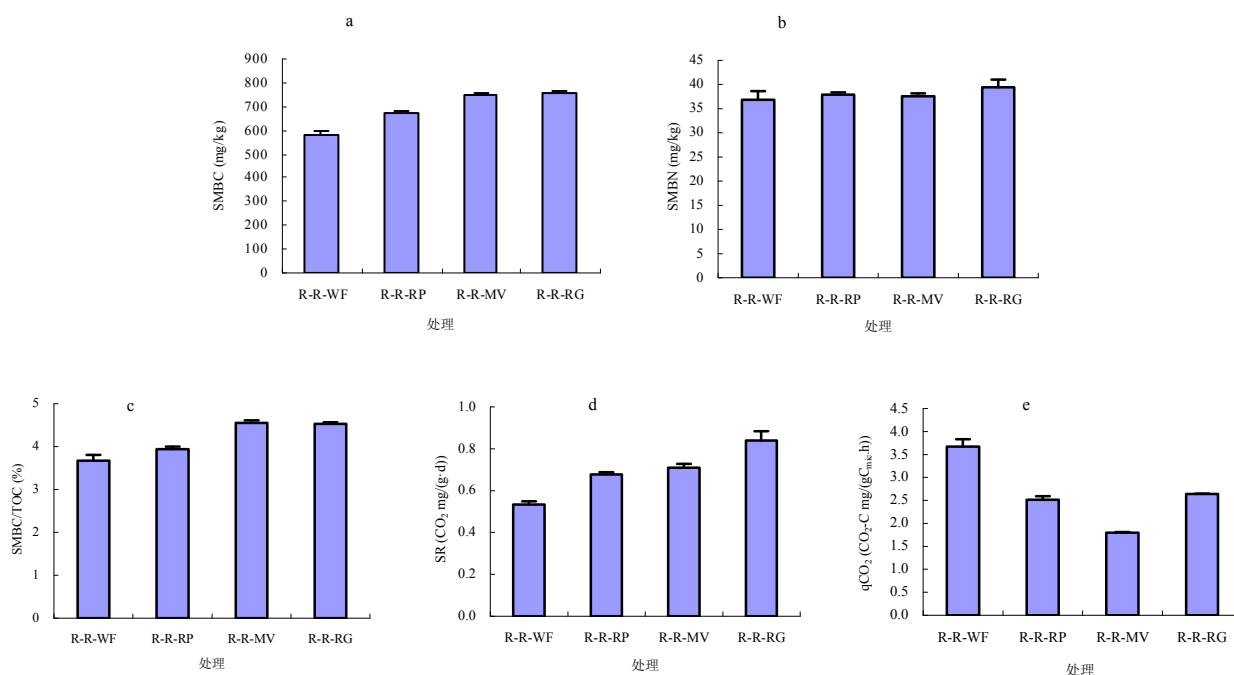
土壤微生物生物量的高低反映了土壤同化和矿化能力的大小,是土壤生态系统肥力的重要生物学指标^[7,13]。从图 2a 可见,在 26 年连续双季稻冬闲后,红壤性水稻土维持较低的 SMBC。在不同处理中,冬种绿肥翻压处理的 SMBC 含量显著高于冬季休闲处理。在长期冬种绿肥翻压的 3 个处理中,R-R-MV 和 R-R-RG 处理的 SMBC 含量显著高于 R-R-RP 处理(图 2b),差异达到 $p < 0.05$ 显著水平。冬种绿肥翻压处理耕层 SMBN 含量均高于 R-R-WF 处理。R-R-MV、R-R-RP 和 R-R-RG 处理耕层土壤的 SMBN 含量分别为 37.81、38.57 和 38.19 mg/kg。本研究表明,试验土壤 SMBC、SMBN 含量随土壤 TOC 含量的增加而增加,它们所反映出与微生物种群数量的变化趋势是基本一致的。水稻土长期施用绿肥有利于提高土壤 SMBC、SMBN 含量,这与其他研究者的结果相符^[14-16]。

土壤微生物量碳占土壤有机碳含量的百分比称为微生物熵(SMBC/TOC),一般土壤中的微生物熵值为 1% ~ 4%^[17]。本研究表明,所有不同处理中土壤 SMBC/TOC 范围介于 3.67% ~ 4.55% 之间(图 2c)。冬种绿肥翻压处理 SMBC/TOC 显著高于 R-R-WF 处理,主要是因为长期冬种绿肥翻压入土壤可以增加土

壤有机碳,增加水稻地上部和地下部生物产量,改善土壤物理、化学和生物环境,提高土壤微生物活性,有利于土壤碳的“源”和“汇”。R-R-MV 处理的 SMBC/TOC 最大,其次是 R-R-RG 处理,二者处理的差异不明显,但二者显著高于 R-R-RP 处理,且差异达到 $p < 0.05$ 显著水平。

不同处理间的土壤呼吸(SR)表现出明显差异(图 2d)。3 个长期冬种绿肥翻压处理的 SR 分别较 R-R-WF 处理增加了 26.9%、33.1% 和 57.5%,差异达到 $p < 0.01$ 的极显著水平。上述结果说明,长期冬种绿肥翻压入土对增加 SR 起着重要作用。

代谢熵(qCO_2)是基础呼吸除以土壤微生物生物量碳之商,可作为土壤微生物生理状况的指标。 qCO_2 值的变化能够反映土壤微生物种群利用土壤有机成分的效率。 qCO_2 值降低表明 SMBC 的利用效率高^[18]。本研究表明,3 个长期冬种绿肥翻压处理的 qCO_2 值都低于长期双季稻冬闲处理(图 2e)。长期双季稻冬闲处理的 qCO_2 值最高,主要原因是微生物生活在长期饥饿胁迫条件下,需要消耗用于生长和生产的能量来维持生存,另外原因是由于土壤中细菌/真菌数量比例发生了变化的缘故^[19]。本研究发现不同生产力水稻土的微生物熵(SMBC/TOC)与 qCO_2 成反比关系。这与 Böhme 等^[19]和 Alvarez 等^[20]结果基本吻合。

图2 长期冬种绿肥对红壤性水稻 SMBC、SMBN、SMBC/TOC、SR 和 qCO₂ 的影响Fig. 2 Effects of long-term winter planting-green manure on SMBC, SMBN, SMBC/TOC, SR and qCO₂ of reddish paddy soil

2.3 长期冬种绿肥对红壤性水稻土土壤酶活性的影响

土壤酶来自微生物、植物和动物的活体或残体，通过催化土壤中的生化反应发挥重要作用。土壤酶的活性是土壤生物活性和土壤肥力的重要指标^[7]。本研究结果表明，长期冬种绿肥翻压处理能明显提高土壤脲酶活性，特别是翻压 C/N 比适中、含养分丰富的紫云英绿肥（图 3a）。从绿肥的种类来看，长期翻压紫云英处理（R-R-MV）土壤中的脲酶活性高于长期翻压黑麦草（R-R-RG）和油菜（R-R-RP）处理。R-R-RG 处理的脲酶活性高于 R-R-RP 处理。

R-R-MV 和 R-R-RP 处理土壤脱氢酶活性显著高

于 R-R-WF 处理，R-R-RG 处理略高于 R-R-WF 处理（图3b）。方差分析表明，R-R-MV 和 R-R-RP 处理与 R-R-WF 处理的差异均达到 $p < 0.01$ 显著水平，R-R-RG 与 R-R-WF 处理的差异未达到显著水平 ($p > 0.05$)。

长期冬种绿肥翻压处理中的土壤转化酶活性均高于 R-R-WF 处理，尤以 R-R-MV 处理对转化酶活性的增加效果显著。R-R-RP 和 R-R-RG 处理对提高转化酶活性也有明显作用（图3c），这是由于长期翻压 C/N 比适中的新鲜紫云英、黑麦草和油菜可为转化酶提供更多的酶促基质，提高了酶活性，从而加快了有机质的转化。

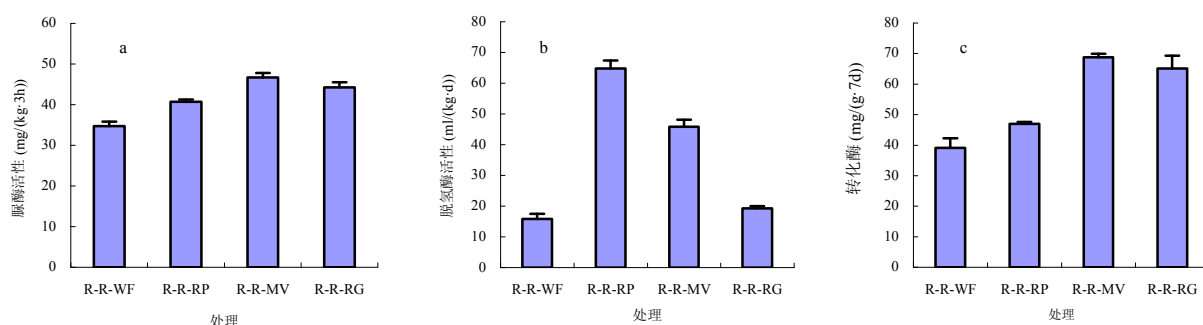


图3 长期冬种绿肥对红壤性水稻土酶活性的影响

Fig. 3 Effects of long-term winter planting-green manure on soil enzyme activity of reddish paddy soil

2.4 长期冬种绿肥对红壤性水稻土土壤化学性质和水稻产量的影响

不同处理下耕层土壤化学性质和水稻产量见表 1。R-R-RP、R-R-MV 和 R-R-RG 处理耕层土壤 TOC 含量分别较 R-R-WF 处理增加 8.0%、4.8% 和 6.7%，差异分别达到显著 ($p < 0.05$) 或极显著 ($p < 0.01$) 水平。3 个长期翻压绿肥处理土壤的 TN 含量也明显高于 R-R-WF 处理，说明长期种植绿肥翻压入土壤能增加土壤有机碳，刺激土壤生物氮的固定，从而使土壤氮含量增加^[21]。另外，长期翻压绿肥处理的水稻地上部或地下部生物量高，残留土壤

中的根系也有利于土壤有机碳和氮含量的提高。不同处理土壤的 AN 与 TN 含量呈现一致的趋势，而 R-R-MV 处理的土壤 TOC/TN 比低于 R-R-RG 和 R-R-RP 处理，这可能是紫云英的 C/N 比 (12.0) 比低于油菜 (26.4) 和黑麦草 (20.2) 所致^[22]。长期冬种绿肥翻压处理中土壤 SLK 与 AK 含量与 R-R-WF 处理相比明显增加，SLK 与 AK 含量趋势大体一致。无论是 2007 年水稻产量还是 26 年的水稻平均产量，3 个绿肥处理明显高于冬闲处理，以 R-R-MV 处理产量为最高。冬种绿肥尤其是紫云英对水稻有明显的增产作用。

表 1 长期冬种绿肥下红壤性水稻土化学性质及水稻产量

Table 1 Soil chemical properties and rice yields of reddish paddy soil with long-term winter planting-green manure

处理	TOC (g/kg)	TN (g/kg)	AN (mg/kg)	SLK (mg/kg)	AK (mg/kg)	2007 年 产量(t/hm ²)	26 年 平均产量(t/hm ²)
R-R-WF	15.71 cC	1.79 cC	158.00 cC	146.57 dC	46.59 dC	8.67 cB	8.65 cC
R-R-RP	16.97 aA	1.88 bB	168.00 bB	179.70 aA	79.68 aA	9.69 abA	9.55 bB
R-R-MV	16.46 bB	1.95 aA	183.00 aA	176.63 bA	76.62 bA	9.98 aA	10.12 aA
R-R-RG	16.77 aAB	1.86 bB	159.03 cC	163.00 cB	63.24 cB	9.31b AB	9.62 bB

注：表中同列数据后不同大、小写字母分别表示差异显著性达到 $p < 0.01$ 和 $p < 0.05$ 水平。

2.5 土壤微生物学特性与土壤化学性质和水稻产量的相关性

本研究结果表明，3 个长期冬种绿肥翻压处理较 R-R-WF 处理的土壤微生物特性、土壤酶活性和土壤化学性质都有明显的改善或提高。除 SMBN 和转化酶外，这些指标在不同处理间的变化趋势基本一致，说明它们之间存在相关性。相关分析 (表 2) 显示，微生物种群数量、SMBC、脲酶、脱氢酶与 TOC、TN、AN、SLK 和 AK 呈显著或极显著相关。 qCO_2 与 TN、AN、SLK 和 AK 呈极显著相关，与 TOC 呈显著相关。长期冬种绿肥翻压处理 qCO_2 的降低说明其土壤 SMBC 的利用率高^[19]。

作物产量受多种因素的影响。土壤养分的协调供应有利于维持较高的土壤肥力，促进作物生长，提高作物产量。土壤微生物几乎与所有的土壤过程直接或间接相关，对作物养分吸收和产量形成有重要影响。从土壤微生物学特性看，细菌、真菌、放线菌、SMBC 和 qCO_2 与 2007 年的水稻产量和 26 年平均水稻产量的相关性呈极显著相关。从土壤酶活性来看，脲酶、转化酶、脱氢酶与 2007 年的水稻产量和 26 年平均水稻产量相关性分别达到显著

或极显著相关水平。SMBN 与 2007 年的水稻产量和 26 年平均水稻产量相关性均未达到显著水平 (表 2)。

3 讨论

在环境方面，作物残体、农家肥和绿肥管理施用对可持续农业起着越来越重要的影响^[23-24]。水稻土在稻草长期被移走的情况下，土壤微生物食源往往不足，土壤微生物数量在不同生态环境及季节的变异主要与能源的供应有关^[18]。施用有机物料可使土壤微生物量发生变化，从而可以通过土壤微生物量高低来确定施肥对土壤肥力的影响。本研究证明，长期双季稻的条件下，冬种绿肥翻压入土能明显提高土壤微生物种群数量，其幅度为冬种紫云英处理高于冬种油菜和黑麦草处理。这与王丽宏等^[1]对红黄泥水稻土的研究结果一致，他们的结论是冬种紫云英和黑麦草可提高土壤好气性细菌、真菌和放线菌的数量；也与 Dick^[25]证明的施用绿肥有利于维持土壤微生物的多样性和活性的结论一致。本研究认为，长期冬种绿肥不仅直接增加地上部和根系生物量及根系分泌物，促进了微生物生长，同时绿肥翻压入土后不但增加了土壤养分，同时

表 2 长期冬种绿肥翻压条件下土壤微生物特性与土壤化学性质和水稻产量的相关关系

Table 2 Correlation coefficients between soil microbial properties and soil chemical properties、rice yield under long-term winter planting-green manure

	TOC	TN	AN	SLK	AK	2007 年产量	26 年平均产量
细菌	0.704**	0.901**	0.821**	0.968**	0.968*	0.863**	0.894**
真菌	0.337	0.855**	0.670**	0.507	0.510	0.648*	0.865**
放线菌	0.536*	0.924**	0.919**	0.910**	0.908**	0.844**	0.859**
SMBC	0.656*	0.778**	0.466	0.601*	0.607*	0.651*	0.837**
SMBN	0.501	0.105	0.215	0.145	0.151	0.084	0.297
qCO ₂	0.627*	0.976**	0.842**	0.869**	0.870*	0.875**	0.960**
脲酶	0.593*	0.871**	0.647*	0.690*	0.692*	0.795**	0.930**
转化酶	0.473	0.770**	0.528	0.477	0.481	0.565	0.803**
脱氢酶	0.619*	0.575*	0.615*	0.889**	0.885**	0.689**	0.635*

注: *、** 分别表示达到 $p < 0.05$ 和 $p < 0.01$ 显著相关水平, 样本数 $n = 12$ 。

也为微生物提供了充足的碳源, 土壤微生物种群数量高于冬闲处理。另外, 长期冬种绿肥次年翻压处理的双季稻地上部生物量和地下部根系量明显高于长期双季稻冬闲处理, 从而也导致了耕层土壤中 SMBC 和 SMBN 含量高于长期双季稻冬闲处理, 并且长期双季稻冬种绿肥处理可明显提高微生物熵, 这也与 Dick^[25] 的研究结果一致。本研究发现, 长期双季稻冬闲处理的土壤微生物生物量碳库比有机碳的下降速率快, 微生物熵也随之下落。长期冬种绿肥处理增加 SMBC 和 SMBN 含量的效果最明显, 主要原因是冬种紫云英处理的地上部和地下部根系生物量大, 更有利于改善土壤化学和生物环境, 有利于土壤 TOC 的累积和 SMBC 的增加。

Dilly 和 Munch^[17] 证明, qCO₂ 值的降低表明土壤 SMBC 利用效率高。本研究表明, 4 个不同处理中, 长期双季稻冬闲处理土壤其 qCO₂ 值最高, 而在 3 个长期冬种绿肥处理小区中, 长期冬种绿肥处理土壤的 qCO₂ 值最低, 并且 SMBC/TOC 值最高, 表明其土壤微生物利用土壤养分效率高。Odum^[26] 认为生物为了恢复由于干扰造成的破坏, 需要消耗大量用于生长和生产的能量来维持生存。qCO₂ 值升高表明土壤微生物活性降低及土壤养分利用效率下降, 另外由于土壤中细菌/真菌数量比例发生改变^[17]。本研究中长期双季稻冬闲处理土壤的 qCO₂ 最高, 长期冬种绿肥处理的 qCO₂ 低, 可见长期冬种绿肥, 尤其是冬种紫云英绿肥可为土壤微生物提供有效的营养。

土壤酶主要来自于土壤微生物代谢过程和土壤动物、根系产生或残体分解。土壤中一切生化反应都是在土壤酶的参与下完成的, 土壤酶活性的高低能反映

出土壤生物活性和土壤生化反应强度^[27], 土壤酶活性常被作为土壤质量的重要指标来研究^[28]。长期冬种绿肥对土壤酶产生不同的影响, 其主要原因可能是长期不同冬种绿肥种类导致土壤微生物生物量、区系组成以及代谢过程改变, 从而使得主要由土壤微生物产生的土壤酶的活性发生变化。长期双季稻冬闲处理土壤的脲酶、转化酶和脱氢酶活性低于长期双季稻冬种绿肥处理土壤。在 3 个冬种绿肥土壤中, 长期双季稻冬种油菜处理土壤的脲酶和转化酶活性低于长期冬种紫云英和黑麦草处理, 它可能是由于冬种油菜翻压处理的土壤 C/N 值较高, 不利于提高这两种酶的活性; 长期冬种紫云英翻压处理土壤中脲酶、转化酶和脱氢酶的活性高于油菜、黑麦草翻压处理, 说明双季稻冬种豆科绿肥紫云英能提高土壤酶的活性, 这可能是豆科绿肥紫云英根系可以释放较多的酶, 并给土壤留下了更多富含氮的有机残体, 后者在土壤中分解后, 使土壤含有较多的氮素及其他化合物, 促进了土壤生物学活性的增强。

综上所述, 长期冬种绿肥后, 不同处理土壤中微生物特性和酶活性具有较大差异。这说明长期冬种绿肥处理对这些性质有较大影响。相关分析表明, 微生物种群数量、SMBC 和 SMBN, 脲酶和脱氢酶与土壤 TOC、TN、AN、SLK 和 AK 呈密切相关。细菌、真菌、放线菌、SMBC 和 qCO₂ 与水稻产量呈极显著相关。这说明, 这些土壤微生物特性可作为评价红壤水稻土健康质量和可持续性发展的预测指标。长期种植双季稻条件下, 冬种绿肥有利于改善土壤微生物学特性和土壤微域生态环境。从长远来看, 在我国南方长江中下游集约化双季稻种植区, 长期冬种绿肥次年翻

压能提高水稻土生产力。关于冬种绿肥土壤微生物学特性的动态变化对土壤物理质量的影响有待于进一步研究。

4 结论

(1) 长期双季稻冬种绿肥, 可显著增加土壤细菌、真菌和放线菌, 不仅土壤微生物种群数量高于长期双季稻冬闲处理, SMBC 和 SR 也显著高于长期双季稻冬闲处理, 而 qCO_2 低于长期双季稻冬闲处理。长期双季稻冬种绿肥可以保持和提高土壤的微生物学特性, 提高土壤的生物特性。

(2) 长期冬种油菜、紫云英和黑麦草在增强酶活性方面存在差异。总体来看, 长期冬种紫云英处理的土壤脲酶、转化酶和脱氢酶活性高于长期冬种油菜和黑麦草处理, 说明长期冬种紫云英翻压入土可为水稻稳产高产创造更好的生物化学环境。

(3) 微生物种群数量、微生物生物量、脲酶、脱氢酶与土壤 TOC、TN、AN、SLK 和 AK 呈密切相关。细菌、真菌、放线菌、SMBC 和 qCO_2 与水稻产量呈极显著相关。这说明, 这些土壤微生物特性可作为评价红壤水稻土健康质量和可持续发展的预测指标。长期双季稻冬种绿肥条件下土壤微生物学特性的改变主要是由于长期双季稻冬种绿肥下改善了土壤微域的生境条件所致。

参考文献:

- [1] 王丽宏, 曾昭海, 杨光立, 叶桃林, 胡跃高. 前茬冬季覆盖作物对稻田土壤的生物特征影响. 水土保持学报, 2007, 21(1): 164-167
- [2] 姜培坤, 徐秋芳, 周国模, 郭奇峰, 吴家森. 种植绿肥对板栗林土壤养分和生物学性质的影响. 北京林业大学学报, 2007, 29(3): 120-123
- [3] 辛国荣, 岳朝阳, 李雪梅, 杨中艺. “黑麦草-水稻”草田轮作系统的根际效应 3. 黑麦草根系对土壤生物性状的影响. 中山大学学报(自然科学版), 1998, 37(6): 94-96
- [4] 岳永华, 杨瑞吉, 牛俊义, 高玉红. 复种饲料油菜对麦茬耕层土壤酶活性的影响. 草业学报, 2007, 16(6): 47-53
- [5] 马承豪, 叶家颖, 邓业成. 石灰性烂泥田冬种紫云英对土壤酶活性的研究. 广西师范大学学报(自然科学版), 1998, 16(3): 85-88
- [6] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法. 北京: 科学出版社, 1985: 54-179
- [7] 吴金水, 林启美, 黄巧云, 肖和艾. 土壤微生物生物量测定方法及其应用. 北京: 气象出版社, 2006: 65-74
- [8] Anderson JPE. Soil respiration // Page AL, Miller RH, Keeney DR. Methods of Soil Analysis. Part 2. Madison, WI: Soil Science Society of America, 1982: 831-872
- [9] Tabatabai MA. Soil enzymes // Page AL, Miller RH, Keeney DR. Methods of Soil Analysis. Part 2. Madison, WI: Soil Science Society of America, 1982: 903-948
- [10] Casida JLE, Klein DA, Santoro T. Soil dehydrogenase activity. Soil Science, 1964, 98(6): 371-376
- [11] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000
- [12] 孙波, 赵其国, 张桃林, 俞慎. 土壤质量与持续环境. III: 土壤质量评价的生物学指标. 土壤, 1997, 29(5): 225-234
- [13] 刘明, 李忠佩, 张桃林. 不同利用方式下红壤微生物生物量及代谢功能多样性的变化. 土壤, 2009, 41(5): 744-748
- [14] 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): 90-96
- [15] 王岩, 蔡大同, 史瑞和. 土壤生物量-碳和-氮与土壤有机碳、氮及施肥的关系. 南京农业大学学报, 1993, 16(3): 59-63
- [16] Anderson TH, Domsch KH. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils. Soil Biology and Biochemistry, 1989, 21(4): 471-479
- [17] Dilly O, Munch JC. Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* L. Gaertn) forest. Soil Biology and Biochemistry, 1996, 28(8): 1 073-1 081
- [18] 鲁艳红, 杨曾平, 郑圣先, 廖育林, 聂军, 谢坚, 向艳文. 长期施用化肥、猪粪和稻草对红壤水稻土化学和生物化学性质的影响. 应用生态学报, 2010, 21(4): 921-929
- [19] Böhme L, Langer U, Böhme F. Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2005, 109: 141-152
- [20] Alvarez R, Diaz RA, Barbero N, Santanatoglia OJ, Blotta L. Soil organic C, microbial biomass and CO_2 -C production from three tillage system. Soil Tillage Research, 1995, 33(1): 17-28
- [21] Ladha JK, Dawe D, Ventura TS, Singh U, Ventura W, Watanabe I. Long-Term Effects of Urea and Green Manure on Rice Yields and Nitrogen Balance. Soil Science Society of America Journal, 2000, 64: 1 993-2 001
- [22] 沈洁, 陆炳章, 陈正斌, 崔芳. 绿肥对土壤有机质的影响. 土壤, 1989, 21(1): 32-34
- [23] Timima J, Commor DJ. Productivity and management of rice-wheat cropping systems: issues and challenges. Field Crop Research, 2001, 69: 93-132

- [24] Zhang MK, Fang LP. Effect of tillage, fertilizer and green manure cropping on soil quality at an abandoned brick making site. *Soil & Tillage Research*, 2007, 93: 87–93
- [25] Dick RP. A review: Long-term effect of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agricultural, Ecosystem and Environment*, 1992, 40: 25–36
- [26] Odum E. Trends expected in stressed ecosystems. *Biology Science*, 1985, 35: 419–422
- [27] Mersi W, Schimmer F. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodomitrotetrazolium chloride. *Biology and Fertility of soils*, 1991, 11: 216–220
- [28] 李娟, 赵秉强, 李秀英, Hwat BS. 长期有机无机肥料配施对土壤微生物学特性及土壤肥力的影响. *中国农业科学*, 2008, 41(1): 144–152

Effects of Long-term Winter Planting-green Manure on Microbial Properties and Enzyme Activities in Reddish Paddy Soil

YANG Zeng-ping^{1,2}, GAO Ju-sheng³, ZHENG Sheng-xian², NIE Jun², XU Ming-gang³, XIE Jian², LIAO Yu-lin²

(1 College of Resources and Environment, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2 Soil and Fertilizer Institute of Hunan Province, Changsha 410125, China; 3 Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: Soil health is important of the sustainable development of paddy soil ecosystem. In this study, the relationship between soil quality and microbial properties, enzyme activities in reddish paddy soil (a Typic Haplic-Stagnic Anthrosis) was studied in order to illustrate the microbial properties as the indicators of soil health. Microbial parameters with different winter-planting green manure experimental plots were analyzed based on a 26-year of long-term experiment in the Key Field Monitoring Experimental Station for Red Soil Eco-environment of Ministry of Agriculture, Qiyang County of Hunan Province, China. Four treatments were established in 1982, i.e., rice-rice-winter fallow (R-R-WF), rice-rice-rape (R-R-RP), rice-rice-Chinese milk vetch (R-R-MV), rice-rice-ryegrass (R-R-RG). The results showed that the amounts of microbial population, microbial biomass carbon (SMBC), microbial biomass nitrogen (SMBN), soil respiration, activities of urease, Inverstase and dehydrogenase increased and metabolic quotient (qCO_2) decreased in long-term winter planting green manure incorporation treatments. The microbial characteristics in treatments with long-term winter planting green manure incorporation were significantly improved as compared with the winter fallow treatment; all these properties in treatment with winter planting Chinese milk vetch were most obvious. In the meantime, the amounts of microbial populations, SMBC, urease and dehydrogenase were positively correlated with TOC, TN, AN, SLK and AK; TOC, TN, AN, SLK, AK, bacterium, fungi, actinomycetes, urease, Inverstase and dehydrogenase were positively correlated with rice yield. Long-term winter planting green manure incorporation could significantly improve soil microbial properties and enzyme activities, which is an effective measure to improve soil health and soil fertility in the Typic Haplic-Stagnic Anthrosis.

Key words: Long-term experiment, Green manure, Paddy soil, Microbial properties, Enzyme activities