

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2023.05.012

刘威, 陈小龙, 赵园园, 等. 有机肥施用对植烟土壤氮素矿化及土壤酶和微生物群落的影响. 土壤, 2023, 55(5): 1025–1034.

有机肥施用对植烟土壤氮素矿化及土壤酶和微生物群落的影响^①

刘威¹, 陈小龙², 赵园园¹, 王德勋³, 谢天琪², 吕建国², 金东峰², 史宏志^{1*}

(1 河南农业大学烟草学院/烟草农业减害研究中心/烟草行业烟草栽培重点实验室, 郑州 450002; 2 河南中烟工业有限公司, 郑州 450016; 3 云南省烟草公司大理州公司, 云南大理 671000)

摘要:为探索不同有机肥对植烟土壤氮素矿化及土壤微生态的影响。在等氮(100 mg/kg)投入和 30 °C 条件下对施入不同有机肥(植物源有机肥、芝麻饼肥、生物质炭有机肥)的土壤进行室内培养, 分析不同时期土壤 NO₃-N 和 NH₄⁺-N 含量、土壤酶活性及细菌群落多样性的变化。结果表明: 施用不同有机肥均可提高土壤矿质氮含量, 在培养前期以饼肥矿化量最高, 矿化速率最快, 而后期为生物质炭有机肥处理的氮素矿化量、矿化速率高于其他处理; 施用生物质炭有机肥、植物源有机肥均可显著提高土壤脲酶、硝酸还原酶活性, 芝麻饼肥对蛋白酶、蔗糖酶活性有显著的提升作用; 相较不施有机肥处理, 添加不同有机肥的土壤细菌多样性明显提升。优势菌门为变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、浮霉菌门, 优势菌属为 *Sphingomonas*、*RB41*, *Sphingomonas* 在不施有机肥处理中最高, *RB41* 在生物质炭有机肥处理中最高。*Sphingomonas* 与蔗糖酶活性呈正相关关系, 与脲酶、硝酸还原酶均呈负相关关系; PCA 分析显示, 生物质炭有机肥处理的细菌群落结构与其他处理相比差异较大。施用芝麻饼肥有利于促进早期氮素矿化, 提高矿化量, 而生物质炭有机肥后期矿化量较大且矿化速率较快, 土壤细菌多样性及丰富度也最高。

关键词: 有机肥; 植烟土壤; 氮素矿化; 土壤酶活性; 土壤细菌群落

中图分类号: S141; S153; S154 **文献标志码:** A

Effects of Organic Fertilizers on Nitrogen Mineralization, Soil Enzyme Activities and Microbial Communities in Tobacco-planting Soil

LIU Wei¹, CHEN Xiaolong², ZHAO Yuanyuan¹, WANG Dexun³, XIE Tianqi², LÜ Jianguo², JIN Dongfeng², SHI Hongzhi^{1*}

(1 College of Tobacco Science / Research Center for Tobacco Harm Reduction / Tobacco Cultivation Key Laboratory of China Tobacco, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2 Henan China Tobacco Industry Co., Ltd., Zhengzhou 450016, China; 3 Dali Branch of Yunnan Tobacco Company, Dali, Yunnan 671000, China)

Abstract: In order to explore the effects of different organic fertilizers on nitrogen mineralization, soil enzyme activities and soil microbial communities in tobacco-planting soil, a lab culture experiment was conducted with different organic fertilizers (plant-source organic fertilizer, sesame cake fertilizer, biochar organic fertilizer) under the condition of equal nitrogen (100 mg/kg) input and 30 °C, the changes of nitrate nitrogen and ammonium nitrogen contents, soil enzyme activities and bacterial community diversities were analyzed in different culture periods. The results show that different organic fertilizers increase soil mineral nitrogen content, nitrogen mineralization amount and rate are the highest under cake fertilizer in the early culture stage, while the highest under biochar organic fertilizer in the later culture stage. Biochar and plant-source organic fertilizers significantly improve the activities of soil urease and nitrate reductase, while sesame cake fertilizer significantly improves the activities of protease and sucrase. Compared with no organic fertilizer treatment (CK), organic fertilizers significantly increase soil bacterial diversity, the dominant bacteria phyla are Proteobacteria, Acidobacteria, Bacteroidetes and Planctomycetes, and the dominant bacteria genera are *Sphingomonas* and *RB41*. *Sphingomonas* is the highest under CK, while *RB41* is the highest under biocarbon organic fertilizer. *Sphingomonas* is positively correlated with sucrase activity, but negatively correlated with urease and nitrate reductase activities. Bacterial community structure under biochar organic fertilizer is significantly different from those of other

①基金项目: 河南中烟工业有限责任公司项目(2021410000340260)、广西中烟工业有限责任公司项目(2021450000340021)和中国烟草总公司云南省公司科技项目(2022530000241015)资助。

* 通讯作者(shihongzhi88@163.com)

作者简介: 刘威(1998—), 女, 山东烟台人, 硕士研究生, 主要从事烟草栽培生理研究。E-mail: 1185850397@qq.com

treatments. In conclusion, sesame cake fertilizer and biochar organic fertilizer are beneficial to promote nitrogen mineralization in early and late stages and increase the amount of nitrogen mineralization, respectively, and the latter also has the highest the diversity and richness of soil bacteria.

Key words: Organic fertilizer; Tobacco-planting soil; Nitrogen mineralization; Soil enzyme activity; Soil bacterial community

在我国烟草生产过程中,长期过量施用化肥现象较为严重,导致植烟土壤有机质含量下降,土壤结构不良,生物活性降低,肥力水平下降,难以满足优质烟叶生产所需的土壤环境和营养条件^[1],不利于烟叶品质的提升。目前,土壤有机培肥引起了各地的重视,有机态氮是有机肥中氮素存在的主要形式,需经过矿化后才能被烟草吸收利用^[2]。土壤氮转化酶作为矿化过程的主要生物催化剂^[3],其活性高低可以反映土壤中氮素代谢的旺盛程度、土壤氮素转化及供给能力的强弱,进而能在一定程度上反映植物对氮素的吸收利用状况^[4]。氮矿化相关功能微生物主要通过相关功能基因的表达来影响各过程中关键酶的合成,来调控土壤氮矿化过程^[5]。不同有机肥能改变土壤微生物生长所需能量物质的数量和质量,进而调控土壤微生物群落的结构和代谢功能,导致氮素矿化特征的差异^[6]。有机肥的施用改变了土壤氮素形态结构和氮库特征,对烟株氮素供应强度和动态会产生显著影响,认识不同有机肥氮素矿化规律对于合理选择和施用有机肥,科学调整无机氮施用量,促进土壤氮素供应与烟株需肥规律相吻合具有重要意义。目前,关于有机肥提高烟叶品质的研究多集中在其种类、施用方式及施用量等方面,由于对有机培肥后土壤氮素矿化规律认识不足,施用有机肥的烟田常出现氮素动态供应不合理,

后期供氮滞后等问题,影响了有机肥施用效果。鉴于此,本研究以典型浓香型烟区河南许昌的土壤为研究对象,选用生产上有代表性的植物源有机肥、芝麻饼肥、生物质炭有机肥 3 种肥料进行室内培养,研究不同有机肥对土壤氮素矿化特征、土壤酶活性的影响,以及有机肥施入下土壤氮素矿化的微生物机制,为筛选利于优质烟草生产的有机肥,制定科学合理的有机肥施用制度提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤及有机肥

供试土壤取自浓香型烤烟代表产区河南许昌(113°55'E, 33°95'N),该区属北暖温带季风气候,年均气温 16.30 °C,年均降水量 91.34 mm,降水主要集中在 7—9 月,该地土壤为黄河沉积物发育的潮土。于烟株移栽前采集 2~20 cm 耕层土壤,在采样地按“S”形设置 5 个采样点,将各点土样混合,室内自然风干后去除石砾和动植物残体等,磨细过 0.01 mm 筛。一部分土壤用于测定基础理化性质(表 1),其余土壤于 4 °C 冷藏保存以备室内培养。供试有机肥主要成分见表 2,其中植物源有机肥(T)由大理洱海生物肥业有限公司提供,生物质炭有机肥(S)由贵州毕节市烟草公司提供,芝麻饼肥(B)由河南许昌市烟草公司提供。

表 1 供试土壤的基础理化性质
Table 1 Physicochemical properties of tested soils

土壤质地	全氮(g/kg)	碱解氮(mg/kg)	有机质(g/kg)	硝态氮(mg/kg)	铵态氮(mg/kg)	pH	田间持水量(g/kg)
砂壤土	1.48	68.76	10.13	8.47	11.97	7.56	203.00

表 2 供试有机肥主要成分
Table 2 Main components of tested organic fertilizers

有机肥	全氮(g/kg)	全磷(g/kg)	全钾(g/kg)	含水率(%)
植物源有机肥(T)	16.13	20.02	36.96	33.77
生物质炭有机肥(S)	13.88	45.42	22.85	18.61
芝麻饼肥(B)	40.29	17.38	14.22	21.00

1.2 试验设计

试验共设置 4 个处理:植物源有机肥(T)、芝麻饼肥(B)、生物质炭有机肥(S)、不添加有机肥(CK),每个处理 3 次重复。各有机肥添加量均按纯 N 100 mg/kg 土壤进行折算。称取 50 g 土样装入 100 mL 三

角瓶中,将有机肥与土壤充分混匀,加入蒸馏水调节至 65% 田间持水量,于 30 °C 恒温培养 28 d,期间每隔 3 d 通过称重法补充瓶内水分。于培养的第 7、14、21、28 天破坏性取样,测定土壤中 NO₃⁻-N、NH₄⁺-N 含量。土壤中蔗糖酶、脲酶、蛋白酶、硝酸还原酶的测定使用第 14、28 天采集的土样,土壤微生物群落功能多样性分析使用第 14 天采集的土样。

1.3 测定方法

1.3.1 土壤理化性质的测定 土壤 pH 按照土水比 1:2.5(m:V)混合后用 pH 计测定;全氮(TN)含量测定采用硫酸-催化剂消解-凯氏定氮法^[7];土壤有机质

(SOM)采用重铬酸钾容量法-外加加热测定; 碱解氮测定采用碱解扩散法^[8]; 土壤田间持水量用环刀法测定^[9]; 土壤 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N 含量测定均使用试剂盒(苏州科铭生物技术有限公司), 并根据试剂盒使用说明书进行操作。

1.3.2 土壤酶的测定 使用苏州科铭生物技术有限公司的试剂盒测定, 按照试剂盒说明书进行操作。土壤脲酶(urease, UE)活性采用靛酚蓝比色法测定, 土壤蔗糖酶(sucrase, SC)活性采用 3,5-二硝基水杨酸溶液比色法测定^[10], 土壤硝酸还原酶(nitrate reductase, NR)活性采用可见分光光度法测定, 土壤蛋白酶(NPT)活性采用福林酚比色法测定。

1.4 土壤微生物群落分析

1.4.1 DNA 提取和 PCR 扩增 土壤总 DNA 的提取采用 HiPure Soil DNA Kit 试剂盒(型号 D3142, 广州美基生物科技有限公司), 并用带有 barcode 的特异引物对提取的细菌基因组进行 PCR 扩增。用 341F(5'-CCTACGGGGGCWAG-3')和 806R(5'-GGACTACH VGGGTATCTAAT-3')引物对细菌 16S rDNA 基因在 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增^[11]。扩增后的 PCR 产物经 2% 浓度的琼脂糖凝胶电泳检测合格后进行纯化, 构建测序文库, 将纯化产物使用 Novaseq PE250 测序平台进行上机测序。

1.4.2 OTU 聚类与物种注释 用 Usearch 软件对获得的基因序列进行大规模筛选, 并以 97% 的相似性将序列聚类成为操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)^[12], 使用 QIIME 软件包挑选序列集合中丰度最高的序列作为各个 OTU 的代表序列, 这些代表性序列集合用 RDP Classifier 的 Naïve Bayesian assignment 算法, 与数据库进行物种注释(设置信度的阈值为 0.8 ~ 1.0), 获得各分类水平上的群落组成。

1.5 数据处理分析及指标计算

1.5.1 数据处理及分析 利用 Excel 2011 进行数据统计, 用 Origin 2021 作图, 通过 SPSS 17.0 用多重比较法(LSD)进行差异显著性检验($P < 0.05$)。基于已分类的 OTU, 利用 Qiime 软件进行细菌 alpha 多样性分析^[13]。利用 R 软件包(R Studio)绘制 OTU 分类水平上的 Upset 图^[14]、属水平物种间相关性网络图、主成分分析图(principle component analysis, PCA)、冗余分析图(redundancy analysis, RDA)、门水平物种分布堆叠图^[15]、属水平物种分布热图^[16]。利用 Bugbase 软件进行细菌 7 类生态功能预测^[17]。

1.5.2 指标计算 相关指标采用以下公式计算:

$$\text{土壤矿质氮含量} = \text{NO}_3^- \text{-N 含量} + \text{NH}_4^+ \text{-N 含量}$$

$$\text{土壤表观硝化速率} = (\text{各时段土壤 NO}_3^- \text{-N 含量} - \text{初始土壤 NO}_3^- \text{-N 含量}) / \text{培养天数}$$

$$\text{土壤净矿化速率} = (\text{各时段土壤矿质氮含量} - \text{初始土壤矿质氮含量}) / \text{培养天数}$$

2 结果与分析

2.1 不同有机肥添加下植烟土壤有机氮素矿化特征

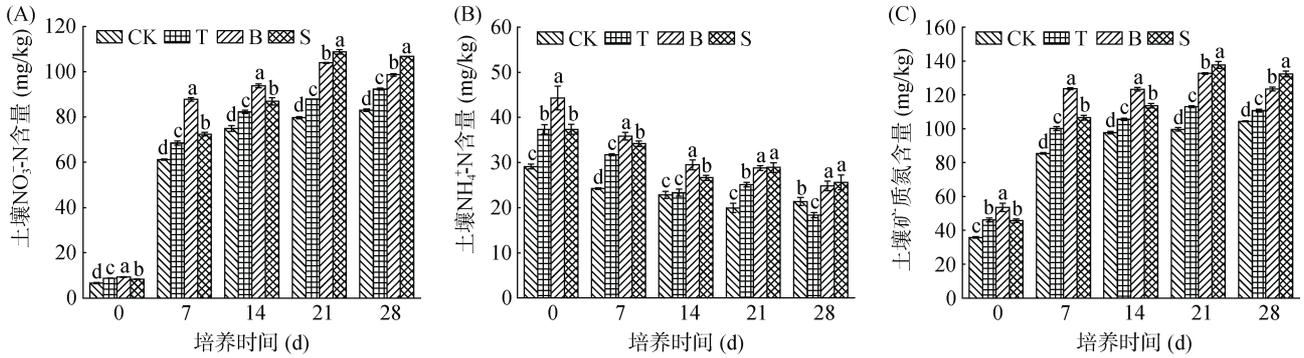
2.1.1 不同有机肥添加下植烟土壤无机氮矿化量 由图 1A 可知, 在整个培养过程中, T、B、S 处理土壤 NO_3^- -N 含量在各个时间段均显著高于 CK 处理。B、S 处理土壤的 NO_3^- -N 含量在培养第 21 天时达到峰值, 在培养第 28 天有所降低。由图 1B 可知, 在培养过程中, NH_4^+ -N 含量总体上呈逐渐降低的变化趋势。在培养第 7、21 天添加有机肥显著增加了土壤 NH_4^+ -N 含量, 以 B 处理的提升效果最显著。培养结束时, NO_3^- -N 含量表现为 $S > B > T > \text{CK}$, NH_4^+ -N 含量表现为 $S > B > \text{CK} > T$ 。

由图 1C 可知, 在整个培养过程中, 各处理矿质氮含量整体呈逐渐增加的趋势, 添加有机肥可以显著增加土壤矿质氮含量。在培养的前 14 d, B 处理的土壤矿质氮含量最高; 然而后 14 d, S 处理的土壤矿质氮含量逐渐上升并显著高于其他处理。在第 28 天, 各处理土壤矿质氮含量表现为 $S > B > T > \text{CK}$, 且各处理差异显著。

2.1.2 不同有机肥添加下植烟土壤无机氮矿化速率 由图 2 可知, 在整个培养过程中, T、B、S 处理土壤硝化速率、矿化速率在各个时间段均高于 CK 处理。在培养的前 14 d, 土壤硝化速率、矿化速率表现为 B 处理高于其他处理, 而在后 14 d 则为 S 处理最高。随时间推移, 各处理的硝化速率、矿化速率均表现为先升高后快速降低, 最终缓慢降低的趋势; 在第 7 天时硝化速率、矿化速率均达到峰值, 以 B 处理硝化速率最高为 11.21 mg/(kg·d), 矿化速率最高为 10.00 mg/(kg·d)。

2.2 不同有机肥添加下土壤酶活性变化

由图 3A 可知, 在培养过程中, 硝酸还原酶活性呈逐渐升高的趋势。在培养的第 14 天, T、S 处理土壤硝酸还原酶活性显著提高, B 处理则显著降低; 在培养结束时, 相较 CK 处理, T、S 处理的土壤硝酸还原酶活性分别增加 25.54%、13.20%, B 处理则降低 13.94%。由图 3B 可知, 不同有机肥对土壤脲酶活性影响有差异, 在培养的第 14 天, 与 CK 处理相比, B、S 处理土壤脲酶活性显著提高, T 处理则显著降低; 在培养结束时, 相较 CK 处理, T、S 处理的土



(图柱上方小写字母不同表示处理间差异显著($P < 0.05$), 下图同)

图 1 不同有机肥对土壤无机氮含量的影响

Fig. 1 Contents of soil inorganic nitrogen under different organic fertilizers

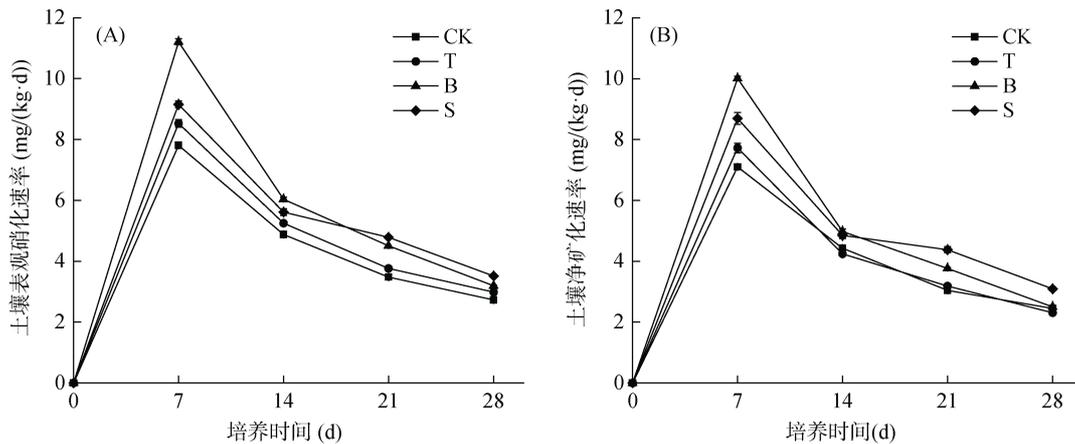


图 2 不同有机肥对土壤无机氮矿化速率的影响

Fig. 2 Mineralization rates of soil inorganic nitrogen under different organic fertilizers

壤脲酶活性分别增加 7.14%、28.94%，而 B 处理则降低 10.80%。由图 3C 可知，在培养的第 14 天，不同有机肥均能显著提高土壤蔗糖酶的活性，其中以芝麻饼肥提升效果最为明显；在培养结束时，相较 CK 处理，B、S 处理土壤蔗糖酶活性分别增加 35.17%、19.87%，T 处理则降低 3.00%。由图 3D 可知，在培养的第 14 天，芝麻饼肥、生物质炭有机肥显著提高了蛋白酶活性，植物源有机肥也有提升效果，但与 CK 处理差异不显著；在培养结束时，则表现为 $T > B > CK > S$ 。不同有机肥对土壤蛋白酶活性影响差异显著，相较 CK 处理，T、B 处理的土壤蛋白酶活性分别增加 35.00%、16.28%，而 S 处理则降低 16.26%。

2.3 不同有机肥添加对土壤细菌群落及多样性的影响

2.3.1 土壤细菌群落 α 、 β 多样性分析 由图 4A 可知，随着测序深度的增加，稀释曲线趋于平缓且测序数据达到饱和，测序数据量能够覆盖本研究中绝大

部分土壤微生物群落，可以进行下一步分析。

细菌群落主坐标分析结果如图 4B 所示，PC1 轴和 PC2 轴对样本组成差异的贡献值分别为 65.18% 和 25.00%。S 处理的各样本都聚集到一个象限，与 CK、T、B 处理距离较远，说明 CK、T、B 处理的细菌群落结构相似，但与 S 处理相比差异较大。PCA 分析结果表明，添加不同有机肥改变了土壤细菌群落组成结构。

Simpson 指数和 Shannon 指数用来评价群落的多样性，ACE 指数、Chao 指数用来反映群落的丰富度。细菌 α 多样性指数显示(图 5)：S 处理土壤细菌 Simpson 指数和 Shannon 指数均高于其他处理，且显著高于 CK 及 T 处理，说明 S 处理土壤细菌群落物种多样性高于其他处理。各处理 ACE 指数和 Chao 指数无显著差异，由高到低依次为 S、CK、T、B 处理，说明 S 处理土壤细菌群落物种丰富度最高，B 处理最低。

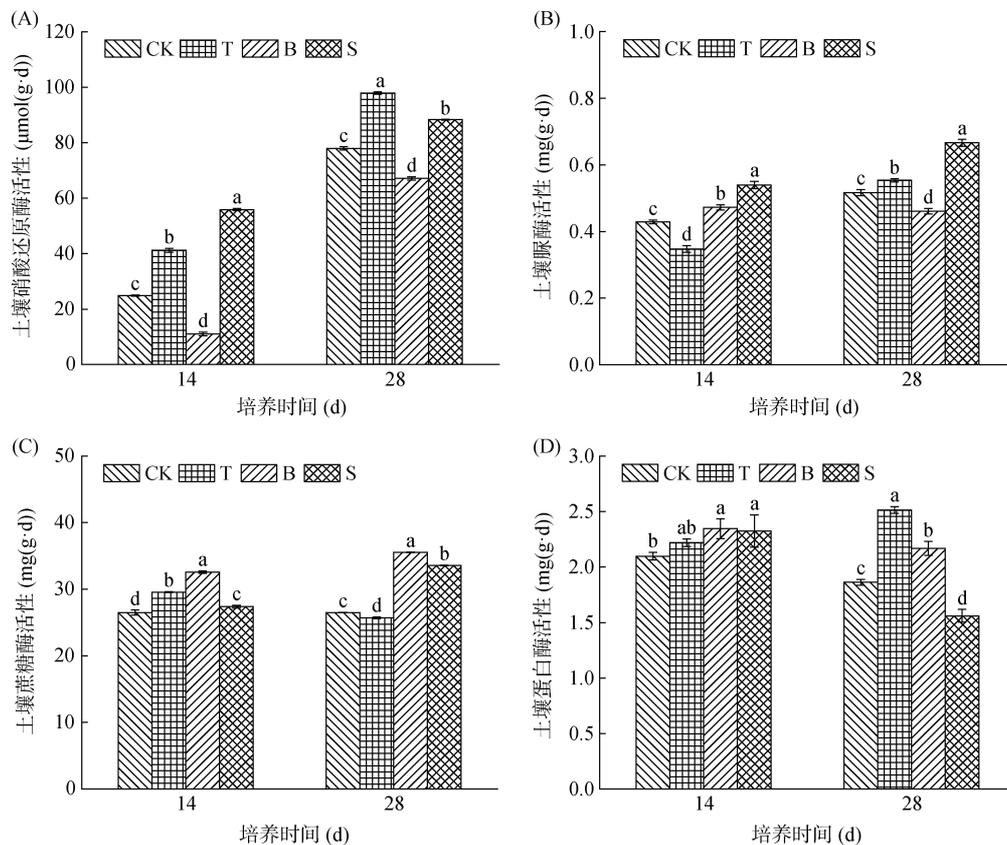


图 3 不同有机肥对土壤酶活性的影响
Fig. 3 Soil enzyme activities under different organic fertilizers

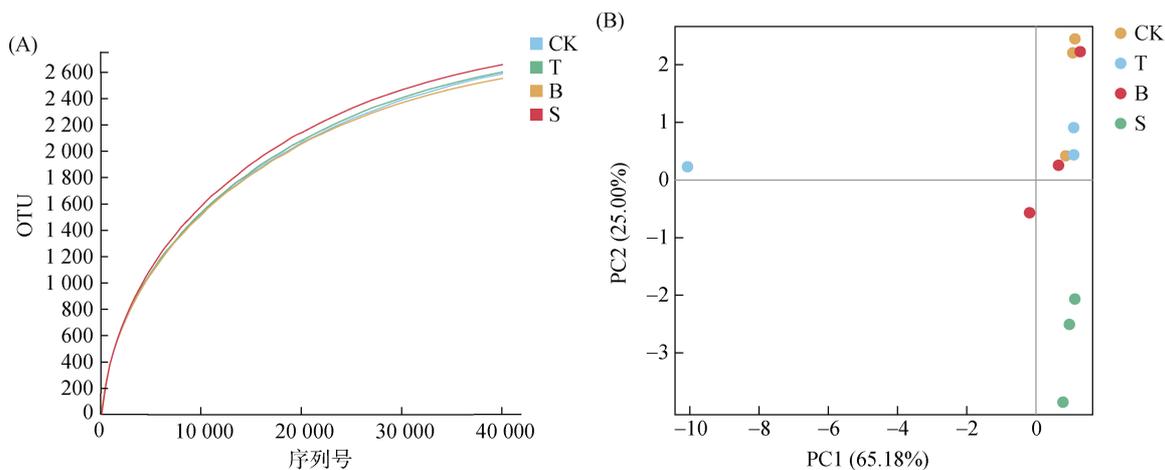


图 4 不同有机肥添加下土壤细菌的稀释曲线(A)及主坐标分析(B)
Fig. 4 Dilution curves (A) and principal coordinate analysis (B) of soil bacteria under different organic fertilizers

2.3.2 细菌群落物种组成 图 6 为不同有机肥添加下土壤细菌 OTU 聚类所得的 Upset 图, 共检测到 OTU 数为 5 211, 4 个处理共有 OTU 数为 1 398。CK、T、B、S 处理检测到的特有 OTU 数分别为 750、759、720、821。相较 CK 处理, T、S 处理 OTU 数分别增加 1.20%、9.47%, B 处理则处理降低 4.00%。

根据 OTU 分类学分析结果(图 7A)可以看出, 变

形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)为优势菌门(相对丰度>5%)。由图 7B 可知, S 处理的酸杆菌门相对丰度与 CK、T 处理差异不显著, 但显著高于 B 处理; B 处理的拟杆菌门相对丰度显著高于其他处理; S 处理的浮霉菌门相对丰度与 CK 处理差异不显著, 但显著高于 T、B 处理。

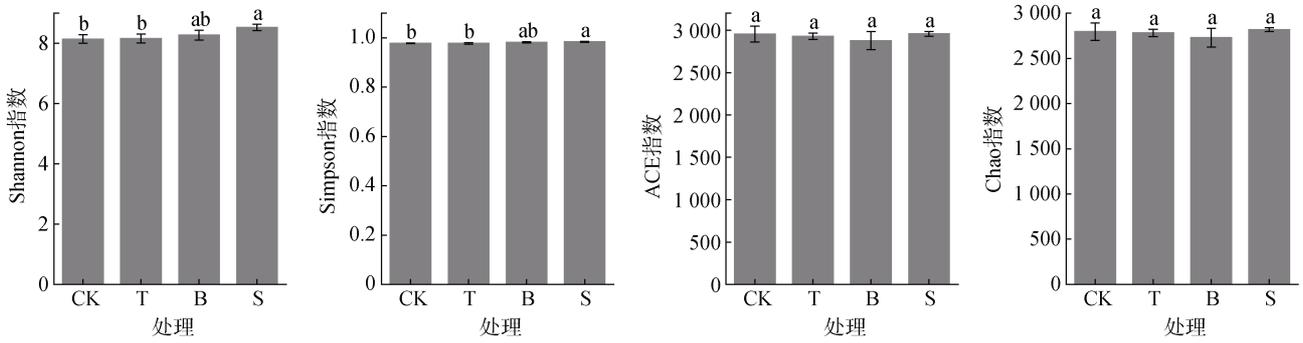


图 5 不同有机肥添加下土壤细菌 α 多样性指数分析
Fig. 5 α diversity indexes of soil bacteria under different organic fertilizers

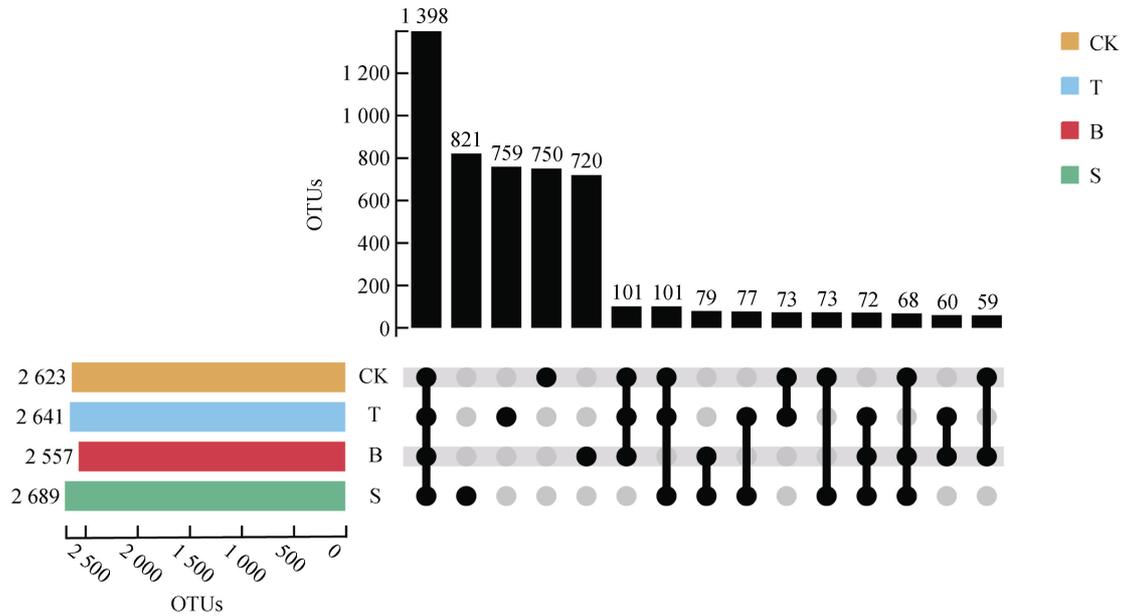


图 6 不同有机肥添加下土壤细菌群落 OTU 分类水平上的 Upset 图
Fig. 6 Upset map of OTU classification of soil bacterial communities under different organic fertilizers

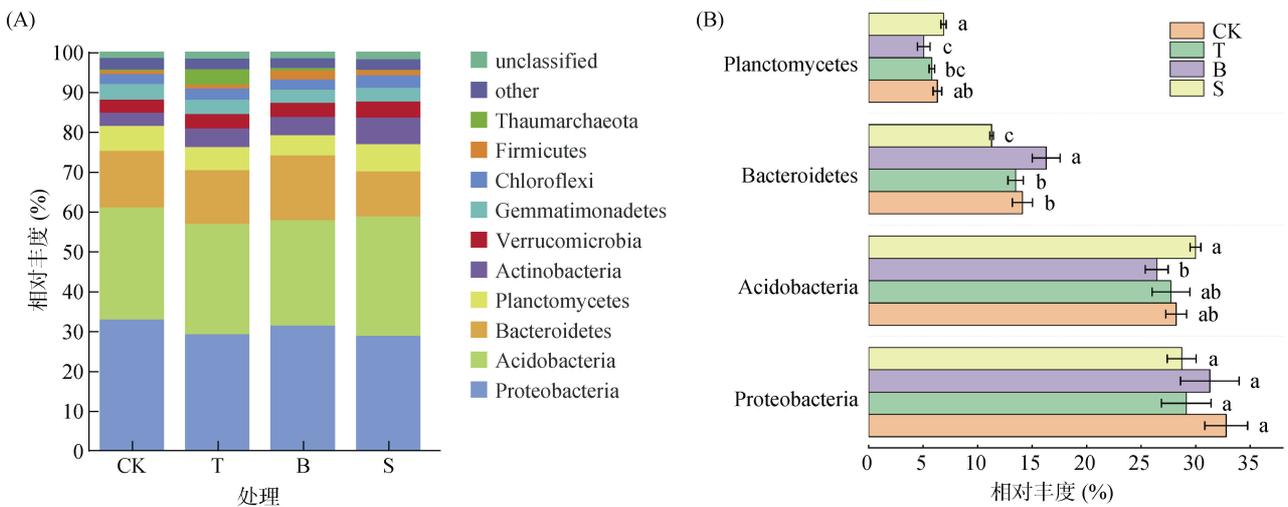


图 7 不同有机肥添加下土壤细菌群落门水平物种丰度(A)及差异物种分析(B)
Fig. 7 Phylum species abundances (A) and differential species analysis (B) of soil bacterial communities under different organic fertilizers

由图 8 可知，属水平上相对丰度排名前 10 的菌属有鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、*RB41*、*Flavisolibacter*、溶杆菌属(*Lysobacter*)、*Stenotrophobacter*、苔藓杆菌属(*Bryobacter*)、*Pontibacter*、黄杆菌属(*Flavitalea*)、*AKYG587*、*Terrimonas*，其中鞘氨醇单胞菌属、*RB41* 为优势菌属(相对丰度>3%)。不同样品组的细菌组成及丰度存在明显差异，*Sphingomonas*、*Pontibacter*、*Terrimonas* 在 CK 处理中最高，*RB41*、苔藓杆菌属、*AKYG587* 在 S 处理中最高，*Flavisolibacter*、*Lysobacter*、*Stenotrophobacter*、

Flavitalea 在 B 处理中最高。

2.3.3 土壤酶活性与微生物相关性分析 将属层级的物种组成及所测得的土壤酶活性进行共线分析(RDA1=87.62%，RDA2=10.33%)，箭头射线代表不同酶，射线越长表示该酶影响越大；样本/菌群-虚线中心连线与箭头之间的夹角代表了样本/菌群与酶之间的相关关系。从图 9 可以看出，硝酸还原酶活性对细菌群落属水平组成影响较大，*RB41* 与硝酸还原酶活性正相关，*Sphingomonas* 与酶活性均呈负相关，蛋白酶活性对细菌群落属水平组成影响较小。

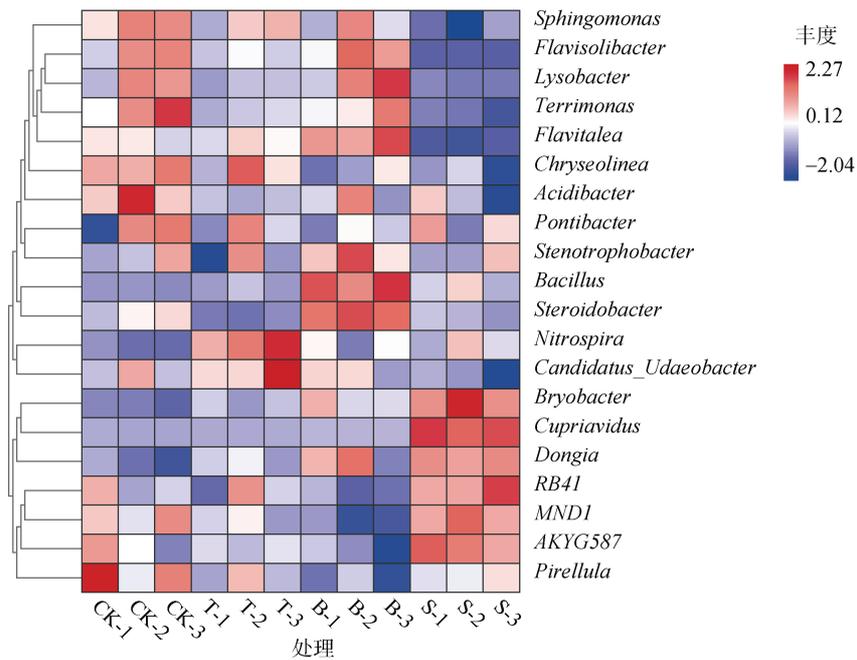
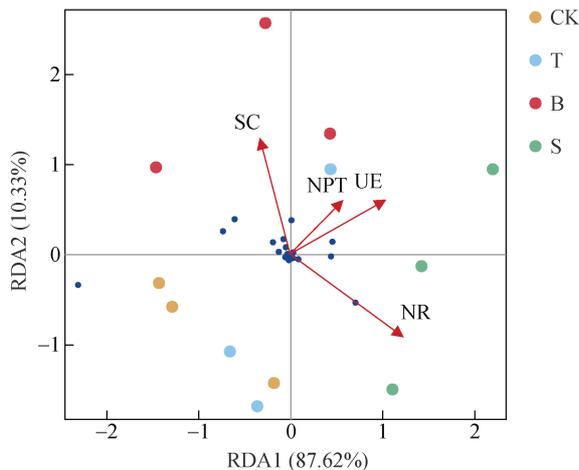


图 8 不同有机肥添加下土壤细菌群落属水平物种丰度

Fig. 8 Genus species abundances of soil bacterial communities under different organic fertilizers



(SC: 蔗糖酶; NPT: 蛋白酶; UE: 脲酶; NR: 硝酸还原酶; 下同)

图 9 土壤细菌与土壤酶活性 RDA 分析(属水平)

Fig. 9 RDA analysis of soil bacteria and enzyme activity (genus level)

为进一步研究不同细菌对土壤酶活性的响应情况，采用相关性网络图展示土壤酶与物种的 Pearson 相关性(相关系数 $0.5 \leq |r| \leq 1$, $P < 0.05$)(图 10)。在相对丰度排名前 10 的属中，排名第一的鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)与蔗糖酶活性呈正相关关系，与脲酶、硝酸还原酶均呈负相关关系。*RB41* 与蔗糖酶呈负相关，而与脲酶、蛋白酶、硝酸还原酶均呈正相关。*Flavisolibacter*、*Lysobacter* 与硝酸还原酶呈显著负相关，与蔗糖酶呈正相关。*Bryobacter* 与 4 种酶均呈正相关。

2.3.4 细菌 BugBase 表型预测 由图 11 可知，通过 BugBase 表型预测出各处理中土壤细菌的 9 种潜在类型，各处理土壤细菌均以好氧菌、移动元件菌、生物膜形成菌、革兰氏阴性菌、致病性菌、氧化胁迫耐受菌为主。好氧菌、生物膜形成菌、致病性菌相对

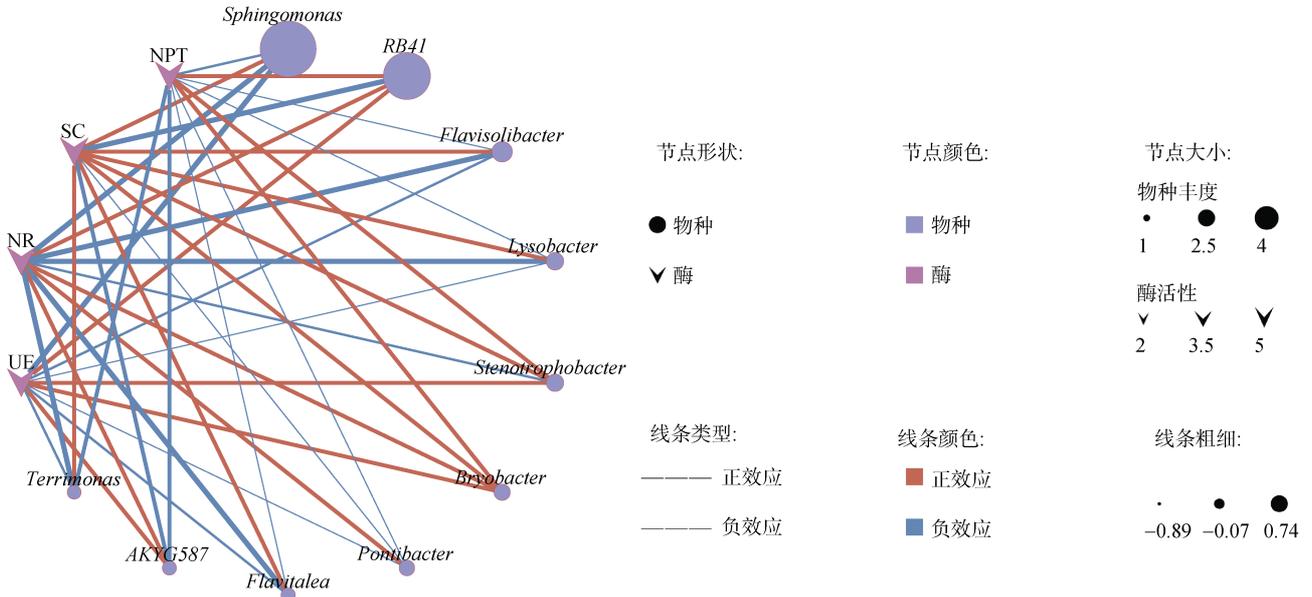


图 10 土壤细菌与土壤酶活性 Pearson 相关性网络图(属水平)
 Fig. 10 Pearson correlation network diagram of soil bacteria with enzyme activity (genus level)

丰度在各处理间无显著差异；移动元件菌以 T 处理最高，且显著高于 S 处理，但与 CK、B 处理无显著差异；革兰氏阴性菌相对丰度表现为 CK 处理显著高于 B、S 处理，与 T 处理差异不显著；氧化胁迫耐受菌相对丰度表现为 S 处理显著高于 T 处理，但与其他处理差异不显著。

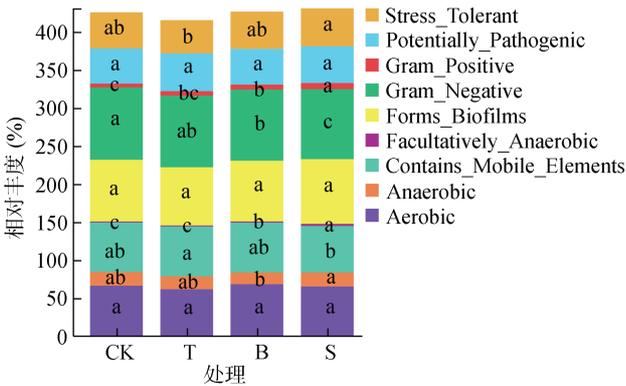


图 11 不同有机肥添加下细菌 BugBase 表型预测
 Fig. 11 Prediction of bacterial BugBase phenotype under different organic fertilizers

3 讨论

3.1 有机肥对土壤氮素矿化的影响

不同有机肥由于自身特性不同，施入土壤后的矿化能力不同^[18]。本研究结果显示，培养结束时，T、B、S 各处理土壤矿质氮含量较 CK 处理分别增加了 5.34%、20.21%、25.42%。施用有机肥能促进原生土

壤有机质的矿化分解形成可溶性有机氮，同时有机肥中的部分有机化合物在矿化分解过程可转化形成小分子的可溶有机氮^[19]，使土壤可矿化有机氮库增加。在培养前 14 d，B 处理矿化量及矿化速率最高，而后期为 S 处理的氮素矿化量、矿化速率高于其他处理。不同有机肥自身性质的差异可能是造成这一结果的重要原因：芝麻饼肥全氮含量高，短期的供氮能力较强，肥效发挥较快，在施入土壤后能够迅速分解，有机氮快速分解为无机氮^[20]；而生物质炭有机肥含水量明显低于其他有机肥，避免了后期因有机肥施用造成的土壤含水率过高形成土壤中过度还原的条件，增加土壤透气性以便加速后期土壤氮素的转化，将土壤氮从惰性库转化到活性库中，同时引起土壤自身有机氮的激发作用^[21]。在整个培养过程中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量逐渐降低，而 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量逐渐升高，这是因为风干土样在经过适宜的水分和温度调节时激活了土壤中微生物和酶活性，并对其产生的不稳定氮素进行矿化分解，这一过程主要是以氨化作用为主，使 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量升高^[22]，但在充足的氧气条件下，氨化作用释放出的铵或氨在土壤中硝化细菌的作用下氧化为硝酸盐，使 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量增加^[23]。B、S 处理的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量在培养第 21 天达到峰值后下降，可能与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的反硝化作用有关，土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 在土壤微生物及酶的作用下不断进行反硝化作用，向 N_2 、 NO 和 N_2O 等含氮气体转化^[24]。在培养第 28 天，与反硝化作用相关的硝酸还原酶活性增强，是导致土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含

量降低的重要原因。

3.2 有机肥对土壤微生物性质的影响

微生物多样性是土壤质量和肥力评价的重要依据^[25]。在本研究中,各施肥处理较不施肥处理的微生物多样性明显提升,施用有机肥能够有效改善土壤理化性质,提高土壤肥力,并且为土壤细菌提供良好的生长环境^[26]。其中以施用生物质炭有机肥对细菌丰富度及多样性提升作用最明显,生物质炭巨大的比表面积和疏松多孔的结构可以为细菌生存提供良好的生长空间和附着位点^[27]。由于土壤酶主要来自微生物细胞,因此,土壤细菌数量的变化势必导致土壤酶活性的变化。本研究表明,T、S处理土壤脲酶活性显著提高,这与各处理土壤细菌数量的变化相一致,可能原因是:有机肥的添加增加了土壤有机质含量,使得土壤酶活性免遭变性或降解,土壤整体脲酶水平增加和活性增强^[28],脲酶活性的增强使得土壤中无机氮含量增加。

不同碳源的有机肥可能诱导土壤中喜好该类碳源的微生物生长,从而对微生物群落结构和代谢特征产生影响^[29]。本研究中S处理土壤酸杆菌门相对丰度最高,这与郝近羽等^[30]研究结果一致,可能是由于施用生物质炭有机肥后能刺激酸杆菌门在土壤中降解顽固的有机物质的相关代谢活动^[31],为酸杆菌门提供生长机会。前人研究表明,施肥处理后变形菌门相对丰度会显著升高^[32-33],然而本试验结果表明变形菌门的相对丰度以CK处理最高,造成这一现象的原因可能是短期施肥培养条件未能为变形菌门提供适宜生长环境,后续有待进一步研究。此外,大多数与脱氮相关的功能菌(如氨氧化菌、亚硝酸盐氧化菌和反硝化菌等)都属于变形菌门^[34],这可能是CK处理矿质氮含量低于其他处理的重要原因。通过BugBase表型预测发现,B处理好氧菌丰度显著增加,相反厌氧菌的丰度下降,而酸杆菌门宜在厌氧和微氧的环境中生存,施加芝麻饼肥后,酸杆菌门相对丰度下降,与厌氧菌变化趋势一致,说明添加芝麻饼肥可以提高土壤的氧化胁迫耐受能力。

根据不同有机肥氮素矿化的规律,在烟草种植过程中,可以选择在前期施用芝麻饼肥,可以满足烤烟苗期旺盛的养分需求;后期生物质炭有机肥追肥,但应控制施肥量,以满足烤烟不同时期的氮素需求。

4 结论

施用有机肥通过改变土壤微生物群落和氮素转化相关酶活性而提高了土壤矿质氮含量,促进氮素形

态间的相互转化。但不同有机肥对功能微生物活动及相关酶活性影响有一定差异,进而造成土壤氮素矿化动态和不同时期的矿化速率和矿化量的不同。综合来看,施用芝麻饼肥有利于促进早期氮素矿化,提高矿化量;而生物质炭有机肥后期矿化量较大且矿化速率较快,土壤细菌多样性及丰富度也最高。在烟叶生产中,应根据不同有机肥施用对土壤氮素矿化的影响程度,科学调整烟田无机氮施用量,以实现氮素营养的精准供应。

参考文献:

- [1] 任改弟,张苗,张文越,等. 不同来源有机物料对菜用蚕豆生长和品质及根际土壤性状的影响[J]. 土壤, 2022, 54(4): 740-749.
- [2] 黄容,谢一平,陈玉蓝,等. 水分条件对不同类型土壤氮矿化及酶活性的影响[J]. 土壤, 2022, 54(5): 950-957.
- [3] 夏文建,柳开楼,张丽芳,等. 长期施肥对红壤稻田土壤微生物生物量和酶活性的影响[J]. 土壤学报, 2021, 58(3): 628-637.
- [4] 王树起,韩晓增,乔云发,等. 不同土地利用和施肥方式对土壤酶活性及相关肥力因子的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(6): 1311-1316.
- [5] Yang O Y, Evans S E, Friesen M L, et al. Effect of nitrogen fertilization on the abundance of nitrogen cycling genes in agricultural soils: A meta-analysis of field studies[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 127: 71-78.
- [6] 李孝刚,彭曙光,靳志丽,等. 有机物料对植烟土壤氮素矿化及微生物性质的影响[J]. 土壤学报, 2021, 58(1): 225-234.
- [7] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [8] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [9] 钟诚,张军保,韩晓明,等. 不同土壤质地田间持水量实验成果分析[J]. 东北水利水电, 2014, 32(5): 65-67.
- [10] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [11] Thijs S, Op De Beeck M, Beckers B, et al. Comparative evaluation of four bacteria-specific primer pairs for 16S rRNA gene surveys[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 494.
- [12] Haas B J, Gevers D, Earl A M, et al. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons[J]. Genome Research, 2011, 21(3): 494-504.
- [13] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336.
- [14] Conway J R, Lex A, Gehlenborg N. UpSetR: An R package for the visualization of intersecting sets and their properties[J]. Bioinformatics, 2017, 33(18): 2938-2940.

- [15] Wickham H. Ggplot: An implementation of the grammar of graphics in R[DB/OL]. <https://www.r-project.org/conferences/useR-2006/Slides/Wickham.pdf>.
- [16] Kolde R. Package 'pheatmap'[DB/OL]. <https://cran.r-project.org/web/packages/pheatmap/pheatmap.pdf>.
- [17] Ward T, Larson J, Meulemans J, et al. BugBase predicts organism-level microbiome phenotypes[J]. *BioRxiv*, 2017: 133462. <https://www.biorxiv.org/content/10.1101/133462v1.full.pdf+html>
- [18] 周博, 高佳佳, 周建斌. 不同种类有机肥碳、氮矿化特性研究[J]. *植物营养与肥料学报*, 2012, 18(2): 366–373.
- [19] 方胜志, 高佳蕊, 王虹桥, 等. 氮肥与有机肥配施对设施土壤净矿化氮动态变化的影响[J]. *土壤通报*, 2021, 52(5): 1173–1181.
- [20] 武雪萍, 钟秀明, 刘增俊. 饼肥在植烟土壤中的矿化速率和腐殖化系数分析[J]. *中国土壤与肥料*, 2007(5): 32–35.
- [21] 刘遵奇, 孟军, 陈温福. 玉米秸秆生物炭对尿素分解的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2015, 34(6): 1142–1148.
- [22] 李源, 祝惠, 阎百兴, 等. 干湿交替对黑土氮素转化及酶活性的影响研究[J]. *干旱区资源与环境*, 2015, 29(10): 140–144.
- [23] 杨蕊. 畜禽有机肥氮磷在红壤中的矿化、利用和环境风险研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2011.
- [24] 贺纪正, 张丽梅. 土壤氮素转化的关键微生物过程及机制[J]. *微生物学通报*, 2013, 40(1): 98–108.
- [25] 孙瑞波, 郭熙盛, 王道中, 等. 长期施用化肥及秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(10): 2049–2057.
- [26] Sun R P, Zhang P, Riggins C W, et al. Long-term N fertilization decreased diversity and altered the composition of soil bacterial and archaeal communities[J]. *Agronomy*, 2019, 9(10): 574.
- [27] 李宽莹, 王泽林, 徐兴有, 等. 不同施肥处理对日光温室内土壤微生物数量与酶活性的影响[J]. *西北林学院学报*, 2019, 34(2): 56–61.
- [28] 马星竹, 陈利军, 周宝库, 等. 长期施肥对黑土脲酶活性和动力学特性的影响[J]. *黑龙江农业科学*, 2020(12): 49–53.
- [29] Liu M Q, Hu F, Chen X Y, et al. Organic amendments with reduced chemical fertilizer promote soil microbial development and nutrient availability in a subtropical paddy field: The influence of quantity, type and application time of organic amendments[J]. *Applied Soil Ecology*, 2009, 42(2): 166–175.
- [30] 郝近羽, 刘瑾, 陈源泉, 等. 施用不同有机物料对砂质土壤玉米成熟期根际细菌群落变化的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2022, 27(10): 65–79.
- [31] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. *生物技术通报*, 2016, 32(2): 14–20.
- [32] 刘平静, 肖杰, 孙本华, 等. 长期不同施肥措施下土细菌群落结构变化及其主要影响因素[J]. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(2): 307–315.
- [33] 袁红朝, 吴昊, 葛体达, 等. 长期施肥对稻田土壤细菌、古菌多样性和群落结构的影响[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(6): 1807–1813.
- [34] 康沛伦, 李俊达, 叶晟祺, 等. 不同阳离子和碳氮比对反硝化性能及亚硝酸盐氮积累的影响[J]. *环境工程学报*, 2022, 16(8): 2540–2548.