生态与农村环境学报 2011，27（4）：69－73
Journal of Ecology and Rural Environment

长期有机无机肥配合施用土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物短期变化

吕美蓉，李忠佩①，刘 明，江春玉，车玉萍 （中国科学院南京土壤研究所，江苏 南京 210008）

摘要：为了阐明改变肥料养分投入后土壤微生物特性的短期变化，采集长期定位有机无机肥配施的红壤水稻土，通过室内培育试验，观测添加不同肥料养分后土壤微生物生物量碳及 BIOLOG 群落功能多样性的变化。结果表明，长期有机无机肥配施土壤中添加无机肥料养分短期内（185 d）降低了 15%～22% 的微生物生物量碳含量和 55.6% 的微生物群落平均光密度；添加有机肥料养分短期内提高了 8%～42% 的微生物生物量碳含量和 992% 的微生物群落平均光密度；而不添加肥料养分短期内提高了 501% 的微生物群落平均光密度，降低了微生物群落均一性，但对微生物生物量碳含量影响不大。此外，添加不同肥料养分均改变了土壤微生物群落碳源代谢模式。长期配施有机无机肥土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物生态特征发生明显变化，其差异体现在微生物生物量碳与微生物碳源利用特性的变化上。

关键词：添加不同肥料养分；微生物生物量碳；微生物碳源利用特性
中图分类号：S154.2 **文献标志码：**A **文章编号：**1673－4831(2011)04－0069－05

Short-Term Effects of Addition of Different Nutrient Elements on Soil Microbe in Soil Under Long-Term Combined Application of Organic Manure and Inorganic Fertilizer. *LÜ Mei-rong*, *LI Zhong-pei*, *LIU Ming*, *JIANG Chun-yu*, *CHE Yu-ping*(Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: To illustrate the short-term changes in soil microbe alteration of fertilizer nutrient input might bring about, samples of red paddy soil were collected from a paddy field under long-term combined application of organic manure and inorganic fertilizer. They were used in an indoor incubation experiment to observe effects of addition of different nutrient elements on soil microbial biomass carbon and functional diversity of BIOLOG communities. Results show that addition of inorganic nutrients lowered microbial biomass carbon by 15%－22% within a short period of time (185 days) and average well color development(D_{av}) by 55.6%, while addition of organic nutrients raised microbial biomass carbon by 8%－42% and D_{av} by 992%. In Z (no addition of nutrients) D_{av} was increased by 501% within a short period of time, and evenness of microbial community was somewhat lowered, but microbial biomass carbon was not much affected. Besides, addition of different nutrient elements also altered the carbon metabolism pattern of the soil microbial community. Amendment of different nutrient elements into the soil under long-term combined application of organic manure and chemical fertilizer changed significantly ecological features of the soil microbe, which may be embodied in changes in microbial biomass carbon and microbial carbon utilization pattern.

Key words: addition of different nutrient element; soil microbial biomass carbon; microbial carbon utilization pattern

土壤微生物是土壤生物区系中最重要的功能组分，作为土壤物质循环和生化过程的主要参与者与调节者，它可分解有机物质形成腐殖质且释放养分，并同化土壤碳素和固定无机营养物质形成微生物生物量，是土壤生态系统中养分的“源”和“汇”，在养分循环与平衡、土壤理化性质的改善中均起着十分重要的作用。此外，它还对所生存的微环境十分敏感，能对土壤生态环境变化做出反应，导致群落结构发生改变。所以，土壤微生物被认为是土壤生态系统变化的预警及敏感指标，指示土壤质量变化[1-2]。

已有大量研究表明，有机无机肥配施能形成良好的土壤生态环境，保证土壤可持续利用[1,3-4]。有机无机肥配施在农田管理上也得到逐步推广和应用。但是，由于我国农作历史、管理水平等复杂多样，以及肥料价格的逐渐升高，改变肥料养分投入在农田实际管理中也很常见。不同肥料养分投入水平

收稿日期：2011－03－09
基金项目：国家自然科学基金(40871122)
① 通信作者 E-mail：zhpli@ issas. ac. cn

条件下,肥料的物质组成和进入量水平差异明显,影响了土壤理化性质、生物学特性,从而影响了土壤生产力[5]。阐明改变肥料养分投入后土壤性状的变化,将有助于进行合理的土壤管理。笔者采集长期定位有机无机肥配施小区的土壤样品,进行室内培育试验,比较添加不同肥料养分后土壤微生物量及群落功能多样性的短期变化,该研究结果将有助于了解改变肥料养分投入对土壤生态系统的影响。

1 材料与方法

1.1 土壤样品

供试土壤来源于江西省余江县中国科学院红壤生态试验站(28°15′ N,116° 55′ E)。该区属亚热带季风气候区,水热资源丰富,年降水量 1 795 mm,平均温度 17.6 ℃,年蒸发量 1 318 mm,降水集中于每年的 3—6 月,无霜期 261 d。作物轮作制度为水稻(*Oryza sativa*) - 水稻。每年 4 月底 5 月初移栽早稻,7 月底收获, 7 月底 8 月初移栽晚稻,11 月初收获。该土壤于 1990 年起施用氮磷钾肥 + 循环(NPKC)。1998 年之前 N、P_2O_5、K_2O 每季施用量分别为 230、68、84 kg · hm^{-2};1998 年开始 N、P_2O_5、K_2O 每季施用量分别为 115、68、42 kg · hm^{-2}。其中,氮肥为尿素,磷肥为钙镁磷肥,钾肥为氯化钾。磷肥和钾肥以基肥形式施入,尿素按 m(基肥):m(追肥) = 8∶7分 2 次施入。循环(C)为本田秸秆全部还田,另每季施入 833 kg · hm^{-2}猪粪(以干质量计)以补充收获籽粒所移出的养分。

2009 年 3 月多点采集 0 ~ 15 cm 深度土样,新鲜样品混匀,挑去肉眼可见的细根后,过 2 mm 孔径筛,供培育试验用。供试土壤的基本化学性质为:w(有机质)20.99 g · kg^{-1},w(全氮)1.24 g · kg^{-1},w(P_2O_5) 0.69 g · kg^{-1},w(K_2O) 12.03 g · kg^{-1},w(碱解氮) 114.33 mg · kg^{-1},w(速效磷) 28.33 mg · kg^{-1},w(速效钾)109.42 mg · kg^{-1}。

1.2 培育试验

将供试土壤预培养 2 d 后,分成 4 份:1 份保持原田间肥料养分投入,即添加有机无机肥料养分(NPKC);另外 3 份分别为不添加肥料养分(Z)、添加有机肥料养分(C)和添加无机肥料养分(NPK)。每份处理设 3 次重复,肥料添加量与原田间施肥处理一致。在最大田间持水量为60%条件下,于25 ℃恒温培养箱内进行培育试验。培养 30、80、185 d 时分别取样测定土壤微生物生物量碳(MBC)含量,培养 185 d 时取样进行室内培育,192 h 后测定土壤微生物群落平均吸光值(AWCD,D_{av})。

1.3 分析方法

微生物生物量碳含量采用氯仿熏蒸浸提 - 碳分析仪测定[6]。按 m(溶液):V(土)为 2.5∶1的比例加入 0.5 mol · L^{-1} K_2SO_4 溶液,振荡 30 min,过滤。同时,另取 1 份土样,氯仿熏蒸 24 h 后,将氯仿抽出,如前所述提取待测液。浸提液中碳含量用碳自动分析仪(Multi C 3100)测定。土壤 MBC 含量以熏蒸和未熏蒸土壤的 K_2SO_4 提取液中碳含量的差值除以转换系数(0.38)计算得到。土壤可溶性碳(DOC)含量为未熏蒸土壤的 K_2SO_4 提取液中碳含量。

土壤微生物群落功能多样性采用 BIOLOG 平板分析法测定。称取过 2 mm 孔径筛的新鲜土壤 10 g,置于灭菌的 250 mL 三角瓶(内装 100 mL 0.5 mol · L^{-1}NaCl 缓冲液)中,振荡 30 min。在超净台上用无菌的 0.5 mol · L^{-1}NaCl 缓冲液稀释 1 000 倍后,用 8 通道加样器向 Biolog Eco 孔板各孔中分别添加 150 μL 稀释后的悬液。25 ℃条件下恒温培养,于试验 24、48、72、96、120、144、168、192 h 时测定各孔在波长 750 和 590 nm 条件下的光密度。参照 GARLAND 等[7]的方法计算多样性指数。

采用 SPSS 13.0 软件对试验数据进行单因素方差分析和主成分分析。在方差分析基础上,采用 LSD 法进行差异显著性检验,数据以平均值 ± 标准误表示。

2 结果与分析

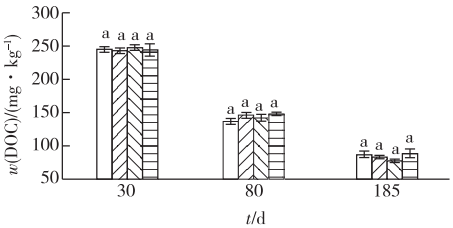
2.1 添加不同肥料养分处理土壤可溶性碳含量随时间的变化

由图 1 可见,培养 30、80、185 d 时土壤 w(DOC)分别为 243 ~ 247、136 ~ 147、78 ~ 89 mg · kg^{-1}。不同处理土壤 w(DOC)均随培养时间的延长而逐渐下降,从培养 30 d 到 185 d 时的下降幅度为 63.6% ~ 68.4%。不同培养时间各处理间土壤 w(DOC)差异均不显著($P > 0.05$)。

2.2 添加不同肥料养分处理土壤微生物生物量碳含量随时间的变化

MBC 是植物营养物质的源与库,并参与养分循环,其对土壤环境因子的变化极为敏感,对土壤的微小变化会产生快速的响应[8]。长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后土壤 w(MBC)随培养时间的变化见图 2。NPKC 处理土壤 w(MBC)在培养 30、80 和 185 d 时分别为 262、235 和 258 mg · kg^{-1},变化幅度较小。NPK 处理土壤 w(MBC)在培养 30、80 和 185 d 时分别比 NPKC 处理降低 22%、

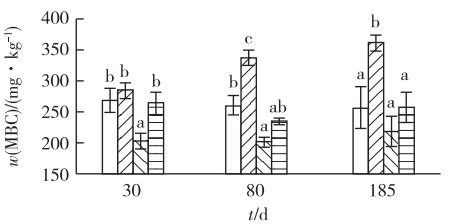
15% 和 15%。C 处理土壤 w(MBC)在培养 30、80 和 185 d 时分别比 NPKC 处理提高 8%、42% 和 40%。Z 与 NPKC 处理土壤 w(MBC)基本一致。



□Z, 不添加肥料养分；▨ C, 添加有机肥料养分；
▧NPK, 添加无机肥料养分；▤NPKC, 添加有机无机肥料养分。
同一组直方柱上英文小写字母不同表示不同处理间 DOC 含量差异显著($P<0.05$, LSD 检验法)。

图 1　长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后可溶性碳(DOC)含量随培养时间的变化

Fig. 1　Changes in content of soil dissoluble carbon after addition of different nutrient elements into the soil under long-term combined application of organic manure and inorganic fertilizer



□Z, 不添加肥料养分；▨ C, 添加有机肥料养分；
▧NPK, 添加无机肥料养分；▤NPKC, 添加有机无机肥料养分。
同一组直方柱上英文小写字母不同表示不同处理间 MBC 含量差异显著($P<0.05$, LSD 检验法)。

图 2　长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物生物量碳(MBC)含量随培养时间的变化

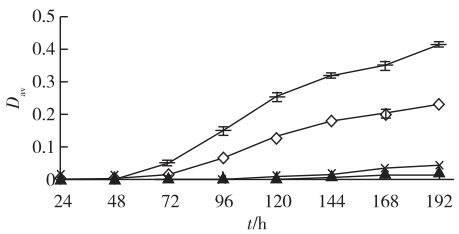
Fig. 2　Changes in content of soil microbial biomass carbon after addition of different nutrient elements into the soil under long-term combined application of organic manure and inorganic fertilizer

2.3　添加不同肥料养分处理土壤微生物群落功能多样性的变化

土壤微生物群落在土壤中处于一个动态平衡过程中，影响土壤的理化因子都会干扰土壤微生物群落的平衡，影响土壤微生物的活性及其生态功能，进而影响土壤肥力、土壤环境质量及健康[9]。

2.3.1　微生物群落平均吸光值

平均吸光值(D_{av})可作为微生物整体活性的有效指标，反映微生物群落对碳源利用的总的能力[7]。长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物群落 D_{av} 随培养时间的变化见图 3。NPK 处理土壤微生物群落 D_{av} 比 NPKC 处理降低 55.6%，表明在长期有机无机肥配施土壤中仅添加无机肥料养分短期内降低了土壤微生物群落碳源利用能力。C 和 Z 处理土壤微生物群落 D_{av} 比 NPKC 处理提高 992% 和 501%，表明在长期有机无机肥配施土壤中添加有机肥料养分或不添加肥料养分短期内均有利于提高土壤微生物群落碳源利用能力。



—◇— Z, 不添加肥料养分；—— C, 添加有机肥料养分；
—▲— NPK, 添加无机肥料养分；
—✕— NPKC, 添加有机无机肥料养分。
培养 185 d 时取样进行室内培育 192 h 后的测定结果。

图 3　长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物群落平均吸光值(D_{av})随培养时间的变化

Fig. 3　Changes in average well color development (D_{av}) of the soil microbial community after addition of different nutrient elements into the soil under long-term combined application of organic manure and inorganic fertilizer

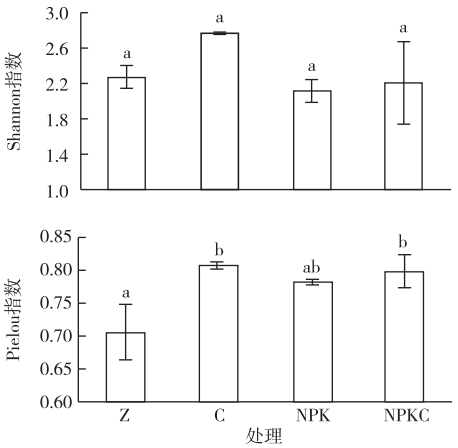
2.3.2　微生物群落功能多样性

不同的指数实际上反映了土壤微生物群落功能多样性的不同侧面。Shannon 指数受群落物种丰富度影响较大，Pielou 指数是群落物种均一性的度量。长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物群落 Shannon 指数和 Pielou 指数变化见图 4。由图 4 可知，NPK、C 和 Z 处理土壤微生物群落 Shannon 指数与 NPKC 处理之间差异均不显著($P>0.05$)。由图 4 可见，NPK 和 C 处理土壤微生物群落 Pielou 指数与 NPKC 处理之间差异也不显著($P>0.05$)。而 C 和 NPKC 处理土壤微生物群落 Pielou 指数均显著大于 Z 处理($P<0.05$)。

2.3.3　主成分分析

BIOLOG 的主成分分析显示了微生物群落对不同处理条件下碳源利用的响应，是反映土壤微生物群落结构特征的有效手段[9]。利用培养 96 d 后测定的 D_{av} 值进行主成分分析(图 5)。第 1 主成分(PC1)可以解释所有变量方差的 53.1%，第 2 主成分(PC2)可以解释所有变量方差的 15.7%。NPK、C 和 Z 处理与 NPKC 处理在 PC 轴上出现明显分异，表明改变肥料养分投入在短期内对微生物的碳源利用特征具有显著影响。此外，添加不同肥料养分

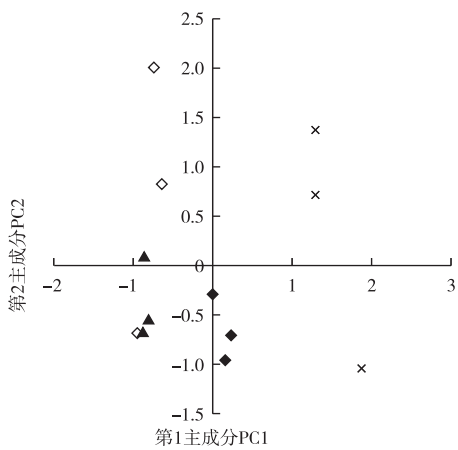
(无肥料养分、有机肥料养分或无机肥料养分)处理在 PC 轴上也出现了明显分异,显示出添加不同肥料养分处理微生物群落碳源代谢的差异性。



Z—不添加肥料养分; C—添加有机肥料养分;
NPK—添加无机肥料养分; NPKC—添加有机无机肥料养分。
培养 185 d 时的取样测定结果。同一幅图中直方柱上英文小写字母不同表示不同处理间某指标差异显著($P<0.05$,LSD 检验法)。

图 4　长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物群落 Shannon 指数和 Pielou 指数的变化

Fig. 4　Changes in Shannon index and Pielou index of the soil microbial community after addition of different nutrient elements into the soil under long-term combined application of organic manure and inorganic fertilizer



◆ 不添加肥料养分; × 添加有机肥料养分;
▲ 添加无机肥料养分; ◇ 添加有机无机肥料养分。

图 5　长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物碳源利用特性的主成分分析

Fig. 5　Ordination of principal component analysis of the characteristics of carbon source utilization by the soil microbial communities after addition of different nutrient elements into the soil under long-term combined application of organic manure and inorganic fertilizer

3　讨论

3.1　长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物生物量碳含量的变化

长期有机无机肥配施土壤中仅添加无机肥料养分,土壤碳源相对缺乏,不利于微生物的生长发育[10],短期内降低了 w(MBC);添加有机肥料养分则有利于微生物的生长发育,短期内提高了 w(MBC);不添加肥料养分处理土壤 w(MBC)短期内与保持有机无机肥料投入处理之间差异不大,这可能是因为相当一部分碳源及营养元素被固定在土壤中,可供微生物利用[11-12]。

随着培养时间的延长,添加无机肥料养分处理土壤 w(MBC)增加,与保持有机无机肥料养分投入处理之间的差异减小,这意味着无机肥肥效较短[13],对土壤微生物的影响随着培养时间延长而减弱。添加有机肥料养分处理土壤 w(MBC)在培养期间逐渐增加,与保持有机无机肥料养分投入处理之间的差异增加,这可能是因为随着培养时间的延长,有机质分解,为微生物生长提供了更多的基质,从而促进了微生物生长[14],这也显示了有机肥的肥效较为持久。而不添加肥料养分处理土壤 w(MBC)在培养期间波动较小,表明长期有机无机肥配施土壤中不添加肥料养分短期内可以保持土壤 MBC 的平衡和稳定。

3.2　长期有机无机肥配施土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物群落多样性的变化

长期有机无机肥配施土壤中仅添加无机肥料养分,短期内改变了土壤微生物群落碳源代谢模式,降低了微生物群落碳源利用能力。这可能是由于缺乏易利用的碳源,导致土壤微生物种群衰减,土壤生物化学过程强度减弱,有机碳转化能力下降[15-16]。添加有机肥料养分短期内改变了土壤微生物群落碳源代谢模式,提高了微生物群落碳源利用能力。这表明添加有机肥料养分短期内有利于提高土壤生物质量。长期配施有机无机肥土壤中积累了一定的碳源及营养元素,虽然不添加肥料养分对土壤微生物生物量碳含量没有产生显著影响(图 2),但土壤中存留的碳源及营养元素的物质组成和含量水平与新添加的肥料有很大差异,因此,不添加肥料养分改变了土壤微生物群落代谢特征。而在不添加外源肥料养分情况下,微生物需要分解有机质获取营养物质以维持生存,从而短期内提高了微生物群落碳源利用能力。

4　结论

不同肥料养分的添加导致土壤中输入肥料的形态、组成及含量水平有明显差异，这扰乱了土壤微生物的养分环境，从而改变了土壤微生物学特性。长期有机无机肥配施土壤中添加无机肥料养分短期内降低了 w(MBC)，添加有机肥料养分短期内提高了 w(MBC)，不添加肥料养分短期内对 w(MBC)影响不大，但影响了微生物群落的功能多样性。笔者试验仅是室内培育试验，其大田效应还有待于进一步研究。

参考文献：

[1] 于树，汪景宽，李双异. 应用 PLFA 方法分析长期不同施肥处理对玉米地土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态学报，2008，28(9)：4221－4227.

[2] 何亚婷，齐玉春，董云社，等. 外源氮输入对草地土壤微生物特性影响的研究进展[J]. 地球科学进展，2010，25(8)：877－885.

[3] 张逸飞，钟文辉，李忠佩，等. 长期不同施肥处理对红壤水稻土酶活性及微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态与农村环境学报，2006，22(4)：39－44.

[4] 佘冬立，王凯荣，谢小立，等. 施 N 模式与稻草还田对土壤供 N 量和水稻产量的影响[J]. 生态与农村环境学报，2006，22(2)：16－20，44.

[5] 王改兰，段建南，贾宁凤，等. 长期施肥对黄土丘陵区土壤理化性质的影响[J]. 水土保持学报，2006，20(4)：82－85.

[6] VANCE E D，BROOKES P C，JENKINSON D S. An Extraction Method for Measuring Microbial Biomass C [J]. Soil Biology & Biochemistry，1987，19(6)：703－707.

[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]. Applied and Environmental Microbiology，1991，57(8)：2351－2359.

[8] DORAN J W. Soil Health and Sustainability[J]. Advances in Agronomy，1996，56(3)：1－54.

[9] 李娟，赵秉强，李秀英，等. 长期不同施肥制度下几种土壤微生物学特征变化[J]. 植物生态学报，2008，32(4)：891－899.

[10] 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.

[11] 焦晓光，魏丹，隋跃宇. 长期培肥对农田黑土土壤微生物量碳、氮的影响[J]. 中国土壤与肥料，2010，3(3)：1－3.

[12] 孙瑞莲，朱鲁生，赵秉强，等. 长期施肥对土壤微生物的影响及其在养分调控中的作用[J]. 应用生态学报，2004，15(10)：1907－1910.

[13] 时亚南，张奇春，王光火，等. 不同施肥处理对水稻土微生物生态特性的影响[J]. 浙江大学学报：农业与生命科学版，2007，33(5)：551－556.

[14] 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[J]. 土壤学报，2005，42(2)：348－351.

[15] 李秀英，赵秉强，李絮花，等. 不同施肥制度对土壤微生物的影响及其与土壤肥力的关系[J]. 中国农业科学，2005，38(8)：1591－1599.

[16] 张平究，李恋卿，潘根兴，等. 长期不同施肥下太湖地区黄泥土表土微生物碳氮量及基因多样性变化[J]. 生态学报，2004，24(12)：2818－2824.

作者简介：吕美蓉(1983—)，女，山东威海人，博士生，主要研究方向为土壤生物化学和土壤生态学。E-mail：mrlv@issas.ac.cn

敬告读者·作者

《生态与农村环境学报》编辑部远程稿件处理系统已于 2011 年 6 月 1 日开始运行，网址为http://www.ere.ac.cn。该系统实现了“作者投稿”“编辑部审稿”“专家审稿”“主编终审”以及“远程编辑”的网络化操作，加强了编辑部与作者、审稿专家之间的联系与互动，可大大提高工作效率，加快稿件处理速度，欢迎您注册、登录、使用。请新投稿件作者通过该系统投稿，您在使用过程中如有任何问题和建议请与编辑部联系。

联系电话：025－85287036，85287053，85287052。

电子信箱：ere@vip.163.com；bjb@nies.org。

本刊编辑部

2011 年 7 月 18 日