

不同施肥处理对大豆生育期内土壤微生物的影响

李伟群¹,王 爽²,王 英¹,魏 丹^{1,2},周宝库¹,王玉峰¹,杨思平³

(1. 黑龙江省土壤环境与植物营养重点实验室,黑龙江省农业科学院土壤肥料研究所,哈尔滨 150086;
2. 哈尔滨工业大学生命科学与工程系,哈尔滨 150001 ;3. 沈阳军区农副业基地管理局,哈尔滨 150090)

摘要 研究长期不同施肥处理措施条件下,大豆在不同生育期中土壤细菌数量的动态变化与土壤微生物总数的动态变化之间的关系及其变化趋势。结果表明,土壤细菌数量的动态变化决定土壤微生物总数的动态变化,各处理土壤中细菌总数由花期逐渐增加,结荚期达最大值,到成熟期明显下降。各个时期土壤微生物量碳的变化与土壤细菌数量的变化趋势一致,有机+无机肥可明显提高土壤微生物数量和微生物碳量。

关键词 大豆;施肥处理;微生物数量;微生物量碳

中图分类号 S154.33 文献标识码 A 文章编号 1000-9841(2007)06-0922-04

EFFECT OF DIFFERENT FERTILIZER TREATMENT ON SOIL MICROORGANISM IN SOYBEAN GROWTH PERIOD

LI Wei-qun¹, WANG Shuang², WANG Ying¹, WEI Dan^{1,2}, ZHOU Bao-ku¹, WANG Yu-feng¹, YANG Si-ping³

(1. Lab of Soil Environment and Plant Nutrition of Heilongjiang province, Soil and Fertilizer Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, 150086; 2. Department of Life Science and Engineering of Harbin Institute of Technology, Harbin, 150001; 3. The Agriculture and Avocation Management Base of Shenyang Military Area, Harbin 150090)

Abstract We investigated the relationship and the trend between the dynamic change of soil bacteria quantity and soil microbe quantity at different growth period of the soybean treated at different fertilization. The results showed that the quantity of soil microorganism varied with the changing of soil bacteria. The quantity of soil bacteria showed increasing-decreasing trend from flowering to maturing and maximized at podding stage. The carbon content of soil microorganism behave the same changing trend as that of the quantity of soil bacteria. The treatment of organic + inorganic fertilizer could increase the quantity and the carbon content of soil microorganism obviously.

Key words Soybean; Fertilizer treatment; Quantity of soil bacteria; Carbon of soil microorganism

土壤微生物生物量作为土壤质量的生物指标,一直受到各国土壤工作者重视,目前黑土地正面临着退化的威胁,黑土垦殖已有近300年的历史,虽然

采取了一些治理措施,但由于自然因素制约和人为活动破坏,使黑土退化日益严重。在退化地的改良过程中,寻求能较早指示各种措施对土壤肥力变化

的敏感的指标就显得格外重要。近年来,土壤微生物区系、土壤微生物多样性及全球变化方面的研究已成为土壤质量研究的热点和前沿领域。

由于细菌的总数量在土壤三大类微生物中处于绝对优势的地位,因此,各微生物总数与土壤养分的关系由细菌数量与土壤养分的相关关系决定。有机质含量高,土壤微生物数量也增加。因此,土壤微生物数量可以作为评价土壤肥力的一个重要指标^[1]。

本试验在有 28 年肥力定位试验历史的的黑土区,进行微生物区系和有益种群的研究,对比施用不同肥料及不同施肥量的土壤微生物数量的变化,来寻找最合理的施肥方式,对提高大豆等作物产量有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2006~2007 年在黑龙江省农业科学院土壤肥料研究所农业部哈尔滨黑土生态环境重点野外科学观测试验站进行。供试大豆品种为合丰 42。设 4 个施肥处理,分别为:CK(常规施肥), D_1 (只施马粪 18600 kg hm^{-2}), $N_1P_1K_1$ ($N:75 \text{ kg hm}^{-2}$, $P_2O_5:150 \text{ kg hm}^{-2}$, $K_2O:75 \text{ kg hm}^{-2}$), $D_1N_1P_1K_1$ (施马粪: 18600 kg hm^{-2} , $N:75 \text{ kg hm}^{-2}$, $P_2O_5:150 \text{ kg hm}^{-2}$, $K_2O:75 \text{ kg hm}^{-2}$)。氮、磷、钾肥均秋施肥,氮肥为尿素,磷肥为三料过磷酸钙,磷酸二铵,钾肥为硫酸钾。每年均采用上述肥料处理量做底肥,并且同一地块不同年限的施肥措施相同。

2006 年春季 4 月应用 GPS 采集土壤样本,样品在 4°C 冰箱中保存用于土壤微生物基础量的研究。在大豆的开花期、结荚期和成熟期分别进行土壤样品的采集,取样方法是在靠近植株根系部,采集 $5\sim 20 \text{ cm}$ 土壤抛面,多点采集,总采集量为 1 kg ,均匀混合 4°C 冰箱保存。

1.2 测定项目

1.2.1 土壤微生物测定 将制备好的土壤悬浮液用无菌水稀释到合适的浓度,细菌为 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} ;放线菌为 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} ;真菌为 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 。分别对细菌、放线菌和真菌进行培养。细菌选用牛肉膏蛋白胨培养基, 28°C 黑暗培养 24 h ;放线菌采用高氏一号合成培养基, 28°C 黑暗培养 45 h ;真菌采用马丁-孟加拉红培养基, 33°C 黑暗培养 24 h 。

对培养出的菌落进行记数、统计及分析,以细菌、放线菌和真菌数量相加作为微生物总数,三大类微生物和各生理群微生物数量测定所用培养基配方见文献^[2]。

1.2.2 土壤微生物量碳的测定 土壤微生物量碳的测定是采用 Jenkinson 和 Powlson^[3] 提出的氯仿熏蒸浸提法。具体测定方法是,称取过 2 mm 筛相当于 25 g 干土重新鲜(本试验采用的鲜土 40 g)土样于 100 mL 烧杯中,并放入能抽气的真空干燥器内,再放入一只盛有无醇氯仿的小烧杯内,灭菌 24 h ,然后加入 $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$ (土:液 = 1:4)于灭菌后的土样中,振荡 30 min 过滤,同时,不灭菌的土样也用 K_2SO_4 溶液浸提、振荡和过滤,过滤后的溶液在 -15°C 以下的冰箱中保存。保存冰箱内过滤后的溶液用 TOCVCPH(日本岛津公司产全量有机碳测定仪)进行测定。土壤微生物量碳含量以熏蒸和未熏蒸土样 $0.5 \text{ mol L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$ 提取液中碳、氮含量之差乘以系数 K 求得。

2 结果与分析

2.1 大豆不同生育期各处理间土壤微生物数量变化

2.1.1 细菌数量变化 在开花期内施无机肥的土壤($N_1P_1K_1$)细菌数量较低,为对照土壤的 76.55% ,单施有机肥(D_1)和有机肥与无机肥配施($D_1N_1P_1K_1$)土壤中细菌数量均较高;结荚期和成熟期土壤细菌数量高低均为 $D_1N_1P_1K_1 > N_1P_1K_1 > D_1 > \text{CK}$ 。在大豆整个生育期内,有机肥和无机肥配施的处理中细菌数量明显高于其他三种处理;施肥后的土壤细菌数量从开花期到结荚期逐渐增加,到成熟期有所下降,但仍高于开花期(图 1)。

2.1.2 放线菌数量变化 在大豆开花期,土壤放线菌数量多少为 $\text{CK} > D_1 > N_1P_1K_1 > D_1N_1P_1K_1$;而结荚期,CK 和 D_1 处理的放线菌数量下降, $N_1P_1K_1$ 和 $D_1N_1P_1K_1$ 处理的放线菌数量有所提高, $D_1N_1P_1K_1$ 处理土壤放线菌数量增加的最显著;到了成熟期 CK、 D_1 和 $D_1N_1P_1K_1$ 处理的放线菌数量又开始下降,仅 $N_1P_1K_1$ 处理的呈上升趋势。在大豆整个生育期内,经过长期施用有机肥(D_1)的土壤放线菌数量变化不明显; $N_1P_1K_1$ 和 $D_1N_1P_1K_1$ 处理放线菌数量在大豆整个生育期内均经过先增加再下降的过程,这两个处理的放线菌数量变化趋势与细菌的变化一致(图

2)。

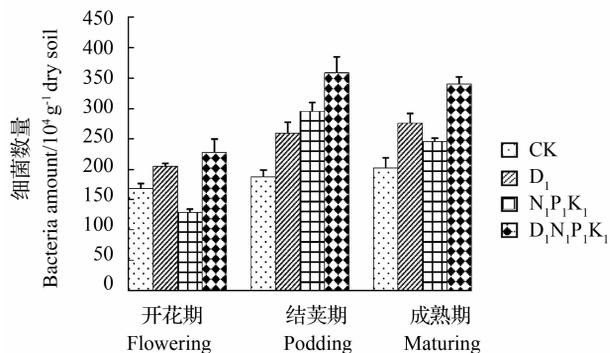


图1 大豆生育期不同处理土壤细菌数量变化

Fig. 1 Changes of soil bacteria amount at different growth stage of soybean

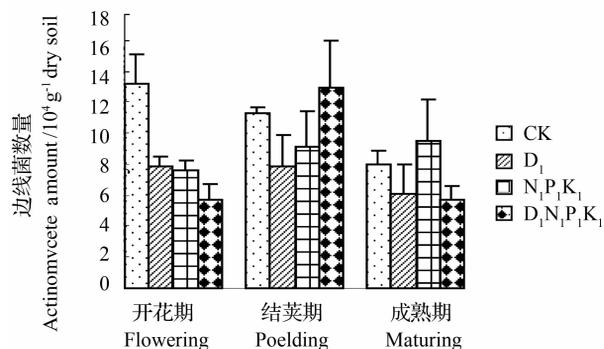


图2 大豆生育期不同处理土壤放线菌数量变化

Fig. 2 Changes of soil actinomycete amount at different growth stage of soybean

2.1.3 真菌数量变化 在大豆各个生育期内,不同施肥处理间土壤真菌数量也存在动态变化。在花期,施肥与对照土壤相比真菌数量下降;结荚期内各施肥处理的土壤真菌数量明显增加,以 $N_1P_1K_1$ 处理最为显著;到达成熟期,土壤真菌数量显著下降(图3)。

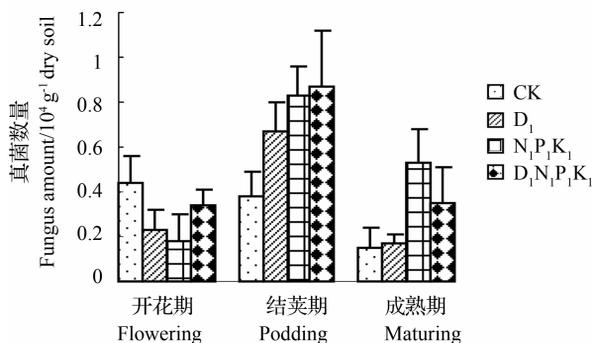


图3 大豆生育期不同处理土壤真菌数量变化

Fig. 3 Changes of soil fungus amount at different growth stage of soybean

2.2 大豆不同生育期土壤微生物量碳变化

测定大豆不同生育期土壤微生物量碳的结果见表1,各个时期土壤微生物量碳的变化与土壤细菌数量的变化趋势一致,从开花期到结荚期,各处理中土壤微生物量碳增加,结荚期最高,进入成熟期开始有所下降。同一生育期内各施肥处理的土壤微生物量碳均是 $D_1N_1P_1K_1 > N_1P_1K_1 > D_1$ 。在花期内,长期施无机肥和有机+无机肥后,土壤微生物量碳与其他处理间差异极显著($P < 0.01$);结荚期和成熟期内各处理间微生物量碳均达极显著水平($P < 0.01$)。

表1 大豆不同生育期土壤微生物量碳

Table 1 The soil microbial biomass C amount during the different soybean development period(mg kg^{-1} dry soil)

时期 Growth stage	处理 Treatment	微生物量碳 Carbon of Soil Microorganism / mg kg^{-1}	多重比较 Multiple Comparison	
			5%	1%
开花期 Flowering	CK	162.08	a	A
	D_1	232.38	a	A
	$N_1P_1K_1$	255.28	b	A
	$D_1K_1P_1K_1$	259.83	c	B
结荚期 Podding	CK	226.01	a	A
	D_1	168.61	b	B
	$N_1P_1K_1$	309.18	c	C
	$D_1N_1P_1K_1$	413.48	d	D
成熟期 Maturing	CK	115.89	a	A
	D_1	187.22	b	B
	$N_1P_1K_1$	212.12	c	C
	$D_1N_1P_1K_1$	228.33	d	D

2.3 大豆不同时期各处理微生物的动态变化

大豆不同生育期土壤微生物数量变化结果(图1~3)表明,土壤微生物总数和细菌总数在各生育期的变化趋势是一致的,从花期到结荚期,各处理土壤中可培养细菌总数随生育期而逐渐增加,到结荚期达最大值,到成熟期则有明显的下降。这种变化趋势与罗明等^[4]研究棉花各个生育期内土壤微生物数量的变化相类似,进入大豆成熟期,气温有所下降,大豆植株的生长发育转向生殖器官,根系代谢不利于微生物的生长发育。在大豆整个生育期内,施肥后各处理土壤中放线菌和真菌数量的变化也经过先增加后下降的动态过程。

3 结论与讨论

大豆不同生育期中,土壤细菌数量的动态变化

决定土壤微生物总数的动态变化,各处理土壤中可培养细菌总数随生育期而逐渐增加,到结荚期达最大值,到成熟期则有明显的下降。

采用平板法只能检测到大豆不同生育期土壤中那些可培养的微生物,并不能反映土壤微生物总的生物量。微生物量碳是土壤有机碳最活跃的成分,一般只占土壤有机碳总量的 1% ~ 3%,但对土壤扰动非常敏感,常常作为土壤对环境响应的指示指标^[5-6],与土壤肥力和土壤健康有十分紧密的关系。土壤微生物量碳还具有极高的灵敏性,可以在全碳变化之前反映出土壤微小的变化^[7],也可以反映土壤能量循环和养分转移与运输,能代表参与调控土壤中能量和养分循环以及有机物质转化的对应微生物的数量^[8]。本研究采用氯仿熏蒸浸提法测定大豆不同生育期土壤微生物量碳,结果表明,各个时期土壤微生物量碳的变化与土壤细菌数量的变化趋势一致,从花期到结荚期,各处理中土壤微生物量碳增加,结荚期最高,进入成熟期开始有所下降。同一生育期内各施肥处理的土壤微生物碳量均是 $D_1 N_1 P_1 K_1 > N_1 P_1 K_1 > D_1$ 。在花期内,长期施无机肥和有机 + 无机肥后,土壤微生物量碳与其他处理间差异极显著 ($P < 0.01$); 结荚期和成熟期内各处理间微生物量碳均达极显著水平 ($P < 0.01$)。采用 Biolog 微平板法分析土壤微生物代谢功能^[1,9]多样性实验表明,施肥后细菌利用碳源能力提高,有机肥与无机肥配施处理中细菌对碳源的代谢能力最强,为对照的 1.096 倍。由于细菌对碳源的利用具有选择性,在对双亲化合物利用的过程中,各处理间的差异较明显,因此在这类碳源上能更好说明肥料对微生物多样性产生了重要影响。

在大豆不同生育期内,长期定位施肥引起土壤微生物数量的变化也得以体现,施用有机肥可显著提高土壤微生物的数量;从大豆花期到成熟期内微生物碳量与微生物数量变化趋势一致,作为土壤环境敏感指标的微生物碳量对指示大豆不同生育期内土壤肥力状况起到不可忽视的作用。

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] 中国科学院土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京:科学出版社,1985:40-59.
- [3] Jenkinson D S, Powlson D S. The effect of biocidal treatments on metabolism in soil V. A method for measuring soil biomass[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1976, 8:189-202.
- [4] 罗明,文启凯,陈全家,等. 不同用量的氮磷无机肥对棉田土壤微生物区系及活性的影响[J]. 土壤通报,2000,31(2):67-69.
- [5] 文倩,赵小蓉,陈焕伟,等. 半干旱地区不同土壤团聚体中微生物量碳的分布特征[J]. 中国农业科学,2004,37(10):1504-1509.
- [6] Lin Q M, Brookes P C. An evaluation of the substrate-induced respiration method[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31:1969-1983.
- [7] Powlson D S. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total organic matter due to straw incorporation[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1987, 19:159-164.
- [8] Doran J W. Defining Soil Quality for a Sustainable Environment[M]. Madison: Soil of America Special Publication, 1994, 3-234.
- [9] McCaig A E, Grayston S J, Prose J I, et al. Impact of cultivation on characterization of species composition of soil bacterial communities[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2001, 35:37-48.
- [10] Garland J L. Patterns of potential C source utilization by rhizosphere communities[J]. Soil Biology & Biochemistry, 1996, 28:223-230.
- [11] Vahjen W, Munch J C, Tebbe C C. Carbon source utilization of soil extracted micro-organisms as a tool to detect the effect of soil supplemented with genetically engineered and non-engineered corynebacterium glutamicum and arecombinant peptide at the community level[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 18:317-328.
- [12] Pfender W F, Fieland V P, Ganio L M, et al. Microbial community structure and activity in wheat straw after inoculation with biological control organism[J]. Applied Soil Ecology, 1996, 3:69-78.