

生物有机肥对土壤微生物活性的影响^{*}

胡 可¹ 李华兴² 卢维盛² 刘远金² 王利宾¹

(1. 山西农业大学资源环境学院 太谷 030801; 2. 华南农业大学资源环境学院 广州 510642)

摘 要 通过两次连续温室玉米盆栽试验,研究了施用具有调节微生物功能的生物有机肥对土壤微生物数量与活性的影响,并利用传统平板计数法与 BIOLOG ECO 方法相结合研究生物有机肥对土壤微生物生态的影响。结果表明,与化肥相比,施用生物有机肥可显著提高土壤微生物中 3 大菌群的数量;AWCD 值及微生物对不同碳底物利用水平的测定结果表明,施用生物有机肥可明显提高土壤微生物对碳源的利用率,尤其土壤中的羧酸、胺类和其他类碳源等。表明生物有机肥的施用能增加土壤微生物利用碳源能力,改善微生物营养条件,使微生物保持较高活性,提高土壤微生物多样性。

关键词 生物有机肥 土壤微生物生态 土壤碳源利用率 BIOLOG ECO 微平板

中图分类号: S144 文献标识码: A 文章编号: 1671-3990(2010)02-0303-04

Effect of microbial organic fertilizer application on soil microbial activity

HU Ke¹, LI Hua-Xing², LU Wei-Sheng², LIU Yuan-Jin², WANG Li-Bin¹

(1. College of Resources and Environment, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 2. College of Natural Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract Microbial organic fertilizer (which is a typical functional fertilizer) was used in a corn pot culture under greenhouse condition to determine the effect of microbial organic fertilizer on soil microbial ecology via plate count and BIOLOG ECO methods. The study shows significantly enhancement in the number of soil microbes under microbial organic fertilizer compared with chemical fertilizer. AWCD values and carbon source utilization analyses show that microbial organic fertilizer noticeably increases carbon source utility by microbes, especially utility of carboxylic, amino acids, and miscellaneous carbon sources. More carbon source is used under microbial organic fertilizer application than under other treatments. Microbial organic fertilizer increases carbon source utilization, improves soil microbial nutrient level, and also increases soil microbial community activity and diversity.

Key words Microbial organic fertilizer, Soil microbial ecology, Utilization capacity of soil carbon source, BIOLOG ECO
(Received April 29, 2009; accepted Sept. 2, 2009)

近年来,集约化农业虽然推动了农业生产率和作物产量的大幅度提高,但长期大量施用化肥和化学农药,使土壤微生物多样性下降,严重影响了作物品质和产量。因此,农业生态系统健康研究在国际上日益受到多学科专家的关注,已成为农业生态研究的热点和前沿领域之一^[1-2]。土壤生态系统健康是农业生态系统健康可持续发展的基础^[3-4]。土壤微生物生态系统是土壤生态系统的重要组成部分。一旦土壤缺乏有机物质或有益微生物种群遭到破坏或丧失,势必造成土壤微生物生态系统的破坏,导致土传病害泛滥。良好的生态环境和持续的农业高产,要求建立有效的农业管理措施和手段保护土壤

和环境资源。因此多功能化、长效化及生物化的有机肥料对调控土壤微生物群落结构,提高土壤更新或恢复能力,防止土传病害等具有重要意义^[5-7]。随着现代微生物生态研究方法的出现,越来越多学者应用单一碳源微生物群落(BIOLOG)等先进技术研究有机物料对土壤微生物群落多样性的影响,以了解微生物群落组成特征如利用不同碳底物能力等的详细信息,取得了一些重要进展。本文对施用具有微生物调节功能的生物有机肥提高土壤微生物多样性进行研究,通过盆栽试验,利用 BIOLOG 技术比较生物有机肥、有机肥与化肥等对土壤微生物生态的影响,以为生物有机肥的合理施用提供理论参考。

胡可(1977~),女,讲师,硕士,主要从事土壤微生态研究。E-mail: huke311@163.com

收稿日期: 2009-04-29 接受日期: 2009-09-02

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试生物有机肥由华南农业大学资源环境学院微生物实验室自行研制, 养分状况见表 1。供试土壤采自华南农业大学资源环境学院农场果园地。中壤, pH 5.4, 有机质 $16.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效氮 $341.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有效磷 $45.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效钾 $52.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。供试作物为“辽原一号”玉米, 由华南农业大学草业中心提供。供试化肥为尿素(含 N 46%)、氯化钾(K_2O 60%)和磷酸二氢铵(P_2O_5 61.7%); 普通有机肥为不加菌剂的有机肥。两种有机肥养分状况见表 1。

1.2 试验设计

试验设 4 个施肥处理: 不施肥(CK)、生物有机肥(T1)、普通有机肥(T2)、化肥(T3), 3 个施肥处理为等量 N、P、K。各处理重复 3 次。采用盆栽试验, 每盆装 5 kg 土, 按 $0.20 \text{ g(N)} \cdot \text{kg}^{-1}$ (土)加入各肥料, 混匀后装盆。每盆栽种 4 株玉米。试验分两次进行, 第 1 次试验始于 2003 年 7 月 30 日, 9 月 14 日收获; 第 2 次试验始于 10 月 23 日, 12 月 6 日收获。第 2 次试验在第 1 次收获后不再追加任何肥料继续进行。

1.3 测定及计算方法

第 1 次试验播种当天、15 d、30 d、45 d, 第 2 次试验播种当天、22 d、45 d 取土样用于微生物分析。

土壤细菌、真菌、放线菌总数测定采用平板计数法^[8], 其中细菌培养基为牛肉膏蛋白胨培养基, 真菌培养基为 PDA 真菌培养基, 放线菌培养基为高氏一号培养基。

土壤微生物功能多样性^[9]采用 BIOLOG ECO 微平板法测定。称取相当于 10 g 烘干土壤的新鲜土壤, 加入 100 mL 灭菌的 $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液($\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$, pH 7.0), 使土液比为 1:10, 稀释后将土壤浸提液加入到 BIOLOG ECO 微平板中, 30℃ 培养, 酶标仪测定, 计算 AWCD 值, $\text{AWCD} = [(C - R)]/31$, 其中 C 为各反应孔在 578 nm 下测定的吸光值(OD_{578}), R 为对照孔的吸光值。

用 Excel 和 SAS6.12 软件进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 不同施肥处理对土壤微生物的影响

两次试验各处理的土壤细菌、真菌和放线菌数量见表 2。从表 2 可知, 盆栽过程中土壤细菌数量最多, 真菌与放线菌数量相近。两次试验中, 不同处理间比较, 多为化肥处理的微生物数量显著低于生物有机肥和普通有机肥, 而生物有机肥的可培养细菌、真菌和放线菌数量又多显著高于普通有机肥, 说明生物有机肥施用有助于土壤微生物的生长。尤其是第 2 次试验中, 与第 1 次试验相比, 虽未再施肥, 施用生物有机肥的土壤微生物数量并未显著下降, 仍维持较高水平; 而施用普通有机肥和化肥的微生物数量有一定程度的降低。第 2 次施用生物有机肥处理的 3 大菌群数量仍然保持较高水平, 真菌数量甚至超过第 1 次试验, 说明生物有机肥的施用对土壤 3 大菌群数量有明显提高作用, 且其长效性明显好于化肥和普通有机肥。菌群数量增加有利于提高土壤微生物活性, 进而可以促进整个土壤生态的平衡稳定^[10-11]。

表 1 供试生物有机肥、普通有机肥养分含量

Tab. 1 Main nutrients contents of the tested microbial organic fertilizer and conventional organic fertilizer

有机肥类型 Fertilizer type	有机质 Organic matter ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全氮 Total N ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全磷 Total P ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全钾 Total K ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	C/N
普通有机肥 Conventional organic fertilizer	395.3	12.1	21.7	9.10	11.94
生物有机肥 Microbial organic fertilizer	400.5	11.9	22.4	9.20	12.33

表 2 各处理第 1 次和第 2 次试验土壤微生物数量的比较

Tab. 2 Soil microorganisms amount of different treatments in the first and the second test

试验次数 Test time	处理 Treatment	细菌 Bacteria [$\times 10^7 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ (土)]				真菌 Fungi [$\times 10^5 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ (土)]				放线菌 Actinomycetes [$\times 10^5 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ (土)]			
		0 d	15 d	30 d	45 d	0 d	15 d	30 d	45 d	0 d	15 d	30 d	45 d
第 1 次 The first time	CK	4.0d	6.5c	5.1d	3.1e	2.4d	2.3c	2.3d	2.0d	3.2d	3.5d	2.0d	2.9d
	T1	6.8a	8.8a	9.6a	6.9a	5.7a	4.1b	5.6a	4.3a	5.2b	5.6b	5.5a	4.9a
	T2	6.4b	7.6b	7.9b	5.2c	3.9b	4.2b	5.1a	3.6b	5.0b	5.1c	4.6b	4.1b
	T3	4.1c	7.8b	6.8c	3.6d	3.0c	4.3b	4.6c	2.3c	3.6c	4.9c	3.9c	3.0c
		0 d	15 d	30 d	45 d	0 d	15 d	30 d	45 d	0 d	15 d	30 d	45 d
第 2 次 The second time	CK	4.1c	4.2d	4.2b	3.3c	3.4d	2.8c	3.1c	3.0d	3.1c	3.0d	3.1c	3.1c
	T1	6.9a	8.9a	7.3a	4.9a	8.7a	4.9a	5.4a	8.0a	5.1a	8.0a	5.1a	5.1a
	T2	5.6b	6.8b	5.1b	4.1b	6.0b	3.5b	4.5b	6.0b	4.3b	6.0b	4.3b	4.3b
	T3	4.0c	5.8c	4.9b	3.9b	4.2c	3.3b	3.2c	4.5c	3.0c	4.5c	3.0c	3.0c
		0 d	15 d	30 d	45 d	0 d	15 d	30 d	45 d	0 d	15 d	30 d	45 d

T1 生物有机肥 Microbial organic fertilizer; T2 普通有机肥 Conventional organic fertilizer; T3 化肥 Chemical fertilizer. 同次试验的同列不同字母表示差异达 0.05 显著水平 Different letters in one column of one test mean significant difference at 0.05 level. 下同 The same below.

表 3 两次试验不同取样时间 *AWCD* 值比较Tab. 3 *AWCD* values of two tests at different sampling time

处理 Treatment	第 1 次 The first test				第 2 次 The second test		
	0 d	15 d	30 d	45 d	0 d	22 d	45 d
T1	0.171b	0.528d	1.332a	1.133a	0.746b	1.342a	1.629a
T2	0.084b	1.020b	0.871b	0.771b	0.877a	0.941b	1.095b
T3	0.345a	1.200a	0.718c	0.532c	0.756b	0.747c	0.369c
CK	0.067b	0.788c	0.336d	0.214d	0.765b	0.609d	0.254c

2.2 土壤微生物功能多样性

AWCD(Average well color development)反映了土壤微生物对 BIOLOG ECO 微平板中单一碳源的总体利用能力。土壤微生物对碳源的利用能力是表征土壤微生物生长情况的主要指标。表 3 表明,第 1 次试验的播种初期,*AWCD* 值以化肥处理最高,而其他处理相近;第 2 次采样时,仍以化肥处理最高,普通有机肥明显高于生物有机肥;随着时间推移,第 3 次与第 4 次采样及第 2 次试验生物有机肥和普通有机肥 *AWCD* 值大部分时间显著高于化肥。且在每次试验后期生物有机肥的 *AWCD* 值显著高于普通有机

肥。说明生物有机肥的施用提高了土壤微生物的活性。与第 1 次试验相比,第 2 次试验普通有机肥和生物有机肥处理的 *AWCD* 值仍然处于较高水平,且多数时间显著高于化肥和对照,特别是生物有机肥 *AWCD* 值在后两次取样最高,说明生物有机肥提高了土壤微生物利用碳底物的持续能力,改善了土壤微生物营养,提高了土壤微生物代谢能力,从而提高了其活力。

土壤微生物通过消耗有机质来维持正常的生理活动,生理活动越强,消耗的有机质越多^[12]。本研究将 BIOLOG ECO 微平板的 31 种单一碳底物分为 6 大类:糖类、羧酸、氨基酸、胺和酰胺类、聚合物和其他类(包括多元醇类、核苷类等),分析比较不同试验阶段微生物对上述 6 类碳底物利用能力的差异。从图 1 可以看出,两次试验期间,对照的微生物对 6 类碳源的利用率大部分时间最低,施肥处理则显著高于对照处理,且施用生物有机肥和普通有机肥高于化肥和不施肥处理,施用生物有机肥又高于施用普通有机肥处理。第 1 次试验中施用生物有机

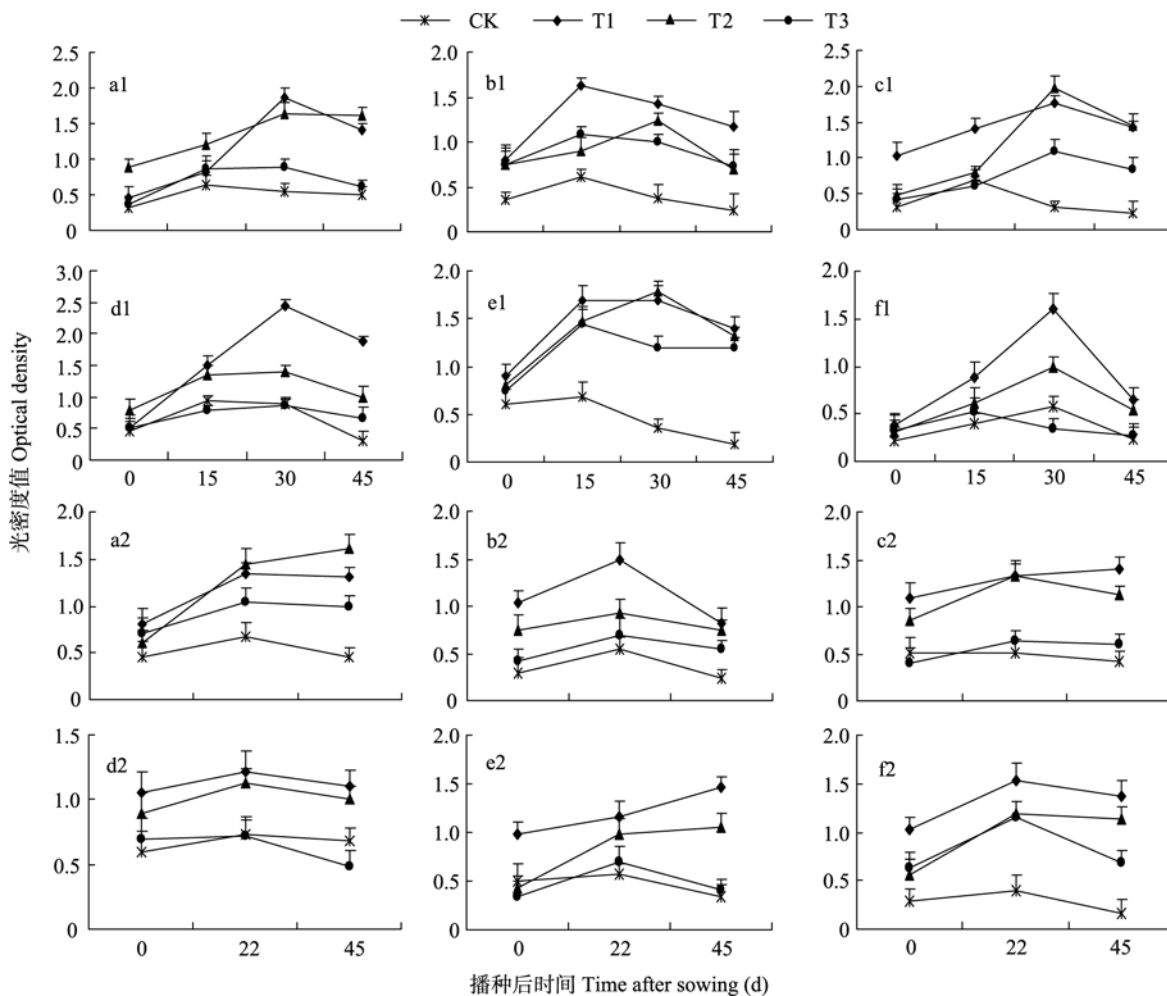


图 1 第 1 次(1)和第 2 次(2)试验不同取样时间土壤微生物群落对糖类(a)、羧酸(b)、氨基酸(c)、胺类(d)聚合物(e)和其他碳底物(f)的利用比较

Fig. 1 Utilization of sugar (a), carboxylic acid (b), amino acid (c), amino (d), polymer (e) and miscellaneous carbon sources (f) by soil microorganisms in different sampling time under different treatments in the first (1) and the second (2) test

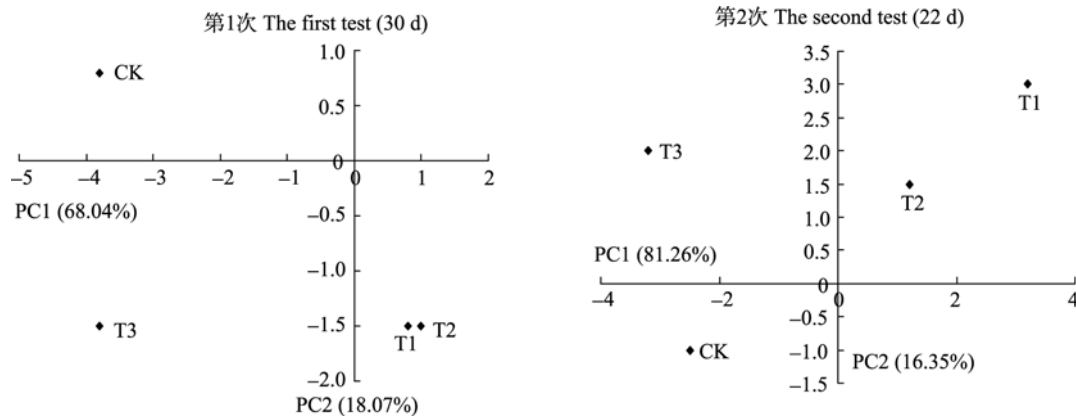


图 2 两次试验土壤微生物群落功能主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis of soil microbial community in twice test

肥处理的土壤微生物对羧酸、胺类、其他类碳源的利用率最高,第2次试验则对除糖类外的其他5类碳源利用率最高。生物有机肥的施用使土壤微生物对碳水化合物利用能力提高,说明生物有机肥可为土壤微生物供给更多的可利用底物,改善土壤微生物群落功能。且施用生物有机肥具有明显的促进土壤微生物活性长效性的作用,有利于土壤有效养分的转化。

图1表明,第1次试验的30 d和第2次试验的22 d时各处理土壤微生物对各类碳源利用率的差异最明显,因此对这两个时间不同处理土壤微生物群落利用6类碳源的情况进行主成分分析,以了解不同处理土壤微生物群落功能的相似状况(图2)。从图2可知,第1主成分PC1对群落的贡献远远大于第2主成分PC2,因此根据PC1可比较各处理微生物群落功能。第1次试验第30 d时,生物有机肥与普通有机肥在PC1的正端方向,化肥和对照在PC1的负端方向,说明生物有机肥和普通有机肥处理的土壤微生物群落功能相似,而化肥处理与空白微生物群落功能相似,施用生物有机肥具有明显提高土壤微生物群落功能的作用。第2次试验的结果相同。表明生物有机肥对增强土壤利用碳源能力有显著影响。

3 结论

施用生物有机肥可增加土壤微生物数量,提高微生物活性。生物有机肥本身含有益菌群,对土壤土著微生物有一定活化作用,且生物有机肥基料多为有机物,可丰富土壤中微生物可利用营养,增加菌群数。BIOLOG ECO微平板测定结果表明,生物有机肥可提高土壤微生物利用碳底物能力,说明施用生物有机肥后土壤微生物营养得以改善,代谢能力提高,进而竞争力加强。对6类碳源利用与主成分分析进一步说明这一结果。多样性高的土壤对病原菌具有较强的抑制作用^[13],施用生物有机肥可提

高土壤微生物活性,改善微生物结构和功能,从而实现土壤微生物生态平衡,抑制作物病害,是一条有效的生态调控防病途径。

参考文献

- [1] 梁文举, 刘丹. 绿色食品与农业健康发展的初步探讨[J]. 中国食物与营养, 2001(6): 19-23
- [2] Smit B, Waltner Toews D, Rapport D, et al. Agroecosystem health: Analysis and assessment[M]. Guelph, Ontario: University of Guelph, 1998: 1-14
- [3] Kennedy A C, Smith K L. Microbial diversity and sustainability of agricultural soils[J]. Plant Soil, 1995, 23(2): 69-79
- [4] Doran J W, Coleman D C, Bezdicek D F, et al. Defining soil quality for a sustainable environment[M]. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America, 1994: 73-90
- [5] Hoitink H A, Boehm M J. Biocontrol within the context of soil microbial communities: A substrate-dependent phenomenon[J]. Annu Rev Phytopathol, 1999, 37: 427-446
- [6] Hu S J, van Bruggen A H C, Grunwald N J. Dynamics of bacterial populations in relation to carbon availability in a residue-amended soil[J]. Appl Soil Ecol, 1999, 13: 21-30
- [7] 刘更另, 金维续. 中国有机肥料[M]. 北京: 农业出版社, 1991: 242
- [8] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 102-109
- [9] 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]. Appl Environ Microbiol, 1991, 57(8): 2351-2359
- [10] Doran J W, Sarrantonio M, Liebig M A. Soil health and sustainability[J]. Advance Agronomy, 1996, 56: 2-54
- [11] Ibekwe A M, Kennedy A C, Frohne P S, et al. Microbial diversity along a transect of agronomic zones[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2002, 39: 183-191
- [12] 杨元根, Paterson E, Campbell C. Biolog方法在区分城市土壤与农村土壤微生物特性上的应用[J]. 土壤学报, 2002, 39(4): 582-589
- [13] Shiomi Y, Masaya N, Tomoko O, et al. Comparison of bacterial community structure in the rhizosphere of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt[J]. Appl Environ Microb, 1999, 65: 3996-4001