DOI: 10.5846/stxb201409201865
王菲,袁婷,谷守宽,王正银.有机无机缓释复合肥对土壤微生物量碳、氮和群落结构的影响.生态学报,2016,36(7): - .
Wang F, Yuan T, Gu S K, Wang Z Y.Effects of organic and inorganic slow-release compound fertilizers on microbial biomass carbon and nitrogen, and microbial community structure in soil.Acta Ecologica Sinica,2016,36(7): - .

有机无机缓释复合肥对土壤微生物量碳、氮和群落结构的影响

王 菲,袁 婷,谷守宽,王正银*
西南大学资源环境学院, 重庆 400716

摘要:研究缓释复合肥不同用量对土壤微生物量碳、氮和群落结构多样性的影响,在农业生产上广泛应用缓释复合肥有着重要意义。试验采用室内长期恒温培养和磷脂脂肪酸法,以化肥和普通复合肥适量施用养分量为对比,研究缓释复合肥适量、高量和超高量施肥水平对土壤微生物 PLFA 含量的影响规律。结果表明,SRF1、SRF2、SRF3(缓释复合肥适量、高量和超高量)较 CK(不施肥)和 CF1(化肥适量)显著增加土壤微生物量碳,且较 CK、CF1 和 CCF1(普通复合肥适量)显著增加土壤微生物量氮。土壤微生物量碳、氮随着缓释复合肥施肥水平的增加而增加,但没有随着施肥水平的倍量增加而倍量增加,且 SRF2 和 SRF3 无显著差异。缓释复合肥(SRF1、SRF2 和 SRF3)较 CK、CF1 和 CCF1 增加土壤 PLFA 的种类和含量,且总 PLFA 含量增加 7.4%—26.7%、17.6%—38.7%和 12.8%—33.0%,3 个施肥水平以 SRF2 作用效果最好,总 PLFA 含量最高,分别较 SRF1 和较 SRF3 高 16.4%和 17.9%。土壤细菌、放线菌、革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌 PLFA 含量以 SRF1 和 SRF2 显著高于 CF1 和 CCF1。主成分分析和聚类分析显示施肥处理分布较多 PLFA 的优势种群,SRF3 与 SRF1 和 SRF2 的 PLFA 结构差别较大。综上认为,适量施肥水平以缓释复合肥较化肥和普通复合肥对土壤微生物的作用显著,其中缓释复合肥 3 个施肥水平以高量施肥水平作用最好。
关键词:缓释复合肥;磷脂脂肪酸;土壤微生物群落结构

Effects of organic and inorganic slow-release compound fertilizers on microbial biomass carbon and nitrogen, and microbial community structure in soil

WANG Fei, YUAN Ting, GU Shoukuan, WANG Zhengyin*
College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, *China*

Abstract: Community structure and edaphon quantity play important roles in soil quality changes and nutrition cycling. There have been many studies on the relationships between soil microbial properties and fertilizer application. However, to our knowledge, there is no information concerning the soil microbial properties affected by organic and inorganic slow-release compound fertilizers, which are widely used in agricultural production. To reveal the influence of slow-release compound fertilizer on soil microorganisms, six treatments, consisting of soil mixed with different fertilizers, were placed in an incubator at 25 ℃ and 80% field capacity. These were a control (CK, without fertilization), moderate doses of chemical fertilizer (CF1), common compound fertilizer (CCF1), slow-release compound fertilizer (SRF1), and slow-release compound fertilizer at high and excessive levels (SRF2 and SRF3, respectively), and each treatment was repeated three times. Soil microbial properties, such as contents and compositions of microbial PLFA (Phospholipid fatty acid), the microbial community, the ratios of different microorganisms etc. were investigated, and principal components analysis and cluster analysis of soil microbes were also undertaken.The results showed that the soil microbial properties were significantly

基金项目:科技部农业科技成果转化资金项目(2007GB2CF100266);国家水体污染控制与治理科技重大专项课题(2012ZX07104-003)
收稿日期:2014-09-20; **网络出版日期**:2015- -
* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: wang_zhengyin@163.com

improved by slow-release compound fertilizers. The soil microbial biomass carbon in the SRF1, SRF2, and SRF3 treatments increased significantly compared to CK and CF1, and SRF1, SRF2, and SRF3 soil microbial biomass nitrogen increased significantly compared to CK, CF1 and CCF1. The soil microbial biomass carbon and nitrogen levels increased as the application rate of the slow-release compound fertilizer rose, but it was not in a direct ratio, and there were significant differences between SRF1 and SRF2. Phospholipid fatty acid (PLFA) content was highest in SRF2, and the total PLFA content in SRF1, SRF2 and SRF3 increased by 7.4%—26.7% more than in CK, 17.6%—38.7% more than in CF1, and 12.8%—33.0% more than in CCF1. There were 18 microbial types marked by phospholipid fatty acid in SRF2, one type more than in SRF1, two types more than in CF1 and SRF3, and three types more than in CK and CCF1. At the same time, SRF2 was the best treatment among the three slow-release compound fertilizer levels, and the SRF2 total PLFA content was 16.4% more than SRF1 and 17.9% more than SRF3. The PLFA quantities for soil bacteria, actinomycetes, gram positive bacteria, and gram negative bacteria were significantly higher in SRF1 and SRF2 than in CF1 and CCF1. The ratios of soil microbial communities could be a sensitive indicator for predicting changes in soil ecosystems, and the slow-release compound fertilizer treatments were able to improve the stability of the ecosystem. Principal components analysis and cluster analysis showed that many of the dominant PLFAs were found in the fertilizer treatments, and SRF3 was different from SRF1 and SRF2 according to their distributions in the principal components analysis. In summary, slow-release compound fertilizerssignificantly improved soil microbial community structure compared to chemical fertilizer and common compound fertilizer at an appropriate level of fertilization, and SRF2 was the best among the three levels of slow-release compound fertilizer treatments.

Key Words: slow-release compound fertilizer; phospholipid fatty acid; soil microbial community structure

土壤微生物是土壤有机质和养分转化、循环的动力,是维持土壤质量的重要因素,自然条件下土壤内部的变化是一个复杂而密切联系的过程,而微生物学指标能敏感地反映土壤质量的变化,是土壤质量评价体系中不可缺少的组成部分[1]。但在农业生产中,施肥措施不仅直接影响作物的生长状况和产量,同时也明显影响土壤理化性质,并由此导致土壤微生物数量、活性和群落结构发生改变[2-3]。近年来,研究长期施肥措施[4]和有机无机肥料配施[5]等施肥制度对土壤微生物的影响尚有报道,主要涉及土壤微生物群落多样性的研究。土壤微生物多样性反映群落总体的动态变化,研究方法较多,而不同方法反映土壤微生物多样性的情况不同,其中磷脂脂肪酸法可以分析土壤微生物群落结构的多样性。因为不同种类微生物体内磷脂类化合物中的脂肪酸组成及含量存在极大的差异,可以区分出土壤革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、细菌、真菌、放线菌、原生动物和藻类等。缓控释肥料作为一类新型肥料已成为近年来的研究热点,然而迄今的研究集中在养分释放、作物和环境效应等方面[6-8],缺少对这类肥料的土壤肥力质量综合效应评价,特别是当前大量施肥现象严重,肥料种类和施用量对土壤微生物的影响较大,而有关缓控释肥料对土壤微生物群落多样性影响规律的研究较薄弱,以致在农田推广应用缓控释肥料尚缺乏强有力的理论支撑。有鉴于此,在前期对缓释复合肥料不同形态氮素养分释放和生物效应研究的基础上[9],本文采用室内恒温培养试验和磷脂脂肪酸法(Phospholipid Fatty Acid, PLFA),研究该缓释复合肥不同施用水平对菜园土壤微生物生物量和群落结构多样性的影响,旨在进一步揭示缓控释肥料提高氮素利用效率和改善土壤肥力质量的实质,为农业生产上一次性简化施肥和应用该肥料提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤采自重庆市璧山县七塘镇蔬菜(茄子)基地,其基本理化性质为 pH 值 6.8,有机质 13.8 g/kg,碱解氮 99.7 mg/kg,有效磷 22.6 mg/kg,速效钾 134 mg/kg。供试肥料:化肥有尿素(N, 46%),磷酸二氢铵(N,

11%; P_2O_5, 44%),硫酸钾(K_2O, 50%);普通复合肥由尿素、磷酸二氢铵和硫酸钾按氮磷钾质量分数为14%、8%和8%复合造粒而成;缓释复合肥系西南大学研制的一种以快速有效化处理的优质有机肥为基础,与经缓释技术处理的化学肥料复合而制得的养分结构型非包膜缓复合肥,该肥料氮磷钾质量分数为14%、8%和8%,有机质为15.7%[10]。

1.2　试验设计

土壤恒温培养试验设置6个处理,3次重复;各处理施肥量见表1。在适量施肥的基础上,设计缓释复合肥高量(增加1倍量)和超高量(增加3倍量)处理,目的在于探讨缓释复合肥高量施用条件下土壤微生物群落的适应性,为生长期长的覆膜栽培茄果类蔬菜以及果树等木本农作物一次性简化施肥奠定基础。

表1　土壤培养试验施肥量(mg/kg)

Table 1　Application rate of fertilizer of soil culturing experiment(mg/kg)

代号 Code	处理 Treatment	施肥量 Application rate of fertilizer		
		N	P_2O_5	K_2O
CK	不施肥	0	0	0
CF1	普通化肥(适量)	200	120	120
CCF1	普通复合肥(适量)	200	120	120
SRF1	缓释复合肥(适量)	200	120	120
SRF2	缓释复合肥(高量)	400	240	240
SRF3	缓释复合肥(超高量)	800	480	480

CK:对照 Control;CF1:普通化肥适量施肥水平 A moderate level of chemical fertilizer;CCF1:普通复合肥适量施肥水平 A moderate level of common compound fertilizer;SRF1:缓释复合肥适量施肥水平 A moderate level of slow-release compound fertilizer;SRF2:缓释复合肥高量施肥水平 A high level of slow-release compound fertilizer;SRF3:缓释复合肥超高量施肥水平 A overhigh level of slow-release compound fertilizer

试验时称取过1 mm筛的风干土壤100 g和相应用量的肥料,逐次加入去离子水,使土壤和肥料充分混匀,将土壤装入玻璃培养管(长度150 mm,直径35 mm)内,然后用滴管加入剩余水量使之达到土壤田间持水量的80%左右,最后用保鲜膜封住管口,并在保鲜膜上均匀扎20个0.1 mm的小孔保证其通气条件,于恒温箱中25 ℃培养90 d,为保证整个培养过程中作用条件(水分、通气等)的一致性,每隔4 d采用重量法加水。到达预定培养时间后,每处理取3次重复的培养管,将其土壤全部取出充分混匀。一部分土壤用于土壤微生物量碳氮的分析;另一部分用无菌塑料袋装入,冷冻干燥后-70 ℃保存,用于PLFA分析。

1.3　测定项目及方法

土壤微生物量碳和氮采用氯仿熏蒸—硫酸钾浸提法测定[11]。土壤微生物PLFA按照Bligh-Dyer[12]方法提取后,用Agilent 6850气相色谱仪分析PLFA的成分。色谱条件为:HP-5柱(25.0 m×200 μm×0.33 μm),进样量1 μL,分流比10:1,载气:H_2,尾吹气高纯N_2,助燃气是空气,流速0.8 mL/min。汽化室温度250 ℃,检测器温度300 ℃,柱前压10.0 psi。升高柱温:170 ℃起始,5 ℃/min升到260 ℃,而后40 ℃/min升至310 ℃,保持1.5 min。各成分脂肪酸通过美国MIDI Sherlock微生物鉴定系统(Version 6.1, MIDI, Inc., Newark, DE)进行,标准品购于美国MIDI公司的C9—C20的脂肪酸甲酯,PLFA用C19:0做内标,换算PLFA的绝对含量。

细菌标记性脂肪酸有12:0,13:0,14:0,i14:0,15:0,i15:0,a15:0,16:0,i16:0,16:1 2OH,16:1w5c,i17:0,a17:0,cy17:0,18:0,cy19:0w8c等,其中i14:0,i15:0,a15:0,i16:0,i17:0,a17:0等代表革兰氏阳性细菌,16:1w5c,cy17:0,cy19:0w8c等代表革兰氏阴性细菌;真菌标记性脂肪酸有18:1w9c;放线菌标记性脂肪酸有10Me17:0和10Me18:0。一般饱和脂肪酸以12:0,13:0,14:0,16:0,18:0等之和计;单烯不饱和脂肪酸以16:1 2OH,16:1w5c,cy17:0等之和计。异构磷脂脂肪酸以i14:0,i15:0,i16:0,i17:0等之和计;反异构磷脂脂肪酸以a15:0,a17:0等之和计[13-16]。

1.4　数据处理和统计分析

试验数据用Microsoft Excel2003整理,SPSS13.0(Statistical Product and Service Solutions)软件进行方差分

析($P<0.05$)、主成分分析和聚类分析,其中多重比较采用 Duncan 法计算检验差异显著性(3 次重复),不同处理差异显著性用 One-way ANOVA(单因素方差分析)检验。

2 结果

2.1 缓释复合肥对土壤微生物量碳和氮的影响

土壤微生物量碳和氮是评价土壤养分有效性和土壤微生物状况随环境变化的敏感指标[17]。施用缓释复合肥、化肥和普通复合肥提高了土壤微生物量碳 0.5%—36.9%(表 2),缓释复合肥土壤微生物量碳较 CF1(化肥适量)显著增加 8.2%—36.2%(表 2),较 CCF1(普通复合肥适量)提高了 1.1%—27.3%(表 2),缓释复合肥 3 个处理以 SRF2 和 SRF3 土壤微生物量碳最高,且显著高于其它处理。缓释复合肥处理较 CK、CF1 和 CCF1 显著增加土壤微生物量氮,施缓释复合肥 3 个处理土壤微生物量氮随着施肥水平增加而增加。土壤微生物量碳氮比可反映微生物群落结构信息,一般情况下细菌碳氮比在 5∶1 左右,放线菌在 6∶1 左右,真菌在 10∶1 左右[18]。各处理土壤微生物碳氮比在 5—7 左右,缓释复合肥 3 个处理土壤微生物量碳氮比在 5∶1 左右,低于 CK 和 CCF1。综上可知,缓释复合肥增加了土壤微生物量碳和氮,其中适量施肥水平以缓释复合肥高于化肥和普通复合肥。

表 2 土壤微生物量碳和氮(mg/kg)

Table 2 Microbial biomass C and N of soil(mg/kg)

处理 Treatment	土壤微生物量碳 Soil microbial biomass C	土壤微生物量氮 Soil microbial biomass N	土壤微生物碳氮比 The ratio of soil microbial biomass carbon and nitrogen
CK	359.1c	46.3e	7.76a
CF1	360.9c	63.8c	5.66c
CCF1	386.2b	53.9d	7.17b
SRF1	390.5b	69.1b	5.65c
SRF2	474.4a	94.8a	5.00d
SRF3	491.5a	98.1a	5.01d

同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

2.2 缓释复合肥对土壤微生物 PLFA 含量及组成的影响

表 3 可知,室内恒温培养土壤分别检出 18 种 PLFA,包括代表细菌的 15 种 11—19 碳 PLFA,代表放线菌的 10Me17:0 和 10Me18:0,代表真菌的 18:1w9c。施肥增加了土壤 PLFA 种类,CK 和 CCF1 检测出 15 种 PLFA,CF1 和 SRF3 有 16 种,SRF1 有 17 种,SRF2 有 18 种,缓释复合肥处理中以 SRF1 和 SRF2 最多。可见同一施肥量水平的 3 种肥料以 SRF1 的 PLFA 种类最多,而缓释复合肥施肥量大量增加(倍量增加)减少了微生物种类,可能是施肥量过高易对土壤微生物产生毒害作用。在所有 PLFA 中含量最低的是 i14:0,变化范围为 0.0520—0.129 nmol/g,缓释复合肥处理较 CK 显著增加,CF1 和 CCF1 没有检测到。含量较高的 PLFA 是 16:0,含量变化是 1.04—1.54 nmol/g,缓释复合肥处理显著大于 CK、CF1 和 CCF1。适量施肥水平 SRF1 土壤微生物总 PLFA 含量显著高于 CF1 和 CCF1,增幅分别为 19.1%和 14.3%,且缓释复合肥处理较 CK、CF1 和 CCF1 显著增加土壤微生物总 PLFA 含量 7.4%—26.7%、17.6%—38.7%和 12.8%—33.0%。缓释复合肥提高了土壤微生物 PLFA 种类,且总 PLFA 含量最高,缓释复合肥 3 个处理以适量和高量表现最好。

2.3 缓释复合肥对土壤微生物群落及相对丰度的影响

土壤中的细菌、放线菌和真菌等微生物在土壤中占有极其重要的地位,对土壤中有机化合物的分解及腐殖质合成等起着重要作用[19]。缓释复合肥较 CF1 和 CCF1 显著增加土壤细菌 PLFA 含量 14.9%—36.1%和 77.6%—27.5%(表 4)。对土壤放线菌的 PLFA 含量,SRF1 和 SRF2 较 CK、CF1 和 CCF1 显著增加,SRF3 显著降低,表明施肥量过高不利于放线菌的生存。土壤革兰氏阳性菌的 PLFA 含量以 SRF2 最高,施肥量一致的化肥和缓释复合肥对土壤革兰氏阴性菌的 PLFA 含量影响无显著差异。缓释复合肥 3 个处理以 SRF2 对提高土

壤细菌、放线菌、革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的作用最好。

表 3　土壤微生物 PLFA 含量及组成(nmol/g)

Table 3　Contents and compositions of microbial PLFA in soil(nmol/g)

PLFA 生物标记 PLFA biomarker	CK	CF1	CCF1	SRF1	SRF2	SRF3
a11:0	nd	nd	nd	nd	0.213	nd
i14:0	0.0520d	nd	nd	0.0906c	0.129a	0.106b
14:0	0.0915d	0.0837e	0.0740f	0.110c	0.153a	0.121b
i15:0	1.14a	0.864e	0.880e	0.994b	0.936c	0.708f
a15:0	0.379d	0.302e	0.312e	0.507b	0.565a	0.434c
i16:0	0.410d	0.391d	0.435c	0.489b	0.535a	0.395d
16:1w5c	0.177a	0.134c	0.153b	0.147b	0.124d	0.120d
16:0	1.16d	1.04e	1.12d	1.25c	1.46b	1.54a
i17:0	0.346b	0.339b	0.404a	0.246c	0.242c	0.200d
a17:0	0.239c	0.210d	0.231c	0.272b	0.310a	0.235c
cy17:0	0.249a	0.209c	0.244a	0.225b	0.168d	0.160d
16:1 2OH	0.213c	0.241b	0.293a	0.206cd	0.217c	0.196d
10Me17:0	nd	0.0934c	nd	0.119b	0.185a	0.115b
18:1w9c	0.270d	0.246e	0.245e	0.379c	0.451b	0.716a
18:0	0.312d	0.273e	0.280e	0.363c	0.462a	0.430b
17:0 2OH	nd	0.203d	0.126e	0.214c	0.376a	0.332b
10Me18:0	0.306a	0.258c	0.274b	0.251c	0.316a	nd
cy19:0w8c	0.317a	0.280bc	0.323a	0.291b	0.334a	0.272c
Total PLFA	5.66c	5.17d	5.39cd	6.16b	7.17a	6.08b

同行不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同

细菌/真菌和革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌的比值常用来表征土壤中各菌群生物量的变化和两个种群的相对丰富程度及土壤生态系统的稳定性[20]。表 4 可知,缓释复合肥处理较 CK、CF1 和 CCF1 显著降低细菌/真菌值;与 CF1 和 CCF1 处理相比,缓释复合肥处理中 SRF1 和 SRF2 显著增加革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌值。一般饱和脂肪酸/单烯不饱和脂肪酸和异构磷脂脂肪酸/反异构磷脂脂肪酸被用作反映环境胁迫或营养限制[21]。缓释复合肥处理较 CF1 和 CCF1 增加一般饱和脂肪酸/单烯不饱和脂肪酸值,而在低碳源和氧浓度、低 pH 和高温情况下,异构磷脂脂肪酸/反异构磷脂脂肪酸比率会增大[21],较 CF1 和 CCF1,缓释复合肥处理异构磷脂脂肪酸/反异构磷脂脂肪酸比率较低。

表 4　土壤微生物群落及各类群 PLFA 比值(nmol/g)

Table 4　Soil microbial community and ratios of different microorganism PLFA contents(nmol/g)

处理 Treatment	CK	CF1	CCF1	SRF1	SRF2	SRF3
细菌 Bacteria	5.09cd	4.57e	4.88d	5.41b	6.22a	5.25bc
放线菌 Actinomycetes	0.306d	0.351c	0.274e	0.370b	0.501a	0.115f
真菌 Fungi	0.270d	0.246e	0.245e	0.379c	0.451b	0.716a
革兰氏阳性菌 Gram Positive Bacteria	2.87b	2.46c	2.54c	2.97b	3.43a	2.19d
革兰氏阴性菌 Gram Negative Bacteria	0.956d	1.07c	1.14b	1.08c	1.22a	1.08c
细菌/真菌 Bacteria/Fungi	18.8b	18.6b	19.9a	14.3c	13.8c	7.33d
革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌 Gram Positive Bacteria/Gram Negative Bacteria	3.01a	2.30c	2.23c	2.74b	2.81b	2.03d
一般饱和脂肪酸/单烯不饱和脂肪酸 Normal Saturated Fatty Acid/Monounsaturated Fatty acid	1.28a	1.06c	1.07c	1.18ab	1.24a	1.16b
异构磷脂脂肪酸/反异构磷脂脂肪酸 Iso Phospholipid Fatty Acid/Anteiso Phospholipid Fatty Acid	3.16a	3.11a	3.17a	2.34b	1.69d	2.10c

2.4 土壤微生物 PLFA 主成分分析

通过对 18 种 PLFA 进行主成分分析(图 1a),前两个主成分可以解释总变异的 83.9%。绝大多数细菌和放线菌 PLFA 在载荷图的上部,其中 a11:0,i15:0,i16:0,a17:0,10Me18:0 和 cy19:0w8c 在主成分二上有较高的载荷值。从施肥处理的主成分分析结果看(图 1b),缓释复合肥、化肥和普通复合肥较不施肥有明显的种群优势。SRF1 和 SRF2 与主成分一和二均表现出极度正相关关系,两处理 PLFA 的结构差别较小,优势种群有 a11:0,a17:0,i16:0;SRF3 与主成分一表现出负相关,与主成分二显现出正相关关系。结合 PLFA 主成分和施肥处理主成分综合分析可知,大部分 PLFA 分布在施肥区,缓释复合肥超高量施肥水平与适量和高量施肥水平对土壤 PLFA 影响差距大。

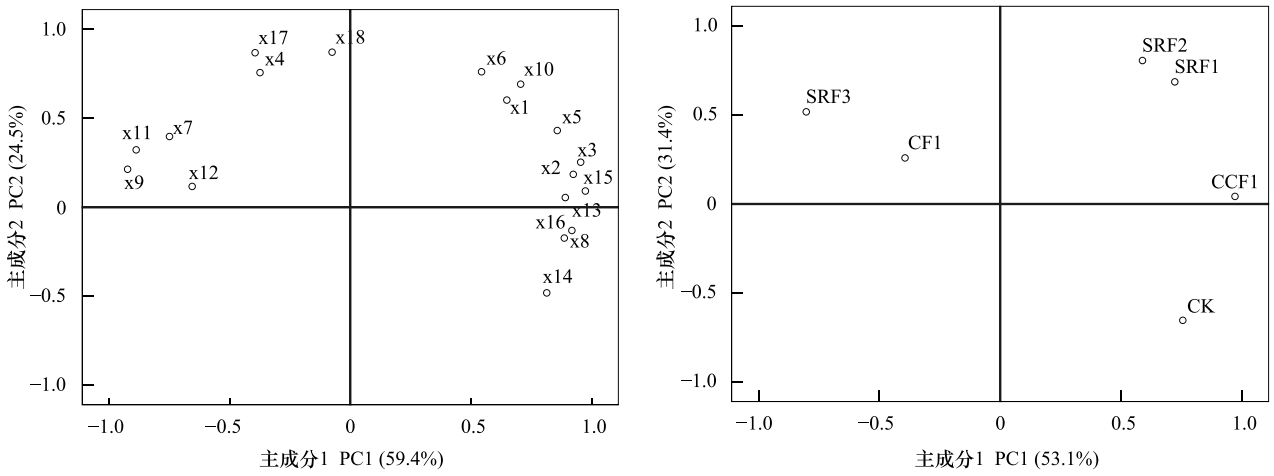

图 1 土壤微生物主成分分析

Fig. 1 Analysis of principal components about soil microorganism

x1,a11:0;x2,i14:0;x3,14:0;x4,i15:0;x5,a15:0;x6,i16:0;x7,16:1w5c;x8,16:0;x9,i17:0;x10,a17:0;x11,cy17:0;x12,16:12OH;x13,10Me17:0;x14,18:1w9c;x15,18:0;x16,17:0 2OH;x17,10Me18:0;x18,cy19:0w8c.

2.5 土壤微生物 PLFA 聚类分析

图 2 是以欧式距离为尺度,用最小距离法对土壤微生物 PLFA 含量进行的聚类分析。不同施肥处理可分为 5 类,第 1 类包括 CF1 和 CCF1,CK、SRF1、SRF2 和 SRF3 各为一类。可见缓释复合肥不同用量对土壤微生物的影响不同。

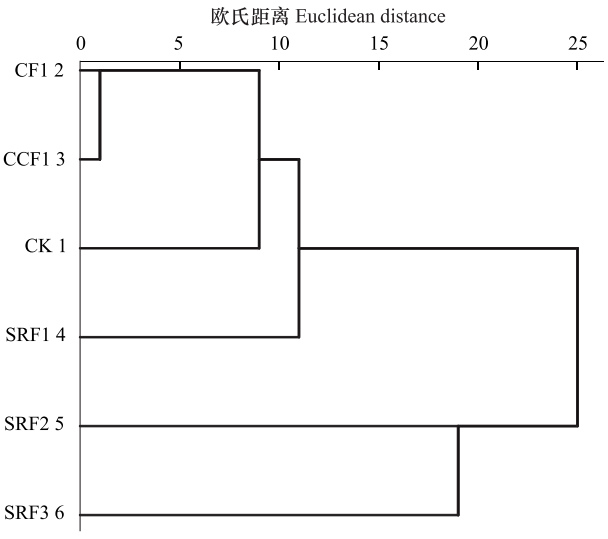

图 2 土壤微生物聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis of soil microorganism

3 讨论

土壤是微生物生活的场所,土壤营养状况、酸碱性、质地、温度、水分和通气性等将会影响微生物的种类、数量和动态分布[22]。其中肥料进入土壤后对土壤微生物的数量、组成与活性可产生显著影响,进而导致土壤微生物群落结构发生改变等。有研究认为施肥(有机质和氮肥等)有利于土壤微生物的丰富度和均匀度,尤其是对真菌[23]。长期大量施用化肥虽然可以增加土壤养分,但降低了土壤酸碱度即 pH 值,破坏了土壤结构,使土壤微生物的生命活动减弱,不利于微生物生存[24]。而氮肥用量不同对土壤微生物的影响不同,合理的氮肥用量不仅不会影响微生物量碳和细菌多样性,而且还会增强微生物的功能,氮肥用量过高会减少微生物量碳[25]。在等氮量下,土壤微生物量碳和氮以有机无机肥

配施显著高于氮磷钾配合施用,并且明显增加玉米整个生育期的微生物总生物量[26]。而另有研究指出用有机肥料取代部分无机肥料对土壤微生物群落结构和功能产生短期效应,相对于无机肥,综合的施肥制度能刺激微生物生长,改变土壤微生物群落结构以及增加酶活性[27]。

本研究的试验结果显示,缓释复合肥处理较化肥和普通复合肥提高了土壤微生物量碳、氮以及土壤微生物 PLFA 种类和含量,对土壤中细菌、放线菌等各类群有明显的增加作用。因为一般在不施有机肥的条件下,长期不施肥或养分不平衡供应会使土壤微生物多样性下降等[28],而本试验中的缓释复合肥携带的有机肥带入了大量可被微生物分解利用的碳源和氮源,为微生物的繁殖提供了物质基础,对微生物数量的增加作用明显;此外,缓释复合肥中的有机肥成分本身也带有大量活的微生物,在某种程度上起到了“接种”作用,增加了土壤中微生物的活动[29-30]。

土壤微生物群落相对丰度可以反映土壤微生物生存的生态环境。试验中检测到土壤中的细菌含量远远高于真菌含量,但其两者的比值能反映土壤生态系统的稳定性,比值越低土壤生态系统越稳定[20];而且外界胁迫越大,微生物就越能合成更多的单不饱和脂肪酸,使得一般饱和脂肪酸/单烯不饱和脂肪酸的比值越低[21]。本研究中缓释复合肥较化肥和普通复合肥显著降低细菌/真菌 PLFA 值,且显著增加一般饱和脂肪酸/单烯不饱和脂肪酸的 PLFA 值。由此认为,缓释复合肥可能因缓慢释放养分对土壤微生物生存环境的扰动小,进而提高了土壤生态系统的稳定性。这是因为缓释复合肥在土壤中前期养分释放量较少,而化学肥料养分在前期释放较多、较快。缓释复合肥料氮素养分缓慢释放、转化和氮素多形态组合的协调效应,避免了普通化学肥料氮素施入土壤后短期内 NH_4^+-N 含量大量增加而导致氨中毒和作物不能及时吸收利用的氮素养分进入生态环境所产生的副作用[31]。

主成分分析是一种数学降维的方法,可以将多个变量通过变换以选出较少个数重要变量;而聚类分析能够按照各变量取值上的总体差异程度在没有事先指定的分类标准的情况下进行自动分类,两者均可以分析解释不同处理对土壤微生物群落结构的影响是否存在差异。从土壤微生物主成分和聚类分析可知,施肥处理土壤微生物较多,这是因为其提供了土壤微生物生存的营养物质。且不同施肥处理对土壤微生物群落结构的影响差距大,这主要是因为施肥改变了土壤的 pH 值导致了微生物群落结构的变化[18];另一方面,由于缓释复合肥施肥水平差距较大,致使缓释复合肥 3 个处理对土壤微生物群落结构的影响不同,尤其是施肥水平达到 3 倍量时不利于土壤微生物的生存。

4　结论

施用缓释复合肥、化肥和普通复合肥可提高土壤微生物量碳和氮,其中以缓释复合肥处理最高,适量施肥水平的 3 种肥料以缓释复合肥较化肥和普通复合肥提高土壤微生物量碳 8.2%和 1.1%,以及显著提高土壤微生物量氮 8.3%和 28.2%。缓释复合肥较化肥和普通复合肥增加土壤微生物 PLFA 种类,且显著增加总 PLFA 含量 17.6%—38.7%和 12.8%—33.0%。土壤细菌、放线菌和真菌等各类群的 PLFA 均以缓释复合肥处理较高,其中以缓释复合肥高量处理表现最好。缓释复合肥缓慢释放养分的特性较化肥对土壤微生物生态系统的胁迫较小,为土壤微生物提供了更适宜生存的微环境。主成分分析和聚类分析显示施肥处理分布较多的 PLFA,且缓释复合肥不同用量对土壤微生物群落结构的影响不同。缓释复合肥适量和高量施肥水平较化肥和普通复合肥改善土壤微生物群落结构,当缓释复合肥施肥水平达到 3 倍量时对土壤微生物有毒害作用。

致谢:感谢西南大学资源环境学院李振轮教授在 PLFA 测定方面提供的技术和理论指导!

参考文献(References):

[1] 马晓霞, 王莲莲, 黎青慧, 李花, 张树兰, 孙本华, 杨学云. 长期施肥对玉米生育期土壤微生物量碳氮及酶活性的影响. 生态学报, 2012, 32(17): 5502-5511.

[2] 曾希柏, 王亚男, 王玉忠, 林志灵, 李莲芳, 白玲玉, 苏世鸣, 沈灵凤. 不同施肥模式对设施菜地细菌群落结构及丰度的影响. 中国农业

科学, 2013, 46(1): 69-79.
[3] Montalba R, Arriagada C, Alvear M, Zúñiga G E. Effects of conventional and organic nitrogen fertilizers on soil microbial activity, mycorrhizal colonization, leaf antioxidant content, and *Fusarium* wilt in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). Scientia Horticulturae, 2010, 125(4): 775-778.
[4] 魏巍, 许艳丽, 朱琳, 韩晓增, Li S. 长期施肥对黑土农田土壤微生物群落的影响. 土壤学报, 2013, 50(2): 372-380.
[5] 张焕军, 郁红艳, 丁维新. 长期施用有机无机肥对潮土微生物群落的影响. 生态学报, 2011, 31(12): 3308-3314.
[6] Dong Y, Wang Z Y. Release characteristics of different Nforms in an uncoated slow/controlled release compound fertilizer. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(3): 330-337.
[7] Du C Y, Duan Z Y, Lu Y, Hu W L, Chen S H. Effect of slow and controlled release fertilizers on the yield and nutrient use efficiency of hot pepper in Qiu-bei.Agricultural Science and Technology, 2011, 12(5): 761-764.
[8] 胡小凤, 王正银, 孙倩倩, 游媛. 缓释复合肥料在不同 pH 值紫色土中氨挥发特性. 农业工程学报, 2009, 25(6): 100-103.
[9] 董燕, 王正银, 田秀英, 朱红霞, 苏胜齐. 非包膜缓释复合肥养分释放特性及小麦对养分的吸收. 农业工程学报, 2007, 23(2): 36-41.
[10] 王正银, 叶学见, 叶进, 董燕, 李会合, 杨志敏, 黄云. 绿色控释多养分肥料生产方法: 中国, CN200410004492.8 . 2005-01-05.
[11] 肖新, 朱伟, 肖靓, 邓艳萍, 赵言文, 汪建飞. 适宜的水氮处理提高稻基农田土壤酶活性和土壤微生物量碳氮. 农业工程学报, 2013, 29(21): 91-98.
[12] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification.Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 1959, 37(8): 911-917.
[13] Vestal J R, White D C. Lipid analysis in microbial ecology: Quantitative approaches to the study of microbial communities. Bioscience, 1989, 39(8): 535-541.
[14] Kimura M, Asakawa S. Comparison of community structures of microbiota at main habitats in rice field ecosystems based on phospholipid fatty acid analysis. Biology and Fertility of Soils, 2006, 43(1): 20-29.
[15] Djukic I, Zehetner F, Mentler A, Gerzabek M H. Microbial community composition and activity in different Alpine vegetation zones. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(2): 155-161.
[16] Frostegard A, Baath E, Tunlid A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis.Soil Biology and Biochemistry, 1993, 25(6): 723-730.
[17] 卜洪震, 王丽宏, 尤金成, 肖小平, 杨光立, 胡跃高, 曾昭海. 长期施肥管理对红壤稻田土壤微生物量碳和微生物多样性的影响. 中国农业科学, 2010, 43(16): 3340-3347.
[18] 李娟, 赵秉强, 李秀英, Hwat B S. 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.
[19] 孙瑞莲, 朱鲁生, 赵秉强, 周启星, 徐晶, 张夫道. 长期施肥对土壤微生物的影响及其在养分调控中的作用. 应用生态学报, 2004, 15(10): 1907-1910.
[20] de Vries F T, Hoffland E, Eekeren N V, Brussaard L, Bloem J. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen Management. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(8): 2092-2100.
[21] 吴愉萍. 基于磷脂脂肪酸(PLFA)分析技术的土壤微生物群落结构多样性的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
[22] 张薇, 魏海雷, 高洪文, 胡跃高. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展. 生态学杂志, 2005, 24(1): 48-52.
[23] Siciliano S D, Palmer A S, Winsley T, Lamb E, Bissett A, Brown M V, Dorst J V, Ji M, Ferrari B C, Grogan P, Chu H, Snape I. Soil fertility is associated with fungal and bacterial richness, whereas pH is associated with community composition in polar soil microbial communities. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 78: 10-20.
[24] 毕明丽,宇万太,姜子绍,马强,张璐,徐永刚.利用 PLFA 方法研究不同土地利用方式对潮棕壤微生物群落结构的影响.中国农业科学, 2010, 43(9): 1834-1842.
[25] Lupwayi N Z, Lafond G P, Ziadi N, Grant C A. Soil microbial response to nitrogen fertilizer and tillage in barley and corn. Soil and Tillage Research, 2012, 118: 139-146.
[26] 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. 生态学报, 2008, 28(9): 4221-4227.
[27] Lazcano C, Gómea-Brandón M, Revilla P, Domínguez J. Short-term effects of organic and inorganic fertilizers on soil microbial community structure and function. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(6): 723-733.
[28] 张奇春, 王雪芹, 时亚南, 王光火. 不同施肥处理对长期不施肥区稻田土壤微生物生态特性的影响. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(1): 118-123.
[29] Stark C H, Condron L M, O'Maureen M, Stewart A, Di H J. Differences in soil enzyme activities, microbial community structure and short-term nitrogen mineralisation resulting from farm management history and organic matter amendments. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(6): 1352-1363.
[30] 胡小凤, 李文一, 王正银. 缓释复合肥料对酸性菜园土壤微生物数量特征的影响. 农业环境科学学报, 2011, 30(8): 1594-1601.
[31] 董燕, 王正银. 缓/控释复合肥料对土壤氮素库的调控作用. 生态学报, 2010, 30(24): 6707-6714.