

DOI: 10.5846/stxb201803190537

公华锐,李静,马军花,侯瑞星,张旭博,欧阳竹.秸秆还田配施有机无机肥料对冬小麦土壤水氮变化及其微生物群落和活性的影响.生态学报, 2019,39(6): - .

Gong H R, Li J, Ma J H, Hou R X, Zhang X B, Ouyang Z. Effects of straw incorporation combined with inorganic-organic fertilization on soil water and nitrogen changes and microbial community structure in winter wheat. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(6): - .

秸秆还田配施有机无机肥料对冬小麦土壤水氮变化及其微生物群落和活性的影响

公华锐^{1,2}, 李 静^{1,2,*}, 马军花¹, 侯瑞星¹, 张旭博¹, 欧阳竹^{1,2}

1 中国科学院地理科学与资源研究所 生态系统网络观测与模拟重点实验室, 北京 100101

2 中国科学院大学, 北京 100049

摘要:通过田间试验,研究秸秆还田配施不同肥料对冬小麦土壤的培肥效果以及对土壤水氮环境、酶活性及微生物群落结构的影响,为合理的秸秆还田方式与土壤可持续利用提供决策依据。试验于中国科学院禹城综合试验站进行,以冬小麦为研究对象,玉米秸秆全量还田为基础,设置五个处理,分别为(1)单施化肥(TF), (2)70%化肥+普通有机肥(TM), (3)70%化肥+微生物有机肥(TE), (4)70%化肥+微生物促腐菌剂(TJ), (5)70%化肥+微生物有机肥+微生物促腐菌剂(TEJ)。观测冬小麦生长中的水氮条件,分析小麦收获后土壤环境因子、酶活性以及磷脂脂肪酸(PLFA)变化特征;采用 RDA 冗余分析,识别环境因子、酶活性与土壤微生物群落结构之间的相关关系,研究秸秆还田与不同施肥方式组合对土壤的培肥效果。结果表明,相较施用化肥(TF),秸秆还田配施微生物有机肥(TE)显著提高了小麦生育后期的土壤含水率(13.3%—20.5%);施用普通有机肥(TM)能够提高小麦生育后期土壤硝态氮(NO_3^- -N)与铵态氮(NH_4^+ -N)含量;且两者均能提高土壤微生物氮(MBN)与可溶性氮(DON)含量以及 β -1,4-葡萄糖苷酶(β G)、纤维二糖水解酶(CBH)活性;但对土壤中酸性磷酸酶(AP)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)活性无显著影响。各施肥组合中,TE处理PLFA总量最高(4733.1 ng/g),且微生物群落多样性指数均显著高于TF处理。 β G、CBH活性与土壤微生物群落多样性存在正相关关系,MBN与DON与土壤微生物群落多样性关系最为密切,环境因子对微生物群落多样性影响的重要性排序为 Moisture > NH_4^+ -N > Avail-P > Temp > NO_3^- -N > pH > EC。秸秆还田配施有机肥与微生物有机肥能合理调节土壤水氮环境,显著提高土壤微生物的数量与活性,有利于土壤生态环境的改善,其中秸秆还田配施微生物有机肥(TE)效果最为显著。

关键词:微生物群落结构;酶活性;土壤水氮变化;秸秆还田;有机无机肥料;冬小麦

Effects of straw incorporation combined with inorganic-organic fertilization on soil water and nitrogen changes and microbial community structure in winter wheat

GONG Huarui^{1,2}, LI Jing^{1,2,*}, MA Junhua¹, Hou Ruixing¹, Zhang Xubo¹, OUYANG Zhu^{1,2}

1 Key Laboratory of Ecosystem Network Observation and Modeling, Institute of Geographic Sciences and Natural Resources Research, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Straw incorporation is one of the most important ways of utilizing straw resources. Owing to the differences in soil microenvironments, there are significant differences in the effect of straw incorporation combined with agronomic measures

基金项目:国家重点研发计划课题(2016YFD0300808, 2017YFD0801404);中国科学院青年创新促进会会员(2017073)

收稿日期:2018-03-19; **网络出版日期:**2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jingli@igsrr.ac.cn

on soil fertility improvement. A field experiment was conducted to determine the effects of straw incorporation combined with inorganic-organic fertilizers on soil fertility improvement, water and nitrogen changes, enzyme activities, and microbial community structures in winter wheat, which provided the theoretical and technical foundation to formulate methods for straw incorporation and sustainable utilization of soil. The experimental field was located in the Yucheng Comprehensive Experiment Station of the China Academy of Science, Shandong Province, which has a summer maize-winter wheat rotation system. With winter wheat as the research object and maize straw returning to field as the basis, five treatments were carried out in the field experiment: (1) chemical fertilizer (TF), (2) 70% chemical fertilizer plus organic fertilizer (TM), (3) 70% chemical fertilizer plus microbial organic fertilizer (TE), (4) 70% chemical fertilizer plus microbial decomposition agent (TJ), and (5) 70% chemical fertilizer plus microbial organic fertilizer and microbial decomposition agent (TEJ). Soil water and nitrogen conditions during wheat growth were observed. After the winter wheat harvest, soil environmental factors, soil enzyme activity, and microbial phospholipid fatty acids (PLFA) of the topsoil in the different treatments were measured to understand their variation characteristics. Using adopted canonical correlation analysis, the correlation of soil environmental factors and soil enzyme activities with soil microbial community structure was analyzed to determine soil fertility improvement by straw incorporation combined with inorganic-organic fertilizations. The results of the field experiment showed that more than the application of chemical fertilizers (TF), the application of microbial organic fertilizers (TE) significantly increased soil moisture (13.3%—20.5%) at later developing stages. The application of organic fertilizers (TM) increased soil nitrate nitrogen (NO_3^- -N) and ammonium nitrogen (NH_4^+ -N) contents at later developing stages. TM and TE also improved the concentration of microbial nitrogen (MBN) and dissolved nitrogen (DON), as well as the activities of soil β -glucosidase (β G) and cellobiohydrolase (CBH), whereas the activities of soil acid phosphatase (AP) and leucine aminopeptidase (LAP) in the treatments were not significantly different. The TE treatment showed the highest total amount of PLFA (4733.1 ng/g), and the microbial community diversity indexes of the TE treatment were significantly higher than those of the TF treatment. The results of the statistical analysis revealed that the activities of soil β G and CBH were positively correlated with soil microbial community and that the concentrations of MBN and DON were most closely related to soil microbial community. The canonical variables ordering result showed that the effect of soil physicochemical property on soil microbial community was Moisture > NH_4^+ -N > Avail-P > Temp > NO_3^- -N > pH > EC. These findings showed that straw incorporation combined with the application of organic fertilizer and microbial organic fertilizer reasonably regulated soil water and nitrogen conditions, increased the population and activity of soil microbes and the activity of soil enzymes, as well as helped improve the soil eco-environment. Among the treatments, TE (straw incorporation combined with the application of microbial organic fertilizer) showed the most significant effect.

Key Words: microbial community structure; enzyme activity; soil water and nitrogen changes; straw incorporation; inorganic-organic fertilization; winter wheat

2016 年,我国农作物种植面积到达 1.6 亿 hm^2 ,粮食产量达到 61623.9 万 $\text{t}^{[1]}$ 。伴随着作物产量的提高,农作物秸秆产量大幅提高^[2],据统计,2015 年我国主要农作物秸秆理论资源量为 10.4 亿 t ,秸秆综合利用效率达到 80.1%^[3];在我国“十三五”规划期间,计划将秸秆综合利用效率提高到 85% 以上。目前秸秆利用的方式也由原来的以饲料化为主转型为以肥料化为主,秸秆还田在土壤中的腐解过程会对土壤酶活性、土壤微生物群落产生的一定的影响^[4]。微生物肥料是以活性微生物为主体,并通过微生物的生命活动及其产物对作物生长产生影响^[5],在秸秆还田的基础上配施微生物肥料,在保证土壤肥力的同时促进秸秆腐熟,且在短期内对土壤微生物群落以及土壤理化性质的影响显著。土壤微生物作为土壤质量变化最敏感的指标^[6],能直接反应土壤的健康情况,因此,研究秸秆还田配施微生物肥料下对冬小麦土壤微生物群落功能以及水氮条件的变化,对冬小麦-夏玉米体系下提高秸秆还田的利用效率,降低化肥施用比例,保持土壤的可持续耕作具有重要

意义。大量研究^[7-9]已经证实相对于化肥,秸秆还田增加了土壤有机质含量以及酶活性等。Zhao 等^[10]基于冬小麦-夏玉米轮作体系上的长期试验结果得出,相对于秸秆不还田,秸秆还田增加了总磷脂脂肪酸 (PLFA) 含量,提高了细菌与真菌的丰度,且还田量越高,对微生物群落结构的影响越显著;李晓莎^[11]等认为秸秆还田在深松的耕作模式下土壤微生物活性显著高于常规耕作模式;甄丽莎等^[12]以秸秆还田配施肥为研究对象,结果得出在秸秆还田配施有机肥相对于施用化肥,没有提高土壤酶活性以及土壤可利用养分的含量。同时,传统的秸秆还田无论配施化肥还是有机肥,均是利用土壤本身的微生物进行分解,且分解速率较慢;目前外源微生物菌剂在秸秆还田的促腐环节中得到越来越广泛的运用^[13],在加速秸秆腐解的同时,也能在短时间内迅速调节土壤微生物结构及土壤酶活性,改善土壤理化性质。Liebich 等^[14]试验结果表明,不同菌群施用到玉米秸秆后,对土壤有机质组分影响不显著,但能够促进秸秆腐解的菌群,对土壤微生物群落结构的影响显著,且同样影响了土壤本身的功能;钱海燕等^[15]的研究中表明秸秆还田配施微生物菌剂对转化酶活性、真菌、纤维素分解菌的增长效果显著,配施化肥对细菌、放线菌以及脲酶、过氧化氢酶活性的增长效果显著。综上,前人的研究多集中在秸秆还田配施不同肥料对土壤理化性质或微生物群落的单方面影响,本文基于微生物群落中较高的多样性会促进土壤肥力提升的假设进行试验设计,从土壤肥力与土壤微生物生态两方面进行试验设计,一方面通过小麦生长过程中水氮条件的变化反应土壤地力的变化情况,另一方面通过土壤 PLFA 指纹特征反应土壤微生物群落结构的变化,并结合数学统计法分析两者之间的作用关系。旨在探讨秸秆还田配施微生物肥料对包括土壤基本理化条件和水氮条件的无机环境,以及包括有机碳氮、土壤酶活性、土壤微生物群落在内的有机环境的影响,为合理的秸秆还田方式与土壤可持续利用提供决策依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况与试验设计

试验于 2016 年 10 月—2017 年 6 月在中国科学院禹城综合试验站 (116°36'E, 36°57'N) 进行。该区位于黄淮海平原,属暖温带半湿润季风气候区,年均气温 13.1℃,年均降水量 593.2 mm,其中夏季降水占全年降水 68%,冬春季占 15%左右,无霜期 220 d。供试土壤为潮土,供试耕层土壤 pH 8.0,容重 1.46 g/cm³,有机质含量 1.5%,全氮 0.64 g/kg,全磷 0.84 g/kg,全钾 19.99 g/kg。图 1 为 2016—2017 年冬小麦生长季降雨量及温度状况。

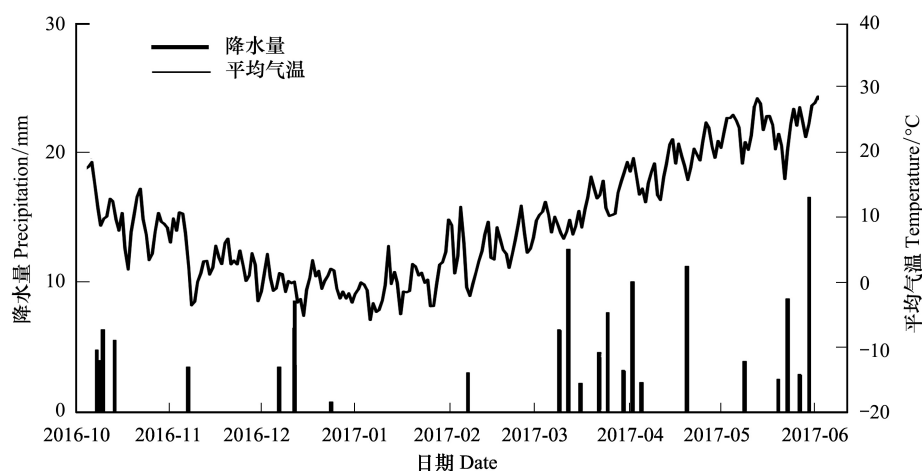


图 1 冬小麦生长季的降雨和平均气温

Fig.1 Daily precipitation and average temperature during the winter wheat growing season

本试验在玉米秸秆 7.5 t/hm²全量还田的基础上,采用单因素随机区组设计,设化肥常规用量 (TF), 30% 减量化肥+普通有机肥 (TM), 30% 减量化肥+微生物有机肥 (TE), 30% 减量化肥+金水酵素微生物菌剂 (TJ),

30%减量化肥+微生物有机肥+金水酵素微生物菌剂(TEJ),共5个处理,3次重复,共15个小区;试验小区面积为25 m²(5 m×5 m),间距为50 cm。试验区选取前期10年以上冬小麦-夏玉米典型轮作农田为试验小区,两季秸秆还田,施肥制度与本研究正常化肥施用(TF)一致。冬小麦种植前,通过收割机直接收获玉米,同时将玉米秸秆粉碎,待秸秆晒干后采用常规旋耕还田,耕作深度为10—15 cm。

供试普通有机肥为动物粪便与植物秸秆发酵而成,其中碳氮含量分别为13.25%和1.78%;供试微生物有机肥与金水酵素,均由天津ETS生物技术有限公司提供,核心菌群为ETS菌群,其中60%为厌氧菌,40%为好氧菌。金水酵素微生物菌剂属于液态微生物农用发酵腐熟剂。

供试小麦品种为济麦22,于2016年10月18日种植,2017年6月16日收获。正常施肥使用N-P₂O-K₂O的复合肥,用量以氮素(N)为225 kg/hm²计算,按5:5分基肥和拔节期追施。微生物有机肥用量按照1.78%的含氮量,根据30%化肥N用量计算,约为3 t/hm²,作为基肥底施。金水酵素用量为30 L/hm²,按照1:150比例加水稀释,在小麦播种前喷洒在土壤表层。微生物有机肥与金水酵素均在使用化肥与灌溉前使用。

1.2 样品采集与测定

于小麦返青后(3月15日)至收获(6月16日),每15 d采集0—20 cm耕层土壤样品,测定土壤含水量与土壤硝态氮(NO₃⁻-N)、铵态氮含量(NH₄⁺-N);于小麦收获期采集土壤样品,剔除动植物残体过2 mm筛,一部分土样保存在-80℃,用于PLFA及土壤酶活性分析;另一部分土样风干测定基本理化性状;取样时每小区采5—9个点组成混合样品,重复采集3次,采用冰盒保存新鲜土壤样品。小麦成熟后对各小区进行实收测产,分别计算籽粒产量及秸秆产量。

土壤pH采用水土比(5:1)浸提后测定;速效磷(Avail-P)含量采用NaHCO₃浸提-钼锑抗比色法。NO₃⁻-N、NH₄⁺-N含量采用紫外分光光度法测定;有机碳(TOC)采用重铬酸钾-浓H₂SO₄氧化法测定;微生物碳、氮(MBC、MBN)采用氯仿熏蒸-K₂SO₄浸提;未熏蒸测得的C、N含量为水溶性碳氮(DOC、DON)含量。土壤酶活性采用微孔板荧光法^[16]测定; β -1,4-葡萄糖苷酶(β -Glucosidase, β G)活性测定以4-MUB- β -D-glucoside为底物;纤维二糖水解酶(Cellobiohydrolase, CBH)活性测定以4-MUB- β -D-cellobioside为底物;酸性磷酸酶(Acid phosphatase, AP)活性测定以4-MUB-*p*-NPP为底物;亮氨酸氨基肽酶(Leucine aminopeptidase, LAP)活性测定以L-Leucine-7-amino-4-methylcoumarin为底物;使用多功能酶标仪(Synergy H4, BioTek)测定。

土壤微生物生物量脂肪酸标记^[17]如表1所示,委托中国科学院华南植物园PLFA分析测试实验室测定。

表1 微生物生物量脂肪酸标记

Table 1 The PLFA markers used to evaluate the microbial biomass

微生物类群 Microbial community		磷酸脂肪酸标记 PLFA markers
细菌 Bacteria	饱和脂肪酸 Saturated Fatty Acid	i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0, cy17:0
	革兰氏阳性菌 Gram-positive (GP)	i14:0, i15:0, a15:0, i16:0, i17:0, a17:0
	革兰氏阴性菌 Gram-negative (GN)	16:1 ω 5c, cy17:0, 17:1 ω 8c, 18:1 ω 7c, 18:1 ω 5c, cy19:0 ω 8c
真菌 Fungi		18:2 ω 6,9c, 18:1 ω 9c
丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizae fungi (AMF)		16:1 ω 5c
放线菌 Actinomycetes (ACT)		10Me17:1 ω 7c, 10Me18:0, 10Me16:0

1.3 数据处理

所有数据处理和分析均在Excel 2016、SPSS 23.0以及Canoco 4.5软件中进行。采用单因素方差分析进行方差分析;采用LSD法检验处理间 $P < 0.05$ 水平的差异显著性;采用主成分分析(PCA)检验不同处理间PLFA标记结构的差异性;采用冗余分析(RDA)来评估土壤理化环境、有机碳氮含量、土壤酶活性与土壤微生物群落结构之间的关系;采用皮尔逊相关系数分析土壤酶活性与土壤微生物群落之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 土壤环境的变化

相对于化肥常规 TF 处理,施用普通有机肥及微生物有机肥 pH 提高了 0.9%—3.5%(表 2)。耕层内速效 P 含量以 TM 处理最高(26.8 mg/kg),相较于 TF 处理提高了 17.5%,而处理 TJ 显著低于(16.7 mg/kg, $P < 0.05$)其他处理相对 TF 下降了 26.7%。此外,EC 值以 TM 最低(0.21 ds/m),但处理间无显著差异;耕层内土壤温度处理间无显著差异;TOC 含量以 TF 最高为 0.89%。

表 2 不同处理下的土壤理化性质

Table 2 Soil physicochemical property of different treatments

处理 Treatment	pH (1:5)	电导率 EC/ (ds/m)	温度 Temp/(°C)	速效磷 Avail-P/ (mg/kg)	有机碳 TOC/%
TF	8.19±0.15b	0.23±0.02a	17.47±0.32a	22.83±6.46a	0.89±0.16a
TM	8.26±0.2ab	0.21±0.03a	17.63±0.85a	26.83±1.21a	0.85±0.23a
TE	8.32±0.05ab	0.23±0.02a	17.70±0.46a	24.10±7.96a	0.79±0.31a
TJ	8.40±0.01ab	0.22±0.02a	17.20±0.1a	16.73±1.38b	0.82±0.18a
TEJ	8.48±0.1a	0.23±0.01a	17.23±0.51a	20.57±3.75a	0.68±0.18a

表中数据为平均值±标准差($n \geq 3$),同一列数据后不同字母表示差异达 5%显著水平;TF:单施化肥 Chemical fertilizer;TM:70%化肥+普通有机肥 70% chemical fertilizer plus organic fertilizer;TE:70%化肥+微生物有机肥 70% chemical fertilizer plus microbial organic fertilizer;TJ:70%化肥+微生物促腐菌剂 70% chemical fertilizer plus microbial decomposition agent;TEJ:70%化肥+微生物有机肥+微生物促腐菌剂,70% chemical fertilizer plus microbial organic fertilizer and microbial decomposition agent

2.2 土壤含水量变化

小麦返青后的营养生长期,处理间土壤含水量的差异不显著(图 2)。在小麦开花期直到成熟收获,处理 TEJ 土壤含水量均为各处理的最低值(9.4%—17.6%);在开花期 TEJ 与 TM 均低于 TF 的土壤含水量,以 TE 最高,高于 TF 处理 13.3%;在小麦完熟期,土壤含水量仍以 TE 处理最高(20.5%),且显著高于($P < 0.05$)其他处理,其余处理间无显著差异。

2.3 土壤无机氮素含量变化

小麦返青后营养生长期,TF 的耕层 NO_3^- -N 含量显著高于($P < 0.05$)其他处理(图 3),TJ、TE 处理分别为返青与拔节期的最低值(25.7 mg/kg、13.6 mg/kg),分别低于 TF 处理 47.1%、61.8%;在小麦的开花期到蜡熟期,耕层 NO_3^- -N 含量处理间无显著差异;在完熟期,处理 TM 耕层 NO_3^- -N 含量最高(34.1 mg/kg),显著高于($P < 0.05$)其他处理,其中以 TJ 处理最低(17.9 mg/kg)。在小麦拔节期到开花期,耕层 NH_4^+ -N 含量 TF 处理最高(5.0—6.2 mg/kg),但两个时期 TM 与 TJ 分别为最低处理,显著($P < 0.05$)低于 TF;在小麦灌浆期,TM 耕层 NH_4^+ -N 含量最高(7.8 mg/kg),显著($P < 0.05$)高于 TJ 处理,但与其他处理间无显著差异。

2.4 土壤有机碳氮

处理间耕层 MBC 含量大小排序为 TF>TM>TE>TJ>TEJ(图 4);其中 TF 处理显著高于(532.5 mg/kg, $P < 0.05$)其他处理;MBN 含量 TEJ 最低(25.9 mg/kg),低于其他处理 38.0%—47.7%。耕层 DOC 含量以 TE 处理最高(115.1 mg/kg),高于 TF 处理 58.8%,而 TEJ 耕层 DOC 含量低于 TF 处理 33.7%;且处理间耕层 DON 含量无显著差异。

2.5 土壤酶活性

耕层土壤中水解酶(βG 、CBH)活性主要是在纤维素降解过程中发挥作用,并参与土壤碳的循环^[18];不同

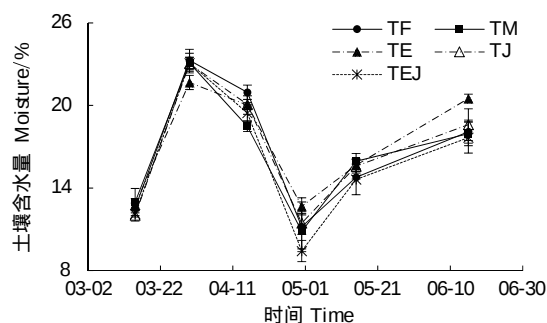


图 2 不同处理下耕层土壤含水量变化

Fig.2 Topsoil moisture under different treatments

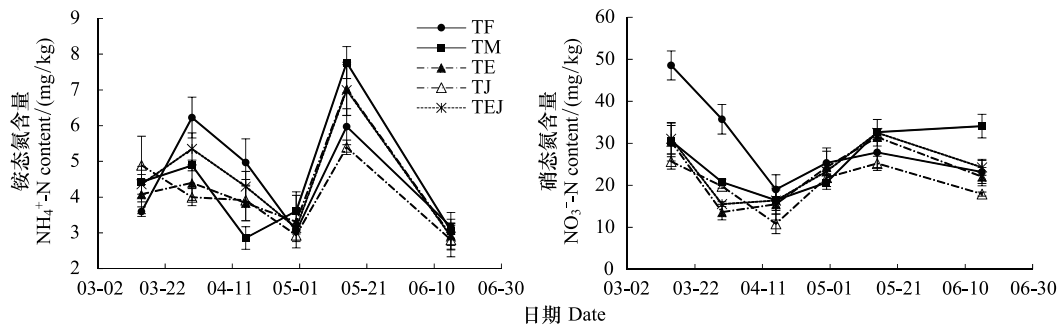
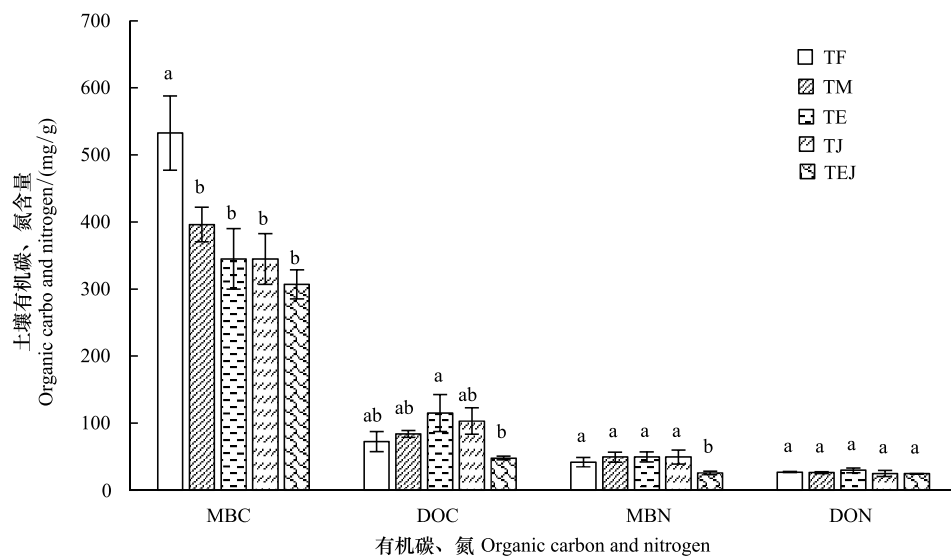
图3 不同处理下耕层土壤 NO_3^- -N 与 NH_4^+ -N 含量变化Fig.3 Content of NO_3^- -N and NH_4^+ -N under different treatments

图4 不同处理对土壤有机碳氮含量的影响

Fig.4 Effects of microbial fertilizers on organic carbon and nitrogen concentration

MBC:微生物碳 Microbial carbon; DOC:可溶性碳 Dissolved carbon; MBN:微生物氮 Microbial nitrogen; DON:可溶性氮 Dissolved nitrogen

处理下耕层 βG 、 CBH 活性变化趋势一致(图5),且极显著相关($R=0.90, P<0.01$),其大小排序均为 $\text{TEJ}>\text{TM}>\text{TF}>\text{TE}>\text{TJ}$, TEJ 处理 βG 、 CBH 活性分别高于 TF 处理 29.4%、30.2%;磷酸酶反应了土壤中磷素的活化程度,而蛋白酶 LAP 主要参与土壤中氮素循环;磷酸酶 AP 活性以处理 TJ 最高($748.6 \text{ mmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$), TF ($659.7 \text{ mmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$)最低,且 TF 与其他处理间无显著差异。耕层中 LAP 活性 TM 最低($259.5 \text{ mmol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$),低于其他处理 5.1%—23.5%,其余处理间无显著差异。

2.6 土壤微生物群落结构变化

不同处理的土壤微生物 PLFA 特征中(图6),各处理均以细菌为主,所占有有效脂肪酸比例为 74.8%—82.9%;其次为真菌与放线菌。各处理 PLFA 总量 TE 最高(4733.1 ng/g),显著高于($P<0.05$) TF 与 TEJ 处理。细菌总量以 TE 最高,与 TM 、 TJ 均显著高于 TEJ 与 TF ;细菌中 GP/GN 比例, TF 与 TEJ 处理为 1.55/1.60,均高于其他三个处理(1.19—1.29);不同处理对真菌含量的影响与其对细菌的影响相近,大小排序均为 $\text{TE}>\text{TM}>\text{TJ}>\text{TEJ}>\text{TF}$;细菌/真菌比例 TE 、 TM 、 TJ 三个处理相近(6.2—6.9), TF 为各处理中最高,达到 10.8。 ACT 含量在总量中所占比例高于 AMF ,且受不同处理的影响与细菌、真菌相似。此外, TF 处理的 AMF 含量显著低于 TEJ 处理,仅为 34.6 ng/g ,低于含量较高的 TE 、 TM 与 TJ 处理 81.5%—86.7%。

通过 PCA 分析表明(图7), TM 、 TE 、 TJ 土壤微生物相似,而 TEJ 、 TF 的微生物群落结构变化较大。相较施

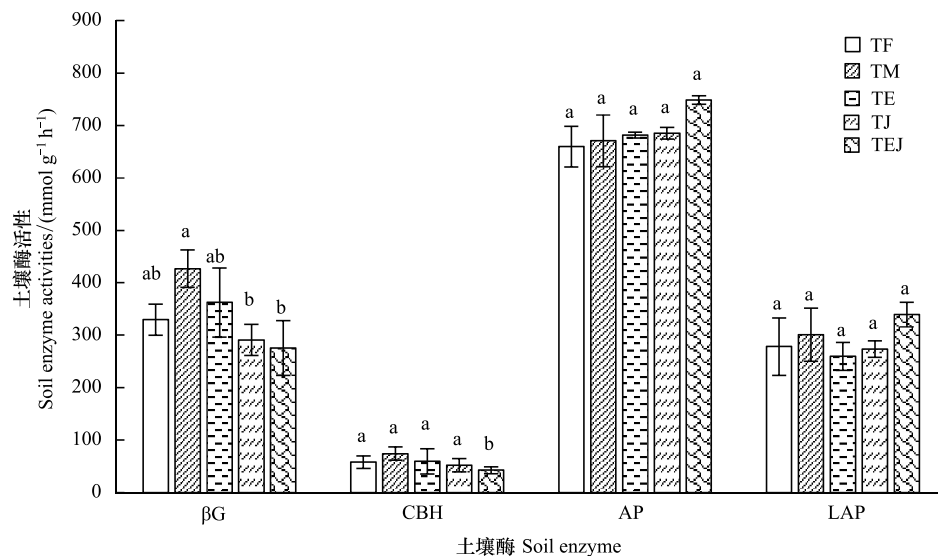


图5 不同处理对土壤酶活性的影响

Fig.5 Effects of microbial fertilizers on soil enzyme activities

βG: β-1,4-葡萄糖苷酶 β-Glucosidase; CBH: 纤维二糖水解酶 Cellobiohydrolase; AP: 磷酸酶 Acid phosphatase; LAP: 亮氨酸氨基肽酶 Leucine aminopeptidase

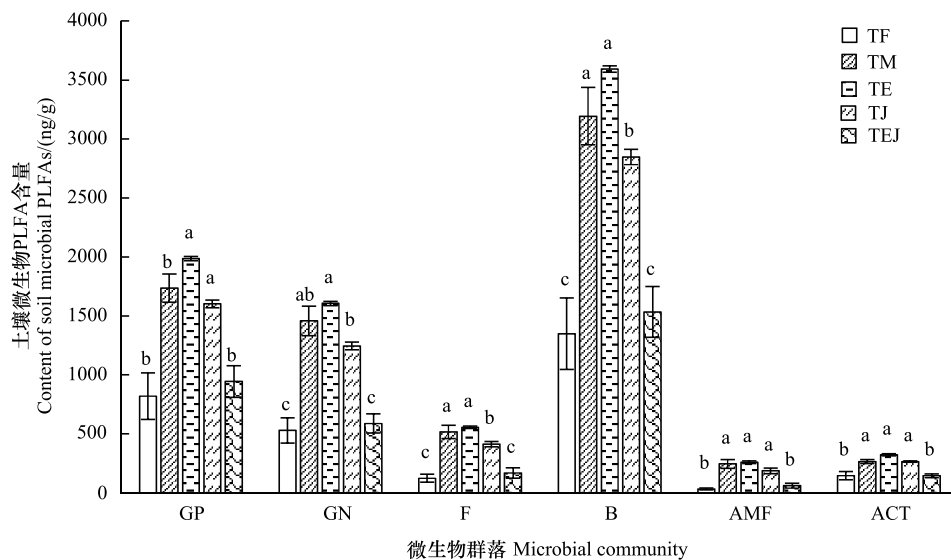


图6 不同处理下土壤微生物 PLFA 含量

Fig.6 Content of soil microbial PLFAs under different treatments

GP: 革兰氏阳性细菌 Gram-positive bacteria; GN: 革兰氏阴性细菌 Gram-negative bacteria; F: 真菌 Fungi; B: 细菌 Bacteria; AMF: 丛枝菌根真菌 Arbuscular mycorrhizae fungi; ACT: 放线菌 Actinomycetes

用传统化肥的 TF 处理, TM、TE、TJ 三个处理提高了 GN(17:108c, 18:105c, 18:107c)的多度值,而降低了 GP(17:0)与真菌(18:206c)的多度值;而 TEJ 处理,相对于 TF 提高了真菌(18:206c)的多度值。

2.7 相关关系

施用不同微生物肥料各处理下的土壤微生物与土壤有机环境的 RDA 排序分析表明(图 8),第一主轴解释了 66.9%的两者之间的关系,蒙特卡罗检验结果显示,所有排序轴对应的环境变量对于响应变量的解释贡献均达到统计学上的显著水平。土壤有机碳氮中 DOC、MBN、DON 与微生物群落相近,表现出正相关关系;

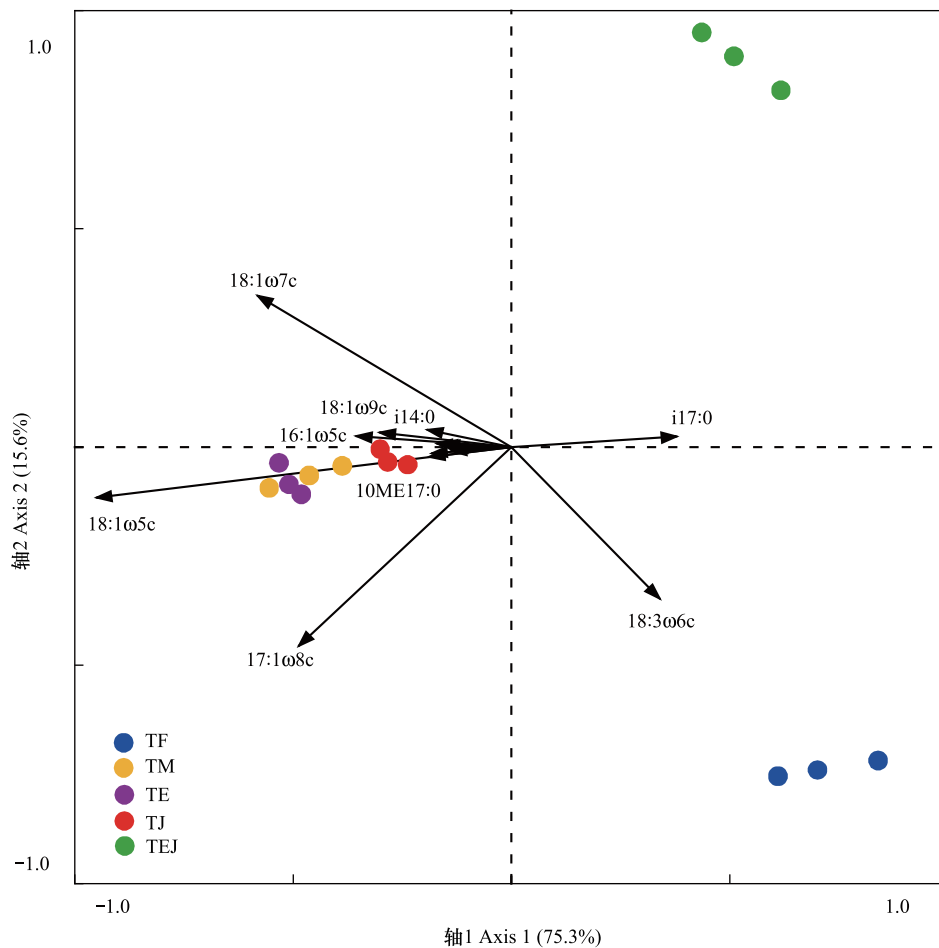


图7 不同处理下土壤微生物群落 PLFA 的主成分分析

Fig.7 PCA of PLFAs of soil microbial communities under different treatments

TOC 距离较远,表现为正相关,但并无显著关系;MBC 与微生物群落表现为负相关。土壤酶中水解酶 β G、CBH 与微生物群落相近,表现出正相关关系,且相关性 β G>CBH;而 AP 与 GP、GN、细菌以及 ACT 呈正相关关系,与真菌与 AMF 呈负相关关系。5 个处理中 TM、TE 两者较为接近,均与第一主轴表现为负相关;而 TF、TEJ 与第一主轴表现出了正相关。

施用不同微生物肥料各处理下的土壤微生物与土壤无机环境的 RDA 排序分析表明(图 9),第一主轴解释了 75.0% 的两者之间的关系。其中微生物群落与第一主轴表现为正相关,其中微生物群落对第一主轴的贡献关系为 AMF>Fungi>GN>Bacteria>GP>ACT。各无机环境因子中,土壤含水量、 NH_4^+ -N、速效 P 以及土壤温度与微生物群落表现出正相关关系,其中土壤含水量与微生物各个群落的余弦最小; NO_3^- -N 含量在第二主轴表现为正相关,与 ACT 表现为正相关,而与其他群落为负相关;pH 在第二主轴表现为负相关,与 AMF 表现为正相关关系;而土壤的 EC 值与微生物群落均表现为负相关关系。各处理中,TE 与第一、第二主轴均表现为正相关;TM 在第一主轴表现出了正相关,而与第二主轴为负相关关系;TF、TEJ 则与第一主轴表现为负相关关系。

3 讨论

3.1 秸秆还田及施肥组合对土壤水氮变化的影响

水肥是作物生长最重要的两个限制因子,直接影响作物生长中的干物质的积累与产量的形成^[19-21]。本研究中,在小麦开花期到成熟期 TE 处理的土壤含水率显著($P<0.05$)高于其他处理,并以 TEJ 处理最低;在以

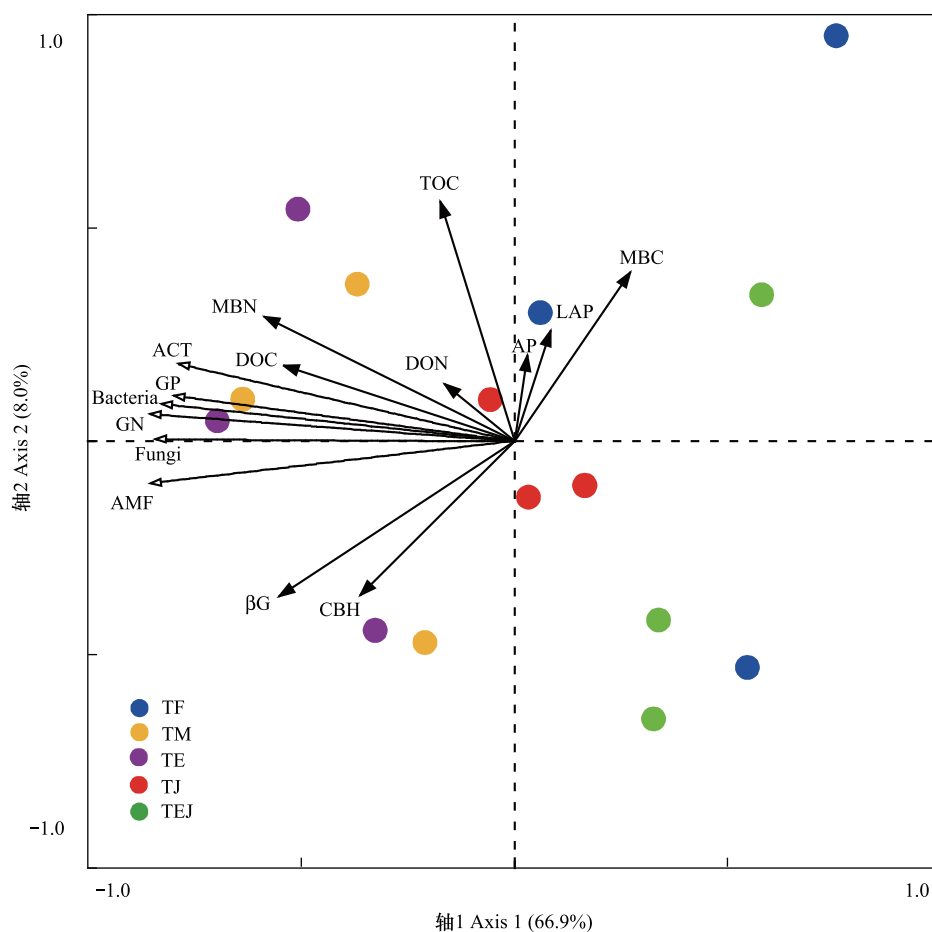


图 8 土壤有机环境因子及酶活性与土壤微生物群落的冗余分析

Fig.8 RDA of soil microbial communities data, organic environmental variables of soil and soil enzyme activities data

往的研究^[22-23]中,已经证实秸秆还田能通过改善土壤结构来减少水分蒸发,提高含水量;Cong 等^[24]研究认为,使用微生物有机肥相对于普通有机肥提高了土壤微团粒结构,提高了土壤有机碳含量;因此微生物有机肥通过增加土壤团粒结构进一步提高土壤的保水能力。长期秸秆还田相较于常规施肥处理无机氮素下降趋势明显,需要配施化肥补充氮素^[25];本研究在秸秆还田的基础上施用化肥,返青期、拔节期,土壤无机氮素的含量均高于其他施用有机肥的处理;而在小麦生殖生长期,TM 处理的无机氮素含量较高,且施用微生物肥料并没有提高土壤中的无机氮素含量。长期试验中,有机肥能有保持土壤养分^[26];荣勤雷等^[27]认为具有促腐功能的生物肥料对土壤速效养分的提升效果低于普通有机肥,且微生物菌剂的介入具有活化土壤氮素,提高氮素循环关键菌群丰度的作用^[28];本研究中,使用微生物有机肥并未提高土壤有机碳以及 MBC 的含量,但提高了土壤 MBN 与 DON 的含量,这与上述观点一致。

3.2 秸秆还田及施肥组合对土壤酶活性及微生物群落结构的影响

土壤酶活性以及微生物群落结构是评价土壤肥力的重要指标之一,秸秆还田后的土壤环境变化较大,对土壤酶活性以及微生物群落结构的影响同样显著^[8,11]。 β G、CBH 等水解酶是土壤中碳素转化循环的重要参与者,与可溶性碳以及腐殖质呈正相关关系^[29-30],本研究中 TM、TE 处理显著提高了土壤 β G、CBH 活性,同时两处理下 DOC 含量高于其他处理,与上述研究结果一致。AP 与 LAP 活性处理间无显著差异;在荣勤雷等^[27]研究中,同样发现有机肥与化肥未对土壤磷酸酶的影响存在差异;Cenini 等^[31]研究结果得出土壤 LAP 活性与 MBN 以及有机氮素含量呈现正相关关系,但本研究中处理间与 MBN 与 DON 存在显著差异,仍需进一步探讨参与氮素循环的酶活性与土壤中氮素含量的关系。

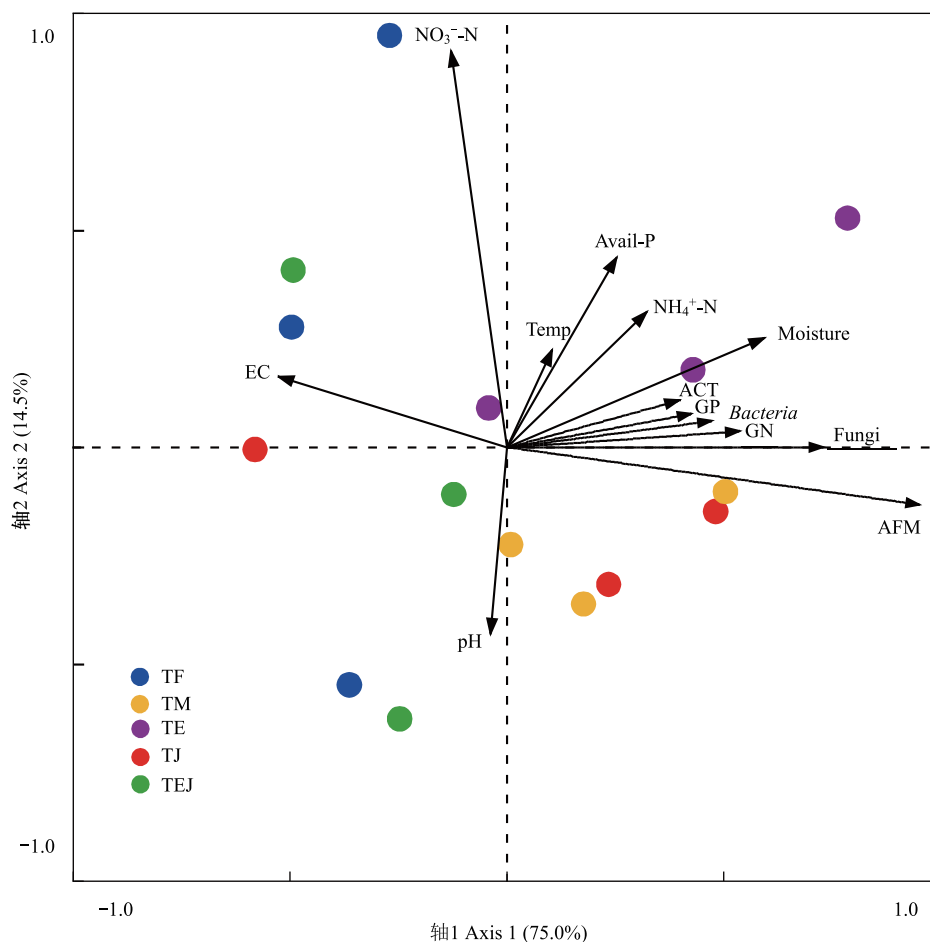


图9 土壤理化环境因子与土壤微生物群落的冗余分析

Fig.9 RDA of soil microbial communities data and soil physicochemical environmental variables

同时,本研究中相比化肥,施用有机肥增加 PLFA 的总数量以及细菌与真菌数量,提高了微生物多样性指数。Zhang 等^[32]的研究中得出,秸秆还田改变了土壤微生物菌落结构,提高了细菌的丰度,且在 PCA 分析中,认为真菌的负载量(18:2ω6, 9c)最高,本研究中真菌(18:2ω6C)在 PCA 分析中在第一主轴上同样有较高的多度值,但细菌的多度值高于真菌,这与上述研究不符。本研究中并未对细菌的种群进行探讨,但在细菌 PLFA 总量上,施用微生物有机肥的处理下最高,这与上述观点基本相符。此外,本研究中施用有机肥相较施用化肥,降低了 GP/GN 比;GP 菌群相对于 GN 更能适应养分胁迫环境^[33],GP/GN 比的下降也在一方面反应了秸秆还田配施有机肥处理下,土壤养分环境更优化。

此外,本研究中微生物有机肥与金水酵素的组合使用,与单独使用相比,显著降低了土壤 βG、CBH 活性,显著减少了土壤中 PLFA 总量与细菌 PLFA 数量,同时该处理下土壤有机碳氮的含量也较低,可以认为是土壤环境因子的变化进而影响了土壤酶活性及微生物菌群。有报道^[32]认为氨氧化细菌在有机环境中富集时加剧了土壤氮素的流失,从而影响了土壤微生物的生存环境;但具体对于 ETS 菌群的研究尚属空白,仍需进一步探讨。

3.3 土壤微生物群落、土壤酶活性与土壤环境因子的关系

土壤酶与微生物共同作用参与土壤中 C、N 的流动与循环,在本研究中,βG、CBH 活性与土壤微生物群落表现出了显著相关性,而 LAP 与真菌表现出了负相关;βG、CBH 降解纤维素而产生的糖类是土壤微生物的主要能量来源,因此两者关系密切;也有研究^[29]认为 LAP 作为参与氮素循环的酶与微生物群落数量也存在正相关关系;这与本研究不符,由于特定的氮酶种类复杂,LAP 并不能完全反应土壤氮酶活性的变化,仍需通过

氨基葡萄糖苷酶(NAG)等继续探讨。土壤中 TOC 对微生物群落具有显著影响,能够为土壤微生物提供充足的碳源^[34-35],这与本研究 RDA 分析所呈现的结果一致;但在一些研究^[36]中,认为土壤 MBC 与土壤微生物群落也存在着正相关关系,而本研究中,相比 MBC 对土壤微生物的影响,MBN 与 DON 对土壤微生物群落的影响更显著;主要是由于 MBC 与其他环境因子存在多重共线性,受外源环境影响变动较大,并且也没有与碳素循环中的土壤酶活性表现出相关性。土壤中理化环境因子中,土壤含水量与土壤微生物群落存在着正相关,这与前人研究^[37]一致;同时,相比硝态氮,铵态氮与土壤微生物群落的相关程度更高,Giagnoni 等^[38]研究得出,不同的氮源形态对玉米根际微生物群落组成影响显著,马宗斌等^[39]认为不同作物基因型的差异,也会导致土壤微生物对氮素形态的响应差异。

4 结论

秸秆还田配施微生物有机肥(TE)相较施用化肥(TF),显著提高了小麦在生殖生长期土壤含水率(13.3%~20.5%);施用普通有机肥(TM)提高了土壤无机氮素含量;且两者均能提高土壤 MBN 与 DON 含量以及 β G、CBH 活性;且施肥组合对土壤中 AP、LAP 活性无显著影响。各施肥组合中,TE 处理 PLFA 总量最高(4733.1 ng/g),且微生物群落多样性指数均显著高于 TF 处理。秸秆还田在不同施肥组合下, β G、CBH 活性与土壤微生物群落存在正相关关系,MBN 与 DON 与土壤微生物群落关系最为密切,环境因子中与微生物群落的重要性排序为 Moisture>NH₄⁺-N>Avail-P>Temp>NO₃⁻-N>pH>EC。综上所述,秸秆还田配施有机肥与微生物有机肥能合理调节土壤温度,显著提高土壤微生物的数量与活性,有利于土壤生态环境的改善,其中秸秆还田配施微生物有机肥(TE)效果最为显著。

参考文献(References):

- [1] 国家统计局. 国家统计局关于 2016 年粮食产量的公告. [2017-11-20]. <http://www.chinagrains.gov.cn/n787423/c1022822/content.html>.
- [2] Zhang X, Davidson E A, Mauzerall D L, Searchinger T D, Dumas P, Shen Y. Managing nitrogen for sustainable development. *Nature*, 2015, 528 (7580): 51-59.
- [3] 中华人民共和国农业部. 我国主要农作物秸秆综合利用率超过 80%. [2017-11-20]. http://jiuban.moa.gov.cn/zwillm/zwdt/201605/t20160526_5151375.html.
- [4] Chen Z M, Wang H Y, Liu X W, Zhao X L, Lu D J, Zhou J M, Li C Z. Changes in soil microbial community and organic carbon fractions under short-term straw return in a rice-wheat cropping system. *Soil and Tillage Research*, 2017, 165: 121-127.
- [5] 张瑞福, 颜春荣, 张楠, 李俊, 沈其荣. 微生物肥料研究及其在耕地质量提升中的应用前景. *中国农业科技导报*, 2013, 15(5): 8-16.
- [6] George P B L, Keith A M, Creer S, Barrett G L, Lebron I, Emmett B A, Robinson D A, Jones D L. Evaluation of mesofauna communities as soil quality indicators in a national-level monitoring programme. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 115: 537-546.
- [7] 臧逸飞, 郝明德, 张丽琼, 张昊青. 26 年长期施肥对土壤微生物量碳、氮及土壤呼吸的影响. *生态学报*, 2015, 35(5): 1445-1451.
- [8] 杨滨娟, 黄国勤, 钱海燕. 秸秆还田配施化肥对土壤温度、根际微生物及酶活性的影响. *土壤学报*, 2014, 51(1): 150-157.
- [9] Zhao H L, Shar A G, Li S, Chen Y L, Shi J L, Zhang X Y, Tian X H. Effect of straw return mode on soil aggregation and aggregate carbon content in an annual maize-wheat double cropping system. *Soil and Tillage Research*, 2018, 175: 178-186.
- [10] Zhao S C, Li K J, Zhou W, Qiu S J, Huang S W, He P. Changes in soil microbial community, enzyme activities and organic matter fractions under long-term straw return in north-central China. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 216: 82-88.
- [11] 李晓莎, 武宁, 刘玲, 冯宇鹏, 徐旭, 韩惠芳, 宁堂原, 李增嘉. 不同秸秆还田和耕作方式对夏玉米农田土壤呼吸及微生物活性的影响. *应用生态学报*, 2015, 26(6): 1765-1771.
- [12] 甄丽莎, 谷洁, 高华, 秦清军, 陈强龙. 秸秆还田与施肥对土壤酶活性和作物产量的影响. *西北植物学报*, 2012, 32(9): 1811-1818.
- [13] Liu G, Ma J, Yang Y T, Yu H Y, Zhang G B, Xu H. Effects of straw incorporation with a microbial inoculant on nitrous oxide and methane emissions from a wheat-rice rotation system. *Pedosphere*, 2017, doi: 10.1016/S1002-0160(17)60410-7.
- [14] Liebich J, Schlöter M, Schäffer A, Vereecken H, Buraue P. Degradation and humification of maize straw in soil microcosms inoculated with simple and complex microbial communities. *European Journal of Soil Science*, 2007, 58(1): 141-151.
- [15] 钱海燕, 杨滨娟, 黄国勤, 严玉平, 樊哲文, 方豫. 秸秆还田配施化肥及微生物菌剂对水田土壤酶活性和微生物数量的影响. *生态环境学报*, 2012, 21(3): 440-445.

- [16] Saiya-Cork K R, Sinsabaugh R L, Zak D R. The effects of long term nitrogen deposition on extracellular enzyme activity in an *Acer saccharum* forest soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(9): 1309-1315.
- [17] 郭芸, 孙本华, 王颖, 魏静, 高明霞, 张树兰, 杨学云. 长期施用不同肥料 土 PLFA 指纹特征. *中国农业科学*, 2017, 50(1): 94-103.
- [18] Veres Z, Kotrocó Z, Fekete I, Tóth J A, Lajtha K, Townsend K, Tóthmérész B. Soil extracellular enzyme activities are sensitive indicators of detrital inputs and carbon availability. *Applied Soil Ecology*, 2015, 92: 18-23.
- [19] 王月福, 于振文, 李尚霞, 余松烈. 氮素营养水平对冬小麦氮代谢关键酶活性变化和籽粒蛋白质含量的影响. *作物学报*, 2002, 28(6): 743-748.
- [20] 郑成岩, 于振文, 王西芝, 武同华. 灌水量和时期对高产小麦氮素积累、分配和转运及土壤硝态氮含量的影响. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15(6): 1324-1332.
- [21] Shi Y, Yu Z W, Man J G, Ma S Y, Gao Z Q, Zhang Y L. Tillage practices affect dry matter accumulation and grain yield in winter wheat in the North China Plain. *Soil and Tillage Research*, 2016, 160: 73-81.
- [22] Zhao X, Wang S Q, Xing G X. Nitrification, acidification, and nitrogen leaching from subtropical cropland soils as affected by rice straw-based biochar: laboratory incubation and column leaching studies. *Journal of Soils and Sediments*, 2014, 14(3): 471-482.
- [23] 王维钰, 乔博, Akhtar K, 袁率, 任广鑫, 冯永忠. 免耕条件下秸秆还田对冬小麦-夏玉米轮作系统土壤呼吸及土壤水热状况的影响. *中国农业科学*, 2016, 49(11): 2136-2152.
- [24] Cong P F, Ouyang Z, Hou R X, Han D R. Effects of application of microbial fertilizer on aggregation and aggregate-associated carbon in saline soils. *Soil and Tillage Research*, 2017, 168: 33-41.
- [25] 张雅洁, 陈晨, 陈曦, 常江, 章力干, 郜建红. 小麦-水稻秸秆还田对土壤有机质组成及不同形态氮含量的影响. *农业环境科学学报*, 2015, 34(11): 2155-2161.
- [26] Ning C C, Gao P D, Wang B Q, Lin W P, Jiang N H, Cai K Z. Impacts of chemical fertilizer reduction and organic amendments supplementation on soil nutrient, enzyme activity and heavy metal content. *Journal of Integrative Agriculture*, 2017, 16(8): 1819-1831.
- [27] 荣勤雷, 梁国庆, 周卫, 刘东海, 王秀斌, 孙静文, 李双来, 胡诚. 不同有机肥对黄泥田土壤培肥效果及土壤酶活性的影响. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(5): 1168-1177.
- [28] Sun R B, Guo X S, Wang D Z, Chu H Y. Effects of long-term application of chemical and organic fertilizers on the abundance of microbial communities involved in the nitrogen cycle. *Applied Soil Ecology*, 2015, 95: 171-178.
- [29] 吴静, 陈书涛, 胡正华, 张旭. 不同温度下的土壤微生物呼吸及其与水溶性有机碳和转化酶的关系. *环境科学*, 2015, 36(4): 1497-1506.
- [30] Qi R M, Li J, Lin Z A, Li Z J, Li Y T, Yang X D, Zhang J J, Zhao B Q. Temperature effects on soil organic carbon, soil labile organic carbon fractions, and soil enzyme activities under long-term fertilization regimes. *Applied Soil Ecology*, 2016, 102: 36-45.
- [31] Cenini V L, Fornara D A, McMullan G, Ternan N, Carolan R, Crawley M J, Clément J C, Lavelle S. Linkages between extracellular enzyme activities and the carbon and nitrogen content of grassland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 96: 198-206.
- [32] Zhang H, Xu W X, Li Y B, Lyu J L, Cao Y F, He W X. Changes of soil microbial communities during decomposition of straw residues under different land uses. *Journal of Arid Land*, 2017, 9(5): 666-677.
- [33] Kieft T L, Ringelberg D B, White D C. Changes in ester-linked phospholipid fatty acid profiles of subsurface bacteria during starvation and desiccation in a porous medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(9): 3292-3299.
- [34] Dong W Y, Zhang X Y, Dai X Q, Fu X L, Yang F T, Liu X Y, Sun X M, Wen X F, Schaeffer S. Changes in soil microbial community composition in response to fertilization of paddy soils in subtropical China. *Applied Soil Ecology*, 2014, 84: 140-147.
- [35] Hu Y J, Xiang D, Veresoglou S D, Chen F L, Chen Y L, Hao Z P, Zhang X, Chen B D. Soil organic carbon and soil structure are driving microbial abundance and community composition across the arid and semi-arid grasslands in northern China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 77: 51-57.
- [36] Guo L J, Zhang Z S, Wang D D, Li C F, Cao C G. Effects of short-term conservation management practices on soil organic carbon fractions and microbial community composition under a rice-wheat rotation system. *Biology and Fertility of Soils*, 2015, 51(1): 65-75.
- [37] 刘岳燕, 姚槐应, 黄昌勇. 水分条件对水稻土壤微生物群落多样性及活性的影响. *土壤学报*, 2006, 43(5): 828-834.
- [38] Giagnoni L, Pastorelli R, Mocali S, Arenella M, Nannipieri P, Renella G. Availability of different nitrogen forms changes the microbial communities and enzyme activities in the rhizosphere of maize lines with different nitrogen use efficiency. *Applied Soil Ecology*, 2016, 98: 30-38.
- [39] 马宗斌, 熊淑萍, 何建国, 马新明. 氮素形态对专用小麦中后期根际土壤微生物和酶活性的影响. *生态学报*, 2008, 28(4): 1544-1551.