

高大响,黄小忠,王亚萍. 秸秆还田及腐熟剂对土壤微生物特性和酶活性的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(12):468-471.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.12.139

秸秆还田及腐熟剂对土壤微生物特性和酶活性的影响

高大响¹, 黄小忠¹, 王亚萍²

(1. 江苏农林职业技术学院, 江苏句容 212400; 2. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江富阳 311400)

摘要:通过田间试验,设计秸秆不还田(CK)、秸秆还田(WR)及秸秆还田并加入腐熟剂(WRI)3种处理方法,研究秸秆还田及腐熟剂添加对土壤微生物及酶活性的影响。结果表明,与CK相比,早期WR及WRI处理的细菌数量显著增加($P < 0.05$),而真菌和放线菌数量显著减少($P < 0.05$);中后期,WR和WRI处理的3种菌数量均高于CK处理,尤其WRI更为显著($P < 0.05$)。各时期,WR和WRI处理的基础呼吸(BR)均比CK强,后期WRI处理显著($P < 0.05$)。3种处理的微生物量碳(MBC)含量均在处理60 d达最高;WR和WRI处理的土壤微生物量氮(MBN)含量增加或显著增加($P < 0.05$);MBC/MBN受同期MBC和MBN含量变化的影响。在一定时间内,WR和WRI处理能提高脲酶、碱性磷酸酶及纤维素酶活性。每阶段3种处理间的土壤脱氢酶和过氧化氢酶活性无显著差异($P > 0.05$)。脲酶和细菌及纤维素酶和放线菌均由显著正相关变成负相关。在某时期,除土壤脲酶外,所测土壤酶活与微生物量碳、基础呼吸呈正相关,而脲酶与微生物量氮呈不显著相关。

关键词:秸秆还田;腐熟剂;微生物;土壤酶活性

中图分类号: S154 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)12-0468-04

目前,秸秆焚烧现象时有发生,既造成资源浪费,又污染环境。国内外已采取多种方法如秸秆发电、沼气发酵、堆肥等措施进行秸秆处理,但难以大范围推广^[1]。秸秆还田仍是秸秆处理的主要措施之一。

秸秆通过土壤微生物分解有机质为植物生长提供营养^[2],并对土壤基础呼吸有重要影响^[3]。土壤微生物量是土壤有机质的活性部分,可作为土壤中植物有效养分的贮存库^[4],也是反映土壤变化的重要指标^[5]。土壤酶是由微生物、动植物活体分泌及动植物残体分解释放的一类具有催化能力的生物活性物质,Tabatabai等认为酶是土壤生态系统的核心^[6],作为土壤质量的生物活性指标比土壤微生物量能更好地反映土壤有机质的累积^[7]。徐国伟等研究发现,秸秆还田提升了土壤酶活性^[8-9]。

近年来,对秸秆还田有不少的研究报导^[10-11],但有关秸秆腐熟剂添加对土壤微生物及土壤酶活性的研究较少,而大田相关试验更少。本研究通过田间试验,考察了3种处理(CK、WR及WRI)对土壤微生物特性和土壤酶活性的影响,为有效利用农作物秸秆提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验用地与作物品种

试验地设于江苏省句容市白兔镇解塘村,各田块相连平整,肥力均等,是种植大户多年连续稻麦轮作的田块;每处理田块面积为600 m²左右,不同处理田块间筑埂分隔。稻—麦轮作,小麦品种为扬麦16号,水稻品种为镇稻11号。

1.2 土壤处理方法

设置如下3个处理:处理1(CK)为麦秸不还田,稻秸不还田;处理2(WR)为麦秸全量还田,稻秸全量还田;处理3(WRI)为麦秸接种秸秆腐熟剂全量还田,稻秸接种秸秆腐熟剂全量还田。

以上处理均采用旋耕。各处理均按当地常规用量施用化肥,氮肥(纯)、磷肥(纯)及钾肥(纯)用量分别为300、60、52.5 kg/hm²,其中氮肥用作基肥、分蘖肥及穗肥,其比例分别为42%、18%及40%;磷钾肥均作基肥。灌溉水量为当地常规量。

在机械收获水稻后,采用喷雾器喷撒方式于田间接种秸秆腐熟剂,同时,在未施用腐熟剂的处理田块喷撒等量清水。所用腐熟剂均为市场购买,有效活菌数约为 5.0×10^7 CFU/g。

2014年2月8日开始分别间隔30 d采样,土壤采样时,每处理试验田块按空间布局采3个土壤样品(0~20 cm),作为各处理的重复样品。鲜样采回保存于冰箱中备用,另一批鲜样自然风干后过筛密封保藏。

1.3 土壤分析方法

1.3.1 细菌、真菌、放线菌计数 采用稀释平板法,细菌培养采用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌培养采用马丁氏培养基,放线菌培养采用高氏一号培养基。

1.3.2 土壤含水率和基础呼吸(BR)测定 土壤含水率测定采用烘干称重法;基础呼吸测定采用碱液吸收法,呼吸瓶内加入20 g新鲜土样,内置一盛有5 mL 0.1 mol/L NaOH溶液的小瓶,塞紧呼吸瓶口,于28℃恒温培养24 h,用滴定法测产生CO₂的量。

1.3.3 土壤微生物量碳氮(MBC/MBN)测定 采用三氯甲烷熏蒸浸提法^[12],比较熏蒸与未熏蒸土样提取液中含碳氮量的差异,计算土壤微生物量碳氮。

1.3.4 土壤酶活性测定 脱氢酶活性测定采用TTC比色

收稿日期:2015-10-25

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(编号:31400577)。

作者简介:高大响(1969—),男,安徽颍上人,硕士,副教授,主要从事农业发酵技术研究。E-mail:1183772425@qq.com。

法^[13],用 TPF 量换算氢离子质量,以 1 g 土壤中 H⁺ 的毫克数表示酶活性。脲酶活性测定采用靛酚比色法^[13],以 1 g 土壤在 37 ℃ 下 24 h 内酶解尿素释放 NH₃ - N 的毫克数来表示酶活性。碱性磷酸酶活性测定采用磷酸苯二钠比色法^[13],以 1 g 土壤 37 ℃ 下 24 h 后释放酚 Ph(OH) 毫克数表示酶活性。纤维素酶活性测定采用硝基水杨酸比色法^[13],以 10 g 土壤 37 ℃ 下培养 72 h 产生葡萄糖 (Glu) 的毫克数表示酶活性。过氧化氢酶活性测定采用容量法^[14],以 20 min 后 1 g 土壤消耗 0.1 mol/L KMnO₄ 溶液的毫升数表示。

1.4 试验数据分析方法

采用 Excel 2003 软件进行数据统计和相关分析。不同处理间土壤微生物及土壤酶活性差异采用 SPSS 软件 (13.0) 进行单因子方差 (One - Way ANOVA) 分析,通过邓肯法

(Duncan's) 进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 土壤微生物菌落数的变化

每种处理土壤中菌落数依次为细菌 > 放线菌 > 真菌 (表 1),WR 处理的细菌数量随时间先增后减,而真菌和放线菌数量递增。处理 30 d,与 CK 相比,WR 和 WRI 处理的细菌数量显著增加 ($P < 0.05$),而真菌和放线菌数量显著减少 ($P < 0.05$);处理 60 d,WRI 和 WR 处理的细菌数量显著增加 ($P < 0.05$),而真菌和放线菌数量增加但不显著 ($P > 0.05$);处理 90 d,WRI 处理的细菌数量多于 CK 和 WR 处理,但 3 种处理的细菌数量均明显低于 30 d 和 60 d,WR 和 WRI 处理的真菌及放线菌数量显著多于 CK 处理 ($P < 0.05$)。

表 1 土壤微生物菌落数的变化

菌种	处理	菌落数 (CFU/g)		
		30 d	60 d	90 d
细菌	CK	$(1.55 \pm 0.44) \times 10^7 c$	$(2.26 \pm 1.40) \times 10^7 c$	$(0.27 \pm 0.21) \times 10^7 b$
	WR	$(3.01 \pm 0.87) \times 10^7 b$	$(3.81 \pm 0.62) \times 10^7 b$	$(0.65 \pm 0.39) \times 10^7 b$
	WRI	$(4.02 \pm 0.69) \times 10^7 a$	$(6.23 \pm 1.01) \times 10^7 a$	$(1.94 \pm 0.68) \times 10^7 a$
真菌	CK	$(2.21 \pm 0.67) \times 10^4 a$	$(1.00 \pm 0.28) \times 10^4 a$	$(0.05 \pm 0.17) \times 10^4 b$
	WR	$(1.03 \pm 0.72) \times 10^4 b$	$(1.28 \pm 0.17) \times 10^4 a$	$(1.38 \pm 0.40) \times 10^4 a$
	WRI	$(1.05 \pm 0.03) \times 10^4 b$	$(1.20 \pm 0.34) \times 10^4 a$	$(1.40 \pm 0.25) \times 10^4 a$
放线菌	CK	$(2.36 \pm 0.87) \times 10^5 a$	$(0.83 \pm 0.23) \times 10^5 a$	$(0.06 \pm 0.61) \times 10^5 b$
	WR	$(0.92 \pm 0.28) \times 10^5 b$	$(0.97 \pm 0.36) \times 10^5 a$	$(2.38 \pm 0.92) \times 10^5 a$
	WRI	$(0.81 \pm 0.52) \times 10^5 b$	$(0.88 \pm 0.62) \times 10^5 a$	$(1.22 \pm 0.40) \times 10^5 a$

注:平均值 ± 标准差 ($n=3$),同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。表 2、表 3 同。

2.2 土壤含水率及微生物基础呼吸

3 个时间点中,除 WRI 外,各处理间土壤含水率无显著差异 ($P > 0.05$)。不论何种处理,表征土壤微生物群落的基础呼吸释放 CO₂ 量均随处理时间呈递减趋势。处理 30 d,3

种处理间差异显著 ($P < 0.05$),WR 处理最高;处理 60、90 d,WRI 处理与 WR、CK 2 处理均有显著差异 ($P < 0.05$) (表 2),显示了腐熟剂在影响基础呼吸方面的作用。

表 2 土壤含水率及基础呼吸的变化

处理	鲜土含水率 (%)			基础呼吸 (CO ₂ - C) (mg/g)		
	30 d	60 d	90 d	30 d	60 d	90 d
CK	$24.70 \pm 0.66a$	$23.15 \pm 0.17a$	$20.32 \pm 0.24a$	$46.20 \pm 3.93c$	$36.45 \pm 8.87b$	$24.97 \pm 1.14b$
WR	$23.05 \pm 2.16a$	$23.65 \pm 0.37a$	$23.57 \pm 5.27a$	$61.16 \pm 9.21a$	$34.72 \pm 10.59b$	$27.69 \pm 3.44b$
WRI	$18.93 \pm 0.68b$	$28.51 \pm 3.49a$	$20.56 \pm 0.58a$	$53.04 \pm 7.24b$	$44.62 \pm 8.15a$	$34.67 \pm 2.61a$

2.3 土壤微生物量变化

处理 30、90 d,各处理间 MBC 含量差异不显著 ($P > 0.05$);处理 60 d,所有处理的土壤 MBC 含量均达最大值,尤其 WRI 达到 751.39 mg/kg,比 WR 和 CK 处理均显著增加 ($P < 0.05$)。与 CK 和 WR 处理相比,WRI 处理在处理 30、60 d 时的土壤 MBN 含量显著增加,而在处理 90 d MBN 含量较 WR 显著减少 ($P < 0.05$)。WRI 处理的 MBN 含量随处理时间呈递减趋势。

3 个时间点中,3 种处理的 MBC/MBN 值均在处理 60 d 时达到最大值;90 d 时,与 CK 相比,WR 和 WRI 处理的土壤 MBC/MBN 值显著减小 ($P < 0.05$),MBC/MBN 值的变化深受同期 MBC 和 MBN 含量变化的影响 (表 3)。

2.4 土壤酶活性测定

2.4.1 土壤脱氢酶活性 每个时间点,3 种处理间土壤脱氢酶活性均无显著差异 ($P > 0.05$),不过 3 种处理在后 2 个时间点脱氢酶活性均小于第 1 个时间点。WRI 处理脱氢酶的

活性随时间递减,但变化幅度不大,由 5.85 mg/(g · 24 h) (30 d) 变成 5.15 mg/(g · 24 h) (90 d) (图 1),表明腐熟剂添加对土壤脱氢酶活性影响较小。

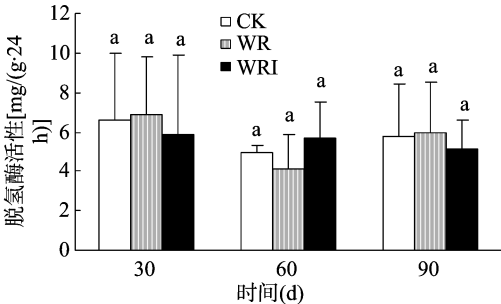
2.4.2 土壤脲酶活性 脲酶是含氮有机物的水解酶,能专一性水解尿素。处理 30 d,WR 和 WRI 处理比 CK 处理均有显著增加 ($P < 0.05$)。而处理 60、90 d,各处理间土壤脲酶活性均无显著差异 ($P > 0.05$)。另外,WR 和 WRI 2 个处理脲酶活性呈递减趋势,其中 WRI 处理的脲酶活性由 0.51 mg/(g · 24 h) (30 d) 降至 0.27 mg/(g · 24 h) (90 d),降幅明显 (图 2)。

2.4.3 土壤碱性磷酸酶活性 碱性磷酸酶是一种水解酶,能有效促进有机磷化合物的水解,其活性可以表征土壤磷的状况。试验结果 (图 3) 表明,处理 60 d,WR 处理的土壤碱性磷酸酶活性明显升高,为 0.950 mg/(g · 24 h);处理 30、90 d 时,各处理间均无显著差异 ($P > 0.05$),WRI 处理的碱性磷酸酶活性在处理 30、60 d 时变化不大,而在处理 90 d 时明显增

表 3 土壤微生物量的变化

项目	处理	微生物量		
		30 d	60 d	90 d
MBC (mg/kg)	CK	(412.96 ± 25.91) a	(543.81 ± 17.23) b	(435.96 ± 18.37) a
	WR	(358.56 ± 28.78) a	(524.24 ± 29.35) b	(468.62 ± 58.55) a
	WRI	(337.65 ± 35.36) a	(751.39 ± 26.31) a	(392.95 ± 55.66) a
MBN (mg/kg)	CK	(66.82 ± 20.97) c	(47.49 ± 17.82) b	(44.75 ± 6.08) c
	WR	(93.27 ± 73.19) b	(54.62 ± 13.64) b	(83.22 ± 9.86) a
	WRI	(123.53 ± 38.27) a	(67.52 ± 9.02) a	(59.36 ± 10.92) b
MBC/MBN	CK	(6.73 ± 2.84) a	(12.69 ± 4.97) a	(9.83 ± 1.01) a
	WR	(5.25 ± 2.76) a	(10.07 ± 3.19) a	(5.65 ± 0.67) b
	WRI	(2.77 ± 0.21) b	(11.13 ± 0.82) a	(6.74 ± 1.30) b

强,WRI 最高为 0.955 mg/(g·24 h),相比于处理 30 d 提高 51%。



柱上不同小写字母表示差异显著($P<0.05$); 下图同
图1 3种处理对土壤脱氢酶活性的影响

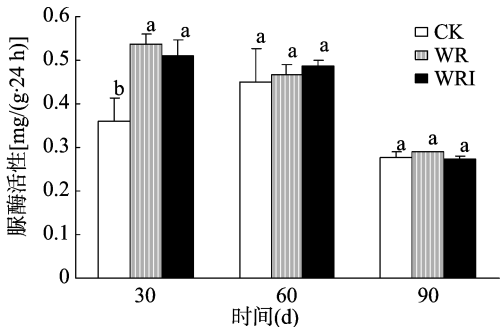


图2 3种处理对土壤脲酶活性的影响

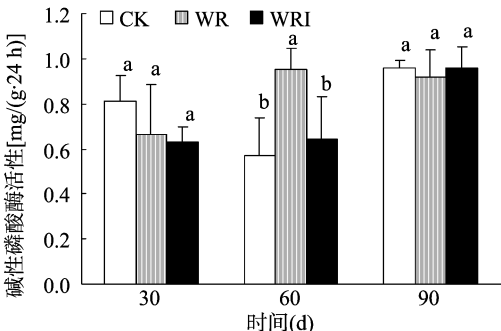


图3 3种处理对土壤碱性磷酸酶活性的影响

2.4.4 土壤纤维素酶活性 3 种处理的土壤纤维素酶活性均呈现先升高后降低的趋势。处理 30 d 时,3 个处理间无显著差异($P>0.05$);处理 60 d 各处理间出现显著差异($P<0.05$),每种处理的纤维素酶活性均达到最高水平,其中 WRI

最为显著,为 15.30 mg/(10 g·24 h);处理 90 d 时,3 种处理的酶活性又出现明显下降,WRI 仅为 7.23 mg/(10 g·24 h) (图 4)。

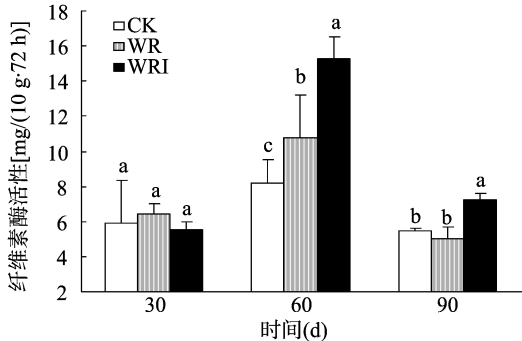


图4 3种处理对土壤纤维素酶活性的影响

2.4.5 土壤过氧化氢酶活性 3 个时间点中,各处理间均无显著差异($P>0.05$),表明秸秆还田和腐熟剂的加入对过氧化氢酶活性影响较小。处理 30、60 d 的过氧化氢酶活性基本稳定,而处理 90 d 后,3 种处理下的酶活性均出现明显降低(图 5)。

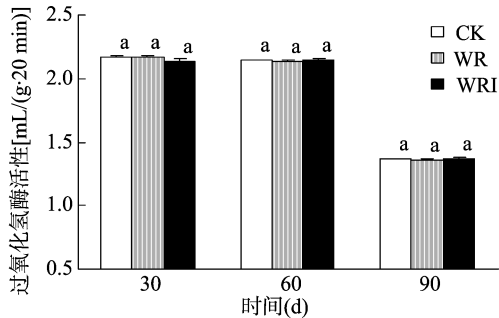


图5 3种处理对土壤过氧化氢酶活性的影响

2.5 土壤酶活性与微生物菌落数量、基础呼吸及微生物量的相关性

相关分析结果(表 4)表明,土壤酶活性与菌落数量之间的相关性有所不同。脲酶与细菌数量由显著正相关(相关系数 0.63^{*})逐渐变成负相关,而纤维素酶活性与放线菌数量由显著正相关(相关系数 0.51^{*})变成负相关。在 60 d 范围内,除脲酶外,其余所测土壤酶活与微生物量碳和基础呼吸均表现不同程度的正相关,60 d 时的土壤脱氢酶活性和过氧化氢酶活性与微生物量碳和基础呼吸呈显著或极显著正相关。土壤脲酶与微生物量氮在 3 个时期均呈正相关,但不显著。

表 4 土壤酶活性与微生物数量、基础呼吸及微生物量的相关性

取样时间 (d)	土壤酶名称	相关系数					
		细菌数量	真菌数量	放线菌数量	CO ₂ - C	MBC	MBN
30	脱氢酶	-0.03	0.28	0.08	0.44	0.63 *	-0.13
	脲酶	0.63 *	-0.57 *	-0.62 *	0.65 *	-0.06	0.35
	磷酸酶	0.05	0.19	-0.03	0.60 *	0.24	-0.22
	纤维素酶	-0.16	0.59 *	0.51 *	0.06	0.49	-0.30
	过氧化氢酶	-0.76 *	0.54 *	0.39	0.24	0.53 *	-0.09
60	脱氢酶	0.24	-0.49	0.69 *	0.78 *	0.64 *	0.30
	脲酶	0.33	-0.44	0.40	-0.13	0.21	0.14
	磷酸酶	0.08	0.13	0.51 *	0.38	0.03	0.59 *
	纤维素酶	0.75 *	-0.35	-0.55 *	0.07	0.15	0.27
	过氧化氢酶	0.01	-0.14	0.79 *	0.85 **	0.76 *	0.23
90	脱氢酶	-0.09	0.16	-0.48	0.39	0.34	0.17
	脲酶	-0.47	0.13	0.27	-0.33	0.40	0.45
	磷酸酶	0.25	-0.31	-0.35	0.34	0.47	-0.25
	纤维素酶	0.83 **	0.24	-0.27	0.70 *	0.33	-0.24
	过氧化氢酶	0.28	-0.49	-0.47	0.23	0.31	-0.75

注：“*”表示相关达显著水平，“**”表示相关达极显著水平。

3 结论与讨论

在旋耕条件下,秸秆还田及腐熟剂的施用在早期能使细菌数量增加趋势显著,中后期,3 种菌数量都有所增加,表明秸秆还田及秸秆腐熟剂能改善土壤状况,提高土壤含氧量及营养,有利于微生物特别是细菌的生长和繁殖。群落中细菌所占比例增加,在土壤中发挥重要作用,为优势菌^[15]。而 3 种处理间土壤真菌和放线菌数量在前期和后期出现不同的差异性,体现了土壤微生物群落变化的复杂性和多样性^[16]。

基础呼吸用于表征土壤中微生物群落对土壤有机碳的矿化能力,秸秆还田有利于基础呼吸 CO₂ 的释放;而腐熟剂加速秸秆降解,为微生物代谢活动提供了碳源、氮源等,使土壤微生物的呼吸作用增强。

在不同时间段内,秸秆还田及配合施用腐熟剂能不同程度地提高或降低土壤 MBC 含量,表明土壤微生物对 MBC 利用的不断变化。无论是单独秸秆还田还是配合施用腐熟剂均能够提高或显著提高土壤中 MBN 含量,从而降低土壤中微生物量碳氮比,这与群落中细菌所占比例增加有关,一般情况下细菌微生物量碳氮比较低^[17]。WRI 处理的 MBN 含量逐渐递减,表明腐熟剂对土壤 MBN 变化的影响明显。

秸秆还田以及腐熟剂对脲酶的活性有一定的影响。在一定时间段内,腐熟剂加快秸秆降解,增加土壤有机氮量,从而提高了脲酶的活性^[18]。另外,秸秆还田也在一定时间范围内有利于提高土壤碱性磷酸酶和纤维素酶的活性。秸秆还田和腐熟剂加入对土壤脱氢酶及过氧化氢酶活性影响较小,是否与土壤 pH 值的变化、营养水平等因素有关,有待进一步研究。

秸秆还田并充分利用腐熟剂,促进秸秆腐解,在一定程度上改变了土壤微生物的一些特性和土壤酶活性,解决了秸秆残留和秸秆焚烧带来的环境污染问题。

参考文献:

- [1]赵勇,李武,周志华,等. 秸秆还田后土壤微生物群落结构变化的初步研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(6): 1114-1118.
- [2]李金埔,王双磊,张美玲,等. 秸秆还田对棉田土壤微生物和土壤

- 呼吸速率的影响[J]. 山东农业科学, 2014, 46(9): 69-73.
- [3]Doran J W, Parkin T B. Defining soil quality for a sustainable environment[J]. Soil Biology and biochemistry, 2001, 35: 3-22.
- [4]徐阳春,沈其荣,冉炜,等. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物生物量碳、氮、磷的影响[J]. 土壤学报, 2002, 39(1): 89-96.
- [5]王芸,李增嘉,韩宾,等. 保护性耕作对土壤微生物量及活性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(8): 3384-3390.
- [6]Tabatabai M A, Dick W A. Enzymes in soil: research and developments in measuring enzymes activities [M]. New York: Marcel Dekker Inc, 2002: 567-595.
- [7]Vance N C, Entry J A. Soil properties important to the restoration of Shasta red fir barrens in the Siskiyou Mountains[J]. Forest Ecology Management, 2000, 138(1): 427-434.
- [8]徐国伟,段骅,王志琴,等. 麦秸还田对土壤理化性质及酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42(3): 934-942.
- [9]刘定辉,舒丽,陈强,等. 秸秆还田少免耕对冲积土微生物多样性及微生物碳氮的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(2): 158-161.
- [10]盘莫道,谭周进,李倩,等. 早稻秸秆还田对次年早稻土微生物及酶的影响[J]. 中国生态农业学, 2008, 16(2): 380-386.
- [11]谭周进,李倩,陈冬林,等. 稻草还田对晚稻土微生物及酶活性的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(10): 3385-3392.
- [12]鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 228-233.
- [13]关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986: 398-413.
- [14]李振高,骆永明,滕应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 398-399.
- [15]裴鹏刚,张均华,朱练峰,等. 培养条件下秸秆还田对水稻土微生物活性的影响[J]. 中国稻米, 2014, 20(3): 6-10.
- [16]于建光,常志州,黄红英,等. 秸秆腐熟剂对土壤微生物及养分的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(3): 563-570.
- [17]张庆忠,吴文良,王明新,等. 秸秆还田和施氮对农田土壤呼吸的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(11): 2883-2887.
- [18]刘佳斌,李传宝,王宏燕. 秸秆还田不同处理方式对黑土微生物数量和土壤酶活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(9): 5285-5287.