

## 不同施肥对雷竹林土壤微生物功能多样性影响初报

徐秋芳<sup>1,2</sup>, 姜培坤<sup>2</sup>, 陆贻通<sup>1</sup>

(1. 上海交通大学 农业与生物学院, 上海 200240; 2. 浙江林学院 环境科技学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 雷竹 *Phyllostachys praecox* 早产高效栽培技术的连年实施, 暴露出了竹林退化、土壤质量下降的现象。为研究不同施肥对雷竹土壤微生物功能多样性的影响, 在雷竹主产区布置了 6 个肥料试验处理, 即猪栏肥 + 化肥 (处理 1)、菜籽饼 + 化肥 (处理 2)、1/2 猪栏肥 + 1/2 化肥 (处理 3)、纯化肥 (处理 4)、2/3 纯化肥 (处理 5) 和 1/2 纯化肥 (处理 6)。各处理肥料用量按氮素总投入量设定, 6 个处理氮素总投入量比例为 2.0 2.0 1.0 2.0 1.5 1.0。试验从 2005 年 5 月开始, 2005 年 12 月冬季覆盖前采样分析了土壤的总有机碳、微生物量碳及微生物功能多样性。结果表明, 有机肥化肥混合 (处理 1, 处理 2 和处理 3) 土壤总有机碳质量分数明显高于纯无机肥处理 ( $P < 0.01$ ), 而处理 1 和处理 2 又高于处理 3 ( $P < 0.05$ ), 而不同用量无机肥的 3 个处理 (处理 4, 处理 5 和处理 6) 间无差别。除处理 3 与处理 6 外, 有机无机肥混施的土壤微生物量碳均高于纯无机肥 ( $P < 0.01$ )。有机无机混施处理的土壤微生物功能多样性明显高于纯化肥的处理, 不同用量的有机无机混施处理间土壤微生物功能多样性值无明显差异; 而纯化肥处理表现为随化肥用量的增加, 其土壤微生物功能多样性值明显下降。有机无机混施处理与纯化肥处理土壤微生物利用碳源模式存在明显不同, 施用量最大的处理 4 又不同于处理 5 和处理 6。不同施用处理土壤微生物功能多样性指数 (Shannon 和 McIntosh) 进一步证明, 有机无机混施与纯化肥处理对土壤微生物功能的不同影响, 以及化肥用量增加对土壤微生物功能的不利影响。因此, 建议采用有机无机肥混施的方法来避免高浓度肥料对土壤生物学性质的不良影响, 以保证雷竹生产的可持续发展。图 4 表 2 参 20

关键词: 土壤学; 雷竹; 化肥; 有机肥; 土壤微生物量碳

中图分类号: S714.8 文献标志码: A 文章编号: 1000-5692(2008)05-0548-05

## Soil microbial diversity with different fertilizer types and rates in a *Phyllostachys praecox* stand

XU Qiu-fang<sup>1,2</sup>, JIANG Pei-kun<sup>2</sup>, LU Yi-tong<sup>1</sup>

(1. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China; 2. School of Environmental Science and Technology, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: High rates of fertilization and heavy winter mulching commonly practiced in *Phyllostachys praecox* forest have resulted in several problems, such as bamboo grove deterioration and a decrease in soil quality. A randomized complete block design (RCB) trial with six treatments and three replications was conducted to determine the effects of fertilization on soil microbial biomass and diversity. This trial designed in two parts, treatments 1, 2 and 3 with mixture of mineral and organic fertilizer composed of urea, compound fertilizer, manure or rape cake with relative nitrogen value of 2.0, 2.0, 1.0 (contained  $673.5 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$  of N); treatments 4, 5 and 6 with pure mineral fertilizer composed of urea and compound fertilizer with relative nitrogen value of 2.0, 1.5 and 1.0 in order, was conducted in May 2005 and soils sampled in December. Compared to soils with a pure mineral fertilizer (treatments 4, 5, and 6), soil total organic C (TOC) was significantly higher ( $P < 0.01$ ) in soils having a mixture of mineral and organic fertilizer (treatments: 1, 2,

收稿日期: 2007-12-13; 修回日期: 2008-03-21

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 ("973" 计划) 项目 (2004CB418503); 浙江省新世纪 151 人才工程培养人员项目

作者简介: 徐秋芳, 博士, 教授, 从事森林土壤生物与生物化学研究。E-mail: xuqiufang@zjfc.edu.cn。通信作者: 陆贻通, 教授, 从事农业环境污染与防治研究。E-mail: ytl@sjtu.edu.cn

and 3); with more organic fertilizer (treatments 1 and 2 in contrast to 3) relatively more ( $P < 0.05$ ) TOC was found. With both mineral and organic fertilizers (treatments 1 and 2), soil microbial biomass C (MBC) was significantly greater ( $P < 0.01$ ) than single mineral fertilizer (treatments 4, 5 and 6). With an increase in the rate of organic fertilizer, soil MBC increased with treatment 1 and 2 significantly higher ( $P < 0.01$ ) than treatment 3; however, with an increase in the rate of mineral fertilizer used, it decreased with treatment 4 and 5 significantly lower ( $P < 0.01$ ) than treatment 6. As for soil microbial diversity characterized as average well color development (AWCD), with various rates of organic fertilizer there were no differences between treatments, however with different mineral fertilizer rates AWCD values decreased with treatment 4 significantly lower ( $P < 0.01$ ) than treatment 5 and 6 at the end of incubation. [Ch, 4 fig. 2 tab. 20 ref.]

Key words: pedology; *Phyllostachys praecox*; chemical fertilizers; organic fertilizer; soil microbial biomass carbon

雷竹 *Phyllostachys praecox* 笋营养丰富, 味鲜美, 市场需求量大。在最近十几年来, 雷竹早产高效栽培技术在生产上大面积推广<sup>[1]</sup>。该项技术的核心, 一方面是竹林地表冬季覆盖稻草、竹叶和蔸糠等有机质, 通过有机物料隔绝冷空气侵入土壤以及有机物料腐烂中产生热量来使土壤保持较高温度, 从而达到提前出笋的目的, 另一方面, 在雷竹林地大量施用肥料特别是化肥, 从而来增加竹笋产量<sup>[2]</sup>。在雷竹早产高效栽培技术中, 推荐施用化肥超过  $3.0 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 有机肥达  $100 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ <sup>[2]</sup>。但长期大量施用肥料特别是化肥已造成竹林提前退化, 土壤酶活性异常<sup>[3, 4]</sup>, 竹林土壤重金属含量也出现了升高趋势<sup>[5, 6]</sup>。土壤微生物是土壤养分循环的主要驱动者, 土壤生物学指标是强度经营经济林土壤质量指标的灵敏指标, 它比土壤理化性质更快地反映环境的变化<sup>[7]</sup>, 而土壤微生物多样性则更能反映微生物对外来干扰的反映<sup>[8, 9]</sup>。本文的目的是应用先进的微生物测试方法——Biolog法研究不同施肥对雷竹林土壤微生物多样性及土壤质量的影响, 为雷竹林可持续经营提供决策依据。

## 1 样品与方法

### 1.1 研究区概况

试验地设在浙江省临安市三口乡,  $30^{\circ}14' \text{ N}$ ,  $119^{\circ}42' \text{ E}$ 。该区是浙江省雷竹主产区之一, 海拔为  $150 \text{ m}$ , 年平均气温  $15.8^{\circ} \text{ C}$ , 年降水量  $1420 \text{ mm}$ , 无霜期  $236 \text{ d}$ 。土壤为发育于粉砂岩的红壤土类, 地形地貌为丘陵。试验地雷竹建园历史  $6 \text{ a}$ ,  $2001 \text{ 年}$ 已覆盖  $1 \text{ a}$ 。试验地土壤  $\text{pH}$   $5.02$ , 有机质为  $44.35 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 全氮  $1.71 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 碱解氮  $135.66 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 有效磷  $16.87 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ , 速效钾  $115.60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

### 1.2 研究方法

1.2.1 试验设计 2005年5月布置试验。按目前雷竹生产上施肥习惯不同, 设置6个处理, 处理内容见表1。3次重复, 随机区组设计, 小区面积为  $120 \text{ m}^2$ 。施肥时间分3次。即5月12日、9月22日和12月5日, 每次肥料用量占全年比例分别为35%, 30%和35%, 有机肥在5月12日和12月5日2次施入, 并结合施肥进行翻耕, 9月22日只施化肥, 不施有机肥。12月5日冬季施肥覆盖前分别多点采集各小区中  $0 \sim 25 \text{ cm}$  土层中混合土壤样品。

1.2.2 分析方法 土壤样品采集后, 先去杂并过  $2 \text{ mm}$  钢筛, 再把土样分成2份。一份鲜样用于测定土壤微生物量碳和微生物功能多样性; 另一份风干后供土壤有机质测定用。土壤有机质测定采用重铬

表 1 试验各处理肥料用量

处理号	全年施肥量/( $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ )	氮素用量相对值
1	尿素 975, 复合肥 1 500, 厩肥 112 500	2.0
2	尿素 975, 复合肥 1 500, 菜籽饼 18 750	2.0
3	尿素 488, 复合肥 750, 厩肥 56 250	1.0
4	尿素 1 950, 复合肥 3 000	2.0
5	尿素 1 300, 复合肥 2 000	1.5
6	尿素 975, 复合肥 1 500	1.0

说明: 复合肥为 N P K 为 15 15 15。

酸钾外加热法<sup>[10]</sup>。土壤微生物量碳采用氯仿熏蒸法<sup>[11]</sup>，熏蒸后土壤用  $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{K}_2\text{SO}_4$  溶液浸提 (25 恒温  $250 \text{ 次} \cdot \text{min}^{-1}$  次共振 30 min)，浸提液过滤后直接在岛津 TOC-V<sub>CPH</sub> 有机碳分析仪上测定。同时，做不熏蒸对照，通过计算熏蒸与不熏蒸溶液的碳质量分数差异来求得土壤微生物量碳。微生物多相关性采用 Biolog 法测定<sup>[12]</sup>。称相当于 10 g 干土的鲜新土，在超净工作台中将土壤加入存有 100 mL 无菌蒸馏水的三角瓶中，加盖振荡 30 min ( $250 \text{ 次} \cdot \text{min}^{-1}$ )，静止澄清后，取 10 mL 上清液加入 90 mL 的无菌蒸馏水中；重复以上过程使溶液的最终比例为 1/10 000。将含有土壤微生物的溶液接种至 Biolog 生态盘中 (ECO Microtiter Plate, Biolog Inc. Hayward, C A, USA)，放入 25 培养箱中培养 7 d，每隔 24 h 在 595 nm 处用 VAMAX 自动读盘机进行自动读数 (用 Microlog Rel. 3.5 软件)。

### 1.3 数据分析

土壤微生物群落 Biolog 代谢剖面的表达：Biolog 生态盘微平板中 31 种单一碳源反应程度，即土壤微生物利用碳源的能力，采用每孔的平均吸光值 (AWCD) 来描述。其计算按下式表达：

每孔平均吸光值 =  $\left[ \frac{\sum (C - R)}{31} \right]$ 。其中：C 是所测 31 个反应孔的吸光值，R 是对照孔的吸光值。

Shannon 多样性指数  $H = - \sum P_i \ln P_i$ 。其中：P<sub>i</sub> 为每孔的相对吸光值 (C - R) 与所有 31 孔的吸光值总

和之比。McIntosh 指数  $U = \sqrt{\left( \frac{\sum n_i^2}{n} \right)}$ 。其中：n<sub>i</sub> = C - R<sup>[13]</sup>。数据分析采用 DPS 统计软件<sup>[14]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同施肥对土壤总有机碳的影响

雷竹林地肥料定位试验发现，有机化肥混合的处理 1、处理 2 和处理 3 土壤总有机碳质量分数明显高于纯无机肥处理 ( $P < 0.01$ )；而处理 1 和处理 2 又高于处理 3 ( $P < 0.05$ )。不同用量无机肥的 3 个处理间无差别 (图 1)。所施肥料中，有机肥的有无及施用量直接影响土壤有机质的质量分数。

### 2.2 不同施肥对土壤微生物量碳的影响

从图 2 可知，有机无机肥混施处理的土壤微生物量碳均高于纯无机肥处理 ( $P < 0.01$ )，但处理 3 与处理 6 差异未达到显著水平，这可能是由于处理 3 有机肥的施用量相对较低，5 月施用后对土壤微生物的激发效应逐渐消失；而有机肥用量高的处理 1 和处理 2 对土壤微生物的影响持续时间长，因此，其微生物量碳显著高于处理 3。以上结果说明，施用有机肥对土壤微生物活动有明显的促进作用，但促进的效果与施用量有关。类似结果也在其他地区的生态系统报道<sup>[15]</sup>。从无机肥对土壤微生物量碳的影响结果看，随着施用量的增加，土壤微生物量碳呈现下降态势，施肥量较高的处理 4 和处理 5 的土壤微生物量碳显著低于处理 6。这是纯化肥的过量而产生的高浓度对微生物产生毒害作用所致。这一结果与何振立<sup>[16]</sup>的研究相吻合。

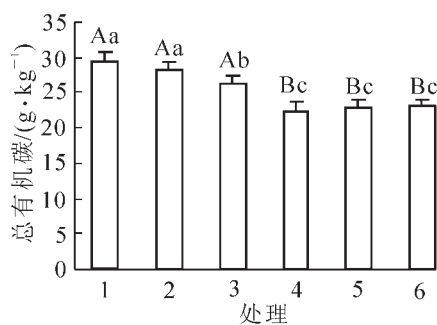


图 1 不同施肥处理土壤总有机碳质量分数比较

Figure 1 Soil organic carbon with different treatments

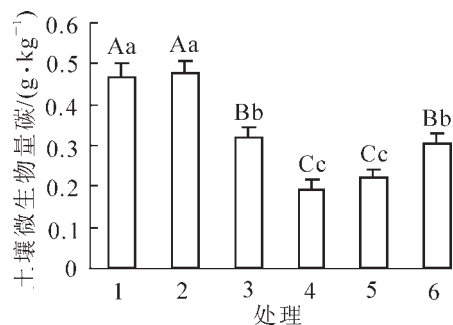


图 2 不同施肥处理土壤微生物量碳质量分数比较

Figure 2 Soil microbial biomass carbon with different treatments

### 2.3 不同施肥对土壤微生物功能多样性的影响

采样分析土壤微生物功能多样性结果表明，有机无机混施的处理 1、处理 2 和处理 3 土壤微生物功能多样性明显高于纯化肥的处理 4、处理 5 和处理 6 (图 3)。不同用量的有机无机混施处理间土壤

微生物功能多样性值无明显差异; 而纯化肥处理表现为随化肥用量的增加, 其土壤微生物功能多样性值明显下降的现象, 说明超量施肥导致土壤微生物功能多样性减退。这一结果与土壤微生物量碳的规律一致。进一步说明, 过高的化肥用量对土壤微生物数量及种类产生一定影响。因此, 如长期大量施用化肥, 一方面高浓度化肥对土壤的微生物活动产生短期不良影响; 另一方面, 长期施肥导致的土壤养分的过量积累因而产生长期的不良影响。

不同施肥处理土壤微生物利用碳源的主成分分析(以 120 h 的吸光值为依据)表明(图 3), 第一主成分把不同肥料品种区分开来, 即有机无机混施的处理 1、处理 2 和处理 3 的第一主成分值明显大于纯化肥的处理 4、处理 5 和处理 6; 而 3 个有机无机混施的处理之间无显著差异, 虽然肥料用量差别较大。第二主成分则把化肥不同用量的 3 个处理分为 2 组, 即化肥用量最大的处理 4 为一组, 处理 5 和处理 6 为另一组。结果说明, 当化肥用量达到处理 4(尿素 1 950 kg·hm<sup>2</sup>, 复合肥 3 000 kg·hm<sup>2</sup>)水平时, 导致土壤微生物利用碳源的模式发生明显变化。不同微生物能够利用的碳源种类不同, 因而不同的土壤微生物区系结构, 其利用碳源的模式必然存在差异。以上主成分分析结果说明, 有机无机肥混合施用土壤微生物的群落结构有别于纯化肥处理土壤; 随着化肥施用量的增加, 土壤微生物群落结构也可能发生相应的变化。

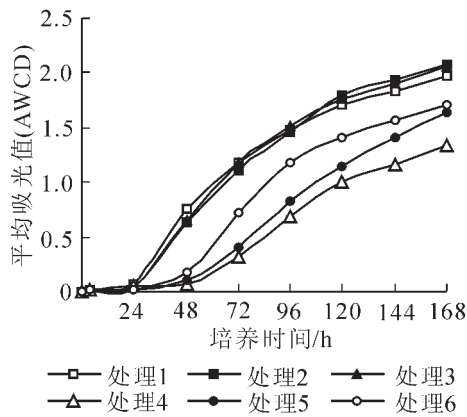


图 3 不同肥料处理土壤微生物培养过程中土壤微生物功能多样性值的变化

Figure 3 Changes in AWCD of soil microorganism with different treatments

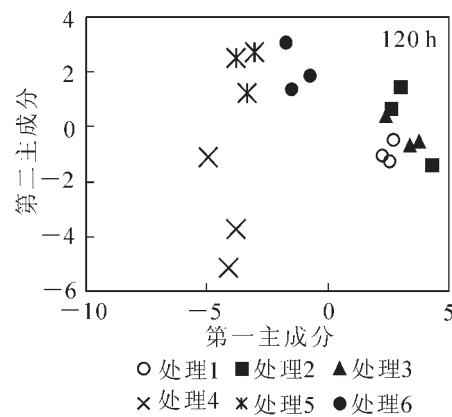


图 4 土壤微生物碳源利用率的主成分分析

Figure 4 Principle component analysis of carbon sources by soil microorganism

以 96 h 和 120 h 吸光值为依据的 Shannon 指数和 McIntosh 指数列于表 2。不同处理土壤以上 2 种多样性指数的差异规律较一致, 有机无机肥混施多样性指数值显著总体高于纯化肥处理, 化肥用量最高的处理 4 各指数值均为最低。处理 6 的 Shannon 指数介于中间, 与有机无机肥混施无显著差异, 与较高用量的纯化肥处理也无显著差异。McIntosh 指数化肥用量较小的处理 6 培养 96 h 的多样性指数值显著高于处理 4 和处理 5, 但培养至 120 h 时, 处理 5 的值与处理 6 的差异消失, 而处理 4 仍明显低于其他处理。

表 2 土壤微生物碳源利用的功能多样性指数

Table 2 Functional diversity of soil microbial community with different treatments

处理	Shannon 指数		McIntosh 指数	
	96 h	120 h	96 h	120 h
1	4.334 a	4.395 a	9.799 a	10.494 a
2	4.331 a	4.406 a	9.329 a	10.931 a
3	4.308 a	4.376 a	9.780 a	10.955 a
4	3.935 b	4.093 b	5.525 c	7.427 c
5	3.981 b	4.151 b	6.671 c	8.368 bc
6	4.139 ab	4.255 ab	8.391 b	9.448 b

Shannon 指数反映群落中物种的变化度或差异度, 受样本总数、拟种数和均匀度的影响。一般来说, 物种数多且较均匀的群落, Shannon 指数较高, 当物种的数量或均匀度下降时, Shannon 指数也

下降<sup>[13]</sup>。Biolog生态盘中能被利用的碳源(即拟物种数)越多且利用强度越大,则Shannon指数也越大。McIntosh是基于群落物种多维空间上的Euclidian距离的多样性指数,一般物种数(能利用的碳源数)越多,且某些物种优势明显(即碳源利用强度大)的群落McIntosh值大<sup>[13]</sup>。因此,McIntosh既能反映碳源利用种类数上的差别,也能区分利用程度上的不同,若碳源利用种类数相同,则利用程度越大的McIntosh指数也越大。综合表2中的Shannon和McIntosh指数可知,有机无机肥混施土壤微生物不仅种群丰富,而且碳源利用能力强,进一步说明土壤碳源对土壤微生物活动的重要性;纯施化肥土壤微生物种群没有显著差异,但碳源利用能力随着化肥用量的增加而呈现下降趋势。结合不同化肥用量土壤微生物量碳的差异结果,可推知碳源利用能力下降是由于土壤微生物的生物量下降所致。

### 3 结论

雷竹林大量施用纯化肥对土壤微生物产生不良的影响。随着化肥用量的增加,土壤微生物量碳和微生物利用碳源的能力均呈现下降趋势,特别是当用量达到处理4(尿素1950,复合肥3000 kg·hm<sup>-2</sup>)水平时,土壤微生物功能多样性明显下降。而在纯氮水平相同的情况下,有机无机肥混施可缓和高浓度肥料对土壤微生物的影响,且施肥量增加对土壤微生物利用碳源的能力及功能多样性没有负面影响,相反能促进微生物活动,使土壤微生物量碳高于低水平的有机无机肥混施处理。以上结果说明,雷竹生产中应避免施用大量纯化肥,纯化肥用量应控制在处理5的用量水平以下;为了满足雷竹生长对养分的需要,建议采用有机无机肥混施的方法来避免高浓度肥料对土壤生物学性质的不良影响,以保证雷竹生产的可持续发展。

#### 参考文献:

- [1] 汪祖潭, 方伟, 何钧潮, 等. 雷竹笋用林高产高效栽培技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1995: 5 - 56.
- [2] 方伟, 何钧潮, 卢学可, 等. 雷竹早产高效栽培技术[J]. 浙江林学院学报, 1994, 11(2): 121 - 128.
- [3] 金爱武. 雷竹保护地栽培林地退化机制的初步研究[J]. 福建林学院学报, 1999, 19(1): 94 - 96.
- [4] 姜培坤, 俞益武, 张立钦, 等. 雷竹林地土壤酶活性研究[J]. 浙江林学院学报, 2000, 17(2): 132 - 136.
- [5] 姜培坤, 徐秋芳. 雷竹笋硝酸盐含量及其与施肥的关系[J]. 浙江林学院学报, 2004, 21(1): 10 - 14.
- [6] 姜培坤, 叶正钱, 徐秋芳. 高效栽培雷竹林土壤重金属含量的分析研究[J]. 水土保持学报, 2003, 17(4): 61 - 63.
- [7] SPARLING G P. Soil microbial biomass activity and nutrient cycling an indicator of soil health[M] PANKHURST C E, DOUBE B M, GUPTA V V S R. Biological Indicators of Soil Health. Wallingford: CAB International, 1997: 97 - 119.
- [8] LOUISE M D, GWYN S G, JOHN H, et al. Management influences no soil microbial communities and their function in botanically diverse hay meadows of northern England and Wales[J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32: 253 - 263.
- [9] LAL R. Soil management and soil biotic processes[M] REDDY M V. Management of Tropical Agroecosystems and The Beneficial Soil Biota. Enfield: Science Publishing, 1999: 67 - 81.
- [10] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999: 146 - 226.
- [11] VANCE E D, BROOKES P C, JENKINSON D C. An extraction measuring soil microbial biomass C[J]. Soil Biol Biochem, 1987, 19: 703 - 707.
- [12] GARLAND J L, MILLS A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization[J]. Appl Environ Microbiol, 1991, 57: 2351 - 2359.
- [13] MAGURRAN A E. Ecological Diversity and Its Measurement[M]. Princeton: Princeton University Press, 1988.
- [14] 唐启义, 冯明光. DPS数据处理系统软件[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 407.
- [15] LOVELL R D, JARVIS S C, BARDGETT R D. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: effects of management change[J]. Soil Biol Biochem, 1995, 27: 969 - 975.
- [16] 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环和环境质量评价中的意义[J]. 土壤, 1997, 29(2): 61 - 69.
- [17] 杨颐康. 微生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986: 147 - 156.
- [18] 陈珊, 张常钟, 刘东波, 等. 东北羊草原土壤微生物量的季节变化及其与土壤生境的关系[J]. 生态学报, 1995, 15(1): 91 - 94.
- [19] DARRAH P R. Models of the rhizosphere[J]. Plant Soil, 1991, 133(3): 187 - 199.
- [20] 姜培坤, 蒋秋怡, 董林根, 等. 杉木檫树根际土壤生化特性比较分析[J]. 浙江林学院学报, 1995, 12(1): 1 - 5.