

连续定位施用沼液对水旱轮作耕层土壤微生物区系及酶活性的影响

冯丹妮, 伍 钧*, 杨 刚, 张璘玮, 张乙涵, 王静雯

(四川农业大学资源环境学院, 成都 611130)

摘 要:为研究长期定位施用沼液对水旱轮作耕层土壤微生物区系及酶活性的影响,在四川省邛崃市固驿镇黑石村黄壤性水稻土上设置 12 个处理(1 个清水对照, 1 个常规施肥对照, 10 个不同施用量的纯沼液处理),采集连续三年“水稻-油菜”轮作后的耕层土壤,研究了土壤微生物区系及酶活性的变化。结果表明,与清水对照和常规施肥相比,施用沼液会降低土壤细菌/真菌(B/F)值,增加微生物数量并提高土壤酶活性;随沼液施用量增加,细菌数量不断增加,放线菌、真菌数量和土壤过氧化氢酶活性均先升高后降低,土壤脲酶和蔗糖酶活性呈先降低后升高再降低的趋势;当三年沼液施用总量控制在 $495.31\sim 546.32\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时,土壤微生物数量和酶活性均处于较高水平。长期施用沼液有利于土壤微生物生长和酶活性提高,但对土壤生态平衡及土壤质量存在潜在威胁。

关键词:沼液;水旱轮作;耕层土壤;土壤微生物区系;土壤酶活性

中图分类号:X713 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2014)08-1644-08 **doi:**10.11654/jaes.2014.08.025

Influence of Long-term Applications of Biogas Slurry on Microbial Community Composition and Enzymatic Activities in Surface Soil Under Rice-Rape Rotation

FENG Dan-ni, WU Jun*, YANG Gang, ZHANG Lin-wei, ZHANG Yi-han, WANG Jing-wen

(College of Resources and Environment, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Biogas slurry contains plant nutrients and growth hormones, which may promote plant growth and in turn impact soil microorganisms and their activities. The influence of long-term applications of biogas slurry on microorganism community and enzyme activities was examined in yellow soil under rice-rape rotation in Heishi village of Sichuan Province. Twelve treatments (one clean water control, one conventional fertilizer, and ten different rates of pure biogas slurry) were designed. Three year applications of biogas slurry reduced the bacterial to fungal ratio (B/F), increased microbial population and enzymatic activities. As biogas slurry rates increased, however, bacterial population increased continuously, whereas actinomycetes and fungi and catalase activity increased initially and then decreased but urease and sucrase activities showed "decrease-increase-decrease" pattern. At $495.31\sim 546.32\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ of biogas slurry, both soil microorganisms and enzymatic activities remained at a relatively high level over the three year period. This result suggests that long-term application of biogas slurry could improve soil microorganism and enzyme activities.

Keywords: biogas slurry, rice-rape rotation, surface soil, soil microbial community, soil enzyme activity

禽畜粪便和农作物秸秆经沼气工程发酵后残留的沼液富含腐植酸和氮、磷、钾、铁、铜、锰等多种植物

生长发育所需的营养元素,且多以易被作物吸收的速效养分形式存在,同时还含有刺激作物生长的活性抗性物质,是活性生物有机肥料,但无序排放会造成严重的环境污染和疾病传播^[1]。目前沼液多被用于施肥、浸种等农业措施中,在提高作物产量、改善农产品品质、防治病虫害等方面显现出特殊功效^[2-4]。因此,许多农业专家和经济学家认为,“农牧结合-沼液还田”是解决沼液消解和有效利用沼液的经济可行途径,同时

收稿日期:2014-01-21

基金项目:国家科技支撑计划课题(2008BAD4B04);四川省环保厅重点项目(2011HB011)

作者简介:冯丹妮(1989—),女,汉族,辽宁鞍山人,硕士研究生,主要研究方向为环境污染化学与生物修复。

E-mail: fengdanni1989@163.com

* 通信作者:伍 钧 E-mail: wuj1962@163.com

还是一种维持农牧业良性循环、维护生态平衡的有效措施^[5]。但有关沼液农用的报道多集中于盆栽或短期大田试验,缺少对沼液长期施用农业效应的监控与研究,尤其是沼液长期施用对土壤微生物和酶活性的影响评价。

土壤微生物是土壤库的重要组成部分,是土壤养分循环释放、动植物残体降解转化的主要动力,能够及时准确地反映土壤性质的变化,是衡量土壤质量的重要指标之一^[2],高肥力的土壤中有丰富的微生物资源、良好的生物活性和稳定的微生物区系组成。土壤酶主要来自于土壤生物代谢过程及动植物残体分解,是土壤新陈代谢的重要因素,其活性反映了土壤中各种生物化学过程的强度和方向^[6]。土壤微生物及土壤酶活性极易受到环境中各种因素的影响,已成为土壤生态安全、土壤生产力评价的重要指标^[7]。

本研究在四川黄壤性水稻土上设置清水对照处理、常规施肥处理和不同施用量的纯沼液处理,进行三年“水稻-油菜”轮作,研究沼液连续施用对土壤微生物区系组成、微生物数量和酶活性的影响,探讨不同沼液施用量条件下土壤微生物和酶活性的变化趋势,以期在维护农田土壤质量、保证农业可持续发展的基础上为沼液合理有效农用提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点及材料

试验地点:四川省邛崃市固驿镇黑石村一农户责任田,地势平坦向阳,排灌方便,原始土壤肥力中等。

供试土壤:黄壤性水稻土,试验处理后土壤基本理化性质及主要重金属含量见表 1。

农耕方式:“水稻-油菜”轮作。

作物品种:水稻品种为籼稻“T 优 8086”,油菜品种为宜油 15。

供试沼液:四川金利有限公司生猪黑石养殖场以通威饲料养殖的猪场粪尿经厌氧发酵完全的沼液,沼液 pH 为 7.13,沼液营养成分平均含量为全氮 876.23 mg·L⁻¹,NH₃-N 634.7 mg·L⁻¹,NO₃-N 7.27 mg·L⁻¹,全磷 83.19 mg·L⁻¹,全钾 378.5 mg·L⁻¹;主要重金属元素平均含量为:铬 0.037 6 mg·L⁻¹,镉 1.138 mg·L⁻¹,铅 0.554 9 mg·L⁻¹,砷 7.84 mg·L⁻¹,汞未检出。

供试化肥:尿素(TN≥46%)、磷肥(含有机质磷肥,速效磷≥12%,有机质≥3.0%)、钾肥(K₂O≥60%)、硼肥(硼酸钠盐含量 99%,纯硼含量 15%)、有机复合肥。

1.2 试验设计

自 2009 年 5 月播种水稻,至 2012 年 5 月收割油菜,连续三年种植六季作物(“水稻-油菜”轮作)。试验设置 12 个处理,包括 1 个清水对照处理(1#)、1 个常规施肥处理(2#)和 10 个不同施用量的纯沼液处理(3#~12#)。每个处理 3 次重复,随机区组排列。小区面积 20 m²(5 m×4 m),各处理间隔 40 cm,各重复间隔 50 cm,四周设保护行。水稻、油菜种植均按当地常规方法育苗,水稻 4 月播种,5 月移栽,按宽窄行移栽,每小区定植 288 穴;油菜 9 月播种,10 月移栽,株距 35 cm,每小区种植 168 株。三年六季沼液连续施用情况如表 2 所示。

表 1 供试土壤基本理化性质及主要重金属含量

Table 1 Basic physical and chemical properties and some heavy metal contents of soil

处理 编号	pH	速效钾/ mg·kg ⁻¹	有效磷/ mg·kg ⁻¹	有机质/ g·kg ⁻¹	碱解氮/ mg·kg ⁻¹	全氮/ g·kg ⁻¹	Cd/ mg·kg ⁻¹	Cr/ mg·kg ⁻¹	Pb/ mg·kg ⁻¹	As/ mg·kg ⁻¹	Hg/ mg·kg ⁻¹
1#	5.35eE	20.64eD	30.85fF	20.44cB	131.3bcdB	1.094cCD	0.434 8fE	39.44eE	36.41eC	11.00eD	0.145 5gG
2#	5.26fF	21.42eCD	31.46fEF	21.54bcAB	126.0dB	1.061eD	0.501 6dD	48.00cC	42.92aA	13.25bcABC	0.237 6aA
3#	5.36eDE	22.24cdeBCD	33.34efDEF	23.39abcAB	132.4bcdB	1.186cdeBCD	0.474 7eD	44.27dD	37.32cdeBC	11.98dCD	0.182 6fF
4#	5.34eE	22.23cdeBCD	32.85efDEF	22.81abcAB	130.4cdB	1.170deBCD	0.485 6deD	45.62dCD	37.10eBC	12.63cdBC	0.185 5fEF
5#	5.36eDE	21.61deCD	32.72efEF	22.05bcAB	129.8cdB	1.160deBCD	0.497 0dD	52.01bB	38.41bcdeABC	12.65cdBC	0.205 6deCD
6#	5.42dCD	23.69bcdABC	36.15bcdBCD	23.80abcAB	135.8bcdB	1.220bcdeBCD	0.531 0cC	51.76bB	40.07abcdAB	12.89cdBC	0.216 3cdBCD
7#	5.43cdBC	24.79abAB	37.85abAB	25.05abAB	143.5abcAB	1.345abcAB	0.544 6bcBC	53.70bB	40.51abcdAB	13.46abcAB	0.230 8abAB
8#	5.44bcdBC	25.95aA	39.45aA	26.96aA	155.7aA	1.485aA	0.555 6bABC	56.59aA	40.97abAB	13.42abcAB	0.221 4bcABC
9#	5.46bcdABC	24.72abAB	37.08abcABC	25.27abAB	144.6abAB	1.374abAB	0.559 2bAB	56.56aA	40.88abAB	13.46abcAB	0.216 1cdABC
10#	5.49abAB	24.37abcABC	34.29deCDEF	22.92cdB	130.3cdB	1.356abcAB	0.563 2abAB	57.21aA	40.61abcAB	13.92abAB	0.209 3cdeCD
11#	5.48abcABC	22.00deBCD	31.44fEF	21.58dB	127.7dB	1.327abcdABC	0.561 9abAB	57.80aA	41.38abAB	13.97abAB	0.199 9eDE
12#	5.52aA	23.80abcdABC	34.78cdeBCDE	22.89bcdB	137.9bcdB	1.350abcAB	0.579 8aA	58.29aA	41.10abAB	14.41aA	0.203 2deD

注:大写字母表示在 $P<0.01$ 水平差异显著,小写字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。下同。

Note: Capital letters show significant difference at $P<0.01$, and small letters at $P<0.05$. The same below.

表2 三年连续试验施肥情况($\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)Table 2 Biogas slurry applications in three years($\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)

处理 编号	沼液施 用总量	水稻期沼液或 化肥施用总量	油菜期沼液或 化肥施用总量
1#	0	0	0
2#	0	尿素 0.15, 磷肥 0.99, 钾 肥 0.10, 有机复合肥 1.994	尿素 0.51, 磷肥 2.25, 钾肥 0.26, 硼肥 0.0084
3#	179.79	29.25	150.54
4#	259.53	52.50	207.03
5#	339.31	75.75	263.56
6#	396.81	99.00	297.81
7#	443.28	122.25	321.03
8#	495.31	145.50	349.81
9#	546.32	168.75	377.57
10#	626.10	192.00	434.10
11#	709.59	219.00	490.59
12#	793.09	246.00	547.09

注:水稻季肥料作为分蘖肥一次性施入,油菜季硼肥作为基肥一次性施入,其他肥料根据油菜不同生长季节所需养分分次施入;以12#处理沼液施用量为标准,其他处理以清水替代肥料达到统一施用量。

Note: For rice season, fertilizers were used only once as tillering fertilizer; for rape season, boron fertilizer was applied as basal fertilizer but other fertilizers employed at different growth stages as required. Setting biogas slurry rate in treatment 12# as reference, all other treatments were supplied with pure water in replacement of biogas slurry so as to have the same water amount for all treatments.

1.3 样品采集

连续三年六季“水稻-油菜”轮作后采集土壤样品,油菜收割后分小区多点采集0~20 cm土层,混匀,四分法取1 kg左右,用灭菌的镊子去除植物根系、石砾等杂物,将土样收集于无菌封口袋中,密封带回实验室储存于4℃冰箱用于微生物活菌数和土壤酶活性的测定。

1.4 分析方法

微生物活菌数采用传统的微生物平板计数法测定^[8],分别用牛肉膏蛋白胨培养基、马丁氏培养基、高氏一号培养基培养细菌、真菌、放线菌。土壤酶活性测定^[9],土壤脲酶活性测定采用苯酚钠-次氯酸钠比色法,以24 h后1 g土壤中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毫克数表示;过氧化氢酶活性测定采用高锰酸钾滴定法,以1 g土壤消耗 $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ KMnO}_4$ 的毫升数表示;蔗糖酶活性测定采用3,5-二硝基水杨酸比色法,以24 h后1 g土壤中葡萄糖的毫克数表示。

1.5 数据处理分析

应用Excel 2007和SPSS 18.0进行数据分析处理、统计和制图。

2 结果与分析

2.1 沼液对土壤微生物区系组成的影响

由表3可知,细菌数量占微生物总量的比例随沼液施用量增加先降低后升高,且仅在11#、12#处理条件下细菌比例大于清水对照和常规施肥处理,适量沼液施用降低了土壤细菌比例,说明细菌种群对沼液施用引起的土壤环境和营养条件变化反应敏感,生长速率降低;放线菌比例随沼液施用量增加先升高后降低,与细菌比例的变化趋势恰好相反,3#~10#沼液处理放线菌比例均显著高于对照组,沼液总施用量高于 $709.59\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 时,放线菌比例低于两个对照处理,适当施用沼液刺激放线菌种群增长,在与细菌种群的养分竞争中逐步占据优势;真菌数量所占比例变化幅度较小,除3#、5#、8#处理,沼液处理土壤真菌比例均大于清水对照处理、小于常规施肥处理,但处理间差异不显著,当沼液施用总量达 $495.31\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ (8#处理)时,真菌比例达1.71%,极显著高于其他处理,说明肥料种类及用量对真菌种群繁育存在一定的影响,但差异不显著。由此可见,长期连续施用沼液能明显改变土壤微生物区系组成,其中细菌和放线菌种群响应程度较高,真菌种群抗性较强,变化相对平缓。

土壤细菌数量与真菌数量的比值即B/F值是土壤微生物区系结构的重要特征指标,3#~10#处理(除5#处理)B/F值低于清水对照和常规施肥处理,且随沼液施用量增加先降低后升高,B/F值降低预示土壤有从高肥低害的“细菌型”转为低肥高害的“真菌型”的风险,结合研究中细菌和真菌比例变化结果,沼液施用可能会使土壤微生态失衡,土壤质量受到潜在威胁^[10]。

2.2 沼液对土壤微生物数量的影响

土壤微生物总量随沼液施用量的增加而呈先升高后降低的趋势,且均高于清水对照和常规施肥处理,说明适量施用沼液能够有效增加土壤微生物数量,提高土壤生物活性,高沼液施用量处理反而不适宜微生物的生长繁殖。

2.2.1 沼液对土壤细菌数量的影响

随沼液施用量增加,各处理土壤细菌数量逐渐增加(图1),12#处理达到最大值($1.627\text{E}+06 \pm 0.281\text{E}+05$) $\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$,分别比清水对照和常规施肥处理增加196.8%和192.9%,常规施肥处理土壤细菌数量比清水对照增加1.3%,明显低于纯沼液处理土壤。在纯沼液处理中,3#~6#处理与两个对照处理微生物数量差

表 3 土壤微生物总量及区系组成结构

Table 3 Total population and microfloral composition of soil microbes

处理编号	微生物总量/CFU·g ⁻¹	细菌比例/%	放线菌比例/%	真菌比例/%	B/F
1#	(8.793±1.365)E+05dC	62.01abABC	37.04bcABC	0.95bB	70.18aA
2#	(8.610±2.261)E+05dC	64.00abABC	34.75cABC	1.25bA	53.74abcA
3#	(1.168±0.288)E+06cdC	59.62abcABC	39.03abcABC	1.35bB	44.23abcA
4#	(1.137±0.045)E+06cdC	56.24abcABC	42.51abcABC	1.25bA	47.84abcA
5#	(1.303±0.133)E+06cdC	49.39cC	49.77aA	0.84bB	59.17abcA
6#	(1.563±0.123)E+06cBC	55.18abcABC	43.71abcABC	1.11bA	51.87abcA
7#	(2.053±0.196)E+06bAB	55.28abcABC	43.60abcABC	1.12bB	51.76abcA
8#	(2.243±0.272)E+06abAB	55.58abcABC	42.70abcABC	1.71aA	32.78cA
9#	(2.500±0.445)E+06abA	50.59cBC	48.21aAB	1.20bB	42.29bcA
10#	(2.707±0.345)E+06aA	53.14bcABC	45.81abABC	1.04bB	53.47abcA
11#	(2.177±0.396)E+06bAB	65.23aAB	33.71cBC	1.06bB	65.21abA
12#	(2.470±0.400)E+06abA	65.77aA	33.24cC	1.00bB	66.73abA

异不显著($P>0.05$),处理间差异也不显著($P>0.05$),说明低沼液施用量对土壤细菌数量的影响较小;7#~12# 中高沼液施用量处理的土壤中细菌数量显著或极显著($P<0.05$, $P<0.01$)高于其他处理,即中高沼液施用量能够显著增加土壤细菌数量,当三年沼液施用总量为 793.09 t·hm⁻²(12# 处理)时,土壤中细菌的生长繁殖最旺盛。

2.2.2 沼液对土壤放线菌数量的影响

土壤中放线菌数量随沼液施用量增加呈先升高后降低的趋势(图 2),且沼液施用处理均高于对照处理。常规施肥处理土壤放线菌数量最低(2.966E+05±7.767E+04)CFU·g⁻¹,比清水对照处理减少 8.2%,说明长期施用化肥不利于土壤放线菌的生长繁殖;10# 处理(沼液施用总量为 626.10 t·hm⁻²)土壤放线菌数量达最大值(1.233E+06±1.041E+05)CFU·g⁻¹,极显著($P<0.01$)高于两个对照处理和其他沼液处理;当沼液施用总量高于 709.59 t·hm⁻²(11#、12# 处理)时,土壤放线菌数量有所降低,说明适量的沼液施用能够显著提高土壤放线菌生物活性,过多施用沼液反而会抑制放线菌生长。

2.2.3 沼液对土壤真菌数量的影响

三年纯沼液处理的土壤中真菌数量明显高于清水对照和常规施肥处理,并且随沼液施用量增加先升高后降低(图 3),常规施肥处理真菌数量高于清水对照处理 28.5%,5# 处理真菌数量为纯沼液处理最低值,高于清水对照处理 35.0%,长期沼液处理土壤真菌生长环境和营养条件明显优于化肥处理;7#~12# 沼液处理真菌数量极显著($P<0.01$)高于两个对照组和低沼液施用量处理,说明中高沼液施用量能更有效

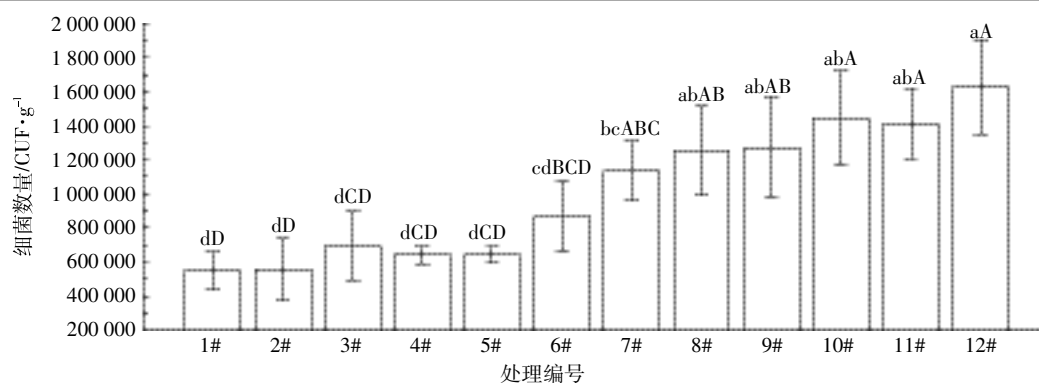
地刺激土壤真菌生长,改善真菌生长环境,8# 处理(三年沼液施用总量为 546.32 t·hm⁻²)真菌数量达最大值(3.847E+04±6.198E+03)CFU·g⁻¹,此时土壤真菌生长状况最佳。

2.3 沼液对土壤酶活性的影响

连续施用沼液土壤酶活性显著高于清水对照和常规施肥处理,沼液对土壤酶活性表现为激活-抑制作用,随沼液施用量的增加呈波动性变化(表 4)。土壤脲酶直接参与土壤中含氮化合物的转化,其活性可表征土壤氮素的转化速度。纯沼液处理土壤脲酶活性极显著高于清水对照和常规施肥处理,说明沼液施用能有效提高土壤脲酶活性,改善土壤氮素转化状况;土壤脲酶活性随沼液施用量的增加呈波动性变化,8# 处理达最大值(沼液施用总量为 495.31 t·hm⁻²),但处理间差异不显著,说明沼液施用量对土壤脲酶活性的影响有限。

土壤过氧化氢酶可酶促由生物呼吸过程和有机物生化反应产生的过氧化氢分解为水和氧,减轻过氧化氢对作物的危害。纯沼液处理土壤过氧化氢酶活性极显著高于两个对照组,常规施肥土壤中过氧化氢酶活性较清水对照降低 12.28%,说明长期施用化肥对土壤过氧化氢酶活性有显著的抑制作用,容易导致根系分泌物的累积,从而加重过氧化氢对作物的毒害作用;随沼液施用量增加,土壤过氧化氢酶活性总体呈先升高后降低的趋势,当三年沼液施用总量为 546.32 t·hm⁻²(9# 处理)时,过氧化氢酶活性达到最高,土壤解毒作用最强。

土壤蔗糖酶又名转化酶,可将蔗糖分解成葡萄糖和果糖,显著增加土壤易溶性营养物质,它反映了土



大写字母表示在 $P<0.01$ 水平差异显著,小写字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。下同
Capital letters show significant difference at $P<0.01$, and small letters at $P<0.05$. The same below

图1 不同施肥处理对土壤细菌数量的影响

Figure 1 Effect of different fertilization on bacterial population

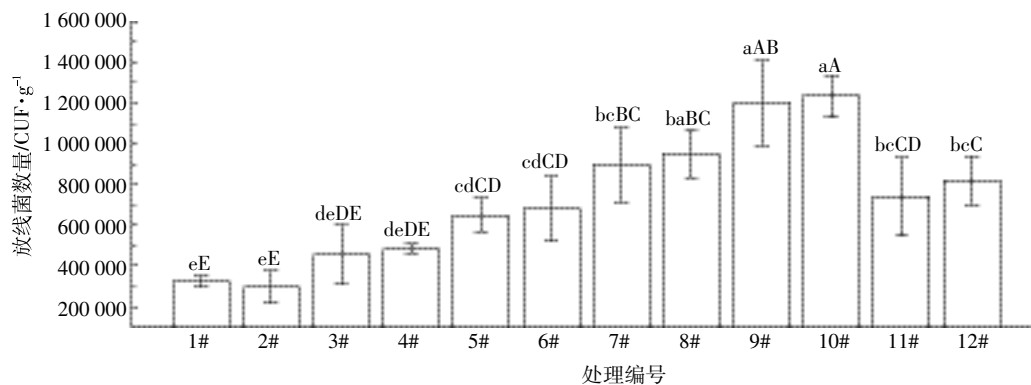


图2 不同施肥处理对土壤放线菌数量的影响

Figure 2 Effect of different fertilization on population of actinomycetes

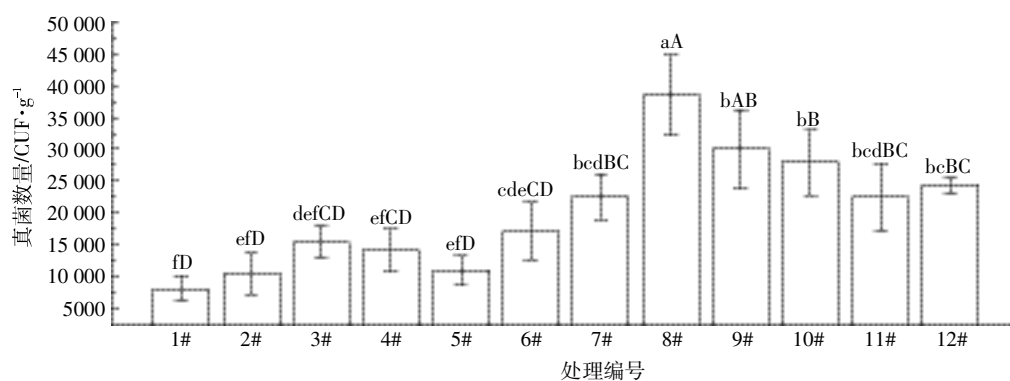


图3 不同施肥处理对土壤真菌数量的影响

Figure 3 Effect of different fertilization on fungal population

壤中生物活性的强弱及物质转化的速度。常规施肥处理土壤蔗糖酶活性低于清水对照处理,但差异不显著,说明长期施用化肥会降低土壤蔗糖酶活性;纯沼液处理蔗糖酶活性极显著高于对照组,即沼液对土壤蔗糖酶有显著的激活作用,长期施用可有效改善土壤碳氮转化状况。随沼液施用量增加土壤蔗糖酶活性呈

先降低后升高再降低的变化趋势,与土壤脲酶一致,8#处理土壤蔗糖酶活性最高,土壤生物活性最强。

3 讨论

沼液的施用能改善土壤理化性质,改良土壤透气性、透水性,增加土壤有机质及其他速效养分含量^[11],

表 4 不同施肥处理土壤酶活性的变化

Table 4 Changes of soil enzymatic activities with different fertilization

处理编号	脲酶活性/mg·g ⁻¹	过氧化氢酶活性/mL·g ⁻¹	蔗糖酶活性/mg·g ⁻¹
1#	0.174 3±0.001 5dB	0.011 4±0.000 8cdB	3.560 8±0.737 3eE
2#	0.1887±0.031 2cdB	0.010 0±0.002 1dB	3.193 7±0.731 8eE
3#	0.259 3±0.025 7abAB	0.014 9±0.000 8abcdAB	8.878 3±1.995 5bcABC
4#	0.258 7±0.014 0abAB	0.012 7±0.002 8bcdAB	8.782 7±2.024 5bcABC
5#	0.257 3±0.043 6abAB	0.012 6±0.005 6bcdAB	7.666 2±1.294 4bcBCD
6#	0.234 3±0.021 5bcdAB	0.018 3±0.003 6abcAB	7.248 0±0.615 7bcdBCD
7#	0.283 0±0.007 9abA	0.015 7±0.005 6abcdAB	9.972 3±1.643 3abAB
8#	0.304 3±0.014 0aA	0.0193±0.0055abAB	11.701 9±1.893 9aA
9#	0.283 3±0.007 0abA	0.021 1±0.005 1aA	7.917 6±2.200 4bcABCD
10#	0.245 0±0.086 6abcAB	0.019 1±0.001 1abAB	5.862 9±2.540 3cdCDE
11#	0.229 7±0.025 4bcdAB	0.011 9±0.001 1cdAB	4.644 0±0.699 0deDE
12#	0.254 0±0.021 0B	0.012 3±0.003 6AB	7.215 6±0.805 8bcdBCD

从而使土壤微生物区系组成结构、微生物数量及土壤酶活性发生变化。

土壤微生物区系变化是土壤质量变化的主要参数,对土壤结构、养分状况等反应敏感^[12]。本研究,沼液长期施用明显改变土壤微生物区系组成结构,随沼液施用量增加土壤细菌所占比例先降低后升高,放线菌和真菌比例先升高后降低,说明沼液对放线菌和真菌种群的促进作用大于细菌,同时沼液中的抗菌素能直接杀灭部分微生物可能是影响土壤微生物区系组成的另一原因^[13]。试验中细菌比例减小、真菌比例增大是影响 B/F 值变化的主要因素,当三年沼液总施用量为 495.31 t·hm⁻²(8# 处理)时土壤 B/F 值最小,预示土壤营养过程趋向于真菌优势,与土壤微生物数量及酶活性所反映的土壤质量状况相反。这与 Gordon 等^[14]、Cosentino 等^[15]的研究结果一致。土壤 B/F 值的影响因素包括土壤 pH、土壤有效营养元素、农业活动、作物种类等,不同的土壤环境会出现其特有的系统效应^[16],故尚未有合理的 B/F 值范围可用于评价土壤质量,试验中沼液施用土壤质量是否恶化还需进一步研究。

土壤微生物在有机质分解、土壤养分循环转化和作物对养分的利用等过程中起着极其重要的作用^[17]。本研究结果显示,沼液处理土壤微生物数量均高于清水对照和常规施肥处理,说明沼液施用为微生物提供了良好的生存环境和营养条件,提高微生物活性而促进微生物生长繁殖,与张无敌等^[18]、Odlare 等^[19]研究结果一致。随沼液施用量增加,土壤细菌数量不断增加,其原因在于沼液施用引入的大量有机物质为细菌生长

补充丰富的碳源和氮源,激发细菌的生长繁育^[20];放线菌数量和真菌数量呈先增加后减少的趋势,说明适量沼液(3#~8# 处理)长期施用不会破坏土壤放线菌和真菌的生长环境,而过量沼液施用(当三年沼液施用总量高于 495.31 t·hm⁻²)可抑制土壤放线菌和真菌生长,因为长期单一过量沼液施用易引起土壤养分失衡^[21-22]。孙瑞莲等^[23]研究指出,过量有机肥配施氮磷钾能有效增加土壤真菌和放线菌数量,而过量氮肥或不合理的氮磷钾配施不利于土壤真菌和放线菌生长。

土壤酶主要来源于土壤微生物和植物根系分泌物,在物质循环和营养转化过程中起关键作用^[24]。管涛等^[2]研究表明追施沼液能有效提高土壤脲酶活性、降低过氧化氢酶活性;耿晨光等^[25]研究表明沼液灌溉能明显提高蔗糖酶、脲酶活性,对过氧化氢酶活性影响不大。本试验中连续施用沼液处理的土壤脲酶、过氧化氢酶和蔗糖酶活性显著高于清水对照和常规施肥处理,说明长期施用沼液可改善土壤养分循环状况,提高土壤生物活性。不同沼液施用量对土壤酶活性影响程度不一,当三年沼液施用总量为 495.31 t·hm⁻²(8# 处理)时,土壤脲酶与蔗糖酶活性达到峰值,沼液施用总量为 546.32 t·hm⁻²(9# 处理)时,土壤过氧化氢酶活性最高,即三年沼液施用总量控制在 495.31~546.32 t·hm⁻²时,土壤酶活性较高,土壤环境质量较好。刘恩科等^[26]、孙瑞莲等^[27]研究表明,适当配施氮、磷、钾肥或合理控制土壤 C/N 能有效提高土壤脲酶和蔗糖酶活性,但对土壤过氧化氢酶活性的影响结论不一,可能是由于土壤类型、耕作方式、作物种类等不同的缘故。

4 结论

连续施用沼液对土壤微生物区系组成、微生物数量及土壤酶活性有显著影响,与清水对照和常规施肥处理相比,沼液施用处理土壤微生物数量增加、酶活性增强、土壤 B/F 值降低,反映沼液施用能提高土壤微生物活性的同时可能存在破坏土壤微生态平衡、增加病原菌等潜在威胁。结合沼液施用处理土壤微生物区系及酶活性状况,综合评价确定每公顷水旱轮作土壤三年内可安全消解相似沼液 495.31~546.32 t。

参考文献:

- [1] 余东波, 胡向军, 宋洪川, 等. 沼液对甜玉米幼苗素质、产量和品质影响的试验研究[J]. 可再生能源, 2006(2): 42-45.
YU Dong-bo, HU Xiang-jun, SONG Hong-chuan, et al. Effects of bio-gas slurry on sweet corn seedling growth, production and quality[J]. *Renewable Energy*, 2006(2): 42-45.
- [2] 管涛, 冯伟, 王化岑, 等. 追施沼液对冬小麦根际土壤生物活性的影响[J]. 麦类作物学报, 2010, 30(4): 721-726.
GUAN Tao, FENG Wei, WANG Hua-cen, et al. Effect of topdressing amount of biogas slurry on soil microorganisms and enzyme activities in winter wheat[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2010, 30(4): 721-726.
- [3] 马艳, 李海, 常志州, 等. 沼液对植物病害的防治效果及机理研究 I: 对植物病原真菌的抑制效果及抑菌机理初探[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(2): 366-374.
MA Yan, LI Hai, CHANG Zhi-zhou, et al. Biocontrol effect and mechanism of biogas slurry on plant disease I: Primary study of growth inhibition effects and mechanism on phytopathogen fungi [J]. *Journal Agro-Environment Science*, 2011, 30(2): 366-374.
- [4] Gao T G, Chen N. Effects of highly efficient nutrient solution of biogas slurry on yield and quality of vegetables[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2011, 12(4): 567-570.
- [5] 李江涛, 钟晓兰, 刘勤, 等. 长期施用畜禽粪便对土壤生物化学质量指标的影响[J]. 土壤, 2010, 42(4): 525-526.
LI Jiang-tao, ZHONG Xiao-lan, LIU Qin, et al. Effects of long-term application of livestock manures on soil biochemical quality indicators[J]. *Soils*, 2010, 42(4): 525-526.
- [6] Klose S, Ajwa H A. Enzyme activities in agricultural soils fumigated with methyl bromide alternatives[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(10): 1625-1635.
- [7] 王正贵, 封超年, 郭文善, 等. 除草剂异丙隆对麦田土壤微生物数量及酶活性的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2010, 16(5): 688-691.
WANG Zheng-gui, FENG Chao-nian, GUO Wen-shan, et al. Effects of isoproturon on soil microbial populations and enzyme activities[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2010, 16(5): 688-691.
- [8] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
WEI Huai-ying, HUANG Chang-yong. Soil microbial ecology and experimental technology[M]. Beijing: Science Press, 2006.
- [9] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
GUAN Song-yin. Soil enzyme and research methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986.
- [10] 费颖恒, 黄艺, 严昌荣, 等. 大棚种植对农业土壤环境的胁迫[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(1): 243-247.
FEI Ying-heng, HUANG Yi, YAN Chang-rong, et al. Influence of greenhouse cultivation on agricultural soil environment[J]. *Journal Agro-Environment Science*, 2008, 27(1): 243-247.
- [11] Sørensen P, Amato M. Remineralisation and residual effects of N after application of pig slurry to soil[J]. *European Journal of Agronomy*, 2002, 16: 81-95.
- [12] 杜连凤, 张维理, 武淑霞, 等. 长江三角洲地区不同种植年限保护菜地土壤质量初探[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(1): 133-137.
DU Lian-feng, ZHANG Wei-li, WU Shu-xia, et al. Influence of planting age of greenhouse vegetable on soil quality degradation in Yangtze delta area[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2006, 12(1): 133-137.
- [13] 曹云, 常志洲, 马艳, 等. 沼液施用对辣椒疫病的防治效果及对土壤生物学特性的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(3): 507-516.
CAO Yun, CHANG Zhi-zhou, MA Yan, et al. Effects of application of anaerobically digested slurry on suppression of pepper (*Capsicum frutescens* L.) blight and soil biological characteristics[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(3): 507-516.
- [14] Gordon H, Haygarth P M, Bardgett R D. Drying and rewetting effects on soil microbial community composition and nutrient leaching[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(2): 302-311.
- [15] Cosentino D, Chenu C, Bissonnais Y L. Aggregate stability and microbial community dynamics under drying-wetting cycles in a silt loam soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(8): 2053-2062.
- [16] Strickland M S, Rousk J. Considering fungal: Bacterial dominance in soils methods, controls, and ecosystem implications[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(9): 1385-1395.
- [17] Veronica A M, Leo C, David S R, et al. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed[J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 35: 35-45.
- [18] 张无敌, 尹芳, 徐锐, 等. 沼液对土壤生物学性质的影响[J]. 湖北农业科学, 2009(10): 2403-2407.
ZHANG Wu-di, YIN Fang, XU Rui, et al. Effect of biogas liquid on biological properties of soil[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2009(10): 2403-2407.
- [19] Odlaire M, Pell M, Svensson K. Changes in soil chemical and microbiological properties during four years of application of various organic residues[J]. *Waste Management*, 2008, 28(7): 1246-1253.
- [20] Ndayegamiye A, Cote D. Effect of long-term pig slurry and solid cattle manure application on soil chemical and biological properties[J]. *Canadian Journal of Soil Science*, 1989, 69(1): 39-47.
- [21] 王宗寿. 利用沼液种植黑麦草对土壤环境质量的影响[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(增刊): 172-175.
WANG Zong-shou. Effect of fertilization with biogas slurry on soil planting tetragold-ryegrass[J]. *Journal Agro-Environment Science*,

- 2007, 26(Suppl): 172-175.
- [22] 马云华, 魏 珉, 王秀峰. 日光温室连作黄瓜根区微生物区系及酶活性的变化[J]. 应用生态学报, 2004, 15(6): 1005-1008.
- MA Yun-hua, WEI Min, WANG Xiu-feng. Variation of microflora and enzyme activity in continuous cropping cucumber soil in solar green-house[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(6): 1005-1008.
- [23] 孙瑞莲, 朱鲁生, 赵秉强, 等. 长期施肥对土壤微生物的影响及其在养分调控中的作用[J]. 应用生态学报, 2004, 15(10): 1907-1910.
- SUN Rui-lian, ZHU Lu-sheng, ZHAO Bing-qiang, et al. Effects of long-term fertilization on soil microorganism and its role in adjusting and controlling soil fertility[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(10): 1907-1910.
- [24] Gianfreda L, Rao M A. The influence of pesticides on soil enzymes[J]. *Soil Enzymology*, 2011, 22: 293-312.
- [25] 耿晨光, 段婧婧, 李 汛, 等. 沼液的园林地消解处理利用及其对土壤微生物碳、氮与酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(10): 1965-1971.
- GENG Chen-guang, DUAN Jing-jing, LI Xun, et al. Short-term effects of biogas slurry application to garden land on soil microbial biomass carbon & nitrogen and soil enzymes[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(10): 1965-1971.
- [26] 刘恩科, 赵秉强, 李秀英, 等. 长期施肥对土壤微生物量及土壤酶活性的影响[J]. 植物生态学报, 2008, 32(1): 176-182.
- LIU En-ke, ZHAO Bing-qiang, LI Xiu-ying, et al. Biological properties and enzymatic activity of arable soils affected by long-term different fertilization systems[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 32(1): 176-182.
- [27] 孙瑞莲, 赵秉强, 朱鲁生, 等. 长期定位施肥对土壤酶活性的影响及其调控土壤肥力的作用[J]. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(4): 406-410.
- SUN Rui-lian, ZHAO Bing-qiang, ZHU Lu-sheng, et al. Effects of long-term fertilization on soil enzyme activities and its role in adjusting-controlling soil fertility[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2003, 9(4): 406-410.