

土壤微生物对施入肥料氮的固持及其动态研究

韩晓日 郭鹏程 陈恩凤 邹德乙

(沈阳农业大学土化系, 110161)

摘要 采集长期定位试验(14年)土壤(棕壤)进行盆栽试验,并应用同位素 ^{15}N 示踪技术研究了土壤中微生物对肥料氮的固持及其动态。结果表明,施肥后5天土壤微生物对施入化肥氮的固持达到最高,除单施氮肥处理的固持量占施入化肥氮量的5.4%外,其余各处理均在13.3%—15.4%间。施肥后土壤微生物生物量氮的增加主要来自化肥氮,后者占微生物体总氮量的64.1%—87.3%。在作物生长期微生物固持的化肥氮逐渐释放出来,在小麦分蘖期微生物固持的化肥氮明显减少,仅占施肥量的1.72%—3.29%。在分蘖期以后微生物固持态 ^{15}N 的变化趋于稳定。由微生物体释放的 ^{15}N 量占作物吸收 ^{15}N 的比例除单施氮肥处理较高外,占83.7%,其它施肥处理在34.3%—54.3%间。微生物体释放的 ^{15}N 量与小麦吸收 ^{15}N 量之间存在明显的正相关($r = 0.860$, $n = 6$)。

关键词 ^{15}N 标记硫酸铵, 微生物生物量氮, 棕壤

土壤中氮的微生物固持和矿化是土壤氮素循环中的两个同时进行、但方向相反的重要过程。微生物既是这两个过程的执行者,又是提供植物营养元素的活性库^[1-3]。微生物吸收同化氮,组成微生物生物量氮(以下简称生物量氮),其分解释放的氮绝大部分可被植物吸收利用^[4]。微生物对施入氮的固持与释放,主要受施入的碳(有机肥)和氮所支配^[5]。而土壤残留的肥料氮约有24%~27%存在于生物量中^[6],因此其有效性比较高。生物量氮在调控土壤氮素肥力方面的作用已受到国内外研究者们的关注,但对其机理还缺少系统研究。本文在棕壤长期肥料定位试验基础上,进行盆栽试验,并应用 ^{15}N 示踪技术,研究土壤微生物对无机氮肥的固持及其对作物的有效性,以探明生物量氮的动态变化及调控植物营养机理,为提高氮肥利用率和合理施肥提供科学依据。

1 材料与方方法

1.1 盆栽试验

盆栽土壤取自沈阳农业大学棕壤长期(14年)定位试验地(耕层土壤0—20cm)共8个处理:CK(不施肥),N(化学氮肥),NP, NPK, M_1 (低量有机肥), $M_1\text{N}$, $M_1\text{NP}$ 和 $M_1\text{NPK}$ 。供试土壤的基本理化性质见

表 1. 供试作物为春小麦(辽春 9 号)。

表1 供试土壤基本理化性质(1993)

Table 1 Chemical and physical properties of the soils used

| 处理 | pH | 有机质 | 全 氮 | 全 磷 | 碱解氮(N) | 有效磷(P) | 有效钾(K) |
|--------------------|--------------------|-------|---------|---------|-----------------------|-----------------|-----------------|
| Treatment | (H ₂ O) | O. M. | Total N | Total P | Hydrolysable N(mg/kg) | Avail.P (mg/kg) | Avail.K (mg/kg) |
| CK | 6.40 | 14.8 | 0.796 | 0.326 | 84.3 | 10.1 | 113.7 |
| N | 5.77 | 14.9 | 0.792 | 0.330 | 82.4 | 6.8 | 96.5 |
| NP | 5.58 | 15.2 | 0.865 | 0.412 | 96.4 | 16.9 | 87.2 |
| NPK | 5.60 | 15.4 | 0.830 | 0.449 | 94.0 | 19.7 | 132.5 |
| M _i | 6.88 | 18.3 | 0.914 | 0.402 | 96.4 | 28.6 | 120.2 |
| M _i N | 6.77 | 18.1 | 0.940 | 0.418 | 103.2 | 21.0 | 116.7 |
| M _i NP | 6.94 | 18.5 | 0.986 | 0.497 | 103.1 | 60.2 | 120.4 |
| M _i NPK | 6.99 | 18.8 | 1.001 | 0.494 | 106.0 | 63.4 | 134.5 |

每盆装土 12.5kg。施肥处理同田间试验^[7,8],重复 9 次。化肥按 N0.1g / kg 土, P₂O₅0.05g / kg 土, K₂O 0.05g / kg 土; 有机肥按 8g / kg 土。根据试验处理分配施用肥料, 装盆时肥料全部和土壤混合均匀。氮肥用 ¹⁵N 标记硫酸(丰度为 10.11%), 磷肥为过磷酸钙, 钾肥为硫酸钾。有机肥为猪厩肥, 其有机质含量为 149.5g / kg, 全氮 9.99g / kg, 全磷(P₂O₅)7.89g / kg, 全钾(K₂O)11.40g / kg。

试验于 1993 年 4 月 4 日装盆。施肥, 4 月 9 日播种, 出苗后每盆保留 15 株小麦。小麦生长期保持土壤含水量在田间最大持水量的 60%, 用重量法补足水分。在小麦分蘖期(5 月 11 日)、拔节期(5 月 30 日)、开花期(6 月 18 日)和成熟期(7 月 11 日)分别取土壤和植株样本, 每次取 2 个重复, 成熟期为 3 个重复, 供分析用。

1.2 测定方法

土壤生物量氮测定是根据 Brooks 等(1985)^[11], Gallardo 和 Schlesinger(1990)^[9]提出的方法, 采用氯仿灭菌提取法, 并经作者用标准氯仿灭菌培养法(Jenkinson, 1988)进行了验证。具体测定方法如下:

称取过 5mm 筛新鲜土样 50g(相当于干土 40g)于 100ml 培养皿中, 在真空干燥器中用氯仿抽气灭菌 24 小时(25℃), 用反复抽真空方法除去残存氯仿后, 用 0.5mol / L K₂SO₄溶液将土壤转移到 250ml 塑料离心管中(液:土 = 4:1), 振荡 30 分钟, 滤液用开氏法消煮, 测定提取液中全氮含量。以不灭菌土壤为对照。根据 Biomass - N = 2.22EN 计算生物量氮含量。式中 EN 为灭菌与不灭菌土壤以 0.5mol / L K₂SO₄提取全氮含量之差; 2.22 为 KN = 0.57 时的经验比例系数(Brooks 等, 1985)。KN 为微生物灭菌后矿化成 NH₄⁺ - N 的系数。

土壤和植株全氮量测定按常规分析法进行。

土壤交换性 NH₄⁺ 和 NO₃⁻ - N 测定: 称取过 5mm 筛的新鲜土样 10g, 放入 100ml 三角瓶中, 加 0.5mol / L K₂SO₄ 40ml, 用橡皮塞塞紧, 振荡 30 分钟(液:土 = 4:1), 立即过滤于 50ml 三角瓶中。分别用靛酚蓝比色法和紫外分光光度法测定 NH₄⁺ - N 和 NO₃⁻ - N。

¹⁵N 同位素分析用质谱仪测定。

2 结果与讨论

2.1 土壤生物量氮的季节变化

不同施肥处理土壤生物量氮的季节变化如图 1 所示。从图 1 可知, 对照(CK)处理中

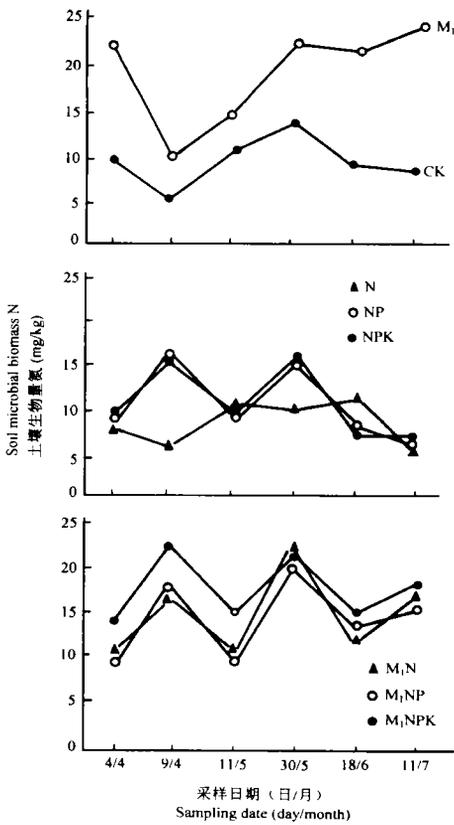


图1 不同施肥处理土壤生物量的季节变化
Fig.1 Seasonal changes of soil microbial biomass N in different fertilization treatments

有机肥与化肥配合施用的各处理间,生物量氮的季节变化十分相似(图1),各时期变异较大,且均高于对照和相应的单施化肥的处理,这与田间试验结果一致^[8]。说明有机无机肥料配合施用有利于微生物对无机氮的固持。

2.2 土壤微生物对肥料氮的固持

同位素¹⁵N示踪结果表明(表2),土壤中微生物对施入肥料氮的固持率均以施肥后5天(4月9日)为最高。此时除单施氮肥处理(N)的固持率较低外(5.35%),其它各施肥处理的固持率均较高。NP和NPK两处理平均为13.5%,化肥和有机肥配合施用的各处理(M₁N, M₁NP, M₁NPK)的固持率比单施化肥各处理有所增加,平均为14.90%。说明有机无机肥配合施用能够提高微生物对肥料氮的固持量。

长期单施氮肥使土壤有效磷含量显著减少(表1),后者限制了粮豆作物的生长,导致残留于土壤中的有机物料也明显减少。上述单施氮肥处理中肥料氮的生物固持率明显较低,可能由于土壤中缺少微生物活动所需的碳源和磷素等养分所致。长期施用氮磷或氮磷钾化肥,作物产量不断提高^[7],使残留于土壤中的有机物料增加。施用有机肥料还能直接增加土壤有效碳源,有利于微生物繁殖,因此这些处理中肥料氮的生物固持率都较高,

生物量氮在作物生长期均比较低,平均9.6mg/kg,变化比较平稳。从小麦播种期-拔节期,生物量氮有逐渐增加的趋势,以后逐渐减少,在小麦开花期与播种前接近。该处理中生物量氮前期略有增加,主要是由于随着气温升高,水热条件适宜于微生物活动,有机质矿化释出的氮被微生物固持所致。但由于有机质含量少,加上作物中后期对土壤氮的吸收利用,使微生物同化氮量以后又减少。

单施有机肥(M₁)处理,在播种期以后,随着气温上升,微生物活动旺盛,生物量氮一直呈上升趋势,到成熟期(7月11日)达到23.5mg/kg。说明施用有机肥料增加了微生物活动需要的碳、氮源,有机物料分解释出的无机氮大部分被微生物固持^[10]。

化肥NP和NPK两处理中(图1),生物量氮基本上都是在施肥后迅速增加,分蘖期下降,以后又上升,至收获时又降至初始时水平或更低。单施氮肥处理(N)在施肥后生物量氮没有显著变化,在分蘖期始至开花期有一定增加。这与长期单施氮肥,土壤中易分解的有机物料残留较少,微生物的碳源不足有关。后期生物量氮增加可能是由于根系分泌物增加所致。

表2 不同施肥处理土壤微生物对肥料氮的固持率(%)

Table 2 Immobilization rate of fertilizer N by soil microbes in different treatments

| 处理 Treatment | 采样日期(日/月) Sampling date (day/month) | | | | |
|--------------------|-------------------------------------|------------------------|-------------------------|------------------------|-----------------------|
| | 播种期 Seeding date | 分蘖期 Tillering stage | 拔节期 elongation stage | 开花期 Flowering stage | 成熟期 Ripening stage |
| | (9/4) | (11/5) | (30/5) | (18/6) | (11/7) |
| N | 5.35 | 1.72 | 2.87 | 3.39 | 1.82 |
| NP | 13.7 | 3.29 | 4.18 | 2.85 | 1.35 |
| NPK | 13.3 | 3.25 | 3.75 | 1.34 | 1.80 |
| M ₁ N | 14.4 | 2.37 | 4.70 | 1.42 | 2.11 |
| M ₁ NP | 15.44 | 2.44 | 3.24 | 1.87 | 1.94 |
| M ₁ NPK | 14.87 | 2.49 | 3.06 | 2.03 | 1.54 |

这与国内外其它研究结果一致^[11,10,6]。

尽管施肥后(4月9日)土壤微生物固持的肥料氮仅占施肥量的5.35%—15.44%(施氮量为100mg/kg土),但它却占生物量氮的64.1%—87.3%(平均为82.1%)。说明施肥后土壤微生物固持的氮主要来自施入的无机氮肥,而来自土壤速效氮的比例较小。微生物对施入肥料氮的固持,一方面可以减少肥料氮的挥发、淋溶和反硝化损失,另一方面这部分氮在作物生长期还可以释放出来,成为作物的有效氮源。

从表2还可以看出,在小麦分蘖期,伴随着微生物生物量的减少,微生物固持的肥料氮量明显减少,仅占施入氮量的1.72%—3.29%。同时,在微生物生物量中,肥料氮占生物量氮的比例也明显降低,仅为15.2%—35.5%,平均24.4%。分蘖期以后,微生物体固持的肥料氮量变化不明显(表2),到小麦成熟期,微生物体固持的肥料¹⁵N量仍占施入无机氮量的1.35%—2.11%,但在生物量氮中,来自肥料氮的比例因处理不同而有较大变异,在8.3%—25.6%之间。其中单施氮肥处理(N),由于作物吸收很少,施入的无机氮基本上残留在土壤中,因此生物量氮中肥料¹⁵N占比例最大。各有机肥与化肥配合处理中,生物量氮中¹⁵N肥料氮的比例仅占8.3%—11.5%,平均为10.3%,绝大部分为来自土壤和有机肥料的氮。这可能是由于在这些处理中一方面较多的¹⁵N肥料氮已被作物所吸收,另一方面来自有机肥料和土壤有机氮的矿质氮较多的缘故。

2.3 新固持肥料氮的周转及其对作物的有效性

2.3.1 微生物对肥料氮的周转 在作物生长期微生物累加同化和矿化氮量列于表3。由表3可见,对照和单施化肥处理的微生物累加同化氮量(¹⁴N+¹⁵N)均低于或接近于矿化氮量,而施用有机肥处理累加同化氮量均大于矿化氮量。各施氮处理中微生物累加同化肥料氮量(¹⁵N)均大于矿化肥料氮量,说明在作物生长期微生物对肥料氮的同化作用大于矿化作用。

从表3累加同化氮量来看,单施化肥处理微生物的累加同化氮量基本上来自化学氮肥,其中以单施氮肥总累加同化氮量最少,为8.2mg/kg,这与前面的生物量氮结果一致;而NP和NPK处理总累加同化肥料氮量(¹⁴N+¹⁵N)比较多,分别为14.7和14.9mgN/kg。有机肥与化肥配合各处理微生物累加同化肥料氮量(¹⁵N)比化肥NP或NPK处理略有增加,但

表3 土壤微生物对肥料氮的周转量 (mg/kg)

Table 3 The turnover amounts of soil microbial biomass N

| 处 理 Treatment | 累加同化氮量 | | 累加矿化氮量 | | 周 转 量 | |
|--------------------|-------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|--------------------|-------------------------------------|--------------------|
| | cumulative assimilated N | | cumulative mineralized N | | Turnover amount | |
| | (¹⁴ N+ ¹⁵ N) | (¹⁵ N) | (¹⁴ N+ ¹⁵ N) | (¹⁵ N) | (¹⁴ N+ ¹⁵ N) | (¹⁵ N) |
| CK | 7.5 | - | 8.7 | - | 16.2 | - |
| N | 8.2 | 7.0 | 9.4 | 5.2 | 17.6 | 12.2 |
| NP | 14.7 | 14.6 | 16.5 | 13.2 | 31.2 | 27.8 |
| NPK | 14.9 | 14.3 | 14.5 | 12.5 | 29.4 | 26.8 |
| M ₁ | 13.1 | - | 11.9 | - | 25.0 | - |
| M ₁ N | 23.3 | 17.4 | 15.4 | 15.3 | 38.7 | 32.7 |
| M ₁ NP | 22.3 | 16.3 | 14.8 | 14.4 | 37.1 | 30.7 |
| M ₁ NPK | 20.3 | 15.4 | 14.9 | 13.9 | 35.2 | 29.3 |

总累加同化氮量(¹⁴N + ¹⁵N)明显增加。如 M₁NP 和 M₁NPK 处理的总累加同化氮量分别为 22.3 和 20.3mgN / kg, 平均比 NP 和 NPK 处理分别增加 7.6 和 5.4mgN / kg, 说明有机无机肥配合施用有利于微生物对无机氮的吸收和同化。

微生物累加矿化氮量除对照、单施氮肥和有机肥处理比较低以外, 其它各施肥处理的累加矿化氮量比较接近(表 3)。对照和单施氮肥处理由于生物量氮含量较低, 因此其矿化氮量较少, 而长期单施有机肥, 土壤生物量氮含量虽然较高, 但土壤中 C / N 比较大, 使累加矿化氮量比较少, 这与田间试验结果基本一致^[8]。从表 3 还可以看出, 微生物体累加矿化氮量基本上来自无机氮肥。这进一步说明土壤施入无机氮肥后, 微生物首先固持无机氮肥, 随着作物吸收氮增加和土壤有机氮的矿化补充, 在土壤无机氮库中(除矿物固定态 NH₄⁺ 外)肥料¹⁵N 比例逐渐减少, 微生物固持肥料¹⁵N 比例也逐渐减少。在作物生长期微生物体矿化释放的无机氮可被作物吸收或进入土壤无机氮库, 由于作物生长期较短, 微生物固持的氮还没有完全矿化出来, 因此矿化氮基本来自无机氮肥, 这与微生物生物量氮的周转期在 3—6 个月是一致的^[8]。

微生物对肥料氮的周转量(累加矿化氮量 + 累加同化氮量)以有机肥和化肥配合施用处理较大, 其次为 NP 或 NPK 处理, 以单施氮肥处理周转量最小(表 3)。说明有机肥与化肥配合施用不仅增强了微生物在调节土壤氮素供应方面的能力, 还有利于微生物对来自于化肥和有机肥料中氮的固持, 这对减少土壤氮素损失有一定意义。

2.3.2 微生物体供氮量与作物吸收氮的关系 微生物体矿化释放出的氮为作物提供了有效氮源。其供氮量按微生物体累加矿化氮量计算(表 4)。相关分析结果表明, 在作物生长期微生物体累加矿化氮量与小麦吸收氮量和产量存在显著正相关(*r* 分别为 0.844 和 0.841, *n* = 8)。但不同处理的微生物体供氮量占作物吸收氮的比例不同(表 4)。对照和单施氮肥处理(N), 由于作物产量较低, 吸收氮量较少, 微生物体供氮量占作物吸收氮量的比例较大, 分别为 70.4% 和 78.3%; NP 和 NPK 处理因作物产量和吸收氮量显著增加, 微生物体矿化提供的氮仅占作物吸收量的比例均较低, 在 15.12—23.7% 间。单施有机肥处理(M₁)微生物体矿化氮量较低(表 4), 仅为 148.8mgN / 盆, 明显低于有机肥与化肥配施和

表4 微生物体供氮量对小麦吸收氮和产量的影响

Table 4 Effect of N supplied by microbial biomass on the uptake of N by wheat and the yield of grain

| 处 理 Treatment | 微生物体供氮量 N supplied by biomass N | | 作物吸收氮量 Uptake of N by crop | | 作物产量 Crop yield (g/ pot) |
|--------------------|------------------------------------|--------------------------|-------------------------------|---------------------------|--------------------------------|
| | (mg N/ pot) | (mg ¹⁵ N/pot) | (mg N/ pot) | (mg ¹⁵ N/ pot) | |
| CK | 108.4 | — | 154.0 | — | 3.72 |
| N | 117.5 | 65.1 | 150.1 | 77.8 | 2.71 |
| NP | 206.2 | 165.5 | 715.9 | 377.1 | 19.31 |
| NPK | 180.6 | 155.8 | 928.0 | 454.4 | 25.44 |
| M _i | 148.8 | — | 627.5 | — | 19.51 |
| M _i N | 192.3 | 191.4 | 978.5 | 352.2 | 23.62 |
| M _i NP | 185.0 | 179.6 | 1223.4 | 414.6 | 30.14 |
| M _i NPK | 185.6 | 173.8 | 1216.1 | 495.8 | 31.98 |

NP、NPK 处理有机肥与化肥配合的各处理微生物体矿化氮量与 NP、NPK 处理接近,但前者作物吸收氮量显著高于后者。有机肥与化肥配合施用,作物吸收的肥料¹⁵N 量也较相应的单施化肥处理为多(表 4)。上述规律与田间试验基本相似^[8]。

从表 4 还可以看出,由微生物体分解释放的¹⁵N 量占作物吸收¹⁵N 的比例,除单施氮处理较高以外(占 83.7%),其它施肥处理均在 34.3%—54.3% 间。说明在作物吸收的肥料¹⁵N 中有 1/3 以上是来自于微生物体矿化释放的¹⁵N。微生物体释放的¹⁵N 量与小麦吸收¹⁵N 量之间存在显著正相关($r = 0.860, n = 6$)。

3 结语

有机无机肥配合施用有利于保肥和提高化学氮肥利用率。单施化肥尤其是氮肥,由于土壤微生物体矿化作用大于同化作用,容易造成氮素损失。微生物体对土壤氮素肥力的作用是通过微生物自身周转固持和释放氮。施肥后土壤生物量氮的增加主要来自于施入化肥氮,后者占微生物体总氮量 64.1%—87.3%。作物吸收氮量中大部分来自于土壤微生物体矿化释放的氮,其中作物吸收的化肥氮中有 1/3 以上来自于微生物体矿化释放的氮。

参 考 文 献

1. Brooks P C et al. Chloroform fumigation and the release of soil N: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass N in soil. *Soil Biol. Biochem.*, 1985, 17(6): 837—842
2. Singh J S et al. Microbial biomass acts as a source of plant nutrients in dry tropical forest and savanna. *Nature (London)*, 1989, 338: 499—500
3. Srivastava S C et al. Microbial C, N and P in dry tropical forest soils: Effects of alternate landuses and nutrient flux. *Soil Biol. Biochem.*, 1991, 23(2): 117—124
4. Shen S M et al. Mineralization and immobilization of nitrogen in fumigated soil and the measurement of microbial biomass N. *Soil Biol. Biochem.*, 1984, 16: 437—444
5. 沈善敏. 无机氮肥对土壤氮矿化与固定的影响——兼论土壤氮的“激发效应”. *土壤学报*, 1984, 23(1): 10—

14

6. Shen S M et al. The nitrogen cycle in the Broadbalk wheat experiment: ^{15}N -labelled fertilizer residues in soil and the soil microbial biomass. *Soil Boil. Biochem.*, 1989, 21: 529—533
7. 韩晓日, 陈恩凤, 郭鹏程, 邹德乙. 长期施肥对作物产量及土壤氮素肥力的影响. *土壤通报*, 1995, 26(6): 244—246
8. 韩晓日, 邹德乙, 郭鹏程, 陈恩凤. 长期施肥条件下土壤生物量氮的动态及其调控氮素营养的作用. *植物营养与肥料学报*, 1996, 2(1): 16—22
9. Gallardo A, Schlesinger W H. Estimating microbial biomass nitrogen using the fumigation-incubation and fumigation-extraction methods in a warm-temperate forest soil. *Soil Boil. Biochem.*, 1990, 22(17): 927—932
10. Boyle M et al. Carbon and nitrogen mineralization Kinetics in soil previously amended with sewage sludge. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 1989, 53: 99—103
11. 沈其荣, 余玲, 刘兆普, 茹泽圣. 有机无机肥料配合施用对滨海盐土土壤生物量态氮及土壤供氮特征的影响. *土壤学报*, 1994, 31(3): 287—293

IMMOBILIZATION OF FERTILIZER NITROGEN BY SOIL MICROBES AND ITS CHANGES

Han Xiao-ri Guo Peng-cheng Chen En-feng Zhou De-yi

(Dept. of Soil Science, Shenyang Agricultural University, 110161)

Summary

The immobilization of fertilizer N by soil microbes and its changes in brown soils of different fertilization treatments were studied by a 14-year field location experiment using the ^{15}N isotope tracer technique. The results of pot experiment showed that the immobilization of fertilizer N by microbes in various treatments reached a maximum after 5 days of fertilization, making up 13.3%—15.4% of the nitrogen applied except single application of nitrogen. In single N treatment the immobilization of fertilizer N by microbes accounted for 5.4% of the nitrogen applied. The increase in microbial biomass N after fertilization originated mainly from fertilizer N. Fertilizer N in the biomass accounted for 64.1%—87.3% of the total microbial biomass N. The biomass N was gradually released during crop growth. At the tillering stage of wheat the immobilization of fertilizer N by microbes decreased markedly, making up only 1.72%—3.29% of nitrogen applied. After the tillering stage the biomass ^{15}N tended towards stable. ^{15}N released by biomass accounted for 34.3%—54.3% of ^{15}N absorbed by crop in different fertilization treatments except the application of alone fertilizer N. There existed a close relationship between the ^{15}N released by biomass and the ^{15}N absorbed by wheat ($r = 0.860$).

Key words ^{15}N labelled ammonium sulfate, Microbial biomass N, Brown soil