



有机物料和氮肥相互作用对微生物体氮的影响*

李世清 李生秀

(西北农业大学资源与环境科学系 杨陵 712100)

摘要: 培养和田间试验表明,有机物料(作物茎叶和有机肥)和氮肥对土壤微生物体氮的影响有着显著的交互作用。交互作用的大小与有机物料和氮肥的种类有关,因而也与有效碳源和矿质氮的比例有关。有机物料与硝态氮的交互作用大,而与铵态氮的交互作用小,前者是后者的 2.7 倍,这种差异与微生物对两种形态氮的固定不同有关。有机物料 C/N 比的影响表现为随着 C/N 比增大,交互作用增加,并且在有机物料分解前期的交互作用大于中、后期;有效碳源(葡萄糖碳)与土壤中矿质氮(包括肥料氮)比值为 0.1 时,交互作用最大,低于或高于这一比值时,交互作用减小。

关键词: 土壤微生物体氮,有机物料,氮肥,交互作用

中图分类号: S158.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654(2000)03-0157-05

INTERACTION BETWEEN ORGANIC MATERIAL AND NITROGEN FERTILIZER ON MICROBIAL BIOMASS NITROGEN

LI Shi-Qing LI Sheng-Xiu

(Department of Resources and Environment Sciences, Northwestern Agricultural
University, Yangling 712100)

Abstract: The laboratory incubation and field experiment show that there existed the significant interaction between organic material and nitrogen fertilizer on soil microbial biomass nitrogen. The interaction had relation with not only the types of organic materials and nitrogen fertilizers, but also the ratio of available carbon source to mineral nitrogen. The interaction between organic material and nitrate was larger than that between organic material and ammonium, the former was as much as 2.7 times of the latter. With the C/N ratio raising in organic material the interactions almost increased. The interaction in early period of organic materials being decomposed by microorganisms was larger than that in middle and later periods. The interaction was largest at the ratio of available carbon source (glucose-carbon) to mineral nitrogen in soils (including fertilizer-nitrogen) being 0.1, otherwise the interaction decreases.

Key words: Soil microbial biomass nitrogen, Organic material, Nitrogen fertilizer, Interaction

* 国家自然科学基金资助项目 (No.39470409, 39770425)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. 39470409, 39770425)

收稿日期: 1999-01-04, 修回日期: 1999-05-05

微生物在土壤氮素内循环中起有重要作用。施入富含能源物质的秸秆或未完全腐熟的有机肥后,微生物必须吸收同化土壤中的无机氮^[1],以形成其躯体。如果氮素的同化大于矿化,在一定时间内出现有效氮供应不足,影响作物的生长。配施化学氮肥后,一部分氮肥会被微生物固定^[1],形成新的微生物体氮,在作物生长中后期矿化释放出来^[2],供作物吸收利用。因此,从理论上深入研究有机物料和化学氮肥相互作用对微生物体氮的影响,对指导合理施肥,协调土壤-作物之间的氮素供应关系,提高氮肥利用率有着重要意义。

1 材料与方法

1.1 田间定位试验

供试土样采集于中国科学院西北水土保持研究所陕北安塞长期定位试验田。供试土样为黄绵土,有机碳为 $2.4\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全氮 $0.39\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。试验设不施氮肥、每年施尿素氮(N) $114\text{kgN} / \text{hm}^2$ 、厩肥(M) $7500\text{kg} / \text{hm}^2$ 、磷(P) $24.9\text{kgP} / \text{hm}^2$ 、氮磷(NP)和氮磷厩肥(NPM)等 7 个处理,后两个处理氮、磷、厩肥用量同前。重复 3 次,随机区组排列。以谷子-糜子为轮作方式。试验从 1990 年开始,于 1997 年 5 月 11 日采样测定微生物体氮。

1.2 培养试验

分 3 次进行,分别简称培试 1、培试 2 和培试 3。

培试 1: 目的在于查明不同氮素形态和有有机物料之间的交互作用。试验用红油土(表 1),设对照(不加有机物料和氮肥)、分别加入葡萄糖($750\mu\text{gC} / \text{g}$)、硝酸钾($75\mu\text{gN} / \text{g}$)、硫酸铵($75\mu\text{gN} / \text{g}$)、硝酸钾和葡萄糖以及硫酸铵和葡萄糖等 5 个处理,后两个处理中氮素和葡萄糖的加入量同前面处理。把硝酸钾、硫酸铵和葡萄糖配成溶液加入土壤(46.2g 干土 / 份)后,充分拌匀,过筛,装入 100mL 烧杯中,用有微孔的农膜封口,在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下培养 7d。培养期间用重量法补充损失的水分(下同),保证土壤含水量稳定在 20.8%。培养结束后测定微生物体氮,重复 3 次。

培试 2: 目的在于研究矿质氮肥和不同有效能源物质葡萄糖用量之间的交互作用。试验用红油土(表 1),设不加和每克土加入 300、600、900、1200、1500、1800 和 $2100\mu\text{gC}$ 的葡萄糖;在葡萄糖处理基础上又设不加和加入 $150\mu\text{gN} / \text{g}$ 2 个氮水平,组成完全方案,共 16 个处理,称取 16 份鲜土,每份相当于 50.0g 风干土,以固体加入葡萄糖并拌匀后,再加入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液(N 源)或蒸馏水(不加硫酸铵溶液者,加入等体积蒸馏水)后,充分拌匀土壤,过 3mm 筛孔,装入 100mL 烧杯中,用扎有 4 个小孔的农膜封口,在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下培养(培养期间含水量为 20.8%)7d 后,再充分搅拌一次土壤,过 3mm 筛孔后,从每份中取出一部分土壤,测定微生物体氮;其余土样用作其它研究。测定均

表 1 供试土壤的基本性质

培养试验	土类	有机碳 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	全氮 ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	C/N	微生物体氮 ($\mu\text{gN} / \text{g}$)	pH	质地
培试 1, 2	红油土	7.8	1.12	7.0	49.7	7.55	粘土
培试 3	红油土	6.8	0.95	7.2	76.2	7.76	粘土

重复 2 次。

培试 3: 用于研究不同有机物料和氮肥相互作用对土壤微生物体氮的影响。试验用红油土。所用有机物料有绿豆茎叶(全碳 $372\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮 $21.2\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, C/N = 17.5)、小麦茎叶(全碳 $449\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮 $5.5\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, C/N = 81.6)、新鲜马粪(全碳 $418\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮 $10.9\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, C/N = 38.3)、腐熟马粪(全碳 $167\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮 $7.6\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, C/N = 22.0)、腐熟猪粪(全碳 $381\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮 $18.8\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, C/N = 20.3)、羊粪(全碳 $268\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮 $16.1\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$, C/N = 16.6)和厩肥(全氮 $7.5\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。有机物料($8\text{mg} / \text{g}$ 土)分别在施氮(每克土施 $75\mu\text{gN}$, 用硫酸铵)和不施氮的基础上加入,以

不施及仅施氮 2 个处理为对照,共 16 个处理。称取 16 份鲜土(含水量为 12.55%),每份重 281.38g(相当于 250.00g 烘干土),土样称好后,分别与有机物料混匀,再加入 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 溶液或蒸馏水(不施氮处理),并以蒸馏水调整土壤含水量至 22.6%,充分拌匀,过 3mm 筛孔,装入 250mL 广口瓶中。瓶口用有微孔的塑料膜封闭,在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 的培养箱中培养。分别培养 14d、28d、53d、78d、103d 和 138d 后取样,测定微生物体氮、矿质氮(硝态氮、铵态氮)测定均重复 2 次。

1.3 土壤微生物体氮的测定及化学分析

1.3.1 土壤微生物体氮的测定:田间试验土样用熏蒸-淹水培养法,室内培养试验土样用熏蒸-铵态氮法测定。

土壤样品熏蒸:每个土样各称取 6.00g 鲜土 4~6 份,分别置入 100mL 塑料瓶中。2~3 份土样不熏蒸,2~3 份熏蒸。熏蒸采用 Jenkinson & Powlson^[3]法。

淹水培养法:熏蒸过程结束后,对熏蒸及未熏蒸的土样均加入 0.024g 同一鲜土(接种)和 12.5mL 蒸馏水,拧紧盖子,在 40°C 下培养 7d^[4]。培养结束后,加入 0.625mol/L K_2SO_4 50mL(浸提液中 K_2SO_4 为 0.5mol/L),振荡 30min 后过滤,熏蒸与不熏蒸浸提液中的铵态氮之差,是熏蒸所造成的氮增量 $(F_N)^{[5]}$,即由熏蒸后死亡微生物矿化的氮素。根据研究^[6],微生物体氮的矿化系数(K_N)为 0.25,即矿化出来的微生物体氮(F_N)仅是微生物体总氮(B_N)的 0.25 倍。写成公式则为

$$F_N = 0.25B_N$$

$$\text{即 } B_N = F_N / 0.25 = 4F_N$$

铵态氮法:于 2~3 份熏蒸(熏蒸结束后立即进行)及 2~3 份未熏蒸土样中均加入 50mL 0.5mol/L K_2SO_4 溶液,振荡 30min,过滤。氯仿熏蒸后,死亡微生物躯体中的部分氮素会以铵态氮形式释放而被 0.5mol/L K_2SO_4 浸提出来^[7];而未熏蒸者 0.5mol/L K_2SO_4 浸提的铵态氮中不包括这部分,因此,熏蒸与不熏蒸的铵态氮之差,是熏蒸所造成的氮增量 $(F_N)^{[5]}$ 。根据淹

水培养中的矿化系数($K_N = 0.25$)和校正因子 C(即淹水培养测定的氮增量与铵态氮法测定的氮增量的比值,根据我们研究,C 值为 10.1)就可以计算出微生物体氮,写成公式则为:

$$B_N = CF_N / 0.25 = 4CF_N = 40.4F_N$$

对土壤微生物影响因子(设 A、B)之间的交互作用:按公式 $A \times B = [(AB + A_0B_0) - (AB_0 + A_0B)] / 2$ 进行计算。

1.3.2 土壤和有机物料的化学分析:土壤和有机物料的有机碳及全氮分别用重铬酸钾-外加热容量法和半微量开氏法测定,土壤 pH 用 pH 计测定,浸提液中的铵态氮用连续流动分析仪测定。

2 结果与讨论

2.1 铵、硝态氮和碳源的相互作用对微生物氮的影响

一般认为,微生物对铵态氮的吸收利用能力强于硝态氮^[8]。Wickramsinghe *et al.*^[9]的研究表明,如果只加入硝态氮,不配合有效碳源,微生物几乎不同化硝态氮。Recous & Mary^[8]发现,在有效碳源充足时,微生物对氮素的固定与其形态无关。培试 1 的测定表明,不加有机物料和氮肥的对照、分别加入葡萄糖、硝酸钾、硫酸铵、硝酸钾和葡萄糖以及硫酸铵和葡萄糖培养后的微生物体氮分别是 54.9、81.4、60.9、74.1、101.9 和 106.0 $\mu\text{gN/g}$ 。显然不加葡萄糖,微生物对铵态氮的固定量大于硝态氮:分别占施氮量的 25.6% 和 8.0%;配施葡萄糖,对两种形态氮的固定量几乎一致,分别占施氮量的 62.7% 和 68.1%。由于土壤微生物在有效碳源不足时对铵态氮和硝态氮的固定能力不同。因此,铵、硝态氮和葡萄糖相互作用对土壤微生物体氮影响的影响也不同。葡萄糖与 KNO_3 的交互作用 (7.3 $\mu\text{gN/g}$) 是与 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 交互作用 (2.7 $\mu\text{gN/g}$) 的 2.7 倍。可见,有机物料与易被微生物固定氮素形态间的交互作用较小,而与不易被微生物固定氮素形态间的交互作用较大。

2.2 不同有效碳源用量和氮肥的相互作用对微生物体氮的影响

培试 2 表明 (表 2), 不管加入氮肥与否, 微生物体氮均随葡萄糖加入量增加而呈增加趋势, 加入量达 1800 $\mu\text{gC/g}$ 后, 趋于稳定。由于这一原因, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 和葡萄糖间的交互作用也随葡萄糖用量不同而变化; 加入量为 1800 $\mu\text{g C/g}$ 时, 交互作用最大 (表 2); 之后呈下降趋势。一般认为, 当矿质氮和葡萄糖碳之比为 0.089^[10] 时, 最有利于固定, 交互作用趋于最大; 超过这一比值, 则与有效碳源无关。在本研究中, 若不考虑土壤起始矿质氮, 交互作用最大时的比值为 0.08; 考虑起始矿质氮 (硝态氮为 21.8 $\mu\text{gN/g}$, 铵态氮为 6.3 $\mu\text{gN/g}$), 其比值为 0.10, 基本与 Ahmad *et al.*^[10] 的报道一致。这些结果表明, 有效碳源与氮肥之间的交互作用, 与有效碳源加入多少和有效碳、氮比有关。

2.3 不同有机物料和氮肥相互作用对微生物体氮的影响

由于不同有机物料的有效碳源和 C/N 比不同, 对微生物体氮的影响不同 (表 3)。从施氮和

表2 葡萄糖和硫酸铵的交互作用对微生物

体氮的影响 (μg N/g)			
处理		微生物体氮	葡萄糖和硫酸铵 间的交互作用
葡萄糖	(NH ₄) ₂ SO ₄		
0.0	0.0	52.8	
0.0	150	118.8	
300	0.0	86.2	
300	150	161.9	4.9
600	0.0	105.6	
600	150	176.4	2.4
900	0.0	126.6	
900	150	208.6	8.0
1200	0.0	138.6	
1200	150	226.6	11.0
1500	0.0	154.4	
1500	150	250.4	15.0
1800	0.0	140.0	
1800	150	260.9	27.3
2100	0.0	143.4	
2100	150	249.5	20.1

表3 有机物料和氮肥对土壤微生物体氮的影响 ($\mu\text{gN/g}$)

处 理		不同培养时间时的微生物体氮							平均
有机物料	施氮处理	14d	28d	53d	78d	103d	138d	Σ	
不加	—	75.7	150.9	155.1	239.4	150.5	209.0	980.5	163.4 \pm 56.5
不加	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	90.6	104.9	156.3	207.7	174.7	190.5	924.7	154.1 \pm 47.1
绿豆茎叶	—	175.6	380.6	374.3	370.0	330.4	327.8	1957.8	326.3 \pm 77.7
绿豆茎叶	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	292.6	365.6	380.1	407.0	317.2	317.2	2079.7	346.6 \pm 44.2
小麦茎叶	—	183.9	232.3	319.5	330.9	287.3	325.6	1679.5	279.9 \pm 59.6
小麦茎叶	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	237.2	308.0	433.4	367.4	352.0	357.3	2055.3	342.5 \pm 65.5
马粪 (鲜)	—	84.9	284.7	295.7	333.1	298.3	333.5	1630.2	271.7 \pm 93.7
马粪 (鲜)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	184.4	265.9	288.8	394.2	328.2	298.8	1760.2	293.4 \pm 69.4
马粪 (腐)	—	81.8	147.2	166.8	202.0	231.0	190.5	1019.3	169.9 \pm 51.9
马粪 (腐)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	132.0	145.6	176.4	217.4	215.2	215.2	1101.8	183.6 \pm 38.2
猪粪 (腐)	—	99.9	231.4	230.4	240.7	204.6	232.8	1239.8	206.6 \pm 53.7
猪粪 (腐)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	114.0	240.2	191.8	235.4	232.8	261.8	1276.0	212.7 \pm 53.4
羊粪	—	140.8	280.3	310.8	353.3	268.8	227.5	1581.5	263.6 \pm 73.4
羊粪	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	154.9	205.9	234.8	263.6	252.6	195.8	1307.5	217.9 \pm 40.4
厩肥	—	98.6	194.5	206.7	229.7	194.9	227.5	1151.8	192.0 \pm 48.3
厩肥	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	147.0	223.1	179.0	135.1	149.6	198.4	1032.3	172.1 \pm 34.2
平均	不施N	117.7	237.7	257.4	287.0	245.7	259.3		
	施N	169.1	232.4	255.1	278.5	252.8	254.0		

不施氮平均看, 依绿豆茎叶 (微生物体氮为 336.5 $\mu\text{gN/g}$)、小麦茎叶 (311.2 $\mu\text{gN/g}$)、新鲜马

粪 (282.6 $\mu\text{gN/g}$)、羊粪 (240.8 $\mu\text{gN/g}$)、腐解猪粪 (209.7 $\mu\text{gN/g}$)、厩肥 (182.1 $\mu\text{gN/g}$)、腐解马粪

表4 不同有机物料和氮肥对微生物体氮的交互作用(μgN/g)

交互作用	不同培养时间的交互作用						
	14d	28d	53d	78d	103d	138d	平均
绿豆茎叶×(NH ₄) ₂ SO ₄	51.1	15.5	2.3	33.4	-18.7	4.0	14.6
小麦茎叶×(NH ₄) ₂ SO ₄	19.2	60.9	56.2	33.1	20.3	25.1	35.8
新鲜马粪×(NH ₄) ₂ SO ₄	42.3	13.6	45.4	-4.1	2.9	-8.1	15.1
腐解马粪×(NH ₄) ₂ SO ₄	17.7	22.2	4.2	22.6	-20.0	21.6	11.4
腐解猪粪×(NH ₄) ₂ SO ₄	-0.4	27.2	-19.9	12.4	2.0	23.8	7.5
羊粪×(NH ₄) ₂ SO ₄	-0.4	-19.2	-38.6	-44.9	-20.2	-6.6	-21.7
厩肥×(NH ₄) ₂ SO ₄	16.8	34.7	-14.5	-32.5	-34.8	-5.3	-5.9
平均	20.9	22.1	5.01	2.9	-9.8	7.8	

表5 田间条件下氮肥和厩肥的交互作用对微生物体氮的影响(μgN/g)

处 理	微生物体氮	交互作用		
		N×M	P×N	NP×M
CK	19.6			
N	21.0			
P	22.2			
M	38.4			
NP	18.2		-2.7	
MN	51.9	6.1		
NPM	49.8			6.4

(173.8μgN/g)到对照(158.8μgN/g),微生物体氮依次减少,除绿豆茎叶外,基本上是随C/N比递减而递减,从各种有机物料平均看,培养14d时,氮肥效果突出,施氮后微生物体氮增加51.4μgN/g(44.0%),在以后各培养时间,对C/N最高的小麦茎叶,氮肥效果一直突出(表4),施氮比不施氮平均增加62.6μgN/g(22.4%),C/N比最低的羊粪,施氮后反而下降,减少47.7μgN/g(17.3%),其余有机物料似乎施氮与不施氮相差不大。由此判断,在施有机物料的基础上,施氮用肥能否增加微生物体氮,主要与有机物料的C/N比有关。本研究中,当C/N>20(腐解猪粪)时,施入氮肥会增加微生物体氮。

由于不同有机物料与氮肥配合对土壤微生物体氮的影响不同,因此,二者间的交互作用也不同(表4),除羊粪和厩肥外,绝大多数表现为正交互作用。从6次测定平均值看,C/N比最高的小麦茎叶和氮肥之间交互作用值最大,为35.8μgN/g,C/N比最小的羊粪和厩肥交互作用出现负值,分别为-21.7μgN/g和-5.9μg

N/g。有机物料和氮肥之间的交互作用与有机物料的C/N比有关,C/N比愈大,其交互作用愈显著,C/N和交互作用值间进行的相关分析更进一步证明了这种关系(相关系数r=0.746,P<0.1)。从平均看,培养前期的交互作用显著大于中、后期,这似乎在前期有机物料的能源物质丰富(C/N比高),因而氮肥效果就突出。因此,在评价有机物料和氮肥的交互作用时,必须考虑有机物料的种类,特别是C/N比和能源物质的多少。

在田间条件下,厩肥和氮肥之间表现出突出的正交互作用(表5),这与培养试验结果相反,造成这一现象的原因很可能与两个试验中厩肥(或有效碳源)的施入量及C/N比不同有关,但这仍需进一步的试验证实。

参 考 文 献

[1] Dalal R C, Henderson P A, Glasby J M. Soil Biol. Biochem. 1991, 23:435~441.
[2] Kelley K R, Stevenson F J. Soil Biol. Biochem.

- 1985, 17:517~523.
- [3] Jenkinson D S, Powelson D S. Soil Biol. Biochem. 1976, 8:209~213.
- [4] Keeney D R, Bremner J M. Agron. J. 1996, 58: 498~503.
- [5] Shen S M, Pruden G, Jenkinson D S. Soil Biol. Biochem. 1984, 16:437~444.
- [6] Clark F E, Rosswall T. Terrestrial nitrogen cycles. Ecological Bulletins (Stockholm). 1981, 33:179~195.
- [7] Brookes P C, Landman A, Pruden G *et al.* Soil Biol. Biochem. 1985, 17:837~842.
- [8] Recous S, Mary B. Soil Biol. Biochem. 1990, 22: 913~922.
- [9] Wickramasinghe K N, Rodgers G A, Jenkinson D. S. Soil Biol. Biochem. 1985, 17:625~630.
- [10] Ahmad Z, Kai H, Harada T. Soil Sci. Plant Nutr. 1969, 15:252~258.