

有机无机肥配施对麦-稻轮作系统 土壤微生物学特性的影响

刘益仁^{1,2}, 郁洁¹, 李想¹, 徐阳春^{1*}, 沈其荣¹

(1.南京农业大学资源与环境科学学院, 江苏省固体有机废弃物资源化高技术研究重点实验室, 南京 210095; 2.江西省农业科学院土壤肥料与资源环境研究所, 南昌 330200)

摘要:采用盆栽试验研究了不同比例有机无机肥配施对连续4茬麦-稻轮作后土壤微生物学特性的影响。结果表明,与对照相比,单施化肥处理促进了土壤微生物生物量碳、氮和微生物熵的增加,提高了土壤蔗糖酶、蛋白酶、脲酶活性,降低了过氧化氢酶活性,提高了放线菌的数量,但对土壤细菌、真菌数量的影响不明显;有机无机肥配施处理的土壤微生物生物量碳、微生物生物量氮、微生物熵、土壤酶活性及3大类土壤微生物数量显著高于单施化肥及对照处理;土壤微生物生物量碳、微生物生物量氮、微生物熵和3大类微生物数量随着有机肥配施比例的提高而增加,以配施30%有机肥处理的最高;土壤酶活性综合指数以配施20%有机肥处理的最高。可见,化肥配施有机肥特别是配施中高量有机肥更有利于改善土壤微生物学特性,提高土壤生产能力。

关键词:有机无机肥配施;麦-稻轮作系统;土壤微生物生物量碳;土壤微生物生物量氮;土壤微生物熵;土壤酶活性

中图分类号:S154.36 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)05-0989-06

Effects of Combined Application of Organic and Inorganic Fertilizers on Soil Microbiological Characteristics in a Wheat-rice Rotation System

LIU Yi-ren^{1,2}, YU Jie¹, LI Xiang¹, XU Yang-chun^{1*}, SHEN Qi-rong¹

(1.College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University/Jiangsu Key Laboratory for Solid Organic Waste Utilization, Nanjing 210095, China; 2.Institute of Soil Fertilizer and Resource Environment, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200, China)

Abstract: A pot experiment was conducted to investigate the effects of continuous application of organic and inorganic fertilizers on soil microbiological characteristics in a wheat-rice rotation system. The results showed that soil microbial biomass carbon (SMBC), soil microbial biomass nitrogen (SMBN), soil microbial quotient (SMQ), enzyme activities of invertase, protease and urease, and the amount of actinomycete increased in inorganic fertilizer treatments, however the catalase activity decreased. Compared with the treatments of inorganic fertilizer and CK, combined application of organic and inorganic fertilizers significantly increased SMBC, SMBN, SMQ, soil enzyme activities, the amounts of bacteria, fungi and actinomycete, which increased with increasing rates of organic manure, and the highest were appeared in treatment of 30% organic fertilizer. Treatment of 80% inorganic fertilizer with 20% organic manure gave the highest comprehensive index of soil enzyme activities (GMea). Therefore, combined application of inorganic fertilizer with organic manure, especially at middle or high rates of organic manure, was propitious to improve soil microbiological characteristics than inorganic fertilizer alone.

Keywords: combined application of organic and inorganic fertilizers; wheat-rice rotation system; soil microbial biomass carbon (SMBC); soil microbial biomass nitrogen (SMBN); soil microbial quotient; soil enzyme activity

收稿日期: 2011-10-30

基金项目: 国家科技部“973”项目(2007CB109304); 农业部公益性行业科研专项(201103004)

作者简介: 刘益仁(1972—), 男, 江西南昌人, 博士研究生, 主要从事土壤肥料与植物营养方面的研究工作。E-mail: jxnclyr@163.com

* 通讯作者: 徐阳春 E-mail: ycxu@njau.edu.cn

土壤微生物种类繁多、数量巨大,是土壤中最活跃的生物群体,几乎参与土壤中一切生物和生物化学发应^[1],在土壤物质循环和能量流动中发挥着重要作用,推动着土壤有机质的矿化分解和土壤碳、氮、磷、硫等养分的转化,是土壤养分的储备库和周转库^[2]。土壤微生物对土壤基质的变化非常敏感,土壤微生物学特性可以作为衡量土壤质量的生物学指标^[3]。如何协调土壤微生物在养分循环和转化中的作用,使土壤微生物更好地为农业生产服务,是一个值得深入研究的科学问题。

施肥是影响土壤质量和土地可持续利用的重要农业措施之一。人们在重视研究施肥对土壤物理与化学性质影响的同时,也逐步加强了施肥对土壤微生物学特性影响的研究^[4],将土壤微生物特性作为土壤健康的生物指标来指导土壤生态系统管理已逐渐成为研究热点^[5-8]。大量研究表明,许多土壤微生物指标如酶活性、微生物生物量和微生物群落结构等均可以很好地反映施肥措施对土壤微生物学特性的影响^[9-10]。近年来对旱地土壤的微生物学特性已经进行过很多研究^[11-12],对水稻田土壤的微生物学特性的研究也有一些报道^[13-14]。但关于连续不同施肥方式对麦-稻轮作系统土壤微生物学特性影响的深入系统研究鲜见报道。本文采用盆栽试验的方法,探讨了连续多茬不同比例有机无机肥料配施后对麦-稻轮作系统土壤微生物学特性的影响,旨在寻求适宜作物稳产、高产的农业管理措施,为更好地培肥土壤提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验采用麦-稻轮作方式,小麦品种为扬麦 158,水稻品种为武运粳 19 号,均为当地主栽品种。供试土壤为水稻土,取自江苏省宜兴市新街镇。土壤基本理化性状为:有机质 $24.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全氮 $1.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全磷 $0.58 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、全钾 $9.87 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、碱解氮 $143 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、速效磷 $3.17 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、有效钾 $95.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、pH 6.83。试验用有机肥料为猪粪堆肥,由江苏田娘农业科技有限公司提供,养分含量为有机质 30%、全氮 1.73%、全磷 2.22%、全钾 1.49%。

1.2 试验方法

试验设对照(不施氮肥,CK)、100%化肥(100CF)、10%猪粪堆肥+90%化肥(10OM90CF)、20%猪粪堆肥+80%化肥(20OM80CF)、30%猪粪堆肥+70%化肥(30OM70CF)共 5 个处理,重复 4 次。试验采用盆栽

方法,每盆装土 20 kg,施 N 2.133 g 、 P_2O_5 1.067 g 、 K_2O 2.133 g ,氮肥用尿素,磷肥用过磷酸钙,钾肥用氯化钾。有机肥和磷肥、钾肥全作基肥,尿素 50%作基肥、30%作分蘖肥、20%作幼穗分化肥。

1.3 采样及分析

盆栽试验于 2007 年 11 月开始,连续种植了 4 茬作物(小麦-水稻-小麦-水稻),于 2009 年第 4 茬水稻收获后采集 0~20 cm 土样,分别测定土壤微生物生物量碳(SMBC)、微生物生物量氮(SMBN)、土壤总有机碳、土壤微生物群落结构、土壤转化酶、蛋白酶、脲酶、过氧化氢酶活性等指标。

土壤微生物生物量碳、微生物生物量氮含量根据 Brookes 等^[15]和 Vance 等^[16]的方法,采用氯仿熏蒸灭菌提取法测定,具体步骤如下:称取 25 g 过 2 mm 筛的鲜土 6 份,3 份放入底部放置盛有无醇氯仿的小烧杯的真空干燥器中,打开真空泵抽真空使氯仿沸腾 5 min,关闭活塞,避光黑暗处 25°C 熏蒸培养 24 h 后取出装有氯仿的小烧杯,反复抽真空 3~5 次(每次 5 min)以排尽氯仿;另 3 份土壤放入另一干燥器中不熏蒸,避光于黑暗处 25°C 培养 24 h,作为对照。培养结束后加入 $100 \text{ mL } 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的硫酸钾溶液,振荡 30 min 后过滤,滤液稀释 5 倍后采用德国 Elementar 公司生产的 LiquiTOC II 测定土壤微生物生物量碳、氮含量。根据下式分别计算微生物生物量碳、氮含量:

$\text{SMBC} = \text{EC} / 0.38$ (EC 为灭菌与未灭菌土壤提取液微生物生物量碳测定值之差;0.38 为土壤微生物生物量碳换算经验系数)

$\text{SMBN} = \text{EN} / 0.45$ (EN 为灭菌与未灭菌土壤提取液微生物生物量氮测定值之差;0.45 为土壤微生物生物量氮换算经验系数)

土壤总有机碳的测定方法参见文献[17]。

微生物群落结构采用平板计数法测定^[18],细菌、真菌及放线菌分离所用培养基分别为用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基、马丁氏培养基和改良高氏 1 号培养基, 28°C 恒温培养。

土壤蔗糖酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定^[19],以 37°C 下培养 24 h 后每克土产生的葡萄糖毫克数表示 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$);蛋白酶活性采用酪蛋白酸钠水解-福林试剂(Folin)比色法测定^[20],以每克土 50°C 水浴 2 h 后产生的酪氨酸微克数表示 ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 2 \text{ h}^{-1}$);脲酶活性用靛酚蓝比色法测定^[21],以 37°C 下培养 24 h 后每克土生成的氨态氮($\text{NH}_3\text{-N}$)毫克数表示 ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot 24 \text{ h}^{-1}$)。过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定

法测定^[22], 25 ℃下培养 20 min 后以每克土消耗 0.1 mol·L⁻¹ KMnO₄ 毫升数表示(mL·g⁻¹·20 min⁻¹)。

土壤酶活性综合指数利用各种酶活性的几何平均值计算^[23]式如下:

$$GMea=\sqrt[4]{Inv\times Pro\times Ure\times Cat}$$

式中:Inv 表示蔗糖酶活性,Pro 表示蛋白酶活性,Ure 表示脲酶活性,Cat 表示过氧化氢酶活性。

1.4 数据处理与统计分析

采用 Excel 2003 软件进行数据处理, 采用 SPSS 13.0 软件进行单因素方差(One-Way ANOVA)分析, 不同处理之间采用 LSD (Least-significant difference) 方法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同比例有机无机肥配施对土壤微生物生物量碳、氮及微生物熵的影响

从表 1 可以看出,在经过连续 4 茬施肥后,所有施氮肥处理的 SMBC、SMBN 均显著高于不施氮处理(CK),提高幅度分别为 25.5%~64.5%、21.6%~66.5%;配施有机肥处理的 SMBC、SMBN 显著高于化肥处理,提高幅度分别为 15.8%~31.1%、16.2%~36.9%;SMBC、SMBN 随有机肥配施比例的提高而增加,配施 30%有机肥处理的微生物生物量最高。

土壤微生物生物量碳占土壤有机碳含量的百分比(SMBC/SOC)称为微生物熵(SMQ)^[24]。由表 1 可以看出,不同处理土壤 SMQ 范围介于 1.48%~2.26%之间。长期各施氮处理的 SMQ 显著高于不施氮处理(CK),提高幅度为 19.4%~53.3%,这可能是因为氮是植物生长的主要养分限制因子之一;有机无机肥配施处理的 SMQ 显著高于 NPK 化肥(100CF)处理,提高幅度为 15.3%~28.5%;SMQ 随有机肥配施比例的提高而增加,配施 30%有机肥处理的微生物熵最高。

可见配施有机肥有利于提高土壤微生物生物量碳、氮和微生物熵,在本试验范围内,配施 30%有机肥

表 1 不同处理土壤微生物生物量碳、氮及微生物熵

Table 1 SMBC,SMBN and SMQ in different treatments

处理 Treatment	微生物生物量碳 SMBC/mg·kg ⁻¹	微生物生物量氮 SMBN/mg·kg ⁻¹	微生物熵 SMQ/%
CK	185.0d	24.98d	1.48d
100CF	232.1c	30.38c	1.76c
100M90CF	268.9b	35.30b	2.03b
200M80CF	285.1ab	39.57a	2.16ab
300M70CF	304.3a	41.59a	2.26a

注:同列不同字母表示处理间差异达到 5%显著水平。下同。

Note: Different letters in same column mean significant difference at 5% level. The same below.

处理的微生物生物量碳、氮和微生物熵最高。

2.2 不同比例有机无机肥配施对土壤酶活性的影响

土壤酶来自微生物、植物和动物的活体或残体,通过催化土壤中的生化反应发挥重要作用。土壤酶活性是土壤生物活性和土壤肥力的重要指标^[25]。

试验测定了土壤蔗糖酶、蛋白酶、脲酶和过氧化氢酶的酶活性,并计算了酶活性综合指数(GMea),见表 2。结果表明,施氮肥显著提高土壤蔗糖酶、蛋白酶、脲酶活性,与对照相比,施氮肥处理 3 种酶的提高幅度分别是 15.3%~59.2%、14.3%~49.0%和 16.7%~46.7%;单施化肥处理降低了过氧化氢酶活性;有机无机配施处理 4 种酶活性显著高于单施化肥处理,提高幅度为 12.2%~40.0%;随有机肥配施比例的提高,4 种酶活性均表现出增加趋势,配施 20%~30%有机肥处理的酶活性显著高于配施 10%有机肥的处理。蔗糖酶、蛋白酶、脲酶以配施 20%有机肥处理的酶活性最高,过氧化氢酶以配施 30%有机肥处理的酶活性最高。

施氮增大了土壤酶活性综合指数 GMea (表 2)。与对照相比,各施氮处理的 GMea 显著提高,化肥处理比 CK 提高 9.0%,有机无机肥配施处理比 CK 提高 27.0%~42.6%。与化肥处理相比,不同比例有机无机配施显著提高了土壤 GMea, 提高幅度为 16.5%~30.8%。从不同有机肥比例看,配施中高量有机肥处理

表 2 不同处理土壤酶活性及酶活性综合指数

Table 2 Enzyme activity and comprehensive index in different treatments

处理 Treatment	蔗糖酶 Invertase/ mg·g ⁻¹ ·24 h ⁻¹	蛋白酶 Protease/ μg·g ⁻¹ ·2 h ⁻¹	脲酶 Urease/ mg·g ⁻¹ ·24 h ⁻¹	过氧化氢酶 Catalase/ mL·g ⁻¹ ·20 min ⁻¹	酶活性综合指数 GMea
CK	14.87d	57.95d	0.60d	4.34c	1.22d
100CF	17.14c	66.24c	0.70c	3.94d	1.33c
100M90CF	20.07b	78.42b	0.84b	4.42bc	1.55b
200M80CF	24.00a	90.12a	0.91a	4.72ab	1.74a
300M70CF	23.67a	86.35ab	0.88ab	4.81a	1.72a

的 GMea 显著高于配施低量有机肥处理。

由此可见,配施有机肥有利于提高土壤相关酶活性及酶活性综合指数,在本实验范围内,配施中高量有机肥的效果更好。

2.3 不同比例有机无机肥配施对土壤微生物区系的影响

微生物平板培养计数是一种传统的微生物计数实验方法,也是土壤微生物分离培养的常用方法。这种方法主要使用不同营养成分的固体培养基对土壤中可培养的微生物进行分离培养,然后根据微生物菌落数目及其形态计测微生物的数量及其类型。表3的平板计数结果表明不同施肥处理对土壤微生物数量有很大的影响。有机无机肥配施处理的细菌、真菌、放线菌数量显著高于 CK 处理;配施中、高量(20%~30%)有机肥处理的微生物数量均显著高于单施化肥处理;单施化肥处理的放线菌数量显著高于 CK;3 大类微生物数量均随有机肥配施比例的增加而提高,以配施 30%有机肥处理的微生物数量最大;不同处理微生物总数变化与细菌表现一致。可见,配施有机肥尤其是配施高量有机肥有利于提高土壤 3 大类群微生物数量;单施化肥对细菌、真菌数量的影响不明显,但能提高放线菌的数量。

表 3 不同处理土壤微生物区系

Table 3 Number of soil microorganism in different treatments

处理 Treatment	细菌 Bacteria/ $\times 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$	真菌 Fungi/ $\times 10^3 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$	放线菌 Actino- mycete/ $\times 10^3 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$	总计 Total/ $\times 10^6 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$
CK	8.45c	8.00c	6.03c	9.06c
100CF	9.93c	10.33bc	14.15b	11.36c
100M90CF	17.75b	14.33b	17.15b	19.48b
200M80CF	23.93a	20.33a	22.50a	26.20a
300M70CF	25.08a	23.33a	23.30a	27.44a

3 讨论

土壤微生物量与土壤生物肥力关系十分紧密,可作为反映土壤微生物学特性变化的灵敏指标。通常情况下,土壤微生物量与土壤有机质含量密切相关,土壤有机质含量高,土壤微生物量也相应较高,而且周转速度加快^[26]。不同施肥措施对土壤微生物量有显著影响,化肥配施有机肥能显著提高土壤微生物量^[27-28]。Li 等^[12]研究表明,化肥与猪厩肥或秸秆还田配合施用,土壤微生物生物量高于单施化肥处理,高量有机肥处理微生物生物量高于低量有机肥处理。徐培智等^[29]研究指出,施用有机肥料可以显著提高土壤微生

物生物量碳、氮含量,随着有机肥用量的增加土壤微生物生物量碳、氮提高。本试验中,麦-稻轮作土壤在经过连续 4 茬不同施肥后,有机无机配施处理的土壤微生物生物量碳、氮显著高于化肥及对照处理,而且随有机肥配施比例的提高土壤微生物生物量增加,与上述研究结果类似。可见连续多茬化肥配施有机肥特别是配施高量有机肥有利于提高麦-稻轮作系统土壤微生物生物量碳、氮。这主要是因为有机肥特别是以猪粪为主要原料的堆肥营养丰富,与化肥配合施用,能为土壤微生物提供合适的碳源与氮源,利于微生物的繁殖,从而增加了土壤微生物生物量。

用微生物熵来表示不同施肥管理措施对土壤过程或土壤质量的影响,较单独应用微生物生物量碳或土壤有机总碳要有效的多^[30]。本研究中有有机无机配施处理的土壤微生物熵显著高于化肥与对照处理,且随有机肥配施比例的提高,微生物熵表现出增加的趋势,说明化肥配施有机肥尤其是配施高量有机肥有利于增加土壤微生物熵。国外很多长期定位试验结果也均认为有机物的投入能够显著提高土壤微生物熵^[11]。连续或长期施肥对土壤微生物熵的影响可能源于其改变了土壤有机物的投入量和其他微域土壤环境条件,从而使微生物量碳迅速发生变化。但土壤有机碳则反应较慢,通常需要几十年甚至上百年的时间才能够达到新的平衡,从而导致土壤微生物熵的差异。

土壤酶主要来自微生物,它与微生物的丰富程度和活性密切相关,可用来表征因不同施肥制度导致土壤微生物学特性的早期变化^[25]。大量研究表明,有机无机肥配施有利于提高土壤酶活性。王树起等^[31]研究了长期施肥对东北黑土酶活性的影响,结果认为有机无机肥配施提高了土壤转化酶、脲酶和过氧化氢酶活性。孙瑞莲等^[32]研究了长期定位施肥对土壤酶活性的影响,结果表明施用有机肥能显著提高土壤转化酶及脲酶活性,且随有机肥配施比例的提高酶活性增强。本研究中,连续 4 茬有机无机配施显著提高麦-稻轮作土壤蔗糖酶、蛋白酶、脲酶和过氧化氢酶活性,且随有机肥配施比例的提高酶活性表现增加的趋势,与上述研究结果基本一致。说明连续有机无机肥配施能促进土壤相关酶活性的提高,而且随有机肥配施比例的提高酶活性增加。但也有研究认为过氧化氢酶活性在施肥处理间差异较小^[12],这可能是由于土壤类型及环境条件不同所致。

土壤酶活性的几何平均值 GMea 是指示土壤生物质量的综合评价指标^[23]。García-Ruiz R 等^[23]研究有

机肥处理与常规处理对土壤 GMea 的影响,结果认为有机肥处理的 GMea 显著高于常规处理。本研究结果表明,有机无机肥料配施显著提高了土壤的 GMea,其中配施中高量有机肥处理的 GMea 值高于配施低量有机肥的处理,这是由于配施的有机物促进了土壤微生物的生长繁殖,提高了微生物对大多数酶活性的贡献,这与上述 García-Ruiz R 等的结论类似。这一结果同时与本文微生物生物量的结论一致。

土壤微生物是土壤的重要组成部分,在土壤中物质循环与转化过程中发挥重要作用。近年来一些研究表明,微生物群落结构和功能多样性能较好地描述施肥对土壤微生物学特性的影响^[10,33]。李秀英等^[34]研究认为,化肥配施有机肥或秸秆,可明显增加土壤中细菌、真菌、放线菌的数量,明显高于单施化肥和不施肥农田。本研究也表明,连续 4 茬有机无机肥配施显著提高麦-稻轮作土壤细菌、真菌和放线菌数量,且随配施比例增加,3 大类微生物数量表现增加趋势。说明连续有机无机肥配施能促进麦-稻轮作土壤 3 大类微生物数量的增长,改善土壤微生物群落结构。

4 结论

连续有机无机肥配施为微生物提供了充足的碳源和氮源,激活了微生物活性,促进了微生物的大量繁殖。与单施化肥相比,有机无机肥配施显著提高了土壤微生物生物量碳、微生物生物量氮、微生物熵、土壤酶活性及 3 大类微生物数量;在本试验范围内,配施 20%~30% 有机肥处理土壤的各项微生物学参数显著高于其他处理。可见,有机无机肥配施有利于改善土壤微生物生态特性,提高土壤生产能力,其中以配施中高量有机肥效果更好。

参考文献:

- [1] 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,2006:143-144.
Yao H Y, Huang C Y, et al. Soil microbial ecology and experiment technology[M]. Beijing: Science Press, 2006: 143-144.
- [2] Insam H, Mitchell C C, Dormaar J F. Relationship of soil microbial biomass and activity with fertilization practice and crop yield of three ultisols[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1991, 23(5): 459-464.
- [3] Dilly O, Munch J C. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1998, 27(4): 374-379.
- [4] Christine H S, Leo M C, Maureen O'C. Differences in soil enzyme activities, microbial community structure and short-term nitrogen mineralisation resulting from farm management history and organic matter amendments[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(6): 1352-1363.
- [5] van Bruggen A H C, Semenov A M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression[J]. *Applied Soil Ecology*, 2000, 15(1): 13-24.
- [6] Harris J A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration[J]. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54(4): 801-808.
- [7] 林先贵,陈瑞蕊,胡君利.土壤微生物资源管理、应用技术与学科展望[J].生态学报,2010,30(24):7029-7037.
LIN X G, CHEN R R, HU J L. The management and application of soil microbial resources and the perspectives of soil microbiology[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(24): 7029-7037.
- [8] 焦晓光,高崇升,隋跃宇,等.不同有机质含量农田土壤微生物生态特征[J].中国农业科学,2011,44(18):3759-3767.
JIAO X G, GAO C S, SUI Y Y, et al. Research on soil microbial ecology under different soil organic matter levels in farmland [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(18): 3759-3767.
- [9] Marschner P, Kandeler E, Marschner B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(3): 453-461.
- [10] 张逸飞,钟文辉,李忠佩,等.长期不同施肥处理对红壤水稻土酶活性及微生物群落功能多样性的影响[J].生态与农村环境学报,2006,22(4):39-44.
ZHANG Y F, ZHONG W H, LI Z P, et al. Effects of long-term different fertilization on soil enzyme activity and microbial community functional diversity in paddy soil derived from quaternary red clay[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2006, 22(4): 39-44.
- [11] Mastol R E, Chhonkar P K, Singh D, et al. Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a subtropical inceptisol[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(7): 1577-1582.
- [12] LI J, ZHAO B Q, LI X Y, et al. Effects of long-term combined application of organic and mineral fertilizers on microbial biomass, soil enzyme activities and soil fertility[J]. *Agricultural Sciences in China*, 2008, 7(3): 336-343.
- [13] 张奇春,王光火,方 斌.不同施肥处理对水稻养分吸收和稻田土壤微生物生态特性的影响[J].土壤学报,2005,42(1):116-121.
ZHANG Q C, WANG G H, FANG B. Influence of fertilization treatment on nutrients uptake by rice and soil ecological characteristics of soil microorganism in paddy field[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2005, 42(1): 116-121.
- [14] 张 帆,黄凤球,肖小平,等.冬季作物对稻田土壤微生物量碳、氮和微生物熵的短期影响[J].生态学报,2009,29(2):734-739.
ZHANG F, HUANG F Q, XIAO X P, et al. Short-term influences of winter crops on microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen and Cmic-to-Corg in a paddy soil [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(2): 734-739.
- [15] Brookes P C, Landman A, Pruden G, et al. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17(6): 837-842.

- [16] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(6):703-707.
- [17] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法[M].中国农业科技出版社, 2000: 106-163.
- Lu R K. Analytical methods for agricultural chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000:106-163.
- [18] 中国科学院南京土壤研究所微生物室.土壤微生物研究法[M].北京:科学出版社, 1985.
- Microbiological Department, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Research method of soil microorganism[M]. Beijing: Science Press, 1985.
- [19] Ohshima T, Tamura T, Sato M. Influence of pulsed electric field on various enzyme activities[J]. *Journal of Electrostatics*, 2007, 65: 156-161.
- [20] Ladd J N, Brisbane P G, Butler J H A. Studies on soil fumigation. 3. Effects on enzyme-activities, bacterial numbers and extractable ninhydrin reactive compounds[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1976, 8: 255-260.
- [21] Hoffmann G G, Teicher K. A colorimetric technique for determining urease activity in soil[J]. *Dung Boden*, 1961, 95:55-63.
- [22] Johnson J I, Temple K L. Some variables affecting the measurements of catalase activity in soil[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1964, 28:207-216.
- [23] García-Ruiz R, Ochoa V, Hinojosa M B, et al. Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40:2137-2145.
- [24] 刘满强, 胡 锋, 何圆球, 等.退化红壤不同植被恢复下土壤微生物量季节动态及其指示意义[J].土壤学报, 2003, 40(6):937-944.
- LIU M Q, HU F, HE Y Q, et al. Seasonal dynamics of soil microbial biomass and its significance to indicate soil quality under different vegetations restored on degraded red soils[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(6): 937-944.
- [25] 陈恩凤. 土壤酶与土壤肥力研究[M]. 北京:科学出版社, 1979:54-61.
- Chen E F. Research on the soil enzyme and soil fertility[M]. Beijing: Science Press, 1979:54-61.
- [26] Schlöter M, Dilly O, Munch J C. Indicators for evaluating soil quality [J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2003, 98(1):255-262.
- [27] 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 E K, ZHAO B Q, LI X Y, et al. Biological properties and enzymatic activity of arable soil affected by long-term different fertilization systems[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 32(1):176-182.
- [28] Mandal A, Patra A K, Singh D, et al. Effect of long-term application of manure and fertilizer on biological and biochemical activities in soil during crop development stages[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(18):3585-3592.
- [29] 徐培智, 解开治, 陈建生, 等.南方酸性旱坡地桔园有机无机肥料配合施用效应研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(3):650-655.
- XU P Z, XIE K Z, CHEN J S, et al. Effects of organic and inorganic fertilizers on sloping-land citrus orchards with acid soils in Southern China[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2010, 16(3):650-655.
- [30] 任天志, Stefano Grego. 持续农业中的土壤生物指标研究[J]. 中国农业科学, 2000, 33(1): 68-75.
- REN T Z, Grego S. Soil bioindicators in sustainable agriculture[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(1): 68-75.
- [31] 王树起, 韩晓增, 乔云发, 等.长期施肥对东北黑土酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(3):551-556.
- WANG S Q, HAN X Z, QIAO Y F, et al. Effects of long-term fertilization on enzyme activities in black soil of Northeast China [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(3):551-556.
- [32] 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 L R, ZHAO B Q, ZHU L S, 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.
- [33] 侯晓杰, 汪景宽, 李世朋. 不同施肥处理与地膜覆盖对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(2):655-661.
- HOU X J, WANG J K, LI S P, et al. Effects of different fertilization and plastic-mulching on functional diversity of soil microbial community [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(2):655-661.
- [34] 李秀英, 赵秉强, 李絮花, 等. 不同施肥制度对土壤微生物的影响及其与土壤肥力的关系[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8):1591-1599.
- LI X Y, ZHAO B Q, LI X H, et al. Effects of different fertilization systems on soil microbe and its relation to soil fertility [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(8):1591-1599.