

DOI: 10.5846/stxb201308082045

张国栋, 展星, 李园园, 沈向, 陈学森, 吴树敬, 毛志泉. 有机物料发酵流体和堆肥对苹果连作土壤环境及平邑甜茶幼苗生物量的影响. 生态学报, 2015, 35(11): 3663-3673.

Zhang G D, Zhan X, Li Y Y, Shen X, Chen X S, Wu S J, Mao Z Q. Effects of anaerobic and aerobic fermentation of organic materials on continuous cropping soil environment and *Malus hupehensis* seedling biomass. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(11): 3663-3673.

有机物料发酵流体和堆肥对苹果连作土壤环境及平邑甜茶幼苗生物量的影响

张国栋¹, 展星¹, 李园园², 沈向¹, 陈学森¹, 吴树敬¹, 毛志泉^{1,*}

1 山东农业大学园艺科学与工程学院/作物生物学国家重点实验室, 泰安 271018

2 青岛明月蓝海生物科技有限公司, 青岛 266400

摘要: 为探讨不同有机物料的发酵流体(厌氧发酵产物)和堆肥(有氧发酵产物)对苹果连作土壤环境的影响,以盆栽平邑甜茶幼苗为试验材料,分别设置猪粪+秸秆、鸡粪+秸秆、羊粪+秸秆、猪粪+鸡粪+羊粪+秸秆 4 个不同有机物料组合并进行厌氧发酵和有氧发酵,并将发酵产物分别施入连作土中,研究其对平邑甜茶幼苗生物量、连作土壤中微生物、土壤酶活性、土壤酚酸等的影响。结果表明:与有机物料堆肥相比,各有机物料发酵流体处理的平邑甜茶幼苗干重、鲜重较高,其中猪粪发酵流体处理显著提高了幼苗干、鲜重,7 月份为对照的 1.57、1.26 倍,9 月份为 CK 的 1.55、1.86 倍;两类发酵产物均增加了土壤微生物的数量,且发酵流体处理显著增加了土壤中细菌和放线菌的数量,其中羊粪发酵流体效果最明显,分别为 CK 的 2.95 倍和 2.37 倍,在堆肥处理中,真菌数量显著增高;两类发酵产物也影响了土壤中酚酸总量,表现为猪粪、鸡粪发酵流体和猪粪堆肥处理含量下降,至 9 月份分别下降到 CK 的 0.45、0.39 倍和 0.36 倍。

关键词: 发酵流体; 堆肥; 连作; 平邑甜茶; 微生物; 酚酸

Effects of anaerobic and aerobic fermentation of organic materials on continuous cropping soil environment and *Malus hupehensis* seedling biomass

ZHANG Guodong¹, ZHAN Xing¹, LI Yuanyuan², SHEN Xiang¹, CHEN Xuesen¹, WU Shujing¹, MAO Zhiquan^{1,*}

1 College of Horticulture Science and Engineering, Shandong Agricultural University /State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an 271018, China

2 Qingdao Bright Moon Bluesea Bio-Tech Co., LTD, Qingdao 266400, China

Abstract: In this study, pig manure+straw, chicken manure+straw, sheep manure+straw and three above manures+straw were fermented under aerobic and anaerobic conditions, respectively. The end product of fermentation was applied to containers filled with continuous cropping soil of apple field. The effects of fermented product on apple seedling growth in containers, microbiology, activity of urease, invertase and phosphatases as well as phenolic acid in continuous cropping soil contents was investigated. The results showed that the anaerobic fermented product (fermented fluid) was applied into replant soil significantly enhanced the dry and fresh biomass production of the seedlings compared to the aerobic fermented product (solid compost). Pig manure's fermented fluid increased plant fresh and dry weight by 1.57 and 1.26 times as compared to the control plant in July respectively, and 1.55 and 1.86 times in September, respectively. Soil microorganism population quantities was increased by both forms of organic matter, the fermented liquid has a stronger effect than the solid

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金(CARS-28); 山东省农业重大应用技术创新课题; 教育部长江学者和创新团队发展计划(IRT1155)

收稿日期: 2013-08-08; 网络出版日期: 2014-06-12

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: mzhiquan@sdau.edu.cn

compost in bacterial and actinomycetal density, sheep manure's fermented fluid was the best, and it increased about 2.95 and 2.37 times in above two kinds of microbiology, respectively. Moreover, both fermented products significantly influenced contents of phenolic acids, and the pig's fermented fluid, chicken's fermented fluid and pig's solid compost decreased the total contents of phenolic acids by 0.45, 0.39 and 0.36 times compared to the control in September.

Key Words: fermentation fluid; compost; replant; *Malus hupehensis*; microorganism; phenolic acid

苹果连作障碍又称再植病,即老龄苹果树去除后,在同一块土地上继续栽植苹果树,而后茬苹果树生长受到抑制或病害发生比较严重,导致果品产量低、质量差的现象^[1]。前人研究表明长期连作会使速效磷耗竭,微量元素缺失,土壤肥力下降,有害物质积累,并且还影响土壤微生物数量^[2]。众多学者研究发现在产生连作障碍的土壤中使用有机肥,可以改善根际土壤微生态环境,减轻作物的自毒作用,进而减轻连作障碍现象^[3-5]。西维吉尼亚州阿巴拉契亚果树科研工作站的研究表明堆肥可以减少杂草生长,减少食草动物,增加捕食性节肢动物,抑制真菌的生长,增加了果园生产系统的可持续性^[6]。发酵流体是在淹水条件下由厌氧微生物作用发酵而成的一种有机肥料^[7],养分全面,对于苹果的产量、品质和改良土壤理化性状都有积极作用^[8]。堆肥和发酵流体均能减轻连作障碍的发生,但二者对连作土壤环境中主要致病因子土壤酚酸、微生物等的研究鲜见报道。

本试验以苹果常用砧木—平邑甜茶为试验材料,研究了不同有机物料的发醇流体以及堆肥产物对连作土壤环境和平邑甜茶幼苗生物量的影响,为更好地利用有机物料防治连作障碍提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与处理

试验于2011—2013年在山东农业大学国家苹果工程实验中心进行。试验材料为平邑甜茶,将其种子与细沙混匀,于4℃左右层积30d,待种子萌动露白后即可在育苗盘中播种育苗。至幼苗长到6片真叶时移栽到外径29cm、内径25cm的泥瓦盆中,盆中装满连作土壤7.5kg。连作土壤采自于泰安市郊区兹窑30年生苹果园,土壤类型为褐土。连作土壤取自距树干80cm,深5—40cm的范围内,多点随机取土,混匀。

试验用的发酵流体和堆肥的制作材料为猪粪、鸡粪、羊粪、麦秆(长度约为2—4cm,含全氮5.47g/kg、全磷0.51g/kg、全钾32.52g/kg、有机质495.33g/kg),两种形态有机物料质量配置比例为猪粪:秸秆=4:1、鸡粪:秸秆=4:1、羊粪:秸秆=4:1、猪粪:鸡粪:羊粪:秸秆=3:3:2:2,共8种有机物料。发酵流体的制作:将直径50cm,高120cm的白色塑料桶的三分之二埋于地下,将配好的有机物料放入桶中,注水至没过材料,用木棍搅匀,桶口用白色地膜封住,并留有孔,在自然条件下进行发酵。堆肥进行常规堆制,自然条件下进行发酵。发酵流体和堆肥第一次在4月20日进行制作,6月15日停止发酵并施入盆中,到7月15日进行取样;第二次在6月20日进行制作,8月15日停止发酵并施入盆中,到9月15日进行取样。两种形态有机物料的总用量根据本实验室尹承苗^[9]研究最适为土壤重量的3%,分为3次施用,每次使用1/3(每隔1d施用1次)。每个处理30盆,每盆栽植2株幼苗,期间进行正常灌溉管理。连作土+猪粪流体设为T1;连作土+猪粪堆肥为T2;连作土+鸡粪流体为T3;连作土+鸡粪堆肥为T4;连作土+羊粪流体为T5;连作土+羊粪堆肥为T6;连作土+混合流体为T7;连作土+混合堆肥为T8;连作土为CK。CK中每千克土施氮1.2g、磷60mg、钾8.2g,其他有机物料处理相对CK速效氮、速效磷、速效钾不足部分由相应化肥(尿素、磷酸二氢钾、氯化钾)补足。3种有机物料及发酵流体和堆肥的养分组成见表1、表2。

1.2 测定方法

1.2.1 土壤酶的测定

参照关松荫的方法^[10],对土壤酶进行测定。

表 1 粪便营养成分组成

Table 1 Nutrition contents of manure

原材料 Raw Material	有机质 Organic Matter/ (g/kg)	铵态氮 Ammonium Nitrogen/ (mg/kg)	硝态氮 Nitrate Nitrogen/ (mg/kg)	速效磷 Available Phosphorus/ (mg/kg)	速效钾 Available Kalium/ (mg/kg)	pH 值
猪粪 Pig Manure	521.43	942.51	124.64	1090.56	34293.33	8.07
鸡粪 Chicken Manure	568.42	1055.78	119.23	512.22	35653.33	8.31
羊粪 Sheep Manure	832.50	637.34	147.72	893.89	12020	8.80

表 2 堆肥和发酵流体营养成分组成

Table 2 Nutrition contents of Compost and Fermentative liquid

项目 Project	有机质 Organic Matter/ (g/kg)	铵态氮 Ammonium Nitrogen/ (mg/kg)	硝态氮 Nitrate Nitrogen/ (mg/kg)	速效磷 Available Phosphorus/ (mg/kg)	速效钾 Available Kalium/ (mg/kg)	pH
PMC	440.86	425.6	123.07	42.79	42173.33	9.47
PMF	400.65	587.51	109.07	59.05	81896.30	7.41
CMC	443.10	158.06	103.71	44.75	37493.33	10.36
CMF	176.29	1111.72	124.51	41.72	41119.47	7.77
SMC	358.06	82.35	531.07	17.42	47320	8.43
SMF	288.47	223.27	115.85	22.87	27851.85	7.32
MMC	539.33	307.39	218.22	39.94	25606.67	9.14
MMF	368.60	617.23	101.29	48.51	62933.33	7.51

PMC: 猪粪堆肥 Pig Manure Compost; PMF: 猪粪流体 Pig Manure Fluid; CMC: 鸡粪堆肥 Pig Manure Fluid; CMF: 鸡粪流体 Chicken Manure Fluid; SMC: 羊粪堆肥 Sheep Manure Compost; SMF: 羊粪流体 Sheep Manure Fluid; MMC: 混合堆肥 Mix Manure Compost; MMF: 混合流体 Mix Manure Fluid

脲酶活性测定 称取 5 g 土样于 50 mL 三角瓶中,加 1 mL 甲苯,振荡均匀,15 min 后加 10 mL 10% 尿素溶液和 20 mL PH 6.7 柠檬酸盐缓冲溶液,摇匀后在 37 °C 恒温箱培养 24 h。培养结束后过滤,取 1 mL 滤液加入 50 mL 容量瓶中,再加 4 mL 苯酚钠溶液和 3 mL 次氯酸钠溶液,随加随摇匀。显色 20 min,定容。1 h 内在分光光度计与 578 nm 波长处比色。(靛酚的蓝色在 1 h 内保持稳定)。脲酶活性以样品所得的吸光值减去对照样品吸光值之差,根据标准曲线求出氨态氮含量。以 24 h 后 1 g 土壤中氨态氮含量表示脲酶活性。

中性磷酸酶活性测定 称 5 g 土样置于 200 mL 三角瓶中,加 2.5 mL 甲苯,轻摇 15 min 后,加入 20 mL 0.5% 磷酸苯二钠,摇匀后放入恒温箱,37 °C 下培养 24 h。然后在培养液加入 100 mL 0.3% 硫酸铝溶液并过滤。吸取 3 mL 滤液于 50 mL 容量瓶中,每瓶加入 5 mL 缓冲液和 4 滴氯代二溴对苯醌亚胺试剂,显色后稀释至刻度,30 min 后比色测定。用硼酸缓冲液时,呈现蓝色,于分光光度计上 660 nm 处比色。标准曲线绘制:取 1,3,5,7,9,11,13 mL 酚工作液并显色定容,待颜色稳定后,比色绘制标准曲线。磷酸酶活性以每克土壤的酚毫克数表示。

蔗糖酶活性测定 称 5 g 风干土,置于 50 mL 的三角瓶中,注入 10 mL 1% 淀粉溶液,再加 10 mL pH5.6 磷酸盐缓冲溶液和 5 滴甲苯。摇匀放入恒温箱,在 37 °C 下培养 24 h。培养结束后,将悬液迅速过滤。取滤液 1 mL,注入 50 mL 容量瓶中,加 2 mL 3,5-二硝基水杨酸溶液,并在沸腾的水浴锅中加热 5 min,随即将容量瓶移至自来水流下冷却。定容后在分光光度计上于波长 508 nm 处进行比色。用葡萄糖溶液作标准曲线。以 24 h 后 1 g 土壤中产生葡萄糖的质量(mg)表示蔗糖酶活性。

1.2.2 土壤微生物的测定

微生物的测定采用平板稀释培养计数法^[11]

土壤处理:取 10 g 新鲜过筛土壤加到盛有 90 mL 无菌水的锥形瓶中,封口并将其放在摇床震荡 10 min,待土壤分散开混合均匀后,静止 20—30 s,即为 10⁻¹ 稀释液,用移液枪吸取 1 mL 10⁻¹ 稀释液至盛有 9 mL 无菌

水的试管中,震荡摇匀,即为 10^{-2} 稀释液,依次类推,每次更换枪头连续稀释,则制成 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 等一系列的土壤稀释液。

细菌的培养采用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌的培养采用马丁氏培养基,放线菌的培养采用改良高氏1号培养基。

1.2.3 土壤有机质的测定

有机质的测定采用重铬酸钾容量法-稀释热法^[12]

准确称取0.5 g土壤样品于500 mL的三角瓶中,加入1 mol/L($1/6\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)溶液10 mL,转动瓶子混合均匀,然后加浓 H_2SO_4 20 mL并缓缓转动1 min,以保证试剂与土壤充分作用,放置约30 min,加水稀释至250 mL,加3—4滴邻啡罗啉指示剂,0.5 mol/L FeSO_4 标准溶液滴定至近终点溶液颜色由绿变成暗绿色,直至生成砖红色为止。用同样的方法做空白测定(即不加土样)。

1.2.4 土壤中酚酸类物质的测定

准确称取过12目筛的风干土样100 g样品,加入适量的硅藻土,于烧杯中混匀。在100 mL萃取池底部垫上1片纤维素膜,将混匀的样品装入萃取池中,按优化好的ASE条件萃取:提取溶剂为甲醇和无水乙醇,提取温度为120℃,提取2次,加热5 min,静态提取时间为5 min,吹扫体积为60%,吹扫90 s。萃取完成后,34℃减压浓缩近干,加入1 mL甲醇复溶,过0.22 μm 有机相滤膜,待HPLC分析。

色谱条件:色谱柱为Acclaim 120 C_{18} (3 μm ,150 mm \times 3 mm),柱温30℃。流动相:A为乙腈,B为水(乙酸调pH值至2.6),流速0.5 mL/min;进样方式及进样体积:自动进样,5 μL ;检测波长280 nm。

1.3 数据分析

试验数据采用Microsoft Excel 2003进行计算和作图,通过SPSS 19.0软件进行Duncan显著性检测。

2 结果与分析

2.1 发酵流体和堆肥对连作土平邑甜茶幼苗干鲜重的影响

由图1可知,连作土壤施用发酵流体和堆肥初期,流体处理干重与CK相比具有显著性差异。流体与堆肥相比,猪粪的两种处理间有显著性差异。在7月份,表现为:各流体处理高于其堆肥处理且都高于CK。在9月份,表现为:各流体处理高于其堆肥和CK,堆肥处理与CK间无显著性差异。随着时间的推移,平邑甜茶幼苗的干重增加。分析结果表明,与堆肥处理相比,发酵流体处理对于增加平邑甜茶的干重效果更明显,以T1的干重增加效果显著,分别为CK的1.57倍和1.55倍。

由图1可知,连作土壤施用发酵流体和堆肥初期,流体处理鲜重与CK相比具有显著性差异。流体与堆肥相比较,猪粪的两种处理间有显著性差异。在7月份表现为:各流体处理高于其堆肥处理且都高于CK。在9月份,表现为:各流体处理高于其堆肥处理且都高于CK。随着时间的推移,各处理间的鲜重差异性显著。分析结果表明:与堆肥处理相比,发酵流体处理对于增加平邑甜茶的鲜重效果更明显,以T1的鲜重增加效果显著,分别为CK的1.26倍和1.86倍。

2.2 发酵流体和堆肥对连作条件下土壤脲酶、磷酸酶、蔗糖酶的影响

图2可以看出,在7月份除T5、T6处理脲酶活性与CK无显著性差异外,其余处理均高于CK;流体与堆肥处理相比,T4>T3、T7>T8,猪粪和羊粪的两种处理间无差异性,鸡粪和混合的两种形态处理间差异性显著,鸡粪堆肥处理最高,为CK的2.94倍。在9月份,除T6处理外,其他处理脲酶活性均高于CK,流体与堆肥处理相比除T3<T4外,其他发酵流体处理土壤脲酶活性均高于其堆肥处理,猪粪和羊粪的两种形态处理间差异性显著,猪粪流体处理土壤脲酶活性最高位为CK的2.00倍。结果表明:随着时间的推移,猪粪和羊粪发酵流体处理的连作土壤脲酶活性要高于其堆肥处理。

如图3可以看出,在7月份,各处理土壤磷酸酶活性均显著高于CK,各发酵流体和堆肥处理间无显著性差异。9月份,T1、T3的土壤磷酸酶活性与CK相比具有显著性差异,不同发酵产物相比较,T1>T2, T3>T4,且

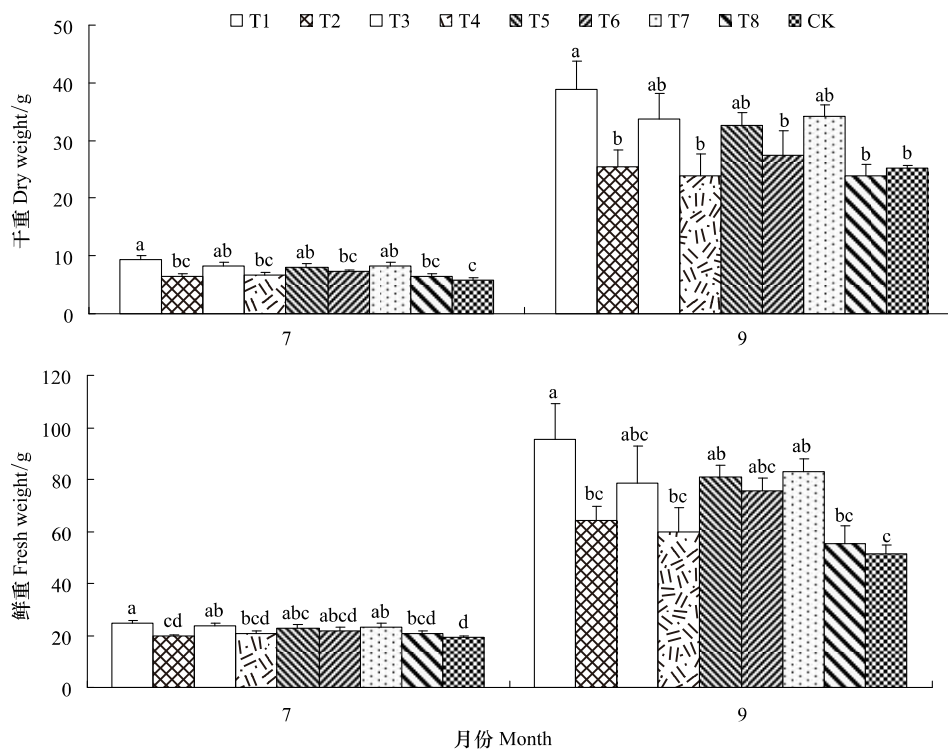


图 1 发酵流体和堆肥对平邑甜茶干鲜重的影响

Fig.1 Effect of Fermentative liquid and Compost on dry and fresh weight of Seedling of *Malus hupehensis* Rehd. under replant

图中的不同字母表示经多重比较检验在 $\alpha = 0.05$ 水平上达到显著性水平

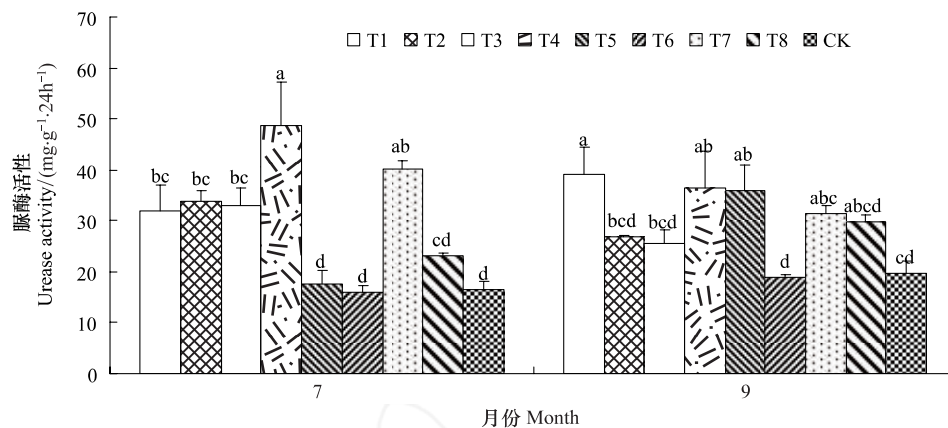


图 2 发酵流体和堆肥对连作土壤脲酶活性的影响

Fig.2 Effect of Fermentative liquid and Compost on urease activity of the soil under replant

猪粪和鸡粪的两种处理间差异显著,猪粪流体处理最高,为 CK 的 3.52 倍,鸡粪流体次之,为 CK 的 2.06 倍。

如图 4 可以看出,在 7 月份,除 T4 外其他处理连作土壤蔗糖酶活性均低于 CK,发酵流体和堆肥两种处理相比,除 T7>T8 外,其他发酵流体处理酶活性均低于其堆肥处理,鸡粪的两种形态处理间差异性显著,鸡粪堆肥处理土壤蔗糖酶活性最高为 CK 的 1.05 倍。在 9 月份,除 T2、T7 外,其他处理均低于 CK,两种有机物料处理相比较除 T1<T2 外,其他发酵流体处理均高于其堆肥处理,猪粪、鸡粪和混合的发酵流体和堆肥处理差异性显著,猪粪堆肥处理土壤蔗糖酶活性最高为 $1.90 \text{ mg g}^{-1} 24\text{h}^{-1}$ 。

2.3 发酵流体和堆肥对连作土壤微生物数量的影响

如图 5 所示,在 7 月份各处理细菌数量均高于对照,发酵流体处理与堆肥处理相比较,各流体处理的土壤

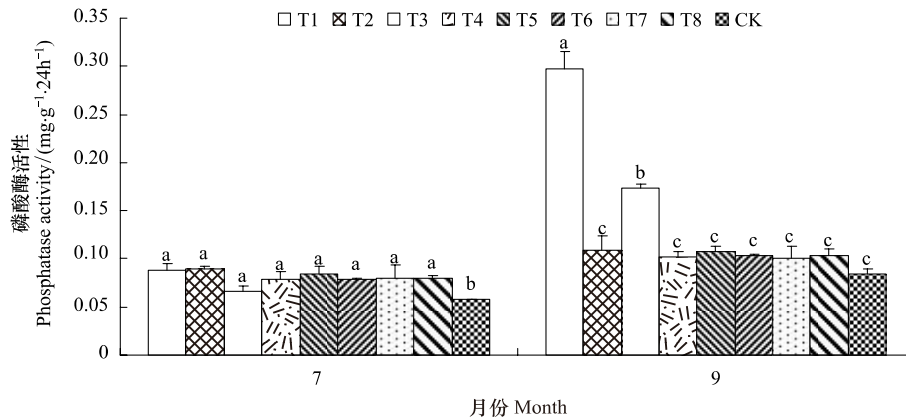


图3 发酵流体和堆肥对连作土壤磷酸酶活性的影响

Fig.3 Effect of Fermentative liquid and Compost on phosphatase activity of the soil under replant

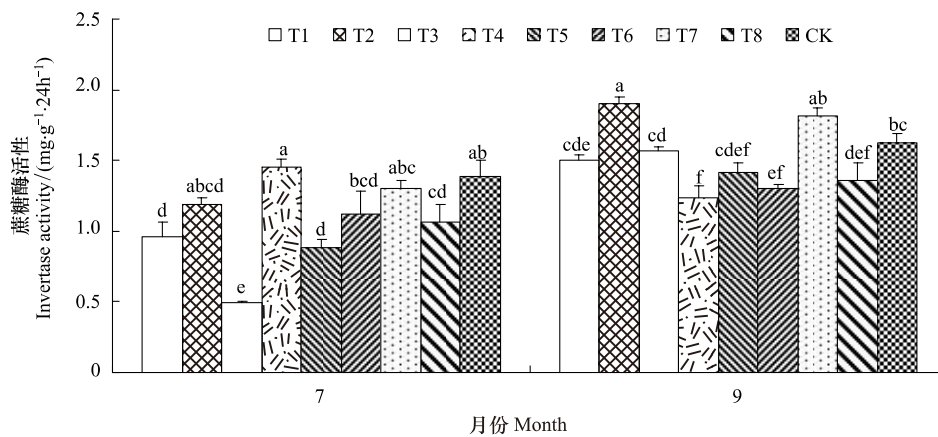


图4 发酵流体和堆肥对连作土壤蔗糖酶活性的影响

Fig.4 Effect of Fermentative liquid and Compost on invertase activity of the soil under replant

细菌数量高于相应的堆肥处理,混合发酵流体处理土壤细菌数量最高为CK的1.75倍。在9月份,除T6和T8处理的土壤细菌数量与CK无显著性差异外,其他处理均高于对照,发酵流体处理与其堆肥相比较,流体处理的土壤细菌数量高于相应的堆肥处理,羊粪发酵流体处理土壤细菌数量最高为CK的2.95倍。

如图6所示,在7月份,各处理土壤真菌数量均高于对照,发酵流体处理与其堆肥处理相比较,猪粪和鸡粪的流体处理的土壤真菌数量高于其相应堆肥处理,而羊粪和混合处理的结果正好相反,羊粪堆肥处理土壤真菌数量最高为CK的2.23倍,到了9月份,除混合处理外,猪粪、鸡粪和羊粪3种流体处理的土壤真菌数量均低于其相应的堆肥处理,混合流体处理土壤真菌数量最高为CK的2.11倍。

如图7所示,在7月份各处理放线菌数量均高于对照,发酵流体处理与其堆肥处理相比较,流体处理的土壤放线菌数量均高于其相对应的堆肥处理,混合发酵流体处理土壤放线菌数量最高为CK的1.73倍。在9月份,除猪粪处理外,鸡粪、羊粪和混合3种流体处理的土壤放线菌数量均高于其相应的堆肥处理,羊粪发酵流体处理土壤放线菌数量最高为CK的2.37倍。

2.4 发酵流体和堆肥对连作条件下土壤有机质的影响

如图8所示,在7月份,T5处理土壤有机质含量低于CK,其他各处理高于CK,发酵流体和堆肥相比较,T3<T4、T5<T6、T7<T8。在9月份,T3处理土壤有机质含量低于CK,其余处理高于CK,发酵流体和堆肥相比较,T1>T2、T5>T6。从7月份与9月份相比较来看,发酵流体处理的土壤有机质含量增加量要高于堆肥处理,分别为T1增加量1.01 g/kg>T2增加量0.21 g/kg, T5增加量2.42 g/kg>T6增加量0.40 g/kg, T7增加量

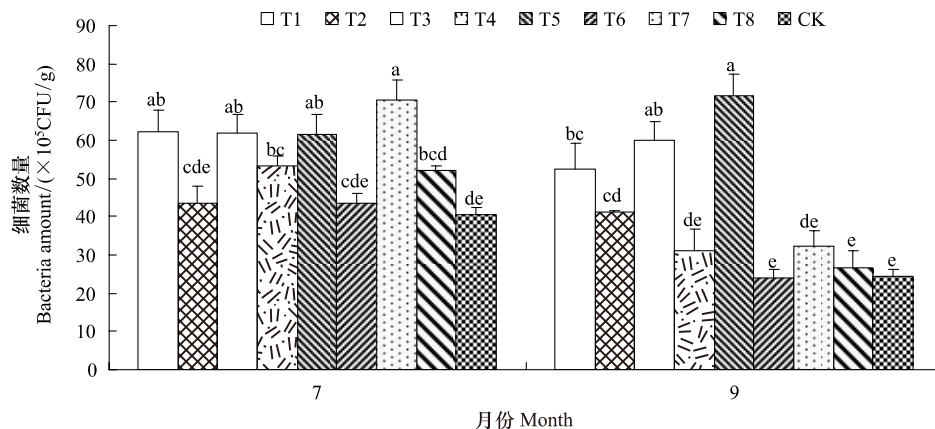


图 5 发酵流体和堆肥对连作土壤细菌的影响

Fig.5 Effect of Fermentative liquid and Compost on bacteria of the soil under replant

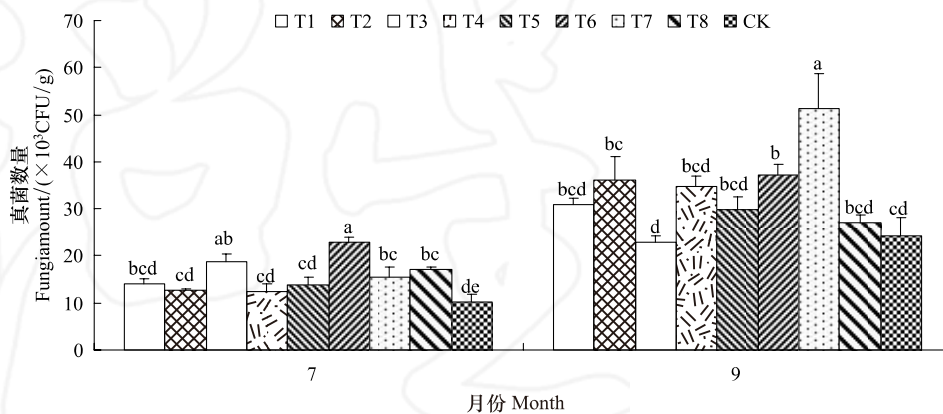


图 6 发酵流体和堆肥对连作土壤真菌的影响

Fig.6 Effect of Fermentative liquid and Compost on fungi of the soil under replant

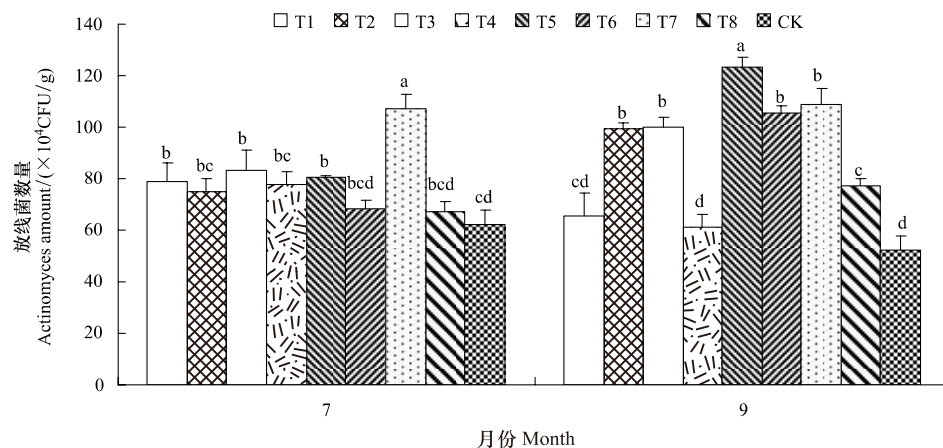


图 7 发酵流体和堆肥对连作土壤放线菌的影响

Fig.7 Effect of Fermentative liquid and Compost on Actinobacteria of the soil under replant

1.01 g/kg>T8 增加量 0.20 g/kg。

2.5 发酵流体和堆肥对连作条件下土壤对土壤酚酸含量的影响

如表 3 中,测定不同有机物料的发酵流体和堆肥处理的土壤中对羟基苯甲酸、丁香酸、香草醛、香豆酸、阿

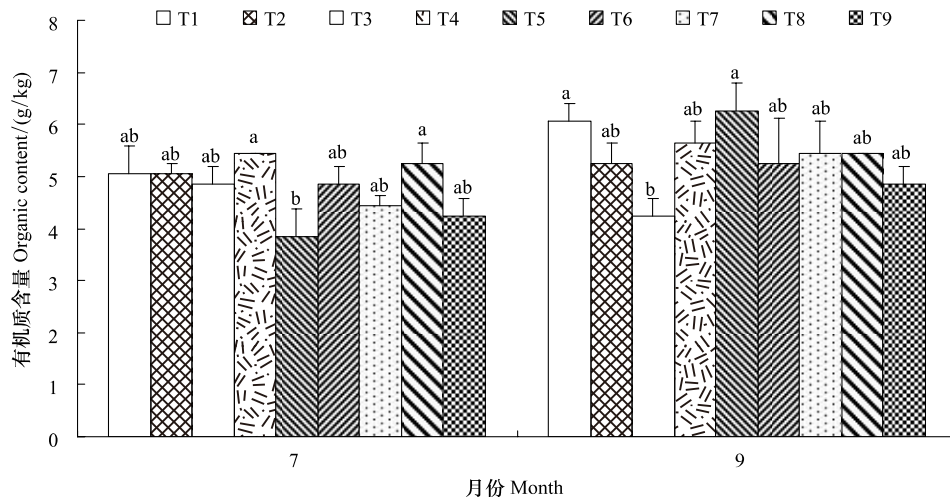


图 8 发酵流体和堆肥对连作土壤有机质含量的影响

Fig.8 Effect of Fermentative liquid and Compost on replant soil organic content

魏酸、苯甲酸、根皮苷、肉桂酸、柚皮素、根皮素 10 种酚酸类物质的含量,7 月份和 9 月份相比较,酚酸种类数量增加,猪粪流体、猪粪堆肥和鸡粪发酵流体处理酚酸总含量降低,下降比例分别为 43.66%、55.84% 和 46.40%,鸡粪堆肥、羊粪和混合处理酚酸总含量有所升高。对 7 月份和 9 月份的各种酚酸类物质进行比较后发现,对羟基苯甲酸在 T5、T8 和 CK3 个处理中有所升高,其他处理都降低;丁香酸在 T1、T4、T7 和 CK 4 个处理中升高,其他处理均降低;香草醛在 T1、T5、T7 和 CK 4 个处理中升高,其他处理均降低;香豆酸在 T3、T5 和 CK 3 个处理中升高,其他处理均降低;阿魏酸在 T5、T7 和 CK 3 个处理中升高,其他处理均降低;苯甲酸在 T5 和 CK 处理中升高,其他处理均降低;根皮苷在 T2 处理中降低,其他处理中均有所升高;肉桂酸在 T2 和 T3 处理中含量降低,其他处理中均升高;柚皮素在 T2、T5、T6、T8 和 CK 5 个处理中含量均升高,在其他处理中均降低;根皮素在 T2 和 T4 两个处理中含量均降低,在其他处理中含量均升高。发酵流体和堆肥相比猪粪和鸡粪的发酵流体处理的土壤酚酸含量比堆肥处理低,而羊粪和混合的发酵流体处理的土壤酚酸含量比堆肥要高。由上图可知,CK 处理中所有酚酸类物质均有所升高,而在发酵流体和堆肥的处理中不用处理对酚酸类物质含量影响不同。

3 讨论

已有研究表明,发酵流体和堆肥可以增加作物对养分的吸收,促进作物的生长。施用有机物料发酵流体可使植物产量增加^[13]。本实验在施用发酵流体和堆肥后,平邑甜茶幼苗生物量均呈现增长趋势,其中猪粪流体处理效果最明显。

土壤有机质和土壤酶活性是表征土壤质量和土壤肥力的两个重要指标,其中土壤有机质又是评价土壤质量动态变化的重要指标^[14]。从本实验的结果看,连作土壤中施入不同有机物料的发酵流体和堆肥后,土壤有机质含量均升高,有研究表明许多土壤酶活性与土壤有机质含量存在一定的正相关关系,可用来预测某些营养物质的转化情况以及土壤肥力的演变趋势^[15]。脲酶是土壤中最活跃的水解酶类之一,能水解施入土壤中的尿素,释放出供作物利用的铵离子,脲酶的活性与土壤有机物质含量、氮的供给与利用情况、土壤微生物量和其它养分含量相关^[16-17]。本试验中脲酶活性升高,其原因可能是土壤有机质为微生物的生长提供更易利用的碳源、氮源等营养物质,促进了微生物的生长,增加了某些土壤微生物的群体数量^[18],而微生物数量的增加及其生长速率的增大可有效地促进脲酶的活性,这是因为微生物细胞的增殖和裂解可释放出脲酶,增

表 3 发酵流体和堆肥对连作土壤酚酸含量的影响
Table 3 Effect of Fermentative liquid and Compost on replant soil phenolic acid

取样月份 Month of sampling	处理 Treatment	对羟基苯甲酸 P-Hydroxybenzoic Acid/ (μg/g)	丁香酸 Syringic Acid/ (μg/g)	香草醛 Vanillin/ (μg/g)	香豆酸 Coumaric Acid/ (μg/g)	阿魏酸 Ferulic Acid/ (μg/g)	苯甲酸 Benzoic Acid/ (μg/g)	根皮昔 Phlorizin/ (μg/g)	肉桂酸 Cinnamic Acid/ (μg/g)	柚皮素 Naringenin/ (μg/g)	根皮素 Phloretin/ (μg/g)	酚酸总量 Phenolic Acid/ (μg/g)
7	T1	2.275±0.041de	0.389±0.002c	6.878b±0.068c	2.022±0.019b	1.509±0.009a	22.517±0.578b	6.703±2.708a	0.716±0.013de	0.718±0.0066ab	1.930±0.208b	45.657
	T2	4.111±0.002a	0.522±0.001a	8.913±0.009a	2.977±0.008a	1.123±0.002bc	14.097±0.362d	6.456±0.100a	1.528±0.009a	-	7.324±1.071a	47.051
	T3	2.464±0.013cd	0.492±0.005ab	6.960±0.032bc	1.710±0.006bc	1.182±0.002ab	25.000±1.508a	1.972±0.088b	0.770±0.007e	0.823±0.032ab	-	41.373
	T4	3.553±0.014ab	0.405±0.002bc	7.738±0.046ab	2.125±0.011b	1.220±0.013ab	17.390±0.878c	2.833±0.375b	1.403±0.010ab	0.471±0.105b	2.378±0.927b	39.516
	T5	2.532±0.009cd	0.270±0.001d	6.267±0.001e	1.479±0.002e	0.448±0.002e	-	1.456±0.027b	1.019±0.003cd	-	-	13.471
	T6	3.066±0.023bc	0.362±0.003cd	7.449±0.071bc	2.088±0.031b	0.894±0.024bcd	11.758±0.174e	1.834±0.205b	1.526±0.017a	-	-	28.977
	T7	2.770±0.009cd	0.327±0.004cd	6.393±0.021c	1.765±0.003bc	0.677±0.011de	14.051±0.620d	2.296±0.186b	1.148±0.007bc	1.071±0.310a	1.123±0.150bc	31.621
	T8	2.637±0.011cd	0.329±0.003cd	7.198±0.008bc	2.046±0.014b	0.815±0.006cd	15.367±0.181d	2.047±0.071b	1.128±0.003bc	0.584±0.237b	-	32.151
9	CK	1.702±0.033e	0.282±0.003d	4.781±0.034d	1.607±0.025bc	0.559±0.011de	4.738±0.408f	2.231±0.351b	0.693±0.010e	0.402±0.012bc	1.206±0.195bc	18.201
	T1	2.193±0.035ab	0.406±0.007a	7.190±0.029ab	2.021±0.162ab	0.674±0.005ab	-	9.698±0.913bc	1.060±0.104ab	-	2.483±0.419ab	25.725
	T2	2.326±0.012ab	0.345±0.005a	5.996±0.046b	1.994±0.171ab	0.595±0.012b	4.650±0.421c	3.428±0.268c	1.075±0.066ab	0.368±0.100ab	-	20.777
	T3	2.194±0.014ab	0.394±0.013a	6.078±0.090b	1.739±0.262ab	0.509±0.007b	4.819±0.383c	2.485±0.497c	0.752±0.307b	0.655±0.138ab	2.552±0.432ab	22.177
	T4	2.546±0.012ab	0.441±0.013a	7.076±0.093ab	1.844±0.103ab	0.763±0.010ab	9.267±0.773a	14.331±3.273b	1.439±0.192ab	0.875±0.142ab	1.069±0.413b	39.651
	T5	3.007±0.020a	0.445±0.015a	8.407±0.043a	2.185±0.076a	0.908±0.008a	9.375±0.686a	31.610±1.971a	2.083±0.092ab	0.481±0.173ab	2.713±0.541ab	61.214
	T6	2.605±0.043ab	0.269±0.007a	6.546±0.103ab	1.851±0.326ab	0.661±0.016ab	7.829±0.256b	30.992±1.440a	1.698±0.133ab	1.775±0.854ab	2.849±0.395ab	57.075
	T7	1.770±0.009b	0.357±0.008a	6.468±0.026ab	1.659±0.087ab	0.739±0.005ab	7.367±0.259b	33.614±5.034a	2.798±1.572a	3.401±2.560a	6.411±3.749a	64.584
CK	T8	3.001±0.068a	0.252±0.008a	6.086±0.038b	1.348±0.365b	0.595±0.010b	7.141±0.485b	13.465±2.762b	1.423±0.232ab	0.550±0.054ab	3.029±0.755ab	36.89
	CK	2.499±0.014ab	0.305±0.002a	6.050±0.007b	1.660±0.049ab	0.622±0.001ab	6.937±0.134b	34.820±1.662a	1.263±0.028ab	0.655±0.150ab	2.515±0.021ab	57.326

加土壤中脲酶的含量,这也是土壤脲酶的主要来源^[10]。并且土壤中有有机质是脲酶的重要载体,它们能为脲酶发挥作用提供场所^[17]。刘建玲^[19]等研究表明,土壤磷酸酶活性同土壤有机质含量呈极显著正相关,可以表征土壤的磷素营养状况,本试验中磷酸酶结果与其基本一致。土壤蔗糖酶是与土壤中有有机碳转化有关的酶类之一,其活性大小可以间接地表征土壤中有有机碳的转化情况^[20]。隋跃宇^[21]等研究表明,土壤有机质含量越高,可以维持土壤蔗糖酶保持较高的酶活性水平,本试验结果中从7月到9月各处理有机质含量增加,土壤蔗糖酶活性提高。

土壤微生物在土壤的物质转化和能流中起着重要作用。它参与土壤中有有机物质的分解和腐殖质的形成、分解过程,养分转化和循环以及各生化过程^[22]。有机肥的施入不仅改善了土壤的理化性质同时也为也为微生物的生长提供了良好的环境条件和能源^[23]。从本实验结果可以看出,在施入两种形态的有机物料后,连作土壤中的微生物数量发生很大的变化,土壤中的细菌、真菌和放线菌数量增加,随着时间的推移各处理间的差异也越加明显,细菌/真菌比值的增加,有利于调高土壤肥力^[24],从本试验的细菌/真菌比值中可以看出从7月份到9月份的发酵流体各处理的结果要大于堆肥的各处理结果,土壤微生物菌群结构也逐渐从“真菌型”向“细菌型”转化,7月份羊粪发酵流体处理土壤的细菌/真菌比值最高为4.49,9月份鸡粪发酵流体处理土壤的细菌/真菌比值最高为2.61。从试验结果中可以看出发酵流体对土壤微生物的影响比堆肥明显,原因可能是在温度相同的情况下,发酵流体处理提供了比较湿润的环境更有利于微生物的繁殖。

酚酸化合物通过植物残体分解、根系分泌等途径进入土壤,可直接影响作物根系细胞膜的特性,或者通过改变土壤微生物类群等,进而对作物生育和代谢产生抑制作用,是使作物产生连作障碍的重要因素之一^[25-28]。有些研究表明,林木连栽、作物连作都会使土壤中的酚类物质逐年增加^[29],酚类物质的积累在导致连栽林木和连作作物减产方面起到一定的作用^[30]。马云华等^[31]发现,伴随连作年限的增加,日光温室黄瓜连作土壤中酚酸类物质(对羟基苯甲酸、阿魏酸、苯甲酸)明显积累,连作5—9a的土壤酚酸类物质含量显著高于连作1—3a的土壤。而添加有机物料后,可能由于其中携带大量微生物的作用,改善了土壤中的微生物群落结构,进而影响了连作植物的根系分泌物,降低了与连作障碍中自毒物质酚酸的含量^[32-33]。土壤微生物是土壤有机物转化的执行者,对调节化感物质的化感效应具有关键性的作用^[34],其中土壤酚酸类物质的分解消除主要就是依赖土壤中异养微生物的大量繁殖,而异养微生物的增殖又依赖于土壤碳源和能源的供应,能源和碳源不足将导致微生物初生代谢过程转化为次生代谢,加剧酚酸物质的积累^[35];另外由于土壤微生物对不同酚酸的分解利用程度不相同,有些酚酸物质在单一微生物作用下就可以分解,而另一些酚酸类物质则需要多种微生物的共同作用才能分解^[36]。不同的土壤环境具有不同区系的微生物,一些细菌以酚酸类物质作为专一性能源物质进行自身繁殖^[37],本试验中发酵流体和堆肥两种有机物料处理的连作土壤中微生物数量明显升高,酚酸总量从表3中可以看出猪粪和鸡粪的处理明显降低,而羊粪和混合处理却升高,可能与羊平时以植物为食物有关系。通过酚酸类各物质的含量变化中可以看出,CK处理中各酚酸类物质含量均升高,而其他处理中各酚酸类物质含量变化升降不一,可能是由于各处理的土壤中微生物区系不同所造成的,微生物对酚酸类物质的特性降解还有待进一步的研究。

4 结论

发酵流体和堆肥的施入均增加了平邑甜茶幼苗的生物量,提高了土壤酶活性,增加了土壤微生物数量,提高了细菌和真菌的比值,使土壤微生物菌落结构向“细菌型”转化。从整体效果来看,发酵流体处理比堆肥明显,其中猪粪发酵流体比其他3种流体效果明显。对于土壤酚酸含量的影响,各处理都不同程度地降低了土壤中酚酸类物质的含量。

参考文献(References):

- [1] 张福峥,倪士亭,于秀水,徐秀良. 苹果重茬病及其防治技术. 中国果菜, 2003, (2): 22-22.
- [2] 计钟程,许文芝. 重茬大豆减产与土壤环境变化. 大豆科学, 1995, 14(4): 321-329.

- [3] 吕卫光, 张春兰, 袁飞, 彭宇. 有机肥减轻连作黄瓜自毒作用的机制. 上海农业学报, 2002, 18(2): 52-56.
- [4] 吕卫光, 杨广超, 沈其荣, 张春兰, 诸海焘, 余廷园. 有机肥对连作西瓜生长和土壤微生物区系的影响. 上海农学报, 2006, 22(4): 96-98.
- [5] 喻景权, 杜尧舜. 蔬菜设施栽培可持续发展中的连作障碍问题. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(1): 124-126.
- [6] Brown M W, Tworokski T. Pest management benefits of compost mulch in apple orchards. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2004, 103(3): 465-472.
- [7] 郝鲜俊, 洪坚平, 乔志伟. 沼液对甘蓝连作土壤生物学性质的影响. 应用与环境生物学报, 2011, 17(3): 384-387.
- [8] 孙海兵, 胡艳丽, 陈学森, 毛志泉. 发酵时间对有机物料发酵流体成分含量变化及对连作苹果生物量的影响. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(6): 1469-1474.
- [9] 尹承苗, 陈学森, 沈向, 张兆波, 孙海兵, 毛志泉. 不同浓度有机物料发酵流体对连作苹果幼树生物量及土壤环境的影响. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(6): 1450-1458.
- [10] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986: 274-340.
- [11] 程丽娟, 薛泉宏. 微生物学实验技术. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- [12] 鲍士旦. 土壤理化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 34-105.
- [13] 赵会纳, 雷波, 陈懿, 潘文杰, 宗学风. 沼液对烟苗生长及生理特征的影响. 中国烟草科学, 2011, 32(5): 87-91.
- [14] Wienhold B J, Andrews S S, Karlen D L. Soil quality: a review of the science and experiences in the USA. *Environmental Geochemistry and Health*, 2004, 26(2): 89-95.
- [15] 吴凤芝, 赵凤艳, 谷思玉. 保护地黄瓜连作对土壤生物化学性质的影响. 农业系统科学与综合研究, 2002, 18(1): 20-22.
- [16] 尤彩霞, 陈清, 任华中, 郝洁, 林志超, 袁承前. 不同有机肥及有机无机配施对日光温室黄瓜土壤酶活性的影响. 土壤学报, 2006, 43(3): 521-523.
- [17] 李东坡, 武志杰, 陈利军, 杨杰, 朱平, 任军, 彭畅, 高红军. 长期培肥黑土脲酶活性动态变化及其影响因素. 应用生态学报, 2003, 14(12): 2208-2212.
- [18] 申进文, 沈阿林, 张玉亭, 霍云凤. 平菇栽培废料等有机肥对土壤活性有机质和土壤酶活性的影响. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(4): 631-636.
- [19] 刘建玲, 廖文华, 王新军, 贾可, 孟娜. 大量施用磷肥和有机肥对白菜产量和土壤磷积累的影响. 中国农业科学, 2006, 39(10): 2147-2153.
- [20] 倪进治, 徐建民, 谢正苗, 唐才贤. 不同有机肥料对土壤生物活性有机质组分的动态影响. 植物营养与肥料学报, 2001, 7(4): 374-378.
- [21] 隋跃宇, 焦晓光, 高崇生, 程伟, 张兴义, 刘晓冰. 土壤有机质含量与土壤微生物量及土壤酶活性关系的研究. 土壤通报, 2009, 40(5): 1036-1039.
- [22] 杨劲峰, 韩晓日, 阴红彬, 战秀梅, 刘小虎. 不同施肥条件对玉米生长季耕层土壤微生物量碳的影响. 中国农学通报, 2006, 22(1): 173-175.
- [23] Deboz K, Rasmussen P H, Pedersen A R. Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effect of organic matter input. *Applied Soil Ecology*, 1999, 13(3): 209-218.
- [24] 刘军, 唐志敏, 刘建国, 张东升, 刘萍, 蒋桂英. 长期连作及秸秆还田对棉田土壤微生物量及种群结构的影响. 生态环境学报, 2012, 21(8): 1418-1422.
- [25] 杜英君, 靳月华. 连作大豆植株化感作用的模拟研究. 应用生态学报, 1999, 10(2): 209-212.
- [26] 吕卫光, 张春兰, 袁飞, 彭宇. 化感物质抑制连作黄瓜生长的作用机理. 中国农业科学, 2002, 35(1): 106-109.
- [27] 吴凤芝, 黄彩虹, 赵凤艳. 酚酸类物质对黄瓜幼苗生长及保护酶活性的影响. 中国农业科学, 2002, 35(7): 821-825.
- [28] 张淑香, 高子勤. 连作障碍与根际微生态研究 II. 根系分泌物与酚酸物质. 应用生态学报, 2000, 11(1): 152-156.
- [29] 朱林, 张春兰, 沈其荣, 袁飞, 彭宇. 稻草等有机物料腐解过程中酚酸类化合物的动态变化. 土壤学报, 2001, 38(4): 471-475.
- [30] 林开敏, 叶发茂, 林艳, 李卿叁. 酚类物质对土壤和植物的作用机制研究进展. 中国生态农业学报, 2010, 18(5): 1130-1137.
- [31] 马云华, 王秀峰, 魏珉, 亓延凤, 李天来. 黄瓜连作土壤酚酸类物质积累对土壤微生物和酶活性的影响. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2149-2153.
- [32] 杨宇虹, 陈冬梅, 晋艳, 王海斌, 段玉琪, 郭徐魁, 何海斌, 林文雄. 不同肥料种类对连作烟草根际土壤微生物功能多样性的影响. 作物学报, 2011, 37(1): 105-111.
- [33] 张淑香, 高子勤, 刘海铃. 连作障碍与根际微生态研究 III. 土壤酚酸物质及其生物学效应. 应用生态学报, 2000, 20(5): 741-744.
- [34] Weidenhamer J D, Romeo J T. Allelochemicals of *Polygonella myriophylla*: chemistry and soil degradation. *Journal of Chemical Ecology*, 2004, 30(5): 1067-1082.
- [35] 何光训. 杉木连栽林地土壤酚类物质降解受阻的内外因. 浙江林学院学报, 1995, 12(4): 434-439.
- [36] 谭秀梅, 王华田, 孔令刚, 王延平. 杨树人工林连作土壤中酚酸积累规律及对土壤微生物的影响. 山东大学学报: 理学版, 2008, 43(1): 14-19.
- [37] Inderjit. Soil microorganisms: an important determinant of allelopathic activity. *Plant and Soil*, 2005, 274(1/2): 227-236.