

# 微生物肥料对呼伦贝尔打孔羊草草甸草原土壤微生物及酶活性的影响研究

闫瑞瑞<sup>1</sup>, 卫智军<sup>2</sup>, 乌仁其其格<sup>3</sup>, 陈金强<sup>1</sup>, 代景忠<sup>2</sup>, 姚静<sup>1</sup>,  
白玉婷<sup>2</sup>, 辛晓平<sup>1\*</sup>

1. 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所/呼伦贝尔草原生态系统国家野外科学观测研究站, 北京 100081;

2. 内蒙古农业大学草原与资源环境学院, 内蒙古 呼和浩特 010019; 3. 呼伦贝尔学院生命科学与化学学院, 内蒙古 海拉尔 021008

**摘要:**以呼伦贝尔退化羊草 (*Leymus chinensis*) 草甸草原割草场为研究对象, 研究在打孔羊草草甸草原施加不同微生物肥料处理下土壤养分、微生物量碳氮和酶活性的变化及影响土壤微生物量碳氮和酶活性的关键土壤因子, 旨在为退化羊草草甸草原生态系统的改良、恢复及合理利用提供科学依据。结果表明, (1) 水分正常年份, 土壤中全碳和全氮含量最高值均出现在腐殖酸+微生物菌剂 (F+J) 处理, 分别比对照 (CK) 提高 1.84%~18.53%、1.24%~31.67%, 其他不同处理土壤养分无显著差异。(2) 土壤生物活性与土壤水热状况密切相关, 在雨水正常的 2014 年, 土壤微生物量碳、氮含量最高值分别出现在 F+J 和海藻酸+微生物菌剂 (H+J) 处理, 分别比 CK 提高 36.52%和 28.56%; 在降水较少、气候干燥的 2015 年, 土壤微生物量碳、氮含量最高值分别出现在海藻酸 (H) 和糖蜜发酵 (T), 分别比 CK 提高 9.86%和 15.02%; (3) 打孔+施微肥短期效应能够影响土壤蔗糖酶和过氧化氢酶, 2014 年土壤蔗糖酶表现为 H+J 和 F+J 显著高于其他处理, 较 CK 分别提高了 10.68%和 10.12%, 2015 年不同打孔与施微生物肥料处理比 CK 提高 4.72%~9.84%, 且腐殖酸 (F)、H、T 以及 F+J 处理显著高于 CK; 2015 年土壤过氧化氢酶表现为 F 和 F+J 显著高于 CK, 提高了 2.50%。(4) 土壤全碳, 速效钾、速效氮, 电导率分别为土壤蔗糖酶, 脲酶, 过氧化氢酶的关键影响因子, 土壤全磷、速效磷为土壤微生物量的关键影响因子。综合分析表明, 施入复合微生物肥料与微生物菌剂有助于提高呼伦贝尔打孔羊草草甸草原土壤微生物量碳氮含量和土壤酶活性, 有利于改善草原土壤生物化学肥力状况。

**关键词:** 羊草草甸草原; 打孔; 微生物肥料; 土壤肥力; 土壤微生物; 土壤酶活性

**DOI:** 10.16258/j.cnki.1674-5906.2017.04.008

**中图分类号:** S812.29; X17

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1674-5906 (2017) 04-0597-08

**引用格式:** 闫瑞瑞, 卫智军, 乌仁其其格, 陈金强, 代景忠, 姚静, 白玉婷, 辛晓平. 2017. 微生物肥料对呼伦贝尔打孔羊草草甸草原土壤微生物及酶活性的影响研究[J]. 生态环境学报, 26(4): 597-604.

YAN Ruirui, WEI Zhijun, WUREN Qiqige, CHEN Jinqiang, DAI Jingzhong, YAO Jing, BAI Yuting, XIN Xiaoping. 2017. Effect of combined microbial fertilizer on soil microorganism and enzyme activity in the Hulunber Punching *Leymus chinensis* meadow steppe [J]. Ecology and Environmental Sciences, 26(4): 597-604.

中国天然草地改良技术研究起步较晚, 目前主要集中在对草地土壤改良及地表植被恢复上 (张丽丽等, 2012), 主要包括松土、补播、切根和施肥等技术, 应用于草地可不同程度提高草地植物多样性和生产力 (乌仁其其格等, 2011; 尤泳等, 2008; 武霞等, 2007)。对退化天然草场来说, 打孔疏松是有效的改良方式之一, 其通过对植物根际土壤进行钻孔以改良土壤透气状况, 同时疏松土壤能促进其有机物分解, 增加植物根系对土壤养分的吸收,

有利于枯草层的进一步分解 (宋桂龙, 2003)。土壤微生物活性对枯草层的 pH 变化十分敏感, 因此打孔间接影响着微生物酶的活性。相关研究发现, 打孔对内蒙古牙克石地区草地具有良好的改善作用且短期内改善了土壤微生物的环境, 使得微生物活性增强 (刘劲松, 2003; 刘晓波等, 2013; 李志强等, 2000)。但是目前, 打孔技术大多被用于草坪的改善和维护上, 在草地生态学领域比较罕见。施肥是维持草原生态系统养分平衡的重要管理措

**基金项目:** 公益性行业 (农业) 科研专项 (201303060); 国家重点研发计划项目 (2016YFC0500601); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项 (1610132016033; 1610132016027); 现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-35-11)

**作者简介:** 闫瑞瑞 (1979 年生), 女, 副研究员, 博士, 从事草地生态、碳氮循环和温室气体排放方面的研究。E-mail: yanrui19790108@163.com

\*通信作者。E-mail: xinxp@sina.com

**收稿日期:** 2017-03-04

施。合理施肥可提高牧草产量和品质 (Roem et al., 2000; Gusewell, 2004), 改变土壤 pH 值等, 从而影响土壤微生物活性和养分转化过程 (Vourlitis et al., 2007; Zeglin et al., 2007)。但是, 化学肥料的过量使用导致土地板结、土壤养分比例失调和质量下降等问题出现 (赵秉强等, 2004)。因此, 寻找能替代或部分替代化肥的新肥源 (尤其是微生物菌肥) 倍受关注 (关松荫, 1986)。微生物肥料因具有改良土壤、增加产量、提高品质且改善环境等特点而成为研究的热点 (葛诚, 2000)。中国微生物肥料的应用范围从最初的豆科植物到粮食农作物再到现在的蔬菜、烟草、花卉等经济及观赏植物, 在农业生产中占据重要的位置 (刘鹏等, 2013), 然而, 目前较少将其应用到天然草原生态系统植被和土壤改善中 (权国玲等, 2016)。

呼伦贝尔羊草 (*Leymus chinensis*) 草甸草原是中国主要草地类型之一, 由于长期割草和放牧利用, 系统养分大量输出, 导致草原普遍存在严重的退化现象 (Jun et al., 2007)。草地的退化包括植被的退化和土壤的退化, 两者具有相互反馈和放大的作用, 其实质和核心是草地土壤的退化。改善草原土壤生物化学肥力状况, 提高草原土壤生态系统功能稳定性, 恢复和提高草原生产力成为该地区草原畜牧业发展中亟须解决的问题。土壤微生物是草地生态系统的重要组成部分, 具有巨大的生物化学活性, 在物质转化和能量流动过程中起主导作用 (Clark et al., 1970)。土壤酶主要来源于土壤微生物的分泌物、植物根系分泌物和动植物残体腐解过程中释放的酶, 是土壤一切生物化学过程的重要参与者, 是土壤生态系统中最活跃的组分之一 (关松荫, 1986)。土壤微生物及酶活性通过参与土壤养分转化进而对土壤肥力产生重要影响, 被认为是评

价土壤肥力的重要生物学指标 (关松荫, 1986)。因此, 本研究采用施加复合微生物肥料的方法, 以呼伦贝尔打孔羊草草原为研究对象, 探讨打孔+施复合微生物肥料对内蒙古草原土壤理化性质、土壤微生物量和土壤酶活性的变化, 加深对草地退化过程和机理的认识, 为天然草地的改良恢复和管理利用提供土壤生物学方面的基础资料和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域自然概况

试验地位于内蒙古自治区呼伦贝尔市海拉尔行政区境内的谢尔塔拉, 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所呼伦贝尔草原生态系统国家野外科学观测研究站附近, 北纬  $N49^{\circ}37.051'$ 、东经  $119^{\circ}99.219'$ , 海拔 627~635 m。该地区属于中温带半干旱大陆性气候, 年平均降水量为 350 mm, 多集中在 7—9 月且变率较大。年均气温为  $-2.4^{\circ}\text{C}$ , 最高、最低气温分别为  $36.17^{\circ}\text{C}$  和  $-48.5^{\circ}\text{C}$ , 年积温为  $1580\sim 1800^{\circ}\text{C}$ , 无霜期为 110 d; 海拉尔地区 2014 年、2015 年气象数据见图 1, 土壤为黑钙土或栗钙土。植被类型为羊草草甸草原, 主要建群种有羊草, 亚优势种有贝加尔针茅 (*Stipa baicalensis*)、糙隐子草 (*Cleistogenes squarrosa*) 等, 伴生种有斜茎黄芪 (*Astragalus adsurgens*)、山野豌豆 (*Vicia amoena*)、草地早熟禾 (*Poa ratensis*) 等。

### 1.2 试验设计

试验地为呼伦贝尔羊草草甸草原打草场。2013 年 7 月, 对试验样地进行植物群落和土壤养分调查。2014 年 5 月, 选择地势平坦、植被分布均匀的代表性天然打草场进行围封, 建立试验区, 试验区分布采用随机区组设计。采用机械手段在羊草割草地土壤板结层上进行打孔并施肥, 打孔深度 8 cm, 幅宽 5 cm, 打孔针为直径 20 mm 的空心打孔针, 每平方

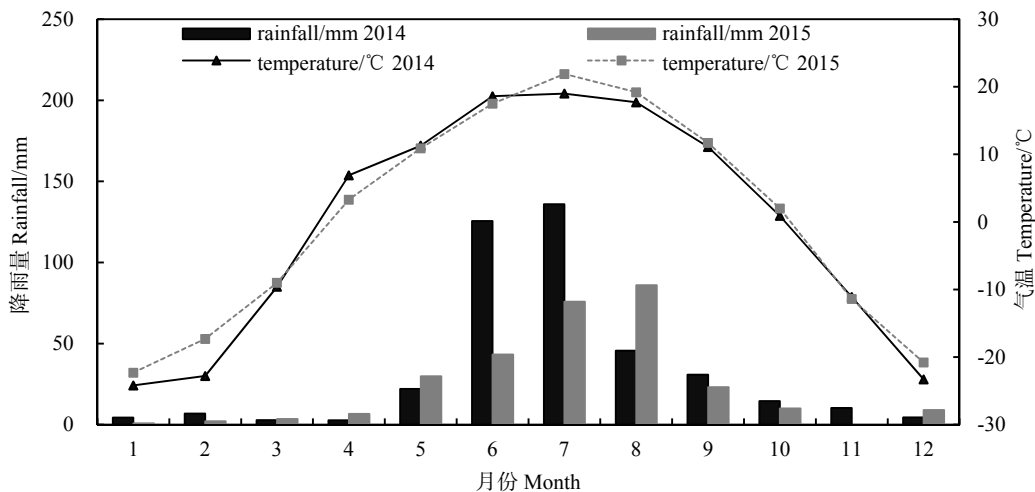


图1 实验区域气温和降水变化

Fig. 1 Monthly rainfall and temperature in 2014—2015 for the experiment plot

米打孔数为 76 个；施肥为微生物肥料和复合微生物菌剂，设置打孔+不施肥 (CK)、打孔+单施腐殖酸复合微生物肥料 (F)、打孔+海藻酸复合微生物肥料 (H)、打孔+糖蜜发酵复合微生物肥料 (T)、打孔+3 种复合微生物肥料混合施入 (F+H+T)、打孔+腐殖酸复合微生物肥料+复合微生物菌剂 (F+J)、打孔+海藻酸复合微生物肥料+复合微生物菌剂 (H+J) 等 7 个处理 (表 1)，每个处理重复 3 次，共 21 个实验小区，小区面积 30 m<sup>2</sup> (5 m×6 m)。

### 1.3 研究内容和测定方法

2014 年、2015 年 8 月初在不同处理区取 3 个点，每个点重复取样 3 次，用土钻按 0~10、10~20 分层取样，剔除根系、石块等杂物，按层混合后将样品分成 3 份：1 份风干，用于土壤养分测定；另外 2 份封闭后装入保鲜袋，于 4 ℃ 下保存，供土壤微生物量以及土壤酶活性的测定。

土壤全碳、全氮采用碳-氮元素分析仪法测定；土壤全磷采用钼锑抗比色法测定；土壤全钾采用 NaOH 熔融 2 火焰光度计法测定；土壤速效氮采用蒸馏法测定；土壤速效磷采用 0.5 mol·L<sup>-1</sup> 碳酸氢钠浸提法测定；土壤速效钾采用 NH<sub>4</sub>OAc 浸提，火焰光度法测定；土壤 pH 采用电位法测定；土壤电导率采用水土比 5 : 1 浸提，测定水溶性盐总量。

微生物量碳采用熏蒸提取-容量分析法测定；微生物量氮采用熏蒸提取-茚三酮比色法测定 (鲁如坤, 1999)；蔗糖酶采用 3, 5 二硝基水杨酸比色法

测定；脲酶采用苯酚次氯酸钠比色法测定；过氧化氢酶采用高锰酸钾容量法测定 (关松荫, 1986)；过氧化氢酶活性以 20 min 内 1 g 土壤的 0.1 N 高锰酸钾的体积 (mL) 表示 (0.02 mol·L<sup>-1</sup> KMnO<sub>4</sub>, mL·g<sup>-1</sup>·20 min<sup>-1</sup>)；蔗糖酶活性以 24 h、1 g 土壤中葡萄糖的质量 (mg) 表示 (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>, mg·g<sup>-1</sup>·24h<sup>-1</sup>)；脲酶活性以 24 h、1 g 土壤中 NH<sub>3</sub>-N 的质量 (mg) 表示 (NH<sub>3</sub>-N, mg·g<sup>-1</sup>·24h<sup>-1</sup>)。关松荫, 1986；于会泳, 2015)。

### 1.4 数据分析

所有实验数据经过 Excel 2013 整理后，采用 SPSS 21.0 软件进行统计分析。不同处理之间单个指标的差异性检验采用单因素分析法 (One-way ANOVA)，采用 Pearson 相关分析法对土壤微生物和酶活性与土壤养分之间进行相关性分析，显著性水平设为 P<0.05，极显著水平设为 P<0.01。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤养分

打孔与施微生物肥料不同处理对 0~20 cm 土层土壤养分的短期影响不显著 (表 2)。与单个打孔处理相比，施微生物肥料第 1 年，在 2014 年水分正常甚至丰沛的年份，打孔与施微生物肥料，土壤中全碳和全氮含量最高值均出现在 F+J 处理 (47.07 mg·g<sup>-1</sup>, 2.12 mg·g<sup>-1</sup>)，比单个打孔处理分别提高 1.84%~18.53%、1.24%~31.67%；电导率均有所下降，最低值出现在处理 T (52.05 μs·cm<sup>-1</sup>)，比单个打孔

表1 打孔+施微生物肥料改良试验设计和肥料用量  
Table 1 Punch+microbial fertilizer improved experimental design and fertilizer use

编号 Code	物理处理 Treatments	微生物肥料 microbial fertilizer	肥料生产公司 Production company	有效活菌数 Living bacteria count	施肥用量 Fertilizer application norm
CK	打孔 punch	无肥料 control	-	-	-
F	打孔 punch	腐殖酸 humic acid	腐殖酸(福建诏安绿洲生化有限公司“绿乌龙” Fujian Zhaoan oasis biochemical co.,LTD production of “green goal”)	有效活菌数>0.2×10 <sup>8</sup> g <sup>-1</sup> Effective number of living bacterium is>0.2×10 <sup>8</sup> g <sup>-1</sup>	75 g·m <sup>-2</sup>
H	打孔 punch	海藻酸 alginate	海藻酸(青岛明月海藻集团“五菌天王” Qingdao bright moon seaweed company production of “five bacteria pop”)	有效活菌数>0.2×10 <sup>8</sup> g <sup>-1</sup> Effective number of living bacterium is>0.2×10 <sup>8</sup> g <sup>-1</sup>	75 g·m <sup>-2</sup>
T	打孔 punch	糖蜜发酵 molasses fermentation	糖蜜发酵(辽宁三色微谷有限公司“三色原菌剂” Liaoning trichromatic valley co.,LTD production of “three color the original bacterium agent”)	有效活菌数 2.0×10 <sup>9</sup> mL <sup>-1</sup> Effective number of living bacterium is 2.0×10 <sup>9</sup> mL <sup>-1</sup>	6 mL·m <sup>-2</sup>
F+H+T	打孔 punch	腐殖酸+糖蜜发酵+海藻酸菌 humic acid+molasses fermentation+alginate	综合 3 种肥料 integrated 3 kinds of fertilizer	-	75 g·m <sup>-2</sup> +6 mL·m <sup>-2</sup> + 75 g·m <sup>-2</sup>
F+J	打孔 punch	腐殖酸+复合微生物菌剂 humic acid+compound microbail inoculant	复合微生物菌剂(北京丹路生物工程有限公司 “复合微生物菌剂” Beijing Dan road biological engineering co., LTD., production of “Compound Microbail Inoculant”)	有效活菌数>2.0×10 <sup>8</sup> g <sup>-1</sup> Effective number of living bacterium is>2.0×10 <sup>8</sup> g <sup>-1</sup>	75 g·m <sup>-2</sup> +30 g·m <sup>-2</sup>
H+J	打孔 punch	海藻酸+复合微生物菌剂 alginate+compound microbail inoculant	复合微生物菌剂(北京丹路生物工程有限公司 “复合微生物菌剂” Beijing Dan road biological engineering co., LTD., production of “Compound Microbail Inoculant”)	有效活菌数>2.0×10 <sup>8</sup> g <sup>-1</sup> Effective number of living bacterium is>2.0×10 <sup>8</sup> g <sup>-1</sup>	75 g·m <sup>-2</sup> +30 g·m <sup>-2</sup>

表2 不同施肥处理下土壤养分变化  
Table 2 Changes of soil nutrient under different treatments

年份 Year	处理 Treatments	全碳 Total C/ (mg·g <sup>-1</sup> )	全氮 Total N/ (mg·g <sup>-1</sup> )	碳/氮 C/N	全磷 Total P/ (g·kg <sup>-1</sup> )	全钾 Total K/ (g·kg <sup>-1</sup> )	速效氮 Available N/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	速效磷 Available P/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Available K/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	pH	电导率 Conductivity/ (μs·cm <sup>-1</sup> )
2014	CK	39.71 a	1.61 a	24.64 a	0.57 a	26.30 ab	136.99 ab	4.38 a	215.12 a	6.65 a	64.87 a
	F	40.44 a	1.63 a	24.77 a	0.59 a	25.87 b	136.08 ab	3.72 a	204.28 a	6.72 a	54.48 a
	T	40.33 a	1.64 a	24.65 a	0.58 a	27.53 ab	138.33 ab	3.93 a	222.66 a	6.62 a	52.05 a
	H	41.35 a	1.66 a	24.97 a	0.55 a	27.12 ab	134.75 ab	3.79 a	214.72 a	6.65 a	49.28 a
	F+T+H	45.70 a	2.07 a	22.71 a	0.54 a	28.78 ab	137.24 ab	4.38 a	195.01 a	6.63 a	54.88 a
	F+J	47.07 a	2.12 a	22.95 a	0.56 a	29.15 ab	151.41 a	4.38 a	227.40 a	6.67 a	60.12 a
	H+J	41.04 a	1.84 a	22.76 a	0.53 a	31.24 a	128.72 b	3.72 a	210.10 a	6.63 a	58.55 a
2015	CK	37.57 a	3.13 a	12.02 a	0.67 a	16.83 a	270.72 ab	7.66 ab	311.76 a	6.42 b	145.50 a
	F	37.93 a	3.14 a	12.07 a	0.71 a	14.71 a	265.69 ab	6.37 ab	313.44 a	6.47 ab	150.42 a
	T	36.03 a	3.03 a	11.90 a	0.72 a	18.47 a	266.41 ab	6.68 ab	314.98 a	6.52 ab	148.87 a
	H	37.13 a	3.04 a	12.20 a	0.71 a	14.45 a	261.55 ab	9.43 a	295.55 a	6.63 a	145.22 a
	F+T+H	38.01 a	3.16 a	11.97 a	0.84 a	12.60 a	264.68 ab	6.21 ab	308.95 a	6.37 b	140.78 a
	F+J	39.34 a	3.26 a	12.07 a	0.73 a	11.00 a	302.10 a	6.40 ab	301.69 a	6.38 b	144.03 a
	H+J	34.97 a	2.96 a	11.81 a	0.73 a	16.47 a	247.60 b	3.51 b	265.22 a	6.53 ab	152.32 a

同列不同小写字母表示不同施肥处理下差异显著 ( $P < 0.05$ )

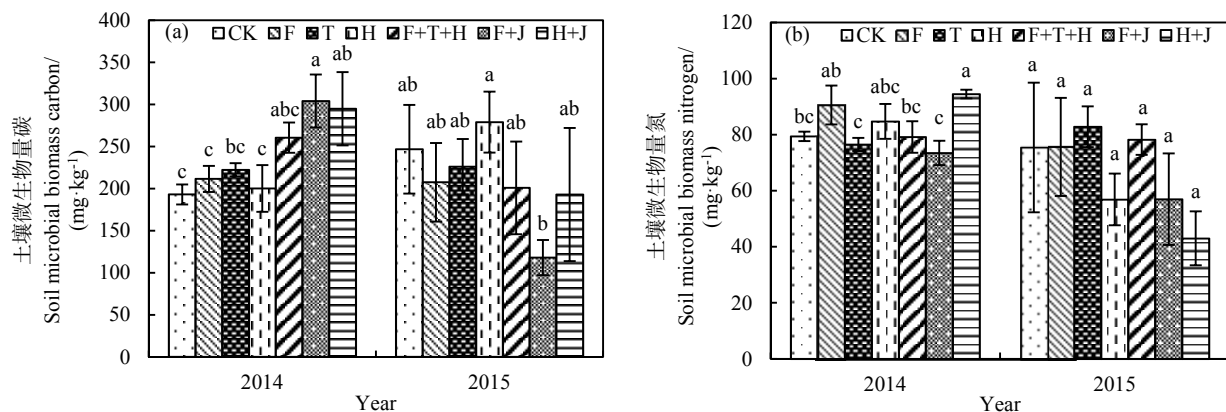
Means with different small letters in the same column are significantly different at the 0.05 level

处理下降 7.32%~24.03%；速效氮和速效钾含量最高值也出现在 F+J，较单个打孔分别提高 10.52%和 5.71%。方差分析表明，除了全钾表现为 H+J 显著高于 F ( $P < 0.05$ )，速效氮表现为 F+J 显著高于 H+J ( $P < 0.05$ ) 外，土壤养分不同处理之间均无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。施肥第 2 年，2015 年属于降水较少、气候干燥的年份，微生物肥料和菌剂没有起到明显的作用，甚至一些处理出现降低的趋势，这可能是由于土壤对微生物肥料和菌剂的吸收和转化与土壤降水相关。方差分析表明，速效氮呈现出与 2014 年相同的规律，处理 F+J 显著高于处理 H+J ( $P < 0.05$ )；速效磷表现为 H 显著高于 H+J，pH 值表现为 H 显著高于 CK、F+H+T 和 F+J，其余指标与 2014 年呈现相同的规律，不同处理之间均无显

著性差异 ( $P > 0.05$ )。然而，两年研究发现，单个施腐殖酸复合微生物肥料降低了土壤速效 N 和速效 P 含量，提高了 pH 值，年度间相比较，通过打孔与施微生物肥料，不同处理土壤全氮、速效氮、全磷、速效磷速效钾和电导率均显著增加，而土壤全碳、全钾、pH 值和 C/N 有所下降。

## 2.2 土壤微生物量碳氮

打孔+施微生物肥料对土壤微生物量氮、碳含量的影响见图 2。2014 年，不同处理土壤微生物量氮含量为 73.49~94.48 mg·kg<sup>-1</sup>，最高值出现在 H+J 处理；土壤微生物量碳含量为 192.99~304.00 mg·kg<sup>-1</sup>，最高值出现在 F+J 处理，其次为 H+J。对不同处理 0~20 cm 土层土壤酶活性和微生物碳氮含量进行单因素方差分析，结果表明，2014 年处理



同年不同处理小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

Means with different small letters in same year are significantly different at the 0.05 level.

图2 不同处理下土壤微生物碳氮变化

Fig. 2 Changes of soil microbial biomass carbon and nitrogen contents under different treatments

F+J 和 H+J 显著增加了土壤微生物碳含量 ( $P < 0.05$ ), 且 F+J 也显著增加了土壤微生物氮含量 ( $P < 0.05$ ), 其他施肥处理均没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )。2015 年, 不同处理土壤微生物量氮含量为 43.01~82.82  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 最高值出现在 T 处理, 且显著高于最低值 (H+J 处理,  $P < 0.05$ ), 其他处理之间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 土壤微生物量碳含量为 117.96~278.84  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 最高值出现在 H 处理, 最低值出现在 F+J, 不同处理之间差异性不显著 ( $P > 0.05$ ), 甚至打孔+腐殖酸复合微生物肥料+复合微生物菌剂 (F+J) 处理由于干旱导致土壤微生物碳氮有所下降。研究表明, 土壤生物活性与土壤水、热状况密切相关, 在雨水正常的年份, 打孔+施微肥+菌剂短期效应显著影响土壤微生物碳氮含量。

### 2.3 土壤酶活性

土壤蔗糖酶活性可以反映有机物质积累和转化的规律, 而且与环境  $\text{CO}_2$  气体的排放有着密切关系, 是促进土壤碳素循环的重要环节部分 (陈娟丽等, 2016); 土壤脲酶则直接参与土壤含 N 有机化合物的转化, 其活性和土壤的氮素供应强度有着密切的关系 (关松荫, 1986); 过氧化氢酶表征土壤腐殖化强度和有机质积累程度 (关松荫, 1986)。

表3 不同处理下土壤酶活性变化

Table 3 Changes of soil enzyme activities under different treatments

土壤酶活性 Soil enzyme activities	处理 Treatments	施肥时间 Fertilization time	
		2014	2015
蔗糖酶 Invertase ( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 24\text{h}^{-1}$ )	CK	1.077±0.002 bc	1.016±0.019 c
	F	1.041±0.029 c	1.085±0.025 ab
	T	1.075±0.003 bc	1.104±0.006 ab
	H	1.070±0.006 bc	1.095±0.004 ab
	F+T+H	1.118±0.043 b	1.064±0.021 abc
	F+J	1.186±0.005 a	1.116±0.023 a
	H+J	1.192±0.001 a	1.068±0.039 abc
脲酶 Utease ( $\text{NH}_3\text{-N}, \text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 24\text{h}^{-1}$ )	CK	0.408±0.011 a	0.363±0.022 a
	F	0.416±0.012 a	0.440±0.051 a
	T	0.427±0.081 a	0.480±0.103 a
	H	0.359±0.028 a	0.411±0.013 a
	F+T+H	0.399±0.007 a	0.412±0.078 a
	F+J	0.445±0.019 a	0.388±0.044 a
	H+J	0.418±0.015 a	0.360±0.028 a
过氧化氢酶 Catalase ( $0.02\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{KMnO}_4$ , $\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot 20\text{min}^{-1}$ )	CK	0.759±0.004 a	0.711±0.015 b
	F	0.778±0.006 a	0.739±0.013 a
	T	0.769±0.008 a	0.720±0.010 ab
	H	0.767±0.008 a	0.716±0.004 ab
	F+T+H	0.767±0.012 a	0.729±0.005 ab
	F+J	0.778±0.003 a	0.740±0.006 a
	H+J	0.761±0.006 a	0.721±0.002 ab

同列不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )

Means with different small letters in same column are significantly different at the 0.05 level

打孔+施微生物肥料处理下土壤酶活性变化见表 3。施肥第 1 年, 土壤蔗糖酶最高值出现在 H+J 处理, 其次为 F+J, 均显著高于其他处理 ( $P < 0.05$ ), 较对照处理分别提高 10.68%和 10.12%; 施肥第 2 年, 不同打孔与施微生物肥料处理比单个打孔处理提高 4.72%~9.84%, 且处理 F、H、T 以及 F+J 显著高于 CK ( $P < 0.05$ )。对于土壤脲酶, 施肥第 1 年和第 2 年不同处理之间均没有显著差异 ( $P > 0.05$ )。在施肥第 1 年和施肥第 2 年间, 相对于对照单个打孔处理, 不同施肥处理土壤过氧化氢酶活性均有所提高, 两个年份分别较对照提高 0.26%~2.50%, 0.70%~4.08%, 并且施肥第 2 年 F 和 F+J 处理土壤过氧化氢酶显著高于 CK ( $P < 0.05$ )。研究表明, 打孔+施微肥的短期效应能够影响土壤蔗糖酶和过氧化氢酶。

### 2.4 土壤微生物量、酶活性与土壤养分的回归分析

土壤微生物量碳氮、酶活性与土壤养分之间的相关性如表 4 所示。土壤全磷、速效磷为土壤微生物碳的关键影响因子, 呈显著正相关线性关系 ( $P < 0.05$ ,  $r^2=0.303$ ); 土壤全磷为土壤微生物氮的关键影响因子, 呈极显著正相关线性关系 ( $P < 0.01$ ,  $r^2=0.189$ ); 影响土壤蔗糖酶的关键因子为土壤全碳, 呈显著正相关线性关系 ( $P < 0.05$ ,  $r^2=0.133$ ); 影响土壤脲酶的关键因子为土壤速效钾和速效氮, 呈极显著正相关线性关系 ( $P < 0.01$ ,  $r^2=0.189$ ); 土壤电导率为土壤过氧化氢酶的关键影响因子, 呈极显著正相关线性关系 ( $P < 0.001$ ,  $r^2=0.189$ )。结果表明, 土壤全碳, 速效钾、速效

表4 土壤微生物碳氮含量、酶活性与土壤养分的相关系数及回归方程

Table 4 Pearson correlation coefficients and regression equations among soil microbial biomass carbon and nitrogen, soil enzyme activities and soil nutrients

指标 Index	回归方程 Regression equations	$r^2$	F	P
微生物碳 MBC	$Y=-402.608X_1+19.938X_2+432.289$	0.303*	4.478	0.041
微生物氮 MBA	$Y=-75.908X_1+123.773$	0.189**	9.334	0.004
蔗糖酶 Invertase	$Y=0.04X_3+0.937$	0.133*	6.154	0.017
脲酶 Utease	$Y=0.01X_4-0.01X_5+0.296$	0.324**	11.016	0.002
过氧化氢酶 Catalase	$Y=0.01X_6+0.793$	0.667**	80.202	0.000

“\*”表示显著相关 ( $P < 0.05$ ); “\*\*”表示极显著相关 ( $P < 0.01$ )

“\*\*” indicates significant correlation at the 0.05 level, “\*\*\*” indicates extremely significant correlation at the 0.01 level, same as following table  
回归方程中:  $X_1$  为全磷,  $X_2$  为速磷,  $X_3$  为全碳,  $X_4$  为速钾,  $X_5$  为速氮,  $X_6$  为电导率

Among regression equations:  $X_1$  is Total P,  $X_2$  is Available P,  $X_3$  is Total C,  $X_4$  is Available K,  $X_5$  is Available N;  $X_6$  is Conductivity

氮,电导率分别为土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶的关键影响因子,土壤全磷、速效磷为土壤微生物量的关键影响因子。

### 3 讨论

微生物肥料含有益微生物菌群、有机质、活性酶以及多种微量元素,能提高土壤肥力、增强植物对养分的吸收、有效改善植物环境等(闫德仁,1997;杨玉新等,2008)。微生物可以将土壤中难溶态的磷、钾降解成可被农作物吸收利用的状态,从而改善作物生长时土壤环境中营养元素的供应状况(刘鹏等,2013)。目前已有大量研究证实,施用微生物肥有利于改善土壤的理化性质和生物学特性,加速土壤养分的分解(王延军等,2010)。本试验结果表明,打孔+腐殖酸复合微生物肥料降低了土壤速效氮和速效磷含量,提高了pH值,此研究与彭正萍等(2005)腐植酸复合肥增加土壤速效氮和速效磷含量,降低土壤pH的研究结果不一致,原因可能是微生物肥料加速了氮、磷等元素的循环,增加了植物营养元素的供应量。本试验中,在水分正常甚至丰沛的年份,打孔+微生物肥料+复合微生物菌剂提高了全碳、全氮、速效氮和速效钾含量,降低了电导率,研究结果与仇志华等(1999)、吕静(1999)和曹恩琿等(2011)试验结果相一致,有研究表明微生物菌剂也能明显改善土壤环境与营养状况,有利于提高土壤pH、有机质,降低土壤表层盐分含量,能在盐渍化土壤中表现出较好的效果(逢焕成等,2009;王涛等,2011)。可能原因是微生物菌剂在改良土壤过程中能通过自身生命活动产生多种酶(李北齐等,2011),其中过氧化氢酶、过氧化物酶、脲酶等均能促进土壤有机质的合成(宋海燕等,2007),土壤有机质含量高可减少土壤对磷、钾元素的固定,促进磷、钾细菌对难溶性磷、钾的转化(岑忠用等,2006)。

土壤酶和土壤微生物是指土壤理化性质微小变化的敏感指标,可以较好地反映土壤质量变化(Bijayalaxmi et al.,2006),对维持土壤生态系统的稳定起着重要的作用,土壤中大量微生物的活动,产生的大量黏多糖,与植物分泌的黏液及矿物胶体、有机胶体相结合,促进土壤腐殖质的转化形成,增强土壤蓄肥、保水能力,改善土壤理化性质(刘戈,2007)。本研究中打孔+施不同微生物肥料处理对土壤微生物和酶活性的影响各不相同,且微生物碳氮和3种酶活性对相同处理的响应也有差异。2014年处理打孔+腐殖酸复合微生物肥料+复合微生物菌剂和打孔+海藻酸复合微生物肥料+复合微生物菌剂显著增加了土壤微生物碳含量,而2015年打孔+腐殖酸复合微生物肥料+复合微生物

菌剂土壤微生物碳氮有所下降,表明在雨水正常的年份,打孔+微生物肥料改良措施对土壤微生物量有明显的改善作用,施肥第2年由于干旱导致土壤微生物碳氮有所下降。有研究表明(Rosacker,1990),水分含量对微生物生长具有重要的影响,当草地土壤含水量达最大持水量的50%~60%时,微生物量明显增加,但在持续干旱条件下微生物量显著下降,这与本研究结果一致。试验结果表明,2014年土壤蔗糖酶施肥最高值出现在处理打孔+海藻酸复合微生物肥料+复合微生物菌剂,其次为打孔+腐殖酸复合微生物肥料+复合微生物菌剂,显著高于其他处理;2015年不同打孔与施微生物肥料处理比单个打孔处理提高4.72%~9.84%;试验期间,不同施肥处理土壤过氧化氢酶活性施肥均高于对照单个打孔处理,两个年份分别较对照提高0.26%~2.50%、0.70%~4.08%,并且施肥第2年土壤过氧化氢酶在打孔+腐殖酸复合微生物肥料处理和打孔+腐殖酸复合微生物肥料+复合微生物菌剂显著高于单个打孔。土壤微生物活性升高可能是打孔改变了枯草层微环境,改善了地下透水、透气性有关,枯草层微环境的改变为微生物的活动提供了一个更有利的区域,水分对土壤微生物活动具有显著影响,与微生物活性成正相关(王龙昌等,1998),这与张宏伟等(2003)、彭正萍等(2005)、曹恩琿等(2011)、李北齐等(2011)和权国玲等(2016)的研究结果相一致。此外施用年限不同,微生物肥料对土壤酶活性及微生物量的影响也会不同。

土壤微生物量碳氮、酶活性与养分之间存在一定的相关性,在草地生态系统不同利用方式的相关研究中发现,土壤微生物量与有机质具有显著关系(王明君等,2010),土壤微生物量是土壤养分的源和库(古伟容,2013);另一方面,土壤微生物可以提高土壤肥力(张成霞等,2008;古伟容,2013),土壤酶与土壤肥力的形成和转化有密切关系(陈浩,2012;古伟容,2013)。有研究表明,微生物量碳氮与土壤碳源、氮源的分解利用有关,蔗糖酶参与有机碳、有机磷的分解,土壤脲酶由土壤中植物的根部分泌,其活性通常与土壤有机质、全氮和速效氮有关,土壤过氧化氢酶主要参与生物呼吸和有机物氧化过程的物质代谢,其活性反映了土壤氧化过程的强度(王杰等,2014)。通过逐步回归分析发现,土壤全碳,速效钾、速效氮,电导率分别为土壤蔗糖酶,脲酶,过氧化氢酶的关键影响因子,土壤全磷、速效磷为土壤微生物量的关键影响因子。这与权国玲等(2016)在干旱半干旱农牧交错区的研究结果相似,但是本实验微生物量碳氮、酶活性与养分之间的相关性与彭正萍等

(2005)、程东娟等(2003)和孙瑞莲等(2003)大量农田研究结果有所差异,原因可能与土地类型、土壤类型、施肥方式、施肥品种、用量和时间长短等条件有关,土壤有机质含量与土壤酶活性与施肥方式密切相关,土壤有效氮、磷、钾的转化与土壤酶活性有关。退化草地土壤微生物及酶活性对微生物肥料改良的长期响应机制及其与土壤养分因子的具体关系,仍有待进一步深入研究。

#### 4 结论

综上所述,本试验结果表明,与单个打孔处理相比较,打孔与施微生物肥料土壤全碳和全氮含量有所提高,电导率有所下降,但是总体来说打孔与施微生物肥料不同处理对0~20 cm土层土壤养分的短期影响差异不显著。在雨水正常的年份,打孔+施微肥+菌剂短期效应显著影响土壤微生物碳氮含量,在降水较少、气候干燥的年份,微生物肥料和菌剂未能起到明显的作用;打孔+施微肥短期效应能够影响土壤蔗糖酶和过氧化氢酶。土壤全碳,速效钾、速效氮,电导率分别对土壤蔗糖酶,脲酶,过氧化氢酶有显著影响,土壤全磷、速效磷对土壤微生物量有显著影响。施入复合微生物肥料与微生物菌剂有助于提高呼伦贝尔羊草草甸草原土壤微生物量碳氮含量和土壤酶活性,可以较好地改善草原土壤生物化学肥力状况,提高草原土壤全碳养分,降低土壤酸度,提高土壤生态系统稳定性。

#### 参考文献:

- BIJAYALAXMI DEVI N, YADAVA P S. 2006. Seasonal dynamics in soil microbial biomass C, N and P in a mixed-oak forest ecosystem of Manipur, North-east India [J]. *Applied Soil Ecology*, 31(3): 220-227.
- CLARK F E, PAUL E A. 1970. The microflora of grassland [J]. *Advances in Agronomy*, 22: 375-435.
- GUSEWELL S. 2004. N : P ratios in terrestrial plants: variation and functional significance: Tansley review [J]. *New Phytologist*, 164(2): 243-266.
- JUN L W, ALI S H, ZHANG Q. 2007. Property rights and grassland degradation: a study of the Xilingol pasture, Inner Mongolia, China [J]. *Journal of Environmental Management*, 85(2): 461-470.
- ROEM W J, BERENDSE F. 2000. Soil acidity and nutrient supply ratio as possible factors determining changes in plant species diversity in grassland and heathland communities [J]. *Biological Conservation*, 92(2): 151-161.
- ROSACKER L L, KIEFT T L. 1990. Biomass and adenylate energy charge of a grassland soil during drying [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 22(8): 1121-1127.
- VOURLITIS G L, ZORBA G, PASQUINI S C, et al. 2007. Chronic nitrogen deposition enhances nitrogen mineralization potential of semiarid shrubland soils [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 123(1): 836-842.
- ZEGLIN L H, STURSOVA M, SINSABAUGH R L, et al. 2007. Microbial responses to nitrogen addition in three contrasting grassland ecosystems [J]. *Oecologia*, 154(2): 349-359.
- 曹恩琿, 侯宪文, 李光义, 等. 2011. 复合菌剂对盆栽番茄土壤理化性质及微生物活性的影响[J]. *生态环境学报*, 20(5): 875-880.
- 岑忠用, 罗兴录, 苏江, 等. 2006. 生物有机肥对木薯地土壤理化性状的影响[J]. *西南农业学报*, 19(6): 1092-1095.
- 陈浩. 2012. 放牧对青藏高原草地植被群落特征及土壤理化特性的影响[D]. 咸阳: 西北农林科技大学.
- 陈娟丽, 师尚礼, 祁娟. 2016. 复合菌肥与化肥配施对高寒地区土壤微生物数量和土壤酶活性的影响[J]. *草原与草坪*, 36(1): 7-13.
- 程东娟, 刘树庆, 王殿武, 等. 2003. 长期定位培肥对土壤酶活性及土壤养分动态变化影响[J]. *河北农业大学学报*, 26(3): 33-36.
- 仇志华, 徐振桐, 冷如新. 1999. 施用阿姆斯生物肥土壤养分的变化研究[J]. *中国农学通报*, (4):59-60.
- 葛诚. 2000. 微生物肥料生产应用基础[M]. 北京: 中国农业科技出版社.
- 古伟容. 2013. 不同放牧强度下季节性休牧对草地植被及土壤的影响[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学.
- 关松荫. 1986. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社: 296-339.
- 考恩. 瑞金特吉斯. 1995. 未来农业[M]. 北京: 中国农业科技出版社: 5-6.
- 李北齐, 邵红涛, 梦瑶, 等. 2011. 生物有机肥对盐碱土壤养分、玉米根际微生物数量及产量影响[J]. *安徽农学通报*, 17(23): 99-102.
- 李志强, 韩建国. 2000. 打孔和施肥处理对草地早熟禾草坪质量的影响[J]. *草业科学*, 17(6): 71-76.
- 刘戈. 2007. 微生物肥料的发展现状与前景展望[J]. *安徽农业科学*, 35(11): 3318, 3332.
- 刘劲松. 2003. 关于草坪打孔机与对草坪生长的影响[J]. *内蒙古林业调查设计*, 26(2): 56-56.
- 刘鹏, 刘训理. 2013. 中国微生物肥料的研究现状及前景展望[J]. *农学报*, 3(3): 26-31.
- 刘晓波, 杨春华, 徐耀华, 等. 2013. 打孔对草坪枯草层及坪床土壤微生物活性和有机质含量的影响[J]. *草地学报*, 21(1): 174-179.
- 鲁如坤. 1999. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社: 1-247.
- 吕静. 1999. 微生物肥料在我国烟草生产中的应用与创新[J]. *中国烟草科学*, (3): 48-50.
- 逢焕成, 李玉义, 严慧峻, 等. 2009. 微生物菌剂对盐碱土壤化和生物性影响的研究[J]. *农业环境科学学报*, 28(5): 951-955.
- 彭正萍, 门明新, 薛世川, 等. 2005. 腐植酸复合肥对土壤养分转化和土壤酶活性的影响[J]. *河北农业大学学报*, 28(4): 1-4.
- 权国玲, 谢开云, 全宗永, 等. 2016. 复合微生物肥料对羊草草原土壤理化性质及酶活性的影响[J]. *草业学报*, 25(2): 27-36.
- 宋桂龙, 韩烈保. 2003. 养护管理对足球场草坪运动质量影响的研究进展[J]. *草业科学*, 20(9): 67-70.
- 宋海燕, 李传荣, 许景伟, 等. 2007. 滨海盐碱地枣园土壤酶活性与土壤养分、微生物的关系[J]. *林业科学*, 43(S1): 28-32.
- 孙瑞莲, 赵秉强, 朱鲁生, 等. 2003. 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*, 9(4): 406-410.
- 王杰, 李刚, 修伟明, 等. 2014. 贝加尔针茅草原土壤微生物功能多样性对氮素和水分添加的响应[J]. *草业学报*, 23(4): 343-350.
- 王龙昌, 玉井理, 永田雅辉, 等. 1998. 水分和盐分对土壤微生物活性的影响[J]. *北方水稻*, (3): 40-42.
- 王明君, 赵萌莉, 崔国文, 等. 2010. 放牧对草甸草原植被和土壤的影响[J]. *草地学报*, 1(6): 2-4.
- 王涛, 辛世杰, 乔卫花, 等. 2011. 几种微生物菌肥对连作黄瓜生长及土壤理化性状的影响[J]. *中国蔬菜*, (18): 52-57.
- 王延军, 宗良纲, 李锐, 等. 2010. 不同肥料对水稻生长和土壤微生物量的影响[J]. *浙江农业学报*, 22(6): 834-838.
- 乌仁其其格, 闫瑞瑞, 辛晓平, 等. 2011. 切根改良对退化草地羊草群落

- 的影响[J]. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 32(4): 55-58.
- 武霞, 杨晓松, 沈景林, 等. 2007. 不同改良措施对盐碱化草地改良效果研究[J]. 青海畜牧兽医杂志, 37(1): 9-11.
- 闫德仁. 1997. 人工林土壤腐殖质特性和土壤酶活性的研究[J]. 林业科技, 22(5): 10-12.
- 杨玉新, 王纯立, 谢志刚. 2008. 微生物肥对土壤微生物种群数量的影响[J]. 新疆农业科学, 45(1): 169-171.
- 尤泳, 王德成, 王光辉, 等. 2008. 破土切根对退化羊草草地土壤理化特性的影响[C]//中国草学会青年工作委员会农区草业论坛. 农区草业论坛论文集.
- 于会泳, 宋晓丽, 王树声, 等. 2015. 低分子量有机酸对植烟土壤酶活性和细菌群落结构的影响[J]. 中国农业科学, 48(24): 4936-4947.
- 张成霞. 2008. 放牧对陇东黄土高原天然草地土壤理化特性及微生物的影响[D]. 兰州: 兰州大学.
- 张宏伟, 陈港, 唐爱民, 等. 2003. 腐植酸共聚物对土壤酶活性的影响[J]. 土壤通报, 34(1): 29-32.
- 张丽丽, 白振军, 萨仁高娃. 2012. 草地改良措施对退化草甸草原生产力的影响[J]. 草原与草业, (3): 37-46.
- 赵秉强, 张福所, 廖宗文, 等. 2004. 我国新型肥料发展战略研究[J]. 植物营养与肥料学报, 10(5): 536-545.

## Effect of Combined Microbial Fertilizer on Soil Microorganism and Enzyme Activity in the Hulunber Punching *Leymus chinensis* Meadow Steppe

YAN Ruirui<sup>1</sup>, WEI Zhijun<sup>2</sup>, WUREN Qiqige<sup>3</sup>, CHEN Jinqiang<sup>1</sup>, DAI Jingzhong<sup>2</sup>, YAO Jing<sup>1</sup>,  
BAI Yuting<sup>2</sup>, XIN Xiaoping<sup>1\*</sup>

1. Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences//Hulunbeir Grassland Ecosystem Research Station, China, Beijing 100081, China;
2. College of Grassland and Resources Environmental, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;
3. Life Science and Chemistry School at Hulunber College, Hailar 021008, China

**Abstract:** In order to provide scientific basis for improvement, restoration and reasonable use of degraded *Leymus chinensis* meadow steppe ecosystem, the effect of different microbial fertilizer addition levels on the soil nutrients, soil microbial biomass and soil enzyme activities of on hulunbeir perforated *L. chinensis* meadow steppe mowing pasture was studied and the key soil factor that its affecting soil microbial biomass carbon and nitrogen and soil enzyme activity was analyzed. The results show that: (1) soil total carbon and total nitrogen was highest in humic acid + high microbial agents (F+J) treatment in a normal or sufficient year for rain, and soil total carbon and total nitrogen respectively increased 1.84%~18.53% and 1.24%~31.67%, there was no significant differences among all other the treatments; (2) Soil biological activity is closely related to soil hydrothermal condition, the microbial biomass carbon and nitrogen contents were highest in F+J treatment and H+J treatment in the rain normal years, and respectively increased 57.52% and 19.01% than those of CK, while the microbial biomass carbon and nitrogen contents were not significant affected under different treatments in dry year; (3) Soil invertase of H+J and F+J treatment were significantly higher than other treatment in 2014, increased by 10.68% and 10.12% respectively than CK, whereas in dry year of 2015, soil invertase was significantly higher in F, H, T and F+J treatments than CK (increased ranged from 4.72% to 9.84%), soil catalase in F and F+J treatments were significantly higher than CK, increased by 2.50%; And (4) the key factor of influence soil invertase enzyme, urease enzyme, catalase enzyme respectively was soil total C, soil available K, soil available N and conductivity; The key factor of influence soil microbial biomass carbon and nitrogen respectively was soil total P, soil available P. These results implied that compound microbial fertilizer and microbial agents together could be useful to increase the soil enzyme activity, microbial biomass carbon and nitrogen contents of hulunbeir *L. chinensis* meadow steppe, and to improve the grassland soil fertility status of biological chemistry.

**Key words:** *Leymus Chinensis* meadow steppe; physical improvement; compound microbial fertilizer; soil fertility; soil microbial biomass; soil enzyme activity