

秸秆育苗容器在土壤中降解对微生物区系的影响

王暝琰¹, 吴洪生^{2*}, 黄红英¹, 张 荣¹, 王佳佳¹, 孙恩惠¹, 常志州¹

(1. 江苏省农业科学院农业资源与环境研究所, 江苏 南京 210014;

2. 南京信息工程大学农业资源与环境系, 江苏 南京 210044)

摘 要: 为了阐明秸秆育苗容器降解过程中对土壤及容器残体酶活性及微生物的影响, 选择淀粉胶秸秆育苗容器 (MSGC) 和豆胶秸秆育苗容器 (MBGC) 两类容器的片状试材进行土培试验, 设计不含容器试材土壤为对照组 (CK), 试验持续 45 d, 采用常规分析和 Biolog^{Eco} 微平板计数技术手段测定了容器残体及土壤中的酶活变化、微生物群落多样性、菌群数量及功能多样性。结果表明: 土培过程中, 容器和土壤中酶活总体呈上升趋势, MSGC 淀粉酶活与 MBGC 无显著差异, 纤维素酶活初期显著高于 MBGC, 中后期则无显著差异。蛋白酶活 MBGC 全过程显著高于 MSGC; 秸秆容器可显著提高土壤磷酸酶和脲酶酶活, 与 MBGC 相比, MSGC 土壤中磷酸酶和脲酶酶活更高。Biolog^{Eco} 分析显示, 秸秆容器能够显著提高土壤中微生物碳源利用活性, 土壤平均颜色变化率 (AWCD) 值先增大后减少, MBGC 与 MSGC 差异在于后者土壤 AWCD 值下降速率显著快于前者。两种容器残体微生物功能多样性初期差异显著, 后期差异减少。与 MSGC 比, MBGC 土壤微生物对氨基酸、聚合物及胺类利用具有更强活性, 这种差异主要与容器胶粘剂不同有关。本研究结果将为秸秆育苗容器田间应用与生态效应评价提供理论依据。

关键词: 秸秆育苗容器; 生物降解; 酶活性; 微生物功能多样性

中图分类号: S154.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6257 (2016) 04-0139-11

秸秆育苗容器是由作物秸秆粉碎改性后, 加入胶粘剂热压模塑合成, 具有一定的携水、贮水、保水功能。应用于瓜菜和稀植农、林植物育苗, 在饱和吸水状态下, 可钵苗一体栽植, 成活率高。迄今, 对于秸秆育苗容器的研究主要集中于该容器制作与育苗效果^[1-2], 容器本身降解对土壤中微生物群落结构及功能影响研究未见报道。

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分, 它们参与土壤有机质分解、腐殖质形成、土壤养分转化和循环等过程。土壤微生物群落结构组成及活性变化是衡量土壤质量、维持土壤肥力和作物生产力的一个重要指标^[3]。所以对土壤微生物群落结构和功能的研究一直以来是土壤生态学研究的一个热点。Biolog 作为对功能微生物群落变化较为敏感的指标, 广泛应用于评价土壤微生物群落的功能多样性^[4]。目前主要用于比较不同土壤类型^[5]、同类土

壤不同植物物种^[6]、不同植被根际^[7]、不同污水处理^[8]的微生物群落的代谢多样性。微生物对碳源的利用能力则是表征土壤微生物生长情况的主要指标。因此 Biolog^{Eco} 微平板技术可以用于估价土壤微生物群落代谢多样性和功能多样性的研究^[9]。

而秸秆育苗容器随苗移栽后对土壤微生物能够产生的影响尚未可知。本文通过对不同胶黏剂压制成的秸秆育苗容器进行土埋试验, 以 Biolog^{Eco} 微平板技术为手段, 研究了该容器降解对土壤微生物功能性的变化以及在试验过程中容器残体微生物群落代谢多样性的变化, 从而阐述秸秆育苗容器对土壤微生物区系的影响, 为秸秆育苗容器田间应用与生态效应评价提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 供试样品

将稻糠和胶黏剂按干物质质量比 3:1 混合, 于高速混炼机混炼脱水后, 经液压机在 120℃, 25 MPa 下压塑而成秸秆育苗容器; 胶黏剂为江苏省农业科学院资环所研制的豆粕粉胶和改性淀粉胶, 稻

收稿日期: 2015-04-16; 最后修订日期: 2015-08-20

基金项目: 江苏省农业科技自主创新项目 [CX (12) 1002]。

作者简介: 王暝琰 (1990-), 女, 江苏常熟人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物生态学方面研究。E-mail: twinklily@163.com。

通讯作者: 吴洪生, E-mail: yzwhs@126.com。

糠为市售品。秸秆育苗容器呈倒圆台状，上口直径 67 mm，底部直径 45 mm，高 76 mm，壁厚 1.3 mm，容积 110 mL，密度均值 1.3 g/cm³。沿容器壁，将秸秆育苗器裁剪成长宽均为 4.5 cm × 4.5 cm，厚度为 1.3 mm 的片状物，作为本研究供试样品。

1.1.2 供试土壤

供试土壤采自江苏省农业科学院宜兴试验基地，土壤为水稻耕作土。试验土壤采集后，经风干、碾碎和过筛备用，筛孔直径 1 mm。土壤基础理化性状为有机碳 10.12 g/kg、全氮 0.77 g/kg、硝态氮 30.44 mg/kg、铵态氮 11.76 mg/kg，有效磷 (P) 14.90 mg/kg、速效钾 (K) 124.5 mg/kg，pH 值 6.94。

1.2 试验设计

采用土埋法，共设置 3 个处理：不含秸秆育苗容器土壤 (CK)，淀粉胶秸秆育苗容器 (MSGC) 和豆胶秸秆育苗容器 (MBGC)，每个处理设置 15 个重复。

土埋方法：土埋容器为玻璃培养皿，底径 12 cm，高 2.5 cm。首先在培养皿底部匀铺 1 cm 厚的供试土壤，将 2 片裁剪好的容器样片平行摊放在土层上。缓慢加入供试土壤直至将容器样片完全掩埋，并与培养皿上端保留 0.5 cm 距离，被试土用量 150 g。埋土过程中，轻轻晃动培养皿，确保土壤颗粒与试验样品充分接触。培养皿中只装供试土壤 150 g，作为空白对照 (CK)。土壤及试样装填好后，小心向土壤中加水使之达到土壤饱和含水量的 70%^[10]。盖好培养皿盖，将所有处理放置于 25℃ 恒温培养箱中进行试验，试验周期 45 d。每隔 5 d 补水一次，使土壤水分保持在饱和含水率 70% 左右。

试验开始后，第 0、5、15、30 和 45 d 进行取样分析测定，每次每个处理取 3 个重复。

1.3 取样方法

空白对照取样时，将培养皿中土壤倒在干净的塑料托盘中，用玻璃棒将土壤混匀，取出约 100 g 土壤，一半以鲜样用于 Biolog 分析，另一半风干后测定脲酶和磷酸酶活性；埋置样片处理取样时，将

培养皿倒扣在塑料托盘中，移去培养皿，将容器样片与土壤分离，用塑料片将容器中土壤清除干净，然后将土壤充分混匀，取样及测定同 CK。取出的片状样品，用纯水浸泡清洗 3 遍，洗去附着土后晾 10 ~ 15 min，待表面水分晾干后用研钵研磨粉碎，用于酶活测定和 Biolog 分析。

1.4 测定项目与方法

土壤脲酶活采用靛酚蓝比色法，以 37℃ 下 24 h 1 g 土壤中水解尿素产生氨基氮的微克数表示；磷酸酶活采用磷酸苯二钠比色法^[11]，以 37℃ 下 24 h 1 g 土壤中释放出的酚的微克数表示。将容器样品与蒸馏水按 1:5 (W/V) 混合，于 180 r/min 恒温振荡 30 min，静置 10 min 后取上清液测定纤维素酶、淀粉酶和蛋白酶酶活。纤维素酶活、淀粉酶活采用 3, 5-二硝基水杨酸比色法，纤维素酶以 1 g 固体样品单位时间内水解底物释放 1 μg 葡萄糖为一个酶活力单位，以 U/g 表示。淀粉酶以 1 g 固体样品单位时间内从淀粉中释放 1 μg 麦芽糖的酶量为一个酶活力单位，以 U/g 表示。蛋白酶活采用福林法测定^[12]，1 g 固体样品在一定温度和 pH 值条件下，1 min 水解酪素产生 1 μg 酪氨酸为一个酶活力单位，以 U/g 表示。

真菌、细菌和放线菌数量的测定以鲜土样为测定对象，采用试管梯度稀释涂平板法，培养基分别是牛肉膏蛋白胨培养基、高氏一号培养基和马丁氏培养基。

土壤微生物代谢活性和功能多样性用 Biolog^{Eco} 方法进行测定^[13-14]。操作步骤：称取相当于 10 g 烘干土壤重量的新鲜土壤于灭过菌的 250 mL 三角瓶中，加入 90 mL 无菌 NaCl 溶液 (0.85%)，封口后，在摇床振荡 20 min，静止 15 min，取上清液，在超净工作台中用无菌 NaCl 溶液 (0.85%) 稀释到 10⁻³，用 8 通道加样器将稀释 1 000 倍的菌液加入 Biolog 生态板培养板上，每孔加 125 μL，将接种的 Biolog 生态板放在 25℃ 培养箱中培养 7 d，每隔 24 h 用 Biolog 微平板读数器读取培养板在 578 nm 波长的吸光值。

表 1 供试育苗容器基本性状

容器类型	pH 值	有机碳 (%)	全氮 (g/kg)	全磷 (P g/kg)	全钾 (K g/kg)	电导率 (μS/cm)	碳氮比
豆胶秸秆育苗容器 (MBGC)	6.88 ± 0.02	39.08 ± 3.57	52.20 ± 6.30	1.67 ± 0.27	3.29 ± 0.01	2 513.33 ± 55.08	7.49 ± 4.78
淀粉胶秸秆育苗容器 (MSGC)	7.28 ± 0.02	44.74 ± 1.36	17.20 ± 2.48	2.56 ± 0.18	1.60 ± 0.15	1 876.54 ± 46.19	26.01 ± 2.16

1.5 数据处理

土壤微生物的代谢活性用每孔颜色平均变化率 (average well color development, AWCD) 来描述, 计算公式: $AWCD = \sum (C_i - R) / 31$ ^[15]。式中, C_i 为各反应孔在 578 nm 下的光密度值; R 为 ECO 板对照孔 A_1 的光密度值, Biolog 生态板的 C 源数目为 31。 $C_i - R$ 小于零的孔, 计算中记为零, 即: $C_i - R \geq 0$ 。

Biolog^{Eco} 微孔板上碳源的分布和分类参照 Keun - Hyung Choi^[16]。

所有数据采用 Origin 8.0 软件进行制图, 采用 PASW Statistics 19.0 软件和 Canoco 4.5 进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 秸秆育苗容器酶活变化

淀粉酶是一种作用于可溶性淀粉、直链淀粉、糖元等 $\alpha - 1, 4 -$ 葡聚糖, 水解 $\alpha - 1, 4 -$ 糖苷键

的酶^[17]。由图 1a 可知, 在整个 45 d 培养过程中, 前 30 d 两个处理淀粉酶活均显著上升, 30 ~ 45 d 基本保持稳定。比较发现, 起始阶段豆胶容器片样中的淀粉酶活性高于淀粉胶容器, 随着土埋时间延长, 淀粉胶容器的淀粉酶活性逐渐高于豆胶容器。至 45 d 土埋结束时, 淀粉酶活性最高, 但淀粉胶容器酶活性已略低于豆胶容器。淀粉酶属于胞外水解酶, 其来源为侵染样片的微生物所分泌, 酶活性高低与侵染微生物种类、基质营养及环境条件有关^[18-19]。淀粉胶容器本身含有变性淀粉, 是淀粉酶诱导物, 因此其样片淀粉酶活性高。而豆胶容器样片也表现出具有较高的淀粉酶活性, 第 15 d 和 30 d 仅略低于淀粉胶容器, 而第 5 d 和第 45 d 高于淀粉胶容器。可能的原因是: 1) 豆胶由豆粕制成, 豆粕和稻糠中均含有少量淀粉, 起到了诱导物作用; 2) 豆胶容器含有更高氮素, 有利于微生物胞外水解酶的合成。

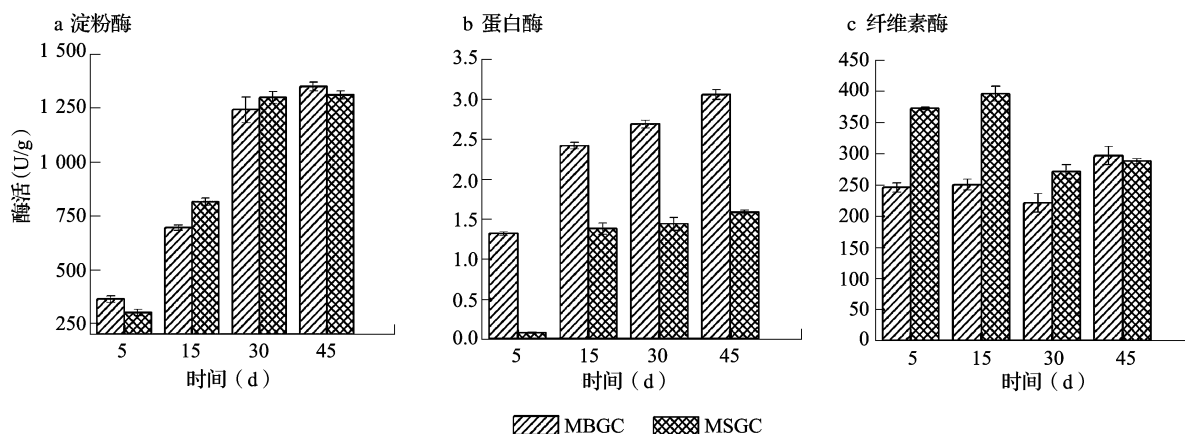


图 1 两种容器酶活变化

蛋白酶主要参与含氮化合物的分解和氨基酸蛋白质以及其他含氮有机物的转化, 是参与环境中氮循环的最重要酶类^[20-21]。由图 1b 可知, 豆胶容器样片的蛋白酶活持续升高, 淀粉胶容器前 15 d 急剧升高, 随后保持相对稳定。在整个培养过程中, 豆胶容器样片的蛋白酶活性显著高于淀粉胶容器, 可见豆胶容器在土埋过程中存在较强烈的蛋白质水解过程, 这与豆胶容器使用的胶粘剂含有丰富豆蛋白有关。本研究使用的豆胶主要由豆粕粉改性而成, 而豆粕通常含有约 44% 蛋白质^[22]。至试验结束时, 豆胶容器片样的蛋白酶活性为淀粉胶容器的 1.92 倍。正是由于微生物对胶粘剂蛋白成分的水解作用, 直接导致了豆胶容器在土壤中降解。

从图 1c 看出, 土埋 45 d 两种容器均具有较高的纤维素酶活性, 其酶活性高于一般土壤纤维酶活性数十倍。比较发现, 淀粉胶容器样片的纤维素酶 5 ~ 15 d 活性显著提高, 测得的最高酶活性近 400 U/g, 而豆胶纤维素酶活性 45 d 均维持在 250 U/g 左右, 淀粉胶容器中后期也维持在这一水平。纤维素酶是碳素循环中的一种很重要的酶, 主要参与纤维素的生物催化, 最终生成纤维二糖。纤维素酶活性与土壤呼吸强度密切相关, 同时也受底物诱导和降解产物的阻遏^[23-25]。土埋过程中, 两种容器片样的纤维素酶活性均较高, 一是因为二者均为植物纤维材料, 二是容器片的营养尤其氮素及水、土、气条件良好。起始阶段, 豆胶容器片的纤维素酶活性低, 可能是其 C/N 比淀粉容器低, 前者更适合细

菌生长, 后者更适合真菌生长, 而好氧生境中纤维素酶活性往往真菌更高。至于后期酶活性趋于一致, 则是各自容器片底物诱导和降解产物阻遏作用所建立的综合平衡, 不意味二者纤维降解菌种类和数量一致。

2.2 土壤酶活变化

磷酸酶是一种水解性酶, 酶促作用能够加速有机磷的脱磷速度, 提高土壤磷素的有效性。土壤有机磷的转化是土壤有机质矿化过程之一, 磷酸酶参与能酶促磷盐键的水解性裂解^[26]。从图 2a 看出, 前 5 d 土壤磷酸酶活性未见显著变化, 随后逐渐升高, MSGC 处理在培养 30 d 时达到最大值后趋于平

稳, 而 MBGC 处理 30 d 后酶活性仍在增长。45 d 培养结束时, MBGC 处理的土壤磷酸酶活性高出对照 0.76 倍, MSGC 处理高出对照 1.05 倍, MSGC 处理的土壤磷酸酶活性高出 MBGC 处理 16.61%。有研究表明, 土壤磷酸酶活与土壤碳、氮等养分浓度呈极显著正相关^[27-28], 施入新鲜有机物可提高土壤磷酸酶活性^[29], 又有研究者认为可溶性有机物可抑制磷酸酶活性^[30]。试验表明, 两种育苗容器埋到土壤中可显著激活土壤磷酸酶活性。中后期两个处理的磷酸酶活性存在较大差异, 可能是淀粉胶容器有机养分释放速率快于豆胶容器, 增强了对土壤解磷微生物的激活作用。

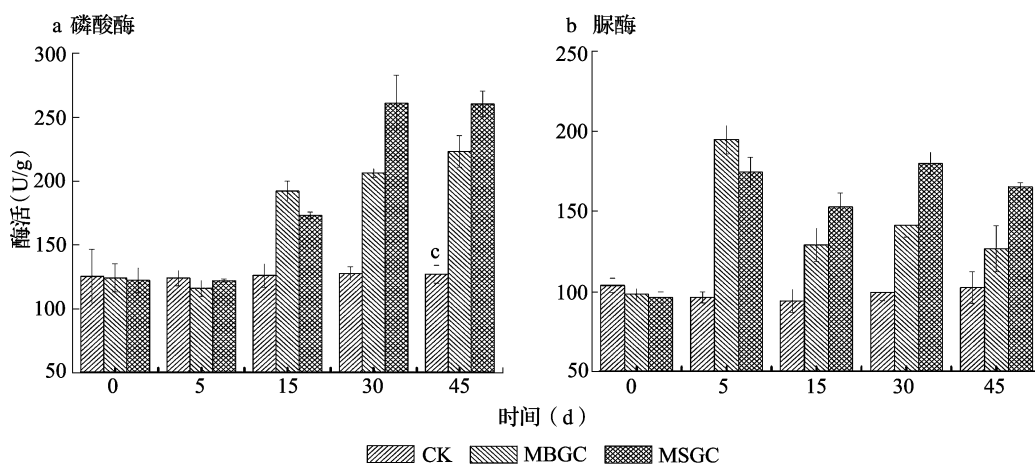


图 2 土壤酶活变化

土壤脲酶对土壤和肥料的氮素转化起着重要作用^[31], 与土壤肥力关系十分密切^[32], 脲酶可以加速土壤中潜在养分的有效化, 因而检测土壤中脲酶活性可以作为衡量土壤肥力的指标之一, 并能部分反映土壤生产力。从图 2b 看出, 两个容器处理的土壤脲酶活性显著升高, 第 5 d 均达到最大值且 MBGC 处理略高于 MSGC 处理, 随后 MBGC 处理的酶活显著下降, MSGC 处理的酶活则维持在高位水平并略有波动, 而对照土壤的脲酶活性未见显著变化。至 45 d 试验结束, 两个处理的脲酶酶活分别比对照高出了 24.21 和 62.93 U/g。造成容器处理与空白对照产生显著差异的原因是, 埋植的样片向土壤中释放了可溶性有机物和氮、磷、钾等养分, 刺激了土壤微生物生长^[33]。由于用于淀粉胶改性的脲醛树脂中含有一定量游离尿素, 容器片接触土壤后可以被很快释放至土壤中, 因此 MSGC 处理初始阶段的土壤脲酶活性也高。豆胶中豆蛋白含有酰胺键 ($-\text{CO}-\text{NH}_2-$), 对脲酶产生诱导作

用。由于容器制作过程中的高温 (120°C) 与高压 (25 MPa), 豆蛋白发生变性交联固化, 疏水性增强, 降解变得缓慢, 故脲酶活性初期上升慢, 但全程较高且稳定。

2.3 微生物多样性分析

2.3.1 土壤微生物数量

从图 3 可知, 除 MBGC 第 30 d, 土壤中可培养细菌数量在整个培养过程中 MBGC 和 MSGC 均显著高于对照。对真菌和放线菌而言, 对照和各处理均呈现先增长又减少趋势, 但情形较复杂, 真菌数量两个处理中 40 d 后明显高于对照, 放线菌全过程与对照差异不大。试验表明, 在土壤饱和含水率 70% 的湿度条件下, 容器片与土壤共同培养刺激土壤微生物生长, 显著增加土壤微生物尤其是细菌数量, 对放线菌数量影响不显著。

2.3.2 容器微生物数量

从图 4 看出, 在整个土埋过程中, 容器片上的

细菌、真菌和放线菌的数量持续增加,细菌数量增加最多,其次是真菌,再次为放线菌。两个处理比较,豆胶处理中的细菌数量、真菌数量和放线菌数量都高于淀粉胶处理,这可能是豆胶容器养分尤其是氮含量高于淀粉胶容器所致。尽管监测到豆胶容

器可培养微生物数量高于淀粉胶容器,但育苗器实际应用过程中发现,淀粉胶容器结构更容易松散降解,因此微生物数量多寡不能证明秸秆容器结构强度破坏程度,可能与相关酶活性、胶粘剂化学组分吸水性等多重因素有关。

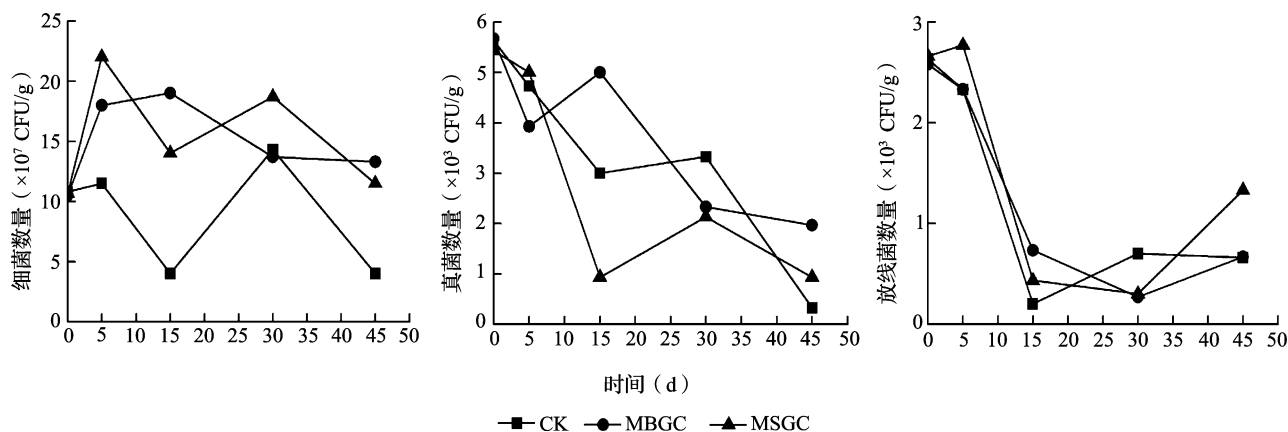


图3 不同处理土壤微生物数量随土埋时间的变化

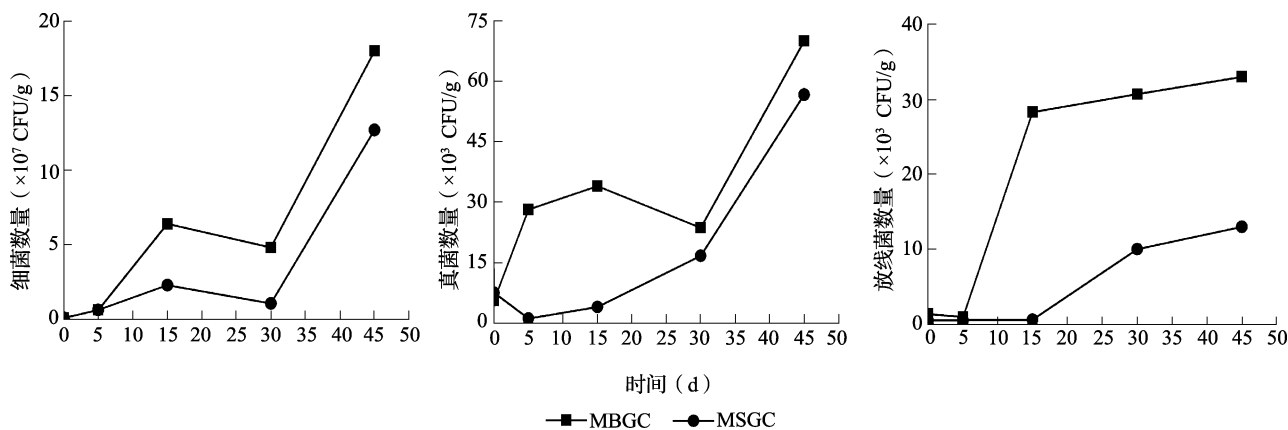


图4 不同处理秸秆育苗容器微生物数量随土埋时间的变化

2.4 Biolog 分析

2.4.1 土壤和秸秆育苗容器不同处理平均颜色变化率的变化

平均颜色变化率 (AWCD) 是反映土壤微生物活性,即利用单一碳源能力的一个重要指标^[34-35],在一定程度上反映了土壤中微生物种群的数量和结构特征。AWCD 值越大,活性越高;反之,活性越低。从图 5a、b 可看出,与空白对照比,两个处理土壤的 AWCD 值显著增加,且 5 d AWCD 值大于 30 d, MBGC 处理第 5 d AWCD 略高于 MSGC 处理,但第 30 d MBGC 显著高于 MSGC。比较两种容器片的 AWCD 发现,第 5 d MBGC 处理略高于 MSGC 处理,二者值较为接近,

而第 30 d MBGC 处理则显著高于 MSGC 处理 (图 5c、d)。试验表明,被试容器埋入土壤中可以显著提高微生物活性,尤其是在埋入后约 30 d 内对土壤微生物活性增强作用十分显著,随着时间延长土壤微生物活性逐渐下降,这与本研究可培养微生物数量监测结果基本一致。而试验容器片,第 5 d 和 30 d 均具有较高 AWCD 值,但第 30 d 淀粉胶容器 AWCD 值有显著下降,表明在埋植到土壤后 30 d 以内两种秸秆容器材料均具有很高的微生物活性,但淀粉胶容器高微生物活性持续时间较豆胶容器要短,这可能是淀粉胶容器使用的淀粉胶比豆胶容器使用的豆胶在湿润土壤条件下更易被微生物分解消耗所致^[36]。

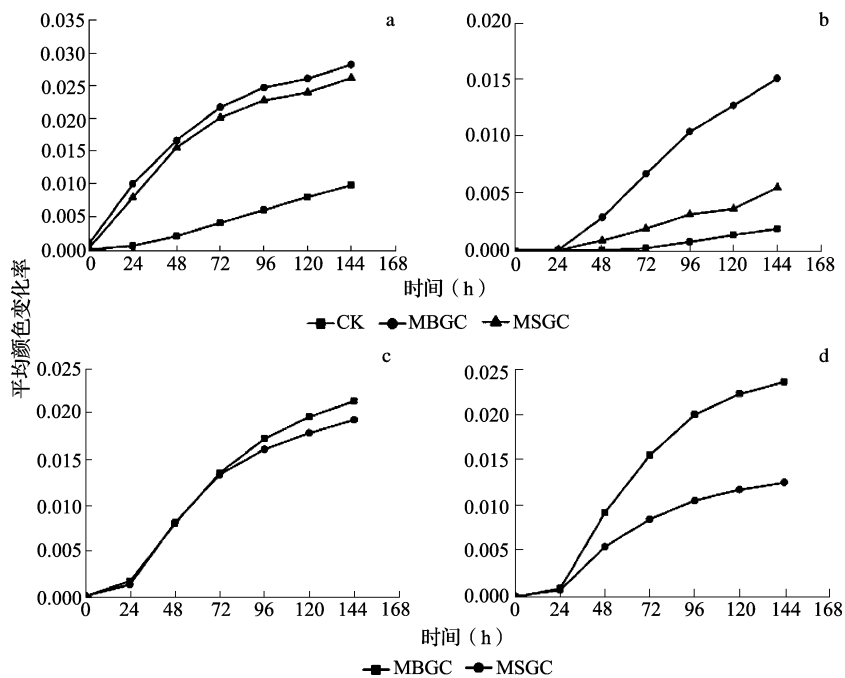


图5 土壤和秸秆育苗容器不同处理平均颜色变化率随土埋时间的变化
注：图 a、b 为土壤，c、d 为容器；a、c 为土埋 5 d；b、d 为土埋 30 d。

2.4.2 不同处理微生物功能主成分分析

从主成分分析结果（图 6）可以看出，土壤微生物在碳源利用模式上，无论 5 d 还是 30 d，MBGC 和MSGC 均和空白对照（CK）在 PC1 上有明显区别，而在 PC1 和 PC2 两个处理散点分布较集中，集中度 30 d 大于 5 d，表明容器材料埋入显著改变了土壤微生物功能群落结构，两种容器对土壤微生物碳源利用模式改变具有趋同效应，且随着时间延长差异度变小。两种容器材料中微生物碳源利用模式上，5 d 二者在 PC1 上差异性大且在 PC2 两个处理散点距离都较大，30 d MBGC 在 PC1 散点距离明显增大，而在 PC2 上明显变小，MSGC 则在 PC1 上变化不大，而在 PC2 上显著减少，表明两种不同容器埋入土壤中降解微生物功能群落存在显著差异，降解 MBGC 微生物在碳源利用模式上差异性更大，这一差异性持续时间在一个月以上。从图 6 还看出，土埋 5 d 时第一主成分贡献率达到 70.4%，第二主成分贡献率仅为 8.3%，而对于样片，土埋 5 d 第一主成分贡献率为 50.4%，第二主成分贡献率为 24.1%；土埋 30 d，土壤第一主成分贡献率降低至 50.2%，第二主成分贡献率上升 23.8%，样片则第一主成分贡献率上升至 79.1%，第二主成分贡献率降低 10.1%。可见，在容器埋入土壤中，土壤与容器微生物区系变化呈相反趋势。原因可能是，容器埋入土壤初期，容器材料中大量

可溶性单一养分渗透至土壤中，激活了土壤微生物活性，并使第一主成分占绝对优势。随着时间延长，容器材料中稻壳成分也被分解，产生的可溶性产物组分变得复杂，土壤微生物功能多样性也显著提高。

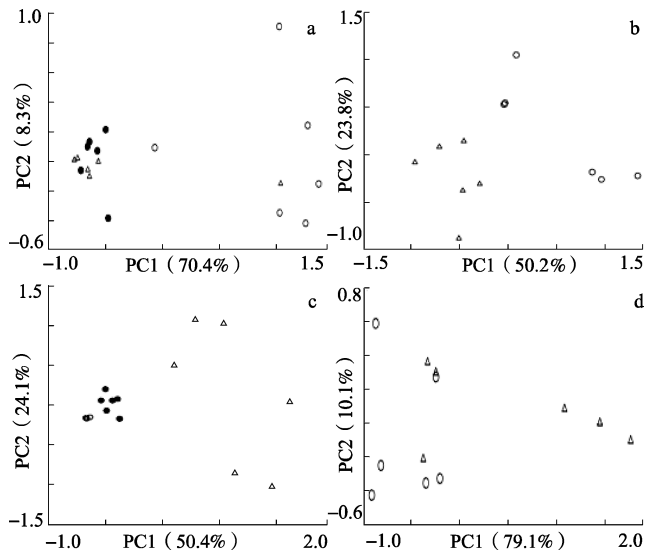


图6 土壤和秸秆育苗容器不同处理微生物碳源利用主成分分析
注：图 a、b 分别为土壤和容器土埋 5 d，培养 96 h 分析结果；图 c、d 分别为土壤和容器土埋 30 d，培养 96 h 分析结果。图 a、c 中空心圆为土壤对照 CK，空心三角为埋有 MBGC 容器的土壤处理，实心圆为埋有 MSGC 容器的土壤处理；图 b、d 中空心圆为 MBGC 容器处理，空心三角为 MSGC 容器处理。

2.4.3 不同处理的微生物碳源利用状况

按化学基团的性质, 将 ECO 板上的 31 种碳源分成 6 类, 即碳水化合物、氨基酸、聚合物、羧酸类、胺类、酚类。

从图 7 看出, 土埋 5 d 容器残体中微生物对氨

基酸、聚合物、羧酸和胺类的利用 MBGC 大于 MSGC, 对酚类的利用 MSGC 大于 MBGC, 对碳水化合物利用两者差异不大。土埋 30 d, MBGC 微生物对这 6 类碳源利用仍保持很高活性, MSGC 微生物活性则显著下降, 两种处理差异显著。

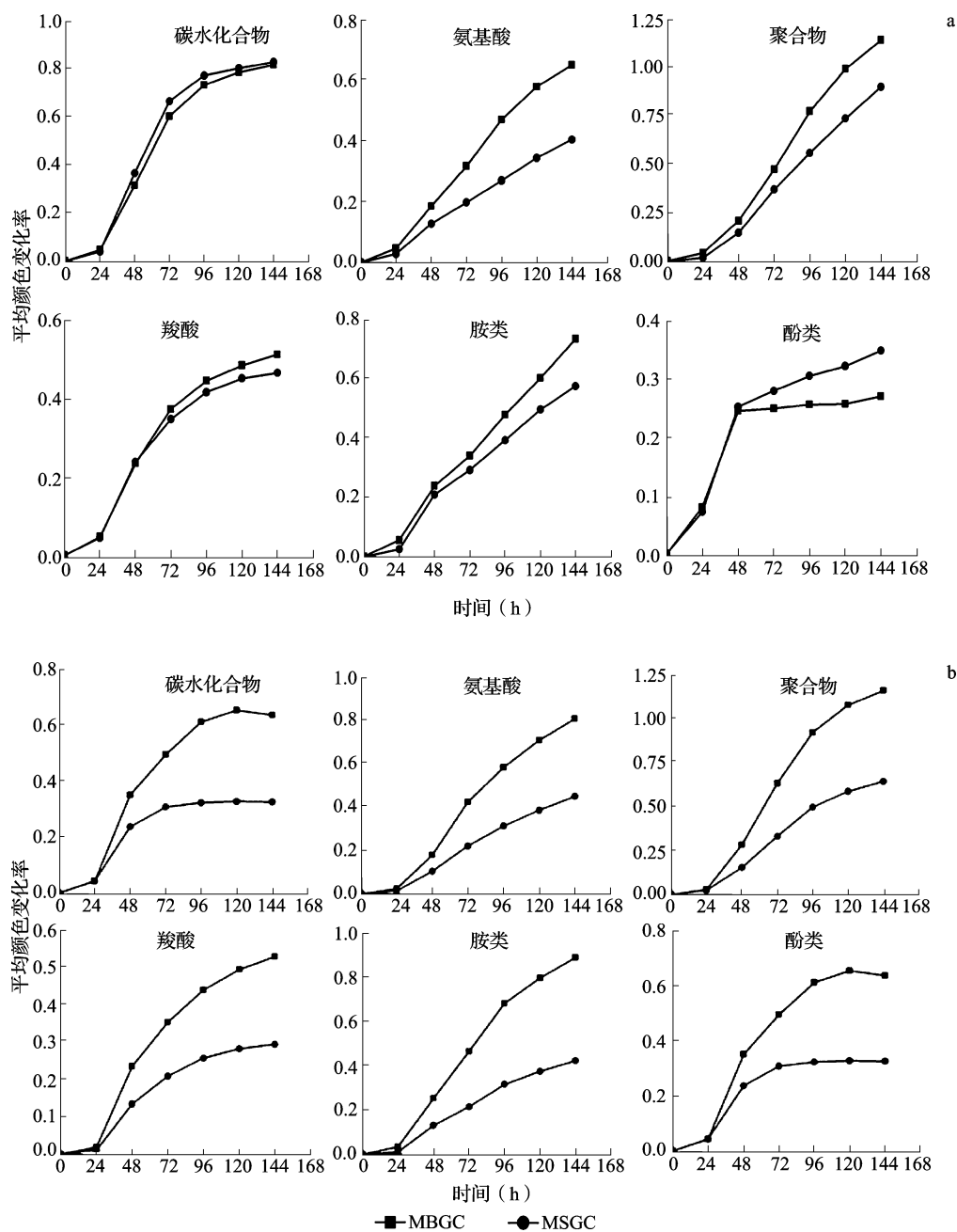


图 7 秸秆容器不同处理微生物碳源利用

注: a: 土埋 5 d, b: 土埋 30 d。

从图 8 看出, 土埋 5 d, 与空白对照比两个处理的土壤对 6 类碳源利用活性都有显著提高, 其中对聚合物和酚类利用 MSGC 略高于 MBGC, 其它 4 类碳源利用活性无显著差异。土埋 30 d, 土壤中微

生物对 6 类碳源利用活性都有不同程度下降, MSGC 处理下降最为显著, 但仍略高于空白对照, MBGC 仍保持较高活性, 显著高于 MSGC。

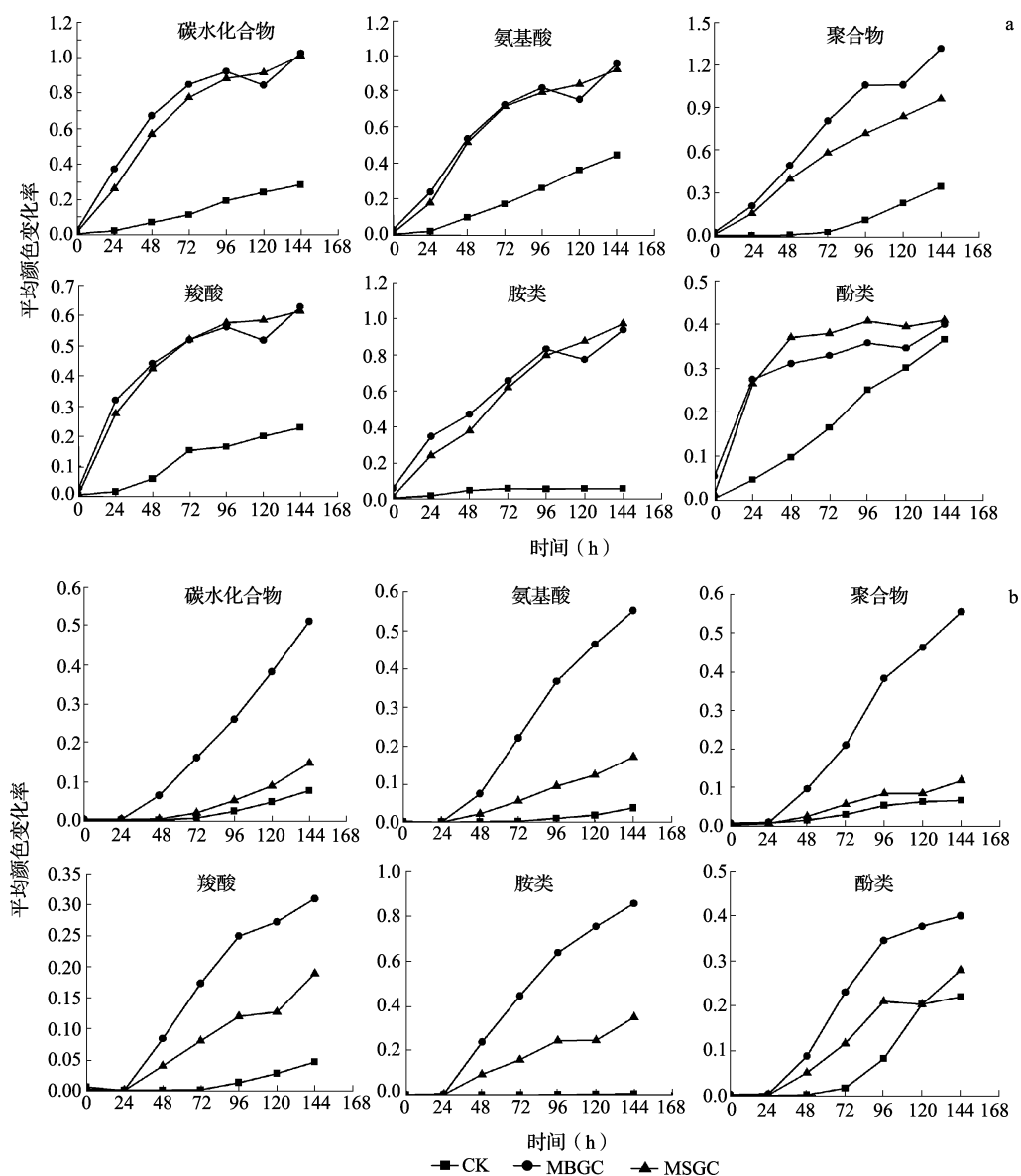


图8 土壤不同处理微生物碳源利用

a: 土埋 5 d, b: 土埋 30 d。

试验发现,土壤和容器微生物各种碳源利用率培养 96 h 基本稳定。从 96 h 培养结果看,与土埋 5 d 相比,土埋 30 d 的两个处理土壤微生物对碳水化合物、氨基酸、聚合物、羧酸 4 类碳源利用活性显著下降,但对胺类和酚类利用仍保持较高活性,MBGC 对该两种碳源利用活性还有提高(图 9a、b)。对容器样片,土埋 30 d 与 5 d 相比微生物对各类碳源利用活性,MBGC 除碳水化合物外其余 5 种碳源利用率均有所增加,对胺类和酚类利用增幅最大,MSGC 对碳水化合物、聚合物、羧酸利用率显著下降,但对氨基酸、胺类和酚类仍保持与土埋 5 d 相近水平(图 10a、b)。

上述容器残体和土壤中微生物对碳源利用模式

显著差异性,表明秸秆育苗器在土壤中的降解行为及其对土壤微生态的影响存在显著差异性。这种差异性主要来自胶粘剂:MBGC 采用豆胶,MSGC 采用淀粉胶,豆蛋白和淀粉均经过化学助剂及工艺的改性,耐水性和生物降解已经发生显著变化,淀粉胶容器吸水性显著强于豆胶容器,在土埋条件下干物损失速率前者也显著高于后者(另文发表),因此 MSGC 的容器残体和土壤只在土埋前期保持了较高的微生物活性,而 MBGC 的高微生物活性维持时间较 MSGC 长得多。此外,由于豆胶主成分是高聚物蛋白质,其降解中间产物包括氨基酸、羧酸、胺类,因此 MBGC 处理无论是容器残体还是土壤,这类碳源利用率活性也相对较高。

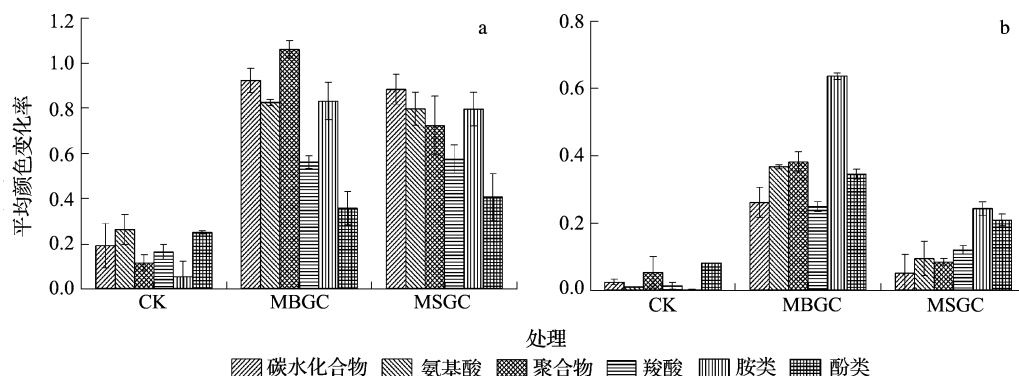


图9 土壤不同处理微生物碳源利用

注: a: 土埋 5 d, 培养第 96 h; b: 土埋 30 d, 培养第 96 h

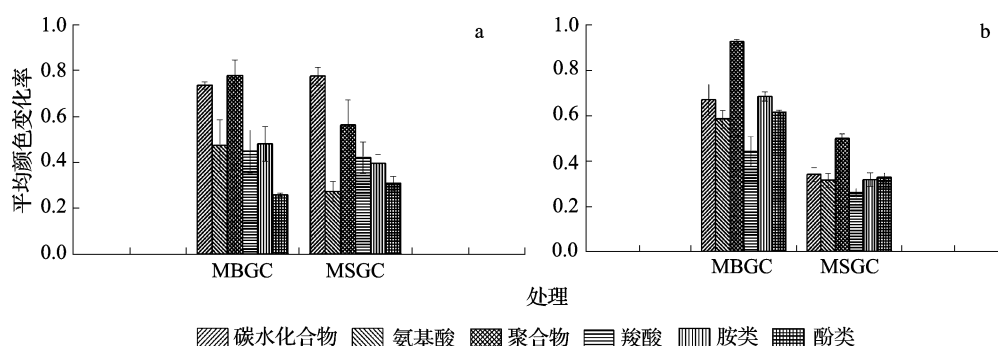


图10 秸秆容器不同处理微生物碳源利用

注: a: 土埋 5 d, 培养第 96 h; b: 土埋 30 d, 培养第 96 h。

3 结论

通过土埋试验, 采用常规分析测定了土壤及其残体中的酶活、可培养微生物数量, 借助Biolog^{Eco}微平板计数测定了土壤及容器残体中微生物对6大类碳源利用活性。研究结果发现: (1) 秸秆容器埋入土壤, 可迅速被土壤微生物侵蚀并引起容器残体和土壤中微生物数量及相关酶活性快速增长。(2) 土埋过程, 秸秆容器种类对样品残体附生微生物数量种类及淀粉酶、蛋白酶、纤维素酶活性及变化起决定性作用, 并对土壤中微生物及磷酸酶、脲酶有选择性激活作用, 豆胶和淀粉胶两种容器残体淀粉酶、纤维素酶活性相近, 但前者蛋白酶活性显著高于后者, 土壤中磷酸酶及脲酶活性则后者高于前者。(3) 土埋初期豆胶容器和淀粉胶容器附生微生物对6类碳源具有较高利用活性, 土埋30 d后淀粉胶容器对6类碳源利用活性显著下降, 而豆胶容器对碳源利用活性则有显著增强, 两种容器残体微生物群落结构存在显著差异性; 被试土壤, 在土埋初期埋植容器样片两个处理的

微生物碳源利用活性较高, 土埋30 d淀粉胶容器处理的土壤微生物碳源利用活性显著减弱, 豆胶容器处理的碳源利用活性仍然较强, 但无论前期还是后期两个处理间微生物对碳源代谢功能差异显著, 这种差异性主要是由于二者采用了不同的胶粘剂引起的。本试验结果为秸秆育苗容器田间应用及其生态效益评价提供了理论依据。

参考文献:

- [1] 白晓虎, 李芳, 张祖立, 等. 农作物秸秆挤压成型育苗容器的研究进展 [J]. 农机化研究, 2007, 3 (5): 225-227.
- [2] 陈中玉, 马方. 植物纤维制取育苗钵开发利用的国内外研究现状 [J]. 吉林农业, 2010, (11): 39.
- [3] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review [J]. Biology and Fertility of Soils, 1999, 29 (2): 111-129.
- [4] Rogers B F, Tate R L. Temporal analysis of the soil microbial community along a top sequence in Pineland soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33 (10): 1389-1401.
- [5] Anelia K, Marta E, Valentina C, et al. Physiological diversity of bacterial communities from different soil locations on Liv-

- ington Island, South Shetland archipelago, Antarctica [J]. Polar Biology, 2013, 36 (2): 223–233.
- [6] Wang M, Qu L Y, Ma K M, et al. Soil microbial properties under different vegetation types on Mountain Han [J]. Science China Life Sciences, 2013, 56 (6): 561–570.
- [7] 于寒, 谷岩, 梁烜赫, 等. 玉米秸秆腐解规律及土壤微生物功能多样性研究 [J]. 水土保持学报, 2015, 29 (2): 305–309.
- [8] Agata G, Magdalena F, Karolina O. The application of the Biolog EcoPlate approach in ecotoxicological evaluation of dairy sewage sludge [J]. Appl Biochem Biotechnol, 2014, 174 (4): 1434–1443.
- [9] 郑华, 欧阳志云, 方治国, 等. BIOLOG 在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用 [J]. 土壤学报, 2004, 41 (3): 456–461.
- [10] 王刚, 陈统强, 吴文娟, 等. 烘干称重法与自动观测土壤湿度的差异分析 [J]. 气象研究与应用, 2010, 32 (2): 53–56.
- [11] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [12] Kenzhebaeva S S, Yamamoto Y, Matsumoto H. Aluminum induced changes in cell-wall glycoproteins in the root tips of Al-tolerant and Al-sensitive wheat lines [J]. Russ J Plant Physiol, 2001, 48: 441–447.
- [13] Schutter M, Dick R. Shifts in substrate utilization potential and structure of soil microbial communities in response to carbon substrates [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001, 33 (11): 1481–1491.
- [14] Staddon W J, Duchesne L C, Trevors J T. Impact of clear-cutting and prescribed burning on microbial diversity and community structure in a Jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) clear-cut using Biolog Gram-negative microplates [J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 1998, 14 (1): 119–123.
- [15] Garland J L, Mill A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1991, 57: 2351–2359.
- [16] Keun H C, Fred C D. Comparison of two kinds of Biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities [J]. Journal of Microbiological Methods, 1999, 36 (2): 203–213.
- [17] 伍兵, 邓悟森, 谭周进. 鸡粪堆肥的酶活特性研究 [J]. 中国微生物生态学杂志, 2011, 23 (11): 972–975.
- [18] Maria V, Mercedes S, Vicente B, et al. Multifunctional properties of phosphate-solubilizing microorganisms grown on agro-industrial wastes in fermentation and soil conditions [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2010, 85: 1287–1299.
- [19] Yan D Z, Wang D J, Yang L Z. Long-term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on labile organic matter fractions in a paddy soil [J]. Biol Fertil Soils, 2007, 44: 93–101.
- [20] 沈其荣, 王瑞宝, 王岩, 等. 堆肥制作中的生物化学变化特征 [J]. 南京农业大学学报, 1997, 20 (2): 51–57.
- [21] 倪治华, 薛智勇. 猪粪堆制过程中主要酶活性变化 [J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11 (3): 406–411.
- [22] 罗天发. 豆粕质量及其鉴定 [J]. 中国油脂, 2008, 33 (5): 66–67.
- [23] 王洪媛, 范丙全. 三株高效秸秆纤维素降解真菌的筛选及其降解效果 [J]. 微生物学报, 2010, 50 (7): 870–875.
- [24] Petr B V. Degradation of cellulose by basidiomycetous fungi [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2008, 32 (3): 501–521.
- [25] Du R Y, Su R X, Li X, et al. Controlled adsorption of cellulase onto pretreated corncob by pH adjustment [J]. Cellulose, 2012, 19 (2): 371–380.
- [26] 周礼恺. 土壤酶学 [M]. 北京: 科学出版社, 1987. 118–159.
- [27] Clarholm M. Microbial biomass-P, labile-P, and acid phosphatase activity in the humus layer of a spruce forest, after repeated additions of fertilizers [J]. Biology and Fertility of Soils, 1993, 4 (16): 287–292.
- [28] Madeleine M S, Alain F P. Changes in phosphatase kinetics with soil depth across a variable tropical landscape [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 4 (71): 61–67.
- [29] Zhao G Z, Lin Y Q, Tian Y, et al. Preparation and properties of macromolecular slow-release fertilizer containing nitrogen, phosphorus and potassium [J]. Journal of Polymer Research, 2010, 17 (1): 119–125.
- [30] Staunton S, Razzouk R, Abadie J, et al. Water-extractable soil organic matter inhibits phosphatase activity [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2012, 55 (6): 14–16.
- [31] Fließbach A, Oberholzer H R, Gunst L, et al. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming [J]. Agric Ecosyst Environ, 2007, 118: 273–284.
- [32] Bremner J M, Mulvaney R L. Urease activity in soils [A]. Burns R G. Soil enzymes [M]. New York: Academic Press, 1978. 149–196.
- [33] 黄继川, 彭智平, 于俊红, 等. 施用玉米秸秆堆肥对盆栽芥菜土壤酶活性和微生物的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16 (2): 348–353.
- [34] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities [J]. Environmental Management, 1997, 21 (2): 233–238.
- [35] Benizri E, Amianud B. Relationship between plants and microbial communities in fertilized grasslands [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37 (11): 2055–2064.
- [36] Amarilis V, Cristina C Q, Guiwei Q. Amendment of an acid mine soil with compost and polyacrylate polymers enhances enzymatic activities but may change the distribution of plant species [J]. Water Air Soil Pollut, 2010, 208: 91–100.

Degradation of rice straw-made seedling container and its effects on soil microflora

WANG Ming-yan¹, WU Hong-sheng^{2*}, HUANG Hong-ying¹, ZHANG Rong¹, WANG Jia-jia¹, SUN En-hui¹, CHANG Zhi-zhou¹ (1. Jiangsu Province Academy of Agricultural Sciences Institute of Resources and Environment, Nanjing Jiangsu 210014; 2. Nanjing University of Information Science & Technology Department of Agricultural Resources and Environment, Nanjing Jiangsu 210044)

Abstract: In order to elucidate the effect of biodegradation process of the straw seedling containers on enzyme activities and microflora of soil and container residues, a soil-buried experiment were carried out with two types of straw containers, which were named as starch adhesive/straw seedling containers (Modified starch glue container, MSGC) and soybean adhesive/straw seedling containers (Modified Bean glue container, MBGC), respectively. In this experiment, two treatments were buried into soil with platelets cut from straw container walls and the control (CK) was the ones without any platelets. The experiment lasted 45 days and enzyme activity and the number of microbes and microbial community diversity of soil and platelets were determined by the conventional analysis and Biolog^{Eco} methods. The results showed that the enzyme activities of soil and platelets tended to rise in general. There was no significant difference of amylase activities of the platelets between MSGC and MBGC and cellulose enzyme activity of MSGC was significantly higher than that of MBGC in the early period but not significantly different in the later period. Nevertheless, protease activity of MBGC had always been significantly higher than that of MSGC in the whole process. Straw container promoted activity of soil urease and phosphatase, which of MSGC were higher compared to MBGC. Biolog^{Eco} analysis showed that straw container significantly increased utilization of various carbon sources of soil microbes, and the value of soil AWCD increased in the beginning and decreased afterwards. The difference between MBGC and MSGC was that soil AWCD value of the latter declined significantly faster than that of the former. There was significant difference of microbial functional diversity in the early between two containers and the gap narrowed soon afterwards. Compared with MSGC, MBGC had advantage of soil microorganisms utilization activities of amino acids, polymers, and amine, which mainly related to the different container adhesives. The results of this study provided a theoretical basis for field application and evaluation of its ecological effect of straw seedling containers.

Key words: straw seedling container; biodegradation; enzyme activity; microbial functional diversity

[上接第 112 页]

Six treatments (CK, CK1, CK2, T1, T2, T3) were set up and each treatment had 3 pots and each pot had 4 plants. T1, T2 and T3 treatment were used for N-CNPs adding urea, CK2 treatment was used for DCD adding urea, CK1 treatment was used for urea. The results showed that, the process of nitrification was obviously restrained with N-CNPs, compared with the CK1 treatment, the $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ content increased by 118% and the $\text{NO}_3^- - \text{N}$ content decrease of 49.74 mg/kg. The N-CNPs application significantly improved N accumulation in leaf, stem and root at seeding stage, and increased dry matter accumulation of rapeseed plant. The rapeseed was strongly inhibited with increases N-CNPs concentrations to 15‰. In conclusion, the optimal application rate of N-CNPs was 5‰ with N application, which increased the fertilizer N use efficiency, and promoted the rapeseed growth and N utilization at early growth stages significantly.

Key words: nitrogen-doped; carbon nanoparticles; nitrification inhibitor; nitrogen utilization