尿素肥斑扩散对土壤微生物群落结构的影响

王曙光^{1,2},侯彦林³

(1. 中国科学院生态环境研究中心,北京 100085;2. 北京化工大学化工学院,北京 100029; 3. 中国科学院研究生院,北京 1000039)

摘要,磷脂脂肪酸(PLFA)被认为是有效指示活体土壤微生物群落结构变化的标记物之一,该方法已在土壤微生物的研究中被 大量应用。采用特制容器,模拟尿素肥斑在土壤中的扩散行为,观察距尿素肥斑不同距离微域中养分形态和浓度变化及其对土 壤微生物群落结构的影响。试验结果表明,培养 7d 后,No. 7(距肥斑 7cm)和 No. 8(距肥斑 8cm)微域的 NH+ \NO_ \NO3 浓度 最高,NO2 是尿素扩散区域的主要离子存在形态。对提取到的 25 种 PLFA 进行主成分分析(PCA),发现 PLFA 组成随不同微 域养分浓度变化而变化,说明微生物群落结构发生了改变。就标记性 PLFA 而言,尿素扩散导致真菌 PLFA 在高浓度养分微域 浓度增加,细菌 PLFA 浓度下降,其中,No.7 微域的真菌 PLFA18:2ω6,9 和 PLFA18:1ω9 浓度分别比对照(No.20 微域)增 加 173%和 47.2%。然而,放线菌 PLFA 10Me18:0 浓度变化不大。 关键词:微生物群落结构:磷脂脂肪酸:尿素:养分转化

Effect of diffusion of urea patch on microbial communities in soil

WANG Shu-Guang^{1,2}, HOU Yan-Lin³ (1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, CAS, Beijing 100085, China; 2. School of Chemical Engineering, Beijing 100029, China; 3. Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China). Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(10): 2269~2274.

Abstract: Distribution of nutrients in soils is highly heterogeneous (nutrient patchiness) due to natural and anthropogenic factors. In agricultural soils, this inherent patchiness is increased by fertilizers application. As a fertilizer granule dissolves, its salts diffuse outwards and water move inwards. This creates local, transient gradients in ionic concentrations and moisture contents. In the nutrient patch, soil physico-chemical properties, microbial community and activity, nutrient transformation and availability, fertilizer behavior, and root proliferation might change. However, apart from root proliferation, little is known about others.

The soil microbial community is probably the most important functional component of the soil biota. Soil microorganisms play a key role in the energy flows, nutrient transformations and element cycles in the environment. Microbial biomass itself is the essential source and sink of nutrients for the whole terrestrial ecosystem, supporting the soil fertility. They also make an important contribution to humus production and soil structure stabilization. However, the sensitivity of microbes to environmental changes determines which is affected first, and many processes related to microbial activities are also changed. It is, therefore necessary to investigate the microbial communities in order to understand other changes in nutrient patches.

Phospholipid fatty acids (PLFA) analyses have been used to describe microbial communities in soil. This method is based the fact that PLFA are the major constituents of membranes of all living cells and different subsets of a community have different PLFA pattern. Some specific PLFAs can be used as indicators of microorganisms. For example, PLFA i14:0, a15:0 are specific to Gram-positive bacteria, and cy17:0, cy19:0 are specific to Gram-negative bacteria. Fungal PLFA are $18: 2\omega 6, 9, 18: 1\omega 9$, and 10 Me 18: 0 is suitable for actinomycetes.

The current study aimed to: (1) investigate the transformation of nitrogen forms and changes of their concentrations in

基金项目:国家自然科学基金资助项目(40071053)

收稿日期:2003-07-28;修订日期:2004-07-28

作者简介:王曙光(1973~),男,山东东明人,博士,主要从事土壤环境研究。E-mails:shgwang2002@yahoo.com.cn Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 40071053)

Received date: 2003-07-28: Accepted date: 2004-07-28

Biography: WANG Shu-Guang, Ph. D., mainly engaged in soil environment. E-mail:shgwang2002@yahoo.com.cn

The results showed that, after 7d culture, the highest concentrations of NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- were in the No. 7 microzone (7cm away from the fertilizer) and No. 8 microzone (8cm away from the fertilizer). NO_2^- that was the primary ion existed in soil. Principal component analysis (PCA) of PLFA data indicated there was a gradual change in PLFA pattern for different nutrient concentrations; this could be seen in either the first or the second principal component. As for special marked PLFA, high nutrients resulted in a increase in the fungal PLFA 18 : $2\omega 6$, 9 and 18 : $1\omega 9$, which increased 173% and 47. 2% in the No. 7 than in the No. 20 microzone, respectively; while decreases were found in the bacterial PLFA a15 : 0, cy19 : 0. Actinomycete PLFA 10Me18 : 0 slightly changed.

Key words:microbial communities in soil; phospholipid fatty acids (PLFA); urea; changes in nutrient patches 文章编号:1000-0933(2004)10-2269-06 中图分类号:Q938,S147.22,S154.34 文献标识码:A

由于自然和人为因素的影响,土壤中很多养分是以"斑状(patch)"或"脉状(pulse)"形式存在的,通称"营养斑"^[1,2]。施肥,尤 其是穴施或条施,是典型的人为因素促成营养斑。在营养斑内,土壤理化性质、微生物群落结构和活性、养分形态转化和有效性、 肥料环境行为、植物根系的生长发育等都可能发生变化^[3]。大量研究已证实了营养斑内根系生长发育受到的影响^[4,5],但对营养 斑内其它变化了解和研究都还很少。

土壤微生物群落是土壤生物区系中最重要的功能组分。土壤微生物不仅在环境中能量流动、养分转化及有效性和元素循环 方面有着不可替代的作用,而且土壤微生物本身还是土壤养分重要的"源"和"汇",支撑着土壤肥力,在土壤资源的可持续利用 中起着重要作用^[6]。但土壤微生物对环境变化的敏感性也决定了其可能是首先受到环境变化影响的群体,从而使与土壤微生物 相关的一系列过程受到影响。尿素扩散引起的土壤环境变化对微生物群落结构有何影响,无疑关系到局部的养分转化、肥料利 用及其环境效应等,因此,开展该方面研究对了解营养斑内更多变化有重要意义。

磷脂脂肪酸 (PLFA)方法是近年来比较流行的一种微生物群落结构测定方法^[7],该法以 PLFA 是微生物细胞膜的重要组成成分,不同类群微生物 PLFA 组成不同为基础,通过部分可作为标记性的 PLFA 含量变化来指示活体土壤微生物群落结构的变化。如 PLFA i14:0、a15:0 可作为革兰氏阳性细菌的标记性磷脂脂肪酸^[8];PLFA cy19:0、cy17:0 可作为革兰氏阴性细菌的标记性磷脂脂肪酸^[8];PLFA cy19:0、cy17:0 可作为革兰氏阴性细菌的标记性磷脂脂肪酸^[8];真菌的标记性 PLFA 是 18:2 ω 6,9、18:1 ω 9^[9];放线菌标记性 PLFA 是 10Me18:0^[10]。

本试验采用特制容器,通过尿素的立体扩散,以 PLFA 方法研究尿素扩散对微生物群落结构的影响。为了便于取样,把肥料的立体扩散简化为垂直扩散,以层施代替穴施,尽量减小因土壤本身是不均质体造成的肥料扩散误差。

1 材料和方法

1.1 供试土壤

供试土壤为潮土,取自中国科学院禹城实验站(山东禹城),土壤基本理化性质如下:pH7.90,有机质 1.12%,全 N 0.89 g/kg,全 P 0.67g/kg,全 K 20.5g/kg,速效 P 3.2mg/kg,速效 K 144mg/kg。风干后过 2mm 筛,使用前把土壤水分含量调至田间 持水量的 60%。

1.2 肥料

所用肥料为尿素,使用前经研钵磨成粉末状。肥料用量为常规田间施肥量(400kg/hm²)的10倍。增大施肥量是为了增加扩 散土柱直径,以取得足够供分析的土样量和减少因土壤不均质性造成的肥料扩散误差。

1.3 实验容器

实验容器如图 1,由 A 和 B 两部分组成,A 容器直径为 11.5cm,高 4cm,无盖无底,一端缚有 40 目尼龙网。B 容器直径为 12cm,高 20cm,带底,内有一不锈钢网围成的圈(圈高 20cm,直径 10cm,网孔径 1cm),由于网孔较大,并不会使圈内外土容重产 生差异,使用不锈钢圈的目的是取样时除掉边际效应。具体操作为:把不锈钢网圈置于 B 容器的中间,均匀填入调过水分的土 壤(容重约为 1.1 g/cm³),整平 B 容器上土表面;把 A 容器放于 B 上(缚尼龙网的一端与土面相接),使两者充分接触,再把尿素 粉末均匀撒入 A 底端的尼龙网上,覆盖 200g 土。最后,为防止 A、B 容器接口处的土壤水分蒸发影响尿素的溶解和扩散,在接口 处套上保鲜膜筒,并在保鲜膜筒内填入同样湿度的土壤。

1.4 取样

试验在恒温室中进行,共培养49d,每隔7d取样1次,每次3个重复。取样时,拿掉A容器,轻轻扫去B上表面的浮土,在不 锈钢网圈内方方 按约用 位逐层取土,每层为一个微域,即0~1cm为No.1 微域,1~2cm为No.2 微域,依次类推,直至19~ 20cm(No.20 微域)。

1.5 样品分析

1.5.1 PLFA 的测定 PLFA 分析方法参考 Frostegård 等^[11]。 即称 4.00g 湿土于 250ml 三角瓶中,加 25ml 脂类提取液 (氯仿:甲醇:柠檬酸缓冲液=1:2:0.8,体积分数比例),室 温下振荡提取 2h,2500r/min 离心 5~7min。取上清液,再加 5ml 氯仿和 5ml 柠檬酸缓冲液,摇匀过夜分离。转移氯仿相至新试 管, N_2 干燥至 1ml,过硅胶柱(600mg,100~200 目,100°C活化 1h,)。依次用 5ml 三氯甲烷,10ml 丙酮,5ml 甲醇洗涤柱子。收集 甲醇洗涤液, N_2 干燥。用 1ml 甲醇-甲苯溶液(1:1,体积分数比 例)溶解吹干的脂类物质,加入 1ml 0.2mol/L KOH,37°C水浴加 热 15min。再依次加入 2ml 正己烷、0.3ml 1mol/L 醋酸和 2ml 水。取上层含脂肪酸甲酯(FAME)的正己烷溶液, N_2 干燥。最后 用 1ml 氯仿-正己烷(1:4,体积分数比例,含内标物 19:0)溶解 干燥的脂肪酸甲酯,进行 GC-MS 测试。GC-MS 条件:HP6890/



图1 实验装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of experimental system

MSD5973,HP-5 毛细管柱(phenylmethyl silicone,60m×0.32mm×0.25um Film Thickness),不分流进样。进样口温度 230°C; 检测器温度 270°C。升温程序 50°C,持续 1min,以 30°C/min 增加至 180°C,保持 2min,再以 6°C/min 增加至 220°C,持续 2min,以 15°C/min 升至 240°C,保持 1min,再以 15°C/min 升至 260°C,保持 12min。He 气作载气,流量为 0.8ml/min。PLFA 的定性根据 质谱标准图谱和已有的相关报道,以 PLFA 19:0 做内标物进行定量计算。

脂肪酸命名 以总碳数:双键数和双键距离末端甲基(ω)的位置命名。如 PLFA 16:1ω7,表示距末端第7位碳上有1个 双键的16碳脂肪酸。a和i分别表示反异构(anteiso)和异构(iso);br表示没确定支链位置;10me表示甲基团在距分子末端第 10个碳原子上;cy指环丙烷脂肪酸。

1.5.2 NH⁺₄、NO⁻₂ 和 NO⁻₃ 的测定 10g 鲜样于 250ml 三角 瓶中,加 50ml 2 mol/L KCl 溶液,振荡 1h,过滤,取滤液分别 用靛酚蓝比色法^[12]、4-氨基苯磺酰胺和 N-(1-萘基)-乙二胺二 盐酸盐分光光度法^[13]测铵态氮、亚硝态氮含量;硝态氮的测定 用差值紫外分光法(220nm 和 275nm),具体参见葛灿等^[14]。

1.6 数据统计分析

用 SPSS10.0 软件包进行主成分分析(PCA)和 ANOVA 分析。

2 结果与分析

培养 7d 后,发现尿素扩散基本在 1~10cm 范围内,所以, 也仅观察了这些土壤微域的微生物群落结构变化,选择尿素 没有扩散到的 No. 20 微域是为了起对照作用。

2.1 尿素肥斑扩散过程中的氮素形态转化

与对照 (No. 20 微域) 相比, $1 \sim 10$ cm 范围内的 NH⁺₄、 NO⁻₂、NO⁻₃ 浓度不同程度的有所增加, 但它们在 $1 \sim 4$ cm 不同 微域间基本没有显著差异 (P < 0.05), 而在 $5 \sim 9$ cm 不同微域 间浓度差异较为显著 (p < 0.05)(表 1)。三者的浓度都在 No. 7 和 No. 8 cm 微域达到最大。相比较而言, NO⁻₂ 浓度变化最为显 表 1 培养 7d 后不同土壤微域的 NH⁺₄、NO₂⁻、NO₃⁻ 浓度变化

Table 1 Concentrations of NH_4^+ , NO_2^- , NO_3^- in the different soil microzones after 7d culture

土壤微域	NH_4^+	NO_2^-	NO_3^-		
Soil microzone	(mg/kg)	(mg/kg)	(mg/kg)		
No. 1	155a	23. 5a	59a		
No. 2	154a	27.3a	53a		
No. 3	164a	30. 5a	60a		
No. 4	165a	56.7b	57a		
No. 5	187b	245c	93b		
No. 6	218c	966d	189c		
No. 7	222c	1755e	315d		
No. 8	287d	1753e	356e		
No. 9	139a	316f	142f		
No. 10	87e	22.9a	64a		
No. 20	27f	8.25g	61a		

* 表中数据为 3 次重复的平均值 The data in the table represented means of three replicates;同列中不同字母表示在微域间 在 P<0.05 水平上差异显著 Different letters in a column indicated significant difference among soil microzones at P<0.05 by ANOVA</p>

著,分别为对照(No. 20 微域)的几倍到几百倍,这表明在特殊环境中,NO2 在土壤中是大量存在的。尽管 NO2 、NO3 比 NH4 的 移动性强,但在没有外加水分的条件下,它们扩散距离没有表现出差异(表 1)。

2.2 距尿素肥斑不同距离的土壤微域中 PLFA 浓度变化

培养扩散 7d 后,所有土样中均检测到 25 种单体磷脂脂肪酸,包括支链、环链及不饱和磷脂脂肪酸。其中,不饱和 PLFA 16:1ω7、支链 PLFA a17:0 在 GC-MS 图谱上均有 3 个峰出现,可能存在其它变异结构,由于没做进一步鉴定,故按出峰的先 后顺序,分别为方数(据 c)予以标记。从表 1 可以看出,与其它微域相比,No.7 和 No.8 微域的 PLFA 12:0、14:0、br15:0、 16:0、18:2ω6,9、18:1ω9 浓度较高;相反,PLFA 18:1ω7、a17:0b、16:1ω7a、i16:0、15:0、a15:0、cy19:0 在 No.7 和

No.8微域浓度较低;其它PLFA浓度变化则较小。

表 2 培养 7d 后不同土壤微域的 PLFA(mol%)

Table 2 PLFA in the different soil microzones after 7d culture

PLFA -	不同土壤微域 Different soil microzones										
	No. 1	No. 2	No. 3	No. 4	No. 5	No. 6	No. 7	No. 8	No. 9	No. 10	No. 20
12:0	0.45	0.67	0.35	0.40	0.56	0.53	0.68	0.71	0.55	0.42	0.43
13 : 0	0.31	0.46	0.25	0.33	0.39	0.32	0.49	0.17	0.36	0.33	0.35
i14 : 0	2.76	2.32	2.14	1.95	1.93	1.92	1.95	1.94	1.91	2.11	1.46
14 : 0	2.24	2.31	2.26	2.38	2.76	2.53	3.21	3.39	2.50	2.59	1.60
15 : 0	17.3	17.9	16.9	16.7	15.7	16.2	12.4	14.8	15.5	17.2	14.9
a15:0	12.7	11.9	10.9	9.71	9.10	8.76	8.57	8.57	8.57	9.95	9.03
br15 : 0	1.06	0.98	1.06	0.99	1.07	0.99	1.46	1.48	1.07	1.10	0.89
i16 : 0	5.06	5.23	5.19	5.28	4.66	4.74	3.96	4.46	4.79	5.20	4.83
16 : 1ω7 ^{a *}	1.71	1.57	1.49	1.51	1.38	1.61	1.02	1.42	1.62	1.64	1.06
16 : 1ω7 ^b	6.87	7.23	7.55	8.35	8.86	9.39	6.49	8.10	8.23	8.71	8.17
16 : 1ω7°	3.85	3.89	3.96	4.19	4.37	4.52	3.63	4.39	4.58	4.71	3.88
16 : 0	13.7	14.0	14.4	14.6	16.0	15.1	21.2	17.8	15.2	14.6	20.0
17 : 0	0.35	0.34	0.36	0.35	0.30	0.35	0.43	0.33	0.38	0.39	0.35
a17:0ª	8.09	7.52	8.72	9.01	8.69	9.32	7.54	8.77	9.34	9.09	10.7
a17 : 0 ^b	2.13	2.21	2.24	2.29	2.16	2.06	1.78	2.02	2.27	2.17	2.37
a17 : 0°	2.82	2.80	2.84	2.59	2.66	2.38	2.75	2.32	2.46	2.57	2.63
cy17:0	1.95	1.95	1.60	2.06	1.98	2.14	1.45	2.12	2.26	2.13	2.43
10Me17:0	1.51	1.49	1.53	1.57	1.35	1.45	1.19	1.36	1.58	1.45	1.40
br18:0	0.64	0.64	0.66	0.61	0.60	0.62	0.47	0.61	0.71	0.59	0.80
18:2ω6,9	1.00	0.80	0.94	0.75	1.30	1.01	2.18	1.23	1.10	0.82	0.80
18 : 1ω9	3.92	3.76	3.91	3.79	3.87	4.01	5.33	4.06	4.23	3.53	3.62
18 : 1ω7	4.90	5.26	5.74	6.05	5.47	5.43	4.23	5.12	5.69	4.90	5.83
18 : 0	2.09	2.18	2.27	2.03	2.56	2.12	5.27	2.59	2.33	1.72	2.92
10Me18 : 0	0.71	0.67	0.73	0.70	0.66	0.70	0.62	0.68	0.77	0.63	0.56
cy19:0	1.89	1.96	1.99	1.84	1.71	1.82	1.73	1.70	2.03	1.53	0.56

* 名称中带上标字母 a 到 c 表示部分鉴定的脂肪酸 Suffix values a to c indicate partially identified fatty acids

PCA 分析表明,尿素扩散对微生物群落结构产生了显著影响。随养分浓度的增加,PLFA 构成逐步发生变化。从第一主成 分看,高浓度养分微域分布在主成分分析图的左边,低浓度养分 微域和对照分布在图的右边;从第二主成分看,高浓度养分微域 在主成分分析图的下边,低浓度养分微域在图的上边,但对照较 为特殊(图 2)。第一主成分对总 PLFA 数据变异的贡献率为 43.1%,第二主成分对总 PLFA 数据变异的贡献率为 22.5%。

图 3 表示的是单体 PLFA 在主成分上的载荷值 (loading value)。可以看出,PLFA 18:2 ω 6,9、18:1 ω 9、br15:0、14:0、 18:0 与 PC1 呈负相关,表明这些 PLFA 浓度在高浓度养分微 域较高;相反,PLFA 18:1 ω 7、a17:0b、br18:0、cy17:0 与 PC1 呈正相关,表明这些 PLFA 在养分低浓度微域浓度较高。根 据前面提到的标记性 PLFA,可以判断,真菌在高浓度养分微域 数量增加,革兰氏阳性和阴性细菌在高浓度养分微域数量下降, 而放线菌受尿素扩散影响似乎很小。



图 2 PCA 分析显示随尿素扩散 PLFA 构型的变化 Fig. 2 PCA showing variation in PLFA pattern due to urea diffusion

数字表示距离尿素肥斑不同距离的微域 Scores indicate different microzones away from urea patch

3.1 尿素肥斑的扩散

3 讨论

尿素肥斑要溶解扩散,首先在脲酶作用下产生 NH⁴,然后才能发生其它反应,所以 NH⁴₄ 是其它离子的"源"。但 NH⁴₄ 易受 土壤颗粒的**为附我致擔**条件等的影响(尤其是 pH),决定了其浓度变化的复杂性。理应越靠近肥斑 NH⁴₄ 浓度越高,但结果却恰 恰相反,这主要是因为越靠近肥斑,土壤 pH 越高,越有助于 NH₃ 的挥发,使 OH⁻ + NH⁴₄→NH₃+H₂O 平衡向右移动,消耗了大 量的 NH⁴₄。在尿素能扩散到的范围内,远离肥斑的微域土壤 pH 较低,故有助于 NH⁴₄ 的积累。NH⁴₄ 在硝化细菌的作用下,被氧 化为 NO²₂,所以,NH⁴₄ 浓度高的微域 NO²₂ 浓度也相应较高。但 是,NO²₂ 在旱作土壤中的浓度一般很低,这主要是因为 NO²₂ 不 稳定,很容易被氧化为 NO³₃ 或还原为气体形态^[15]。然而,在本试 验中,NO²₂ 浓度却比较高,可能与肥料扩散形成的特殊微域环境 有关,即高 pH 和高 NH⁴₄ 浓度^[16]。在高 pH 时,亚硝酸盐比硝酸 盐生成速度快,其分解成气态氮又受高 pH 的限制,尤其 pH 超 过 8.5,亚硝化作用可以继续,而硝化作用很弱^[17];高浓度 NH⁴₄ 则对亚硝化微生物产生抑制作用^[16],这些都有助于 NO²₂ 的积 累。与 NO²₂ 浓度相比,NO³ 明显较低,造成这种现象有两种可 能:① 在特殊微域环境中,NO²₂ 向 NO³₃ 转化受阻;②生成的 NO³₃ 在反硝化作用下又转化为 NO²₂。从两者的浓度差来看,第 2 个可能性似乎较小。



图 3 单体 PLFA 的主成分载荷值



3.2 微生物群落结构的变化

土壤微生物区系由多种微生物组成,这些微生物对环境变化的反应各异。对环境变化敏感的微生物较早死亡,有助于更适应环境的其它微生物生长,从而导致微生物种群结构的变化,生存下来的微生物可能通过表型和基因型的改变更好的适应环境变化^[18]。在本试验中,尿素扩散明显改变了土壤微生物的群落结构(图 2),这可能由于:①尿素扩散过程中,不仅土壤环境发生了变化(如 pH 升高、土壤渗透压增加),而且高浓度养分离子(尤其是 NO⁻2)对微生物也会产生胁迫和毒害作用,造成部分土壤 微生物死亡;②特殊环境的微域土壤中,不同形态的氮素诱导了部分微生物的生长,从而改变了微生物的群落组成。

就单体磷脂脂肪酸来说,真菌 PLFA 18:2ω6,9 变化最大,其在养分浓度最高的 No.7 微域浓度(2.18%)是对照 No.20 微 域(0.8%)的 2.73 倍,PLFA 18:1ω9 浓度也比对照增加 47.2%,说明真菌在 No.7 微域土壤中大量繁殖,这可能与真菌多以孢 子、菌丝体存在,而它们的抗、耐逆境能力强有关,为真菌在特殊环境中生存提供了保障;随 NH⁺ 浓度增加,硝化势的增加会诱 导硝化微生物生长,而真菌在被诱导的微生物中可能占主导地位,故在高浓度养分微域表现为生长增加。与低浓度养分微域的 细菌 PLFA 相比,高浓度养分微域的细菌 PLFA 浓度下降,说明适当浓度的养分可以刺激细菌的生长,而养分浓度过高则会抑 制细菌生长,这也揭示了细菌对环境变化的敏感性。放线菌 PLFA 10Me18:0 的浓度随尿素扩散变化不大,但这并不能说明放 线菌肯定不受影响,出现这种现象有两种可能:①放线菌确实受尿素扩散影响较小;②高浓度养分使部分放线菌死亡,但随着硝 化作用和反硝化作用强度的变化,作为硝化^[19]和反硝化微生物^[20]的一部分,某些放线菌数量可能增加,且增加与死亡的数量持 平,这种微生物量不变但微生物属组成发生变化的现象在研究中是经常遇到的^[21]。

由于施肥量、试验条件、土壤类型、覆盖植被类型等的不同,施肥对土壤微生物的影响也不一致^[21,22]。如本试验结果表明尿 素扩散促进了真菌群落的形成,而 Bardgett 等^[23]却观察到了相反的试验现象;Lovell 等发现施肥有益于细菌群落形成,还可能 通过改变养分有效性而直接影响其它微生物群落^[24],而本试验发现施肥不利于细菌的生长。今后应该开展相同条件下,施肥对 不同土壤、植被类型情况下微生物群落结构的影响及其机理研究,为科学施肥提供参考。

References:

- Caldwell M M and Pearcy R W. Exploitation of environmental heterogeneity by plants: Ecophysiological processes above- and belowground. San Diego: Academic Press, 1994. 305~323.
- [2] Huang S W, Jin J Y. Advance in study on spatial variability of soil properties. Soils and Fertilizers, 2002.1: 8~14.
- [3] Lu R K. Microzone soil science—a possible new branch of soil science. Acta Pedologuca Sinica, 1999, 36(2): 287~288.
- [4] Jackson R B, Manwaring J H, Caldwell M M. Rapid physiological adjustment of roots to localized soil enrichment. *Nature*, 1990, **344**: 58~60.
- [5] Meisner C A, Karnok K J. Root hair occurrence and variation with environment. Agronomy Journal, 1991, 83: 814~818
- [6] Hofman J, Bezchlebvá J, Dušek L, et al. Novel approach to monitoring of the soil biological quality. Environment international, 2003, 28: 771~778.
- [7] Wang **Fight** L. Application of phospholipid fatty acid method in soil microbial analysis. *Microbiology*, 2004, **31**(1):114~117.
- [8] Ratledge C, Wilkinson S G. Microbial Lipids. New York, Academic Press, 1988. 117~201.

- [9] Frostegård Å, Bååth E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. Biology and Fertility of Soils, 1996, 22: 59~65
- [10] Kroppenstedt R M. Fatty acids and menaquinone analysis of actinomycetes and related organisms. In: Goodfellow M and Minnikin D E eds. Chemical Method in Bacterial Systematics. London: Academic Press, 1985. 173~199.
- [11] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E. Phospholipid fatty acid composition, biomass, and acitivy of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, **59**(11): 3605~3617.
- [12] Lu R K. The chemical analysis method of agricultural soil. Beijing: Agricultural Science and Technology Press, 2000. 159~160.
- [13] China Standard Press. Collection of National Standard. Beijing: China Standard Press, 1993. 149~153.
- [14] Ge C, Shi Z N, Yan Z M, et al. Participant possibility of actinomycetes in soil denitrification. Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(1): 108 ~112.
- [15] Paul E A, Clark F E. Soil Microbiology and Biochemistry. San Diego: Academic Press, 1989. 30~35.
- [16] Burns L C, Stevens R J, Smith R V, et al. The occurrence and possible sources of nitrite in a grazed, fertilized, grassland soil. Soil Biology and Biochemistry, 1995, 27: 47~49.
- [17] Xi Z B. Chemical Fertilizer Science. Beijing: Science Press, 1994. 20~21.
- [18] Dyaz-Ravina M, Bååth E. Development of metal tolerance in soil bacterial communities exposed to experimentally increased metal levels. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62: 2970~2977.
- [19] Zhu Z L, Wen Q X. Nitrogen in Soils of China. Nanjing: Jiangsu Science and Technology Press, 1992. 94~96.
- [20] Shapleigh J. The denitrifying prokaryotes. In: Doworkin M ed. The Prokaryotes, An Evolving Electronic Resources of Microbiological Community, 2000, web version, release 3.13 (5/12,03), subject to update on time, at http://et.springer-ny.com:8080/prokpub/index. htm
- [21] Schmidt I K, Ruess L, Bååth E, et al. Long-term manipulation of the microbes and microfauna of two subarctic healths by addition of fungicide, bactericide, carbon and fertilizer. Soil Biology & Biochemistry, 2000, 32: 707~20.
- [22] Arnebrant K, Båå th E, Söderström B, et al. Soil microbial activity in eleven Swedish coniferous forests in relation to site fertility and nitrogen fertilization. Scandinavian Journal of Forest Research, 1996, 11:1~6.
- [23] Bardgett R D, Frankland J C, Whittaker J B. The effect of agricultural management on the soil biota of some upland grasslands. Agriculture Ecosystems and Environment, 1993, 45: 25~45.
- [24] Lovell R D, Jarvis S C, Bardgett R D. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland; effects of management changes. Soil Biology & Biochemistry, 1995, 27: 969~975.

参考文献:

- [2] 黄绍文,金继运.土壤特性空间变异研究.土壤肥料,2002,1:8~14.
- [3] 鲁如坤. 微域土壤学——一个可能的土壤学的新分支. 土壤学报,1999,36(2):287~288.
- [7] 王曙光,侯彦林. 磷脂脂肪酸方法在土壤微生物分析中的应用. 微生物通报,2004,31(1):114~117.
- [12] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京:中国农业科技出版社, 2000. 159~160.
- [13] 中国标准出版社总编室. 中国国家标准汇编. 北京:国家标准出版社,1993. 149~153.
- [14] **葛灿,石竹南,颜志民,等. 土壤放线菌参与反硝化可能性研究. 土壤学报,**2004,**41**(1):108~112.
- [17] 奚振邦. 化学肥料学. 北京:科学出版社, 1994. 20~21.
- [19] 朱兆良,文启效. 中国土壤氮素. 南京:江苏科学技术出版社,1992. 94~96.