

长期不同施肥对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响

罗希茜¹, 郝晓晖¹, 陈 涛¹, 邓婵娟¹, 吴金水^{1, 2}, 胡荣桂^{1, *}

(1. 华中农业大学资源与环境学院, 武汉 430070; 2. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 长沙 410125)

摘要:微生物群落功能多样性对土壤管理具有重要指示作用, 施肥措施对土壤微生物群落功能多样性产生重要的影响, 从而影响土壤有机质的含量, 引起土地碳贮量变化, 进而影响到陆地生态系统的碳汇。以位于湖南省桃江县国家级稻田肥力长期定位试验点的土样为研究对象, 采用 BIOLOG 测试板对不同施肥处理下土壤微生物功能多样性进行了研究。研究结果显示, 土壤微生物的碳源利用率因长期不同的施肥处理而发生分异。Shannon 和 Simpson 指数的结果显示所有施肥处理均有利于维持微生物群落多样性, 但秸秆还田和习惯施肥使群落均匀度 (McIntosh 指数) 降低。主成分分析表明, 试验点土壤微生物群落利用的主要碳源为氨基酸类和糖类, 但不同施肥处理碳源利用类型有差异。结果可以得出, 不同的施肥对土壤微生物功能多样性产生了不同影响, 从而影响土壤有机质中碳、氮含量。这些信息可以为深入研究施肥对全球碳氮循环以及全球气候变迁提供依据。

关键词:长期施肥; 稻田土壤; 微生物功能多样性; BIOLOG

文章编号: 1000-0933(2009)02-0740-09 中图分类号: Q143, Q938, S154.36 文献标识码: A

Effects of long-term different fertilization on microbial community functional diversity in paddy soil

LUO Xi-Qian¹, HAO Xiao-Hui¹, CHEN Tao¹, DENG Chan-Juan¹, WU Jin-Shui^{1, 2}, HU Rong-Gui^{1, *}

1 College of Resources and Environment, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China

2 Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(2): 0740 ~ 0748.

Abstract: Microbial community functional diversity is a sensitive indicator of soil management, such as fertilization, especially long-term fertilization. In this paper, the functional diversity of soil microbial community was detected by BIOLOG system. The Average Well Color Development (AWCD) in BIOLOG plates indicated the ability of carbon utilization of microbial community. The indices of Shannon, Simpson and McIntosh were calculated to show the richness, dominance and evenness of the functional diversity, while the principal component analysis of substrate reactions reflected the main carbon sources utilized by microbial community.

The results showed that all the treatments exhibited the elevation of AWCD during the first 72 hours of incubation, but the differences among the treatments were obvious. Both applications of organic manure mixed with chemical fertilizer and chemical fertilizer caused high increase of the AWCD while applying straw-incorporation and local traditional fertilization had less affection on the AWCD, which was even lower than the treatment without fertilizer. It was implicated that long-term fertilization resulted in the variation of the carbon utilization efficiency of soil microbial communities. The microbial

基金项目:中国科学院知识创新资助项目 (KZCX2-YW-423); 国家科技支撑计划资助项目 (2008BADA7B01); 国家自然科学基金资助项目 (40471131)

收稿日期:2007-08-24; **修订日期:**2008-03-13

致谢:中国科学院生态环境研究中心在 BIOLOG 分析上给予的帮助; 贺正研究员在实验过程、结果分析中给予帮助; 中国科学院亚热带农业生态研究所魏文学研究员对本文写作给予帮助; 对湖南省农业厅, 湖南省桃江县土肥站在野外工作中给予的支持和提供基础资料, 特此感谢。

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: hronggui@163.com

community diversity indices were calculated based on the AWCD data at 72h and the differences among the treatments were significant. The treatments of organic manure mixed with chemical fertilizer and chemical fertilizer remarkably improved the richness, dominance and evenness of soil microbial community in comparison with the other treatments. Both treatments of straw-incorporation and local traditional fertilization induced increase of the richness and the dominance except the evenness which decreased compared to the treatment without fertilization. The nine principal components were extracted from the principal component analysis and their cumulative contribution of variance accounted to 85.73 percent. The variance contribution rate of PC1 and PC2 were 34.21% and 13.73%, respectively. The correlation coefficients between main substrates and PC1 or PC2 indicated that the main carbon sources for soil microbes were carbohydrates and amino acids in all treatments and there were significant differences of carbon substrate utilization patterns in different treatments. Therefore, long-term fertilization had significant affections on the functional diversity of soil microbial community, which, in turn, could induce variations of carbon and nitrogen composition of soil organic matter.

Key Words: long-term fertilization; paddy soil; functional diversity; BIOLOG

自然土壤中存在大量微生物群体,它们进行着一系列复杂的生物化学反应^[1],是土壤中物质循环的主要动力和植物有效养分的储备库^[2,3]。更重要的是,土壤微生物对环境变化非常敏感,是土壤环境质量的重要指标^[4]。土壤微生物群落功能多样性是土壤微生物群落状态与功能的指标,反映土壤中微生物的生态特征。微生物群落功能为评价微生物多样性提供了一个可行的、生态相关的测量方法^[5]。而 BIOLOG 代谢多样性类型与微生物群落组成相关^[6],使得其对功能微生物群落变化较为敏感,因此广泛应用于评价土壤微生物群落的功能多样性^[7]。

施肥处理对农田生态系统有重要影响,主要通过提高农作物生物产量,增加土壤中作物残茬和根等有机质的输入;影响土壤微生物量及其活性进而影响土壤呼吸,来改变土壤有机质的动态和碳贮量^[8,9]。不同的施肥处理,其土壤中微生物量、微生物活性、群落功能也不相同。谭周进等^[10]认为,适量施用有机肥,配合合理的无机肥施用,对于土壤健康、反硝化作用等产生温室气体的过程以及土壤养分转化等都将起到调节作用;同时也指出,施肥制度会影响土壤有机质的含量,过多有机肥的施用并没有提高土壤微生物的数量,而对土壤微生物活性有明显的增强效果。另有研究表明^[11,12],短期施用无机氮肥对土壤酶活性和微生物生物量只产生有限的影响,而长期施用无机氮肥可降低土壤微生物活性。实行秸秆还田和种植绿肥等措施可以增加有机碳输入,增加生态系统的碳贮量^[13]。

长期定位施肥,使农田生态系统的质量和功能发生了显著变化,研究不同施肥措施对农田养分循环以及施肥与环境关系等方面具有重要价值^[14]。本文利用 BIOLOG 技术,对湖南省桃江县一处长期定位施肥试验点稻田土壤的微生物群落功能多样性进行了研究,以期为深入研究不同施肥对土壤肥力的影响,以及土壤碳库的变化提供一些科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤与施肥处理

供试土壤采自湖南省桃江县始于 1986 年的国家级稻田肥力变化长期定位试验点,其土壤初始理化性质见表 1。

本试验共设 6 种施肥处理: I 对照(CK),不施肥; II 化肥处理(NPK),采用测土施肥技术,根据试验点土壤 N、P、K 供应状况和作物预期需求量确定施用无机 N、P、K 肥料,具体用量为 N 510 kg·hm⁻²·a⁻¹, P 54 kg·hm⁻²·a⁻¹, K 268 kg·hm⁻²·a⁻¹; III 中量有机肥(NPK + 30% M),以化肥处理施氮量为标准,有机肥氮占施氮总量的 30%,同时施等量的 P、K 肥料; IV 高量有机肥(NPK + 60% M),以化肥处理施氮量为标准,有机肥氮占施氮总量的 60%,同时施等量的 P、K 肥料; V 秸秆还田(NPK + Straw),以化肥处理施氮量为标准,施晚稻秸秆,不足时补充化肥氮; VI 习惯施肥(CF),按当地习惯性施肥量确定施用量。其中 III、IV 中有机肥为猪粪^[15]。

该试验点从 1986 年以来按上述施肥方法,保持长期定量施肥。至 2005 年采样时,取未施肥土样测得其有机碳含量为 18.4 g/kg,全 N 为 1.49 g/kg。所有处理均实行早稻-晚稻-冬作的种植制度,小区按国家土壤肥力长期定位试验点标准统一设置为 66.7 m²,随机排列未设重复。

表 1 试验点气候条件、种植制度、土壤类型及其主要性状

Table 1 Soil basic properties for the long-term experiment site in Taojiang

年平均气温 Mean annual temperature (°C)	年降水量 Mean annual rainfall (mm)	土壤类型 Soil type	成土母质 Parent material	有机碳 Organic C (g/kg)	全 N Total N (g/kg)	黏粒含量 Clay content (g/kg)	pH (H ₂ O)
16.7	1681	黄泥田 Yellow clayey paddy	板页岩 Slaty shale	19.4	1.91	251.3	6.10

本表结果由湖南省土肥站提供 Provided from the Soil Fertilizer Station of Hunan Province

1.2 土壤样品采集及分析方法

于 2005 年晚稻收获后采集各处理表层(0~20cm)土样。采样时每小区采 12 点以上组成一个样,重复采样 3 次获得 3 个分析样品。样品除去动植物残体等杂质后,迅速装入塑料袋并置于冰块上,运至实验室,4°C 冰箱保存,BIOLOG 分析在取样后 48 h 内进行。

试验使用的 BIOLOG GN 测试板共 96 孔。测试板的第 1 个孔为不含任何 C 源的对照,其余每孔中含有 1 种 C 源和氧化还原染料四氮唑蓝。微生物利用碳源进行呼吸使氧化还原电势发生变化,并将四唑类(TV)从无色还原成紫色^[16]。通过测定各板孔的吸光值及其变化来反映微生物群落代谢功能的多样性。

具体实验步骤是,取经预培养的新鲜土样 10 g,加 95 ml 无菌的 0.145 mol·L⁻¹ NaCl 溶液在摇床上振荡 15 min,然后用无菌水逐步稀释至 10⁻³,取上清液(125 μl)接种到测试板的每个孔中,将接种好的测试板放至 25°C 下培养,每隔 12 h 在波长为 590 nm 的 BIOLOG 读数器上读数^[17],实验持续 8d。

1.3 数据处理

根据相关文献提供的方法,按算式(1)计算测试板孔中溶液吸光值平均变化率(average well color development,AWCD);按算式(2)计算 Shannon 指数 H (用于评估物种的丰富度);按算式(3)计算 Simpson 指数(用于评估某些最常见种的优势度);利用算式(4)计算 McIntosh 指数 U (用于评估群落物种均匀度)^[18-21]。

$$AWCD = \sum (C - R) / n \quad (1)$$

$$H = - \sum Pi (\ln Pi) \quad (2)$$

$$D = \sum_{i=1}^N [ni(ni - 1) / N(N - 1)] \quad (3)$$

$$U = \sqrt{(\sum ni^2)} \quad (4)$$

式中, C 为每个有培养基孔的吸光值, R 为对照孔的吸光值, n 为培养基孔数,GN 板 n 值为 95。 Pi 为第 i 孔的相对吸光值与所有反应孔相对吸光值总和的比值,即: $Pi = (C - R) / \sum (C - R)$ 。 D 为 1/Simpson 指数, ni 为第 i 孔的相对吸光值 $(C - R)$, N 为所有反应孔相对吸光值的总和 $\sum (C - R)$ 。

1.4 数据统计

试验结果的方差分析及主成分分析采用 SPSS 13.0 在计算机上进行。

2 结果与分析

2.1 板孔平均颜色变化率

平均颜色变化率(average well color development,AWCD)表征微生物群落碳源利用率,是土壤微生物群落利用单一碳源能力的一个重要指标,反映了土壤微生物活性、微生物群落生理功能多样性^[22]。连续 8d 每隔 12 h 测得的 AWCD 见图 1,从中可以看出,AWCD 随培养时间的延长而提高,不同处理都表现出在开始的 24h 变化不大,而在第 24~72 小时内快速升高,随后持续缓慢地升高直到实验结束。但是,不同施肥处理 AWCD

的变化并不一样。如 NPK 和高量有机肥处理的快速增加过程一直持续到第 72 小时以后,而其他处理基本上在第 48h 就结束了。

图 1 可见,与对照相比,施肥处理对 AWCD 有较大影响。与其他处理相比,在培养结束时,有机肥与化肥配施以及施化肥处理的 AWCD 显著高于其他处理;而秸秆还田与当地习惯施肥的 AWCD 却比对照低。

2.2 多样性指数分析

为了进一步确定施肥对土壤微生物的影响,本文计算了 Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数,它们分别反映土壤微生物物种的丰富度、优势度、以及度量群落物种的均匀度。表 2 列出了指数的计算结果(72 h)。其中,Shannon 指数和 Simpson 指数的结果表明,有机肥与化肥配施以及单施化肥的群落丰富度、物种优势度高于其他处理,不施肥处理最低。而 McIntosh 指数的结果则表明有机肥与化肥配施处理的物种均匀度最高,其次为施化肥和不施肥处理,而秸秆还田和习惯施肥处理最低,表明其均匀度与群落丰富度、物种优势度之间有着不一致的表现。

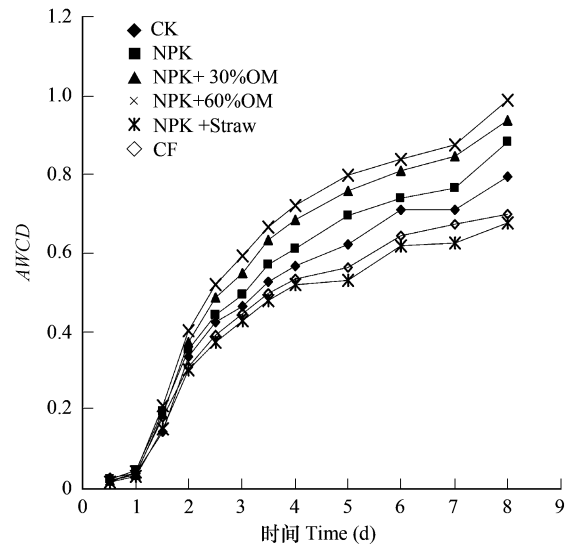


图 1 AWCD 随培养时间的变化曲线

Fig. 1 AWCD changes with incubation progress

表 2 不同施肥处理微生物群落的 AWCD 及多样性指数值

Table 2 AWCD, richness, dominance and evenness indices of soil microbial communities for different treatments

处理 Treatments	平均吸光值 AWCD(72h)	Shannon 指数 Shannon	Simpson 指数 Simpson	McIntosh 指数 McIntosh
CK	0.465 ± 0.006 cd	3.902 ± 0.096 d	0.935 ± 0.103 c	5.371 ± 0.392 bc
NPK	0.496 ± 0.028 bc	4.110 ± 0.135 bc	1.843 ± 0.099 ab	5.774 ± 0.075 ab
NPK +30% OM	0.543 ± 0.051 ab	4.242 ± 0.066 b	1.852 ± 1.022 ab	6.168 ± 0.222 ab
NPK +60% OM	0.590 ± 0.029 a	4.589 ± 0.042 a	2.513 ± 0.341 a	6.439 ± 0.356 a
NPK + Straw	0.429 ± 0.024 d	3.999 ± 0.090 cd	1.123 ± 0.305 bc	4.784 ± 0.809 c
CF	0.448 ± 0.015 cd	4.009 ± 0.060 cd	0.989 ± 0.237 c	4.776 ± 0.494 c

表中 AWCD 为培养至 72h 的结果 The data in this table is the value of AWCD after incubation of 72h; 同一列中具有相同字母表示结果差异不显著 ($p < 0.05$) The same letters in same column means no significant difference at $p < 0.05$

2.3 主成分分析

利用培养 72h 后测定的 AWCD 数据,经过标准化处理后,利用相关文献提供的方法进行了主成分分析^[23~26]。根据提取的主成分个数一般要求累计方差贡献率达到 85% 的原则^[27],共提取了 9 个主成分,累计贡献率达 85.72%。其中第 1 主成分(PC1)的方差贡献率为 34.21%,第 2 主成分(PC2)为 13.73%。第 3~9 主成分贡献率均较小,分别为 8.69%、6.95%、5.81%、4.90%、4.40%、4.04%、2.98%,因此本文只对前 2 个主成分进行分析(图 2)。结果表明,不同施肥处理在 PC 轴上出现了明显的分异,在 PC1 轴上各处理分布分散,秸秆还田、习惯施肥主要分布在负方向,而施化肥、高量有机肥与化肥配施、中量有机肥与化肥配施主要分布在 PC1 轴正方向;PC2 轴上秸秆还田、习惯施肥分布在负方向,高量有机肥与化肥配施、中量有机肥与化肥配施分布在正方向,其中施化肥处理在 PC2 正负轴上均有分布。整体来看不同施肥处理分异较大,表现出微生物群落的不稳定性。

对不同的施肥处理的碳源主成分得分系数进一步进行方差分析,结果表明 PC1、PC2 得分系数差异显著,不同处理之间均表现出差异(表 3)。即不同施肥处理对微生物的碳源利用类型有显著影响,显示出微生物群

落碳源代谢的多样性。

对 PC1 和 PC2 具有较高相关性的 20 个碳源的分析结果表明,对 PC1 和 PC2 起分异作用的主要碳源是氨基酸和糖类物质(表 4)。氨基酸类碳源在 PC1 的权重较大,而与 PC2 相关性较大的碳源主要是糖类;氨基酸类、糖类碳源是区分各处理的主要碳源。

本文对不同处理具体利用的前 5 种碳源亦进行了分析(表 5)。不同处理的土壤微生物虽然利用的主要都是糖类、氨基酸类以及少量其他物质,但处理之间共同点并不多。这显示出不同施肥处理对土壤微生物利用碳源的情况已经造成了一定的分异。

3 讨论

不同施肥措施对土壤微生物群落碳源利用能力产生了不同的影响。*AWCD* 的高低可用来表征微生物对碳源的利用率高。有机肥与化肥配施以及施化肥处理使 *AWCD* 显著高于对照,表明这些处理有利于维持

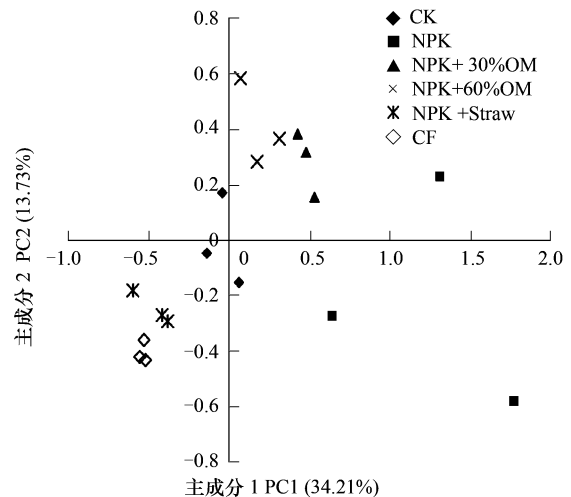


图2 不同施肥处理的土壤微生物碳源利用类型的主成分分析
Fig. 2 Principal components for carbon utilization of soil microbial communities in different treatments

表3 不同施肥处理下主成分得分系数分析

Table 3 The PC scores for different treatments

主成分 PC	处理 Treatments	均值 Means	$p < 0.05$	$p < 0.01$
PC 1	NPK	1.245 ± 0.568	a	A
	NPK + 30% OM	0.477 ± 0.049	b	B
	NPK + 60% OM	0.186 ± 0.122	bc	B
	NPK + CK	-0.044 ± 0.098	cd	BC
	NPK + Straw	-0.466 ± 0.117	de	C
	CF	-0.536 ± 0.016	e	C
PC 2	NPK + 60% OM	0.408 ± 0.157	a	A
	NPK + 30% OM	0.284 ± 0.118	ab	AB
	CK	-0.012 ± 0.164	bc	AB
	NPK + NPK	-0.209 ± 0.408	cd	BC
	NPK + Straw	-0.247 ± 0.059	cd	C
	CF	-0.404 ± 0.039	d	C

同一列中具有相同字母表示结果差异不显著 The same letters in same column means no significant difference at $p < 0.05$ and $p < 0.01$

土壤微生物的碳源利用能力;秸秆还田、习惯施肥处理的 *AWCD* 均低于不施肥的对照处理,表明这 2 种处理中,土壤微生物对所试 95 种碳源的利用能力相对较低。这可能是因为秸秆还田处理后无机 N、P 相对缺乏且 C/N 比高,而养分多是缓效的,微生物分解慢^[28]。另外,秸秆还田与习惯施肥可能改变了土壤微生物的优势种群,引起其所试碳源的利用率低下。一些研究指出,施厩肥等有机肥有利于维持土壤微生物的多样性及活性^[29]。侯晓杰等^[9]则报道单施氮肥,氮肥磷肥配施,微生物对碳源的利用率较低,而在本试验中,化肥施用处理提高了微生物对碳源的利用率。这可能是侯晓杰等人研究的土壤是发育在黄土性母质上的壤质棕壤,种植制度是连作玉米,而本试验研究的是稻田土,得出的结果与旱土有一些不同。

Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数分析结果表明,不同的处理对土壤微生物群落多样性的影响有显著差异,即不同施肥处理下,微生物物种的数量、优势物种的优势度,以及各个物种的多度均不相同。其中有机肥与化肥配合施用最有利于提高微生物群落物种数量、优势种的优势度以及各物种的多度,这可能是由于有机肥的 C/N 有利于土壤微生物的生长。有机肥为微生物提供了较多的能源与养分,促进土壤微生物大

量繁殖,加快微生物的新陈代谢^[2]。研究中秸秆还田、习惯施肥处理虽然能增加微生物物种的数量及优势度,但却使物种均匀度指数低于对照,可能是由于长期秸秆还田与习惯施肥促进了某些微生物种群(如:偏于利用植物残体的种群)生长代谢,而抑制了其他种微生物种群的生长代谢,致使群落均匀度下降。

表 4 与 PC1 和 PC2 显著相关的主要培养基

Table 4 Correlation coefficients between main substrates and PC1 or PC2

PC1 板号(No.)	培养基类型 Substrates	r	PC2 板号(No.)	培养基类型 Substrates	r
23	D-甘露醇(糖类) D-Mannitol	0.946	87	尿苷(核苷类) Uridine	0.752
44	D-葡萄糖胺酸(羧酸类) D-Glucosaminic acid	0.944	10	L-阿拉伯糖(糖类) L-Arabinose	0.728
49	ρ -羟基苯乙酸(羧酸类) ρ -Hydroxy phenylacetic acid	0.931	96	6-磷酸葡萄糖(糖类) Glucose-6-phosphate	0.712
57	奎尼酸(羧酸类) Quinic acid	0.929	22	麦芽糖(糖类) Maltose	0.696
81	L-丝氨酸(氨基酸类) L-Serine	0.921	20	乳果糖(糖类) Lactulose	0.689
18	α -D-葡萄糖(糖类) α -D-Glucose	0.920	26	β -甲基-D-葡萄糖苷(糖类) L-Methyl-D-glucoside	0.662
79	L-亮氨酸(氨基酸类) L-Pyroglutamic acid	0.913	86	肌苷(核苷类) Inosine	0.622
75	L-亮氨酸(氨基酸类) L-Leucine	0.911	95	1-磷酸葡萄糖(糖类) Glucose-1-phosphate	0.620
78	L-脯氨酸(氨基酸类) L-Proline	0.906	32	D-海藻糖(糖类) D-Trehalose	0.619
90	丁二胺(胺类) Putrescine	0.903	40	甲酸(羧酸类) Formic acid	0.607
65	D-丙氨酸(氨基酸类) D-Alanine	0.902	59	癸二酸(羧酸类) Sebacic acid	0.607
66	L-丙氨酸(氨基酸类) L-Alanine	0.901	14	D-果糖(糖类) D-Fructose	0.601
69	L-天门冬氨酸(氨基酸类) L-Aspartic acid	0.898	29	L-棉子糖(糖类) L-Raffinose	0.588
68	L-天门酰氨酸(氨基酸类) L-Asparagine	0.895	28	D-棉子糖(糖类) D-Raffinose	0.543
35	甲基丙酮酸(酯类) Pyruvic acid methyl ester	0.889	21	D-甘露醇(糖类) D-Mannitol	0.532
85	尿苷酸(核苷类) Uridine-5P-monophosphate	0.886	25	D-蜜二糖(糖类) D-Melibiose	0.513
84	γ -氨基丁酸(氨基酸类) γ -Amino butyric acid	0.882	7	N-乙酰基-D-半乳糖胺 N-Acetyl-D-galactosamine	0.491
34	木糖醇(糖类) Xylitol	0.877	8	N-乙酰-D-葡萄糖胺 N-Acetyl-D-glucosamine	0.490
43	D-葡萄糖酸(羧酸类) D-Gluconic acid	0.875	55	丙二酸(羧酸类) Malonic acid	0.485
93	丙三醇(醇类) Glycerol	0.837	3	糊精(聚合物) Dextrin	0.482

在指数分析时,本研究利用的是培养 72h 的吸光值结果。不同研究人员在不同的研究报道中所采用的时间和方法并不统一,如侯晓杰等采用 48h 的值进行比较^[9],张逸飞等采用 72h^[11],Grove 等采用 19h^[24],而郑华等人则采取当 AWCD 值接近 0.6 时来确定时间的方法^[30, 31]。在本研究中,土壤微生物经过 24h 延滞期适应

BIOLOG 测试板提供的环境,然后对数生长至 72h,之后生长减缓步入稳定期(图 1),从分析结果来看,本研究利用 72h 培养后的 *AWCD* 值进行分析是适当的。

表 5 各处理利用的主要碳源

Table 5 Main carbon substrates utilized by microbial communities for different treatments

处理 Treatments	主成分 1 PC1	主成分 2 PC2
CK	D-葡萄糖胺酸(羧酸类) D-Glucosaminic acid 苯乙胺(胺类) Phenylethylamine D-甘露糖(糖类) D-Mannitol D-阿拉伯糖(糖类) D-Arabinose 肉碱(氨基酸类) D,L-Carnitine	L-阿拉伯糖(糖类) L-Arabinose 2,3-丁二醇(醇类) 2,3-Butanediol L-丝氨酸(氨基酸类) L-Serine L-鸟氨酸(氨基酸类) L-Ornithine 侧金花盏醇(糖类) Adonitol
NPK	D-半乳糖(糖类) D-Galactose L-焦谷氨酸(氨基酸类) L-Pyroglutamic acid 木糖醇(糖类) Xylitol 丁二胺(胺类) Putrescine D-甘露糖(糖类) D-Mannose	L-阿拉伯糖(糖类) L-Arabinose N-乙酰-D-葡萄糖胺(糖类) N-Acetyl-D-glucosamine 尿苷(核苷类) Uridine N-乙酰-D-半乳糖胺(糖类) N-Acetyl-D-galactosamine 1-磷酸葡萄糖(糖类) Glucose-1-phosphate
NPK + 30% OM	松二糖(糖类) Turanose 6-磷酸葡萄糖(糖类) Glucose-6-phosphate 侧金花盏醇(糖类) Adonitol D-半乳糖醛酸(羧酸类) D-Galacturonic acid D-海藻糖(糖类) D-Trehalose	m-肌醇(糖类) m-Inositol β -甲基-D-葡萄糖苷(糖类) β -Methyl-D-glucoside 羟基-L-脯氨酸(氨基酸类) Hydroxy-L-proline L-果糖(糖类) L-Fructose β -甲基-D-葡萄糖苷(糖类) β -Methyl-D-glucoside
NPK + 60% OM	ρ -羟苯乙酸(羧酸类) ρ -Hydroxy phenylacetic acid 木糖醇(糖类) Xylitol γ -羟基丁酸(羧酸类) γ -Hydroxy butyric acid m-肌醇(糖类) m-Inositol L-天冬酰胺酸(氨基酸类) L-Asparagine	L-果糖(糖类) L-Fructose 阿洛酮糖(糖类) D-Psicose D-阿拉伯糖(糖类) D-Arabinose L-亮氨酸(氨基酸类) L-Leucine γ -氨基丁酸(氨基酸类) γ -Amino butyric acid
NPK + Straw	D-山梨醇(糖类) D-Sorbitol D-甘露糖(糖类) D-Mannose D-L- α -磷酸甘油(糖类) D-L- α -Glycerol phosphate 苯乙胺(糖类) Phenylethylamine γ -氨基丁酸(氨基酸类) γ -Amino butyric acid	L-丙氨酰甘氨酸(氨基酸类) L-Alanyl-glycine 赤藻糖醇(糖类) i-Erythritol N-乙酰-D-半乳糖胺(糖类) N-Acetyl-D-galactosamine 甘氨酸-L-天冬氨酸(氨基酸类) Glycyl-L-aspartic acid L-天冬酰胺酸(氨基酸类) L-Asparagine
CF	溴丁二酸(羧酸类) Bromosuccinic acid L-亮氨酸(氨基酸类) L-Leucine L-组氨酸(氨基酸类) L-Histidine D-葡萄糖醛酸(羧酸类) D-Glucuronic acid D,L-肉碱(氨基酸类) D,L-Carnitine	松二糖(糖类) Turanose 蔗糖(糖类) Sucrose 奎尼酸(羧酸类) Quinic acid m-肌醇(糖类) m-Inositol 淀粉(聚合物) Starch

在主成分分析中,共提取了 9 个主成分,但本文只对前 2 个主成分进行了分析。虽然这样做会损失一部分关于碳源利用的数据,但是前 2 个主成分已经提供了足够的信息。分析结果表明不同施肥处理的土壤微生物的碳源利用能力存在显著差异(图 2)。氨基酸类和糖类物质是该试验点土壤微生物主要利用的碳源(表 4),但不同的施肥处理微生物所利用的氨基酸和糖类物质各不相同(表 5),可作为区分各处理对微生物影响的依据^[32, 33]。有研究表明,土壤施用猪粪肥后显著提高了氨基酸和单糖的数量^[34],因此,长期施用这类有机肥会使微生物可以利用的碳源趋于稳定,促进偏好氨基酸类、单糖类物质为碳源的微生物群落的发育。

土壤微生物群落的多样性受土壤特性影响较大,不同的施肥制度对微生物产生的影响不同。了解各种施肥处理对土壤微生物群落特性的影响十分重要^[35],施肥造成的 C/N 比变化可能影响微生物活性^[36],而微生物活性的变化使微生物代谢作用产生变化,将影响土壤有机质的碳贮量,影响土壤中 CH₄、CO₂、N₂O 的排放,从而对全球大气温室气体含量产生影响^[37]。土壤有机层在全球碳、氮循环上占有重要地位,其中土壤微生物

的作用不可忽视。土壤微生物群落的碳源利用能力以及群落功能多样性从不同侧面反映了土壤有机层中碳、氮含量的变化。施化肥和有机肥与化肥配施能显著提高土壤微生物活性,使其碳源利用能力大大增强,而其群落多样性也得到提高,土壤中有机质得到充分利用。秸秆还田、习惯施肥虽然能提高微生物群落的物种丰富度、优势度,但降低了微生物利用碳源的能力以及群落物种的均匀度,这可能会使其土壤碳、氮利用下降。此外,在本试验中,不同施肥处理下微生物主要利用的碳源为不同种类的氨基酸类、糖类物质,体现了不同施肥对土壤碳库的不同影响。

4 结论

通过对桃江长期定位试验点土壤微生物群落功能多样性的研究,可以得出以下结论:

有机肥与化肥配合施用以及施化肥处理使微生物的碳源利用率明显升高,而秸秆还田与当地习惯施肥却对土壤微生物碳源利用能力有不利的影响。所有施肥处理均有利于维持微生物群落多样性,特别是有机肥与化肥配施能提高微生物物种丰富度、物种优势度及群落均匀度,但秸秆还田、习惯施肥使群落均匀度降低。不同处理土壤微生物主要利用氨基酸类和糖类碳源,各施肥处理微生物群落在碳源的利用上存在着较大的差异。

长期施肥处理使土壤微生物群落在碳源利用能力、利用类型以及群落的多样性上产生了较大的分异,这些信息反映了土壤碳库的一些情况,可以为研究不同施肥对土壤生态系统碳汇影响以及全球气候变迁提供依据。

References:

- [1] 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. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2006, 22 (4): 39 – 44.
- [2] Xu Y C, Shen Q R, Ran W. Effects of zero-tillage and application of manure on soil microbial biomass C, N and P after sixteen years of cropping. *Acta Pedol Sin*, 2002, 39(1): 89 – 95.
- [3] Bardgett R D, Speir T W, Ross D J, *et al.* Impact of pasture contamination by copper, chromium and arsenic timber preservative on soil microbial properties and nematodes. *Biol Fertil Soils*, 1994, 18: 71 – 79.
- [4] Insam H, Hutchinson T C, Reber H H. Effects of heavy metal stress on the metabolic quotient of the soil micro flora. *Soil Biol Biochem*, 1996, 28: 691 – 694.
- [5] Zak J C, Willig M R, Moorhead D L, *et al.* Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26: 1101 – 1108.
- [6] Haack S K, Garchow H M, Klug J, *et al.* Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns. *Appl & Environ Microb*, 1995, 61: 1458 – 1468.
- [7] Rogers B F, Tate III R L. Temporal analysis of the soil microbial community along a top sequence in Pineland soils. *Soil Biol Biochem*, 2001, 33: 1389 – 1401.
- [8] Yang J C, Han X G, Huang J H, *et al.* Effects of land use change on carbon storage in terrestrial ecosystem. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14 (8): 1385 – 1390.
- [9] Hou X J, Wang J K, Li S P. Effects of different fertilization and plastic-mulching on functional diversity of soil microbial community. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(2): 655 – 661.
- [10] Tan Z J, Zou W J, Zhang Y Z, *et al.* Effect of fertilization systems on microbes in the paddy soil. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2007, 13 (3): 430 – 435.
- [11] Fauci M F, Dick R P. Soil microbial dynamics: short- and long-term effects of organic and inorganic nitrogen. *Soil Science Society of America Journal*, 1994, 58: 801 – 808.
- [12] Lovell R D, Jarvis S C, Bardgett R D. Soil microbial biomass and activity in long term grassland: effects of management change. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27: 969 – 975.
- [13] Wu J G, Zhang X Q, Xu D. The Assessment of the Impacts of Land Use Change on the Ecosystem Carbon Sink. *Engineering Science*, 2003, 5 (9): 65 – 72.
- [14] Leigh R A, Johnston A E. Long-term experiments in agricultural and ecological sciences. *Proceeding of a Conference to Celebrate the 150th Anniversary of Roth Amsted Experimental Station*. Cambridge: the UK at University Press, 1994. 14 – 17.
- [15] Soil Fertilizer Station of Hunan Province ed. *Soil Monitoring and Management*. Changsha: Hunan Science and Technology Press, 1996.
- [16] Cheng C, Yang M, Li J X, *et al.* Biolog microbial identification system-study on the operating regulation of bacteria identification. *Food and Fermentation Industries*, 2006, 32(5): 50 – 54.

- [17] Schutter M, Dick R. Shift in substrate utilization potential and structure of soil microbial communities in response to carbon substrates. *Soil Biol & Biochem*, 2001, 33: 1481–1491.
- [18] Garland J L, Mills L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied Environment Microbiology*, 1991, 57 (8): 2351–2359.
- [19] Magurran A E. *Ecological Diversity and Its Measurement*. Princeton, N J; Princeton University Press, 1988. 272–278.
- [20] Verstraete W, Voets J P. Soil Microbial and Biochemical Characteristics in Relation to Soil Management and Fertility. *Soil Biology and Biochemistry*, 1977, 9 (4): 253–258.
- [21] Jeffrey S B, Donald D K. Microbial diversity in the rhizosphere of corn grown under conventional and low-input systems. *Applied Soil Ecology*, 1996, 5: 21–27.
- [22] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities. *Environ Man*, 1997, 21 (2): 233–238.
- [23] Kela P W, Jason A G, Matthias G, *et al.* Data transformations in the analysis of community-level substrate utilization data from microplates. *Journal of Microbiological Methods*, 2007, 69: 461–469.
- [24] Grove J A, Kautola H, Javadpour S, *et al.* Assessment of changes in the microorganism community in a biofilter. *Biochem Eng*, 2004, 18: 111–114.
- [25] Min L, Xiao M X. Effect of heavy metals on substrate utilization pattern, biomass and activity of microbial communities in a reclaimed mining wasteland. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 66: 217–223.
- [26] Wolfgang H, Michael H, Markus K, *et al.* Application of multivariate analysis of variance and related techniques in soil studies with substrate utilization tests. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30: 81–89.
- [27] Hao L R, Fan Y, Hao Z O, *et al.* *SPSS Practical Statistics Analysis*. Beijing: China WaterPower Press, 2003.
- [28] Li X A, Tong C L, Jiang P. Effects of long-term fertilization on soil organic matter and total nitrogen in paddy soil. *Soils*, 2006, 38 (3): 298–303.
- [29] Zhu H P, Yao H Y, Zhang Y Y. Effect of fertilizer system on soil microbial ecology. *Chinese Journal of Soil Science*, 2003, 34 (2): 140–142.
- [30] Zheng H, Ouyang Z Y, Wang X K, *et al.* Effects of forest restoration patterns on soil microbial communities. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15 (11): 2019–2024.
- [31] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. *Soil Biol. Biochem*, 1996, 28: 213–221.
- [32] Ekkehard G, Holger H, Bert E, *et al.* Statistical comparisons of community catabolic profiles. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30: 71–80.
- [33] Gabriela D, Monica A, Hugo C, *et al.* Effect of tillage and N fertilization on microbial physiological profile of soils cultivated with wheat. *Soil & Tillage Research*, 2006, 91: 236–243.
- [34] Zhang J H, Yan L, Dou S. A study on building up soil fertility for sustainable development of agriculture. Shenyang: Northeast University Press, 1995.
- [35] Franco W, Frank R, Martin H, *et al.* Community structures and substrate utilization of bacteria in soils from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment. *Applied Soil Ecology*, 2006, 33: 294–307.
- [36] Cecilia A P, Lars O, Hedin, *et al.* Nitrogen mineralization in two unpolluted old-growth forests of contrasting biodiversity and dynamics. *Ecosystems*, 1998, 1: 361–373.
- [37] Li C S, Xiao X M, Frolking S, *et al.* Greenhouse gas emissions from croplands of China. *Quaternary Sciences*, 2003, 23 (5): 493–503.

参考文献:

- [1] 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. *生态与农村环境学报*, 2006, 22 (4): 39–44.
- [2] 徐阳春, 沈其荣, 冉炜. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物生物量碳、氮、磷的影响. *土壤学报*, 2002, 39 (1): 89–96.
- [8] 杨景成, 韩兴国, 黄建辉, 等. 土地利用变化对陆地生态系统碳贮量的影响. *应用生态学报*, 2003, 14 (8): 1385–1390.
- [9] 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. *生态学报*, 2007, 27 (2): 655–661.
- [10] 谭周进, 周卫军, 张杨珠, 等. 不同施肥制度对稻田土壤微生物的影响研究. *植物营养与肥料学报*, 2007, 13 (3): 430–435.
- [13] 吴建国, 张小全, 徐德应. 土地利用变化对生态系统碳汇功能影响的综合评价. *中国工程科学*, 2003, 5 (9): 65–72.
- [15] 湖南省土肥站编. *土壤监测与管理*. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1996.
- [16] 程池, 杨梅, 李金霞, 等. *Biolog 微生物自动分析系统——细菌鉴定操作规程的研究*. *食品与发酵工业*, 2006, 32 (5): 50–54.
- [27] 郝黎仁, 樊元, 郝哲欧, 等. *SPSS 实用统计分析*. 北京: 中国水利水电出版社, 2003.
- [28] 李新爱, 童成立, 蒋平, 等. 长期不同施肥对稻田土壤有机质和全氮的影响. *土壤*, 2006, 38 (3): 298–303.
- [29] 朱海平, 姚槐应, 张勇勇, 等. 不同培肥管理措施对土壤微生物生态特征的影响. *土壤通报*, 2003, 34 (2): 140–142.
- [30] 郑华, 欧阳志云, 王效科, 等. 不同森林恢复类型对土壤微生物群落的影响. *应用生态学报*, 2004, 15 (11): 2019–2024.
- [34] 张继宏, 颜丽, 窦森主编. *农业持续发展的土壤培肥研究*. 沈阳: 东北大学出版社, 1995.
- [37] 李长生, 肖向明, S. Frolking, 等. 中国农田的温室气体排放. *第四纪研究*, 2003, 23 (5): 493–503.