

内蒙古典型草原连续 5 年施用氮磷肥 土壤生物多样性的变化

齐 莎, 赵小蓉, 郑海霞, 林启美*

(中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193)

摘要:以中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站典型草原施肥小区为对象, 研究了连续 5a 施氮肥(不施肥对照-CK, N52.5、N105、N175 和 N280 kg hm⁻²)和磷肥(P9、P37 和 P75 kg hm⁻²)对土壤生物多样性的影响。结果表明, 连续 5a 施氮磷肥, 随施肥量增加, 土壤微生物量碳氮、微生物活性和代谢熵显著降低, 而土壤微生物量磷则显著增加。高氮(N280)和高磷(P75)处理, 不仅显著降低了微生物利用碳源的能力和微生物功能多样性, 而且改变了微生物利用碳功能群结构, 施氮肥处理更为明显。大量施用氮肥显著降低了土壤线虫总数和不同营养类群的数量, 而施磷肥对线虫总数影响并不显著, 相反, 施磷肥和少量氮肥却提高了食细菌线虫的数量和比例。施用氮肥土壤原生动物总数呈下降趋势, 而施磷肥则显著增加, 但适度施用氮肥和磷肥时, 土壤原生动物群落最为旺盛, 尤其是施磷肥后肉足虫数量大幅度提高。氮磷肥对土壤理化性质和植被组成影响的差异, 可能是土壤生物对不同肥料及其用量的响应存在较大差异的原因所在, 其中施氮肥多以负效应为主, 而施磷肥则多以正效应为主。

关键词:典型草原; 氮磷肥; 土壤微生物量; 线虫; 原生动物; 微生物碳代谢功能多样性

Changes of soil biodiversity in Inner Mongolia steppe after 5 years of N and P fertilizer applications

QI Sha, ZHAO Xiaorong, ZHENG Haixia, LIN Qimei*

College of Resource and Environment, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: The objective of this study was to explore the effects of N and P fertilization for 5 years on soil biodiversity in the Inner Mongolia steppe. The soil samples were collected from the following treatment: control (no fertilizer), N fertilizer (N 52.5, 105, 175 and 280 kg hm⁻²) and P fertilizer (P 9, 37 and 75 kg hm⁻²), which were established in 2000. The results showed N and P fertilizer applications significantly reduced the soil microbial biomass C and N content, microbial activity and metabolic quotient, but increased the soil microbial biomass P. The ability of microorganisms to use carbon sources and microbial functional diversity were lower and the carbon utilization-functional groups' structure of microorganisms significantly changed in plots with addition of N280 and P37 compared to that without fertilizer. Application with higher level of N fertilizer significantly reduced the abundance of total nematodes and its different trophic groups, while P fertilizer had no significant impacts on total number of soil nematodes. In contrast, P and lower level of N fertilizer increased the abundance of bacterivorous nematodes. Fertilization also significantly changed the total number and types of soil protozoa in Inner Mongolia steppe. For example, the total number of soil protozoa decreased after N fertilization, while it significantly increased after P fertilizer input. The largest amount of protozoa appeared when moderate amounts of N and P fertilizer were applied. In particular increasing P input increase the amoeba population. The different response of soil biota to different kinds of fertilizer and its quantity was due to the difference in soil physical and chemical properties and plant composition caused by the application of N and P fertilizer. In general, the activity and diversity of soil biota in Inner Mongolia steppe have negative feedbacks with N fertilization, while positive feedback with P fertilization.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(40571079); 德国 DFG 资助项目(KO 1035/26-1)

收稿日期:2009-09-27; **修订日期:**2009-12-31

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lingm@cau.edu.cn

Key Words: steppe; nitrogen and phosphorus fertilizer; soil microbial biomass; nematodes; protozoa; microbial community functional diversity

施肥是不少国家提高牧场生产力的重要技术措施之一。目前很多研究都集中在长期施用氮磷肥对植物群落、大型土壤动物以及土壤性质的影响方面,而对土壤地下食物网中生物及其多样性的研究却比较少,尤其是在内蒙古典型草原。土壤微生物和微动物对施肥的响应比较敏感,目前研究表明,长期施肥提高土壤有效养分含量^[1],从而有利于 r-型细菌和 r-型线虫的生长和繁殖,但相对不利于 k-型细菌和 k-型线虫的生长繁殖^[2],土壤地下食物网能量流也从真菌转向细菌^[3]。此外,施肥引起植被变化,如地上部生物量提高,好营养的植物种类增加,而植物生物多样性降低^[4],从而改变了通过植物残体、根系分泌物等输入土壤的有机物质种类和数量^[5],导致土壤生物及其多样性间接地发生改变。

不同肥料种类及其用量对土壤生物及其多样性的影响也存在明显的差异,如草原土壤微生物量碳、氮在长期施用氮肥时显著降低^[6],而施用磷肥时则提高或影响不显著^[7]。施用氮肥显著降低土壤微生物碳代谢功能群多样性指数、真菌/细菌比例和食真菌线虫数量^[7-8],而显著提高食细菌线虫的数量^[9];施用磷肥则显著地提高食细菌和食真菌线虫的数量^[7]。

内蒙古典型草原是欧亚大陆草原的重要组成部分,其草原植被具有较为广泛的代表性^[10]。中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站 1979 年在内蒙古锡林格勒盟白音锡勒牧场设置围栏禁牧样地,2000 年在此样地内设置不同梯度的氮磷肥试验,以了解天然生态系统中物种多样性、植物功能群组成和生态系统功能对氮磷添加的响应机理。现有结果表明,施肥改变了小区植被组成,如随着氮肥用量的增加,一年生草类显著增加,而多年生草类和杂草类显著降低,有些种类逐渐消失,植被的物种丰富度降低^[4]。施氮提高了植物叶片含氮量和羊草(*Leymus chinensis*)根茎中碳水化合物含量,但在高氮条件下碳水化合物含量降低^[11-12]。地上植被种类及养分含量变化必然影响地下生物及其多样性,而天然典型草原生态系统地下食物网如何对氮磷扰动产生响应目前还不清楚。本研究的目的在于了解:(1)连续 5a 施用氮磷肥对内蒙古典型草原土壤生物多样性的影响,(2)氮肥和磷肥的差异,(3)肥料用量效应,(4)土壤生物多样性与化学性质之间的关系。

1 材料与方法

1.1 试验样地概况

中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站于 1979 年在内蒙古锡林格勒盟白音锡勒牧场设置围栏禁牧试验,样地面积约 15 hm²,地理坐标为 43°26′—44°08′N,116°04′—117°05′E,海拔 1224 m,土壤类型为暗栗钙土。目前样地内植被主要是羊草(*Leymus chinensis*)、大针茅(*Stipa grandis*)、西伯利亚羽茅(*Achnatherum sibiricum*)和冰草(*Agropyron cristatum*)等旱生密丛禾草^[4]。于 2000 年 4 月在 1979 年围栏样地(UG1979)设立长期施肥试验,施肥处理为:不施肥(CK)、氮肥(N)和磷肥(P),氮肥为 NH₄NO₃,施氮量分别为 52.5、105、175、280 kg hm⁻²;磷肥为过磷酸钙,施磷量分别为 9、37、75 kg hm⁻²。小区面积为 25 m²,每个处理 9 个重复,每年雨季(7 月份)撒施于地表。

1.2 土壤样品采集及预处理

于 2004 年 8 月在不同施肥小区用土钻(直径 3.5 cm)随机取 20 钻表层(0—15 cm)土壤样品,去除杂物后充分混合,4℃保存。取部分新鲜土壤样品测定土壤线虫,其余土壤样品过 2 mm 筛测定其它生物学指标,风干土壤用于测定土壤基础性质。

1.3 分析方法

1.3.1 土壤理化性质

有机碳用外加热重铬酸钾容量法测定,全氮用半微量凯氏法测定,pH 以 1:2.5 土水比用 pH S-3 酸度计测定,有效磷用 Olsen 方法测定^[13]、硝态氮和氨态氮用 0.01 mol L⁻¹ CaCl₂ 溶液浸提,连续流动分析仪测定(TRAACS 2000, Bran Luebbe, Nordstadt, Germany)。

1.3.2 土壤微生物量和土壤基础呼吸

将过 2 mm 筛的土壤湿度调节至约 50% 最大持水量 (WHC), 25℃ 下密闭培养 7 d, 用氯仿熏蒸浸提法测定土壤微生物量碳^[14]、氮^[15]、磷^[16]。土壤基础呼吸采用碱液吸收法测定, 吸取一定量已吸收 CO₂ 的碱液, 加入饱和 BaCl₂ 溶液, 用 0.5 mol L⁻¹ 标准 HCl 溶液回滴定量。代谢熵 ($q\text{CO}_2$) 为 CO₂-C 与微生物量碳之比。

1.3.3 土壤微生物碳代谢功能群多样性

吸取稀释至 10⁻³ 的土壤悬浮液 150 μL, 接种至含有 3 × 31 种碳源物质的 Biolog EcoPlate™ (Biolog Inc., Hayward CA., USA) 96 孔板中, 25℃ 条件下培养, 用 Emax 自动读板机在 590 nm 下每 24 h 测定 1 次光密度值, 直至读数基本不再变化为止。

1.3.4 线虫

称取 100 g 新鲜土壤, 用蔗糖漂浮离心法分离线虫^[17]。在显微镜下观察、统计样品中线虫的数量, 并根据形态和结构特征鉴定到属^[18], 同时分别记录植物寄生性 (PN)、食细菌性 (BN)、食真菌性 (FN) 及杂食性线虫 (ON) 的数量^[19]。

1.3.5 原生动物

用 MPN 方法测定, 并根据形态、大小、运动方式等观测并分别记录鞭毛虫、纤毛虫和肉足虫的数量^[18]。

1.4 数据统计与分析

所有结果为 3 次重复的平均值, 用烘干土壤质量表示, 方差分析和主成分分析 (Principal Component Analysis, PCA) 采用统计软件 SPSS (11.0) 进行分析, 采用 LSD 方法进行多重比较和显著性分析。

对于 Biolog 数据, 以平均光密度值 (AWCD) 代表微生物的整体活性^[20], 标准化后的数据进行主成分分析, 同时计算 Shannon 多样性指数 (H')、碳源丰富度 (S) 和碳源均匀度 (E) 来指示土壤微生物多样性^[21]。其中, S 为吸光值 ≥ 0.25 的微孔数量。

2 结果与分析

2.1 土壤化学性质

表 1 的结果显示, 连续 5a 施用氮磷肥, 土壤 pH 值下降了 0.20—0.91 个单位, 氮肥用量越高, 土壤 pH 值下降的幅度越大, 磷肥对土壤 pH 值的影响要小得多。总的来看, 施肥显著提高土壤有机碳含量, 但对全氮含量没有显著的影响。土壤有效磷、氨态氮和硝态氮含量均随施肥量增加而大幅度提高 ($P < 0.05$), 但施少量磷肥时, 土壤硝态氮含量显著降低, 仅当施磷量为 75 kg hm⁻² 时才显著提高其含量 ($P < 0.05$)。

表 1 连续 5a 施用氮磷肥土壤化学性质变化

Table 1 Changes of some soil chemical properties after 5 years' N and P fertilizer applications

处理 Treatment	pH (1:2.5)	有机碳 Organic C /(g kg ⁻¹)	全氮 Total N /(g kg ⁻¹)	碳氮比 C/N ratio	有效磷 Olsen P /(mg kg ⁻¹)	氨态氮 NH ₄ ⁺ -N /(mg kg ⁻¹)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N /(mg kg ⁻¹)
CK	7.15 ± 0.05a	21.00 ± 0.31cf	2.14 ± 0.04a	9.82	2.42 ± 0.12a	0.27 ± 0.09a	16.43 ± 1.20a
N52.5	6.75 ± 0.05b	22.12 ± 0.36bd	2.29 ± 0.02a	9.66	38.16 ± 2.24b	0.51 ± 0.01b	21.71 ± 0.45b
N105	6.95 ± 0.10c	20.68 ± 1.21af	2.35 ± 0.08a	8.80	27.23 ± 1.97c	0.76 ± 0.08c	21.85 ± 0.44b
N175	6.43 ± 0.05d	22.93 ± 0.51d	2.10 ± 0.25a	10.92	31.12 ± 2.68d	1.50 ± 0.09d	25.72 ± 2.76c
N280	6.24 ± 0.06e	23.89 ± 0.48e	2.34 ± 0.01a	10.21	45.55 ± 1.44e	1.91 ± 0.18e	32.25 ± 1.85d
P9	6.83 ± 0.05b	20.04 ± 0.16a	2.33 ± 0.14a	8.60	23.18 ± 1.68f	0.64 ± 0.11bc	11.90 ± 0.74e
P37	6.52 ± 0.06d	21.80 ± 0.15bc	2.38 ± 0.07a	9.16	65.01 ± 1.90g	0.53 ± 0.02b	15.05 ± 0.44a
P75	6.81 ± 0.03b	21.86 ± 0.23bc	2.29 ± 0.21a	9.55	64.94 ± 1.54g	0.70 ± 0.10c	20.55 ± 1.47b

表中列数据为平均值 ± 标准差 (S. D.), 每一列中不同字母表示在 0.05 水平上差异显著; CK 表示不施肥对照; N52.5, N105, N175, N280 分别表示施氮肥量为 52.5, 105, 175, 280 kg hm⁻² a⁻¹; P9, P37, P75 分别表示施磷肥量为 9, 37, 75 kg hm⁻² a⁻¹

2.2 土壤微生物量

施用氮肥显著地降低了土壤微生物量碳和氮、土壤基础呼吸及呼吸熵 ($q\text{CO}_2$), 相应地 B_C/O_C 和 B_N/T_N 比

值也降低,且随氮肥用量增大,降低的幅度越高(表 2)。相比不施肥对照,土壤微生物量碳和氮最多分别降低了 46% 和 64%,微生物量 C/N 比则显著增加。氮肥对土壤微生物量磷的影响因施肥量而异,当用量 $< 175 \text{ kg hm}^{-2}$ 时,土壤微生物量磷随氮肥用量增加而提高,但超过这一用量,则随氮肥用量提高而降低,甚至比不施肥土壤还低 35% (如 N280 处理)。土壤微生物量碳磷比值 (B_C/B_P) 的变化正好与此相反,但均低于不施肥土壤。

与氮肥施用相似,土壤微生物量碳和氮、基础呼吸和呼吸熵均随着磷肥用量的增加而降低,尤其是当施磷量达 75 kg hm^{-2} 时,比不施肥土壤分别降低了 31.7%, 69.0%, 81.2% 和 73.7%。土壤微生物量磷则随着施磷量的增加而提高,最高达到 41.5 mg kg^{-1} ,是不施肥土壤的 2 倍(表 2)。与之相对应, B_C/B_P 显著低于不施肥土壤,并且随磷肥用量提高而降低。

表 2 连续 5a 施氮磷肥对土壤微生物量碳, 氮, 磷和基础呼吸的影响

Table 2 Impacts of 5 years' N and P fertilizer applications on soil microbial biomass C (B_C), N (B_N), P (B_P) and basal respiration

处理 Treatment	微生物量碳 $B_C/$ (mg kg^{-1})	微生物量氮 $B_N/$ (mg kg^{-1})	微生物量磷 $B_P/$ (mg kg^{-1})	B_C/B_N	B_C/B_P	B_C/O_C /%	B_N/TN /%	基础呼吸 $\text{CO}_2\text{-C} /$ ($\mu\text{g C g}^{-1}$ soil h^{-1})	代谢熵 $q\text{CO}_2\text{-C} /$ ($\mu\text{g C mg}^{-1}$ $B_C \text{ h}^{-1}$)
CK	356.1 $\pm$ 31.9ae	88.5 $\pm$ 10.5a	21.9 $\pm$ 2.2a	4.0	16.2	1.7	4.1	2.4 $\pm$ 0.2a	6.8
N52.5	373.5 $\pm$ 19.5a	56.7 $\pm$ 13.0bf	41.4 $\pm$ 3.9b	6.6	9.0	1.7	2.5	1.6 $\pm$ 0.2b	4.3
N105	384.9 $\pm$ 23.1a	63.6 $\pm$ 4.0cf	67.1 $\pm$ 7.9c	6.1	5.7	1.9	2.7	1.4 $\pm$ 0.1b	3.6
N175	251.3 $\pm$ 20.2c	33.8 $\pm$ 10.3de	37.6 $\pm$ 1.9be	7.4	6.7	1.1	1.6	1.1 $\pm$ 0.1c	4.5
N280	194.0 $\pm$ 20.5d	31.9 $\pm$ 2.7de	14.1 $\pm$ 0.1d	6.1	13.7	0.8	1.4	0.7 $\pm$ 0.1d	3.8
P9	329.2 $\pm$ 34.0e	74.6 $\pm$ 7.3c	26.7 $\pm$ 4.1a	4.4	12.3	1.6	3.2	1.0 $\pm$ 0.1c	2.9
P37	307.5 $\pm$ 16.2e	45.0 $\pm$ 1.9bd	34.9 $\pm$ 5.2e	6.8	8.8	1.4	1.9	0.7 $\pm$ 0.1d	2.2
P75	243.4 $\pm$ 19.2c	27.5 $\pm$ 6.9e	41.5 $\pm$ 2.2be	8.9	5.9	1.1	1.2	0.4 $\pm$ 0.1e	1.8

表中所列数据为平均值 $\pm$ 标准差(S. D.), 每一列中不同字母表示在 0.05 水平上差异显著; CK 表示不施肥对照; N52.5, N105, N175, N280 分别表示施氮肥量为 52.5, 105, 175, 280 $\text{kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$; P9, P37, P75 分别表示施磷肥量为 9, 37, 75 $\text{kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$

2.3 土壤微生物碳代谢功能群多样性

从 AWCD 值来看(表 3), 内蒙古典型草原土壤微生物利用氨基酸和胺类能力较强, 而利用酚类和羧酸类能力相对较弱。不同肥料对 AWCD 值的影响有很大差异, 施氮肥降低了 AWCD 值, 而施磷肥对 AWCD 值没有显著影响。施用氮肥特别是大量施用氮肥(N280), 除羧酸类外, 均极显著($P < 0.01$)地降低了其它五大类碳源的 AWCD 值, 尤其是胺类化合物的 AWCD 值平均降低了 86%。而施用大量磷肥时(P75), 胺类化合物的 AWCD 值提高了 38.5%, 酚类化合物的 AWCD 值显著降低。

表 3 施氮磷肥对平均光密度值的影响

Table 3 Effect of N and P fertilizer applications on average well color development (AWCD)

处理 Treatment	所有碳源 All C Sources	碳水化合物 Carbohydrates	氨基酸 Amino acids	羧酸类 Carboxylic	多聚物 Polymers	酚类 Phenolic compounds	胺类 Amines
CK	0.78 $\pm$ 0.09	0.77 $\pm$ 0.08	0.93 $\pm$ 0.25	0.68 $\pm$ 0.13	0.79 $\pm$ 0.06	0.53 $\pm$ 0.07	0.96 $\pm$ 0.15
N52.5	0.67 $\pm$ 0.19	0.73 $\pm$ 0.34	0.79 $\pm$ 0.37	0.56 $\pm$ 0.05	0.55 $\pm$ 0.09 *	0.41 $\pm$ 0.06 *	0.87 $\pm$ 0.41
N105	0.70 $\pm$ 0.05	0.57 $\pm$ 0.02	0.99 $\pm$ 0.16	0.69 $\pm$ 0.24	0.53 $\pm$ 0.11 *	0.59 $\pm$ 0.10	0.92 $\pm$ 0.13
N175	0.63 $\pm$ 0.06	0.53 $\pm$ 0.05	0.87 $\pm$ 0.11	0.60 $\pm$ 0.21	0.82 $\pm$ 0.15	0.44 $\pm$ 0.01	0.31 $\pm$ 0.35 **
N280	0.39 $\pm$ 0.02 **	0.35 $\pm$ 0.03 *	0.35 $\pm$ 0.05 **	0.56 $\pm$ 0.02	0.46 $\pm$ 0.08 **	0.32 $\pm$ 0.08 **	0.13 $\pm$ 0.09 **
P9	0.74 $\pm$ 0.10	0.81 $\pm$ 0.31	0.77 $\pm$ 0.10	0.68 $\pm$ 0.04	0.71 $\pm$ 0.11	0.43 $\pm$ 0.05	0.91 $\pm$ 0.04
P37	0.82 $\pm$ 0.09	0.98 $\pm$ 0.19	0.93 $\pm$ 0.11	0.69 $\pm$ 0.03	0.74 $\pm$ 0.12	0.37 $\pm$ 0.02 **	0.70 $\pm$ 0.14
P75	0.63 $\pm$ 0.08	0.46 $\pm$ 0.11	0.87 $\pm$ 0.11	0.55 $\pm$ 0.04	0.61 $\pm$ 0.20	0.40 $\pm$ 0.04	1.33 $\pm$ 0.20

表中所列数据为平均值 $\pm$ 标准差(S. D.); * 和 ** 分别表示施肥处理与不施肥对照在 0.05 和 0.01 水平上差异显著; CK 表示不施肥对照; N52.5, N105, N175, N280 分别表示施氮肥量为 52.5, 105, 175, 280 $\text{kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$; P9, P37, P75 分别表示施磷肥量为 9, 37, 75 $\text{kg hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$

主成分分析(PCA)结果显示, 第 1 主成分(解释了方差变异的 19%)将不同施肥处理的土壤区分开来, 由

于第 1 主成分与 AWCD 值极显著相关($r = -0.90$, $P < 0.01$),说明 PC1 轴上的分异主要来源于 AWCD 值的改变。施用氮肥和大量磷肥(P75)土壤微生物碳代谢群落与不施肥(CK)及施用少量磷肥的土壤有显著差异($P < 0.05$),尤其是大量施用氮肥(N280)的土壤微生物群落组成与其它土壤有显著差异。第 2 主成分解释了方差变异的 14%,PC2 将 N280 处理与其它处理显著分开,P9、P37 和 N105、P75 在 PC2 上有差异。与第 1 主成分相关的主要是碳水化合物、羧酸类和多聚物,而与第 2 主成分相关的主要是氨基酸和胺类化合物。相关分析表明,PC1 与土壤 pH、有机碳、土壤 $\text{NH}_4\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3\text{-N}$ 呈显著的负相关关系($P < 0.05$),而与土壤 Olsen P 和全 N 无关。

由表 4 可以看出,土壤微生物功能多样性指数为 3.02—3.24,碳源丰富度为 17—26,碳源均匀度为 2.24—2.48。施氮肥和施大量磷肥(P75)显著降低了 Shannon 指数(H')和碳源丰富度(S),并且随着施肥量的增加,降低幅度越大,但大量施氮肥却极显著($P < 0.01$)地提高了碳源均匀度。

2.4 线虫

内蒙古典型草原土壤的线虫总数最高达 1144 条 100 g^{-1} 土,而最低只有 374 条 100 g^{-1} 土,其中数量最多的是植物寄生性线虫,为 216—766 条 100 g^{-1} 土,约占线虫总数的 48%—69%;其次是食细菌线虫,113—373 条 100 g^{-1} 土,占 17%—46%;其它线虫则不到 10%。施肥不仅影响土壤线虫总数,而且对其营养类群也产生显著影响(图 2)。土壤线虫数量随施氮量增加而降低,尤其是当施氮量达 280 kg hm^{-2} 时,土壤线虫总数、植物寄生性线虫、食真菌类线虫和杂食性线虫比不施肥土壤(CK)均降低了 65% 以上,而少量施用氮肥显著地提高了食细菌线虫的数量,最多提高了 87%。磷肥对土壤线虫的影响要小得多,主要表现为增加了土壤食细菌线虫的数量,而大量施用磷肥时土壤线虫总数和各营养类群均增加,尤其是食真菌类线虫数量显著提高。

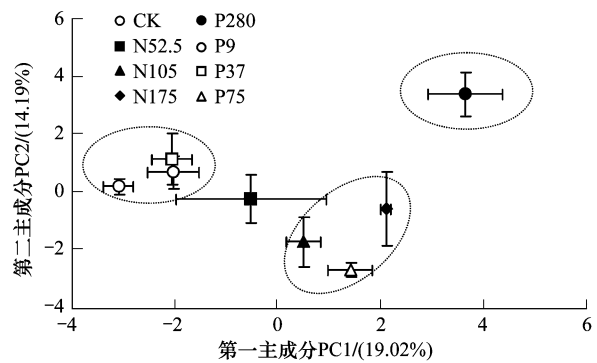


图 1 氮磷肥处理土壤微生物碳代谢功能群结构主成分分析
Fig. 1 PCA ordination biplots (means $\pm$ S. E.) of soil microbial carbon metabolism community structure after 5 years' N and P fertilizer applications

CK 表示不施肥对照;N52.5, N105, N175, N280 分别表示施氮肥量为 52.5, 105, 175, 280 $\text{kg hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$;P9, P37, P75 分别表示施磷肥量为 9, 37, 75 $\text{kg hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$

表 4 氮磷肥施用对土壤微生物功能多样性,碳源丰富度和均匀度的影响

Table 4 Effect of N and P fertilizer applications on soil microbial functional diversity evaluated by Shannon diversity index (H'), substrate richness (S), and substrate evenness (E)

处理 Treatment	多样性指数(H') Shannon diversity index	丰富度(S) Substrate richness	均匀度(E) Substrate evenness
CK	3.24 $\pm$ 0.08	25.33 3.21	2.31 $\pm$ 0.03
N52.5	3.01 $\pm$ 0.08 **	19.33 3.06 **	2.35 $\pm$ 0.07
N105	3.12 $\pm$ 0.02 *	22.00 1.00	2.32 $\pm$ 0.03
N175	3.06 $\pm$ 0.05 **	19.00 1.73 **	2.39 $\pm$ 0.04
N280	3.02 $\pm$ 0.08 **	16.67 2.52 **	2.48 $\pm$ 0.08 **
P9	3.16 $\pm$ 0.03	23.33 2.52	2.32 $\pm$ 0.08
P37	3.15 $\pm$ 0.07	25.67 $\pm$ 1.15	2.24 $\pm$ 0.06
P75	3.02 $\pm$ 0.09 **	18.67 $\pm$ 3.21 **	2.39 $\pm$ 0.09

表中所列数据为平均值 $\pm$ 标准差(S. D.); * 和 ** 分别表示施肥处理与不施肥对照在 0.05 和 0.01 水平上差异显著;CK 表示不施肥对照;N52.5, N105, N175, N280 分别表示施氮肥量为 52.5, 105, 175, 280 $\text{kg hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$;P9, P37, P75 分别表示施磷肥量为 9, 37, 75 $\text{kg hm}^{-2}\text{ a}^{-1}$

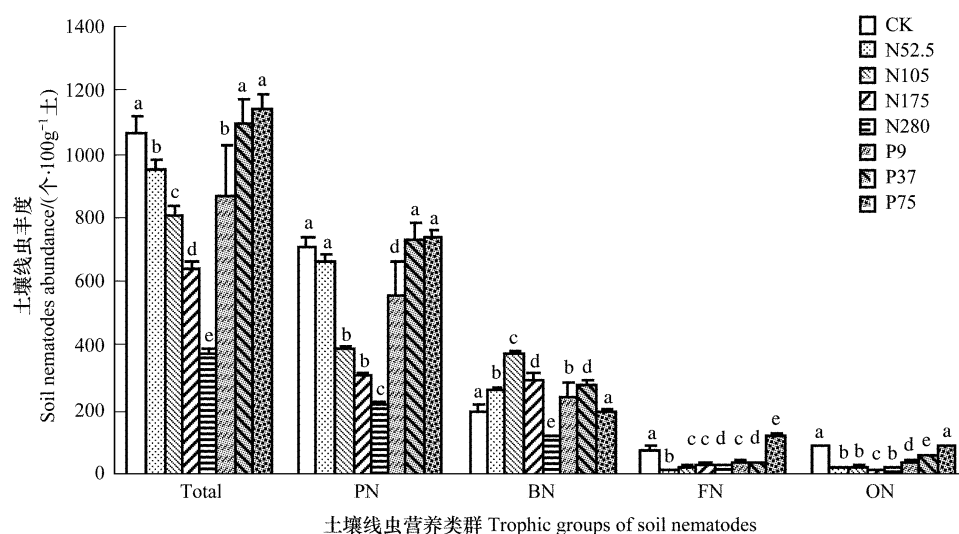


图2 施氮磷肥土壤线虫, 植物寄生线虫, 食细菌线虫, 食真菌线虫, 杂食和捕食性线虫数量变化

Fig. 2 Changes in the abundance of total, plant-parasitic (PN), bacterivorous (BN), fungivorous (FN), omnivores and predatory (ON) nematodes of the steppe soils after 5 years' applications of N and P fertilizer (means $\pm$ S. D.)

CK 表示不施肥对照; N52.5, N105, N175, N280 分别表示施氮肥量为 52.5, 105, 175, 280 $\text{kg hm}^{-2} \text{a}^{-1}$; P9, P37, P75 分别表示施磷肥量为 9, 37, 75 $\text{kg hm}^{-2} \text{a}^{-1}$

2.5 原生动物

长期围栏禁牧(CK)的内蒙典型草原土壤中原生动物的优势种群为鞭毛虫, 占总数的 81%—96%; 其次为纤毛虫, 占 4%—17%; 而肉足虫很少(图 3)。施用氮肥的土壤原生动物总数和纤毛虫数量呈下降趋势, 但 N105 处理土壤鞭毛虫数量大幅度增加, 仅 N52.5 处理检测到肉足虫。与之相反, 施用磷肥则显著地提高了土壤原生动物数量, 特别是 P37 处理, 原生动物总数及三大类原生动物数量均大幅度增加, 每克土壤原生动物总数最高可达 1150 个, 鞭毛虫和纤毛虫的数量分别比不施肥土壤增加了 2.45 倍和 2.72 倍, 所有施磷肥土壤均检测到肉足虫, 最高为 92 个 $\text{g}^{-1} \text{土}$ 。

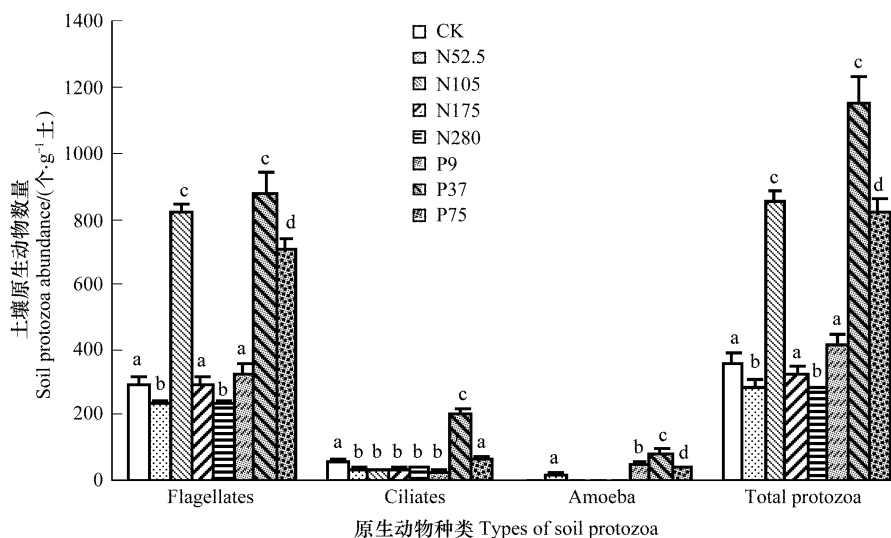


图3 施氮磷肥对土壤原生动物总数, 鞭毛虫, 纤毛虫和肉足虫数量的影响

Fig. 3 Effects of N and P fertilizer applications on the abundance of total protozoa, flagellates, ciliates and amoeba (means $\pm$ S. D.)

CK 表示不施肥对照; N52.5, N105, N175, N280 分别表示施氮肥量为 52.5, 105, 175, 280 $\text{kg hm}^{-2} \text{a}^{-1}$; P9, P37, P75 分别表示施磷肥量为 9, 37, 75 $\text{kg hm}^{-2} \text{a}^{-1}$

3 讨论

3.1 氮肥对土壤生物多样性的影响

长期施用氮肥不仅降低草原土壤微生物量碳和氮及微生物活性等,而且改变土壤微生物碳代谢群落结构多样性(表2,表4,图1),这与他人在其他草原生态系统的研究结果相一致^[7, 22]。其原因可能是由于连续施用氮肥抑制真菌菌丝生长,导致真菌生物量和多样性降低,细菌/真菌比增加^[23-24]。此外,随着氮肥用量的加大,土壤铵态氮和硝态氮含量增加,导致土壤酸化(表1),而pH较低时可抑制微生物活性及其生长^[25],从而引起土壤微生物量碳和氮降低。土壤微生物量碳与铵态氮含量呈显著的负相关($r = -0.778, P < 0.05$),而与土壤pH值有很好的正相关关系($r = 0.755, P < 0.05$)也说明了这点。长期施氮肥减少了光合产物碳向地下的分配^[26],也是可能的原因之一。连续5年施用氮肥,试验小区植被类型和数量发生改变,羊草(*Leymus chinensis*)和西伯利亚羽茅(*Achnatherum sibiricum*)的地上生物量显著增加,而冰草(*Agropyron cristatum*)和黄囊苔草(*Carex korshinskyi*)则显著降低^[4, 27],导致输入土壤的有机物质种类和数量可能发生变化^[5],因此植被多样性与微生物碳代谢群落多样性显著相关^[22]。

土壤微生物量磷对氮肥的响应则与土壤微生物量碳氮完全不同,可能与一些微生物能够以多聚磷酸盐的形式富集磷素于细胞内有很大的关系^[28]。土壤微生物量磷随着氮肥用量的增加而显著提高(表2)。施用氮肥土壤酸度提高,植物根系及微生物对土壤磷的活化作用^[29],都会提高土壤有效磷含量(表1),从而土壤微生物量磷增加,因为其含与土壤有效磷含量之间存在显著的正相关关系^[30]。

线虫作为土壤食物网重要成员之一,对施氮肥也有明显的响应。施氮肥导致食真菌线虫和植物寄生类线虫的数量减少,而r型食细菌线虫的数量增加^[7, 31],得到类似的结果,植物寄生性线虫、食真菌线虫和杂食性线虫显著减少,但食细菌线虫增加(表5)。其原因之一可能主要与植被变化^[4]、植物根系分泌化感物质^[32]和土壤微生物类群变化如真菌多样性降低等有关^[24],前者导致植物寄生类线虫减少^[7],后者可能是食真菌线虫随氮肥用量增加而减少的原因之一^[33]。另外,土壤物理化学性质的变化,特别是有效氮含量提高(表1),会导致土壤线虫群落多样性降低^[9]。

内蒙古典型草原土壤原生动物的主要类群是个体比较小的鞭毛虫,其次为纤毛虫,而肉足虫没有检测到(表6),这与Brown^[34]所调查的苏格兰草地土壤中原生动物的类群基本相似,原生动物数量依次为鞭毛虫 > 裸肉足虫 > 壳肉足虫 > 纤毛虫,但数量要低很多,可能是由于内蒙古典型草原属半干旱地区,水分直接影响了原生动物的数量。有关氮肥对土壤原生动物多样性的影响的研究报道很少,Fossiner^[35]认为长期施氮肥导致土壤pH值下降,嗜酸性的种类增加,食真菌和食细菌的原生动物依据种类不同而有增有减。Forge等^[9]报道氮肥可能降低土壤原生动物数量。本研究结果显示施用氮肥仅降低土壤纤毛虫数量,而对鞭毛虫没有显著的影响。

3.2 磷肥对土壤生物多样性的影响

磷素是不少自然生态系统重要的限制因子,低磷土壤中群落的生物多样性较高,但高磷土壤则不利于生物多样性的维持^[36]。由于对长期施用磷肥后土壤生物学性质的变化了解得有限,而且研究结果差异很大,一些研究报道长期施磷肥对草地土壤微生物活性与多样性没有显著的影响^[7]。Thirukkumaran和Parkinson^[37]研究发现在低磷土壤上施用磷肥,土壤微生物呼吸增加,而在高磷土壤没有显著变化,可能与土壤养分条件、磷肥用量大小和原有植被种类等有很大的关系。本研究结果表明,土壤微生物量碳和氮、微生物呼吸及代谢熵均随着磷肥用量的增加而显著降低,而微生物量磷则显著增加(表2);施用磷肥对土壤微生物碳代谢功能群落结构影响比较小,但施磷量较大时,利用胺类化合的能力显著提高,而利用酚类化合物的能力显著降低(表3,图1)。

磷肥对土壤线虫的影响要比氮肥小得多,大多表现出正面效应(表5)。Saratthchandra^[7]也得到类似的结果,但Bongers等^[2]认为线虫成熟指数(MI)、植物寄生性线虫指数等仅受氮肥影响而不受磷肥的影响。与线虫不同,原生动物对磷肥的响应很敏感,鞭毛虫和纤毛虫的数量均大幅度提高,并且检测到大量的肉足虫(表

6),这可能与原生动物喜好磷素有关^[38]。

综上所述,内蒙古典型草原连续 5a 施氮肥,土壤生物及其多样性均显著降低,而施磷肥影响要小得多,相反,显著增加了原生动物数量和多样性,这极有可能与氮磷肥对土壤酸度、养分含量和植被类型影响不同有关,植被类型的改变导致输入土壤的有机质种类和数量发生变化,从而引起微生物、原生动物和线虫三级营养水平的土壤生物数量和多样性发生根本的变化。

致谢:中国科学院内蒙古草原生态系统定位研究站白永飞研究员和潘庆民研究员对土壤样品的采集给予大力支持与帮助,特致谢意。

References:

- [1] Smith R S, Shiel R S, Bardgett R D, Millward D, Corkhill P, Rolph G, Hobbs P J, Peacock S. Soil microbial community, fertility, vegetation and diversity as targets in the restoration management of meadow grassland. *Journal of Applied Ecology*, 2003, 40: 51-64.
- [2] Bongers T, Van der Meulen H, Korthals G. Inverse relationship between the nematode maturity index and plant parasite index under enriched nutrient conditions. *Applied Soil Ecology*, 1997, 6: 195-199.
- [3] Bardgett R D, Wardle D A, Yeates G W. Linking aboveground interactions: how plant responses to foliar herbivory influence soil organisms. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30: 1867-1878.
- [4] Bai Y, Wu J, Clark C M, Naeem S, Pan Q, Huang J, Zhang L, Han X. Tradeoffs and thresholds in the effects of nitrogen addition on biodiversity and ecosystem functioning: evidence from inner Mongolia Grasslands. *Global Change Biology*, 2009, 16(1): 358-372.
- [5] Micallef S A, Shiaris M P, Colon-Carmona A. Influence of *Arabidopsis thaliana* accessions on rhizobacterial communities and natural variation in root exudates. *Journal of Experimental Botany*, 2009, 60: 1729-1742.
- [6] 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.
- [7] Sarathchandra S U, Ghani A, Yeates G W, Burch G, Cox N R. Effect of nitrogen and phosphate fertilisers on microbial and nematode diversity in pasture soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33: 953-964.
- [8] Bradley K, Drijber R A, Knops J. Increased N availability in grassland soils modifies their microbial communities and decreases the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38: 1583-1595.
- [9] Forge T A, Bittman S, Kowalenko C G. Responses of grassland soil nematodes and protozoa to multi-year and single-year applications of dairy manure slurry and fertilizer. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37: 1751-1762.
- [10] Bai Y F, Han X G, Wu J G, Chen Z Z and Li L H. Ecosystem stability and compensatory effects in the Inner Mongolia grassland. *Nature*, 2004, 431:181-184.
- [11] Wan H W, Yang Y, Bai S Q, Xu Y H, Bai Y F. Variations in leaf functional traits of six species along a nitrogen addition gradient in *Leymus chinensis* steppe in Inner Mongolia. *Journal of Plant Ecology*, 2008, 32(3): 611-621.
- [12] Pan Q M, Bai Y F, Han X G, Zhang L X. Carbohydrate reserves in rhizome of *Leymus chinensis* in response to nitrogen additions. *Acta Phytocologica Sinica*, 2004, 28 (1): 53-58.
- [13] Lu R K. *Soil and Agricultural Chemical Analysis*. Beijing: China Agricultural Sci-Tech Press, 2000:302-315
- [14] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*, 1987, 19: 703-707.
- [15] Brookes P C, Landman A, Pruden G, Jenkinson D S. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 1985, 17: 837-842.
- [16] Brookes P C, Powlson D S, Jenkinson D S. Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 1982, 14: 319-329.
- [17] Liu W Z. *Plant Pathogenic Nematology*. Beijing: China Agriculture Press, 2000:373-376.
- [18] Yin W Y. *Pictorial Keys to Soil Animals of China*. Beijing: Science Press, 1998: 7-42, 51-89.
- [19] Bongers T, Bongers M. Functional diversity of nematodes. *Applied Soil Ecology*, 1998, 10: 239-251.
- [20] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns on community-level, sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57: 2351-2359.
- [21] Zak J C, Willing M R, Moorhead D L, Wildman H G. Function diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26: 1101-1108.

- [22] Benizri E, Amiaud B. Relationship between plants and soil microbial communities in fertilized grasslands. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37: 2055-2064.
- [23] Hogervorst R F, Dijkhuis M A J, van der Schaar M A, Berg M P, Verhoef H A. Indications for the tracking of elevated nitrogen levels through the fungal route in a soil food web. *Environmental Pollution*, 2003, 126: 257-266.
- [24] Bittman S, Forge T A, Kowalenko C G. Responses of the bacterial and fungal biomass in a grassland soil to multi-year applications of dairy manure slurry and fertilizer. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37: 613-623.
- [25] Kemmitt S J, Wright D, Goulding K W T, Jones D L. pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38: 898-911.
- [26] Warembourg F R, Esterlich H D. Plant phenology and soil fertility effects on below-ground carbon allocation for an annual (*Bromus erectus*) grass species. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33: 1291-1303.
- [27] Pan Q M, Bai Y F, Han X G, Yang J C. Effects of nitrogen addition on a *Leymus chinensis* population in typical steppe of Inner Mongolia. *Acta Phytocologica Sinica*, 2005, 29(2): 311-317.
- [28] Kornberg A, Rao N N, Ault-Riché D. Inorganic polyphosphate: a molecule of many functions. *Annual Review of Biochemistry*, 1999, 68: 89-125.
- [29] Akhtar M S, Sidiqqi Z A. Effects of phosphate solubilizing microorganisms and *Rhizobium* sp. on the growth, nodulation, yield and root-rot disease complex of chickpea under field condition. *African Journal of Biotechnology*, 2009, 8 (15): 3489-3496.
- [30] Lukito H P, Kouno K, Ando T. Phosphorus requirement of microbial biomass in a regosol and an andsol. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30: 865-872.
- [31] Ettemaa G H, Lowrance R, Coleman D C. Riparian soil response to surface nitrogen input; the indicator potential of free-living soil nematode populations. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31: 1625-1638.
- [32] Wang K H, Sipes B S, Schmitt D P. Suppression of *Rotylenchulus reniformis* by *Crotalaria juncea*, *Brassica napus*, and *Tagetes erecta*. *Nematropica*, 2001, 31: 235-249.
- [33] Ruess, L, Dighton J. Cultural studies on soil nematodes and their fungal hosts. *Nematologica*, 1996, 42: 330-346.
- [34] Brown S. Aspects of soil protozoa on a grassland farm. *European Journal of Protistology*, 2001, 37(4): 359-360.
- [35] Foissner W. Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1999, 74: 95-112.
- [36] Aerts R, de Caluwe H, Beltman B. Plant community mediated vs. nutritional controls on litter decomposition rates in grassland. *Ecology*, 2003, 84: 3198-3208.
- [37] Thirukkumaran C M, Parkinson D. Microbial respiration, biomass, metabolic quotient and litter decomposition in a lodgepole pine forest floor amended with nitrogen and phosphorous fertilizers. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 59-66.
- [38] Darbyshire J F, Davidson M S, Chapman S J, Ritchie S. Excretion of nitrogen and phosphorus by the soil ciliate *Colpoda steinii* when fed the soil bacterium *Arthrobacter* sp. *Soil Biology & Biochemistry*. 1994, 26: 1193-1199.

参考文献:

- [11] 万宏伟, 杨阳, 白世勤, 徐云虎, 白永飞. 羊草草原群落 6 种植物叶片功能特性对氮素添加的响应. *植物生态学报*, 2008, 32 (3): 611-621.
- [12] 潘庆民, 白永飞, 韩兴国, 张丽霞. 羊草根茎的贮藏碳水化合物及对氮素添加的响应. *植物生态学报*, 2004, 28 (1): 53-58.
- [13] 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: 302-315.
- [17] 刘维志. 植物病原线虫学. 北京: 中国农业出版社, 2000: 373-376.
- [18] 尹文英. 中国土壤动物检索图鉴. 北京: 科学出版社, 1998: 7-42, 51-89.
- [27] 潘庆民, 白永飞, 韩兴国, 杨景成. 氮素对内蒙古典型草原羊草种群的影响. *植物生态学报*, 2005, 29(2): 311-317.