

DOI: 10.5846/stxb201212171814

钱进芳, 吴家森, 黄坚钦. 生草栽培对山核桃林地土壤养分及微生物多样性的影响. 生态学报, 2014, 34(15): 4324-4332.

Qian J F, Wu J S, Huang J Q. Effects of sod-cultural practices on soil nutrients and microbial diversity in the *Carya cathayensis* forest. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(15): 4324-4332.

## 生草栽培对山核桃林地土壤养分及微生物多样性的影响

钱进芳<sup>1,2</sup>, 吴家森<sup>1,\*</sup>, 黄坚钦<sup>1</sup>

(1. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 临安 311300; 2. 浙江省淳安县林业局, 淳安 311700)

**摘要:** 高强度经营导致山核桃林地土壤性质改变, 设置了白三叶、黑麦草、油菜、紫云英、自然杂草和清耕(对照)6个处理, 以3次重复, 随机排列的2年田间试验, 研究了不同生草栽培对山核桃林地土壤养分和微生物多样性的影响。结果表明: 与清耕相比, 生草栽培均能改善土壤养分状况, 除全钾外, 白三叶和紫云英处理较其他处理能显著提高土壤养分含量, 其余几个处理间差异不明显; 生草栽培显著提高了土壤微生物生物量碳(MBC)含量, 白三叶、黑麦草、紫云英、油菜和自然杂草处理分别较清耕提高了169.6%、159.7%、144.1%、138.6%和58.6%, 差异达显著水平( $P < 0.05$ )。6种不同处理的土壤微生物活性(AWCD)、微生物 Shannon 指数和均匀度指数均存在明显差异。不同处理的土壤 AWCD 为白三叶>紫云英>油菜>自然杂草>黑麦草>清耕; 白三叶处理的土壤微生物 Shannon 指数高于其他处理; 白三叶、紫云英和油菜处理的土壤微生物均匀度指数显著高于其他处理。相关性分析表明, 土壤微生物活性、微生物 Shannon 指数和均匀度指数两两之间均达到极显著差异( $P < 0.01$ ), 三者与土壤各养分指标之间未达显著差异, 但表现为正相关关系。白三叶、紫云英和油菜对改善土壤微生物特性效果较好。

**关键词:** 山核桃; 生草栽培; 土壤养分; 土壤微生物生物量碳; 微生物多样性

## Effects of sod-cultural practices on soil nutrients and microbial diversity in the *Carya cathayensis* forest

QIAN Jinfang<sup>1,2</sup>, WU Jiasen<sup>1,\*</sup>, HUANG Jianqin<sup>1</sup>

1 The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Lin'an 311300, China

2 Chun'an Forestry Bureau of Zhejiang Province, Chun'an 311700, China

**Abstract:** Rapid development of the hickory (*Carya cathayensis* Sarg.) industry and excessive use of herbicides as well as other intensive management practices have resulted in serious damage to soil properties and forest vegetation. A decline in soil nutrients and a reduction in soil microbial biodiversity are often observed. To evaluate the potential of sod-culture to improve soil fertility and microbial activities of *C. cathayensis* forest soil, a 2-year field trial was initiated in 2010. In this study, six treatments (white clover, rye grass, oil rape seed, milk vetch, natural weeds and clean tillage (as CK)) each with three replicates were assessed in a randomized design. The effects of sod-culture treatments on soil nutrients and soil microbial biomass carbon in the *C. cathayensis* forest soil were measured. Changes in soil microbial diversity were also evaluated using Biolog. The results showed that there are various degrees of change in soil organic matter, available N, available K, available P, total N, total K and total P in *C. cathayensis* forest soil due to the different sod-culture treatments. Data indicated that except for soil total K, sod-culture treatments enhanced soil nutrient content significantly in the *C. cathayensis* forest soil as compared with the CK treatment. White clover and milk vetch treatments increased soil nutrient

**基金项目:** 浙江省重点科技创新团队果品产业创新团队(2009R50033); 浙江特色干果产业提质增效关键技术集成与示范(2012GA700001); 浙江农林大学“研究生科研创新基金项目”(3122013240134)

收稿日期: 2012-12-17; 网络出版日期: 2014-03-03

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jswu@zafu.edu.cn

content to a greater extent than the other treatments. There was no significant difference in soil nutrient content between the remaining treatments. Sod-culture treatments increased soil microbial biomass carbon (MBC) in *C. cathayensis* forest soil as compared with the CK treatment. White clover, rye grass, oil rape seed, milk vetch and natural weed treatments significantly ( $P < 0.05$ ) increased MBC by 169.6%, 159.7%, 144.1%, 138.6% and 58.6%, respectively. There were differences in soil microbial activity, Shannon diversity and uniformity indices between the six treatments. The Average Well Color Development sequence is as follows: white clover > milk vetch > oil rape seed > natural weeds > rye grass > CK. The Shannon index sequence is as follows: white clover > natural weeds > oil rape seed > milk vetch > rye grass > CK. The uniformity index sequence is as follows: white clover > milk vetch > oil rape seed > natural weeds > rye grass > CK. The Shannon index and uniformity index results were relatively uniform among different treatments. Using the Biolog 96 h absorbance values, principal component analysis was performed using Data Processing System software. The front nine principal components were extracted from the principal component analysis and their cumulative contribution accounted for 86.98% of the total variance. The variance contribution rates of PC1 and PC2 were 33.20% and 11.51%, respectively. The first two principal components (PC1 and PC2) were used for the analysis of soil microbial community functional diversity. The results showed that there is an obvious differentiation in the PC axis of different treatments. The PC1 axis distinguishes the white clover treatment and CK treatment from the other treatments. The white clover treatment sits on the most positive side of the PC1 axis, while the CK treatment sits on the negative side of the PC1 axis. Correlation analysis showed that there were significant differences ( $P < 0.01$ ) among microbial activity, the Shannon diversity index and the uniformity index in any paired comparison, although there was no significant difference between these three indices and the soil nutrient indices, despite the fact that they were positively correlated. In conclusion, this study showed that planting white clover, milk vetch or oil rape seed will provide the best results for improving soil nutrients and microbial properties under *C. cathayensis* forest.

**Key Words:** *Carya cathayensis*; sod-culture; soil nutrient; soil microbial biomass carbon; microbial diversity

山核桃 (*Carya cathayensis* Sarg.) 为胡桃科 (Juglandaceae) 山核桃属落叶乔木, 11 月至次年 4 月为休眠期, 是中国特有的优质干果和木本油料树种, 主要分布在浙江和安徽两省交界的天目山区, 有着 500 多年的栽培历史<sup>[1]</sup>。随着经济的发展和山核桃价格的不断攀升<sup>[2]</sup>, 山核桃经营的集约化程度越来越高, 主要的措施包括去除林下灌木、杂草, 翻耕土壤, 施用化肥和除草剂等。高强度的集约经营使林地生物多样性降低, 在冬季大片地表裸露, 水土流失严重<sup>[3]</sup>, 土壤质量下降<sup>[4]</sup>。山核桃主要分布于土壤浅薄、岩石裸露、生态脆弱的石灰岩山地, 高强度经营导致山核桃产区生态环境问题日益严重。针对这些问题, 相关学者开展了林下留养杂草、种植冷季型绿肥等, 在一定程度上提高了林地土壤有机质和改善山核桃林分冬季景观<sup>[5-6]</sup>。

生草是一种完全型绿肥, 美国、韩国和日本等国家都大力发展绿肥产业<sup>[7-8]</sup>, 大量研究表明, 生草栽培可提高土壤有机质含量, 改善土壤理化性状, 保水

保肥, 提高果实产量和品质, 增加土壤微生物数量和多样性, 改善林地生态环境<sup>[9-15]</sup>。根据山核桃落叶树种的生物生态学特点, 为改良山核桃林地土壤, 选择冷季型绿肥对林地进行自然修复十分必要。大多学者对山核桃林地生草栽培研究多集中于果园生态环境方面<sup>[6, 16]</sup>, 且缺乏系统研究。

大量高强度经营下的森林土壤常以土壤养分与物理性质指标来评价其土壤质量演化规律, 但随着土壤长期大量施用化肥和除草剂, 理化性质已逐渐失去敏感性<sup>[17]</sup>, 而具有早期预警作用的生物指标被逐渐重视。在土壤生物指标中最具有潜力的是土壤微生物多样性<sup>[18]</sup>。土壤微生物多样性是指土壤微生物在遗传、种类和生态层次上的变化, 即微生物群落的稳定性。森林土壤长期高强度集约经营使土壤微生物生物量和多样性减少<sup>[19-21]</sup>。生草栽培是否有利于丰富山核桃土壤微生物多样性, 不同生草对土壤微生物功能多样性是否有差异等问题尚未见报道, 因此有必要探讨山核桃林土壤质量的绿肥恢复

机制。本试验通过在山核桃林下栽培不同生草,研究了不同生草栽培对山核桃林地土壤养分、微生物生物量碳的影响,采用 Biolog Eco 法研究土壤微生物功能多样性的变化,以期对山核桃林地土壤管理、制定环境生物修复方案提供微生物学依据。

## 1 研究地区与研究方法

### 1.1 试验地自然概况

试验点位于浙江省临安市昌化镇迎丰村山核桃生态示范园区,地理位置为 30°03′02″N, 119°08′54.2″E,海拔 211 m,坡度 30°,北坡,树龄 20—25a,平均密度 600 棵/hm<sup>2</sup>。土壤类型为石灰土。属中亚热带季风气候,具有春多雨、夏湿热、秋气爽、冬干冷的气候特征,全年降雨量 1628.6 mm,年平均气温 16.4 °C,年降水日为 158 d。

### 1.2 试验设计

2010 年 9 月在昌化镇迎丰村山核桃示范园区布置生草栽培试验,共设 6 个处理,分别是白三叶 (*Trifolium repens*),1 年生黑麦草 (*Lolium multiflorum*),紫云英 (*Astragalus sinicus*),油菜 (*Brassica campestris*),自然杂草(园区内自然生长的杂草,主要为狗牙根、看麦娘、雀稗),以传统清耕作业(4、8 月上旬喷施 20% 百草枯水剂 375 kg/hm<sup>2</sup>进行除草)为对照,山核桃采收后将生草播种于山核桃林下,播种方式为撒播,播量平均为 30 kg/hm<sup>2</sup>。采用单因素随机区组设计,每种处理设 3 次重复,每个小区面积为 10 m×7 m。生草方式为全园生草,连续 2a 播种,各小区水肥管理保持一致,4 月和 8 月施肥两次。肥料为农家有机肥,平均每棵山核桃施肥 10—15 kg。

### 1.3 样品采集与处理

2012 年 4 月中旬(生草旺盛生长时期)采用五点采样法采集各处理 0—20 cm 的土样,去除土壤中的石块和植物,过 2 mm 筛,混匀,用四分法分成两部分,一部分鲜土样立即测定土壤微生物量碳和微生物功能多样性,另一部分自然摊晾,风干后用于土壤养分测定。

### 1.4 土壤养分测定

土壤有机质采用重铬酸钾-硫酸外加热法;水解氮采用碱解扩散法;全氮采用凯氏定氮法;有效磷采用 Bray 法,盐酸-氟化铵溶液浸提、钼锑抗比色法;速效钾采用乙酸铵浸提,原子吸收法;土壤全磷、全钾

采用硝酸-高氯酸-氢氟酸消煮法<sup>[22]</sup>。

### 1.5 土壤微生物生物量碳和微生物群落功能多样性测定

土壤微生物生物量碳采用氯仿熏蒸,用 0.5 mol/L K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液浸提,提取液用 TOC-V<sub>CPH</sub> 有机碳分析仪测定<sup>[17]</sup>。土壤的微生物代谢活性和功能多样性采用 Biolog Eco 检测法<sup>[21,23]</sup>。实验步骤为:称取相当于 10.0 g 烘干土壤重量的新鲜土壤,加入装有 100 ml 无菌蒸馏水的三角瓶中,封口后置于摇床振荡 30 min(250 r/min),得到土壤微生物悬浮液,静止 15 min 后取上清液,在超净工作台中,用无菌水将其浓度稀释到 10<sup>-3</sup>,用 8 孔加样器将稀释好的土壤悬浮液加到 Biolog Eco 生态板(ECO MicroPlant, 美国 Marix Technologies Corporation)中,每孔 125 μL。将接种好的 Eco 板置于 25 °C 培养箱中连续培养 7d;每隔 24 h 用 Biolog 微平板读数仪进行吸光值的测定,测定波长为 590 nm。

### 1.6 Biolog 数据处理方法<sup>[24-25]</sup>

土壤微生物代谢活性采用每孔颜色平均变化率(AWCD)来表示。对 Biolog Eco 板培养 96 h 的数据进行统计分析,采用 Shannon 多样性指数(*H*)和均匀度指数(*E*)来表征土壤微生物群落代谢功能多样性。计算公式如下:

$$AWCD = \sum (C_i - R) / 31 \quad (1)$$

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

$$E = H / \ln S \quad (3)$$

式中,*C<sub>i</sub>*为除对照孔外各孔在 590 nm 下的吸光值,*R*为对照孔 A1 的吸光值,*C<sub>i</sub>*-*R* 小于 0 的孔,计算中记为 0;*P<sub>i</sub>*第 *i* 孔的相对吸光值与整板相对吸光值总和的比率;*S* 为 Eco 板颜色变化的孔的数目。

实验数据处理和统计分析采用 SPSS18.0, Excel 2007 和 DPS 7.05,所有数据为 3 次重复的平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同生草栽培对山核桃林土壤养分的影响

由表 1 可以看出,6 种不同处理的山核桃林地土壤有机质、水解氮、速效钾、有效磷、全氮、全钾和全磷含量均存在不同程度的差异。白三叶栽培处理的土壤水解氮、速效钾和有效磷均为最高,分别达到 224.14、91.67 和 16.37 mg/kg,分别较清耕提高了 41.4%、149.9% 和 85.8%;其次为紫云英处理,分别

为 212.45、59.17 和 14.79 mg/kg;黑麦草、油菜和自然杂草处理土壤水解氮、速效钾和有效磷差异不明显。

从全量含量分析可知(表 1),生草栽培对山核桃林地土壤均有较好的改良效果,白三叶、油菜和紫云英处理的全氮和全磷含量均较高,与清耕处理相比,达到 5%水平差异,而白三叶和紫云英处理的全钾含量最低,显著小于清耕处理,这可能是由于豆科牧草在表土层与山核桃根系存在养分竞争所导致;其中白三叶处理的全氮含量最高,为 2.28 g/kg,比清耕处理提高了 36.5%;油菜处理的全钾含量最高,为 9.80 g/kg,比清耕提高了 6.7%;紫云英处理的全磷

最高,为 0.294 g/kg,相较于清耕提高了 75.0%,涨幅明显。自然杂草处理的效果好于黑麦草处理,黑麦草处理全钾和全磷与清耕相比无明显差异。

白三叶、黑麦草、紫云英处理的土壤有机质含量均高于清耕对照,差异明显,达显著水平。其中白三叶和紫云英提高效果最明显,分别为 38.68、37.72 g/kg,比清耕分别提高了 35.1%和 31.7%,涨幅明显高于其他处理。自然杂草处理与清耕处理无显著差异,这主要是自然杂草在林中生长不佳,生物量较小,因而归还的有机物料也较少。可见山核桃林地进行生草栽培能显著提高土壤肥力,改善土壤养分状况。

表 1 不同生草栽培对土壤(0—20 cm) 养分含量的影响(播种 2a)

Table 1 Soil nutrient content under different treatments of sod-culture (the second year of planting)

生草品种 Sward varieties	有机质(OM) Organic Matter/ (g/kg)	水解氮 Available N/ (mg/kg)	速效钾 Available K/ (mg/kg)	有效磷 Available P/ (mg/kg)	全氮 Total N/ (g/kg)	全钾 Total K/ (g/kg)	全磷 Total P/ (g/kg)
白三叶 White clover	38.68 a	224.14 a	91.67 a	16.37 a	2.28 a	8.54 c	0.275 ab
黑麦草 Rye grass	36.26 a	188.65 c	37.50 b	13.70 bc	2.17 ab	9.38 ab	0.183 c
油菜 Oil rape seed	23.09 b	184.24 c	36.67 b	13.01 bc	2.02 ab	9.80 a	0.261 ab
紫云英 Milk vetch	37.72 a	212.45 b	59.17 ab	14.79 bc	2.03 ab	8.51 c	0.294 a
自然杂草 Natural weeds	32.34 ab	190.60 c	48.33 ab	12.86 c	1.83 bc	9.27 b	0.236 b
清耕 Clean tillage	28.64 ab	158.52 d	36.67 b	8.81 d	1.67 c	9.18 b	0.168 c

同列不同字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )

## 2.2 不同生草栽培对山核桃林土壤微生物生物量碳的影响

微生物生物量碳(MBC)是土壤有机碳库中非常活跃的组分,近几年来被认为是反映土壤质量变化的重要指标之一,已有研究显示地上植被类型不同,其土壤微生物生物量碳差异明显<sup>[22]</sup>。通过 2 年生草栽培,分析测定了山核桃林地土壤微生物生物量碳。从图 1 可以看出,不同生草栽培处理土壤 MBC 均显著高于清耕,说明生草栽培能使山核桃林地土壤微生物特性明显改善。研究发现,白三叶处理土壤 MBC 最高,相比较于清耕,提高了 169.6%;其次为黑麦草、紫云英和油菜,但处理间差异不显著,分别较清耕提高了 159.6%,144.1%和 138.6%;自然杂草处理土壤 MBC 较低,仅为 166.4 mg/kg,较清耕提高了 58.6%。

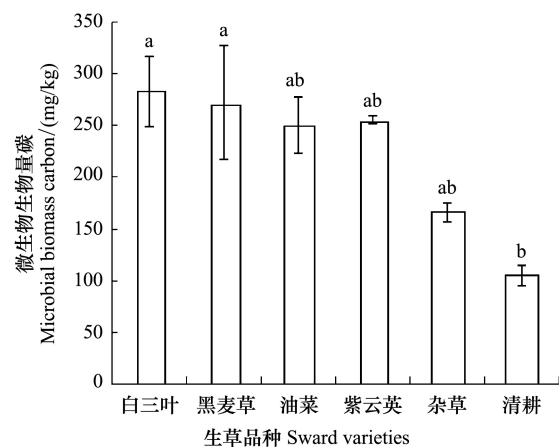


图 1 不同生草栽培对土壤微生物生物量碳的影响

Fig.1 Soil microbial biomass carbon with different treatments of sod-culture

## 2.3 不同生草栽培对山核桃林土壤微生物 AWCD 的影响

从图 2 可知,随着培养时间的延长,各处理的 AWCD 值呈抛物线模式。不同处理的土壤微生物活

性都随时间的增加而提高。6 种不同处理土壤的 AWCD 在 24 h 内无明显变化,在 24 h 后快速上升,在 144 h 达到最大值后逐渐减慢,保持稳定。比较所有处理,白三叶处理效果最好,在所有培养时间内均高于其他处理,当达到 144 h 后,其微生物活性略有减小;其次是紫云英处理;清耕处理的土壤微生物群落功能多样性最差;黑麦草、油菜和自然杂草处理间无显著差异,但较清耕处理效果明显。说明生草栽培能改善林地土壤的微生物特性。结合土壤养分分析,可知豆科植物无论是在提高土壤肥力还是改善土壤微生物特性上,效果均优于禾本科植物。

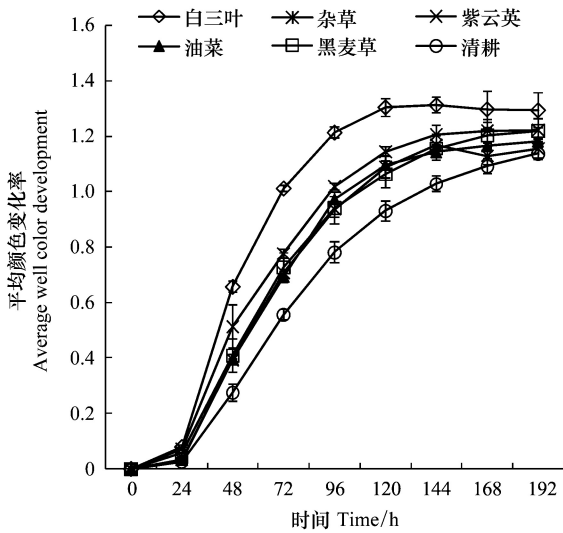


图 2 不同生草栽培土壤微生物 AWCD 随培养时间的变化  
Fig.2 Average well color development changes during incubation of soil microbial community with different treatments of sod-culture

**2.4 不同生草栽培山核桃林土壤微生物主成分分析**  
利用培养 96 h 后测定的吸光度值为数据,运用 DPS 软件对数据进行主成分分析(PCA)。

31 个主成分因子前 9 个的累积方差贡献率达到 86.96%,其中前 3 个较大的主成分方差贡献率为 33.20%、11.51%和 10.62%。从中提取可以聚集为单一碳源变量的数据变异(累积方差贡献率)为 44.71%的前 2 个主成分(PC1、PC2)来进行微生物群落功能多样性分析。结果表明(图 3),不同处理在 PC 轴上出现了明显的分异,PC1 将白三叶处理和清耕处理与其他处理区分开来,且白三叶处理处于 PC1 的最正端,清耕(对照)处理处于 PC1 的负端。油菜和自然杂草处理在 PC1 轴上距离较大,且各有 1 个

重复与其他 2 个重复的距离较远。紫云英处理在 PC1 轴上的主成分值为-2—2,在 PC2 轴上为-1—-5。黑麦草处理在 PC1 和 PC2 轴上差距均较大,3 个重复的距离较远。

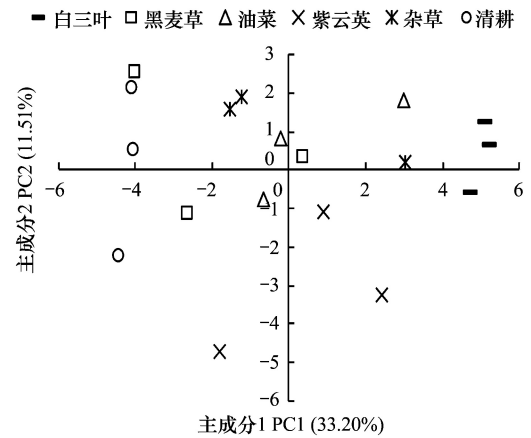


图 3 不同生草栽培土壤微生物碳源利用率的主成分分析  
Fig.3 PCA analysis of carbon sources by soil microorganisms under different treatments of sod-culture

**2.5 不同生草栽培山核桃林土壤微生物多样性指数比较**

不同生草处理间土壤微生物多样性指数存在一定的差别(表 2)。Shannon 指数大小顺序为白三叶>自然杂草>油菜>紫云英>黑麦草>清耕,白三叶处理的 Shannon 指数最高,为 3.786;清耕最低,为 3.335;油菜、紫云英和自然杂草处理的 Shannon 指数都很高,但三者之间差异不显著( $P>0.05$ )。

对不同处理而言,土壤微生物均匀度指数存在不同程度的差异。均匀度指数大小的顺序为白三叶>紫云英>油菜>自然杂草>黑麦草>清耕,白三叶、油菜和紫云英均匀度指数较高,分别为 0.980、0.969 和 0.972,但三者之间未达到显著差异,自然杂草处理的均匀度指数为 0.965,黑麦草的均匀度指数较低,为 0.936;清耕处理最低,为 0.933。相较于清耕,白三叶的 Shannon 多样性指数和均匀度指数均为最高,黑麦草的两指数均为最低,油菜、紫云英和自然杂草处理三者间无论是多样性指数还是均匀度指数差异均未达显著水平。

**2.6 不同生草栽培土壤微生物多样性与土壤化学性质的相关关系**

将 96 h 每孔平均颜色变化率 AWCD 值、微生物 Shannon 指数( $H'$ )、均匀度指数( $E$ )与土壤各肥力指标进行相关分析,如表 3 所示,96 h AWCD 值、微生

物 Shannon 指数 ( $H'$ )、均匀度指数 ( $E$ ) 两两之间均达到了极显著相关 ( $P < 0.01$ ), AWCD 和 Shannon 指数与有机质、有效磷两指标达到了显著相关 ( $P < 0.05$ ), 与其余肥力指标之间虽未达到显著相关, 但都存在正相关关系。土壤各肥力指标之间均达到显著或极显著相关。

表 2 不同生草栽培土壤微生物功能多样性指数 (96 h)

Table 2 Functional diversity of soil microbial community with different treatments of sod-culture (96 h)

处理 Treatment	Shannon 指数 ( $H'$ ) Shannon index	均匀度指数 ( $E$ ) Evenness index
白三叶 White clover	3.786±0.057a	0.980±0.004 a
黑麦草 Rye grass	3.458±0.178bc	0.936±0.034bc
油菜 Oil rape seed	3.616±0.064ab	0.969±0.001a
紫云英 Milk vetch	3.604±0.071ab	0.972±0.014 a
自然杂草 Natural weeds	3.620±0.093ab	0.965±0.011 ab
清耕 Clean tillage	3.335±0.081c	0.933±0.014c

同列不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 数值为平均值±标准差

表 3 不同生草栽培土壤化学性质与微生物功能多样性的相关关系

Table 3 The correlative coefficients among soil microbial functional diversity and nutrients under different sod-culture

相关系数 Correlative coefficient	有机质 Organic Matter	全氮 Total N	水解氮 Available N	速效钾 Available K	全钾 Total K	有效磷 Available P	全磷 Total P	微生物量碳 MBC	平均颜色变化率 AWCD	Shannon 指数 $H'$	均匀度指数 $E$
有机质 OM	1	0.680 **	0.473 **	0.351 *	-0.358 *	0.815 **	0.470 **	0.679 *	0.532 *	0.499 *	0.393
全氮 Total N		1	0.601 **	0.343 *	-0.178	0.816 **	0.770 **	0.618 *	0.34	0.282	0.088
水解氮 Available N			1	0.562 **	-0.474 **	0.575 **	0.825 **	0.701 *	0.269	0.181	-0.119
速效钾 Available K				1	-0.257	0.416 *	0.744 **	0.714 **	0.168	0.009	-0.278
全钾 Total K					1	0.500 **	0.894 **	0.551	0.056	-0.036	-0.337
有效磷 Available P						1	0.766 **	0.784 **	0.558 *	0.519 *	0.291
全磷 Total P							1	0.738 **	0.368	0.315	-0.02
微生物量碳 MBC								1	0.498	0.336	0.096
平均颜色变化率 AWCD									1	0.941 **	0.786 **
Shannon 指数 $H'$										1	0.871 **
均匀度指数 $E$											1

\*  $P < 0.05$  \*\*  $P < 0.01$

### 3 讨论

本试验通过常规分析方法、氯仿熏蒸法和 Biolog-Eco 法对不同生草栽培处理下山核桃林地土壤养分、土壤微生物生物量碳和土壤微生物多样性进行了研究, 试验结果显示, 相较于清耕处理, 生草栽培能明显提高土壤肥力, 改善土壤养分状况。有研究认为, 生草栽培对土壤肥力有显著改善, 增加土壤养分和有机质含量<sup>[10, 26-27]</sup>。栽培生草后土壤环境与结构发生改变, 导致土壤通气性、水势梯度和热传导性随之改变, 为微生物创造了适宜的生存和繁殖条件, 同时刈割生草覆盖后, 生草的腐烂物为林地土壤微生物提供了丰富的营养物质, 更适合微生物的繁殖<sup>[28]</sup>。微生物的大量繁殖促进了土壤养分的转化, 加之生草与土壤微生物及其他生物的作用, 转化

为可供吸收的营养物质, 提高土壤养分含量。种植生草每年通过凋落物归还, 细根周转和根系分泌等可向土壤归还大量的有机质, 而清耕则造成土壤有机质的加速分解, 同时失去地被层的保护, 水土流失严重。本研究与前人结果基本一致。

土壤微生物生物量碳是土壤中活的有机质成分, 可作为衡量土壤肥力及质量变化的重要指标。毛竹林地播种绿肥能明显增加土壤微生物生物量碳的含量, 表现为白三叶>大绿豆>黑麦草>黑麦草、白三叶和大绿豆混播>对照<sup>[29]</sup>。种植不同牧草对复垦红壤土壤根际微生物量碳发生了显著变化, 为黑麦草+三叶草>三叶草>黑麦草>未种植土壤, 处理间差异达显著水平<sup>[30]</sup>。本研究结果表明所有生草处理土壤微生物生物量碳含量均明显高于清耕, 白三叶处理最好, 其次为黑麦草、油菜和紫云英处理, 但处

理相互间无显著差异,自然杂草处理较差。

Biolog 法在土壤微生物群落多样性的研究中应用较为广泛<sup>[25, 31-33]</sup>,所得微生物功能多样性特征与土壤基本特征都能建立较好的联系。本文通过 Biolog Eco 法研究了山核桃林地不同生草栽培的土壤微生物多样性,结果显示,不同生草处理的微生物活性(AWCD)、土壤微生物 Shannon 指数和均匀度指数均有一定的差异,生草处理的土壤微生物活性和多样性指数(Shannon 指数和均匀度指数)显著高于清耕。土壤微生物活性(AWCD)以白三叶处理最高,清耕处理最低;紫云英、黑麦草、油菜和自然杂草 4 种处理相互间差异不显著,但均高于清耕处理;Shannon 指数大小顺序为白三叶>自然杂草>油菜>紫云英>黑麦草>清耕(对照),均匀度指数大小的顺序为白三叶>紫云英>油菜>自然杂草>黑麦草>清耕(对照)。地上植物种类组成,植物残体、根的生物量、根系分泌物和土壤理化性质等可能是导致这种差异的主要原因<sup>[34]</sup>。之所以白三叶处理的土壤微生物功能多样性会高于其他生草处理,这可能是因为白三叶为多年生草本,根系发达,播种后能快速生长,迅速郁蔽地面,且终年不枯,种子成熟后,自然脱落,可于第二年更新,不需复播。白三叶植物根际释放大量的碳源,较高浓度的碳源促进了土壤微生物群落代谢活性的提高<sup>[35]</sup>。

本研究表明,不同生草处理的土壤微生物 AWCD、微生物 Shannon 指数和均匀度指数两两之间的相关性均达到极显著水平( $P<0.01$ ),与土壤养分各指标之间存在正相关关系。这与安韶山等对宁南山区 9 种典型植物土壤 AWCD、微生物多样性指数和均匀度指数两两之间均达到极显著相关类似<sup>[25]</sup>。

#### 4 结论

不同生草栽培处理的土壤养分、微生物生物量碳、土壤微生物活性(AWCD)、Shannon 指数和均匀度指数存在不同程度的差异。相较于清耕处理,生草栽培处理的土壤有效元素和全量元素含量均明显增加。土壤养分分析中,白三叶和紫云英处理较优,黑麦草处理较差。

生草栽培可以明显增加土壤微生物生物量碳含量,白三叶处理最高,与清耕相比,提高了 169.6%,其次为黑麦草、紫云英和油菜,分别较清耕提高了

159.7%,144.1%和 138.6%,但三者间无显著差异,自然杂草处理较低,仅为 166.37 mg/kg,较清耕提高了 58.6%。

不同生草处理的土壤微生物对相同碳源的利用、对碳源消耗量及速率上的差异,表明其代谢强度不同;不同处理的土壤每孔颜色变化率 AWCD 为白三叶>紫云英>油菜>自然杂草>黑麦草>清耕。不同处理的土壤 Shannon 指数和均匀度指数,白三叶最高,清耕最低;两指数在不同处理间具有一致性。96 h 平均颜色变化率(AWCD)、Shannon 指数和均匀度指数两两之间均达到了极显著相关,与土壤肥力指标之间存在正相关关系。

#### References:

- [1] Huang J Q, Xia G H. *Carya cathayensis* Ecological Cultivation Techniques with Pictures. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Press, 2008.
- [2] Xu Y, Shen Y Q, Huang J Q, Lin J H. Farmers' willingness to adopt ecological management model for *Carya cathayensis*. Journal of Zhejiang A&F University, 2010, 27(5): 750-756.
- [3] Huang J Q, Lu D S, Li J, Wu J, Chen S Q, Zhao W M, Ge H Q, Huang X Z, Yan X J. Integration of remote sensing and GIS for evaluating soil erosion risk in Northwestern Zhejiang, China. Photogrammetric Engineering and Remote Sensing, 2012, 78(9): 935-946.
- [4] Chen S Q, Huang J Q, Huang X Z, Lou Z, Lü J G, Xia G H, Wu J S. Nutrient elements in soil and *Carya cathayensis* leaves from four parent rock materials. Journal of Zhejiang A&F University, 2010, 27(4): 572-578.
- [5] Qian X Y, Zheng H J, Zhao W M, Yu L, Song K J, Wang M W, Qian Y L. Study on screening the excellent green manures under *Carya cathayensis* forest. East China Forest Management, 2010, 24(3): 24-25.
- [6] Yang X J. Soil Properties with Grass Cover in *Carya Cathayensis* [D]. Hangzhou: Zhejiang A&F University, 2012.
- [7] Asagi N, Ueno H. Nitrogen dynamics in paddy soil applied with various<sup>15</sup>N-labelled green manures. Plant and Soil, 2009, 322(1/2): 251-262.
- [8] Kim D J, Chung D S, Bai S C C, Kim H S, Lee Y B. Effects of soil selenium supplementation level on selenium contents of green tea leaves and milk vetch. Journal of Food Science and Nutrition, 2007, 12(1): 35-39.
- [9] Yan X J, Huang J Q, Qiu Z M, Nuramina R, Zhu M H, Wu J S. Soil physical and chemical properties and fruit quality with grass cover in a *Myrica rubra* orchard. Journal of Zhejiang A&F University, 2012, 28(6): 850-854.

- [10] Gao C, Yuan D Y, Yuan J, Qiu Y W, Gan G J. Influences of sod culture on the physical and chemical characteristics of soil in hilly *Pyrus pyrifolia* orchard of eastern Hunan. Hubei Agricultural Sciences, 2011, 50(8): 1593-1595.
- [11] Hui Z M, Li H, Long Y, Zhang J, Pang X L. Variation of soil microbial populations and relationships between microbial factors and soil nutrients in cover cropping system of vineyard. Acta Horticulturae Sinica, 2010, 37(9): 1395-1402.
- [12] Li G H, Yi H L. Influences of sod culture on the soil water content, effect of soil nutrient, fruit yield and quality in citrus orchard. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2005, 13(2): 161-163.
- [13] Yu Q G, Ye J, Ma J W, Sun W C, Zou P, Fu J R, Yin J Z, Xu J X. Effects of green manure planting on nitrogen and phosphorus runoff losses in mountainous orchard. Journal of Soil and Water Conservation, 2012, 26(2): 6-11, 20-20.
- [14] van Eekeren N, van Liere D, de Vries F, Rutgers M, de Goede R, Brussaard L. A mixture of grass and clover combines the positive effects of both plant species on selected soil biota. Applied Soil Ecology, 2009, 42(3): 254-263.
- [15] Li P, Xu Z P, Jie K Z, Chen J S. Effects of interplanting different kinds of green manure weed on sloping orchard. Guangdong Agricultural Science, 2009, (10): 90-92.
- [16] Yu L, Chen J, Chen L J, Chen J B, Wu J S, Xia G H. Effect of interplantation of green manure varieties on yield of hickory forests. China Forestry Science and Technology, 2011, 25(3): 92-95.
- [17] Ren T Z, Grego S. Soil bioindicators in sustainable agriculture. Scientia Agricultura Sinica, 2000, 33(1): 68-75.
- [18] Kennedy A C, Smith K L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils. Plant and Soil, 1995, 170(1): 75-86.
- [19] El-Ghamry A, Xu J, Huang C, Gan J. Microbial response to bensulfuron-methyl treatment in soil. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2002, 50(1): 136-139.
- [20] Xu Q F, Jiang P K, Wu Q F, Wang J J, Wu J S. Effects of intensive management on soil microbial biomass and functional diversity in *Castanea mollissima* stands. Scientia Silvae Sinicae, 2007, 43(3): 15-19.
- [21] Xu Q F, Jiang P K, Wang Q Z, Lu Y T. Effects of green manure on soil microbial properties of *Phyllostachys pubescens* stands under intensive management. Journal of Beijing Forestry University, 2009, 31(6): 43-48.
- [22] Lu R K. Analytical Methods for Soil and Agro-Chemistry. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999.
- [23] Yao H Y, Bowman D N, Shi W. Soil microbial community structure and diversity in a turfgrass chronosequence: Land-use change versus turfgrass management. Applied Soil Ecology, 2006, 34(2/3): 209-218.
- [24] Zhang H H, Tang M, Chen H, Du X G. Diversity of soil microbial communities in the mycorrhizosphere of five afforestation tree species in the Loess Plateau. Journal of Beijing Forestry University, 2008, 30(3): 85-90.
- [25] An S S, Li G H, Chen L D. Soil microbial functional diversity between rhizosphere and non-rhizosphere of typical plants in the hilly area of southern Nixia. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(18): 5225-5234.
- [26] Liu C Q, Fu J H, Li F L, Fan G N. Study on effect of planting mulch grasses and interplanting green manure on soil fertility in red soil young orchard. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 1998, (S1): 106-111.
- [27] Yang Q S, Li X G, Ni J. Effects of sod-culture on soil available nutrients, moisture temperature and fruit quality, yield in pear orchard. Jiangsu Agricultural Sciences, 2007, (5): 109-111.
- [28] Lü D G, Zhao X Y, Ma H Y, Wang W X. Effects of straw mulch on soil nutrient and microbial biomass of apple orchard. Guizhou Agricultural Sciences, 2007, (5): 109-111.
- [29] Jiang P K, Xu Q F, Zhou G M, Wu Q F, Wu J S. Effects of green manure on soil nutrients and bio-properties of *Castanea mollissima* Blume plantations. Journal of Beijing Forestry University, 2007, 29(3): 120-123.
- [30] Teng Y, Huang C Y, Long J, Yao H Y. Functional diversity of microbial community in herbage rhizosphere of reclaimed red soils. China Environmental Science, 2003, 23(3): 295-299.
- [31] He X Y, Wang K L, Xu L L, Chen H X, Zhang W. Soil microbial metabolic diversity and its seasonal variations along a vegetation succession in a karst area; a case study in southwest China. Acta Scientiae Circumstantiae, 2009, 28(12): 2590-2596.
- [32] Luo X Q, Hao X H, Chen T, Deng C J, Wu J S, Hu R G. Effects of long-term different fertilization on microbial community functional diversity in paddy soil. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(2): 740-748.
- [33] Yang Y H, Yao J, Hua X M. Effect of pesticide pollution against functional microbial diversity in soil. Journal of Microbiology, 2000, 20(2): 23-25.
- [34] Kowalchuk G A, Buma D S, de Boer W, Klinkhamer P G L, van Veen J A. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms. Antonie van Leeuwenhoek, 2002, 81(1): 509-520.
- [35] Rodríguez-Loainaz G, Onaindia M, Amezcaga I, Mijangos I, Garbisu C. Relationship between vegetation diversity and soil functional diversity in native mixed-oak forests. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(1): 49-60.

## 参考文献:

- [1] 黄坚钦, 夏国华. 图说山核桃生态栽培技术. 杭州: 浙江科学技术出版社, 2008.
- [2] 徐燕, 沈月琴, 黄坚钦, 林建华. 农户对山核桃生态化经营模



- 式的意愿分析. 浙江林学院学报, 2010, 27(5): 750-756.
- [ 4 ] 陈世权, 黄坚钦, 黄兴召, 楼中, 吕健全, 夏国华, 吴家森. 不同母岩发育山核桃林地土壤性质及叶片营养元素分析. 浙江林学院学报, 2010, 27(4): 572-578.
- [ 5 ] 钱孝炎, 郑惠君, 赵伟明, 俞遵, 宋科佳, 王梦薇, 钱亚来. 山核桃林下优良绿肥品种的筛选研究. 华东森林经理, 2010, 24(3): 24-25.
- [ 6 ] 颜晓捷. 生草栽培对山核桃林地土壤性质的影响 [D]. 杭州: 浙江农林大学, 2012.
- [ 9 ] 颜晓捷, 黄坚钦, 邱智敏, 努尔阿米娜·热合曼, 朱旻华, 吴家森. 生草栽培对杨梅果园土壤理化性质和果实品质的影响. 浙江农林大学学报, 2012, 28(6): 850-854.
- [ 10 ] 高超, 袁德义, 袁军, 邱亚群, 甘国娟. 生草栽培对湘东丘陵砂梨园土壤理化性状的影响. 湖北农业科学, 2011, 50(8): 1593-1595.
- [ 11 ] 惠竹梅, 李华, 龙妍, 张瑾, 庞学良. 葡萄园行间生草体系中土壤微生物数量的变化及其与土壤养分的关系. 园艺学报, 2010, 37(9): 1395-1402.
- [ 12 ] 李国怀, 伊华林. 生草栽培对柑橘园土壤水分与有效养分及果实产量、品质的影响. 中国生态农业学报, 2005, 13(2): 161-163.
- [ 13 ] 俞巧钢, 叶静, 马军伟, 孙万春, 邹平, 符建荣, 殷建祯, 徐建祥. 山地果园套种绿肥对氮磷径流流失的影响. 水土保持学报, 2012, 26(2): 6-11, 20-20.
- [ 15 ] 李苹, 徐培智, 解开治, 陈建生. 坡地果园间种不同绿肥的效应研究. 广东农业科学, 2009, (10): 90-92.
- [ 16 ] 余琳, 陈军, 陈丽娟, 程建斌, 吴家森, 夏国华. 山核桃投产林林下套种绿肥效应. 林业科技开发, 2011, 25(3): 92-95.
- [ 17 ] 任天志, Grego S. 持续农业中的土壤生物指标研究. 中国农业科学, 2000, 33(1): 68-75.
- [ 20 ] 徐秋芳, 姜培坤, 邹奇峰, 王纪杰, 吴家森. 集约经营板栗林土壤微生物量碳与微生物多样性研究. 林业科学, 2007, 43(3): 15-19.
- [ 21 ] 徐秋芳, 姜培坤, 王奇赞, 陆贻通. 绿肥对集约经营毛竹林土壤微生物特性的影响. 北京林业大学学报, 2009, 31(6): 43-48.
- [ 22 ] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 1999.
- [ 24 ] 张海涵, 唐明, 陈辉, 杜小刚. 黄土高原 5 种造林树种菌根根际土壤微生物群落多样性研究. 北京林业大学学报, 2008, 30(3): 85-90.
- [ 25 ] 安韶山, 李国辉, 陈利顶. 宁南山区典型植物根际与非根际土壤微生物功能多样性. 生态学报, 2011, 31(18): 5225-5234.
- [ 26 ] 刘长全, 傅金辉, 李发林, 范光南. 果园生草, 套种绿肥对红壤幼龄果园土壤肥力影响的研究. 福建农业学报, 1998, (S1): 106-111.
- [ 27 ] 杨青松, 李小刚, 蔺经. 生草对梨园土壤有效养分、水分、温度及果实品质、产量的影响. 江苏农业科学, 2007, (5): 109-111.
- [ 28 ] 吕德国, 赵新阳, 马怀宇, 王万新. 覆草对苹果园土壤养分和微生物的影响. 贵州农业科学, 2010, 38(6): 104-107.
- [ 29 ] 姜培坤, 徐秋芳, 周国模, 邹奇峰, 吴家森. 种植绿肥对板栗林土壤养分和生物学性质的影响. 北京林业大学学报, 2007, 29(3): 120-123.
- [ 30 ] 滕应, 黄昌勇, 龙健, 姚槐应. 复垦红壤中牧草根际微生物群落功能多样性. 中国环境科学, 2003, 23(3): 295-299.
- [ 31 ] 何寻阳, 王克林, 徐丽丽, 陈洪松, 张伟. 喀斯特地区植被不同演替阶段土壤细菌代谢多样性及其季节变化. 环境科学学报, 2009, 28(12): 2590-2596.
- [ 32 ] 罗希茜, 郝晓晖, 陈涛, 邓婵娟, 吴金水, 胡荣桂. 长期不同施肥对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, 2009, 29(2): 740-748.
- [ 33 ] 杨永华, 姚健, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响. 微生物学杂志, 2000, 20(2): 23-25.