

DOI: 10.5846/stxb201410101990

樊芳玲, 谢德体, 魏朝富, 倪九派, 唐振亚. 坡耕地-桑树系统土壤微生物群落结构的 PLFA 分析. 生态学报, 2016, 36(12): - .
Fan F L, Xie D T, Wei C F, Ni J P, Tang Z Y. PLFA analysis showed that the configuration modes of sloping crop-mulberry systems affect the soil microbial community structure. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(12): - .

坡耕地-桑树系统土壤微生物群落结构的 PLFA 分析

樊芳玲^{1,2}, 谢德体^{1,2,*}, 魏朝富^{1,2}, 倪九派^{1,2}, 唐振亚^{1,2}

1 西南大学资源环境学院, 重庆 400715

2 重庆市三峡库区农业面源污染控制工程技术研究中心, 重庆 400715

摘要:土壤微生物群落对土壤生态环境敏感,能够指示土壤质量变化,决定土壤的生态功能。本文利用磷脂脂肪酸(PLFA)法分析了不同配置模式的坡耕地-桑树系统对旱坡地紫色土土壤生态系统微生物群落结构的影响。结果表明,种植桑树篱能显著提高土壤 Phospholipid-derived fatty acids (PLFA) 含量,改善微生物群落结构:T1 处理(两带等高桑)土壤微生物的 PLFA 总量(20.54 nmol/g)显著高于 CK 处理(常规农作);T1 处理显著提高了土壤细菌含量,T5 处理(两带纵坡桑)土壤中真菌的丰富度相对较高。T1 的多样性指数(H')和均匀度指数(J)最高,T2(三带等高桑)的丰富度指数(R)最高。主成分分析表明,第一主成分(PCI)主要包括 a17:0、16:1 ω 5c 和 17:0 等直链饱和脂肪酸和多不饱和脂肪酸,占 PC1 的 58.15%;第二主成分(PC2)包括 i12:0 3OH、20:1 ω 9c 和 cy19:0 ω 8c 等直链单不饱和脂肪酸和环丙烷脂肪酸,占 PC2 的 77.50%;T1 与 T2 微生物群落结构相似,与 CK 差别较大。冗余分析(RDA)表明:微生物群落结构主要受全磷、pH、全氮、有机质、硝态氮含量影响;全磷、全氮对支链饱和脂肪酸、G+、细菌等影响较大,pH 对 G-影响较大。相关性分析表明,径流量与 i16:0、10Me17:0、a17:0、18:3 ω 6c (6,9,12)呈显著正相关,与 20:1 ω 9c 呈极显著正相关;泥沙量与 i16:0、i17:0 呈显著正相关,与 18:3 ω 6c (6,9,12)呈显著负相关,与 20:1 ω 9c 呈极显著正相关。

关键词:土壤微生物;磷脂脂肪酸;紫色土;坡耕地-桑树系统

PLFA analysis showed that the configuration modes of sloping crop-mulberry systems affect the soil microbial community structure

FAN Fangling^{1,2}, XIE Deti^{1,2,*}, WEI Chaofu^{1,2}, NI Jiupai^{1,2}, TANG Zhenya^{1,2}

1 College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China

2 Chongqing Engineering Research Center for Agricultural Non-point Source Pollution Control in Three-Gorge Reservoir Area, Chongqing 400715, China

Abstract: The soil microbial community is sensitive to the ecological environment, and it can indicate changes in soil quality and determine the ecological functions of the soil. Phospholipid-derived fatty acids (PLFA) analysis was used to study the response of soil microorganisms to different configuration modes of sloping crop-mulberry systems on purple soil. The results showed that planting mulberry hedges significantly increased PLFA levels and improved the soil microbial community structure, when compared with no hedge control. The total PLFA level after T1 treatment (two belts of contour mulberry) was 20.54 nmol/g, which was 66.99% higher than the control. The number of soil bacteria after T1 treatment also increased significantly. The richness of fungi after T5 treatment (two belts of vertical mulberry) was relatively higher than that after the other treatments. The diversity and evenness indexes after T1 treatment and the richness index after T2 treatment (three belts of contour mulberry) were the highest among the treatments. Principal component (PC) analysis showed that 58.2% of PC1 was composed of straight-chain saturated and polyunsaturated fatty acids of a17:0, 16:1 ω 5c,

基金项目:国家自然科学基金(41371301);国家“十二五”水专项(2012ZX07104-003);国际科技合作专项(2013DFG92520)

收稿日期:2014-10-10; 网络出版日期:2015-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xdt@swu.edu.cn

and 17: 0, while 77.5% of PC2 was composed of monounsaturated and cyclo fatty acids of i12: 0 3OH, 20: 1 ω 9c, and cy19: 0 ω 8c. T1 and T2 treatments resulted in similar soil microorganisms that differed from the control. Redundancy analysis showed that the microbial community structure was mainly affected by total soil phosphorus, pH, total nitrogen, organic matter, and soil nitrate content. G+, branched saturated fatty acids, and bacteria were mainly affected by total phosphorus and total nitrogen, whereas G⁻ was mainly influenced by soil pH. The amount of runoff was significantly and positively correlated with i16: 0, 10Me17: 0, a17: 0, and 18: 3 ω 6c (6,9,12) at $P < 0.05$ and positively correlated with 20: 1 ω 9c at $P < 0.001$. The amount of sediments had a significant and positive correlation with 18: 0, i16: 0, and i17 3 ω 6c (6,9,12) at $P < 0.05$ and with 20: 1 ω 9c at $P < 0.001$, whereas it had a significant and negative correlation with 18: 3 ω 6c (6,9,12) at $P < 0.05$.

Key Words: soil microorganisms; PLFA; purple soil; sloping crop-mulberry lands

三峡库区大部分地区处于川东褶皱地带,地貌类型以低山丘陵为主,60%以上的土地为坡耕地,70%以上的土壤为抗蚀性较差的紫色土,森林覆盖率低,人为破坏严重;气候四季分明,降雨集中,这些生态环境条件十分易于水土流失的发生,引起土壤退化^[1]。其特殊的生态环境条件、人口资源、社会经济状况使农业面源污染问题十分尖锐^[2]。针对这一问题,学者们提出源头控制、过程阻截和末端治理的解决方案^[3-5]。其中,植物篱作为一种源头拦截技术,在降低坡面径流及氮磷流失^[6-7]、降低化肥农药使用量^[8]、增加作物产出^[9]等方面均显示出不俗的效果。同时,植物篱落叶中的营养元素可促进土壤微生物的生长,而且植物的根系可改善土壤质地、增加土壤团粒结构,改善土壤微生物群落结构^[10-11]。

土壤微生物是土壤物质和能量转化的动力,推动着土壤有机质的矿化分解和土壤养分的循环与转化^[12]。研究发现,微生物促使土壤团聚体形成,其中真菌和放线菌等以菌丝将土壤彼此机械的缠绕在一起而形成团聚体;而另一些类群是以其生活的代谢产物-多糖和其它有机物对土壤颗粒的胶结作用而形成稳定性团聚体^[13],微生物群落结构变化将影响土壤团粒结构、有效养分等理化性质以及土壤酶活性特征,进而改变土壤质地,影响水土流失效应。

不同植物下的土壤微生物有不同的群落结构,如秦红灵等^[14]利用 T-RFLP 和 RT-PCR 技术研究发现,红壤坡地土壤细菌多样性指数农田>茶园>自然恢复,但茶园土壤细菌数量是农田的 8.76 倍;薛冬等^[15]采用 DGGE 方式研究了杭州西湖梅家坞茶园、荒地和林地的土壤微生物群落基因多样性指数荒地>茶园>林地。用传统的琼脂培养法往往会低估土壤微生物的真实情况^[16],而磷脂脂肪酸(Phospholipid fatty acid, PLFA)能够快速准确的提取并测定土壤活体微生物细胞膜的 PLFA,鉴定微生物种类、识别微生物类群和测定土壤微生物量^[17-18]。因此,本文选取库区广泛种植的桑树作为研究对象,旨在探讨不同桑带配置模式下坡耕地-桑树系统对紫色坡地土壤微生物群落特征,并明确微生物与环境因子、水土流失量间的相互关系,以揭示微生物在水土流失中的作用及机理,为紫色土区坡耕地的综合利用提供有效措施及理论支撑。

1 材料与方 法

1.1 试验区概况

王家沟小流域位于三峡库区腹心地区,长江北岸,地理位置位于东经 107°29'43"—107°31'1",北纬 29°53'27"—29°54'37",行政位置在重庆市涪陵区珍溪镇渠溪村二组(图 1)。该流域气候属于亚热带季风气候,年平均气温 22.1℃。年平均地面温度为 19.8℃,太阳辐射量年平均为 337081.97J cm⁻¹ a⁻¹,年平均降水量 1130mm,夏秋两季降雨量分配最多,占全年的 66%。试验区种植业发达,是涪陵区榨菜和桑蚕重点种植区,土壤类型为紫色土,土壤 pH 在 5.2—8.0 之间变化。

1.2 土壤样品采集

试验位于三峡库区库周丘陵区王家沟小流域,共设 16 个野外径流小区,分为 5 个处理(图 2),分别记为

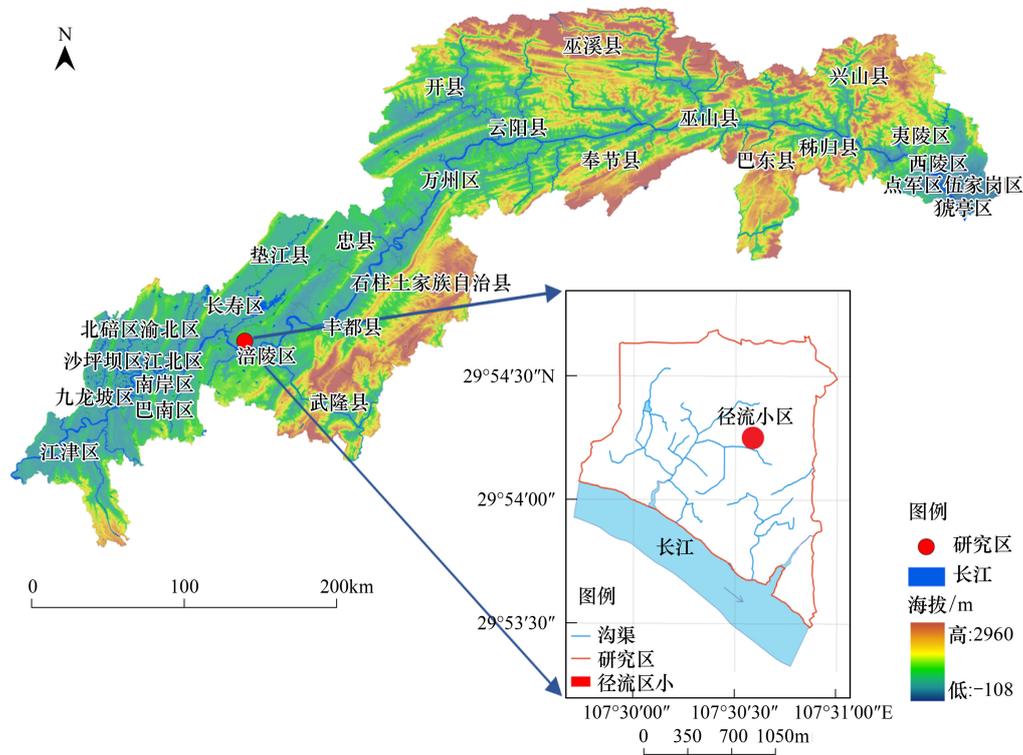


图1 研究区试验点位置图

Fig.1 Location of study site in Chongqing, China

T1(两带等高桑树+横坡农作,3个重复)、T2(三带等高桑树+横坡农作,4个重复)、T3(地埂桑+一带等高桑树+横坡农作,3个重复)、T4(地埂桑+横坡农作,3个重复)、T5(两带纵坡桑树+纵坡农作,2个重复)和CK(常规农作,无重复)。径流小区之间及小区边界采用砖埋砌,水泥抹面而成,小区下方修筑有 $2\text{m}\times 1\text{m}$ 的集水池。种植模式为榨菜-玉米轮作。各处理施肥量一致,每年玉米季施N为 $143.9\text{kg}/\text{hm}^2$, P_2O_5 为 $94\text{kg}/\text{hm}^2$, K_2O 为 $131\text{kg}/\text{hm}^2$,榨菜季施N为 $156.8\text{kg}/\text{hm}^2$, P_2O_5 为 $206\text{kg}/\text{hm}^2$, K_2O 为 $184\text{kg}/\text{hm}^2$ 。

2013年5月到2014年3月试验期内,在径流产生后,测定径流量、泥沙量,并采集样品用于测定径流水与泥沙中的总氮、总磷、铵态氮、硝态氮及正磷酸根盐。在榨菜收获后(2014年3月)在径流小区的上篱、上坡、中篱、下坡、下篱5个坡位采集0—20 cm土层原状土,每个坡位重复3点,混合后取约500 g混合土样带回室内,除去土壤中植物残体、石块等,部分鲜土过2 mm筛后,放在 -80°C 冰箱保存用于测定土壤PLFA;取部分土风干,过1 mm筛后用于测定土壤有效氮磷、pH等,过0.25 mm筛后用于测定土壤全氮磷、有机质等;同时每个采样点附近用环刀(体积 200cm^3)取0—20 cm土层原状土,重复2点,用于测定土壤容重。

1.3 样品测定方法

磷脂脂肪酸采用修正的Blight-Dyert方法^[18]。(1)提取:称取相当于8g烘干土壤质量的湿润土壤3份,用进口色谱纯 CHCl_3 、 CH_3OH 、磷缓冲液按2:1:0.8的比例混合浸提液在 $<25^\circ\text{C}$ 下振荡2 h(285 r/min)后离心10 min(3500 r/min),收集上层离心液,如此反复一次提取后加入磷缓冲液和氯仿各12 ml,于黑暗中静置12 h,吸取下层溶液,在 $30\text{—}32^\circ\text{C}$ 水浴锅中用氮气吹干。(2)分离:取1000 μL CHCl_3 转移浓缩的磷脂到萃取小柱,向小柱加5 ml CHCl_3 用于洗去中性脂,加2次5 ml 丙酮用于洗去糖性脂,用1 ml 甲醇清洗萃取小柱底部,收集5 ml 甲醇淋洗硅胶小柱溶液,加入4 μL C19:0内标,在 32°C 水浴锅中用氮气吹干。(3)甲脂化:用1 ml 甲醇:甲苯混合液(体积比为1:1)和1 ml 0.2 mol L^{-1} KOH溶解干燥的磷脂样品,在 37°C 水浴中加热15 min,加入0.3 ml 1 mol L^{-1} 的醋酸溶液,2 ml 正己烷,2 ml 超纯水,低速振荡(120 r/min)10 min,吸取上层正己烷溶液,氮气吹干,加入200 μL 正己烷冲洗试管,将溶液吸入小柱保存。用Agilent 6850气相色谱仪(FID检测器)

(iso)代表异构甲基支链(距甲基端的第二个碳原子),“a”(anteiso)代表前异构甲基支链(距甲基端的第三个碳原子),“cyc”代表环丙基支链,“br”表示甲基支链的位置未知。后缀“c”和“t”分别代表顺式和反式同分异构体,“OH”前的数字表示羟基的位置(从羧基端计数,第二个碳为 α 、第三个碳 β)^[22]。

2 结果与分析

2.1 坡耕地-桑树系统对土壤理化性质的影响

由表 1 可知,种植桑树植物篱后,T1—T5 处理 0—20cm 土层土壤 pH 逐渐增大,比种植前增大 2.30%—10.85%,CK 则出现相反的趋势,比种植前减小 0.81%。T1—T5 处理的土壤容重均有所减小,比种植前减小 1.43%—7.16%,CK 则增大 0.76%。各处理土壤全氮、全磷、全钾、有机质均比种植前有所增加,增幅分别为 8.84—25.31%、54.55—73.17%、17.85—34.10%和 25.20—42.53%。T1—T5 土壤碱解氮比种植前增加 2.92—33.70%,CK 则减少 1.40%。有效磷和有效钾的增幅分别是 25.92—49.58%和 4.17—60.07%。由此可见,桑树带种植后,植物的机械阻拦作用与落叶等生物量返给土壤致使土壤蓄积效应提高。

表 1 桑树种植前后土壤化学性质比较

Table 1 Comparison of chemical and physical properties of different treatments before and after planting mulberry trees

理化性质 Physical and chemical properties	植物篱种植前 Before planting mulberry trees						植物篱种植后 After planting mulberry trees					
	CK	T1	T2	T3	T4	T5	CK	T1	T2	T3	T4	T5
pH(1:2.5) pH value	5.4	7.6	5.6	5.4	5.4	6.1	5.4	7.9	6.6	6.1	5.8	6.2
容重 Bulk density	1.30	1.28	1.24	1.26	1.29	1.24	1.31	1.20	1.20	1.24	1.20	1.17
全氮 Total nitrogen/(g/kg)	1.04	1.00	1.00	1.04	1.04	1.17	1.14	1.26	1.32	1.39	1.32	1.51
全磷 Total phosphorus/(g/kg)	0.81	0.77	0.77	0.81	0.81	1.09	1.88	2.87	2.26	2.05	2.06	2.40
全钾 Total potassium/(g/kg)	19.7	20.1	20.1	19.7	19.7	18.9	24.9	30.5	27.9	27.9	24.0	24.0
有机质 Organic matter/(mg/kg)	14.7	14.1	14.1	14.7	14.7	14.7	25.6	23.6	21.9	20.5	19.7	20.4
碱解氮 Available nitrogen/(mg/kg)	91.1	87.6	87.6	91.1	91.1	94.0	89.8	90.2	103.9	114.9	121.2	141.7
有效磷 Available phosphorus/(mg/kg)	27.2	30.5	30.5	27.2	27.2	36.1	48.3	41.2	45.0	65.5	54.0	69.4
有效钾 Available potassium/(mg/kg)	93.5	96.7	96.7	93.5	93.5	122.9	102.9	147.4	165.8	234.2	170.2	128.3

2.2 坡耕地-桑树系统对土壤磷脂脂肪酸数量的影响

由图 3 可知,5 个处理共检测出 46 种磷脂脂肪酸,其中 16:0 的含量最高,16:0、19:0、18:1 ω 9c 和 i15:0 的总和占脂肪酸总量的 37.20%。构成脂肪酸的主要是 4 种直链饱和脂肪酸(SFA),绝对含量占总量的 19.50%,其中 16:0 最多;其次是 3 种多不饱和脂肪酸(PFA)和 2 种直链单不饱和脂肪酸(MFA),绝对含量占总量的 21.20%,其中主要是 18:1 ω 9c 和 16:1 ω 5c;支链饱和脂肪酸(BFA)4 种,绝对含量占总量的 9.17%;环丙烷脂肪酸(CFA)2 种,绝对含量占总量的 5.96%。

由图 4 所示,T1 处理各种脂肪酸含量均高于其他处理,其直链单不饱和脂肪酸含量显著高于 CK,支链饱和脂肪酸含量显著高于 T2、T3 和 T4,环丙烷脂肪酸显著高于 T2,而直链饱和脂肪酸虽较其他处理高,但没有达到显著性水平。其余处理各脂肪酸含量之间均没有显著差异。

由表 2 可以看出,T1 土壤脂肪酸总量最高,为 20.54 nmol/g,显著高于 CK、T2、T3 和 T4,与 T5 没有显著性差异。T1、T3 和 T5 的脂肪酸总量分别比 CK 增加了 66.99%、6.02%和 21.95%,而 T2 和 T4 则减少了 1.38%和 1.54%。由此可见,桑树根系过于密集,反而不利于土壤脂肪酸累积。

2.3 坡耕地-桑树系统对土壤微生物群落结构的影响

细菌细胞膜一般含有饱和、不饱和、支链或直链脂肪酸,其中革兰氏阴性细菌(G-)主要含有羟基、单烯和环丙烷脂肪酸,而革兰氏阳性细菌(G+)主要含有支链脂肪酸^[23],偶数和多烯脂肪酸是大部分真菌细胞膜的

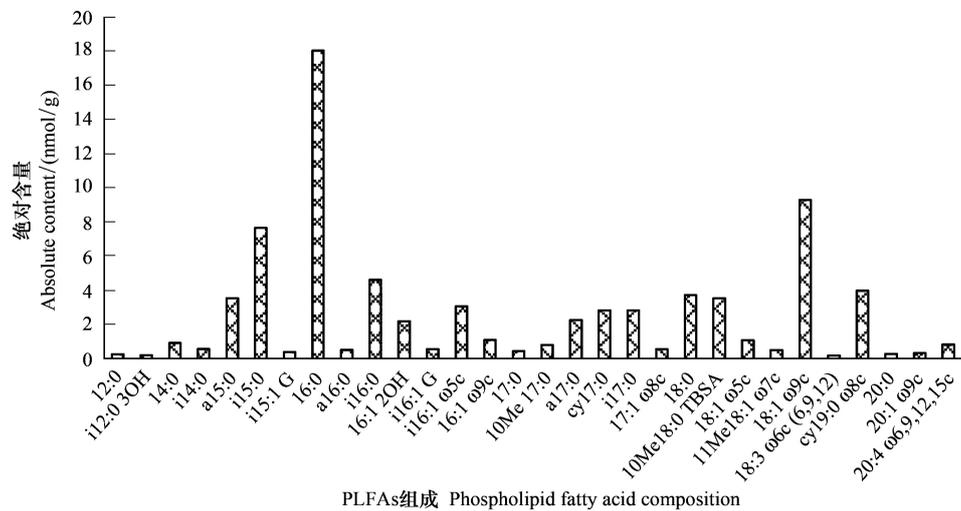


图3 坡耕地-桑树系统土壤磷脂脂肪酸的组成及绝对含量

Fig.3 PLFA compositions and their amount of sloping crop-mulberry systems

成分^[24]。由图5可见,各处理土壤细菌含量均显著高于真菌和放线菌的含量,是土壤微生物的主要群落形态。处理间土壤细菌(B)生物量存在显著差异,T1最高(10.12 nmol/g),比CK高37.31%;其次是T3和T5,比CK高9.5%和15.33%,而T2和T4比CK少54.41%和3.93%。各处理真菌(F)和放线菌(A)则没有显著性差异。T1土壤中代表G⁻、G⁺的脂肪酸含量显著高于其他处理,分别比CK高出2.66和1.40倍。

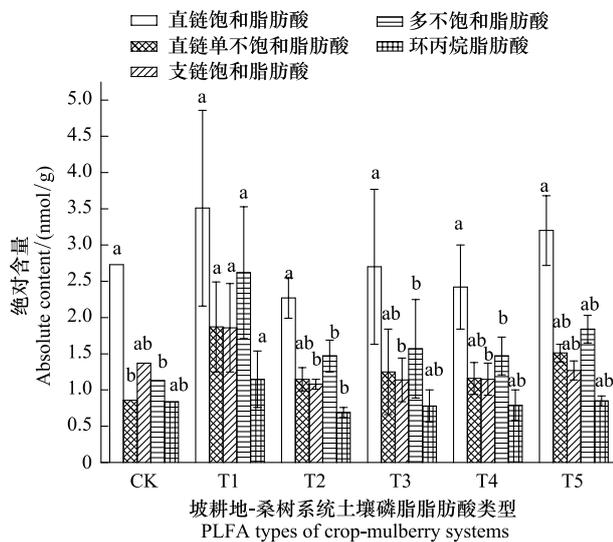


图4 坡耕地-桑树系统土壤磷脂脂肪酸类型及绝对含量

Fig.4 PLFA types and their amount of sloping crop-mulberry systems

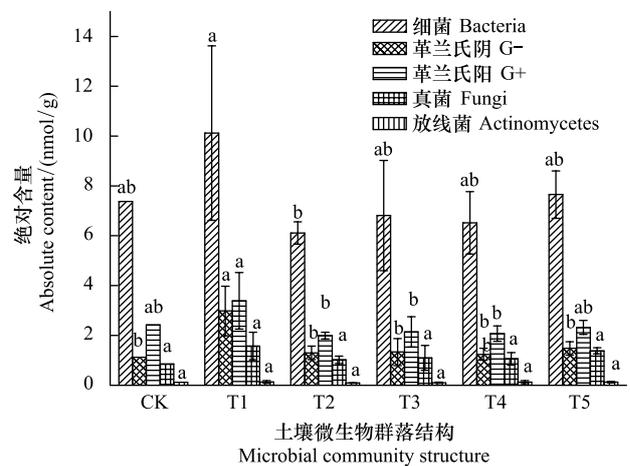


图5 坡耕地-桑树系统微生物群落结构及绝对含量

Fig.5 Microbial community structure and their amount of sloping crop-mulberry systems

由表3可知,各处理土壤G⁺/G⁻的脂肪酸含量比例为1.14—2.16,T1最低。真菌/细菌的比例可反映真菌和细菌含量的变化范围^[25]和两个种群的相对丰富程度^[26]。真菌/细菌的脂肪酸含量比例为0.11—0.18,CK最低,T5最高,说明T5处理土壤中真菌的丰富度相对较高。放线菌/细菌的脂肪酸含量比例为0.013—0.018,T1最低,T4最高。放线菌/真菌的脂肪酸含量比例为0.083—0.13,T1最低,CK最高。说明不同配置桑树系统对土壤真菌和细菌的生长有不同的影响,T1处理(2带桑)细菌绝对含量最高,但是其真菌和放线菌丰富度却没有四边桑模式的T4和树龄较大的T5高。

表 2 坡耕地-桑树系统土壤磷脂脂肪酸含量

Table 2 Soil PLFA amount of each treatment of sloping crop-mulberry systems

PLFAs 含量 PLFAs content	处理 Treatment					
	CK	T1	T2	T3	T4	T5
总计 Total	12.3b	20.54±6.62a	12.13±1.35b	13.04±4.4b	12.11±2.09b	15±2.35ab

数据为 3 个重复的平均值±标准差;数据采用 duncan 分析法,同一行中不同字母表示差异显著($P<0.05$)

表 3 坡耕地-桑树系统微生物菌群比例

Table 3 Microbial flora proportions of sloping crop-mulberry systems

微生物群落结构 Microbial community structure	处理 Treatment					
	CK	T1	T2	T3	T4	T5
G+/G-	2.16	1.14	1.53	1.61	1.67	1.57
放线菌/细菌 Actinomycetes/Bacteria	0.0149	0.0128	0.0147	0.0147	0.0184	0.0157
真菌/细菌 Fungi/Bacteria	0.1153	0.1551	0.1669	0.1615	0.1626	0.1804
放线菌/真菌 Actinomycetes/Fungi	0.1294	0.0828	0.0882	0.0909	0.1132	0.0870

供试土壤的 46 种脂肪酸可以分成两个主要类型(图 3),PC1 和 PC2 两个主成分合计达到土壤微生物群落结构组成的 86.85%,其余的 13.15%为其他种类微生物。其中 PC1 主要由直链饱和脂肪酸、多不饱和脂肪酸和支链饱和脂肪酸组成,占微生物群落结构变异的 64.71%;其中 a17:0、a15:0、i15:0、18:0 等 9 个含量较高,占第一主成分的 58.15%。PC2 包括直链单不饱和脂肪酸、环丙烷脂肪酸和支链饱和脂肪酸,解释微生物群落结构组成变异的 22.14%,主要由 i12:0 3OH、20:1 ω 9c、i16:0、i17:0 和 cy19:0 ω 8c 等 5 个脂肪酸组成,占第二主成分 PC2 的 77.50%。对不同配置模式下土壤磷脂脂肪酸的主成分分析(图 4),结果表明各处理与第一主成分表现出正相关,T1 和 T2 与第二主成分表示出正相关,其他处理与第二主成分表现为负相关。土壤微生物群落结构可以分成三种类型,T1 与 CK 处于两个极端,而 T3、T4、T5 土壤的因子载荷十分接近,三者几乎重叠,从脂肪酸测定结果表明,T1 和 T2 微生物群落结构相似,有利于土壤微生物生长,而 CK 不利于微生物的积累。

Shannon 多样性指数、Pielou 均匀度指数和 Margalef 丰富度指数是研究微生物多样性的重要指标,多样性指数是反映群落物种及其个体数与分布均匀度的指标,均匀度指数的变化主要通过群落中优势类群多度的变化来实现,丰富度指数的变化是通过群落中的一部分敏感或少见类群的有无来实现^[27]。通过表 4 中多样性指数(H')、均匀度指(J)和丰富度指数(R)等指标分析不同配置的桑树坡耕地系统对土壤微生物群落多样性的影响。多样性指数和均匀度指数最高的为 T1,均显著高于 CK,丰富度指数较高的是 T2 和 T3,显著高于 CK、T1。

表 4 各处理土壤微生物菌群多样性指数

Table 4 Diversity indexes of soil microbial flora of each treatment

处理 Treatment	多样性指数(H') Diversity index	均匀度指数(J) Evenness index	丰富度指数(R) Richness index
CK	2.63b	0.8b	6.11b
T1	2.83±0a	0.85±0.01a	5.87±0.25b
T2	2.75±0.16ab	0.8±0.03b	7.12±0.87a
T3	2.69±0.05ab	0.78±0.02b	7.22±0.25a
T4	2.71±0.05ab	0.81±0.01b	6.61±0.57ab
T5	2.7±0.01ab	0.79±0.01b	6.62±0.51ab

2.4 微生物群落与土壤理化性质的对应关系

微生物群落代谢特征与周围环境密切相关,本文对微生物磷脂脂肪酸进行趋势对应分析(DCA),得到最大梯度长度为 0.5,表明微生物磷脂脂肪酸对环境因子的响应是线性的,因此,适宜选择线性模型冗余分析

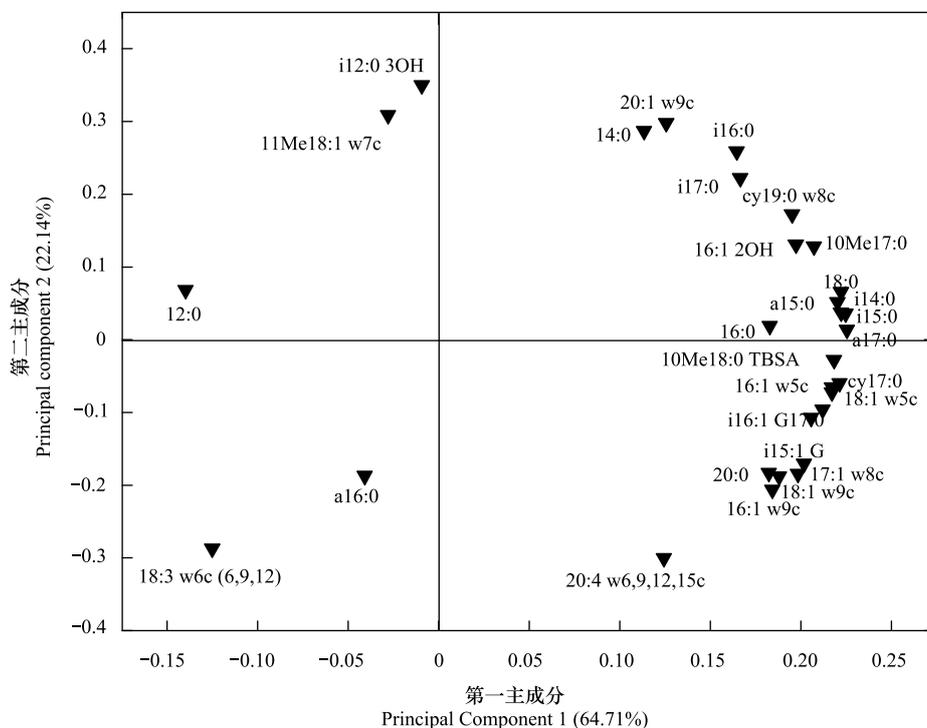


图6 坡耕地-桑树系统 PLFA 主成分分析

Fig.6 Principal component analysis of PLFAs of sloping crop-mulberry systems

(RDA)来分析理化因子对微生物分布的影响。RDA 排序结果如图 8 所示,轴 1 和轴 2 解释了土壤菌落变异程度的 75.42%,第一排序轴的主要影响因子为全磷(0.95)、pH(0.84)、全氮(0.76),第二排序轴的主要影响因子是有机质(0.92)、硝态氮(0.69)。轴 1 与全磷、全氮、pH 正相关,轴 2 与有机质、铵态氮正相关。支链饱和脂肪酸(BFA)、G⁺、细菌(B)、环丙烷脂肪酸(CFA)、直链饱和脂肪酸(SFA)、放线菌(A)分布差异较小,多不饱和脂肪酸(PFA)、真菌(F)、单不饱和脂肪酸(MFA)分布差异较小。全磷、全氮对支链饱和脂肪酸(BFA)、G⁺、细菌(B)、环丙烷脂肪酸(CFA)、直链饱和脂肪酸(SFA)、放线菌(A)影响较大;pH 对 G⁻影响较大。由各环境因子的箭头长度和与轴 1 和 2 的夹角可以看出,对微生物指标影响最高的是全磷,其次是全氮,影响最低的是有效磷。T1 微生物群落主要受全磷、全氮和 pH 影响;T2、T3、T4 微生物群落结构相似,主要受铵态氮、有效磷、硝态氮、有效氮、速效钾、容重的影响;T5 主要受容重的影响;CK 主要受有机质的影响。

2.5 土壤磷脂脂肪酸与水土流失量的相关性分析

由表 5 可知,各处理的径流量与 i16:0、10Me17:0、a17:0 呈显著正相关,与 20:1 ω 9c 呈极显著正相关,与 18:3 ω 6c (6,9,12)呈显著性负相关;泥沙量与 i16:0、i17:0 呈显著正相关,与 18:3 ω 6c (6,9,12)呈显著负相关,与 20:1 ω 9c 呈极显著正相关;水铵态氮与 a16:0 呈显著正相关;水硝态氮与 10Me17:0 呈显著正相关;水有机氮与 18:3 ω 6c (6,9,12)呈显著负相关,与 20:1 ω 9c 呈极显著正相关;水总氮与 20:1 ω 9c 呈极显著正相关;水总磷、水磷酸盐与土壤磷脂脂肪酸没有显著性相关关系。

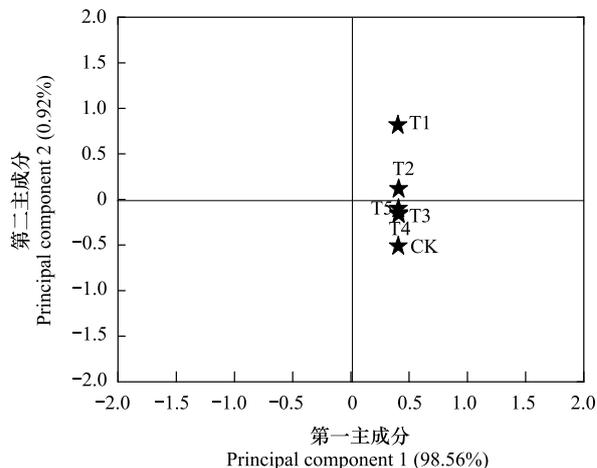


图7 处理间脂肪酸构成分析

Fig.7 Principal component analysis of structure among treatments

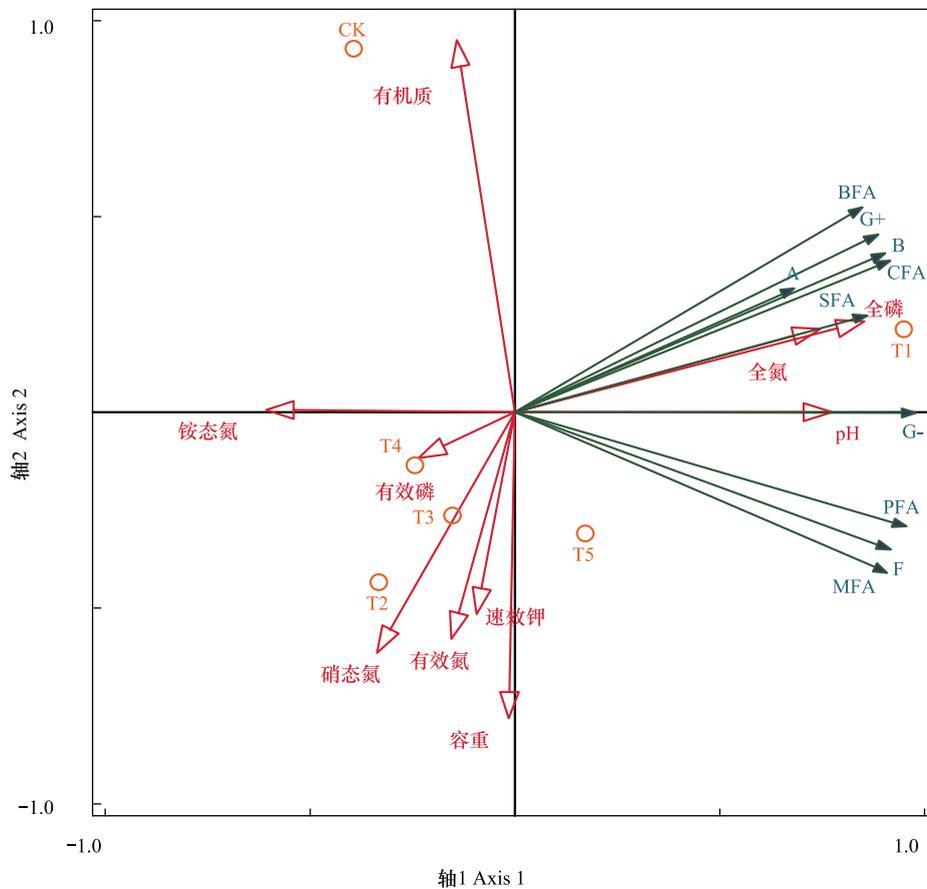


图 8 坡耕地-桑树系统微生物群落与环境因子的 RDA 排序图

Fig.8 RDA ordination diagram of microbial communities and environmental factors of sloping crop-mulberry systems

表 5 土壤 PLFA 与水土流失量的相关性分析

Table 5 Correlative analysis of soil PLFA and soil erosion amount

水土流失量 Amount of soil erosion	PLFAs						
	a16:0	i16:0	10Me17:0	a17:0	i17:0	18:3 ω6c (6,9,12)	20:1 ω9c
径流量 Runoff loss	-0.33	0.486 *	0.516 *	0.483 *	0.474	-0.569 *	0.718 **
泥沙量 Sediment loss	-0.235	0.518 *	0.426	0.287	0.495 *	-0.527 *	0.766 **
水铵态氮 NH ₄ -N loss	0.549 *	-0.092	-0.189	-0.316	-0.183	0.264	-0.218
水硝态氮 NO ₃ -N loss	-0.1	0.459	0.493 *	0.148	0.357	-0.012	0.358
水有机氮 Organic nitrogen loss	-0.385	0.282	0.315	0.448	0.276	-0.565 *	0.725 **
水总氮 Total nitrogen loss	-0.226	0.433	0.445	0.389	0.353	-0.465	0.779 **
水总磷 Total Phosphorus loss	0.24	0.124	-0.008	-0.226	0.005	-0.019	0.008
水磷酸盐 Phosphate loss	0.323	0.135	0.03	-0.142	0.041	0.06	-0.124

*. 在 0.05 水平(双侧)上显著相关; ** . 在 0.01 水平(双侧)上显著相关

3 讨论

3.1 坡耕地-桑树系统改善土壤微生物群落结构

研究结果显示,相比常规农作,栽种桑树植物篱能够显著提高土壤细菌的含量,增加真菌的丰度,显著增加土壤微生物多样性指数、均匀度指数和丰富度指数,改善微生物群落结构。如 T1 土壤微生物单烯脂肪酸含量最高,表明土壤有机质含量、底物活性以及通气状况均好于 CK^[18]。T5 土壤较高的支链脂肪酸含量说明其含有较多的好气微生物,如放线菌和革兰氏阳性细菌^[28]。这是由于土壤微生物群落结构,受土地使用历史、

植被覆盖类型和作物栽培方式等多种因素的影响^[29-30]。本文中桑树落叶可提供丰富的碳源,坡耕地-桑树系统能显著提高表层土壤细菌含量,分析原因,一方面是桑树落叶中含有的氮、磷、有机质等营养元素可提供微生物生长和繁殖的能源物质,促进土壤微生物的生长;另一方面落叶中可能含有一些能够与土壤中菌类具有协同生长作用的微生物;此外,桑树根系可改善土壤理化性质,刺激土壤微生物的生长。蒋婧^[12]等研究发现植物通过其凋落物与分泌物为土壤微生物提供营养,土壤微生物作为分解者提供植物可吸收的营养元素,比如共生体菌根真菌即可使植物根与土壤真菌达到互惠。文倩等^[22]研究发现,北方农牧交错带土壤以单烯脂肪酸和支链脂肪酸为主,由于植物返给量和管理方式不同,草地土壤 PLFA 明显高于雨养耕地土壤。Muhammad 等^[31]研究发现,加入不同生物炭量产生不同的化学变化,如增加 pH 值,溶解的有机碳,总碳和氮,影响了土壤微生物含量,改变了土壤微生物群落结构。

对于不同配置的坡耕地-桑树系统,土壤微生物群落结构也有显著性差异。多样性指数和均匀度指数最高的为 T1,丰富度指数较高的是 T2 和 T3。T1 的土壤的饱和与不饱和脂肪酸比例最高,主要是因为 T1 土壤有机物质输入和有机碳含量较高^[32],T5 真菌/细菌比率最高、T4 放线菌/细菌比例最高。造成上述差异的原因是受土壤全氮磷的供应水平的影响,这与不同配置模式下桑树根系的密度、有机物质的输入、微生物数量和种类的变异有关^[24]。不同密度植物的凋落物和根系分泌物中输入碳数的量有差异,可以显著影响土壤微生物组成^[33]。如王树力等^[34]研究显示,4 种密度幼龄阶段杂种落叶松人工林中,土壤微生物生存和发展状况最好的密度为 2500 与 3300 株/hm²,较好的密度为 4400 株/hm²,最差的密度为 6600 株/hm²。湛方栋等^[35]研究发现,烟草根际土壤微生物群落结构多样性受田间管理方式(施肥方法和类型、生育期)等方面的影响,烟草植株与根际分泌物的相互作用对土壤微生物群落多样性也起着重要作用等结果。杨瑞吉等^[36]研究发现,不同油菜种植密度与施氮肥对麦茬复种饲料油菜耕层土壤微生物活性有显著影响,复种油菜能显著提高耕层土壤微生物量碳、土壤微生物量氮、土壤细菌数、土壤真菌数和土壤放线菌数。本文中土壤凋落物和根系则提供大量有机物质,输入土壤的有机物抗分解能力又较强,是造成真菌、放线菌丰富度高的原因,当桑树种植面积/小区面积为 0.1 左右时能够提高土壤微生物量,但是当桑树布设过于密集(桑树种植面积/小区面积超过 0.3)反而不利于微生物量提高和群落结构的改善。

3.2 土壤微生物与环境因子之间的相关性分析

土壤理化性状的改变是影响微生物群落结构的主要原因,有机质、有效磷和速效钾均对土壤微生物群落分布产生显著影响,进而影响土壤微生物群落结构和土壤养分,而土壤养分和微生物群落结构存在一定的相关性^[14]。本文中, T1 微生物群落主要受全磷、全氮和 pH 影响;T2、T3、T4 微生物群落结构主要受有效成分的影响,主要是由于种植植物篱后, T1 的全磷和 pH 发生变化,均高于其他处理,二者的贡献率大于其他环境因子,且 T1 真菌含量最高,真菌对氮素敏感度较高,因此全氮也是影响 T1 的主要因素;而其他 3 个处理土壤在种植植物篱后,有效成分大量增加,高于其他处理,成为土壤微生物的主要影响因子。

研究结果显示,径流量与 i16:0、10Me17:0 等 PLFA 呈显著正相关,泥沙量与 i16:0 呈显著正相关,而 18:3 ω 6c (6,9,12) 与径流量、泥沙量及径流水中有机氮等则呈显著负相关。i16:0、i17:0 等磷脂脂肪酸是细菌,10Me17:0 是放线菌的指示脂肪酸,18:3 ω 6c (6,9,12) 是真菌的指示脂肪酸^[37]。研究认为,微生物种类在团聚体形成中的作用大小顺序是真菌最大,放线菌次之,细菌的作用最小,但由于本试验中放线菌含量极低,仅为真菌含量的 0.013—0.018,因此对土壤团聚体的影响较小。程丽娟等^[38]研究发现,大豆根瘤菌、放线菌等均对结构不良的黄绵土水稳性团聚体显示良好效应,随着微生物释放的多糖含量的增加,黏粒含量相应减少而粒级的水稳性程度相应提高。彭思利^[13]研究表明,接种丛枝菌根真菌显著增加了土壤团聚体的平均重量直径和几何平均直径,增加了土壤水稳性大团聚体数量,使土壤结构特征进一步提升。土壤微生物,特别是真菌,在大团聚体的形成和稳定性起重要作用。Bazin 等^[39]在电子显微镜下发现,团聚体中的砂粒明显地仅靠菌丝联结在一起,并证实了腐生真菌和菌根真菌的菌丝长度增加对沙土团聚的贡献。在土壤团聚体形成的过程中,真菌菌丝体除了在大团聚体中可起到绊缠物理作用外,许多菌丝体还可通过分泌胶结物质—多糖类物

质,使土微团聚体粘结在一起,进而被菌丝体缠绕成稳定的大团聚体,从而提高土壤孔隙度,和吸水能力,减少径流的产生。而细菌由于对土壤团聚体结构影响较小,对保持水土的作用表现较弱。因此,提高真菌在土壤微生物中的比例是增加水稳性团聚体比例,改善土壤结构,保持水土中的重要因素。

4 结论

本文中坡耕地-桑树系统提高了土壤全氮磷、有机质含量,在一定程度上增加土壤肥力。该系统不仅促进表层土壤微生物数量的增加,同时增大各菌群之间的比例,增大微生物多样性指数,均匀度指数和丰富度指数,以间隔 4.4m 的两带等高桑树和两带间隔 1.2m 的纵坡桑树模式表现较为突出。土壤微生物与环境因子的冗余分析和相关性分析表明,土壤理化性质与微生物的结构组成存在一定的相关性,其中全磷、pH、全氮、有机质是影响土壤微生物群落结构较大的环境因子。土壤微生物与水土保持效应的相关性分析表明,土壤 PLFA 与径流量、泥沙量有一定的相关性,径流量与 i16:0、10Me17:0、a17:0、18:3 ω6c (6,9,12) 呈显著正相关,与 20:1 ω9c 呈极显著正相关;泥沙量与 i16:0、i17:0 呈显著正相关,与 18:3 ω6c (6,9,12) 呈显著负相关,与 20:1 ω9c 呈极显著正相关。尽管 PLFA 技术常被用于研究土壤微生物群落功能,但该技术本身也有局限性。PLFA 能定量描述环境样品中的微生物群体,而不能在菌种和菌株的水平精确的描述环境中微生物的种类,因此,要全面解析土壤微生物群落结构还需结合其他的研究手段。

致谢:西南大学资源环境学院李振轮老师和梁伟同学为本研究提供了大力的支持和帮助。

参考文献 (References):

- [1] 蒲玉琳. 植物篱—农作模式控制坡耕地氮磷流失效应及综合生态效益评价[D]. 重庆: 西南大学, 2013.
- [2] 傅涛, 倪九派, 魏朝富, 谢德体. 不同雨强和坡度条件下紫色土养分流失规律研究. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(1): 71-74.
- [3] 陈荷生, 华瑶青. 太湖流域非点源污染控制和治理的思考. 水资源保护, 2004, (1): 33-36.
- [4] 张博, 孙法圣, 王帆, 涂江汉, 周子庆, 董菁菁. HYDRUS-1D 在基于过程的地下水污染评价中的应用. 科技导报, 2013, 31(17): 37-40.
- [5] Guan Y, Song C, Gan Y T, Li F M. Increased maize yield using slow-release attapulgite-coated fertilizers. *Agronomy for Sustainable Development*, 2014, 34(3): 657-665.
- [6] R B Daniels, J W Gilliam. Sediment and chemical load reduction by grass and riparian filters. *Soil Science Society of America Journal*, 1996, 60(1): 246-251.
- [7] 蒲玉琳, 谢德体, 倪九派, 魏朝富. 紫色土区坡耕地植物篱模式综合生态效益评价. 中国生态农业学报, 2014, 22(1): 44-51.
- [8] 陈一兵, 林超文, 黄晶晶, 李占斌. 旱坡地“作物-植物篱”系统能流特征研究. 水土保持研究, 2007, (2): 171-175, 178-178.
- [9] Sai Leung Ng, Cai Q G, Ding S W, Kwai Cheong Chau, Qin J. Effects of contour hedgerows on water and soil conservation, crop productivity and nutrient budget for slope farmland in the Three Gorges Region (TGR) of China. *Agroforestry Systems*, 2008, 74(3): 279-291.
- [10] F Agus, D K Cassel, D P Garrity. Soil-water and soil physical properties under contour hedgerow systems on sloping oxisols. *Soil & Tillage Research*, 1996, 40(3/4): 185-199.
- [11] 蒲玉琳, 谢德体, 林超文, 丁恩俊, 张坤, 魏朝富. 植物篱-农作坡耕地土壤微团聚体组成及分形特征. 土壤学报, 2012, 49(6): 1069-1077.
- [12] 蒋婧, 宋明华. 植物与土壤微生物在调控生态系统养分循环中的作用. 植物生态学报, 2010, 34(8): 979-988.
- [13] 彭思利, 申鸿, 郭涛. 接种丛枝菌根真菌对土壤水稳性团聚体特征的影响. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(3): 695-700.
- [14] 秦红灵, 袁红朝, 张慧, 朱亦君, 吴敏娜, 魏文学. 红壤坡地利用方式对土壤细菌群落结构的影响. 土壤学报, 2011, 48(3): 594-602.
- [15] 薛冬, 姚槐应, 黄昌勇. 茶园土壤微生物群落基因多样性. 应用生态学报, 2007, 18(4): 843-847.
- [16] R I Amann, W Ludwig, K H Schleifer. Phylogenetic identification and in-situ detection of individual microbial-cells without cultivation. *Microbiological Reviews*, 1995, 59(1): 143-169.
- [17] Anders Tunlid, Bruce H Baird, Melanie B Trexler, Stefan Olsson, Robert H Findlay, Goran Odham, David C White. Determination of phospholipid ester-linked fatty-acids and polyβ-hydroxybutyrate for the estimation of bacterial biomass and activity in the rhizosphere of the rape plant *Brassica-napus* (L). *Canadian Journal of Microbiology*, 1985, 31(12): 1113-1119.

- [18] L Zelles, Q Y Bai, T Beck, F Beese. Signature fatty-acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 1992, 24(4): 317-323.
- [19] 鲍士旦. 土壤农化分析. 中国农业出版社, 2000.
- [20] D A Bossio, M S Girvan, L Verchot, J Bullimore, T Borelli, A Albrecht, K M Scow, A S Ball, J N Pretty, and A M Osborn. Soil microbial community response to land use change in an agricultural landscape of Western Kenya. *Microbial Ecology*, 2005, 49(1): 50-62.
- [21] R Larkin. Characterization of soil microbial communities under different potato cropping systems by microbial population dynamics, substrate utilization, and fatty acid profiles. *Soil Biology & Biochemistry*, 2003, 35(11): 1451-1466.
- [22] 文倩, 林启美, 赵小蓉, 李贵桐, 赵沛一. 北方农牧交错带林地、耕地和草地土壤微生物群落结构特征的 PLFA 分析. *土壤学报*, 2008, 45(2): 321-327.
- [23] 吴愉萍. 基于磷脂脂肪酸(PLFA)分析技术的土壤微生物群落结构多样性的研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2009.
- [24] L Zelles. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(2): 111-129.
- [25] A Frostegard, E Baath, A Tunlid. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty-acid analysis. *Soil Biology & Biochemistry*, 1993, 25(6): 723-730.
- [26] A Frostegard, E Baath. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 22(1/2): 59-65.
- [27] 龚雪, 王继华, 关健飞, 杨雪辰, 陈黛慈. 再生水灌溉对土壤化学性质及可培养微生物的影响. *环境科学*, 2014, 35(9): 3572-3579.
- [28] S K Haack, H Garchow, D A Odelson, L J Forney, M J Klug. Accuracy, reproducibility, and interpretation of fatty-acid methyl-ester profiles of model bacterial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(7): 2483-2493.
- [29] 白震, 何红波, 张威, 解宏图, 张旭东, 王鸽. 磷脂脂肪酸技术及其在土壤微生物研究中的应用. *生态学报*, 2006, 26(7): 2387-2394.
- [30] 齐鸿雁, 薛凯, 张洪勋. 磷脂脂肪酸谱图分析方法及其在微生物生态学领域的应用. *生态学报*, 2003, 23(8): 1576-1582.
- [31] Niaz Muhammad, Dai Z, Xiao K, Meng J, Philip C Brookes, Liu X, Wang H, Wu J, Xu J. Changes in microbial community structure due to biochars generated from different feedstocks and their relationships with soil chemical properties. *Geoderma*, 2014, 226: 270-278.
- [32] Roger A Burke, Marirosa Molina, Julia E Cox, Laurie J Osher, Marisa C Piccolo. Stable carbon isotope ratio and composition of microbial fatty acids in tropical soils. *Journal of Environmental Quality*, 2003, 32(1): 198-206.
- [33] Marc Breulmann, Elke Schulz, Karoline Weisshuhn, Francois Buscot. Impact of the plant community composition on labile soil organic carbon, soil microbial activity and community structure in semi-natural grassland ecosystems of different productivity. *Plant and Soil*, 2012, 352(1/2): 253-265.
- [34] 王树力, 孙悦, 沈海燕, 袁伟斌. 不同密度杂种落叶松人工林的土壤微生物变化特征. *中国水土保持科学*, 2009, 7(3): 59-66.
- [35] 湛方栋, 陆引罡, 美国经, 唐远驹, 张永春, 黄建国. 烤烟根际微生物群落结构及其动态变化的研究. *土壤学报*, 2005, 42(3): 488-494.
- [36] 杨瑞吉, 马海灵, 杨祁峰, 牛俊义. 种植密度与施氮量对麦茬复种饲料油菜土壤微生物活性的影响. *应用生态学报*, 2007, 18(1): 113-117.
- [37] 刘波, 郑雪芳, 朱昌雄, 蓝江林, 林营志, 林斌, 叶耀辉. 脂肪酸生物标记法研究零排放猪舍基质垫层微生物群落多样性. *生态学报*, 2008, 28(11): 5488-5498.
- [38] Chen L J, Lai H X, Li S J, Zhou M K. Effect of microorganism upon the formation of soil aggregates. *Acta Universitatis Agriculturae Boreali-Occidentalis*, 1994, (4): 93-97.
- [39] Pauline Bazin, Fabien Jouenne, Thomas Friedl, Anne Flore Deton-Cabanillas, Bertrand Le Roy, Benoit Veron. Phytoplankton diversity and community composition along the estuarine gradient of a temperate macrotidal ecosystem: combined morphological and molecular approaches. *PLoS One*, 2014, 9(4): e94110.