

DOI: 10.5846/stxb201507211526

张敏, 孙宝利, 宋阿琳, 梁永超, 于冰, 范分良. 微生物多样性对土壤氮磷钾转化、酶活性及油菜生长的影响. 生态学报, 2016, 36(18): - .

Zhang M, Sun B L, Song A L, Liang Y C, Yu B, Fan F L. Effects of soil microbial diversity on soil NPK transformation, enzyme activities, and canola growth. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(18): - .

微生物多样性对土壤氮磷钾转化、酶活性及油菜生长的影响

张敏¹, 孙宝利², 宋阿琳¹, 梁永超³, 于冰¹, 范分良^{1,*}

1 中国农业科学院农业资源与农业区划研究所/农业部植物营养与肥料重点实验室, 北京 100081

2 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081

3 浙江大学/教育部环境修复与生态健康教育部重点实验室, 杭州 310058

摘要: 采用灭菌土壤分别接种不同稀释倍数(1、10⁻²、10⁻⁴和10⁻⁶)未灭菌土壤悬浊液的方法,研究了土壤微生物多样性降低对油菜生长和养分吸收、土壤养分有效性和酶活性的影响。结果表明:(1)随着接种土壤悬浊液稀释倍数增加,油菜生物量逐渐降低,10⁻⁴的油菜生物量显著低于1和10⁻²,10⁻⁶仅为1的26%;(2)油菜氮、磷和钾的吸收量与油菜生物量呈现相同的变化规律;(3)土壤铵态氮浓度随接种土壤悬浊液稀释倍数增加而降低;而土壤硝态氮则以10⁻⁴为最高,其它处理间没有显著差异;土壤有效磷未发生显著变化;有效钾反而有上升趋势;(4)土壤多酚氧化酶(PhOX)活性随接种土壤悬浊液稀释倍数增加逐渐升高; β -1,4-葡萄糖苷酶(β G)活性以10⁻⁶为最高,而其它处理差异不显著;土壤亮氨酸酶氨肽酶(LAP)活性和酸性磷酸酶(AP)活性变化不显著;(5)相关分析表明,油菜生物量与土壤铵态氮浓度的对数显著正相关;与多酚氧化酶、葡萄糖苷酶和亮氨酸氨肽酶活性显著负相关。本研究表明,微生物多样性降低主要通过抑制土壤氮素释放影响植物生长。

关键词: 土壤微生物多样性;土壤有效养分;植物养分吸收;土壤酶活性;伽马射线灭菌

Effects of soil microbial diversity on soil NPK transformation, enzyme activities, and canola growth

ZHANG Min¹, SUN Baoli², SONG Alin¹, LIANG Yongchao³, YU Bing¹, FAN Fenliang^{1,*}

1 Chinese Academy of Agricultural Sciences, Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilizer, Beijing, 100081, China

2 Chinese Academy of Agricultural Sciences, Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Beijing, 100081, China

3 Zhejiang University the Ministry of Education, Key Laboratory of Environmental Remediation and Ecosystem Health of Ministry of Education, Hangzhou, 310058, China

Abstract: Inoculation of sterilized soil with diluted non-sterilized soil suspension (1, 10⁻², 10⁻⁴, and 10⁻⁶) was used to investigate the effects of a reduction in soil microbial diversity on canola (*Brassica chinensis* L.) growth, nutrient uptake, soil nutrient availability, and enzyme activity. The results indicated that: (1) Canola biomass decreased with increased dilution of the soil suspension. Canola biomass at 10⁻⁴-fold dilution was significantly lower than at the 1- and 10⁻²-fold dilution, and canola biomass at the 10⁻⁶-fold dilution was 26% that of the 1-fold dilution. (2) Nitrogen, phosphorus, and potassium uptake of canola followed the same trend as biomass across the microbial diversity gradient. (3) Concentration of ammonium decreased with soil suspension dilution. Soil nitrate concentration was highest at the 10⁻⁴-fold dilution, and there

基金项目: 国家科技支撑计划课题(2012BAD05B06), 中央级公益性科研院所专项资金资助项目(IARRP-2014-29), 国家自然科学基金(41571297, 41301310, 41201234)

收稿日期: 2015-07-21; 修订日期: 2016-04-21

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: fanfenliang@caas.cn

was no significant difference among other dilution treatments. Soil available phosphorus did not change significantly; however, available potassium exhibited an increasing trend. (4) Soil polyphenol oxidase (PhOX) activity gradually increased with increasing dilution of the inoculated soil solution. β -1,4-glucosidase (β G) activity at the 10^6 -fold dilution was the highest, whereas there was no significant difference in the rest dilution treatments. Soil leucine aminopeptidase (LAP) activity and acid phosphatase (AP) activity did not change significantly across the diversity gradient. (5) Correlation analysis indicated canola biomass was positively correlated with the logarithm of soil ammonium concentration, whereas it was negatively correlated with polyphenol oxidase, glucosidase, and leucine aminopeptidase activity. This study showed that reduction of microbial diversity suppresses crop growth by inhibiting soil nitrogen release.

Key Words: soil microbial diversity; soil available nutrients; plant nutrient uptake; soil enzyme activity; gamma radiation sterilization

土壤微生物群落特征与养分循环、生物入侵、温室气体排放、植物病害发生等与人类息息相关的生态功能关系紧密^[1-3]。因此,保持土壤微生物群落的稳定是维持土壤生态服务功能的重要保障^[1]。

然而,最近研究表明,受环境污染、农业管理、气候变化等影响,土壤微生物多样性显著降低^[4-7]。例如长期施用化肥显著降低土壤整体微生物群落多样性和某些特殊功能微生物如纤维素降解菌的多样性^[6-7]。但是,人们对降低了的微生物所带来的危害,认识却非常有限,主要源于土壤微生物不如大型生物如植物和动物容易调控。目前,改变土壤微生物多样性的方法主要有伽马射线灭菌后接种稀释土壤悬液、高温高压、添加重金属、氯仿熏蒸和不同孔径滤膜过滤等方法^[8-10],其中伽马射线灭菌后接种稀释土壤悬液具有对土壤性质的改变较小、易于控制等优点,而且,不管是传统的分子生物学方法,如变性梯度电泳和核糖体间隔序列分析,还是最新的第二代测序法都已证实,随着稀释倍数的增加,微生物多样性显著降低^[8,11-13],因此,伽马射线灭菌后接种稀释土壤悬液法被认为是目前改变土壤微生物多样性的最常用的经典方法。采用该方法的研究表明,当土壤微生物多样性降低后,土壤生态功能也受到不同程度的影响。例如 Philippot 等采用土壤悬浊液稀释法降低土壤微生物多样性,发现土壤反硝化活性随着多样性降低而显著下降^[8];Franklin 和 Mills 采用同样的方法,发现随着微生物多样性降低土壤对葡萄糖的同化能力显著下降^[14]。然而,改变微生物整体多样性是否或者多大程度会通过改变土壤生态过程传递到改变植物生长的研究很少。在自然生态系统中,植物生长主要依赖微生物养分转化,某些特殊有益微生物如菌根真菌和根瘤菌的多样性与植物生长的关系已被详细描述^[3,15];最近研究也表明,降低整体微生物多样性显著影响植物多样性和生产力^[9]。在农业生态系统中,现有的农业管理主要以物理和化学调控为主,以往对土壤微生物与作物生长关系的认识主要来源于对植物促生菌和病原菌培养与评价上^[16],但对整体微生物多样性与作物生长关系的研究很罕见^[17],特别是对改变土壤微生物多样性是否通过改变养分循环,进一步影响作物生长的研究结论仍未明确。

为此,本研究通过灭菌土壤接种不同稀释倍数的未灭菌土壤悬浊液的经典方法,研究农业土壤微生物多样性降低对土壤养分有效性、养分转化速率、作物养分吸收和生长的影响,以期为评价农业微生物多样性降低对作物生产的危害提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试油菜品种为华煜上海青,供试土壤采自中国科学院北京植物研究所试验田 0—20 cm 耕层的新鲜土样,土壤类型是潮土,其理化性质为:土壤 pH=7.61,土壤有机质 11.55 g/kg,土壤全氮 0.68 g kg⁻¹,土壤全磷 0.57 g/kg,硝态氮 16.71 mg/kg,铵态氮 6.99 mg/kg,速效磷 42.78 mg/kg,土壤有效钾含量 65.64mg/kg。土壤过 3mm 筛,剔除植物残根和石块等杂质物,风干至较低含水量(质量含水量大约 15%),混匀备用。

1.2 实验设计与实施

1.2.1 土壤准备

取经上述处理的新鲜土样,称取 1 kg,装入带有海绵通气盖的塑料袋中,共 16 袋,预留 50g 鲜土用做微生物接种剂,其他土壤在中国农业科学院农产品加工研究所的钴 60 γ 辐照装置中进行灭菌,伽马射线灭菌剂量为 30kGy。以往研究表明,20kGy 的伽马灭菌能杀死绝大部分微生物^[18],本研究采用 30kGy 灭菌后,在牛肉膏蛋白胨培养基中 25 °C 黑暗培养一周没有菌落生长,说明灭菌比较彻底。

1.2.2 土壤悬浊液制备和添加

土壤灭菌取回后,在无菌超净台中取 50 g 未灭菌鲜土加入 500 ml 120°C 灭菌纯水,用灭菌玻璃棒破碎大土块,放入灭菌磁力棒,400 rpm 搅拌 20 min,作为 1 倍稀释土壤悬浊液(记为 T1),且作为试验的对照;取 10 ml 1 倍稀释土壤悬浊液加入 990 ml 灭菌蒸馏水中,充分混匀,为 10⁻²倍稀释土壤悬浊液(记为 T2);依次制取 10⁻⁴倍(记为 T3)和 10⁻⁶倍(记为 T4)稀释土壤悬浊液。

在超净台里将灭菌后的土壤袋口小心打开,防止杂菌进入,用无菌注射器向每袋灭过菌的土壤加入 20ml 土壤悬浊液,重新盖上海绵塞,每个稀释倍数的土壤悬浊液 4 次重复。第二天水分扩散后充分混匀,之后每 5 天混匀一次,25°C 条件下预培养 1 个月。

1.3 油菜种植

把盛有培养土的塑料袋直接放入盆中,种植油菜。种子在 30% 的双氧水中浸泡 30 min,放在无菌培养皿 30 °C 避光培养,待种子萌发后,每盆种 10 棵油菜,浇灭菌水 150 ml,等苗长至 2 cm 以上,开始间苗,最终每盆留 5 棵均匀一致的苗。以后均用灭菌水浇灌。由于自然或农业生态系统的空气中均充满多种微生物^[19],且在与外界隔绝的生长箱培养植物时内部往往形成高湿环境,不利于植物生长,故本研究盆栽在温室开放的环境中进行,定期随机移动盆的位置。因此,不能排除空气微生物的影响,但本实验的不同处理应该受到均等的影响。

2 个月后,分别采集植物和土壤样品,一部分新鲜土壤于 4 °C 下带回实验室,测定土壤酶活和土壤有效养分含量。

1.4 测定项目及方法

油菜生长的测定:收获时按地上部和根分开采集,样品带回实验室洗净后,先在恒温干燥箱中 105 °C 杀青 30 min,然后调至 70 °C 烘干至恒重后测定生物量。

油菜养分含量的测定:将称重后的植物样品粉碎过筛,用 N、P、K 联合测定消煮法进行消煮,然后分别用凯氏定氮法、钼锑抗比色法和火焰光度计法对地上部和地下部的 N、P、K 含量进行测定^[20]。

土壤化学性质的测定:土样带回实验室风干后过筛,采用氯化钾浸提比色法测定土壤有效 N(铵态氮和硝态氮),钼锑抗比色法测定速效 P 和全 P 含量,醋酸铵浸提火焰光度计法测定土壤速效 K^[20]。

土壤酶活的测定:参照范森珍的方法测定^[21]。称取 1 g 土壤于 100 ml 水中制取土壤悬浊液,取 200 μ L 样品悬浊液加入到 96 孔微孔板中(每个样品做 8 个平行),样品微孔中加入 50 μ L 200 μ mol⁻¹底物,空白微孔中加入 50 μ L 去离子水和 200 μ L 样品悬浊液,阴性对照微孔中加入 50 μ L 底物和 200 μ L 去离子水,淬灭标准微孔中加入 50 μ L 标准物质(10 μ mol/L 4-甲基伞形酮)和 200 μ L 样品悬浊液,参考标准微孔中加入 50 μ L 标准物质和 200 μ L 去离子水。每个样品的空白、阴性对照、淬灭标准和参考标准做 8 个平行,微孔板于 25 °C 黑暗条件下培养 4 h,然后在每孔中加入 10 μ L 0.5mol⁻¹的 NaOH 结束反应,反应 1 min 后用酶标仪测定荧光值。4-甲基伞形酮的荧光激发光和检测光波长分别在 365 nm 和 450 nm 处。

1.5 数据处理与分析

采用 Word 2010、Excel 2010 绘图与作表及依据 SPSS 18.0 单因素方差分析来评价不同指标的差异显著性,且采用 Pearson 相关系数检验分析不同指标间的相关性。

2 结果与分析

2.1 土壤微生物多样性对油菜生长的影响

由图1可以看出,随着土壤微生物多样性减少油菜生物量呈下降趋势。T1和T2没有显著差异,T3处理显著低于T1和T2,分别降低23.3%和18.0%,T4显著低于其它3个处理(T1、T2和T3),分别降低73.7%、72.0%和65.9%。不同土壤微生物多样性下油菜全氮(图1),T1和T2没有显著差异,T3处理显著低于T1和T2,分别降低62.5%和60.9%,T4显著低于其它3个处理(T1、T2和T3),分别降低59.2%、84.0%和84.0%。

不同土壤微生物多样性的油菜全磷(图1),T2比T1显著降低16.5%,T3比T2显著降低13.4%,T4比T3显著降低55.9%;在不同土壤微生物多样性条件下油菜全钾含量(图1),T3处理显著低于T1和T2,分别降低38.1%和35.8%,T4显著低于其它3个处理(T1、T2和T3),分别降低71.7%、70.7%和54.3%。

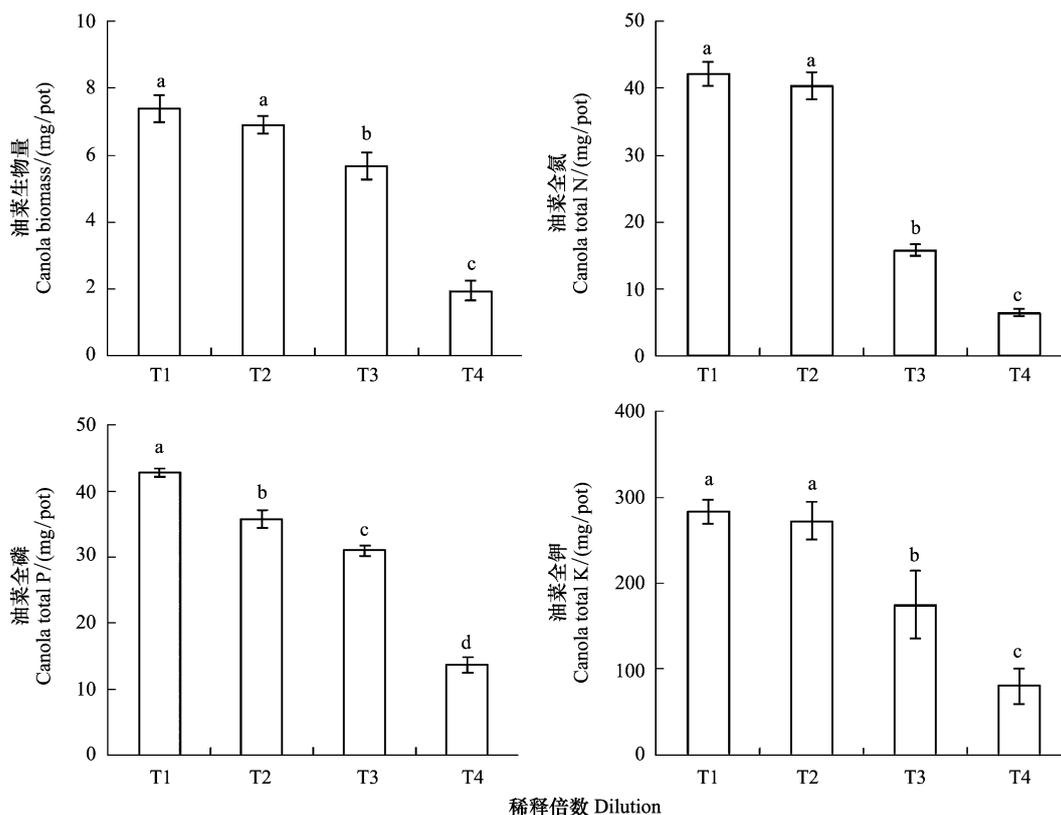


图1 不同土壤微生物多样性对油菜生长和养分吸收的影响

Fig.1 Effects of soil microbial diversity on canola growth and nutrients uptake

T1、T2、T3、T4 分别为灭菌土壤接种稀释 1 、 10^{-2} 、 10^{-4} 、 10^{-6} 倍未灭菌土壤悬浊液的处理;不同字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)

2.2 土壤微生物多样性对土壤有效养分浓度的影响

不同土壤微生物多样性的土壤铵态氮浓度(图2),T1处理的土壤铵态氮浓度显著高于T4和T3,分别为T3和T4的3.4和4.4倍,其中T2、T3和T4的差异不显著。不同土壤微生物多样性的硝态氮浓度(图2),T3处理的土壤硝态氮浓度显著高于T2和T4,分别为T2和T4的1.8和2.1倍,T1、T2和T4的差异不显著。土壤微生物多样性对土壤有效磷浓度的影响没有显著性差异(图2)。不同土壤微生物多样性的土壤速效钾浓度(图2),T2比T4显著降低25.1%,其中T1、T2和T3没有显著差异。

2.3 土壤微生物多样性对土壤酶活的影响

T1土壤多酚氧化酶活性显著低于T3和T4,分别降低35.8%和42.8%,T4显著高于T1和T2,分别是T1和T2的1.8和1.6倍,T1和T2差异不显著(图3)。T4土壤葡萄糖苷酶活性显著高于T2,是T2的1.6倍,T1、

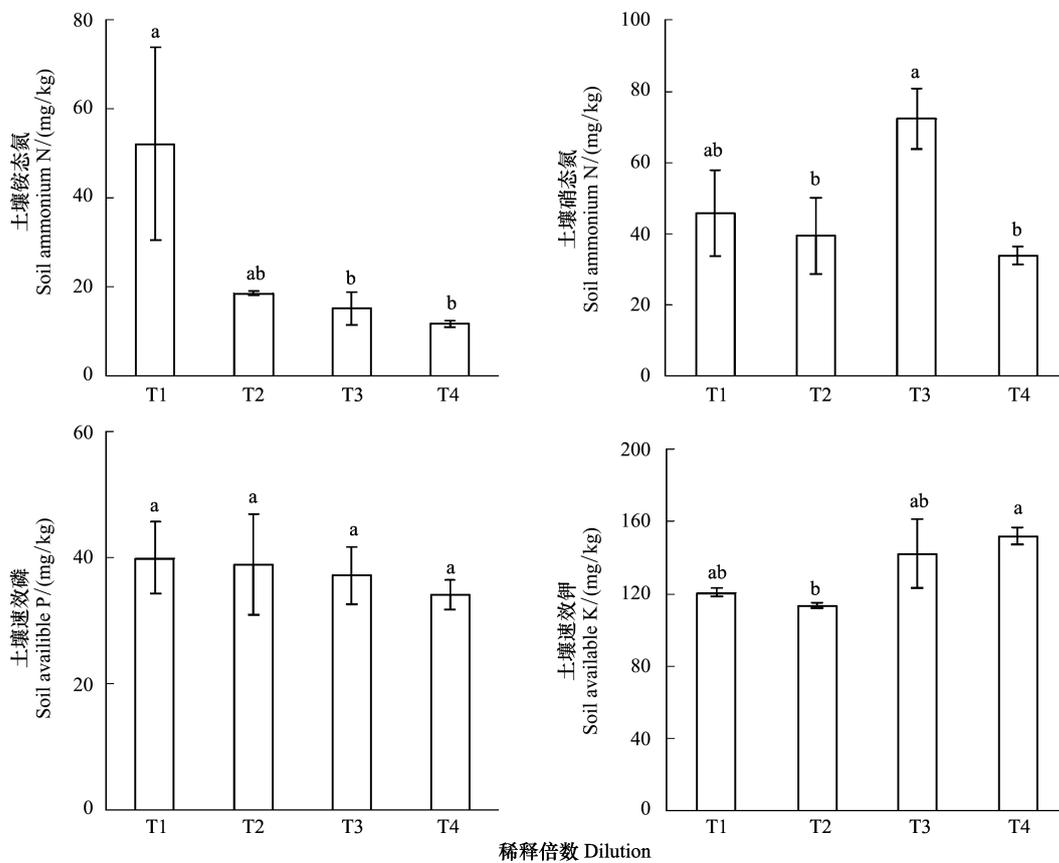


图2 不同微生物多样性对土壤有效养分浓度的影响

Fig.2 Effects of soil microbial diversity on soil available nutrients concentration

T1、T2、T3、T4 分别为灭菌土壤接种稀释 1、 10^{-2} 、 10^{-4} 、 10^{-6} 倍未灭菌土壤悬浊液的处理;不同字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)

T2 和 T3 之间没有显著性差异。改变土壤微生物多样性对土壤亮氨酸氨肽酶和土壤酸性磷酸酶活性没有显著影响。

2.4 相关性分析

2.4.1 油菜生长与土壤养分的相关性

油菜生物量与土壤硝态氮浓度和土壤有效磷浓度相关性不显著,油菜生物量与土壤铵态氮浓度的对数显著正相关,相关系数为 0.573,与土壤有效钾浓度显著负相关,相关系数为-0.594(图 4)。

2.4.2 油菜生长与土壤酶活性的相关性

油菜生物量与土壤多酚氧化酶活性、土壤葡萄糖苷酶活性和土壤亮氨酸氨肽酶活性显著负相关,相关系数分别为-0.624、-0.622 和-0.551,油菜生物量与土壤酸性磷酸酶活性相关性不显著(图 5)。

3 讨论

本研究结果表明,油菜生物量随着接种未灭菌土壤悬浊液稀释倍数的增加而降低,与未稀释土壤悬浊液相比, 10^{-2} 、 10^{-4} 和 10^{-6} 油菜生物量分别下降 6.5%、23.3%和 73.9%(图 1);N、P 和 K 吸收量也呈相同变化规律(图 1)。该结果清晰地表明,在以物理和化学调控为主的农业生态系统中,降低土壤微生物整体多样性与自然生态系统降低土壤整体微生物多样性或降低有益微生物如菌根真菌和根瘤菌多样性一样^[3,9],将严重抑制植物的养分吸收和生长。由于农业生态系统微生物多样性往往低于自然生态系统^[4],且为人类食物的直接来源,因此,保护农业生态系统微生物多样性比自然生态系统更加迫切。

根据土壤悬浊液制作方法计算,未稀释土壤悬浊液与其它稀释倍数相比,所加入的土壤最多相差 2g,占

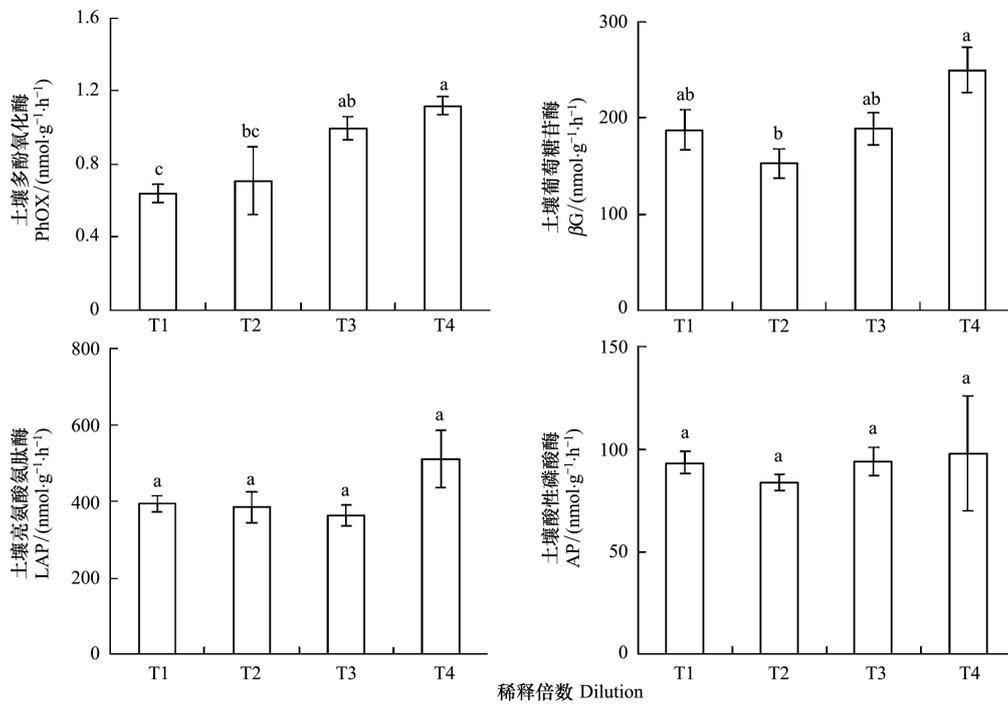


图3 土壤微生物多样性对土壤酶活性的影响

Fig.3 Effects of soil microbial diversity on soil enzyme activity

T1、T2、T3、T4 分别为灭菌土壤接种稀释 1、10⁻²、10⁻⁴、10⁻⁶ 倍未灭菌土壤悬浊液的处理;不同字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)

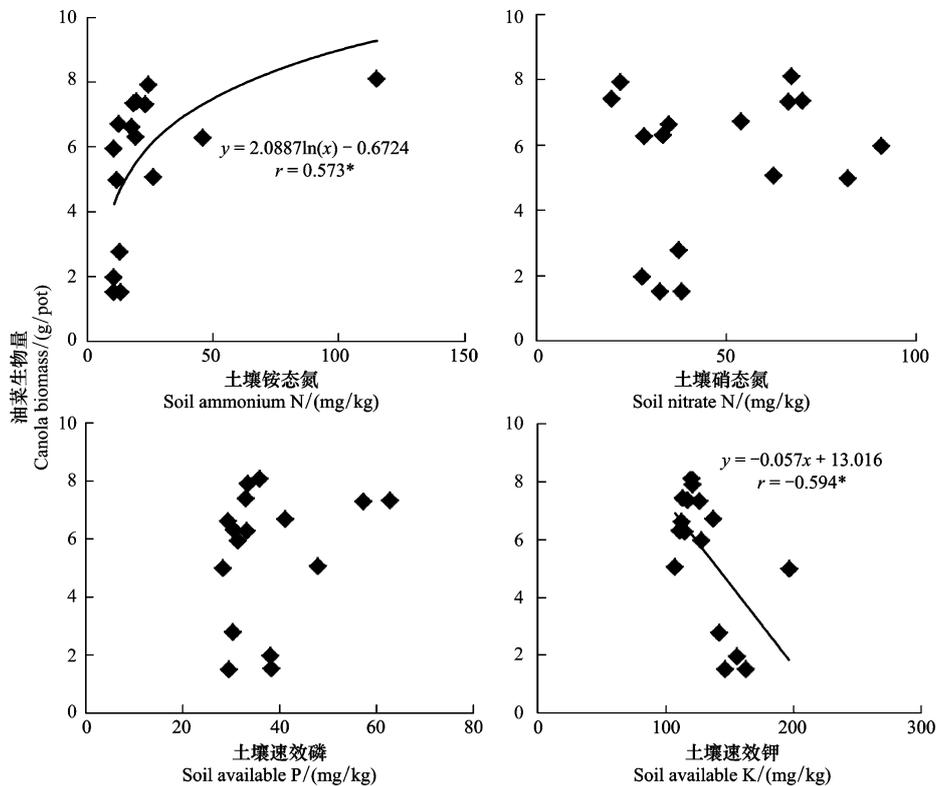


图4 油菜生长与土壤养分有效性的相关性

Fig.4 Correlations between canola growth and soil nutrients availability

** 表示相关性的显著水平 $P < 0.01$, * 表示相关性的显著水平 $P < 0.05$

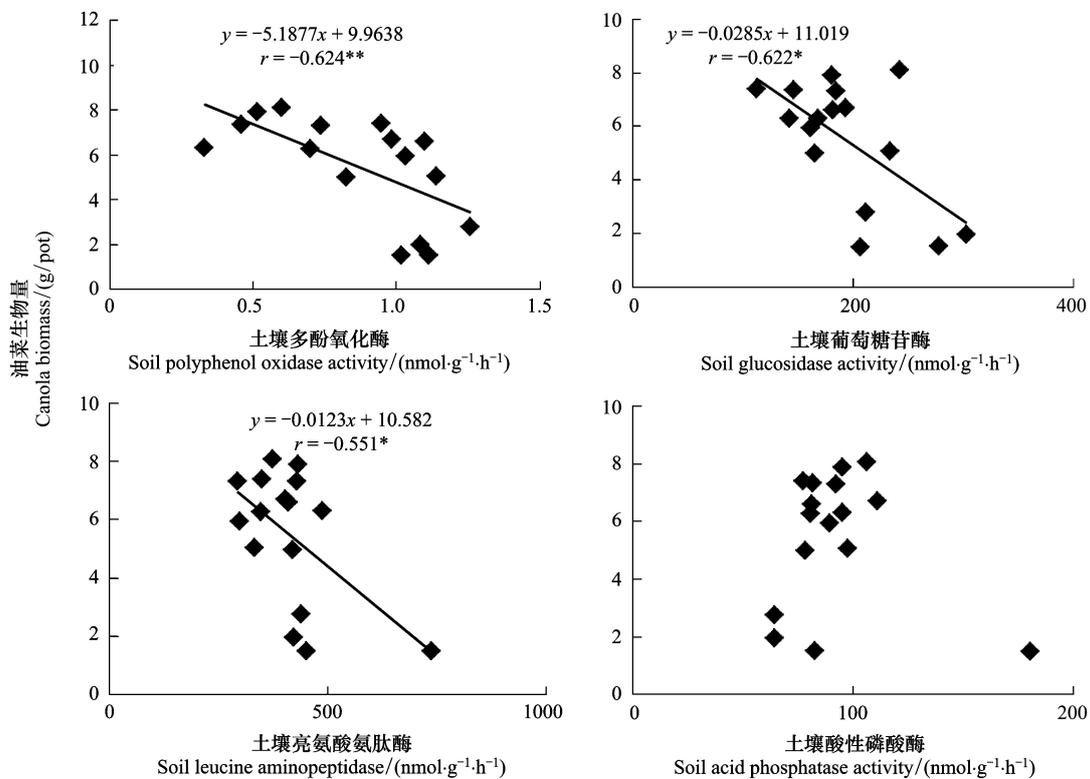


图5 油菜生长与土壤酶活性的相关性

Fig.5 Correlations between canola growth and soil enzyme activity

P 为显著性检验结果, ** 表示相关性的显著水平 $P < 0.01$, * 表示相关性的显著水平 $P < 0.05$

栽培油菜土壤总量的 0.2%, 故可以推测, 油菜生长高达 6.5%—73.9% 的差异并非由接种土壤悬浊液带入土壤而引起的理化性质变化所导致。而且, 由于接种灭菌土壤悬浊液后经过 1 个月的预培养后再种植油菜, 因此, 可以推测, 油菜生长的差异主要由土壤微生物多样性的改变引起。本研究采用伽马射线灭菌, 避免了采用重金属或高温方法对土壤理化性质的过度影响, 采用梯度稀释改变微生物多样性, 也避免了氯仿熏蒸法对微生物的选择性降低^[8,10], 是研究土壤微生物多样性采用最广泛的方法。因此, 本研究结果与国际上的研究具有可比性, 印证了自然生态系统的结果, 同时也表明农业生态系统微生物多样性降低对作物生长的危害。

尽管最近研究也发现改变微生物整体多样性影响植物生长, 但究竟是如何实现的问题没有得到清晰解答^[9,17]。本研究从养分吸收的角度着手, 发现微生物多样性降低后油菜 N、P、K 的吸收也随之下降, 而土壤养分则只有铵态氮与油菜生物量呈显著正相关关系, 说明微生物多样性下降主要通过抑制氮素矿化释放抑制油菜生长。油菜是非菌根真菌植物, 其磷素吸收不通过菌根真菌网络, 而以从土壤直接吸收为主, 由于土壤微生物多样性没有显著改变土壤有效磷浓度, 故油菜磷吸收量降低很可能是受氮素限制的结果。本研究结果也表明, 土壤有效钾则随微生物多样性下降有上升趋势, 这可能源于钾素释放以非生物过程为主, 释放速率没有受微生物多样性改变的影响, 但由于油菜生长受限, 吸收量下降, 故有效钾含量反而随之升高。

土壤酶活性常用来衡量土壤养分转化速率^[22]。然而, 本研究却发现尽管随微生物多样性降低土壤铵态氮浓度逐渐降低, 但负责有机质转化的酶活性, 如降解难降解碳的多酚氧化酶和易降解碳的葡萄糖苷酶活性却逐渐上升。这种现象一方面可能反映微生物生理变化, 由于氮素不足, 诱导微生物分泌更多的胞外酶, 加速有机质降解, 从而获取更多氮素^[23]; 另一方面也可能反映微生物的功能分异, 土壤氮素释放和有机碳降解可能由不同丰度的微生物执行, 负责土壤氮素释放的微生物数量比负责有机碳降解的微生物数量少, 当稀释土壤悬浊液后, 负责土壤氮素释放的微生物数量提前下降到影响氮素释放的临界值, 而负责有机碳降解的微生物稀释后反而受到其它微生物的竞争减小, 功能发挥更好。但这些推测还有待进一步研究验证。亮氨酸氨肽

酶活性与土壤铵态氮含量变化不一致,其中原因尚不清楚。

本研究中重点研究了大量元素及其相关的土壤酶活性,发现微生物多样性降低通过抑制氮素释放影响作物生长,但该结论可能并不全面。土壤微生物群落特征与土壤铁^[24]、锰^[25]、锌^[26]等元素转化存在密切关系;另一些研究则表明微生物对植物水分的利用率影响显著^[27];此外,部分土壤微生物可以合成植物激素如生长素、脱落酸调控植物的生长;而且,部分微生物能分泌抗生素,与病原菌产生拮抗作用,减少病原菌对植物生长的迫害。随着微生物多样性降低,这些微生物过程的相对重要性可能发生改变,最终影响植物生长。深入研究这些变化,有助阐明微生物多样性变化改变植物-微生物互作的作用机理,对评价微生物多样性丧失对农业生产的危害具有重要意义。

参考文献 (References):

- [1] Bardgett R D, Van Der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 2014, 515(7528): 505-511.
- [2] Callaway R M, Thelen G C, Rodriguez A, Holben W E. Soil biota and exotic plant invasion. *Nature*, 2004, 427(6976): 731-733.
- [3] Van Der Heijden M G A, Klironomos JN, Ursic M, Moutoglou P, Streitwolf-Engel R, Boller T, Wiemken A, Sanders I R. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, 1998, 396(6706): 69-72.
- [4] Tsiafouli M A, Thébaud E, Sgardelis S P, De Ruiter PC, Van Der Putten WH, Birkhofer K, Hemerik L, De Vries FT, Bardgett RD, Brady MV, Bjornlund L, Jørgensen HB, Christensen S, Hertefeldt TD', Hotes S, Gera Hol WH, Frouz J, Liiri M, Mortimer SR, Setälä H, Tzanopoulos J, Uteseny K, Pizl V, Stary J, Wolters V, Hedlund K. Intensive agriculture reduces soil biodiversity across Europe. *Global Change Biology*, 2015, 21(2): 973-985.
- [5] Swift M J, Andrén O, Brussaard L, Briones M, Couteaux M, Ekschmitt K, Kjoller A, Loiseau P, Smith P. Global change, soil biodiversity, and nitrogen cycling in terrestrial ecosystems: three case studies. *Global Change Biology*, 1998, 4(7): 729-743.
- [6] Maeder P, Fliessbach A, Dubois D, Gunst L, Fried P, Niggli U. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*, 2002, 296(5573): 1694-1697.
- [7] Fan F L, Lia Z J, Wakelin S A, Yu W T, Liang Y C. Mineral fertilizer alters cellulolytic community structure and suppresses soil cellobiohydrolase activity in a long-term fertilization experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 55: 70-77.
- [8] Philippot L, Spor A, Hénault C, Bru D, Bizouard F, Jones C M, Sarr A, Maron P A. Loss in microbial diversity affects nitrogen cycling in soil. *The ISME Journal*, 2013, 7(8): 1609-1619.
- [9] Wagg C, Bender S F, Widmer F, Van Der Heijden M G A. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(14): 5266-5270.
- [10] Blankinship J C, Becerra C A, Schaeffer S M, Schime J P. Separating cellular metabolism from exoenzyme activity in soil organic matter decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 71: 68-75.
- [11] Gera Hol W H, De Boer W, De Hollander M, Kuramae E E, Meisner A, Van Der Putte W H. Context dependency and saturating effects of loss of rare soil microbes on plant productivity. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 485-485.
- [12] Wertz S, Degrange V, Prosser J I, Poly F, Commeaux C, Freitag T, Guillaumaud N, Roux X L. Maintenance of soil functioning following erosion of microbial diversity. *Environmental Microbiology*, 2006, 8(12): 2162-2169.
- [13] Griffiths B S, Ritz K, Wheatley R, Kuan H L, Boag B, Christensen S, Ekelund F, Sørensen S J, Müller S, Bloem J. An examination of the biodiversity-ecosystem function relationship in arable soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(12-13): 1713-1722.
- [14] Franklin R B, Mills A L. Structural and functional responses of a sewage microbial community to dilution-induced reductions in diversity. *Microbial Ecology*, 2006, 52(2): 280-288.
- [15] Bever J D, Broadhurst L M, Thrall P H. Microbial phylotype composition and diversity predicts plant productivity and plant-soil feedbacks. *Ecology Letters*, 2013, 16(2): 167-174.
- [16] Tkacz A, Poole P. Role of root microbiota in plant productivity. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(8): 2167-2175.
- [17] Bender S F, Van Der Heijden M G A. Soil biota enhance agricultural sustainability by improving crop yield, nutrient uptake and reducing nitrogen leaching losses. *Journal of Applied Ecology*, 2015, 52(1): 228-239.
- [18] McNamara N P, Black H J, Beresford N A, Parekh N R. Effects of acute gamma irradiation on chemical, physical and biological properties of soils. *Applied Soil Ecology*, 2003, 24(2): 117-132.
- [19] Bowers R M, McLetchie S, Knight R, Fierer N. Spatial variability in airborne bacterial communities across land-use types and their relationship to the bacterial communities of potential source environments. *The ISME Journal*, 2011, 5(4): 601-612.

- [20] 鲍士旦.土壤农化分析(第三版).北京:中国农业出版社,2000.
- [21] 范森珍,尹昌,范分良,宋阿琳,王伯仁,李冬初,梁永超.长期不同施肥对红壤碳、氮、磷循环相关酶活性的影响.应用生态学报,2015,26(3):833-838.
- [22] Burns R G, DeForest J L, Marxsen J, Sinsabaugh R L, Stromberger M E, Wallenstein M D, Weintraub M N, Zoppini A. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 58: 216-234.
- [23] Craine J M, Morrow C, Fierer N. Microbial nitrogen limitation increases decomposition. *Ecology*, 2007, 88(8): 2105-2113.
- [24] Ding L J, Su J Q, Xu H J, Jia Z J, Zhu Y G. Long-term nitrogen fertilization of paddy soil shifts iron-reducing microbial community revealed by RNA-13C-acetate probing coupled with pyrosequencing. *The ISME Journal*, 2015, 9(3): 721-734.
- [25] Li H -P, Daniel B, Creeley D, Grandbois R, Zhang S J, Xu C, Ho Y-F, Schwehr K A, Kaplan D I, Santschi P H, Hansel C M, Yeager C M. Superoxide production by a manganese-oxidizing bacterium facilitates iodide oxidation. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(9): 2693-2699.
- [26] Muehe E M, Weigold P, Adaktylou I J, Planer-Friedrich B, Kraemer U, Kappler A, Behrens S. Rhizosphere microbial community composition affects cadmium and zinc uptake by the metal-hyperaccumulating plant *Arabidopsis halleri*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(6): 2173-2181.
- [27] Rolli E, Marasco R, Vigani G, Ettoumi B, Mapelli F, Deangelis M L, Gandolfi C, Casati E, Previtali F, Gerbino R, Cei F P, Borin S, Sorlini C, Zocchi G, Daffonchio D. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(2): 316-331.