

DOI: 10.5846/stxb201705030816

张恩平,田悦悦,李猛,时毛,蒋雨含,任如冰,张淑红.长期不同施肥对番茄根际土壤微生物功能多样性的影响.生态学报,2018,38(14): - .
Zhang E P, Tian Y Y, Li M, Shi M, Jiang Y H, Ren R B, Zhang S H. Effects of various long-term fertilization regimes on soil microbial functional diversity in tomato rhizosphere soil. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(14): - .

长期不同施肥对番茄根际土壤微生物功能多样性的影响

张恩平,田悦悦,李 猛,时 毛,蒋雨含,任如冰,张淑红*

沈阳农业大学园艺学院,沈阳 110866

摘要:研究长期定位施肥对番茄根际土壤微生物群落功能多样性的影响,旨在为番茄根际生态过程中的调控提供科学依据和理论指导。以沈阳农业大学长期定位施肥基地的番茄根际土壤为研究对象,采用 Biolog-ECO 微平板法,分析了 11 个处理:N(单施氮肥)、K(单施钾肥)、P(单施磷肥)、NP(氮磷肥配施)、NPK(氮磷钾肥配施)、MN(有机肥配施氮肥)、MK(有机肥配施钾肥)、MP(有机肥配施磷肥)、MNP(有机肥配施氮磷肥)、MNPK(有机肥配施氮磷钾肥)、对照 CK(不施肥)的土壤微生物群落功能多样性。结果表明:(1)配施有机肥能够显著提高土壤有机质、速效磷、速效钾和碱解氮的含量,氮肥的施入会降低根际土壤的 pH,各处理间土壤理化性质的差异显著;(2)配施有机肥可以增强番茄根际土壤微生物对碳源的利用能力,提高微生物群落功能多样性,其中,MNP 处理微生物对碳源利用能力最强,微生物活性最高。具体表现为:①长期施肥改变了土壤微生物对碳源的利用能力。配施有机肥处理的土壤微生物对 6 类碳源的总利用能力高于单施化肥处理,以 MNP 优势最明显;②在 6 类碳源中,氨基酸类碳源利用能力最强,酚酸类碳源利用能力最弱;③主成分分析表明,31 种碳源对 PC1 贡献较大的有 12 种,对 PC2 贡献较大的有 8 种;④施加肥料的处理的 Shannon 指数、丰富度指数和优势度指数均高于不施肥的处理,但其均匀度下降。有机肥配施氮磷肥处理的 Shannon 指数、丰富度指数均显著高于其他处理。综合所有结果,以 MNP 的施肥效果最佳,能够呈现较高的根际土壤微生物功能多样性。

关键词:长期施肥;根际土壤;微生物群落;功能多样性;Biolog

Effects of various long-term fertilization regimes on soil microbial functional diversity in tomato rhizosphere soil

ZHANG Enping, TIAN Yueyue, LI Meng, SHI Mao, JIANG Yuhan, REN Rubing, ZHANG Shuhong*

College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China

Abstract: The effects of long-term fertilization on the functional diversity of the soil microbial community in tomato rhizosphere were studied. The goal of study was to provide scientific basis and theoretical guidance for the regulation of ecological processes in the tomato rhizosphere. In this study, soil was sampled from a protected vegetable field that had been fertilized for 29 years in Shenyang Agricultural University, and 11 treatments were chosen, including a no fertilization control (CK), and fields receiving nitrogen (N), phosphate (P), potassium (K), nitrogen phosphate (NP), nitrogen phosphate potassium (NPK) fertilizers, and their combined application with organic manure (MN, MK, MP, MNP, and MNPK, respectively). Biolog ECO-plate methods were used to analyze the soil microbial community functional diversity. The results showed that 1) organic manure significantly increased the content of soil organic matter, available P, available K, and available N, the application of N fertilizer decreased the pH of rhizosphere soil, and the difference in soil physical

基金项目:辽宁省自然科学基金(2015020767)

收稿日期:2017-05-03; 网络出版日期:2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangsh024@163.com

and chemical properties was significant. 2) The application of organic manure enhanced the ability of soil microbes in the tomato rhizosphere soil to utilize and improve the functional diversity of the microbial community. Among them, soil microbial use of carbon sources and microbial activity of the MNP treatment were the highest and greatest, respectively. Specific performances were as follows: ① long-term fertilization changed the soil microbial use of carbon sources. The total utilization of six kinds of carbon sources was higher than that of single chemical fertilizers, and that of MNP was the greatest. ② In the six carbon sources, the utilization rate of amino acids was the highest, and the utilization rate of phenolic acid was the lowest. ③ Results of principal component analysis showed that there were 12 kinds of carbon sources with large contributions to PC1 and eight for PC2 out of 31 kinds of carbon sources. ④ Shannon index, richness index, and the dominance index of fertilizer treatments were higher than those without fertilization, but the uniformity decreased. The Shannon index and abundance index of MNP were significantly higher than that of other treatments. Based on all the results, we concluded that MNP fertilization was the best and could result in higher rhizosphere soil microbial functional diversity.

Key Words: long-term fertilization; rhizosphere soil; microbial community; functional diversity; Biolog

1904 年德国学者 Hiltner 用“根际”这一概念来表示高等植物根周围是微生物活动的特殊地带^[1]。现在我们用根际表示会受植物根系影响、靠近植物根系 1—2 mm 的微域土区,它也是土壤微生物非常活跃的一个区域^[2]。有学者认为,根际微生物群落的宏基因组是植物体的第二基因组^[3]。土壤微生物是土壤中活的有机体,是最活跃的土壤肥力因子之一,它们的变化能反映出土壤生物活性水平,并对土壤生态系统产生持续的影响^[4]。微生物系统多样性与根际息息相关。根际附近的微生物多样性较高,它随着与根际垂直距离的增加而减小^[5]。与大多数非根际土相比,根际土壤的微生物种群更多。

施肥是影响土壤质量和可持续发展的重要措施之一^[6],土壤微生物功能多样性能够反映土壤中微生物的生态特征,不同物种下的土壤^[7]、不同管理策略下的农业土壤^[8]和不同植被的根际土壤^[9]等研究多数涉及土壤微生物。长期采用不同的施肥方式,土壤有机质含量和组成会有较大变化,土壤微生物多样性也呈现较大的差异^[10]。不同施肥处理中的土壤微生物量、微生物活性及群落功能也不相同。长期施肥使土壤微生物量碳氮^[11]、土壤呼吸^[12]和微生物功能活性^[13]增强。而时鹏等人^[14]发现,连作的玉米在单施氮肥条件下土壤微生物活性和功能多样性下降。孙凤霞等^[15]对长期不同施肥的红壤研究结果表明,施用有机肥能显著提高红壤的微生物生物碳氮和微生物碳源利用能力,提高红壤肥力,保持作物高产。

长期施肥能够使土壤生态系统的质量和功能结构发生显著变化^[16],研究不同施肥措施对农田养分循环以及施肥与环境之间的关系具有重要价值^[17]。本研究以沈阳农业大学长期定位施肥基地的番茄根际土壤为研究对象,分析其微生物的功能多样性,旨在探究根际土壤微生物对施肥的响应,为番茄根际生态过程中的科学调控提供理论依据,这对于我国农业生产的持续稳定发展具有重要的战略意义。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土壤样品取自沈阳农业大学试验基地——番茄长期定位施肥小区,试验小区地处辽宁省沈阳市沈河区(41°31'N,123°24'E),属于北温带半湿润大陆性气候。于 1988 年开始长期露地定位施肥试验,1997 年移入设施内继续进行。供试土壤类型为草甸土,土壤(0—20 cm)原始农化性状:有机质 24.3 g/kg;碱解氮 86.41 mg/kg;速效磷 70.80 mg/kg;速效钾 56.14 mg/kg;pH 值 6.75。腐熟的马粪有机质含量为 33.6 g/kg;全氮(N) 9.20 g/kg;全磷(P_2O_5) 6.27 g/kg;全钾(K_2O) 4.23 g/kg。该实验 2016 年至今栽培的蔬菜为番茄,品种为金冠 9 号。本研究在蔬菜长期定位施肥试验的基础上按原有计划正常进行,选取 11 个处理进行试验,以不施肥的 CK 为对照,其他处理分别为:N、K、P、NP、NPK、MN、MK、MP、MNP、MNPK。M 代表施加有机肥,N、P、K 分别表示氮、磷、钾。采用完全随机区组设计,3 次重复。小区面积为 1.5 m²,每个小区建成 0.8 m 深的无底水泥

地,有效防止肥料间的相互渗透影响。马粪(有机肥)、P 肥和 K 肥作为基肥,于定植前一次性施入,N 肥在生长期内分两次施入。具体施肥量如下(表 1):

表 1 有机肥(M)和 N、P、K 肥处理及施肥量
Table 1 Organic manure (M) and N、P、K treatments and fertilize quantity

处理 Treatments	马粪/(kg/池) Horse manure	尿素/(g/池) Urea	过磷酸钙/(g/池) Calcium superphosphate	硫酸钾/(g/池) Potassium sulfate
CK	0	0	0	0
N	0	97.8	0	0
P	0	0	720	0
K	0	0	0	53.79
NP	0	97.8	720	0
NPK	0	97.8	720	53.79
MN	11.25	97.8	0	0
MP	11.25	0	720	0
MK	11.25	0	0	53.79
MNP	11.25	97.8	720	0
MNPK	11.25	97.8	720	53.79

N:氮肥,nitrogen fertilizers;K:钾肥,potassium fertilizers;P:磷肥,phosphate fertilizers;NP:氮磷肥,nitrogen + phosphate fertilizers;NPK:氮磷钾肥,nitrogen + phosphate + potassium fertilizers;MN:有机肥配施氮肥,organic manure + nitrogen fertilizers;MK:有机肥配施钾肥,organic manure + potassium fertilizers;MP:有机肥配施磷肥,organic manure + potassium fertilizers;MNP:有机肥配施氮磷肥,organic manure + potassium fertilizers;MNPK:有机肥配施氮磷钾肥,organic manure + potassium fertilizers;CK:不施肥,no fertilization control

1.2 根际土壤样品采集

2016 年 7 月 25 日番茄拉秧期将番茄植株从土壤中取出,尽量减少对根系的损伤,用软毛刷清扫根系上的土壤,即根际土。所得土样分成两份,一部分用于根际微生物群落功能多样性的测定,此部分土壤样品保存于-4℃;另一部分风干后,用于基本土壤理化性质的测定。

1.3 测定方法

1.3.1 土壤理化性质的测定

取风干土壤,过 2 mm 筛,用于土壤理化性质的测定。直接用 pH 计测定土壤 pH 值,水土比 2.5:1;重铬酸钾容量法(外加热法)测定土壤有机质含量;碱解扩散法测定土壤碱解氮含量;钼锑抗比色法(0.5 mol/L NaHCO₃浸提)测定速效磷含量;火焰光度计法(NH₄OAc 浸提)测定速效钾含量。

1.3.2 土壤微生物功能多样性分析

采用 Biolog-ECO 微平板法进行微生物功能多样性分析。称取 5 g 新鲜土样置于高压灭菌的锥形瓶中,加入 45 mL 已灭菌的 0.85%的生理盐水,封口,振荡 30 min 后,将土壤菌悬原液进行 2 次 10 倍稀释。将稀释液接种到平板中,接种量为 150 μL。接种好的 ECO 平板加盖,在 37℃ 恒温培养箱中连续培养 168 h,每隔 24 h 用 BIOLOG 自动读数装置在 590 nm 下对其吸光值进行测定。

1.3.3 数据处理

AWCD(average well color development):Biolog-ECO 微平板的每孔平均吸光值,表示土壤微生物群落碳源利用的整体能力:

$$AWCD = \sum_{i=1}^n (C_i - R_i) / n$$

式中,C_i为所测定的 31 个碳源孔吸光值;R 为对照孔吸光值;n 为碳源数目(n=31)。

群落多样性可以由土壤微生物群落利用碳源类型的差异来体现。

优势度指数 D

$$D = 1 - \sum P_i^2$$

香农指数 H : 反映土壤微生物群落物种变化度和差异度, 指数值越大, 表示微生物物种丰富度越高。

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

式中, P_i 为第 i 孔相对吸光值与整板平均相对吸光值总和的比, 即:

$$P_i = (C_i - R_i) / \sum (C_i - R_i)$$

丰富度指数 S = 碳源代谢孔的总数目 (微孔的光密度值 ≥ 0.25 , 则认为该孔碳源被利用, 即为碳源代谢孔)。

均匀度指数 E : 是基于物种数量反映群落种类多样性, 群落中生物种类增多代表群落的复杂程度增高。

$$E = \frac{H}{H_{max}} = \frac{H}{\ln S}$$

采用 Excel、SPSS 18.0 等软件对数据进行初级分析、单因素方差分析、显著性检验。

2 结果与分析

2.1 长期不同施肥对根际土壤理化性质的影响

经过 29 年的连续施肥, 不同施肥处理的番茄根际土壤 pH 均有显著差异, 对照 CK 的 pH 值最大, 为 7.37。对 pH 影响的显著性可以归纳为 $N > P > K$ 。由表 2 可以看出, 土壤有机质、碱解氮、速效磷和速效钾等养分含量在施用有机肥条件下显著增高, 且高于原始量。有机质测定结果表明, 单施 N、P、K 肥对根际土壤有机质的含量无显著影响, 但均高于不施肥的 CK 处理。经过长期的定位施肥, 除 N 处理外, 所有处理的碱解氮、速效磷和速效钾含量均高于不施肥的对照 CK, 各处理间差异显著。测定结果见表 2。

表 2 长期不同施肥处理对根际土壤理化性质的影响

Table 2 Effect on soil physical and chemical characters under long-term different fertilization treatments

处理 Treatment	pH	有机质 Organic matter/ (g/kg)	碱解氮 Available N/ (mg/kg)	速效磷 Available P/ (mg/kg)	速效钾 Available K/ (mg/kg)
CK	7.37±0.10a	26.10±2.10d	73.21±0.54i	39.10±0.10j	41.01±0.54j
N	5.52±0.15ef	28.69±2.15d	70.39±0.15j	30.6±0.28k	34.33±0.23k
K	6.57±0.21b	31.68±6.65d	53.12±0.27k	45.66±0.37i	133.69±0.52e
P	6.34±0.05bc	29.88±4.51d	89.51±0.16h	159.30±0.54d	48.59±0.34i
NP	5.60±0.22d	30.08±2.82d	90.95±0.37g	135.40±0.35f	50.67±0.24h
NPK	5.65±0.07e	28.69±2.39d	96.40±0.20f	138.56±0.45e	104.13±0.28g
MN	6.04±0.03d	51.80±3.84ab	130.14±0.20d	64.78±0.38h	125.99±1.76f
MK	6.58±0.21b	59.96±1.58a	109.67±0.25e	112.44±0.15g	270.24±1.21a
MP	6.16±0.07cd	52.59±1.03ab	172.36±0.17c	176.54±0.48c	146.44±0.99c
MNP	5.39±0.13f	46.02±2.99bc	186.59±0.35a	203.39±0.85a	139.65±1.00d
MNPK	5.31±0.11f	44.23±3.16c	183.31±1.01b	191.40±0.53b	219.72±0.61b

同一列中具有相同字母表示结果差异不显著 ($P < 0.05$)

2.2 长期不同施肥处理下番茄根际土壤的总 AWCD 值分析

平均颜色变化率 (AWCD) 是表征土壤微生物群落对底物碳源利用强度的指标, AWCD 值越大, 表明对碳源利用强度越强, 微生物代谢活性越高。培养开始后, 每隔 24 h 测定 AWCD 值, 得到 AWCD 随时间变化的动态图。从图 1 可以看出, 不同施肥处理土壤的 AWCD 值随培养时间的延长而提高, 即不同处理微生物的碳源利用程度逐渐增强。各处理在 0—24 h 内土壤的 AWCD 值变化不明显, 均小于 0.1, 表明碳源基本未被微生物群落利用; 24—96 h 内则表现出快速增长的趋势, 微生物活性旺盛。培养 120 h 后, AWCD 值随培养时间的延

长增长趋于缓慢。这表明 AWCD 在 120 h 时处于“拐点”处,采用 120 h 的吸光值进行分析能真实地反映实际情况。

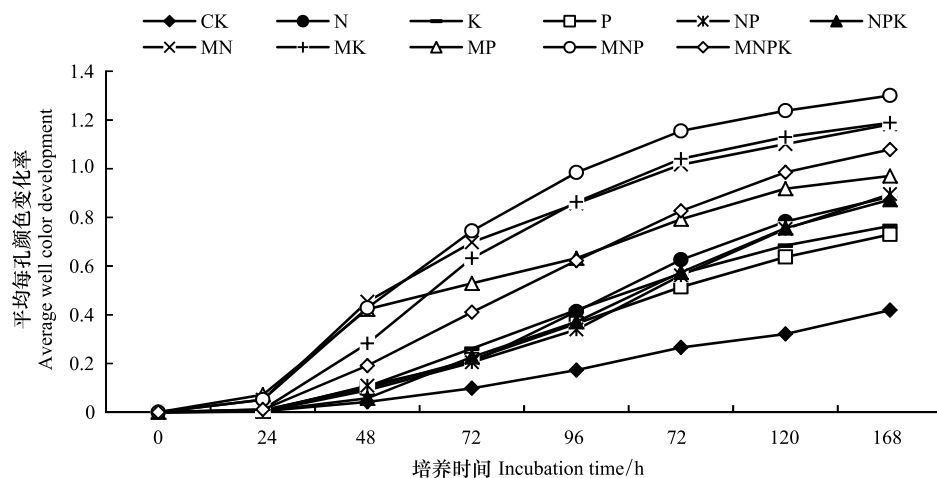


图 1 长期不同施肥各处理平均每孔颜色变化率

Fig.1 AWCD of the soil microbial community in long-term different fertilization treatments

N:氮肥, nitrogen fertilizers; K:钾肥, potassium fertilizers; P:磷肥, phosphate fertilizers; NP:氮磷肥, nitrogen + phosphate fertilizers; NPK:氮磷钾肥, nitrogen + phosphate + potassium fertilizers; MN:有机肥配施氮肥, organic manure + nitrogen fertilizers; MK:有机肥配施钾肥, organic manure + potassium fertilizers; MP:有机肥配施磷肥, organic manure + phosphate fertilizers; MNP:有机肥配施氮磷肥, organic manure + nitrogen + phosphate fertilizers; MNPK:有机肥配施氮磷钾肥, organic manure + nitrogen + phosphate + potassium fertilizers; CK:不施肥, no fertilization control

在整个培养过程中,不同处理微生物群落的 AWCD 存在明显差异。以 120 h 处的 AWCD 为例,表现为 MNP > MK > MN > MNPK > MP > N > NPK > K > NP > P > CK, 值在 0.266—1.155 之间。MNP 处理最高,活性最强;CK 处理最低,活性最弱。整体来看,配施有机肥处理高于单施无机肥处理。

2.3 长期不同施肥处理土壤微生物碳源利用特征

通过不同处理下根际土壤微生物对 6 类碳源类型利用程度的分析可知,在 6 类碳源中,氨基酸类碳源利用能力最高,酚酸类碳源利用能力最低。依次为:氨基酸类 > 聚合物类 > 糖类 > 羧酸类 > 胺类 > 酚酸类。所有施肥处理的数据均大于不施肥的对照,说明长期施肥改变了土壤微生物对碳源的利用能力。配施有机肥处理的土壤微生物对 6 类碳源的总利用高于单施化肥处理,以 MNP 优势最明显。MNP、NP、K 处理土壤微生物对聚合物类碳源的利用能力最高;MNP 处理土壤微生物对酚酸类和聚合物类碳源的利用能力较高;MP 处理的土壤微生物对氨基酸类碳源的利用能力较高;MK、NPK 处理土壤微生物对氨基酸类和聚合物类碳源的利用能力最高;MN 处理土壤微生物对氨基酸类和胺类碳源的利用能力最高;P 处理的土壤微生物对羧酸类碳源的利用能力较高;N 处理的土壤微生物对氨基酸类和糖类碳源的利用能力较高。(图 2)

2.4 土壤微生物碳代谢的主成分分析

利用培养 120 h 的 AWCD 值,对长期施肥土壤微生物利用单一碳源的特性进行主成分分析。在 31 个因子中共提取 6 个主成分,累计方差贡献率达到 76.013%。其中第一主成分(PC1)的特征根为 12.76,方差贡献率为 41.16%,第二主成分(PC2)的特征根为 3.40,方差贡献率为 10.97%。其余 3—6 主成分的方差贡献率均小于 10%。选取 PC1 和 PC2 分析不同施肥处理下番茄根际土壤微生物碳源利用情况,不同施肥处理的碳源利用能力在 PC 轴上差异显著。CK、N、K 位于 PC1 负端,PC2 负端,这些处理根际土壤的微生物对碳源的利用方式比较接近;P、MNPK 位于 PC1 负端,PC2 正端,MK 位于 PC2 正端;表明其受 PC2 上的主要碳源影响较大;MN 位于 PC1 正端,PC2 负端,表明其受 PC1 上的主要碳源影响较大;MNP 位于 PC1 正端,PC2 正端,同时受 PC1 和 PC2 上主要碳源的影响(图 3)。

进一步分析 31 种碳源在 PC1、PC2 上的载荷值,载荷值越高表示对应碳源对主成分的影响越显著。由表

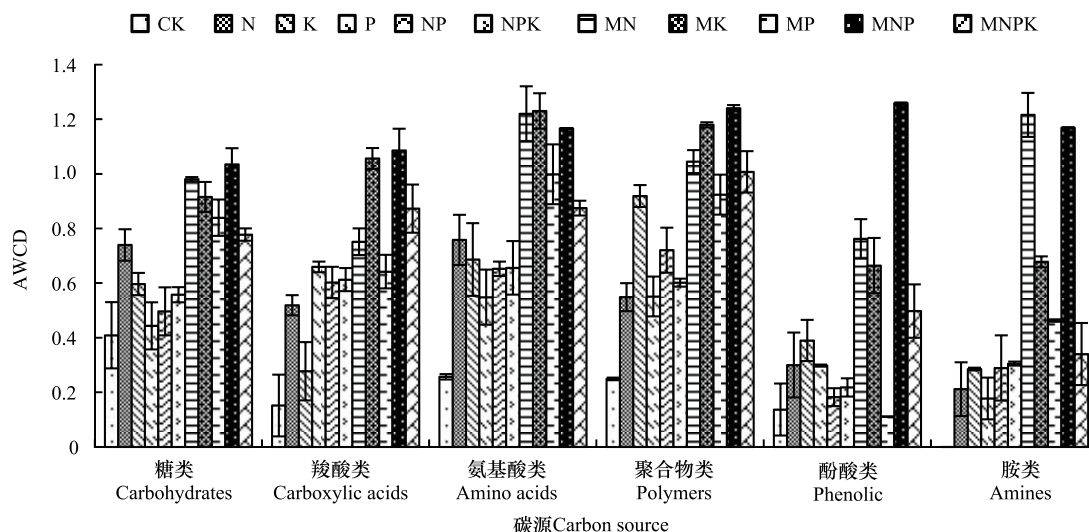


图2 不同处理土壤微生物对六类碳源的总体利用状况 (120 h)

Fig.2 The overall utilization of six kinds of carbon sources in different treatments

N: 氮肥, nitrogen fertilizers; K: 钾肥, potassium fertilizers; P: 磷肥, phosphate fertilizers; NP: 氮磷肥, nitrogen + phosphate fertilizers; NPK: 氮磷钾肥, nitrogen + phosphate + potassium fertilizers; MN: 有机肥配施氮肥, organic manure + nitrogen fertilizers; MK: 有机肥配施钾肥, organic manure + potassium fertilizers; MP: 有机肥配施磷肥, organic manure + phosphate fertilizers; MNP: 有机肥配施氮磷肥, organic manure + phosphate + nitrogen fertilizers; MNPK: 有机肥配施氮磷钾肥, organic manure + phosphate + potassium fertilizers; CK: 不施肥, no fertilization control

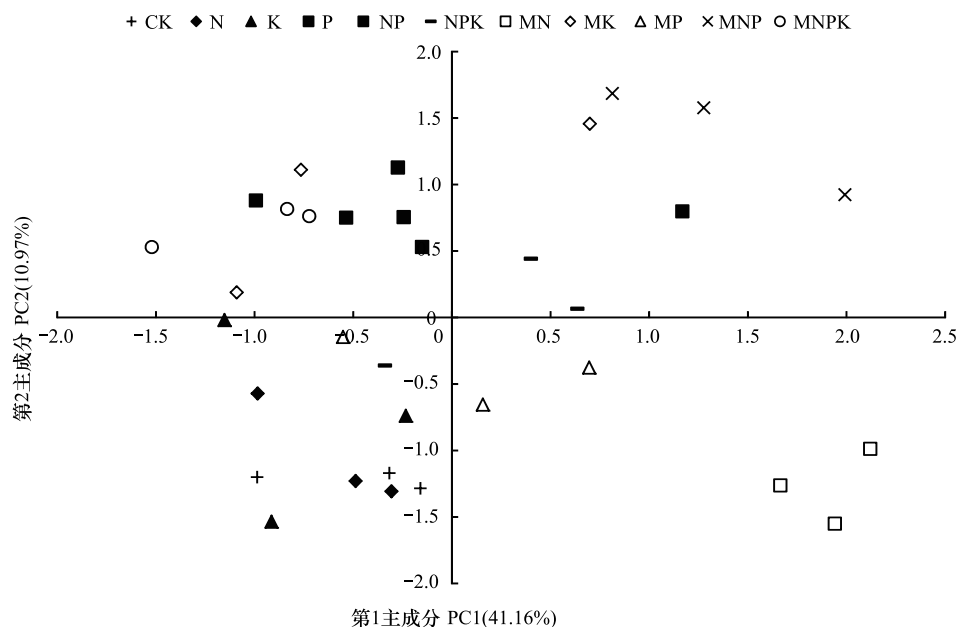


图3 不同处理土壤微生物碳代谢主成分分析

Fig.3 The principal component analysis (PCA) of soil microbial biomass carbon metabolism in different treatments

N: 氮肥, nitrogen fertilizers; K: 钾肥, potassium fertilizers; P: 磷肥, phosphate fertilizers; NP: 氮磷肥, nitrogen + phosphate fertilizers; NPK: 氮磷钾肥, nitrogen + phosphate + potassium fertilizers; MN: 有机肥配施氮肥, organic manure + nitrogen fertilizers; MK: 有机肥配施钾肥, organic manure + potassium fertilizers; MP: 有机肥配施磷肥, organic manure + phosphate fertilizers; MNP: 有机肥配施氮磷肥, organic manure + phosphate + nitrogen fertilizers; MNPK: 有机肥配施氮磷钾肥, organic manure + phosphate + potassium fertilizers; CK: 不施肥, no fertilization control

可知,以 $|r| > 0.4$ 计,对 PC1 贡献大的碳源有 12 种,主要包括糖类 4 种,氨基酸 3 种,羧酸类 2 种,酚酸类 1 种及胺类 2 种;对 PC2 贡献较大的有 8 种,主要包括糖类 1 种,羧酸类 4 种,聚合物 2 种及酚酸类 1 种。

表 3 不同碳源种类在 PC1 和 PC2 上的载荷值

Table 3 Correlation analysis of different carbon source utilization with PC1 and PC2				
碳源种类(Carbon source)		PC1	PC2	
糖类 Carbohydrate	D,L-a-甘油 D,L-a-Glycerol	0.749	—	
	D-半乳糖内酯 D-Galactonic Acid γ -Lactone	0.648	—	
	葡萄糖-1-磷酸盐 Glucose- 1-Phosphate	0.635	—	
	D-木糖 D-Xylose	—	0.732	
	N-乙酰基-D-葡萄糖胺 N-Acetyl-D-Glucosamine	0.504	—	
氨基酸类 Amino acid	L-苯基丙氨酸 L-Phenylalanine	0.696	—	
	L-丝氨酸 L-Serine	0.436	—	
	L-天冬酰胺酸 L-Asparagine	0.474	—	
羧酸类 Carboxylic acid	D-葡萄糖胺酸 D-Glucosaminic Acid	0.794	—	
	a-丁酮酸 a-Ketobutyric Acid	—	0.770	
	衣康酸 Itaconic Acid	—	0.706	
	D-半乳糖醛酸 D-Galacturonic Acid	0.474	0.539	
	D-苹果酸 D-Malic Acid	—	0.543	
聚合物类 Ploymer	肝糖 Glycogen	—	0.660	
	a-环式糊精 a-Cyclodextrin	—	0.463	
酚酸类 Phenolic acid	2-羟苯甲酸 2-Hydroxy Benzoic Acid	0.704	—	
	4-羟基苯甲酸 4-Hydroxy Benzoic Acid	—	0.490	
胺类 Amine	苯乙基胺 Phenylethyl-amine	0.760	—	
	腐胺 Putrescine	0.434	—	

综合上述分析,在 PC1 上,MN、MNP 处理土壤微生物对 D,L-a-甘油、D-半乳糖内酯、葡萄糖-1-磷酸盐、N-乙酰基-D-葡萄糖胺、L-苯基丙氨酸、L-丝氨酸、L-天冬酰胺酸、D-葡萄糖胺酸、2-羟苯甲酸、苯乙基胺、腐胺和 D-半乳糖醛酸的利用能力较强。在 PC2 上,P、NPK、NP、MK、MNP 处理土壤微生物对 D-木糖、a-丁酮酸、衣康酸、D-半乳糖醛酸、D-苹果酸、肝糖、a-环式糊精和 4-羟基苯甲酸的利用能力较强。(表 3)

2.5 长期不同施肥处理的番茄根际土壤微生物群落多样性指数分析

利用培养 120 h 的 31 种碳源的 AWCD 值,对不同施肥处理的番茄根际土壤微生物功能多样性的香农指数(H),丰富度指数(S)、均匀度指数(E)及优势度指数(D)进行计算分析,结果如表 4 所示。从表中我们可以看出,施加肥料的处理的香农指数、丰富度指数和优势度指数均高于不施肥的处理,但是使其均匀度下降。

表 4 不同施肥处理下土壤微生物多样性指数

Table 4 Diversity indexes of soil bacteria in different fertilization treatments				
处理 Treatment	香农指数 Shannon index (H)	丰富度指数 Abundance index(S)	均匀度指数 McIntosh index(E)	优势度指数 Simpson index (D)
CK	2.38±0.07f	10.33±1.53f	1.02±0.04a	0.88±0.02d
N	3.15±0.06d	24.00±2.65d	0.99±0.02ab	0.95±0.01bc
K	2.89±0.02e	19.00±0e	0.98±0.01b	0.93±0c
P	3.23±0.03bc	25.67±3.21bcd	1.00±0.03ab	0.95±0ab
NP	3.28±0.02ab	27.67±0.58abc	0.99±0.01b	0.96±0ab
NPK	3.19±0.02cd	25.33±0.58cd	0.99±0.01ab	0.99±0ab
MN	3.25±0.04bc	27.33±1.53abc	0.98±0b	0.98±0a
MK	3.30±0.03ab	28.33±1.53abc	0.98±0.01b	0.99±0a
MP	3.25±0.3bc	26.67±2.08abcd	0.99±0.02ab	0.99±0a
MNP	3.33±0.02a	29.67±0.58a	0.98±0b	0.98±0a
MNPK	3.28±0.01ab	28.67±0.58ab	0.98±0.01b	0.98±0a

同一列中具有相同字母表示结果差异不显著($P<0.05$)

说明施肥显著提高番茄根际土壤微生物的种类数以及增加土壤微生物的碳源利用能力,然而随着肥料的施用,会破坏土壤固有环境,影响其均匀度。配施有机肥处理的丰富度指数普遍高于单施化肥处理,其他指数(香农指数、均匀度指数、优势度指数)在是否配施有机肥上没有显著差异。K、NP、NPK、MN 和 MNP 处理的均匀度显著低于其他处理,说明其个体分布最不均匀,群落所含信息量最小。MNP 处理的香农指数、丰富度指数均显著高于其他处理。

3 结论与讨论

在土壤生态系统中,微生物是土壤物质循环和能量流动的主要参与者,是土壤养分的储备库和周转库^[18]。很多因素都可以影响土壤中的微生物的群落多样性,如土壤质地、植被类型、施肥制度和茬口安排等。李娟^[19]和孙瑞莲等^[20]在研究中发现,长期有机无机肥配施能明显提高土壤有机质和 N、P、K 养分含量,同时促进微生物的代谢和繁殖,提高土壤微生物碳源利用能力及微生物群落功能多样性。

从本研究结果看,不同施肥处理下的番茄根际土壤碱解氮、速效磷、速效钾含量均存在显著差异,总体趋势是:配施有机肥>单施化肥>不施肥。葛晓光等^[21]研究表明,长期的有机无机肥配施可以有效提高土壤养分含量。配施有机肥可以显著提高土壤有机质含量。因此在实际生产中,可通过增施有机肥或有机肥与无机肥配施来改善土壤理化性质。土壤调查和长期定位试验表明,我国大部分农田因过量投入氮肥导致土壤酸化程度加重^[22],在本研究中也表现出相同的结果,施加 N 肥的处理的酸化程度尤为严重。

在根际土壤微生物方面,配施有机肥可以增加土壤微生物的数量^[23],增强微生物的活性^[24-25],提高微生物群落的多样性^[26-28]。平均颜色变化率(AWCD)能够反映土壤微生物对碳源的利用能力和代谢活性大小,本研究结果表明配施有机肥土壤微生物的 AWCD 值高于单施化肥处理,推测是有机肥的投入,提高了土壤有机质含量,改善了土壤理化性质,优化了土壤微生物生存条件,从而提高了土壤微生物群落代谢功能。Boehm^[29]和 Tiquia 等^[30]研究也指出,土壤有机质含量和组成是影响微生物生物量、群落组成、生物活性的关键因素,这与本研究结果达成一致。本研究所有施肥处理的 AWCD 值均高于不施肥的对照 CK,以 MNP 最高,MK 和 MN、MNP 处理在 120 h 时差异不大,但均高于 NPK、N、K 处理,说明 N、K 肥对 AWCD 值的影响是相似的。有研究表明,土壤元素缺乏或者施肥不均衡都会对微生物群落的多样性产生负效应^[31]。土壤微生物碳源利用多样性可能与碳源种类、植物残体和根系分泌物、土壤物理性状和化学性质等密切相关^[32]。

本研究对六类碳源的总体利用情况显示,番茄根际土壤微生物对氨基酸类碳源的利用能力最高,不同处理间以 MNP 的利用碳源能力最高。刘恩科和罗希茜等人^[33,16]研究表明,化肥或秸秆施入会促进微生物生长,使微生物的碳源利用率明显升高,使土壤中微生物碳氮量明显高于单施化肥的处理,而秸秆还田与当地习惯施肥却对土壤微生物碳源利用能力有不利的影 响。另外,本研究出现了 MNP 处理的代谢活性高于 MNP 的情况,这与长期施肥条件下 MNP 处理的番茄植株根系分泌质子、酚酸类物质息息相关。曹享云等人^[34-36]研究表明,在特定养分胁迫条件下,植物根系可通过自身的调节能力,合成一些专一性物质分泌到根际中去,特别是简单有机化合物,如有机酸、糖类等,这些有机化合物中的有机酸能够活化土壤中的矿物态钾,促进土壤钾的有效化,并提高植物对缺钾胁迫环境的适应能力。

从微生物多样性指数来看,根际土壤微生物群落的优势度指数,丰富度指数和香农指数均体现出对施肥的显著正相关,这可能是由于施加肥料中的 C/N 有利于土壤微生物的生长,为微生物提供了较多的能源和养分,促进土壤微生物大量繁殖,加快微生物的新陈代谢,

这与徐阳春^[37]和顾美英^[38]等人研究结果一致。然而,均匀度指数却随着有机肥和化肥的施入呈现下降的趋势,这可能是由于随着有机肥及无机化肥的施入,促进了某些微生物种群的生长代谢而抑制了其他种微生物种群的代谢,致使均匀度下降。

主成分分析解释不同处理下番茄根际土壤微生物碳源利用是否存在差异^[39]。有机肥显著提高对糖类、酚酸类、胺类碳源的利用。P、K 肥能够提高对羧酸类和聚合物类碳源的利用。也进一步证明了随不同肥料

的长期施入,不同处理的根际土壤微生物群落发生了改变。对 PC1 贡献较大的碳源主要是糖类,对 PC2 贡献较大的碳源主要是羧酸类,这可能与根系的分泌为土壤微生物提供了大量糖类等碳源物质有关,其促进了与碳源利用类型相对应的微生物的生长与繁殖,这也可能会引起微生物群落结构的改变,具体还有待继续研究。

综上所述,番茄作为重要的设施蔬菜,一直处在长期定位施肥条件下,其生长环境可能会出现不同处理间不同程度的养分亏缺及土壤微生态环境的恶化,导致微生物的结构和功能发生改变。本研究探讨了长期定位施肥条件下,番茄根际微生物的功能多样性变化,结果表明肥料的施用有利于提高土壤微生物代谢活性和土壤微生物群落功能多样性,尤其是在配施有机肥的情况下。其中以 MNP 的施肥较果最佳,能够呈现较高的根际土壤微生物功能多样性。番茄植株本身可能会分泌大量的糖类、氨基酸类、有机酸类等物质来影响根际微环境,使其适应长期施用单一种类肥料造成的养分亏缺状况。这种微生物种群的变化是植物通过自身调节来适应土壤环境的结果,进而影响根际微生态。这种植物-土壤-微生物相互作用的深入研究将会为番茄根际生态过程的科学调控提供理论参考。

参考文献 (References):

- [1] 张元龙, 万金精. 根际微生物与高等植物. 河南农学院学报, 1964, (2): 83-106.
- [2] 吴林坤, 林向民, 林文雄. 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望. 植物生态学报, 2014, 38(3): 298-310.
- [3] Berendsen R L, Pieterse C M J, Bakker P A H M. The rhizosphere microbiome and plant health. Trends in Plant Science, 2012, 17(8): 478-486.
- [4] Lemke M J, Brown B J, Leff L G. The response of three bacterial populations to pollution in a stream. Microbial Ecology, 1997, 34(3): 224-231.
- [5] Chowdhury S P, Schmid M, Hartmann A, Tripathi A K. Diversity of 16S-rRNA and *nifH* genes derived from rhizosphere soil and roots of an endemic drought tolerant grass, *Lasiurus indicus*. European Journal of Soil Biology, 2009, 45(1): 114-122.
- [6] Hai L, Li X G, Li F M, Suo D R, Guggenberger G. Long-term fertilization and manuring effects on physically-separated soil organic matter pools under a wheat-wheat-maize cropping system in an arid region of China. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(2): 253-259.
- [7] ZAK J C, Willig M R, Moorhead D L, Wildman H G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. Soil Biology and Biochemistry, 1994, 26(9): 1101-1108.
- [8] Bossio D A, Scow K M. Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(11): 4043-4050.
- [9] Grayston S J, Wang S Q, Campbell C D, Edwards A C. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30(3): 369-378.
- [10] 徐万里, 唐光木, 葛春辉, 王西和, 刘骅. 长期施肥对新疆灰漠土土壤微生物群落结构与功能多样性的影响. 生态学报, 2015, 35(2): 468-477.
- [11] Zhong W H, Gu T, Wang W, Zhang B, Lin X G, Huang Q R, Shen W S. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. Plant and Soil, 2010, 326(1/2): 511-522.
- [12] 臧逸飞, 郝明德, 张丽琼, 张昊青. 26 年长期施肥对土壤微生物量碳、氮及土壤呼吸的影响. 生态学报, 2015, 35(5): 1445-1451.
- [13] 张奇春, 王雪芹, 时亚南, 王光火. 不同施肥处理对长期不施肥区稻田土壤微生物生态特性的影响. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(1): 118-123.
- [14] 时鹏, 高强, 王淑平, 张妍. 玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, 2010, 30(22): 6173-6182.
- [15] 孙凤霞, 张伟华, 徐明岗, 张文菊, 李兆强, 张敬业. 长期施肥对红壤微生物生物量碳氮和微生物碳源利用的影响. 应用生态学报, 2010, 21(11): 2792-2798.
- [16] 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.
- [17] Leigh R A, Johnston A E. Long-term experiments in agricultural and ecological sciences//Proceedings of a Conference to Celebrate the 150th Anniversary of Roth Amsted Experimental Station. Cambridge: The UK at University Press, 1994: 14-17.
- [18] 周海霞, 周向军, 许提森. 不同土壤利用类型对微生物的影响. 安徽农业科学, 2008, 36(15): 6415-6417.
- [19] 李娟, 赵秉强, 李秀英, 姜瑞波, So H B. 长期不同施肥制度下几种土壤微生物学特征变化. 植物生态学报, 2008, 32(4): 891-899.
- [20] 孙瑞莲, 赵秉强, 朱鲁生, 徐晶, 张夫道. 长期定位施肥对土壤酶活性的影响及其调控土壤肥力的作用. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(4): 406-410.

- [21] 葛晓光, 张恩平, 高慧, 张昕, 王晓雪. 长期施肥条件下菜田—蔬菜生态系统变化的研究(II)土壤理化性质的变化. 园艺学报, 2004, 31(2): 178-182.
- [22] Guo J H, Liu X J, Zhang Y, Shen J L, Han W X, Zhang W F, Christie P, Goulding K W T, Vitousek P M, Zhang F S. Significant acidification in major Chinese croplands. *Science*, 2010, 327(5968): 1008-1010.
- [23] 张淑红, 张恩平, 高巍, 李天来. 长期偏施氮肥对连作番茄土壤微生物的影响. 园艺学报, 2010, 37(S): 2160-2160.
- [24] 陆海飞, 郑金伟, 余喜初, 周惠民, 郑聚锋, 张旭辉, 刘晓雨, 程琨, 李恋卿. 长期无机有机肥配施对红壤性水稻土壤微生物群落多样性及酶活性的影响. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(3): 632-643.
- [25] 张恩平, 高巍, 张淑红, 李天来. 长期施肥条件下菜田土壤微生物特征变化. 生态学杂志, 2009, 28(7): 1288-1291.
- [26] 刘晶鑫, 迟凤琴, 许修宏, 匡恩俊, 张久明, 宿庆瑞, 周宝库. 长期施肥对农田黑土微生物群落功能多样性的影响. 应用生态学报, 2015, 26(10): 3066-3072.
- [27] 陈晓芬, 李忠佩, 刘明, 江春玉, 吴萌. 长期施肥处理对红壤水稻土壤微生物群落结构和功能多样性的影响. 生态学杂志, 2015, 34(7): 1815-1822.
- [28] 李猛, 张恩平, 张淑红, 周芳, 王月, 谭福雷, 韩丹丹. 长期不同施肥设施菜地土壤酶活性与微生物碳源利用特征比较. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(1): 44-53.
- [29] Boehm M J, Wu T, Stone A G, Kraakman B, Iannotti D A, Wilson G E, Madden L V, Hoitink H. Cross-polarized magic-angle spinning ^{13}C nuclear magnetic resonance spectroscopic characterization of soil organic matter relative to culturable bacterial species composition and sustained biological control of pythium root rot. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(1): 162-168.
- [30] Tiquia S M, Lloyd J, Herms D A, Hoitink H A J, Michel F C Jr. Effects of mulching and fertilization on soil nutrients, microbial activity and rhizosphere bacterial community structure determined by analysis of TRFLPs of PCR-amplified 16S rRNA genes. *Applied Soil Ecology*, 2002, 21(1): 31-48.
- [31] 张瑞, 张贵龙, 陈冬青, 姬艳艳, 张海芳, 杨殿林. 不同施肥对农田土壤微生物功能多样性的影响. 中国农学通报, 2013, 29(2): 133-139.
- [32] 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(1/4): 509-520.
- [33] 刘恩科, 梅旭荣, 赵秉强, 李秀英, 刘家基, 胡其华. 长期不同施肥制度对土壤微生物生物量碳、氮、磷的影响. 中国农业大学学报, 2009, 14(3): 63-68.
- [34] 曹享云. 营养胁迫与根系分泌物. 土壤学进展, 1994, 22(3): 27-33.
- [35] Krafczyk I, Trolldenier G, Beringer H. Soluble root exudates of maize: Influence of potassium supply and rhizosphere microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 1984, 16(4): 315-322.
- [36] 袁可能. 植物营养元素的土壤化学. 北京: 科学出版社, 1983: 166-220.
- [37] 徐阳春, 沈其荣, 冉炜. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物生物量碳、氮、磷的影响. 土壤学报, 2002, 39(1): 89-96.
- [38] 顾美英, 徐万里, 茆军, 张志东, 唐光木, 葛春辉. 新疆绿洲农田不同连作年限棉花根际土壤微生物群落多样性. 生态学报, 2012, 32(10): 3031-3040.
- [39] Preston-Mafham J, Boddy L, Randerson P F. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles—a critique. *Microbiology Ecology*, 2002, 42(1): 1-14.