

施肥对小麦、玉米和大豆连作土壤微生物群落功能多样性的影响

严 君,韩晓增,陈 旭,邹文秀,陆欣春,郝翔翔

(中国科学院东北地理与农业生态研究所,黑龙江 哈尔滨 150081)

摘 要:为了明确长期施肥和不施肥条件下作物连作对土壤微生物群落功能多样性的影响,以典型黑土为研究对象,选取长期定位实验站长期施肥和不施肥条件下的小麦、玉米和大豆连作处理,通过稀释平板法和 Biolog Eco 微平板法,测定土壤细菌、真菌、放线菌数量、碳源代谢活性等指标,为建立合理的农田管理措施提供数据支撑和理论依据。结果表明:长期施肥条件下大豆、小麦和玉米连作土壤细菌、真菌和放线菌数量均高于不施肥处理,且均以大豆连作处理细菌和真菌数量最高。不施肥条件下小麦和玉米连作土壤细菌总数较大豆连作处理分别下降了 24.8%和31.0%,真菌总数分别下降了 64.0%和 51.2%;施肥条件下小麦和玉米连作土壤细菌总数则较大豆连作处理分别下降了 29.0%和 45.5%,真菌总数分别下降了 26.7%和 31.5%。Biolog 结果表明,不施肥条件下小麦连作处理的平均颜色变化率(AWCD)高于玉米和大豆连作处理,施肥条件下则是大豆连作处理的 AWCD 值高于小麦和玉米连作处理。不施肥条件下大豆、玉米和小麦连作处理利用最多的碳源是碳水化合物类,施肥后不同连作处理利用最多的是碳水化合物类和多聚物类。大豆和小麦连作不施肥条件下土壤微生物利用率最高的碳源均是 α -D-乳糖,施肥条件下利用率最高的碳源均是 D,L- α -甘油,而不论施肥与否,玉米连作条件下土壤微生物利用率最高的碳源均是 D-半乳糖醛酸;葡萄糖-1-磷酸盐和 γ -羟基丁酸是农田黑土微生物群落特异利用的关键碳源。主成分分析得出,施肥对土壤微生物碳源代谢能力的影响大于作物的影响。

关键词:微生物群落;功能多样性;连作;平均颜色变化率;碳源代谢;施肥

中图分类号:S154.3 **文献标志码:**A

Effects of fertilization on soil microbial community and functional diversity under continuous cropping of wheat, maize and soybean

YAN Jun, HAN Xiaozeng, CHEN Xu, ZOU Wenxiu, LU Xinchun, HAO Xiangxiang
(Northeast Institute of Geography and Agroecology, CAS, Harbin, Heilongjiang 150081, China)

Abstract: In order to determine the effect of continuous cropping on the functional diversity of soil microbial community under the condition of long-term fertilization and non-fertilization. A typical black soil with the treatments of continuous cropping of wheat, maize, and soybean under long-term fertilization and non-fertilization from long-term position experimental station were selected as the research object in this study. Dilution plate method and Biolog Eco microplate method were used to determine the counts of soil bacteria, fungi, and actinomycetes and carbon metabolism, which benefit for built the optimal management. The results showed that the number of bacteria, fungi, and actinomycetes in continuous cropping of soybean, wheat, and maize was higher under fertilization treatments than that under non-fertilization treatments, and the highest counts of bacteria and fungi were observed under the soybean continuous cropping. The counts of bacteria under the treatments with wheat and maize continuous cropping decreased by 24.8% and 31.0%, the number of fungi decreased by 64.0% and 51.2% respectively than the treatments with soybean continuous cropping under the condition of no-fertilization. While the counts of bacteria under wheat and maize continuous cropping decreased by 29.0% and 45.5%, the counts of fungi de-

creased by 26.7% and 31.5%, respectively, under the fertilization. The results of Biolog showed that the average well color development (AWCD) of wheat continuous cropping was higher than that of maize and soybean continuous cropping, and that of soybean continuous cropping was higher than that of wheat and maize continuous cropping. Carbohydrate was the most utilized carbon source in soybean, maize, and wheat continuous cropping under the no-fertilization, while carbohydrate and polymer were the most utilized in different continuous cropping systems after fertilization. In the soybean and wheat continuous cropping, α -D-lactose was the most efficient carbon source with no fertilization, while D, l- α -glycerin was the most efficient carbon source with the fertilization. D-galacturonic acid was the highest carbon source of soil microbial utilization under maize continuous cropping whether fertilizing or not. Glucose-1-phosphate and γ -hydroxybutyric acid were the key carbon sources for the specific utilization of the microbial community in the black soil. The results of principal component analysis indicated that the effect of fertilization on soil microbial carbon metabolism was greater than on crops.

Keywords: microbial community; functional diversity; continuous cropping; AWCD; carbon source metabolism; fertilization

土壤微生物群落功能多样性对农田土壤质量具有灵敏的指示作用。施用不同肥料^[1-2]或采取不同的种植制度^[3]会对土壤微生物数量、群落和功能产生不同的影响。张志明等^[1]研究表明,施用化肥降低土壤细菌和放线菌数量,有机肥与化肥配施显著提高土壤细菌和放线菌数量,与不施肥相比碳源代谢能力和活性则均显著提升^[4-5]。王才斌等^[6]研究表明,增施有机肥能有效增加土壤中细菌、放线菌和真菌数量,而单施化肥的土壤微生物数量不增加或者增加不显著。文东新等^[7]研究表明不同植被对土壤微生物群落功能的响应不同,乔木、灌木和草本植被下土壤微生物碳源利用方式及代谢功能存在显著差异,这种差异主要是植被根系通过改变土壤理化性质从而间接影响土壤碳源代谢而产生^[8-10]。目前的研究大多是单独探讨施肥、植被对土壤微生物群落结构的影响,而将两者作为影响因素放在一起对比研究颇少。本研究采用 Biolog Eco 微孔板,研究长期施肥对黑土区大豆、小麦和玉米连作 14 a 土壤微生物群落功能多样性的影响,旨在探明农业生产中科学合理的施肥和种植作物对土壤微生物的影响,为进一步建立合理的黑土施肥和种植制度及实现土地可持续利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

研究区在中国科学院海伦农业生态实验站,该实验站位于黑龙江省海伦市(47°26'N, 126°38'E),平均海拔 234 m,试验土壤为典型中厚层黑土。气候属温带大陆性季风气候,冬季寒冷干燥,夏季高温多雨,雨热同季,全年降水量 500~600 mm,80%以上集中在 5—9 月;年均气温 2.1℃,无霜期 120~

130 d, $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 有效积温 2 400℃~2 500℃。

1.2 试验设计

采用框栽试验。土壤风干后,过 5 mm 筛装于塑料桶(PVC 材料为框架的圆框,直径 37 cm×高 45 cm),每桶装土 20 kg。试验设 3 种供试作物,分别为大豆、玉米和小麦,3 种供试作物下设 2 个施肥处理,分别为:(1)无肥(CK);(2)NPK。所施用肥料中,氮肥为尿素,磷肥和钾肥为磷酸二氢钾和硫酸钾,具体肥料用量:N 120 kg·hm⁻²、P₂O₅ 51.75 kg·hm⁻²、K₂O 60 kg·hm⁻²。4 次重复,随机区组排列。播前将肥料与土壤混匀,管理同大田。

1.3 土样采集

2017 年 8 月 9 日采集土壤样品,方法是在各处理样地内随机设 5 个土壤采样点,去除土壤表层的植被,采集 0~20 cm 土层土壤样品,用无菌袋收集;带回实验室去除可见的动植物残体和根系,过 2 mm 筛后,放入 4℃ 冰箱中保鲜备用,同时进行土壤含水量测定。

1.4 测定项目与方法

土壤微生物三大菌群数量的测定采用稀释平板法,细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基、真菌采用马丁氏培养基、放线菌采用高氏 I 号培养基培养 7~15 d,结果以每克干土所含微生物菌落(cfu·g⁻¹)表示。

土壤微生物群落代谢特征的测定采用 Biolog Eco 微孔板(Biolog Co., Hayward, CA, USA)^[11]。Biolog Eco 微孔板有 31 种碳源,根据官能团分为 6 大类,其中碳水化合物 12 种、氨基酸 6 种、羧酸类 5 种、多聚物 4 种、胺类 2 种、酚酸类 2 种,同时还有 1 个是水^[12]。Biolog Eco 微孔板接种和培养:称取相当于 5 g 干土的鲜土加入到装有 45 mL 灭菌生理盐

水(0.85%)的 100 mL 三角瓶中,180 r·min⁻¹振荡 30 min 混匀。上清液用 0.85%的灭菌生理盐水稀释 1 000 倍,然后用八通道移液器吸取 150 μL 提取液加入 Biolog ECO 微孔板中,28℃ 恒温避光培养 168 h,每隔 24 h 采用 Biolog MicrostationTM 酶标仪(Bio-TEK Instruments Inc., Winooski, VT, USA)测定 590 nm 和 750 nm 处的吸光值^[13]。

1.5 数据统计分析

按照 Classen 等^[14]方法计算:
平均颜色变化率(AWCD)

$$AWCD = \frac{\sum (C_{590-750})}{n}$$

式中,C 是反应孔吸光值,n 是碳源数。p_i 为第 i 孔相对吸光度值与整个平板相对吸光度值总和的比率,n_i 是第 i 孔的相对吸光值。

试验结果的方差分析及主成分分析采用 SPSS 19.0。

2 结果分析

2.1 根际微生物组成和数量的变化

如表 1 所示,不同作物无论施肥与否,土壤中细菌占绝对优势,占微生物总数的 84.98%~95.14%,放线菌占总量的 4.13%~14.62%,真菌占总量的 0.41%~0.73%。土壤微生物总数量以种植大豆处理显著高于种植小麦和玉米处理。细菌数量的变化均表现为大豆>小麦>玉米,不施肥条件下种植小麦和玉米处理较种植大豆处理分别下降了 24.8%和 31.0%,施用化肥后则较种植大豆处理分别下降了 29.0%和 45.5%。真菌数量亦以种植大豆处理最

高,不施肥条件下种植小麦和玉米处理较种植大豆处理分别下降了 64.0%和 51.2%,施用化肥后则分别较种植大豆处理下降了 26.7%和 31.5%。不施肥条件下放线菌数量变化表现为玉米>小麦>大豆,与种植大豆处理相比,种植玉米和小麦处理分别增加了 165.8%和 55.2%,施用化肥后则表现为:小麦>大豆>玉米,与种植大豆处理相比种植小麦增加了 73.0%,而种植玉米下降了 8.3%。

2.2 土壤微生物群落功能多样性

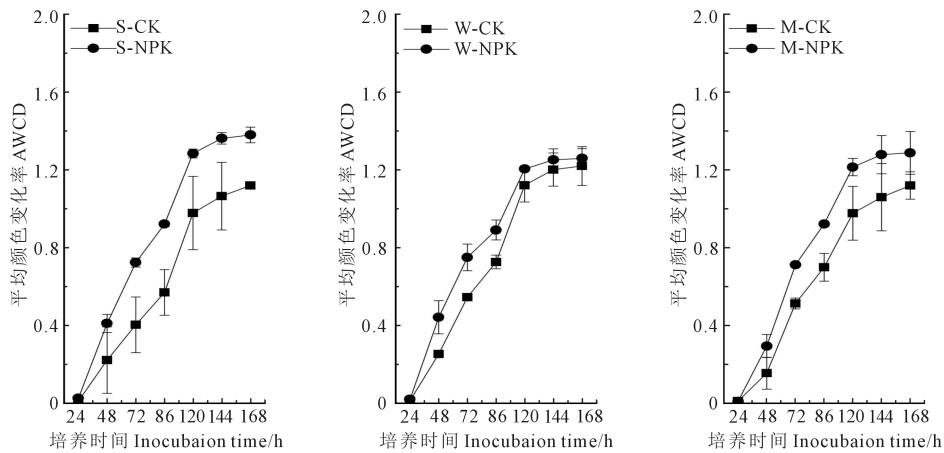
2.2.1 土壤微生物群落平均颜色变化率的动态变化 Biolog Eco 微孔板单孔平均颜色变化率(AWCD)反映了土壤微生物对碳源代谢活性的影响和微生物群落生理功能多样性。从图 1 可以看到,不同作物与施肥处理的土壤样品随培养时间的延长,微生物利用碳源的能力呈逐渐增加趋势,在 24~120 h 增加最快,120 h 后逐渐缓慢。这是由于土壤中的微生物经过短暂的环境适应后,利用碳源的能力由缓慢提升到快速增长,并达到顶峰,随后逐渐趋于稳定。整体上不施肥处理条件下小麦连作处理的 AWCD 显著高于大豆和玉米连作,施化肥条件下则以大豆连作处理显著高于小麦和玉米连作处理。120 h 时不施肥 3 种作物之间 AWCD 值变化表现为小麦连作处理显著高于玉米和大豆连作处理,而施肥后则表现为大豆连作处理显著高于小麦和玉米连作处理。

2.2.2 土壤微生物利用不同碳源的变化特征 如图 2 所示,3 种作物连作条件下土壤微生物利用各类碳源的能力均表现为施用 NPK 处理高于 CK 处理,且各组之间差异较大。不施肥条件下大豆连作处

表 1 不同作物和施肥对微生物数量的影响

Table 1 Effect of different crop and fertilization managements on microorganism quantity					
处理 Treatment		细菌 Bacteria /(×10 ⁷ cfu·g ⁻¹)	真菌 Fungi /(×10 ⁴ cfu·g ⁻¹)	放线菌 Actinomycetes /(×10 ⁵ cfu·g ⁻¹)	总微生物数量 Total counts /(×10 ⁷ cfu·g ⁻¹)
大豆 Soybean	CK	9.88±0.58	75.59±8.61	42.92±6.03	10.38
	NPK	21.60±0.59	100.33±8.21	152.57±1.88	23.22
小麦 Wheat	CK	7.42±0.60	27.19±2.30	66.61±5.34	8.12
	NPK	15.34±7.08	73.55±14.24	263.93±50.41	18.06
玉米 Maize	CK	6.81±2.18	36.87±7.45	114.08±61.11	7.99
	NPK	11.77±4.24	68.71±21.05	139.88±16.06	13.23
方差分析 Analysis of variance					
作物 Crop		**	**	**	-
肥料 Fertilizer		**	**	**	-
作物×肥料 Crop×Fertilizer		**	**	**	-

注: ** 代表处理间差异极显著(P<0.01); -代表没有进行差异分析。
Note: ** stand for significantly difference between treatment (P<0.01); - stand for no analyze.



注:S-CK,W-CK 和 M-CK 分别代表不施肥条件下大豆、小麦和玉米连作处理;S-NPK,W- NPK 和 M- NPK 分别代表施肥条件下大豆、小麦和玉米连作处理。
Note: S-CK, W-CK, and M-CK stand for soybean, wheat, and maize continuous cropping under no fertilizer respsectively; S-NPK, W- NPK, and M- NPK stand for soybean, wheat, and maize continuous cropping with chemical fertilizer respsectively.

图 1 不同作物与施肥处理下土壤微生物 AWCD 值随时间的变化

Fig.1 AWCD dynamics with incubation time under different crop and fertilization treatments

理利用相对较多的碳水化合物和胺类,其中利用率最高的碳源分别是 α -D-乳糖、葡萄糖-1-磷酸盐、D-木糖和 D,L- α -甘油;小麦连作处理利用较多的碳源是碳水化合物、羧酸类和胺类,利用率最高的碳源是 α -D-乳糖、D-葡萄糖胺酸、D-半乳糖醛酸和吐温 80;玉米连作处理则利用较多的碳水化合物和羧酸类,其中利用率最高的碳源是 D-半乳糖醛酸、D, L- α -甘油、 α -D-乳糖和 D-葡萄糖胺酸。施化肥后不同作物处理发生显著变化,大豆连作处理利用较多的碳水化合物、多聚物 and 羧酸类,其中利用率最高的碳源是 D, L- α -甘油、 α -D-乳糖、D-半乳糖醛酸、葡萄糖-1-磷酸盐和肝糖;小麦和玉米连作处理利用较多的碳水化合物和多聚物,其中小麦连作施肥处理利用率最高的碳源是 D, L- α -甘油、吐温 80、 α -D-乳糖和肝糖,玉米连作施肥处理利用率最高的碳源是 D-半乳糖醛酸、L-精氨酸、吐温 80 和 α -D-乳糖,其中 α -D-乳糖在不同处理中均被高效利用。

2. 2. 3 土壤微生物群落代谢特征的主成分分析
Biolog 的主成分分析反映不同处理下土壤微生物群落的代谢特征。从图 3 可知,对所有土样 120 h 各碳源 OD 值进行主成分分析。得到特征值大于 1 的主成分 8 个,其中第 1 主成分方差贡献率为 44.29%,第 2 主成分的方差贡献率为 11.47%,其余主成分方差贡献率较小,本研究只取前 2 个主成分进行分析。结果表明不同作物与施肥下土壤微生物对碳源的利用在 PC 轴上出现了明显的分布差异。大豆 CK、小麦 CK 和玉米 CK 聚集在一起,大豆

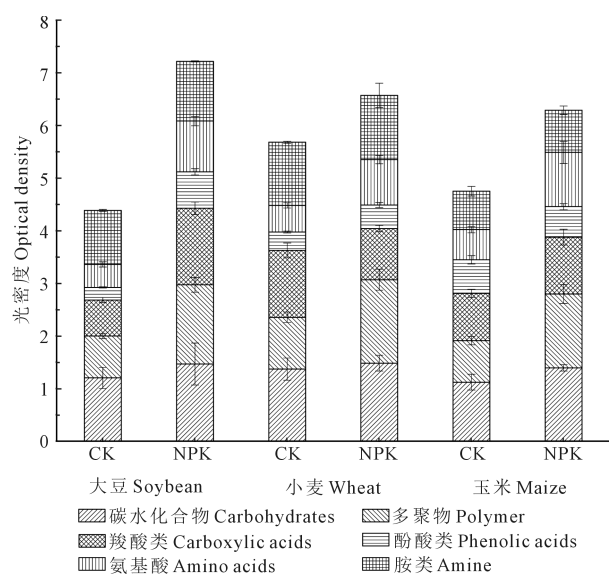


图 2 不同作物与施肥处理下土壤微生物对各类碳源的利用情况 (120 h)

Fig.2 The utilization of different carbon sources by soil microorganism under different crops and fertilization treatments (120 h)

NPK、小麦 NPK 和玉米 NPK 聚集在一起,表明化肥施用和作物均会改变土壤微生物对碳源的利用,但施肥的影响大于作物。

从 31 种碳源在 2 个主成分的系数矩阵(图 4)可见,有 24 种碳源(相关系数的绝对值>0.50)均集中在第 1 主成分上,决定了主成分 1 的变异,其中碳水化合物占 41.67%; β -甲基 D-葡萄糖苷,D-半乳糖内酯,D-木糖,I-赤藻糖醇,D-甘露醇,N-乙酰基-D-葡萄糖胺,D-葡萄糖胺酸,D-纤维二糖,葡萄糖-

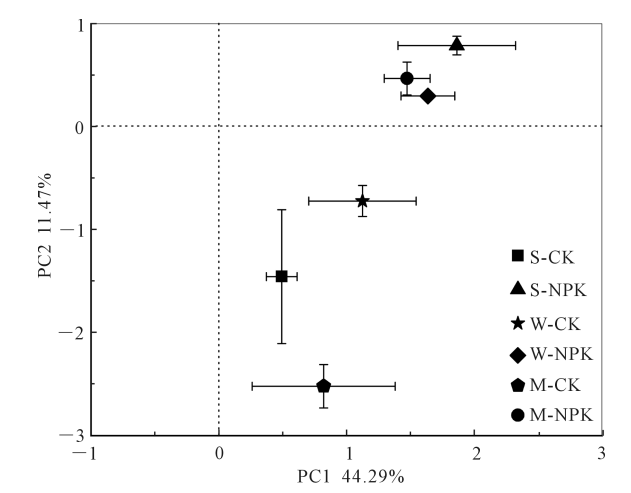


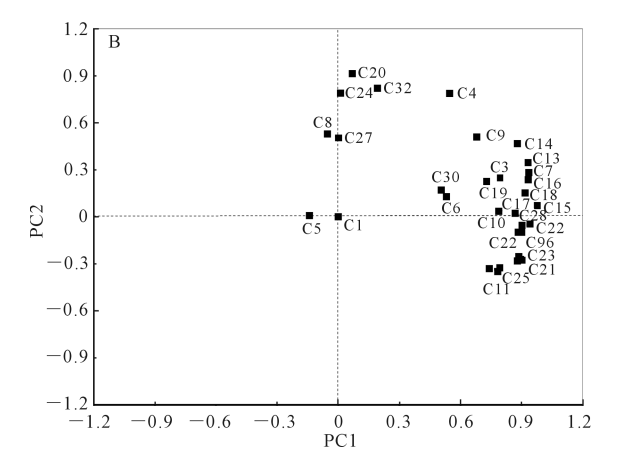
图3 不同作物和施肥处理下土壤微生物群落主成分分析(120 h)

Fig.3 Principal component analysis of soil microbial community under different crop and fertilizer treatments (120 h)

1-磷酸盐和 α -D-乳糖。羧酸类占16.67%:丙酮酸甲酯, γ -羟基丁酸,衣康酸和D-苹果酸;氨基酸类占16.67%:*L*-精氨酸,*L*-天冬酰胺酸,*L*-丝氨酸和甘氨酸-*L*-谷氨酸。多聚物类占16.67%:吐温40,吐温80, α -环式糊精和肝糖。酚酸类占8.33%:主要碳源有6种,其中含有1种碳水化合物:葡萄糖-1-磷酸盐;2种氨基酸类:*L*-苯基丙氨酸和*L*-苏氨酸;1种羧酸类: γ -羟基丁酸。胺类2种:苯乙基胺和腐胺。综合第1、2主成分结果,不同作物和施肥处理下的微生物群落特异利用的碳源有葡萄糖-1-磷酸盐和 γ -羟基丁酸,其中葡萄糖-1-磷酸盐与PC1负相关,与PC2正相关;而 γ -羟基丁酸与PC1正相关,与PC2负相关。

3 结论与讨论

土壤微生物数量、组成及群落功能多样性受地上作物类型和施肥制度影响。本研究中无论施肥与否大豆连作处理的细菌和真菌数量显著高于小麦和玉米连作处理,这可能是由于大豆根系分泌物中脂肪酸较多能够活化土壤中难溶态的养分,为微生物提供丰富的营养物质,有利于土壤微生物的生长和繁殖^[15-16];而施肥又促进大豆生长发育,长势旺盛的大豆根系分泌物含量增多,因此种植大豆处理土壤中细菌和真菌数量较高。玉米和小麦是禾本科作物,吸收的营养物质主要来源于土壤,玉米和小麦生长发育期间会吸收土壤中较多的N素,而引起土壤中C/N失调,造成土壤中微生物数量相对较低。放线菌各处理施肥后均增加,但是与不施肥条件下3种作物的变化规律不一致。



注:C1:水,C2: β -甲基-D-葡萄糖苷,C3:D-半乳糖酸- γ -内酯,C4:*L*-精氨酸,C5:丙酮酸甲酯,C6:D-木糖,C7:D-半乳糖醛酸,C8:*L*-天门冬酰胺,C9:吐温40,C10:*i*-赤藓糖醇,C11:2-羟基苯甲酸,C12:*L*-苯基丙氨酸,C13:吐温80,C14:D-甘露醇,C15:4-羟基苯甲酸,C16:*L*-丝氨酸,C17: α -环式糊精,C18:*N*-乙酰-D-葡萄糖胺,C19: γ -羟基丁酸,C20:*L*-苏氨酸,C21:肝糖,C22:D-葡萄糖胺酸,C23:衣康酸,C24:甘氨酸-*L*-谷氨酸,C25:D-纤维二糖,C26: α -D-葡萄糖-1-磷酸,C27: α -丁酮酸,C28:苯乙胺,C29: α -D-乳糖,C30:D,*L*- α -磷酸甘油,C31:D-苹果酸,C32:腐胺。

Note: C1: Water; C2: β -methyl-D-glucoside; C3: D-Galactono- γ -lactone; C4: *L*-Arginine; C5: Pyruvic acid methyl ester; C6: D-Xylose; C7: D-Galacturonic acid; C8: *L*-Asparagine; C9: Tween 40; C10: *i*-Erythritol; C11: 2-Hydroxybenzoic acid; C12: *L*-Phenylalanine; C13: Tween 80; C14: D-Mannitol; C15: 4-Hydroxybenzoic acid; C16: *L*-Serine; C17: 2-Cyclodextrin; C18: *N*-Acetyl-D-glucosamine; C19: γ -Hydroxybutyric acid; C20: *L*-Threonine; C21: Glycogen; C22: D-glucosaminic acid; C23: Itaconic acid; C24: Glycyl-*L*-glutamic acid; C25: D-Cellobiose; C26: α -D-Glucose-1-phosphate; C27: α -Ketobutyric acid; C28: Phenylethylamine; C29: α -D-Lactose; C30: D, *L*- α -Glycerol phosphate; C31: D-Malic acid; C32: Putrescine.

图4 各碳源主成分载荷分布(120 h)

Fig.4 Loading distribution of each carbon-source

研究施肥和作物对土壤微生物群落功能多样性的影响具有重要的意义^[17-18]。AWCD能够准确反映土壤微生物碳源代谢活性的大小,本研究结果表明不同作物AWCD值在整个培养期均表现为:施肥>不施肥,这与王光华等^[19]、张瑞等^[18]和李东坡等^[20]研究结果相似。单施化肥农田土壤微生物对碳源的利用能力高于不施肥处理,李秀英等^[21]研究表明,单施化肥土壤固氮菌、硝化细菌、纤维分解菌数量高于不施肥处理,而氨化细菌、反硝化细菌数量却低于不施肥处理。李东坡等^[20]研究也表明,黑土长期施用化肥处理土壤微生物量磷含量高于不施肥处理。土壤营养元素缺乏或者施肥不均衡对微生物群落的多样性产生负效应。丁建莉等^[2]研

究表明,黑土上长期施用化肥处理的 AWCD 值高于不施肥处理,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。

本研究中主成分分析散点图中不施肥和施肥处理完全分开,即 3 种作物施肥处理的碳源利用能力相似,同时也表明施肥对土壤微生物碳源利用能力的影响大于作物对它们的影响。施肥对微生物的影响归结为以下 3 个方面:(1)施用肥料种类与数量;(2)土壤原有的肥力;(3)施肥时间的长短。通过这些方面实现对微生物的促进、抑制或无影响。施用化肥后作物及其凋落物的数量增多影响土壤养分转化,进而影响土壤微生物的功能多样性^[22]。在作物生长季施肥会引起植物根系释放大量的根系分泌物,使得土壤微生物生长旺盛、繁殖速度加快,代谢活性增高^[23-24]。培养 120 h 时不施肥条件下 3 种作物的 AWCD 值变化表现为:小麦>玉米>大豆,而施肥后则表现为:大豆>小麦>玉米。大豆是豆科植物,对土壤孔隙度、容重和团聚体有改良作用,此外大豆固氮作用可以提高土壤氮素营养及有机质含量,从而增强土壤微生物群落代谢活动^[25-27]。张旭^[28]研究表明豌豆在播前和收后土壤微生物利用碳源的能力低于小麦土壤微生物,这可能是由于豆科作物根际的分泌物对土壤中的微生物活动产生了抑制作用,豆科作物为固氮微生物提供了适宜的生长环境,导致固氮微生物成为优势微生物,从而降低了豆科作物土壤微生物群落的多样性^[29]。

不同作物与施肥条件下土壤微生物对单一碳源的利用存在差异性和相似性。本研究中不同作物与施肥条件下土壤微生物在对碳水化合物类的利用上呈现明显偏好,玉米和小麦连作处理下土壤微生物对羧酸类的利用显著高于大豆连作处理;此外施肥后 3 种作物对多聚物的利用显著高于不施肥处理。本研究中小麦连作不施肥处理对碳水化合物、羧酸类和胺类的利用率最高,施肥后则对碳水化合物和多聚物利用率最高。而刘晶鑫^[30]在黑土上的研究表明,种植小麦长期施用 NPK 在 0~20 cm 土层中土壤微生物对羧酸类碳源的利用率最高,不施肥处理土壤微生物对氨基酸类和聚合物类碳源利用率最高;而在 20~40 cm 处,不施肥处理土壤微生物对羧酸类和胺类碳源的利用率最高。虽然都是黑土,但是取样时期不同,土壤微生物的数量和活性不同,导致土壤微生物对不同碳源的利用率也不同。Nautiyal 等^[31]研究表明,农田管理措施下的

土壤主要利用胺类和羧酸类,而相邻的休闲草地则主要利用碳水化合物和多聚物。此外 Nivelles 等^[32]研究表明,有种植豆科植物处理下的土壤微生物功能多样性较高,具有较高的碳水化合物利用能力及酚酸分解能力。采用 Biolog 微孔板技术能够反映出不同施肥和作物下土壤微生物群落的新陈代谢活性和功能多样性的差异,但由于其不能反映生长缓慢和平板不可培养的微生物^[33],因此低估了土壤中微生物的实际情况^[34]。

4 结 论

本文以黑土区施肥和不施肥条件下大豆、小麦和玉米连作 14 a 土壤为研究对象,采用常规平板稀释法和 Biolog Eco 微平板培养法分析了土壤微生物功能多样性,得到如下结论:

(1)不论施肥与否,土壤微生物总数量以大豆连作处理显著高于小麦和玉米连作处理。细菌数量的变化均表现为大豆>小麦>玉米;真菌数量以大豆连作处理最高;不施肥条件下放线菌数量变化表现为玉米>小麦>大豆,施用化肥后则表现为:小麦>大豆>玉米。

(2)整体上不施肥处理条件下以小麦连作处理的 AWCD 显著高于大豆和玉米连作处理,施化肥条件下则以大豆连作处理的 AWCD 显著高于小麦和玉米连作处理。培养 120 h 时不施肥 3 种作物之间,AWCD 值表现为小麦连作处理显著高于玉米和大豆连作处理,而施肥后不同作物处理则表现为大豆连作处理显著高于小麦和玉米连作处理。

(3)3 种作物连作条件下土壤微生物利用各类碳源的能力均表现为施肥处理高于不施肥处理,且各组之间差异较大。不施肥条件下大豆、玉米和小麦连作处理利用最多的碳源是碳水化合物类,施肥后不同连作处理利用最多是碳水化合物类和多聚物类;不同作物利用率最高的碳源不同,其中碳水化合物 α -D-乳糖在不同处理中均被高效利用。

(4)Biolog Eco 结果表明化肥施用和作物均会改变土壤微生物对碳源的利用,但施肥的影响大于作物的影响。

参 考 文 献:

- [1] 张志明,许艳丽,韩晓增,等.连续施肥对农田黑土微生物功能多样性的影响[J].生态学杂志,2012,31(3):647-651.
- [2] 丁建莉,姜昕,关大伟,等.东北黑土微生物群落对长期施肥及作物的响应[J].中国农业科学,2016,49(22):4408-4418.
- [3] Smith S D, Huxman T E, Zitzer S F, et al. Elevated CO₂ increases productivity and invasive species success in an arid ecosystem [J].

- Nature, 2000, 408(6808): 79-82.
- [4] 谭周进, 周卫军, 张杨珠, 等. 不同施肥制度对稻田土壤微生物的影响研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(3): 430-435.
- [5] 罗希茜, 郝晓晖, 陈涛, 等. 长期不同施肥对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(2): 740-748.
- [6] 王才斌, 郑亚萍, 梁晓艳, 等. 施肥对旱地花生主要土壤肥力指标及产量的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(4): 1300-1307.
- [7] 文东新, 杨宁, 杨满元. 衡阳紫色土丘陵坡地植被恢复对土壤微生物功能多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2016, 27(8): 2645-2654.
- [8] Deng H, Yu Y J, Sun J E, et al. Parent materials have stronger effects than land use types on microbial biomass, activity and diversity in red soil in subtropical China [J]. *Pedobiologia*, 2015, 58(2&3): 73-79.
- [9] Kiikkilä O, Kitunen V, Smolander A. Dissolved soil organic matter from surface organic horizons under birch and conifers: Degradation in relation to chemical characteristics [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(4): 737-746.
- [10] Mekuria W. Conversion of communal grazing lands into exclosures restored soil properties in the semi-arid lowlands of northern Ethiopia [J]. *Arid Land Research and Management*, 2013, 27(2): 153-166.
- [11] Insam H. A new set of substrates proposed for community characterization in environmental samples[M]. Berlin: Springer-verlag Heidelberg, 1997: 259-260.
- [12] Zak J C, Willig M R, Moorhead D L, et al. Functional diversity of microbial communities – a quantitative approach[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26(9): 1101-1108.
- [13] Qian X, Gu J, Sun W, et al. Changes in the soil nutrient levels, enzyme activities, microbial community function, and structure during apple orchard maturation [J]. *Applied Soil Ecology*, 2014, 77: 18-25.
- [14] Classen A T, Boyle S I, Haskins K E, et al. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 44(3): 319-328.
- [15] 曲晓华, 赵晓燕, 马杰, 等. 大豆根系分泌中特定物质对土壤微生物活性的影响[J]. 福建农林学报, 2015, 30(3): 298-302.
- [16] 刘苹, 赵海军, 仲子文, 等. 三种根系分泌脂肪酸对花生生长和土壤酶活性的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(11): 3332-3339.
- [17] Tam L, Derry A M, Kevan P G, et al. Functional diversity and community structure of microorganisms in rhizosphere and non-rhizosphere Canadian arctic soils [J]. *Biodiversity and Conservation*, 2001, 10(11): 1933-1947.
- [18] 张瑞, 张贵龙, 陈冬青, 等. 不同施肥对农田土壤微生物功能多样性的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(2): 133-139.
- [19] 王光华, 刘俊杰, 齐晓宁, 等. Biolog 和 PCR-DGGE 技术解析施肥对德惠黑土细菌群落结构和功能的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(1): 220-226.
- [20] 李东坡, 武志杰, 陈利军. 有机农业施肥方式对土壤微生物活性的影响研究[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(2): 99-101.
- [21] 李秀英, 赵秉强, 李絮花, 等. 不同施肥制度对土壤微生物的影响及其与土壤肥力的关系[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1591-1599.
- [22] 杨满元, 杨宁, 郭锐, 等. 衡阳紫色土丘陵坡地恢复过程中土壤微生物数量特征[J]. 生态环境学报, 2013, 22(2): 229-232.
- [23] Rodriguez-Lozano G, Onaindia M, Amezcaga I, et al. Relationship between vegetation diversity and soil functional diversity in native mixed-oak forests [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(1): 49-60.
- [24] Yin R, Deng H, Wang H L, et al. Vegetation type affects soil enzyme activities and microbial functional diversity following re-vegetation of a severely eroded red soil in sub-tropical China [J]. *Catena*, 2014, 115: 96-103.
- [25] 杜天庆, 苗果园, 郝建平, 等. 不同类型豆科植物对黄土母质生土的改土效果[J]. 水土保持学报, 2011, 25(6): 76-80+86.
- [26] 杨珍平, 郝敏敏, 卜玉山, 等. 苜蓿根系生长对黄土母质生土的改良效应[J]. 草地学报, 2012, 20(3): 489-496.
- [27] 张志明, 韩晓增. 黑土母质熟化过程微生物群落碳源代谢特征[J]. 生态学报, 2015, 35(21): 6957-6964.
- [28] 张旭. 不同耕作措施对陇中黄土高原土壤微生物功能多样性的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2017.
- [29] Perret X, Staehelin C, Broughton W J. Molecular basis of symbiotic promiscuity [J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2000, 64(1): 180-201.
- [30] 刘晶鑫. 黑土长期定位试验原状土搬迁对土壤微生物的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2015.
- [31] Nautiyal C S, Chauhan S, Bhatia C R. Changes in soil physico-chemical properties and microbial functional diversity due to 14 years of conversion of grassland to organic agriculture in semi-arid agroecosystem [J]. *Soil & Tillage Research*, 2010, 109(2): 55-60.
- [32] Nivellet E, Verzeaux J, Habbib H, et al. Functional response of soil microbial communities to tillage, cover crops and nitrogen fertilization [J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, 108: 147-155.
- [33] 李春格, 李晓鸣, 王敬国. 大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(4): 1144-1150.
- [34] 章家恩, 蔡燕飞, 高爱霞, 等. 土壤微生物多样性实验研究方法概述[J]. 土壤, 2004, 36(4): 346-350.