

生草对沙地葡萄园土壤微生物群落 碳源利用特征的影响

司 鹏,于会丽,高登涛,邵 微,乔宪生,陈锦永
(中国农业科学院郑州果树研究所,河南 郑州 450009)

摘 要: 为了研究葡萄园行间生草处理对土壤微生物群落功能多样性的影响,以清耕为对照,运用 Biolog-Eco 板技术,分析生草处理下的土壤微生物群落碳源利用特征。结果表明:生草处理的 AWCD 值和多样性指数(Shannon-Wiener 多样性指数、Simpson 优势度指数和丰富度指数)均显著高于清耕对照,且随土层深度的增加均呈下降趋势,以生草 0~20 cm 土层处理最高;与清耕对照相比,生草处理土壤微生物对 6 类碳源利用强度均显著增加,平均增幅顺序为:羧酸类化合物>酚酸类化合物>胺类化合物>碳水化合物类>氨基酸类>聚合物。主成份分析表明,清耕对照和生草处理分布在不同区域,表明两处理土壤微生物存在一定的代谢差异性,生草显著改变了土壤微生物群落功能,并对土壤微生物代谢羧酸类化合物、碳水化合物和酚酸类化合物 3 类碳源的影响最为明显。结果提示,生草有利于葡萄园土壤微生物群落结构的改善。

关键词: 生草;土壤微生物功能多样性;Biolog-Eco 技术
中图分类号: S663.1 **文献标志码:** A

Effects of intercropping herbages on carbon source metabolism of soil microbial community in sandy vineyard

SI Peng, YU Hui-li, GAO Deng-tao, SHAO Wei, QIAO Xian-sheng, CHEN Jin-yong
(Institute of Zhengzhou Fruit Research, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou, He'nan 450009, China)

Abstract: In order to study the functional diversity of soil microbial community in vineyard intercropping with herbage, the Biolog-Eco technology was used to analyze the utilization features of carbon sources by microbial community, with clean cultivation as the control. The results revealed that the average well color development (AWCD) and diversity indices (Shannon-Wiener index, Simpson index and richness index) under herbage intercropping were significantly increased compared with the control, and they decreased as soil depth increasing, with the highest values in 0~20 cm soil layer under herbage intercropping. Additionally, the utilization intensity of 6 carbon substrates was enhanced by herbage intercropping, and the increase rate was ranked as: carboxylic acids>phenolic acid>amines>carbohydrates>amino acids>polymer. The principal component analysis showed that samples of control and herbage intercropping were distributed in different zones, which meant that the function of soil microbial community was obviously altered by herbage intercropping. Carboxylic acids, carbohydrates and phenolic acids were the most sensitive carbon sources in the aspect of soil microbial metabolism induced by herbage intercropping. Overall, herbage intercropping could not only enrich the diversity of microbial community, but also improve its structure in sandy vineyard.

Keywords: herbage intercropping; soil microbial functional diversity; Biolog-Eco technology

果园生草是果园生态培育的一种土壤管理模式^[1-2],已在欧美、日本等果树生产发达国家广泛应用^[3-4]。行间生草可降低果园土壤容重,提高总孔隙度,增强土壤通气透水性,提高土壤酶活性,从而改善土壤肥力^[5-8]。近几年,在李^[9]、梨^[10]、葡萄^[11-12]等果树上的研究发现,行间生草还可提高果园土壤酶活性,增加微生物数量,并对土壤微生物数量及其群落中真菌、细菌和放线菌的比例有良好

的调节作用。

土壤微生物是土壤生态系统重要组成,参与土壤中有有机质转化、养分循环以及生物腐殖以及降解^[13],能够快速应对土壤环境的改变^[14],并及时反映土壤的肥力状况^[15],并影响地表植物的生长^[16]。Biolog – Eco 分析技术通过分布于 96 孔中的碳源底物来分析微生物生理代谢特征^[17],BiologTM 的 Eco 测试板 (Eco MicroPlate, 美国 Matrix Technologies Corporation) 含有 3 套 31 种不同碳源 (其中碳水化合物 8 种、氨基酸类 6 种、羧酸类化合物 7 种、聚合物 3 种、胺类化合物 3 种、酚酸类化合物 2 种), 一个板可以测 3 个平行。与微生物 rRNA (rDNA) 和磷酸脂肪酸方法相比, Biolog – Eco 板技术更为简单快速, 能够广泛应用于评价不同植被类型^[18-19]、不同土壤类型^[20] 及不同管理模式^[21-22] 下土壤的微生物群落功能多样性^[23]。徐华勤等^[24] 在茶园间作三叶草的研究中发现, 生草能够提高土壤微生物整体活性和丰富度, 但降低了微生物的均匀度。滕应等^[25] 认为生草可提高铜矿区复垦红壤土壤微生物 AWCD 值。

表 1 清耕和生草土壤的土壤基本理化性状					
Table 1 Basic physical and chemical properties of soil under clean cultivation and herbage intercropping					
处理 Treatment	有机质/(g·kg ⁻¹) Organic matter	硝态氮/(mg·kg ⁻¹) NO ₃ ⁻ – N	氨态氮/(mg·kg ⁻¹) NH ₄ ⁺ – N	有效磷/(mg·kg ⁻¹) Available P	速效钾/(mg·kg ⁻¹) Available K
清耕 Clean cultivation	8.40	3.59	10.33	10.5	84.21
生草 Herbage	11.08	5.60	13.66	23.21	143.91

1.2 试验设计

2009 年 10 月设置生草处理。行间间作毛叶苕子设为处理,播种量均为 5 kg·667 m⁻², 每年刈割 1~2 次,树干距生草带各 50 cm。以地面清耕为对照 (CK), 对照采用人工除草。对照与处理其他管理措施完全相同。

1.3 土样采集

2015 年 3 月 15 日在清耕对照区与生草处理区采集土壤样品, 取样方法为梅花形布点法, 选 5 个点, 每个点用土钻分别取 0~20、20~40 cm 和 40~60 cm 土层的土样, 剔除石块、植物残根等杂物后, 每层土样分别混合于无菌封口保鲜袋, 于 4℃ 的冰箱中保存, 待测。

1.4 Biolog – Eco 分析

称取相对于 1 g 风干土的新鲜土样, 加入到盛有 99 mL 0.85% NaCl 无菌溶液的三角瓶中, 封口后在摇床上震荡 (200 r·min⁻¹) 30 min, 使土样与生理盐水充分混匀, 再放置在 4℃ 冰箱内静置 30 min, 然后加样于 Biolog – Eco 微孔板中, 每孔加入 150 μL。

但由于相关研究仍开展较少, 果园生草对土壤微生物功能多样性的研究尚不系统。

本研究运用 Biolog – Eco 板技术, 对主要耕作层 (0~60 cm) 进行土壤微生物功能多样性研究, 旨在探讨生草对葡萄园土壤微生物碳代谢特征的影响, 以为制定生草措施, 改善葡萄园土壤质量提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验在中国农业科学院郑州果树研究所国家葡萄种质资源圃内进行。资源圃位于东经 113°42′, 北纬 34°48′, 海拔 110.4 m。年平均气温 14.2℃, 全年总积温 4 658.1℃。年降雨量 666 mm, 7—8 月降雨量 270 mm, 占全年降雨的 42%。全年平均相对湿度 66%。年日照 2 436 h, 无霜期 213 d。土壤为褐色土类, 质地为沙壤土, pH 7.1~7.5, 呈微碱性, 土壤理化性质如表 1。株行距为 1 m×3 m, 南北行向。

将加好样的 Biolog – Eco 微孔板加盖, 25℃ 恒温暗培养, 每隔 24 h Biolog – Eco 微生物分析系统读取 590 nm 波长的光密度值, 连续测定 192 h。采用培养 120 h 的数据进行土壤微生物碳源利用分析和主成分分析。

1.5 微生物群落功能多样性的计算

土壤微生物群落利用碳源的整体能力用平均吸光值 (AWCD) 表示, 其计算公式为: $AWCD = \sum (C_i - R) / n$ 式中: C_i 为所测定的 31 个碳源孔的吸光值; R 为对照孔的吸光值; n 为培养基碳源总数 (本研究中为 31)。

丰富度 (Richness) 指数 S , 指被利用的碳源的总数, 为每孔中 $(C - R)$ 的值大于 0.25 的孔个数。

Shannon – Wiener 多样性指数: $H' = - \sum (P_i \cdot \ln P_i)$

式中, P_i 为有培养基的孔和对照孔的光密度值差与整板总差的比值, 即 $P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R)$ 。

优势度 Simpson 指数 (D), 是对多样性方面的集中性度量, D 称为 Gini 指数 (1921 年 Gini 提出)。

Simpson 指数: $D = 1 - \sum P_i^2$ 。均匀度 (Evenness) 指数 (E), 是群落实测多样性与最大多样性的比率。均匀度指数计算公式为:

$$E = H' / \ln S$$

式中, S 为被利用的碳源总数。

1.6 数据统计分析

采用 Microsoft Excel 2007 进行数据处理用; Canoco 4.5 进行主成分分析 (PCA) 和 SPSS 17.0 进行相关分析; 用统计软件 SAS 8.2 进行单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 作为显著性的标准。

2 结果与分析

2.1 生草与清耕对土壤微生物 AWCD 值的影响

AWCD 可以用来表示微生物的代谢平均活性, 能直观的体现微生物群落反应速度和程度。由图 1 可知, 随着培养时间的延长, 各处理的 AWCD 值呈 S 曲线模式。生草与清耕的土壤微生物活性均随时间的增加而提高。24 h 内, 生草与清耕土壤微生物活性均无显著变化, 说明在 24 h 内碳源基本未被利用; 48 h 以后, 随着培养时间延长微生物活性快速增加, 微生物碳代谢速率明显加快, 但生草与清耕比较, 土壤微生物碳代谢速率提高。在培养结束时, 生草处理三个土层的 AWCD 值均高于清耕对照, 说明生草能提高土壤微生物 AWCD 值, 其中 0~20 cm 土层增加幅度最大, 生草处理对该土层土壤微生物碳

代谢影响最大。

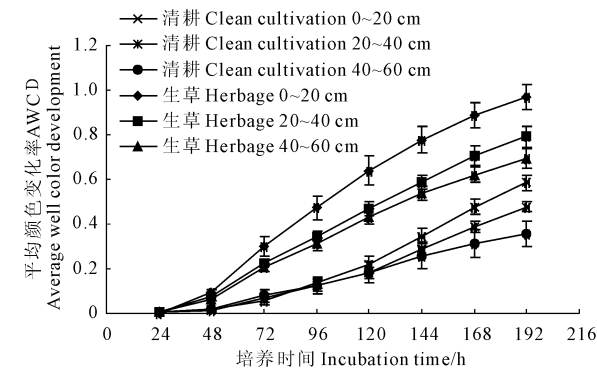
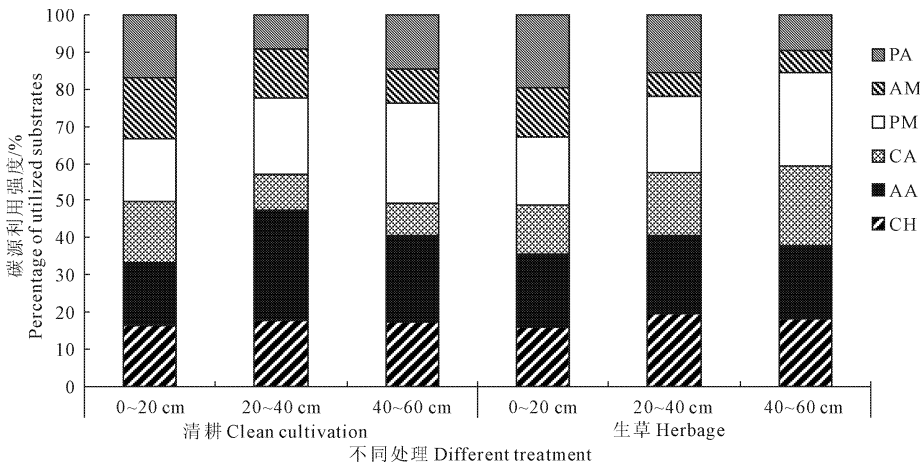


图 1 不同处理土壤微生物 AWCD 随培养时间的变化
Fig.1 Changes of average well color development during incubation of soil microbial community under different treatments

2.2 生草与清耕处理对土壤微生物利用碳源类型的影响

根据化学基团的性质, 将 Biolog - Eco 板上的 31 种碳源分成 6 类, 即碳水化合物、氨基酸类、羧酸类化合物、聚合物、胺类化合物、酚酸类化合物, 将生草处理与对照不同土层的 6 大类碳源在 120 h 的光密度数据 ($C - R$) 值进行平均 (见图 2)。由图 2 可知, 清耕与生草处理下, 葡萄园土壤微生物对六类碳源的利用情况有一定差异, 但碳源相对利用率总体以聚合物、氨基酸类和碳水化合物较高, 羧酸类、胺类和酚酸类化合物较低。



注: CH: 碳水化合物; AA: 氨基酸类; CA: 羧酸类; PM: 聚合物; AM: 胺类; PA: 酚酸类化合物, 下同。
Note: CH: carbohydrate; AA: amino acids; CA: carboxylic acids; PM: polymer; AM: amine; PA: phenolic acid compound. The same below.

图 2 不同处理土壤微生物对碳源利用百分比

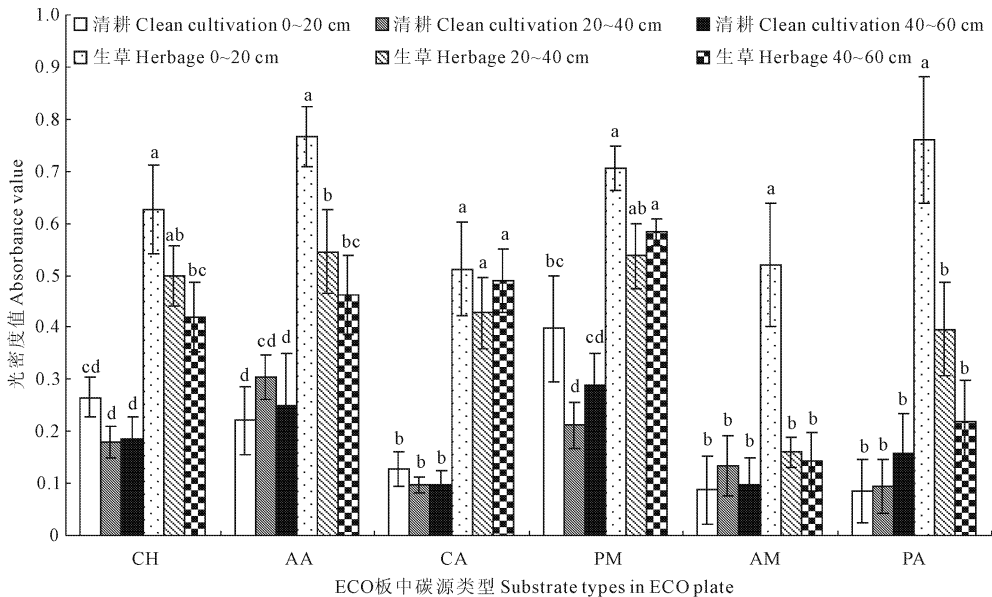
Fig.2 Percentage of utilized substrates by soil microbes under different treatments

由图 3 可知, 生草处理与清耕对照的土壤微生物对 Biolog - Eco 板中每一类碳源的利用程度存在较大差异。与对照相比, 生草处理显著提高了微生物对碳源的利用程度, 对碳水化合物、氨基酸类、羧

酸类化合物、聚合物、胺类化合物和酚酸类化合物六类碳源平均利用程度分别提高了 144.05%、128.62%、344.87%、103.29%、157.97% 和 308.43%。除聚合物类碳源以外, 生草处理土壤微

生物对其他 5 类碳源利用强度均随土层深度的增加而降低,对聚合物类碳源利用强度表现为,0 ~ 20 cm 土层土壤微生物对氨基酸类、胺类和酚酸类化合物利用与其它两土层差异显著;而对照处理的土壤微生物对 6 类碳源利用强度的变化在不同土层间无显著差异;在同一土层中,与对照相比,生草处理土壤

微生物对碳水化合物、氨基酸类、羧酸类化合物、聚合物、胺类化合物和酚酸类化合物碳源的利用增幅最大的土层分别是 20 ~ 40、0 ~ 20、40 ~ 60、20 ~ 40、0 ~ 20 cm 和 0 ~ 20 cm,增幅依次为 176. 78%、246. 87%、406. 53%、153. 56%、491. 16% 和 801. 48%,差异达显著水平。



注:不同字母分别表示相同碳源模式下不同处理间 0.05 水平下的差异显著性 ($P < 0.05$),下同。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level, the same below.

图 3 不同处理土壤微生物对 6 类碳源的利用强度
Fig.3 Utilization intensity of microbes to six types of substrate under different treatments

2.3 生草与清耕处理对土壤微生物多样性的影响
根据 Biolog – Eco 板培养 120 h 光密度数据 ($C - R$)值,计算 120 h 的 Shannon – Wiener 指数、优势

度指数、丰富度指数和均匀度指数(见表 2)。从表 2 可知,不同处理各土层微生物生态学指数差异规律不同。

表 2 不同处理微生物群落多样性指数		Table 2 Diversity indices of microbial community under different treatments			
处理 Treatment		Shannon – Wiener 指数 Shannon – Wiener index	优势度指数 Simpson index	丰富度指数 Richness index	均匀度指数 Evenness index
清耕 Clean cultivation	0 ~ 20 cm	2.7 ± 0.05c	0.91 ± 0.007b	9.17 ± 1.47d	1.31 ± 0.12a
	20 ~ 40 cm	2.48 ± 0.05d	0.88 ± 0.01c	7.17 ± 1.28d	1.34 ± 0.09a
	40 ~ 60 cm	2.46 ± 0.06d	0.89 ± 0.009c	13.17 ± 1.3c	1.18 ± 0.09ab
生草 Herbage	0 ~ 20 cm	3.19 ± 0.07a	0.95 ± 0.004a	22.17 ± 1.6a	1.04 ± 0.03b
	20 ~ 40 cm	2.94 ± 0.04b	0.94 ± 0.003a	17.83 ± 1.25b	1.03 ± 0.01b
	40 ~ 60 cm	2.96 ± 0.03b	0.93 ± 0.004a	16.67 ± 1.05bc	1.06 ± 0.02b

由表 2 可知,清耕对照与生草处理的 Shannon – Wiener 多样性指数均随着土层深度的增加呈下降趋势:0 ~ 20 cm 土层的 Shannon – Wiener 指数显著高于其他两个土层,但 20 ~ 40 cm 与 40 ~ 60 cm 土层之间没有明显差异。与对照相比,生草处理 0 ~ 20、20 ~ 40 cm 和 40 ~ 60 cm 土层的 Shannon – Wiener 指数分

别显著提高 18. 14%、18. 54%、20. 32%。优势度指数变化趋势与 Shannon – Wiener 指数类似(见表 2);生草处理优势度指数均显著高于对照,其中以 0 ~ 20 cm 土层最高,较对照同一土层提高 4. 39%,差异达显著水平,但生草处理不同土层间优势度指数差异不显著。相同处理不同土层下微生物丰富度指数

不同(见表 2):生草处理的丰富度指数大小的顺序依次为 0~20 cm>20~40 cm>40~60 cm,但清耕对照以 40~60 cm 土层最大,其次是 0~20 cm 土层;与清耕对照相比,生草处理不同土层微生物丰富度指数平均提高了 92.04%。从表 2 还可以看出,生草处理微生物均匀度指数均低于对照,但同一处理土层之间无显著差异。

2.4 土壤微生物功能多样性主成分分析

为研究葡萄园生草和清耕两种地面管理技术的微生物群落碳源利用多样性特点,选择 120 h 作为取样时间点,对 Biolog 测试获得数据进行标准化变换后,应用 Canoco for Windows 4.5 进行主成分分析。分别提取 4 个主成分,第 1 主成分(PC1)为 82.9%,第 2 主成分(PC2)为 8.2%,第 3 主成分(PC3)为

5.7%,第 4 主成分(PC4)为 2.2%,其中前两个主成分积累贡献率达 91.1%。因此,取前两个主成分得分作图来表征不同处理微生物群落碳源代谢特征(图 4);处理间距离的大小表示处理间的相似程度,距离越近相似程度越高。如图 4 所示,清耕对照和生草处理分布在不同区域,处理间样点离散程度较大,其中,清耕对照土层样点主要分布在第二和第三象限,即分布图的左侧,与 PC1 呈负相关;生草土层样点主要分布在第一和第四象限,与 PC1 呈正相关;清耕 3 个土层样点在 PCA2 上有所差距,生草各土层样点在 PCA1 和 PCA2 上差距均较大,样点间距离较远,表明果园生草显著改变了葡萄根际微生物群落功能多样性。

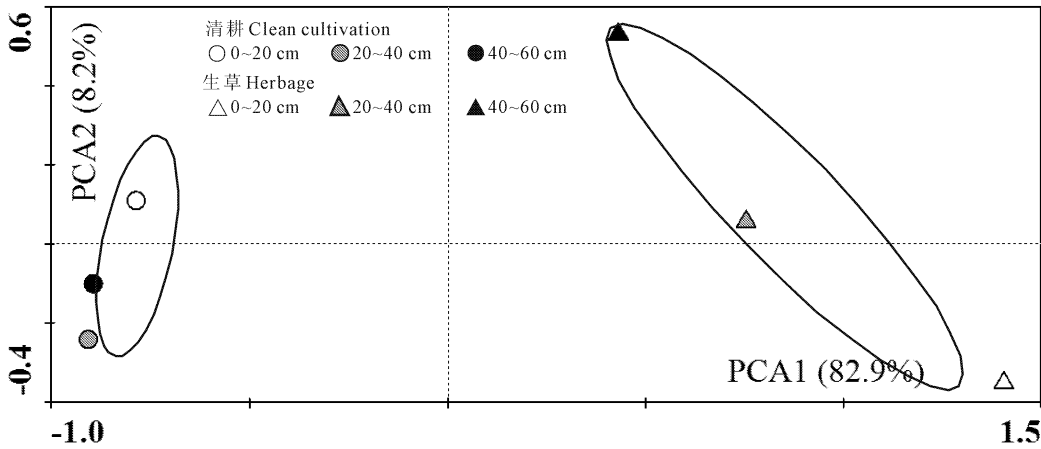


图 4 不同处理的微生物功能多样性主成分(PCA)分析

Fig. 4 Principal component analysis for function of microbial community under different treatments

为了找到对 PC1 和 PC2 影响较大的碳源种类,进一步利用 PC1 和 PC2 得分系数与 31 种碳源吸光度值进行相关分析得到相关系数,相关系数绝对值越大,表示该碳源对主成分的影响越大。从表 3 可看出,除 a-D-乳糖碳源外,其他 30 个碳源均与 PC1 有高的相关性(相关系数 $r>0.6$)^[26],其中达到显著相关的碳源有 22 种,即碳水化合物类(7 个)、氨基酸类(5 个)、羟酸类化合物(5 个)、聚合物类(3 个)、胺类化合物(1 个)和酚酸类化合物酸类(1 个)。而与 PC2 具有较高相关性的碳源仅有 3 类,分别为羧酸类化合物、碳水化合物和酚酸类化合物,各为 1 个。以上分析表明,在 PC1 和 PC2 上相关性较高的碳源主要是羧酸类化合物、碳水化合物和酚酸类化合物,表明这 3 类碳源是区分清耕对照和生草处理间差异的敏感碳源。

表 4 列出了生草与清耕处理下土壤微生物利用

率较高的碳源和未被利用的碳源,生草处理利用较高碳源种类多于清耕对照,生草处理 0~20、20~40 cm 和 40~60 cm 土层微生物利用率较高的碳源种类分别有 6 种、3 种、3 种,3 个土层中利用率较高的共同碳源有 L-天冬酰胺酸和 D-甘露醇 2 种,清耕对照只有 20~40 cm 土层有 1 种利用率较高的碳源,为 L-天冬酰胺酸。从表 3 中还可看出,生草处理未被利用的碳源少于清耕果园,其中 0~20 cm 土层有 2 种碳源均被利用,20~40 cm 和 40~60 cm 土层未被利用碳源分别为 5 种和 6 种, α -丁酮酸碳源均未被生草处理利用;清耕对照 0~20、20~40 cm 和 40~60 cm 土层未被利用碳源种类分别有 6 种、12 种、15 种,其中,有 5 种碳源均未被利用,分别为 2-羟苯甲酸、L-苯基丙氨酸、L-苏氨酸、 α -丁酮酸和苯乙基胺。

表 3 31 种碳源与 PC1、PC2 的相关系数(*r*)

Table 3 The correlation coefficients of 31 carbon substrates with PC1 and PC2			
碳源类别 Carbohydrates	底物 Substrates	主成分 1 PC1(<i>r</i>)	主成分 2 PC2(<i>r</i>)
碳水化合物 Carbonhydrates	β-甲基-D-葡萄糖苷	0.80	
	D-半乳糖酸-γ-内酯	0.97*	
	D-木糖	0.93*	
	i-赤藻糖醇	0.92*	
	D-甘露醇	0.92*	
	N-乙酰基-D-葡萄糖胺	0.92*	
	D-纤维二糖	0.89*	
	葡萄糖-1-磷酸盐	0.88*	
	α-D-乳糖		
氨基酸 Amino acids	D,L-α-甘油	0.76	-0.60
	L-精氨酸	0.98*	
	L-天冬酰胺酸	0.73	
	L-苯基丙氨酸	0.90*	
	L-丝氨酸	0.98*	
	L-苏氨酸	0.92*	
羧酸类化合物 Carboxylic acids	甘氨酸-L-谷氨酸	0.98*	
	丙酮酸甲酯	0.68	-0.68
	D-半乳糖醛酸	0.87*	
	r-羟基丁酸	0.97*	
	D-氨基葡萄糖酸	0.77	
	衣康酸	0.89*	
聚合物 Polymers	α-丁酮酸	0.85*	
	D-苹果酸	0.99*	
	吐温 40T	0.86*	
	吐温 80	0.91*	
胺类化合物 Amines	α-环状糊精	0.73	
	肝糖	0.95*	
酚酸类化合物 Phenolic acids	苯乙基胺	0.77	
	腐胺	0.88*	
	2-羟苯甲酸	0.78	0.60
	4-羟基苯甲酸	0.94*	

注：* 表示相关性达 5% 显著水平；表中未列数值者表示相关系数在 -0.6~0.6 之间。

Note: * indicates significant level at 0.05. When no value is given, the correlation coefficient is -0.6~0.6.

2.5 生草与清耕处理不同土层与 AWCD 值、生物功能多样性指标的相关性

由表 5 可知,清耕对照各土层与 Shannon - Wiener 指数呈线性极显著负相关,相关系数为 -0.60,而与其他指标相关性不大;生草处理各土层土壤 AWCD 值、Shannon - Wiener 指数、丰富度指数和优势度指数均呈极显著负相关,说明生草可以显

著提高土壤表层 0~20 cm 土层的微生物功能多样性,清耕对照对土壤土层间微生物群落影响不大。

3 讨 论

3.1 清耕和生草处理对土壤微生物 AWCD 值的影响

Biolog - Eco 碳源利用平均值 AWCD 可以反映微生物群落对 31 种单一碳源整体利用能力,它提供了在相同碳源下不同微生物对碳源利用相比较的可能性^[27],AWCD 值越大表明微生物密度越大,活性越高;反之微生物密度越小,活性越低^[28]。由图 1 可以看出,生草处理微生物 AWCD 值均显著高于清耕对照,说明果园生草可提高土壤微生物活性和群落功能多样性,改善了果园土壤环境(如表 2),这与钱进芳等^[29]和焦奎宝^[30]的研究结果相似。果园生草与土壤的良性关系可以归结为:一方面,生草可以改善土壤温度、水分及孔隙度,为微生物的生长营造了良好的生存环境;另一方面,草根茎系统的分泌物和果园枝叶残体为土壤中微生物的活动提供了必需的营养物质,有利于微生物的生长繁殖,从而增加了土壤微生物的多样性和代谢活性^[31-32],进而影响到土壤养分的矿化和微环境^[33]。此外,根据相关分析表明(表 4),生草处理的土层深度与 AWCD 值呈显著线性负相关关系,说明生草对葡萄园 0~20 cm 微生物群落影响较大;同时研究发现,生草 40~60 cm 土层微生物碳源利用能力显著高于清耕对照(见图 1),可能与生草处理能够疏松土壤,促进果树根系向更深处生长有关^[34-35],进而影响较深土层微生物群落。

3.2 清耕和生草处理对土壤微生物多样性指数的影响

多样性指数可以用来反映土壤微生物群落功能多样性。Shannon 指数主要反映了群落多样性的高低,Simpson 指数评估土壤中微生物群落优势度,较多的反映群落中最常见的物种,Pielou 指数是群落物种均一性的度量,是群落实测多样性与最大多样性的比率^[36]。杨智仙等^[37]和董艳等^[38]通过小麦间作桑豆发现,土壤多样性指数和丰富度指数均高于对照,本试验的结果与之类似;果园生草处理的多样性指数、优势度指数和丰富度指数显著高于清耕对照,在各土层间存在显著性差异(见表 2),同时与土壤深度呈极显著线性相关关系(表 4),而清耕处理土层间多样性指数均没有显著差异,说明生草提高了土壤各土层的微生物代谢多样性,并以 0~20 cm 土层多样性指数最大。

表 4 不同处理对 31 种碳源(基质)利用情况

Table 4 Utilization of microbes to 31 carbon substrates under different treatments

处理 Treatments	利用率较高的碳源(AWCD>1.00) Highly utilized carbon sources		未利用的碳源(AWCD<0.10) Unutilized carbon sources
清耕 Clean cultivation	0~20 cm	—	2-羟苯甲酸、L-苯基丙氨酸、L-苏氨酸、衣康酸、α-丁酮酸、苯乙基胺
	20~40 cm	L-天冬酰胺酸	D-木糖、2-羟苯甲酸、L-苯基丙氨酸、r-羟基丁酸、L-苏氨酸、肝糖、D-氨基葡萄糖酸、甘氨酸-L-谷氨酸、葡萄糖-1-磷酸盐、α-丁酮酸、苯乙基胺、L-α-甘油
	40~60 cm	—	β-甲基 D-葡萄糖苷、D-木糖、D-半乳糖醛酸、L-赤藻糖醇、2-羟苯甲酸、L-苯基丙氨酸、r-羟基丁酸、L-苏氨酸、肝糖、依糠酸、甘氨酸-L-谷氨酸、葡萄糖-1-磷酸盐、α-丁酮酸、苯乙基胺、L-α-甘油
生草 Herbage	0~20 cm	L-天冬酰胺酸、D-甘露醇、L-精氨酸、吐温 80、4-羟苯基甲酸、L-丝氨酸	α-丁酮酸、D,L-α-甘油
	20~40 cm	D-半乳糖醛酸、L-天冬酰胺酸、D-甘露醇	2-羟苯甲酸、r-羟基丁酸、L-苏氨酸、α-丁酮酸、苯乙基胺
	40~60 cm	L-天冬酰胺酸、吐温 80、D-甘露醇	β-甲基 D-葡萄糖苷、2-羟苯甲酸、L-苯基丙氨酸、L-苏氨酸、α-丁酮酸、苯乙基胺

表 5 生草与清耕处理不同土层深度与 AWCD 值和生物功能多样性指标的相关性(*r* 值)

Table 5 Correlation between different soil depth and AWCD value and biological functional diversity (*r* value)

处理 Treatment	AWCD	Shannon – Wiener 指数 Shannon – Wiener index	丰富度指数 Richness index	均匀度指数 Evenness index	优势度指数 Simpson index
清耕的土层深度 Soil depth of clean cultivation	– 0.17	– 0.60* *	0.42	– 0.23	– 0.40
生草的土层深度 Soil depth of herbage intercropping	– 0.61* *	– 0.71* *	– 0.59* *	0.18	– 0.63* *

注：* * 表示相关性达 1 %显著水平。 Note: * * indicates significant level at 0.01.

3.3 清耕和生草处理土壤微生物对碳源利用的影响

本研究发现,清耕对照和生草处理对 6 大类碳源利用呈现出与 AWCD 值的变化规律相同,其中,氨基酸类和聚合物类的利用率最高,而羧酸类、胺类和酚类化合物利用率较低(见图 2),这将为了解葡萄园土壤微生物营养需求提供支持,并为以后培养土壤微生物定向强化提供可靠依据,以利于土壤 C/N 平衡和物质循环。通过对 Biolog 生态板上 31 种单一碳源利用的主成分(PCA)分析可以比较不同处理间土壤微生物碳源利用的差异,本研究发现,前两个主成分(PC1/PC2)积累贡献率为 91.1%,主成分 1、主成分 2 解释了大部分的变异,生草处理主要分布于一、四象限,与清耕对照离散程度较大,说明生草对葡萄园微生物产生较大的影响。在 PC1 和 PC2 上相关性较高的碳源主要是羧酸类化合物、碳水化合物和酚酸类化合物碳源(见表 3),这 3 类碳源是区分清耕对照和生草处理间差异的敏感碳源。

群落水平多样性不仅要分析微生物对碳源利用模式,更要分析其中某一碳源的绝对利用情况,再结合其生态学意义,就能更好地了解微生物群落代谢特征。本试验研究发现,葡萄园清耕和生草处理共同

利用碳源(AWCD>1)为 L-天冬酰胺酸,L-天门冬酰胺属于酸性氨基酸,表明葡萄园土壤微生物对酸性氨基酸利用率较高;生草处理土壤对甘露醇和吐温-80 的利用率高于清耕土壤,可能与毛叶苕子根系分泌物有关,分泌物对甘露醇和吐温-80 为碳源的微生物有促进作用^[39],具体机制需进一步研究。

4 结 论

在生草和清耕两种地面管理技术下,土壤微生物对相同碳源利用、碳源代谢及速率上存在不同程度的差异,即:与清耕对照相比,果园生草处理土壤微生物平均吸光值、Shannon – Wiener 指数、Simpson 指数和丰富度显著增加,以 0~20 cm 土层值最大;同时,生草处理显著改善了果园土壤微生物群落,其对羧酸类化合物、碳水化合物和酚酸类化合物 3 类碳源的利用最为敏感。

参 考 文 献:

[1] 黄毅斌,应朝阳,郑仲登,等.红壤丘陵区生态果园建设的模式、技术与效应[J].福建农业学报,2000,15:182-184.

[2] 梅立新,李会科.渭北旱地苹果园生草小气候效应研究[J].干

- 旱地区农业研究, 2010, 28(1): 187-192.
- [3] Ripocha A, Celette F, Cinna J P, et al. Design of intercrop management plans to fulfill production and environmental objectives in vineyards[J]. *European Journal of Agronomy*, 2010, 32: 30-39.
- [4] Celette F, Findeling A, Gary C. Competition for nitrogen in an unfertilized intercropping system: The case of an association of grapevine and grass cover in a Mediterranean climate[J]. *European Journal of Agronomy*, 2009, 30: 41-51.
- [5] King A P, Berry A M. Vineyard $\delta^{15}\text{N}$, nitrogen and water status in perennial clover and bunch grass cover crop systems of California's central valley[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2005, 109: 262-272.
- [6] 王艳廷, 冀晓昊, 吴玉森, 等. 我国果园生草的研究进展[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(6): 1892-1900.
- [7] 李会科, 张广军, 赵政阳, 等. 渭北黄土高原旱地果园生草对土壤物理性质的影响[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(7): 2070-2076.
- [8] 惠竹梅, 李 华, 张振文, 等. 西北半干旱地区葡萄园生草对土壤水分的影响[J]. *干旱地区农业研究*, 2004, 22(4): 123-126.
- [9] 徐 雄, 张 健, 廖尔华. 四种土壤管理方式对李园土壤微生物和土壤酶的影响[J]. *土壤通报*, 2006, (5): 901-905.
- [10] 红 英, 孔 云, 姚允聪. 间作芳香植物对沙地梨园土壤微生物数量与土壤养分的影响[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(1): 140-150.
- [11] 惠竹梅, 岳泰新, 张 瑾, 等. 西北半干旱区葡萄园生草体系中土壤生物学特性与土壤养分的关系[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(11): 2310-2317.
- [12] Whitelaw-Weckert M A, Rahman L, Hutton R J, Coombes N. Permanent swards increase soil microbial counts in two Australian vineyards[J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 36(2): 224-232.
- [13] 田雅楠, 王红旗. Biolog 法在环境微生物功能多样性研究中的应用[J]. *环境科学与技术*, 2011, 34(3): 50-57.
- [14] 吕美蓉, 李忠佩, 刘 明, 等. 长期有机无机肥配合施用土壤中添加不同肥料养分后土壤微生物短期变化[J]. *生态与农村环境学报*, 2011, 27(4): 69-73.
- [15] Bucher A E, Lanyon L E. Evaluating soil management with microbial community-level physiological profiles[J]. *Applied Soil Ecology*, 2005, 29(1): 59-71.
- [16] Berendsen R L, Pieterse C M J, Bakker P A H M. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. *Trends in Plant Science*, 2012, 17(8): 478-486.
- [17] 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[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(18): 5225-5234.
- [18] Zak J C, Willig M R, Moorhead D L, et al. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach[J]. *Soil Biol Biochem*, 1994, 26(9): 1101-1108.
- [19] 毕江涛, 贺达汉, 沙月霞, 等. 荒漠草原不同植被类型土壤微生物群落功能多样性[J]. *干旱地区农业研究*, 2009, 27(5): 149-155.
- [20] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source-utilization[J]. *Appl. Environ. Microb.*, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [21] Bossio D D, Scow K M. Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils[J]. *Appl. Environ. Microb.*, 1995, 61(11): 4043-4050.
- [22] Buyer J S, Drinkwater L E. Comparison of substrate utilization assay and fatty acid analysis of soil microbial communities[J]. *J. Microb. Methods*, 1997, 30(1): 3-11.
- [23] 郑 华, 欧阳志云, 方治国, 等. BIOLOG 在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用[J]. *土壤学报*, 2004, (3): 456-461.
- [24] 徐华勤, 肖润林, 宋同清, 等. 稻草覆盖与间作三叶草对丘陵茶园土壤微生物群落功能的影响[J]. *生物多样性*, 2008, 16(2): 166-174.
- [25] 滕 应, 黄昌勇, 龙 健, 等. 复垦红壤中牧草根际微生物群落功能多样性[J]. *中国环境科学*, 2003, 23(3): 295-299.
- [26] Yin R, Deng H, Wang H, et al. Vegetation type affects soil enzyme activities and microbial functional diversity following revegetation of a severely eroded red soil in sub-tropical China[J]. *Catena*, 2014, 115: 96-103.
- [27] Choi K H, Dobbs F C. Comparison of two kinds of Biolog micro-plates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1999, 36(3): 203-213.
- [28] Garland J L. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1997, 24: 289-300.
- [29] 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[J]. *生态学报*, 2014, 34(15): 4324-4332.
- [30] 焦奎宝. 生草制苹果园土壤微生物群落结构与功能特征研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2014.
- [31] Jiao K, Qin S, Lyu D, et al. Red clover intercropping of apple orchards improves soil microbial community functional diversity[J]. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B – Soil & Plant Science*, 2013, 63(5): 466-472.
- [32] Kowalchuk G A, Buma D S, de Boer W, et al. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, 81(1): 509-520.
- [33] 李玉娣, 谷 洁, 付青霞, 等. 陕西云阳蔬菜大棚土壤养分及微生物群落功能多样性研究[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(4): 765-771.
- [34] 李 华, 惠竹梅, 房玉林, 等. 葡萄园生草对葡萄与葡萄酒质量的影响[J]. *果树学报*, 2005, 22(6): 101-105.
- [35] 李会科, 李金玲, 王雷存, 等. 种间互作对苹果/白三叶复合系统根系生长及分布的影响[J]. *草地学报*, 2011, 19(6): 960-968.
- [36] 李志斐, 谢 骏, 郁二蒙, 等. 基于 Biolog – ECO 技术分析杂交鳢和大口黑鲈高产池塘水体微生物碳代谢特征[J]. *农业环境科学学报*, 2014, (1): 185-192.
- [37] 杨智仙, 汤 利, 郑 毅, 等. 不同品种小麦与蚕豆间作对蚕豆枯萎病发生根系分泌物和根际微生物群落功能多样性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(3): 570-579.
- [38] 董 艳, 汤 利, 郑 毅, 等. 小麦 – 蚕豆间作条件下氮肥施用量对根际微生物区系的影响[J]. *应用生态学报*, 2008, 19(7): 1559-1566.
- [39] 倪才英, 曾 珩, 黄玉源, 等. 紫云英根际微生物碳源利用多样性研究[J]. *广西植物*, 2009, 29(5): 614-620.