

# 开垦对土壤团聚体含量及微生物群落代谢多样性的影响

杨磊,王卫超,张凤华

(石河子大学/新疆生产建设兵团绿洲生态农业重点实验室,新疆 石河子 832003)

**摘要:**以新疆玛纳斯河流域盐渍化弃耕地为研究对象,基于 Biolog 生态平板法,分析开垦前后土壤团聚体组成分布及团聚体微生物代谢多样性的变化,从而评价人为开垦对弃耕地土壤质量的影响。结果表明:弃耕地开垦增加了各土层 $>0.25$  mm 团聚体的含量,增加范围在 3%~18%。弃耕地开垦前后土壤均以 0.25~0.053 mm 团聚体比例最高,与其它各粒径团聚体差异显著( $P<0.05$ )。开垦后土壤团聚体微生物平均颜色变化率显著高于弃耕地。弃耕地 $<0.053$  mm 团聚体微生物群落 AWCD 显著高于 $>0.25$  mm 各粒径团聚体,开垦后各粒径团聚体微生物群落 AWCD 关系为:2~1 mm $>0.25\sim0.053$  mm $>1\sim0.25$  mm $>(<0.053$  mm) $>(>5$  mm) $>5\sim2$  mm。开垦增加了 $>0.25$  mm 团聚体微生物物种丰富度指数,而 $<0.25$  mm 团聚体却相反;开垦后土壤各粒径团聚体微生物均匀度指数均显著高于弃耕地,而土壤微生物优势度指数均低于弃耕地,其中在 5~2、2~1、1~0.25 mm 和 0.25~0.053 mm 四个粒径中更为显著。开垦前后土壤团聚体微生物对 6 大碳源利用强度存在着差异,弃耕地土壤团聚体微生物对多聚物的利用率最高,开垦后其优势碳源转变为碳水化合物。主成分分析表明,开垦前后土壤团聚体微生物群落碳源利用在 PC1 上出现差异。碳水化合物类、羧酸类和氨基酸类碳源是影响土壤团聚体微生物代谢多样性的主要碳源。总体来说,开垦对土壤团聚体微生物群落代谢多样性具有重要影响。

**关键词:**土壤团聚体;Biolog 方法;碳源利用;代谢多样性;开垦

**中图分类号:**S154.36 **文献标志码:**A

## Effects of reclamation on content and microorganism community metabolic diversity of soil aggregates

YANG Lei, WANG Wei-chao, ZHANG Feng-hua

(Key Laboratory of Oasis Ecology Agriculture of Xinjiang Bingtuan, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China)

**Abstract:** The research was conducted on Salinization of abandoned farmland in Manasi River of Xinjiang, China. Based on Biolog ecological plate method, the distribution of soil aggregation and the functional diversity of aggregate-associated microorganism were analyzed in pre and post reclamation to evaluate the effect of artificial reclamation on soil quality. The results showed that the content of soil aggregate $>0.25$  mm in whole soil profile increased 3%~18% after reclamation. The content of soil aggregate 0.25~0.053 mm was significantly higher than other particles in abandoned farmland and after reclamation ( $P<0.05$ ). The average well color development of soil aggregate-associated microorganism after reclamation was significantly higher than that in abandoned farmland. The AWCD in the  $<0.053$  mm soil aggregate-associated microorganism was significantly higher than that in the  $>0.25$  mm soil aggregate in abandoned farmland. The AWCD of soil aggregate-associated microorganism in different particle sizes present ordered as 2~1 mm $>0.25\sim0.053$  mm $>1\sim0.25$  mm $>(<0.053$  mm) $>(>5$  mm) $>5\sim2$  mm. Richness index of  $>0.25$  mm soil aggregate-associated microorganism increased and which of  $<0.25$  mm soil aggregate-associated microorganism decreased after reclamation. Evenness index of soil aggregate-associated microorganism was significantly higher than that in abandoned farmland after reclamation. Dominance index of soil aggregate-associated mi-

收稿日期:2017-03-20

修回日期:2018-05-16

**基金项目:**国家自然科学基金(31360320);公益性行业(农业)科研专项项目(201503120);兵团科技攻关与成果转化项目(2016AD022)

**作者简介:**杨磊(1992-),男,新疆伊犁人,硕士研究生,主要从事土壤环境与生态安全研究。Email: lei.yang1224@qq.com

**通信作者:**张凤华(1970-),女,教授,博士研究生导师,主要从事干旱区资源与环境研究。E-mail: zfh2000@126.com

croorganism was lower than that in abandoned farmland after reclamation, especially in the 5~2, 2~1, 1~0.25 mm and 0.25~0.053 mm soil aggregate. Six carbon source's utilization intensity of soil aggregate-associated microorganism is different between abandoned farmland and reclaimed farmland. The highest utilization of polymers was observed in soil aggregate microorganism in abandoned farmland, but it changed to carbohydrate after reclamation. The carbon source utilization of soil microorganism was different on PC1 in pro-post abandoned farmland. Carbohydrates, carboxylic acids and amino acids were the main carbon sources that caused the diversity of microbial metabolism in soil aggregates. In general, reclamation had an important influence on soil aggregates metabolic diversity of microbial community.

**Keywords:** soil aggregation; biolog; carbon utilization; metabolic diversity; reclamation

土壤团聚体作为土壤结构的基本单元,是土壤养分的贮藏库也是土壤微生物的良好生境<sup>[1]</sup>。不同粒径团聚体的理化性质以及对养分的保持、供应和转化情况均有不同,直接对土壤团聚体中微生物生物量、功能以及多样性产生影响<sup>[2]</sup>。其组成分布及稳定性受到人为活动的影响,如土地利用变化、农业耕作措施以及施肥等因素的影响<sup>[3-4]</sup>。弃耕地开垦后棉花秸秆还田,刘威等<sup>[5]</sup>表明秸秆还田可以增加农田表层土壤>0.25 mm 团聚体含量,改良土壤结构。李涵等<sup>[6]</sup>研究发现秸秆还田可以提高土壤有机碳含量。土壤有机碳与土壤团聚体的形成关系密切<sup>[7]</sup>,团聚体的形成被认为是主要的土壤固碳方式。不同粒径团聚体在有机碳的保持、供应以及转化起着不同的作用,大团聚体与微团聚体相比对有机碳有更强的保护作用,能够固定更多的有机碳<sup>[8]</sup>。土壤团聚体是由矿物颗粒在有机物的胶结下形成的,而土壤有机碳含量又影响团聚体的数量及分布。土壤有机碳含量的增加有利于土壤结构的形成及稳定性的增强,所以二者之间关系密切<sup>[9]</sup>。

土壤微生物与土壤理化性质关系密切,而土壤团聚体和土壤微生物逐渐成为当今研究热点。土壤微生物在土壤团聚体的形成和保持稳定性的过程中起着重要的作用<sup>[10]</sup>。土壤微生物是组成土壤及整个生态系统的重要部分<sup>[11]</sup>,是土壤有机质转化、物质循环和能量流动的驱动力<sup>[12-13]</sup>,在生态系统中起到关键的作用<sup>[14]</sup>。

土壤微生物多样性是评价微生物群落特征的重要内容,反映了群落总体的动态变化特征<sup>[15]</sup>,对土壤微生物群落多样性研究分析可以为合理利用资源、解决农田生态系统失衡提供理论依据<sup>[16]</sup>。土壤微生物群落功能多样性是描述土壤微生物群落特征与功能的重要指标,对评价土壤微生物的生态特征和土壤肥力特征起到至关重要的作用<sup>[17]</sup>。土壤微生物功能多样性信息对于明确不同环境中微生物群落的作用具有重要意义。微生物功能多样性表现在微生物有多种代谢途径和生理功能,包括

底物代谢能力、微生物活性和与 N、P、S 等营养元素在土壤中转化相关的功能等<sup>[18]</sup>。Biolog 分析法作为研究土壤微生物群落结构和功能多样性的一种简单快速、灵敏度高、分辨力强的方法<sup>[15]</sup>,在一定程度上反映土壤碳源转化和微生物代谢多样性。目前主要用于施肥处理<sup>[19]</sup>、农作模式<sup>[20]</sup>、耕作方式<sup>[21]</sup>等土壤微生物群落的代谢多样性,针对干旱区极端环境条件下农田灰漠土土壤团聚体微生物代谢多样性的研究较为薄弱。

本研究利用 Biolog 微平板技术,以干旱区盐渍化弃耕地开垦前后土壤团聚体微生物为研究对象,比较开垦前后土壤团聚体微生物的代谢特征变化,旨在探讨开垦对土壤团聚体微生物功能多样性的影响,以期为干旱区盐碱地的改良与利用提供科学的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

试验地点位于新疆玛纳斯河流域冲积扇缘地带十户滩镇(86.13963°~96.14433°E, 44.62470°~44.63020°N),此地区位于准噶尔盆地南部,身处内陆,远离海洋,干旱少雨,蒸发量较大,年均气温 6.6℃,≥10℃ 的积温可以达到 3 490℃,年降水量 110~200 mm,年蒸发量 1 500~2 000 mm,无霜期 148~187 d,属于典型的温带大陆性气候。此地位于冲积洪积扇平原,地下水水位高,不合理的灌溉措施加之强烈的蒸发加剧了盐分的表聚,从而导致了大面积盐渍化土壤。

### 1.2 试验设计

试验地选择盐渍化严重而弃耕 29 a 的土地,面积为 25 hm<sup>2</sup>。试验分为 2 个处理,弃耕地作为对照处理,面积 5 hm<sup>2</sup>,植被覆盖较少,主要植被有怪柳、盐爪爪、花花柴和绢蒿等;在原有弃耕地的基础上人为开垦为棉田距今 5 年,面积 20 hm<sup>2</sup>,期间连续种植棉花。棉花种植密度为 2.4×10<sup>5</sup> 株·hm<sup>-2</sup>,整个生育期灌水 10~12 次,灌溉方式为膜下滴灌,灌水

总量为  $4\ 500\ \text{m}^3 \cdot \text{hm}^{-2}$ 。棉花整个生育期,纯氮 ( $300\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ) 和纯磷 ( $200\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ) 均通过膜下滴灌随水施入。棉花收获后,秸秆全量 ( $6\ 000 \sim 7\ 500\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ) 还田,同时尿素 ( $150\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ) 和过磷酸钙 ( $450\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ) 作为基肥深翻施入土壤。

### 1.3 样品采集

每一样地内随机布设 3 个  $1\ \text{m} \times 1\ \text{m}$  的样方,去除样方上的凋落物层及土壤动物等,采用自然土壤剖面取样法,自下而上采集  $40 \sim 60\ \text{cm}$ 、 $20 \sim 40\ \text{cm}$ 、 $10 \sim 20\ \text{cm}$ 、 $5 \sim 10\ \text{cm}$ 、 $0 \sim 5\ \text{cm}$  以及  $0 \sim 20\ \text{cm}$  两部分土壤团聚体,原状土样装入硬质塑料盒带回实验室,途中避免对原状土的挤压,将土壤样品在室温下风干,使样品达到塑限的程度 (含水量 20% 左右),用于团聚体分级。 $0 \sim 20\ \text{cm}$  土样筛分后迅速放入  $4^\circ\text{C}$  冰箱保存,用于测定土壤微生物功能多样性。

### 1.4 测定指标与方法

团聚体分级采用干筛法:风干过程中,沿土壤自然结构轻掰成直径  $1\ \text{cm}^3$  左右的小土块,剔除植物根系与石块,待风干后,取土样  $500\ \text{g}$ ,通过一套筛组,孔径依次为  $5, 2, 1, 0.25, 0.053\ \text{mm}$ ,筛组上方有盖,下方有底,筛分时间  $10\ \text{min}$ ,筛分结束后,测量各孔径筛子上土样重量  $W_{\text{di}}$ ,计算各级团聚体占土样总量的百分比。

$0 \sim 20\ \text{cm}$  土壤筛分后将土壤湿度调节为田间持水量的 50%,在  $25^\circ\text{C}$  下预培养  $7 \sim 10$  天后,迅速测定土壤微生物功能多样性或在低温 ( $4^\circ\text{C}$ ) 下保存。

土壤微生物功能多样性:采用 Biolog-ECO 微平板法测定。称取经团聚体分级后相当于  $10\ \text{g}$  烘干土重的土样,加入  $100\ \text{ml}$  无菌 PBS 缓冲液 ( $\text{NaCl}$ :  $0.67\%$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ :  $0.024\%$ ,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ :  $0.086\%$ , 调节 pH) 的三角瓶中,塞入无菌棉花,在  $180\ \text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  下振荡  $2\ \text{h}$ ,吸取  $0.5\ \text{mL}$  土壤悬浮液用 PBS 缓冲液定容到  $50\ \text{mL}$  (即释至  $10^{-3}$ ) 再震荡  $30\ \text{min}$ ,通过排孔加样器将稀释液接种至 Biolog 微平板上,每孔接种量  $150\ \mu\text{L}$ ,3 个重复接种于同一微平板上。将接种好的 ECO 板置于保湿的无菌塑料容器上,并放入  $25^\circ\text{C}$  的恒温箱中培养,每间隔  $12\ \text{h}$  直至  $156\ \text{h}$  用 Biolog 自动读数装置在  $590\ \text{nm}$  下读数。计算单孔平均颜色变化率 (AWCD) 来反映微生物代谢功能多样性。

### 1.5 数据分析

土壤微生物群落功能多样性:观察比较微生物群落平均颜色变化率 (AWCD) 随时间的变化曲线,根据不同处理对碳源的利用情况,综合考虑变化趋

势,选取光密度趋于稳定且不同处理之间有较好分形的  $96\ \text{h}$  的 AWCD 值进行土壤团聚体微生物群落代谢多样性分析,选择处于 AWCD 曲线“拐点”处或其后的数据,此时微平板的培养时间可以最大限度满足各类细菌的生长,从而在一定程度上可以更准确地反映不同环境微生物群落的差异性,并计算 Shannon 丰富度指数 ( $H$ ), McIntosh 均一性指数 ( $U$ ), Simpson 优势度指数 ( $D$ )。具体计算公式如下:

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

$$P_i = (C_i - R) / \sum_{i=1}^n (C_i - R)$$

$$H = - \sum_{i=1}^n (P_i \times \ln P_i)$$

$$U = \sqrt{\sum_{i=1}^n (C_i - R)^2}$$

$$D = 1 - \sum_{i=1}^n P_i^2$$

式中,  $C_i$  为第  $i$  孔的相对吸光值,  $C$  是每个孔 (光密度测量) 的吸光度,  $R$  为板内控制孔的吸光度,  $n$  为底物的数量 (ECO 板,  $n = 31$ );  $P_i$  为第  $i$  孔的相对吸光值与整板的相对吸光值总和的比率。

试验数据采用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析,用 Canoco 4.5 进行主成分分析,使用 Sigmaplot 12.0 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤团聚体组成分布

图 1 所示,弃耕地开垦减少了各土层微团聚体 ( $<0.25\ \text{mm}$ ) 数量,相应的增加了大团聚体 ( $>0.25\ \text{mm}$ ) 数量。随着开垦土壤  $>0.25\ \text{mm}$  团聚体有所增加,比弃耕地增加了  $10.5\%$ 。就同一粒径的不同土层来看,土壤团聚体的分布存在一定差异性。随着土层加深  $>5\ \text{mm}$  团聚体比例在开垦前后均呈现出下降的趋势;对于  $1 \sim 0.25\ \text{mm}$  团聚体比例,开垦前在  $10 \sim 20\ \text{cm}$  土层中最高,且显著高于其它土层,开垦后在  $5 \sim 10\ \text{cm}$  土层中比例最高,与  $20 \sim 40\ \text{cm}$  和  $40 \sim 60\ \text{cm}$  土层之间差异显著; $0.25 \sim 0.053\ \text{mm}$  团聚体比例在开垦前后均是在  $40 \sim 60\ \text{cm}$  土层中最高,开垦前在  $10 \sim 20\ \text{cm}$  土层中比例最低,与  $5 \sim 10\ \text{cm}$  土层差异不显著,开垦后在  $5 \sim 10\ \text{cm}$  土层中比例最低,与  $0 \sim 5\ \text{cm}$  和  $10 \sim 20\ \text{cm}$  差异不显著。土壤团聚体的组成分布及基本特征是土壤肥力的基础,是判断土壤质量状况的依据,而  $>0.25\ \text{mm}$  大团聚体是土壤中最好的结构体,其含量越多,说明土壤团聚体的稳定性越好<sup>[22]</sup>。



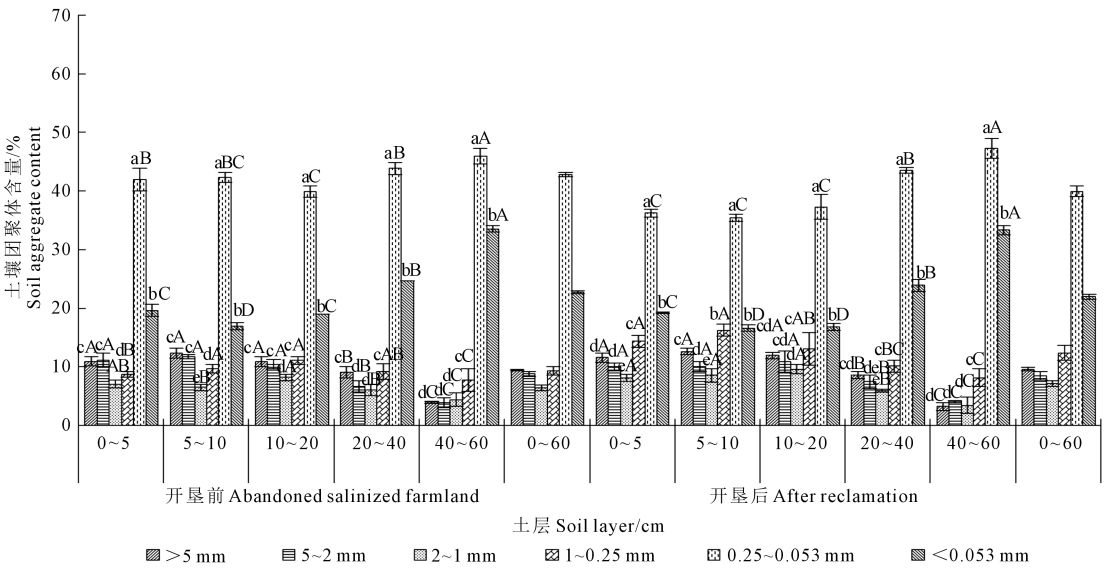
综合来看,0~20 cm 土壤团聚体组成在开垦前后变化较大。其中 0~5 cm、5~10 cm 和 10~20 cm 土层中 0.25~0.053 mm 团聚体比例较开垦前均有明显降低,分别降低了 13.6%、16.3%和 6.4%。而对应土层中 1~0.25 mm 团聚体比例比开垦前分别提高了 63.61%、67.63%和 17.22%。

2.2 土壤团聚体微生物群落功能多样性

2.2.1 土壤团聚体微生物群落代谢平均颜色变化率 平均颜色变化率(AWCD)反映了土壤微生物的代谢活性,是土壤微生物群落利用单一碳源能力的一个重要指标<sup>[23]</sup>,在一定程度上反映了土壤中微生物种群的数量和结构特征。AWCD 随时间变化呈现出延续的常规生长曲线,随着培养时间的延长,开垦后土壤团聚体微生物利用碳源的量呈现出逐渐增加的趋势,培养起始的 24 h 内 AWCD 变化并

不明显,而培养 24~96h AWCD 快速增长,此时微生物活性正处于旺盛时期,最后增长较为缓慢,直至趋于稳定。这一系列变化表明,土壤团聚体微生物首先经过 24 h 的滞后期,逐渐适应 Biolog 微平板基质环境,其次进入对数增长期,对碳源的利用能力逐渐增强,然后进入快速增长期,微生物的代谢强度达到最大,最后生长减缓趋于稳定。

比较图 2 看出,弃耕地土壤团聚体微生物群落 AWCD 最低,开垦后土壤团聚体微生物群落 AWCD 显著高于弃耕地;弃耕地<0.053 mm 团聚体微生物群落 AWCD 显著高于>0.25 mm 各粒径团聚体而 1~0.25 mm团聚体微生物群落 AWCD 均要显著低于各粒径团聚体;开垦后各粒径团聚体微生物群落 AWCD 关系为:2~1 mm>0.25~0.053 mm>1~0.25 mm>(<0.053 mm)>(>5 mm)>5~2 mm,且无显著性差异。



注:同一土层不同粒径的不同小写字母表示差异显著,同一粒径不同土层深度的不同大写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ )。  
Note: Different subscript letters and superscript letters indicate significant difference among different soil aggregates in same soil depth and among different soil depth in same aggregates at  $P<0.05$  level, respectively.

图 1 开垦前后土壤团聚体组成分布  
Fig.1 Aggregate size distribution before and after reclamation of abandoned salinized soil

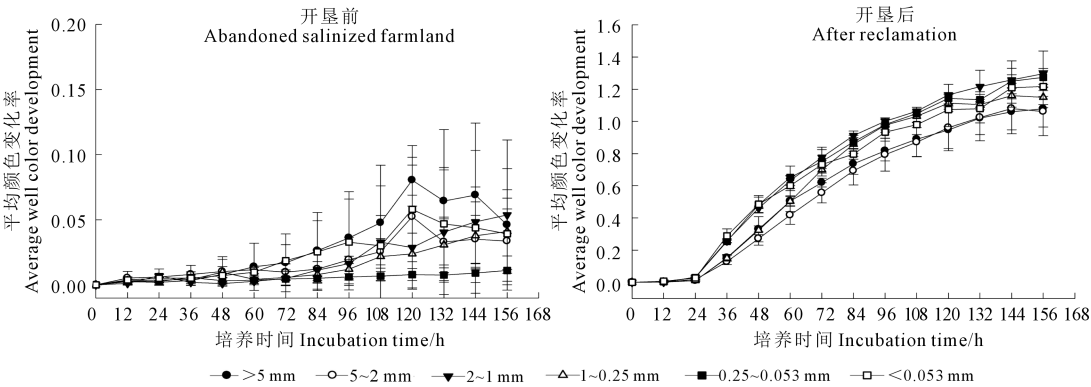


图 2 开垦前后土壤团聚体微生物群落平均颜色变化率  
Fig.2 Average well color development of soil aggregate-associated microorganism communities before and after reclamation of abandoned salinized soil

2.2.2 土壤团聚体微生物群落代谢多样性指数

碳源代谢多样性指数分析可以较为准确地反映出微生物群落功能多样性的特征。对土壤微生物培养 96 h 的碳源利用进行多样性指数分析。表 1 可以看出,>0.25 mm 团聚体开垦后相比于弃耕地增加了土壤团聚体微生物物种丰富度指数,但并不显著,而<0.25 mm 团聚体却相反;开垦前后土壤团聚体微生物物种丰富度指数,除了开垦后土壤 0.25 ~ 0.053 mm 和<0.053 mm 团聚体外,其余均随着团聚体粒径的减小呈现出升高的变化。开垦后土壤各粒径团聚体微生物均匀度指数均要显著高于弃耕地。各粒径团聚体中弃耕地土壤团聚体微生物优势度指数均要高于开垦后,其中在 5~2 mm、2~1 mm、1~0.25 mm 和 0.25~0.053 mm 四个粒径中更为显著。

2.2.3 土壤团聚体微生物对六大碳源的利用强度

Biolog 微平板中 31 种碳源根据其官能团的不同可以分为六大类,包括碳水化合物、氨基酸、多聚物、胺类、酚类和羧酸。

图 3 可以看出,开垦后土壤团聚体微生物对碳水化合物、氨基酸、酚类和羧酸四类碳源的利用率均要高于弃耕地。弃耕地土壤团聚体微生物对这六类碳源的利用率大小为多聚物>胺类>碳水化合物>氨基酸>羧酸>酚类;开垦后土壤团聚体微生物对这六类碳源的利用率大小为碳水化合物>氨基酸>多聚物>酚酸>羧酸>胺类。弃耕地各粒径团聚体微生物对不同碳源利用率的高低并没有表现出一致的规律性;开垦后土壤除了<0.053 mm 团聚体外,其余各粒径团聚体微生物对碳水化合物的利用率均达到最大,除了>5 mm 和 1~0.25 mm 团聚体外,其余各粒径团聚体微生物对胺类的利用率最小。

2.2.4 土壤团聚体微生物群落代谢功能主成分分析

土壤微生物多样性可以反映出群落总体的变化规律,但不能反映微生物群落代谢的详尽信息,通过土壤微生物对不同碳源利用能力的差异性进行分析,有利于更好地了解微生物群落代谢功能特性<sup>[24]</sup>。运用主成分分析在 31 种因子中提取的 2 个

表 1 开垦前后土壤团聚体微生物群落多样性指数

| 处理<br>Treatment                     | 团聚体粒径/mm<br>Aggregate size | Shannon 指数( <i>H</i> )<br>Shannon index | McIntosh 指数( <i>U</i> )<br>McIntosh index | Simpson 指数( <i>D</i> )<br>Simpson index |
|-------------------------------------|----------------------------|-----------------------------------------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|
| 开垦前<br>Abandoned salinized farmland | >5                         | 2.47±0.59a                              | 0.95±0.74b                                | 0.96±0.01a                              |
|                                     | 5~2                        | 2.66±0.60a                              | 0.48±0.23b                                | 0.97±0.00a                              |
|                                     | 2~1                        | 2.69±0.48a                              | 0.49±0.33b                                | 0.97±0.00a                              |
|                                     | 1~0.25                     | 3.04±0.73a                              | 0.41±0.18b                                | 0.97±0.00a                              |
|                                     | 0.25~0.053                 | 3.09±0.23a                              | 0.27±0.14b                                | 0.97±0.00a                              |
|                                     | <0.053                     | 3.23±0.82a                              | 0.87±0.91b                                | 0.96±0.02a                              |
| 开垦后<br>After reclamation            | >5                         | 2.91±0.02a                              | 6.52±0.36a                                | 0.95±0.00a                              |
|                                     | 5~2                        | 2.94±0.04a                              | 6.45±0.58a                                | 0.95±0.00b                              |
|                                     | 2~1                        | 3.12±0.07a                              | 7.47±0.25a                                | 0.96±0.00b                              |
|                                     | 1~0.25                     | 3.12±0.04a                              | 7.42±0.14a                                | 0.96±0.00b                              |
|                                     | 0.25~0.053                 | 3.08±0.05a                              | 7.39±0.24a                                | 0.96±0.00b                              |
|                                     | <0.053                     | 3.09±0.03a                              | 7.42±0.38a                                | 0.95±0.00a                              |

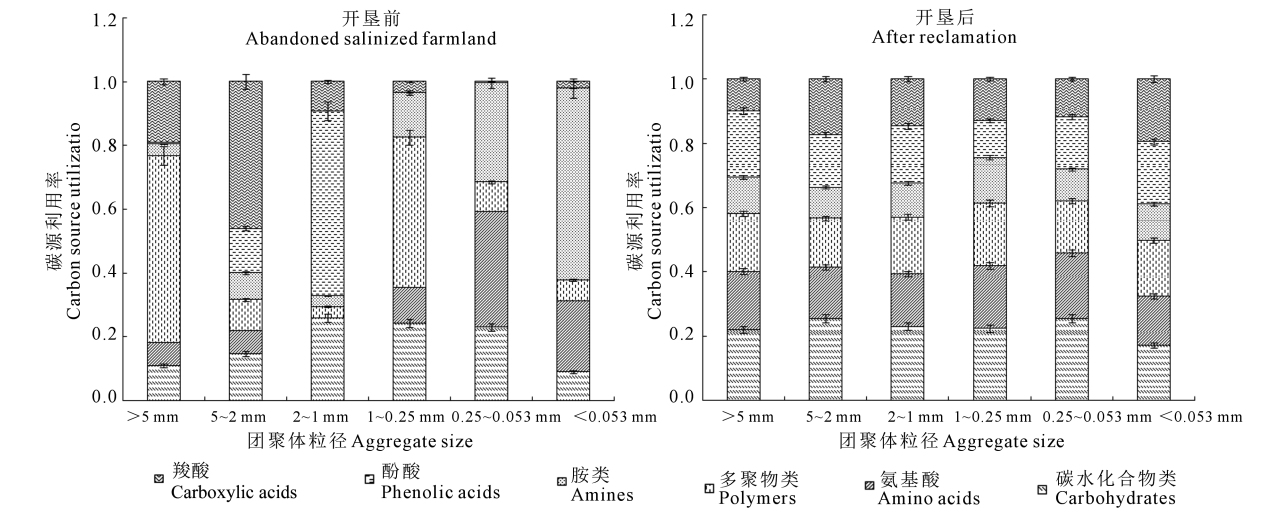


图 3 开垦前后土壤团聚体微生物对六大碳源的利用强度

Fig.3 Carbon source utilization of soil aggregate-associated microorganism before and after reclamation of abandoned salinized soil

主成分因子,由图 4 可知,第一主成分可以解释所有变量方差的 75.9%,第二主成分可以解释所有变量方差的 7.3%,累计贡献率为 83.2%。弃耕地各样方在 PC1 和 PC2 上分布集中,说明不同粒径团聚体微生物碳源利用差异较小;开垦后各样方在 PC1 和 PC2 上分布较分散,说明不同粒径团聚体微生物碳源利用差异较大,PC1 和 PC2 基本上能够区分不同粒径团聚体微生物的群落特征。弃耕地与开垦后土壤团聚体微生物在 PC1 上差异显著,弃耕地土壤团聚体微生物的得分为负而开垦后土壤团聚体微生物得分为正,说明土地开垦对土壤团聚体微生物群落有较大影响。通过聚类分析也可得知,土壤微生物群落分为两类,弃耕地各粒径团聚体微生物聚为一类,开垦后各粒径团聚体微生物聚为一类,说明开垦引起了土壤团聚体微生物对碳源利用的明显变化。

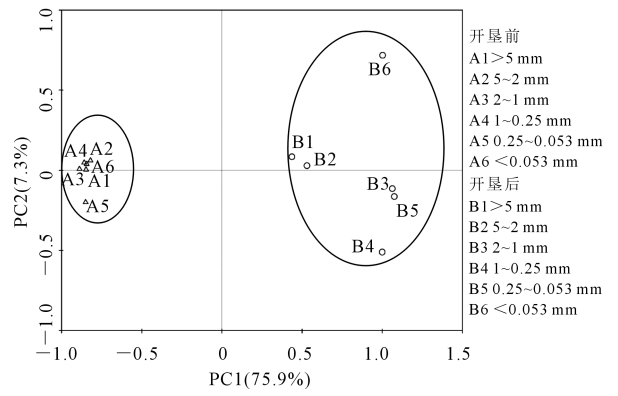


图 4 开垦前后土壤团聚体微生物群落功能主成分分析  
Fig.4 Principal component analysis of soil aggregate-associated microorganism communities function before and after reclamation of abandoned salinized soil

对 31 种碳源主成分分析中因子载荷可以反映出碳源利用的差异,其绝对值越大,表明该碳源对主成分的影响越大,在众多碳源中起主要分异作用。由表 2 得知,与 PC1 具有较高相关性的碳源 ( $|r|>0.6$ ) 有 29 种,其中碳水化合物类 10 种,氨基酸类 5 种,羧酸类 7 种,多聚物类 4 种,酚酸类 2 种,胺类 1 种;与 PC2 具有较高相关性的碳源有 1 种,包括氨基酸类 1 种。综合与 PC1 和 PC2 具有较高相关性的碳源类型发现,对土壤微生物群落代谢特征起分异作用的主要碳源为碳水化合物类、羧酸类和氨基酸类,即土地利用方式对土壤团聚体微生物群落代谢多样性的差异主要体现在对碳水化合物类、羧酸类和氨基酸类碳源的利用上,其中碳水化合物类碳源尤为突出。

| 表 2 31 种碳源的因子载荷值                             |                                                              |              |              |
|----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------|--------------|
| Table 2 Factor loadings of 31 carbon sources |                                                              |              |              |
| 类别<br>Category                               | 碳源类型<br>Carbon sources                                       | 主成分 1<br>PC1 | 主成分 2<br>PC2 |
| 碳水化合物类<br>Carbohydrates                      | D-纤维二糖<br>D-Cellobiose                                       | 0.940        | 0.103        |
|                                              | $\alpha$ -D-乳糖<br>$\alpha$ -D-Lactose                        | 0.937        | 0.288        |
|                                              | $\beta$ -甲基-D-葡萄糖苷<br>$\beta$ -Methyl-D-Glucoside            | 0.982        | 0.070        |
|                                              | D-木糖<br>D-Xylose                                             | 0.635        | 0.060        |
|                                              | i-赤藓糖醇<br>i-Erythritol                                       | 0.980        | -0.065       |
|                                              | D-甘露醇<br>D-Mannitol                                          | 0.961        | -0.080       |
|                                              | N-乙酰-D-葡萄糖胺<br>N-Acetyl-D-Glucosamine                        | 0.940        | 0.241        |
|                                              | $\alpha$ -D-葡萄糖-1-磷酸<br>$\alpha$ -D-Glucose-1-Phosphate      | 0.812        | 0.491        |
|                                              | D,L- $\alpha$ -磷酸甘油<br>D,L- $\alpha$ -Glycerol Phosphate     | 0.822        | 0.189        |
|                                              | D-半乳糖酸- $\gamma$ -内脂<br>D-Galactonic Acid- $\gamma$ -Lactone | 0.965        | 0.068        |
|                                              | L-精氨酸<br>L-Arginine                                          | 0.979        | 0.155        |
|                                              | L-天门冬酰胺<br>L-Asparagine                                      | 0.985        | 0.017        |
|                                              | L-苯基丙氨酸<br>L-Phenylalanine                                   | 0.796        | -0.206       |
|                                              | L-丝氨酸<br>L-Serine                                            | 0.975        | 0.085        |
|                                              | L-苏氨酸<br>L-Threonine                                         | 0.480        | 0.711        |
| 氨基酸类<br>Amino acids                          | 甘氨酸-L-谷氨酸<br>Glycyl-Lglutamic Acid                           | 0.936        | 0.083        |
|                                              | 丙酮酸甲酯<br>Pyruvic Acid Methyl Ester                           | 0.922        | -0.281       |
|                                              | D-葡萄糖胺酸<br>D-Glucosaminic Acid                               | 0.984        | 0.021        |
|                                              | D-半乳糖醛酸<br>D-Galacturonic Acid                               | 0.981        | 0.000        |
|                                              | $\gamma$ -羟丁酸<br>$\gamma$ -Hydroxybutyric Acid               | 0.915        | -0.352       |
|                                              | 衣康酸<br>Itaconic Acid                                         | 0.934        | -0.025       |
|                                              | $\alpha$ -丁酮酸<br>$\alpha$ -Ketobutyric Acid                  | 0.865        | -0.140       |
|                                              | D-苹果酸<br>D-Malic Acid                                        | 0.683        | -0.526       |
|                                              | 吐温 40 Tween 40                                               | 0.978        | 0.009        |
|                                              | 吐温 80 Tween 80                                               | 0.920        | 0.139        |
| 多聚物类<br>Polymers                             | $\alpha$ -环式糊精 $\alpha$ -Cyclodextrin                        | 0.626        | -0.246       |
|                                              | 肝糖 Glycogen                                                  | 0.742        | -0.448       |
|                                              | 2-羟基苯甲酸<br>2-Hydroxy Benzoic Acid                            | 0.602        | -0.127       |
| 酚酸类<br>Phenolic acids                        | 4-羟基苯甲酸<br>4-Hydroxy Benzoic Acid                            | 0.952        | -0.222       |
|                                              | 胺类<br>Amines                                                 |              |              |
|                                              | 苯乙胺 Phenylethylamine                                         | 0.353        | 0.574        |
|                                              | 腐胺 Putrescine                                                | 0.959        | -0.193       |



### 3 讨论

研究结果表明盐碱弃耕地在开垦后显著增加了土壤大团聚体( $>0.25\text{ mm}$ )数量,减少了微团聚体( $<0.25\text{ mm}$ )数量。 $>0.25\text{ mm}$ 团聚体含量与弃耕地相比增加了10.5%。弃耕地开垦后,土壤有机碳得到增加<sup>[25]</sup>。土壤有机碳与土壤团聚体关系紧密,对土壤团聚体含量和组成分布具有重要影响<sup>[26]</sup>。土壤有机碳是土壤团聚体形成的重要胶结剂,土壤有机碳含量的增加有利于土壤结构的形成和稳定性的增强<sup>[9]</sup>。盐碱弃耕地开垦前后 $>0.25\text{ mm}$ 团聚体含量明显增加,使耕层土壤结构得到了改善。这与弃耕地开垦后种植棉花并持续全量秸秆还田有关。秸秆还田不仅可以改善土壤的养分状况,还可以通过增加土壤有机碳的直接输入实现固碳。秸秆还田还可以分解产生多种有机物质,如蛋白质,多糖,木质素等,同时还能够提高土壤微生物活性,促进腐殖质的形成,这些都是土壤中重要的胶结物质,对大团聚体的形成产生积极影响<sup>[27]</sup>。本研究表明,在0~20 cm土层0.25~0.053 mm微团聚体含量较开垦前降低,其变化与大团聚体变化相反,说明大团聚体和微团聚体之间存在着转化,秸秆还田利于微团聚体在植物根系和菌丝体的作用下形成大团聚体<sup>[28]</sup>。

温度、水分等环境因素也是促进大团聚体形成的要素。陈强<sup>[29]</sup>发现,夏季8月温度及湿度状况最佳,秸秆分解速率大,为土壤大团聚体形成提供胶结物质,利于大团聚体形成。Vermang<sup>[30]</sup>得出水稳性团聚体随着含水量的增加而增加,但也有研究表明增加含水量会降低团聚体抗张强度和土壤黏聚力<sup>[31]</sup>。土壤温度以及水分等变化同样可以起到增加大团聚体的作用。干旱区大面积盐渍化弃耕地,盐碱重、养分瘠薄,经人为开垦种植棉花并长期秸秆还田后,有利于土壤表层大团聚体的形成与稳定。

开垦后土壤团聚体AWCD显著高于弃耕地,说明开垦后土壤团聚体微生物群落活性以及碳源利用能力均较强。研究发现,土壤结构和土壤有机质对土壤微生物活性产生影响<sup>[32]</sup>。土壤有机碳与土壤微生物功能多样性关系密切<sup>[33]</sup>。开垦后种植棉花引入了植被,植被通过影响土壤含水量、温度、透气性、pH以及土壤有机碳、氮水平从而影响土壤微生物群落多样性<sup>[34]</sup>。土壤微生物的生活需要从植被获取营养物质和能量,同时植被根系又可以为土壤微生物提供良好的生活环境。植被的存在有利于增加土壤微生物多样性和微生物生物量<sup>[34]</sup>。然

而土壤微生物的生长还受水分条件的制约,弃耕地较开垦后棉田没有灌溉水作为水分的来源,地处于半干旱地区,所以干旱可能是影响土壤微生物群落活性和多样性的胁迫因子。干旱降低了底物的扩散增加了微生物对碳、氮的需求<sup>[35]</sup>。开垦后化肥的施用不但直接影响了土壤化学性质,致使土壤微生物活性改变从而影响了土壤微生物群落结构的变化,还影响了地上植被的生长,间接影响了土壤微生物群落结构。

土壤团聚体微生物对不同类型碳源的利用强度存在一定的差异,开垦后土壤团聚体微生物对碳水化合物和氨基酸类碳源的利用率较高。Vinolas等<sup>[36]</sup>发现,植被能够使土壤中的 $\text{NH}_4^+$ 转化为氨基酸。在开垦后长期施入氮肥的土壤中以 $\text{NH}_4^+$ 占优势的“氮素营养生境”, $\text{NH}_4^+$ 主要分布在植被根部通过GS/GOGAT途径同化成氨基酸,为微生物提供了氨基酸类的碳源,所以土壤团聚体微生物对氨基酸类碳源的高利用率是由于对土壤环境长期适应性而导致的。对31种碳源的因子载荷值分析来看,碳水化合物、羧酸和氨基酸是弃耕地开垦前后土壤团聚体微生物群落代谢多样性表现出差异的主要碳源。弃耕地开垦后长期进行秸秆还田,作物秸秆含有大量碳水化合物以及氮、磷、钾等营养元素,对土壤有机物质组成和含量有显著影响。有机物质进入土壤后显著提高了碳水化合物的含量,可供土壤微生物利用的碳源增加。因此,碳水化合物和氨基酸类碳源可作为区分开垦前后团聚体微生物碳源利用差异的依据。

### 4 结论

弃耕地开垦增加了土壤大团聚体数量,增加了10.5%,减少了微团聚体数量。其中0~5 cm、5~10 cm和10~20 cm土层中1~0.25 mm团聚体含量较开垦前分别提高了63.61%、67.63%和17.22%。开垦后土壤团聚体微生物利用碳源的量显著增加,增加了 $>0.25\text{ mm}$ 团聚体土壤微生物物种丰富度指数,显著增加了各粒径土壤团聚体微生物均匀度指数,同时降低了各粒径土壤团聚体微生物优势度指数。开垦前后土壤团聚体微生物对6大碳源利用强度存在着差异,其优势碳源发生了转变由多聚物类转变为碳水化合物类。开垦引起了土壤团聚体微生物对碳源利用的分异,其差异主要体现在碳水化合物、羧酸和氨基酸类碳源的利用,其中碳水化合物类尤为突出。

参 考 文 献:

[1] Six J, Bossuyt H, Degryze S, et al. A history of research on the link between (micro) aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics[J]. Soil and Tillage Research, 2004, 79: 7-31.

[2] Wang D, Li L-Q, Liu Y-Z, et al. Influences of long-term fertilization on bacteria and fungi community structures in different aggregate-size aggregates of paddy soil in Tai Lake region of China[J]. Soils, 2012, 44(2): 290-296.

[3] 高飞, 贾志宽, 韩清芳, 等. 有机肥不同施用量对宁南土壤团聚体粒级分布和稳定性的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2010, 28(3): 100-106.

[4] 戴珏, 胡君利, 林先贵, 等. 免耕对潮土不同粒级团聚体有机碳含量及微生物碳代谢活性的影响[J]. 土壤学报, 2010, 47(5): 923-929.

[5] 刘威, 张国英, 张静, 等. 2 种保护性耕作措施对农田土壤团聚体稳定性的影响[J]. 水土保持学报, 2015, 29(3): 117-122.

[6] 李涵, 张鹏, 贾志宽, 等. 渭北旱塬区秸秆覆盖还田对土壤团聚体特征的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2012, 30(2): 27-33.

[7] Liu M Y, Chang Q R, Qi Y B, et al. Aggregation and soil organic carbon fractions under different land uses on the tableland of the Loess Plateau of China[J]. CATENA, 2014, 115: 19-28.

[8] 刘恩科, 赵秉强, 梅旭荣, 等. 不同施肥处理对土壤水稳定性团聚体及有机碳分布的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(4): 1035-1041.

[9] 程曼, 朱秋莲, 刘雷, 安韶山. 宁南山区植被恢复对土壤团聚体水稳定及有机碳粒径分布的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(9): 2835-2844.

[10] Rashid, M I, Mujawar, L H, Shahzad, T, et al. Bacteria and fungi can contribute to nutrients bioavailability and aggregate formation in degraded soils[J]. Microbiological Research, 2016, 183:26-41.

[11] Li F L, Liu M, Li Z P, et al. Changes in soil microbial biomass and functional diversity with a nitrogen gradient in soil columns[J]. Applied Soil Ecology, 2013, 64: 1-6.

[12] Gryta A, Frac M, Oszust K. The application of the biolog coplate approach in ecotoxicological evaluation of airy sewage sludge [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2014, 174: 1434-1443.

[13] Djukic I, Zehetner F, Mentler A, et al. Microbial community composition and activity in different alpine vegetation zones[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2010, 42: 155-161.

[14] Zhang H F, Li G, Song X L, et al. Changes in soil microbial functional diversity under different vegetation restoration patterns for Hulunbeier Sandy Land[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33: 38-44.

[15] Lu S B, Zhang Y J, Chen C R, et al. Analysis of functional differences between soil bacterial communities in three different types of forest soils based on Biolog fingerprint[J]. Acta Pedologica Sinica, 2013, 50(3): 618-623.

[16] Xiong Y, Guo Y C, Zhang Z. Study on the microbial diversity of primary Korean pine forests and artificial forests[J]. Acta Agriculturae Zhe-jiangensis, 2014, 26(1): 159-164.

[17] 叶飞, 宋存江, 陶剑, 等. 转基因棉花种植对根际土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(2): 386-390.

[18] Louise M D, Gwyn S G, John H, et al. Management influences on soil microbial communities and their function in botanically diverse haymeadows of northern England and Wales[J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32(2): 253-263.

[19] 徐万里, 唐光木, 葛春晖, 等. 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[J]. 生态学报, 2015, 35(2): 468-477.

[20] 顾美英, 徐万里, 茆军, 等. 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[J]. 生态学报, 2012, 32(10): 3031-3140.

[21] 姬艳艳, 张贵龙, 张瑞, 等. 耕作方式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(6): 117-123.

[22] 韩加强, 高晓飞, 路炳军, 等. 水保措施对褐土水稳性大团聚体的影响研究[J]. 水土保持研究, 2012, 19(6): 50-53.

[23] 向泽宇, 张莉, 张全发, 等. 青海不同林分类型土壤养分与微生物功能多样性[J]. 林业科学, 2014, 50(4): 22-31.

[24] 孔维栋, 刘可星, 廖宗文, 等. 不同腐熟程度有机物料对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(9): 2291-2296.

[25] 唐光木, 徐万里, 盛建东, 等. 新疆绿洲农田不同开垦年限土壤有机碳及不同粒径土壤颗粒有机碳变化[J]. 土壤学报, 2010, 47(2): 279-285.

[26] Six J, Paustian K, Elliott ET, et al. Soil structure and soil organic matter: I. Distribution of aggregate size classes and aggregate associated carbon[J]. Soil Science Society of America Journal, 2000, 64: 681-689.

[27] Sodhi G P S, Beri V, Benbi D K. Soil aggregation and distribution of carbon and nit rogen in different fractions under long-term application of compost in rice-wheat system[J]. Soil and Tillage Research, 2009, 103: 412-418.

[28] 史奕, 陈欣, 沈善敏. 土壤团聚体的稳定机制及人类活动的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(11): 1491-1494.

[29] 陈强, Yuriy S Kravchenko, 陈帅, 等. 不同耕作方式土壤结构季节变化[J]. 土壤通报, 2015, 46(1): 184-191.

[30] Vermang J, Demeter V, Cormeyer W M, et al. Aggregate stability and erosion response to antecedent water contentof a loess soil[J]. Soil Science Society of American, 2009, 73(3): 718-726.

[31] Munkholm L J, Kay B D. Effect of water regime on aggregate-tensile strength, rupture energy, and friability[J]. Soil Science Society of America Journal, 2002, 66(3): 702-709.

[32] 隋跃宇. 不同有机质含量的农田黑土生物活性研究[D]. 长春:中国科学院东北地理与农业生态研究所, 2009.

[33] Yan F, McBratney A B, Copeland L. Functional substrate biodiversity of cultivated and uncultivated A horizons of vertisols in NW New South Wales[J]. Geoderma, 2000, 96: 321-343.

[34] 周桔, 雷霆. 土壤微生物多样性影响因素及研究方法的现状与展望[J]. 生物多样性, 2007, 15(3): 306-311.

[35] 王苑. 气候变化背景下土壤微生物群落对干旱和大气 CO<sub>2</sub> 倍增的响应[D]. 上海: 东华大学, 2014.

[36] Vinolas L C, Vallejo V R, Jones D L. Control of aminoacid mineralization and microbial metabolism by temperature[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2001, 33: 1137-1140.