

不同施肥模式对绿洲农田土壤微生物群落丰度与酶活性的影响*

李晨华¹ 贾仲君² 唐立松^{1†} 吴宇澄² 李彦¹

(1 中国科学院阜康荒漠生态系统国家野外观测研究站(中国科学院新疆生态与地理研究所), 乌鲁木齐 830011)

(2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

摘要 以中国科学院阜康荒漠生态系统国家野外观测研究站的长期定位试验为平台,利用荧光实时定量 PCR (Real-time PCR) 技术,对不同施肥模式下的土壤微生物群落丰度进行了测定,并分析了土壤酶活性。结果表明:与无肥处理(CK)相比,20年长期单施化肥(CF)或者化肥配施秸秆(CF/OM)处理均显著增加了土壤氨氧化古菌(AOA)与氨氧化细菌(AOB)的丰度。其中,土壤AOB最低增加了16倍,而AOA最多增加了3倍,表明AOB可能在原位土壤氨氧化过程中发挥了更为重要的作用。尽管CF/OM处理的作物产量与CF处理无显著差异,但该施肥模式在维持作物产量的同时,其土壤微生物主要类群(真核微生物、细菌、古菌)数量最大,土壤有机碳含量最高,大多土壤酶活性高于其他处理,表明化肥配施有机肥有利于保持土壤生物多样性,对于提高土壤质量具有重要作用。

关键词 长期施肥;灰漠土;微生物丰度;酶活性;荧光实时定量 PCR

中图分类号 Q143;S154.36 **文献标识码** A

土壤微生物在土壤养分循环中发挥着重要作用,是农田土壤肥力的重要内涵^[1]。土壤氨氧化微生物可将氨氧化为亚硝酸盐,是土壤硝化过程的主要驱动者^[2]。土壤酶与微生物的关系密切^[3-4],土壤酶多数来自微生物分泌。土壤微生物和土壤酶参与了几乎所有的土壤生物化学过程,提高了养分元素的有效性,为作物生长与产量形成提供了重要的物质保证。不同的施肥模式强烈影响农田土壤微生物主要类群与重要功能群的数量,进而可能影响耕地质量保育与生态环境安全^[5-6]。大量施用化肥(如铵态氮肥或尿素)可能导致微生物氨氧化作用加强,硝态氮淋溶造成地下水污染;同时,长期高强度的农用化学品投入极易降低土壤微生物群落多样性,导致微生物功能丧失,进一步影响土壤质量,使得土壤障碍频发^[7-8];相反,以化肥有机肥配施的农田管理模式通常会产生较高的土壤微生物多样性,有利于提高土壤质量并增加作物产量^[9-10]。

荧光实时定量 PCR (Real-time PCR) 技术能够

在指数扩增期间,通过连续监测荧光信号出现的顺序和强弱来即时分析目的基因拷贝数,与标准品进行比较而实现基因的实时定量^[11]。荧光实时定量 PCR 克服了传统微生物培养方法的限制,能够更接近原位地认识环境微生物群落变化规律。本研究以西北干旱地区典型农业土壤-灰漠土为研究对象,以中国科学院阜康荒漠生态系统国家野外观测研究站的长期定位试验为平台,选择了该试验代表性的3种管理模式:不施肥(CK)、单施化肥(CF)、化肥配施秸秆(CF/OM),利用荧光实时定量 PCR 技术,以16S rRNA基因(细菌和古菌)和18S rRNA基因(真核微生物)作为分子标靶,研究了不同农田管理措施对土壤微生物丰度的影响;分别以氨氧化细菌(Ammonia-oxidizing bacteria, AOB)及氨氧化古菌(Ammonia-oxidizing archaea, AOA)的氨氧化单加氧酶 *amoA* 功能基因为标靶,研究了不同施肥模式对土壤硝化微生物丰度的影响,并进一步分析了土壤酶活性。为土壤质量的改善和生产力的提高,提供重要的理论基础。

* 国家自然科学基金面上项目(40971153)与中国科学院“西部之光”人才培养计划“西部博士资助项目”(XBBS200909)共同资助

† 通讯作者, E-mail: tangls@ms.xjb.ac.cn

作者简介:李晨华(1974—),女,江苏宜兴人,博士,主要从事土壤生态、微生物生态研究。E-mail: lichenhua@ms.xjb.ac.cn

收稿日期:2011-01-07;收到修改稿日期:2011-04-12

1 材料与方 法

1.1 研究区概况

研究区属于典型的温带大陆性气候,多年平均降水量 164 mm,而蒸发潜力高达 1 000 mm。土壤类型为灰漠土,系统分类名称为钙积正常干旱土(Calci-Orthic Aridosols),土壤质地为粉砂壤土,0~20cm 土层黏粒、粉粒、砂粒含量分别为 7.6%、69.7%与 22.7%^[12]。

试验在中国科学院阜康荒漠生态系统国家野外观测研究站的土壤养分长期定位试验小区(44°17'N,87°56'E,海拔 461 m)进行,于 1990 年开始。3 种施肥处理:不施肥(CK)、单施化肥(CF)、化肥配施秸秆(CF/OM),每个处理各 3 个重复(共 9 个小区),每个试验小区面积 33 m²。CF 的化肥用量为年施尿素 N 300 kg hm⁻², P₂O₅ 150 kg hm⁻², K₂O 60 kg hm⁻²。氮肥每年分两次施入,分别作为基肥与追肥,各为 50%,磷肥、钾肥均作为基肥一次性施入。氮、磷、钾肥分别选用尿素、过磷酸钙和硫酸钾。CF/OM 处理是在施同量的氮肥与磷肥的基础上,将上年该处理小区秸秆总量的 70% 还田施入。CK 处理作为 CF 和 CF/OM 的对照。采用冬小

麦种植,每年 9 月份播种,第二年 6 月底 7 月收获。此外,本文汇总了近 6 年籽粒产量。

1.2 供试土壤与样品采集

土壤样品采集分别在 2010 年 6 月底(冬小麦收割后)及 10 月中旬进行,各处理每个小区中随机选取 9 个取样点,采集 0~20 cm 的耕层土,组成混合代表样,所取土样去除杂物、细根,碾碎,过 2 mm 筛并混匀,部分土样风干后测定土壤性质与养分^[13];部分土壤样品保存于 4℃ 条件下,在 2 d 内进行相关的微生物测定。

1.3 土壤总 DNA 提取与荧光实时定量 PCR 分析

采用 FastDNA[®]SPIN Kit For Soil (MP Biomedicals, LLC)的试剂盒。称取 0.5g 土壤样品,按试剂盒规定的实验步骤进行土壤总 DNA 的提取。真核微生物、细菌、古菌、氨氧化细菌和氨氧化古菌定量 PCR 分析的分子标靶基因如表 1 所示。参照宋亚娜等^[14]所报道的方法,得到上述各微生物分子标靶基因的重组质粒,分别以 10 倍梯度稀释各基因重组质粒获得各自的标准曲线。每个样品 3 次重复。采用宝生物工程(大连)有限公司的 SYBR[®]Premix Ex Taq[™]Perfect Real Time 试剂盒于 CFX96 Real-Time PCR System 扩增仪上分析。定量 PCR 的反应体系为 20 μl,包括 1 μl 稀释 10 倍的 DNA 模板、10

表 1 荧光实时定量 PCR 扩增引物及反应条件

Table 1 The primers and PCR conditions used in this study

名称 Taxa	引物序列 Primer sequences(5'-3')	片段长度 Length of amplicons	定量 PCR 反应程序 Thermal profile for PCR
真核微生物 Eukarya	Euk1A: CTGTTGATCCTGCCAG Euk516R: ACCAGACTTGCCCTCC	560 bp	94℃ 预变性 5min, 94℃ 变性 30 s, 56℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 40 s, 35 个循环 5min at 94℃, followed 35 cycles of 30 s at 94℃, 45 s at 56℃, 40 s at 72℃
细菌 Bacteria	515F: GTGCCAGCMGCCGCGG 907R: CCGTCAATTCMTTTRAGTTT	382 bp	95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 5 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环 30 s at 95℃, followed 35 cycles of 5s at 95℃, 30 s at 55℃, 30 s at 72℃
古菌 Archaea	771F: ACGGTG AGGATGAAAGCT 934R: GTGCTCCCCGCCAATTCCT	163 bp	95℃ 预变性 3min, 95℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环 3 min at 95℃, followed 35 cycles of 30 s at 95℃, 30 s at 55℃, 30 s at 72℃
氨氧化细菌 AOB	amoA-1F: GGGGTTTCTACTGGTGGT amoA-2R: CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	491 bp	95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 30 s, 57℃ 退火 45 s, 72℃ 延伸 1 min, 35 个循环 5 min at 95℃, followed 35 cycles of 30 s at 95℃, 45 s at 57℃, 1 min at 72℃
氨氧化古菌 AOA	Arch-amoAF: TAATGGTCTGGCTTAGACG Arch-amoAR: CGGCCATCCATCTGTATGT	635 bp	95℃ 预变性 3 min, 95℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环 3 min at 95℃, followed 35 cycles of 30 s at 95℃, 30 s at 55℃, 30 s at 72℃

μl SYBR Premix Ex Taq™ Perfect Real Time, 前、后引物各 $0.2 \mu\text{l}$ ($20 \mu\text{mol L}^{-1}$) 和 $8.6 \mu\text{l}$ 的灭菌双蒸水。

1.4 土壤酶活性分析^[15]

土壤转化酶采用二硝基水杨酸(DNS)法,以每 g 土产生的葡萄糖的 mg 数表示;脲酶活性用奈氏比色法,以 $\text{NH}_4^+ \text{-N mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$ 为单位;蛋白酶用茚三酮比色法,以 30°C 下甘氨酸 $\text{mg g}^{-1} \text{d}^{-1}$ 为单位;过氧化氢酶以每 g 土消耗 0.1 mol L^{-1} 高锰酸钾 ml 数表示;磷酸酶活性用磷酸苯二钠法,以 37°C 下酚 $\text{m g g}^{-1} \text{d}^{-1}$ 为单位。

1.5 统计分析

文中结果均以烘干土 (105°C , 24h) 来表达,利用 Spass11.5 软件,对 CK、CF 与 CF/OM 处理(各 3 个重复)进行了相关统计分析。

2 结果与分析

2.1 长期施肥对土壤性质及作物产量的影响

长期施肥对土壤性质和小麦产量具有显著的

影响(表 2)。与 CK 相比,CF 和 CF/OM 处理显著降低了土壤 pH,并且 CF 处理土壤的 pH 降幅高于 CF/OM 处理 ($p < 0.05$)。对土壤养分而言,CF 与 CF/OM 处理显著提高了土壤有机碳、全氮、全磷、碱解氮含量等土壤养分的含量,然而,除碱解氮外,CF 处理下土壤养分的增加幅度低于 CF/OM 处理。同时,CF 或 CF/OM 处理下作物产量增幅高达 370%,表明长期施肥显著改善了作物生长的营养环境,但配施秸秆仅使小麦产量略高于单施化肥处理,两者间产量无显著差异 ($p > 0.05$)。

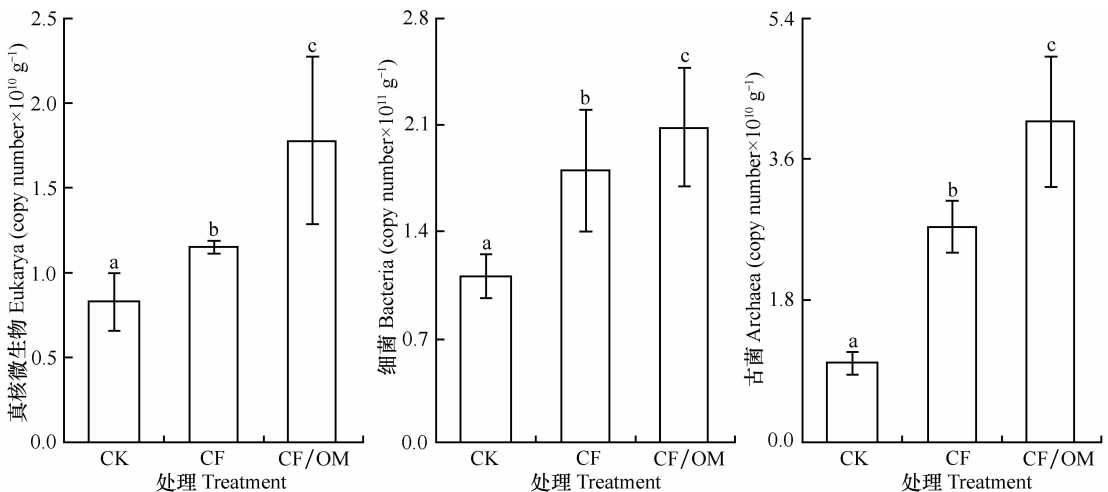
2.2 土壤真核微生物、细菌、古菌与氨氧化微生物丰度

灰漠土中细菌数量最高,真核微生物与古菌数量较低(图 1)。与 CK 对照相比,CF 和 CF/OM 施肥处理均显著增加了土壤真核微生物、细菌及古菌的数量,但 CF/OM 处理的效果明显高于 CF 处理,具有统计上的显著差异性。CF/OM 处理下真核微生物、细菌、古菌的增加倍数分别为 2.2、1.9、4.1,而 CF 处理下的增加倍数分别为 1.4、1.6、2.8。

表 2 土壤基本性质与作物产量
Table 2 Soil properties and crop yield

处理 Treatment	pH	全盐量 Total salt (g kg ⁻¹)	有机碳 SOC (g kg ⁻¹)	全氮 Total N (g kg ⁻¹)	全磷 Total P (g kg ⁻¹)	速效钾 Avail K (mg kg ⁻¹)	碱解氮 Avail N (mg kg ⁻¹)	产量 ¹⁾ Yield (t hm ⁻² a ⁻¹)
CK	8.6 ± 0.1 c	1.8 ± 0.8 a	4.4 ± 0.2 a	0.46 ± 0.04 a	0.85 ± 0.04 a	232 ± 10 a	1.0 ± 0.1 a	5.4 ± 0.8 a
CF	8.2 ± 0.1 a	1.3 ± 0.3 a	6.3 ± 0.4 b	0.65 ± 0.03 b	1.14 ± 0.05 b	151 ± 6 b	30.2 ± 4.3 c	25.1 ± 1.2 b
CF/OM	8.4 ± 0.1 b	1.8 ± 0.3 a	7.2 ± 0.2 c	0.78 ± 0.04 c	1.27 ± 0.04 c	188 ± 8 c	20.8 ± 3.1 b	25.6 ± 0.9 b

1) 近 6 年小麦总粒重 Total grain weight of wheat in recent six years (Year 2003 ~ 2009)



注: 图中不同字母表示差异显著 ($p < 0.05$)。下同 Note: Different letters represent significant difference ($p < 0.05$). The same below

图 1 不同施肥模式下土壤真核微生物、细菌及古菌丰度

Fig. 1 Abundances of soil eukarya, bacteria and archaea under different fertilizer managements

不同施肥管理模式土壤氨氧化古菌(AOA)的数量均明显高于氨氧化细菌(AOB)(图2)。与不施肥处理(CK)相比,单施化肥(CF)和化肥配施秸秆处理(CF/OM)土壤中 AOB 分别增加了 16.7 倍和 20.1 倍, AOA 分别增加了 3.2 倍和 2.0 倍。铵态氮肥——尿素的长期施用,强烈刺激了氨氧化微生物

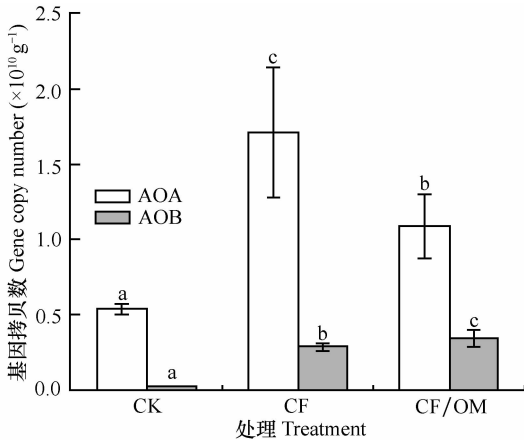
的丰度。AOB 对施肥管理模式的响应远高于 AOA。例如,不施肥对照 CK 处理的土壤 AOA 是 AOB 的 31 倍,然而,20 年单施化肥 CF 和化肥配施秸秆 CF/OM 处理下土壤中 AOA/AOB 的相对比例分别降低为 6 和 3。

2.3 土壤酶活性

与 CK 对照相比(图3):CF 处理导致了土壤脲酶与转化酶的显著增加,而过氧化氢酶则显著降低;CF/OM 处理显著增强了各种土壤酶活性,其中过氧化氢酶、脲酶、蛋白酶、磷酸酶活性显著高于 CF 处理。从土壤酶活性所增加的倍数来看,施肥处理对土壤蛋白酶、转化酶及脲酶活性影响较大,增幅最高达 2.6 倍(转化酶),最低为 1.3 倍(蛋白酶)。

2.4 相关性分析

除土壤 AOA 与过氧化氢酶活性外,土壤各微生物类群丰度、酶活性与土壤有机碳及全氮含量均呈显著正相关(表3)。土壤细菌、AOA、AOB 与土壤 pH 显著负相关。土壤 AOA 与全盐量显著负相关。土壤真核微生物、细菌、古菌、AOB 丰度与大多数土壤酶(转化酶、脲酶、蛋白酶、磷酸酶)活性均呈显著正相关,而 AOA 仅与过氧化氢酶间呈显著负相关(表4)。



注:图中同一柱形不同字母表示差异显著($p < 0.05$)
Note: Different letters in the same column represent significant difference ($p < 0.05$)

图2 不同施肥模式土壤氨氧化细菌(AOB)与氨氧化古菌(AOA)丰度

Fig. 2 Abundances of soil AOB and AOA under different fertilizer managements

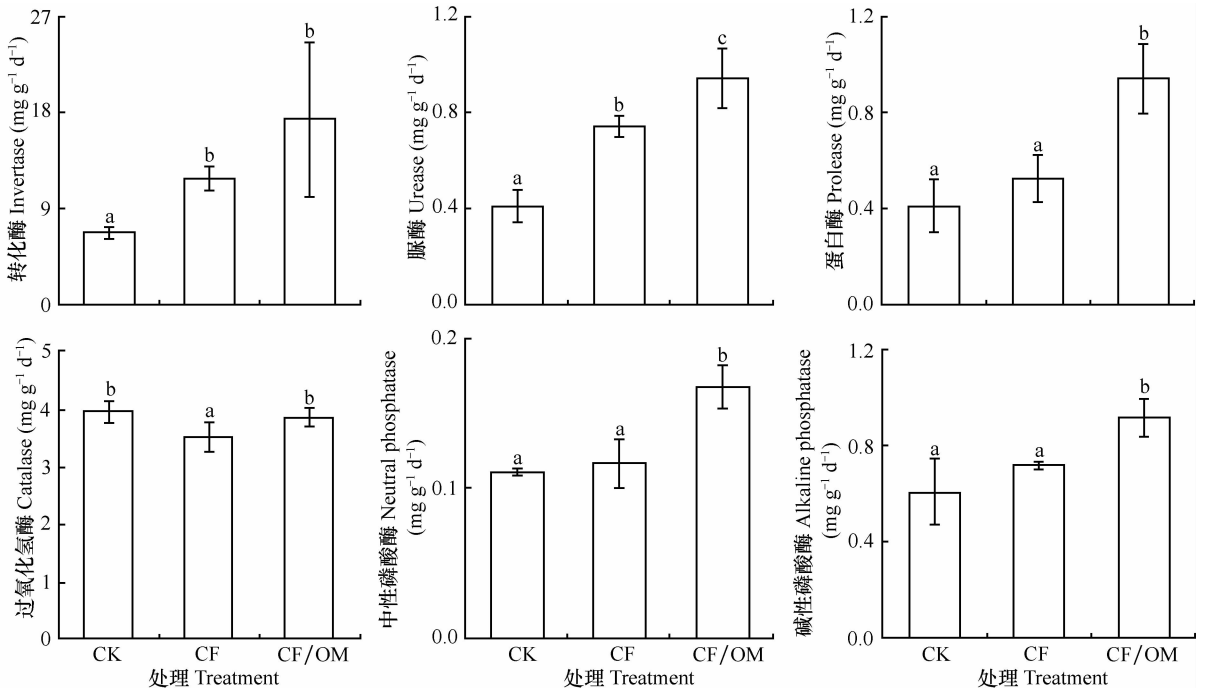


图3 不同施肥模式下土壤转化酶、脲酶、蛋白酶、过氧化氢酶、中性与碱性磷酸酶活性

Fig. 3 Activities of soil invertase, urease, protease, catalase, neutral and alkaline phosphatase under different fertilizer managements

表 3 土壤微生物丰度、酶活性与土壤性质的相关分析

Table 3 Correlations between soil microbial abundances, enzyme activities and soil properties

	真核微生物 Eukarya	细菌 Bacteria	古菌 Archaea	氨氧化细菌 AOB	氨氧化古菌 AOA	转化酶 Invertase
pH	-0.33	-0.69*	-0.56	-0.77**	-0.99**	-0.47
全盐量 Total salt	0.19	-0.23	-0.07	-0.35	-0.88**	0.03
有机碳 SOC	0.92**	0.99**	0.99**	0.99**	0.64*	0.97**
全氮 Total N	0.96**	0.99**	0.99**	0.97**	0.56	0.99**

	脲酶 Urease	蛋白酶 Protease	过氧化氢酶 Catalase	中性磷酸酶 Neutral phosphatase	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase
pH	-0.62*	-0.2	0.94**	-0.09	-0.36
全盐量 Total salt	-0.14	0.31	0.98**	0.42	0.15
有机碳 SOC	0.99**	0.87**	-0.37	0.80**	0.94**
全氮 Total N	0.99**	0.91**	-0.28	0.86**	0.97**

*: $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, $n = 9$. 下同 The same below

表 4 土壤微生物丰度与酶活性间的相关系数

Table 4 Correlations between soil microbial abundances and soil enzyme activities

	转化酶 Invertase	脲酶 Urease	蛋白酶 Protease	过氧化氢酶 Catalase	中性磷酸酶 Neutral phosphatase	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase
真核微生物 Eukarya	0.99**	0.95**	0.99**	0.01	0.97**	0.99**
细菌 Bacteria	0.97**	0.99**	0.85**	-0.40	0.78**	0.93**
古菌 Archaea	0.99**	0.99**	0.92**	-0.25	0.87**	0.97**
氨氧化细菌 AOB	0.93**	0.98**	0.78**	-0.51	0.72**	0.87**
氨氧化古菌 AOA	0.44	0.59	0.17	-0.95**	0.05	0.33

3 讨论

本研究中,土壤氨氧化古菌 AOA 的数量远高于氨氧化细菌 AOB,这与已有的大多研究一致^[16]。虽然土壤 AOB 的数量不占优势,然而,灰漠土 20 年长期施肥处理导致 AOB 的增幅达 20 倍,而 AOA 的增幅最多仅为 3.2 倍,说明 AOB 可能在田间土壤原位硝化过程中发挥了更重要的作用。土壤 AOB 偏好利用氨分子作为底物生长^[17]。本研究区所施氮肥为尿素,尿素在土壤中极易水解或通过其他方式转化为氨分子,进一步促进了 AOA、尤其是 AOB 的生长繁殖,推动土壤硝化过程。

本研究还表明,化肥配施秸秆施肥模式下的土壤 AOB 的增幅显著高于单施化肥处理,但后者土壤 AOA 的增幅则显著高于前者(图 2)。pH、盐分及铵态氮浓度的变化均会影响生态系统中 AOA 的群落结构和活性^[18-20]。有研究表明,AOA 在偏酸性农田土壤中硝化过程的主要驱动者^[21],但 pH 影响 AOA

数量和组成的内在机理目前仍不清楚^[2]。本研究中,AOA 对土壤 pH 及盐含量尤其敏感(相关系数达 -0.99 与 -0.88,表 3),而单施化肥处理导致土壤 pH 显著降低(在 3 个处理中为最低,表 2),因此这可能是其 AOA 数量在 3 个处理中最高的原因。

真核微生物是旱地土壤微生物中的主要类群,本研究中单施化肥与化肥配施秸秆处理均显著增加了真核微生物的数量,但配施秸秆处理更有利于真核微生物数量的增加(图 1)。真菌是真核微生物的主要组成,对底物具有更强的广谱性,可利用 C/N 比更为宽幅的底物生长^[22]。秸秆的 C/N 比较高,施用秸秆能促进真菌的生长,显著提高真核微生物的数量。此外,单施化肥与化肥配施秸秆处理也显著增加了细菌数量。细菌对环境的变化较为敏感,湿润及其 pH 近于中性的土壤环境有利于其生长与繁殖,对有机碳质量要求较高^[23]。本研究中,长期施肥使得土壤主要理化性质得到明显改善,pH 显著降低,特别是土壤有机碳的含量显著增加,有利于细菌生长,从而提高了细菌数量。此外,在真核微

生物、细菌与古菌中,施肥对灰漠土总古菌丰度的影响最为显著,单施化肥和化肥配施秸秆处理下土壤古菌的增加倍数分别为 2.8 和 4.1;同时,古菌的 16S rRNA 基因数量与氨氧化古菌的 *amoA* 处于同一个数量级,表明氨氧化古菌可能是灰漠土古菌微生物群落的主要组成,在土壤碳氮循环构成中发挥了重要作用。一般认为古菌仅存于极端环境,但近年来,分子生态学研究发现古菌也广泛存在于非极端环境,并且具有较高的丰度^[24],占土壤微生物总量最高可达 12%^[25],但其生理代谢特点仍不清楚。

大量研究表明:化肥配施有机肥是提升土壤有机质含量的一种理想施肥方式,生态环境效果高于单纯施用化肥的农业管理模式;长期高强度的化肥施用模式则不利于土壤微生物多样性的提高,易导致土壤质量退化^[26]。本研究结果表明:化肥配施秸秆处理的土壤微生物类群数量显著高于单施化肥处理,值得注意的是,单施化肥也显著增加了各微生物类群的数量,与已有的报道有很大的不同。研究手段的不同可能导致了这种研究结果的差异,已有的灰漠土微生物研究大多采用传统的平板稀释培养法,而本研究采用的是荧光实时定量 PCR 技术,所得到的结果能更真实反映不同施肥管理方式对田间条件下土壤微生物群落结构的影响。

微生物在其生命活动过程中,向土壤分泌大量的胞外酶;微生物死亡后,由于细胞的自溶作用把胞内酶也释放至土壤中推动了土壤生物化学反应,因此,土壤酶活性在一定程度上则反映了微生物的活性及其在土壤养分循环过程中的作用^[3-4]。本研究区灰漠土农田土壤真核微生物、细菌、古菌、AOB 丰度与大多数土壤酶(转化酶、脲酶、蛋白酶、磷酸酶)活性均呈极显著正相关(表 4),同时,土壤各微生物丰度、土壤酶活性均与土壤有机碳及全氮极显著正相关(表 3),说明土壤微生物主要类群(真核微生物、细菌及古菌)与重要功能群(AOB)的数量、土壤酶活性及土壤养分含量之间可能具有密切的联系。长期不同施肥模式均显著增加了灰漠土各微生物类群的丰度,但单施化肥其土壤大多数酶活性与对照相比无显著变化,而且过氧化氢酶活性降低,说明其土壤中养分的转化能力及生物活性有所降低;化肥配施秸秆则显著增加了转化酶、脲酶、蛋白酶、中性与碱性磷酸酶活性,且大多土壤酶活性均显著高于单施化肥处理,可见,化肥配施秸秆处理在增强土壤酶活性方面具有更明显的优势。

长期施肥显著增加了土壤真核微生物、细菌、古菌与氨氧化微生物(AOA 与 AOB)的数量,提高了作物产量及大多土壤养分含量,其中,化肥配施秸秆施肥模式下的土壤微生物主要类群(真核微生物、细菌及古菌)与重要功能群(AOB)的数量(图 1 与图 2)、土壤大多数酶活性、土壤有机碳与全氮含量均显著高于单施化肥处理(图 3 与表 2),虽然两者作物产量并无明显差异,但以上结果能够充分说明:化肥配施秸秆的施肥模式在维持作物产量的同时,对于增加土壤有机碳及养分含量、提高土壤微生物丰度、尤其在增强土壤酶活性三个方面具有明显优势,可能对土壤质量的保育更为有利。

4 结 论

长期施肥显著改变了灰漠土农田土壤各微生物丰度及土壤酶活性,进而可能改变土壤微生物多样性及其微生态环境并影响土壤质量。20 年长期单施化肥与化肥配施秸秆处理均显著增加氨氧化微生物,特别是 AOB 的丰度,表明 AOB 在本区土壤硝化过程中发挥了重要作用。尽管两种施肥模式下作物产量没有显著性差异,但配施秸秆处理的土壤真核微生物、细菌、古菌及氨氧化细菌丰度均显著高于单施化肥处理,且大多数土壤酶活性也显著高于后者。结果表明:化肥配施秸秆处理在维持作物产量的同时,有利于提高土壤微生物多样性,对于提高土壤质量具有重要作用。

致 谢 感谢中国科学院南京土壤研究所李晓慧、张彩霞、夏国围等同学在样品测试与分析中给予的帮助!

参 考 文 献

- [1] 陈吉,赵炳梓,张佳宝,等. 长期施肥处理对玉米生长期潮土微生物生物量和活度的影响. 土壤学报, 2010, 47(1): 122—130. Chen J, Zhao B Z, Zhang J B, et al. Effect of long-term fertilization on microbial biomass and activity in fluvo-aquic soil during maize growth period (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2010, 47(1): 122—130
- [2] Jia Z J, Conrad R. Bacteria rather than archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil. Environmental Microbiology, 2009, 11(7): 1 658—1 671
- [3] 颜慧,钟文辉,李忠佩,等. 长期施肥对红壤水稻土磷脂脂肪酸特性和酶活性的影响. 应用生态学报, 2008, 19(1): 71—75. Yan H, Zhong W H, Li Z P, et al. Effects of long-term fertilization on phospholipid fatty acids and enzyme activities in paddy red soil (In Chinese). Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(1): 71—75
- [4] Yao X H, Min H, Lü Z H, et al. Influence of acetamidrid on

- soil enzymatic activities and respiration. *European Journal of Soil Biology*, 2006, 42(2): 120—126
- [5] Bossio D A, Girvan M S, Verchot L, et al. Soil microbial community response to land use change in an agricultural landscape of Western Kenya. *Microbial Ecology*, 2005, 49(1): 50—62
- [6] Lohmus K, Truu M, Truu J, et al. Functional diversity of culturable bacterial communities in the rhizosphere in relation to fine-root and soil parameters in alder stands on forest, abandoned agricultural, and oil-shale mining areas. *Plant and Soil*, 2006, 283(1): 1—10
- [7] Papatheodorou E M, Efthimiadou E, Stamou G P. Functional diversity of soil bacteria as affected by management practices and phenological stage of *Phaseolus vulgaris*. *European Journal of Soil Biology*, 2008, 44(4): 429—436
- [8] Lupwayi N Z, Rice W A, Clayton G W. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(13): 1 733—1 741
- [9] Birkhofer K, Bezemer T M. Long-term organic farming fosters below and aboveground biota: Implications for soil quality, biological control and productivity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(9): 2 297—2 308
- [10] Gamini S. Collapse of beneficial microbial communities and deterioration of soil health: A cause for reduced crop productivity. *Current Science*. 2009, 96(5): 633
- [11] 赵爽, 罗佳, 凌宁, 等. 基因宏阵列和荧光定量 PCR 方法对西瓜枯萎病害土壤中央孢镰刀菌的快速检测和定量. *土壤学报*, 2010, 46(4): 703—708. Zhao S, Luo J, Ling N, et al. Quick check and quantification of *Fusarium oxysporum* in soil with macroarray and real-time PCR method (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 46(4): 703—708
- [12] 李晨华, 唐立松, 李彦. 干湿处理对灰漠土土壤理化性质及微生物活性的影响. *土壤学报*, 2007, 44(2): 364—367. Li C H, Tang L S, Li Y. Effects of air-drying and rewetting on physico-chemical properties and microbial activity of desert grey soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44(2): 364—367
- [13] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000
- [14] 宋亚娜, 陈在杰, 林智敏. 水稻生育期内红壤稻田氨氧化微生物数量和硝化势的变化. *中国生态农业学报*, 2010, 18(5): 954—958. Song Y N, Chen Z J, Lin Z M. Abundance of ammonia-oxidizer and potential nitrification rate of quaternary red-clay paddy soil during rice growth (In Chinese). *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2010, 18(5): 954—958
- [15] 周礼恺. 土壤酶学. 北京: 科学出版社, 1987. Zhou L K. Soil enzymology (In Chinese). Beijing: Science Press, 1987
- [16] Leininger S, Urich T, Schloter M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature*, 2006, 442: 806—809
- [17] Suzuki I, Dular U, Kwok S C. Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *Journal of Bacteriology*, 1974, 120(1): 556—558
- [18] Martens-Habbena W, Berube P M, Urakawa H, et al. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying archaea and bacteria. *Nature*, 2009, 461: 976—979
- [19] Nicol G W, Leininger S, Schleper C, et al. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 2 966—2 978
- [20] Erguder T H, Boon N, Wittebolle L, et al. Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea. *FEMS Microbiology Reviews*, 2009, 33(5): 855—869
- [21] Offre P, Prosser J I, Nicol G W. Growth of ammonia-oxidizing archaea in soil microcosms is inhibited by acetylene. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 70(1): 99—108
- [22] Paul E A, Clark F E. Components of the soil biota//Paul E A, Clark F E. *Soil microbiology and biochemistry*. San Diego: Academic Press, 1996: 71—107
- [23] Coleman D C, Crossley D A. *Fundamentals of soil ecology*. USA: Academic Press, 1996: 35—36
- [24] Karner M B, DeLong E F, Karl D M. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean. *Nature*, 2001, 409: 507—510
- [25] Roesch L F W, Fulthorpe R R, Riva A, et al. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *The ISME Journal*, 2007, 1: 283—290
- [26] 刘骅, 林英华, 张云舒, 等. 长期施肥对灰漠土生物群落和酶活性的影响. *生态学报*, 2008, 28(8): 3 898—3 904. Liu H, Lin Y H, Zhang Y S, et al. Effects of long-term fertilization on biodiversity and enzyme activity in grey desert soil (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(8): 3 898—3 904

EFFECT OF MODEL OF FERTILIZATION ON MICROBIAL ABUNDANCE AND ENZYME ACTIVITY IN OASIS FARMLAND SOIL

Li Chenhua¹ Jia Zhongjun² Tang Lisong^{1†} Wu Yucheng² Li Yan¹

(1 State Field Research Station of Desert Ecosystem in Fukang, Xinjiang Institute of Ecology and Geography,
Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China)

(2 State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract A 20-year field experiment on fertilization models, e. g. applications of inorganic fertilizer alone (CF) and inorganic fertilizer combined with wheat straw (CF/OM) was carried out to study responses of the soil in microbial abundance and enzyme activity in the State Field Research Station of Desert Ecosystem in Fukang, Xinjiang, China. Real-time quantitative polymerase chain reaction (Real-time PCR) analysis indicates that the abundances of soil ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) were significantly higher in Treatment CF and Treatment CF/OM than in the control (no application of fertilizer, CK). The population of soil AOB was increased at least by 16 times while that of soil AOA at best by 3 folds, which suggests that AOB play a more important role in *in-situ* nitrification. Although Treatment CF/OM did not differ much from Treatment CF in crop yield, but was the highest in population size of main soil microbial groups, content of soil organic carbon and activity of most soil enzymes when still sustaining crop yield, which indicates that combined application of chemical fertilizer and organic manure is conducive to maintenance of soil micro-biodiversity and plays an important role in improving soil quality for sustainable agriculture.

Key words Long-term fertilization; Gray desert soil; Microbial abundance; Enzyme activity; Real-time PCR