

ISSN 0564-3929

Acta Pedologica Sinica 土壤学报

Turang Xuebao



中国土壤学会 主办
科学出版社 出版

2015

第52卷 第3期

Vol.52 No.3



土壤学报

(Turang Xuebao)



第 52 卷 第 3 期 2015 年 5 月

目 次

综述与评论

- 强还原土壤灭菌防控作物土传病的应用研究····· 蔡祖聪 张金波 黄新琦等 (469)
- 土壤裂隙及其优先流研究进展····· 张中彬 彭新华 (477)

研究论文

- 东北典型黑土区农耕土壤团聚体流失特征····· 温磊磊 郑粉莉 沈海鸥等 (489)
- 青藏高原永冻土活动层厚度预测指标集的建立及制图····· 陈吉科 赵玉国 赵林等 (499)
- 贡嘎山海螺沟冰川退缩区土壤序列矿物组成变化····· 杨子江 邴海健 周俊等 (507)
- 成都典型区水稻土有机碳组分构成及其影响因素研究····· 廖丹 于东升 赵永存等 (517)
- 河北省土壤温度与干湿状况的时空变化特征····· 曹祥会 雷秋良 龙怀玉等 (528)
- 喀斯特小流域土壤饱和导水率垂直分布特征····· 付同刚 陈洪松 王克林 (538)
- 大沽河中游地区土壤水与浅层地下水转化关系研究····· 杨玉峥 林青 王松禄等 (547)
- 化学转化法测定水体中硝酸盐的氮氧同位素比值····· 王曦 曹亚澄 韩勇等 (558)
- ¹³C脉冲标记定量研究施氮量对光合碳在水稻-土壤系统中分布的影响····· 刘萍 江春玉 李忠佩 (567)
- 垄作免耕对稻田垄埂土壤有机碳累积和作物产量的影响····· 慈恩 王莲阁 丁长欢等 (576)
- 施入¹⁵N标记氮肥在长期不同培肥土壤的残留及其利用····· 赵伟 梁斌 周建斌 (587)
- 长期不同施肥对红壤性水稻土产量及基础地力的影响····· 鲁艳红 廖育林 周兴等 (597)
- 长期施肥对双季稻产量变化趋势、稳定性和可持续性的影响····· 冀建华 侯红乾 刘益仁等 (607)
- 高粱分泌硝化抑制物对羟基苯丙酸与质子泵的关系研究····· 周金泉 张明超 魏志军等 (620)
- 钝化剂-锌肥降低烟草镉含量长期效果研究····· 曹晨亮 王卫 马义兵等 (628)
- 钾肥和腐殖酸互作对烤烟有机钾盐指数的影响····· 郑东方 许嘉阳 许自成等 (637)
- 桉树取代马尾松对土壤养分和酶活性的影响····· 张凯 郑华 陈法霖等 (646)
- 荒漠区生物土壤结皮对土壤酶活性的影响····· 杨航宇 刘艳梅 王廷璞 (654)
- 高量秸秆不同深度还田对黑土有机质组成和酶活性的影响····· 矫丽娜 李志洪 殷程程等 (665)
- 链霉菌JD211对水稻幼苗促生作用及土壤细菌多样性的影响····· 王世强 魏赛金 杨陶陶等 (673)

研究简报

- 基于最小数据集的塔里木河上游绿洲土壤质量评价····· 贡璐 张雪妮 冉启洋 (682)
- 铁膜对水稻根表面电学性质和氮磷钾短期吸收的影响····· 郑芸芸 李忠意 李九玉等 (690)
- 长期不同施肥条件下红壤性水稻土微生物群落结构的变化····· 夏昕 石坤 黄欠如等 (697)
- 滨海盐碱地不同造林树种林地土壤盐碱化特征····· 王合云 李红丽 董智等 (706)

信息

- 2015国际土壤年····· (696)

封面图片：稻田裂隙二维与三维图像 (由张中彬提供)

DOI: 10.11766/trxb201407260376

长期不同施肥条件下红壤性水稻土微生物群落结构的变化*

夏昕¹ 石坤¹ 黄欠如² 李大明² 刘满强¹
李辉信¹ 胡锋¹ 焦加国^{1†}

(1 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

(2 江西省红壤研究所, 南昌 331717)

摘要 以位于江西省红壤研究所内长期定位试验的水稻土(始于1981年)为研究对象,运用磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)和BIOLOG分析技术研究了不施肥(CK)、单施化肥(NPK)及有机肥与化肥混施(NPKM)三种施肥方式对土壤微生物群落结构的影响。结果表明:长期施化肥和有机肥与化肥混施处理的PLFA总量均高于未施肥处理,两者分别较未施肥处理高91%和309%; PLFA主成分分析(PCA)显示施肥促进了土壤微生物群落结构的变化,其中NPKM处理增加了革兰氏阴性细菌(G⁻细菌)、真菌、放线菌和原生动物的数量,NPK处理增加了革兰氏阳性细菌(G⁺细菌)的数量,不施肥处理较施肥处理提高了真菌/细菌比例,CK和NPK处理的微生物群落结构更为相似;各施肥处理间土壤的AWCD值(平均每孔颜色变化率, average well color development, AWCD)表明,NPKM处理能够促进土壤微生物群落对碳源的利用能力,进而增加土壤中微生物的整体活性,而NPK处理减弱了土壤微生物的活性。代谢功能多样性分析同时表明,NPKM处理增加了微生物群落的多样性,而NPK处理使土壤微生物的多样性降低;土壤PLFA与土壤养分的相关性分析显示,土壤总PLFA量与土壤有机质和全氮呈极显著相关($p < 0.01$),与速效养分相关性不大。

关键词 长期施肥; 红壤性水稻土; 磷脂脂肪酸; BIOLIG; 微生物群落; 多样性

中图分类号 Q142; Q936; Q938.1 **文献标识码** A

红壤是我国中亚热带湿润地区分布的地带性土壤,其分布总面积达203万km²,红壤地区种植的作物以水稻为主,但由于高度风化和淋溶的原因,其pH低,而且营养缺乏,作物通常受高酸度和营养供给缺乏的限制^[1-2]。所以,如何提高该地区的水稻产量一直以来受到学者的关注^[3]。

土壤微生物是土壤的重要组成部分,是影响土壤肥力的重要因素^[4]。它不仅是衡量土壤质量、维持土壤肥力和作物生产的一个重要的指标^[5],而且还对其所生存的微环境十分敏感,能对土壤生态机制变化和环境胁迫迅速做出反应,进而导致群落结构发生改变,因此,它也被认为是土壤生态系

统变化的预警及敏感指标^[6]。近年来,土壤微生物群落结构及多样性方面的研究受到国内外许多学者的青睐,国内外一些学者研究了土地利用方式、施肥方式和耕作方式等对土壤微生物群落结构的影响,结果表明有机肥施用以及有机耕作能够明显改善土壤微生物群落结构和多样性^[7-10]。

然而,土壤微生物群落结构组成十分复杂,数量巨大,单纯的利用传统培养方法取得的土壤微生物信息往往不能全面地反映自然状况下的土壤微生物群落结构变化^[11-12]。为此,本文选用当今迅速发展的磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)和BIOLOG技术,以江西省红壤研究所内的

*国家自然科学基金项目(41201252)资助

†通讯作者, E-mail: jiaguojiao@njau.edu.cn

作者简介: 夏昕(1988—),男,辽宁辽阳人,硕士研究生,主要从事土壤生态修复。E-mail: xinxia_hgg@sohu.com

收稿日期: 2014-07-26; 收到修改稿日期: 2015-01-23

水稻土长期定位试验（始于1981年）为研究对象，研究长期不同的施肥处理对土壤微生物群落结构的影响，揭示长期施肥处理土壤微生物多样性的变化及群落结构的演变状况，以期为维持及提高土壤生物肥力及调整当地的农业经营措施提供依据。

1 材料与方 法

1.1 试验地概况

试验地位于江西省红壤研究所（116°20'24" E、28°15'30" N），属于中亚热带季风气候，年均降雨量1 537 mm，年蒸发量1 100~1 200 mm。年平均气温17.7~8.5 °C，最冷月（1月）平均气温为4.6 °C，最热月（7月）平均气温为28.0~29.8 °C。典型丘岗地形，海拔高度25~30 m，坡度5°。海

拔高度25~30 m，为典型的低丘红壤地区。

1.2 试验设计

长期定位试验始于1981年，试验开始时耕层（0~20 cm）土壤理化性质为：pH（H₂O）6.9，有机质16.3 g kg⁻¹，全氮1.49 g kg⁻¹，速效磷5.27 mg kg⁻¹，速效钾80.52 mg kg⁻¹。选择其中3个处理，分别为不施任何肥料（CK）、施氮磷钾肥（NPK）、施氮磷钾和有机肥（NPKM），具体施肥量见表1，每个处理3次重复。小区面积为46.67 m²，随机区组排列。有机肥和磷肥作基肥一次施入，尿素和氯化钾肥在水稻返青后和分蘖盛期分二次追施。氮肥用尿素（N含量46%），磷肥用普通过磷酸钙（P₂O₅含量12.5%），钾肥用氯化钾（K₂O含量60%）；有机肥早稻为紫云英，晚稻为猪粪。水田耕作制度为“稻—稻—冬闲”制。

表1 水稻土不同施肥处理的施肥量

Table 1 Fertilization rate in paddy soil relative to fertilization treatment

处理 Treatment	每季施肥量 Fertilization rate of each quarter (kg hm ⁻²)			
	尿素 Urea (N)	磷肥 Phosphate fertilizer (P ₂ O ₅)	钾肥 Potassium fertilizer (K ₂ O)	有机肥 Organic manure
CK	0	0	0	0
NPK	196	360	125	0
NPKM	196	360	125	22 500

1.3 土壤样品采集

2013年3月18日，于江西省红壤研究所红壤水田长期肥料定位试验地采集各处理0~20 cm土层土壤样品。每个小区S形采集12个点，进行混合处理。在室内挑出土壤中大的砾石、作物残留根系和其他废弃物，过2 mm筛后，立刻测定微生物生物量碳、氮，另一部分于-20 °C冷冻保存，并在一周内测定PLFA和BIOLOG。

1.4 分析方法

土壤基本理化性质采用常规方法^[13]。

土壤微生物生物量碳、氮测定：采用氯仿熏蒸—K₂SO₄提取方法^[14-15]，浸提液中的微生物生物量碳采用总有机碳分析仪（Elementar Vario EL III，德国）测定，微生物生物量氮采用凯氏定氮法测定。

BIOLOG测定：BIOLOG技术通过分布于96孔

中的碳源底物来分析评价土壤微生物代谢特征，ECO板接种液的制备采用Classen等^[16]的方法。使用BIOLOG读板仪测定ECO板各孔在590 nm波长下的吸光值。

PLFA测定：本实验采用修正的Bligh-Dyer^[17]方法。检测由Agilent 6850气象色谱仪测定，仪器条件：色谱柱型号为Agilent 19091B-102E Ultra 25% Phenyl Methyl Siloxane 25.0 m × 200 μm × 0.33 μm；进样量为2 μl；进样口温度为250 °C；载气气体为氦气；恒压模式为22 psi；分流比为100:1。

1.5 数据处理

运用Microsoft Excel 2007及IBM SPSS Statistics 20系统软件进行数据统计分析，运用Canoco 5.0和Origin 8.0软件进行制图。

2 结 果

2.1 长期不同施肥处理对土壤微生物 PLFA 含量的影响

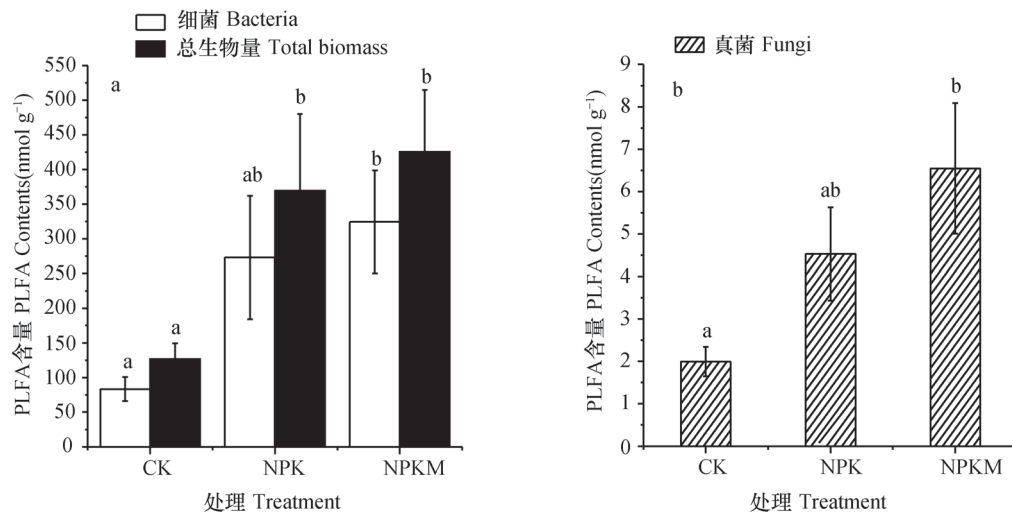
PLFA 是活体微生物细胞膜恒定的组分，对环境因素敏感，特定的菌落 PLFA 数量变化可反映出原位土壤真菌、细菌活体生物量与菌落结构^[18-20]。Bardgett 等^[21] 也认为土壤中的磷脂脂肪酸可以用来表示相对应的微生物群落的生物量和结构。本文根据现有的研究结果总结了供试土壤中各脂肪酸代表的微生物（表 2）。

PLFA 分析结果表明，长期不同施肥的土壤微生物数量产生了明显差异，特别是 NPKM 的土壤中细菌 PLFA 量、真菌 PLFA 量及微生物 PLFA 总量较 CK 均有显著增加 ($p < 0.05$)，而 NPK 处理也有增加，但未达到显著水平 ($p > 0.05$)（图 1）。进一步分析得出，细菌为土壤微生物的主要成分，约占土壤微生物总量的 70% ~ 80%，而真菌约占微生物总量的 10% ~ 15%，其他成分是放线菌和一些原生动物等。其中，供试水稻土土壤微生物群落主要含有脂肪酸（i15 : 0, 16 : 1w7c, 16 : 0, 10Me16 : 0, 18 : 1w9c, 18 : 0, 18 : 1w7c,

表 2 微生物生物量的脂肪酸的估算

Table 2 PLFA for calculating soil microbial biomass

磷脂脂肪酸标记 Phospholipids fatty acids signatures	微生物类型 Microbial group	文献来源 Reference
18 : 2w6, 9c; 18 : 1w9c; 16 : 1w5c	真菌 Fungi	[22]
10Me16 : 0; 10Me17 : 0; 10Me18 : 1w7c; 10Me18 : 0TBSA	放线菌 Actinomycete	[23]
20 : 4w6c; 20 : 1w9c	原生动物 Protozoa	[24]
i14 : 0; i15 : 0; i16 : 0; i17 : 0; a15 : 0; a17 : 0; 16 : 1w7c; 18 : 1w5c; 18 : 1w7c; 16 : 1w5c; 14 : 0; i15 : 1; 16 : 12OH; 20 : 0; 15 : 0; 17 : 0; cy17 : 0; cy19 : 0w8c; 18 : 0; 16 : 0; 17 : 1w8c	细菌 Bacteria	[22, 24-27]
i14 : 0; i15 : 0; i16 : 0; i17 : 0; a15 : 0; a17 : 0	革兰氏阳性细菌 Gram-positive bacteria	[22]
16 : 1w7c; 16 : 1w8c; 18 : 1w5c; 18 : 1w7c; 20 : 4w9c; 17 : 1w8c	革兰氏阴性细菌 Gram-negative bacteria	[22]



注：CK：不施肥，NPK：单施化肥，NPKM：有机肥与化肥混施 Note: CK: No fertilizer, NPK: Chemical fertilizer only, NPKM: Chemical fertilizer plus organic manure

图 1 不同施肥处理对土壤细菌 PLFA、真菌 PLFA 及总 PLFA 的影响

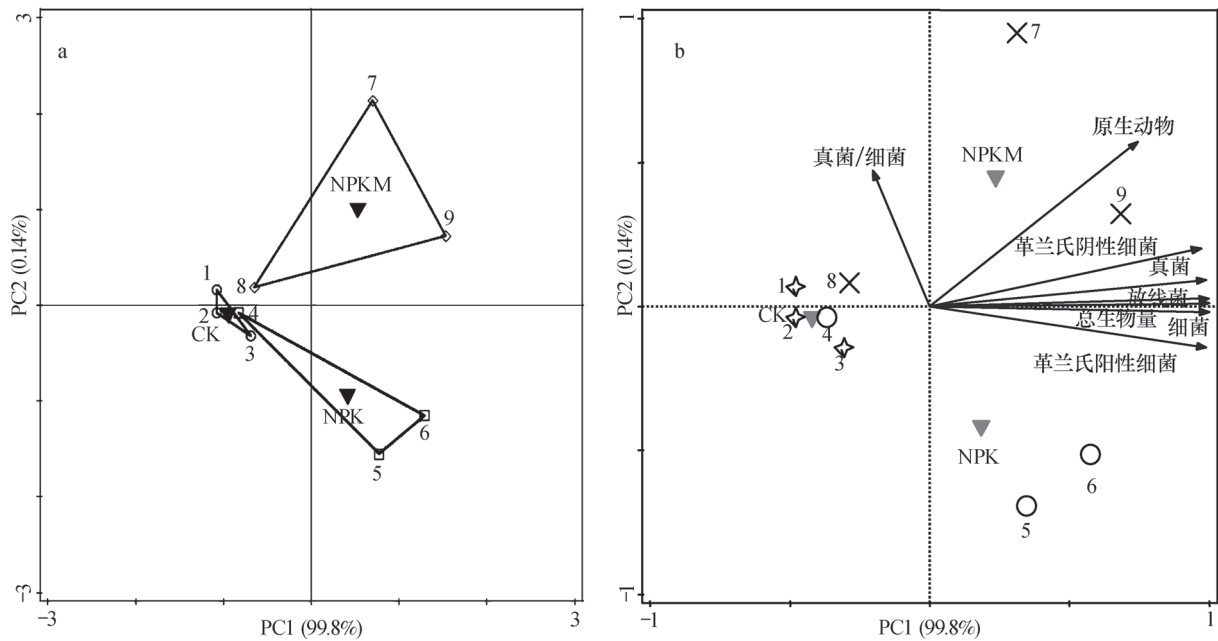
Fig. 1 Effect of fertilization on total PLFAs, PLFAs of bacteria and PLFAs of fungi in paddy soil relative to fertilization method

cy19 : 0w8c) , 约占总PLFA的60% ~ 70%。

2.2 长期不同施肥处理对土壤微生物群落结构的影响

对不同施肥方式土壤磷脂脂肪酸进行主成分分析 (图2) , 第一与第二主成分的方差贡献率之和为99.94% , 可以用于反映系统的变异信息。主成分分析图2a中 , 代表3个不同施肥处理的三角形明显地分离 , 说明施肥促进了土壤微生物群落分化 , 其中NPK处理与CK处理的主成分分析图更为接近 , 说明这两个处理的微生物群落结构相似

度更大 , 而NPKM处理的土壤微生物群落有明显的区分。图2b中 , 不同处理和箭头间的夹角呈锐角时 , 代表此处理与箭头所代表的因子相关性强 , 且夹角越小代表相关性越强。由图2b可知 , CK与总生物量、真菌生物量、细菌生物量 (G⁺细菌及G⁻细菌) 、放线菌生物量以及原生动物的数量相关性均很差 (夹角呈钝角) , 而与真菌/细菌比例的相关性较施肥处理更强。NPKM处理与G⁻细菌、细菌、真菌、放线菌和原生动物的数量的相关性很强 , 而NPK处理与G⁺细菌数量的相关性很强。



注: PC1: 第一主成分, PC2: 第二主成分, ◆ — CK, × — NPK, O — NPKM Note: PC1: First principal component, PC2: Second principal component, ◆ — CK, × — NPK, O — NPKM

图2 不同施肥处理下脂肪酸结构主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis of PLFAs structure in paddy soil relative to fertilization treatment

2.3 长期不同施肥处理对土壤微生物生物功能多样性的影响

AWCD值 (平均每孔颜色变化率, average well color development, AWCD) 是BIOLOG板上所有碳源基质被微生物利用后的整体反应, 代表了微生物群落的总体活性 [28]。图3显示, AWCD值顺序为 NPKM > CK > NPK, 表明土壤微生物群落的总体活性强弱顺序为 NPKM > CK > NPK, 说明长期有机肥与化肥混施促进了土壤微生物群落对碳源的利用能力, 增加了土壤中微生物的整体活性, 而长期施用化肥降低了土壤中微生物的整体活性。

利用各个碳源吸收值通过Shannon-Wiener指数、Simpson指数和McIntosh指数模型计算可以获得碳源的利用多样性指数, 采用反应96 h (生长减缓步入稳定期) 的数据用于微生物代谢特征的分析。不同的碳源利用多样性指数实际反映了土壤微生物多样性的不同侧面。Magurran [29] 指出Shannon-Wiener指数受群落物种微生物的丰富度影响较大, Simpson指数则较多反映了微生物群落中最常见的物种, Atlas [30] 指出McIntosh指数是微生物群落物种均一性的度量。结果表明 (表3), 三种多样性指数的变化趋势基本一致, 依次为: NPKM > CK > NPK, 与CK相比, NPKM处理的土壤微生物群落的丰富指

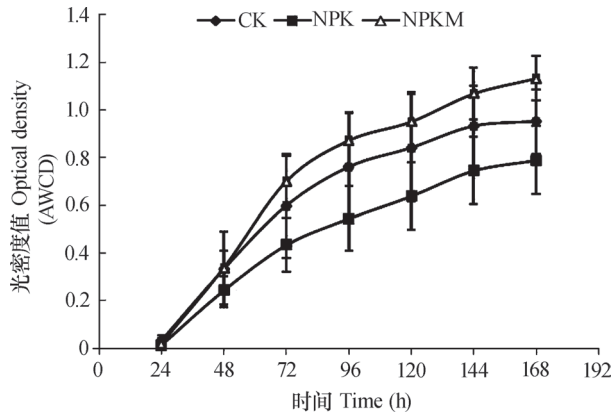


图3 不同施肥处理下AWCD值随时间的变化和土壤微生物代谢功能多样性指数

Fig. 3 Temporal variation of Average Well Color Development and soil microbial metabolic functional diversity index relative to fertilization treatment

数、群落最常见种的优势度指数及物种均一度指数均有所升高，但未达到显著水平，而NPK处理却降低了土壤微生物的三种多样性指数。说明长期单施化肥处理降低了土壤微生物的多样性。

2.4 各菌落PLFA与土壤养分的相关性

表4显示，氯仿熏蒸法测定的土壤微生物生物量碳、氮与PLFA方法测定的土壤微生物生物量的变化相似。数据分析表明，脂肪酸标识的细菌、放线菌、G⁺细菌、G⁻细菌及土壤总PLFA与微生物生物量碳、氮均呈显著相关性，说明PLFA分析方法与氯仿熏蒸法之间有很好的—致性，可用微生物生物量碳、氮指标来估量细菌及整体微生物含量。

不同菌落 PLFA 与土壤养分的相关性分析表

表3 长期不同施肥制度下土壤微生物代谢功能多样性指数

Table 3 Metabolic functional diversity index of soil microbial community under long-term fertilization relative to fertilization treatment

处理 Treatment	Shannon-Wiener指数 Shannon-Wiener index	Simpson指数 Simpson's diversity index	McIntosh指数 McIntosh index
CK	2.904 ± 0.230	0.937 ± 0.016	5.63 ± 2.07
NPK	2.790 ± 0.140	0.930 ± 0.011	4.36 ± 1.52
NPKM	2.956 ± 0.181	0.941 ± 0.013	6.41 ± 0.90

表4 PLFA 与土壤养分相关性分析

Table 4 Correlation analysis between soil PLFAs content and soil nutrients

	有机质 Organic matter (g kg ⁻¹)	pH	全氮 Total N (g kg ⁻¹)	速效磷 Readily available P (mg kg ⁻¹)	速效钾 Readily available K (mg kg ⁻¹)	微生物生物量 碳Microbial biomass C (μg g ⁻¹)	微生物生物量 氮Microbial biomass N (μg g ⁻¹)
总PLFA ^①	0.967**	-0.066	0.897**	0.003	-0.483	0.900**	0.927**
放线菌PLFA ^②	0.972**	-0.034	0.911**	0.035	-0.473	0.909**	0.936**
细菌PLFA ^③	0.813*	0.061	0.812*	0.145	-0.340	0.819*	0.916**
真菌PLFA ^④	0.529	0.580	0.530	0.663	0.166	0.470	0.629
真菌PLFA/细菌 PLFA ^⑤	-0.842*	0.605	-0.826*	0.526	0.754*	-0.872*	-0.791*
G ⁺ 细菌 ^⑥	0.820*	0.024	0.837*	0.093	-0.406	0.848*	0.935**
G ⁻ 细菌 ^⑦	0.792*	0.139	0.758*	0.249	-0.203	0.754*	0.867*

注：**代表差异达到极显著性水平， $p < 0.01$ ；*代表差异达到显著水平， $p < 0.05$ Note: ** Significant $p < 0.01$; * Significant $p < 0.05$. ①Total PLFA, ②Actinomycetic PLFA, ③Bacterial PLFA, ④Fungal PLFA, ⑤Fungal PLFA/Bacterial PLFA, ⑥G⁺ bacteria, ⑦G⁻ bacteria

明, 土壤的总PLFA, 细菌、G⁺细菌、G⁻细菌和放线菌PLFA含量与土壤有机质和全氮均显著正相关, 尤其是总PLFA和放线菌PLFA含量达到极显著相关。

3 讨论

3.1 长期施肥对土壤养分和微生物生物量的影响

施肥可增加土壤中营养物质含量, 提高土壤肥力, 为微生物创造良好的生存环境, 刺激微生物的生长和活动。本研究显示, 针对于江西红壤性水稻土, 施肥可在一定程度上增加土壤养分含量, 特别是全氮和有机质两项土壤肥力指标, 施肥还能显著增加速效磷和速效钾的含量, 其中有机肥与化肥混施效果最明显, 孙瑞莲等^[31]也得出了类似的结论。同时, 施肥还可增加土壤微生物PLFA的种类和数量。在PLFA的种类上, 施肥处理较不施肥处理增加了7种微生物脂肪酸(i14:0, 14:0, i15:0, 11Me18:1w7c, 20:4w6c, 20:0, 20:1w9c), 其中20:4w6c和20:1w9c两种微生物脂肪酸代表了原生动物的生长, 说明施肥促进了原生动物的生长。在微生物数量上, 与不施肥处理相比, 长期施肥能够提高土壤微生物生物量, 包括土壤中的细菌、真菌和放线菌的数量, 特别是有机肥与化肥混施效果最明显。这一结果与于树等研究结果相一致^[8]。

3.2 长期施肥对土壤微生物群落结构的影响

本研究结果显示, 细菌是供试红壤土壤微生物的主要成分, 约占土壤微生物总量的70%~80%, 而真菌约占微生物总量的10%~15%, 其他成分是放线菌和一些原生动物的生长。此外脂肪酸(i15:0, 16:1w7c, 16:0, 10Me16:0, 18:1w9c, 18:0, 18:1w7c, cy19:0w8c)含量很高, 占总脂肪酸60%~70%。

PLFA总量的主成分分析表明, 长期不同施肥处理条件下, 尤其是有机肥与化肥混施处理的土壤微生物群落结构发生了明显改变。进一步分析发现, 不同施肥方式对土壤微生物群落结构有不同的影响。CK处理的土壤真菌/细菌比例较施肥处理的土壤中更高, 这表明真菌较细菌更适应养分贫瘠条件, 原因可能是真菌的菌丝体可以允许真菌的运动、寄居并且可以降解土壤表面植物残体等有机物, 而细菌没有此功能^[32]。本研究还发现,

NPKM处理中, 土壤原生动物的G⁻细菌、真菌及放线菌数量均有不同程度的增加, 而NPK处理中, 仅有土壤G⁺细菌数量增加。这可能是由于G⁻细菌约由20层致密的肽聚糖组成, 较G⁺有更厚的细胞壁, 能够很好地防止胞壁过度降解和壁溶。而NPK处理的土壤pH较低, 土壤容易板结, 与有机肥化肥混施处理相比, 环境恶劣, 所以细菌进化趋向于细胞壁保护性更强的G⁺细菌。

BIOLOG数据分析表明, NPKM处理促进了土壤微生物群落对碳源的利用能力, 增加了土壤中微生物的整体活性, 而长期单施化肥降低了微生物对碳源的利用能力及土壤微生物的活性。通过多样性指数模型计算, 与CK相比, NPKM处理的土壤微生物群落的Shannon指数(丰富度指数)、Simpson指数(群落最常见种的优势度指数)和McIntosh指数(物种均一度指数)均有所升高, 而长期单施化肥处理却呈相反趋势。李娟等的研究也得到了相似的结果, 即长期单施化肥, 将有可能造成土壤生物性状和生化功能的衰减^[33]。上述现象可能是由于有机肥的施入带入了大量可被微生物利用的碳源和氮源, 刺激了土壤微生物的生长。此外, 有机肥对土壤结构具有一定的改良作用, 有机肥的施用, 也可能带入大量的活性微生物至土壤中, 某种程度上起到了“接种”的作用, 最终促进和加强了微生物的生长及活性^[34-35]。而单施NPK肥料的土壤, 在长期施肥条件下, pH明显低于对照和有机肥与化肥混施的土壤(数据未列出), 使得土壤的微生物的生命活动减弱, 营养物质得不到充分的利用。

3.3 各菌群 PLFA 与土壤养分的相关性

土壤微生物群落结构组成复杂, 熏蒸法可测定土壤中整体微生物生物量, 而磷脂脂肪酸法是利用不同菌源脂肪酸来代表的特定菌群微生物, 两者之间既有一致性又存在着一定的微生物学意义上的差异, 因此两种方法相结合能够更加全面地阐释土壤微生物群落结构与土壤养分的相关性。供试土壤的细菌数量、放线菌数量、总PLFA、G⁺细菌数量、G⁻细菌数量与土壤微生物生物量碳、氮相关性很强, 说明传统的氯仿熏蒸法与PLFA分析方法之间有很好的 consistency, 可以用微生物生物量碳、氮指标, 间接反映土壤中细菌、放线菌、G⁺细菌、G⁻细菌数量以及微生物生物量的特征。

此外, 本研究还发现, 几乎所有的菌群PLFA与土壤有机质和全氮均呈极显著相关, 说明有机质

和全氮是土壤微生物生长的主要影响因素, 也再次证明了施肥可以增加土壤中营养物质含量, 提高土壤肥力, 为微生物创造良好的生存环境, 从而刺激微生物的生长和活动。这一结果与许多学者研究结果相符^[2, 36], 然而, 本研究中土壤速效养分对微生物的影响不是很大。但也有研究发现, 土壤微生物类群与其他某些速效养分间存在着显著的相关性, 如细菌PLFA与土壤速效磷呈极显著的正相关^[2]。上述差异可能是试验地点的自然条件及试验设置的不同等综合原因所造成。虽然一般认为红壤中磷比较缺乏, 但本研究的水稻土中微生物并未受到磷和钾养分匮乏的胁迫, 所以微生物并未表现出对磷、钾等养分的依赖。

4 结 论

本研究通过对江西长期定位试验红壤性水稻土的微生物群落研究表明, 施肥可以提供土壤微生物所需的营养物质并使微生物群落结构发生显著变化, 施肥可以降低真菌/细菌比例, 增加土壤微生物生物量, 其中有机肥与化肥混施有利于G⁻细菌、真菌、放线菌及原生动物的增长, 单施化肥有利于G⁺细菌的增长。针对江西红壤性水稻土, 长期单施化肥易造成土壤的物理性质退化, 给微生物生存环境带来不利影响, 进而可能降低微生物活性, 而有机肥与化肥混施显著增加土壤微生物生物量, 提高微生物碳源利用能力以及群落功能多样性, 特别是长期施用猪粪还可以改善土壤的物理特性, 更有利于土壤微生物的生命活动。因此有机肥与化肥混施应作为江西红壤地区保持和提高土壤质量并获得高产的一种可持续的施肥方式。应进一步分析长期单施磷肥和钾肥的影响。同时在今后的研究中, 可以结合当今发展迅速的稳定性同位素示踪技术及分子生物学技术, 这样将有助于更深入地、更有针对性地解析微生物群落结构变化与其功能的关系。

参 考 文 献

- [1] Lou Y S, Li Z P, Zhang T L. Carbon dioxide flux in a subtropical agricultural soil of China. *Water, Air and Soil Pollution*, 2003, 149: 281—293
- [2] 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征和酶活性的影响. *应用生态学报*, 2008, 19 (1): 71—75. Yan H, Zhong W H, Li Z P, et al. The 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
- [3] 廖育林, 郑圣先, 鲁艳红, 等. 长期施钾对红壤水稻土水稻产量及土壤钾素状况的影响. *植物营养与肥料学报*, 2009, 15 (6): 1372—1379. Liao Y L, Zheng S X, Lu Y H, et al. The effects of long-term potassium on rice yield and soil K status in paddy red soil (In Chinese). *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2009, 15 (6): 1372—1379
- [4] 李阜棣. 当代土壤微生物学的活跃研究领域. *土壤学报*, 1993, 30 (3): 229—236. Li F D. Active research areas of contemporary soil microbiology (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 1993, 30 (3): 229—236
- [5] Powlson D S, Brookes P C, Christenson B T. Measurement of soil microbial biomass provides an early indication of changes in total soil organic matter due to straw incorporation *Soil Biology & Biochemistry*, 1987, 19: 159—164
- [6] White D C, Davis W M, Nickels J S, et al. Determination of the sedimentary microbial biomass by extractable lipid phosphate. *Oecologia*, 1979, 40: 51—62
- [7] Xue D, Yao H Y, Ge D Y, et al. Soil microbial community structure in diverse land use systems: A comparative study using BILOG, DGGE, and PLFA analyses. *Pedosphere*, 2008, 18 (5): 653—663
- [8] 于树, 汪景宽, 李双异. 应用PLFA方法分析长期不同施肥处理对玉米地土壤微生物群落结构的影响. *生态学报*, 2008, 28 (9): 4222—4227. Yu S, Wang J K, Li S Y. Effect of long-term fertilization on soil microbial community structure in corn field with the method of PLFA (In Chinese). *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28 (9): 4222—4227
- [9] 李秀英, 赵秉强, 李絮花, 等. 不同施肥制度对土壤生物的影响及土壤肥力的关系. *中国农业科学*, 2005, 38 (8): 1591—1599. Li X Y, Zhao B Q, Li X H, et al. Effects of different fertilization systems on soil microbe and its relation to soil fertility (In Chinese). *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38 (8): 1591—1599
- [10] FlieBbach A, Eyhorn F, Mader P, et al. ‘DOK’ long-term farming system trial microbial biomass, activity and diversity affected the decomposition of plant residues//Rees R M, Campell B C. Sustainable management of organic matter. Wallingford: CAI Publishing, 2001: 363—369

- [11] Bakken L R. Separation and purification of bacteria from soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 1985, 9: 1482—1487
- [12] Ward D M, Weller R, Bateson M M. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a nature community. *Nature*, 1990, 344: 63—65
- [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] Joergensen R G. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the kEC value. *Soil Biology & Biochemistry*, 1996, 28: 25—31
- [15] Joergensen R G, Mueller T. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the kEN value. *Soil Biology & Biochemistry*, 1996, 28: 33—37
- [16] 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 soil. *FEMS Microbiology Ecology*, 2003, 44: 319—328
- [17] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37: 911—917
- [18] Liu B-R, Jia G-M, Chen J, et al. A review of methods for studying microbial diversity in soils. *Pedosphere*, 2006, 16 (1): 18—24
- [19] Vestal J R, White D C. Lipid analysis in microbial ecology. *Biology Science*, 1989, 39 (8): 535—541
- [20] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: A review. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29 (2): 111—129
- [21] Bardgett R D, Hobbs P J, Frostegrd A. Changes in soil fungal bacterial ratios following reductions in the intensity of management of upland grassland. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 22: 261—264
- [22] Federle T W. Microbial distribution in the soil-new techniques//Megusar F, Gantar M. Perspectives in microbial ecology. Ljubljana, Slovenia: Slovene Society for Microbiology, 1986: 493—498
- [23] Zogg G P, Zak D R, Ringleberg D B, et al. Compositional and functional shifts in microbial communities due to soil warming. *Soil Science Society of America Journal*, 1997, 61: 475—481
- [24] Hamel C, Vujanovic V, Jeannotte R, et al. Negative feedback on a perennial crop: Fusarium crown and root of asparagus is related to changes in soil microbial community structure. *Plant and Soil*, 2005, 268: 75—87
- [25] Tunlid A, Hoitink H A J, Low C, et al. Characterization of bacteria that suppress Rhizoctonia damping-off in bark compost media by analysis of fatty acid biomarkers. *Applied and Environmental Microbiology*, 1989, 55: 1368—1374
- [26] Blume E, Bisehoff M, Reichert J M, et al. Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. *Applied Soil Ecology*, 2002, 20: 171—181
- [27] Justin B B, Myrold D D, Sulzman E W. Root controls on soil microbial community structure in forest soils. *Oecologia*, 2006, 148 (4): 650—659
- [28] Campbell C D, Grayston S J, Hirst D J. Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon source tests to discriminate soil microbial communities. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30: 33—41
- [29] Magurran A E. Ecological diversity and its measurement. Princeton, NJ: Princeton University Press, 1988: 141—162
- [30] Atlas R M. Diversity of microbial community. *Advanced Microbiology Ecology*, 1984, 7: 19—47
- [31] 孙瑞莲, 朱鲁生, 赵秉强, 等. 长期施肥对土壤微生物的影响及其在养分调控中的作用. *应用生态学报*, 2004, 15 (10): 1907—1910. Sun R L, Zhu L S, Zhao B Q, et al. The impact of long-term fertilization on soil microorganisms and its role in the regulation of nutrient (In Chinese). *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15 (10): 1907—1910
- [32] 白震, 张旭东, 何红波, 等. 长期氮肥施用对农田黑土NLFA与PLFA特性的影响. *土壤学报*, 2007, 44 (4): 709—716. Bai Z, Zhang X D, He H B, et al. The effects of Long-term nitrogen fertilizer on NLFA and PLFA characteristics (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44 (4): 709—716
- [33] 李娟, 赵秉强, 李秀英, 等. 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. Li J, Zhao B Q, Li X Y, et al. The changes of long-term different fertilization systems on several microbial characteristics (In Chinese). *Acta Phytocologica Sinica*, 2008, 32 (4): 891—899
- [34] Parham J A, Deng S P, Da H N, et al. Long-term cattle manure application in soil. II Effect on soil microbial populations and community structure. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 38: 209—215
- [35] Luo A C, Sun X. Effect of organic manure on the

biological activities associated with insoluble phosphorus release in a blue purple paddy soil. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1994, 25: 2513—2522

[36] Bekku Y, Kume A, Nakatsubo T, et al. Microbial biomass in relation to primary succession on arctic deglaciated moraines. *Polar Bioscience*, 1999, 12: 47—53

THE CHANGES OF MICROBIAL COMMUNITY STRUCTURE IN RED PADDY SOIL UNDER LONG-TERM FERTILIZATION

Xia Xin¹ Shi Kun¹ Huang Qianru² Li Daming² Liu Manqiang¹ Li Huixin¹ Hu Feng¹ Jiao Jiaguo^{1†}

(1 College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

(2 Red Soil Institute of Jiangxi Province, Nanchang 331717, China)

Abstract Based on the long-term fertilization experiment in paddy soil (started in 1981) in the Red Soil Institute of Jiangxi Province, China, effects of fertilization methods (CK: No fertilizer; NPK: chemical fertilizer only; and NPKM: chemical fertilizer plus organic manure) on soil microbial community structure were explored using the phospholipid fatty acid (PLFA) method and BIOLOG technique. Results show that the soil applied with NPK or with NPKM was 0.91% or 3.09%, respectively, higher than the soil of CK in total PLFAs. Principal component analysis (PCA) of PLFAs shows that fertilization promoted changes in soil microbial community structure. It increased the populations of gram-negative bacteria (G⁻ bacteria), fungi, actinomycetes and protozoa in Treatment NPKM and the population of gram-positive bacteria (G⁺ bacteria) only in Treatment NPK, while the ratio of fungal/bacterial was found to be higher in CK than in Treatments NPK and NPKM. The microbial community structure in CK is very similar to that in Treatment NPK. Comparison between the treatments in Average Well Color Development (AWCD) shows that Treatment NPKM improved carbon utilization capacity of its soil microbial community, and hence overall activity of the soil microorganisms, while Treatment NPK weakened activity of the soil microbes. Shannon-Wiener, Simpson and McIntosh indices show that Treatment NPKM increased soil microbial community diversity, while Treatment NPK did reversely. Correlation analysis of soil PLFAs and soil nutrients shows that soil total PLFAs was extremely significantly related to soil organic matter and total nitrogen ($p < 0.01$), but little to soil readily available nutrients.

Key words Long-term fertilization; Paddy soil derived from red earth; Phospholipid fatty acid (PLFA) ; BIOLOG; Microbial community; Diversity

(责任编辑：陈德明)

CONTENTS

Reviews and Comments

- Application of reductive soil disinfection to suppress soil-borne pathogens Cai Zucong, Zhang Jinbo, Huang Xinqi, et al. (475)
 A review of researches on soil cracks and their impacts on preferential flow...Zhang Zhongbin, Peng Xinhua (488)

Research Articles

- Characteristics of soil aggregate loss in croplands in the typical black soil region of Northeast China Wen Leilei, Zheng Fenli, Shen Haiou, et al. (498)
 Construction of an index set for predicting thickness of active layer of permafrost in Qinghai-Tibet Plateau and for mapping Chen Jike, Zhao Yuguo, Zhao Lin, et al. (506)
 Variation of mineral composition along the soil chronosequence at the Hailuoguo Glacier foreland of Gongga Mountain Yang Zijiang, Bing Haijian, Zhou Jun, et al. (515)
 Composition of organic carbon in paddy soil in typical area of Chengdu and its influencing factors Liao Dan, Yu Dongsheng, ZhaoYongcun, et al. (526)
 Spatio-temporal variation of soil temperature and soil moisture regime in Hebei Province Cao Xianghui, Lei Qiuliang, Long Huaiyu, et al. (536)
 Vertical distribution of soil saturated hydraulic conductivity in a small karst catchment Fu Tonggang, Chen Hongsong, Wang Kelin (546)
 Transformation between soil water and shallow groundwater in the middle reaches of the Dagu River Yang Yuzheng, Lin Qing, Wang Songlu, et al. (556)
 Determination of nitrogen and oxygen isotope ratio of nitrate in water with a chemical conversion method Wang Xi, Cao Yacheng, Han Yong, et al. (565)
 Quantitative research on effects of nitrogen application rate on distribution of photosynthetic carbon in rice-soil system using ¹³C pulse labeling technique Liu Ping, Jiang Chunyu, Li Zhongpei (574)
 Effects of no-tillage ridge-cultivation on soil organic carbon accumulation in ridges and crop yields in paddy fields Ci En, Wang Liange, Ding Changhuan, et al. (585)
 Residual of applied ¹⁵N fertilizer in soils under long-term different patterns of fertilization and its utilization Zhao Wei, Liang Bin, Zhou Jianbin (595)
 Effect of long-term fertilization on rice yield and basic soil productivity in red paddy soil under double-rice system Lu Yanhong, Liao Yulin, Zhou Xing, et al. (605)
 Effects of long-term fertilization on yield variation trend, yield stability and sustainability in the double cropping rice system Ji Jianhua, Hou Hongqian, Liu Yiren, et al. (618)
 Relationship between exudation of nitrification inhibitor MHPP and plasma membrane proton pump of sorghum root Zhou Jinquan, Zhang Mingchao, Wei Zhijun, et al. (527)
 Effects of long-term amendment with passivant and zinc fertilizer on cadmium reduction in tobacco growing in a Cd contaminated field Cao Chenliang, Wang Wei, Ma Yibing, et al. (635)
 Effects of interaction between potassium and humic acid on index of organic potassium salt in flue-cured tobacco Zheng Dongfang, Xu Jiayang, Xu Zicheng, et al. (645)
 Impacts of replacement of *Pinus* with *Eucalyptus* on soil nutrients and enzyme activities Zhang Kai, Zheng Hua, Chen Falin, et al. (653)
 Effects of biological soil crusts on soil enzyme activities in desert areas Yang Hangyu, Liu Yanmei, Wang Tingpu (663)
 Effect of incorporation of crop straw on composition of soil organic matter and enzyme activity in black soil relative to depth and rate of the incorporation Jiao Lina, Li Zhihong, Yin Chengcheng, et al. (671)
 Effect of *Streptomyces* JD211 promoting growth of rice seedlings and diversity of soil bacteria Wang Shiqiang, Wei Saijin, Yang Taotao, et al. (681)

Research Notes

- Quality assessment of oasis soil in the upper reaches of Tarim River based on minimum data set Gong Lu, Zhang Xueni, Ran Qiyang (689)
 Effect of iron plaque on surface electrochemical properties and short-term N, P and K uptake by rice rootsZheng Yunyun, Li Zhongyi, Li Jiuyu, et al. (695)
 The changes of microbial community structure in red paddy soil under long-term fertilization Xia Xin, Shi Kun, Huang Qianru, et al. (705)
 Salinization characteristics of afforested coastal saline soil as affected by species of trees used in afforestation Wang Heyun, Li Hongli, Dong Zhi, et al. (712)

Cover Picture: Two dimensional and three dimensional images of soil cracks in paddy field (by Zhang Zhongbin)

《土壤学报》编辑委员会

主 编：史学正

执行编委：(按姓氏笔画为序)

丁维新	巨晓棠	王敬国	王朝辉	史 舟	宇万太	朱永官
李永涛	李芳柏	李保国	李 航	吴金水	沈其荣	张玉龙
张甘霖	张福锁	陈德明	邵明安	杨劲松	杨明义	杨林章
林先贵	依艳丽	周东美	周健民	金继运	逢焕成	胡 锋
施卫明	骆永明	赵小敏	贾仲君	徐国华	徐明岗	徐建明
崔中利	常志州	黄巧云	章明奎	蒋 新	彭新华	雷 梅
窦 森	廖宗文	蔡祖聪	蔡崇法	潘根兴	魏朝富	

编辑部主任：陈德明

责任编辑：汪枳生 卢 萍 檀满枝

土 壤 学 报

Turang Xuebao

(双月刊, 1948年创刊)

第 52 卷 第 3 期 2015 年 5 月

ACTA PEDOLOGICA SINICA

(Bimonthly, Started in 1948)

Vol. 52 No. 3 May, 2015

编 辑 《土壤学报》编辑委员会
地址：南京市北京东路 71 号 邮政编码：210008
电话：025 - 86881237
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

Edited by Editorial Board of Acta Pedologica Sinica
Add: 71 East Beijing Road, Nanjing 210008, China
Tel: 025 - 86881237
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

主 编 史 学 正
主 管 中 国 科 学 院
主 办 中 国 土 壤 学 会
承 办 中国科学院南京土壤研究所

Editor-in-Chief Shi Xuezheng
Superintended by Chinese Academy of Sciences
Sponsored by Soil Science Society of China
Undertaken by Institute of Soil Science,
Chinese Academy of Sciences

出 版 科 学 出 版 社
地址：北京东黄城根北街 16 号 邮政编码：100717

Published by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

印刷装订 北京中科印刷有限公司
总发行 科 学 出 版 社
地址：北京东黄城根北街 16 号 邮政编码：100717
电话：010 - 64017032
E-mail: journal@mail.sciencep.com

Printed by Beijing Zhongke Printing Limited Company
Distributed by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China
Tel: 010 - 64017032
E-mail: journal@mail.sciencep.com

国外发行 中国国际图书贸易总公司
地址：北京 399 信箱 邮政编码：100044

Foreign China International Book Trading Corporation
Add: P. O. Box 399, Beijing 100044, China

国内统一刊号：CN 32-1119/P

国内邮发代号：2-560

国外发行代号：BM45

定价：60.00 元

国 内 外 公 开 发 行



ISSN 0564-3929

