

种植水稻对古水稻土与现代水稻土微生物 功能多样性的影响*

胡君利^{1,2,3} 林先贵^{1,2†} 褚海燕^{1,2} 尹睿^{1,2} 张华勇^{1,2} 王俊华^{1,2}
曹志洪^{1,2} 胡正义^{1,2}

(1 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)

(2 中国科学院南京土壤研究所-香港浸会大学土壤与环境联合开放实验室, 南京 210008)

(3 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要 通过温室盆栽试验,研究种植水稻对长江三角洲绰墩山遗址的古水稻土与现代水稻土的微生物功能多样性和氨氧化细菌数量的影响。在 60 d 的试验期内观察发现,现代水稻土含有 $0.416 \sim 1.235$ MPN mg^{-1} 的氨氧化细菌,古水稻土在温室培养后也检测到 $0.013 \sim 0.055$ MPN mg^{-1} 的氨氧化细菌,但数量远远低于现代水稻土;在不施氮的条件下种植水稻会降低古水稻土与现代水稻土中氨氧化细菌的数量,但施加硫酸铵在种植水稻 30 d 时增加了其数量,而施加硝酸钠对其数量没有显著影响。现代水稻土的碳底物利用能力明显弱于古水稻土,微生物群落的 Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数也不同程度的低于古水稻土;种植水稻 60 d 后,现代水稻土中微生物群落的整体活性显著提高,三种多样性指数也达到与古水稻土相同的水平,但施加氮肥又减缓了种植水稻对微生物整体活性的增强作用。种植水稻和施用氮肥对古水稻土微生物群落的三种多样性指数均没有显著影响,而且 3 320 a 古水稻土和 6 280 a 古水稻土的微生物功能多样性也没有显著差异。

关键词 古水稻土;氨氧化细菌;微生物功能多样性;种植水稻;施用氮肥

中图分类号 S154.36

文献标识码 A

根据最新的考古发现,中国种植水稻的历史可以追溯到公元前 4 000 多年^[1]。据考证,位于长江三角洲的昆山市正仪镇绰墩山古水稻土遗址的地下 42~57 cm 与 100~116 cm 均为古水稻土层,历史耕作时间分别距今约 3 320 a 和 6 280 a^[2]。土壤微生物是使土壤具有生命力的最主要成分,在土壤形成和发育过程中起显著作用,是评价土壤质量的一个重要指标^[3]。而不同的微生物类群需要各自适宜的环境条件,环境变化或影响微生物的生长繁殖,或改变代谢途径,还可能引起遗传突变。土壤微生物控制土壤有机质的分解和转化^[4],通过碳源利用法测定的多样性指数可以从不同方面反映土壤微生物的种群结构和活性差异。姚槐应等研究发现^[5],不同土地利用方式能显著影响土壤微生物的多样性。水

稻土是长期种稻、耕作、施肥、灌溉影响下形成的人工水成土,古水稻土由于长期埋于地下,土壤性质与现代水稻土存有很大差异,通过再次种植水稻来比较古水稻土与现代水稻土的微生物群落功能变化具有重要意义。

土壤硝化活性被认为是土壤肥力的一个重要指标^[6],而氨氧化细菌主导硝化过程的限速反应^[7],其数量对土壤硝化强度具有较好的指示作用。研究发现^[2],现代水稻土具有较强的硝化功能,并相应含有较多的氨氧化细菌,而古水稻土基本不表现硝化活性,也未检测到氨氧化细菌。氨氧化为硝酸或为作物生长提供氮素营养,但土壤中能够被作物直接吸收同化的铵盐和硝酸盐含量甚微,是限制作物生长的主要营养元素^[8],此时施加氮肥往往是保障作物

* 国家自然科学基金重大项目(40335047)资助

† 通讯作者, Tel: 025-86881589; E-mail: xglin@issas.ac.cn

作者简介:胡君利(1982~),男,安徽绩溪人,硕士研究生,主要从事环境微生物生态方向研究。E-mail: jlhu@issas.ac.cn, njauhjl@sohu.com

收稿日期:2005-12-24;收到修改稿日期:2006-04-20

正常生长发育的重要措施^[9]。古水稻土与现代水稻土具有很大的供氮差异,种植水稻和施加氮肥很可能会对土壤硝化活性及相关菌群产生更为深刻和特殊的影响。

由于古水稻土样品的珍稀性,本研究设计的是温室小型盆栽试验,通过对水稻收获后的土样进行氨氧化细菌数量测定和 BIOLOG 微平板分析,比较种植水稻和施用氮肥对古水稻土与现代水稻土微生物功能多样性和氨氧化细菌数量的影响,对进一步了解古水稻土在长期埋藏于土壤深层后的生态功能演变及相关微生物群落的演替状况具有积极意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2003 年 12 月 10 日在绰墩山遗址的考古剖面采集水稻土(水耕人为土)样品,土样编号及其 pH、有机碳、矿质氮含量如表 1 所示。其中,剖面的第 1 层(0~15 cm,1 号土样)为现代水稻土,第 5 层(42~57 cm,5 号土样)和第 8 层(100~116 cm,8 号土样)分别为距今 3 320 a 和 6 280 a 的古水稻土。

表 1 供试土壤样品的有机碳和矿质氮含量

Table 1 Organic carbon and mineral nitrogen contents in the tested soils

样品编号 Sample number	样品名称 Sample	深度 Depth (cm)	pH	有机碳	铵态氮	硝态氮
				Organic carbon (C g kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N ——(N mg kg ⁻¹) ——	NO ₃ ⁻ -N
1	现代水稻土 Present paddy soil	0~15	5.77	20.52	3.61	41.74
5	3 320 a 古水稻土 3 320 a ancient paddy soil	42~57	6.07	9.75	2.44	1.20
8	6 280 a 古水稻土 6 280 a ancient paddy soil	100~116	6.17	22.31	4.17	1.20

供试水稻(*Oryza sativa* L.)品种为粳稻 9 915。

1.2 试验设计

采用完全组合设计,取编号为 1、5、8 的 3 个土样,各设 4 个处理: B-CK(空白,不种稻对照)、R-CK(种稻,不施氮对照)、R-AS(种稻,施加硫酸铵)、R-SN(种稻,施加硝酸钠)。称取风干土(过 2 mm 筛)45 g 于经酒精消毒的单胞培养管中,按每 9 kg 土添加 1 g 纯氮的标准添加氮肥营养液(对照为蒸馏水)

10 ml,管口垫一中间开缝的海绵圆片。水稻种子经酒精和双氧水消毒,蒸馏水育秧 7 d,移栽生长均匀的健壮苗,除空白外每管 1 株。试验装置如图 1 所示,在盛蒸馏水的托盘(15 cm × 10 cm × 5 cm)上架一泡沫板(18 cm × 12 cm),同一土样相同处理的 6 根培养管插在同一泡沫板中,管底靠近托盘底部。在中国科学院南京土壤研究所光照温室里培养,根据水位需求不定期往托盘中添加蒸馏水,分移栽 30 d 和 60 d 二次各取 3 管重复回收土样于自封袋中,4 冰箱贮存。其间,在收获第一批(即移栽 30 d)后向各托盘中添加 Hbag land 无氮营养液 100 ml。

1.3 测定方法

1.3.1 土壤氨氧化细菌数量的测定 采用最大或然数(Most probable number, MPN)法^[10]。称取新鲜土样 5 g 于盛有 50 ml 无菌水的三角瓶中,振荡 30 min,用无菌水配制成不同稀释度悬液,每一稀释度接种 4 个重复。28 ℃ 恒温培养 2 周,根据阳性管数查表得数量近似值,换算成每毫克干土中氨氧化细菌的数量。

1.3.2 土壤微生物功能多样性分析 应用 BIOLOG ECO 微平板。称取移栽 60 d 回收的新鲜土样 5 g 盛于有 50 ml 磷酸缓冲液的三角瓶中,振荡

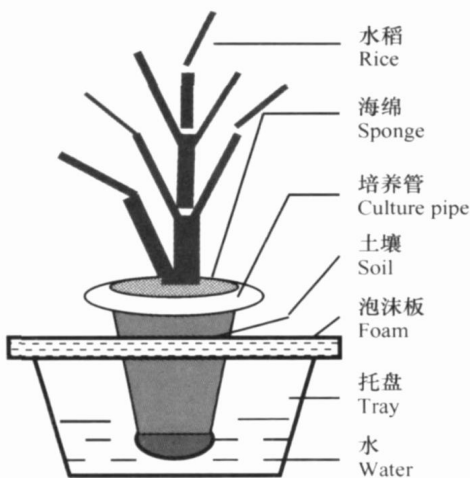


图 1 试验装置示意图

Fig. 1 Schematic diagram of the experimental equipment

30 min, 梯度稀释成 10^{-3} 浓度悬液, 通过排孔加样器接种, 每孔 150 μl , 3 个重复样接在同一微平板上。25 $^{\circ}\text{C}$ 温育 7 d, 每隔 12 h 用 BIOLOG 自动读板仪在 590 nm 下读数。

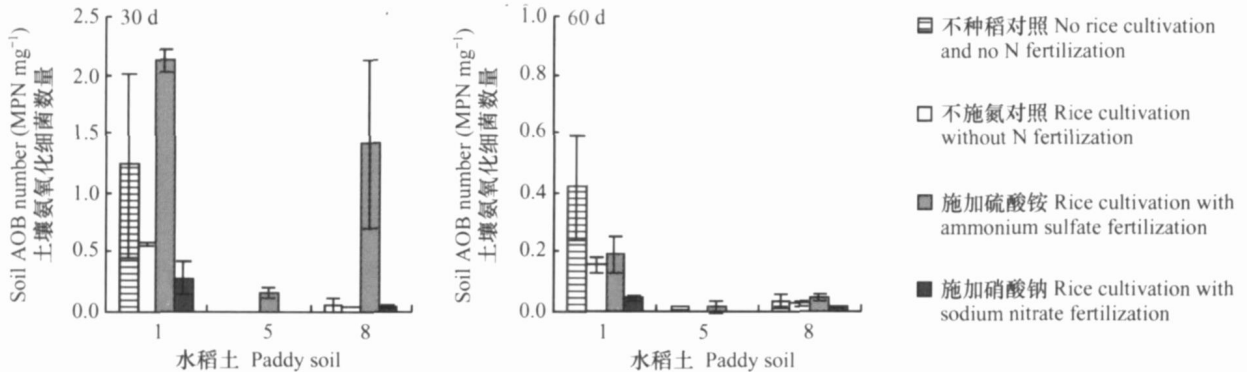
1.4 数据处理

实验数据使用 SPSS 11.5 软件进行统计分析, 并使用 Duncan 检验进行多重比较 ($p < 0.05$)。微生物整体活性指标采用微平板每孔颜色平均变化率 (Average Well Color Development, AWCD) 来描述, Shannon、Simpson 和 McIntosh 等三种多样性指数被应用于土壤微生物碳源利用多样性的计算^[11]。

2 结果与分析

2.1 土壤氨氧化细菌数量分析

土壤氨氧化细菌数量测定结果如图 2 所示。从



1. 现代水稻土 Present paddy soil; 5. 3320 a 古水稻土 3320 a ancient paddy soil; 8. 6280 a 古水稻土 6280 a ancient paddy soil; 竖杠表示标准偏差 The vertical bars represent standard errors. 下同 The same as later

图 2 土壤氨氧化细菌数量

Fig. 2 Number of soil ammonium-oxidizing bacteria

氨氧化细菌是好氧性细菌。茅国芳等研究发现^[12], 沟干泥、黄泥头、黄干泥等 3 种土壤的氨氧化细菌数量均是浅耕明显高于免耕。本试验中的现代水稻土位于剖面表层, 加上人为耕作和土壤动物活动等原因, 土壤疏松通气, 适合氨氧化细菌生长; 而长期埋藏于土壤深层的古水稻土在实验室长达 8 周的好氧培养之后仍未检出氨氧化细菌^[2], 可见 1~2 个月的温室培养如果不是促成古水稻土中氨氧化细菌的复苏, 则可能是大气中的微生物在古水稻土中成功定殖。从本研究来看, 6280 a 古水稻土比 3320 a 古水稻土更适宜氨氧化细菌大量生长, 这可能与土壤本身性质及其铵态氮含量有关。另外, 氨氧化细菌以铵盐的氧化满足其能量需求, 而种植水稻吸

图中可以看出, 空白处理 (不种稻对照) 下, 现代水稻土在温室培养过程中一直含有较高数量的氨氧化细菌, 3320 a 古水稻土在 60 d 时也检测到极微量的氨氧化细菌, 而 6280 a 古水稻土在 30 d 时即检测到微量的氨氧化细菌。种植水稻处理下, 现代水稻土中氨氧化细菌的数量在 30 d 和 60 d 时均显著低于空白处理 ($p < 0.05$), 3320 a 古水稻土则检测不到氨氧化细菌, 而 6280 a 古水稻土中氨氧化细菌的数量与空白比也趋于减少。施加硫酸铵处理下, 现代水稻土中氨氧化细菌的数量在 30 d 时显著高于不施氮对照 ($p < 0.05$), 但到 60 d 时影响已不显著; 3320 a 古水稻土在 30 d 和 60 d 时均检测到微量的氨氧化细菌, 而不施氮对照检测不到; 6280 a 古水稻土与现代水稻土表现相同趋势。在种植水稻的现代水稻土与古水稻土中施加硝酸钠, 对氨氧化细菌的数量一直没有产生显著影响。

收利用土壤中的氮源, 对土壤氨氧化细菌的生长存有竞争作用; 若在水稻土中添加铵态氮会在短期内大幅增加氨氧化细菌数量, 而添加硝态氮则相对不会对其产生直接而显著的影响。

2.2 土壤微生物群落整体活性分析

BIOLOG ECO 微平板每组 31 个孔 (即除去对照孔) 相对吸光度的平均值, 即平均吸光值 (Average Well Color Development, AWCD), 其随温育时间的变化可以作为评价微生物群落整体活性高低的一个有效指标, 而且 AWCD 值与土壤微生物群落中能利用单一碳源的微生物的数目和种类有关^[13]。空白处理、种植水稻以及施加氮肥等不同处理下的古水稻土与现代水稻土在温育过程中的 AWCD 变化曲线

如图 3 所示。

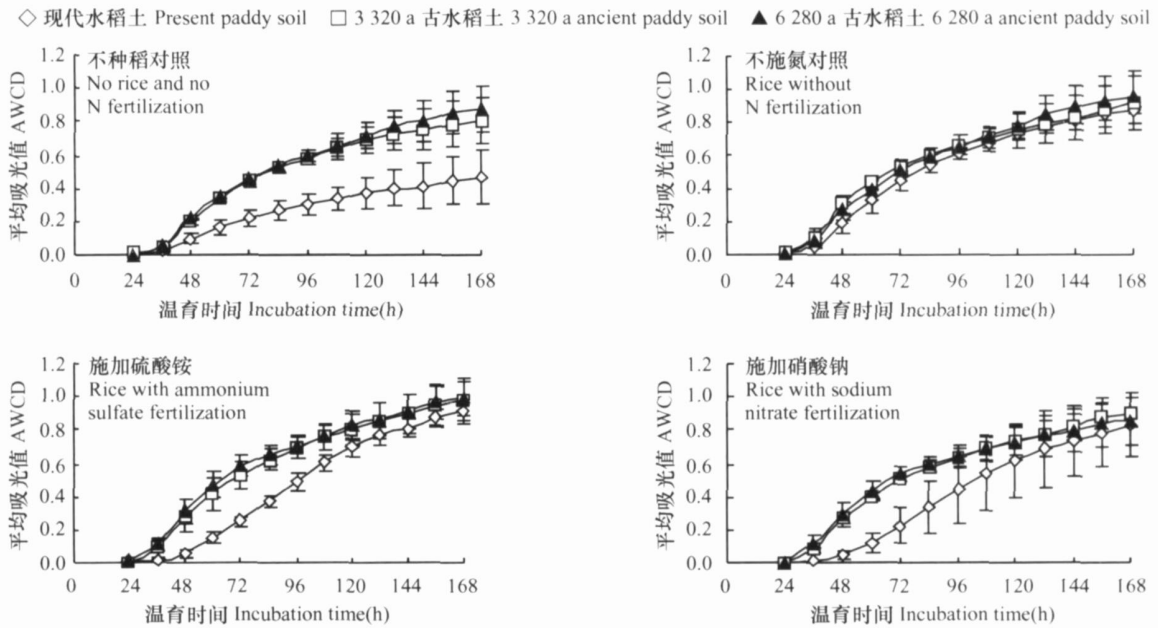


图 3 土壤微生物群落温育过程中 AWCD 变化

Fig. 3 Variation of AWCD with the incubation of soil microbial community

从图中可以看出,现代水稻土与古水稻土的微生物群落结构具有明显的区别。空白处理下,现代水稻土在温育过程中的 AWCD 值一直明显低于古水稻土,说明现代水稻土中的微生物群落对微平板上碳底物的利用能力弱于 3 320 a 和 6 280 a 古水稻土;现代水稻土中微生物的整体活性在种植水稻处理下明显提高,且在温育过程中的 AWCD 值与古水稻土的已没有显著差异。因此,在现代水稻土中种植水稻可能对微生物的活性具有直接或间接的激发或增强作用。此外,施氮处理的现代水稻土在温育前期的 AWCD 值也明显低于古水稻土,但到温育后期会逐渐消除差异,施硫酸铵与施硝酸钠二种处理之间没有显著差异,表明施加氮肥会影响种植水稻对现代水稻土中微生物活性的增强作用,且有后续的延缓效应。温育过程中各处理下 3 320 a 和 6 280 a 古水稻土的 AWCD 值均没有显著差异,种植水稻和施用氮肥对它们也无明显影响。

2.3 土壤微生物群落功能多样性分析

不同的多样性指数反映土壤微生物群落组成的不同方面,把它们结合起来可以分析土壤微生物群落的功能多样性。Shannon 指数主要反映群落中物种的丰富度, Simpson 指数较多地反映群落中最常见物种的优势度,而 McIntosh 指数被用来衡量群落中

物种的均一性^[11,14]。本实验采用温育 84 h 的数据,通过 Shannon、Simpson 和 McIntosh 等多样性指数模型计算得到土壤微生物碳底物利用的多样性指数,结果如表 2 所示。

从表中可以看出,空白处理下,现代水稻土中微生物群落的 Shannon 指数和 Simpson 指数显著低于 3 320 a 古水稻土 ($p < 0.05$), McIntosh 指数同时显著低于 3 320 a 和 6 280 a 古水稻土 ($p < 0.05$);种植水稻处理下,现代水稻土中微生物群落的 Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数均显著提高 ($p < 0.05$),说明种植水稻显著改善了现代水稻土中微生物群落的物种丰富度和均一性,以及群落中常见物种的优势度。但是,施氮处理会减弱种植水稻对现代水稻土中微生物群落 Simpson 指数的正效应,消除其对 McIntosh 指数的影响,而施用二种不同氮肥的处理之间没有显著差异,这表明在现代水稻土中施加氮肥虽然不改变微生物群落的物种丰富度,但会降低常见物种的优势度,并破坏物种的均一性。而对古水稻土而言,种植水稻和施用氮肥对微生物群落的多样性指数均没有显著影响,3 320 a 和 6 280 a 古水稻土之间也没有显著差异。一般认为,土壤微生物碳源利用多样性可以反映土壤微生物群落的整体活性,试验结果也说明种植水稻和施用氮肥对古水稻

土和现代水稻土中微生物群落功能多样性的影响与 对微生物整体活性的影响规律一致。

表 2 土壤微生物群落功能多样性指数¹⁾

Table 2 Functional diversity indices of soil microbial community

土样名称 Sample	处理代号 Treatment code	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	McIntosh 指数 McIntosh index
现代水稻土 Present paddy soil	B-CK	2.51 ±0.17 a	10.00 ±1.55 a	2.59 ±0.40 a
	R-CK	2.87 ±0.04 b	15.15 ±0.66 b	4.34 ±0.40 bc
	R-AS	2.76 ±0.11 b	12.92 ±1.80 ab	3.23 ±0.25 a
	R-SN	2.78 ±0.18 b	13.02 ±3.44 ab	2.81 ±0.95 a
3 320 a 古水稻土 3 320 a ancient paddy soil	B-CK	2.82 ±0.18 b	14.95 ±2.66 b	4.20 ±0.49 b
	R-CK	2.87 ±0.09 b	15.61 ±1.34 b	4.72 ±0.23 bc
	R-AS	2.87 ±0.08 b	15.83 ±1.31 b	4.83 ±0.35 bc
	R-SN	2.78 ±0.09 b	14.21 ±1.24 b	4.72 ±0.13 bc
6 280 a 古水稻土 6 280 a ancient paddy soil	B-CK	2.68 ±0.12 ab	12.96 ±1.24 ab	4.66 ±0.20 bc
	R-CK	2.87 ±0.16 b	15.96 ±2.41 b	4.60 ±0.40 bc
	R-AS	2.85 ±0.05 b	15.44 ±0.58 b	5.13 ±0.37 c
	R-SN	2.86 ±0.13 b	15.40 ±1.43 b	4.72 ±0.18 bc

1) B-CK: 不种稻对照 No rice cultivation and no N fertilization; R-CK: 不施氮对照 Rice cultivation without N fertilization; R-AS: 施加硫酸铵 Rice cultivation with ammonium sulfate fertilization; R-SN: 施加硝酸钠 Rice cultivation with sodium nitrate fertilization; 表中数据为测定样品的平均值 ±标准偏差 Values in the table are means of three replications ± standard errors; 同一列中相同字母表示 $p < 0.05$ 水平无显著差异 Means in a column followed by the same letter are not significantly different at $p < 0.05$

2.4 土壤微生物多样性的主成分分析

BIOLOG ECO 微平板每组 31 种碳源的测定结果形成了描述微生物群落代谢特征的多元向量,不易直观比较,因此应用主成分分析(Principal component analyses, PCA)来比较种植水稻和施用氮肥等处理下,古水稻土与现代水稻土中的微生物群落对微平板上 31 种碳源的利用情况。本实验采用温育 84 h 的数据进行分析,结果如图 4 所示。

从图中可以看出,空白处理下,现代水稻土与古水稻土在主成分 PCA1 上有较好的分离,表明现代水稻土与古水稻土中微生物群落利用碳源的情况有

显著差异;种植水稻处理下,现代水稻土与古水稻土在主成分 PCA1 和 PCA2 上均没有实现很好的分离,说明土壤在种植水稻处理下对碳底物的利用情况比较接近。施氮处理削弱了种植水稻对土壤微生物所产生的影响,导致现代水稻土与古水稻土在主成分 PCA1 上重新实现较好的分离,其中施硫酸铵处理甚至使 3 320 a 和 6 280 a 古水稻土在主成分 PCA2 上也出现了分离的迹象,而施硝酸钠处理下的 3 320 a 和 6 280 a 古水稻土在主成分 PCA1 和 PCA2 上均没有实现很好的分离。

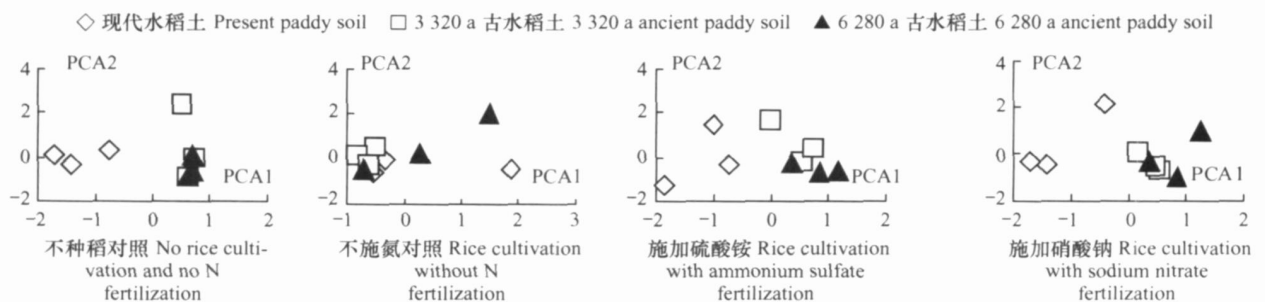


图 4 土壤微生物碳源利用特性的主成分分析(PCA)

Fig. 4 Principal component analyses (PCA) of carbon utilization of soil microbial community

古水稻土因为长期埋藏于相对不为外界干扰的土壤深层,土壤微生物群落的结构和活性已基本达到稳定状态,而土壤有机质含量并不低,土壤微生物对碳底物的利用能力自然强而稳定,且在短期内不容易被外来活动所破坏,本试验也表明种植水稻和施用氮肥均未对 3 320 a 与 6 280 a 古水稻土产生显著的影响。而现代水稻土具有很高的矿质氮含量,一方面可能因为土壤的 C/N 相对较低而影响微生物利用碳源的活性,另一方面可能因为大量氮底物利用微生物或自养性微生物的存在而影响土壤微生物群落结构及其对碳源的利用能力;种植水稻吸收利用了土壤中绝大部分的氮源,对本来含氮量最高的现代水稻土的影响也是最大,破坏了氨氧化细菌等自养性氮底物利用微生物的群落优势,从而导致土壤微生物群落结构与古水稻土的相似,进而利用不同碳源的能力也比较接近;而施硫酸铵处理又会因为土壤中铵态氮的大量增加而增强了土壤中氨氧化细菌等自养性氮底物利用微生物的群落组成,导致土壤在种植水稻之后对不同碳源的利用能力,在现代水稻土与古水稻土之间,以及在 3 320 a 与 6 280 a 古水稻土之间,均产生了较大的差异;而施硝酸钠处理可能是因为增强了土壤中反硝化微生物等氮底物利用微生物的群落组成^[15],同理导致现代水稻土与古水稻土在不同碳源利用上的差异。

3 讨 论

微生物对氮元素的生物地球化学循环起着最重要的作用^[4],土壤中硝化细菌的数量和活性决定土壤硝化作用的强度,且受土壤性质和环境变化的影响。现代水稻土具有较强的硝化作用,而古水稻土在长期埋藏之后基本不表现硝化活性,说明微生物群落发生演变,其中氮底物利用活性减弱,限制硝化作用的氨氧化细菌可能已消亡^[2]。现代水稻土在不施加氮肥的条件下种植水稻会显著降低氨氧化细菌数量,而施加铵态氮又会在短期内促进其大量生长,施加硝态氮则没有显著影响。3 320 a 和 6 280 a 古水稻土在温室培养之后也均检测到微量的氨氧化细菌,且相对而言更容易在 6 280 a 古水稻土中大量生长,种植水稻和施用氮肥对其数量的影响与对现代水稻土的影响相似。但在相同处理下,古水稻土中氨氧化细菌的数量一直低于现代水稻土。

BIOLOG 测试系统基于微生物群落中微生物的存活、生长以及竞争需要不同的碳源,从而根据微生

物对碳源利用模式的差异来鉴定微生物群落功能多样性。现代水稻土中的微生物群落利用微平板上碳底物的能力弱于古水稻土,种植水稻后群落整体活性明显提高,Shannon、Simpson 和 McIntosh 指数均达到与古水稻土相同的水平,而施用氮肥又会减缓种植水稻对微生物活性的增强作用。古水稻土因为长期埋藏于相对不为外界干扰的土壤深层,土壤微生物群落的结构和活性已基本达到稳定状态,而相对不低的有机质含量促使土壤微生物对碳底物的利用能力强而稳定,且在短期内不容易被外来干扰所破坏。试验表明,3 320 a 和 6 280 a 古水稻土中微生物群落的整体活性和多样性指数均没有显著差异,种植水稻和施用氮肥后也没有产生明显变化。

目前,BIOLOG 系统作为一种研究微生物群落的快速简便方法,已被广泛应用于土壤微生物代谢功能多样性的分析^[16,17]。但由于 BIOLÓG 微平板应用微生物群落对单一碳源底物利用能力 (Sole-Carbon-Source Utilization, SCSU) 的差异来反映物种的多样性差异,常常会低估物种上的不同,干扰分析的准确性^[18]。例如,现代水稻土具有很强的硝化活性,而古水稻土的硝化活性处于极低水平,但通过 BIOLÓG 测试表明现代水稻土对微平板上碳底物的利用能力明显弱于古水稻土,说明在研究古水稻土等特殊材料时,如果单独使用 BIOLÓG 测试结果表征土壤微生物群落的功能多样性是存在很大片面性的。从本研究可以看出,测定土壤微生物对氮底物利用能力的差异是判定土壤微生物群落功能多样性的另一个重要指标,是测定碳底物利用能力的 BIOLÓG 系统的一个有效补充,而且根据不同研究需求可能具有更重要的指示意义。

参 考 文 献

- [1] 丁金龙. 长江下游新石器时代水稻田与稻作农业的起源. 东南文化, 2004, (2): 19~23. Ding J L. Origin of rice farming and Neolithic paddy fields in the low region of Yangtze River (In Chinese). Southeast Culture, 2004, (2): 19~23
- [2] 胡君利, 林先贵, 褚海燕, 等. 古水稻土与现代水稻土硝化活性的比较. 土壤学报, 2005, 42(6): 1 044~1 046. Hu J L, Lin X G, Chu H Y, et al. Comparison between ancient and present paddy soils in nitrifying activities (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2005, 42(6): 1 044~1 046
- [3] 黄昌勇. 土壤学. 北京: 中国农业出版社, 2000. 50~65. Huang C Y. Soil Science (In Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2000. 50~65
- [4] 池振明. 微生物生态学. 济南: 山东大学出版社, 1999. 9~12. Chi Z M. Microbial Ecology (In Chinese). Jinan: Shandong

- University Press, 1999. 9~12
- [5] 姚槐应, 何振立, 黄昌勇. 不同土地利用方式对红壤微生物多样性的影响. 水土保持学报, 2003, 17(2): 51~54. Yao H Y, He Z L, Huang C Y. Effect of land use history on microbial diversity in red soil (In Chinese). Journal of Soil and Water Conservation, 2003, 17(2): 51~54
- [6] 郭爱莲, 李振海, 黄淑菊. 硝化细菌的分离研究. 西北大学学报(自然科学版), 1996, 26(1): 83~86. Guo A L, Li Z H, Huang S J. Isolation and research on nitrobacteria (In Chinese). Journal of Northwest University (Natural Science Edition), 1996, 26(1): 83~86
- [7] Wood P M. Nitrification as a bacterial energy source. In: Prosser J I. ed. Nitrification, Special Publ. Soc. Gen. Microbiol., Vol 20. Oxford: IRL Press, 1986. 39~62
- [8] 李顺鹏. 环境生物学. 北京: 中国农业出版社, 2002: 31~36. Li S P. Environmental Biology (In Chinese). Beijing: China Agriculture Press, 2002: 31~36
- [9] 闫德志, 王德建. 土壤供氮能力研究方法进展. 土壤, 2005, 37(1): 20~24. Yan D Z, Wang D J. Methods for studying soil nitrogen supply capacity (In Chinese). Soils, 2005, 37(1): 20~24
- [10] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册. 北京: 农业出版社, 1986. 113~116. Xu G H, Zhen H Y. Manual of Analytical Methods of Soil Microbe (In Chinese). Beijing: Agriculture Press, 1986. 113~116
- [11] Magurran A E. Ecological Diversity and Its Measurement. New Jersey: Princeton University Press, 1988. 141~162
- [12] 茅国芳, 褚金海. 麦后免耕直播稻田的生态环境演变与对策. 上海农业科学, 1997, 13(2): 39~50. Mao G F, Chu J H. Study on evolution of soil ecological environment in zero-tillage rice fields after wheat cropping and countermeasures (In Chinese). Acta Agriculturae Shanghai, 1997, 13(2): 39~50
- [13] Choi K H, Dobbs F C. Comparison of two kinds of biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities. Journal of Microbiological Methods, 1999, 36(3): 203~213
- [14] Atlas R M. Diversity of microbial community. Advanced Microbiology Ecology, 1984, 7: 1~47
- [15] Zhang H Y, Li Z G, Pan Y H, et al. Denitrifying bacteria in paddy soils of Taihu Lake Basin, China. Pedosphere, 2004, 14(4): 527~532
- [16] 席劲瑛, 胡洪营, 钱易, 等. Biolog 方法在环境微生物群落研究中的应用. 微生物学报, 2003, 43(1): 138~141. Xi J Y, Hu H Y, Qian Y, et al. Application of Biolog system in the study of microbial community (In Chinese). Acta Microbiologica Sinica, 2003, 43(1): 138~141
- [17] 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. 土壤学报, 2004, 41(3): 456~461. Zheng H, Ou Yang Z Y, Fang Z G, et al. Application of Biolog to study on soil microbial community functional diversity (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(3): 456~461
- [18] 秦华, 林先贵, 陈瑞蕊, 等. DEHP 对土壤脱氢酶及微生物功能多样性的影响. 土壤学报, 2005, 42(5): 829~834. Qin H, Lin X G, Chen R R, et al. Effects of DEHP on dehydrogenase activity and microbial functional diversity in soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2005, 42(5): 829~834

EFFECTS OF RICE CULTIVATION ON MICROBIAL FUNCTIONAL DIVERSITY IN ANCIENT AND PRESENT PADDY SOILS

Hu Junli^{1,2,3} Lin Xiangui^{1,2†} Chu Haiyan^{1,2} Yin Rui^{1,2} Zhang Huayong^{1,2} Wang Junhua^{1,2}
Cao Zhihong^{1,2} Hu Zhengyi^{1,2}

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

(2 Joint Open Laboratory of Soil and the Environment, Institute of Soil Science and Hongkong Baptist University, Nanjing 210008, China)

(3 Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)

Abstract According to the latest archaeological discoveries in the low Yangtze River Delta of China, in history rice cultivation can trace back to B. C. 4 000 in China. A mini-pot-culture experiment was carried out to evaluate effects of rice cultivation on microbial functional diversity and ammonia-oxidizing bacterial number in ancient paddy soils that have been buried underground for thousands of years, and in present paddy soil as well. A huge population of ammonia-oxidizing bacteria (AOB), about $0.416 \sim 1.235$ MPN mg^{-1} dry soil, was observed in the present paddy soil, while only a limited number of AOB, about $0.013 \sim 0.055$ MPN mg^{-1} dry soil, was detected in the ancient paddy soils after incubation for one or two months in greenhouse. Rice cultivation without N fertilization decreased the number of soil AOB significantly, while rice cultivation with ammonium sulfate fertilization increased its number within a short period of time, but sodium nitrate fertilization did not show any significant effect on soil AOB. The present paddy soil was much lower than the ancient paddy soils in carbon-source utilization capability, and in Shannon index, Simpson index and McIntosh index of microbial community to a varying extent. Rice cultivation, however,

significantly increased carbon-source utilization capability of the microbial community as a whole in the present paddy soil , and raised the three indices therein up to the level of the ancient soils. The increase was slowed down by N fertilization. Rice cultivation and N fertilization did not significantly affect these functional diversity indices of the microbial community in the ancient paddy soils , and no significant difference was observed between the 3 320 a and 6 280 a ancient paddy soils.

Key words Ancient paddy soil ; Ammonia-oxidizing bacteria ; Microbial functional diversity ; Rice cultivation ; N fertilization