植物营养与肥料学报 2010,16(3):744-751
Plant Nutrition and Fertilizer Science

不同施肥和耕作制度下土壤微生物多样性研究进展

樊晓刚,金 轲*,李兆君,荣向农
(中国农业科学院农业资源与农业区划研究所·农业部作物营养与养分循环重点实验室,北京 100081)

摘要:本文主要介绍了运用 Biolog GN、磷脂脂肪酸(PLFA)、核酸分析法进行土壤微生物群落分析的优缺点,综述了施肥、耕作两种农业措施对土壤微生物多样性影响的研究进展。指出不同施肥处理对微生物影响效果不同,合理施用有机肥有利于维持土壤微生物的多样性及活性;由于受其他环境因素(如土壤类型、农作制度、残茬量等)的影响,不同耕作措施对土壤微生物多样性影响有差异,但是大多试验结果显示免耕、少耕能增加微生物多样性和生物量,保持系统的稳定性。文章还指出了目前研究中存在的问题,并对今后的研究方向做了展望。

关键词:土壤;微生物多样性;施肥;耕作
中图分类号:S154.3　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1008-505X(2010)03-0744-08

Soil microbial diversity under different fertilization and tillage practices: A review

FAN Xiao-gang, JIN Ke*, LI Zhao-jun, RONG Xiang-nong
(*Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Plant Nutrition and Nutrient Cycling, Ministry of Agriculture, Beijing 100081, China*)

Abstract: In this paper, three main methods for studying soil microbial diversity [biolog analysis, phospholipid fatty acid analysis (PLFA) and nucleic acid-based analysis] are briefly introduced and their advantages and disadvantages are evaluated. Fertilization-associated alteration in soil properties would have long-lasting effects on soil microbial community and the effects would depend on fertilization rates and fertilizer types. The response of soil microbial diversity and overall biological activities to tillage can be variable and will depend on other factors such as the cropping and abundance of residues. Under most experiment conditions, conservation tillage practices (i.e. no till with mulch) can potential increase soil microbial diversity and biomass compared to conventional tillage. Based on recent related research, perspectives for studying microbial diversity in soils are also presented.

Key words: soil; microbial diversity; fertilization; tillage

土壤微生物是土壤有机质和养分转化、循环的动力,在土壤肥力形成和发展的许多方面起着极重要的作用[1]。同时,土壤微生物多样性与土壤功能密切相关,能够保持土壤系统的动态平衡[2]。土壤微生物能够迅速对周围环境的变化做出反应[3],因此研究分析不同田间管理措施对土壤微生物影响已成为当前土壤科学的研究热点[4]。由于受到人口、资源、粮食等问题的压力,人类越来越多的干预土壤环境,各种耕作类型及不同施肥方式对土壤物理、化学及生物性质产生了深远的影响。近年来,随着微生物多样性测试方法的不断改进和完善,土壤微生物多样性的研究取得了一些重要进展[5-6]。本文主要综述了土壤微生物多样性的主要研究方法以及施肥和耕作(轮作)方式对土壤微生物多样性的影响研究进展。

收稿日期:2009-08-03　　**接受日期**:2009-11-11
基金项目:国家科技支撑项目"果树蔬菜高效施肥技术模式研究"(2008BADA4B05)资助
作者简介:樊晓刚(1982—),男,河南许昌人,硕士研究生,主要从事土壤微生物肥力方面的研究。E-mail: fa.xi.111@163.com
* 通讯作者 Tel: 010-82109645, E-mail: kjin@caas.net.cn

1　土壤微生物多样性主要分析方法

研究土壤微生物多样性的方法，除了传统的琼脂培养基培养方法外，Biolog GN、磷脂脂肪酸（phospholipid fatty acid analysis，PLFA）和核酸分析法是近年来普遍采用的 3 种主要方法。这 3 种方法各有特点，都可以针对土壤微生物的某个具体特征，对土壤微生物群落和功能的差异和变化进行独立的分析。

Biolog GN 可以很好的区分土壤微生物区系[7]。该法相对简单，并能得到大量的原始数据，但也存在一定的局限性。目前，Biolog 方法主要用于异养微生物群落结构多样性的研究，检测精度不高，只能鉴别能在 Biolog 系统内生长的微生物，其结果会受到培养环境的强烈影响。再者就是目前所拥有的标准数据库还不完善，有些微生物种类还不能被准确鉴定。PLFA 通过分析不同环境下 PLFA 图谱的变化，可以识别和定量描述微生物群落，说明环境样品中微生物群落结构的变化[8]。PLFA 与其它方法相比有很多优势，不仅可以检测土壤样品，还可以检测水样、沉积物、腐殖质中的微生物多样性，并且快速、准确[9]。与 Biolog 相比，PLFA 在分析群落结构变化时，更快速、更灵敏，不需要依赖对微生物的培养，可以很大程度上提高结果的可靠性[10]。当然，PLFA 也有其不足，主要表现为对微生物分类还不够精确，不能在种和菌株水平上区分微生物[11]。另外，标记脂肪酸进行实验室处理时，易受人为因素干扰。PLFA 的测定结果还会受到温度、有机质含量等多种因素的影响，从而造成一定的误差。PCR-DGGE 技术具有可靠、快速、易操作等特点，能克服传统微生物研究方法的不足，提供微生物在时间和空间上的动态变化。不过，DNA 的提取效率、纯化、扩增的效果都会对 DGGE 结果产生影响，同时该技术无法给出代谢活性、细菌数量和基因表达水平方面的信息。

针对上述 3 种方法分别存在的缺陷与不足，许多研究人员在实际研究中采取了积极有效的措施。在 Biolog 方法中，为了增加数据分析的效率与准确性，同时去除过多碳源带来的冗余信息，席劲瑛等[12]通过定义一个与 Biolog 微孔板对应的网格图，更能快速、直观、有效的反应生物群落的代谢信息。谭兆赞等[13]综合利用多种数学方法，从 31 种碳源中筛选出了更能反映土壤微生物群落功能特征变化的 10 种特征碳源，优化了 Biolog 方法的碳源设计，提高了该方法的有效性及准确性。在 PLFA 方法中，由于微生物标记存在可萃取性和未知的稳定性问题，为了提高 PLFA 的提取效率，可综合采用多种提取方法，如 Haack 等[14]采取简单提取方法的基础上，结合 MIDI 来提取和分析 PLFA，最后用 MIDI 开发商提供的自动程序软件进行分析。在核酸分析法中，笔者曾长期运用 PCR-DGGE 的方法来判别微生物群落特征，在研究中发现，DNA 的提取效率、PCR 的效果、DGGE 过程中胶浓度梯度的控制及电泳时间长短和电压高低，都会对结果产生各种影响，因此通过大量严密的预备实验来确定最有效的实验条件是该方法的关键。DNA 提取同时采用手提和试剂盒提取两种方法，通过对比找出最佳提取途径；采用不同方式的 PCR 方法，对比结果确定最优条件；在凝胶电泳中，采用了双梯度凝胶电泳方法，提高了 DGGE 方法的准确性，并降低了实验成本。

由于以上 3 种方法的原理不同，所以应用范围、精度不同，单独使用可能会带来不可避免的偏差[15]。如 Oka 等[16]在单独运用 PLFA 方法和 Biolog 方法识别一些微生物时发现得到了错误辨识。为了更实际地反映微生物群落的结构、功能和动态变化，一些试验采用了多种技术相结合的方法。如 Bodelier 等[17]综合采用 PLFA 和 PCR - DGGE 方法，比较清楚地了解到了水稻土壤中甲烷氧化菌群落结构；Ross 等[18]人通过收集地下水中的微生物，采用核酸分析法结合 Biolog 法研究了它们的遗传多样性和代谢多样性；Ibekwe 等[10]利用 PLFA 方法和 Biolog 方法测定了不同种植条件下土壤微生物群落结构的变化，发现两种方法测试结果是一致的，但前者比后者在定性检测群落结构方面更加灵敏；Yao 等[19]用 PLFA 方法和 Biolog 方法评价不同肥力和耕种历史的红壤的微生物群落结构差异，得出了同样的结论。Widmer 等[20]比较 DNA、PLFA、Biolog 3 种方法评价使用过杀虫剂的 3 种土壤微生物性质影响，发现 3 种方法都有很好的重复性，能分辨出不同处理的土壤，但通过聚类分析后发现不同方法对同一处理土壤微生物性质测定结果相似性不太一致。因此，在很多情况下单独运用一种研究方法对微生物群落进行研究，可能会忽略一些有用信息，甚至得到错误判别。因此，在具体研究实践中，很有必要把多种研究方法结合起来运用，扬长避短，克服单一方法带来的缺陷与不足，以得到更准确、全面的信息。

2　施肥对土壤微生物多样性的影响

施用肥料除了直接影响土壤化学成分变化，引起土壤微生物活性、土壤微生物群落结构改变外，还

能通过改变土壤的物理性状,影响地上植被的生长状况,从而间接地影响土壤微生物群落结构[21]。因而,施肥与否,不同的肥料类型及施肥方式都将会影响土壤微生物种类及其多样性。土壤微生物对无机肥料的反应,依赖于养分是否抑制微生物的生长和活性。如在一定范围内,氮肥对土壤微生物量的影响与施肥数量有关,但并不是施肥水平越高微生物数量就越高[22]。一定条件下,肥料合理配施可以提高微生物对碳源的利用效率,显著增加微生物功能多样性[23]。这主要是合理施肥,能够增加根系的分泌物,提供给土壤微生物更多的能源物质,从而提高土壤微生物量;同时肥料的施用增加了植物地上部和地下部残留,也可提高土壤微生物量[24]。Bardgett等[25]利用PLFA法研究发现,在不施肥低投入的土壤中,与细菌相比真菌起着更为重要的作用。真菌与细菌的比率最大,施肥时情况相反。Kelly等[26]利用PLFA法研究了施肥过程中由Zn污染的土壤中,放线菌及菌根真菌的PLFA相对含量明显下降,从而说明了土壤微生物群落发生了改变。

不同土壤管理措施对土壤理化性质改变因土壤类型和作用强度而异,因此在影响土壤微生物群落结构的效果上也表现不同。由于土壤微生物多样性相对稳定,短期施肥对土壤微生物影响有限;只有长期持续的培肥地力,才会反映出具有相对稳定的土壤微生物多样性特征组分。笔者在山西寿阳农业部旱作农业示范区,利用PCR-DGGE方法研究了不同氮肥水平(105,179和210 kg/hm^2)对土壤微生物多样性的影响,结果显示,连续3年不同施肥水平对土壤微生物区系的影响不显著。这和Leory等[27](2006,连续施肥2年)、Calbrix等[28](2007,1年)的研究结果相似。而以往报道施肥对微生物群落功能多样性产生显著影响的研究大多是基于长期施肥定位试验[29-32]。

有机肥既补充输入了有机碳源又改善了土壤物理性状,有利于维持土壤微生物的多样性及活性[33]。有机肥对土壤微生物群落结构及多样性影响很大,Maire等[34]用PLFA法研究了Swiss Jura山区草原地有机质循环转化对生物多样性的影响,认为微生物结构多样性和微生物功能多样性是相应的。胡可等[35]利用Biolog法对不同施肥处理下土壤微生物功能多样性进行了研究,结果表明,生物有机肥处理下更能提高土壤中微生物的活性。施用不同用量生态有机肥对土壤微生物的影响表明,施用生态有机肥可以提高土壤微生物多样性和土壤质量,能调控土壤微生物群落结构,促进土壤有益微生物生长[36];并且每年施用一定量有机肥可以维持较高的土壤微生物活性,在保持微生物多样性与生态稳定性方面起着重要作用[37]。有机肥对微生物多样性及活性影响的作用机理表明,有机肥提供了有机胶体作为有机、无机复合团聚体的物质基础,有助于形成活性钙离子,增加腐殖质含量,带来更多有益功能团,提高土壤中碳源和能源,促进可溶性碳、氮的生成,为微生物的生长繁殖及活性的提高,创造了有益条件[38-40]。另外,有机肥本身也给土壤中微生物带来了可利用的碳源和能源。有研究表明,施用化学肥料可抑制真菌的生长[41],而施用有机肥则可促进真菌的生长[42]。但这并不代表有机肥投入越多越好,有机肥还不能被当作成熟的土壤改良物质,施用时也应当是适度的[43]。

上述结果表明,施肥水平高低、施肥处理年限长短、肥料类型及施肥具体应用措施都会造成土壤成分的物理、化学变化,进而影响土壤中微生物的群落结构及其稳定性。因此,在具体实践中,应根据实际情况,制定科学有效的施肥计划,为有益种群的生长繁殖创造有利条件,以提高施肥效率。

3 耕作和轮作对土壤微生物多样性的影响

耕作能改变土壤物理、化学、生物属性,进而影响土壤微生物的结构及其多样性。研究结果表明,在免耕系统中,土壤微生物的活性和数量都显著高于翻耕土壤;表层土壤的微生物土壤质量参数与耕作频度反相关[44]。减少土壤耕作结合秸秆覆盖可提高表层土壤细菌总量,增加土壤微生物的多样性[6,45]。张星杰等[46]研究了玉米关键生育期不同保护性耕作措施对旱作玉米田土壤微生物的影响,结果发现在全生育期,保护性耕作处理土壤微生物细菌、放线菌、真菌和纤维素分解菌数量比传统耕作分别提高41.9%、470.1%、67.9%和65.7%。Drijber等[47]利用PlFA方法研究小麦地在长期免耕条件下微生物群落结构变化时发现,免耕能使土壤碳量和微生物量倾向于地表分布。

一般认为,保护性耕作对提高土壤微生物多样性的影响主要是增加土壤有机质、改善土壤结构。土壤微生物多样性与有机质含量密切相关,并影响微生物的功能多样性。Calderón等[48]利用PLFA图谱研究了模拟耕种行为对土壤微生物群落结构的短期影响,结果表明,相对于荒地处理,这种耕种方式

对长期耕种土地的影响要小得多。笔者所在课题组在河南洛阳旱农实验基地利用田间长期定位试验(9年),系统研究了不同耕作方式(少耕、免耕加覆盖、深松加覆盖、传统耕作)对土壤有机碳、微生物区系结构的影响。研究发现连续9年保护性耕作可以显著提高土壤有机碳含量,土壤中微生物区系结构表现出显著的季节变化。相同生育期,保护性耕作下土壤微生物量总量显著高于传统耕作,而耕作对土壤微生物区系结构影响并不显著。Bardgett 等[25]利用 PLFA 法研究了季节变化和土壤肥沃程度对土壤微生物的影响,结果表明,季节变化对 PLFA 图谱的影响主要是通过土壤矿物氮和水分含量起作用,并且发现真菌在低肥力土壤生化过程中发挥着更大的作用。

Adl 等[49]研究发现,长期免耕(25 年)可以增加微生物多样性,这与笔者在山西寿阳农业部旱作农业示范区,利用 PCR-DGGE 方法研究不同耕作方式对土壤微生物多样性的影响,发现在长期少耕、免耕处理下,微生物种群数量明显多于传统耕作的结果一致。以往研究表明,环境因子对土壤微生物区系影响的重要性依次为土壤类型、取样时间、特殊的农事操作(如秸秆覆盖或追肥)、管理、管理制度和空间变异[50]。尽管以上研究的土壤类型都是沙壤土,但是可能由于取样时间、气候条件、管理措施(如不同灌溉措施)的差异,导致试验结果的不一致。

少耕土壤有利于形成大团聚体,增加土壤微生物生物量和保持微生物多样性,大团聚体比小团聚体土壤有较多的微生物生物量;而传统耕作方式破坏了大的团聚体[51],加速了土壤有机物损失,导致生物活性降低,整体稳定性下降,作物产量降低。但对微生物多样性与土壤团聚体的关系仍然不十分清楚。Schutter 等[52]利用 PLFA 法研究了休耕地和耕种土地的微生物量差异,也得出了类似的结论。在长期少耕、免耕处理下,有更多的根系分泌物被保留在土壤耕层内,这也在一定程度上增加了土壤微生物量,对微生物群落结构造成影响。Kozdroj 等[53]利用 PCR - DGGE 结合传统培养方法研究了根系分泌物对受不同程度重金属污染土壤的细菌群落结构多样性的影响,结果表明,根系分泌物对土壤细菌种群发展具有明显的促进作用。

有研究显示,单独的耕作措施对土壤微生物的影响很小[54]。Diosma 等[55]研究了耕作对阿根廷萨拉多河典型的粘化湿软土土壤微生物区系的影响,也发现在少耕情况下,尽管土壤有机残余物量显著高于传统耕作,但土壤微生物区系结构和活性没有发生改变。但是大部分生物对耕作措施很敏感,不同生物能表现出不同的反应[56-57]。滕应等[58]利用 PCR - DGGE 在研究了重金属污染农田土壤细菌群落的多样性,结果看出,这一措施影响到农田土壤生态系统的细菌丰富度,改变了土壤环境的优势菌群,从而使农田土壤微生物群落结构多样性发生变化。真菌比细菌对不同土壤管理措施的反应更为敏感。不同耕作方法对土壤真菌数量影响不大,但对真菌群落结构和种群构成却有显著的影响。翻耕和免耕玉米土壤形成了不同特征真菌区系,免耕覆盖秸秆的土壤真菌多样性高于翻耕[59-60]。但 Merilies 等[61]发现,免耕情况下土壤中真菌和放线菌没有显著性变化。

土壤中微生物群落的多样性取决于特定类群的异质性[62]。研究表明,在单一小麦种植制度下,轮作和耕作可以改变土壤微生物的多样性[63-64]。因此,不同耕作(轮作)措施中的种植作物和作物残茬对土壤微生物生物量和活性的产生显著影响[65]。耕作过程中,对土壤投入的能源物质越多,微生物的数量越多,这样轮作可能比单一栽培耕作更有利于维持土壤微生物的多样性及活性[66]。胡江春等[67]研究了大豆连作、轮作土壤微生物区系,发现连作大豆根际土壤真菌富集,优势真菌为紫青霉菌,对大豆生长发育表现出强烈抑制。Merilers 等[68]发现,在花生-玉米-大豆的轮作体系中,玉米残茬中木霉菌群显著增加;Larkin[69]同样报道了轮作系统中木霉菌群有增加的趋势。Drijber 等[70]也发现在长期小麦轮作种植制度下,土壤细菌群落发生变化。但是,特定作物生产系统下,如旱地农田生态系统,不同耕作和轮作管理措施对土壤微生物群落的研究还鲜见报道[63,68]。

由此可见,不同耕作方式下微生物量及其多样性存在差异。免耕、少耕等保护性耕作下,为土壤微生物的生长繁殖创造了良好的生境条件,一定程度上增加了土壤表层微生物量及大量的根系分泌物,增加了微生物种群数量,有利于维持微生物多样性。与单一栽培耕作方式相比,轮作、连作除了能增加微生物量维持微生物活性外,还能改变微生物群落结构。另外,在一定耕作基础上同时采取不同措施,也能较大程度影响土壤微生物。如在深松条件下,添加石灰能提高土壤 pH,从而增强微生物代谢能力,微生物量增加了 100 μg/g,并且这种耕作措施作物残留水平比传统耕作要高,增加了微生物活性,土壤

不易被侵蚀[71]。

4 展望

随着人们对不同管理措施对微生物多样性影响的研究不断深入,今后的研究工作将主要集中在以下几个方面:

1)研究方法的有机整合。在分析土壤微生物群落结构及多样性时,单独利用一种方法,结果可能不够精确,因此在实际操作中,应该采用多种技术相结合。但是由于不同分析方法应用范围、精度不同,如何采用并结合不同试验方法做出真实、准确的判断,还需要做大量的对比试验进一步深入研究,从而找出规律。根据各种方法的优缺点将其有机结合,取长补短,消除单一方法的缺陷,以提供更加全面准确的微生物多样性变化信息。另外,由于分析试验结果(如 PLFA 图谱、DGGE 图谱)的复杂性,其结果分析通常要采用多元统计方法,或借用专门的分析软件(如 Quantity One 软件包)进行分析。因此需要确定通过不同方法得到的数据在相关分析中的权重或是否需要通过校正因子进行数据转化。

2)不同有机肥源对土壤微生物多样性影响的机理研究。由于施用土壤有机肥源的碳氮比、种类以及在土壤中被土壤微生物转化与矿化的持续时间不同,施入不同种类的厩肥、畜禽粪和农家肥对土壤微生物量的影响应该有所差异。但是,目前施入有机肥对土壤微生物影响的研究主要集中在对微生物种类、群落、数量和各种微生物总体活性上,而对微生物活性动态变化及其机理研究报道较少,尤其是长期施用有机肥对土壤微生物多样性和微生态环境影响及其机理、以及土壤微生物对土壤生态系统功能调控机理的研究较少。

3)不同管理措施对土壤微生物多样性影响的季节变化。以往发表的大多数研究结果都是基于一次取样,忽略了土壤湿度、土壤温度以及可利用残留物和作物的季节变化对土壤微生物生物量及其多样性可能造成的显著影响。不同农田生态系统下土壤微生物多样性的季节性变化还不是很明了。

4)尽管土壤微生物群落结构能够可以迅速反映不同管理措施下土壤质量的变化,但是土壤微生物并不是土壤中食物链的全部,仅仅测定微生物群落结构并不能完全说明保护性耕作下土壤质量的提高[72]。如原生动物、小节肢动物也被证明在被缓慢恢复。更多的研究需要解决不同管理措施和环境对整个土壤社区,特别是集约管理措施下,轮作、复种指数、耕作、施肥可能对选定特定微生物种产生影响。由于环境变量,如土壤类型、土壤含水量和肥力的交互作用,而使不同农田环境下土壤微生物群落的变化更加复杂。因此,加强对特定农田生态系统土壤微生物群落的变化研究就显得尤为重要。

参 考 文 献:

[1] 李阜棣. 土壤微生物学[M]. 北京: 中国农业出版社,1996.
Li F L. Soil microbiology [M]. Beijing: Chinese Agricultural Press, 1996.

[2] Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini M T *et al*. Microbial diversity and soil functions[J]. Eur. J. Soil. Sci., 2003, 54: 655-670.

[3] Avidano L, Gamalero E, Cossa G P, Carraro E. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicator [J]. Appl. Soil. Ecol., 2005, 30(1): 21-33.

[4] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: a review [J]. Biol. Fert. Soils, 1999, 29: 111-129.

[5] 张薇. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J]. 生态学杂志,2005,24(1): 48-52.
Zhang W. Advances of studies on soil microbial diversity and environmental impact factors [J]. Chinese J. Ecol., 2005, 24(1): 48-52.

[6] 钟文辉,蔡祖聪. 土壤管理措施及环境因素对土壤微生物多样性影响研究进展[J]. 生物多样性,2004,12(4): 456-465.
Zhong W H, Cai Z C. Effect of soil management practices and environmental factors on soil microbial diversity: a review [J]. Biodivers. Sci., 2004, 12(4): 456-465.

[7] 杨海君,肖启明,刘安元. 土壤微生物多样性及其作用研究进展[J]. 南华大学学报(自然科学版),2005,19(4): 21-26.
Yang H J, Xiao Q M, Liu A Y. Soil microbial diversity and its action [J]. J. Nanhua Univ.(Nat. Sci. ed.), 2005, 19(4): 21-26.

[8] 齐鸿雁,薛凯,张宏勋. 磷脂脂肪酸谱图分析方法及其在微生物生态学领域的应用[J]. 生态学报,2003,23(8): 1576-1582.
Qi H Y, Xue K, Zhang K. Phospholipid fatty acid analysis and its applications in microbial ecology[J]. Acta Ecol. Sin., 2003, 23(8): 1576-1582.

[9] 颜慧,蔡祖聪,钟文辉. 磷脂脂肪酸分析方法及其在土壤微生物多样性研究中的应用[J]. 土壤学报,2006,43(5): 851-859.
Yan H, Cai Z C, Zhong W H. PLFA analysis and its applications in the study of soil microbial diversity[J]. Acta. Pedol. Sin., 2006, 43(5): 851-859.

[10] Ibekwe A M, Kennedy A C. Phospholipid fatty acid profiles and carbon utilization patterns for analysis of microbial community structure under field and greenhouse conditions [J]. FEMS Microbiol. Eclo., 1998, 26(2): 151-163.

[11] 陈承利,廖敏,曾路生. 污染土壤微生物群落结构多样性及功能多样性测定方法[J]. 生态学报,2006,26(10): 3404-3412.
Chen C L, Liao M, Zeng L S. Methods to measure the microbial community structure and functional dicersity in polluted soils[J]. Acta Ecol. Sin., 2006, 26(10): 3404-3412.

[12] 席劲瑛,胡洪营,姜健,钱易. 生物过滤塔中微生物群落的代

谢特性[J]. 环境科学,2005,26(4): 165-170.
Xi J Y, Hu H Y, Jiang J, Qian Y. Metabolic properties of the microbial community in the biofilters using biologmicroplates[J]. Environ. Sci, 2005, 26(4): 165-170.

[13] 谭兆赞,刘可星,廖宗文. 土壤微生物 BIOLOG 分析中特征碳源的判别[J]. 华南农业大学学报,2006,27(4): 10-13.
Tan Z Z, Liu K X, Liao Z W. The discrimination of characteristic carbon Sources on soil microbial community Using BIOLOG microplates[J]. Huanan Agric. Univ., 2006, 27(4): 10-13.

[14] Haack S K, Garchow H, Odelson D A *et al*. Accuracy, reproducibility, and interpretation of fatty acid methyl ester profiles of model bacterial communities[J]. Appl. Environ. Microbiol., 1994, 60: 2483-2493.

[15] 钟文辉,蔡祖聪. 土壤微生物多样性研究方法[J]. 应用生态学报,2004,15(5): 899-904.
Zhong W H, Cai Z C. Methods for studying soil microbial diversity [J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2004, 15(5): 899-904.

[16] Oka N, Hartel P G, Finlay-Moore O *et al*. Misidentification of soil bacteria by fatty acid methyl ester (FAME) and BIOLOG analyses [J]. Biol. Fert. Soils, 2000, 32(3): 256-258.

[17] Bodelier P L E, Roslev P, Henckel T, Frenzel P. Stimulation by ammonium-based fertilizers of methane oxidation in soil around rice roots [J]. Nature, 2000, 403: 421-424.

[18] Ross N, Villemur R, Marcandella E, Deschense I. Assessment of changes in biodiversity when a community of ultramicrobacteria isolated from groundwater is stimulated to form a biofilm[J]. Microb. Ecol., 2001, 42(1): 56-58.

[19] Yao H, He Z, Wilson M J, Campbell C D. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use[J]. Microb. Ecol., 2000, 40(3): 223-237.

[20] Widmer F, Fließbach A, Laczkó E *et al*. Assessing soil biological characteristics: a comparison of bulk soil community DNA -, PLFA -, and Biolog-analyses[J]. Soil Biol. Biochem., 2001, 33(7-8): 1029-1036.

[21] 胡亚林,汪思龙,颜绍馗. 影响土壤微生物活性与群落结构因素研究进展[J].土壤通报,2006,37(1): 170-176.
HU Y L, Wang S L, Yan S K. Research advances on the factors influencing the activity and community structure of soil microorganism [J]. Chin. J. Soil. Sci., 2006, 37(1): 170-176.

[22] 庞欣,张福锁,王敬国. 不同供氮水平对根际微生物量氮及微生物活度的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2000,6(4): 476-480.
Pang X, Zhang F S, Wang J G. Effect of different nitrogen levels on SMB-N and microbial activity[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2000, 6 (4): 476-480.

[23] 侯晓杰,汪景宽,李世朋. 不同施肥处理与地膜覆盖对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报,2007,27(2): 655-661.
Hou X J, Wang J K, Li S P. Effects of different fertilization and plastic-mulching on functional diversity of soil microbial community [J]. Acta Ecol. Sin., 2007, 27(2): 655-661.

[24] Dick R P. Long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters[J]. Agric. Eco. Environ., 1992, 40: 25-36.

[25] Bardgett R D, Lovell R D, Hobbs P J, Jarvis S C. Seasonal changes in soil microbial communities along a fertility gradient of temperate grasslands[J]. Soil Biol. Biochem., 1999, 31(7): 1021-1030.

[26] Kelly J J, Haggblom M, Tate R L. Changes in soil microbial communities over time resulting from one time application of zinc: a laboratory microcosm study soil biology and biochemistry[J]. Soil Biol. Biochem., 1999, 31(10): 1455-1465.

[27] Ben L. The quality of exogenous organic matter: Short term influence on the phospholipid fatty acid (PLFA) composition of the soil microbiota [D]. Gent, Belgium: PhD dissertation, Gent University, 2006. 121-134.

[28] Calbrix R, Barray S, Chabrerie O *et al*. Impact of organic amendments on the dynamics of soil microbial biomass and bacterial communities in cultivated land[J]. Appl. Soil. Ecol., 2007, 35(3): 51112.

[29] Peacock A D, Mullen M D, Ringelberg D B *et al*. Soil microbial community responses to dairy manure or ammonium nitrate applications[J]. Soil Biol. Biochem., 2001, 33(7-8): 1011-1019.

[30] Marschner P, Kandeler E, Marschner B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment[J]. Soil Biol. Biochem., 2003, 35(3): 453-461.

[31] Böhme L, Langer U, Böhme F. Microbial biomass, enzyme activities and microbial community structure in two European long-term field experiments [J]. Agric. Ecosyst. Environ., 2005, 109(1-2): 141-152.

[32] 张逸飞,钟文辉,李忠佩,蔡祖聪. 长期不同施肥处理对红壤水稻土酶活性及微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态与农村环境学报,2006,22(4): 39-44.
Zhang Y F, Zhong W H, Li Z P, Cai Z C. Effect of long-term different fertilization on soil enzyme activity and microbial community functional diversity in paddy soil derived from quaternary red clay [J]. J. Ecol. Rur. Environ., 2006, 22(4): 39-44.

[33] Debosz K, Rasmussen P H, Pedersen A R. Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effects of organic matter input[J]. Appl. Soil. Ecol., 1999, 13 (3): 209-218.

[34] Maire N, Borcard D, Laczko E, Matthey W. Organic matter cycling in grassland soils of the Swiss Jura mountains: biodiversity and strategies of the living communities [J]. Soil Biol. Biochem., 1999, 31 (9): 1281-1293.

[35] 胡可,王利宾. Biolog 微平板技术在土壤微生态研究中的应用[J]. 土壤通报,2007,38(4): 819-821.
Hu K, Wang L B. Application of biolog microplate technique to the study of soil microbial ecology [J]. Chin. J. Soil. Sci., 2007, 38 (4): 819-821.

[36] 蔡燕飞,廖宗文,章家恩,等. 生态有机肥对番茄青枯病及土壤微生物多样性的影响[J]. 应用生态学报,2003,14 (3): 349-353.
Cai Y F, Liao Z W, Zhang J E *et al*. Effect of ecological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microbial diversities [J].

Chin. J. Appl. Ecol., 2003, 14(3): 349-353.

[37] 李东坡,武志杰,陈利军. 有机农业施肥方式对土壤微生物活性的影响研究[J]. 中国生态农业学报,2005,13(2): 99-101.
Li D P, Wu Z J, Chen L J. Influence of fertilizing modes of organic agriculture on the soil microbial activities [J]. Chin. J. Eco-Agric., 2005, 13(2): 99-101.

[38] 韩晓日,郑国砥,刘晓燕,等. 有机肥与化肥配合施用土壤微生物量氮动态、来源和供氮特征[J]. 中国农业科学,2007,40(4): 765-772.
Han X R, Zheng G D, Liu X Y *et al*. Dynamics, sources and supply characteristic of microbial biomass nitrogen in soil applied with manure and fertilizer[J]. Sci. Agric. Sin., 2007, 40(4): 765-772.

[39] 詹其厚,张效朴,袁朝良. 秸杆还田改良砂姜黑土的效果及其机理研究[J]. 安徽农业大学学报,2002,29 (1): 53-59.
Zhan Q H, Zhang X P, Yuan C L. Study on amelioration effect and mechanism of returning straw into vertisol [J]. J. Anhui Agric. Univ., 2002, 29(1): 53-59.

[40] 张亚丽,张娟,沈其荣,王金川. 秸秆生物有机肥的施用对土壤供氮能力的影响[J]. 应用生态学报,2002,13(12):1575-1578.
Zhang Y L, Zhang J, Shen Q R, Wang J C. Effect of combined application of bioorganic manure and inorganic nitrogen fertilizer on soil nitrogen supplying characteristics [J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2002, 13(12): 1575-1578.

[41] Bradley K, Drijber R A. Increased N availability in grassland soils modifies their microbial communities and decreases the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Soil Biol. Biochem., 2006, 38(7): 1583-1595.

[42] Elfstrand S, Bath B, Martensson A. Influence of various forms of green manure amendment on soil microbial community composition, enzyme activity and nutrient levels in leek[J]. Appl. Soil. Ecol., 2007, 36(1): 70-82.

[43] Plaza C, Hernandez D, Garcia-Gil J C, Polo A. Microbial activity in pig slurry-amended soils under semiarid conditions[J]. Soil Biol. Biochem., 2004, 36(10): 1577-1585.

[44] Carpenter-Boggs L, Stahl P D, Lindstrom M J, Schumacher T E. Soil microbial properties under permanent grass, conventional tillage, and no-till management in South Dakota[J]. Soil Till. Res., 2003, 71(1): 15-23.

[45] Frey S D, Six J, Elliott E T. Reciprocal transfer of carbon and nitrogen by decomposer fungi at the soil-litter interface [J]. Soil Biol. Biochem., 2003, 35(7): 1001-1004.

[46] 张星杰,刘景辉,李立军,等. 保护性耕作对旱作玉米土壤微生物和酶活性的影响[J]. 玉米科学,2008,16(1): 91-95.
Zhang X J, Liu J H, Li L J *et al*. Effect of different conservation tillage on soil microbes quantities and enzyme activities in dry cultivation[J]. J. Maize Sci., 2008, 16(1): 91-95.

[47] Drijber R A, Doran J W, Parkhurst A M, Lyon D J. Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management[J]. Soil Biol. Biochem., 2000, 32(10): 1419-1430.

[48] Calderón F J, Jack son L E, Scow K M *et al*. Microbial responses to simulated tillage in cultivated and uncultivated soils [J]. Soil Biol. Biochem., 2000, 32: 1547-1559.

[49] Adl S M, Coleman D C, Read F. Slow recovery of soil biodiversity in sandy loam soils of Georgia after 25 years of no-tillage management [J]. Agric. Eco. Environ., 2006, 114(2-4): 323-334.

[50] Bossio D A, Scow K M, Gunapala N, Graham K J. Determinants of soil microbial communities: Effects of agricultural management, season, and soil type on phospholipid fatty acid profiles[J]. Microb. Ecol., 1998, 36: 1-12.

[51] Franzluebbers A J, Arshad M A. Soil microbial biomass and mineralizable carbon of water-stable aggregates affected by texture and tillage [J]. Soil Sci. Soc. Am. J., 1997, 61(4): 1091-1097.

[52] Schutter M E, Sandeno J M, Dick R P. Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems [J]. Biol. Fert. Soils, 2001, 34: 397-410.

[53] Kozdroj J, Van Elsas J D. Response of the bacterial community to root exudates in soil polluted with heavy metals assessed by molecular and cultural approaches[J]. Soil Biol. Biochem., 2000, 32: 1405-1417.

[54] Crecchio C, Curci M, Pellegrino A *et al*. Soil microbial dynamics and genetic diversity in soil under monoculture wheat grown in different long-term management systems [J]. Soil Biol. Biochem., 2007, 39(6): 1391-1400.

[55] Diosma G, Golik S I, Chidichimo H O, Balatti P A. Nitrification potential, dehydrogenase activity and microbial biomass in an argiudol soil cultivated with wheat under two tillering methods [J]. Span. J. Agric. Res., 2003, 1(1): 111-119.

[56] Kladivko E J. Tillage systems and soil ecology [J]. Soil Till. Res., 2001, 61(1-2): 61-76.

[57] Spedding T A, Hamel C, Mehuys G R, Madramootoo C A. Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems [J]. Soil Biol. Biochem., 2004, 36(3): 499-512.

[58] 腾应,骆永明,赵祥伟,等. 重金属复合污染农田土壤 DNA 的快速提取及其 PCR-DGGE 分析[J]. 土壤学报,2004,41(3): 343-347.
Teng Y, Luo Y M, Zhao X W *et al*. Rapid extraction and purification of DNA in farmland soils contaminated with mixed heavy metals for PCR-DGGE[J]. Acta. Pedol. Sin., 2004, 41(3): 343-347.

[59] 高云超,朱文珊. 秸秆覆盖免耕对土壤细菌群落区系的影响[J]. 生态科学,2000,19(3): 27-32.
Gao Y C, Zhu W S. Bacterial community structure in straw mulch no-tillage soils [J]. Ecol. Sci., 2000, 19(3): 27-32.

[60] 高云超,朱文珊. 秸秆覆盖免耕土壤真菌群落结构与生态特征研究[J]. 生态学报,2001,21(10): 1704-1710.
Gao Y C, Zhu W S. Community structures of saprophytic soil micro fungi in three differently cultivated field soils in the North of China [J]. Acta Ecol. Sin., 2001, 21(10): 1704-1710.

[61] Meriles J M, Vargas Gil S, Conforto C *et al*. Soil microbial communities under different soybean cropping systems: Characterization of

microbial population dynamics, soil microbial activity, microbial biomass, and fatty acid profiles [J]. Soil Till. Res., 2009, 103 (2): 271-281.

[62] Giller P S. The diversity of soil communities, the "poor man"s tropical rainfores'[J]. Biodivers. Con., 1996, 5(2): 135-168.

[63] Minoshima H, Jackson L E, Cavagnaro T R *et al*. Soil food webs and carbon dynamics in response to conservation tillage in California[J]. Soil Sci. Soc. Am. J., 2007, 71: 952-963.

[64] Lupwayi N Z, Rice W A, Clayton G W. Soil microbial diversity and community structure under wheat as influenced by tillage and crop rotation [J]. Soil Biol. Biochem., 1998, 30(13): 1733-1741.

[65] Wright S F, Green V S, Cavigelli M A. Glomalin in aggregate size classes from three different farming systems [J]. Soil. Till. Res., 2007, 94(2): 546-549.

[66] Watts C W, Eich S, Dexter A R *et al*. Effects of mechanical energy inputs on soil respiration at the aggregate and field scales [J]. Soil. Till. Res., 2000, 53(3-4): 231-243.

[67] 胡江春,薛德林,王书锦,等. 大豆连作障碍研究Ⅲ.海洋放线菌 MB-97 促进连作大豆增产机理[J]. 应用生态学报,2002, 13(9): 1095-1098.
Hu J C, Xue D L, Wang S J *et al*. Obstacles of soybean continuous cropping Ⅲ. Mechanism of soybean yield increment by marine actinomyces MB-97[J]. Chin. J. Appl. Ecol., 2002, 13(9): 1095-1098.

[68] Meriles J M, Vargas Gil S, Haro R J *et al*. Glyphosate and previous crop residue effect on deleterious and beneficial soil-borne fungifrom a peanut-corn-soybean rotations [J]. J. Phytopathol., 2006, 154: 309-316.

[69] Larkin R P. Characterization of soil microbial communities under different potato cropping systems by microbial population dynamics, substrate utilization, and fatty acid profiles [J]. Soil Biol. Biochem., 2003, 35(11): 1451-1466.

[70] Drijber R A, Doran J W, Parkhurst A M *et al*. Changes in soil microbial community structure with tillage under long-term wheat-fallow management Soil [J]. Soil Biol. Biochem., 2000, 32(10): 1419-1430.

[71] Bezdicek D F, Beaver T, Granatstein D. Subsoil ridge tillage and lime effects on soil microbial activity, soil pH, erosion, and wheat and pea yield in the Pacific Northwest, USA [J]. Soil. Till. Res., 2003, 74(1): 55-63.

[72] Buckley D H, Schmidt T M. The structure of microbial communities in soil and the lasting impact of cultivation [J]. Microb. Ecol., 2001, 42(1): 11-21.