植物营养与肥料学报 2014,20(4):913-922
Journal of Plant Nutrition and Fertilizer doi: 10.11674/zwyf.2014.0413

植物源有机物料对果园土壤微生物群落多样性的影响

程存刚[1,2], 赵德英[2], 吕德国[1*], 姜 曼[1], 杜国栋[1]
(1 沈阳农业大学园艺学院, 辽宁沈阳 110866; 2 中国农业科学院果树研究所, 辽宁兴城 125100)

摘要:【目的】苹果园土壤肥力持续下降,禽畜废弃物肥源严重不足,施用植物源有机肥成为生产中改善果园土壤状况的重要措施之一。本试验利用 BIOLOG 微平板技术研究了盆栽条件下添加植物源有机物料及其腐殖化过程驱动因子对果园土壤微生物群落多样性的影响,探讨葡萄糖、尿素和蚯蚓在植物源有机物料向土壤碳库转化中的作用,为揭示果园土壤质量的演变机制提供参考。**【方法】**取苹果园 0—20 cm 土层土壤,与苹果枝条、玉米秸秆和果园杂草粉碎物混合,栽植 2a 生苹果砧木山定子幼苗,分别添加尿素、葡萄糖和蚯蚓,利用 BIOLOG 微平板技术进行土壤微生物群落多样性分析。不同处理的土壤浸提液在 BIOLOG 生态测试板中培养,取培养 96 h 时微平板光密度值进行多样性指数计算,分别用丰富度指数 S 表示被微生物群落利用的基质数量,多样性指数表示反应孔与对照孔光密度值之差和整块板总差的比值,均匀度指数 E 表示可培养微生物的种类均匀度,优势度指数 Ds 用于评估某些最常见种的优势度。对土壤微生物群落利用 BIOLOG 微平板中六类碳源(碳水化合物类、氨基酸类、羧酸类、多聚物类、芳香族类和胺类)的情况进行主成分分析,明确不同处理微生物对碳源利用能力的差异。**【结果】**有机物料种类、小分子有机物和蚯蚓数量均对平均吸光值(AWCD 值)有显著影响,在培养 0～24 h,玉米秸秆+葡萄糖+12 条蚯蚓(T4)和果园杂草+葡萄糖(T9)处理的 AWCD 值明显高于其他处理,微生物群落的活性较强,碳源开始利用较早。24～96 h 时,AWCD 呈指数增长,120 h 后趋于平缓,以玉米秸秆+葡萄糖+12 条蚯蚓(T4)、苹果枝条+葡萄糖+6 条蚯蚓(T2)、果园杂草+葡萄糖(T9)处理斜率最大,其次为玉米秸秆+尿素+6 条蚯蚓(T6)和苹果枝条+尿素(T1)处理;小分子有机物种类对微生物群落丰富度指数(S)和优势度指数(Ds)的影响显著,丰富度指数(S)以苹果枝条+葡萄糖+6 条蚯蚓(T2)最大,优势度指数(Ds)以玉米秸秆+葡萄糖+12 条蚯蚓(T4)最大,各处理的多样性指数(H)和均一度指数(E)差异不显著;对碳源利用主成分起分异作用的主要是碳水化合物类和多聚物类。**【结论】**与秸秆和杂草处理相比,苹果枝条处理土壤微生物群落多样性较丰富,加入葡萄糖为土壤微生物提供可迅速利用的碳源,微生物功能多样性也显著增加;蚯蚓活动对微生物群落多样性的影响比葡萄糖小,尿素对微生物群落多样性的影响也较小,但同时添加尿素和葡萄糖有助于微生物多样性的增加。

关键词: 植物源有机物;果园土壤;微生物群落多样性;BIOLOG 技术
中图分类号: S154.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-505X(2014)04-0913-10

Effects of plant-derived organic materials and humification driving forces on soil microbial community diversity in orchards

CHENG Cun-gang[1,2], ZHAO De-ying[2], LÜ De-guo[1*], JIANG Man[1], DU Guo-dong[1]
(*1 Horticulture College, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110866, China;*
2 Research Institute of Pomology, CAAS, Xingcheng, Liaoning 125100, China)

Abstract:【Objectives】 As soil fertility in apple orchards is declined continuously and livestock waste organic manure sources are seriously inadequate, application of plant-derived organic manure is becoming one of important measures to improve orchard soil conditions. Effects of plant-derived organic matter and driving forces on soil microbial functional diversity in pot planted apple rootstock seedlings were studied by using the BIOLOG microplate

收稿日期: 2013-08-02 **接受日期:** 2013-12-05
基金项目: 农业部"948"项目(2012-Z4);现代苹果产业技术体系建设项目(CARS-28);国家自然科学基金(31171917);公益性行业(农业)科研专项(201103005-01-04)资助。
作者简介: 程存刚(1969—),男,河北赵县人,博士研究生,研究员,主要从事苹果栽培与生理研究。E-mail: ccungang2003@163.com
* 通信作者 E-mail: lvdeguo@163.com

technique. The functions of glucose, urea and earthworm in the plant-derived organic matter transformation process to soil carbon pool were explored, which could provide a reference for revealing evolution mechanism of orchard soil quality. **【Methods】**2a *Malus baccata* (L.) Borkh seedlings were planted in apple orchard soils (0 – 20 cm) mixed with chopped apple branches, corn stalks and orchard weeds. The urea, glucose and earthworms were added into the pots. The soil microbial community diversities were analyzed by the BIOLOG technique. Soil extracts of different treatments were cultured in BIOLOG ecological test plates. The diversity indexes were calculated using microplate optical density values at 96 h. Substrate richness (S) is the number of different substrates used by the community (counting all positive OD readings). Shannon's diversity index is the ratio of the corrected absorbance value of each well to the sum of absorbance value of all wells. Substrate evenness (E) is a measure of the uniformity of activities across all substrates. Simpson's Dominance indicates the dominance of certain species. The carbon substrate utilization differences of microbe were obtained by principal components analysis (PCA) of six carbon sources (carbohydrates, amino acids, carboxylic acids, polymers, aromatic and amines) in the BIOLOG microplates. **【Results】**The results show that the average well color development (AWCD) values are significantly affected by organic material types, small molecular organic compounds and numbers of earthworms. The AWCD values of the corn straw + glucose + 12 earthworms (T4) and the orchard weed with glucose (T9) are obviously higher than those of other treatments in the first 24 hour culture, and the activities of microbial communities are also higher and carbon sources are used earlier. The AWCD values show an exponential growth in the 24 – 96 hour culture, and then become flat after 120 hours. The treatments of the corn straw + glucose + 12 earthworms (T4), the apple branches + glucose + 6 earthworm (T2) and the orchard weed with glucose (T9) have the steepest slopes and the highest microbial activities, and secondly for the corn straw + urea + 6 earthworm (T6) and the apple branches with urea (T1) treatments. The small molecular organic compounds have significant effects on the microbial community substrate richness (S) and Simpson's dominance (Ds), and the substrate richness (S) is the highest under the apple branches + glucose + 6 earthworm (T2), while the Simpson's dominance (Ds) is the highest under the corn straw + glucose + 12 earthworms (T4). The Shannon index (H) and Substrate evenness (E) between different treatments are not significantly different. It is found that the differentiations of soil microbial communities are mainly caused by carbohydrate and polymers carbon. **【Conclusions】**Compared with the straw and weeds treatments, the microbial diversity of the branches treatments is high. The glucose provides carbon sources which can be used rapidly by microbe, and the microbial functional diversity is significantly increased. The effect of earthworm activity on the microbial functional diversity is less compared with the glucose. The urea has little effects on the microbial functional diversity, while the combination of urea and glucose could improve the microbial diversity.

Key words: plant-derived organic materials; orchard soil; microbial community diversity; BIOLOG technique

土壤微生物是土壤生态系统中极其重要和最活跃的部分,是驱动土壤有机物质和养分转化、循环的主要动力[1]。微生物的群落多样性在很大程度上反映了土壤有机碳库的转化情况[2-3]。研究表明,植物凋落物、根系残体、外源有机物投入的种类和存在状态的差异会改变土壤微生物生长所需能量物质的数量和质量,进而影响土壤微生物数量、群落结构及活性[4]。Degens[5]已证明向土壤中添加简单有机物可改变土壤微生物的代谢特征和代谢多样性。

目前测定土壤微生物多样性的方法很多,从最常规的稀释平板法到微生物量测定、磷脂脂肪酸分析法、BIOLOG 微平板分析法到分子生物技术方法等。以 Biolog 微孔板碳源利用为基础的定量分析为描述微生物群落功能多样性提供了一种更为简单、快速的方法,已在评价不同类型土壤微生物的群落功能方面被广泛应用[6]。

由于苹果园大多数分布在缓坡丘陵地,土壤有机质含量低,特别是连年大量施用化肥和农药以及一些不合理的土壤管理措施,导致土壤肥力持续下降,特别是氮、磷严重流失、土壤酸化,不仅产生了较大的环境风险,而且妨碍树体对营养元素的吸收,

降低了果实品质,严重地制约着苹果产业的健康发展[7-8]。有机肥料在保持、改善和提高土壤肥力,活化土壤养分,增强土壤酶活性方面有着不可替代的作用[9]。禽畜废弃物是传统有机肥的主要来源,但近年来动物源有机肥严重不足,传统的施肥方式费时费工,同时施用禽畜废弃物在重金属、盐胁迫及病原物危害等方面存在风险[10-11]。因此如何合理利用有机肥,充分发挥其在培肥地力方面的作用,已成为生产中亟待解决的重要问题。随着果树有机化栽培的开展,生产者越来越重视通过施用植物源有机肥来改善果园土壤状况,进而提高果品的产量与品质[12]。研究表明,葡萄糖、尿素等小分子有机物以及土壤动物如蚯蚓在加快植物源有机物料在土壤中的腐解与转化方面发挥着重要作用[13-15]。由于前人的研究主要集中在有机物料对土壤理化性状、微生物量、酶活性的影响等方面[16-18],而在有机物料对土壤微生物群落多样性的影响,特别是有机物料腐殖化过程中驱动因子作用方面的报道较少,本试验研究了苹果枝条、秸秆和杂草覆盖后果园土壤微生物群落多样性的差异,旨在探求葡萄糖、尿素等小分子有机物和蚯蚓在植物源有机物料向土壤碳库转化中的作用,为揭示果园土壤质量的演变机制,实现果园内部的物质能量循环提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验于 2011 年 4 月至 2012 年 11 月在沈阳农业大学果树试验基地(41°83′ N,123°56′E)进行。供试土壤取自中国农业科学院果树研究所砬山试验基地苹果园 0—20 cm 土层,采样园面积为 4.3 hm^2,土壤质地为砂壤土,母质主要为花岗片麻岩风化物。采用 Z 形五点取样法。试验地为缓坡地(坡度 < 5°),土壤肥力和管理水平一致。试验前果园 0—20 cm 土壤有机质含量为 19.9 g/kg、碱解氮 122.79 mg/kg、速效磷 6.08 mg/kg、速效钾 219.83 mg/kg(于 2011 年 4 月 30 日测定)。3 种植物源有机物(苹果枝条、玉米秸秆和果园杂草)采用 FZFS665Y 型移动式枝桠粉碎机粉碎,将通过 1.70 mm 筛的土壤和 3 种有机粉碎物分别以质量比为 30∶1 的比例混合均匀,作为盆栽基质。

盆栽基质中栽植生长势整齐一致的 2a 生苹果砧木山定子幼苗,栽植容器为 21cm × 21cm 的黑色聚乙烯营养钵,每个营养钵内装 3.0 kg 基质,每种基质栽植 45 盆。

1.2　试验设计

盆栽试验采用 $L_9(3^4)$ 正交试验设计(见表 1),于 2011 和 2012 年 6 月 1 日进行小分子有机物和蚯蚓的添加,小分子有机物均以水溶液的形式进行浇灌,以达到土壤饱和含水量为准,并以托盘放于盆底,回收外渗溶液。尿素、葡萄糖用量为 4.0 g/pot。试验用蚯蚓为太平 2 号 *Eisenia foetida* (Savigny)成年蚓,于添加前 1d 对蚯蚓进行 24 h 的饥饿处理,选择大小一致的蚯蚓放入盆中,按试验设计每盆放 0 条、6 条和 12 条,各处理重复 15 次。

于处理后第 20 d 取样,采用破坏性取样方法。将黑色营养钵褪掉,松动土团,提出植株,抖动植株根系,将土壤混合均匀,过 0.85 mm 筛,于 4 ℃条件下保存,用于土壤微生物群落多样性分析。

表 1　正交试验设计

Table 1　Orthogonal experimental design

处理 Treatment	有机物料 Organic materials	小分子有机物 Small molecular organic compounds	蚯蚓数(No.) Earthworms No.
T1	苹果枝条 Apple branches	尿素 Urea	0
T2	苹果枝条 Apple branches	葡萄糖 Glucose	6
T3	苹果枝条 Apple branches	尿素 + 葡萄糖 Urea + Glucose	12
T4	玉米秸秆 Corn straw	葡萄糖 Glucose	12
T5	玉米秸秆 Corn straw	尿素 + 葡萄糖 Urea + Glucose	0
T6	玉米秸秆 Corn straw	尿素 Urea	6
T7	果园杂草 Orchard weed	尿素 + 葡萄糖 Urea + Glucose	6
T8	果园杂草 Orchard weed	尿素 Urea	12
T9	果园杂草 Orchard weed	葡萄糖 Glucose	0

1.3 试验方法

土壤微生物功能多样性采用 BIOLOG 生态测试板(EcoPlates™,美国 Matrix Technologies Corporation 生产)测定。称取相当于 10 g 烘干土重的新鲜土样,加入到盛有 90 mL 0.85% NaCl 无菌溶液的三角瓶中,封口后在摇床上震荡(200 r/min)30 min,按 10 倍稀释法用 0.85% NaCl 无菌溶液将其稀释至原来的 10^{-3}用于接种。接种量为 150 μL,每样 1 板,3 次重复,将接种好的测试版加盖置于 25 ℃暗箱培养,连续培养 192 h,期间每隔 24 h 用 BIOLOG 读数仪在 590 nm 下读数[19]。

Biolog Eco Plate 微孔板的总体颜色变化用平均孔颜色变化率(AWCD, average well color development)表示。AWCD = $\sum(C_i - R)/31$,其中 C_i 为各反应孔在 590 nm 下的吸光值,R 为对照孔的吸光值,$C_i - R < 0$ 的孔在计算中记为 0[20]。本研究取培养 96 h 时微平板光密度值进行多样性指数计算、主成分分析[19]。微生物群落功能多样性的计算,包括:

丰富度(Richness)指数 S,指被微生物群落利用的基质的数量。微孔的光密度值≥0.25,则认为是阳性值并计入微生物群落的丰富度 S(即此类微孔的总和);

多样性指数(Diversity)H H = $-\sum P_i \times \ln P_i$,式中,$P_i = (C_i - R)/\sum(C_i - R)$,表示反应孔与对照孔光密度值之差和整块板总差的比值;

均匀度(Evenness)指数 E, E = H/lnS;

优势度(Simpson)指数 Ds,Ds = $1 - \sum Pi^2$,用于评估某些最常见种的优势度。

1.4 统计分析

试验数据采用 DPS 7.05 数据处理软件进行处理,用 Duncan's 多重比较法($P < 0.05$)进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 培养过程中 AWCD 值的变化

平均吸光值(average well color development, AWCD)是表征微生物活性的有效指标。AWCD 值的变化速度和最终能达到的 AWCD 值反映了土壤微生物利用某一碳源物质的能力,在一定程度上反映了土壤微生物种群的数量和结构特征[19]。AWCD 值越大,表明微生物密度越大、活性越高;反之,微生物密度越小、活性越低[21]。由图 1 可以看出,微生物群落代谢的 AWCD 值随时间变化曲线的形状符合一般微生物利用基质的规律,即存在明显的适应期、对数期和迟缓期。根据对吸光度变化曲线的分析发现,在培养初期(0 ~ 24 h),处理 T4 和 T9 的 AWCD 值明显高于其他处理,微生物群落的活性较强,碳源开始被明显利用,而其他处理的 AWCD 值很小,说明 24 h 内碳源基本未被利用。在培养 24 ~96 h 时,微生物呈指数增长,120 h 后趋于平缓,此时表现为 T4 > T2、T9、T6、T1、T3 > T8、T7 > T5,由主体间效应检验得出,有机物料种类、小分子有机物种类和蚯蚓数量均对 AWCD 值影响显著,且以小分子有机物料影响最为显著,表现为 $F_2 = 59.70 > F_3 = 11.81 > F_1 = 6.78$。可以看出,以添加葡萄糖 T4、T2、T9 处理微生物的活性最高,葡萄糖大大增加了微生物数量和整体活性,对引发有机物料向土壤碳库转化起到了一定的作用,创造了更有利于微生物生长的环境。

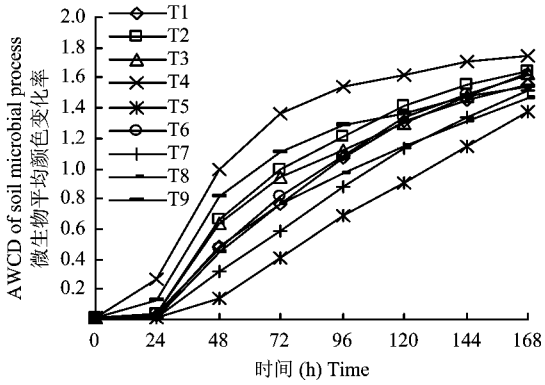

图 1 不同处理微生物的平均颜色变化率

Fig. 1 AWCD of soil microbial process under different treatments

2.2 土壤微生物群落多样性指数分析

微生物群落功能多样性是反映其群落状态与功能结构的指标。从表 2 可以看出,不同处理微生物功能多样性不同。培养 96 h 后,微生物的平均颜色变化率(AWCD)和优势度指数(Ds)以 T4 最大,丰富度指数(S)以 T2 最大,而多样性指数(H)和均一度指数(E)各处理差异不显著。小分子有机物种类对 S 指数($F_2 = 5.83$)和 D_S 指数($F_2 = 5.32$)的影响显著,而有机物种类和蚯蚓数量对 S 指数和 D_S 指数的影响不显著;有机物种类、小分子有机物种类及蚯蚓数量均对 H、E 指数的影响不显著。

表 2　土壤微生物群落多样性指数和 96 h AWCD

Table 2　Diversity indices of soil microbial communities and AWCD of 96 h

处理 Treatment	96 h 平均颜色变化率 AWCD	碳源利用丰富度指数(S) Substrate richness	物种指数(H) Shannon index	均匀度指数(E) Substrate evenness	优势度指数(Ds) Simpson's dominance
T1	1.314 ±0.213 b	29.0 ±1.000 ab	3.294 ±0.072 a	0.978 ±0.012 a	0.961 ±0.001 a
T2	1.410 ±0.145 b	30.3 ±0.577 a	3.317 ±0.028 a	0.972 ±0.008 a	0.961 ±0.001 a
T3	1.305 ±0.135 b	29.0 ±1.000 ab	3.296 ±0.028 a	0.979 ±0.003 a	0.961 ±0.001 a
T4	1.613 ±0.100 a	30.0 ±1.000 ab	3.319 ±0.030 a	0.976 ±0.002 a	0.962 ±0.001 a
T5	0.905 ±0.044 d	27.7 ±1.528 b	3.238 ±0.015 a	0.976 ±0.012 a	0.957 ±0.001 b
T6	1.336 ±0.008 b	28.3 ±1.155 ab	3.258 ±0.037 a	0.974 ±0.002 a	0.959 ±0.001 ab
T7	1.140 ±0.063 c	28.0 ±1.000 ab	3.284 ±0.076 a	0.986 ±0.012 a	0.959 ±0.001 ab
T8	1.153 ±0.013 c	29.0 ±2.000 ab	3.289 ±0.034 a	0.977 ±0.013 a	0.960 ±0.001 ab
T9	1.361 ±0.031 b	30.0 ±1.000 ab	3.298 ±0.029 a	0.970 ±0.003 a	0.960 ±0.001 ab

注(Note):AWCD—Average Well Color Development. 同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters in a column are significant among treatments at the 5% level.

2.3　微生物利用碳源情况的分析

土壤微生物对不同碳源的利用反映了微生物的代谢功能类群。根据 BIOLOG - ECO 板的碳源类型,将其 31 种碳源分为碳水化合物类、氨基酸类、羧酸类、多聚物类、芳香族类、胺类 6 类,观察不同处理微生物利用碳源的吸光值变化。

如图 2 所示,各处理土壤微生物对各类碳源的利用率均有所提高。碳水化合物种类各处理间差异显著,表现为 T4 > T6 > T3、T2 > T1 > T8 > T9 > T7 > T5,由主体间效应检验看出,有机物料种类、小分子有机物、蚯蚓数量 3 个因素均对碳水化合物类碳源影响显著,表现为 $F_2 = 99.28 > F_3 = 90.04 > F_1 = 75.61$;氨基酸类的 AWCD 值表现为 T4 > T6、T7、T3 > T5、T2 > T8、T1 > T9,3 个因素均对氨基酸类

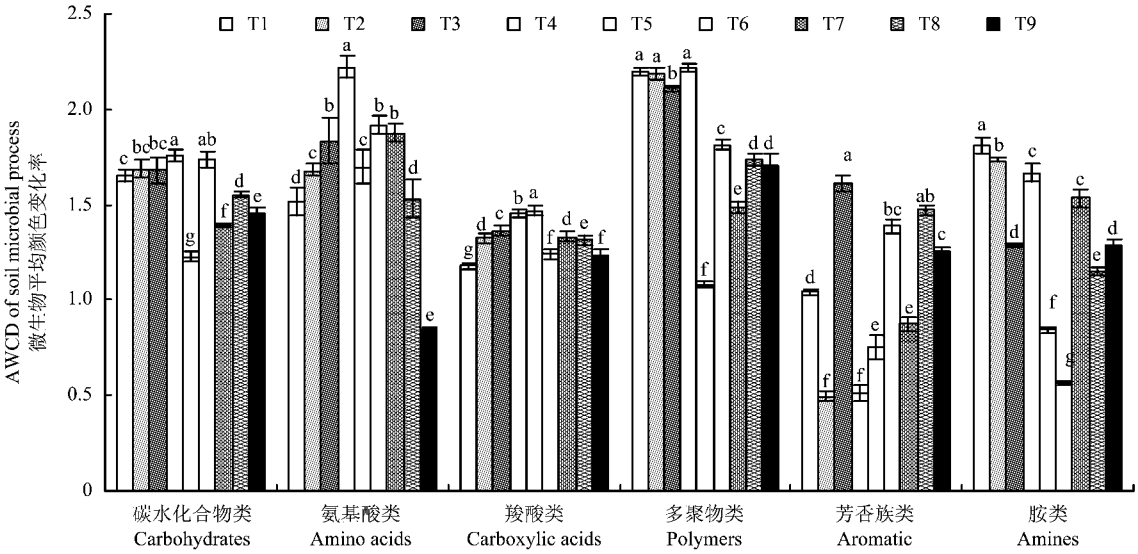

图 2　盆栽试验不同处理微生物对六类碳源的利用

Fig. 2　Utilization of 6 groups of C sources by soil microbial community of different treatments in the pot culture

[注(Note):柱上不同字母表示不同处理间差异达 5% 水平 Different letters above the bars at same site mean significant among the treatments at the 5% level.]

AWCD 值的影响显著,且以蚯蚓数量与有机物料种类影响较为显著,表现为 $F_3 = 128.65 > F_1 = 111.43 > F_2 = 20.19$;羧酸类 AWCD 值表现为 T5 > T4 > T3 > T7、T2 > T8 > T6、T9 > T1,表明 3 个因素均对羧酸类 AWCD 值的影响显著,且以小分子有机物种类的影响最为显著,表现为 $F_2 = 1786.13 > F_1 = 1028.95 > F_3 = 722.96$;多聚物类的 AWCD 值表现为 T4、T1、T2 > T3 > T6 > T8、T9 > T7 > T5,显示 3 个因素均对多聚物类 AWCD 值的有显著影响,且有机物料种类的影响最显著,表现为 $F_1 = 1370.78 > F_2 = 1035.46 > F_3 = 574.86$;芳香族类 AWCD 的值表现为 T3 > T8 > T6 > T9 > T1 > T7、T5 > T4、T2,说明 3 个因素均对芳香类 AWCD 值的影响显著,表现为 $F_2 = 86.40 > F_1 = 28.35 > F_3 = 23.01$;胺类 AWCD 值表现为 T1 > T2、T4 > T7 > T9、T3 > T8 > T5 > T6,3 个因素均对胺类 AWCD 值也有显著影响,且以有机物料种类影响最为显著,表现为 $F_1 = 324.36 > F_2 = 170.08 > F_3 = 8.57$。

2.4 微生物群落主成分分析

土壤微生物多样性反映了群落总体的变化,但未能反映微生物群落代谢的详细信息,研究土壤微生物对不同碳源利用能力的差异,有助于更全面地了解微生物群落代谢功能特性[22]。从表 3 可以看出,以培养 96 h 时不同处理微生物对微孔板上 31 种碳源利用情况做 PCA 分析,31 个成分因子中前 5 个的累计方差贡献率达到 84.03%,从中提取可以聚集单一碳源变量的数据变异的前 2 个主成分 PC1 和 PC2(它们的累计方差贡献率为 48.37%,特征根分别为 10.11 和 4.88)来分析土壤微生物功能多样性。

表 3 主成分的特征根

Table 3 Characteristics of principal components

主成分 Principal component	特征根 Latent root	方差贡献率(%) Percent of variance	积累方差贡献率(%) Percent of cumulative variance
PC1	10.11	32.61	32.61
PC2	4.88	15.76	48.37
PC3	3.90	12.59	60.95
PC4	3.76	12.12	73.08
PC5	3.39	10.95	84.03

图 3 显示,不同处理对微生物利用碳源的分异情况差异显著。第 1 主成分(PC1)聚集了 42.15% 的数据变异,第 2 主成分(PC2)聚集了 16.15% 的数据变异,两主成分基本能够反映土壤微生物群落碳源利用情况的主要信息。PC1 轴 T2、T4 主要分布在正方向,T5、T7、T8 主要分布在负方向,表明小分子有机物葡萄糖、尿素以及蚯蚓数量是影响土壤微生物对碳源利用能力差异的主要因素。

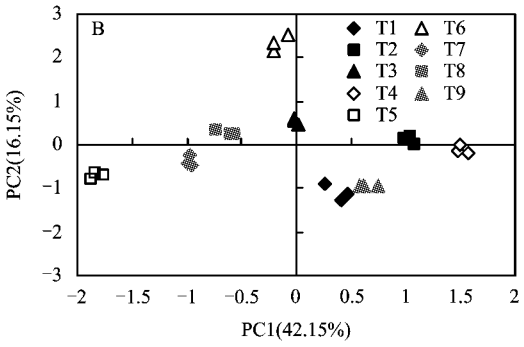

图 3 不同处理微生物群落碳源利用主成分分析

Fig.3 PCA of carbon utilization of the soil microbial community

由表 4 可以看出,对 PC1 贡献大(特征向量≥0.20)的碳源有 12 种,碳水化合物类占 6 种,多聚物类和胺类各占 2 种,氨基酸类和羧酸类各占 1 种。对 PC2 贡献大的碳源有 11 种,碳水化合物类占 4 种,多聚物类和芳香类各占 2 种,氨基酸类、羧酸类和胺类各占 1 种。从中可以看出,对 PC1 和 PC2 起分异作用的主要碳源分别是碳水化合物类和多聚物类。

3 讨论与结论

微生物利用有机物质作为能源,其生命活动可

表 4　对 PC1 和 PC2 贡献的特征向量绝对值≥0.20 的碳源

Table 4　C sources with absolute values of the feature vector of PCA1 and PCA2 contribution≥0.20

项目 Item	碳源 C source	特征向量值 Feature vector
	PC1	
碳水化合物类 Carbohydrates	β-甲基-D-葡萄糖苷 β-Methyl- glucopyranoside	0.2172
	D-半乳糖酸 γ-内酯 D-Galactonic Acid y-Lactone	0.2809
	D-木糖/戊醛糖 D-xylose	0.2660
	D-甘露糖醇 D-Mannitol	0.3031
	1-磷酸葡萄糖 Glucose-1-phosphate	0.2907
	α-D-乳糖 α-D-Lactose	0.2297
氨基酸类 Amino acids	L-天门冬酰胺 L-Asparagine	0.2086
羧酸类 Carboxylic acids	D-葡萄糖胺酸 D-Glucosamine	0.2500
多聚物类 Polymers	吐温 40T Tween 40T	0.2312
	肝糖 Glycogen	0.2172
胺类 Amines	苯乙胺 Putrescine	0.2028
	腐胺 Putrescine	0.2272
	PC2	
碳水化合物类 Carbohydrates	i-赤藓糖醇 i-Meso-Erythritol	-0.2602
	N-乙酰-D 葡萄糖氨 N-acetyl-D-(+)-glucosamine	-0.2035
	α-D-乳糖 α-D-Lactose	-0.2435
	D,L-α-磷酸甘油 D,L-α-glycerophosphate	0.3177
氨基酸类 Amino acids	甘氨酰-L-谷氨酸 Glycyl-L-Glutamine	0.2464
羧酸类 Carboxylic acids	γ-羟丁酸 Putrescine	0.2389
多聚物类 Polymers	吐温 80 Tween 80	-0.2442
	α-环式糊精 Alpha-Cyclodextrin	0.2695
芳香族类 Aromatic	2-羟基苯甲酸 2-Hydroxy Benzoic	-0.2628
	4-羟基苯甲酸 4-Hydroxy Benzoic	-0.2705
胺类 Amines	苯乙胺 Putrescine	-0.3231

以加速有机物的分解和营养元素在土壤生态系统中的循环[23]。有机物料作为外源有机碳源输入土壤中,会对土壤有机碳库的转化产生影响。前人曾利用不同的有机物料在不同的土壤和生态体系中,对植物残体的分解、养分的释放以及土壤生物的作用等方面作过不少的研究[24-25]。

作为外源有机物的农业生产废弃物的枝条、秸秆和杂草进入土壤后都是较难分解的有机物,不利于微生物快速繁殖利用。有机物的组分不同,分解难易就不同,其腐殖化产物的质量和性质也不同[26-27]。李云乐等[28]研究发现,在有机物分解初期,土壤微生物能比较快地迁移到秸秆表面,秸秆表面的生物数量最多的是细菌,随着细菌的数量增加,有机物分解速度加快。而有机物分解后期,细菌的数量逐渐减少,有机物的分解速度逐渐减慢[29]。本研究结果表明,有机物料的种类对于微生物种群结构的影响差异显著,表现为在枝条处理中微生物的功能多样性较强,杂草较枝条更易分解,秸秆处于枝条和杂草处理之间,但由于秸秆的含氮量相对更高,微生物的功能多样性相对较强,等质量的枝条、秸秆和杂草处理后,枝条处理的微生物多样性增加最显著。

葡萄糖、尿素作为微生物的碳源和氮源物质，进入土壤后迅速为微生物所利用，增加了微生物数量，快速增长的微生物群落，促进了外源有机物料碳向土壤碳库的转化，微生物的功能多样性也显著增强[13-14,30]。于跃跃和赵炳梓[31]的研究表明，添加葡萄糖可显著提升土壤微生物活性，其中在纤维素存在的基础上以无机氮与葡萄糖共同添加的提升效果最为显著。本试验中，加入葡萄糖小分子有机物，可为土壤微生物提供可迅速利用的碳源，微生物大量繁殖，加快了添加的外源枝条、秸秆和杂草分解的速度；而尿素的加入，为微生物的生长提供了氮源，但单独添加尿素对微生物的功能活性影响不大。

蚯蚓作为陆地生态系统中重要的大型土壤动物，能明显促使植物残体进入土壤，加快植物残体在土壤中的分解与转化[15]。土壤中接种蚯蚓对土壤微生物群落组成及活性产生深刻影响[32]。土壤微生物群落特性变化受蚯蚓作用和土壤类型及植物残体间交互作用的影响[33-34]。本试验研究表明，蚯蚓活动对微生物功能多样性的影响较葡萄糖的影响效果小，但蚯蚓取食有机物料，分泌各种水解酶，通过有机质的再分布与加工过程直接或间接影响微生物的组成、丰富度和活性，并通过蚯蚓粪内微生物的富集并释放到土壤中而增加特定类群土壤微生物数量，突出了优势作用微生物在土壤中的分配。

微生物功能多样性能够反映土壤质量指标信息，可看作是评价土壤质量变化的敏感参数。植物源有机物及外源驱动因子的加入，一方面由于土壤环境的改变，本身会影响微生物的群落结构和功能，另一方面使土壤中养分的转化发生了明显的改变，从而影响微生物的代谢活性。BIOLOG 测试系统是快速测定土壤微生物群落功能代谢多样性的一种潜在有效手段，但由于果园土壤微生物具有独特的生理类型，使得果园土壤具有独特的微生物多样性，因此，在应用 BIOLOG 测试系统鉴定微生物群落的潜在功能多样性时，应进一步研究产生其代谢的土壤剖面差异的微生物种类，将碳源利用速率与根际环境中实际存在的碳源有效性联系起来，以完善该技术在果园土壤环境研究中的应用。

参考文献：

[1] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: A review [J]. Biology Fertility of Soils, 1999, 29: 111-129.

[2] Moreno B, Garcia-Rodriguez S, Cañizares R *et al*. Rainfed olive farming in south-eastern Spain: Long-term effect of soil management on biological indicators on soil quality [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2009, 131: 333-339.

[3] 周丽霞，丁明懋. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用[J]. 生物多样性, 2007, 15 (2): 162-171.
Zhou L X, Ding M M. Soil microbial characteristics as bioindicators of soil health [J]. Chinese Biodiversity, 2007, 15 (2): 162-171.

[4] 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]. Chinese Biodiversity, 2004, 12(4): 456-465.

[5] Degens B P. Microbial functional diversity can be influenced by the addition of simple organic substrates to soil [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30: 1981-1988.

[6] 邵丽，谷洁，张社奇，等. 生物复混肥对土壤微生物群落功能多样性和微生物量的影响[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20 (6): 746-751.
Shao L, Gu J, Zhang S Q *et al*. Effects of bio-compound fertilizer on soil microbial community functional diversity and microbial biomass [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2012, 20(6): 746-751.

[7] 姜远茂，彭福田，张宏彦，等. 山东省苹果园土壤有机质及养分状况研究[J]. 土壤通报, 2001, 32(4): 167-169.
Jiang Y M, Peng F T, Zhang H Y *et al*. Status of organic matter and nutrients in Shandong orchard soils [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2001, 32(4): 167-169.

[8] 陈杰，檀满枝，陈晶中，龚子同. 严重威胁可持续发展的土壤退化问题[J]. 地球科学进展, 2002, 17(5): 720-728.
Chen J, Tan M Z, Chen J Z, Gong Z T. Soil degradation: A global problem of endangering sustainable development [J]. Advances in Earth Science, 2002, 17(5): 720-728.

[9] 李菊梅，徐明岗，秦道珠，等. 有机肥无机肥配施对稻田氨挥发和水稻产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11 (1): 51-56.
Li J M, Xu M G, Qin D Z *et al*. Effect of chemical fertilizer combined with manure on ammonia volatilization and rice yield in paddy soil [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2005, 11 (1): 51-56.

[10] 奚振邦，王寓群，杨佩珍. 中国现代农业发展中的有机肥问题[J]. 中国农业科学, 2004, 37(12): 1874-1878.
Xi Z B, Wang Y Q, Yang P Z. The issue on organic manure in developing modern agriculture in China [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2004, 37(12): 1874-1878.

[11] 姚丽贤，周修冲. 有机肥对环境的影响及预防研究[J]. 中国生态农业学报, 2005, 13(2): 113-115.
Yao L X, Zhou X C. Impact of organic manure on the environment and its corresponding preventive researches [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2005, 13(2): 113-115.

[12] 刘艳，高遐虹，姚允聪. 不同植物源有机肥对沙质土壤黄金

梨幼树营养效应的研究[J]. 中国农业科学, 2008, 41(8): 2546-2553.
Liu Y, Gao X H, Yao Y C. Research on nutrient effect of different botanical organic fertilizers on young pear plant [*Pyrus pyrifolia* (Burm. f.) Nakai] in sandy soil [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(8): 2546-2553.

[13] 贾俊仙, 李忠佩, 车玉萍. 添加葡萄糖对不同肥力红壤性水稻土氮素转化的影响[J]. 中国农业科学, 2010, 43(8): 1617-1624.
Jia J X, Li Z P, Che Y P. Effects of glucose addition on N transformations in paddy soils with a gradient of organic C content in subtropical China[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2010, 43(8): 1617-1624.

[14] 巨晓棠, 刘学军, 张福锁. 尿素与 DCD 和有机物料配施条件下氮素的转化和去向[J]. 中国农业科学, 2002, 35(2): 181-186.
Ju X T, Liu X J, Zhang F S. Nitrogen transformation and fate in soil under the conditions of mixed application of urea with DCD or different organic materials [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2002, 35(2): 181-186.

[15] Tian G, Olimah J A, Adeoye G O, Kang B T. Regeneration of earthworm populations in a degraded soil by natural, planted fallows under humid tropical conditions[J]. Soil Science Society of America Journal, 2000, 64(1): 222-228.

[16] 杨春霞, 赵志平, 杨丽萍, 黎小清. 不同覆盖绿肥养分特性及其对橡胶园土壤理化性质的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2012, 18(2): 467-474.
Yang C X, Zhao Z P, Yang L P, Li X Q. Nutrient characteristics of mulch green manure and their influences on soil physical and chemical property in Yunnan rubber plantation[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2012, 18(2): 467-474.

[17] 王芳, 张金水, 高鹏程, 同延安. 不同有机物料培肥对渭北旱塬土壤微生物学特性及土壤肥力的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(3): 702-709.
Wang F, Zhang J S, Gao P C, Tong Y A. Effects of application of different organic materials on soil microbiological properties and soil fertility in Weibei rainfed highland[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2011, 17(3): 702-709.

[18] 黄继川, 彭智平, 于俊红, 等. 施用玉米秸秆堆肥对盆栽芥菜土壤酶活性和微生物的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(2): 348-353.
Huang J C, Peng Z P, Yu J H *et al*. Impacts of applying corn-straw compost on microorganisms and enzyme activities in pot soil cultivated with mustard [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(2): 348-353.

[19] Garland J L. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1996, 28: 213-221.

[20] Garland J L. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology [J]. Microbiology Ecology, 1997, 24: 289-300.

[21] Haack S K, Garchow H, Klug M J, Forney L J. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61: 1458-1468.

[22] 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.
Kong W D, Liu K X, Liao Z W *et al*. Effects of organic matters on metabolic functional diversity of soil microbial community under pot incubation conditions [J]. Acta Ecologica Sinica, 2005, 25(9): 2291-2296.

[23] Merilä P, Malmivara-Lämsä M, Spetz P *et al*. Soil organic matter quality as a link between microbial community structure and vegetation composition along a successional gradient in a boreal forest[J]. Applied Soil Ecology, 2010, 46 (2): 259-267.

[24] 匡恩俊, 迟凤琴, 宿庆瑞, 等. 三江平原地区不同有机物料腐解规律的研究[J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(4): 736-741.
Kuang E J, Chi F Q, Su Q R *et al*. Decomposition regularity of organic materials in Sanjiang Plain region[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2010, 18(4): 736-741.

[25] 李玉进, 王百群. 施用柳枝稷茎和叶对土壤有机碳与微生物量碳的影响及其分解特征[J]. 水土保持研究, 2012, 19(5): 78-82.
Li Y J, Wang B Q. Effect of amendment of leaf and stem of switchgrass (*Panicum virgatum*) on soil organic carbon and microbial biomass carbon as well as the decompoition characteristic of the leaf and stem [J]. Research of Soil and Water Conservation, 2012, 19(5): 78-82.

[26] Fan J W, Zhong H P, Harris W *et al*. Carbon storage in the grasslands of China based on field measurements of above- and below-ground biomass [J]. Climatic Change, 2008, 86: 375-396.

[27] 兰宇, 韩晓日, 战秀梅, 等. 施用不同有机物料对棕壤酶活性的影响[J]. 土壤通报, 2013, 44 (1): 110-115.
Lan Y, Han X R, Zhan X M *et al*. Effect of different organic fertilizers on enzyme activity of brown soils[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2013, 44 (1): 110-115.

[28] 李云乐, 乔玉辉, 孙振钧, 等. 不同土壤培肥措施下农田有机物分解的生态过程[J]. 生态学报, 2006,26 (6): 1933-1939.
Li Y L, Qiao Y H, Sun Z J *et al*. The eco-process of agricultural organic matter decomposition under different soil conditions[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26 (6): 1933-1939.

[29] Wilkinson S C, Anderson J M, Scardelis S P *et al*. PLFA profiles of microbial communities in decomposing conifer litters subject to moisture stress [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(2): 189-200.

[30] Hoyle F C, Murphy D V, Brookes P C. Microbial response to the addition of glucose in low-fertility soils [J]. Biology Fertility of Soils, 2008, 44: 571-579.

[31] 于跃跃，赵炳梓. 无机氮和葡萄糖添加对土壤微生物生物量和活性的影响[J]. 土壤学报，2012，49（1）：139-146.
Yu Y Y, Zhao B Z. Effect of amendment of inorganic nitrogen and glucose on soil microbial biomass and activity [J]. Acta Pedologica Sinica, 2012, 49 (1): 139-146.

[32] 于建光，胡锋，李辉信，等. 接种蚯蚓对加入不同植物残体土壤微生物特性的影响[J]. 土壤，2012，44(4)：588-595.
Yu J G, Hu F, Li H X *et al*. Earthworm effects on microbial characteristics in different soils under different plant debris inputs [J]. Soils, 2012, 44(4): 588-595.

[33] Shan J, Brune A, Ji R. Selective digestion of the proteinaceous component of humic substances by the geophagous earthworms metaphire guillelmi and amynthas corrugates [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(9): 1455-1462.

[34] Jayasinghe B A T D, Parkinson D. Earthworms as the vectors of actinomycetes antagonistic to litter decomposer fungi[J]. Applied Soil Ecology, 2009, 43(1): 1-10.