植物营养与肥料学报 2015,21(3):655-663 doi: 10.11674/zwyf.2015.0312
Journal of Plant Nutrition and Fertilizer http://www.plantnutrifert.org

长期不同土地利用方式下塿土土壤微生物特性的变化

孙 瑞[1], 孙本华[1*], 高明霞[2], 杨学云[1], 张树兰[1]
(1 西北农林科技大学资源环境学院, 农业部西北植物营养与农业环境重点实验室,陕西杨凌 712100;
2 西北农林科技大学水利与建筑工程学院, 陕西杨凌 712100)

摘要:【目的】土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,研究长期不同土地利用方式对其产生的影响可为该地区选择适宜的土地利用方式,实现培肥土壤和高产高效农业生产提供理论支撑。**【方法】**以位于陕西杨凌的"国家黄土肥力与肥料效益监测基地"的长期定位试验为基础,利用 Biolog 分析结合常规分析,研究了 4 种长期不同土地利用方式[不施肥农田(CK), 长期施氮、磷、钾化肥农田(NPK),长期绝对休闲(FL)和撂荒(AL)]对塿土土壤微生物量、呼吸强度和微生物功能多样性的影响。**【结果】**AL 和 NPK 处理的土壤微生物量碳(SMBC)和微生物量氮(SMBN)均显著高于 CK 和 FL 处理,其中 AL 和 NPK 处理之间差异不显著,CK 和 FL 处理之间差异不显著。NPK 处理的 SMBC/SMBN 值最高,而 CK 和 FL 处理最低,两组间差异显著,而 AL 处理居中但与两组之间均差异不显著。不同土地利用方式下土壤基础呼吸强度的变化趋势是 AL > FL > NPK > CK,累积呼吸量的变化趋势为 AL > NPK > FL > CK,表明 AL 处理的土壤微生物活性最高,其次是 NPK 处理,再者是 FL 处理,而 CK 处理的土壤微生物活性最低。Biolog 分析的结果显示,AL、NPK 和 CK 处理的平均颜色变化率(AWCD)在开始的 24 h 变化不大,此后随培养时间的延长而快速升高;而 FL 处理在 72 h 之后才快速升高。培养结束时,NPK 和 AL 处理的 AWCD 最大,其次是 CK 处理,FL 处理最低。NPK 和 AL 处理的 Shannon-Wiener 物种丰富度指数 H、碳源利用丰富度指数 S 和 Simpson 指数 *D* 均最高,CK 其次,FL 最低。各处理的 Shannon-Wiener 均匀度指数 E 没有明显差异。相比 CK、NPK 和 AL 处理能提高塿土土壤微生物群落的功能多样性,FL 处理则会降低塿土土壤微生物群落的功能多样性。主成分分析共提取了 5 个主成分,累计贡献率达 87.7%,其中第 1 主成分(PC1)的方差贡献率为 52.0%,第 2 主成分(PC2)为 11.6%。NPK 处理和 AL 处理的碳源利用特征相类似,与 CK 和 FL 处理存在显著差异,表明不同土地利用方式下土壤微生物群落的结构和功能出现了显著分异。糖类、羧酸类和氨基酸类等三类碳源是区分各处理的主要碳源。**【结论】**撂荒和合理施肥的农田均可以提高土壤微生物量、土壤呼吸作用和土壤微生物群落结构和功能的多样性,长期的绝对休闲则不利于土壤微生物功能多样性的维持。合理施肥的农田并不会造成土壤微生物量的下降以及土壤微生物结构和功能多样性的退化,相反,合理施肥对于维持农田土壤微生物量以及微生物结构和功能多样性具有显著的积极作用。

关键词: 土地利用方式; 土壤微生物量碳氮; 土壤呼吸; 微生物多样性; BIOLOG 生态测试
中图分类号: S154.34 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-505X(2015)03-0655-09

Changes of soil microbial characteristics under long-term different land use patterns on an anthropogenic loess soil

SUN Rui[1], SUN Ben-hua[1*], GAO Ming-xia[2], YANG Xue-yun[1], ZHANG Shu-lan[1]
(*1 Key Laboratory of Plant Nutrition and the Agri-environment in Northwest China, Ministry of Agriculture/College of Natural Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;*
2 College of Water Resources and Architectural Engineering, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract:【Objectives】 As an important part of soil ecosystem, soil microbes could be influenced profoundly by different long-term land use patterns. **【Methods】** This research was based on the long-term trial of "National Monitoring Base of Soil Fertility and Fertilizer Efficiency on Loess Soil" in Yangling City, Shaanxi Province. Four

收稿日期: 2014-01-06 **接受日期:** 2014-06-05 **网络出版日期:** 2015-02-12
基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(201203030);中央高校基本科研创新项目(QN2012038)资助。
作者简介: 孙瑞(1989—),女,河南濮阳人,硕士研究生,主要从事土壤化学和土壤生态研究。E-mail: sunrui_0818@163.com
* 通信作者 E-mail: sunbenhua@126.com

treatments were chosen: farmland without fertilization(CK), farmland with N, P and K chemical fertilizer(NPK), abandoned land(AL) and fallow land(FL). The effects of long-term different land use patterns on soil microbial characteristics were studied by Biolog and routine analyses for the choice of rational land use patterns and soil sustainable utilization in loess area, such as soil microbial biomass, soil respiration and soil microbial community functional diversity. 【**Results**】The soil microbial biomass carbon(SMBC) and soil microbial biomass nitrogen (SMBN) in NPK and AL were higher than those in CK and FL significantly; There was no significant difference between NPK and AL in SMBC and SMBN, neither between the CK and FL. The highest ratio of SMBC to SMBN (SMBC/SMBN) was in NPK, and the lowest both in CK and FL; That was middle in AL, but no significant lower than NPK, neither not significant higher than CK and FL. The soil base respiration rate was in order of AL > FL > NPK > CK, and the cumulative respiration was in order of AL > NPK > FL > CK, which indicated that the soil microbial activity was the highest in AL, secondly in NPK, then in FL, and the lowest in CK. The results of Biolog analysis showed that the average well color development(AWCD) did no change significantly in AL, NPK and CK at the beginning of 24 h, then went up rapidly, while that in FL went up rapidly after 72 h. AWCD was the greatest in NPK and AL, then in CK, and the lowest in FL at the end of incubation. Shannon-Wiener richness index(H), carbon source utilization richness index(S) and Simpson index(D_s) were all the highest in NPK and AL, then in CK, and the lowest in FL. There was no difference in Shannon-Wiener evenness index(E) between treatments. Compared with CK, NPK and AL could significantly improve soil microbial structural and functional diversity, while FL had a negative impact on it. Five principal components were extracted from the principal component analysis, and their cumulative contribution of variance accounted for 87.7%, in which the variance contribution rates of the first principal component(PC1) and the second principal component(PC2) were 52.0% and 11.6%, respectively. NPK and AL were similar in carbon source utilization character by soil microbial communities, but significantly different with CK and FL, which means there was a significant differentiation on soil microbial community structure and function under different land use patterns. The carbon sources mostly used by soil microbes were carbohydrates, carboxylic acids and amino acids, which were the main carbon sources to distinguish different treatments. 【**Conclusions**】Both abandoned land and farmland with rational fertilization could improve soil microbial biomass, soil respiration and soil microbial structural and functional diversity, while long-term absolute fallow land(No fertilizer, same tillage with farmland, weed control, and almost no vegetation) had a negative impact on soil microbial structural and functional diversity. Farmland with rational fertilization didn't cause the decline of soil microbial biomass and the deterioration of soil microbial structural and functional diversity. On the contrary, it had a positive effect to maintain soil microbial biomass and soil microbial structural and functional diversity.

Key words: land use patterns; soil microbial biomass carbon and nitrogen; soil respiration; microbial diversity; Biolog

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分，它在有机质分解、营养循环、植物生长的促进或抑制以及各种土壤物理过程中，发挥着重要的作用[1]。研究表明，许多微生物活性指标如土壤微生物量、呼吸强度和微生物群落结构与功能多样性的变化能敏感地反映出土壤质量和健康状况，是土壤环境质量评价不可缺少的重要生物学指标[2]。

土地利用方式不同可以引起陆地生态以及生物地球化学循环过程的变化，导致土壤性质变化和土地生产力改变[3]。目前，国内在这方面的研究以土地利用方式对土壤有机碳、土壤养分、土壤理化特性的影响等居多[4-9]，而在土壤微生物功能和结构多样性方面相对较少[10-11]，对于黄土高原地区来说，土地利用方式对土壤微生物特性的研究也仅限于土壤微生物量碳氮方面。本文以“国家黄土肥力与肥料效益监测基地”的长期试验为平台，研究了黄土区长期不同土地利用方式下土壤微生物量、呼吸强度及微生物群落功能多样性等土壤微生物特性的变化，旨在探索土地利用方式对土壤微生物特性的影响，为制定合理的土地利用方式，提高黄土区土壤质

量和实现黄土土壤的可持续利用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　试验地点与试验设计

试验在"国家黄土肥力与肥料效益监测基地"进行,位于陕西省杨凌示范区五泉镇(34°17′51″N,108°00′48″E),海拔 516 m,年平均气温 13℃,≥10℃积温 4196.2℃,年均降水量 550～600 mm,主要集中在 7～9 月,年均蒸发量 993 mm,无霜期 184～216 d。供试土壤为旱耕土垫人为土,黄土母质。

长期试验始于 1990 年秋,共设 13 个处理,本研究选用其中 4 个处理,即:1) 农田不施肥(CK);2) 农田施肥(NPK),氮磷钾肥配合,其中氮肥为尿素,磷肥为过磷酸钙,钾肥为硫酸钾;3) 撂荒(AL),不施肥,自然生长荒草;4) 休闲(FL),与农田同样耕作,不施肥,期间及时除草,基本保持没有植被生长。其中 CK 和 NPK 处理的试验小区面积为 196 m^2(14 m×14 m),撂荒和休闲的小区面积为 98 m^2(7 m × 14 m),重复 1 次。种植制度实行当地普遍采用的冬小麦－夏玉米一年两熟制。冬小麦所有肥料于播种前一次施入,氮肥用量为 N 165.0 kg/hm^2,磷肥为 P_2O_5 132.0 kg/hm^2,钾肥为 K_2O 82.5 kg/hm^2;夏玉米于大喇叭口期结合中耕除草施入,N 用量 187.5 kg/hm^2,P_2O_5 56.25 kg/hm^2,K_2O 93.75 kg/hm^2。小麦生长期内灌溉 1～2 次,每次灌水量为 90 mm 左右。玉米的灌溉根据降雨情况而定,一般 2～3 次,每次灌水量也为 90 mm 左右[12]。

1.2　土样采集与处理

于 2013 年 6 月小麦收获后采集各处理 0—20 cm 表层土样。采样时每小区采 9 点组成一个混合样品,重复采集 3 次,样品装入塑封袋并置于冰块上运回实验室。新鲜样品剔除动植物残体后,过 3 mm 筛,4℃冰箱保存,Biolog 分析于 48 h 内进行,一周内进行土壤微生物生物量碳、氮和土壤呼吸强度的测定。

1.3　测定方法

1.3.1 土壤微生物生物量碳、氮的测定　土壤微生物生物量碳、氮的测定采用氯仿熏蒸浸提法[13]。滤液中的有机碳用 TOC－V_{CPH}(日本岛津)分析仪测定,全氮用过硫酸钾氧化—紫外比色法测定。

1.3.2 土壤呼吸强度的测定　称取 20 g 鲜土于 500 mL 有盖的可密封的玻璃广口瓶中,并将土壤均匀地平铺于底部,将盛有 5 mL 0.1 mol/L NaOH 溶液的吸收小瓶悬挂在土壤的上方。培养瓶密封后于 25℃下恒温培 24 h,用煮沸除去 CO_2 的蒸馏水冲洗 4 次 NaOH 溶液于 100 mL 三角瓶中,加入 2 mL 1 mol/L $BaCl_2$和酚酞指示剂 2 滴,用 0.05 mol/L 盐酸滴定至红色消失。同时做空白对照,每个处理重复 3 次,连续培养 12 天[14]。

1.3.3 土壤微生物群落功能多样性的测定　土壤微生物碳源利用多样性应用 BIOLOG 生态测试板(ECO MicroPlate,美国 Matrix Technologies Corporation 生产)测定。称取相当于 5 g 烘干土重的新鲜土样加入内有 45 mL 无菌水的三角瓶中,加无菌滤膜封口,在 200 r/min 下振荡 30 min,然后按逐步稀释法,依次稀释为 10^{-2}、10^{-3} 梯度液。用 10^{-3}稀释液接种生态测试板,接种量为 150μL,每样 1 板(3 次重复),将接种好的测试板加盖在 28℃下培养 10 d,每隔 24 h 用 BIOLOG 自动读数装置在 590 nm 下读数。

1.4　数据处理与分析

Biolog 分析测定的数据按公式(1)、(2)、(3)、(4)和(5)分别计算测试板孔中溶液的平均颜色变化率(average well color development, AWCD)、Shannon-Wiener 物种丰富度指数 H、Shannon-Wiener 均匀度指数 E、碳源利用丰富度指数 S、Simpson 指数 D_s[15]。

$$AWCD = \frac{\sum_{i=1}^{S}(C_i - R_0)}{n} \tag{1}$$

$$H = -\sum_{i=1}^{S} P_i(\ln P_i) \tag{2}$$

$$S = \text{被利用碳源的总数} \tag{3}$$

$$E = H/lnS \tag{4}$$

$$D_s = 1 - \sum_{i=1}^{S} P_i^2 \tag{5}$$

式中:C_i 为每个有培养基孔的吸光值;R_0 为对照孔的吸光值;n 为培养基孔数;ECO 板 n 值为 31;P_i 为第 i 孔的相对吸光值与所有反应孔相对吸光值总和的比值,即,

$$P_i = \frac{C_i - R_0}{\sum_{i=1}^{S}(C_i - R_0)}$$

采用 Excel 2003 对试验数据进行处理,使用 SPSS 18.0 进行方差分析和主成分分析。

2　结果与分析

2.1　长期不同土地利用方式对土壤微生物量的影响

土壤微生物量的高低反映了土壤同化和矿化能

力的大小,是土壤生态系统肥力的重要生物学指标[16]。表1显示,各处理的土壤微生物量碳(SMBC)、土壤微生物量氮(SMBN)变化范围分别为270.5～445.7 mg/kg和32.7～46.5 mg/kg,其中,AL处理和NPK处理的SMBC、SMBN均显著高于CK和FL处理,而两两之间没有明显的差异。可见,长期农田施肥(NPK)和长期撂荒(AL)处理有利于提高SMBC、SMBN。

土壤微生物量碳占土壤有机碳含量的百分比(SMBC/SOC)称为微生物商(qMB)[17-18]。它的变化反映了土壤中输入的有机质向微生物量碳的转化效率、土壤中碳损失和土壤矿物对有机质的固定[11]。微生物商的变化比土壤有机碳和微生物量碳更稳定,表现出更平滑的变化趋势[19],一般微生物商值为1%～4%[20]。由表1可见,不同处理中土壤qMB范围介于3.63%～4.29%之间,表现出农田土壤的qMB要高于其他处理,其中NPK处理的qMB显著高于FL处理,其他处理间均差异不显著。微生物量氮与土壤全氮的比值(SMBN/TN)可反映土壤全氮的利用效率[21]。由表1显示,不同处理对土壤全氮的利用效率没有显著的影响。

土壤微生物量碳氮比(SMBC/SMBN)可反映微生物群落结构信息,其显著变化喻示着微生物群落结构变化可能是微生物量较高的首要原因[22]。NPK处理的SMBC/SMBN值最高,而CK和FL处理最低,两组间差异显著,而其他处理之间均无显著差异。说明与休闲和不施肥处理相比,长期农田施肥使土壤微生物种群结构发生了明显变化。

表1 长期不同土地利用方式对土壤微生物量碳、氮的影响

Table 1 Effects of long-term different land use patterns on SMBC and SMBN

处理 Treatment	SMBC (mg/kg)	SMBN (mg/kg)	qMB(SMBC/SOC) (%)	SMBN/TN (%)	SMBC/SMBN
CK	270.5±7.4 b	32.7±1.1 b	3.63±0.10 ab	3.62±0.13 a	8.3±0.1 b
NPK	445.7±26.8 a	44.8±1.5 a	4.29±0.12 a	3.71±0.13 a	9.8±0.1 a
AL	433.6±72.9 a	46.5±3.0 a	3.74±0.63 ab	3.60±0.23 a	9.3±1.1 ab
FL	303.5±35.3 b	36.1±1.9 b	3.42±0.32 b	3.46±0.18 a	8.3±0.4 b

注(Note):SMBC—土壤微生物量碳 Soil microbial biomass carbon;SMBN—土壤微生物量氮 Soil microbial biomass nitrogen;qMB—微生物商 The ratio of soil microbial biomass carbon to soil organic carbon. 同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$) Different lowercase letters in the same column mean significant difference among treatments ($P<0.05$).

2.2 长期不同土地利用方式对土壤呼吸的影响

土壤呼吸是表征土壤肥力和土壤质量的重要生物学指标,反映了土壤生物活性和土壤物质代谢强度[23]。土壤微生物呼吸的表述有两种方式,一种是土壤呼吸强度,即单位土壤培养过程中每天产生的CO_2量,常用CO_2-C mg/(100g·d)或者CO_2-C mg/(kg·d)表示。另一种是土壤累积呼吸量,即单位土壤培养过程中产生的CO_2随培养时间的累积量,常用CO_2-C mg/100 g或者CO_2-C mg/kg表示[24]。不同土地利用方式土壤呼吸强度和土壤累积呼吸量见图1。

由图1A可见,不同处理的土壤呼吸强度随着培养时间的延长呈降低的趋势。培养第1 d的呼吸强度为土壤基础呼吸强度,其变化趋势是AL>FL>NPK>CK,各处理间差异显著。土壤累积呼吸量(图1B)在前3 d表现出和土壤基础呼吸强度相同的趋势,而在第4 d之后,各处理累积呼吸量的趋势为AL>NPK>FL>CK,培养结束时各处理间累积呼吸量有显著差异。

2.3 长期不同土地利用方式对土壤微生物功能多样性的影响

2.3.1 土壤微生物群落平均颜色变化率 Biolog分析的平均颜色变化率(AWCD)表征微生物群落碳源利用率,是土壤微生物群落利用单一碳源能力的一个重要指标,反映了土壤微生物活性、微生物群落生理功能多样性[25]。连续培育10 d,每隔24 h测得的AWCD值变化见图2。AWCD随培养时间的延长而提高,不同处理在开始的24 h变化不大,说明在24 h之内碳源基本未被利用。除FL处理外,其余处理均在24 h后快速升高,FL处理则是在72 h之后快速升高。在培养结束时,农田施肥(NPK)、撂荒(AL)处理的AWCD均显著高于其它处理;而休闲(FL)处理则低于不施肥(CK)处理。

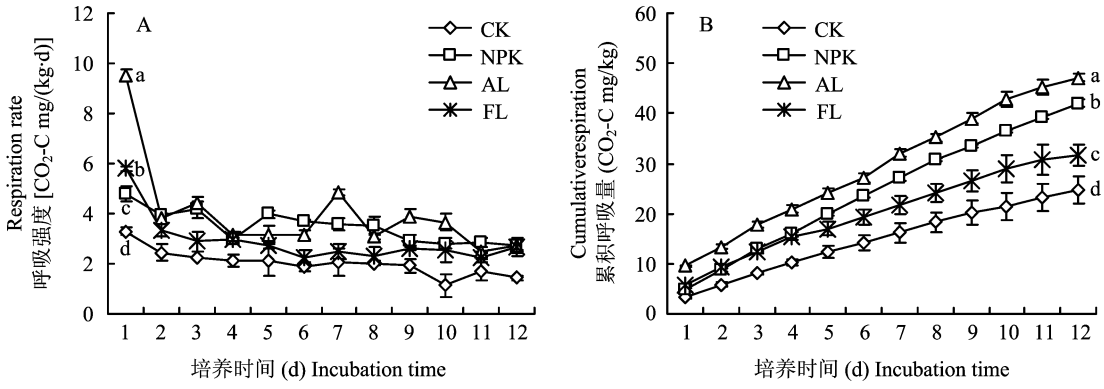

图 1　不同土地利用方式土壤呼吸强度和累积呼吸量随培养时间的变化

Fig. 1　Changes of soil respiration rate and cumulative respiration with incubation time under different land use patterns

[注(Note):不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$) Different lowercase letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).]

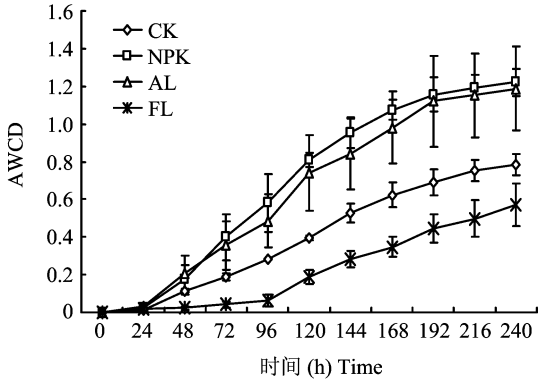

图 2　不同土地利用方式土壤 AWCD 值随培养时间的变化

Fig. 2　Change of soil AWCD with incubation time under different land use patterns

2.3.2 土壤微生物群落多样性指数分析　为了进一步确定土地利用方式对土壤微生物多样性的影响,利用 96 h 的 AWCD 值计算了 Shannon-Wiener 物种丰富度指数 H、碳源利用丰富度指数 S、Shannon-Wiener 均匀度指数 E、Simpson 指数 D_s(表 2),它们分别反映了土壤微生物群落结构多样性的种群丰富度、均匀度及某些最常见种的优势度。由表 2 可见,在培养 96 h 时,各处理的 AWCD 值顺序为 NPK > AL > CK > FL,其中 NPK 和 AL 处理的 AWCD 显著高于 FL 处理,而 CK 处理与 AL、FL 处理差异不显著。NPK 和 AL 处理的 Shannon-Wiener 物种丰富度指数 H、碳源利用丰富度指数 S 和 Simpson 指数 D_s 均最高且两者间没有显著差异,CK 处理其次,FL 处理最低。各处理的 Shannon-Wiener 均匀度指数 E 没有明显差异。

2.3.3 主成分分析　利用培养 96 h 后测定的 AWCD 数据进行主成分分析(principal component analysis, PCA)。根据提取的主成分个数一般要求累计方差贡献率达到 85% 的原则[26],共提取了 5 个主成分,累计贡献率达 87.7% 。其中第 1 主成分(PC1)的方差贡献率为 52.0%,第 2 主成分(PC2)为 11.6%,第 3 ~ 5 主成分贡献率较小,分别为 9.0%、8.7%、6.5%,因此本文只对前两个主成分进行分析(图 3)。主成分分析结果显示,不同土地利用方式在 PC 轴上出现了明显的分异,PC1 轴上 CK 和 FL 处理分布在负方向,NPK 和 AL 处理分布在正方向;PC2 轴上 FL、NPK 和 AL 处理分布在负方向,CK 处理分布在正方向。对不同土地利用方式的碳源主成分得分系数进一步进行方差分析的结果,在 PC1 轴上,NPK、AL 处理间差异不显著,而二者与 CK 和 FL 处理均差异显著;在 PC2 轴上,CK 处理与其它 3 个处理间有显著差异。

单一碳源对 PC1 和 PC2 贡献的特征向量反映主成分与碳源利用的相关系数,特征向量越高,表示该碳源对主成分的影响越大。图 4 显示与 PC1 有较高相关性(≥0.7)的碳源有 19 种,糖类占 7 种,羧酸类占 5 种,氨基酸类和多聚物类各占 3 种,多胺类 1 种;而与 PC2 具有较高相关性(≥0.5)的碳源有 4 种,包括氨基酸类和羧酸类各 2 种。糖类碳源在 PC1 的权重最大,其次是羧酸类;而与 PC2 相关性较大的碳源是羧酸类和氨基酸类。可见,对 PC1 和 PC2 起分异作用的主要碳源是糖类、羧酸类和氨基酸类物质,因此,这三类碳源是区分各处理的主要碳源。

表 2 长期不同土地利用方式下土壤微生物群落的 AWCD 及功能多样性指数(96 h)

Table 2 AWCD and functional diversity indices of soil microbial communities under different long-term land use patterns

处理 Treatment	平均颜色变化 AWCD	Shannon 丰富度指数 (H) Shannon richness index	碳源利用丰富度指数 (S) Substrate richness	均匀度指数 (E) Substrate evenness	Simpson 指数 (D_s) Simpson index
CK	0.285 ± 0.005 bc	2.56 ± 0.01 b	15.5 ± 0.7 b	0.94 ± 0.01 a	0.914 ± 0.004 b
NPK	0.582 ± 0.155 a	3.04 ± 0.15 a	28.5 ± 2.1 a	0.93 ± 0.01 a	0.950 ± 0.001 a
AL	0.485 ± 0.142 ab	3.04 ± 0.18 a	28.5 ± 0.7 a	0.93 ± 0.01 a	0.951 ± 0.001 a
FL	0.060 ± 0.031 c	2.16 ± 0.07 c	10.0 ± 1.4 c	0.95 ± 0.02 a	0.868 ± 0.001 c

注(Note):同列不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$) Different lowercase letters in a column mean significant difference at 0.05 level among treatments.

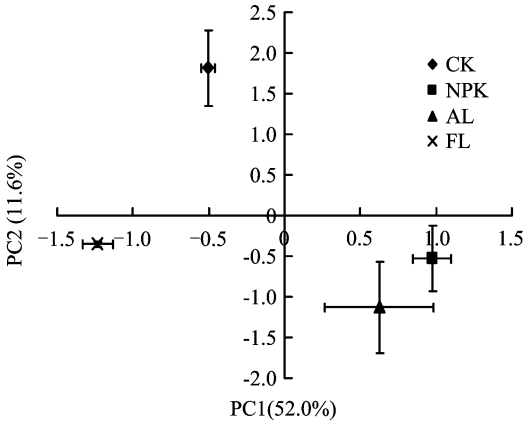

图 3 不同土地利用方式土壤微生物碳源利用类型的主成分分析

Fig. 3 Principal component analysis on carbon source utilization by soil microbial communities under different land use patterns

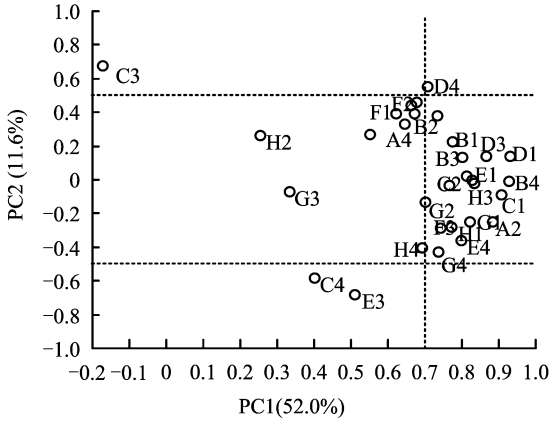

图 4 碳源对前两个主成分贡献的特征向量

Fig. 4 Eigenvector of C sources with loadings for PC1 and PC2

[注(Note):A2-H4—ECO 板的 31 种碳源 Mean 31 kinds of C sources.]

3 讨论

不同土地利用方式对土壤微生物量的影响不同。本研究中,与农田不施肥(CK)相比,农田施肥(NPK)和撂荒(AL)处理显著增加了土壤微生物碳、氮,而休闲(FL)处理对 SMBC、SMBN 无显著的影响,这与刘恩科等[11]、毕明丽等[27]的研究结果相一致。这可能是由于长期撂荒土壤不扰动土层,根系多集中在土壤表层,且每年随地上部生物量和根系归还土壤的有机物料较多,有利于土壤微生物的繁衍,从而导致土壤微生物量高;农田施肥直接增加根系生物量及分泌物,促进了微生物的生长。刘恩科等[11]的研究还发现,长期撂荒土壤的 SMBC、SMBN 显著高于农田土壤;而本研究中,NPK 处理和 AL 处理间的 SMBC 没有显著差异,可能是因为 NPK 处理作物产量较高,作物收获后有较多的根茬残留在土壤中,这也可能是 AL 处理土壤微生物商、SMBC/SMBN 和 NPK 处理没有差异的原因。

土壤微生物呼吸能有效地指示土壤微生物的活性,在土壤质量健康评价中占有重要地位[28]。土地利用方式的不同,土壤微生物呼吸也表现出明显的不同,以撂荒土壤的微生物活性最高,其次是农田施肥土壤,再者是休闲处理,农田不施肥土壤的微生物活性最低。Bazzaz 和 Williams[29]研究发现,当土壤中的有机质含量增加时,其土壤呼吸速度就会显著增加。至采样年份,本研究中各处理土壤有机碳含量为 AL(11.59 g/kg) > NPK(10.29 g/kg) > FL(8.76 g/kg) > CK(7.45 g/kg),且各处理间均达到显著差异,这与土壤累积呼吸量的变化趋势一致,可见土壤累积呼吸量随土壤有机碳的增加而增加,利用土壤累积呼吸量能直观地反映不同土地利用方式间微生物活性的差异。本研究中,撂荒处理土壤的

呼吸作用最强,原因是撂荒处理每年输入到土壤中的新鲜有机物料较多,其中包含的易分解有机物料也必然多于其它处理,其呼吸作用显然会增强[30]。长期休闲处理的土壤呼吸却显著高于 CK,而 SMBC 和 SMBN 的结果两者差异不显著,可能是因为该处理的有机碳分解速率较 CK 处理低,具体原因有待进一步分析。

不同土地利用方式明显改变了土壤微生物群落功能多样性。农田施肥及撂荒处理的 AWCD 显著高于农田不施肥处理(图 2),表明这些处理提高了土壤微生物的碳源利用能力,这与 SMBC 和 SMBN 的结果相一致(表 1);而休闲处理的 AWCD 低于农田不施肥处理,表明该处理对碳源的利用能力相对较低,这可能是因为长期无物质投入,养分含量尤其是速效养分含量较低所致。时鹏等[15]研究发现撂荒处理土壤的 AWCD 值高于耕作处理,而本研究中,撂荒处理与农田施肥处理的碳源利用能力无明显差异,这可能是因为时鹏等研究的土壤是草甸黑土,相对于关中塿土的养分含量较高,且种植制度也有所不同。

Shannon-Wiener 物种丰富度指数 H、碳源利用丰富度指数 S、Simpson 指数 D_s 的分析结果表明,不同土地利用方式对土壤微生物群落多样性的影响有所不同,即各处理土壤微生物种群的数量、优势度有显著差异。长期农田施肥和撂荒均有利于提高土壤微生物群落的物种丰富度和优势度,可能是由于 NPK 处理的长期施肥和作物根茬为微生物提供了较多的养分和能源,而撂荒处理输入到土壤中的有机物料较多,促进了微生物的繁殖和新陈代谢,这与罗希茜等[31]和时鹏等[15]的研究结果一致。Shannon-Wiener 均匀度指数 E 的结果表明,各处理间的均匀度没有显著差异。撂荒能增加土壤微生物物种数量及优势度,但物种的均匀度却和 CK 没有差异,这与时鹏等[15]的研究结果有类似之处。相对于 CK 处理,NPK 处理和 AL 处理土壤微生物的物种均匀度没有显著提高,很可能是由 NPK 处理和 AL 处理的稀疏微生物种群数量相对较多引起的,NPK 处理和 AL 处理的碳源利用数比 CK 处理要多 13 种也可能说明了这点(表 2)。相对 CK 处理,FL 处理土壤微生物物种数量和优势度均有所下降,这应与该处理长期只耕不种不施肥的管理措施有关。

在主成分分析中,共提取了 5 个主成分,但本文只对前 2 个主成分进行分析,这样虽会损失一部分关于碳源利用的数据,但前 2 个主成分已经提供了足够的信息。通过主成分分析表明不同土地利用方式土壤微生物的碳源利用能力出现显著差异,土壤微生物群落代谢特征发生改变,土地利用方式对土壤微生物群落功能多样性产生了较大影响。样本在主成分轴上分布和微生物对碳源底物的利用能力相关,PC1 和 PC2 解释了大部分的变异,AL 和 NPK 处理分布于第 1 主成分正方向,CK 和 FL 处理在第 1 主成分负方向上;FL、NPK 和 AL 处理分布在 PC2 轴的负方向,CK 处理分布在正方向(图 3),这与上述的 Shannon-Wiener 物种丰富度指数 H、碳源利用丰富度指数 S 和 Simpson 指数 D_s 的结果相一致。整体来看不同处理间分异较大,表现出土壤微生物群落功能多样性的显著差异。上述分析表明,与撂荒相比,农田利用并不一定造成土壤微生物结构和功能的退化,相反合理施肥对于农田土壤微生物多样性具有一定的保护作用,而长期的绝对休闲则不利于土壤微生物功能多样性的维持。

主成分分析的结果还表明,糖类、羧酸类和氨基酸类是本试验各处理土壤微生物利用的主要碳源(图 4),可作为区分不同土地利用方式下土壤微生物碳源利用类型的依据。Biolog 分析方法检测的主要是土壤中快速生长或富营养的微生物[32],因而不能全面地反映土壤微生物群落的多样性。因此,结合其他一些免培养的方法(磷脂脂肪酸分析法、核酸分析法),能够更全面地认识土壤微生物群落结构和功能的多样性,从而为黄土区土地利用方式的选择和实现塿土的可持续利用提供更有力的依据。

4　结论

长期农田施肥和撂荒处理显著增加了土壤微生物量碳、氮的含量,而休闲处理对土壤微生物量碳、氮无显著影响。长期撂荒、农田施肥和休闲处理的土壤微生物呼吸强度和累积呼吸量均显著增加,其中以撂荒土壤的呼吸强度和累积呼吸量最高。累积呼吸量能直接反映不同土地利用方式间土壤微生物活性的差异。Biolog 分析结果显示,长期农田施肥和撂荒处理使土壤微生物的碳源利用率明显升高,而休闲处理却对土壤微生物利用碳源的能力有不利的影响。农田施肥处理和撂荒处理有利于提高土壤微生物物种丰富度和优势度,绝对休闲处理则不利于维持土壤微生物群落功能多样性。不同土地利用方式下土壤微生物主要利用糖类、羧酸类和氨基酸类碳源。与撂荒相比,农田并不一定造成土壤微生物结构和功能的退化,相反合理施肥对于农田土壤

微生物多样性具有一定的保护作用,而长期的绝对休闲则不利于土壤微生物功能多样性的维持。

参考文献:

[1] Degens B P, Schipper L A, Sparling G P, Vukovic M V. Decreases in organic C reserves in soils can reduce the catabolic diversity of soil microbial communities[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32: 189-196.

[2] 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[J]. 植物生态学报, 2008, 32(4): 891-899.
Li J, Zhao B, Li X Y *et al*. Changes of soil microbial properties affected by different long-term fertilization regimes[J]. Journal of Plant Ecology, 2008, 32(4): 891-899.

[3] Braimoh A K, Vlek P L G. The impact of land-cover change on soil property in Northern Ghana[J]. Land Degradation and Development, 2004, 15: 65-74.

[4] 胡克林, 余艳, 张凤荣, 王茹. 北京郊区土壤有机质含量的时空变异及其影响因素[J]. 中国农业科学, 2006, 39(4): 764-771.
Hu K L, Yu Y, Zhang F R, Wang R. The spatial-temporal variability of soil organic matter and its influencing factors in suburban area of Beijing[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2006, 39(4): 764-771.

[5] Kong X B, Zhang F R, Wei Q *et al*. Influence of land use change on soil nutrients in an intensive agricultural region of North China[J]. Soil and Tillage Research, 2006, 88: 85-94.

[6] Wang J, Fu B J, Qiu Y, Chen L D. Soil nutrient in relation to land use and landscape position in the semi-arid small catchment on the loess plateau in China[J]. Journal of Arid Environments, 2001, 48: 537-550.

[7] 罗格平, 许文强, 陈曦. 天山北坡绿洲不同土地利用对土壤特性的影响[J]. 地理学报, 2005, 60(5): 779-790.
Luo G P, Xu W Q, Chen X. Effect of different land-use systems on soil properties in the alluvial plain-oasis in the arid land[J]. Acta Geographica Sinica, 2005, 60(5): 779-790.

[8] 李志,刘文兆,王秋贤. 黄土塬区不同地形部位和土地利用方式对土壤物理性质的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(6): 1303-1308.
Li Z, Liu W Z, Wang Q X. Effects of land use type and slope position on soil physical properties in loess tableland area[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19(6): 1303-1308.

[9] 李娟, 廖洪凯, 龙健, 陈彩云. 喀斯特山区土地利用对土壤团聚体有机碳和活性有机碳特征的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(7): 2147-2156.
Li J, Liao H K, Long J, Chen C Y. Effect of land use on the characteristics of organic carbon and labile organic carbon in soil aggregates in Karst mountain areas[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(7): 2147-2156.

[10] 李忠佩,吴晓晨,陈碧云. 不同利用方式下土壤有机碳转化及微生物群落功能多样性变化[J]. 中国农业科学, 2007, 40(8): 1712-1721.
Ll Z P, Wu X C, Chen B Y. Changes in transformation of soil organic carbon and functional diversity of soil microbial community under different land use patterns[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(8): 1712-1721.

[11] 刘恩科, 赵秉强, 李秀英, 等. 不同施肥制度土壤微生物量碳氮变化及细菌群落16S rDNA V3片段PCR产物的DGGE分析[J]. 生态学报, 2007, 27(3): 1079-1085.
Liu E K, Zhao B Q, Li X Y *et al*. Microbial C and N biomass and soil community analysis using DGGE of 16S rDNA V3 fragment PCR products under different long-term fertilization systems[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(3): 1079-1085.

[12] 杨学云, 孙本华, 马路军, 等. 黄土施肥效应与肥力演变的长期定位监测研究Ⅰ. 长期施肥的产量效应[J]. 植物营养与肥料学报, 2002, 8(增刊): 66-70.
Yang X Y, Sun B H, Ma L J *et al*. A study on the effect of fertilization and fertility evolution of loess soil in long-term stationary experiment[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2002, 8(Suppl.): 66-70.

[13] 梁斌, 周建斌, 杨学云. 长期施肥对土壤微生物生物量碳、氮及矿质态氮含量动态变化的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(2): 321-326.
Liang B, Zhou J B, Yang X Y. Changes of soil microbial biomass carbon and nitrogen, and mineral nitrogen after a long-term different fertilization[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2010, 16(2): 321-326.

[14] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999. 238-240.
Lu R K. Analysis methods of soil and agricultural chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Sci-Tech Press, 1999. 238-240.

[15] 时鹏, 高强, 王淑平, 张妍. 玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(22): 6173-6182.
Shi P, Gao Q, Wang S P, Zhang Y. Effects of continuous cropping of corn and fertilization on soil microbial community functional diversity[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(22): 6173-6182.

[16] 吴金水, 林启美, 黄巧云, 肖和艾. 土壤微生物生物量测定方法及其应用[M]. 北京: 气象出版社, 2006. 54-78.
Wu J S, Lin Q M, Huang Q Y, Xiao H A. Soil microbial biomass-methods and application[M]. Beijing: Meteorologic Press, 2006. 54-78.

[17] 刘满强, 胡锋, 何圆球, 李辉信. 退化红壤不同植被恢复下土壤微生物量季节动态及其指示意义[J]. 土壤学报, 2003, 40(6): 937-944.
Liu M Q, Hu F, He Y Q, Li H X. Seasonal dynamics of soil microbial biomass and its significance to indicate soil quality under different vegetations restored on degraded red soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2003, 40(6): 937-944.

[18] 王效举, 龚子同. 红壤丘陵小流域不同利用方式下土壤的变化和预测[J]. 土壤学报, 1998, 35(1): 135-139.

Wang X J, Gong Z T. Assessment and prediction of soil changes under different land use patterns at a small area level in red soil hilly region[J]. Acta Pedologica Sinica, 1998, 35(1): 135-139.

[19] Sparling G P. Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter [J]. Australian Journal of Soil Research, 1992, 30(2): 195-207.

[20] Anderson T H, Domsch K H. Ratios of microbial biomass carbon to total organic carbon in arable soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1989, 21: 471-479.

[21] 邱莉萍, 刘军, 王益权, 等. 土壤酶活性与土壤肥力的关系研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(3): 277-280.
Qiu L P, Liu J, Wang Y Q *et al*. Research on relationship between soil enzyme activities and soil fertility [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2004, 10(3): 277-280.

[22] Lovell R D, Jarvis S C, Bardgett R D. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: effects of management changes[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1995, 27(7): 969-975.

[23] 李国辉, 陈庆芳, 黄懿梅, 等. 黄土高原典型植物根际对土壤微生物生物量碳、氮、磷和基础呼吸的影响[J]. 生态学报,2010, 30(4): 976-983.
Li G H, Chen Q F, Huang Y M *et al*. Soil microbial biomassC, N, P and basal respiration in rhizosphere soil of typical plants on the Loess Plateau[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(4): 976-983.

[24] Montserrat G, Martí E, Sierra J *et al*. Discriminating inhibitory from enhancing effects in respirometry assays from metal polluted-sewage sludge amended soils[J]. Applied Soil Ecology, 2006, 34(1): 52-61.

[25] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities[J]. Environmental Management, 1997, 21(2): 233-238.

[26] 郝黎仁, 樊元, 郝哲欧, 等. SPSS 实用统计分析[M]. 北京: 中国水利水电出版社, 2003.
Hao L R, Fan Y, Hao Z O *et al*. SPSS practical statistics analysis[M]. Beijing: China Water Power Press, 2003.

[27] 毕明丽, 宇万太, 姜子绍, 等. 施肥和土壤管理对土壤微生物生物量碳、氮和群落结构的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(1): 32-42.
Bi M L, Yu W T, Jiang Z S *et al*. Effects of fertilization and soil management on microbial biomass and community [J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(1): 32-42.

[28] Oliveira O C, Oliveira I P, Alves B J R, *et al*. Chemical and biological indicators of decline/degradation of Brachiaria pastures in the Brazilian Cerrado [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2004, 103: 289-300.

[29] Bazzaz F A, WilliamsW E. Atmospheric CO_2 concentrations within a mixed forest: Implications for seedling growth [J]. Ecology, 1991, 72: 12-16.

[30] Yang X Y, Ren W D, Sun B H, Zhang S L. Effects of contrasting soil management regimes on total and labile soil organic carbon fractions in a loess soil in China[J]. Geoderma, 2012, 177-178: 49-56.

[31] 罗希茜, 郝晓晖, 陈涛, 等. 长期不同施肥对稻田土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2009, 29(2): 740-748.
Luo X Q, Hao X H, Chen T *et al*. Effects of long-term different fertilization on microbial community functional diversity in paddy soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(2): 740-748.

[32] Konopka A, Oliver L, Turco R F. The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology [J]. Microbial Ecology, 1998, 35: 103-115.