

不同施肥处理对太湖地区水稻土团聚体粒组细菌和真菌组成和多样性的影响^①

王 丹, 李恋卿*, 刘永卓, 潘根兴

(南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘 要: 选择太湖地区水稻-油菜轮作的长期肥料试验的水稻田, 采集原状土进行团聚体颗粒分离, 提取土壤微生物 DNA 进行 PCR-DGGE 分析, 通过对 DGGE 结果进行主成分分析和多样性指数的计算, 比较秸秆还田和化肥配施与单施化肥两施肥处理对土壤团聚体中微生物群落组成和多样性的影响。结果表明: 与单施化肥相比, 秸秆还田显著改变了 2000~200 μm 和 200~20 μm 两粒组中细菌和真菌的群落组成, 说明较大颗粒组中微生物群落组成灵敏响应施肥措施的变化。不同团聚体粒组微生物群落多样性存在差异, 细菌的多样性在 2000~200 μm 与 <2 μm 粒组中较高, 真菌则在大粒组中表现出较高的多样性, 而且由团聚体粒组本身带来的微生物多样性的变异大于施肥措施引起的变异。

关键词: 土壤团聚体; 施肥处理; PCR-DGGE; 微生物群落组成; 群落多样性

中图分类号: S154.3

微生物是土壤中重要的生物组成, 在土壤有机物质的生物化学循环过程中起着重要的驱动作用。土壤是由许多大小不一的团聚体和原生土壤颗粒组成^[1]。作为土壤微生物的微生境, 不同团聚体粒组的物理化学特性以及养分保持和供应能力均存在差异, 这直接影响其中的微生物的群落结构、多样性及功能^[1-4]。研究表明, 不同团聚体粒组中有机碳、氮的分配及生物有效性存在差异, 2000~200 μm 及 <2 μm 两粒组中有机碳的含量较高^[5-6]。Sessitsch 等^[3]通过 T-RFLP 方法的研究发现黏粒粒组中微生物群落多样性最高。Chui 等^[7]也研究发现真菌的麦角固醇在 >250 μm 和 53~250 μm 等较大的团聚体粒组中含量显著提高。因此, 研究不同团聚体微域环境中微生物的组成和多样性的变化可以更客观地反映土壤中微生物的空间分异特征。

目前, 国内外有关施肥对土壤微生物特性的研究主要以整体土壤为研究对象^[8-11], 而以团聚体粒组为对象, 研究土壤微生物的团聚体微域分异特征的研究报道还较少。为此, 选择太湖地区一个长期肥料处理的稻-油菜轮作的水稻田, 采用 PCR-DGGE 的方法, 对不同施肥措施下土壤团聚体粒组中细菌和真菌的群落组

成和多样性变化进行分析, 以期揭示水稻土土壤物质循环转化过程中的微生物特性和作用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 供试土壤

供试土壤采于太湖地区的一个水稻土长期肥料试验定位监测田, 位于苏州市吴江市金家坝镇前厅村 (31°05'900"N、120°46'924"E), 试验始于 1987 年。该地区年降雨量约 1100 mm, 土壤为潴育性水稻土(黄泥土), 耕层 (0~15 cm), 原土壤的 pH 为 5.6, 土壤黏粒 (<2 μm) 含量为 302.9 g/kg, 阳离子交换量 20.5 cmol(+)/kg, 体积质量 1.2 g/cm³, 有机碳含量为 14.3 g/kg。试验期间一直是稻-油菜轮作, 共设置 3 个不同施肥处理, 分别是不施肥区 (简称无肥区, NF)、单施化肥区 (简称化肥区, CF)、化肥配施秸秆区 (简称秸秆区, CFS)。供试土样于 2009 年 6 月油菜收获后, 采集原状土, 当天立即带回储放于 4℃ 冰箱中保存待用。土壤 pH 为 6.1, 有机质为 16.4 g/kg, 全氮 1.72 g/kg, 全磷 0.24 g/kg, 速效钾 82 mg/kg。不同施肥处理的设置见表 1。

①基金项目: 国家自然科学基金项目 (40771108) 资助。

* 通讯作者 (lqli@njau.edu.cn)

作者简介: 王丹 (1985—), 女, 山东莱芜人, 硕士研究生, 主要从事微生物生态学研究。E-mail: haldir90@163.com

表 1 不同施肥处理的施肥量 (kg/hm²)
Table1 Fertilizing rates under different treatments

处理	N	P ₂ O ₅	KCl	秸秆
NF	0	0	0	0
CF	28.5	3	5.6	0
CFS	28.5	3	5.6	300

1.2 土壤团聚体粒组分离

依据 Stemmer 等^[6]方法并略作修改,沿用国际制土壤颗粒分级划定粒组。Stemmer 等^[12]报道,可用较低的能量分散土壤来研究土壤团聚体粒组的微生物特性。称取新鲜土壤,水土质量比 5:1,置于盛有 250 ml 蒸馏水的烧杯中。用探针式超声波发生器 (JYD-650) 低能量 (170 J/ml)^[13]超声分散 5 min。用湿筛法分离出 2 000~200 μm 粒径的土壤颗粒,然后通过 Stokes 定律计算沉降时间,用沉降虹吸法分离出 200~20 μm 粒径的土壤颗粒,继而采用离心法分离出 20~2 μm、<2 μm 粒径的土壤颗粒,用水将 2 000~200 μm 粒径中的根和有机物碎屑漂弃,冷冻干燥,备用。

1.3 土壤 DNA 提取与聚合酶链反应 (PCR)

采用 MOBIO 公司的土壤 DNA 快速提取试剂盒 (Power Soil™ DNA Kit) 对土壤微生物基因组 DNA 进行提取。提取的 DNA 的质量通过琼脂糖凝胶电泳检测,一般提取获得的基因组 DNA 分子量较大,采用 1% 的琼脂糖进行电泳,电泳系统为美国 BIO-RAD Power Pac Basic 系统。电泳结束后在凝胶成像系统 (美国 BIO-RAD) 中观察电泳结果并拍照。

细菌 PCR 引物为 F968-GC 和 R1401^[14],采用程序如下: 95℃ 7 min; 后 95℃ 变性 30 s, 56℃ 退火 1 min,

68℃ 延伸 2 min, 如此进行 35 个循环; 最后在 68℃ 下延伸 10 min。

真菌 PCR 引物为 NS1 和 Fung-GC^[15], 程序为: 95℃ 7 min; 后 95℃ 变性 30 s, 57℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 2 min, 如此进行 35 个循环; 最后在 72℃ 下延伸 10 min。

采用 Go Taq Green Master Mix (Promega) 进行 PCR 扩增。使用 Eppendorf 的 Mastercycler ep gradient S 型快速梯度 PCR 仪扩增。扩增产物 -20℃ 存放备用。

1.4 梯度变性凝胶电泳 (DGGE)

梯度变性凝胶的制备使用 Bio-Rad 公司 475 型梯度灌胶系统 (Model 475 Gradient Delivery System), 变性梯度细菌为从上到下是 40%~60%^[14], 真菌为 15%~35%^[15], 聚丙烯酰胺凝胶浓度是 8%; 上样后, 200 V 的电压下 4 min 后, 150V 电泳 5.5 h。

用 QuantityOne 分析软件分析得到相似性指数, 香农指数计算方法采用 Eichner 等^[17]和 Hedrick 等^[18]报道的方法, 数据处理采用 Microsoft Excel 2003 进行, 统计与显著性检测在 SPSS13.0 与 JMP5.0.1 软件上进行。

2 结果与分析

2.1 不同施肥处理下土壤团聚体的颗粒组成

如表 2 所示, 土壤相同施肥处理下的团聚体含量均以 2 000~200 μm 粒组最高, 约占土壤的 50%, 200~20 μm 粒组与 20~2 μm 粒组次之, <2 μm 粒组最低, 约占 10% 左右。但不同的施肥处理下各团聚体粒组的分配没有产生显著差异。

表 2 不同施肥处理下土壤团聚体组成 (%)

Table 2 Aggregate size distribution of paddy soils under different fertilization treatments

处理	团聚体颗粒粒组				回收率 (%)
	2 000~200 μm	200~20 μm	20~2 μm	<2 μm	
NF	50.98 ± 3.16 A a	16.58 ± 1.86 B a	20.95 ± 1.68 B a	8.37 ± 2.18 C a	96.88
CF	40.59 ± 5.96 A a	20.15 ± 0.64 BC a	28.50 ± 5.88 B a	11.71 ± 0.53 C a	100.94
CFS	50.11 ± 11.11 A a	16.26 ± 3.51 B a	23.05 ± 5.25 B a	9.16 ± 3.03 B a	98.57

注: 表中不同小写字母表示相同粒径团聚体粒组不同施肥处理间差异达到 $P < 0.05$ 显著水平, 不同大写字母表示相同施肥处理下不同团聚体粒组间差异达到 $P < 0.05$ 显著水平, 下同。

2.2 不同施肥处理下土壤团聚体粒组的细菌和真菌群落组成的差异

不同团聚体粒组土壤微生物进行基因组 DNA 提取, 将细菌和真菌 DGGE 图谱进行 PCA 分析, 特征

值 >1 的应提取相应的公因子, 共提取 2 个主成分。从细菌 PCA 结果来看 (图 1), 不同粒组粒径从大到小第一主成分 (PC1) 的贡献率分别为 32.98%、54.02%、32.4% 和 36.4%, 第二主成分 (PC2) 的贡献率分别为

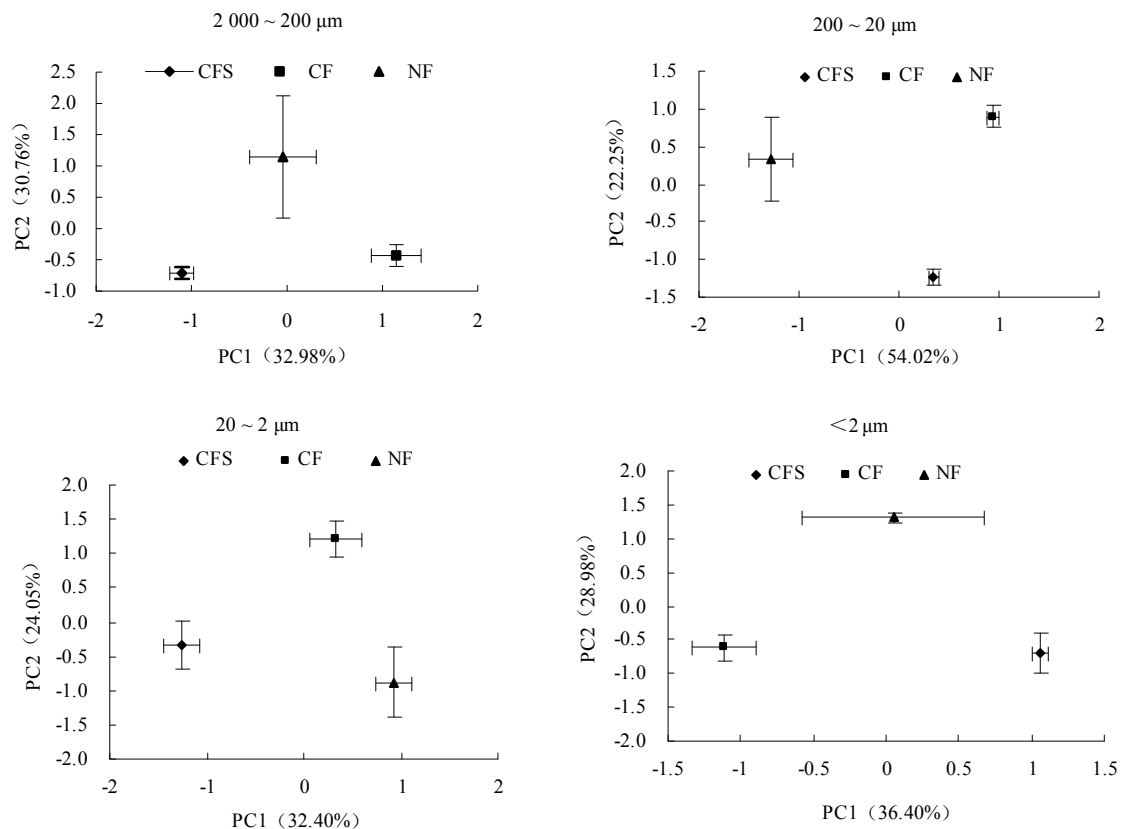


图 1 不同团聚体粒组中不同施肥处理下细菌 DGGE 主成分分析图谱

Fig. 1 PCA of DGGE profiles of bacterial communities in different aggregate size fractions under different fertilization treatments

30.76%、22.25%、24.05% 和 28.98%，PC1 的贡献率普遍高于 PC2。进一步对不同处理在 PC1 和 PC2 上的得分系数进行方差分析（表 3）。从 PC1 分析，秸秆区、化肥区与无肥区 3 个不同处理之间在各粒级均存在显著性差异 ($P < 0.05$)。从 PC2 分析，在 200~20 μm 和 20~2 μm 粒组中秸秆区与化肥区均存在显著性差异 ($P < 0.05$)。由此可见，秸秆还田与化肥配施显著改变不同团聚体粒组中细菌的群落组成。

从不同粒组真菌 PCA 结果来看（图 2），不同粒组粒径从大到小第一主成分（PC1）的贡献率分别为

23.11%、36.13%、44.86% 和 29.54%，第二主成分（PC2）的贡献率分别为 20.78%、27.06%、22.64% 和 24.13%，PC1 的贡献率普遍高于 PC2。进一步对主成分进行方差分析可知（表 4），从 PC1 分析，秸秆区在 2000~200 μm 、200~20 μm 和 <2 μm 粒组土壤真菌的组成与化肥区之间存在显著差异；在 2000~200 μm 与 200~20 μm 粒组中 3 个施肥处理均存在显著差异 ($P < 0.05$)。从 PC2 分析，在 2000~200 μm 与 200~20 μm 粒组，秸秆区与化肥区真菌的组成存在显著差异 ($P < 0.05$)。

表 3 不同团聚体粒组细菌得分系数分析

Table 3 The PC scores of bacteria for different aggregate size fractions under different fertilization treatments

主成分	处理	2000~200 μm	200~20 μm	20~2 μm	<2 μm
PC1	NF	-0.04 ± 0.35 B b	-1.28 ± 0.23 C c	0.93 ± 0.19 A a	0.05 ± 0.63 B b
	CF	1.15 ± 0.26 A a	0.93 ± 0.06 A a	0.33 ± 0.27 B b	-1.11 ± 0.22 C c
	CFS	-1.10 ± 0.13 C c	0.35 ± 0.04 B b	-1.3 ± 0.18 C c	1.06 ± 0.06 A a
PC2	NF	1.14 ± 0.98 A a	0.33 ± 0.56 A a	-0.88 ± 0.52 B b	1.31 ± 0.08 A a
	CF	-0.43 ± 0.18 B b	0.90 ± 0.16 A a	1.21 ± 0.27 A a	-0.61 ± 0.19 B b
	CFS	-0.71 ± 0.09 A b	-1.23 ± 0.11 B b	-0.33 ± 0.36 A b	-0.70 ± 0.30 A b

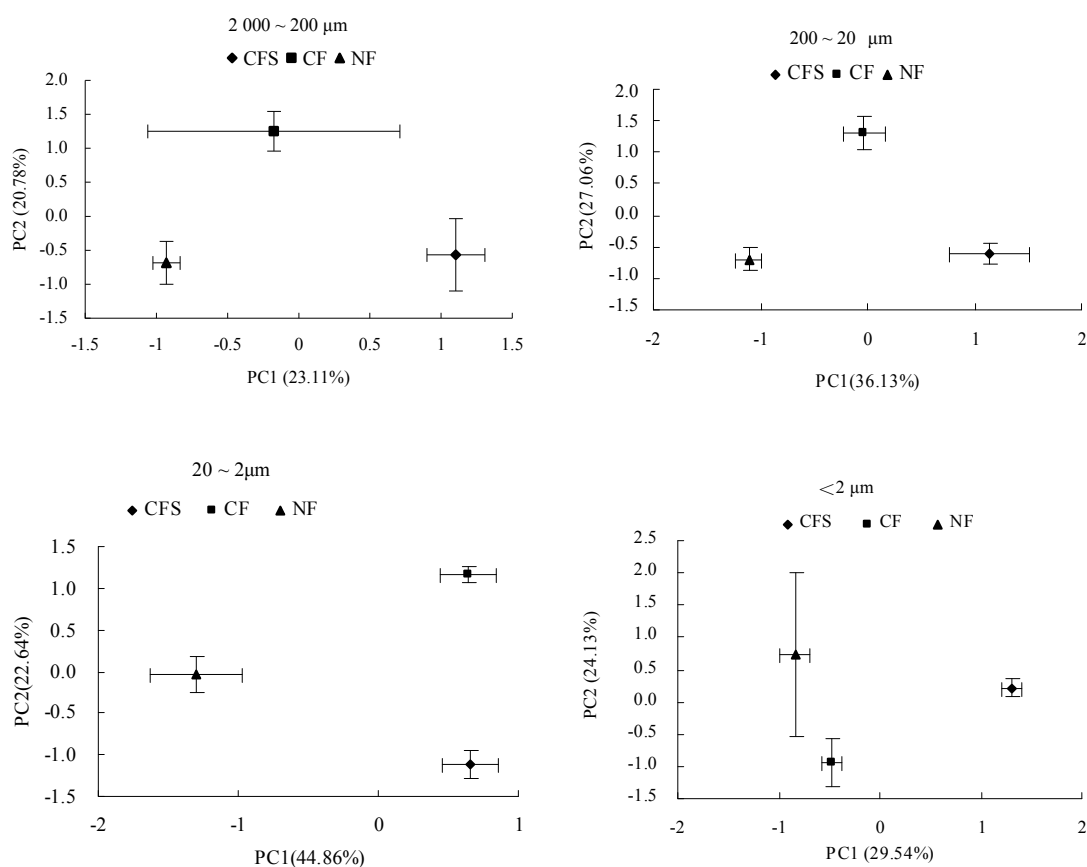


图2 不同团聚体粒组中不同施肥处理下真菌 DGGE 主成分分析图谱

Fig. 2 PCA of DGGE profiles of fungal communities in different aggregate size fractions under different fertilization treatments.

表4 不同团聚体粒组真菌得分系数分析

Table 4 The PC scores of fungi for different aggregate size fractions under different fertilization treatments of fungi

主成分	处理	2 000 ~ 200 μm	200 ~ 20 μm	20 ~ 2 μm	< 2 μm
PC1	NF	-1.21 $\pm$ 0.20 AB c	-1.10 $\pm$ 0.11 AB c	0.93 $\pm$ 0.19 A a	0.05 $\pm$ 0.63 B b
	CF	0.20 $\pm$ 0.38 AB b	0.08 $\pm$ 0.40 B b	0.33 $\pm$ 0.27 B b	-1.11 $\pm$ 0.22 C c
	CFS	1.01 $\pm$ 0.19 AB a	1.02 $\pm$ 0.68 AB a	-1.3 $\pm$ 0.18 C c	1.06 $\pm$ 0.06 A a
PC2	NF	-0.41 $\pm$ 0.25 C b	0.64 $\pm$ 0.27 A a	-0.88 $\pm$ 0.52 B b	1.31 $\pm$ 0.08 A a
	CF	1.24 $\pm$ 0.52 A a	-1.00 $\pm$ 0.53 B b	1.21 $\pm$ 0.27 A a	-0.61 $\pm$ 0.19 B b
	CFS	-0.83 $\pm$ 0.23 A b	0.36 $\pm$ 0.18 A ab	-0.33 $\pm$ 0.36 A b	-0.70 $\pm$ 0.30 A b

有机碳的结构组成和生物可利用性是影响土壤微生物组成的重要因素。我们已有的研究表明, 秸秆还田与化肥配施显著提高 2 000 ~ 200 μm 和 200 ~ 20 μm 粒组的有机碳含量^[5]。一般情况下, 当氮肥与纤维素结合时, 促进真菌生长, 当氮肥与易分解底物结合时, 细菌生长增加^[16]。而土壤中植物的根、残体等较新鲜的易分解的有机物大多集中在大团聚体中^[7], 这为细菌的生长提供了大量可利用的碳源。

同时, 土壤有机碳的 C/N 随着团聚体粒径的增大而提高^[5,19], 秸秆还田显著提高大团聚体中土壤的 C/N^[20], 而高 C/N 的有机物对真菌, 尤其对于腐生性真菌具有较明显的影响^[7, 16]。因此, 在较大粒组中秸秆还田与单施化肥处理间土壤细菌和真菌组成在 PC1 和 PC2 分析均产生显著的差异, 说明较大粒组的土壤团聚体中细菌和真菌群落组成灵敏响应施肥措施的变化。

2.3 不同施肥处理下土壤团聚体粒组的细菌、真菌群落结构多样性变化

不同施肥处理土壤各团聚体粒组细菌和真菌多样性香农指数的变化见表 5、6。从不同粒组来看, 20~200 μm 粒组细菌多样性指数最低, 2000~200 μm 和 <20 μm

粒组多样性指数较高。施用化肥显著降低 200~20 μm 粒组的细菌多样性(表 5)。真菌多样性则表现为 2000~200 μm 粒组较高, <20 μm 居中, 200~20 μm 与 20~20 μm 粒组相对较低(表 6), 而不同施肥措施对团聚体粒组细菌和真菌的多样性指数均影响较小。

表 5 不同土壤团聚体粒组细菌群落多样性指数(香农指数)

Table 5 The diversity indexes of soil bacterial community of different aggregate size fractions

处理	2000~200 μm	200~20 μm	20~20 μm	<20 μm
NF	3.44 $\pm$ 0.03 A a	3.38 $\pm$ 0.10 A a	3.11 $\pm$ 0.22 B b	3.42 $\pm$ 0.09 A a
CF	3.35 $\pm$ 0.10 A a	3.22 $\pm$ 0.06 A b	2.97 $\pm$ 0.20 B b	3.39 $\pm$ 0.02 A a
CFS	3.34 $\pm$ 0.02 B a	3.36 $\pm$ 0.03 B ab	3.18 $\pm$ 0.02 C a	3.49 $\pm$ 0.07 A a

表 6 不同土壤团聚体粒组真菌群落多样性指数(香农指数)

Table 6 The diversity indexes of soil fungal community of different aggregate size fractions

处理	2000~200 μm	200~20 μm	20~20 μm	<20 μm
NF	3.45 $\pm$ 0.18 A a	3.14 $\pm$ 0.17 B a	2.92 $\pm$ 0.08 B b	3.47 $\pm$ 0.09 A a
CF	3.65 $\pm$ 0.06 A a	3.18 $\pm$ 0.03 C a	3.09 $\pm$ 0.32 C a	3.51 $\pm$ 0.07 B a
CFS	3.59 $\pm$ 0.33 A a	3.13 $\pm$ 0.16 B b	3.15 $\pm$ 0.07 B a	3.45 $\pm$ 0.04 AB a

微生物多样性是反映土壤生物功能的重要指标。本研究显示细菌和真菌的群落多样性在 20~20 μm 粒组均为最低, 真菌多样性在 2000~200 μm 粒组中较高, 而细菌则在 2000~200 μm 与 <20 μm 两粒组多样性较高。Sessitsch 等^[4]研究长期施肥处理试验的表土发现, 细菌的多样性为黏粒组最高。Kandeler 等^[21-22]利用 PLFA 和 DGGE 的方法研究表明, 存在于黏粒中的微生物主要是细菌, 而大量的源于真菌的 PLFA18:2w6 则存在于较大的团聚体中。土壤团聚体中的微生物多样性与其微域环境的物质组成密切相关。研究表明, 土壤中 2000~200 μm 与 <20 μm 两粒组中有机碳含量较高, 而 20~20 μm 粒组含量最低^[5-6], 这可能是造成团聚体间微生物群落多样性差异的重要原因。此外, 群落多样性的变异分析显示, 真菌和细菌多样性在团聚体粒组间的差异显著, 而施肥措施的影响不明显(表 7), 由此可见, 团聚体本身的微域环境的理化性状差异直接影响微生物的群落多样性。较大粒径的团聚体颗粒具有大小不同的孔隙组合, 同时适合真菌和细菌的生存, 而 <20 μm 的黏粒中孔隙小, 较适合细菌的生存^[26]。此外, 黏粒中的有机碳多以聚亚甲基、脂类物质居多^[23-25], 与黏粒结合在一起, 可以同时为好氧和厌氧细菌提供较好的生活环境^[4], 这样在黏粒中可以

表 7 不同施肥处理下团聚体粒组细菌及真菌香农指数变异分析

Table 7 Shannon Index variations of bacteria and fungi in different aggregate size fractions under different fertilization treatments

微生物	项目	DF	F	P
细菌	施肥	2	0.6841	0.512 2
	团聚体粒组	3	11.281	0.000 0
真菌	施肥	2	3.7259	0.035 8
	团聚体粒组	3	31.473	0.000 0

保持较高的细菌多样性。也有认为由于小团聚颗粒体空隙直径小, 限制大的生物(如原生动物)对细菌的捕食, 黏粒通过吸附、包裹细菌而抵抗了外界环境的影响^[27], 从而保持了该粒组的细菌多样性。因此, 不同粒组土壤的物理、化学特性和物质分配的差异对团聚体中微生物的群落结构、多样性及功能产生很大的影响。

3 结论

(1) 通过对土壤细菌和真菌组成的 DGGE 图谱进行 PCA 分析显示, 不同的施肥措施下团聚体中细菌和真菌的组成发生了改变, 其中 2000~200 μm 和 200~20 μm 粒组中真菌和细菌灵敏响应施肥措施的变化。

(2) 通过对土壤细菌和真菌组成的 DGGE 图谱

多样性分析显示, 细菌的多样性在 2 000~200 μm 与 < 2 μm 粒组中较高, 而真菌在大粒组中多样性较高, 团聚体粒组本身的特性造成的微生物群落多样性的差异大于施肥措施的影响。

参考文献:

- [1] Schulten HR, Leinweber O. New insights into organic-mineral particles: Composition, properties and models of molecular structure. *Biology Fertilize Soil*, 2000, 30: 399-432
- [2] Väisänen RK, Roberts MS, Garland JL, Frey SD, Dawson LA. Physiological and molecular characterization of microbial communities associated with different water-stable aggregate size classes. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37: 2 007-2 016
- [3] Sessitsch A, Weilharter A, Gerzabek M, Kirchmann H, Kandeler E. Microbial population structures in soil particle size fractions of a long-term fertilizer field experiment. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(9): 4 215-4 224
- [4] Ranjard L, Richaume A. Quantitative and qualitative microscale distribution of bacteria in soil. *Res. Microbiol.*, 2001, 152: 707-716
- [5] Li L, Zhang XH, Zhang PJ, Pan GX. Variation of organic carbon and nitrogen in aggregate size fractions of a paddy soil under fertilisation practices from Tai Lake Region, China. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2007, 87: 1 052-1 058
- [6] Stemmer M, Gerzabek HM, Kandeler E. Organic matter and enzyme activity in particle-size fractions of soils obtained after low-energy sonication. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, 30(1): 9-17
- [7] Chui CY, Chen TH, Imberger K, Tian G. Particle size fractionation of fungal and bacterial biomass in subalpine grassland and forest soil. *Gerderma*, 2005, 130: 265-271
- [8] 刘恩科, 赵秉强, 李秀英, 姜瑞波, 李燕婷, Hwat BS. 长期施肥对土壤微生物量及土壤酶活性的影响. *植物生态学报*, 2008, 32(1): 176-182
- [9] Sall SN, Masse D, Ndour NYB, Chotte JL. Does cropping modify the decomposition function and the diversity of the soil microbial community of tropical fallow soil. *Applied Soil Ecology*, 2006, 31: 211-219
- [10] Bittman S, Forge TA, Kowalenko CG. Responses of the bacterial and fungal biomass in a grassland soil to multi-year applications of dairy manure slurry and fertilizer. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37: 613-623
- [11] 张平究, 李恋卿, 潘根兴, 张俊伟. 长期不同施肥下太湖地区黄泥土表土微生物碳氮量及基因多样性变化. *生态学报*, 2004, 24(12): 2 818-2 824
- [12] Stemmer M, Gerzabek MH, Kandeler E. Invertase and xylanase activity of bulk soil and particle-size fractions during maize straw decomposition. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31: 9-18
- [13] Christensen BT. Physical separation of soil and organic matter in primary particle-size and density separates. *Adv. Soil Sci.*, 1992, 20: 1-90
- [14] Nubel U, Engelen B, Felske A, Snaidr J, Wieshuber A, Amann RI, Ludwig W, Backhaus H. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. *J. Bacteriol.*, 1996, 178: 5 636-5 643
- [15] Zhang PJ, Zheng JF, Pan GX. Changes in microbial community structure and function within particle size fractions of a paddy soil under long-term different fertilization treatments from the Tai Lake region, China. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 2007, 58: 264-270
- [16] Meidute S, Demoling F, Baath E. Antagonistic and synergistic effects of fungal and bacterial growth in soil after adding different carbon and nitrogen sources. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 9: 2 334-2 343
- [17] Eichner CA, Erb RW, Timmis KN, Wagner-Döbler I. Thermal gradient gel electrophoresis analysis of bioprotection from pollutants and shocks in the activated sludge microbial community. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1999, 65: 102-109
- [18] David BH, Aaron P, John RS, Sarah JM, Julia B, David CW, Aaron P, John R. Measuring soil microbial community diversity using polar lipid fatty acid and denaturing gradient gel electrophoresis data. *Journal of Microbiological Methods*, 2000, 41: 235-248
- [19] 周萍, 潘根兴. 长期不同施肥对黄泥土水稳性团聚体颗粒态有机碳的影响. *土壤通报*, 2007, 38(2): 256-261
- [20] 张平究. 不同生态条件下土壤微生物生物化学和分子生态变化及其土壤质量指示意义(博士学位论文). 南京: 南京农业大学, 2006
- [21] Kandeler E, Stemmer M, Klimanek EM. Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fractions to long-term soil management. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31: 261-273
- [22] Kandeler E, Marschner P, Tscherko D, Gahoonia TS, Nielsen NE. Microbial community composition and functional diversity in the rhizosphere of maize. *Plant and Soil*, 2002, 238: 301-312
- [23] Kiem R, Knicker H, Kögel-Knabner I. Refractory organic carbon in particle-size fractions of arable soils I: distribution of refractory

- between the size fractions. *Organic Geochemistry*, 2002, 33: 1 683–1 697
- [24] Chen JS, Chui CY. Characterization of soil organic matter in different particle-size fraction in humid subalpine soils by CP/MAS ^{13}C NMR. *Geoderma*, 2003, 117: 129–141
- [25] Katell Q, Sylvie D, Claude L, Cornélia R, André M. Variation in lipid relative abundance and composition among different particle size fractions of a forest soil. *Organic Geochemistry*, 2004, 35(11/12): 1 355–1 370
- [26] Oades JM. Soil organic matter and structural stability: Mechanisms and implications for management. *Plant Soil*, 1984, 76: 319–337
- [27] Postma J, van Veen JA. Habitable pore space and survival of rhizobium leguminosarum biovar trifolii introduced into soil. *Microbial Ecology* 1990, 19: 149–156

Influences of Long-term Fertilization on Bacteria and Fungi Community Structures in Different Aggregate-size Aggregates of Paddy Soil in Taihu Lake Region of China

WANG Dan, LI Lian-qing, LIU Yong-zhuo, PAN Gen-xing

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

Abstract: Taking a long-term fertilized paddy soil in Taihu Lake region as research object and continuously rice-rape rotation has been conducted. The microbial community structures and diversity in < 2 , 2-20, 20-200, and 200-2 000 μm aggregates under no fertilization (NF), chemical fertilization (CF), chemical fertilization plus straw return (CFS) were investigated through by PCR-DGGE analyze. The results showed that fertilization, chemical fertilization plus straw return, affected the bacteria and fungi community structures in 2 000-200 μm and 200-20 μm aggregates more than chemical fertilization only, which suggested the high sensitivity of microbial community structure changes in the larger aggregates. There were significant difference of microbial community structure diversity in different aggregates, the diversities in 2 000-200 μm and < 2 μm aggregates were higher for bacteria and higher in larger aggregates for fungi. The variance caused by different aggregates was more than different fertilization.

Key words: Aggregates, Fertilization, PCR-DGGE, Microbial community structure, Community diversity