

等碳投入的有机肥和生物炭对红壤微生物多样性和土壤呼吸的影响^①

陈利军^{1,2}, 孙波^{1*}, 金辰¹, 蒋瑀霁¹, 陈玲¹

(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 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要:施用有机肥是快速培育瘠薄土壤的一个重要措施。针对中亚热带第四纪红黏土发育的红壤旱地, 建立了玉米和花生单作系统等碳量投入有机肥和生物炭的田间试验, 利用聚合酶链式反应—变性梯度凝胶电泳(polymerase chain reaction-denaturing gradient gel electrophoresis, PCR-DGGE)方法研究了土壤细菌和真菌群落组成和多样性的变化, 分析了土壤呼吸速率(CO₂ 通量)的变化及其与微生物多样性的关系。两年的试验表明, 不同施肥方式导致微生物群落结构显著分异, 施用有机肥和生物炭显著增加了细菌多样性, 但施肥第二年真菌多样性有下降趋势。秸秆和猪粪配施显著增加了土壤呼吸速率, 土壤呼吸速率与细菌和真菌多样性呈显著正相关, 细菌多样性对土壤呼吸的影响(相对贡献率为 71%)显著高于真菌(29%)。土壤磷素(全磷和速效磷)含量的变化是驱动红壤微生物多样性变化的主导因素, 其对细菌和真菌多样性的相对贡献率分别为 44.8% 和 47.4%。因此, 合理配施秸秆和猪粪可以快速提高瘠薄红壤的生物功能。

关键词:红壤; 有机肥; 生物炭; 微生物多样性; 变性梯度凝胶电泳; CO₂ 通量

中图分类号: S158.9; S154.31

土壤微生物群落组成(数量、结构、多样性)影响了土壤养分循环^[1], 同时响应并反馈全球气候变化, 对于维持农田生产力与保护环境有着重要意义^[2]。农田施肥管理通过影响土壤环境条件改变微生物群落的结构和功能。在黏质壤土(饱和始成土)长期(50年)施用硫酸铵显著降低土壤 pH, 并导致微生物多样性和活性下降^[3]。长期施用磷肥或氮肥促进了旱地红壤中可培养细菌和真菌的生长^[4], 但施氮降低了粉质黏壤中的脲酶活性^[5]。施用有机肥在短期尺度促进微生物生长, 在长期尺度上维持微生物的多样性和功能^[6-7]。长期施用有机肥显著增加了粉质壤土中的细菌群落结构的均匀性^[8], 提高了旱地红壤氮转化细菌的数量^[9-10]。但施用有机肥对土壤真菌的影响不尽相同, 在旱地中可以提高真菌数量^[10], 而在水田中可以减少真菌数量^[11]。因此, 需要基于不同有机肥的性质, 研究不同施用量和不同配比下有机肥影响土壤微生物演变的机制。

施用秸秆及其衍生产品(如生物炭)可以提高土

壤微生物多样性。施用生物炭影响了土壤物理(体积质量、含水量、孔隙度等)和化学性质(pH、阳离子交换量等), 从而显著影响了真菌、细菌和古细菌种群组成和多样性^[12-14], 导致土壤微生物活性(如碳代谢速率)提高^[15]。但目前对于土壤微生物群落结构与功能之间的相关性机制仍然缺乏了解。

在不同的气候、土壤和作物条件下, 不同有机肥及其施用方式对土壤微生物群落结构和功能的效应有所分异, 因此需要针对不同区域条件提出培育土壤生物功能的合理措施。我国南方红壤区中低产田比例高(占 45%), 红壤旱地养分贫瘠, 土壤生物功能退化, 亟需建立瘠薄红壤地力快速提升的施肥措施^[16]。本文针对第四纪红黏土母质发育的红壤, 设置相同有机碳投入水平的施肥试验, 比较不同有机肥提升土壤微生物功能的作用, 重点研究: 等碳量施肥水平下土壤微生物群落结构和多样性变化; 施肥措施和土壤性质对微生物影响的相对作用; 土壤微生物群落结构变化与土壤生物功能(CO₂ 通量)之间的关系。

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项(XDB15030200), 国家重点基础研究发展规划项目(2014CB441003)和江西省科技支撑计划项目(20132BBF60078)资助。

* 通讯作者(bsun@issas.ac.cn)

作者简介: 陈利军(1988—), 男, 湖南衡阳人, 硕士研究生, 主要从事土壤生态学研究。E-mail: ljchen@issas.ac.cn

1 材料与方 法

1.1 试验区概况

田间试验设置在江西省鹰潭市中国科学院红壤生态实验站(116°55'E, 28°13'N), 试验区属中亚热带季风气候, 年均温 17.8℃, 年均降水量 1 795 mm。

2010 年建立田间试验, 施肥处理小区面积为 100 m²(5 m×20 m)。试验用土壤为第四纪红黏土发育的红壤(黏化湿润富铁土), 原始植被为稀疏马尾松林。红壤养分和有机质含量低, 强酸性, 阳离子交换量低。试验前表层土壤(0~20 cm)基本性质为: 有机碳 2.52 g/kg, 全氮 0.40 g/kg, 全磷 0.23 g/kg, 全钾 11.95 g/kg, 碱解氮 38.30 mg/kg, 速效磷 0.76 mg/kg, 速效钾 47.58 mg/kg, 缓效钾 135.38 mg/kg, 阳离子交换量(CEC) 12.12 cmol/kg, pH 4.73。

1.2 试验处理

分别采取 6 种施肥处理: 空白(Ref), 不施肥, 不种作物; 对照(CK): 不施肥, 种植作物; 单施化肥(N): 施 NPK 化肥; 秸秆还田(NS): 施 NPK 化肥, 秸秆还田; 秸秆-猪粪配施(NSM): 施 NPK 化肥, 秸秆: 猪粪按 9: 1 的碳投入比配施; 秸秆生物炭(NB): 施 NPK 化肥和生物炭。试验设置单作玉米和单作花生 2 个种植系统。每处理 3 次重复, 采用随机区组排列。

在花生和玉米系统中分别采用水稻和玉米秸秆及其制备的生物炭, 生物炭利用风干秸秆在生物炭炉中厌氧燃烧制备^[17]。不同作物系统的有机肥处理(NS、NSM、NB)中碳输入量均为 1 000 kg/hm²。除了空白(Ref)和对照(CK)处理为, 其他施肥处理中化肥施用量均为: 尿素(N 150 kg/hm²)、钙镁磷肥(P₂O₅ 75 kg/hm²)、氯化钾(K₂O 60 kg/hm²), 所有肥料作基肥于播种前一次施入。

1.3 样品采集和分析方法

试验开始后于作物抽雄期采集土壤样品, 各小区按 S 型采集 8 个样点的表层(0~20 cm)土壤样品, 混合均匀后用四分法取 600 g 土样, 一部分风干后用于测定土壤理化性质, 一部分鲜样于 -80℃ 冰箱保存, 用于测定微生物群落组成。

土壤全氮采用重铬酸钾-硫酸消化法测定, 全磷采用高氯酸-硫酸酸溶-钼锑抗比色法测定, 全钾采用原子吸收分光光度法测定, 速效磷采用碳酸氢钠法测定, 速效钾采用原子吸收分光光度法测定, 有机质采用重铬酸钾法测定, pH 采用电位测定法测定^[18]。

土壤 CO₂ 通量用 Li-6400(LI-COR Inc. USA)土壤呼吸室测定, 监测频率为每年 4—10 月, 每月 2 次(月

中、月末)。

土壤微生物群落组成利用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)方法测定^[19], 土壤细菌、真菌 PCR-DGGE 反应体系见表 1。DGGE 指纹图谱采用美国 Bio-rad 成像系统进行成像, 采用 Quantity one 和 Image lab 进行泳道和条带定量分析。

表 1 细菌、真菌 PCR-DGGE 反应体系及引物序列
Table 1 Primer sequences and the PCR-DGGE systems of bacteria and fungi

试验体系	试验条件	细菌	真菌
PCR 体系	引物 1 (20 pmol/μl)	1μl(GC-338F)	1μl(GC-NS1)
	引物 2 (20 pmol/μl)	1μl(534R)	1μl(Fung)
	4×dNTP (2.5 mmol/l)	1μl	1μl
	Taq 酶(5 U/μl)	0.5μl	0.5μl
	10×Buffer	5μl	5μl
	ddH ₂ O	37.5μl	37.5μl
	土壤总 DNA	1μl	1μl
	Mg ²⁺ (25 mmol/l)	3μl	3μl
	总体积	50μl	50μl
	PCR 条件	预变性	94℃ 10min
循环		[94℃30s, 52℃30s, 72℃45s]30 次循环	[94℃30s, 52℃30s, 68℃45s]30 次循环
延伸		72℃ 10min	68℃ 10min
退火		4℃ 10min	4℃ 10min
DGGE		浓度梯度 电泳条件 染色剂 染色时间	40%~75% 250V 10min~ 70V 16h Gel Red 1h

注: 引物序列 GC-338F: 5'-ACTCTACTCGGGAGGCAG-CAG-3', 534R: 5'-ATTACCGCGGCTGCTGGC-3'; GC-NS1: 5'-GTAGTCAIATGCTTGTCTC-3', Fung: 5'-ATTCCCCGTTACCCGT-TG-3'; GC 发夹结构 5'-CGCCCCGCCGCGCGGGCGGGGC-GGGGGCACGGGGGC-3'。

1.4 数据分析方法

微生物多样性用 Simpson 指数(D)和 Shannon-wiener (H') 指数计算:

$$D = 1 - \sum P_i^2 \quad (1)$$

$$H' = -\sum P_i \ln P_i \quad (2)$$

式中: P_i = 某一条带亮度值/所有条带亮度值总和。

数据差异显著性分析用方差分析法(ANOVA)和 Tukey 法($P < 0.05$); 相关分析采用皮尔逊相关系数法; 微生物群落多样性采用 R 语言 Vegan 生态学函数包进行统计分析; 主成分分析(PCA)和蒙特卡罗检验采用 CONOCO 4.5 for windows 分析。

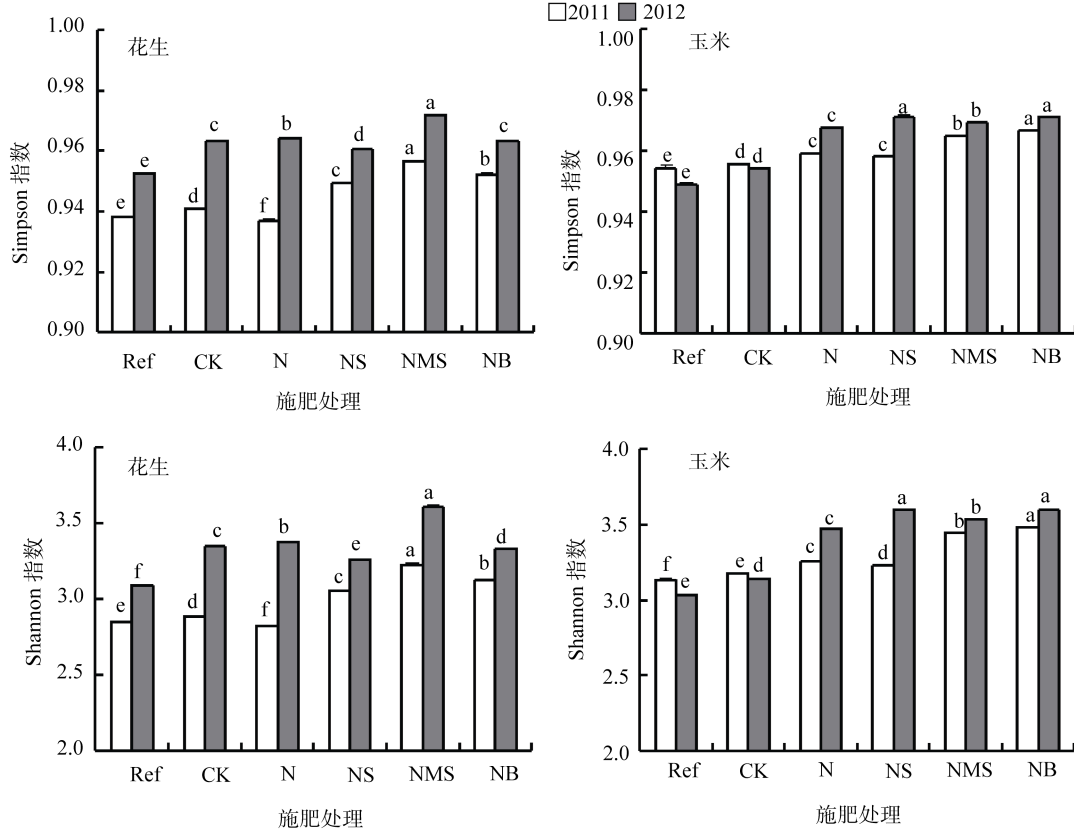
2 结果与分析

2.1 施肥对土壤细菌多样性与群落结构的影响

根据变性凝胶电泳(DGGE)图谱条带迁移位置及

平均光密度(average peak)计算多样性,结果表明(图 1),玉米和花生系统中有机无机配施处理(NS、NSM 和 NB)的细菌多样性指数较高,细菌多样性随施肥年限增加均呈增加趋势。花生系统中随着种植年限增加,不施肥和只施用化肥处理(N、Ref 和 CK)中细菌

多样性上升较快,不同施肥处理下细菌多样性的变化顺序为: NSM > N > CK > NB > NS > Ref。玉米系统中,施用化肥或者有机肥均增加了细菌的多样性指数,施肥两年后不同有机肥和黑炭处理间微生物多样性差异不大。



(图中小写字母不同表示同一年份不同施肥处理间差异达显著水平($P < 0.05$),下同)

图 1 不同施肥处理下花生和玉米系统中土壤细菌多样性的变化

Fig. 1 Changes of soil bacterial diversities under different fertilization treatments in peanut and maize systems

对 2 个作物系统中微生物组成的主成分分析(PCA)表明,与空白(Ref)处理相比,其他施肥处理均显著改变了土壤细菌群落组成;其中不施肥(CK)和只施化肥(N)处理的细菌群落结构相似,而等碳投入的有机肥和生物炭处理(NS、NSM 和 NB)中细菌群落结构变化均相似(图 2)。

2.2 施肥对土壤真菌多样性与群落结构的影响

作物和施肥均影响了土壤真菌的多样性(图 3)。花生系统中施化肥处理(N)的真菌多样性较高,而玉米系统中配施化肥和秸秆处理(NS)的真菌多样性较高。施用化肥和有机肥、生物炭的第二年真菌多样性大多有下降趋势,这与细菌多样性的变化不同;在玉米系统中施用化肥第二年有增加趋势,而在花生系统中施用生物炭基本不变。土壤真菌比细菌更适应酸性条件,这可能是二者在施用有机和无机肥后变化趋势不同的原因。

PCA 分析表明(图 4),玉米和花生系统中空白(Ref)和对照(CK)的真菌群落结构相似,且随种植年限增加更趋接近(以 X 轴和 Y 轴投影的距离衡量)。生物炭处理(NB)中真菌群落结构在施肥第一年与 Ref 和 CK 相似,但在施肥第二年产生显著分异,并和有机-无机肥配施处理(NS、NSM)聚集。而单施化肥(N)两年后真菌群落结构与其他施肥处理产生显著差异,这与真菌多样性的变化过程相对应。

2.3 微生物群落结构及多样性的影响因子

利用蒙特卡罗检验及皮尔逊相关系数法分析表明(表 2),土壤有机碳(SOC)和速效养分(速效磷 AP、速效钾 AK)与细菌和真菌群落结构变化显著相关。土壤 C/N 与细菌和真菌的群落结构显著相关,在玉米和花生系统中分别与真菌和细菌多样性相关。土壤 pH 与细菌群落结构显著相关,但与真菌群落结构相关不显著,而且与细菌和真菌的 Shannon 指数相关均不显著。

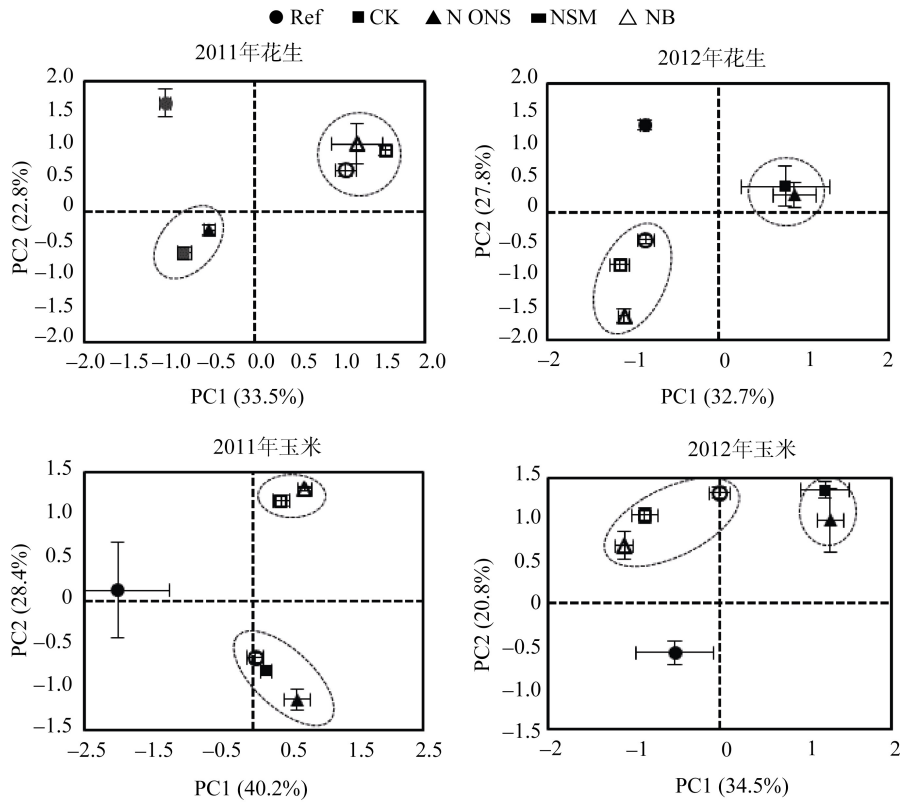


图 2 花生和玉米种植系统土壤细菌微生物群落组成的主成分分析(PCA)

Fig. 2 Principal component analysis of soil bacterial community composition in peanut and maize systems

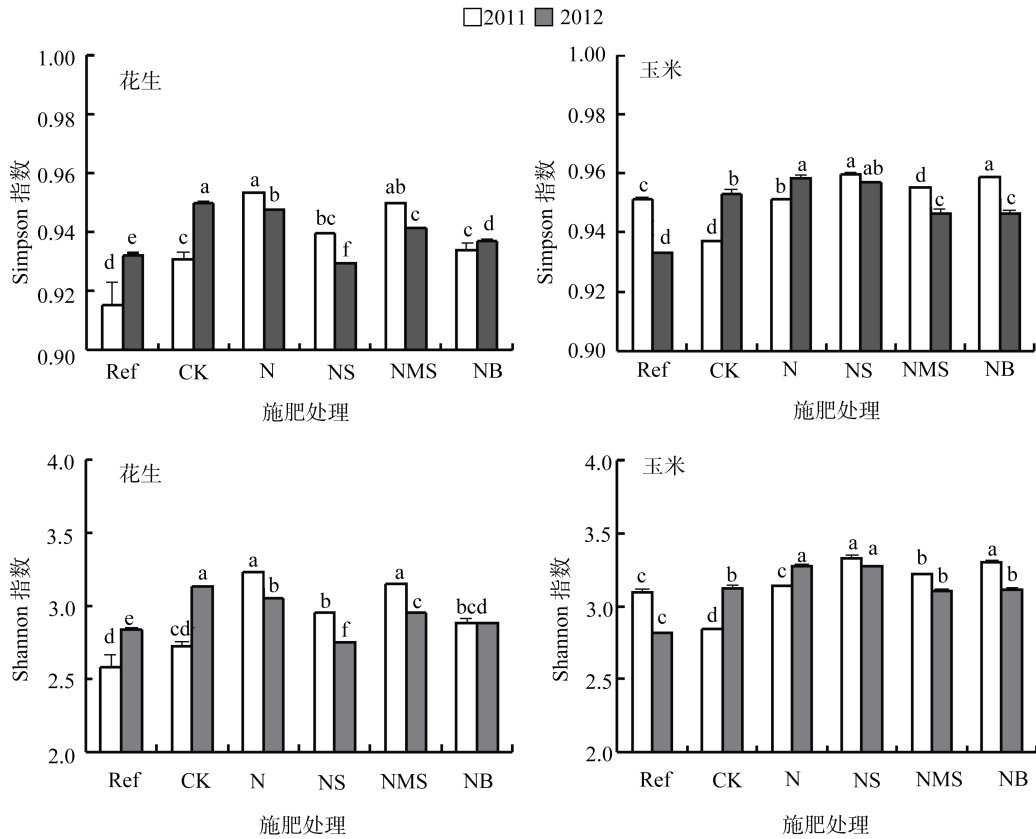


图 3 不同施肥处理下花生和玉米系统中土壤真菌多样性的变化

Fig. 3 Changes of soil fungi diversities under different fertilization treatments in peanut and maize systems

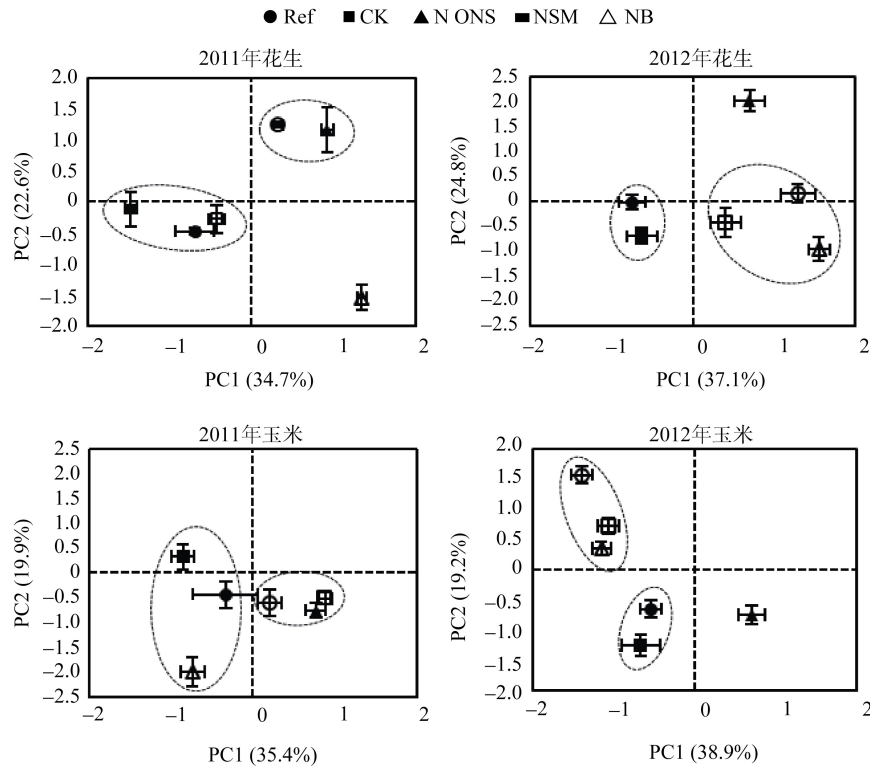


图 4 花生和玉米种植系统土壤真菌微生物群落主成分分析(PCA)

Fig. 4 Principal component analysis of soil fungal microbial community in peanut and maize systems

表 2 微生物群落结构及多样性与土壤养分含量之间的相关性

Table 2 Correlation between soil nutrient contents and diversities and structures of soil microbial communities

土壤因子	花生系统				玉米系统			
	细菌	细菌	真菌	真菌	细菌	细菌	真菌	真菌
	群落结构	Shannon 指数	群落结构	Shannon 指数	群落结构	Shannon 指数	群落结构	Shannon 指数
TN	0.39**	0.31	0.13*	0.40*	0.49**	0.58**	0.14*	0.35
TP	0.12*	0.39*	0.12*	-0.04	0.26*	0.63**	0.15*	0.24
TK	0.24**	0.7**	-0.02	-0.04	0.12*	0.23*	0.21	0.15
AP	0.47**	0.72**	0.16*	0.22	0.51**	0.65**	0.25**	0.29*
AK	0.45**	0.62**	0.36**	0.10	0.39**	0.78**	0.25**	0.41*
SOC	0.33**	0.69**	0.17*	0.07	0.49**	0.71**	0.12**	0.15
C/N	0.41**	0.12	0.17*	-0.42*	0.39**	-0.34*	0.16**	-0.28
pH	0.17*	0.21	-0.13	0.17	0.26	0.40	-0.03	0.35

注：群落结构采用蒙特卡罗检验，相关分析采用皮尔逊相关系数法，*表示相关性达到 $P<0.05$ 显著水平，** 表示相关性达到 $P<0.01$ 显著水平， $n = 36$ 。

聚合推进树(ABT)对不同因子相对影响的分析表明(图 5)，土壤磷素(全磷 TP 和速效磷 AP)对细菌和真菌多样性变化的贡献最大，其相对贡献率分别为 44.8% 和 47.4%。土壤速效钾(AK)和全氮(TN)对细菌多样性的贡献率较大，而土壤 pH 的贡献率最小。土壤 TN 和 pH 对真菌群落多样性的贡献率较大，土壤 AK 的贡献率最小。总体上，土壤磷素含量是微生物多样性变化的驱动因子。

2.4 土壤微生物多样性对土壤呼吸速率的影响

对作物生长旺盛期的土壤呼吸速率监测发现(表 3)，与 CK 处理相比，施肥显著提升土壤呼吸速率，其中秸秆猪粪配施(NSM)处理的增幅最大，单施

化肥处理的增幅较小，不同施肥处理下土壤呼吸速率的变化顺序为：NSM>NB>NS>N>CK>Ref。随着施肥年限增加，化肥以及与有机肥配施处理(N、NS 和 NSM)中土壤呼吸速率提高；但在花生系统中施用生物炭处理的土壤呼吸速率没有显著增加。

在玉米和花生系统中，对两年不同施肥处理下土壤呼吸速率与土壤微生物多样性的相关分析表明，土壤呼吸速率与土壤细菌和真菌的多样性指数大多呈多项式相关关系，在玉米系统中土壤呼吸速率与真菌多样性相关性略低于花生系统(表 4)。ABT 分析表明真菌多样性对土壤呼吸的贡献率只占 29%，而细菌多样性的贡献率则高达 71%。

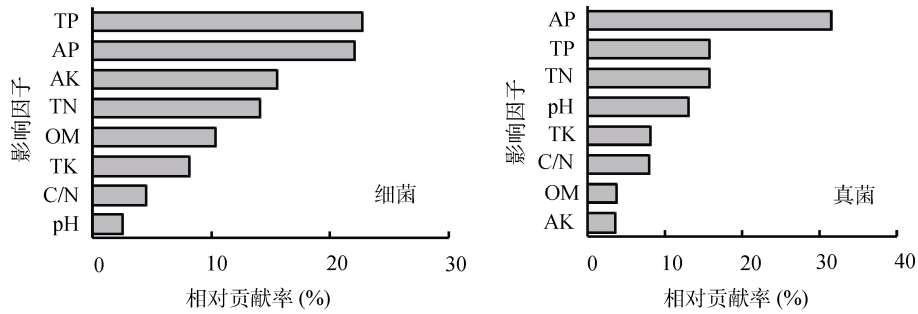


图 5 环境因子对微生物多样性影响的聚合推进树分析

Fig. 5 Impact of environmental factors on microbial diversity by aggregated boosted tree (ABT) analysis

表 3 不同施肥处理下花生和玉米系统中生长旺盛期土壤呼吸速率的变化(μmol/(s·m²))

Table 3 Changes of soil respiration rate during tasseling stage in peanut and maize systems under different fertilization treatments

施肥处理	花生系统		施肥处理	玉米系统	
	2011 年	2012 年		2011 年	2012 年
Ref	0.41 ± 0.01 eB	0.96 ± 0.10 eA	Ref	0.41 ± 0.01 dB	0.96 ± 0.10 eA
CK	1.45 ± 0.04 dB	1.54 ± 0.03 dB	CK	1.13 ± 0.02 cB	1.27 ± 0.01 dA
N	1.76 ± 0.06 cB	2.30 ± 0.16 cA	N	1.24 ± 0.07 bB	1.56 ± 0.05 cA
NS	1.68 ± 0.03 cB	2.29 ± 0.16 cA	NS	1.26 ± 0.02 bB	1.72 ± 0.09 bcA
NSM	3.51 ± 0.02 aB	3.85 ± 0.12 aA	NSM	2.10 ± 0.03 aB	2.61 ± 0.15 aA
NB	2.49 ± 0.05 bB	2.58 ± 0.12 bB	NB	1.31 ± 0.03 bB	1.88 ± 0.06 bA

注：表中数据为平均值 ± 标准差(n = 3)，表中小写字母不同表示相同年度不同施肥处理间的差异达 P<0.05 显著水平；大写字母不同表示同一处理不同年度间差异达 P<0.05 显著水平。

表 4 花生和玉米系统中土壤呼吸速率与土壤微生物多样性指数的相关性(n = 36)

Table 4 Relationship between soil respiration rate and soil microbial diversity index in peanut and maize cropping systems

多样性指数	花生系统	玉米系统
细菌 Simpson 指数	$y = -0.002x^2 + 0.018x + 0.930, R^2=0.334, P<0.01$	$y = -0.004x^2 + 0.023x + 0.937, R^2=0.594, P<0.01$
细菌 Shannon 指数	$y = -0.063x^2 + 0.404x + 2.650, R^2=0.331, P<0.01$	$y = -0.113x^2 + 0.629x + 2.691, R^2=0.624, P<0.01$
真菌 Simpson 指数	$y = -0.005x^2 + 0.030x + 0.906, R^2=0.421, P<0.01$	$y = 0.004x + 0.943, R^2=0.109, P<0.05$
真菌 Shannon 指数	$y = -0.084x^2 + 0.435x + 2.460, R^2=0.306, P<0.01$	$y = -0.018x^2 + 0.181x + 2.909, R^2=0.210, P<0.01$

3 讨论

3.1 土壤可利用碳源和磷素含量对微生物多样性和组成的影响

施肥引起的可利用碳源的变化是影响土壤细菌数量与群落结构的重要因素^[20-22]，长期施用有机肥可以改善土壤结构，为微生物生长提供了有利的生境，从而提高微生物多样性。红壤中施入有机肥，虽然可培养细菌菌落会减少，但细菌多样性增高^[23]；与化肥相比，长期秸秆还田可以显著增加红壤性水稻土中细菌的多样性^[24]。在本研究中，秸秆和猪粪配施(NSM)对于提升瘠薄红壤细菌多样性的效果最显著，这可能是与配施后土壤速效养分提高^[25]，有机物的 C/N 适宜细菌生长有关；而生物炭处理(NB)中有机

碳主要为惰性碳^[26]，秸秆处理(NS)中秸秆的 C/N 较高，其提供的易分解碳源较少，导致对细菌多样性的促进作用较秸秆和猪粪配施处理低。

在本研究中，施用秸秆、猪粪和生物炭的处理中(NS、NSM 和 NB)细菌群落结构相似，但与单施化肥有显著差异，这与吕迪等 在红壤旱地中的研究结果相似。在长期施用有机肥条件下，土壤细菌总量、革兰氏阴性细菌和自养细菌的丰富度显著高于化肥处理^[27]。施用化肥导致土壤 pH 低于施用有机肥的处理，而 pH 是影响细菌组成的重要因素，这是除了可利用碳源外导致细菌组成成分的一个原因^[28-29]。

一般认为适当配施有机和无机肥可以增加土壤真菌的生物量和多样性^[28]，但也有研究发现施用有机肥导致红壤旱地和水稻土真菌多样性下降^[22, 30]。

在本研究中发现施用有机肥处理第二年土壤真菌的多样性呈下降趋势(图 3),这可能与施肥后土壤养分和 pH 变化有关。在瘠薄红壤中施肥后,细菌和真菌存在竞争关系,细菌可能繁殖较快并抑制真菌的生长^[31],单施化肥导致土壤 pH 较低,而酸性条件更适合真菌生长,因此真菌的多样性有所增加^[32]。

在本研究中发现土壤中磷素对细菌和真菌多样性变化的贡献率最大(图 5),这可能与瘠薄红壤中磷素缺乏有关。一些研究发现红壤有效磷与反硝化细菌、好气性纤维素分解菌以及好气性自生固氮菌等均有显著相关性^[5]。土壤缺磷导致微生物多样性下降,施肥后磷素增加,同时改善了土壤 N/P,导致微生物多样性提高^[33]。因此改善红壤磷素供应是培育红壤生物地力的重要步骤。

3.2 土壤微生物多样性与功能的相关性

土壤呼吸速率是影响碳周转的重要因子,大量研究表明随有机质投入量的增加,土壤 CO₂ 排放量迅速提高^[34]。这是由于可溶性有机质增加,导致部分细菌种群(变形菌门、厚壁菌门等)结构变化从而刺激了土壤呼吸^[35]。在本研究中也发现,施用有机肥显著提高土壤呼吸速率(表 3),且大多高于单施化肥处理。

一般认为生物炭的孔隙可以保护细菌和真菌免受竞争者的影响,有利于土壤微生物生长^[32]。在本研究中,施用生物炭处理(NB)和秸秆猪粪配施处理(NSM)具有相似的微生物多样性指数和群落结构(图 1~4),但 NB 处理的呼吸速率显著低于 NSM 处理,这可能是由于生物炭以惰性碳源为主,并且投入碳量较低(1 000 kg/hm²),因此对微生物的促进作用不如秸秆和猪粪配施处理。但长期施用生物炭具有累积效应,因此需要在长时间尺度上研究施用生物炭对提高微生物多样性和功能的影响。

土壤呼吸随细菌多样性的增加往往不是线性关系^[35]。本文的相关分析也表明,土壤呼吸与细菌和真菌的多样性显著相关,但存在一个阈值平台(表 4)。ABT 分析结果表明,细菌多样性对土壤呼吸的贡献率约为真菌的 3 倍,这可能是因为红壤中细菌的数量远大于真菌所致^[36]。在不同的作物系统中,真菌对呼吸的作用不同,本文也发现玉米系统中土壤真菌对碳代谢的相关性较细菌弱,这可能与施肥后真菌减少有关。由于土壤微生物群落随耕作施肥而不断演替,因此需要开展长期试验,研究红壤细菌和真菌群落组成变化对红壤碳氮转化功能的长期影响,评价和识别对红壤生态功能恢复起主要作用的核心功能微生物,为红壤地力提升提供理论基础。

4 结论

本文利用田间试验研究了等碳投入水平下施用不同有机肥对土壤微生物结构和多样性的影响。两年的试验结果表明,与不施肥对照相比,施用化肥以及配施秸秆和猪粪(N、NS 和 NSM)均显著提升了细菌多样性,但真菌多样性增加不显著,而且在施肥第二年真菌多样性有下降趋势。施肥后土壤磷素养分的变化是驱动土壤细菌和真菌群落结构发生分异的主要因素。施用有机肥,特别是秸秆和猪粪配施能够显著提高土壤呼吸速率。土壤呼吸速率随细菌和真菌多样性的增加而提高,但细菌多样性对土壤呼吸速率的贡献率较大,约为真菌多样性贡献率的 3 倍。因此需要开展长期试验,研究不同施肥措施对红壤细菌和真菌群落结构和功能的长期影响,为提升红壤生物肥力提供施肥依据。

参考文献:

- [1] Falkowski PG, Fenchel T, Delong EF. The microbial engines that drive earth's biogeochemical cycles[J]. *Science*, 2008, 320 (5879): 1 034-1 039
- [2] Horz HP, Barbrook A, Field CB, Bohannan BJM. Ammonia-oxidizing bacteria respond to multifactorial global change[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(42): 1 5136-1 5141
- [3] Enwall K, Nyberg K, Bertilsson S, Cederlund H, Stenstrom J, Hallin S. Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, 39: 106-115
- [4] 文顺元, 王伯仁, 李冬初, 李本荣. 长期不同施肥对红壤微生物生长影响[J]. *中国农学通报*, 2010, 26(22): 206-209
- [5] Ajwa HA, Dell CJ, Rice CW. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31: 769-777
- [6] Deboz K, Rasmussen PH, Pedersen AR. Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: Effects of organic matter input[J]. *Applied Soil Ecology*, 1999, 13: 209-218
- [7] 罗希茜, 郝晓晖, 陈涛, 邓婵娟, 吴金水, 胡荣桂. 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
- [8] Sun HY, Deng SP, Raun WR. Bacterial community structure and diversity in a century-old manure-treated agroecosystem[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(10): 5 868-5 874
- [9] Ros M, Pascual JA, Garcia C, Hernandez MT, Insam H. Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with

- different composts[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(12): 3 443–3 452
- [10] Ndayeyamiye A, Cote D. Effect of long-term pig slurry and solid cattle manure application on soil chemical and biological properties[J]. *Canadian Journal of Soil Science*, 1989, 69 (1): 39–47
- [11] Nanda SK, Das PK, Behera B. Effects of continuous manuring on microbial population, ammonification and CO₂ evolution in a rice soil[J]. *Oryza*, 1998, 25(4): 413–416
- [12] O'Neill B, Grossman J, Tsai MT, Gomes JE, Lehmann J, Peterson J, Neves E, Theis JE. Bacterial community composition in Brazilian anthrosols and adjacent soils characterized using culturing and molecular identification[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 58: 23–35
- [13] Taketani RG, Tsai SM. The influence of different land uses on the structure of archaeal communities in Amazonian anthrosols based on 16S rRNA and amoA genes[J]. *Microbial Ecology*, 2010, 59: 734–743
- [14] Khodadad CLM, Zimmerman AR, Green SJ, Uthandi S, Foster JS. Taxa-specific changes in soil microbial community composition induced by pyrogenic carbon amendments[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43: 385–392
- [15] Jin H. Characterization of Microbial Life Colonizing Biochar and Biochar-amended Soils[D]. Ithaca: Cornell University, 2010
- [16] 孙波. 红壤退化阻控与生态修复[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 1–466
- [17] 徐仁扣, 袁金华, 王艳平. 一种对农作物秸秆及其他有机物料进行炭化处理的装置: 中国, ZL201020683459.3. [P]. 2011-09-07
- [18] 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, 2000
- [19] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2009
- [20] Kalbitz K, Solinger S, Park JH, Michalzik B, Matzner E. Controls on the dynamics of dissolved organic matter in soils: A review[J]. *Soil Science*, 2000, 164(4): 277–304
- [21] Zsolnay A. Dissolved organic matter: Artefacts, definitions, and functions[J]. *Geoderma*, 2003, 113: 187–209
- [22] Zak JC, Willig MR, Moorhead DL, Woldman HG. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26(9): 1 101–1 108
- [23] He JZ, Zheng Y, Chen CR, He YQ, Zhang LM. Microbial composition and diversity of an upland red soil under long-term fertilization treatments as revealed by culture-dependent and culture-independent approaches[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2008, 8: 349–358
- [24] 袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 童成立, 魏文学, 吴金水. 长期施肥对红壤性水稻土细菌群落结构和数量的影响[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(22): 4 610–4 617
- [25] 徐明岗, 于荣, 王伯仁. 长期不同施肥下红壤活性有机质与碳库管理指数变化[J]. *土壤学报*, 2006, 43(5): 723–729
- [26] Steiner CB, Glaser B, Teixeira WG, Lehmann J, Blum WEH, Zech W. Nitrogen retention and plant uptake on a highly weathered central Amazonian Ferralsol amended with compost and charcoal[J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2008, 171: 893–899
- [27] Zhong WH, Gu T, Wang W, Bin Zhang B, Lin XG, Huang QR, Shen WS. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity[J]. *Plant and Soil*, 2010, 326: 511–522
- [28] Fierer N, Jackson RB. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(3): 626–631
- [29] Nicol GW, Leininger S, Schleper C, Prosser JI. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 2 966–2 978
- [30] 卜洪震, 王丽宏, 尤金成, 肖小平, 杨光立, 胡跃高, 曾昭海. 长期施肥管理对红壤稻田土壤微生物量碳和微生物多样性的影响[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(16): 3 340–3 347
- [31] 乔洁, 毕利东, 张卫建, 沈仁芳, 张斌, 胡锋, 刘艳丽. 长期施用化肥对红壤性水稻土中微生物生物量、活性及群落结构的影响[J]. *土壤*, 2007, 39(5): 772–776
- [32] He JZ, Shen JP, Zhang LM, Zhu YG, Zheng YM, Xu MG, Di HJ. Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices [J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(9): 2 364–2 374
- [33] Liu Z, Fu B, Zheng X, Liu G. Plant biomass, soil water content and soil N : P ratio regulating soil microbial functional diversity in a temperate steppe: A regional scale study. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42: 445–450
- [34] 张蕾, 尹力初, 易亚男, 高德才, 付薇薇, 王泽浩. 改变施肥管理后不同肥力稻田土壤 CO₂ 的排放特征[J]. *生态学报*, 2015, 35(5): 1–15
- [35] Cleveland CC, Townsend AR. Nutrient additions to a tropical rain forest drive substantial soil carbon dioxide losses to the atmosphere[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103: 1 0316–1 0321
- [36] Ajwa HA, Tabatabai MA. Decomposition of different organic materials in soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1994, 18: 175–182
- [37] Bell T, Newman JA, Silverman BW, Turner SL, Lilley AK. The contribution of species richness and composition to bacterial services [J]. *Nature*, 2005, 436: 1 157–1 160
- [38] 袁超磊, 贺纪正, 沈菊培, 戴宇, 张丽梅. 一个红壤剖面微生物群落的焦磷酸测序法研究[J]. *土壤学报*, 2013, 50(1): 142–152

Effect of Organic Manure and Biochar with Equal Amount of Carbon Input on Microbial Diversity and Respiration of Red Soil

CHEN Li-jun^{1,2}, SUN Bo^{1*}, JIN Chen¹, JIANG Yu-ji¹, CHEN Ling¹

(1 *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China*; 2 *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049*)

Abstract: Improving the ecological functions of barren soils by organic manure is an important technology in soil fertility management. The effect of organic manure or biochar with equal carbon input was compared on soil microbial diversity and activity by using a field experiment in a red soil derived from Quaternary red clay in Subtropical China. Soil microbial diversity was measured by Polymerase Chain Reaction-Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (PCR-DGGE), than soil CO₂ flux was observed to analyze its relationship with soil microbial diversity. The two-year experimental results showed that manure application altered significantly soil microbial community composition by changing soil properties. Applying organic manure and biochar increased the bacterial diversity, but decreased the fungal diversity in the second year. Fertilization could raise soil CO₂ flux with the highest value under mixed application of organic manure and straw. Correlation analysis showed that soil respiration rate was significantly positively correlated to bacterial and fungal diversity, in which soil bacterial diversity played more contributions (71%) than fungal diversity (29%). Aggregated boosted tree (ABT) analysis showed that the relative contribution of soil phosphorus contents (total and available phosphorus content) to the variation of bacterial and fungal diversity were 44.8% and 47.4%, respectively, suggesting that different fertilization treatments influenced soil phosphorus supply and then drove the changes of microbial diversity. In total, mixed application of organic manure and straw can quickly improve red soil microbial diversity and functions.

Key words: Red soil; Organic manure; Biochar; Microbial diversity; PCR-DGGE; CO₂ flux