

贝加尔针茅草原土壤微生物功能多样性 对养分添加的响应

赵晓琛^{1,2,3}, 刘红梅^{1,3}, 皇甫超河^{1,3}, 王慧^{1,3}, 白龙², 王彩灵⁴, 杨殿林^{1,2,3*}

(1.农业部环境保护科研监测所, 天津 300191; 2.沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110866; 3.农业部产地环境质量重点实验室, 天津 300191; 4.呼伦贝尔市海拉尔区农业技术推广中心, 内蒙古 呼伦贝尔 021000)

摘要:为揭示养分添加对草原土壤微生物群落功能多样性的影响,采用 Biolog-Eco 技术,研究了在无养分添加对照(CK)和 7 种不同氮磷钾养分添加方式(单养分添加:N、P、K,不同组合添加:PK、NK、NP、NPK)下贝加尔针茅草原土壤微生物群落功能多样性变化。结果表明:(1)不同养分添加条件下土壤微生物群落单孔平均颜色变化率(Average Well Color Development)AWCD 值从高到低依次为 NP>P>NPK>NK>N>CK>K>PK。(2)含磷添加处理(PK 除外,NP、P、NPK)和含氮添加处理(N、NK)的丰富度指数 *H* 均显著高于 CK、K、PK,而均匀度指数 *E* 和优势度指数 *D* 在各处理间差异不显著。(3)主成分分析结果表明,CK、K、PK、NK 处理土壤微生物群落碳源利用方式相似,而 NP、P 和 N、NPK 分别具有不同的碳源利用方式。据此可知,NP、P、NPK、N 养分添加方式可以提高土壤微生物代谢活性、物种丰富度指数和微生物群落碳源利用能力,有利于土壤微生物群落功能多样性的提高。

关键词:贝加尔针茅草原;养分添加;土壤微生物功能多样性;Biolog-Eco

中图分类号:S154.3 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)10-1933-07 doi:10.11654/jaes.2014.10.009

Responses of Functional Diversity of Soil Microbial Communities to Nutrient Additions in *Stipa Baicalensis* Steppe in Inner Mongolia, China

ZHAO Xiao-chen^{1,2,3}, LIU Hong-mei^{1,3}, HUANGPU Chao-he^{1,3}, WANG Hui^{1,3}, BAI Long², WANG Cai-ling⁴, YANG Dian-lin^{1,2,3*}

(1.Environmental Protection and Monitoring Institute, Ministry of Agriculture, Tianjing 300191, China; 2.College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, China; 3.Key Laboratory of Original Agro-environment Quality of Ministry of Agriculture, Tianjin 300191, China; 4.Hailaer Agricultural Technology Promotion Center, Hulunbeier 021000, China)

Abstract: To reveal the influence of nutrient additions on functional diversity of soil microbial communities in grassland, Biolog-Eco technique was used to study the changes in microbial functional diversity in *Stipa Baicalensis* steppe under seven different N, P and K fertilizer treatments including single and combined additions of nutrient N, P, and K. The AWCD values of the soil microbial communities followed the order: NP>P>NPK>NK>N>CK>K>PK. The richness index of microbial communities in soil was significantly higher in NP, P, NPK, NK, and N treatments than in K and PK treatments. However, evenness index (*E*) and dominance index (*D*) of the soil microbial communities were not different among the seven treatments. Principal component analysis showed that microbial carbon utilization was similar in CK, K, PK and NK treatments, but different in NP, P and N, NPK treatments. These results implied that NP, P, NPK, and N can increase the metabolic activity of microorganism, the diversities and the carbon utilization ability of soil microbial community, which improves the soil microbial functional diversity.

Keywords: *Stipa Baicalensis* steppe; nutrient addition; soil microbial community; Biolog-Eco

作为草甸草原的代表类型之一,贝加尔针茅(*Stipa baicalensis*)草原是欧亚大陆草原区亚洲中部亚区的地带性植物群落^[1]。在我国主要分布在松辽平原、蒙

古高原东部的森林草原地带^[2]。作为呼伦贝尔地区的主要草地类型,其不仅是当地畜牧业生产的重要物质基础,而且是我国北方生态屏障的重要组成部分。由于自 20 世纪 80 年代以来高强度的利用和不完善的保护机制,贝加尔针茅草原已出现不同程度的退化,草原的恢复重建迫在眉睫。

在生态恢复实践中,随着对地下部分重要性认识的深入,土壤微生物在生态系统中的作用备受关注^[3-4]。

收稿日期:2014-04-02

基金项目:国家自然科学基金项目(31170435);“十二五”国家科技计划项目(2012BAD13B07);农业科技成果转化资金项目(2013GB23260579)

作者简介:赵晓琛(1989—),在读硕士,研究方向为草地生态恢复建设与保护研究。E-mail:zhxc925@163.com

* 通信作者:杨殿林 E-mail:yangdianlin@caas.cn

土壤微生物参与了有机质分解、腐殖质形成、养分转化与循环等过程,它们在保持土壤生产力方面发挥着至关重要的作用^[5]。土壤微生物是由众多微生物种群组成的群落系统,其群落结构和多样性能够敏感地反映生态功能和环境变化,是生态环境恢复的最先锋者^[6-7]。养分添加一直以来是一项影响深刻的农业措施之一,养分添加改变土壤的营养成分、理化性质,影响着土壤微生态系统,从而对草原的生态系统功能产生影响。因此研究不同养分添加方式对土壤微生物多样性的影响,揭示土壤微生物对养分添加的响应关系,为草地的合理利用、生物多样性保护和退化草地恢复提供理论依据。

Biolog-Eco 微孔板分析法是一种基于碳源利用的简便快速的分析方法,Biolog-Eco 微平板共有 31 种碳源,通过微孔中四唑紫染料(MTT)显色反应来反映微生物代谢作用^[8],其单孔颜色变化率(AWCD)描述了土壤微生物群落利用碳源的能力和代谢活性的大小^[9]。它已经成为研究微生物群落功能多样性的常规方法之一。孔滨等运用 Biolog-Eco 分析方法研究了黑土中微生物群落代谢特征对 N、P、K 肥的响应,发现施用 N、P、K 肥均提高了黑土中细菌群落的碳源代谢活性^[10];齐莎等研究了内蒙古典型草原在连续 5 年氮磷肥施用下土壤微生物的变化,发现高氮(N₂₈₀)和高磷(P₇₅)处理一方面显著降低了土壤微生物利用碳源的能力以及微生物功能多样性,另一方面也改变了土壤微生物利用碳功能群结构^[11];Sarathchandra 等研究了草地土壤微生物对 N、P 肥添加的响应,表明氮养分添加提高了土壤微生物功能多样性,而磷肥无显著影响^[12]。

国内外关于养分添加对土壤微生物功能影响的研究也已经有了较多报道,但是并没有一个相对统一的结论,况且由于土壤类型、地理环境等因素的不同,提出的结论也会有所不同,而且针对贝加尔针茅草原不同养分添加下土壤微生物群落功能方面的研究较少。本试验通过运用 Biolog-Eco 技术,对贝加尔针茅草原样地不同养分添加方式下土壤微生物群落功能多样性变化进行分析,以期探寻草地生态系统养分添加的最优策略,为贝加尔针茅草原的生态恢复和保护提供一定的理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地为农业部环境保护科研监测所生态农业

研究室长期试验用地,具体概况在本研究室已发表的文献著作中有详细描述,具体见参考文献[2]。

1.2 试验设计与样品采集

试验设对照(CK)和 7 种不同氮磷钾养分添加方式(N、P、K 单养分添加方式,PK、NK、NP、NPK 不同组合添加方式)8 个处理,将试验地划分成 6 个区组,每个区组内有 8 个小区,按照随机数字表随机法确定每个小区的处理。小区面积 8 m×8 m=64 m²,区组、小区间分别设 5 m 和 2 m 隔离带。肥料于 2010 年开始每年 6 月 15 日、7 月 15 日两次施入,每次施肥 50%处理水平。氮磷钾肥分别为硝酸铵 NH₄NO₃、重过磷酸钙 Ca(H₂PO₄)₂·H₂O、硫酸钾 K₂SO₄,N、P、K 施肥时均匀手撒,施肥量均为 10 g·m⁻²;Ca、Mg、Fe、Mn、Zn、Cu、B、Mo 施肥量分别为 6、3、17、2.5、1、1、0.1、0.1 g·m⁻²,微肥配成溶剂喷施,每个小区需水约 13 L(全年增加的水量相当于新增降水 1.6 mm),对照样地和不施加微肥的样地要喷施同样水量。微肥与 K 肥同时添加,N 肥和 P 肥处理中不添加。

土壤样品在 2013 年 8 月进行采集,按照“随机”、“等量”和“多点混合”的原则,在各个处理小区内按照“S”型取样法选取 6 个点,去除表面植被,取 0~20 cm 土壤混匀过筛,去除根系和土壤入侵物,采用“四分法”选取 1 kg 土壤装入无菌封口袋,冰盒冷藏迅速运至实验室并将其分成两份。一份于冰箱中 -20 ℃低温保存,用于土壤微生物功能多样性分析;另一份于室内自然风干后研磨过筛,用作土壤理化性状分析。

1.3 土壤理化性状测定

土壤有机质测定采用重铬酸钾容量法,土壤全氮、硝态氮、铵态氮均采用总有机碳/总氮分析仪测定,全磷、速效磷分别采用硫酸-高氯酸消煮法、碳酸氢钠法测定^[13]。

1.4 Biolog 测定

测定主要基于 Garland 和 Mills^[14]的方法,略有改动。称取 10 g 鲜土于高压灭菌的三角瓶中,之后再向瓶中加入 90 mL 0.85% 无菌 NaCl 溶液,封口膜封口后放入振荡器,以 250 r·min⁻¹ 转速振荡 30 min。取出后静置 10 min,吸取上清液 5 mL 于新三角瓶(高压灭菌)中,加 45 mL 无菌 NaCl 溶液稀释至 10⁻²,重复稀释至 10⁻³。取 150 μL 10⁻³ 倍稀释液于 Biolog-E_{co} 微平板孔中。之后将其置于 28 ℃恒温箱中黑暗培养,每隔 24 h 在 Biolog 微孔板读数仪(BIOLOGInc.,USA)上读取数值并记录,持续进行 7 d。

1.5 数据分析

采用 Garland 和 Mills^[14]的方法计算单孔平均颜色变化率: $AWCD = \sum (C_{590} - C_{750}) / 31$

Shannon-Wiener 物种丰富度指数: $H' = -\sum P_i \times \ln P_i$

Shannon-Wiener 均匀度指数: $E = H' / H'_{\max} = H' / \ln S$

Simpson 优势度指数: $D = 1 - \sum P_i^2$

式中: C_{590} 为单孔在 590 nm 下光密度值; C_{750} 为单孔在 750 nm 下光密度值; 31 为 Biolog-Eco 微平板上供试碳源的种类数; P_i 为第 i 孔的相对吸光值与整个平板相对吸光值总和的比值; S 为颜色变化孔数。

试验结果的主成分分析和相关分析采用 SPSS 16.0 软件进行。

2 结果与分析

2.1 不同养分添加方式下土壤理化性质变化

不同养分添加方式下土壤理化性质变化如表 1。结果显示, K、P、NK、NP、NPK 处理的土壤 pH 较 CK 无显著差异, 而 PK、N 处理显著低于 CK。有机质含量 P 处理最高, NP、NPK 处理最低, 其余处理与 CK 比较差异不显著。硝态氮 NK 处理最高, N、NP 处理与 CK 无显著差异, 其余处理显著低于 CK, 且 P、PK 处理最低。铵态氮 N 处理最高, P、NK、NPK 较 CK 无显著差异, 且 PK 处理最低。全磷 P 处理最高, NP、PK、NPK 处理次之, 其余处理间差异不显著。速效磷 NP、P、NPK 处理最高, PK 次之, 其余处理与 CK 相比差异不显著。

2.2 不同养分添加方式下单孔平均颜色变化率的动态特征

培养开始后, 每隔 24 h 测定各处理 AWCD 值, 绘制其随时间变化的动态图如图 1。培养 24 h 之前 AWCD 值几乎为零, 而 24 h 后随着培养时间的延长,

AWCD 值快速升高, 说明 24 h 后碳源被迅速利用。不同养分添加方式的 AWCD 值增长速率各不相同, 说明各处理间微生物对碳源的利用能力有较大差异, 微生物代谢活性方面有很大差异。

不同养分添加方式下土壤微生物群落利用单一碳源能力的顺序从高到低依次为 $NP > P > NPK > NK > N > CK > K > PK$ 。含有 P 的处理 NP、P、NPK 和含有 N 的处理 NK、N 的 AWCD 值与 CK 相比有较大提高, 而处理 K、PK 的 AWCD 值较 CK 偏低。这说明含有 P 的处理 NP、P、NPK 和含有 N 的处理 NK、N 与 CK 相比, 微生物群落代谢较快, 活性较强; 处理 K、PK 的代谢相对较慢, 活性相对较弱。

2.3 不同养分添加方式下土壤微生物群落功能多样性指数

贝加尔针茅草原在不同养分添加方式下, 土壤微生物群落物种丰富度指数 H' 、均匀度指数 E 和优势度指数 D 如表 2 所示。结果表明, 微生物群落功能多样性指数对不同养分添加方式的响应不同, 群落功能多样性发生了变化。含有 P 的处理 NP、P、NPK 和含有 N 的处理 NK、N 的丰富度指数 H' 均显著高于 CK、

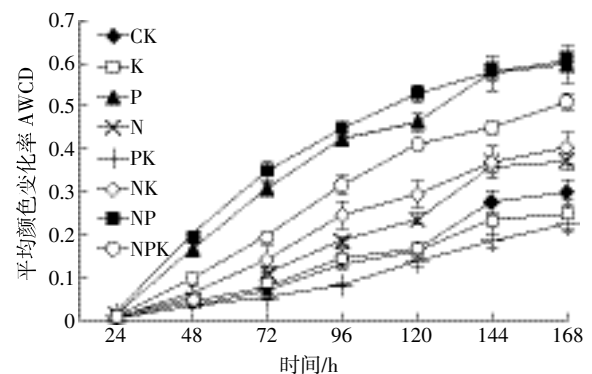


图 1 土壤微生物群落 AWCD 随时间的动态变化

Figure 1 AWCD dynamics over incubation time

表 1 不同养分添加方式下土壤化学性质变化

Table 1 Soil chemical properties in different nutrient addition treatments

处理 Treatment	pH	有机质 OM/g·kg ⁻¹	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/mg·kg ⁻¹	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/mg·kg ⁻¹	全磷 Total P/g·kg ⁻¹	速效磷 Available P/mg·kg ⁻¹
CK	6.93±0.03ab	35.92±0.59bc	4.43±0.25b	6.83±0.12b	0.34±0.007d	3.94±0.26d
K	6.67±0.05bc	34.58±0.69cde	3.47±0.34cd	3.95±0.79de	0.32±0.005d	3.62±0.18d
P	6.69±0.01bc	45.13±0.59a	1.94±0.03e	6.68±0.74b	0.54±0.023a	42.59±2.33ab
PK	6.55±0.05c	35.66±0.47bc	2.10±0.23e	2.75±0.07e	0.40±0.014bc	24.84±2.65c
N	6.62±0.05c	36.76±0.44b	4.09±0.30bc	11.61±0.59a	0.33±0.020d	4.13±0.29d
NK	6.74±0.13bc	35.36±0.71bcd	5.99±0.50a	7.77±1.14b	0.32±0.009d	5.31±0.27d
NP	7.04±0.13a	32.97±0.47e	3.80±0.24bcd	4.83±0.20cd	0.42±0.016b	48.77±5.22a
NPK	7.13±0.12a	33.89±0.60de	3.04±0.21d	6.17±0.32bc	0.38±0.011c	34.82±4.98b

注: 同列中不同的字母表示差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Means followed by different letters indicate significant differences at $P < 0.05$. The same blew.

表2 不同养分添加方式下土壤微生物群落多样性指数

Table 2 Diversity indices of soil microbial communities in different nutrient addition treatments

处理 Treatment	丰富度指数 <i>H</i> Shannon index	均匀度指数 <i>E</i> Shannon evenness	优势度指数 <i>D</i> Simpson index
CK	2.200 3±0.124c	0.604 9±0.034b	0.858 3±0.025ab
K	2.119 8±0.043c	0.601 1±0.012b	0.848 6±0.006ab
P	2.581 4±0.018ab	0.650 2±0.005ab	0.905 2±0.003a
N	2.717 5±0.082ab	0.694 6±0.021ab	0.916 6±0.008a
PK	2.032 6±0.182c	0.717 4±0.064a	0.774 0±0.084b
NK	2.556 2±0.105b	0.640 8±0.026ab	0.896 1±0.011a
NP	2.791 5±0.068ab	0.679 1±0.016ab	0.925 6±0.004a
NPK	2.885 1±0.033a	0.691 1±0.007ab	0.924 5±0.005a

K、PK 处理,而均匀度指数 *E* 和优势度指数 *D* 含 P 处理(PK 除外)和含 N 处理与 CK 比较差异不显著。

2.4 主成分分析

2.4.1 不同碳源在主成分上的载荷值

利用培养 96 h 时的 AWCD 值进行主成分分析。初始载荷因子是反映碳源利用与主成分相关性强弱的相关系数,载荷因子越高表示该类碳源对主成分的贡献越大。Biolog-Eco 板上 31 种碳源在前 2 个主成分上的载荷值见表 3 (以 PC1 载荷值降序排列)。结果显示:对第一主成分(PC1)贡献较大的碳源种类有 7 个,主要包括 3 种糖类、2 种氨基酸类和 2 种其他类;对第二主成分(PC2)贡献较大的碳源有 3 个,

表3 31种碳源的主成分载荷值

Table 3 Loading values of principal components of 31 sole carbon sources

序号 Well	碳源类型 Carbon substrate	主成分 1 PC1	主成分 2 PC2
H2	D,L-α-磷酸甘油(其他) D,L-α-Glycerol Phosphate	0.846	0.165
B3	D-半乳糖醛酸(糖类) D-Galacturonic Acid	0.841	0.058
G1	D-纤维二糖(糖类) D-Cellobiose	0.818	-0.097
G2	1-磷酸葡萄糖(其他) Glucose-1-Phosphate	0.815	-0.019
D2	D-甘露醇(糖类) D-Mannitol	0.738	-0.111
E4	L-苏氨酸(氨基酸类) L-Threonine	0.633	0.143
D4	L-丝氨酸(氨基酸类) L-Serine	0.626	-0.037
A2	β-甲基-D-葡萄糖苷(糖类) β-Methyl-D-Glucoside	0.511	-0.220
E2	N-乙酰-D 葡萄糖胺(糖类) N-Acetyl-D-Glucosamine	0.471	0.086
A3	D-半乳糖酸 γ-内酯(糖类) D-Galactonic Acid γ-Lactone	0.444	0.319
E3	γ-羟丁酸(脂类) γ-Hydroxybutyric Acid	0.426	0.095
G4	苯乙胺(其他) Phenylethylamine	0.295	-0.026
F2	D-葡萄糖胺(糖类) D-Glucosaminic Acid	0.218	0.092
B1	丙酮酸甲酯(脂类) Pyruvic Acid Methyl Ester	0.161	0.095
B2	D-木糖(糖类) D-Xylose	0.138	-0.003
D1	吐温 80(脂类) Tween 80	0.121	0.131
F3	衣康酸(脂类) Itaconic Acid	0.121	-0.048
F1	肝糖(糖类) Glycogen	0.054	0.113
B4	L-天门冬酰胺(氨基酸类) L-Asparagine	0.041	0.423
E1	α-环式糊精(糖类) α-Cyclodextrin	0.032	0.898
D3	4-羟基苯甲酸(其他) 4-Hydroxy Benzoic Acid	0.030	0.082
H4	腐胺(其他) Putrescine	0.029	0.719
F4	甘氨酸-L-谷氨酸(氨基酸类) Glycyl-L-Glutamic Acid	0.021	0.165
C3	2-羟基苯甲酸(其他) 2-Hydroxy Benzoic Acid	0.018	0.007
G3	α-丁酮酸(其他) α-Ketobutyric Acid	0.002	0.922
C1	吐温 40(脂类) Tween 40	0.001	0.115
C2	i-赤藓糖醇(糖类) i-Erythritol	-0.009	-0.040
A4	L-精氨酸(氨基酸类) L-Arginine	-0.037	0.136
C4	L-苯丙氨酸(氨基酸类) L-Phenylalanine	-0.120	-0.066
H1	α-D-乳糖(糖类) α-D-Lactose	-0.157	0.275
H3	D-苹果酸(其他) D-Malic Acid	-0.200	-0.025

主要包括 1 种糖类和 2 种其他类。这说明在不同氮磷钾养分组合添加条件下贝加尔针茅草原土壤微生物的主要碳源是糖类、代谢中间产物及次生代谢物。

2.4.2 不同养分添加条件下土壤微生物群落碳源利用主成分分析

主成分累计方差贡献率一般要求达到 85%^[15],据此共提取了 11 个主成分,累计贡献率达 85.558%。其中第 1 主成分(PC1)的方差贡献率为 21.183%;第 2 主成分(PC2)为 11.596%;第 3 至 11 主成分贡献率分别为 9.128%、8.379%、7.203%、5.741%、5.467%、5.189%、4.499%、3.806%、3.367%。选取前 2 个主成分进行分析,分别以 PC1、PC2 为 x 轴、 y 轴,以各处理在 2 个主成分上的得分值为坐标绘制主成分分析图(图 2)。

结果表明,不同养分添加方式的 PC 值在 PC 轴上出现了明显的分布差异,整体可以分为 3 大类:NP、P 处理,N、NPK 处理,CK、K、PK、NK 处理。NP、P 处理除有一点离散外,另外 5 点分布在 PC1 轴的正方向上、PC2 轴的负方向上;N、NPK 处理除有一点离散外,基本在 PC1 轴的负方向上、PC2 轴的正方向上;CK、K、PK、NK 处理除有两点离散外,其余分布在 PC1 轴的负方向上、PC2 轴的负方向上。不同养分添加处理的分布差异表明,CK、K、PK、NK 养分添加处理对 PC1、PC2 相关碳源的利用量很少,利用能力偏低;而 NP 与 P 添加处理之间相似,N 与 NPK 添加处理之间相似,且 NP、P 养分添加处理主要利用 PC1 相

关碳源,N 与 NPK 主要利用 PC2 相关碳源。

3 讨论

AWCD 值高低反映了微生物群落代谢活性高低。本研究结果表明,不同养分添加方式下土壤微生物 AWCD 值不同,对碳源的利用能力和代谢活性不同。含磷添加处理(PK 除外)NP、P、NPK 最高,含氮添加处理 NK、N 次之,CK、K、PK 处理最低。首先含氮添加处理 AWCD 值高于 CK、K、PK 处理,分析其原因可能为:一方面氮养分的添加可以改变土壤养分的有效性以及调节土壤养分的储存和转化,改善土壤 C/N^[16-17];另一方面还能为微生物提供大量的氮源,促进微生物繁殖和土壤氮素的循环^[18],而且氮养分添加增加了土壤氮素供应,极大地增加了地上生物量,从而使根系分泌物显著增加,进一步促进根系微生物的生长繁殖。此外,含氮养分添加从多方面提高了微生物碳源利用能力和代谢活性。其次含氮添加处理 AWCD 值低于含磷添加处理(PK 除外)NP、P、NPK,分析其原因:由理化性质变化可知,含磷养分添加处理提高了土壤速效磷含量,而有报道速效磷含量与蔗糖酶活性为显著正相关,蔗糖酶可以把高分子量糖分解成小分子,其活性反映了土壤有机碳分解转化的规律^[19],因此含磷养分的添加间接促进了土壤微生物对有机碳源的分解利用。至于 PK 处理 AWCD 值并不像其他含磷添加处理显著提高以及 NPK 处理低于 NP 处理,可能与 K 元素会影响氮磷养分的吸收效应有关^[20],因此 NP 处理对土壤微生物代谢活性的提高效果最好。

对土壤微生物多样性指数的分析表明,不同养分添加方式下群落的丰富度指数(H)不同,含磷添加处理(PK 除外)NP、P、NPK 和含氮添加处理 NK、N 的丰富度指数 H 均显著高于 CK、K、PK,且两类处理间差异不显著。Sarathchandra 等研究发现 N 养分添加处理的丰富度指数(H)高于 CK 处理^[12],辜运富等研究认为与对照相比,N、NP、NPK 养分添加处理均提高了土壤微生物的数量^[21],Aerts 等研究指出适当施磷土壤中群落的生物多样性较高^[22],分析认为原因可能在于含氮或含磷养分的添加都会刺激某些细菌的生长^[23],对微生物的丰富度产生影响。毕江涛等研究认为植物种类可显著影响土壤微生物的种群丰富度以及种群之间的个体分配情况^[6],夏北成等也指出植被使土壤中的微生物种类更丰富,群落多样性更高^[24],据此分析,含磷添加处理(PK 除外)和含氮添加处理的丰富

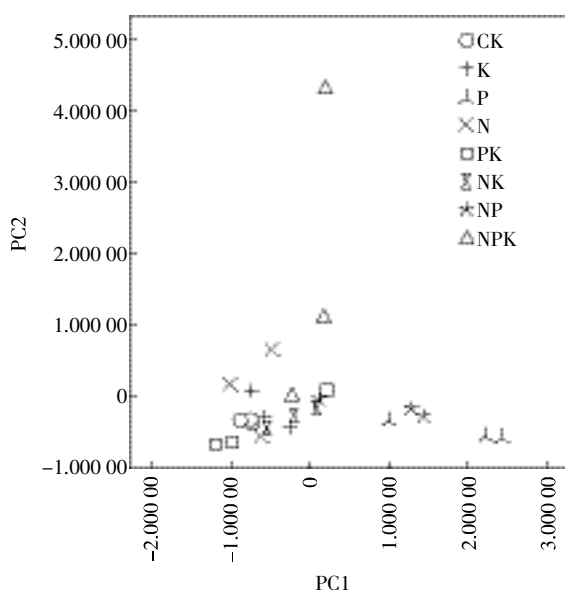


图 2 不同养分添加方式土壤微生物碳源利用主成分分析

Figure 2 Principal components analysis of carbon utilization in different nutrient addition treatments

度指数(H)均显著高于CK、K、PK的原因也可能为含氮或含磷养分的添加提高了植被植物多样性而间接影响了土壤微生物多样性^[25]。因此,NP养分的组合添加对微生物的丰富度指数提高的促进作用更大。不同养分添加之间均匀度指数(E)、优势度指数(D)差异不显著,可能是由于养分添加致使土壤中一些数量原本较多的微生物类群减少而一些新的类群产生,进而保持均匀度与优势度指数稳定。

主成分分析结果表明,贝加尔针茅草原在不同养分添加方式下对第一和第二主成分相关碳源利用模式和利用能力不同,CK、K、PK、NK养分添加处理对第一、二主成分相关碳源的利用量都很少,利用能力偏低,而NP、P养分添加处理利用第一主成分相关碳源的能力较高,N与NPK处理利用第二主成分相关碳源的能力较高。第一、二主成分碳源都包括糖类和代谢中间产物及次生代谢物。表明NP、P和N、NPK养分添加处理改变了土壤微生物的群落组成结构,致使偏好糖类、代谢中间产物及次生代谢物为碳源的土壤微生物群落的生长发育得到有效促进。刘伟等对毛竹根际土壤DNA的PCR-DGGE分析也表明,不同养分添加处理毛竹根际微生物的类群组成有差异^[26]。郑华平等的研究表明不同养分添加改变了土壤营养成分、植物多样性^[27],据此分析,以上主成分分析结果的原因可能为养分添加致使植物多样性改变,一方面植物多样性影响了土壤中的碳分配以及土壤微生物功能多样性^[28],另一方面植物多样性提高产生大量根系分泌物导致土壤微生物群落结构功能的改变^[29]。

4 结论

不同养分添加方式对贝加尔针茅草原土壤微生物功能多样性影响不同,N、P、NP、NPK养分添加方式对土壤微生物代谢活性和物种丰富度指数有显著提高,且有效提高了微生物群落碳源利用能力,有利于土壤微生物群落功能多样性的提高。本研究为贝加尔针茅草原合理的养分添加方式的探寻提供了一定的理论基础。

参考文献:

- [1] 赵 帅,张静妮,赖 欣,等.放牧与围封对呼伦贝尔针茅草原土壤酶活性及理化性质的影响[J].中国草地学报,2011,33(1):71-76.
ZHAO Shuai, ZHANG Jing-ni, LAI Xin, et al. Effects of grazing and fencing on soil enzyme activity and soil physicochemical properties in *Stipa* steppe in Hulunbeier, Inner Mongolia[J]. *Chinese Journal of Grass-land*, 2011, 33(1):71-76.
- [2] 杨殿林,韩国栋,胡跃高,等.放牧对贝加尔针茅草原群落植物多样性和生产力的影响[J].生态学报,2006,25(12):1470-1475.
YANG Dian-lin, HAN Guo-dong, HU Yue-gao, et al. Effects of grazing intensity on plant diversity and aboveground biomass of *Stipa baicalensis* grassland[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2006, 25(12):1470-1475.
- [3] 贺金生,王政权,方精云.全球变化下的地下生态学:问题与展望[J].科学通报,2004,49(13):1226-1233.
HENG Jin-sheng, WANG Zheng-quan, FANG Jing-yun. Belowground ecology under global change: Problems and prospects[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2004, 49(13):1226-1233.
- [4] Copley J. Ecology goes underground[J]. *Nature*, 2000, 406:452-454.
- [5] Wardle D A, Yeates G W, Nicholson K S, et al. Response of soil microbial biomass dynamics, activity and plant litter decomposition to agricultural intensification over a seven-year period[J]. *Soil Biol Biochem*, 1999, 31(12):1707-1720.
- [6] 毕江涛,贺达汉,沙月霞,等.荒漠草原不同植被类型土壤微生物群落功能多样性[J].干旱地区农业研究,2009,27(5):149-155.
BI Jiang-tao, HE Da-han, SHA Yue-xia, et al. Functional diversity of soil microbial community under different types of vegetation in the desert grassland[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2009, 27(5):149-155.
- [7] Zelles L. Fatty acid pattern of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: A review[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29:111-129.
- [8] 韩 惠,翟振华,张燕燕,等.环境微生物样品真菌群落 BIOLOG 分析方法[J].生态学报,2009,29(5):2368-2373.
HAN Hui, ZHAI Zhen-hua, ZHANG Yan-yan, et al. BIOLOG analysis for fungal communities in environmental samples[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(5):2368-2373.
- [9] 张海芳.呼伦贝尔沙地不同植被恢复模式土壤微生物多样性[D].天津:天津师范大学,2012.
ZHANG Hai-fang. Soil microbial diversity under different vegetation restoration patterns for Hulunbeier Sandy Land[D]. Tianjin: Tianjin Normal University, 2012.
- [10] 孔 滨,孙 波,郑宪清,等.水热条件和施肥对黑土中微生物群落代谢特征的影响[J].土壤学报,2009,46(1):100-106.
KONG Bin, SUN Bo, ZHENG Xian-qing, et al. Effect of hydrothermal conditions and fertilization on metabolic characteristics of microbial community in black soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2009, 46(1):100-106.
- [11] 齐 莎,赵小蓉,郑海霞,等.内蒙古典型草原连续5年施用氮磷肥土壤生物多样性的变化[J].生态学报,2010,30(20):5518-5526.
QI Sha, ZHAO Xiao-rong, ZHENG Hai-xia, et al. Changes of soil biodiversity in Inner Mongolia steppe after 5 years of N and P fertilizer applications[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(20):5518-5526.
- [12] Sarathchandra S U, Ghani A, Yeates G W, et al. Effect of nitrogen and phosphate fertilizers on microbial and nematode diversity in pasture soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33(7/8):953-964.
- [13] 中国土壤学会.土壤农业化学分析方法[M].北京:中国农业科技出版社,1999:22-146.
Soil Science Society of China. The analysis method of soil agricultural

- chemistry[M]. Beijing:Chinese Agricultural Science and Technology Press, 1999:22-146.
- [14] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole carbon source utilization[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(18):2351-2359.
- [15] 郝黎仁, 樊元, 郝翟欧, 等. SPSS 实用统计分析[M]. 北京, 水利水电出版社, 2003.
- HAO Li-ren, FAN Yuan, HAO Zhai-ou, et al. SPSS statistical analysis [M]. Beijing: China Water Power Press, 2003.
- [16] 郁培义, 朱凡, 王志勇, 等. 氮添加对樟树林红壤微生物群落代谢功能的影响[J]. 中南林业科技大学学报, 2013, 33(3):70-74.
- YU Pei-yi, ZHU Fan, WANG Zhi-yong, et al. Effects of nitrogen addition on metabolic function of microbial community in red soil of *Cinnamomum camphora* forest[J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2013, 33(3):70-74.
- [17] 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 Xi-qian, HAO Xiao-hui, CHEN Tao, 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.
- [18] 李花. 长期施肥和管理对壤土微生物量碳氮和酶活性动态变化的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2011.
- LI Hua. Effects of long-term fertilization regimes on changes of microbial biomass carbon and nitrogen and enzyme activity[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2011.
- [19] 王娟. 施肥对土壤酶活性、土壤养分及春小麦产量的影响[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2007.
- WANG Juan. Effects of fertilization on soil enzyme activity, nutrients and the yield of spring wheat[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2007.
- [20] 苗玉红, 韩燕来, 王宜伦, 等. 钾对不同超高产小麦品种产量及氮、磷吸收效应的影响[J]. 土壤通报, 2007, 38(5):1022-1024.
- MIAO Yu-hong, HAN Yan-lai, WANG Yi-lun, et al. Effect of potassium on the yield and N and P absorption of different super-high yield wheat varieties[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2007, 38(5):1022-1024.
- [21] 辜运富, 云翔, 张小平, 等. 不同施肥处理对石灰性紫色土微生物数量及氨氧化细菌群落结构的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12):4119-4126.
- GU Yun-fu, YUN Xiang, ZHANG Xiao-ping, et al. Effect of different fertilizer treatments on quantity of soil microbes and structure of ammonium oxidizing bacterial community in a calcareous purple paddy soil [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2008, 7(12):1481-1489.
- [22] Aerts R, de Caluwe H, Beltman B. Plant community mediated vs. nutritional controls on litter decomposition rates in grassland[J]. *Ecology*, 2003, 84(12):3198-3208.
- [23] 孟庆杰, 许艳丽, 李春杰, 等. 不同施肥/土地利用方式对黑土细菌多样性的影响[J]. 大豆科学, 2008, 27(3):480-486.
- MENG Qing-jie, XU Yan-lie, LI Chun-jie, et al. Effects of different fertilization and land use history on the bacterial diversity in black soils[J]. *Soybean Science*, 2008, 27(3):480-486.
- [24] 夏北成, Jizhong Z, James M T. 植被对土壤微生物群落结构的影响[J]. 应用生态学报, 1998, 9(3):296-300.
- XIA Bei-cheng, ZHOU Ji-zhong, Tiedje J M. Effect of vegetation on structure of soil microbial community[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1998, 9(3):296-300.
- [25] 杜玮超, 袁霞, 曲同宝. 土壤微生物多样性与地上植被类型关系的研究进展[J]. 当代生态农业, 2011(1-2):14-18.
- DU Wei-chao, YUAN Xia, QU Tong-bao. Research progress of the relationship between soil microbial diversity and above-ground vegetation types[J]. *Contemporary Eco-Agri Culture*, 2011(1-2):14-18.
- [26] 刘玮, 邓光华, 张嘉超, 等. 不同施肥处理对毛竹根际微生物影响及其 PCR-DGGE 分析[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(5):50-53.
- LIU Wei, DENG Guang-hua, ZHANG Jia-chao, et al. Influence of fertilizer application on rhizosphere microbial diversity of *Phyllostachys edulis* based on PCR-DGGE Analysis[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2011, 39(5):50-53.
- [27] 郑华平, 陈子萱, 王生荣, 等. 施肥对玛曲高寒沙化草地植物多样性和生产力的影响[J]. 草业学报, 2007, 16(5):34-39.
- ZHENG Hua-ping, CHEN Zi-xuan, WANG Sheng-rong, et al. Effects of fertilizer on plant diversity and productivity of desertified alpine grassland at Maqu, Gansu[J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2007, 16(5):34-39.
- [28] Natalia L, Katarina H. Plant species influence microbial diversity and carbon allocation in the rhizosphere[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 4:162-168.
- [29] Zak D R, Holmes W E, White D C. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? [J]. *Ecological Society of America*, 2003, 84(8):2042-2050.