

威廉环毛蚓耕作时间对菜田土壤微生物群落多样性及碳代谢特征的影响

郑宪清^{1,2,3,5}, 范晓芬⁵, 张翰林^{1,2,3,5}, 李双喜^{1,2,3,5}, 王金庆^{1,2,3,5}, 张娟琴^{1,2,3,5}, 王良军³, 陶晓斌⁶, 吕卫光^{1,2,3,5*}

(1.上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201403; 2.农业部上海农业环境与耕地保育科学观测实验站, 上海 201403; 3.上海东保农业科技有限公司, 上海 201403; 4.上海润庄农业科技有限公司, 上海 201403; 5.上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201403; 6.上海瀛西果蔬专业合作社, 上海 202158)

摘要: 通过在上海崇明岛菜田设置的定位试验, 采用 Biolog 生态板法研究生物耕作时间对不同深度土层中土壤微生物群落多样性及其碳代谢特征的影响。3 年的结果表明: 生物耕作显著提高了微生物群落活性, 且随着耕作年限的延长增加值越高, 生物耕作 3 年可使平均 *A_{WCD}* 值升高 3~7 倍。生物耕作处理 Simpson 指数和 Shannon 指数均显著高于免耕对照, 在 0~5 cm 土层累积增幅分别为 49 和 6.28, 5~20 cm 土层累积增幅分别为 31 和 2.55。蚯蚓生物耕作显著增加土壤微生物对 6 类碳源的代谢能力, 耕作 3 年碳水化合物代谢活性大幅增加。本研究说明蚯蚓生物耕作是增加土壤微生物代谢活性的有效途径。

关键词: 蚯蚓; 生物耕作; 土壤微生物; biolog 生态板; 碳代谢特征

中图分类号: S181

文献标志码: A

文章编号: 2095-6819(2015)06-0596-07

doi: 10.13254/j.jare.2015.0139

Effects of *Pheretima Guillelmi* Cultivation Time on Microbial Community Diversity and Characteristics of Carbon Metabolism in Vegetable Soil

ZHENG Xian-qing^{1,2,3,5}, FAN Xiao-fen⁵, ZHANG Han-lin^{1,2,3,5}, LI Shuang-xi^{1,2,3,5}, WANG Jin-qing^{1,2,3,5}, ZHANG Juan-qin^{1,2,3,5}, WANG liang-jun³, TAO Xiao-bin⁶, LÜ Wei-guang^{1,2,3,5*}

(1. Institute of Eco-Environment and Plant Protection, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China; 2. Shanghai Scientific Observation and Experimental Station for Agricultural Environment and Land Conservation, Ministry of Agriculture, Shanghai 201403, China; 3. Shanghai Dongbao Agricultural Science and Technology Co Ltd, Shanghai 201403, China; 4. Shanghai Runzhuang Agricultural Science and Technology Co Ltd, Shanghai 201403, China; 5. Shanghai Key Laboratory of Protected Horticultural Technology, Shanghai 201403, China; 6. Shanghai Yingxi Fruit and Vegetable Cooperatives, Shanghai 202158, China)

Abstract: In order to study the effect of different biological tillage time (*Pheretima guillelmi*) on soil microbial community metabolic functions in different soil depths, we set a location test in vegetable field at Chongming Island in Shanghai to analyze the changes of soil microbial community and carbon utilization abilities (Average well-color development, *A_{WCD}*) by using biolog eco-plate method. The three-year results showed that: Bio-tillage significantly improved microbial community activity, and with the increase of tillage years, biological tillage could make the average *A_{WCD}* 3 to 7 times higher. The Simpson index and Shannon index of the biological tillage treatments were significantly higher than that of the control. The cumulative increase of 0~5 cm soil layer was 49 and 6.28 respectively, and the cumulative increase of 5~20 cm soil layer was 31 and 2.55 respectively. Earthworm bio-tillage significantly increased the soil microbial metabolic ability of 6 kinds of carbon sources, and increased the carbohydrate metabolism activity. In this study, earthworm bio-tillage is an effective way to increase the microbial activity of microbial soil.

Keywords: earthworm; biological farming; soil microbial metabolic; biolog eco-board; carbon metabolism characteristics

收稿日期: 2015-06-01

基金项目: 上海市农委成长计划项目(沪农青字(2015)第 1-23 号); 上海市科委成果转化项目(133919N1400); 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字(2011)第 6-2 号)

作者简介: 郑宪清(1980—), 男, 硕士, 主要从事土壤生态学研究。E-mail: zqxqf@163.com

* 通信作者: 吕卫光 E-mail: lwei1217@sina.com.cn

土壤微生物是土壤生态系统中最重要和最活跃的组分^[1-2],因其丰富的多样性和土壤修复能力,被视为土壤生态环境恢复的先锋者,在改善土壤养分循环、增加系统稳定性以及土壤可持续利用方面发挥主导作用^[3-4]。近30年随着现代农业的发展,大量农药、化肥、饲料添加剂等进入土壤和水体,严重污染土壤微生态环境,杀灭大量土壤动物,干扰微生物酶活性和呼吸代谢等过程,破坏微生物多样性,导致土壤板结、肥力下降、病原菌滋生等生态系统严重退化现象^[5],降低土壤可持续生产力,最终威胁农业生产安全和人类健康^[6]。生物耕作是目前制衡化学品乱投入,减少土壤物理结构人为过度扰动,增加土壤微生物多样性、平衡土壤肥力的一种土壤质量维系、土壤功能改善和土壤障碍修复的有效措施之一。生物耕作是指不采用任何人为和机械的土壤扰动,仅在土壤中引入有益生物,施用有机肥等有机物质维持其生存,并使之固定在一定区域活动,利用蚯蚓对土壤的机械翻动、吞食和消化等动物生理行为,可有效改善土壤的团粒结构、提高通气性和透水性,疏松土壤、改良土壤物理结构,调控土壤微生态环境,平衡土壤矿质元素,实现农田生态环境保护与节能减排的一种新型农业耕作方式^[7-8]。大量研究已经证实蚯蚓在有机质的分解和土壤物质营养循环中发挥重要的作用,是一种处理有机废物、消除土壤污染、增加土壤肥力和植物产量等的有效措施^[9-10],李典友等^[11]研究发现在森林土壤中,蚯蚓吞食和转化的有机质总量每年每公顷林地可达1t以上,促进了有机质的腐殖质化和复合体的形成,使土壤中的腐殖质提高0.36~1.50倍,土壤的保肥能力可提高25%~42%。同时蚯蚓活动也可增加土壤微生物活力、繁殖力和数量^[12-14]。以往研究多基于调查,或者是蚯蚓添加作为辅助手段,而没有将蚯蚓作为农业生产中的主体动力和力量群,本研究拟在菜田中采用生物耕作的方式,设立长期定位试验,探讨在此模式下,完全的蚯蚓生物耕作时间对菜田土壤中微生物的多样性和碳代谢特征的影响,为生物耕作模式的优化和进一步研究提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地点

研究地点位于上海市崇明岛西部的三星镇(31°41'15"N,121°54'00"E),平均海拔4m。该区属北亚热带季风气候,盛行东南风,温暖湿润,四季分明,光照充足,夏季湿热,冬季干冷。台风、暴雨、干旱等是常见

的灾害性气候。年均降水量1004mm,降水集中在4—9月;年均气温15℃,10℃以上的年均积温2560℃;无霜期229d,年日照时数2104h。

1.2 试验设计

试验开始于2009年6月,设置无机械无蚯蚓的免耕对照(CK),无机械而仅有威廉环毛蚓(*Pheretima guillelmi*,上海富年药材有限公司提供)耕作1年(BT1)、2年(BT2)和3年(BT3)4个处理,每个处理设置3个重复。小区面积240m²,蚯蚓投放密度为25条·m⁻²(每年实验开始时进行取样测数,多则移除,少则添加,保持25条·m⁻²);不同处理小区间开挖80cm深的水沟,限制蚯蚓活动范围。施用普通商品有机肥(含有机质413.4g·kg⁻¹,N17.1g·kg⁻¹,P₂O₅12.4g·kg⁻¹,K₂O12.3g·kg⁻¹)作为蚯蚓的食物来源,施用量为1t·667m⁻²。免耕和耕作3年处理于2009年开始试验,耕作2年处理于2010年、耕作1年处理于2011年开始投放蚯蚓。种植作物为芋艿(*Colocasia esculenta* L. Schoot)与花椰菜(*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.)的轮作模式,作物生长期间不施化肥,以防化学肥料影响蚯蚓的活性。

在各种植季作物收获后采集土壤样品,用直径2cm的不锈钢采土器采集深度0~5cm和5~20cm土层土壤,在样地内按“S”形线路采集数个土样,混合后装入塑料封口袋中,并置于低温保鲜盒中带回实验室。一部分样品风干后测定土壤基本理化性质(表1),一部分样品在4℃保存用于测定土壤微生物性状指标。

1.3 测定方法

1.3.1 采用Biolog生态微平板法分析土壤微生物功能代谢特征

每块板包含同一处理的3个重复。具体操作如下:称取相当于5.00g干土重的新鲜土壤,加入到45mL灭菌0.85%(W/V)NaCl溶液中,振荡30min后取出静置5min,吸取土壤上悬液2mL稀释至18mL 0.85%NaCl无菌溶液三角瓶中,吸取稀释液接种到生态板,每孔接种量150μL,所有操作均在无菌条件下进行。接种的生态板于25℃培养,分别于24、48、72、96、120h和144h在590nm光波长测定吸光度值。Biolog生态微平板和Biolog Reader购自美国BIOLOG公司(BIOLOG, Hayward, USA)^[15]。

1.3.2 土壤中蚯蚓数量的测定

测定方法为福尔马林法,将化学试剂加在土壤表面引蚯蚓出来,然后收集蚯蚓并计数。具体方法是做

表 1 不同生物耕作年限对土壤理化性状变化的影响

Table 1 Effect of different biological tillage years on soil physicochemical properties

耕层深度 Depth of arable layer	理化性状 Physicochemical properties	免耕 No-tillage	生物耕作 1 年 Biological tillage an year	生物耕作 2 年 Biological tillage two years	生物耕作 3 年 Biological tillage three years	增长率/% Growth rate
0~5 cm	有机质 Organic matter/g·kg ⁻¹	15.6±0.177c	28.7±0.065a	24.3±0.080b	15.8±0.040c	1.2~83.1
	全氮 Total N/g·kg ⁻¹	1.0±0.017b	1.9±0.022a	1.7±0.004a	1.1±0.023b	6.9~92.9
	全磷 Total P/g·kg ⁻¹	0.7±0.013b	1.2±0.009a	0.9±0.014ab	1.1±0.016a	19.3~58.4
	全钾 Total K/g·kg ⁻¹	10.9±0.033a	10.0±0.084a	9.4±0.031a	9.4±0.118a	-13.6~-8.4
	速效氮 Available N/mg·kg ⁻¹	31.06±4.215a	26.67±3.078a	32.89±5.431a	28.50±4.544a	-14.1~6.0
	速效磷 Available P/mg·kg ⁻¹	14.27±1.829d	23.84±3.821c	48.39±7.293b	57.13±8.882a	67.1~300.5
	速效钾 Available K/mg·kg ⁻¹	90.00±11.015b	110.00±0.000a	70.00±2.517c	80.00±10.000bc	-22.4~21.3
	含水量 Water content/%	34.40±1.630b	39.97±1.602a	41.72±2.664a	35.45±1.614b	3.0~21.3
pH 值	8.9±0.030a	8.5±0.076b	8.5±0.139b	8.6±0.038b	-4.2~-3.5	
5~20 cm	有机质 Organic matter/g·kg ⁻¹	10.0±0.094d	20.6±0.024b	28.1±0.028a	16.0±0.021c	60.9~182.2
	全氮 Total N/g·kg ⁻¹	0.7±0.017c	1.4±0.028b	1.9±0.026a	1.0±0.014bc	49.0~174.5
	全磷 Total P/g·kg ⁻¹	0.6±0.008c	0.7±0.015bc	1.5±0.038a	1.3±0.031ab	15.4~133.2
	全钾 Total K/g·kg ⁻¹	10.2±0.030a	9.2±0.078a	9.3±0.079a	9.1±0.097a	-11.3~-9.6
	速效氮 Available N/mg·kg ⁻¹	43.85±6.413b	30.33±4.002b	95.00±12.464a	98.66±3.003a	116.6~125.0
	速效磷 Available P/mg·kg ⁻¹	10.11±1.989c	17.18±2.912c	105.39±53.865b	230.62±10.802a	69.7~2 177.2
	速效钾 Available K/mg·kg ⁻¹	70.00±2.000c	80.00±1.732c	120.00±0.577b	300.00±11.930a	14.3~329.0
	含水量 Water content/%	24.78±1.790c	29.50±4.879bc	46.58±2.386a	34.92±1.594b	19.0~87.9
pH 值	8.9±0.125a	8.7±0.154a	8.3±0.192b	8.3±0.075b	-6.4~-1.7	

注:同行中平均值后面的不同字母表示显著性差异($P<0.05$)。下同。

Note: Means in a column followed by the different letters are significantly different at $P<0.05$. The same below.

一个 1 m×1 m 的框架,把框架插入土壤,把 15 L 福尔马林(含量 0.55% V/V)施在土壤表面,在框架中收集蚯蚓 20 min^[16]。

1.4 数据处理

采用 Biolog 生态测试法研究土壤微生物群落代谢功能之间的差异。不同时刻微生物对碳源的代谢特征用每孔颜色平均变化率(Average well-color development, *AWCD*)来表示。

$$AWCD = \sum (C-R)/n$$

式中, C 为 Biolog 生态微平板每个接种微生物的微孔的光密度值, R 为空白微孔的光密度值, n 为碳源底物种类, $n=31$ 。

采用培养 120 h 的 Biolog 生态平板孔中吸光值来计算土壤微生物群落功能多样性指数,公式为:

$$\text{Shannon-Weiner 指数: } H = -\sum P_i(\ln P_i);$$

式中: P_i 为第 i 孔相对吸光值($C-R$)与整个平板相对吸光值总和的比率。

$$\text{Pielou 均匀度: } E = H/\ln S, S \text{ 为颜色变化孔的数目。}$$

$$\text{Simpson 指数: } D = 1/\sum P_i^2.$$

将 Biolog 微平板 31 种碳源分为 6 类,分别对 0~5 cm 和 5~20 cm 土层中微生物培养 120 h 的 *AWCD* 值标准化后进行主成分分析(PCA),评价生物耕作各处理对土壤微生物群落的碳源代谢特征影响。试验数据应用 Excel 和 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析^[17]。

2 结果与分析

2.1 威廉环毛蚓耕作时间对菜园土壤微生物群落活性的影响

微平板 *AWCD* 值是反映土壤微生物群落活性的一个重要指标,指示了微生物对各类碳源的利用情况和微生物群落的总体活性^[18]。研究表明,耕作措施对微生物代谢活性产生显著的影响($P<0.05$),各处理 *AWCD* 值的大小顺序依次为 $BT3>BT2>BT1>CK$,表明生物耕作显著提高了微生物群落活性;随着培养时间的延长,基质中碳源逐渐被微生物生长代谢所消耗,所有处理中 *AWCD* 值均呈升高($P<0.05$)趋势,在 120 h 时出现拐点,既微生物对基质碳利用达最强(图 1)。各处理土壤微生物活性的高低也受到土层深度的影响,0~5 cm 土层土壤微生物活性的高低依次为

BT3>BT2>BT1>CK, 而 5~20 cm 土层依次为 BT3>BT1>BT2>CK。利用蚯蚓进行的生物耕作,随着实施时间的延长,表层微生物群落功能多样性逐渐增加,但深层微生物多样性出现无规律变化。不同土层土壤微生物活性增加速率也不同,随培养时间的延长 0~5 cm 土层在培养前期土壤微生物活性增速较快,在 120 h 时出现拐点,而 5~20 cm 土层土壤微生物活性前期升高较慢,且整个培养期间均呈现升高的趋势,也表明土层不同而对微生物的影响不同。

同一耕作时间内土层深度也会影响土壤微生物活性,培养 120 h 时免耕和生物耕作 1 年处理的上层(0~5 cm)土壤微生物活性显著低于下层(5~20 cm),而生物耕作 2 年和 3 年的土壤微生物活性则是上层高于下层($P<0.05$),这说明土层深度显著影响了蚯蚓活动对土壤微生物的作用。

2.2 威廉环毛蚓耕作时间对菜园土壤微生物群落多样性的影响

土壤中不同微生物功能类群对基质各类碳源具有选择性,生物多样性指数用以指示利用不同碳源的微生物种类的丰富程度。表 2 中是微生物培养 120 h 时各处理的多样性指数,不论在 0~5 cm 土层还是 5~20 cm 土层,生物耕作处理 Simpson 指数和 Shannon 指数均显著高于免耕对照,在 0~5 cm 土层累积增幅分别为 49 和 6.28,5~20 cm 土层累积增幅分别为 31 和 2.55;不论 0~5 cm 土层还是 5~20 cm 土层中,不同处理间均匀度指数差异不显著。

2.3 威廉环毛蚓耕作后菜园土壤微生物对各类碳源的利用情况变化

研究土壤微生物对不同碳源的利用能力,有助于

更全面了解微生物群落代谢和功能群组成特征^[19]。通过对不同生物耕作年限处理土壤微生物群落代谢多样性类型的比较,可以分析生物耕作时间长短及土层深度对土壤微生物群落代谢多样性的影响。将 0~5 cm 和 5~20 cm 土层中微生物碳源代谢特征 120 h 时测定的吸光度值进行标准化处理,然后进行主成分分析(PCA),评价不同生物耕作年限处理土壤微生物群落在碳源利用上的整体差异。对土壤微生物群落利用 Biolog 微平板中 6 类碳源的情况进行主成分分析,提取的前 4 个主成分因子的贡献率与累积贡献率。从表 3 可以看出,变换后前 4 个主成分可以解释 90%(0~5 cm:98.4%,5~20 cm:93.6%)以上原变量的特征,并且主成分的重要性逐渐降低。

应用主成分分析方法研究生物耕作对微生物群落代谢的影响,取第一、第二主成分做双轴图表征微生物的代谢特征(图 2)。对 0~5 cm 土壤微生物的 PCA 分析中第一、第二主成分解释了总变异的 71.6%,前 4 主成分解释了 98.4%。0~5 cm 土层双轴图中,生物耕作与免耕处理的样点分布存在明显的分离,而生物耕作 1 年、2 年和 3 年样点互相重叠。生物耕作的样点主要集中沿纵轴正向分布,大部分集中于第一象限,生物耕作 2 年处理样点分布较分散,沿纵轴梯度分离,生物耕作 3 年样点集中于原点周围。

5~20 cm 土壤微生物 PCA 分析中前 2 个主成分解释了总变异的 72.2%,前 4 主成分解释了 93.6%。生物耕作与免耕处理的样点出现明显的分离,2 年与 3 年处理样点间也出现分离。生物耕作 3 年样点主要分布于第一象限,生物耕作 2 年样点集中于原点周围,免耕样点分布于图左侧。5~20 cm 土层各处理样

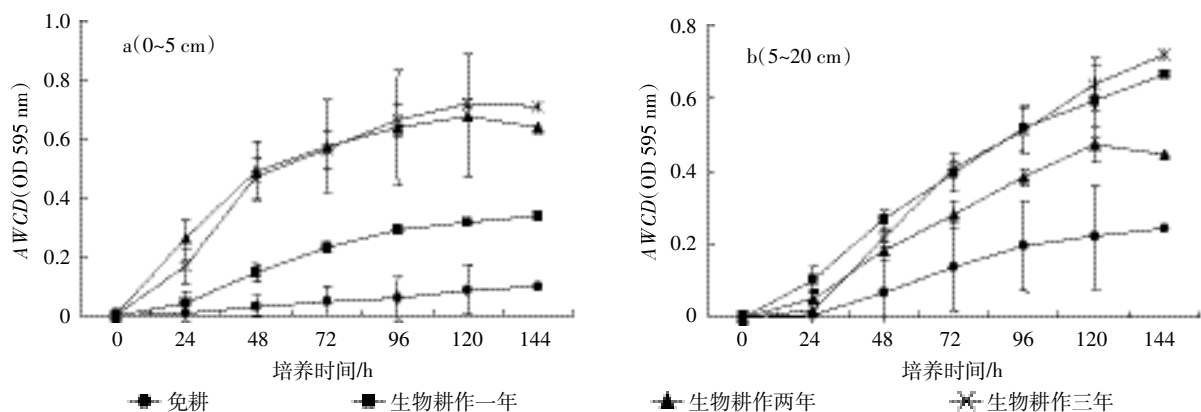


图 1 不同生物耕作年限对 0~5 cm (a)和 5~20 cm (b)土层土壤 AWCD 值影响随培养时间的变化

Figure 1 Changes of soil microbial metabolic characteristics (AWCD values) with different biological farming years in 0~5 cm (a) and 5~20 cm (b) soils

表 2 不同生物耕作年限对 0~5 cm 和 5~20 cm 土层土壤微生物群落多样性指数的影响

Table 2 Effects of different biological tillage years on functional diversity index of soil microbial community in 0~5 cm and 5~20 cm soils

indexes	土层 Soil depths/cm	生物耕作处理 Tillage Treatments			
		免耕(对照) CK	生物耕作 1 年 BT1	生物耕作 2 年 BT2	生物耕作 3 年 BT3
丰富度指数(<i>R</i>) Simpson index	0~5	2.00±2.08c	9.00±0.58b	24.00±3.61a	22.00±1.53a
	5~20	7.00±3.79b	19.00±2.65a	15.00±2.31a	18.00±2.31a
Shannon 指数(<i>H</i>) Shannon index	0~5	0.76±0.65c	2.32±0.05b	3.19±0.06a	3.05±0.07a
	5~20	1.99±0.39b	2.90±0.10a	2.75±0.14a	2.86±0.19a
均匀度指数(<i>EH</i>) Evenness index	0~5	0.58±0.52a	1.04±0.01a	1.01±0.03a	0.99±0.004a
	5~20	1.13±0.13a	0.99±0.04a	1.03±0.01a	0.10±0.02a

表 3 前 4 个主成分因子的贡献率与累积贡献率(%)

Table 3 Contribution ratios and accumulated ratios of the first 4 principal components(%)

耕作层 Cultivated layer	主成分 Principal component	PC1	PC2	PC3	PC4
0~5 cm	贡献率 Contribution ratios	41.7	29.8	15.4	11.4
	累积贡献率 Accumulated ratios	41.7	71.6	86.9	98.4
5~20 cm	贡献率 Contribution ratios	40.1	32.1	14.3	14.3
	累积贡献率 Accumulated ratios	40.1	72.2	86.5	93.6

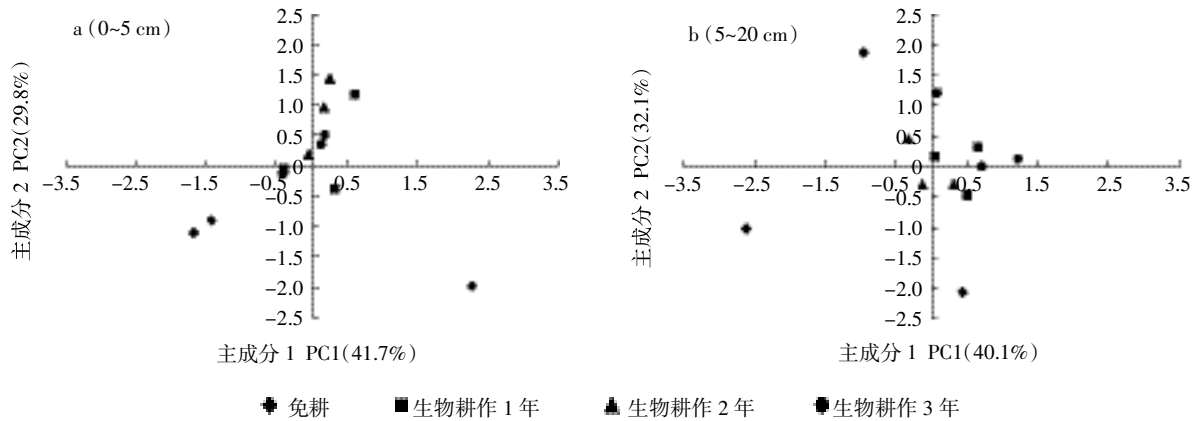


图 2 不同耕作年限对不同土层土壤 0~5 cm (a)和 5~20 cm (b)微生物碳源利用主成分分析双轴图

Figure 2 0~5 cm (a) and 5~20 cm (b) soil layers similar microbial community carbon source utilization comparison of different biological farming years

点沿横轴出现分离。

3 讨论

土壤微生物促进土壤养分循环转化,对于土壤肥力形成意义重大^[20]。土壤微生物对周围环境较敏感,群落多样性容易受到外界环境条件的影响^[21],传统耕作模式对土壤生态环境干扰强度大,显著降低土壤微生物活性。而近年来以免耕模式为代表的一种减少和排除人为机械和外力干扰的耕作模式,为微生物生长提供了稳定土壤环境,有助于微生物多样性增加和活性的增强^[19],已被认可为保护土壤微生态,提高和维持土壤质量与肥力的手段,广泛采用。在免耕基础上

投放适宜数量的大个体、高食量的土著蚯蚓种类,利用蚯蚓活动、取食、代谢和排泄等的行为,用来进行高强度利用下农田土壤生态维护与修复,可在较短的时间内,使得土壤微生物代谢 *AWCD* 值较免耕处理增强 3~7 倍,意味着蚯蚓活动显著提高了微生物群落代谢活性,且随着耕作时间增长微生物代谢活性增高,可能是因为生物耕作有助于耕层土壤微生物数量的增加有关^[22]。但是 0~5 cm 土层和 5~20 cm 土层的变化幅度不同,本实验中 0~5 cm 土层和 5~20 cm 土层土壤含水量存在较大差异,也可能对土壤微生物活性产生一定影响。蚯蚓通过翻动土壤、取食植物碎屑和有机残体及排泄行为,可有效改善土壤的团粒结构、提

高通气性和透水性,调节土壤 pH 值,进而改变土壤酶活性,改变土壤微生物的群落结构和功能特征^[23-25]。本实验投放蚯蚓种类是威廉环毛蚓(*Pheretima guillemi*),具有在土壤表层摄食、在土壤深层栖息的习性。

研究土壤微生物对不同碳源的利用能力,有助于更全面了解微生物群落代谢和功能群组成特征^[19]。生物耕作微生物的 Simpson 指数和 Shannon 指数显著高于免耕对照,而且随耕作年限的延长而增加,投放蚯蚓和增加生物耕作年限显著增加微生物对6类碳源的代谢能力,耕作3年碳水化合物代谢活性大幅增加。通过对土壤微生物群落代谢功能的主成分分析,同样可以看出免耕对照与生物耕作处理间微生物代谢功能差异很大。免耕土壤微生物对各类碳源的利用率低,以胺类为主;而经生物耕作处理后土壤微生物对碳源的利用范围增大,碳水化合物和氨基酸利用率大幅增加。随时间延长蚯蚓作用强度增加后效应显现,表层微生物代谢能力超过深层,生物耕作2年和3年土壤表层(0~5 cm)AWCD值高于深层(5~20 cm)。这与张宝贵^[26]和于建光等^[27]在添加蚯蚓并覆盖秸秆有助于提高稻麦轮作土壤微生物代谢活性的研究结论一致。本实验在农田表层投撒有机肥,实验期间未进行机械翻耕,施加的有机肥主要集中在土壤表层,吸引蚯蚓向表层活动,因而表层微生物代谢随时间延长的变化规律比较明显,蚯蚓耕作对表层具有更强的促进效果。蚯蚓吞食消耗有机质对深层微生物的碳源产生较小且不规则影响,导致下层微生物代谢多样性的不规则波动。

4 结论

(1)在菜园土中添加蚯蚓进行生物耕作,可显著提高了微生物群落活性,生物耕作3年可使平均微生物群落活性升高3~7倍,随着耕作年限的延长生物耕作促进土壤微生物活性增加值越高。

(2)生物耕作处理使得土壤微生物多样性指数如 Simpson 指数和 Shannon 指数均显著高于免耕对照,分别累积增加31~49和2.55~6.28。同时蚯蚓进行生物耕作,使得土壤微生物对6类碳源的代谢能力显著增强,生物耕作3年后土壤微生物对碳水化合物代谢活性大幅增加。

参考文献:

[1] Pankhurst C E, Ophel-Keller K, Doube B M, et al. Biodiversity of soil microbial communities in agricultural systems[J]. *Biodiversity and Con-*

servation, 1996(5): 197-209.

[2] 孙波,赵其国,张桃林,等.土壤质量与持续环境Ⅲ.土壤质量评价的生物学指标[J].土壤,1997,29(5):225-234.

SUN Bo, ZHAO Qi-guo, ZHANG Tao-lin, et al. Soil quality and continuing environment Ⅲ. Biological index of soil quality assessment[J]. *Soils*, 1997, 29(5): 225-234. (in Chinese)

[3] 张薇,魏海雷,高洪文,等.土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J].生态学杂志,2005,24(1):48-52.

ZHANG Wei, WEI Hai-lei, GAO Hong-wen, et al. Advances of studies on soil microbial diversity and environmental impact factors[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2005, 24(1): 48-52. (in Chinese)

[4] Loranger-Merciris G, Barthes Laure, Gastine A, et al. Rapid effects of plant species diversity and identity on soil microbial communities in experimental grassland ecosystems[J]. *Soil Biol & Biochemistry*, 2006, 38: 2336-2343.

[5] Vacearo E, Giorgi M, Longo V, et al. Inhibition of cytochrome P450 enzymes by enrofloxacin in the sea bass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Aquatic Toxicology*, 2003(62): 27-33.

[6] Migliore L, Cozzolino S, Fiori M. Phytotoxicity to and uptake of enrofloxacin in crop plants[J]. *Chemosphere*, 2003(52): 1233-1244.

[7] Manna M C, Jha S, Ghosh P K. Comparative efficacy of three epigeic earthworms under different deciduous forest litters decomposition[J]. *Bioresource Technology*, 2003, 88(3): 197-203.

[8] 郑宪清,李双喜,袁大伟,等.生物耕作对蔬菜田土壤养分及酶活性的影响[J].植物营养与肥料学报,2012,18(5):1177-1184.

ZHENG Xian-qing, LI Shuang-xi, YUAN Da-wei, et al. Effects of earthworm tillage on soil nutrients and enzyme activities in vegetable fields[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2012, 18(5): 1177-1184. (in Chinese)

[9] Yu X-Z, Cheng M-J. Effect of earthworm on bio-availability of Cu and Cd in soils[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2003, 23(5): 922-928.

[10] Ireland M P. The effect of the earthworm *Dendrobaena rubida* on the solubility of lead, zinc and calcium in heavy metal contaminated soil in Wales[J]. *Journal of Soil Science*, 1975, 26: 313-318.

[11] 李典友,潘根兴,向昌国,等.土壤中蚯蚓资源的开发应用研究及展望[J].中国农学通报,2005,21(10):340-347.

LI Dian-you, PAN Gen-xing, XIANG Chang-guo, et al. Research and prospect of development and application of earthworm in soil[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2005, 21(10): 340-347. (in Chinese)

[12] Parlej. A microbiological study of earthworm casts[J]. *J General Microbiol*, 1963, 31: 13-22.

[13] 李辉信,胡锋,沈其荣,等.接种蚯蚓对秸秆还田土壤碳、氮动态和作物产量的影响[J].应用生态学报,2002,13(12):1636-1641.

LI Hui-xin, HU Feng, SHEN Qi-rong, et al. Effect of earthworm inoculation on soil carbon and nitrogen dynamics and on crop yield with application of corn residues[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(12): 1637-1641. (in Chinese)

[14] Araujo Y, Luizao F, Barros E. Effects of earthworm addition on soil nitrogen availability, microbial biomass and litter decomposition in mesocosms[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2004, 39: 146-152.

- [15] 李文凤, 张晓平, 梁爱珍, 等. 免耕对黑土蚯蚓数量和土壤密度的影响[J]. 农业系统科学与综合研究, 2007(4): 489-493.
LI Wen-feng, ZHANG Xiao-ping, LIANG Ai-zhen, et al. Impacts of no-tillage on earthworm and soil bulk density in black soil in northeast China[J]. *System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture*, 2007(4): 489-493.(in Chinese)
- [16] 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]. *Appl Environ Microb*, 1991, 57: 2351-2359.
- [17] 郑 华, 欧阳志云, 方治国, 等. BIOLOG 在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用[J]. 土壤学报, 2004, 41(3): 456-461.
ZHENG Hua, OUYANG Zhi-yun, FANG Zhi-guo, et al. Application of biology to study on soil microbial community functional diversity[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(3): 456-461.(in Chinese)
- [18] Ibekwe A M, Kennedy A C. Phospholipid fatty acid profiles and carbon utilization patterns for analysis of microbial community structure under field and greenhouse conditions[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1998, 26: 151-163.
- [19] Haack S K, Garchow H, Klug M J, et al. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns[J]. *Appl Environ Microb*, 1995, 61: 1458-1468.
- [20] Jenkinson D S, Parry L N. The nitrogen cycle in the broad balk wheat experiment, a model for the turnover of nitrogen through the soil microbial biomass[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1989, 21: 535-541.
- [21] Avidano L, Gamalero E, Cossa G P, et al. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicator[J]. *Appl Soil Ecol*, 2005, 30(1): 21-33.
- [22] Scott D A, Musgrave A J. Aspects of the fine structure of symbiotes and related host tissues in nephridia of *Allolobophora caliginosa typica* (Annelida: Lubricidae)[J]. *J Invertebr Pathol*, 1971, 18: 51-60.
- [23] Villaro A C, Sesman P. Relationships of symbiotic microorganisms to metanephridium: phagocytic activity in the metanephridial epithelium of two species of *Oligochaeta*[J]. *J Morphol*, 1985, 186: 307-314.
- [24] Tiquia S M, Lloyd J, Hems D A, et al. Effects of mulching and fertilization soil nutrients, microbial activity and rhizosphere bacterial community structure determined by analysis of T-RFLPs of PCR-amplified 16S rRNA genes[J]. *Applied Soil Ecology*, 2002, 21: 31-48.
- [25] 李双喜, 郑宪清, 袁大伟, 等. 生物耕作对菜田土壤微生物区系及细菌生理类群的影响[J]. 华北农学报, 2012, 27(增刊): 1-8.
LI Shuang-xi, ZHENG Xian-qing, YUAN Da-wei, et al. Effects of biological tillage on soil microbiota and bacterial physiologies colony[J]. *Acta Agriculture Boreall-sinica*, 2012, 27 (Suppl): 1-8.(in Chinese)
- [26] 张宝贵. 蚯蚓与微生物的相互作用[J]. 生态学报, 1997, 17(5): 556-560.
ZHANG Bao-gui. Interaction between earthworms and microorganisms [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1997, 17(5): 556-560.(in Chinese)
- [27] 于建光, 陈小云, 刘满强, 等. 秸秆施用下接种蚯蚓对农田土壤微生物特性的影响[J]. 水土保持学报 2007, 21(2): 99-103
YU Jian-guang, CHEN Xiao-yun, LIU Man-qiang, et al. Effects of earthworm activities on soil microbial characteristics under different straw amendment method in cropland[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2007, 21(2): 99-103.(in Chinese)