

安韶山, 李国辉, 陈利顶. 宁南山区典型植物根际与非根际土壤微生物功能多样性. 生态学报 2011, 31(18): 5225-5234.

An S S, Li G H, Chen L D. Soil microbial functional diversity between rhizosphere and non-rhizosphere of typical plants in the hilly area of southern Nixia. Acta Ecologica Sinica 2011, 31(18): 5225-5234.

宁南山区典型植物根际与非根际土壤 微生物功能多样性

安韶山^{1,3,*} 李国辉^{1,2} 陈利顶⁴

(1. 西北农林科技大学 黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室 杨凌 712100;

2. 西北农林科技大学 资源环境学院 杨凌 712100; 3. 中国科学院水利部水土保持研究所 杨凌 712100;

4. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室 北京 100085)

摘要: 选择宁南山区 9 种典型植物的根际与非根际土壤为研究对象, 采用 Biolog 方法对土壤微生物功能多样性进行了研究。结果表明: 9 种不同植物根际土壤与非根际土壤的微生物活性 (AWCD)、微生物多样性指数和微生物均匀度指数均存在明显差异; 除冰草外, 其他各种植物的根际土壤的微生物活性 AWCD、微生物多样性指数和微生物均匀度指数均比非根际土壤的高; 9 种典型植物根际土壤微生物主要碳源利用类型是羧酸类和氨基酸类, 非根际土壤微生物主要碳源利用类型是羧酸类、胺类、氨基酸类; 微生物活性、微生物多样性指数和微生物均匀度指数两两之间均达到了极显著相关, 与土壤化学性质各指标之间均未达到显著相关水平。

关键词: 典型植物; 根际土壤; 微生物功能多样性; 宁南山区

Soil microbial functional diversity between rhizosphere and non-rhizosphere of typical plants in the hilly area of southern Nixia

AN Shaoshan^{1,3,*}, LI Guohui^{1,3}, CHEN Liding³

1 State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

2 College of Resource and Environmental Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

3 Institute of Soil and Water Conservation, CAS&MWR, Yangling 712100, China

4 State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, CAS, Beijing 100085, China

Abstract: Soil quality degradation arising from vegetation deterioration in loess-covered hilly regions threatens the ecological environment and the development of sustainable agriculture. Consequently, improving soil quality and speeding up the process of vegetation restoration is an important goal of ecological rehabilitation projects in these regions. Rhizosphere and non-rhizosphere soil under nine typical plant species from a grassland area in the hilly region of southern Ningxia were used to study their microbial functional diversity using the Biolog method. The objective was to provide scientific evidence for preservation or improvement of soil quality, soil fertility and nutrient use efficiency, thus enhancing protection of the ecological environment.

Soil chemical properties (organic C, total N, ammonium N, nitrate N, total P, available P, and available K), soil enzyme activity (invertase, urease, alkaline phosphatase, and dehydrogenase), soil microbial biomass (Cmic, Nmic, and Pmic) and basal respiration differed between the rhizosphere and non-rhizosphere soils from the nine plant species. Enzyme activities and Cmic, Nmic, and basal respiration in the rhizosphere soil of *Artemisia frigida* were higher than for the other

基金项目: 国家自然科学基金(40971171, 40701095); 西北农林科技大学“青年学术骨干支持计划”资助

收稿日期: 2010-09-27; 修订日期: 2011-06-27

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: shan@ms.iswc.ac.cn

plant species, whereas the main trend of chemical properties, soil enzyme activity, and soil microbial biomass in the rhizosphere and non-rhizosphere soil of *Lespedeza bicolor Turcz* were lower. The rhizosphere and non-rhizosphere soils of the nine plant species showed significant differences in soil microbial activity, soil microbial diversity index and uniformity index. Except for *Agropyron cristatum*, soil microbial functional diversity in the rhizosphere soils was higher than in the non-rhizosphere soils. The main carbon sources of microbes in the rhizosphere of the nine plant species were carboxylic acids and amino acids, and in the non-rhizosphere soil were carboxylic acids, amines, and amino acids. Significant correlations were found between organic C, total N, invertase, Cmic, and Nmic in the rhizosphere and non-rhizosphere soil from the different plant species. Significant correlations were found between soil microbial activity, soil microbial diversity index and uniformity index under the different plant species, but correlations of soil microbial activity, soil microbial diversity index and uniformity index with other indicators were not significant. Principal components analysis showed that organic C, total N, invertase, alkaline phosphatase, Cmic, Nmic, basal respiration, the soil microbial diversity index, and the uniformity index can be used as indices to evaluate soil quality under the nine plant species in this typical grassland area.

Key Words: typical plants; rhizosphere soil; microbial functional diversity; hilly area of southern Ningxia

宁夏南部山区生态环境有其致命的弱点,荒山草地无节制的滥垦,有限的水资源被无情的污染,大量原始植被遭受破坏,导致近年来沙尘暴、干旱、水土流失等问题日益突出。植被恢复是防治土壤侵蚀的关键方法,在减少径流、泥沙和养分的流失等方面起到重要的作用,从而有效地保护区域环境。同时,随着植被的恢复,大量有机质不断输入土壤中,使土壤环境得以改善,土壤质量得到提高,并对土壤生态系统特别是土壤微生物产生很大的影响。

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,它们参与土壤有机质分解、腐殖质形成、土壤养分转化和循环等过程。土壤微生物群落结构组成及活性变化是衡量土壤质量、维持土壤肥力和作物生产力的一个重要指标^[1]。所以对土壤微生物群落结构和功能的研究一直以来是土壤生态学研究的一个热点。由于受研究技术和方法的限制,以往人们对土壤微生物的研究多侧重于数量和生物量方面,土壤微生物生物量在反映土壤微生物总量的差异上具有较好的优越性,但要更全面地展现土壤的生物肥力,表现土壤微生物在组成和区系上的变化,还要结合土壤微生物多样性的研究。近年来运用了不同的方法和技术对土壤微生物多样性的研究越来越多^[2-5]。Biolog 作为对功能微生物群落变化较为敏感的指标,广泛应用于评价土壤微生物群落的功能多样性^[6]。目前主要用于比较不同土壤类型^[7]、同类土壤不同植物物种^[8]、不同管理策略下的农业土壤^[9]、不同植被根际^[10]的土壤微生物群落的代谢多样性。与传统的平板计数法相比,这种方法能比单纯了解微生物总数要行之有效。微生物对碳源的利用能力则是表征土壤微生物生长情况的主要指标。因此 Biolog^{Eco} 微平板技术可以用于估价土壤微生物群落代谢多样性和功能多样性的研究^[11]。本研究以宁南山区 9 种典型植物根际与非根际土壤为研究对象,应用 Biolog^{Eco} 方法,研究了不同植物根际对土壤微生物功能多样性的影响,以期阐明侵蚀退化生态系统条件下,植被恢复与土壤质量演变的相互作用机制。

1 研究区概况

本试验区选在宁南山区典型草原带-宁夏固原中国科学院水土保持研究所固原生态站上黄试验区,该站位于东经 106°26′—106°30′,北纬 35°59′—36°03′,海拔 1534.3—1822 m,年均气温 6.9℃,年降水量 420 mm。境内小川河将全村分为东西两部分,东部为梁状丘陵,地形起伏较大,西部自东向西依次为台、坪、梁地形,较为开阔。地带性土壤黑垆土主要分布在台、坪,有深厚的有机质层,丘陵区分布的主要是黄绵土。这里气候干旱,地势高亢,干旱、冰雹、低温、霜冻、风沙五灾俱全,生态环境脆弱,农业生产条件差,抗灾能力弱。

2 材料与方法

2.1 试验设计

样地植物为上黄试验区 9 种典型植物,包括猪毛蒿(*Artemisia scoparia*) (简化为 ZMH),百里香(*Thymus*

mongolicus) (BLX), 冰草 (*Agropyron cristatum*) (BC), 铁杆蒿 (*A. sacrorum*) (TGH), 胡枝子 (*Lespedeza bicolor Turcz*) (HZZ), 冷蒿 (*A. frigida*) (LH), 柠条 (*Caragana microphylla.*) (NT), 委陵菜 (*Potentilla chinensis Ser.*) (简称为 WLC), 长芒草 (*Pseudoraphis bungeana Trin*) (CMC)。

2.2 土样采集

土壤样品于 2009 年 8 月采集, 采集方法为 Riley 和 Barber 的抖落法^[12-13]: 挖取具有完整根系的土体(体积大小视根系本身的范围而定), 先轻轻抖落大块不含根系的土壤, 装入塑料袋内, 混匀, 视为非根际土壤; 然后用力将根表面附着的土壤全部抖落下来, 便获得根际土壤。供试土壤为这九种植物的根际与非根际土壤。每种植物在各自的植物群落中按“S”型路线选择 4—5 株植物, 在土层 0—20 cm 深度下取其根际与非根际土壤, 分别混合, 按四分法取一部分土壤, 野外重复 3 次。

2.3 测定方法

土壤微生物代谢活性和功能多样性用 Biolog^{Eco} 方法进行测定^[14-15]。

操作步骤: 称取相当于 10 g 烘干土壤重量的新鲜土壤于灭过菌的 250 mL 三角瓶中, 加入 90 mL 无菌 NaCl 溶液(0.85%), 封口后, 在摇床振荡 15 min, 静止 15 min, 取上清液, 在超净工作台中用无菌 NaCl 溶液(0.85%) 稀释到 10^{-3} , 用 8 通道加样器将稀释 1000 倍的菌液加入 Biolog 生态板培养板上, 每孔加 150 μ L。将接种的 Biolog 生态板放在 25 $^{\circ}$ C 培养箱中培养 10 d, 每隔 24 h 用 Biolog 微平板读数器读取培养板在 590 nm 波长的吸光值。

2.4 数据处理

所得数据采用以下公式进行分析处理^[a]。

(1) 土壤微生物的代谢活性用每孔颜色平均变化率(average well color development, AWCD) 来描述, 计算公式如下:

$$AWCD = \sum (C_i - R) / 31$$

式中 C_i 为各反应孔在 590 nm 下的光密度值; R 为 ECO 板对照孔 A_1 的光密度值, BIOLOG 生态板的 C 源数目为 31。 $C_i - R$ 小于零的孔, 计算中记为零, 即: $C_i - R \geq 0$ 。

(2) 群落丰富度指数(S)

用碳源代谢孔的数目 ($C_i - R > 0$) 则代表该孔碳源被利用, 该孔即为反应孔) 表示群落丰富度指数。

(3) 微生物多样性指数(H')

$$H' = - \sum (P_i \times \log P_i)$$

式中, $P_i = (C_i - R) / \sum (C_i - R)$ 表示有碳源的孔与对照孔 A_1 的光密度值之差与整板总差的比值。

(4) 微生物均匀度指数(E)

$$E = H' / \ln S$$

所用数据用 Microsoft Excel 2000、DPS 和 SPSS 软件系统处理, 采用方差分析、相关分析与主成分分析等方法, 所有数据为 3 次重复的平均值。

2.5 Biolog Eco 微孔板上碳源的分布和分类

Biolog Eco 微孔板上碳源的分布和分类见表 1、表 2。

3 结果与分析

3.1 不同植物根际与非根际土壤化学性质的变化

从表 3 中可以看出, 草原带 9 种不同种类植物之间的有机碳、全氮、硝态氮、铵态氮, 全磷、速效磷和速效钾含量无论根际土壤还是非根际土壤均存在不同程度的差异; 除冰草、达乌里胡枝子、细辛、长芒草的根际土壤速效磷含量分别比非根际土壤小 1.127、3.045、0.576、2.192 mg/kg 以外, 其余各类植物的根际土壤有机碳、全氮、硝态氮、铵态氮、全磷、速效磷和速效钾含量均大于非根际土壤。其中 柠条的根际与非根际土壤有

表 1 BIOLOG-ECO 微孔板上 31 种碳源的分布

Table 1 The distribution of 31 carbon sources in Biolog Eco microplate

A1	A2	A3	A4
水	β -甲基-D-葡萄糖苷	D-半乳糖酸 γ 内酯	L-精氨酸
B1	B2	B3	B4
丙酮酸甲酯	D-木糖/戊醛糖	D-半乳糖醛酸	L-天门冬酰胺
C1	C2	C3	C4
吐温 40	i-赤藓糖醇	2-羟基苯甲酸	L-苯丙氨酸
D1	D2	D3	D4
吐温 80	D-甘露醇	4-羟基苯甲酸	L-丝氨酸
E1	E2	E3	E4
α -环式糊精	N-乙酰-D-葡萄糖氨	γ -羟丁酸	L-苏氨酸
F1	F2	F3	F4
肝糖	D-葡糖胺酸	衣康酸	甘氨酸-L-谷氨酸
G1	G2	G3	G4
D-纤维二糖	1-磷酸葡萄糖	α -丁酮酸	苯乙胺
H1	H2	H3	H4
α -D-乳糖	D L- α -磷酸甘油	D-苹果酸	腐胺

表 2 Biolog^{Eco} 板碳源分类Table 2 Corresponding well numbers for six carbon substrate group of Biolog^{Eco}

培养基类别 Type of culture medium	BIOLOG ^{Eco} 板 Biolog ^{Eco} plate	培养基类别 Type of culture medium	BIOLOG ^{Eco} 板 Biolog ^{Eco} plate
糖类	A2 ,B2 ,C2 ,D2 ,E2 ,G1 ,G2 ,H1	羧酸类	A3 ,B3 ,C3 ,D3 ,E3 ,F2 ,F3 ,G3 ,H3
氨基酸类	A4 ,B4 ,C4 ,D4 ,E4 ,F4	胺类	G4 ,H4
聚合物类	C1 ,D1 ,E1 ,F1	其他混合物	B1 ,H2

表 3 不同植物根际与非根际土壤化学性质

Table 3 The chemical properties of rhizosphere and non-rhizosphere soil under different plant specie

部位 Position	植物种类 Type of plant	有机碳 Organic Carbon /(g/kg)	全氮 Total N /(g/kg)	铵态氮 Ammonium /(mg/kg)	硝态氮 Nitrate /(mg/kg)	全磷 Total P /(g/kg)	速效磷 Available P /(mg/kg)	速效钾 Available K /(mg/kg)
根际	NT	12.85	1.53	1.32	26.21	1.04	17.12	329.31
	BC	13.97	1.64	2.17	21.41	0.90	10.00	232.81
	ZMH	13.05	0.89	4.92	12.22	0.93	15.14	335.26
	LH	14.12	1.69	1.38	16.76	0.88	13.78	189.18
	HZZ	8.15	0.95	0.75	26.36	0.90	12.74	218.27
	CMC	13.13	1.54	4.89	19.35	0.92	16.04	291.64
	WLC	14.02	1.66	2.22	20.55	0.91	13.95	219.59
	BLX	13.57	1.46	1.99	19.48	0.95	16.82	235.45
非根际	TGH	15.25	1.60	7.95	19.44	0.93	15.25	203.72
	NT	11.33	1.43	0.99	18.57	1.04	16.66	279.08
	BC	14.10	1.59	1.72	13.12	0.88	11.13	226.20
	ZMH	12.15	0.82	3.49	7.65	0.90	13.34	224.21
	LH	12.95	1.58	1.01	10.27	0.85	11.30	174.64
	HZZ	5.53	0.73	0.54	6.90	0.90	15.79	136.30
	CMC	12.35	1.53	3.57	11.51	0.92	16.61	232.81
	WLC	13.17	1.55	1.69	12.05	0.89	16.14	198.44
BLX	12.35	1.33	1.82	14.43	0.91	13.80	140.93	

机碳、全氮、铵态氮含量都很低,其根际与非根际土壤硝态氮、全磷、速效磷和速效钾含量都很高;冰草的根际与非根际土壤全磷、速效磷和速效钾含量都很低;达乌里胡枝子的根际与非根际土壤有机碳、全氮、铵态氮含量都是最低,在根际土壤中的硝态氮含量最高,为 26.36 mg/kg,在非根际土壤中硝态氮含量最低,为 6.90 mg/kg,两者之间差值最大。这些现象可能原因是与植物本身的生物学特性和根系分泌物有关系,其机理还有待进一步研究。

3.2 不同植物根际与非根际土壤微生物 AWCD 变化

平均颜色变化率(AWCD)是反映土壤微生物活性,即利用单一碳源能力的一个重要指标^[16-17],在一定程度上反映了土壤中微生物种群的数量和结构特征。AWCD 值越大,活性越高;反之,活性越低。

从图 1 可知,在草原带 9 种植物类型中 AWCD 值都随时间延长而增加,表明了不同植物土壤的微生物活性都随时间的延长而增加。并且各种植物根际土壤的 AWCD 值在 24 h 内无明显变化,在 24 h 之后急剧上升,而非根际土壤相对上升缓慢,也说明非根际土壤微生物活性较根际土壤低。

从图 2 中可以看出,不同植物根际土壤的微生物 AWCD 比较为:胡枝子(HZZ) > 铁杆蒿(TGH) > 冷蒿(LH) > 猪毛蒿(ZMH) > 委陵菜(WLC) > 百里香(BLX) > 长芒草(CMC) > 冰草(BC) > 柠条(NT),其中胡枝子(HZZ)的 AWCD 最大为 0.550,柠条(NT)的 AWCD 最小为 0.151;不同植物非根际土壤的微生物 AWCD 比较为:胡枝子(HZZ) > 冰草(BC) > 猪毛蒿(ZMH) > 长芒草(CMC) > 铁杆蒿(TGH) > 柠条(NT) > 委陵菜(WLC) > 冷蒿(LH) > 百里香(BLX),其中胡枝子(HZZ)的 AWCD 最大为 0.517,百里香(BLX)的 AWCD 最小,为 0.035;其中冷蒿(LH)的根际与非根际土壤微生物 AWCD 差异最大,为 0.416,柠条(NT)的根际与非根际土壤微生物 AWCD 差异最小,为 0.005。从图 2 中还可以看出,绝大多数植物的根际土壤微生物 AWCD 都大于非根际土壤,冰草(BC)的非根际土壤微生物 AWCD 大于根际土壤。柠条(NT)的根际与非根际土壤微生物 AWCD 基本相似。柠条是一种灌木,直根系比较发达,须根系较少,因此,根系分泌物产生较少,因此,在根际与非根际土壤微生物活性上,差别不很大。

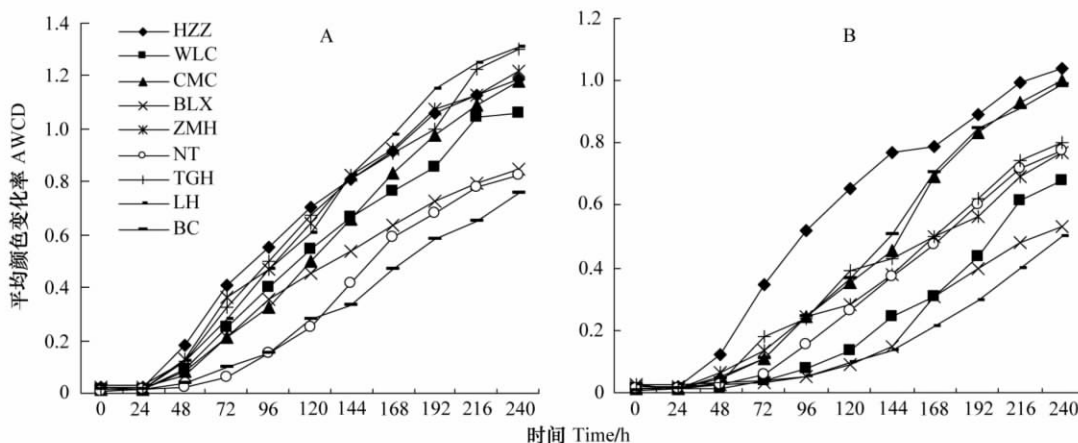


图 1 不同植物根际(A)与非根际(B)土壤微生物 AWCD 随培养时间的变化

Fig. 1 Average well color development of rhizosphere(A) and non-rhizosphere(B) soil under different species of plant

3.3 不同植物根际与非根际土壤微生物多样性指数变化

微生物多样性指数表示在颜色变化率一致的情况下,整个生态系统土壤微生物群落利用碳源类型的多与少,即功能多样性。某生态系统微生物多样性指数值越大,表明该系统的土壤微生物群落功能多样性越高,反之,则多样性越低。微生物均匀度指数是通过微生物多样性指数计算出来的均度,包含两个因素:①种类数目,即丰富度;②种类中个体分布的均匀性。种类数目越多,多样性越大;同样,种类之间个体分配的均匀性增加也会使多样性提高。

土壤微生物多样性指数无论是不同植物之间,还是根际土壤还是非根际土壤均存在一定的差别(表 4)。

除冰草(BC)外,其它各种植物的根际土壤微生物多样性指数都大于非根际土壤。在不同植物的根际土壤中,铁杆蒿(TGH)的根际土壤微生物多样性指数最高,为1.299,在9种植物中最高;冰草(BC)的根际土壤微生物多样性指数最低,为0.993,其次为柠条1.040;在不同植物的非根际土壤中,百里香(BLX)的非根际土壤微生物多样性指数最高,为1.169,胡枝子(HZZ)次之,为1.155,并且两者之间的差异不显著($P > 0.05$),却都显著高于其他植物;铁杆蒿(TGH)的根际与非根际土壤微生物多样性指数差异最大,为0.344,百里香(BLX)的根际与非根际土壤微生物多样性指数差异最小,为0.031;与土壤微生物多样性指数相似,不同植物之间的土壤微生物均匀度指数无论根际土壤还是非根际土壤均存在不同程度的差异。对不同植物而言,根际土壤均匀度指数不同,铁杆蒿(TGH)、冷蒿(LH)、长芒草(CMC)的根际土壤微生物均匀度指数都很高,三者之间的差异不显著,却显著高于其他植物;冰草(BC)的根际土壤微生物均匀度指数显著低于其他植物,为0.341;不同植物的非根际土壤均匀度指数也有差异,但它们之间的差异都很小。同一植物的根际与非根际土壤之间的微生物均匀度指数也有差异,除冰草(BC)外其它各种植物的根际土壤微生物多样性指数都大于非根际。并且铁杆蒿(TGH)的根际与非根际土壤微生物均匀度指数差异最大,为0.061,胡枝子(HZZ)的根际与非根际土壤微生物多样性指数差异最小,为0.008。由此可见,不同植物类型对土壤微生物的功能多样性和均匀度有显著影响。

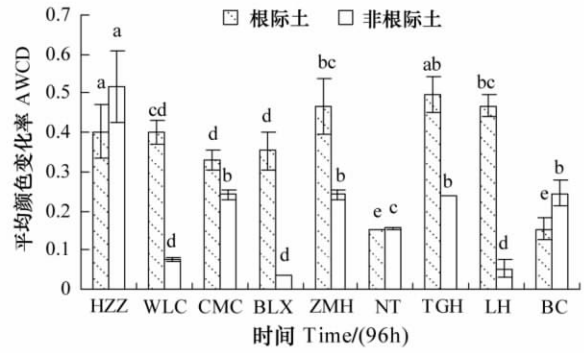


图2 不同植物土壤微生物 AWCD(96h) 比较

Fig. 2 Average well color development under different species of plant

图中小写字母(a, b, c, d 和 e)表示不同植物类型间在0.05水平上的差异

表4 不同植物根际与非根际土壤微生物多样性指数与均匀度指数(96h)

Table 4 The functional diversity of rhizosphere and non-rhizosphere soil microbial community under different plant species

植物 Plant	根际土壤 Rhizosphere soil		非根际土壤 Non-rhizosphere soil	
	多样性指数 H Diversity index	均匀度指数 E Evenness index	多样性指数 H Diversity index	均匀度指数 E Evenness index
HZZ	1.227 ± 0.034bc	0.373 ± 0.004bc	1.155 ± 0.108a	0.366 ± 0.023a
WLC	1.220 ± 0.015bc	0.384 ± 0.012ab	0.929 ± 0.054c	0.329 ± 0.018ab
CMC	1.258 ± 0.039abc	0.391 ± 0.003a	0.972 ± 0.050bc	0.338 ± 0.010ab
BLX	1.200 ± 0.053c	0.370 ± 0.013cd	1.169 ± 0.095a	0.369 ± 0.025a
ZMH	1.218 ± 0.026bc	0.373 ± 0.009bc	0.950 ± 0.092c	0.313 ± 0.021b
NT	1.040 ± 0.039d	0.352 ± 0.012de	0.999 ± 0.089bc	0.337 ± 0.030ab
TGH	1.299 ± 0.041a	0.398 ± 0.007a	0.954 ± 0.127c	0.337 ± 0.033ab
LH	1.274 ± 0.032ab	0.392 ± 0.007a	1.071 ± 0.105abc	0.365 ± 0.034a
BC	0.993 ± 0.049d	0.341 ± 0.010e	1.122 ± 0.020ab	0.358 ± 0.009a

不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 数值为平均值 ± 标准差 (mean ± SD)

3.4 不同植物根际与非根际土壤微生物代谢多样性类型的变化

利用培养96h后测定的AWCD值数据,运用SPSS软件对数据进行主成分分析。数据矩阵包括27行代表上黄试验区9种典型植物的27个样地,31列代表生态板上分布的31种不同的C源物质。

对9种典型植物根际土壤微生物碳源的利用结果见表5,共提取了8个主成分,累计贡献率达80.47%。其中第1主成分(PC1)的方差贡献率为31.28%,第2主成分(PC2)为11.59%。第3—8主成分贡献率均较小,分别为8.60%、8.18%、6.45%、6.26%、4.77%、3.34%,其中对第1主成分(PC1)贡献较大的C源有10种,为L-精氨酸、丙酮酸甲酯、L-天门冬酰胺、吐温40、D-甘露醇、4-羟基苯甲酸、D-葡糖胺酸、衣康酸、甘氨酸-

L-谷氨酸、D, L- α -磷酸甘油。羧酸类包含 3 种, 氨基酸类包含 3 种, 其他混合物包含 2 种, 糖类 1 种, 聚合物类 1 种, 主要碳源利用类型是羧酸类和氨基酸类。

表 5 9 种典型植物根际土壤微生物碳源各个主成分特征值和累计贡献率

Table 5 Eigenvalues and cumulative contribution rate of components

主成分 Component	特征值 Eigenvalues	贡献率/% Contribution rate	累计贡献率/% Cumulative contribution rate
1	9.70	31.28	31.28
2	3.59	11.59	42.86
3	2.67	8.60	51.46
4	2.54	8.18	59.64
5	2.00	6.45	66.09
6	1.94	6.26	72.35
7	1.48	4.77	77.13
8	1.04	3.34	80.47

对 9 种典型植物非根际土壤微生物碳源的利用结果见表 6, 共提取了 9 个主成分, 累计贡献率达 83.95%。其中第 1 主成分(PC1) 的方差贡献率为 26.97%, 第 2 主成分(PC2) 为 11.15%, 第 3—9 主成分贡献率均较小, 分别为 9.06%、8.70%、6.74%、6.59%、5.56%、5.34% 和 3.84%。其中对第 1 主成分(PC1) 贡献较大的 C 源有 7 种, 为 D-半乳糖酸 γ 内酯、D-半乳糖醛酸、吐温 40、L-苏氨酸、苯乙胺、D, L- α -磷酸甘油、腐胺, 其中羧酸类 2 种, 胺类 2 种, 氨基酸类、聚合物类、其他混合物各 1 种。主要碳源利用类型是羧酸类、胺类、氨基酸类。

表 6 9 种典型植物非根际土壤微生物碳源各个主成分特征值和累计贡献率

Table 6 Eigenvalues and cumulative contribution rate of components

主成分 Component	特征值 Eigenvalues	贡献率/% Contribution rate	累计贡献率/% Cumulative contribution rate
1	8.36	26.97	26.97
2	3.46	11.15	38.12
3	2.81	9.06	47.18
4	2.70	8.70	55.88
5	2.09	6.74	62.62
6	2.04	6.59	69.21
7	1.72	5.56	74.77
8	1.66	5.34	80.11
9	1.19	3.84	83.95

3.5 不同植物根际与非根际土壤微生物多样性与土壤化学性质的相关关系

将 96 h 平均颜色变化率 AWCD 值、微生物多样性指数(H')、微生物均匀度指数(E) 与土壤化学性质各指标进行相关分析后发现, 如表 6 所示, 96 h 平均颜色变化率 AWCD 值、微生物多样性指数(H') 和微生物均匀度指数(E) 两两之间均达到了极显著相关($P < 0.01$), 与土壤化学性质各指标之间虽未达到显著相关水平, 但都存在正相关关系。由此说明影响土壤微生物多样性的主要因素可能与碳源物质的来源、植物的根系分泌物等因素有密切关系, 并与土壤化学性质存在一定联系。

4 讨论

宁南山区位于我国干旱半干旱地区, 植被破坏和水土流失十分严重, 生态恢复迫在眉睫。对生态系统的恢复在考虑植物多样性的同时更应该考虑土壤微生物多样性, 土壤微生物多样性对土壤结构和团聚体的形成、土壤稳定性及肥力有重要影响^[18]。研究植被对土壤微生物群落的影响, 揭示土壤微生物对植被恢复的响

应关系,对选择合适的植被类型进行生态恢复和重建具有重要意义。植被通过影响土壤有机碳和氮的水平、土壤含水量、温度、通气性及 pH 值等来影响土壤微生物多样性。植被是土壤微生物赖以生存的有机营养物和能量的重要来源,影响着土壤微生物定居的物理环境。植被的存在有利于增加土壤微生物多样性和微生物生物量;反之,植被的破坏可能改变微生物组成并降低微生物多样性^[19]。

表 7 典型草原带不同植物根际与非根际土壤化学性质与微生物功能多样性的相关关系

Table 7 The correlative coefficients among soil microbial functional diversity and soil nutrients in the rhizosphere and non-rhizosphere soil under different plants

相关系数 Correlative coefficients	有机碳 Organic C	全氮 Total N	铵态氮 Ammonium N	硝态氮 Nitrate N	全磷 Total P	速效磷 Availabel P	速效钾 Availabel K	平均颜色 变化率 AWCD	多样性 指数 H'	均匀度 指数 E
有机碳 Organic C	1	0.72**	0.44	0.19	0.01	-0.14	0.3	-0.31	0.07	0.17
全氮 Total N		1	0.13	0.34	0.07	-0.13	0.02	-0.41	-0.02	0.2
铵态氮 NH ₄ ⁺ -N			1	-0.1	-0.03	0.1	0.07	0.22	0.14	0.13
硝态氮 NO ₃ ⁻ -N				1	0.48	0.15	0.45	0.09	0.29	0.33
全磷 Total P					1	0.69**	0.60*	-0.15	-0.19	-0.15
速效磷 Availabel P						1	0.42	0.23	0.19	0.22
速效钾 Availabel K							1	0.02	0.04	0
平均颜色变化率 AWCD								1	0.65**	0.52*
多样性指数 H'									1	0.95**
均匀度指数 E										1

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

本试验通过 Biolog Eco 板方法对宁南山区 9 种典型植物的根际与非根际土壤微生物功能多样性进行了研究,试验结果显示,不同植物之间的土壤微生物活性(AWCD)、土壤微生物多样性指数和均匀度指数无论根际土壤还是非根际土壤均存在一定的差异。导致这种差异的主要因素与植物种类组成、植物残体、根系分泌物和土壤物理性状和化学性质等生态因子有关^[20]。当前诸多报道也阐述了这一事实。应用 Biolog 微平板法^[21]、16SrRNA 分析^[22]、PCR-DGGE^[23]等方法开展的研究都证明不同植被类型、同一植物不同基因型间同一基因型不同发育阶段的根际土壤微生物多样性均有不同。上述研究结果表明植物根际土壤微生物多样性不仅随着植物类型改变,还随着植物的生长发育过程改变,具有非常强的时空特征。Melany 研究了美国北部泥炭地生态系统中植被类型对土壤微生物活性、功能群组成格局的影响,表明植被类型影响土壤微生物活性、功能类群^[24]。毕江涛等研究表明,荒漠草原 5 种植被类型土壤微生物群落代谢活性有显著的差异,5 种植被类型土壤微生物群落利用碳源的种类也存在差异。5 种植被类型土壤微生物群落多样性显示,物种丰富度指数和均匀度指数差异显著,Shannon 指数差异不显著^[25]。张海涵等对黄土高原 5 种造林树种菌根根际土壤微生物群落多样性进行研究,表明各树种根际土壤平均颜色变化率 AWCD 为油松 > 沙棘 > 狼牙刺 > 柠条 > 刺槐;不同树种菌根侵染率和菌根根际的微生物功能多样性均有显著差异;其中油松菌根侵染率最高,根际土壤微生物 AWCD 值、丰富度和多样性指数显著高于其他树种,其次为沙棘和柠条^[26]。

本试验结果还显示,除冰草的根际土壤微生物 AWCD、微生物多样性指数和均匀度指数小于非根际土壤以外,其它各种植物的根际土壤微生物 AWCD、土壤微生物多样性指数和均匀度指数都大于非根际土壤。根际与非根际土壤之间的差异与植物的根系是分不开的,植物根系及其分泌物为土壤微生物提供生长基质和有利的生长环境。李春格等对大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响进行研究,试验结果表明,在结荚期和收获期根际微生物群落功能多样性、均匀度指数和 AWCD 均显著高于土体。并且豆植株生长旺盛的结荚期微生物群落的根际效应比收获期更明显^[27]。滕应等用 Biolog 数据分析显示,种植不同牧草的矿区土壤根际微生物群落结构和功能多样性也发生了相应改变,根际土壤微生物群落代谢剖面(AWCD)均显著高于未种植牧草土壤,处理间差异达极显著水平($P < 0.001$)。典型变量分析揭示了不同牧草根际微生物群落利用

碳源种类和数量存在明显差异^[28]。林瑞余等通过 Biolog 分析,探讨了水稻 PI312777、IAC47、Iguape Cateto 和 Lemont 苗期根际土壤微生物的群落特征及其功能多样性,结果表明不同水稻根际土壤的平均颜色变化率(AWCD)显著不同,总以强化感水稻 PI312777 最高,弱化感水稻 Lemont 最小,各土壤的 AWCD 值在培养 144h 时均达到最大值,此时 PI312777、IAC47、Iguape Cateto 和 Lemont 的 AWCD 值依次为不种水稻的对照土壤的 1.89、1.79、1.60 倍和 1.43 倍^[29]。

5 结论

本文研究结果表明,不同植物根际与非根际土壤之间的土壤化学性质、土壤微生物活性、土壤微生物多样性指数和均匀度指数存在不同程度的差异。微生物对相同碳源的利用、对碳源消耗量及速率上存在差异,也说明不同植物根际与非根际土壤微生物代谢强度不同;除冰草外,其它各种植物的根际土壤微生物活性 AWCD、土壤微生物多样性指数和均匀度指数都大于非根际土壤。其中,铁杆蒿、冷蒿的根际土壤微生物活性、土壤微生物多样性指数和均匀度指数都很高,冰草、柠条的根际土壤微生物活性、土壤微生物多样性指数和均匀度指数都很低。

研究区 9 种典型植物根际土壤微生物主要碳源利用类型是羧酸类和氨基酸类,非根际土壤微生物碳源主要碳源利用类型是羧酸类、胺类和氨基酸类。96h 平均颜色变化率 AWCD 值、微生物多样性指数(H')和微生物均匀度指数(E)两两之间均达到了极显著相关,与土壤化学性质各指标之间存在正相关关系。由此说明影响土壤微生物多样性的主要因素可能与碳源物质的来源、植物的根系分泌物等因素有密切关系,并与土壤化学性质存在一定联系,深层原因有待进一步研究。

References:

- [1] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(2): 111-129.
- [2] Zhang J E, Cai Y F, Gao A X, Zhu L X. Review on laboratory methods for soil microbial diversity. *Soils*, 2004, 36(4): 346-350.
- [3] Cai Y F, Liao Z W. Advancement of methods in soil microbial ecology. *Soil and Environmental Sciences* 2002, 11(2): 167-171.
- [4] Chen X Q, Yin H W. Progress on analytical methods used in microbial community diversity. *Shanghai Environmental Sciences* 2003, 22(3): 213-217.
- [5] Tian C J, Chen J K, Zhong Y. Phylogenetic diversity of microbes and its perspectives in conservation biology. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(4): 609-612.
- [6] Rogers B F, Tate R L. Temporal analysis of the soil microbial community along a toposequence in Pineland soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(10): 1389-1401.
- [7] 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. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [8] Zak J C, Willing M R, Moorhead D L, Wildman H G. Functional diversity of microbial communities: a quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26(9): 1101-1108.
- [9] Bossio D A, Scow K M. Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 1995, 61(11): 4043-4050.
- [10] Grayston S J, Wang S Q, Campbell C D, Edwards A C. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(3): 369-378.
- [11] Zheng H, Ouyang Z Y, Fang Z G, Zhao T Q. Application of biolog to study on soil microbial community functional diversity. *Acta Pedologica Sinica* 2004, 41(3): 456-461.
- [12] Riley D, Barber S A. Bicarbonate accumulation and pH changes at the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root-soil interface. *Soil Science Society of America Journal*, 1969, 33(6): 905-908.
- [13] Riley D, Barber S A. Salt accumulation at the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root-soil interface. *Soil Science Society of America Journal*, 1970, 34(1): 154-155.
- [14] Schutter M, Dick R. Shifts in substrate utilization potential and structure of soil microbial communities in response to carbon substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 2001, 33(11): 1481-1491.

- [15] Staddon W J, Duchesne L C, Trevors J T. Impact of clear-cutting and prescribed burning on microbial diversity and community structure in a Jack pine (*Pinus banksiana* Lamb.) clear-cut using Biolog Gram-negative microplates. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 1998, 14(1): 119-123.
- [16] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities. *Environmental Management*, 1997, 21(2): 233-238.
- [17] Benizri E, Amiaud B. Relationship between plants and soil microbial communities in fertilized grasslands. *Soil Biology and Biochemistry* 2005, 37(11): 2055-2064.
- [18] Lal R, Mokma D, Lowery B. Relation between soil quality and erosion//Lal R, ed. *Soil Quality and Soil Erosion*. Washington DC: CRC Press, 1999: 237-258.
- [19] Zhou J, Lei T. Review and prospects on methodology and affecting factors of soil microbial diversity. *Biodiversity Science* 2007, 15(3): 306-311.
- [20] Kowalchuk G A, Buma D S, de Boer W, Klinkhamer P G L, van Veen J A. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, 81(1/4): 509-520.
- [21] Grayston S J, Wang S Q, Campbell C D, Edwards A C. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(3): 369-378.
- [22] Kaiser O, Pühler A, Selbitschka W. Phylogenetic analysis of microbial diversity in the rhizosphere of oilseed rape (*Brassica napus* cv. Westar) employing cultivation-dependent and cultivation-independent approaches. *Microbial Ecology*, 2001, 42(2): 136-149.
- [23] Smalla K, Wieland G, Buchner A, Zock A, Parzy J, Kaiser S, Roskot N, Heuer H, Berg G. Bulk and rhizosphere soil bacterial communities studied by denaturing gradient gel electrophoresis: plant-dependent enrichment and seasonal shifts revealed. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(10): 4742-4751.
- [24] Melany C F, Kristin F R, Joseph B Y. Microbial activity and functional composition among northern peatland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry* 2003, 35(4): 591-602.
- [25] Bi J T, He D H, She Y X, Huang Z Y. Functional diversity of soil microbial community under different types of vegetation in the desert grassland. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2009, 27(5): 149-155.
- [26] Zhang H H, Tang M, Chen H, Du X G. Diversity of soil microbial communities in the mycorrhizosphere of five afforestation tree species in the Loess Plateau. *Journal of Beijing Forestry University* 2008, 30(3): 85-90.
- [27] Li C G, Li X M, Wang J G. Effect of soybean continuous cropping on bulk and rhizosphere soil microbial community function. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(4): 1144-1150.
- [28] Teng Y, Huang C Y, Long J, Yao H Y. Functional diversity of microbial community in herbage rhizosphere of reclaimed red soils. *China Environmental Science*, 2003, 23(3): 295-299.
- [29] Lin R Y, Rong H, Zhou J J, Yu C P, Ye C Y, Chen L S, Lin W X. Impact of rice seedling allelopathy on rhizospheric microbial populations and their functional diversities. *Acta Ecologica Sinica* 2007, 27(9): 3644-3654.
- [30] Hu C J, Fu B J, Liu G H, Jin T T, Liu Y. Soil microbial functional and diversity under typical artificial woodlands in the hilly area of the Loess Plateau. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(2): 727-733.

参考文献:

- [2] 章家恩, 蔡燕飞, 高爱霞, 朱丽霞. 土壤微生物多样性实验研究方法概述. *土壤学报*, 2004, 36(4): 346-350.
- [3] 蔡燕飞, 廖宗文. 土壤微生物生态学研究方法进展. *土壤与环境*, 2002, 11(2): 167-171.
- [4] 陈晓倩, 殷浩文. 微生物群落多样性分析方法的进展. *上海环境科学*, 2003, 22(3): 213-217.
- [5] 田春杰, 陈家宽, 钟扬. 微生物系统发育多样性及其保护生物学意义. *应用生态学报*, 2003, 14(4): 609-612.
- [11] 郑华, 欧阳志云, 方治国, 赵同谦. BILOG 在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用. *土壤学报*, 2004, 41(3): 456-461.
- [19] 周桔, 雷霆. 土壤微生物多样性影响因素及研究方法的现状与展望. *生物多样性*, 2007, 15(3): 306-311.
- [25] 毕江涛, 贺达汉, 沙月霞, 黄泽勇. 荒漠草原不同植被类型土壤微生物群落功能多样性. *干旱地区农业研究*, 2009, 27(5): 149-155.
- [26] 张海涵, 唐明, 陈辉, 杜小刚. 黄土高原 5 种造林树种菌根际土壤微生物群落多样性研究. *北京林业大学学报*, 2008, 30(3): 85-90.
- [27] 李春格, 李晓鸣, 王敬国. 大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响. *生态学报*, 2006, 26(4): 1144-1150.
- [28] 滕应, 黄昌勇, 龙健, 姚槐应. 复垦红壤中牧草根际微生物群落功能多样性. *中国环境科学*, 2003, 23(3): 295-299.
- [29] 林瑞余, 戎红, 周军建, 于翠平, 叶陈英, 陈良生, 林文雄. 苗期化感水稻对根际土壤微生物群落及其功能多样性的影响. *生态学报*, 2007, 27(9): 3644-3654.
- [30] 胡婵娟, 傅伯杰, 刘国华, 靳甜甜, 刘宇. 黄土丘陵沟壑区典型人工林下土壤微生物功能多样性. *生态学报*, 2009, 29(2): 727-733.