

长期施用化肥及秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响

孙瑞波^{1,3} 郭熙盛² 王道中² 褚海燕^{1*}

- (1. 中国科学院南京土壤研究所 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 江苏 南京 210008)
(2. 安徽省农业科学院土壤肥料研究所 安徽养分循环与资源环境省级实验室 安徽 合肥 230031)
(3. 中国科学院大学 北京 100049)

摘要:【目的】在施用化肥的基础上进行秸秆还田是提高砂姜黑土肥力的有效措施, 以往的研究只注重秸秆还田对土壤结构、肥力等物理化学性状方面的研究, 缺少施肥对砂姜黑土微生物群落影响的研究。本研究以安徽蒙城典型的砂姜黑土为研究对象, 以期揭示长期施用化肥和秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响。【方法】采用 454 高通量测序对砂姜黑土不同农业施肥措施下的细菌群落进行分析研究, 并通过生物信息学的分析方法揭示影响砂姜黑土细菌群落的主要因素。【结果】通过对 454 高通量测序数据的分析, 发现砂姜黑土主要的细菌门类为放线菌、变形菌、酸杆菌、绿弯菌和拟杆菌。长期施用化肥显著提高了砂姜黑土肥力和作物产量, 但导致了细菌群落结构的显著变化和多样性的显著降低。秸秆还田有利于土壤肥力的进一步提高, 但是并没有缓解长期施用化肥对土壤细菌群落产生的不利影响。分析发现土壤 pH 的变化是导致土壤细菌群落变异的主要因素。【结论】在施用化肥的基础上进行秸秆还田有利于砂姜黑土肥力的提升, 然而并没有缓解由施肥导致的土壤酸化对土壤细菌群落组成和多样性产生的不利影响。这暗示秸秆还田可能并未对砂姜黑土微生物生态产生根本性的有益影响, 对于秸秆农田的利用方式还需要进一步研究, 以达到农业生产效益和生态效益的并重。

关键词: 砂姜黑土, 秸秆还田, 土壤细菌群落, 454 高通量测序

The impact of long-term application of chemical fertilizers and straw returning on soil bacterial community

SUN Rui-Bo^{1,3} GUO Xi-Sheng² WANG Dao-Zhong² CHU Hai-Yan^{1*}

- (1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing, Jiangsu 210008, China)
(2. Anhui Provincial Laboratory of Nutrient Cycling, Resources and Environment, Soil and Fertilizer Research Institute, Anhui Academy of Agricultural Sciences, Hefei, Anhui 230031, China)
(3. University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: [Objective] The application of chemical fertilizers and straw returning are important agricultural strategies to improve the fertility of lime concretion black soil. However, there is little

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项项目(No. XDB15010101, XDB15010103)

*通讯作者: Tel: 86-25-86881356; ✉: hychu@issas.ac.cn

收稿日期: 2015-01-11; 接受日期: 2015-03-25; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-04-08

information about the impact of fertilization on microbial community in lime concretion black soil. The objective of this study was to investigate the effect of long-term application of chemical fertilizers and wheat straw returning on bacterial community in lime concretion black soil. **[Methods]** Quantitative PCR (qPCR) and 454 pyrosequencing-based analysis of the V4-V5 16S rRNA gene region were used to determine bacterial abundance, community structure and diversity in soils under different fertilization strategies. **[Results]** The most dominant bacterial phyla in lime concretion black soil were Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi and Bacteroidetes. Long-term application of chemical fertilizer greatly increased soil fertility, but resulted in significant bacterial community shift and diversity loss. Although wheat straw returning improved soil fertility, it could not mitigate the negative impact of chemical fertilizers on soil bacterial community. Statistical analysis revealed that changes in microbial community composition and diversity were strongly correlated with changes in pH induced by the fertilization regime. **[Conclusion]** Long-term application of chemical fertilizers and straw returning improved the fertility of lime concretion black soil, but soil acidification caused by fertilization had negative impact on soil bacterial community. Our results emphasized the importance of soil pH in addition to soil fertility for agricultural sustainability in lime concretion black soil region, and suggest that straw returning has little help for the stability of microbial community in lime concretion black soil, and comprehensive means must be taken to develop environmental friendly agriculture.

Keywords: Lime concretion black soil, Straw returning, Soil bacterial community, 454 pyrosequencing

砂姜黑土是由河湖相沉积物等石灰性母质在干湿交替条件下发育而成的隐域性土壤^[1], 主要分布在我国黄淮海平原南部地区, 其中以安徽省淮北平原分布面积最大, 约 166.7 万 hm^2 , 占全国砂姜黑土面积的 41.5%^[2]。砂姜黑土地区是我国重要的粮食及棉、油、菜等作物产区, 但由于其肥力水平低下, 严重制约着我国的农业生产^[3]。土壤有机质及 NPK 养分含量低是限制砂姜黑土生产力的主要因素^[4]。施用化肥可迅速补充和及时满足作物对养分的需求, 显著提高砂姜黑土 NPK 等元素含量, 具有增加产量和改善土壤肥力的双重作用。但过量施用化肥会带来一系列环境问题, 如环境污染、土壤退化等^[5]。化肥和有机物配合施用被认为是一种有效缓解大量化肥投入带来的不利影响的农业措施。作物秸秆是农业生产中最常见的有机物料, 研究表明, 化肥与秸秆还田配合可提高砂姜黑土有机质含量^[6], 不但有利于协调砂姜黑土营养元素供应, 提高土壤的保肥供肥能力, 还能改善土壤的物理性状, 如增加土壤孔隙度、降低容重, 改善土壤通透性和保水保肥性能等^[7], 增加作物产量^[8-9], 同时降低由于秸秆焚烧带来的环境污染问题。

土壤微生物数量众多、种类丰富, 在维持土壤生态功能, 尤其是元素循环中扮演着重要的角色^[10], 并且对植物健康起着重要的作用^[11], 同时由于其对环境变化敏感, 微生物群落的改变可以从一定程度上反应土壤生态功能的变化^[12]。因此研究长期秸秆还田对土壤微生物群落的影响, 对评价长期秸秆还田对土壤生态的影响及寻找环境友好型的农业措施具有重要的指导意义。已有的研究发现使用化肥和秸秆还田会显著改变土壤微生物学特性。例如, 化肥的施用会显著提高土壤微生物生物量并导致微生物群落的分异^[13], 化肥与秸秆还田配合可进一步增加土壤微生物数量^[14-16], 提高土壤微生物活性^[13], 并利于土壤微生物功能多样性的改善^[16]。但以往的研究大多是基于传统的研究手段和技术, 无法准确揭示微生物群落的变化, 而且对于长期施用化肥和秸秆还田对砂姜黑土微生物群落的影响研究也鲜见报道。本研究以典型砂姜黑土区——安徽蒙城长期秸秆还田定位实验为平台, 通过 454 高通量测序技术, 研究长期使用化肥, 以及化肥配合秸秆还田对土壤细菌多样性、群落结构的影响, 以及与土壤理化性质间的关系, 以期揭示影响砂姜黑土

细菌群落的主要因素,为进一步改善现有农业技术措施提供理论依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 主要试剂及仪器

土壤总 DNA 提取试剂盒 FastDNA[®] SPIN Kit for Soil, 美国 MP Biomedicals 公司; Premix *Taq* DNA 聚合酶, 中国上海博彩生物科技有限公司; PCR 产物胶回收试剂盒 Agarose Gel DNA Purification Kit, 日本 TaKaRa Biotechnology 公司; 碳氮分析仪, 德国 Elementar 公司; 流动分析仪, 荷兰 Skalar 公司; 有机碳分析仪, 德国 Analytik Jena 公司; 火焰光度计 FP640, 中国上海仪电分析仪器有限公司; 454 测序仪, 美国 Roche Diagnostics 公司。

1.2 实验设计

本实验地点位于农业部蒙城砂姜黑土生态环境站内(33°13'N, 116°35'E), 实验始于 1982 年, 选取 5 个处理作为本研究的研究对象: (1) 撂荒(Fallow, 不种植作物, 不施肥); (2) 对照(Control, 种植作物但不施肥); (3) 施用 NPK 肥(NPK); (4) 施用 NPK 肥+低量秸秆(NPK+LS); (5) 施用 NPK 肥+高量秸秆(NPK+HS)。每个处理设有 4 个重复, 每个实验小区面积为 60 m², 完全随机分布。NPK 肥施用量分别为: N 肥, 尿素 180 kg/(hm²·a); P 肥, P₂O₅ 90 kg/(hm²·a), K 肥 K₂O 135 kg/(hm²·a), 低量麦秸施用量为 3 750 kg/(hm²·a), 高量麦秸施用量为 7 500 kg/(hm²·a)。氮肥用尿素(含氮 46%), 磷肥用普通过磷酸钙(含 12% P₂O₅), 钾肥用氯化钾(含 60% K₂O)。所有肥料及秸秆于每年 10 月份小麦收获后一次性施入, 后茬作物不再施肥。样地除 1993–1998 年为小麦-玉米轮作外, 其余年份均为小麦-大豆轮作。

1.3 样品采集及理化性质测定

土壤样品采于 2012 年 6 月, 小麦收割后。按照“S”形采样法, 每个实验小区采集 12 份 0–10 cm 表层土样, 混合后作为一个样品。样品采集后立即带回实验室, 去除植物根、石块等杂物后过 2 mm

筛, 然后将每个样品分为两份, 一份保存于 4 °C 用于理化性质测定, 另一份存于 -20 °C 用于土壤总 DNA 的提取。

土壤理化性质参照文献[17]的方法进行测定。土壤 pH 用 pH 计测定, 水土比为 1:5 (质量体积比); 土壤总碳(TC)和总氮(TN)使用碳氮分析仪测定; 土壤硝态氮(NO₃⁻-N)、氨态氮(NH₄⁺-N)、溶解性总氮(DTN)和溶解性有机碳(DOC)使用 2 mol/L 的 KCl 提取, 流动分析仪测定硝态氮、氨态氮和溶解性总氮, 有机碳分析仪测定溶解性有机碳; 溶解性有机氮(DON)按照以下公式算出: 溶解性有机氮=溶解性总氮-硝态氮-氨态氮; 土壤速效钾(AK)用 1 mol/L 醋酸铵溶液提取, 火焰光度计法测定; 速效磷(AP)用 0.5 mol/L 碳酸氢钠溶液提取, 用钼蓝分光光度计比色法测定^[18]。

1.4 土壤 DNA 的提取和 16S rRNA 基因的高通量测序

土壤总 DNA 使用 FastDNA[®] SPIN Kit for Soil 试剂盒, 每个样品称取 0.5 g 鲜土, 依照试剂盒说明提取土壤总 DNA。

细菌 16S rRNA 基因的 V4-V5 区具有较广的种类覆盖度和良好的多样性深度, 可以较准确地反映细菌群落的差异^[19], 同时可以最大限度地降低由单个基因组内 16S rRNA 基因的多样性引起的对细菌整体群落多样性的高估问题^[20], 因此本研究中使用特异性引物 F515 (5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3') 和 R907 (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')^[21]对细菌 16S rRNA 基因 V4-V5 区进行扩增, 每个样品的引物含有特异的 7 bp Barcode 序列由于区分不同的样品。PCR 反应体系如下: Premix *Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL) 25 μL, DNA 模板(20 mg/L) 1 μL, 正、反向引物(20 mg/L)各 0.5 μL, 双蒸水补至 50 μL。PCR 扩增条件为: 95 °C 5 min; 94 °C 45 s, 56 °C 45 s, 72 °C 45 s, 30 个循环; 72 °C 10 min。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳(120 V, 20 min)后使用胶纯化试剂盒进行纯化。最后每个样品等量 PCR 产物混合后使用 Roche FLX 454 测序仪进行测序。

1.5 454 高通量测序数据的分析方法

454 测序结果使用 QIIME (Version 1.8.0) 软件进行分析^[22]。去除满足以下任意条件的低质量序列：(1) 序列短于 200 bp；(2) 包含超过 6 个不确定碱基；(3) 包含长于 6 bp 的均聚体；(4) 标签序列 (Barcode) 或引物序列中含有 1 个或以上错配碱基；(5) 质量分数低于 25；(6) 含有嵌合体。得到的高质量序列使用 UCLUST^[23] 按照 97% 的相似度进行 OTU (Operational taxonomic units) 分类, 并选择每个 OTU 中数量最多的序列作为相应 OTU 的代表序列。然后使用 RDP (Ribosomal database project) Classifier^[24] 进行序列比对, 比对用的参考数据库为 Silva 的 16S rRNA 基因数据库 (<http://www.arb-silva.de/>), 比对的最低置信度设置为 0.80。为比较各处理间的相对差异, 我们对每个样品随机抽取了 2 200 条序列进行后续的分析。

1.6 统计分析方法

主坐标分析 (Principal coordinates analysis, PCoA) 和多元回归树分析 (Multivariate regression

tree, MRT) 分别使用 R 软件 (Version 3.1.2) 中的 ape 和 Vegan 数据包进行。方差分析使用 IBM Statistical Product and Service Solutions (SPSS) Statistics for windows (Version 21)。

2 结果与分析

2.1 不同处理的土壤理化性质和小麦产量

1982–2012 年 30 年定位实验结果表明, 不同处理可导致土壤性质发生显著改变 (表 1)。与撂荒相比, 长期种植作物但不施肥 (对照) 可显著降低土壤总碳、总氮和速效养分如硝态氮和速效钾的含量。与对照处理相比, 施用化肥可显著提高土壤总碳、总氮以及速效养分如硝态氮、氨态氮和速效磷的含量。在施用 NPK 肥的基础上进行秸秆还田, 尤其是高量秸秆还田可以显著改善土壤的营养状况, 与单施化肥的处理相比, 土壤总碳、总氮和速效养分 (除速效钾) 都有显著的提高。撂荒和对照处理的土壤 pH 差异不大, 但施用化肥可显著降低土壤 pH, 土壤酸化明显; 化肥与秸秆还田配合处理土壤 pH 与化肥单施处理没有差异, 说明秸秆还田对化肥的

表 1 不同处理的土壤理化性质和小麦产量
Table 1 Soil biochemical properties in different treatments and wheat yield

处理 Treatment	撂荒 Fallow	对照 Control	化肥 NPK	化肥+低量秸秆 NPK+LS	化肥+高量秸秆 NPK+HS
pH	6.67±0.09a	6.51±0.16a	5.02±0.11b	4.95±0.06b	5.02±0.04b
NO ₃ ⁻ -N (mg/kg)	3.2±1.2c	1.2±1.2d	11.3±1.2a	5.5±1.0b	6.3±1.7b
NH ₄ ⁺ -N (mg/kg)	5.0±2.7b	4.6±0.8b	7.0±1.9a	7.5±1.0a	7.8±1.0a
AP (mg/kg)	2.8±0.9b	2.2±0.5b	24.2±1.3a	25.8±2.2a	27.0±2.1a
AK (mg/kg)	161.0±20.4a	111.6±4.5d	109.0±3.8d	130.4±6.6b	171.5±3.2a
DON (mg/kg)	2.5±1.3d	4.1±1.7c	6.0±0.6b	10.1±3.1a	8.5±1.3a
DOC (mg/kg)	43.0±6.3c	48.1±13.8c	137.8±38.2b	192.8±16.6a	148.8±56.6b
TN (g/kg)	0.89±0.04b	0.72±0.10c	0.85±0.04b	1.33±0.18a	1.46±0.21a
TC (g/kg)	8.2±0.2c	5.9±0.2d	8.1±0.7c	9.8±0.6b	11.4±0.4a
C:N ratio	9.2±0.6a	8.4±0.9ab	9.5±0.5a	7.6±1.5b	7.9±1.2b
小麦产量 Wheat yield (kg/hm ²)	—	517±(56)c	5 199±(328)b	5 634±(243)ab	5 914±(241)a

注: 不同字母表示不同处理间差异显著 (Mann-Whitney U 检验, $P < 0.05$)。

Note: Different letters indicate significant difference between treatments detected by Mann-Whitney U test ($P < 0.05$).

土壤酸化作用没有缓解效应。

长期不施肥处理的作物产量最低。与不施肥相比, 施用化肥可以大幅度地提高作物的产量, 产量约为不施肥处理的 10 倍。在施用化肥的基础上进行秸秆还田, 可以进一步地提高作物产量, 而且高量秸秆还田比低量秸秆还田的产量更高。

由以上结果可以看出, 收获作物和秸秆移出会减少土壤 C 和矿质养分的补充, 如果不施肥会导致土壤肥力的严重下降, 施用化肥可以显著改善砂姜黑土的营养状况, 提高作物产量, 但造成了严重的土壤酸化, 化肥施用配合秸秆还田可以进一步提高砂姜黑土生产力, 但并没有缓解土壤的酸化问题。

2.2 不同处理的土壤细菌群落结构

对 20 个土壤样品(5 个处理, 每个处理各 4 个重复)进行 454 高通量测序, 共获得了 95 895 条序列, 质量过滤后得到 74 947 优质序列, 经过比对, 其中约 95.5%的序列被归类为细菌。各处理土壤细菌的群落组成见图 1A。由图 1A 可见, 砂姜黑土细菌主要由放线菌、酸杆菌、Alpha-变形菌、Beta-变形菌、绿弯菌、Delta-变形菌、拟杆菌和芽单胞菌组成, 约占总细菌的 80%。不施肥处理(撂荒和对照)的土壤具有相似的细菌群落组成, 施肥处理(NPK, NPK+LS, NPK+HS)的细菌群落组成相似, 但与撂荒和对照处理有明显差异。施肥可显著降低放线菌

的相对丰度, 但可提高酸杆菌、Alpha-和 Aama-变形菌的相对丰度。通过 PCoA 分析, 发现了相似的结果(图 1B)。PCoA 的前两轴解释了大约 56%的群落变异。不施肥处理在一端聚在一起, 施肥处理在另一端聚在一起。说明化肥的施用可导致砂姜黑土细菌群落的显著变化, 秸秆还田对细菌群落的恢复没有显著的效果。

2.3 不同处理的土壤细菌多样性

通过计算 3 个多样性指数, 观测到的种类数 (Observed species)、Faith's 系统发育多样性指数 (Faith's PD)^[25]和香浓指数(Shannon index)^[26], 来表征土壤细菌群落的多样性。从图 2 可看出, 与撂荒相比, 其他处理都降低了土壤细菌多样性, 但不同措施的影响又有所不同。对照处理细菌多样性更接近于撂荒的水平, NPK 的施用导致了细菌多样性的显著降低; 化肥施用配合秸秆还田与单施化肥的处理具有相似的细菌多样性, 说明长期的秸秆还田没有对细菌多样性的恢复有显著帮助。

2.4 土壤细菌群落与土壤理化性质的关系

为了探究影响砂姜黑土细菌群落的主要因素, 进行了多元回归树(MRT)分析, 结果如图 3 所示。MRT 共解释了 68.33%的细菌群落变异, 其中 pH 解释了 60.26%的变异。细菌群落首先由 pH 分为 2 个大的分支, 其中一支为施肥的 3 个处理(单施 NPK

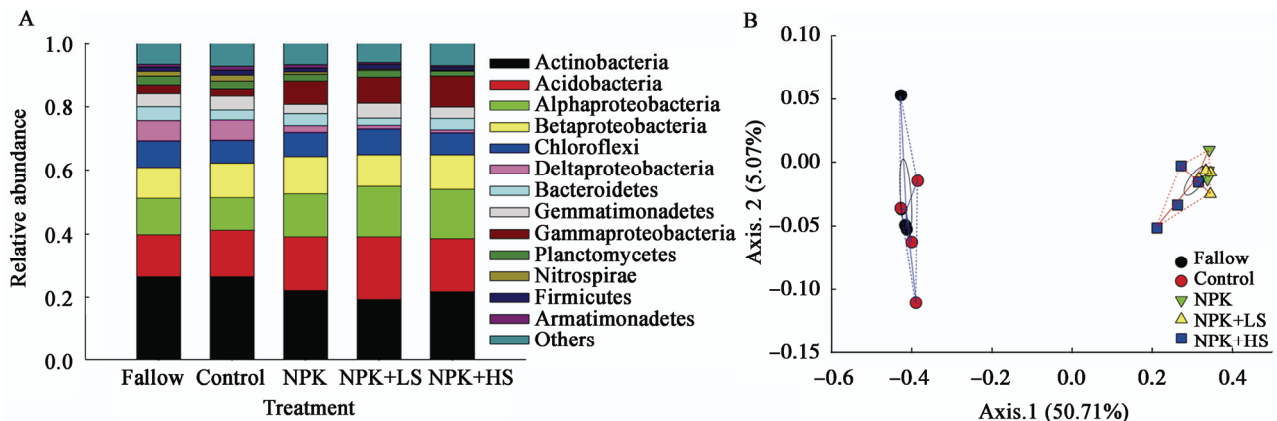


图 1 不同处理土壤细菌的群落组成(A)和主坐标分析(B)

Figure 1 Bacterial communities with the relative abundance of the dominant bacterial phyla (or subphyla in the case of Proteobacteria) in different treatments (A) and principal coordinates analysis (PCoA) plot of bacterial communities in 20 soil samples (B)

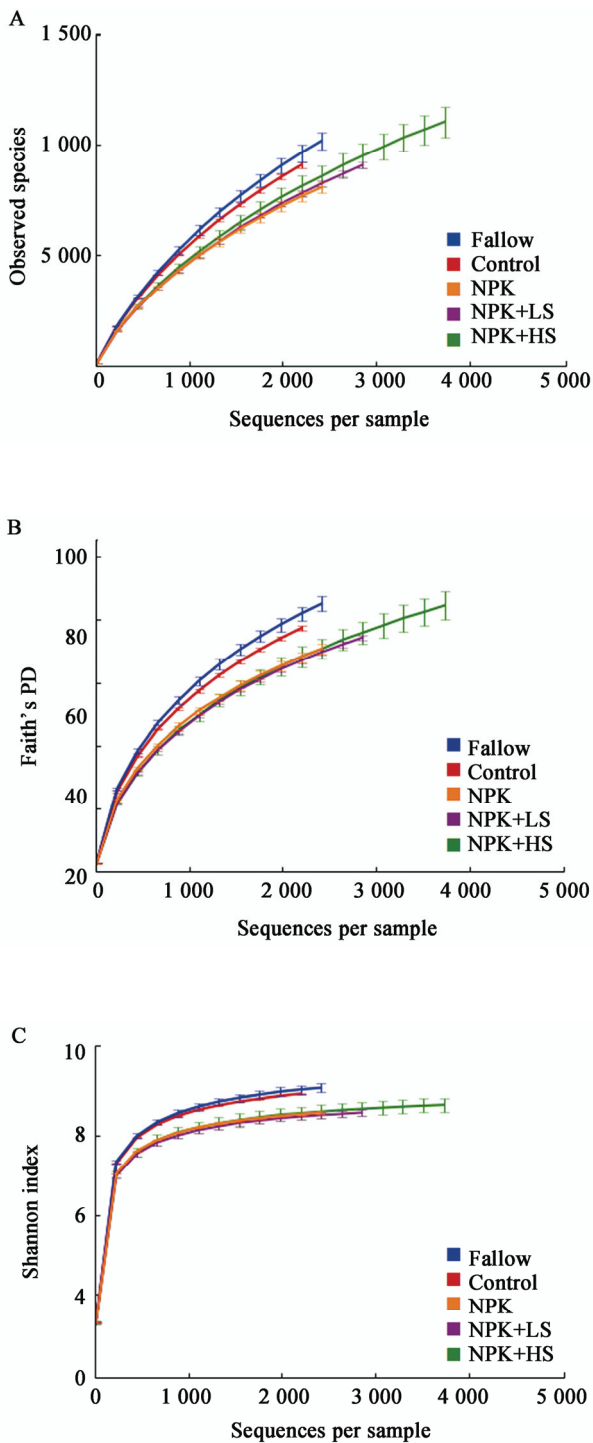


图 2 细菌多样性指数 Observed species (A)、Faith's PD (B)和 Shannon index (C)的稀释曲线

Figure 2 Rarefaction curves of the calculated Observed species (A), Faith's index of phylogenetic diversity (B), and Shannon index (C)

肥及 NPK 肥+秸秆还田),另一支为不施肥的 2 个处理(撂荒和对照),这与 PCoA 的结果也是相一致的。秸秆还田处理与单施化肥处理的差异受 pH 影响的同时,还受土壤总碳含量的影响。以上结果说明由施肥导致的土壤 pH 的变化是导致细菌群落改变的主要原因,同时由秸秆还田导致的土壤总碳含量的变化也会对土壤细菌群落产生一定影响。

3 结论

关于如何提高砂姜黑土生产力的研究已经很多,其中秸秆还田被认为是一种有效提高砂姜黑土肥力、增加作物产量的措施^[8-9,27],但是对于长期秸秆还田对土壤微生物群落的影响研究较少。本研究通过现代的高通量测序技术,对长期施用化肥及秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响做了研究。研究发现长期的 NPK 施肥有利于土壤肥力的提升,但导致了细菌群落结构的显著改变和细菌多样性的显著降低,化肥配合秸秆还田虽然有利于土壤肥力的进一步提升,但对于细菌群落的影响与单施化肥的影响相似,对细菌群落结构和多样性的恢复没有显著作用。通过进一步的分析我们发现,影响砂姜黑土细菌群落的主要因素是土壤 pH,由施肥引起的土壤酸化是导致砂姜黑土细菌群落变化和多样性丢失的主要因素。以往的研究发现,土壤 pH 是影响土壤细菌群落地理分布的主要因素^[28-30],在农田生态系统中,也有研究者发现 pH 对细菌群落的改变起主要作用^[31-33],我们的结果进一步证明了土壤 pH 对细菌群落的影响是普遍存在的。土壤酸碱性的巨大变化会导致许多微生物种类无法适应而灭绝,表现为细菌多样性的降低。本研究中,由施肥引起的低 pH 使得嗜酸、耐酸细菌(如酸杆菌)在细菌群落中的比重增大(图 1A)。同时,我们发现长期秸秆还田导致土壤碳含量的增加也在一定程度上影响了细菌群落,说明土壤营养条件的改变也会对细菌群落产生影响。以往的研究发现,化肥施用配合秸秆还田可以提高氨化细菌、硝化细菌、反硝化细菌和纤维分解菌的数量^[14],因为化肥施用和秸秆

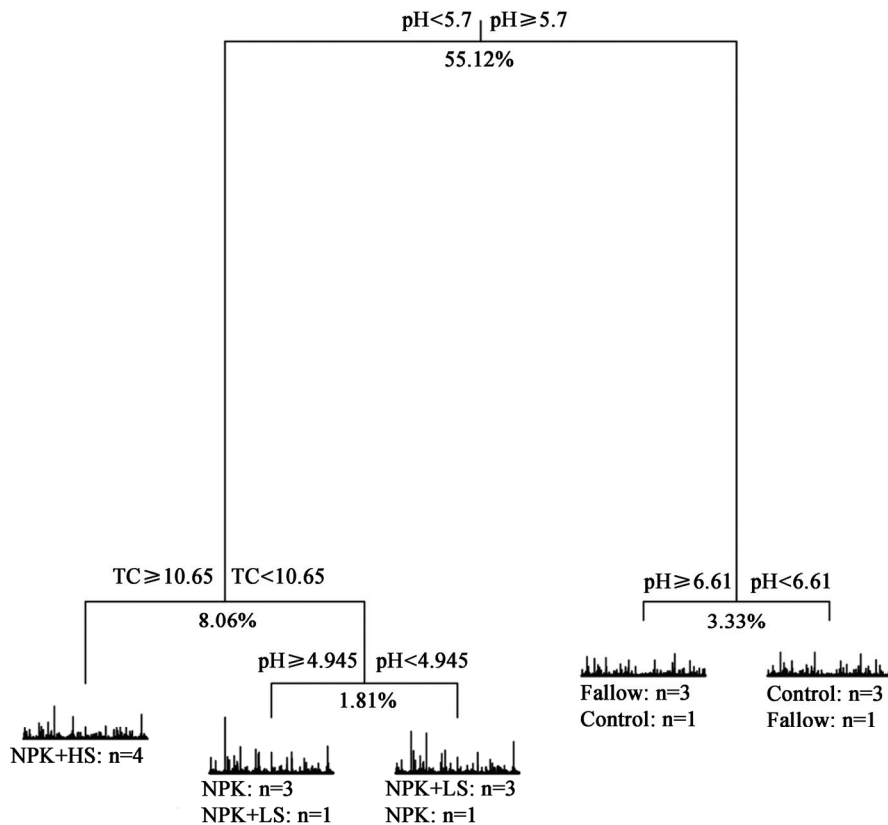


图3 不同处理细菌群落的多元回归树分析

Figure 3 Multivariate regression tree analysis of bacterial communities under different treatment regimes

还田为其提供丰度的生长所需的底物,但大量投入的营养物质,会抑制一些寡营养型细菌的生长,形成更为活跃和富营养型的细菌群落^[30]。营养条件的改变对砂姜黑土细菌群落的筛选作用明显小于土壤酸化的影响。土壤酸化是我国农业生态系统中普遍存在的问题^[34]。高N肥投入是引起我国农田土壤酸化的主要原因之一^[35]。土壤酸化会对作物生长产生不利影响,降低作物的产量和质量。我们的结果发现秸秆还田虽然可以提高砂姜黑土的肥力,增加作物产量,但大量的秸秆还田并没有缓解由化肥施用导致的土壤酸化问题,这可能会降低秸秆还田对作物增产的效果。

土壤微生物在土壤生态系统中扮演重要的角色,土壤微生物的多样性被认为是土壤质量和土壤健康的标志^[36]。但是我们发现,土壤细菌的多样性

与土壤肥力之间并没有表现出正相关关系。施用化肥及秸秆还田可以显著地增加土壤肥力,提高作物产量,但是却导致了细菌多样性的显著降低。土壤肥力的变化与细菌群落的变化并不一致。通过分析我们发现,土壤细菌群落主要受到土壤pH的影响,而土壤作物产量主要是由土壤营养条件决定的。由于两者的影响因素不同,从而导致了两者之间的不同变化。有研究也发现微生物群落存在功能冗余的现象^[37],微生物群落的多样性与功能并不是完全耦合的,微生物的类群(Taxa)和主要的种系型(Keystone phylotypes)是维持微生物群落功能的重要因素^[33,38-39]。由于微生物群落和功能之间的关系还不明确,所以以微生物群落来指示土壤质量的变化还存在很大的挑战^[36]。但是,每一种微生物都有其独特的生态位并具有特殊的功能,细菌多样性的

降低,意味着生态功能的缺失,对生态系统产生不利的影响。土壤微生物在提供植物所需营养、保持生态系统稳定性和生产力等方面的重要作用不可忽视^[40],保持微生物多样性也仍然是各个领域研究的重要课题。我们的研究发现了由长期施肥导致的土壤酸化是引起砂姜黑土细菌群落变化的主要因素,这强调了土壤酸化对土壤生态的不利影响,也为我们今后探寻环境友好型的农业施肥措施提供了指导:在增加土壤肥力、提高作物产量的同时,也要采取措施保持土壤适宜的 pH,从而达到农业生产效益和生态效益的并重。当然,本研究只分析了土壤细菌群落的整体变化,对于特殊功能类群(如固氮菌、硝化细菌等)和其他在土壤生态系统中扮演重要角色的微生物种类(如古菌、真菌、微型动物等)没有进行研究,对于土壤生态系统中各类微生物的系统研究将是我们未来研究的重要方面,这对于我们认识土壤生态系统功能及土壤微生物群落与土壤肥力和作物产量的关系有重要的帮助,进而为我们探究环境友好型的可持续农业提供坚实基础。

参 考 文 献

- [1] Ma L, Zhang M. Forming process and formation characteristics of lime concretion black soil[J]. Chinese Journal of Soil Science, 1993, 24(1): 1-4 (in Chinese)
马丽, 张民. 砂姜黑土的发生过程与成土特征[J]. 土壤通报, 1993, 24(1): 1-4
- [2] Zhan QH. Study on genetic features of vertisol arable land and its agricultural utilization technology[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Agricultural University, 2011 (in Chinese)
詹其厚. 砂姜黑土耕地土壤性状特点与农业综合利用技术研究[D]. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2011
- [3] Wang DZ. The evolvement rule of soil fertility of Shajiang Black Soil under long-term located fertilization[D]. Hefei: Master's Thesis of Anhui Agricultural University, 2008 (in Chinese)
王道中. 长期定位施肥砂姜黑土土壤肥力演变规律[D]. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2008
- [4] Zong YT. The physical obstacle factors of Shajiang black soils and its improvement[D]. Hangzhou: Master's Thesis of Zhejiang University, 2013 (in Chinese)
宗玉统. 砂姜黑土的物理障碍因子及其改良[D]. 杭州: 浙江大学硕士学位论文, 2013
- [5] Horrigan L, Lawrence RS, Walker P. How sustainable agriculture can address the environmental and human health harms of industrial agriculture[J]. Environmental Health Perspectives, 2002, 110(5): 445-456
- [6] Li W, Qiao YQ, Chen H, et al. Soil organic matter composition and carbon pool management index in shajiang black soil as affected by straw incorporation coupled with fertilization[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2014, 30(4): 475-480 (in Chinese)
李玮, 乔玉强, 陈欢, 等. 秸秆还田配施氮肥对砂姜黑土有机质组分与碳库管理指数的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2014, 30(4): 475-480
- [7] Zhan QH, Yuan CL, Zhang XP. Ameliorative effect and mechanism of organic materials on vertisol[J]. Acta Pedologica Sinica, 2003, 40(3): 420-425 (in Chinese)
詹其厚, 袁朝良, 张效朴. 有机物料对砂姜黑土的改良效应及其机制[J]. 土壤学报, 2003, 40(3): 420-425
- [8] Shen XS, Li JC, Qu HJ, et al. Effects of straw returned to the field on growth and water use efficiency of maize in lime concretion black soil region[J]. Journal of China Agricultural University, 2011, 16(2): 8-33 (in Chinese)
沈学善, 李金才, 屈会娟, 等. 砂姜黑土区秸秆还田对玉米生育及水分利用效率的影响[J]. 中国农业大学学报, 2011, 16(2): 8-33
- [9] Zhan QH, Zhang XP, Yuan CL. Study on amelioration effect and mechanism of returning straw into vertisol[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2002, 29(1): 53-59 (in Chinese)
詹其厚, 张效朴, 袁朝良. 秸秆还田改良砂姜黑土的效果及其机理研究[J]. 安徽农业大学学报, 2002, 29(1): 53-59
- [10] Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini MT, et al. Microbial diversity and soil functions[J]. European Journal of Soil Science, 2003, 54(4): 655-670
- [11] Berg G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2009, 84(1): 11-18
- [12] Kennedy AC, Smith KL. Soil Microbial diversity and the sustainability of agricultural soils[J]. Plant and Soil, 1995, 1(170): 75-86
- [13] Qiao J, Bi LD, Zhang WJ, et al. Effects of long-term chemical fertilization on soil microbial biomass, activity and community in paddy soil in red soil region of China[J]. Soils, 2007, 39(5): 772-776 (in Chinese)
乔洁, 毕利东, 张卫建, 等. 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
- [14] Li XY, Zhao BQ, Li XH, et al. Effects of different fertilization systems on soil microbe and its relation to soil fertility[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(8): 1591-1599 (in Chinese)
李秀英, 赵秉强, 李絮花, 等. 不同施肥制度对土壤微生物的影响及其与土壤肥力的关系[J]. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1591-1599
- [15] Yang BJ, Huang GQ, Qian HY. Effects of straw incorporation plus chemical fertilizer on soil temperature, root micro-organisms and enzyme activities[J]. Acta Pedologica Sinica, 2014, 51(1): 150-157 (in Chinese)
杨滨娟, 黄国勤, 钱海燕. 秸秆还田配施化肥对土壤温度、根际微生物及酶活性的影响[J]. 土壤学报, 2014, 51(1): 150-157
- [16] Wu YP, Peng QA, Muhammad S, et al. Research progress of effect of straw returning on soil microorganism[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(29): 175-183 (in Chinese)
伍玉鹏, 彭其安, Muhammad S, 等. 秸秆还田对土壤微生物影响的研究进展[J]. 中国农学通报, 2014, 30(29): 175-183
- [17] Chu H, Grogan P. Soil microbial biomass, nutrient availability and nitrogen mineralization potential among vegetation-types in a low arctic tundra landscape[J]. Plant and Soil, 2010, 3(29): 411-420
- [18] Lu RK. Agricultural Soil Chemical Analysis Methods[M]. Beijing: China Agriculture Sciencetech Press, 1999: 180-181 (in Chinese)

- 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, 1999: 180-181
- [19] Vasileiadis S, Puglisi E, Arena M, et al. Soil bacterial diversity screening using single 16S rRNA gene V regions coupled with multi-million read generating sequencing technologies[J]. *PLoS One*, 2012(7): e42671
- [20] Sun DL, Jiang X, Wu QL, et al. Intragenomic heterogeneity of 16S rRNA genes causes overestimation of prokaryotic diversity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(19): 5962-5969
- [21] Biddle JF, Fitz-Gibbon S, Schuster SC, et al. Metagenomic signatures of the Peru Margin seafloor biosphere show a genetically distinct environment[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(30): 10583-10588
- [22] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336
- [23] Edgar RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19): 2460-2461
- [24] Cole JR, Chai B, Farris RJ, et al. The Ribosomal Database Project (RDP-II): sequences and tools for high-throughput rRNA analysis[J]. *Nucleic Acids Research*, 2005, 33(Suppl 1): D294-D296
- [25] Faith DP. Conservation evaluation and phylogenetic diversity[J]. *Biological Conservation*, 1992, 61(1): 1-10
- [26] Keylock CJ. Simpson diversity and the Shannon-Wiener index as special cases of a generalized entropy[J]. *Oikos*, 2005, 109(1): 203-207
- [27] Wang J. Formation characteristics and improvement measures of lime concretion black soil[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2013(5): 252-253 (in Chinese)
王静. 砂姜黑土的形成特点与改良措施[J]. *现代农业科技*, 2013(5): 252-253
- [28] Feng Y, Grogan P, Caporaso JG, et al. pH is a good predictor of the distribution of anoxygenic purple phototrophic bacteria in Arctic soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 74(6): 193-200
- [29] 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
- [30] Shen C, Xiong J, Zhang H, et al. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57(3): 204-211
- [31] Enwall K, Nyberg K, Bertilsson S, et al. Long-term impact of fertilization on activity and composition of bacterial communities and metabolic guilds in agricultural soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(1): 106-115
- [32] Rousk J, Brookes PC, Baath E. Fungal and bacterial growth responses to N fertilization and pH in the 150-year Park Grass UK grassland experiment[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 76(1): 89-99
- [33] Yuan H, Ge T, Zhou P, et al. Soil microbial biomass and bacterial and fungal community structures responses to long-term fertilization in paddy soils[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(5): 877-886
- [34] Guo JH, Liu XJ, Zhang Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. *Science*, 2010, 327(5968): 1008-1010
- [35] Li JH. Study on the cause, prevention and control of soil acidification in China[J]. *Journal of Agricultural Catastrophology*, 2012, 2(6): 42-45 (in Chinese)
李继红. 我国土壤酸化的成因与防控研究[J]. *农业灾害研究*, 2012, 2(6): 42-45
- [36] Sharma SK, Ramesh A, Sharma MP, et al. Microbial community structure and diversity as Indicators for evaluating soil quality[A]//Lichtfouse E. *Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Conservation Agriculture*[M]. Netherlands: Springer Netherlands, 2011: 317-358
- [37] Allison SD, Martiny JB. Colloquium paper: resistance, resilience, and redundancy in microbial communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(1): 11512-11519
- [38] Fierer N, Leff JW, Adams BJ, et al. Cross-biome metagenomic analyses of soil microbial communities and their functional attributes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(52): 21390-21395
- [39] Monard C, Vandenkoornhuysen P, Le BB, et al. Relationship between bacterial diversity and function under biotic control: the soil pesticide degraders as a case study[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(6): 1048-1056
- [40] Torsvik V, Øvreås L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2002, 5(3): 240-245