长期咸水滴灌棉田土壤微生物活性及群落功能多样性*

闵 伟 侯振安** 冶 军 马丽娟 曹 志 罗慧兰
(石河子大学农学院资源与环境科学系,新疆石河子 832003)

摘 要 通过田间试验研究不同灌溉水矿化度和施氮量对土壤微生物数量、土壤呼吸及土壤微生物群落功能多样性的影响。试验设置3种灌溉水矿化度(电导率,$EC_{1:5}$)分别为0.35、4.61和8.04 dS·m^{-1}(分别代表淡水、微咸水和咸水);同时,设置4个施氮水平:0、240、360和480 kg N·hm^{-2}。结果表明:细菌数量随灌溉水矿化度的增加呈先增加后降低的趋势,施用氮肥可增加细菌数量,但当氮肥用量超过240 kg·hm^{-2}后,细菌数量显著降低;真菌和放线菌数量随灌溉水矿化度的增加而增加,与不施氮相比,施用氮肥显著降低放线菌数量;淡水处理细菌/真菌显著大于微咸水和咸水处理,分别较微咸水和咸水处理高29%和86%,细菌/真菌在240 kg N·hm^{-2}处理下最高;土壤呼吸随灌溉水矿化度的增加而显著降低,淡水处理分别较微咸水和咸水处理高12%和33%,土壤呼吸随施氮量的增加而增加,360和480 kg N·hm^{-2}处理分别较不施氮处理增加48%和51%;AWCD值随灌溉水矿化度的增加而降低,淡水处理AWCD值分别较微咸水和咸水处理高3%和13%;灌溉水矿化度对丰富度指数、Shannon指数和Shannon均匀度指数无显著影响,但对Simpson指数影响显著,咸水处理Simpson指数最高,240 kg N·hm^{-2}施氮处理土壤微生物群落多样性指数最高。因此,咸水灌溉显著影响土壤微生物数量和群落功能多样性,合理施用氮肥有助于保持土壤微生物活性和多样性。

关键词 咸水滴灌;施氮量;微生物;功能多样性
中图分类号 S154.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-4890(2014)11-2950-09

Soil microbial activity and community functional diversity in cotton field under long-term drip irrigation with saline water. MIN Wei, HOU Zhen-an**, YE Jun, MA Li-juan, CAO Zhi, LUO Hui-lan (*Department of Resources and Environmental Sciences, Shihezi University, Shihezi* 832003, *Xinjiang, China*). *Chinese Journal of Ecology*, 2014, **33**(11): 2950-2958.

Abstract: The effect of irrigation water salinity and N application rate on soil microbial populations, soil respiration and soil microbial community functional diversity were investigated in a field experiment. The experiment used a 3×4 factorial design with three irrigation water salinization levels (fresh water, brackish water, or saline water) and four N application rates (0, 240, 360 or 480 kg N·hm^{-2}). The results showed that bacterial populations increased first and then decreased with increasing the irrigation water salinity, bacterial populations increased with the N application rate, but significantly reduced when excessive N was applied (>240 kg N·hm^{-2}). Fungi and actinomyces populations were significantly increased with the increase of irrigation water salinity, actinomyces populations decreased with the increase of N application rate. The bacteria-to-fungi ratio was 29% lower in the brackish water treatment and 86% lower in the saline water treatment than in the fresh water treatment. The highest bacteria-to-fungi ratio was observed in the 240 kg·hm^{-2} treatment. Soil respiration decreased significantly with the increase of irrigation water salinity. Soil respiration in the fresh water treatment was 12% and 33% higher than that in the brackish and saline water treatments, respectively. Soil respiration increased with the

*国家重点基础研究发展计划项目(2009CB825101-5)和国家自然科学基金项目(31360504)资助。
**通讯作者 E-mail: hzatyl@163.com
收稿日期:2014-03-19 接受日期:2014-07-31

increase of N application rate, and 360 and 480 kg N · hm^{-2} treatments were 48% and 51% higher than that without N application. AWCD was decreased with increasing the irrigation water salinity, and the AWCD was 3% lower in the brackish water treatment and 13% lower in the saline water treatment than in the fresh water treatment. There were no significant differences in richness, Shannon's index and evenness among the fresh water, brackish water and saline water treatments. Simpson index was the highest in the saline water treatment, and the highest soil microbial community diversity index was observed in the 240 kg N · hm^{-2} treatment. Therefore, soil microorganisms and community functional diversity were affected significantly by saline water irrigation, and N application at proper rates could maintain soil microbial community activity and diversity.

Key words: saline water drip irrigation; nitrogen application rate; microbe; functional diversity.

随着人口增长和经济的快速发展,淡水资源不足已成为干旱区农业可持续发展所面临的严峻问题。同时,干旱区灌溉水质也日益恶化(Jiang *et al.*,2012)。因此,由于淡水资源匮乏,劣质水已经成为重要的农业灌溉水源之一,农民被迫使用劣质水灌溉以缓解旱情,维持作物产量。我国干旱半干旱地区广泛分布着咸水微咸水资源,且绝大部分在地下 10 ~ 100 m,适于开发利用(王久生等,2012)。所以干旱半干旱地区应用微咸水和咸水灌溉是无法回避的现实问题(Assouline *et al.*, 2006; Letey & Feng,2007)。相关研究表明,微咸水灌溉导致土壤孔隙减少,影响土壤的渗透性,短期灌溉能破坏土壤水稳性团聚体(张余良等,2006),长期使用微咸水和咸水灌溉很可能导致盐分在作物根系层的聚集,从而抑制作物对水分和养分的吸收,影响作物的产量(Hanson *et al.*, 1995)。微咸水和咸水灌溉可以补充作物所需水分,但也会导致根区盐分积累,增加土壤盐渍化和盐害风险(Pereira *et al.*, 2002),从而导致土壤的物理、化学和生物学性质发生改变,进而导致土壤微生物群落多样性改变,对土壤微生态环境产生影响。微生物是土壤生物中最重要的组成部分,在土壤结构的形成、营养元素循环、肥力形成和发展、作物生长和生态环境改善等方面起着极其重要的作用。研究表明,盐分是限制微生物活性的主要因素(Sardinha *et al.*, 2003; Mamilov *et al.*, 2004)。土壤中高浓度盐分含量的土壤严重抑制土壤微生物活性和功能多样性(Ghollarata & Raiesi, 2007; Setia *et al.*, 2010; Elgharably & Marschner, 2011; Jin *et al.*, 2014)。但是,长期微咸水和咸水灌溉对土壤微生物活性及群落功能多样性的研究尚未见报道。

施肥是农业生产的主要措施之一,对土壤微生物的群落组成、功能及土壤质量和可持续发展有重要影响(Marschner *et al.*, 2003; Hai *et al.*, 2010),长期施肥会明显改变作物产量(王飞等,2011)、土壤理化性质(Liang *et al.*, 2011)和微生物活性(马宁宁等,2010; Ge *et al.*, 2010)。相关研究表明,不同的施肥制度对土壤微生物数量、群落结构影响差异显著,短期施用化肥对土壤微生物活性和微生物量影响很小,长期施入氮肥降低土壤细菌数量和土壤微生物活性(Fauci & Dick, 1994; Lovella *et al.*, 1995; Sarathchandra *et al.*, 2001),高水平的氮肥投入会降低土壤 pH,由此导致对土壤微生物群落产生不利影响(Kemmitt *et al.*, 2006),降低土壤微生物活性和土壤呼吸作用(Janssens *et al.*, 2010)。但是也有研究表明,提高氮肥投入可以增加土壤微生物活性和土壤微生物量(Lynch & Panting, 1982; Kanazawa *et al.*, 1988; Henriksen & Breland, 1999)。目前大多数研究主要针对肥料施用、有机无机肥料配施等对土壤微生物群落的影响,但是针对干旱和半干旱地区不同灌溉水矿化度条件下氮肥的施用对土壤微生物区系的影响研究较少。

本研究采用传统的培养方法结合 Biolog 技术手段研究了不同灌溉水矿化度和施氮量处理下新疆典型的灰漠土土壤微生物区系的变化,旨在探讨多年咸水灌溉和施肥对土壤微生物群落和活性的影响,为揭示咸水灌溉条件下新疆灰漠土质量演变规律、土壤肥力保持、土壤微生态系统健康发展等提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料

试验在新疆石河子大学农学院试验站进行。试验区土壤类型为灰漠土,表层 0 ~ 20 cm 土壤基础理化性状为容重 1.33 g · cm^{-3},pH 7.48,$EC_{1:5}$(土水

比1∶5浸提液电导率) 0.13 dS·m^{-1},有机质16.84 g·kg^{-1},全氮1.08 g·kg^{-1},速效磷25.86 mg·kg^{-1},速效钾253 mg·kg^{-1}。供试作物棉花(品种新陆早36)。

1.2 试验设计

研究采用田间小区定位试验,2009—2012年连续进行了4年咸水微咸水灌溉试验。灌溉水盐度(电导率,$EC_{1:5}$)设置3个水平:0.35、4.61和8.04 dS·m^{-1},分别代表淡水、微咸水和咸水3种灌溉水类型(分别用FW、BW、SW表示)。试验中2种盐化灌溉水采用向淡水中加入等量的NaCl和$CaCl_2$(质量比1∶1)获得,施氮(N)量设置4个水平:0、240、360和480 kg N·hm^{-2},分别代表不施氮(N0)、低(N240)、中(N360)和高(N480)4种氮肥施用水平。其中,中等施氮水平(N360)为当地一般滴灌棉田的氮肥推荐用量。随机区组设计,12个试验处理,每个处理重复3次,共36个试验小区,小区面积25 m^2。具体栽培管理措施详见闵伟等(2014)。

1.3 样品采集与测定

2012年(试验第4年)在棉花盛花铃期采集耕层5~15 cm土壤样品,在每个小区的棉花行内随机采集3个样点,土样混合均匀并去除其中的杂物、细根。将一部分土样过2 mm筛后分成两部分,一部分立刻进行微生物计数培养和土壤呼吸的测定,一部分用于测定土壤微生物群落功能多样性(土样放入冰箱4 ℃保存)。

土壤微生物数量:采用稀释平板法计数,细菌培养基采用牛肉膏蛋白胨培养基,取10^{-5}的稀释液100 μL,均匀涂在培养基上,置于28 ℃恒温箱中保湿培养3 d后,统计菌落数量。真菌培养采用马丁氏培养基,吸取10^{-3}的稀释液100 μL,均匀涂在培养基上,28 ℃保湿培养4 d,统计菌落数。放线菌培养基使用改良高氏1号培养基,吸取10^{-4}的稀释液100 μL,均匀涂在培养基上,28 ℃保湿培养5 d后统计菌落数量。土壤细菌、真菌和放线菌数量的计算公式如下:

每克干土中菌数(CUF·g^{-1})=菌落数平均数×稀释倍数×10/(1-土壤含水量%)

土壤呼吸:采用密闭培养法,称取30 g鲜土置于广口瓶中,放入一只装有5 mL 1.0 mol·L^{-1} NaOH溶液的小烧杯,置于25 ℃下培养24 h,同时设置对照。测定时用0.5 mol·L^{-1} HCl溶液回滴。土壤在24 h内所释放CO_2通量的计算公式如下:

$$BR(CO_2\text{-C}\ \mu g\cdot g^{-1}\cdot d^{-1}) = (V_0 - V)\times C\times 44/m\times 1000$$

式中:V_0为滴定空白碱液时所耗盐酸量(mL);V为滴定土样碱液时所耗盐酸量(mL);C为盐酸的摩尔浓度(mol·L^{-1});m为烘干土重(g)。

土壤微生物代谢功能多样性:采用Biolog方法,该方法是根据微生物在利用碳源过程中产生的自由电子与四唑盐染料发生还原显色反应,颜色的深浅可以反映微生物对碳源的利用程度差异。具体操作如下:鲜土过2 mm筛置于4 ℃保存4~6 d,称取5.00 g土壤置于50 mL离心管(灭菌),加入50 mL磷酸缓冲液PBS(灭菌),室温剧烈震荡2 h,取0.5 mL土壤悬浮液,用PBS缓冲液定容到50 mL再震荡30 min,吸取稀释液接种到生态板(ECO板),每孔接种量150 μL,每个土样重复3次,将接种好的ECO板放在保湿的无菌塑料容器上,并放入28 ℃的恒温箱中培养。分别在培养0、12、24、36、48、60、72、84、96、108和120 h测定其吸光值,计算单孔平均颜色变化率(AWCD)来反映微生物代谢功能多样性。

土壤微生物群落功能多样性分析:采用培养48 h的AWCD值进行土壤微生物群落功能多样性分析,此时微生物达到最佳生长状态,生长速率最快(Haack *et al.*,1995;Garland,1996)。计算Shannon指数(H),Shannon均匀度指数(E),丰富度指数(S),Simpson指数(D),具体计算公式如下(Zak *et al.*,1994;Yang *et al.*,2000;Zhang *et al.*,2008):

$$AWCD = \sum_{i=1}^{n}(C_i - R)/n$$

$$\text{Shannon 指数 } H = -\sum_{i=1}^{n} P_i \ln P$$

丰富度指数 S=被利用碳源的总数目

均匀度指数 $E = H/\ln S$

$$\text{Simpson 指数 } D = 1 - \sum_{i=1}^{n} P_i^2$$

$$P_i = (C_i - R)/\sum_{i=1}^{n}(C_i - R)$$

式中:C_i为第i孔的相对吸光值,C是每个孔(光密度测量)的吸光度,R为板内控制孔的吸光度,n为底物的数量(ECO板,$n=31$);P_i为第i孔的相对吸光值与整板的相对吸光值总和的比率;S为颜色变化的孔的数目;N为相对吸光度的总和;Simpson指数常用其变型Gini指数来评价多样性,Simpson指数用$1/D$表示。

1.4　数据处理

试验数据采用 SPSS 11.5(version 11.5,SPSS Inc.2003)进行灌溉水盐度和施氮量双因素的方差分析,处理间的多重比较采用 Duncan 法(显著性水平设为 0.05)。

2　结果与分析

2.1　土壤微生物数量

灌溉水矿化度和施氮量对土壤微生物细菌、真菌、放线菌数量及细菌/真菌的影响如图 1 所示。灌溉水矿化度、施氮量对细菌数量影响显著。总体来看,BW 处理细菌数量最大,其次是 FW 处理,SW 处理细菌数量最小,SW 处理细菌数量分别较 FW 和 BW 处理低 19.69% 和 38.24%;细菌数量随施氮量的增加呈现先增加后降低的趋势,N240 处理细菌数量最大,其次是 N0 处理,N360 和 N480 处理细菌数量最小,N240 处理细菌数量分别较 N0、N360 和 N480 处理高 14.94%、41.45% 和 50.44%。

灌溉水矿化度、施氮量及二者的交互作用对真菌数量影响显著。总体上,SW 处理真菌数量最大,显著高于 FW 处理,但与 BW 处理相比差异不显著,FW 处理真菌数量较 BW 和 SW 处理低 40.44% 和 44.86%;N360 处理下真菌数量最大,显著高于 N240 处理,但与 N0 和 N480 处理相比差异不显著,N360 处理下真菌数量分别较 N0、N240 和 N480 处理高 4.66%、52.22% 和 12.35%。交互作用影响表现为:FW 处理下,N360 处理真菌数量显著高于 N240 和 N480 处理,但与 N0 处理相比差异不显著;BW 处理下,N0 处理真菌数量显著高于 N240 和 N360 处理,但与 N480 处理相比差异不显著;SW 处理下,各施氮量处理间差异显著,其中 N360 处理真菌数量最大,其次是 N480、N0 和 N240 处理。

放线菌数量受灌溉水矿化度、施氮量及二者的交互作用影响显著。总体上放线菌数量随灌溉水矿化度的增加而增加,SW 处理放线菌数量最大,其次是 BW 处理,FW 处理最低,FW 处理放线菌数量分别较 BW 和 SW 处理低 31.71% 和 44.94%;氮肥对放线菌生长有抑制作用。交互作用的影响表现为:FW 处理下,N0 处理放线菌数量最高,但与其他施氮量相比差异不显著;而在 BW 和 SW 处理下,N0 处理放线菌数量显著高于其他施氮量处理。

灌溉水矿化度、施氮量及二者的交互作用对细菌/真菌影响显著。总体看来,细菌/真菌随灌溉水矿化度的升高显著降低,FW 处理细菌/真菌分别较 BW 和 SW 处理高 28.92% 和 86.40%;细菌/真菌在 N240 处理下最高,继续增施氮肥,细菌/真菌降低,N240 处理下细菌/真菌分别较 N0、N360 和 N480 处理高 67.25%、80.33% 和 77.25%。交互作用影响具体表现为:FW 和 SW 处理下,N240 处理细菌/真菌显著高于其他施氮量处理,而在 BW 处理下,

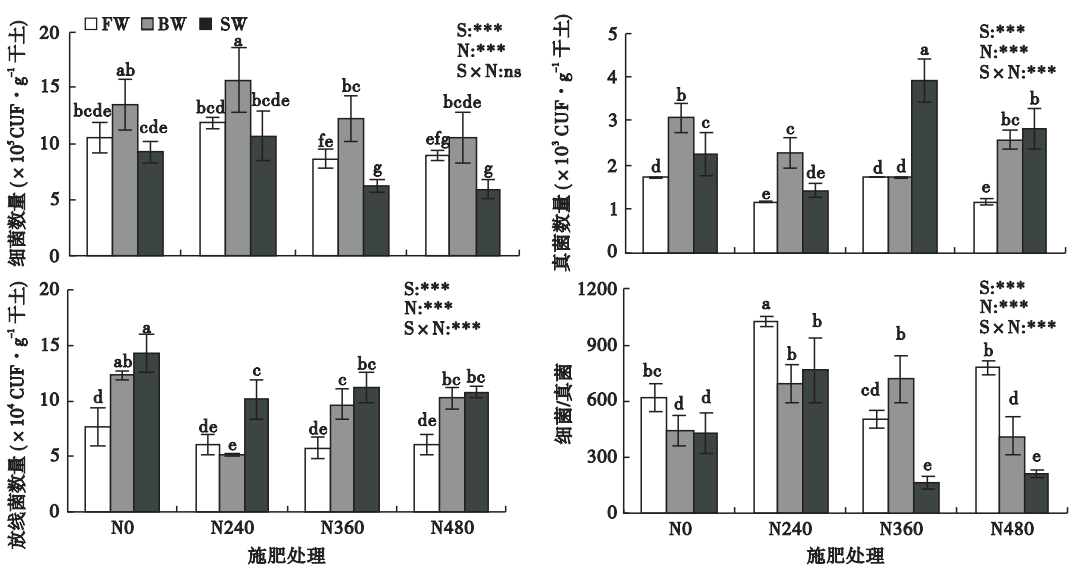


图 1　灌溉水矿化度和施氮量对土壤微生物数量的影响

Fig. 1　Soil microbial populations as affected by irrigation water mineralization and nitrogen application rate

相同字母表示处理间差异未达到显著性水平,$P>0.05$,不同字母表示处理间差异达显著水平 $P<0.05$。＊＊＊表示灌溉水矿化度、施氮量和二者交互作用对微生物数量的影响分别达到 0.001 显著性水平;ns 表示影响不显著。

N360处理细菌/真菌最高,但与N240相比差异不显著,N0和N480处理最低。

2.2 土壤呼吸

灌溉水盐度、施氮量及二者的交互作用对棉田土壤呼吸影响显著(图2)。总体上,随灌溉水矿化度的增加,土壤呼吸作用显著降低,FW处理土壤呼吸作用最强,分别较BW和SW处理高12.50%和32.93%;氮肥施用对土壤呼吸的影响为:N480处理土壤呼吸强度最强,但与N360相比无显著差异,其次是N240处理,N0处理土壤呼吸强度最低。交互作用影响表现为:在N0和N240处理下,BW处理较FW处理对土壤呼吸有一定的促进作用,但是差异不显著,SW处理土壤呼吸作用最弱,分别较FW和BW处理低27.74%、14.81%和31.51%、24.13%;在N360和N480水平下,FW处理土壤呼吸作用显著高于BW和SW处理,BW和SW处理土壤呼吸作用较FW处理分别低24.49%、21.20%和24.25%、29.14%,但是BW和SW处理之间差异不显著。

2.3 土壤微生物群落总体活性(AWCD)

土壤微生物群落AWCD值的变化(图3)。在FW、BW和SW处理下,各处理在培养的前24 h之内AWCD值的变化均很小,说明在24 h内碳源基本未被利用或者利用很小。培养24 h后所有处理的AWCD值均迅速增加,说明土壤微生物大量繁殖,ECO板上微孔内碳源开始被利用,并在120 h时基本达到最大值。培养120 h时各灌溉水矿化度处理AWCD值分别为FW(0.92)、BW(0.90)、SW(0.81),说明土壤微生物的活性随灌溉水矿化度增加而降低。在N0条件下,BW处理AWCD值最高,分别较FW和SW处理高2.94%和78.10%;在N240条件下,FW处理AWCD值最高,分别较BW和SW处理高17.83%和38.29%;但是在N360和N480条件下,SW处理AWCD最高,平均分别较FW和BW处理高17.05%、23.05%和15.38%、5.10%。

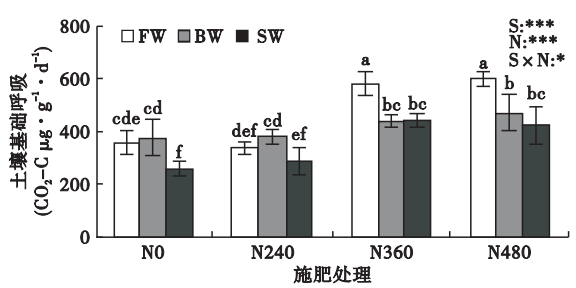


图2 灌溉水矿化度和施氮量对土壤呼吸的影响

Fig. 2 Soil respiration as affected by irrigation water mineralization and nitrogen application rate

相同字母表示处理间差异未达到显著性水平,$P>0.05$,不同字母表示处理间差异达显著水平$P<0.05$。*,***表示灌溉水矿化度、施氮量和二者交互作用对微生物数量的影响分别达到0.05和0.001显著性水平。

2.4 土壤微生物群落碳代谢指纹

不同处理土壤培养48 h后,土壤微生物群落利用碳源能力如图4所示。在N0和N240处理下,土壤微生物对碳源的利用率总体表现为BW>FW>SW,其中BW和FW处理分别较SW处理高47.80%、3.19%和132.49%、98.26%;在N360处理下,土壤微生物对碳源的利用率总体表现为SW最高,分别较FW和BW处理高15.07%和19.30%;在N480处理下,土壤微生物对碳源的利用率总体表现为FW最高,分别较BW和SW处理高34.82%和49.36%。在FW和BW处理下,土壤微生物对6类碳源的利用以氨基酸类、聚合物类、碳水化合物类和胺类较高,而对羧酸类和酚酸类碳源的利用较低;在SW处理下,土壤微生物对6类碳源的利用以聚合物类、碳水化合物类和氨基酸类较高,而对羧酸类、胺类和酚酸类碳源的利用较低。

2.5 土壤微生物多样性指数

由表1可见,丰富度指数和Shannon指数受施

表1 微生物碳源利用多样性指数

Table 1 Diversity indices of microbial carbon source utilization

施氮量	灌溉水盐度	多样性指数			
		丰富度	Shannon指数	Shannon均匀度	Simpson指数
N0	FW	21 cd	2.43 cd	0.81 ab	1.03 b
	BW	26 ab	2.66 a	0.81 a	1.02 bc
	SW	20 d	2.32 d	0.77 b	1.02 bc
N240	FW	27 a	2.66 a	0.81 ab	1.02 bc
	BW	24 ab	2.56 abc	0.80 ab	1.00 c
	SW	26 ab	2.58 abc	0.79 ab	1.11 a
N360	FW	25 ab	2.51 abc	0.78 ab	1.03 bc
	BW	25 ab	2.52 abc	0.78 ab	1.03 b
	SW	25 ab	2.62 ab	0.81 a	1.01 bc
N480	FW	23 bcd	2.50 bc	0.79 ab	1.01 bc
	BW	21 cd	2.42 cd	0.79 ab	1.02 bc
	SW	23 bc	2.46 cd	0.78 ab	1.04 b
	双因素方差分析(F值)				
水盐度(S)		ns	ns	ns	9.40**
施氮量(N)		9.55***	5.95**	ns	3.02*
S×N		4.07**	5.19**	2.57*	11.57***

同一列数值标注相同字母表示处理间差异未达到显著性水平,$P>0.05$。*,**,***表示灌溉水矿化度、施氮量和二者交互作用对微生物碳源利用多样性指数的影响分别达到0.05、0.01和0.001显著性水平;ns表示影响不显著。

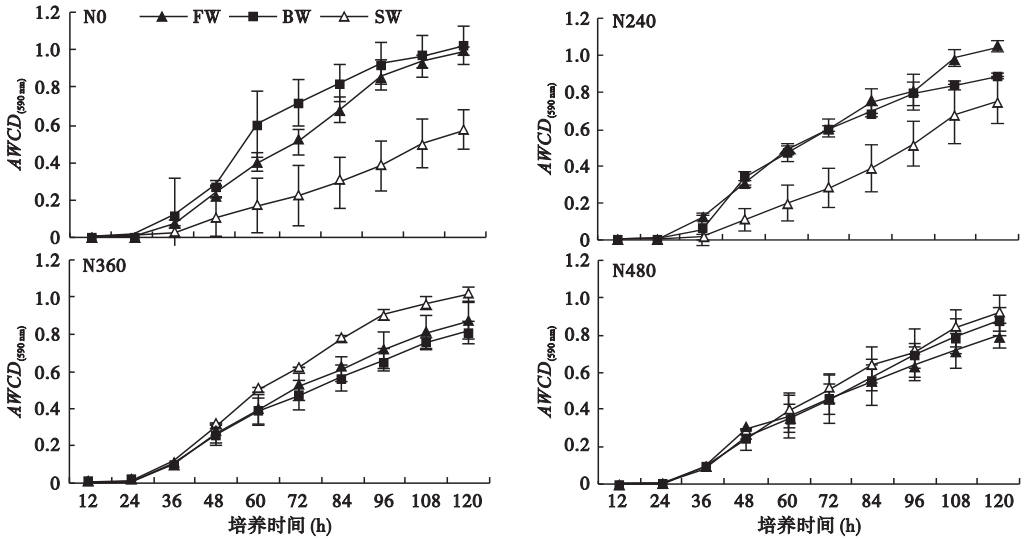


图 3　灌溉水矿化度和施氮量对土壤微生物群落 AWCD 值的影响

Fig. 3　AWCD with incubation time under different irrigation water mineralization and nitrogen application rate

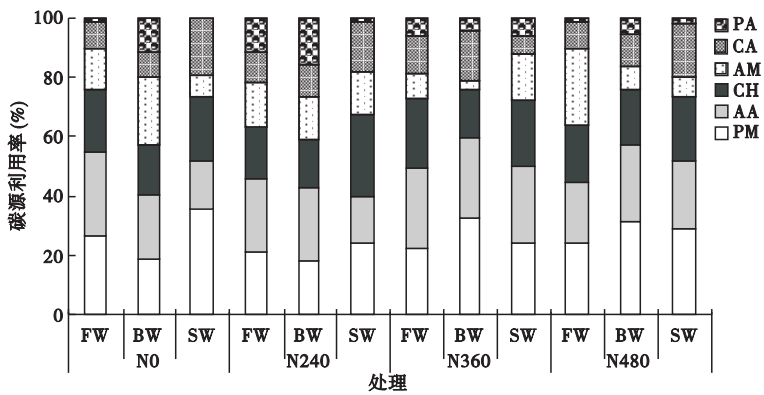


图 4　灌溉水矿化度和施氮量对土壤微生物群落 6 类碳源平均碳源利用率影响

Fig. 4　Average utilization of carbon substrates from five substrates groups by soil microorganisms under irrigation water mineralization and nitrogen rate treatments

CH:碳水化合物;AA:氨基酸类;CA:羧酸类;PM:聚合物类;AM:胺类;PA:酚酸类。

氮量、灌溉水矿化度和施氮量二者交互作用影响显著,但灌溉水矿化度对其影响不显著。总体上,丰富度指数和 Shannon 指数随施氮量的增加呈现先增加后降低的趋势,N240 处理丰富度指数和 Shannon 指数最大,但与 N360 处理相比无显著差异,N0 和 N480 处理丰富度指数和 Shannon 指数显著低于 N240 处理,分别较 N240 处理低 14.24%、12.96% 和 4.97%、5.39%。交互作用的影响表现为:在 N0 处理下,BW 处理丰富度指数和 Shannon 指数显著高于 FW 和 SW 处理,分别较 FW 和 BW 处理高 23.81%、30.00% 和 9.47%、14.66%,但是 FW 和 SW 处理相比差异不显著;在 N240、N360 和 N480 处理下,3 种灌溉水矿化度处理间丰富度指数和 Shannon 指数差异均不显著。

均匀度指数仅受灌溉水矿化度和施氮量二者交互作用的影响。总体上,均匀度指数在 BW 处理下最高,但与 FW 和 SW 处理相比差异不显著;均匀度指数随施氮量的增加呈降低趋势。交互作用的影响表现为:在 N0 处理下,BW 处理均匀度指数最高,显著高于 SW 处理,但与 FW 处理相比差异不显著,SW 处理均匀度指数分别较 FW 和 BW 处理低 4.15% 和 5.07%,但是在 N240、N360 和 N480 处理下,3 种灌溉水矿化度处理间均匀度指数差异均不显著。

灌溉水矿化度、施氮量及二者交互作用对 Simpson 指数影响显著。总体上,SW 处理 Simpson

指数显著高于FW和BW处理,分别较FW和BW处理高2.14%和2.57%,Simpson指数在N240处理下最大,显著高于其他施氮量处理,分别较N0、N360和N480高1.69%、1.84%和1.84%;交互作用的影响表现为:在N240处理下,SW处理Simpson指数显著高于FW和BW处理,分别较FW和BW处理高8.76%和11.12%,但是在N0、N360和N480处理下,3种灌溉水矿化度处理间均匀度指数差异均不显著。

3 讨 论

3.1 咸水灌溉对土壤微生物多样性的影响

咸水灌溉增加了真菌和放线菌的数量,但是降低了细菌数量、细菌/真菌、土壤呼吸强度、AWCD值和Simpson指数,但对Shannon指数、均匀度和丰富度指数的影响均不显著。这和前人对盐分影响土壤微生物的结果相似,如周德平等(2011)研究认为土壤微生物在盐胁迫后,导致微生物优势种群演替和微生态失衡,细菌比例降低,真菌比例上升;Albiach等(2000)研究表明,土壤肥力好的土壤,土壤微生物的数量较多,细菌所占的比例较高;而在干旱及难分解物质较多的土壤中,土壤微生物总数较少,细菌所占比率相对较低,而真菌和放线菌的比率相对较高;Wichern等(2006)、Wong等(2008)和Iwai等(2012)研究表明,盐分抑制土壤生物活性,土壤呼吸作用随土壤盐度的增加而降低;路海玲(2011)和李凤霞等(2012)研究表明土壤微生物群落AWCD值随盐化程度的升高而呈逐渐降低的趋势;黄红艳(2012)研究也表明,盐渍化程度越严重,土壤微生物对碳源的利用能力越低,多样性指数越低,优势菌种趋于单一化,微生物物种分布不均匀;Simpson优势度指数反映了各物种种群数量的变化情况,指数越大,说明群落内物种数量分布越不均匀,优势种的地位越突出,微生物多样性较差(孟庆杰等,2008),本研究中咸水灌溉处理Simpson指数显著增加,说明咸水灌溉使土壤微生物种群更趋于单一化,降低土壤微生物的功能多样性。周玲玲等(2010)研究了盐分对土壤微生物数量的影响,结果表明真菌、细菌、放线菌的数量均随土壤盐分的增加而呈现下降的趋势,造成差异的原因可能是上壤盐分的产生条件(如自然的或人为的),可溶性盐分种类与组成,有无作物的种植,以及一些耕作措施有关。咸水灌溉虽然在一定程度上可缓解水资源短缺的矛盾,但易造成土壤可溶性盐分含量过高,引起盐害,影响土壤理化属性,如盐分影响水分的有效性或微生物细胞的生理和代谢过程(Sardinha *et al.*,2003),通过抑制植物生长减少碳输入、通过"絮结作用"增加容重等(吴忠东和王全九,2007;Wong *et al.*,2010),进而影响土壤微生物的群体活性。

3.2 氮肥对土壤微生物多样性的影响

本研究中,细菌在240 kg N·hm^{-2}施氮量下数量最大,继续增施氮肥,细菌数量显著降低,真菌在360 kg N·hm^{-2}施氮量下数量最大,但与不施氮肥处理差异不显著,而施氮肥处理均对放线菌生长有抑制作用。许多学者关于氮肥对土壤微生物数量的影响做了大量研究,赵奎军等(1995)研究也认为施用一定量的氮肥可增加土壤微生物数量,而过多的氮肥有可能抑制土壤微生物的增长。马冬云等(2007)通过设置不同的施氮量(0、180、270和360 kg N·hm^{-2})研究了尿素对土壤微生物数量的影响,结果表明细菌、放线菌、真菌数量均随着尿素施用量的增加呈先上升后下降的趋势。关于氮肥对土壤呼吸的影响结果不尽一致,本研究中增施氮肥可以提高土壤呼吸,但是当施氮量达到一定程度(360 kg N·hm^{-2})后,继续增施氮肥土壤呼吸无明显增加,这与杨兰芳和蔡祖聪(2005)和王重阳等(2006)研究结果较为一致;但Ding等(2007)研究却发现,潮土上施用氮肥使整个玉米生长季土壤呼吸降低了10.5%;Wilson和Al-Kaisi(2008)也发现,在大豆-玉米轮作系统中,与施氮肥处理相比,不施氮肥使玉米季土壤呼吸速率增加了31%,可能是因为氮肥的施用对土壤结构的稳定性、田间持水量、容重、孔隙度、土壤酸碱度等理化性质在不同土壤类型上的差异,由此对土壤微生物群落产生影响,进而影响土壤呼吸过程。AWCD值是反映土壤微生物代谢活性,AWCD值越高,土壤中微生物群落代谢活性越强。本研究表明,适量的氮肥施用可以提高土壤微生物群落的总体活性,但施氮量达到一定程度后(360 kg N·hm^{-2}),继续增施氮肥土壤微生物群落的总体活性下降;低氮量(240 kg N·hm^{-2})增加土壤微生物群落多样性指数,即增加了土壤微生物群落功能多样性。相关研究也表明,土壤微生物功能多样性在低氮水平下(40、80 kg N·hm^{-2})显著增加(Lee & Caporn,1998),但是在高氮水平下(200、400 kg N·hm^{-2})显著降低(Sarathchandra *et al.*,2001)。与本研究结果不同的是:侯晓杰等(2007)和时鹏等

(2010)研究也认为单施氮肥会降低土壤微生物对碳源的利用率,进而降低土壤微生物代谢活性;Fauci 和 Dick(1994)和 Lovell 等(1995)研究表明,长期施用无机氮肥可降低土壤微生物的活性。氮肥对土壤微生物多样性作用结果的迥异,可能是因为不同土壤类型氮肥对土壤理化及生物学性质的影响不一致造成的,因此,氮肥对土壤微生物多样性影响的内在机制还需要深入研究。

由于土壤微生物对环境的变化反应敏感,而使农田环境下土壤微生物群落的变化更加复杂。Biolog微平板法虽具有快速、灵敏等优点,但是该法是利用微生物生长代谢作为衡量微生物多样性的基础,特别依赖群体生理活性,不能监测休眠体,也不能监测不能利用 Biolog 碳源底物的群体,因此只能反映土壤中可培养微生物的功能多样性,准确性与实际情况可能存在差异。所以在以后的研究中最好结合磷脂脂肪酸(PLFA)分析法、PCR-DGGE 分析法等分子生物学的手段,能更好地阐明不同灌溉水矿化度和施氮量对土壤的微生物多样性的影响。

参考文献

侯晓杰, 汪景宽, 李世朋. 2007. 不同施肥处理与地膜覆盖对土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, **27**(2): 655-661.

黄红艳. 2012. 次生盐渍化土壤的微生物多样性及微生物改良效应研究(硕士学位论文). 上海: 上海交通大学.

李凤霞, 王学琴, 郭永忠, 等. 2012. 宁夏不同类型盐渍化土壤微生物区系及多样性. 水土保持学报, **25**(5): 107-111.

路海玲. 2011. 土壤盐分对棉田土壤微生物活性和土壤肥力的影响(硕士学位论文). 南京: 南京农业大学.

马冬云, 郭天财, 宋　晓, 等. 2007. 尿素施用量对小麦根际土壤微生物数量及土壤酶活性的影响. 生态学报, **27**(12): 5223-5228.

马宁宁, 李天来, 武春成, 等. 2010. 长期施肥对设施菜田土壤酶活性及土壤理化性状的影响. 应用生态学报, **21**(7): 1766-1771.

闵　伟, 侯振安, 冶　军, 等. 2014. 灌溉水盐度和施氮量对棉花根系分布影响研究. 棉花学报, **26**(1): 58-65.

孟庆杰, 许艳丽, 李春杰, 等. 2008. 不同植被覆盖对黑土微生物功能多样性的影响. 生态学杂志, **27**(7): 1134-1140.

时　鹏, 高　强, 王淑平, 等. 2010. 玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性的影响. 生态学报, **30**(22): 6173-6182.

王重阳, 王绍斌, 顾江新, 等. 2006. 下辽河平原玉米田土壤呼吸初步研究. 农业环境科学学报, **25**(5): 1240-1244.

吴忠东, 王全九. 2007. 不同微咸水组合灌溉对土壤水盐分布和冬小麦产量影响的田间试验研究. 农业工程学报, **23**(11): 71-76.

王　飞, 林　诚, 李清华, 等. 2011. 长期不同施肥处理对南方黄泥田水稻子粒品质性状与土壤肥力因子的影响. 植物营养与肥料学报, **17**(2): 283-290.

王久生, 王　龙, 姚宝林, 等. 2012. 微咸水膜下滴灌条件下水盐对棉花生长的影响研究. 节水灌溉, (12): 9-15.

杨兰芳, 蔡祖聪. 2005. 玉米生长中的土壤呼吸及其受氮肥施用的影响. 土壤学报, **42**(1): 9-15.

张余良, 陆文龙, 张　伟, 等. 2006. 长期微咸水灌溉对耕地土壤理化性状的影响. 农业环境科学学报, **25**(4): 969-973.

赵奎军, 马凤鸣, 姜福臣, 等. 1995. 不同施氮水平对甜菜地和休闲地土壤微生物数量的影响. 中国甜菜, (3): 21-25.

周德平, 吴淑杭, 褚长彬, 等. 2011. 盐胁迫对蔬菜地土壤微生物及土壤酶活的毒害效应. 农业环境科学学报, **30**(8): 1602-1607.

周玲玲, 孟亚利, 王友华, 等. 2010. 盐胁迫对棉田土壤微生物数量与酶活性的影响. 水土保持学报, **24**(2): 241-246.

Albiach R, Canet R, Pomares F, *et al*. 2000. Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil. *Bioresource Technology*, **75**: 43-48.

Assouline S, Moller M, Cohen S, *et al*. 2006. Soil- plant system response to pulsed drip irrigation and salinity: Bell pepper case study. *Soil Science Society of America Journal*, **70**: 1556-1568.

Ding WX, Cai Y, Cai ZC, *et al*. 2007. Soil respiration under maize crops: Effect of water, temperature, and nitrogen fertilization. *Soil Science Society of America Journal*, **71**: 944-951.

Elgharably A, Marschner P. 2011. Microbial activity and biomass and N and P availability in a saline sandy loam amended with inorganic N and lupin residues. *European Journal of Soil Biology*, **47**: 310-315.

Fauci MF, Dick RP. 1994. Soil microbial dynamics: Short- and long-term effects of inorganic and organic nitrogen. *Soil Science Society of America Journal*, **58**: 801-806.

Garland JL. 1996. Analytical approaches to the characterization of samples of microbial communities using patterns of potential C source utilization. *Soil Biology and Biochemistry*, **28**: 213-221.

Ge GF, Li ZJ, Fan FL, *et al*. 2010. Soil biological activity and their seasonal variations in response to long-term application of organic and inorganic fertilizers. *Plant ant Soil*, **326**: 31-44.

Ghollarata M, Raiesi F. 2007. The adverse effects of soil salinization on the growth of *Trifolium alexandrinum* L. and associated microbial and biochemical properties in a soil from Iran. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**: 1699-1702.

Haack SK, Garchow H, Klug MJ, *et al*. 1995. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns. *Applied and Environmental Microbiology*, **61**: 1458-1468.

Hai L, Li XG, Li FM, *et al*. 2010. Long-term fertilization and manuring effects on physically-separated soil organic matter pools under a wheat-wheat-maize cropping system in an arid region of China. *Soil Biology and Biochemistry*, **42**: 253-259.

Hanson BR, Fultion A, Munk D. 1995. Drip irrigation of row corps: An overview. *Irrigation Journal*, **45**: 8-13.

Henriksen TM, Breland TA. 1999. Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **31**: 1121-1134.

Iwai CB, Oo AN, Topark-ngarm B. 2012. Soil property and microbial activity in natural salt affected soils in an alternating wet-dry tropical climate. *Geoderma*, **189-190**: 144-152.

Janssens IA, Dieleman W, Luyssaert S, *et al*. 2010. Reduction of forest soil respiration in response to nitrogen deposition. *Nature Geoscience*, **3**: 315-322.

Jiang J, Huo Z, Feng S, *et al*. 2012. Effect of irrigation amount and water salinity on water consumption and water productivity of spring wheat in Northwest China. *Field Crops Research*, **137**: 78-88.

Jin ZZ, Lei JQ, Li SY, *et al*. 2014. Characteristics of sandy soil microbial metabolisms in the forests drip irrigation with saline water. *Journal of Desert Research*, **34**: 363-370.

Kanazawa S, Asakawa S, Takai Y. 1988. Effect of fertilizer and manure application on microbial numbers, biomass, and enzyme activities in volcanic ash soils. Ⅰ. Microbial numbers and biomass carbon. *Soil Science and Plant Nutrition*, **34**: 429-439.

Kemmitt SJ, Wright D, Goulding KWT, *et al*. 2006. pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **38**: 898-911.

Lee JA, Caporn SJM. 1998. Ecological effects of atmospheric reactive nitrogen deposition on semi-natural terrestrial ecosystems. *New Phytologist*, **139**: 127-134.

Letey J, Feng GL. 2007. Dynamic versus steady-state approaches to evaluate irrigation management of saline waters. *Agricultural Water Management*, **91**: 1-10.

Liang B, Yang XY, He XH, *et al*. 2011. Effects of 17-year fertilization on soil microbial biomass C and N and soluble organic C and N in loessial soil during maize growth. *Biology and Fertility of Soils*, **47**: 121-128.

Lovell RD, Jarvis SC, Bardgett RD. 1995. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: Effects of management changes. *Soil Biology and Biochemistry*, **27**: 969-975.

Lynch JM, Panting LM. 1982. Effects of season, cultivation and nitrogen fertilizer on the size of the soil microbial biomass. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **33**: 249-252.

Mamilov A, Dilly OM, Mamilov S, *et al*. 2004. Microbial ecophysiology of degrading Aral Sea wetlands: Consequences for C-cycling. *Soil Science and Plant Nutrition*, **50**: 839-842.

Marschner P, Kandeler E, Marschner B. 2003. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, **35**: 453-461.

Pereira LS, Oweis T, Zairi A. 2002. Irrigation management under water scarcity. *Agricultural Water Management*, **57**: 175-206.

Sardinha M, Müller T, Schmeisky H, *et al*. 2003. Microbial performance in soils along a salinity gradient under acidic conditions. *Applied Soil Ecology*, **23**: 237-244.

Setia R, Marschner P, Baldock J, *et al*. 2010. Is CO_2 evolution in saline soils affected by an osmotic effect and calcium carbonate? *Biology and Fertility of Soils*, **46**: 781-792.

Sarathchandra SU, Ghani A, Yeates GW, *et al*. 2001. Effect of nitrogen and phosphate fertilizers on microbial and nematode diversity in pasture soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **33**: 953-964.

Wichern J, Wichern F, Joergensen RG. 2006. Impact of salinity on soil microbial communities and the decomposition of maize in acidic soils. *Geoderma*, **137**: 100-108.

Wilson HM, Al-Kaisi MM. 2008. Crop rotation and nitrogen fertilization effect on soil CO_2 emissions in central Iowa. *Applied Soil Ecology*, **39**: 264-270.

Wong VN, Dalal RC, Greene RS. 2008. Salinity and sodicity effects on respiration and microbial biomass of soil. *Biology and Fertility of Soils*, **44**: 943-953.

Wong VNL, Green RSB, Murphy BW, *et al*. 2010. Soil carbon dynamics in saline and sodic soils: A review. *Soil Use and Management*, **26**: 2-11.

Yang YH, Yao J, Hua XM. 2000. Effect of pesticide pollution against functional microbial diversity in soil. *Journal of Microbiology*, **20**: 23-25.

Zak JC, Willig MR, Moorhead DL, *et al*. 1994. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach. *Soil Biology and Biochemistry*, **26**: 1101-1108.

Zhang N, Wan S, Li L, *et al*. 2008. Impacts of urea N addition on soil microbial community in a semi-arid temperate steppe in northern China. *Plant and Soil*, **311**: 19-28.

作者简介 闵 伟,男,1986年生,博士研究生,主要从事土壤生物与养分调控研究,发表论文4篇。E-mail: minwei555@126.com

责任编辑 魏中青