中国生态农业学报 2015 年 10 月 第 23 卷 第 10 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Oct. 2015, 23(10): 1293−1301

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.150228

种植方式对玉米不同生长期土壤微生物群落功能多样性的影响*

王文鹏 毛如志 陈建斌 朱书生 汤东生 朱有勇 何霞红**

(云南农业大学植物保护学院 昆明 650201)

摘 要 为探讨玉米不同种植方式下土壤微生物群落功能多样性的差异, 进行田间定点试验, 采用 Biolog 方法分别研究了 4 行轮作、4 行连作、8 行轮作和 8 行连作的种植方式对玉米种植前、拔节期、抽穗期和收获期土壤微生物功能多样性的影响。结果表明: 4 种种植方式的土壤微生物均在种植前代谢活性最弱、功能多样性最低, 在玉米抽穗期土壤微生物代谢活性最强, 功能多样性最高。在种植玉米前, 轮作的土壤微生物代谢活性和功能多样性高于连作, 8 行轮作和 4 行轮作土壤微生物的物种多样性指数分别比相应的连作高 22.93%和 11.42%; 4 行轮作的土壤微生物物种多样性指数比 8 行轮作低 3.17%, 而 4 行连作比 8 行连作高 6.83%。在玉米拔节期、抽穗期及收获期连作土壤微生物功能多样性略高于轮作, 且有 4 行连作大于 8 行连作的趋势, 但差异均未达显著水平。种植前, 4 种种植模式的土壤微生物对 6 大类碳源的利用程度整体上都较低, 降解碳水化合物类、羧酸类和聚合物类碳源的微生物是种植方式影响的主要土壤微生物类群; 随着玉米的生长, 土壤微生物对 6 大类碳源的利用都逐渐增强, 玉米拔节期、抽穗期和收获期之间土壤微生物特征碳源没有较大差异, 4 种种植方式的土壤微生物对聚合物类碳源利用程度差异都不显著。PLS-EDA 分析结果表明种植方式对土壤微生物产生较大影响, 种植前 8 行轮作和 4 行连作的土壤微生物碳源利用模式具有相似性; 种植玉米后 4 种种植方式的土壤微生物对碳源的利用模式存在较大差异, 其中 4 行连作的土壤微生物在玉米拔节期和收获期对碳源的利用模式与其他 3 种种植方式差异最大。试验说明作物长期连作栽培会影响土壤微生物群落功能, 降低土壤微生物物种多样性, 引起土壤微生物群落结构与功能的失调。

关键词 玉米 轮作 连作 土壤微生物 代谢功能 功能多样性 Biolog

中图分类号: S154.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-3990(2015)10-1293-09

Analysis of functional diversity of soil microbial communities under different cultivation patterns at different growth stages of maize

WANG Wenpeng, MAO Ruzhi, CHEN Jianbin, ZHU Shusheng, TANG Dongsheng, ZHU Youyong, HE Xiahong

(College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract In order to explore the differences in metabolic functional diversity of soil microbial communities under different cultivation patterns of maize, a fixed-point experiment was carried out and the field investigation and Biolog analysis used to study metabolic activity and functional diversity of soil microbial community under 4 cultivation patterns of maize. The investigated cultivation patterns included annual rotation of 4 rows maize with potato (R4), 4 rows maize continuous cropping (C4), annual rotation of 8 rows maize with potato (R8) and 8 rows maize continuous cropping (C8). A total of 4 growth stages of maize (pre-planting, jointing, heading and harvest stages) were studied. The results showed that both metabolic activity and functional diversity of soil microbial communities were lower at pre-planting stage, and higher at heading stage of maize.

* 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2011CB100400)资助

** 通讯作者: 何霞红, 研究方向为作物多样性与病害控制。E-mail: hexiahong@hotmail.com
王文鹏, 研究方向为土壤微生物生态。E-mail: wangwenpengnx@sina.com

收稿日期: 2015−02−16 接受日期: 2015−06−01

Metabolic activity and functional diversity of soil microbial community under rotation cropping were higher than those under continuous cropping at pre-planting stage of maize. The Shannon-Wiener index of soil microbial under R8 and R4 was 22.93% and 11.42% higher than that under C8 and C4, respectively. Meanwhile the Shannon-Wiener index of soil microbial under R4 was 3.17% lower than that under R8. However, the Shannon-Wiener index of soil microbial under C4 was 6.83% higher than that under C8. The functional diversities of soil microbial communities at jointing, heading and harvest stages of maize under continuous cropping patterns were slightly higher than those under rotation cropping patterns, and higher under C4 than under C8, though the differences were not significantly. Before planting, the overall utilization degree of 6 categories of carbon sources by soil microbial communities under 4 planting patterns was low. The main microbial populations impacted by planting patterns were those decomposing carbohydrates, carboxylic acids and polymers before maize planting. With the growth of maize, the ability of microbial communities to metabolize 6 categories carbon substrate gradually increased, and peaked at heading stage. Also characteristic carbon resources at jointing, heading and harvest stages were similar. Differences in the utilization of polymers by soil microbial communities under different planting patterns were insignificant. PLS-EDA analysis showed that the ability of soil microbial communities to utilize carbon source was significantly different under different cultivation patterns. Before planting, soil microbial communities under R8 and C4 were similar in terms of carbon utilization. However, Soil microbial communities under 4 different cultivation patterns had distinctly different modes of utilization of carbon sources after planting of maize. Especially, carbon utilization of soil microbial communities under C4 was significantly different from that of the other three cultivation patterns at jointing and harvest stages of maize. It showed that continuous cropping of maize influenced the functionality of soil microbial community and reduced soil microbial species richness. This resulted in structures disorder and functions loss of soil microbial community.

Keywords Maize; Rotation; Continuous cropping; Soil microorganism; Metabolic function; Functional diversity; Biolog
(Received Feb. 16, 2015; accepted Jun. 1, 2015)

土壤微生物是土壤生态系统中最为活跃的部分，参与了90%左右的土壤反应过程[1]，在土壤生态系统中具有不可替代的作用[2−3]。微生物是土壤地力关键驱动因子之一，其在土壤中的分布和活动状况是土壤环境与微生物群落相互影响与适应的综合体现[4]。土壤微生物多样性影响着土壤生态系统的结构与功能，是维持土壤生产力的重要组分，也是评价土壤质量变化的重要指标[5]。土壤微生物的功能多样性是指土壤微生物群落所能执行的功能范围以及这些功能的执行过程，反映了土壤微生物群落的生态特征。Garland和Mills[6]首次应用Biolog微孔板来描述微生物的群落功能特征，随后该技术被广泛用于评价环境微生物群落的功能多样性[7−8]。该方法通过测定微生物对单一碳源利用的程度，得到微生物群落的代谢特征指纹，能定量描述微生物的群落功能，较好地评估微生物的功能多样性[9]，可用于评价不同条件下土壤质量的变化[10]。影响土壤微生物对碳源利用的主要因子有土地利用方式、土壤类型和气候条件等[11]。不同的栽培方式和栽培作物对土壤微生物群落均会产生不同的影响[12]。合理的农业种植措施对土壤微生物群落结构和代谢功能多样性等均具有积极的调控作用，可以有效改善土壤质量[13]。

农田长期连作下土壤不断积累病残体，根系分泌物的毒害作用加剧[14]，理化性质发生改变、养分比例失衡[15−16]，土壤微生物量下降、微生物多样性发生改变以及群落结构失衡[17−19]等，连作障碍日益严重，作物生长性状恶化，病害加剧，品质变劣，产量下降。近年来玉米种植面积逐年增加，连作面积也随之不断上升[20]。一直以来玉米连作对土壤生态影响的研究方向主要在玉米连作对土壤肥力和作物产量的影响等方面，且争议不断[21]。而玉米连作对土壤微生物群落功能多样性的研究并不多，且多数研究只针对作物生长的某一个时期进行分析。本研究在3年定位试验的基础上，利用Biolog技术，对不同行数连作和轮作的玉米4个不同生长阶段土壤微生物群落功能多样性进行了研究，以期为建立合理的农业种植方式，减轻连作障碍，实现农业生态系统的可持续发展提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况及试验设计

本研究于2011—2013年在昆明市寻甸县云南农业大学实习农场进行田间定点试验。设置 4 行玉米与马铃薯年际轮作(R4)、4 行玉米连作(C4)、8 行玉米与马铃薯年际轮作(R8)和 8 行玉米连作(C8)4 个处理。轮作处理为 2011 年和 2013 年种植玉米，2012 年种植马铃薯；R4 和 C4 的种植面积均为 2.00 m×80.00 m, R8 和 C8 的种植面积均为 4.00 m×40.00 m。试验所用马铃薯品种为‘会-2’，玉米品种为‘寻单 7

号'; 马铃薯于每年的 3 月底打塘穴播, 玉米于每年的 5 月初打塘穴播。马铃薯行距 50 cm, 株距 35 cm; 玉米行距 50 cm, 株距 22 cm(图 1)。各处理单株需肥量、中耕除草、培土等田间管理措施均保持一致。

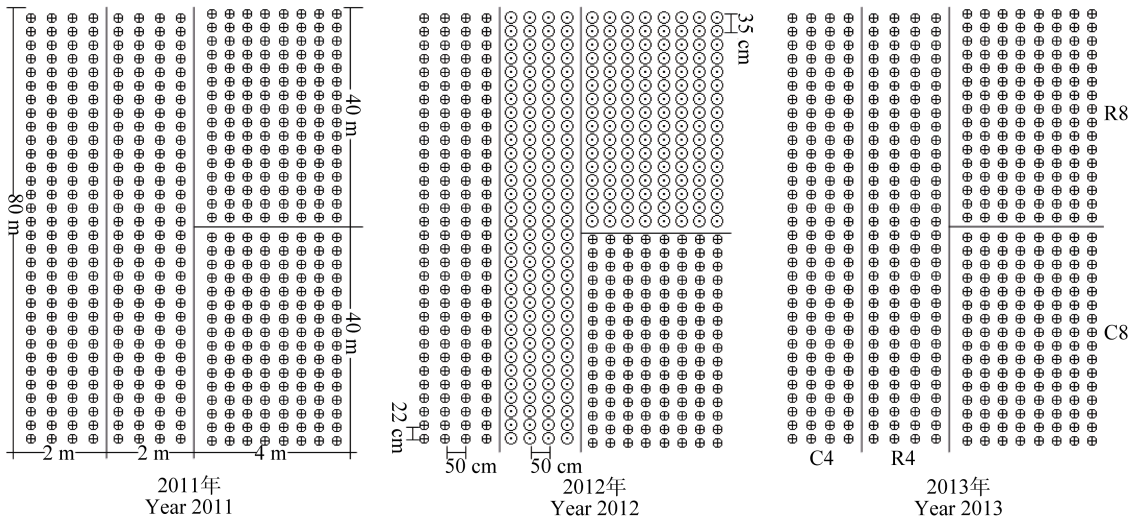

图 1　不同种植模式在不同年份的田间种植布局图

(⊕: 玉米; ⊙: 马铃薯)

Fig. 1　Field layouts of different planting patterns in different years (⊕: maize; ⊙: potato)

C4、R4、C8和R8分别表示4行连作、4行轮作、8行连作和8行轮作。下同。C4, R4, C8 and R8 represent 4 rows maize continuous cropping, annual rotation of 4 rows maize with potato, 8 rows maize continuous cropping, annual rotation of 8 rows maize with potato. The same below.

1.2　土壤样品采集

于2013年分别在种植前、玉米拔节期、玉米抽穗期及玉米收获期4个阶段, 采用五点取样法, 在每个小区采集表层0~20 cm土壤样品, 3个重复, 除去动植物残体等杂物, 四分法去除多余土样, 装入密封袋, 立即运回实验室, 放于4 ℃冰箱保存, 并尽快进行Biolog分析。

1.3　土壤微生物功能多样性分析

土壤微生物代谢功能多样性采用Biolog方法进行分析。将Biolog ECO平板从冰箱内取出, 预热至25 ℃, 称取相当于10 g烘干土的新鲜土样加入到已装有100 mL灭菌生理盐水(0.85%)的250 mL三角瓶中, 在摇床上振荡30 min, 静置片刻, 将浸提液稀释1 000倍, 吸取150 μL稀释液至ECO板的微孔中, 然后将接种好的板放置在25 ℃的恒温培养箱中培养, 每隔24 h在Biolog读数器上读取590 nm波长的光密度值, 持续7 d[21−22]。

1.4　数据处理和分析

1)微平板孔中溶液吸光值平均颜色变化率(AWCD)用于描述土壤微生物代谢活性, 计算公式如下:

$$\mathrm{AWCD}=\sum(C_i-R_i)/n \tag{1}$$

式中: C_i 为每个有培养基孔的吸光值; R_i 为对照孔的吸光值; n 为培养基孔数, Biolog Eco 板 n 值为 31。

2)Shannon-Wiener 物种多样性指数(H)用于评估物种的丰富度, 计算公式如下:

$$H=-\sum P_i(\ln P_i) \tag{2}$$

式中: P_i 为第 i 孔的相对吸光值与所有整个微平板的相对吸光值总和的比值, $P_i=(C_i-R_i)/\sum(C_i-R_i)$

3)均匀度指数(E), 计算公式如下:

$$E=H/\ln S \tag{3}$$

式中: S 为颜色变化的孔数。

4) Simpson 优势度指数(D)用于评估某些最常见种的优势度, 计算公式如下:

$$D=\sum P_i^2 \tag{4}$$

所有数据用Excel 2003整理后, 采用SPSS 18.0统计软件进行统计分析。培养时间为120 h, 以31个孔的平均光密度(AWCD)作为整体活性的有效指数之一。土壤微生物群落功能多样性指数及土壤微生物特征碳源的利用分析均采用120 h的数据计算[22−23]。PCA常用于Biolog ECO数据分析, 但是传统的PCA方法敏感度都不太高, 无法正确区分不同环境微生物的多样性结构, 不足以表现出土壤微生物对31种碳源某些比较微小的差异[24]。在代谢组研究中处理数据的方法PLS-EDA(最小二乘法增强判别法), 区分度较好, 优于PCA, 适用于微生物多样性与环境关系的研究[25]。本研究中微生物代谢功能多样性的分析采用了多元变量统计方法PLS-EDA[26]。

2　结果与分析

2.1　土壤微生物群落平均吸光值变化规律

平均颜色变化率(AWCD)是反映土壤微生物代

谢活性的重要指标[27]。对种植前和玉米拔节期、抽穗期及收获期4个生长期的土壤微生物培养120 h的AWCD进行分析，如图2所示。4种种植模式的土壤微生物AWCD均在种植前最小，随着玉米生长期的推移，逐渐升高，在玉米抽穗期达到最大值，到玉米收获期又有所下降。种植玉米前，4行轮作的土壤微生物代谢活性高于4行连作，8行轮作的土壤微生物代谢活性高于8行连作，但差异均不显著。玉米拔节期，4行和8行轮作的土壤微生物代谢活性分别低于4行和8行连作，但差异均不显著。玉米抽穗期，4行连作的土壤微生物代谢活性与4行轮作之间的差异不显著，而8行连作的土壤微生物代谢活性显著高于8行轮作。玉米收获期，4行连作的土壤微生物代谢活性显著高于4行轮作，8行连作的土壤微生物代谢活性与8行轮作之间差异不显著。不同行数相比，种植玉米前，4行连作与8行连作之间差异不显著，4行轮作显著高于8行轮作。玉米抽穗期和拔节期，4行连作与8行连作之间及4行轮作与8行轮作之间的差异都不显著。玉米收获期，4行连作显著高于8行连作，4行轮作与8行轮作之间差异不显著。

2.2 土壤微生物对 6 类碳源利用情况分析

Biolog ECO 微平板主要包括羧酸类碳源 7 种、碳水化合物类碳源 10 种、聚合物类碳源 4 种、氨基酸类碳源 6 种、胺类碳源 2 种和酚类碳源 2 种。对种植前和玉米拔节期、抽穗期及收获期 4 个生长时期土壤微生物对 6 类碳源利用情况的分析结果(图 3)表明：在种植玉米前，4 种种植模式的土壤微生物对 6 类碳源的利用程度整体上都较低，随着玉米的生长，4 种种植模式的土壤微生物对 6 类碳源的利用都逐渐增强，到玉米抽穗期，对 6 类碳源的利用强度达到最大值。

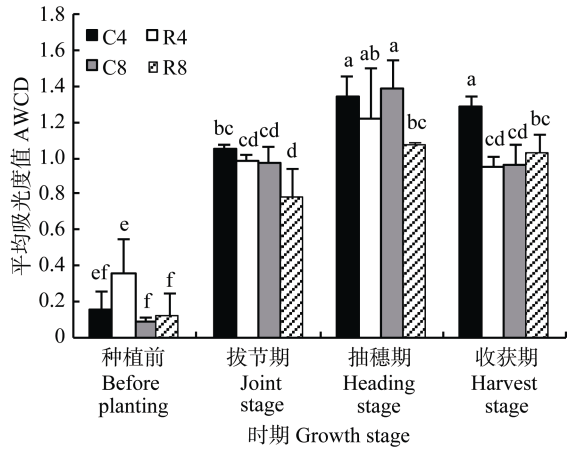

图 2 不同种植方式下不同玉米生育期土壤微生物 AWCD 的变化规律

Fig. 2 Variation of soil microbial community AWCD values at different growth stages of maize under different planting patterns

不同字母表示差异显著(P<0.05)。下同。Different letters indicate significant differences (P < 0.05). The same below.

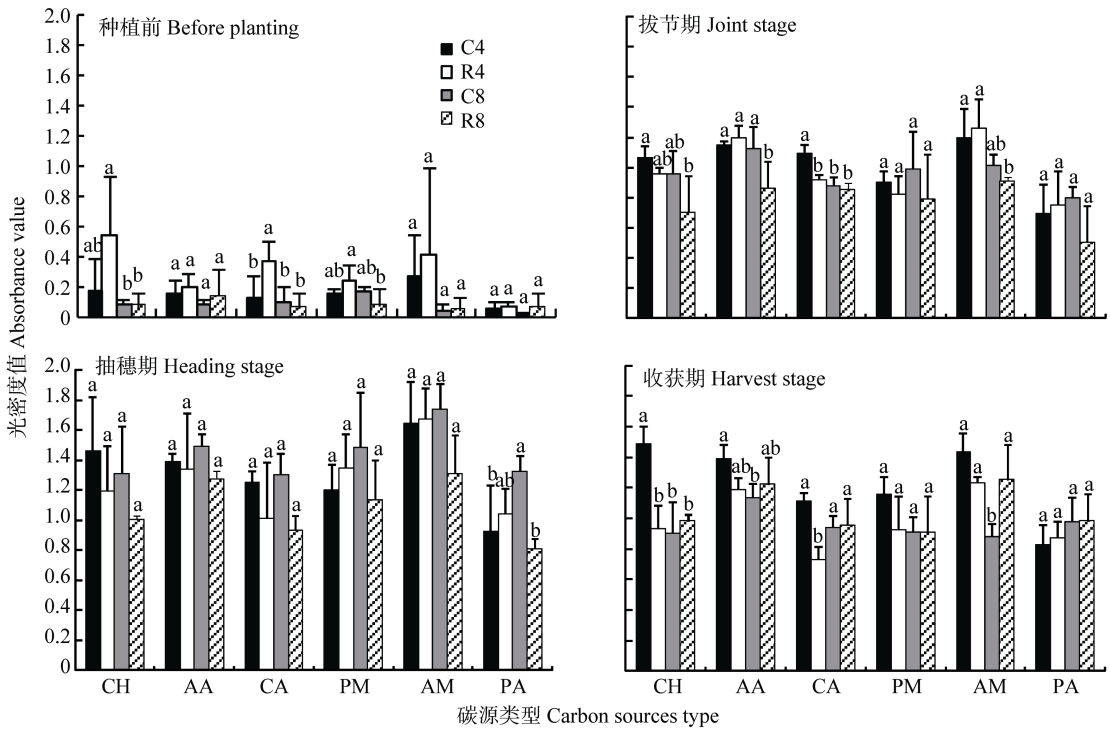

图 3 不同种植方式下不同玉米生育期土壤微生物对 6 类碳源的利用强度

Fig. 3 Utilization intensities of soil microbe to six types of carbon sources at different growth stages of maize under different planting patterns

CH: 碳水化合物; AA: 氨基酸; CA: 羧酸类; PM: 聚合物; AM: 胺类; PA: 酚类。CH: carbohydrate; AA: amino acids; CA: carboxylic acids; PM: polymers; AM: amines; PA: phenols.

在种植玉米前，4行轮作土壤微生物对羧酸类碳源的利用显著高于4行连作，8行轮作与8行连作之间差异不显著；在对碳水化合物类、氨基酸类、聚合物类、胺类和酚类碳源的利用上，4行轮作与4行连作之间、8行轮作与8行连作之间的差异都不显著。4行轮作土壤微生物对碳水化合物类、羧酸类和聚合物类碳源的利用显著高于8行轮作，4行连作与8行连作之间差异不显著；在对氨基酸、胺类和酚类碳源的利用上4行轮作与8行轮作之间、4行连作与8行连作之间的差异都不显著。

玉米拔节期，8行连作土壤微生物对氨基酸类碳源的利用显著高于8行轮作，4行连作与4行轮作之间差异不显著；4行连作对羧酸类的利用显著高于4行轮作，8行连作与8行轮作之间差异不显著；在对碳水化合物类、胺类、酚类碳源的利用上，4行轮作与4行连作之间、8行轮作与8行连作之间的差异都不显著。4行轮作土壤微生物对氨基酸、胺类碳源的利用显著高于8行轮作，4行连作与8行连作之间差异不显著；4行连作对羧酸类碳源的利用显著高于8行连作，4行轮作与8行轮作之间差异不显著；对碳水化合物类、聚合物类和酚类碳源的利用上4行轮作与8行轮作之间、4行连作与8行连作之间的差异都不显著。

玉米抽穗期，8行连作土壤微生物对酚类碳源的利用显著高于8行轮作，4行轮作与4行连作之间差异不显著。4行连作对酚类碳源的利用显著低于8行连作，4行轮作与8行轮作之间差异不显著；在对碳水化合物类、氨基酸类、羧酸类、聚合物和胺类碳源的利用上4行轮作与4行连作之间、8行轮作与8行连作之间、4行轮作与8行轮作之间及4行连作与8行连作之间的差异都不显著。

收获期，4 行连作土壤微生物对碳水化合物类和羧酸类的利用都比 4 行轮作高，8 行轮作与 8 行连作之间差异不显著；8 行连作对胺类碳源的利用比 8 行轮作高，4 行轮作与 4 行连作之间差异不显著；在对氨基酸类、聚合物类和酚类碳源的利用上 4 行轮作与 4 行连作之间、8 行轮作与 8 行连作之间的差异都不显著。4 行连作在对碳水化合物类、氨基酸和胺类的利用都显著高于 8 行连作，4 行轮作与 8 行轮作之间差异不显著；4 行轮作对羧酸类的利用显著高于 8 行轮作，4 行连作与 8 行连作之间差异不显著；对聚合物类和酚类碳源的利用上，4 行轮作与 8 行轮作之间、4 行连作与 8 行连作之间的差异都不显著。

2.3　土壤微生物多样性指数分析

从表 1 可以看出：种植玉米前，4 种种植模式的土壤微生物物种多样性指数、均匀度指数都显著低于玉米拔节期、抽穗期及收获期，优势度指数显著高于玉米拔节期、抽穗期及收获期；且在种植玉米前 4 种种植方式的土壤微生物物种多样性指数、均匀度指数和优势度指数之间的差异都较大。在玉米种植前，8 行轮作的土壤微生物物种多样性指数比 8 行连作高 22.93%，均匀度指数比 8 行连作高 16.46%，且差异均达显著水平；而 8 行轮作优势度指数比 8 行连作低 42.11%，差异显著。4 行轮作的土壤微生物物种多样性指数比 4 行连作高 11.42%，均匀度指数比 4 行连作低 3.95%，优势度指数比 4 行连作低 11.77%，但差异均未达到显著水平。8 行轮作与 8 行连作之间的差异比 4 行轮作与 4 行连作之间的差异明显。物种多样性指数最高的是 8 行轮作，最低的是 8 行连作。优势度指数最高的是 8 行连作，最低的是 8 行轮作。4 行轮作的土壤微生物物种多样性指数比 8 行轮作低 3.17%，4 行连作的土壤微生物物种多样性指数比 8 行连作高 6.83%，但差异均未达到显著水平。

表 1　不同种植方式下不同玉米生育期土壤微生物多样性
Table 1　Soil microbial diversities at different growth stages of maize under different planting patterns

生育期 Growth stage	种植方式 Planting pattern	物种多样性指数(*H*) Shannon-Wiener index	均匀度指数(*E*) Evenness index	优势度指数(*D*) Simpson dominance index
种植前 Before planting	C4	2.19±0.27bc	0.76±0.05b	0.17±0.05a
	R4	2.44±0.09b	0.73±0.02b	0.15±0.03ab
	C8	2.05±0.43c	0.79±0.11b	0.19±0.08a
	R8	2.52±0.85b	0.92±0.01a	0.11±0.07b
拔节期 Joint stage	C4	3.17±0.02a	0.93±0.00a	0.05±0.00c
	R4	3.09±0.05a	0.91±0.02a	0.05±0.00c
	C8	3.11±0.03a	0.92±0.02a	0.05±0.00c
	R8	3.09±0.08a	0.91±0.02a	0.05±0.01c
抽穗期 Heading stage	C4	3.21±0.03a	0.94±0.01a	0.04±0.00c
	R4	3.11±0.17a	0.94±0.00a	0.05±0.01c
	C8	3.17±0.04a	0.92±0.01a	0.05±0.00c
	R8	3.14±0.02a	0.92±0.01a	0.05±0.00c
收获期 Harvest stage	C4	3.20±0.03a	0.94±0.00a	0.04±0.00c
	R4	3.14±0.05a	0.93±0.01a	0.05±0.00c
	C8	3.12±0.05a	0.93±0.01a	0.05±0.00c
	R8	3.09±0.11a	0.93±0.02a	0.05±0.01c

与种植前的情况不同，玉米拔节期、抽穗期及收获期 4 种种植方式下土壤微生物的物种多样性指数、均匀度指数和优势度指数之间差异均不显著，但物种多样性指数都表现出 4 行连作大于 4 行轮作，

8 行连作大于 8 行轮作，且 4 行连作大于 8 行连作的趋势。

2.4 微生物对碳源利用多样性的 PLS-EDA 分析

为进一步了解不同种植方式下土壤微生物群落功能的差异，在种植前和玉米拔节期、抽穗期及收获期对 4 种不同种植模式的土壤微生物对 31 种碳源的利用情况进行 PLS-EDA 分析，采用培养了 120 h 的数据，提取出 2 个主成分，用第1主成分(PC1)和第 2 主成分(PC2)作图表征土壤微生物的代谢特征(图 4)。从图中可以看出：在玉米种植前 8 行轮作和 4 行连作有重叠，表明 8 行轮作和 4 行连作的土壤微生物碳源利用模式较相似，其他处理土壤微生物群落之间有很好的分离，土壤微生物碳源利用模式差别较大。其中，4 行轮作分布在 PC1 的负方向上，4 行连作、8 行轮作和 8 行连作都分布在 PC1 的正方向上，表明 4 行轮作的土壤微生物对碳源的利用模式与其他 3 种种植方式的土壤微生物对碳源利用模式相比差异最大。在玉米拔节期 4 种种植方式的土壤微生物群落之间有很好的分离，土壤微生物对碳源的利用模式有较大差异。但 4 行轮作和 8 行轮作同在第 2 象限，土壤微生物对碳源利用模式间的差异没有与其他处理间的差异大。在玉米抽穗期土壤微生物群落之间有较好的分离，4 个种植模式大致分布在 4 个不同的象限内，与其他 3 个时期相比，玉米抽穗期是 4 种种植模式的土壤微生物对碳源的利用模式彼此之间差异最大的时期。在玉米收获期土壤微生物群落之间没有重叠，都有很好的分离，4 种种植方式的土壤微生物对碳源的利用模式也有较大差异。其中，4 行连作分布在 PC1 的正方向上，4 行轮作、8 行连作和 8 行轮作都分布在 PC1 的负方向上，说明 4 行连作土壤微生物对碳源的利用模式与其他 3 种种植方式差异最大。

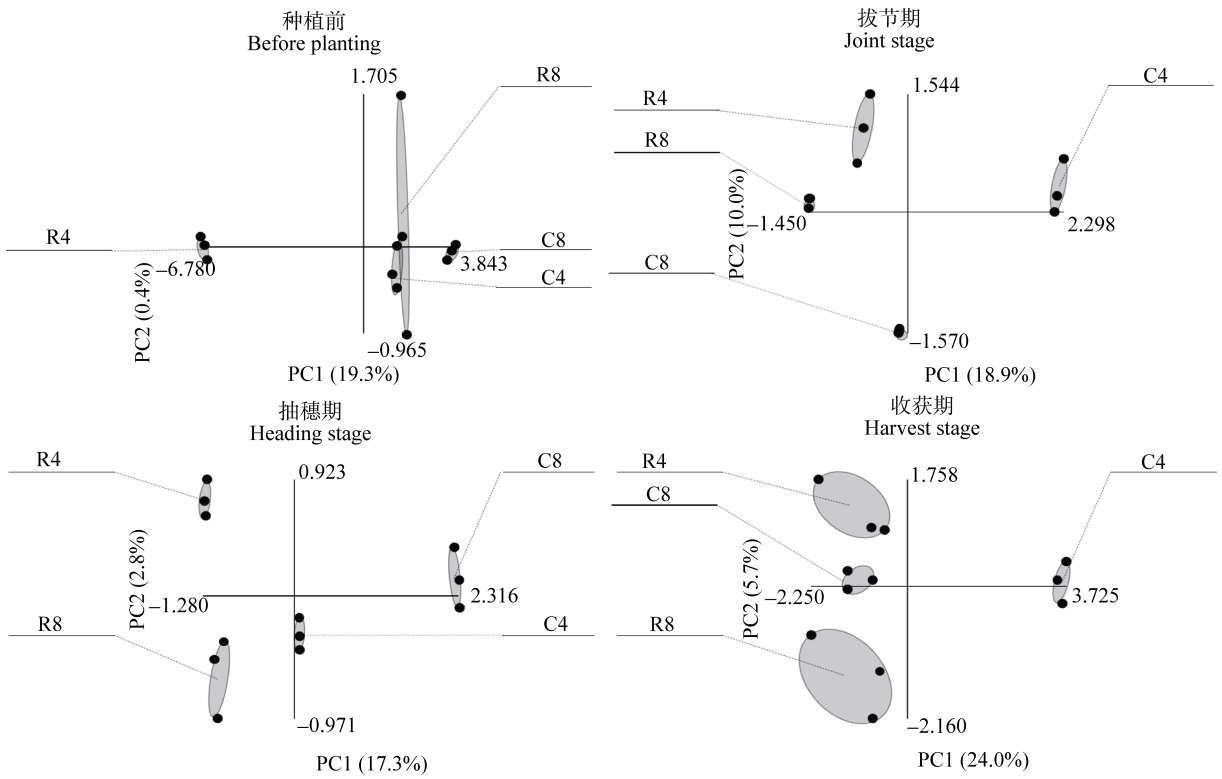

图 4 不同种植方式下不同玉米生育期土壤微生物的 PLS-EDA 分析

Fig. 4 PLS-EDA analysis of soil microbes at different growth stages of maize under different planting patterns

3 讨论与结论

Biolog技术通过测定微生物对不同碳源利用程度的差异来表征其代谢活性及功能多样性，AWCD值的高低可以直观反映微生物群落对碳源代谢能力的强弱，Shannon-Wiener多样性指数(H)及均匀度(E)表示群落的丰富度，其值越大说明群落多样性越高。Simpson指数(D)可反映土壤微生物群落常见种的优势度变化，数值越大表明得到同一物种的几率越大，因而微生物多样性越低[28]。土地利用方式、土壤理化性质、植物种类组成和覆盖度等多种因素都会影响土壤微生物活性和群落功能多样性。植物根系的代谢活动能为微生物提供多种营养物质和稳定的生长条件，且对土壤微生物群落的生长与代谢

具有激活作用[11]。孟庆杰等[29]的研究表明，土壤微生物代谢活性和功能多样性随季节变化呈逐渐升高趋势，与本研究结果具有共同点。4种玉米种植模式下，土壤微生物代谢活性和功能多样性随作物的生长都发生了变化，种植前微生物代谢活性最弱，功能多样性最低；玉米抽穗期土壤微生物代谢活性最强，功能多样性也较高。这可能是由于种植玉米前土壤状况、气候条件等因素的限制，土壤微生物群落的代谢活性、功能多样性较低。种植玉米后，作物根系的代谢活动活跃，同时激活土壤微生物，并为微生物生长提供了大量营养物质条件；此外，作物生长正值高温季节，也有利于地下土壤的微生物活动[30]，所以土壤微生物代谢活性较强、群落功能多样性也较丰富。

李春格等[18]的研究结果表明，在土壤微生物代谢活性较弱的阶段，重茬和迎茬处理的土体微生物多样性高于连作。本研究在种植玉米前，土壤微生物多样性与李春格等[18]的结果相似，轮作土壤的微生物多样性比连作高。这可能是由于在轮作土壤中多种作物的根系为土壤提供了更加丰富的营养物质，对土壤微生物的激活作用也更加全面，有利于多种微生物的活动和繁殖，所以土壤中微生物物种丰富，多样性较高；而连作土壤连续种植玉米，单一作物根系提供的营养物质相对单一，根系活动对微生物的激活作用也相对较小，激活的微生物种类单一，多样性较低。而4行连作土壤微生物多样性高于8行连作，表明单一作物种植面积的增大会降低土壤微生物的群落功能多样性。时鹏等[21]的研究结果表明，玉米连作土壤微生物群落功能多样性高于非玉米连作处理，这与本研究中玉米拔节期、抽穗期及收获期的结果相似，即在微生物活性较高时期，连作土壤微生物的群落功能多样性都比轮作的略高，但4种种植方式下土壤微生物的物种多样性指数、均匀度指数和优势度指数之间差异都不显著，这可能是由于土地利用方式、作物根系的活动、土壤状况、气候条件以及田间管理等多种影响因子综合作用的结果，任何单一因素的分析都很难作出较全面的解释。

本研究表明，4个时期种植模式影响的主要土壤微生物类群不同。种植前降解碳水化合物类、羧酸类和聚合物类碳源的微生物是种植方式影响的主要土壤微生物类群，这与以往的研究结果较相似[18,21,29]。而作物生长过程中根系分泌物等因素会影响土壤状况及微生物群落[11]，所以种植作物前的土壤微生物特征碳源会与作物生长阶段有较大差异。作物生长中后期，由于植物根系的代谢活动为土壤微生物提供了丰富的营养，微生物的代谢功能受环境条件的影响不大，所以玉米拔节期、抽穗期和收获期之间土壤微生物特征碳源没有较大差异，种植方式对降解聚合物类碳源的土壤微生物类群的影响都不大。本研究中4行轮作土壤微生物对碳源的利用大于8行轮作，4行连作大于8行连作，这可能是由于作物4行条带种植的方式更能充分利用光热资源，根系活动更加活跃，有利于土壤微生物群落的代谢活性；而作物种植规模的增大不利于作物的生理代谢活动对土壤中微生物群落功能的影响，也不利于土壤微生物对其他环境因子的利用，所以微生物代谢活性较弱，对碳源的利用能力相对较小。

Biolog 方法虽然只能表征土壤中生长快速或数量较大的微生物的活性，对土壤中生长缓慢的微生物的活性反映不够灵敏[2]。但本研究通过 PLS-EDA 分析仍表明了不同种植方式下土壤微生物的碳源利用模式有较大差异，在作物生长的不同阶段，土壤微生物群落代谢特征也有较大差异。在本研究中，4种种植模式的土壤微生物代谢活性和功能多样性在种植玉米前最低，在玉米抽穗期最高。种植玉米前轮作土壤的微生物多样性比连作高，降解碳水化合物类、羧酸类和聚合物类碳源的微生物是这个时期种植方式影响的主要土壤微生物类群；在玉米拔节期、抽穗期及收获期连作土壤微生物的群落功能多样性都略高于轮作，这 3 个时期种植方式对降解聚合物类碳源的土壤微生物类群的影响都不大。微生物对环境条件的变化较为敏感，而影响土壤微生物群落的因素又是复杂多变的。若把 Biolog 技术结合研究土壤微生物群落多样性的其他方法一起使用，将影响土壤微生物多样性的多个因素相互结合一起分析，有望进一步为调控土壤微生物群落结构、改良土壤的生产力与生态功能、实现土壤的可持续利用提供更加丰富的科学依据。

参考文献

[1] Coleman D C, Crossley D A, Hendrix P F. Fundamentals of Soil Ecology[M]. London: Academic Press, 1996: 48–77

[2] Konopka A, Oliver L, Turco R F Jr. The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology[J]. Microbial Ecology, 1998, 35(2): 103–115

[3] Pankhurst C E, Ophel-Keller K, Doube B M, et al. Biodiversity of soil microbial communities in agricultural

systems[J]. Biodiversity and Conservation, 1996, 5(2): 197–209

[4] Zelles L, Bai Q Y, Beck T, et al. Signature fatty acids in phospholipids and lipopolysaccharides as indicators of microbial biomass and community structure in agricultural soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1992, 24(4): 317–323

[5] 林先贵, 胡君利. 土壤微生物多样性的科学内涵及其生态服务功能[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 892–900
Lin X G, Hu J L. Scientific connotation and ecological service function of soil microbial diversity[J]. Acta Pedologica Sinica, 2008, 45(5): 892–900

[6] 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(8): 2351–2359

[7] Zak J C, Willig M R, Moorhead D L, et al. Functional diversity of microbial communities: A quantitative approach[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1994, 26(9): 1101–1108

[8] Kihara J, Martius C, Bationo A, et al. Soil aggregation and total diversity of bacteria and fungi in various tillage systems of sub-humid and semi-arid Kenya[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 58: 12–20

[9] 姚槐应, 何振立, 黄昌勇. 不同土地利用方式对红壤微生物多样性的影响[J]. 水土保持学报, 2003, 17(2): 51–54
Yao H Y, He Z L, Huang C Y. Effect of land use history on microbial diversity in red soils[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2003, 17(2): 51–54

[10] Kennedy A C, Smith K L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils[J]. Plant and Soil, 1995, 170(1): 75–86

[11] 罗倩, 黄宝灵, 唐治喜, 等. 新疆盐渍土 3 种植被类型土壤微生物碳源利用[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(1): 96–104
Luo Q, Huang B L, Tang Z X, et al. Carbon source utilization of microbes in saline soil of three vegetation types in Xinjiang, China[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2013, 19(1): 96–104

[12] Büenemann E K, Bossio D A, Smithson P C, et al. Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(6): 889–901

[13] 张丽荣, 康萍芝, 沈瑞清, 等. 不同作物种植模式对新垦农田土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 河南农业科学, 2009(12): 65–68
Zhang L R, Kang P Z, Shen R Q, et al. Effects of different crop planting patterns on functional diversity of soil microbial communities on newly developed lands[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2009(12): 65–68

[14] Lithourgidis A S, Damalas C A, Gagianas A A. Long-term yield patterns for continuous winter wheat cropping in northern Greece[J]. European Journal of Agronomy, 2006, 25(3): 208–214

[15] 马海燕, 徐瑾, 郑成淑, 等. 非洲菊连作对土壤理化性状与生物性状的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(18): 3733–3740
Ma H Y, Xu J, Zheng C S, et al. Effects of continuous cropping system on the soil physical-chemical properties and biological properties of *Gerbera jamesonii*[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2011, 44(18): 3733–3740

[16] 高亚娟, 王永和, 杜岩, 等. 大棚草莓连作对土壤微生物区系和土壤养分含量的影响[J]. 北方园艺, 2013(21): 56–58
Gao Y J, Wang Y H, Du Y, et al. Effect of strawberry continuous cropping on soil microflora and soil nutrients content in greenhouses[J]. Northern Horticulture, 2013(21): 56–58

[17] Yusuf A A, Abaidoo R C, Iwuafor E N O, et al. Rotation effects of grain legumes and fallow on maize yield, microbial biomass and chemical properties of an Alfisol in the Nigerian savanna[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2009, 129(1/3): 325–331

[18] 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[J]. 生态学报, 2006, 26(4): 1145–1150
Li C G, Li X M, Wang J G. Effect of soybean continuous cropping on bulk and rhizosphere soil microbial community function[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(4): 1145–1150

[19] 牛秀群, 李金花, 张俊莲, 等. 甘肃省干旱灌区连作马铃薯根际土壤中镰刀菌的变化[J]. 草业学报, 2011, 20(4): 236–243
Niu X Q, Li J H, Zhang J L, et al. Changes of *Fusarium* in rhizosphere soil under potato continuous cropping systems in arid-irrigated area of Gansu Province[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2011, 20(4): 236–243

[20] 王洋, 齐晓宁, 刘兆永, 等. 黑土区长期连作玉米农田土壤肥力变化及其评价——以德惠市为例[J]. 土壤, 2008, 40(3): 495–499
Wang Y, Qi X N, Liu Z Y, et al. Effect of long-term continuous cropping of corn on soil fertility of black soil and its evaluation: A case study of Dehui City[J]. Soils, 2008, 40(3): 495–499

[21] 时鹏, 高强, 王淑平, 等. 玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(22): 6173–6182
Shi P, Gao Q, Wang S P, et al. Effects of continuous cropping of corn and fertilization on soil microbial community functional diversity[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(22): 6173–6182

[22] 董艳, 杨智仙, 董坤, 等. 施氮水平对蚕豆枯萎病和根际微生物代谢功能多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2013, 24(4): 1101–1108
Dong Y, Yang Z X, Dong K, et al. Effects of nitrogen application rate on faba bean fusarium wilt and rhizospheric

microbial metabolic functional diversity[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, 24(4): 1101–1108

[23] 田雅楠, 王红旗. Biolog 法在环境微生物功能多样性研究中的应用[J]. 环境科学与技术, 2011, 34(3): 50–57
Tian Y N, Wang H Q. Application of Biolog to study of environmental microbial function diversity[J]. Environmental Science & Technology, 2011, 34(3): 50–57

[24] 王强, 戴九兰, 吴大千, 等. 微生物生态研究中基于 BIOLOG 方法的数据分析[J]. 生态学报, 2010, 30(3): 817–823
Wang Q, Dai J L, Wu D Q, et al. Statistical analysis of data from BIOLOG method in the study of microbial ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(3): 817–823

[25] 毛如志, 王文鹏, 李彬, 等. Biolog ECO 和 DGGE 数据几种分析方法的比较研究[J]. 土壤与作物, 2014, 3(2): 68–75
Mao R Z, Wang W P, Li B, et al. Comparison among several methods for Biolog ECO and DGGE data analysis[J]. Soil and Crop, 2014, 3(2): 68–75

[26] Davis University of California. Multibase[EB/OL]. [2013-12-24]. http://www.numericaldynamics.com/index.html

[27] Zabinski C A, Gannon J E. Effects of recreational impacts on soil microbial communities[J]. Environmental Management, 1997, 21(2): 233–238

[28] 刘晓伟, 谢丹平, 李开明, 等. 溶解氧变化对底泥酶活性及微生物多样性的影响[J]. 环境科学与技术, 2013, 36(6): 6–11
Liu X W, Xie D P, Li K M, et al. Effects of variation of DO on the enzyme activity and microbial diversity in sediments[J]. Environmental Science & Technology, 2013, 36(6): 6–11

[29] 孟庆杰, 许艳丽, 李春杰, 等. 不同植被覆盖对黑土微生物功能多样性的影响[J]. 生态学杂志, 2008, 27(7): 1134–1140
Meng Q J, Xu Y L, Li C J, et al. Effects of different vegetation coverage on microbial functional diversity in black soil[J]. Chinese Journal of Ecology, 2008, 27(7): 1134–1140

[30] Benizri E, Amiaud B. Relationship between plants and soil microbial communities in fertilized grasslands[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(11): 2055–2064

欢迎订阅 2016 年《中国生态农业学报》

《中国生态农业学报》由中国科学院遗传与发育生物学研究所和中国生态经济学会主办, 中国科学院主管, 科学出版社出版。系中国期刊方阵双效期刊、中国科技精品期刊、百种中国杰出学术期刊、中文核心期刊、RCCSE 中国权威学术期刊, 为中国学术期刊综合评价数据库、中国期刊全文数据库、中国学术期刊文摘、中国科学引文数据库、中国科技论文与引文数据库、CNKI 中国期刊全文数据库源刊, 并被国际农业生物学文摘(CABI)、美国化学文摘(CA)、哥白尼索引(IC)、美国乌利希国际期刊指南等国际数据库及检索单位收录。荣获第三届、四届全国农业优秀期刊一等奖和首届北方优秀期刊奖, 中国北方优秀期刊, 连续多届获得河北省优秀期刊奖。

《中国生态农业学报》主要报道全球环境变化与农业、农业生态系统与生态农业理论基础、农田生态系统与农业资源、生态农业模式和技术体系、农业生态经济学、农业环境质量及环境保护、农业有害生物的综合防治等领域创新性研究成果。适于从事农业生态学、生态学、生态经济学以及环境保护等领域科技人员、高等院校有关专业师生, 农业及环境管理工作者和基层从事生态农业建设的技术人员阅读与投稿。

《中国生态农业学报》国内外公开发行, 国内刊号 CN13-1315/S, 国际刊号 ISSN1671-3990。月刊, 国际标准大 16 开本, 128 页, 每期定价 35 元, 全年 420 元。邮发代号: 82-973, 全国各地邮局均可订阅。漏订者可直接汇款至编辑部补订(需另加邮资 50.00 元/年)。

地址: (050022) 河北省石家庄市槐中路 286 号　中科院遗传发育所农业资源研究中心《中国生态农业学报》编辑部

电话: (0311) 85818007　　传真: (0311) 85815093

网址: http://www.ecoagri.ac.cn　　E-mail: editor@sjziam.ac.cn