中国生态农业学报(中英文)
Chinese Journal of Eco-Agriculture

不同来源沼液对土壤微生物群落碳代谢的影响

李钰飞，许俊香，刘本生，孙钦平，李吉进，刘建斌，郎乾乾，孙仁华，靳红燕

Effects of different biogas slurries on soil microbial carbon metabolism

LI Yufei, XU Junxiang, LIU Bensheng, SUN Qinping, LI Jijin, LIU Jianbin, LANG Qianqian, SUN Renhua, and JIN Hongyan

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12357/cjea.20210274

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

麦秸与氮肥配施对水稻根际区土壤微生物量碳氮的影响

Effects of wheat straw and nitrogen fertilizer application on the soil microbial biomass carbon and nitrogen in the rhizosphere of rice

中国生态农业学报(中英文). 2021, 29(9): 1582–1591

氯甲基吡啶对滴灌棉田土壤微生物群落功能多样性的影响

Effect of nitrapyrin on functional diversity of soil microbial community in drip–fertigated cotton field

中国生态农业学报(中英文). 2017, 25(7): 968–974

铅胁迫下接种AM真菌对龙葵根际土壤微生物群落代谢特征的影响

Effect of arbuscular mycorrhizal fungi on metabolic characteristics of microbial community in *Solanum nigrum* rhizosphere soil with lead stress

中国生态农业学报(中英文). 2019, 27(4): 545–553

外源腐解微生物的物种组合对土壤微生物群落结构及代谢活性的影响

Effects of species–combined exogenous decomposing micro–organisms on soil microbial community structure and metabolic activity

中国生态农业学报(中英文). 2018, 26(7): 1056–1066

不同培肥方式对土壤有机碳与微生物群落结构的影响

Effect of fertilization managements on soil organic carbon and microbial community structure

中国生态农业学报(中英文). 2018, 26(12): 1866–1875

川西平原土壤微生物生物量碳氮磷含量特征及其影响因素分析

Distribution characteristics and impact factors of soil microbial biomass car–bon, nitrogen and phosphorus in western Sichuan plain

中国生态农业学报(中英文). 2019, 27(10): 1607–1616

关注微信公众号，获得更多资讯信息

中国生态农业学报(中英文) 2021 年 11 月 第 29 卷 第 11 期
Chinese Journal of Eco-Agriculture, Nov. 2021, 29(11): 1921−1930

DOI: 10.12357/cjea.20210274

李钰飞, 许俊香, 刘本生, 孙钦平, 李吉进, 刘建斌, 郎乾乾, 孙仁华, 靳红燕. 不同来源沼液对土壤微生物群落碳代谢的影响[J]. 中国生态农业学报 (中英文), 2021, 29(11): 1921−1930

LI Y F, XU J X, LIU B S, SUN Q P, LI J J, LIU J B, LANG Q Q, SUN R H, JIN H Y. Effects of different biogas slurries on soil microbial carbon metabolism[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2021, 29(11): 1921−1930

不同来源沼液对土壤微生物群落碳代谢的影响*

李钰飞[1], 许俊香[1], 刘本生[1], 孙钦平[1], 李吉进[1], 刘建斌[1], 郎乾乾[1], 孙仁华[2**], 靳红燕[3]

(1. 北京市农林科学院植物营养与资源研究所 北京 100097; 2. 农业农村部农业生态与资源保护总站 北京 100125; 3. 中国城市建设研究院有限公司西北分院 北京 100120)

摘 要: 为探索不同来源沼液对土壤微生物群落结构的影响, 本研究通过室内培养试验, 基于 BIOLOG 微平板培养方法, 对比了鸡粪源、猪粪源和牛粪源沼液在等氮条件下加入土壤后的微生物碳代谢特征。结果表明: 同无任何添加的对照相比, 不同来源的沼液对土壤有机质含量无显著影响, 但对无机氮、全氮、有效磷、速效钾、pH 和电导率均有不同程度的提升效果。土壤微生物生物量碳在牛粪沼液处理中最高, 而猪粪沼液中微生物量碳则同对照相比显著降低 ($P<0.05$)。鸡粪沼液引发了微生物最高的碳源利用强度, 而猪粪沼液则表现出抑制的趋势。微生物对碳水化合物的利用在鸡粪沼液处理中达到最高, 显著高于猪粪沼液 ($P<0.05$)。对于氨基酸碳源的利用, 各沼液处理均表现出抑制的趋势, 但仅在猪粪沼液处理中达显著水平 ($P<0.05$)。鸡粪沼液相比其他处理显著促进了微生物对羧酸的利用 ($P<0.05$)。相比其他处理, 鸡粪沼液显著提高了土壤微生物的 Shannon 丰富度和 Simpson 优势度指数; McIntosh 均一度指数的最高值也出现在鸡粪沼液处理, 但其仅显著高于猪粪沼液处理 ($P<0.05$)。主成分分析显示猪粪沼液处理的微生物碳代谢群落同对照的差异最大, 相比而言牛粪和鸡粪沼液对微生物代谢群落的影响较小。总体而言, 不同来源沼液对土壤微生物碳代谢的影响存在差异, 其长期的效应有待进一步通过田间试验验证。

关键词: 沼液; 微生物多样性; BIOLOG; 微生物量碳氮; 群落代谢特征

中图分类号: S154.36 **开放科学码(资源服务)标识码(OSID):**

Effects of different biogas slurries on soil microbial carbon metabolism*

LI Yufei[1], XU Junxiang[1], LIU Bensheng[1], SUN Qinping[1], LI Jijin[1], LIU Jianbin[1], LANG Qianqian[1], SUN Renhua[2**], JIN Hongyan[3]

(1. Institute of Plant Nutrition and Resources, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China; 2. Rural Energy and Environment Agency, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100125, China; 3. Northwest Branch of China Urban Construction Design and Research Institute Co., Ltd., Beijing 100120, China)

Abstract: Biogas slurry is a high-quality organic fertilizer, but different types of biogas slurries have different physical and chemical

* 北京市农林科学院青年科研基金项目 (QNJJ202004, QNJJ202125, QNJJ201908)、奶牛产业技术体系北京市创新团队项目 (BAIC06-2021)、农业生态环境保护专项 (2110402) 和北京市农林科学院农业科技示范推广项目 (2018025) 资助

** 通信作者: 孙仁华, 主要研究方向为生态农业与农业废弃物资源化利用。E-mail: sunrh_abc@163.com

李钰飞, 主要研究方向为土壤生态学。E-mail: liyf15@163.com

收稿日期: 2021-05-07 接受日期: 2021-06-30

* This study was supported by the Youth Foundation of Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences (QNJJ202004, QNJJ202125, QNJJ201908), Beijing Innovation Team of Technology System in Dairy Industry (BAIC06-2021), the Special Project for Agricultural Ecological Environment Protection of China (2110402), and the Demonstration and Extension Project of Agricultural Science and Technology of Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences (2018025).

** Corresponding author, E-mail: sunrh_abc@163.com

Received May 7, 2021; accepted Jun. 30, 2021

properties. To explore the effect of biogas slurries derived from different livestock and poultry wastes on the soil microbial community structure, a culture experiment was conducted in the laboratory with the following treatments: soil amended with biogas slurry from chicken manure (FS), pig manure (PS), and cow manure (CS), and an unamended control (CK). The experiment was conducted with equal nitrogen input for each treatment. Samples were collected after incubation of soil for 60 days. Changes in the carbon metabolism of microbial communities subjected to different treatments were examined using the Biolog microplate culture method. Compared to the control, the biogas slurry treatments exerted no significant effect on soil organic matter content, but improved soil pH, electrical conductivity, and contents of inorganic nitrogen, total nitrogen, available phosphorus, and available potassium to varying degrees. Soil microbial biomass carbon was highest in CS, whereas that in PS was significantly lower than that in CK ($P<0.05$). The highest carbon source utilization intensity was found in FS, while that in CS was similar to that in CK, and lower in PS. Carbohydrate utilization by soil microbes was highest in FS, where it showed a significant increase with respect to that of PS ($P<0.05$). The utilization of amino acids was inhibited by all biogas slurry treatments; however, such inhibition was significant only in PS when compared with CK ($P<0.05$). Carboxylic acid utilization was significantly higher in FS than that in the other treatments ($P<0.05$). The various treatments exerted three distinct effects on amine utilization: on the one hand, FS promoted amine utilization, which showed values significantly higher than those in CK and PS ($P<0.05$); on the other hand, PS treatment did not significantly affect amine utilization when compared to that of CK; and finally, there was no significant difference in amine utilization between microbial communities subjected to CS and the other treatments. When compared with the other treatments, FS resulted in soil microbial communities with significantly higher values of both Shannon and Simpson indices ($P<0.05$). The highest value of the McIntosh index was observed in the FS-treated community, with a significant increase with respect to that of PS. Amino acid utilization was the parameter showing the strongest correlations ($P<0.05$ or $P<0.01$) with various soil chemical properties. Particularly, significant negative correlations were observed with nitrate nitrogen content, total nitrogen content, available potassium content, and electrical conductivity. In contrast, there were no significant correlations between the diversity indices and soil chemical properties. Soil microbial biomass carbon was negatively correlated with nitrate and available potassium contents ($P<0.05$). Conversely, soil microbial biomass nitrogen was negatively correlated with the pH and electrical conductivity ($P<0.05$). Principal component analysis of microbial carbon metabolism showed that the microbial community of PS was differed from that of CK, while CS and FS had relatively small effects on microbial community metabolism. In summary, biogas slurry derived from different livestock and poultry wastes exerted different effects on soil microbial carbon metabolism. Nevertheless, future experiments are required to verify the long-term effects of different biogas slurries in the field.

Keywords: Biogas slurry; Microbial diversity; BIOLOG; Microbial biomass carbon and nitrogen; Community metabolic characteristics

20 世纪 80 年代以来, 我国规模化养殖业得到了快速发展, 同时伴随着畜禽粪便的大量产生, 极大增加了面源污染风险[1]。沼气工程通过厌氧发酵工艺处置养殖废弃物, 使得环境污染得到了有效改善[2]。与此同时, 产生的副产物沼液含有丰富的养分和微量元素, 还可作为土壤改良剂或有机肥料应用于种植业[3]。大量研究证实, 合理施用沼液有利于改善土壤理化性状[4-6], 提高作物产量和品质[7-8], 防控作物土传病害[3, 9-10]。

鸡粪、猪粪和牛粪是沼气工程常用的发酵原料, 不同种类的畜禽粪便特性存在明显差异。例如鸡粪各种养分含量均较高, 含有大量易分解有机物[11], 养分释放快, 其主要作用是提高或维持作物产量; 牛粪相对来说养分较低, 但碳氮比高, 有研究表明长期施用牛粪可以改善土壤物理性状[12-13]; Hafez[14] 发现牛粪比鸡粪更有利于降低土壤容重。不同种类畜禽粪便经沼气发酵后碳氮比均会降低[15], 但依然在一定程度上保持着差别[16]。例如赵凤莲等[17] 的盆栽试验证实鸡粪沼肥要比牛粪沼肥增产明显, 而后者的养分释放较为缓慢。由此可见, 不同来源的沼液进入土壤后对地下生态过程产生的影响也势必存在差异。

土壤生物是地下生态过程的执行者[18], 其中土壤微生物是土壤生物类群的重要组成部分。作为食物网中的分解者[19], 其占据食物网 80% 以上的生物量[20], 参与土壤有机质的分解与合成、养分的固定与释放以及污染物的降解等过程, 并且与土壤团聚体的形成密切相关[21]。土壤扰动会导致微生物群落结构、代谢特征和功能多样性的变化, 反过来这些也可作为土壤质量评价的重要指标[22]。针对土壤微生物群落对沼液施用的响应, 已有不少学者从不同角度开展了研究, 例如沼液肥与其他肥料的对比[15, 23], 不同的沼液用量[2, 24], 沼液与其他材料配施[25-26], 但尚少见不同发酵原料产生的沼液对土壤微生物群落影响的报导。

基于以上的研究背景, 本研究将通过室内培养试验, 对比鸡粪、牛粪和猪粪 3 种常见来源的沼液加入土壤后的土壤微生物碳代谢特征, 并结合土壤

理化指标和微生物生物量碳氮指标阐明不同来源沼液引发短期的土壤微生物群落变化的差异, 为沼液的资源化利用提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　土壤及样品采集

本研究为室内培养试验, 在北京市农林科学院植物营养与资源研究所温室内进行。试供土壤采集自北京市大兴区北京青圃有机农业专业合作社温室, 土壤基础理化性状为: 有机质 19.7 g·kg^{-1}, 全氮 1.2 g·kg^{-1}, 速效磷 72.7 mg·kg^{-1}, 有效钾 194.9 mg·kg^{-1}, pH 8.20, 电导率 107.7 μS·cm^{-1}。选取 1 m^2 作为采样样方, 用铁铲挖取表层 0~20 cm 土壤带回实验室, 并于 1 周内完成试验布置。沼液来源于大兴区不同的沼气站, 其中鸡粪沼液采集自留民营沼气站, 牛粪沼液源自于赵庄子镇沼气站, 猪粪沼液取自北蒲州沼气站。3 种沼液均为厌氧发酵罐当天的流出液, 取回后于 4 ℃ 冰箱保存, 理化性质见表 1。

表 1　不同来源沼液的化学性状

Table 1　Chemical properties of different biogas slurry

	NH_4^+-N (mg·L^{-1})	NO_3^--N (mg·L^{-1})	总氮 Total N (mg·L^{-1})	总磷 Total P (mg·L^{-1})	pH	电导率 EC (mS·cm^{-1})
鸡粪沼液 Chicken manure biogas slurry	3180.7	1.92	4716.9	440.8	8.21	26 190
猪粪沼液 Pig manure biogas slurry	649.3	0.76	751.8	186.0	8.05	10 142
牛粪沼液 Cow manure biogas slurry	285.6	0.35	1179.2	56.9	7.89	9160

1.2　试验布置

试验设置 4 个处理: 鸡粪源沼液 (FS)、猪粪源沼液 (PS)、牛粪源沼液 (CS) 和对照 (CK), 每个处理 3 次重复, 随机区组排列。沼液添加量依据等氮原则 (0.17 g·kg^{-1} 鲜土), 不同处理稀释成等体积的沼液加入土壤, 对照处理以等量的蒸馏水代替。试验所用盆为宽 8 cm、高 10 cm 的方形盆, 每盆加入过 2 mm 筛的土壤 450 g, 然后加稀释后沼液 100 mL, 避光培养。培养期间, 每隔 3 d 按等重法补充水分。所有样本于 60 d 后取样, 一部分土样置于 4 ℃ 冰箱冷藏用于测定微生物量碳氮和微生物碳代谢, 剩余部分风干处理用于测定土壤理化性质。

1.3　土壤化学性质分析

土壤铵态氮和硝态氮以 1 mol·L^{-1} NaCl 浸提后用流动分析仪测定, 有机质含量测定方法为重铬酸钾氧化法, 全氮含量采用凯式蒸馏法测定, 有效磷含量采用 $NaHCO_3$ 提取钼锑抗比色法测定, 速效钾含量测定方法为乙酸铵浸提-火焰光度法, pH 采用 pH 计测定 (水土比 2.5∶1), 电导率用电导仪测定 (水土比 5∶1)[27]。

1.4　土壤微生物分析

土壤微生物量碳氮采用氯仿熏蒸-K_2SO_4 提取法测定, 转换系数为 0.45[28]。微生物群落评价采用基于微生物碳代谢功能的 BIOLOG 微平板培养法测定。参考林先贵[29] 的方法, 取鲜土 10 g 加入三角瓶中, 于涡旋震荡仪上震荡 2 min。吸取 1 mL 液体于小试管中, 震荡 30 s, 吸取小试管中土壤悬浊液 3 mL 转移至离心管中, 震荡 20 s, 再转移至 V 型槽中, 用八道移液枪向 BIOLOG 板每孔加入 150 μL 液体, 置于 25 ℃ 培养箱培养。前 2 日每隔 12 h 用酶标仪测定吸光度, 从第 3 日起每隔 24 h 测定吸光度 (590 nm), 总计培养 7 d。采用平均吸光度 (AWCD)、Shannon 丰富度指数 (H')、Simpson 优势度指数 ($1/D$) 和 McIntosh 均一度指数 (U) 来评价微生物群落。

$$\mathrm{AWCD} = \frac{\sum(C_i - R)}{31} \tag{1}$$

式中: C_i 为各孔的吸光值, R 为对照孔的吸光值, 当 C_i–R 为负数时记为零[29]。

$$H' = -\sum(p_i \times \ln p_i) \tag{2}$$

式中: p_i 为第 i 孔相对吸光度与整板平均相对吸光度总和的比率。

$$D = \sum \frac{n_i(n_i - 1)}{N(N-1)} \tag{3}$$

式中: n_i 是第 i 孔的相对吸光度 (C_i–R), N 是相对吸光度总和, Simpson 指数用 $1/D$ 表示[30]。

$$U = \sqrt{\sum n_i^2} \tag{4}$$

式中: n_i 是第 i 孔的相对吸光度 (C_i–R)。

1.5　统计分析

采用单因素方差分析比较土壤化学指标和微生物指标在不同处理间的差异, 多重比较方法为 LSD, 设置显著性水平为 P<0.05。方差分析前先进行齐次性检验, 对于不满足齐次性假设的数据进行对数, 开平方或反正弦转换; 若仍不满足要求, 则采取非参数检验方法 (Kruskal-Wallis), 并用 Mann-Whitney 两两比较处理间的差异。所有统计分析在 SPSS 16.0 中

完成。

采用主成分分析 (PCA) 呈现处理间微生物群落的差异, 分析前微生物碳代谢数据进行 ln(10 000x+1) 转换。分析在 Canoco 5.0 中完成。

2 结果与分析

2.1 不同来源沼液对土壤理化性状的影响

添加不同来源的沼液对土壤有机质含量无显著影响, 但对其他土壤养分总体表现出不同程度的促进作用 (表 2)。与对照相比, 沼液对土壤硝态氮含量的增加效果表现为猪粪沼液>鸡粪沼液>牛粪沼液 (P<0.05); 对于土壤铵态氮含量, 猪粪沼液处理显著高于牛粪沼液处理 (P<0.05), 而各沼液与对照处理并无显著差异; 与此同时, 不同沼液均显著提高了土壤全氮含量 (P<0.05)。各处理中有效磷含量最高的是鸡粪沼液处理, 有效钾最高的是猪粪沼液处理, 而这两个指标在对照土壤中均最低。此外, 施用沼液后各处理的 pH 和电导率值也均有不同程度升高。

表 2 不同来源沼液对土壤理化性状的影响

Table 2 Effects of different biogas slurry on soil physical and chemical properties

处理 Treatment	NH_4^+-N (mg·kg^{-1})	NO_3^--N (mg·kg^{-1})	OM (g·kg^{-1})	TN (g·kg^{-1})	AP (mg·kg^{-1})	AK (mg·kg^{-1})	pH	EC (μs·cm^{-1})
CK	1.06ab	44.3d	18.66a	1.08b	71.64c	172.4d	8.18b	166.1c
CS	0.88b	101.5c	18.67a	1.21a	75.31bc	249.9b	8.44a	376.3b
FS	1.05ab	164.1b	18.42a	1.22a	79.31a	218.1c	8.31ab	363.7b
PS	1.63a	207.5a	18.79a	1.25a	75.82ab	317.8a	8.42a	515.7a

CK: 对照; CS: 牛粪沼液; FS: 鸡粪沼液; PS: 猪粪沼液; OM: 有机质; TN: 全氮; AP: 有效磷; AK: 速效钾; EC: 电导率。同列不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。CK: control; CS: cow manure biogas slurry; FS: chicken manure biogas slurry; PS: pig manure biogas slurry; OM: organic matter; TN: total N; AP: available P; AK: available K; EC: electrical conductivity. Different lowercase letters in the same column represent significant differences among different treatments at P<0.05.

2.2 不同来源沼液对微生物量碳氮的影响

经过 60 d 的培养, 牛粪沼液处理获得了最高的微生物生物量碳, 显著高于猪粪沼液 (P<0.05) (图 1), 但与对照和鸡粪沼液处理相比并无显著差异, 而添加猪粪沼液则显著降低了微生物生物量碳 (P<0.05), 但其同鸡粪沼液的结果相比并无显著差异。微生物生物量氮在不同处理间尽管存在差别, 但并未达显著差异水平。

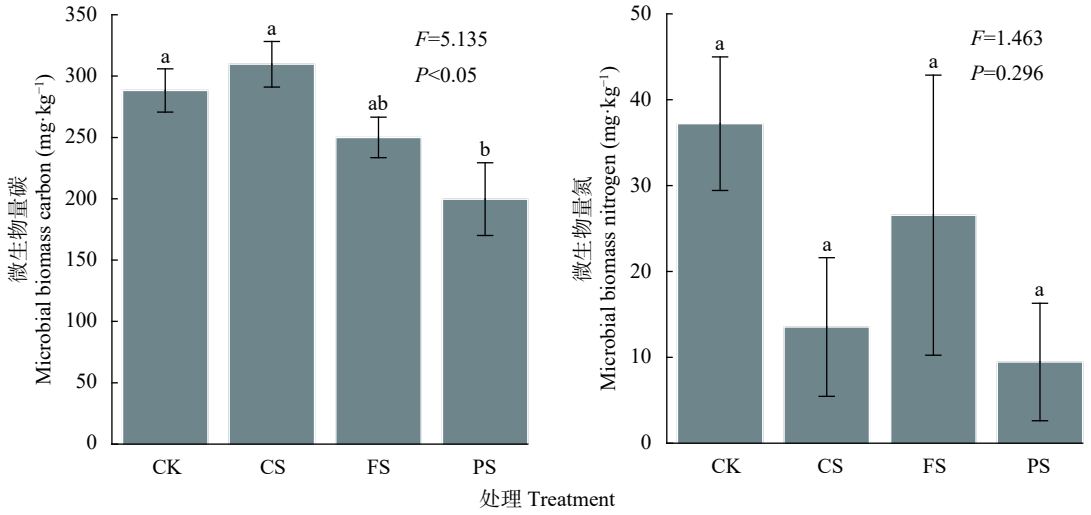

图 1 不同来源沼液对土壤微生物生物量碳氮的影响

Fig. 1 Effects of different biogas slurry on contents of soil microbial biomass carbon and nitrogen

CK: 对照; CS: 牛粪沼液; FS: 鸡粪沼液; PS: 猪粪沼液。不同小写字母表示处理间差异显著 (P<0.05)。CK: control; CS: cow manure biogas slurry; FS: chicken manure biogas slurry; PS: pig manure biogas slurry. Different lowercase letters represent significant differences among treatments at P<0.05.

2.3 不同来源沼液对土壤微生物碳源利用的影响

如图 2 所示, 各土壤样品的孔平均颜色变化率随着培养时间而逐渐升高, 在 48 h 之前不同处理间的差异尚不明显, 从 72 h 开始变化规律逐渐明朗, 主要表现在鸡粪沼液可引发微生物最高的碳源利用强度, 牛粪沼液与对照处理较为接近, 而猪粪沼液有抑制微生物碳源利用的趋势。

图 3 展示了土壤微生物对六大类碳源的利用情

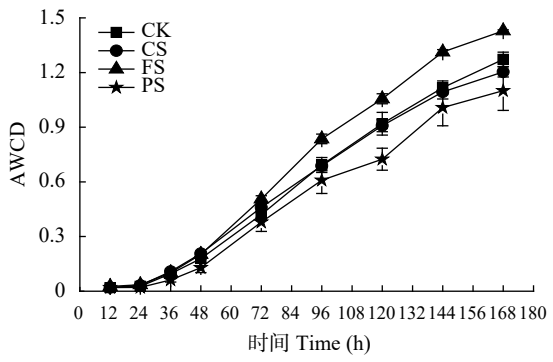

图 2　不同来源沼液处理下土壤微生物群落培养过程中孔平均颜色变化率 (AWCD)

Fig. 2　Average well-color development (AWCD) changes of soil microbial community during the incubation under application of different biogas slurry

CK: 对照; CS: 牛粪沼液; FS: 鸡粪沼液; PS: 猪粪沼液。CK: control; CS: cow manure biogas slurry; FS: chicken manure biogas slurry; PS: pig manure biogas slurry.

况。微生物对碳水化合物 (Car) 的利用在鸡粪沼液处理中最高, 显著高于猪粪沼液 (P<0.05), 而处于二者之间的对照和牛粪沼液处理则均与其他处理无显著差异。对于氨基酸 (Ama), 添加不同源沼液均有抑制微生物利用碳源的趋势, 但仅在猪粪沼液处理中达显著水平 (P<0.05), 而后者与鸡粪和牛粪处理也无显著差异。鸡粪沼液相比其他处理显著促进了微生物对羧酸 (Caa) 的利用 (P<0.05), 这个指标在牛粪、猪粪和对照处理间并无显著差异。不同处理土壤微生物对胺类 (Ami) 的利用程度也可划分为 3 个层次, 鸡粪沼液起到了促进作用, 孔颜色变化率显著高于处于第 3 层次的对照和猪粪沼液 (P<0.05), 而后两者并无显著差异, 处于中间层次的牛粪沼液处理与其他处理均无显著差异。

微生物群落的丰富度 (H') 和优势度指数 (1/D) 在不同处理间表现出一致的规律, 即鸡粪沼液处理的数值最高, 显著高于其他处理 (P<0.05), 其次为牛粪沼液处理, 其数值显著高于猪粪沼液处理 (P<0.05), 而处于它们中间的对照处理则与二者均无显著差异 (图 4)。均一度指数 (U) 最高的也是鸡粪沼液处理, 但其仅显著高于猪粪处理 (P<0.05), 与对照和牛粪沼液处理均无显著差异。

2.4　微生物碳代谢群落排序分析

不同沼液处理下微生物碳代谢群落的差异程度如图 5 所示。PCA 分析 1 轴解释度为 28.38%, 2 轴的解释度为 21.96%。总体而言猪粪沼液处理同对照的差异最大, 相比而言牛粪和鸡粪沼液对微生物群落代谢的影响较小。

2.5　土壤化学性状与微生物指标的相关性分析

如表 3 所示, 土壤理化性状同微生物碳代谢的六大类碳源存在不同程度的相关性, 其中相关性最强的为氨基酸, 其同土壤硝态氮、全氮、速效钾和电导率 4 项均显著 (P<0.05) 或极显著负相关 (P<0.01)。相比而言多样性指标同各理化性状不存在显著的相关性。土壤微生物量碳含量与硝态氮及速效钾呈显著负相关关系 (P<0.05), 而微生物生物量氮含量同 pH 和电导率呈显著负相关关系 (P<0.05)。

3　讨论

施用沼液可有效提升土壤养分[5-6]。然而在本试

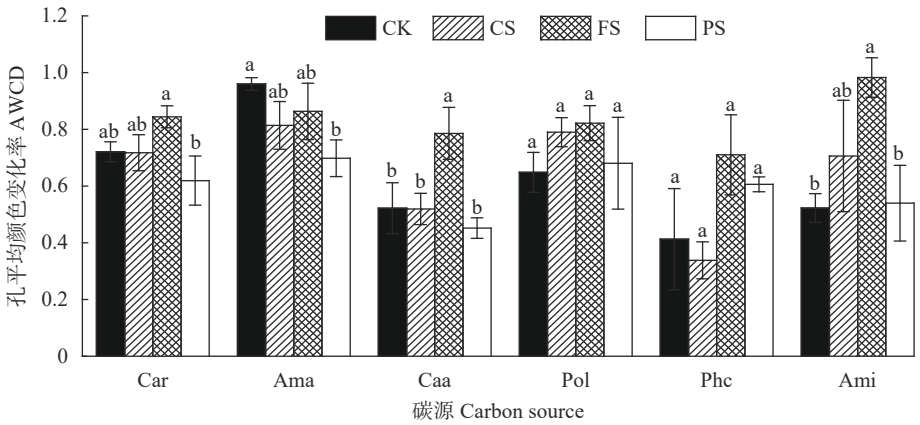

图 3　不同来源沼液处理下土壤微生物群落对不同碳源的利用

Fig. 3　Utilization of different groups of carbon sources by soil microbial community under application of different biogas slurry

CK: 对照; CS: 牛粪沼液; FS: 鸡粪沼液; PS: 猪粪沼液。Car: 碳水化合物; Ama: 氨基酸; Caa: 羧酸; Pol: 多聚物; Phc: 酚酸类; Ami: 胺类。同类碳源下不同小写字母表示处理间差异显著 (P<0.05)。CK: control; CS: cow manure biogas slurry; FS: chicken manure biogas slurry; PS: pig manure biogas slurry. Car: carbohydrate; Ama: amino acid; Caa: carboxylic acids; Pol: polymer; Phc: phenolic compounds; Ami: amine. Different lowercase letters under the same carbon source represent significant differences among treatments at P<0.05.

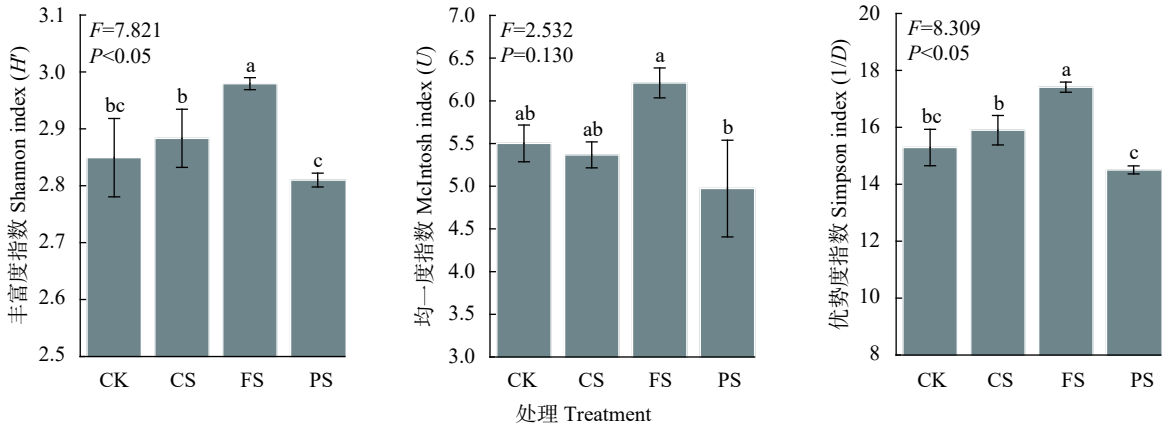

图 4 不同来源沼液处理对土壤微生物多样性指标的影响

Fig. 4 Effects of different biogas slurry on diversity indices of soil microbial community

CK: 对照; CS: 牛粪沼液; FS: 鸡粪沼液; PS: 猪粪沼液。不同小写字母表示处理间差异显著 (P<0.05)。CK: control; CS: cow manure biogas slurry; FS: chicken manure biogas slurry; PS: pig manure biogas slurry. Different lowercase letters represent significant differences among treatments at P<0.05.

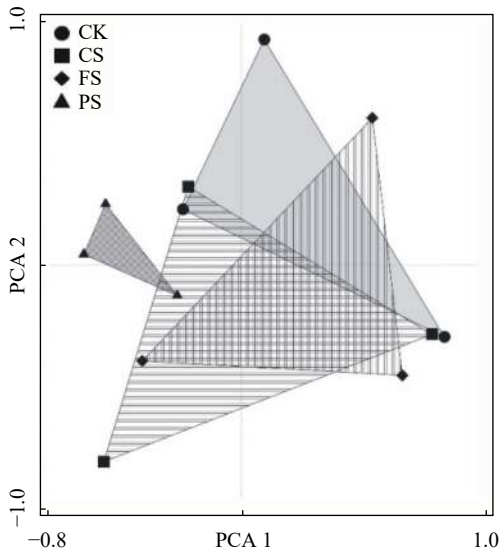

图 5 不同来源沼液处理下土壤微生物碳代谢群落主成分分析

Fig. 5 Principal component analysis of soil microbial community based on various carbon sources under application of different biogas slurry

CK: 对照; CS: 牛粪沼液; FS: 鸡粪沼液; PS: 猪粪沼液。CK: control; CS: cow manure biogas slurry; FS: chicken manure biogas slurry; PS: pig manure biogas slurry.

验中, 3 个沼液处理的土壤有机质含量与对照处理并无显著差异。这主要与沼液的养分特性有关。尽管沼液中有机物质丰富, 但大多容易氧化分解而损失[24], 且沼液中氮素以速效态为主[31-32], 氮的投入促进了非自养微生物对有机碳的消耗[33], 从而抵消了沼液携带有机物在土壤中的累积, 这个结果与黄继川等[24] 在水稻田中沼液施用后土壤有机质的表现一致。除有机质外, 各沼液处理中的其他土壤养分均呈现出不同程度的升高。值得注意的是, 猪粪沼液处理中硝态氮的增幅最大, 其次为鸡粪沼液处理, 这个结果可以由沼液中铵态氮和总氮的比率来解释。经计算, 猪粪、鸡粪和牛粪沼液的铵态氮与总氮比分别为 0.86、0.67 和 0.24 (表 1), 在等氮投入的条件下猪粪沼液携带的铵态氮最多, 沼液进入土壤后铵态氮迅速转化为硝态氮[34], 造成了猪粪沼液处理中土壤硝态氮含量最高的结果。

不同来源沼液不仅对土壤化学性状产生了显著的影响, 也进一步影响了土壤中的微生物。土壤微生物量碳氮是土壤养分库中最活跃的组分, 也是植物可利用营养的重要来源[35], 其对有机物料的投入反映敏感[36-37], 常用来指示土壤肥力[38]。此前的报道证实沼液的投入有利于提高土壤微生物量碳[2, 23, 39-40]。然而在本研究中, 仅牛粪的土壤微生物量碳略高于对照, 且未达到显著性水平。这可能与试验条件有关, 以上提及的研究均为田间试验, 周期较长, 且有地上作物种植, 本研究为室内短期培养试验, 因此土壤中的生物化学过程可能同田间环境的存在较大差别[10, 26]。此外, 尽管氮素投入被认为是刺激土壤微生物量碳的关键因素[4], 但沼液中大量铵态氮在短期内有可能起到抑制微生物生长的作用。例如曹云等[41] 研究发现盆栽体系中施用沼液后土壤中细菌数量并未增长, 甚至有降低趋势。在这个因素的作用下猪粪沼液造成了土壤微生物量碳的降低。相比之下, 牛粪源沼液具有相对较高的碳氮比, 使得更多的碳源进入土壤被微生物利用, 一定程度上缓冲了抑制作用。由此可见, 不同来源沼液对微生物生物量的影响存在差异。

基于微生物代谢功能的 BIOLOG 微平板技术是一种常见的表征微生物群落和多样性的方法[42], 广泛应用于土壤生态学研究[43]。该方法通过监测不同种

表 3　土壤微生物指标与土壤化学性状相关性分析

Table 3　Correlation analysis between soil microbial indices and soil chemical properties

	NH_4^+-N	NO_3^--N	OM	TN	AP	AK	pH	EC
Car	−0.370	−0.155	0.384	−0.015	0.249	−0.501	−0.240	−0.300
Ama	−0.298	−0.620*	0.375	−0.582*	−0.246	−0.709**	−0.328	−0.688*
Caa	−0.199	0.078	−0.158	0.128	0.524	−0.318	−0.374	−0.106
Pol	−0.292	−0.007	0.134	0.181	0.589*	0.057	0.162	0.070
Phc	−0.183	0.565	0.036	0.432	0.404	0.185	0.006	0.311
Ami	−0.314	0.131	−0.040	0.474	0.581*	−0.083	−0.044	0.043
Shannon	−0.515	0.037	0.208	0.114	0.487	−0.394	−0.007	−0.118
McIntosh	−0.366	−0.150	0.248	0.010	0.378	−0.446	−0.331	−0.304
Simpson	−0.514	−0.026	0.209	0.101	0.467	−0.417	0.021	−0.156
MBC	−0.549	−0.641*	0.348	−0.352	−0.488	−0.607*	−0.142	−0.531
MBN	−0.001	−0.456	−0.165	−0.534	−0.311	−0.553	−0.600*	−0.592*

OM: 有机质; TN: 全氮; AP: 有效磷; AK: 速效钾; EC: 电导率。Car: 碳水化合物; Ama: 氨基酸; Caa: 羧酸; Pol: 多聚物; Phc: 酚酸类; Ami: 胺类; MBC: 微生物生物量碳; MBN: 微生物生物量氮。*表示显著相关(P<0.05), **表示极显著相关(P<0.01)。OM: organic matter; TN: total N; AP: available P; AK: available K; EC: electrical conductivity. Car: carbohydrate; Ama: amino acid; Caa: carboxylic acids; Pol: polymer; Phc: phenolic compounds; Ami: amine; MBC: microbial biomass carbon; MBN: microbial biomass nitrogen. * indicates significant correlation at P<0.05, and ** indicates significant correlation at P<0.01 level.

类微生物对单一碳源底物利用能力的差异, 从而获得土壤微生物群落结构和功能多样性的信息[44], 可作为预测土壤质量变化的有力工具[45]。吸光度 AWCD 值表征微生物利用碳源的整体能力[44, 46]。在本研究中, 与土壤微生物量碳表现相似的是, 猪粪沼液处理的 AWCD 值也受到了抑制, 主要源于氨基酸 (Ama) 的降低。通过相关性分析的结果可知, Ama 的表现与猪粪沼液加入引发的土壤理化性状变化密切相关。郑学博等[25] 也发现施用猪粪沼液可造成土壤微生物碳代谢强度轻微下降。相比之下, 鸡粪沼液施用引发了最高的微生物碳源利用, 主要与碳水化合物、羧酸和胺类的升高有关。对碳源利用的差异更清晰地呈现在 PCA 上, 土壤微生物代谢功能的群落结构以猪粪沼液处理产生的影响最为明显。

土壤微生物多样性与地下生态系统功能密切相关[47], 高多样性往往预示着更好的土壤质量。生物多样性的指标繁多, 本研究采用了常见的 Shannon 丰富度、Simpson 优势度和 McIntosh 均一度 3 个指数[29]。Shannon 指数主要用于反映微生物群落的丰富程度; Simpson 指数与其相反, 是对群落集中性的度量, 并且侧重于常见种类; McIntosh 指数则基于群落物种在多维空间上距离, 是对均一性的度量。三者从不同侧面评价土壤微生物群落的功能多样性[30]。关于沼液对土壤微生物多样性的影响, 有的报道显示施用沼液可显著提高土壤微生物的多样性[3, 41, 48], 也有研究发现没有显著影响[2], 甚至得出相反的结果[25]。上述不一致的结果, 一方面与沼液的施用量有关[25], 也可能与沼液的种类和自身的特性相关。本研究中 3 个指数最高值均出现在鸡粪沼液处理, 反映出鸡粪沼液有利于提高土壤微生物碳代谢的多样性和均匀度, 相比之下猪粪沼液表现出抑制的趋势。然而, 相关性分析显示多样性指标与监测的各类土壤理化性状指标均无显著相关性。因此, 尚不能判断本试验中引发处理间微生物碳代谢多样性差异的因素。沼液中成分复杂, 除了含有可供植物根系和土壤生物利用的养分外, 还含有可影响地下生态系统运转的微量元素、有机酸小分子, 以及重金属元素等物质[16], 这些指标在本研究的土壤分析中未涉及, 但可能是影响微生物碳代谢的重要因子。总体上鸡粪沼液和猪粪沼液对土壤微生物碳代谢的影响表现出相反的趋势, 鸡粪沼液为促进作用, 而猪粪沼液呈现出抑制效应。

值得注意的是, 尽管本试验采用的 BIOLOG 微平板培养方法因方便快捷而受到广泛应用, 但这种方法也存在着一定的局限性[49], 例如其不能反映微生物休眠体, 或者那些不能利用 BIOLOG 碳源底物的群体的情况[29]; 被测试的底物不能准确地代表土壤中出现的底物类型[49]。因此, 这种方法只能粗略地反映土壤微生物群体底物利用的动力学特征[49], 而对微生物种类和多样性特征的呈现则相当有限。相比而言, 分子生物学方法在这些方面更具有优势, 宜在后续的研究中采用。此外, 本研究为室内培养试验, 探索的是沼液对土壤微生物的短期“激发”效应, 但还不足以说明问题。沼液作为肥料资源, 其农学效应、环境效应以及土壤生物学效应, 更需要得到田间数据的支撑。因此, 未来宜转入田间, 并结合分子生物学方法开展研究, 甚至可设置连续多年的试验, 以明确不同来源沼液肥料对土壤生物群落的长期影响。

4 结论

1) 在短期的室内培养试验中, 鸡粪、牛粪和猪粪源沼液对土壤有机质含量无显著影响, 但相比对照, 各沼液处理对土壤无机氮、全氮、有效磷、速效钾、pH 和电导率均起到了不同程度的促进效果。

2) 土壤微生物生物量碳在牛粪沼液处理中最高, 而猪粪沼液中微生物量碳则同对照相比显著降低。

3) 鸡粪沼液引发了微生物最高的碳源利用强度, 而猪粪沼液则表现出抑制的趋势。相比其他处理, 鸡粪沼液显著提高了土壤微生物的 Shannon 丰富度和 Simpson 优势度指数。主成分分析表明猪粪沼液处理的微生物碳代谢群落同对照的差异最大, 相比而言牛粪和鸡粪沼液对微生物代谢群落的影响较小。

参考文献 References

[1] 张树清, 张夫道, 刘秀梅, 等. 规模化养殖畜禽粪主要有害成分测定分析研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11(6): 822−829
ZHANG S Q, ZHANG F D, LIU X M, et al. Determination and analysis on main harmful composition in excrement of scale livestock and poultry feedlots[J]. Plant Nutrition and Fertilizing Science, 2005, 11(6): 822−829

[2] 钟珍梅, 宋亚娜, 黄秀声, 等. 沼液对狼尾草地土壤微生物群落的影响[J]. 草地学报, 2016, 24(1): 54−60
ZHONG Z M, SONG Y N, HUANG X S, et al. Effects of biogas slurry application on the soil microorganisms of *P. americanum* × *P. purpureum* grassland[J]. Acta Agrestia Sinica, 2016, 24(1): 54−60

[3] CAO Y, WANG J D, WU H S, et al. Soil chemical and microbial responses to biogas slurry amendment and its effect on *Fusarium* wilt suppression[J]. Applied Soil Ecology, 2016, 107: 116−123

[4] MÖLLER K. Effects of anaerobic digestion on soil carbon and nitrogen turnover, N emissions, and soil biological activity. A review[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2015, 35(3): 1021−1041

[5] NIYUNGEKO C, LIANG X Q, LIU C L, et al. Effect of biogas slurry application on soil nutrients, phosphomonoesterase activities, and phosphorus species distribution[J]. Journal of Soils and Sediments, 2020, 20(2): 900−910

[6] TANG Y F, LUO L M, CARSWELL A, et al. Changes in soil organic carbon status and microbial community structure following biogas slurry application in a wheat-rice rotation[J]. Science of the Total Environment, 2021, 757: 143786

[7] ODLARE M, ARTHURSON V, PELL M, et al. Land application of organic waste — Effects on the soil ecosystem[J]. Applied Energy, 2011, 88(6): 2210−2218

[8] XU M, XIAN Y, WU J, et al. Effect of biogas slurry addition on soil properties, yields, and bacterial composition in the rice-rape rotation ecosystem over 3 years[J]. Journal of Soils and Sediments, 2019, 19(5): 2534−2542

[9] MIN Y Y, TOYOTA K, SATO E, et al. Effects of anaerobically digested slurry on *Meloidogyne incognita* and *Pratylenchus penetrans* in tomato and radish production[J]. Applied and Environmental Soil Science, 2011, 2011: 1−6

[10] 李钰飞, 刘本生, 许俊香, 等. 沼液淹没土壤抑制根结线虫及对土壤线虫群落的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2020, 28(8): 1249−1257
LI Y F, LIU B S, XU J X, et al. Effects of soil flooding of biogas slurry on root-knot nematode (*Meloidogyne* spp.) and soil nematode community[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2020, 28(8): 1249−1257

[11] MORAL R, MORENO-CASELLES J, PEREZ-MURCIA M D, et al. Characterisation of the organic matter pool in manures[J]. Bioresource Technology, 2005, 96(2): 153−158

[12] ARRIAGA F J, LOWERY B. Soil physical properties and crop productivity of an eroded soil amended with cattle manure[J]. Soil Science, 2003, 168(12): 888−899

[13] NYAMANGARA J, GOTOSA J, MPOFU S E. Cattle manure effects on structural stability and water retention capacity of a granitic sandy soil in Zimbabwe[J]. Soil and Tillage Research, 2001, 62(3/4): 157−162

[14] HAFEZ A R. Comparative changes in soil-physical properties induced by admixtures of manures from various domestic animals[J]. Soil Science, 1974, 118(1): 53−59

[15] ABUBAKER J, CEDERLUND H, ARTHURSON V, et al. Bacterial community structure and microbial activity in different soils amended with biogas residues and cattle slurry[J]. Applied Soil Ecology, 2013, 72: 171−180

[16] 柯蓝婷, 王海涛, 王远鹏, 等. 不同来源家庭户用沼气池沼液成分分析及风险评价[J]. 化工学报, 2014, 65(5): 1840−1847
KE L T, WANG H T, WANG Y P, et al. Component analysis and risk assessment of anaerobically digested slurry from households in China[J]. CIESC Journal, 2014, 65(5): 1840−1847

[17] 赵凤莲, 孙钦平, 李吉进, 等. 不同沼肥对油菜产量、品质及氮素利用效率的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 24(3): 127−130
ZHAO F L, SUN Q P, LI J J, et al. Effects of different biogas fertilizers on yield, quality and nitrogen use efficiency of the rape[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2010, 24(3): 127−130

[18] 曹志平. 生态农业未来的发展方向[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(1): 29−38
CAO Z P. Future orientation of ecological agriculture[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2013, 21(1): 29−38

[19] 李钰飞, 李季, 李吉进, 等. 温室不同管理模式对土壤微生物生物量碳和原生动物丰度的影响[J]. 土壤, 2018, 50(4): 696−704
LI Y F, LI J, LI J J, et al. Effects of different management practices on microbial biomass carbon and protozoa abundance under greenhouse conditions[J]. Soils, 2018, 50(4): 696−704

[20] LI Y F, CHEN Y F, LI J, et al. Organic management practices enhance soil food web biomass and complexity under greenhouse conditions[J]. Applied Soil Ecology, 2021, 167:

104010

[21] 贺纪正, 陆雅海, 傅伯杰. 土壤生物学前沿[M]. 北京: 科学出版社, 2015: 29–50
HE J Z, LU Y H, FU B J. Frontier of Soil Biology[M]. Beijing: Science Press, 2015: 29–50

[22] WINDING A, HUND-RINKE K, RUTGERS M. The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2005, 62(2): 230−248

[23] WENTZEL S, JOERGENSEN R G. Effects of biogas and raw slurries on grass growth and soil microbial indices[J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2016, 179(2): 215−222

[24] 黄继川, 徐培智, 彭智平, 等. 基于稻田土壤肥力及生物学活性的沼液适宜用量研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(2): 362−371
HUANG J C, XU P Z, PENG Z P, et al. Biogas slurry use amount for suitable soil nutrition and biodiversity in paddy soil[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2016, 22(2): 362−371

[25] 郑学博, 樊剑波, 崔键, 等. 沼液还田对旱地红壤微生物群落代谢与多样性的影响[J]. 生态学报, 2016, 36(18): 5865−5875
ZHENG X B, FAN J B, CUI J, et al. Analysis on metabolic characteristics and functional diversity of soil edaphon communities in upland red soil under biogas slurry application[J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, 36(18): 5865−5875

[26] 郑学博, 樊剑波, 何园球, 等. 沼液化肥全氮配比对土壤微生物及酶活性的影响[J]. 农业工程学报, 2015, 31(19): 142−150
ZHENG X B, FAN J B, HE Y Q, et al. Effect of total nitrogen ratio of biogas slurry/chemical fertilizer on microflora and enzyme activities of soil[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2015, 31(19): 142−150

[27] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 25–114
BAO S D. Soil Agro-chemistrical Analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 25–114

[28] 吴金水, 林启美, 黄巧云, 等. 土壤微生物生物量测定方法及其应用[M]. 北京: 气象出版社, 2006: 54–78
WU J S, LIN Q M, HUANG Q Y, et al. Soil Microbial Biomass — Methods and Application[M]. Beijing: China Meteorological Press, 2006: 54–78

[29] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法[M]. 北京: 高等教育出版社, 2010: 170–172
LIN X G. Principles and Methods of Soil Microbiology Research[M]. Beijing: High Education Press, 2010: 170–172

[30] 甄丽莎, 谷洁, 胡婷, 等. 黄土高原石油污染土壤微生物群落结构及其代谢特征[J]. 生态学报, 2015, 35(17): 5703−5710
ZHEN L S, GU J, HU T, et al. Microbial community structure and metabolic characteristics of oil-contaminated soil in the Loess Plateau[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(17): 5703−5710

[31] 靳红梅, 常志州, 叶小梅, 等. 江苏省大型沼气工程沼液理化特性分析[J]. 农业工程学报, 2011, 27(1): 291−296
JIN H M, CHANG Z Z, YE X M, et al. Physical and chemical characteristics of anaerobically digested slurry from large-scale biogas project in Jiangsu Province[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2011, 27(1): 291−296

[32] 靳红梅, 付广青, 常志州, 等. 猪、牛粪厌氧发酵中氮素形态转化及其在沼液和沼渣中的分布[J]. 农业工程学报, 2012, 28(21): 208−214
JIN H M, FU G Q, CHANG Z Z, et al. Distribution of nitrogen in liquid and solid fraction of pig and dairy manure in anaerobic digestion reactor[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28(21): 208−214

[33] 王文静, 魏静, 马文奇, 等. 氮肥用量和秸秆根茬碳投入对黄淮海平原典型农田土壤有机质积累的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(13): 3591−3598
WANG W J, WEI J, MA W Q, et al. Effect of nitrogen amendment and straw-stubble input on accumulation of soil organic matter in typical farmlands of Huang-Huai-Hai Plain[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(13): 3591−3598

[34] JOHANSEN A, CARTER M S, JENSEN E S, et al. Effects of digestate from anaerobically digested cattle slurry and plant materials on soil microbial community and emission of CO_2 and N_2O[J]. Applied Soil Ecology, 2013, 63: 36−44

[35] 徐阳春, 沈其荣, 冉炜. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物生物量碳、氮、磷的影响[J]. 土壤学报, 2002, 39(1): 83−90
XU Y C, SHEN Q R, RAN W. Effects of zero-tillage and application of manure on soil microbial biomass C, N, and P after sixteen years of cropping[J]. Acta Pedologica Sinica, 2002, 39(1): 83−90

[36] 胡诚, 曹志平, 叶钟年, 等. 不同的土壤培肥措施对低肥力农田土壤微生物生物量碳的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(3): 808−814
HU C, CAO Z P, YE Z N, et al. Impact of soil fertility maintaining practice on soil microbial biomass carbon in low production agro-ecosystem in Northern China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(3): 808−814

[37] 龙攀, 隋鹏, 高旺盛, 等. 不同有机物料还田对农田土壤有机碳以及微生物量碳的影响[J]. 中国农业大学学报, 2015, 20(3): 153−160
LONG P, SUI P, GAO W S, et al. Effects of agricultural organic wastes incorporation on soil organic carbon and microbial carbon[J]. Journal of China Agricultural University, 2015, 20(3): 153−160

[38] 王继红, 刘景双, 于君宝, 等. 氮磷肥对黑土玉米农田生态系统土壤微生物量碳、氮的影响[J]. 水土保持学报, 2004, 18(1): 35−38
WANG J H, LIU J S, YU J B, et al. Effect of fertilizing N and P on soil microbial biomass carbon and nitrogen of black soil corn agroecosystem[J]. Journal of Soil Water Conservation, 2004, 18(1): 35−38

[39] 耿晨光, 段婧婧, 李汛, 等. 沼液的园林地消解处理利用及其对土壤微生物碳、氮与酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(10): 1965−1971
GENG C G, DUAN J J, LI X, et al. Short-term effects of biogas slurry application to garden land on soil microbial biomass

carbon & nitrogen and soil enzymes[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2012, 31(10): 1965−1971

[40] 张红, 王桂良. 沼液和氮肥配施对菜田土壤微生物生物量和活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(27): 16601−16603, 16723
ZHANG H, WANG G L. Effects of biogas slurry combinated with nitrogen fertilizer on soil microbial biomass and enzyme activities[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(27): 16601−16603, 16723

[41] 曹云, 常志州, 马艳, 等. 沼液施用对辣椒疫病的防治效果及对土壤生物学特性的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(3): 507−516
CAO Y, CHANG Z Z, MA Y, et al. Effects of application of anaerobically digested slurry on suppression of pepper (*Capsicum frutescens* L.) blight and soil biological characteristics[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2013, 46(3): 507−516

[42] 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

[43] 郑华, 欧阳志云, 方治国, 等. BIOLOG在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用[J]. 土壤学报, 2004, 41(3): 456−461
ZHENG H, OUYANG Z Y, FANG Z G, et al. Application of biolog to study on soil microbial community functional diversity[J]. Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(3): 456−461

[44] 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

[45] 孙波, 赵其国, 张桃林, 等. 土壤质量与持续环境Ⅲ. 土壤质量评价的生物学指标[J]. 土壤, 1997, 29(5): 225−234
SUN B, ZHAO Q G, ZHANG T L, et al. Soil quality and sustainable environment:Ⅲ. Biological indicators for soil quality assessment[J]. Soils, 1997, 29(5): 225−234

[46] HAACK S K, GARCHOW H, KLUG M J, et al. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61(4): 1458−1468

[47] NANNIPIERI P, ASCHER J, CECCHERINI M T, et al. Microbial diversity and soil functions[J]. European Journal of Soil Science, 2003, 54(4): 655−670

[48] 曹云, 马艳, 吴华山, 等. 沼液处理对土壤微生物性状及西瓜枯萎病发生的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2016, (1): 34−41
CAO Y, MA Y, WU H S, et al. Suppression of *Fusarium* wilt of watermelon by biogas slurry application and its effect on soil microbiological characteristics[J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2016, (1): 34−41

[49] 胡婵娟, 刘国华, 吴雅琼. 土壤微生物生物量及多样性测定方法评述[J]. 生态环境学报, 2011, 20(Z1): 1161−1167
HU C J, LIU G H, WU Y Q. A review of soil microbial biomass and diversity measurements[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2011, 20(Z1): 1161−1167