

生物复混肥对土壤微生物功能多样性及土壤酶活性的影响

邵 丽¹, 谷 洁^{2*}, 张社奇¹, 高 华², 秦清军²

(1.西北农林科技大学理学院, 陕西 杨凌 712100; 2.西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:在温室盆栽条件下,采用 Biolog 微平板技术,研究了玉米施用等养分量的无机肥、有机无机复混肥、生物复混肥后土壤微生物群落功能多样性及土壤酶活性的动态变化。结果表明,生物复混肥处理的微生物群落平均颜色变化率(*AWCD*)、微生物群落 Shannon 指数(*H*)、丰富度指数(*S*)和 Shannon 均匀度指数(*E*)均为最高;微生物群落主成分分析表明,不同施肥处理土壤微生物群落碳源利用特征有一定差异,PC1 将生物复混肥与其他处理明显区分,生物复混肥处理分布在 PC1 的正方向,其他处理分布在 PC1 的负方向;起分异作用的主要碳源有糖类、羧酸类和氨基酸类;土壤蔗糖酶、脲酶活性均以生物复混肥处理最高,分别为 72.74 mg glucose·g⁻¹·(24 h)⁻¹ 和 1.15 mg NH₃-N·g⁻¹·(3 h)⁻¹。研究表明,生物复混肥的施用比等养分量的有机无机复混肥处理能显著提高土壤微生物群落碳源利用率、微生物群落的丰富度和功能多样性,增强土壤蔗糖酶和脲酶活性。

关键词:生物复混肥;功能多样性;土壤微生物群落;土壤酶活性

中图分类号:S144.1 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2012)06-1153-07

Effects of Bio-compound Fertilizer on Corn Soil Microbial Community and Enzyme Activities

SHAO Li¹, GU Jie^{2*}, ZHANG She-qi¹, GAO Hua², QIN Qing-jun²

(1.College of Sciences, Northwest A & F University, Yangling 712100, China; 2.College of Resources and Environment, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: Fertilization could influence soil physiochemical and biological properties. By the biolog micro-plate technique, this study investigated the effects of bio-compound fertilizer, organic-inorganic fertilizer, inorganic fertilizer at the same nutrient amount of N, P and K on functional diversities of soil microbe communities and soil enzyme activities under corn potted experiment in greenhouse. The substrates of Biolog ECO plate were composed of six types of substances (carbohydrates, carboxylic acids, amino acids, polymers, amines and aromatic chemicals). Principal component analysis was used to show the difference utilization of substrates by soil microbes. The results showed that the Average Well-Color Developments (*AWCD*), Shannon index (*H*), Richness index (*S*) and Shannon evenness index (*E*) of microbe communities appeared the highest in bio-compound fertilizer treatment. The principal component analysis (PCA) showed that the carbon source use patterns of the soil microbe communities differed to a certain extent under different fertilization treatments, and the bio-compound fertilizer treatment showed positive values on PC1, and the other treatments showed negative values on PC1, and the major carbon sources to determine their differences were carbohydrates, carboxylic acids and amino acids. The soil invertase and urease activities also appeared the highest in bio-compound fertilizer treatment, reaching 72.74 mg glucose·g⁻¹·(24 h)⁻¹ and 1.15 mg NH₃-N·g⁻¹·(3 h)⁻¹, respectively. At the same nutrient rates, application of the bio-compound fertilizer could significantly improve the functional diversities of soil microbe communities and increase the soil enzyme activities.

Keywords: bio-compound fertilizer; functional diversity; soil microbial community; soil enzyme activity

收稿日期:2011-10-31

基金项目:国家自然科学基金(40871119, 41171203);农业部“948”项目(2010-Z20)

作者简介:邵 丽(1985—),女,安徽淮北人,在读硕士,主要从事微生物肥料研究。E-mail:shaoli1723@126.com

* 通讯作者:谷 洁 E-mail:gujoyer@sina.com

生物复混肥是集微生物独特的生理调节功能、无机肥的高效性和有机肥的长效性于一体的新型肥料,它的施用能够调节土壤微生态环境,使其向着健康的方向发展。土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分^[1],在土壤养分转化循环和能量流动、系统稳定性和抗干扰能力以及土壤可持续生产力中具有重要作用^[2]。土壤微生物对耕作、施肥、土地利用等变化反应敏感,其特征可以作为生物指标指示土壤质量、评价土壤肥力^[3-4]。近年来将土壤微生物群落功能多样性、土壤酶活性等土壤微生物特性作为土壤健康的生物指标来指导土壤生态系统管理已逐渐成为研究热点^[5-7]。

目前,有关土壤微生物群落多样性的研究主要侧重于对不同土壤类型、同类土壤不同植物物种、不同植被根系等^[8-9],但缺乏不同肥料种类对土壤微生物群落功能和结构多样性影响的系统研究。本试验通过玉米盆栽试验,研究玉米施用生物复混肥、有机无机复混肥和无机肥后,土壤微生物群落功能多样性和酶活性的动态变化,了解不同肥料对土壤微生物功能多样性及土壤酶活性的影响,旨在为通过合理施用生物复混肥改善土壤微生物群落功能提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤采自西北农林科技大学试验田,土壤类型为壤土,其主要理化性质如下:pH 值 8.32,有机质 13.20 g·kg⁻¹;全 N、全 P、全 K 含量分别为 0.79、0.61、11.14 g·kg⁻¹;碱解 N、速效 P、速效 K 含量分别为 61.03、16.67、154.40 mg·kg⁻¹。

供试肥料包括分析纯尿素、磷酸二氢铵、硫酸钾、有机无机复混肥、生物复混肥。有机肥是将猪粪、小麦秸秆等调节到合适的 C/N、pH 值和水分后经高温堆制发酵腐熟制作而成,其主要养分含量为 N 18.6 g·kg⁻¹、P₂O₅ 9.0 g·kg⁻¹、K₂O 12.2 g·kg⁻¹。生物复混肥是在有机肥的基础上加入少量的无机肥,无机肥配比为 N 4%、P₂O₅ 2%、K₂O 3%^[10],然后将液体芽孢杆菌复合菌剂(固氮菌 *Azotobacter chroococcum*、解磷菌 *Bacillus megaterium*、解钾菌 *Bacillus mucilaginous* 均由西北农林科技大学资源环境学院微生物实验室提供,已鉴定各菌株间无拮抗)与蛭石按 1:2 混合吸附,均匀掺入上述有机无机复混肥中。有机无机复混肥是添加等量灭菌的蛭石,其中的有机肥、无机肥及其配比均与生物复混肥完全相同,肥料均为自制,配制完成后并保存 1 个月再施用。生物复混肥和有机无机复混肥中氮

磷钾含量均为 N 55.5 g·kg⁻¹、P₂O₅ 18.7 g·kg⁻¹、K₂O 36.9 g·kg⁻¹,有机质含量为 360.8 g·kg⁻¹,功能芽孢杆菌总量为 0.21×10⁸ cfu·g⁻¹。

供试作物“郑单 518”玉米,由西北农林科技大学种子公司提供。

1.2 试验设计

试验采用盆栽的方式,于 2011 年 6 月在西北农林科技大学资源环境学院玻璃网室中进行。试验设对照(CK)、无机肥(T1)、有机无机复混肥(T2)、生物复混肥(T3),4 个处理,4 次重复。每盆装风干土 12.5 kg,生物复混肥按 0.20 g(N)·kg⁻¹(土)施入,即生物复混肥的添加量为 45.05 g,微生物数量为 7.57×10⁴ cfu·g⁻¹ 土,其他处理均按生物复混肥中氮磷钾的量等量施用。将肥料与土壤混匀,浇透水至土壤含水量为田间最大持水量的 60%,玉米催芽后直接播种,出齐苗后进行间苗,每盆保留 3 棵,并于定苗后 1、15、30、45、60 d 时分别采集土壤样本,测定其土壤酶活性;取 30 d 时的土样,利用 BIOLOG 微平板法进行微生物功能多样性分析。试验设置保护行,试验期间根据实际情况定量浇水,并经常更换盆的位置,不同处理的盆栽管理措施均一致。

1.3 测定项目和方法

土壤微生物碳源利用多样性应用 BIOLOG 生态测试板测定^[11]。BIOLOG 分析在采样后 48 h 内进行,称取相当于 5 g 烘干土重的新鲜土样加入内有 45 mL 无菌生理盐水的三角瓶中稀释,在摇床里振荡 30 min 后,静止沉淀 3~5 min,然后进行 100 倍稀释,以每孔 150 μL 的稀释液接种到 ECO 生态测试板中,接种好的微平板放到铺有干净毛巾的保鲜盒中,28 °C 下连续培养 10 d,每隔 12 h 用 BIOLOG 自动读数装置在 590 nm 下读数。本试验采用玉米生长中期(30 d)BIOLOG 微平板培养 96 h 的数据进行统计分析。

平均颜色变化率 $AWCD = \sum (Ci - R) / 31$,是土壤微生物利用单一碳源能力的重要指标。

多样性指数采用 Shannon 指数^[12] $H' = -\sum Pi \times \ln Pi$;群落丰富度指数 S 用碳源代谢孔的数目 ($AWCD > 0.25$) 表示^[13];Shannon 均匀度指数 $E = H' / \ln S$ 表示群落均匀度指数。

土壤酶活性的测定参照关松荫的方法^[14]。土壤蔗糖酶活性和脲酶活性分别用 3,5-二硝基水杨酸比色法和次氯酸钠-苯酚钠比色法测定。土壤蔗糖酶活性以 24 h 后 1 g 土中葡萄糖的毫克数表示,其单位为 mg glucose·g⁻¹·(24 h)⁻¹。土壤脲酶活性以 3 h 后 1 g 土

中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 的毫克数表示,其单位为 $\text{mg NH}_3\text{-N}\cdot\text{g}^{-1}\cdot(3\text{ h})^{-1}$ 。试验数据用 Microsoft Excel 2003 和 SPSS 16.0 进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 土壤微生物群落平均颜色变化率(AWCD)及多样性指数分析

AWCD(Average well color development)反映了土壤微生物的代谢活性,是土壤微生物利用 BIOLOG ECO 微平板中单一碳源能力的重要指标。图 1 反映了不同施肥处理土壤微生物 AWCD 值的变化状况。从接种到培养 24 h,各土壤样品 AWCD 无明显变化,微生物几乎没有代谢碳源,培养 24 h 后 AWCD 快速升高,表明微生物生长开始进入指数生长期,碳源开始被大幅度利用,随后持续平缓地升高直至实验结束。不同处理下的土壤样品 AWCD 随时间变化均呈近似“S”形曲线,符合微生物利用基质的一般生长曲线规律。各处理 AWCD 以生物复混肥处理最高,有机无机复混肥和无机肥处理次之,CK 处理最低。表明生物复混肥的施用提高了土壤微生物对单一碳源的利用能力,提高了土壤微生物的活性。

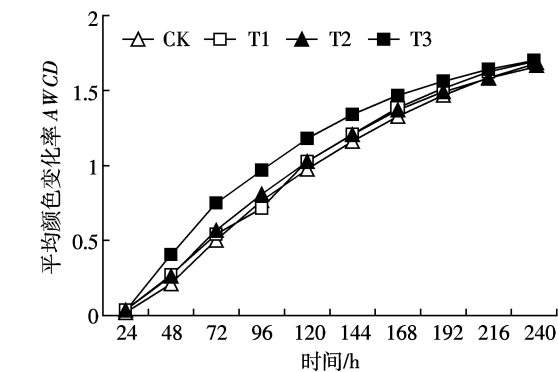


图 1 不同施肥处理土壤微生物群落 AWCD 随培养时间的变化
Figure 1 Changes of soil AWCD with incubation time under different fertilization treatments

土壤微生物群落功能多样性是土壤微生物群落状态与功能的指标,反映土壤中微生物的生态特征。表 2 列出了土壤微生物在培养 96 h 的 Shannon 指数(H)、丰富度指数(S)和 Shannon 均匀度指数(E)。不同处理的 Shannon 指数(H)进行比较,生物复混肥处理与有机无机复混肥处理之间差异不显著,与另外两个处理差异显著,而 Shannon 均匀度指数(E)各处理之间无显著性差异;土壤微生物群落丰富度指数(S)比较的结果表明,生物复混肥处理明显高于其他处

理,且差异显著。说明从群落丰富度指数上看,生物复混肥处理下的土壤微生物常见物种比较多,在一定程度上可以提高土壤微生物群落丰富度和功能多样性,形成稳定的土壤微生物环境。原因可能是生物复混肥中添加了大量有益微生物菌,施入土壤后起到了很好的接种作用,也可能是由于生物复混肥本身为土壤提供了丰富的有机碳源,调节了土壤 C/N,促进了土壤微生物的增殖。

表 2 不同处理的土壤微生物群落多样性指数分析
Table 2 Analyses of soil microbial communities diversity index of different treatments

处理 Treatments	Shannon 指数 Shannon index	丰富度指数 Richness index	Shannon 均匀度 Shannon evenness
CK	2.94 b	20 c	0.986 a
T1	2.96 b	21 bc	0.983 a
T2	3.02 a	23 b	0.987 a
T3	3.03 a	26 a	0.995 a

注:同列中不同字母表示差异显著(P<0.05)。下同。
Note: Different letters in the same column mean significantly different (P<0.05). The same below.

2.2 土壤微生物群落利用碳源类型分析及动力学特征

按化学基团的性质可将 ECO 板上的 31 种碳源分成 6 大类,即糖类 10 种、氨基酸类 6 种、羧酸类 7 种、多聚物类 4 种、多酚化合物类 2 种和多胺类 2 种。

通过表 3 中土壤微生物对 6 类碳源利用的 AWCD 看出,生物复混肥处理土壤微生物群落对糖类的利用明显高于其他处理;对羧酸类碳源的利用生物复混肥处理与 CK 处理明显高于其他处理;对氨基酸类碳源的利用生物复混肥处理与有机无机复混肥处理明显高于其他处理;对多酚化合物类的利用生物复混肥明显最低;多聚物类、多胺类的利用各处理之间差异不显著,反映了土壤微生物在数量及种群结构上的差异。土壤微生物群落利用碳源动力学特征如图 2 所示。随着培养时间的延长,土壤微生物群落对 6 类碳源的利用率呈逐渐增加的趋势。不同群落中土壤微生物对糖类、多聚物类碳源利用的 AWCD 规律相似于土壤微生物对全部碳源的利用,均以生物复混肥处理最高,CK 处理最低;土壤微生物对羧酸类碳源的利用表现为生物复混肥>CK>无机肥>有机无机复混肥;而有机无机复混肥对氨基酸类和多酚化合物类碳源表现为优先利用;土壤微生物对多胺类碳源总体表现为无机肥>有机无机肥>生物复混肥>CK。

试验结果表明,不同处理土壤微生物对 6 类碳源

表 3 不同施肥处理土壤微生物培养 96 h 6 类碳源利用的平均吸光值

Table 3 Average well color development of 6 kinds of carbon source utilization of soil microbial under 96 h culture by different treatments

处理 Treatments	糖类 Carbohydrates	羧酸类 Carboxylic acids	氨基酸类 Amino acids	多聚物类 Polymers	多酚化合物类 Aromatic chemicals	多胺类 Amines
CK	0.72 b	0.73 a	0.85 b	0.73 a	0.71a	0.96 a
T1	0.69 b	0.59 b	0.82 b	0.72 a	0.53 b	1.15 a
T2	0.83 b	0.60 b	0.94 ab	0.83 a	0.70 a	1.12 a
T3	1.19 a	0.80 a	1.04 a	0.86 a	0.38 c	1.06 a

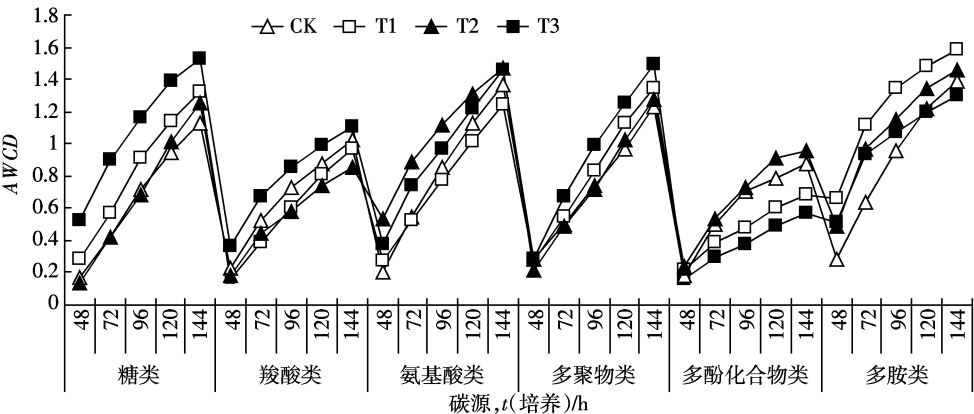


图 2 不同施肥处理土壤微生物利用不同种类碳源的平均颜色变化率(AWCD)

Figure 2 AWCD for different carbon sources utilized by microbe of different fertilization treatments

的利用存在一定差异,生物复混肥的施入为土壤微生物提供了更多可以利用的底物,改善了土壤微生物功能多样性,进而改变了土壤微生物对不同碳源的利用,提高了土壤微生物对糖类、羧酸类、氨基酸类的利用,有利于土壤有效养分的转化。

2.3 土壤微生物群落代谢功能主成分分析

利用培养 96 h 后测定的 AWCD 数据,再经过标准化处理后进行主成分分析。31 个主成分因子中前 10 个累积方差贡献率达 100%,选取累积方差贡献率为 49.516%的前两个主成分因子 PC1 和 PC2 来进行微生物群落功能多样性分析(图 3)。主成分分析显示,不同施肥处理土壤在 31 种碳源构建的主成分分析坐标体系中存在明显的空间分异。在 PC1 轴上,生物复混肥处理主要分布在正方向上,且离散较小,其他处理主要分布在负方向上,较难区分开。在 PC2 轴上,有机无机复混肥处理主要分布在正方向上,无机肥和 CK 处理主要分布在负方向上。说明生物复混肥处理的土壤微生物生理活性最高,其他处理的土壤微生物群落代谢结构相似。结果表明生物复混肥可以显著提高土壤微生物代谢活性和土壤微生物群落功能多样性。

从对两个主成分贡献的特征向量及载荷因子值(表 4)可知:影响 PC1 的主要碳源是 D-葡糖胺酸、i-

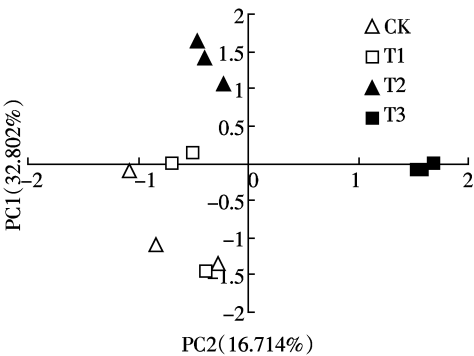


图 3 不同施肥处理土壤微生物碳源利用类型的主成分分析

Figure 3 Principal component analysis on substrate utilization potential of soil microbial community under different fertilization treatments

赤藓糖醇、D-木糖/戊醛糖、 γ -羟丁酸、 β -甲基-D-葡萄糖苷、衣康酸、4-羟基苯甲酸、2-羟基苯甲酸、 α -丁酮酸;影响 PC2 的主要碳源是 1-磷酸葡萄糖、D,L- α -磷酸甘油、L-精氨酸、 α -环式糊精、D-苹果酸、甘氨酸-L-谷氨酸、 α -D-乳糖、N-乙酰-D-葡萄糖氨、L-丝氨酸。结合 PC1、PC2 的分析结果可知,影响 PC1 的主要碳源为糖类和羧酸类,影响 PC2 的主要碳源为糖类和氨基酸类。这表明对 PC1 和 PC2 起分异作用的主要碳源是糖类、羧酸类和氨基酸类。

表 4 对 PC1 和 PC2 贡献的特征向量≥0.50 的碳源载荷因子
Table 4 Loading factor of C sources with loadings≥0.50
to PC1and PC2

PC1	载荷因子 Loading factor	PC2	载荷因子 Loading factor
D-葡糖胺酸	0.977	1-磷酸葡萄糖	0.568
i-赤藓糖醇	0.970	D,L-α-磷酸甘油	0.576
D-木糖/戊醛糖	0.940	L-精氨酸	0.855
γ-羟丁酸	0.900	α-环式糊精	0.744
β-甲基-D-葡萄糖苷	0.883	N-乙酰-D 葡萄糖氨	-0.574
衣康酸	-0.852	甘氨酸-L-谷氨酸	0.697
4-羟基苯甲酸	-0.851	α-D-乳糖	-0.684
2-羟基苯甲酸	0.831	D-苹果酸	-0.729
α-丁酮酸	0.820	L-丝氨酸	-0.560

2.4 生物复混肥对土壤酶活性的影响

2.4.1 土壤蔗糖酶活性的变化

不同肥料处理土壤蔗糖酶活性的变化如图 4。可以看出,随着玉米生长进程的推进,各施肥处理蔗糖酶活性呈现先升高后降低,最后略微升高的趋势。无机肥、有机无机复混肥和生物复混肥处理土壤蔗糖酶活性在第 15 d 达到最大值,最大值分别为 56.09、62.16、72.74 mg glucose·g⁻¹·(24 h)⁻¹,CK 处理蔗糖酶活性在第 1 d 达到最大值,为 61.38 mg glucose·g⁻¹·(24 h)⁻¹。随后各处理土壤蔗糖酶活性下降。在玉米生长期不同处理蔗糖酶平均活性大小顺序为生物复混肥>有机无机复混肥>CK>无机肥。生物复混肥处理土壤蔗糖酶活性最高,与其他处理相比差异显著。第 15、45、60 d 有机无机复混肥处理的蔗糖酶活性也较高,原因可能是生物复混肥和有机无机复混肥处理中有机肥和无机肥配施提供了丰富的有机碳,无机肥中的无机氮调节了土壤中的 C/N,为微生物活动提供了更多的酶促反应基质,进而提高了土壤蔗糖酶活性。

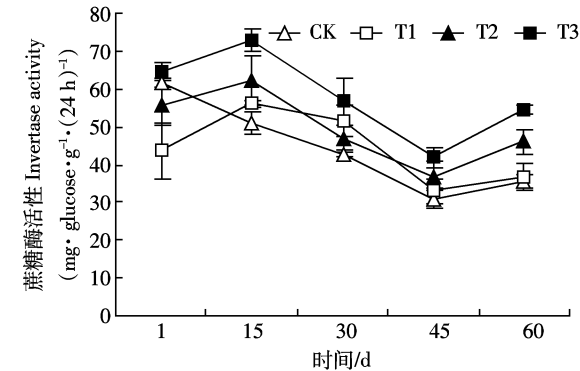


图 4 不同施肥处理对土壤蔗糖酶活性的影响
Figure 4 Effect of different fertilization treatments on soil invertase activity

这表明生物复混肥可以提高土壤蔗糖酶活性。

2.4.2 土壤脲酶活性的变化

不同肥料处理对玉米生长期土壤脲酶活性的影响见图 5。在玉米生长前期,CK 和无机肥处理的土壤脲酶活性降低,而有机无机复混肥和生物复混肥处理脲酶活性基本呈上升趋势,可能是因为无机肥中有效态的氮含量太高,抑制了土壤微生物活性,而生物复混肥中的有机氮和无机氮促进土壤脲酶活性的升高。随后,各处理的脲酶活性开始升高,CK 处理在第 30 d 达到峰值,其余各处理在第 45 d 达到峰值,峰值分别为 0.92、0.99、1.04、1.15 mg NH₃-N·g⁻¹·(3 h)⁻¹。至第 60 d 时,各施肥处理的土壤脲酶活性逐渐稳定甚至减小。在玉米生长期不同处理脲酶平均活性大小顺序为生物复混肥>有机无机复混肥>无机肥>CK,生物复混肥处理与 CK 处理差异显著,说明各施肥处理土壤脲酶活性的变化与玉米不同生长时期对氮素营养的需求有关。这一结果表明生物复混肥的施用可以增加土壤脲酶的活性。

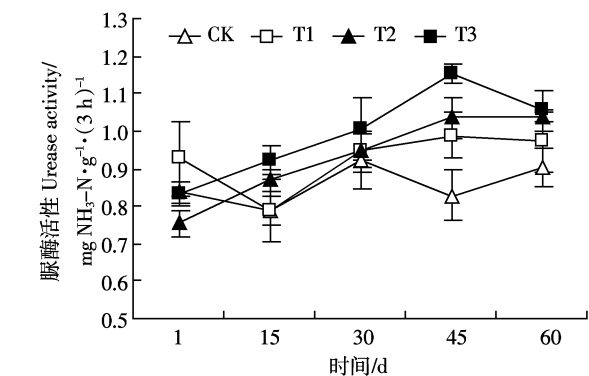


图 5 不同施肥处理对土壤脲酶活性的影响
Figure 5 Effect of different fertilization treatments on soil urease active

3 讨论

施肥是影响土壤微生物生态特征的重要农业措施。不同农业管理措施将导致土壤代谢商和微生物功能多样性的变化,形成特定的微生物种群^[15]。单施氮肥土壤微生物优势度指数升高,土壤长期加入氮肥会抑制某些种群微生物的代谢^[16]。孙瑞莲等^[17]发现,NPK 与有机肥配施能明显提高土壤有效养分含量,促进微生物的代谢和繁育,增加土壤微生物的数量。侯晓杰等^[18]研究不同施肥处理对土壤微生物群落碳源利用能力的结果表明,单施无机肥土壤微生物碳源利用率较低,无机肥有机肥配施能维持较高的土壤微生物碳

源利用能力。本研究结果表明:生物复混肥的施用提高了土壤微生物种群的多样性指数,增加土壤微生物对 6 类碳源的利用能力。

主成分分析及 31 种碳源在两个主成分轴上的因子载荷值反映了土壤微生物群落的生理轮廓,解释了不同施肥处理土壤微生物碳源利用是否存在差异。本试验通过主成分分析表明不同施肥处理土壤微生物生理代谢功能出现显著差异,土壤微生物群落代谢特征发生变化,各处理在主成分轴上的因子载荷值与微生物对碳源底物的利用能力相关,对 PC1 和 PC2 起分异作用的主要碳源是糖类、羧酸类和氨基酸类。氨基酸在土壤微生物群落功能多样性中也起了很重要的作用,主要是因为氨基酸是土壤有机氮的重要组成部分,其含量受到养分供应的显著影响^[19]。

土壤酶来自土壤微生物、植物和动物活体,其活性强弱是表征土壤熟化和肥力水平高低的重要指标^[20],肥料可通过改善土壤水热状况、土壤质地、微生物活性以及植物根系而影响土壤酶活性^[21-22]。有研究表明:土壤酶的活性与土壤理化性质、微生物活性密切相关^[23-24],由于受到肥料类型、土壤类型、植被等综合因素的影响,土壤酶活性对施肥的响应可能存在差异^[25-26]。本研究显示,生物复混肥处理可显著影响土壤蔗糖酶和脲酶活性。蔗糖酶参与碳水化合物的转化,其活性反映了土壤有机碳累积与分解转化的规律,而土壤微生物群落功能多样性变化往往也受到土壤有机质等本底因子的影响^[27]。因此,土壤各养分含量变化对土壤微生物功能多样性的影响有待进一步研究,使微生物活性能够更加真实全面地反映土壤质量和土壤生产力。

4 结论

生物复混肥的施用可以提高土壤微生物群落碳源利用率、微生物群落丰富度和功能多样性,从不同施肥处理对 6 类碳源的利用看,不同施肥处理最强碳代谢群落是糖代谢群。主成分分析表明,不同施肥处理土壤微生物碳源代谢特征发生分异,生物复混肥处理分布在 PC1 的正方向,其他处理分布在 PC1 的负方向上。对 PC1 和 PC2 起分异作用的主要碳源是糖类、羧酸类和氨基酸类。从不同施肥处理对土壤酶活性的影响看,生物复混肥处理能够显著地提高蔗糖酶和脲酶活性。

参考文献:

[1] Pankhurst C E, Keller K O, Gupta V V S R. Biodiversity of soil microbial

communities in agricultural systems[J]. *Biodiversity and Conservation*, 1996, 5(2):197-209.

[2] Schloter M, Dilly O, Munch J N. Indicators for evaluating soil quality[J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2003, 98(1):255-262.

[3] Lovella R D, Jarvis S C, Bardgett R D. Soil microbial biomass and activity in long-term grassland: Effects of management changes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1995, 27(7):969-975.

[4] Steenwertha K L, Jackson L E, Caldero F J, et al. Soil microbial community composition and land use history in cultivated and grassland ecosystems of coastal California[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34(1):1599-1611.

[5] Van Bruggen A H C, Semenov A M. In search of biological indicators for soil health and disease suppression[J]. *Applied Soil Ecology*, 2000, 15:13-24.

[6] Harris J A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration[J]. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54:801-808.

[7] Schloter M, Dilly O, Munch J C. Indicators for evaluating soil quality[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2003, 98:255-262.

[8] Buenemann 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.

[9] Nayyar A, Hamel C, Lafond G, et al. Soil microbial quality associated with yield reduction in continuous-pea[J]. *Applied Soil Ecology*, 2009, 43(1):115-121.

[10] 李华兴. 一种多功能生物复混肥、其制备方法和应用[P]. 中国专利:200910038426. 5, 2009-09-09.

LI Hua-xing. A multi-functional bio-fertilizer, its preparation method and application[P]. Chinese patent:200910038426. 5, 2009-09-09.

[11] 李振高, 骆永明, 滕 应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京:科学出版社, 2008.

LI ZHEN-gao, LUO Yong-ming, TENG Ying. The soil and environmental microbial research[M]. Beijing: Science Press, 2008.

[12] Dobranic J K, Zak J C. A microtiter plate procedure for evaluating fungal functional diversity[J]. *Mycologia*, 1999, 91:756-765.

[13] Grayston S J, Prescott C E. Microbial communities in forest floors under four tree species in coastal British Columbia[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(6):1157-1167.

[14] 关松荫, 张德生, 张志明. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986.

GUAN Song-yin, ZHANG De-sheng, ZHANG Zhi-ming. Soil enzyme and methodology for soil enzyme[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986.

[15] 朱海平, 姚槐应, 张勇勇, 等. 不同培肥管理措施对土壤微生物生态特征的影响[J]. 土壤通报, 2003, 34(2):140-142.

ZHU Hai-ping, YAO Huai-ying, ZHANG Yong-yong, et al. Effect of fertilizer system on soil microbial ecology[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2003, 34(2):140-142.

[16] Sarathchandra S U, Ghanian A, Yeatesh G W, et al. Effects of nitrogen and phosphate fertilizers on microbial and nematode diversity in pasture soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(7):953-964.

- [17] 孙瑞莲, 朱鲁生, 赵秉强, 等. 长期施肥对土壤微生物的影响及其在养分调控中的作用[J]. 应用生态学报, 2004, 15(10): 1907-1910.
SUN Rui-lian, ZHU Lu-sheng, ZHAO Bing-qiang, et al. Effects of long-term fertilization on soil microorganism and its role in adjusting and controlling soil fertility[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(10): 1907-1910.
- [18] 侯晓杰, 汪景宽, 李世朋. 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[J]. 生态学报, 2007, 13(3): 655-661.
HOU Xiao-jie, WANG Jing-kuan, LI Shi-peng. Effects of different fertilization and plastic-mulching on functional diversity of soil microbial community[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 13(3): 655-661.
- [19] JU Xiao-tang, LIU Xue-jun, ZHANG Fu-suo, et al. Effect of long-term fertilization on organic nitrogen forms in a calcareous alluvial soil on the North China Plain[J]. *Pedosphere*, 2006, 16(2): 224-229.
- [20] 蔡昆争, 骆世明, 方 祥. 水稻覆膜旱作对根叶性状、土壤养分和土壤微生物活性的影响[J]. 生态学报, 2006, 26(6): 1903-1911.
CAI Kun-zheng, LUO Shi-ming, FANG Xiang. Effects of film mulching of upland rice on root and leaf traits soil nutrient content and soil microbial activity[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, 26(6): 1903-1911.
- [21] 李 娟, 赵秉强, 李秀英, 等. 长期有机无机肥料配施对土壤微生物学特性及土壤肥力的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(1): 144-152.
LI Juan, ZHAO Bing-qiang, LI Xiu-ying, et al. Effects of long-term combined application of organic and mineral fertilizers on soil microbiological properties and soil fertility[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2008, 41(1): 144-152.
- [22] Deng S P, Tabatai M A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils: III. Phosphates and arylsulphatases[J]. *Biological and Fertility of Soils*, 1997, 24(2): 141-146.
- [23] Vepsilinen M, Kukkonen S, Vestberg M. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33: 1665-1672.
- [24] 倪治华, 马国瑞. 有机无机生物活性肥料对蔬菜作物生长及土壤生物活性的影响[J]. 土壤通报, 2002, 33(3): 212-215.
NI Zhi-hua, MA Guo-rui. Effect of bio-activated organic inorganic mixed fertilizer on growth of cabbage and soil biological activity[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2002, 33(3): 212-215.
- [25] Nayak D R, Babu Y J, Adhya T K. Long-term application of compost influences microbial biomass and enzyme activities in a tropical Aerobic Endoaquept planted to rice under flooded condition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(8): 1897-1906.
- [26] 徐国伟, 段 骅, 王志琴, 等. 麦秸还田对土壤理化性质及酶活性的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42(3): 926-933.
XU Guo-wei, DUAN Hua, WANG Zhi-qin, et al. Effect of wheat-residue application on physical and chemical characters and enzymatic activities in soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2009, 42(3): 926-933.
- [27] Bending G D, Turer M K, Jones J E, et al. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the metabolic-functional diversity of soil microbial communities[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34: 10.