

不同复垦方式对铝矿废弃地土壤微生物多样性的影响研究

张瑞娟¹, 李 华^{1*}, 王爱英¹, 张 强², 郜春花²

(1.山西大学环境与资源学院, 太原 030006; 2.山西省农业科学院农业环境与资源研究所, 太原 030012)

摘 要:土壤微生物被认为是土壤生态系统的预警及敏感指标之一,对土壤质量变化有重要指示作用,直接体现土壤的生态功能。以山西省孝义铝矿废弃地土壤样品为研究对象,通过施肥及前茬双因素随机组合,采用磷脂脂肪酸(PLFA)方法,分析了不同复垦方式对铝矿废弃地复垦区土壤微生物的影响。结果表明:(1)施肥能显著提高土壤微生物生物量($P<0.05$),其中以有机+无机肥为最佳施肥模式,与对照相比,在前茬种植大豆、箭舌豌豆、毛苕子,前茬玉米秸秆还田和前茬玉米整秸秆覆盖条件下,土壤微生物总量分别提高了 5.70、8.03、31.27、15.65、5.22 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$;(2)3 种前茬作物(大豆、箭舌豌豆、毛苕子)中,毛苕子可有效增加土壤微生物生物量,前茬玉米秸秆还田较前茬玉米整秸秆覆盖更能显著提高土壤微生物生物量($P<0.05$),在施加有机肥、有机+无机肥、无机肥和不施肥条件下,土壤微生物总量分别提高了 8.39、12.06、5.18、1.63 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$;(3)本试验最佳复垦模式为前茬种植毛苕子,同时施加有机+无机肥,土壤微生物总量最高(31.58 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)。上述结果表明,在铝矿废弃地的复垦过程中,前茬处理配合施肥能有效提高土壤微生物生物量。

关键词:铝矿废弃地;复垦;土壤微生物;磷脂脂肪酸

中图分类号:X753 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)10-2012-08 doi:10.11654/jaes.2013.10.016

Effects of Different Reclamation Patterns on Soil Microbial Diversity in Abandoned Aluminum Mining Land

ZHANG Rui-juan¹, LI Hua^{1*}, WANG Ai-ying¹, ZHANG Qiang², GAO Chun-hua²

(1.College of Environmental Science & Resources, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2.Institute of Agricultural Environment & Resource, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030012, China)

Abstract: The reclamation of wasteland can increase farmland area and relieve the farmland pressure of China. Soil microbial community significantly monitors soil quality changes and directly determines the soil ecosystem functions. This field experiment was carried out in reclaimed minesoils of the aluminum mining wasteland in 2010 in Xiaoyi County, Shanxi Province, North China. The purpose is to characterize the soil microbial diversity under different reclamation patterns (1. Fertilization treatments: manure, manure with chemical fertilizer, chemical fertilizer and control treatment, i.e. without any fertilizer. 2. Preceding treatments: soybean-corn rotation, *Vicia sativa*-corn rotation, *Vicia villosa*-corn rotation, corn straw returning, and whole corn stalk mulch). The randomized complete block design and PLFA method were used in reclaimed minesoils with each treatment in triplicate. The results showed that: (1) Fertilization significantly increased the soil microbial biomass ($P<0.05$), and manure with chemical fertilizer was the best fertilization pattern. Under different preceding treatments, the amount of soil microorganisms increased by 5.70, 8.03, 31.27, 15.65 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ and 5.22 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$. (2) *Vicia villosa* can significantly increase the soil microbial biomass among the 3 preceding crops (soybean, *Vicia sativa*, *Vicia villosa*). Corn straw returning showed better results than whole corn stalk mulch ($P<0.05$). Under fertilization and unfertilized control treatments, the amount of soil microorganisms increased by 8.39, 12.06, 5.18 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ and 1.63 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$. (3) The amount of soil microorganisms was highest (31.58 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$) under the treatment of preceding *Vicia villosa* and manure with chemical fertilizers. Overall, both preceding treatments and fertilization can improve the soil microbial biomass in aluminum mining wasteland.

Keywords: aluminum mining wasteland; reclamation; soil microorganism; PLFA

收稿日期:2013-03-14

基金项目:国家科技支撑计划(2008BAD95B04);山西省重大专项(20121101009)

作者简介:张瑞娟(1988—),女,山西运城人,硕士研究生,研究方向为恢复生态学。E-mail:zhangruijuan320@163.com

*通信作者:李 华 E-mail:lihua@sxu.edu.cn

土壤微生物群落是土壤生物区系中最重要的功能成分,土壤微生物本身不仅是土壤养分的重要来源,支撑着土壤肥力,还对其所生存的微环境十分敏感,能对土壤生态机制变化和环境胁迫做出反应,使得整个群落结构发生变化。因此,土壤微生物群落被认为是土壤生态系统变化的预警及敏感指标,对土壤质量变化具有重要指示作用^[1]。土壤中各大类微生物(细菌、真菌、放线菌)的数量一直是衡量土壤微生物多样性的一个重要指标^[2]。随着人们对农业土壤碳库在全球碳循环中作用的认识不断深入,土地利用模式和复垦方式等对土壤微生物的影响越来越受到关注^[3]。大量研究表明,施肥等措施能改良土壤结构,提高土壤微生物数量^[4-7],但目前研究主要针对农田土壤,在不同复垦方式对工矿废弃地复垦区土壤微生物的影响方面研究较少,尤其以土壤微生物群落结构研究复垦土地肥力变化的报道甚少。

山西是我国沉积型铝土矿储量省,孝义铝矿是我国目前开采量最大的露天铝土矿山,矿区总占地面积达 1 158.2 hm²^[8]。由于矿区废弃地占用了大量的耕地,使得周围生态系统退化,土壤肥力下降。为了综合整治退化的生态系统,实现土地的合理有效利用以及对生态环境的保护,通过系统研究不同复垦方式对铝矿废弃地复垦区土壤微生物区系的影响,确定最佳的复垦方式提高土壤肥力,从而改善铝矿废弃地复垦区的土壤质量。

本文以山西省孝义铝矿废弃地复垦区玉米种植地为研究对象,通过施肥及前茬双因素随机组合,采用磷脂脂肪酸(PLFA)方法,分析了不同复垦方式对铝矿废弃地土壤微生物生物量的影响,旨在为铝矿废弃地复垦土壤肥力的快速恢复和当地农业的可持续发展提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验区位于山西省孝义市西部山区(111°29′52″E~111°27′12″E,37°07′44″N~37°05′12″N),为我国目前开采量最大的露天铝土矿山废弃地复垦区。该区属于典型的大陆性半干旱气候,四季分明,春季多风,夏季炎热,秋季多雨,冬季寒冷干燥,年最高气温达 37℃,最低气温在-20℃以下。降雨主要集中在 7—9 月,平均降雨量为 529 mm。供试土壤为褐土,土质适宜耕种。试验地土壤微生物总量为 0.03 nmol·g⁻¹,部分理化性质为:有机碳含量 2.15 g·kg⁻¹,碱解氮含量 4.2

mg·kg⁻¹,有效磷含量 1.74 mg·kg⁻¹,速效钾含量 63.96 mg·kg⁻¹,pH 值为 8.27。

1.2 试验设计

本试验采用施肥和前茬双因素完全随机区组设计,施肥处理 4 个水平,分别是有机肥(9000 kg·hm⁻²)、有机+无机肥(有机肥 4500 kg·hm⁻²、尿素 225 kg·hm⁻²、过磷酸钙 150 kg·hm⁻²)、无机肥(尿素 450 kg·hm⁻²、过磷酸钙 300 kg·hm⁻²)、对照组(不施肥)。有机肥是鸡粪,含有机质 262.3 mg·g⁻¹、N 15.6 mg·g⁻¹、P₂O₅ 9.8 mg·g⁻¹、K₂O 4.2 mg·g⁻¹。前茬处理 5 个水平,分别是前茬玉米秸秆还田、前茬玉米整秸秆覆盖、前茬大豆、前茬箭舌豌豆、前茬毛苕子,共 20 个处理,每个处理设 3 个重复。试验地种植作物为玉米(农大 84 号)。

1.3 样品采集与处理

2010 年 10 月 14 日玉米收获后进行土样采集,采样深度为 0~20 cm。剔除土样中的植物根系和残渣,保存于冰盒带回实验室,4℃冷藏保存,一周内测试完毕。

1.4 试验方法

土壤微生物 PLFA 的测定方法在 Bligh 和 Dyer^[9]、Frostegård 等^[10]的基础上改进,步骤如下:

(1)提取:称 4 g 土样用 4 mL 柠檬酸缓冲液、5 mL 氯仿、10 mL 甲醇避光振荡 2 h(200 r·min⁻¹)后离心 15 min(1500 r·min⁻¹),收集上清液。再加入 1.6 mL 柠檬酸缓冲液、2 mL 氯仿、4 mL 甲醇,重复操作取上清液。向收集的上清液中加入 7 mL 柠檬酸缓冲液、7 mL 氯仿,振荡 5 min,静置,待分层后收集底层,在氮气流中吹干。

(2)分离:用 10 mL 氯仿活化硅胶柱,1 mL 氯仿溶解样品后注入硅胶柱中,然后依次加入 10 mL 氯仿、10 mL 丙酮、10 mL 甲醇,收集甲醇淋洗液,在氮气流中吹干。

(3)甲酯化:向吹干样品中加入 1 mL 甲醇:甲苯(V/V=1:1)混合液和 1 mL 0.2 mol·L⁻¹KOH 甲醇溶液,37℃水浴 15 min 后冷却至室温,依次加入 2 mL 去离子水、0.3 mL 1 mol·L⁻¹醋酸、2 mL 正己烷(分析纯),振荡 1 min,然后 1500 r·min⁻¹离心 15 min,重复提取一次,合并两次提取的正己烷相,氮气流吹干,-20℃冷冻保存,在上机测定前加入 1 mL 正己烷(色谱纯),过 0.45 μm 滤膜至样品瓶中,待测。

本试验检测采用 Thermo Finnigan GC-MS(Trace 2000, Polaris Q)完成,毛细管柱为 DB-225MS(30 m×0.25 mmID×0.25 μm)。GC-MS 条件:起始温度 60℃,

保留 1 min, 20 °C·min⁻¹ 升至 140 °C, 保留 5 min, 3 °C·min⁻¹ 升至 180 °C, 保留 5 min, 3 °C·min⁻¹ 升至 220 °C, 保留 10 min; 进样口温度 240 °C; 进样方式为不分流; 载气 He(纯度 99.999%), 流速为 1.0 mL·min⁻¹; 离子源温度 220 °C; 传输线温度 230 °C; 溶剂延迟时间 4 min; 质谱全扫描范围: 35~400 m·z⁻¹。

脂肪酸用标准品 Bacterial Acid Methyl Esters Mix (BAME, Supelco Inc. PA, USA) 和 37 Component FAME Mix (Nu-chekprep Inc. Minnesota, USA) 定性, 外标法定量, 浓度梯度为 0.1、0.2、0.5、1、2、5 mg·L⁻¹。PLFA 含量用 nmol·g⁻¹ 表示, 微生物总量用可以表征微生物的 PLFA 含量之和表示^[11]。特定的微生物种群拥有特定的磷脂脂肪酸, 常见的种类如表 1 所示。

1.5 数据分析

数据分析采用 Excel 2003 和 SPSS 16.0 统计软件完成, 对数据进行 ANOVA 方差分析, 并采用 LSD 多重比较法进行显著性检验分析 ($P < 0.05$)。所有测定数据结果以平均值±标准误的形式表示。

2 结果与分析

2.1 质谱全扫描与选择离子扫描的比较

比较 FAME 标品 (1 mg·L⁻¹) 在全扫描模式和选择离子模式下的色谱图 (图 1), 由于全扫描模式与选择离子模式的信噪比相当, 且全扫描模式能获得更多样品信息, 故本试验选择全扫描模式。

本试验检测出 43 种 PLFA, 其中用来表征细菌的 PLFA 10 种 (C14:0, i15:0, a15:0, C15:0, i16:0, C16:0, C16:1ω9, cy17:0, C17:0, cy19:0), 革兰氏阳性菌 PLFA 5 种 (i15:0, a15:0, C15:0, i16:0, C17:0), 革兰氏阴性菌 PLFA 3 种 (C16:1ω9, cy17:0, cy19:0), 真菌 PLFA 5 种 (C18:1ω9c, C18:1ω9t, C18:2ω6, C18:3ω3, C18:3ω6), 放线菌 PLFA 5 种 (i15:0, a15:0, C15:0, C16:1ω9, C17:0), 原生生物 PLFA 4 种 (20:3ω6, C21:0, C22:0, C23:0)。

2.2 不同复垦方式对复垦土壤微生物生物量的影响

2.2.1 不同复垦方式对土壤细菌生物量的影响

由表 2 可以看出, 前茬大豆处理下, 施肥处理均可使土壤细菌生物量显著提高 ($P < 0.05$), 施加有机肥、有机+无机肥、无机肥分别高于对照组 3.10、4.22、1.67 nmol·g⁻¹, 其中施加有机+无机肥效果最佳。前茬箭舌豌豆和前茬毛苕子处理下, 有机肥、有机+无机肥处理可显著提高土壤细菌生物量 ($P < 0.05$), 且有机+无机肥较有机肥更能显著提高土壤细菌量 ($P < 0.05$), 而施加无机肥对土壤细菌生物量影响不显著 ($P > 0.05$)。秸秆还田处理下, 施肥处理均可使土壤细菌生物量显著提高 ($P < 0.05$), 且施加有机肥、有机+无机肥、无机肥分别高于对照组 5.55、7.62、2.02 nmol·g⁻¹。整秸秆覆盖处理下, 施加有机肥和有机+无机肥可使土壤细菌生物量显著提高 ($P < 0.05$), 分别提高了 2.64、2.38 nmol·g⁻¹, 且有机肥较有机+无机肥更能显著提高土壤细菌量 ($P < 0.05$), 而施加无机肥对土壤细菌生物量影响不显著 ($P > 0.05$)。

施加有机肥、有机+无机肥条件下, 前茬毛苕子较前茬种植大豆或箭舌豌豆更能显著提高土壤细菌生物量 ($P < 0.05$), 而前茬大豆和前茬箭舌豌豆对土壤细菌生物量影响不显著 ($P > 0.05$)。施加无机肥条件下, 前茬大豆和前茬箭舌豌豆较前茬毛苕子更能显著提高土壤细菌生物量 ($P < 0.05$), 而前两种作物对土壤细菌生物量影响不显著 ($P > 0.05$)。不施肥条件下, 前茬作物间均存在显著性差异, 且前茬种植箭舌豌豆效果最佳 (1.43 nmol·g⁻¹)。施肥与不施肥条件下, 秸秆还田处理均优于整秸秆覆盖处理 ($P < 0.05$)。

不同复垦方式对土壤革兰氏阳性菌 (G⁺) 和革兰氏阴性菌 (G⁻) 也产生了不同程度的影响 (表 2), 且有机肥+无机肥, 前茬毛苕子处理下, 革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的生物量最高 (3.72、5.14 nmol·g⁻¹)。

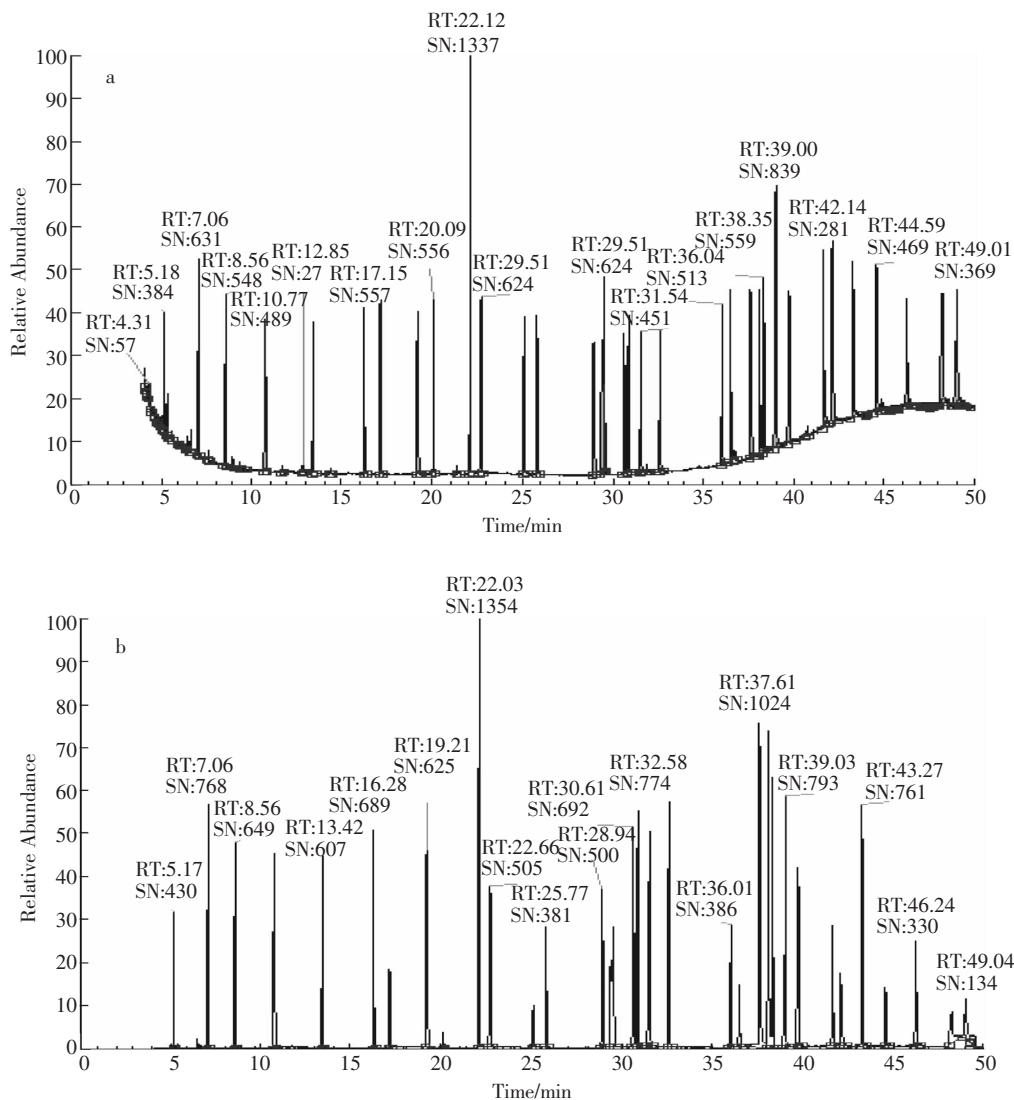
2.2.2 不同复垦方式对土壤真菌生物量的影响

由表 3 可以看出, 前茬大豆处理下, 施肥处理均

表 1 表征微生物的磷脂脂肪酸 (PLFA)

Table 1 Biomarkers of some microbial groups in soil

微生物类型	磷脂脂肪酸标记
细菌	C14:0, i15:0, a15:0, C15:0, i16:0, C16:0, C16:1ω9, C16:1ω5, C16:1ω7t, cy17:0, C17:0, i17:0, a17:0, C18:1ω5, C18:1ω7, cy19:0 ^[12]
革兰氏阳性菌	i15:0, a15:0, C15:0, i16:0, C17:0, i17:0, a17:0 ^[13]
革兰氏阴性菌	C16:1ω9, C16:1ω5, C16:1ω7t, cy17:0, C18:1ω5, C18:1ω7t, cy19:0 ^[13]
真菌	C18:1ω9, C18:2ω6, C18:3ω3, C18:3ω6 ^[12]
放线菌	i15:0, a15:0, C15:0, C16:1ω9, C17:0, i17:0, C16:1ω5, C18:1ω5, C18:1ω7t, 10Me18:0 ^[12]
原生生物	20:3ω6, 20:4ω6, C21:0, C22:0, C23:0 ^[12, 14]



a:总离子流色谱图;b:选择离子色谱图

a: The total ion current chromatogram; b: The selective ion current chromatogram

图 1 FAME 标品的色谱图(1 mg·L⁻¹)Figure 1 The chromatograms of FAME(1 mg·L⁻¹)

可使土壤真菌生物量显著提高($P<0.05$),施加有机肥、有机+无机肥、无机肥分别高于对照组 0.63、1.03、0.41 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$,其中施加有机+无机肥效果最佳。前茬箭舌豌豆和前茬毛苕子处理下,有机肥、有机+无机肥处理可显著提高土壤真菌生物量($P<0.05$),且有机+无机肥较有机肥更能显著提高土壤真菌量($P<0.05$),而施加无机肥对土壤真菌生物量影响不显著($P>0.05$)。秸秆还田和整秸秆覆盖处理下,施肥处理均可使土壤真菌生物量显著提高($P<0.05$),且秸秆还田处理均优于整秸秆覆盖处理($P<0.05$)。秸秆还田处理下,有机肥、有机+无机肥、无机肥分别高于对照组 5.62、7.49、1.72 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$;整秸秆覆盖处理下,有机肥、有机+无机肥、无机肥分别高于对照组 0.77、2.75、

0.08 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

有机肥、有机+无机肥条件下,前茬毛苕子较其他两种前茬作物更能显著提高土壤真菌的生物量($P<0.05$)。施加无机肥条件下,前茬大豆和前茬箭舌豌豆间没有显著性差异($P>0.05$)。不施肥处理下,前茬箭舌豌豆较前茬大豆更能显著提高土壤真菌的生物量($P<0.05$)。

2.2.3 不同复垦方式对土壤放线菌生物量的影响

由表 4 可看出,种植前茬作物条件下,施肥均可显著提高土壤放线菌生物量($P<0.05$),且施加有机+无机肥效果最佳。秸秆还田处理下,施肥均可显著提高土壤放线菌生物量($P<0.05$),分别提高了 2.26、4.11、0.50 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。整秸秆覆盖处理下,有机肥和有

表 2 不同复垦方式对土壤中细菌生物量的影响($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 2 Soil bacteria biomass under different reclamation patterns($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)

微生物类型	处理	前茬大豆	秸秆还田	整秸秆覆盖	前茬箭舌豌豆	前茬毛苕子
细菌	有机肥	3.15±0.06bC	6.46±0.15bB	2.69±0.17aD	2.75±0.30bCD	9.43±0.36bA
	有机+无机肥	4.27±0.09aC	8.53±0.22aB	2.43±0.14bD	4.71±0.14aC	14.24±0.21aA
	无机肥	1.72±0.12cB	2.93±0.20cA	0.28±0.01cC	1.54±0.17cB	0.42±0.01cC
	对照	0.05±0.01dD	0.91±0.07dB	0.05±0.01cD	1.43±0.08cA	0.31±0.04cC
革兰氏阳性菌	有机肥	0.02±0.00bD	0.35±0.02bC	0.44±0.02bC	1.28±0.12bB	2.51±0.12bA
	有机+无机肥	0.83±0.02aD	0.46±0.02aE	1.40±0.08aC	2.07±0.23aB	3.72±0.02aA
	无机肥	0.01±0.00bC	0.23±0.01cB	0.13±0.01cBC	0.71±0.13cA	nd cC
	对照	nd bB	0.01±0.00dB	nd cB	0.10±0.00dA	nd cB
革兰氏阴性菌	有机肥	0.06±0.01bC	1.35±0.10bA	0.65±0.02bB	0.46±0.01bB	1.49±0.09bA
	有机+无机肥	0.83±0.02aD	4.10±0.05aB	0.96±0.07aD	2.09±0.12aC	5.14±0.27aA
	无机肥	0.01±0.01cC	0.67±0.02cA	0.06±0.01cC	0.39±0.03bcB	nd cC
	对照	nd cC	0.26±0.01dA	0.02±0.01cC	0.20±0.01cB	nd cC

注:数据为平均值±SE, $n=3$ 。nd:未检出。用 LSD 法进行多重比较,同行不同大写字母表示显著性差异($P<0.05$),同列不同小写字母表示显著性差异($P<0.05$)。下同。

Note: Values are means ± standard error of triplicates. nd: not detected. Differences between treatments was tested by one-way ANOVA; values on the same row with different capital letters and in the same column with different lowercase are significantly different at $P<0.05$ (LSD method). The same as below.

表 3 不同复垦方式对土壤中真菌生物量的影响($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 3 Soil fungi biomass under different reclamation patterns($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)

处理	前茬大豆	秸秆还田	整秸秆覆盖	前茬箭舌豌豆	前茬毛苕子
有机肥	0.66±0.06bD	6.64±0.11bB	0.83±0.01bD	1.94±0.14bC	15.61±0.42bA
有机+无机肥	1.06±0.04aE	8.51±0.16aB	2.81±0.02aD	3.80±0.10aC	17.77±0.60aA
无机肥	0.44±0.01cB	2.74±0.15cA	0.14±0.00cC	0.56±0.04cB	nd cC
对照	0.03±0.00dC	1.02±0.10dA	0.06±0.01dC	0.40±0.02cB	nd cC

机+无机肥较无机肥更能显著提高土壤放线菌生物量($P<0.05$),而前两种肥料对土壤放线菌生物量的影响差异不显著($P>0.05$),施加无机肥对土壤放线菌生物量没有影响($P>0.05$)。由表 4 还可得知,秸秆还田优于整秸秆覆盖($P<0.05$)。

2.2.4 不同复垦方式对土壤原生生物生物量的影响

由表 5 可知,土壤中原生生物生物量较低。施加有机肥和有机+无机肥条件下,前茬箭舌豌豆处理更能显著提高土壤原生生物的生物量($P<0.05$)。

2.2.5 不同复垦方式对土壤微生物总量的影响

由图 2 可知,前茬大豆处理下,施肥处理均可使

土壤微生物总量显著提高($P<0.05$),施加有机肥、有机+无机肥、无机肥分别高于对照组 3.65、5.70、2.24 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$,其中施加有机+无机肥效果最佳。前茬箭舌豌豆和前茬毛苕子处理下,有机肥、有机+无机肥处理可显著提高土壤微生物总量($P<0.05$),且有机+无机肥较有机肥更能显著提高土壤微生物总量($P<0.05$),而施加无机肥对土壤微生物总量影响不显著($P>0.05$)。秸秆还田处理下,施肥处理均可使土壤微生物总量显著提高($P<0.05$),且施加有机肥、有机+无机肥、无机肥分别高于对照组 10.26、15.65、3.88 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。整秸秆覆盖处理下,施加有机肥和有机+无机肥可使土壤微

表 4 不同复垦方式对土壤中放线菌生物量的影响($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)

Table 4 Soil actinomycetes biomass under different reclamation patterns($\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)

处理	前茬大豆	秸秆还田	整秸秆覆盖	前茬箭舌豌豆	前茬毛苕子
有机肥	0.24±0.01bD	2.61±0.07bA	1.35±0.03aC	2.14±0.15bB	2.52±0.12bA
有机+无机肥	0.83±0.02aE	4.46±0.13aA	1.59±0.16aD	2.80±0.03aC	3.72±0.01aB
无机肥	0.09±0.01cC	0.85±0.04cB	0.18±0.01bC	1.59±0.19cA	nd cC
对照	0.01±0.00dC	0.35±0.07dB	0.01±0.01bC	0.47±0.01dA	nd cC

表 5 不同复垦方式对土壤原生生物生物量的影响($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$)Table 5 Soil protist biomass under different reclamation patterns($\text{nmol} \cdot \text{g}^{-1}$)

处理	前茬大豆	秸秆还田	整秸秆覆盖	前茬箭舌豌豆	前茬毛苕子
有机肥	$0.05 \pm 0.00\text{bC}$	$0.02 \pm 0.00\text{bCD}$	$0.12 \pm 0.02\text{aB}$	$0.81 \pm 0.02\text{bA}$	nd D
有机+无机肥	$0.09 \pm 0.01\text{aB}$	$0.03 \pm 0.00\text{aB}$	$0.11 \pm 0.00\text{aB}$	$1.90 \pm 0.48\text{aA}$	nd B
无机肥	$0.01 \pm 0.00\text{cB}$	nd cC	$0.04 \pm 0.00\text{bA}$	nd cC	nd C
对照	nd dB	nd cB	$0.03 \pm 0.00\text{bA}$	nd cB	nd B

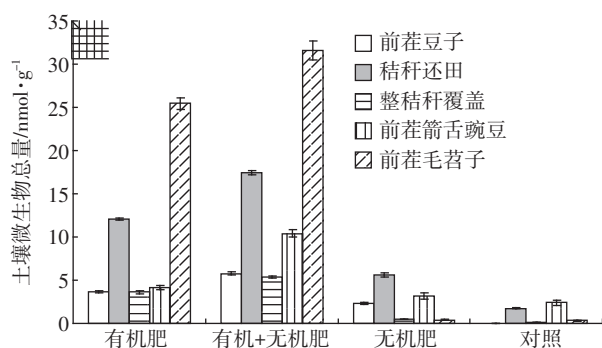


图 2 不同复垦方式对土壤微生物总量的影响

Figure 2 Soil microbial biomass under different reclamation patterns

生物总量显著提高($P < 0.05$), 分别提高了 3.50 、 $5.22 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$, 且有机+无机肥较有机肥更能显著提高土壤微生物总量($P < 0.05$), 而施加无机肥对土壤微生物总量影响不显著($P > 0.05$)。施肥与不施肥处理下, 秸秆还田处理优于整秸秆覆盖处理($P < 0.05$)。前茬毛苕子, 施加有机+无机肥的土壤微生物总量最高($31.58 \text{ nmol} \cdot \text{g}^{-1}$)。

综上, 在铝矿废弃地复垦区采取不同复垦方式对土壤微生物含量均有影响。秸秆还田处理比整秸秆覆盖的效果好。前茬种植毛苕子, 施加有机+无机肥条件下, 土壤中各类微生物量较高。

3 讨论

3.1 PLFA 种类

本研究运用 PLFA 方法检测出 43 种磷脂脂肪酸, 反映出当地微生物多样性的信息。相关研究表明, 不同类型土壤中可检测到的 PLFA 种类数差异较大: 牛佳等^[15]研究若尔盖高寒湿地土壤微生物时, 检测到 17 种脂肪酸; 张焕军等^[14]对中科院封丘农业生态试验站的潮土进行研究时检测到 29 种脂肪酸; Wu 等^[16]对我国东部 14 个样地的 PLFA 分析发现不同地理区域的土壤 PLFA 种类差异显著(23~34 种)。与已有的研究相比, 铝矿废弃地经过复垦后 PLFA 种类较丰富,

表明施肥及前茬处理为微生物的生长提供了丰富的碳源, 刺激了土壤中微生物的生长。

3.2 不同复垦方式对土壤微生物的影响

本研究中, 通过测定施肥及前茬处理方式下土壤微生物的生物量, 可知不同复垦方式对铝矿废弃地复垦区玉米地土壤微生物量有不同程度的影响。有机肥或有机+无机肥的施加都能显著提高复垦区土壤微生物生物量, 且有机+无机肥效果更佳。可能原因是施加有机肥能促进有机质的输入, 提高土壤中有机碳的含量, 为土壤微生物提供丰富的碳源, 从而提高微生物活性, 增加土壤中微生物的数量。这与裴雪霞等^[17]和李金岚等^[18]的研究一致, 但本研究测定的微生物量较低, 可能与肥料及试验地本身的性质有关。施加无机肥也能增加土壤微生物生物量, 可能原因是施加无机肥能增加作物的生物量, 土壤中的作物残渣向有机碳的转化利用率也会相对提高, 从而影响土壤微生物量。由此可以看出, 施肥能够提高土壤中微生物的生物量。

秸秆还田既有利于更新土壤有机质, 提高土壤有机质含量, 又可以为土壤微生物提供充足的能源, 提高土壤微生物生物量。慕平等^[19]研究表明, 秸秆还田向土壤输送大量有机碳源, 从而为土壤微生物繁殖提供所需营养, 促进微生物区系多样化。卜洪震等^[20]研究表明, 秸秆还田可以显著提土壤微生物生物量。孙军德等^[21]研究了不同季节与不同剂量秸秆还田对土壤微生物群落数量的影响, 发现土壤微生物数量在秋季达到最大, 秸秆施入量为 $12\ 000 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时, 土壤微生物群落数量达到最大, 且差异显著。与已有的研究相比, 本试验对比了秸秆还田与整秸秆覆盖的效果, 发现秸秆还田处理优于整秸秆覆盖处理。

施肥配合前茬处理能显著提高土壤微生物的生物量, 分析其原因^[22]: 施肥能够增加土壤有机碳的储存, 为微生物提供可利用的碳源; 前茬处理可以增加作物根系以及土层中残渣的数量, 改变残渣的化学质量, 影响其矿化固定, 从而降低耕作对有机碳的衰减

效应,为微生物储存碳源。

很多学者研究了不同施肥处理对土壤微生物群落结构的影响,但同时不同前茬处理和不同施肥处理对土壤微生物群落结构影响的研究甚少。本研究采用施肥及前茬双因素完全随机区组设计,测定了不同复垦方式下土壤微生物的生物量,但本试验设计仍存在不足之处,即:试验设计中仅设置了不施肥对照组,未设置前茬处理的对照,使得试验结果是施肥与前茬二者共同作用下土壤微生物群落结构的变化,而单一施肥或单一前茬对土壤微生物的影响以及二者共同作用时单一因素对土壤微生物群落结构变化的贡献有待进一步研究。

4 结论

本文以山西省孝义铝矿废弃地复垦区玉米种植地为研究对象,研究了铝矿废弃地在复垦过程中施肥及前茬处理对土壤微生物多样性的影响,结论归纳如下:

(1)施肥能显著提高土壤微生物生物量($P<0.05$),其中以有机+无机肥为最佳施肥模式,与对照相比,在前茬种植大豆、箭舌豌豆、毛苕子,前茬玉米秸秆还田和前茬玉米整秸秆覆盖条件下,土壤微生物总量分别提高了 5.70、8.03、31.27、15.65、5.22 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

(2)3种前茬作物(大豆、箭舌豌豆、毛苕子)中,毛苕子可有效增加土壤微生物生物量。前茬玉米秸秆还田较前茬玉米整秸秆覆盖更能显著提高土壤微生物生物量($P<0.05$),在施加有机肥、有机+无机肥、无机肥和不施肥条件下,土壤微生物总量分别提高了 8.39、12.06、5.18、1.63 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$ 。

(3)本试验最佳复垦模式为前茬种植毛苕子,同时施加有机+无机肥,土壤微生物总量最高(31.58 $\text{nmol}\cdot\text{g}^{-1}$)。

前茬处理配合施肥能有效提高土壤微生物生物量,在改善土壤养分转化和循环、提高土壤养分方面发挥积极的作用,从而为实现工矿废弃地的复垦提供技术支持。

参考文献:

- [1] 张瑞娟,李 华,林勤保,等. 土壤微生物群落表征中磷脂脂肪酸(PLFA)方法研究进展[J]. 山西农业科学, 2011, 39(9):1020-1024.
ZHANG Rui-juan, LI Hua, LIN Qin-bao, et al. Research progress of PLFA method in soil microbial community[J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2011, 39(9):1020-1024.
- [2] 薛 超,黄启为,凌 宁,等. 连作土壤微生物区系分析、调控及高通

量研究方法[J]. 土壤学报, 2011, 48(3):612-618.

- XUE Chao, HUANG Qi-wei, LING Ning, et al. Analysis, regulation and high-throughput sequencing of soil microflora in mono-cropping system[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2011, 48(3):612-618.
- [3] 王玲莉,娄翼来,石元亮,等. 长期施肥对土壤活性有机碳指标的影响[J]. 土壤通报, 2008, 39(4):752-755.
WANG Ling-li, LOU Yi-lai, SHI Yuan-liang, et al. Long-term fertilization on indicators of soil active organic carbon[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2008, 39(4):752-755.
- [4] 单鹤翔. 长期秸秆与化肥配施条件下土壤微生物群落多样性研究[D]. 北京:中国农业科学院, 2012.
SHAN He-xiang. Study of soil microbial community diversity under long-term straw-returning and fertilization[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2012.
- [5] 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 Peng, GAO Qiang, WANG Shu-ping, 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.
- [6] 邵 丽,谷 洁,张社奇,等. 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[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(6):1153-1159.
SHAO Li, GU Jie, ZHANG She-qi, et al. Effects of bio-compound fertilizer on corn soil microbial community and enzyme activities[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(6):1153-1159.
- [7] 刘益仁,郁 洁,李 想,等. 有机无机肥配施对麦-稻轮作系统土壤微生物学特性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2012, 31(5):989-994.
LIU Yi-ren, YU Jie, LI Xiang, et al. Effects of combined application of organic and inorganic fertilizers on soil microbiological characteristics in a wheat-rice rotation system[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(5):989-994.
- [8] 吴安福. 孝义铝矿民采空区矿体安全高效开采技术研究[D]. 长沙:中南大学, 2011.
WU An-fu. Study on safety and highly-efficient mining technology in civil mined-out of Xiaoyi Aluminum Mine[D]. Changsha: Central South University, 2011.
- [9] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification[J]. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(8):911-917.
- [10] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth E. Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1991, 14(3):151-163.
- [11] Balkwill D L, Leach F R, Wilson J T, et al. Equivalence of microbial biomass measures based on membrane lipid and cell wall components, adenosine triphosphate, and direct counts in subsurface aquifer sediments[J]. *Microbial Ecology*, 1988, 16(1):73-84.
- [12] Vestal J R, White D C. Lipid analysis in microbial ecology-quantitative approaches to the study of microbial communities[J]. *Bioscience*, 1989, 39(8):535-541.
- [13] Grayston S J, Griffith G S, Mawdsley J L, et al. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems

- tems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(4-5):533-551.
- [14] 张焕军, 郁红艳, 丁维新. 长期施用有机无机肥对潮土微生物群落的影响[J]. *生态学报*, 2011, 31(12):3308-3314.
- ZHANG Huan-jun, YU Hong-yan, DING Wei-xin. The influence of the long-term application of organic manure and mineral fertilizer on microbial community in calcareous fluvo-aquic soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(12):3308-3314.
- [15] 牛佳, 周小奇, 蒋娜, 等. 若尔盖高寒湿地干湿土壤条件下微生物群落结构特征[J]. *生态学报*, 2011, 31(2):474-482.
- NIU Jia, ZHOU Xiao-qi, JIANG Na, et al. Characteristics of soil microbial communities under dry and wet condition in Zoige alpine wetland [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(2):474-482.
- [16] Wu Y P, Ma B, Zhou L, et al. Changes in the soil microbial community structure with latitude in Eastern China, based on phospholipid fatty acid analysis[J]. *Applied Soil Ecology*, 2009, 43(2-3):234-240.
- [17] 裴雪霞, 周卫, 梁国庆, 等. 长期施肥对黄棕壤性水稻土生物学特性的影响[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(20):4198-4206.
- PEI Xue-xia, ZHOU Wei, LIANG Guo-qing, et al. Effect of long-term fertilization on soil biological characteristics in a paddy soil derived from yellow-brown earth[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(20):4198-4206.
- [18] 李金岚, 洪坚平, 谢英荷, 等. 采煤塌陷地不同施肥处理对土壤微生物群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2010, 30(22):6193-6200.
- LI Jin-lan, HONG Jian-ping, XIE Ying-he, et al. Effects of different fertilization treatments on reclaimed soil microbial community structure in core-mining subsidence area[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(22):6193-6200.
- [19] 慕平, 张恩和, 王汉宁, 等. 连续多年秸秆还田对玉米耕层土壤理化性状及微生物量的影响[J]. *水土保持学报*, 2011, 25(5):81-85.
- MU Ping, ZHANG En-he, WANG Han-ning, et al. Effects of continuous returning straw to maize tilth soil on chemical character and microbial biomass[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2011, 25(5):81-85.
- [20] 卜洪震, 王丽宏, 尤金成, 等. 长期施肥管理对红壤稻田土壤微生物量碳和微生物多样性的影响[J]. *中国农业科学*, 2010, 43(16):3340-3347.
- BU Hong-zhen, WANG Li-hong, YOU Jin-cheng, et al. Impact of long-term fertilization on the microbial biomass carbon and soil microbial communities in paddy red soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2010, 43(16):3340-3347.
- [21] 孙军德, 王美美, 张若溪, 等. 玉米秸秆还田对土壤微生物群落数量的影响[J]. *农业科技与装备*, 2012(4):8-10.
- SUN Jun-de, WANG Mei-mei, ZHANG Ruo-xi, et al. Maize straw returning effect on the amount of soil microbial community[J]. *Agricultural Science & Technology and Equipment*, 2012(4):8-10.
- [22] 原芩, 梅娟, 李华, 等. 不同管理措施对铝矿废弃地复垦区土壤有机碳的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2012, 31(7):1374-1380.
- YUAN Qin, MEI Juan, LI Hua, et al. Effects of different management measures on soil organic carbon of reclaimed minesoils in abandoned aluminum mining land[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2012, 31(7):1374-1380.