

不同施肥处理对长期不施肥区稻田土壤微生物生态特性的影响

张奇春, 王雪芹, 时亚南, 王光火*

(浙江大学环境与资源学院, 浙江省亚热带土壤与植物营养重点实验室, 浙江杭州 310029)

摘要: 采用室内恒温培养方法, 研究了不同施肥处理对水稻长期肥料试验中不施肥区(CK)和全肥区(NPK)土壤酶活性及微生物群落结构的变化。结果表明, 施肥处理(单施化肥、施猪粪和施秸秆)可以显著提高土壤的微生物量碳以及脲酶、酸性磷酸酶的活性, 施用有机肥的效果明显大于单施化肥; 有机肥在无肥区(CK)的施用效果与在全肥区(NPK)的效果接近。PLFA分析表明, 施肥使无肥区(CK)土壤微生物群落结构发生了显著的变化, 施用有机肥显著增加了土壤微生物群落结构的多样性。与不施肥和单施化肥相比, 施有机肥主要增加了细菌和真菌的特征脂肪酸如不饱和脂肪酸、环状脂肪酸 $cy19:0$ 等的相对含量, 而降低了放线菌标记性脂肪酸 $10Me18:0$ 的相对含量。

关键词: 水稻土; 施肥; 微生物; 酶活性

中图分类号: S154.1

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2010)01-0118-06

Effects of different fertilizer treatments on ecological characteristics of microorganism in chemical fertilizer omission paddy soil

ZHANG Qi-chun, WANG Xue-qin, SHI Ya-nan, WANG Guang-huo*

(College of Environmental and Resources Science, Zhejiang University/Zhejiang Provincial Key Laboratory of Subtropic Soil and Plant Nutrition, Hangzhou 310029, China)

Abstract: The effects of different fertilizer treatments on soil ecological characteristics of microorganism of fertilizer omission plots(CK) and whole NPK plots(NPK) in a long-term fertilization experiment for rice were investigated. The results show the soil enzyme activity and microbial biomass C were significantly increased under the fertilization, and organic manure has much larger effect than that of the pure chemical fertilizers(CF). The application of organic manure in the CK soil and the NPK soil has similar effect on enzyme activity and microbial biomass C. The results of PLFAs show the composition of the microbial community of the CK soil is changed by different organic fertilization treatments. Organic manure application has substantial impact on the microbial diversity of the soil. It mainly increased the mole percentage of the PLFA biomarker unsaturated fatty acids, cyclopropane $cy19:0$ for bacteria and fungi, and reduced the $10Me18:0$ mole percentage of the PLFA for actinomycetes.

Key words: fertilization; paddy soil; microorganism; enzymatic activities

水稻施肥以氮素化肥为主, 已成为增产的重要措施之一, 有机肥的投入量很低^[1]。长期施用化肥对土壤结构产生负面效应, 从而影响土壤的物理化学性质。土壤中存在多种酶(脲酶、磷酸酶、转化酶等), 直接参与土壤的各种生物化学过程, 其活性可以间接地反映氮、磷等养分的转化与供给状况^[2]。

土壤微生物是土壤的重要组成部分, 土壤微生物群落多样性即土壤微生物群落的种类和种间差异, 包括生理功能多样性、细胞组成多样性及遗传多样性等, 对土壤化学特性的变化非常敏感, 微生物多样性指数可以作为衡量土壤质量的生物学指标^[3]。不同施肥处理会对土壤微生物活性及土壤生态环境产生

收稿日期: 2009-01-16

接受日期: 2009-04-23

基金项目: 浙江省自然科学基金(Y3080145); 浙江大学“紫金计划”; 教育部博士点基金(200803351007)资助。

作者简介: 张奇春(1977—), 女, 浙江诸暨人, 副教授, 主要从事土壤化学研究。Tel: 0571-86971957, E-mail: qzhang@zju.edu.cn

* 通讯作者 Tel: 0571-86971957, E-mail: ghwang@zjuem.zju.edu.cn

明显的影响^[4-5]。一般情况下,在不施有机肥的条件下,长期不施肥或养分不平衡供应,使稻田土壤生物多样性、微生物氮量下降和微生物量 C/N 比增加,微生物生态环境受到严重影响;重新对缺肥区施肥后,土壤的微生物生态环境将得到恢复,但有关这方面的研究报道还较少见。为此,本研究对长期肥料试验田中不施肥区土壤恢复施肥,分别施用化肥、秸秆和厩肥后,探讨不同肥料种类对土壤微生物生态环境的恢复效果,为培肥稻田土壤提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

供试土壤采自浙江省金华市石门农场的试验田。该试验田从 1998 年开始进行长期肥料定位试验,设有 CK(不施肥)和施 N、P、K 等 6 个施肥处理,每个处理 3 次重复。经过 7 年连续双季稻种植,各处理土壤的 N、P、K 养分供应能力出现了明显差异:长期不施肥区的稻谷产量只相当于 NPK 全肥区的 55%,土壤微生物活性显著下降^[6]。

本试验于 2004 年晚稻收获后采集 CK 区(3 个重复)和 NPK 区(3 个重复)0—20 cm 耕层土样,混合后,进行培养试验。供试的 CK 区和 NPK 区土壤的 pH 分别为 4.87 和 4.75,交换性 K 为 31.8 和 52.6 mg/kg, Olsen P 为 4.5 和 14.9 mg/kg。

施肥处理土壤微生物试验称取 CK 区和 NPK 区土壤 500 g,分别设:不施肥(-F)、NPK 化肥(CF)、秸秆(RS)和猪粪(PM)4 个处理,进行培养试验,重复 3 次。氮、磷、钾化肥用量分别为 N 89 mg/kg(尿素),P 22 mg/kg(磷酸二氢钙),K 67 mg/kg(氯化钾)相当于施 N 200, P 50, K 150 kg/hm²(按土重约为 2250 t/hm²计);秸秆为粉碎的水稻秸秆,用量为 10 g/kg;猪粪用量 4.3 g/kg。各处理为等养分量,秸秆和厩肥处理 N、P、K 不足部分别用化肥补足。肥料与土壤充分混匀后,置于塑料烧杯中在 25℃ 下淹水培养 9 周。定期用特制的注射器多点采样,制成混合土样用于土壤酶活性、微生物量碳和微生物多样性分析。

1.2 测定项目与方法

1.2.1 土壤酶活性测定 分别于培养后第 2、5、9 周采集土样,调节土壤含水量为 20%~25%。用苯酚钠比色法测定土壤脲酶,磷酸苯二钠比色法测定酸性磷酸酶活性^[7]。

1.2.2 土壤微生物生物量和可培养微生物种群数

量测定 在预定培养期采取土壤,土壤微生物量碳(Cmic)采用氯仿熏蒸浸提法^[8],提取液中碳采用总有机碳自动分析仪(Aanalytik Jena Multi N/C 3000,德国耶拿)测定。土壤可培养微生物数量测定采用稀释平板法分离计数,细菌用牛肉膏-蛋白胨培养基,真菌用马丁氏培养基,放线菌用改良高氏 1 号培养基^[9]。

1.2.3 土壤微生物群落结构多样性 采用磷脂脂肪酸分析法(PLFA)测定土壤微生物群落结构多样性^[10]。将采集的新鲜土样在 -20℃ 下冷冻干燥后过 0.15 mm 筛,称取 2.0 g 于试管内,用氯仿-甲醇-柠檬酸缓冲液(体积比 1:2:0.8)振荡提取脂类,通过硅胶柱层析分离得到磷酸酯脂肪酸,碱性甲酯化后用气相色谱分析各种脂肪酸的含量。其中,*i*18:3 ω 6c 作为真菌的特征脂肪酸^[11],*i*15:0,*a*15:0,*i*15:0,*i*16:0,*i*17:0,*cy*17:0 和 *cy*19:0 作为细菌的标记性脂肪酸^[10],*i*10Me18:0 作为放线菌的标记性脂肪酸^[12]。

2 结果与讨论

2.1 不同施肥处理对土壤酶活性的影响

脲酶是一种酰胺酶,存在于大多数细菌、真菌和高等植物里。它能促使有机物分子中的酰胺键水解,水解的最终产物为氨和二氧化碳。因此,脲酶的活性可反映土壤有机氮向有效态氮的转化能力和土壤无机氮的供应能力^[13]。土壤脲酶活性对不同施肥处理的反应(表 1)看出,在培养 5 周时不施肥处理(-F)的脲酶活性,NPK 土壤比 CK 土高,这可能与 NPK 土供 N 能力高有关,但这要淹水培养 5 周才能明显表现出来。施肥可以使 CK 土的脲酶活性达到甚至超过 NPK 土不施肥处理的水平,其中施有机肥要比单施化肥效果好。事实上,施肥都会使土壤的酶活性得到不同程度的提高,其中有机肥处理(PM、RS)土壤的脲酶活性要明显高于无机肥处理(CF)。与猪粪相比,水稻秸秆能在培养中后期使土壤酶维持在较高水平,可能与水稻秸秆有机碳总量高于猪粪有关。在培养前期猪粪处理土壤的脲酶活性较高可能与猪粪中含有较高的脲酶有关^[14]。

土壤磷酸酶是催化土壤中磷酸单酯和磷酸二酯水解的酶,它能将有机磷酯水解为无机磷酸,其活性的高低直接影响着土壤中有机磷的分解转化和生物有效性^[15]。土壤有机磷的矿化动态取决于磷酸酶的作用和活性,而土壤有机磷又能通过诱导作用提高土壤磷酸酶活性。表 1 表明,不施肥处理,NPK 土的酸性磷酸酶活性比 CK 土高。与脲酶相似,施肥

使土壤磷酸酶活性得到了不同程度的提高,其中有有机肥处理大于无机肥处理。以培养第5周CK土为例,与不施肥处理相比,CF处理的酸性磷酸酶活性上升了14.10%,PM处理上升了46.86%,RS处理上升了37.52%;与秸秆相比,猪粪对酸性磷酸酶的影响略大,但未达到统计显著性。施肥处理也使CK

土的酸性磷酸酶活性与NPK土接近。在本试验中,脲酶和酸性磷酸酶之间存在着极显著的相关性($r = 0.554^{**}$)表明土壤脲酶和酸性磷酸酶活性可能与土壤养分状况,特别是易矿化态有机养分紧密相关,值得深入研究。

表1 不同施肥处理下土壤脲酶活性

Table 1 The urease activity in different fertilizer treatments

土壤 Soil	处理 Treatment	土壤脲酶活性 (mg/g) Urease activity			土壤酸性磷酸酶活性 (mg/g) Acid phosphatase activity		
		第2周 2nd week	第5周 5th week	第9周 9th week	第2周 2nd week	第5周 5th week	第9周 9th week
		CK	- F	1.86 d	3.74 c	1.20 d	4.96 c
	CF	2.13 c	3.93 b	1.36 c	5.63 b	5.99 b	5.27 b
	PM	2.57 a	4.05 b	1.79 b	6.45 a	7.71 a	7.08 a
	RS	2.02 b	4.48 a	1.91 a	6.14 a	7.22 a	6.99 a
NPK	- F	1.77 d	3.91 d	1.60 d	5.18 c	5.54 c	5.08 d
	CF	2.11 c	4.57 c	1.88 c	5.85 b	6.37 b	5.63 c
	PM	2.73 a	4.86 b	2.11 b	6.50 a	8.00 a	6.57 b
	RS	2.13 b	5.03 a	2.41 a	7.02 a	8.18 a	7.07 a

注 (Note): 同列数据不同字母表示差异达到5%显著水平 Values followed by different letters in the same column mean significant at 5% level.

2.2 不同施肥处理对土壤微生物量的影响

土壤微生物量可用微生物生物量碳或氮表征,土壤微生物量碳是土壤有机碳中活性最高的成分,常用来指示土壤肥力状况^[16]。图1看出,施肥处理使土壤的微生物量碳显著增加,PM和RS处理的效果明显高于CF处理。从培养期间微生物量碳的变化趋势看,表现出先升高后降低,而后达到平衡。不施肥处理,土壤微生物量碳在培养期间变化很小,在第2周达到一个很低的峰值。CF处理峰值在第4周出现,而PM与RS处理的峰值在第6周才出现。

相对于无机肥,有机肥不仅效果较好,而且比较持久。这与 McGill 等^[17]报道的施有机肥的土壤中有有机碳的生物有效性较高,而且有机物料为微生物提供了充足的碳源、氮源、无机盐等营养物质,促使土壤微生物大量生长和繁殖的结论一致。在不施肥处理(-F),NPK土的微生物量碳要明显高于CK土,说明长期不平衡施肥使CK土微生物生物量碳明显减少。施肥虽然显著提高了CK土的微生物量碳,但效果仍然不如NPK土相应处理的效果好。

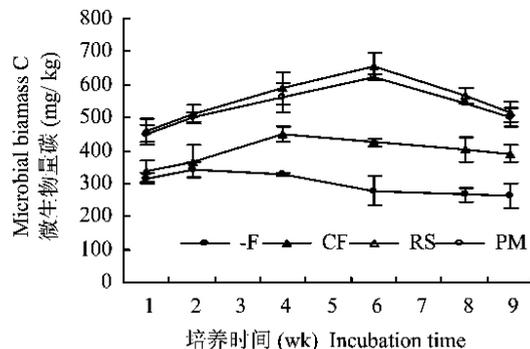
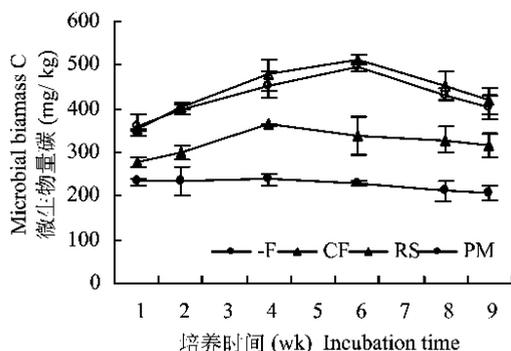


图1 不同施肥处理下土壤微生物量碳变化

Fig.1 Soil microbial biomass carbon in soils under different fertilizer treatments

2.3 不同施肥处理对土壤微生物群落结构的影响

土壤微生物群落结构是土壤微生物生态环境的重要特性。采用传统的微生物平板培养法进行土壤微生物分离,结果(表2)看出,不同施肥处理对土壤中微生物的数量有很大的影响,但CK土和NPK土之间检测到的微生物数量没有明显差异($P > 0.05$)。其中,RS和PM处理中细菌、真菌数量要明

显高于-F和CF处理;而放线菌数量却要略低于-F和CF处理,原因有待进一步研究。通过观察不同施肥处理细菌、真菌的菌落形态,发现,RS和PM处理不但在数量上占优势,而且种类相对丰富。可见,施用有机肥可以迅速提高土壤环境细菌和真菌的种类和数量,从而改善土壤的生态环境。

表2 培养期间CK土中微生物数量变化(No. $\times 10^4$ /g)

Table 2 The number of soil microorganism in the fertilization treatments during the incubation

培养时间 Incubation time	处理 Treatment	细菌 Bacteria	真菌 Fungi	放线菌 Actinomycetes	总计 Total
第2周 2nd week	-F	15.00 c	0.27 c	2.70 a	17.97 c
	CF	21.00 c	0.34 c	2.40 a	23.74 c
第5周 5th week	PM	92.00 b	4.10 a	1.90 b	98.00 b
	RS	129.00 a	2.60 b	1.50 b	133.10 a
	-F	16.00 b	0.24 b	2.80 a	19.04 b
	CF	25.00 b	0.48 b	2.90 a	28.38 b
第9周 9th week	PM	131.00 a	4.50 a	2.40 a	137.90 a
	RS	154.00 a	3.80 a	1.90 b	159.70 a
	-F	13.00 b	0.20 c	2.40 a	15.60 b
	CF	18.00 b	0.27 c	2.50 a	20.77 b
	PM	87.00 b	3.30 a	1.70 b	92.00 a
	RS	103.00 a	2.70 b	1.50 b	107.20 a

注(Note): 同列数据不同字母表示差异达到5%显著水平 Values followed by different letters in the same column mean significant at 5% level.

由于平板培养法自身选择性作用的限制,分离的微生物大约只占环境微生物总数的0.1%~10%。近年来,国内外广泛运用磷脂脂肪酸(PLFA)法来对微生物群落组成进行定量描述^[18-20]。为了表征施肥前后土壤微生物群落结构的变化,我们对CK土进行了PLFA的测定。图2表明,PLFA法检测出了从C12到C20共30种脂肪酸,各个单体磷脂脂肪酸的相对含量在不同的施肥处理中有明显的差别。与对照(-F)相比,CF、PM、RS处理土壤的磷脂脂肪酸16:1 ω 7c的相对百分含量分别增长了4.08%、15.1%和32.3%;18:2 ω 6,9c的相对百分含量分别增长了39.5%、257.6%和74%;15:1 ω 6c和17:0 3OH两种脂肪酸仅出现在施有机肥的处理中。可见,施用有机肥为这两种脂肪酸表征的微生物提供了适宜的条件,促进了这些微生物的生长。在各处理中,表征细菌的磷脂脂肪酸的相对百分含量大小呈现出RS > PM > CF > -F的规律,这与微生物量碳变化规律相同;表征真菌的特征磷脂脂肪酸的相对百分含量大小为PM > RS > CF > -F。放线菌的特征磷脂脂肪酸的相对百分含量在不施肥处理-F中

最高,在RS处理中最低,这与微生物生物量碳变化趋势正好相反(图3)。

为了进一步分析不同施肥处理对CK土微生物群落结构的影响,对各个脂肪酸的相对含量进行了主成分分析(PCA)。图4表明,第一主成分PC1对总PLFA数据变异的贡献率是39.6%,第二主成分PC2对总PLFA数据变异的贡献率是29.9%。PM和RS处理分布在主成分分析图的左侧,与PC1成反比;-F和CF处理在图的右侧,与PC1成正比。4种不同施肥处理分别位于图中4个不同的象限,表明经过不同施肥处理后土壤微生物群落结构出现了明显的差异。这种差异不仅表现在施肥与不施肥处理之间,也表现在施有机肥与施化肥及施不同有机肥处理之间。图4还可看出,-F和CF处理之间的距离比较近,说明单施化肥对微生物群落结构的影响较小。图5表明,绝大多数不饱和脂肪酸如18:1 ω 9c、18:1 ω 7c、16:1 ω 7c、16:1 ω 9c、15:1 ω 6c、18:2 ω 6,9c,环状脂肪酸cy19:0,以及反异式支链脂肪酸及异式支链脂肪酸如i14:0、i15:0、a15:0,基本上都分布在载荷图的左侧;大多数饱和和直链脂肪酸如14:0、17:0、

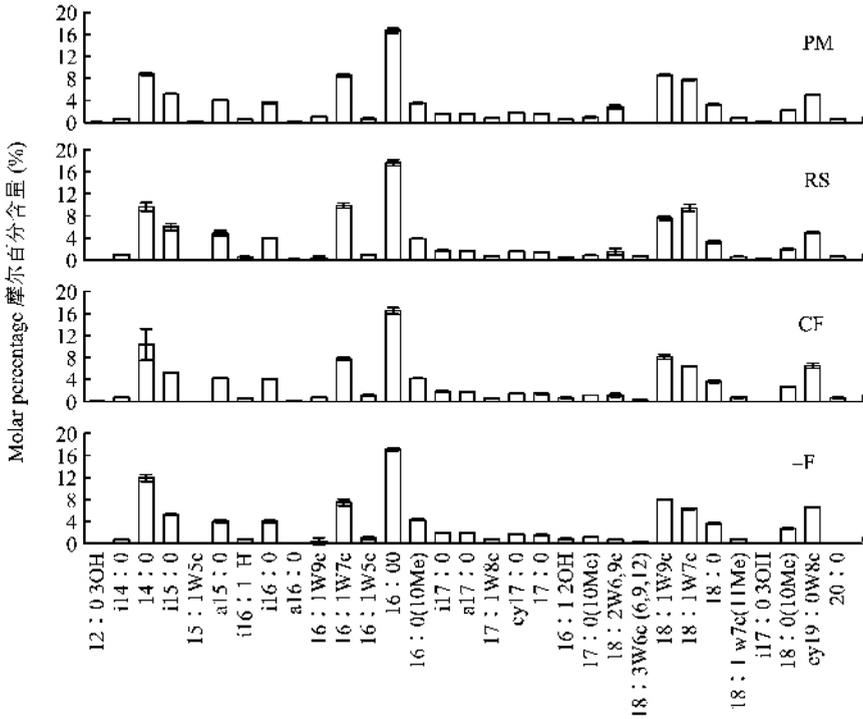


图 2 不同施肥处理下 CK 土的 PLFAs 摩尔百分比

Fig.2 Mole percentage of PLFAs of the CK soil under different fertilization treatments

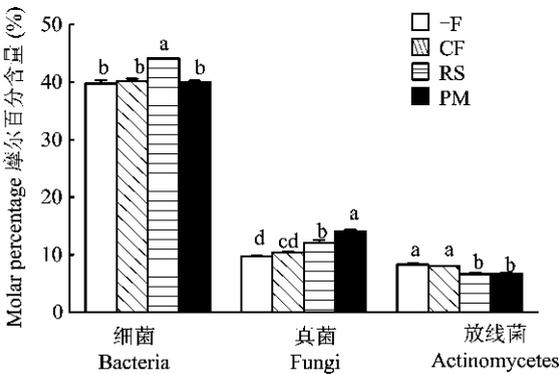


图 3 不同施肥处理土壤微生物 PLFAs 摩尔百分比

Fig.3 Mole percentage of PLFAs in three microorganisms in soil under different fertilization treatments

18:0、19:0、20:0 都分布在主成分载荷图的右侧。结合图 4 和图 5 进一步分析可知,不饱和、环状等磷脂脂肪酸在 RS 和 PM 处理土壤中含量丰富,而在 -F 和 CF 处理土壤中,构成微生物细胞膜的磷脂大多是饱和直链脂肪酸^[19,21],放线菌特征脂肪酸出现在主成分载荷图的右侧(图 5)表明放线菌数量在 -F 和 CF 中比较高。这些都说明不同的施肥处理对 CK 土微生物群落结构影响极为明显,施有机肥可以明显促进微生物群落结构的多样性。

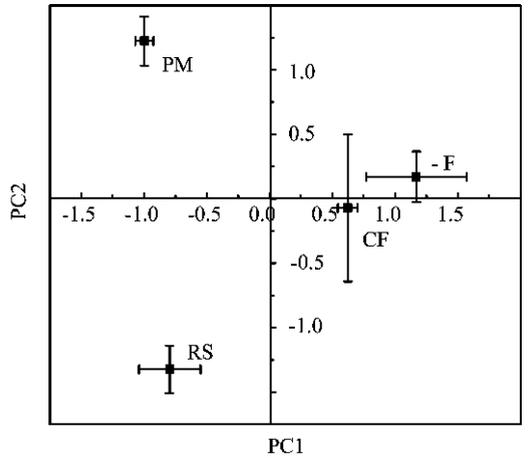


图 4 不同施肥处理下土壤磷脂脂肪酸图谱主成分分析
Fig.4 PCA showing variations in PLFA pattern in soil under different fertilizer treatments

3 结论

1) 对水稻长期肥料试验中不施肥区恢复施肥,可以显著提高土壤的微生物量碳以及脲酶、酸性磷酸酶的活性,施用有机肥的效果明显大于单施化肥。在本试验的较短培养期内,对长期无肥区施用有机肥的效果似乎与 NPK 全肥区的效果接近,说明施用有机肥对于快速改善贫瘠土壤的生态环境有重要作用。

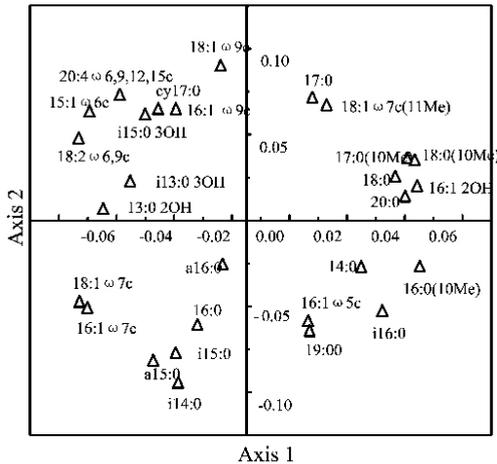


图 5 单个磷脂脂肪酸主成分载荷值

Fig.5 PCA showing loading values for individual PLFAs

2) 施用有机肥可以显著增加长期不施肥区土壤微生物群落结构的多样性。与不施肥和单施化肥相比, 施有机肥主要增加了细菌和真菌的特征脂肪酸如不饱和脂肪酸、环状脂肪酸 $cy19:0$ 等的相对含量, 降低了放线菌标记性脂肪酸 $10Me18:0$ 的相对含量。

3) 本文结果为短期培养试验的结果, 可能与田间的实际情况有较大差距, 有必要在温室盆栽和田间条件下开展更加深入的研究。

参考文献:

- [1] 杜森, 马常宝, 高祥照, 等. 我国水稻施肥现状和特征(二)[J]. 中国农技推广, 2004(4): 52.
Du S, Ma C B, Gao X Z *et al.* The status and characteristic of fertilizer in rice field of China[J]. China Agric. Tech. Ext., 2004, (4): 52.
- [2] 孙瑞莲, 赵秉强, 朱鲁生, 等. 长期定位施肥对土壤酶活性的影响及其调控土壤肥力的作用[J]. 植物营养与肥料学报, 2003, 9(4): 406-410.
Sun R L, Zhao B Q, Zhu L S *et al.* Effects of long-term fertilization on soil enzyme activities and its role in adjusting controlling soil fertility[J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2003, 9(4): 406-410.
- [3] Baubus J, Khanna P K. Carbon and nitrogen turnover in two acid forest soils of southeast Australia as affected by phosphorus addition and drying and rewetting[J]. Biol. Fert. soils, 1994, 17: 212-218.
- [4] Zhang Q C, Wang G H. Studies on nutrient uptake of rice and characteristics of soil microorganisms in a long-term fertilization experiments for irrigated rice[J]. J. Zhejiang Univ. Sci., 2005, 6B(2): 147-154.
- [5] Zhang Q C, Wang G H, Yao H Y *et al.* Influence of different fertilizer on paddy soil microbial community structure analyzed by PLFA pattern[J]. J. Environ. Sci., 2007, 19(1): 55-59.
- [6] 张奇春, 王光火. 长期不同施肥下杂交稻与常规稻的产量与土壤养分平衡[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(3): 340-345.
Zhang Q C, Wang G H. Yield of inbred rice and hybrid rice and soil nutrient balance under long-term fertilization[J]. Plant Nutr. Fert.

Sci., 2006, 12(3): 340-345.

- [7] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
Guan S Y. Soil enzyme and its methods of research[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1986.
- [8] Bookes P C, Andrea L, Pruden G *et al.* Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial nitrogen in soil[J]. Soil Biol. Biochem., 1985, 12(6): 837-842.
- [9] 李阜棣, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.
Li F L, Yu Z N, He S J. Assay technology of agricultural microbiology[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1996.
- [10] Frostegård Å, Tunlid A, Bååth F. Phospholipid fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from two soil types experimentally exposed to different heavy metals[M]. Appl. Environ. Microbiol., 1993, 59(11): 3605-3617.
- [11] Federle T W. Microbial distribution in soil-new techniques[A]. Megasar F, Gantar M (eds) Perspectives in microbial ecology[M]. Ljubljana: Slovene Society for Microbiology, 1986. 493-498.
- [12] Francisco J, Calderon L E, Jackson K M *et al.* Microbial responses to simulated tillage in cultivated and uncultivated soils[J]. Soil Biol. Biochem., 2000, 32: 1547-1559.
- [13] 张为政, 祝廷成. 作物茬口对土壤酶活性和微生物的影响[J]. 土壤肥料, 1993(5): 12-14.
Zhang W Z, Zhu T C. Effects of crop stubble on soil enzyme activities and microbes[J]. Soil Fert. Sci. China, 1993, (5): 12-14.
- [14] 关松荫. 土壤酶活性影响因子的研究 I. 有机肥料对土壤中酶活性及氮磷转化的影响[J]. 土壤学报, 1989, 26(1): 72-78.
Guan S Y. Study on the impact factor of soil enzyme activity[J]. Acta Pedol. Sin., 1989, 26(1): 72-78.
- [15] 程国华, 郭树凡, 薛景珍. 长期施用氯化肥对土壤酶活性的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 1994, 25(4): 360-365.
Cheng G H, Guo S F, Xue J Z *et al.* Effect of the long term application of chloride-containing fertilizers on the activities of enzymes in soil[J]. J. Shenyang Agric. Univ., 1994, 25(4): 360-365.
- [16] 苏永春, 勾影波, 王立新. 农田土壤动物和微生物与生物化学动态关系的研究[J]. 生态学杂志, 2004, 23(3): 134-137.
Su Y C, Gou Y B, Wang L S. Relationship between soil fauna and microorganisms and the development of biochemistry characters in farmlands[J]. Chin. J. Ecol., 2004, 23(3): 134-137.
- [17] McGill W B, Cannon K R, Robertson J A *et al.* Dynamics of soil microbial biomass and water soluble organic carbon in Breton after 50 years of cropping to two rotations[J]. Can. J. Soil Sci., 1986, 66: 1-19.
- [18] Ibekwe A M, Kennedy A C. Fatty acid methyl ester (FAME) profiles as a tool to investigate community structure of two agricultural soils[J]. Plant Soil, 1999, 206: 151-161.
- [19] Larkin R. Characterization of soil microbial communities under different potato cropping systems by microbial population dynamics, substrate utilization, and fatty acid profiles[J]. Soil Biol. Biochem., 2003, 35(11): 1451-1466.
- [20] Yao H, He Z, Wilson M I *et al.* Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use[J]. Microb. Ecol., 2000, 40: 223-237.
- [21] Schutter M E, Fuhrmann J J. Soil microbial community response to fly ash amendment as revealed by analyses of whole soils and bacterial isolates[J]. Soil Biol. Biochem., 2001, 33(14): 1947-1958.