曹志平,李德鹏,韩雪梅.土壤食物网中的真菌/细菌比率及测定方法.生态学报 2011 31(16):4741-4748. Cao Z P, Li D P, Han X M. The fungal to bacterial ratio in soil food webs, and its measurement. Acta Ecologica Sinica 2011 31(16):4741-4748.

# 土壤食物网中的真菌 / 细菌比率及测定方法

## 曹志平\*,李德鹏,韩雪梅

(中国农业大学资源与环境学院生态系 北京 100193)

摘要: 土壤食物网对有机质的分解有两条途径,即真菌途径和细菌途径。在不同的土壤生态系统中,由于提供能源的有机物其 分解的难易程度不同,这两条途径所起的作用也不同。以细菌分解途径为主导的土壤,有机质降解快,氮矿化率高,有利于养 分供应。以真菌途径为主的土壤,氮和能量转化比较缓慢,有利于有机质存贮和氮的固持。因此,土壤食物网的细菌/真菌比 率,反映了整个土壤食物网的结构和功能对不同土壤条件的响应。细菌/真菌比率的常规测定方法有显微镜计数法,选择性 呼吸抑制法,麦角甾醇法,氨基葡萄糖/胞壁酸法等。磷酸脂肪酸分析法(PLFA)是一种测定微生物群落结构的新方法,所测定 的真菌和细菌脂肪酸分子团相对量(摩尔浓度)是一个有用的指标,但由于真菌与细菌的细胞个体存在很大差异,要把它换算 成真菌与细菌生物量碳的绝对比例,还存在一定困难。对土壤条件和整个食物网结构的了解有助于确定有关转换参数。 关键词: 土壤食物网; 真菌/细菌比率; 磷酸脂肪酸分析法(PLFA)

## The fungal to bacterial ratio in soil food webs , and its measurement

CAO Zhiping\*, LI Depeng, HAN Xuemei

Department of Ecology and Ecological Engineering, College of Resources and Environmental Science, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: Two pathways, fungal and bacterial, are key to organic matter decomposition and nitrogen mineralization in soil. These have different decomposition rates and efficiencies , and play differing roles across a broad range of soil ecosystems. In bacterial-dominated soils , bacteria increase rates of organic matter decomposition and nutrient mineralization; enhancing nutrient provision. In fungal-dominated soils, fungi lower the conversion rate of nutrients and energy; enhancing organic matter storage and nutrient retention. The fungal-bacterial ratio indicates the structural and functional responses of soil food webs to land use types and soil textural conditions. Four main approaches for the measurement of the fungal-bacterial ratio can be distinguished: 1), direct observation via microscopy; 2), culturing involving selective inhibition of bacteria or fungi; 3) , measurement of fungal ergosterol; and 4) , measurement of fungal glucosamine and bacterial muramic acid. For the same or similar ecosystems, reported fungal biomass varies widely between different data sets obtained using different approaches for measurement; suggesting that reliable estimation is a key issue. Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis provides a new approach to the study of microbial community structure. Although bacterial and fungal PLFA levels in the soil (ug nmol<sup>-1</sup>) are a useful quantitative indicator, it is very difficult to convert PLFA ratios into carbon biomass ratios, due to the widely varying sizes of fungal cells. For any given PLFA level, the fungal contribution is higher than the bacterial in terms of biomass. Research into biogeochemical organic carbon cycles, suggests that biological mineralization by soil microorganisms is very important. If the fungal-bacterial ratio obtained from PLFA measurement could be converted into biomass, then fungal and bacterial carbon mineralization rates could be distinguished and calculated to determine the influence of each decomposition pathway on carbon flow. Ratios of fungal biomass C to PLFA concentration vary greatly (42-366 C/PLFA µg/nmol), and require appropriate testing. In an experimental site on the North China Plain spring

基金项目:国家自然科学基金项目(30970536);北京市生态学重点学科项目资助(XK10019440)

收稿日期:2010-08-11; 修订日期:2011-02-14

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhipingc@ cau. edu. cn

and autumn soil was sampled under a winter wheat and summer maize rotation agroecosystem. Total microbial biomass (carbon) and PLFA were measured. Initially, we compared microbial biomass with total PLFA concentration; determining that 11.3 was a reasonable multiplier for the conversion of total PLFA to biomass. To convert fungal PLFA to biomass, we used 42 as a multiplier. We considered bacterial biomass the margin between total microbial biomass and fungal biomass. Using this approach, we found that the fungal-bacterial ratio was consistent with that indicated by soil fauna indices, including 1), abundance of bacteria-eating protozoa, 2), ratio of fungus-eating nematodes to bacteria-eating nematodes, and 3), abundance of fungus-eating mites. Further research into the use of this ratio will be summarized in our next paper.

Key Words: soil food web; fungal bacterial ratio; PLFA; land use

土壤食物网是土壤生物的复杂集合体,是土壤生态系统功能的生物学基础。对土壤食物网的前沿研究主要在连通网、能流网和功能网3个层次上进行,可以分别采用静态模型,取食率和碳氮矿化率,以及功能群之间相互作用强度等指标来进行定量研究。土壤食物网中的真菌/细菌比率,因其特定的生态学含义,以及对土地利用变化的指示作用,越来越受到土壤生态学界的关注,其测定方法也处于不断探索之中。

1 土壤食物网结构

土壤食物网的基本单位为功能群,功能群的划分主要基于食物源、取食方式、生活史策略和分布模式<sup>[1]</sup>, 每个功能群代表了一个物质和能量循环的特殊组成成分,功能群的损失意味着生态系统某一功能的损失。

土壤食物网可以分为5个营养级,I级是碎屑和根系;Ⅱ级是初级分解者和植食者(细菌、腐生真菌、植 食性线虫);Ⅲ级是食细菌者和食真菌者,如弹尾目、食真菌线虫和螨类、鞭毛虫、肉足虫、食细菌螨类和线虫; Ⅳ级是中间捕食者,如捕食性线虫和食线虫螨;Ⅴ级是顶级捕食者,包括捕食性弹尾目和捕食性螨类<sup>[2]</sup>。见 图1。



图1 荷兰 Lovinkhoeven 试验地综合农业管理模式下冬小麦土壤碎屑食物网模型<sup>[2]</sup>

Fig. 1 Soil food web of the Lovinkhoeve Experimental Farm, Netherlands (winter wheat, integrated plot)<sup>[2]</sup> 虚线表示没有量化潜在的取食关系, I - V 代表营养位

食物网结构对土壤生态过程产生了显著影响。真菌和细菌是食物网的基础,占土壤食物网生物量的绝大部分。土壤微生物是植物能够有效利用的有机质动态库<sup>[3]</sup>,约占土壤有机质含量的1%—5%<sup>[4]</sup>。真菌生物

量占微生物总量的比率在不同土壤中有所变化,在35%—76%之间<sup>[5]</sup>。不同季节,细菌和真菌功能群内部的 结构多样性也有可能发生变化,生态功能相似而种类不同的微生物相互补充。功能群的变化主要受食物资源 的影响,而个体物种的变化则多受环境变化的影响,如温、湿度。细菌依靠土壤水膜生存,而真菌可以生活在 水膜中也可以生活在气孔中<sup>[6]</sup>。所以,农业措施通过改变土壤水分状况,也能影响到真菌和细菌的生物量。

2 真菌途径和细菌途径

土壤食物网能量的主要来源是土壤中的碎屑<sup>[27]</sup>,它们作为细菌和真菌的分解底物给食物网提供能量。 土壤食物网的变异很大程度上取决于碎屑的质地,即有机物的组成成分<sup>[8]</sup>。由于有机物分解的难易程度不 同,土壤中的分解途径分为真菌和细菌二条途径。真菌途径由真菌和食真菌生物组成。细菌途径由细菌和食 细菌生物组成。

真菌途径为慢周转方式,多存在于酸性土壤中,偏好低营养、难分解以及高碳氮比的有机物,底物循环时间相对较长<sup>[9]</sup>。在最优条件下,真菌完成它的生活周期需要4—8 h,1 个生长季节内,仅有75%的生物量可以周转。食真菌节肢动物需要2—3 个月才能完成生活周期,1 个生长季节内周转2—3 次<sup>[6,10]</sup>。与细菌相比,真菌能够更为有效的利用有机物质,能够分解有机物中难以分解的纤维素和木质素。因此,同样数量的有机质,能够产出更高的真菌生物量。这种优势在低氮条件下更加明显<sup>[11-12]</sup>。大多数研究表明,与细菌相比,真菌菌丝是不易被分解的微生物<sup>[13]</sup>。因此,菌丝对土壤团聚体形成的贡献更为显著<sup>[14]</sup>。正是这个原因,增加真菌生物量可能是提高土壤碳沉积的重要方式<sup>[15-16]</sup>。

细菌途径主要发生在营养丰富的土壤中。这些土壤富含容易分解的有机质,有较快的碳周转和营养循环 速度<sup>[17-18]</sup>。单个细菌,在 20min 以内就可以完成它的生活周期。大田数据表明,1 个生长季节内,1 g 细菌生 物量可以周转 2—3 次。原生动物作为细菌的初级消费者,能够在4 h 内完成生活周期,一个生长季节内可以 周转 10 次<sup>[6,10]</sup>。与真菌相比,细菌对有机质的利用效率较低<sup>[11-12]</sup>。自然生态系统和农业生态系统中,细菌对 氮的利用方式有所不同。在针叶林 C/N 相对较高的有机质层,氮被细菌固定,随后又被土壤动物(肉足虫、线 虫、微节肢动物和线蚓)取食得到释放<sup>[19-20]</sup>。而在农业和草地土壤中,细菌对氮完全矿化,从而有利于植物的 吸收<sup>[10,21]</sup>。这体现了森林和农业土壤食物网分解过程的不同。分解者对森林(相对稳定和不易分解的有机 质)和农业土壤(严重扰动和高输入养分)中不同的环境有着不同的适应性<sup>[20]</sup>。

3 碳氮矿化率与真菌/细菌比率

研究土壤食物网的目标之一是为了理解土壤生物群落对有机质分解和营养循环过程的影响,而分解过程 的本质是碳氮流动。各功能群生物量占土壤食物网总生物量的比例将影响食物网的碳氮矿化率特征<sup>[22]</sup>。食 物网内的能量流动过程可以用矿化模型来评估<sup>[10]</sup>。模型的中心假设为,每一功能群生物量在一定的时间内 为一个常量。根据各功能群的生物量 *B<sub>j</sub>*、同化效率 *a<sub>j</sub>、*生产率 *p<sub>j</sub>*和自然死亡率 *d<sub>j</sub>*,可以计算出某一功能群 *j* 对 所有猎物的总摄食率 *Fj*。然后根据捕食者和被捕食者的碳氮比,以及功能群数目,就可以计算出各个功能群 的碳氮矿化率<sup>[23]</sup>。

由此可见,要计算土壤食物网的碳氮矿化率,首先必须得到各功能群的生物量这一基本数据,然后才能 在此基础上 根据它们各自的生理参数计算出各功能类群的碳氮矿化率。土壤动物各功能群的生物量通过传 统的分类方法一般都能计算出来。例如 线虫、螨、弹尾目都可以直接分类到科、属,然后再归入功能群。原生 动物通过培养,也可以用最大或然法计算出鞭毛虫、肉足虫和纤毛虫的生物量。相对来说,细菌和真菌的生物 量一直很难计算。可以用氯仿熏蒸法测定微生物生物量总碳或总氮,但要测定微生物群落中真菌和细菌的相 对量,也就是真菌/细菌比率,却不容易。但这一比率又是一个关键数据,不仅要据此来计算出真菌和细菌各 自的生物量,还要据此来计算出真菌途径和细菌途径上总的碳氮矿化率。因此,对真菌/细菌比率的测定,一 直是土壤生物学家们关注的热点和努力攻克的难关。

4 真菌/细菌比率的常规测定方法

用于测定土壤微生物真菌/细菌比率的常规方法主要有显微镜计数法、选择性呼吸抑制法 测定真菌的麦

角甾醇法、和氨基葡萄糖/胞壁酸法。

(1) 显微镜计数法

这是过去几十年来最常用的方法,将真菌或细菌经荧光染色剂处理以后,直接在显微镜下计数。再根据 细菌的大小(面积)和真菌的长度、宽度来计算生物量<sup>[24]</sup>。20世纪80代以来,最常用的荧光染色剂有钙荧光 白(calcofluor white,CW), 吖啶橙(acridine orange,AO),二乙酸荧光素(fluorescein diacetate,FDA),异硫氰酸 荧光素(fluorescein isothiocyanate,FITC)。吖啶橙和异硫氰酸荧光素是细菌染色剂。钙荧光白和二乙酸荧光 素是真菌染色剂。

用不同染色方法获得的真菌占微生物生物总量的值差异很大,在30%—60%之间。Joergensen和 Wichern<sup>[5]</sup>2008年对22篇参考文献中的972个样本的观察结果进行分析和加权平均,得出真菌占微生物总生 物量的平均值,在农田为37%, 草地为35%,森林为47%, 枯枝落叶层为64%。在4种常规方法中,用直接计 数法获得的真菌生物量比例是最低的。

(2) 选择性呼吸抑制法

这一方法用葡萄糖作为底物,诱导微生物的呼吸,然后用抗生素选择性的抑制细菌或真菌的呼吸,分别计 算它们被抑制的呼吸强度,得到真菌与细菌的比率<sup>[25]</sup>。目前应用得最广的抑制剂是放线(菌)酮——用来抑 制真菌呼吸,和链霉素——用来抑制细菌呼吸。

不同的土壤由于其微生物生物量和群落结构上的差异,对加入底物的反应不同。有研究测出只有 54% 的土壤微生物对葡萄糖的诱导比较敏感<sup>[26]</sup>。另外,抑制剂对微生物呼吸的抑制也不完全。放线菌酮和链霉 素同时存在时,诱导呼吸量仅降低了约 50%,另外约有 50%的诱导呼吸不被抗生素所抑制<sup>[24]</sup>。放线菌酮呈 中性,被土壤吸附的能力较弱,而链霉素呈碱性,能够被土壤强烈吸附。由于这些原因,用选择性呼吸抑制法 测得的真菌/细菌生物量比率变异很大。Joergensen 和 Wichern<sup>[5]</sup>对 29 篇参考文献中 672 个样本的观察结果 进行分析和加权平均,发现这一方法测得的真菌占微生物总生物量的平均值在农田和草地都是 61%,在森林 和枯枝落叶层分别是 61% 和 68%。这一结果与常识不符。在农田,由于翻耕和施肥,真菌的生物量比例应 该比草原低。所以这一方法最好与其他方法结合起来使用,相互验证。

(3) 麦角甾醇法

麦角甾醇是真菌细胞膜上最主要的甾醇物质,出现在具有菌丝的高等真菌中。除了极少数微型藻类,植物和细菌都不含有麦角甾醇。由于这一特异性,在过去 20a 中,麦角甾醇一直被用来作为土壤真菌的标记物,通过测定土壤麦角甾醇含量来估算真菌生物量<sup>[27-31]</sup>。

关于麦角甾醇的提取方法很多,主要有3种:直接浸提法、浸提-皂化法和超临界流动法<sup>[24]</sup>。常用的浸提 剂有甲醇、乙醇、乙烷等有机溶剂。还有其他物理方法(如超声波和微波辐射)被用来提高麦角甾醇的提取 率。从真菌中提取出来的麦角甾醇过滤后,用高效液相色谱仪来测定其含量,再通过经验公式换算出真菌的 生物量碳<sup>[32]</sup>。

土壤麦角甾醇含量作为真菌生物量的指标的首要条件是,土壤真菌生物量中麦角甾醇浓度不随真菌种 类、活性、生长繁殖条件而变化;真菌死亡后其细胞内的麦角甾醇被迅速分解,使测得的麦角甾醇全部来自活 体真菌。但已有研究表明,某些真菌(如某些广泛存在的丛枝菌根真菌)不含麦角甾醇,在这种情况下,麦角 甾醇法不能把它们的生物量测定出来。另外,麦角甾醇有可能在某些死亡的真菌细胞中累积一段时间。在这 种情况下测出的真菌生物量有可能超过微生物的总生物量<sup>[33-34]</sup>。

(4) 氨基葡萄糖/胞壁酸法

真菌的细胞壁富含几丁质,因为几丁质对真菌的生长及其功能具有特殊的重要意义。几丁质的水解产物 是 2-氨基-D-葡萄糖。而细菌和土壤动物所含的氨基糖很少,基本可以忽略。胞壁酸主要存在于细菌的细胞 壁中,特别是在革兰氏阳性细菌中的含量比较高,达到 13.9mg/g;在革兰氏阴性细菌中的含量比较低,只有 3.79 mg/g<sup>[35]</sup>。氨基葡萄糖和胞壁酸用水解法来从土壤中浸提(HCI或 NaOH),然后通过高效液相色谱议来

31 卷

测定其含量。

在实验室条件下培养的真菌其氨基葡萄糖的含量相当稳定。所以,用氨基葡萄糖和胞壁酸来估算细菌和 真菌生物量的方法 在研究新鲜有机质的微生物群落时 其优势比较突出 因为其结果尚未受到微生物残体的 影响。如果微生物群落存在的时间较长 这两种物质作为微生物的残体 容易在十壤有机质中积累 从而影响 对现存活体真菌和细菌的估算。

Joergensen 和 Wichern<sup>[5]</sup>对 26 篇参考文献中的 508 个样本的观察结果进行分析和加权平均 ,发现真菌占 微生物总生物量的平均值在农田、草原、森林和枯枝落叶层中的含量分别是 75%、68%、70% 和 76%。 可见用 该方法得出的不同生态系统中真菌含量值很接近,有可能掩盖了一些不同生态系统之间的差异。

以目前已经发表的研究结果来看,真菌在几乎所有土壤微生物群落中占据优势地位。上文所提到的几种 研究真菌/细菌比率的方法得到大致相似的结果,其中在同一生态系统类型中数据变异最大的是荧光染色标 记法 尽管有新型的染色剂 加上图像分析技术自动化 也没能降低该方法所测数据的变异幅度。所有研究真 菌/细菌比率的方法都不完美,分别有各自难以解决的缺陷。其中氨基糖法得到的结果变异范围较小。

5 真菌 / 细菌比率的 PLFA 测定方法

磷脂脂肪酸(Phospholipid fatty acids ,PLFA) 是细胞膜的主要成份。在微生物生长过程中,PLFA 迅速合 成,细胞死亡后又迅速分解。它们不会在有机质中积累。因此PLFA的总浓度能够反映土壤微生物生物量的 信息, 而 PLFA 的组成成分, 则能够反映出土壤微生物群落结构的信息。

PLFA 分析方法在过去 10a 中得到越来越广泛的应用。由于 PLFA 是只存在干活体细胞中的生物标记分 子,可以敏感地反应土壤微生物群落的变化。应用 PLFA 方法,可以分别测定出土壤微生物群落中的腐生真 菌、菌根真菌、革兰氏阳性细菌和革兰氏阴性细菌等不同的功能团 比其他测定微生物群落结构的方法具有更 大综合优势。

PLFAF 需经过一系列提取和分离的过程,最后在气像质谱议上测定不同 PLFA 分子团的浓度。与各分子 团相对应的微生物群落如表1所示。

微生物类群 Microbial group	磷脂脂肪酸分子 PLFA content	备注 Note	文献来源 Reference
真菌 Fungi	18 ÷2ω6 ,9		[36]
	18 :1ω9 ,18:3ω6		[37]
	16 :1ω5c	丛枝菌根真菌(AMF)	[38]
细菌 Bacteria	i14:0 ,i15:1	革兰氏阳性细菌	
	16 :1ω7c ,18:1ω7c ,cy19:0	革兰氏阴性细菌	[37, 39]
放线菌 Actinomycetes	$10Me16\!:\!0$ , $10Me17\!:\!0$ , $10Me18\!:\!0$		[37,39]
原生动物 Protozoa	20 :2ω9 20:3ω11		[40]

表1 磷脂脂肪酸分子对微生物群落结构的指标作用 
 Table 1
 Biomarkers of phopholipids fatty acids for microbial community structure

从上述 PLFA 分子团的相对浓度,可以计算出真菌和细菌之间 PLFA 分子的相对比例(摩尔浓度)。但 是 ,真菌与细菌的 PLFA 浓度之比率不等于真菌与细菌的生物量碳比率。真菌和细菌的个体大小存在很大差 异。真菌细胞远远大于细菌细胞 单位重量细菌的细胞膜体积远远高于于真菌细胞膜 ,所以一克细菌生物量 碳所含的 PLFA 会远远高于真菌所含的 PLFA。要将它换算成细菌与真菌生物量碳的绝对比例,即单位摩尔 浓度 PLFA 所含的生物量碳(C/PLFA(µg/nmol)) 还存在一定困难。

Bååth 和 Anderson<sup>[36]</sup> 计算了多个土壤样品的总 PLFA 量和土壤微生物量碳(用 SIR 测定) 的转换系数 得 到的平均值为 1nmol PLFA 总量相当于 5.9 μg 微生物生物量碳。Johansen 和 Olsson<sup>[41]</sup>用 SIR 法得到的转换 系数是 11.3。Wiemken 等<sup>[42]</sup>用荧光显微镜法得到的转换系数为 13.8。Joergensen 和 Emmerling<sup>[43]</sup>对 11 篇参 考文献的研究结果进行加权平均 得出的换算系数为 5.8。但这一系数的合理性还有待其他研究者来验证。

16:1ω5,18:2ω6,9,18:1ω9 都是真菌的 PLFA 指示分子。不同的指示分子,换算成真菌生物量碳的系数 是不一样的。以 16:1ω5 的换算系数最高,加权平均数为 366;18:2ω6,9 的换算系数次之,加权平均数为 107; 真菌 PLFA 分子总量的换算系数最低,加权平均数 42<sup>[43]</sup>。关于细菌 PLFA 分子与细菌生物量碳的换算,少有 报道。Joergensen 和 Wichern<sup>[5]</sup>认为,如果真菌 PLFA 换算成生物量碳的系数为 42,细菌的换算系数应该为 1.8(即细菌所含的 PLFA 浓度比真菌高 23 倍)。但这一推论的假说基础是,细菌体积与表面积之比要比真菌 小 23 倍。事实上,不同细菌这一比值是不同的,而且,不同细菌所含 PLFA 的比率变异也很大,如革兰氏阴性 细菌所含 PLFA 浓度比革兰氏阳性细菌高出 50%。因此,目前还没有一个看起来合理的换算系数。

理论上,可以用微生物总生物量减去真菌生物量,来获得细菌的生物量碳。但在实际应用过程中,不论采 用哪一种真菌生物量的换算系数,最后算出来的真菌生物量常常超过微生物总生物量。这就需要在真菌换算 系数和微生物总碳的换算系数之间进行反复的匹配和推算,以期求得一个比较合理的方案。如果采用某一换 算系数计算出来的真菌生物量超过了微生物总量,但其真菌/细菌比率与田间实验处理的预期结果一致,这 一换算系数仍然可以采用。只以此来求得真菌/细菌比率,剩以用氯仿熏蒸法测得的微生物生物量碳,就可 分别计算出细菌和真菌的生物量。

6 应用

已对华北平原小麦 / 玉米农作系统不同培肥条件下土壤食物网的碳氮矿化率进行了计算。也已经对食物网中的土壤酶、土壤微生物生物量<sup>[44]</sup>、原生动物<sup>[45]</sup>、线虫<sup>[46]</sup>、螨<sup>[47]</sup>进行了研究,对其食物网结构有了基本的了解。在此基础上,用 PLFA 方法对土壤微生物的群落结构进行测定<sup>[48]</sup>。

于 2006 年和 2008 年用 PLFA 方法对有机肥、化肥和不施肥条件下的土壤微生物群落结构进行了 4 次测 定。这 4 次测定的结果不完全相同,但变化趋势一致。根据这些土壤中线虫和螨群落的结构,特别是食细菌 生物和食真菌生物的比例,可以推断用什么样的转换值可能更接近于实际。经过比较,以总 PLFA 浓度乘以 转换值 11.3 得到微生物生物量 C<sup>[41]</sup>。真菌 PLFA 分子团(18:1ω9; 18:2ω6 9)的浓度,乘以转换值 42 得到真 菌生物量 C<sup>[5]</sup>。细菌生物量 C 为两者差值。根据上述计算方法,以 2006 年 9 月采样的数据为基础,获得各个 处理中真菌 / 细菌生物量碳的比例如下: 有机肥处理为 0.28/1, 化肥处理为 1.27/1, 对照为 3.35/1<sup>[47]</sup>。

为了检验这一比率是否合理,用食物网细菌途径上的食细菌者生物量除以细菌生物量,得到细菌向下 一营养级的能量转化系数。在有机肥处理、化肥处理和对照土壤中,这一系数分别为 0.018 0.014 0.02,有 较好的一致性。说明细菌的生物量估算是合理的<sup>[47]</sup>。

综上所述,真菌/细菌比率在一定程度上可指示不同施肥处理等人为活动干扰的特点,是一个综合性的土壤生态学指示。但对这个指标的测定,不同方法所测得的结果存在着差异。相对而言,PLFA 是一个有 明显优势的测定方法。但从 PLFA 分子浓度到生物量之量的换算还存在着较多的困难。

### References:

- [1] Moore J C , Walter D E , Hunt H W. Arthropod regulation of micro- and mesobiota in below-ground detrital food webs. Annual Review of Entomology , 1988 , 33: 419-435.
- [2] Moore J C, Zwetsloot H J C, De Ruiter P C. Statistical analysis and simulation modeling of the belowground food webs of two winter wheat management practices. Netherlands Journal of Agricultural Science, 1990, 38: 303–316.
- [3] Beare M H, Reddy M V, Tian G, Srivastava S C. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: The role of decomposer biota. Applied Soil Ecology, 1997, 6(1): 87–108.
- [4] Nsabimana D, Haynes R J, Wallis F M. Size, activity and catabolic diversity of the soil microbial biomass as affected by land use. Applied Soil Ecology, 2004, 26(2): 81–92.
- [5] Joergensen R G, Wichern F. Quantitative assessment of the fungal contribution to microbial tissue in soil. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40 (12): 2977–2991.
- [6] Moore J C , McCann K , De Ruiter P C. Modeling trophic pathways , nutrient cycling , and dynamic stability in soils. Pedobiologia , 2005 , 49( 6) : 499-510.

4746

- [7] Moore J C , De Ruiter P C. Temporal and spatial heterogeneity of trophic interactions with below-ground food webs. Agricultural Ecosystem and Environment, 1991, 34(1/4): 371-397.
- [8] Moore J C , Berlow E L , Coleman D C , De Ruiter P C , Dong Q , Hastings A , Johnson N C , McCann K S , Melville K , Morin P J , Nadelhoffer K , Rosemond A D , Post D M , Sabo J L , Scow K M , Vanni M J , Wall D H. Detritus , trophic dynamics and biodiversity. Ecological letters ,2004 ,7 (7): 584-600.
- [9] Blagodatskaya E V, Anderson T H. Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and qCO<sub>2</sub> of microbial communities in forest soils. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30(10/11): 1269–1274.
- [10] Hunt H W, Coleman D C, Ingham E R, Ingham R E, Eilliott E T, Moore J C, Rose S L, Reid C P P, Morlley C R. The detrital food web in a shortgrass prairie. Biology and Fertility of Soils, 1987, 3(1/2): 57-68.
- [11] Holland E A , Coleman D C. Litter placement effects on microbial and organic matter dynamics in an agroecosystem. Ecology , 1987 , 68: 425-433.
- [12] Sakamoto K, Oba Y. Effect of fungal to bacterial biomass ratio on the relationship between CO<sub>2</sub> evolution and total soil microbial biomass. Biology and Fertility of Soils, 1994, 17(1): 39-44.
- [13] Guggenberger G, Frey S D, Six J, Paustian K, Elliott E T. Bacterial and fungal cell-wall residues in conventional and no-tillage agroecosystems. Soil Science Society of America Journal, 1999, 63(5): 1188–1198.
- [14] Hu S, Coleman D C, Beare M H, Hendrix P F. Soil carbohydrates in aggrading and degrading agroecosystems: Influences of fungi and aggregates. Agriculture Ecosystems and Environment, 1995, 54(1/2): 77–88.
- [15] Bailey V L, Smith J L, Bolton H. Fungal-to-bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(7): 997–1007.
- [16] Jastrow J D, Amonette J E, Bailey V L. Mechanisms controlling soil carbon turnover and their potential application for enhancing carbon sequestration. Climatic Change ,2007, 80(1/2): 5–23.
- [17] Holtkamp R, Kardol P, van der Wal A, Dekker S C, van der Putten W H, De Ruiter P C. Soil food web structure during ecosystem development after land abandonment. Applied Soil Ecology, 2008, 39(1): 23–34.
- [18] Ingwersen J, Poll C, Streck T, Kandeler E. Micro-scale modelling of carbon turnover driven by microbial succession at a biogeochemical interface. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40(4): 864–878.
- [19] Berg M, De Ruiter P, Didden W, Janssen M, Schouten T, Verhoef H. Community food web, decomposition and nitrogen mineralisation in a stratified Scots pine forest soil. Oikos, 2001, 94(1): 130–142.
- [20] Schröter D , Wolters V , De Ruiter P C. C and N mineralisation in the decomposer food webs of a European forest transect. Oikos , 2003 , 102(2) : 294–308.
- [21] De Ruiter P C, Moore J C, Zwart K B, Bouwman L A, Hassink J, Bloem J, De Vos J A, Marinissen J C Y, Didden W A M, Lebbink G, Brussaard L. Simulation of nitrogen mineralisation in the below-ground food webs of two winter wheat fields. Journal of Applied Ecology , 1993, 30: 95–106.
- [22] Moore J C. Impact of agricultural practices on soil food web structure: Theory and application. Agriculture Ecosystems and Environment, 1994, 51 (1/2): 239-247.
- [23] Chen Y F, Cao Z P. The soil food web: structure , energy flux and stability. Acta Ecologica Sinica , 2008 , 28(10): 5055-5064.
- [24] Wu J S , Lin Q M , Huang Q Q , Xiao H A. Determination and Application of Soil Microbial Biomass. Beijing: Meteorological Press , 2006.
- [25] Anderson J , Domsch K H. Quantification of bacterial and fungal contributions to soil respiration. Archives of Microbiology , 1973 , 93 ( 2) : 113-127.
- [26] Wu W M, Thiele J H, Jain M K, Pankratz H S, Hickey R F, Zeikus J G. Comparison of rod-versus filament-type methanogenic granules: microbial population and reactor performance. Applied Microbiology and Biotechnology, 1993, 39(6): 795–803.
- [27] Chauvat M, Zaitsev A S, Wolters V. Successional changes of Collembola and soil microbiota during forest rotation. Oecologia, 2003, 137(2): 269–276.
- [28] Ekschmitt K, Bakonyi G, Bongers M, Bongers T, BoströM S, Dogan H, Harrison A, Kallimanis A, Nagy P, O'Donnell A G. Effects of the nematofauna on microbial energy and matter transformation rates in European grassland soils. Plant Soil , 1999, 212(1): 45-61.
- [29] Ekschmitt K, Klein A, Pieper B, Wolters V. Biodiversity and functioning of ecological communities Why is diversity important in some cases and unimportant in others? Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2001, 164(3): 239–246.
- [30] Ekschmitt K, Stierhof T, Dauber J, Kreimes K, Wolters V. On the quality of soil biodiversity indicators: abiotic and biotic parameters as predictors of soil faunal richness at different spatial scales. Agriculture Ecosystems and Environment, 2003, 98(1/3): 273–283.
- [31] Sonnemann I, Dogan H, Klein A, Pieper B, Ekschmitt K, Wolters V. Response of soil microflora to changes in nematode abundance evidence for large scale effects in grassland soil. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 1999, 162(4): 385–391.

- [32] Djajakirana G , Joergensen R G , Meyer B. Ergosterol and microbial biomass relationship in soil. Biology and Fertility of Soils , 1996 , 22(4): 299-304.
- [33] Smolander A, Kurka A, Kitunen V, Mälkönen E. Microbial biomass C and N, and respiratory activity in soil of repeatedly limed and N-and Pfertilized Norway spruce stands. Soil Biology and Biochemistry, 1994, 26(8): 957–962.
- [34] Joergensen R G , Scheu S. Depth gradients of microbial and chemical properties in moder soils under beech and spruce. Pedobiologia , 1999 , 43 (2): 134–144.
- [35] Appuhn A, Joergensen R G. Microbial colonisation of roots as a function of plant species. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(5): 1040-1051.
- [36] Bååth E, Anderson T H. Comparison of soil fungal/bacterial ratios in a pH gradient using physiological and PLFA-based techniques. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(7): 955-963.
- [37] Potthoff M, Steenwerth K L, Jackson L E, Drenovsky R E, Scow K M, Joergensen R G. Soil microbial community composition as affected by restoration practices in California grassland. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(7): 1851–1860.
- [38] Olsson P A, Bååth E, Jacobsen I, Söderström B. The use of phospholipid and neutral lipid fatty acids to estimate biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in soil. Mycological Research, 1995, 99(5): 623-629.
- [39] Joergensen R G, Potthoff M. Microbial reaction in activity, biomass, and community structure after long-term continuous mixing of a grassland soil. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(7): 1249–1258.
- [40] Buyer J S, Teasdale J R, Roberts D P, Zasada I A, Maul J E. Factors affecting soil microbial community structure in tomato cropping systems. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42(5): 831–841.
- [41] Johansen A, Olsson S. Using phospholipid fatty acid technique to study short-term effects of the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* DR54 on the microbial microbiota in barley rhizosphere. Microbial Ecology , 2005 , 49(2): 272-281.
- [42] Wiemken V, Ineichen K, Boller T. Development of ectomycorrhizas in model beech-spruce ecosystems on siliceous and calcareous soil: a 4-year experiment with atmospheric CO<sub>2</sub> enrichment and nitrogen fertilization. Plant and Soil, 2001, 234(1): 99–108.
- [43] Joergensen R G, Emmerling C. Methods for evaluating human impact on soil microorganisms based on their activity, biomass, and diversity in agricultural soils. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2006, 169(3): 295–309.
- [44] Hu C J. Impact of Different Fertilizer Application on Soil Microbial Activity. Beijing: China Agricultural University , 2006.
- [45] Bai Y S. Dynamic of Soil Protozoa Community in Farmland Amended with Compost and Chemical Fertilizer. Beijing: China Agricultural University, 2006.
- [46] Hu C. Nematode Community and Ecological Function in Agricultural Fields Amended with Compost and Chemical Fertilizer. Beijing: China Agricultural University, 2007.
- [47] Han X M. Soil Food Web and Community Structures of Mites and Fusarium spp. under Compost and Chemical Fertilizer. Beijing: China Agricultural University, 2010.
- [48] Li D P. Changes of soil microbial community structure and its suppression function for soil pathogens under long-term fertilizations. Beijing: China Agricultural University, 2010.

#### 参考文献:

- [23] 陈云峰,曹志平.土壤食物网:结构、能流及稳定性.生态学报,2008,28(10):5055-5064.
- [24] 吴金水,林启美,黄巧去,肖和艾编著.土壤微生物生物量测定方法及其应用.气象出版社,2006.
- [44] 胡婵娟. 不同施肥措施对土壤微生物活性的影响. 北京: 中国农业大学 ,2006.
- [45] 白娅舒. 不同施肥条件下土壤原生动物群落的动态变化. 北京: 中国农业大学, 2006.
- [46] 胡诚. 不同施肥条件下土壤线虫群落结构及其生态功能研究. 北京: 中国农业大学, 2007.
- [47] 韩雪梅.施肥对土壤食物网的影响及其螨和镰刀菌群落结构分析.北京:中国农业大学,2010.
- [48] 李德鹏.长期不同施肥措施下土壤微生物群落结构以及抑病功能的研究.北京:中国农业大学,2010.