

DOI: 10.11766/trxb201905060077

周阳, 黄旭, 赵海燕, 郑青松, 吴田乡, 梁永红, 刘清秀, 罗朝晖, 管永祥. 麦秸秆和沼液配施对水稻苗期生长和土壤微生物的调控[J]. 土壤学报, 2020, 57(2): 479–489.

ZHOU Yang, HUANG Xu, ZHAO Haiyan, ZHENG Qingsong, WU Tianxiang, LIANG Yonghong, LIU Qingxiu, LUO Zhaohui, GUAN Yongxiang. Regulation of Wheat Straw and Biogas Slurry Application on Rice Seedling Growth and Soil Microorganism[J]. Acta Pedologica Sinica, 2020, 57(2): 479–489.

麦秸秆和沼液配施对水稻苗期生长和土壤微生物的调控*

周 阳¹, 黄 旭¹, 赵海燕¹, 郑青松¹, 吴田乡^{2, 3}, 梁永红³, 刘清秀¹,
罗朝晖^{1†}, 管永祥^{2, 3†}

(1. 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095; 2. 江苏省农业技术推广总站, 南京 210036; 3. 江苏省耕地质量与农业环境保护站, 南京 210036)

摘 要: 研究了等量氮素肥料处理下小麦秸秆全量还田结合化肥 (S-CF)、小麦秸秆全量还田结合沼液 (S-BS) 和全量化肥 (CF) 处理对水稻幼苗生长、氮磷积累及土壤微生物群落的影响。结果表明, 不同施肥处理的水稻幼苗生长明显被促进, 其中 CF 处理的促进效果最好, 其次是 S-BS 处理。S-BS 处理的水稻叶片可溶性糖含量明显高于其他施肥处理, 其叶片含氮量也明显高于 CF 处理。CF 处理的土壤细菌总量明显高于 S-BS 处理, 而 S-BS 处理的土壤细菌总量均显著高于对照 (CK, 不施肥) 和 S-CF 处理; 其中 CF 处理变形菌门细菌相对丰度显著高于其他处理。而 CK 和 S-CF 处理的真菌总量明显高于 S-BS 和 CF 处理, S-BS 处理的真菌总量最低, 其中, CK 土壤优势真菌子囊菌门、担子菌门的相对丰度显著高于其他处理, S-CF 处理土壤的壶菌门真菌相对丰度也显著高于其他处理。S-CF 和 S-BS 处理的细菌 Chao1 丰富度指数和香农 (Shannon) 多样性指数要明显高于 CF 处理和 CK, 而 S-CF 处理的土壤真菌的 Chao1 指数和香农指数要明显高于 CK, CF 处理的土壤真菌 Chao1 指数和香农指数最低。秸秆、沼液短期替代化肥的处理下水稻植株生长低于全化肥处理的, 但秸秆、沼液、化肥结合施用对水稻幼苗的促生作用依然很明显, 尤其是秸秆还田结合沼液灌溉的全量替代化肥处理。全量替代化肥处理下, 即秸秆和沼液处理的土壤质量和细菌丰富度及多样性即使在短期施用条件下也被明显促进。

关键词: 秸秆; 沼液; 化肥; 促生作用; 土壤质量

中图分类号: S154.4 **文献标志码:** A

Regulation of Wheat Straw and Biogas Slurry Application on Rice Seedling Growth and Soil Microorganism

ZHOU Yang¹, HUANG Xu¹, ZHAO Haiyan¹, ZHENG Qingsong¹, WU Tianxiang^{2, 3}, LIANG Yonghong³, LIU Qingxiu¹, LUO Zhaohui^{1†}, GUAN Yongxiang^{2, 3†}

* 江苏省农业科技自主创新资金项目 [cx(16)1003—4]、江苏省重点研发计划项目 (BE2018680) 和南京农业大学 SRT 计划 (1813C26) 共同资助 Supported by Jiangsu Independent Innovation Program of Agricultural Science and Technology (No. cx(16)1003—4), the Primary Research Development Project of Jiangsu Province of China (No. BE2018680) and the SRT Project of Nanjing Agricultural University (No. 1813C26)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: lzhu@njau.edu.cn; gyx5598@126.com

作者简介: 周 阳 (1994—), 男, 江苏靖江人, 硕士研究生。主要从事生态循环农业研究。E-mail: 2016103025@qq.com

收稿日期: 2019-05-06; 收到修改稿日期: 2019-07-02; 优先数字出版日期 (www.cnki.net): 2019-12-30

(1. College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Jiangsu Agricultural Technology Extension Station, Nanjing 210036, China; 3. Jiangsu Station of Agro-Environmental Monitoring and Protection, Nanjing 210036, China)

Abstract: 【 Objective 】 The effects of straw returning and biogas liquid replacing chemical fertilizer on the growth of early rice seedlings and paddy soil quality were studied, which provided the theoretical basis for the combination of agriculture and animal husbandry with nutrient recycling. 【 Method 】 The comparative effects of “wheat straw returning to the field combined with chemical fertilizer” (S-CF), “wheat straw returning to the field combined with biogas slurry” (S-BS) and “total fertilizer” (CF) on the growth of rice seedlings, nitrogen and phosphorus accumulation, soil nutrients and microbial communities under the condition of equal amount of nitrogen application were studied in greenhouse experiment. 【 Result 】 The growth of rice seedlings with different fertilization application treatments was obviously promoted, with the extension of treatment time, the promoting effect of fertilization treatment was more significant, among which CF treatment was the best, followed by S-BS treatment. The improvement effects of S-BS and CF on root growth were similar, which were significantly better than those of S-CF and CK. The content of soluble sugar in leaves of rice treated with S-BS was significantly higher than that of other fertilization treatments, and the content of N in leaves of rice treated with S-BS was significantly higher than that of treatment of CF. The total bacteria of CF treatment was significantly higher than that of S-BS treatment, while that of S-BS treatment was significantly higher than that of CK and S-CF treatment. The relative abundance of Proteobacteria treated with CF was significantly higher than that of other treatments. The total amount of fungi in CK and S-CF treatments was significantly higher than that in S-BS and CF treatments, and that in S-BS treatment was the lowest. The relative abundance of soil dominant Ascomycota and Basidiomycota in the CK group was significantly higher than that in other treatments. The relative abundance of Chytridiomycota treated with S-CF was also significantly higher than that of other treatments. Alpha diversity analysis showed that the bacterial richness (Chao1 index) and diversity (Shannon index) of S-CF and S-BS treatments were significantly higher than those of CF treatment and CK, and the richness and diversity of soil fungi treated with S-CF was significantly higher than that of CK, and that of soil fungi treated with CF was the lowest. 【 Conclusion 】 Under the treatment of straw and biogas liquid as a short-term substitute for chemical fertilizer, the growth of rice plant is lower than that of the whole chemical fertilizer treatment. However, the effects of straw, biogas liquid and chemical fertilizer on the growth of rice seedlings were still very obvious, especially the total substitution chemical fertilizer treatment of straw returning to the field and irrigation with biogas liquid. The soil quality, bacterial richness and diversity of straw and biogas treatment were significantly improved even under short-term application conditions.

Key words: Straw; Biogas slurry; Fertilizer; Growth promoting effect; Soil quality

在过去的 40 年,化肥的施用成倍地增加了世界粮食产量,然而,过度的化肥施用降低了氮(N)素利用效率,破坏土壤结构,导致环境污染。2001—2005 年我国主要谷类作物生产中肥料 N 素利用效率仅有 26%~28%^[1],而美国和欧洲 N 素利用效率分别为 52%和 40%^[2],这一差距还在不断地拉大^[3]。秸秆可以作为土壤微生物和作物的最初氮源,中国的农业生产每年形成的作物残余物在世界各国中是最多的,其产量约为每年 8×10^{10} kg,其中,32.3%被用来开发能源,16.8%被用来作为食物和饲料,16.8%被抛弃或焚烧,仅有 14.1%用来还田^[4]。诸多研究^[4-6]表明,秸秆还田可以改善土壤结构、保持土壤水分、促进 N 素矿化、提高 N 素利用效率和

减少 N 素淋溶等。然而,过量的秸秆还田或秸秆深埋也会导致土壤水分和 N 素的丢失;在淹水条件下进行小麦秸秆还田,更有利于水稻土中大量有机酸、 H_2S 等还原性有毒物质不断累积,造成土壤氧化还原电位降低,pH 降低,这些会导致作物根系发育受阻,秸秆还田使秧苗发根力减弱,根系发黑、叶片发黄,抑制分蘖的发生,不利于水稻生长^[7]。

沼液,作为生产沼气的副产物,是有机物质经发酵后形成的褐色明亮的液体,富含氮磷钾(NPK)、腐植酸、氨基酸、维生素、蛋白质等^[8-9],可作为优良的有机肥,而且有一般有机肥所没有的快速有效的肥料效应特点^[10]。沼液中含有的腐植酸和纤维素等物质,对增加有机质、维护土壤结构有直接的正面功

效, 沼液替代肥料可明显降低环境污染、降低肥料成本^[11]。在作物根际促生菌的刺激下, 沼液中不同的细菌活动可有效调节作物的代谢, 促进植物生长, 有效抑制病虫害的发生^[12]。但同时, 沼液在农田的施用, 也可能会引发新的环境风险。过量施用将会引起 N、P 流失等二次污染环境。此外, 沼液用量或用法不当还易造成沼液利用率下降、作物生长受抑、作物产量和品质下降等不良影响^[13]。同时, 沼液中的有害物质, 如重金属、抗生素及有害病原菌等, 也可能对作物、土壤环境、产品品质等造成不良影响。因此, 研究规模养殖场必须匹配的周边农田面积及农田对沼液沼渣的适宜承载量至关重要^[14]。如何在维持作物产量和维护农田环境的前提下获取沼液施用的适宜用量, 也是目前研究的热点之一。

试图在维持和促进农作物优质高产并确保土壤健康的前提下, 探索秸秆还田代替部分化肥, 实现作物增产、土壤质量提升、环境污染降低, 尽可能地充分利用农田生态系统和作物生产对沼液的消解和净化能力, 建设和开发粮食生产和沼液处理相结合的人工生态系统^[15]。水稻作为我国最重要的粮食作物之一, 秸秆全量还田、大量沼液投入稻田, 究竟会不会给水稻安全生产带来风险, 并给水环境、土壤环境质量等带来怎样的影响, 是必需关注的问题。秸秆的全量还田等综合利用, 稻田生态系统消解沼液的量需因

地制宜、合理调控, 近几年来, 上述工作不断地开展形成了农牧结合生态循环农业的研究热点。土壤微生物物种多样性与土壤肥力和生产力密切相关, 其种群在很大程度上决定着土壤有机质的分解、营养物质的循环和能量流动, 有关土壤微生物功能多样性的信息对于阐明微生物群落不同环境中的作用至关重要^[16]。因此, 本研究在温室中开展模拟试验, 以麦秸秆还田条件下的水稻幼苗生长特征观察为切入点, 设置等氮的不同处理, 即设置“秸秆还田和化肥配施”、“秸秆还田+沼液配施”和“全化肥”处理, 以“不施肥”为对照, 探讨不同处理对水稻幼苗生长、土壤地力和微生态的影响, 分析秸秆还田结合沼液和化肥等施肥条件下水稻幼苗生长和土壤健康的特征变化, 从而为秸秆还田、沼液施用、化肥减量等农艺措施的技术集成规范提供理论基础, 为农牧结合生态循环农业探索科学的途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以水稻“盐稻 12 号”(*Oryza sativa* L.) 为试验材料。从南京农业大学校园内采集土壤, 将其碾碎至土块颗粒不超过 1 cm³ 备用, 土壤 pH 为 7.33, 其他基本理化性状如表 1 所示。

表 1 供试土壤基本理化性状

Table 1 Basic physical and chemical properties of tested soil

土壤类型	水溶性盐 ^①	全氮 ^②	全磷 ^③	全钾 ^④	有机质 ^⑤	碱解氮 ^⑦	有效磷 ^⑥	速效钾 ^⑧
Soil type	/ (mg·g ⁻¹)	/ (mg·kg ⁻¹)	/ (mg·kg ⁻¹)	/ (mg·kg ⁻¹)				
黄棕壤 ^⑨	1.03±0.08	0.23±0.03	0.45±0.04	21.22±1.12	17.63±0.11	8.76±0.33	3.32±0.23	0.19±0.03

① Water soluble salt, ② Total nitrogen, ③ Total phosphorus, ④ Total potassium, ⑤ Organic matter, ⑥ Available phosphorus, ⑦ Alkaline nitrogen, ⑧ Available potassium, ⑨ Yellow-brown soil

1.2 试验设计

2016 年 8 月中下旬在南京农业大学牌楼温室中开展模拟试验。共设置 4 个处理, 分别为: (1) 对照 (CK): 不秸秆还田、不施沼液、不施化肥; (2) 秸秆全量还田+化肥处理 (25%秸秆 N, 75%化肥 N, 记为 S-CF); (3) 秸秆全量还田+沼液处理 (25%秸秆 N, 75%沼液 N, 记为 S-BS); (4) 化肥处理 (100%化肥 N, 记为 CF)。本试验用的化肥为 NPK 酸性复合肥 (15-15-15), 各处理的施氮量 (130 kg·hm⁻²,

以 N 计, 下同) 一致。每处理重复 5 次。用长 60 cm、宽 44.5 cm、深 40 cm 的周转箱装土。清水泡田后 7 d, 含沼液处理的周转箱浇灌沼液, 其他浇清水, 次日插秧。供试沼液取自江苏省常州市武进区农业废弃物综合治理中心礼嘉站, 成分如表 2。全量还田的麦秸 (5 000 kg·hm⁻², 麦秸全氮含量为 6.5 g·kg⁻¹、全磷 1.8 g·kg⁻¹、全钾 12.6 g·kg⁻¹) 经切碎后, 与土壤拌匀。试验按照处理 12、24、36 d 对植株和土壤进行取样。

表 2 供试沼液基本理化性状

Table 2 Basic physical and chemical properties of biogas slurry

总氮	铵态氮	硝态氮	总磷	总钾	化学需氧量 ^①	pH
Total N	NH ₄ ⁺ -N/(mg·L ⁻¹)	NO ₃ ⁻ -N/(mg·L ⁻¹)	Total P/(mg·L ⁻¹)	Total K/(mg·L ⁻¹)	/(mg·L ⁻¹)	
850.1 ± 96.6	787.8 ± 82.58	28.13 ± 5.77	26.43 ± 4.20	530.2 ± 39.18	1 563 ± 79	8.20 ± 0.29

① Chemical oxygen demand (COD)

1.3 植株株高、干物质量和根冠比的测定

于处理 12、24、36 d 时用刻度钢尺 (最小单位 1 mm) 测量水稻苗株高。然后将水稻苗从周转箱中取出, 先用自来水冲洗, 再用蒸馏水将鲜样反复冲洗, 用吸水纸吸干表面水分, 分为地上部和根部两部分, 分别装在信封袋里于 110℃ 烘箱杀青 10 min 后再 75℃ 烘干至恒重, 称得干物质量 (DW)。按照下列公式计算根冠比: 根冠比 = 根干物质量/地上干物质量。

1.4 土壤总 DNA 提取

利用 DNA Kit 试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, 美国) 提取得到样本的总 DNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测和分光光度法 (260 nm/280 nm 光密度比) 进行质量检测^[17]。提取得到的 DNA 样品检测后, 于 -20℃ 保存以备后续试验使用。

1.5 特异区域扩增及测序

微生物多样性检测选取细菌 16S rDNA V3-V4 区与真菌 rDNA ITS1 区, DNA 样本送至北京奥维森基因科技有限公司, 细菌 16S rDNA V3-V4 扩增引物为 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGC AGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACNNGGG TATCTAAT-3')^[18]; 真菌 ITS rDNA ITS1 扩增引物为 ITS1-(5'-CTTGGT CATTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2 (5'-TGCGTTC TTCATCGATGC-3')^[19]。PCR 反应体系 (总体积为 25 μL): 12.5 μL KAPA 2G Robust Hot Start Ready Mix, 1 μL 正向引物 (5 μM)、1 μL 反向引物 (5 μM)、5 μL DNA (加入的 DNA 总量为 30 ng), 最后加 5.5 μL dd H₂O 补至 25 μL。反应参数: 95℃ 预变性 5 min; 95℃ 变性 45 s, 55℃ 退火 50 s, 72℃ 延伸 45 s, 28 个循环 (细菌) 或 34 个循环 (真菌)^[18-19]; 72℃ 延伸 10 min。利用 Illumina Miseq PE300 高通量测序平台测序, 测序原始序列进行后续多样性分析并上传至美国国立生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 的 SRA

(Sequence Read Archive, 高通量测序数据的主要归档) 数据库。

1.6 数据处理与统计分析

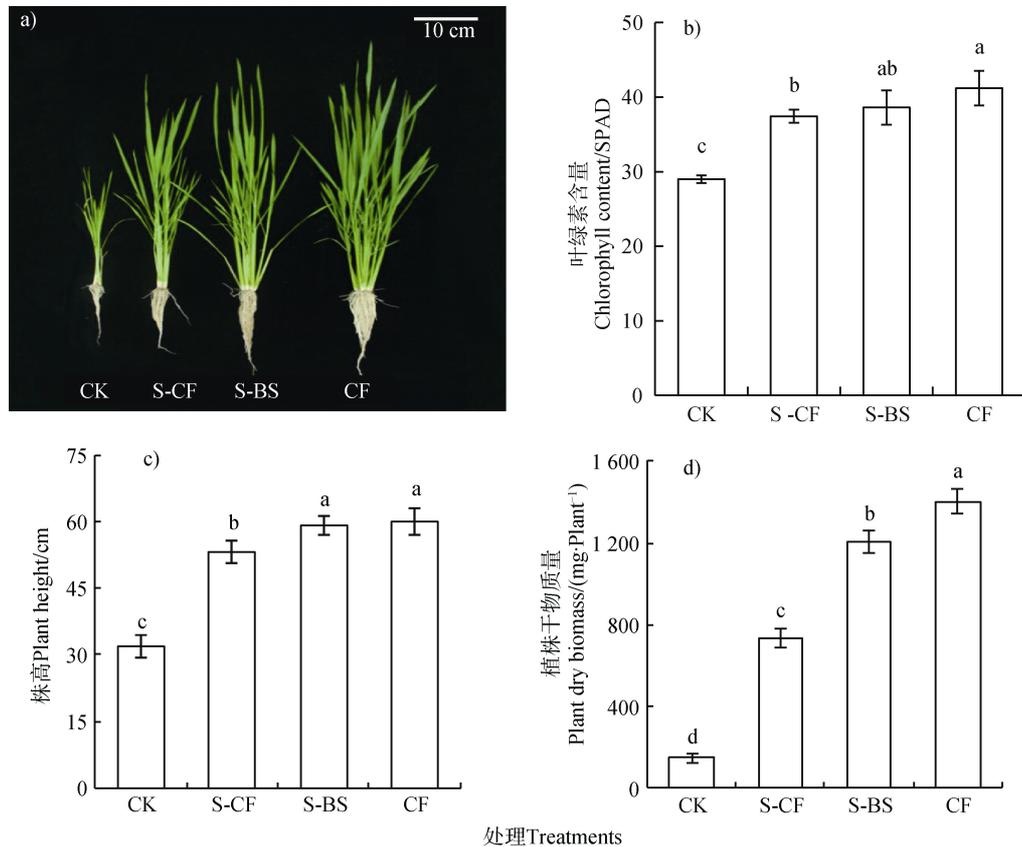
利用 Microsoft Excel2013、SPSS17.0 软件进行数据的处理、统计分析, 数据均为“平均数±标准差”格式, 采用邓肯 (Duncan) 新复极差测验法 ($P < 0.05$) 进行显著性分析。

微生物群落分析中, 通过 Illumina MiSeq 平台进行 Paired-end 测序, 下机数据经过 QIIME (v1.8.0) 软件过滤、拼接、去除嵌合体, 去除碱基质量分值低于 20、碱基模糊、引物错配或测序长度小于 150 bp 的序列。根据 barcodes 归类各处理组序列信息聚类为用于物种分类的操作分类单元 (Operational taxonomic units, OTU), OTU 相似性设置为 97%。对比 silva 数据库 (细菌) 或 nite 数据库 (真菌), 得到每个 OTU 对应的物种分类信息^[20-21]。再利用 Mothur 软件 (version 1.31.2) 进行阿尔法 (Alpha) 多样性分析 (香农和 Chao1 指数)。利用统计学的方法, 观察样本在不同分类水平下的群落结构并利用 R 语言包可视化展现^[22]。

2 结果

2.1 不同施肥方式对水稻幼苗的促生作用

与对照 (CK) 相比, 等氮的三种施肥处理均明显促进生长 (图 1a), 叶片叶绿素含量 (图 1b)、株高 (图 1c) 和干物质量 (图 1d) 显著上升。其中全化肥 (CF) 处理的促进效果最好, 其次是“秸秆全量还田+沼液” (S-BS) 处理, 随着处理时间的延长, 施肥处理促进生长愈显著。定植处理 36 d, “秸秆全量还田+化肥” (S-CF)、S-BS、CF 处理的叶绿素含量分别较对照增加 29%、33%、42% (图 1b), 株高分别较 CK 增加 68%、86% 和 88% (图 1c), 其干物质量分别较 CK 增加 392%、709% 和 842% (图 1d)。



注：CK、S-CF、S-B、CF 分别表示不施肥、小麦秸秆全量还田结合化肥（S-CF）、小麦秸秆全量还田结合沼液（S-B）和全量化肥（CF）；柱子上不同的小写字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ）。下同。Note: CK, S-CF, S-B, CF represent “no fertilizer”, “wheat straw returning to the field combined with chemical fertilizer”, “wheat straw returning to the field combined with biogas slurry” and “total fertilizer”; Values by the different small letter on the column are significantly different at the level of 5%. The same below

图 1 不同施肥方式对水稻幼苗外观 (a)、叶绿素含量 (b)、株高 (c) 和植株干物质质量 (d) 的影响

Fig. 1 Effects of different fertilization application on plant appearance (a), chlorophyll content (b), plant height (c) and plant dry biomass (d) of rice seedlings

2.2 不同施肥方式对水稻幼苗根冠比和叶片营养的影响

图 2a) 所示, 对照植株根冠比随着处理时间的延长, 根冠比上升; 而 CF 处理下, 植株根冠比下降; S-CF 和 S-B 处理下, 植株根冠比均为先上升后下降, 分别在 12 d 和 24 d 达到最大值; 处理 36 d, CK 和 S-B 处理的根冠比显著高于 S-CF 和 CF 处理 (图 2a))。图 2b) 所示, 所有处理下, 水稻植株叶片可溶性糖 (SS) 含量均呈现先升后降, 均在处理 24 d 的叶片 SS 含量达到最大值, 且 CK 的 SS 含量始终高于其他处理的, 其次是 S-B 处理, 而 CF 处理的植株叶片 SS 含量始终最低, 处理 36 d, S-CF 和 CF 处理的叶片 SS 含量差异不显著。图 3a) 和图 3b) 所示, S-CF 和 S-B 处理下叶片和根系的 N 含

量均要高于 CK 和 CF 处理, 尤其是叶片。而植株叶片和根系的 P 含量也表现为 S-CF 和 S-B 处理下叶片和根系的 P 含量均要高于对照和 CF 处理, CK 叶片和根系的 P 含量要显著低于 3 种施肥处理的, 而处理 36 d, S-CF 处理的叶片和根系 P 含量显著高于其他处理 (图 3c) 和图 3d))。

2.3 不同施肥方式对植稻土壤细菌和真菌总量的影响

与各自 CK 相比, S-CF 处理的土壤细菌和真菌数量无显著变化 ($P > 0.05$) (图 4); 但 S-B、CF 施肥处理均明显提高土壤的细菌数量, 分别较 CK 增加 27% 和 43% (图 4a)); S-B、CF 施肥处理均显著降低土壤真菌数量, 分别较 CK 降低 91% 和 39% (图 4b))。

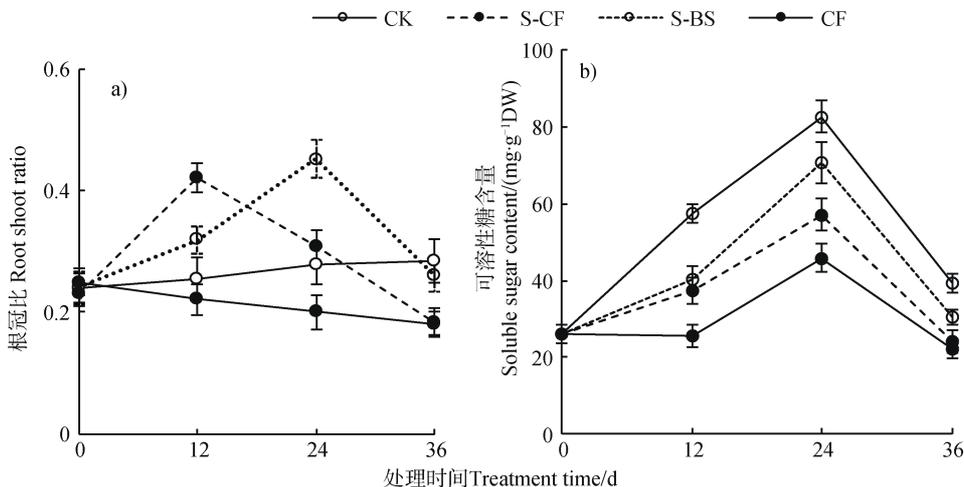


图 2 不同施肥方式对水稻幼苗根冠比 (a) 和叶片可溶性糖含量 (b) 的影响

Fig. 2 Effects of different fertilization application on root shoot ratio (a) and soluble sugar content (b) of rice seedlings

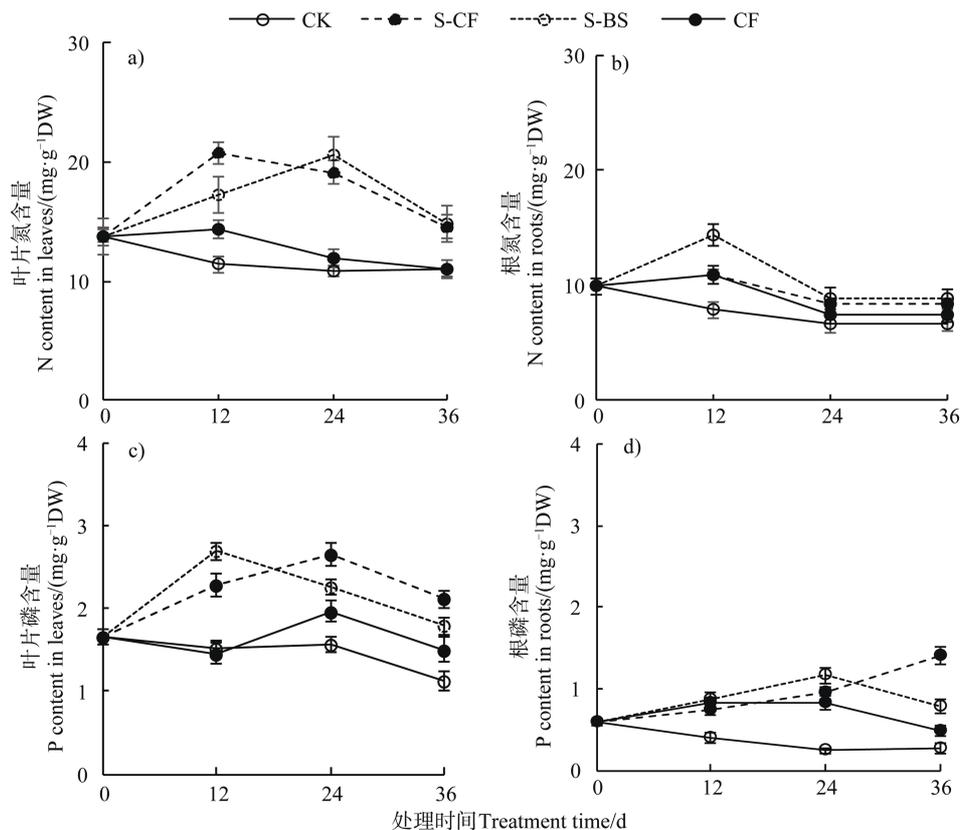


图 3 不同施肥方式对水稻幼苗叶片氮 (a)、磷 (c) 和根系氮 (b)、磷 (d) 含量的影响

Fig. 3 Effects of different fertilization application on leaf NP (a, c) and root NP (b, d) of rice seedlings

2.4 不同施肥方式对植稻土壤根际细菌和真菌群落结构的影响

从图 5a) 看出, 4 个处理高通量测序后共获得 22 个细菌门和未确定细菌类群。主要已确定菌门有 11 个, 由下而上, 分别是变形菌门 (Proteobacteria)、拟

杆菌门 (Bacteroidetes)、放线菌门 (Actinobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、蓝藻门 (Cyanobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、疣微菌门 (Verrucomicrobia)、厚壁菌门 (Firmicutes)、螺旋体菌门 (Saccharibacteria)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 和异常球菌-栖热菌

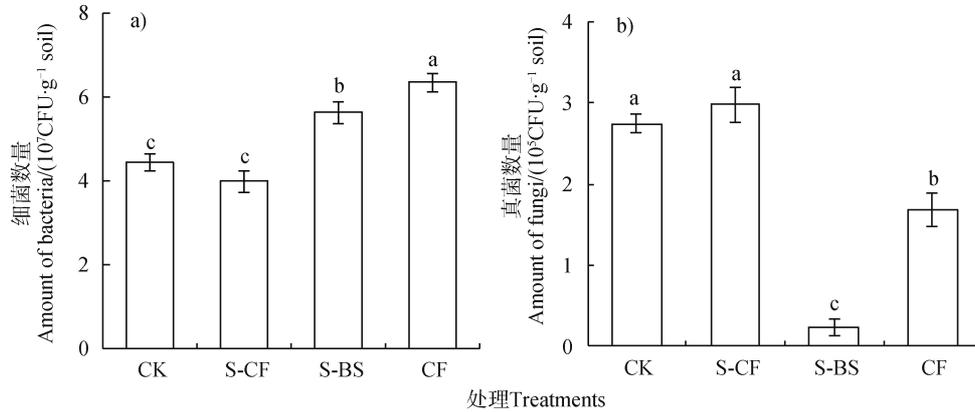


图 4 不同施肥方式对水稻根围土壤细菌 (a)) 和真菌 (b)) 数量的影响

Fig. 4 Effects of different fertilization application on amount of bacteria (a)) and fungus (b)) of rice seedlings

门 (Deinococcus-Thermus)。经分析,在这些处理中变形菌门占有绝对优势,其中 CF 处理的土壤变形菌门丰度占全部的 76.87%,而 CK (不施肥)的变形菌门丰度仅占 60.88%。CF 处理的拟杆菌门的相对丰度为 6.88%,而 CK、S-CF、S-BS 处理的分别为 10.22%、10.02%和 9.23%。CK、S-CF、S-BS 和 CF 处理的放线菌门相对丰度分别为 5.47%、5.20%、5.73%和 4.56%,其中 CF 处理土壤放线菌门相对丰度较低。CK、S-CF、S-BS 和 CF 处理的绿弯菌门相对丰度分别为 4.50%、5.89%、4.06%和 3.12%,即 S-CF 处理的相对丰度较高,CF 处理的相对丰度较低。而蓝藻门细菌在 CK 条件下相对丰度最高,达到 7.56%,其次是 S-BS 处理 (5.23%),化肥处理下为 1.82%,而 S-CF 处理下其相对丰度仅为 0.61%。最高酸杆菌门的相对丰度在 S-CF 处理下,为 5.36%,最低在 CK 条件下,为 1.83%,而 S-BS 和 CF 处理下的差异很小。疣微菌门的相对丰度由高到低依次是 CK

(3.92%)、S-BF (2.22%)、S-CF (1.67%)和 CF (1.29%)。厚壁菌门的相对丰度主要在 S-BS 较高。

从图 5b) 看出,4 个处理高通量测序后共获得 4 个真菌门和未确定真菌类群。子囊菌门 (Ascomycota) 在 4 个处理中均是已知真菌中最丰富的门,其中 CK 条件下的相对丰度最高,达到 62.94%,其次是 S-BS (57.49%),S-CF 和 CF 处理的相近 (42.59% ~ 45.21%)。担子菌门 (Basidiomycota) 的相对丰度仅次于子囊菌门,且其相对丰度在对照条件下最高,达到 16.99%,其次是 CF 处理 (5.44%),S-CF 和 S-BS 处理的相近 (1.50% ~ 1.71%)。接合菌门 (Zygomycota) 的相对丰度最高出现在 CF 处理下,达到 4.59%,其次为 S-CF (1.74%),CK 条件下接合菌门的相对丰度极低。壶菌门 (Chytridiomycota) 是 S-CF 中较丰富的菌门,相对丰度为 5.46%,其次为 S-BS 处理 (1.2%),CK 和 CF 处理下其相对丰度值极低。

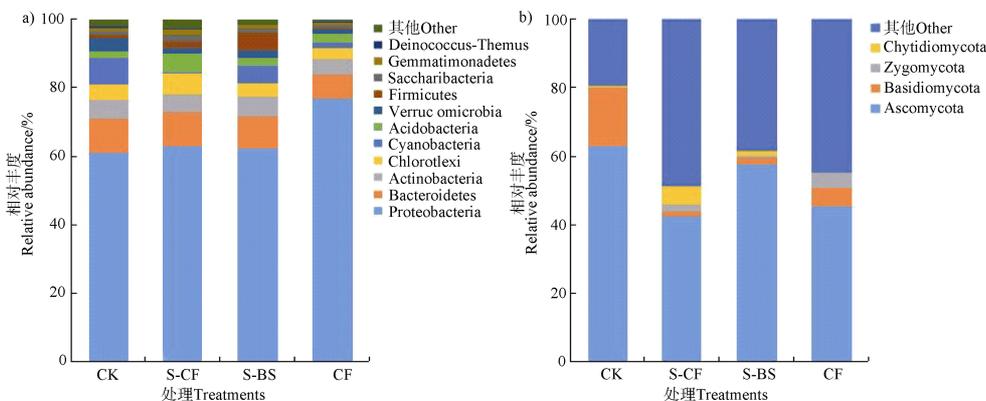


图 5 不同施肥土壤中细菌 (a)) 和真菌 (b)) 菌门组成和相对丰度的特征

Fig. 5 Composition and relative abundance of bacteria (a)) and fungi (b)) Phylums in different fertilized soils

2.5 土壤细菌和真菌群落的阿尔法 (Alpha) 多样性

微生物群落丰富度用 Chao1 指数表示, 其值越高, 表明群落物种丰富度越高; 香农指数反映样品的多样性程度, 其值越高表明群落物种的多样性越高。

结果显示, S-CF 处理和 S-BS 处理细菌、真菌的 Chao1 指数与香农指数均高于 CK 和 CF 处理 (表 3)。CF 处理的细菌 Chao1 指数高于 CK, 而其真菌 Chao1 指数低于相应的 CK; CF 处理的细菌和真菌的香农指数均低于各自的 CK (表 3)。

表 3 不同处理土壤细菌和真菌阿尔法多样性

Table 3 Alpha diversity indices of soil bacteria and fungus in the different treatments

处理 Treatment	Chao1 指数 Chao1 index		香农指数 Shannon index	
	细菌 Bacteria	真菌 Fungus	细菌 Bacteria	真菌 Fungus
CK	750.4±15.2c	458.64±9.23b	6.79±0.21b	3.45±0.13b
S-CF	1046±18.54a	511.43±10.56a	7.85±0.53a	5.47±0.35a
S-BS	1028±14.32a	440.57±12.68b	7.92±0.44a	5.14±0.41a
CF	838.0±9.65b	334.84±8.33c	6.11±0.28c	3.25±0.22b

3 讨论

3.1 秸秆、沼液、化肥配施对水稻幼苗的促生作用

秸秆含有大量的 C、N、P、K 等营养元素, 因此秸秆还田是当今世界上普遍重视的一项培肥地力的增产措施, 在杜绝了秸秆焚烧所造成的大气污染的同时还有增肥增产作用, 是作物生长重要的有机肥料来源之一^[5-6, 23]。秸秆还田腐解后, 会使土壤养分含量增加, 促进作物的生长发育。诸多研究^[4, 24]发现, 秸秆还田在水稻生育前期促进生长并不明显, 甚至抑制生长, 因为麦秆在水田嫌气状态下腐解, 易使土壤还原性增强, 产生 Fe²⁺、H₂S 等有害物质, 毒害水稻根系, 使水稻前期形成僵苗, 分蘖起步和发苗较对照慢; 秸秆还田后, 在水稻生育前期秸秆分解过程与作物发生“争氮”现象。而在水稻生育后期, 秸秆还田才逐渐显现对水稻生长有利的一面。本研究模拟试验表明, 在等量氮的基肥施用下, 氨态氮肥为主的全化肥处理促进水稻幼苗生长最为明显, 其叶片叶绿素含量、植株干重、根系发育明显高于其他处理; 其次是“秸秆还田+沼液肥”处理, 而“秸秆还田+化肥”处理的促进生长作用要明显低于其他施肥处理 (图 1)。本研究中的结果、现象与前人的结论^[7, 25]相一致, 沼液中富含铵态氮, 对于喜铵植物水稻就表现出显著的促进作用。秸秆全量还田再添加沼液处理明显提高根冠比, 对根生长的促

进作用要明显优于“秸秆还田+化肥”处理 (图 2)。

3.2 秸秆、沼液、化肥配施对土壤微生物数量的调控

本研究表明, 与不施肥相比, 单施化肥处理的土壤细菌数量增加最为显著, 其次为替代化肥的“秸秆+沼液”配施 (图 4), 说明细菌对土壤养分有很强的依赖性, 这与颜志雷等^[26]研究结果相一致。与常规化肥施用相比, 沼液部分替代施用可增加西兰花种植土壤细菌和放线菌数量, 提高土壤有机质含量, 真菌含量反而下降^[27]。解开治等^[28]研究表明, 与单施化肥相比, 化肥配施猪粪、牛粪、鸡粪, 均显著提高土壤中细菌数量, 提高水稻籽粒产量。Yu 等^[29]发现小麦和玉米秸秆长期还田, 对细菌的数量和多样性无显著影响。土壤真菌多为病原菌, 不利于植物生长, 因此一般栽培土壤中真菌数量明显低于细菌。本研究也显示土壤中细菌数量为真菌的 100 倍~300 倍。“秸秆+化肥”复合处理的土壤细菌含量低于其他施肥处理, 但其土壤真菌含量却显著高于另外两个施肥处理 (图 4)。“秸秆+沼液”复合施肥处理的真菌含量很低, 极显著低于其他任何处理 (图 4b))。这些现象需要进一步结合大田试验去做全面阐述。

3.3 秸秆、沼液、化肥配施对土壤微生物群落结构和多样性的调控

Wang 等^[30]研究表明, 施生物肥明显调控水稻根围土壤的细菌群落, 如增加有益菌变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、芽单

胞菌门 (Gemmatimonadetes) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 的丰富度, 但是对土壤细菌的多样性无显著影响。无论是香农指数, 还是 Chao 1 指数, 土壤中细菌的丰富度和多样性明显高于真菌。减量施用化肥或完全替代化肥 (结合秸秆或沼液) 的细菌多样性要显著高于不施肥和全量施用化肥处理。而真菌的香农指数和 Chao 1 指数, 均为全量化肥处理的最低。结合秸秆的化肥减量施用处理的香农指数和 Chao 1 指数均为最高, 不施肥处理下土壤的 Chao 1 指数要显著高于全量化肥处理 (图 5)。

变形菌门 (Proteobacteria) 是细菌中最大的一门, 包括很多病原菌, 如大肠杆菌、沙门氏菌、霍乱弧菌、幽门螺杆菌等著名的种类, 也有自由生活的种类, 包括很多可以进行固氮或释放植物激素的细菌, 并能够适应各种复杂的环境^[29]。本研究显示变形菌门在不同处理下相对丰度达到 61%~77%, 尤其是 CF 处理下, 其丰度最高 (图 5), 同时植株生长被显著促进 (图 1), 与李芳^[31]的研究结果相一致。说明单施化肥可直接提供大量可利用氮素, 而秸秆腐熟释放养分过程较慢。与上海南汇东滩湿地测序结果^[32]相同, 本研究中水稻栽培土壤中拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的相对丰度仅次于变形菌门, 施肥均降低其相对丰度, 越是促生的处理, 其拟杆菌门相对丰度越低 (图 1 和图 5)。卞方圆等^[33]研究也表明越是土壤细菌多样性高的土壤, 拟杆菌门相对丰度越低。放线菌门在土壤样品中也是优势菌门, 其形体多样、生理活性丰富, 还能够产生种类繁多的胞外酶和次生代谢产物, 在生态系统中扮演着重要的角色^[34], 但本研究中不同处理间差异较不明显 (图 5)。酸杆菌门为嗜酸菌, 在土壤及沉积物中广泛存在。本研究中施用化肥的处理酸杆菌门相对丰度增加 (图 5), 很可能与化肥导致土壤酸化, 从而对土壤中酸杆菌门的生长起到促进作用。

土壤微生物在土壤生态系统中发挥着重要作用, 其多样性与土壤质量息息相关。虽然单施化肥处理生长最优, 但是其土壤细菌和真菌的香农指数均低于替代化肥处理, 甚至低于不施肥处理 (表 3)。每一种微生物都有其独特的生态位并具有相应的功能, 微生物多样性的降低, 很可能会造成生态功能的缺失, 从而负面影响生态系统的功能稳定。而通过秸秆还田配施化肥或进行沼液灌溉能极显著地增加土壤微生物阿尔法多样性 (表 3), 由此可见, 秸

秆还田显著改善了土壤的理化性质, 为微生物的生长创造了良好的生长环境^[29]; 而沼液中含有的腐植酸和纤维素等物质, 对增加有机质、维护土壤结构有直接的正面功效^[10]。

4 结 论

秸秆、沼液短期替代化肥的处理下水稻植株生长低于全化肥处理, 但是秸秆、沼液、化肥结合施用替代化肥对水稻幼苗的促生作用依然很明显, 尤其是秸秆还田结合沼液灌溉的全量替代化肥处理, 全量替代化肥处理下 (秸秆和沼液处理) 的土壤质量和细菌丰富度和多样性即使在短期施用条件下也有明显提高。本研究仅关注了土壤微生物群落的整体变化, 未来将对这方面进行深入研究, 探索出施肥及秸秆还田短期或长期对土壤微生物群落结构的影响机制, 结合秸秆还田建立科学的无机和有机相结合的施肥制度, 为探究环境友好型可持续发展农业打下坚实基础。

参考文献 (References)

- [1] Zhang F S, Cui Z L, Wang J Q, et al. Current status of soil and plant nutrient management in China and improvement strategies. *Chinese Bulletin of Botany*, 2007, 42 (6): 687—694. [张福锁, 崔振岭, 王激清, 等. 中国土壤和植物养分管理现状与改进策略. *植物学通报*, 2007, 42 (6): 687—694.]
- [2] Ladha J K, Pathak H, Krupnik T J, et al. Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production: Retrospects and prospects. *Advances in Agronomy*, 2005: 85—156.
- [3] Padilla F M, Gallardo M, Manzano-Agugliaro F. Global trends in nitrate leaching research in the 1960—2017 period. *Science of the Total Environment*, 2018, 643: 400—413.
- [4] Yang S H, Xiao Y N, Xu J Z, et al. Effect of straw return on soil respiration and NEE of paddy fields under water-saving irrigation. *PLoS One*, 2018, 13 (10): e0204597.
- [5] Chen Y L, Jia Z, Shi J L, et al. Effect of straw return on diffusion, translocation and transformation of zinc in calcareous soil. *Acta Pedologica Sinica*, 2018, 55 (3): 721—733. [陈艳龙, 贾舟, 师江澜, 等. 秸秆还田对石灰性土壤 Zn 扩散迁移及形态转化的影响. *土壤学报*, 2018, 55 (3): 721—733.]
- [6] Huang T, Ju X T, Yang H. Nitrate leaching in a winter wheat-summer maize rotation on a calcareous soil as affected by nitrogen and straw management. *Scientific*

- Reports, 2017, 7: Article 42247.
- [7] Fang F F. Study on the effect of wheat straw returning to the field on the early growth of rice and its mechanism. Yangzhou, Jiangsu: Yangzhou University, 2018. [方菲菲. 麦秸还田对水稻前期生长的影响及其机制研究. 江苏扬州: 扬州大学, 2018.]
- [8] Nzila A. Biodegradation of high-molecular-weight polycyclic aromatic hydrocarbons under anaerobic conditions: Overview of studies, proposed pathways and future perspectives. *Environmental Pollution*, 2018, 239: 788—802.
- [9] Wentzel S, Schmidt R, Piepho H P, et al. Response of soil fertility indices to long-term application of biogas and raw slurry under organic farming. *Applied Soil Ecology*, 2015, 96: 99—107.
- [10] Xu C M, Tian Y, Sun Y X, et al. Effects of biogas slurry irrigation on growth, photosynthesis, and nutrient status of *Perilla frutescens* seedlings. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2013, 44(22): 3381—3390.
- [11] Shahbaz M, Akhtar M J, Ahmed W, et al. Integrated effect of different N-fertilizer rates and bioslurry application on growth and N-use efficiency of okra (*Hibiscus esculentus* L.). *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 2014, 38: 311—319.
- [12] Manyi-Loh C, Mamphweli S, Meyer E, et al. An overview of the control of bacterial pathogens in cattle manure[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2016, 13 (9): 843.
- [13] Möller K. Effects of anaerobic digestion on soil carbon and nitrogen turnover, N emissions, and soil biological activity. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35 (3): 1021—1041.
- [14] Wang Z C, Liang Y H, Sheng J, et al. Analysis of water environment risk on biogas slurry disposal in paddy field. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2016, 32 (5): 213—220. [王子臣, 梁永红, 盛婧, 等. 稻田消解沼液工程措施的水环境风险分析. *农业工程学报*, 2016, 32 (5): 213—220.]
- [15] Yasar A, Rasheed R, Tabinda A B, et al. Life cycle assessment of a medium commercial scale biogas plant and nutritional assessment of effluent slurry. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2017, 67: 364—371.
- [16] Kubota H, Iqbal M, Quideau S, et al. Agronomic and physiological aspects of nitrogen use efficiency in conventional and organic cereal-based production systems. *Renewable Agriculture and Food Systems*, 2018, 33 (5): 443—466.
- [17] Amend A S, Seifert K A, Samson R, et al. Indoor fungal composition is geographically patterned and more diverse in temperate zones than in the tropics. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 (31): 13748—13753.
- [18] Munyaka P M, Eissa N, Bernstein C N, et al. Antepartum antibiotic treatment increases offspring susceptibility to experimental colitis: A role of the gut microbiota. *PLoS One*, 2015, 10 (11): e0142536.
- [19] Zhang W, Yuan, Yang S, et al. ITS2 secondary structure improves discrimination between medicinal “mu Tong” species when using DNA barcoding. *PLoS One*, 2015, 10 (7): e0131185.
- [20] Huson D H, Richter D C, Rausch C, et al. Dendroscope: An interactive viewer for large phylogenetic trees. *BMC Bioinformatics*, 2007, 8 (1): Article 460.
- [21] Dickie I A. Insidious effects of sequencing errors on perceived diversity in molecular surveys. *New Phytologist*, 2010, 188 (4): 916—918.
- [22] Cole J R, Wang Q, Cardenas E, et al. The ribosomal database project: improved alignments and new tools for rRNA analysis. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37, Database issue: D141—D145.
- [23] Yang S Q, Wang Y S, Liu R L, et al. Improved crop yield and reduced nitrate nitrogen leaching with straw return in a rice-wheat rotation of Ningxia irrigation district. *Scientific Reports*, 2018, 8: Article 9458.
- [24] Chen S, Liu S W, Zheng X, et al. Effect of various crop rotations on rice yield and nitrogen use efficiency in paddy-upland systems in southeastern China. *The Crop Journal*, 2018, 6 (6): 576—588.
- [25] 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. *Journal of Soils and Sediments*, 2019, 19 (5): 2534—2542.
- [26] Yan Z L, Fang Y, Chen J C, et al. Effect of turning over Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) on soil nutrients and microbial properties in paddy fields. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20 (5): 1151—1160. [颜志雷, 方宇, 陈济琛, 等. 连年翻压紫云英对稻田土壤养分和微生物学特性的影响. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20 (5): 1151—1160.]
- [27] Yang Z F, Chen W Q, Wang W, et al. Effects of biogas slurry on soil microbial characteristics of broccoli. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2017, 33 (29): 112—115. [杨子峰, 陈伟强, 王伟, 等. 沼液施用对西兰花耕作土壤微生物特性的影响. *中国农学通报*, 2017, 33 (29): 112—115.]
- [28] Xie K Z, Xu P Z, Jiang R P, et al. Combined application of inorganic and organic fertilizers improve rice yield and the abundance of soil nitrogen-cycling microbes in cold waterlogged paddy fields. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2016, 22 (5): 1267—1277. [解开治, 徐培智, 蒋瑞萍, 等. 有机无机肥配施提升冷浸田土壤氮转化相关微生物丰度和水稻产量. *植物营养与肥料学报*, 2016, 22 (5): 1267—1277.]

- [29] Yu D L, Wen Z G, Li X M, et al. Effects of straw return on bacterial communities in a wheat-maize rotation system in the North China Plain. *PLoS One*, 2018, 13 (6): e0198087.
- [30] Wang M, Li S S, Chen S B, et al. Manipulation of the rhizosphere bacterial community by biofertilizers is associated with mitigation of cadmium phytotoxicity. *Science of the Total Environment*, 2019, 649: 413—421.
- [31] Li F. Succession of upland soil microbial structure under long-term fertilization in Huang-Huai-Hai Plain. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2018. [李芳. 长期不同施肥条件下黄淮海平原旱作土壤微生物群落结构特征的演变. 郑州: 河南农业大学, 2018.]
- [32] Zhao M, Yin C S, Li C W, et al. Using Miseq sequencing to analyze seasonal soil microbial community dynamics in reclaimed *Scirpus mariqueter* coastal wetlands. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2018, 27(5): 718—727. [赵萌, 印春生, 厉成伟, 等. Miseq 测序分析围垦后海三棱藨草湿地土壤微生物群落多样性的季节变化. 上海海洋大学学报, 2018, 27(5): 718—727.]
- [33] Bian F Y, Zhong Z K, Zhang X P, et al. Remediation of heavy metal contaminated soil by moso bamboo (*Phyllostachys edulis*) intercropping with *Sedum plumbizincicola* and the impact on microbial community Structure. *Scientia Silvae Sinicae*, 2018, 54 (8): 106—116. [卞方圆, 钟哲科, 张小平, 等. 毛竹和伴矿景天对重金属污染土壤的修复作用和对微生物群落的影响. 林业科学, 2018, 54 (8): 106—116.]
- [34] Singh R, Dubey A K. Diversity and applications of endophytic actinobacteria of plants in special and other ecological niches. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: Article 1767.

(责任编辑: 陈荣府)