

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2021.05.013

王娟娟, 朱紫娟, 钱晓晴, 等. 减施化肥与不同有机肥配施对稻季土壤细菌群落结构的影响. 土壤, 2021, 53(5): 983–990.

减施化肥与不同有机肥配施对稻季土壤细菌群落结构的影响^①

王娟娟, 朱紫娟, 钱晓晴, 王桂良*

(扬州大学环境科学与工程学院, 江苏扬州 225000)

摘要: 为了研究减施化肥配施不同有机肥对稻麦轮作体系稻季土壤细菌群落结构的影响, 采用 Illumina 高通量测序技术比较了单施化肥及减施化肥配施菜籽饼肥和蚯蚓粪肥 3 种施肥模式下稻季不同土层土壤环境因子、细菌群落结构变化特征。结果表明: 与单施化肥相比, 减施化肥配施有机肥显著提高各土层土壤有机质含量和电导率, 其中配施菜籽饼肥土壤增幅较大; 显著增加各土层土壤氮、磷、钾养分含量, 其中配施蚯蚓粪肥土壤速效氮、磷、钾养分含量较高。减施化肥配施有机肥提高土壤细菌 Sobs 指数和 Shannon 指数; 前三位优势菌门, 变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)相对丰度分别达 36.24%、18.30%、13.87%; 减施化肥配施有机肥对相对丰度小于 1% 的菌门影响较大。0 ~ 5 cm 土层土壤细菌群落结构主要受土壤 pH 和全磷影响; 5 ~ 10 cm 土层土壤细菌群落结构主要受土壤电导率、全磷和 pH 影响; 10 ~ 15 cm 土层土壤细菌群落结构主要受土壤全氮和 pH 影响。因此, 减施化肥配施有机肥主要通过改变土壤理化性质进而影响土壤细菌群落结构, 特别是稀有菌群。

关键词: 配施有机肥; 稻季; 细菌群落结构; 高通量测序

中图分类号: S154.36 文献标志码: A

Effects of Reducing Chemical Fertilizer Combined with Application of Different Organic Fertilizers on Soil Bacterial Community Structure During Rice Season

WANG Juanjuan, ZHU Zijuan, QIAN Xiaoping, WANG Guiliang*

(College of Environmental Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225000, China)

Abstract: In order to study the effects of reducing chemical fertilizer combined with application of different organic fertilizers on soil bacterial community structure during the rice season, Illumina high-throughput sequencing technology was used to compare soil environmental factors and soil bacterial community structures in different soil layers under three fertilization modes, namely chemical fertilizer, reducing chemical fertilizer combined with rapeseed cake and earthworm manure. Compared with chemical fertilizer treatment, the treatments with combined application of organic fertilizers significantly increased soil organic matter(SOM) and EC in each soil layer, and the treatments with combined rapeseed cake increased SOM and EC significantly. Soil N, P and K nutrients were significantly increased in each soil layer, which were highest in the treatment with combined application of wormcast. The treatments with combined application of organic fertilizers increased soil bacterial Sobs index and Shannon index. Proteobacteria, Acidobacteria and Chloroflexi were the first three abundant in soils under different treatments at phyla level, reached 36.24%, 18.30% and 13.87%, respectively. Reducing chemical fertilizer combined with application of organic fertilizers had a greater effect on the phyla whose relative abundance was less than 1%. Soil bacterial community structure was greatly affected by soil pH and TP in the 0–5 cm soil layer, mainly affected by EC, pH and TP in the 5–10 cm soil layer, and greatly affected by soil TN and pH in the 10–15 cm soil layer. In conclusion, reducing chemical fertilizer combined with application of organic fertilizer can affect soil bacterial community structure, especially rare bacteria, by changing soil physical and chemical properties.

Key words: Combined application of organic fertilizer; Rice season; Bacterial community structure; High throughput sequencing

施肥是提高作物产量的有效手段, 当施肥量超出作物养分需求量时, 增产效果不但下降, 而且会导致环境污染加剧、土壤微生物多样性下降、土壤肥力退化等方面的风险^[1-3]。土壤肥力维持及其可持续发展

①基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFD0200107), 国家自然科学基金项目(41701093)和中国博士后基金项目(017M611928)资助。

* 通讯作者(wgl0520@126.com)

作者简介: 王娟娟(1979—), 女, 江苏泗洪人, 博士, 副教授, 主要从事农业资源与环境方面研究。E-mail: wangjuanjuan@yzu.edu.cn

在一定程度上受到土壤微生物活动的影响。细菌是土壤微生物的重要组成,其群落结构变化显著影响土壤养分循环。因此,调控土壤细菌群落结构可有效改善农田土壤肥力状况^[4]。施肥措施的改变,会同时改变农田土壤理化性质和微生物群落结构。相关研究表明,长期施用化肥的农田土壤细菌数量和多样性都表现出显著降低趋势,群落结构也发生显著变化^[5]。近年来,我国大力发展生态循环农业,配施有机肥是减肥增效、培肥土壤、防控农田面源污染的有效措施^[6-7]。有机肥与化肥合理配施在促进作物生长的同时,还改善土壤微生物群落结构,增加有益细菌数量,对粮食高产高效和土壤质量提升起积极作用^[7-8]。前人在不同种类有机肥或施用量对耕层土壤细菌群落结构变化影响方面开展了大量研究,但是在化肥减量条件下配施有机肥对不同土层土壤影响方面研究较少。本研究选用江苏里下河地区水稻高产优质创建过程中常用的两种有机肥种类(菜籽饼肥、蚯蚓粪肥)开展田间试验,采用 Illumina 高通量测序技术比较了不同种类有机肥替代部分化肥的施肥措施对稻季不同土层土壤环境因子、细菌群落结构特征变化的影响,以为施用有机肥替代部分化肥,实现减肥增效、培肥土壤提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验地位于江苏省扬州市扬州大学农学院试验农场(32°30'N, 119°25'E),属于亚热带季风性湿润气候,年均气温为 14.5℃,年均降水量为 1 000 mm,年均日照数 2 300 h。试验地土壤质地为砂壤土,其有机质、碱解氮、有效磷、速效钾含量分别为 23.1 g/kg、113.2 mg/kg、44.5 mg/kg、71.5 mg/kg。前茬作物为小麦,水稻供试品种为江苏沿江稻区广泛应用的武运粳 24 号。

试验中施用的有机肥包括菜籽饼肥(N 50.2 g/kg、P₂O₅ 11.4 g/kg、有机质 816.2 g/kg)、蚯蚓粪肥(N 26.3 g/kg、P₂O₅ 28.3 g/kg、有机质 272.7 g/kg)。菜籽饼肥购买自扬州农资公司,蚯蚓粪肥取自于扬州大学的农牧场,由培育蚯蚓消解牛粪后得到。

1.2 试验设计

试验设置 3 个处理(表 1):单施化肥(CF)、菜籽饼氮替代化肥氮 30%(RC)、蚯蚓粪氮替代化肥氮 30%(WT)。CF 处理为当地推荐施氮量 N 270 kg/hm²,氮肥为尿素(含 N 464 g/kg),分基肥、分蘖肥、促花肥施用,比例为 5:2:3;施磷量 P₂O₅ 90 kg/hm²,磷肥为过磷酸钙(含 P₂O₅ 135 g/kg),作为基肥一次性

施入;施钾量 K₂O 120 kg/hm²,钾肥为氯化钾(含 K₂O 630 g/kg),分基肥和拔节肥两次施用,比例为 6:4。有机肥随基肥一次性施入。以 CF 处理为参照,其他各处理中氮磷钾养分不足的部分,以尿素、过磷酸钙和氯化钾补充。各处理随机区组排列,重复 3 次,小区面积为 30 m²。为了防止肥水串灌,在每个小区之间筑起田埂,并覆盖塑料薄膜。水稻于 2019 年 6 月 6 日播种,6 月 23 日移栽,株行距为 13.3 cm × 30 cm,10 月 31 日收获。其他的田间管理措施同当地常规方法。

表 1 试验小区施肥情况
Table 1 Fertilization of test plots

处理	化肥(kg/hm ²)			菜籽饼 (kg/hm ²)	蚯蚓粪 (kg/hm ²)	总量(kg/hm ²)		
	N	P ₂ O ₅	K ₂ O			N	P ₂ O ₅	K ₂ O
CF	270	90	120	0	0	270	90	120
RC	189	72	101	1 620	0	270	90	120
WT	189	3	55	0	3 115	270	90	120

1.3 土壤样品采集与测定

在水稻收获前 1 天,用 5 cm 直径的土钻采取 0~5、5~10 和 10~15 cm 土层土壤,按“S”型取 15 个点的土样,每个土层土样混为 1 个样品,剔除石砾和植物残体等杂质,装入灭菌袋暂存于冷冻保温箱中,尽快带回实验室。将每份土壤样品分为 2 份,一份风干研磨后,采用常规土壤农化分析方法测定土壤有机质(SOM)、pH、电导率(EC)、全氮、全磷、碱解氮、有效磷等土壤理化性质^[9]。

另一份于-80℃保存,用于土壤 DNA 提取。土壤 DNA 采用 Power soil™ DNA 试剂盒(MoBio Laboratories, Solana Beach, CA)进行提取,每个样本 3 个重复。在土壤 DNA 提取完成后,采用 16S RNA 基因 V3~V4 区通用引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAGF-3'), 806R(5'-GGACTACHVGGGTW TCTAATR-3')进行 PCR 扩增,后续文库构建、Miseq 测序均在上海美吉生物医药有限公司(Shanghai Majorbio Bio-pharm Technology Co., Ltd)的 Illumina MiSeq PE300 测序平台上进行^[10]。

1.4 数据处理与分析

采用随机区组统计多因素方差分析数据, Duncan 法进行多重比较,分析处理、土层以及处理和土层交互作用对土壤理化性质和细菌多样性的影响。采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 19.0 等软件进行统计分析和绘图。

在美吉平台生物云(<http://www.i-sanger.com>)进行高通量数据的生物信息学分析。序列拼接采用

Mothur 软件完成。根据序列的相似度, 将有效序列聚类为 OTU(97% 相似度)。采用细菌 16S rRNA 对比库 Silva(Release132 <http://www.arb-silva.de>)对各 OTU 进行物种注释。采用基于 Bray-Curtis 距离矩阵的非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS) 法分析各处理土壤细菌群落的结构差异。根据样品门水平上物种注释及丰富度绘制群落柱图, 并计算细菌多样性获得相关指数。不同样本间门水平上的物种丰度差异性采用单因素方差法分析比较, 获得样本间显著性差异物种。采用 student's T test 方法比较各样品的细菌群落多样性。环境因子、样品细菌群落组成分布, 及主要 OTU 之间关系的相关关系用冗余分析(RDA)比较。

2 结果与分析

2.1 减施化肥配施有机肥对稻田土壤环境因子的影响

土壤有机质含量随土层加深而逐渐下降(表 2), 0~5、5~10、10~15 cm 土层土壤有机质含量分别平均为 28.77、23.49、21.98 g/kg; 与 CF 处理相比,

RC 和 WT 处理各土层土壤有机质含量都有显著增加, RC 处理增加幅度比 WT 处理高。0~5、5~10、10~15 cm 土层土壤 pH 分别平均为 6.82、6.96、7.08; 各处理中以 RC 处理土壤 pH 最低, CF 和 WT 处理间差异不显著。土壤 EC 随着土层加深而有下降趋势, 各处理中以 RC 处理最高, CF 和 WT 处理间差异不显著。随着土层的加深, 土壤全氮和碱解氮含量都有下降的趋势, 而土壤全磷和有效磷含量变化趋势不明显, 分别平均为 2.16 g/kg 和 95.43 mg/kg。各处理中 RC 和 WT 处理的全氮、全磷、碱解氮、有效磷、速效钾含量均显著高于 CF 处理; 0~5、5~10 cm 土层土壤 WT 处理的碱解氮、有效磷、速效钾含量高于 RC 处理。

总体而言, 配施不同有机肥的单一效应对收获期土壤有机质、pH、EC、全磷和速效钾含量有显著性影响; 而不同土层的单一效应对 pH 和有效磷无显著影响, 对其他各环境因子都有显著影响; 有机肥和土层交互效应与土层的单一效应对土壤环境因子的影响几乎相同, 可见, 配施不同有机肥对土壤环境因子的影响受土层的影响作用不可忽视。

表 2 减施化肥配施不同有机肥对土壤环境因子的影响

Table 2 Effects of reducing chemical fertilizer combined with application of different organic fertilizers on soil environmental factors

土层(cm)	处理	SOM(g/kg)	pH	EC(mS/cm)	全氮(g/kg)	全磷(g/kg)	碱解氮(mg/kg)	有效磷(mg/kg)	速效钾(mg/kg)
0~5	CF	25.39 c	7.05 ab	0.32 cde	1.25 b	1.86 c	95.14 d	75.56 d	143.03 c
	RC	31.42 a	6.40 c	0.50 a	1.48 a	2.28 abc	109.01 b	94.51 b	148.99 b
	WT	29.51 b	7.02 ab	0.36 bc	1.46 a	2.26 abc	126.16 a	111.49 a	163.41 a
5~10	CF	22.36 e	7.01 ab	0.31 cde	1.13 c	1.90 bc	78.63 f	85.66 c	98.33 g
	RC	25.68 c	6.85 b	0.41 b	1.24 b	2.17 abc	88.85 e	105.24 a	102.29 f
	WT	24.42 d	7.02 ab	0.30 de	1.24 b	2.17 abc	97.98 c	110.02 a	126.79 d
10~15	CF	20.28 g	7.26 a	0.28 e	1.04 d	2.10 abc	63.95 i	91.79 bc	81.98 i
	RC	24.01 d	6.81 b	0.35 cd	1.12 c	2.40 a	75.03 g	94.05 b	94.14 h
	WT	21.65 f	7.16 a	0.27 e	1.07 d	2.35 ab	70.65 h	90.55 bc	110.56 e
有机肥	**	*	*	ns	**	ns	ns	**	
土层	**	ns	*	**	*	**	ns	**	
有机肥×土层	**	ns	*	**	**	**	ns	**	

注: 同一列不同字母表示不同土层和处理间差异显著($P<0.05$); *和**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平影响显著; ns 表示影响不显著; 下同。

2.2 减施化肥配施有机肥对稻田土壤细菌群落结构的影响

各处理土壤样品按照 97% 相似性对非重复序列(不含单序列)进行 OTU 聚类, OTU 总数是 7 715 个(表 3)。由 Alpha 多样性分析可知, 与 CF 处理相比, RC 和 WT 处理都能提高不同土层土壤细菌丰富度 Sobs 指数, 以 RC 处理最大。Shannon 指数考虑了样品的丰富度与均匀度, 是对群落结构更加综合的反

映。RC 和 WT 处理都能提高不同土层土壤细菌多样性 Shannon 指数, 其中 RC 处理最大。

配施不同有机肥的单一效应对收获期土壤细菌丰富度 Sobs 指数无显著影响, 却显著影响多样性 Shannon 指数; 不同土层的单一效应极显著影响土壤细菌丰富度 Sobs 指数和多样性 Shannon 指数。可见, 土层的作用在配施有机肥对土壤细菌多样性的影响中起到重要作用。

表 3 减施化肥配施不同有机肥对土壤细菌 Alpha 多样性的影响

Table 3 Effects of reducing chemical fertilizer combined with application of different organic fertilizers on soil bacterial alpha diversity

土层(cm)	处理	有效序列数	丰富度指数 Sobs	多样性指数 Shannon
0~5	CF	68 445	5 027 bc	7.26 bc
	RC	84 817	5 061 bc	7.40 ab
	WT	66 445	5 036 bc	7.34 abc
5~10	CF	81 033	5 321 ab	7.31 abc
	RC	76 218	5 450 a	7.46 a
	WT	84 103	5 427 a	7.36 abc
10~15	CF	71 720	4 756 c	7.05 d
	RC	74 601	5 084 bc	7.19 cd
	WT	76 385	5 050 bc	7.19 cd
有机肥			ns	**
土层			**	**
有机肥×土层			*	**

基于 Bray-Curtis 距离不同处理土壤细菌非度量多维尺度分析(NMDS)表明(图 1), 在 0~5 cm 土层, RC 处理显著不同与 CF 和 WT 处理, CF 和 WT 处理之间无显著差异($P = 0.734$); 在 5~10 cm 土层,

各处理之间差异显著($P = 0.001$); 在 10~15 cm 土层, 各处理之间的细菌群落组成呈现重合。可见, 各处理对土壤细菌群落组成产生显著影响主要在 5~10 cm 土层。

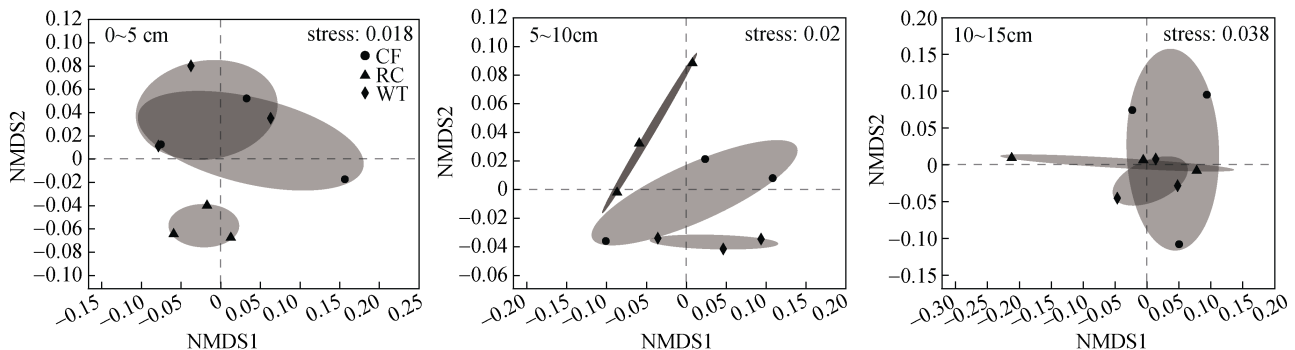


图 1 基于 Bray-Curtis 距离不同处理细菌非度量多维尺度分析(NMDS)

Fig. 1 NMDS of bacteria under different treatments based on Bray-Curtis Distance

各处理土壤细菌群落结构多样性较为丰富, 变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)是门水平上位于前3位的优势菌群, 平均分别占细菌总数量的 36.24%、18.30% 和 13.87%(图 2)。整体而言, 相对丰度大于 1% 的菌门在各处理间有所差异, 但是并不显著。

比较不同处理在各菌门水平上的差异可以看出(图 3), 0~5 cm 土层, 各处理仅在稀有菌(占比小于 1%)单糖菌门(Saccharibacteria)、脱铁杆菌门(Deferribacteres)和护微菌门(Tectomicrobia)存在显著性差异; 5~10 cm 土层, 受配施有机肥影响的菌门较多, 且除放线菌门(Actinobacteria)和匿杆菌门(Latescibacteria)之外均为稀有菌门; 10~15 cm 土层, 小基因组菌总门(Microgenomates)、降氨酸菌门

(Aminicenantes)、BRC1 菌门各处理间呈现显著性差异。

2.3 稻田土壤环境因子对细菌群落的影响

RDA 分析结果表明, 0~5 cm 土层的第一、二主轴分别解释了土壤细菌群落变异的 50.91% 和 13.10%, 两轴共解释了 64.01% 的细菌群落总变异, 5~10、10~15 cm 土层前两轴共解释了 77.40% 和 58.75% 的细菌群落总变异。根据箭头长度可以看出, 细菌群落分布受不同土层土壤环境因子影响作用有所差异。Mantel 检验的结果表明, pH($R^2 = 0.5138$, $P = 0.03$), 全磷(TP)($R^2 = 0.4973$, $P = 0.029$)是影响 0~5 cm 土层土壤细菌群落结构主要的土壤环境因子; EC($R^2 = 0.5135$, $P = 0.035$)、TP($R^2 = 0.5721$, $P = 0.026$)和 pH($R^2 = 0.4987$, $P = 0.031$)是影响 5~10 cm 土层土壤细菌群落结构主要的土壤环境因子; 全氮

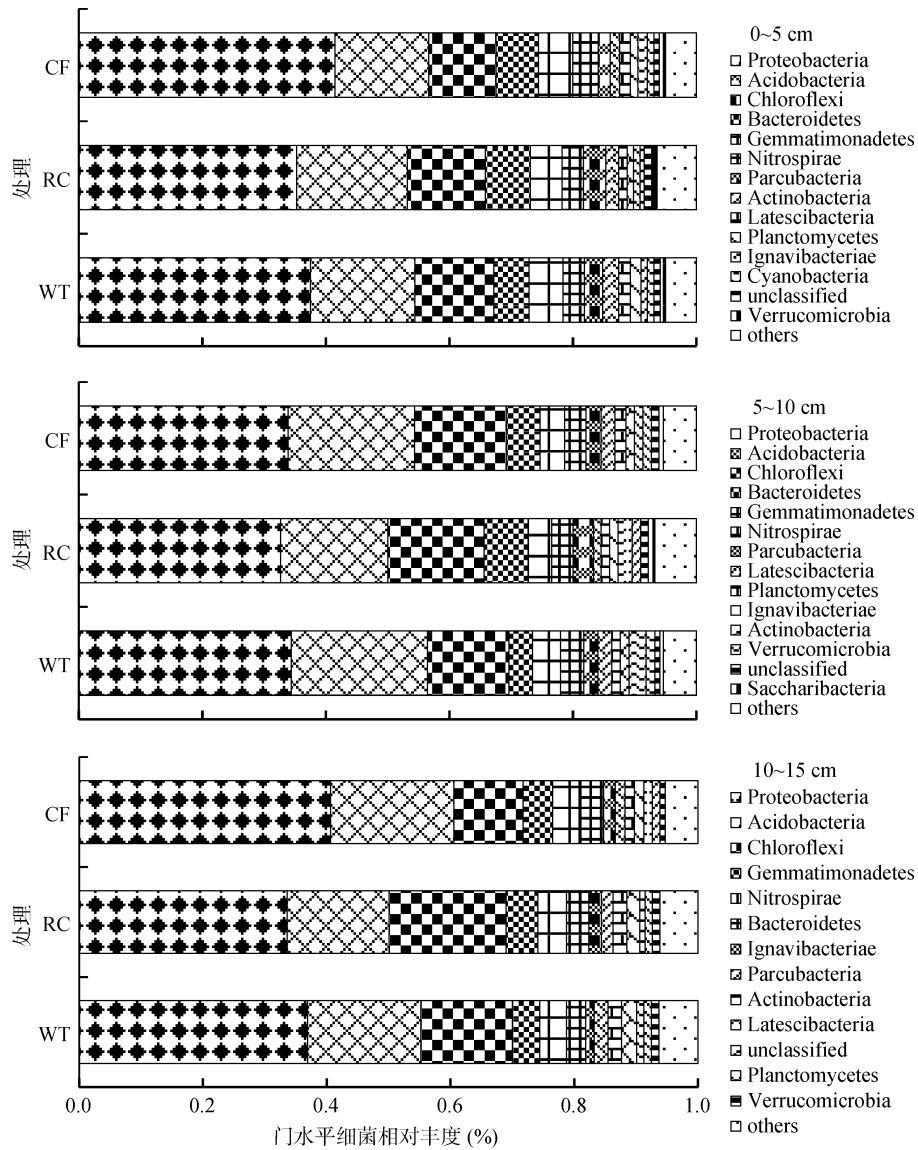


图 2 各处理在门水平上土壤细菌群落组成分析

Fig. 2 Analysis of soil bacterial community composition at phylum level of each treatment

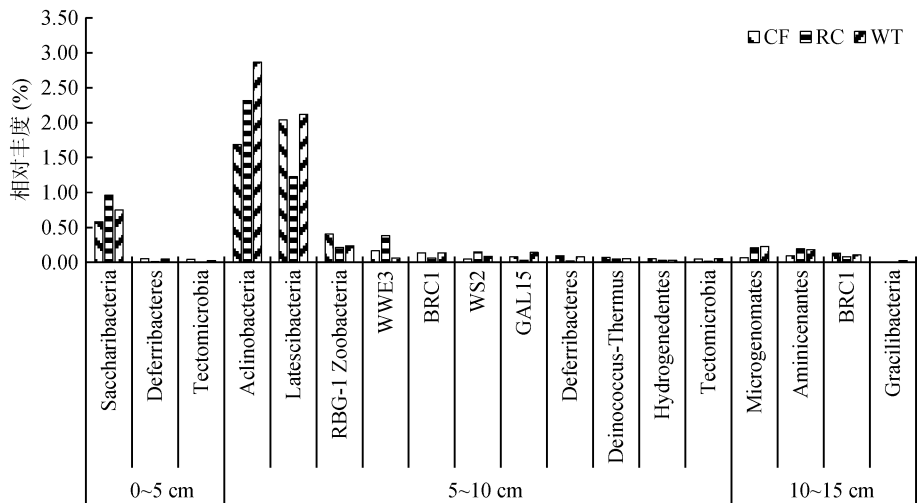
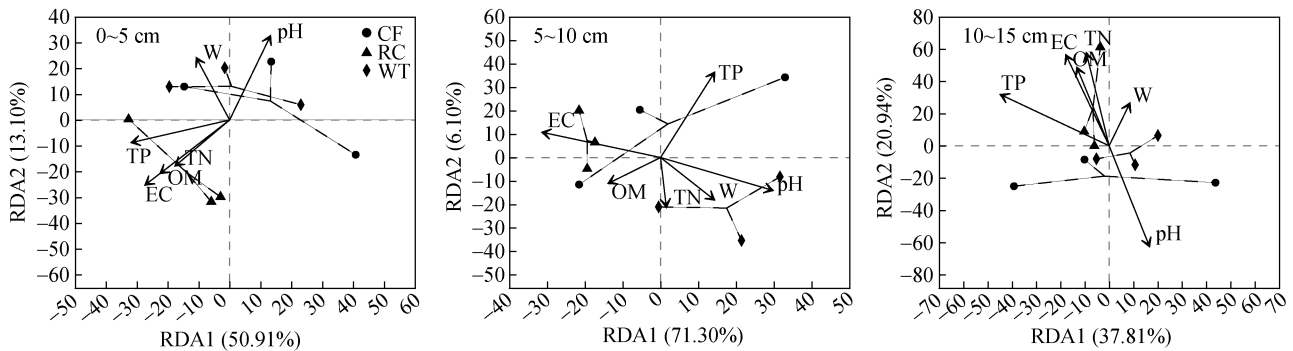


图 3 各处理在门水平上细菌群落组间差异性比较

Fig. 3 Comparison of differences among groups of bacterial communities at phylum level of each treatment



(图中土壤环境因子简写 TN 代表全氮, TP 代表全磷, W 代表含水量, OM 代表有机质, EC 代表电导率)

图 4 各处理间基于 OTU 水平的 RDA 分析

Fig. 4 RDA analysis based on OTU level among different treatments

(TN)($R^2 = 0.5382$, $P = 0.029$)和 pH($R^2 = 0.5027$, $P = 0.027$)是影响 10~15 cm 土层土壤细菌群落结构主要的土壤环境因子。

3 讨论

3.1 减施化肥配施有机肥对土壤环境因子的影响

本研究表明,与单施化肥相比,减施化肥配施有机肥处理显著提高各土层土壤有机质含量,配施菜籽饼肥增幅较大(表 2),其主要原因可能是在等氮量条件下配施菜籽饼肥处理的有机质投入量较大。配施菜籽饼肥显著降低土壤 pH,这可能是因为菜籽饼肥为偏酸性有机肥(pH 5.5~6.0),且有研究同样表明施用菜籽饼肥后土壤 pH 有下降的趋势^[11]。配施蚯蚓粪肥对土壤 pH 则无显著影响,这可能是因为蚯蚓粪肥为中性有机肥(pH 6.8~7.1)^[12]。与单施化肥相比,配施菜籽饼肥可显著增加各土层土壤电导率,而配施蚯蚓粪肥则无显著变化。其主要原因可能是配施菜籽饼肥释放出较多营养物质,从而增加溶液中的盐分含量,使土壤溶液中离子的浓度增大;而蚯蚓粪肥含大量腐殖质,阳离子交换量较大、吸附能力强,使土壤溶液中离子浓度的变化不明显^[13]。配施菜籽饼肥和蚯蚓粪肥都显著增加各土层土壤全氮、全磷、碱解氮、有效磷和速效钾含量。与化肥养分释放速率相比,有机肥养分释放速率较慢,从而有利于土壤养分库的累积,特别是提高收获期土壤氮磷钾养分含量^[14]。另外,有机肥的输入改善土壤理化及微生物环境,促进化学养分的固定,减少养分损失^[15]。大量研究表明,配施有机肥可以显著提高土壤养分含量^[14],本研究结果与之一致。另外,本研究结果表明配施蚯蚓粪肥的土壤碱解氮、有效磷、速效钾养分含量显著高于配施菜籽饼肥处理,其主要原因可能是蚯蚓粪肥更有利于土壤微生物环境的改善,有利于增强土壤团粒结

构,从而促进对土壤速效养分的吸附与固持^[12]。

土壤环境因子在不同土层间差异显著(表 2)。0~5 cm 土层土壤有机质含量最高,其主要原因可能是,在常规耕作方式下,施用的有机肥主要集中在表层土壤中;5~10 cm 土层土壤有机质含量居中,而 10~15 cm 土层土壤有机质含量最低,可能是该土层处于耕作下层,植株根系生长残体及其有机分泌物相对较少,因此有机质含量较低^[16-17]。土壤 EC、全氮、碱解氮和速效钾含量都随土层加深而呈现下降趋势,其主要原因可能是因为较深层土壤有机质含量下降,其有机质分解而释放的养分物质也随之减少^[18-19];另一方面,植物根系从土壤中吸收养分,然后再通过枯枝落叶等形式将部分养分归还于表层土壤并提供了丰富的养分源,而在深层土壤造成各养分逐渐减少^[20]。10~15 cm 土层土壤全磷含量显著高于表层土壤,其主要原因可能是本研究中磷肥作为基肥一次性深施 10 cm 以下,且磷素在土壤中的移动性很小^[20-21],因此收获期 10~15 cm 土层磷含量较高。

3.2 减施化肥配施有机肥对土壤微生物群落结构的影响

施肥种类和用量都会对土壤微生物多样性产生影响。研究发现施用有机肥改变了土壤的细菌组成,其 Sobs 和 Shannon 指数都显著增加^[22]。本研究同样表明,与单施化肥处理相比,配施有机肥的土壤细菌 Sobs 和 Shannon 指数都有所增加。各处理中变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门是土壤细菌群落中的优势菌门(图 2),这与其他研究结果基本一致^[23]。不同土层深度也是影响土壤细菌多样性和群落组成差异的主要原因(表 2,图 1)。5~10 cm 土层土壤细菌丰富度和多样性指数较高(表 2),其主要原因可能是该土层是植株根系生长的旺盛区域,根系残体及其有机分泌物相对较多,促进细菌繁殖^[24];0~5 cm 土层土壤有

机质和养分含量较高,但是其细菌丰富度和多样性并非最高,可能主要是因为水稻收获前土壤长期处于厌氧环境,排水收获时表层土壤厌氧环境的消失会显著改变厌氧微生物生长环境,从而降低其丰富度和多样性。10~15 cm 土层土壤细菌丰富度和多样性指数较低的主要原因可能是因为该土层处于耕作下层,根系残体及其有机分泌物等有机质含量较低^[16-17]。本研究表明施用不同有机肥下不同土层土壤细菌群落结构有显著差异(图 1)。与单施化肥处理相比,5~10 cm 土层土壤中放线菌门的相对丰度显著增加(图 3),其主要原因可能是:一方面,有机肥的投入,增加了有机物料及养分的释放,促进了土壤中原有放线菌的快速繁殖;另一方面,蚯蚓粪自身包含大量微生物,其中富含放线菌。这可能也是蚯蚓粪肥处理中放线菌门相对丰度较大的原因之一。配施菜籽饼肥降低了 *Latescibacteria* 菌门的相对丰度,这与前人研究结果一致^[25]。整体而言,各处理之间存在显著差异的菌门主要集中在相对丰度小于 1% 的菌门群落中。0~5 cm 土层土壤中,与单施化肥处理相比,配施有机肥处理的单糖菌门(*Saccharibacteria*)相对丰度显著增加;脱铁杆菌门(*Deferribacteres*)、护微菌门(*Tectomicrobia*)相对丰度显著下降,这些与其他研究结果一致^[25]。然而,目前大多研究主要集中在相对丰度较大的菌门,对这些配施有机肥后差异显著的稀有菌门的深入研究,可能有助于进一步了解配施有机肥对细菌群落结构的影响机理。

3.3 土壤细菌群落结构的影响因子

有研究表明,土壤理化性质对土壤细菌群落结构具有重要作用,其中 pH 是影响土壤细菌群落变化的关键因子^[26]。配施菜籽饼肥处理土壤 pH 显著小于单施化肥和配施蚯蚓粪肥处理(表 1),不同施肥处理下 0~5 cm 土层土壤细菌群落与 pH 有显著的相关关系($P<0.05$,图 5),可见 pH 是影响细菌群落结构的主要驱动因子之一。5~10 cm 土层土壤细菌群落与 EC 有显著的负相关关系,其主要原因可能是土壤 EC 越高,养分(SOM、TN、 NH_4^+ 、 NO_3^-)累积越多,不利于土壤细菌群落结构组成的变化^[27]。其他研究同样认为秸秆还田后土壤 EC 增大是影响细菌群落组成变化的环境因素之一^[28]。10~15 cm 土层土壤细菌群落与全氮有显著的负相关关系($P<0.05$,图 5),其主要原因可能也是因为土壤养分累积越多,不利于土壤细菌群落结构组成的变化。通过 RDA 分析发现,各土层中有机质对细菌群落结构影响并没有达到显著水平,其原因可能是配施有机肥主要通过改变土壤理化性

状来调控细菌群落组成。有研究同样表明有机质是影响微生物的重要因素,但是土壤理化性状与土壤细菌群落具有显著相关性^[28-29]。因此,在实施有机肥配施过程中,不仅要考虑有机肥替代化肥实现减肥增效的作用,而且要综合考虑有机肥施入土壤后对土壤理化性质的改变如何影响土壤微生物群落结构,从而改善土壤微生物环境,促进作物稳产高产。

4 结论

1)与单施化肥相比,减施化肥配施有机肥显著提高各土层土壤有机质含量和 EC,配施菜籽饼肥增幅较大;显著增加各土层土壤氮磷钾养分含量,配施蚯蚓粪肥的土壤速效氮磷钾养分含量较高。

2) 减施化肥配施有机肥可提高土壤细菌 Sobs 指数和 Shannon 指数;各施肥处理中前 3 位优势菌门为变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*),分别占细菌数量的 36.24%、18.30%、13.87%;各处理间存在显著差异的菌门主要集中在相对丰度小于 1% 的稀有菌门。

3)0~5 cm 土层土壤细菌群落结构主要受 pH、全磷影响;5~10 cm 土层土壤细菌群落结构主要受 EC、全磷、pH 影响;10~15 cm 土层土壤细菌群落结构主要受全氮、pH 影响。

参考文献:

- [1] 汪洋,杨殿林,王丽丽,等. 农田管理措施对土壤有机碳周转及微生物的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2020, 37(3): 340-352.
- [2] 巨晓棠,张翀. 论合理施氮的原则和指标[J]. 土壤学报, 2021, 58(1): 1-13.
- [3] Wang G L, Ye Y L, Chen X P, et al. Determining the optimal nitrogen rate for summer maize in China by integrating agronomic, economic, and environmental aspects[J]. *Biogeosciences*, 2014, 11(11): 3031-3041.
- [4] 朱利霞. 不同调控措施对旱作农田土壤碳氮及微生物学特性的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- [5] 王兴龙,朱敏,杨帆,等. 配施有机肥减氮对川中丘区土壤微生物量与酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2017, 31(3): 271-276.
- [6] 王桂良,张家宏,王守红,等. 沼液替代化肥氮对冬小麦产量、品质及生长发育的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2018, 35(5): 467-475.
- [7] 李静. 稻麦轮作下有机无机肥料配施对作物生长及土壤微生物特性的影响研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2015.
- [8] 柳玲玲,苟久兰,何佳芳,等. 生物有机肥对连作马铃薯及土壤生化性状的影响[J]. 土壤, 2017, 49(4): 706-711.

- [9] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 1981.
- [10] 张俊华, 贾萍萍, 刘吉利, 等. 宁夏养鸡场粪污及周边土壤重金属和细菌群落特征研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(8): 1692-1705.
- [11] 祝红蕾, 储大勇, 刘华. 菜籽饼粕有机肥的应用[J]. 安徽化工, 2013, 39(5): 13-14,24.
- [12] 张立功. 有机果园永恒的“造粪机”和产物——蚯蚓和蚯蚓粪[J]. 果农之友, 2019(1): 40-43.
- [13] 冯腾腾. 蚯蚓粪和秸秆生物炭对大棚多年连作黄瓜的调控效果[D]. 扬州: 扬州大学, 2017.
- [14] 石纹菡, 刘世亮, 赵颖, 等. 猪粪有机肥施用对潮土速效养分含量及团聚体分布的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2017, 34(5): 431-438.
- [15] Jiang B S, Shen J L, Sun M H, et al. Soil phosphorus availability and rice phosphorus uptake in paddy fields under various agronomic practices[J]. *Pedosphere*, 2021, 31(1): 103-115.
- [16] 张大伟, 刘建, 王波, 等. 连续两年秸秆还田与不同耕作方式对直播稻田土壤理化性质的影响[J]. 江西农业学报, 2009, 21(8): 53-56.
- [17] 崔荣美, 李儒, 韩清芳, 等. 不同有机肥培肥对旱作农田土壤团聚体的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011, 39(11): 124-132.
- [18] 李凤博, 牛永志, 高文玲, 等. 耕作方式和秸秆还田对直播稻田土壤理化性质及其产量的影响[J]. 土壤通报, 2008, 39(3): 549-552.
- [19] 程文龙, 韩上, 武际, 等. 连续秸秆还田替代钾肥对作物产量及土壤钾素平衡的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2019(5): 72-78.
- [20] 佘国涵, 彭成林, 徐祥玉, 等. 稻虾共作模式对涝渍稻田土壤理化性状的影响[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(1): 61-68.
- [21] 吴明, 邵学新, 胡锋, 等. 围垦对杭州湾南岸滨海湿地土壤养分分布的影响[J]. 土壤, 2008, 40(5): 760-764.
- [22] 陆海飞, 郑金伟, 余喜初, 等. 长期无机有机肥配施对红壤性水稻土微生物群落多样性及酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(3): 632-643.
- [23] Guo J J, Liu W B, Zhu C, et al. Bacterial rather than fungal community composition is associated with microbial activities and nutrient-use efficiencies in a paddy soil with short-term organic amendments[J]. *Plant and Soil*, 2018, 424(1/2): 335-349.
- [24] 魏雪娇, 吴建富, 方加海. 水稻根系生长与产量形成的关系及根系生长调控途径研究进展[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(36): 11785-11786,11788.
- [25] 刁生鹏. 增施有机肥对旱作农田土壤环境及玉米产量的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.
- [26] Xun W B, Huang T, Zhao J, et al. Environmental conditions rather than microbial inoculum composition determine the bacterial composition, microbial biomass and enzymatic activity of reconstructed soil microbial communities[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90: 10-18.
- [27] 赵凤艳. 蚓粪改善设施番茄连作土壤质量和番茄品质的机理[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
- [28] 刘玲玲. 秸秆还田与施氮对土壤养分、微生物及水稻产量的影响[D]. 扬州: 扬州大学, 2018.
- [29] 张军, 刘菁, 陈长青. 有机稻鸭共作对土壤理化性状和细菌群落空间分布的影响[J]. 生态学杂志, 2020, 39(3): 822-829.