

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2022.06.011

张英, 武淑霞, 雷秋良, 等. 不同类型粪肥还田对土壤酶活性及微生物群落的影响. 土壤, 2022, 54(6): 1175–1184.

不同类型粪肥还田对土壤酶活性及微生物群落的影响^①

张英, 武淑霞*, 雷秋良, 翟丽梅, 王洪媛, 李浩, 杨波, 刘宏斌

(中国农业科学院农业资源与农业区划研究所, 农业农村部面源污染控制重点实验室, 北京 100081)

摘要: 畜禽粪便作为有机肥还田可以维持和提高土壤有机质、改良土壤, 有利于农业可持续发展。不同类型粪肥还田后对土壤生物学性状的影响不同, 为探究这一问题, 在内蒙古乌兰察布市设置田间试验, 包括化肥(F)、羊粪(GM)、猪粪(PM)、牛粪(CM)4个处理, 研究其对土壤养分、酶活性及微生物群落的影响。结果表明, 施用粪肥较化肥具有增加土壤有机质、全氮、有效磷、铵态氮等养分含量的趋势。不同粪肥较化肥处理的土壤脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶和过氧化氢酶活性最高增幅分别为 32.4%、150.4%、26.8% 和 30.1%。牛粪处理的土壤微生物生物量碳氮显著提高, 分别较化肥增加 33.2% 和 33.4%。不同处理在细菌门水平上的优势种群较一致, 放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、厚壁菌门(Firmicutes)是优势种群。本试验条件下, 牛粪处理更能提高土壤微生物生物量碳氮, 短期内施用不同粪肥对于提高土壤微生物群落多样性差异不显著, 土壤 pH、有效磷、铵态氮是影响土壤微生物群落结构的主要环境因子。

关键词: 羊粪; 猪粪; 牛粪; 土壤酶活性; 土壤微生物群落

中图分类号: S158.2; S154.3 **文献标志码:** A

Effects of Different Manures on Soil Enzyme Activity and Microbial Community

ZHANG Ying, WU Shuxia*, LEI Qiuliang, ZHAI Limei, WANG Hongyuan, LI Hao, YANG Bo, LIU Hongbin
(Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Nonpoint Source Pollution Control, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081, China)

Abstract: The application of livestock and poultry manures to the field as organic fertilizers can maintain and improve soil fertility, which is beneficial to the sustainable development of agriculture. In order to clarify the effects of different manures on soil biological properties, a field experiment was conducted in Ulanqab of Inner Mongolia, including four treatments of chemical fertilizer (F), goat manure (GM), pig manure (PM) and cow manure (CM), soil nutrients, enzyme activities and microbial communities were determined under the different treatments. The results show that, compared with F, application of manures trends to insignificantly increase the contents of soil nutrients such as organic matter, total nitrogen, available phosphorus and ammonium nitrogen. The highest increase rates of soil urease, invertase, alkaline phosphatase and catalase activities under different manures are 32.4%, 150.4%, 26.8% and 30.1%, respectively. Soil microbial biomass carbon and nitrogen under cow manure are significantly increased by 33.2% and 33.4%, respectively. The dominant populations are relatively consistent at the phyla level of bacteria under different treatments, which are Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi and Firmicutes. Under the experimental conditions, different manures have different effects on soil nutrients and enzyme activities, cow manure can improve soil microbial biomass carbon and nitrogen, the short-term application of different manures has no significant effect on the diversity of soil microbial communities, soil pH, available phosphorus, and ammonium nitrogen are the main environmental factors that affect the structure of soil microbial community.

Key words: Goat manure; Pig manure; Cow manure; Soil enzyme activity; Soil microbial community

①基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(1610132021028)、国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目(U20A20114)和泰山产业领军人才工程项目(LJNY202125)资助。

* 通讯作者(wushuxia@caas.cn)

作者简介: 张英(1994—), 女, 河南郸城人, 硕士研究生, 主要研究方向为农业面源污染防治。E-mail: 1733079188@qq.com

畜牧业迅速发展的同时伴随着大量畜禽粪污产生,我国畜禽养殖粪污产生总量约为 38 亿吨,综合利用率为 75%^[1]。作为有机肥进行还田是畜禽粪便资源化利用的最主要方式之一^[2]。有机肥本身含有大量有机质及多种营养成分,施入土壤可提高土壤养分,陈洁等人^[3]研究得出长期施用有机肥可显著增加土壤碳氮库,并增加土壤有效磷、速效钾等养分含量。土壤酶活性也是评价土壤肥力指标之一^[4],多种酶与土壤元素转化密不可分,如蔗糖酶、脲酶、磷酸酶和过氧化氢酶参与碳、氮、磷等化学循环。长期施用有机肥会显著提高土壤酶活性,而施用化肥对酶活性的影响不大^[5]。研究土壤酶对粪肥添加的响应有利于明确土壤养分转化机制,增加土壤肥力。

土壤微生物是土壤中物质转化的动力,如固氮作用、硝化作用、反硝化作用、腐殖质的分解和合成等过程^[6]。因此土壤微生物种类和数量及群落结构也能反映土壤质量状况^[7]。施肥会改变土壤微生物组成及群落多样性,研究表明施用有机肥提高土壤变形菌门和厚壁菌门的相对丰度,并降低放线菌门相对丰度^[8]。长期施用粪肥会降低土壤真菌与细菌比,显著改变土壤细菌和真菌群落的结构^[9]。另外有研究表明,pH、全氮、全磷和铅含量是影响土壤微生物群落结构的主要环境因子,不同粪肥添加改变了稻田土壤理化性质,从而间接改变了稻田土壤微生物的群落组成^[10]。施入粪肥有利于提高土壤微生物数量及群落多样性^[11-12],而长期施入化肥会使土壤养分种类单一化,并且会使土壤 pH 降低,导致土壤微生物数量和种类减少。因此,研究粪肥还田后的微生物群落结构变化对土壤质量管理具有重要作用。

不同类型畜禽粪便由于成分和性质的差异,在不同地区、不同种植方式下施用后对作物生长、土壤养分及微生物性状等的影响也存在较大差异^[13-14],李祥云等^[15]将鸡粪、猪粪和牛粪施用于菜地,得出施用猪粪的蔬菜营养成分较均衡,建议在蔬菜有机栽培生

产上广泛应用。张永峰等^[16]研究显示不同粪肥均能够明显提高玉米产量和土壤肥力,施用鸡粪效果最好。陈贵等^[17]在稻田上的试验表明猪粪更能提高土壤养分含量。本研究选择内蒙古农牧交错地区青贮玉米为研究对象,通过田间试验比较牛粪、羊粪、猪粪 3 种当地主要粪肥施用后对土壤养分和酶活性的影响,并明确土壤微生物对不同粪肥响应特征,以便综合评价不同类型粪肥还田后对土壤作用效果,对于指导当地粪肥还田、促进资源有效利用具有指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验于 2020 年进行,试验地点位于内蒙古乌兰察布市察哈尔右翼前旗,气候属于北温带大陆性干旱气候,冬季长达 5 个月,年平均气温 4.5 °C,年降水量 376.1 mm,多集中在 7—8 月上旬。该地区土壤属于半干旱草原栗钙土地带中的暗栗钙土带。试验前耕层土壤(0~20 cm)基本理化性质如表 1 所示。

表 1 试验地土壤基础理化性质
Table 1 Basic physiochemical properties of tested soil

有机质 (g/kg)	全氮 (g/kg)	碱解氮 (mg/kg)	有效磷 (mg/kg)	速效钾 (mg/kg)	pH
23.89	1.25	94.2	9.3	57.4	8.55

1.2 试验设计

选用羊粪、牛粪、猪粪 3 种农牧交错区典型畜禽粪污,粪肥具体养分含量如表 2 所示。研究在等氮量条件下,施用粪肥对作物和土壤的影响。试验共设置 4 个处理(表 3),每个处理重复 3 次,粪肥经过自然堆肥发酵后施入土壤,各处理施肥量根据当地农民的施肥习惯设置。化肥种类为复合肥,粪肥的磷钾施用量根据等氮量条件和磷钾养分含量换算得到。每个小区面积为 500 m²。供试青贮玉米品种为京科 9685,播种日期为 2020 年 5 月 6 日。

表 2 供试肥料的养分含量
Table 2 Nutrient contents of manures applied

粪肥	有机质(g/kg)	全氮(g/kg)	全磷(g/kg)	全钾(g/kg)	硝态氮(mg/kg)	铵态氮(mg/kg)	pH
羊粪	293.49	9.05	3.01	32.61	1.15	43.05	10.11
猪粪	272.09	33.24	11.46	8.01	0.55	106.09	6.20
牛粪	343.03	14.56	6.39	11.22	0.66	30.17	8.66

1.3 样品采集与测定

在青贮玉米成熟期采集 0~20 cm 土壤样品,各小区分别采取 10 个样品混匀,所有土壤样本带回实

验室,分成两部分,一部分鲜土过 10 目筛后,用于测定铵态氮、硝态氮、微生物生物量碳氮和含水量,部分鲜样取回后保存在-80 °C 冰箱用于测定微生物群

表 3 试验设计及施肥方案
Table 3 Test design and fertilization scheme

试验处理	施肥量 (kg/hm ²)		
	N	P	K
化肥(F)	180	75	90
羊粪(GM)	225	100.5	597
猪粪(PM)	225	111	77.55
牛粪(CM)	225	99	171

注: 化肥的磷钾施肥量以 P₂O₅ 和 K₂O 计, 粪肥的磷钾施肥量以总的单质 P 和单质 K 计。

落结构; 另一部分土样风干过 20 目筛后用于土壤理化性质测定。

1.4 试验测定方法

1.4.1 土壤理化性质测定 土壤有机质采用重铬酸钾容量法-外加热法测定; 全氮采用全自动凯氏定氮法测定; 铵态氮、硝态氮采用 0.01 mol/L CaCl₂ 浸提, 流动分析仪(AA3)测定; 全磷采用 NaOH 熔融-钼锑抗比色法测定; 全钾采用 NaOH 熔融-火焰光度法测定; 有效磷采用 0.5 mol/L NaHCO₃ 浸提-钼锑抗比色法测定; 速效钾采用醋酸铵浸提-火焰光度法测定; pH 采用 5:1 水土比(V:m)pH 计测定。

1.4.2 土壤酶活性及微生物测定 土壤酶活性参考关松荫^[18]的方法进行测定, 脲酶采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定, 用单位时间和单位干土中产生的 NH₄⁺-N 的质量表示; 土壤蔗糖酶采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定, 用单位时间和单位干土中产生葡萄糖的质量表示; 过氧化氢酶采用高锰酸钾滴定法测定, 用滴定相当于 1 g 干土滤液所消耗的 0.02 mol/L KMnO₄ 体积表示; 碱性磷酸酶采用苏州科铭生物技术有限公司的碱性磷酸酶试剂盒测定; 土壤微生物生物量碳氮采用熏蒸-浸提法测定^[19]。

采用 Fast DNA SPIN Kit for Soil(MP Biomedicals) 试剂盒提取土壤 DNA, 使用 NanoDrop2000 紫外-可见分光光度计进行 DNA 浓度和纯度测定, 采用 1% 琼脂糖凝胶电泳对 DNA 完整性进行检测。微生物群落结构采用 16S rRNA 测序技术, 引物设计 338F (ACTCCTACGGGAGGCAGCAG) 和 806R(GGACTA CHVGGGTWTCTAAT)。2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物。采用 Illumina MiSeq 平台对样本进行测序。生物信息分析流程使用的是 QIIME2 推荐的 DADA2 方法对所有样品的全部原始序列进行质量控制, 去噪, 拼接, 并且去嵌合体, 形成 OTU^[20], 本文中提到的 OTU 应被称为扩增特征序列(Amplicon Sequence Variant), 选取 OTU 的代表性序列, 与数据库 (16S 默

认 Greengenes Database 13_8 版本[按 99%序列相似性聚类]进行比对获得物种注释信息。基于 OTU 的绝对丰度及注释信息, 对每个样品在 7 个分类水平(界、门、纲、目、科、属、种)上的序列数目占总序列数的比例进行统计, 有效地评估样品的物种注释信息。

1.5 数据处理与分析

土壤理化性质部分采用 Microsoft Excel 2016 处理数据并作图, 采用 SPSS 24.0 进行单因素方差分析检验和数据分析。用 Duncan 新复极差法比较不同处理的 Alpha 多样性在 0.05 水平下的差异显著性; 运用 Canoco 5.0 软件做主成分分析(PCA)和冗余分析(RDA)。微生物数据作图采用深圳微生太科技有限公司平台进行作图。

2 结果与分析

2.1 不同粪肥对土壤养分的影响

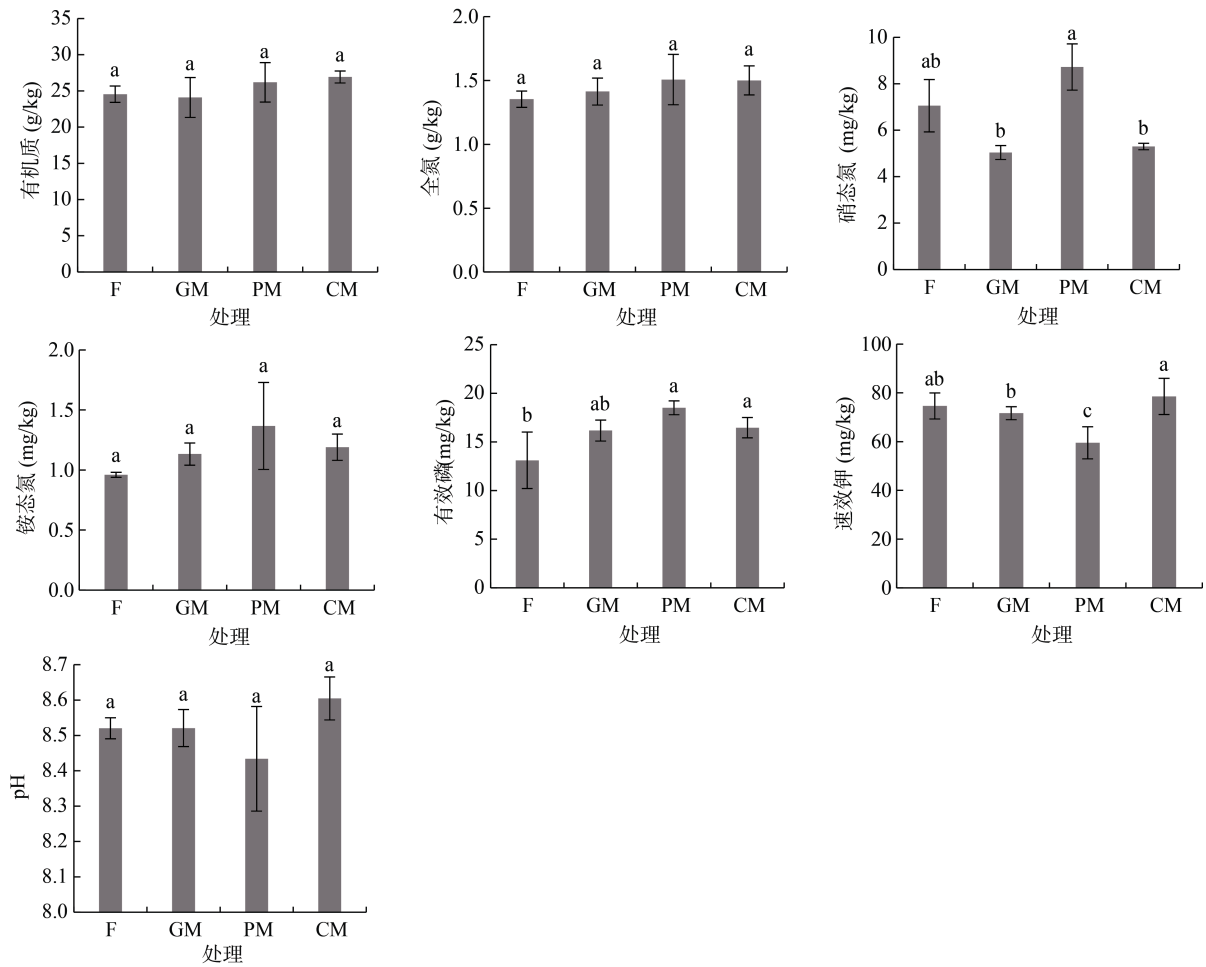
不同粪肥处理对土壤养分的影响如图 1 所示, 不同类型粪肥对土壤养分的影响不同。CM 处理的有机质含量最高, 较 F 处理高 9.7%; PM 处理的全氮含量最高, 较 F 处理高 11.3%; 但各处理间有机质和全氮含量差异均不显著。土壤硝态氮含量大小为 PM>F>CM>GM, PM 处理显著增加土壤硝态氮含量, 较 F、GM 和 CM 分别高 23.6%、73.1% 和 64.6%。各处理的土壤铵态氮含量差异不显著, PM 和 CM 处理的有效磷含量显著高于 F。不同粪肥处理速效钾的含量大小为 CM>F>GM>PM, 且 CM 处理显著高于 GM 和 PM 处理。不同处理间 pH 差异不显著, 与 F 相比较, 猪粪处理的土壤 pH 略有降低, 羊粪和牛粪处理的土壤 pH 略有提高。

2.2 不同粪肥对土壤微生物生物量碳氮的影响

不同粪肥处理对土壤微生物生物量碳氮的影响如图 2 所示。不同处理土壤微生物生物量碳含量范围为 133.55 ~ 177.86 mg/kg, CM 处理显著高于其他处理, 分别较 F、GM 和 PM 处理增加 33.2%、32.0% 和 31.8%。不同处理土壤微生物生物量氮含量范围为 24.36 ~ 32.49 mg/kg, 且各粪肥处理均大于 F 处理, 其中 CM 处理显著高于其他处理, 分别较 F、GM 和 PM 处理增加 33.5%、21.2% 和 28.7%。

2.3 不同粪肥对土壤酶活性的影响

土壤蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶和过氧化氢酶与土壤碳氮磷元素转换密切相关。各处理酶活性如表 4 所示, 不同粪肥均较 F 处理提高了土壤脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶和过氧化氢酶活性, PM 处理的脲酶和碱性磷酸酶活性分别较 F 处理提高了 30.7% 和 26.8%。



(图中小写字母不同表示处理间差异显著($P < 0.05$), 下图同)

图 1 不同施肥处理对土壤理化性质的影响

Fig. 1 Effects of different fertilization treatments on soil physicochemical properties

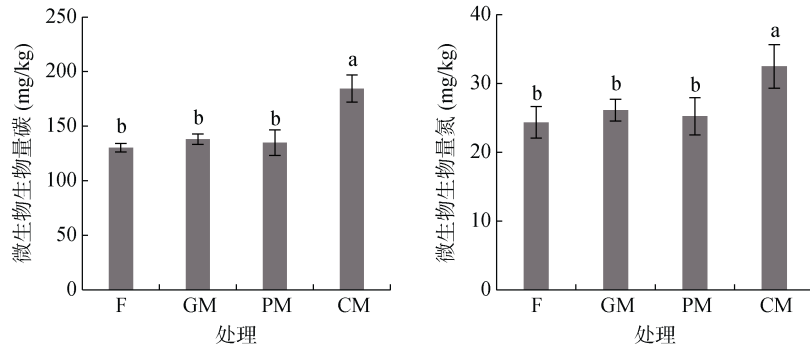


图 2 不同施肥处理对土壤微生物量碳氮的影响

Fig. 2 Effects of different fertilization treatments on soil microbial biomass carbon and nitrogen

表 4 不同施肥处理对土壤酶活性的影响

Table 4 Effects of different fertilization treatments on soil enzyme activities

处理	脲酶 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg/(g·d))	蔗糖酶 (mg/(g·d))	碱性磷酸酶 ($\mu\text{mol}/(\text{g}\cdot\text{d})$)	过氧化氢酶 0.02 mol/L KMnO_4 (ml/(g·h))
F	0.51 ± 0.01 b	10.34 ± 2.62 b	7.71 ± 0.73 b	10.77 ± 0.41 c
GM	0.58 ± 0.07 b	25.89 ± 1.52 a	8.06 ± 0.84 ab	12.53 ± 0.27 b
PM	0.67 ± 0.09 a	19.76 ± 2.65 ab	9.78 ± 1.34 a	13.08 ± 0.37 ab
CM	0.64 ± 0.08 ab	13.49 ± 2.37 b	8.48 ± 1.06 ab	14.01 ± 0.95 a

注：表中同列数据小写字母不同表示处理间差异显著($P < 0.05$), 下表同。

不同处理间蔗糖酶活性的大小为 GM>PM>CM>F, GM 处理蔗糖酶活性最高, 分别较 F、PM 和 CM 高 150.4%、31.0% 和 92.0%。CM 处理过氧化氢酶活性显著高于 GM 和 F 处理, 分别较 F、GM 和 PM 处理高 30.1%、11.8% 和 7.14%。

土壤酶活性与土壤环境条件的改变密切相关, 将土壤酶活性与土壤理化指标等环境因子进行相关性分析(表 5), 土壤脲酶活性与土壤有机质、全氮、有效磷含量显著正相关; 蔗糖酶活性与土壤 pH 呈显著负相关; 碱性磷酸酶活性与土壤有效磷含量呈显著正相关, 与 pH 呈显著负相关; 过氧化氢酶活性与土壤硝态氮呈显著正相关。

表 5 土壤酶活性与土壤理化性质的相关性
Table 5 Correlations between soil enzyme activities and soil physiochemical properties

	脲酶	蔗糖酶	碱性磷酸酶	过氧化氢酶
有机质	0.733**	0.177	0.471	0.068
全氮	0.776**	0.430	0.551	0.106
硝态氮	-0.498	-0.012	-0.163	0.777**
铵态氮	0.573	0.513	0.567	0.083
速效钾	-0.236	-0.521	-0.427	0.233
有效磷	0.602*	0.250	0.577*	-0.476
pH	-0.441	-0.760*	-0.586*	0.373

注: *、**分别表示在 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 水平显著相关。

2.4 不同粪肥对土壤微生物群落的影响

2.4.1 不同处理土壤细菌群落多样性分析

经样本测定分析得到土壤样本测序深度合理。通过对 OTU 数量(图 3)和微生物多样性指数(表 6)的分析, 可了解土壤微生物群落物种丰富度和多样性。4 个处理共有 OTU 数为 654, 不同处理 OTU 数量大小为 PM>CM>GM>F, 其中 PM 处理 OTU 数量最多为 1122, 是 F 处理的 2.88 倍; CM 处理 OTU 为 550, 是 F 处理的 1.41 倍; GM 处理 OTU 为 405, 是 F 处理的 1.04 倍。由表 6 可以看出, CM 处理 Shannon 指数最高, PM 处理 Simpson 指数较低, Chao1 指数大小排序为 PM>CM>F>GM, 猪粪和牛粪处理微生物多样性高于羊粪处理。

2.4.2 不同处理土壤细菌群落组成

不同粪肥处理微生物群落差异性分析如图 4 所示, 第一主成分(PC1)和第二主成分(PC2)分别解释不同样本细菌群落总变异的 38.72% 和 15.31%。不同处理在 PC1 轴上多集中在负半轴。在 PC2 轴上 F 和 PM 处理主要分布在负半轴, GM 和 CM 处理主要分布在正半轴。整体来看, PM 处理和其他处理微生物群落结构差异性较大。

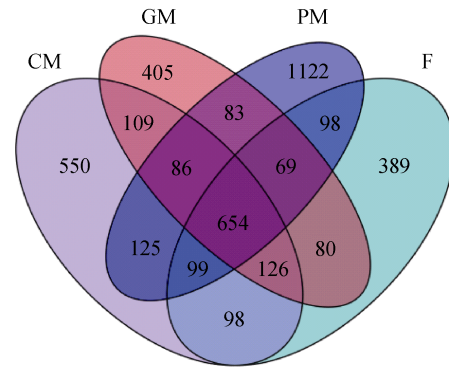


图 3 OTU 水平的 Venn 图
Fig. 3 Venn diagram at OTU level

表 6 不同处理土壤细菌 Alpha 多样性指数
Table 6 Alpha diversity indexes of soil bacteria under different treatments

处理	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao1 指数
F	9.124 7 ± 0.101 5 a	0.996 3 ± 0.000 8 a	909.39 ± 81.94 a
GM	9.128 9 ± 0.066 0 a	0.996 8 ± 0.000 1 a	868.05 ± 57.12 a
PM	9.087 6 ± 0.350 5 a	0.990 8 ± 0.006 8 a	1 060.97 ± 22.14 a
CM	9.241 4 ± 0.195 6 a	0.996 6 ± 0.000 8 a	989.75 ± 138.01 a

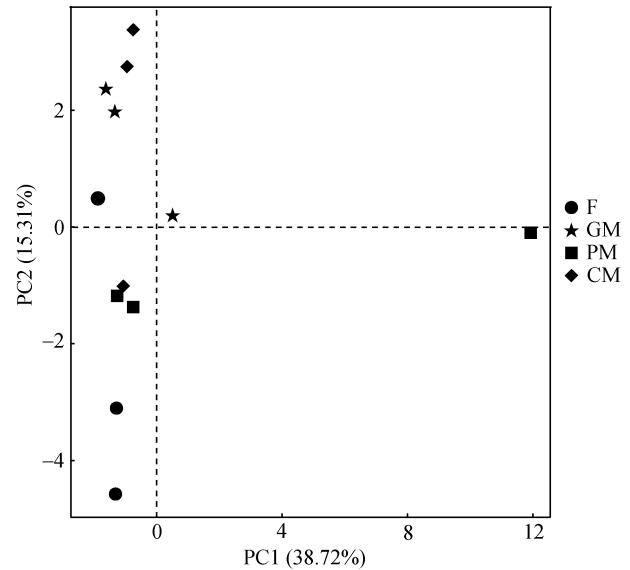


图 4 不同施肥处理微生物群落主成分分析
Fig. 4 Principal component analysis of microbial communities under different fertilization treatments

由图 5 可知, 在细菌门水平上的优势种群有放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、厚壁菌门(Firmicutes), 分别占土壤细菌群落的 26.42% ~ 41.12%、21.41% ~ 27.69%、9.23% ~ 15.14%、8.80% ~ 11.63%、3.72% ~ 22.54%, 几种优势种群共占细菌群落的 85% 以上。不同处理土壤细菌门水平发生一定程度的改变, Actinobacteria 相对丰度大小为 CM>F>GM>PM, Proteobacteria 相对丰度大小为 GM>CM>

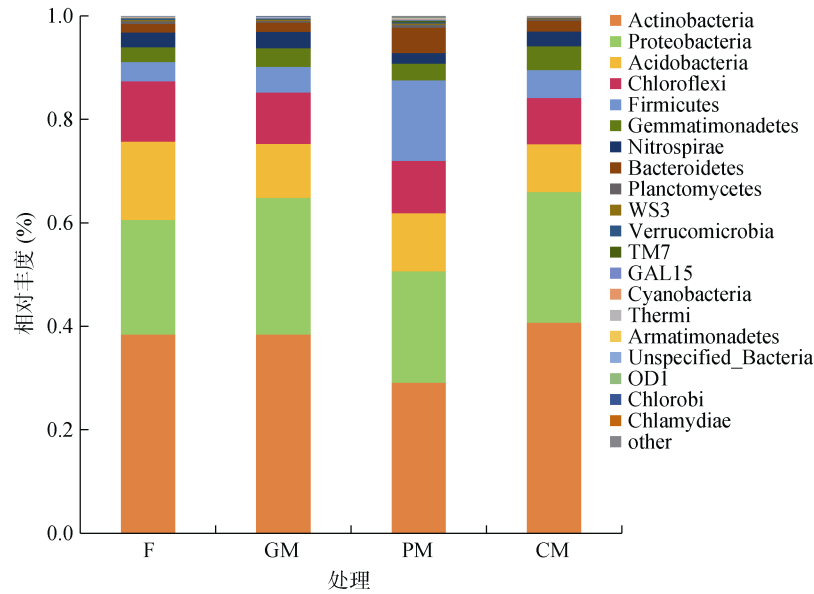


图 5 细菌门水平上的土壤微生物物种组成
Fig. 5 Composition of soil microbial species at phylum level of bacteria

F>PM, Acidobacteria 相对大小丰度为 F>PM>GM>CM, Chloroflexi 相对丰度大小为 F>PM>GM>CM, Firmicutes 相对丰度大小为 PM>CM>GM>F。PM 处理的 Firmicutes 相对丰度较其他处理高, 而 Actinobacteria 和 Proteobacteria 的相对丰度较低。F 处理的酸杆菌门 Acidobacteria 和 Chloroflexi 相对丰度较高, 而 Firmicutes 相对丰度较低。GM 和 CM 处理的 Actinobacteria 和 Proteobacteria 相对丰度较高, Acidobacteria 相对丰度较低。

不同处理下细菌科水平上的土壤微生物物种组成如表 7 所示, 放线菌科(Gaiellaceae)、微球菌科(Micrococcaceae)、诺卡氏菌科(Nocardiodaceae)、单核细菌科(Solirubrobacterales)的相对丰度较高。可以看出 GM、CM 和 F 处理的微生物物种组成较为相似, PM 处理与其他处理的微生物物种组成不同。PM 处理梭菌科(Clostridiaceae)较其他处理相对丰度较高, 放线菌科(Gaiellaceae)和微球菌科(Micrococcaceae)相对丰度较低。

表 7 细菌科水平上的土壤微生物物种组成 (%)
Table 7 Composition of soil microbial species at family level of bacteria

细菌科	F	GM	PM	CM
Gaiellaceae	0.055 ± 0.003 a	0.059 ± 0.006 a	0.041 ± 0.017 a	0.070 ± 0.007 a
Unspecified_iii1_15	0.068 ± 0.007 a	0.040 ± 0.002 a	0.050 ± 0.021 a	0.040 ± 0.017 a
Micrococcaceae	0.051 ± 0.016 a	0.045 ± 0.007 a	0.030 ± 0.005 a	0.052 ± 0.016 a
Clostridiaceae	0.001 ± 0.001 a	0.002 ± 0.001 a	0.091 ± 0.073 a	0.005 ± 0.003 a
Unspecified_Solirubrobacterales	0.034 ± 0.001 a	0.038 ± 0.002 a	0.025 ± 0.010 a	0.044 ± 0.005 a
Nocardiodaceae	0.032 ± 0.004 a	0.039 ± 0.014 a	0.023 ± 0.005 a	0.035 ± 0.006 a
Unspecified_JG30_KF_CM45	0.036 ± 0.002 a	0.033 ± 0.006 a	0.025 ± 0.001 a	0.032 ± 0.003 a
Rhodospirillaceae	0.028 ± 0.004 ab	0.031 ± 0.001 a	0.019 ± 0.004 b	0.027 ± 0.001 ab
Sphingomonadaceae	0.024 ± 0.001 a	0.025 ± 0.005 a	0.022 ± 0.001 a	0.025 ± 0.007 a
Rubrobacteraceae	0.032 ± 0.005 a	0.026 ± 0.001 a	0.019 ± 0.007 a	0.018 ± 0.003 a
Geodermatophilaceae	0.025 ± 0.002 a	0.025 ± 0.003 a	0.016 ± 0.004 a	0.024 ± 0.002 a
Bacillaceae	0.023 ± 0.002 a	0.023 ± 0.001 a	0.022 ± 0.002 a	0.023 ± 0.003 a
Hyphomicrobiaceae	0.018 ± 0.001 a	0.023 ± 0.002 a	0.019 ± 0.003 a	0.025 ± 0.002 a
Unspecified_0319_7L14	0.028 ± 0.004 a	0.023 ± 0.004 a	0.022 ± 0.009 a	0.014 ± 0.004 a
Bradyrhizobiaceae	0.020 ± 0.001 ab	0.026 ± 0.002 a	0.015 ± 0.003 b	0.023 ± 0.002 a
Unspecified_Gemm_1	0.016 ± 0.001 b	0.021 ± 0.002 ab	0.016 ± 0.003 b	0.028 ± 0.005 a

续表 7

细菌科	F	GM	PM	CM
Unspecified_Rhodospirillales	0.017 ± 0.001 a	0.019 ± 0.002 a	0.014 ± 0.003 a	0.021 ± 0.001 a
Unspecified_RB41	0.028 ± 0.004 a	0.017 ± 0.002 ab	0.016 ± 0.007 ab	0.012 ± 0.004 b
Unspecified_Ellin6529	0.024 ± 0.002 a	0.018 ± 0.001 a	0.017 ± 0.006 a	0.014 ± 0.003 a
Sinobacteraceae	0.017 ± 0.001 a	0.016 ± 0.002 ab	0.011 ± 0.002 b	0.018 ± 0.001 a
other	0.423 ± 0.002 a	0.450 ± 0.021 a	0.486 ± 0.028 a	0.451 ± 0.011 a

注：表中同行数据小写字母不同表示处理间差异显著($P < 0.05$)。

2.4.3 环境因子与微生物种群相关性分析 图 6 是施用不同粪肥后土壤环境因子对土壤微生物菌群的影响，通过 RDA 分析，估测各种环境因子对土壤微生物门水平菌群的影响。土壤环境因子包括有机质、全氮、全磷、全钾、铵态氮、硝态氮、有效磷、速效钾、pH。如图所示，第一主成分和第二主成分的解释率分别为 49.97% 和 12.49%，pH、有效磷和铵态氮对门水平微生物菌群的影响作用最大，是影响土壤细菌群落的关键环境因子。

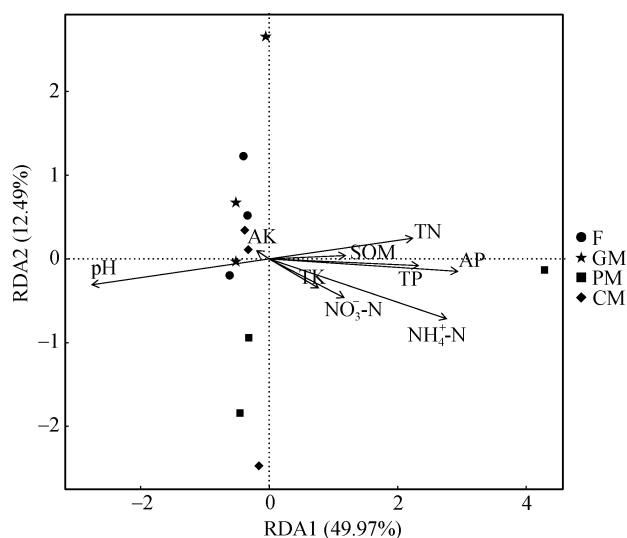


图 6 门水平微生物物种与环境因子之间 RDA 分析

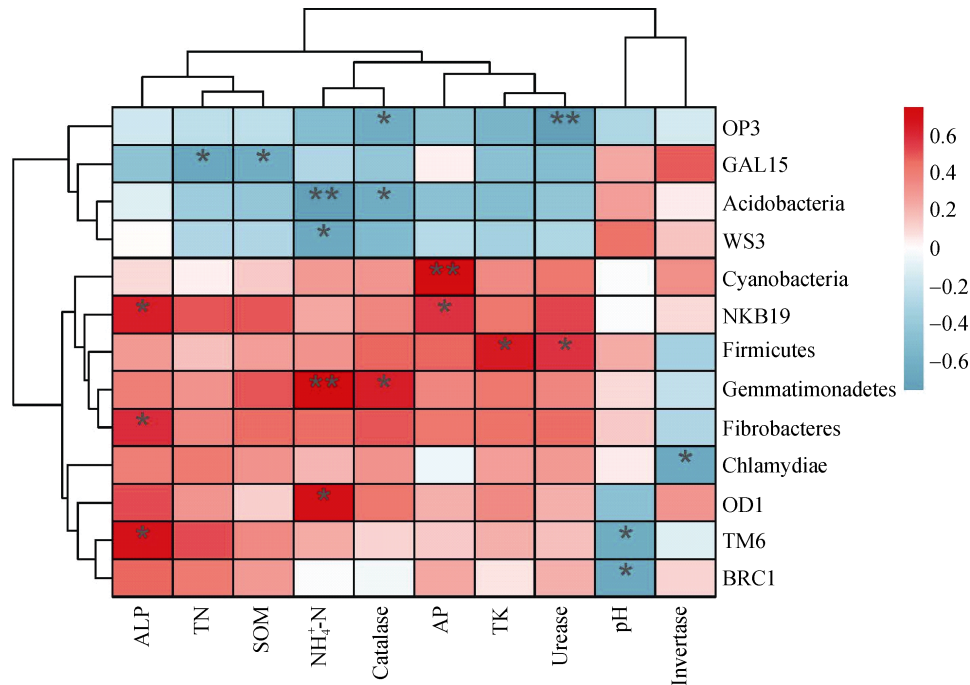
Fig. 6 RDA analysis between microbial species at phylum level and environmental factors

2.4.4 土壤理化性质和酶活性与微生物种群相关性分析 图 7 是施用不同粪肥后土壤环境因子对土壤微生物门水平菌群的影响，结果显示，NKB19、纤维杆菌门(Fibrobacteres)、TM6 相对丰度与土壤碱性磷酸酶活性呈显著正相关。GAL15 相对丰度与土壤全氮、有机质含量显著负相关。酸杆菌门(Acidobacteria)、WS3 相对丰度与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量呈显著负相关。芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和 OD1 相对丰度与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量呈显著正相关。NKB19 和蓝细菌门(Cyanobacteria)与有效磷量呈显著正相关。TM6

和 BRC1 与 pH 呈显著负相关。厚壁菌门(Firmicutes)与速效钾和脲酶呈显著正相关。OP3 与脲酶呈显著负相关。OP3、酸杆菌门(Acidobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)与过氧化氢酶呈显著负相关。衣原体门(Chlamydiae)与蔗糖酶呈显著负相关。

3 讨论

大量研究表明施用有机肥显著影响土壤养分含量^[21-22]，本研究和前人研究一致，施用粪肥能够增加土壤养分含量，并且不同粪肥对土壤养分影响不同。不同处理土壤有机质和全氮差异性不显著，但是施用牛粪处理的土壤有机质和全氮含量略高，这主要是与牛粪本身有机质含量较高以及牛粪中氮的矿化率较高有关^[23]。猪粪处理有效磷含量高于其他处理，这与猪粪自身有效磷含量较高有关。土壤酶活性受土壤理化性质影响，脲酶活性与土壤有机质、全氮和有效磷含量显著正相关，碱性磷酸酶活性与有效磷含量呈显著正相关，因此牛粪和猪粪处理脲酶活性较高，且猪粪处理的碱性磷酸酶活性较高。化肥提高土壤中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量，容易造成较大的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 淋失风险。有研究表明与施用化肥比较，长期适量施用粪肥不会造成 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量淋失风险，粪肥处理中土壤微生物显著提高了对胺类、碳水化合物类碳源的利用能力，降低无机氮淋失风险^[24]。但是不同粪肥之间，猪粪更容易造成 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 淋失量增加^[25]，这可能因为在增施氮肥的同时，高 C/N 的有机肥对于降低土壤中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量的效果更好，而猪粪的 C/N 较小^[26]。另外，不同粪肥间牛粪处理微生物生物量碳氮含量较高，这可能是因为不同粪肥的 C/N 会影响土壤微生物生物量碳氮，有机肥的 C/N 为 15 : 1 左右时，氮活性较高。而过高的 C/N 会使土壤氮素活性大幅度降低，氮素供应不足，不利于土壤微生物生长，使土壤微生物生物量碳氮较低^[8, 27]，3 种粪肥中牛粪的 C/N 较接近于 15，这可能是牛粪处理的微生物生物量碳氮含量较高原因之一。



(SOM: 有机质; TN: 全氮; TK: 全钾; AP: 有效磷; $\text{NH}_4\text{-N}$: 铵态氮; Invertase: 蔗糖酶; Urease: 脲酶; Catalase: 过氧化氢酶; ALP: 碱性磷酸酶。*表示 $0.01 \leq P < 0.05$, ** 表示 $0.001 \leq P < 0.01$)

图 7 不同施肥处理细菌门水平下物种丰度与土壤理化性质和酶活性的相关性

Fig. 7 Correlations of bacterial species abundance at phylum levels with soil physicochemical properties and enzyme activities under different fertilization treatments

大量研究表明有机肥较化肥更能增加土壤微生物群落多样性^[28-29], 但是对于不同粪肥的对比研究较少, 本研究表明与牛粪和羊粪相比, 猪粪在提高土壤微生物物种丰富度及群落多样性方面效果较好, 这与理鹏等^[10]在稻田中施入不同粪肥对土壤微生物群落多样性的研究结果一致。本研究在北方旱地施用不同类型粪肥, 列出在微生物细菌门水平上 7 个处理前 20 个细菌门, 其中优势种群有放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、厚壁菌门(Firmicutes), 这与之前的研究结果一致^[30-31]。微生物科水平上放线菌科(Gaiellaceae)、微球菌科(Micrococcaceae)、诺卡氏菌科(Nocardioideae)、单核细菌科(Solirubrobacterales)的相对丰度较高。 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、pH、有效磷和土壤酶影响大多微生物群落结构。不同粪肥处理之间, 猪粪处理厚壁菌门和梭菌科的相对丰度最高, 梭菌科属于厚壁菌门, 这可能是由于厚壁菌门与土壤脲酶活性呈显著正相关关系, 猪粪处理脲酶活性较高导致厚壁菌门丰度较高。厚壁菌可以产生芽孢, 芽孢杆菌属于厚壁菌门, 研究表明芽孢杆菌产生孢子, 可以抵抗干燥脱水和极端环境。所以施用粪肥可以有助于土壤中植物的抗逆性^[32]。放线菌门与 $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量呈显著负相关, 而猪粪处理 $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量较高可能导致猪粪处理降低了土壤

放线菌门和放线菌科的相对丰度, 研究表明放线菌门参与固氮、有机质循环, 促进土壤中动植物残体降解^[32], 土壤中放线菌门相对丰度降低有利于土壤有机质的累积^[33]。猪粪处理的硝化螺旋菌门相对丰度较其他处理低, 硝化螺旋菌门具有完整的反硝化以及固定 CO_2 的代谢通路, 参与土壤多种元素的地球化学循环过程^[34]。羊粪和牛粪处理的变形菌门相对丰度较高, 变形菌门包括很多可以进行固氮的细菌, 参与土壤养分的生物循环^[29]。酸杆菌门与土壤 $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量呈显著负相关关系, 化肥处理较低的 $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量可能导致酸杆菌门相对丰度较高, 而酸杆菌门降解土壤植物残体, 促进光合作用和土壤物质循环^[35]。

4 结论

1) 粪肥较化肥提高土壤有机质、全氮、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 和有效磷含量。其中牛粪处理显著提高土壤速效钾含量, 猪粪处理显著提高土壤 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量。不同施肥处理对于土壤 pH 影响不显著, 但猪粪处理的 pH 略有降低, 羊粪和牛粪处理的土壤 pH 略有提高。

2) 牛粪较化肥处理显著提高土壤微生物生物量碳氮和过氧化氢酶活性, 猪粪处理显著提高土壤脲酶和碱性磷酸酶活性, 羊粪处理显著提高了蔗糖酶活性。

3)猪粪处理的土壤厚壁菌门相对丰度较高,牛粪和羊粪处理的放线菌门和变形菌门相对丰度较高,化肥处理的酸杆菌门和绿弯菌门相对丰度较高。土壤pH、有效磷、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 是影响土壤微生物菌群结构的主要环境因子,而短期内施用不同粪肥对土壤微生物群落多样性的影响差异不显著。

4)不同粪肥在提高土壤养分、土壤酶活性及微生物群落多样性方面均具有显著的积极作用,且不同粪肥对土壤酶活性及微生物群落组成的影响不同,在北方农牧区施肥时应结合田块相关指标丰缺状况,选择更为互补的粪肥进行施肥,以便更好地培肥土壤。

致谢:感谢内蒙古乌兰察布市农业技术推广站魏静给予的帮助。

参考文献:

- [1] 武淑霞,刘宏斌,黄宏坤,等.我国畜禽养殖粪污产生量及其资源化分析[J].中国工程科学,2018,20(5):103-111.
- [2] 莫海霞,仇焕广,王金霞,等.我国畜禽排泄物处理方式及其影响因素[J].农业环境与发展,2011,28(6):59-64.
- [3] 陈洁,梁国庆,周卫,等.长期施用有机肥对稻麦轮作体系土壤有机碳氮组分的影响[J].植物营养与肥料学报,2019,25(1):36-44.
- [4] Samuel A D, Bungau S, Tit D M, et al. Effects of long term application of organic and mineral fertilizers on soil enzymes[J]. Revista De Chimie, 2018, 69(10): 2608-1612.
- [5] 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.
- [6] 郑昭佩,刘作新.土壤质量及其评价[J].应用生态学报,2003,14(1):131-134.
- [7] Harris J A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration[J]. European Journal of Soil Science, 2003, 54(4): 801-808.
- [8] 徐忠山,刘景辉,逯晓萍,等.施用有机肥提高黑土土壤酶活性、增加细菌数量及种类多样性[J].中国土壤与肥料,2020(4):50-55.
- [9] 魏巍,许艳丽,朱琳,等.长期施肥对黑土农田土壤微生物群落的影响[J].土壤学报,2013,50(2):372-380.
- [10] 理鹏,吴建强,沙晨燕,等.粪肥和有机肥施用对稻田土壤微生物群落多样性影响[J].环境科学,2020,41(9):4262-4272.
- [11] Ge G F, Li Z J, Fan F L, et al. Soil biological activity and their seasonal variations in response to long-term application of organic and inorganic fertilizers[J]. Plant and Soil, 2009, 326(1/2): 31-44.
- [12] Tong L H, Zhu L, Lv Y Z, et al. Response of organic carbon fractions and microbial community composition of soil aggregates to long-term fertilizations in an intensive greenhouse system[J]. Journal of Soils and Sediments, 2020, 20(2): 641-652.
- [13] 李书田,刘荣乐,陕红.我国主要畜禽粪便养分含量及变化分析[J].农业环境科学学报,2009,28(1):179-184.
- [14] 李永平,史向远,周静,等.不同畜禽粪肥对土壤培肥及玉米增产效应的影响[J].山西农业科学,2013,41(6):590-593.
- [15] 李祥云,宋朝玉,王瑞英,等.不同畜禽粪肥及不同用量对大葱生长的影响[J].中国土壤与肥料,2006(6):45-47.
- [16] 张永峰,祝延立,那伟.施用不同粪肥对土壤理化性质及玉米产量的影响[J].农业科技通讯,2010(8):55-58.
- [17] 陈贵,张红梅,沈亚强,等.猪粪与牛粪有机肥对水稻产量、养分利用和土壤肥力的影响[J].土壤,2018,50(1):59-65.
- [18] 关松荫.土壤酶及其研究法[M].北京:农业出版社,1986.
- [19] Brookes P C, Landman A, Pruden G, et al. Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1985, 17(6): 837-842.
- [20] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336.
- [21] 董文,张青,罗涛,等.不同有机肥连续施用对土壤质量的影响[J].中国农学通报,2020,36(28):106-110.
- [22] Brunetti G, Plaza C, Clapp C E, et al. Compositional and functional features of humic acids from organic amendments and amended soils in Minnesota, USA[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2007, 39(6): 1355-1365.
- [23] 周博,高佳佳,周建斌.不同种类有机肥碳、氮矿化特性研究[J].植物营养与肥料学报,2012,18(2):366-373.
- [24] 杨世琦,韩瑞芸,王永生,等.猪粪还田对土壤硝态氮淋失的影响研究——以黄灌区稻旱轮作制为例[J].中国环境科学,2016,36(2):492-499.
- [25] 王莹,梁勤爽,杨志敏,等.淋溶对畜禽粪便释放氮磷面源污染物的影响[J].西南大学学报(自然科学版),2012,34(1):92-98.
- [26] 刘杏认,任建强,刘建玲.不同氮水平下有机肥碳氮比对土壤硝态氮残留量的影响[J].干旱地区农业研究,2006,24(4):30-32.
- [27] 魏元茂.不同碳氮比有机肥对有机农业土壤微生物生物量的影响[J].农业与技术,2016,36(21):23-24,70.
- [28] 王利利,董民,张璐,等.不同碳氮比有机肥对有机农业土壤微生物生物量的影响[J].中国生态农业学报,2013,21(9):1073-1077.
- [29] Hu J L, Lin X G, Wang J H, et al. Microbial functional diversity, metabolic quotient, and invertase activity of a sandy loam soil as affected by long-term application of organic amendment and mineral fertilizer[J]. Journal of Soils and Sediments, 2011, 11(2): 271-280.
- [30] Chaudhry V, Rehman A, Mishra A, et al. Changes in bacterial community structure of agricultural land due to long-term organic and chemical amendments[J]. Microbial

- Ecology, 2012, 64(2): 450–460.
- [31] Kerney K R, Schuerg A C. Survival of *Bacillus subtilis* endospores on ultraviolet-irradiated rover wheels and Mars regolith under simulated Martian conditions[J]. *Astrobiology*, 2011, 11(5): 477–485.
- [32] Bhatti A A, Haq S, Bhat R A. Actinomycetes benefaction role in soil and plant health[J]. *Microbial Pathogenesis*, 2017, 111: 458–467.
- [33] Calleja-Cervantes M E, Menéndez S, Fernández-González A J, et al. Changes in soil nutrient content and bacterial community after 12 years of organic amendment application to a vineyard[J]. *European Journal of Soil Science*, 2015, 66(4): 802–812.
- [34] 张文斯, 何敏, 谷立新, 等. 宏基因组学分析研究硝化螺旋菌门趋磁细菌的环境功能[C]. 2017 中国地球科学联合学术年会, 北京, 2017.
- [35] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学进展[J]. *生物技术通报*, 2016, 32(2): 14–20.