

固氮蓝藻添加量对低温秸秆腐解和微生物碳源代谢活性的影响^①

吴帆¹, 樊聪聪¹, 赵丽霞², 梁玉婷², 赵远^{1*}, 王晓玥^{2*}

(1 常州大学环境科学与工程学院, 江苏常州 213164; 2 中国科学院南京土壤研究所, 南京 211135)

摘要: 为探究不同固氮蓝藻添加量对水稻秸秆的促腐效果及其机制, 采用微宇宙试验和网袋法, 设置秸秆还田(CK)、秸秆+低添加量蓝藻(LBA)、秸秆+中添加量蓝藻(MBA)、秸秆+高添加量蓝藻(HBA)4个处理, 在10℃下培养90 d, 分别测定30、60和90 d后, 不同处理下水稻秸秆的腐解速率, 并利用Biolog方法分析秸秆腐解微生物的碳源代谢活性潜势(AWCD)及其 α 多样性。结果表明不同蓝藻添加量下, 秸秆腐解速率均呈现前期快、后期慢的特点; 并且随腐解时间增加, 微生物碳源代谢的活性潜势, 特别是对碳水化合物等易分解碳源的代谢活性潜势显著降低。蓝藻添加量显著影响了秸秆的腐解速率和微生物的碳源代谢功能潜势及其多样性。在腐解30 d内, HBA处理中水稻秸秆腐解速率最高; 在腐解30 d后, LBA处理中水稻秸秆的腐解速率最高, 而MBA和HBA处理中水稻秸秆的腐解速率最低。随机森林模型结果表明, 在90 d的腐解期内, 微生物对多聚物等复杂碳源的分解是促进低蓝藻添加量下秸秆腐解的主要原因, 这可能与低氮条件下, 微生物的氮挖掘机制有关。本文为促进寒温带稻田中的水稻秸秆腐解提供了科学依据和管理措施。

关键词: 水稻秸秆; 固氮蓝藻; 秸秆腐解; 微生物碳源代谢活性; 微生物功能多样性

中图分类号: S158.5 文献标志码: A

Effects of Different Nitrogen Fixing Cyanobacteria Addition on Straw Decomposition and Microbial Carbon Metabolic Activities at Low Temperature

WU Fan¹, FAN Congcong¹, ZHAO Lixia², LIANG Yuting², ZHAO Yuan^{1*}, WANG Xiaoyue^{2*}

(1 School of Environmental Science and Engineering, Changzhou University, Changzhou, Jiangsu 213164, China; 2 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China)

Abstract: A microcosm experiment was conducted using litter bag method to explore the changes of rice straw decomposition rate under different amounts of nitrogen-fixing cyanobacteria addition, in which four treatments were designed, i.e., straw addition (CK), straw addition with low, medium and high amounts of cyanobacteria addition (LBA, MBA and HBA), and Biology method was used to determined carbon source metabolic activity potential (AWCD) and α diversity of straw decomposing microorganisms. All treatments were incubated at 10℃ for 90 days, straw samples were collected after 30, 60, and 90 days to analyze straw decomposition rate, AWCD and α diversity. The results showed that straw decomposition rate decreased with time under all treatments, but fast in the early stage and slow in the late stage. Moreover, AWCD, especially that related to labile carbon fractions, such as carbohydrates, decreased significantly. The amount of cyanobacteria addition affected straw decomposition rate, AWCD and α diversity. Particularly, the highest straw decomposition rate was found under HBA within 30 days of decomposition, whereas which was occurred under LBA after 30 days of decomposition, meanwhile, the lowest straw decomposition rate appeared under MBA and HBA. The random forest analysis suggested that, during the 90 days of decomposition, the microbial degradation of recalcitrant C source, such as polymers, was the dominant factor responsible for the acceleration of straw decomposition under low amount of cyanobacteria addition, which may relate to the “microbial nitrogen mining” mechanism under low nitrogen condition. This study provides a fundamental understanding and a technical support on straw decomposition in paddy soils under cold-temperate climate.

Key words: Rice straw; Nitrogen-fixing cyanobacteria; Straw decomposition; Microbial carbon metabolic activity; Microbial functional diversity

①基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项(A类)攻关子课题(XDA28030102)和江苏省研究生科研与实践创新计划项目(SJCX24_1647)资助。

* 通信作者(wangxy@issas.ac.cn; zhaoyuan@cczu.edu.cn)

作者简介: 吴帆(1998—), 男, 江苏南京人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物研究。E-mail: wufan@issas.ac.cn

我国每年秸秆资源总量可达 8.76 亿吨, 其中水稻秸秆约占秸秆总量的 33%^[1]。秸秆是增加土壤有机碳、改良土壤结构、提高微生物活性、促进肥沃耕层构建的重要措施^[2]。但在水稻土中, 由于土壤长期处于淹水造成的厌氧环境中, 大量秸秆还田后, 主要进行厌氧分解, 腐解速率缓慢, 秸秆残茬和产生的有机酸影响下一季水稻生长和稻米产量^[3]; 并且水稻秸秆碳氮比高, 在分解过程中容易造成秸秆腐解微生物与作物争氮, 导致下一季水稻减产^[4]。因此, 通过添加外源氮调控土壤和秸秆的碳氮比, 是促进秸秆腐解的重要措施。

固氮蓝藻是一类特殊的水生绿肥, 可以将大气中的氮气转化为有机氮固持藻体中, 并且其藻体死亡、腐解后可以为作物和微生物提供氮素, 是稻田中的一种重要的有机氮源^[5-6]。因此, 利用固氮蓝藻作为有机氮源可以通过调控秸秆碳氮比促进秸秆腐解。然而前期研究仅报道了常温、好氧培养下, 低量(相当于 1 kg/hm²)添加固氮蓝藻可以有效提高秸秆腐解速率^[7], 缺乏对淹水、低温下添加固氮蓝藻如何影响秸秆腐解速率的报道。固氮蓝藻的藻体不仅可以为微生物提供氮源, 藻体作为碳氮比较低的有机物也可以为微生物提供易分解的碳源。已有研究表明在较低的蓝藻添加量下, 藻体通过提供氮源调控外源有机物料碳氮比, 同时提供易分解碳源激发微生物活性^[8], 从而促进秸秆腐解。但当蓝藻添加量大的时候, 短时间内是否会造成微生物选择性利用蓝藻碳而降低对秸秆的腐解仍需要进一步研究。前期研究也仅关注了添加蓝藻对秸秆腐解速率的影响, 没有深入探讨微生物碳源代谢功能影响秸秆腐解的机制。

三江平原是东北黑土区主要的水稻产区, 白浆型水稻土是三江平原地区主要的稻田土壤^[9]。白浆型水稻土土层薄、有机质含量较低且土壤退化严重^[10]。并且由于地处寒温带, 年均温低(本研究土壤采集地二道河农场年均温仅为 2.1 ℃)。因此如何通过调控碳氮比, 促进水稻秸秆在低温条件下原位分解, 提高秸秆还田后腐解初期(当年 10 月和次年 5 月)的腐解速率, 是促进秸秆碳转化为土壤有机碳, 减少秸秆残茬对次年水稻生长影响的关键。基于以上研究背景与

现状, 本研究采用微宇宙试验和网袋法, 研究低温条件下, 固氮蓝藻不同添加量对水稻秸秆腐解速率的影响, 并利用 Biolog 方法分析秸秆腐解微生物对不同碳源的代谢活性, 深入探讨固氮蓝藻添加量影响水稻秸秆腐解的微生物机制, 以期量化适宜蓝藻添加量, 为冷寒地区秸秆促腐和白浆型水稻土高效培肥提供理论依据和技术指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤为采自黑龙江二道河农场的白浆型水稻土, 其基本理化性质为: pH 5.64、有机质 40.29 g/kg、全氮 1.81 g/kg、全磷 0.59 g/kg。供试土壤风干后过 10 目筛备用。

供试水稻秸秆, 其养分含量为: 全碳 452.69 g/kg、全氮 5.57 g/kg、全磷 1.59 g/kg。

供试固氮蓝藻为固氮鱼腥藻(*Anabaena azotica* (FACHB-119)), 购自中国科学院淡水藻种库。采用 BG110 培养基在光照培养箱(型号 ZRX-620D-L2)中进行藻种扩繁, 具体扩繁步骤参考 Song 等^[11]的方法。扩繁后的藻液通过静置沉淀和离心(4 000 g, 10 min)进行浓缩, 浓缩后的藻液中所含干藻量为 3.58 g/L, 藻液保存在 4 ℃ 冰箱中, 在 2~3 d 内使用。取部分藻液烘干后测定蓝藻干基的碳氮含量: 全碳 425.5 g/kg、全氮 57.2 g/kg、全磷 12.1 g/kg。

1.2 试验设计

试验设置 4 个蓝藻添加水平: ①秸秆还田(CK), 仅有秸秆不添加蓝藻; ②秸秆+低添加量蓝藻(LBA), 添加 5 g 秸秆和相当于 107 mg 干藻的藻液; ③秸秆+中添加量蓝藻(MBA), 添加 5 g 秸秆和相当于 322 mg 干藻的藻液; ④秸秆+高添加量蓝藻(HBA), 添加 5 g 秸秆和相当于 555 mg 干藻的藻液。其中秸秆的添加量是按照水稻秸秆全量还田计算, 即 8 000 kg/hm²; 各处理蓝藻的添加量按照所添加蓝藻能提供 N 15 kg/hm²(LBA)、45 kg/hm²(MBA)和 75 kg /hm² (HBA)计算。各处理下外源初始有机物料总养分投入量(蓝藻和秸秆的养分总和)及其碳氮比见表 1。

表 1 各处理下外源初始有机物料(蓝藻和秸秆)总养分投入量及其碳氮比

处理	总碳投入量(mg)	总氮投入量(mg)	总磷投入量(mg)	碳氮比
CK	2 263.45	27.85	7.95	81.27
LBA	2 309.15	33.99	9.25	67.93
MBA	2 400.55	46.60	11.85	51.51
HBA	2 499.56	60.70	14.66	41.18

试验采用网袋翻埋法进行, 网袋规格为 10 cm×8 cm 的 200 目双层尼龙网袋。每袋装入 5 g 烘干后剪成 2 cm 左右的秸秆, 然后将试验材料中所述的蓝藻藻液按照处理用量倒入尼龙网袋中, 从而使藻体与秸秆充分混合, 待藻液滤出后封紧袋口。滤出的藻液在埋设网袋后倒入土壤中。装有秸秆的双层尼龙网袋以平铺的方式埋入装有 1 000 g 水稻土的培养罐中, 每罐埋设 1 袋秸秆, 埋袋深度为 5 cm。为模拟水稻土的淹水状态, 加入蒸馏水, 使水面超过土壤表面 1 cm。将培养罐放入 10 ℃ 培养箱中, 避光培养 90 d, 分别在腐解 30、60 和 90 d 后将网袋取出, 每次每个处理取出 3 袋秸秆作为 3 次重复。采集腐解各时期秸秆残体时, 首先轻轻移开表土, 将网袋从培养罐的土壤中取出后, 剪开腐解袋取出秸秆残体, 称量秸秆残体总鲜重。将其中约一半放入 4 ℃ 冰箱中保存, 用于微生物群落的碳源代谢活性潜势及功能多样性检测; 剩余部分称重, 用蒸馏水小心清洗后放入烘箱 60 ℃ 下烘干至恒重, 用于计算含水量以及累积腐解率、腐解速率和基本理化性质的测定。

1.3 样品分析方法

1.3.1 秸秆残体中全碳、全氮和全磷的测定 秸秆残体粉碎后过 100 目筛, 分别采用重铬酸钾氧化法、凯氏定氮法和钼锑抗比色法测定秸秆全碳、全氮和全磷的含量^[12]。

1.3.2 秸秆腐解过程中微生物群落的碳源代谢活性潜势及功能多样性 采用 Biolog 生态板测定秸秆微生物群落的碳源代谢功能潜势及其多样性^[13-14]。称取相当于 0.3 g 干重的新鲜秸秆, 采用 0.85% (m/V) 的灭菌 NaCl 溶液, 以 1:100 的秸秆/溶液比 (m/V) 对秸秆腐解微生物进行振荡提取, 将悬浮液用灭菌的 0.85% NaCl 溶液稀释 10 倍后接种至 Biolog 板上。接种后的 Biolog 板在 25 ℃ 下恒温培养 7 d, 每隔 24 h 在 590 nm 波长下读取各孔的吸光值 (OD)。

1.4 数据处理与分析

1.4.1 水稻秸秆的累积腐解率和腐解速率 用公式(1)计算秸秆腐解各时期的累积腐解率。

$$N(\%) = \frac{M_0 - M_t}{M_0} \times 100 \quad (1)$$

式中: N 为秸秆的累积腐解率(%); M_0 为秸秆的初始质量(g); M_t 为 t 时刻秸秆残体的干基残留量(g)。秸秆残体的干基残留量基于含水量和总鲜重计算; 各时期秸秆的腐解速率可用公式(2)计算。

$$K(\text{g/d}) = (M_t - M_{t+30}) / 30 \quad (2)$$

式中: K 为秸秆腐解速率(g/d); M_t 为 t 时刻秸秆残留量(g); M_{t+30} 为 t 时刻后继续腐解 30 d 的秸秆残留量(g); 30 为每次采样间隔 30 d。

1.4.2 秸秆降解过程中微生物群落的碳源代谢功能潜势 采用 Biolog 板 72 h 的平均颜色变化率 (Average well color development, AWCD) 表征:

$$AWCD = \sum(A_i - A_C) / 31$$

式中: A_i 代表第 i 个孔的吸光值; A_C 代表空白对照孔的吸光值。

1.4.3 数据统计分析 采用 R 语言 (version 4.2.2, R Development Core Team) 对微生物群落功能的 α 多样性指数进行相似性分析 (ANOSIM) 和主坐标分析 (PCoA); 采用 R 语言中 “randomforest” 软件包进行随机森林分析。采用 SPSS 26.0 对秸秆腐解各时期不同处理下腐解率、腐解速率、残体碳氮比以及 AWCD 值和 Simpson 指数进行方差分析, 并采用 Tukey 法进行多重比较。采用 GraphPAD Prism 9 进行绘图。

2 结果与分析

2.1 不同处理下水稻秸秆腐解特征

用水稻秸秆的累积腐解率、腐解速率以及秸秆残体的养分含量和碳氮比来描述水稻秸秆腐解的情况 (表 2)。其中, 秸秆累积腐解率越大、碳氮比越小说明秸秆腐解程度越高。各处理下水稻秸秆的腐解速率均表现出先快后慢的规律, 即 0~30 d 秸秆的腐解速率最快, 其次为 30~60 d, 60~90 d 的腐解速率最慢。在腐解过程中, 累积腐解率增加, 腐解 90 d 后, 达到 14.9%~18.4%。与初始值相比, 秸秆残体碳含量在 30 d 后有所降低, 而后没有显著差异; 而秸秆残体的氮磷含量均表现出先降低后升高的趋势。在腐解 30 d 后, HBA 处理的累积腐解率最高, 其次为 LBA, 而 CK 和 MBA 最低; 在腐解 60 d 和 90 d 后, LBA 处理下的秸秆累积腐解率最高, 其次为 CK 处理, MBA 处理在 60 d 最低, 而 HBA 处理在 90 d 最低。在 60 d 和 90 d 这两个腐解时期, 腐解速率的趋势与累积腐解率的趋势一致。

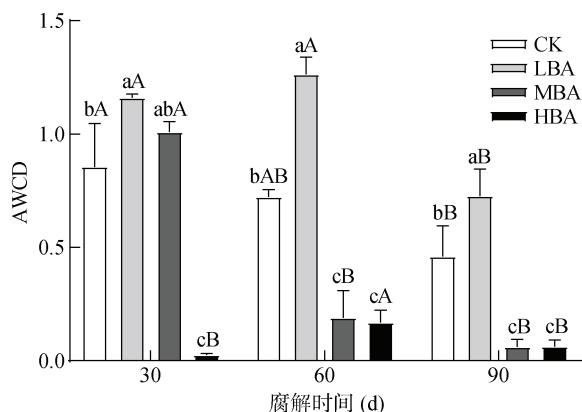
2.2 不同处理下秸秆腐解微生物碳源代谢活性潜势及微生物对碳源的利用情况

平均颜色变化率 (AWCD) 可反映在秸秆不同腐解阶段微生物的碳源利用效率, 表征微生物的碳源代谢活性潜势。随腐解时间增加, AWCD 值总体呈现下降的趋势 (图 1)。与 CK 相比, LBA 处理在各腐解期内均提高了微生物的碳源代谢活性潜势, 而 HBA 处理在各腐解期内均降低了微生物的碳源代谢活性

表 2 不同处理下各腐解时期秸秆累积腐解率、腐解速率、秸秆残体养分含量和碳氮比

腐解时间(d)	处理	累积腐解率(%)	腐解速率(g/d)	全碳(g/kg)	全氮(g/kg)	全磷(g/kg)	碳氮比
30	CK	10.60 ± 0.35 cC	0.023 ± 0.002 aA	372.67 ± 1.99 aA	4.94 ± 0.18 aB	0.16 ± 0.001 cB	75.54 ± 2.74 aA
	LBA	12.01 ± 0.59 bC	0.020 ± 0.001 bA	367.16 ± 7.87 aA	4.79 ± 0.21 aB	0.22 ± 0.001 aA	76.76 ± 4.40 aA
	MBA	10.14 ± 0.25 cC	0.017 ± 0.000 cA	365.24 ± 26.47 aA	4.84 ± 0.51 aB	0.17 ± 0.001 bcB	75.56 ± 2.51 aA
	HBA	13.64 ± 0.83 aC	0.023 ± 0.001 aA	373.73 ± 6.21 aA	4.68 ± 0.18 aB	0.18 ± 0.002 bB	80.01 ± 4.16 aA
60	CK	15.40 ± 0.89 abB	0.014 ± 0.001 aB	383.67 ± 5.13 aA	4.89 ± 0.31 aB	0.17 ± 0.000 bB	78.75 ± 5.67 aA
	LBA	16.95 ± 0.92 aB	0.014 ± 0.001 aB	383.00 ± 3.61 aA	4.87 ± 0.47 aB	0.17 ± 0.001 bB	79.07 ± 7.52 aA
	MBA	12.97 ± 1.46 bB	0.011 ± 0.001 bB	374.83 ± 4.37 bA	4.86 ± 0.21 aB	0.17 ± 0.000 bB	77.14 ± 3.21 aA
	HBA	13.71 ± 0.64 bB	0.011 ± 0.001 bB	373.07 ± 2.90 bA	4.74 ± 0.21 aB	0.20 ± 0.004 aB	78.75 ± 3.89 aA
90	CK	17.40 ± 0.60 abA	0.010 ± 0.000 aC	375.29 ± 4.46 abA	5.41 ± 0.06 aA	0.21 ± 0.003 bA	69.40 ± 1.17 bB
	LBA	18.40 ± 1.18 aA	0.010 ± 0.001 aC	378.70 ± 2.98 aA	5.06 ± 0.21 bA	0.22 ± 0.003 abA	74.93 ± 3.53 aB
	MBA	17.10 ± 1.20 abA	0.009 ± 0.001 abC	367.42 ± 3.23 bA	5.24 ± 0.09 abA	0.24 ± 0.000 aA	70.07 ± 1.00 bB
	HBA	14.90 ± 2.14 bA	0.008 ± 0.001 bC	377.66 ± 6.52 aA	5.40 ± 0.13 aA	0.23 ± 0.002 abA	69.91 ± 2.01 bB

注: 表中同列数据小写字母不同表示同一腐解期不同处理间差异显著($P<0.05$), 大写字母不同表示同一处理不同腐解期差异显著($P<0.05$), 下同。



(图中小写字母不同表示同一腐解期不同处理间差异显著($P<0.05$), 大写字母不同表示同一处理不同腐解期差异显著($P<0.05$))

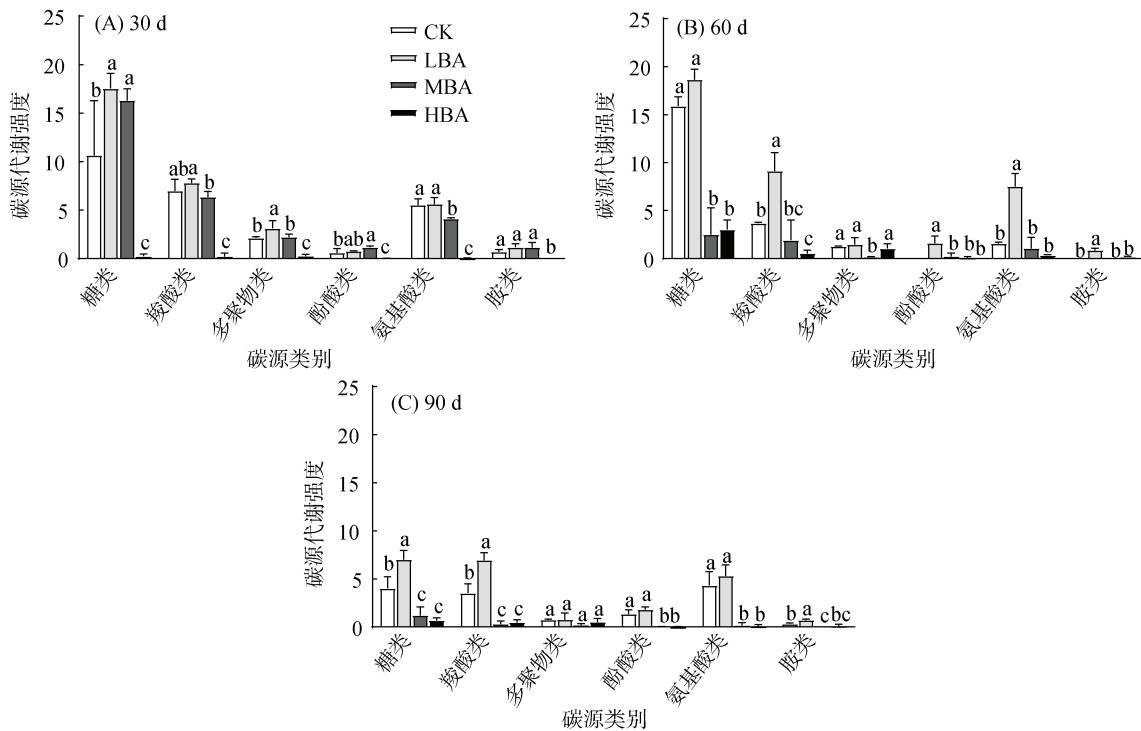
图 1 不同处理下水稻秸秆腐解微生物的 AWCD 值(72 h)

潜势。具体来说, 在腐解 30 d 后, AWCD 值表现为在 LBA 处理最高, 其次为 MBA 和 CK 处理, HBA 处理最低; 在腐解 60 和 90 d 后, AWCD 值表现为 LBA>CK>MBA、HBA。Biolog 生态板中的 31 种碳源分为糖类、羧酸类、多聚物类、酚酸类、氨基酸类以及胺类六类。微生物对六大类碳源利用活性潜势表现出随腐解时间演替的规律(图 2), 腐解 30 d 后, 微生物对糖类的代谢活性潜势最高, 而对羧酸类、氨基酸类、多聚物类、胺类和酚酸类的代谢活性潜势分别仅为对糖类代谢活性潜势的 47.72%、34.15%、17.23%、6.75% 和 5.62%。腐解 60 d 后, 微生物对六类碳源代谢强度的趋势与腐解 30 d 后的相似; 其区别主要表现为与腐解 30 d 相比, 腐解 60 d 后 CK 处理对羧酸类和氨基酸类的代谢活性潜势分别降低

了 47.08% 和 71.89%, MBA 处理对糖类、羧酸类和氨基酸类的代谢活性潜势分别降低了 84.60%、69.85% 和 74.03%($P<0.05$)。但在腐解 90 d 后, 微生物对糖类的代谢活性潜势显著降低, 仅为腐解 30 d 后的 71.04%; 并且腐解 90 d 后, 微生物对糖类、羧酸类和氨基酸类的代谢活性潜势没有显著差异。在每个腐解时期, 不同处理下微生物对六大类碳源利用活性潜势的趋势相似, 均表现为 LBA 处理下最高, 其次为 CK 或 MBA, 而 HBA 处理最低。

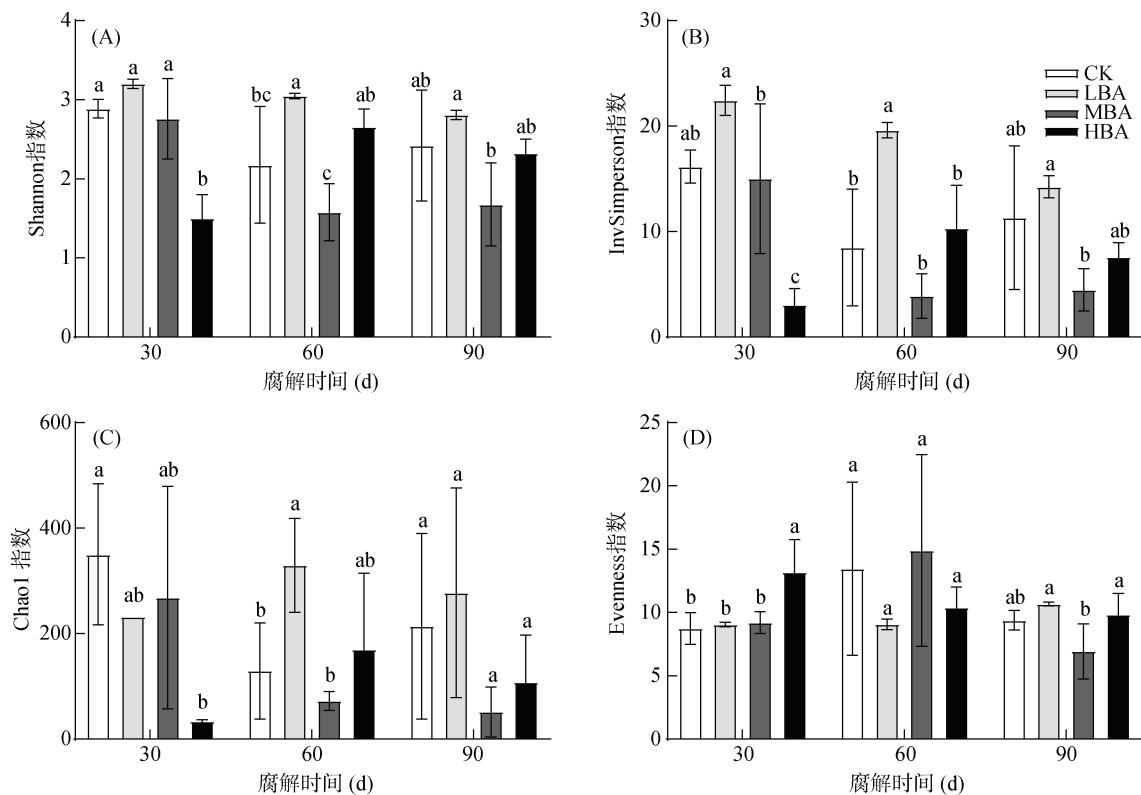
2.3 不同处理对秸秆腐解微生物碳源代谢功能多样性指数和群落功能结构的影响

在腐解 30 d 后, 微生物物种多样性 Shannon 指数和 InvSimpson 指数, 均表现为在 LBA 处理中最高, 而在 HBA 处理中最低; 在腐解 60 和 90 d 后, Shannon 指数和 InvSimpson 指数在 LBA 处理中最高, 其次为 CK 和 HBA 处理, 在 MBA 处理中最低(图 3A、3B)。在各腐解时期内, 蓝藻添加量对微生物物种丰富度 Chao1 指数的影响表现出与 Shannon 指数相似的趋势(图 3C)。不同蓝藻添加量对微生物的物种均匀度 Evenness 指数的影响在各腐解时期表现出不同趋势(图 3D)。在腐解 30 d 后, Evenness 指数在 HBA 处理中最高, 其他处理之间没有显著差异; 在腐解 60 d 后, Evenness 指数在不同处理间没有显著差异; 在腐解 90 d 后, Evenness 指数表现为 LBA 和 HBA 最高, 其次为 CK 处理, MBA 处理最低。此外, 腐解时间对微生物物种多样性指数、丰富度指数和均匀度指数均没有显著影响。



(图中小写字母不同表示同一腐解期相同碳源不同处理间差异显著($P<0.05$))

图2 不同处理下水稻秸秆腐解 30 d(A)、60 d(B)和 90 d(C)后微生物对六大类碳源的代谢活性潜势



(图中小写字母不同表示同一腐解期内不同处理间差异显著($P<0.05$))

图3 秸秆腐解微生物群落多样性分析

差异性分析表明, 腐解时间和蓝藻添加量均显著影响了秸秆降解微生物群落的功能结构, 其中蓝藻添

加量($r=0.452, P=0.001$)的影响大于腐解时间($r=0.364, P=0.002$)的影响。利用主坐标分析进一步探究在 3 个

腐解时间内, 不同蓝藻添加量对秸秆降解微生物群落功能结构的影响(图 4)。结果表明, 在各腐解时期 PCoA1 轴和 PCoA2 轴对微生物群落的功能结构差异的共同解释量均达到 50% 以上, 3 个腐解时期依次为 66.8%、60.8% 和 61.5%。在 3 个腐解时期, CK 和 LBA 处理的微生物群落功能均较为相似, 而 MBA 或 HBA 处理的微生物群落功能与其他处理均有显著差异。并且, 差异性分析结果表明, 随腐解时间增加, 不同处理间微生物群落功能结构的差异性减少($30 \text{ d}, r=0.4815, P=0.001$;

$P=0.001; 60 \text{ d}, r=0.3086, P=0.004; 90 \text{ d}, r=0.2562, P=0.04$), 说明蓝藻添加量对微生物群落功能结构的影响随腐解时间增加逐渐减弱。

2.4 环境和生物因素对秸秆腐解速率的影响

利用随机森林回归分析影响秸秆腐解速率的关键因素(图 5)。结果表明, 环境和生物因素共解释了秸秆腐解速率变异的 26.5%(图 5A)。秸秆腐解速率主要受多聚物类碳源(12.3%, $P<0.01$)、秸秆残体 C/N(8.87%, $P<0.05$)、AWCD 值(6.34%, $P<0.05$)、

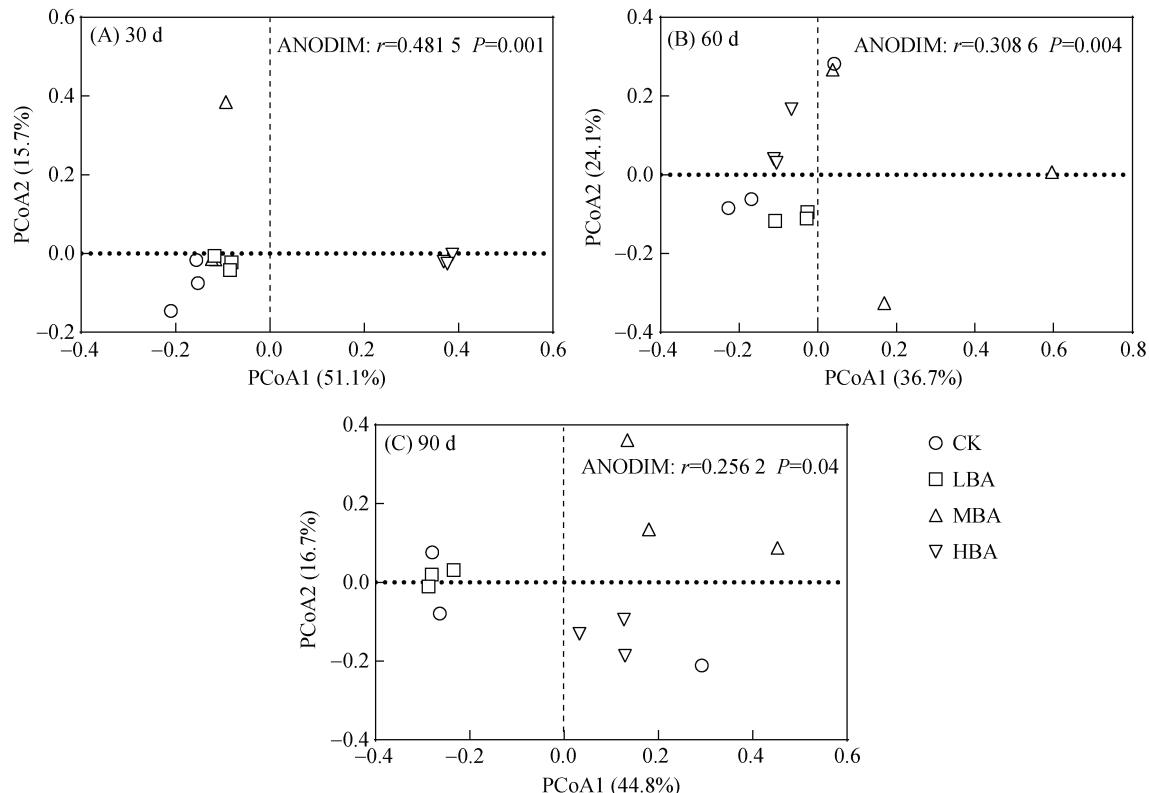
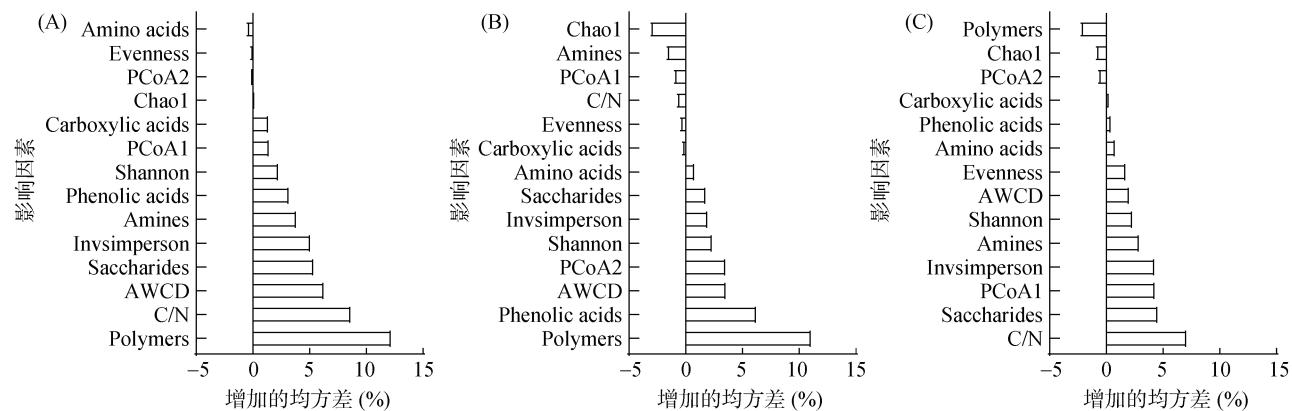


图 4 秸秆腐解 30 d(A)、60 d(B)和 90 d(C)后微生物群落主成分分析



(A: 所有处理; B: CK 和 LBA 处理; C: MBA 和 HBA 处理。Amino acids: 氨基酸类; Saccharides: 糖类; Carboxylic acids: 羧酸类; Polymers: 多聚物类; Phenolic acids: 酚酸类; Amines: 腺类; C/N: 碳氮比; AWCD: 平均颜色变化率; PCoA1、PCoA2: 主成分分析轴; Shannon: 香农指数; Invsimpson: 辛普森指数; Chao1: 物种丰富度指数; Evenness: 物种均匀度指数)

图 5 秸秆腐解速率影响因素的随机森林回归分析

多糖碳源(5.42%, $P<0.05$)和 InvSimpson 指数(5.14%, $P<0.05$)的影响。为进一步分析蓝藻添加量对秸秆腐解速率的影响, 将 4 个蓝藻添加量处理分为 2 组, 分别为低添加量组(即 CK 和 LBA 处理)和高添加量组(MBA 和 HBA 处理)。在低添加量组中(图 5B), 各因子共解释秸秆腐解速率变异的 26.3%, 其中多聚物类碳源(11.1%, $P<0.01$)和酚酸类碳源(6.28%, $P<0.05$)是主要影响因素。而在高添加量组中(图 5C), 对秸秆腐解速率影响最大的因子为秸秆残体的 C/N(7.14%, $P<0.05$), 其次为多糖类碳源(4.58%, $P<0.05$)和微生物群落功能结构(用主坐标分析的 PCoA1 轴表征, 4.33%, $P<0.05$)。

3 讨论

3.1 水稻秸秆腐解特征及其腐解微生物碳源代谢活性潜势随腐解时间的变化

前人对秸秆腐解的过程和规律进行了大量的研究, 普遍认为秸秆腐解经历了快速腐解期、慢速腐解期和稳定期^[15-16]。本研究结果表明, 不同蓝藻添加量下, 水稻秸秆腐解过程均表现为随腐解时间增加, 腐解速率逐渐降低, 这与王子阳等^[17]和张志毅等^[18]的研究结果一致。同时, 与前人研究结果一致^[18], 本研究中微生物碳源代谢活性也表现出随腐解时间增加而降低的趋势, 在腐解初期(0~30 d), 微生物对易分解的多糖类碳源利用率最高, 而在腐解 90 d 后, 微生物对多糖类的代谢活性明显减弱; 此外, 随腐解时间的增加, 微生物对其他易分解组分如羧酸、氨基酸类和胺类的代谢活性都有不同程度的减弱。这是由于在秸秆腐解初期秸秆中多糖、氨基酸、有机酸等有机物和无机养分较多, 为微生物腐解秸秆提供了养分和能源, 微生物生物量增长明显, 活性强, 秸秆腐解较快^[19]。随腐解时间增加, 秸秆残体中易分解碳源含量减少, 微生物所能获取的碳氮等养分变少, 活性降低, 秸秆腐解速率变慢^[20]。

3.2 不同蓝藻添加量对水稻秸秆腐解及其腐解微生物碳源代谢活性潜势的影响

添加外源氮, 可以调节微生物活性和群落组成, 影响微生物群落结构, 从而提高微生物代谢活性, 并提高微生物对秸秆的分解能力, 促进秸秆腐解^[21-23]。本试验以 CK 为对照, 通过添加低、中、高量固氮蓝藻作为外源氮调控秸秆腐解的速率, 研究结果发现, 低量蓝藻添加(LBA 处理), 提高了秸秆的腐解速率, 而高量蓝藻添加(MBA 和 HBA 处理), 降低了秸秆的腐解速率。其原因可能与不同外源氮添加下微生物分

解植物残体的机制有关。根据前期研究其主要机制可以概括为微生物的氮挖掘机制^[24]和微生物的化学计量学机制^[25]。在低氮环境下, 微生物群落中倾向于利用难分解碳源且生长速率较慢的贫营养型微生物占优势, 此时微生物对有机物料的分解更倾向于符合氮挖掘机制, 即微生物通过分泌多酚氧化酶等胞外氧化酶分解木质素等难分解组分以获取其中的氮^[26]。本研究中, 在低蓝藻添加量下, 随机森林分析结果表明微生物对多聚物的利用活性是影响秸秆腐解速率的关键因素。这说明, 在低蓝藻添加量下, 微生物对秸秆的分解符合氮挖掘机制, 即需氮微生物以易分解碳源(如蓝藻和秸秆中多糖等易分解组分)为能量, 促进微生物对秸秆中难分解组分的分解从而提高秸秆腐解速率。

在高氮环境下, 微生物群落中倾向于利用易分解碳源且生长速率快的富营养型微生物占优势, 此时微生物对有机物料的分解更倾向于符合化学计量学机制^[26]。本研究中, 在高量蓝藻添加下, 随机森林结果表明残体的 C/N 和微生物对多糖类碳源的代谢活性是影响秸秆腐解速率的关键因素, 说明此时微生物对秸秆的分解符合微生物的化学计量学机制。一方面, 添加蓝藻不仅为微生物提供了氮源, 同时也提供了丰富的易分解碳源, 因此微生物优先利用蓝藻碳, 从而降低了对秸秆碳的分解; 另一方面, 在高蓝藻添加下, 微生物偏向利用多糖等易分解碳, 而非降解木质素等难分解碳, 因此在腐解初期(30 d 内)高蓝藻添加量处理(HBA), 由于充足的氮源提高微生物活性, 促进易分解碳的降解, 腐解速率最高。然而高氮添加对木质素分解的抑制, 会影响微生物进一步分解被木质素保护的半纤维素和纤维素等易分解碳^[27]。此外, 在淹水的环境下, 褐变效应也是影响微生物分解的重要因素。大量外源有机氮的添加可能引起褐变效应, 在分解初期后使小分子碳和氨基化合物形成难分解的芳香类物质, 也会进一步抑制微生物对有机碳的分解^[28], 从而降低了 30 d 后秸秆的腐解速率。综上所述, 在冷寒地区的水稻土中, 适量施用蓝藻会促进水稻秸秆的分解, 但大量施用蓝藻, 从长期来看(>30 d), 会抑制水稻秸秆的分解。

4 结论

基于模拟冷寒地区水稻秸秆在淹水条件下腐解 90 d 的微宇宙试验, 结果表明, 不同蓝藻添加量下, 秸秆腐解速率均呈现前期快、后期慢的特点。并且随腐解时间增加, 微生物的碳源代谢功能发生演替, 主

要表现在微生物碳源代谢活性潜势,特别是对易分解碳源如多糖和氨基酸的代谢活性潜势显著降低。蓝藻添加量显著影响了微生物的碳源代谢活性潜势,进一步影响了秸秆的腐解速率。其中,低蓝藻添加量提高了水稻秸秆的腐解速率,而高蓝藻添加量降低了水稻秸秆的腐解速率。微生物对多聚物等难分解组分的分解是促进低蓝藻添加量下秸秆腐解的主要原因。本文为促进冷寒地区水稻秸秆腐解提供了科学依据和管理措施。未来需要进一步研究适量蓝藻添加量下促进秸秆腐解的微生物机制,明确关键物种,为进一步促进水稻秸秆腐解提供微生物学技术方法。

参考文献:

- [1] 霍丽丽,赵立欣,孟海波,等.中国农作物秸秆综合利用潜力研究[J].农业工程学报,2019,35(13): 218–224.
- [2] 赵懿,杜建军,张振华,等.秸秆还田方式对土壤有机质积累与转化影响的研究进展[J].江苏农业学报,2021,37(6): 1614–1622.
- [3] 彭显龙,董强,张辰,等.不同土壤条件下秸秆还田量对土壤还原性物质及水稻生长的影响[J].中国水稻科学,2024,38(2): 198–210.
- [4] 李晓伟,韩上,雷之萌,等.氮素形态对油菜秸秆腐解及养分释放规律的影响[J].中国生态农业学报(中英文),2019,27(5): 717–725.
- [5] Subrahmanyam R, Relwani L L, Manna G B. Fertility build-up of rice field soils by blue-green algae[J]. Proceedings/ Indian Academy of Sciences, 1965, 62(6): 252–272.
- [6] 黎尚豪,叶清泉.固氮蓝藻是稻田氮肥的新肥源[J].湖北农业科学,1959(4): 106–107.
- [7] 杨帆,赵坤,郭永霞,等.微生物促腐剂配施固氮蓝藻对水稻秸秆腐解的影响[J].南方农业学报,2019,50(11): 2421–2428.
- [8] 黎尚豪,叶清泉,刘富瑞,等.固氮蓝藻对水稻肥效的初步研究[J].水生生物学集刊,1959(4): 440–444.
- [9] 何连.中国三江平原[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,2000.
- [10] 丛万彪.三江平原白浆土型水稻土氮磷钾养分平衡的研究[J].中国农学通报,2006,22(3): 249–253.
- [11] Song X N, Zhang J L, Peng C R, et al. Replacing nitrogen fertilizer with nitrogen-fixing cyanobacteria reduced nitrogen leaching in red soil paddy fields[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2021, 312: 107320.
- [12] 鲍士旦.土壤农化分析[M].3版.北京:中国农业出版社,2000.
- [13] 张红,曹莹菲,徐温新,等.植物秸秆腐解特性与微生物群落变化的响应[J].土壤学报,2019,56(6): 1482–1492.
- [14] 王晓明,蒋瑀霏,隋跃宇,等.田间条件下小麦和玉米秸秆腐解过程中微生物群落的变化——BIOLOG 分析[J].土壤学报,2012,49(5): 1003–1011.
- [15] Berg B. Litter decomposition and organic matter turnover in northern forest soils[J]. Forest Ecology and Management, 2000, 133(1/2): 13–22.
- [16] Bao Y Y, Dolfing J, Guo Z Y, et al. Important ecophysiological roles of non-dominant Actinobacteria in plant residue decomposition, especially in less fertile soils[J]. Microbiome, 2021, 9(1): 84.
- [17] 王子阳,陈婉华,袁伟,等.双季稻地区不同类型水稻秸秆与还田深度对还田秸秆腐解进程的影响[J].中国土壤与肥料,2022(2): 170–174.
- [18] 张志毅,何剑,范先鹏,等.稻麦轮作制还田秸秆腐解和养分释放特征[J].中国土壤与肥料,2022(8): 221–230.
- [19] 周桂香,陈林,张丛志,等.温度水分对秸秆降解微生物群落功能多样性影响[J].土壤,2015,47(5): 911–918.
- [20] Bao Y Y, Feng Y Z, Stegen J C, et al. Straw chemistry links the assembly of bacterial communities to decomposition in paddy soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 148: 107866.
- [21] 麦逸辰,卜容燕,韩上,等.添加不同外源氮对水稻秸秆腐解和养分释放的影响[J].农业工程学报,2021,37(22): 210–219.
- [22] Liang Y Q, Cao D, Ma Z, et al. Stoichiometry regulates rice straw-induced priming effect: The microbial life strategies[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2024, 196: 109514.
- [23] 石琳,金梦灿,单旭东,等.不同形态氮素对玉米秸秆腐解与养分释放的影响[J].农业资源与环境学报,2021,38(2): 277–285.
- [24] Pingthaisong W, Blagodatsky S, Vityakon P, et al. Mixing plant residues of different quality reduces priming effect and contributes to soil carbon retention[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2024, 188: 109242.
- [25] Yang S Y, Angst G, Jandová K, et al. Early- and later-stage priming effects induced by spruce root fractions are regulated by substrate availability, stoichiometry and C input[J]. Geoderma, 2023, 437: 116610.
- [26] Song X J, Liu X T, Liang G P, et al. Positive priming effect explained by microbial nitrogen mining and stoichiometric decomposition at different stages[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2022, 175: 108852.
- [27] Duboc O, Dignac M F, Djukic I, et al. Lignin decomposition along an Alpine elevation gradient in relation to physicochemical and soil microbial parameters[J]. Global Change Biology, 2014, 20(7): 2272–2285.
- [28] Burdige D J. Preservation of organic matter in marine sediments: Controls, mechanisms, and an imbalance in sediment organic carbon budgets?[J]. Chemical Reviews, 2007, 107(2): 467–485.