

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2023.04.014

温烜琳, 马宜林, 周俊学, 等. 腐熟羊粪有机肥配施无机肥对植烟土壤微生物群落结构和多样性的影响. 土壤, 2023, 55(4): 804–811.

腐熟羊粪有机肥配施无机肥对植烟土壤微生物群落结构和多样性的影响^①

温烜琳¹, 马宜林¹, 周俊学^{2*}, 高佳凯¹, 张水源³, 张 枫³, 申 欣⁴, 王悦华¹,
申洪涛⁵, 元 野⁶, 李友军¹, 刘 领^{1*}

(1 河南科技大学农学院, 河南洛阳 471023; 2 河南省烟草公司洛阳市公司技术中心, 河南洛阳 471000; 3 河南省烟草公司洛阳市公司
宜阳县分公司, 河南宜阳 471600; 4 河南省烟草公司洛阳市公司嵩县分公司, 河南嵩县 471400; 5 河南中烟工业有限责任公司技术中
心, 郑州 450000; 6 黑龙江省烟草公司牡丹江烟草科学研究所, 黑龙江牡丹江 157011)

摘 要: 为了探究腐熟羊粪有机肥与无机肥配施对洛阳烟区植烟土壤微生物群落结构和土壤肥力特性的影响, 采用盆栽控制试验和高通量测序技术, 研究了不施肥(CK)、100% 无机氮肥(T0)、50% 羊粪有机肥氮+50% 无机氮肥(T50)和 100% 羊粪有机肥氮(T100)4 个处理下植烟土壤细菌和真菌群落结构及多样性的差异, 并结合土壤理化性质分析了土壤肥力指标与土壤微生物多样性的关系。结果表明: 植烟土壤细菌优势菌门为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和放线菌门(Actinobacteria), 土壤真菌优势菌门为子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota); T50 处理的变形菌门、酸杆菌门和子囊菌门相对丰度最高, 但放线菌门和担子菌门相对丰度最低; NMDS 分析和相似性分析发现, T50 处理的土壤微生物群落结构与其他处理差异显著; Alpha 多样性分析也表明, T50 处理土壤细菌和真菌群落的丰富度和多样性最高。不同处理土壤理化性质和土壤关键酶活性差异显著, 以 T50 处理土壤养分含量和土壤碳氮代谢酶的活性最高; Pearson 相关性分析显示, 土壤碱解氮、有效磷、速效钾含量及蛋白酶和脲酶活性与植烟土壤微生物多样的关系最为密切。总之, 采用腐熟羊粪有机肥和无机肥配施通过影响植烟土壤细菌和真菌群落结构和多样性, 促进了土壤养分的释放和转化, 有利于土壤养分的供应和土壤质量的提升, 研究结果为洛阳烟区应用羊粪有机肥改良土壤提供了理论依据。

关键词: 腐熟羊粪有机肥; 烤烟; 土壤养分; 土壤酶活性; 细菌; 真菌; 多样性和群落组成

中图分类号: S572; S158 文献标志码: A

Effects of Combined Application of Organic Manure and Inorganic Fertilizer on Structure and Diversity of Microbial Community in Tobacco-growing Soil

WEN Xuanlin¹, MA Yilin¹, ZHOU Junxue^{2*}, GAO Jiakai¹, ZHANG Shuiyuan³, ZHANG Feng³, SHEN Xin⁴, WANG Yuehua¹,
SHEN Hongtao⁵, YUAN Ye⁶, LI Youjun¹, LIU Ling^{1*}

(1 College of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471023, China; 2 Technology Center,
Luoyang Branch of Henan Provincial Tobacco Corporation, Luoyang, Henan 471000, China; 3 Yiyang Branch, Luoyang
Company of Henan Tobacco Company, Yiyang, Henan 471600, China; 4 Songxian Branch, Luoyang Company of Henan
Tobacco Company, Songxian, Henan 471400, China; 5 Technology Center, China Tobacco Henan Industrial Limited Company,
Zhengzhou 450000, China; 6 Mudanjiang Tobacco Science Research Institute, Heilongjiang Provincial Tobacco Company,
Mudanjiang, Heilongjiang 157011, China)

Abstract: In order to explore the influences of combined application of sheep manure-derived organic fertilizer and chemical fertilizer on soil microbial community structure and soil fertility in tobacco-growing area of Luoyang, a pot experiment was conducted and high-throughput sequencing techniques was used to study the differences in community structure and diversity of soil bacteria and fungi under four fertilization treatments, no fertilizer (CK), 100% inorganic nitrogen fertilizer (T0), 50% sheep manure organic nitrogen fertilizer +50% inorganic nitrogen fertilizer (T50), and 100% sheep manure organic nitrogen fertilizer

①基金项目: 河南省重点研发与推广专项(科技攻关)项目(212102110286), 河南省烟草公司洛阳市公司项目(LYKJ202003)和河南中烟工业有限责任公司项目(2020410001340006) 资助。

* 通讯作者(910675295@qq.com; liulinghenan@126.com)

作者简介: 温烜琳(1997—), 女, 河南洛阳人, 硕士研究生, 主要研究方向为烟草栽培与土壤生态。E-mail: 17839373795@163.com

(T100). And the relationship between soil physicochemical properties and soil microbial diversity were analyzed. And the results showed that the dominant soil bacteria phyla were Proteobacteria, Acidobacteria and Actinobacteria, while the dominant soil fungi phyla were Ascomycota and Basidiomycota. Compared with other treatments, T50 had the highest relative abundances in Proteobacteria, Acidobacteria and Ascomycota and the lowest relative abundances of in Actinobacteria and Basidiomycota. NMDS analysis and similarity analysis showed that soil microbial community structure of T50 was significantly different from those of other treatments. Alpha diversity analysis also showed that T50 had the highest richness and diversity of bacterial and fungal communities. Soil physicochemical properties and soil key enzyme activities were significantly different under the four treatments, and T50 had the highest soil nutrient contents and soil carbon and nitrogen metabolizing enzyme activities. Pearson correlation analysis showed that soil alkali-hydrolyzed nitrogen, available phosphorus, available potassium, protease and urease activities were most closely related to soil microbial diversity. In summary, combined application of sheep manure-derived organic fertilizer and chemical fertilizers can promote the release and transformation of soil nutrients by affecting the community structure and diversity of soil bacteria and fungi, which are conducive to the supply of soil nutrients and the improvement of soil quality. The results provide a theoretical basis for the application of sheep manure-derived organic fertilizer to improve soil quality in tobacco-growing areas of Luoyang.

Key words: Sheep manure-derived organic fertilizer; Flue-cured tobacco; Soil nutrients; Soil enzyme activities; Soil bacteria; Soil fungi; Diversity and community composition

土壤微生物是土壤生态系统中重要的组成成分,在维持土壤生态系统平衡、促进土壤养分循环、保障作物正常生长发育方面发挥着重要作用,是反映土壤健康的重要指标^[1]。前人研究发现,有机肥与化肥配施,能够增加土壤细菌和真菌群落的丰富度和多样性指数,改变土壤微生物群落结构^[2-3]。但是由于有机肥种类和土壤类型的不同,有机肥和化肥配施对土壤微生物的影响目前还存在较大差异。王庆等^[4]研究发现,化肥减量配施有机肥能够增加土壤细菌的多样性,但对土壤真菌多样性没有影响;而李正辉等^[5]研究则表明,羊粪有机肥的施用对土壤真菌的群落结构影响尤为显著。

烤烟是我国重要的经济作物之一。近年来,由于无机肥料的不合理施用,造成土壤酸碱平衡失调、土壤生物活性降低以及土壤肥力下降等问题,严重影响了烟田的土壤健康和烟区的可持续发展^[6]。施用有机肥能够降低土壤容重,改善土壤细菌群落结构和土壤养分供应能力,有利于土壤培肥和健康^[7-8]。羊粪有机肥是常见的有机肥类型之一。前人研究表明,羊粪有机肥替代化肥减量配施,能够改善土壤肥力,增加土壤微生物多样性,建立更适合作物生长的微生物区系^[9]。然而,烟田配施羊粪有机肥对植烟土壤的改良效应及其微生态机制,仍不十分清楚。本课题前期研究发现,40%~60%羊粪有机肥替代化肥与化肥配施能够促进烤烟生长发育,维持土壤肥力^[10],但是并未对土壤微生物多样性进行深入探究。因此,本研

究采用高通量测序技术,进一步分析了腐熟羊粪有机肥与化肥配施对植烟土壤微生物群落结构和多样性的影响,旨在为洛阳烟区合理利用羊粪有机肥改良烟田土壤提供科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

试验于2019年在河南省洛阳市河南科技大学进行。供试土壤采自河南科技大学农场0~20 cm耕层,除去石子等杂物后风干过2 mm筛备用。土壤类型为黄潮土,基本理化性质为pH 7.6,有机质12.32 g/kg,全氮0.84 g/kg,碱解氮43.70 mg/kg,有效磷14.10 mg/kg,速效钾102.10 mg/kg。供试烤烟品种为中烟101,烟苗由洛阳市宜阳县烟草公司集中漂浮育苗。供试羊粪有机肥(有机质497.0 g/kg,氮14.2 g/kg,磷13.2 g/kg,钾24.4 g/kg)由河南正辉肥业有限公司生产;供试无机肥为复合肥(N:P₂O₅:K₂O=18:18:18)、过磷酸钙(P₂O₅, 160 g/kg)和硫酸钾(K₂O, 500 g/kg)。

1.2 试验设计

试验采取盆栽受控试验,共设4个处理,分别为:CK(不施肥)、T0(100%无机氮肥)、T50(50%羊粪有机肥氮+50%无机氮肥)、T100(100%羊粪有机肥氮),每处理重复4次,共16盆。3个施肥处理T0、T50和T100,按N:P₂O₅:K₂O=1:1.5:3进行配施,确保各处理氮、磷、钾等量施用,具体施肥比率和用量见表1。于烟苗移栽60 d后,用抖根法采集烤烟根

表 1 不同处理肥料配比和用量
Table 1 Fertilizer application ratios and dosages in different treatments

处理	N 来源(%)		P ₂ O ₅ 来源(%)		K ₂ O 来源(%)		肥料施用量(g/pot)			
	羊粪	化肥	羊粪	化肥	羊粪	化肥	羊粪	复合肥	过磷酸钙	硫酸钾
CK	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
T0	0	100	0	100	0	100	0.00	2.22	1.25	1.60
T50	50	50	31	69	29	71	14.08	1.11	1.34	1.31
T100	100	0	62	38	57	43	28.17	0.00	1.43	1.03

际土壤,混合均匀,一部分风干用于测定土壤养分含量和土壤酶活性,另一部分装入无菌离心管,放入液氮保存,用于 DNA 提取。

1.3 测定项目与方法

参照鲍士旦^[11]的方法测定土壤有机质、碱解氮、有效磷和速效钾含量。参照关松荫^[12]的方法测定土壤酶活性。其中,土壤蔗糖酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定,以 1 g 土壤在 37℃ 培养 24 h 后生成的葡萄糖的质量(mg/(g·d))表示;土壤蛋白酶活性采用加勒斯江法测定,以 1 g 土壤在 37℃ 培养 24 h 后生成的甘氨酸的质量(mg/(g·d))表示;土壤脲酶活性采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定,以 1 g 土壤在 37℃ 培养 24 h 后产生的 NH₃-N 的质量(mg/(g·d))表示。

采用土壤 DNA 提取试剂盒(Fast DNA® Spin Kit for Soil)进行土壤 DNA 提取,将纯化后的基因组 DNA 作为聚合酶链反应(PCR)的模板。细菌扩增引物采用 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3')和 907R(5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3'),真菌 ITS1 区段扩增引物采用 ITS5(5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')和 ITS4(5'-TCCTCC GCTTATTGATATGC-3')。PCR 采用 25 μL 反应体系:10 倍 PCR buffer 5 μL, dNTP 0.5 μL,正向反向引物各 0.5 μL, Tap 酶 0.25 μL (250 U), DNA 模板 1 μL, dH₂O 补齐至 25 μL。PCR 反应策略:98℃ 预变性 3 min, 98℃ 15 s, 50℃ 30 s 和 72℃ 30 s,共 27 个循环;72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存。

Illumina PE250 测序:将同一样本的 PCR 产物混合后用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEN 公司)切胶回收 PCR 产物, Tris-HCl 洗脱;2% 琼脂糖电泳检测。并用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)进行检测定量。使用 Illumina PE250 构建文库:①连接“Y”字形接头;②使用磁珠筛选去除接头自连片段;③利用 PCR 扩增进行文库模板的富集;④氢氧化钠变性,产生单链 DNA 片段。利用 Illumina 公司的 PE250 平台进行测序(上海元莘生物医药科技有限

公司)。

1.4 数据处理与分析

使用 fastp^[13]软件对原始测序序列进行质控,使用 FLASH^[14]软件进行拼接:①过滤 read 尾部质量值 20 bp 以下的碱基,设置 50 bp 的窗口,如果窗口内的平均质量值低于 20 bp,从窗口开始截去后端碱基,过滤质控后 50 bp 以下的 read;②根据 PE reads 之间的 overlap 关系,将成对 reads 拼接(merge)成一条序列,最小 overlap 长度为 10 bp;③拼接序列的 overlap 区允许的最大错配比率为 0.2,筛除不符合序列;④根据序列首尾两端的 barcode 和引物区分样品,并调整序列方向,barcode 允许的错配数为 0,最大引物错配数为 2。然后,使用 Usearch^[15]软件对所有序列进行 OTU 在 97% 相似水平下的划分,采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析,使用 Mothur 软件计算细菌和真菌群落的 Alpha 多样性指数(ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数)。

采用 Excel 2016 软件进行数据处理,图表中数据为平均值±标准误。采用 SPSS 22.0 统计软件对土壤养分、土壤微生物 Alpha 多样性和群落结构等数据进行多重比较、方差分析和相关性分析,使用 Origin 9.5 对土壤微生物群落多样性与土壤环境因子的 Pearson 分析、土壤微生物群落组成和 NMDS (非度量多维尺度)分析进行作图,采用图图云平台(<https://www.cloudtutu.com>)和 Adobe Illustrator 2021 对 ANOSIM 相似性分析进行作图。

2 结果与分析

2.1 腐熟羊粪有机肥与无机肥配施对土壤养分含量和酶活性的影响

由表 2 可知,不同施肥处理间土壤养分含量和酶活性存在显著差异。土壤有机质含量和蔗糖酶活性表现为 T100>T50>T0>CK,以单施有机肥的 T100 处理最高,且 T100 处理的有机质含量显著高于其他处理,但蔗糖酶活性在 T100 和 T50 处理之间没有显著差

表 2 腐熟羊粪有机肥与无机肥配施对土壤养分含量和酶活性的影响

Table 2 Effects of chemical fertilizer combined with decomposed sheep manure on soil nutrient contents and enzyme activities

处理	有机质(g/kg)	碱解氮(mg/kg)	有效磷(mg/kg)	速效钾(mg/kg)	蔗糖酶(mg/(g·d))	蛋白酶(mg/(g·d))	脲酶(mg/(g·d))
CK	10.33 ± 0.52 c	40.37 ± 3.23 c	11.79 ± 0.47 c	97.94 ± 0.99 c	6.55 ± 0.59 b	0.53 ± 0.05 d	0.29 ± 0.03 c
T0	10.55 ± 0.55 c	57.60 ± 2.41 b	17.35 ± 1.35 b	132.33 ± 4.02 b	8.01 ± 0.63 b	0.70 ± 0.03 c	0.43 ± 0.03 b
T50	13.94 ± 0.33 b	72.85 ± 0.86 a	23.11 ± 0.45 a	162.68 ± 2.88 a	10.87 ± 0.15 a	1.33 ± 0.01 a	0.74 ± 0.01 a
T100	16.23 ± 0.40 a	55.70 ± 1.86 b	18.59 ± 0.49 b	137.33 ± 1.67 b	12.32 ± 1.34 a	1.02 ± 0.03 b	0.41 ± 0.02 b

注：表中同列不同小写字母表示不同处理间差异显著(P<0.05)；下同。

异；有效磷含量、速效钾含量和蛋白酶活性均表现为 T50>T100>T0>CK，以有机肥和无机肥配施的 T50 处理最高，且显著高于其他处理；碱解氮含量和脲酶活性表现为 T50>T0>T100>CK，均以 T50 处理最高，且显著高于其他处理。

2.2 腐熟羊粪有机肥与无机肥配施对土壤微生物群落多样性的影响

土壤微生物的丰富度用 ACE 和 Chao1 指数表征，多样性用 Shannon 和 Simpson 指数表征。由表 3 可知，T50 处理的土壤细菌和真菌 OTU 数量最多，ACE、Chao1 和 Shannon 指数最高，Simpson 指数最

低。土壤细菌的 OTU 数量、ACE 和 Chao1 指数均表现为 T50>T100>CK>T0；土壤细菌的 Shannon 指数以及土壤真菌的 OTU 数量、ACE 和 Chao1 和 Shannon 指数均表现为 T50>T0>T100>CK；土壤细菌的 Simpson 指数表现为 T50<T0<CK<T100，土壤真菌的 Simpson 指数表现为 T50<T0<T100<CK。

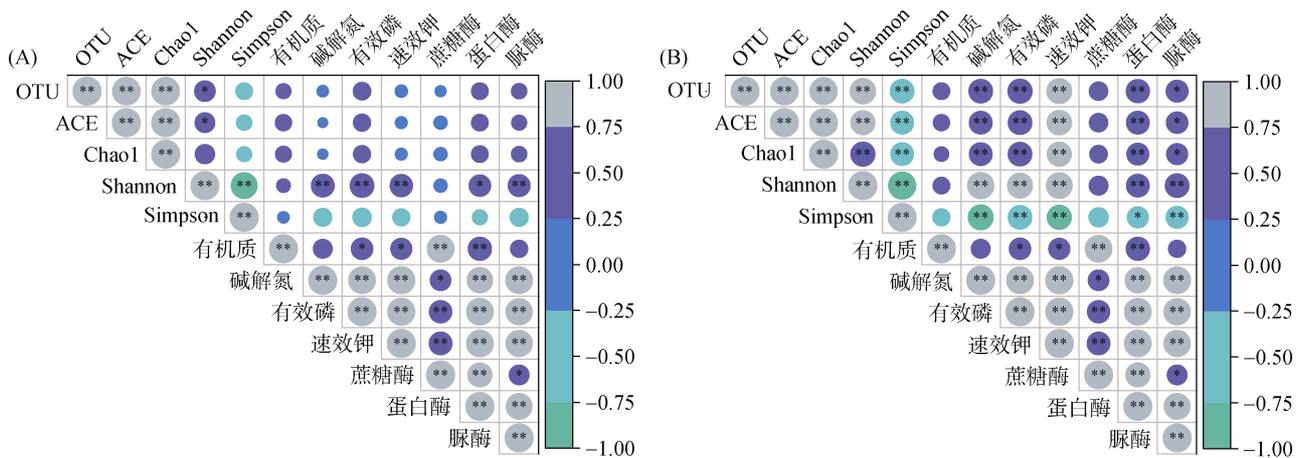
2.3 土壤微生物群落多样性与土壤环境因子的关系

通过 Pearson 分析(图 1)发现，土壤细菌的 OTU 数量、ACE、Chao1 和 Simpson 指数与土壤环境因子相关性不明显，Shannon 指数与碱解氮、有效磷、速效钾含量和脲酶活性均呈极显著正相关关系，与蛋白

表 3 腐熟羊粪有机肥与无机肥配施对土壤微生物 Alpha 多样性的影响

Table 3 Effects of chemical fertilizer reduction combined with decomposed sheep manure on alpha diversity of soil bacteria and fungi

微生物	处理	OTU 数量	ACE 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
细菌	CK	2 843 ± 67 a	3 424 ± 71 a	3 391 ± 70 a	6.25 ± 0.03 b	0.007 6 ± 0.001 0 a
	T0	2 766 ± 144 a	3 330 ± 125 a	3 298 ± 126 a	6.36 ± 0.02 ab	0.005 2 ± 0.000 4 b
	T50	3 012 ± 57 a	3 557 ± 40 a	3 521 ± 46 a	6.42 ± 0.02 a	0.004 5 ± 0.000 2 b
	T100	2 916 ± 107 a	3 493 ± 88 a	3 450 ± 76 a	6.33 ± 0.04 ab	0.008 0 ± 0.001 5 a
真菌	CK	404 ± 31 b	472 ± 38 b	470 ± 38 b	2.65 ± 0.15 c	0.220 0 ± 0.039 6 a
	T0	525 ± 13 a	594 ± 7 a	602 ± 8 a	3.76 ± 0.11 b	0.048 9 ± 0.006 9 b
	T50	558 ± 13 a	628 ± 12 a	625 ± 12 a	4.01 ± 0.08 a	0.037 9 ± 0.006 6 b
	T100	512 ± 17 a	581 ± 16 a	571 ± 20 a	3.49 ± 0.12 b	0.082 8 ± 0.019 4 b



(图 A: 细菌; 图 B: 真菌; *和**表示在 P<0.05 和 P<0.01 水平上显著相关)

图 1 土壤微生物群落多样性与土壤环境因子的 Pearson 相关分析

Fig. 1 Pearson correlation analysis of soil microbial community diversity and soil environmental factors

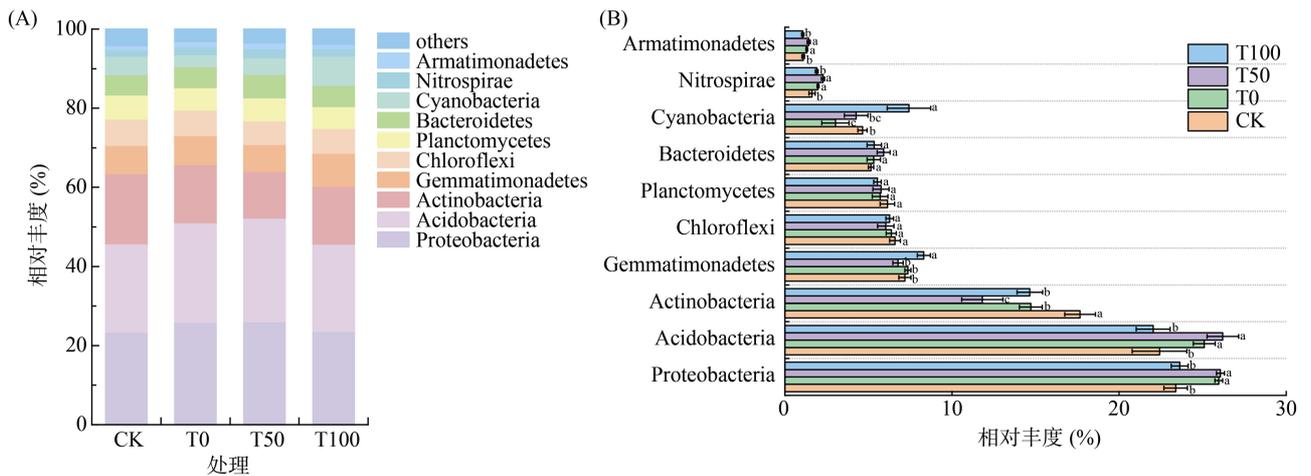
酶活性呈显著正相关关系。土壤真菌的 OTU 数量、ACE、Chao1 和 Shannon 指数均与碱解氮、有效磷、速效钾含量和蛋白酶活性呈极显著正相关关系，与脲酶活性呈显著正相关关系；Simpson 指数与碱解氮、有效磷、速效钾含量和脲酶活性均呈极显著负相关关系，与蛋白酶活性呈显著负相关关系。说明土壤环境因子变化对土壤真菌的丰富度和多样性影响更为明显，其中土壤碱解氮、有效磷、速效钾含量和蛋白酶、脲酶活性的变化是影响土壤微生物群落多样性的重要环境因子。

2.4 腐熟羊粪有机肥与无机肥配施对土壤微生物群落组成的影响

由图 2A 可知，各处理土壤细菌群落的优势菌门为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)

和放线菌门(Actinobacteria)，平均相对丰度分别为 24.76%、23.94% 和 14.71%。由图 2B 可知，T50 处理的变形菌门、酸杆菌门、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)和装甲菌门(Armatimonadetes)的相对丰度最高，放线菌门、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)和拟杆菌门(Bacteroidetes)的相对丰度最低，其中 T50 处理的放线菌门显著低于其他 3 个处理。浮霉菌门(Planctomycetes)的相对丰度表现为 T100<T0<T50<CK，蓝藻细菌门(Cyanobacteria)相对丰度表现为 T100>CK>T50>T0。

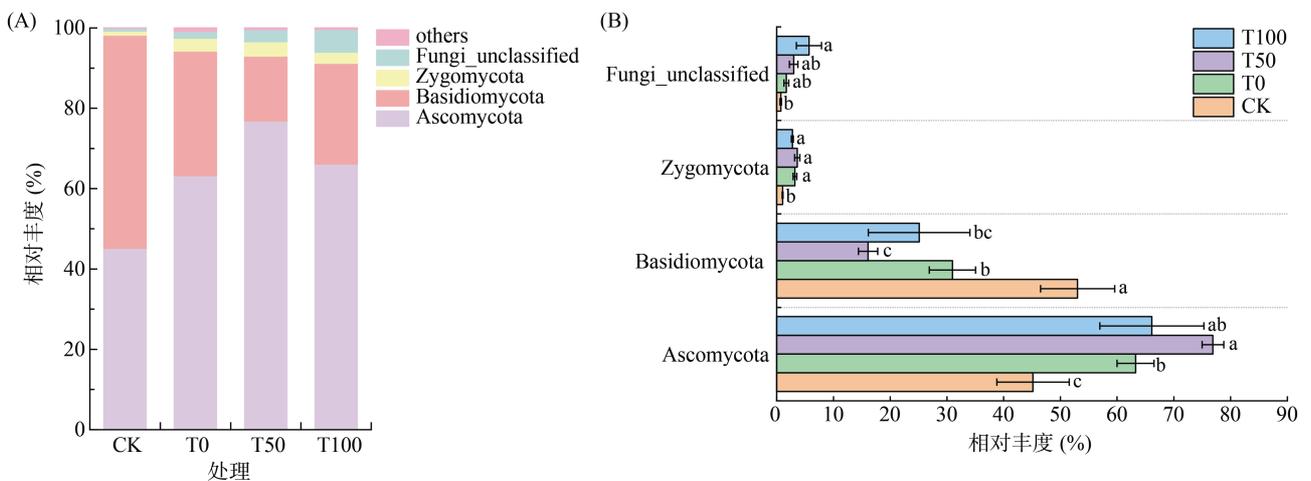
由图 3A 可知，各处理土壤真菌群落的优势菌门为子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)，平均相对丰度分别为 62.85% 和 31.31%。由图 3B 可知，与 CK 处理相比，施肥处理显著提高了子囊菌门



(图 A: 细菌门水平的相对丰度; 图 B: 细菌门水平的显著差异分析; 不同小写字母表示不同处理间差异显著(P<0.05), 下同)

图 2 腐熟羊粪有机肥与无机肥配施对土壤细菌门水平物种组成的影响

Fig. 2 Effects of chemical fertilizer combined with decomposed sheep manure organic fertilizer on species composition of soil bacteria at phylum level



(图 A: 真菌门水平的相对丰度; 图 B: 真菌门水平的显著差异分析)

图 3 腐熟羊粪有机肥与无机肥配施对土壤真菌门水平物种组成的影响

Fig. 3 Effects of chemical fertilizer combined with decomposed sheep manure on species composition of soil fungus at phylum level

和接合菌门(Zygomycota)的相对丰度,显著降低了担子菌门的相对丰度,T50 处理具有最高的子囊菌门和接合菌门相对丰度,最低的担子菌门相对丰度。

2.5 腐熟羊粪有机肥与无机肥配施对土壤微生物群落结构的影响

由图 4A 所示,沿 X 轴 CK、T0、T50 和 T100 处理之间有一定距离,但是分离不明显,说明施肥与否能够改变土壤细菌的群落结构,但不同处理对土壤细菌群落结构影响差异不明显。相比土壤细菌的群落结构,4 个处理土壤真菌的群落结构分离趋势更明

显;沿 X 轴 CK 处理与施肥处理分离明显,但各施肥处理间分离趋势不明显(图 4B 所示),说明施肥能够明显改变土壤真菌的群落结构,但不同的施肥处理对土壤真菌群落结构影响差异不明显。由图 5 可知,当组间距离大于处理距离时,说明组间差异大于组内差异, r 值与 P 值则说明组间差异达到了显著水平。由图 5A 可知,对于土壤细菌,施肥处理与 CK 处理相比差异不显著,但 T50 处理与 T0、T100 处理差异显著;由图 5B 可知,对于土壤真菌,各处理间具有显著差异。

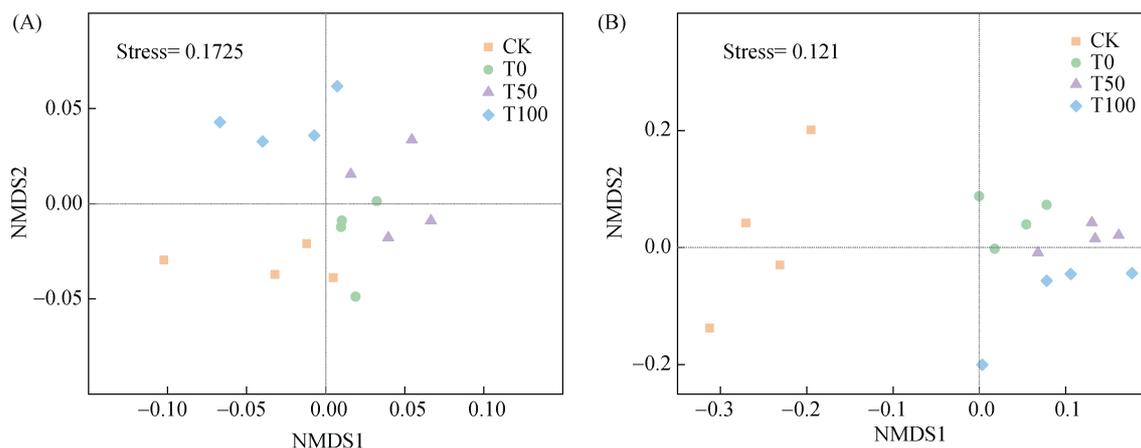


图 4 腐熟羊粪有机肥配施无机肥下土壤细菌(A)和真菌(B)群落 NMDS 分析

Fig. 4 NMDS analysis of soil bacterial (A) and fungal (B) communities under chemical fertilizer combined with decomposed sheep manure

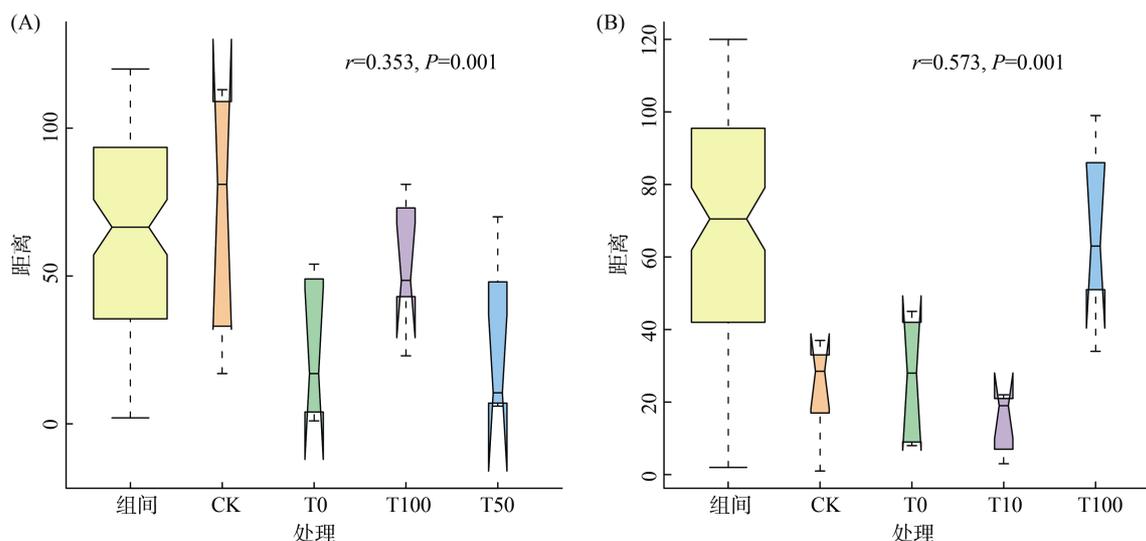


图 5 腐熟羊粪有机肥配施无机肥下土壤细菌(A)和真菌(B)相似性分析

Fig. 5 Similarity analysis of soil bacteria (A) and fungi (B) under chemical fertilizer combined with decomposed sheep manure

3 讨论

土壤速效养分含量反映了土壤的供肥能力,与烟株的生长发育及产量形成密切相关^[10]。本研究表明,相比于不施肥(CK)、单施化肥(T0)和单施有机肥

(T100)处理,50% 羊粪有机肥氮+50% 无机氮肥(T50)处理显著地提高了烟株移栽 60 d 后土壤碱解氮、有效磷和速效钾的含量,而且相比于 CK 和 T0 处理也显著地提高了土壤有机质的含量,说明 T50 处理兼具供肥和土壤改良效果。土壤酶是土壤中较为活跃的

有机成分,在土壤养分循环中发挥着重要作用,其中土壤蔗糖酶、脲酶和蛋白酶是驱动土壤碳氮元素循环的关键酶^[16]。赵霞等^[17]在甘肃省张掖市通过施用不同比例的羊粪有机肥发现,施用羊粪有机肥处理土壤蔗糖酶和脲酶活性与单施化肥处理相比显著增加。秦秦等^[18]在常州市研究不同量生物有机肥与化肥减量配施发现,高量生物有机肥与化肥配施可以增加土壤蔗糖酶和蛋白酶的活性。本研究结果也发现,不同施肥处理对土壤酶活性的影响有明显差异,T50处理土壤蔗糖酶、脲酶和蛋白酶活性均最高。究其原因,羊粪有机肥和化肥配施一方面兼顾了无机氮源对土壤微生物的启动作用,另一方面施入土壤后的腐熟羊粪有机肥为微生物生长提供了大量碳源,有利于微生物增殖,从而提高土壤酶活性^[19]。

土壤微生物是土壤微生态的重要组成成分,是驱动土壤养分循环的关键因子,对维持土壤质量及促进植物生长等具有重要作用^[20]。本研究发现,相较于其他处理,T50处理的土壤细菌丰富度和多样性最高。王亚麟等^[21]在贵州的长期定位施肥试验也表明,有机肥与化肥配施能够提高土壤细菌多样性和丰富度。本研究结果还表明,施肥处理均较不施肥处理显著增加了土壤真菌的多样性,且以T50处理土壤真菌多样性最高,这与Luo等^[22]通过研究猪粪、矿质氮、磷酸盐和钾肥混合施入土壤能够显著增加土壤真菌多样性的结果是一致的。有机肥与无机肥配施对土壤细菌和真菌的促生作用与无机肥的启动作用(氮源)和有机肥的底物作用(碳源)耦合有关^[23]。本研究通过分析不同处理土壤细菌群落的组成发现,植烟土壤细菌群落的优势菌门主要为变形菌门、酸杆菌门和放线菌门;T50处理能够提高变形菌门和酸杆菌门的相对丰度,降低放线菌门的相对丰度。由于变形菌门的主要功能为提高土壤氮肥利用率^[24],而酸杆菌门的主要功能为参与腐殖质分解的碳循环过程及维持土壤生态系统健康^[25],进一步印证了腐熟羊粪有机肥与化肥配施在提升植烟土壤供肥能力和维持土壤碳氮平衡方面的作用。放线菌门的变化则可能与土壤团聚体大小有关。有研究表明,有机肥与化肥配施能够显著提高土壤的团聚性,而土壤团聚体粒径的增加则会导致放线菌门的相对丰度降低^[26]。通过分析不同处理土壤真菌群落的组成发现,子囊菌门和担子菌门是本研究植烟土壤真菌群落的优势菌门,T50处理提高了子囊菌门的相对丰度,但降低了担子菌门的相对丰度。子囊菌门的主要功能为参与土壤有机质分解,尤其具有分解木质纤维素的能力,因此子囊菌门的相对

丰度升高有利于植烟土壤外源有机质的矿化和养分释放^[27]。担子菌门主要出现在贫瘠的营养环境中,与土壤的C/N比呈显著负相关关系^[28]。本研究中,羊粪有机肥的添加通过影响土壤C/N比,导致了担子菌门相对丰度的降低。

Pearson相关性分析发现,供试植烟土壤的速效养分含量和酶活性与土壤中细菌的Shannon指数、真菌的多样性和丰富性指数(ACE、Chao1和Shannon指数)呈显著正相关关系,与土壤真菌的Simpson指数呈显著负相关关系,表明土壤真菌群落结构的丰富度和多样性较土壤细菌群落更容易受到施肥的影响。这是因为土壤真菌主要存在于团聚体表面,相对于细菌更容易受到微环境变化的影响^[29]。Suzuki等^[30]研究也发现,土壤真菌群落结构对有机肥和无机肥配施的响应比土壤细菌群落结构更为敏感。

4 结论

腐熟羊粪有机肥配施无机肥显著影响植烟土壤肥力、酶活性及土壤细菌和真菌群落结构。土壤碱解氮、有效磷、速效钾含量及蛋白酶和脲酶活性与土壤微生物群落多样性的关系密切。有机肥与无机肥配施通过调控土壤有机质含量和微生物的多样性,进而影响植烟土壤的供肥能力和土壤质量。腐熟羊粪有机肥与无机肥配施(T50)处理增加了土壤微生物的多样性和丰富度(尤其是土壤真菌),显著提高了土壤优势菌门的相对丰度,有利于改善植烟土壤的供肥能力,提升土壤质量,在豫西烟区具有较大的推广价值。

参考文献:

- [1] Jiang R, Wang M E, Chen W P, et al. Changes in the integrated functional stability of microbial community under chemical stresses and the impacting factors in field soils[J]. *Ecological Indicators*, 2020, 110: 105919.
- [2] 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[J]. *土壤*, 2021, 53(5): 983-990.
- [3] 吴宪,王蕊,胡荷,等. 潮土细菌及真菌群落对化肥减量配施有机肥和秸秆的响应[J]. *环境科学*, 2020, 41(10): 4669-4681.
- [4] 王庆,海江波,岳忠娜,等. 化肥减量对麦田土壤微生物量及微生物区系的影响[J]. *麦类作物学报*, 2012, 32(3): 484-487.
- [5] 李正辉,殷全玉,马君红,等. 羊粪有机肥对洛阳植烟土壤微生物群落结构和功能的影响[J]. *山东农业科学*, 2022, 54(5): 84-97.
- [6] 任改弟,张苗,张文越,等. 不同来源有机物料对菜用蚕豆生长和品质及根际土壤性状的影响[J]. *土壤*, 2022, 54(4): 740-749.

- [7] 张然, 史雷, 马龙, 等. 有机无机肥配施对旱地冬小麦产量及土壤物理性质的影响[J]. 水土保持学报, 2020, 34(6): 325–330, 336.
- [8] 刘佳, 陈晓芬, 刘明, 等. 长期施肥对旱地红壤细菌群落的影响[J]. 土壤学报, 2020, 57(2): 468–478.
- [9] 安祥瑞, 江尚焘, 谢昶琰, 等. 减施化肥配施有机肥对荔枝园土壤微生物区系的影响[J]. 应用生态学报, 2022, 33(4): 1099–1108.
- [10] 马宜林, 吴广海, 申洪涛, 等. 羊粪有机肥与化肥配施对烤烟生长及土壤肥力特性的影响[J]. 核农学报, 2021, 35(10): 2423–2430.
- [11] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [12] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [13] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, et al. Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884–i890.
- [14] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957–2963.
- [15] Edgar R C. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996–998.
- [16] Wang B, Liu G B, Xue S, et al. Changes in soil physico-chemical and microbiological properties during natural succession on abandoned farmland in the Loess Plateau[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2011, 62(5): 915–925.
- [17] 赵霞, 赵蕊, 秦嘉海. 不同比例羊粪与化肥配施对土壤质量及甜菜含糖率和效益的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2021, 39(4): 117–124.
- [18] 秦秦, 宋科, 孙丽娟, 等. 生物有机肥与化肥减量配施对稻田土壤酶活性和土壤肥力的影响[J]. 上海农业学报, 2022, 38(1): 21–26.
- [19] 施娴, 刘艳红, 张德刚, 等. 猪粪与化肥配施对植烟土壤酶活性和微生物生物量动态变化的影响[J]. 土壤, 2015, 47(5): 899–903.
- [20] 焦晓丹, 吴凤芝. 土壤微生物多样性研究方法的进展[J]. 土壤通报, 2004, 35(6): 789–792.
- [21] 王亚麒, 刘京, 苟剑渝, 等. 长期有机无机配施下烤烟-玉米轮作优化土壤微生物活化无机磷[J]. 土壤学报, 2022, 59(3): 808–818.
- [22] Luo P Y, Han X R, Wang Y, et al. Influence of long-term fertilization on soil microbial biomass, dehydrogenase activity, and bacterial and fungal community structure in a brown soil of northeast China[J]. *Annals of Microbiology*, 2015, 65(1): 533–542.
- [23] Gougoulias C, Clark J M, Shaw L J. The role of soil microbes in the global carbon cycle: Tracking the below-ground microbial processing of plant-derived carbon for manipulating carbon dynamics in agricultural systems[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2014, 94(12): 2362–2371.
- [24] 宋兆齐, 王莉, 刘秀花, 等. 云南4处酸性热泉中的变形菌门细菌多样性[J]. 河南农业大学学报, 2016, 50(3): 376–382.
- [25] 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.
- [26] 荣勤雷. 有机肥/秸秆替代化肥模式对设施菜田土壤团聚体微生物特性的影响[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018.
- [27] Souza R C, Mendes I C, Reis-Junior F B, et al. Shifts in taxonomic and functional microbial diversity with agriculture: How fragile is the Brazilian Cerrado?[J]. *BMC Microbiology*, 2016, 16: 42.
- [28] Sun Q Q, Wang R, Hu Y X, et al. Spatial variations of soil respiration and temperature sensitivity along a steep slope of the semiarid Loess Plateau[J]. *PLoS One*, 2018, 13(4): e0195400.
- [29] 张瑞平, 苟小梅, 张毅, 等. 生物有机肥与化肥配施对植烟土壤养分和真菌群落特征的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2020, 48(8): 85–92.
- [30] Suzuki C, Nagaoka K, Shimada A, et al. Bacterial communities are more dependent on soil type than fertilizer type, but the reverse is true for fungal communities[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2009, 55(1): 80–90.