

DOI: 10.5846/stxb201802080344

徐忠山, 刘景辉, 逯晓萍, 武俊英, 李金龙, 陈晓晶, 张博文, 张兴隆, 杨彦明. 秸秆颗粒还田对黑土土壤酶活性及细菌群落的影响. 生态学报, 2019, 39(12): - .

Xu Z S, Liu J H, Lu X P, Wu J Y, Li J L, Chen X J, Zhang B W, Zhang X L, Yang Y M. Effects of returning granulated corn stover on soil enzyme activities and bacterial community in black soil. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(12): - .

秸秆颗粒还田对黑土土壤酶活性及细菌群落的影响

徐忠山¹, 刘景辉¹, 逯晓萍¹, 武俊英¹, 李金龙², 陈晓晶¹, 张博文¹, 张兴隆¹, 杨彦明^{1,*}

1. 内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019

2. 阿荣旗农业技术推广中心, 阿荣旗 162750

摘要:为探讨不同玉米秸秆颗粒还田量对黑土生物学特性及细菌群落的影响,在内蒙古兴安盟扎赉特旗农业科技示范园试验地设置秸秆 0% 还田,还田量 0 kg/hm² (CK)、秸秆 60% 还田,还田量 4500 kg/hm² (JG1)、秸秆 70% 还田,5250 kg/hm² (JG2)、秸秆 80% 还田,6000 kg/hm² (JG3)、秸秆 90% 还田,6750 kg/hm² (JG4) 和秸秆 100% 还田,7500 kg/hm² (JG5) 6 个处理,通过连续 2 年大田试验,研究土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶、碱性磷酸酶活性、微生物生物量碳氮以及细菌群落的变化。结果表明:秸秆还田能够增加土壤蔗糖酶 (3.29%—32.12%),脲酶 (5.32%—52.66%),过氧化氢酶 (0.60%—27.11%),碱性磷酸酶的活性 (10.89%—64.20%),土壤微生物生物量碳 (1.32%—7.07%)、氮 (16.35%—80.46%) 含量;秸秆施入土壤也提高了黑土变形菌门和厚壁菌门相对丰度,提高了土壤固氮、分解养分及抵御病害能力,并降低了放线菌门相对丰度,降低了土壤病害发生概率,还出现了具有固氮、吸磷、改良土壤特性的新细菌,可见玉米秸秆还田具有重要的生态学意义,可在一定程度上增加细菌数量和种类多样性,进而使土壤系统向稳定健康的方向发展。综合研究结果在本试验条件下,以 6750 kg/hm² 为较适宜的玉米秸秆颗粒还田量。
关键词:秸秆颗粒还田;黑土;酶活性;微生物生物量;细菌群落

Effects of returning granulated corn stover on soil enzyme activities and bacterial community in black soil

XU Zhongshan¹, LIU Jinghui¹, LU Xiaoping¹, WU Junying¹, LI Jinlong², CHEN Xiaojing¹, ZHANG Bowen¹, ZHANG Xinglong¹, YANG Yanming^{1,*}

1 Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot 010019, China

2 Arun Banner Agricultural Technology Promotion Center, Arun Banner 162750, China

Abstract: To investigate the effects of returning granulated corn stover on biological properties and bacterial communities of black soils, a 2-year field experiment was conducted in Jalaid Banner, Inner Mongolia in 2016 and 2017. Amount of corn stover incorporated in soil were 0 kg/hm² (CK, 0%), 4500 kg/hm² (JG1), 5250 kg/hm² (JG2), 6000 kg/hm² (JG3), 6750 kg/hm² (JG4), and 7500 kg/hm² (JG5, 100%). The changes in soil sucrase, urease, catalase, alkaline phosphatase enzyme, microbial biomass carbon, and nitrogen, as well as the bacterial community were studied. Results showed that, returning corn stover to the field increased the activity of soil sucrase (by 3.29%—32.12%), urease (by 5.32%—52.66%), catalase (by 0.60%—27.11%), alkaline phosphatase enzyme (by 10.89—64.20%), microbial biomass carbon (by 1.32%—7.07%), and nitrogen (by 16.35%—80.46%). The returning of corn stover increased the relative abundance of *Proteobacteria* and *Firmicutes* in black soil, which can enhance the ability of soil nitrogen fixation and disease resistance

基金项目:农业部黑土地保护与利用试点项目(2016-GC0082-5);公益性行业(农业)科研专项(201303126)

收稿日期:2018-02-08; 网络出版日期:2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 68282761@qq.com

and reduce the probability of soil disease through decreased relative abundance of *Actinomycetes*. New bacteria with the capability for nitrogen fixation, phosphorus uptake, and soil improvements also increased. In conclusion, returning of corn stover to soil has important ecological impacts on the agroecosystem, which can enhance the abundance and generic diversity of soil nematodes, creating a stable and healthy soil ecosystem. According to our study, 6750 kg/hm² or 90% returning rate is suitable for granulated stover returning.

Key Words: granulated stover returning; black soil; soil enzyme activity; microbial biomass; bacterial community

作为世界三大黑土区之一的东北黑土区是我国最重要的商品粮基地,在国家粮食安全中有举足轻重的地位^[1]。黑土因腐殖层厚、肥力高、团粒结构好等特性,成为珍贵的土壤资源。而土壤酶活性和微生物是评价土壤质量的重要指标,对促进有机质分解和养分转化十分重要,两者对各种农业管理措施如秸秆还田、施肥及耕作方式等变化较敏感^[2-5]。我国的秸秆资源十分丰富,据统计全国每年共产生秸秆数量为 6.2 亿 t,约占世界的 20%—30%^[6]。农作物秸秆作为物质、能量和养分的载体,成为宝贵的生物质资源,目前秸秆利用主要以直接还田为主^[7]。Tejada^[8]等研究表明秸秆还田可改善土壤结构,Li^[9]等发现不同形式秸秆还田均能提高土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶及碱性磷酸酶活性^[10]、增加土壤微生物生物量碳氮^[11]、提高细菌群落多样性^[12]、进而改善土壤生物学性状^[13]。农业生产中,秸秆直接还田常因粉碎不彻底、病虫寄居等原因,导致作物播种质量差、与作物争夺养分和水分、加重病虫草害及增加温室气体排放等问题^[14-17]。目前,关于秸秆还田方式、还田量等方面的研究虽然较为常见,但关于秸秆颗粒还田的相关研究鲜见,尤其针对秸秆颗粒还田对东北黑土地土壤酶活性及微生物群落的相关研究未见报道。鉴于此,为明确不同秸秆颗粒还田量对黑土酶活性及微生物群落的影响,本试验通过 6 种秸秆颗粒还田处理,连续 2 年大田定位试验,研究不同秸秆颗粒还田量对黑土 4 种土壤酶活性、微生物生物量及微生物群落及结构的影响,以期对秸秆合理高效利用、增强黑土可持续生产能力提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

本试验于 2016—2017 年在内蒙古兴安盟扎赉特旗农业科技示范园区开展,该地区属温带大陆性半干旱季风气候区,年均日照为 2855 h,常年积温 2600℃左右,无霜期 110—135 d,海拔高度 203 m,土壤类型为草甸土,pH 为 8.22。试验地养分状况见表 1,试验期间降雨量和气温变化见图 1。

表 1 试验地养分状况表(0—20 cm)

Table 1 Soil chemical properties of the tested field (0—20 cm)

碱解氮	速效磷	速效钾	有机质	全氮	全磷	全钾
Alk-hydr N/ (mg/kg)	Available P/ (mg/kg)	Available K/ (mg/kg)	Organic M/ (g/kg)	Total N/ (g/kg)	Total P/ (g/kg)	Total K/ (g/kg)
116.27	11.43	160.86	45.55	1.96	0.66	33.98

1.2 试验设计

目前大多数关于玉米秸秆还田试验秸秆还田量均为 0%、30%、60% 及 100% 还田,本试验设秸秆 0% 还田,还田量 0 kg/hm²(CK)、秸秆 60% 还田,还田量 4500 kg/hm²(JG1)、秸秆 70% 还田,还田量 5250 kg/hm²(JG2)、秸秆 80% 还田,还田量 6000 kg/hm²(JG3)、秸秆 90% 还田,还田量 6750 kg/hm²(JG4) 和秸秆 100% 还田,还田量 7500 kg/hm²(JG5) 6 个处理,各小区采用随机区组设计,重复 3 次,小区面积 13.2×10=132 m²。前季玉米收获后将地上部分自然风干,收割回收后用粉碎机把秸秆揉搓、粉碎至 10—20 mm,用生物质颗粒机(型号 KWLH-628,江苏金梧实业股份有限公司)制得直径 3—4 mm、长度 30—50 mm 的棒状圆柱体,冷却后存放于

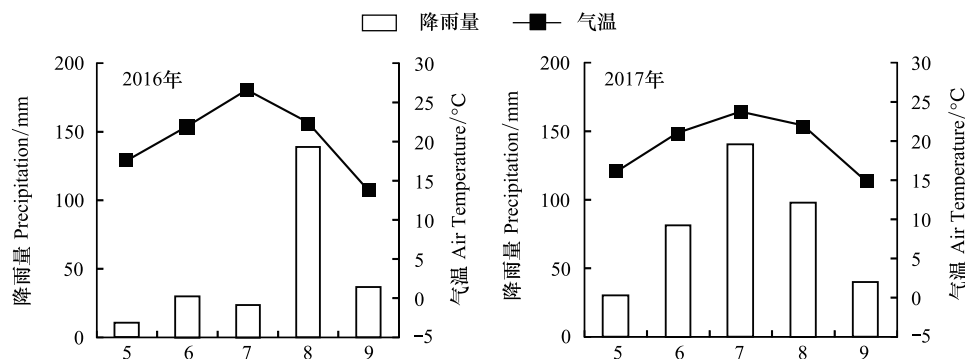


图1 试验期间降雨量和气温变化

Fig.1 Variations of daily rainfall and air temperature during experimental period

干燥室备用。播前一周,移除地上全部秸秆和根茬,后将秸秆颗粒均匀撒施入各小区,随即进行旋耕作业,深度 20 cm。2016—2017 年均为 5 月 10 日播种,玉米品种为恒育 498,采用大垄播种机播种,播量 22.5 kg/hm^2 ,行距 66 cm,株距 25 cm,保苗数 60000 株/hm^2 。化肥随播种机施入,尿素 150 kg/hm^2 、磷酸二铵 225 kg/hm^2 ,不追肥。于 5 月 26 日、7 月 12 日灌水两次,灌水量 $900 \text{ m}^3/\text{hm}^2$,10 月 10 日收获。

1.3 样品采集与分析

1.3.1 土样采集与分析

于 2016、2017 年 10 月玉米收获后每小区按“S”型取样法取 6 个处理 0—20cm 土壤样品,混合作为该处理的一个样品,每个处理重复 3 次。土样装入无菌密封袋,后置于保温箱带回实验室,立即测定土壤生物学性质。2016 年 10 月采集玉米根际土样,低温运输至北京诺禾致源生物信息科技有限公司测定土壤微生物群落。土壤过氧化氢酶活性采用微量滴定法测定^[18];蔗糖酶采用二硝基水杨酸比色法测定^[18];碱性磷酸酶采用磷酸苯二钠比色法测定^[18];土壤脲酶采用靛酚蓝比色法测定^[19]。土壤微生物生物量碳采用熏蒸提取-容量分析法测定,土壤微生物生物量氮采用熏蒸提取后凯氏定氮法测定^[20]。

1.3.2 基因组 DNA 的提取和 PCR 扩增

采用 CTAB 方法对样本的基因组 DNA 进行提取,之后利用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度和浓度,取适量的样品于离心管中,使用无菌水稀释样品至 $1 \text{ ng}/\mu\text{l}$ 。以稀释后的基因组 DNA 为模板,根据测序区域的选择,使用带 Barcode 的特异引物,New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer,和高效高保真酶进行 PCR,确保扩增效率和准确性。鉴定细菌多样性引物对应区域:16S rRNA 基因 V4 区引物 515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和 806R(5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3')。

1.3.3 PCR 产物的混样和纯化

PCR 产物使用 2% 浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测;根据 PCR 产物浓度进行等量混样,充分混匀后使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,对目的条带使用 qiagen 公司提供的胶回收试剂盒回收产物。

1.3.4 文库构建和上机测序

使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒进行文库构建,构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量,文库合格后,使用 HiSeq2500 PE250 进行上机测序。

1.4 数据处理分析

测序数据处理以及 OTU 聚类 and 物种注释方法参照方伟等人的研究^[21]。使用 Qiime 软件(Version 1.7.0)计算样品复杂度,并进行多样品比较分析。分别使用 R 软件(Version 2.15.3)绘制 PCoA 图和稀释曲线。试验中数据采用 Excel 2003 和 SAS 9.0 软件进行统计分析。图表数据均是平均值±标准误。

2 结果

2.1 不同处理对土壤酶活性的影响

由图 2 可知,2016 与 2017 年秸秆还田明显提高了 4 种酶活性,2016 年蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶与碱性磷酸酶活性较 CK 分别提高了 4.7%—47.3%、5.2%—52.6%、5.0%—18.0%和 11.0%—60.2%,JG2 与 JG4 处理酶活性较高;2017 年各处理土壤酶活性表现与 2016 年基本一致,尤以 JG4 处理酶活性最高。各处理 4 种酶活性明显高于 CK,且随着秸秆还田量的增加,土壤酶活性总体上呈升高趋势,当还田量达到 6750 kg/hm²时,酶活性达到最大值,继续增加还田量,土壤酶活性下降。连续两年秸秆还田与还田一年相比,过氧化氢酶活性显著提高,脲酶与碱性磷酸酶活性显著降低($P<0.05$)。

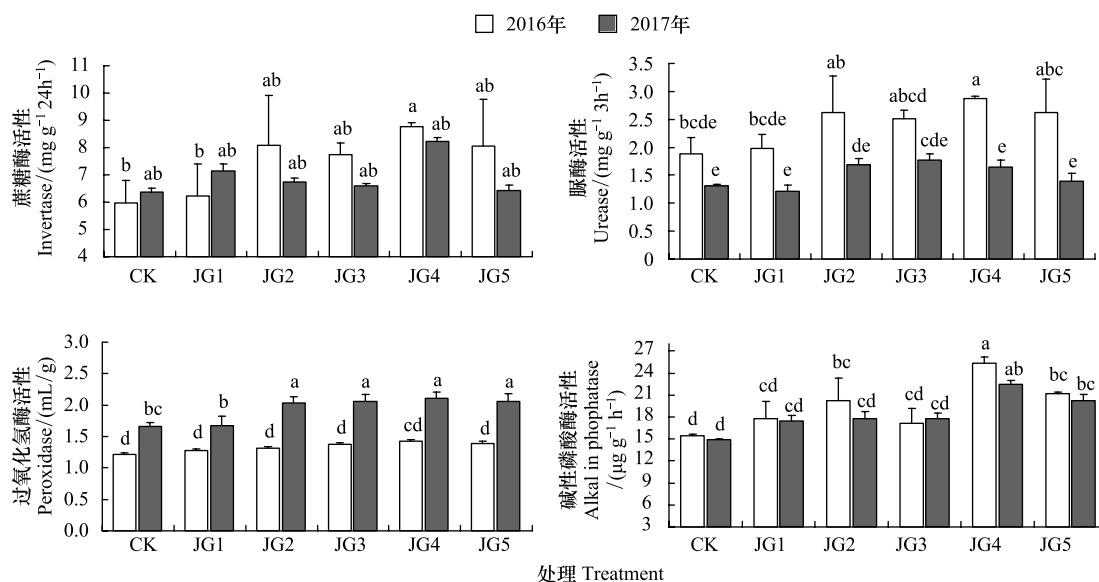


图 2 2016—2017 年各处理土壤酶活性变化

Fig.2 Soil enzyme activities relative to treatments during 2016—2017

不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$);CK:对照处理,即秸秆 0%还田;JG1:秸秆 1 处理,即秸秆 60%还田;JG2:秸秆 2 处理,即秸秆 70%还田;JG3:秸秆 3 处理,即秸秆 80%还田;JG4:秸秆 4 处理,即秸秆 90%还田;JG5:秸秆 5 处理,即秸秆 100%还田

2.2 不同处理对土壤微生物生物量碳氮的影响

如图 3 所示,2016 和 2017 年各处理均未显著提高土壤微生物生物量氮含量($P<0.05$),2016 年和 2017 年各处理较 CK 分别提高 34.33%—80.43%和 16.37%—51.43%,分别为 JG4 和 JG3 处理含量最高。2016 年土壤微生物生物量碳含量显著高于 2017 年($P<0.05$),2016 年和 2017 年各处理较 CK 分别提高 1.31%—2.63%和 3.25%—7.07%,分别为 JG4 和 JG1 处理含量最高。

秸秆改善土壤结构,提高土壤肥力,促进微生物繁殖与生长,提高土壤酶活性。各处理微生物生物量碳氮均明显高于 CK,2016 年与 2017 年均表现为 JG1 和 JG4 处理微生物量碳氮含量较高,随还田量增加,微生物生物量碳氮均呈增加趋势,JG4 与 JG5 处理最佳。由于 2017 年的高温及降雨影响,微生物量碳含量显著低于 2016 年,JG1、JG2 与 JG4 处理微生物生物量氮含量也小幅降低。

2.3 各处理对测序深度及多样性指数的影响

由表 2 可知,各处理的土样 OTU 数量在 3713—3913 之间,JG1、JG2 与 JG5 处理 OTU 数量显著高于 CK,表明秸秆施入土壤提高了细菌多样性,且 JG1 处理的总 OTU 数量最高,全部处理测序深度指数均达到 99%。由表 2 可知,各处理 ACE 和 Chao1 数值差异显著,JG1 和 JG2 处理显著提高 ACE 和 Chao1 指数,而 JG3、JG4 和 JG5 的 ACE 和 Chao1 数值较 CK 明显降低,表明秸秆还田会对细菌的丰富度和多样性产生影响,但其影响

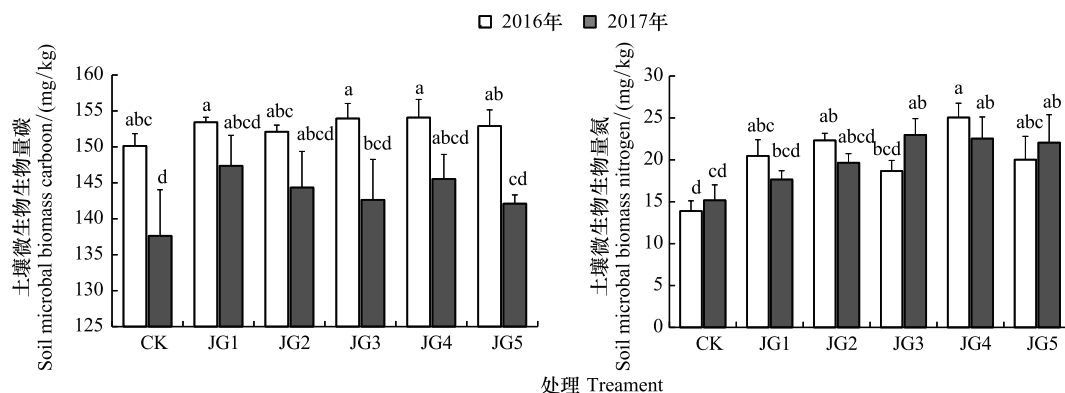


图 3 2016—2017 年各处理土壤微生物生物量碳氮含量

Fig.3 Soil microbial biomass carbon and nitrogen content under different treatments during 2016—2017

程度会因还田量的不同而差异较大。各处理 Shannon 和 Simpson 数值差异显著, JG1、JG2 和 JG3 处理二者数值均显著高于 CK, JG4 和 JG5 处理显著低于 CK ($P < 0.05$), 表明秸秆还田会对细菌的群落多样性产生影响, 且影响程度与还田量有关。ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数均为 JG1 处理最高。

表 2 16S rRNA 基因 OTU 数、丰富度和多样性指数

Table 2 Estimated 16S rRNA number of OTUs, richness and diversity

处理 Treatment	操作分类单元数 OTU No.	Chao1 指数 Chao1_index	ACE 指数 ACE_index	香农指数 Shannon_index	辛普森指数 Simpson_index	测序深度指数/% goods_coverage
CK	3713±19bc	4233±29.6ab	4325±42ab	9.629±0.005c	0.995±0ab	99
JG1	3913±24a	4398±12.3a	4458±23a	9.825±0.050a	0.996±0.001a	99
JG2	3771±32ab	4282±61.1ab	4348±44ab	9.740±0.016ab	0.996±0.0003a	99
JG3	3661±61bc	4043±180.1b	4147±159b	9.662±0.031bc	0.996±0.0003a	99
JG4	3680±58bc	4189±43.0bc	4303±56ab	9.501±0.025d	0.994±0b	99
JG5	3715±62c	4125±82.0b	4210±88ab	9.478±0.035d	0.994±0.0003b	99

不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

基于 Weighted Unifrac 距离来进行 PCoA 分析, 并选取贡献率最大的主坐标组合, 结果见图 4。各处理的 3 个重复距离较接近, 表示同一处理的样品群落结构相似度较高, 而秸秆还田对土壤细菌群落结构的影响因还田量不同差异很大。PC1 和 PC2 两个轴分别解释了 44.23% 和 30.35% 的细菌群落变化。各处理土壤细菌群落在分布上存在着不同, JG1 和 JG3 处理、JG4 和 JG5 处理在 PC1 轴上的投影较为接近, 但与 CK 处理相距较远, 而 JG2 和 CK 处理在 PC1 轴上的投影接近, 说明秸秆还田量是影响细菌群落变化的主要因素; 整体来看, JG2 和 CK 处理的细菌群落结构都分布在中部, JG1 处理分布在左侧方, JG3 处理分布在上方, JG4 和 JG5 处理分布在右侧方, 说明 JG2 和 CK 处理、JG4 和 JG5 处理的细菌群落结构聚集程度最接近。

2.4 各处理对细菌群落构成的影响

如图 5 所示, 群落构成其中相对丰度最高的菌门为变形菌门 (*Proteobacteria*), 占 33.0%—44.1%, 随后依

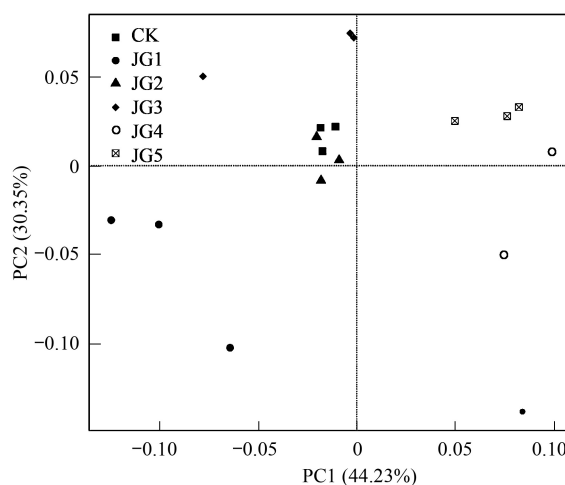


图 4 不同处理主坐标分析

Fig.4 Principal coordinate analysis of different treatments

次是放线菌门(*Actinobacteria*) 23.3%—34.3%、酸杆菌门(*Acidobacteria*) 6.3%—15.1%、拟杆菌门(*Bacteroidetes*) 4.5%—6.9%、绿弯菌门(*Chloroflexi*) 2.3%—4.2%、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*) 2.5%—4.0%、浮霉菌门(*Planctomycetes*) 0.9%—4.4%、厚壁菌门(*Firmicutes*) 1.0%—2.6%、疣微菌门(*Verrucomicrobia*) 0.8%—1.8%、奇古菌门(*Thaumarchaeota*) 0.2%—0.8%和其他 2.8%—3.9%。

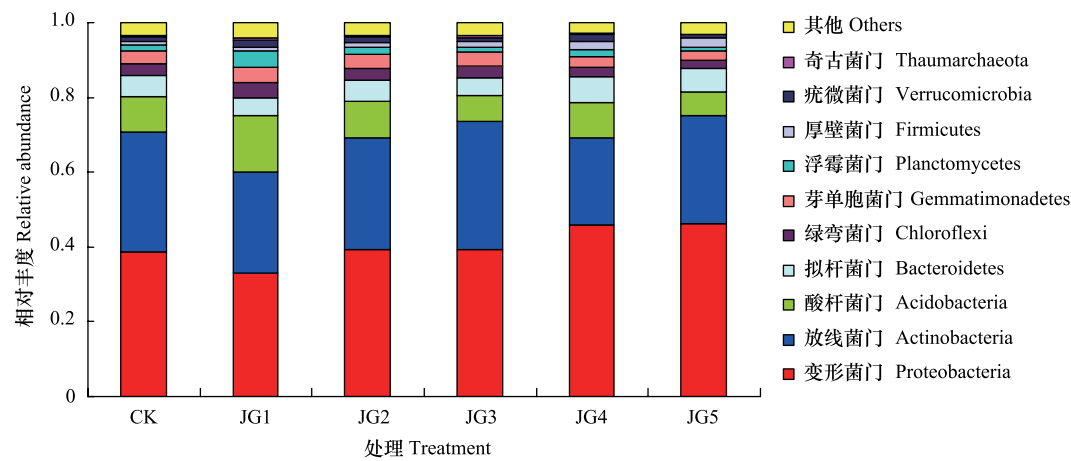


图 5 门水平上最大丰度排名前 10 的物种相对丰度柱形图

Fig.5 Relative average abundances of the ten most abundant phyla of phylogenetic phylum

秸秆还田各处理变形菌门的相对丰度显著高于 CK 及 JG1 处理,随还田量增加,其丰度越高。变形菌门包括丰富的固氮细菌,秸秆还田可提高土壤固氮能力,与本试验微生物生物量氮及脲酶活性表现一致。放线菌门多为致病细菌,秸秆还田各处理放线菌门相对丰度显著低于 CK 及 JG3 处理,致病细菌减少,降低了土壤病害发生概率。厚壁菌门可以抵抗脱水和极端环境,能够分解土壤中脂肪和碳水化合物等物质,同时还能抵御外来病原体的入侵。各处理厚壁菌门相对丰度明显高于 CK,较高含量的厚壁菌门可以更好地分解土壤养分,供玉米吸收利用,同时提高土壤抵御外来病原体能力。如表 3 所示,与 CK 相比,秸秆还田处理提高了厚壁菌门、疣微菌门、变形菌门和拟杆菌门丰度,且 JG4 与 JG5 处理丰度增加最多,主要包含 *Fusibacter*、*Stenotrophomonas*、*Zoogloea*、*Desulfovibrio*、*Pannonibacter* 与 *Mangroviflexus* 等,出现的新细菌主要涉及固氮、吸磷及改良重金属污染土壤等功能,此外还有 4 个属未能注释。

表 3 OTU 水平下不同处理排名前 10 的特有物种相对丰度

Table 3 The relative abundance of the top 10 endemic species under different treatments at OTU level

OTU	相对丰度 Relative abundance/%						属 Genus	纲 Class	门 Phylum
	CK	JG1	JG2	JG3	JG4	JG5			
OTU29	0.000	0.000	0.000	0.000	0.704	0.321	<i>Fusibacter</i>	<i>Clostridia</i>	<i>Firmicutes</i>
OTU74	0.000	0.000	0.000	0.001	0.539	0.058		<i>Spartobacteria</i>	<i>Verrucomicrobia</i>
OTU78	0.000	0.003	0.000	0.003	0.549	0.073	<i>Stenotrophomonas</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Proteobacteria</i>
OTU88	0.000	0.003	0.000	0.000	0.077	0.072	<i>Zoogloea</i>		
OTU114	0.000	0.000	0.000	0.000	0.318	0.122			
OTU135	0.000	0.000	0.000	0.000	0.082	0.779	<i>Desulfovibrio</i>	<i>Deltaproteobacteria</i>	
OTU152	0.000	0.000	0.000	0.000	0.267	0.066	<i>Pannonibacter</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	
OTU170	0.000	0.000	0.000	0.000	0.065	0.212			
OTU94	0.000	0.000	0.000	0.000	0.369	0.068	<i>Mangroviflexus</i>	<i>Bacteroidia</i>	<i>Bacteroidetes</i>
OTU167	0.000	0.000	0.000	0.000	0.229	0.031		<i>Flavobacteriia</i>	

2.5 各处理影响土壤细菌菌群结构的因子分析

图 6 的 RDA 分析表明,两个主要轴特征值分别为 48.33%和 19.20%;两个轴相互垂直,相关系数为 0,说

明 RDA 的排序结果是可信的^[22]。不同秸秆还田量微生物群落变化差异明显, JG4 与 JG5 处理在第一排序轴的正端, 其他 4 个处理在序轴负端; CK、JG2 与 JG3 处理在第二排序轴的正端, 而 JG1、JG4 与 JG5 处理在序轴负端。第一轴排序与微生物生物量碳(相关系数为 0.992)、过氧化氢酶(0.989)、脲酶(0.960)、碱性磷酸酶(0.865)与微生物生物量氮(0.728)呈正相关; 第二轴排序与脲酶、过氧化氢酶、碱性磷酸酶、微生物生物量碳、氮无明显相关性。结果表明影响微生物群落多样性较大的环境因子为微生物生物量碳氮含量及脲酶活性。

3 讨论

3.1 各处理对土壤酶活性及微生物生物量的影响

秸秆还田能提高土壤脲酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性, 且酶活性提高程度与秸秆还田量相关^[7, 23]。本研究验证了前人试验结果, 秸秆还田各处理

4 种酶活性明显高于 CK, 且随还田量增加, 土壤酶活性总体上呈上升趋势。秸秆本身含有大量的酶, 施入土壤分解后也可可为土壤带来酶和有机物质等, 提升土壤肥力, 提高土壤微生物数量, 微生物的增加又会加快有机物质的分解, 改善土壤环境, 更适合微生物生长与繁殖^[24-25]。研究表明 50% 秸秆还田处理对微生物量碳、氮的提高作用最明显($P < 0.05$), 表明 50% 秸秆还田量的 C/N 更适合土壤微生物生存, 土壤微生物数量和活性也随之提高, 又进一步提高土壤酶等分泌物的数量, 酶活性提高又促进微生物分解^[5]。本试验 JG4 处理微生物生物量碳氮含量均最高, 可能是该还田量下 C/N(6.44) 更适宜微生物生长。前人研究发现两季秸秆均还田可显著提高土壤微生物量碳氮及酶活性, 翻耕和旋耕两季秸秆还田处理土壤微生物生物量碳含量均显著高于其他处理^[26]。本研究表明, 2016 和 2017 年各处理微生物量碳氮含量均显著高于 CK($P < 0.05$), 连续秸秆还田土壤微生物量碳及部分处理的微生物量氮含量反而低于 2016 年, 可能是 2017 年拔节期干旱少雨而灌浆期持续降雨对土壤水热状况产生影响, 导致微生物量碳氮含量降低。

3.2 各处理对测序深度及多样性指数的影响

从 OTU 数量可以看出, 各处理特有 OTU 数量均高于 CK 与 JG3, 且 JG1 处理 OTU 数量最多, 表明秸秆还田增加土壤 OTU 数量, 提高了细菌多样性。高圣超等^[27]研究发现施入有机肥提高了土壤细菌的 16S rRNA 基因拷贝数, Teixeira 等^[28]与其研究结果相似, 本研究结果与前人研究一致。从 α 多样性指数(Chao1 和 ACE 指数)看出, 秸秆还田对细菌的丰富度与多样性的影响程度因还田量的不同差异较大。可能是土壤环境改变造成的, 秸秆还田能改善土壤性状、增加有机质含量、提升肥力并改善土壤水热状况, 为微生物提供适宜生长环境^[29-30]。分析 β 多样性指数(Shannon 和 Simpson 指数), 秸秆还田对土壤细菌群落结构的影响因还田量不同差异很大, CK 和 JG2 处理细菌群落结构聚集程度最优, 而与其他各处理差异很大。秸秆还田改变土壤细菌的菌群结构, 对黑土地的发展产生重要影响。

3.3 各处理对细菌群落构成的影响

JG1 处理 OTU 数量最高, 但变形菌门等有益菌丰度较低, 明显提高放线菌门等致病菌丰度; JG4 和 JG5 处理虽然总 OTU 数量低于 CK, 但有益菌丰度明显升高, 致病菌丰度明显降低, 保持了良好的土壤细菌群落结构。变形菌门、放线菌门和酸杆菌门丰度值占有优势菌门的 70% 以上, 这与前人研究结果一致^[24]。长期施肥砂姜黑土的细菌群落研究发现, NPK 施肥处理降低了土壤细菌群落的多样性^[31], 长期施用化肥降低土壤细菌群落多样性, 结合本研究, 通过秸秆还田或秸秆与无机肥料配施可能提高土壤细菌群落的多样性。本研究

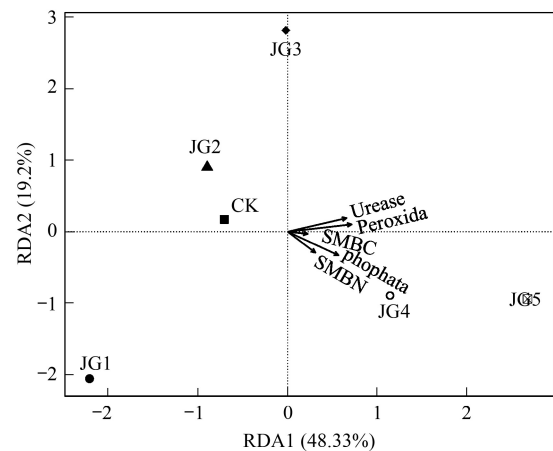


图 6 不同处理土壤生物学性质与细菌群落(门水平)的冗余分析
Fig. 6 Results from redundancy analysis to explore the relationship between soil bacterial community (phylum) and soil biological characteristics

表明,秸秆还田提高土壤变形菌门相对丰度,提升土壤固氮能力;放线菌门相对丰度减少,降低土壤遭受病害概率;秸秆还田还提高厚壁菌门相对丰度,参与土壤养分分解,供玉米生长所需,同时提高土壤抵御外来病原体能力。王伏伟等^[32]研究表明,施肥增加了土壤中放线菌相对丰度,这与本试验结果相反。Ai 等^[33]对 31 年玉米—小麦轮作土壤细菌菌群分析表明施肥处理嗜酸菌门丰度明显高于 CK,这与本研究结果不同,原因可能是本试验地为长年玉米连作,土壤与玉米—小麦轮作有所差异。本试验 JG1、JG2 处理嗜酸菌门相对丰度高于 CK,而 JG3、JG4 和 JG5 处理低于 CK。秸秆还田处理较 CK 新增了 *Fusibacter*、*Stenotrophomonas*、*Zoogloea*、*Desulfovibrio*、*Pannonibacter* 与 *Mangroviflexus* 等。其中, *Zoogloea* 属于 γ -变形菌纲,目前国内外大量研究表明 *Zoogloea* 是某些区域活性污泥法强化除磷系统中的主要功能菌株之一^[34],还能够吸收磷,并将其以多聚偏磷酸盐的形式贮存在细胞中^[35]。近年来,一些 *Desulfovibrio* 物种已经显示出通过还原性生物蓄积过程对有毒放射性核素具有生物修复潜力^[36],也有研究表明 *Pannonibacter* 可适应于高 pH、高 Cr(VI) 含量污染土壤中的生长^[37],对改良重金属土壤意义重大。

4 结论

秸秆颗粒还田能显著提高 4 种土壤酶活性及微生物量碳氮含量;提高了变形菌门和厚壁菌门的相对丰度,尤以 JG4 与 JG5 处理效果最佳;JG3 处理放线菌门丰度高于 CK,而其他处理均降低了放线菌门相对丰度;与 CK 相比,秸秆颗粒还田处理过程中出现具有固氮、吸磷、改良重金属土壤等特性的细菌,可见玉米秸秆还田具有重要的生态学意义,可在一定程度上增加细菌数量和种类多样性,进而使土壤系统向稳定健康的方向发展。综合研究结果,在本试验条件下以 6750 kg/hm² 为较适宜的玉米秸秆颗粒还田量。

参考文献 (References):

- [1] 梁尧, 韩晓增, 丁雪丽. 东北黑土有机质组分与结构的研究进展. 土壤, 2012, 44(6): 888-897.
- [2] Li Y Y, Pang H C, Han X F, Yan S W, Zhao Y G, Wang J, Zhai Z, Zhang J L. Buried straw layer and plastic mulching increase microflora diversity in salinized soil. Journal of Integrative Agriculture, 2016, 15(7): 1602-1611.
- [3] 荣勤雷, 梁国庆, 周卫, 刘东海, 王秀斌, 孙静文, 李双来, 胡诚. 不同有机肥对黄泥田土壤培肥效果及土壤酶活性的影响. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(5): 1168-1177.
- [4] 纳小凡, 郑国旗, 邢正操, 马金平, 李占辉, 卢俊辉, 马飞. 连作对再植枸杞根际细菌群落多样性和群落结构的影响. 土壤学报, 2017, 54(5): 1280-1292.
- [5] 韩新忠, 朱利群, 杨敏芳, 俞琦, 卞新民. 不同小麦秸秆还田量对水稻生长、土壤微生物生物量及酶活性的影响. 农业环境科学学报, 2012, 31(11): 2192-2199.
- [6] 刘骁倩, 涂仕华, 孙锡发, 辜运富, 张先琴, 张小平. 秸秆还田与施肥对稻田土壤微生物生物量及固氮菌群落结构的影响. 生态学报, 2013, 33(17): 5210-5218.
- [7] 路文涛, 贾志宽, 张鹏, 王维, 侯贤清, 杨保平, 李永平. 秸秆还田对宁南旱作农田土壤活性有机碳及酶活性的影响. 农业环境科学学报, 2011, 30(3): 522-528.
- [8] Tejada M, Hernandez M T, Garcia C. Soil restoration using composted plant residues: Effects on soil properties. Soil and Tillage Research, 2009, 102(1): 109-117.
- [9] Li C F, Yue L X, Kou Z K, Zhang Z S, Wang J P, Cao C G. Short-term effects of conservation management practices on soil labile organic carbon fractions under a rape-rice rotation in central China. Soil and Tillage Research, 2012, 119: 31-37.
- [10] 吕艳杰, 于海燕, 姚凡云, 曹玉军, 魏雯雯, 王立春, 王永军. 秸秆还田与施氮对黑土区春玉米田产量、温室气体排放及土壤酶活性的影响. 中国生态农业学报, 2016, 24(11): 1456-1463.
- [11] 王晓波, 车威, 纪荣婷, 何传龙, 朱安宁, 王伏伟, 朱林. 秸秆还田和保护性耕作对砂姜黑土有机质和氮素养分的影响. 土壤, 2015, 47(3): 483-489.
- [12] 单鹤翔. 长期秸秆与化肥配施条件下土壤微生物群落多样性研究. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [13] 范富, 张庆国, 邵继承, 侯迷红, 孙德智, 王闪闪, 张佳楠. 玉米秸秆夹层改善盐碱地土壤生物性状. 农业工程学报, 2015, 31(8): 133-139.
- [14] 李成芳, 寇志奎, 张枝盛, 曹凑贵, 吴海亚, 梅金安, 翟中兵, 张丛德, 魏坦雄, 刘诗晴, 夏起昕. 秸秆还田对免耕稻田温室气体排放及

- 土壤有机碳固定的影响. 农业环境科学学报, 2011, 30(11): 2362-2367.
- [15] Jacinthe P A, Lal R, Kimble J M. Carbon budget and seasonal carbon dioxide emission from a central Ohio Luvisol as influenced by wheat residue amendment. *Soil and Tillage Research*, 2002, 67(2): 147-157.
- [16] 李少昆, 王克如, 冯聚凯, 谢瑞芝, 高世菊. 玉米秸秆还田与不同耕作方式下影响小麦出苗的因素. *作物学报*, 2006, 32(3): 463-465.
- [17] 韩宾, 李增嘉, 王芸, 宁堂原, 郑延海, 史忠强. 土壤耕作及秸秆还田对冬小麦生长状况及产量的影响. *农业工程学报*, 2007, 23(2): 48-53.
- [18] 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986.
- [19] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [20] 吴金水, 林启美, 黄巧云, 肖和艾. 土壤微生物生物量测定方法及其应用. 北京: 气象出版社, 2006.
- [21] 方伟. 屎肠球菌 SF68 对断奶仔猪生产性能、肠道形态和微生物区系的影响. 扬州: 扬州大学, 2017.
- [22] Ter Braak C J F. Canonical correspondence analysis: A new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology*, 1986, 67(5): 1167-1179.
- [23] 刘兰清, 杨晨璐, 王维钰, 孔德杰, Akhtar K, 任广鑫, 冯永忠, 杨改河. 免耕条件下秸秆还田与施肥对小麦-玉米轮作系统土壤养分和酶活性的影响. *华北农学报*, 2017, 32(6): 213-221.
- [24] 马永良, 师宏奎, 张书奎, 吕润海. 玉米秸秆整株全量还田土壤理化性状的变化及其对后茬小麦生长的影响. *中国农业大学学报*, 2003, 8(S1): 42-46.
- [25] 徐蒋来, 胡乃娟, 张政文, 朱利群. 连续秸秆还田对稻麦轮作农田土壤养分及碳库的影响. *土壤*, 2016, 48(1): 71-75.
- [26] 杨敏芳. 不同耕作措施与秸秆还田对稻麦两熟制农田土壤养分、微生物及碳库的影响. 南京: 南京农业大学, 2013.
- [27] 高圣超, 关大伟, 马鸣超, 张伟, 李俊, 沈德龙. 大豆连作条件下施肥对东北黑土细菌群落的影响. *中国农业科学*, 2017, 50(7): 1271-1281.
- [28] Teixeira H, Rodríguez-Echeverría S. Identification of symbiotic nitrogen-fixing bacteria from three African leguminous trees in Gorongosa National Park. *Systematic and Applied Microbiology*, 2016, 39(5): 350-358.
- [29] 余坤, 冯浩, 王增丽, 丁奠元. 氨化秸秆还田改善土壤结构增加冬小麦产量. *农业工程学报*, 2014, 30(15): 165-173.
- [30] 窦森. 玉米秸秆“富集深还”与土壤亚表层培肥. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(6): 1670-1675.
- [31] 孙瑞波, 郭熙盛, 王道中, 褚海燕. 长期施用化肥及秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响. *微生物学通报*, 2015, 42(10): 2049-2057.
- [32] 王伏伟, 王晓波, 李金才, 叶爱华, 王妍, 车威, 朱林. 施肥及秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响. *中国生态农业学报*, 2015, 23(10): 1302-1311.
- [33] Ai C, Liang G Q, Sun J W, Wang X B, Zhou W. Responses of extracellular enzyme activities and microbial community in both the rhizosphere and bulk soil to long-term fertilization practices in a fluvo-aquic soil. *Geoderma*, 2012, 173-174: 330-338.
- [34] Kamika I, Coetzee M, Mamba B B, Msagati T, Momba M N B. The impact of microbial ecology and chemical profile on the enhanced biological phosphorus removal (EBPR) process: a case study of northern wastewater treatment works, Johannesburg. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2014, 11(3): 2876-2898.
- [35] McMahon K D, Jenkins D, Keasling J D. Polyphosphate kinase genes from activated sludge carrying out enhanced biological phosphorus removal. *Water Environment Federation*, 2001: 20-33.
- [36] 马小珍, 费保进, 金楠, 赵锐, 兰贵红, 陈涛, 乔代蓉. 脱硫弧菌 SRB7 对重金属铬 Cr(VI) 的还原特性. *微生物学通报*, 2009, 36(9): 1324-1328.
- [37] 唐霁旭, 王志伟, 马金星, 杨洋, 吴志超. 454 高通量焦磷酸测序法鉴定膜生物反应器膜污染优势菌种. *微生物学通报*, 2014, 41(2): 391-398.