

不同施肥模式对盐碱化稻作土壤细菌群落的影响

李 明, 张俊华

(宁夏大学 环境工程研究院, 宁夏 银川 750021)

摘 要: 为了提高盐碱化土壤肥力, 确定适宜的施肥模式, 以宁夏银北西大滩核心试验站的盐渍化荒地对象, 采用 Illumina 高通量测序分析法研究了脱硫废弃物与有机肥不同施肥模式 1) 对照 Control (不施脱硫废弃物和有机肥), 2) T1 处理 (脱硫废弃物 $31\ 250\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$), 3) T2 处理 ($31\ 250\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ + 有机肥 $10\ 000\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$), 4) T3 ($31\ 250\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ + 有机肥 $18\ 000\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$), 5) T4 (脱硫废弃物 $31\ 250\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ + 有机肥 $25\ 000\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$) 对盐碱化稻作土壤理化性质、细菌群落结构的影响。结果表明, 与对照组相比施用脱硫废弃物 $31\ 250\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 和有机肥 $25\ 000\ \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 处理组 (T4) 显著增加了水稻土壤有机碳 (6.74%)、碱解氮 (37.20%)、速效磷 (47.83%)、铵态氮含量 (96.26%)。测序结果表明, 土壤中 Proteobacteria, Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Actinobacteria, Acidobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, Spirochaetes, Euryarchaeota 和 Nitrospirae 为排名前 10 位的优势菌群, 占总分类单元的 96.05%~94.32%。主成分分析发现, 施用脱硫废弃物和有机肥可以显著的影响细菌群落结构, 土壤细菌群落的 α 多样性指数随着有机肥含量的增加而增加。T4 处理组土壤细菌群落结构与其它处理差异显著。在属水平, 包括盐单胞菌 (Halomonas)、Sulfurimonas 以及 Lutibacter 在内的 12 个优势细菌属的相对丰度在 T4 处理组显著增加 ($P < 0.05$)。RDA 分析表明盐碱化土壤碱解氮和铵态氮含量分别解释了水稻土壤细菌群落结构变异的 16.9% 和 14.0% ($P < 0.05$)。这些结果均表明短期不同施肥模式下对盐碱化稻作土壤具有一定的改良效果。

关键词: 施肥模式; 盐碱化稻作土壤; 细菌群落; 16S rRNA

中图分类号: S154.36 **文献标识码:** A

Effects of different fertilization patterns on the bacterial community dynamic in saline-alkali paddy soil

LI Ming, ZHANG Jun-hua

(Institute of Environmental Engineering, Ningxia University, Yinchuan, Ningxia 750021, China)

Abstract: Effects of flue gas desulfurization gypsum by-products and organic fertilizer combinations patterns on soil physicochemical properties and bacterial communities in rice yield were assessed to improve the fertility of saline-alkali soil and determine the best fertilization patterns. Paddy soil from replicated plots representing five treatments were collected at a research site in Ningxia, China. The method, Illumina pyrosequencing of the 16S rRNA gene amplifications was used to analyze soil bacterial community diversity and structure. Our results showed that soil organic carbon (6.74%), alkali-hydrolyzable nitrogen (37.20%), available P (47.83%) and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (96.26%) were increased significantly in paddy soils of flue gas desulfurization gypsum by-products and organic fertilizer when compared with control soil. In all samples, Proteobacteria, Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Actinobacteria, Acidobacteria, Firmicutes, Chloroflexi, Spirochaetes, Euryarchaeota and Nitrospirae were the most dominant bacterial phyla representing 96.05%~94.32% of all taxon tags. The soil bacterial community was affected by short term different fertilization patterns by principal co-ordinates analysis. The α -diversity index of the bacterial community structure increased with organic fertilizer addition. At the genus level, the relative abundance of 11 dominant bacterial genus, such as Halomonas, Sulfurimonas and Lutibacter were significantly accumulated in the paddy soil of

T4 treatment. Redundancy analysis indicated that alkali-hydrolyzable nitrogen and $\text{NH}_4^+\text{-N}$ exerted strong influences on the structure of the paddy soil bacterial community and explained 16.9% and 14.0% ($P<0.05$) of community variances between samples, respectively. Our results suggest that short-term different fertilization patterns of saline-alkali paddy soil is improved effectively in the treatment 4. The treatment of flue gas desulfurization gypsum by-products $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ and organic fertilizer $25\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ (T4) affected on the structure of the paddy soil bacterial community.

Keywords: fertilization patterns; saline-alkali paddy soil; bacterial community; 16S rRNA

土壤盐渍化及盐碱障碍是影响农业生产的主要限制性因子,在人口不断增长,耕地逐渐减少的情况下,改良利用盐碱地对增加耕地后备资源、改善生态环境具有重要意义。中国是一个盐渍化土壤分布广泛的国家,盐渍化土壤面积达 $3.6\times 10^7\text{ hm}^2$,宁夏银北地区盐渍化土壤面积约 $11.4\times 10^4\text{ hm}^2$,是非盐碱耕地面积的 2.15 倍,且多为低产田或撂荒地。黄河水灌溉淋盐与排水相结合的方法,是当地传统的盐碱地改良方式^[1]。受水资源短缺,降水稀少,蒸发量大的影响,传统的灌溉淋盐方式不适合在当地长期实施。因此,在黄河用水日趋减少的形势下,开展盐碱地改良有效培肥措施的研究,对提高盐碱地肥力,将盐碱地变废为宝具有很大的意义^[2]。

脱硫废弃物改良盐碱地的技术原理是:脱硫废弃物中的 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 置换了土壤中的代换性钠,使土壤盐分降低,以及土壤耕作破坏了土壤结构,使土壤中下层盐分不能上升,改善了土壤的化学状况,从而为作物的正常生长提供了较好的土壤环境^[3]。另外,也有研究认为有机肥料在改良盐碱化土壤方面有应用前景。有机肥能够促进表层土壤脱盐,可溶性阳离子 Na^+ 、 K^+ 的下移量大于 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} ,显著增加土壤有机质和养分含量,以及增加土壤微生物数量^[4,5]。然而,关于脱硫废弃物和有机肥的不同配比模式对盐碱地土壤改良效果的系统研究尚未见相关的报道。

土壤微生物群落的变化可以作为土壤肥力状况的重要生物学指标,其变化有赖于土壤的肥力水平和环境状况^[6]。在盐碱地改良过程中,微生物和改良行为之间产生什么交互影响,尚未见报道。对盐碱地土壤生理生态指标的研究是基础性的工作,有必要以此建立可以作为综合评价土壤改良行为效果的指标。

本研究拟选取脱硫废弃物和有机肥不同配比施肥模式,分析不同施肥模式对盐碱化土壤细菌群落结构和土壤理化性质的影响,探讨稻作条件下不同施肥模式对盐碱地的改良培肥效果,突破盐碱地

碱性成分不易改良和肥力提升缓慢的技术难点,筛选出适宜盐碱地土壤改良培肥的最佳施肥模式。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验设在宁夏石嘴山市平罗县西大滩前进农场试验基地,位于宁夏贺兰山东麓洪积扇边缘,属于黄河中上游灌溉地区($106^\circ 13'\sim 106^\circ 26'\text{E}$, $38^\circ 45'\sim 38^\circ 55'\text{N}$),该地区属干旱的大陆性气候。年降水量约为 $105\sim 205\text{ mm}$,年蒸发量 $1\,875\text{ mm}$,全年无霜期为 220 d 。试验地土壤类型为白僵土(龟裂碱土),高度碱性,弱度盐化,钙的有效性低。一般地下水埋深 1.5 m 左右,地下水主要含硫酸盐、氯化物,并且普遍含有苏打。试验地为 2015 年新开垦土地,于开垦当年施用脱硫废弃物。供试水稻品种为“吉特 605”。有机肥为腐熟羊粪。

1.2 试验设计

设置 5 个处理,1)对照 Control(不施脱硫废弃物和有机肥);2)T1 处理(脱硫废弃物 $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$);3)T2 处理($31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ +有机肥 $10\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$);4)T3($31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ +有机肥 $18\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$);5)T4(脱硫废弃物 $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ +有机肥 $25\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$),每个处理 3 次重复,小区面积 48 m^2 ($6\text{ m}\times 8\text{ m}$)。

试验于 2016 年 5 月 4 日施肥翻地,5 月 7 日灌水(引黄河水灌溉,生育期总灌水 10 次),5 月 19 日播种,旱直播,每公顷播量 375 kg ,10 月 12 日收获。

1.3 样品采集

于水稻成熟期 9 月 20 日采集根层土壤($5\sim 20\text{ cm}$),采用多点采样的方法,每个试验小区分 5 点采集土样充分混匀,将新鲜土样分成 2 份,一份低温冷藏带回实验室,在 -20°C 冷冻保存,用于土壤微生物的测定,另一份带回实验室室内风干用于测定 pH 值、电导率值(EC)、有机碳和速效养分。

1.4 样品分析

1.4.1 土壤属性和水稻产量测定 土壤 pH 值—酸

度计法;电导率—电导法;有机质—外加热法;全氮—凯氏定氮法;全磷—酸溶-钼锑抗比色法;碱解氮—碱解扩散法;速效磷—Oslen 法;速效钾—乙酸铵提取-火焰光度计法;无机氮(NH_4^+-N , NO_3^--N)—流动分析仪;有机碳—重铬酸钾容量法。水稻产量每小区单打独收。

1.4.2 土壤 DNA 的提取 土壤样品中总 DNA 的提取采用 MoBio PowerSoil DNA Isolation Kit(Carlsbad, USA)试剂盒提取总 DNA,提取过程按试剂盒说明书进行,得到 DNA 提取物后, -20°C 冻存。提取的 DNA 用浓度为 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳确定 DNA 片段大小。

1.4.3 IlluminaHiSeq 测序及数据分析 本研究目标基因为细菌的 16S rRNA V4 区基因片段,所用的引物为 515F/806R^[7]。反应体系: 15 μl Phusion High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs, UK), Forward Primers (0.2 μM), Reverse Primers (0.2 μM), 10ngDNA 模板。扩增条件参照文献[8]。PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶检测,将目标条带切胶回收纯化进行下一步的分析。

用于 PCR 扩增的引物外侧都会加入一段 barcode 序列进行区分,序列为一段 6bp 碱基的寡核苷酸序列,每个样品用不同 barcode 序列进行区分。Barcode 序列由上海吉美生物医药科技有限公司设计并合成。所得 PCR 产物经切胶纯化后(Qiagen 胶回收试剂盒),用 NanoDrop 2000(Thermo Fisher Scientific Inc. USA)测定浓度,等摩尔混合后采用完成文库构建,安排上机测序。高通量测序由诺不致远 Illumina MiSeq 2500 平台运行(Beijing, China, <http://www.novogene.com/index.php>),最后所测得数据在 250~300 bp 之间产生。

所测得原始序列截去 Barcode 序列和引物序列后,经 FLASH(V1.2.7,参数设置为 -m 10 -f 300 -x 0.1 -p 33 -r 219-r 180 -M 135)拼接获得原始数据 Tags 数据。原始 Tags 经 QIIME(V1.7.0,质控参数为 QIIME 默认值,参照 http://qiime.org/scripts/split_libraries.html) 过滤处理获得高质量 Tags 数据(Clean Tags),并与数据库(Gold database, http://drive5.com/uchime/uchime_download.html) 进行比对(UCHIME Algorithm, http://www.drive5.com/usearch/manual/uchime_algo.html)检测嵌合体序列,

最终获得有效数据(Effective Tags)。测序深度为每个文库原始 reads 数不少于 5 万条。后以 97% 相似性为依据,利用 UPARSE pipeline 软件(V7.0.1001)将各序列聚类成为 OTUs。为获得土壤样品中细菌群落的多样性信息,使用 uclust 软件对所得序列进行聚类,并利用 RDP classifier(V2.2)^[9] 软件与 GreenGene 数据库(<http://greengenes.lbl.gov/cgi-bin/nph-index.cgi>)进行物种注释,统计每个样品在各分类水平上的构成。利用 QIIME(V1.7.0)计算不同样品中细菌群落的 α 多样性和 β 多样性指数^[10]。

1.5 数据处理

利用 SAS 中 Duncan 法检验不同处理土壤属性和微生物指标间的差异显著性, RDA 分析采用 Conoco(5.0)软件,绘图使用 OriginPro 8 软件。

2 结果与分析

2.1 不同施肥模式对水稻土壤属性的影响

不同施肥模式对稻作条件下盐碱土壤有机碳及速效养分的影响很大。施用脱硫废弃物 31 250 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 和有机肥 25 000 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ (T4)与对照组土壤相比,提高了有机碳(6.74%)、碱解氮(37.20%)、速效磷(47.83%)和铵态氮(96.26%)。另外,虽然统计分析结果不显著,但是 pH 值在不同施肥模式处理中都有所降低。

2.2 不同施肥模式对原土盐碱地水稻产量的影响

施用脱硫废弃物和有机肥可以显著提高水稻的收获穗数和千粒重(表 2),处理 4 的千粒重和产量达到最大值,与对照组相比较存在显著差异($P<0.05$),其中千粒重较对照增加 37%、产量增加 18%。说明处理 4 有效提高了土壤有机质及速效养分的含量,改善了土壤生物活性,促进了水稻的生长发育。

2.3 不同施肥模式对水稻土壤细菌群落多样性的影响

细菌 16S rRNA V4 区段的测序结果表明,试验小区内土壤中细菌群落多样性较低,其中 α 多样性香农指数均值 9(± 0.2)。施用脱硫废弃物 31 250 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ +有机肥 25 000 $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ (T4)的水稻土壤细菌群落香农指数较对照显著增加($P<0.01$,表 3)。统计分析表明,T3 和 T2 施肥模式处理组的多样性指数均高于对照组,但与对照间并无显著差异。

表 1 不同施肥模式水稻土壤属性的变化

Table 1 The changes of soil properties under different fertilization patterns in paddy soils					
处理 Treatment	C	T1	T2	T3	T4
pH	9.28±0.08a	8.76±0.27a	9.00±0.06a	9.19±0.05a	8.73±0.21a
电导率值 EC/($\mu\text{S} \cdot \text{cm}^{-1}$)	804±7.35bc	875±3.69a	755±7.15bc	835±7.76ab	854±9.15ab
有机碳 SOC/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	4.60±0.03b	4.00±0.05b	4.78±0.09ab	4.90±0.07a	4.91±0.09a
全氮 TN/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	0.50±0.00a	0.44±0.00a	0.53±0.00a	0.54±0.00a	0.61±0.00a
全磷 TP/($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	2.41±0.00a	2.43±0.02a	2.91±0.01a	2.12±0.01a	2.14±0.00a
碱解氮 Alkalyzable-N/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	22.34±0.05b	17.15±0.29b	16.06±0.03b	19.21±1.46b	30.65±3.41a
速效磷 Available P/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	8.76±0.57b	9.34±1.04b	12.12±1.41a	14.32±1.48a	12.95±1.95a
速效钾 Available K/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	376.93±5.78a	335.2±16.93a	378.24±8.49a	384.9±1.33a	367.91±12.38a
铵态氮 NH_4^+-N /($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	8.31±0.53b	8.08±1.10b	7.40±0.03b	10.47±1.06b	16.31±3.41a
硝态氮 NO_3^--N /($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	2.70±0.04a	2.61±0.12a	2.71±0.26a	2.60±0.09a	2.74±0.08a

注:图中数据均为均值±标准差(n=3),C=Control,T1=脱硫废弃物31 250 kg·hm⁻²;T2=脱硫废弃物31 250 kg·hm⁻²+有机肥10 000 kg·hm⁻²;T3=脱硫废弃物31 250 kg·hm⁻²+有机肥18 000 kg·hm⁻²;T4=脱硫废弃物31 250 kg·hm⁻²+有机肥25 000 kg·hm⁻²,不同小写字母表示差异显著(P<0.05),下同。

Note:Data shown were the means ± SD (n=3), C=Control, T1=flue gas desulfurization gypsum by-products 31 250 kg·hm⁻², T2=flue gas desulfurization gypsum by-products 31 250 kg·hm⁻²+organic fertilizer 10 000 kg·hm⁻², T3=flue gas desulfurization gypsum by-products 31 250 kg·hm⁻²+organic fertilizer 18 000 kg·hm⁻², T4=flue gas desulfurization gypsum by-products 31 250 kg·hm⁻²+organic fertilizer 25 000 kg·hm⁻². Different letters mean significant difference at 0.05 level. The same below.

表 2 不同施肥对水稻产量的影响

Table 2 Effect of different fertilization patterns on the yield in paddy soils				
处理 Treatment	穗数/(万株·hm ⁻²) Spike number	每穗粒数 Number of grain per ear	千粒重/g Thousand seed weight	产量/(kg·hm ⁻²) Yield
C	530b	259.3c	18.56c	5500c
T1	610a	335.2b	21.34b	5870bc
T2	620a	484.5a	22.67b	5790bc
T3	580a	463.8a	20.21b	5970b
T4	660a	470.9a	25.44a	6500a

表 3 不同施肥模式水稻土壤细菌群落多样性指数

Table 3 The α -diversity index of 16S rRNA bacterial communities sequences of different fertilization patterns in paddy soils				
处理 Treatment	shannon	simpson	chao1	ACE
C	8.8±0.16b	0.97±0.02a	3689±353.38a	3822±359.99a
T1	8.4±0.06b	0.98±0.02a	3467±141.04a	3521±121.34a
T2	9.1±0.42ab	0.98±0.00a	3226±145.56a	3342±108.01a
T3	9.2±0.20ab	0.99±0.00a	3162±168.83a	3286±157.42a
T4	9.5±0.11a	0.99±0.01a	3815±209.41a	3903±209.20a

2.4 OUT 丰度在门水平的变化分析

对不同施肥模式的样品中优势细菌门的分析表明,水稻土壤中相对丰度排名前十的优势细菌门分别为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、螺旋菌门(Spirochaetes)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae),这些细菌的丰度各占样品所测序列总数的96.05%~94.32%(图1),均为土壤常见菌群。

统计分析发现,T4处理组变形菌门、螺旋菌门和硝化螺旋菌门都显著高于其它处理组(P<0.05),但芽单胞菌门和酸杆菌门则显著低于其它处理组。

2.5 不同施肥模式水稻土壤细菌群落在属水平的丰度变化分析

从属水平对不同样品中细菌的相对丰度变化分析表明,相对丰度排名前35的细菌属的总比例分别占不同施肥模式水稻土壤测序reads数的41.98%~18.52%。这些属在不同处理中的相对丰度及其进化关系如图2所示。这些细菌中,盐单胞菌(Halomonas)、Sulfurimonas、Lutibacter、Sphingorhabdus、Alkaliflexus、Spirochaeta-2、Treponema-2、Rhodonellum、Thiohalomonas、Albidiferax、假单胞菌属(Pseudomonas)、unidentified-Anaerolineaceae的相对丰度在施用脱硫废弃物31 250 kg·hm⁻²和25 000 kg·hm⁻²有机肥处理组(T4)中较高,而Haliangium、Pontibacter、Marinicella、鞘

氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)、*Anaerolinea*、*Thalassospira*、*Simplicispira*、溶杆菌属(*Lysobacter*)、固氮弧菌属(*Azoarcus*)、*Gillisia* 在对照组和施用脱硫废弃物31 250 kg · m⁻²(T1)处理组中相对丰度较高。

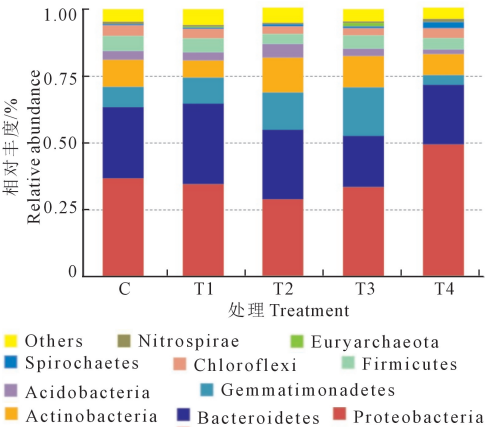


图 1 不同施肥模式水稻土壤细菌各门类相对丰度图
Fig.1 The relative abundance of bacterial phylum of different fertilization patterns in paddy soils

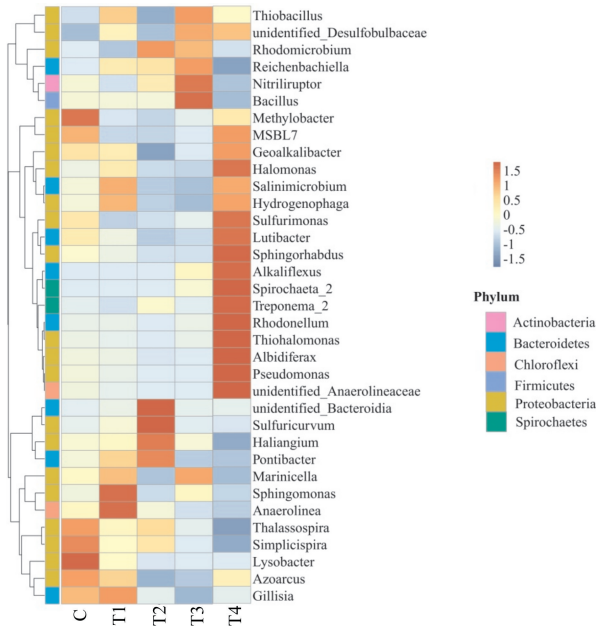
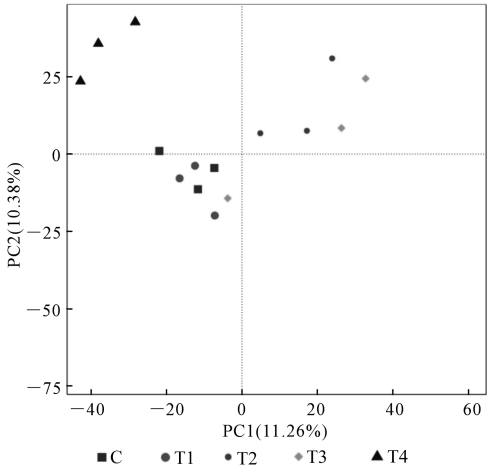


图 2 不同施肥模式水稻土壤优势细菌属类相对丰度变化
Fig.2 The relative percentages of the bacterial genus of different fertilization patterns in paddy soils

2.6 不同施肥模式对水稻土壤中细菌群落结构的影响

主成分分析发现,施用脱硫废弃物 31 250 kg · hm⁻²和有机肥 25 000 kg · hm⁻²(T4)的处理对细菌群落结构影响较大,对照处理和施用脱硫废弃物 31 250 kg · hm⁻²(T1)土壤中细菌群落结构较为接近,施用脱硫废弃物 31 250 kg · hm⁻²和有机肥 18 000 kg · hm⁻²(T3)和脱硫废弃物 31 250 kg ·

hm⁻²和有机肥 10 000 kg · hm⁻²(T2)与对照中土壤细菌群落结构都较为相似(图 3)。



注:主成分分析。Note: Principal Coordinate Analysis (PCA).
图 3 不同施肥模式稻作土壤细菌群落主成分分析
Fig.3 The β -diversity of paddy soil bacterial communities in different fertilization patterns

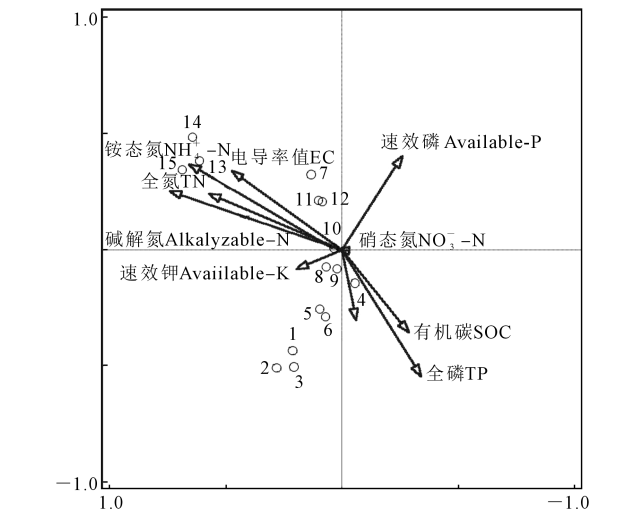
2.7 RDA 分析

为了解土壤理化性质变化对不同施肥模式水稻土壤细菌群落组成的影响,利用 Canoco 5.0 进行冗余分析(RDA)。结果表明,所测的十种土壤属性因子中,碱解氮和铵态氮显著影响水稻土壤细菌群落结构,分别解释了 16.9%和 14.0%($P<0.05$,图 4)。土壤 pH 值、电导率值和有机碳的影响均无统计学意义。

3 讨论

土壤微生物多样性与土壤生态系统的功能息息相关^[11]。从细菌的组成来看,Proteobacteria 在细菌群落中占绝对的优势,其它门如 Actinobacteria、Bacteroidetes、Planctomycetes、Chloroflexi、Firmicutes、Acidobacteria、Gemmatimonadetes 及 Nitrospirae 均为农田土壤中的常见门类^[12]。Proteobacteria 施用有机肥最多的 T4 处理组显著增加,导致这种差异的深层机制可以归结为:稻田土壤中变形菌门细菌包含多种代谢种类,其中又以异养或者混合营养型微生物占优势,这类细菌的生长需要有机化合物作为碳源,通过氧化有机化合物来获取能量。T4 处理组中有机肥含量最高,因此丰富的有机底物和养分为这些类群细菌提供了更多的碳源,因此变形菌门类群相对丰度增加^[13]。Ge 等^[14]研究了长期施肥的农耕土壤细菌多样性,发现变性细菌在细菌类群中占统治地位(30.5%),第二大优势类群是酸杆菌(15.3%)。这与本研究结果略有所不同,在本研究

中,Bacteroidetes 是土壤中仅次于 Proteobacteria 的第二大微生物类群。研究证实,Bacteroidetes 在降解长链脂肪酸时具有重要作用^[15]。一些长链脂肪酸,如十二烷酸、油酸、辛酸和豆蔻酸等,尤其是十二烷酸是毒害作用最强的长链脂肪酸。Wang 等^[16]在 CSTR 厌氧消化牛粪、牛粪与少量秸秆混合产甲烷过程中以及处理一些富含糖类物质的废弃物中发现 Bacteroidetes 为优势菌群。Bacteroidetes 在很多中温发酵产甲烷系统中均为优势种群,表明这类细菌有利于厌氧条件下有机物的分解、酸化,促进营养元素的循环^[17]。



注:1,2,3 代表不施用改良剂和肥料处理样品 3 次重复;4,5,6 代表施用脱硫废弃物处理 $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$;7,8,9 代表脱硫废弃物 $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ + 有机肥 $10\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$;10,11,12 代表 $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ + 有机肥 $18\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$;13,14,15 代表 $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ + 有机肥 $25\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。

Note: 1, 2 and 3 represent triplicate samples from plots that remained unfertilized; 4, 5, 6 from plots that received flue gas desulfurization gypsum by-products $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$; 7, 8, 9 from plots that received flue gas desulfurization gypsum by-products $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ + organic fertilizer $10\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$; 10, 11, 12 from plots received flue gas desulfurization gypsum by-products $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ + organic fertilizer $18\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$; 13, 14, 15 flue gas desulfurization gypsum by-products $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ + organic fertilizer $25\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$

图 4 RDA 分析土壤属性对细菌群落分布的影响

Fig.4 RDA analyses of the bacterial 16S rRNA composition in five fertilization treatment of paddy soils

不同施肥处理导致稻田土壤微生物群落结构和多样性差异明显。本研究供试的稻田土壤仅施改良剂和有机肥的量有所不同,造成土壤理化性质差异很大,从而影响土壤微生物群落结构和多样性。但是这种多样性差异,可能是外界环境调节综合因素共同作用的结果。张平究等^[18]对太湖地区

水稻土长期试验的研究也指出,长期有机肥和化肥配施显著提高了土壤细菌的多样性。刘恩科^[19]等指出化肥配施有机物料改变了细菌群落结构。本研究的结论与上述研究类似,测序结果表明,α 多样性受到了有机肥处理的影响,在施用有机肥最多的 T4 处理组,多样性指数显著增加。这表明,在一定程度上,施用有机肥料后,土壤有机质和氮磷钾等养分含量提高,土壤中变形菌大部分类群为异养或者兼性营养菌,丰富的有机底物和养分为这部分微生物类群的生长提供了可溶性的营养物质和能力^[20,21]。

研究证实,土壤 pH 和 EC 是微生物组成和潜在微生物胁迫的有力预测者^[22,23]。在施用脱硫废弃物后土壤的盐分(EC)含量除了 T2 处理组外,都有所增加。周晓燕^[24]等研究认为,施用脱硫废弃物后,土壤中含盐量也随着增加,其原因是由于脱硫废弃物本身也是一种盐,施用一定量会使土壤中盐浓度升高。盐分的增加为嗜盐菌提供了适宜的生长环境,因而盐单胞菌(Halomonas)在对照、T1 和 T4 处理组的相对丰度都较高,其中在 T4 处理组显著增加。另外,在施用有机肥最多的 T4 处理组,土壤全氮、碱解氮、铵态氮都有所升高,其中碱解氮和铵态氮较对照组显著的升高,推测这一结果可能刺激了螺旋菌门和硝化螺旋菌门的生长。RDA 分析表明,土壤碱解氮和铵态氮是影响不同施肥模式盐碱化水稻土壤细菌群落变化的主要因素,盐碱化水稻土壤细菌群落结构受到土壤环境因素的影响。一般在盐碱化环境中都会出现 C、N 素缺乏,因此,N 素的投入对此类环境显得非常重要^[25]。土壤养分也能很好的预测微生物生物标记或丰度^[23]。Wallis 等^[26]研究发现,土壤条件(包括有效磷、镁离子、总阳离子、钾和有机质)与土壤细菌群落结构和组成显著相关。

4 结 论

从以上分析可以发现,不同施肥模式导致土壤理化性状和肥力水平发生显著变化,并对土壤细菌群落结构产生了深刻的影响。其中,施用脱硫废弃物 $31\,250\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 和有机肥 $25\,000\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ (T4) 处理组的多样性显著增加,而变形菌门、螺旋菌门和硝化螺旋菌门都显著高于其它处理组。与此结果相一致的,T4 处理组中水稻产量也是最高的。本研究结果表明施用脱硫废弃物和有机肥对盐碱地具有一定的改良效果,以 T4 处理组的改良效果最显著。但以上论述仅是短期内观测,对于不同施肥

模式在盐碱地改良过程中的生态效益评价,仍需利用分子生物学手段分析长期不同施肥模式下盐碱化稻作土壤微生物群落多样性和其功能的变化规律,这对于筛选盐碱土改良培肥的最佳施肥模式和深入理解稻田土壤碳循环过程都具有重要意义。

参 考 文 献:

[1] 王静,许兴,肖国举,等.脱硫石膏改良宁夏典型龟裂碱土效果及其安全性评价[J].农业工程学报, 2016, 32(2): 141-147.

[2] 史玉森,李 静.盐碱土改良技术措施[J].现代农业科技,2014, (7):261,263.

[3] 王彬,肖国举,毛桂莲,等.燃煤烟气脱硫废弃物对盐碱土的改良效应及对向日葵生长的影响[J].植物生态学报, 2010, (10): 1227-1235.

[4] Liang Yc S W, Jiang Y. Organic manure stimulates biological activity and barley growth in soil subject to secondary salinization [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37: 1185-1195.

[5] 王金洲.秸秆还田的土壤有机碳周转特征[D].北京: 中国农业大学博士学位论文, 2015.

[6] 蒋 婧,宋明华. 植物与土壤微生物在调控生态系统养分循环中的作用[J].植物生态学报, 2010, 34(8): 979-988.

[7] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows a-nalysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nature Methods, 2010, 7: 335-336.

[8] Na X F, Xu T T, Li M, et al. Bacterial diversity in the rhizosphere of two phylogenetically closely related plant species across environmental gradients [J]. Journal of Soils and Sediments, 2017, 17(1): 122-132.

[9] 纳小凡,郑国琦,彭 励,等. 不同种植年限宁夏枸杞根际微生物多样性变化[J].土壤学报, 2016, 53 (1): 241-252.

[10] Caporaso J G, Lauber C L, Walters W A, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2011, 108: 4516-4522.

[11] Kennedy A C, Smith K L. Soil microbial diversity and the sus-tainability of agricultural soils [J]. Plant Soil, 1995, 170(1): 75-86.

[12] 陈月星. 覆盖对渭北旱作苹果园土壤微生物群落特征的影响 [D]. 杨凌:西北农林科技大学博士学位论文,2015.

[13] 袁红朝,秦红灵,刘守龙,等. 长期施肥对红壤行水稻土细菌群落结构和数量的影响[J].中国农业科学, 2011, 44 (22): 4610-4617.

[14] Ge Y, Zhang J, Zhang L, et al. Long-term fertilization regimes affect bacterial community structure and diversity of an agricultural soil in northern China [J]. Journal of Soils and Sedi-ments, 2008, 8: 43-50.

[15] Shigematsu T, Tang Y, Kawaguchi H, et al. Effect of dilution rate on structure of a mesophilic acetate-degrading methanogenic community during continuous cultivation [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2003, 96(6): 547-558.

[16] Wang H, Katarina K. Microbial community structure in anaerobia co-digestion of grass silage and cow manure in a labora-tory continuously stirred tank reactor [J]. Biodegradation, 2010, 21(1): 135-146.

[17] Chouari R, Paslier D L, Daegelen P, et al. Novel predominant archaeal and bacterial groups reveals by molecular analysis of an anaerobic sludge digester [J]. Environmental Microbiology, 2005, 7(8): 1104-1115.

[18] 张平究,李恋卿,潘根兴,等. 长期不同施肥下太湖地区黄泥土表土微生物碳氮量及基因多样性变化[J].生态学报, 2005, 24(12): 2818-2824.

[19] 刘恩科,赵秉强,姜瑞波,等.不同施肥制度土壤微生物量碳氮变化及细菌群落 16S rDNA V3 片段 PCR 产物 DGGE 分析 [J]. 生态学报, 2007, 27(3): 1079-1085.

[20] 袁红朝,吴 昊,葛体达,等. 长期施肥对稻田土壤细菌、古菌多样性和群落结构的影响[J].应用生态学报, 2015, (6): 1807-1813.

[21] 赵 军,李 勇,冉 炜,等. 有机肥替代部分化肥对稻麦轮作系统产量及土壤微生物区系的影响[J].南京农业大学学报, 2016, 39 (4): 594-602.

[22] Long X E, Yao H Y, Wang J, et al. Community structure and soil pH determine chemoautotrophic carbon dioxide fixation in drained paddy soils [J]. Environmental Science and Technology, 2015, 49: 7152-7160.

[23] Moon J B, Wardrop D H, Bruns M A V, et al. Land-use and land-cover effects on soil microbial community abundance and composition in headwater riparian wetlands [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 97: 215-233.

[24] 周晓燕,杨涓.脱硫渣不同施用量对盐碱地水稻水分利用效率的影响[J].黑龙江农业科学, 2016, (2):35-39.

[25] Sprent J I, Sprent P. Nitrogen-fixing organisms: pure and applied aspects [M]. London: Chapman and Hall, 1990.

[26] Wallis P D, Haynes R J, Hunter C H, et al.Effect of land use and management on soil bacterial biodiversity as measured by PCR-DGGE [J]. Applied Soil Ecology, 2010, 46(1): 147-150.