

淹水条件下添加油菜秸秆及菌剂对设施西瓜土壤及其微生物的影响

王庆峰, 褚长彬, 赵峥, 杨乾罡, 董月霞, 周德平, 吴淑杭

引用本文:

王庆峰, 褚长彬, 赵峥, 杨乾罡, 董月霞, 周德平, 吴淑杭. 淹水条件下添加油菜秸秆及菌剂对设施西瓜土壤及其微生物的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(9): 2023–2032.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0059>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

秸秆集中沟埋还田对土壤氮素分布及微生物群落的影响

许明敏, 冯金侠, 陈卫平, 杨海水, 刘建, 卞新民, 陆巍

农业环境科学学报. 2016, 35(10): 1960–1967 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-0533>

不同碳氮磷源改良剂对铅锌尾矿废弃地土壤微生物群落结构的影响

杨胜香, 李凤梅, 彭禧柱, 曹建兵, 高智席

农业环境科学学报. 2019, 38(6): 1256–1264 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1594>

钝化材料对农田土壤Cd形态及微生物群落的影响

兰玉书, 袁林, 杨刚, 程蓉, 石楷岐, 高本汗

农业环境科学学报. 2020, 39(12): 2743–2751 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0637>

地埋式秸秆反应堆对南方越冬茄子生产及温室土壤微环境的影响

段晓婷, 叶静, 林辉, 邹平, 孙万春, 马军伟, 符建荣

农业环境科学学报. 2019, 38(6): 1296–1304 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-1273>

生物炭对长期铅镉复合污染土壤微生物群落丰度及活性的影响

邵佳, 赵远来, 冯琰玉, 潘洋, 于金珠, 秦华, 陈俊辉

农业环境科学学报. 2022, 41(1): 66–74 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0478>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

王庆峰, 褚长彬, 赵峥, 等. 淹水条件下添加油菜秸秆及菌剂对设施西瓜土壤及其微生物的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(9): 2023–2032.

WANG Q F, CHU C B, ZHAO Z, et al. Influences of rape straw and microbial agent incorporation on facility cultivation watermelon soil fertility and the composition and function of microbes under anoxic conditions[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(9): 2023–2032.



开放科学 OSID

淹水条件下添加油菜秸秆及菌剂对设施西瓜土壤及其微生物的影响

王庆峰¹, 褚长彬¹, 赵峥¹, 杨乾罡², 董月霞³, 周德平^{1*}, 吴淑杭^{1*}

(1. 上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201403; 2. 杭州锦江集团有限公司, 杭州 310005; 3. 上海市农业科技服务中心, 上海 200335)

摘要:为研究油菜秸秆作为土壤改良剂对设施栽培土壤的改良效果,并探讨其对土壤微生物群落结构和功能的影响,利用上海市农业科学院连续种植西瓜的设施化栽培土壤,在淹水条件下设置不同处理:淹水处理(CK)、淹水同时添加油菜秸秆处理(GSL),以及淹水条件下添加油菜秸秆和促腐促生菌剂(贝莱斯芽孢杆菌和曲霉)处理(B_GSL)。借助 Illumina Miseq 测序技术和 FAPROTAX 分析方法,探讨不同处理对土壤改良效果、土壤微生物群落结构和功能变化的影响。结果表明:添加油菜秸秆的处理(GSL和B_GSL)显著提高了土壤有机质含量,并缓解了设施土壤的酸化趋势,其中 GSL 处理使土壤 pH 提高到 6.81,而 B_GSL 处理使 pH 提高到 6.57。GSL 和 B_GSL 处理显著提高了土壤微生物的丰富度(Chao1 指数和 ACE 指数),Chao1 指数在 GSL 处理和 B_GSL 处理下分别比 CK 处理提高了 8.7% 和 6.7%。主坐标分析(PCoA)表明,添加油菜秸秆处理的土壤微生物群落组成显著区别于 CK 处理,而 GSL 和 B_GSL 处理的微生物群落组成相似度较高。*T* 检验表明,GSL 处理显著提高了硝酸盐呼吸和氮呼吸的功能,而对其他功能影响不显著,而 B_GSL 处理除了显著提高硝酸盐呼吸和氮呼吸的功能外,还显著提高了甲醇氧化、反硝化作用,并且降低了好氧氨氧化和硝化作用等功能,说明接种促腐促生菌剂加强了油菜秸秆作用的发挥。研究表明,添加油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂混施改善了设施栽培土壤的理化性状,提高了土壤微生物的丰富度,改变了土壤微生物的群落结构和功能,且添加菌剂处理加强了油菜秸秆对土壤功能的影响。

关键词:设施化栽培;土壤改良;油菜秸秆;微生物群落;土壤功能

中图分类号:S156.2;S651;S154.3 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2022)09-2023-10 doi:10.11654/jaes.2022-0059

Influences of rape straw and microbial agent incorporation on facility cultivation watermelon soil fertility and the composition and function of microbes under anoxic conditions

WANG Qingfeng¹, CHU Changbin¹, ZHAO Zheng¹, YANG Qiangang², DONG Yuexia³, ZHOU Deping^{1*}, WU Shuhang^{1*}

(1. Eco-Environmental Protection Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China; 2. Hangzhou Jinjiang Group Co. Ltd., Hangzhou 310005, China; 3. Shanghai Agricultural and Technology Service Center, Shanghai 200335, China)

Abstract: This paper aims to investigate the influence of rape straw and microbial agent application on soil properties, and effects on microbial composition and functional traits after long-term watermelon continuous cultivation, to provide the theoretical basis for improving soil quality after extensive agricultural intensification using rape straw. Based on a continuous greenhouse watermelon planting experiment,

收稿日期:2022-01-13 录用日期:2022-04-01

作者简介:王庆峰(1988—),男,山东临沂人,博士,助理研究员,从事环境微生物与农业生态研究。E-mail:wqfcool@126.com

*通信作者:吴淑杭 E-mail:wushuhang88@163.com; 周德平 E-mail:zhoudeping@saas.sh.cn

基金项目:上海市科委国内科技合作项目(20015800600);上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科创字(2020)第2-1号);上海市农委科技兴农项目(2020-02-08-00-12-F01457);上海市青年科技英才扬帆计划(20YF1442600);上海市科委农业领域重点攻关项目(18391902600)

Project supported: The Cooperation Program of Shanghai Science and Technology Commission(20015800600); Shanghai Agriculture Applied Technology Development Program(C(2020)No.02-01); Shanghai Municipal Agricultural Commission(2020-02-08-00-12-F01457); The Shanghai Sailing Program, China(20YF1442600); The Key Project of the Shanghai Science and Technology(18391902600)

the study conducted a pot experiment with pre-flooding (CK), pre-flooding and fresh rape straw addition (GSL), and GSL plus microbial agents (including *Aspergillus niger* and *Bacillus velezensis*, which can promote the decomposition of plant straw, B_GSL). This study tracked the impact of those treatments on the microbial diversity and composition by using Illumina Miseq. A functional annotation of prokaryotic taxa analysis was used to reveal the functional changes under the addition of rape straw and other treatments. The results showed that soil organic matter and pH were significantly increased, which pH increased from 5.93 to 6.81 and 6.57 in GSL and B_GSL treatments, respectively. The addition of rape straw (including GSL and B_GSL treatments) had no significant effect on microbial Shannon and Shannoneven diversity indices, but significantly increased richness index (Chao1 index and ACE index). Compared to CK treatments, Chao1 index in GSL and B_GSL treatments were increased by 8.7% and 6.7%, respectively. Soil microbial composition was significantly changed by rape straw addition (including GSL and B_GSL), but there was more similarity between GSL and B_GSL according to principal coordinates analysis (PCoA). The Student's *T* test showed that GSL and B_GSL significantly increased nitrate respiration and associated functional traits compared to CK, while B_GSL also significantly promoted methanol oxidation, and denitrification function. In-addition, B_GSL significantly decreased aerobic ammonia oxidation and nitrification functions compared to CK and GSL treatments, indicating that the addition of microbial agents promoted the functional application of rape straw. This research demonstrated that the addition of rape straw (including GSL and B_GSL treatments) improved soil fertility, increased soil microbial richness, changed soil microbial community composition, and functional traits. The results also suggest that the addition of microbial agents and rape straw would promote the functional application of rape.

Keywords: facility cultivation; soil improvement; rape straw; microbial composition; soil function

设施栽培具有复种指数高、施肥量大等特点。虽然通过设施化栽培可以获得较高的果蔬产量和经济效益,但设施环境相对封闭、农艺管理措施不当(过量投入化肥、农药以及高复种指数等)导致的土壤酸化、盐渍化、土壤板结、病害加重以及养分失衡等问题严重影响了土壤的健康^[1-2],制约着农业设施化栽培的可持续发展。设施栽培西瓜以其上市早、效益高等优势而深受农户欢迎。据统计,我国西瓜的设施栽培面积达 8.87×10^4 hm²,占西瓜总种植面积的71.18%。然而,西瓜生产中极易产生连作障碍,造成微生物群落失衡,蔓枯病、枯萎病和根结线虫等病害加重^[3]。因此,通过利用合理的农艺措施以及添加合适的有机物料来改良设施栽培土壤是生产上亟待解决的关键问题。

土壤厌氧消毒是利用覆膜、淹水、添加有机物料等方式,快速修复因长期过度利用的设施化栽培造成的土壤酸化、盐渍化等土壤退化问题的一种技术手段^[4]。ATSUKO等^[5]发现利用土壤厌氧消毒的方法可以产生抑制病原微生物的有毒物质,降低土壤病害的发生,并可以重塑改变的微生物群落结构^[6]。ZHOU等^[7]研究发现利用土壤厌氧消毒的方法能够显著改变土壤中噬纤维菌科(Cytophagaceae)、几丁质菌科(Chitinophagaceae)、毛壳菌科(Chaetomiaceae)等的相对丰度。在长期连作的设施化栽培土壤中,采用土壤厌氧消毒的方法可以降低土壤盐碱化、缓解土壤酸化以及降低土壤病原菌数量等^[8-11]。本课题组前期通过淹

水处理长期设施化栽培的土壤发现,淹水处理后土壤pH升高,微生物群落结构发生显著改变,因长期栽培造成的土壤盐渍化问题得以缓解^[12]。目前,尽管淹水条件下添加常规有机物料(作物秸秆、甘蔗渣等)已有广泛报道^[13-14],但淹水条件下添加油菜秸秆还未见报道。

油菜秸秆中含有较高浓度的硫代葡萄糖苷,硫代葡萄糖苷在组织被破坏并掺入土壤后会被内源性硫代葡萄糖苷酶水解,从而释放出天然挥发性熏蒸剂异硫氰酸盐^[15]。异硫氰酸盐具有安全、无污染等特点,被广泛用作土壤生物消毒剂^[16-17]。REN等^[18]研究发现,利用从高硫苷植物中提取的异硫氰酸盐能够显著降低番茄栽培土壤中细菌或真菌性病原菌的数量、杀灭土壤中的根结线虫和杂草,同时可以提高番茄的产量和农民收入。在控制土壤病害方面,油菜秸秆能够降低土壤中疫霉属^[19]和大丽轮枝菌^[20]等病原菌的数量。另外,研究表明利用高硫苷植物残体可以改善土壤结构,提高土壤中细菌数量,降低土壤真菌数量,使土壤从“真菌型”土壤转变为“细菌型”土壤^[21-22]。然而,油菜秸秆施入土壤后如何影响土壤微生物群落结构以及功能有待于进一步研究。微生物菌剂具有多种功能,包括活化土壤养分、促进植物生长、抑制病原菌生长以及加速有机物料分解等。贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*)普遍存在于土壤、河水、植物组织中。研究发现贝莱斯芽孢杆菌可以对植物产生促生、固氮以及提高植物抗性等多种作用,是重要的植物抗

病促生菌^[23]。曲霉是自然界中著名的高产纤维素酶的丝状真菌,其在发酵过程中能够产生纤维素酶、木聚糖酶、果胶酶和木质素降解酶等多种酶,对植物秸秆类有机物质具有高效的降解作用,且安全、无毒素^[24]。然而,目前基于淹水条件下通过添加油菜秸秆以及微生物促生促腐菌剂等方法改良设施栽培土壤还未见报道,需要进一步研究。

近年来,随着人们生活水平的提高,安全、有机、无污染的瓜果蔬菜受到大众的青睐。因此,利用淹水条件创造厌氧环境促进油菜秸秆水解过程中生物杀菌剂(如异硫氰酸盐)的释放和其作用的发挥,并探索淹水条件下添加油菜秸秆和微生物菌剂对长期种植造成的设施化栽培土壤质量降低的改良效果,对促进设施栽培可持续生产具有重要意义。本研究通过在淹水条件下添加能够产生杀菌物质的油菜秸秆以及功能微生物菌剂,研究其对土壤理化性质以及微生物群落结构和功能的影响,为后期利用油菜秸秆改良设施化栽培土壤提供参考,并为设施化栽培的可持续发展提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验土壤

试验所用土壤采自设施连作西瓜地,该试验地位于上海市农业科学院庄行综合试验站内(30°53'N, 121°23'E),自2014年开始种植西瓜,每年于4月初种植,9月底收获,西瓜品种为早春红玉,每年一季,收获后不再种植其他作物。与2014年相比,2015—2019年大棚内西瓜产量已经降低30%~50%。2019年西瓜收获后采集土壤,取样深度为0~20 cm。土壤的基本理化性状为pH 5.95、电导率(EC)3.43 mS·cm⁻¹、碱解氮含量95.67 mg·kg⁻¹、有效磷含量70.82 mg·kg⁻¹、速效钾含量1 996.67 mg·kg⁻¹、有机质含量26.6 g·kg⁻¹。

1.2 试验设计

为研究淹水条件下油菜秸秆及油菜秸秆中添加促腐促生菌剂对土壤理化性状、微生物群落和功能的影响,试验共设置3个处理:淹水处理(还原条件,CK)、添加油菜秸秆后淹水处理(GSL)、添加油菜秸秆和促腐促生菌剂后淹水处理(B_GSL)。每个处理3盆重复,盆的尺寸(长、宽、高)为49 cm×19 cm×14 cm,每盆装土5 kg。

鉴于西瓜生长季节(每年4—9月)以及油菜的种植时间和收获时间(每年10月到次年3月),为充分利

用土地资源,验证油菜秸秆就地还田的可能性,油菜21-y216(上海市农业科学院作物所提供,硫代葡萄糖苷含量为75.26 μmol·g⁻¹)于2019年10月24日种植于GSL和B_GSL处理的盆栽土壤中,2020年3月3日收获后剪碎(1~2 cm),于新鲜状态下(提高油菜秸秆分解过程中葡萄糖苷水解产生的异硫氰酸盐作用的发挥)^[15]全量(约500 g)混匀于各自处理土壤中,并在B_GSL处理中添加菌剂。微生物菌剂为贝莱斯芽孢杆菌(*Bacillus velezensis*) K3和曲霉菌株,贝莱斯芽孢杆菌和曲霉由本实验室筛选并保存,具有显著的促进有机质降解的功能^[25]。5 kg土壤中分别添加300 mL贝莱斯芽孢杆菌和曲霉的发酵液,其浓度分别为1×10⁹ CFU·mL⁻¹和1×10⁶ CFU·mL⁻¹。全部物料添加完成后开始淹水处理,淹水的操作步骤:利用蒸馏水将每个处理的土壤灌饱和,并高出土壤1~2 cm,试验期间补充蒸馏水,一直到2020年3月30日结束。淹水结束后将水排出,土壤在盆中自然晾干。西瓜于2020年4月10日进行移栽种植。

1.3 样品采集

西瓜种植后第50天采集土样。每盆采集0~10 cm土壤,随机采集3土钻(直径为3 cm)。土样一部分在室温条件下自然风干后,测定土壤理化性质,另一部分保存于-80 ℃,用于土壤微生物测定和分析。同时测定西瓜的生长指标(藤蔓长度)和成活率。

1.4 土壤理化性质测定

土壤pH采用土水比1:2.5的比例测定^[26];EC采用土水比1:5进行测定;土壤有机质采用重铬酸钾容量法测定^[27];土壤碱解氮利用碱解扩散法测定^[28];土壤有效磷采用0.5 mol·L⁻¹ NaHCO₃浸提-钼锑抗比色法测定^[29];土壤速效钾采用乙酸铵浸提-火焰光度法测定^[30]。

1.5 土壤总DNA提取与高通量测序

土壤总DNA提取采用Power Max Soil DNA Isolation Kit试剂盒,按照试剂盒说明步骤进行提取(MO-BIO,美国)。提取的土壤总DNA分别经过1%琼脂糖凝胶电泳和Nano Drop测定DNA完整性、纯度和浓度。土壤细菌的扩增引物为338F(5'-ACT CCT ACG GGA GGC AGC AG-3')/806R(5'-GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT-3')^[31]。扩增引物连接接头A、B和样品识别序列。扩增区域为V3~V4可变区域,扩增体系为5 μL 10×Pyrobest缓冲液,4 μL dNTPs(2.5 mmol·L⁻¹),上下游引物各2 μL(10 μmol·L⁻¹),0.75 U Pyrobest DNA聚合酶和30 ng模板DNA。使用ABI GeneAmp® 9700型PCR仪进行扩增,扩增程序为:

95 ℃预变性 5 min, 27 个循环包括 95 ℃变性 30 s、55 ℃退火 30 s、72 ℃延伸 30 s, 最后 72 ℃延伸 10 min^[32]。全部 PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 并使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 切胶回收 PCR 产物。制备 Amplicon 文库后, 利用 Illumina MiSeq PE250 平台进行测序。

1.6 生物信息分析

通过 Illumina Miseq 平台测序得到的下机数据经过 QIIME (v1.8.0) 软件进行质量控制, 具体过程为^[33]: (1) 设置 50 bp 的窗口, 如果窗口内的平均质量值低于 20, 则从窗口开始截去后端碱基, 过滤质控后 50 bp 以下的序列, 去除含 N 碱基的序列; (2) 根据序列两端的重合序列, 拼成完整序列, 允许最小重合序列长度为 10 bp, 最大错配比率为 0.2; (3) 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, 将去除引物序列的测试数据比对到 GenBank 数据库中, 去除嵌合体, 获得高质量序列。利用 CROP 软件将核苷酸相似度大于 97% 的序列作为一个分类操作单元 (OTU)^[34], 利用 GenBank 数据库对物种进行注释, 并去除所有处理中只有一条序列的 OTU, 将所有样品序列进行抽平 (Subsample)。利用 Mothur 软件 (V1.31.2) 计算样品 α 多样性。

1.7 数据分析

利用 SPSS 24 中的单因素方差分析 (ANOVA, Tukey's test) 分析不同处理对微生物 α 多样性、不同分类水平下细菌相对丰度以及功能变化的差异。基于 weighted Fast UniFrac 距离矩阵, 利用 R 语言主坐标分析 (Principal coordinates analysis, PCoA) 对不同处理微生物 β 多样性进行分析。利用 Functional Annotation of Prokaryotic Taxa analysis (FAPROTAX) 分析不同处理对微生物群落功能的影响, 并利用平均数差异显著性 T 检验分析微生物功能变化差异。

2 结果与分析

2.1 油菜秸秆和菌剂的施用对土壤理化性质和西瓜生长指标的影响

淹水条件下添加油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂混合添加显著改变了土壤理化性质 (表 1)。与 CK 处理相比, 施用油菜秸秆处理 (包括 GSL 和 B_GSL 处理) 显著提高了土壤 pH ($P < 0.05$), 其中 GSL 处理提高了 0.88 个单位, B_GSL 提高了 0.64 个单位。与 CK 处理相比, GSL 和 B_GSL 处理对土壤碱解氮含量影响不显著。GSL 和 B_GSL 处理显著降低了土壤速效钾含量, 而提高了土壤有机质含量。另外, GSL 处理可显著提高土壤速效磷含量, 而 B_GSL 处理对土壤速效磷含量影响不显著。淹水条件下添加油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂混合添加也显著影响了西瓜的生长和成活率 (表 1)。添加油菜秸秆处理促进了西瓜的生长, 其中 B_GSL 处理促进效果最明显, 藤蔓长度比 CK 处理长 35.96%。GSL 和 B_GSL 处理也显著提高了西瓜的成活率, 较 CK 处理分别提高了 132% 和 100%。

2.2 油菜秸秆和菌剂的施用对土壤微生物多样性的影响

通过高通量测序共产生 389 152 条有效序列, 平均每个样品含有 43 239 条序列。所有样品覆盖度指数 (Good's coverage value) 在 97% 相似度下均大于 99%, 说明测序深度足以评价该土壤微生物 α 多样性。

与 CK 处理相比, GSL 和 B_GSL 处理对 Shannon 多样性指数和 Shannoneven 均匀度指数影响不显著, 而显著提高了土壤微生物 ACE 和 Chao1 两种丰富度指数 (图 1)。与 CK 处理相比, GSL 处理中 ACE 和 Chao1 指数分别提高了 7.1% 和 8.7%, B_GSL 处理分别提高了 4.3% 和 5.7%。不同处理的细菌 β 多样性分析结果如图 2 所示, 其中第一排序轴代表细菌 58.29%

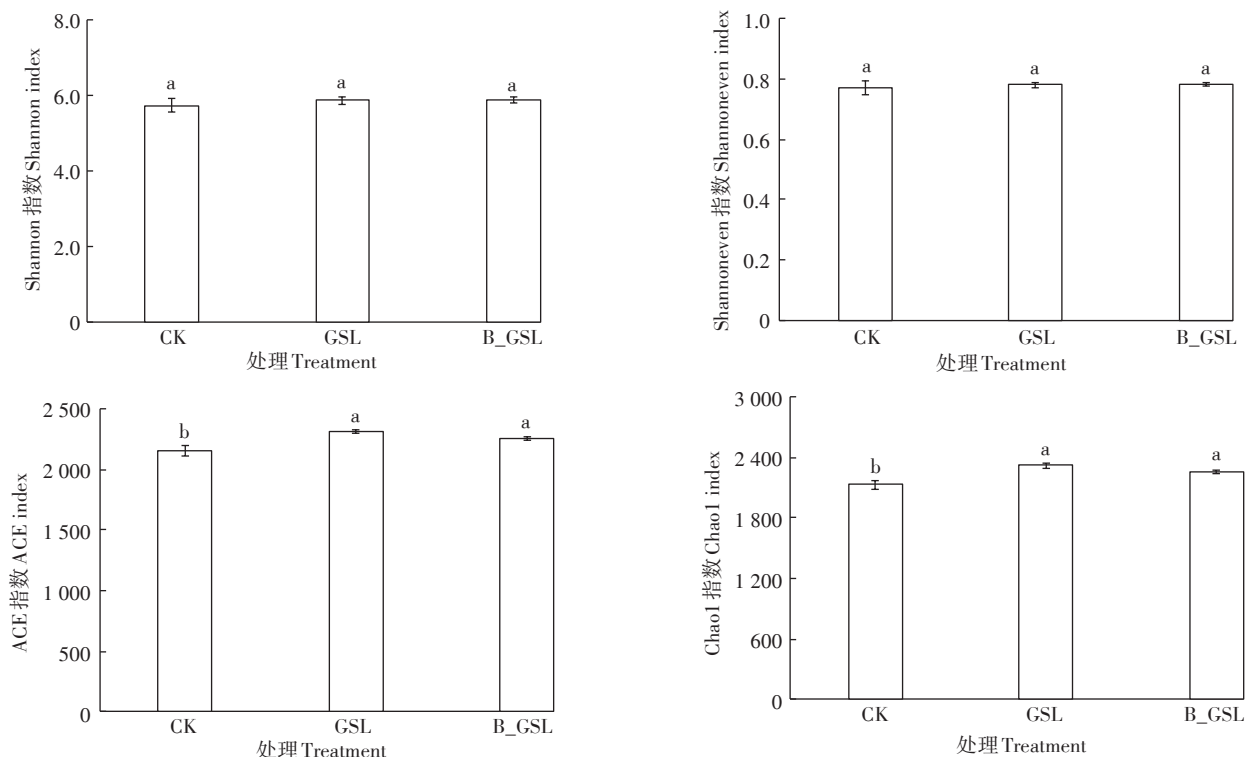
表 1 油菜秸秆和菌剂对土壤理化性质的影响

Table 1 The effect of rape straw and microbial agents on soil properties

处理 Treatment	pH	电导率 EC/ (mS·cm ⁻¹)	碱解氮 Alkali-hydrolyzable nitrogen/(mg·kg ⁻¹)	速效磷 Available phosphorus/ (mg·kg ⁻¹)	速效钾 Available potassium/ (mg·kg ⁻¹)	有机质 Organic matter/%	藤蔓长度 Vine length/cm	成活率 Survival rate/%
CK	5.93±0.02c	3.25±0.04a	65.33±4.04a	99.90±0.71b	2 670.00±22.91a	2.54±0.05b	21.33±3.06b	33.33±0.01b
GSL	6.81±0.03a	2.65±0.06c	58.33±4.04a	143.89±4.79a	2 431.67±20.82c	2.88±0.02a	27.33±2.31ab	77.33±19.63a
B_GSL	6.57±0.04b	2.78±0.03b	58.33±4.04a	99.69±6.35b	2 606.67±10.41b	2.93±0.01a	29.00±2.65a	66.66±0.01a

注: 表中数据为平均值±标准差, 同列不同字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$, Tukey's test)。下同。

Note: Data are the means ± standard deviation. Values followed by different letters in same column indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$, Tukey's test). The same below.



柱上不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$, Tukey's test)

Different letters above the bars indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$, Tukey's test)

图1 油菜秸秆和菌剂对微生物 α -多样性指数的影响

Figure 1 The effect of rape straw and microbial agents on microbial diversity

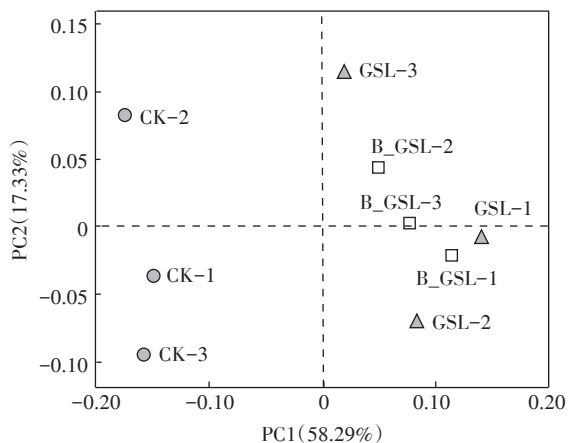


图2 主坐标分析油菜秸秆和菌剂对微生物群落的影响

Figure 2 Principal coordinates analysis (PCoA) of the effect of rape straw and microbial agents on soil microbial community composition

的群落组成变异,而第二排序轴代表细菌17.33%的群落组成变异。GSL处理和B_GSL处理细菌群落组成相似,但显著区别于CK处理,说明添加油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂混施显著改变了细菌群落组成。

2.3 油菜秸秆和菌剂的施用对土壤微生物群落组成的影响

试验土壤中的优势菌门为变形菌门(Proteobacteria), 占有所有细菌的34.4%~36.9%, 其次为绿弯菌门(Chloroflexi), 占有所有细菌的9.4%~11.9%, 其他菌门中的放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)分别占有所有细菌的8.0%~10.1%、6.8%~10.6%、8.0%~10.4%和6.8%~7.8%。

在纲水平上, GSL和B_GSL处理改变了微生物的相对丰度(图3)。GSL和B_GSL处理显著提高了Bacteroidia、Deinococci、Deltaproteobacteria、Anaerolineae、Sericitychromatia和Parcubacteria的相对丰度, 而降低了Saccharimonadia、Rhodothermia的相对丰度。GSL和B_GSL处理中Bacteroidia菌纲的相对丰度比CK处理分别高77.0%和51.0%, 而Saccharimonadia菌纲的相对丰度比CK处理低67.2%和68.2%。

在属水平上, 分析了相对丰度前30的物种(图4), 发现GSL和B_GSL处理提高了Truepera、Luteimo-

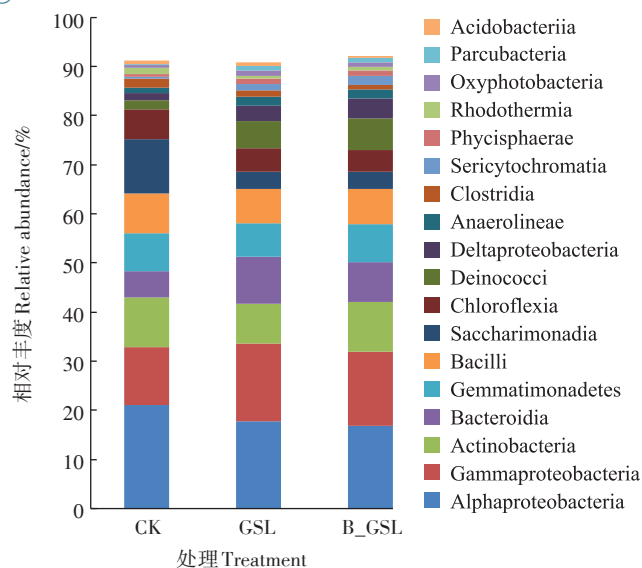


图3 油菜秸秆和菌剂添加对微生物相对丰度组成的影响 (纲水平)

Figure 3 The effect of rape straw and microbial agents on relative abundance of microbial taxa(at class level)

nas、*Devosia*、*Rhodanobacter*、*Actinomadura*、*Thermomonas*、*Arenimonas* 和 *Haliangium* 的相对丰度,而降低了 *Pseudaminobacter*、*Luteibacter*、*Gemmatirosa*、*Nitrolancea*、*Gemmatimonas*、*Mizugakiibacter* 和 *Frateriuria* 的相对丰度。

2.4 油菜秸秆和菌剂的施用对土壤功能的影响

FAPROTAX 是基于比对微生物群落结构和功能的数据库,能够在不可观测的情况下推测出生物群落的功能状况。利用平均数差异显著性 *T* 检验两两比较各处理对土壤微生物群落功能的影响,结果发现(图5),与CK处理相比,GSL处理显著提高了硝酸盐呼吸和氮呼吸的功能,而对其他功能影响不显著;B_GSL处理除了显著提高硝酸盐呼吸和氮呼吸的功能外,还显著提高了甲醇氧化、反硝化作用等功能,显著降低了好氧氨氧化、硝化作用的功能。以上研究结果表明,添加菌剂提高了油菜秸秆在土壤中功能的发挥。

3 讨论

3.1 淹水条件下添加油菜秸秆和菌剂改变了土壤理化性质

淹水条件下添加油菜秸秆和菌剂提高了土壤pH,尤其是单独添加油菜秸秆使土壤pH提高了0.88个单位。该研究结果与CHEN等^[35]利用单独淹水以及淹水条件下添加有机物的研究结果一致,说明淹水条件下

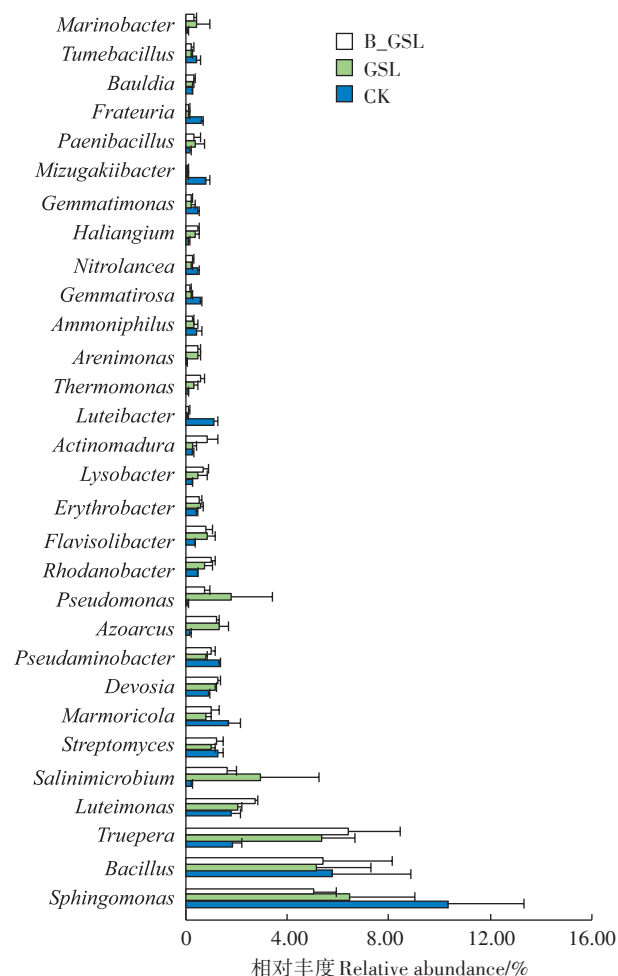


图4 油菜秸秆和菌剂添加对微生物相对丰度组成的影响 (属水平)

Figure 4 The effect of rape straw and microbial agents on relative abundance of microbial taxa(at genus level)

添加有机物(如油菜秸秆等)能够缓解因长期耕作引起的土壤酸化问题。另外,油菜秸秆添加(GSL和B_GSL处理)提高了土壤有机质含量,该研究结果与胡宏祥等^[36]的研究结果一致,说明淹水条件下添加有机物料和菌剂有利于土壤有机质的快速增加^[37]。但本试验结果表明油菜秸秆以及菌剂对土壤中有效态养分元素含量的影响较小(碱解氮和速效钾),甚至有降低的趋势。该研究结果与LU等^[38]在水稻田中种植油菜绿肥的研究结果一致,可能是因为淹水处理使土壤中的有效态养分溶解,并在后期随水排出。该研究结果可能还与油菜组织被破坏后释放的异硫氰酸盐改变了土壤中氮循环相关的微生物群落结构有关^[15,39]。

3.2 淹水条件下添加油菜秸秆和菌剂提高了土壤微生物丰富度

淹水条件下添加油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂

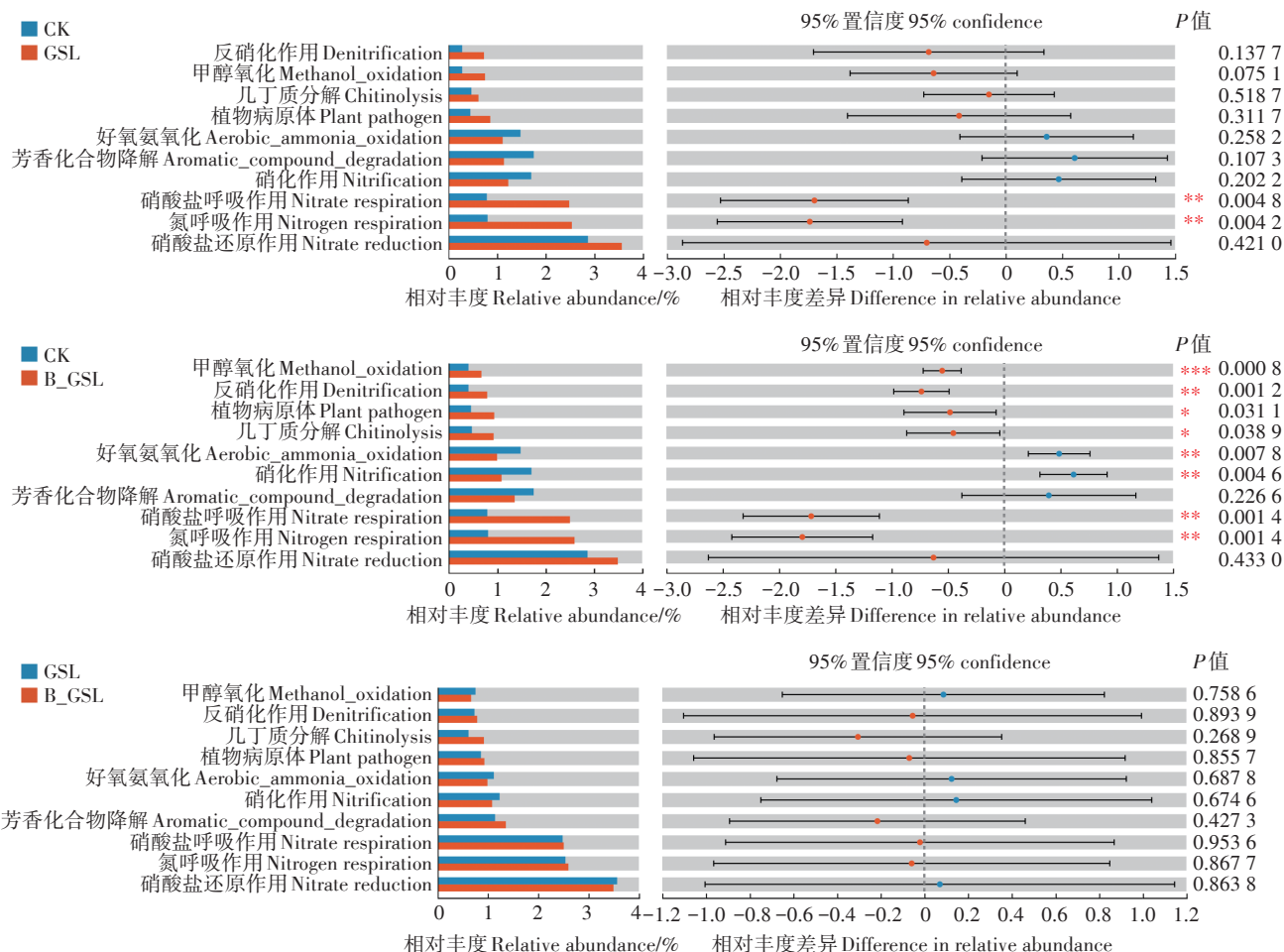


图5 平均数差异显著性T检验检验不同处理间土壤功能变化

Figure 5 Student's T test the functional difference between treatments

混合施用对多样性指数(Shannon)和均匀度指数(Shannoneven)影响不显著($P>0.05$),但显著提高了微生物的丰富度指数(Chao1和ACE指数),该结果与长期油菜秸秆还田的水稻土壤的研究结果一致^[38],说明油菜秸秆作为一种功能型修复材料能够提高土壤微生物丰富度,并对土壤健康以及土壤的抑病性具有重要作用^[40]。其原因可能是GSL以及B_GSL处理通过改变土壤的理化性状以及生境提高了丰度较低微生物的丰度,使其能够被现代分子生物学技术检测到^[41]。另外,B_GSL处理比GSL处理的丰度低,该研究结果与WANG等^[12]的研究结果一致,可能是因为促腐促生菌剂的添加降低了土壤的pH(表1),而土壤pH与微生物的丰富度成反比关系^[32,42]。

3.3 淹水条件下添加油菜秸秆和菌剂改变了土壤微生物群落结构

本研究结果表明施用油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂混施处理中土壤微生物群落结构存在较大差异。

在纲水平上,添加油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂混合施用显著提高了Deltaproteobacteria(δ -变形菌纲)的相对丰度,GSL处理比CK处理提高121%,而B-GSL处理提高了168%。 δ -变形菌纲是典型的r-策略微生物,具有快速生长和快速降解土壤中有机物质等特性,对土壤物质流动和能量循环具有重要作用^[43]。另外,添加油菜秸秆还提高了Bacteroidia(拟杆菌纲)和Deinococci(异常球菌纲)的丰度,该研究结果与WANG等^[44]施用生物消毒剂提高了拟杆菌门等的结果一致。

在属水平上,施用油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂混施提高了Truepera(特吕伯菌属)和Xanthomonadaceae(黄单胞菌科)中的多数菌属,如Lysobacter(溶杆菌属)、Thermomonas(热单胞菌属)、Arenimonas(沙单胞菌属)等。特吕伯菌属在能够抑制西红柿枯萎病的土壤中广泛存在^[45],说明特吕伯菌属可能对抑制土传病害病原菌——尖孢镰刀菌具有很好的作用。黄单胞菌属中的很多种类能够产生挥发性有机物,这些物

质能够抑制土壤病原菌的生长^[46]。另外,研究表明在健康土壤(抑病型土壤)中黄单胞菌属的丰度较高^[47]。本研究结果表明施用油菜秸秆处理(GSL和B_GSL处理)提高了土壤中有益微生物的数量,使土壤微生物的抗病性更强。通过对西瓜藤蔓长度和成活率的测定,同样发现施用油菜秸秆处理(GSL和B_GSL处理)促进了西瓜生长,提高了西瓜的成活率。其原因可能不仅是提高了有益微生物的丰度,还可能是降低了有害微生物的数量^[48]。研究表明土壤中 *Mizugakiibacter* (水崎杆菌) 丰度与西瓜的成活率呈显著负相关关系^[48],这可能解释了为什么施用油菜秸秆处理显著提高了西瓜的成活率。本研究发现施用油菜秸秆处理中,水崎杆菌的相对丰度在GSL和B_GSL处理中分别比CK处理低了88.7%和92.7%。另外,与CK处理相比,添加油菜秸秆处理(GSL和B_GSL处理)显著提高了 *Azoarcus* (固氮弓菌属) 的相对丰度,而降低了 *Nitrolancea* (硝化菌属) 等的相对丰度,表明添加油菜秸秆(生物熏蒸剂)可能会对土壤氮循环产生影响。如 SENNETT 等^[15]研究发现生物消毒剂能够影响土壤硝化作用,减少 N_2O 的产生,表明施用油菜秸秆能够改变土壤的物质流动和能量循环等功能。

3.4 淹水条件下添加油菜秸秆和菌剂改变了土壤功能

近期的研究表明,将十字花科植物中的高硫甘作物残体施用到土壤中可以改变微生物群落结构以及土壤的功能。例如, SENNETT 等^[15]发现施用油菜秸秆降低了 N_2O 的产生量,改变了土壤中氮循环微生物的丰度。本研究同样发现油菜秸秆的施用改变了微生物的群落结构和功能。如施用油菜秸秆显著提高了土壤中与氮代谢相关的功能,使土壤氮呼吸加快,促进了土壤氮代谢^[15]。另外,利用平均数差异显著性 *T* 检验两两比较不同处理对土壤微生物功能的影响,发现GSL处理显著提高了土壤硝酸盐呼吸和氮呼吸的功能,而对其他功能影响不显著;而B_GSL处理不仅提高了硝酸盐呼吸和氮呼吸的功能,还显著提高了甲醇氧化、反硝化作用等功能,并抑制了好氧氨氧化、硝化作用和芳香族化合物降解等功能。该研究结果与WU等^[49]的研究结果一致,即秸秆和微生物菌种混合接种促进秸秆的腐解和秸秆功能作用的发挥。另外本研究结果还与HUANG等^[50]、CHEN等^[35]接种植物根际促生菌通过改变土壤微生物群落结构促进土壤氮循环相关功能、减弱微生物群落功能的氮损耗、加强土壤有机质积累等结果一致。这些研究以及本研究的结果均表明添加油菜秸秆的同时接种菌剂比单

独添加油菜秸秆更能促进油菜秸秆功能的发挥。

4 结论

(1)淹水条件下施用油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂混施改变了设施化栽培土壤的理化性质,提高了土壤有机质含量,缓解了土壤酸化问题。

(2)淹水条件下施用油菜秸秆以及油菜秸秆和菌剂混施可以提高土壤微生物的丰富度,改变微生物的群落结构及功能。

(3)在施用油菜秸秆的同时添加功能菌剂可以促进油菜秸秆对土壤改良作用的发挥,提高土壤硝酸盐呼吸、氮呼吸、甲醇氧化、反硝化作用等功能,降低好氧氨氧化、硝化作用和芳香族化合物降解等功能。

参考文献:

- [1] GUO R, NENDEL C, RAHN C, et al. Tracking nitrogen losses in a greenhouse crop rotation experiment in north China using the EU-Rotate_N simulation model[J]. *Environmental Pollution*, 2010, 158(6): 2218–2229.
- [2] 张雪艳, 田蕾, 吴萍, 等. 30年不同设施条件和栽培方式下土壤养分和微生物群落功能多样性的变化[J]. *植物营养与肥料学报*, 2015, 21(6): 1581–1589. ZHANG X Y, TIAN L, WU P, et al. Changes of soil nutrients and microbial community diversity in responses to different growth environments and cultivation practices in 30 years[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2015, 21(6): 1581–1589.
- [3] 孟佳丽, 吴绍军, 沈虹, 等. 不同药剂处理对西瓜连作土壤的影响[J]. *江苏农业学报*, 2021, 37(3): 651–659. MENG J L, WU S J, SHEN H, et al. Effects of different chemical treatments on continuous cropping soil of watermelon[J]. *Jiangsu Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 37(3): 651–659.
- [4] 蔡祖聪, 张金波, 黄新琦, 等. 强还原土壤灭菌防控作物土传病的应用研究[J]. *土壤学报*, 2015, 52(3): 469–476. CAI Z C, ZHANG J B, HUANG X Q, et al. Application of reductive soil disinfection to suppress soil-borne pathogens[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2015, 52(3): 469–476.
- [5] ATSUKO U, NOBUO K, KATSUJI U. Role of anaerobic bacteria in biological soil disinfection for elimination of soil-borne plant pathogens in agriculture[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102: 6309–6318.
- [6] LIU L, CHEN S, ZHAO J, et al. Watermelon planting is capable to restructure the soil microbiome that regulated by reductive soil disinfection[J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, 129: 52–60.
- [7] ZHOU X, LI C, LIU L, et al. Control of *Fusarium wilt* of lisianthus by reassembling the microbial community in infested soil through reductive soil disinfection[J]. *Microbiological Research*, 2019, 220: 1–11.
- [8] ZHAO J, ZHOU X, JIANG A, et al. Distinct impacts of reductive soil disinfection and chemical soil disinfection on soil fungal communities and memberships[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*,

- 2018, 102:7623–7634.
- [9] HUANG X Q, WEN T, ZHANG J B, et al. Control of soil-borne pathogen *Fusarium oxysporum* by biological soil disinfestation with incorporation of various organic matters[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2015, 143(2):223–235.
- [10] SHENNAN C, MURAMOTO J, KOIKE S, et al. Anaerobic soil disinfestation is an alternative to soil fumigation for control of some soil-borne pathogens in strawberry production[J]. *Plant Pathology*, 2018, 67(1):51–66.
- [11] HUANG X, ZHAO J, ZHOU X, et al. Differential responses of soil bacterial community and functional diversity to reductive soil disinfestation and chemical soil disinfestation[J]. *Geoderma*, 2019, 348(15):124–134.
- [12] WANG Q F, CHU C B, ZHAO Z, et al. Pre-flooding soil used in monocropping increased strawberry biomass and altered bacterial community composition[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2021, 67(6):643–652.
- [13] YANG R, WEINER J, SHI X, et al. Effect of reductive soil disinfestation on the chemical and microbial characteristics of rhizosphere soils associated with *Salvia miltiorrhiza* production in three cropping systems[J]. *Applied Soil Ecology* 2021, 160:103865.
- [14] ZHAO J, LIU S, ZHOU X, et al. Reductive soil disinfestation incorporated with organic residue combination significantly improves soil microbial activity and functional diversity than sole residue incorporation [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104(7):7573–7588.
- [15] SENNETT L, BURTON D L, GOYER C, et al. Influence of chemical fumigation and biofumigation on soil nitrogen cycling processes and nitrifier and denitrifier abundance[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 162:108421.
- [16] SRIVASTAVA J, GHATAK A. Biofumigation: A control method for the soil-borne diseases[J]. *International Journal of Plant Protection*, 2017, 10(2):453–460.
- [17] WEI F, PASSEY T, XU X. Amplicon-based metabarcoding reveals temporal response of soil microbial community to fumigation-derived products[J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, 103:83–92.
- [18] REN Z, LI Y, FANG W, et al. Evaluation of allyl isothiocyanate as a soil fumigant against soil-borne diseases in commercial tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) production in China[J]. *Pest Management Science*, 2018, 74(9):2146–2155.
- [19] PORRAS M, BARRAU C, ROMERO E, et al. Effect of biofumigation with *Brassica carinata* and soil solarization on *Phytophthora* spp. and strawberry yield[J]. *Acta Horticulturae*, 2009, 842(2):969–972.
- [20] NEUBAUER C, HEITMANN B, MULLER C. Biofumigation potential of brassicaceae cultivars to *Verticillium dahliae*[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2014, 140(2):341–352.
- [21] ARNAULT I, FLEURANCE C, VEY F, et al. Use of alliaceae residues to control soil-borne pathogens[J]. *Industrial Crops and Products*, 2013, 49:265–272.
- [22] 王晓芳, 徐少卓, 王玫, 等. 万寿菊生物熏蒸对连作苹果幼苗和土壤微生物的影响[J]. *土壤学报*, 2018, 55(1):213–224. WANG X F, XU S Z, WANG M, et al. Effects of soil biofumigation using *Tateges erecta* powder on growth of *Malus hupehensis* Rehd. seedlings and soil microorganisms in old apple orchard soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2018, 55(1):213–224.
- [23] 李永丽, 周洲, 尹新明. 贝莱斯芽孢杆菌 Mr12 预防苹果轮纹病等病害的潜力及其全基因组分析[J]. *果树学报*, 2021, 38(9):1459–1467. LI Y L, ZHOU Z, YIN X M. Potential and genome-wide analysis of *Bacillus velezensis* Mr12 in preventing apple ring rot and other diseases[J]. *Journal of Fruit Science*, 2021, 38(9):1459–1467.
- [24] 赵林果, 金耀光, 李强, 等. 白腐菌及黑曲霉所产的纤维素复合酶对稻草秸秆的生物降解[J]. *中国生物工程杂志*, 2007, 27(3):71–75. ZHAO L G, JIN Y G, LI Q, et al. Rice straw degradation with white rot fungi and cellulose multienzyme produced by *Aspergillus niger*[J]. *China Biotechnology*, 2007, 27(3):71–75.
- [25] 上海市农业科学院. 一种抑制或拮抗植物病原菌的贝莱斯芽孢杆菌及其分离培养方法和应用:CN202010175169.6[P]. 2020–03–20. Shanghai Academy of Agricultural Sciences. The isolation of a *Bacillus velezensis* and its application:CN202010175169.6[P]. 2020–03–20.
- [26] LI X, DENG Y, LI Q, et al. Shifts of functional gene representation in wheat rhizosphere microbial communities under elevated ozone[J]. *The ISME Journal*, 2013, 7(3):660–671.
- [27] STRICKLAND T C, SOLLINS P. Improved method for separating light and heavy-fraction organic material from soil[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1987, 51(5):1390–1393.
- [28] ZHANG X, ZHANG R, GAO J, et al. Thirty-one years of rice–rice–green manure rotations shape the rhizosphere microbial community and enrich beneficial bacteria[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 104:208–217.
- [29] OLSEN S R. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate[J]. *USDA Circular*, 1954, 939:1–29.
- [30] SPARKS D L, PAGE A L, HELMKE P A, et al. Lithium, sodium, potassium, rubidium, and cesium[M]//Methods of soil analysis: Part 3 chemical methods, Madison: Soil Science Society of America Inc., 1996:551–574.
- [31] XU N, TAN G, WANG H, et al. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 74:1–8.
- [32] ZHOU J, JIANG X, ZHOU B, et al. Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in northeast China[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2016, 95:135–143.
- [33] BOKULICH N A, MILLS D A. Facility-specific “house” microbiome drives microbial landscapes of artisan cheesemaking plants[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(17):5214–5223.
- [34] EDGAR R C, HAAS B J, CLEMENTE J C, et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27:2194–2200.
- [35] CHEN L, LI K, SHANG J, et al. Plant growth-promoting bacteria improve maize growth through reshaping the rhizobacterial community in low-nitrogen and low-phosphorus soil[J]. *Biology and Fertility of*

- Soils*, 2021, 57(8):1075–1088.
- [36] 胡宏祥, 程燕, 马友华, 等. 油菜秸秆还田腐解变化特征及其培肥土壤的作用[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(3):297–302. HU H X, CHENG Y, MA Y H, et al. Decomposition characteristics of returned rapeseed straw in soil and effects on soil fertility[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2012, 20(3):297–302.
- [37] CHEN Y, YANG K, YE Y, et al. Reductive soil disinfestation attenuates antibiotic resistance genes in greenhouse vegetable soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 420:126632.
- [38] LU S, LEPO J E, SONG H X, et al. Increased rice yield in long-term crop rotation regimes through improved soil structure, rhizosphere microbial communities, and nutrient bioavailability in paddy soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54:909–923.
- [39] ZHANG D, YAN D, FANG W, et al. Chloropicrin alternated with biofumigation increases crop yield and modifies soil bacterial and fungal communities in strawberry production[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 675:615–622.
- [40] XIONG W, LI R, REN Y, et al. Distinct roles for soil fungal and bacterial communities associated with the suppression of vanilla *Fusarium wilt* disease[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 107:198–207.
- [41] VAN DER VOORT M, KEMPENAAR M, VAN DRIEL M, et al. Impact of soil heat on reassembly of bacterial communities in the rhizosphere microbiome and plant disease suppression[J]. *Ecology Letters*, 2016, 19(4):375–382.
- [42] WANG Q F, MA M C, JIANG X, et al. Impact of 36 years of nitrogen fertilization on microbial community composition and soil carbon cycling-related enzyme activities in rhizospheres and bulk soils in northeast China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 136:148–157.
- [43] WANG Z, WANG Z, LI T, et al. N and P fertilization enhanced carbon decomposition function by shifting microbes towards an r-selected community in meadow grassland soils[J]. *Ecological Indicators*, 2021, 132:108306.
- [44] WANG X, SHI W, WANG J, et al. Control of southern root-knot nematodes on tomato and regulation of soil bacterial community by biofumigation with *Zanthoxylum bungeanum* seed[J]. *Horticultural Plant Journal*, 2021, 7(1):49–58.
- [45] ZHENG X, ZHU Y, WANG Z, et al. Effects of a novel bio-organic fertilizer on the composition of rhizobacterial communities and bacterial wilt outbreak in a continuously mono-cropped tomato field[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 156:103717.
- [46] LAKSHMANNAN V, SELVARAJ G, BAIS H P. Functional soil microbiome: Belowground solutions to an aboveground problem[J]. *Plant Physiol*, 2014, 166(2):689–700.
- [47] KYSELKOVA M, KOPECKY J, FRAPOLLI M, et al. Comparison of rhizobacterial community composition in soil suppressive or conducive to tobacco black root rot disease[J]. *The ISME Journal*, 2009, 3(10):1127–1138.
- [48] DING S, ZHOU D, WEI H, et al. Alleviating soil degradation caused by watermelon continuous cropping obstacle: Application of urban waste compost[J]. *Chemosphere*, 2021, 262:128387.
- [49] WU Y, CHEN Y, SHAABAN M, et al. Evaluation of microbial inoculants pretreatment in straw and manure co-composting process enhancement[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2019, 239:118078.
- [50] HUANG Z, RUAN S, SUN Y, et al. Bacterial inoculants improved the growth and nitrogen use efficiency of *Pyrus betulifolia* under nitrogen-limited conditions by affecting the native soil bacterial communities[J]. *Applied Soil Ecology*, 2022, 170:104285.

(责任编辑:李丹)