



猪粪及其生物堆肥对小麦幼苗生长和土壤细菌群落结构的影响

邹文萱, 罗慧, 赵境怡, 岳中辉, 刘四义, 梁爱珍, 王新军, 束长龙, 韩丽丽, 沈菊培

引用本文:

邹文萱, 罗慧, 赵境怡, 岳中辉, 刘四义, 梁爱珍, 王新军, 束长龙, 韩丽丽, 沈菊培. 猪粪及其生物堆肥对小麦幼苗生长和土壤细菌群落结构的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2023, 40(1): 36–44.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0696>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

玉米秸秆还田量对砂姜黑土酶活性、微生物生物量及细菌群落的影响

刘高远, 和爱玲, 杜君, 杨占平, 潘秀燕, 许纪东, 郑念, 张玉亭

农业资源与环境学报. 2022, 39(5): 1033–1040 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0527>

氮肥施用对四川紫色土矿质态氮淋失特征及春玉米产量的影响

刘明鹏, 徐开未, 肖华, 陈晓辉, 彭丹丹, 卢俊宇, 陈远学

农业资源与环境学报. 2022, 39(1): 88–98 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0655>

施氮水平对稻-稻-紫云英稻田土壤细菌数量及群落结构的影响

周艳飞, 聂江文, 王幼娟, 刘章勇, 朱波

农业资源与环境学报. 2018, 35(6): 508–517 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2018.0021>

生物炭对青枯病烟株的根际土壤微生物群落结构调控机制分析

冯慧琳, 付兵, 任天宝, 杜君, 徐辰生, 曾强, 徐茜, 刘国顺

农业资源与环境学报. 2022, 39(1): 173–181 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0018>

聚天门冬氨酸尿素对水稻产量及田面水氮素变化的综合影响

王娜, 徐嘉翼, 张鑫, 隋世江, 叶鑫, 牛世伟

农业资源与环境学报. 2021, 38(1): 96–103 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0072>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

邹文萱, 罗慧, 赵境怡, 等. 猪粪及其生物堆肥对小麦幼苗生长和土壤细菌群落结构的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(1): 36–44.

ZOU W X, LUO H, ZHAO J Y, et al. Effects of swine manure and its vermicompost on the wheat seedling growth and soil bacterial community structure[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2023, 40(1): 36–44.



开放科学 OSID

猪粪及其生物堆肥对小麦幼苗生长和土壤细菌群落结构的影响

邹文萱^{1,2}, 罗慧^{1,3}, 赵境怡³, 岳中辉³, 刘四义¹, 梁爱珍^{2,4}, 王新军⁵, 束长龙⁶, 韩丽丽^{1,2}, 沈菊培^{7*}

(1. 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, 哈尔滨 150525; 4. 中国科学院黑土区农业生态重点实验室, 中国科学院东北地理与农业生态研究所, 长春 130102; 5. 交通运输部科学研究院, 北京 100029; 6. 植物病虫害生物学国家重点实验室, 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193; 7. 福建师范大学地理科学学院, 福州 350007)

摘要:生物堆肥是养殖废弃物资源化利用的有效途径,对畜禽粪肥无害化处理具有重要意义。本研究利用小麦盆栽试验,通过分析施用猪粪及其生物堆肥产物后小麦幼苗生理特性(栽培 60 d),并结合 16S rRNA 高通量测序技术探究施用猪粪及其堆肥产物对土壤细菌群落结构的影响。试验按等氮量供肥方式设置 3 个处理:对照(CK,不添加氮肥)、虫粪(LF,200 mg·kg⁻¹施氮量,经白星花金龟幼虫生物堆肥后的虫粪)和猪粪(SM,200 mg·kg⁻¹施氮量)。结果表明:氮肥处理 LF 和 SM 的土壤总碳(TC)、总氮(TN)、可溶性碳氮(DOC 和 DON)、铵态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)和作物生理指标(苗干质量和叶绿素 SPAD)均显著高于 CK 处理($P < 0.05$),而 LF 和 SM 两者之间无显著差异。LF 和 SM 处理土壤细菌 α 多样性与 CK 处理无显著差异,但 SM 处理细菌群落结构与 CK 和 LF 处理差异显著。LF 和 SM 处理中放线菌门相对丰度比对照分别提高了 2.85、1.11 个百分点,而两处理中绿弯菌门的相对丰度比 CK 处理分别降低了 1.63、1.58 个百分点。基于 Bray-Curtis 距离算法对细菌 ZOTU 进行 PCoA 主成分分析发现,第一和第二排序轴分别解释了总变异的 12.2% 和 11.4%。冗余分析表明,NO₃⁻-N、DOC、DON、TC、TN、NH₄⁺-N 是影响土壤细菌群落结构的主要环境因子。综上,生物堆肥处理可以通过改变土壤养分含量来促进作物生长,本研究为畜禽粪便资源化及其在农业生产中的应用提供重要参考。

关键词:白星花金龟幼虫;虫粪;生物堆肥;细菌多样性;小麦苗期

中图分类号:S512.1;S154.3 文献标志码:A 文章编号:2095-6819(2023)01-0036-09 doi: 10.13254/j.jare.2021.0696

Effects of swine manure and its vermicompost on the wheat seedling growth and soil bacterial community structure

ZOU Wenxuan^{1,2}, LUO Hui^{1,3}, ZHAO Jingyi³, YUE Zhonghui³, LIU Siyi¹, LIANG Aizhen^{2,4}, WANG Xinjun⁵, SHU Changlong⁶, HAN Lili^{1,2}, SHEN Jupei^{7*}

(1. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150525, China; 4. Key Laboratory of Mollisols Agroecology, Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun 130102, China; 5. China Academy of Transportation Sciences, Beijing 100029, China; 6. State Key Laboratory for Biology of

收稿日期:2021-10-13 录用日期:2021-12-16

作者简介:邹文萱(1997—),女,硕士研究生,主要从事微生物生态与氮循环研究。E-mail:zouwenxuan19@mails.ucas.ac.cn

*通信作者:沈菊培 E-mail:jpshe@jnu.edu.cn

基金项目:科技部政府间合作项目(2017YFE0109800);国家自然科学基金项目(32171642,32070511);哈尔滨师范大学硕士研究生创新科研项目(HSDSSCX2021-06)

Project supported: The Programme of Intergovernmental Cooperation in Science and Technology (2017YFE0109800); The National Natural Science Foundation of China (32171642, 32070511); The Innovative Scientific Research Project for Graduate Students of Harbin Normal University (HSDSSCX2021-06)

Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 7. School of Geographical Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: Vermicomposting of manure is an alternative method for processing organic waste, which plays an important role in waste recycling. In this study, the effect of swine manure and its vermicomposting on wheat growth and soil bacterial communities were investigated using a high-throughput sequencing technique based on the bacterial 16S rRNA gene in pot experiments. Three treatments, according to the applied amount of nitrogen (N), were set up as follows: control treatment (CK, no N addition), LF (larval frass vermicompost through *Protoclisia brevitarsis* larvae, 200 mg·kg⁻¹, calculated in N), and SM (swine manure, 200 mg·kg⁻¹, calculated in N). The results showed that soil properties, including total organic carbon (TC) and total nitrogen (TN), dissolved organic carbon and nitrogen (DOC and DON), NH₄⁺-N, and NO₃⁻-N in the SM and LF treatments were significantly higher than that in the CK treatment ($P < 0.05$), whereas no significant difference was found between LF and SM treatments. Wheat seedling growth characteristics, including seedling dry mass and SPAD values, showed similar patterns to the soil properties. Bacterial α -diversity showed no significant difference across all treatments ($P < 0.05$), while the bacterial community structure in the SM treatment was clearly distinguishable from the others. The relative abundance of Actinobacteria in LF and SM increased by 2.85 and 1.11 percentage points compared with that in the CK, respectively, while the Chloroflexi decreased by 1.63 and 1.58 percentage points, respectively. PCoA results explained 12.2% and 11.4% variation for the first and second axes, respectively, based on the Bray-Curtis matrix of the relative abundance of bacterial ZOTUs. Redundancy analysis showed that NO₃⁻-N, DOC, DON, TN, TC, and NH₄⁺-N content were the main factors affecting the bacterial community structure in soil. In summary, vermicomposting can improve crop growth by altering soil nutrients, providing important information for managing organic waste and assessing its application in agricultural ecosystems.

Keywords: *Protoclisia brevitarsis* larvae; larval frass; vermicomposting; bacterial diversity; wheat seedling

随着我国畜牧业规模化和集约化的迅速发展,畜禽养殖带来的环境污染问题日益突出。据我国畜牧总站的调查显示,全国每年畜禽粪污的排放量约38亿t^[1]。畜禽粪肥中含有丰富的有机质及植物生长所需的氮、磷、钾等营养元素^[2]。将畜禽粪肥合理还田进行资源化利用不仅可以大大降低化肥施用量、增加土壤有机碳积累、提高土壤肥力,而且有助于消除畜禽养殖带来的污染问题^[3]。然而,禽畜粪肥如果施用不当则可能通过径流或淋溶造成地表水体富营养化和地下水污染,进而影响环境和人体健康^[4]。因此,开展畜禽粪肥的资源化利用研究对指导农业生产、降低环境污染、实现资源循环利用具有重要意义。

自20世纪80年代以来,我国采用的畜禽粪便资源化利用方式包括肥料化、能源化和饲料化^[5-7],其中前两者是主要利用方向。肥料化是利用畜禽粪便制作有机肥的过程,包括物理、化学和生物等方式。生物堆肥具有能耗小、二次污染物少等优点,是实现畜禽粪便肥料化、降低环境污染的有效生物降解技术^[7]。例如,利用蚯蚓吞食过腹消化和微生物的分解作用对畜禽废弃物进行降解是一种应用较广、符合可持续发展的生物处理法^[8-9]。黑水虻由于繁殖迅速,饲养操作简单,在生产中易于管理,其作为一种资源性昆虫具有一定的养殖前景与应用价值^[10]。白星花金龟(*Protoclisia brevitarsis*)幼虫可取食秸秆、畜禽废弃

物,并将其转化为腐植酸含量较高的有机肥^[11],在畜禽粪便资源化利用方面具有较好的应用前景。金龟幼虫肠道是一个多变的系统,随着取食、消化和排泄等活动而不断变化,在脂肪和碳水化合物吸收利用过程中起着重要作用,被称为有机废弃物资源加工的“生物反应器”^[12]。

畜禽粪便生物堆肥处理在农业生产中已展现较大的潜力,对土壤生态系统也产生了显著影响。如王先哲^[13]在农田土壤中施用了经黑水虻堆肥的虻粪,结果发现土壤中细菌群落多样性和酸杆菌门的相对丰度降低,而细菌群落的均匀度增加。Vivas等^[14]通过新鲜橄榄废渣及羊粪的混合物进行蚯蚓堆肥,结果表明相比原粪肥,蚓粪显著增加了细菌的数量及多样性。目前关于畜禽粪肥施用对土壤-植物-微生物体系的影响研究已有较多,但白星花金龟幼虫生物堆肥对土壤环境和作物生长的影响及其微生物作用机制鲜有报道。因此,本研究通过小麦盆栽试验,探究猪粪及其生物堆肥得到的虫粪处理后小麦栽培60d的生理特性、氮肥利用率及土壤细菌群落结构的变化,并分析小麦生长的主要影响因素,探讨土壤理化性质、小麦幼苗的生长状况与土壤细菌群落的相关性,以为畜禽粪便资源化的农业效应评估提供参考,同时为探究畜禽粪肥还田的施用量及微生物作用机制提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试土壤采自北京市延庆区(40°29'N, 115°56'E)吴庄村旱柳地表层土壤(0~20 cm), 土壤类型为潮土, 容重为 $1.31 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$, 过2 mm筛后风干、混匀备用。供试的小麦种子为北京研禾玉科技发展有限公司的“轮选987”品种, 生育期258 d。供试有机肥包括猪粪和虫粪。

供试有机肥: 在湖南农业大学动物科学技术学院养殖基地选取1头公猪, 饲喂玉米籽粒(来自中国科学院东北地理与农业生态研究所)和其他配料制成的粉状饲料7 d, 收集4~7 d的粪便, 混匀风干后过筛, 将其作为供试猪粪, 其总碳和总氮含量分别为 $361.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $36.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。从中国农业科学院获取3龄的白星花金龟(*Protaetia brevitarsis*)幼虫, 饲喂上述猪粪, 7 d后收集新鲜的颗粒状虫粪, 风干后过2 mm筛, 将其作为供试虫粪, 其总碳和总氮含量分别为 $376.9 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $31.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

1.2 试验设计

采用盆栽法进行试验。选取12个内径为18.5 cm、高为7.5 cm的花盆, 每盆装入土壤1400 g。试验共设置3个处理, 分别为未施肥处理(CK)、虫粪处理(LF)以及猪粪处理(SM), 每个处理4次重复。CK处理中无氮肥输入, 添加的磷肥和钾肥为过磷酸钙和氯化钾, 施入量分别为 $247.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $158.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。LF和SM处理按照含氮量 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 等氮量添加, 添加的虫粪和猪粪量分别为 $639.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $542.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 混匀后将土壤含水量调节至田间持水量的50%。

选择籽粒饱满、大小均匀的小麦种子, 经30% H_2O_2 消毒10 min后用蒸馏水反复冲洗, 滤纸吸干后备用。每盆播种上述小麦种子25粒后用100 g土覆盖, 出苗后保留20株, 在 $25 \text{ }^\circ\text{C}$ 、 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 光照条件下种植60 d后进行植株和根际土壤样品采集。采集时先将小麦幼苗地上部分剪切, 然后测定鲜质量, 放入烘箱内 $105 \text{ }^\circ\text{C}$ 杀青60 min, 在 $75 \text{ }^\circ\text{C}$ 下烘至恒质量, 研磨过0.15 mm筛后备用。土壤挑去根系后分为三部分: 第一部分存放于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱用于DNA的提取, 第二部分于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存用于土壤有效态氮含量的测定, 第三部分风干过筛后进行土壤总碳(TC)、总氮(TN)的测定。

1.3 测定方法

1.3.1 土壤性质的测定

土壤TC和TN含量采用元素分析仪(Vario EL

III-Elenemtar, 德国)测定; 土壤铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)经 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的KCl溶液浸提后用连续流动分析仪(AA3, SEAL, 德国)测定; 土壤可溶性有机碳(DOC)和可溶性有机氮(DON)用 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 K_2SO_4 浸提, 并用总有机碳分析仪(TOC-VCPH, Shimadzu, 日本)测定。

1.3.2 小麦幼苗生理指标的测定

采用尺量法测定小麦五叶期、六叶期的株高和近根叶组的第5片叶的叶面积; 小麦植株的TC和TN含量采用元素分析仪测定; 五叶期和六叶期的小麦叶片叶绿素SPAD值用叶绿素仪(SPAD-502 Plus, Konica Minolta, 日本)测定。作物氮肥利用率采用差减法计算。

1.3.3 细菌16S rRNA高通量测序

利用土壤DNA试剂盒(DNeasy[®] Power Soil[®] Kit, QIAGEN, 德国)提取0.35 g冷冻土壤, 用NanoDrop ND-1000分光光度计(NanoDrop, Thermo Scientific[™], 美国)测定提取DNA的浓度和质量。使用细菌16S rRNA基因V4~V5区域的通用引物338F(CTCCTACGGGAGGCAGCA)和806R(GGACTACHVGGGTWCTAAT)进行PCR扩增, PCR反应体系($20 \mu\text{L}$): $5 \times$ FastPfu缓冲液 $4 \mu\text{L}$, $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTPs $2 \mu\text{L}$, 浓度 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的前后引物各 $0.8 \mu\text{L}$, FastPfu聚合酶 $0.4 \mu\text{L}$ 和DNA模板10 ng。在ABI GeneAmp[®] 9700 PCR扩增仪上进行扩增, 用凝胶电泳检测扩增产物。PCR产物用AxyPrep DNA凝胶回收试剂盒(Axygen Biosciences公司)进行纯化, 随后送上海美吉生物医药科技有限公司利用Illumina MiSeq平台进行末端配对($2 \times 250 \text{ bp}$)测序分析。

通过Quantitative Insight into Microbial Ecology (QIIME. V1.9.1)平台^[15]对所测序列进行分析。在USEARCH^[16]中将双端序列拼接成单条序列, 并对该序列进行质控(最大期望错误率0.5)及去冗余分析。在USEARCH中使用UNOISE2^[17]挑选正确的生物序列(Zero-radius Operational Taxonomic Units, ZOTUs)。在QIIME中使用BLAST算法将这些代表性序列与SILVA数据库进行比对, 共获得638 981条高质量序列, 按100%相似性挑选得到6 030个代表ZOTUs。最后通过QIIME计算细菌 α 多样性和 β 多样性。

1.4 数据处理

利用Excel 2013对数据进行整理、汇总, 利用SPSS软件(SPSS Statistics 24)进行单因素方差分析(ANOVA)、显著性检验(Duncan, $P < 0.05$)和多元回归

分析,采用R(Version 3.4.3)软件^[18]进行冗余分析、主成分分析和差异分析。

2 结果与分析

2.1 土壤性质和小麦生长状况

不同施肥处理下小麦栽培60 d后土壤性质如表1所示。与CK相比,施肥处理LF和SM显著提升了

土壤pH值($P<0.05$)。LF和SM处理的TC、TN、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、DON含量均显著高于CK处理($P<0.05$),而LF和SM处理之间差异不显著($P>0.05$)。LF和SM处理的DOC含量显著高于CK($P<0.05$),且LF处理显著高于SM处理($P<0.05$)。

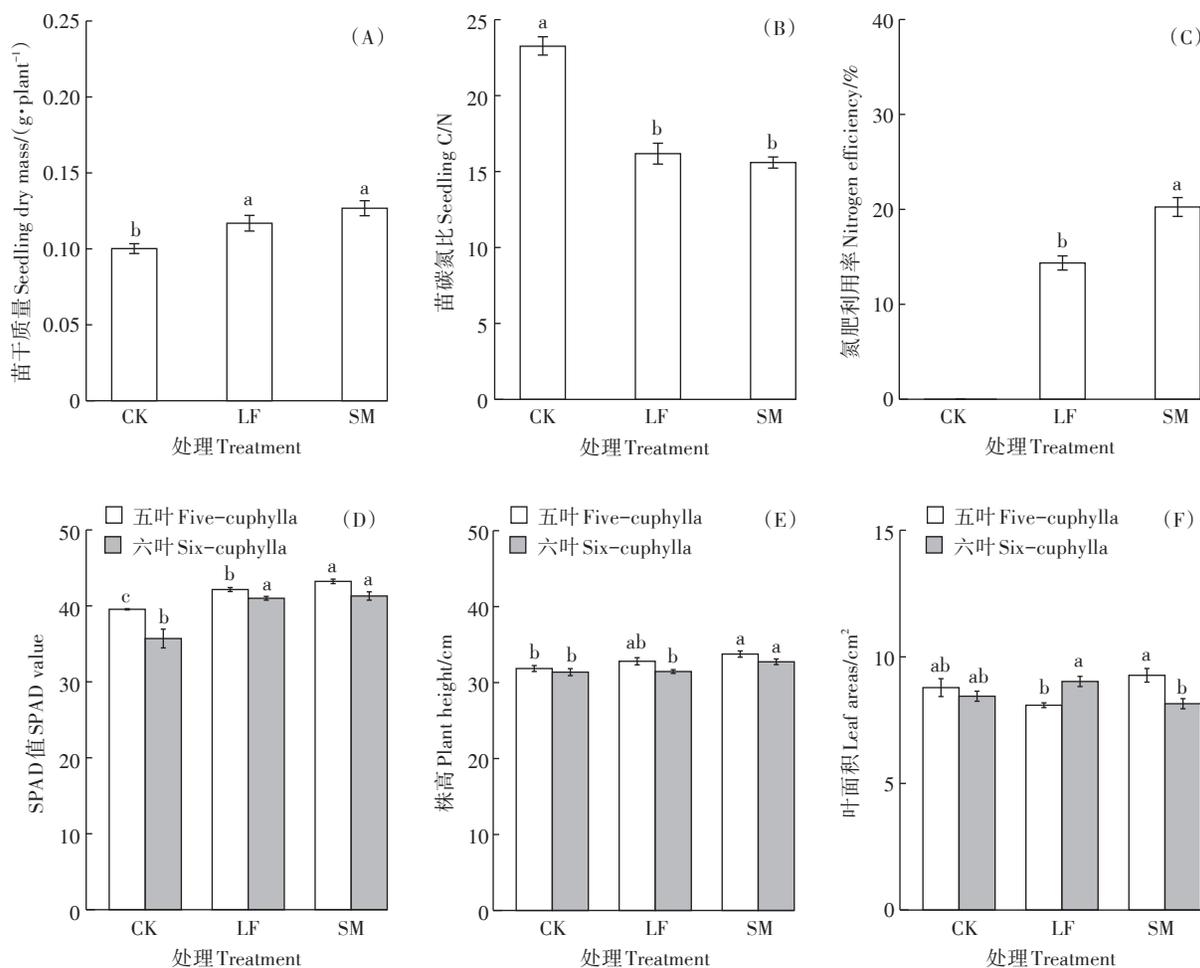
不同施肥处理下小麦生理指标变化如图1所示。LF和SM处理苗干质量、叶绿素SPAD值均显著高于

表1 不同施肥处理的土壤性质
Table 1 Soil properties in different treatments

处理 Treatment	pH	TC/(g·kg ⁻¹)	TN/(g·kg ⁻¹)	NH ₄ -N/(mg·kg ⁻¹)	NO ₃ -N/(mg·kg ⁻¹)	DOC/(mg·kg ⁻¹)	DON/(mg·kg ⁻¹)
CK	8.07±0.04b	25.97±0.62b	0.91±0.02b	0.10±0.03b	2.01±0.40b	52.53±1.87c	6.34±0.61b
LF	8.25±0.69a	26.83±0.18a	1.05±0.01a	0.43±0.04a	3.98±0.58a	70.06±0.72a	9.65±0.61a
SM	8.21±0.03a	27.00±0.25a	1.06±0.01a	0.45±0.14a	4.56±0.56a	67.52±0.67b	10.50±0.46a

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference among treatments at $P<0.05$.



不同小写字母表示同一叶期不同处理间差异显著($P<0.05$)

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments at the same leaf stage ($P<0.05$)

图1 不同施肥处理下小麦生理指标特征

Figure 1 Wheat growth characteristics in different treatments

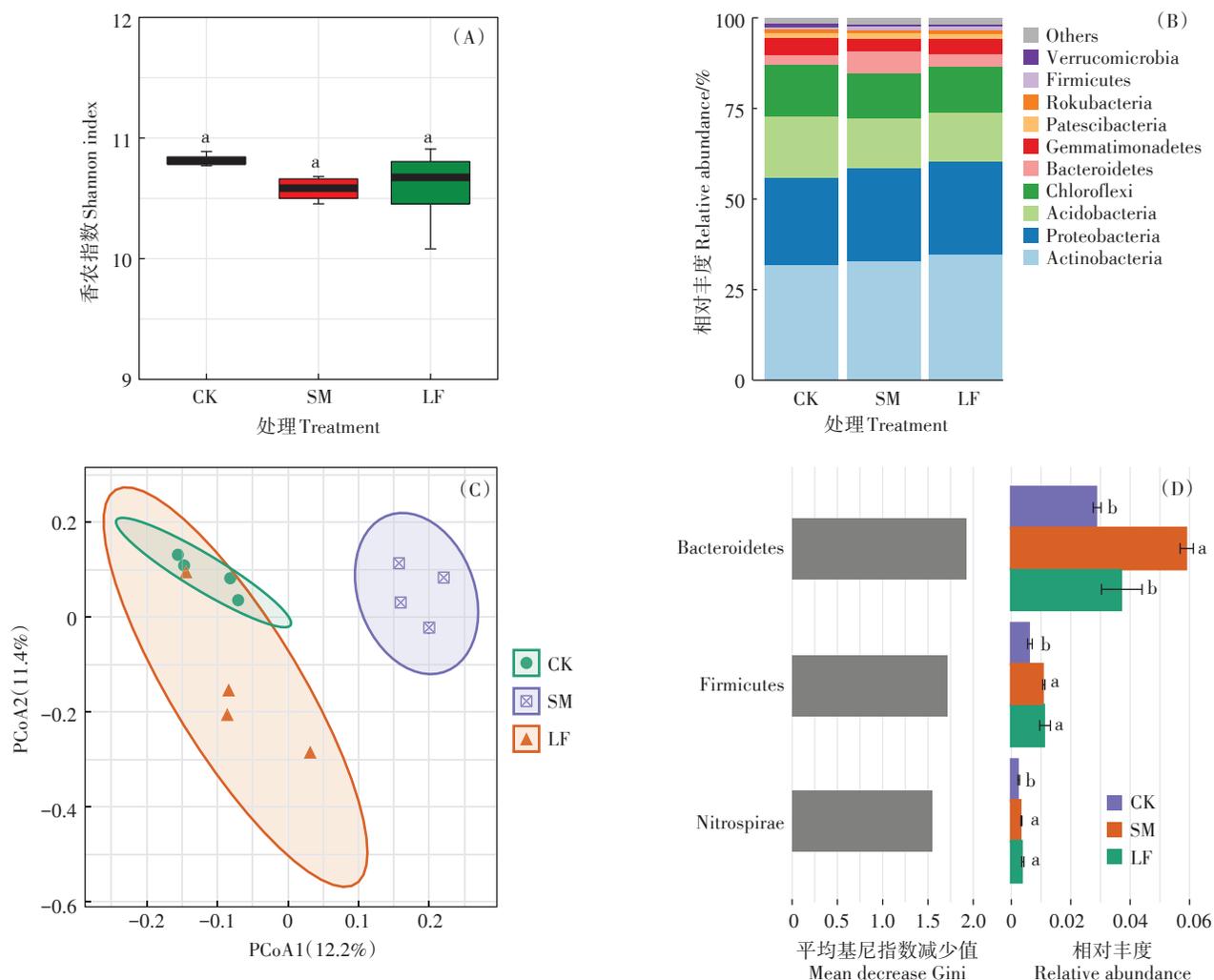
CK处理($P<0.05$),而小麦苗碳氮比显著低于CK处理($P<0.05$),且LF和SM处理间差异不显著。SM处理氮肥利用率显著高于LF处理。另外,仅SM处理的株高显著高于CK处理($P<0.05$),LF和SM处理的叶面积在五叶和六叶期与CK处理均无显著差异($P>0.05$)。

2.2 土壤细菌多样性

香农指数(Shannon index)可以指示土壤细菌的多样性。基于对土壤细菌测序 ZOTU 数据的分析发现,不同处理间土壤细菌香农多样性指数无显著差异($P>0.05$,图2A)。细菌群落组成结果表明,丰度前10位的土壤细菌类群主要有放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、芽

单胞菌门(Gemmatimonadetes)、Patescibacteria 菌门、厚壁菌门(Firmicutes)、棒状杆菌门(Rokubacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)等。其中,土壤中丰度最高的类群为放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi),分别占土壤细菌的32%~34%、24%~26%、14%~17%和12%~14%(图2B)。

细菌类群相对丰度差异性分析的结果表明,不同粪肥施用对细菌类群产生了显著影响。例如,LF和SM处理中放线菌门的相对丰度比CK处理分别提高了2.85、1.11个百分点,而酸杆菌门的相对丰度在LF处理中最低(平均14%),在CK处理中最高(平均17%)。LF和SM处理中绿弯菌门的相对丰度比CK处理分别降低了1.63、1.58个百分点。基于Bray-Cur-



不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P<0.05$)

图2 不同处理土壤细菌多样性和群落结构特征

Figure 2 Soil bacterial diversity and community structure in different treatments

tis距离算法对细菌ZOTU数据进行PCoA主成分分析(图2C),其中第一、二排序轴分别解释总变异的12.2%和11.4%,SM处理与其他处理相距较远,具有较低的细菌群落相似性,CK和LF处理细菌群落结构分布部分重合,说明具有较高的细菌群落相似性。

研究采用随机森林模型平均基尼指数减少值(Mean Decrease Gini)评估不同微生物类群的重要性,即平均基尼指数减少值越大,代表该微生物类群越重要。如图2D所示,在门水平上检测到3种显著差异的土壤细菌门类,包括拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)和硝化螺菌门(Nitrospirae)。其中,SM处理拟杆菌门的相对丰度为5.8%,显著高于CK(2.9%)和LF(3.7%)处理($P<0.05$)。SM处理厚壁菌门和硝化螺菌门相对丰度分别为1.0%和0.2%,LF处理厚壁菌门和硝化螺菌门相对丰度分别为1.2%和0.3%,均显著高于CK处理(0.6%和0.2%)。

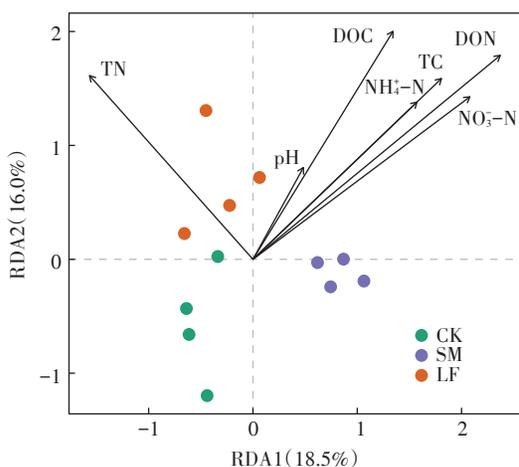


图3 土壤细菌群落结构与土壤性质的冗余分析

Figure 3 Redundancy analysis(RDA) of soil bacterial community structure and soil properties

2.3 土壤性质、细菌群落与小麦生理指标的相关性

将土壤性质和基于ZOTU信息的细菌群落结构进行冗余分析(图3),结果表明其中7个土壤因子共解释了细菌群落总变异的34.5%,RDA前两个排序轴分别解释了18.5%和16.0%的群落变异。由图3可知,影响土壤细菌群落的环境因子主要为 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、DOC、DON、TC、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 和TN。皮尔森相关性分析表明,小麦幼苗的生长指标与土壤养分含量显著相关(表2),其中 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、DOC和DON与苗干质量、SPAD值和氮肥利用率均呈显著正相关,而与苗碳氮比呈显著负相关($P<0.01$)。TC、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、DON与株高呈显著正相关($P<0.05$)。

基于随机森林模型筛选出3种具有显著差异的土壤细菌门类群,将其与土壤因子进行皮尔森相关性分析(表3)。结果表明土壤TC、TN、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和DON含量与拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)和硝化螺菌门(Nitrospirae)均呈显著正相关。多元回归结果(表4)显示,pH、TC、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、细菌群落及多样性等能够共同解释小麦苗干质量变异的88.9%($r=0.943$, $P=0.027$),显著性检验结果表明 $\text{NH}_4\text{-N}$ 含量对苗干质量的影响具有统计学意义($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 不同有机肥处理对小麦生长和氮肥利用率的影响

本研究发现施用猪粪和生物转化后虫粪对土壤养分和小麦幼苗的生长均具有一定的促进作用。土壤的养分含量(总碳、总氮、铵态氮、硝态氮及可溶性有机碳氮)和小麦生长指标(株高、叶面积、苗干质量及SPAD值)均增加,且施用等氮量猪粪与虫粪的效果一致,表明畜禽粪肥经生物转化后对土壤和作物的生长同样具有重要作用,可作为有效转化畜禽废弃物资源的可能途径。这与田小燕等^[19]的研究结果一致,

表2 小麦苗期生长指标和土壤性质的相关性分析

Table 2 Pearson correlation analysis of wheat seedling growth characteristics and soil properties

生长指标 Indicator	pH	TC	TN	$\text{NH}_4\text{-N}$	$\text{NO}_3\text{-N}$	DOC	DON
苗干质量 Seedling dry mass	0.583*	0.554	0.796	0.852**	0.547**	0.717**	0.696*
苗碳氮比 Seedling C/N	-0.878**	-0.756**	-0.936**	-0.829**	-0.969**	-0.924**	-0.961**
叶绿素 SPAD	0.723**	0.497	0.771**	0.730**	0.782**	0.739**	0.750**
株高 Plant height	0.419	0.613*	0.522	0.485	0.671*	0.438	0.628*
叶面积 Leaf areas	0.008	-0.052	0.049	0.064	0.069	-0.009	0.003
氮肥利用率 Nitrogen efficiency	0.809**	0.769**	0.964**	0.919**	0.901**	0.896**	0.958**

注:**表示在0.01水平(双尾)上显著相关;*表示在0.05水平(双尾)上显著相关。下同。

Note:** indicate significant correlation at 0.01 level(bilateral);* indicate significant correlation at 0.05 level(bilateral). The same below.

表3 显著差异细菌门类群相对丰度和土壤性质的相关性分析

Table 3 Pearson correlation analysis among the relative abundance of most significant bacterial phyla and soil properties

门Phyla	pH	TC	TN	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ -N	DOC	DON
厚壁菌门 Firmicutes	0.653*	0.696*	0.716**	0.642*	0.796*	0.761**	0.792**
拟杆菌门 Bacteroidetes	0.407	0.608*	0.641*	0.614*	0.780**	0.522	0.755**
硝化螺菌门 Nitrospirae	0.762**	0.726**	0.670*	0.574	0.707*	0.756**	0.725**

表4 小麦幼苗干质量与土壤性质及细菌群落结构之间的多元回归分析

Table 4 Multiple regression analysis of soil properties, bacterial community structure and wheat seedling dry mass

因变量 Dependent variable	解释变量 Independent variable	r	R ²	P
苗干质量 Seedling dry mass	pH、TC、NO ₃ ⁻ -N、NH ₄ ⁺ -N、细菌香农指数、细菌β多样性	0.943	0.889	0.027

经过生物堆肥后的虫粪对土壤肥力和植物生长具有促进作用。作物的株高、叶面积和苗干质量等生长指标能够反映作物的生长状况和养分吸收情况, SPAD值表征了作物叶片中叶绿素的相对含量, 反映作物的光合能力和长势^[20]。等氮量虫粪和猪粪处理增加了土壤碳氮养分, 满足了小麦生长的养分需求, 进而同等程度地增加了小麦地上部生物量的积累以及叶绿素含量, 说明畜禽粪肥经生物堆肥处理后能够促进小麦生长^[21-22]。

氮肥利用率能够表征施用的氮肥被作物吸收、在土壤中残留及环境损失的实际情况, 是用于评价氮肥施用效果的重要指标^[23]。本研究发现施用猪粪处理土壤中小麦氮肥利用率高于生物堆肥后虫粪处理的氮肥利用率。这可能是由于后者经白星花金龟幼虫处理后更多的氮源成为腐植酸的主要成分^[24], 在保证植物生长的同时, 又为后续生长提供了稳定有效的养分资源库^[25]。Li等^[24]研究发现以玉米秸秆和木屑饲喂白星花金龟幼虫, 提取的虫粪无植物毒性, 且腐植酸含量达到24.37%和14.46%。因此, 今后还需通过观测整个小麦生长周期进一步认识生物堆肥氮素的有效性。

3.2 不同有机肥处理对土壤细菌群落的影响

土壤微生物群落结构和多样性是衡量土壤质量的重要指标^[26]。细菌作为土壤中最丰富的一类微生物, 对维持土壤生态系统具有重要意义。本研究表明, 与施用猪粪相比, 施用虫粪对土壤细菌α多样性和群落结构均无显著影响, 说明虫粪携带的微生物没有改变土壤细菌群落, 这与Wang等^[27]研究的家蝇幼虫生物堆肥的结果一致。有学者通过溯源分析的方法, 发现家蝇幼虫生物堆肥第1天仅有1.4%的细菌源于幼虫肠道, 而在处理的第6天, 有近20%的细菌

来源于幼虫肠道, 说明堆肥处理过程中肠道微生物的组成显著影响了畜禽粪便微生物组成^[27]。本研究也推测, 白星花金龟幼虫生物降解过程中肠道微生物发挥了巨大作用。白星花金龟幼虫的肠道主要分为三部分: 前肠、中肠和后肠^[11]。中肠是一个pH高达11的碱性环境, 能消解大部分粪源性微生物; 而后肠含有大量消化有机化合物的蛋白酶^[12]。经肠道处理产生的虫粪微生物结构相对稳定, 且大部分畜禽携带的致病菌被去除^[28]。Zhao等^[29]也发现, 猪粪和鸡粪经白星花金龟幼虫生物处理后, 微生物之间的关系更加稳定, 土壤抗生素抗性基因的传播风险降低。基于这一结论, 笔者认为白星花金龟幼虫可以将畜禽有机废弃物有效转化, 产生的虫粪具有较低的生态风险。

尽管生物堆肥对土壤细菌α多样性和群落结构的影响不显著, 但对部分细菌类群的相对丰度产生了显著影响, 如拟杆菌门、厚壁菌门和硝化螺菌门, 这与Wolters等^[30]的研究结果类似。施加粪肥增加了厚壁菌门的相对丰度, 这可能是由于厚壁菌门更能适应富碳的环境^[31], 可以参与有机碳等复杂有机物的降解, 能够为作物生长提供养分。硝化螺菌门是土壤中主要的硝化细菌, 而小麦是喜硝作物^[32], 因此施加粪肥可提高土壤中硝化螺菌门, 有利于促进土壤中NH₄⁺-N向NO₃⁻-N的转化, 进而为小麦提供有效养分。而施用虫粪的土壤中拟杆菌门的相对丰度显著低于施用猪粪处理。拟杆菌门主要来自畜禽肠道, 往往携带一些致病菌等^[29], 对土壤环境造成潜在的生态风险。本研究发现生物堆肥处理显著降低拟杆菌门的相对丰度, 这与Wang等^[27]对家蝇幼虫的研究结果相似, 但与Ao等^[33]对黑水虻的研究结果相反, 原因可能是不同腐食性动物肠道微生物组成及其与外源畜禽微生物作用方式不同有关。这一结果也再次证明白星花金

龟幼虫在畜禽有机废弃物转化中的潜在价值。

4 结论

(1)经白星花金龟幼虫转化后的虫粪和等氮量猪粪施用均显著提高了土壤养分(TC、TN、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、DOC、DON)含量,促进了小麦幼苗的生长,而施用虫粪处理的小麦氮肥利用率低于施用猪粪处理。

(2)土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、DOC、DON、TC、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TN含量是影响土壤细菌群落结构的主要环境因子。

(3)与施用猪粪相比,施用其生物堆肥产物对土壤细菌群落结构和多样性的影响不显著,这对维持土壤生态功能具有重要的参考价值。

致谢:感谢湖南农业大学沈维军教授在样品制备过程中的帮助,同时感谢中国科学院生态环境研究中心张丽梅研究员对论文工作的指导。

参考文献:

[1] 李莉, 杨昕润, 何家俊, 等. 我国畜禽粪便资源化利用的现状与展望[J]. 中国奶牛, 2020(11):55-60. LI L, YANG X J, HE J J, et al. The present situation and prospect of utilization technology of animal manure resources[J]. *China Dairy Cattle*, 2020(11):55-60.

[2] DU Y D, CUI B J, ZHANG Q, et al. Effects of manure fertilizer on crop yield and soil properties in China: A meta-analysis[J]. *Catena*, 2020, 193(5): 104617.

[3] 石晓晓, 郑国砥, 高定, 等. 中国畜禽粪便养分资源总量及替代化肥潜力[J]. 资源科学, 2021, 43(2):403-411. SHI X X, ZHENG G D, GAO D, et al. Quantity of available nutrient in livestock manure and its potential of replacing chemical fertilizers in China[J]. *Resources Science*, 2021, 43(2):403-411.

[4] 刘春, 刘晨阳, 王济民, 等. 我国畜禽粪便资源化利用现状与对策建议[J]. 中国农业资源与区划, 2021, 42(2):35-43. LIU C, LIU C Y, WANG J M, et al. The current situation of resource utilization of livestock and poultry manure in China and the countermeasures and suggestions[J]. *Chinese Journal of Agricultural Resources and Regional Planning*, 2021, 42(2):35-43.

[5] 潘丹, 孔凡斌. 养殖户环境友好型畜禽粪便处理方式选择行为分析——以生猪养殖为例[J]. 中国农村经济, 2015(9):17-29. PAN D, KONG F B. An analysis of raisers' choice behavior for environmental friendly modes to deal with excrement of domestic animal and fowls: Taking hog industry as an example[J]. *Chinese Rural Economy*, 2015(9):17-29.

[6] PETERSEN S O, SOMMER S G, BÉLINE F, et al. Recycling of livestock manure in a whole-farm perspective[J]. *Livestock Science*, 2007, 112(3):180-191.

[7] 王海候, 孟祥国, 金梅娟, 等. 蚯蚓生物消解尾菜废弃物工艺参数优化[J]. 农业资源与环境学报, 2019, 36(5):694-702. WANG H H, MENG X G, JIN M J, et al. Optimization of parameters of earthworm di-

gestion of vegetable waste[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2019, 36(5):694-702.

[8] 赵海涛, 狄霖, 刘平, 等. 蚯蚓生物床工程处理对牛粪性质的影响[J]. 农业工程学报, 2011, 27(9):255-259. ZHAO H T, DI L, LIU P, et al. Effect of earthworm bio-bed treatment on properties of cow manure[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2011, 27(9):255-259.

[9] 李辉信, 胡锋, 仓龙, 等. 蚯蚓堆制处理对牛粪性状的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(3):588-593. LI H X, HU F, CANG L, et al. Effect of vermicomposting on characteristics of cattle manure[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(3):588-593.

[10] 张志剑, 刘萌, 朱军. 蚯蚓堆肥及蝇蛆生物转化技术在有机废弃物处理应用中的研究进展[J]. 环境科学, 2013, 34(5):1679-1686. ZHANG Z J, LIU M, ZHU J. Organic waste treatment by earthworm vermicomposting and larvae bioconversion: Review and perspective[J]. *Environmental Science*, 2013, 34(5):1679-1686.

[11] ŠUSTR V, STINGL U, BRUNE A. Microprofiles of oxygen, redox potential, and pH, and microbial fermentation products in the highly alkaline gut of the saprophagous larva of *Penthetria holosericea* (Diptera: Bibionidae)[J]. *Journal of Insect Physiology*, 2014, 67:64-69.

[12] HUANG S W, ZHANG H Y, MARSHALL S, et al. The scarab gut: A potential bioreactor for bio-fuel production[J]. *Insect Science*, 2010, 17(3):175-183.

[13] 王先哲. 蚯蚓有机肥对土壤理化及其微生物群落演变的影响研究[D]. 杭州:浙江大学, 2020. WANG X Z. Effects of black soldier fly vermicompost on soil physicochemical and microbial community structure[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2020.

[14] VIVAS A, MORENO B, GARCIA-RODRIGUEZ S, et al. Assessing the impact of composting and vermicomposting on bacterial community size and structure, and microbial functional diversity of an olive-mill waste[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 100(3):1319-1326.

[15] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5):335-336.

[16] EDGAR R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19):2460-2461.

[17] EDGAR R C. UNOISE2: Improved error-correction for Illumina 16S and ITS amplicon sequencing[J]. *BioRxiv*, 2016:081257.

[18] R Core Team. R: A language and environment for statistical computing [R]. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2017.

[19] 田小燕, 宋福平, 张杰, 等. 饲喂玉米秸秆的白星花金龟幼虫肠道细菌多样性[J]. 昆虫学报, 2017, 60(6):632-641. TIAN X Y, SONG F P, ZHANG J, et al. Diversity of gut bacteria in larval *Protetia brevitarsis* (Coleoptera: Scarabaeidae) fed on corn stalk[J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2017, 60(6):632-641.

[20] 孙玉婷, 杨红云, 孙爱珍, 等. 水稻叶片 SPAD 值的高光谱估算模型[J]. 南方农业学报, 2020, 51(5):1062-1069. SUN Y T, YANG H Y, SUN A Z, et al. Hyperspectral estimation model for SPAD value of rice leaves[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(5):1062-1069.

[21] 杨小东, 曾希柏, 文炯, 等. 猪粪施用量对红壤旱地理化性质及酶

- 活性的影响[J]. 土壤学报, 2020, 57(3):739-749. YANG X D, ZENG X B, WEN J, et al. Effects of application of pig manure on physicochemical properties and enzyme activities of red soil upland [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2020, 57(3):739-749.
- [22] 刘泰, 王洪媛, 杨波, 等. 粪肥增施对水稻产量和氮素利用效率的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2022, 39(3):545-555. LIU T, WANG H Y, YANG B, et al. Effect of additional applications of manure on rice crop yield and nitrogen use efficiency[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2022, 39(3):545-555.
- [23] 巨晓棠. 氮肥有效率的概念及意义——兼论对传统氮肥利用率的理解误区[J]. 土壤学报, 2014, 51(5):921-933. JU X T. The concept and meanings of nitrogen fertilizer availability ratio: Discussing misunderstanding of traditional nitrogen use efficiency[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2014, 51(5):921-933.
- [24] LI Y M, FU T, GENG L L, et al. *Protactia brevitarsis* larvae can efficiently convert herbaceous and ligneous plant residues to humic acids [J]. *Waste Management*, 2019, 83:79-82.
- [25] LAZCANO C, GÓMEZ-BRANDÓN M, DOMÍNGUEZ J. Comparison of the effectiveness of composting and vermicomposting for the biological stabilization of cattle manure[J]. *Chemosphere*, 2008, 72(7):1013-1019.
- [26] SHARMA S K, RAMESH A, SHARMA M P, et al. Microbial community structure and diversity as indicators for evaluating soil quality [M]//LICHTFOUSE E. Biodiversity, biofuels, agroforestry and conservation agriculture. Dordrecht:Springer, 2010:317-358.
- [27] WANG H, SANGWAN N, LI H Y, et al. The antibiotic resistance of swine manure is significantly altered by association with the *Musca domestica* larvae gut microbiome[J]. *ISME Journal*, 2017, 11(1):100-111.
- [28] CARR E A, NELSON E B. Disease-suppressive vermicompost induces a shift in germination mode of *Pythium aphanidermatum* zoospores [J]. *Plant Disease*, 2014, 98(3):361-367.
- [29] ZHAO X, SHEN J P, SHU C L, et al. Attenuation of antibiotic resistance genes in livestock manure through vermicomposting via *Protactia brevitarsis* and its fate in a soil-vegetable system[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 807:150781.
- [30] WOLTERS B, JACQUIOD S, SØRENSEN S J, et al. Bulk soil and maize rhizosphere resistance genes, mobile genetic elements and microbial communities are differently impacted by organic and inorganic fertilization[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, 94(4):fy027.
- [31] FRANCIOLI D, SCHULZ E, LENTENDU G, et al. Mineral vs. Organic amendments: Microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7:1446.
- [32] 刘四义. 土壤氮素转化过程与作物氮吸收和氮损失的关系研究 [D]. 南京:南京师范大学, 2019. LIU S Y. Study of the relationship between soil N transformation process and crops N uptake and N loss [D]. Nanjing:Nanjing Normal University, 2019.
- [33] AO Y, YANG C R, WANG S C, et al. Characteristics and nutrient function of intestinal bacterial communities in black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) larvae in livestock manure conversion[J]. *Microbial Biotechnology*, 2021, 14(3):886-896.