

王瑞丽,施蕊,雷娥,等. 澳洲坚果种植地土壤固氮微生物群落结构和多样性[J]. 江苏农业科学,2023,51(8):211-217.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.08.030

澳洲坚果种植地土壤固氮微生物群落结构和多样性

王瑞丽¹, 施蕊², 雷娥³, 李雕益¹, 包书军¹, 熊智⁴

(1. 西南林业大学生命科学学院, 云南昆明 650224; 2. 西南林业大学绿色发展学院, 云南昆明 650224;

3. 西南林业大学生物多样性保护学院, 云南昆明 650224; 4. 西南林业大学继续教育学院, 云南昆明 650224)

摘要:采用 qPCR 和高通量测序技术对固氮相关基因(*nifH*)进行检测,探究农业果园经营形式下土壤固氮微生物的群落结构、多样性及其影响因素。结果表明,种植地 pH 值在 5.0 左右,属于典型的酸性土。综合分析发现,澳洲坚果园种植地带养分含量明显升高,并且种植区域养分含量也存在较大差异,说明土壤肥力分布不均。与未种植区域相比,种植区域固氮细菌(相关基因 *nifH*)群落丰富度和多样性指数均呈下降趋势。变形菌门(Proteobacteria)为含 *nifH* 基因的固氮细菌群落优势菌门,相对丰度为 18.21% ~ 79.69%,并且种植使土壤固氮菌群落结构发生了改变。实时荧光定量 PCR 结果表明,固氮相关基因(*nifH*)拷贝数在 $7.325 \times 10^6 \sim 5.120 \times 10^7$ 之间。土壤理化因素与功能基因拷贝数相关性结果表明,*nifH* 基因拷贝数与 AK、OP、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、TN、OM 等的含量均呈极显著负相关。澳洲坚果种植地中固氮细菌以变形菌门(Proteobacteria)为最优势的菌群,这为澳洲坚果种植地土壤肥力恢复和固氮微生物的开发利用提供了理论支持。

关键词:澳洲坚果园;qPCR;高通量测序;固氮细菌;*nifH*;群落结构;多样性

中图分类号: S154.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2023)08-0211-06

氮元素是植物生长的必需营养元素之一,对植物光合作用和增产起关键作用^[1]。土壤固氮微生物是一类能将大气中游离氮转化为含氮有机物的原核微生物,其数量和群落结构的变化与土壤氮素循环密切相关^[2-3]。固氮微生物的固氮作用主要依靠其体内的固氮酶,它们都依赖于 *nifH* 编码固氮酶铁蛋白亚基的基因,可广泛用于检测不同环境下固氮作用的基因^[4]。大量 *nifH* 基因的研究表明,土壤有机质和氮肥会显著影响固氮微生物的物种数量和群落多样性^[5]。田永辉等的研究表明,种植年限会影响茶树根际固氮微生物的群落组成和多样性^[6]。陈秀波研究发现,植被种类、土壤理化性质、土壤施肥措施等因素会影响固氮微生物群落和多样性的变化^[7]。张苗苗等分别利用荧光定量 PCR 和末端限制性片段长度多样性(T-RFLP)技术研究了长期不同施肥处理对固氮基因的丰度和群落

多样性的影响,结果表明,与不施肥处理相比,稻草还田和施氮磷钾(NPK)处理都能显著增加固氮基因的丰度,而秸秆配施 NPK 处理的 *nifH* 基因丰度最高,因而可以增加土壤固氮能力;此外,长期不同施肥处理显著改变了群落结构,但是对群落多样性没有显著改变^[8]。Wu 等研究了施氮量和水稻品种对根系固氮细菌多样性的影响,结果表明,氮肥和水稻品种都会显著影响根系土壤固氮微生物的群落结构, β -变形菌是最主要的水稻根系固氮菌,施用氮肥会显著降低 α -变形菌的相对丰度^[9]。Tan 等的 T-RFLP 研究结果表明,施氮肥 15 d 后水稻根系固氮微生物群落迅速发生改变,即固氮微生物群落受到氮肥的影响,环境条件和水稻品种对根系固氮微生物群落有显著影响^[10]。固氮的富集改变了功能性固氮基因的丰度,固氮菌的数量越大,根际氮输入量越大,有利于植物入侵。大量林地生态系统研究表明,氮循环微生物受 pH 值、土层深度和季节等因素影响。柳建银研究发现,同一领域的红树林土壤样品中,固氮微生物群落组成存在差异^[11]。Mergel 等通过靶定 *nifH* 基因,探究德酸性林地土壤固氮细菌种群,发现固氮菌群数量在 0 ~ 5 cm 土层最高,并随土壤深度增加而降低^[12]。Zhou 等的研究表明,温度对森林土壤功能菌群变化方面比其他

收稿日期:2021-10-13

基金项目:国家自然科学基金(编号:3166010405);云南省重大科技专项(编号:202002AA1007)。

作者简介:王瑞丽(1995—),女,贵州安顺人,硕士研究生,主要从事澳洲坚果功能微生物研究。E-mail:1393384429@qq.com。

通信作者:熊智,博士,教授,主要从事微生物学和分子生物学研究。E-mail:zhix-swfu@qq.com。

拟议的环境驱动因素起着更主要的作用^[13]。

云南省是我国最大的澳洲坚果种植区,主要分布于西双版纳、普洱、临沧、保山、德宏等地市州。目前,澳洲坚果已经成为云南部分地区脱贫攻坚、乡村振兴的重点产业之一^[14]。云南省近年大力发展高效林果业,目的是改善澳洲坚果林的生态环境,最终实现澳洲坚果优质高产。并且,澳洲坚果树是云南省主要代表果树种之一,具有滋养水土的作用,对土壤肥力改善和土壤生态恢复具有积极的影响。目前关于人工农业果林生态系统中土壤固氮微生物的研究相对缺乏。

本研究以未种植澳洲坚果树区域与种植区域土壤为研究对象,探讨了种植澳洲坚果树对土壤理化性质、土壤养分和群落特征等方面的影响,并且从基因水平上进一步研究土壤微生物营养元素循

环提供参考。另外,可以比较种植地再利用方式的效果,为生态修复、功能微生物开发与利用、土壤肥力恢复等提供科学基础。

1 材料与方法

1.1 土壤样品的采集与处理

土壤样品于 2019 年 6 月在云南省江城县嘎勒村澳洲坚果种植基地采集。树种选取 2013 年种植的澳洲坚果树,土壤采集方法是按“S”形路线取样法,土壤深度为 5~30 cm,每棵树分别在东西南北 4 个方向采集等量的土样,并去除土样中的杂质,混匀后装入高温灭菌的采样袋中,分装 2 袋,一袋放在-80℃冰箱保存,另一袋 4℃保存用于测定土壤养分。共取 4 个区域的土样,A0 表示非种植区域的土样,A1、A2、A3 代表种植地带的土样(表 1)。

表 1 土壤样品概况

土样编号	海拔(m)	地理坐标	土壤深度(cm)	取样树的胸径(cm)
A0	1 223.85~1 230.22	22°60′51.2″N,101°98′7.6″E	5~30	—
A1	1 223.85~1 227.41	22°29′57.2″N,101°98′7.6″E	5~30	8.69
A2	1 268.61~1 260.49	22°32′51.3″N,101°99′8.1″E	5~30	8.86
A3	1 310.61~1 315.22	22°49′51.2″N,101°96′8.8″E	5~30	8.59

1.2 试验方法

1.2.1 土壤养分测定 土壤 pH 值:分别取 1 袋土样置于 pH 值为 4.01、6.86、9.18 的标准缓冲液中,蒸馏水定容至 100 mL,摇匀即配制成相应的标准液,然后使用智能型汉显多功能养分速测仪测定土壤 pH 值。

土壤速效钾(AK)、有效磷(OP)、铵态氮(NH₄⁺-N)和有机质(OM)含量:根据智能型汉显多功能养分速测仪所提供的试剂配制标准溶液,使用特定的显色剂与标准溶液发生显色反应,然后按照相应的操作步骤测定其含量。

硝态氮(NO₃⁻-N)含量:取 5 g 风干土样于三角瓶内,加入 0.5 g CaSO₄·2H₂O 和 100 mL 蒸馏水,盖塞后在振荡机上振荡 10 min。放置 5 min 后将上清液过滤于干燥洁净的三角瓶内。吸取 25 mL 上清液于 100 mL 显色管中,分别加入 0.05 g CaCO₃、酚二磺溶液 2 mL、纯水 10 mL,1:1 氨水先加至溶液呈黄色,再补加 3 mL,定容至 100 mL 后在分光光度计上于 410 nm 处比色。

1.2.2 土壤固氮微生物群落结构和丰度的测定

1.2.2.1 DNA 提取 从-80℃冷柜中称取根际土壤 0.2 g,按照土壤总 DNA 提取试剂盒的步骤提取总 DNA,DNA 纯度和浓度用 NanoDrop2000 进行检测,DNA 提取效果用琼脂糖凝胶电泳技术检测,检测能跑出清晰条带的 DNA 方可进行下一步试验。

1.2.2.2 高通量分析 根据查得的固氮作用 *nifH* 引物序列扩增要求,对提取成功的土壤总 DNA 进行 PCR 试验,每个样品 3 个重复。正向引物 F:5′-AAAGGYGGWATCGGYAARTCCACCAC-3′;反向引物 R:5′-TTGTTSGCSGCRTACATSGCCATCAT-3′。PCR 反应体系:5×FastPfu Buffer 缓冲液 4 μL,2.5 mmol/L dNTPs 2 μL,正反向引物各 0.8 μL,FastPfu 聚合酶 0.4 μL,BSA 0.2 μL,DNA 模板 10 ng,双蒸水补至 20 μL。PCR 反应条件:95℃ 3 min;95℃ 30 s,53℃ 30 s,75℃ 45 s,37 个循环;72℃ 10 min,4℃保存。由上海美吉生物医药科技有限公司利用美吉生物服务平台完成氮循环功能基因的测序。

1.2.2.3 实时荧光测定 PCR 标准曲线制备:每个功能基因实时荧光定量的质粒均按照 10 倍稀释梯

度建立,90 μL 稀释液和 10 μL 质粒,通过对各功能基因预试验,*nifH* 功能基因取 $10^{-8} \sim 10^{-2}$ 稀释液绘制。反应体系共 20 μL:qPCR 反应混合物 16.5 μL,上下游引物 0.8 μL,DNA 模板 2 μL。PCR 循环条件:95 ℃ 3 min;95 ℃ 5 s,58 ℃ 30 s,75 ℃ 1 min,40 个循环。完成 DNA 聚合酶链式反应后,将所有样本放入荧光定量 PCR 仪中反应。定量 PCR 反应完成后设置溶解曲线用以检验产物的特异性。

1.2.2.4 结果计算 拷贝数(copies/μL) = DNA 浓度 (ng/μL) × $10^{-9} \times 6.02 \times 10^{23}$ / (分子量 × 660),式

中分子量指载体的大小加上目的基因的片段大小。

2 结果与分析

2.1 土壤指标分析

由表 2 可知,未种植区域土壤中 AK、OP、NH₄⁺ - N、NO₃⁻ - N、TN、OM 含量明显低于种植区域,差异显著($P < 0.05$);种植区域各土样除 TN 含量差异不显著外,其他理化指标都存在显著差异($P < 0.05$),说明种植区土壤肥力不均。

表 2 土壤理化性质

土样编号	pH 值	AK 含量 (mg/kg)	OP 含量 (mg/kg)	NH ₄ ⁺ - N 含量 (mg/kg)	NO ₃ ⁻ - N 含量 (mg/kg)	TN 含量 (g/kg)	OM 含量 (g/kg)
A0	5.28 ± 0.15a	152.36 ± 22.27a	7.10 ± 0.19a	2.39 ± 0.17a	2.77 ± 0.08a	0.46 ± 0.71a	25.71 ± 0.71a
A1	5.13 ± 0.01a	333.78 ± 34.70c	14.93 ± 0.80b	5.12 ± 0.20d	6.72 ± 0.44c	1.04 ± 0.09b	33.66 ± 0.09b
A2	5.19 ± 0.02a	313.27 ± 3.56c	8.66 ± 1.26a	4.58 ± 0.38c	5.44 ± 0.38b	0.89 ± 0.08b	35.73 ± 0.08c
A3	5.20 ± 0.02a	220.84 ± 43.40b	15.10 ± 1.31b	4.11 ± 0.03b	6.15 ± 0.72bc	0.90 ± 0.07b	40.24 ± 0.54d

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 参与固氮作用的 *nifH* 基因群落结构和多样性

2.2.1 *nifH* 基因群落分类和多样性 高通量测序结果(表 3)显示,在种植区域与未种植区域中一共得到 74 397 条有效序列,其中未种植区域得到 13 661 条有效序列,种植区域每个样本平均获得 20 245 条,测序量能够满足后续的分析需要。未种植区域有效序列条数明显低于种植区域,操作分类单元(OTU)数量明显高于种植区域。所采土样覆盖度均在 99.59% 以上,说明土样中的固氮细菌均能被检测到,即所测土样中固氮细菌可以完全反映土样情况。

表 3 固氮作用 *nifH* 基因测序结果

土样编号	序列数(条)	OTU 数量(个)	覆盖率
A0	13 661	874	0.995 901
A1	20 445	467	0.996 772
A2	20 482	379	0.997 022
A3	19 809	424	0.998 183

根据相似度对所获得的有效序列进行 OTU 划分。所有样本序列共分为 1 334 种 OTU,通过与 *nifH* 型数据库比对,这 1 334 种 OTU 分别归属于 3 域 3 界 8 门 13 纲 21 目 25 科 29 属 38 种。从总体来看,未种植区域固氮作用 *nifH* 基因 OTU 数量最多,说明种植会降低 OTU 数量,种植区域各土样 OTU 数量间也存在显著差异,说明土壤肥力不均。

由各样本的多样性指数(表 4)可知,未种植区域参与固氮作用的 *nifH* 基因的物种丰富度指数明显比种植区域高,说明种植会降低物种丰富度。与未种植区域相比,种植区域物种多样性指数明显降低,并且种植区域间也存在差异,说明种植区域由于长期大量施氮造成土壤肥力相差较大,从而降低了固氮微生物 *nifH* 的多样性。从 2 个均匀度指数可以看出,种植区域土壤的均匀度低于未种植区域,表明种植会降低固氮细菌 *nifH* 的均匀度,同时种植区域之间也存在差异,有可能是施肥不均造成。

表 4 固氮作用 *nifH* 基因物种多样性指数

土样编号	丰富度			物种多样性 Shannon 指数	均匀度	
	Sobs 指数	Ace 指数	Chao 指数		Shannoneven	Simpson even
A0	874	898.881 7	881.196 3	5.516 802	0.814 519	0.103 63
A1	467	502.619 9	496.383 6	4.135 448	0.672 832	0.054 015
A2	379	412.077 3	412.272 7	3.298 567	0.555 545	0.026 493
A3	424	440.571 5	440.578 9	4.675 846	0.772 901	0.112 438

2.2.2 *nifH* 基因韦恩图 为了便于比较,对种植区域与未种植区域所采土样进行核心 OTU 分析(即在给定组内所有样品之间共享 OTU),它们对应于 4 组,包括未种植区域(A0)、种植区域(A1、A2、A3)(图 1)。未种植区域仅有 526 个核心 OTU 局限于单独的组,而种植区域分别有 129、78、102 个核心 OTU 分别局限于单独的组,共有 89 个核心 OTU 为所有组共享的,种植区域中所采样本与未种植区域共享的 OTU 分别为 205、182、246 个,说明种植澳洲坚果树会严重影响土壤固氮微生物群落的相似性。

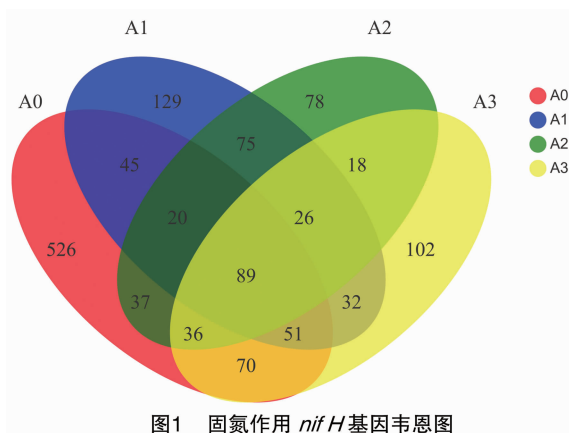


图1 固氮作用 *nifH* 基因韦恩图

2.2.3 *nifH* 基因的群落柱形图 由图 2 可知,在门水平上,固氮作用 *nifH* 基因的群落共有 8 类物种组成,其中变形菌门(Proteobacteria)是主要物种,在各个土样中的相对丰度介于 18.21% ~ 79.69% 之间,尤其在 A0、A3 土样中分别达到 68.44%、79.69%,而在 A1、A2 土样中分别只有 18.21%、38.70%。其次是未分类的物种,相对丰度范围为 17.60% ~ 81.29%,所占比例只比变形菌门低 15.22%。在 A1、A2、A3 土样中还分布着蓝藻门(Cyanobacteria),

相对丰度分别为 0.13%、0.32%、0.18%,同时在 A3 土样中还发现了厚壁菌门(Firmicutes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)和广古菌门(Euryarchaeota),相对丰度分别为 0.05%、0.14%、0.02%。

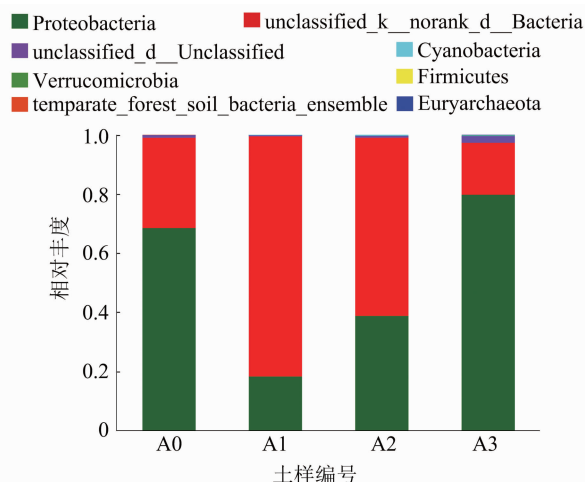


图2 固氮作用 *nifH* 基因门群落组成

由图 3 可知,在所有样本中均以未分类的物种相对丰度最高,未种植区域可达 30.58%,种植区域最高可达 81.29%,最低是 17.60%;其次是变形菌门(Proteobacteria),未种植区域丰度可达 22.18%,种植区域最高可达 33.17%,最低是 4.10%。种植区域红微菌属(*Rhodomicrobium*)的相对丰度明显比未种植区域高,未种植区域的相对丰度为 9.3%,而种植区域的分别为 2.15%、27.53%、17.13%。未种植区域未分类根瘤菌目(Rhizobiales)的相对丰度明显比种植区域高,其在未种植区域的相对丰度为 18.25%,而种植区域分别为 0.90%、4.46%、5.34%。总体而言,种植会影响土壤固氮微生物的群落组成和群落间的丰度。

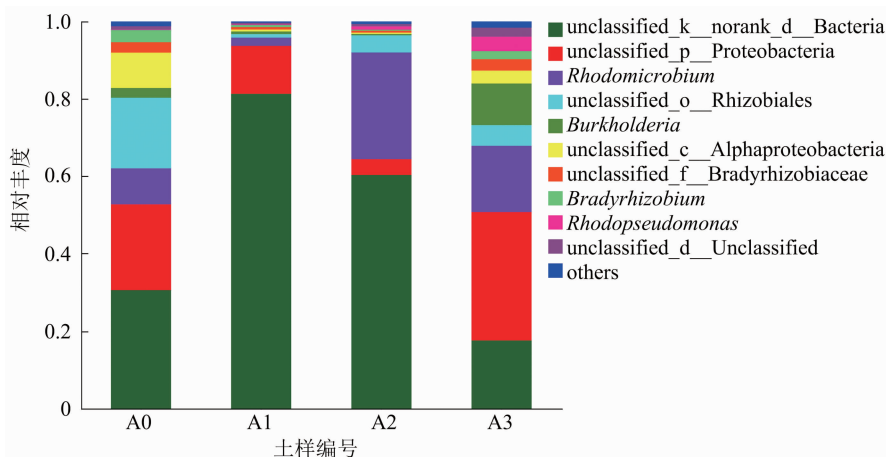


图3 固氮作用 *nifH* 基因属群落组成

3 讨论与结论

本研究表明,种植地带固氮基因 *nifH* 的多样性和丰富度显著降低,种植地带长期施肥显著影响了含 *nifH* 基因的固氮细菌群落结构。取样时避开施肥区域,但种植区域群落结构还是存在差异,说明土壤肥力是区分不同群落结构的最主要因素之一。变形菌门(Proteobacteria)为含 *nifH* 基因的固氮细菌群落优势菌门,相对丰度为 18.21% ~ 79.69%。此外,在种植区域均发现蓝藻门(Cyanobacteria)的固氮菌群,这与江西红壤中的研究结果^[15]相似。董志新等的研究表明,固氮微生物的多样性受土壤因素和种植条件的影响^[16]。Hai 等的研究表明,高粱秸秆与牛粪配施能增加固氮菌的数量,促进土壤氮素的固定,降低氮素的损失^[17]。Wang 等发现,表层土壤的土壤有机碳(SOC)含量和铵态氮的浓度与固氮细菌的群落结构有显著的正相关关系,这说明土壤理化性质对表层土壤固氮细菌的群落具有选择性^[18]。Sharma 等也发现,土壤湿度、有机质含量和矿质氮的浓度是影响固氮细菌群落结构和丰度的主要因素^[19]。

本研究通过对固氮细菌实时荧光定量分析,发现澳洲坚果种植地固氮相关基因(*nifH*)拷贝数在 $7.325 \times 10^6 \sim 5.120 \times 10^7$ 之间,孟晗研究发现旱地土壤中细菌的拷贝数在 10^6 左右^[20],两者结果基本一致。本研究还发现种植澳洲坚果会明显降低固氮菌群 *nifH* 的基因拷贝数,种植区域较未种植区域基因拷贝数呈明显的下降趋势,这可能是由于施肥造成的,这与李帆研究青藏高原高寒草甸土壤中自生固氮细菌群落组成的结果^[21]一致。

本研究表明,种植区域土壤养分含量明显比未种植区域高。土壤固氮微生物丰度与养分元素的相关性分析结果表明,速效钾、有效磷、铵态氮、硝态氮、全氮、有机质含量对 *nifH* 基因拷贝数具有极显著的影响,并且对基因拷贝数呈负相关性,这与李帆研究土壤中自生固氮微生物的群落结构^[21]一致。兰鸿珠等研究湿地盐节木泥土中固氮细菌的群落结构和功能基因拷贝数,发现功能基因拷贝数与硝态氮、速效氮含量等存在相关性^[22]。

本研究为研究和利用澳洲坚果种植地中的固氮细菌提供了基础依据。另一方面可以比较澳洲坚果种植地再利用方式的效果,为生态修复、固氮微生物开发与利用、土壤肥力恢复等提供科学基础。

参考文献:

- [1] 马雪峰,高 旻,程治军. 植物氮素吸收与利用的分子机制研究进展[J]. 作物杂志,2013(4):32-38.
- [2] Song X Z, Li Q, Gu H H. Effect of nitrogen deposition and management practices on fine root decomposition in Moso bamboo plantations[J]. Plant and Soil,2017,410(1/2):207-215.
- [3] Jetten M S M. The microbial nitrogen cycle[J]. Environmental Microbiology,2008,10(11):2903-2909.
- [4] Zehr J P, Jenkins B D, Short S M, et al. Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison[J]. Environmental Microbiology,2003,5(7):539-554.
- [5] 张 晶,林先贵,尹 睿. 参与土壤氮素循环的微生物功能基因多样性研究进展[J]. 中国生态农业学报,2009,17(5):1029-1034.
- [6] 田永辉. 不同树龄茶树根际固氮菌组成及多样性研究[J]. 福建茶叶,2000,22(3):19-21,54.
- [7] 陈秀波. 不同林型红松林土壤微生物群落组成和多样性及与理化性质关系[D]. 哈尔滨:东北林业大学,2020.
- [8] 张苗苗,刘 毅,盛 荣,等. 稻草还田对水稻土固氮基因(*nifH*)组成结构和多样性的影响[J]. 应用生态学报,2013,24(8):2339-2344.
- [9] Wu L Q, Ma K, Lu Y H. Prevalence of betaproteobacterial sequences in *nifH* gene pools associated with roots of modern rice cultivars[J]. Microbial Ecology,2009,57(1):58-68.
- [10] Tan Z Y, Hurek T, Reinhold-Hurek B. Effect of N-fertilization, plant genotype and environmental conditions on *nifH* gene pools in roots of rice[J]. Environmental Microbiology,2003,5(10):1009-1015.
- [11] 柳建银. 红树林根际土壤固氮细菌和功能基因 *nifH* 的多样性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2009.
- [12] Mergel A, Schmitz O, Mallmann T, et al. Relative abundance of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in layers of a forest soil[J]. FEMS Microbiology Ecology,2001,36(1):33-42.
- [13] Zhou J, Deng Y, Shen L, et al. Temperature mediates continental-scale diversity of microbes in forest soils[J]. Nature Communications,2016,7:12083.
- [14] 杨丽萍,岳 海,何双凌,等. 云南澳洲坚果园土壤和叶片养分评价[J]. 热带作物学报,2021,42(8):2269-2274.
- [15] Teng Q H, Sun B, Fu X R, et al. Analysis of *nifH* gene diversity in red soil amended with manure in Jiangxi, South China[J]. The Journal of Microbiology,2009,47(2):135-141.
- [16] 董志新,孙 波,殷士学,等. 气候条件和作物对黑土和潮土固氮微生物群落多样性的影响[J]. 土壤学报,2012,49(1):130-138.
- [17] Hai B, Diallo N H, Sall S, et al. Quantification of key genes steering the microbial nitrogen cycle in the rhizosphere of sorghum cultivars in tropical agroecosystems[J]. Applied and Environmental Microbiology,2009,75(15):4993-5000.
- [18] Wang J C, Zhang D, Zhang L, et al. Temporal variation of diazotrophic community abundance and structure in surface and

张京社,陈园园,阎世江. 多年秸秆覆盖对设施蔬菜土壤养分及微生物多样性的影响[J]. 江苏农业科学,2023,51(8):217-222.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.08.031

多年秸秆覆盖对设施蔬菜土壤养分及微生物多样性的影响

张京社¹, 陈园园¹, 阎世江²

(1. 山西农业大学食品科学与工程学院, 山西太原 030031; 2. 山西农业大学园艺学院, 山西太原 030031)

摘要: 秸秆覆盖是一项新兴的农田覆盖技术,与地膜覆盖相比较具有蓄水保墒、提高土壤肥力、减缓土壤温度随季节性变化产生变化的优势。探究长期秸秆覆盖对土壤养分、蔬菜产量、土壤微生物多样性的影响,对于设施蔬菜生产具有重要意义。选取连续 6 年种植越冬茬蔬菜的日光温室,采用番茄—黄瓜轮作方式,设地膜覆盖(CK)、秸秆覆盖 2 个处理,调查土壤养分含量及蔬菜产量。采用高通量测序方法分析土壤微生物丰度(16S rDNA 基因拷贝数)、 α 多样性和 β 多样性,分析主要功能种群的丰度在处理间的差异。结果发现,秸秆覆盖处理使土壤有机质、全氮、有效磷、速效钾含量及 EC 值上升,使 pH 值趋于中性,提高土壤养分含量,对蔬菜生长发育有利,进一步使蔬菜产量上升;采用塑料地膜覆盖处理,有机质含量基本不变,全氮、有效磷、速效钾含量上升缓慢,EC 值下降,pH 值上升。秸秆覆盖处理后土壤微生物的拷贝数达 2 305 个,地膜覆盖处理达 1 985 个,经 α 多样性分析发现,秸秆覆盖处理的 Shannon 指数达 8.9,地膜处理达 8.5。 β 多样性分析发现,地膜覆盖处理、秸秆覆盖处理后的微生物群落种类、丰度均不同,说明多年来的不同覆盖处理改变了微生物群落结构,两者出现分离。2 个处理得到的土壤微生物主要有伽玛变形杆菌门、 α 变形杆菌门、拟杆菌门、变形杆菌门、分组 6 门、红温病门、厌食线虫科、宝石单胞菌门及其他,与 CK 相比,除厌食线虫科及其他微生物外,秸秆覆盖处理的 8 种微生物的相对丰度均较地膜覆盖处理的高。10 个丰度较高的功能种群中,发酵作用的丰度最高,2 个处理分别达 20.21%、25.24%;化能异养和固氮作用种群的丰度次之,为 8.57%~11.00%;叶绿体固氮、硝化作用、硝酸盐还原、光养作用、亚硝酸盐氧化、光养作用的丰度在 10% 以下;另外有 11%~24% 的功能尚不明确。表明秸秆覆盖提高了土壤养分、蔬菜产量及土壤中微生物的数量和多样性,减少白色污染,降低成本,对蔬菜生长有利。

关键词: 秸秆覆盖; 土壤养分; 产量; 微生物; 多样性; 蔬菜; 日光温室

中图分类号: S630.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2023)08-0217-06

农田覆盖是一种重要的农业生产技术^[1-2],可以降低农田水分无效蒸发,提高用水效率及土壤养

分,我国劳动人民早在 2 000 多年前就开始应用这项技术^[3-5]。20 世纪 50 年代,日本等国家开始推广塑料薄膜覆盖技术,我国于 20 世纪 70 年代从国外引进后进行试验,后在全国开始推广。近年来,在设施蔬菜生产中该技术得到大规模的应用。地膜覆盖具有增温、保墒的作用,但也存在一些问题,如使用之后不易降解、对土壤环境有影响等。秸秆覆盖是一项新兴的农田覆盖技术,是指待作物成熟收获后,将秸秆粉碎后均匀覆盖在土壤表面,以替代塑料地膜的方法,其作用有蓄水保墒、提高土壤

收稿日期:2022-06-01

基金项目:山西省农业综合开发科技推广项目;山西农业大学学术恢复科研专项(编号:2020xshf29)。

作者简介:张京社(1962—),男,山西临猗人,博士,研究员,主要从事设施蔬菜栽培及果蔬采后贮藏保鲜研究。E-mail: jingshez@163.com。

通信作者:阎世江,博士,副研究员,主要从事蔬菜遗传育种研究。E-mail: syauyan@163.com。

subsoil under four fertilization regimes during a wheat growing season [J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2016, 216: 116-124.

[19] Sharma S, Singh D K. Temporal variations in diazotrophic communities and *nifH* transcripts level across the agricultural and fallow land at Jaipur, Rajasthan, India [J]. Indian Journal of Microbiology, 2017, 57(1): 92-99.

[20] 孟 晗. 长三角地区土壤不同发育阶段微生物群落结构的变化 [D]. 上海: 复旦大学, 2011.

[21] 李 帆. 不同管理模式对青藏高原高寒草甸土壤中自生固氮微生物群落结构影响的研究 [D]. 兰州: 兰州大学, 2014.

[22] 兰鸿珠, 胡文革, 杨 扬, 等. 艾比湖湿地盐节木土壤固氮微生物群落结构和丰度的环境异质性特点 [J]. 微生物学通报, 2019, 46(7): 1597-1610.