

稻秸秆沼液耦合对小麦农艺性状和土壤真菌多样性影响

王礼伟^{1*}, 赵晨¹, 周刚^{1#}, 尤杰¹, 陶浩^{2#}

¹江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所, 江苏 淮安

²淮安市农业农村局, 江苏 淮安

收稿日期: 2023年12月18日; 录用日期: 2024年1月15日; 发布日期: 2024年1月23日

摘要

为研究水稻秸秆沼液耦合对小麦农艺性状和土壤真菌多样性影响, 采用IlluminaNovaseq高通量测序技术, 分析了等量氮素肥料处理下水稻秸秆全量还田结合化肥(S-CF)、秸秆全量还田结合沼液(S-BS)、全量沼液(BS)、全量化肥(CF)和空白处理(CK)条件下真菌群落结构。结果显示, 灌浆期的株高方面和茎基宽方面, S-BS、BS处理相对低于化肥的组合处理。S-CF处理理论产量最高, 但是与CF、S-BS处理无显著差异。联合施肥的S-CF、S-BS处理均能够提高物种的丰富度和多样性。结果表明, 水稻秸秆与沼液耦合对小麦农艺性状、土壤真菌影响与化肥处理存在一定的异同, S-BS能够保证一定的理论产量和土壤真菌的丰富度和多样性, 该结果可为地方建立科学合理的秸秆还田配施有机肥方案提供理论依据。

关键词

秸秆, 沼液, 小麦, 农艺性状, 真菌多样性

Effects of Rice Straw and Biogas Slurry Coupling on Wheat Agronomic Traits and Soil Fungal Diversity

Liwei Wang^{1*}, Chen Zhao¹, Gang Zhou^{1#}, Jie You¹, Hao Tao^{2#}

¹Huaiyin Institute of Agricultural Sciences in Jiangsu Province Xuhuai District, Huai'an Jiangsu

²Huai'an Agriculture and Rural Bureau, Huai'an Jiangsu

Received: Dec. 18th, 2023; accepted: Jan. 15th, 2024; published: Jan. 23rd, 2024

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 王礼伟, 赵晨, 周刚, 尤杰, 陶浩. 稻秸秆沼液耦合对小麦农艺性状和土壤真菌多样性影响[J]. 农业科学, 2024, 14(1): 40-46. DOI: 10.12677/hjas.2024.141007

Abstract

To study the effects of coupling rice straw with biogas slurry on wheat agronomic traits and soil fungal diversity, Illumina Novaseq high-throughput sequencing technology was used to analyze the fungal community structure under the conditions of equal nitrogen fertilizer treatment with rice straw full return combined fertilizer (S-CF), straw full return combined biogas slurry (S-BS), full biogas slurry (BS), full fertilizer (CF), and blank treatment (CK). The results showed that in terms of plant height and stem base width during the filling period, the S-BS and BS were relatively lower than the combination of chemical fertilizers. The theoretical yield of S-CF is the highest, but there is no significant difference compared to CF and S-BS. Both S-CF and S-BS can enhance species richness and diversity. The results indicate that there are certain similarities and differences on agronomic traits of wheat, soil fungi between the coupling of rice straw and biogas slurry with fertilizer treatment. S-BS can ensure a certain theoretical yield and the richness and diversity of soil fungi. This result can provide a theoretical basis for establishing a scientific and reasonable straw return and organic fertilizer fertilization plan in local areas.

Keywords

Straw, Biogas Slurry, Wheat, Agronomic Traits, Fungal Diversity

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

我国虽然拥有全世界相对较少的耕地面积，但是却占据了全世界三分之一的氮肥施用量[1]。作物秸秆不仅含有丰富的有机碳，还含有氮、磷、钾等农作物生长所需的营养元素，是土壤微生物和作物的氮源之一[2]。秸秆还田可以改善土壤结构、提高氮素利用效率、促进氮素矿化[3] [4]。我国每年产出的秸秆量约有 8 亿吨，但是秸秆还田平均利用率为 32%，严重低于英国的 73%、美国的 68% [5] [6]。沼液是畜禽粪便、作物秸秆、能源植物等发酵处理产生的产物之一，同样含有大量的营养物质、矿物质、维生素等，是一种液体有机肥料[7]。沼液替代化肥可明显降低环境污染、降低种植成本。土壤微生物承担作物生长、土壤固氮和防病等功能，尤其是真菌，参与蛋白质、腐殖质形成和分解、进行氨化和硝化作用，对于维持土壤稳态和土壤肥力具有重要作用[8]。小麦是我国主要的粮食作物，因此在确保小麦稳产、土壤健康的前提下，探索秸秆还田配合沼液施用，促进作物稳产、土壤质量改善具有重要意义。

针对于施肥类型、轮作模式等对小麦生长的影响，不同处理对小麦产量、丛枝菌根真菌、根腐病等因素均存在一定的差异[9] [10]，本研究通过“等氮”思路构建化肥、沼液及秸秆组合的试验处理，分析不同处理对小麦产量、土壤微生物多样性的影响，期望推进国家化肥农药“双减”工作的开展实施，为农业生态系统可持续发展提供科学依据。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

以小麦“淮麦 33”为试验材料，水稻秸秆与土壤均取自涟水高沟镇试验基地，秸秆不做任何操作(收

割机已打碎处理), 土壤碾碎至颗粒不超过 1.0 cm^3 。沼液取自基地周边生猪养殖场, 土壤及沼液理化性质下表所示(表 1)。

Table 1. Basic physicochemical properties of soil and biogas slurry
表 1. 耕层土壤及沼液的基本理化性质

样品	pH	有机质 ($\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	全氮 ($\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	氨氮 ($\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	全磷 ($\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	有效钾 ($\text{g}\cdot\text{Kg}^{-1}$)	田间持水量 (%)	土壤质地
土壤 soil	7.72	22.31	4.02	1.41	1.22	0.61	263.01	黄潮土
沼液 Biogas slurry	8.20	38.79	0.84	0.58	1.29	1.46	—	—

2.2. 试验设计

2022 年 10 月 30 日进行小麦播种处理。计算单位面积水稻秸秆重量, 并进行秸秆含氮量计算(水稻秸秆单位重量测算为 $7625 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$, 全氮含量为 $5.9 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), 最后计算秸秆含氮量占常规化肥施用量中全氮的占比(以小麦产量 550 kg 测算, 常规施化肥为 $15\% \sim 15\% \sim 15\%$ [1]的 NPK 酸性复合肥, 施氮量为 $276.45 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$), 剩余施氮量由沼液或秸秆补充(水稻秸秆含氮量即为 $7625 \times 5.9 = 45.0 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$, 其含氮量在常规施肥总施氮量 $276.45 \text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 中占比为 16.28%)。试验设置 5 个处理组: 1) 对照组(不秸秆还田, 不施沼液, 不施化肥, 记为 CK); 2) 化肥处理组(100%化肥 N, 记为 CF); 3) 秸秆全量还田 + 化肥处理(16.28% 秸秆 N, 83.72%化肥 N, 记为 S-CF); 4) 秸秆全量还田 + 沼液处理(16.28%秸秆 N, 83.72%沼液 N, 记为 S-BS); 5) 沼液组(100%沼液 N, 记为 BS)。其中, 肥料运筹比例为基肥: 追肥 = 1:1 进行管理施用, 每处理重复 3 次。试验小区面积为 $4 \text{ m} \times 7 \text{ m}$ 。小区种植管理常规进行。

2.3. 测定项目及方法

1) 株高、茎基宽在小麦生长的拔节期、孕穗期和灌浆期随机选取具有代表性的植株, 分别测量株高、茎基宽指标。

2) 小麦产量待小麦成熟后, 各处理组随机选取 1 m^2 进行产量测定, 3 次重复并取平均值, 然后进行理论产量分析。

3) 土壤总 DNA 提取使用 MoBio PowerSoil[®] DNA isolation kit 试剂盒提取各组处理土壤样本总 DNA, 用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测和分光光度法(260 nm/280 nm 光密度比)进行质量检测, 提取得到的 DNA 样品检测后, 于 -80°C 保存以备后续试验使用。

4) 特异区域扩增及测序 DNA 样本送至南京集思慧远生物科技有限公司, 微生物多样性检测选取真菌 rDNA ITS2 区, 扩增引物为 ITS3F (5' - GCATCGATGAAGAACGCAGC-3')和 ITS4R (5' - TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') [11]。PCR 反应总体系 $25 \mu\text{l}$: $10 \mu\text{l}$ $2 \times$ EasyTaq PCR SuperMix (Transgen Bio, Inc)、 $1 \mu\text{l}$ 正向引物、 $1 \mu\text{l}$ 反向引物、加入的 DNA 总量为 10 ng , 最后加 dd H₂O 补至 $25 \mu\text{l}$ 。反应参数: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 30 s, 55°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 35 个循环; 72°C 延伸 8 min。利用 Illumina Novaseq PE250 高通量测序平台测序。

2.4. 数据处理及统计分析

微生物群落结构分析下机数据经过 QIIME 软件过滤、拼接、去除嵌处理, 另外去除碱基质量分值低于 20、测序长度小于 150 bp、碱基模糊和引物错配序列。根据 barcodes 归类处理组序列信息聚类为物种分类的基本操作单元(Operational taxonomic units, OTU), 设置 OTU 相似性为 97%, 与 silva 真菌类数据库进行比对[12]。通过 QIIME 软件进行阿尔法(Alpha)多样性分析[13]。

3. 结果与分析

3.1. 不同处理小麦农艺性状

在小麦的拔节期、孕穗期和灌浆期生长过程中, CF、S-CF、S-BS 和 BS 处理均显著高于 CK。株高方面, CF、S-CF 和 S-BS 在不同生长时期均无显著差异; 灌浆期, 单独的沼液 BS 处理显著低于 CF、S-CF 和 S-BS, 不排除沼液后期养分欠缺的情况。茎基宽方面, 在拔节期、孕穗期除 CK 外, 其余处理组均无显著差异, 但是在灌浆期, CF、S-CF 与 S-BS、BS 存在显著差异, 说明含有沼液的试验组合在小麦生长后期可能会养分供应不足, 影响茎的发育(表 2)。

Table 2. Effects of different treatments on plant height and stem base width

表 2. 不同处理对小麦株高、茎基宽的影响

处理组	株高/cm			茎基宽/mm		
	拔节期	孕穗期	灌浆期	拔节期	孕穗期	灌浆期
CK	30.8 ^b	60.4 ^c	71.8 ^c	3.6 ^c	4.7 ^b	4.7 ^c
CF	35.5 ^a	68.5 ^a	81.4 ^a	4.2 ^a	5.1 ^a	5.6 ^a
S-CF	35.1 ^a	68.8 ^a	81.2 ^a	4.2 ^a	5.1 ^a	5.5 ^a
S-BS	35.2 ^a	67.5 ^{ab}	79.7 ^a	4.1 ^{ab}	5.0 ^a	5.2 ^b
BS	34.7 ^{ab}	66.3 ^b	76.8 ^b	4.1 ^{ab}	4.9 ^{ab}	5.1 ^b

注: 表中同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 下同。

小麦理论产量方面, CF、S-CF、S-BS、BS 均显著高于 CK 组。S-BS 组的理论产量与 CF、S-CF 无明显差异, 说明沼液和秸秆联合施用一定程度能够代替化肥的施用, 这与 S-BS 组的株高在不同生长时期与 CF、S-CF 无明显差异情况一致。另外, 沼液组合可以增加单位面积穗数, 但是存在无效分蘖现象, 故 BS 的千粒重较低, 与化肥组合均存在显著差异。由于沼液可能导致小麦营养生长旺盛, 生长过程的始穗期、齐穗期、成熟期推迟, 存在贪青迟熟现象, 因此 BS 与 CK 相比, 熟期延迟高达 7~8 天(表 3)。

Table 3. Effects of different treatments on theoretical yield

表 3. 不同处理对小麦理论产量的影响

处理组	穗数/ ($10^4 \cdot \text{hm}^{-2}$)	每穗 粒数	千粒重/g	理论产量/ ($\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$)	增产率/%	千粒重 变化/%	熟期 延迟/d
CK	582 ^a	32.2 ^b	44.2 ^a	7041 ^c	-	-	-
CF	570 ^a	37.9 ^a	41.5 ^b	7620 ^{ab}	8.2	-6.1	0~1
S-CF	576 ^a	38.3 ^a	41.78 ^b	7834 ^a	11.2	-5.5	0~1
S-BS	581 ^a	37.4 ^a	40.9 ^b	7554 ^{ab}	7.3	-7.5	4~5
BS	563 ^a	37.8 ^a	40.2 ^c	7272 ^b	3.2	-9	7~8

3.2. 土壤根际真菌群落的 Alpha 多样性

不同试验处理真菌群落的 Alpha 多样性 goods_coverage 指标均达到了 0.99, 说明本次检测具有较高的微生物覆盖率。Chao1 和 observed_species 主要是估计群落中包含物种的数目指标, 具有一定的正向关联性。空白处理 CK 组中物种的数目最多, 单独施肥的 BS、CF 显著减少物种的数目, 说明沼液、化肥、秸秆的联合施用会降低群落中物种的数量, 尤其单独施用某种肥料。Shannon 指数是指信息熵, 其值指

数越大,表示不确定性大,说明这个群落中未知因素越多,物种多样性越高。S-CF、S-BS 的联合施肥处理的 shannon 值与 CK、CF 存在显著差异。因此,联合施肥的 S-CF、S-BS 能够提升物种的丰富度和多样性,并与理论产量密切关联(表 4)。

Table 4. Alpha diversity analysis of soil fungal community

表 4. 土壤真菌群落 Alpha 多样性分析

处理组	chao1	observed_species	shannon	simpson	goods_coverage
CK	1017.5 ^a	950.7 ^a	6.2 ^b	0.9 ^a	0.9 ^a
CF	914.5 ^{bc}	833.7 ^{cd}	5.7 ^d	0.9 ^a	0.9 ^a
S-CF	997.2 ^a	945.7 ^{ab}	6.6 ^a	0.9 ^a	0.9 ^a
S-BS	941.5 ^b	843.7 ^{bcd}	6.1 ^{bc}	0.9 ^a	0.9 ^a
BS	906.6 ^{cd}	816.0 ^d	6.0 ^{bc}	0.9 ^a	0.9 ^a

4. 讨论

4.1. 秸秆、沼液、化肥配施对小麦农艺性状的影响

作物秸秆腐熟分解后大量的营养物质是作物果蔬生长所需肥料的重要来源。沼液可以作为一种速效液体生物肥料,与秸秆联合施用能够促进秸秆的转化利用。秸秆还田腐解处理后,会进一步增加土壤的养分含量,提高腐殖质、有机酸等,促进作物生长发育。在沼液具体运筹小麦作物方面,邵文奇等学者开展了基肥、追肥生长时期不同施肥量的研究,发现沼液的施用能够促进植株株高、茎基宽的发育。另外,在保证产量的前提下,沼液追施量增加容易导致小麦生长旺盛、贪青迟熟,这与本研究单纯施用沼液 BS 处理组存在生长发育的问题具有一致性[14]。本研究同样采取“等氮”处理的思路,潘飞飞等学者设置不同沼液代替化肥比例组合,研究结果显示沼液 50%代替化肥有利于冬小麦秸秆生物量和地上部总生物量,在维持现有产量水平的条件,联合配施沼液可以节省传统化肥[15]。本研究中,S-BS 亦与 CF 处理组在理论产量上无明显差异,证明了沼液可以取代部分化肥,达到“减肥”的效果。究其原理方面,王静童等学者认为短期沼液施用能够促进小麦对氮磷钾营养元素的吸收利用,缓解过酸性土壤对作物的危害,需要主要盐碱的蓄积,并提出适宜沼液的施用量[16]。尤其秸秆还田处理条件下,沼液中丰富的生物炭联合施用可以降低土壤反硝化(Den)和硝态氮(NO₃⁻-N)氨化(DNRA)速率,更有利于沼液替代化肥处理土壤 DNRA 过程,促进土壤 N 素的保存和减少土壤 N₂O 的损失,提高作物的生产产量[17]。

4.2. 秸秆、沼液、化肥配施对土壤根际群落的影响

土壤微生物群落是土壤生态系统中重要的部分,群落的丰富度和多样性进一步反映土壤的肥力和作物生长情况,多样性指数越高表明土壤微生物群落的丰富度和多样性越高[18]。真菌作为土壤中数量仅次于细菌的微生物,既有益生菌,又有致病菌[19]。本研究中,不同处理对真菌相对丰度影响差异明显,BS、CF 单独施肥处理显著减少物种的数目,S-BS 和 S-CF 联合施肥同样减少物种的数目,说明沼液、化肥、秸秆的联合施用反而会降低群落中物种的数量,结论与刘东海等学者的研究结果类似,单独施用化肥降低土壤 pH 以及真菌群落的丰富度和多样性,生产上还要适当降低有机肥替代化肥比例才能保障产量[9]。另外,不排除沼液中不同程度的水分胁迫,改变了根际微生物群落结构及多样性,包括对不同生物酶的影响[20]。秸秆耦合方面,马垒等学者通过长期秸秆还田对潮土真菌群落研究发现,能够调节真菌种间互作关系,刺激特定物种集群生长,抑制病原菌活性,能够实现高产量[21]。吕金玲亦发现深松秸秆

还田能够提高了小麦灌浆期的真菌丰富度, 提高团聚体的稳定性, 增加土壤中多糖等物质含量, 提高小麦的产量, 适合特定地区推广应用[22]。

5. 结论

稻秸秆与沼液耦合对农艺性状、土壤根际真菌微生物影响与化肥处理存在一定的异同。灌浆期的株高方面, BS 处理显著低于其他处理; 茎基宽方面, 含有 S-BS、BS 处理同样显著低于含有化肥的处理组合。S-CF 处理理论产量最高, 但是与 CF、S-BS 处理无显著差异, BS 处理的千粒重仅高于空白组。联合施肥的 S-CF、S-BS 均能够提升物种的丰富度和多样性, 并与理论产量正向关联。

基金项目

淮安市农科院科研发展基金项目(HNY202108)。

参考文献

- [1] 侯玲玲, 孙倩, 穆月英. 农业补贴政策对农业面源污染的影响分析——从化肥需求的视角[J]. 中国农业大学学报, 2012, 17(4): 173-178.
- [2] Yang, S., Xiao, Y., Xu, J., *et al.* (2018) Effect of Straw Return on Soil Respiration and NEE of Paddy Fields under Water-Saving Irrigation. *PLOS ONE*, **13**, e0204597. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0204597>
- [3] 陈艳龙, 贾舟, 师江澜, 等. 秸秆还田对石灰性土壤 Zn 扩散迁移及形态转化的影响[J]. 土壤学报, 2018, 55(3): 721-733.
- [4] Huang, T., Ju, X. and Yang, H. (2017) Nitrate Leaching in a Winter Wheat-Summer Maize Rotation on a Calcareous Soil as Affected by Nitrogen and Straw Management. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 42247. <https://doi.org/10.1038/srep42247>
- [5] 李万良, 刘武仁. 玉米秸秆还田技术研究现状及发展趋势[J]. 吉林农业科学, 2007(3): 32-34.
- [6] 林宝琦, 刘文秀, 南凯琼. 秸秆生物反应堆技术的效益分析[J]. 环境保护与循环经济, 2014(2): 16-18.
- [7] Piepho, H.-P., *et al.* (2015) Response of Soil Fertility Indices to Long-Term Application of Biogas and Raw Slurry Underorganic Farming. *Applied Soil Ecology*, **96**, 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.06.015>
- [8] 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.
- [9] 刘东海, 张学江, 王鹏, 等. 不同施肥处理对小麦根际土壤真菌多样性及根腐病的影响[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(21): 30-34, 50.
- [10] 王爱萍, 姜彧宸, 冯月, 等. 施氮和间作对春小麦土壤丛枝菌根真菌群落结构的影响[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2023, 43(5): 61-69.
- [11] 王礼伟, 汪国莲, 王宏宝, 等. 沼液代替化肥对甜瓜生长及土壤微生物的影响[J]. 南方农业学报, 2021, 52(9): 2498-2506.
- [12] Huson, D.H., Richter, D.C., Rausch, C., *et al.* (2007) Dendroscope: An Interactive Viewer for Large Phylogenetic Trees. *BMC Bioinformatics*, **8**, Article No. 460. <https://doi.org/10.1186/1471-2105-8-460>
- [13] Cole, J.R., Wang, Q., Cardenas, E., *et al.* (2009) The Ribosomal Database Project: Improved Alignments and New Tools for rRNA Analysis. *Nucleic Acids Research*, **37**, 141-145.
- [14] 邵文奇, 文廷刚, 唐金陵, 等. 不同沼液运筹对小麦生长及产量的影响[J]. 上海农业学报, 2019, 35(1): 11-15.
- [15] 潘飞飞, 唐蛟, 孙壮, 等. 沼液替代化肥对冬小麦产量的影响[J]. 作物杂志, 2022(3): 174-180.
- [16] 王静童, 王勇, 殷金忠, 等. 短期沼液还田对小麦产量和土壤理化性质的影响[J]. 河南科技学院学报, 自然科学版, 2019(4): 5-9.
- [17] 徐传红. 秸秆还田措施下沼液替代化肥对稻田土壤反硝化和硝态氮氨化特征的影响[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京林业大学, 2022.
- [18] O'Donnell, A.G., Seasman, M., Macrae, A., *et al.* (2002) Plants and Fertilisers as Drivers of Change in Microbial Community Structure and Function in Soils. *Plant and Soil*, **232**, 135-145. https://doi.org/10.1007/978-94-010-0566-1_14

- [19] 王亚红. 小麦主要真菌类病害防治方式探析[J]. 种子科技, 2022, 40(16): 112-114.
- [20] 张江伟, 薛佳欣, 李慧, 等. 小麦根际微生物群落结构和多样性对水分胁迫的响应[J]. 灌溉排水学报, 2022, 41(10): 41-50.
- [21] 马垒, 李燕, 魏建林, 等. 长期秸秆还田对潮土真菌群落、酶活性和小麦产量的影响[J]. 环境科学, 2022, 43(10): 4755-4764.
- [22] 吕金玲. 耕作与秸秆还田对麦玉两熟模式土壤真菌多样性和有机碳稳定的影响[D]: [硕士学位论文]. 泰安: 山东农业大学, 2023.