



# 秸秆还田方式对东北水稻土理化性质及微生物群落的影响

李春雅<sup>1</sup>, 王炎伟<sup>1</sup>, 王荣<sup>1</sup>, 李丽丽<sup>2</sup>, 刘长莉<sup>1\*</sup>

1 东北林业大学生命科学学院盐碱植被生态恢复教育部重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 1500400

2 黑龙江省林业科学研究所, 黑龙江 哈尔滨 1500400

李春雅, 王炎伟, 王荣, 李丽丽, 刘长莉. 秸秆还田方式对东北水稻土理化性质及微生物群落的影响. 微生物学报, 2022, 62(12): 4811–4824.

Li Chunya, Wang Yanwei, Wang Rong, Li Lili, Liu Changli. Effect of straw returning method on physicochemical properties and microbial community of paddy soil in Northeast China. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(12): 4811–4824.

**摘要:** 【目的】研究秸秆还田方式对东北黑土理化性质及微生物群落的影响。【方法】试验周期为2019年12月至2021年10月, 秸秆还田采用2种方式: 秸秆直接还田+微生物菌剂 WJ (straw direct return+microbial agent WJ; MD), 秸秆堆肥还田+微生物菌剂 WJ (straw compost return + microbial agent WJ; MC)。分析土壤肥力、酶活和微生物群落。【结果】分析两种方式土壤有机质(SOM)、腐殖酸(HS)和富里酸有机碳(FA-C)含量, 发现秸秆直接还田+微生物菌剂 WJ 比秸秆堆肥还田+微生物菌剂 WJ 分别增加 2.28 g/kg、7.82 g/kg 和 5.26 g/kg。土壤铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、速效磷(AP)略高于秸秆堆肥还田+微生物菌剂 WJ, 均在6月份达到峰值。胡敏酸有机碳(HA-C)含量下降。此外, 土壤脲酶、转化酶、纤维素酶活性和碱性磷酸酶活性对比发现, 秸秆直接还田+微生物菌剂 WJ 比秸秆堆肥还田+微生物菌剂 WJ 分别高 8.55%、15.46%、4.35%和 6.19%。高通量测序结果显示, 秸秆直接还田+微生物菌剂 WJ 中细菌和真菌的多样性均比秸秆堆肥还田+微生物菌剂 WJ 丰富。其中 *Anaerolinea*、*Bacteroidetes*、*Pseudomonas* 为优势细菌, *Tausonia*、*Mrakia*、*Mrakiella* 为优势真菌。【结论】秸秆直接还田+微生物菌剂 WJ 比秸秆堆肥还田+微生物菌剂 WJ 更有利于土壤有机质、腐殖酸、土壤酶活性和微生物多样性的增加, 这说明秸秆添加 WJ 菌剂直接还田可

**基金项目:** 东北林业大学教育教学改革项目(DGY2020-51); 中央高校基本科研业务费专项资金(2572020DF02); 黑龙江省自然科学基金项目(LH2020C101)

Supported by the Education and Teaching Reform Project of Northeast Forestry University (DGY2020-51), by the Basic Research Fund of the Central Universities (2572020DF02) and by the Natural Science Foundation of Heilongjiang Province (LH2020C101)

\*Corresponding author. E-mail: liuchangli@nefu.edu.cn

Received: 9 February 2022; Revised: 25 March 2022; Published online: 2 June 2022

以减少有机养分的流失, 保持田间土壤肥力。

**关键词:** 秸秆直接还田; 秸秆堆肥还田; 微生物菌剂; 土壤养分; 微生物多样性

## Effect of straw returning method on physicochemical properties and microbial community of paddy soil in Northeast China

LI Chunya<sup>1</sup>, WANG Yanwei<sup>1</sup>, WANG Rong<sup>1</sup>, LI Lili<sup>2</sup>, LIU Changli<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Key Laboratory of Saline-Alkali Vegetation Ecology Restoration, Ministry of Education, College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China

<sup>2</sup> Institute of Forestry Science of Heilongjiang Province, Harbin, 150040, Heilongjiang, China

**Abstract:** [Objective] To investigate the effect of straw returning method on physical and chemical properties and microbial community of black soil in Northeast China. [Methods] The experiment was carried out from December 2019 to October 2021. Two ways of straw returning were adopted: direct straw returning+microbial agent WJ (hereinafter referred to as MD) and straw composting before returning+microbial agent WJ (hereinafter referred to as MC). Soil fertility, enzyme activities, and microbial community were analyzed. [Results] The content of soil organic matter, humus and fulvic acid carbon was 2.28 g/kg, 7.82 g/kg and 5.26 g/kg, respectively, higher in MD than in MC. Content of soil ammonium nitrogen and available phosphorus in MD was slightly higher than that in MC, which peaked in June. Content of humic acid carbon decreased. In addition, the activities of urease, sucrase, cellulase and alkaline phosphatase in soil were 8.55%, 15.46%, 4.35% and 6.19% higher in MD than in MC, respectively. High-throughput sequencing results showed that the diversity of bacteria and fungi in MD was higher than that in MC. The dominant bacterial genera were *Anaerolinea*, *Bacteroidetes* and *Pseudomonas*, while *Tausonia*, *Mrakia* and *Mrakiella* dominated the fungi. [Conclusion] MD was conducive to the increase of soil organic matter, humus, enzyme activities and microbial diversity as compared with MC, suggesting that addition of WJ into straw can reduce the loss of organic nutrients and maintain the fertility of the soil in the field.

**Keywords:** direct straw returning; straw composting before returning; microbial agent; soil fertility; microbial diversity

秸秆是一种丰富的可再生自然资源, 我国每年秸秆产量约 9 亿 t<sup>[1-2]</sup>, 减少秸秆焚烧、促进其生物转化是减少二氧化碳排放、保护大气环境健康的重要措施。秸秆富含有机碳、氮、磷、钾、微量元素、有机质<sup>[3]</sup>, 作为肥料施入耕层土壤, 对增加土壤有机质、保护东北重要农业土壤黑钙土具有重要的现实意义<sup>[4]</sup>, 为耕

地的长期可持续循环利用提供保障。秸秆还田是秸秆利用的途径之一, 秸秆还田能增加土壤有机质(SOM), 有机养分是植物生长的主要养分来源和微生物的能量来源, 因此增加有机质含量对土壤肥力和功能的影响有重要促进作用<sup>[5]</sup>。此外, 土壤微生物的生长依赖于有机质, 因此秸秆还田对保护细菌的生物多样性和生态系统

的动态平衡有重要意义。秸秆分为直接还田和间接还田, 秸秆直接还田不仅能增加土壤有机质还能提高耕地保水抗旱能力并改善土壤物理结构; 秸秆堆肥还田是间接还田主要手段之一, 利用堆积发酵过程中产生的高温杀死大部分病虫害改善农作物品质。土壤腐殖质是有机质的重要组成部分, 可由秸秆经微生物生物分解产生。同样, 腐殖酸(HS)主要由胡敏酸(HA)和富里酸(FA)组成, 作为有机质的组成部分, 易被土壤微生物分解矿化。HS 的浓度直接影响植物的养分供应, 对维持土壤肥力、改善土壤质量、维持土壤碳库平衡起着关键作用<sup>[6]</sup>。HA 是腐殖酸的主要成分, HA 结构和数量的变化与土壤肥力密切相关<sup>[7]</sup>。土壤酶由土壤微生物分泌, 负责秸秆向有机物的分解和生物转化。土壤酶活性已作为有机质质量的主要评价指标<sup>[8]</sup>。秸秆还田和应用分解木质纤维素微生物群落可以促进多糖酶解转化为胞二糖和单糖<sup>[9-11]</sup>。分解秸秆的动态变化在前期表现为先快后慢的共同分解格局<sup>[12]</sup>, 并受微生物数量、气候、土壤条件等环境因素的影响<sup>[13]</sup>。秸秆还田中添加腐熟菌剂可有效促进秸秆转化, 显著增加土壤中微生物多样性, 包括细菌、真菌、放线菌等<sup>[14-15]</sup>。微生物可将纤维素、半纤维素和木质素分解为小分子有机物, 通过分泌胞外或胞内酶释放 CO<sub>2</sub>, 诱导秸秆微孔结构纤维化, 从而加速秸秆的分解<sup>[16]</sup>。黑龙江省拥有世界三大黑土区之一, 由于地处寒温带, 冬季最低气温达到零下 35 °C, 年均气温为 3-6 °C, 低温影响秸秆中有机质的快速循环, 天然条件下未经处理的秸秆需很长时间才能完全分解, 因此筛选低温下能快速分解秸秆的菌株势在必行, 目前低温秸秆降解菌群的相关研究并不多。低温秸秆腐熟剂是一种能在低温条件下快速腐熟秸秆的复合菌群, 具有针对性强、适用范围广、稳定性强、

功能多样和无毒害作用的特点<sup>[17]</sup>。

本研究旨在探讨秸秆还田方式对土壤肥力、土壤酶活性和微生物群落多样性的影响。秸秆还田试验采用 2 种方式: 秸秆直接还田+微生物菌剂 WJ (MD)和秸秆堆肥还田+微生物菌剂 WJ (MC)。试验采用的 WJ 菌剂是由漠河市北极村取得土样, 本实验室在 13-15 °C 中以秸秆为唯一碳源进行 36 个月的富集驯化, 最终得到能在低温下分泌多种纤维素复合酶的菌群, 该菌群在实验室内培养 7 d 后秸秆已基本崩解, 促进低温下秸秆中木质纤维素向有机肥方向转化。本研究为促进东北地区秸秆资源化提供理论基础, 保证农业生态系统的可持续发展。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地点

试验于 2019-2021 年在黑龙江省泰来县宏程村(46°4'N, 123°42'E)的水稻田内开展, 本区年均活动积温 2 930.6 °C, 年均气温 4.9 °C, 无霜期 135 d, 年均降水量 392.6 mm, 降雨主要集中在 6-8 月。根据中国土壤数据库, 试验地土壤质地为草甸黑土。试验用地土壤基本理化性质 pH 7.8、有机质 29.8 g/kg、全磷 0.31 g/kg、有效磷 13.27 mg/kg、铵态氮 14.93 mg/kg, 土壤肥力中等。

### 1.2 试验设计

本试验采用 2 种秸秆还田方式并设置 2 个对照。秸秆还田方式包括: (1) 秸秆直接还田+微生物菌剂 WJ (MD), 对照为秸秆直接还田不添加任何菌剂(d); (2) 秸秆堆肥还田+微生物菌剂 WJ (MC), 对照秸秆堆肥还田不添加任何菌剂(c)。利用 Illumina MiSeq 高通量测序技术探究 MD 与 MC 这 2 种还田方式对耕地中微生物群落结构的影响。试验接种的上述 WJ 菌剂是本实验室筛选优化的秸秆高效降解菌群, 实验室内 WJ

菌剂对秸秆的减重率在第 14 天达到 45.62%，菌剂内约含有微生物数量为  $7.4 \times 10^{12}$  CFU/L。研究所用秸秆为上一季收获籽粒后风干的水稻秸秆，秸秆粉碎为  $(15 \pm 5)$  cm 小段。2021 年 4 月将粉碎的秸秆均匀搅浆还田后，水稻苗移栽入田。秸秆还田量为 5 625 kg/ha，WJ 菌剂添加量为 10 L/667 m<sup>2</sup>。每种处理尿素实施量 60 kg/ha，控制细菌生长的碳氮比。堆肥还田堆肥周期为 20 d，堆肥过程中湿度保持在 60% rh 左右。每个水稻池面积为 666.67 m<sup>2</sup> (池梗宽 27cm，试验田宽 20 m、长 33.34 m)，被一个相同面积的空白小区隔开，保证水稻池内的水土不会交换，试验点均采用 3 个重复的随机试验设计，其他管理措施参照水稻栽培技术规程。

### 1.3 土壤理化分析

土壤样品采自 5–10 cm 深度土壤，每 666.7 m<sup>2</sup> 采用“S 形”10 点取样，分别于秸秆还田后水稻的播种期、分蘖期、灌浆期和成熟期即 4 月、6 月、8 月、10 月 4 个阶段取样。将采集的 10 个样品充分混合，粉碎后的土壤颗粒过 60 目筛。将所有土壤样品分为 3 部分：一部分保存于 -80 °C，提取 DNA 用于高通量测序分析土壤中的微生物群落；第二部分保存于 -4 °C，分析土壤酶活性；第三部分常温下保存，测定土壤理化性质。

土壤有机质含量采用重铬酸钾-硫酸法测定<sup>[18]</sup>。用 0.1 mol/L Na<sub>4</sub>P<sub>2</sub>O<sub>7</sub> 和 0.1 mol/L NaOH 混合溶液从土壤样品中煮沸浸提 1 h，得到腐殖酸溶液，用 0.5 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 分离得到胡敏酸和富里酸，溶液为富里酸，沉淀为胡敏酸，胡敏酸沉淀用 0.05 mol/L NaOH 溶液溶解过滤至无色，再用 0.5 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 调 pH 出现浑浊后水浴蒸干，采用重铬酸钾-硫酸法测定有机碳量<sup>[19]</sup>。总磷(TP)采用碱熔-钼锑比色法测定。速效磷(AP)用 0.5 mol/L NaHCO<sub>3</sub> (水土比 20:1)浸

提，钼锑抗比色法测定。用 2 mol/L KCl 溶液(水土比 5:1)提取铵态氮，用 Nessler 试剂比色法测定。土壤酶活性测定方法参考文献[20]，脲酶活性采用次氯酸钠苯酚比色法测定，以尿素为底物，以每克干重土壤在 37 °C 孵育 24 h 后产生的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量毫克数表示；转化酶以蔗糖为底物，以每克干重土壤在 37 °C 孵育 24 h 后产生的葡萄糖毫克数表示；碱性磷酸酶活性以苯基磷酸二钠为底物，以每克干重土壤在 37 °C 孵育 24 h 后产生的苯酚毫克数表示；土壤纤维素酶活性以羧甲基纤维素为底物，以每克干重土壤在 37 °C 孵育 72 h 后产生的葡萄糖毫克数表示。

### 1.4 土壤样品的 DNA 提取和测序

用 Power Soil Kit (Qiagen Laboratories)从 0.25 g 冷冻土壤样品中提取土壤微生物 DNA。同时采用 Nanodrop 对 DNA 进行定量，采用 1.2%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA，-80 °C 保存。DNA 测序由上海 Parsenol 完成，土壤样本细菌 16S rRNA 的 V3–V4 区上下游引物 338 F 和 806 R 进行 PCR 扩增，用引物 1737 F 和 2043 R 对真菌 ITS V1 rDNA 区域进行 PCR 扩增。序列数据使用 QIIME2 v2019.7 进行处理。QIIME2 中的 DADA2 通道用于去除引物、去噪、剪接和嵌合。丰富度用 Chao1 指数表示，多样性用 Shannon 和 Simpson 指数表示。

### 1.5 数据处理

数据采用 SPSS 22.0 (SPSS Inc.)分析。方差分析(ANOVA)评价不同秸秆还田方式对土壤养分含量和酶活性的影响。采用 Duncan's 多重极差检验以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。图形插图由 Graph Pad Prism 7.0 生成。根据 Chao1 估计方法以及 Shannon 和 Simpson 多样性指数计算细菌和真菌的丰度。利用 Canoco 5.0 生态分析软件对土壤环境因素与微生物群落组成的关系进行冗余分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 秸秆还田后土壤全磷、速效磷、铵态氮含量和水稻产量的变化

秸秆还田水稻产量见图 1A, MD 水稻产量为 620 kg/667 m<sup>2</sup>, MC 水稻产量为 540 kg/667 m<sup>2</sup>, 均高于不添加菌剂的对照组。4–10 月期间土壤全磷(TP)、有效磷(AP)、铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)含量结果如图 1 所示, 添加 WJ 菌剂的处理比未添加菌剂的对照的含量显著增加, 即 MD>d、MC>c。全磷含量随着时间增加而积累(图 1B)。速效磷(AP)含量(图 1C)和铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)含量(图 1D)均在 6 月达到峰值, 经 MD 处理后, 两者浓度较 MC 分别增加了 19.46、5.28 mg/kg,

说明速效养分含量随水稻生长期不同而变化。

### 2.2 秸秆还田后土壤有机质、腐殖酸、富里酸碳和胡敏酸碳含量变化

土壤有机质(SOM)、腐殖酸(HS)、富里酸碳(FA-C)、胡敏酸碳(HA-C)含量变化见图 2。在 4 月到 10 月期间, 添加 WJ 菌剂的处理中 SOM、HS、HA-C 和 FA-C 含量均显著高于不添加菌剂的对照, 即 MD>d、MC>c。如图 2A 所示, SOM 随着还田时间的增加而积累, 在 4 月、6 月、8 月和 10 月, MD 中 SOM 含量分别比 MC 高 1.07、2.86、1.52、2.28 g/kg。8 月和 10 月 MD 中腐殖酸含量较 MC 显著增加了 7.88 g/kg 和 7.82 g/kg (图 2B)。经 MD 处理后 HA-C 浓度在 4 月和 10 月较 MC 减少, 6 月和 8 月增加(图 2C)。

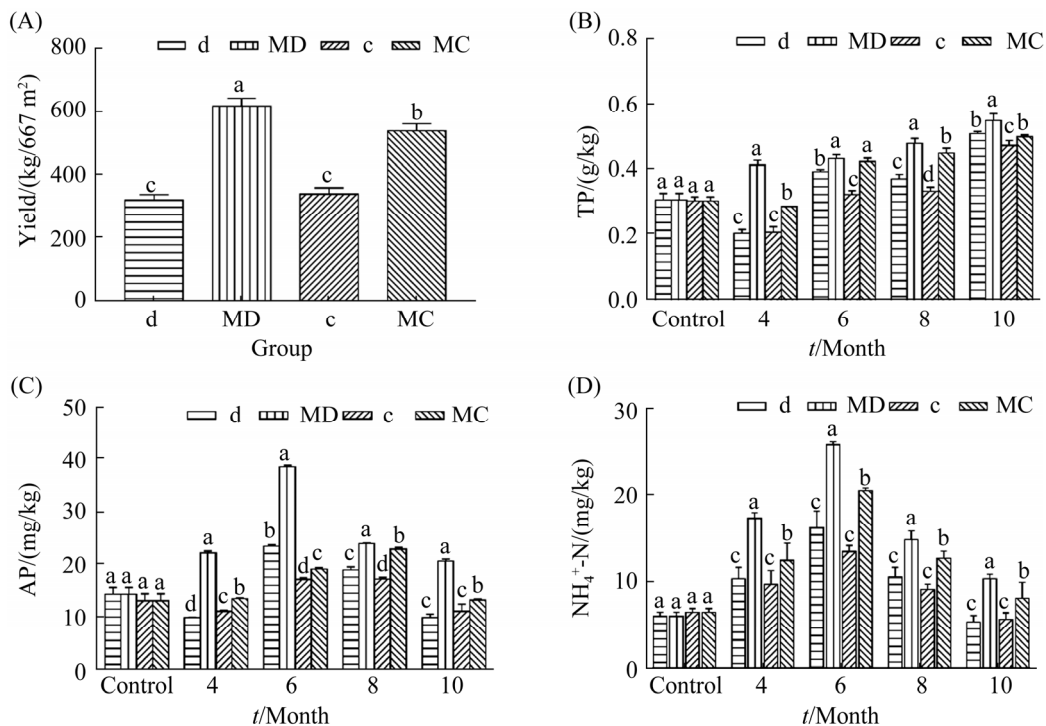


图 1 秸秆还田后水稻产量(A)、土壤全磷(TP) (B)、速效磷(AP) (C)和铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) (D)含量变化

Figure 1 Changes of rice yield (A), total phosphorus (TP) (B), available phosphorus (AP) (C) and ammonium nitrogen (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) (D) contents in soil after straw returning. Control is when straw is not returned; according to Duncan's test, different lowercase letters indicate the difference of different treatments in the same period ( $P < 0.05$ ); d: straw direct return without adding any bacteria agent; MD: straw direct return+microbial agent WJ; c: straw composting without adding any bacteria agent; MC: straw composting+microbial agent WJ.

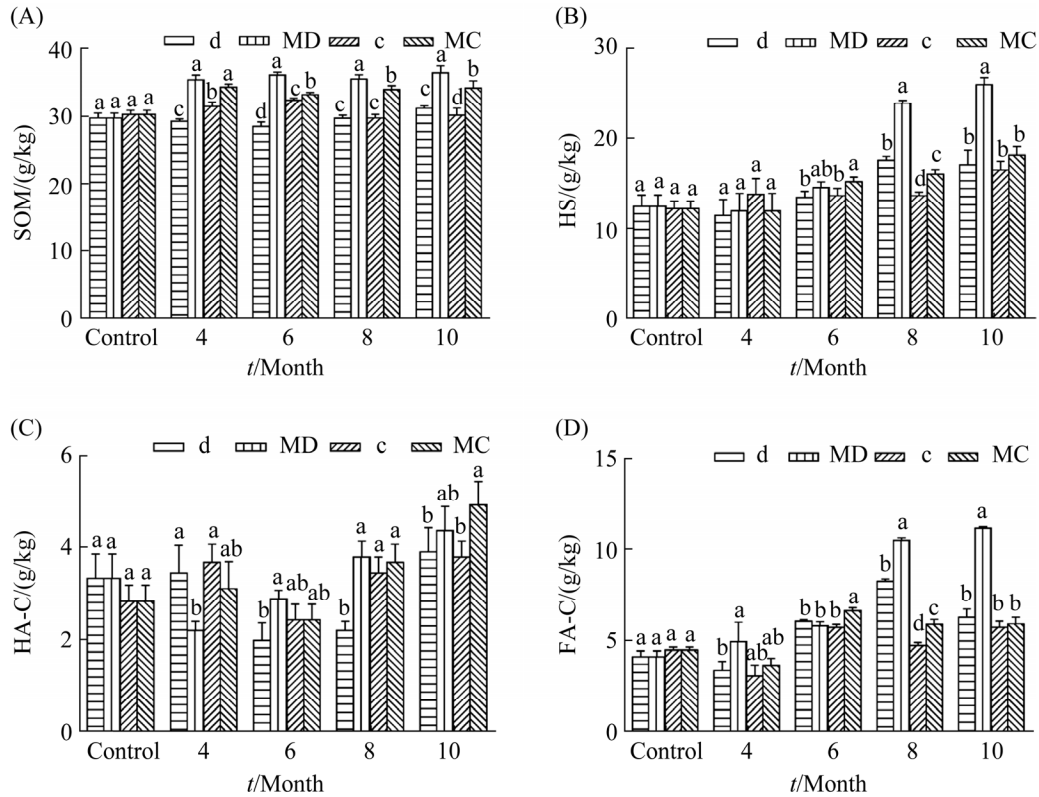


图 2 秸秆还田后不同时间段土壤有机质(A)、腐殖酸(B)、富里酸碳(C)和胡敏酸碳(D)含量变化

Figure 2 Changes of soil organic matter(SOM), humus(HS), fulvic acid carbon(FA-C) and humic acid carbon(HA-C) in different time periods after straw returning to field. Control is when straw is not returned; according to Duncan's test, different lowercase letters indicate the difference of different treatments in the same period ( $P < 0.05$ ); d: straw direct return without adding any bacteria agent; MD: straw direct return+ microbial agent WJ; c: straw composting without adding any bacteria agent; MC: straw composting+ microbial agent WJ.

FA-C 含量变化见图 2D, MD 在 8 月和 10 月较 MC 分别增加 4.61 g/kg 和 5.26 g/kg。结果说明 MD 较 MC 更有利于有机质、腐殖酸和 FA-C 含量的增加, WJ 菌剂能促进耕地秸秆分解转化为土壤有机质; 而 MC 利于 HA-C 的增加。

### 2.3 秸秆还田过程中多种土壤酶活的变化

在 4–10 月期间, 添加 WJ 菌剂的耕地中脲酶、转化酶、碱性磷酸酶、纤维素酶酶活均高于不添加菌剂的对照, 即 MD>d、MC>c。如图 3A 所示脲酶酶活在 6 月份到达峰值, MD 与 MC 中酶活并无显著差异。MD 与 MC

转化酶活在 4 月和 6 月无显著差异, 8 月和 10 月 MD 较 MC 分别增加了 12.9%和 15.4% (图 3B)。碱性磷酸酶活变化见图 3C, 于 6 月份到达峰值, MD 较 MC 显著增加了 17.7%。说明此时直接还田加速有机磷的转化速度, 提高土壤磷的有效性。如图 3D 所示, 纤维素酶活随时间的增加而小幅度升高, 但 MD 与 MC 无显著差异, 可见纤维素酶活高低在还田方式上并无差异, 而添加 WJ 菌剂提高纤维素酶活, 促进秸秆还田后秸秆中的纤维素类物质的分解。

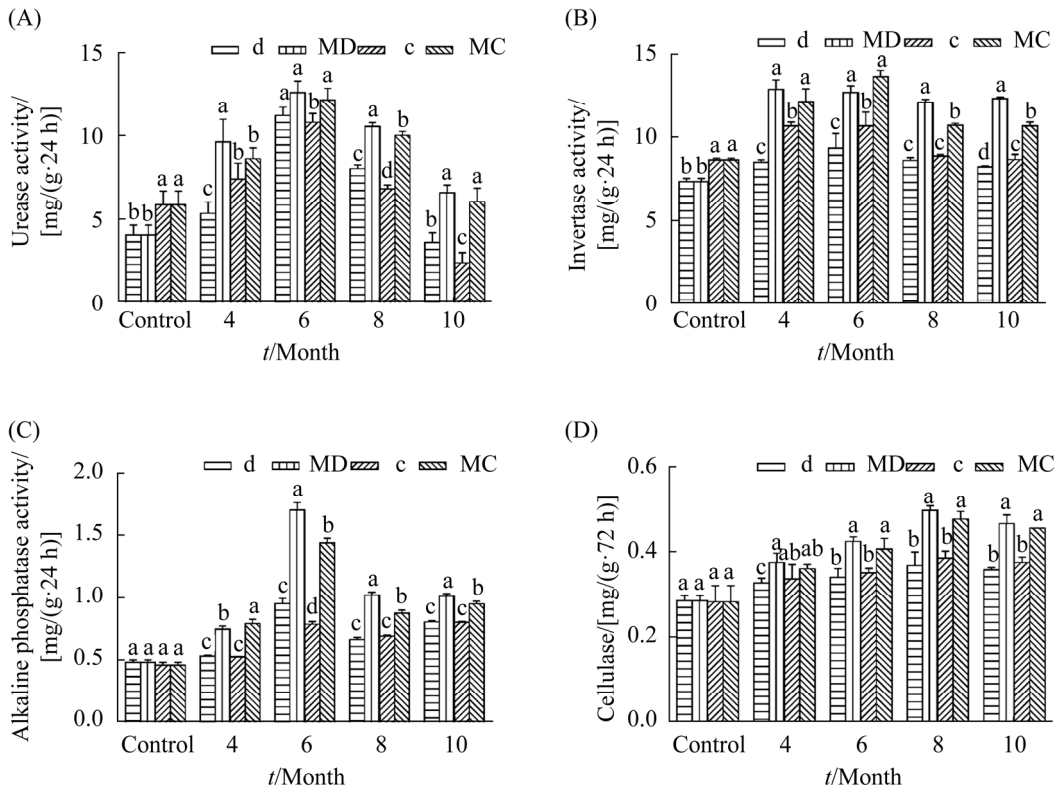


图 3 秸秆还田后土壤酶活变化

Figure 3 Changes of soil enzyme activity after straw returning. A: urease activity; B: invertase activity; C: alkaline phosphatase activity; D: cellulase activity. Control is when straw is not returned; according to Duncan's test, different lowercase letters indicate the difference of different treatments in the same period ( $P < 0.05$ ); d: straw direct return without adding any bacteria agent; MD: straw direct return + microbial agent WJ; c: straw composting without adding any bacteria agent; MC: straw composting + microbial agent WJ.

## 2.4 土壤微生物群落分析

### 2.4.1 不同方式处理下土壤微生物群落结构特征随处理时间变化

利用 16S rRNA 和 ITS 序列分析研究添加 WJ 菌剂后 2 种还田方式的土壤细菌和真菌的群落组成。经 MD 和 MC 处理的 8 个样品经质量过滤后, 细菌群落和真菌群落分别获得 410 641 和 943 099 条高质量序列。以 100% 相似度进行 ASV 聚类, 共检测到 30 396 个细菌 ASV, 4 781 个真菌 ASV。利用每个 ASV 的代表序列进行分类, 得到不同分类水平(门到属)的土壤微生物群落结构。细菌涉及 39 门、96 纲、194 目、318 科、48 属; 真菌分 7 门、18 纲、31 目、61 科、

95 属。由图 4A 可知各个处理中优势菌门相同但丰度不同, 细菌群落相对丰度大于 10% 的菌门, 分别为变形菌门 (*Proteobacteria*) (31.01%–51.71%)、放线菌门 (*Actinobacteria*) (16.80%–36.63%)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*) (9.90%–25.25%) 和拟杆菌门 (*Bacteroidetes*) (4.41%–10.28%)。图 4B 为真菌群落相对丰度大于 10% 的菌门, 主要包括子囊菌门 (*Ascomycota*) (1.46%–69.74%) 和担子菌门 (*Basidiomycota*) (2.21%–54.93%)。在 MD 和 MC 处理中 4 月和 6 月以子囊菌门为主; 在 MD 和 MC 处理中 8 月和 10 月以担子菌门为主, 但此时土壤中的未知真菌也有增加。图 4C、4D 为添加以细菌为

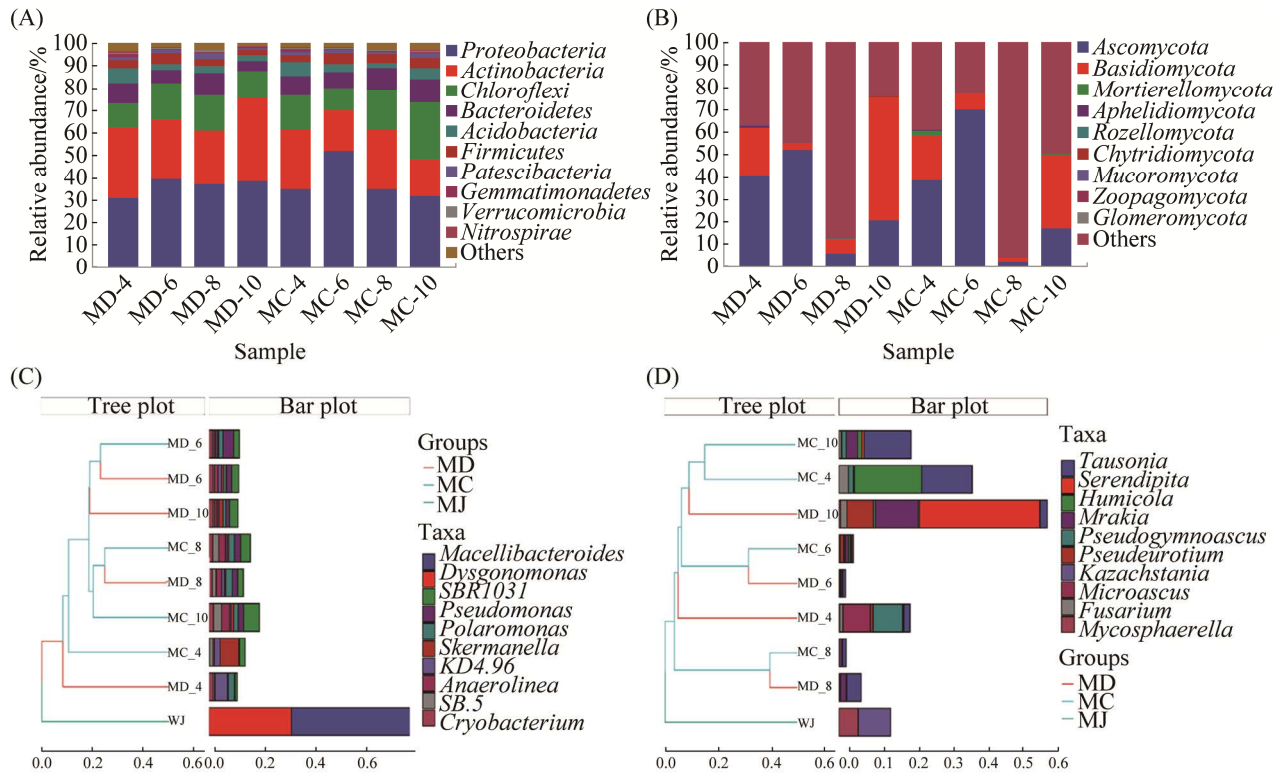


图 4 秸秆还田后细菌和真菌的门水平和聚类分析

Figure 4 Phylum level and cluster analysis of bacteria and fungi after straw returning. A: bacteriophyla level; B: fungal phylum level; C: bacterial hierarchical clustering; D: fungal hierarchical clustering.

主的 WJ 菌剂后土壤微生物群落的层次聚类分析。随着时间的推移, 土壤微生物中 WJ 菌的数量逐渐减少, MD 与 MC 之间无显著差异(图 4C)。而同一时期土壤真菌微生物组成存在差异, 如图 4D 所示。

#### 2.4.2 不同方式处理下土壤微生物群落结构在属水平变化

添加微生物群落 WJ 后, 4 月至 10 月真菌和细菌属水平的 2 种还田方式的变化见图 5。MD 的优势细菌属(相对丰度大于 1%)(图 5A), 4 月份以黄杆菌属(*Flavobacterium*)、红色杆菌属(*Rubrobacter*)和红育菌属(*Rhodoferrax*)为主, 利用秸秆碳源发酵, 分解秸秆。6 月和 8 月以假单胞菌属(*Pseudomonas*)和厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)为主, 促进土壤中氮氮循环。

10 月份以斯科曼氏球菌属(*Skermanella*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和 *SBR1031* 为主进行硝化和反硝化等反应。图 5B 显示 MC 的优势细菌属(相对丰度大于 1%), 4 月以斯科曼氏球菌属(*Skermanella*)、红色杆菌属(*Rubrobacter*)和芽球菌属(*Blastococcus*)为主。6 月以假单胞菌属(*Pseudomonas*)、溶杆菌属(*Lysobacter*)和甲基杆菌属(*Methylobacter*)为主; 溶杆菌可抑制多种病原菌。8 月以黄杆菌属(*Flavobacterium*)和红育菌属(*Rhodoferrax*)为主。10 月以 *SBR1031*、厌氧绳菌属(*Anaerolinea*)和拟杆菌 *vadinHA17* 为主进行发酵及氮素循环。图 5C 显示了 MD 的优势真菌属(相对丰度大于 0.1%)。4 月主要是嗜低温的假裸囊菌属(*Pseudogymnoascus*)、支顶孢属(*Acronium*)和好氧耐盐的微球菌



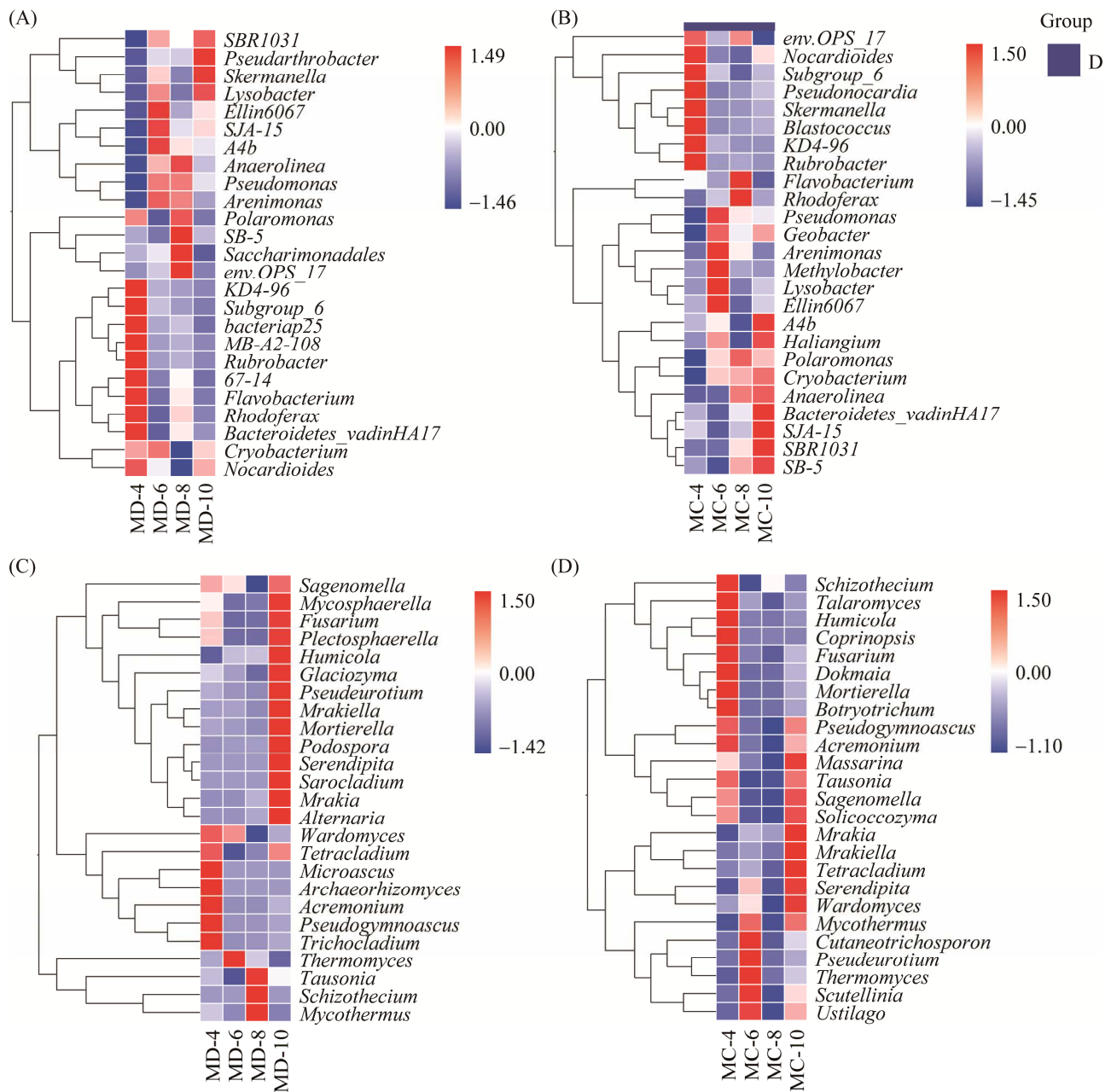


图 5 秸秆还田后不同时期在属水平上土壤细菌和真菌群落热图

Figure 5 Heat maps of soil bacterial and fungal communities at the genus level at different periods after straw returning. A: bacterial community of MD; B: bacterial community of MC; C: fungal community of MD; D: fungal community of MC.

(*Micrococcus*)。6月以嗜热真菌属(*Thermomyces*)为优势菌。8月为嗜热链球菌属(*Mycothermus*)、裂壳属(*Schizothecium*)和 *Tausonia* 等。10月以腐质霉属(*Humicola*)、*Mrakia* 和链格孢属

(*Altemaria*)等真菌占优势。图 5D 显示 MC 的优势真菌属(相对丰度大于 0.1%)，4 月份能利用有机物的裂壳属(*Schizothecium*)、腐质霉属(*Humicola*)、鬼伞属(*Coprinopsis*)和镰刀菌属

(*Fusarium*)为优势真菌属，与MD 10月份优势真菌相同。6月、8月以嗜热真菌属(*Thermomyces*)、*Cutaneotrichosporon*、*Mrakia*和*Pseudeurotium*占据主导地位；10月份为*Tausonia*、*Mrakia*和*Mrakiella*。*Pseudomonas*、*Pseudoalteromonas*和*Rhodoferrax*在不同阶段缓慢降解秸秆中的木质素。尽管细菌或放线菌丰度相对较低，对秸秆碳分配中的有机碳没有影响，但它们在协调秸秆分解过程中发挥重要作用。真菌是降解作物秸秆的主要生物，如*Pseudogymnoascus*和*Mrakia*能在低温下很好地生长，产生与纤维素降解有关的酶。真菌腐质霉属(*Humicola*)、镰刀菌属(*Fusarium*)等产生的相关酶在秸秆降解过程中也起着很大的作用，从而加速秸秆的降解并转化为有机碳。

## 2.5 秸秆还田细菌和真菌群落与环境因子冗余分析

通过对还田处理的环境因子和丰度前10的菌属进行冗余分析(redundancy analysis,

RDA), 得到二维排序图。细菌群落与环境因子相关性见图6A, 结果表明, 前两轴特征值占总排序轴特征值的81.64%, 第一和第二轴(RDA1和RDA2)分别占50.1%和31.5%(图6A)。图中还显示, 纤维素酶活性受*Anaerolinea*和*Pseudomonas*的影响显著, 与*Bacteroidetes\_vadinHA17*、*Cryobacterium*和*Polaromonas*呈正相关( $F=2.8$ ,  $P=0.018$ ); 腐殖酸有机碳与*SBR1031*、*Bacteroidetes\_vadinHA17*、*Anaerolinea*呈正相关( $F=3.2$ ,  $P=0.004$ ); 有机质和转化酶与黄杆菌属、*KD4-96*和*subgroup 6*呈正相关, 但与胡敏酸碳负相关。且全磷( $F=2.7$ ,  $P=0.078$ )、碱性磷酸酶活性和富里酸有机碳等营养物质与*Pseudomonas*高度相关, 而与*Cryobacterium*和*Polaromonas*正相关。真菌群落与环境因子的相关性如图6B所示。结果表明, 前两轴特征值占总排序轴特征值的85.11%, RDA第一轴和第二轴分别占61.5%和23.6%。腐殖酸( $F=2.9$ ,  $P=0.05$ )、富里酸碳( $F=3.0$ ,  $P=0.038$ )、全磷和

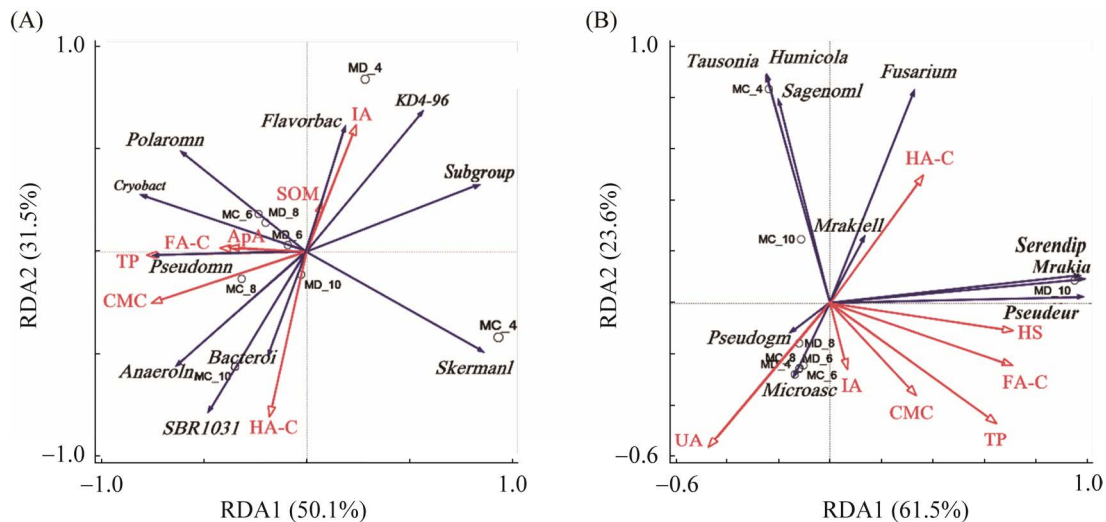


图6 细菌群落(A)和真菌群落(B)与土壤性质的相关性分析

Figure 6 Biplot diagram of redundancy analysis (RDA) of soil physicochemical factors according to the bacterial community (A) and fungal community (B). UA: urease; IA: invertase; ApA: alkaline phosphatase; CMC: cellulase; SOM: soil organic matter; HA-C: humic acid organic carbon; FA-C: fulvic acid organic carbon; TP: total phosphorus.

土壤纤维素酶活与 *Mrakia*、*Pseudeurotiu*、*Serendipita* 正相关；胡敏酸碳与 *Fusarium*、*Mrakiella* 影响较大，且与 *Tausonia*、*Humicola*、*Tetracladium*、*Sagenomella*、*Mrakia*、*Pseudeurotiu*、*Serendipita* 正相关；脲酶和转化酶活与 *Microascus*、*pseudomonas* 正相关。可见，SOM、HS、HA-C、FA-C、脲酶、转化酶、碱性磷酸酶和纤维素酶活性是影响土壤微生物群落组成的最主要因素。

### 3 讨论

#### 3.1 秸秆还田土壤理化性质与微生物群落

土壤理化性质与微生物群落结构和多样性有密切联系。本研究结果表明，添加 WJ 菌剂后，土壤有机质、腐殖酸、全磷、速效磷和铵态氮含量均比未添加 WJ 菌剂的对照增加，施用秸秆腐熟菌剂后土壤肥力显著提高(图 1，图 2)，该结果与前人一致<sup>[16]</sup>。本研究中秸秆直接还田的有机质含量高于堆肥还田，说明 WJ 菌剂适合秸秆直接还田。由于东北地区平均气温偏低，直接还田是将秸秆直接覆盖于耕地，在低温菌剂 WJ 的作用下对土地温度能够进行较好地保温，从而使土壤微生物能够保证活跃状态；Tran 等<sup>[21]</sup>发现有机酸通常在堆肥的中后期分解，因为在寒冷天气秸秆堆肥至少需要 60 d。而在东北地区 4 月初平均 13 °C 堆肥 20 d，发酵期间温度升高可达 60 °C，导致部分养分挥发，此时低温菌剂 WJ 不能很好地发挥作用，还田后土壤温度过低不利于土壤微生物呼吸作用。细菌占有所有土壤微生物的 70%–90%，是土壤中最活跃的微生物，对木质纤维素的分解起着重要作用；真菌分泌的胞外酶是秸秆分解利用的主要微生物酶；放线菌(*Actinomycetes*)具有较高的纤维素酶活性，如诺卡氏菌(*Nocardioeae*)、链霉菌科(*Streptomycetaceae*)等，

在木质素分解过程中起非常重要的作用<sup>[22–24]</sup>。4–10 月秸秆直接还田(MD)以冷杆菌属(*Cryobacterium*)、单胞菌属(*Polaromonas*)、红育菌属(*Rhodoferrax*)、*Serendipita*、*Mrakia*、假裸囊菌属(*Pseudogymnoascus*)、*Pseudeurotium* 和微囊菌属(*Microascus*)为主，低温下能缓慢降解秸秆中木质素等物质。4–10 月秸秆堆肥还田(MC)中假单胞菌属(*Pseudomonas*)、*Skermanella*、厌氧绳菌(*Anaerolinea*)、*Tausonia*、腐质霉属(*Humicola*)和 *Mrakiella* 占优势，直接还田中优势真菌可分泌与分解秸秆相关的胞外酶。秸秆还田后由于碳源丰富激发土壤微生物活性，一些纤维素分解能力较强的菌也随之增加，如 *Anaerolinea*、*Tausonia*、*Humicola*、*Coprinopsis* 等菌属，这些微生物加速秸秆中的粗纤维、木质素等物质的分解转化，增加土壤有机质含量。由于秸秆碳源丰富，C/N 高，在还田初期添加适量氮肥保证合适的碳氮比，追施化肥后在土壤微生物的作用下促使氮肥转化为铵态氮，有机磷转化为有效磷，提高土壤中的速效养分含量，与前人研究结果一致<sup>[25–26]</sup>。本研究表明 6、8 月土壤速效养分含量增加迅速，10 月含量下降，这可能与温度有关，6 月和 8 月温度升高，土壤微生物活动频繁加速了氮磷向速效养分的转化。

#### 3.2 秸秆还田土壤酶活与微生物群落

脲酶特异性水解尿素，将有机氮转化为无机氮，为植物和微生物提供氮源。转化酶对增加土壤中易溶性营养物质起重要作用。磷酸酶可将有机磷水解为无机磷供植物吸收利用，纤维素酶可加速秸秆中纤维素类物质的降解<sup>[27]</sup>。有研究结果表明，直接还田与间接还田均可提高土壤中酶活性，但对酶活性影响程度不同<sup>[28]</sup>，这与本研究一致，其他研究表明秸秆还田后土壤微生物数量增加，微生物活性增强导致土壤

酶活性增加<sup>[29]</sup>。本研究结果表明 MD 的脲酶、转化酶、碱性磷酸酶和纤维素酶活性在 10 月份较 MC 分别提高 8.55%、15.46%、6.19% 和 4.35%。MD 中 6–8 月以假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、厌氧绳菌属 (*Anaerolinea*)、嗜热链球菌属 (*Mycothermus*)、裂壳属 (*Schizothecium*) 和 *Tausonia* 为主, 这些菌属可加速秸秆成分的分解; MD 的脲酶在 6 月达到峰值, 可增加厌氧绳菌科 (*Anaerolinea*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 的丰度<sup>[30]</sup>。6 月碱性磷酸酶活性最大, 这可能是由于秸秆还田期间气候温度升高, 具有磷溶解能力的 *Burkholderiaceae* 丰度增加, MC 中 6–8 月以假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、溶杆菌属 (*Lysobacter*)、甲基杆菌属 (*Methylobacter*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 和红育菌属 (*Rhodoferrax*) 为主, 其中 *Methylobacter* 不能利用秸秆。生长高峰期水稻对土壤速效养分需求较高刺激土壤酶活性增强, 满足植株生长需求, 而随着温度降低和作物生长成熟后对养分需求减少, 导致酶活性降低并趋于平稳。土壤转化酶活性升高与 *Flavobacterium* 高度相关, 有研究表明, 土壤转化酶是土壤肥力的重要标志, 与有机质、有效磷等正相关<sup>[31]</sup>。纤维素酶活升高是因为秸秆还田后土壤中产纤维素酶的微生物增加, 如 *Tausonia*、*Humicola*、*Mrakia*、假单胞菌属、*Pseudarthrobacter* 和红色杆菌属等菌群, 刺激菌群产生纤维素酶降解土壤中的秸秆, 提高土壤有机质含量。

研究表明, 秸秆还田在一定程度上改变了土壤微生物群落结构, 秸秆投入后土壤微生物的快速转化利用主要归因于种群的快速增长。其中包括 *Proteobacteria*、*Firmicutes*、*Actinobacteria* 和 *Ascomycota*<sup>[32–34]</sup>, 本研究中秸秆还田后 *Actinobacteria* 和 *Ascomycota* 增加, 释放多种纤维素酶加速了秸秆的分解转化。有

研究表明 180 d 内秸秆分解增强的关键属有纤维素降解菌和真菌、固氮菌、嗜酸菌, 以及其他黏液菌等<sup>[35–36]</sup>, 这与本研究一致。虽然某些微生物丰度相对较低, 但它们可能在协调秸秆分解过程中起着重要作用。试验表明秸秆还田对细菌群落的影响不明显, 对真菌群落有一定影响, 增加了土壤中未知真菌的数量, 这些真菌可能在秸秆降解中发挥巨大作用。

## 4 结论

本研究旨在探讨 MD 和 MC 方式秸秆还田对东北黑土土壤肥力、酶活性和微生物群落多样性的影响。结果表明, 在 4–10 月的试验期内, 秸秆添加 WJ 菌剂还田的土壤养分和酶活性较未添加 WJ 菌剂的秸秆直接还田增加, 这说明 WJ 菌剂对秸秆分解转化具有重要的促进作用。MD 的有机质、腐殖酸、FA-C、速效磷和铵态氮较 MC 分别增加了 2.28 g/kg、7.82 g/kg、5.26 g/kg、7.57 mg/kg 和 2.27 mg/kg; HA-C 较 MC 降低。全磷变化不显著; 脲酶、转化酶、碱性磷酸酶和纤维素酶比 MC 分别提高 8.55%、15.46%、6.19% 和 4.35%。采用高通量测序技术分析了添加 WJ 菌剂秸秆还田后微生物群落多样性。结果显示细菌中 MD 中的冷杆菌属 (*Cryobacterium*)、单胞菌属 (*Polaromonas*) 和红育菌属 (*Rhodoferrax*) 较 MC 占优, MC 中假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、*Skermanella* 和厌氧绳菌 (*Anaerolinea*) 较 MD 占优; 真菌中 MD 中的 *Serendipita*、*Mrakia*、假裸囊菌属 (*Pseudogymnoascus*)、*Pseudeurotium*、微囊菌属 (*Microascus*) 较 MC 占优, MC 中 *Tausonia*、腐质霉属 (*Humicola*)、*Mrakiella* 较 MD 占优。以上结果表明, MD 有效提高了土壤速效养分含量和酶活性, 并提高了在低温下秸秆分解菌群丰度, 加快了低温环境下秸秆的分解效率, 提高了东北地区黑土肥力。

## 参考文献

- [1] Wang Y, Wu P, Mei F, Ling Y, Qiao Y, Liu CS, Leghari SJ, Guan XK, Wang TC. Does continuous straw returning keep China farmland soil organic carbon continued increase? A meta-analysis. *Journal of Environmental Management*, 2021, 288: 1–9.
- [2] Yang HS, Fang C, Meng Y, Dai YJ, Liu J. Long-term ditch-buried straw return increases functionality of soil microbial communities. *CATENA*, 2021, 202: 105316.
- [3] 白伟, 安景文, 张立祯, 逢焕成, 孙占祥, 牛世伟, 蔡倩. 秸秆还田配施氮肥改善土壤理化性状提高春玉米产量. *农业工程学报*, 2017, 33(15): 168–176.  
Bai W, An JW, Zhang LZ, Pang HC, Sun ZX, Niu SW, Cai Q. Improving of soil physical and chemical properties and increasing spring maize yield by straw turnover plus nitrogen fertilizer. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2017, 33(15): 168–176. (in Chinese)
- [4] Ni GR, Tu GQ, Wei SJ, Wu JF, Shi QH, Zhou CH, Pan XH. Effects of combination of straw returning and a microbial agent on microorganisms and enzyme activity in rhizosphere soil and yield of late rice. *Meteorological and Environmental Research*, 2017, 8(6): 78–82. (in Chinese)
- [5] Chen XD, Wu JG, Opoku-Kwanowaa Y. Effects of returning granular corn straw on soil humus composition and humic acid structure characteristics in saline-alkali soil. *Sustainability*, 2020, 12: 1005.
- [6] Cui TT, Li ZH, Wang SJ. Effects of *in situ* straw decomposition on composition of humus and structure of humic acid at different soil depths. *Journal of Soils and Sediments*, 2017, 17(10): 2391–2399.
- [7] 黄莹, 窦森, 高洪军, 董炜华. 不同深还秸秆用量对黑土腐殖质组成的影响. *吉林农业大学学报*, 2020, 42(5): 545–551.  
Huang Y, Dou S, Gao HJ, Dong WH. Effects of corn strover deep incorporation with different amounts on the composition of humus in black soil. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2020, 42(5): 545–551. (in Chinese)
- [8] 矫丽娜, 李志洪, 殷程程, 崔钰曼, 张婷. 秸秆还田深度对黑土腐殖质和酶活性的影响. *中国土壤与肥料*, 2015(2): 17–21.  
Jiao LN, Li ZH, Yin CC, Cui YM, Zhang T. Effects of different stalk returned depth on soil humus and soil enzyme in black soil. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2015(2): 17–21. (in Chinese)
- [9] Wei T, Zhang P, Wang K, Ding RX, Yang BP, Nie JF, Jia ZK, Han QF. Effects of wheat straw incorporation on the availability of soil nutrients and enzyme activities in semiarid areas. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0120994.
- [10] He CF, Zhu HJ, Kong XQ, Li CD, Yan XM. Environmental effects of returning rice and wheat straw to fields. *Agricultural Science & Technology*, 2017, 18(9): 1710–1715. (in Chinese)
- [11] Yu YJ, Wu M, Petropoulos E, Zhang JW, Nie J, Liao YL, Li ZP, Lin XG, Feng YZ. Responses of paddy soil bacterial community assembly to different long-term fertilizations in Southeast China. *Science of the Total Environment*, 2019, 656: 625–633.
- [12] Yan C, Yan SS, Jia TY, Dong SK, Ma CM, Gong ZP. Decomposition characteristics of rice straw returned to the soil in Northeast China. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2019, 114(3): 211–224.
- [13] Otero-Jiménez V, Carreño-Carreño JDP, Barreto-Hernandez E, Van Elsas JD, Uribe-Vélez D. Impact of rice straw management strategies on rice rhizosphere microbiomes. *Applied Soil Ecology*, 2021, 167: 104036.
- [14] Kwiatkowski C, Harasim E. Chemical properties of soil in four-field crop rotations under organic and conventional farming systems. *Agronomy*, 2020, 10: 1045.
- [15] Li LJ, Han XZ, You MY, Yuan YR, Ding XL, Qiao YF. Carbon and nitrogen mineralization patterns of two contrasting crop residues in a Mollisol: effects of residue type and placement in soils. *European Journal of Soil Biology*, 2013, 54: 1–6.
- [16] Zou HT, Ye XH, Li JQ, Lu J, Fan QF, Yu N, Zhang YL, Dang XL, Zhang YL. Effects of straw return in deep soils with urea addition on the soil organic carbon fractions in a semi-arid temperate cornfield. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153214.
- [17] 陆水凤. 低温秸秆腐解菌剂的制备及其应用效果研究. 吉林农业大学硕士学位论文, 2019.
- [18] 胡小明, 潘自红. 分光光度法测定土壤有机质的含量. *应用化工*, 2012, 41(4): 708–709.  
Hu XM, Pan ZH. Spectrophotometric determination of organic matter in soil. *Applied Chemical Industry*, 2012, 41(4): 708–709. (in Chinese)
- [19] 关菘荫. 土壤酶及其研究法. 北京, 农业出版社, 1986.
- [20] 杨俐苹, 自由路, 王向阳, 王磊, 王贺. 比色法测定土壤腐殖质组分的研究. *腐植酸*, 2011(1): 15–19.  
Yang LP, Bai YL, Wang XY, Wang L, Wang H. Study

- on the colorimetric method of extracted soil humic substances. *Humic Acid*, 2011(1): 15–19. (in Chinese)
- [21] Tran QNM, Mimoto H, Koyama M, Nakasaki K. Lactic acid bacteria modulate organic acid production during early stages of food waste composting. *Science of the Total Environment*, 2019, 687: 341–347.
- [22] Su Y, Yu M, Xi H, Lv JL, Ma ZH, Kou CL, Shen AL. Soil microbial community shifts with long-term of different straw return in wheat-corn rotation system. *Scientific Reports*, 2020, 10: 6360.
- [23] Li DD, Li ZQ, Zhao BZ, Zhang JB. Relationship between the chemical structure of straw and composition of main microbial groups during the decomposition of wheat and maize straws as affected by soil texture. *Biology and Fertility of Soils*, 2020, 56(1): 11–24.
- [24] Zheng SQ, Zhang JM, Chi FQ, Zhou BK, Wei D, Kuang EJ, Jiang Y, Mi G, Chen YP. Response of the chemical structure of soil organic carbon to modes of maize straw return. *Scientific Reports*, 2021, 11: 6574.
- [25] Guo ZB, Liu H, Wan SX, Hua KK, Jiang CQ, Wang DZ, He CL, Guo XS. Enhanced yields and soil quality in a wheat-maize rotation using buried straw mulch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(10): 3333–3341.
- [26] Jin ZQ, Shah T, Zhang Li, Liu HY, Peng SB, Nie LX. Effect of straw returning on soil organic carbon in rice-wheat rotation system: a review. *Food and Energy Security*, 2020, 9(2): 1–13.
- [27] Gu SY, Guo XJ, Cai YT, Zhang ZH, Wu S, Li X, Zhang HH, Yang W. Residue management alters microbial diversity and activity without affecting their community composition in black soil, Northeast China. *PeerJ*, 2018, 6: e5754.
- [28] Zhao SC, Zhang SQ. Linkages between straw decomposition rate and the change in microbial fractions and extracellular enzyme activities in soils under different long-term fertilization treatments. *PLoS One*, 2018, 13(9): e0202660.
- [29] Fan W, Wu JG. Short-term effects of returning granulated straw on soil microbial community and organic carbon fractions in dryland farming. *Journal of Microbiology: Seoul, Korea*, 2020, 58(8): 657–667.
- [30] 刘昌.原位氮代谢优势细菌的筛选及其复合菌剂对植烟土壤氮转化的影响. 贵州大学硕士学位论文, 2018.
- [31] Cui YF, Shi HR, Guo AN, Sun GC, Wang GY, Wang J, Huang WJ, Lu TG. Effects of straw and biochar returned to the soil on soil physical properties and pH value in cold rice region. *Asian Agricultural Research*, 2021, 13(2): 27–32.
- [32] Su Y, He ZC, Yang YH, Jia SQ, Yu M, Chen XJ, Shen AL. Linking soil microbial community dynamics to straw-carbon distribution in soil organic carbon. *Scientific Reports*, 2020, 10: 5526.
- [33] Bai NL, Zhang HL, Zhou S, Sun HF, Zhao YH, Zheng XQ, Li SX, Zhang JQ, Lv WG. Long-term effects of straw return and straw-derived biochar amendment on bacterial communities in soil aggregates. *Scientific Reports*, 2020, 10: 7891.
- [34] Zhao SC, Qiu SJ, Xu XP, Ciampitti IA, Zhang SQ, He P. Change in straw decomposition rate and soil microbial community composition after straw addition in different long-term fertilization soils. *Applied Soil Ecology*, 2019, 138: 123–133.
- [35] Su Y, Lv JL, Yu M, Ma ZH, Xi H, Kou CL, He ZC, Shen AL. Long-term decomposed straw return positively affects the soil microbial community. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 128(1): 138–150.
- [36] Zhang MM, Zhao GX, Li Y, Wang Q, Dang PF, Qin XL, Zou YF, Chen YL, Siddique KHM. Straw incorporation with ridge-furrow plastic film mulch alters soil fungal community and increases maize yield in a semiarid region of China. *Applied Soil Ecology*, 2021, 167: 104038.