

不同硫酸钾用量对植烟土壤细菌群落的影响

肖 翔 (国投新疆罗布泊钾盐有限责任公司, 新疆 哈密 839000)

摘要: 为可以分析出不同硫酸钾用量对植烟土壤细菌群落所造成的影响, 然后连续八年田间定位的实验对土壤细菌群落多样性展开了分析, 望可以为有关人员提供到一定的参考和帮助。

关键词: 硫酸钾; 烤烟; 土壤; 细菌群落多样性

0 引言

土壤微生物是土壤生态系统中重要的组成部分, 有着活跃的代谢功能, 在土壤有机质的分解、物质转化和能量传递中起着十分重要的作用, 土壤微生物类群对环境变化非常敏感, 通过对土壤微生物群落结构的分析, 可以反映土壤质量的变化。细菌作为土壤微生物的重要组成部分, 能促进土壤养分的形成和分解, 大量研究表明, 栽培方法和施肥措施对土壤微生物的数量和活性有着十分重要的一个影响, 且可以显著的提高到了土壤微生物的数量和活性, 有利于保持土壤质量。

金振江等人认为, 在微生物丰富的增加中, 增加有机物发挥了决定性作用, 因为土壤有机碳和土壤养分不仅为微生物提供了丰富和有效的基材, 而且通过相互渗透而开发了根系改善的土壤结构, 为微生物的存活提供良好的外部环境, 化肥应用显著降低了土壤微生物的数量, 这可能是由于土壤 pH 值减少, 由化肥长期应用引起, 施肥可以有效的改善到了根际土壤养分和根际微生物的可用性, 且能够提高到作物产量和质量。硫酸钾是烟草生产中最重要钾肥。当施加到土壤时, 烟草叶片和土壤中的钾含量增加, 而硫含量也增加。然而, 土壤微生物群落结构的变化特征尚未深入研究。

在该研究中, 使用 16S rRNA 基因 V3-V4 区作为分子靶标, 并且使用高通量测序技术在不同硫酸钾应用率下分析烟草种植土壤中细菌群落组成和多样性的变化, 以便了解硫酸钾应用率对烟草种植土壤细菌群落结构的影响。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

田间的定位试验是在 2010 年的时候在中国农业科学院青岛烟草资源与环境野外科学观测试验站所进行的, 其的北纬 $36^{\circ} 26'54''$ 和东经 $120^{\circ} 34'38''$, 且其的海拔在 75m。其土壤的类型是棕壤, 在 2010 年土壤测试的时候其的结果是 pH5.56, 碱解氮 52.69mg/kg , 其的有机质在 11.66g/kg , 速效钾 105.25mg/kg 以及有效磷 10.60mg/kg 。

1.2 试验设计

在实验中建立了五种处理方法: NV (休闲地)、CK (无肥料多年, 烟草种植); 在 T1 治疗中, 550.5kg/hm^2 硫酸钾复合肥 (分别为 15%, 15%, 15% 以及 12%); 用 165kg/hm^2 硫酸钾 (各自含有 50% K_2O 和 18%) 的 T3

中加入 330kg , 用 165kg/hm^2 硫酸钾 (各自含有 50% 和 18%) 然后进行处理。每种过程重复三次, 随机排列在块中, 细胞长度为 5m, 宽度为 1.1m, 植物间距为 0.5m, 40 株烟草植物和 NC89 植物, 在 6 月初移植。在 2017 年 8 月 29 日烤烟的成熟阶段, 使用了五种采样方法来收集 0-20cm 的土壤中的每个细胞。混合后, 测量并分析土壤细菌群落, 测定土壤蔗糖酶, 土壤脲和土酸磷酸酶的活性。同时, 将土壤样品研磨并干燥, 然后用 2mm 筛和 0.15mm 筛分测定 pH 值和钾和硫含量。

1.3 方法

通过电位法测定土壤的酶活性, 钾和硫含量; 转化酶活性由 3,5-二硝基水杨酸进行确定的, 其土壤中的尿素活性通过靛酚蓝色测定法进行测定, 并通过二磷酸二钠的方法测定酸性磷酸酶活性; 磷酸钡浊度测定用来提取有效硫; 通过酸消化硫酸钡浊度测定法测定总硫; 用火焰分光光度法提取有效钾; 通过氢氧化钠熔化石焰测光测定总钾, 通过 EZNATM 试剂盒提取土壤微生物的基因组 DNA。然后通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA。重复每个样品。将与 2% 的琼脂糖凝胶电泳混合相同的 PCR 产物, 并通过 TRIS U HCl 除去 Xyrepdna 凝胶回收试剂盒 (AXYGEN 公司) 的 PCR 产物, 使用 2% 琼脂糖电泳进行检测。按照电泳初步定量结果, 用全氟 ST 蓝液定量系统 (Promega) 对 PCR 产物进行分析和定量, 检测和定量 16srRNA 基因序列, 然后按照每个样本序列的要求混合相应的比率, 通过一个合格的库对高通量测序进行测序发光菌 16srna 基因序列 V3-V4 区。

1.4 数据处理

OTU 是一种聚类方法, 并对聚类结果进行了分析 α 通过 gyny 日的多样性指数, 进一步分析稀释曲线, 同时进行曲线分析, 按照每个样品的 OTU 组成, 通过 RDP 分类算法分析并绘制 PCA 和 VENN 进行代表性序列的比较分析 OTU, 所选数据库为 Silva, RDP, greene 主要包括 16S 细菌核糖体数据库, 采用统计分析和 R 语言作为直方图分析细菌群落结构。

2 结果

2.1 不同处理土壤细菌多样性分析

每个处理的烟用土壤样品, 原始序列、质控序列、显著序列和多样性指数的覆盖指数均为 0.97-0.98, 说明所制备的 MiseQ 文库覆盖了一个土壤样品的菌群, 文库容量如此之大的组成反映了土壤样品中细菌的真实组

成, OTUS 丰度稀释曲线表明该曲线逐渐触发读数的次数, 说明测序数据量是合理的, 该序列的 PCR 扩增次数可以反映土壤中细菌群落的组成。多样性反映了微生物群落的丰富性和多样性, 多样性越高, 细菌越丰富, 用 Shannon 指数评价群落的偶数物种组成, 用 Chao1 指数反映群落的丰富物种, 长期施肥可使土壤细菌群落的变异性降低, T3 增加, 说明 T1 和 T2 土壤细菌数量减少, T3 土壤细菌数量增加, 当 K_2O 投加量为 $247.57\text{kg}/\text{hm}^2$, s 投加量为 $125.46\text{kg}/\text{hm}^2$ 时, 土壤细菌数量和多样性增加。

2.2 细菌 OTUs 分布

Venn 图可以直接的反映出了在不同土壤样品中常见的 OTU 和不同的 OTU, 然后通过 OTU 信息探讨不同处理下细菌的反应, 每个土壤样品中有 3626 个细菌 OTU, 共 1860 穗, 每个土壤样品中有不同数量的 OTU, 其他样品中没有, 其中 NV 菌株有 67 株, CK 菌株有 45 株, T1 菌株有 6 株, T2 菌株有 60 株, T3 菌株表明长期施肥改变了原有的细菌群落, 对烟田土壤细菌群落结构有一定的影响。

2.3 细菌群落种类组成及丰度

前十位土壤硫酸钾中, 前十位细菌分别适用是变形杆菌、幽门杆菌、介孔菌、绿色弯曲菌、芽单细胞菌、蜜环菌、土壤微生物等, 这些门的相对比例占样品总数的 $94.94\%\sim 96.48\%$ 。不同硫酸盐的细菌群落变化不大, 但不同门的细菌数量有所变化, 如变形杆菌 T3 处理, 气动门比例, 芽单细胞, 壁厚, 幽门占门比例, 绿曲占门比例。

2.4 土壤 pH、土壤酶活性、钾和硫含量与优势菌门相对丰度的相关关系

与休闲相比, 它不适用肥料, 一年中的化肥生产可以显著降低土壤 pH 值, 并管理化肥。当前硫酸剂量的增加, pH 值的下降范围增加。可以看出, 施肥增加了土壤脲酶, 酸性磷酸酶, 土壤可用硫, 可用钾和总硫酸钾的活性。在 T3 处理中, K_2O 的输入量为 $247.57\text{kg}/\text{hm}^2$, 输入量为 $125.46\text{kg}/\text{hm}^2$, 其更显著。对前 10 位优势植物的土壤 pH 值、土壤酶活性、钾硫含量进行相关分析, 结果表明, 前 3 位优势植物蛋白质、抗菌剂、增效剂与土壤 pH 值、土壤反酶活性、脲酶活性、酶活力呈显著或极显著正(负)相关, 钾和硫的含量, 推测施用硫酸钾可以通过影响土壤的主要类群, 改变细菌群落之间的竞争, 改变土壤微生物的结构, 土壤 pH 值也与细菌的芽尺寸, 厚度栅极和比例显著与细菌显著呈负相关。厚度栅极和推线厚度之间存在显著的正相关, 以及尿素活性和 γ 门之间的显著负相关。可用硫和芽长之间存在显著的正相关性, 与迁移栅极的显著负相关, 与迁移门的显著负相关, 以及与迁移栅极厚度的正相关。速效钾和绿弯菌门之间存在显著的负相关, 以及与横向栅极, *Pachydermus* 和推闸的显著正相关。此外, 土壤磷酸酶活性与任何显性细菌之间无显著相关性。综合分

析表明, 土壤细菌群落与土壤 pH 值, 土壤脲酶活性, 钾和硫含量密切相关。硫酸钾可能影响土壤细菌群落的主要显性浇口和组成。

3 讨论

结果表明, 休闲区细菌群落多样性指数未施肥, 细菌数量略有下降, 即细菌群落数量和多样性下降。可能是由于多年单一种植, 连作导致根系分泌物和植物残体当前种植年限的增加而增加, 导致土壤微生物失衡, 而施肥、T1 和 T2 处理减少了土壤细菌, 但多样性的增加可能是由于硫酸钾肥料投入相对较少, 影响了营养需求量的细菌的代谢, 才可以有效的抑制到了其的生长; T3 的多样性指数增加, K_2O 的输入量为 $247.57\text{kg}/\text{hm}^2$, S 的输入量为 $125.46\text{kg}/\text{hm}^2$ 。

养分在土壤中的输入达到一个相对均衡的状态, 可以是各种细菌, 生长代谢提供能量, 使细菌具有均匀性和多样性指数, 研究表明, 在自然界中, 丰富的遗传多样性和代谢, 当前植物聚合物的降解, 参与水合物的代谢, 稳定的生态贡献。大多数硫氧化物属于菌株细菌, 并且迁移门的压板大多是原生质体, 主要分解土壤中的动物和植物有机物。不同治疗下的显性细菌的分析表明, 硫酸钾的结构在硫酸钾的主要细菌组中较小, 当前硫酸钾的增加, 幽门的变形降低, 细菌变形增加, 细菌栅极形成, 结果表明, 土壤中的总硫和钾含量可以反射。突出的硫和钾, 有效的硫和可用钾是通过植物直接吸收硫和钾的形式, 并能够直接反映出了土壤的硫和钾效应。抗菌抗酸是嗜酸性粒细胞, 抗酸活性有利于其代谢活性, 其主要作用是减少植物残体。本研究中, 当前硫酸钾的施用, 土壤 pH 呈下降趋势, 抗酸与土壤 pH 呈极显著正相关, 即当前土壤 pH 的下降, 抗酸菌的相对丰度有所下降, 这与丁新勤等人的研究结果不一致, 但与赵木秋等人的研究结果一致, 这说明抗酸杆菌的分布不仅受 pH 值的影响, 还受到了其他土壤因素的影响。

4 结束语

由上可知, 土壤微生物是土壤生态系统中重要的组成部分, 在土壤有机质分解中有着十分重要的作用。通过对各处理进行细菌群落相似性的分析发现长期使用到硫酸钾肥能够明显的改变了土壤群落的整体结构, 硫酸钾用量与土壤细菌群落之间有着密切的关联。

参考文献:

- [1] 郭萍萍, 黄幸然, 吴旺旺, 等. 不同施氮方式和施氮量对马尾松和木荷幼苗根系土壤细菌群落的影响 [J]. 生态学报, 2021, 41(1): 149-161.
- [2] 丛微, 于晶晶, 李迪强, 等. 人参种植对林地土壤细菌群落结构和代谢功能的影响 [J]. 生态学报, 2021, 41(1): 62-171.
- [3] 张慧, 苏光秋, 林陈强, 等. 酸性土壤玉米根际土壤细菌群落对秸秆还田和土壤调理剂的响应 [J]. 福建农业学报, 2021, 36(4): 473-479.