

# 连续施用沼液水稻油菜轮作耕层土壤的细菌多样性 PCR-DGGE 分析

冯丹妮<sup>1,2</sup>, 伍 钧<sup>2</sup>, 杨虎德<sup>1</sup>

(1. 甘肃省农业科学院土壤肥料与节水农业研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 四川农业大学, 四川 成都 611130)

**摘要:** 采用 PCR-DGGE 克隆测序技术, 分析沼液连续施用水稻油菜轮作耕层土壤细菌群落结构、丰富度指数和多样性指数等。通过 DGGE 图谱分析得出, 沼液连年施用不利于丰富土壤细菌群落多样性, 当连续 3 a 沼液施用总量控制为 339.31~396.81 t/hm<sup>2</sup> 时, 细菌群落多样性增加, 种群功能丰富、信息复杂、种群稳定, 过高或过低施用沼液都会显著降低细菌群落多样性; 通过 UPGMA 分析表明, 长期连续施用沼液后土壤细菌遗传相似性降低, 细菌种群结构变化越来越大。

**关键词:** 水稻; 油菜; 轮作; 沼液施用量; 土壤细菌多样性; PCR-DGGE

**中图分类号:** S154.32 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2019)08-0041-09

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2019.08.009

## Bacterial Diversity in Topsoil of Continuous Application of Biogas Slurry Rice-rape Rotation Analysised Using PCR-DGGE

FENG Dani<sup>1,2</sup>, WU Jun<sup>2</sup>, YANG Hude<sup>1</sup>

(1. Institute of Soil Fertilizer and Water-saving Agriculture, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Sichuan Agricultural University, Chengdu Sichuan, 611130, China)

**Abstract:** PCR-DGGE cloning sequencing technology was used to analyze and compare the bacterial community structure, richness index and diversity index of soil bacteria in rice-rape rotation cultivation layer. Through the analysis of the DGGE profiles concluded that biogas slurry in successive years application does not favor the rich soil bacterial community diversity, when biogas slurry application of total amount controled in 339.31~396.81 t/hm<sup>2</sup>, bacterial community diversity increases, bacterial population feature rich, complicated information and population stable, too high or too low application of biogas slurry can significantly reduce the bacterial community diversity; According to UPGMA analysis, the genetic similarity of soil bacteria decreased after long-term continuous application of biogas slurry, and the bacterial population structure changed bigger and bigger.

**Key words:** Rice; Rape; Rotation; Amount of biogas slurry; Bacterial community diversity; PCR-DGGE

随着规模化养殖业迅猛发展, 畜禽粪便等废弃物排放成为突出的环境问题, 沼气工程是处理畜禽粪便等废弃物最有效的途径,

为此国家增加投入建设沼气工程, 随之产生大量的沼液。沼液中含有氮、磷、钾等作物生长必须的营养元素和铁、锌、锰等多种微

收稿日期: 2019-07-08

**作者简介:** 冯丹妮(1989—), 女, 辽宁鞍山人, 研究实习员, 硕士, 主要从事农业面源污染监测与防控技术研究工作。Email: fengdanni1989@163.com。

**通信作者:** 伍 钧(1962—), 男, 四川中江人, 教授, 博导, 主要从事环境污染生态修复研究工作。Email: wuj1962@163.com。

量元素<sup>[1]</sup>，同时富含各类氨基酸、维生素、蛋白质、生长素等有益的有机成分，对提高农产品品质、改良土壤有积极作用<sup>[2-4]</sup>。但现代规模化养殖为加快畜禽生长速度及提高饲料利用率和预防疾病，常在饲料中添加激素类、抗生素等物质，它们大部分残留于畜禽粪便中，对沼液的资源化利用提出了新的挑战，不合理地施用沼液可能提高农业面源污染风险。

微生物作为土壤生态系统中最活跃的部分，受土壤环境条件影响较为敏感。越来越多的研究表明，土壤微生物多样性在评价土壤生态系统功能、维护土壤生态系统平衡及促进土壤可持续利用等方面发挥着重要作用<sup>[5-6]</sup>。近年来，分子生物学分析方法不断进步，并被广泛应用于微生物生态学研究，使土壤微生物多样性研究有了突破式的进展。多聚酶扩增-变性梯度电泳法(PCR-DGGE)在土壤微生物多样性分析中应用的较为成熟，可以较好的反映土壤微生物的结构变化<sup>[7-8]</sup>。我们于2009—2012年以资源化、无害化处理沼液，防止其造成面源污染为目的，在四川南方山丘区水稻油菜轮作土壤中进行连续3 a施用沼液试验，通过监测0~20 cm耕层土壤细菌群落多样性，评价长期施用沼液对土壤细菌群落多样性的影响，以期为沼液的农田消解方式提供更全面的参考和理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

试验设在四川省邛崃市固驿镇黑石村，地势平坦向阳，排灌方便。供试土壤为黄壤性水稻土。原始耕层土壤肥力中等，含全氮2.11 g/kg、碱解氮173.4 mg/kg、有机质35.65 g/kg、速效磷57.32 g/kg、速效钾31.48 mg/kg，pH为4.8。

### 1.2 供试材料

指示水稻品种为籼型水稻，油菜品种为

宜油15。供试沼液为四川金利有限公司生猪黑石养殖场以通威饲料养殖的猪场粪尿经厌氧发酵完全的沼液，其成分含量为全氮876.23 mg/L、铵态氮634.7 mg/L、硝态氮7.27 mg/L、全磷83.19 mg/L、全钾378.5 mg/L。供试化肥为尿素(含N $\geq$ 46%)、含有机质磷肥(速效磷 $\geq$ 12%，有机质 $\geq$ 3.0%)、氯化钾(K<sub>2</sub>O $\geq$ 60%)、硼肥(硼酸钠盐含量99%，纯硼含量15%)、有机复合肥(N-P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>-K<sub>2</sub>O为20-20-10)。

### 1.3 试验设计

试验采用水稻油菜轮作。自2009年播种水稻至2012年收割油菜，连续3 a种植6季作物(水稻油菜轮作)，每季作物根据其生长所需养分及以往施肥经验确定不同的沼液施用量。设置12个处理(表1)，包括1个清水对照(CK1)、1个常规施肥对照(CK2)和10个纯沼液处理(BS1~BS10)。随机区组排列，3次重复，小区面积20 m<sup>2</sup>(5 m $\times$ 4 m)，处理间间隔40 cm，重复间间隔50 cm，四周设保护行。水稻、油菜种植均按当地常规方法育苗，水稻4月播种，5月移栽，按宽窄行移栽，每小区定植288穴；油菜9月份播种，10月份移栽，株距35 cm，每小区种植168株。

### 1.4 样品采集

连续3 a 6季水稻油菜轮作，油菜收割后分小区多点采集0~20 cm土样，混匀，四分至1 kg左右，用灭菌镊子去除植物根系、石砾等杂物，将土样收集于无菌封口袋中，密封带回实验室储存于-70℃冰箱备用。

### 1.5 分析方法

1.5.1 土壤总DNA提取 采用美国MOBIO公司的PowerSoil™ DNA Isolation Kit(DNA强力提取试剂盒)提取，依照试剂盒设计，土壤加样量设定为0.25 g，提取完毕用1%的琼脂糖凝胶电泳进行质量检测。

1.5.2 PCR-DGGE分析 PCR扩增：选用

细菌 16S rDNA V6-V8 区通用引物 (上海生物工程技术有限公司合成), 具体引物名称与序列见表 2<sup>[9-10]</sup>。PCR 扩增采用 Nested-PCR(巢式 PCR)程序。为减少扩增过程中产生非特异性产物, 试验采用 Touch-down 反应程序。

第 1 次 PCR 反应体系: PCR Master Mix (TIANGEN BIOTECH, BEIJING) 25  $\mu\text{L}$ , 引物 BSF8/20 和 BSR1541/20 各 0.5  $\mu\text{L}$ , DNA 模板 8 ng, 加 ddH<sub>2</sub>O 至 50  $\mu\text{L}$ 。反应程序: 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 10 min, 随后 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min、65 ~ 55  $^{\circ}\text{C}$  退火 50 s (每次循环降低 0.5  $^{\circ}\text{C}$ )、72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 90 s, 循环 20 次, 而后 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 1 min、55  $^{\circ}\text{C}$  退火 50 s、72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 90 s, 15 个循环, 最后在 72  $^{\circ}\text{C}$  条件下再延伸 10 min,

产物保存于 4  $^{\circ}\text{C}$ 。

第 2 次 PCR 扩增: 将第 1 轮 PCR 扩增产物 1 : 10 稀释液作为 DNA 模板。体系为: 25  $\mu\text{L}$  PCR Master Mix, 引物 GC-968F 和 1401R 各 0.5  $\mu\text{L}$ , DNA 模板 1  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O 23  $\mu\text{L}$  (总体系为 50  $\mu\text{L}$ )。反应体系在第 1 次 PCR 程序基础上, 退火温度 20 个循环改为 63 ~ 53  $^{\circ}\text{C}$ 、15 个循环改为 53  $^{\circ}\text{C}$ , 其他条件不变。

1.5.3 变性凝胶梯度电泳(DGGE) 凝胶制备: 按 DGGE 浓度 8%、变性剂高低浓度 40% ~ 55%, 并分别加入 25  $\mu\text{L}$  TEMED、50  $\mu\text{L}$  10% 过硫酸铵溶液, 摇匀, 迅速手动灌胶, 插入梳子, 置于 50  $^{\circ}\text{C}$  烘箱 30 min, 而后置于水平桌面过夜。

表 1 3 a 连续施用沼液情况<sup>①</sup>

t/hm<sup>2</sup>

处理	沼液施用总量	水稻期沼液或化肥施用总量	油菜期沼液或化肥施用总量
CK1	0	0	0
CK2	0	尿素 0.15、磷肥 0.99、钾肥 0.10、有机复合肥 1.994	尿素 0.51、磷肥 2.25、钾肥 0.26、硼肥 0.008 4
BS1	179.79	29.25	150.54
BS2	259.53	52.50	207.03
BS3	339.31	75.75	263.56
BS4	396.81	99.00	297.81
BS5	443.28	122.25	321.03
BS6	495.31	145.50	349.81
BS7	546.32	168.75	377.57
BS8	626.10	192.00	434.10
BS9	709.59	219.00	490.59
BS10	793.09	246.00	547.09

①水稻季肥料作为分蘖肥一次性施入, 油菜季硼肥作为基肥一次性施入, 其他肥料根据油菜不同生长季节所需养分分次施入。

表 2 PCR 引物设计

引物名称	序列
BSF8/20	5'-AGAGT TTGAT CCTGG CTCAG-3'
BSR1541/20	5'-AAGGA GGTGA TCCAG CCGCA-3'
GC-968F	5'-CGCCC GGGC GCGCC CCGGG CGGGG GCACG GGGGG AACGC GAAGA ACC TTA-3'
1401R	5'-GCG TGT GTA CAA GAC CC-3'

1.5.4 电泳 轻轻拔出梳子并用缓冲液清洗点样孔, 安装胶板并置于装有预热(60 ℃)的 1 × TAE 缓冲液的电泳槽中, 按电压 50 V 电泳 30 min, 再按电压 180 V 电泳 7 h。

1.5.5 染色与成像 电泳结束之后, 采用银染法对 DGGE 凝胶进行染色。其主要流程如下: ①固定: 将凝胶置于 1 L 固定液中(10%无水乙醇, 0.5%冰醋酸), 水平振荡 15 min; ②染色: 取出胶片用去离子水冲洗凝胶 2 ~ 3 次, 然后加入 1 L 银染液(0.2% AgNO<sub>3</sub>, 200 μL 甲醛), 避光水平振荡 20 min; ③显色: 倒弃银染液用去离子水冲洗凝胶 2 ~ 3 次, 加入 1 mL 显色液(1.5% NaOH, 2 mL 甲醛), 振荡至出现较清楚条带; ④再固定: 倒弃显色液放入 1 L 固定液(可重复使用)固定 10 s; ⑤清洗胶片。

成像: 将胶片平整放在胶片观察灯上, 用相机清晰拍下胶片。

1.5.6 DGGE 图谱分析 DGGE 凝胶上的每个条带都代表一个单独的序列类型或系统发育类型。采用所得图像用 Bio-Rad Quantity One 4.62 对 DGGE 图谱进行定量分析, 如条带位置、相对亮度等。采用 Excel 2007 计算 Simpson 指数、Shannon-Wiener 指数和均匀度指数( $E_H$ )。

$$\text{Shannon-Wiener指数: } H = -\sum_{i=1}^S \left( \frac{N_i}{N} \cdot \ln \frac{N_i}{N} \right)$$

$$\text{Simpson 指数: } D = \sum_{i=1}^S \left( \frac{N_i}{N} \right)$$

丰富度指数(S): 最大物种多样性

均匀度指数:  $E_H = H / \ln S$

式中  $N_i$  为第  $i$  种物种的光密度值,  $N$  为所有条带的总光密度值。

根据条带的出现或消失来建立二元矩阵, 经 NTSYS 软件计算得出 Jaccard 系数, 并用 UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic averages) 进行聚类分析。

## 1.6 数据处理

将 Quantity One 定量分析数据拷贝到

Excel 2007 中进行转换运算, 再由 SPSS18.0 进行统计分析, 用邓肯 (Duncan's test) 检测法检验其差异显著性水平 ( $P < 0.01$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤微生物总 DNA 提取与 PCR 扩增

采用 DNA 强力提取试剂盒提取土壤微生物总 DNA, 所提取 DNA 溶液浓度为 6.61 ~ 14.11 ng/μL (表3)。第 1 轮 PCR 扩增应用细菌通用引物 BSF8/20 和 BSR1541/20 获取 DNA 模板, 将其稀释 10 倍, 取 1 μL 稀释液于 50 μL 体系, 采用 GC-968F 和 1401R 引物对进行第 2 轮扩增得到目标片段, 取 3 μL 第二轮 PCR 产物, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, PCR 产物片段大小均匀, 特异性高(图1), 无需纯化适合进行 DGGE 操作。

表 3 土壤总 DNA 提取浓度

处理	DNA 浓度 /(ng/μL)
CK1	6.61
CK2	6.61
BS1	14.11
BS2	8.86
BS3	8.86
BS4	9.43
BS5	7.75
BS6	8.30
BS7	8.30
BS8	11.74
BS9	9.43
BS10	10.57

### 2.2 DGGE 图谱分析

根据 DGGE 原理, DGGE 图谱中每个条带大致代表一种微生物优势菌群, 条带染色后, 条带强度代表该菌种相对丰度, 条带数多寡则代表细菌种群多样性高低。由图 2 可以看出, 不同处理样品泳道间的公共条带代表供试样品中存在共有细菌, 说明该种细菌类群稳定, 不易受土壤环境变化影响; 不同处理样品泳道 DGGE 条带数量、迁移位置、

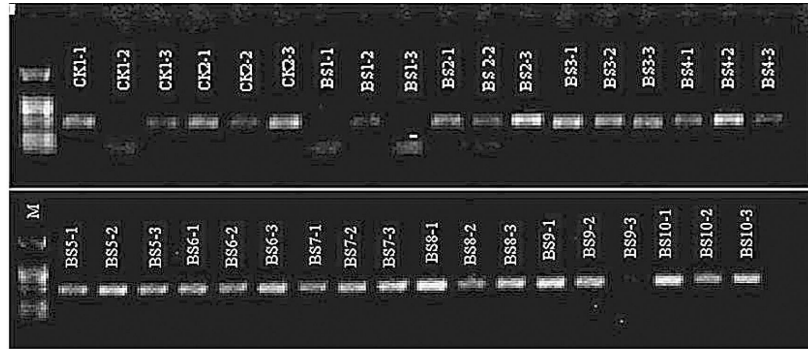


图 1 16S rRNA V6-V8 区扩增产物琼脂糖凝胶电泳图



图 2 土壤 16S rRNA DGGE 图谱<sup>①</sup>

①从左至右 Lane1~Lane36 每 3 条泳道代表一种处理样品，依次为 BS10, BS9, BS8, BS7, BS6, BS5, BS4, BS3, BS2, BS1, CK2, CK1。

亮度和粗细均存在差异，说明不同处理样品中细菌类群种类和数量差异较大。与 CK1 相比，CK2 样品中部分条带亮度减弱或消失；沼液施用处理样品中虽有部分条带消失，同时也有新的条带出现，随沼液施用量增加条带位置和亮度逐步发生明显变化。

### 2.3 细菌群落结构分析

应用 Quantity One 4.62 对 DGGE 图谱进行数字化处理，计算不同处理样品泳道的丰富度指数、Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数和均匀度指数等。

从表 4 可以看出，清水处理(CK1)土壤细菌丰富度为 30、Shannon-Wiener 指数 3.390，极显著高于化肥处理和多数 BS 处理，说明清水处理土壤中细菌类群繁多、功能性强。长期施用化肥的 CK2 处理土壤中细菌类群丰富度和多样性指数极显著小于清水对照处理。长期施用沼液处理土壤细菌类群也发生明显变化，随沼液施用量增加，土

壤细菌种群丰富度、多样性指数大体呈先升高后降低的趋势，并以 BS4 处理（沼液施用总量 396.81 t/hm<sup>2</sup>）达最大值，其中丰富度为 32、多样性指数为 3.470，极显著大于 CK1、CK2 和其他 BS 处理(BS3 除外)。当沼液施用量低于 396.81 t/hm<sup>2</sup> 时（即 BS1、BS2 处理），土壤细菌丰富度和多样性指数极显著小于 CK1、大于 CK2，高于该施用量（即 BS5、BS6、BS8、BS9、BS10）的处理细菌种群丰富度和多样性逐渐降低且极显著小于 CK1、CK2，说明长期不合理的施用沼液会导致土壤细菌丰富度和多样性指数减小。

各处理土壤 Simpson 指数呈完全相反变化规律。当土壤细菌 Shannon-Wiener 指数较高时，Simpson 指数较低；Shannon-Wiener 指数降低时 Simpson 指数升高。说明土壤细菌类群繁多时优势类群不突出，土壤细菌类群数量减少时优势类群明显。

不同处理条件下细菌种群均匀度差异不

显著,说明连续 3 a 施肥处理存活的土壤细菌类群通过群落结构的不断变化来优化群落的整体功能,从而适应环境条件,降低物种奇异度。

#### 2.4 细菌群落相似性分析

通过 UPGMA 方法对不同施肥处理土壤细菌 16S rRNA DGGE 图谱条带进行群落结构相似性聚类分析。Lane1—Lane36 每 3 条为同一处理土壤样品,依次代表 BS10 ~ BS1、CK2、CK1 处理土壤样品。由图 3 可

知,不同处理土壤细菌群落结构有明显变化,CK1 与 CK2 处理土壤细菌群落相似度大于 70%;CK1 与 BS1、BS2 沼液处理相似度高于 67%,与 BS3、BS4、BS5、BS6 相似度仅 37%,与 BS7、BS8、BS9、BS10 相似度仅 34%。说明经长期不同施肥处理,土壤细菌类群繁育会出现差异,以适应不同的土壤环境。

随沼液施用量增加,土壤细菌群落结构逐步发生变化。根据相似度大小将 BS 处理

表 4 不同处理耕层土壤细菌多样性指数

处理	丰富度	Shannon-Wiener index	Simpson index	均匀度
CK1	30 B	3.390 ± 0.004 B	0.034 ± 0.000 F	0.997 ± 0.001 ABC
CK2	26 D	3.234 ± 0.024 D	0.040 ± 0.001 DE	0.997 ± 0.000 ABC
BS1	27 C	3.301 ± 0.021 C	0.037 ± 0.001 E	0.998 ± 0.000 A
BS2	26 D	3.241 ± 0.007 D	0.040 ± 0.001 D	0.995 ± 0.002 BC
BS3	32 A	3.467 ± 0.016 A	0.032 ± 0.001 F	0.997 ± 0.001 AB
BS4	32 A	3.470 ± 0.018 A	0.032 ± 0.001 F	0.998 ± 0.000 ABC
BS5	24 E	3.163 ± 0.003 E	0.043 ± 0.000 C	0.995 ± 0.001 BC
BS6	24 E	3.154 ± 0.021 E	0.043 ± 0.001 C	0.997 ± 0.001 ABC
BS7	26 D	3.248 ± 0.001 D	0.039 ± 0.000 DE	0.997 ± 0.000 ABC
BS8	15 G	2.715 ± 0.041 G	0.067 ± 0.003 A	0.995 ± 0.002 C
BS9	17 F	2.824 ± 0.002 F	0.060 ± 0.000 B	0.997 ± 0.001 ABC
BS10	24 E	3.167 ± 0.000 E	0.043 ± 0.000 C	0.997 ± 0.000 ABC

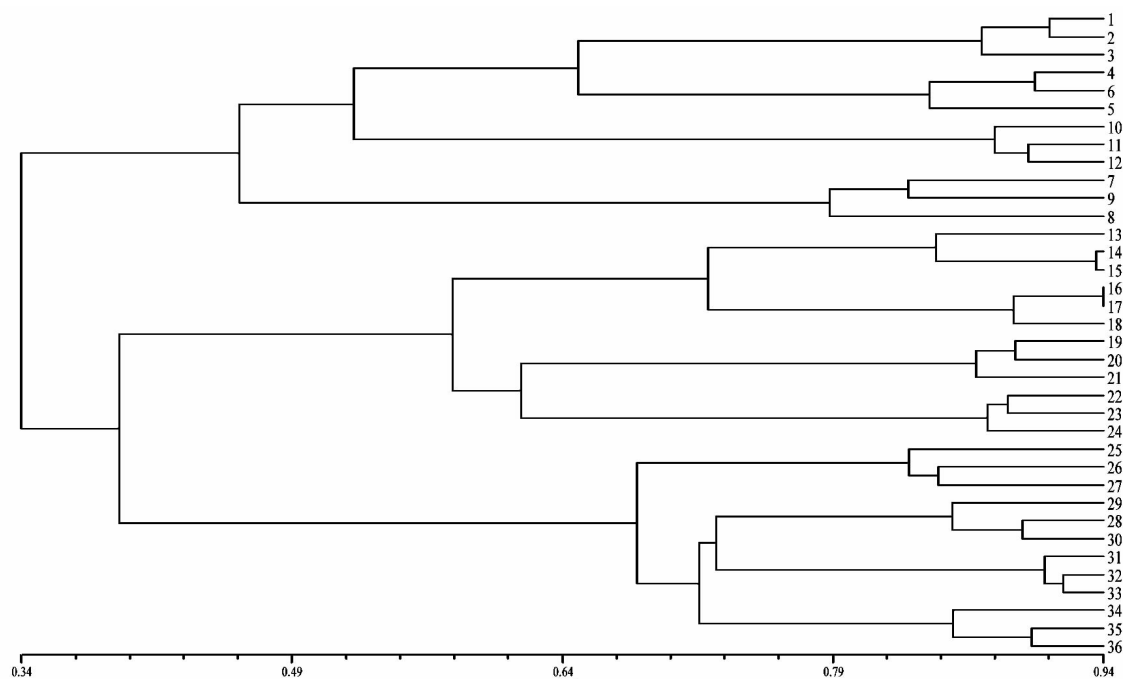


图 3 不同处理土壤细菌 DGGE 图谱的聚类分析

样品分组,表明沼液施用量相近的土壤细菌种群相似度较高,其中 BS1 与 BS2(Lane7-12)聚为一类,为 I 组,BS3、BS4、BS5、BS6 (Lane13-24)聚类为 II 组,BS7、BS8、BS9、BS10(Lane25-36)聚类为 III 组。不同组别之间相似度范围在 34% ~ 37%,其中 BS1、BS2、BS3、BS4、BS5、BS6 (I 组、II 组)与 BS7、BS8、BS9、BS10(III 组)之间相似性最小,仅 34%。说明不同沼液施用量对土壤细菌群落相似性影响很大。

### 3 小结与讨论

通过试验得出,长期施用化肥导致土壤中某些细菌类群消失,但遗传相似性较高,说明细菌群落稳定性较好;长期施用沼液土壤中不仅有某些细菌类群消失,同时伴有新的类群出现,遗传相似性降低。适量施用沼液能够提高土壤细菌丰度和 Shannon-Wiener 指数,过多则效果降低,在本研究条件下,连续 3 a 沼液施用总量为 339.31 ~ 396.81 t/hm<sup>2</sup> 较适宜。

通过 DGGE 图谱分析得出,不同处理泳道中多数条带相同,说明这些细菌种群稳定,不易受到土壤环境变化的影响,但同时也有部分条带缺失或特异性条带出现。Marschner P 等<sup>[11]</sup>研究指出,不同肥料种类、用量及配施方式均可改变土壤养分含量及组成等,进而对土壤微生物产生影响。通过 DGGE 图谱的数字化分析看出,不同施肥处理耕层土壤细菌丰富度、Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数差异极显著,均匀度指数差异不显著。本研究中,经化肥长期施用土壤中细菌丰富度、Shannon-Wiener 指数极显著小于清水处理,与李英秀等<sup>[12]</sup>、徐永刚等<sup>[13]</sup>研究结论一致;沼液处理土壤细菌丰富度和多样性指数多小于清水处理,与朱金山等<sup>[14]</sup>的研究结果相似。化肥和沼液的大量施用有效增加了土壤有机质、碱解氮、有效磷、速效钾等养分含量,刺激喜富营养微

生物生长繁育,但土壤自然条件下该类微生物种类较少,从而导致群落多样性降低;相反,贫营养微生物和土著微生物种类繁多,在清水处理和低沼液处理的养分较低的土壤中迅速繁衍,使得土壤细菌种群多样性提高。同时,土壤养分本底值含量也是影响细菌种群丰富度的重要因素,如在土壤有机质本底值含量较高时施入有机肥,其土壤微生物细菌多样性低于在低有机质含量土壤中施入有机肥<sup>[15-16]</sup>,连续的施肥处理不断向较高养分含量土壤中施入更多养分,会导致土壤细菌种群多样性降低。

随沼液施用量增加,土壤细菌多样性差异极显著。当沼液施用量低于 396.81 t/hm<sup>2</sup> 时,土壤细菌群落丰度、多样性指数极显著高于清水处理和常规施肥处理,超过此沼液施用量则土壤细菌群落多样性减小,甚至低于化肥处理,这与黄继川等<sup>[17]</sup>研究结果相同。土壤微生物群落结构与土壤 pH、有机质、土壤养分及土壤酶活性密切相关,这些因素的变化均能影响土壤微生物群落结构,改变微生物群落组成和数量<sup>[18-19]</sup>。李忠佩等<sup>[20]</sup>通过拟合稻田土壤中细菌 Shannon-Wiener 指数与速效磷的一元二次方程发现,土壤速效磷对土壤细菌多样性影响存在明显转折点,即在速效磷含量超过 37.8 ~ 49.3 mg/kg 时土壤细菌多样性指数下降。

相应地,细菌 Simpson 指数与丰富度和 Shannon-Wiener 指数呈反比,当丰富度与多样性指数增大时细菌种群功能多样、信息复杂,优势类群不突出;当丰富度和多样性指数降低时一些细菌种群消失,使适应环境的细菌种群有更充足的养分、生长繁殖旺盛,成为优势种,优势度较高。

为进一步了解各处理土壤细菌群落结构的变化,本研究通过 UPGMA 方法对样品 DGGE 图谱进行聚类分析。结果表明,长期施用化肥土壤中细菌种群遗传相似性高达

67%，这与孟庆杰等<sup>[21]</sup>、Zhong W H 等<sup>[22]</sup>的结果一致。随沼液施用量增加，土壤细菌遗传相似性呈阶段性变化，聚为一类的组内处理细菌群落相似度均高于 50%，组间相似性逐级降低。不同处理土壤微生物群落结构受土壤 C/N 比影响深刻，不同施肥方式下的不同微域生态环境也会导致微生物群落结构变化。在研究中，随沼液施用量增加，土壤养分含量、水热状况、微生物区系组成等存在差异，土壤中存活的优势细菌种群通过改变群落结构、优化群落功能来适应新的环境条件，从而导致代谢功能变化、遗传相似性降低。

#### 参考文献：

- [1] WENTZEL S, SCHMIDT R, PIEPHO H P, et al. Response of soil fertility indices to longterm application of biogas and raw slurry under organic farming[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 96(4): 99–107.
- [2] 王远远, 刘荣厚. 沼液综合利用研究进展[J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(4): 1089–1091.
- [3] 张亚莉, 董仁杰, 刘玉青. 沼肥在农业生产中的应用[J]. *安徽农业科学*, 2007, 35(35): 11549–11550.
- [4] 黄世文, 廖西元. 沼肥用于水稻的现状 & 展望[J]. *中国沼气*, 2005, 23(2): 23–26.
- [5] CABALLEROMELLADO J. Agriculture microbiology and microbe interaction with plants[J]. *Revista Latinoamericana De Microbiología*, 2006, 48(2): 154–161.
- [6] 谭益民, 何苑皞, 郭文平. 基于分子技术的土壤微生物多样性研究进展[J]. *中南林业科技大学学报(自然科学版)*, 2014(10): 1–9.
- [7] 邢华铭, 杜海涛, 张黎黎, 等. PCR-DGGE 与 Biolog 技术在土壤微生物多样性研究中的比较[J]. *农业开发与装备*, 2013(10): 48; 68.
- [8] CAN S, LI PL, YAN Q D, et al. Culture-independent methods for studying environmental microorganisms: methods, application, and perspective[J]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 2011, 93(3): 993–1003.
- [9] GU Y F, ZHANG X P, TU S H, et al. Soil microbial biomass, crop yields, and bacterial community structure as affected by long-term fertilizer treatments under wheat-rice cropping [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2009, 45(3): 239–246.
- [10] HEUER H, KRSEK M, BAKER P, et al. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients[J]. *Applied and environmental microbiology*, 1997, 63(8): 3233–3241.
- [11] MARSCHNER P, CROWLEY D, YANG C H. Development of specific rhizosphere bacterial communities in relation to plant species, nutrition and soil type[J]. *Plant and Soil*, 2004, 261(1–2): 199–208.
- [12] 李秀英, 赵秉强, 李絮花, 等. 不同施肥制度对土壤微生物的影响及其与土壤肥力的关系[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(8): 1591–1599.
- [13] 徐永刚, 宇万太, 马强, 等. 长期不同施肥制度对潮棕壤微生物生物量碳、氮及细菌群落结构的影响[J]. *应用生态学报*, 2010, 10(8): 2078–2085.
- [14] 朱金山, 张慧, 马连杰, 等. 不同沼灌年限稻田土壤微生物群落分析[J]. *环境科学*, 2018, 39(5): 2400–2411.
- [15] KONG W D, LIU K X, LIAO Z W. Effects of organic matters on metabolic functional diversity of soil microbial community under pot incubation conditions[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005(9): 2291–2296.
- [16] BENDING G D, TURNER M K, JONES J E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34 (8): 1073–



# 张杂谷系列6个品种在平凉旱塬区引种初报

曹 丽, 王宗胜

(平凉市农业科学院, 甘肃 平凉 744000)

**摘要:** 在平凉旱塬区对引进张杂谷系列6个谷子品种进行比较, 结果表明, 张杂谷19号折合产量最高, 为4 400 kg/hm<sup>2</sup>, 比对照品种金穗谷增产11.68%; 张杂谷5号折合产量较高, 为4 120 kg/hm<sup>2</sup>, 比对照品种金穗谷增产4.57%。2个品种生育期适宜, 抗性强, 田间表现好, 可在平凉旱塬区推广种植。

**关键词:** 谷子; 品种; 旱塬区; 引种试验; 平凉

**中图分类号:** S515 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2019)08-0049-04

**doi:** 10.3969/j.issn.1001-1463.2019.08.010

谷子又名粟, 属禾本科黍族狗尾草属一年生植物<sup>[1]</sup>。它起源于我国黄河流域, 在我国北方旱作农业区广泛种植, 是我国北方重要的粮食作物之一, 但长期以来, 谷子一直是低产作物, 生产效益低<sup>[2-3]</sup>。张家口市农业科学院利用光(温)敏不育两系

法<sup>[4]</sup>, 培育出的一系列适合春夏播、水旱地、不同生育期配套的杂交谷子新品种<sup>[5-6]</sup>, 填补了我国谷子杂种优势利用研究的空白<sup>[7]</sup>。为丰富平凉旱塬区种植谷子品种, 提高当地粮食产量, 增加农民收入<sup>[8]</sup>, 我们于2017年从张家口市农业科学院引进了

**收稿日期:** 2019-01-21

**作者简介:** 曹 丽 (1986—), 女, 甘肃平凉人, 助理研究员, 主要从事小杂粮栽培育种研究工作。  
Email: 191251785@qq.com。

**通信作者:** 王宗胜 (1965—), 男, 甘肃平凉人, 副研究员, 主要从事小杂粮育种栽培研究工作。  
Email: 446459011@qq.com。

1082.

[17] 黄继川, 徐培智, 彭智平, 等. 基于稻田土壤肥力及生物学活性的沼液适宜用量研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(2): 362-371.

[18] WALSH J J, ROUSK J, EDWARDS-JONES G, et al. Fungal and bacterial growth following the application of slurry and anaerobic digestate of livestock manure to temperate pasture soils [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2012, 48: 889-897.

[19] MANGALASSERY S, MOONEY S J, SPARKES D L, et al. Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils [J]. *European Journal of Soil*

*Biology*, 2015, 68: 9-17.

[20] 李忠佩, 吴晓晨, 陈碧云. 不同利用方式下土壤有机碳转化及微生物群落功能多样性变化[J]. 中国农业科学, 2007, 40(8): 1712-1721.

[21] 孟庆杰, 许艳丽, 李春杰, 等. 不同施肥、土地利用方式对黑土细菌多样性的影响[J]. 大豆科学, 2008(3): 480-486.

[22] ZHONG W H, CAI Z C, YIN L C, et al. Effects of the long-term application of inorganic fertilizers on microbial community diversity in rice-planting red soil as studied by using PCR-DGGE[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(10): 4011-4018.

(本文责编: 陈 伟)