

DOI: 10.11686/cyxb2021414

http://cyxb.magtech.com.cn

靳旭妹, 王莹莹, 刘崇义, 等. 生草对关中地区有机猕猴桃园土壤养分及细菌群落的影响. 草业学报, 2022, 31(10): 53—63.

JIN Xu-mei, WANG Ying-ying, LIU Chong-yi, et al. Effects on soil nutrients and bacterial communities of different cover crops in an organic kiwifruit orchard in the Guanzhong region of China. Acta Prataculturae Sinica, 2022, 31(10): 53—63.

生草对关中地区有机猕猴桃园土壤养分及细菌群落的影响

靳旭妹, 王莹莹, 刘崇义, 陈新义, 龙明秀*, 何树斌*

(西北农林科技大学草业与草原学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:为探究不同生草模式对关中地区有机猕猴桃园土壤养分及细菌群落的影响, 试验设置多年生黑麦草+毛苕子 (Mode 1)、多年生黑麦草+草木樨 (Mode 2)、多年生黑麦草+白三叶 (Mode 3) 及鼠茅草 (Mode 4), 以自然生草处理为对照 (CK), 观察草种生长特性、研究生草对果园耕层 (0~20 cm) 土壤养分影响, 采用高通量测序法分析细菌群落结构。结果表明: 鼠茅草越冬率最高, 样地杂草株数最少。人工生草较自然生草有机质提高了 6.46%~38.63%, 以多年生黑麦草+毛苕子效果更为明显, 且该处理提高土壤脲酶、蔗糖酶和碱性磷酸酶活性最为显著, 分别为 3.37、44.17 和 3.46 $\text{mg}\cdot\text{d}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ 。同时, 与自然生草相比, 多年生黑麦草+毛苕子、多年生黑麦草+草木樨和多年生黑麦草+白三叶提高了土壤细菌群落的丰富度和多样性, 多年生黑麦草+毛苕子存在最多差异显著的细菌分支。综上, 关中地区有机猕猴桃园种植多年生黑麦草+毛苕子在一定程度上有助于提高土壤有机质及养分含量, 改善土壤微生态环境。

关键词: 果园生草; 土壤养分; 土壤细菌多样性; 16S rDNA 高通量测序

Effects on soil nutrients and bacterial communities of different cover crops in an organic kiwifruit orchard in the Guanzhong region of China

JIN Xu-mei, WANG Ying-ying, LIU Chong-yi, CHEN Xin-yi, LONG Ming-xiu*, HE Shu-bin*

College of Grassland Agriculture, Northwest A&F University, Yangling 712100, China

Abstract: This study investigated the effects of different cover crop combinations on soil nutrients and bacterial communities in organic kiwifruit orchards in the Guanzhong area. Four cover crop combinations were tested: 1) *Lolium perenne*+*Vicia villosa*; 2) *L. perenne*+*Melilotus officinalis*; 3) *L. perenne*+*Trifolium repens*; and 4) *Vulpia myuros*. Natural grass was used as the control. The growth characteristics of grass species and the effects of cover crops on soil nutrients in the orchard topsoil (0—20 cm) were observed. The bacterial community structure was analyzed by high-throughput sequencing. It was found that *V. myuros* had the highest overwintering survival rate and the lowest number of weed plants in the plot. The soil organic matter of artificial grass was 6.46%—38.63% higher than that of natural grass. The combination *L. perenne*+*V. villosa* gave an obvious difference, and this treatment resulted in the most significant improvement in soil urease, sucrase and alkaline phosphatase activities, which were 3.37, 44.17 and 3.46 $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, respectively. Meanwhile, compared with natural grass, *L.*

收稿日期: 2021-11-10; 改回日期: 2022-02-09

基金项目: 陕西省农业协同创新与推广联盟重大科技项目 (LMZD202103), 西北农林科技大学试验示范站基地科技创新与成果转化项目 (TGZX2020-11) 和陕西省重点研发项目 (2019ZDLNY05-03) 资助。

作者简介: 靳旭妹 (1996-), 女, 甘肃平凉人, 在读硕士。E-mail: jinxumei@nwfau.edu.cn

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: longmingxiu@nwsuaf.edu.cn, heshubin@nwsuaf.edu.cn

perenne+*V. villosa*, *L. perenne*+*M. officinalis* and *L. perenne*+*T. repens* increased the richness and diversity of soil bacterial communities. *L. perenne*+*V. villosa* had the most distinct bacterial community structure. In summary, planting *L. perenne*+*V. villosa* in organic kiwifruit orchards in Guanzhong area can be recommended to help improve soil organic matter and nutrient content to a certain extent, and to improve the soil micro-ecological environment.

Key words: orchard grasses cultivation; soil nutrients; soil bacterial diversity; 16S rDNA high-throughput sequencing

有机农业(organic agriculture)是指遵循自然规律和生态学原理,协调种植业和养殖业的平衡,在生产中不采用基因工程获得的生物及其产物,不使用化学合成的农药、化肥、生长调节剂、饲料添加剂等,采用一系列可持续发展的农业技术以维持持续稳定的农业生产体系的一种农业生产方式^[1]。有机农业是生态友好型农业^[2],其为应对目前农业发展面临的诸多问题提供了有效途径,得到了国家的积极推广^[3]。

近年来,我国猕猴桃(*Actinidia chinensis*)栽培面积和产量均位居世界第一位,而陕西省是我国乃至世界猕猴桃最大的产区^[4-5]。近年来,陕西猕猴桃施肥不增产的情况普遍存在,极大挫伤了果农种植的积极性^[6]。果园传统的清耕管理方式劳动强度大,土壤保水、保肥能力低,肥料投入成本高,而且造成冬春季节土壤裸露^[7]。因此,需要施加合理的果园土壤管理模式,促进猕猴桃种植业增产增收。

果园生草是指对果园实施全园或行间生草覆盖,是一种先进果园土壤耕作管理模式,能促进果品的优质可持续生产。我国引入果园生草措施已近40年,对生草果园小气候、土壤的物理、化学和生物学特性,以及果实产量和品质的变化等开展了较多研究^[8-9]。与清耕模式相比,果园生草有利于构建良好的果园生产体系、改善果园环境、提高果园生产力^[10-11]。目前,该模式已在苹果(*Malus domestica*)园^[12-13]、柑橘(*Citrus reticulata*)园^[14]、葡萄(*Vitis vinifera*)园^[15]等果园中得到应用。研究表明,生草可提高土壤有机质^[16]、酶活性^[17-18],增加土壤微生物群落多样性^[19-20]。同时,果园生草可有效控制杂草生长^[21]、降低生产成本,提高果园产出^[22-23],是实现果树产业提质增效及农业可持续发展的有效途径之一^[8]。果园生草栽培有人工生草和自然生草两种模式,自然生草可以改善土壤理化性状,增加碳、氮含量^[24],但是自然生草生长旺盛,容易与果树争水争肥^[25],且存在恶性杂草,因此有必要选择适宜关中地区猕猴桃园的草种进行人工生草,人工生草宜选择覆盖率较高的草种^[26-27]。因此,本研究针对关中地区有机猕猴桃园在果实采摘后土壤处于空闲、有害杂草较多等现状,遵循有机果园的发展理念,评估不同草种在关中地区有机猕猴桃园越冬率、生长情况,并测定不同生草处理对果园耕层土壤含水量、pH、有机质、微生物碳氮、酶活性及土壤细菌群落结构的影响差异,筛选出适宜关中地区有机猕猴桃园种植的草种或组合,为关中地区有机猕猴桃园生产提供理论依据及技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

本试验基地位于陕西省杨凌示范区五泉镇上湾村百恒有机猕猴桃园(34°14'—34°20' N, 107°59'—108°08' E),海拔为540.1 m,气候温和(东亚暖温带半湿润半干旱气候),年均气温12.9℃,年均降水量635.1 mm。该猕猴桃园果树为8年生的“翠香”品种,按“T”形架栽培,株行距6.0 m×3.8 m。该果园自然生草处理的秋季杂草群落为阿拉伯婆婆纳(*Veronica persica*)、齿果酸模(*Rumex dentatus*)、荠菜(*Capsella bursa-pastoris*)、打碗花(*Calystegia hederacea*)、猪殃殃(*Galium aparine*)和花叶滇苦菜(*Sonchus asper*)等。

1.2 试验材料

供试生草草种为多年生黑麦草(*Lolium perenne*)、毛苕子(*Vicia villosa*)、草木樨(*Melilotus officinalis*)、白三叶(*Trifolium repens*)和鼠茅草(*Vulpia myuros*)。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计 本研究于2020年9月开始播种试验,试验设3种豆禾混播,多年生黑麦草+毛苕子混播

(Mode 1)、多年生黑麦草+草木樨混播(Mode 2)、多年生黑麦草+白三叶混播(Mode 3)及禾本科鼠茅草单播(Mode 4),以自然生草为对照(CK),每个处理重复3次,共15个处理。采用随机区组设计,每小区面积为 $12.0\text{ m}\times 4.4\text{ m}$ 。播种量为:多年生黑麦草 $22.5\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,毛苕子 $75.0\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,草木樨 $15.0\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,白三叶 $80.0\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$,鼠茅草 $30.0\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。猕猴桃园行间翻耕耙平后播种,绿肥在猕猴桃园行间撒播。为避免草种与果树出现争水争肥,生草区与果树根部保持 0.8 m 的缓冲区。于出苗期进行杂草调查后,通过人工拔除杂草一次,此后至试验采样,未对试验地块进行施肥和除草,正常喷灌。

1.3.2 样品采集及测定 2021年5月25日,于牧草盛花期按每小区“S”型5点钻取土芯5个($2.5\text{ cm}\times 20.0\text{ cm}$),充分混合作为1个土样,去除植物根系与其他杂质后均匀混合,经 2 mm 土筛后分为2份,1份样品风干,用于测定土壤的理化性质;第2份样品保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,及时送样测序。

1.4 测定指标和方法

1.4.1 地上植物特征调查 杂草调查:于苗期杂草最旺盛的时期取 1 m^2 样方调查杂草种类及数量。

越冬率:于越冬前(2020年12月1日)、返青后(2021年3月1日),在田间小区内划分固定的小区数计,越冬率($\%$)=越冬后苗数/调查总苗数 $\times 100\%$ 。

地上部生物量:于盛花期按照小区取 1 m^2 样点,割取地上部称鲜重(g)。

1.4.2 土壤理化性质测定 用内径 40 mm 土钻分别取 5 、 10 、 15 、 20 cm 处的土壤,采用烘干法测定土壤含水量($\%$)。采用电极电位法测定土壤pH值(1.0 : 2.5 土水比浸提液)。采用重铬酸钾-浓硫酸外加热法测定有机质^[28]。采用氯仿熏蒸直接浸提法测定微生物碳^[29],采用流动分析仪法测定微生物氮^[30]。

1.4.3 土壤酶活性测定 用苯酚钠比色法测定脲酶(urease)活性,用磷酸苯二钠比色法测定碱性磷酸酶(alkaline phosphatase)活性,用 $3,5$ -二硝基水杨酸比色法测定蔗糖酶(sucrase)活性,采用高锰酸钾滴定法测定过氧化氢酶(catalase)活性^[31]。

1.4.4 土壤细菌多样性测序 采用E. Z. N. A. ®Soil DNA Kit试剂盒提取细菌总DNA,并通过琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量,同时采用紫外分光光度计(NanoDrop, Wilmington, DE, 美国)对DNA进行定量。对 16S rDNA (V3+V4)可变区进行PCR扩增,使用的引物为341F($5'$ -CCTACGGGNGGCWGCAG- $3'$)和805R($5'$ -GACTACHVGGGTATCTAATCC- $3'$)^[32]。PCR产物由AMPure XT beads(Beckman Coulter Genomics, Danvers, MA, 美国)纯化,Qubit(Invitrogen, 美国)定量。扩增子池用于测序,扩增子文库的大小和数量分别在Agilent 2100生物分析仪(Agilent, 美国)和Illumina (Kapa Biosciences, Woburn, MA, 美国)的文库定量试剂盒上进行评估。在NovaSeq 6000平台上对库进行排序。

1.5 数据分析

用Microsoft Excel 2016进行数据初步整理,用SPSS 26软件进行单因素方差分析和显著性检验,显著性水平为 $\alpha=0.05$,用GraphPad Prism 8作图。Alpha多样性和Beta多样性均使用QIIME2计算,使用R(v3.5.2)作图,物种注释采用QIIME2的插件feature-classifier进行序列比对,比对数据库为SILVA和NT-16S数据库,以SILVA数据库注释结果为准。通过线性判别分析效应大小方法(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)分析不同生草处理之间具有显著差异的物种,使用R语言vegan包进行非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)、细菌优势门和土壤环境因子冗余分析(redundancy analysis, RDA),采用R语言pheatmap包进行热图分析。

2 结果与分析

2.1 地上植物特征调查

2.1.1 不同生草草种的越冬率比较 由图1可知,5个供试草种中鼠茅草越冬率最高,为 93.45% ,其次为白三叶、多年生黑麦草、毛苕子、草木樨,分别为 84.65% 、 79.41% 、 59.37% 、 56.53% 。

2.1.2 不同生草处理杂草发生情况和地上部生物量比较 由表1可知,4个人工生草处理对猕猴桃果园杂草数量均有显著抑制效果($P<0.05$),其中Mode 2杂草株数最多,其次为Mode 3、Mode 1和Mode 4。人工生草处

理地上部鲜草产量差异显著($P<0.05$), Mode 1 地上部鲜草产量最大, 为 $1107.41 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$, 较 Mode 4 ($885.18 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$) 高 25.11%, 较 Mode 2 ($705.57 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$) 高 56.95%, 较 Mode 3 ($690.74 \text{ g}\cdot\text{m}^{-2}$) 高 60.33%。

2.2 不同生草处理对土壤环境因子的影响

2.2.1 不同生草处理对土壤含水量的影响 由表 2 可知, 在 0~20 cm 土层, 4 个人工生草处理下土壤含水量较 CK 均增加, 但未表现出显著性差异。在 0~5 cm、10~15 cm 土层, Mode 1 土壤含水量均最高, 较 CK 分别增加 22.44%、6.60%; 在 5~10 cm、15~20 cm 土层, Mode 4 土壤含水量均最高, 较 CK 分别增加 9.55%、43.98%。

2.2.2 不同生草处理对土壤养分与酶活性的影响

由表 3 可知, Mode 4 较其他处理降低了猕猴桃果园的土壤 pH, 但未表现出显著性差异; 4 个人工生草处理下有机质含量较 CK 均增加, 除 Mode 2 未达到显著水平, 其他处理均达显著水平($P<0.05$), 其中增幅最大的是 Mode 1, 有机质含量较 CK 增加 38.63%, 其次为 Mode 4、Mode 3, 分别增加 23.24%、11.23%。另外, Mode 1 较其他处理提高土壤微生物碳、氮含量的效果最明显, 与 CK 相比, 土壤微生物碳、氮含量分别提高了 25.73%、36.25%, 而 Mode 3、Mode 4 土壤微生物碳含量有降低趋势, 与 CK 相比, 分别降低了 6.09%、5.63%。4 个人工生草处理较 CK 均能提高果园土壤脲酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性, 其中, Mode 1 提高土壤脲酶、蔗糖酶活性最为显著($P<0.05$), 分别为 39.83%、60.79%; Mode 1、Mode 4 提高土壤碱性磷酸酶活性的效果显著($P<0.05$), 较 CK 分别提高了 20.56%、14.63%。Mode 2、Mode 3 较 CK 土壤碱性磷酸酶活性提高, 但未达到显著水平; Mode 2、Mode 4 提高土壤过氧化氢酶活性的效果显著($P<0.05$), 较 CK 分别提高了 16.70%、16.10%。

表 2 不同生草处理对 0~20 cm 土层土壤含水量的影响

Table 2 Effect of different cover crops treatments on soil water content at a depth of 0~20 cm (%)

处理 Treatment	土层 Soil layer			
	0~5 cm	5~10 cm	10~15 cm	15~20 cm
CK	$15.02 \pm 4.00\text{a}$	$15.71 \pm 1.63\text{a}$	$15.61 \pm 1.16\text{a}$	$14.69 \pm 1.05\text{a}$
Mode 1	$18.39 \pm 3.74\text{a}$	$16.90 \pm 1.94\text{a}$	$16.64 \pm 1.22\text{a}$	$16.58 \pm 1.33\text{a}$
Mode 2	$15.91 \pm 0.60\text{a}$	$16.02 \pm 0.42\text{a}$	$15.85 \pm 0.71\text{a}$	$15.34 \pm 1.53\text{a}$
Mode 3	$16.35 \pm 0.58\text{a}$	$16.18 \pm 1.33\text{a}$	$15.64 \pm 0.75\text{a}$	$15.73 \pm 0.87\text{a}$
Mode 4	$17.47 \pm 3.24\text{a}$	$17.21 \pm 1.66\text{a}$	$16.06 \pm 1.25\text{a}$	$21.15 \pm 8.79\text{a}$

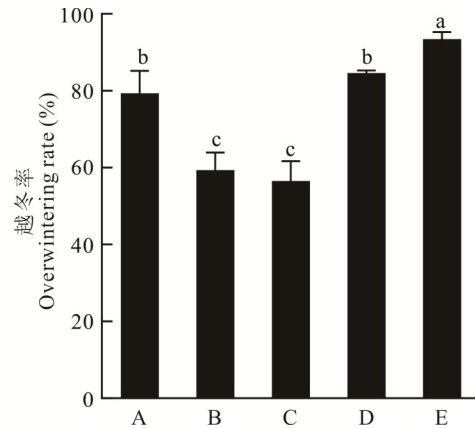


图 1 不同生草草种的越冬率

Fig. 1 Overwintering rate of different grass species

A: 多年生黑麦草 *L. perenne*; B: 毛苕子 *V. villosa*; C: 草木樨 *M. officinalis*; D: 白三叶 *T. repens*; E: 鼠茅草 *V. myuros*. 不同小写字母表示不同处理之间差异显著 ($P<0.05$)。Different letters indicate significant differences among different treatments ($P<0.05$).

表 1 不同生草处理杂草发生情况和地上部鲜草产量

Table 1 Weed occurrence and aboveground fresh yield of different cover crops treatments

处理 Treatment	杂草株数 Number of weeds (plant·m ⁻²)	地上部鲜草产量 Aboveground fresh yield (g·m ⁻²)
CK	197a	742.01bc
Mode 1	108d	1107.41a
Mode 2	129b	705.57c
Mode 3	124c	690.74c
Mode 4	49e	885.18b

注: 同列不同小写字母表示不同处理之间差异显著($P<0.05$)。下同。
Note: Different letters within the same column indicate significant differences among different treatments ($P<0.05$). The same below.

表 3 不同生草处理对土壤养分与酶活性的影响

Table 3 Effects of different cover crops treatments on soil chemical and biological characteristics

处理 Treat- ment	酸碱度 pH	有机质 Organic matter content (g·kg ⁻¹)	微生物碳 Microbial bio- mass carbon (mg·kg ⁻¹)	微生物氮 Microbial bio- mass nitrogen (mg·kg ⁻¹)	脲酶活性 Urease activity (mg·d ⁻¹ ·g ⁻¹)	蔗糖酶活性 Sucrase activity (mg·d ⁻¹ ·g ⁻¹)	碱性磷酸酶活性 Alkaline phosphatase activity (mg·d ⁻¹ ·g ⁻¹)	过氧化氢酶活性 Catalase activity (mL·g ⁻¹)
CK	8.08±0.03ab	18.43±0.50d	251.70±33.38a	20.03±3.08b	2.41±0.18c	27.47±1.78d	2.87±0.07b	5.03±0.04b
Mode 1	8.09±0.02ab	25.55±1.12a	316.46±40.51a	27.29±2.24a	3.37±0.26a	44.17±2.17a	3.46±0.12a	5.56±0.33ab
Mode 2	8.10±0.02a	19.62±0.51cd	263.40±48.33a	23.04±2.29ab	2.91±0.11b	32.43±1.54c	2.89±0.04b	5.87±0.30a
Mode 3	8.09±0.06ab	20.50±1.61c	236.37±69.03a	21.17±1.67b	2.93±0.14b	33.24±3.34bc	2.97±0.01b	5.48±0.41ab
Mode 4	8.01±0.05b	22.72±0.90b	237.53±44.16a	21.60±2.53b	3.20±0.07ab	37.21±1.31b	3.29±0.19a	5.84±0.10a

2.3 不同生草处理对土壤细菌多样性指数的影响

基于物种丰富度分析 Alpha 多样性,其 Chao1 指数和特征序列数主要是估计群落中包含物种的数目;Goods_coverage 是指微生物覆盖率,其数值越高,则样本中新物种没有被测出的概率越低;Shannon 指数来源于信息熵,Shannon 指数越大,表示不确定性大,不确定性越大,表示这个群落中未知的因素越多,也就是多样性高。5 个生草处理下土壤细菌 Alpha 多样性指数无显著差异,5 组中的 Goods_coverage 均在 99% 左右,说明对土壤细菌微生物具有较高的覆盖度,可较为全面地揭示土壤样品的微生物组成。5 个处理下 Mode 3 土壤细菌物种丰富度最高,Chao1 和特征序列数分别为 3040.59 和 2787.67,土壤细菌 Shannon 指数为 Mode 1>Mode 2=Mode 3>CK=Mode 4(表 4)。

表 4 不同生草处理对土壤细菌 Alpha 多样性的影响

Table 4 Effect of different cover crops treatments on Alpha diversity of soil bacteria

处理 Treatment	Chao1 指数 Chao1 index	特征序列数 Observed_otus	Goods_coverage 指数 Goods_coverage index	Shannon 指数 Shannon index
CK	2588.44±632.27a	2420.33±535.99a	0.98±0.01a	10.38±0.29a
Mode 1	2870.95±282.03a	2672.67±662.29a	0.99±0.00a	10.57±0.35a
Mode 2	2858.65±382.02a	2688.33±258.54a	0.98±0.01a	10.54±0.18a
Mode 3	3040.59±771.79a	2787.67±333.01a	0.98±0.01a	10.54±0.20a
Mode 4	2748.83±236.40a	2557.67±202.23a	0.99±0.01a	10.38±0.21a

2.4 不同生草处理对土壤细菌多样性的影响

5 个处理下土壤细菌群 Feature 分布特征如图 2 所示,5 个处理共有的 Feature 数目为 1338 个,CK、Mode 1、Mode 2、Mode 3、Mode 4 特有的 Feature 数目分别为 2774、3624、3110、3648 和 3202。对 5 个处理的土壤细菌群落进行 NMDS 分析,结果表明(图 3),5 个处理土壤细菌群落分布较为集中,且各处理间未明显分开,表明 5 个处理土壤细菌群落结构无明显差异。

根据所有样本 16S rDNA 在门水平上的丰度信息(图 4),5 个处理土壤共有优势细菌群落从高到低分别为:变形菌门(Proteobacteria, 25.40%~32.19%)、酸杆菌门(Acidobacteria, 19.69%~25.90%)、浮霉菌门(Planctomycetes, 8.76%~17.03%)、放线菌门(Actinobacteria, 7.68%~11.12%)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes, 5.00%~6.95%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 4.50%~6.15%)、疣微菌门(Verrucomicrobia, 2.20%~5.09%)、罗库菌门(Rokubacteria, 2.78%~3.82%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 1.86%~4.26%)、匿杆菌门(Latescibacteria, 1.81%~2.45%)。可以看出,Mode 1 变形菌门相对丰度最高(32.19%),Mode 4 酸杆菌门相对丰度最高

(25.90%), Mode 2 浮霉菌门、放线菌门、芽单胞菌门和绿弯菌门相对丰度较高(17.03%、11.12%、6.95%和6.15%), Mode 3 疣微菌门、罗库菌门、拟杆菌门和匿杆菌门相对丰度较高(5.09%、3.82%、4.26%和2.45%)。

2.5 不同生草处理土壤细菌群落结构的 LEfSe 差异分析

采用线性判别分析效应大小方法(LEfSe)对不同类群中的主要细菌进行了定量分析,进一步阐明了土壤样品中鉴定出的细菌分支之间可能存在的相互作用。由图5可知,5个不同生草处理使猕猴桃园土壤细菌群落产生明显差异,共有10个细菌分支表现出显著差异,其中 Mode 1 存在6个差异显著的细菌分支, Mode 2 存在3个差异显著的细菌分支, Mode 4 存在1个差异显著的细菌分支。

2.6 细菌群落与土壤环境因子的响应关系

为进一步探究人工生草和自然生草的猕猴桃园土壤微生物群落变化的影响机制,以及确定能够引起这种变化所要改变的首要土壤环境因子,揭示生草—土壤—微生物间的相互作用关系,以土壤养分和酶活性为解释变量,微生物群落为响应变量,在门水平上对土壤细菌群落结构与环境因子进行冗余分析(redundancy analysis, RDA)。图6a显示了门水平相对丰度前十的物种与土壤环境因子之间的关系, RDA 1和RDA 2分别解释了总变化量的18.73%和11.17%,其中, pH、Cat对细菌群落结构影响较大。相关系数热力图(correlation coefficient heat map)能够直观地展现出不同土壤环境因子与细菌群落的相关性。由图6b可知,细菌群落结构门分类水平中芽单胞菌门与碱性磷酸酶(Alp)呈显著负相关关系($P < 0.05$),绿弯菌门与pH显著正相关($P < 0.05$),罗库菌门与微生物碳(MBC)呈显著负相关关系($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 不同生草处理田间表现差异

本研究中,人工生草可有效控制果园杂草数量,以鼠茅草效果最佳。对草种越冬率、4个人工生草处理的地上部生物量进行比较,结果表明:鼠茅草适应性强、耐寒,其越冬成活率高于其他几个草种,达93.45%。人工生草的4个处理中多年生黑麦草+毛苕子地上部鲜草产量最高,达 $1107.41 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$,可向土壤提供更多的凋落物,为土壤微生物分解提供丰富的食物源^[33]。

3.2 不同生草处理对土壤环境因子的影响

在一定的土壤含水量范围内,土壤呼吸速率随土壤水分的增加而增加^[34-35]。本研究中,4个人工生草处理均可提高土壤含水量,这可能是由于绿肥生长迅速、茎叶茂盛、对地表遮蔽度高,可以明显地抑制根际表土水分的蒸发^[36]。土壤有机质累积程度是土壤肥力的重要特征,是影响土壤物理性状、供肥保肥和养分有效性的关键因子。杨叶华等^[37]指出,生草有利于活化土壤中的元素,提高土壤中有机质含量。本研究也发现,4个人工生草处理土

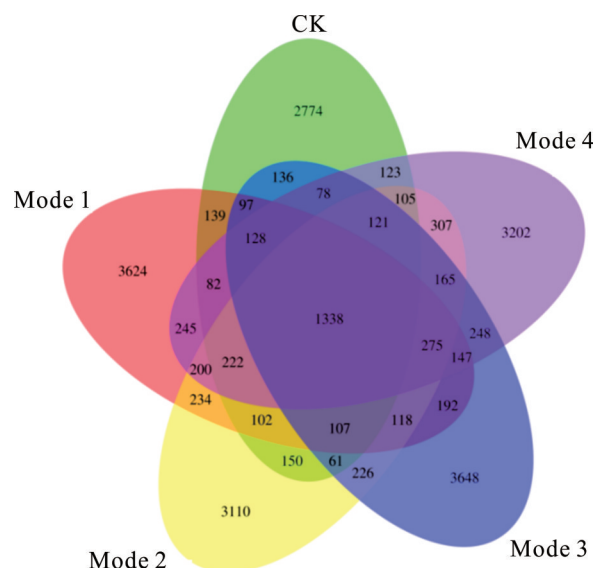


图2 不同生草处理下土壤细菌 Feature 分布 Venn 图

Fig. 2 Venn diagram of soil bacterial Feature distribution under different cover crops treatments

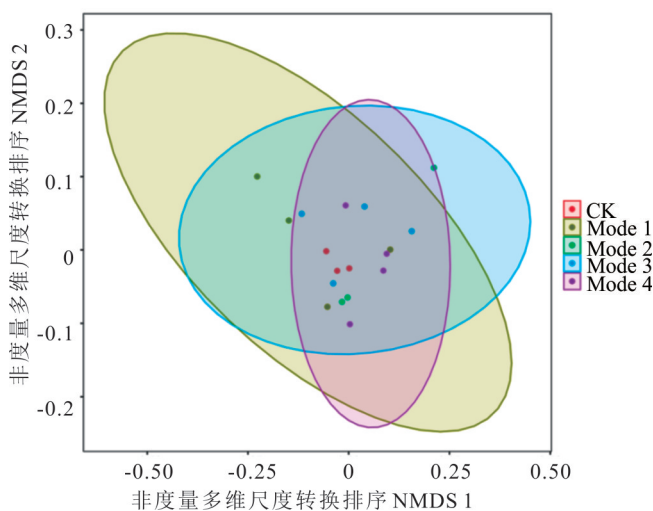


图3 土壤细菌群落结构的非度量多维尺度分析

Fig. 3 Non quantitative multidimensional scaling (NMDS) ordination analysis of soil bacterial community structure

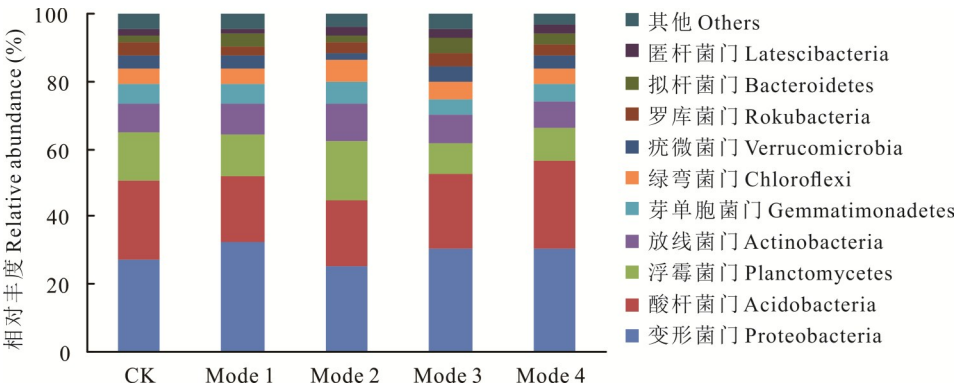


图 4 不同生草处理下土壤细菌群落门水平组成

Fig. 4 Composition of soil bacterial communities under different cover crops treatments at phylum levels

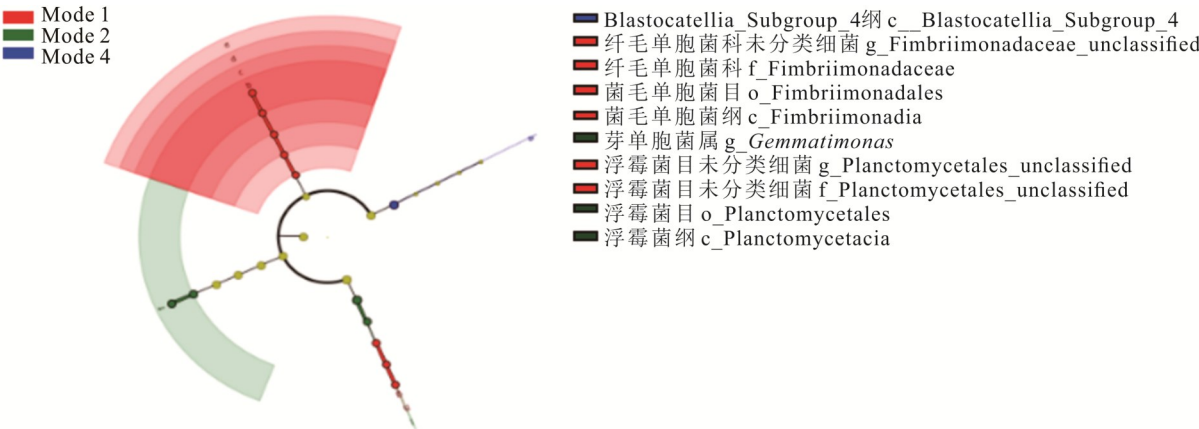


图 5 土壤细菌群落 LefSe 分析

Fig. 5 LefSe analysis of soil bacteria communities

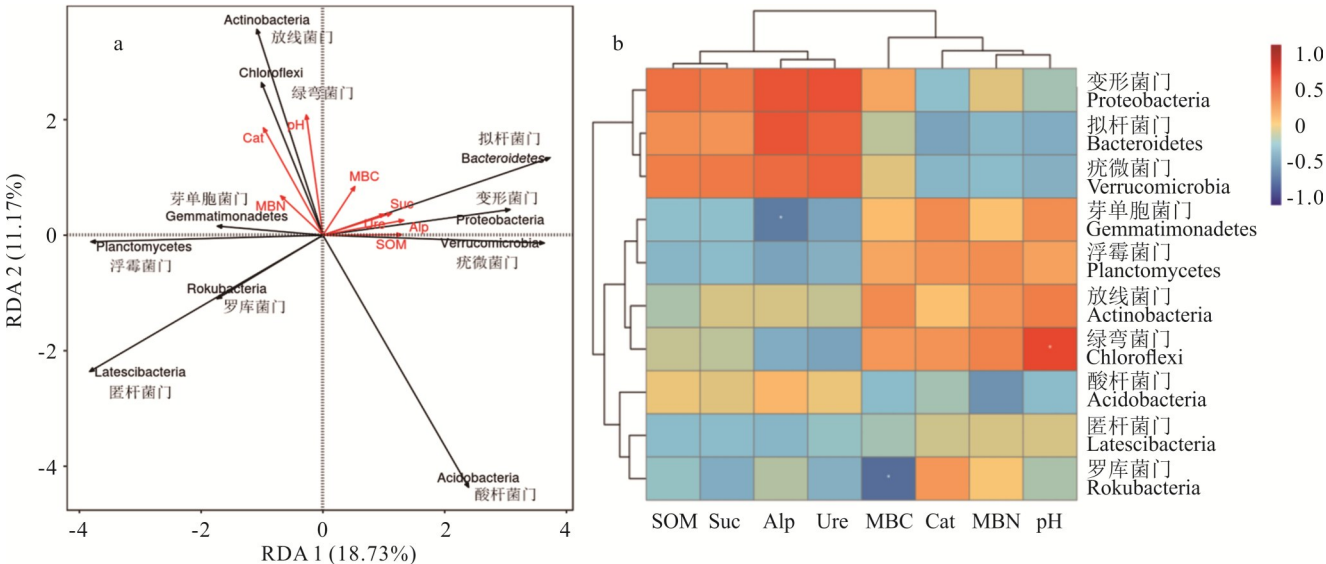


图 6 土壤细菌群落结构与环境因子的关联性分析

Fig. 6 Correlation analysis between soil bacterial community structure and environmental factors

pH, SOM, MBC, MBN, Ure, Suc, Alp 和 Cat 分别代表土壤 pH、有机质、微生物碳、微生物氮、脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶和过氧化氢酶活性, “*”代表显著相关 ($P < 0.05$)。pH, SOM, MBC, MBN, Ure, Suc, Alp and Cat represent soil pH, organic matter, microbial biomass carbon, microbial biomass nitrogen, urease, sucrase, alkaline phosphatase and catalase activity. “*” represents significant correlation ($P < 0.05$).

壤有机质含量均高于自然生草,以多年生黑麦草+毛苕子效果最佳。其原因可能是猕猴桃园杂草生长不佳,生物量累计较少,致使土壤有机质含量少于人工生草土壤^[38]。

酶作为土壤的组成部分,其活性的大小可较敏感地反映土壤中生化反应的方向和强度^[31,39]。绿肥根系的胞外分泌物不仅直接增加了土壤有关酶种类,且根系分泌物和植被有机残体还提供了多种容易为微生物利用的营养和能源物质,从而增加了土壤微生物和相关酶类的活性^[40]。与自然生草相比,多年生黑麦草+毛苕子、多年生黑麦草+草木樨、多年生黑麦草+白三叶和鼠茅草处理均能提高果园土壤脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶和过氧化氢酶活性,其中,多年生黑麦草+毛苕子提高土壤脲酶、蔗糖酶及碱性磷酸酶活性效果最为显著。这与陈学森等^[41]报道的苹果园种植毛苕子可显著提高土壤综合肥力的结果一致。这可能是由于多年生黑麦草+毛苕子地上部鲜草产量最高,为果园土壤输入了更多的杂草凋落物和根系分泌物,改变了土壤理化性质,从而引起土壤酶活性的变化^[27]。

3.3 不同生草处理对土壤细菌群落结构的影响

细菌作为土壤微生物的主要类群,约占其总体数量的70%~90%,对土壤生态功能的作用至关重要,是土壤质量优劣的敏感指标。本研究利用高通量测序技术,对供试猕猴桃园不同生草模式的土壤细菌群落进行分析。结果表明,变形菌门、酸杆菌门和浮霉菌门为优势类群。变形菌门细菌是陆地生态系统的主要优势类群,生态幅度广,环境适应能力较强^[42]。因此,猕猴桃园土壤管理方式的改变对其优势种群地位的影响较小。鼠茅草处理土壤酸杆菌门相对丰度较自然生草处理提高,这是由于酸杆菌门是嗜酸菌^[43],植被类型会影响其分布^[44],鼠茅草覆盖后牧草根分泌物导致土壤pH下降,有利于酸杆菌生存,这与董慧^[45]的研究结果一致。陈海生等^[46]研究表明,绿弯菌门具有促进土壤有毒物质降解的作用,本研究发现多年生黑麦草+毛苕子和多年生黑麦草+草木樨处理下绿弯菌门相对丰度比自然生草分别提高了0.84和29.47个百分点,表明多年生黑麦草+毛苕子和多年生黑麦草+草木樨处理有利于降低土壤中的有毒物质,改善土壤生态环境。

本研究发现,3个豆禾混播组合(多年生黑麦草+毛苕子、多年生黑麦草+草木樨、多年生黑麦草+白三叶),与自然生草相比,土壤细菌类群的丰富度和多样性均有所增加,鼠茅草处理土壤细菌多样性等同于自然生草。这可能是因为生草种类的不同,输入底物的碳氮比有所不同。由于细菌群落之间存在功能补偿性,较高的细菌多样性可能支持更多的生态系统功能,产生有利于猕猴桃生产的各种物质,从而促进果园增产增收。本研究NMDS分析也表明,猕猴桃园5种生草处理土壤管理模式细菌群落组分未发生统计学意义上的显著变化,说明猕猴桃园土壤细菌群落较为稳定,短时间内的生草措施影响作用有限。

4 结论

与自然生草相比,4种人工生草均增加了土壤有机质含量,提高了果园土壤脲酶、蔗糖酶、碱性磷酸酶和过氧化氢酶活性,土壤理化性质的改变进而影响了土壤细菌群落结构特征。4种人工生草中多年生黑麦草+毛苕子、多年生黑麦草+草木樨、多年生黑麦草+白三叶提高了土壤细菌群落的丰富度和多样性,其中多年生黑麦草+毛苕子处理多样性最高,存在最多差异显著的细菌分支。相关分析表明,土壤pH和过氧化氢酶活性对细菌群落结构影响较大。本研究通过实践证明,人工生草对于改善猕猴桃园土壤质量,提高土壤有机质,增加土壤微生物群落多样性和丰富度均有重要作用,其中多年生黑麦草与毛苕子混播改良效果尤佳。

参考文献 References:

- [1] Seufert V, Ramankutty N, Foley J A. Comparing the yields of organic and conventional agriculture. *Nature*, 2012, 485(7397): 229.
- [2] Liu X M, Yu H J, Li Q, *et al.* Overview of organic agriculture development. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, 27(4): 1303—1313.
刘晓梅, 余宏军, 李强, 等. 有机农业发展概述. *应用生态学报*, 2016, 27(4): 1303—1313.
- [3] Shen J B, Zhu Q C, Jiao X Q, *et al.* Agriculture green development: A model for China and the world. *Frontiers of Agricultural Science and Engineering*, 2020, 7(1): 5—13.

- 沈建波, 朱启超, 焦晓强, 等. 农业绿色发展: 中国和世界的典范. 农业科学与工程前沿, 2020, 7(1): 5—13.
- [4] Xie X J, Jin D Y, He P, *et al.* Research report on the development of kiwi fruit industry. China Rural Science and Technology, 2021(8): 56—59.
- 谢学军, 金东艳, 何鹏, 等. 猕猴桃产业发展情况调研报告. 中国农村科技, 2021(8): 56—59.
- [5] Jing Z B, Lei Y S, Li Y W, *et al.* Biotechnology and kiwifruit breeding in China. Biotechnology Bulletin, 2015, 31(7): 1—10.
- 井赵斌, 雷玉山, 李永武, 等. 生物技术与我国猕猴桃育种. 生物技术通报, 2015, 31(7): 1—10.
- [6] Tong Y A, Chen L L, Gao Y M, *et al.* Effect of fertilization on kiwifruit yield and quality. Northwest Agriculture and Forestry University, 2011, 39(10): 171—176.
- 同延安, 陈黎岭, 高义民, 等. 施肥对猕猴桃产量和品质的影响. 西北农林科技大学学报, 2011, 39(10): 171—176.
- [7] Gu Y R, Zhang H L, Hu Y H. Effect of natural grasses cover on soil properties and yield and quality of peach. Pratacultural Science, 2009, 26(12): 103—107.
- 谷艳蓉, 张海伶, 胡艳红. 果园自然生草覆盖对土壤理化性状及大桃产量和品质的影响. 草业科学, 2009, 26(12): 103—107.
- [8] Yang M, Wang Y Y, Lu J Y, *et al.* Advances in typical patterns to include grass species in orchards and mechanisms to regulate resources within the orchard-grass system in China. Acta Prataculturae Sinica, 2017, 26(9): 189—199.
- 杨梅, 王亚亚, 陆姣云, 等. 典型果园生草模式及果草系统资源调控研究进展. 草业学报, 2017, 26(9): 189—199.
- [9] Ma G H, Zeng M, Wang Y Y, *et al.* Research progress on orchard sod culture. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2005, 21(7): 273—277.
- 马国辉, 曾明, 王羽玥, 等. 果园生草制研究进展. 中国农学通报, 2005, 21(7): 273—277.
- [10] Peck G M, Merwin I A, Thies J E, *et al.* Soil properties change during the transition to integrated and organic apple production in a New York orchard. Applied Soil Ecology, 2011, 48(1): 18—30.
- [11] Wang P, Wang Y, Wu Q S. Effects of soil tillage and planting grass on arbuscular mycorrhizal fungal propagules and soil properties in citrus orchards in southeast China. Soil and Tillage Research, 2016, 155: 54—61.
- [12] Jiang L L, Gong Q T, Wu H B, *et al.* Effects of different grasses cultivation on apple orchard soil microbial community. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(10): 3482—3490.
- 姜莉莉, 宫庆涛, 武海斌, 等. 不同生草处理对苹果园土壤微生物群落的影响. 应用生态学报, 2019, 30(10): 3482—3490.
- [13] Wang Y J, Liu L, Luo Y, *et al.* Mulching practices alter the bacterial-fungal community and network in favor of soil quality in a semiarid orchard system. Science of the Total Environment, 2020, 725: 138527.
- [14] Zheng J Y, Zhao J S, Shi Z H, *et al.* Soil aggregates are key factors that regulate erosion-related carbon loss in citrus orchards of southern China: Bare land vs. grass-covered land. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2021, 309: 107254.
- [15] Li C, Wang X L, Liu S, *et al.* Effects of natural herbage on soil-nutrients, enzyme activities and microorganisms in vineyard of Helan Mountain's Eastern Foothill. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2019, 32(3): 559—565.
- 李超, 王晓玲, 刘思, 等. 贺兰山东麓葡萄园自然生草对土壤养分酶活性及微生物的影响. 西南农业学报, 2019, 32(3): 559—565.
- [16] Liu F T, Zhang L S, Li X W, *et al.* Effects of inter-row planting grasses on soil organic carbon fractions and soil microbial community of apple orchard in Weibei dryland. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2014, 20(2): 355—363.
- 刘富庭, 张林森, 李雪薇, 等. 生草对渭北旱地苹果园土壤有机碳组分及微生物的影响. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(2): 355—363.
- [17] Wang G W, Song X. Response of integrated fertility of apricot orchard soil to artificial grass pattern and its environmental interpretation in the eastern Gansu Province of loess plateau. Agricultural Research in the Arid Areas, 2018, 36(4): 29—39.
- 王根旺, 宋曦. 陇东黄土高原地区杏园土壤综合肥力对人工生草模式的响应及其环境解释. 干旱地区农业研究, 2018, 36(4): 29—39.
- [18] Jiao R A, Jiao J, Li C Z. The effect of sod-culture on orchard soil properties and the floral physiology of olives. Acta Prataculturae Sinica, 2018, 27(7): 133—144.
- 焦润安, 焦健, 李朝周. 生草对油橄榄园土壤性质和油橄榄成花生理的影响. 草业学报, 2018, 27(7): 133—144.
- [19] Qian Y L, Liang Z T, Cao Q, *et al.* Effects of grass-planting on soil bacterial community composition of apple orchard in Longdong arid region. Chinese Journal of Ecology, 2018, 37(10): 3010—3017.
- 钱雅丽, 梁志婷, 曹铨, 等. 陇东旱作果园生草对土壤细菌群落组成的影响. 生态学杂志, 2018, 37(10): 3010—3017.
- [20] Qian Y L, Wang X Z, Lai X F, *et al.* Effects of perennial forage on characteristics of the soil fungal community in an apple

- orchard. *Acta Prataculturae Sinica*, 2019, 28(11): 124—132.
- 钱雅丽, 王先之, 来兴发, 等. 多年生牧草种植对苹果园土壤真菌群落特征的影响. *草业学报*, 2019, 28(11): 124—132.
- [21] Arentoft B W, Ali A, Streibig J C, *et al.* A new method to evaluate the weed-suppressing effect of mulches: A comparison between spruce bark and cocoa husk mulches. *Weed Research*, 2013, 53(3): 169—175.
- [22] Neilsen G, Forge T, Angers D, *et al.* Suitable orchard floor management strategies in organic apple orchards that augment soil organic matter and maintain tree performance. *Plant and Soil*, 2014, 378(1/2): 325—335.
- [23] Andersen L, Kühn B F, Bertelsen M, *et al.* Alternatives to herbicides in an apple orchard, effects on yield, earthworms and plant diversity. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2013, 172: 1—5.
- [24] Wang Y T, Ji X H, Zhang Y M, *et al.* Effects of self-sown grass on soil physical properties and microbial diversity of pear orchards in yellow river delta. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(16): 5374—5384.
- 王艳廷, 冀晓昊, 张艳敏, 等. 自然生草对黄河三角洲梨园土壤物理性状及微生物多样性的影响. *生态学报*, 2015, 35(16): 5374—5384.
- [25] Fu X Q, Liu J R, Huang W X. Effects of natural grass on soil microbiology, nutrient and fruit quality of Nanfeng tangerine yard. *Acta Horticulturae Sinica*, 2015, 42(8): 1551—1558.
- 付学琴, 刘琚珥, 黄文新. 南丰蜜橘园自然生草对土壤微生物和养分及果实品质的影响. *园艺学报*, 2015, 42(8): 1551—1558.
- [26] Li C J, Peng H, Xie Y H, *et al.* Mulch grasses planting and management techniques in orchards of southern China based on different utilization purposes. *Hunan Agricultural Sciences*, 2019(3): 63—67, 72.
- 李尝君, 彭华, 谢运河, 等. 基于不同用途的南方果园生草栽培及管理利用技术. *湖南农业科学*, 2019(3): 63—67, 72.
- [27] Zhu X B, Pan L, Wang H L, *et al.* Analysis of the ecological effects of grass-growing in kiwi fruit orchards in Shiyan, China. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2020, 37(3): 381—388.
- 朱先波, 潘亮, 王华玲, 等. 十堰猕猴桃果园生草生态效应的分析. *农业资源与环境学报*, 2020, 37(3): 381—388.
- [28] Bao S D. Soil agrochemical analysis (third edition). Beijing: China Agriculture Press, 2000: 30—34.
- 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 30—34.
- [29] Brookes P C, Landman A, Pruden G, *et al.* Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: A rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17(6): 837—842.
- [30] Song J G, Wang J, Lin S. Determination of soil microbial biomass nitrogen by continuous flow analytical system. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 1999, 5(3): 282—287.
- 宋建国, 王晶, 林杉. 用连续流动分析仪测定土壤微生物态氮的方法研究. *植物营养与肥料学报*, 1999, 5(3): 282—287.
- [31] Guan S Y. Soil enzyme and its research method. Beijing: Agricultural Press, 1986.
- 关松荫. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社, 1986.
- [32] Logue Jürg B, Stedmon Colin A, Kellerman Anne M, *et al.* Experimental insights into the importance of aquatic bacterial community composition to the degradation of dissolved organic matter. *The ISME Journal*, 2016, 10(3): 533—545.
- [33] Wen M Z, Guo J X. Influences of litter on soil organisms in Northeastern *Leymus chinensis* grassland of China. *Chinese Journal of Grassland*, 2008, 30(5): 7—12.
- 温明章, 郭继勋. 不同凋落物量对东北羊草草原土壤生物的影响. *中国草地学报*, 2008, 30(5): 7—12.
- [34] Shi B, Gao W, Jin G. Effects on rhizospheric and heterotrophic respiration of conversion from primary forest to secondary forest and plantations in northeast China. *European Journal of Soil Biology*, 2015, 66: 11—18.
- [35] Li H J. Studies on soil respiration and its relations to environmental factors in different ecosystems. Taiyuan: Shanxi University, 2008.
- 李洪建. 不同生态系统土壤呼吸与环境因子的关系研究. 太原: 山西大学, 2008.
- [36] Yang L, Mao Y F, Hu Y L, *et al.* Effects of orchard grass on soil fertility and apple tree nutrition. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(2): 325—337.
- 杨露, 毛云飞, 胡艳丽, 等. 生草改善果园土壤肥力和苹果树体营养的效果. *植物营养与肥料学报*, 2020, 26(2): 325—337.
- [37] Yang Y H, Zhang S, Wang S, *et al.* Yield and nutrient concentration in common green manure crops and assessment of potential for nitrogen replacement in different regions of China. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, 29(6): 39—55.
- 杨叶华, 张松, 王帅, 等. 中国不同区域常见绿肥产量和养分含量特征及替代氮肥潜力评估. *草业学报*, 2020, 29(6): 39—55.

- [38] Xiao L T, Yang H L, Huang W X, *et al.* Effects of grass cultivation on soil microbial community structure and functional characteristics in Nanfeng tangerine orchard. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*. 2022, 36(1): 190–200.
肖力婷, 杨慧林, 黄文新, 等. 生草栽培对南丰蜜橘园土壤微生物群落结构与功能特征的影响. *核农学报*, 2022, 36(1): 190–200.
- [39] Zhou L K. *Soil enzymology*. Beijing: Science Press, 1987.
周礼恺. *土壤酶学*. 北京: 科学出版社, 1987.
- [40] Compant S, Reiter B, Sessitsch A, *et al.* Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(3): 1685–1693.
- [41] Chen X S, Zhang R J, Wang Y T, *et al.* Effects of growing Hairy vetch (*Vicia villosa*) on the soil nutrient, enzyme activities and microorganisms in apple orchard. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(12): 2325–2334.
陈学森, 张瑞洁, 王艳廷, 等. 苹果园种植长柔毛野豌豆结合自然生草对土壤综合肥力的影响. *园艺学报*, 2016, 43(12): 2325–2334.
- [42] Lipson D A, Schmidt S K. Seasonal changes in an alpine soil bacterial community in the Colorado Rocky Mountains. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(5): 2867–2879.
- [43] Wang F W, Wang X B, Li J C, *et al.* Effects of fertilization and straw incorporation on bacterial communities in lime concretion black soil. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2015, 23(10): 1302–1311.
王伏伟, 王晓波, 李金才, 等. 施肥及秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响. *中国生态农业学报*, 2015, 23(10): 1302–1311.
- [44] Naether A, Foesel B U, Naegele V, *et al.* Environmental factors affect acidobacterial communities below the subgroup level in grassland and forest soils. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(20): 7398.
- [45] Dong H. Screening and characteristics of available grass species in orchard in Shanxi. Taiyuan: Shanxi Agricultural University, 2016.
董慧. 山西果园可利用草种的筛选及其特性研究. 太原: 山西农业大学, 2016.
- [46] Chen H S, Liu S P, Liang G Q, *et al.* Effects of three cropping patterns on bacterial community structure and diversity in rhizosphere of broccoli. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2021, 35(6): 1457–1465.
陈海生, 刘守平, 梁国钱, 等. 3种西兰花种植方式对根际土壤细菌群落结构和多样性的影响研究. *核农学报*, 2021, 35(6): 1457–1465.