## (19) 国家知识产权局



## (12) 发明专利申请



(10) 申请公布号 CN 115918466 A (43) 申请公布日 2023. 04. 07

(21)申请号 202210839991.7

(22)申请日 2022.07.18

(71) 申请人 江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所 地址 223000 江苏省淮安市淮海北路104号 淮安市农科院

(72) **发明人** 王礼伟 赵晨 周刚 徐楠楠 崔宏如 唐炎

(74) 专利代理机构 北京众达德权知识产权代理 有限公司 11570

专利代理师 刘杰

(51) Int.CI.

A01G 22/22 (2018.01)

**A01C** 21/00 (2006.01)

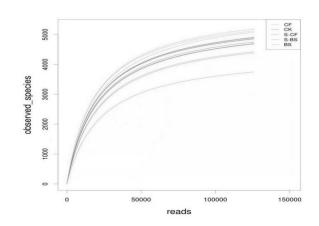
权利要求书1页 说明书11页 序列表2页 附图4页

#### (54) 发明名称

一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水 稻种植方法

#### (57) 摘要

本发明涉及农业肥料技术领域,尤其涉及一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法。具体包括以下步骤:(1)将秸秆粉碎后进行还田处理;(2)在水稻种植前后分别施用基肥和分蘖肥;所述基肥和分蘖肥为15%-15%-15%的NPK酸性复合肥或沼液肥。本发明将秸秆配施沼液肥或化肥与全化肥处理相比同样达到保持水稻产量的效果。同时,秸秆全量还田处理有利于提高土壤细菌群落结构丰富度和多样性,该结果可为当地建立科学的秸秆还田配施肥料提供理论科学依据。



- 1.一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法,其特征在于:包括以下步骤:
- (1) 将秸秆粉碎后进行还田处理;
- (2) 在水稻种植前后分别施用基肥和分蘖肥;

所述基肥和分蘖肥均为15%-15%-15%的NPK酸性复合肥或沼液肥。

- 2.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(1)所述秸秆的还田量为7000~8000kg  $hm^{-2}$ 。
- 3.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述步骤(1)中的秸秆为麦秸秆、水稻秸秆和玉米秸秆中的一种。
- 4. 根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(2)水稻种植过程中施氮总量为270~ $320 \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 。
- 5.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(2)所述施肥过程中肥料运筹比例为基肥:分蘖肥=1~2:1~2施用。
- 6.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,所述沼液肥的理化性质为:有机质36.51± $3.14g \cdot Kg^{-1}$ ,全氮 $0.84\pm 0.49g \cdot Kg^{-1}$ ,氨氮 $0.60\pm 0.14g \cdot Kg^{-1}$ ,全磷 $1.42\pm 0.28g \cdot Kg^{-1}$ ,有效钾 $1.68\pm 0.34g \cdot Kg^{-1}$ ,pH值为 $8.00\pm 0.24$ 。
- 7.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(2)种植水稻前,需要将土壤碾碎至颗粒≤1.5cm<sup>3</sup>。
  - 8.根据权利要求1所述的方法,其特征在于,步骤(2)所述水稻的品种为淮香粳15。

## 一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法

#### 技术领域

[0001] 本发明涉及农业肥料技术领域,尤其涉及一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法。

#### 背景技术

[0002] 我国仅拥有全世界10%的耕地面积却低效施用了大量的化学肥料,2001~2005年期间我国主要谷类作物生产中肥料氮(N)素利用效率仅有26%~28%,而美国和欧洲N素利用效率分别为52%和40%。秸秆是农业生产的主要副产品,不仅含有丰富的有机碳,还有大量的氮、磷、钾、硅等农作物生长所必需的营养元素,可以作为土壤微生物和作物的最初氮源。同时,我国每年产出的秸秆量约有8亿吨,但是秸秆的平均利用率仅有32%,远远低于美国68%、英国73%的秸秆还田量。前人研究发现,秸秆还田可以改善土壤结构、保持土壤水分、促进氮素矿化、提高氮素利用效率,具有一定的提高粮食产量的潜力。然而,过量的秸秆还田或秸秆深埋也会导致土壤水分和氮素的丢失,不利于水稻的生长。沼液是畜禽粪便、作物秸秆、工业垃圾、城市垃圾、能源植物等厌氧发酵产生的终端产物之一,富含氮磷钾、腐植酸、氨基酸、维生素、蛋白质等易被植物吸收利用的速效养分,是一种缓速兼备的液体有机肥。沼液替代肥料可明显降低环境污染、降低肥料成本,但其中的有害物质,如重金属、抗生素及有害病原菌等,也可能对作物、土壤环境、产品品质等造成不良影响。

[0003] 水稻作为我国最重要的粮食作物之一,在维持和促进水稻优质高产并确保土壤健康的前提下,探索秸秆还田和有机肥如沼液施用以代替部分化肥,具有重要意义。

[0004] 因此,亟需一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法,以解决现有技术中化学肥料污染环境、农作物产品品质下降的技术问题。

#### 发明内容

[0005] 本发明的目的在于提供一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法。本发明秸秆配施沼液肥或化肥与全化肥处理相比同样达到保持水稻产量的效果。同时,秸秆全量还田处理有利于提高土壤细菌群落结构丰富度和多样性,该结果可为当地建立科学的秸秆还田配施肥料提供理论科学依据。

[0006] 为了实现上述发明目的,本发明提供以下技术方案:

[0007] 本发明提供了一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法,包括以下步骤:

[0008] (1) 将秸秆粉碎后进行还田处理:

[0009] (2) 在水稻种植前后分别施用基肥和分蘖肥;

[0010] 所述基肥和分蘖肥均为15%-15%-15%的NPK酸性复合肥或沼液肥。

[0011] 优选的,步骤(1)所述秸秆的还田量为 $7000 \sim 8000 \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 。

[0012] 优选的,所述步骤(1)中的秸秆为麦秸秆、水稻秸秆和玉米秸秆中的一种。

[0013] 优选的,步骤(2)水稻种植过程中施氮总量为 $270\sim320 \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 。

[0014] 优选的,步骤(2)所述施肥过程中肥料运筹比例为基肥:分蘖肥=1~2:1~2施用。

[0015] 优选的,所述沼液肥的理化性质为:有机质 $36.51\pm3.14g \cdot Kg^{-1}$ ,全氮 $0.84\pm0.49g \cdot Kg^{-1}$ ,氨氮 $0.60\pm0.14g \cdot Kg^{-1}$ ,全磷 $1.42\pm0.28g \cdot Kg^{-1}$ ,有效钾 $1.68\pm0.34g \cdot Kg^{-1}$ , pH值为 $8.00\pm0.24$ 。

[0016] 优选的,步骤(2)种植水稻前,需要将土壤碾碎至颗粒≤1.5cm<sup>3</sup>。

[0017] 优选的,步骤(2)所述水稻的品种为淮香粳15。

[0018] 与现有技术相比,本发明具有如下的有益效果:

[0019] 1、秸秆配施沼液肥或化肥与全化肥处理相比同样达到保持水稻产量的效果。同时,秸秆全量还田处理有利于提高土壤细菌群落结构丰富度和多样性,该结果可为当地建立科学的秸秆还田配施肥料提供理论科学依据。

[0020] 2、本发明通过设置等氮的不同处理(空白组除外),即麦秸秆与化肥、麦秸秆与沼液肥的组合及全化肥、全沼液组合,旨在分析秸秆配施不同类型肥料对水稻产量、土壤细菌群落结构及多样性的影响,为秸秆还田、沼液施用、化肥减量等农艺措施的技术集成规范提供理论基础,为实现水稻农田生态系统的可持续发展提供科学依据。

#### 附图说明

[0021] 为了更清楚地说明本发明实施例或现有技术中的技术方案,下面将对实施例或现有技术描述中所需要使用的附图作简单地介绍,显而易见地,下面描述中的附图仅仅是本发明的实施例,对于本领域普通技术人员来讲,在不付出创造性劳动的前提下,还可以根据提供的附图获得其他的附图。

[0022] 图1为不同施肥处理土壤细菌0TU稀释性曲线;

[0023] 图2为土壤细菌Venn图:

[0024] 图3为土壤样品中细菌类群门水平分布图;

[0025] 图4为土壤样品中细菌类群属水平分布图:

[0026] 图5为土壤样品中细菌群落的PCoA坐标分析图;

[0027] 图6为土壤样品中细菌群落UPGMA聚类树分析:

[0028] 图7为土壤样品中优势物种组成比例及其在样本中的分布比例差异。

#### 具体实施方式

[0029] 本发明提供了一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法,包括以下步骤:

[0030] (1) 将秸秆粉碎后进行还田处理;

[0031] (2) 在水稻种植前后分别施用基肥和分蘖肥;

[0032] 所述基肥和分蘖肥均为15%-15%-15%的NPK酸性复合肥或沼液肥。

[0033] 在本发明中,步骤(1)所述秸秆的还田量为 $7000\sim8000$ kg • hm<sup>-2</sup>。优选为 $7200\sim$ 

7800kg • hm<sup>-2</sup>;进一步优选为7400~7600kg • hm<sup>-2</sup>;更优选为7500kg • hm<sup>-2</sup>。

[0034] 在本发明中,所述步骤(1)中的秸秆为麦秸秆、水稻秸秆和玉米秸秆中的一种。

[0035] 在本发明中,步骤(2)水稻种植过程中施氮总量为 $270\sim320 \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 。

[0036] 在本发明中,步骤(2)所述施肥过程中肥料运筹比例为基肥:分蘖肥=1~2:1~2

施用:优选为基肥:分蘖肥=1:1。

[0037] 在本发明中,所述沼液肥的理化性质为:有机质 $36.51\pm3.14g \cdot Kg^{-1}$ ,全氮 $0.84\pm0.49g \cdot Kg^{-1}$ ,氨氮 $0.60\pm0.14g \cdot Kg^{-1}$ ,全磷 $1.42\pm0.28g \cdot Kg^{-1}$ ,有效钾 $1.68\pm0.34g \cdot Kg^{-1}$ , pH值为 $8.00\pm0.24$ 。

[0038] 在本发明中,步骤(2)种植水稻前,需要将土壤碾碎至颗粒 $\leq 1.5 \text{cm}^3$ ;优选为 $1.3 \sim 1.5 \text{cm}^3$ ;进一步优选为 $1.4 \text{cm}^3$ 。

[0039] 在本发明中,步骤(2)所述水稻的品种为淮香粳15。

[0040] 下面结合实施例对本发明提供的技术方案进行详细的说明,但是不能把它们理解为对本发明保护范围的限定。

[0041] 实施例1

[0042] 一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法,步骤如下:

[0043] (1) 将玉米秸秆秸秆粉碎后进行还田处理,秸秆的还田量为7000kg • hm<sup>-2</sup>;

[0044] (2) 种植水稻前,需要将土壤碾碎至颗粒 $1.3 \, \text{cm}^3$ 。然后施用基肥,种植淮香粳15,然后施用分蘖肥:

[0045] 所述基肥和分蘖肥均为15%-15%-15%的NPK酸性复合肥或沼液肥;

[0046] 步骤 (2) 水稻种植过程中施氮总量为 $270 \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ;

[0047] 所述施肥过程中肥料运筹比例为基肥:分蘖肥=2:1施用;

[0048] 所述沼液肥的理化性质为:有机质36.51±3.14g •  $Kg^{-1}$ ,全氮0.84±0.49g •  $Kg^{-1}$ , 氨氮0.60±0.14g •  $Kg^{-1}$ ,全磷1.42±0.28g •  $Kg^{-1}$ ,有效钾1.68±0.34g •  $Kg^{-1}$ ,pH值为8.00±0.24。

[0049] 实施例2

[0050] 一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法,步骤如下:

[0051] (1) 将水稻秸秆粉碎后进行还田处理,秸秆的还田量为8000kg•hm<sup>-2</sup>;

[0052] (2) 种植水稻前,需要将土壤碾碎至颗粒1.5cm<sup>3</sup>。然后施用基肥,种植淮香粳15,然后施用分蘖肥;

[0053] 所述基肥和分蘖肥均为15%-15%-15%的NPK酸性复合肥或沼液肥;

[0054] 步骤 (2) 水稻种植过程中施氮总量为 $320 \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ :

[0055] 所述施肥过程中肥料运筹比例为基肥:分蘖肥=1:2施用;

[0056] 所述沼液肥的理化性质为:有机质36.51±3.14g • Kg<sup>-1</sup>,全氮0.84±0.49g • Kg<sup>-1</sup>,

氨氮 $0.60\pm0.14$ g • Kg<sup>-1</sup>,全磷 $1.42\pm0.28$ g • Kg<sup>-1</sup>,有效钾 $1.68\pm0.34$ g • Kg<sup>-1</sup>,pH值为 $8.00\pm0.24$ 。

[0057] 实施例3

[0058] 一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法,步骤如下:

[0059] (1) 将麦秸秆粉碎后进行还田处理,秸秆的还田量为 $7500 \text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ :

[0060] (2) 种植水稻前,需要将土壤碾碎至颗粒1.4cm<sup>3</sup>。然后施用基肥,种植淮香粳15,然后施用分蘖肥;

[0061] 所述基肥和分蘖肥均为15%-15%-15%的NPK酸性复合肥或沼液肥:

[0062] 步骤(2)水稻种植过程中施氮总量为276.45kg•hm<sup>-2</sup>;

[0063] 所述施肥过程中肥料运筹比例为基肥:分蘖肥=1:1施用:

[0064] 所述沼液肥的理化性质为:有机质36.51±3.14g •  $Kg^{-1}$ ,全氮0.84±0.49g •  $Kg^{-1}$ , 氨氮0.60±0.14g •  $Kg^{-1}$ ,全磷1.42±0.28g •  $Kg^{-1}$ ,有效钾1.68±0.34g •  $Kg^{-1}$ ,pH值为8.00±0.24。

[0065] 实验例1

[0066] 1.1试验材料

[0067] 以水稻"淮香粳15"为试验材料,土壤与麦秸秆取自江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所城南科研创新基地,沼液取自基地循环农业实验室沼液池。土壤碾碎至颗粒不超过1.5cm³,秸秆不做任何操作(收割机已经打碎处理)。土壤及沼液理化性质如表1所示。

[0068] 表1耕层土壤及沼液的基本理化性质

[0069]	样品 Sam ple	рН	有机质 Organic matter (g·Kg <sup>-</sup> 」)	Total N	氨氮 NH <sup>4+</sup> -N (g·Kg <sup>-</sup>	Total P	有效钾 Availab le K (g·Kg <sup>-</sup>	田间持 水量 Field capacit y (%)	土 壤 质 地 Soil text ure
	土	7.83±0	19.33±	4.02±0.	1.28±0.	1.53±0.	0.65±0.	23.47±	黄
	地	.41	4.40	93	39	41	24	4.74	潮
	soil								土
F7	沼液								
[0070]	Biog	8.00±0	36.51±	0.84±0.	0.60±0.	1.42±0.	1.68±0.		
	as slurr	.24	3.14	49	14	28	34		
	<u>y</u>								

[0071] 1.2试验设计

[0072] 2020年6月20日进行定植处理(秧苗由本单位自行培植)。计算得出麦秸秆全量还田的单位面积重量约为7500kg•hm²,而试验得出全氮含量为6g•kg³,折算后全氮45kg•hm²。当地水稻种植常规施化肥为15%-15%-15%的NPK酸性复合肥,施氮量(276.45kg•hm²,以N计),秸秆全量还田全氮占总施氮量的16.28%(45/276.45\*100%)。试验共设置5个处理,保持各处理的施氮量一致(276.45kg•hm²,以N计)。各处理如下:(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%溶剂,记为S-BS);(5)沼液组(100%溶液N,记为BS)。其中,肥料运筹比例为基肥:分蘖肥=1:1进行管理施用,每处理重复6次。用长70cm、宽50cm、深40cm的泡沫周转箱装土。其余生产管理参照日常。

[0073] 1.3测定项目及方法

[0074] 1.3.1水稻产量在各处理6次重复小区中随机选取连续5穴,调查各处理平均有效 穗数,折合计算单位面积有效穗数。选取长势均匀的连续3穴,调查平均每穗实粒数、结实率 和千粒重。

[0075] 1.3.2土壤总DNA提取取样方法采用五点采样法,各处理每个重复选取5个样点,然后去除其中的杂物、砂砾及作物细根等,混匀过2mm筛。使用MoBio PowerSoil® DNA isolation kit试剂盒提取样本总DNA,用1%琼脂糖凝胶电泳检测和分光光度法(260nm/280nm光密度比)进行质量检测,提取得到的DNA样品检测后,于-80℃保存以备后续试验使用。

[0076] 1.3.3特异区域扩增及测序微生物多样性检测选取细菌16S RDNA515F-907R区,细菌16S RDNA 515F-907R扩增引物为515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3'SEQ NO:1所示)及907R (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3'SEQ NO:2所示)PCR反应体系:总体系为25 $\mu$ 1:10 $\mu$ 1 2×EasyTaq PCR SuperMix (Transgen Bio,Inc)、1 $\mu$ 1正向引物、1 $\mu$ 1反向引物、加入的DNA总量为10ng,最后加dd H<sub>2</sub>0补至25 $\mu$ 1。反应参数:94℃预变性5min;94℃变性30s,55℃退火30s,72℃延伸1min,35个循环;72℃延伸8min。利用I11uminaNovaseq PE250高通量测序平台测序。

[0077] 1.4数据处理及统计分析

[0078] 试验采用Microsoft Excel 2017软件进行生物统计学分析,SPSS 19.0统计软件对试验组各项指标结果进行单因素方差分析(One-wayANOVA),使用最小显著差数法(LSD)来分析各相关变量。微生物群落分析中,下机数据经过QIIME(v1.8.0)软件过滤、拼接、去除嵌合体,去除碱基质量分值低于20、碱基模糊、引物错配或测序长度小于150bp的序列。根据barcodes归类各处理组序列信息聚类为用于物种分类的操作分类单元(Operational taxonomic units,OTU),OTU相似性设置为97%。对比silva数据库(细菌),得到每个OTU对应的物种分类信息(Huson D H,Richter D C,Rausch C,DezulianT,Franz M,Rupp R.Dendroscope:An interactive viewer for large phylogenetic trees[J].Bmc Bioinformatics,2007,8(1):460.doi:10.1186/1471-2105-8-460.)。再利用QIIME软件(v1.8.0)进行阿尔法(Alpha)多样性分析。利用统计学的方法,观察样本在不同分类水平下的群落结构并利用R语言包可视化展现(Cole J R,Wang Q,Cardenas E,Fish J,Chai B,Farris R J,Kulam-Syed-MohideenA S,McGarrell D M,Marsh T,Garrity G M,Tiedje J M.The ribosomal database project:improved alignments and new tools for rRNA analysis[J].Nucleic Acids Research,2009,37,141-145.doi:10.1093/nar/gkn879.)。

[0079] 2结果与分析

[0080] 2.1不同施肥处理水稻产量

[0081] 与对照CK组相比,其他试验组均理论及实际产量均有所增加,其中CF组增加最高,分别增加19.3%、17.4%。含化肥施用组CF、S-CF产量均高于沼液施用组S-BS、BS,S-BS组实际产量高于BS组1.7%,均无显著差异(P≥0.05)。结果见表2。

[0082] 表2不同施肥处理水稻产量

[0083]	处理组 Treatme nt	有效穗 Efficient panicles(10k/ ha)	每穗粒数 Grains per panicles(p er)	结实率 seed settin g rate( %)	千粒重 1000-se ed weight( g)	理论产量 theoretical yield(Kg/ ha)	实际产量 actual yield(Kg/ ha)
	CK	287.5 <sup>b</sup>	121.2 <sup>b</sup>	91.2 <sup>b</sup>	27.3ab	8675.6 <sup>b</sup>	8419.3 <sup>b</sup>
	CF	$310.8^{a}$	$125.0^{a}$	94.1 <sup>a</sup>	28.3a	10345.9a	9881.3ª
	S-CF	308.1a	125.1 <sup>a</sup>	93.8a	28.1 <sup>a</sup>	10159.2ª	9799.8ª
	S-BS	$300.0^{ab}$	127.2ª	92.1ab	$27.9^{a}$	$9805.6^{\mathrm{a}}$	9524.4a
	BS	$299.8^{ab}$	125.4 <sup>a</sup>	91.6 <sup>b</sup>	27.8a	9573.5ab	9361.5ab

[0084] 注:同列肩标不同字母表示差异显著。

[0085] 2.2测序结果及序列深度验证

[0086] 由图1可知,15个样本的稀释性曲线均趋于平坦,说明测序数据量渐近合理,更多的测序只会产生少量的新物种,基本能够反映土壤的细菌群落组成。

[0087] 在97%相似度下将序列聚类为用于物种分类的0TU,统计各处理组样本的丰度信息(表3)。由表3所示,5组处理样本中细菌覆盖率Coverage指数均接近100%,表明样本序列中未被测出的概率低,在该水平上的结果能反映出所测样本中细菌的真实情况。稀释曲线反映了样本的测序深度,可用于评估测序数据量的合理性。图1不同施肥处理土壤细菌0TU稀释性曲线

[0088] 2.3土壤中细菌群落多样性分析

[0089] 在97%一致性阈值下,得到不同施肥处理土壤样品中细菌0bserved species数为  $4270\sim5221$  (表3),大小依次为CF〉S-BS〉S-CF〉CK〉BS (P<0.05)。使用 $\alpha$ 多样性指数 (Chao1、Shannon、Simpson)来评估各处理土壤样本中微生物群落的物种多样性和丰富度的差异。 chao1指数表明:S-BS〉S-CF〉CK〉BS (P<0.05)。shannon指数表明:S-CF〉S-BS〉CF〉CK〉BS (P<0.05)。simpson指数表明:BS〉CK〉CF〉S-BS〉S-CF (P<0.05)(表3)。 $\alpha$ 多样性分析结果表明,秸秆配施沼液或化肥有提高土壤细菌多样性的趋势。

[0090] 表3不同施肥处理对土壤细菌多样性指数的影响

	alpha_nam	chao1	Observed	shannon	simpson	goods_co
	e		species			verage
	p_value	0.02	0.01	0.04	0.03	0.11
	CK	5543.62 <sup>b</sup>	4808 <sup>b</sup>	$9.75^{b}$	$0.97^{\rm a}$	0.9920742
						63
	CF	5632.70 <sup>b</sup>	5221a	$9.85^{b}$	$0.95^{\mathrm{a}}$	0.9923546
[0091]						79
	S-CF	5657.75 <sup>b</sup>	$4965^{ab}$	$9.98^{\mathrm{a}}$	$0.92^{\mathrm{a}}$	0.9922118
						26
	S-BS	5928.77a	4989 <sup>ab</sup>	$9.93^{ab}$	$0.93^{\mathrm{a}}$	0.9920001
						9
	BS	4927.82°	4270°	$9.09^{\circ}$	$0.99^{a}$	0.9928282
						13

[0092] 注:同列肩标不同字母表示差异显著。

[0093] Note:Different letters on the shoulder mark indicated significant difference in the same column.

[0094] 2.4土壤细菌0TUs分布

[0095] 由图2可知,Venn图能够反映样品之间共有和特有的0TU数目,可以比较直观地表现样品之间的0TU组成相似程度。各处理土壤样品一共有8315个细菌0TU,共有的细菌0TUs数量为4150个,占0TU总数的49.91%,说明施肥对细菌0TU丰度的影响明显。不同施肥处理特有的0TUs数量为134~318,CF处理特有的0TUs数量最多,BS处理特有的0TUs数量最少。图2土壤细菌Venn图。

[0096] 2.5土壤细菌群落组成

[0097] 2.5.1土壤细菌在门水平上的群落组成

[0098] 由图3可知,在门水平上,将相对丰度<0.1%的类群归类为其他,得到20个类群,有5个主要的细菌种群占所有序列的多数  $(78.99\% \sim 81.57\%)$ 。其中变形菌门 (Proteobacteria) 占38.19%~46.46%、拟杆菌门 (Bacteroidetes) 占9.69%~14.16%、绿弯菌门 (Chloroflexi) 占8.44%~12.5%、酸杆菌门 (Acidobacteria) 占4.69%~13.71%、放线菌门 (Actinobacteria) 占5.74%~9.29%。变形菌门是该地区土壤中丰度最大的优势菌门,包含 $\gamma$ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria,19.58%~28.43%)、 $\alpha$ -变形菌纲 (Alphaproteobacteria,12.05%~15.38%) 以及 $\delta$ -变形菌纲 (Deltaproteobacteria,2.64%~5.20%), $\alpha$ -变形菌纲和 $\gamma$ -变形菌纲是变形菌门中的优势菌纲, $\alpha$ -变形菌纲主要集中于根瘤菌目和鞘脂单胞菌目, $\gamma$ -变形菌纲主要集中于黄色单胞菌目 (Xanthomonadales,2.99%~12.87%) 以及少量的肠杆菌目 (Enterobacteriales,1.34%~4.77%)。图3土壤样品中细菌类群门水平分布图。

[0099] 2.5.2土壤细菌在属水平上的群落组成

[0100] 由图4可知,在属分类水平上,种类繁杂、丰度较低的稀有细菌类群为最主要菌群, CK、CF、S-CF、S-BS和BS处理组土壤样品中未分类菌群分别占总菌群的81.99%、76.25%、77.93%、81.82%、67.91%。已分类的相对丰度较高的6个属分别为藤黄单胞菌属 (Luteimonas,0.89%~5.91%)、拟杆菌属(Bacteroides,1.52%~4.86%)、赤杆菌属 (Altererythrobacter,0.69%~2.52%)、厌氧蝇菌属(Anaerolinea,0.98%~1.74%)、特吕珀菌属(Truepera,0.39%~1.97%)、热单胞菌属(Thermomonas,0.39%~1.84%)。同时含有在各个科下属分类地位不明确的菌属。图4土壤样品中细菌类群属水平分布图。

[0101] 2.6土壤细菌群落结构差异分析

[0102] 2.6.1主坐标PCoA与UPGMA聚类分析

[0103] 由图5可知,PCoA分析显示,CF和S-BS处理距离相近,物种组成相似;S-CF和CK处理距离相近,物种组成相似;BS组单独在一区域。横坐标PCoA 1可以解释60.11%,PCoA2可以解释19.18%,一共可以解释79.29%。

[0104] 由图6可知,UPGMA聚类分析结果显示,样本细菌群落结构可以分为2大类,第1类:CK和S-CF聚类在一个分支点;CF和S-BS聚类在一个分支点;第2类:BS。S-CF与CK处理土壤细菌群落结构相比无明显差异,CF、S-BS和BS处理与CK相比,具有不同的土壤细菌群落结构。图5土壤样品中细菌群落的PCoA坐标分析图;图6土壤样品中细菌群落UPGMA聚类树分析。

[0105] 2.6.2土壤细菌群落差异性分析

[0106] 由图7可知,进一步分析各处理组土壤样品间微生物群落结构的差异,基于门的分类水平下,对优势菌门进行可视化展示,其中变形菌门在BS处理相对丰度最高为46.46%,CK处理相对丰度最低为38.19%。拟杆菌门在BS处理相对丰度最高为14.16%,其次为CK(10.68%)、S-BS(10.53%)、CF(10.01%)处理组,S-CF处理最低为8.69%。绿弯菌门、放线菌门在S-CF处理相对丰度最高,分别为12.50%、9.29%,在BS处理组最低,分别为8.44%、5.24%。酸杆菌门在CK处理相对丰度最高为13.71%,BS处理相对丰度最低为4.69%。在属水平上,藤黄单胞菌属为最优势属,其中BS处理相对丰度最高(5.91%),其次分别为CF(5.24%)、S-BS(3.49%)、S-CF(1.71%)处理,CK处理最低(0.89%)。图7土壤样品中优势物种组成比例及其在样本中的分布比例差异。

[0107] 注:左半圈表示样本中物种组成情况,外层彩带颜色代表来自哪一分组,内层彩带颜色代表物种,长度代表该物种在对应样本中的相对丰度;右半圈表示该分类学水平下物种在不同样本中的分布比例情况,外层彩带颜色代表物种,内层彩带颜色代表不同分组,长度代表该样本在某一物种中的分布比例。

[0108] 3讨论

[0109] 3.1秸秆和沼液、化肥配施对水稻产量的影响

[0110] 秸秆还田腐解后,会使土壤养分含量增加,促进作物的生长发育。唐银生研究结果发现秸秆还田有利于水稻形成大穗,对水稻结实率和千粒重的增加有显著影响。裴鹏刚等研究发现,秸秆还田可提高水稻单位面积有效穗数。但也有研究表明,秸秆还田会造成水稻减产,其中穗粒数、千粒重、产量均有所降低。沼液中作为是一种缓速兼备的液体有机肥,稻田施用沼液后,可促进氮素向籽粒转移,提高氮肥利用率,替代部分化肥氮并保证水稻产量或增产,提高稻米中蛋白质和矿质元素含量。而Yang等(Yang H,Yu D,Zhou J,Zhai S,Bian

X, Weih M. Rice-duck co-culture for reducing negative impacts of biogas slurry application in rice production in rice production system[J]. Journal of Environmental Management, 2018, 213:142-150.doi:10.1016/j.jenvman.2018.02.077.) 研究发现,稻田中直接单独施用沼液对水稻生产不利,致使籽粒中氮、磷的积累量、磷效率、 产量出现不同程度的降低。另外,Ni等、朱金山等(Ni T C,Zhou C F,Zhu H G,Zhou F,Li Y H, Hu C Q. Effects of Soaking of Seeds With Biogas Slurry on Germination and Seedling Growth of Rice[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2015, 31 (4):594-599.doi:10.11934/j.issn.1673-4831.2015.04.024.;朱金山,张慧,马连杰,廖 敦秀,王龙昌,王定勇.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.doi:10.13227/j.hjkx.201708085.)研究发现施用沼液对水稻植株生物量及产 量不利。本研究发现,"全化肥"处理促进水稻产量提高最为明显,其次是"秸秆还田+化肥" 处理,增加有效穗、结实率,这与前人研究结论相一致。"秸秆还田+沼液"虽然在理论及实际 产量上低于"秸秆还田+化肥"处理,但无显著差异,也进一步说明沼液能够改善土壤、提高 土壤肥力,达到传统化肥施用效果。"全沼液"处理对水稻产量的作用要明显低于其他施肥 处理(CK空白组除外),可能与沼液富含的As、Cr、Hg、Cd等重金属含量超标对作物生长、产量 及土壤环境产生了不良影响有关, 沼液完全取代化肥单独施用对土壤微生物群落活性和多 样性以及土壤质量带来了负面影响。

[0111] 3.2秸秆和沼液、化肥配施对土壤细菌群落结构的影响

[0112] 土壤细菌群落是土壤生态系统中最重要和最活跃的部分,是驱动土壤有机物质和养分转化与循环的主要动力,其活性和多样性组成结构在很大程度上反映了土壤质量、肥力及作物生长情况。本研究中"全化肥"和"秸秆还田+沼液肥"处理的土壤微生物群落结构相似,水稻产量无显著差异的特性也进一步证明。然而,"不施肥"和"秸秆还田+化肥"处理的土壤微生物虽然群落结构相似,在千粒重上无差异,但是在产量上却存在明显差异,还需进一步研究。"全沼液"处理的土壤微生物群落单独在一个分支点上,在说明了在有效穗、理论和实际产量上与其他组存在差异的关联性。

[0113] 土壤细菌是土壤微生物的主要组成部分,绝大多数土壤优势细菌种类基本相同,主要包括10个左右的细菌类群,本研究各处理组土壤中变形菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、放线菌门、芽单胞菌门、厚壁菌门均是丰度相对较高的菌门,这与前人研究结果相一致。变形菌门为最优势细菌类群,且本次研究所用土壤属于碱性土壤,推测变形菌门为当地碱性土壤中的主要优势菌门,这与周阳等、赵祥等、杜滢鑫等结果相似。

[0114] 变形菌门在很多土壤细菌群落的研究中均是最优势细菌类群,被视为有机质分解转化的主要功能细菌,主要包括 $\alpha$ -变形菌纲、 $\delta$ -变形菌纲和 $\gamma$ -变形菌纲。 $\alpha$ -变形菌纲中含有大量能与植物共生的固氮细菌, $\delta$ -变形菌纲对农田土壤中氮、磷、硫和有机质循环都有显著的促进作用, $\gamma$ -变形菌纲具有突出的抗菌拮抗作用。在本研究中, $\alpha$ -变形菌纲和 $\gamma$ -变形菌纲为优势细菌纲,主要集中于根瘤菌目、鞘脂单胞菌目和藤黄单胞菌目,其中根瘤菌目中含有大量固氮作用和与植物共生的细菌,鞘脂单胞菌目中的菌属已被证明能够分泌过氧化氢酶以提高植物抗逆性,藤黄单胞菌目中的菌属具有突出的拮抗作用。"全化肥"、"秸秆还田+沼液肥"和"沼液肥"处理显著提高了土壤中 $\alpha$ -变形菌纲和 $\gamma$ -变形菌纲的丰度,水稻产量也被显著提高,说明单施化肥与秸秆还田配施沼液可促进水稻植株对氮素的有效利用以

及提高水稻的抗逆性,进而提高产量。

[0115] 本发明中各处理土壤中拟杆菌门的相对丰度仅次于变形菌门,越是提高水稻产量的处理,其拟杆菌门相对丰度越低。卞方圆等(卞方圆,钟哲科,张小平,杨传宝,苏文会.毛竹和伴矿景天对重金属污染土壤的修复作用和对微生物群落的影响[J].林业科学,2018,54(8):106-116.doi:CNKI:SUN:LYKE.0.2018-08-012.)和周阳等(周阳,黄旭,赵海燕,郑青松,吴田乡,梁永红,刘清秀,罗朝晖,管永祥.麦秸秆和沼液配施对水稻苗期生长和土壤微生物的调控[J].土壤学报,2020,57(2):223-233.doi:10.11766/trxb201905060077.)研究也表明越是土壤细菌多样性高的土壤,拟杆菌门相对丰度越低。

绿弯菌门已被证明可分解纤维素(孙建平,刘雅辉,左永梅,韩民利,张虹伟,吕晶 晶.盐地碱蓬根际土壤细菌群落结构及其功能[J].中国生态农业学报,2020,192(10):148-159.doi:10.13930/j.cnki.cjea.200160.),本研究中"秸秆还田+沼液肥"和"秸秆还田+化 肥"处理组绿弯菌门显著增加,这可能与秸秆中富含纤维素有关。Ramirez等(Ramirez K S, Craine J M, Fierer N. Consistent effects of nitrogen amendments on soil microbial communities and processes across biomes[J].Global Change Biology, 2012,18(6):1918-1927.doi:10.1111/j.1365-2486.2012.02639.x.)研究表明,施氮降低 了土壤PH,导致酸杆菌门的相对丰度下降。本研究中,各施肥处理均显著降低土壤中酸杆菌 门的相对丰度,尤其是"沼液肥"处理中土壤酸杆菌门相对丰度降低,仅为"不施肥"处理组 的1/3,这可能与沼液中含有的重金属离子有关。另有研究表明,酸杆菌门中的菌属具有以 叶绿素为基础的光合作用,同时还参与了铁循环、单碳化合物的代谢(王光华,刘俊杰,于镇 华,王新珍,金剑,刘晓冰.土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J].生物技术通报,32(2): 14-20.doi:10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2016.02.002.; Wang G H, Liu J J, Yu Z H, Wang X Z, Jin J, Liu X B. Research Progress of Acidobacteria Ecology in Soils [J].Biotechnology Bulletin,32(2):14-20.)。这进一步解释了单施沼液肥对水稻生产不 利,影响水稻结实率和产量指标。

[0117] 研究表明,保护性微生物放线菌门是植物吸收营养物质及作为70%抗生素的来源,可通过诱导植物免疫反应而在植物病害防控中发挥作用。本研究中,单施化肥和沼液处理组土壤中放线菌门相对丰度显著降低,"秸秆还田+沼液肥"和"秸秆还田+化肥"处理组土壤中放线菌门相对丰度显著升高,表明了单纯施化肥和沼液肥降低了水稻植株的抗逆性,秸秆的添加提升了水稻植物的抗病能力。

[0118] 在属水平上,稀有菌属占全部菌属的67.91%~81.99%,反映出土壤中存在着大量未被发掘利用的微生物资源。本研究中,施肥处理均不同程度降低了水稻土壤中的稀有菌属的相对丰度,其中秸秆还田配施沼液或化肥处理下降不明显,而单施化肥和沼液处理组土壤中稀有菌属相对丰度明显下降,表明长期单施化肥和沼液对土壤微生物的生态系统的功能稳定产生了负面影响,而秸秆的添加有利于平衡单施化肥和沼液所带来的负面影响。藤黄单胞菌属为已分类的最优势菌属,研究表明其对土壤中多种病原细菌具有突出的拮抗作用。本研究中,施肥处理显著增加了土壤中藤黄单胞菌属的相对丰度,尤其是"沼液肥"处理,其次是"全化肥"和"秸秆还田+沼液肥"处理。"沼液肥"处理土壤中藤黄单胞菌属相对丰度明显升高可能是土壤代偿性作用,用以缓解单施沼液所带来的生物病原菌。

[0119] 3.3秸秆和沼液、化肥配施对土壤细菌群落多样性的影响

[0120] 微生物群落多样性是描述土壤生态特征的关键指标,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。而细菌是土壤微生物中数量丰富、分布广泛的微生物类群,占土壤微生物总量的70%~90%左右,对土壤养分循环有着重要的作用。本研究中"秸秆还田+沼液肥"和"秸秆还田+化肥"处理土壤细菌Chao1指数和Shannon指数较不施肥相比显著升高,"全沼液肥"较不施肥相比显著降低。说明秸秆配施沼液和化肥在一定程度上有利于提高土壤细菌群落多样性,引起了土壤细菌群落结构的变化,提高了土壤生态系统的稳定性,而单施沼液肥显著地降低土壤细菌群落多样性,土壤质量降低。另外,本研究发现,"全化肥"处理土壤细菌0TU总数最多,特有的0TU数量最多,说明单施化肥可能会引起某些优势土壤细菌的富集和一些细菌种类的丧失,这与施河丽等、赵兰凤等(赵兰凤,张丽娟,胡伟,刘小锋,李华兴.RFLP法研究生物复混肥及香蕉枯萎病对土壤细菌群落多样性的影响[J].中国生物防治学报,2013,29(3):406-416.doi:10.3969/j.issn.2095-039X.2013.03.013.;Zhao LF,Zhang L J,Hu W,Liu X F,Li H X.Effects of Biocompound Fertilizer on Banana Wilt and Soil Bacterial CommunityBased on [0121] Analysis with RFLP[J].Chinese Journal of Biological Control,2013,29

[0122] 4结论

[0123] 秸秆配施沼液肥或化肥等量替代全化肥的处理同样达到保持水稻产量的效果,但是要低于全化肥处理。秸秆配施沼液肥或化肥处理有降低土壤细菌0TUs数量的趋势,同时降低了优势菌门变形菌门的数量而提高其他菌门如放线菌门和绿弯菌门数量,有利于提高土壤细菌群落结构丰富度和多样性,提升了土壤质量及肥力。

(3):406-416.)的研究结果相一致,在水稻农田管理中应避免长期施用化肥。

[0124] 以上所述仅是本发明的优选实施方式,应当指出,对于本技术领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明原理的前提下,还可以做出若干改进和润饰,这些改进和润饰也应视为本发明的保护范围。

# 项目名称: 一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法

状态: 已生成

创建日期: 2022-07-14

## 基本信息

#### 当前申请

申请号: before

知识产权局:

申请号:

申请日:

申请人档案名: a

#### 发明名称

语言	发明人姓名	
zh	一种秸秆全量还田配施沼液肥或化肥的水稻种植方法	

#### [0001]

#### 申请人和发明人:

申请人姓名或名称: 江苏徐淮地区淮阴农业科学研究所

语言: zh

拉丁名称: Jiangsu Xuhuai Huaiyin Agricultural Science Research Institute

居住地址: 通信地址:

#### 序列

#### 序列 1: "1"

长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片 段	跳过的序列
16	DNA	synthetic construct	否	否

#### 特征

特征键	特征位置	限定符
source		mol_type = other DNA organism = synthetic construct

#### 残基

gtgccagcmg ccgcgg

### 序列 2: "2"

	长度	分子类型	生物体	含有 DNA 和 RNA 片 段	跳过的序列
ſ	20	DNA	synthetic construct	否	否

## [0002]

#### 特征

特征键	特征位置	限定符
source		mol_type = other DNA organism = synthetic construct

#### 残基

ccgtcaattc mtttragttt

20

16

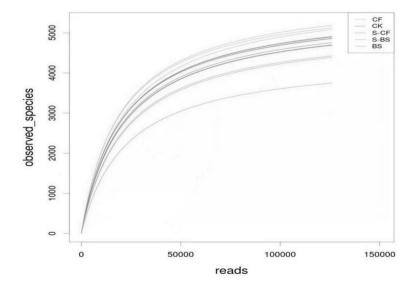


图1

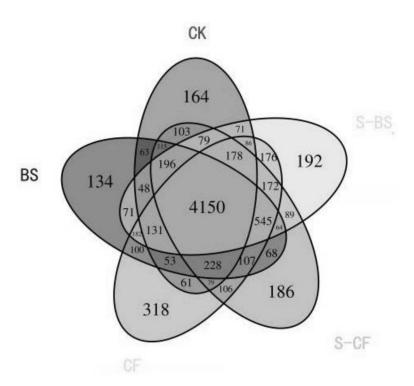


图2

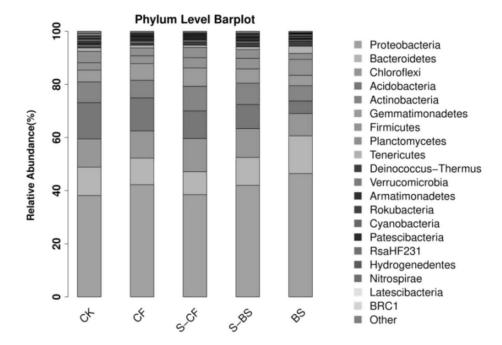


图3

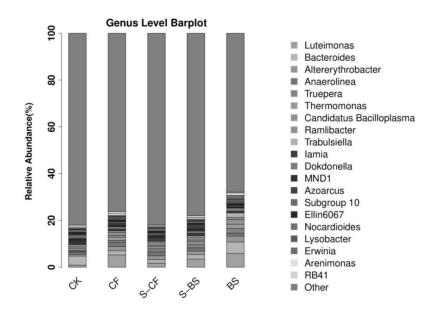


图4

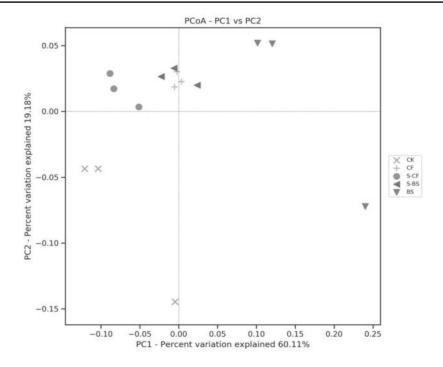


图5

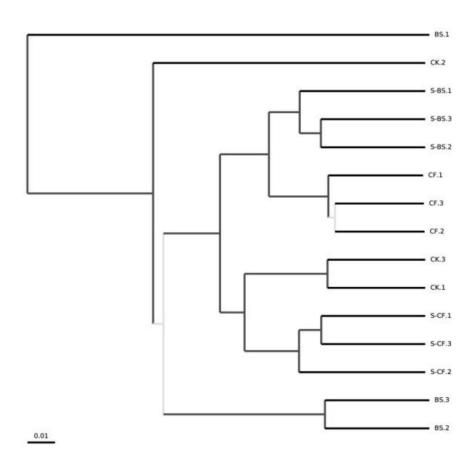


图6

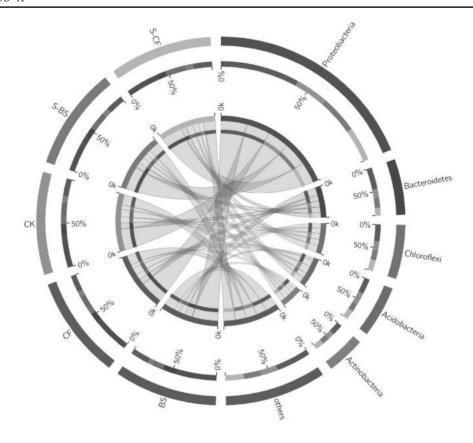


图7