

doi: 10.11838/sfsc.1673-6257.22203

蛇粪有机肥对枇杷土壤理化性状与 细菌群落演变的影响

施鸿鑫^{1, 2}, 张 骞³, 钱海山^{2, 3}, 袁雨龙³, 王先哲¹, 张国顺⁴, 沈建林³, 张志剑^{1*}

(1. 浙江大学环境与资源学院, 浙江 杭州 310058; 2. 杭州市余杭区农业技术推广中心,
浙江 杭州 310023; 3. 杭州谷胜科技有限公司, 浙江 杭州 311112;
4. 杭州临平国顺家庭农场, 浙江 杭州 311106)

摘 要: 易腐垃圾经黑水虻幼虫 (*Hermetia illucens* L.) 生物转化技术获得的蛇粪有机肥, 其改善土壤质量与健康潜在应用价值前景乐观, 但需要从田间应用的角度阐述其实际成效。通过枇杷林地土壤田间试验, 设计化肥 (PC) 与蛇粪有机肥 (PM) 两种施肥方案, 研究了蛇粪有机肥对土壤养分、碳库、酶活以及细菌群落等动态影响规律。施用蛇粪有机肥结果表明: (1) 提高土壤 pH, 可“对冲”土壤的酸化趋势, 平均增加当季土壤碳库 14.7%, 并提高土壤溶解性有机质 (DOM) 浓度 43%, 提高土壤总氮 (TN) 7.88%。(2) 分别提高了土壤蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶活性 14.5%、12.3%、21.5%。(3) 引起土壤细菌多样性 (Shannon 指数) 下降 6.67%, 但均匀度 (Simpson 指数) 增加 5.42%; 增加了土壤 Proteobacteria、Actinobacteria、Bacteroidetes 等门类细菌相对丰度, 诱导了土壤 Clostridiaceae-I、Sphingobacteriaceae、Sphingomonadaceae、Pseudomonadaceae、Hyphomicrobiaceae 等科类细菌优势性生长。(4) 蛇粪有机肥显著促进土壤细菌群落“个性化”演变的同时, 其组分受土壤铵态氮 (贡献率 14.0%) 与 C/N (贡献率 12.3%) 影响显著, 而土壤 DOM 的形成与 *Verrucom* 相对丰度呈正相关。田间试验表明, 施用蛇粪有机肥可增强土壤固碳、提高酶活性, 并诱导细菌群落演变, 有利于改善土壤质量与健康。

关键词: 有机肥; 土壤健康; 农作物; 昆虫; 废弃物资源化

化肥在农业生产中起着重要的促进作用。然而, 长期、过量以及不合理地施用化肥 (尤其是氮肥) 对土壤肥力 (如微量元素缺失)、土壤环境 (如酸化) 和土壤健康 (如有机质下降) 等产生诸多不利影响^[1]。除了加强以畜禽粪便为原料生产的有机肥施用^[2], 研发创新型有机肥 (如添加功能菌剂) 及其应用将有利于改善土壤养分和生物化学功能^[3], 增强以农田生态系统可持续发展的土壤健康^[4]。

黑水虻幼虫 (*Hermetia illucens* L., BSFL) 生物转化技术可有效地将有机废弃生物质 (如餐厨垃圾、厨余垃圾、果蔬垃圾等易腐垃圾) 转化为昆虫

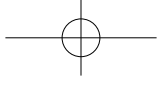
蛋白和蛇粪生物质, 显著地减少环境污染的同时产出较为可观的经济价值^[5]。虫粪生物质经过后续二次堆肥发酵后获得稳定的蛇粪有机肥^[6-8], 其有机碳 (TC) 含量达到 35% ~ 50%、总氮 (TN) 18.5 ~ 50.8 g/kg、总磷 (TP) 24.5 ~ 47.8 g/kg。研究也发现, 蛇粪有机肥施用提高了土壤酶 (如脱氢酶) 活性并促进作物增产^[9]。值得注意的是, 由于黑水虻幼虫肠道微生物与酶的协同作用^[5], 蛇粪有机肥富含了以谷氨酰胺与酪氨酸类甜菜碱为代表的生物活性物质, 有利于植物对环境胁迫的反应^[10], 这为进一步揭示蛇粪有机肥的健康效应提供了理论依据。微生物多样性和组成是土壤健康的重要指标, 微生物分泌的活性酶在土壤养分循环 (如固氮、磷吸附和解吸等)、土壤结构维持和作物生产中起着关键作用, 在农业生态系统功能中也发挥着重要作用^[2, 11-12]。土壤细菌系统性地参与土壤呼吸、养分转化、有机质分解和其他过程, 影响并改变着土壤基础理化性状 (pH、含水量以及养分有效性等)^[13], 甚至干预土传病原微生物的入侵与

收稿日期: 2022-04-07; 录用日期: 2022-05-22

基金项目: 国家自然科学基金 (32171466, 41373073); 浙江省重点研发计划 (2021C03024)。

作者简介: 施鸿鑫 (1971-), 高级农艺师, 本科, 研究方向为作物营养与土壤肥料。E-mail: 148370000@qq.com。

通讯作者: 张志剑, E-mail: zhangzhijian@zju.edu.cn。



危害^[11-12, 14]。因此,需要从微生物种群结构及其功能的角度来深入阐述施肥措施与土壤健康的相互关系。

BSFL 生物转化技术已然成为有机废弃物资源化的“一枝新秀”^[15]。尽管蚯蚓有机肥改善土壤质量与健康的理论依据明确及其潜在应用价值前景乐观,但仍然缺乏科学且严谨的农田试验,以验证和挖掘此类有机肥对农田土壤质量与健康的实际成效。鉴于此,本文选取浙江省杭州市近郊塘栖镇一处枇杷林地,采用易腐垃圾 BSFL 生物转化后获得的且稳定腐熟的蚯蚓有机肥,开展此类新型有机肥对土壤理化性状与细菌群落演变的影响,服务于有机肥促进土壤健康的农业可持续发展。

1 材料与方法

1.1 田间试验设计

本试验位于浙江省杭州市临平区塘栖镇柴家坞村(30° 25' 21.95" N, 120° 12' 10.34" E),塘栖枇杷系当地知名水果。该区域地处亚热带季风气候区,年平均气温为 17.9 °C,年平均降水量为 1460 mm。本试验田土壤类型为青紫泥,土壤 pH 5.52、电导率(EC) 201 μS/cm,土壤 TC 13.0 g/kg、TN 1.18 g/kg、TP(以 P₂O₅ 计) 1.24 g/kg、全钾(TK, 以 K₂O 计) 1.94%。供试作物为软皮白砂枇杷(树龄 5 年)。本试验所使用的蚯蚓有机肥由杭州谷胜科技有限公司提供,该机构采用连体塑料温室大棚与地槽式 BSFL 生物转化工艺^[5],于 2016 年建立了日处理易腐垃圾 15 t/d 的 BSFL 生物转化工程(即昆虫农场);虫-渣分离工序后获得的剩余物料再经 5~8 周好氧堆肥发酵^[6-7],得到腐熟且稳定的有机肥,即蚯蚓有机肥,其含水率 40.2%、pH 8.50、氯离子 0.85%、TC 48.2%、TN 2.25%、TP 6.53%、TK 2.04%。

本研究设计两种施肥方案,即基施蚯蚓有机肥 30 t/hm²(PM)与化肥(对照,PC)。枇杷试验区两组施肥方案均重复 3 次,单个小区为 6 m×20 m,小区之间平行相距 10 m。PM 组施肥操作为:离主树杆 1.5 m 处预先开挖深 20 cm 的圆形耕作层土沟,然后将蚯蚓有机肥施入土壤并混合均匀,于 2017 年 11 月作为基肥一次性施用(用量 30 t/hm²),相应的 N、P₂O₅、K₂O 施加量分别为 264、765、240 kg/hm²;PC 组不施蚯蚓有机肥,仅施用等氮量的尿素。此后,试验区的追施化肥、防病治

虫、农田灌溉以及枇杷匀果等措施均保持一致。在施肥前与施肥后每 2~3 个月采取土壤样品,于 2018 年 9 月结束。

1.2 土壤理化指标测试

基于文献已报道方法,测试土壤与蚯蚓有机肥含水量、pH、EC、TC、TN、铵态氮(NH₄⁺-N)、TP、TK、全硫(TS)等指标^[16-17]。溶解性有机质(DOM)测试:称取过 0.25 mm 筛的风干土壤样品 10 g,按土水(超纯水)重量比 1:5 浸提、上清液过 0.45 μm 滤膜抽提,采用总碳/总氮自动分析(德国 Multi N/C 3100 型)测定。基于文献已报道方法,预备过 0.25 mm 筛的风干土壤样品,采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定土壤蔗糖酶活性;采用苯酚钠-次氯酸钠比色法测定土壤脲酶活性;采用高锰酸钾滴定法测定土壤过氧化氢酶活性^[18-19]。

1.3 土壤细菌群落测试

取冷冻风干 -80 °C 保存的土壤样品,采用 DNeasy PowerSoil Kit 试剂盒提取土壤 DNA。经超微量核酸检测仪(NanoDrop2000)检测合格与琼脂糖凝胶电泳处理符合 DNA 片段完整性后,对样品 DNA 进行 PCR 扩增。引物采用 341F/806R 正反向引物,扩增区域为 16S rRNA 基因片段(16S DNA)中的 V3-V4 区。将成功扩增的 16S DNA 送至北京诺禾致源生物信息科技有限公司,开展 Ion S5 XL 高通量测序,文库类型为两步法文库。使用 ESV(Exact Sequences Variant)非聚类去噪,采用 usearch 软件进行 OTUs(Operational Taxonomic Units)分析。以 Shannon 与 Simpson 为参数,采用 QIIME 2 软件包开展供试土壤细菌群落 α 多样性分析。采用 LDA(Linear Discriminant Analysis)线性判别分析对数据进行降维和评估差异显著的菌种的影响力(即 LDA 分值),并使用直方图进行数据可视化展示。基于 GreenGenes 数据库开展 OTUs 土壤样品细菌群落结构组成的图谱分析^[20]。利用 Canoco 5 软件进行土壤细菌群落与环境因子间的 RDA(Redundancy analysis)冗余分析。使用 SPSS 22.0 对样品进行单变量方差分析(one-way ANOVA)。采用 R V3.5.2 的“ggplot2”和“reshape2”包实现数据的可视化。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓有机肥对土壤理化性质的影响

施用蚯蚓有机肥显著地改变了土壤理化性

质(图1)。可知,PM组土壤pH由初始时的5.52上升至一年后的6.33,平均值为 6.34 ± 0.67 。PC组土壤pH随时间推移呈现波动,但平均值仍在 5.80 ± 0.35 。施用蚯蚓有机肥明显增加了土壤EC值

水平,平均值为 $(598 \pm 439) \mu\text{S}/\text{cm}$,而PC组则为 $(355 \pm 185) \mu\text{S}/\text{cm}$ 。本方案蚯蚓有机肥由于较高的氯离子,存在土壤EC值升高而引起一定的盐害问题。

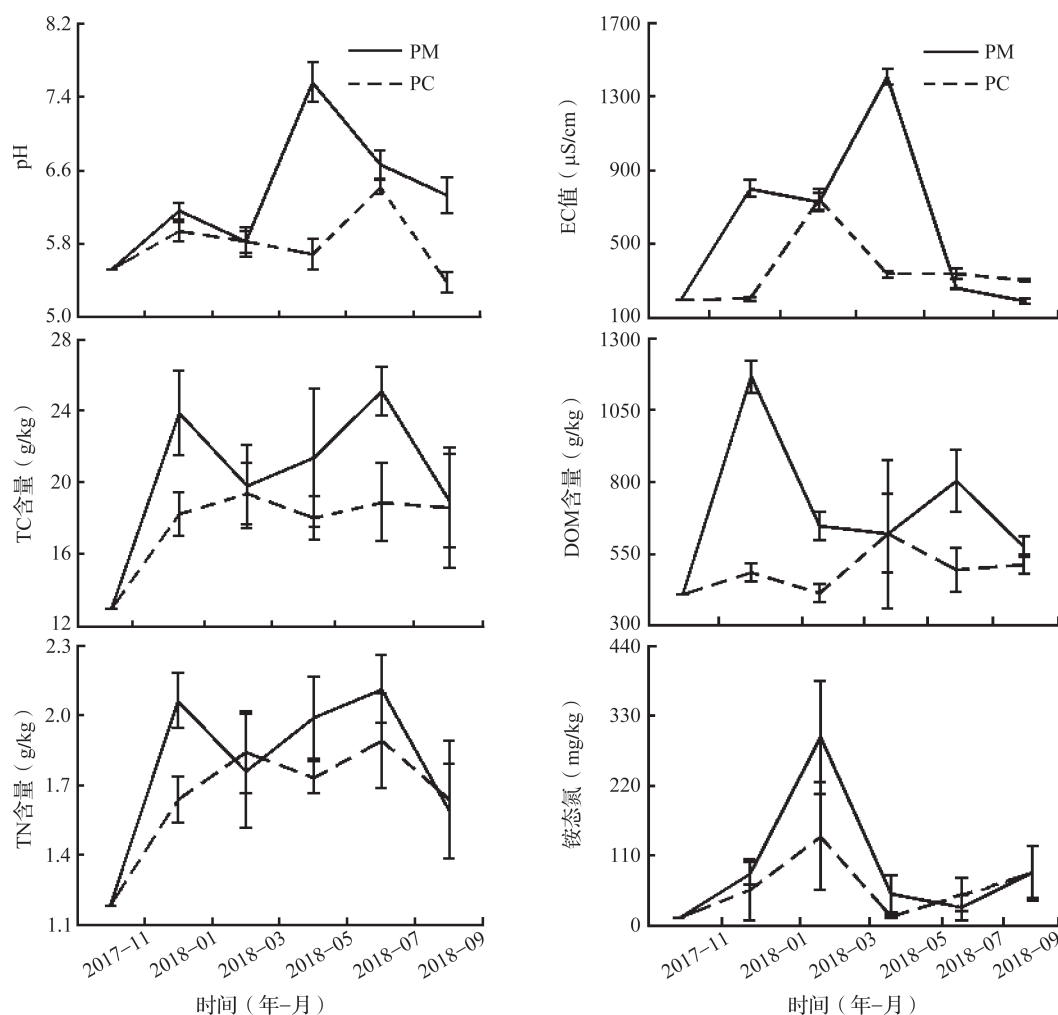


图1 供试土壤理化性质随时间的动态变化

蚯蚓有机肥显著地提高了土壤TC水平。PM组土壤TC由初始的 $13.0 \text{ g}/\text{kg}$ 上升至一年后的 $19.0 \text{ g}/\text{kg}$,平均达到 $(20.3 \pm 4.6) \text{ g}/\text{kg}$,而同期PC组则稳定在 $(17.7 \pm 2.8) \text{ g}/\text{kg}$,总碳增幅平均达到14.7%。与此同时,施用蚯蚓有机肥显著提高了土壤DOM水平 $[(703 \pm 266) \text{ mg}/\text{kg}]$,与PC组 $[(490 \pm 98) \text{ mg}/\text{kg}]$ 相比增加了43%(图1)。尽管动态波动,但与对照比较,施用蚯蚓有机肥提高了土壤TN与 NH_4^+-N 含量。PM组土壤TN平均达到了 $(1.78 \pm 0.37) \text{ g}/\text{kg}$,增幅达到同期PC组的7.88%;同期PM组 NH_4^+-N 平均值达 $(106 \pm 78) \text{ mg}/\text{kg}$,增幅达到同期PC组 $[(76.9 \pm 47.4) \text{ mg}/\text{kg}]$ 的37.8%。

2.2 蚯蚓有机肥对土壤酶活性的影响

土壤蔗糖酶能把土壤蔗糖催化转化为葡萄糖和果糖,是土壤含碳化合物代谢的关键酶,其活性变化是显示土壤肥力水平的重要依据之一^[18-19]。由图2可知,在施用蚯蚓有机肥后,PM组蔗糖酶活性显著提高,但随时间变化的波动为 $22.5 \sim 297 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$,平均值达 $(143 \pm 94) \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 。同期,PC组的蔗糖酶活性随时间变化在 $22.5 \sim 301 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 之间波动,平均值为 $(125 \pm 92) \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 。比较而言,施用蚯蚓有机肥提高了土壤蔗糖酶活性14.5%。此后,7月与9月PM组蔗糖酶活性均大于PC组。

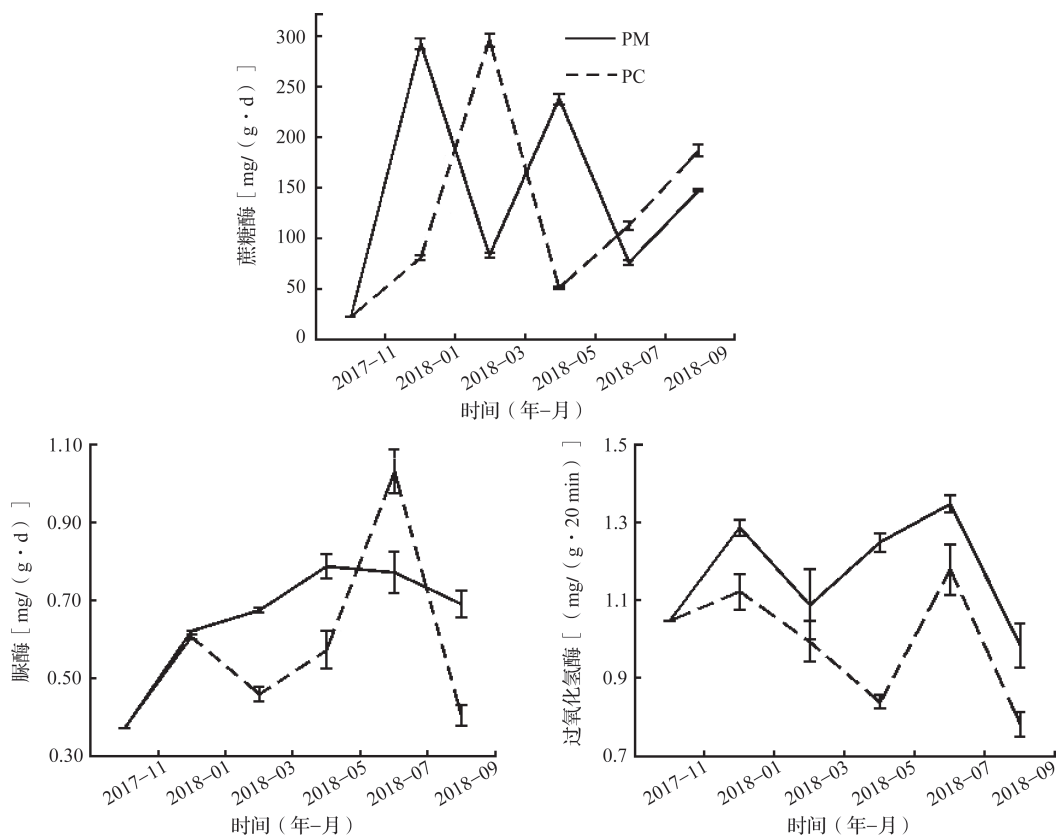
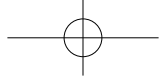


图2 供试土壤酶活性随时间的动态变化

脲酶是土壤中酰胺类化合物催化降解为氨的关键酶,其活性变化可评价土壤含氮物质的矿化进程及其相对速率^[18-19]。在施用蛇粪有机肥后,PM组脲酶活性显著升高,在5月达到 $0.82 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 的峰值;然后缓慢下降至 $0.69 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$;为期1年内的平均值达到 $(0.65 \pm 0.14) \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 。除了2018年7月异常升高之外,PC组的脲酶活性均低于PM组的范围,平均值为 $(0.57 \pm 0.33) \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$ 。过氧化氢酶主要参与土壤微生物的呼吸代谢活动,是土壤微生物生态功能发挥的重要评价指标^[18-19]。蛇粪有机肥施用后,尽管随时间而波动,但PM组过氧化氢酶活性 $[(1.17 \pm 0.14) \text{ mg}/(\text{g} \cdot 20 \text{ min})]$ 均高于PC组 $[(0.99 \pm 0.15) \text{ mg}/(\text{g} \cdot 20 \text{ min})]$ $0.12 \sim 0.42 \text{ mg}/(\text{g} \cdot 20 \text{ min})$,相对增幅达到8.0%~48.8%(平均21.5%)。

2.3 蛇粪有机肥对土壤细菌群落的影响

图3可知,在施用蛇粪有机肥后的4个月,PM组土壤细菌群落结构 α 多样性的Shannon指标从7.0逐步下降至6.25,之后Shannon指数随时间上升至7.30再下降至6.52。PC组Shannon指数的动态特征与PM组相似,但均大于PM组6.67%。与此同时,在持续10个月的试验中,PM组Simpson

指数均高于PC组5.42%。

在门水平上(图4),施肥后土壤细菌物种相对丰度产生了明显变化,PC、PM组主要由Proteobacteria(变形菌门)、Actinobacteria(放线菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌门)、Acidobacteria(酸杆菌门)以及Firmicutes(厚壁菌门)组成,其在所有样品的平均相对丰度分别为41.0%、17.5%、12.4%、9.5%、8.4%。在蛇粪有机肥的作用下,枇杷土壤中Proteobacteria前期略有下降而后期增加,Actinobacteria略有上升,Bacteroidetes显著上升,Acidobacteria显著下降,Firmicutes略有上升。在科水平上(图4),施肥过程中各细菌物种相对丰度产生了明显变化。PC主要由Flavobacteriaceae(黄杆菌科)、Sphingomonadaceae(鞘脂单胞菌科)、Rhodospirillaceae(红螺菌科)、Xanthomonadaceae(黄单胞菌科)、Chitinophagaceae(甲壳菌科)组成,其在所有样品的平均相对丰度分别为4.38%、4.13%、4.10%、3.38%与3.75%。Rhodospirillaceae随时间相对丰度增加,而Hyphomicrobiaceae(生丝微菌科)则显著下降,其他菌种基本稳定。经过施肥处理后,枇杷土壤中的Clostridiaceae-1(梭菌科)、Sphingobacteriaceae(鞘脂杆菌科)、Sphingomonadaceae、Pseudomonadaceae(假

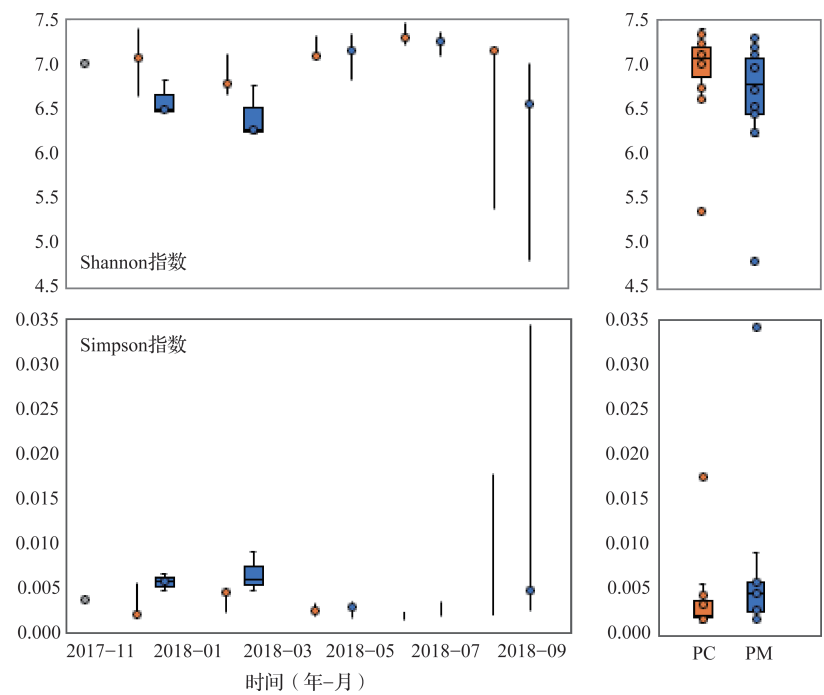


图3 供试土壤 α 多样性动态变化箱图

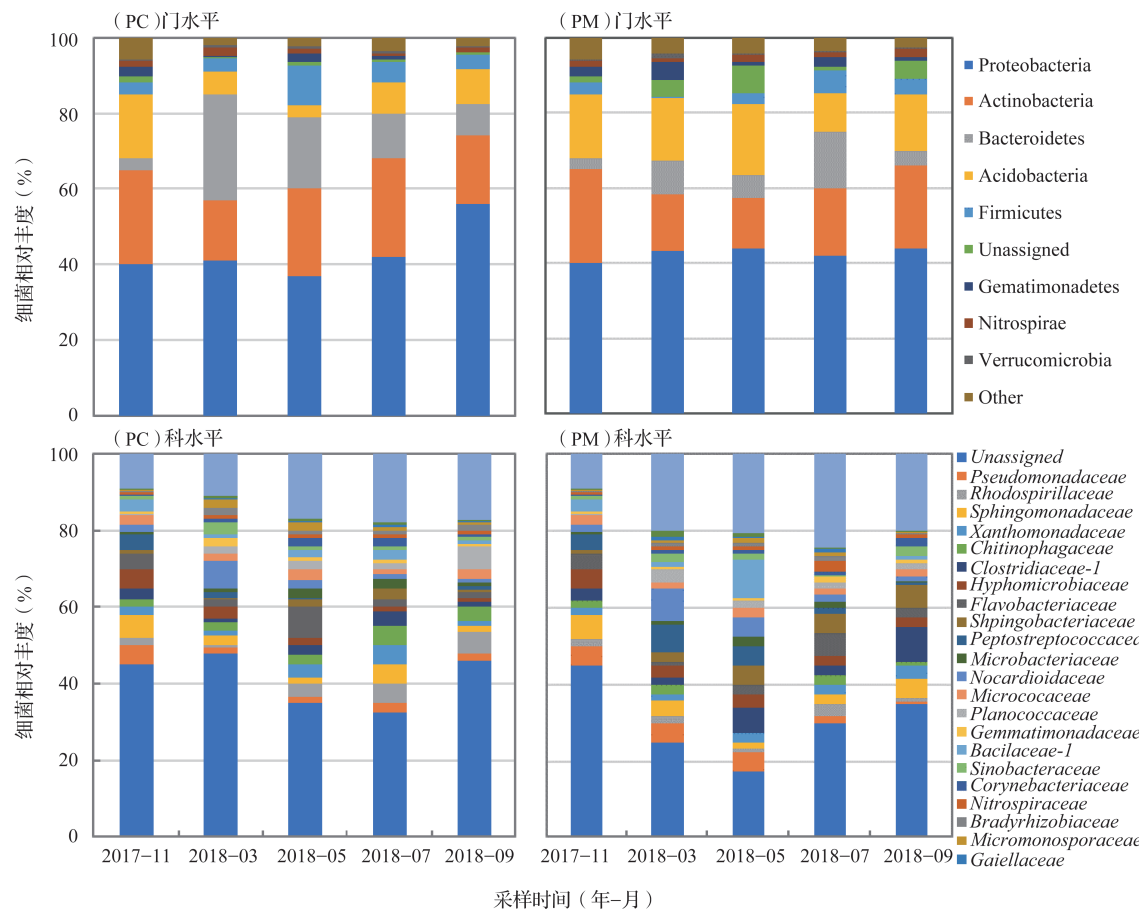


图4 供试土壤细菌群落相对丰度随时间的动态变化

单胞菌科)、*Hyphomicrobiaceae*, 相对丰度分别达到了 5.75%、4.88%、4.75%、4.38% 与 4.13%。*Sphingobacteriaceae* (4.88%) 极显著上升, 而 *Peptostreptococcaceae* (消化链球菌科) 则显著下降。*Pseudomonadaceae* (4.38%) 先降后升, 而 *Nocardiodaceae* (类诺卡氏菌科) 与 *Planococcaceae* (动球菌科) 则是先升后降的动态特征。

2.4 土壤细菌群落与环境因子的相互作用

RDA 分析可以显示不同环境因子与细菌群落间的相关性^[21], 探讨环境因子与细菌群落的关系对蚯蚓有机肥产品的施用效果具有重要意义。两个箭头夹角大于 90° 表示这两个因子负相关, 夹角小于 90° 表示这两个因子正相关。箭头之间的投影长度代表因子之间相关性大小, 投影长度越长相关性越大。由图 5 可知, 枇杷土壤细菌群落受不同的环境因素影响。前两个典型轴解释了细菌数据变化的 29.2% 和 24.3%; 环境影响因子中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 为 14.0%, 其次是 C/N 占 12.3%。在枇杷土壤中, DOM 的变化与 *Verrucom* (疣微菌) 的变化呈正相关。RDA 还表明了理化性状的相关性, 其中 DOM 的形成与 TP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、pH、C/N 呈正相关, 与 TS、TK 呈负相关, 与 TN 无显著相关性。

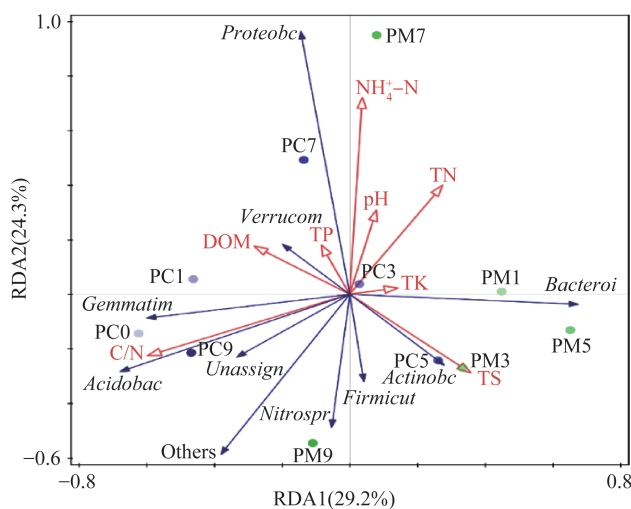


图 5 供试土壤细菌群落与环境因子 RDA 分析

3 讨论

3.1 蚯蚓有机肥对土壤理化性状的影响

长期单一施用化肥是引起土壤酸化的一个重要影响^[1]。尽管随时间波动, 但本研究发现蚯蚓有机肥施用提高了土壤 pH, 这有利于“对冲”因长期施用化肥而导致土壤的酸化趋势^[22], 可显著提

高土壤健康。与此同时, 与对照化肥施用相比, 施用蚯蚓有机肥当季可促进土壤碳库增幅达 14.7% (图 1), 这有利于我国农业土壤固碳、助力“双碳”目标实现^[23]。有机质组成与结构分析认为, DOM 是土壤微生物的主要能量以及新陈代谢的基础原料^[21], 本研究发现在施用蚯蚓有机肥后土壤 DOM 水平提高了 43%, 显然这部分“活跃”有机质有利于激活土壤生化反应过程。尽管采用等量氮素的田间试验设计, 但蚯蚓有机肥施用提高了土壤氮素。一项林地土壤养分与有机质的研究发现, 有机肥配施不仅提高土壤氮库, 而且有利于土壤富里酸向胡敏酸转化 (尤其是促进松结态胡敏酸的形成与累积), 进而使土壤有机碳品质得到明显改善^[24]。针对本研究, 蚯蚓有机肥有可能 (特别是长期施用) 的碳-氮协同增效的长期效应^[24-25] 值得深入研究, 以进一步明确这种新型有机肥稳定的健康效应。由于本研究对易腐垃圾没有进行“油-水-浆”三相分离预处理, 无法避免地造成了蚯蚓有机肥自身盐分的相对累积, 其发芽指数一度低于 40%^[26], 因而造成了土壤 EC 值在施用蚯蚓有机肥后短期内升高明显 (图 1)。而后期土壤 EC 值基本“回归”常态, 这主要归因于年降水量 1460 mm 的雨水条件, 可将其中盐分“洗淋”充分, 但对于缺水或干旱少雨的北方地区, 此类有机肥施用及其用量需要谨慎, 尽管土壤的主要理化指标利好。由于黑水虻幼虫对油脂的取食偏好^[27], 以及经过后续的二次堆肥再发酵^[6-7], 残留于蚯蚓有机肥的油脂对作物的直接危害会减轻。但将易腐垃圾进行有效地三相分离仍是黑水虻转化技术工艺再创新的现实需要。

3.2 蚯蚓有机肥与土壤酶活性的作用关系

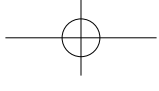
土壤酶活性是影响土壤元素循环与微生物呼吸的关键催化剂, 酶活性强弱变化是显示土壤肥力水平高低的重要依据之一^[18-19]。本研究施用蚯蚓有机肥均不同程度地提高了土壤总碳与总氮 (图 1), 蔗糖酶与脲酶的活性 (尽管波动明显) 也随之提高 (图 2), 这两者趋势相吻合。在东北土豆-玉米轮作的田间试验表明, 有机肥施用提高土壤蔗糖酶 125% ~ 146%^[13]。以蔗糖为底物, 其酶促反应有利于提高土壤中易溶性碳含量^[28], 这与本研究蚯蚓有机肥提高了土壤 DOM 水平 (图 2) 相一致。2018 年 3 月的单施化肥的土壤蔗糖酶活性大于蚯蚓有机肥, 可能因蚯蚓有机肥中蔗糖类物

质大量被分解而造成葡萄糖和果糖等底物相对积累,继而引起酶促反馈抑制作用^[18-19],并相应降低蔗糖酶活性。比较而言,蛇粪有机肥施用提高了土壤脲酶活性 12.3%,这也间接证实了蛇粪有机肥提高土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 水平(图 1)。类似研究发现,施用有机肥 15 ~ 45 t/hm² 能够提高玉米土壤脲酶活性 5.8% ~ 56.4%^[29];有机无机肥配施处理提高了番茄土壤脲酶活性达 2.4 ~ 3.1 倍^[28]。在我国东北土豆-玉米轮作土壤中,配施有机肥提高了脲酶活性 58.3% ~ 108%^[13]。本研究的蛇粪有机肥在促进蔗糖酶和脲酶活性方面与前人研究相一致。而 2018 年 7 月对照 PC 组土壤脲酶异常升高,很可能因对照组土壤氮素相对不足(即脲酶催化反应的产物相对不足)而引起的酶促反馈机制^[13, 19]增强此时的脲酶活性。在影响土壤呼吸强度的过氧化氢酶活性分析中发现,虽然蛇粪有机肥施用后土壤过氧化氢酶活性呈现“先增后降”的规律,但其酶活性整体上明显大于单施化肥(图 2)。有机无机肥配施显著地提高了土壤过氧化氢酶活性(增幅达 6.4% ~ 10.2%),而化肥施用则抑制了 6.3% 的过氧化氢酶活性^[28]。由此可见,蛇粪有机肥提高了土壤酶活性,促进了与之相关的土壤呼吸、养分转化、有机质分解和积累等过程,良好地调控了促进土壤碳-氮库增长与提高元素碳-氮生物有效性之间的“平衡关系”,这显然有利于改善土壤质量与健康。

3.3 蛇粪有机肥与土壤菌群的响应关系

在土壤理化性状明显变化的同时,施用蛇粪有机肥显著地改变了土壤细菌群落。数据显示(图 3),蛇粪有机肥施用降低了土壤细菌群落多样性(Shannon 指数下降),但提高了土壤细菌群落的均匀度(Simpson 指数上升)。施用 15 ~ 45 t/hm² 有机肥的土壤细菌多样性 Chao1 数值均高于对照(化肥),但未达到显著水平^[29]。其他田间试验发现,有机无机配施均显著地提高了土壤细菌丰度与覆盖度指数(12% 左右),而 Shannon 指数则无显著变化^[13]。而本试验前期蛇粪二次堆肥腐熟过程的研究^[6-7]发现,Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数等微生物多样性指标经历了先增加后下降的演变,与此同时菌群结构发生显著变化。这可能是影响蛇粪有机肥施用引起土壤细菌多样性下降但均匀度增加的原因之一。在化肥、有机肥、有机无机肥等不同的施肥方案中,供试土

壤的优势细菌主要为 Actinobacteria, Acidobacteria 和 Gemmatimonadetes(芽单胞菌门)等^[13]。经二次堆肥发酵而成的蛇粪有机肥,堆体细菌群落主要由 Bacteroidetes、Firmicutes、Proteobacteria 和 Actinobacteria 等组成^[6]。因此,蛇粪有机肥自身的微生物群落可影响施用后的土壤菌群。相比化肥,施用畜禽粪便(牛、鸡)显著地提高了土壤细菌 Bacteroidetes 与 Flavobacteriia 和 Spingobacteriales 的相对比例,高达 2 ~ 3 倍^[30],这与本研究的变化趋势基本一致。研究发现, *Sphingobacteriaceae* 是土壤中残留磺胺类抗生素的微生物降解的主要功能菌^[31],而本研究蛇粪施用相应地提高了此类菌种的丰度(图 4),因此可以推测,施用蛇粪有机肥有利于残留的抗生素降解,促进土壤健康并防控相应的残留抗生素进入农产品。值得一提的是,本研究施用蛇粪有机肥后土壤的 *Pseudomonadaceae* 数量上升明显,而土壤 *Pseudomonadaceae* 数量增加(29.5% ~ 20.2%)可显著地防控土壤青枯病原菌(下降 73.2% ~ 90.1%)^[14]。这也间接地证实,蛇粪有机肥可有效地防控土传病原菌,促进作物的连作高产。此外,蛇粪有机肥施用与单施化肥处理在 RDA 图中可以很好地分开,说明蛇粪有机肥的施用对土壤微生物群落起到了显著的影响作用,这与蛇粪有机肥本身的特有微生物群落^[6]有关。进一步的 RDA 分析发现,蛇粪有机肥诱导了土壤菌群与环境因子之间的“选边站”响应,其中 *Verrucom* 较为突出(图 5)。*Verrucom* 易受现代化农业耕作影响而相对广泛地存在于人为干扰少的土壤中,在氨基酸生物合成与降解、酰脂/胺代谢以及氮代谢等方面发挥了重要作用^[32]。本研究的 *Verrucom* 与 DOM 含量正相关性说明,施用蛇粪有机肥有利于提高土壤抵御外界压力的生态可塑性^[25],有助于 DOM 和腐殖质稳定化及其氮素代谢。在无机、有机等不同施肥方案中,土壤细菌群落结构差异与土壤有效氮、有机质以及酶(脲酶与碱性磷酸酶)活性显著相关^[13]。在本研究中,施用蛇粪有机肥提高酶活性(图 2)、促进 N 与 P 等营养元素释放(图 1)并形成“个性化”细菌群落(图 4)。未来将持续开展蛇粪有机肥与土壤健康效应的长期田间试验观察,以明确有可能的碳-氮协同增效长期效应、量化表征土壤酶活与养分有效性、并阐述微生物群落演替规律及其生态功能表达,服务于蛇粪有机肥促进土壤健康及其农业可持续发展。



4 结论

在为期1年的枇杷林土壤田间试验研究中:(1) 蛇粪有机肥施用提高土壤 pH 的效应可“对冲”因长期施用化肥而导致土壤的酸化趋势,短期内可平均增加土壤碳库 14.7%,并提高土壤 DOM 浓度 43%,与此同时,施用蛇粪有机肥分别提高了土壤 TN 与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量 7.88% 和 37.8%。(2) 施用蛇粪有机肥提高了土壤蔗糖酶活性 14.5%、脲酶活性 12.3%、过氧化氢酶活性 21.5%。(3) 短期内蛇粪有机肥引起土壤细菌多样性(Shannon 指数)下降 6.67%、但均匀度(Simpson 指数)增加 5.42%;蛇粪有机肥增加了土壤 Proteobacteria、Actinobacteria、Bacteroidetes 等门类细菌相对丰度,而 Acidobacteria 显著下降;施用蛇粪有机肥诱导了土壤 *Clostridiaceae-1*、*Sphingobacteriaceae*、*Sphingomonadaceae*、*Pseudomonadaceae*、*Hyphomicrobiaceae* 等科类细菌优势性生长;蛇粪有机肥自身的微生物群落可影响施用后的土壤菌群,并有利于土壤残留抗生素降解和土传病原菌防控,促进土壤健康。(4) 蛇粪有机肥显著促进土壤细菌群落“个性化”演变的同时,其组分受土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (贡献率 14.0%) 与 C/N (贡献率 12.3%) 影响显著,而土壤 DOM 的形成与 TP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、pH、C/N 以及 *Verrucom* 相对丰度呈正相关。施用蛇粪有机肥可增强土壤固碳、提高酶活,并诱导细菌群落演变,有利于改善土壤质量与健康。蛇粪有机肥促进土壤碳-氮协同增效的长期效应值得后续深入研究。

参考文献:

- [1] 张北赢, 陈天林, 王兵. 长期施用化肥对土壤质量的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26 (11): 182-187.
- [2] Zhao J, Zhang R, Xue C, et al. Pyrosequencing reveals contrasting soil bacterial diversity and community structure of two main winter wheat cropping systems in China[J]. Microbial Ecology, 2014, 67: 443-453.
- [3] Zheng X, Zhu Y, Wang Z, et al. Effects of a novel bio-organic fertilizer on the composition of rhizobacterial communities and bacterial wilt outbreak in a continuously mono-cropped tomato field[J]. Applied Soil Ecology, 2020, 156: 103717.
- [4] Lehmann J, Bossio D A, Kgel-Knabner I, et al. The concept and future prospects of soil health[J]. Nature Review Earth and Environment, 2020, 1: 1-10.
- [5] Jiang C L, Jin W Z, Tao X H, et al. Black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) strengthen the metabolic function of food waste biodegradation by gut microbiome[J]. Microbial Biotechnology, 2019, 12 (3): 528-543.
- [6] 张志剑, 王先哲, 许绍伟, 等. 蛇粪二次堆肥生化特性的动态变化趋势及其微生物演替规律[J]. 微生物学报, 2020, 60 (12): 2664-2674.
- [7] 马景津, 王先哲, 许绍伟, 等. 黑水虻生物转化残留物二次堆肥物料生化及溶解性有机质动态演化特征[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27 (6): 1583-1590.
- [8] Lalander C H, Fidjeland J, Diener S, et al. High waste-to-biomass conversion and efficient *Salmonella* spp. reduction using black soldier fly for waste recycling[J]. Agronomy for Sustainable Development, 2015, 35: 261-271.
- [9] Menino R, Felizes F, Castelo-Branco M A, et al. Agricultural value of black soldier fly larvae frass as organic fertilizer on ryegrass[J]. Heliyon, 2021, 7 (1): e05855.
- [10] Huang S, Ma Q, Hou Q, et al. Identification and quantitative chemical analysis of betaines in different organic wastes and their bioconversion composts[J]. Bioresource Technology, 2021, 328: 124857.
- [11] Zhang F, Huo Y, Xu X, et al. Trichoderma improves the growth of *Leymus chinensis*[J]. Biology and Fertility Soils, 2018, 54: 685-696.
- [12] Zhen L, Gu J, Hu T, et al. Effects of compost containing oxytetracycline on enzyme activities and microbial communities in maize rhizosphere soil[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25: 29459-29467.
- [13] Liu Z P, Xie W Y, Yang Z X, et al. Effects of manure and chemical fertilizer on bacterial community structure and soil enzyme activities in north China[J]. Agronomy-Basel, 2021, 11 (5), 1017.
- [14] 张鹏, 王小慧, 李蕊, 等. 生物有机肥对田间蔬菜根际土壤中病原菌和功能菌组成的影响[J]. 土壤学报, 2013, 50 (2): 381-387.
- [15] Beesigamukama D, Mochoge B, Korir N K, et al. Low-cost technology for recycling agro-industrial waste into nutrient-rich organic fertilizer using black soldier fly[J]. Waste Management, 2021, 119: 183-194.
- [16] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1978.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [18] 姚槐应, 黄昌勇. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- [19] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [20] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7 (5): 335-336.
- [21] Li H Y, Wang H, Wang H T, et al. The chemodiversity of

- paddy soil dissolved organic matter correlates with microbial community at continental scales [J]. *Microbiome*, 2018, 6 (187): DOI 10.1186/s40168-018-0561-x.
- [22] 唐继伟, 李娟, 车升国, 等. 长期单施不同量化肥和有机肥后盐化潮土 pH 和 EC 的变化 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25 (8): 1300-1307.
- [23] 王宇飞, 王语宽. 重视农业土壤固碳, 助力“双碳”目标实现——积极应对农业土壤“千分之四”计划 [J]. *环境保护*, 2021, 49 (17): 61-64.
- [24] 孙莹, 侯玮, 迟美静, 等. 氮肥与有机肥配施对设施土壤腐殖质组分的影响 [J]. *土壤学报*, 2019, 56 (4): 940-952.
- [25] Zhang Z J, Li H Y, Hu J, et al. Do microorganism stoichiometric alterations affect carbon sequestration in paddy soil subjected to phosphorus input? [J]. *Ecological Applications*, 2015, 25 (3): 866-879.
- [26] Ma J J, Jiang C L, Tao X H, et al. Insights on dissolved organic matter and bacterial community succession during secondary composting in residue after black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) bioconversion for food waste treatment [J]. *Waste Management*, 2022, 142: 55-64.
- [27] 朱芬. 黑水虻 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2019.
- [28] 杨程, 刘秋香. 有机无机肥配施对土壤理化性质和番茄生长的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2016, 44 (6): 256-258.
- [29] 徐忠山, 刘景辉, 逯晓萍, 等. 施用有机肥提高黑土土壤酶活性、增加细菌数量及种类多样性 [J]. *中国土壤与肥料*, 2020 (4): 50-55.
- [30] Neher D A, Limoges M A, Weicht T R, et al. Bacterial community dynamics distinguish poultry compost from dairy compost and non-amended soils planted with spinach [J]. *Microorganisms*, 2020, 8 (10): 1610.
- [31] de Souza A J, Pereira A P D, Andreote F D, et al. Sulfadiazine dissipation as a function of soil bacterial diversity [J]. *Environmental Pollution*, 2021, 271: 116374.
- [32] Fierer N, Ladau J, Clemente J C, et al. Reconstructing the microbial diversity and function of pre-agricultural tallgrass prairie soils in the United States [J]. *Science*, 2013, 342 (6158): 621-624.

Effects of black soldier fly larvae vermicompost on soil physico-chemical properties and bacterial community in loquat field

SHI Hong-xin^{1, 2}, ZHANG Qian³, QIAN Hai-shan^{2, 3}, YUAN Yu-long³, WANG Xian-zhe¹, ZHANG Guo-shun⁴, SHEN Jian-lin³, ZHANG Zhi-jian^{1*} (1. College of Environment and Resources Science, Zhejiang University, Hangzhou Zhejiang 310058; 2. Hangzhou Yuhang District Agricultural Technology Extension Center, Hangzhou Zhejiang 310023; 3. Hangzhou Gusheng Technology Co., Ltd. Hangzhou Zhejiang 311112; 4. Hangzhou Linping Guoshun Family Farm, Hangzhou Zhejiang 311106)

Abstract: Black soldier fly larvae (BSFL, *Hermetia illucens* L.) bioconversion for biodegradable waste generates a novel type of biofertilizer, i.e., BSFL vermicompost. Although it has the potential value of improving soil quality and health, its actual effect needs to be described from the perspective of field application. Two fertilization test schemes of chemical fertilizer (PC) and BSFL vermicompost (PM) were set up, and the dynamic effects of BSFL vermicompost on soil nutrients, carbon pool, enzyme activity and bacterial community were investigated by conducting a loquat field experiment. The result showed that: (1) The application of BSFL vermicompost increased soil pH, which could “hedge” the acidification trend of soil, increased the soil carbon pool by 14.7%, increased the concentration of soil dissolved organic matter (DOM) by 43%, and increased the total nitrogen by 7.88%. (2) The activities of soil sucrase, urease and hydroxidase were increased by 14.5%, 12.3% and 21.5%, respectively, with the application of BSFL vermicompost. (3) For the treatment of BSFL vermicompost, the bacterial diversity (Shannon index) decreased by 6.67%, but the uniformity (Simpson index) increased by 5.42%, compared with PC; The application of BSFL vermicompost increased the relative abundance of soil Proteobacteria, Actinobacteria, and Bacteroidetes, and induced the dominant growth of soil *Clostridiaceae-1*, *Sphingobacteriaceae*, *Sphingomonadaceae*, *Pseudomonadaceae* and *Hyphomicrobiaceae*. (4) While BSFL vermicompost significantly promoted the “personalized” evolution of soil bacterial community, its components were significantly affected by soil ammonium nitrogen (14.0%) and carbon/nitrogen ratio (12.3%), while the formation of soil DOM was positively correlated with the relative abundance of *Verrucom*. In summary, field experiments indicated that the application of BSFL vermicompost could enhance soil carbon sequestration, increase enzyme activity and induce the evolution of bacterial community, which was beneficial to improve soil quality and health.

Key words: organic fertilizer; soil health; crops; insects; waste recycling