

# 污泥和生长素添加对草地早熟禾生长及土壤微生物的影响

曹允馨,张宁,常智慧

(北京林业大学草业与草原学院,北京 100083)

**摘要:**污泥可用作土壤改良剂和生物肥料,改善绿地土壤的理化性质,促进植物的生长。以草地早熟禾品种午夜作为试验材料,研究水分胁迫下,添加污泥、吲哚丁酸和色氨酸的不同处理对草地早熟禾生长及土壤微生物的影响。结果表明:施用污泥能有效缓解草地早熟禾光合速率和相对含水量的下降,提高其耐旱性,同时污泥能显著提高土壤微生物量碳,土壤微生物的丰度及群落多样性,在污泥中加入色氨酸比单独施用污泥或色氨酸对草坪草的耐旱性能产生更显著的影响。

**关键词:**污泥;草地早熟禾;干旱;微生物

**中图分类号:**S688.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-5500(2021)05-0063-10

**DOI:** 10.13817/j.cnki.cycp.2021.05.009

污泥是污水处理厂净化处理污水时产生的不包括栅渣、浮渣和沉砂池沙砾的废弃物<sup>[1]</sup>。污泥不仅可以提高植物氮素和水分利用效率,促进其在干旱条件下的生长<sup>[2-4]</sup>,而且可以提高土壤的生物和化学性质,促进土壤微生物的活性<sup>[5-7]</sup>,增加土壤中细菌和放线菌的数量<sup>[8-9]</sup>。

污泥中富含多种生物活性物质<sup>[10-11]</sup>,这是污泥对微生物产生影响的原因,如含有作为酶促底物的有机碳、有机氮<sup>[12-13]</sup>等可以促进土壤微生物生长和分泌各种酶<sup>[14]</sup>。研究表明施入污泥可以提高土壤酶活性<sup>[15]</sup>;污泥复混肥可以增加硝化细菌和好气性纤维素分解细菌数量,提高放线菌和氨化细菌的活性<sup>[16]</sup>。此外污泥堆肥也可以显著提高微生物量碳氮和土壤微生物量<sup>[12,17]</sup>,增加土壤中一些酶如脲酶、过氧化氢酶等的含量,从而改善土壤结构<sup>[18-20]</sup>。

微生物以污泥中的生物活性物质为基质,可以产生并向土壤中释放激素<sup>[21]</sup>。许多独立生长的微生物

都可以合成植物激素,如生长素、赤霉素、类激动素物质等<sup>[22]</sup>。因此,污泥可以通过影响微生物,间接影响植物生长。吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA)是天然植物生长素的主要活性成分<sup>[23]</sup>。近年来发现的与生长素合成相关的重要催化酶系和克隆的关键调控基因多数通过依赖色氨酸(Trp-dependent pathway)合成途径合成<sup>[24]</sup>。此外,在植物体内还存在其他生长素,如吲哚丁酸(indole-3-butyl tyric acid, IBA)和4-氯吲哚-3-乙酸(4-chloroindole-3-acetic acid, 4-Cl-IAA)等<sup>[25]</sup>。有研究表明,吲哚乙酸与吲哚丁酸的生理功能相似,但吲哚乙酸在植物体外易降解。与吲哚乙酸相比,吲哚丁酸不易被光分解,比较稳定<sup>[22,24]</sup>。

草地早熟禾(*Poa pratensis*)是一种优质的冷季型草坪草,适应性广、绿期长,坪质优美,是我国北方地区常用的建坪草种<sup>[26]</sup>。但草地早熟禾具有生长缓慢、抗旱性不强的特性,影响其坪用质量和效率<sup>[27]</sup>。本试验用硝酸铵与污泥提供等量氮素,研究干旱胁迫下污泥和生长素对草地早熟禾生长和土壤微生物的影响,观察草地早熟禾的耐旱性,探究污泥提高草地早熟禾抗旱性的机理。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

试验所用草种是草地早熟禾品种午夜,播种量为

收稿日期:2020-07-02;修回日期:2020-10-26

基金项目:国家重点研发计划课题(2018YFF0213502)

作者简介:曹允馨(1994-),女,山西繁峙人,硕士研究生。

E-mail:cyx0720@126.com

常智慧为通讯作者。

E-mail:changzh@bjfu.edu.cn

15 g/m<sup>2</sup>; 基质是煅烧黏土 (profile products, Chicago), 经 800℃ 高温煅烧, 不含任何营养物质; 污泥取自北京某污水处理厂, 其含水量为 84.7%, pH 值为 5.36, 全氮含量 66.6 mg/g, 磷含量 68.9 mg/g, 钾含量 13.3 mg/g, 有机质含量 72.6%, 腐殖酸含量 40.0%。试验所用氮肥是硝酸铵溶液与污泥, 除氮素外的营养物质由无氮霍格兰营养液提供。

## 1.2 污泥中草地早熟禾可利用的有效氮含量测定

试验处理分为施用污泥和不施用污泥两类, 为保证所有处理能为草地早熟禾提供等量的有效氮素, 需要用几个梯度浓度的硝酸铵溶液和一定量的污泥处理草地早熟禾以测定污泥中的有效氮含量。

试验在光照培养箱中进行, 日/夜温度为 24℃/18℃, 光照 14 h, 光强 600 μmol/(m<sup>2</sup>·s)。采用直径 16 cm, 深 10 cm 的聚乙烯塑料盆, 每盆装 0.7 kg 煅烧黏土。播种前浇水, 使每盆的土壤含水量达到 90% 田间持水量。

试验采用随机区组设计, 设 6 个处理: 1) 对照; 2) 25 mg/kg 氮素; 3) 50 mg/kg 氮素; 4) 75 mg/kg 氮素; 5) 15 g 未添加色氨酸的污泥 (UB); 6) 15 g 添加 20 μmol/g 色氨酸的污泥 (TB)。每个处理 5 次重复。前 4 个处理利用 8 mg/mL 硝酸铵溶液提供氮素 (具体添加量根据土重进行换算), 后两个处理利用污泥提供氮素, 硝酸铵溶液分别在播种前、播种 15 d、播种 30 d 分 3 次等量加入, 污泥在播种前用水调成匀浆加入基质中, 混合均匀。

试验持续 8 周, 全程保持充足的浇水, 所有处理用无氮霍格兰溶液提供除氮素外的其他营养物质。定期修剪, 保持草坪草高度为 8~10 cm, 将每次修剪所得的草屑收集, 烘干保存。试验结束后, 将所有地上部分全部收集烘干, 与之前收集的样品合并, 采用凯氏定氮法<sup>[28]</sup>测定各处理草坪草的全氮含量。

利用前 4 个处理的数据作出氮摄入量  $Y$  (mg/盆) 和氮施用量  $X$  (mg/kg) 的标准曲线, 并得出线性方程:  $Y = 0.3396X + 7.0582$  ( $R^2 = 0.9423$ )。通过方程计算出未添加色氨酸的污泥的有效氮含量为 2.339 mg/g, 添加色氨酸的污泥的有效氮含量为 2.577 mg/g。而后的试验中要施用 75 mg/kg 氮素所需的 UB、TB 添加量分别为: 19.87 g/kg 和 18.03 g/kg。

## 1.3 试验条件

试验在北京林业大学气象站温室进行, 日夜温度

约为 29℃/17℃, 光照时间为 13 h, 光照强度约 600 μmol/(m<sup>2</sup>·s)。

## 1.4 试验设计

采用裂区设计, 主处理为水分条件, 包括: (1) 充分浇水: 土壤水分含量保持在 90% 田间持水量; (2) 干旱处理: 不浇水, 草坪自然干旱, 待土壤水分含量降至 25% 田间持水量时复水, 保持 90% 田间持水量一周。副处理有 5 个: (1) 对照 CK; (2) 吡啶丁酸处理 IBA (2 μmol/L); (3) 未加色氨酸的污泥处理 UB (19.87 g/kg); (4) 添加色氨酸的污泥处理 TB (18.03 g/kg); (5) 色氨酸处理 TRP (360.6 μmol/kg), 每处理 4 个重复。IBA 的施用量经计算后是 0.365 mg/盆 (相当于 70% 田间持水量时浓度为 2 μmol/L 的 IBA)。色氨酸的用量与 TB 处理中的色氨酸含量相等。所有处理的氮施入量为 75 mg/kg。污泥在播种前用水调成匀浆均匀混入基质中, IBA、TRP 配成溶液, 播种前均匀混入基质中, 硝酸铵溶液分别在播种前、播种 15 d、播种 30 d 分 3 次等量加入。2016 年 4 月 20 日播种, 在 25 cm×25 cm 的方形塑料花盆中装入 2.5 kg 煅烧黏土, 浇透水静置一段时间后, 土表与盆沿距离不超过 1 cm 为宜。播种前及整个生长期保持充足的浇水, 土壤含水量达到 90% 田间持水量。

取样时间分别为: 干旱处理组土壤水分含量分别为田间持水量的 90%、50%、30%、25% 和 90% (复水一周后) 时, 具体时间为 7 月 7 日、7 月 14 日、8 月 3 日、8 月 11 日和 8 月 19 日。

## 1.5 测定指标及方法

草坪观质量参考杨燕等<sup>[29]</sup>的方法, 9 分制, 依据草坪颜色、均一度、盖度等方面打分, 1 代表草坪完全死亡, 9 代表草坪颜色浓绿、稠密、均一, 有茂盛的地上茎叶, 6 代表可接受的最低草坪质量水平<sup>[3]</sup>; 目测草坪叶片测定叶片萎蔫度, 从 0 到 100%, 0 代表叶冠完全, 100% 代表永久萎蔫; 相对含水量采用饱和称重法<sup>[4]</sup>。使用 Li-6400 光合仪测定草地早熟禾叶片光合速率。微生物总量采用改良后的氯仿熏蒸浸提法<sup>[30]</sup>测定。土壤微生物群落结构在干旱处理开始前 (7 月 7 日), 取干旱胁迫组的各处理的土壤样品 (每个处理 3 个重复), 送至美吉生物公司做 16S rRNA 测序, 以测定干旱胁迫开始前不同处理的土壤微生物多样性。

## 1.6 数据分析

使用 Microsoft Excel 2007 软件整理原始数据、绘制图表, 用 SPSS 20.0 对数据进行单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 污泥和生长素对干旱胁迫下的草地早熟禾生长的影响

2.1.1 坪观质量 充分浇水条件下,各处理的坪观质量基本没有显著变化,整体来看,两种污泥处理的坪观

质量高于对照(表 1),污泥处理可以显著提高草地早熟禾的坪观质量。干旱处理情况下,各处理的坪观质量随土壤含水量的下降而下降,复水一周后显著恢复。干旱期间,IBA 处理与空白对照的坪观质量无显著差异,TRP、UB 和 TB 处理可以显著降低干旱对草地早熟禾坪观质量的损伤。

表 1 2 种水分条件下草地早熟禾的坪观质量

Table 1 Effects of biosolids and auxin on the turfgrass quality of Kentucky bluegrass under well-watered and drought treatment

水分处理	基质处理	坪观质量				
		7月7日	7月14日	8月3日	8月11日	8月19日
充分浇水	CK	7.6 <sup>aA</sup>	7.4 <sup>aAB</sup>	7.1 <sup>cB</sup>	7.1 <sup>cB</sup>	7.8 <sup>aA</sup>
	IBA	7.6 <sup>aA</sup>	7.4 <sup>aAB</sup>	7.4 <sup>bcAB</sup>	7.2 <sup>cB</sup>	7.7 <sup>aA</sup>
	UB	7.7 <sup>aA</sup>	7.7 <sup>aA</sup>	7.6 <sup>abA</sup>	7.5 <sup>abA</sup>	7.8 <sup>aA</sup>
	TB	7.8 <sup>aAB</sup>	7.8 <sup>aAB</sup>	7.8 <sup>aAB</sup>	7.6 <sup>aB</sup>	8.0 <sup>aA</sup>
	TRP	7.6 <sup>aA</sup>	7.6 <sup>aA</sup>	7.5 <sup>abA</sup>	7.3 <sup>bcA</sup>	7.8 <sup>aA</sup>
干旱胁迫	CK	7.5 <sup>cA</sup>	6.8 <sup>bB</sup>	5.5 <sup>cC</sup>	4.3 <sup>cD</sup>	5.8 <sup>cC</sup>
	IBA	7.5 <sup>cA</sup>	6.9 <sup>bB</sup>	6.0 <sup>bcC</sup>	4.8 <sup>bcD</sup>	6.5 <sup>bBC</sup>
	UB	8.2 <sup>abA</sup>	7.6 <sup>aB</sup>	6.8 <sup>cC</sup>	5.9 <sup>aD</sup>	6.9 <sup>abC</sup>
	TB	8.3 <sup>aA</sup>	7.5 <sup>aB</sup>	6.6 <sup>bcC</sup>	5.9 <sup>aD</sup>	7.1 <sup>aC</sup>
	TRP	7.7 <sup>bcA</sup>	7.2 <sup>abAB</sup>	5.9 <sup>cC</sup>	5.4 <sup>bcC</sup>	6.8 <sup>abB</sup>

注:统计检验采用 LSD 检验,不同小写字母代表每列数值间有显著差异( $P < 0.05$ );不同大写字母代表每行数值间有显著差异( $P < 0.05$ ),下同

2.1.2 叶片相对含水量 充分浇水条件下,纯污泥处理的叶片相对含水量在试验过程中无显著变化,CK、IBA、TB 和 TRP 处理均在 8 月 3 日显著上升,之后无显著变化(表 2)。单独施用 IBA 和 TRP 只能在试验前期提高草地早熟禾的叶片相对含水量,而施用两种污泥能显著提高草地早熟禾叶片的相对含水量( $P < 0.05$ )。

干旱胁迫条件下,各处理叶片相对含水量均从胁迫之初开始一直显著下降,复水一周后显著回升。干旱处理期间,4 个处理的叶片相对含水量均显著高于对照( $P < 0.05$ ),IBA、UB、TB 和 TRP 处理都能在干旱胁迫下减缓草地早熟禾叶片相对含水量的下降,UB、TB 和 TRP 对叶片相对含水量的影响比 IBA 处理更显著。

表 2 2 种水分条件下草地早熟禾叶片的相对含水量

Table 2 Effects of biosolids and auxin on the relative leaf water content of Kentucky bluegrass under well-watered and drought treatment

水分处理	基质处理	相对含水量/%				
		7月7日	7月14日	8月3日	8月11日	8月19日
充分浇水	CK	68.15 <sup>bB</sup>	72.75 <sup>bB</sup>	88.28 <sup>aA</sup>	84.57 <sup>cA</sup>	83.33 <sup>bA</sup>
	IBA	87.01 <sup>aA</sup>	79.54 <sup>abB</sup>	89.86 <sup>aA</sup>	86.92 <sup>bcA</sup>	84.73 <sup>abAB</sup>
	UB	85.44 <sup>aA</sup>	83.27 <sup>aA</sup>	93.88 <sup>aA</sup>	92.28 <sup>aA</sup>	86.00 <sup>abA</sup>
	TB	83.40 <sup>aB</sup>	83.34 <sup>aB</sup>	92.97 <sup>aA</sup>	90.14 <sup>abA</sup>	89.27 <sup>aA</sup>
	TRP	81.25 <sup>aB</sup>	83.26 <sup>aB</sup>	90.72 <sup>aA</sup>	86.48 <sup>bcAB</sup>	82.79 <sup>bB</sup>
干旱胁迫	CK	74.24 <sup>aA</sup>	73.10 <sup>bA</sup>	52.09 <sup>cB</sup>	34.45 <sup>dC</sup>	73.19 <sup>bA</sup>
	IBA	78.60 <sup>aA</sup>	78.20 <sup>abA</sup>	53.33 <sup>bcB</sup>	38.03 <sup>cC</sup>	77.74 <sup>aA</sup>
	UB	81.09 <sup>aA</sup>	80.74 <sup>aA</sup>	55.43 <sup>abB</sup>	45.91 <sup>bb</sup>	77.18 <sup>aA</sup>
	TB	83.11 <sup>aA</sup>	80.28 <sup>aA</sup>	57.20 <sup>aB</sup>	50.39 <sup>aC</sup>	78.28 <sup>aA</sup>
	TRP	78.40 <sup>aA</sup>	80.53 <sup>aA</sup>	56.82 <sup>aB</sup>	47.62 <sup>bc</sup>	77.44 <sup>aA</sup>

2.1.3 叶片萎蔫度 充分浇水条件下的各处理叶片萎蔫度无显著变化。干旱胁迫下,各处理的叶片萎蔫度都随着土壤水分含量的下降而显著上升,复水后显著下降(表 3)。干旱处理期间,IBA、UB、TB 和 TRP 处理的叶片萎蔫度都显著低于对照( $P<0.05$ )。复水

一周后,对照组的叶片萎蔫度仍然显著高于其他处理( $P<0.05$ )。说明,IBA、UB、TB 和 TRP 处理均能在干旱胁迫下缓减草地早熟禾的萎蔫,且在复水后可以加快草坪草的恢复速度。

表 3 干旱胁迫下草地早熟禾叶片的萎蔫度

Table 3 Effects of biosolids and auxin on the leaf wilting degree of Kentucky bluegrass under drought stress

基质处理	叶片萎蔫度/%				
	7月7日	7月14日	8月3日	8月11日	8月19日
CK	5.5 <sup>aD</sup>	13.8 <sup>aC</sup>	31.3 <sup>aB</sup>	47.0 <sup>aA</sup>	17.5 <sup>aC</sup>
IBA	4.8 <sup>abD</sup>	12.3 <sup>aC</sup>	25.0 <sup>abB</sup>	41.2 <sup>bA</sup>	13.0 <sup>bC</sup>
UB	4.0 <sup>bcD</sup>	8.9 <sup>bC</sup>	22.0 <sup>bB</sup>	39.8 <sup>bA</sup>	11.0 <sup>bC</sup>
TB	3.4 <sup>cd</sup>	7.4 <sup>bCD</sup>	18.8 <sup>bB</sup>	38.8 <sup>bA</sup>	10.5 <sup>bC</sup>
TRP	4.1 <sup>bcD</sup>	9.0 <sup>bCD</sup>	21.3 <sup>bB</sup>	40.8 <sup>bA</sup>	11.5 <sup>bC</sup>

2.1.4 光合速率 充分浇水条件下,各处理的光合速率在试验过程中均无明显变化(表 4),污泥处理和激素处理都可以显著提高草地早熟禾的光合速率。试验后期,UB、TB 和 TRP 处理的光合速率显著高于 IBA ( $P<0.05$ ),说明在试验后期,UB、TB 和 TRP 对草地早熟禾的光合速率的影响比 IBA 处理更显著。

干旱胁迫下,所有处理的光合速率均随着土壤水分含量的下降而降低,在 8 月 11 日达到最低,8 月 19 日(复水一周后)有所回升。与对照相比,TRP、UB 和 TB 处理能显著提高干旱胁迫下草地早熟禾的光合速率,IBA 也可以提高其光合速率,但差异不显著,总体上污泥处理的影响比激素处理更显著。

表 4 2 种水分条件下草地早熟禾叶片的光合速率

Table 4 Effects of biosolids and auxin on leaf photosynthetic rate of Kentucky bluegrass under well-watered and drought treatment

水分处理	基质处理	叶片光合速率/ $(\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1})$				
		7月7日	7月14日	8月3日	8月11日	8月19日
充分浇水	CK	4.36 <sup>aA</sup>	4.42 <sup>bA</sup>	4.21 <sup>bA</sup>	4.08 <sup>cA</sup>	4.11 <sup>cA</sup>
	IBA	5.24 <sup>aA</sup>	4.90 <sup>abA</sup>	5.02 <sup>aA</sup>	4.85 <sup>bA</sup>	4.92 <sup>bA</sup>
	UB	5.26 <sup>aA</sup>	5.15 <sup>aA</sup>	5.08 <sup>aA</sup>	5.43 <sup>aA</sup>	5.44 <sup>aA</sup>
	TB	5.31 <sup>aA</sup>	5.25 <sup>aA</sup>	5.41 <sup>aA</sup>	5.79 <sup>aA</sup>	5.66 <sup>aA</sup>
	TRP	4.79 <sup>aA</sup>	5.09 <sup>aA</sup>	4.97 <sup>aA</sup>	5.26 <sup>abA</sup>	5.55 <sup>aA</sup>
干旱胁迫	CK	4.28 <sup>cA</sup>	3.67 <sup>bB</sup>	2.90 <sup>bC</sup>	2.24 <sup>cd</sup>	3.09 <sup>bBC</sup>
	IBA	5.21 <sup>abA</sup>	4.35 <sup>bA</sup>	3.19 <sup>bC</sup>	2.77 <sup>bcC</sup>	3.21 <sup>bC</sup>
	UB	5.32 <sup>abA</sup>	5.22 <sup>aA</sup>	4.53 <sup>aAB</sup>	3.81 <sup>aB</sup>	4.62 <sup>aAB</sup>
	TB	5.88 <sup>aA</sup>	5.39 <sup>aAB</sup>	4.65 <sup>aBC</sup>	4.00 <sup>aC</sup>	4.53 <sup>aBC</sup>
	TRP	4.97 <sup>bcA</sup>	4.43 <sup>bB</sup>	3.43 <sup>bCD</sup>	3.15 <sup>abd</sup>	3.64 <sup>abc</sup>

## 2.2 污泥和生长素对干旱胁迫下的草地早熟禾土壤微生物的影响

2.2.1 土壤微生物量碳 充分浇水条件下,处理间微生物量碳的关系为 UB、TB>IBA、TRP>CK, IBA、TRP、UB 和 TB 处理在充分浇水条件下都能够提高土壤微生物量碳,但污泥处理的影响比激素处理更显著。

干旱处理下,各处理的土壤微生物总量均在 8 月 11 日(土壤水分含量降至 25%田间持水量)显著下降( $P<0.05$ ),又在复水一周后显著回升,且与对照差异显著( $P<0.05$ )。在干旱胁迫下,IBA 和 TRP 处理均

能显著提高土壤微生物量碳,UB 和 TB 处理也能显著提高土壤微生物量碳的含量,且效果明显优于 IBA 和 TRP 处理。

2.2.2 土壤微生物生物多样性 稀释性曲线<sup>[31]</sup>用来比较测序数据量不同的样本中物种的丰富度,也用来说明样本的测序数据量是否合理。

Shannon-Wiener 反映样本中微生物多样性的指数<sup>[32]</sup>,以此反映各样本在不同测序数量时的微生物多样性。由图 1 和图 2 可知,本试验的数据量是合理的。

表 5 2 种水分条件下草地早熟禾土壤的微生物量碳

Table 5 Effects of biosolids and auxin on the soil microbial biomass carbon of Kentucky bluegrass under well-watered and drought treatment

水分处理	基质处理	土壤微生物量碳/(mg·kg <sup>-1</sup> )		
		7月7日	8月11日	8月19日
充分浇水	CK	39.37 <sup>cA</sup>	38.33 <sup>cA</sup>	39.80 <sup>cA</sup>
	IBA	48.50 <sup>bA</sup>	49.05 <sup>bA</sup>	46.45 <sup>bA</sup>
	UB	61.86 <sup>aA</sup>	59.70 <sup>aA</sup>	62.16 <sup>aA</sup>
	TB	67.25 <sup>aA</sup>	65.90 <sup>aA</sup>	65.79 <sup>aA</sup>
	TRP	45.83 <sup>bcA</sup>	47.54 <sup>bA</sup>	48.39 <sup>bA</sup>
干旱胁迫	CK	38.38 <sup>cA</sup>	22.94 <sup>cB</sup>	38.22 <sup>cA</sup>
	IBA	52.71 <sup>bA</sup>	36.52 <sup>bB</sup>	52.02 <sup>bA</sup>
	UB	62.11 <sup>aA</sup>	44.53 <sup>aB</sup>	61.61 <sup>aA</sup>
	TB	66.32 <sup>aA</sup>	46.64 <sup>aB</sup>	66.07 <sup>aA</sup>
	TRP	52.59 <sup>bA</sup>	36.80 <sup>bB</sup>	50.05 <sup>bA</sup>

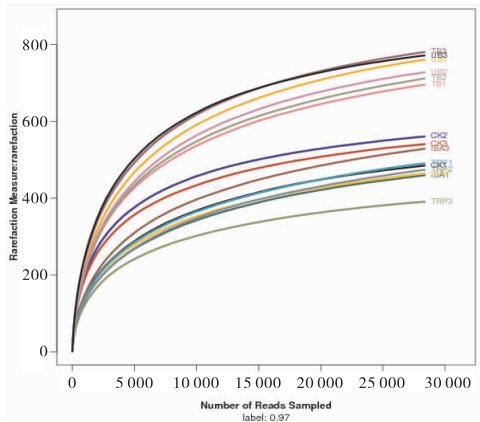


图 1 稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction curve

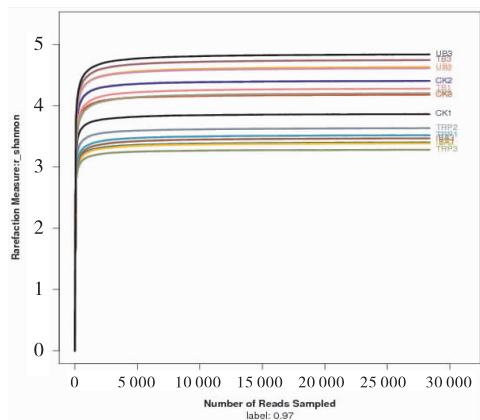


图 2 Shannon-Wiener 曲线

Fig. 2 Shannon-Wiener curve

此外,Shannon 指数越高代表生物多样性越高。充分浇水条件下,UB 处理的土壤微生物多样性显著高于 CK、IBA 和 TRP 处理( $P < 0.05$ ),CK 显著高于

IBA 和 TR 处理( $P < 0.05$ ),UB 和 TB 处理间无显著差异(图 3)。

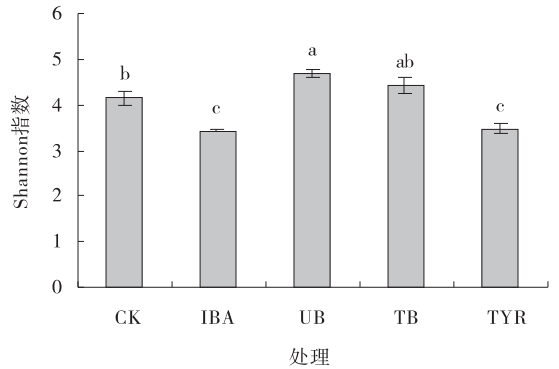


图 3 污泥和生长素处理下草地早熟禾土壤微生物多样性

Fig. 3 Effects of biosolids and auxin on soil microbial diversity of Kentucky bluegrass

2.2.3 土壤微生物种群结构 Venn 图<sup>[33]</sup>用于统计多个样本中所共有和独有的 OTU 数目,即菌种数目。大部分的菌种是所有处理及对照所共有的,此外每个处理还有一定数量的特有的菌种,其中两种污泥处理所特有的菌种最多,远高于其他处理,而两种激素处理所特有的菌种低于对照(图 4)。由此表明添加污泥(UB 和 TB)能够提高水分充足条件土壤微生物的丰度。

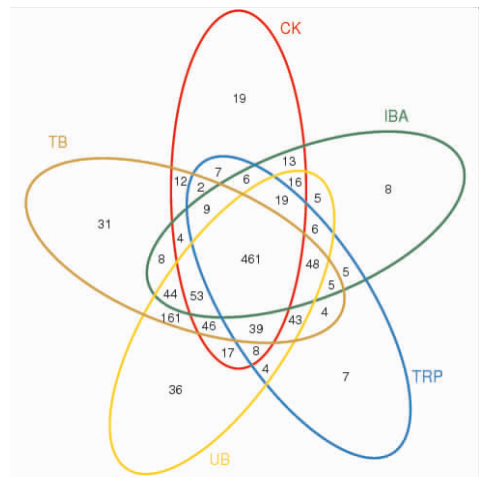


图 4 污泥和生长素处理下草地早熟禾土壤微生物丰度

Fig. 4 Effects of biosolids and auxin on soil microbial abundance of Kentucky bluegrass

LEfSe<sup>[34]</sup>分析结果中,从内到外的 5 个圆圈分别代表门、纲、目、科、属 5 个分类学水平,每个圆圈上的彩色点代表在该分类水平上该颜色所代表的处理组中的对样本划分具有显著差异影响的类群。图 5 中,紫色、蓝色、绿色和红色分别代表 TB、UB、IBA 处理和

CK。由图可以看出,紫色所覆盖的范围远大于蓝色,蓝色覆盖的范围大于红色和绿色,这说明 TB 和 UB 处理的土壤微生物丰度明显高于 CK 和 IBA 处理。已知类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)中的一些菌种能够刺激植物的生长<sup>[35]</sup>,通过对每个处理的单样本多级生

物组成分析,可以找出各处理的土壤中类芽孢杆菌的含量百分比,如图 6, TB 处理中的类芽孢杆菌含量显著高于 CK 和 TRP 处理( $P < 0.05$ ), IBA 和 UB 处理的类芽孢杆菌含量高于 CK, 低于 TB 处理,但差异不显著。

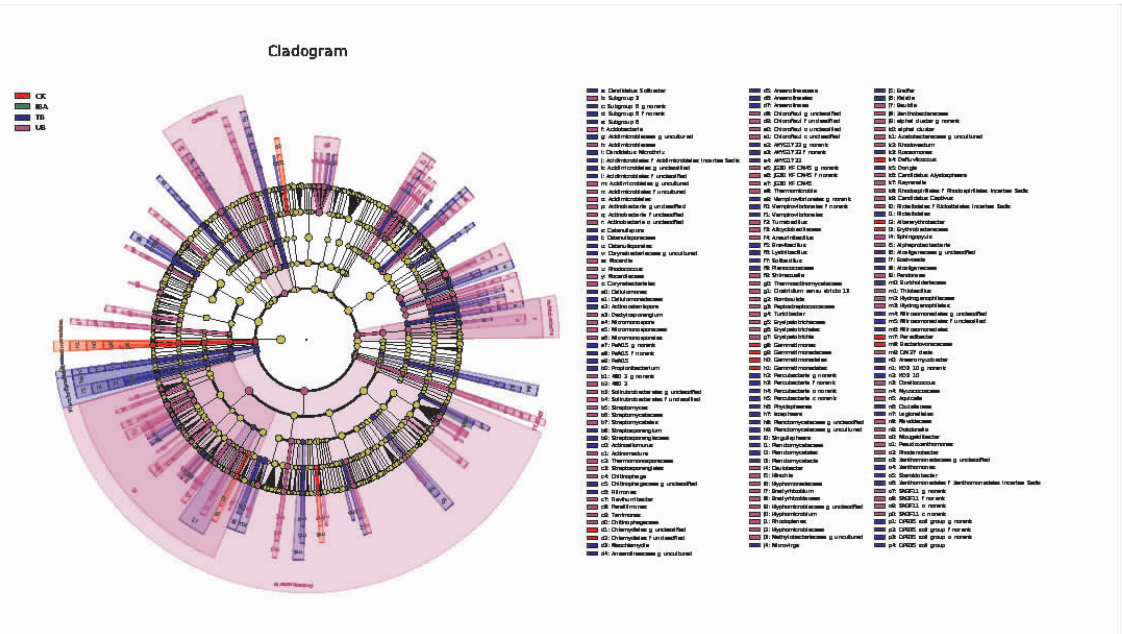


图 5 污泥和生长素对草地早熟禾土壤微生物丰度(显著差异物种)的影响—Lefse 分析

Fig. 5 Effects of biosolids and auxin on soil microbial abundance(significantly different species) of

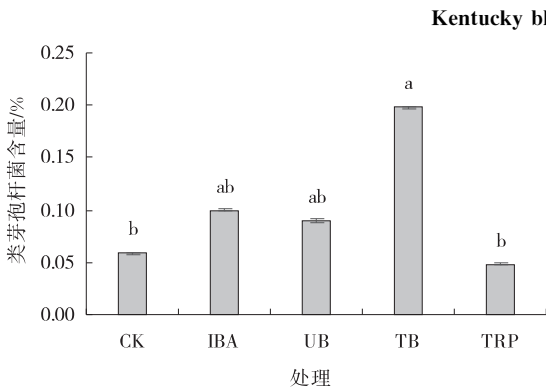


图 6 污泥和生长素处理下土壤中类芽孢杆菌含量

Fig. 6 Effects of biosolids and auxin on the abundance of *Paenibacillus* in soil

PCoA<sup>[32]</sup>是一种研究数据相似性或差异性的可视化方法,Unifrac PCoA 基于进化距离,在进化水平上挖掘影响样品群落组成差异的潜在主成分。PC1 和 PC2 代表对于两组样本微生物组成发生偏移的疑似影响因素,PC1 的值为 43.96%,表示 X 轴的差异结果可以解释全面分析结果的 43.96%,PC2 的值为 14.03%,表示 Y 轴的差异结果可以解释全面分析结果的 14.03%(图 7)。

CK 与其他处理的微生物群落结构均存在差异, UB 和 TB 处理的差异较小, IBA 与 TRP 处理的差异较小,但可能 UB 和 TB 与 CK 的差异较 IBA 与 TRP 的差异更大(图 7)。

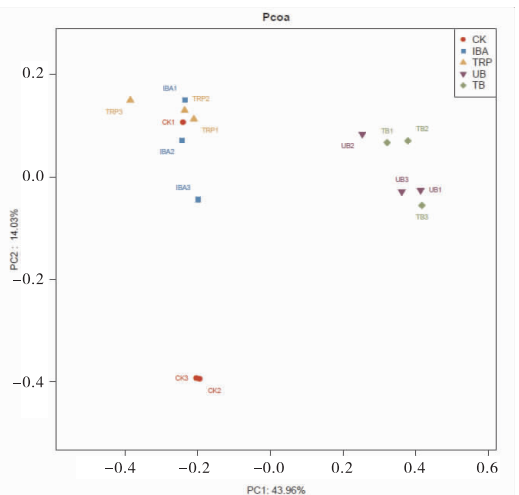


图 7 污泥和生长素处理下草地早熟禾土壤微生物群落结构

Fig. 7 Effects of biosolids and auxin on the structure of soil microbial community in Kentucky bluegrass



### 2.3 土壤中特征微生物

Heatmap<sup>[36]</sup>直观地将数据值的大小以定义的颜色深浅表示出来。将高丰度和低丰度的物种分块聚集,通过颜色梯度及相似程度来反映多个样本在各分类水平上群落组成的相似性和差异性。

根据图 8 中的色块可以找出一些细菌如小单孢菌属(*Micromonospora*)、链霉菌属(*Streptomyces*)和红

球菌属(*Rhodococcus*)等,在添加污泥的处理(UB 和 TB)与未添加污泥的处理(IBA、TRP 和 CK)中的含量相差很明显,对上述 3 个菌种在样品中的数量进行比较(表 6),UB 和 TB 处理中的小单孢菌和链霉菌细菌数量均显著高于 CK、IBA 和 TRP 处理( $P < 0.05$ ),UB 处理中的红球菌数量显著高于其他处理( $P < 0.05$ )。

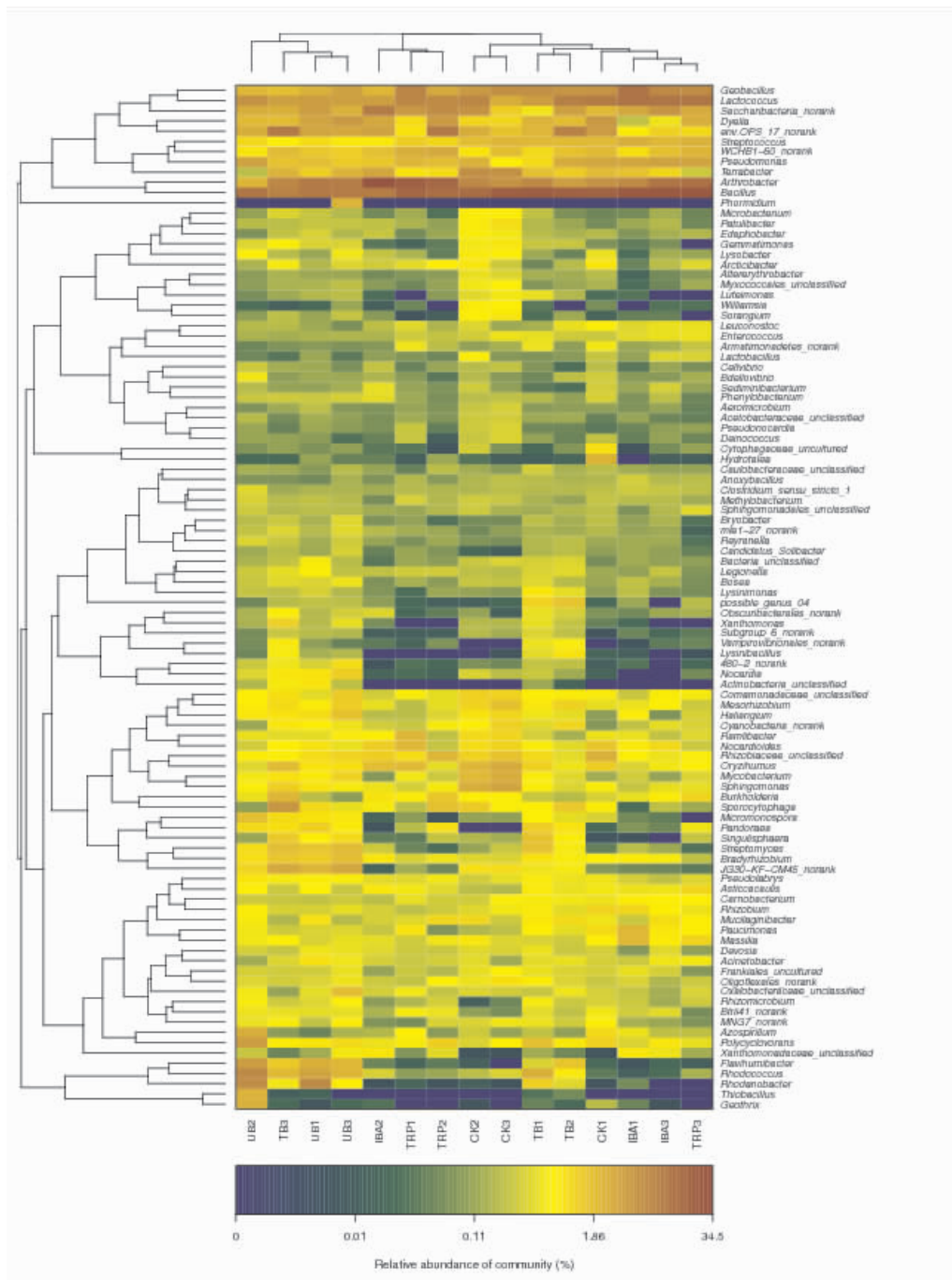


图 8 污泥和生长素对草地早熟禾土壤微生物群落结构的影响-Heatmap 图

Fig. 8 Heatmap showing the effects of biosolids and auxin on soil microbial community structure of Kentucky bluegrass

表 6 草地早熟禾土壤中几种微生物的含量

Table 6 Effects of biosolids and auxin on the abundance of several microorganisms in

soil of Kentucky bluegrass

(cfu · g<sup>-1</sup>)

属名	CK	IBA	UB	TB	TRP
小单孢菌属( <i>Micromonospora</i> )	49.33 <sup>b</sup>	8.33 <sup>b</sup>	316.67 <sup>a</sup>	189.33 <sup>a</sup>	7.67 <sup>b</sup>
链霉菌属( <i>Streptomyces</i> )	34.33 <sup>b</sup>	57.67 <sup>b</sup>	412.67 <sup>a</sup>	392.67 <sup>a</sup>	7.33 <sup>b</sup>
红球菌属( <i>Rhodococcus</i> )	53.67 <sup>b</sup>	36.00 <sup>b</sup>	1 142.67 <sup>a</sup>	495.00 <sup>b</sup>	31.67 <sup>b</sup>

注:统计检验采用 LSD 检验 ( $P < 0.05$ ), 不同的小写字母代表每一行的两个数值之间差异显著 ( $P < 0.05$ )

### 3 讨论

#### 3.1 污泥对干旱条件下草地早熟禾的生长及抗旱性的影响

施用污泥能在干旱胁迫下显著降低草坪草坪观质量和叶片萎蔫度,有效缓解光合速率、叶片相对含水量的下降,使草地早熟禾在干旱胁迫下仍能维持较高的生长势。研究表明,施用污泥能够提高高羊茅的坪观质量、叶片相对含水量和叶绿素含量<sup>[2]</sup>,加快干旱胁迫复水后坪观质量的恢复速率,在干旱胁迫下,污泥与无机肥料混合施用比单独施用污泥更利于减缓干旱对坪观质量造成的损伤<sup>[3]</sup>。在本试验中,干旱胁迫下,UB、TB 和 TRP 处理可以减缓坪观质量的下降,UB 和 TB 比 TRP 对改善草地早熟禾的坪观质量有更显著的影响,与前人研究结果一致。UB 和 TB 处理在水分充足或是干旱胁迫下都可以提高草地早熟禾的光合速率,Zhang 等<sup>[9]</sup>的研究表明污泥能够提高高羊茅的光合速率,与本试验研究结果一致。

本试验中,在两种水分条件下,4 种处理对草地早熟禾叶片相对含水量均有显著提高的效果,且 UB 和 TB 处理的表现优于 IBA 和 TRP 处理。干旱胁迫下,UB、TB 和 TRP 处理均能减轻草地早熟禾叶片的萎蔫程度,干旱结束复水后,IBA、TRP、UB 和 TB 处理还能加快草坪草的恢复,韩朝等<sup>[2]</sup>的研究也表明污泥能够在重度干旱胁迫下降低高羊茅的叶片萎蔫度,与本试验的结果一致。

#### 3.2 污泥和生长素对土壤微生物数量和种群结构的影响

添加污泥能够显著提高土壤微生物量碳,增加微生物群落多样性。本试验中,UB 和 TB 处理能够显著增加草地早熟禾土壤中的微生物量碳,且比 IBA 和 TRP 处理对其提高的幅度更大,在微生物群落结构的

分析中也显示,UB 和 TB 处理的土壤微生物多样性、微生物丰度明显优于对照,在群落结构上与 CK 存在一定的差异。已有的研究表明污泥的施用能够增加土壤微生物量碳,提高土壤微生物活性、增加土壤微生物群落功能多样性指数,这与本试验结果一致<sup>[37-39]</sup>。

有研究表明,施用污泥堆肥一段时间后可,土壤中的绿弯菌门(*Chloroflexi*)细菌成为优势菌<sup>[40]</sup>,这种菌是丝状菌,可以降解大分子有机物<sup>[41-42]</sup>,本试验中,通过对单样本多级物种组成的分析可知 UB、TB 和 TRP 处理均提高了土壤中绿弯菌门的数量。所以污泥中的丰富的营养物质可能会为微生物创造更适宜的条件而增加其总量与多样性。超过 80% 从根际分离的细菌都可以合成 IAA<sup>[43-44]</sup>。所以微生物量碳及群落结构的多样性提高可能意味着为植物提供生长素的能力提高。

### 4 结论

试验以污泥和生长素为主要影响因素,探究干旱胁迫下,污泥对草地早熟禾生长和土壤微生物的影响,旨在从植物生长和微生物层面,找到污泥提高草地早熟禾耐旱性的原因。污泥提高草地早熟禾的抗性可能是改变了土壤中微生物的数量和种类,促进了土壤微生物的生长,提高了土壤酶活性和生长素水平,改善了土壤结构,从而促进了草地早熟禾的生长代谢。在污泥中加入色氨酸比单独施用污泥或色氨酸对草坪草的耐旱性能产生更显著的影响,说明污泥提高微生物多样性的效应与增加生长素前体色氨酸含量的效应叠加,可以为草坪草提供更多的激素营养,以促进其生长并改善耐旱性。这为生物污泥的再利用提供了新的思路。

#### 参考文献:

[1] 住房和城乡建设部标准定额研究所. 城镇污水处理厂污



- 泥处置系列标准实施指南[M].北京:中国标准出版社,2011:2.
- [2] Fiasconaro M L, Sánchez-Díaz M, Antolín M C. Nitrogen metabolism is related to improved water-use efficiency of nodulated alfalfa grown with sewage sludge under drought [J]. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2013, 176 (1): 110–117.
- [3] 韩朝,刘洋,董慧,等.污泥对高羊茅抗旱性的影响研究[J].*草业学报*,2014,23(3):127–135.
- [4] 嵇来强.污泥对草地早熟禾氮代谢和根系生长的影响[D].北京:北京林业大学,2013.
- [5] De Andrés E F, Tenorio J L, Albarran M D, *et al.* Carbon-dioxide flux in a soil treated with biosolids under semiarid conditions[J]. *Compost Science Utilization*, 2012, 20(1): 43–48.
- [6] 李艳霞,陈同斌,罗维,等.中国城市污泥有机质及养分含量与土地利用[J].*生态学报*,2003,23(11):2464–2474.
- [7] Zhang X Z, Ervin E H, Evanylo G K. Impact of biosolids on hormone metabolism in drought-stressed tall fescue [J]. *Crop Science*, 2009, 49: 1893–1901.
- [8] 陈健,王润锁,杨尽.污泥在土壤改良中的作用[J].*安徽农业科学*,2011,39(28):17258–17260.
- [9] 周立祥,胡霁堂,戈乃.城市生活污水污泥农田利用对土壤肥力性状的影响[J].*土壤通报*,1994,25(3):126–129.
- [10] Lemmer H, Nitschke L. Vitamin content of four sludge fractions in the activated sludge wastewater treatment process[J]. *Water Research*, 1994, 28(3): 737–739.
- [11] Sanchez-Monedero M A, Roig A, Cegarra J, *et al.* Relationships between water-soluble carbohydrate and phenol fractions and the humification indices of different organic wastes during composting [J]. *Bioresource Technology*, 1999, 70: 193–201.
- [12] Baberjee M R, Burton D L, Depoe S. Impact of sewage sludge application on soil biological Characteristics[J]. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, 1997, 66: 241–249.
- [13] García C, Hernández T, Costa F, *et al.* A study of biochemical parameters of composted and fresh municipal wastes[J]. *Bioresource Technology*, 1993, 44: 17–23.
- [14] Singh R P, Singh P, Ibrahim H M, *et al.* Land Application of Sewage Sludge: Physicochemical and Microbial Response[J]. *Review of Environmental Contamination and Toxicology*, 2011, 214: 41–61.
- [15] 秦俊梅,王改玲.不同培肥对煤矿区复垦土壤酶活性及微生物量碳、氮的影响[J].*水土保持学报*,2014,28(6): 206–210.
- [16] 景金富,王恩义,严志达,等.污泥复混肥对土壤微生物区系影响的研究[J].*科技通报*,2000,16(4):316–319.
- [17] 连鹏,范周周,郭东鑫,等.城市污泥与园林废弃物混合堆肥施用对林地土壤微生物量碳、氮及酶活性的影响[J].*环境科学学报*,2018,38(7):1–11.
- [18] 姜城,杨金,陈振天,等.污泥、污泥复合肥农业应用的初步研究[J].*吉林农业大学学报*,1996,18(2):49–53.
- [19] 谭启玲,胡承孝,周后建,等.城市污泥中的重金属形态及其对潮土酶活性的影响[J].*华中农业大学学报*,2002,21(1):36–39.
- [20] 张桥,吴启堂,黄焕忠,等.施用污泥堆肥对作物和土壤的影响[J].*土壤与环境*,2000(4):277–280.
- [21] Frankenberger W T, M A. *Phytoauxin in soils*[M]. New York: Marcel Dekker, 1995.
- [22] Barea J M, Navarro E E M. Production of plant growth regulators by rhizosphere phosphate-solubilizing bacteria [J]. *Appl. Bacteriol*, 1976, 40: 129–134.
- [23] Cohen J D, Slovin J P, Hendrickson A M. Two genetically discrete pathways convert tryptophan to auxin; more redundancy in auxin biosynthesis[J]. *Trends Plant Science*, 2003, 8: 197–199.
- [24] 王家利,刘冬成,郭小丽,等.生长素合成途径的研究进展[J].*植物学报*,2012,47(3):292–301.
- [25] Bandurski R S, Cohen J D, Reinecke D M, *et al.* Auxin biosynthesis and metabolism [M] // Davies P J. *Plant Hormones, Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1995: 39–65.
- [26] 孙吉雄. *草坪学*[M].北京:中国农业出版社,1994.
- [27] 白利国,俞玲,马晖玲.野生草地早熟禾对干旱胁迫的生理响应[J].*草原与草坪*,2014,34(2):86–91.
- [28] 范志影,刘庆生,张萍.用凯氏法和杜马斯法测定植物样品中的全氮[J].*现代科学仪器*,2007(1):46–47.
- [29] 杨燕,杨晓华,孙彦.不同遮荫强度对草地早熟禾草坪质量的影响[J].*草地学报*,2010,18(3):447–451.
- [30] 马驿,陈杖榴.恩诺沙星对土壤细菌数量及微生物生物量碳的影响[J].*生态毒理学报*,2008,3(2):196–200.
- [31] Katherine R A, Carl J Y, Angela K, *et al.* Habitat degradation impacts black howler monkey (*Alouatta pigra*) gastrointestinal microbiomes [J]. *The ISME Journal*, 2013, 7: 1344–1353.
- [32] Yu W, Hua-Fang S, Yan H, *et al.* Comparison of the lev-

- els of bacterial diversity in freshwater, intertidal wetland, and marine sediments by using millions of illumina tags. [J]. Applied and environmental microbiology, 2012, 78(23).
- [33] Fouts D, Szpakowski S, Purushe J, *et al.* Next Generation Sequencing to Define Prokaryotic and Fungal Diversity in the Bovine Rume[J]. PLoS ONE, 2012, 7(11): e48289.
- [34] Zhang C, Li S, Liu Y, *et al.* Structural modulation of gut microbiota in life-long calorie-restricted mice[J]. Nature Communications, 2013, 4: 2163.
- [35] 袁树忠, 周明国. 类芽孢杆菌 (*Paenibacillus* spp.) 研究进展[C]//江苏省植物病理学会第十一次全国代表大会暨学术研讨会论文集, 扬州, 2008.
- [36] Jami E, Israel A, Kotser A, *et al.* Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood[J]. The ISME Journal, 2013, 7(6): 1069–1079.
- [37] Marschner P, Kandeler E, Marschner B. Structure and Function of the Soil Microbial Community in a Long-Term Fertilizer Experiment[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2003, 35(3): 453–461.
- [38] Roig N, Sierra J, Martí E, *et al.* Long-term amendment of Spanish soils with sewage sludge: Effects on soil functioning[J]. Agriculture Ecosystems & Environment, 2012, 158: 41–48.
- [39] Bettiol W, Ghini R. Impacts of Sewage Sludge in Tropical Soil: A Case Study in Brazil[J]. Applied and Environmental Soil Science, 2011, 2011: 92–102.
- [40] 张鑫, 党岩, 冯丽娟, 等. 施用城市污泥堆肥对土壤微生物群落结构变化的影响[J]. 环境工程学报, 2014, 8(2): 716–722.
- [41] Bjornsson L, Hugenholtz P, Tyson G W, *et al.* Filamentous chloroflexi (green non-sulfur bacteria) are abundant in wastewater treatment processes with biological nutrient removal[J]. Microbiology, 2002, 148(8): 2309–2318; (part8).
- [42] Wu J, Liu W, Tseng I, *et al.* Characterization of microbial consortia in a terephthalate-degrading anaerobic granular sludge system[J]. Microbiology, 2001, 147(2): 373–382.
- [43] Khalid A, Tahir S, Arshad M, *et al.* Relative efficiency of rhizobacteria for auxin biosynthesis in rhizosphere and non-rhizosphere soils[J]. Aus J Soil Res, 2004, 42: 921–926.
- [44] Patten C, Glick B. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid[J]. Canadian J Microbiol, 1996, 42: 207–220.

## Effects of biosolids and auxin on the growth of Kentucky bluegrass and soil microorganism under drought stress

CAO Yun-xin, ZHANG Ning, CHANG Zhi-hui

(College of grassland science of Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

**Abstract:** Biosolids can improve the physical and chemical properties of soil, and promote the growth of plant. Bluegrass cv. midnight were used to study the effects of biosolids, indolebutyric acid and tryptophan on the growth of kentucky bluegrass and soil microorganisms under drought stress. The results showed that the application of biosolids could effectively alleviate the reduction in photosynthetic rate and relative water content of kentucky bluegrass, improve its drought tolerance, and significantly improve soil microbial biomass carbon, soil microbial abundance and community diversity. The addition of tryptophan to the biosolids had a more significant effect on the drought resistance of lawn grass than with biosolids or tryptophan alone.

**Key words:** Biosolids; *Poa pratensis*; drought; soil microorganism