

余腾,李顺江,万子维,等.基于长期定位试验的不同施肥处理下旱地红壤微生物的宏基因组学分析[J].华中农业大学学报,2025,44(1):148-155.DOI:10.13300/j.cnki.hnlkxb.2025.01.016

基于长期定位试验的不同施肥处理下旱地红壤微生物的宏基因组学分析

余腾,李顺江,万子维,阙正扬,黄国勤,徐慧芳

江西农业大学生态科学研究中心,南昌 330045

摘要 为探究旱地红壤微生物群落与不同施肥制度之间的关系,采用宏基因组测序,比较分析长期定位试验地4种施肥处理:不施肥(CK)、施氮磷钾肥(NPK)、施有机肥(OM)、氮磷钾肥和有机肥混合施用(NPKOM)的土壤微生物群落组成及多样性。结果显示:相比对照,施用有机肥和氮磷钾肥和有机肥混合施用显著增加放线菌门(Actinobacteria)和变形菌门(Proteobacteria)的丰度,降低了绿弯菌门(Chloroflexi)的丰度;施肥显著改变微生物群落结构,施用无机肥降低土壤微生物数量,施用有机肥和无机有机混合施用则增加土壤微生物数量;土壤微生物群落在门水平与pH、全磷(TP)、土壤有机质(SOM)、碱解氮(AN)和有效磷(AP)含量显著相关,pH是影响土壤微生物群落结构的关键因素;不同施肥处理下微生物代谢功能差异显著。

关键词 长期定位试验;宏基因组学;施肥制度;有机肥;旱地;红壤;土壤微生物群落

中图分类号 S154.3 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2025)01-0148-08

氮素是植物生长和发育过程中不可或缺的元素之一。为了增加作物产量,农户施用大量的氮肥到农田土壤中。据报道目前我国的氮肥施用量占全球总用量的33%,但是氮肥的利用率却低于世界平均水平^[1],氮肥的过量施用导致土壤氮素大量流失,同时其他无机肥的大量施用还可能造成全球气候变暖、土壤酸化、水体富营养化等一系列环境问题^[2]。有机肥作为一种缓效肥料,不仅含有植物生长必须的氮磷钾等大量营养元素,还含有植物生长所需的多种中微量元素^[3]。

大量研究表明,农田生态系统中肥料的施用对于土壤微生物的数量及群落结构具有显著影响^[4-5]。例如,在一定范围内增加氮肥的施用量会使土壤pH值降低,从而引起土壤微生物生物量降低^[6-8]。然而,Xiao等^[9]却发现施加氮肥会通过增加微生物的生物量,最终增加土壤微生物的多样性。Zhen等^[10]研究表明施用无机肥会显著降低土壤酶活性使得微生物多样性下降,而有机肥施用会通过增加土壤的碳库进而增加微生物的多样性。目前研究者普遍认为有机肥的添加会显著增加微生物量碳、微生物量

氮,进而增加细菌和真菌的多样性。此外,有机肥与无机肥的配施会提高土壤微生物碳代谢活性,增加土壤微生物的种类和数量^[11-12]。虽然目前诸多学者对施肥与微生物数量及群落结构的影响开展了研究,但是大部分研究采用的是克隆测序或者高通量测序技术^[13-15]。随着分子生物学技术的发展与应用,宏基因组学逐渐成为研究微生物的热门方法。宏基因组学可直接从环境样品中提取微生物DNA来分析微生物群落的功能特征^[16]。但是通过宏基因组学研究不同施肥处理对于土壤微生物的影响却鲜有报道。本研究采集长期定位试验不同施肥处理下的旱地红壤样品,采用宏基因组学的研究方法,对土壤微生物群落结构、多样性及组成进行分析,旨在揭示不同施肥处理下土壤微生物群落的关键影响因素及其内在驱动机制,为我国旱地红壤增肥和产能提升提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地点位于江西省南昌市进贤县红壤研究所

收稿日期:2024-05-06

基金项目:国家自然科学基金项目(32160310);江西省自然科学基金项目(20232BAB215015)

余腾,E-mail:tengy1632023@163.com

通信作者:徐慧芳,E-mail:xhuifang@yeah.net

(116°24'E, 28°37'N), 供试土壤采集于1986年开始的红壤旱地施肥长期定位试验地, 总共设置10个施肥处理, 包括(1)不施肥处理(CK); (2)施用氮肥(N); (3)施用磷肥(P); (4)施用钾肥(K); (5)施用氮磷肥(NP); (6)施用氮钾肥(NK); (7)施用氮磷钾肥(NPK); (8)施用2倍用量的氮磷钾肥(2NPK); (9)施用氮磷钾肥的同时施新鲜猪粪(NPKOM); (10)施新鲜猪粪(OM)。该地全年平均气温在20 °C左右、无霜期平均为284 d、日照时数1 900~2 000 h、同时年降雨量约为1 500 mm。土壤主要由第四纪红黏土发育而来, 形成了肥力水平中等的红壤。土壤pH值5.0左右, 全磷含量0.12 g/kg、全钾含量1.35 g/kg、土壤有机质含量15.95 g/kg、土壤有效氮含量90.64 mg/kg、速效磷含量67.34 mg/kg、 NO_3^- -N含量9.24 mg/kg、 NH_4^+ -N含量6.65 mg/kg^[17]。

1.2 试验设计与样品采集

选用长期定位试验地中4种不同施肥处理的土壤: 不施肥处理(CK)、施氮磷钾肥处理(NPK)、施有机肥处理(OM)、氮磷钾和有机肥混合施用处理(NPKOM)。每个处理进行3次重复, 且在田间随机排列, 共12个试验小区(每个试验小区面积为22.2 m²)。小区之间设置有水泥隔离墙, 防止土样交叉污染。无机氮、磷和钾肥的施用形式分别为尿素、过磷酸钙和氯化钾, 施用量分别为60、30、60 kg/hm²; 有机肥使用猪粪, 施用量为15 000 kg/hm²(含水率为70%), 干猪粪中含N 20.9 g/kg、P 3.9 g/kg和K 9.3 g/kg^[17]。试验地内种植玉米(掖单13号), 人工播种, 行距50 cm, 株距33 cm, 每垄2颗种子, 玉米种子在4~7月为种植期, 磷肥、钾肥和有机肥在玉米种植前做基肥一次性施用, 氮肥分基肥(70%)和追肥(30%)施用, 参照当地旱地生产进行田间管理。

土壤样品采集于2019年7月玉米收获季, 每块样地利用五点取样法采集不同施肥处理下0~20 cm土层的土壤。将每块样地采集的土壤过孔径0.18 mm筛网, 并去除过筛后土样中石块、细根等杂质。将去除杂质后的土样平均分成3份, 用锡纸包好, 装入密封袋, 写上标签后放入干冰中保存并迅速带回实验室。用于分析pH值和速效氮的土样置于5 °C冰箱保存; 用于微生物宏基因组测序分析的土样置于-80 °C冰箱保存; 用于有机质、全氮等其他土壤理化性质分析的土样自然风干。

1.3 样品测定

土壤样品的理化性质采用常规方法进行分

析^[18]: 采用定氮仪测定全氮; 采用重铬酸钾氧化-外加热法测定土壤有机碳; 采用碱熔-钼锑抗比色法和分光光度法分别测定全磷和全钾; 采用碱解扩散法测定碱解氮。有效磷用0.5 mol/L 碳酸氢钠浸提后测定。速效钾用醋酸铵-火焰光度计法测定。土壤pH用pH计测定。氨态氮(NH_4^+ -N)用KCl浸出法和靛蓝比色法测定。硝态氮(NO_3^- -N)用紫外分光光度法测定。

土壤DNA的提取和宏基因组测序: 按照生产商说明书, 使用快速DNA提取和纯化试剂盒(MP)从置于-80 °C冰箱中称取0.3 g冻干土壤提取土壤总DNA。使用Nanodrop ND-1000分光光度计(Nanodrop Technologies, Wilmington, DE, USA)测定DNA的浓度和质量, 所有样品进行3次重复, 精确测定浓度。最后将提取后的土壤总DNA送到上海美吉生物医药科技有限公司(<https://www.majorbio.com/web/www/index>)进行宏基因组测序分析。

1.4 数据处理与分析

在宏基因组数据分析的预处理阶段, 通过美吉生物云平台采用fastp软件(<https://github.com/OpenGene/fastp>)对原始序列进行质控, 剪切3'端和5'端的adapter序列的同时去除平均质量值低于20且剪切后长度小于50 bp的reads, 保留高质量的reads, 以获得高质量的质控数据(clean data)。在进行数据分析的准备阶段, 若需要从样本中剔除特定宿主的干扰, 且该宿主的基因组数据已公开发表, 则通过软件BWA将测序得到的reads与宿主DNA序列进行比对, 将那些与宿主序列具有高度相似性的污染性reads剔除, 确保后续分析的准确性。在数据分析阶段, 首先利用Megahit软件(<https://github.com/voutcn/megahit>)快速拼接不同测序深度的序列, 拼接过程采用succinct de Bruijn graph方法调整拼接参数; 然后使用Prodigal对拼接结果中的contigs进行开放阅读框(ORF)预测, 将筛选出的核酸序列翻译为对应的氨基酸序列后, 统计基因预测结果并整理成统计表; 最后利用CD-HIT(<http://www.bioinformatics.org/cd-hit/>)软件进行聚类分析(默认参数为: 90% identity、90% coverage), 构建非冗余基因集。微生物功能代谢通过比对COG(cluster of orthologous groups of proteins)数据库获得基因对应的COG注释概况并进行统计, 功能代谢丰度计算方法基于RPKM(reads per kilobase per million mapped reads), 采用Circos-0.67-7(<http://circos.ca/>)制作样本与功能关系可视化圈语言, Circos样本与功能关系图通常

用于展示不同样本中存在微生物功能的分布情况。使用SPSS软件(IBM SPSS Statistics 26)分析土壤理化性质在不同物种间的显著性。采用R语言(R. 4.3.3)计算环境因子与不同物种之间的Spearman相关性系数,并将得到的数据信息通过热图展示。采用软件Canoco5对样本进行db-RDA分析,采用R语言(R. 4.3.3)进行Venn图和群落柱状图的制作。

2 结果与分析

2.1 土壤微生物多样性

由表1可见,OM和NPKOM处理的Ace指数、

Chao1指数和Shannon指数显著高于CK和NPK处理,而Simpson指数则显著低于CK和NPK处理。如图1所示,不同施肥处理对土壤微生物群落有明显影响。4个处理共产生1175个OTU,其中共有OTU为604个,占总个数的51.40%;CK、NPK、OM和NPKOM处理分别具有822、807、965以及985个OTU;CK、NPK、OM和NPKOM处理独有的OTU数量分别为35、15、45以及50,其中NPKOM独有的OTU数量最多,NPK独有的OTU数量最少;CK和NPK处理共有713个OTU,OM和NPKOM处理共有877个OTU。

表1 不同施肥处理下土壤微生物群落的多样性指数

Table 1 Diversity index of soil microbial communities under different fertilization treatments

施肥处理 Treatments	ACE 指数 ACE index	Chao1指数 Chao1 index	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index
CK	667.00±9.07b	667.00±9.07b	3.70±0.16b	0.10±0.02a
NPK	629.00±14.01b	629.00±14.01b	3.83±0.07b	0.08±0.01b
OM	805.33±8.39a	805.33±8.39a	4.47±0.04a	0.04±0.01c
NPKOM	817.67±17.90a	817.67±17.90a	4.43±0.10a	0.04±0.01c

注:CK:不施肥处理;NPK:施氮磷钾肥处理;OM:施有机肥处理;NPKOM:施氮磷钾和有机肥处理;不同小写字母表示不同施肥处理存在显著差异($P<0.05$)。下同。Note:CK:No fertilization; NPK:Apply nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers; OM:Apply organic fertilizer; NPKOM:Apply organic fertilizer mixed with nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers. Different lowercase letters indicate significant differences among fertilization treatments ($P<0.05$). The same as follows.

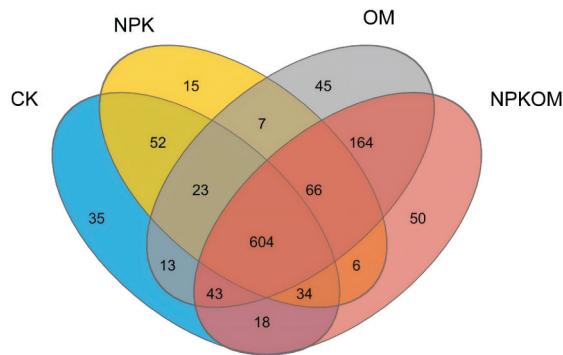


图1 不同施肥处理下土壤微生物群落维恩图

Fig. 1 Venn diagram of soil microbial community under different fertilization treatments

2.2 土壤微生物优势菌门组成

将群落丰度较小且不同施肥处理下没有显著性差异的菌门合并为其他(others),保留了3个优势菌门。3个优势菌门的平均丰度依次为:放线菌门(Actinobacteria)占37.79%、变形菌门(Proteobacteria)占19.64%、绿弯菌门(Chloroflexi)占16.08%;OM和NPKOM处理下放线菌门(Actinobacteria)和变形菌门(Proteobacteria)的丰度显著高于CK和NPK处理,而绿弯菌门(Chloroflexi)的丰度显著低于CK和NPK处理;有机肥处理下(OM和NPKOM)放线菌

门和变形菌门平均丰度比非有机肥处理(CK和NPK)分别高8.57%和9.66%,而非有机肥处理(CK和NPK)下绿弯菌门(Chloroflexi)平均丰度比有机肥处理(OM和NPKOM)高18.11%(图2)。

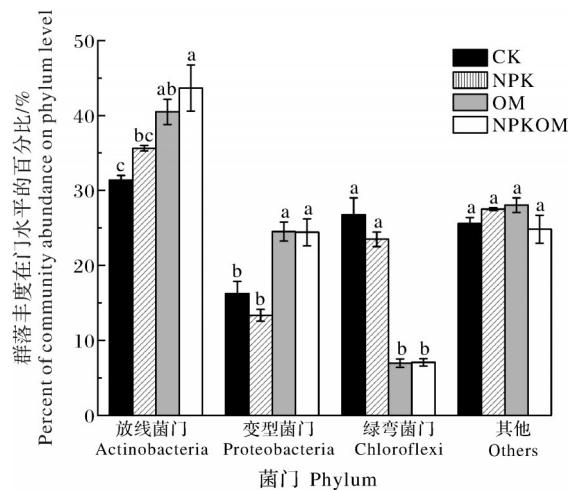


图2 门水平微生物在不同施肥处理下的丰度占比

Fig. 2 Percentage abundance of phylum level microorganisms under different fertilization treatments

2.3 db-RDA分析

db-RDA分析结果显示(图3),db-RDA 1解释的群落结构总变异比例为41.53%,db-RDA 2解释

的群落结构总变异比例为17.58%;CK、NPK与OM和NPKOM在轴1呈现出明显的区别,这表明有机肥的施用会使土壤微生物门水平群落结构发生改变。3个优势微生物门水平群落结构均与pH、 NH_4^+ -N存在相关性。其中,Actinobacteria和Proteobacteria的群落结构与pH、 NH_4^+ -N呈显著正相关;而Chloroflexi的群落结构与pH、 NH_4^+ -N呈显著负相关($P<0.05$)。

2.4 微生物群落与土壤理化性质的相关性

如图4所示,不同微生物门与土壤理化性质之间存在一定相关关系。酸杆菌门(Acidobacteria)与pH显著正相关;疣微菌门(Verrucomicrobia)与速效磷显著正相关;放线菌门和变形菌门均与pH、全磷、全氮、土壤有机质、有效氮和速效磷显著正相关;芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)则与pH、速效磷、速效磷和速效磷显著正相关;硝化螺旋菌门(Nitrospirae)与全氮显著正相关。相反地,奇古菌门(Thaumarchaeota)和绿弯菌门均与pH、全磷、土壤有机质、有效氮和速效磷显著负相关;泉古菌门(Crenarchaeota)与全磷、土壤有机质、有效氮和速效磷显著负相关;厚壁菌门(Firmicutes)与全磷、土壤有机质、有效氮显著负相

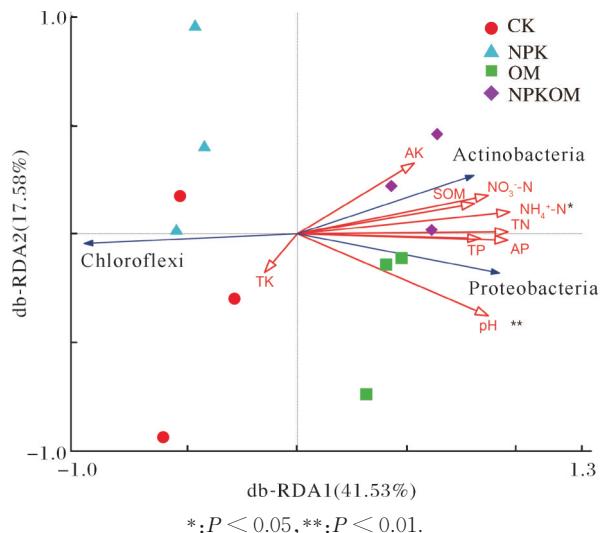
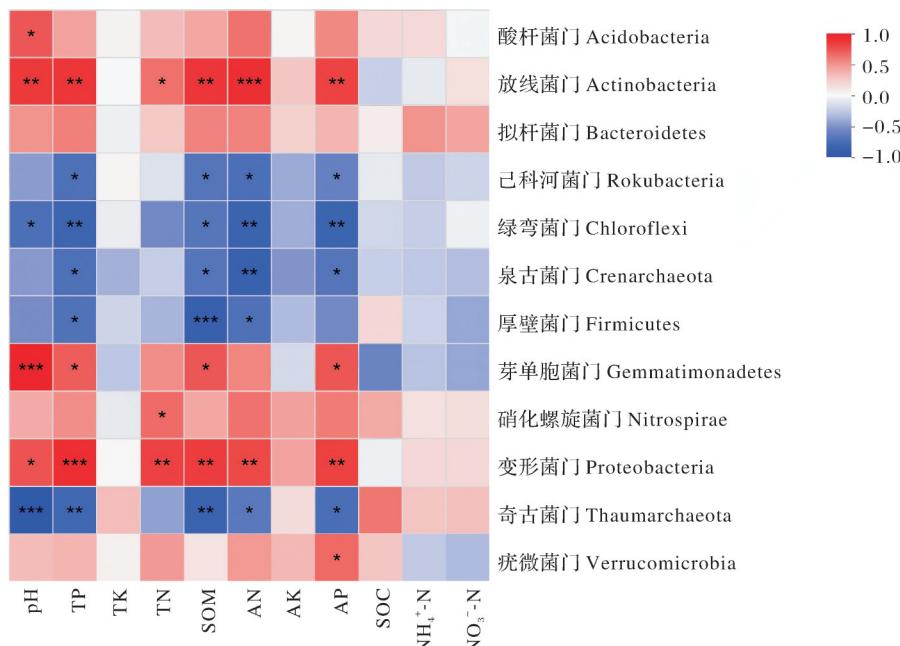


图3 土壤微生物与不同施肥处理和土壤理化性质间的db-RDA分析

Fig. 3 Distance-based redundancy analysis between soil microorganisms and different fertilization treatments with physical and chemical properties of the soil

关,其中,土壤理化性质中pH、全磷、土壤有机质、有效氮和速效磷与土壤微生物门水平群落呈极显著相关。



红色代表正相关,蓝色代表负相关。Red represents positive correlation, blue represents negative correlation.*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$ 。

图4 土壤理化性质与关键门水平物种相对丰度的相关性分析

Fig. 4 An analysis of the correlation comparing physical and chemical properties of the soil with the abundance of key microorganisms at the phylum level

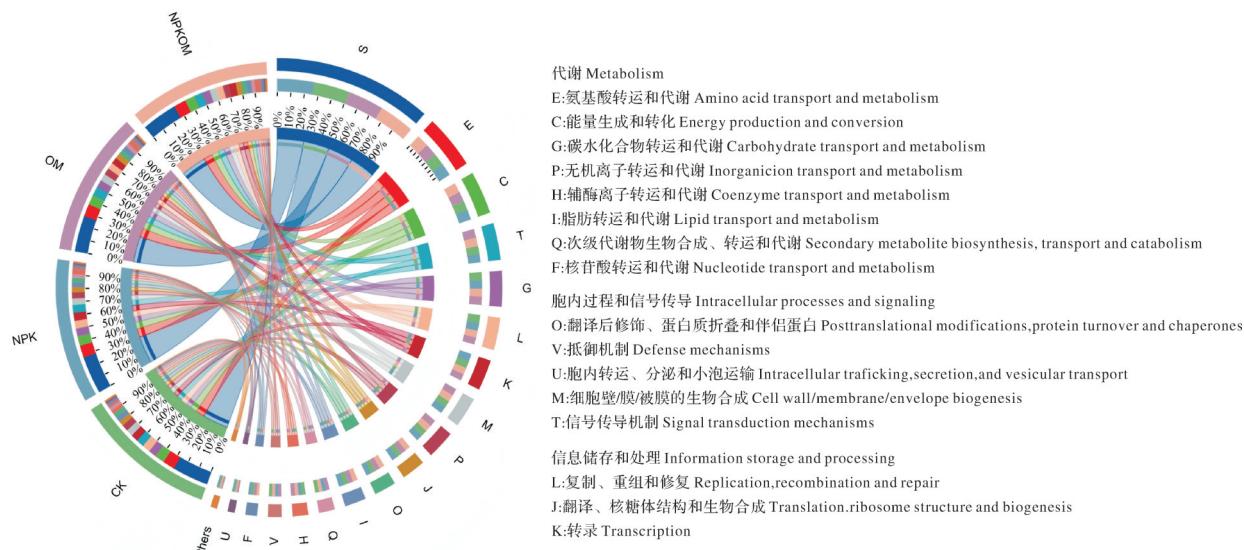
2.5 微生物功能代谢

在微生物的COG注释功能分类Circos图(图5)

中,除去没有明确功能代谢信息的类别(S),不同施肥处理间显示出相似的趋势,约一半的功能被归类

为与代谢紧密相关。在代谢这一大类中,氨基酸转运和代谢占据主要地位,是最丰富的类别,其次是能量生成和转化,以及碳水化合物的转运和代谢。CK、NPK、OM 和 NPKOM 处理中碳水化合物的转运和代谢(G)功能占总代谢功能的比均为 25%,CK、NPK、OM 和 NPKOM 处理中信号转导机制(T)占总代谢功能的比分别为 24%、23%、27% 和 26%,复制、重组和修复(L)在 CK、NPK、OM 和 NPKOM 处理中

占总代谢功能的比分别为 28%、27%、22% 和 23%,转录(K)在 CK、NPK、OM 和 NPKOM 处理中占总代谢功能的比分别为 26%、28%、22% 和 23%。在不同施肥处理下,碳水化合物的转运和代谢的功能微生物相对丰度未呈现出明显差异,施用有机肥提高了微生物信号转导代谢功能,同时复制、重组和修复及转录功能微生物的相对丰度有所降低。



左边半圆(较小圆)表示不同施肥处理下微生物功能丰度组成情况,右边半圆(较大圆)表示在该聚类水平下微生物功能在不同施肥处理中的分布比例情况。条带端点宽度表示不同处理在相应功能中的分布比例,圈外数值表示相应功能的丰度。The left semicircle (smaller circle) indicates the composition of the abundance of functions in different fertilization treatments, and the right semicircle (larger circle) indicates the proportion of distribution of functions in different fertilization treatments at that clustering level. The widths of the endpoints of the bands indicate the proportion of different treatments in the distribution of the corresponding function, and the values outside the circles indicate the abundance values of the corresponding function.

图5 不同施肥处理下土样微生物功能

Fig. 5 Function of microorganisms of samples under different fertilization treatments

3 讨 论

肥料的施用对土壤中微生物群落的活性、多样性和功能有影响^[19]。前人研究表明无机肥的施用会显著影响微生物的群落,增加微生物活性^[20-21]。本研究中添加有机肥的处理显著提高了土壤中微生物的多样性(表1),原因可能是:(1)有机肥中的多种有机物质能够支持更多种类的微生物生长,从而增加了土壤微生物的多样性^[22];(2)施用有机肥提高了土壤微生物活性,从而增强了微生物对于土壤环境的适应能力^[23]。本研究结果表明有机肥施用显著改变了微生物的群落结构,其中有机肥的施用提高了变形菌门和放线菌门丰度,但是降低了绿弯菌门丰度,这与前人的研究结果相似^[24-25]。有机肥施入土壤使

土壤有机质、速效氮、有效磷含量增加,这为变形菌门和放线菌门中的许多异养微生物提供了丰富的碳源和能量源,从而导致这类微生物数量增加^[26-27]。此外,db-RDA 兀余分析结果也表明 pH、土壤有机质、全磷、有效磷与变形菌门和放线菌门正相关。然而绿弯菌门中的一些成员是寡营养生物,它们在营养贫瘠的土壤环境中可能具有一定的竞争优势^[28]。当有机肥施入土壤使环境条件富营养化,绿弯菌门中的一些微生物活性被抑制,导致其丰度降低^[29-30]。

已有研究表明土壤 pH 与酸杆菌门、变形菌门、绿弯菌门和芽单胞菌门极显著相关,是不同处理下细菌丰富度和多样性变化的主要因素^[31]。本研究结果类似(图4)。并且 db-RDA 兀余分析也得出土壤 pH 和 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 对于土壤微生物的群落结构有显著影

响(图3)。这说明土壤微生物对土壤理化性质的变化敏感,土壤pH值发生变化,土壤微生物的生存环境随之改变,进而对土壤微生物种群数量和活性产生影响。不同施肥处理对微生物碳水化合物的转运和代谢的丰度无影响,原因可能是不同施肥处理对土壤微生物的基础呼吸速率和碳源利用效率没有显著影响^[32]。施用有机肥提高了微生物信号转导机制功能。原因可能是:(1)有机肥含有丰富多样的有机物质,这些物质可以作为信号分子直接或间接影响微生物的信号转导过程^[33]。(2)有机肥的施用促进了特定微生物群体的生长,这些微生物可能在信号转导机制方面具有更高的活性或丰度^[34]。土壤微生物群落的变化受到多种因素的影响,包括但不限于施肥种类、施肥量、土壤类型、环境条件等。因此,理解施肥对微生物群落的影响需要综合考虑这些因素,并通过长期定位实验和分子生物学技术继续深入研究。

参考文献 References

- [1] 彭少兵,黄见良,钟旭华,等.提高中国稻田氮肥利用率的研究策略[J].中国农业科学,2002,35(9):1095-1103.PENG S B, HUANG J L, ZHONG X H, et al. Research strategy in improving fertilizer-nitrogen use efficiency of irrigated rice in China[J]. *Scientia agricultura sinica*, 2002, 35(9): 1095-1103 (in Chinese with English abstract).
- [2] 颜晓元,夏龙龙,遆超普.面向作物产量和环境双赢的氮肥施用策略[J].中国科学院院刊,2018,33(2):177-183.YAN X Y, XIA L L, TI C P. Win-win nitrogen management practices for improving crop yield and environmental sustainability [J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2018, 33(2): 177-183 (in Chinese with English abstract).
- [3] 翁赢,付钢锋,阎祥慧,等.有机肥对作物品质、土壤肥力及环境影响的研究进展[J].中国农学通报,2022,38(29):103-107.CHAO Y, FU G F, YAN X H, et al. Effects of organic fertilizer on crop quality, soil fertility and environment: research progress [J]. *Chinese agricultural science bulletin*, 2022, 38(29): 103-107 (in Chinese with English abstract).
- [4] GEISSELER D, SCOW K M. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms: a review [J]. *Soil biology and biochemistry*, 2014, 75: 54-63.
- [5] 张之玄,李军辉,张丽娜,等.硒氮配施对燕麦植株硒氮积累及根际土壤微生物群落与代谢物的影响[J].应用与环境生物学报,2023, 29 (5) : 1241-1252.ZHANG Z X, LI J H, ZHANG L N, et al. Effects of combined application of selenium and nitrogen fertilizers on selenium and nitrogen accumulation in oat plants, rhizospheric soil microbial community, and metabolites [J]. *Chinese journal of applied and environmental biology*, 2023, 29(5): 1241-1252 (in Chinese with English abstract).
- [6] 秦玮玺,斯贵才,雷天柱,等.氮肥添加对土壤微生物生物量及酶活性的影响[J].江苏农业科学,2021,49(1):170-175.QIN W X, SI G C, LEI T Z, et al. Influences of nitrogen fertilizer addition on soil microbial biomass and enzyme activities [J]. *Jiangsu agricultural sciences*, 2021, 49 (1) : 170-175 (in Chinese with English abstract).
- [7] LI B B, ROLEY S S, DUNCAN D S, et al. Long-term excess nitrogen fertilizer increases sensitivity of soil microbial community to seasonal change revealed by ecological network and metagenome analyses [J/OL]. *Soil biology and biochemistry*, 2021, 160: 108349 [2024-05-06]. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2021.108349>.
- [8] ZHANG J Z, BEI S K, LI B S, et al. Organic fertilizer, but not heavy liming, enhances banana biomass, increases soil organic carbon and modifies soil microbiota [J]. *Applied soil ecology*, 2019, 136: 67-79.
- [9] XIAO M L, ZANG H D, LIU S L, et al. Nitrogen fertilization alters the distribution and fates of photosynthesized carbon in rice - soil systems: a ¹³C-CO₂ pulse labeling study [J]. *Plant and soil*, 2019, 445(1): 101-112.
- [10] ZHEN Z, LIU H T, WANG N, et al. Effects of manure compost application on soil microbial community diversity and soil microenvironments in a temperate cropland in China [J/OL]. *PLoS One*, 2014, 9(10) : e108555 [2024-05-06]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108555>.
- [11] 刘红梅,安克锐,王慧,等.不同施肥措施对华北潮土区玉米田土壤微生物碳源代谢多样性的影响[J].农业环境科学学报,2020,39(10):2336-2344.LIU H M, AN K R, WANG H, et al. Effects of fertilization regimes on the metabolic diversity of microbial carbon sources in a maize field of fluvoaquaic soil in North China[J]. *Journal of agro-environment science*, 2020, 39(10): 2336-2344 (in Chinese with English abstract).
- [12] 汪洋,杨殿林,王丽丽,等.农田管理措施对土壤有机碳周转及微生物的影响[J].农业资源与环境学报,2020,37(3): 340-352.WANG Y, YANG D L, WANG L L, et al. Effects of farmland management measures on soil organic carbon turnover and microorganisms [J]. *Journal of agricultural resources and environment*, 2020, 37(3): 340-352 (in Chinese with English abstract).
- [13] 江晓亮.典型湿地硝化、反硝化微生物的群落特征及构建机制[D].武汉:中国科学院大学中国科学院武汉植物园,2021.JIANG X L. Community characteristics and construction mechanism of nitrification and denitrification microorganisms in typical wetlands [D]. Wuhan: Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of SciencesChinese Academy of Sciences, 2021 (in Chinese with English abstract).
- [14] 康辰光,曹伟伟,蔡元锋,等.大于80年自然风干保存土壤中

- 甲烷氧化菌的复苏与富集[J].土壤,2023,55(1):111-121.
- KANG C G, CAO W W, CAI Y F, et al. Resuscitation and enrichment of methanotrophs in soil after >80 years of desiccation[J]. Soils, 2023, 55(1): 111-121 (in Chinese with English abstract).
- [15] 马涛,邢宝龙,郑敏娜.不同施肥方式对大豆根际土壤细菌群落多样性的影响[J].作物杂志,2023(6):167-173. MA T, XING B L, ZHENG M N. Effects of different fertilization methods on soil bacterial community diversity in soybean rhizosphere[J]. Crops, 2023(6): 167-173 (in Chinese with English abstract).
- [16] 彭玺,冯凯,厉舒祯,等.宏基因组学技术与微生物群落多样性分析方法[J].科技导报,2022,40(3):99-111. PENG X, FENG K, LI S Z, et al. Analytical methods for metagenomic technology and microbial community diversity[J]. Science & technology review, 2022, 40(3):99-111 (in Chinese with English abstract).
- [17] WAN Z W, WANG L, HUANG G Q, et al. nirS and nosZII bacterial denitrifiers as well as fungal denitrifiers are coupled with N₂O emissions in long-term fertilized soils[J/OL]. Science of the total environment, 2023, 897: 165426 [2024-05-06]. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.165426>.
- [18] 鲍士旦.土壤农化分析[M].3版.北京:中国农业出版社,2000. BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis [M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [19] SHEN J P, ZHANG L M, GUO J F, et al. Impact of long-term fertilization practices on the abundance and composition of soil bacterial communities in Northeast China[J]. Applied soil ecology, 2010, 46(1):119-124.
- [20] GOYAL S, CHANDER K, MUNDRA M C, et al. Influence of inorganic fertilizers and organic amendments on soil organic matter and soil microbial properties under tropical conditions[J]. Biology and fertility of soils, 1999, 29(2):196-200.
- [21] 陈珊,丁咸庆,祝贞科,等.秸秆还田对外源氮在土壤中转化及其微生物响应的影响[J].环境科学,2017,38(4):1613-1621. CHEN S, DING X Q, ZHU Z K, et al. Effect of straw application on the dynamics of exogenous nitrogen and microbial activity in paddy soil[J]. Environmental science, 2017, 38(4): 1613-1621 (in Chinese with English abstract).
- [22] BHARDWAJ D, ANSARI M W, SAHOO R K, et al. Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity[J/OL]. Microbial cell factories, 2014, 13: 66 [2024-05-06]. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-13-66>.
- [23] ZHANG Q C, SHAMSI I H, XU D T, et al. Chemical fertilizer and organic manure inputs in soil exhibit a vice versa pattern of microbial community structure[J]. Applied soil ecology, 2012, 57:1-8.
- [24] SIVOJIENE D, KACERGIUS A, BAKSIENE E, et al. The influence of organic fertilizers on the abundance of soil microorganism communities, agrochemical indicators, and yield in East Lithuanian light soils[J/OL]. Plants, 2021, 10(12): 2648 [2024-05-06]. <https://doi.org/10.3390/plants10122648>.
- [25] FRANCIOLI D, SCHULZ E, LENTENDU G, et al. Mineral vs. organic amendments: microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies[J/OL]. Frontiers in microbiology, 2016, 7: 1446 [2024-05-06]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01446>.
- [26] WANG J C, SONG Y, MA T F, et al. Impacts of inorganic and organic fertilization treatments on bacterial and fungal communities in a paddy soil[J]. Applied soil ecology, 2017, 112: 42-50.
- [27] LIU Z, GUO Q, FENG Z Y, et al. Long-term organic fertilization improves the productivity of kiwifruit (*Actinidia chinensis* Planch.) through increasing rhizosphere microbial diversity and network complexity[J/OL]. Applied soil ecology, 2020, 147: 103426 [2024-05-06]. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103426>.
- [28] VAN DER BOM F, NUNES I, RAYMOND N S, et al. Long-term fertilisation form, level and duration affect the diversity, structure and functioning of soil microbial communities in the field[J]. Soil biology and biochemistry, 2018, 122:91-103.
- [29] 高媛.长期定位施肥对旱作农田土壤有机碳激发效应及碳循环功能基因的影响[D].西安:西北大学,2022. GAO Y. Effect of long-term fertilization on soil organic carbon priming effect and carbon cycling-related functional genes in dryland farming system [D]. Xi'an: Northwest University, 2022 (in Chinese with English abstract).
- [30] KONG C C, ZHANG S W, YUAN S J, et al. Soil bacterial community characteristics and its effect on organic carbon under different fertilization treatments[J/OL]. Frontiers in microbiology, 2024, 15: 1356171 [2024-05-06]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1356171>.
- [31] LI X F, DENG S P, RAUN W R, et al. Bacterial community in soils following century-long application of organic or inorganic fertilizers under continuous winter wheat cultivation[J/OL]. Agronomy, 2020, 10(10): 1497 [2024-05-06]. <https://doi.org/10.3390/agronomy10101497>.
- [32] 宁赵,程爱武,唐海明,等.长期施肥下水稻根际和非根际土壤微生物碳源利用特征[J].环境科学,2019,40(3):1475-1482. NING Z, CHENG A W, TANG H M, et al. Microbial carbon source metabolic profile in rice rhizosphere and non-rhizosphere soils with different long-term fertilization management[J]. Environmental science, 2019, 40(3): 1475-1482 (in Chinese with English abstract).
- [33] ABDUL HAMID N W, NADARAJAH K. Microbe related chemical signalling and its application in agriculture[J/OL]. International journal of molecular sciences, 2022, 23(16): 8998

- [2024-05-06].<https://doi.org/10.3390/ijms23168998>.
- [34] HAN J Q, DONG Y Y, ZHANG M. Chemical fertilizer reduction with organic fertilizer effectively improve soil fertility and microbial community from newly cultivated land in the Loess Plateau of China[J/OL]. Applied soil ecology, 2021, 165:103966 [2024-05-06].<https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2021.103966>.

Effects of fertilization treatments on microbial community in dryland red soils revealed by experiments of long-term positioning-based metagenomics

YU Teng, LI Shunjiang, WAN Ziwei, QUE Zhengyang, HUANG Guoqin, XU Huifang

Research Center for Ecological Sciences, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

Abstract Sequencing of the metagenome was used to comparatively analyze the composition and the diversity of microbial communities in soil under the four fertilizations including no fertilization (CK), nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers (NPK), organic fertilizer (OM), and organic fertilizer mixed with nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers (NPKOM) in experiments of long-term positioning to study the relationship between the microbial communities in dryland red soils and the systems of fertilization. The results showed that OM and NPKOM significantly increased the abundance of Actinobacteria and Proteobacteria compared to CK, but decreased the abundance of Chloroflexi. Fertilization significantly changed the structure of microbial community in soil, with OM reducing and NPKOM increasing the number of microorganisms in soil. The microbial community in soil was significantly correlated with pH and the content of total phosphorus (TP), soil organic matter (SOM), alkali-hydrolyzable nitrogen (AN), and available phosphorus (AP) at the level of phylum. pH was a key factor affecting the structure of microbial communities in soil. There were significant differences in metabolic functions of microorganisms under different fertilizations. It will provide a certain theoretical basis for the rational fertilization in dryland red soils in China.

Keywords experiments of long-term positioning; metagenomics; system of fertilization; organic fertilizer; dry land; red soils; microbial community in soil

(责任编辑:张志钰)