

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2024.05.007

苏先楚, 叶桂萍, 邓米林, 等. 长期施用粪肥对红壤固氮菌多样性和群落组成的影响. 土壤, 2024, 56(5): 975–981.

长期施用粪肥对红壤固氮菌多样性和群落组成的影响^①

苏先楚^{1,2}, 叶桂萍^{3,5}, 邓米林^{1,2}, 冯蒙蒙^{1,2}, 韩风毅^{1,2}, 樊剑波⁴, 贺纪正^{1,2}, 林永新^{1,2*}

(1 湿润亚热带山地生态国家重点实验室培育基地, 福州 350117; 2 福建师范大学地理科学学院, 福州 350117; 3 闽江学院地理与海洋学院, 福州 350108; 4 中国科学院南京土壤研究所, 南京 211135; 5 福建省植物营养与肥料重点实验室, 福州 350013)

摘要: 为了探究长期施用猪粪对红壤固氮菌群落的影响, 依托中国科学院鹰潭红壤生态实验站长期施用猪粪的定位试验地, 利用高通量测序, 测定4种施肥处理土壤(不施用猪粪的对照(CK), 施用9 Mg/hm²猪粪(M9)、18 Mg/hm²猪粪(M18)和27 Mg/hm²猪粪(M27))的固氮菌多样性和群落结构。结果表明: 长期施用猪粪显著提高红壤固氮菌多样性, 且多样性与土壤有机碳、全氮和有效养分显著正相关, 但与土壤 pH 无显著相关性; 非度量多维尺度分析(NMDS)结果表明, 与对照相比, 长期施用猪粪处理的固氮菌群落结构明显不同, 且差异程度随猪粪施用量的增加而增加; 曼特尔检验(Mantel test)分析表明, 固氮菌群落结构主要受土壤可溶性有机碳、速效钾和有效磷影响; 长期施用猪粪显著提高了蓝藻门和厚壁菌门的相对丰度, 降低了 α -变形菌门和 β -变形菌门的相对丰度, 这与土壤养分的变化有关。综上, 长期施用猪粪显著提高红壤固氮菌多样性, 改变固氮菌群落结构和组成, 土壤养分含量的变化是重要影响因素。

关键词: 固氮菌群落; 猪粪; 高通量测序; 群落结构; 酸性土壤

中图分类号: S154.36 文献标志码: A

Effects of Long-term Application of Pig Manure on Diversity and Community Composition of Diazotrophs in Acidic Ultisol

SU Xianchu^{1,2}, YE Guiping^{3,5}, DENG Milin^{1,2}, FENG Mengmeng^{1,2}, HAN Fengyi^{1,2}, FAN Jianbo⁴, HE Jizheng^{1,2}, LIN Yongxin^{1,2*}

(1 Cultivation Base of State Key Laboratory for Subtropical Mountain Ecology, Fuzhou 350117, China; 2 School of Geographical Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, China; 3 College of Geography and Oceanography, Minjiang University, Fuzhou 350108, China; 4 Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China; 5 Fujian Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilizer, Fuzhou 350013, China)

Abstract: To explore the impact of long-term application of pig manure on diazotrophic community, soils were sampled under 4 kinds of fertilizations: CK, without pig manure, and M9, M18, M27, application of 9, 18 and 27 Mg/hm² pig manure, respectively from the Yingtan Red Soil Ecology Experimental Station, Chinese Academy of Sciences. High-throughput sequencing was utilized to measure the diversity and community structure of diazotrophs. Results showed that long-term application of pig manure significantly increased the diversity of diazotrophs, which was positively correlated with soil organic carbon, total nitrogen, and available nutrients, but not significantly correlated with soil pH. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis indicated that, compared with CK, long-term pig manure application significantly altered the community structure of diazotrophs, and the degree of difference increased with the increasing application amount of pig manure. Mantel test analysis revealed that the community structure of diazotrophs was mainly affected by dissolved organic carbon (DOC), available potassium (AK) and phosphorus (AP). Long-term application of pig manure significantly increased the relative abundance of Cyanobacteria and Firmicutes, while decreased the relative abundance of α -Proteobacteria and β -Proteobacteria, which could be ascribed to the change of soil nutrients. In conclusion, long-term application of pig manure can significantly increase the diversity, and alters the community structure and composition of diazotrophs in an acidic Ultisol, while the alteration of soil nutrient contents might be the key driving factor.

Key words: Diazotrophs community; Pig manure; High-throughput sequencing; Community structure; Acid soil

①基金项目: 国家自然科学基金项目(42377301)和福建省植物营养与肥料重点实验室开放基金项目(2023PNFKL23)资助。

* 通讯作者(yxlin@finu.edu.cn)

作者简介: 苏先楚(2001—), 男, 福建安溪人, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤微生物生态学。E-mail: 109082019014@student.fjnu.edu.cn

氮元素是作物生长过程中的必需营养元素,但大气中含量很高的氮气(N_2)并不能为作物所直接利用。为了满足日益增长的世界人口的粮食需求,由此产生的集约化农业活动大量使用了无机肥料^[1]。然而,无机化肥特别是氮肥在耕地中的过度施用常常导致土壤酸化、养分利用率低下、温室气体排放增加等环境问题,从而威胁土壤生物多样性和环境健康^[2-4]。生物固氮能将大气中的 N_2 转化为作物可利用的 NH_4^+ ,该过程占土壤输入总氮的 65%^[5]。生物固氮不仅可以提高氮素的生物可利用性,还能减少化学氮肥的使用,并提高农业的可持续性^[6]。因此,生物固氮被普遍认为是一种环境友好的氮输入方式,能够代替部分化肥来满足植物对氮的需求。生物固氮包括共生固氮和非共生固氮,其中,自由生活的非共生固氮菌是生物固氮的重要组成部分^[7]。

非共生固氮菌能够通过固氮酶独立地将大气中的 N_2 固定,是土壤中提供活性含氮化合物的重要贡献者。高度多样化的土壤固氮菌群落包括变形菌门、厚壁菌门、蓝藻门和古细菌等多个物种类型,但这些群体中大多数在实验室的培养条件下难以存活^[8]。因此,需要通过合适的生物标志物进行研究。固氮酶是由 *nifH*、*nifD* 和 *nifK* 基因编码的复杂蛋白。其中,*nifH* 基因编码固氮酶的一个亚基,在细菌和古细菌结构域中高度保守,为研究固氮菌群落提供了有效的生物标记^[9]。鉴于此,编码固氮酶的 *nifH* 基因成为检测固氮菌多样性和群落组成的理想生物标志物^[10]。

固氮菌群落对于环境扰动高度敏感,其多样性和组成与各种非生物因素密切相关,包括温度、湿度、土壤 pH、养分含量和农业管理措施等^[11-15]。施肥是影响固氮菌群落的重要非生物因素。相关研究表明,过量施肥可能会通过改变养分可利用性、土壤酸化或盐碱化,进而影响固氮菌群落^[16-18];另一方面,有研究指出不平衡施肥会通过降低特定的土壤养分含量或恶化土壤的吸附特性而影响固氮菌群落^[18-19]。一般来说,施用矿质肥,特别是氮肥,会抑制固氮作用和固氮菌,改变固氮菌群落组成^[6]。然而,迄今为止,施用有机肥对固氮菌群落的影响仍存在争议。有机肥主要来源于作物残茬、人类粪便或动物物质,施用有机肥会直接或间接地影响土壤微生物群落结构和组成^[20]。Lin 等^[21]研究指出,长期施用有机肥会提高土壤 pH,从而降低土壤中固氮菌丰度和多样性;再者,有研究表明施用有机肥通过提高土壤养分含量降低固氮菌群落多样性^[11]。然而,另有研究发现施加有机肥为固氮菌提供大量的碳源和能量,增加了固氮菌的

竞争优势,从而增加其多样性和丰度^[22-23]。因此,施用有机肥对土壤固氮菌多样性和群落组成的影响仍有待进一步研究。

红壤是典型的亚热带土壤,广泛分布于中国东南部。红壤具有严重风化和淋溶的特点,其土壤一般酸性强且肥力差^[24]。相较于氮肥导致土壤进一步酸化,施用有机肥能够更好地维持作物产量和保护土壤肥力。有研究指出,施用猪粪能够有效缓解土壤酸化,提高土壤有机质和养分含量^[25]。解析长期施用猪粪对红壤固氮菌群落的影响是对前人研究的重要补充。基于以上研究背景,本研究以中国科学院鹰潭红壤生态实验站长期施用猪粪定位试验地的酸性红壤为研究对象,利用高通量测序,探讨长期施用粪肥对红壤固氮菌多样性及群落组成的影响及其主要驱动因素,以期更好地认识酸性红壤固氮菌群落,为农业生态系统的合理施肥提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于江西省鹰潭市中国科学院鹰潭红壤生态实验站(28°15'20" N, 116°55'30" E),该地区的气候类型为典型亚热带季风气候,年平均降水量为 1 975 mm,年平均气温为 17.6 °C。土壤由第四纪红色黏土发育而来,包含 41.2% 的黏粒、33.2% 的粉粒和 25.6% 的砂粒,属于典型红壤、老成土(Ultisol)。

1.2 试验设计及样品采集

研究样地建立于 2002 年,采用夏季花生和冬季休耕的耕作方式。试验设置 4 种施肥处理,通过随机区组的方式建立,每种处理设有 3 个重复。试验处理包括:不施用猪粪的对照(CK),每年施用 9 Mg/hm² 的猪粪(M9)、18 Mg/hm² 的猪粪(M18)和 27 Mg/hm² 的猪粪(M27)。M9 处理的施肥量与当地常规施肥量相近,设置 M18 和 M27 的施肥量是为了测定旱地红壤对粪肥的消纳能力,以及预测更高粪肥施用量对红壤固氮菌多样性和群落的影响。试验中所添加的猪粪收集于当地农场,并且在发酵罐中发酵 3 个月。猪粪的主要养分含量如下:总有机碳(TOC)157 g/kg,总氮(TN)20.1 g/kg,总磷(TP)12.1 g/kg,总钾(TK)7.90 g/kg。

土壤样品采集于 2019 年 10 月,在试验样地各个小区,通过蛇形采样的方式选取 10 个样点,用土钻采取土壤深度为 0 ~ 20 cm 的土芯,充分混合均匀后置入自封袋中形成一个土壤样品。样品存放于装有冰袋的保温箱中,立即送至实验室。土壤样品经挑根去杂后分为两部分,一部分新鲜样品置于 -80 °C 低温

保存,用于后续分子生物学分析;另一部分样品自然风干后,进行土壤理化性质测定。

1.3 土壤理化性质测定

土壤理化性质按照 Lin 等^[26]所述方法进行测定。土壤含水量:将风干的土样烘干至恒重后,测定土壤含水量。土壤 pH:取 5 g 风干土样,以 1:5 的土水质量比加入除去 CO₂ 的去离子水,振荡后使用 pH 计(FE20-FiveEasyTMPH, MettlerToledo, Gemman)测定。土壤有机碳(SOC)和 TN 含量:将风干土样研磨通过 100 目筛后,使用碳氮元素分析仪(VarioMAX, Elementar, Germany)进行测定。土壤可溶性有机碳(DOC)含量:称取 10 g 新鲜土样,按照 1:5 的土水质量比加入去离子水进行提取,振荡、过滤后利用岛津碳氮分析仪(TOC Vcph, Shimadzu, Kyoto Japan)测定。土壤铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)含量:取 5 g 风干土样,以 1:5(m:V)的比例通过 2 mol/L 的 KCl 溶液浸提,振荡、过滤后使用流动分析仪(San⁺⁺ System, Skalar, Holland)测定。土壤有效磷(AP)含量:称取 5 g 风干土样,加入 50 mL 0.05 mol/L HCl 和 0.025 mol/L H₂SO₄ 的混合液浸提后,通过钼蓝比色法测定。土壤有效钾(AK)含量:取 5 g 风干土样,加入 50 mL 1 mol/L 的醋酸铵溶液浸提后,使用火焰光度计(FP640, INASA, China)测定。

1.4 土壤总 DNA 提取

所有土壤样品的总 DNA 提取均使用 MoBio PowerSoilTM DNA Isolation Kits (Mo Bio Laboratories, Carlsbad, CA, USA)试剂盒进行提取。称取 0.25 g 的解冻新鲜土壤,按照试剂盒说明书的操作步骤提取。提取的总 DNA 存放于 -80 °C 冰箱,用于进行后续的测序分析。

1.5 高通量测序及生物信息分析

高通量测序所使用的引物为 nifHF 和 nifHR。双端测序由上海美吉生物医药科技有限公司在 Illumina MiSeq (PE300)平台上测定。获得的原始 nifH 序列利用 FLASH(版本 1.2.7)软件进行质量筛选和合并。使用 QIIME(版本 1.8.0)对拼接后的序列进行处理,剔除低质量序列;随后,去除与 nifH 序列相似度低的序

列和嵌合体,并使用 UPARSE 将剩余的高质量序列以 95% 的相似性聚类成 OTUs。抽取代表性序列,利用 MEGA-X 软件,将其与 NCBI 获得的参考序列构建系统发育树,对每个 OTU 进行分类。原始序列均上传至 DDBJ 数据库,数据注册号为 DRA014094。

1.6 数据分析

数据的统计分析在 SPSS 22.0 及 Excel 软件中进行,所有数据在分析之前均经过同质性和正态分布检验。利用单因素方差分析(ANOVA)比较处理间基本理化性质、Shannon 指数和 Chao1 指数的差异,并用邓肯法(Duncan's test)检验处理间的差异显著性。通过皮尔森(Pearson)相关性分析探究基本理化性质与 Shannon、Chao1 指数的相关关系。NMDS 和 Mantel test 分析利用 R 4.3.1 软件 vegan 数据包进行。采用 Origin 2023b、R 4.3.1 软件进行绘图。图表中的所有数据均为平均值±标准差。

2 结果与分析

2.1 长期施用猪粪对红壤基本理化性质的影响

红壤基本理化性质在不同猪粪施用量下的变化如表 1 所示。施用猪粪总体上降低了土壤 pH,其中 M9、M18 处理与 CK 相比差异显著($P<0.05$),而 M27 处理没有显著差异。土壤养分在施用猪粪的处理下总体呈现增加的趋势,且随着猪粪施用量的增加而增加。和 CK 相比, SOC、DOC 和 NH₄⁺-N 含量在 M9 处理下无显著变化,在 M18、M27 处理下则显著增加($P<0.05$); TN 含量只在 M27 处理下显著增加了($P<0.05$);此外,施用猪粪处理均显著增加 NO₃⁻-N、AP 和 AK 含量($P<0.05$)。

2.2 长期施用猪粪对红壤固氮菌群落 α 多样性指数的影响

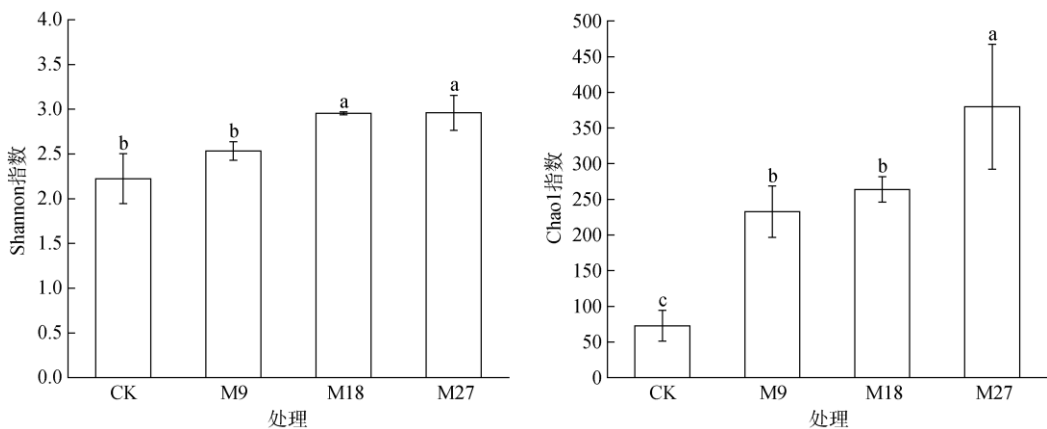
施用猪粪提高了红壤固氮菌群落的 α 多样性指数(图 1)。和 CK 相比, Shannon 指数在 M18、M27 处理下显著提高($P<0.05$),而 M9 处理对 Shannon 指数无显著影响;所有猪粪施用处理均显著提高 Chao1 指数($P<0.05$),且 M27 处理的 Chao1 指数最高。

表 1 长期施用猪粪对红壤基本理化性质的影响

Table 1 Effects of long-term application of pig manure on physicochemical properties of Ultisols

处理	pH	SOC(g/kg)	DOC(mg/kg)	TN(g/kg)	NH ₄ ⁺ -N(mg/kg)	NO ₃ ⁻ -N(mg/kg)	AP(mg/kg)	AK(mg/kg)
CK	4.95 ± 0.11 a	5.68 ± 0.57 c	5.74 ± 1.24 c	0.66 ± 0.03 b	7.52 ± 0.15 b	5.95 ± 0.30 c	7.36 ± 0.00 d	60.58 ± 9.14 c
M9	4.80 ± 0.03 b	6.61 ± 0.73 bc	8.22 ± 1.29 bc	0.81 ± 0.12 ab	8.31 ± 0.73 ab	8.86 ± 1.45 b	33.54 ± 3.87 c	81.17 ± 5.33 b
M18	4.79 ± 0.02 b	6.73 ± 0.42 ab	10.42 ± 2.21 b	0.81 ± 0.09 ab	9.41 ± 1.26 a	11.17 ± 1.17 a	49.76 ± 7.55 b	119.33 ± 4.48 a
M27	4.90 ± 0.05 ab	7.67 ± 0.20 a	13.99 ± 0.71 a	0.90 ± 0.06 a	9.63 ± 0.52 a	11.80 ± 1.44 a	90.43 ± 0.14 a	139.54 ± 18.39 a

注:表格内的数值均为平均值 ± 标准差(n=3);同列数据小写字母不同表示处理间差异显著($P<0.05$),下同。



(图中小写字母不同表示处理间差异显著($P<0.05$), 下同)

图 1 长期施用猪粪对红壤固氮菌群落 α 多样性指数的影响

Fig. 1 Effects of long-term application of pig manure on α diversity indexes of diazotrophic community in Ultisols

相关性分析表明, Shannon 和 Chao1 指数均与土壤养分呈显著正相关关系(表 2, $P<0.05$), 而与 pH 无显著相关关系。Shannon 指数与 NO_3^- -N 的相关系数最高, 而 Chao1 指数则与 AP 的相关系数最高。

表 2 红壤基本理化性质与固氮菌群落 α 多样性指数的相关性系数

Table 2 Correlation coefficients between physicochemical properties of Ultisols and α diversity indexes of diazotrophic community

	pH	SOC	DOC	TN	NH_4^+ -N	NO_3^- -N	AP	AK
Shannon	-0.464	0.648*	0.759**	0.678*	0.830**	0.907**	0.796**	0.852**
Chao1	-0.285	0.876**	0.897**	0.839**	0.764**	0.888**	0.906**	0.874**

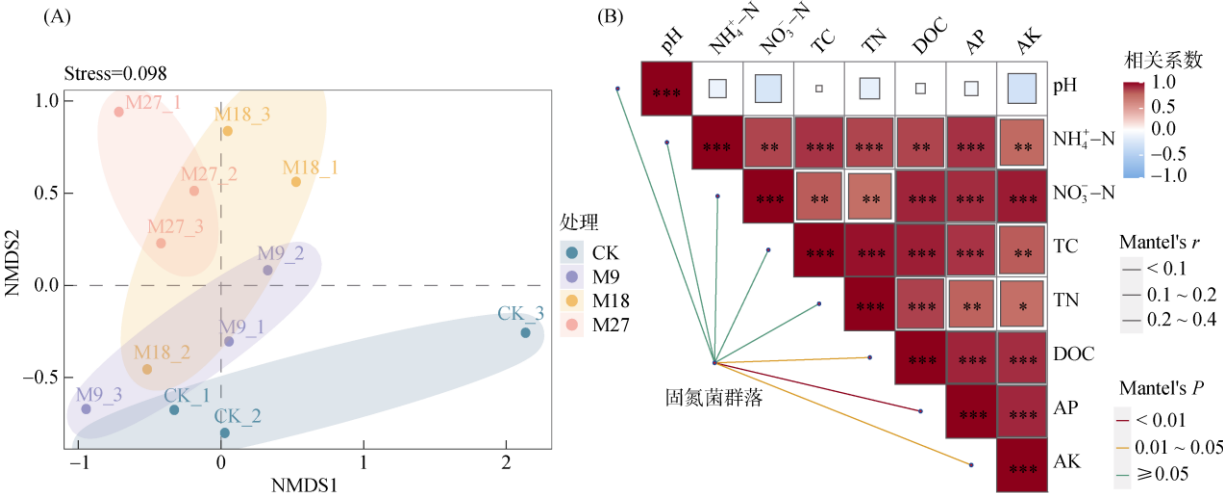
注: *, **分别表示相关性达 $P<0.05$ 和 $P<0.01$ 显著水平。

2.3 长期施用猪粪对红壤固氮菌群落结构的影响

长期施用猪粪显著改变红壤固氮菌群落结构。NMDS 分析发现, 固氮菌群落结构在 M9、M18 和 M27 处理中与 CK 处理明显分异, 且分异程度随猪粪施用量增加而增加(图 2A)。Mantel test 分析表明, 红壤固氮菌群落结构主要受 AP、AK 和 DOC 影响(图 2B)。

2.4 长期施用猪粪对红壤固氮菌群落组成的影响

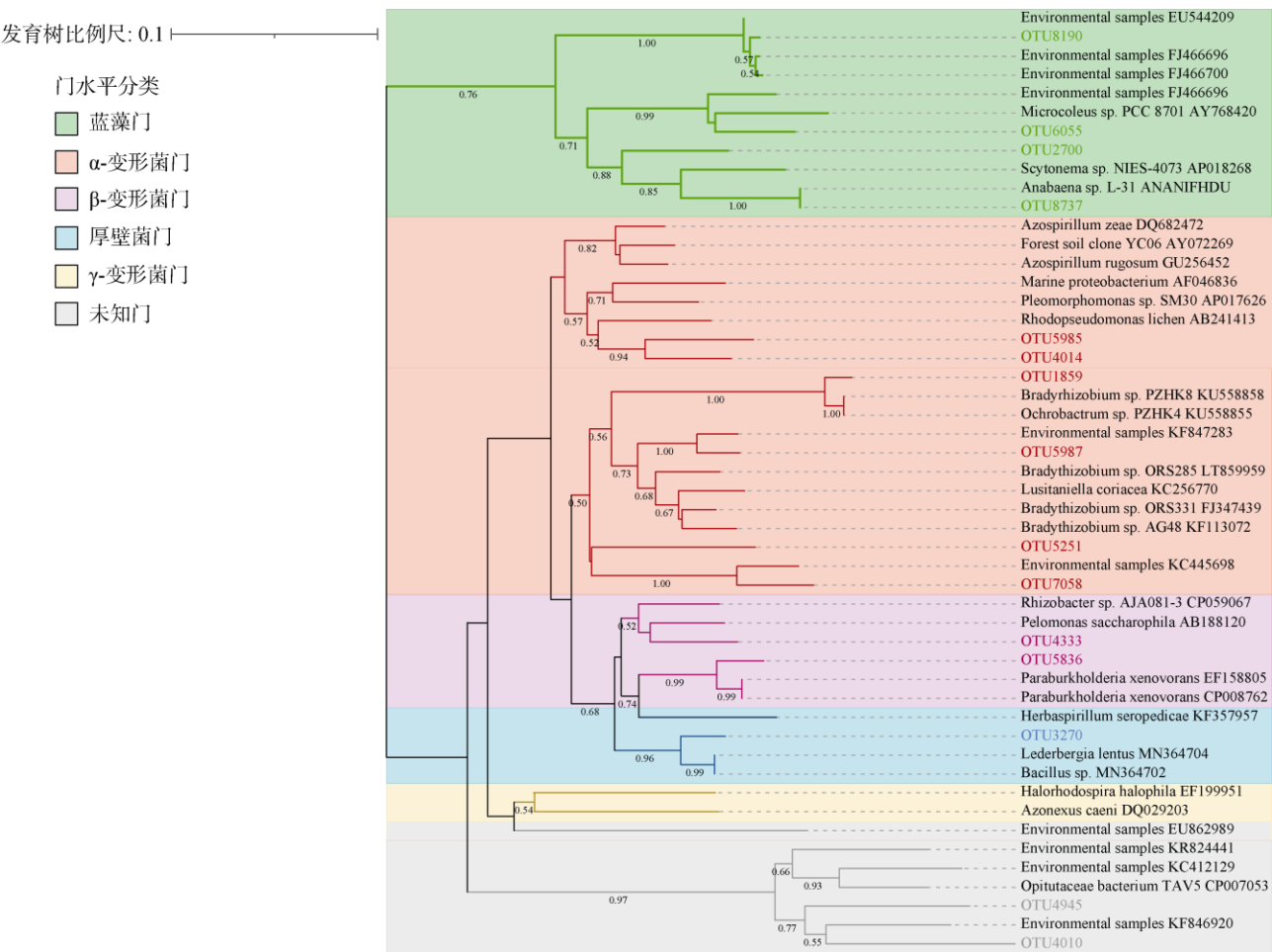
系统发育树分析结果显示, 供试土壤的固氮菌群落组成主要为蓝藻门(Cyanobacteria)、 α -变形菌门(Alpha-Proteobacteria)、 β -变形菌门(Beta-Proteobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes), 分别占总序列数的 44.7%、30.6%、5.3% 和 10.6%(图 3)。



(*、**、***分别表示达 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 显著水平)

图 2 长期施用猪粪对红壤固氮菌群落结构影响的 NMDS 分析(A)及红壤固氮菌群落结构与土壤理化性质的 Mantel test 分析(B)

Fig. 2 NMDS analysis of effect of long-term pig manure application on diazotrophic community structure (A) and Mantel test analysis of diazotrophic community structure and soil physicochemical properties (B)



(不同的颜色范围表示不同门类的固氮菌；分支旁边的数值表示基于 1 000 个重复中>50% 的引导值；比例尺范围表示的是 0.1 个核酸序列散度)

图 3 固氮菌群落的系统发育树
Fig. 3 Phylogenetic analysis of diazotrophic community

长期施用猪粪明显改变红壤固氮菌门类水平的群落组成(图 4)。蓝藻门在不同处理下均处于优势地位，其相对丰度在 CK 处理中为 36.6%，施用猪粪处理则提高了蓝藻门相对丰度。不同猪粪施用量对 α -变形菌门相对丰度的影响存在差异，M9 处理提高其相对丰度，而 M27 处理降低其相对丰度。 β -变形菌门的相对丰度随猪粪施用量增加而降低。厚壁菌门在 CK 和 M9 处理中相对丰度极低，分别为 0.0% 和 0.2%，而在 M18 和 M27 处理中则显著提高，其相对丰度分别为 12.0% 和 31.9%。

3 讨论

3.1 长期施用猪粪对红壤固氮菌群落多样性的影响

土壤微生物多样性对施肥、酸碱性和养分有效性等环境变化十分敏感^[22]。本研究发现，长期施用猪粪显著提高红壤固氮菌 Shannon 和 Chao1 指数(图 1)。该结果与前人发现长期施用有机肥显著提高土壤固

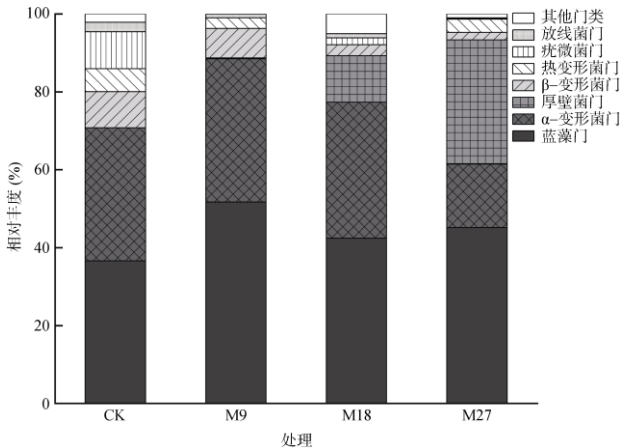


图 4 长期施用猪粪对红壤固氮菌群落门类水平相对丰度的影响

Fig. 4 Effect of long-term pig manure application on relative abundance of diazotrophic phyla in Ultisols

氮菌多样性的结果一致^[27]。这可能是因为固氮菌多数是异养或混合营养型微生物，施用猪粪为固氮菌生长提供了重要的碳源和能源^[28]。此外，固氮过程需

要耗费额外的能量,而土壤磷的有效性对固氮菌生长过程中 ATP 合成非常重要^[22]。由于红壤中矿物质对磷的固定能力强,容易形成铁磷、铝磷和闭蓄态磷等,导致了土壤磷有效性偏低,而施加猪粪可以大幅度提高红壤磷有效性,从而促进不同种类的固氮菌生长,使其多样性提高^[26]。Wang 等^[13]研究发现,酸性土壤中 pH 是影响固氮菌多样性的决定性因素。然而,本研究的相关性分析表明,固氮菌 Shannon 和 Chao1 指数与土壤 pH 无显著相关性,但与土壤养分呈显著正相关(表 2)。这可能是因为本研究中 pH 的变化幅度较低,固氮菌对其具有一定的适应能力。此外,施用猪粪对土壤养分的影响远大于对 pH 的影响,从而掩盖 pH 的效应。

3.2 长期施用猪粪对红壤固氮菌群落结构和组成的影响

本研究表明,施用猪粪显著改变红壤固氮菌群落结构,DOC、AP 和 AK 是最主要的影响因子,这与以往大多数研究类似^[29-31]。有机肥的施用向土壤中引入了大量的养分和碳源,提供一个相对富营养的环境,对不同固氮微生物的影响存在差异,从而显著影响固氮菌群落结构^[29]。Shi 等^[27]研究表明,有机肥相比于矿物质肥能够有效地改变土壤固氮菌群落结构;而 Lin 等^[21]则进一步研究发现,和施用作物残留物相比,施用猪粪可以更加有效地改变红壤固氮菌群落结构。

本研究发现,蓝藻门、 α -变形菌门、 β -变形菌门和厚壁菌门是红壤群落中最主要的固氮菌类型(图 3)。蓝藻门是水生环境中常见的优势固氮菌,具有较强的固氮能力^[32]。然而,由于蓝藻门对干燥和水旱交替环境具有较强的忍耐能力,这一光合自养型固氮微生物也能在高温高湿的红壤环境中具备竞争优势^[10]。本研究长期施用猪粪提高了蓝藻门的相对丰度,这可能是由于猪粪的施用促进了土壤呼吸,消耗了大量氧气,从而为蓝藻门创造更加适宜的微厌氧环境。此外,有研究指出相对于其他的固氮菌,蓝藻门需要更多的有效氮供其生长^[33]。因此,施用猪粪为蓝藻门提供了大量的氮素养分,提高了蓝藻门的相对丰度。再者,本研究发现厚壁菌门在 CK 和 M9 处理中丰度极低,但在 M18 和 M27 处理中显著提高,表明施用猪粪可以显著提高厚壁菌门固氮菌的相对丰度。大量研究^[34-35]也表明,施用有机肥显著提高了土壤中厚壁菌门的相对丰度。这可能是因为厚壁菌门能够分解复杂的有机物质,通常是粪便中含量最丰富的细菌门类^[36]。与蓝藻门和厚壁菌门相反,M18 和 M27 处理降低了 α -变形菌门和 β -变形菌门的相对丰度。有

研究表明变形菌门属于革兰氏阴性菌,是一类富营养型的细菌类群,一般情况下其相对丰度与土壤养分含量变化呈正相关关系^[37]。但可能由于 α -变形菌门和 β -变形菌门在施用粪肥环境下的竞争力不如厚壁菌门,因此,长期施用中量和高量猪粪处理下厚壁菌门具有竞争优势,从而抑制了 α -变形菌门和 β -变形菌门的生长,导致其相对丰度降低。

4 结论

1) 长期施用猪粪显著提高旱地红壤固氮菌多样性,土壤养分含量而非 pH 是其多样性增加的重要影响因素。

2) 长期施用猪粪显著改变旱地红壤固氮菌群落结构,DOC、AP 和 AK 含量是最主要的影响因子。

3) 长期施用猪粪提高蓝藻门和厚壁菌门相对丰度,但降低 α -变形菌门和 β -变形菌门相对丰度。

研究结果促进了对旱地红壤固氮菌的认识,为旱地红壤养分管理提供理论基础和数据支撑。

参考文献:

- [1] 胡荷,李胜君,王蕊,等. 氮肥配施秸秆对土壤原生生物群落的影响[J]. 土壤学报, 2023, 60(4): 1123-1133.
- [2] 图纳热,红梅,叶贺,等. 降水变化和氮沉降对荒漠草原土壤丛枝菌根真菌群落结构的影响[J]. 土壤, 2023, 55(6): 1251-1260.
- [3] 武振丹,马尚飞,卢俊艳,等. 贝加尔针茅草甸草原土壤有机碳组分对长期氮素添加的响应[J]. 土壤学报, 2023, 60(5): 1520-1530.
- [4] Shcherbak I, Millar N, Robertson G P. Global metaanalysis of the nonlinear response of soil nitrous oxide (N_2O) emissions to fertilizer nitrogen[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(25): 9199-9204.
- [5] Kaschuk G, Hungria M. Diversity and importance of diazotrophic bacteria to agricultural sustainability in the Tropics[J]. In diversity and benefits of microorganisms from the Tropics, 2017, 269-292.
- [6] Chen H, Zheng C Y, Qiao Y Q, et al. Long-term organic and inorganic fertilization alters the diazotrophic abundance, community structure, and co-occurrence patterns in a vertisol[J]. Science of the Total Environment, 2021, 766: 142441.
- [7] Yousuf B, Kumar R, Mishra A, et al. Differential distribution and abundance of diazotrophic bacterial communities across different soil niches using a gene-targeted clone library approach[J]. FEMS Microbiology Letters, 2014, 360(2): 117-125.
- [8] Rösch C, Mergel A, Bothe H. Biodiversity of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in an acid forest soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(8): 3818-3829.

- [9] Collavino M M, Tripp H J, Frank I E, et al. *nifH* pyrosequencing reveals the potential for location-specific soil chemistry to influence N₂-fixing community dynamics[J]. *Environmental Microbiology*, 2014, 16(10): 3211–3223.
- [10] Tang H Q, Zhang N, Ni H W, et al. Increasing environmental filtering of diazotrophic communities with a decade of latitudinal soil transplantation[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 154: 108119.
- [11] Fu F X, Yu E, Garcia N S, et al. Differing responses of marine N₂ fixers to warming and consequences for future diazotroph community structure[J]. *Aquatic Microbial Ecology*, 2014, 72(1): 33–46.
- [12] Feng J J, Penton C R, He Z L, et al. Long-term warming in Alaska enlarges the diazotrophic community in deep soils[J]. *mBio*, 2019, 10(1): e02521–18.
- [13] Wang Y S, Li C N, Kou Y P, et al. Soil pH is a major driver of soil diazotrophic community assembly in Qinghai-Tibet alpine meadows[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 115: 547–555.
- [14] Zheng M H, Zhou Z H, Luo Y Q, et al. Global pattern and controls of biological nitrogen fixation under nutrient enrichment: A meta-analysis[J]. *Global Change Biology*, 2019, 25(9): 3018–3030.
- [15] Xun W B, Li W, Huang T, et al. Long-term agronomic practices alter the composition of asymbiotic diazotrophic bacterial community and their nitrogen fixation genes in an acidic red soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(3): 329–339.
- [16] Cui S H, Shi Y L, Groffman P M, et al. Centennial-scale analysis of the creation and fate of reactive nitrogen in China (1910–2010)[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(6): 2052–2057.
- [17] Guo J H, Liu X J, Zhang Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. *Science*, 2010, 327(5968): 1008–1010.
- [18] Xu X P, He P, Qiu S J, et al. Estimating a new approach of fertilizer recommendation across small-holder farms in China[J]. *Field Crops Research*, 2014, 163: 10–17.
- [19] Lemanowicz J. Mineral fertilisation as a factor determining selected sorption properties of soil against the activity of phosphatases[J]. *Plant, Soil and Environment*, 2013, 59(10): 439–445.
- [20] 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]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1446.
- [21] Lin Y X, Ye G P, Liu D Y, et al. Long-term application of lime or pig manure rather than plant residues suppressed diazotroph abundance and diversity and altered community structure in an acidic Ultisol[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 123: 218–228.
- [22] Yang L, Bai J S, Zeng N H, et al. Diazotroph abundance and community structure are reshaped by straw return and mineral fertilizer in rice-rice-green manure rotation[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 136: 11–20.
- [23] 邓米林, 林永新, 叶桂萍, 等. 林分类型对亚热带森林土壤团聚体中真菌反硝化微生物丰度的影响[J]. *福建师范大学学报(自然科学版)*, 2024, 40(1): 45–51, 68.
- [24] 陈利军, 蒋瑀霁, 王浩田, 等. 长期施用有机物料对旱地红壤磷组分及磷素有效性的影响[J]. *土壤*, 2020, 52(3): 451–457.
- [25] 宛颂, 段春健, 樊剑波, 等. 旱地红壤反硝化功能基因丰度对长期施肥的响应[J]. *应用生态学报*, 2020, 31(11): 3729–3736.
- [26] Lin Y X, Ye G P, Hu H W, et al. Manure applications alter the abundance, community structure and assembly process of diazotrophs in an acidic Ultisol[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 965293.
- [27] Shi W, Zhao H Y, Chen Y, et al. Organic manure rather than phosphorus fertilization primarily determined asymbiotic nitrogen fixation rate and the stability of diazotrophic community in an upland red soil[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2021, 319: 107535.
- [28] Rahav E, Giannetto M J, Bar-Zeev E. Contribution of mono and polysaccharides to heterotrophic N₂ fixation at the eastern Mediterranean coastline[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 27858.
- [29] Hu X J, Liu J J, Zhu P, et al. Long-term manure addition reduces diversity and changes community structure of diazotrophs in a neutral black soil of Northeast China[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2018, 18(5): 2053–2062.
- [30] Wang C, Zheng M M, Song W F, et al. Impact of 25 years of inorganic fertilization on diazotrophic abundance and community structure in an acidic soil in Southern China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 113: 240–249.
- [31] Qiu L J, Fan M, Li Y J, et al. Soil phosphorus drives variation in diazotrophic communities in a subtropical nitrogen-rich forest[J]. *Forest Ecology and Management*, 2023, 544: 121164.
- [32] Wang X J, Liu B J, Ma J, et al. Soil aluminum oxides determine biological nitrogen fixation and diazotrophic communities across major types of paddy soils in China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 131: 81–89.
- [33] Li Y Y, Pan F X, Yao H Y. Response of symbiotic and asymbiotic nitrogen-fixing microorganisms to nitrogen fertilizer application[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2019, 19(4): 1948–1958.
- [34] Xun W B, Zhao J, Xue C, et al. Significant alteration of soil bacterial communities and organic carbon decomposition by different long-term fertilization management conditions of extremely low-productivity arable soil in South China[J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(6): 1907–1917.
- [35] Ye G P, Lin Y X, Liu D Y, et al. Long-term application of manure over plant residues mitigates acidification, builds soil organic carbon and shifts prokaryotic diversity in acidic Ultisols[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 133: 24–33.
- [36] Ye G P, Fan J B, Hu H W, et al. Short-term cellulose addition decreases microbial diversity and network complexity in an Ultisol following 32-year fertilization[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2022, 325: 107744.
- [37] 王慧颖, 徐明岗, 周宝库, 等. 黑土细菌及真菌群落对长期施肥响应的差异及其驱动因素[J]. *中国农业科学*, 2018, 51(5): 914–925.