

新型氮肥对玉米根际土壤固氮微生物群落的影响

董思奇, 周彤, 张冰, 冯国忠, 周雪, 高强

引用本文:

董思奇, 周彤, 张冰, 冯国忠, 周雪, 高强. 新型氮肥对玉米根际土壤固氮微生物群落的影响[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(2): 360–367.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0251>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

氟磺胺草醚及其降解菌对大豆生长及生物固氮的影响

周聪, 陈未, 高岩, 施曼, 李江叶, 刘丽珠, 陈金林

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2660–2668 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0264>

单壁碳纳米管对紫花苜蓿根际土壤中PAHs降解及微生物群落的影响

王慧敏, 陈莉荣, 任文杰, 郑春丽, 黄怡雯, 滕应, 张铁军

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2647–2659 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0332>

长期施肥对黄土旱塬农田土壤微生物量碳、氮、磷的影响

李春越, 郝亚辉, 薛英龙, 王益, 党廷辉

农业环境科学学报. 2020, 39(8): 1783–1791 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0240>

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

刘红梅, 安克锐, 王慧, 张思宇, 赵建宁, 杨殿林, 张贵龙

农业环境科学学报. 2020, 39(10): 2336–2344 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0509>

生物炭原位添加对养殖池塘底泥中微生物群落结构的影响

赵汉胤, 陈潘毅, 唐欣哲, 陈以芹, 李娟英

农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2770–2778 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0434>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

董思奇, 周彤, 张冰, 等. 新型氮肥对玉米根际土壤固氮微生物群落的影响[J]. 农业环境科学学报, 2024, 43(2): 360–367.

DONG S Q, ZHOU T, ZHANG B, et al. Effects of novel nitrogen fertilizers application on the community composition of nitrogen-fixing microorganisms in maize rhizosphere soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2024, 43(2): 360–367.



开放科学 OSID

新型氮肥对玉米根际土壤固氮微生物群落的影响

董思奇^{1,2}, 周彤^{1,2}, 张冰^{1,2}, 冯国忠^{1,2}, 周雪^{1,2*}, 高强^{1,2}

(1. 吉林农业大学资源与环境学院, 长春 130118; 2. 吉林省商品粮基地土壤资源可持续利用重点实验室, 长春 130118)

摘要:为探究长期施用新型氮肥对玉米连作体系根际土壤固氮微生物(*nifH*基因)群落的影响,采集长期定位试验(2014年始)玉米吐丝期根际土壤样品,以不施氮肥(N0)为对照,分析同常规尿素(CU)相比,3种新型氮肥[控释尿素(SU)、稳定性肥料(SF)、硫包衣尿素(SCU)]的施用对土壤固氮微生物群落的影响差异。结果表明:不施氮肥处理的固氮微生物*nifH*基因丰度高于施氮肥处理,不同氮肥处理中,稳定性肥料处理的固氮微生物*nifH*基因丰度(3.4×10^6 copies·g⁻¹)显著低于其他处理,pH(相对影响值为44.51%)和有机质(相对影响值为35.01%)是影响固氮微生物*nifH*基因丰度的主要因素。与不施氮肥相比,氮肥施用降低了固氮微生物*nifH*基因的丰富度及多样性,与常规尿素处理相比,新型氮肥提高了*nifH*基因的丰富度指数但降低了多样性指数。固氮微生物*nifH*基因属水平主导物种为*Desulfovibrio*(相对丰度为14.11%~33.39%)、*Stenotrophomonas*(相对丰度为2.66%~17.72%)和*Bradyrhizobium*(相对丰度为2.68%~6.32%)。是否施氮对土壤固氮微生物群落结构的变化有显著影响($P=0.001$),但施用不同新型氮肥处理与常规尿素相比对群落结构变化无显著影响($P=0.1$)。研究表明,施用新型氮肥提高了固氮微生物*nifH*基因丰度,改变了固氮微生物的群落结构。

关键词:新型氮肥;玉米根际土壤;固氮微生物*nifH*基因;群落结构

中图分类号:S513;S154.3 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2024)02-0360-08 doi:10.11654/jaes.2023-0251

Effects of novel nitrogen fertilizers application on the community composition of nitrogen-fixing microorganisms in maize rhizosphere soils

DONG Siqi^{1,2}, ZHOU Tong^{1,2}, ZHANG Bing^{1,2}, FENG Guozhong^{1,2}, ZHOU Xue^{1,2*}, GAO Qiang^{1,2}

(1. College of Resources and Environmental Sciences, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Utilization of Soil Resources in the Commodity Grain Bases of Jilin Province, Changchun 130118, China)

Abstract: In order to explore the effects of novel nitrogen fertilizers application on the community composition of soil nitrogen-fixing microorganisms, soil samples from long-term maize continuous cropping systems were collected from the rhizosphere of mature maize throughout a long-term localization experiment (starting in 2014). The differences in nitrogen-fixing microbial *nifH* gene-expressing communities were evaluated in three groups treated with three novel nitrogen fertilizers: controlled-release urea (SU), stable fertilizer (SF), and sulfur-coated urea (SCU); these treatment strategies were compared with conventional urea (CU) and analyzed using no nitrogen fertilizer (N0) as a control. The results demonstrated that the abundance of *nifH* gene-expressing in the N0 treatment group was higher than that in the treatment groups with nitrogen fertilizers. Overall, *nifH* gene abundance was significantly lower in the SF treatment group (3.4×10^6 copies·g⁻¹) than that in the other groups. The pH (relative influence: 44.51%) and organic matter (relative influence: 35.01%) were the main factors that affected *nifH* gene abundance. Nitrogen fertilization reduced the richness and diversity of nitrogen-fixing *nifH*-expressing microorganisms compared to those observed in the N0 treatment group; additionally, the novel nitrogen fertilizers increased the richness

收稿日期: 2023-04-04 录用日期: 2023-05-25

作者简介: 董思奇(1996—),女,吉林长春人,博士研究生,从事土壤微生物研究。E-mail: 17833338922@163.com

*通信作者: 周雪 E-mail: zhouxue_jlau@163.com

基金项目: 国家重点研发计划项目(2022YFD1500703)

Project supported: National Key Research and Development Program of China (2022YFD1500703)

index but decreased the diversity index compared to the CU treatment. The dominant nitrogen-fixing *nifH*-expressing microbial genera were determined to be *Desulfovibrio* (relative abundance: 14.11%–33.39%), *Stenotrophomonas* (relative abundance: 2.66%–17.72%), and *Bradyrhizobium* (relative abundance: 2.68%–6.32%). Nitrogen fertilizer application had a significant impact on the community structure ($P=0.001$); however, the impact of novel nitrogen fertilizer treatments on community structure was not significantly different to that of conventional urea treatment ($P=0.1$). The effect of novel nitrogen fertilizer types on *nifH* gene diversity was higher than that of traditional nitrogen application; however, fewer changes in *nifH* gene structure were observed in the novel nitrogen fertilizer groups than that in the traditional nitrogen application group. Our results indicate that the application of novel nitrogen fertilizers increases the *nifH* gene pool in nitrogen-fixing microorganisms, alters community structure, and provides a new theoretical direction for the use of novel nitrogen fertilizers in agricultural ecosystems.

Keywords: novel fertilizer; maize rhizosphere soil; nitrogen-fixing microorganism; *nifH* gene; community structure

东北黑土区是我国最重要的商品粮主产区,近年来国家供给侧改革政策的提出虽然导致玉米的种植面积减少,但作为主要粮食作物的玉米仍大面积连年种植^[1]。种植结构单一、化肥过量施用与肥料利用率较低均会导致土壤肥力下降、有机质含量降低及土壤养分失衡^[2–3]。因此,优化施肥结构、调整施肥方式、提高肥料利用率,对于保护黑土资源和保障国家粮食安全具有重要作用^[4]。

研究发现,我国氮肥的当季利用率仅为30%~35%,这在造成资源大量浪费的同时降低了玉米的产量和品质^[5]。控释氮肥能够调控氮素释放时间以满足作物生育期内的养分需求^[6];稳定性肥料是指在生产过程中加入硝化抑制剂或脲酶抑制剂或两者同时加入,通过降低尿素在土壤中的水解速度来降低铵态氮的硝化和反硝化作用,最终达到肥料氮素缓慢释放和减少氮素损失的一类肥料^[7];硫包衣尿素(以硫磺为主要包膜材料)可在补充硫和氮素的同时缓释养分^[8]。新型氮肥具有肥效长、释放稳定、改善土壤质量等特点,新型氮肥的施用能够减少肥料浪费和环境污染,提高氮肥利用效率^[9–10]。

新型氮肥在玉米中的施用效果研究较多,主要集中在作物产量^[11]、土壤物理化学性质^[12]、土壤酶活性^[13]、环境效应^[14–15]、土壤细菌及真菌群落结构^[16–17]的变化。在生物固氮的过程中,固氮菌能够与氮气结合,将不可吸收利用的氮气转化为铵态氮进而被植物吸收利用,因此对土壤氮循环起着至关重要的作用^[18]。而关于新型氮肥施用下土壤固氮微生物群落结构及多样性的变化鲜有报道。研究表明,固氮菌群落的丰度、多样性和组成是决定土壤固氮能力的关键生物学因素^[19–20],固氮菌群落受到土壤中各种生物和非生物因素的影响,包括肥料^[21]、土壤养分^[22]、耕作制度^[23]等。根际是土壤与作物进行物质能量交换的重要场所,植物通过根系分泌物来影响土壤理化性质,

其影响最先反映在根际土壤上^[24],因此本研究在玉米连作体系下,以固氮微生物 *nifH* 基因作为固氮菌的指示基因,利用高通量测序技术,分析3种新型氮肥(控释尿素、硫包衣尿素、稳定性肥料)对玉米根际土壤固氮细菌群落结构及多样性的影响,并分析其与土壤养分之间的关系,以期为该地区高效施氮的推广应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

长期定位试验始于2014年,试验设置在吉林省梨树县中国农业大学梨树试验站(43°16′43.6″N, 124°26′9.5″E)。该地区属温带半湿润大陆性季风气候,全年降水主要集中在6—8月,年平均气温为6.8℃,年均降水量为614 mm。供试土壤类型为薄层黑土,基本理化性质如下:pH 5.74、有机质含量为18.9 g·kg⁻¹、碱解氮含量为87.5 mg·kg⁻¹、速效磷含量为18.5 mg·kg⁻¹、速效钾含量为186.3 mg·kg⁻¹。

1.2 试验设计

试验设置5个处理:①不施氮肥(N0);②常规尿素(CU);③控释尿素(SU);④稳定性肥料(SF);⑤硫包衣尿素(SCU)。其中常规尿素采用28-11-11复合肥(中化化肥控股有限公司),控释尿素为树脂包裹的高分子无机肥料(中国-阿拉伯化肥有限公司),稳定性肥料为同时添加脲酶和硝化抑制剂的肥料(中国-阿拉伯化肥有限公司),硫包衣控释肥为硫磺包裹的无机肥料(上海汉枫集团),上述氮肥施用量均为224 kg·hm⁻²(以N计)。所有处理磷、钾肥料施用量完全相同(P₂O₅ 88 kg·hm⁻², K₂O 88 kg·hm⁻²),磷肥为磷酸二铵(P₂O₅ 46%, N 18%),钾肥采用氯化钾(K₂O 60%),所有肥料作为基肥在播前一次性施入。每个处理3次重复,共15个小区,完全随机区组排列,小区面积为40 m²(宽3.6 m、长11.1 m)。试验地为玉米连

作,每年5月初播种,10月初收获,供试玉米品种为良玉99,种植密度为65 000株·hm⁻²。

1.3 土壤样品采集及测定项目

土壤样品采集于2021年7月玉米吐丝期,取样器具经灭菌处理,采用抖根法收集根际土壤样品。每个试验小区均匀选取3个点,迅速去除可见动植物残体及石块等,将3个点的土壤样本过2 mm孔径无菌网筛后混合均匀并作为1个土壤样品,取5~10 g土样装入无菌管中,带回实验室-80℃保存,用于微生物提取,剩余土壤样品4℃冷藏保存,用于土壤基本理化性质的测定^[25]。土壤pH(土水比1:2.5)采用电位法测定;碱解氮采用碱解扩散法测定;速效钾采用NH₄OAc浸提、火焰光度计法测定;速效磷采用NaHCO₃浸提-钼锑抗比色、分光光度计法测定;有机质采用重铬酸钾外加热法测定^[26]。

1.4 土壤DNA提取及实时荧光定量PCR

微生物组DNA提取方法参照PowerSoil DNA Isolation Kit (MoBio Laboratories, Carlsbad, CA) [Omega Stool DNA Kit]试剂盒说明书。提取得到的DNA用1%琼脂糖凝胶电泳和分光光度法进行DNA质量和浓度的检测,质检合格后进行PCR扩增,引物为5'-AAAGGYGGWATCGGYAARTCCACCAC-3'和5'-TTGTTSGCSCGRTACATSGCCATCAT-3'。采用绝对定量PCR检测技术,检测固氮微生物*nifH*基因数量^[27]。

1.5 数据分析

采用Excel 2019软件进行数据处理,SPSS 25软件进行数据分析。土壤性质对*nifH*基因丰度的相对影响通过使用gbm包进行聚合增强树分析(ABT)进行定量估计,其中500棵树用于增强,5折交叉验证估计误差;基于R(4.2.2)中vegan包计算细菌群落Shannon和Chao1指数;根据分类学分析结果,可以得知不同样本在各分类水平(如域、界、门、纲、目、科、属、种、

OTU等)上的物种组成情况,利用R(4.2.2)软件制图;使用RColorBrewer包基于Bray-Curtis距离计算并绘制非度量多维排列分析(Multidimensional scaling, NMDS)和组间差异分析(Analysis of similarities, ANOSIM)图;同时利用置换多元方差分析(Permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA)评估氮肥施用和肥料类型对固氮微生物*nifH*基因多样性(Alpha多样性指数)和结构(OTU丰度)的影响,利用R(4.2.2)软件完成。

2 结果与分析

2.1 不同氮肥施用对土壤性质的影响

不同氮肥施用对土壤化学性质的影响见表1。根际土壤样本中,施氮肥处理较N0处理pH值降低了0.12~0.31个单位,其中SCU处理pH值最低,为5.37。施氮肥可提高土壤碱解氮含量,其中以SU处理最为显著,为80.29 mg·kg⁻¹。不同氮肥施用对土壤有机质、速效钾及速效磷的影响不显著($P>0.05$)。

2.2 固氮微生物*nifH*基因丰度及土壤性状对其的影响

由图1a可知固氮微生物*nifH*基因的丰度为 $3.4\times 10^6\sim 4.9\times 10^6$ copies·g⁻¹,除SF处理显著降低外,其余施氮肥处理固氮微生物*nifH*基因丰度与N0处理无显著差异。不同施氮肥处理中,SF处理的固氮微生物*nifH*基因丰度(3.4×10^6 copies·g⁻¹)低于其他处理。土壤性质对基因丰度的相对影响由ABT模型确定(图1b),其中pH和有机质是影响固氮微生物*nifH*基因丰度的主要因素,相对影响值分别为44.51%和35.01%。

2.3 不同新型氮肥对*nifH*基因Alpha多样性的影响

本文中的Alpha多样性指数通过Chao1和Shannon指数进行分析,Chao1指数用来评估样品中所含OTU的总数,其值越大*nifH*基因丰富度越高。与N0

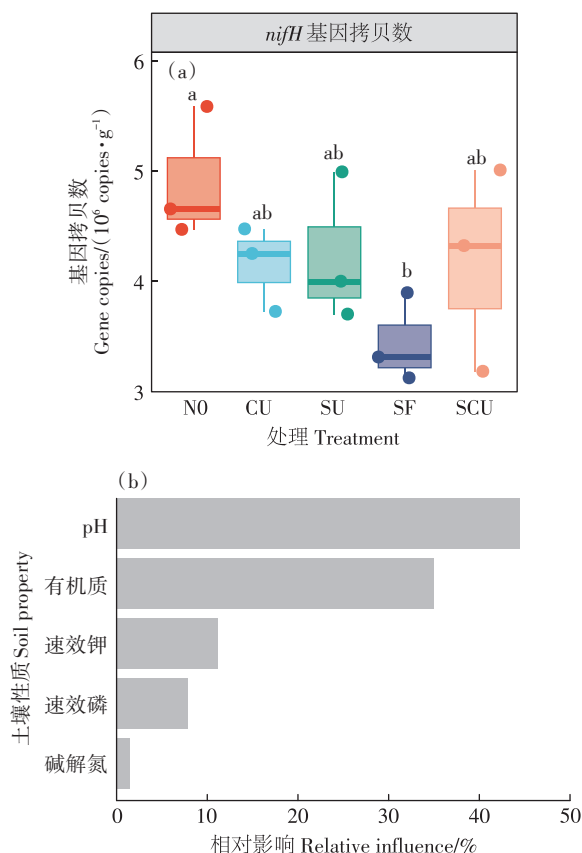
表1 不同氮肥处理下的根际土壤性质

Table 1 Effects of different nitrogen fertilizer treatments on chemical properties of rhizosphere soil

处理 Treatment	pH	碱解氮 Available N/(mg·kg ⁻¹)	有机质 Organic matter/(g·kg ⁻¹)	速效钾 Available K/(mg·kg ⁻¹)	速效磷 Available P/(mg·kg ⁻¹)
N0	5.68±0.17a	70.84±3.85b	24.16±0.22a	193.2±2.98a	45.37±1.07a
CU	5.49±0.24ab	76.75±2.36ab	24.39±1.05a	192.7±1.98a	44.23±1.58a
SU	5.54±0.06ab	80.29±6.68a	24.51±0.47a	194.3±3.17a	46.01±2.81a
SF	5.56±0.09ab	76.47±3.85ab	24.50±0.37a	194.6±4.10a	45.55±1.27a
SCU	5.37±0.07b	74.38±7.09ab	24.54±0.81a	193.9±7.63a	43.86±0.99a

注:不同小写字母代表同一根际土壤化学性质在不同处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters represent that the chemical properties of the rhizosphere soil chemistry are significantly different among different treatments ($P<0.05$).



不同小写字母代表不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。
Different lowercase letters represent significant differences among different treatments ($P < 0.05$). The same below.

图1 *nifH* 基因丰度及 ABT 模型估计的土壤性质对土壤固氮微生物 *nifH* 基因丰度的相对影响

Figure 1 *nifH* gene abundance and the relative impact of soil properties estimated by ABT model on soil nitrogen-fixing microorganisms *nifH* gene abundance

处理相比,氮肥施用降低了 *nifH* 基因丰富度,其中 SF 处理降低比例最大,降低了 16.6%;不同氮肥施用处理中,新型氮肥处理的固氮微生物 *nifH* 基因丰富度高于 CU 处理。

Shannon 指数用来估算固氮微生物 *nifH* 基因多样性,其值越大,多样性越高。通过分析发现, N0 处理的固氮微生物 *nifH* 基因多样性高于施氮处理;不同氮肥施用处理中, SF 和 SCU 处理的 *nifH* 基因多样性指数低于 CU 处理,但均未造成显著差异。

2.4 不同新型氮肥对固氮微生物群落 Bate 多样性的影响

图 3 为固氮微生物的 NMDS 分析,应力函数值 (Stress=0.132) 小于 0.2,说明 NMDS 分析排序性良好,可准确反映样本点的真实分布情况。N0 处理与 CU、

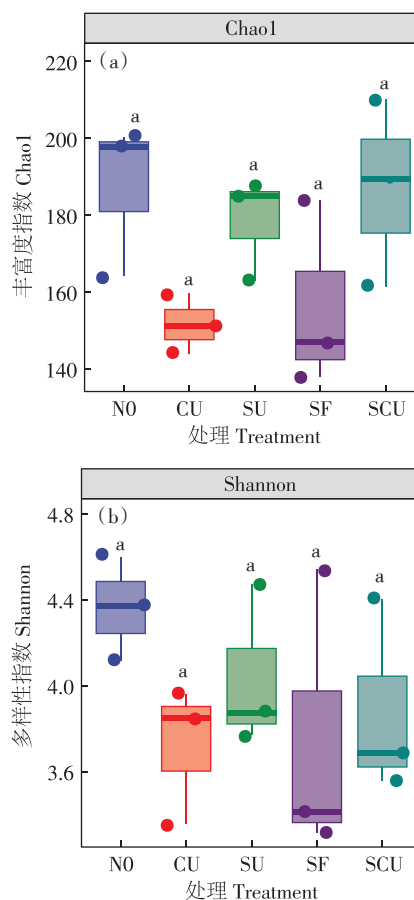


图2 *nifH* 基因 Alpha 多样性指数

Figure 2 Alpha diversity index of *nifH* gene

SU、SF、SCU 处理明显分离,不同氮肥施用处理的空间分布较集中。ANOSIM 分析发现,施氮肥处理与 N0 处理间存在显著差异 ($P=0.001$),但施用不同新型氮肥处理与 CU 处理间不存在显著差异 ($P=0.1$)。

由表 2 可知,施氮显著影响 ($P=0.002$) 固氮微生物群落结构,氮肥类型显著影响 ($P=0.006$) *nifH* 基因多样性。

2.5 不同新型氮肥对土壤固氮微生物群落组成的影响

由图 4 可知固氮微生物 *nifH* 基因属水平注释结果中共有 10 个菌属,其中 *Desulfovibrio* (脱硫弧菌,丰度为 14.11%~33.40%)、*Stenotrophomonas* (寡养单胞菌,丰度为 2.66%~17.72%) 和 *Bradyrhizobium* (慢生根瘤菌,丰度为 2.68%~6.32%) 为主要优势菌属。除 Others 外, *Desulfovibrio* 在 N0 和 SU 处理中注释结果丰度最高,占比分别为 27.34% 和 33.40%;而 CU 和 SF 处理中固氮微生物 *nifH* 基因注释结果丰度最高的属为 *Stenotrophomonas*,占比分别为 14.92% 和 17.72%。与 N0 相比, SU、SF、SCU 处理 *Stenotrophomonas* 的相对丰度分

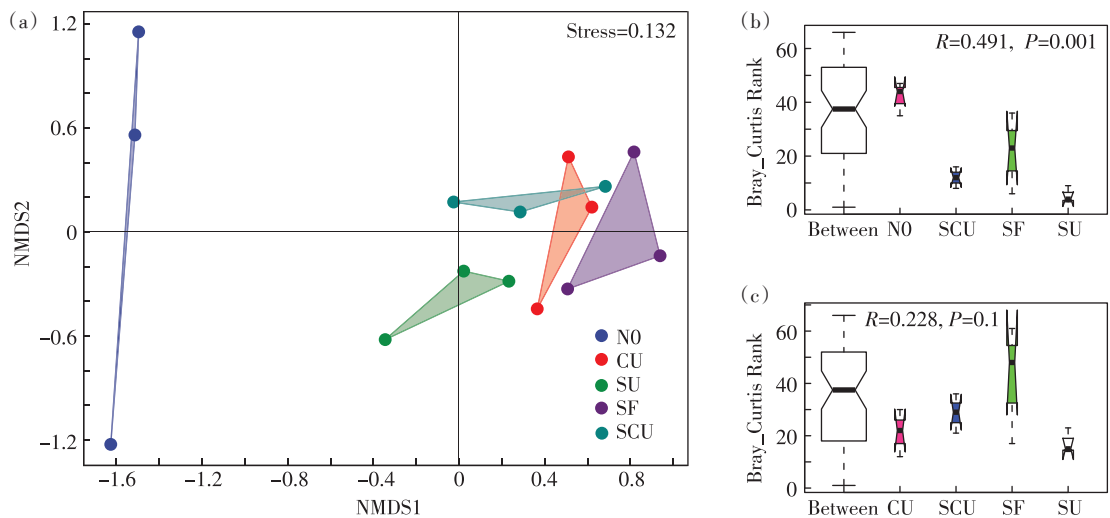


图3 土壤固氮微生物的NMDS及ANOSIM相似性分析
Figure 3 NMDS analysis of soil nitrogen-fixing microorganisms and ANOSIM similarity analysis

表2 施氮和氮肥类型对土壤固氮微生物多样性和结构变化的影响
Table 2 Effects of nitrogen fertilizer application and nitrogen fertilizer type and changes in soil nitrogen-fixing microorganisms diversity and structure

项目 Item		自由度 Df	平方和 Sum of Sqs	拟合度 R ²	F 检验 F	差异性 Pr(>F)
结构 Structure	施氮 N	1	0.456 616	0.291 65	5.379 6	0.002**
	氮肥类型 Type	3	0.259 940	0.166 20	1.021 9	0.415
	残余 Residual	10	0.847 950	0.542 15		
	总计 Total	14	1.564 050	1.000 00		
多样性 Diversity	施氮 N	1	0.005 529	0.053 55	2.219 5	0.170
	氮肥类型 Type	3	0.072 812	0.705 20	9.743 5	0.006**
	残余 Residual	10	0.024 909	0.241 25		
	总计 Total	14	0.103 249	1.000 00		

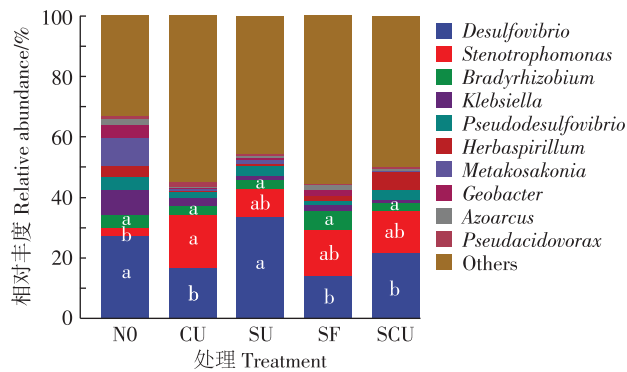


图4 属水平土壤固氮微生物组成丰度图
Figure 4 Gene level of soil nitrogen-fixing microorganisms composition abundance map

别显著提高了44.00%、48.65%和100.00%，SU、SCU处理 *Bradyrhizobium* 的相对丰度分别降低了31.29%

和34.30%，而SF处理使 *Bradyrhizobium* 的相对丰度提高了42.92%。与CU处理相比，SU、SF、SCU处理 *Stenotrophomonas* 的相对丰度分别降低了47.51%、15.81%、22.80%，*Bradyrhizobium* 的相对丰度分别提高了13.66%、136.66%、8.53%。

3 讨论

土壤固氮菌群落对氮肥添加的响应对土壤氮供应的可持续性非常重要，关于固氮微生物的研究已经有很多，其中有研究表明不同肥料可使固氮微生物多样性及结构发生改变^[21]。本研究中(图1a)，施氮处理的固氮微生物 *nifH* 基因拷贝数低于不施氮肥处理，这与李颖^[28]在玉米/大豆间作体系试验中得到的随着施氮量的增加固氮微生物 *nifH* 基因拷贝数逐渐下降的研究结果一致，且本研究结果并未表现出显著差异，

也与多数研究^[29-30]中氮肥的添加对固氮微生物 *nifH* 基因拷贝数的变化无显著影响的结果一致。ABT 分析结果(图 1b)表明,土壤 pH 是驱动土壤固氮菌生长的主要因素,作为外源养分,氮肥在调节土壤 pH 方面发挥了重要作用^[31],氮肥对土壤 pH 的调节间接影响了固氮微生物 *nifH* 基因丰度。本研究中,与不施氮相比,氮肥施用降低了固氮微生物 *nifH* 基因的 Alpha 多样性指数,这与一项对东北黑土区玉米根际微生物群落的研究结果一致,微生物群落对氮的输入具有抗性,随着氮输入的增加,Alpha 多样性显著降低^[32]。新型氮肥相比常规尿素施用增加了固氮微生物 *nifH* 基因丰富度但降低了多样性,可能原因是新型氮肥能够延缓氮素释放,使整个生育期内的固氮微生物大量富集^[33]。

对固氮微生物 *nifH* 基因属水平注释结果分析发现, *Stenotrophomonas* 和 *Bradyrhizobium* 为主要的优势菌属,刘爽等^[34]的研究也证明在固氮微生物 *nifH* 相关分析中, *Stenotrophomonas* 和 *Bradyrhizobium* 属的相对丰度较高。本研究发现与不施氮肥和施用常规尿素相比,施用新型氮肥处理显著提高了 *Stenotrophomonas* 菌属的相对丰度,包海花^[35]的研究发现 *Stenotrophomonas* 菌属与农田氮转化相关,是一种能降解硝酸盐、降低总氮含量的菌,正由于这种特性,导致它在施用新型氮肥处理中具有较高的含量,同时王保莉等^[36]研究发现,在以硝酸钠为氮肥的处理中 *Stenotrophomonas* 为优势菌属,说明施用不同类型的氮肥会造成 *Stenotrophomonas* 菌属相对丰度的改变。而所有处理中,只有 SF 处理提高了 *Bradyrhizobium* 的相对丰度,其余处理均为降低趋势, *Bradyrhizobium* 为慢生型根瘤菌,施用不同类型的氮肥会导致 *Bradyrhizobium* 相对丰度的变化^[37],而 Mark 等^[38]发现 *Bradyrhizobium* 可以促进作物对氮的吸收,增加作物产量^[39],这与本研究在分析作物产量部分的研究结果一致,即施稳定性肥料处理的作物产量最高。

施氮与不施氮处理在 NMDS 分析中明显分离,但 3 种新型氮肥与常规尿素相比,固氮微生物群落结构无明显区别,ANOSIM 结果与其相同。为了进一步验证施用氮肥和氮肥类型对固氮微生物 *nifH* 基因多样性及结构的影响,本研究进行了 PERMANOVA 分析,结果与 ANOSIM 分析一致,氮肥类型对固氮微生物 *nifH* 基因多样性的影响更大,而群落结构主要受施氮影响。这与 Chen 等^[40]在东北黑土上一项长期定位试验结果一致,即不同含量氮肥的施用显著影响固氮菌的群落结构。不同类型新型氮肥对固氮微生物 *nifH*

基因结构无显著影响,可能原因是玉米连年种植均施用氮肥,在长期定位的 8 年间,根际效应形成了稳定的微生物群落,因此新型氮肥类型不会造成当季的显著差异^[41-42]。

4 结论

长期定位田间试验结果显示,新型氮肥通过影响土壤 pH 及有机质影响固氮微生物 *nifH* 基因拷贝数。与常规尿素处理相比,新型氮肥的施用降低了固氮微生物 *nifH* 基因拷贝数,其中以施稳定性肥料处理降低效果最为显著;新型氮肥施用显著影响固氮微生物 *nifH* 基因的 Alpha 多样性指数,但对固氮微生物 *nifH* 基因群落结构的影响并不显著。

参考文献:

- [1] 梁卫,袁静超,张洪喜,等. 东北地区玉米秸秆还田培肥机理及相关技术研究进展[J]. 东北农业科学, 2016, 41(2): 44-49. LIANG W, YUAN J C, ZHANG H X, et al. Research progress on mechanism and related technology of corn straw returning in northeast China[J]. *Journal of Northeast Agricultural Sciences*, 2016, 41(2): 44-49.
- [2] 张俊伶,张江周,申建波,等. 土壤健康与农业绿色发展:机遇与对策[J]. 土壤学报, 2020, 57(4): 783-796. ZHANG J L, ZHANG J Z, SHEN J B, et al. Soil health and agriculture green development: opportunities and challenges[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2020, 57(4): 783-796.
- [3] 姜宇博,蒋和平,钱春荣,等. 我国玉米生产效率影响因素及提升途径研究进展[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(5): 12-15. JIANG Y B, JIANG H P, QIAN C R, et al. Research progress in influencing factors and improving ways of maize production efficiency in China[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, 47(5): 12-15.
- [4] 中华人民共和国黑土地保护法[J]. 中华人民共和国最高人民法院公报, 2022(5): 1-5. Black land protection law of the People's Republic of China[J]. *Gazette of the Supreme People's Procuratorate of the People's Republic of China*, 2022(5): 1-5.
- [5] 张福锁,王激清,张卫峰,等. 中国主要粮食作物肥料利用率现状与提高途径[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 915-924. ZHANG F S, WANG J Q, ZHANG W F, et al. Nutrient use efficiencies of major cereal crops in China and measures for improvement[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2008, 45(5): 915-924.
- [6] 翟军海,高亚军,周建斌. 控释/缓释肥料研究概述[J]. 干旱地区农业研究, 2002, 20(1): 45-48. ZHAI J H, GAO Y J, ZHOU J B. The review of controlled/slow release fertilizer[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2002, 20(1): 45-48.
- [7] 孙毅,杨明,蒋正德,等. 不同抑制剂用量的稳定性肥料对玉米产量的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2012(3): 50-54. SUN Y, YANG M, JIANG Z D, et al. Effect of the application amounts of stabilized fertilizers added different inhibitors on maize yield[J]. *Heilongjiang Agriculture Sciences*, 2012(3): 50-54.

- [8] 解玉洪, 李日鹏. 国外缓控释肥产业化研究进展与前景[J]. 磷肥与复肥, 2009, 24(4): 87-89. XIE Y H, LI R P. Research progress and prospect of slow and controlled release fertilizer industrialization abroad[J]. *Phosphate and Compound Fertilizer*, 2009, 24(4): 87-89.
- [9] 李东坡, 武志杰, 梁成华, 等. 缓释尿素氮肥在玉米苗期的养分释放特点[J]. 中国土壤与肥料, 2007(1): 34-37. LI D P, WU Z J, LI-ANG C H, et al. Characteristics of releasing nutrition for slow urea nitrogen fertilizers at maize seedling stage[J]. *Soil and Fertilizer of China*, 2007(1): 34-37.
- [10] 韩晓日. 新型缓/控释肥料研究现状与展望[J]. 沈阳农业大学学报 2006, 37(1): 3-8. HAN X R. Current situation and prospects of new type slow and controlled release fertilizers[J]. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 2006, 37(1): 3-8.
- [11] 高强, 李晓宇, 冯国忠, 等. 黑土地保护下春玉米养分管理技术研究进展[J]. 吉林农业大学学报, 2022, 44(6): 631-638. GAO Q, LI X Y, FENG G Z, et al. Research progress of nutrient management techniques of spring maize under the protection of black soil[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2022, 44(6): 631-638.
- [12] 关园园, 未志源, 谢孟河, 等. 几种新型尿素对玉米植株氮素利用和土壤氮残留的影响[J]. 农业科技通讯, 2022(8): 29-33. GUAN Y Y, WEI Z Y, XIE M H, et al. Effects of several new ureas on nitrogen utilization in maize plants and nitrogen residue in soil[J]. *Agricultural Science and Technology Communication*, 2022(8): 29-33.
- [13] 高丽超, 郑文魁, 程运龙, 等. 长期施用控释掺混尿素对麦田土壤酶活性及养分的影响[J]. 水土保持学报, 2023, 37(2): 343-350. GAO L C, ZHENG W K, CHENG Y L, et al. Effects of long-term application of blended controlled-release urea on soil enzyme activities and nutrients in stubble wheat field[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2023, 37(2): 343-350.
- [14] 韩蔚娟, 陈海潇, 邹春野, 等. 农田氨挥发的进展研究[J]. 绿色科技, 2015(7): 199-200. HAN W J, CHEN H X, ZOU C Y, et al. Research progress of ammonia volatilization from farmland[J]. *Journal of Green Science and Technology*, 2015(7): 199-200.
- [15] 卢艳艳, 宋付朋. 不同包膜控释尿素对农田土壤氨挥发的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(23): 148-155. LU Y Y, SONG F P. Effects of different coated controlled-release urea on soil ammonia volatilization in farmland[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(23): 148-155.
- [16] 王菲, 袁婷, 谷守宽, 等. 有机无机缓释复合肥对不同土壤微生物群落结构的影响[J]. 环境科学, 2015, 36(4): 1461-1467. WANG F, YUAN T, GU S K, et al. Effects of organic and inorganic slow-release compound fertilizer on different soils microbial community structure[J]. *Environmental Science*, 2015, 36(4): 1461-1467.
- [17] LI R C, GAO Y X, CHEN Q, et al. Blended controlled-release nitrogen fertilizer with straw returning improved soil nitrogen availability, soil microbial community and root morphology of wheat[J]. *Soil and Tillage Research*, 2021, 212: 105045.
- [18] SIMON Z, MTEI K, GESSESSE A, et al. Isolation and characterization of nitrogen fixing rhizobia from cultivated and uncultivated soils of northern Tanzania[J]. *American Journal of Plant Sciences*, 2014, 5: 4050-4067.
- [19] HSU S F, BUCKLEY D H. Evidence for the functional significance of diazotroph community structure in soil[J]. *ISME J*, 2009, 3: 124-136.
- [20] LINDSAY E A, COLLOFF M J, GIBB N L, et al. The abundance of microbial functional genes in grassy woodlands is influenced more by soil nutrient enrichment than by recent weed invasion or livestock exclusion[J]. *Applied Environment Microbiology*, 2010, 76: 5547-5555.
- [21] FENG M, ADAMS J M, FAN K, et al. Long-term fertilization influences community assembly processes of soil diazotrophs[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 126: 151-158.
- [22] FAN K, WEISENHORN P, GILBERT J A, et al. Soil pH correlates with the co-occurrence and assemblage process of diazotrophic communities in rhizosphere and bulk soils of wheat fields[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 121: 185-192.
- [23] REARDON C L, GOLLANY H T, WUEST S B. Diazotroph community structure and abundance in wheat-fallow and wheat-pea crop rotations[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 69: 406-412.
- [24] 张学利, 杨树军, 张百习, 等. 不同林龄樟子松根际与非根际土壤的对比[J]. 福建林学院学报, 2005, 25(1): 80-84. ZHANG X L, YANG S J, ZHANG B X, et al. Comparative research on rhizosphere soil and non-rhizosphere soil properties in different stand age of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* sand-fixation forest[J]. *Journal of Fujian College of Forestry*, 2005, 25(1): 80-84.
- [25] 吴林坤, 李奇松, 李倩, 等. 玉米和花生间作下根际细菌群落结构与 PICRUS1 的功能预测分析[J]. 生态学报, 2023, 43(18): 7485-7496. WU L K, LI Q S, LI Q, et al. Analysis of rhizosphere bacterial community structure and PICRUS1-predicted functional categories in maize and peanut intercropping systems[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2023, 43(18): 7485-7496.
- [26] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. LU R K. Methods for agrochemical analysis of soil[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [27] ZHANG W, YUAN Y, YANG S, et al. ITS2 secondary structure improves discrimination between medicinal "Mu Tong" species when using DNA barcoding[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7): e0131185.
- [28] 李颖. 供氮水平对玉米/大豆间作体系氮素吸收和根际固氮菌多样性的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2021. LI Y. Study on nitrogen uptake and rhizosphere azotobacter diversity in maize/soybean intercropping by nitrogen fertilizer[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2021.
- [29] WU L, MA K, LU Y. Prevalence of beta proteobacterial sequences in *nifH* gene pools associated with roots of modern rice cultivars[J]. *Microbial Ecology*, 2009, 57(1): 58-68.
- [30] RODRIGUES COELHO M R, DE VOS M, CARNEIRO N P, et al. Diversity of *nifH* gene pools in the rhizosphere of two cultivars of sorghum (*sorghum bicolor*) treated with contrasting levels of nitrogen fertilizer[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, 279(1): 15-22.
- [31] 姚佳, 刘加欣, 苏焱, 等. 烟杆炭配施氮肥对玉米苗期生长、养分吸收及土壤特性的影响[J/OL]. 中国农业科技导报: 1-12[2023-03-19]. <https://doi.org/10.13304/j.nykjdb.2021.0698>. YAO J, LIU J X, SU Y, et al. Effects of combined application of tobacco stem biochar and nitrogen fertilizers on corn growth, nutrient uptake and soil properties in seeding stage[J/OL]. *Journal of Agricultural Science and*

- Technology: 1–12[2023–03–19]. <https://doi.org/10.13304/j.nykjdb.2021.0698>.
- [32] YU H L, LING N, WANG T T, et al. Responses of soil biological traits and bacterial communities to nitrogen fertilization mediate maize yields across three soil types[J]. *Soil and Tillage Research*, 2019, 185:61–69.
- [33] FENG J F, LI F B, DENG A X, et al. Integrated assessment of the impact of enhanced efficiency nitrogen fertilizer on N₂O emission and crop yield[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2016, 231: 218–228.
- [34] 刘爽, 姚佳妮, 沈聪, 等. 荒漠植物柠条根际土壤 *nifH* 基因荧光定量及固氮菌多样性分析[J]. 生物技术通报, 2022, 38(12): 252–262. LIU S, YAO J N, SHEN C, et al. Fluorescent quantitative PCR of *nifH* gene and diversity analysis of nitrogen-fixing bacteria in the rhizosphere soil of *Caragana* spp. of desert grassland[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2022, 38(12): 252–262.
- [35] 包海花. 一株寡养单胞菌及其应用和微生物菌剂[Z]. 河南: 中原环保股份有限公司, 2020–12–01. BAO H H. A strain of oligomonas and its application and microbial agents[Z]. Henan: Zhongyuan Environmental Protection Co., Ltd., 2020–12–01.
- [36] 王保莉, 岑剑, 武传东, 等. 过量施肥下氮素形态对旱地土壤细菌多样性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(7): 1351–1356. WANG B L, CEN J, WU C D, et al. Effects of nitrogen form on bacterium diversity in excessive fertilization dryland soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(7): 1351–1356.
- [37] MOHAMED H A, ABDEL W E, NIVIEN A N, et al. Synergistic interaction of *Rhizobium leguminosarum* bv. *viciae* and arbuscular mycorrhizal fungi as a plant growth promoting biofertilizers for faba bean (*Vicia faba* L.) in alkaline soil[J]. *Microbiological Research*, 2014, 169(1): 49–58.
- [38] MARKS B B, MEGÍAS M, NOGUEIRA M A, et al. Biotechnological potential of rhizobial metabolites to enhance the performance of *Bradyrhizobium* spp. and *Azospirillum brasilense* inoculants with soybean and maize[J]. *AMB Express*, 2013, 3(1): 21.
- [39] 田洪涛, 王甄桦, 冯国忠, 等. 增效氮肥在吉林黑土区玉米上的施用效果评价[J]. 玉米科学, 2021, 29(3): 176–182. TIAN H T, WANG Z Y, FENG G Z, et al. Evaluation of application effect of synergistic nitrogen fertilizers in maize in black soil area of Jilin Province[J]. *Journal of Maize Sciences*, 2021, 29(3): 176–182.
- [40] CHEN L, LI K K, SHI W J, et al. Negative impacts of excessive nitrogen fertilization on the abundance and diversity of diazotrophs in black soil under maize monocropping[J]. *Geoderma*, 2021, 393: 114999.
- [41] AI C, LIANG G Q, SUN J W, et al. Reduced dependence of rhizosphere microbiome on plant-derived carbon in 32-year long-term inorganic and organic fertilized soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 80: 70–78.
- [42] WANG C, ZHENG M, SONG W, 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.

(责任编辑:李丹)