



施氮量对番茄根际土壤细菌群落及氮转化功能的影响

杨祺, 李洁, 李刚, 吴梦莉, 赖欣, 居学海, 张贵龙

引用本文:

杨祺, 李洁, 李刚, 吴梦莉, 赖欣, 居学海, 张贵龙. 施氮量对番茄根际土壤细菌群落及氮转化功能的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(2): 403–411.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13254/j.jare.2022.0207>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

硒对油菜根际土壤微生物的影响

程勤, 胡承孝, 明佳佳, 蔡苗苗, 刘康, 汤艳妮, 赵小虎

农业资源与环境学报. 2021, 38(1): 104–110 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0061>

生物炭对青枯病烟株的根际土壤微生物群落结构调控机制分析

冯慧琳, 付兵, 任天宝, 杜君, 徐辰生, 曾强, 徐茜, 刘国顺

农业资源与环境学报. 2022, 39(1): 173–181 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2021.0018>

施氮对间作条件下玉米、马铃薯根际微生物群落功能多样性的影响

覃潇敏, 郑毅, 汤利, 龙光强

农业资源与环境学报. 2015(4): 354–362 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2014.0353>

深松和秸秆还田对灌耕灰钙土土壤细菌多样性和群落结构的影响

温美娟, 杨思存, 王成宝, 霍琳

农业资源与环境学报. 2023, 40(2): 423–433 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2022.0209>

减肥条件下生物质炭施用对水稻田土壤细菌多样性的影响

陈重军, 凌学林, 邢龙, 冯健, 吴羽希, 范静, 孙远博, 廖方新

农业资源与环境学报. 2021, 38(3): 385–392 <https://doi.org/10.13254/j.jare.2020.0327>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

杨祺, 李洁, 李刚, 等. 施氮量对番茄根际土壤细菌群落及氮转化功能的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(2): 403–411.

YANG Q, LI J, LI G, et al. Effects of nitrogen application on tomato rhizosphere bacterial community and nitrogen transformation function[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2023, 40(2): 403–411.

施氮量对番茄根际土壤细菌群落及氮转化功能的影响

杨祺¹, 李洁^{1*}, 李刚¹, 吴梦莉¹, 赖欣¹, 居学海², 张贵龙^{1*}

(1. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191; 2. 农业农村部农业生态与资源保护总站, 北京 100125)

摘要:为探究施氮量对番茄根际土壤细菌群落组成、结构和氮转化功能的影响,以设施番茄根际土壤为研究对象,通过盆栽试验,设置不施氮处理(CK, 0 kg·hm⁻²)、低氮处理(L, 115 kg·hm⁻²)、中氮处理(M, 225 kg·hm⁻²)和高氮处理(H, 450 kg·hm⁻²),采用高通量测序技术与FAPROTAX(Functional annotation of prokaryotic taxa)功能预测相结合的方法进行研究。结果表明,放线菌门(Actinobacteria)为主要优势细菌门,相对丰度为35.99%~40.06%,与CK处理相比,M处理放线菌门(Actinobacteria)的相对丰度显著提高,而H处理放线菌门的相对丰度显著降低。M处理的根际土壤细菌群落中,有益细菌属*Gaiella*、*Geminicoccus*、红杆菌属(*Solirubrobacter*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)的比例高于其他处理。施氮量变化未对根际土壤细菌群落的 α -多样性产生显著影响,但显著改变了氮转化功能类群的比例。FAPROTAX功能预测结果表明施氮提高了根际固氮、硝化和反硝化功能群的比例,而降低了铁呼吸功能群的占比。LEfSe富集分析结果显示,进行硝化作用的硝化杆菌属(*Nitrobacter*)和硝化螺菌属(*Nitrospira*)分别在L、M处理中占比较高。施氮显著改变了根际细菌群落结构,土壤硝态氮、全氮和电导率是驱动细菌群落结构变化的主要因子。综上所述,氮肥施用所引起的根际微环境变化改变了根际土壤细菌群落的组成和结构,并影响氮转化关键功能群的比例。225 kg·hm⁻²的施氮量提高了根际土壤有益细菌的比例,有益于番茄生产。

关键词:潮土;氮肥;番茄根际;氮转化;细菌多样性

中图分类号:S154.3;S641.2 文献标志码:A 文章编号:2095-6819(2023)02-0403-09 doi: 10.13254/j.jare.2022.0207

Effects of nitrogen application on tomato rhizosphere bacterial community and nitrogen transformation function

YANG Qi¹, LI Jie^{1*}, LI Gang¹, WU Mengli¹, LAI Xin¹, JU Xuehai², ZHANG Guilong^{1*}

(1. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China; 2. Rural Energy & Environment Agency, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100125, China)

Abstract: To investigate the effects of nitrogen application rate on bacterial community composition, structure, and function in tomato rhizosphere soil. A pot experiment was conducted with four nitrogen application treatments: 0 kg·hm⁻² (CK), 115 kg·hm⁻² (low N treatment, L), 225 kg·hm⁻² (medium N treatment, M), and 450 kg·hm⁻² (high N treatment, H). The bacterial community and functional prediction of the rhizosphere soil were assessed via high-throughput sequencing and functional annotation of prokaryotic taxa (FAPROTAX). Actinobacteria was the dominant bacterial phyla, with a relative abundance of 35.99% – 40.06%. Compared with CK, M treatment significantly increased the relative abundance of Actinobacteria, whereas H treatment significantly reduced its relative abundance. The proportion of beneficial bacteria, such as *Gaiella*, *Geminicoccus*, *Solirubrobacter* and *Arthrobacter* in the rhizosphere soil, was higher in the M treatment than in the other treatments. Nitrogen application rate did not significantly affect the α -diversity of the bacterial community of

收稿日期: 2022-04-18 录用日期: 2022-05-20

作者简介: 杨祺(1994—),男,甘肃武威人,硕士研究生,从事根际微生物生态学研究。E-mail: 519591850@qq.com

*通信作者: 李洁 E-mail: lijie@caas.cn; 张贵龙 E-mail: zhangguilong@caas.cn

基金项目: 中央级科研院所基本科研业务费专项(aepi-2022); 青海省重大科技专项课题(2019-NK-A11-01); 所级基础前沿任务资助项目(2022-jcqrw); 天津市蔬菜现代农业产业技术体系项目

Project supported: The Fundamental Research Funds for the Central Universities Research Institutes(aepi-2022); Qinghai Science and Technology Major Project(2019-NK-A11-01); Fundamental Cutting-edge Projects of Research Institute(2022-jcqrw); Tianjin Vegetable Modern Technology System Project

the rhizosphere soil, but significantly affected the proportion of nitrogen transformation functional groups. Moreover, the FAPROTAX function prediction showed that nitrogen application increased the proportion of nitrogen fixation, nitrification, and denitrification functional groups in the rhizosphere, but decreased the proportion of iron respiration functional groups. LEfSe analysis showed that *Nitrobacter* and *Nitrospira*, which are closely associated with nitrification, accounted for the highest proportion in L treatment and M treatment, respectively. Soil $\text{NO}_3\text{-N}$, total nitrogen, and electrical conductivity were the main factors driving the changes in the bacterial community structure in the tomato rhizosphere. In conclusion, the variation in rhizosphere micro-environmental factors caused by nitrogen application changed the composition and structure of the rhizosphere soil bacterial community and significantly affected the proportion of key functional groups in nitrogen transformation. Additionally, $225 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ increased the proportion of beneficial bacteria in the rhizosphere soil and would be beneficial to the growth and production of tomatoes in greenhouses.

Keywords: fluvo-aquic soil; nitrogen fertilizer; rhizosphere of tomato; nitrogen transformation; bacterial diversity

氮素是作物生长必需的大量营养元素,对其产量及品质形成具有主导作用。番茄(*Solanum lycopersicum*)作为黄淮海地区设施菜地的主栽作物,其种植同样受到氮素投入的限制。尽管高氮投入会刺激番茄生长和增加番茄产量,但过量施氮会增加硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)地下淋失,威胁地下水水质安全,同时影响土壤生态系统中发挥重要功能的微生物群落,危害土壤健康^[1-2]。近期研究发现,根际是调控土壤氮循环的关键区,在促进土壤氮转化和作物氮吸收方面起至关重要的作用^[3]。

根际汇聚着数量庞大且种类丰富的微生物群落,作为一个整体,生活在根际土壤中的微生物被统称为根际微生物^[4]。根际微生物为植物根系发育、养分吸收及物质代谢等提供支撑,同时其基因数量远大于植物,因此也常被称为植物的“第二基因组”^[5]。近年来,微生物扩增子测序、宏基因组、代谢组等技术快速发展,极大地推动了根际土壤微生物群落组成和功能研究。研究发现,根际微生物可以扩增植物基因库并提升其代谢能力,赋予或促进一系列重要的生命支持功能,包括养分利用、免疫调节和生物耐受性等^[4-6]。已有研究证明,氮素施用一方面为根际细菌提供养分底物,使其多样性提升^[7];另一方面,刺激植物根系释放分泌物,从而起到调控群落组成的作用^[8]。施氮导致的土壤养分变化是影响土壤根际细菌群落组成、结构和功能的重要因素,但对不同作物和土壤类型的研究结果不尽相同。研究人员利用变性梯度凝胶电泳、高通量测序等技术对不同施氮水平的水稻、玉米根际微生物群落组成进行研究,发现施氮量超过一定水平会导致作物根际细菌丰度和多样性上升,进而影响根际微生物群落结构,其中氮循环相关细菌的相对丰度显著提高,促进了固氮作用和氨化作用^[9-10]。但也有研究表明,施氮并未对高粱根际细菌群落组成和功能

产生显著影响^[11]。Wang等^[12]的研究表明氮肥添加会提高根际有机酸分泌,加剧土壤酸化,对根际土壤微生物多样性产生负面影响,亦使其功能微生物组成、结构发生改变。

番茄是我国黄淮海潮土区的主栽蔬菜作物^[13],然而,目前对于番茄根际土壤微生物的研究主要集中于青枯病等病理研究,鲜见氮素施用对番茄根际土壤细菌群落组成、结构和功能影响的报道。因此,为明确施氮对番茄根际细菌多样性及氮转化功能的影响,探究区域设施番茄的氮素适宜用量,亟需开展不同施氮水平下番茄根际土壤细菌群落组成、结构及氮转化相关功能群变化的研究。

本研究以黄淮海潮土区设施番茄根际土壤为研究对象,采取盆栽方式,设置4种氮肥施用水平,采用高通量测序技术,研究不同施氮量处理下根际土壤细菌群落组成和结构以及氮转化功能群的变化,明确根际土壤细菌群落和氮转化功能对氮肥输入的响应特征,为构建合理的施肥体系和发挥根际微生物的生态调控作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验在天津市武清区天民果蔬专业合作社($39^{\circ}32'\text{N}$, $117^{\circ}03'\text{E}$)的设施菜地中进行,该地区属于温带大陆性半湿润季风气候,年均气温 11.6°C ,年均活动积温 $4\,187.6^{\circ}\text{C}$,年均降水量 $520\sim 660 \text{ mm}$ 。自2010年起,该设施菜地的蔬菜生产采取黄瓜-番茄轮作的种植方式。

1.2 试验材料与试验设置

供试土壤采自设施菜地的试验温室,土壤类型为潮土,土壤基本理化性质如下:pH值8.79,全氮 $1.25 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全磷 $0.61 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,硝态氮 $8.24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,铵态氮

1.74 mg·kg⁻¹。将土壤过2 mm筛去除动植物残渣后混匀,于试验温室内静置两周进行预培养,随后装入栽培桶内(直径40 cm,高50 cm),每个栽培桶填装的土壤总质量为35 kg。通过测定质量法加入蒸馏水,使每盆土壤体积含水量保持在(35±5)%,使用土壤水分传感器(Unism, In., 北京)监测土壤含水量。供试番茄品种为“泰裕丰”,购自北京中农斯达农业有限公司;供试氮肥为尿素(N含量46.7%)。

试验共设置4个处理:不施氮处理(CK, 0 kg·hm⁻²)、低氮处理(L, 115 kg·hm⁻²)、中氮处理(M, 225 kg·hm⁻²)、高氮处理(H, 450 kg·hm⁻²),每个处理均设置3次重复。番茄种子经10% H₂O₂消毒后育苗,在番茄幼苗长至三叶一心时,将长势一致的植株移栽入栽培桶中,每个栽培桶移入2株。

1.3 根际土壤样品采集

番茄移栽30 d后采集根际土壤样品^[14]。采用抖落法收集根际土壤,轻轻抖落根上松散附着的土壤,然后用无菌刷将紧紧附着在根上的土壤扫下并装入无菌自封袋内,暂存于冰盒中并迅速送回实验室。将采集的根际土壤样品分为3份:1份样品转移至无菌管中,于-70℃保存,用于高通量测序;1份样品于-4℃冰箱中保存,用于土壤铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)含量的测定;1份样品经风干后用于其他土壤理化性质测定。

1.4 土壤理化性质测定

土壤理化性质测定参考《土壤农化分析》。采用电位法使用复合电极测定土壤pH[水土比(V/V)为2.5:1];使用DDSS-11A电导仪以5:1水土比测定土壤电导率(Electrical Conductance, EC);采用凯氏定氮法测定土壤全氮(Total Nitrogen, TN)含量;使用全自动连续流动分析仪(AA3, Bran+Luebbe Corp)测定土壤NH₄⁺-N和NO₃⁻-N含量;采用HClO₄-H₂SO₄消煮-钼锑抗比色法测定土壤全磷(Total Phosphorus, TP)含量;采用NaHCO₃浸提-钼锑抗比色法测定土壤有效磷(Available Phosphorus, AP)含量。

1.5 PCR扩增与高通量测序

使用PowerSoil®DNA Isolation Kit(MoBio Laboratories, Inc, 美国)按照操作说明从0.25 g根际土壤样品中提取土壤总DNA。采用引物对338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对细菌16S rRNA基因的V3~V4高变区进行扩增。PCR扩增程序如下:95℃预变性3 min, 35个循环(95℃变性30 s,

55℃退火30 s, 72℃延伸45 s),然后72℃稳定延伸10 min。PCR反应体系为:5×TransStart FastPfu缓冲液4 μL, 2.5 mmol·L⁻¹ dNTPs 2 μL, 上下游引物(5 μmol·L⁻¹)各0.8 μL, TransStart FastPfu DNA聚合酶1.0 U, 模板DNA 10 ng, 加ddH₂O补足至20 μL。试验中设置空白对照,空白对照和各处理DNA样品均进行3次平行试验。将同一样品的PCR产物混合后使用AxyPrepDNA凝胶回收试剂盒(AXYGEN公司)切胶回收,并用Tris-HCl缓冲液洗脱,最后采用2%琼脂糖电泳检测质量。采用Illumina公司的TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit制备测序文库,并使用Illumina Novaseq-Miseq测序平台进行测序。原始测序数据已提交至美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库, SRA编号为SUB10724275。

1.6 生物信息学分析

使用“EasyAmplicon”流程对根际土壤细菌群落进行分析^[15]。用VSEARCH将双端序列匹配合并,切除序列Barcode标签与左右两端引物,质控错误率小于1%,并以最小范围8去除冗余数据量。使用USEARCH调用unoise3对序列进行去噪,并基于100%的序列相似性阈值生成扩增序列变体(Amplicon Sequence Variants, ASVs)。利用VSEARCH调用uchime基于SILVA_132数据库去除嵌合体,并与SILVA_132数据库比对进行物种注释,然后生成ASV特征表,进而使用R语言“vegan”包对其进行物种注释信息的分类汇总。

1.7 统计分析

采用R语言“vegan”包计算细菌群落的Shannon和Chao1指数,并使用SPSS 23.0进行差异显著性检验(Duncan法, $P<0.05$)。采用基于Bray-Curtis距离的限制性主坐标分析(Constrained Principal Coordinate Analysis, CPCA)评价不同处理间细菌群落结构差异。采用冗余分析(Redundancy Analysis, RDA)进行细菌群落与环境因子的关联分析。采用LEfSe(Linear Discriminant Analysis Effect Size)方法鉴定各处理中发生富集的细菌类群, LDA值设置为>3, 类群的相对丰度设置为>0.1%。采用FAPROTAX(Functional Annotation of Prokaryotic Taxa)对细菌群落进行功能预测。最后调用R语言“ggplot2”包完成绘图。

2 结果与分析

2.1 番茄根际土壤理化性质

番茄根际土壤理化性质见表1。氮肥施用显著

改变了苗期根际土壤的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN和EC。根际土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量以及EC值随施氮量的增加而显著升高。根际土壤TN含量仅H处理显著高于CK处理。根际土壤pH值随施氮量的增加而整体下降。M处理的根际土壤TP含量显著高于CK处理。

2.2 番茄根际土壤细菌群落组成与多样性

系统发育分析表明,本研究中根际土壤细菌群落包含39个门126纲300目488科922属1 818种,其中放线菌门(Actinobacteria,相对丰度35.99%~40.06%)、变形菌门(Proteobacteria,相对丰度20.63%~23.53%)和酸杆菌门(Acidobacteria,相对丰度10.47%~13.20%)为优势菌门(图1a)。与CK处理相比,M处理放线菌门的相对丰度显著增加,而H处理放线菌门的相对丰度显著降低。属水平上的根际细菌群落组成如图1b所示,其中有益菌属*Gaiella*、*Geminicoccus*、红杆菌属(*Solirubrobacter*)和节杆菌属(*Arthrobacter*)的比例在各施氮处理中均高于CK处理,且在M处理中最高。根际细菌群落的Chao1指数和Shannon指数未因氮肥施用而发生显著变化(图2)。

2.3 番茄根际土壤细菌富集类群鉴定

基于LEfSe分析,共鉴定得到32个细菌富集类群,其中CK、L、M和H处理中分别有3、9、8和12个细菌类群发生富集(图3)。在属水平上,CK处理中*Blastocatella*和*c_Actinobacteria_g_Unassigned*发生富集,L处理中发生富集的属有3个,分别为硝化菌属(*Nitrobacter*)、鞘酯菌属(*Sphingobium*)和嗜酸菌属(*Acidovorax*),M处理中仅*Nitrospira*属发生富集,小月菌属(*Microlunatus*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)在H处理中的相对丰度显著高于其他处理。

2.4 番茄根际土壤细菌群落结构差异与影响因子分析

根际土壤细菌群落结构的CPCoA分析(图4)结果表明,CPCo 1和CPCo 2分别解释了细菌群落结构差异的36.63%和32.40%。各处理明显分离,表明氮肥施用显著改变了番茄根际土壤细菌群落结构。RDA分析(图5)结果显示, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN和EC是影响根际土壤细菌群落组成的主要环境因子($\text{NO}_3^-\text{-N}$: $R^2=0.499\ 4$, $P=0.035$;TN: $R^2=0.80$, $P=0.001$;EC: $R^2=0.62$, $P=0.008$)。

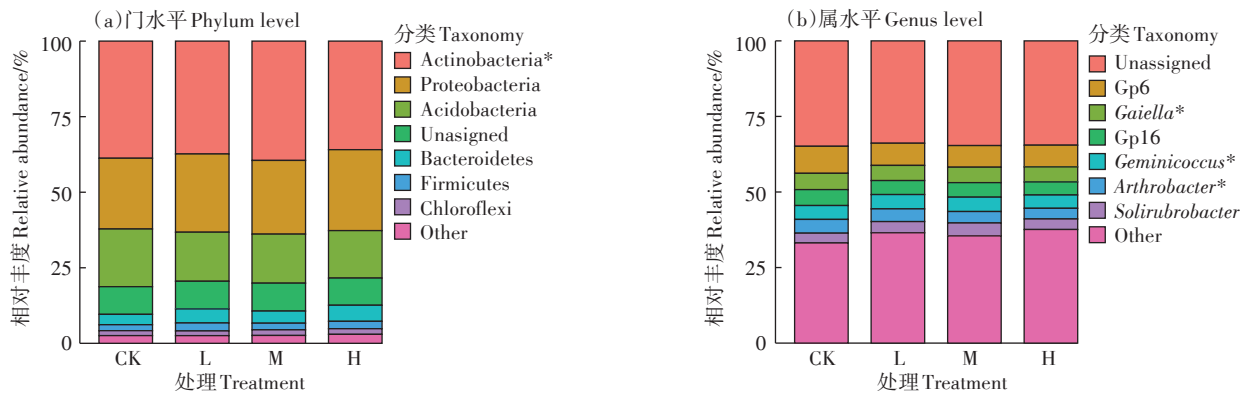
表1 番茄根际土壤理化性质

Table 1 Physico chemical properties of rhizosphere soil of tomato

处理	pH	$\text{NH}_4^+\text{-N}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	$\text{NO}_3^-\text{-N}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	$\text{TN}/(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	$\text{AP}/(\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1})$	$\text{TP}/(\text{g}\cdot\text{kg}^{-1})$	$\text{EC}/(\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1})$
CK	8.08±0.01a	1.76±0.09d	18.36±0.31d	1.24±0.05b	6.04±0.07a	0.61±0.00b	268.67±11.02d
L	8.06±0.01a	2.23±0.03c	37.33±0.22c	1.31±0.07ab	6.01±0.05a	0.61±0.01ab	334.30±12.01c
M	8.00±0.03b	2.76±0.09b	60.38±0.27b	1.37±0.04ab	6.08±0.03a	0.64±0.01a	641.87±9.61b
H	8.03±0.01ab	3.84±0.02a	108.07±1.53a	1.50±0.01a	6.12±0.06a	0.63±0.01ab	954.35±9.02a

注:数据为平均值±标准误($n=3$);同列不同小写字母表示不同处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Data are presented as mean±SE ($n=3$); different lowercase letters in the same column indicate significant difference among different treatments ($P<0.05$).

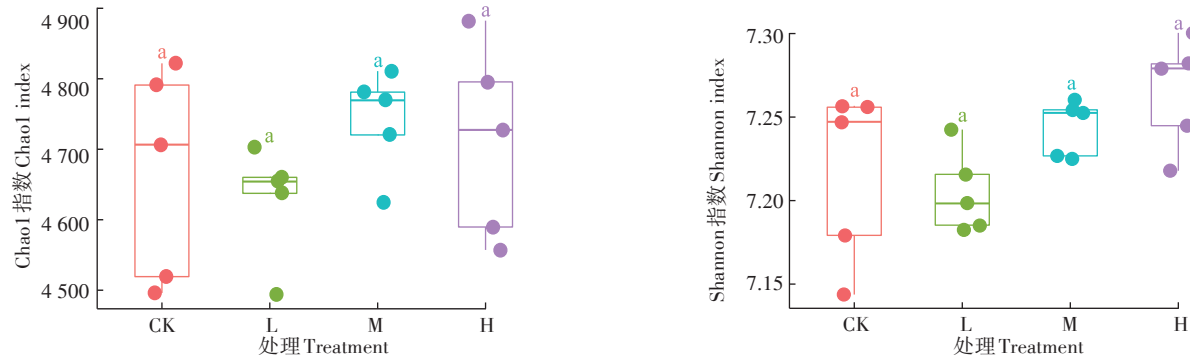


将相对丰度小于1%的门和属合并为other; *表示差异显著($P<0.05$)。

Phyla and genera with relative abundances lower than 1% are grouped as other; * indicates significant difference($P<0.05$).

图1 番茄根际细菌群落组成

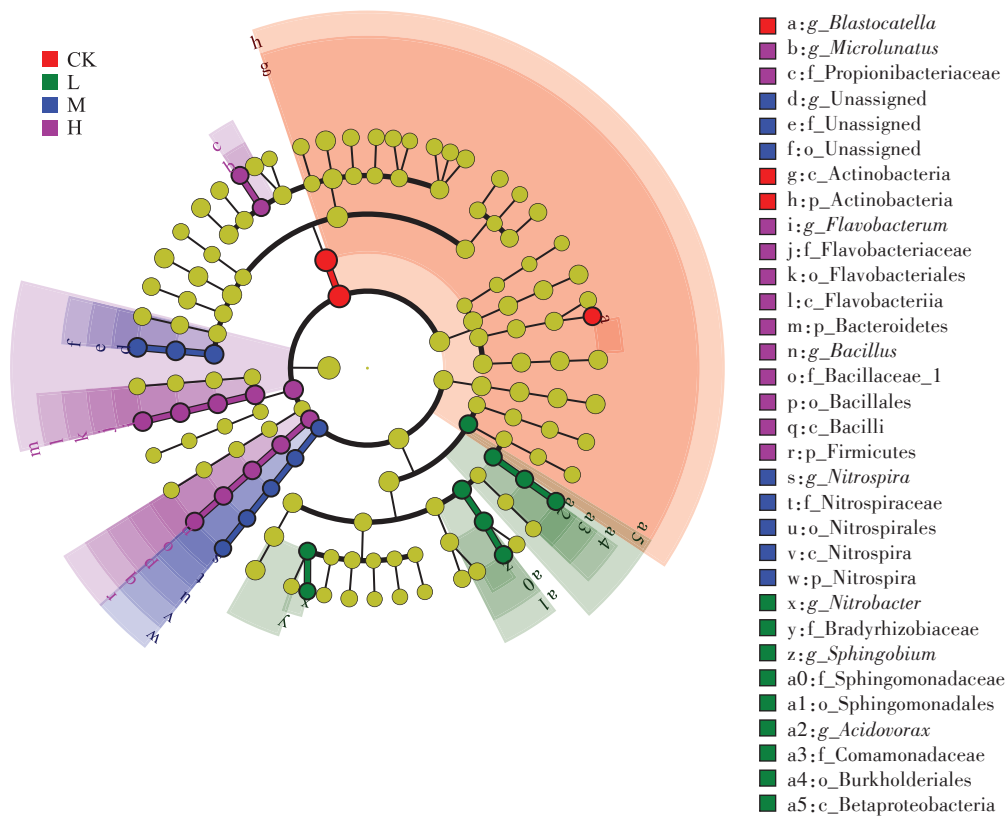
Figure 1 Tomato rhizosphere bacterial community composition



图中相同字母表示处理间差异不显著。
The same letter in the figure indicate no significant difference among different treatments.

图2 根际细菌群落 Chao1 指数和 Shannon 指数

Figure 2 Rhizosphere bacterial community Chao1 index and Shannon index



不同颜色节点表示在对应处理中显著富集,且存在显著影响的微生物类群;浅黄色节点表示在不同处理分组中均无显著差异或无显著影响的微生物类群。

Nodes with different colors represent the bacterial taxa that were significantly enriched in the corresponding treatments and had significant influences on the discrepancies among treatments; the light yellow nodes indicate the bacterial taxa that showed no significant difference among different treatments or had no significant effect on the discrepancies among treatments.

图3 番茄根际细菌群落的 LEfSe 分析

Figure 3 LEfSe analysis of tomato rhizosphere bacterial community

2.5 番茄根际土壤细菌氮转化功能群的变化

基于 FAPROTAX 功能将根际土壤细菌分类群映射到功能群,并根据处理间功能群相对丰度的差异显

著性,筛选出 6 种氮转化关键功能群,结果如图 6 所示。其中具有固氮(Nitrogen fixation)、硝化(Nitrification)和氧化亚氮反硝化(Nitrous oxide denitrification)

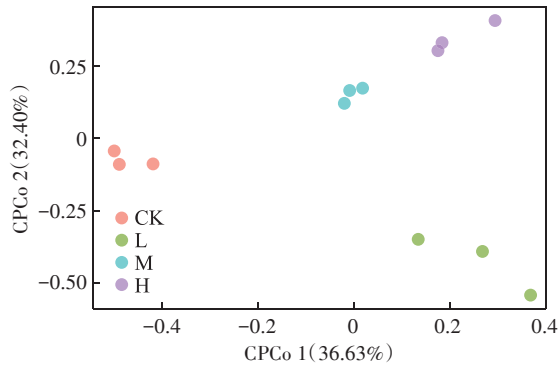


图4 番茄根际土壤细菌群落对氮素施用的响应(CPCoA分析)

Figure 4 Response of tomato rhizosphere soil bacterial community to nitrogen application(CPCoA analysis)

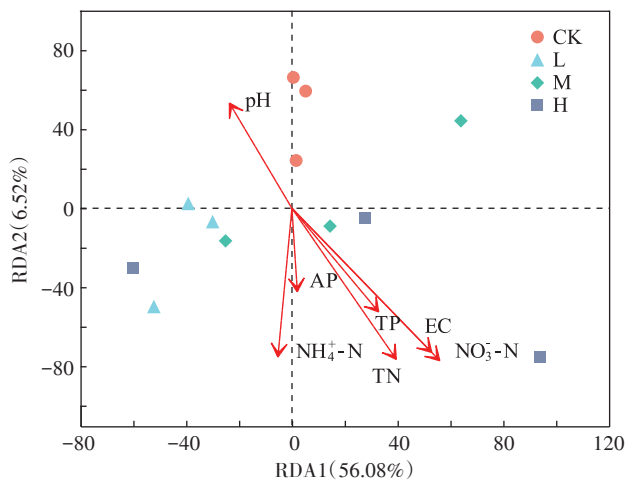


图5 土壤环境变量对番茄根际细菌群落的影响(RDA分析)

Figure 5 Effects of soil environmental variables on tomato rhizosphere bacterial community(RDA)

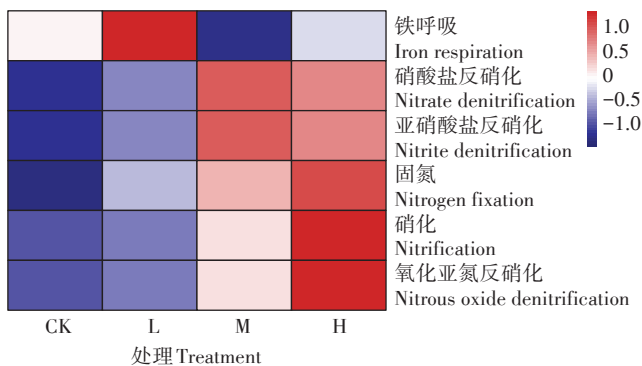


图6 番茄根际土壤细菌氮转化关键功能群对施氮的响应

Figure 6 Heat map based on the proportions of functional groups related to nitrogen transformations in tomato rhizosphere soil

作用的功能群的比例在H处理最高,M和H处理中执行硝酸盐反硝化(Nitrate denitrification)和亚硝酸盐反硝化(Nitrite denitrification)的功能群的占比高于CK

和L处理。此外,CK和L处理中具有铁呼吸作用(Iron respiration)的功能群的比例高于M和H处理。

3 讨论

3.1 施氮量对番茄根际土壤养分和细菌群落组成的影响

外源氮素输入土壤会改变土壤理化性质,进而使根际土壤微环境发生变化^[16]。施氮处理显著提高了根际土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN含量和EC值,说明施氮处理提升了土壤氮素供应和转化能力^[17]。RDA分析表明土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN和EC是驱动番茄根际土壤细菌群落变化的关键因子,说明氮素施用通过改变土壤氮素供应,进而影响根际土壤细菌群落结构^[18-19]。

根际微生物在养分利用等方面直接作用于农作物的生长发育和品质形成,因此其群落组成备受学界关注^[20-22]。研究表明,施用适量氮素($225\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)可促进 *Gaiella*、*Geminicoccus*、红杆菌属(*Solirubrobacter*)和节杆菌属(*Arthrobacter*)的菌株生长,该菌群在有机物矿化、促进糖代谢、调节养分平衡等方面发挥重要作用^[23-26],说明适量的氮素施用有利于这些菌属的生存和定殖,亦会促进作物生长。本研究中,与CK处理相比,施氮并未显著改变根际细菌群落多样性,这与覃潇敏等^[27]的研究结果不同,可能是因为苗期根际土壤细菌群落组成虽然发生了变化,但并未引起细菌群落丰富度和均匀度的改变(图2),因而其多样性指数变化不显著。

对各处理富集菌株进行分析发现,红杆菌属和嗜酸菌属(*Acidovorax*)在L处理中发生富集。Lowman等^[28]在对柳枝稷的研究中发现,在低氮条件下红杆菌属能够促进植株生长,使柳枝稷株高增加了27%。嗜酸菌属通过促进乙烯产生、磷酸三钙溶解、铁载体产生和淀粉水解,对植株产生有益影响^[29],说明在低氮量处理下,番茄根际可通过富集促生细菌促进作物生长,这与Lowman等^[28]的研究结果类似。此外,小月菌属(*Microlunatus*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)在H处理中富集,小月菌属能够促进土壤磷矿化^[30],黄杆菌属和芽孢杆菌属能够通过分泌抗菌物质防治植物病害^[29],说明在高施氮量条件下植株可能通过富集这些类群的细菌协助植株吸收磷素并抵御外界病原菌的侵染。

3.2 施氮量对番茄根际土壤细菌氮转化功能群的影响

氮转化微生物在土壤氮素循环中发挥重要作用,受氮肥施用的影响显著。富集类群鉴定结果显示硝

化杆菌属(*Nitrobacter*)和硝化螺菌属(*Nitrospira*)分别在L、M处理中发生富集,而H处理的富集菌中并无氮转化相关菌属。硝化杆菌属和硝化螺菌属可将土壤亚硝酸盐氧化成硝酸盐,在亚硝酸盐氧化过程中具有重要作用^[12,31],说明在低、中施氮量条件下,番茄根际可能发生更为强烈的硝化作用,促进硝态氮的供给,从而为番茄营养生长提供更多养分^[32]。本研究基于FAPROTAX功能预测也发现,施氮处理中硝化功能群的比例更高,这与房彦飞等^[33]的研究结果一致。

施氮不仅有利于硝化细菌富集,也能够促进反硝化细菌的生长,增加反硝化基因丰度^[34]。本研究中硝酸盐反硝化和亚硝酸盐反硝化功能群的占比在M处理中最高,而氧化亚氮反硝化功能群在H处理中比例最高,这可能是由于氧化亚氮反硝化类群的细菌以有机酸、类固醇等物质为碳和能量来源^[35-36],而高氮环境刺激植株根系释放有机酸、类固醇等物质^[37-38],因此,H处理提高了氧化亚氮反硝化功能群的占比。

固氮细菌是农田系统中增加土壤氮素固持的重要菌群,施氮处理可通过改变土壤氮有效性和土壤酸碱度等方式影响固氮菌的丰度和活性^[39]。本研究中铁呼吸功能群在CK和L处理中比例更高,这与Han等^[31]的研究结果相似,说明低氮环境中植物根际可通过合成并释放铁蛋白提高根系固氮酶活性,增加植物根系可利用氮的浓度。本研究固氮功能群在H处理中占比最高,这与以往一些研究结果相反,房彦飞等^[33]的研究显示,过量施氮会抑制固氮菌的生长。但廖李容^[37]的研究指出,高氮环境下植株根系可提高糖类和氨基酸类物质的分泌量,这些碳源底物能够满足固氮菌的需求,从而提高固氮类群的比例。本研究结果显示高施氮量处理下的番茄根际土壤具有更高比例的固氮功能群,但其生物作用机制仍需进一步探究。

综上,番茄根际土壤细菌群落结构和氮转化功能均受到施氮量的显著影响,说明氮肥在塑造根际土壤细菌群落结构中发挥重要作用。本研究基于高通量测序结果,通过FAPROTAX功能预测,探究了施氮对根际氮转化功能的影响。但FAPROTAX可预测的功能类群依赖于已发表的文献,预测结果准确度较高但覆盖面较低,因此其结果可能忽略了部分OTU的功能^[40]。后续可进一步采用定量PCR结合宏基因组的方法对番茄根际氮循环功能基因进行对比研究,以期更全面揭示施氮对根际细菌群落在土壤氮素转化和作物生长中的影响,为阐明根际微生物的生态调控作

用提供理论基础。

4 结论

(1)施肥所致的根际土壤微环境变化显著影响了根际细菌群落组成,其中表征土壤氮素供应的 $\text{NO}_3\text{-N}$ 、全氮和表征转化能力的电导率是关键驱动因子。

(2)施氮提高了与土壤铵态氮和硝态氮转化密切相关的硝化和反硝化功能群的比例,也相应增加了固氮功能类群的占比。其中,硝化杆菌属(*Nitrobacter*)和硝化螺菌属(*Nitrospira*)等硝化作用关键微生物在低、中施氮量处理中发生富集。

(3)中等施氮量同时提升了有益菌属 *Gaiella*、*Geminicoccus*、红杆菌属(*Solirubrobacter*)和节杆菌属(*Arthrobacter*)的比例,对番茄生产起到促进作用。

参考文献:

- [1] YING H, XUE Y F, YAN K, et al. Safeguarding food supply and groundwater safety for maize production in China[J]. *Environmental Science and Technology*, 2020, 54(16):9939-9948.
- [2] 刘平静,肖杰,孙本华,等.长期不同施肥措施下壤土细菌群落结构变化及其主要影响因素[J].植物营养与肥料学报,2020,26(2):307-315. LIU P J, XIAO J, SUN B H, et al. Variation of bacterial community structure and the main influencing factors in Eum-orthic Anthrosols under different fertilization regimes[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2020, 26(2):307-315.
- [3] 申建波,白洋,韦中,等.根际生命共同体:协调资源、环境和粮食安全的学术思路与交叉创新[J].土壤学报,2021,58(4):805-813. SHEN J B, BAI Y, WEI Z, et al. Rhizobiont: An interdisciplinary innovation and perspective for harmonizing resources, environment, and food security[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(4):805-813.
- [4] HIRUMA K, GERLACH N, SACRISTÁN S, et al. Root endophyte *Colletotrichum tofieldiae* confers plant fitness benefits that are phosphate status dependent[J]. *Cell*, 2016, 165(2):464-474.
- [5] WANG G Z, SCHULTZ P, TIPTON A, et al. Soil microbiome mediates positive plant diversity-productivity relationships in late successional grassland species[J]. *Ecology Letters*, 2019, 22(8):1221-1232.
- [6] ZHANG C L, ZHANG Y M, DING Z J, et al. Contribution of microbial inter-kingdom balance to plant health[J]. *Molecular Plant*, 2019, 12(2):148-149.
- [7] 李金婷,黄少欣,韦持章,等.不同氮素营养水平对茶树根际土壤微生物的影响及其在养分调控中的作用[J].华北农学报,2019,34(S1):281-288. LI J T, HUANG S X, WEI C Z, et al. Effects of different nitrogen levels on tea rhizosphere microbial community and its role in adjusting soil nutrients[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2019, 34(S1):281-288.
- [8] ZHANG J Y, LIU Y X, ZHANG N, et al. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(6):676-684.

- [9] 寿南松, 黄迪, 吴漪, 等. 不同施氮水平下配施硅肥对水稻根部周围土壤微生物群落结构的影响[J]. 土壤通报, 2021, 52(4): 903-911. SHOU N S, HUANG D, WU Y, et al. Effects of silicon on microbial community structure of rhizosphere soil of rice at different nitrogen levels[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2021, 52(4): 903-911.
- [10] 徐如玉, 左明雪, 袁银龙, 等. 氮肥用量优化对甜玉米氮肥吸收利用率及氮循环微生物功能基因的影响[J]. 南方农业学报, 2020, 51(12): 2919-2926. XU R Y, ZUO M X, YUAN Y L, et al. Effects of nitrogen fertilizer dosage optimization on nitrogen uptake content and utilization efficiency and microbial function genes of nitrogen cycle in sweet corn[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(12): 2919-2926.
- [11] 崔佩佩, 武爱莲, 王劲松, 等. 不同施肥处理对高粱根际土壤微生物功能多样性的影响[J]. 华北农学报, 2018, 33(5): 195-202. CUI P P, WU A L, WANG J S, et al. Effect of different fertilization treatments on soil microbial function diversity in rhizosphere of sorghum[J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2018, 33(5): 195-202.
- [12] WANG C, LIU D W, BAI E. Decreasing soil microbial diversity is associated with decreasing microbial biomass under nitrogen addition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 120: 126-133.
- [13] 辛竹琳, 崔彦娟, 杨小薇, 等. 全球蔬菜产业现状及中国蔬菜育种发展路径研究进展[J]. 分子植物育种, 2022, 20(9): 3122-3232. XIN Z L, CUI Y J, YANG X W, et al. Current situation of global vegetable industry and research progress of vegetable breeding development path in China[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2022, 20(9): 3122-3232.
- [14] 何云川, 宋鲜梅, 李楠, 等. 供氮水平对番茄苗期Q型烟粉虱成虫种群动态的影响[J]. 生态学杂志, 2020, 39(4): 1222-1230. HE Y C, SONG X M, LI N, et al. Effects of nitrogen level on population dynamics of adult Q-type *Bemisia tabaci* from tomato seedlings[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(4): 1222-1230.
- [15] 刘永鑫, 陈同, 周欣, 等. 易扩增子: 易用、可重复和跨平台的扩增子分析流程[R]. Bio-101, 2021: 2003641. LIU Y X, CHEN T, ZHOU X, et al. EasyAmplicon: An easy-to-use, reproducible and cross-platform pipeline for amplicon analysis[R]. Bio-101, 2021: 2003641.
- [16] LIU R Q, HE Y H, ZHOU G Y, et al. Mycorrhizal effects on decomposition and soil CO₂ flux depend on changes in nitrogen availability during forest succession[J]. *Journal of Ecology*, 2021, 109(11): 3929-3943.
- [17] 袁巧霞, 朱端卫, 武雅娟. 温度、水分和施氮量对温室土壤pH及电导率的耦合作用[J]. 应用生态学报, 2009, 20(5): 1112-1117. YUAN Q X, ZHU D W, WU Y J. Coupling effects of temperature, moisture and nitrogen application on greenhouse soil pH and EC[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2009, 20(5): 1112-1117.
- [18] 刘桂要, 陈莉莉, 袁志友. 氮添加对黄土丘陵区油松人工林根际土壤微生物群落结构的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(1): 117-126. LIU G Y, CHEN L L, YUAN Z Y. Effects of nitrogen addition on the structure of rhizosphere microbial community in *Pinus tabulaeformis* plantations on Loess Plateau, China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2019, 30(1): 117-126.
- [19] GUO Q X, YAN L J, HELENA K, et al. Plant-plant interactions and N fertilization shape soil bacterial and fungal communities[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 128: 127-138.
- [20] TAO K, KELLY S, RADUTOIU S. Microbial associations enabling nitrogen acquisition in plants[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2019, 49: 83-89.
- [21] HU L F, ROBERT C A M, SELMA C, et al. Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 2738.
- [22] 李娇娇, 曾明. 丛枝菌根对植物根际逆境的生态学意义[J]. 应用生态学报, 2020, 31(9): 3216-3226. LI J J, ZENG M. Ecological significance of arbuscular mycorrhiza on plant rhizosphere stress[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31(9): 3216-3226.
- [23] ALBUQUERQUE L, FRANÇA L, RAINEY F A, et al. *Gaiella occulta* gen. nov., sp. nov., a novel representative of a deep branching phylogenetic lineage within the class *Actinobacteria* and proposal of *Gaiellaceae* fam. nov. and *Gaiellales* ord. nov.[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2011, 34(8): 595-599.
- [24] SMITH J A, BAR-PELED M. Synthesis of UDP-apiose in Bacteria: The marine phototroph *Geminicoccus roseus* and the plant pathogen *Xanthomonas pisi*[J]. *PLoS ONE*, 2017, 12(9): e0184953.
- [25] SÁNCHEZ-MARAÑÓN M, MIRALLES I, AGUIRRE-GARRIDO J F, et al. Changes in the soil bacterial community along a pedogenic gradient[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 14593.
- [26] LU C, HONG Y, LIU J, et al. A PAH-degrading bacterial community enriched with contaminated agricultural soil and its utility for microbial bioremediation[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 251: 773-782.
- [27] 覃潇敏, 郑毅, 汤利, 等. 施氮对间作条件下玉米、马铃薯根际微生物群落功能多样性的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2015, 32(4): 354-362. QIN X M, ZHENG Y, TANG L, et al. Effects of nitrogen application rates on rhizosphere microbial community functional diversity in maize and potato intercropping[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2015, 32(4): 354-362.
- [28] LOWMAN S, KIM-DURA S, MEI C S, et al. Strategies for enhancement of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) performance under limited nitrogen supply based on utilization of N-fixing bacterial endophytes[J]. *Plant and Soil*, 2015, 405(1/2): 47-63.
- [29] CAVITE H J M, MACTAL A G, EVANGELISTA E V, et al. Growth and yield response of upland rice to application of plant growth-promoting rhizobacteria[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2021, 40(2): 494-508.
- [30] 刘成, 姜天翼, 王静, 等. 生物除磷系统中积磷小月菌研究进展[J]. 生物技术通报, 2018, 34(11): 91-96. LIU C, JIANG T Y, WANG J, et al. A review on *Microtholunatus phosphovorus* in enhanced biological phosphorus removal system[J]. *Biotechnology Bulletin*, 2018, 34(11): 91-96.
- [31] HAN S, HUANG Q Y, CHEN W L. Partitioning *Nitrospira* community structure and cooccurrence patterns in a long-term inorganic and organic fertilization soil[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2021, 21(2): 1099-1108.
- [32] 武星魁, 施卫明, 徐永辉, 等. 长期不同化肥氮用量对设施菜地土壤氮素矿化和硝化作用的影响[J]. 土壤, 2021, 53(6): 1160-1166.

- WU X K, SHI W M, XU Y H, et al. Effects of long-term different chemical nitrogen rates on soil nitrogen mineralization and nitrification in greenhouse vegetable field[J]. *Soils*, 2021, 53(6):1160-1166.
- [33] 房彦飞, 徐文修, 符小文, 等. 冬小麦施氮对复播大豆土壤微生物区系及产量的影响[J]. 核农学报, 2020, 34(8):1826-1833. FANG Y F, XU W X, FU X W, et al. Effects of nitrogen applied in winter wheat on soil microflora and yield of summer-sowing soybean[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2020, 34(8):1826-1833.
- [34] 周丽, 付智丹, 杜青, 等. 减量施氮对玉米/大豆套作系统中作物氮素吸收及土壤氨氧化与反硝化细菌多样性的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(6):1076-1087. ZHOU L, FU Z D, DU Q, et al. Effects of reduced N fertilization on crop N uptake, soil ammonia oxidation and denitrification bacteria diversity in maize/soybean relay strip intercropping system[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(6):1076-1087.
- [35] WANG P H, LEU Y L, ISMAIL W, et al. Anaerobic and aerobic cleavage of the steroid core ring structure by *Steroidobacter denitrificans*[J]. *Journal of Lipid Research*, 2013, 54(5):1493-1504.
- [36] TAKAICHI S, SASIKALA C, RAMANA C V, et al. Carotenoids in *Rhodoplanes* species: Variation of compositions and substrate specificity of predicted carotenogenesis enzymes[J]. *Current Microbiology*, 2012, 65(2):150-155.
- [37] 廖李容. 氮添加对白羊草土壤有机碳组分及根系分泌物的影响[D]. 杨凌:中国科学院大学(中国科学院教育部水土保持与生态环境研究中心), 2021:50-52. LIAO L R. Effects of nitrogen addition on soil organic carbon components and root exudates of *Bothriochloa ischaemum*[D]. Yangling: University of Chinese Academy of Sciences (Research Center of Soil and Water Conservation and Ecological Environment, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Education), 2021:50-52.
- [38] LI Y, WANG M D, TENG K, et al. Transcriptome profiling revealed candidate genes, pathways and transcription factors related to nitrogen utilization and excessive nitrogen stress in perennial ryegrass[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12(1):3533.
- [39] 雍太文, 陈平, 刘小明, 等. 减量施氮对玉米-大豆套作系统土壤氮素氨化、硝化及固氮作用的影响[J]. 作物学报, 2018, 44(10):1485-1495. YONG T W, CHEN P, LIU X M, et al. Effects of reduced nitrogen on soil ammonization, nitrification and nitrogen fixation in maize-soybean relay intercropping system[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2018, 44(10):1485-1495.
- [40] LIANG S C, DENG J J, JIANG Y, et al. Functional distribution of bacterial community under different land use patterns based on FA-PROTAX function prediction[J]. *Polish Journal of Environmental Studies*, 2019, 29(2):1245-1261.