



绿肥配施氮肥对岩溶区稻田土壤微生物群落的影响

蒲俊宇^{1,2,3}, 李忠义^{2*}, 钟菊新^{2,3}, 靳振江¹, 唐红琴², 韦彩会², 董文斌², 何铁光^{2*}, 李强³

1 桂林理工大学环境科学与工程学院, 广西 桂林 541004

2 广西农业科学院农业资源与环境研究所, 广西 南宁 530007

3 中国地质科学院岩溶地质研究所, 自然资源部/广西岩溶动力学重点实验室, 自然资源部岩溶生态系统与石漠化治理重点实验室, 广西 桂林 541004

蒲俊宇, 李忠义, 钟菊新, 靳振江, 唐红琴, 韦彩会, 董文斌, 何铁光, 李强. 绿肥配施氮肥对岩溶区稻田土壤微生物群落的影响. 微生物学报, 2022, 62(6): 2417–2432.

Pu Junyu, Li Zhongyi, Zhong Juxin, Jin Zhenjiang, Tang Hongqin, Wei Caihui, Dong Wenbin, He Tieguang, Li Qiang. Effect of the combination of green manure with nitrogen fertilizer on microbial community in karst paddy soil. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2417–2432.

摘要: 绿肥参与耕作改制是土壤培肥及作物增产的有效措施, 对土壤微生物群落结构及多样性的影响至关重要。【目的】研究绿肥配施氮肥对岩溶区稻田土壤微生物群落结构的影响, 阐明微生物、土壤生态环境因子及作物产量的相互关系, 为岩溶稻区绿肥替代氮肥提供理论依据和数据支撑。【方法】以典型岩溶稻田土壤为研究对象, 设置冬闲+不施氮肥(CK)、冬闲+氮肥(N)、绿肥+不施氮肥(M)、绿肥+氮肥(MN) 4 个处理, 通过 3 年田间定位试验, 对土壤微生物进行高通量测序, 解析不同施肥处理对细菌和真菌群落的影响。【结果】与 CK 相比, MN 处理显著提高了早稻产量, 提升了土壤有机质、全氮、碱解氮和速效钾含量, 降低了速效磷含量。MN 处理显著提高细菌群落丰富度及多样性, 而真菌群落丰富度和多样性在 MN 处理有降低趋势。岩溶稻田土壤优势细菌类群主要为 *Chloroflexi*、*Proteobacteria* 和 *Acidobacteria* 等, 优势真菌类群主要为 *Ascomycota*、*Basidiomycota* 和 *Zygomycota* 等。冗余分析(RDA)结果表明, 土壤速效钾是影响土壤细菌群落组成的关键环境因子。共现网络分析结果表明, 细菌-真菌群落交互关系主要以正相互作用为主, 细菌主要类群为 *Chloroflexi* 和 *Proteobacteria*, 真菌主要类群为 *Ascomycota* 和

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFD1700200); 广西重点研发计划(桂科 AB19110004); 国家自然科学基金(41867008)
Supported by the National Key Research and Development Program of China (2021YFD1700200), by the Guangxi Key Research and Development Program (GuikeAB19110004) and by the National Natural Science Foundation of China (41867008)

*Corresponding authors. LI Zhongyi, Tel: +86-771-3245836, E-mail: lizhongyi2007@163.com; HE Tieguang, E-mail: tghel18@163.com

Received: 13 February 2022; Revised: 10 April 2022; Published online: 17 April 2022

Basidiomycota。【结论】绿肥翻压配施氮肥有利于改善土壤养分含量，其效果优于单施绿肥或单施氮肥，且有利于改善土壤微生物学性状，为岩溶区绿肥替代氮肥提供了数据支撑。

关键词：绿肥；氮肥；岩溶稻田；微生物群落；主要类群

Effect of the combination of green manure with nitrogen fertilizer on microbial community in karst paddy soil

PU Junyu^{1,2,3}, LI Zhongyi^{2*}, ZHONG Juxin^{2,3}, JIN Zhenjiang¹, TANG Hongqin², WEI Caihui², DONG Wenbin², HE Tieguang^{2*}, LI Qiang³

1 College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541004, Guangxi, China

2 Agricultural Resource and Environment Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, Guangxi, China

3 Key Laboratory of Karst Dynamics, Ministry of Natural Resources & Guangxi, Institute of Karst Geology, Key Laboratory of Karst Ecosystem and Treatment of Rocky Desertification, Ministry of Natural Resources, Chinese Academy of Geological Science, Guilin 541004, Guangxi, China

Abstract: Application of green manure is an effective measure to improve soil fertility and crop yield, which is very important to the structure and diversity of soil microbial community. **[Objective]** To study the effect of green fertilizer combined with nitrogen fertilizer on microbial community structure in karst paddy soil, clarify the interaction among microorganisms, soil environmental factors, and crop yield, and thereby provide theoretical basis and evidence for the replacement of nitrogen fertilizer with green manure in karst area. **[Methods]** A three-year experiment was carried out on the typical karst paddy soil with the following four treatments: winter fallow + no nitrogen fertilizer (CK), winter fallow + nitrogen fertilizer (N), green manure + no nitrogen fertilizer (M), and green fertilizer + nitrogen fertilizer (MN). Soil microorganisms were sequenced with high throughput sequencing technology to analyze the effect of different fertilization treatments on bacterial and fungal communities. **[Results]** Compared with CK, MN significantly increased the early rice yield, and the content of soil organic matter (SOM), total nitrogen (TN), available nitrogen (AN), and available potassium (AK), and decreased the content of available phosphorus (AP). Compared with other treatments, MN significantly raised soil bacterial richness and diversity, while the richness and diversity of fungal community decreased in MN. *Chloroflexi*, *Proteobacteria*, and *Acidobacteria* dominated the bacteria, and *Ascomycota*, *Basidiomycota*, and *Zygomycota* were dominant fungal taxa in the karst paddy soil. Redundancy analysis (RDA) revealed that soil AK was the key factor affecting the composition of soil bacterial community. Co-occurrence network analysis indicated that there were mostly synergistic and reciprocal relationships among microorganisms. The main bacterial groups were from *Chloroflexi* and *Proteobacteria*, and the main fungal groups were *Ascomycota* and *Basidiomycota*. **[Conclusion]** The combined use of green manure and nitrogen fertilizer can help increase soil nutrient content, and the effect is better than that of the application of chemical green alone or nitrogen fertilizer alone. Moreover, the combination can improve soil microbiological properties. This study provides evidence

for the substitution of green fertilizer for nitrogen fertilizer in karst area.

Keywords: green fertilizer; nitrogen fertilizer; karst paddy field; microbial community; main groups

土壤微生物是根际生态系统中最为活跃的部分,它参与了营养物质形成与分解、养分循环与转化以及能量流动等生态过程,对于维持土壤生态质量和肥力、促进地上作物生长发育具有重要作用^[1]。细菌是土壤根际微生物的关键菌群之一,对于调节土壤生态过程具有重要的功能性作用,如有机质的分解及氮的分解和矿化过程等^[2]。真菌作为重要的分解者,能够分解复杂的木质素与纤维素,还能与作物共生形成菌根,为作物生长提供养分^[3]。土壤细菌和真菌对于环境变化相当敏感,其群落结构及多样性常被作为评价土壤地力的重要指标^[4]。

绿肥作为一种清洁高效的有机肥源,在我国水稻生产中应用较广。施用绿肥能改善长期单施氮肥造成土壤肥力下降的问题,为土壤及作物提供了丰富的有机养分;同时,绿肥配施氮肥还能有效提高氮素利用效率,对水稻增产稳产具有重要作用^[5]。研究表明,绿肥配施氮肥通过改善土壤理化性状,可直接或间接地改变土壤微生物群落多样性^[6]。崔月贞等^[7]研究发现,绿肥还田显著提升土壤微生物总数量,增加土壤细菌占比,降低真菌占比;Zhang 等^[8]认为长期绿肥轮作增加了水稻根际细菌的丰度,并促进了水稻根际有益细菌的积累;李晋等^[9]从真菌角度揭示油菜绿肥对土壤的培肥效果,发现绿肥还田降低了真菌的丰富度,减轻了土壤真菌化程度。此外,微生物间的相互作用是其群落互作网络的组成部分,能用于预测和改善土壤生态功能^[10],而这种作用可能较物种本身丰度及多样性对群落的影响更为重要^[11-12]。研究表明,微生物网络共现差异受外界环境影响^[13],微生物的相互作用亦受土壤养

分驱动^[14];因此,外源肥料投入势必扰动细菌和真菌间互作关系。

我国南方岩溶区稻田土壤生态系统受到较为明显的环境制约,其土壤母质生态功能相对脆弱^[15-16]。当前,有关施肥影响土壤微生物群落的研究集中于非岩溶区^[13,17],而岩溶地区特殊环境条件导致土壤微生物组成与非岩溶区存在差异^[18-19]。因此,为进一步探究岩溶地区绿肥配施氮肥对土壤养分状态、细菌和真菌群落特征及其潜在交互关系的影响,本研究采用大田定位试验,通过高通量测序技术,分析绿肥配施氮肥对岩溶稻田土壤细菌和真菌群落结构及多样性的影响,解析微生物与环境因子间的相关性,明确绿肥配施氮肥对土壤养分调控是否具有积极作用,以期为岩溶区绿肥替代氮肥提供理论依据和数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验区位于广西壮族自治区南宁市那桐镇定典村(23°0'29"N、107°51'34"E),该地属亚热带季风气候,年平均气温 21.6 °C,年均降水量约达 1 300 mm,平均海拔 64 m。土壤类型为典型岩溶区棕黄色水稻土。土壤基础理化性状为:pH 值 6.81、有机质 31.3 g/kg、全氮 1.90 g/kg、碱解氮 136 mg/kg、速效磷 19.4 mg/kg、速效钾 161 mg/kg。

1.2 试验设计

大田试验开始于 2018 年 10 月,采用绿肥-早稻-晚稻连作的种植模式。该试验设置 4 个处理,分别为冬闲+不施氮肥(CK)、冬闲+氮肥(N)、绿肥+不施氮肥(M)、绿肥+氮肥(MN),采用随

机机组排列, 3 次重复, 单个试验小区面积为 20.7 m²。绿肥品种为紫云英(桂紫 7 号), 紫云英播种量为 30 kg/hm², 盛花期原位全量还田, 还田时间为 2021 年 3 月 22 日。供试水稻(桂育 9 号)于 4 月 7 日移栽, 7 月 13 日收割; 水稻移栽后, 除水稻分蘖后期晒田 7 d 及收获前 12 d 内不灌水, 其余时间保持田面水层高度 4–5 cm。施肥量分别为 N 180 kg/hm²、P₂O₅ 90 kg/hm² 和 K₂O 120 kg/hm²(表 1), 肥料种类分别为尿素(含 N 46.4%)、过磷酸钙(含 P₂O₅ 18.0%)和氯化钾(含 K₂O 60%), 磷肥和钾肥作为基肥一次性施入, 氮肥按基肥:分蘖肥:攻穗肥=4:3:3 分次施入稻田。

1.3 样品采集与分析

经过 3 年的定位试验, 于 2021 年早稻成熟期测产考种并采集土壤样品。各小区随机调查 10 蔸水稻的有效穗数, 并取代表性 5 蔸, 测量穗长, 考查穗粒数、结实率、千粒重。测产时各小区单打单收, 晒干风净后折算成每公顷产量。各小区土壤样品按五点采样法采集 0–20 cm 耕作层土壤, 均匀混合为 1 个样本。去除根系杂质后, 取一部分放入–80 °C 冰箱保存, 以备提取土壤微生物 DNA, 进行微生物分析; 另取一部分自然风干后保存, 进行土壤理化性状测定。每个处理的微生物重复测定 3 次, 每个样品的理化性状重复测定 3 次。

表 1 不同处理施肥量

Table 1 Different fertilization treatments

Treatments	N/ (kg/hm ²)	P ₂ O ₅ / (kg/hm ²)	K ₂ O/ (kg/hm ²)
CK	0	90	120
N	180	90	120
M	0	90	120
MN	180	90	120

CK: winter fallow coupled with no nitrogen fertilizer; N: winter fallow coupled with nitrogen fertilizer; M: green fertilizer coupled with no nitrogen fertilizer; MN: green fertilizer coupled with nitrogen fertilizer ($n=3$).

土壤理化性状分析方法参照《土壤农业化学分析方法》测定^[20]。pH 值采用电位法测定(土:水=1:2.5, 质量体积比); 土壤有机质(soil organic matter, SOM)采用重铬酸钾-硫酸铜氧化法测定; 速效磷(available phosphorus, AP)采用碳酸氢钠-钼锑抗比色法测定; 速效钾(available potassium, AK)采用乙酸铵-火焰光度计法; 碱解氮(available nitrogen, AN)采用碱解扩散法测定; 全氮(total nitrogen, TN)采用浓硫酸消煮-凯式定氮法测定; 交换性钙(exchangeable calcium, E-Ca)、镁(exchangeable magnesium, E-Mg)采用乙酸铵交换-原子吸收分光光度计法测定。

土壤样品由广东美格基因科技有限公司使用 Illumina Novaseq 高通量测序平台的 PE250 模式进行微生物测序。选取引物序列 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGTAA-3') 和 970R (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3') 对细菌 16S rRNA 基因的 V4–V5-1 区段进行扩增; 选取引物序列 ITS1F (5'-TCCGTAGGTGAACCTGGG-3') 和 ITS2-2043R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 对真菌 ITS 基因的 ITS1–4 区段进行扩增。首先对文库进行质检, 质检合格后开始测序, 然后对测序得到的序列进行质控, 以去除嵌合体和短序列; 利用 cluster 命令对 97% 相似水平的 OTU (operational taxonomic unit) 代表序列进行分类学分析; 最后使用 QIIME 软件计算土壤细菌和真菌的多样性指数。

1.4 数据处理与分析

利用 Microsoft Excel 2021 进行基本数据处理。水稻产量及其构成因子、土壤理化性状等差异显著性采用单因素方差分析(one-way ANOVA), LSD ($P<0.05$) 进行比较; 采用 Origin (2018) 绘制土壤细菌、真菌物种分布图及优势类群相对丰度图; 利用 R Studio (Version 4.1.2) 实

现基于 Bray-cruits 距离的主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA); 采用 IBM SPSS Statistics 25 对水稻产量、土壤理化性状及细菌、真菌群落进行 Spearman 相关性分析, 并利用 TB tools 实现相关性可视化; 利用 Canoco 软件进行冗余分析(redundancy analysis, RDA); 选取细菌和真菌优势 OTU 为数据源, 于 Gephi (Version 9.2)实现细菌与真菌的互作网络分析^[21]。

2 结果与分析

2.1 稻谷产量及其构成因子

不同施肥措施下早稻产量、有效穗数、穗长、穗粒数、千粒重和结实率见表 2。MN 处理下, 早稻有效穗数、穗长及其穗粒数显著高于

CK 和 M 处理; 而各处理下千粒重和结实率无显著差异, 说明绿肥配施氮肥可有效提高有效穗数、穗长及穗粒数。与 CK、N 和 M 相比, MN 处理显著增加了早稻产量, 增幅分别为 41.9% (CK-MN)、12.06% (N-MN)和 16.15% (M-MN), 说明绿肥配施氮肥有利于提高早稻产量。

2.2 土壤理化性状

各处理土壤理化性状单因素方差分析结果如表 3 所示, 与 CK 相比, MN 处理显著提高了土壤 SOM、AK、AN 和 TN 含量, 降低了 AP 含量; 与 N 比, MN 处理显著提高了 SOM 和 AK 含量, 降低了 pH 值; 与 M 比, MN 处理显著提高了土壤 pH 值和 AK 含量。与 CK、N 和 M 相比, MN 处理下 E-Ga、E-Mg 无显著差异。

表 2 不同施肥措施下稻谷产量及其构成因子

Table 2 Early rice yield and its components under different fertilization measures

Yield components of rice	CK	N	M	MN
Effective panicle/($\times 10^4/\text{hm}^2$)	202.50 \pm 19.60c	229.50 \pm 17.13a	212.25 \pm 14.09b	238.50 \pm 19.24a
Panicle length/cm	23.86 \pm 1.16c	25.22 \pm 0.67ab	24.80 \pm 0.73b	25.65 \pm 0.78a
Spikelet per panicle	152.27 \pm 3.99d	167.93 \pm 2.43b	161.40 \pm 3.66c	171.27 \pm 3.73a
1 000-grain weight/g	25.17 \pm 0.30a	25.23 \pm 0.29a	25.22 \pm 0.23a	25.29 \pm 0.35a
Filled grain percentage/%	81.03 \pm 3.30a	81.24 \pm 1.64a	81.19 \pm 2.12a	81.06 \pm 2.14a
Yield/(kg/hm ²)	4 696.39 \pm 348.72c	5 945.00 \pm 376.46b	5 735.56 \pm 126.86b	6 661.94 \pm 120.56a

CK: winter fallow coupled with no nitrogen fertilizer; N: inter fallow coupled with nitrogen fertilizer; M: green fertilizer coupled with no nitrogen fertilizer; MN: green fertilizer coupled with nitrogen fertilizer. The value is mean \pm standard error, and different letters indicate significant difference between treatments ($P < 0.05$).

表 3 不同施肥措施下土壤理化性状

Table 3 Physical and chemical properties of paddy soil under different fertilization

Soil factor	CK	N	M	MN
Soil pH	6.98 \pm 0.05b	7.10 \pm 0.04a	6.89 \pm 0.06c	6.95 \pm 0.02b
SOM/(g/kg)	30.37 \pm 1.00c	31.69 \pm 1.56b	32.55 \pm 0.22ab	33.07 \pm 1.11a
AP/(mg/kg)	18.32 \pm 0.49a	16.14 \pm 0.92b	16.68 \pm 0.53ab	14.99 \pm 0.51b
AK/(mg/kg)	164.74 \pm 3.09b	160.03 \pm 8.72b	160.75 \pm 8.84b	180.51 \pm 6.09a
AN/(mg/kg)	131.32 \pm 1.14b	138.28 \pm 5.51a	142.68 \pm 2.04a	142.86 \pm 9.31a
TN/(g/kg)	1.92 \pm 0.04b	2.02 \pm 0.05a	2.04 \pm 0.04a	2.05 \pm 0.08a
E-Ca/(cmol/kg)	8.35 \pm 0.26ab	8.84 \pm 0.68a	8.13 \pm 0.53b	8.41 \pm 0.52ab
E-Mg/(cmol/kg)	0.57 \pm 0.04a	0.56 \pm 0.02a	0.54 \pm 0.07a	0.56 \pm 0.01a

CK: winter fallow coupled with no nitrogen fertilizer; N: inter fallow coupled with nitrogen fertilizer; M: green fertilizer coupled with no nitrogen fertilizer; MN: green fertilizer coupled with nitrogen fertilizer. pH: potential of hydrogen; SOM: soil organic matter; AP: available phosphorus; AK: available potassium; AN: available nitrogen; TN: available nitrogen; E-Ca: exchangeable calcium; E-Mg: Exchangeable magnesium. The value is mean \pm standard error, and different letters indicate significant difference between treatments ($P < 0.05$).

2.3 土壤微生物丰富度及多样

土壤细菌 16S rRNA 的 V4-V5-1 区段测序结果共得到 665 210 条序列, 最小抽样深度序列数为 31 219, 包含 3 160 个 OTU, 分别属于细菌的 53 门、121 纲、232 目、421 科、1 072 属。如表 4 所示, 与 CK、N 和 M 相比, MN 处理提高土壤细菌的群落丰富度(observed OTU)和多样性(Shannon)指数, 说明绿肥和氮肥配施对土壤细菌群落丰富度及多样性的改善效果优于单施氮肥或单施绿肥。土壤真菌 ITS 的 ITS1-4 区段测序

表 4 不同施肥措施下土壤微生物丰富度及多样性指数

Table 4 Richness and diversity index of soil microbial under different fertilization

Microbial	Diversity index	CK	N	M	MN
Bacteria	Observed OTU	2 737±370b	2 639±76b	2 486±44b	3 160±159a
	Chao1	3 530.95±895.07ab	3 273.25±141.95b	3 049.63±60.18b	4 380.85±289.54a
	Shannon	9.09±0.31b	9.00±0.08b	8.85±0.12b	9.46±0.12a
	Simpson	0.992 2±0.00ab	0.991 5±0.00b	0.990 4±0.00b	0.994 5±0.00a
Fungi	Observed OTU	955±143.62a	991±149.60a	1 034±226.66a	744±85.56a
	Chao1	1 350.42±169.06a	1 330.02±172.39a	1 269.17±302.75a	1 066.87±99.32a
	Shannon	5.51±0.67ab	5.64±0.62ab	6.15±1.10a	4.51±0.65b
	Simpson	0.91±0.02a	0.92±0.01a	0.92±0.05a	0.86±0.05a

CK: winter fallow coupled with no nitrogen fertilizer; N: winter fallow coupled with nitrogen fertilizer; M: green fertilizer coupled with no nitrogen fertilizer; MN: green fertilizer coupled with nitrogen fertilizer. The value is mean±standard error, and different letters indicate significant difference between treatments ($P<0.05$).

表 5 稻谷产量与土壤因子及微生物相丰富度和多样性的相关性分析

Table 5 Correlation analysis of rice yield with soil factors and microbial richness and diversity

Soil/Microbe Index	<i>r</i>	<i>P</i>	
Soil factor	pH	-0.081	0.803
	SOM	0.732**	0.007
	AP	-0.543	0.068
	AK	0.413	0.182
	AN	0.532	0.075
	TN	0.666*	0.018
	E-Ca	-0.105	0.745
	E-Mg	-0.116	0.721
Bacteria	Observed OTU	0.480	0.114
	Chao1	0.599*	0.040
	Shannon	0.375	0.230
	Simpson	0.438	0.155
Fungi	Observed OTU	-0.508	0.092
	Chao1	-0.588*	0.044
	Shannon	-0.476	0.117
	Simpson	-0.550	0.064

*: significant correlation ($P<0.05$); **: extremely significant correlation ($P<0.01$).

结果共得到 855 932 条序列, 最小抽样深度序列数为 21 507, 包含 1 034 个 OUT, 分别属于 7 门、30 纲、88 目、221 科、501 属。与 CK、N 和 M 相比, MN 处理有降低土壤真菌的丰富度及多样性指数的趋势, 但与其他处理差异不显著。

2.4 稻谷产量与土壤因子及微生物丰富度和多样性的相关性分析

为探究稻谷产量与土壤因子及微生物丰富度和多样性的相关性, 进行 Spearman 相关性分析, 结果如表 5 所示。在土壤因子方面, 稻谷产量与

SOM 含量呈极显著正相关, 与 TN 显著正相关; 在土壤微生物方面, 稻谷产量与细菌 Chao 1 指数呈显著正相关, 而与真菌 Chao 1 指数呈显著负相关。

2.5 土壤微生物群落结构及组成

基于 Bray-cruits 距离的 PCoA 分析结果表明(图 1), 不同施肥处理对土壤细菌群落结构的影响大于真菌。

如图 2 所示, 在门水平上, 不同处理下岩溶稻田土壤细菌类群相对丰度大于 1% 的优势菌群共 12 个(图 2A), 占土壤细菌群落总数的 96.17% 以上。其中, *Chloroflexi* 的相对丰度最高, 各处理 *Chloroflexi* 相对丰度分别为 37.64% (CK)、39.86% (N)、41.83% (M) 和 33.04% (MN); 其次, 相对丰度较高的优势菌群分别为 *Proteobacteria* (19.07%–23.76%)、*Acidobacteria* (9.33%–11.39%) 和 *Actinobacteria* (1.92%–2.35%)。与 CK、N 和 M

处理相比, MN 处理降低了 *Chloroflexi* 的相对丰度, 增加了 *Proteobacteria*、*Acidobacteria* 和 *Planctomycetes* 的相对丰度(图 2C)。基于 ITS 基因测序结果, 不同处理下岩溶稻田土壤真菌在门水平上相对丰度大于 1% 的优势菌群共 3 个(图 2B),

分别为 *Ascomycota* (50.29%)、*Basidiomycota* (38.46%)和 *Zygomycota* (10.19%), 占土壤真菌群落总数的 99.00%以上。与 CK、N 和 M 处理相比, MN 处理增加了 *Ascomycota* 的相对丰度, 降低了 *Basidiomycota* 的相对丰度。

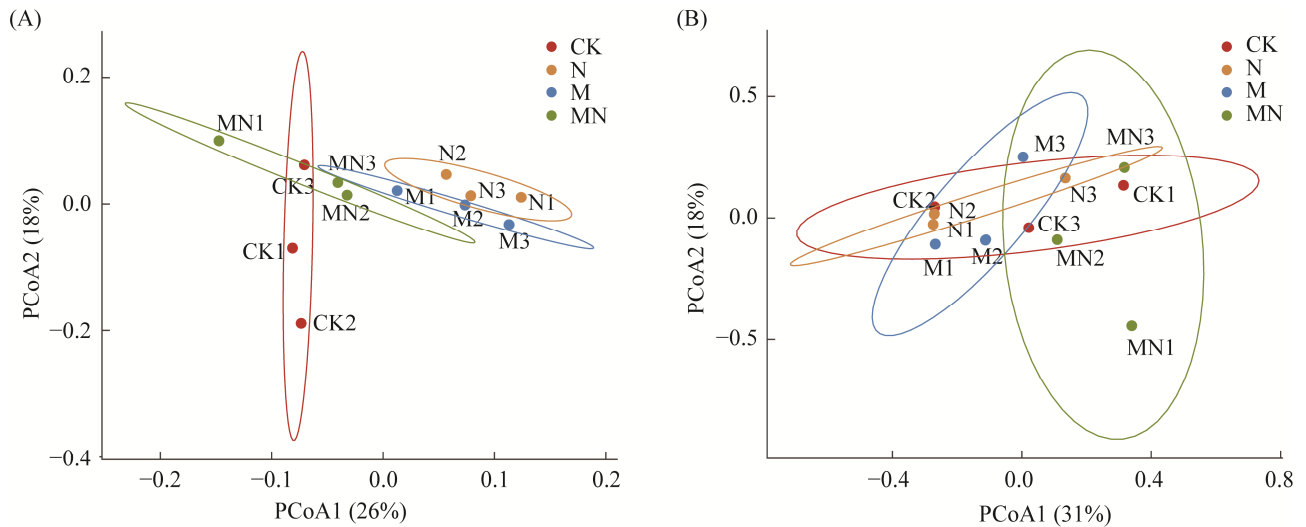


图 1 基于 Bray-curtis 距离的细菌(A)和真菌(B)群落结构主坐标(PCoA)分析

Figure 1 Bacterial (A) and fungal (B) community structure assessed by principal coordinate analysis (PCoA) based on Bray-curtis distance. CK: winter fallow coupled with no nitrogen fertilizer; N: winter fallow coupled with nitrogen fertilizer; M: green fertilizer coupled with no nitrogen fertilizer; MN: green fertilizer coupled with nitrogen fertilizer.

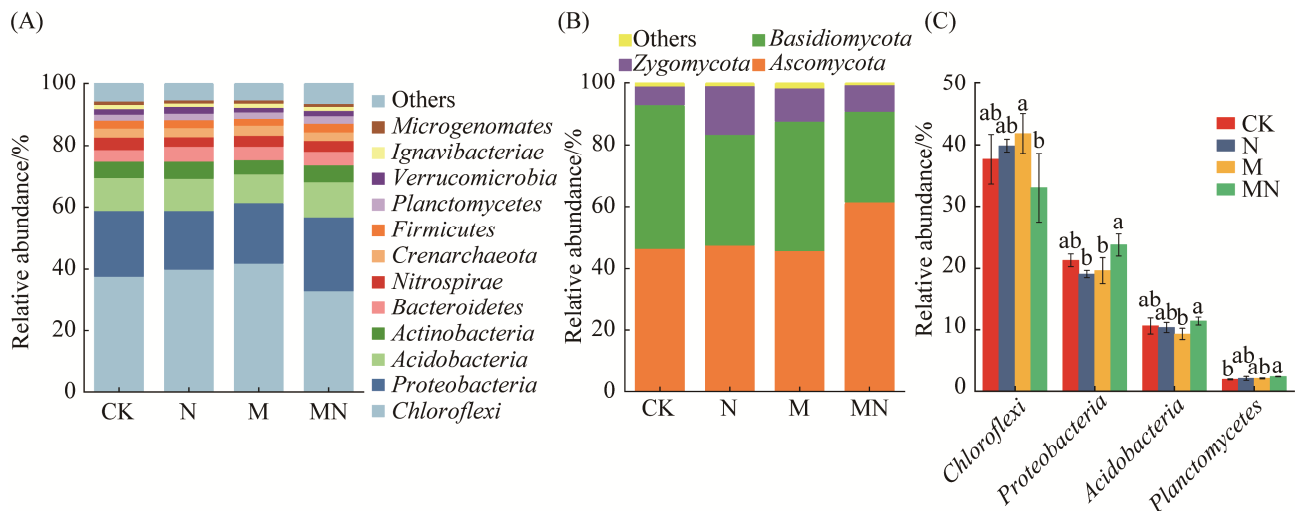


图 2 不同施肥措施下土壤细菌(A)、真菌(B)优势物种(门水平)相对丰度(相对丰度 < 1% 归为 others)

Figure 2 Relative abundance of dominant species of bacteria (A) and fungi (B) (phylum level) in soil under different fertilization measures (relative abundance < 1% was classified as others), Different letters indicate significant difference between treatments ($P < 0.05$). CK: winter fallow coupled with no nitrogen fertilizer; N: winter fallow coupled with nitrogen fertilizer; M: green fertilizer coupled with no nitrogen fertilizer; MN: green fertilizer coupled with nitrogen fertilizer.

土壤细菌和真菌优势 OTU 聚类结果表明(图 3),各施肥处理下土壤微生物优势菌群组成有所不同。对于细菌 OTU(图 3A),与 CK 相比, MN 处理显著降低了 OTU54、2、9、1 617、19、2 721 和 52 的相对丰度;与 N 相比, MN 处理显著降低了 OTU 52、2 721、19、2 和 54 的相对丰度,增加了 OTU46 的相对丰度;与 M 相比, MN 处理显著降低了 OTU1 617、9、2、54 和 46 的相对丰度。对于真菌 OTU(图 3B),与 CK 相比, MN 处理显著增加了 OTU24 的相对丰度;与 N 相比, MN 处理显著降低了 OTU14 的相对丰度;与 M 相比, MN 处理显著降低了 OTU12 的相对丰度($P < 0.05$)。

2.6 土壤微生物与理化性状相关性分析

为进一步解析岩溶区土壤环境因子与土壤微生物群落变化的相互作用,并确定其主要环

境因子,以优势微生物类群为响应变量,土壤理化性状为解释变量进行冗余分析(RDA)。细菌群落与土壤因子的 RDA 结果显示(图 4A),第一、二排序轴的解释率分别为 52.23%和 3.36%;真菌群落与土壤因子的 RDA 分析结果显示(图 4B),第一、二排序轴的解释率分别为 57.09%和 20.57%。细菌群落置换检验结果表明, AK 显著影响细菌群落组成($P=0.026$), *Chloroflexi* 相对丰度与 AK 呈显著负相关, *Proteobacteria* 相对丰度与 AK 呈显著正相关,而 *Firmicutes* 相对丰度与 AK 呈极显著正相关。真菌群落置换检验结果显示,除个别真菌类群外,土壤因子对真菌类群相对丰度影响均不显著($P > 0.05$),如 *Glomeromycota* 相对丰度与 SOM 含量呈显著正相关, *Blastocladiomycota* 相对丰度与土壤 pH 呈极显著正相关。

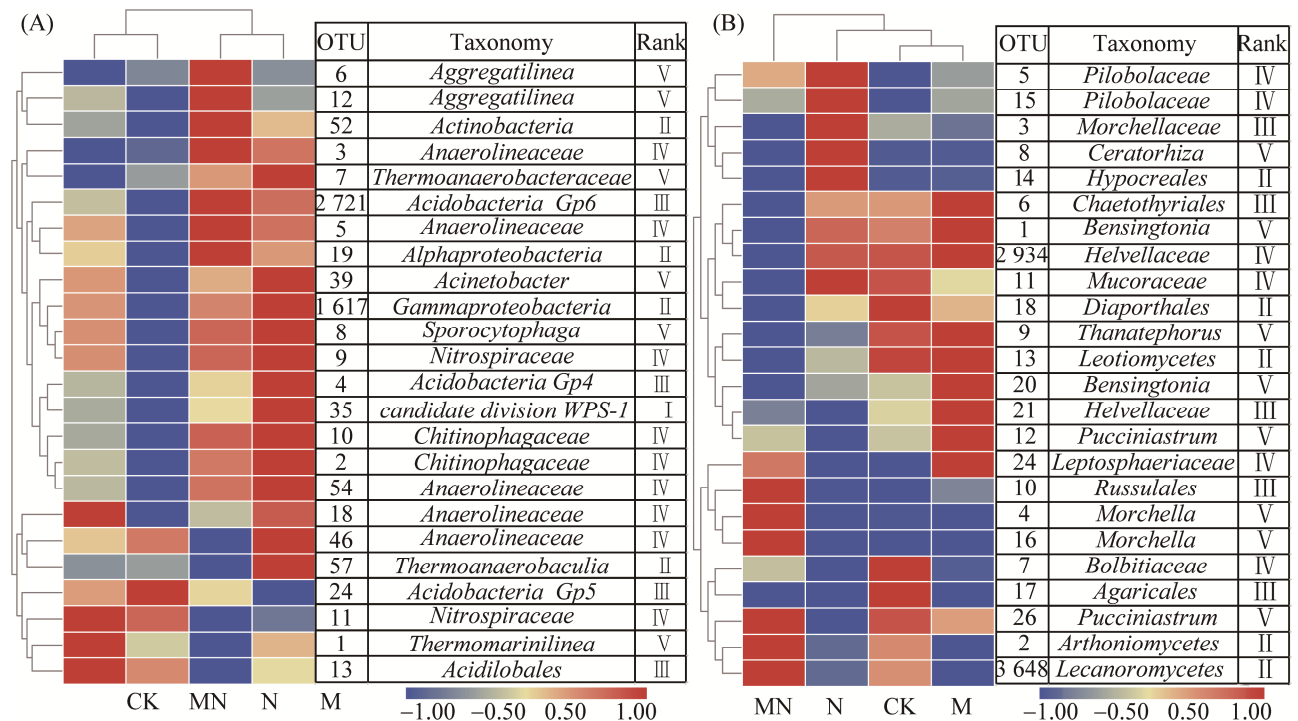


图 3 细菌(A)、真菌(B)优势 OTU 聚类热图

Figure 3 Cluster heat map of dominant OTU of bacteria (A) and fungi (B). Taxonomy Ranks: I-Phylum; II-Class; III-Order; IV-Family; V-Genus. CK: winter fallow coupled with no nitrogen fertilizer; N: winter fallow coupled with nitrogen fertilizer; M: green fertilizer coupled with no nitrogen fertilizer; MN: green fertilizer coupled with nitrogen fertilizer.

优势 OTU 与土壤因子相关性分析结果表明, 不同施肥处理土壤细菌和真菌(图 4C)优势 OTU 与土壤理化性状间的相关性存在差异。其中, 细菌 OUT 46 与土壤 pH 呈显著负相关, OUT 54 与 AK 呈显著正相关, OUT 7 则与 SOM 呈极显著正相关。真菌优势 OUT 7 和 10 与 AN 分别呈显著负、显著正相关, OUT 9 和 20 与 AK 显著正相关, OUT 14 与 pH 呈极显著正相关, OUT 24 与 pH 显著负相关, 与 SOM、TN

显著正相关。

2.7 土壤微生物共现网络分析

网络分析用于比较不同施肥处理下岩溶区稻田土壤微生物的相互作用模式。分别选取细菌和真菌相对丰度大于 0.5% 的优势 OTU 进行共现网络分析。各处理中, 微生物正相关边数均大于负相关边数(表 6), 表明细菌与真菌的互作关系多为正相关。同时, 不同处理下土壤微生物网络模式均有差异(图 5), 且不同施肥处理

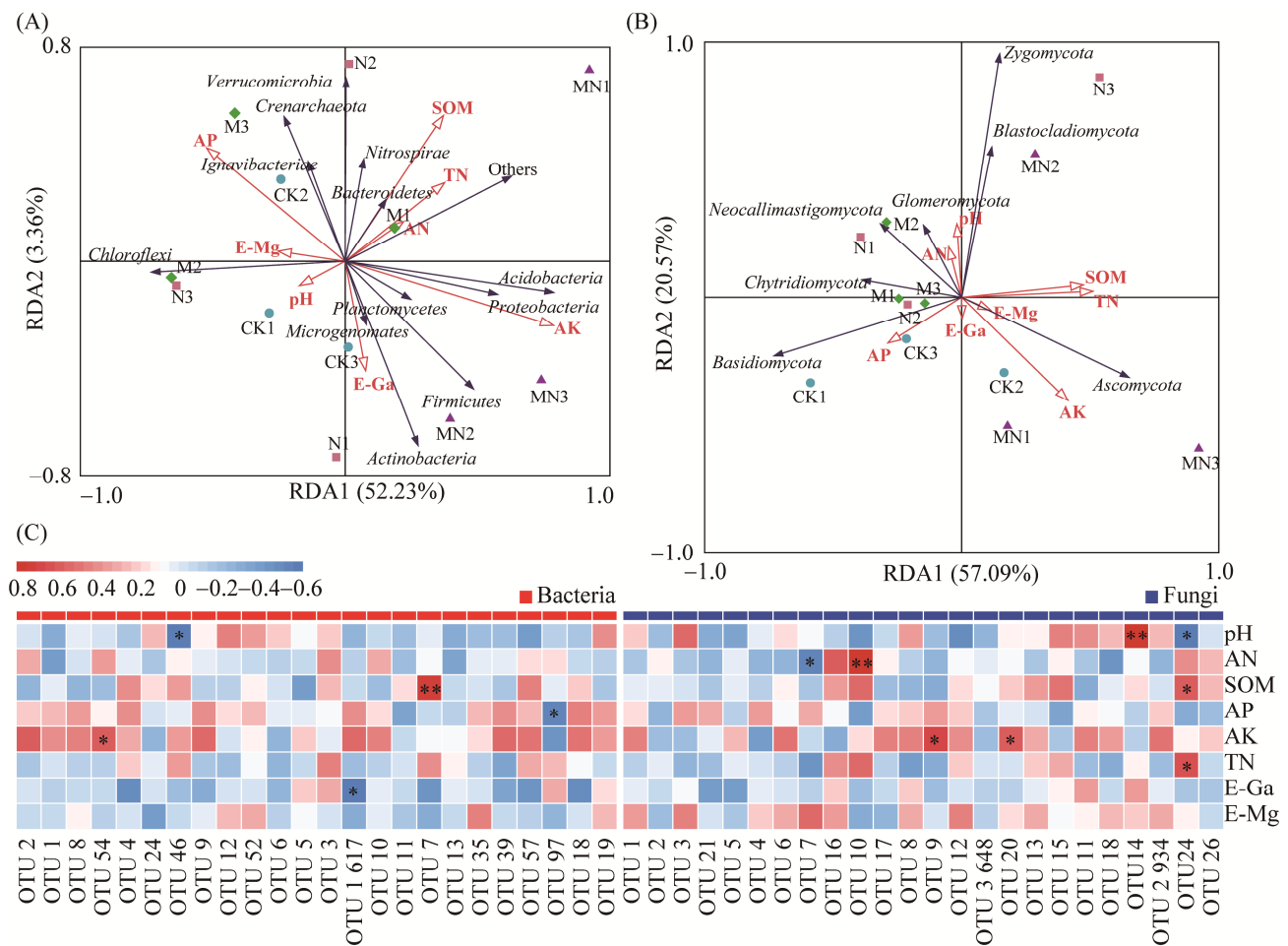


图 4 土壤细菌(A)、真菌(B)优势菌门与土壤理化性状冗余分析, 土壤细菌及真菌(C)优势 OTUs 与环境因子相关性分析

Figure 4 Redundancy analysis of dominant phyla of soil bacteria (A) and fungi (B) and soil physical and chemical properties, correlation analysis of dominant OTUs of soil bacteria and fungi (C) and environmental factors. Significance levels are denoted as follows: $P < 0.05$ (*) and $P < 0.01$ (**). Not marked indicates that the difference is not significant.

在共现网络中占比较大的细菌类群主要为 *Chloroflexi* (22.92%–31.67%) 和 *Proteobacteria* (5.97%–10.42%)，真菌类群主要为 *Ascomycota* (16.67%–25.00%) 和 *Basidiomycota* (18.75%–26.67%)。

3 讨论

3.1 绿肥配施氮肥对岩溶稻田水稻产量及土壤理化性状的影响

本研究中，绿肥配施氮肥显著提高早稻稻谷产量(表 2)。这可能是因为供试绿肥紫云英含氮丰富，其腐解释放的氮更能匹配水稻对氮素的需求，应用于稻田系统可充分保障水稻产量^[22]。研究表明，绿肥作为优质有机肥料，翻压还田有利于改善土壤理化性状^[23]。本研究结果表明，与不施绿肥相比，绿肥处理(M 和 MN)降低了土壤 pH 值，这可能是由于绿肥腐解产生有机酸所致^[24]。研究表明，绿肥在短期内能够显著提高土壤有机质含量，随着时间增长其含量虽逐渐减少，但始终高于单施无机肥；而氮肥施用会增加土壤对碳的固持，进而减少土壤可溶性有机质含量下降^[25]。本研究中，MN 处理下有机质含量显著高于 CK 和 N 处理，且

土壤有机质含量与早稻产量呈极显著正相关，这说明绿肥配施氮肥有利于增加土壤有机质含量，维持土壤肥力，以及提升作物产量。这可能是由于紫云英属于低碳氮比的豆科植物，其根瘤菌能固定大气中的氮，施入土壤后能快速释放氮以补充土壤氮库，丰富土壤中的氮含量；加之氮肥的施用，使得本研究中 MN 处理下土壤氮素含量(表 3)及早稻稻谷产量均高于其他处理，进而有利于稻谷增产，这与杨璐等^[26]结果类似。本研究中 MN 处理下速效磷含量最低，

表 6 土壤细菌和真菌网络拓扑指数

Table 6 Topological index of soil bacteria and fungi

Topological index	CK	N	M	MN
Total nodes	60	64	67	50
Bacterial nodes	53.33%	51.56%	50.75%	48.00%
Fungal nodes	46.67%	48.44%	49.25%	52.00%
Total edges	1 214	1 400	1 685	788
Positive edges	57.99%	51.28%	50.50%	57.11%
Modularity index	0.652	0.630	0.506	0.635

CK: winter fallow coupled with no nitrogen fertilizer; N: winter fallow coupled with nitrogen fertilizer; M: green fertilizer coupled with no nitrogen fertilizer; MN: green fertilizer coupled with nitrogen fertilizer.

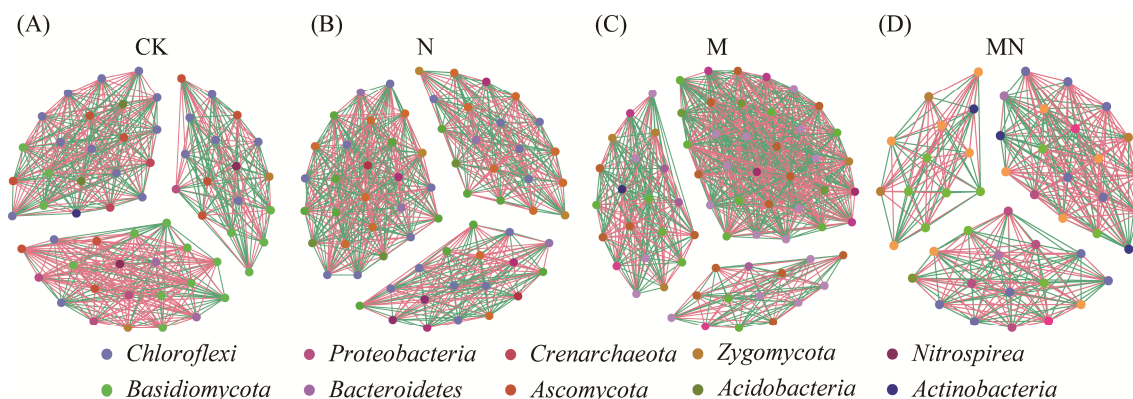


图 5 土壤微生物共现网络

Figure 5 Co-occurrence networks of soil microbial. CK: winter fallow coupled with no nitrogen fertilizer; N: winter fallow coupled with nitrogen fertilizer; M: green fertilizer coupled with no nitrogen fertilizer; MN: green fertilizer coupled with nitrogen fertilizer.

这可能是由于绿肥根系分泌物能加速活化土壤中难溶性磷,降低土壤对磷的固持,促进作物对磷素的吸收利用^[27];同时,也可能是绿肥的输入激发了微生物生长发育的活性,而提升了微生物对磷素的需求^[28]。此外,绿肥根系能从更深层土壤中获取并固存钾素,待翻压后富集于耕层,从而提高土壤中速效钾含量^[29],这可能解释了本研究中,MN处理显著增加土壤速效钾含量。综上所述,绿肥配施氮肥有利于培肥地力,提高水稻产量。

3.2 绿肥配施氮肥对岩溶稻田土壤微生物群落的影响

土壤微生物在养分循环、调节局部气候以及维持土壤结构等方面具有重要作用,其群落丰富度及多样性是评价土壤生态功能稳定性的重要指标^[30]。研究表明,仅施氮肥对土壤微生物丰富度和多样性存在抑制作用^[31];而绿肥施用影响土壤微生物活性,改变土壤微生物的群落组成增加其多样性,并能提高氮肥的利用效率,缓解氮肥过量投入造成的环境风险^[5-6]。在微生物参与下,绿肥还田可释放大量的有机物质和无机养分,提高土壤微生物量碳、氮的含量,显著影响土壤细菌和真菌群落丰度^[32]。本研究中,绿肥配施氮肥能显著提高细菌群落丰度及多样性。然而,施肥对真菌群落的影响却存在争议,部分研究表明,施加绿肥能有效改善真菌群落结构,并增加有益菌群丰度,以及增加具有兼性功能的真菌类群数量^[33-34];但也有研究认为,绿肥施用降低土壤真菌丰富度及多样性^[35]。在本研究中,与CK相比,MN处理下土壤真菌群落丰度及多样性均有降低趋势,且早稻产量与细菌Chao 1指数显著正相关,与真菌Chao 1指数显著负相关。这可能是由于MN处理下土壤养分含量丰富,有利于细菌生长繁殖,而细菌数量增加对真菌的繁殖产生了

抑制作用,使得真菌群落数量有所下降^[36];其次,研究表明,高碳氮比土壤有利于真菌生长,而低碳氮比有利于细菌生长,本研究供试绿肥紫云英属低碳氮豆科植物,因此,绿肥品种也可能是影响真菌群落丰度的原因之一^[37]。

岩溶稻田土壤优势细菌类群(门水平)主要为 *Chloroflexi* (33.04%–41.83%)、*Proteobacteria* (19.07%–23.76%)、*Acidobacteria* (9.33%–11.39%) 和 *Actinobacteria* (4.48%–5.46%)等(图 2A),与 Cui 等^[38]结果一致。*Chloroflexi* 在农作土壤中相对丰度较高,可将糖和多糖发酵成氢和有机酸,能加速稻田土壤有机物质分解^[24,39];*Proteobacteria* 参与土壤中矿质元素的生物循环,有利于保持土壤肥力^[40];*Acidobacteria* 通常具有嗜酸和寡营养等特点,在土壤物质循环和生态环境构建过程中起着重要作用^[41]。在本研究中,与CK处理相比,MN降低了 *Chloroflexi* 相对丰度,提高了 *Proteobacteria* 和 *Acidobacteria* 相对丰度,与钟菊新等^[24]在岩溶稻田土壤的研究结果相似。研究表明, *Ascomycota*、*Basidiomycota* 和 *Zygomycota* 是农田生态系统中的三大真菌门类^[42],在本研究中也得到相似结果(图 2B)。其中, *Ascomycota* 是岩溶区土壤的优势门,在真菌群落中占比最大(50.29%),并在MN处理时相对丰度最高。原因可能在于 *Ascomycota* 多为腐生真菌,适宜生存的pH范围为7–8,岩溶稻田的弱碱环境条件有利于 *Ascomycota* 的生长繁殖^[43];并且, *Ascomycota* 受地上作物种类影响强烈,其生长速率与土壤氮素的有效性密切相关,而MN处理时土壤有效氮含量较高,使得 *Ascomycota* 的相对丰度相比其他处理有所增加^[44]。此外,微生物优势 OTU 聚类结果表明(图 3),不同处理细菌和真菌群落组成存在差异,是由于施肥处理改变土壤条件,如土壤理化性状及养分可利用性等,进而导致细菌和真菌类群组

成发生变化^[24]。

3.3 岩溶稻田土壤微生物与土壤环境因子的响应关系

土壤微生物与土壤环境质量关系密切，而土壤细菌和真菌又与土壤理化性状关系密切^[45]。Wei 等^[46] 通过长达 35 年的定位试验研究表明，土壤有机碳和全氮是影响我国北方潮土土壤细菌群落的主要环境因子；Wang 等^[47]对东北黑土玉米根际土研究表明，pH、有机碳和速效磷是影响土壤细菌群落的主要环境因子。而在本研究中，RDA 分析表明(图 4)，速效钾是影响岩溶稻田土壤细菌群落结构的主要环境因子。这可能是由于试验地土壤母质类型、作物类型及气候条件的不同而导致研究结果出现差异^[38]。速效钾是反映土壤供钾能力的重要指标，作物所吸收的钾素是通过土壤中解钾微生物将不溶性钾分解为可溶性钾而来^[48]。同时，施用绿肥能显著提高土壤速效钾含量和有效性，进而反馈于解钾微生物群落^[49]。

本研究通过构建微生物群落共现网络，探究了岩溶水稻土细菌与真菌的相互作用。结果表明(图 5)，*Chloroflexi* 和 *Proteobacteria* 为岩溶稻田土壤细菌主要类群，*Ascomycota* 和 *Basidiomycota* 为岩溶稻田土壤真菌主要类群。它们不仅显著影响微生物群落结构和功能，而且维持土壤微环境地球化学循环^[50]。研究发现，土壤养分含量减少，微生物多样性降低，而微生物界间的相互作用则会增加，其互作网络也更复杂；同时，有机物和营养物越丰富，微生物共现网络的负相互作用越低^[13,51]。在本研究中，MN 处理细菌-真菌共现网络拓扑参数及网络结构复杂程度均低于其他处理，这可能是由于豆科绿肥施用增加了土壤有机质等养分含量及细菌群落丰度和多样性，使细菌与真菌界间相互作用减少^[37,52]；且与其他处理相比，MN

处理下细菌和真菌相对丰度大于 0.5% 的优势类群减少(图 5)，导致细菌-真菌界间相互作用降低，其网络结构较其他处理简单^[53]。本研究中，细菌-真菌群落交互关系主要以正相互作用为主，这说明土壤中营养物质丰富，使细菌和真菌多以互惠协作的方式生存^[14]。此外，绿肥配施氮肥改善土壤养分含量，进一步驱动微生物间的相互作用，最终反馈于微生物网络结构^[10]。

4 结论

(1) 与 CK 相比，MN 处理显著提高了早稻产量，提升了土壤有机质、全氮、碱解氮和速效钾含量，降低了速效磷含量。速效钾是影响岩溶稻田土壤细菌群落结构及多样性的主要环境因子。

(2) 绿肥还田增加土壤细菌群落丰度和多样性，降低真菌群落丰度和多样性。岩溶稻田土壤细菌优势菌群主要为 *Chloroflexi*、*Proteobacteria* 和 *Acidobacteria*，土壤真菌优势菌群主要为 *Ascomycota*、*Basidiomycota* 和 *Zygomycota*。与 CK、N 和 M 相比，MN 降低 *Chloroflexi* 相对丰度，增加 *Proteobacteria*、*Acidobacteria* 相对丰度，增加 *Ascomycota* 相对丰度，降低 *Basidiomycota* 相对丰度。同时，MN 增加了部分优势 OTU 的相对丰度。

(3) 不同处理微生物群落间相互作用主要受土壤养分驱动，且细菌与真菌交互关系多为正相互作用为主。*Chloroflexi*、*Proteobacteria*、*Ascomycota*、*Basidiomycota* 为绿肥配施氮肥下岩溶稻田土壤微生物的关键类群。

参考文献

- [1] 严嘉慧, 周岐海, 胡林安, 钟菊新, 李强. 不同演替阶段岩溶石灰土可培养细菌的群落特征. *微生物学报*, 2021, 61(6): 1666-1680.
Yan JH, Zhou QH, Hu LN, Zhong JX, Li Q.

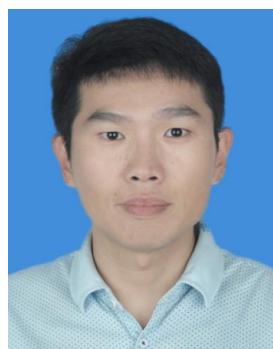
- Community characteristics of culturable bacteria in calcareous soil at different succession stages. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(6): 1666–1680. (in Chinese)
- [2] Hamm AC, Tenuta M, Krause DO, Ominski KH, Tkachuk VL, Flaten DN. Bacterial communities of an agricultural soil amended with solid pig and dairy manures, and urea fertilizer. *Applied Soil Ecology*, 2016, 103: 61–71.
- [3] Palaniyandi SA, Yang SH, Zhang LX, Suh JW. Effects of actinobacteria on plant disease suppression and growth promotion. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(22): 9621–9636.
- [4] Yang L, Bai JS, Zeng NH, Zhou X, Liao YL, Lu YH, Rees RM, Nie J, Cao WD. Diazotroph abundance and community structure are reshaped by straw return and mineral fertilizer in rice-rice-green manure rotation. *Applied Soil Ecology*, 2019, 136: 11–20.
- [5] Xie ZJ, Tu SX, Shah F, Xu CX, Chen JR, Han D, Liu GR, Li HL, Muhammad I, Cao WD. Substitution of fertilizer-N by green manure improves the sustainability of yield in double-rice cropping system in South China. *Field Crops Research*, 2016, 188: 142–149.
- [6] Gao SJ, Zhang RG, Cao WD, Fan YY, Gao JS, Huang J, Bai JS, Zeng NH, Chang DN, Katsu-yoshi S, Thorup-Kristensen K. Long-term rice-rice-green manure rotation changing the microbial communities in typical red paddy soil in South China. *Journal of Integrative Agriculture*, 2015, 14(12): 2512–2520.
- [7] 崔月贞, 王吕, 吴玉红, 郝兴顺, 张春辉, 秦宇航, 吴建静. 冬绿肥联合稻秆还田对水稻产量及稻田土壤肥力的影响. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2022, 7: 2–10.
Cui YZ, Wang L, Wu YH, Hao XS, Zhang CH, Qing YH, Wu JJ. Effect of winter green manure cultivation and rice straw retention on rice yield and fertility in paddy field. *Journal of Northwest A & F University (Nat. Sci. Ed.)*, 2022, 7: 2–10. (in Chinese)
- [8] Zhang XX, Zhang RJ, Gao JS, Wang XC, Fan FL, Ma XT, Yin HQ, Zhang CW, Feng K, Deng Y. Thirty-one years of rice-rice-green manure rotations shape the rhizosphere microbial community and enrich beneficial bacteria. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 104: 208–217.
- [9] 李晋, 杨晓晓, 杨文平, 李文广, 景豆豆, 杨珍平, 高志强. 饲料油菜压青还田对后作小麦土壤真菌群落的影响. 微生物学报, 2021, 61(9): 2869–2882.
- Li J, Yang XX, Yang WP, Li WG, Jing DD, Yang ZP, Gao ZQ. Effect of forage rape green manure returning to field on soil fungal community in winter wheat field. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(9): 2869–2882. (in Chinese)
- [10] De Menezes AB, Richardson AE, Thrall PH. Linking fungal-bacterial co-occurrences to soil ecosystem function. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 37: 135–141.
- [11] Zhou JZ, Deng Y, Luo F, He ZL, Tu QC, Zhi XY. Functional molecular ecological networks. *mBio*, 2010, 1(4): e00169–e00110.
- [12] De Boer W. Upscaling of fungal-bacterial interactions: from the lab to the field. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 37: 35–41.
- [13] 黄兰婷, 倪浩为, 李新宇, 孙波, 梁玉婷. 典型红壤水稻土剖面细菌和真菌分子生态网络特征研究. 土壤学报, 2021, 58(4): 1018–1027.
Huang LT, Ni HW, Li XY, Sun B, Liang YT. Molecular ecological network of bacteria and fungi in paddy soil profile of typical red soil. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(4): 1018–1027. (in Chinese)
- [14] Banerjee S, Kirkby CA, Schmutter D, Bissett A, Kirkegaard JA, Richardson AE. Network analysis reveals functional redundancy and keystone taxa amongst bacterial and fungal communities during organic matter decomposition in an arable soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 97: 188–198.
- [15] Morford SL, Houlton BZ, Dahlgren RA. Increased forest ecosystem carbon and nitrogen storage from nitrogen rich bedrock. *Nature*, 2011, 477(7362): 78–81.
- [16] 严嘉慧, 周岐海, 蒋云伟, 陈济宇, 李强, 李忠义. 长期不同施肥措施下岩溶水稻土可培养细菌群落变化及其主要影响因素. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2833–2847.
Yan JH, Zhou QH, Jiang YW, Chen JY, Li Q, Li ZY. Variation of cultivable bacterial community structure and the main influencing factors in karst paddy soil under different fertilization regimes. *Microbiology China*, 2020, 47(9): 2833–2847. (in Chinese)
- [17] 陆海飞, 郑金伟, 余喜初, 周惠民, 郑聚锋, 张旭辉, 刘晓雨, 程琨, 李恋卿, 潘根兴. 长期无机有机肥配施对红壤性水稻土微生物群落多样性及酶活性的影响. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(3): 632–643.
Lu HF, Zheng JW, Yu XC, Zhou HM, Zheng JF, Zhang XH, Liu XY, Cheng K, Li LQ, Pan GX. Microbial community diversity and enzyme activity of red paddy soil under long-term combined inorganic-organic

- fertilization. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2015, 21(3): 632–643. (in Chinese)
- [18] 张双双, 靳振江, 贾远航, 李强. 岩溶区与非岩溶区 3 种土地利用方式下土壤细菌群落结构比较. *中国岩溶*, 2019, 38(2): 164–172.
Zhang SS, Jin ZJ, Jia YH, Li Q. Comparison of soil bacterial community structures from three soil land-use between karst and non-karst areas under three kinds of land use. *Carsologica Sinica*, 2019, 38(2): 164–172. (in Chinese)
- [19] 肖筱怡, 靳振江, 冷蒙, 李雪松, 熊丽媛. 岩溶与非岩溶区水稻土团聚体细菌群落结构和功能类群比较. *环境科学*, 2021. DOI:10.13227/j.hjx.202108222.
Xiao XY, Jin ZJ, Leng M, Li XS, Xiong LY. Comparison of bacterial community structure and functional groups of paddy soil aggregates between karst and non-karst areas. *Environmental Science*, 2021. DOI:10.13227/j.hjx.202108222. (in Chinese)
- [20] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [21] Li Q, Song A, Yang H, Müller WEG. Impact of rocky desertification control on soil bacterial community in karst graben basin, southwestern China. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 636405.
- [22] Zhu B, Yi LX, Hu YG, Zeng ZH, Lin CW, Tang HM, Yang GL, Xiao XP. Nitrogen release from incorporated ¹⁵N-labelled Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) residue and its dynamics in a double rice cropping system. *Plant and Soil*, 2014, 374(1/2): 331–344.
- [23] 曹卫东, 包兴国, 徐昌旭, 聂军, 高亚军, 耿明建. 中国绿肥科研 60 年回顾与未来展望. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(6): 1450–1461.
Cao WD, Bao XG, Xu CX, Nie J, Gao YJ, Geng MJ. Reviews and prospects on science and technology of green manure in China. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2017, 23(6): 1450–1461. (in Chinese)
- [24] 钟菊新, 唐红琴, 李忠义, 董文斌, 韦彩会, 李强, 何铁光. 绿肥配施化肥对岩溶区水稻土壤细菌群落结构的影响. *植物营养与肥料学报*, 2021, 27(10): 1746–1756.
Zhong JX, Tang HQ, Li ZY, Dong WB, Wei CH, Li Q, He TG. Effects of combining green manure with chemical fertilizer on the bacterial community structure in karst paddy soil. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27(10): 1746–1756. (in Chinese)
- [25] 周国朋, 曹卫东, 白金顺, 聂军, 徐昌旭, 曾闹华, 高嵩涓, 王艳秋, 志水胜好. 多年紫云英-双季稻下不同施肥水平对两类水稻土有机质及可溶性有机质的影响. *中国农业科学*, 2016, 49(21): 4096–4106.
Zhou GP, Cao WD, Bai JS, Nie J, Xu CX, Zeng NH, Gao SJ, Wang YQ, Shimizu K. Effects of different fertilization levels on soil organic matter and dissolved organic matter in two paddy soils after multi-years' rotation of Chinese milk vetch and double-cropping rice. *Scientia Agricultura Sinica*, 2016, 49(21): 4096–4106. (in Chinese)
- [26] 杨璐, 曾闹华, 白金顺, 周兴, 周国朋, 高嵩涓, 聂军, 曹卫东. 紫云英季土壤固氮微生物对外源碳氮投入的响应. *中国农业科学*, 2020, 53(1): 105–116.
Yang L, Zeng NH, Bai JS, Zhou X, Zhou GP, Gao SJ, Nie J, Cao WD. Responses of soil diazotroph community to rice straw, glucose and nitrogen addition during Chinese milk vetch growth. *Scientia Agricultura Sinica*, 2020, 53(1): 105–116. (in Chinese)
- [27] 林新坚, 兰忠明, 张辉, 王飞, 何春梅. 不同紫云英基因型根系分泌物中有机酸成分分析. *草业学报*, 2014, 23(4): 146–152.
Lin XJ, Lan ZM, Zhang H, Wang F, He CM. Organic acid composition analysis of root exudation of Chinese milk vetch genotypes. *Acta Prataculturae Sinica*, 2014, 23(4): 146–152. (in Chinese)
- [28] Pistocchi C, Mészáros É, Tamburini F, Frossard E, Bünemann EK. Biological processes dominate phosphorus dynamics under low phosphorus availability in organic horizons of temperate forest soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 126: 64–75.
- [29] 鲁艳红, 廖育林, 聂军, 周兴, 谢坚, 杨曾平. 紫云英与尿素或控释尿素配施对双季稻产量及氮钾利用率的影响. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(2): 360–368.
Lu YH, Liao YL, Nie J, Zhou X, Xie J, Yang ZP. Effect of different incorporation of Chinese milk vetch coupled with urea or controlled release urea on yield and nitrogen and potassium nutrient use efficiency in double-cropping rice system. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2017, 23(2): 360–368. (in Chinese)
- [30] 李周园, 叶小洲, 王少鹏. 生态系统稳定性及其与生物多样性的关系. *植物生态学报*, 2021, 45(10): 1127–1139.
Li ZY, Ye XZ, Wang SP. Ecosystem stability and its relationship with biodiversity. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2021, 45(10): 1127–1139. (in Chinese)
- [31] 张宇亭. 长期施肥对土壤微生物多样性和抗生素抗性基因累积的影响. 西南大学博士学位论文, 2017.

- [32] 杨曾平, 高菊生, 郑圣先, 聂军, 徐明岗, 谢坚, 廖育林. 长期冬种绿肥对红壤性水稻土微生物特性及酶活性的影响. *土壤*, 2011, 43(4): 576–583.
Yang ZP, Gao JS, Zheng SX, Nie J, Xu MG, Xie J, Liao YL. Effects of long-term winter planting-green manure on microbial properties and enzyme activities in reddish paddy soil. *Soils*, 2011, 43(4): 576–583. (in Chinese)
- [33] Caban JR, Kuppusamy S, Kim JH, Yoon YE, Kim SY, Lee YB. Green manure amendment enhances microbial activity and diversity in antibiotic-contaminated soil. *Applied Soil Ecology*, 2018, 129: 72–76.
- [34] 杨思, 杨文平, 景豆豆, 李文广, 杨珍平, 陈杰, 孙敏, 高志强. 麦后复种苜蓿压青还田改善土壤微生物群落结构. *应用与环境生物学报*, 2021, 27(4): 978–987.
Yang S, Yang WP, Jing DD, Li WG, Yang ZP, Chen J, Sun M, Gao ZQ. Improvement of soil microbial community structure by multiple cropping alfalfa after wheat. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2021, 27(4): 978–987. (in Chinese)
- [35] Wang JC, Song Y, Ma TF, Raza W, Li J, Howland JG, Huang QW, Shen QR. Impacts of inorganic and organic fertilization treatments on bacterial and fungal communities in a paddy soil. *Applied Soil Ecology*, 2017, 112: 42–50.
- [36] 王轶, 李季, 曹志平, 杨合法. 长期施肥对农田土壤真菌的影响. *中国生态农业学报*, 2014, 22(11): 1267–1273.
Wang Y, Li J, Cao ZP, Yang HF. Effects of long-term fertilization on soil fungi. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2014, 22(11): 1267–1273. (in Chinese)
- [37] 吴林坤, 林向民, 林文雄. 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望. *植物生态学报*, 2014, 38(3): 298–310.
Wu LK, Lin XM, Lin WX. Advances and perspective in research on plant-soil-microbe interactions mediated by root exudates. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2014, 38(3): 298–310. (in Chinese)
- [38] Cui X, Zhang Y, Gao J, Peng F, Gao P. Long-term combined application of manure and chemical fertilizer sustained higher nutrient status and rhizospheric bacterial diversity in reddish paddy soil of Central South China. *Scientific Reports*, 2018, 8: 16554.
- [39] 蔡杰, 张洁, 喻珊, 林洪鑫, 李开绵, 陈松笔, 欧文军. 施肥方式对木薯根际土壤细菌多样性与群落结构特征的影响. *福建农林大学学报: 自然科学版*, 2022, 51(1): 15–20.
Cai J, Zhang J, Yu S, Lin HX, Li KM, Chen SB, Ou WJ. Effect of fertilization on bacterial diversity and community structure characteristics in cassava rhizospheric soil. *Journal of Fujian Agriculture and Forestry University: Natural Science Edition*, 2022, 51(1): 15–20. (in Chinese)
- [40] Chaudhry V, Rehman A, Mishra A, Chauhan PS, Nautiyal CS. Changes in bacterial community structure of agricultural land due to long-term organic and chemical amendments. *Microbial Ecology*, 2012, 64(2): 450–460.
- [41] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 王新珍, 金剑, 刘晓冰. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展. *生物技术通报*, 2016, 32(2): 14–20.
Wang GH, Liu JJ, Yu ZH, Wang XZ, Jin J, Liu XB. Research progress of acidobacteria ecology in soils. *Biotechnology Bulletin*, 2016, 32(2): 14–20. (in Chinese)
- [42] Ding JL, Jiang X, Guan DW, Zhao BS, Ma MC, Zhou BK, Cao FM, Yang XH, Li L, Li J. Influence of inorganic fertilizer and organic manure application on fungal communities in a long-term field experiment of Chinese Mollisols. *Applied Soil Ecology*, 2017, 111: 114–122.
- [43] 周军波, 靳振江, 肖筱怡, 冷蒙, 王晓彤, 潘复静. 岩溶区稻田土壤真菌群落结构及功能类群特征. *环境科学*, 2021, 42(8): 4005–4014.
Zhou JB, Jin ZJ, Xiao XY, Leng M, Wang XT, Pan FJ. Investigation of soil fungal communities and functionalities within karst paddy fields. *Environmental Science*, 2021, 42(8): 4005–4014. (in Chinese)
- [44] 南丽丽, 谭杰辉, 郭全恩. 黄土高原半干旱区轮作休耕模式对土壤真菌的影响. *生态学报*, 2020, 40(23): 8582–8592.
Nan LL, Tan JH, Guo QE. Effects of fallow rotation modes on soil fungal communities in semi-arid area of the Loess Plateau, northwest China. *Acta Ecologica Sinica*, 2020, 40(23): 8582–8592. (in Chinese)
- [45] 朱永官, 彭静静, 韦中, 沈其荣, 张福锁. 土壤微生物组与土壤健康. *中国科学: 生命科学*, 2021, 51(1): 1–11.
Zhu YG, Peng JJ, Wei Z, Shen QR, Zhang FS. Linking the soil microbiome to soil health. *Scientia Sinica: Vitae*, 2021, 51(1): 1–11. (in Chinese)
- [46] Wei M, Hu GQ, Wang H, Bai E, Lou YH, Zhang AJ, Zhuge YP. 35 years of manure and chemical fertilizer application alters soil microbial community

composition in a Fluvo-aquic soil in Northern China. *European Journal of Soil Biology*, 2017, 82: 27–34.

- [47] Wang QF, Jiang X, Guan DW, Wei D, Zhao BS, Ma MC, Chen SF, Li L, Cao FM, Li J. Long-term fertilization changes bacterial diversity and bacterial communities in the maize rhizosphere of Chinese Mollisols. *Applied Soil Ecology*, 2018, 125: 88–96.
- [48] 邓永兴, 王文亮, 周苏玫, 詹克慧, 徐利利, 付锦州, 郭芳芳, 韩亚倩, 杨习文, 贺德先. 小麦根际解钾微生物与土壤钾含量、钾素利用率及根系活力的关系. *植物营养与肥料学报*, 2021, 27(6): 1027–1043.
Deng YX, Wang WL, Zhou SM, Zhan KH, Xu LL, Fu JZ, Guo FF, Han YQ, Yang XW, He DX. Relationships of potassium-releasing rhizosphere microorganisms with soil potassium content, potassium use efficiency and root vigor in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2021, 27(6): 1027–1043. (in Chinese)
- [49] 张水清, 杨莉, 黄绍敏, 娄翼来, 聂胜委, 郭斗斗, 三島慎一郎. 长期施肥下潮土速效钾含量与钾素投入水平关系. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(3): 773–777.
Zhang SQ, Yang L, Huang SM, Lou YL, Nie SW, Guo DD, Shinichiro M. Relationship between available K content and K input levels in fluvo-aquic soil under long term fertilization. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(3): 773–777. (in Chinese)
- [50] Xue YF, Tian J, Quine TA, Powlson D, Xing KX, Yang LY, Kuzyakov Y, Dungait JAJ. The persistence of bacterial diversity and ecosystem multifunctionality along a disturbance intensity gradient in karst soil. *Science of the Total Environment*, 2020, 748: 142381.
- [51] Kaye JP, Hart SC. Competition for nitrogen between plants and soil microorganisms. *Trends in Ecology & Evolution*, 1997, 12(4): 139–143.
- [52] Six J, Frey SD, Thiet RK, Batten KM. Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Science Society of America Journal*, 2006, 70(2): 555–569.
- [53] Gu YF, Wang YY, Lu SE, Xiang QJ, Yu XM, Zhao K, Zou LK, Chen Q, Tu SH, Zhang XP. Long-term fertilization structures bacterial and archaeal communities along soil depth gradient in a paddy soil. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1516.



李忠义, 广西农业科学院农业资源与环境研究所副研究员, 广西知识产权中青年专家, 主要从事植物营养与环境生态、绿肥生产与应用等方面的工作。先后主持和参与国家自然科学基金、国家重点研发计划子课题、广西自然科学基金等国家级、省部级项目 20 余项; 获广西科学技术进步三等奖 2 项, 广西重要技术标准项目奖 1 项, 广西发明创造成果展览交易会项目金奖 1 项; 主编著作 1 部, 以第一作者或通讯作者发表论文 20 余篇, 获授权发明专利 3 项。



何铁光, 博士, 广西农业科学院二级研究员, 硕士生导师, 国务院政府特殊津贴专家、广西壮族自治区优秀专家、广西“新世纪十百千人才工程”第二层次人选, 主要从事农业资源与环境生态、绿肥生产与应用等方面的研究工作。先后主持国家自然科学基金、国家科技支撑计划课题专题、国家星火计划项目、国家重点研发计划子课题等各级项目 50 余项。以第一作者或通讯作者发表论文 60 余篇, 主编著作 2 部, 获授权发明专利 12 项, 主持的科技项目获广西科学技术进步奖二等奖 2 项, 三等奖 2 项, 自然科学奖三等奖 1 项。