

DOI: 10.11766/trxb202106250131

李明辉, 冯绪猛, 郭俊杰, 郭世伟, 沈其荣, 凌宁. 不同施氮水平下土壤微生物种群异步性与稻麦产量的关系[J]. 土壤学报, 2022, 59(6): 1670–1682.

LI Minghui, FENG Xumeng, GUO Junjie, GUO Shiwei, SHEN Qirong, LING Ning. The Relationship between Soil Microbial Population Asynchrony and Crop Yield in Rice-Wheat Rotation with Gradient Nitrogen Inputs[J]. Acta Pedologica Sinica, 2022, 59(6): 1670–1682.

不同施氮水平下土壤微生物种群异步性与稻麦产量的关系*

李明辉, 冯绪猛, 郭俊杰, 郭世伟, 沈其荣, 凌宁[†]

(南京农业大学资源与环境科学学院/江苏省固体有机废弃物资源化研究重点实验室, 南京 210095)

摘要: 研究稻麦轮作体系中施氮水平对土壤微生物多样性和异步性的影响, 可为调控土壤微生物区系以维持作物稳产高产提供理论依据和科学指导。采集长期稻麦轮作体系中不同施氮水平下作物关键生育时期的土壤样品, 使用高通量测序技术分析施氮水平对土壤微生物多样性和异步性的影响, 研究施氮水平通过改变土壤微生物异步性对稻麦产量产生的影响。小麦季和水稻季的施氮水平梯度分别为: 0、50、100、200、300 kg·hm⁻² 和 0、90、180、270、360 kg·hm⁻²; 土壤样品采集时期分别为: 小麦种植前、拔节期、孕穗期、扬花期、成熟期和水稻种植前、最大分蘖期、拔节孕穗期、扬花期、成熟期。结果表明, 施氮水平对各生育时期的土壤微生物多样性和组成均产生显著影响。施氮水平可解释约 12% 的水稻季微生物丰富度变异 ($P < 0.05$)。当小麦季和水稻季施氮水平分别为 100 和 180 kg·hm⁻² 时, 土壤微生物群落在作物多个生长阶段均能维持相对较高水平的丰富度。施氮水平可解释 9%~11% 的小麦季/水稻季微生物群落组成变异 ($P < 0.05$)。随着施氮水平的提高, 小麦季土壤中 *Phenylobacterium*、*Sphingomonas*、*Cyanobacteria Gp1*、*Desulfovirga*、*Lacibacter*、*Terrimonas* 属和水稻季土壤中 *Desulfovirga*、*Spartobacteria genera incertae sedis*、*Ohtaekwangia*、*Acidobacteria Gp7*、*Arenimonas*、*Niastella* 属的种群异步性显著上升。其中, *Phenylobacterium*、*Desulfovirga* 属的种群异步性和 *Desulfovirga*、*Spartobacteria genera incertae sedis*、*Ohtaekwangia*、*Arenimonas* 属的种群异步性分别与小麦、水稻的产量存在显著正相关关系。稻麦轮作体系中, 土壤微生物多样性受到施氮水平的持续性影响, 并随生育期推移而发生变化。施氮水平能够直接影响微生物种群异步性, 从而影响微生物功能的互补性, 进而对稻麦系统的产量产生积极作用。

关键词: 土壤微生物; 异步性; 氮肥; 作物产量; 生育期

中图分类号: S154.3 文献标志码: A

The Relationship between Soil Microbial Population Asynchrony and Crop Yield in Rice-Wheat Rotation with Gradient Nitrogen Inputs

LI Minghui, FENG Xumeng, GUO Junjie, GUO Shiwei, SHEN Qirong, LING Ning[†]

(College of Resources and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University/Jiangsu Provincial Key Laboratory of Solid Organic

* 国家自然科学基金项目 (41977080, 31902114) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 41977080 and 31902114)

[†] 通讯作者 Corresponding author, E-mail: nling@njau.edu.cn

作者简介: 李明辉 (1995—), 男, 辽宁大连人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物多样性与土壤功能研究。E-mail: 2018103113@njau.edu.cn

收稿日期: 2021-06-25; 收到修改稿日期: 2021-11-19; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2022-04-20

Waste Utilization, Nanjing 210095, China)

Abstract: 【Objective】 The object of this study was to explore the effect of nitrogen addition rate on the relationship between soil microbial diversity and asynchrony in rice-wheat rotation. 【Method】 We collected soil samples at key growth stages in rice-wheat rotation under different nitrogen addition rates in a long-term experiment and used high-throughput sequencing technology to analyze the effect of nitrogen addition rate on soil microbial diversity. Also, we explored the effects of nitrogen addition rates on yield by altering soil microbial asynchrony. The gradient N addition rates in field experiment were 0, 50, 100, 200, 300 kg·hm⁻² for wheat and 0, 90, 180, 270, 360 kg·hm⁻² for rice. The key growth stages when soil samples were collected include: fallow before wheat planting, jointing, booting, flowering, and maturing during the wheat season, and fallow before rice planting, max-tillering, shooting, flowering, and maturing during rice season. 【Result】 N addition rates impacted soil microbial diversity and composition in each growth stage, and the N addition rate could significantly account for about 12% variations of microbial richness in the rice period. When the N addition rates were 100 or 180 kg·hm⁻², soil microbial diversity in the wheat or rice seasons, respectively, was maintained at a relatively high level across all plant developmental stages. Also, the N addition rate could significantly account for 9%–11% variations in microbial community composition in the wheat and rice period. With the increase of N addition rate, the asynchrony of some microbial populations was significantly increased during the wheat (e.g. *Phenylobacterium*, *Sphingomonas*, *Cyanobacteria GpI*, *Desulfovira*, *Lacibacter*, *Terrimonas*) and rice seasons (e.g. *Desulfovira*, *Spartobacteria genera incertae sedis*, *Ohtaekwangia*, *Acidobacteria Gp7*, *Arenimonas*, *Niastella*). Importantly, the wheat and rice yields showed positive relationships with the asynchronies of *Phenylobacterium* and *Desulfovira* and with the asynchronies of *Desulfovira*, *Spartobacteria genera incertae sedis*, *Ohtaekwangia* and *Arenimonas*, respectively. 【Conclusion】 Nitrogen addition rate has a constant impact on soil microbial diversity in rice-wheat rotation during plant development, which changes microbial population asynchrony, and then improves certain functional complementation to increase crop yield. The results of this study can provide a scientific basis and practical guidance for regulating soil microbial communities to maintain high crop yield.

Key words: Soil microbe; Asynchrony; Nitrogen fertilizer; Crop yield; Growth stage

全球生物多样性的丧失威胁着生态系统功能与服务的可持续发展^[1-3]。诸多证据表明,物种多样性的降低会对多种生态系统功能产生负面影响^[4-5]。相反,多样性更高的群落可长期支持更多样化的生态系统功能^[6-7],这可能是由于不同物种在不同时间段内可维持生态系统的多功能性和多服务性。例如植物群落净生产力的维持^[8]。随着时间的变化,同一群落中具有不同生态位和生活史的物种,可能会出现不同的多度动态变化^[9-10]。因此,生态学中引入异步性(asynchrony)或同步性(synchrony)的指标来表征物种之间多度随时间变化的状态。随着时间的推移,物种多度不断波动,若物种间多度变化趋势一致,则认为是同步变化;若种间变化趋势相反,认为是异步变化。在某一生境中,整体生物群落在响应时间过程中的环境变化时,可通过增强物种之间的异步效应来对功能的稳定性产生积极影响,其原因是种群内不同

物种对环境波动响应的方式或时间不同,从而使得群落整体的波动减小并使得相关功能得到维持^[11]。换言之,执行相似功能的物种间多度随时间非同步动态变化可维持群落整体功能的稳定。种群内不同物种间多度动态异步变化的特征通常用种群异步性表征^[12]。与其他生态系统相似,伴随着土壤管理实践所导致的水分、养分等环境因子的波动,当土壤生态系统中执行相似功能的物种在随环境波动过程中,其相对丰度呈现此起彼伏或此消彼长的状态,即其相对丰度变化高度异步,则土壤的功能发挥仍能保持相对稳定^[13-14]。因此,种群异步性被认为是在环境扰动下维持土壤功能稳定的主要因素之一^[13-14]。然而,在农田土壤生态系统中,对生物群落的研究通常集中在某个生育期或时间点的采样,而忽略了系统的随时间变化的稳定性。同时,以异步性表征的种群时间稳定性对生态系统中作物生长或产量的影响研究尚鲜有报道。

土壤微生物群落的支持生态系统功能中起着关键作用^[15-16]，如：粮食生产、养分循环等^[17]。土壤微生物的多样性和群落组成可用于预测多种生态系统功能，包括植物多样性、植物生产力、土壤碳同化和养分循环等^[18-22]。高的土壤微生物多样性有助于完成凋落物复杂的降解过程，从而为植物生长提供营养^[23]。微生物多样性的增加还可降低病原体在土壤中定殖的能力，有助于保持植物健康^[24]。因此，了解土壤微生物的多样性和群落组成在农业措施干扰下的变化情况对保障农业持续、优质、高效生产至关重要。然而，氮输入作为驱动土壤微生物群落变化的重要因素之一，其对土壤微生物群落中种群异步变化的影响尚未明确。氮添加对森林土壤微生物生物量的负面影响在不同时间点上并不完全相同^[25]，而另一项研究则表明，草原土壤微生物群落组成对氮添加的响应在多个时间点上相似的^[26]。众所周知，氮肥施用是最为常见的农业管理措施，且在我国氮肥的不合理施用现象仍普遍存在。氮素的投入可使植物和土壤微生物解除了氮素限制，也可使它们对其他限制资源的波动作出更强烈的反应，从而影响种群的时间稳定性。然而，不同氮素输入管理对作物全生育期过程中土壤微生物群落的动态影响仍未明确。因此，需要进一步探明在农田生态系统中施氮水平对土壤微生物种群异步性的影响及其与作物产量的关系。

稻麦轮作是长江下游区域典型的集约化农作制度，是我国当前典型的高氮投入粮食生产系统。本文采集了稻麦轮作体系中长期不同施氮水平下作物关键生育时期（小麦季：小麦种植前、拔节期、孕穗期、扬花期、成熟期；水稻季：水稻种植前、最大分蘖期、拔节孕穗期、开花期、成熟期）的土壤样品，使用高通量测序技术评估施氮水平对土壤微生物群落多样性及组成的动态影响。鉴于研究中常用亲缘关系最近的物种功能信息来预测扩增子测序结果中物种的功能潜力，而属水平内所有物种具有较近的亲缘关系，可以认为同一属水平内的所有物种执行的功能具有高度的相似性。因此，本文通过计算土壤微生物属水平内物种间相对丰度随作物生育时期变化的异步性，来量化表征土壤微生物在水稻/小麦种植期间的异步动态变化情况。通过分析施氮水平、微生物异步性和作物产量之间的关

系，从作物生长期微生物种群内相对丰度动态变化角度探究施氮水平影响作物产量的土壤微生物生态学机制，以期为维持作物稳产、高产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

田间试验于2018年11月至2019年10月在江苏省如皋市农业科学研究所试验田（32.44°N，120.49°E）进行。试验田于2010年设立，供试土壤为水稻土，耕层（0~20 cm）土壤基本理化性质如下：土壤有机质 14.49 g·kg⁻¹，全氮 1.52 g·kg⁻¹，有效磷 8.40 mg·kg⁻¹，速效钾 78.40 mg·kg⁻¹，pH 7.50。

1.2 田间试验设计

试验田为稻麦轮作系统，小麦品种为扬麦 16 号，水稻品种为杂交晚籼稻 Y 两优 3218。小麦季于2018年11月至2019年6月，施氮水平梯度设置：0、50、100、200 和 300 kg·hm⁻²，氮肥分3次施用，基肥：拔节肥：孕穗肥比例为 4：3：3。处理记为 N0、N50、N100、N200 和 N300，共5个处理，设3次重复，随机区组排列。小区面积为 50 m²（长 10 m，宽 5 m），四周设保护行。水稻季于2019年6月至2019年10月，施氮水平梯度设置：0、90、180、270 和 360 kg·hm⁻²，氮肥采用基肥：分蘖肥：促花肥：保花肥为 4：2：2：2 的氮肥运筹模式分次施用。处理记为 N0、N90、N180、N270 和 N360，共5个处理，设3次重复，随机区组排列。小区面积为 50 m²（长 10 m，宽 5 m），每个小区单设排、进水口，小区田埂用防水布覆盖，四周设保护行。试验氮肥种类为尿素（含氮 46%）。

1.3 土壤样品采集与处理

在小麦季，分别于小麦种植前、返青期、拔节孕穗期、扬花期和成熟期进行土壤样品采集；在水稻季，分别于水稻种植前、最大分蘖期、拔节孕穗期、开花期和成熟期进行土壤样品采集。采集时，各小区使用采样器（直径为 2.5 cm）随机采取 5 个 0~20 cm 的耕层土芯，混合均匀后剔除石砾和植物残根等杂质，过 2 mm 筛。过筛后土壤样品立刻用于土壤基因组 DNA 的提取。

1.4 作物实际产量测定

小麦成熟后，每个小区选取 4 m²长势均匀的小麦，田间晾晒脱粒，测定含水量，称重计算实际产量。水稻成熟后，每个小区取 4 m²长势均匀的水稻，田间晾晒脱粒，测定含水量，称重计算实际产量。

1.5 高通量测序及序列分析

称取 0.25 g 土壤，根据 DNA 提取试剂盒（MP Biomedicals，德国）操作说明提取土壤 DNA。细菌 16S rRNA 的扩增引物为 515-F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) 和 806-R (GACTACNVGGGTWTCTAAT)，PCR 扩增、文库准备及上机测序程序均委托广东美格基因科技有限公司基于 Illumina Miseq PE250 平台完成。

使用 FLASH 软件^[27]及 UPARSE 操作流程^[28]对原始序列数据进行处理。(1) 对每个样品的正、反向序列进行拼接并命名；(2) 去除序列质量分数 (Q 值) 小于 20、长度小于 250 bp 的低质量序列、重复序列以及单序列等劣质序列；(3) 采用 97% 阈值生成操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU)；(4) 通过比对 RDP 16S rRNA 数据库注释每个 OTU 的分类信息，分类阈值为 80%；(5) 将每个样品的序列数抽平至所有样品最低值 (38 296)。微生物多样性的表征可采用多种指标，包括均匀度、香农多样性和系统发育多样性等，而物种丰富度被广泛使用且直观地描述微生物多样性^[22]。因此，本文使用物种丰富度，即每个样品中的 OTU 数量^[22]表征微生物多样性。将同一个属内的所有物种视为一个种群，使用相对丰度计算每个样品中属分类水平内物种的微生物异步性^[12]，即小麦季/水稻季从第一次采样时间点至最后一次采样时间点，该属内所有物种之间随着生育时间的变化特征，计算公式如下：

$$1-\phi = 1 - \frac{\sigma^2}{\left(\sum_{i=1}^S \sigma_i\right)^2} \quad (1)$$

式中， $1-\phi$ 为微生物属内物种间相对丰度的异步性， σ^2 为微生物群落中某一微生物属在一定时间内相对丰度变化的方差， σ_i 为该微生物属内物种 i 在一定时间内相对丰度变化的标准差， S 为微生物属中的

物种数量。异步性为 0 代表微生物属内物种波动完全同步，异步性为 1 代表微生物属内物种波动完全异步。

1.6 数据统计与分析

数据统计分析采用 Excel 2016、SPSS 25.0 和 R 3.3.1 软件。采用方差分析 (analysis of variance, ANOVA)、T 检验和非度量多维尺度 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 分析施氮水平和生育时期对土壤微生物群落的影响。采用线性回归模型预测土壤微生物异步性与施氮水平及作物产量的关系。显著性水平设定为 $P < 0.05$ 。

2 结 果

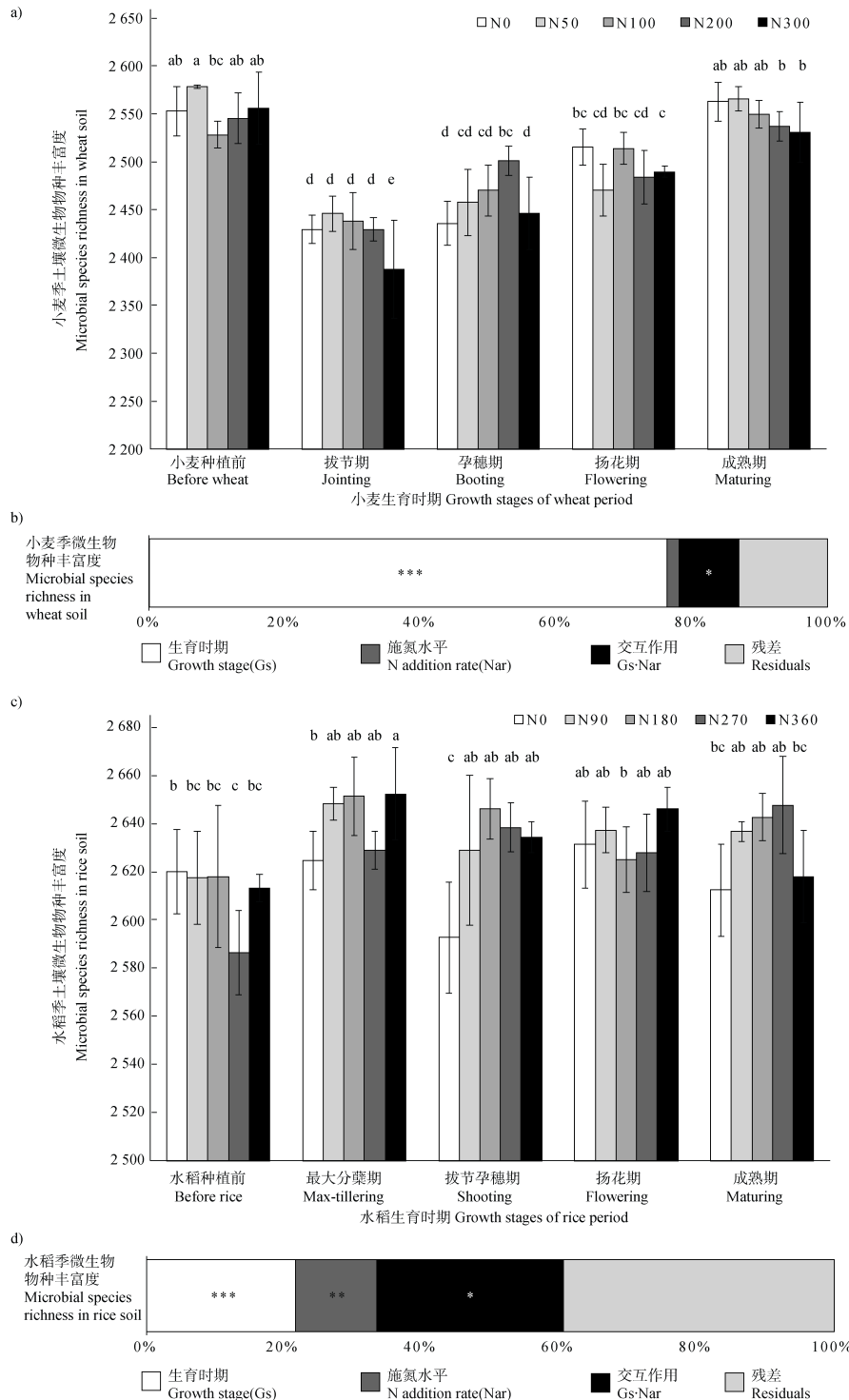
2.1 施氮水平和生育时期对土壤微生物群落的影响

土壤微生物丰富度在小麦种植前显著高于拔节期和孕穗期 (图 1a)。小麦种植季土壤微生物丰富度随着生育时期的推进，呈逐渐上升的趋势。在小麦同一生育时期内，当施氮水平超过 100 kg·hm⁻²，物种丰富度大多呈下降趋势。小麦生育时期可解释 70% 以上物种丰富度的变异 (图 1b)，是土壤微生物多样性的主要影响因子。土壤微生物丰富度在水稻种植后有一定程度的上升 (图 1c)。在水稻种植季各个生育时期，当施氮水平为 180 kg·hm⁻² 时，微生物物种丰富度基本维持在较高水平。生育时期和施氮水平分别可解释 20% 和 10% 以上物种丰富度的变异 (图 1d)，生育时期与施氮水平的交互作用可解释 25% 以上物种丰富度的变异。

在小麦和水稻种植期间，土壤微生物群落均主要由变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、疣微菌门 (Verrucomicrobia)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae)、放线菌门 (Actinobacteria) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 组成 (图 2a 和图 2b)。施氮水平和生育时期分别可解释 9% 和 41% 小麦季微生物群落组成的变异 (图 2c)，施氮水平和生育时期分别可解释 11% 和 26% 水稻季微生物群落组成的变异 (图 2d)。

2.2 施氮水平对土壤微生物异步性的影响

基于施氮水平显著改变微生物整体群落的结果，



注: a. 小麦季微生物物种丰富度; b. 小麦季微生物物种丰富度的方差分析 c. 水稻季微生物物种丰富度 d.水稻季微生物物种丰富度的方差分析。采用方差分析计算生育时期和施氮水平对土壤微生物多样性的影响程度。图 1a 和图 1c 中柱状图上不同小写字母表示显著性 $P < 0.05$; 图 1b 和图 1d 中的显著性标注为 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。Note: a. Microbial species richness in wheat soil; b. ANOVA of microbial species richness in wheat soil; c. Microbial species richness in rice soil; d. ANOVA of microbial species richness in rice soil. The contributions of the growing stage and the N addition rate to microbial species richness were analyzed using ANOVA. In Fig. 1a and Fig. 1c, the different letters above the columns indicate the significance at $P < 0.05$, and in Fig. 1b and Fig. 1d, the significance is indicated by * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

图 1 不同施氮水平下小麦/水稻各生育时期土壤微生物多样性变化

Fig. 1 Change of soil microbial diversity in each growth stage of wheat/rice with different N addition rates

进一步分析施氮水平对小麦季/水稻季中功能更为相似的微生物种群（即属）的影响。在小麦种植期间，共检测到 87 个土壤微生物属，其中 9 个微生物属的异步性与施氮水平存在显著的相关性（图 3a）。施氮水平分别与 *Phenylobacterium*、*Sphingomonas*、*Cyanobacteria GpI*、*Desulfovira*、*Lacibacter* 和 *Terrimonas* 属的种群异步性呈现显著正相关，而与 *Nitrospira*、*Aridibacter* 和 *Armatimonadetes gp5* 属的种群异步性呈现显著负相关。在水稻种植期间，共检测到 87 个土壤微生物属，其中 6 个土壤微生物属的种群异步性与施氮水平存在显著相关性，其余微生物属未检测到与施氮水平的显著相关性（图 3b）。施氮水平分别与 *Desulfovira*、*Spartobacteria genera incertae sedis*、*Ohtaekwangia*、*Acidobacteria Gp7*、*Arenimonas* 和 *Niastella* 属的种群异步性呈现显著正相关。

2.3 土壤微生物异步性对作物产量的影响

不同施氮水平下，小麦/水稻的实际产量如表 1 所示。在小麦季，3 种受施氮水平显著影响的微生物属的种群异步性与小麦产量显著相关（图 4a）：小麦产量分别与 *Phenylobacterium* 和 *Desulfovira* 属的种群异步性呈正相关关系，而与 *Nitrospira* 属的种群异步性呈负相关关系。在水稻季，4 个受施氮水平显著影响的微生物属的种群异步性与水稻产量显著相关（图 4b）：水稻产量分别与 *Desulfovira*、*Spartobacteria genera incertae sedis*、*Ohtaekwangia* 和 *Arenimonas* 属的种群异步性呈正相关关系。

3 讨论

微生物属水平分类的物种在进化亲缘关系上较近，因此同一属分类的所有物种可能具有相似的功能潜能，施氮水平提高对多个微生物种群异步性的增强，有助于稳定作物生长期相关功能，并贡献于稻麦产量的提升，例如，*Phenylobacterium* 和 *Desulfovira* 属的种群异步性随施氮水平提高而提高，且其异步性与小麦产量呈显著正相关关系；*Desulfovira*、*Spartobacteria genera incertae sedis*、*Ohtaekwangia* 和 *Arenimonas* 属的种群异步性也随施氮水平的提高而增强，且其异步性与水稻产量呈显著正相关关系（图 3 和图 4）。同时，施氮水平的提高也能降低一些微生物种群的异步性，而本研究发现，上述种群的异步性与产量呈现负相关，这说明，施氮措施能干扰某些不利于作物产量提升的相关微生物功能的稳定性，从而进一步贡献于产量提升。

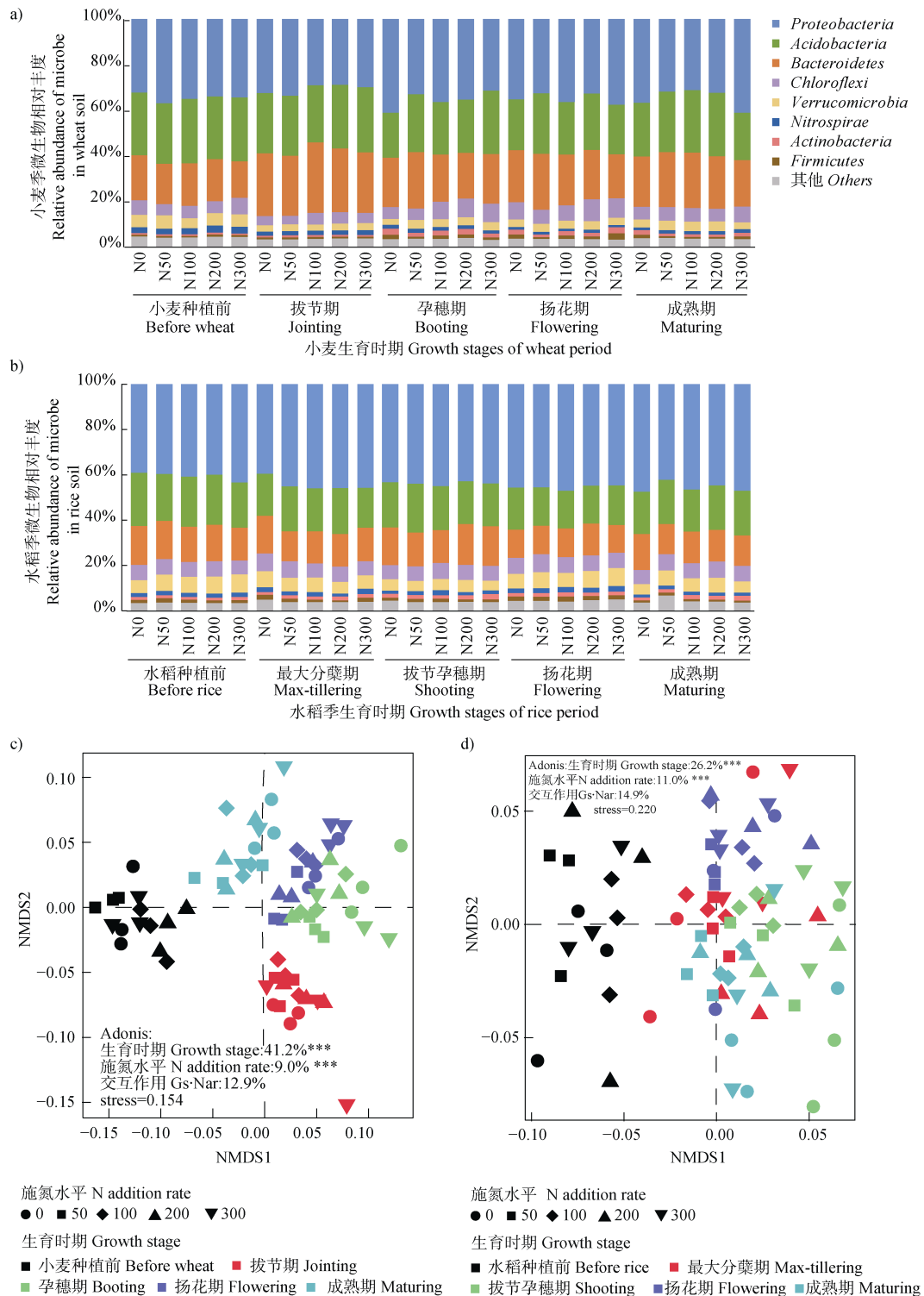
3.1 施氮水平对稻麦轮作各生育时期土壤微生物群落的影响

本研究发现，稻麦轮作体系中各关键生育时期的土壤微生物多样性对施氮水平呈非线性响应（图 1a 和图 1c）。当小麦季/水稻季中施氮水平分别在 100 和 180 kg·hm⁻² 时，各生育时期中微生物多样性能维持较高水平（图 1a 和图 1c）。该发现证实了农田生态系统中土壤微生物多样性对施氮水平的非线性响应。结合在森林、草原生态系统中相似

表 1 不同施氮水平下小麦/水稻实际产量

Table 1 The yield of wheat/rice with different N addition rate

小麦季施氮梯度 N addition rate of wheat / (kg·hm ⁻²)	小麦产量 Yield of wheat / (kg·hm ⁻²)	水稻季施氮梯度 N addition rate of rice / (kg·hm ⁻²)	水稻产量 Yield of rice / (kg·hm ⁻²)
0	3 000±1 182	0	8 225±279
50	5 467±301	90	10 823±1 115
100	5 750±150	180	12 443±1 024
200	8 350±477	270	13 057±332
300	9 500±346	360	13 943±448



注：a. 小麦季微生物群落组成；b. 水稻季微生物群落组成；c. 小麦季微生物群落结构的 NMDS 分析；d. 水稻季微生物群落结构的 NMDS 分析。微生物群落组成的 NMDS 图中，显著性标注为 $P < 0.05$, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$ 。Note: a. Composition of the microbial community in wheat soil; b. Composition of the microbial community in rice soil; c. NMDS of the microbial community in wheat soil; d. NMDS of the microbial community in rice soil. Nonmetric multidimensional scaling (NMDS) analysis of soil microbial composition. Significance is indicated by $* P < 0.05$, $** P < 0.01$, $*** P < 0.001$.

图 2 不同施氮水平下小麦/水稻各生育时期土壤微生物群落结构变化

Fig. 2 Change of soil microbial composition in each growth stage of wheat with different N addition rates

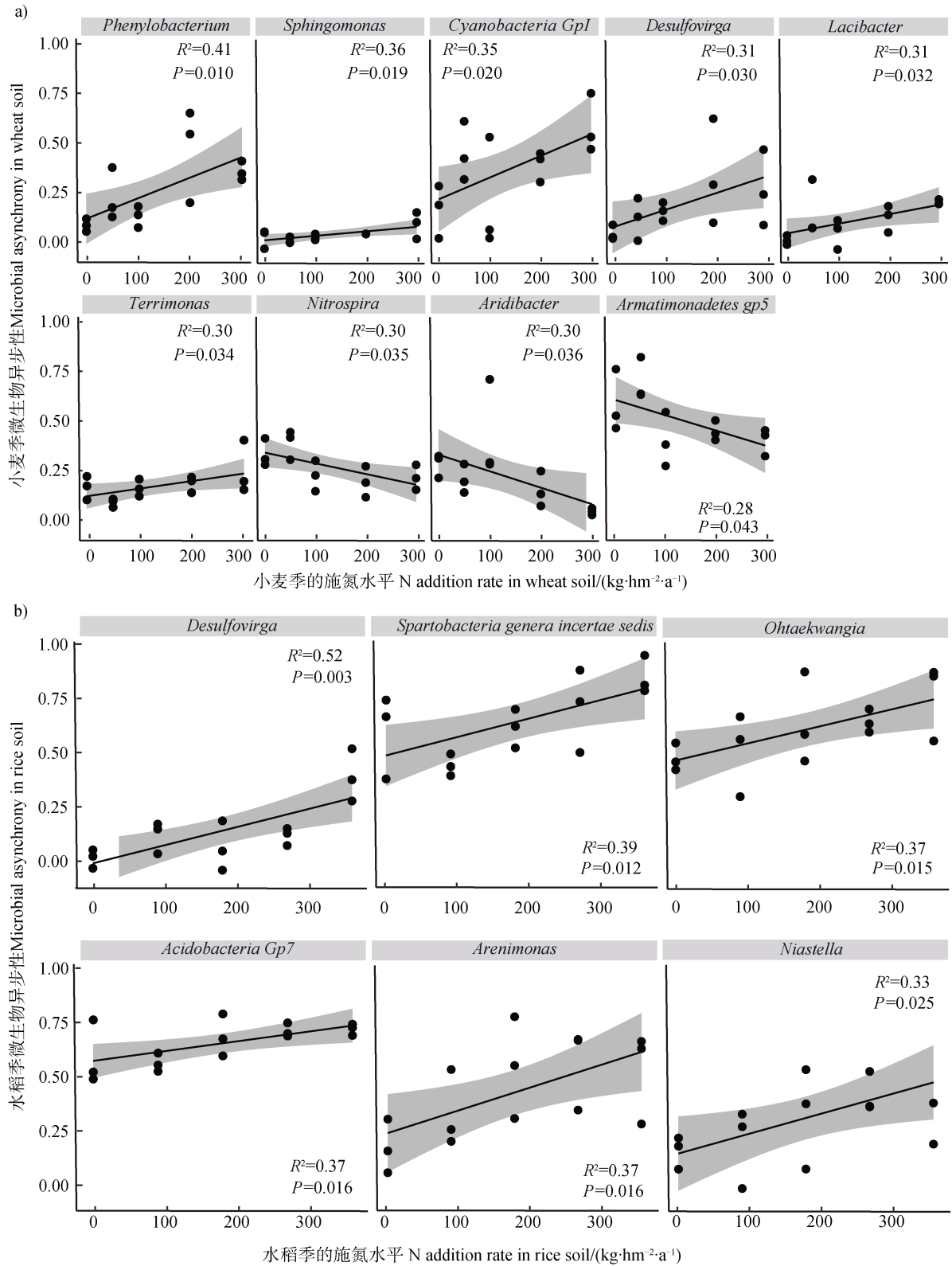


图3 微生物异步性与施氮水平的关系 (a. 小麦季微生物异步性与施氮水平的关系; b. 水稻季微生物异步性与施氮水平的关系)

Fig. 3 Relationships between microbial asynchrony with N addition rate (a. Relationships between microbial asynchrony with N addition rate in wheat soil; b. Relationships between microbial asynchrony with N addition rate in rice soil)

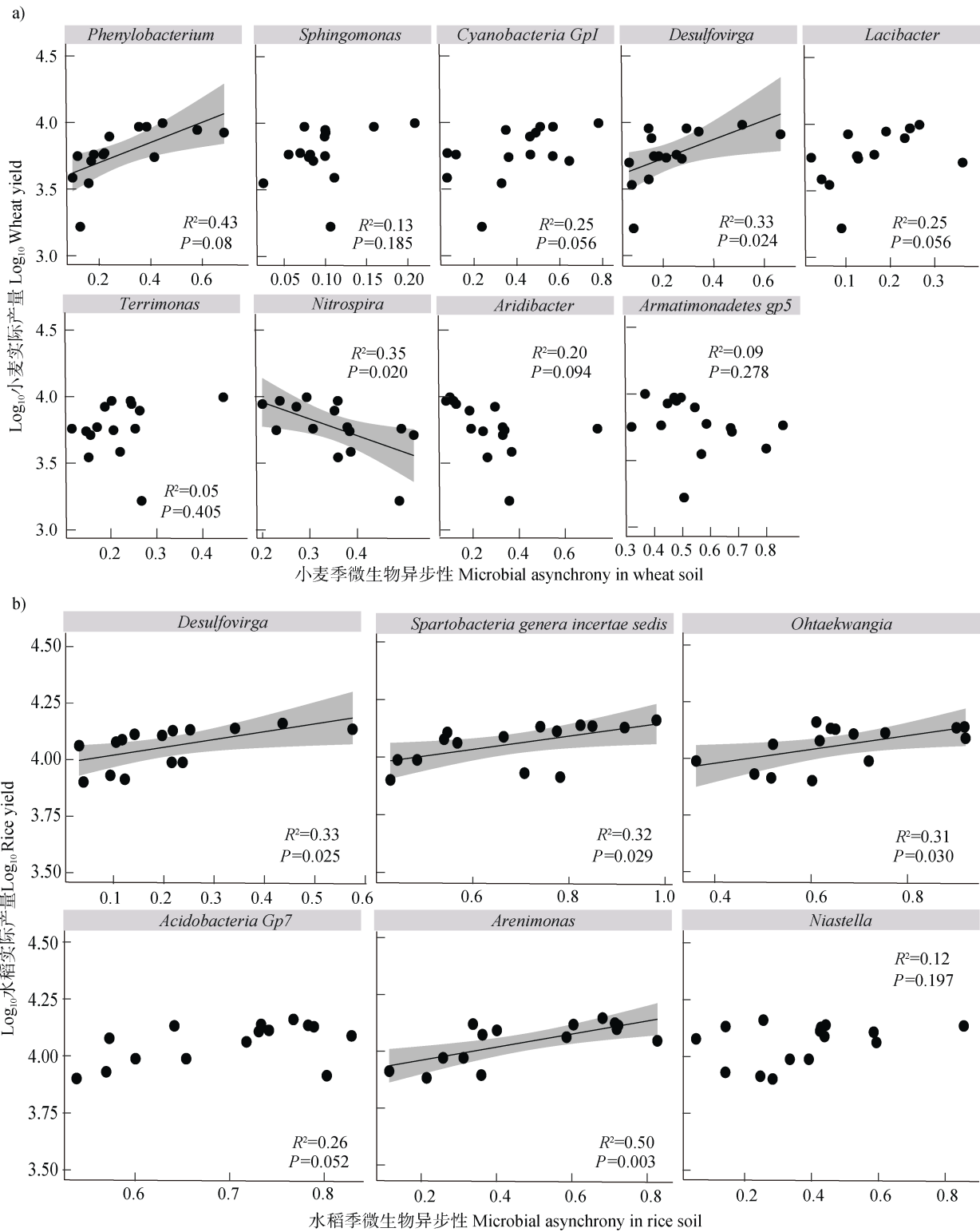


图 4 稻麦产量与微生物异步性的关系 (a. 小麦产量与微生物异步性的关系; b. 水稻产量与微生物异步性的关系)

Fig. 4 Relationships between wheat/rice yield with microbial asynchrony (a. Relationships between \log_{10} (wheat yield) with microbial asynchrony; b. Relationships between \log_{10} (rice yield) with microbial asynchrony)

响应情况^[29-30]，本研究进一步揭示了土壤微生物多样性对施氮水平的非线性响应广泛存在于多种生态系统中。氮添加可有效提升植物地下部生物量及根系碳沉积量^[31-32]，可能导致土壤中的碳资源增加并进一步提升了土壤微生物的多样性。已有研究报道土壤 pH 的降低会显著降低生物多样性^[33]，维持长期的高施氮水平会导致土壤 pH 降低^[34]，从而导致微生物多样性对高施氮水平的负响应。本研究还发现，施氮水平对各生育时期土壤微生物组成存在显著的影响，施氮水平解释了约 10% 小麦季或水稻季微生物组成的变异（图 1b 和图 1d）。施氮水平可通过改变氮素利用率直接影响微生物群落的组成^[35]，并通过改变土壤 pH 和植物生物量间接影响微生物组成^[36-38]。该发现强调了施氮水平对微生物群落的调控作用。大部分已有研究的采样均集中于系统的某单一时期^[21, 29, 35]，本研究发现施氮水平对微生物群落的影响存在于作物各关键生育期（图 2）。施氮水平对微生物群落的持续性影响可能源于其对土壤性质及植物生物量的改变。土壤微生物多样性与群落组成受到稻麦各生育时期的显著影响，其中小麦季各生育时期间的差异显著高于水稻季（图 1 和图 2），这可能是由于生育时期对微生物群落的影响源自气候及资源可利用的变化^[39]，小麦季的气候变化相对水稻季的气候变化更为显著。在本研究中，作物生育时期对土壤微生物的影响大于施氮水平的影响（图 1b 和图 1d），说明需要更多的动态监测研究去探明作物生育时期对土壤微生物群落的影响机制。本研究发现了稻麦轮作体系中土壤微生物多样性对施氮水平的非线性响应，并证实了施氮对微生物群落的持续性影响。这些结果指出了合理调控施氮水平以维持土壤微生物多样性的必要性，并揭示了动态监测施氮对土壤微生物群落影响的重要性，为采取合理施氮措施以维持、提高作物产量提供了科学依据。

3.2 土壤微生物异步性与稻麦产量的关系

本研究发现，施氮水平显著改变了小麦季/水稻季中土壤微生物种群的异步性（图 3a 和图 4a）。施氮水平对微生物异步性的影响可能是由于其对微生物多样性的改变。土壤微生物的异步性与多样性存在显著相关关系^[13]。物种丰富度和密度的增加可能导致物种间竞争的加剧，从而增加单个物种的

波动并进而改变了异步性^[9-10]。施氮水平也可能通过改变微生物物种的相对丰度来影响微生物异步性。氮水平的提高会减轻生物群落的氮素限制从而增加常见物种的丰度，改变生态系统中的物种优势^[40]，进而影响了种群内异步性。施氮水平对微生物异步性的影响在不同作物中存在差异性（图 3），这可能是因为：（1）在不同气候条件下，同一种群微生物对氮素的响应因气候环境的不同而不一致；（2）不同植物物种种植下，土壤微生物种群丰度受植物影响的程度不一致；（3）不同作物种植季，与施氮配合的栽培措施不一致。尽管如此，本研究明确了作物的产量是受不同微生物种群异步性的影响（图 4），这表明稻麦轮作体系中，限制不同作物产量的土壤功能可能不一致，贡献于作物产量的微生物种类要与作物种类相匹配。本研究虽未观察到微生物多样性对作物产量的显著影响，但发现了施氮水平对特定土壤微生物种群异步性的提升作用，及种群异步性对作物产量提升的潜在作用（图 3 和图 4）。例如，施氮水平的提高可同时增加小麦和水稻季 *Desulfovira* 属的种群异步性，并且其异步性的提高有助于提高稻麦系统的产量。*Desulfovira* 属在硫酸盐还原过程中起到关键作用^[41]，*Desulfovira* 属内异步性的提高可稳定该属在稻麦体系所行使的功能。已有研究报道 *Arenimonas* 属对反硝化过程有所贡献，其异步性的提升可能优化水稻种植过程中的氮素供应形态，从而有助于水稻产量的提升^[42]。上述结果明确了采取合理施氮水平以维持良好土壤功能的必要性，为通过合理的施氮水平增强土壤微生物种群异步性以促进稻麦产量的提升提供了直接证据，并进一步揭示了土壤微生物关键种群的异步性可能是施氮水平影响作物产量的潜在机制之一。

4 结 论

施氮水平对长期稻麦轮作中土壤微生物多样性及组成产生了持续并显著的影响，进而可能改变土壤微生物种群异步性并促进作物产量提高。稻麦轮作体系中土壤微生物多样性对施氮水平存在非线性响应。当施氮水平分别高于 100 和 180 kg·hm⁻² 时，小麦季和水稻季的微生物多样性呈现下降趋势。施

氮水平的提高增强了土壤微生物种群异步性, 进而有助于作物产量的提升。然而, 需要进一步关注因施氮而异步性降低却对作物产量有着正影响的种群, 综合运用其他耕作措施来提高它们的异步性, 以进一步维持农业生产过程中的功能稳定性。综上, 本文指出了在农田生态系统中长期动态监测施氮水平对土壤微生物群落影响的必要性, 并阐述了微生物异步性是施氮水平影响作物产量的潜在机制之一, 为通过合理施氮来调控微生物区系种群随时间的动态变化以维持、提升作物产量提供了理论基础和科学依据。

参考文献 (References)

- [1] Cardinale B J, Duffy J E, Gonzalez A, et al. Biodiversity loss and its impact on humanity[J]. *Nature*, 2012, 486 (7401): 59—67.
- [2] Hector A, Bagchi R. Biodiversity and ecosystem multifunctionality[J]. *Nature*, 2007, 448 (7150): 188—190.
- [3] Hooper D U, Adair E C, Cardinale B J, et al. A global synthesis reveals biodiversity loss as a major driver of ecosystem change[J]. *Nature*, 2012, 486(7401): 105—108.
- [4] Maestre F T, Quero J L, Gotelli N J, et al. Plant species richness and ecosystem multifunctionality in global drylands[J]. *Science*, 2012, 335 (6065): 214—218.
- [5] Zavaleta E S, Pasari J R, Hulvey K B, et al. Sustaining multiple ecosystem functions in grassland communities requires higher biodiversity[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107 (4): 1443—1446.
- [6] Hautier Y, Isbell F, Borer E T, et al. Local loss and spatial homogenization of plant diversity reduce ecosystem multifunctionality[J]. *Nature Ecology & Evolution*, 2018, 2 (1): 50—56.
- [7] Yachi S, Loreau M. Biodiversity and ecosystem productivity in a fluctuating environment: The insurance hypothesis[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96 (4): 1463—1468.
- [8] Loreau M. Stability and complexity of ecosystems: New perspectives on an old debate[M]. Princeton, New Jersey: Princeton University Press, 2010: 123—163.
- [9] Chesson P. Mechanisms of maintenance of species diversity[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 2000, 31 (1): 343—366.
- [10] Loreau M, de Mazancourt C. Species synchrony and its drivers: Neutral and nonneutral community dynamics in fluctuating environments[J]. *The American Naturalist*, 2008, 172 (2): E48—E66.
- [11] Gonzalez A, Loreau M. The causes and consequences of compensatory dynamics in ecological communities[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 2009, 40: 393—414.
- [12] Huang M, Liu X, Zhou S. Asynchrony among species and functional groups and temporal stability under perturbations: Patterns and consequences[J]. *Journal of Ecology*, 2020, 108 (5): 2038—2046.
- [13] Wagg C, Dudenhffer J H, Widmer F, et al. Linking diversity, synchrony and stability in soil microbial communities[J]. *Functional Ecology*, 2018, 32 (5): 1280—1292.
- [14] Wagg C, Hautier Y, Pellkofer S, et al. Diversity and asynchrony in soil microbial communities stabilizes ecosystem functioning[J]. *eLife*, 2021, 10: e62813.
- [15] Bardgett R D, van der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning[J]. *Nature*, 2014, 515 (7528): 505—511.
- [16] Delgado-Baquerizo M, Maestre F T, Reich P B, et al. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 10541.
- [17] Bender S F, Wagg C, van der Heijden M G A. An underground revolution: Biodiversity and soil ecological engineering for agricultural sustainability[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2016, 31 (6): 440—452.
- [18] Bradford M A, Wood S A, Bardgett R D, et al. Discontinuity in the responses of ecosystem processes and multifunctionality to altered soil community composition[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111 (40): 14478—14483.
- [19] Delgado-Baquerizo M, Reich P B, Trivedi C, et al. Multiple elements of soil biodiversity drive ecosystem functions across biomes[J]. *Nature Ecology & Evolution*, 2020, 4 (2): 210—220.
- [20] Mori A S, Isbell F, Fujii S, et al. Low multifunctional redundancy of soil fungal diversity at multiple scales[J]. *Ecology Letters*, 2016, 19 (3): 249—259.

- [21] Wagg C, Bender S F, Widmer F, et al. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111 (14): 5266—5270.
- [22] Wagg C, Schlaeppi K, Banerjee S, et al. Fungal-bacterial diversity and microbiome complexity predict ecosystem functioning[J]. *Nature Communications*, 2019, 10 (1): 4841.
- [23] van der Heijden M G, Bardgett R D, van Straalen N M. The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems[J]. *Ecology Letters*, 2008, 11 (3): 296—310.
- [24] van Elsas J D, Chiurazzi M, Mallon C A, et al. Microbial diversity determines the invasion of soil by a bacterial pathogen[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109 (4): 1159—1164.
- [25] Contosta A R, Frey S D, Cooper A B. Soil microbial communities vary as much over time as with chronic warming and nitrogen additions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 88: 19—24.
- [26] Matulich K L, Weihe C, Allison S D, et al. Temporal variation overshadows the response of leaf litter microbial communities to simulated global change[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9 (11): 2477—2489.
- [27] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27 (21): 2957—2963.
- [28] Edgar R C. UPARSE: Highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10: 996—998.
- [29] Li Q, Song X Z, Gu H H, et al. Nitrogen deposition and management practices increase soil microbial biomass carbon but decrease diversity in Moso bamboo plantations[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 28235.
- [30] Liu W, Jiang L, Yang S, et al. Critical transition of soil bacterial diversity and composition triggered by nitrogen enrichment[J]. *Ecology*, 2020, 101 (8): e03053.
- [31] Qi X, Wang J G. Distribution and translocation of assimilated C pulse-labeled with ^{13}C for winter wheat (*Triticum aestivum* L.), as affected by nitrogen supply[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27 (6): 2524—2530. [齐鑫, 王敬国. 应用 ^{13}C 脉冲标记方法研究不同施氮量对冬小麦净光合碳分配及其向地下输入的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2008, 27 (6): 2524—2530].
- [32] Zhu J G, Kou T J, Zeng Q, et al. Effect of elevated atmospheric CO_2 concentration and level of nitrogen fertilizer on root respiration and biomass of winter wheat[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2008, 32 (4): 922—931. [朱建国, 寇太记, 曾青, 等. CO_2 浓度增加和不同氮肥水平对冬小麦根系呼吸及生物量的影响[J]. *植物生态学报*, 2008, 32 (4): 922—931.]
- [33] Zhou J, Guan D, Zhou B, et al. Influence of 34-years of fertilization on bacterial communities in an intensively cultivated black soil in Northeast China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90: 42—51.
- [34] Zhao J, Feng W Q, Qin Y S, et al. Effects of application of nitrogen, phosphorus and potassium fertilizers on soil pH and cadmium availability[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47 (5): 953—961. [赵晶, 冯文强, 秦鱼生, 等. 不同氮磷钾肥对土壤 pH 和镉有效性的影响[J]. *土壤学报*, 2010, 47 (5): 953—961.]
- [35] Ramirez K S, Craine J M, Fierer N. Nitrogen fertilization inhibits soil microbial respiration regardless of the form of nitrogen applied[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42 (12): 2336—2338.
- [36] Compton J E, Watrud L S, Porteous L A, et al. Response of soil microbial biomass and community composition to chronic nitrogen additions at harvard forest[J]. *Forest Ecology and Management*, 2004, 196 (1): 143—158.
- [37] Kaiser C, Koranda M, Kitzler B, et al. Belowground carbon allocation by trees drives seasonal patterns of extracellular enzyme activities by altering microbial community composition in a beech forest soil[J]. *New Phytologist*, 2010, 187 (3): 843—858.
- [38] Rousk J, Bååth E, Brookes P C, et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil[J]. *The ISME Journal*, 2010, 4 (10): 1340—1351.
- [39] Waldrop M P, Firestone M K. Response of microbial community composition and function to soil climate change[J]. *Microbial Ecology*, 2006, 52 (4): 716—724.
- [40] Sasaki T, Lauenroth W K. Dominant species, rather than diversity, regulates temporal stability of plant communities[J]. *Oecologia*, 2011, 166 (3): 761—768.

- [41] Tanaka K , Stackebrandt E , Tohyama S , et al. *Desulfovirga adipica* gen. nov., sp. nov., an adipate-degrading, gram-negative, sulfate-reducing bacterium[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2000, 50 (2): 639—644.
- [42] Xing W, Li J, Li D, et al. Stable-isotope probing reveals the activity and function of autotrophic and heterotrophic denitrifiers in nitrate removal from organic-limited wastewater[J]. Environmental Science & Technology, 2018, 52 (14): 7867—7875.

(责任编辑：陈荣府)