DOI：10.11766/trxb202108250454

郭龙，冯童禹，薛壮壮，王超，沈仁芳. 氮形态和磷肥对红壤玉米根际解磷微生物群落和磷酸酶活性的影响[J]. 土壤学报，2023，60（5）：1493–1506.

GUO Long，FENG Tongyu，XUE Zhuangzhuang，WANG Chao，SHEN Renfang. Effects of Nitrogen Form and Phosphorus Fertilizer on Phosphorus-solubilizing Bacteria and Phosphatase of Maize Rhizosphere in Acidic Red Soil[J]. Acta Pedologica Sinica，2023，60（5）：1493–1506.

氮形态和磷肥对红壤玉米根际解磷微生物群落和磷酸酶活性的影响*

郭　龙[1, 2]，冯童禹[1, 2]，薛壮壮[1, 2]，王　超[1†]，沈仁芳[1, 2]

（1. 土壤与农业可持续发展国家重点实验室（中国科学院南京土壤研究所），南京 210008；2. 中国科学院大学，北京 100049）

摘　要：较低的土壤磷素有效性限制了酸性红壤生产潜力提升。作为磷素活化的主要执行者，解磷微生物对施肥和根际作用的综合响应尚不清楚。以玉米为试验材料，设置磷肥水平（施磷和不施磷）与不同氮形态（铵态氮肥和硝态氮肥）的交互试验，使用编码酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的微生物 *phoC* 和 *phoD* 基因作为分子标记物，研究了施肥和根际作用对酸性红壤磷酸酶活性和相关功能微生物群落的影响。结果显示，根际作用显著提高了土壤磷酸酶活性，且作用强度大于氮形态和磷肥水平。氮形态、磷肥水平和根际作用均显著影响 *phoD* 细菌操作分类单元（OTU）数目和香农指数，然而仅有氮形态和根际作用影响 *phoC* 细菌 OTU 数目。根际作用对 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落组成结构的影响程度显著高于氮形态和磷肥水平，而且对 *phoD* 细菌群落的作用更明显。根际磷酸酶活性提高与土壤有机质增加密切相关。*phoC* 细菌群落组成和结构的变化主要与根际养分变化有关，而 *phoD* 细菌群落结构的变化可能是根系分泌物和养分变化共同作用的结果。总体而言，玉米根际作用对酸性红壤磷酸酶活性和相关功能细菌群落的影响大于氮形态和磷肥水平，但是其作用强度一定程度上依赖于上述施肥措施。

关键词：酸性红壤；施肥措施；根际作用；解磷微生物；磷酸酶活性

中图分类号：S154.36　　**文献标志码：**A

Effects of Nitrogen Form and Phosphorus Fertilizer on Phosphorus-solubilizing Bacteria and Phosphatase of Maize Rhizosphere in Acidic Red Soil

GUO Long[1, 2], FENG Tongyu[1, 2], XUE Zhuangzhuang[1, 2], WANG Chao[1†], SHEN Renfang[1, 2]

(1. *State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture*, *Institute of Soil Science*, *Chinese Academy of Sciences*, *Nanjing* 210008, *China*; 2. *University of Chinese Academy of Sciences*, *Beijing* 100049, *China*)

* 国家自然科学基金项目（42020104004，52022028）资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China（Nos. 42020104004 and 52022028）

† 通讯作者 Corresponding author，E-mail：chwang@issas.ac.cn

作者简介：郭　龙（1994—），男，河南新乡人，博士研究生，主要从事土壤微生物研究。E-mail：lguo@issas.ac.cn

收稿日期：2021–08–25；收到修改稿日期：2021–12–15；网络首发日期（www.cnki.net）：2022–03–05

Abstract: 【Objective】Low phosphorus (P) availability limits the increase in the productive capacity of acidic soils. The bacteria *phoC* and *phoD* genes encode acid and alkaline phosphatase (ACP and ALP), respectively, which mineralize organic phosphorus (P) to inorganic P, are affected differently under different fertilization regimes. However, the combined responses of phosphorus-solubilizing microorganisms (PSM) to fertilization strategies and the rhizosphere effect are still unclear.【Method】In this study, it was evaluated the response of maize to the interaction of different nitrogen forms (ammonium nitrogen and nitrate nitrogen) and phosphate fertilizer levels. The *phoC* and *phoD* genes, separately coding for acid and alkaline phosphatase productions, were used as molecular markers to investigate the effects of fertilization strategies and rhizosphere effect on soil phosphatase activities and associated functional microbial communities in acidic soil. 【Result】The rhizosphere effect significantly increased soil phosphatase activities in the rhizosphere. ALP activities in the rhizosphere under nitrate-nitrogen treatment were lower than in the corresponding ammonium nitrogen treatment. Also, the strength of the rhizosphere effect was greater than that of nitrogen forms and phosphate fertilizer levels. Nitrogen forms, phosphate fertilizer levels and rhizosphere effect all significantly affected the operational taxonomic units (OTU) number and Shannon index of *phoD*-harboring bacteria, but only nitrogen forms and rhizosphere effect affected the OTU number of *phoC*-harboring bacteria. Principal coordinate analysis (PCoA) and PERMANOVA analysis showed that the rhizosphere effect exhibited more influence on the *phoC*-and *phoD*-harboring bacterial community composition than nitrogen forms and phosphate fertilizer levels, with more effects on the *phoD*-harboring bacterial community. The stimulation of soil phosphatase activities in the rhizosphere was closely related to the increase in soil organic matter. Additionally, changes in the composition and structure of *phoC*-harboring bacterial community were mainly related to the changes in rhizosphere nutrients, while the changes of *phoD*-harboring bacterial community structure may be attributed to combined effects of root exudates and nutrient changes. 【Conclusion】The rhizosphere showed more influence on soil phosphatase activities and associated functional bacterial communities than nitrogen forms and phosphate fertilizer levels in acidic soil. However, the strength of the effect strongly relied on the fertilization strategies.

Key words: Acidic red soil; Fertilization strategies; Rhizosphere effect; Phosphorus-solubilizing bacteria; Phosphatase activity

酸性土壤（pH < 5.5）约占我国土壤总面积的22.7%，主要分布在水热资源丰富、生产潜力巨大的南方红壤地区[1]。酸性红壤特点在于养分贫瘠和胁迫因子众多，其中磷素是作物生产潜力发挥的最大限制养分元素[2]。事实上，所谓的土壤缺磷并不是磷素贮量不足，而是缺少植物可利用的有效磷，红壤区酸化加剧导致磷素有效性更低[3]。传统农业生产中，施用化学磷肥是解决酸性红壤上植物缺磷的主要途径，然而较低的磷肥利用率（10%～25%）不仅造成资源浪费，而且引发水体富营养化等环境风险[4]。磷矿是一种不可再生资源，在未来 50～100年世界磷矿储量可能被开采耗尽。如何有效利用土壤遗留的磷，提高土壤磷素利用，对于恢复酸性红壤生态系统的养分循环功能、保护生态环境和节约资源具有十分重要的意义。

解磷微生物作为土壤生态系统的重要生物组分，是土壤难溶性磷活化和形态转化的执行者。其活化磷素的一个重要途径是分泌磷酸酶，将土壤有机态磷转化为生物可利用的有效磷[5]。磷酸酶包括酸性磷酸酶和碱性磷酸酶，其活性是反映土壤有机磷分解潜力的重要指标[6]。微生物的 *phoC* 和 *phoD* 基因分别作为编码酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的分子标记物，为检测土壤解磷微生物的种类、丰度以及群落结构提供了有效手段[7-8]。土壤磷酸酶活性与解磷微生物群落多样性和组成结构密切相关[9]。作为重要的农业措施，施肥通过改变土壤解磷微生物群落影响磷酸酶活性[10]。由于氮肥是加速农田土壤酸化的主要诱因[11]，磷肥是提高植物磷素吸收的主要途径，在酸性土壤中这两种施肥措施受到广泛关注。虽然氮肥形态（铵态氮肥和硝态氮肥）被报道影响了酸性红壤总细菌和固氮菌群落[12-13]，但是对酸性红壤磷酸酶活性及相关功能微生物的影响尚未见报道。不同于氮肥，磷肥对酸性土壤磷酸酶活性以及 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落的影响已有报道[14]，但在不同试验中，磷肥对土壤磷酸酶活性和相关功能微生物群落的影响程度和模式差异较大[14-15]。因此，需要更多的研究阐明施肥措施对酸性土壤解磷微生物群落组成和功能的影响，明确解磷微生物发挥功能

的有利条件。

在土壤-植物生态系统中，除了施肥措施，植物根际也是影响土壤微生物群落组成和功能的重要驱动力。根际微生物组作为植物的第二基因组，已成为科学研究热点[16]。根际效应对土壤解磷微生物群落组成和功能有积极的作用[17]，但是施肥调控下的根际效应变化强度鲜有报道。实际上，根际对土壤微生物的调控作用受施肥措施的直接影响，主要通过改变土壤性质和植物生长状态[18]。因此，土壤微生物群落组成和功能发挥是根际效应和施肥措施综合作用的结果，两者密不可分。尽管施肥措施和根际效应对土壤解磷微生物群落和磷酸酶活性的影响均有报道[8, 15]，但是两者的综合效应尚缺乏研究。

因此，本研究设置了氮形态和磷肥水平两种施肥措施的交互试验，以酸性红壤重要的旱作作物玉米为研究对象，分析了非根际与根际土壤磷酸酶活性及 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落多样性和组成结构，重点考察了施肥措施对根际作用强度的影响，试图明确施肥还是根际效应是调控酸性红壤解磷微生物群落组成和功能的主要因素。研究结果为充分发挥解磷微生物功能以及深入挖掘酸性红壤解磷微生物资源提供理论基础和科学支撑。

1　材料与方法

1.1　盆栽试验

盆栽试验所用酸性红壤采自江西省鹰潭市中国科学院鹰潭红壤生态实验站的森林土。土壤基本理化性质为 pH 4.38，有机质 12.53 $g\cdot kg^{-1}$，全氮 0.49 $g\cdot kg^{-1}$，全磷 0.30 $g\cdot kg^{-1}$，全钾 10.97 $g\cdot kg^{-1}$，有效磷 9.01 $mg\cdot kg^{-1}$。共设置 4 个处理：施用铵态氮肥（硫酸铵）不施磷（NH_4-P0）、施用铵态氮肥和磷肥（NH_4-P100）、施用硝态氮肥（硝酸钠）不施磷（NO_3-P0）、施用硝态氮肥和磷肥（NO_3-P100）。氮肥使用量为 88.9 $mg\cdot kg^{-1}$（以 N 计），磷肥以磷酸二氢钾形式供应，施肥量为 100 $mg\cdot kg^{-1}$（以 P 计），不施磷肥处理中使用硫酸钾添加钾 125.8 $mg\cdot kg^{-1}$（以 K 计）。每盆用土 2.0 kg，肥料一次性施入，与土壤混匀后装盆。每个处理设置 8 盆，其中 4 盆种玉米，4 盆不种。试验在中国科学院南京土壤研究所自然温室中进行。试验玉米品种为郑单 958，每盆播种 5 粒种子，土壤含水量保持在饱和持水量的 60%。玉米地上部长至 1 cm 时间苗，每盆定植 3 棵幼苗。自间苗之日起，进行为期 3 周的培养。

1.2　植物和土壤样品采集与元素测定

采用抖根法收集根际土壤，每盆玉米获得的根际土混匀作为一个根际土壤样品。未种玉米盆中的土壤为非根际土。土壤样品分 3 份保存：一份储存在–20℃用于 DNA 提取；另一部分储存于 4℃冰箱，一周之内测定磷酸酶活性、铵态氮和硝态氮含量；剩余土壤样品风干研磨后用于测定其他土壤理化性质。收集玉米根系和地上部，用蒸馏水反复冲洗掉根系表面土壤颗粒后，于 105℃杀青，65℃烘干至恒重，并称重。地上部样品粉碎后使用 H_2SO_4-H_2O_2 消煮，采用凯氏定氮仪（Hanon K9860，山东）测定氮含量，分别使用钼锑抗比色法和火焰光度计（FP640，上海）测定磷和钾元素含量。

1.3　土壤理化性质测定

按照土水质量比 1∶2.5 振荡后，用 pH 计（Mettler Toledo FE20，美国）测定土壤 pH。使用重铬酸钾氧化法测量土壤有机质含量，Vario MAX CNS 元素分析仪（Elementar，Hanau，德国）测量土壤全氮。氯化钾浸提新鲜土壤，用连续流动分析仪（San^{++}，Skalar，荷兰）测定铵态氮和硝态氮含量。H_2SO_4-$HClO_4$ 消解土壤，分别用钼锑抗比色法和火焰光度法测定全磷和全钾含量。使用盐酸-氟化铵溶液浸提土壤后，用钼锑抗比色法测定有效磷含量。土壤经醋酸铵溶液浸提后，使用火焰光度法测定土壤速效钾含量。土壤酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性测定参照鲁如坤[19]描述的方法。

1.4　土壤 DNA 提取及高通量测序

使用 DNA 试剂盒（FastDNA SPIN Kit for soil）提取土壤总 DNA。分别采用 *phoC* 基因的引物序列 phoc-A-F1（5′-CGGCTCCTATCCGTCCGG-3′）/phoc-A-R1（5′-CAACATCGCTTTGCCAGTG-3′）[8]和 *phoD* 基因的引物序列 S-F730（5′-CAGTGGGACGACCAC-GAG-GT-3′）/S-R1101（5′-GAGGCCGATCGGCATGTCG-3′）[7]进行 PCR 扩增，并在每个样品的上游引物 5'端添加一段长度为 7 bp 的特异性多肽以区分样品。PCR 反应体系和程序参照 Zheng 等[14]。然后将 PCR 产物送至派森诺生物技术有限公司（上海），分别运用 Illumina HiSeq PE150 和 Illumina

Miseq PE250 对 *phoC* 和 *phoD* 基因进行双端测序。

1.5 数据处理与统计分析

利用 FLASH 软件对双端序列进行连接后，采用 QIIME 软件将测序的双端序列数据进行处理，并使用 USEARCH 剔除嵌合体序列，获得每个样本的有效序列。去除长度小于 130 bp 的 *phoC* 基因序列和长度小于 150 bp 的 *phoD* 基因序列。将剩余的高质量序列聚类为操作分类单元（OTU），阈值设置为 97%，并选取每个 OTU 中丰度最高的序列作为代表序列。基于美国国立生物技术信息中心基因库（NCBI GenBank）对代表序列进行分类学注释。每个样品 OTU 序列稀释至相同水平（42 888 个有效序列），用于 α 和 β 多样性分析。使用 QIIME 软件计算 α 多样性指数（OTU 数目和香农指数）。

基于 Bray-Curtis 距离，使用主坐标分析（PCoA）展示 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落的组成结构。置换多元方差分析（PERMANOVA）用于检验根际作用、氮肥形态和磷肥水平对细菌群落结构影响差异的显著性。使用 Mantel 分析检验土壤理化因子对细菌群落结构的影响。以上分析均使用 R 软件“vegan”包完成。

使用软件 SPSS20.0 进行统计分析。单因素方差分析（One-way ANOVA）检验不同处理间植株生物量及地上部氮、磷、钾含量的差异。三因素方差分析比较根际作用、氮形态及磷肥水平对土壤理化性质、磷酸酶活性、微生物多样性指数和优势属相对丰度的影响。如果差异具有统计学意义（$P<0.05$），再使用单因素方差分析或 T 检验进行差异比较。使用皮尔森（Pearson）分析土壤理化性质与磷酸酶活性、*phoC* 和 *phoD* 细菌多样性之间的相关性。

2 结 果

2.1 氮形态和磷肥水平对玉米生物量和土壤理化性质的影响

相同磷肥水平下，相比铵态氮肥，施用硝态氮肥显著提高了玉米生物量；而相同氮形态处理下，施用磷肥明显提高玉米生物量（表 1）。铵态氮和磷肥配施处理（NH_4-P100）有更高的地上部氮和磷含量（表 1），而所有处理中地上部钾含量均无显著差异。

三因素方差分析表明，不同氮肥形态处理显著（$P<0.05$）影响了土壤 pH、全氮、全磷、铵态氮、硝态氮、有效磷和速效钾含量，磷肥处理影响了全磷、有机质、铵态氮和有效磷含量（$P<0.05$），而根际作用显著影响了全磷、全钾、有机质、铵态氮、速效钾和有效磷含量（$P<0.05$，表 2）。与铵态氮肥相比，硝态氮肥处理显著提高了土壤 pH，而且硝态氮和磷肥配施处理（NO_3-P100）具有最高的土壤全磷、有机质和有效磷含量。铵态氮肥处理下根际铵态氮含量显著小于非根际。所有处理根际速效钾含量均显著低于非根际。

表 1 不同氮形态与磷肥水平处理下玉米生物量和地上部养分含量

Table 1 Maize biomass and the content of N，P，K in maize shoots under nitrogen forms and phosphorus fertilizer levels

处理 Treatment	地上部生物量 Shoot biomass /（g·pot^{-1}）	地下部生物量 Root biomass /（g·pot^{-1}）	氮含量 N content /（mg·g^{-1}）	磷含量 P content /（mg·g^{-1}）	钾含量 K content /（mg·g^{-1}）
NH_4-P0	6.27 ± 0.57c	2.68 ± 0.16c	7.18 ± 0.92ab	1.70 ± 0.15b	17.17 ± 3.01a
NH_4-P100	7.37 ± 0.16c	3.87 ± 0.2ab	7.92 ± 1.47a	2.87 ± 0.54a	16.43 ± 0.82a
NO_3-P0	10.45 ±0.97b	3.61 ± 0.37b	6.62 ± 1.05ab	1.34 ± 0.09b	19.52 ± 1.25a
NO_3-P100	14.05 ± 1.68a	4.34 ± 0.63a	5.47 ± 1.48b	1.55 ± 0.44b	18.51 ± 2.96a

注：NH_4-P0：铵态氮不施磷；NH_4-P100：铵态氮施磷肥；NO_3-P0：硝态氮不施磷；NO_3-P100：硝态氮施磷。表中数值为平均值 ± 标准差（$n = 4$）。同列不同小写字母表示四个施肥处理间差异达 $P<0.05$ 显著水平。下同。Note：NH_4-P0：ammonium nitrogen without phosphorus fertilizer；NH_4-P100：ammonium nitrogen with phosphorus fertilizer；NO_3-P0：nitrate nitrogen without phosphorus fertilizer；NO_3-P100：nitrate nitrogen with phosphorus fertilizer. The values are the mean ± SD（$n = 4$）. Different letters followed by values within each column indicate a significant difference among different treatments（$P < 0.05$）. The same below.

表 2　不同氮形态与磷肥水平处理下玉米根际与非根际土壤理化性质

Table 2　Soil physicochemical characteristics in the bulk and rhizosphere soils of maize under different nitrogen forms and phosphorus fertilizer levels

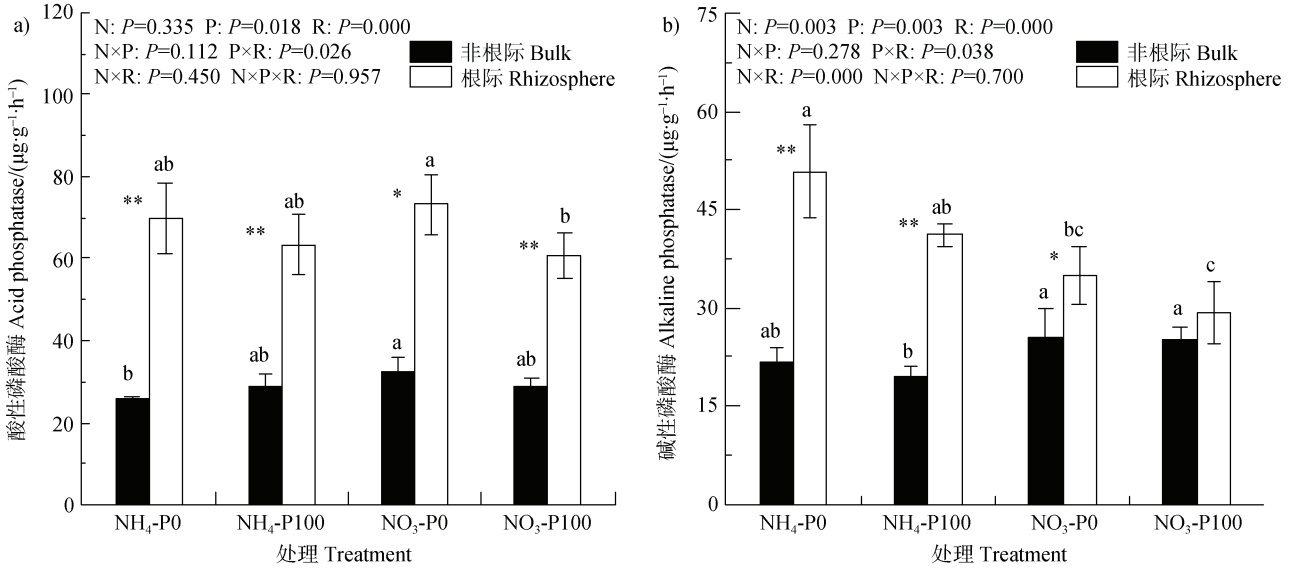
处理 Treatment	取样位点 Sampling site	pH	TN/（g·kg^{-1}）	TP/（g·kg^{-1}）	TK/（g·kg^{-1}）	SOM/（g·kg^{-1}）
NH_4-P0	非根际	4.23 ± 0.05b	0.77 ± 0.02a	0.38 ± 0.03c	10.79 ± 0.17a	8.93 ± 1.92b
	根际	4.23 ± 0.02b	0.72 ± 0.01a	0.36 ± 0.02c	10.84 ± 0.19a	10.68 ± 0.41b
NH_4-P100	非根际	4.23 ± 0.05b	0.74 ± 0.02a	0.48 ± 0.01b*	10.84 ± 0.19a	9.87 ± 0.66a
	根际	4.22 ± 0.04b	0.76 ± 0.08a	0.42 ± 0.02b	10.64 ± 0.30a	11.33 ± 0.33a*
NO_3-P0	非根际	4.46 ± 0.05a	0.70 ± 0.04b	0.36 ± 0.02c	10.99 ± 0.23a*	9.52 ± 0.21ab
	根际	4.64 ± 0.23a	0.74 ± 0.02a	0.36 ± 0.02c	10.59 ± 0.00a	10.86 ± 0.39ab*
NO_3-P100	非根际	4.39 ± 0.04a	0.70 ± 0.03b	0.53 ± 0.05a	10.84 ± 0.19a	10.98 ± 0.38a
	根际	4.52 ± 0.16a	0.73 ± 0.05a	0.51 ± 0.06a	10.64 ± 0.10a	11.71 ± 1.82a
三因素方差分析 Three-way analysis of variance statistic		N：*P*=0.000，P：*P*=0.205，R：*P*=0.052，N × P：*P*=0.255，N × R：*P*=0.039，P × R：*P*=0.726，N × P × R：*P*=0.776	N：*P*=0.034，P：*P*=0.925，R：*P*=0.489，N × P：*P*=0.690，N × R：*P*=0.061，P × R：*P*=0.340，N × P × R：*P*=0.212	N：*P*=0.010，P：*P*=0.000，R：*P*=0.031，N× P：*P*=0.001，N × R：*P*=0.291，P × R：*P*=0.180，N × P × R：*P*=0.724	N：*P*=0.853，P：*P*=0.359，R：*P*=0.010，N × P：*P*=0.836，N × R：*P*=0.105，P × R：*P*=0.839，N × P × R：*P*=0.109	N：*P*=0.385，P：*P*=0.050，R：*P*=0.000，N × P：*P*=0.847，N × R：*P*=0.933，P × R：*P*=0.951，N × P × R：*P*=0.635

处理 Treatment	取样位点 Sampling site	NH_4^+-N/（mg·kg^{-1}）	NO_3^--N /（mg·kg^{-1}）	AP/（mg·kg^{-1}）	Ak/（mg·kg^{-1}）
NH_4-P0	非根际	60.39 ± 12.07a*	16.26 ± 5.37b	2.54 ± 0.26c	228.40 ± 7.54a*
	根际	13.68 ± 5.41a	20.29 ± 9.29b	1.96 ± 0.19c	118.08 ± 13.27a
NH_4-P100	非根际	23.47 ± 2.35bc*	13.95 ± 2.38b	18.82 ± 1.96b	226.80 ± 7.65a*
	根际	8.78 ± 1.42bc	14.58 ± 0.44b	16.26 ± 2.62b	109.69 ± 8.36ab
NO_3-P0	非根际	13.17 ± 5.53cd	28.44 ± 19.86b	3.13 ± 0.57c	204.02 ± 7.94b*
	根际	5.56 ± 1.51c	40.51 ± 19.80a	2.43 ± 0.22c	109.29 ± 12.82ab
NO_3-P100	非根际	11.53 ± 5.51d	62.04 ± 13.05a*	28.08 ± 4.48a*	217.61 ± 6.19a*
	根际	9.86 ± 3.23bc	17.93 ± 12.96b	20.28 ± 2.86a	95.30 ± 10.36c
三因素方差分析 Three-way analysis of variance statistic		N：*P*=0.000，P：*P*=0.000，R：*P*=0.000，N × P：*P*=0.000，N×R：*P*=0.000，P × R：*P*=0.000，N × P × R：*P*=0.003	N：*P*=0.000，P：*P*=0.867，R：*P*=0.134，N × P：*P*=0.291，N × R：*P*=0.048，P × R：*P*=0.002，N × P × R：*P*=0.006，	N：*P*=0.000，P：*P*=0.000，R：*P*=0.001，N×P：*P*=0.001，N × R：*P*=0.100，P × R：*P*=0.008，N × P × R：*P*=0.116	N：*P*=0.000，P：*P*=0.451，R：*P*=0.000，N × P：*P*=0.486，N × R：*P*=0.451，P × R：*P*=0.018，N × P × R：*P*=0.138

注：TN：全氮；TP：全磷；TK：全钾：SOM：有机质；NH_4^+-N：铵态氮；NO_3-N：硝态氮；AP：有效磷；AK：速效钾。同列不同小写字母表示非根际或根际样品在四个施肥处理间差异达 *P*<0.05 显著水平。*表示同一个处理中非根际和根际样品间差异达 *P*<0.05 显著水平。N：氮形态；P：磷肥水平；R：根际效应。下同。Note：TN：total nitrogen；TP：total phosphorus；TK：total potassium；SOM：soil organic matter；NH_4^+-N：ammonium nitrogen；NO_3^--N：nitrate nitrogen；AP：available phosphorus；AK：available potassium. Different letters followed by values within each column indicate significant a difference among different treatments for bulk or rhizosphere soil samples（*P*<0.05）. * indicates a significant difference between bulk and rhizosphere soil samples under the same treatment. N：nitrogen form；P：phosphorus fertilizer levels；R：rhizosphere effect. The same below.

2.2 氮形态和磷肥水平对非根际和根际土壤磷酸酶活性的影响

三因素方差分析显示，磷肥水平和根际作用显著（$P<0.05$）影响土壤酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性，而氮形态仅显著影响了碱性磷酸酶活性；并且根际作用对磷酸酶活性的影响强度要明显高于氮肥和磷肥水平（图 1）。除了 NO_3-P100 处理，施肥根际土壤磷酸酶活性均显著高于非根际（$P<0.05$）。NO_3-P0 处理根际酸性磷酸酶活性显著高于 NO_3-P100。NH_4-P0 处理根际碱性磷酸酶活性显著高于 NO_3-P0 和 NO_3-P100。NO_3-P0 处理非根际酸性磷酸酶活性显著高于 NH_4-P0，并且 NO_3-P0 和 NO_3-P100 处理非根际碱性磷酸酶活性均显著高于 NH_4-P100（$P<0.05$）。



注：磷酸酶单位以每克土壤（干物质量当量）在 1 小时内释放对硝基苯酚量（微克）计。图中柱子上不同小写字母表示非根际或根际样品在四个施肥处理间的差异显著性（$P<0.05$）。星号表示同一处理下非根际和根际样品间差异达显著水平（*$P<0.05$，**$P<0.01$）。使用三因素方差分析检验氮形态、磷肥、根际作用对磷酸酶活性的影响。下同。Note：The potential enzyme activities were defined as μg of p-nitrophenol released by per g of soil（dry weight equivalent）within 1 h. Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among different treatments for bulk or rhizosphere soil samples（$P < 0.05$）. Asterisk indicates the significant influence（* $P < 0.05$ or ** $P < 0.01$）between bulk and rhizosphere soil samples under the same treatment. A three-way analysis was conducted to examine the effects of nitrogen form, phosphorus fertilizer and rhizosphere effect on soil phosphatase activities. The same below.

图 1 不同氮形态与磷肥水平处理下非根际和根际土壤酸性磷酸酶（a）和碱性磷酸酶（b）活性

Fig. 1 Activities of acid phosphatase（a）and alkaline phosphatase（b）of bulk and rhizosphere soils under different nitrogen forms and phosphorus fertilizer levels

2.3 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落优势属和 α 多样性

表 3 展示了 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落各优势属的相对丰度。三因素方差分析显示，根际作用和磷肥水平未影响 *phoC* 细菌优势属的相对丰度，而不同氮形态显著（$P<0.05$）影响了克雷伯氏菌属（*Klebsiella*）的相对丰度。根际作用显著影响了所有 *phoD* 细菌优势属的相对丰度，尤其是山冈单胞菌属（*Collimonas*），由非根际的 7.84%～10.92%增加至根际的 48.76%～86.78%。然而，其他 *phoD* 细菌优势属在根际中的相对丰度均不同程度地低于非根际。氮形态显著（$P<0.01$）影响了山冈单胞菌属（*Collimonas*）和假单胞菌属（*Pseudomonas*）的相对丰度，磷肥水平并未显著影响 *phoD* 细菌的优势属。硝态氮肥处理根际山冈单胞菌属（*Collimonas*）相对丰度显著高于铵态氮肥的根际样品。

三因素方差分析显示，氮形态和根际作用显著（$P<0.01$）影响了 *phoC* 细菌 OTU 数目，但是氮形态、磷肥水平和根际作用未影响 *phoC* 细菌的香农指数

（图 2a 和图 2c）；氮形态、磷肥水平和根际作用均显著（$P<0.05$）影响了 *phoD* 细菌 OTU 数目和香农指数（图 2b 和图 2d）。磷肥处理下根际 *phoC* 细菌 OTU 数目显著大于非根际，而根际 *phoD* 细菌 OTU 数目在所有处理中均显著高于非根际。除了 NH_4-P0 处理外，施肥根际 *phoD* 细菌香农指数均显著低于非根际。

2.4　*phoC* 和 *phoD* 细菌群落组成结构

采用 PCoA 可视化了 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落组成结构（图 2e 和图 2f），*phoC* 和 *phoD* 细菌群落在非根际和根际样品中明显分开。PERMANOVA 分析表明，根际作用显著影响了 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落组成，其中对 *phoD* 细菌群落（F=17.358，P=0.001）的作用强度高于 *phoC* 细菌群落（F=1.906，P=0.003；表 4）。氮形态显著（$P<0.05$）影响了 *phoD* 细菌群落组成，但是未影响 *phoC* 细菌群落；磷肥水平均未影响 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落组成。不施磷肥处理（NH_4-P0 和 NO_3-P0）根际 *phoC* 细菌群落组成显著（$P<0.05$）不同于非根际；*phoD* 细菌群落组成在所有处理非根际与根际样品间均差异显著（$P<0.05$）。氮形态显著（$P<0.05$）影响了根际 *phoD* 细菌群落组成。

2.5　磷酸酶活性、*phoC* 和 *phoD* 细菌群落多样性和组成与土壤理化性质的相关性

相关性分析显示，磷酸酶活性和相关功能细菌群落 OTU 数目与土壤有机质显著（$P<0.05$）正相关，与土壤铵态氮和速效钾显著（$P<0.05$）负相关（表 5）。此外，*phoC* 细菌 OTU 数目与土壤 pH 显著正相关。*phoD* 细菌香农指数与土壤全钾、铵态氮和速效钾显著正相关，与土壤 pH 和有机质显著负相关。然而，*phoC* 细菌香农指数与土壤理化因子无显著性相关。*phoC* 和 *phoD* 细菌群落组成结构与速效钾显著相关，而且 *phoD* 细菌群落结构与有机质和铵态氮显著相关。

表 3　不同氮形态与磷肥水平处理下非根际和根际中优势 *phoC* 和 *phoD* 细菌属（相对丰度>1%）的相对丰度

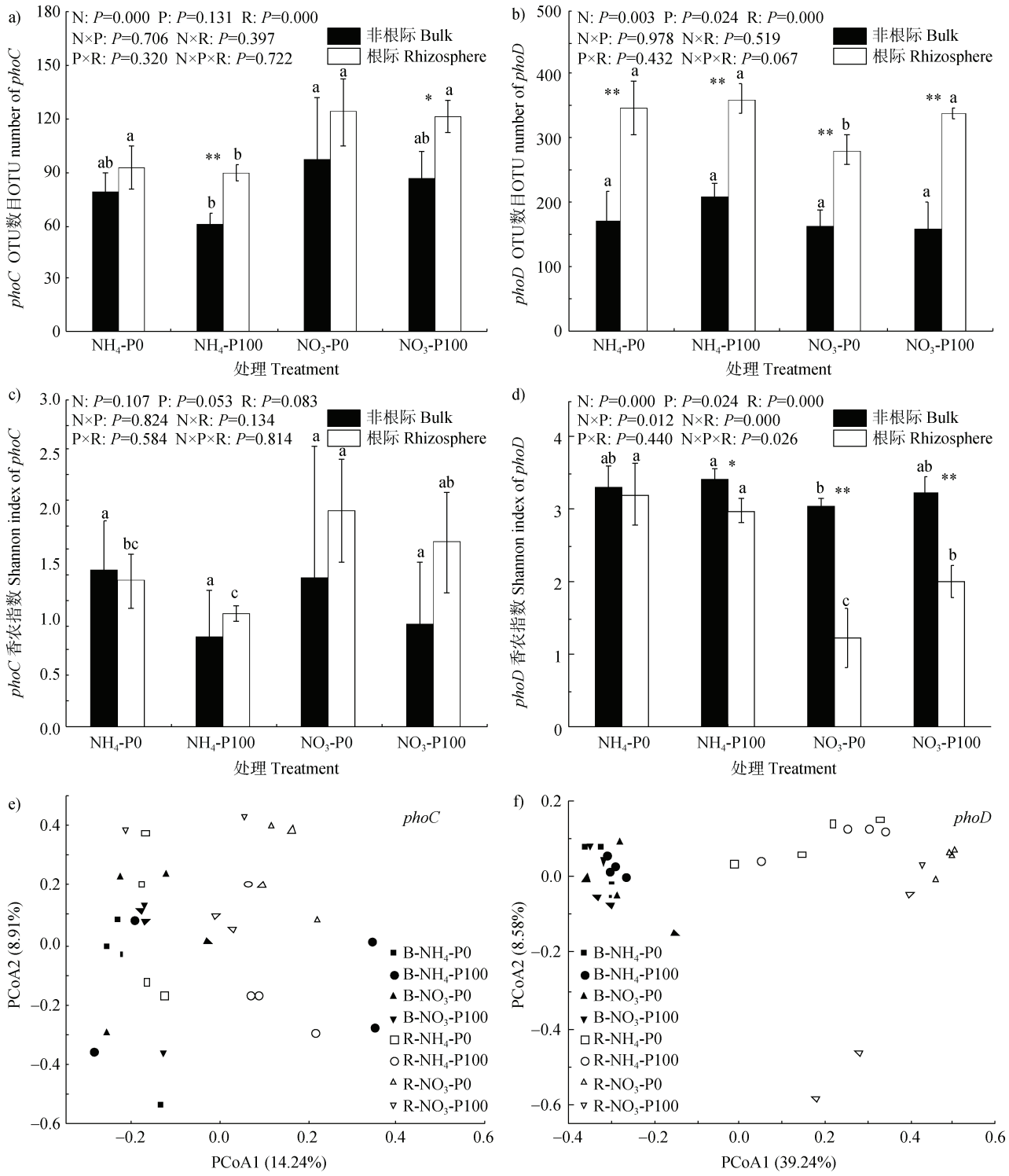
Table 3　The relative abundances of dominant *phoC*- and *phoD*-genera（> 1%）in bulk and rhizosphere soils under different nitrogen forms and phosphorus fertilizer levels/%

	处理 Treatment	取样位点 Sampling site	贪铜菌属 *Cupriavidus*	寡养单胞菌属 *Stenotrophomonas*	克雷伯氏菌属 *Klebsiella*	黄单胞菌属 *Xanthomonas*
phoC 细菌 *phoC*-harboring bacteria	NH_4-P0	非根际	54.73 ± 38.18a	8.47 ± 13.14a	2.09 ± 4.06a	0.73 ± 1.41a
		根际	35.83 ± 21.23a	15.32 ± 19.84a	0.04 ± 0.01a	2.34 ± 4.16a
	NH_4-P100	非根际	70.70 ± 32.83a	7.28 ± 11.16a	0.03 ± 0.01a	0.01 ± 0.01a
		根际	54.18 ± 36.38a	1.89 ± 2.02a	0.69 ± 1.28a	0.08 ± 0.02a
	NO_3-P0	非根际	45.78 ± 39.04a	4.17 ± 7.63a	1.88 ± 3.69a	3.30 ± 6.45a
		根际	48.90 ± 4.49a	3.00 ± 2.73a	10.17 ± 11.41a	2.07 ± 3.58a
	NO_3-P100	非根际	21.12 ± 25.81a	5.78 ± 11.01a	1.08 ± 2.10a	0.06 ± 0.03a
		根际	42.60 ± 29.92a	1.33 ± 1.75a	10.54 ± 9.60a	7.36 ± 14.28a
	三因素方差分析 Three-way analysis of variance statistic		N：P=0.259，P：P=0.912，R：P=0.361，N × P：P=0.552，N × R：P=0.604，P × R：P=0.410，N × P × R：P=0.238	N：P=0.221，P：P=0.334，R：P=0.782，N × P：P=0.337，N × R：P=0.638，P × R：P=0.307，N × P × R：P=0.552	N：P=0.016，P：P=0.821，R：P=0.053，N × P：P=0.904，N×R：P=0.026，P × R：P=0.635，N × P × R：P=0.851	N：P=0.198，P：P=0.939，R：P=0.804，N× P：P=0.143，N × R：P=0.176，P × R：P=0.634，N × P × R：P=0.714

续表

	处理 Treatment	取样位点 Sampling site	山冈单胞菌属 *Collimonas*	链霉菌属 *Streptomyces*	慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium*	假单胞菌属 *Pseudomonas*
phoD 细菌 *phoD*-harboring bacteria	NH_4-P0	非根际	8.30 ± 4.60a	29.07 ± 4.18a*	11.99 ± 1.88b	16.72 ± 6.45a
		根际	48.76 ± 10.16b*	14.41 ± 4.19a	10.56 ± 4.58a	11.46 ± 5.32a
	NH_4-P100	非根际	10.92 ± 5.91a	20.82 ± 6.35a	24.30 ± 2.30a*	16.65 ± 5.14a*
		根际	55.02 ± 7.45 b*	11.28 ± 1.92ab	10.72 ± 3.57a	8.06 ± 1.11a
	NO_3-P0	非根际	7.84 ± 3.02a	28.89 ± 17.78a	19.35 ± 12.51ab	7.09 ± 5.55ab
		根际	86.78 ± 6.19a*	5.06 ± 2.84c	2.72 ± 0.97b	0.92 ± 0.35b
	NO_3-P100	非根际	9.27 ± 3.49a	31.25 ± 8.38a*	15.92 ± 7.37ab*	5.77 ± 6.92b
		根际	78.39 ± 4.92a*	8.67 ± 2.84bc	4.62 ± 2.26b	1.62 ± 0.52b
	三因素方差分析 Three-way analysis of variance statistic		N：*P*=0.000，P：*P*=0.826，R：*P*=0.000，N × P：*P*=0.079，N × R：*P*=0.000，P × R：*P*=0.483，N × P × R：*P*=0.133	N：*P*=0.877，P：*P*=0.627，R：*P*=0.000，N × P：*P*=0.127，N × R：*P*=0.054，P × R：*P*=0.568，N × P × R：*P*=0.728	N：P=0.076，P：P=0.187，R：P=0.000，N × P：P=0.095，N × R：P=0.122，P × R：P=0.405，N × P × R：P=0.040	N：*P*=0.000，P：*P*=0.544，R：P=0.001，N × P：*P*=0.673，N × R：*P*=0.599，P × R：*P*=0.846，N × P × R：*P*=0.429

	处理 Treatment	取样位点 Sampling site	芽单胞菌属 *Gemmatimonas*	红色杆菌属 *Rubrobacter*	糖多孢菌属 *Saccharopolyspora*	*Pleomorphomonas*
phoD 细菌 *phoD*-harboring bacteria	NH_4-P0	非根际	7.58 ± 3.64a	12.14 ± 8.32a	4.45 ± 3.00ab	4.47 ± 6.42a
		根际	2.64 ± 1.35b	2.57 ± 1.61ab	4.10 ± 2.71a	1.24 ± 0.79a
	NH_4-P100	非根际	9.41 ± 6.02a	5.46 ± 5.33a	0.30 ± 0.38b	3.85 ± 2.67a
		根际	3.90 ± 4.83a	2.81 ± 1.15a	1.67 ± 1.04b	1.31 ± 0.87a
	NO_3-P0	非根际	4.23 ± 2.31a*	9.11 ± 9.70a	8.45 ± 5.34a*	4.66 ± 7.46a
		根际	0.34 ± 0.12ab	0.50 ± 0.55c	0.18 ± 0.10b	0.17 ± 0.08b
	NO_3-P100	非根际	9.83 ± 1.37a*	4.81 ± 3.93a	9.08 ± 6.83a	3.34 ± 3.84a
		根际	0.82 ± 0.26a	1.11 ± 0.53bc	0.28 ± 0.12b	0.29 ± 0.12b
	三因素方差分析 Three-way analysis of variance statistic		N：*P*=0.079，P：*P*=0.054，R：*P*=0.000，N × P：*P*=0.514，N × R：*P*=0.592，P × R：*P*=0.221，N × P × R：*P*=0.326	N：*P*=0.316，P：*P*=0.176，R：*P*=0.003，N × P：*P*=0.709，N × R：*P*=0.988，P × R：*P*=0.118，N × P × R：*P*=0.784	N：*P*=0.134，P：*P*=0.235，R：*P*=0.003，N × P：*P*=0.142，N × R：*P*=0.001，P × R：*P*=0.808，N × P × R：*P*=0.645	N：*P*=0.663，P：*P*=0.753，R：*P*=0.023，N × P：*P*=0.908，N × R：*P*=0.752，P × R：*P*=0.701，N × P × R：*P*=0.893



注：实心和空心分别代表非根际和根际土壤。B：非根际；R：根际；NH_4：铵态氮肥；NO_3：硝态氮肥；P0：不施磷肥；P100：施磷肥。下同。Note：The solid and hollow dots represent the bulk and rhizosphere soil samples，respectively. B：bulk soil；R：rhizosphere soil；NH_4：ammonium fertilizers；NO_3：nitrate fertilizer；P0：without phosphorus fertilizer input；P100：with phosphorus fertilizer input. The same below.

图 2　不同氮形态与磷肥水平处理下非根际和根际样品 *phoC*（a，c）和 *phoD*（b，d）细菌 α 多样性和基于 Bray-Curtis 距离的 *phoC*（e）和 *phoD*（f）细菌群落的主坐标分析（PCoA）

Fig. 2　*phoC*-(a, c)and *phoD*-(b, d)bacterial α-diversity of bulk and rhizosphere soils under different nitrogen forms and P fertilization treatments; Principal coordinate analysis（PCoA）of *phoC*-（e）and *phoD*-（f）bacterial communities under different nitrogen forms and P fertilizer levels

表 4 不同氮形态与磷肥水平处理下非根际和根际 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落组成的置换多元方差分析（PERMANOVA）

Table 4 PERMANOVA（global test and pairwise comparison）analysis of *phoC*- and *phoD*-bacterial community compositions under different nitrogen forms and phosphorus fertilizer levels

微生物种类 Microbial group	影响因素 Influencing factor	整体分析 Global test			分别分析 Pairwise comparison			
		F	R^2	*P*	组别 Group	*F*	R^2	*P*
phoC 细菌 *phoC*-harboring bacteria	根际 Rhizosphere	1.906	0.060	0.003	NH_4-P0（B vs R）	1.476	0.197	0.045
					NH_4-P100（B vs R）	1.260	0.174	0.155
					NO_3-P0（B vs R）	1.698	0.221	0.029
					NO_3-P100（B vs R）	1.577	0.208	0.095
	氮形态 Nitrogen form	1.238	0.039	0.153	B-P0（NH_4 vs NO_3）	1.226	0.170	0.224
					B-P100（NH_4 vs NO_3）	1.247	0.172	0.156
					R-P0（NH_4 vs NO_3）	1.133	0.159	0.244
					R-P100（NH_4 vs NO_3）	1.382	0.187	0.135
	磷肥水平 Phosphorus fertilizer levels	0.607	0.019	0.985	B-NH_4（P0 vs P100）	0.940	0.135	0.580
					B-NO_3（P0 vs P100）	1.024	0.146	0.396
					R-NH_4（P0 vs P100）	0.918	0.133	0.608
					R-NO_3（P0 vs P100）	0.499	0.077	0.912
phoD 细菌 *phoD*-harboring bacteria	根际 Rhizosphere	17.358	0.349	0.001	NH_4-P0（B vs R）	3.965	0.398	0.034
					NH_4-P100（B vs R）	4.949	0.452	0.022
					NO_3-P0（B vs R）	9.016	0.600	0.034
					NO_3-P100（B vs R）	6.616	0.524	0.030
	氮形态 Nitrogen form	2.873	0.058	0.020	B-P0（NH_4 vs NO_3）	0.965	0.139	0.549
					B-P100（NH_4 vs NO_3）	1.446	0.194	0.062
					R-P0（NH_4 vs NO_3）	7.323	0.550	0.022
					R-P100（NH_4 vs NO_3）	3.047	0.337	0.030
	磷肥水平 Phosphorus fertilizer levels	1.534	0.031	0.118	B-NH_4（P0 vs P100）	1.169	0.163	0.229
					B-NO_3（P0 vs P100）	1.153	0.161	0.365
					R-NH_4（P0 vs P100）	1.153	0.161	0.352
					R-NO_3（P0 vs P100）	5.011	0.455	0.028

表 5　土壤理化性质与磷酸酶活性、*phoC* 和 *phoD* 细菌多样性及群落结构的相关性

Table 5　Correlation analysis between soil physicochemical properties and phosphate activities，*phoC*- and *phoD*-gene diversity and bacterial community structure

土壤属性 Soil properties	酸性磷酸酶 Acid phosphatase	碱性磷酸酶 Alkaline phosphatase	*phoC* 细菌 *phoC*-harboring bacteria			*phoD* 细菌 *phoD*-harboring bacteria		
			OTU 数目 OTU number	香农指数 Shannon index	群落结构 Community structure	OTU 数目 OTU number	香农指数 Shannon index	群落结构 Community structure
pH	0.279	–0.060	0.622**	0.321	–0.142	–0.002	–0.712**	0.059
TN	0.134	–0.088	–0.038	–0.032	0.078	0.197	–0.003	–0.056
TP	–0.291	–0.343	–0.070	–0.158	–0.047	–0.109	0.115	0.045
TK	–0.435*	–0.088	–0.074	0.094	0.045	–0.346	0.390*	0.102
SOM	0.590**	0.451**	0.375*	0.170	–0.014	0.568**	–0.429*	0.244**
NH_4^+-N	–0.551**	–0.435*	–0.394*	–0.065	0.099	–0.418*	0.438*	0.199**
NO_3^--N	–0.092	–0.180	0.095	–0.117	0.011	–0.326	–0.139	0.089
AP	–0.234	–0.283	–0.132	–0.307	–0.043	–0.035	0.153	0.038
AK	–0.927**	–0.720**	–0.580**	–0.302	0.106*	–0.881**	0.607**	0.688**

注：*表示显著相关（$P < 0.05$）；**表示极显著相关（$P < 0.01$）。 Note：* indicates significant correlation at 0.05 level；** indicates significant correlation at 0.01 level.

3　讨　论

本研究结果显示，酸性红壤上玉米根际作用对土壤磷酸酶活性及相关功能细菌群落的影响程度要明显高于施肥作用（氮形态和磷肥水平）（图 1、图 2 和表 4）。根际是植物养分吸收的主要区域，植物根系对速效养分的吸收，导致速效养分在根际形成亏缺区，这是不同施肥处理后玉米根际铵态氮、有效磷和速效钾等明显低于非根际（表 2）的原因。说明根际和非根际区域养分差异是影响土壤微生物群落变异的重要因素。此外，根际作为能量和物质代谢的活跃区域，依靠植物根系释放的分泌物也形成了不同于非根际的微生物群落特征[20]，并激发了微生物功能。类似地，Lagos 等[18]研究发现根际效应对解磷微生物群落的影响要大于磷肥。本研究中，玉米根际作用对磷酸酶活性的提高应该主要归因于根系有机物的输入，为解磷微生物功能的发挥提供必要底物和能量。土壤有机质含量与磷酸酶活性显著正相关（表 5），充分证明了上述解释。多种生态系统中也发现了根际对土壤磷酸酶活性的提高作用[18, 21]。此外，不同于仅仅微生物来源的碱性磷酸酶，植物根系也可分泌酸性磷酸酶，是根际酸性磷酸酶活性提高的另一个重要贡献者[21]。与之相同的是，根际作用也提高了解磷微生物的物种数，其中对 *phoD* 细菌的作用更为明显（图 2a 和 2b）。根系分泌物在为微生物生长提供底物的同时，其多样且复杂的组分刺激了不同微生物类群[22]。根际解磷微生物物种数的增加可能是由于根际环境激活了一些低丰度的 *phoC* 和 *phoD* 细菌物种。研究报道，在可控制条件下，新发现的微生物物种应该来自原始环境中的低丰度类群[23]。因此，根际作用可能激活一些低丰度微生物物种，促进其生长，从而贡献于磷酸酶活性的提高。

解磷微生物物种数的变化直接贡献于群落结构的改变，因为群落结构主要体现在物种数及物种的相对丰度。本研究中，根际解磷细菌群落结构的改变主要归因于根际环境的变化，特别是有机底物的输入和养分含量的降低。类似的解释已被广泛报道[24]。而本研究发现，*phoC* 细菌群落结构改变的主要驱动因子不同于 *phoD* 细菌（表 3）。*phoC* 细菌更依赖根际

养分（速效钾），而 *phoD* 细菌群落主要是根系分泌物（有机质）和根系养分（铵态氮和速效钾）综合作用的结果。Zheng 等[14]研究发现，土壤碳含量、铵态氮和硝态氮含量是 *phoD* 细菌组成结构变化的重要驱动因子。本研究结果反映了 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落组成对根际作用的差异响应。相比 *phoC* 细菌，*phoD* 细菌群落更易受根际作用和氮形态的影响（图 2 和表 4），表现为所有优势属相对丰度均不同程度地响应于根际作用。这说明 *phoD* 细菌优势属可更好地利用根际环境，特别是对分泌物组分可能存在不同的响应模式。而 *phoC* 细菌优势属对根系分泌物的相对不敏感性可能与优势物种特性相关。*phoC* 细菌优势属（*Cupriavidus* 和 *Stenotrophomonas*）被认为是寡营养类细菌[25]，这些寡营养类细菌通常表现出较慢的生长速度和较低的养分需求，导致对富营养环境较低的敏感性[26]。此外，植物根系产生的酸性磷酸酶在一定程度上负反馈调控根际 *phoC* 细菌群落[8]，从而降低其对根际环境的响应程度。

尽管根际效应对解磷微生物群落和功能具有较强的调控作用，但是其作用强度明显依赖于施肥措施。硝态氮肥处理下，施磷根际酸性磷酸酶活性显著低于不施磷处理，而硝态氮肥和磷肥配合施用并未显著提高根际碱性磷酸酶活性（图 1）。上述结果暗示了根际酸性磷酸酶和碱性磷酸酶对不同施肥措施的差异响应。硝态氮肥和磷肥配合施用提高了根际 pH 和有效磷含量。土壤 pH 升高不利于酸性磷酸酶活性的发挥[6]。更重要的是，磷酸酶是一类微生物诱导酶，土壤有效磷会抑制其磷酸酶的分泌[9]。因此，磷肥施用减弱了根际对微生物分泌磷酸酶的促进作用。施肥同样改变了根际效应对 *phoC* 和 *phoD* 细菌群落多样性的作用程度。施磷根际 *phoC* 细菌 OTU 数目明显高于非根际（图 2a），这可能是由于磷肥促进植物生长（表 1），从而分泌更多有机底物，激发更多低丰度物种的生长[8]。有意思的是，相比铵态氮肥处理，硝态氮肥根际 *phoD* 细菌香农指数明显下降。类似地，Liu 等[27]也发现玉米根际具有较低的 *phoD* 细菌多样性。作者推测硝态氮处理下，一些根系分泌物种类选择性诱导特定类群在根部定殖，同时抑制了另一些类群的生长，从而降低根际 *phoD* 细菌的香农指数。本研究结果发现，根际中除了山冈单胞菌属外，其他属的相对丰度均出现下降趋势，这可能由于根系分泌物中的特定物质或根际环境对不同 *phoD* 细菌的选择性诱导作用不同。例如，根系分泌物中的次生代谢物如酚类化合物、苯甲酸等物质对土壤微生物生长有抑制作用[28]。具体机制尚需进一步研究。此外，本研究中，根际 *phoD* 细菌群落组成变化明显响应于氮形态和磷肥水平，但是根际 *phoC* 细菌并未明显响应，暗示了施肥对根际两类解磷细菌群落组成不同的影响机制。*phoC* 细菌优势属作为寡营养型细菌表现出较低的养分需求，可能导致群落组成对肥料的低敏感性。

贪铜菌属（*Cupriavidus*）和寡养单胞菌属（*Stenotrophomonas*）作为 *phoC* 细菌群落的优势菌属在其他研究中被认为是 *phoC* 细菌共生网络的关键物种，并且是重要的酸性磷酸酶生产者[14]，此外，他们可通过分泌有机酸或产生铁载体来抵抗金属毒性[2]，有助于适应高铝毒害的酸性土壤。然而，本研究未发现这两个属的相对丰度在根际和非根际样品间出现显著差异。如上所述，植物分泌的酸性磷酸酶可能抑制了他们相对丰度的增加，以及寡营养菌的特性使其无法对根际环境做出有效的响应。而根际 *phoD* 细菌优势菌属山冈单胞菌属相对丰度显著高于非根际，而且占有较大比例，表明山冈单胞菌属能更好地适应根际环境。先前研究[14]报道，山冈单胞菌属是主要的 *phoD* 细菌类群，被认为是重要的碱性磷酸酶生产者。山冈单胞菌属具有很强同化根际碳源以刺激其生长的能力[29]，并且有较高溶解无机磷的潜力[30]。因此，山冈单胞菌属能够同时矿化有机磷和溶解无机磷来提高土壤磷素有效性。

4 结 论

玉米根际作用对酸性红壤磷酸酶活性及相关功能微生物群落的影响程度远大于氮形态和磷肥水平。但是，根际作用强度在一定程度上依赖于氮形态和磷肥水平。*phoC* 和 *phoD* 细菌多样性和群落结构对根际效应的响应表现出明显差别，*phoD* 细菌更为敏感。解磷细菌优势菌属的根际富集可能对根际磷素活化至关重要。此外，硝态氮肥可显著提高土壤 pH，因此较铵态氮肥更加适用于酸性土壤。

参考文献（References）

[1] Zhao Q G，Huang G Q，Ma Y Q. The problems in red soil ecosystem in southern of China and its countermeasures[J].

Acta Ecologica Sinica，2013，33（24）：7615—7622. [赵其国，黄国勤，马艳芹. 中国南方红壤生态系统面临的问题及对策[J]. 生态学报，2013，33（24）：7615—7622.]

[2] Zheng M M，Wang C，Li W X，et al. Soil nutrients drive function and composition of *phoC*-harboring bacterial community in acidic soils of Southern China[J]. Frontiers in Microbiology，2019，10：2654.

[3] Chen L J，Jiang Y J，Wang H T，et al. Effects of long-term application of organic materials on phosphorus fractions and availability in red soil[J]. Soils，2020，52（3）：451—457. [陈利军，蒋瑀霁，王浩田，等. 长期施用有机物料对旱地红壤磷组分及磷素有效性的影响[J]. 土壤，2020，52（3）：451—457.]

[4] Cordell D，Drangert J O，White S. The story of phosphorus：Global food security and food for thought[J]. Global Environmental Change，2009，19（2）：292—305.

[5] Yu X C，Liu Q，Li C J，et al. Rhizospheric processes and high substrate concentration stimulating mineralization of soil organic P in black earth [J]. Acta Pedologica Sinica，2019，56（4）：953—963. [于星辰，刘倩，李春杰，等. 根际过程和高底物浓度促进黑土有机磷矿化[J]. 土壤学报，2019，56（4）：953—963.]

[6] Nannipieri P，Giagnoni L，Landi L，et al. Role of phosphatase enzymes in soil. // Bünemann E K，Oberson A，Frossard E. eds. Phosphorus in action[M]. Berlin Heidelberg，Germany：Springer，2011：215—243.

[7] Tan H，Barret M，Mooij M J，et al. Long-term phosphorus fertilisation increased the diversity of the total bacterial community and the *phoD* phosphorus mineraliser group in pasture soils[J]. Biology and Fertility of Soils，2013，49（6）：661—672.

[8] Fraser T D，Lynch D H，Gaiero J，et al. Quantification of bacterial non-specific acid（*phoC*）and alkaline（*phoD*）phosphatase genes in bulk and rhizosphere soil from organically managed soybean fields[J]. Applied Soil Ecology，2017，111：48—56.

[9] Fraser T D，Lynch，D H，Bent E，et al. Soil bacterial *phoD* gene abundance and expression in response to applied phosphorus and long-term management[J]. Soil Biology and Biochemistry，2015，88：137—147.

[10] Chen X D，Jiang N，Chen Z H，et al. Response of soil *phoD* phosphatase gene to long-term combined applications of chemical fertilizers and organic materials[J]. Applied Soil Ecology，2017，119：197—204.

[11] Xu R K，Li J Y，Zhou S W，et al. Scientific issues and controlling strategies of soil acidification of croplands in China[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences，2018，33（2）：160—167. [徐仁扣，李九玉，周世伟，等. 我国农田土壤酸化调控的科学问题与技术措施[J]. 中国科学院院刊，2018，33（2）：160—167.]

[12] Wang C，Zheng M M，Hu A Y，et al. Diazotroph abundance and community composition in an acidic soil in response to aluminum-tolerant and aluminum-sensitive maize（*Zea mays* L.）cultivars under two nitrogen fertilizer forms[J]. Plant and Soil，2018，424（1/2）：463—478.

[13] Zhang H Q，Zhao X Q，Shi Y，et al. Changes in soil bacterial communities with increasing distance from maize roots affected by ammonium and nitrate additions[J]. Geoderma，2021，398：115102.

[14] Zheng M M，Wang C，Li W X，et al. Changes of acid and alkaline phosphatase activities in long-term chemical fertilization are driven by the similar soil properties and associated microbial community composition in acidic soil[J]. European Journal of Soil Biology，2021，104：103312.

[15] Luo G W，Sun B，Li L，et al. Understanding how long-term organic amendments increase soil phosphatase activities：Insight into *phoD*- and *phoC*-harboring functional microbial populations[J]. Soil Biology and Biochemistry，2019，139：107632.

[16] Oldroyd G E D，Leyser O. A plant's diet，surviving in a variable nutrient environment[J]. Science，2020，368（6486）：eaba0196.

[17] Zheng M M，Wang C，Shen R F. Effects of calcium carbonate and rhizosphere on abundance of phosphate-solubilizing microorganisms in acidic red soil[J]. Soils，2020，52（4）：704—709. [郑曼曼，王超，沈仁芳. 碳酸钙和根际作用对酸性红壤解磷微生物丰度的影响[J]. 土壤，2020，52（4）：704—709.]

[18] Lagos L M，Acuña J J，Maruyama F，et al. Effect of phosphorus addition on total and alkaline phosphomonoesterase-harboring bacterial populations in ryegrass rhizosphere microsites[J]. Biology and Fertility of Soils，2016，52（7）：1007—1019.

[19] Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry[M]. Beijing：China Agricultural Science and Technology Press，2000. [鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京：中国农业科学技术出版社，2000.]

[20] Berendsen R L，Pieterse C M，Bakker P A. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. Trends in Plant Science，2012，17（8）：478—486.

[21] Kuzyakov Y，Razavi B S. Rhizosphere size and shape：Temporal dynamics and spatial stationarity[J]. Soil Biology and Biochemistry，2019，135：343—360.

[22] Vives-Peris V，de Ollas C，Gómez-Cadenas A，et al. Root exudates：From plant to rhizosphere and beyond[J]. Plant Cell Reports，2020，39（1）：3—17.

[23] Jiao S，Luo Y T，Lu M M，et al. Distinct succession patterns of abundant and rare bacteria in temporal microcosms with pollutants[J]. Environmental Pollution，2017，225：497—505.

[24] Ma L，Guo Z B，Wang D Z，et al. Effect of long-term application of phosphorus fertilizer on soil bacterial

community structure and enzymatic activity in lime concretion black soil relative to P application rate[J]. Acta Pedologica Sinica，2019，56（6）：1459—1470. [马垒，郭志彬，王道中，等. 长期三水平磷肥施用梯度对砂姜黑土细菌群落结构和酶活性的影响[J]. 土壤学报，2019，56（6）：1459—1470.]

[25] Starke R，Kermer R，Ullmann-Zeunert L，et al. Bacteria dominate the short-term assimilation of plant-derived N in soil[J]. Soil Biology and Biochemistry，2016，96：30—38.

[26] Fierer N，Bradford M A，Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria[J]. Ecology，2007，88（6）：1354—1364.

[27] Liu S，Zhang X Y，Dungait J A J，et al. Rare microbial taxa rather than *phoD* gene abundance determine hotspots of alkaline phosphomonoesterase activity in the Karst rhizosphere soil[J]. Biology and Fertility of Soils，2021，57（2）：257—268.

[28] Qin L J，Wang Z H，Chen Q B. Advances of researches on rhizosphere phosphate-solubilizing microorganism[J]. Journal of South China University of Tropical Agriculture，2006，12（2）：44—49. [覃丽金，王真辉，陈秋波. 根际解磷微生物研究进展[J]. 华南热带农业大学学报，2006，12（2）：44—49.]

[29] 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.

[30] Leveau J H J，Uroz S，de Boer W. The bacterial genus *Collimonas*：Mycophagy，weathering and other adaptive solutions to life in oligotrophic soil environments[J]. Environmental Microbiology，2010，12（2）：281—292.

（**责任编辑：**陈荣府）