

长期施用磷肥对稻-油轮作土壤磷组分 及微生物多样性的影响

陈凤^{1,2}, 王晓双^{1,2}, 甘国渝^{2,3}, 李燕丽^{1,2}, 邹家龙⁴, 李继福^{2,3}

1. 湿地生态与农业利用教育部工程研究中心, 荆州 434025; 2. 长江大学农学院, 荆州 434025;
3. 农业农村部废弃物肥料化利用重点实验室, 武汉 430070; 4. 荆州市荆州区农业技术推广中心, 荆州 434025

摘要 采用田间定位试验(始于2011年)研究施用磷肥对稻-油轮作土壤磷组分及微生物多样性的影响。试验设置NK(-P)和NPK(+P)2个处理,按0~10、10~20、20~30和30~40 cm土层进行采样和分析。各土层有效磷、全磷和有机磷含量按常规方法测定;土壤无机磷组分采用化学连续提取法测定,并利用Illumina-MiSeqPE 250平台进行表层土壤(0~10 cm)微生物高通量测序。结果显示:与对照(-P处理)相比,长期施用磷肥(+P处理)能显著增加各土层总磷、无机磷和有效磷含量,而有机磷含量处理间差异不明显。从土层有效磷含量来看,施用磷肥可显著增加0~10 cm和10~20 cm两个土层磷含量;对于20~30 cm和30~40 cm土层的影响效果不显著。与对照相比,长期施用磷肥会降低细菌和真菌菌群的Alpha多样性,菌群群落结构发生明显改变。在细菌门水平上,绿弯菌门、酸杆菌门和变形菌门为优势菌门,磷肥施用后表层土壤绿弯菌门和酸杆菌门相对丰度增加,而变形菌门相对丰度降低。在真菌门水平上,担子菌门和子囊菌门为优势菌门,磷肥施用后表层土壤子囊菌门相对丰度降低,而担子菌门相对丰度增加。与对照相比,磷肥施用虽然引起耕层土壤中细菌和真菌数量在各分类单元显著降低,但从属分类水平来看,优势菌群的相对丰度也随之降低。冗余分析结果表明铝磷、铁磷含量与表层土壤优势细菌和真菌的丰度密切相关。可见,长期磷素亏缺会诱导微生物数量增加以活化土壤养分,而充足的磷肥供应则能够满足作物养分需求,维持土壤微生物群落动态平衡。因此,有必要就整个轮作系统磷肥施用进行优化,促进土壤磷素活化和释放,从而减少磷肥用量,提高其吸收利用率。

关键词 稻油轮作; 磷肥; 土壤磷组分; 微生物多样性; 高通量测序; 微生物群落; 土壤磷形态

中图分类号 S 143.2 : S 15 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2021)01-0168-11

植物的生长发育需要各种营养元素,而磷素作为大量营养元素,对植物的生长和籽粒形成极为重要。由于土壤风化强度大,南方稻田有效磷含量低,使得缺磷现象较为普遍^[1],因而磷肥投入就显得尤为重要。随着磷肥长期施用,土壤缺磷现象得到明显遏制和改善。施用磷肥对农作物的生长发育起着决定性作用。磷素通过复杂的地球生物化学过程,以各种形态存在于土壤颗粒和溶液中,磷的不同存在形态影响着土壤磷素的生物有效性^[2]。土壤溶液中无机磷酸盐可被植物根系直接吸收利用,而磷酸铁铝和闭蓄态磷难以被直接利用^[3]。外源磷肥投入是影响土壤磷形态和转化的重要驱动因子。黄晶^[4]对长江流域水稻土磷素肥力与施用磷肥效果的研究发现长期施用磷肥后土壤全磷、有效磷含量呈增加

趋势。王海龙等^[5]对小麦-玉米轮作7年连续观测发现不施肥处理土壤全磷含量处于耗竭状态,作物根系难以获取足够的磷素营养,随着施磷量的增加,土壤全磷含量和有效磷含量显著增加。同时,土壤类型差异也会对土壤磷含量和细菌群落多样性产生影响^[6]。此外,在林地方面的研究表明,海拔高度通过影响土壤有机质含量显著改变微生物的群落结构,从而影响土壤磷的活化和循环^[7]。

土壤磷组分含量不仅与土壤理化性质有关,还受到土壤微生物群落结构和功能的影响^[8-9]。尤其是磷相关的土壤微生物参与各形态磷的生物地球化学演变,在维持生态系统稳定性和多样性方面发挥着关键作用。当前,施用磷肥对微生物群落组成结构和多样性影响的研究还没有明确结论。现有研究

收稿日期: 2020-06-28

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0200900); 农业农村部废弃物肥料化利用重点实验室项目(KLFAW201901)

陈凤, E-mail: cf1642367667@163.com

通信作者: 李继福, E-mail: jifuli@yangtzeu.edu.cn

结果表明增加磷肥投入可显著提高土壤有效磷含量,进而改变土壤细菌和真菌群落组成,提高有益微生物的相对丰度并使其成为优势菌群^[10]。Hu 等^[11]对砂壤土的研究表明,平衡施肥显著提高土壤微生物生物量和功能多样性。然而,Shi 等^[12]发现经过 17 a 梯度磷肥(0、17.5 和 35 kg/hm²)施用后,土壤细菌群落结构并未发生显著改变。可见,基于不同的试验条件,获得的研究结果也存在一定差异,其原因可能是土壤类型、施肥量,尤其土壤本底值(有效磷含量)不同所致。为此,本研究选择低磷供应水稻土为研究对象,探究低磷水平下,施用磷肥对土壤磷组分及其含量的影响,同时明确磷组分与微生物多样性之间的关系,以期为水旱轮作区磷肥科学施用和土壤健康提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

长期定位田间试验地位于湖北省荆州市荆州区川店镇李场村(30°33'24"N,112°4'56"E,海拔 52 m),为河流冲积物发育形成的水稻土。2011 年水稻季开始进行肥效田间试验,采用一年两熟的水稻-冬油菜轮作制度。试验前,耕层(0~20 cm)土壤基本理化性质为 pH 6.4、全氮含量 0.6 g/kg、碱解氮含量 275.3 mg/kg、有机质含量 28.8 g/kg、有效磷含量 4.44 mg/kg、速效钾含量 96.6 mg/kg 和缓效钾含量为 528.2 mg/kg^[13]。本研究设置 2 个处理,即 (1)NK(-P)和(2)NPK(+P)处理,各处理 3 次重复,小区面积 20 m²,采用完全随机区组排列。除处理(1)不施磷肥外,作物每季养分施用量均按当地推荐用量,即:N 180 kg/hm²、P₂O₅ 90 kg/hm²和 K₂O 120 kg/hm²,其中油菜季补施硼肥 15 kg/hm²。肥料种类为尿素(46% N)、过磷酸钙(12% P₂O₅)、氯化钾(60% K₂O)和硼砂(11% B)。具体用量和施用方法为:水稻季分 3 次施用氮肥,比例为基肥:蘖肥:穗肥=2:1:1;磷肥和钾肥在水稻移栽前一次性基施。冬油菜季分 3 次施用氮肥,比例为基肥:越冬肥:蕾薹肥=3:1:1;磷肥、钾肥和硼肥在油菜移栽前一次性基施^[14],其他田间管理均按当地最优方式进行。

1.2 土壤磷组分划分与测定

2019 年 5 月冬油菜收获后,按照 S 型采样法采集各小区 0~10、10~20、20~30 和 30~40 cm 土层样品,混匀后按“四分法”取 1 kg 带回实验室,风干备用。土壤有效磷、全磷、有机磷按常规分析方法进行测定;采用化学连续提取法测定土壤样品中各种

形态无机磷含量^[15],土壤无机磷分铝磷(Al-P)、铁磷(Fe-P)、闭蓄态磷(O-P)和钙磷(Ca-P)4 组。

1.3 土壤 DNA 提取及高通量测序

油菜收获时,采用强力土壤 DNA 分离试剂盒(MoBio Laboratories, Carlsbad, CA, USA)对表层(0~10 cm)鲜土进行 DNA 的提取。先将表层 3 cm 土壤剔除避免腐解物、杂质等干扰,然后采集 3~10 cm 土样,每个样品做 3 次重复。采用 1.2% 琼脂糖凝胶检测样品 DNA 的长度和完整性,利用 Nano-Drop 紫外分光光度计(Thermo Scientific, NC2000)检测 DNA 的浓度和纯度。用无菌水将 DNA 稀释至 1 ng/ μ L,以稀释后的基因组 DNA 为模板,根据测序区域的选择,使用带 Barcode 的特异引物对细菌 16S rRNA V3-V4 和真菌 18S rRNA ITS1 区域进行扩增。对应引物:16S V3-V4 区引物(338F:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3'; 806R: 5'-GGAC-TACHVGGGTWTCTAAT -3')和 18S ITS1 区引物(1737F: 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG -3'; 2043R: 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC -3')。目标条带胶回收纯化后进行文库构建,利用 Illumina-MiSeqPE 250 二代测序平台(上海派诺森生物科技股份有限公司)进行测序。

1.4 数据处理

测序原始数据去除引物接头序列及各样本低质量的碱基后进行拼接处理,得到每个样本的有效序列数据库。之后,以 97% 为划定阈值,对 16S 和 18S 序列进行可操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)划分。采用 QIIME 软件,调用 UCLUST 序列比对工具按 97% 的序列相似度进行聚类,并选取每个 OTU 度最高的序列作为该 OUT 的代表序列。针对细菌 16S rRNA 和真菌 18S rRNA 分别采用 Greengenes 数据库和 Silva 数据库作为 OUT 分类地位鉴定的模板序列。

试验数据均采用 MS Excel 2016 进行处理和作图,LSD 法检验 $P=0.05$ 水平的差异显著性。利用 R 软件 vegan 工具包以主要优势微生物群落相对丰度作为响应变量、土壤 0~10 cm 土层磷形态及无机磷组分含量作为解释变量进行冗余分析。

2 结果与分析

2.1 施用磷肥对土壤磷形态的影响

表 1 显示长期施用磷肥可不同程度地改变土壤各形态磷含量。对照(-P)0~10、10~20、20~30

和30~40 cm 土层的总磷含量分别为 593.4、495.8、406.1 和 272.8 mg/kg,施用磷肥(+P)后,各土层总磷含量分别增加 213.1、206.0、34.6 和 15.4 mg/kg,增幅依次分别为 35.9%、41.5%、8.5%和 5.6%。同样,对于土壤无机磷含量,对照组 0~10、10~20、20~30 和 30~40 cm 土层无机磷含量分别为 439.8、385.7、310.9 和 245.2 mg/kg;施用磷肥后各土层无机磷含量分别增加 209.9、183.2、35.1 和 11.3 mg/kg,增幅分别为 47.7%、47.5%、11.3%和4.6%。对照组 0~10、10~20、20~30 和 30~40 cm 土层有效磷含量分别为 3.7、2.9、3.7 和 3.3 mg/kg,长期施入含磷肥料后,各土层有效磷含量分别增加 3.3、

3.1、1.6 和 1.7 mg/kg,增幅分别为 90.3%、107.4%、44.4%和 50.1%。对土壤有机磷含量进行分析发现,对照组 0~10、10~20、20~30 和 30~40 cm 土层有机磷含量分别为 153.6、110.1、95.2 和 27.6 mg/kg,通过施用磷肥后,各土层有机磷含量分别增加 3.3、22.8、-0.5 和 4.2 mg/kg,增幅为 2.2%、20.7%、-0.5%和 14.9%,表明长期施用磷肥下各土层有机磷变化规律不明显,且 20~30 cm 土层有机磷含量有减少趋势。

从表 1 可知,对照组和处理组中各磷形态变化明显。土壤各形态磷含量不仅受到施肥影响还与耕作深度有关。长期施用磷肥可显著提高 0~10 cm

表 1 不同处理有机磷、无机磷、总磷和有效磷含量

Table 1 Contents of organic P, inorganic P, total P and available P with different treatments

| 处理 Treatments | 总磷/ (mg/kg) Total P | 有机磷 Organic P | | 无机磷 Inorganic P | | 有效磷/ (mg/kg) Available P | |
|------------------|---------------------------|-----------------------|---------------|-----------------------|---------------|--------------------------------|----------|
| | | 含量/(mg/kg) Content | 占比/% Ratio | 含量/(mg/kg) Content | 占比/% Ratio | | |
| -P | 0~10 cm | 593.4±39.3c | 153.6±5.9a | 25.9±4.8a | 439.8±46.0c | 74.1±4.8c | 3.7±0.4d |
| | 10~20 cm | 495.8±41.6d | 110.1±14.2bc | 22.2±1.2ab | 385.7±28.7d | 77.8±1.2b | 2.9±0.4e |
| | 20~30 cm | 406.1±46.0c | 95.2±14.0c | 23.4±2.2a | 310.9±55.4d | 76.6±5.2bc | 3.7±0.9d |
| | 30~40 cm | 272.8±20.5e | 27.6±2.3d | 10.1±1.5d | 245.2±22.1e | 89.9±1.5a | 3.3±0.4d |
| +P | 0~10 cm | 806.5±11.1a | 156.9±17.9a | 19.4±2.4bc | 649.7±26.8a | 80.6±2.4b | 7.0±1.0a |
| | 10~20 cm | 701.8±13.8b | 132.9±12.0b | 18.9±2.1c | 568.9±24.7b | 81.1±2.1ab | 6.0±0.7b |
| | 20~30 cm | 440.7±29.7dc | 94.7±4.5c | 21.5±2.4b | 346.0±34.2d | 78.5±2.4b | 5.3±1.1c |
| | 30~40 cm | 288.2±38.0e | 31.8±9.7d | 11.0±5.0d | 256.5±47.1e | 89.0±5.0a | 5.0±0.7c |

注:同列数据中具有不同字母的数据有显著性差异($P<0.05$),下同。Note: Different letters for same item indicate significant differences ($P<0.05$), the same as below.

和 10~20 cm 土层磷含量,对 20~30 cm 和 30~40 cm 底层处理间影响差异不明显。

2.2 施用磷肥对土壤无机磷组分的影响

长期施用含磷肥料,土壤无机磷各组分含量均发生变化(表 2)。耕层土壤各组分磷含量测定结果显示,变幅较大的是铁磷和闭蓄态磷含量,而铝磷和钙磷变化较小;对底层土壤各组分磷含量分析发现,施用磷肥对土壤中各无机磷组分含量的影响不大。对照组 0~10、10~20、20~30 和 30~40 cm 的 Ca-P (钙磷)含量分别为 17.0、12.1、8.9 和 6.0 mg/kg,施磷后各土层 Ca-P 含量分别增加 3.3、3.9、0.8 和 1.3 mg/kg,增幅分别为 19.2%、32.7%、8.5%和 21.5%。同样,对照组 0~10、10~20、20~30 和 30~40 cm 的 Fe-P (铁磷)含量分别为 34.0、32.8、30.2 和 27.6 mg/kg,施用磷肥后各土层 Fe-P 含量分别增加 72.9、45.8、21.5 和 0.6 mg/kg,增幅分别为 214.4%、139.7%、70.8%和 2.3%。对照组 0~10、10~20、20~30 和 30~40 cm 的 Al-P 含量分别为 2.9、1.2、1.7 和 2.7 mg/kg,而长期向土壤施用磷肥后,各土

层 Al-P 含量分别增加 4.9、2.3、2.2 和 0.2 mg/kg,增幅为 164.5%、188.8%、129.9%和 6.2%。与对照相比,施用磷肥后各土层 O-P 含量分别增加 128.8、131.1、10.7 和 9.2 mg/kg,增幅分别为 33.4%、38.6%、4.0%和 4.4%。

不同施肥处理下无机磷组分占无机磷总量的相对含量见表 3,从表 3 可知,长期施用磷肥使耕层土壤无机磷组分中 Fe-P 和 Al-P 比例增加,而使 Ca-P 和 O-P 相对相对含量减少。对照组耕层 0~10 cm 和 10~20 cm 的无机磷组分中 Fe-P 占比为 7.7%和 8.5%,而施用磷肥后,各土层的 Fe-P 比例分别提高 112.7%和 62.5%。对照组 0~10 cm 和 10~20 cm 耕层的无机磷组分中 Al-P 相对含量分别为 0.7%和 0.3%,施用磷肥后,各土层的 Al-P 相对含量分别增加了 0.5%和 0.3%,增幅为 79.1%和 95.8%。对照组 0~10 cm 和 10~20 cm 耕层的无机磷组分中 Ca-P 比例分别为 3.9%和 3.1%,施用磷肥后,各土层 Ca-P 相对量分别减少 0.7%和 0.3%,减幅为 19.3%和 10.0%。对照组 0~10 cm 和 10~20 cm 耕层无机磷组分中

O-P 相对量分别为 87.7%和88.1%，施用磷肥后，各 9.7%和 6.1%。因此，在 4 种不同无机磷组分中闭蓄 土层 Ca-P 相对量分别减少 8.5%和 5.4%，减幅为 态磷占比最高，其次是铁磷和钙磷，而铝磷占比最低。

表 2 不同施肥处理无机磷组分含量

Table 2 Contents of various inorganic P fraction with P fertilizer application mg/kg

| 处理 Treatments | 钙磷 Ca-P | 铁磷 Fe-P | 铝磷 Al-P | 闭蓄态磷 O-P |
|---------------|----------|-----------|------------|-----------|
| -P | 0~10 cm | 17.0±0.8b | 34.0±4.2d | 2.9±0.4bc |
| | 10~20 cm | 12.1±1.1c | 32.8±1.1d | 1.2±0.3e |
| | 20~30 cm | 8.9±1.4d | 30.2±4.6d | 1.7±0.8e |
| | 30~40 cm | 6.0±0.8e | 27.6±4.1e | 2.7±1.3c |
| +P | 0~10 cm | 20.3±1.5a | 106.9±4.3a | 7.8±0.7a |
| | 10~20 cm | 16.0±3.9b | 78.6±7.0b | 3.5±0.6b |
| | 20~30 cm | 9.7±0.6d | 51.7±1.0c | 3.9±0.2b |
| | 30~40 cm | 7.3±0.4de | 28.2±3.2e | 2.8±1.0c |

表 3 不同施肥处理无机磷组分相对含量

Table 3 Proportions of various inorganic P fraction with P fertilizer application %

| 处理 Treatments | 钙磷 Ca-P | 铁磷 Fe-P | 铝磷 Al-P | 闭蓄态磷 O-P |
|---------------|----------|-----------|------------|-----------|
| -P | 0~10 cm | 17.0±0.8b | 34.0±4.2d | 2.9±0.4bc |
| | 10~20 cm | 12.1±1.1c | 32.8±1.1d | 1.2±0.3e |
| | 20~30 cm | 8.9±1.4d | 30.2±4.6d | 1.7±0.8e |
| | 30~40 cm | 6.0±0.8e | 27.6±4.1e | 2.7±1.3c |
| +P | 0~10 cm | 20.3±1.5a | 106.9±4.3a | 7.8±0.7a |
| | 10~20 cm | 16.0±3.9b | 78.6±7.0b | 3.5±0.6b |
| | 20~30 cm | 9.7±0.6d | 51.7±1.0c | 3.9±0.2b |
| | 30~40 cm | 7.3±0.4de | 28.2±3.2e | 2.8±1.0c |

2.3 施用磷肥对土壤微生物群落结构的影响

1) OTU 划分和分类地位鉴定。由图 1 可知，对于细菌和真菌而言，对照样本中门 (Phylum)、纲 (Class)、目 (Order)、科 (Family)、属 (Genus) 和种 (Species) 各分类水平的 OTU 数均高于长期施用磷肥样本。对于细菌，对照样本门、纲、目、科、属和种的 OTU 数量分别为 3 291、3 180、2 326、1 451、908 和 112，而长期施用磷肥样本 OTU 数则分别减少

171、182、267、305、206 和 20，减幅分别为 5.2%、5.7%、11.5%、21.0%、22.7%和 17.9%。对于真菌，对照样本门、纲、目、科、属和种各分类水平的 OTU 数量分别为 383、346、343、256、271 和 211，长期施用磷肥样本中 OTU 数量分别减少 46、47、52、26、35 和 32，减幅分别为 12.0%、13.6%、15.2%、10.2%、12.9%和 15.2%。这表明与对照相比，长期施用磷肥会降低细菌和真菌的群落数量。

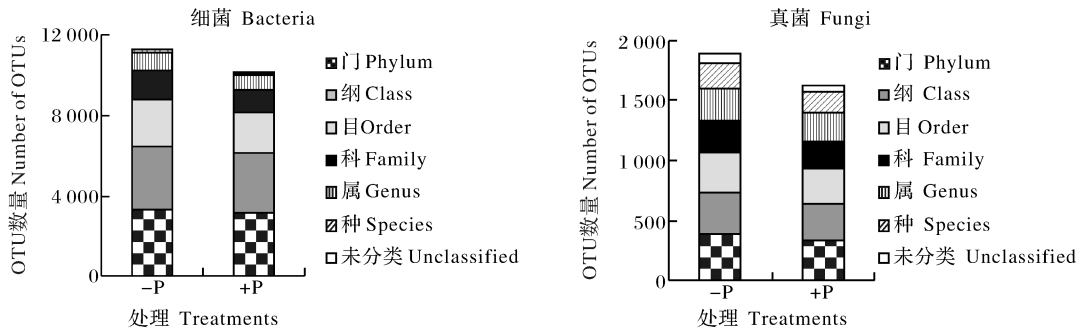


图 1 OTU 划分和分类地位鉴定

Fig.1 OTU classification and status identification

2) 土壤微生物群落丰富度及 Alpha 多样性分析。稀释曲线能反映样品文库测序数据量的合理性。由图 2 可知对照组和处理组的稀释曲线均平缓，表明当前测序深度已足够反映样本所包含微生物多样性，继续增加测序深度只会检测到少量的新

OTUs，对结果没有显著影响，说明测序数据量合理、可用。

Chao1 和 ACE 指数更加能够体现微生物的群落丰富度，而 Shannon 和 Simpson 指数更加能够体现微生物的群落多样性。长期施用磷肥会使土壤细

菌和真菌群落丰富度和多样性降低(表 4)。其中,施用磷肥对土壤细菌 Chao1 和 Shannon 影响最为显著(3 687.7、3 571.7 和 10.27、9.95),降幅分别为

3.1%和 3.1%;对土壤真菌 Chao1 和 ACE 影响最为显著(492.8、435.7 和 495.1、442.1),降幅分别为 11.6%和 10.7%。

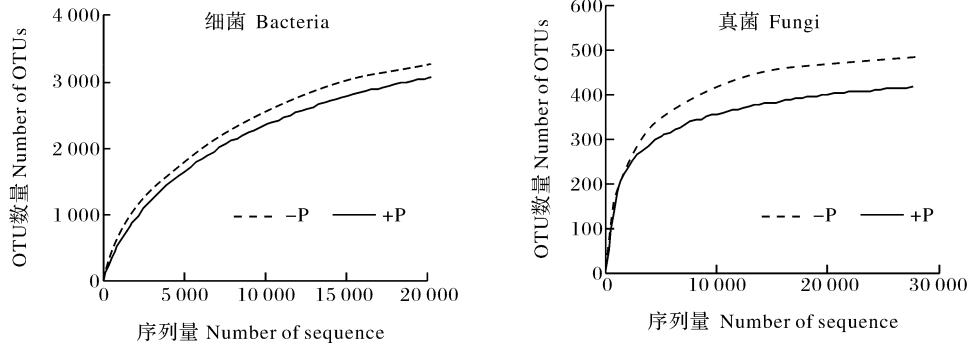


图 2 OTUs 稀疏曲线

Fig.2 Rarefaction curves of OUTs number

表 4 菌群 Alpha 多样性指数

Table 4 Alpha diversity of soil samples

| 种群 Microbial group | 处理 Treatments | Simpson | Chao1 | ACE | Shannon |
|--------------------|---------------|--------------|----------------|---------------|-------------|
| 细菌 Bacteria | -P | 0.998±0.023a | 3 687.1±121.7a | 3 878.1±50.4a | 10.27±0.30a |
| | +P | 0.996±0.021a | 3 571.7±117.9b | 3 829.8±49.8a | 9.95±0.30a |
| 真菌 Fungi | -P | 0.946±0.022b | 492.8±16.3c | 495.1±6.4d | 5.85±0.20b |
| | +P | 0.932±0.021b | 435.7±14.4d | 442.1±5.7c | 5.77±0.20b |

3)土壤微生物群落组成特征。试验结果(图 3)显示,相比施用磷肥,长期磷素缺乏引起耕层细菌和真菌物种数量在各分类单元显著增加。细菌群落中属、科、目水平的微生物类群和丰富度较高。真菌群落中种、属、科水平的微生物类群和丰富度较高。对照组细菌群落中门、纲、目、科、属和种水平的微生物类群数量分别为 35、89、151、187、237 和 51。而长

期施用磷肥,细菌群落中门、纲、目、科、属和种水平的微生物种群减少 3、10、9、22、53 和 5,降幅为 8.6%、11.2%、6.0%、11.8%、22.4%和 9.8%。同样地,对照组真菌群落中纲、目、科、属和种水平的微生物种群分别为 26、64、99、127 和 122;而长期施用磷肥后,真菌群落中纲、目、科、属和种水平微生物种群量分别减少 2、6、10、4 和 7,降幅依次为 7.7%、9.4%、

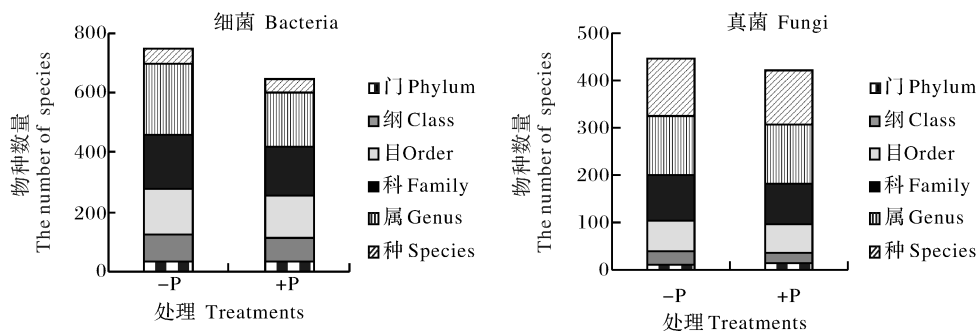


图 3 各分类水平上微生物种类分布

Fig.3 Microbial groups distribution at different taxonomic levels

10.1%、3.1%和 5.7%。

图 4 结果显示,从门分类水平上,两处理细菌中绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria)和变形菌门(Proteobacteria)相对丰度最高,属优势菌群,平均占总量的 32.4%、27.7%和 17.0%,其次是 Patescibacteria、己科河菌门(Rokubacterial)、芽

单胞菌门(Gemmatimonadetes)、放线菌门(Actinobacterial)和疣微菌门(Verrucomicrobia)等相对丰度较高,平均占比为 4.0%、3.5%、3.0%、2.5%和 2.3%;真菌中子囊菌门(Ascomycota)、Rozellomycota 和担子菌门(Basidiomycota)相对丰度最高,属优势菌群,平均占比为 58.2%、14.3%和 6.7%。

与对照相比,施用磷肥后细菌中绿弯菌门、酸杆菌门、己科河菌门、Latescibacteria 和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)相对丰度增加,而其他菌群相对丰度减少;真菌中子囊菌门、Mucoromycota 和

Basidiobolomycota 相对丰度减少,而其他菌群相对丰度增加。总之,长期施用磷肥会显著改变门分类水平下土壤中细菌和真菌群落结构分布和丰度。

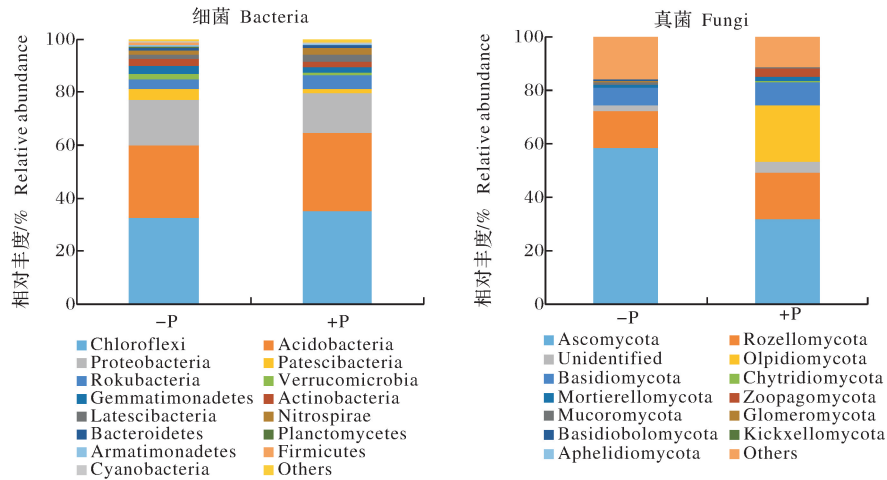


图 4 细菌和真菌门水平上的相对丰度

Fig.4 Relative abundance of bacteria and fungi at phylum rank

图 5 结果显示,从属水平上看各菌群相对丰度均较低。细菌和真菌群落中,对照和处理中 Unidentified(未鉴定物种)和 Others(其他物种)相对丰度均最高,这表明细菌和真菌属中还未鉴定和分类的菌群数较多。对照组细菌属中 *Candidatus Udaeobacter*、*Candidatus Solibacter* 和芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)相对丰度较高,占比分别为 2.1%、1.5%和 1.2%;长期施用磷肥后,其相对丰度分别降至 0.7%、1.4%和 0.7%。对照组真菌属中支顶孢属(*Acremonium*)、*Cookeina* 和 *Camarophyllus* 相对丰度较高,占比分别为 17.8%、7.7%和 1.5%,而施用磷肥后,各属相对丰度依次分别降至 0.4%、0.3%和 0.1%。这表明长期施用磷肥会使土壤中细菌和真菌在属分类水平上的丰度有不同程度的改变。

2.4 土壤菌群群落与土壤磷组分之间的关系

选择冗余分析(RDA)考察不同处理微生物群落丰度与土壤磷组分之间的相关性。从图 6 可以看出,对照和施磷土壤主要微生物菌群在二维排序中彼此分离明显,说明施磷造成土壤主要微生物群落的分化(蒙特卡罗检验 $P=0.016^*$)。无机磷组分中 Ca-P 与细菌群落分布相关性最大,其次是 O-P、Fe-P 和 Al-P;Fe-P 与真菌群落分布相关性最大,其次是 O-P、Ca-P 和 Al-P。对于各形态磷来说,有机磷和总磷与细菌群落分布相关性最大,其次是有机磷和有效磷。有效磷与真菌群落分布相关性最大,

其次是无机磷、总磷和有机磷。

无机磷组分与优势细菌群落相关性结果显示,硝化螺旋菌门与 Al-P、Fe-P、O-P 和 Ca-P 之间呈正相关,且相关性依此减小。绿弯菌门、酸杆菌门与 Ca-P、O-P、Fe-P 和 Al-P 之间呈正相关,且相关性依此减小。Gem、Ver、Act、Pat 和 Pro 均与 Ca-P、O-P、Fe-P 和 Al-P 之间呈负相关。各形态磷含量与优势细菌群落相关性表明,硝化螺旋菌门、绿弯菌门和酸杆菌门与有效磷、总磷、无机磷及有机磷含量均呈正相关。Gem、Ver、Act、Pat 和 Pro 与有机磷正相关,与无机磷、总磷及有效磷呈负相关。无机磷与优势真菌群落相关性结果显示,Asc 与 Ca-P、O-P、Fe-P 和 Al-P 呈负相关;Roz、Olp、Bas、Mor、Muc 和 Zoo 与 Ca-P、O-P、Fe-P 和 Al-P 呈正相关。各形态磷含量与优势真菌群落相关结果显示,Asc 与有效磷、总磷、无机磷及有机磷呈负相关;而 Roz、Olp、Bas、Mor、Muc 和 Zoo 与有效磷、总磷、无机磷及有机磷呈正相关。

3 讨论

3.1 长期施用磷肥对土壤各形态磷含量的影响

磷是植株生长必需的大量元素之一,主要来自土壤磷和磷肥。土壤磷素可分为有机磷和无机磷,其中无机磷占土壤磷总量的 60%~80%^[16],是植物磷素吸收的主要来源。磷肥施入农田后易被土壤中

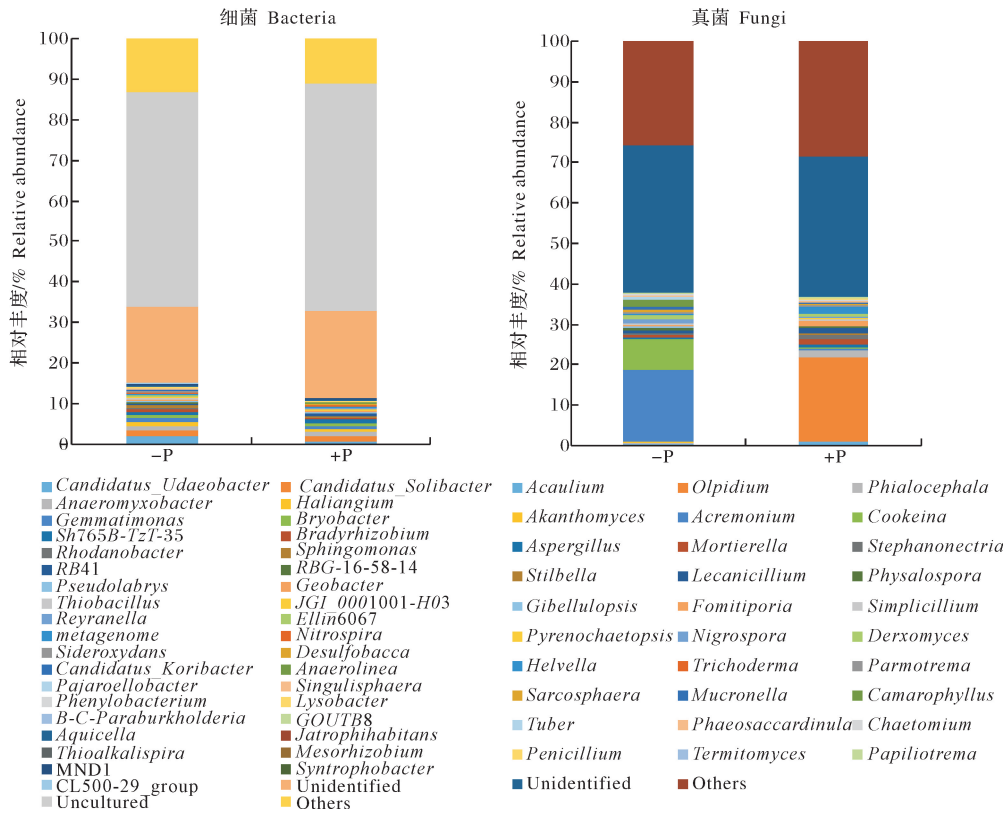
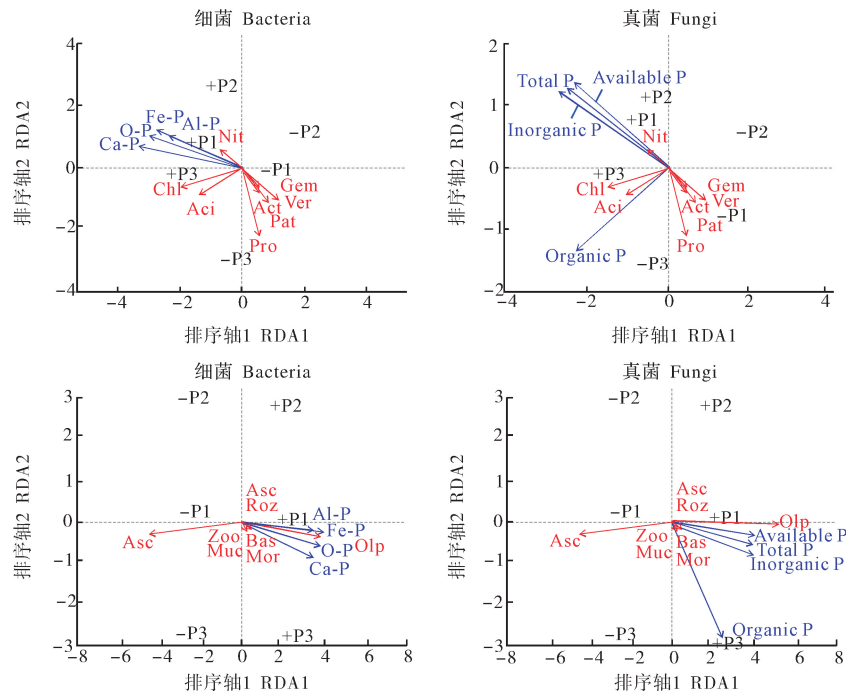


图 5 细菌和真菌属水平上的相对丰度

Fig.5 Relative abundance of bacteria and fungi at genus rank



Chl: 绿弯菌门 Chloroflexi; Aci: 酸杆菌门 Acidobacteria; Pro: 变形菌门 Proteobacteria; Pat: Patescibacteria; Ver: 疣微菌门 Verrucomicrobia; Gem: 芽单胞菌门 Gemmatimonadetes; Act: 放线菌门 Actinobacteria; Nit: 硝化螺旋菌门 Nitrospirae; Asc: 子囊菌门 Ascomycota; Roz: Rozellomycota; Olp: Olpidiomycota; Bas: 担子菌门 Basidiomycota; Mor: Mortierellomycota; Zoo: Zoopagomycota; Muc: Mucoromycota.

图 6 不同处理磷组分与微生物群落冗余分析

Fig.6 RDA analysis of P fraction and main microbial communities in soils with P or without P fertilizer

的 Fe、Ca 等元素固定,因此,磷肥的当季利用率一般仅为 10%~25%^[17]。土壤中磷素形态决定磷素的生物有效性^[18],而土壤中不同形态无机磷对植物有效性存在差异。已有研究表明长期施用磷肥,土壤全磷、无机磷均有不同程度的累积,而不施用磷肥土壤全磷、无机磷处于耗竭状态,二者趋势一致^[19]。本研究中,长期施用磷肥与对照土壤中各形态磷含量有明显差异。对照土壤的全磷、无机磷及有效磷含量显著低于施磷处理,这在其他长期定位试验中也得到相似结论^[20-21]。有研究表明,施磷可显著增加土壤有效磷含量,这是由于施用磷肥时,土壤中所含总磷增加,虽然大部分磷肥会经过转化变成不能被植物吸收利用的难溶磷形态,但仍会有部分磷素本身具有有效性,易溶或者微溶于土壤溶液中,这一部分就会被作物直接吸收利用^[22]。施磷对土壤有机磷含量影响不显著,除 10~20 cm 土层有机磷含量提高 20.7%,这可能与微生物总量及其固定的磷有关。长期施用磷肥不仅会影响土壤磷素形态和含量变化,也会影响土壤中磷的垂直分布。对土壤剖面研究发现底层土壤磷素含量低于表层土壤,表现为磷素含量随土层的增加而逐渐降低。长期施用磷肥可显著提高 0~10 cm 和 10~20 cm 土层磷含量,对于底层 20~30 cm 和 30~40 cm 处理间差异不明显。单艳红等^[23]研究发现水稻田施用磷肥会导致 0~25 cm 土层无机磷含量显著增加。杨学云等^[24]在西北地区的长期(12 a)定位试验也表明施肥显著提高了 0~20 cm 土层全磷和速效磷含量。

此外,本研究发现长期施用磷肥对土壤无机磷组分有显著影响。各处理中 O-P 占比最高,约为 79.2%~88.1%。其次是 Fe-P、Ca-P,而 Al-P 相对含量最小,仅占 0.3%~1.2%。土壤磷组分之间存在一定程度的相互制约,土壤有效磷含量取决于无机磷组分的分布规律和转化特征。本研究结果显示,土壤无机磷组分含量由高到低顺序为 O-P>Fe-P>Ca-P>Al-P。长期施用磷肥后无机磷各组分含量均有所增加,尤其对耕层铁磷和闭蓄态磷含量影响最为显著,其次是铝磷和钙磷。施用磷肥对底层土壤中各无机磷组分含量影响不明显。施用磷肥使 Fe-P 和 Al-P 相对含量增加,而 Ca-P 和 O-P 相对含量减少。原因可能是施用肥料后作物长势较好,将会从土壤中吸收更多有效磷,而无机磷中 Ca-P 是最易被作物吸收的组分;肥料中会有一些 Fe、Al 等金属离子或者有机螯合物,会将土壤中相对有效的磷素(Ca₂-P 和 Ca₈-P)吸附。所以,土壤中 Fe-

P 和 Al-P 会随着施用磷肥而显著增加。闭蓄态磷是由铁、铝氧化物胶膜所包裹的磷酸铁和磷酸铝,主要存在于高度分化的强酸性和酸性土壤中,占土壤无机磷的 80%以上;而在北方黄土中仅占 10%~20%,可见,对于南方稻田土壤,如何提高闭蓄态磷的生物有效性是今后提高土壤供磷水平的主要研究方向之一^[25]。

3.2 长期施用磷肥对土壤微生物多样性的影响

土壤磷组分含量与土壤本底微生物群落和代谢功能密切相关^[8-9]。目前,关于长期施肥对微生物群落影响的研究不太多,报道的结果也不尽一致。以往有研究表明,长期施用磷肥导致土壤细菌多样性升高^[26-27],原因是施用磷肥会提高土壤有效磷含量,一方面可以直接提供微生物磷营养,另一方面促进植物生长,增加根系分泌物,进而提高根际土壤微生物的丰度和多样性。本研究结果与之有些差别,本研究中细菌群落的 α -多样性随着磷肥的施入而呈降低趋势,造成这种现象的原因可能是本试验地的本底全氮含量较低,施加磷肥后土壤 N/P 比例的下降造成微生物生物量减少,从而使细菌多样性降低^[28]。Islam 等^[29]对长期施肥(53 a)水稻土的研究结果表明,增施 NPK 肥对微生物活性影响较小,NPK 处理的生物多样性指数也较小,这可能与该试验田耕作历史悠久,本底土壤肥力较高有关。真菌 α -多样性变化与细菌相似,He 等^[30]发现在我国西南高原草甸土中连续施用磷肥后,真菌群落的 α -多样性指标显著降低。同时,Liu 等^[31]通过研究发现红壤中施用磷肥后真菌群落的 α -多样性指标显著降低。可见,施用磷肥改变了土壤有效磷含量,进而影响到真菌 α -多样性。

磷肥施入改变了细菌和真菌的群落组成和结构。在细菌门水平上,绿弯菌门、酸杆菌门和硝化螺旋菌门相对丰度随着磷肥施入而逐渐升高;而变形菌门、芽单胞菌门、放线菌门和疣微菌门相对丰度则随着磷肥施入有所降低。绿弯菌门相对丰度增加和 Francioli 等^[32]的研究一致。酸杆菌通常被归类为缓慢生长的寡养生物^[33],长期^[34]和短期^[35]研究均发现,它们的丰度随着施氮量的增加而显著下降。疣微菌门为寡营养型细菌,适宜在养分有效性低的环境中生长。富营养型的变形菌门^[36]在施用磷肥后相对丰度降低,这和马垒等^[37]的研究一致,未施磷肥土壤中低的 pH 可能更适宜变形菌门生长。放线菌门含量降低,这和张焕军等^[38]研究一致,这可能与土壤类型和种植方式有关,使得微生物对施肥

的响应不同。

在真菌门水平上,担子菌门和子囊菌门为优势菌门,子囊菌门是真核生物中最多多样化和最普遍的菌门之一,它们是有机基质(如木材、落叶和粪便)的重要分解者。已有研究显示子囊菌门是农业生态系统中主要的真菌门类^[39]。然而,担子菌门在森林中降解高木质素含量的植物凋落物方面特别重要,但它们在农业种植系统中的丰度可能较低。此外,从本研究结果可以看出,细菌和真菌相对丰度高的属多与总磷、有效磷、无机磷呈负相关,而与有机磷含量呈正相关,这表明缺磷有助于提高土壤微生物多样性和物种数量;而磷肥供应充足后,有机磷含量则可能是土壤微生物群落结构多样性的主要限制因子,这方面的研究还有待进一步深入和证实。

参考文献 References

- [1] EGLE L, ZOBOLI O, THALER S, et al. The Austrian P budget as a basis for resource optimization [J]. *Resources conservation and recycling*, 2014, 83: 152-162.
- [2] RICHARDSON A E, SIMPSON R J. Soil microorganisms mediating phosphorus availability update on microbial phosphorus [J]. *Plant physiology*, 2011, 156(5): 989-996.
- [3] YANG X, POST W M. Phosphorus transformations as a function of pedogenesis: a synthesis of soil phosphorus data using Hedley fractionation method [J]. *Biogeosciences*, 2011, 8(8): 2907-2916.
- [4] 黄晶. 基于几个长期定位试验的长江上、中游水稻土磷素肥力与磷肥肥效的演变规律[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2017. HUANG J. Evolution of soil phosphorus fertility and phosphate fertilizer efficiency of paddy soils in the upper and middle reaches of the Yangtze River based on several stationary experiments[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2017 (in Chinese with English abstract).
- [5] 王海龙, 张民, 刘之广, 等. 多年定位试验条件下不同施磷水平对土壤无机磷分级的影响[J]. *水土保持学报*, 2018, 32(5): 321-327. WANG H L, ZHANG M, LIU Z G, et al. Effects of different phosphorus application levels on the inorganic phosphorus fraction under multi-year location experiment [J]. *Journal of soil and water conservation*, 2018, 32(5): 321-327 (in Chinese with English abstract).
- [6] 曾晓敏, 范跃新, 林开森, 等. 亚热带不同海拔黄山松林土壤磷组分及微生物特征[J]. *生态学报*, 2018, 38(18): 215-224. ZENG X M, FAN Y X, LIN K M, et al. Characteristics of soil phosphorus fractions and microbial communities in *Pinus taiwanensis* hayata forests at different altitudes in a subtropical region of China [J]. *Acta ecologica sinica*, 2018, 38(18): 215-224 (in Chinese with English abstract).
- [7] 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[D]. 重庆: 西南大学, 2017. ZHANG Y T. The effect of long-term fertilization on soil microbial diversity and the accumulation of antibiotic resistance genes [D]. Chongqing: Southwest University, 2017 (in Chinese with English abstract).
- [8] ZHANG H Z, SHI L L, WEN D Z, et al. Soil potential labile but not occluded phosphorus forms increase with forest succession [J]. *Biology and fertility of soils*, 2016, 52(1): 41-51.
- [9] 任常琦, 王进闯, 程汉亭, 等. 不同林龄橡胶 (*Hevea brasiliensis*) 林土壤微生物群落和磷组分的变化[J]. *生态学报*, 2017, 37(23): 7983-7993. REN C Q, WANG J C, CHENG H T, et al. Effects of rubber (*hevea brasiliensis*) plantations on soil phosphorus fractions and microbial community composition [J]. *Acta ecologica sinica*, 2017, 37(23): 7983-7993 (in Chinese with English abstract).
- [10] GROVER J P. Predation, competition, and nutrient recycling: a stoichiometric approach with multiple nutrients [J]. *Journal of theoretical biology*, 2004, 229(1): 31-43.
- [11] HU J L, LIN X G, WANG J H, et al. Microbial functional diversity, metabolic quotient, and invertase activity of a sandy loam soil as affected by long-term application of organic amendment and mineral fertilizer [J]. *Journal of soils and sediments*, 2011, 11: 271-280.
- [12] SHI Y, LALANDE R, ZIADI N, et al. An assessment of the soil microbial status after 17 years of tillage and mineral P fertilization management [J]. *Applied soil ecology*, 2012, 62: 14-23.
- [13] 唐静, 黄菲, 李继福, 等. 冬油菜与杂草对长期不同施肥的差异性适应[J]. *土壤*, 2018, 50(2): 291-297. TANG J, HUANG F, LI J F, et al. Different adaptations of winter rapeseeds and weeds responding to long-term balanced fertilization [J]. *Soils*, 2018, 50(2): 291-297 (in Chinese with English abstract).
- [14] 黄帅, 陈佛文, 李继福, 等. 长期施用钾肥对水旱轮作土壤供钾特性的影响[J]. *长江大学学报*, 2018, 15(14): 1-5. HUANG S, CHEN F W, LI J F, et al. Effect of long-term K-fertilizer application on the K supplying capacity in a paddy-up-land rotation system [J]. *Journal of Yangtze University*, 2018, 15(14): 1-5 (in Chinese with English abstract).
- [15] LI M, ZHANG J, WANG G Q, et al. Organic phosphorus fractionation in wetland soil profiles by chemical extraction and phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectroscopy [J]. *Applied geochemistry*, 2013, 33: 213-221.
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2015. BAO S D. Soil and agricultural chemistry analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2015 (in Chinese).
- [17] PAVINATO P S, MERLIN A, ROSELEM C A. Phosphorus fractions in Brazilian Cerrado soils as affected by tillage [J]. *Soil & tillage research*, 2009, 105(1): 149-155.
- [18] 赵靓. 氮、磷化肥用量对土壤养分和玉米产量的影响[D]. 石河子: 石河子大学, 2014. ZHAO L. Effects of nitrogen and phosphorus fertilizers application rates on soil nutrient and maize yield [D]. Shihezi: Shihezi University, 2014 (in Chinese with English abstract).
- [19] 区惠平, 周柳强, 黄美福, 等. 不同施磷量下稻田土壤磷素平衡及其潜在环境风险评估[J]. *植物营养与肥料学报*, 2016, 22(1): 40-47. QU H P, ZHOU L Q, HUANG M F, et al. Phosphorus balance in paddy soils and its environmental effect un-

- der different phosphorus application rates [J]. Journal of plant nutrition and fertilizers, 2016, 22(1): 40-47 (in Chinese with English abstract).
- [20] 王海龙. 多年定位试验条件下不同施磷水平对土壤磷形态和生物有效性的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2019. WANG H L. Effects of different phosphate fertilizer application rates on soil phosphorus fractions and bioavailability under long-term experiment [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2019 (in Chinese with English abstract).
- [21] 张立花. 施磷对小麦玉米轮作磷营养的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2013. ZHANG L H. Effect of phosphorus on wheat, maize rotation phosphorus nutrition [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2013 (in Chinese with English abstract).
- [22] 焦亚鹏, 齐鹏, 王晓娇, 等. 氮磷配施对黄土高原旱作农业区典型农田土壤无机磷形态的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(8): 1459-1472. JIAO Y B, QI P, WANG X J, et al. Effects of nitrogen and phosphorus fertilization on inorganic phosphorus forms of typical farmland soils in the dry farming area of the Loess Plateau [J]. Journal of plant nutrition and fertilizers, 2020, 26(8): 1459-1472 (in Chinese with English abstract).
- [23] 单艳红, 杨林章, 沈明星, 等. 长期不同施肥处理水稻土磷素在剖面的分布与移动[J]. 土壤学报, 2005, 42(6): 970-976. SHAN Y H, YANG L Z, SHEN M X, et al. Accumulation and downward transport of phosphorus in paddy soil in long-term fertilization experiments [J]. Acta pedologica sinica, 2005, 42(6): 970-976 (in Chinese with English abstract).
- [24] 杨学云, 孙本华, 古巧珍, 等. 长期施肥对壤土磷素状况的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 12(4): 105-110. YANG X Y, SUN B H, GU Q Z, et al. The effects of long term fertilization on soil phosphorus status in manual loessial soil [J]. Plant nutrition and fertilizer science, 2009, 12(4): 105-110 (in Chinese with English abstract).
- [25] 刘克锋, 刘建斌, 贾月慧. 土壤、植物营养与施肥[M]. 北京: 气象出版社, 2006. LIU K F, LIU J B, JIA Y H. Soil, plant nutrition and fertilization [M]. Beijing: China Meteorological Press, 2006 (in Chinese).
- [26] TAN H, BARRET M, MOOIJ M J, et al. Long-term phosphorus fertilization 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.
- [27] 陈晓芬, 李忠佩, 刘明, 等. 长期施肥处理对红壤水稻土微生物群落结构和功能多样性的影响[J]. 生态学杂志, 2015, 34(7): 1815-1822. CHEN X F, LI Z P, LIU M, et al. Effect of long-term fertilization on microbial community structure and functional diversity in paddy soil of subtropical China [J]. Chinese journal of ecology, 2015, 34(7): 1815-1822 (in Chinese with English abstract).
- [28] 杨静怡, 王旭, 孙立飞, 等. 氮磷添加对长白山温带森林土壤微生物群落组成和氨基糖的影响[J]. 应用生态学报, 2020, 31(6): 1948-1956. YANG J Y, WANG X, SUN L F, et al. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil microbial community and amino sugar in a temperate forest on Changbai Mountain, Northeast China [J]. Chinese journal of applied ecology, 2020, 31(6): 1948-1956 (in Chinese with English abstract).
- [29] ISLAM M R, CHAUHAN P S, KIM Y, et al. Community level functional diversity and enzyme activities in paddy soils under different long-term fertilizer management practices [J]. Biology and fertility of soils, 2011, 47(5): 599-604.
- [30] HE D, XIANG X J, HE J S, et al. Composition of the soil fungal community is more sensitive to phosphorus than nitrogen addition in the alpine meadow on the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. Biology and fertility of soils, 2016, 52(8): 1059-1072.
- [31] LIU M, LIU J, CHEN X F, et al. Shifts in bacterial and fungal diversity in a paddy soil faced with phosphorus surplus [J]. Biology and fertility of soils, 2018, 54(2): 259-267.
- [32] FRANCIOLI D, SCHULZ E, LENTENDU G, et al. Mineral vs. organic amendments: microbial community structure, activity and abundance of agriculturally relevant microbes are driven by long-term fertilization strategies [J/OL]. Frontiers in microbiology, 2016, 7: 1446 [2020-06-28]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01446>.
- [33] FIERER N, BRADFORD M A, JACKSON R B. Toward an ecological classification of soil bacteria [J]. Ecology, 2007, 88(6): 1354-1364.
- [34] YAO M, RUI J, LI J, et al. Rate-specific responses of prokaryotic diversity and structure to nitrogen deposition in the *Leymus chinensis* steppe [J]. Soil biology and biochemistry, 2014, 79: 81-90.
- [35] HERZOG S, WEMHEUER F, WEMHEUER B, et al. Effects of fertilization and sampling time on composition and diversity of entire and active bacterial communities in German grassland soils [J/OL]. PLoS One, 2015, 10(12): e0145575 [2020-06-28]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145575>.
- [36] FIERER N, JACKSON R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities [J]. PNAS, 2006, 103(3): 626-631.
- [37] 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. 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 (in Chinese with English abstract).
- [38] 张焕军, 郁红艳, 丁维新. 长期施用有机无机肥对潮土微生物群落的影响[J]. 生态学报, 2011, 31(12): 3308-3314. ZHANG H J, YU H Y, DING W X. The influence of the long-term application of organic manure and mineral fertilizer on microbial community in calcareous fluvo-aquic soil [J]. Acta ecologica sinica, 2011, 31(12): 3308-3314 (in Chinese with English abstract).
- [39] LIENHARD P, TERRAT S, PRÉVOST-BOURÉ N, et al. Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland [J]. Agronomy for sustainable development, 2014, 34(2): 525-533.

Effects of long-term application of phosphorus fertilizer on soil phosphorus fractions and microbial diversity in rice-rapeseed rotation

CHEN Feng^{1,2}, WANG Xiaoshuang^{1,2}, GAN Guoyu^{2,3}, LI Yanli^{1,2}, ZOU Jialong⁴, LI Jifu^{2,3}

1. *Ministry of Education Engineering Research Center of Ecology and Agricultural Use of Wetland, Jingzhou 434025, China;*

2. *College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China;*

3. *Ministry of Agriculture and Rural Affairs Key Laboratory of Fertilizer Utilization, Wuhan 430070, China;*

4. *Agricultural Technology and Promotion Service Center of Jingzhou District, Jingzhou 434025, China*

Abstract A field experiment with two treatments including NK (−P) and NPK (+P) was conducted in 2011 to study the effects of long-term application of phosphorus (P) fertilizer on the phosphorus fractions and microbial diversity of rice-rapeseed rotation. The soil layer was divided into 0-10, 10-20, 20-30 and 30-40 cm for sampling and analyzing. Soil available P, total P and organic P were determined with conventional analytical methods. Chemical continuous extraction method was used to determine the inorganic P fractions in the soil samples, and Illumina-miseqpe 250 platform was used for high-throughput sequencing of surface soil (0-10 cm) microorganisms. The results showed that long-term application of P fertilizer (+P) significantly increased the content of total P, inorganic P and available P in each soil layer compared with the CK (−P treatment), but the organic P content did not increase significantly. P content in soil layer of 0-10 cm and 10-20 cm significantly increased by application of P fertilizer, but the effect on the bottom layer of 20-30 cm and 30-40 cm was not obvious. Compared with −P treatment, long-term application of P fertilizer reduced the alpha of microbial community diversity and changed the structure of microbial community. At the level of phylum, the dominant bacteria were Chloroflexi, Acidobacteria and Proteobacteria. The relative abundance of Chloroflexi and Acidobacteria was increased, while that of Proteobacteria decreased. Ascomycota and Basidiomycota were the dominant phylum, the relative abundance of Ascomycota decreased and that of Basidiomycota increased. Compared with CK, although the application of P fertilizer significantly decreased the number of bacteria and fungi in the layer soil in each taxa, the relative abundance of the dominant flora decreased from the perspective of the genus level. The results of analyzing redundancy showed that the content of Al-P and Fe-P was closely related to the abundance of various bacteria and fungi. It is indicated that long-term phosphorus deficiency induce an increase in the number of microorganisms to activate soil nutrients, and a sufficient supply of phosphorus fertilizer meet crop nutrient requirements and maintain the dynamic balance of soil microbial communities. Therefore, it is necessary to optimize the application of P fertilizer in the entire crop rotation system to promote the activation and release of soil phosphorus, thereby reducing the amount of P fertilizer and improving its recovery rate.

Keywords rice-rapeseed rotation; P fertilizer; soil P fraction; microbial diversity; high throughput sequencing; microbial community; soil P forms

(责任编辑:张志钰)