

# SBB: 长期施肥降低了控制土壤微生物群落演替的随机性

转载

刘永鑫Adam 于 2020-12-28 07:00:00 发布 1178 收藏 4

文章标签: [机器学习](#) [人工智能](#) [大数据](#) [深度学习](#) [数据分析](#)

原文链接: <https://sci-hub.se/10.1016/j.soilbio.2020.108023>

版权

编译: 艾奥里亚, 编辑: 小菌菌、江舜尧。

原创微文, 欢迎转发转载。

## 导读

确定生态演替的驱动因素对于预测生态系统功能以应对人类活动所引起的环境变化至关重要。尽管各种研究都探讨了氮(N)对植物和微生物群落多样性、结构和活性的影响, 但长期的人为施肥如何影响微生物功能群落的生态演替及其潜在的群落构建机制尚不清楚。

本研究中, 利用之前收集保存的土壤样本, 从世界上持续时间最长的生态实验: Rothamsted实验站的Park Grass实验中, 研究了一个多世纪以来土壤微生物功能群落的演替(从1870年到2008年)。

长期施肥显著改变了土壤功能群落结构, 导致土壤微生物群落演替趋同。随机过程在调节不同微生物群落演替中的重要性差异很大。施肥在降低碳的固定与降解、氮的固定与矿化、反硝化等微生物群落的生态随机性方面具有不同程度的影响。这一长期研究阐明了不同的群落构建机制对参与C、N循环的土壤微生物功能群落的影响分异, 本研究结果对于理解和预测环境变化所引起的微生物介导的生态效应具有重要意义。

## 论文ID

原名: Century long fertilization reduces stochasticity controlling grassland microbial community succession

译名: 长时间施肥降低了调控土壤微生物群落演替的随机性

期刊: Soil Biology and Biochemistry

IF: 5.795

发表时间: 2020.12

通讯作者: 梁玉婷; 周集中

通讯作者单位: 中国科学院南京土壤研究所; 俄克拉荷马大学

## 实验设计

为了探究长期施用无机肥对土壤微生物群落结构和演替的影响, 在不同时间下从ParkGrass的3号样地和14/2样地分别对土样本进行采集。其中我们将自1856年以来一直没有施用肥料的3号样地(96.4 m\*12.6 m)作为对照组, 将从1856年开始在春季以硝酸钠形式施用96 kg N ha<sup>-1</sup> y<sup>-1</sup>的14/2样地(62.8m\*6.3m)设为处理组。其中3号样地和14/2号样地相距约25米。总共有24个土壤样本, 即12个对照样本和12个施肥样本。为了避免空间效应, 在每个地块中心部位取0-10厘米深的土壤作为研究样本, 所有采集的样本风干后保存在玻璃瓶中, 用于后续分析。

## 结果

### 1 微生物功能群落的总体概述

我们分别在对照和施肥土壤样本中检测到平均25,842个和29,541个功能基因。除趋势对应分析（DCA）表明微生物功能群落对照和施肥样品之间明显分离，这表明对照和长期无机肥施用样地的微生物功能群落明显不同。施肥土壤中的微生物群落比对照土壤中的微生物群落聚集度更高。此外，我们发现施肥会导致微生物群落趋于一致性（ $p < 0.01$ ）（图1b）。此外，3个互补性非参数多元统计检验（ADONIS、ANOSIM和MRPP）进一步表明，施肥土壤样本和对照土壤样本的总体微生物功能结构存在显著差异（ $p < 0.01$ ）（表1）。这些结果表明，无机肥显著改变了土壤微生物群落的功能组成和结构。

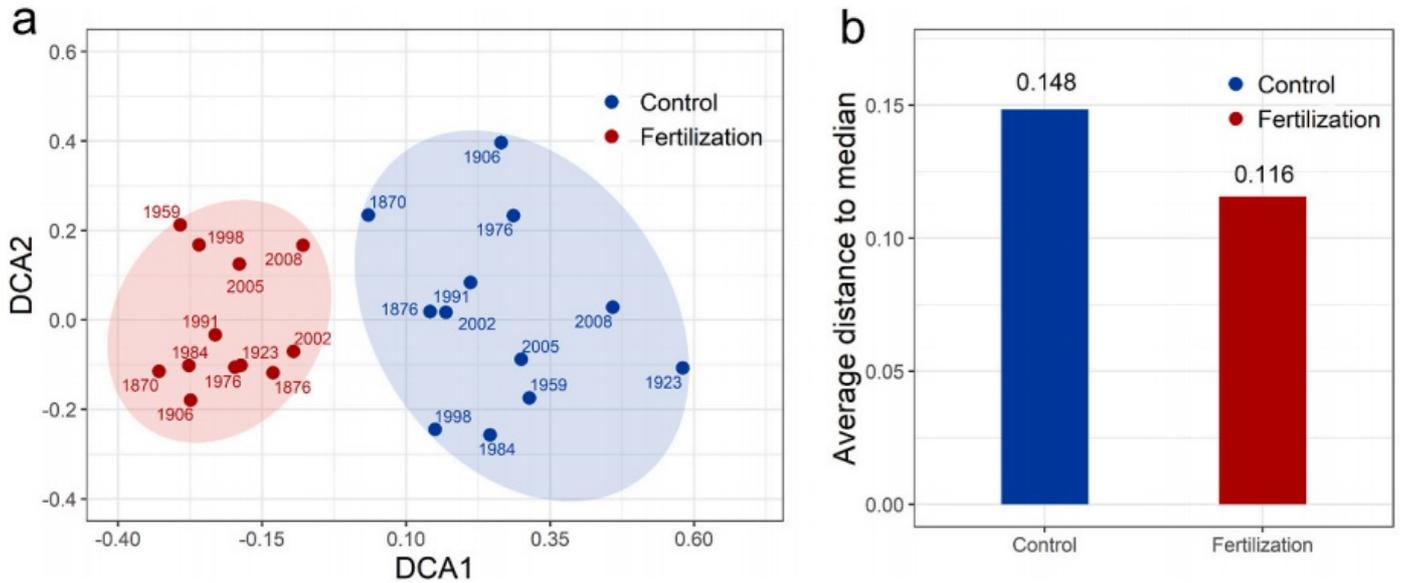


图1 百年施肥对土壤微生物群落分布的影响。a代表基于除趋势对应分析（DCA），反映了从1870年到2008年土壤微生物功能群落的总体分布，每一个圆点旁边的数字代表抽样年份；b代表对照土壤样本和施肥土壤样本微生物群落的分散情况。

Data sets	ANOSIM		Adonis		MRPP	
	R	p	F	p	$\delta$	p
All functional genes	0.641	0.001	9.397	0.001	0.197	0.001
C cycling	0.615	0.001	8.639	0.001	0.199	0.001
N cycling	0.658	0.001	9.687	0.001	0.195	0.001
Phosphorus	0.703	0.001	10.582	0.001	0.212	0.001
Sulfur	0.670	0.001	9.630	0.001	0.214	0.001

表1 基于三种检验方法对长期无机施肥对微生物功能群落结构影响的显著性检验。

## 2 长期施肥下微生物周转时间

基于群落相似性与时间间隔之间双对数转换线性回归分析，我们评估了微生物群落的演替模式（图2a）。和设想的相同，我们在对照（斜率=0.028， $p=0.005$ ）和施肥土壤（斜率=0.018， $p=0.001$ ）都观察到了明显的时间衰减关系（time decay relationship, TDRs）。通过bootstrapping配对t检验，我们发现，长期施肥显著降低了微生物的时间周转率（ $p < 0.0001$ ），这表明施肥土壤的群落相似性高于对照土壤。通过将相同摩尔量的DNA应用于每个GeoChip阵列来归一化DNA降解随储存时间的影响（不考虑DNA的提取产率），我们发现，无论是否考虑DNA回收，在长期施肥的情况下，时间周转率都有所降低。基于对不同功能（C、N、P和S循环）和系统发育（古菌、真菌和细菌）的TDRs斜率的评估，我们探究了不同功能和系统发育组分随时间变化对施肥的响应（图2b）。在对照和施肥土壤中，除了硝化作用之外，大多数功能类别都存在显著的TDRs。反硝化组的w值在施肥样品和对照样品之间具有很大的差异。此外，长期施肥降低了所有系统发育组的w值。其中，真菌的差异最大（ $p < 0.0001$ ），其次是革兰氏阳性菌。

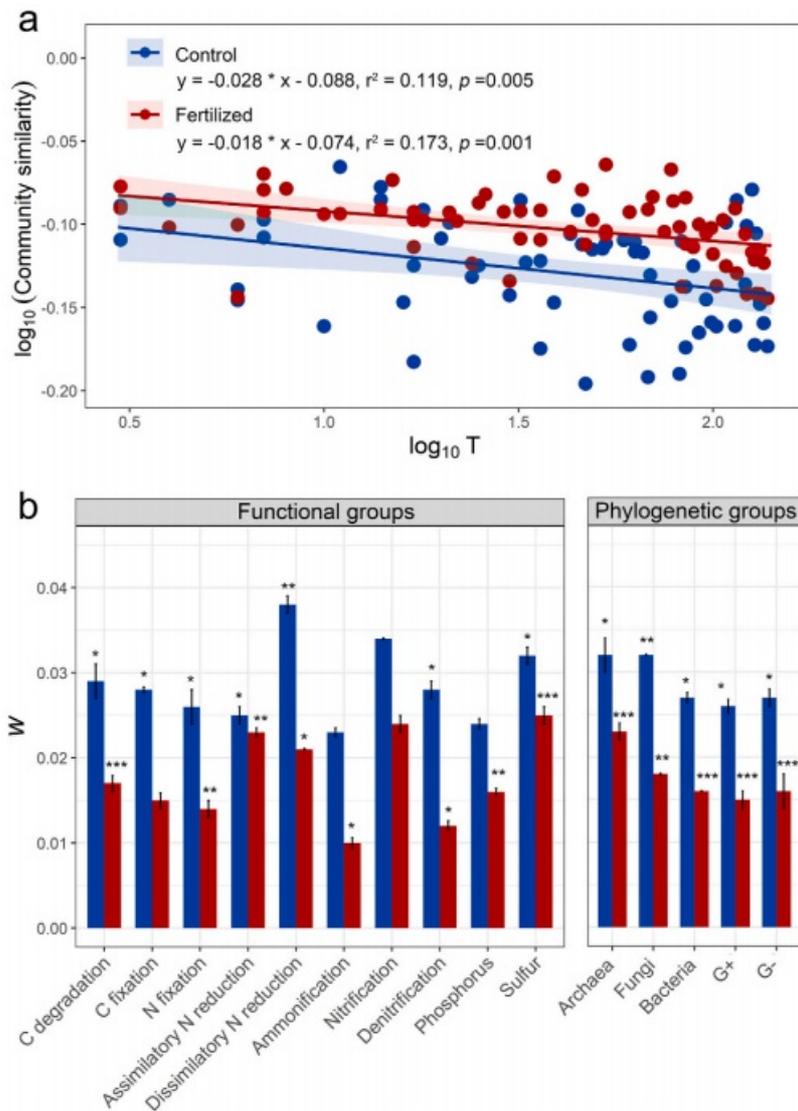


图2 一个多世纪以来土壤微生物群落的时间衰减关系（TDR）。a代表施肥土壤样本（红色）和对照样本（蓝色）的群落相似性（Ss）与对数时差（T）之间的线性回归关系；b代表功能类群和系统发育类群的时间更替（线性回归斜率）。

基于Meta分析，我们进一步了解了微生物随时间的长期演替模式（图3a）。在不同的生境和不同的时间尺度下（几天到一个多世纪），微生物的时间演替有很大的不同（从0.001到0.31%不等）。所有已发表的TDR斜率和我们研究的斜率都以时间尺度函数进行了测试，其中，rational函数模型显示出比其他模型更好的拟合效果。我们注意到，虽然也存在一些重要的模型，但它们的 $R^2$ （0.16-0.18）不是很好，而且w在较短周期内的变异性也很大。因此，我们只能推断微生物演替速率潜在地依赖于时间尺度。我们提出了一个两阶段的概念示意图，以表明微生物演替模式随时间推移的潜在趋势（图3b）。基于rational函数，当 $b_1 \ll T_s \ll b_2$ 时，可能从几周到几年的时间内，w近似于恒定值（阶段I）。在此之后，随着时间尺度的增大，w会逐渐减小，因此具有一个较长的拖尾阶段，在该阶段下，w随着时间的推移而持续减小，并逐渐接近于零（阶段II）。

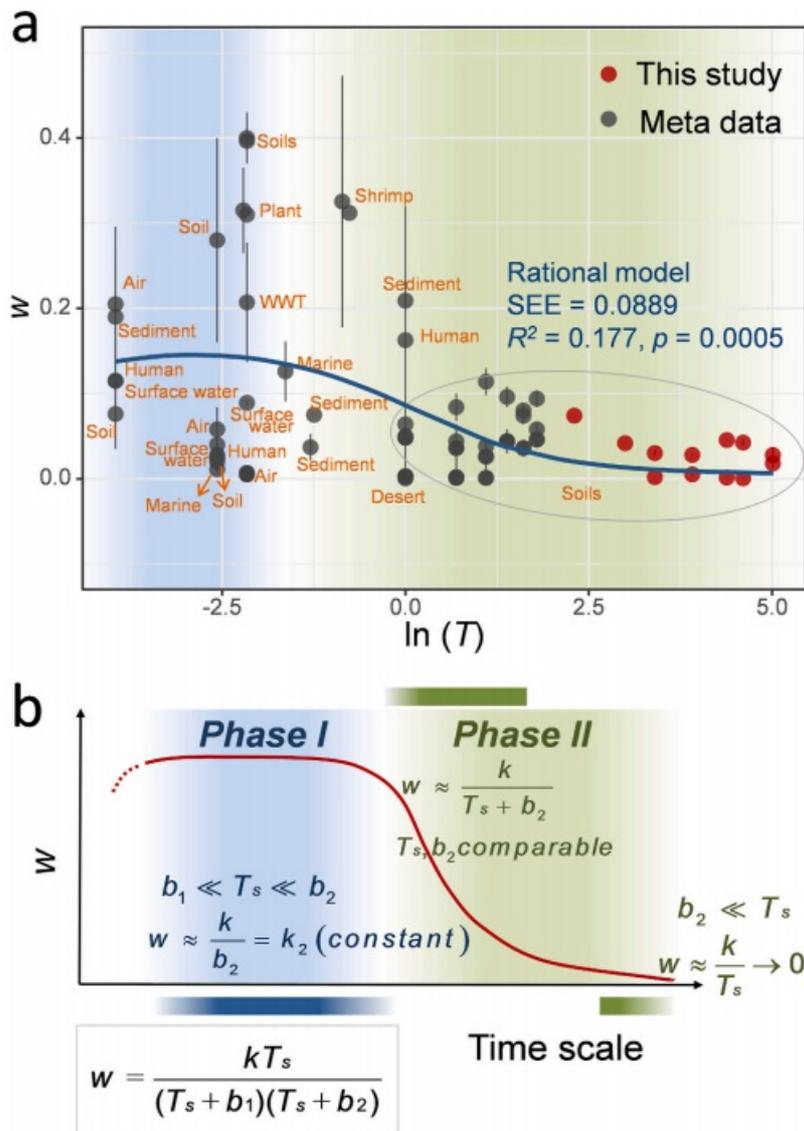


图3 微生物时间周转 ( $w$ ) 随时间尺度的变化。a代表结合本研究结果，基于Meta分析了微生物在不同时间尺度上的时间周转情况；b代表指示潜在的两相模式的微生物时间周转的概念示意图，该趋势可以用在不同时间尺度上具有不同近似公式的rational函数模型来描述。

### 3 长期施肥下的生态随机性

基于零模型的生态随机性量化，我们检验了长期无机肥对随机和确定性过程在驱动群落演替中的相对重要性的假设（图4）。与长期施肥的土壤样地相比（42%的随机比（ $ST$ ） $>0.5$ ），对照土壤样地（73%的 $ST > 0.5$ ）的群落聚集的随机性更大。时间演替由相对确定性（对照和施肥样地3年 $ST$ 约为0.35~0.45）向随机性转变（对照和施肥样地在138年的 $ST$ 分别为0.82和0.68），这一结果表明，随机性过程随着群落演替年限的增加而变得越来越重要。此外，施肥显著减缓了随机过程的增长速度，其中，施肥样地的 $ST$ -时间斜率近乎于对照样地的一半（对照斜率=0.132，施肥斜率=0.070）。

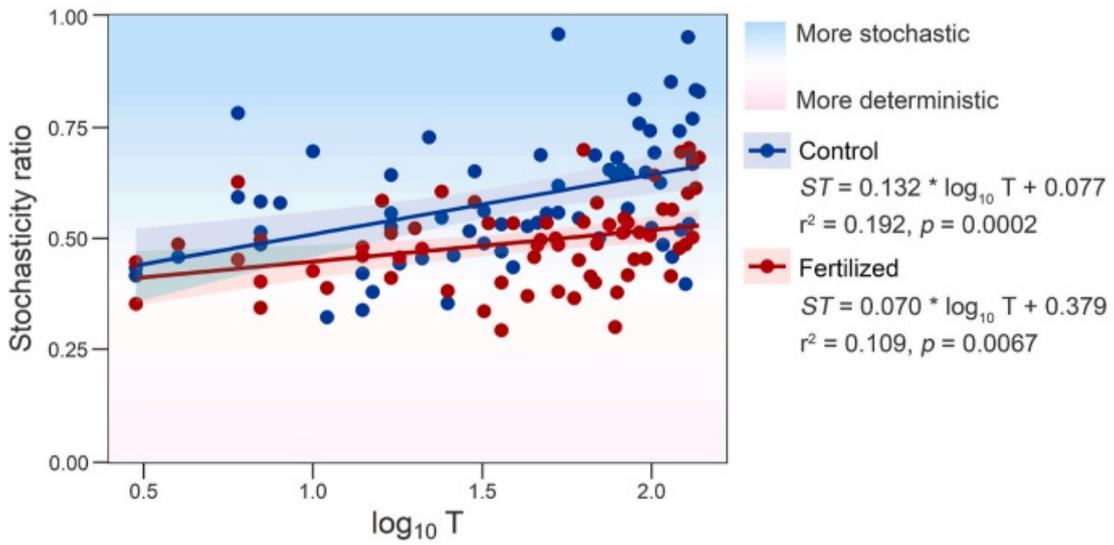


图4 基于零模型分析的施肥对群落构建随机性及其时间变化的影响。

我们进一步比较了施肥对参与C、N循环的不同土壤功能群落的生态随机性的影响。如图5所示，养分改良能够通过提高地上生物量，直接增加土壤氮素的有效性，间接增加土壤活性碳库和顽固性碳库的含量。同时，在生态随机性中，在涉及到C的固定和降解，N的矿化、固定和还原以及反硝化的功能类群的演替方面，百年施肥表现中等甚至较大程度的降低效应（Cohen's  $d = -0.603 \sim -1.459$ ），与此同时，TDR斜率也显著降低（ $p < 0.0001$ ）。硝化类群中仅检测到hao基因，而直接添加硝酸钠作为肥料时仅略微降低了该组植物演替的随机性（Cohen's  $d = -0.398$ ），而对TDR斜率的影响不显著。

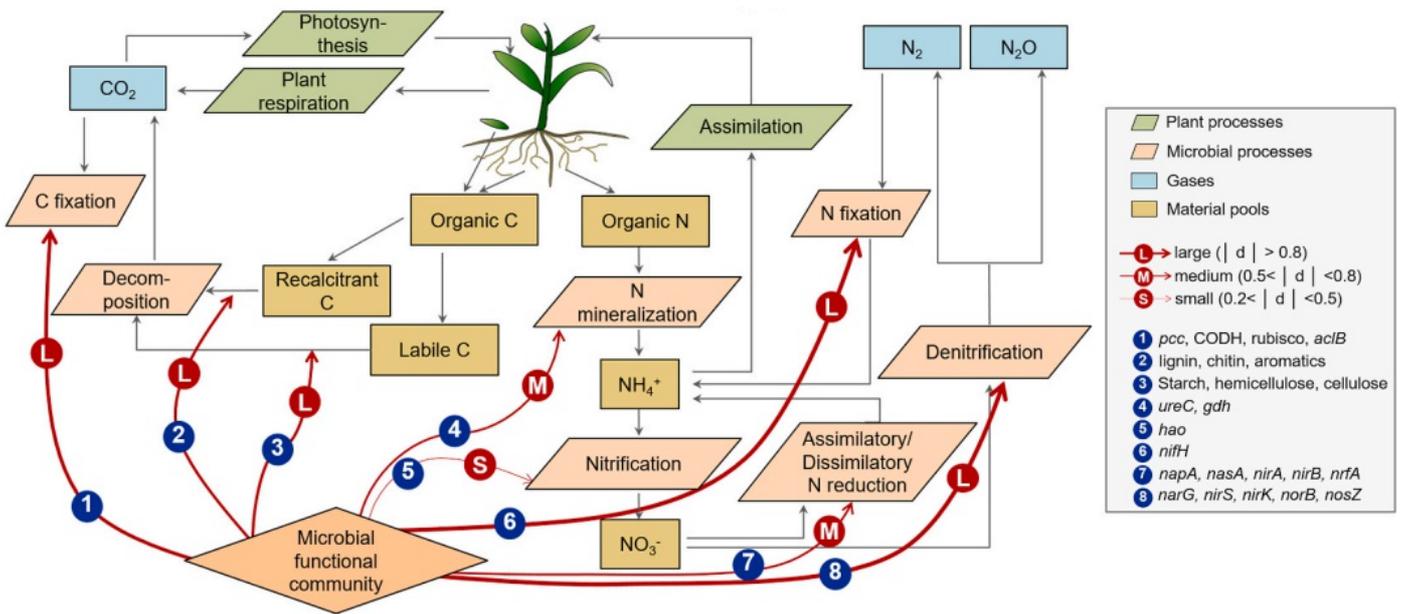


图5 长期施肥对微生物功能群落构建的影响及其对微生物功能和生态变量的潜在影响的概念图。图中红色圆圈中的“L”、“M”和“S”的标签以及红线的宽度与Cohen's d的绝对值成正比，分别代表随机性的下降幅度很大（ $|d| > 0.8$ ）、中等（ $0.5 < |d| < 0.8$ ）或很小（ $0.2 < |d| < 0.5$ ）；黑色箭头表示物质流动。

## 讨论

最近，群落构建机制对于群落结构的塑造引起了人们的极大兴趣。了解调控生态演替的驱动因素对环境扰动的响应十分重要，特别是在长时间尺度上，这一点表现的尤为为重要。已有研究证明了随机性会随着时间的演替而逐渐降低，同时Tripathi等人通过研究表明，演替中群落构建过程的变化不是由于时间本身，而是由于pH值的变化所引起的。本研究中，我们发现，随着时间的推移，微生物功能结构的演替越来越多地受到随机过程的驱动。这一结果与以前观察到的随机演替在资源丰富或较低的压力环境下，在微生物群落分类/系统发生更替中重要性的增加是一致的。这种随机性增加的模式可能是由于中性分散和随机漂移随时间的累积效应或是在长时间尺度的单向选择下累积确定性链接的减少所导致。此外，我们发现施肥降低了跨世纪功能结构更替的随机性。确定性/随机性的平衡从根本上与抽样的空间尺度有关。例如，本研究所分析的土壤样本包含成百上千个独立的微环境，群落可以在这些微环境中确定性地聚集在一起，但在聚集时却表现为随机的。在养分有效性方面，施肥可能有助于使这些微环境的同质化，这可能是我们在实验处理中观察到更明显的确定性的原因。

我们的结果进一步表明，不同微生物功能类群TDRs的变化与随机过程的减少密切相关。无机肥的施用可能通过改变土壤C和N的化学计量特征，对区域物种库和特定物种产生不同程度的选择效应。硝酸盐施肥增加了反硝化菌特定底物的浓度，刺激了植物生长，从而增加了植物输入的特异性碳和有机氮。因此，随机构建的减少对参与C降解和固定、N固定和反硝化的功能类群产生了很大的影响。相应地，由于硝化菌比其他参与氮循环的微生物类群的数量少，且专有化程度高，因此在参与氮循环的基因中，硝化作用基因受确定性因素重要性变化的影响最小。氨氧化菌（和氨氧化古菌）和亚硝酸盐氧化菌相对较少，导致随机或确定性分歧的可能性有限。此外，施肥还可以通过改变植物多样性和生物量间接提高寄主相关微生物群落的选择性。在整个陆地草本生态系统中能够观察到大量的物种随着氮浓度的增加而丢失。植物物种多样性随着长期施肥而显著降低，这可能导致更专化化的栖息地产生。这也恰恰解释了为什么施肥对与植物碳、有机氮转化和根际固氮相关种群会表现出较大或中等程度的影响。

此外，人们已经认识到，许多模式和过程都依赖于时间尺度。长时间尺度下（>100年）的群落构建过程的重要见解目前也已经被提出。不同的过程可能在不同的时间尺度上起主导作用。例如，一些随机过程（如分散），可能能够更好的理解 $\beta$ 多样性或长时期演替是如何随时间而发生变化的。基于meta数据（从几天到几十年）和本研究数据（从几十年到一个世纪），微生物周转率呈现出只在较长时间内具有时间尺度依赖性的趋势，且周转率越来越小。相反，在较短的时间内，周转率可能是非时间尺度依赖的，而更多地受到栖息地、宿主以及不同处理等因素的影响。然而，与空间尺度相比，时间尺度在微生物生态学研究中的考虑要少得多。在未来的研究中，应更多地关注微生物在不同时间尺度上的演替，以解决长期存在的不确定因素，即哪些过程对微生物群落的形成起着重要作用。

此外，土壤样本的储存对微生物群落DNA所产生的影响，不仅包括对DNA数量随时间的降解方面，同样还包括在风干和储存过程中对微生物群落组成的快速和长期变化方面。在这种情况下，风干土壤中残留的DNA势必不能完全代表原始土壤中的DNA。因此，样本的采集时间可能会对测得的微生物群落产生影响。事实上，我们无法评估由于储存所引起的偏差的大小，也无法评估这些偏差如何影响生物多样性的时间变化。选择已储存好的土壤样本进行研究是这里唯一的选择，因此我们主要关注处理和对照之间的相对变化。此外，微生物功能基因可视为微生物的功能性状。对于功能基因数据，我们同样无法与其选择和异常分散是否会造成相似或是不同的差异。因此，在本研究中，我们一般使用“stochastic”和“stochasticity”，而不是某个过程的具体名称。要克服上述原因造成的偏差，还需要进一步的研究。

综上所述，本文研究表明，集约化N施用减缓了土壤功能群落的时间周转，支持了群落构建机制对微生物百年演替的不同影响。土壤功能类群（C、N、P、S）经过长期（百年）施肥后，随机聚集的重要性有所不同。这些发现对于在世纪尺度上预测人为氮添加的生态后果具有重要意义。在肥沃土壤中影响群落聚集的确定性因素可能反映了一个功能冗余度较低的群落，因此可能对外界的干扰具有较高的敏感性。随着氮负荷的增加，陆地微生物群落将更加趋于同质化。N的添加降低了随时间的推移下的群落随机性，这导致了群落可以更快地收敛到随机性较小的群落状态。在预测和保护土壤微生物群落的生态系统服务以及为可持续农业实践提供信息时，应考虑这一影响。此外，我们的研究证明了存档土壤对于利用宏基因组技术进行微生物生态学研究的价值。这使得我们可以利用以存档土壤样本进行一系列研究，包括追踪施肥对草原生态系统的长期（超过一个世纪）的影响。同样，这也能够使我们更好地理解微生物群落在一个多世纪下是如何在人类长期的活动中的进行演替的。但本研究中，我们对生态随机性的估计是基于零模型分析，因此无法避免由于某些确定性过程（例如，环境随机性）、统计不确定性和分子方法固有的高度变异造成的随机性的干扰。因此，在研究时应该使用相对近似值，对相对变化进行比较。

## 猜你喜欢

10000+: [菌群分析](#) [宝宝与猫狗](#) [梅毒狂想曲](#) [提DNA发Nature Cell专刊](#) [肠道指挥大脑](#)

系列教程: [微生物组入门](#) [Biostar](#) [微生物组](#) [宏基因组](#)

专业技能: [学术图表](#) [高分文章](#) [生信宝典](#) [不可或缺的人](#)

一文读懂: [宏基因组](#) [寄生虫益处](#) [进化树](#)

必备技能: [提问](#) [搜索](#) [Endnote](#)

文献阅读 [热心肠](#) [SemanticScholar](#) [Geenmedical](#)

扩增子分析: [图表解读](#) [分析流程](#) [统计绘图](#)

[16S功能预测](#) [PICRUST](#) [FAPROTAX](#) [Bugbase](#) [Tax4Fun](#)

在线工具: [16S预测培养基](#) [生信绘图](#)

科研经验: [云笔记](#) [云协作](#) [公众号](#)

编程模板: [Shell](#) [R](#) [Perl](#)

生物科普: [肠道细菌](#) [人体上的生命](#) [生命大跃进](#) [细胞暗战](#) [人体奥秘](#)

## 写在后面

为鼓励读者交流、快速解决科研困难，我们建立了“宏基因组”专业讨论群，目前已有国内外5000+ 一线科研人员加入。参与讨论，获得专业解答，欢迎分享此文至朋友圈，并扫码加主编好友带你入群，务必备注“姓名-单位-研究方向-职称/年级”。PI请明示身份，另有海内外微生物相关PI群供大佬合作交流。技术问题寻求帮助，首先阅读《[如何优雅的提问](#)》学习解决问题思路，仍未解决群内讨论，问题不私聊，帮助同行。



分享此文至朋友圈  
扫码加创始人好友  
备注“姓名-单位-  
研究方向-职务”  
拉你入同行交流群  
获得专业指导解答

学习16S扩增子、宏基因组科研思路和分析实战，关注“宏基因组”



学习扩增子、宏基因组  
科研思路和分析技术

长按关注“宏基因组”  
专业干货每日推送

欢迎同行分享、投稿

[点击阅读原文](#)