



Universiteit  
Leiden  
The Netherlands

## **Impact of nitrogen fertilization on the soil microbiome and nitrous oxide emissions**

Cassman, N.A.

### **Citation**

Cassman, N. A. (2019, April 17). *Impact of nitrogen fertilization on the soil microbiome and nitrous oxide emissions*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/71732>

Version: Not Applicable (or Unknown)

License: [Leiden University Non-exclusive license](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/71732>

**Note:** To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/71732> holds various files of this Leiden University dissertation.

**Author:** Cassman, N.A.

**Title:** Impact of nitrogen fertilization on the soil microbiome and nitrous oxide emissions

**Issue Date:** 2019-04-17

# Samenvatting

# Samenvatting

Het gebruik van N-meststoffen is de afgelopen eeuw wereldwijd toegenomen. Hoewel deze verhoogde input van N de voedselproductiviteit heeft verhoogd, heeft deze ook bijgedragen aan een afname van de biodiversiteit, de bodemkwaliteit en de milieukwaliteit, waaronder een toename van de uitstoot van broeikasgassen. In landbouwgronden is het microbioom in de bodem grotendeels verantwoordelijk voor deze emissies, met name de micro-organismen die in de bodem leven en N-meststoffen omzetten. Het algemene onderzoeksdoel van mijn studie was om gedetailleerd inzicht te krijgen in de effecten van stikstofkunstmest, waaronder langdurige bemesting, op microbiële gemeenschappen in de bodem. Om dit te doen, paste ik next generation sequencing technieken en bijbehorende bioinformatica-analyses toe op veldexperimenten in Nederland en Brazilië.

In hoofdstuk 2 ontdekte ik dat langdurige bemesting met kalk, ammoniumnitraat (N), superfosfaat (P) en NPK resulteerde in "habitats" met verschillende bodemgesteldheden in Nederlandse hooilanden. In deze verschillende meststofhabitats verschilden de taxonomische samenstelling van de bodembacteriegemeenschap, of de gemeenschapssamenstelling en diversiteit van de controle behandeling door de variërende abundantie van de verschillende taxa; de potentiële functies verschilden echter niet. Dit suggereert dat in elke behandeling de bodembacteriegemeenschap als geheel beïnvloed wordt door de associatie met veranderde taxa abundanties, maar dat de behandeling niet op een breed functioneel niveau invloed had, waarbij het genpotentieel hetzelfde bleef in alle behandelingen. De stikstofbemesting alleen resulteerde in de meest significante veranderingen in de bacteriële bodemgemeenschap, waarin de abundanties van de Actinobacteria phyla hoger waren in vergelijking met de andere behandelingen. Dit is overeenstemmend met de resultaten van andere studies, die de Actinobacteriën identificeren als een copiotroof phylum, of taxa die goed kunnen slagen onder nutriëntenrijke omstandigheden. Dit suggereert dat er verschillen zijn tussen de afbraaksnelheden in elke habitat en dat deze afbraaksnelheid en de samenstelling van de bacteriële gemeenschap beïnvloed worden door de N-bemesting.

In hoofdstuk 3 heb ik het onderzoek van hoofdstuk 2 uitgebreid naar de plant- en bodemschimmelgemeenschappen in lange termijn bemestingsexperimenten. Ik ontdekte dat de planten- en bodem schimmelgemeenschap, maar niet de plant en bodem bacteriegemeenschap en de bodemschimmel- en bodembacteriegemeenschap op vergelijkbare wijze over de percelen varieerden. De plantengemeenschap was minder divers in de NPK in vergelijking met de andere behandelingen, wat mogelijk het gevolg was van het succes van grassen met een hoge voedingsstof-aanpassing in de plantengemeenschappen in dit leefgebied. Bovendien ging de kalkbehandeling gepaard met een hogere diversiteit in alle drie de gemeenschappen, waarschijnlijk als gevolg van de verhoogde beschikbaarheid van voedingsstoffen door de hogere pH. Met betrekking tot de plant- en schimmelgemeenschapsamenstellingen waren deze verschillend in de NPK-plots in vergelijking met de controleplots en onze co-variantieanalyse onderschreef onderlinge afhankelijkheid, waarbij verschillende potentiële co-variabele taxonomische groepen werden geïdentificeerd. Dit suggereerde dat de plant- en bodemschimmelgemeenschappen nauw met elkaar verbonden zijn in deze velden, wat duidt op meer ecologische verbanden tussen deze gemeenschappen in vergelijking met de bacteriële bodemgemeenschap en beide gemeenschappen. Verder bleek de bacteriegemeenschap niet te co-variëren met ofwel de plant noch de

schimmelmicrobiële gemeenschappen, hoewel het bekend is dat de macro-organismen specifieke geassocieerde bacteriële gemeenschappen hebben. Deze resultaten wijzen op interessante vragen in de verschillen in de ecologische gemeenschappen in elk leefgebied als gevolg van onderling verbonden effecten van de meststoffen en beschikbaarheid van voedingsstoffen op de microbiële gemeenschappen van planten en de bodem.

In hoofdstuk 4 en 5 heb ik de korte termijn effecten van stikstofkunststoffen op de microbiële bodemgemeenschap en N<sub>2</sub>O-emissies onderzocht. Ureum en ureum met nitrificatie-inhibitorbehandelingen werden gedurende 256 dagen beoordeeld op het effect op de bacteriële gemeenschappen op basis van 16S rDNA-sequencing (Hoofdstuk 4) en op de ammoniak-oxiderende subset van de bacteriële gemeenschap op basis van *amoA*-sequencing (Hoofdstuk 5). De algemene bacteriële samenstelling van de gemeenschap werd niet beïnvloed door de behandeling, tenminste niet op taxonomische resolutie op basis van DNA op phylum-niveau. Bovendien werd de diversiteit van de bacteriële gemeenschap niet beïnvloed door de behandeling. Bovendien concludeerden we dat de nitrificatie-inhibitoren met succes de N<sub>2</sub>O-emissies remden. Specifiek kijkend naar de *amoA*-bevattende bacteriële (AOB) OTU's, verschilden de abundanties van verschillende ammoniak-oxiderende bacteriesoorten inderdaad tussen de behandelingen. Verder identificeerden we een Nitrosospora-achtige AOB als de waarschijnlijke N<sub>2</sub>O-emitter in de plots met ureumbemesting, en toonden ook aan dat de abundanties van deze bacterie afnamen in de behandelingen met de nitrificatie-inhibitoren DMPP en DCD. Deze hoofdstukken gaven aan dat korte termijn stikstofbemesting met ureum de samenstelling van de bodembacterie met een hoge taxonomische resolutie niet beïnvloedde, maar wel leidde tot verschillen op OTU-niveau. Verder had de ammoniak-oxiderende bacteriële bodemgemeenschap een lage diversiteit in deze bodems, wat mogelijk te wijten is aan de lage niveaus van ammoniak die normaal aanwezig zijn. Interessant genoeg identificeerden we cohorten van ammoniak- en nitriet-oxiderende OTU's die geassocieerd waren met verschillende bodemfactoren, wat een beeld geeft van de nitrificerende bacteriële gemeenschap in deze bodems.

In hoofdstuk 6 heb ik voor het eerst de bacteriële assemblage van suikerriet vinasse beschreven, die veel wordt gebruikt als kaliummeststof in combinatie met stikstofmeststoffen tijdens het beheer van suikerriet. Ik richtte mijn aandacht op zorgen over de uitstoot van broeikasgassen tijdens de fertirrigatiepraktijk en evalueerde de mogelijke aanwezigheid van genen van de belangrijkste N<sub>2</sub>O-producerende microbiële routes van 21 metagenoom-geassembleerde vinasse-bacteriegenen (MAG's). De belangrijkste geslachten die ik heb geïdentificeerd uit de vinasse MAGs waren *Lactobacillus*, *Megasphaera* en *Mitsuokella* en deze hadden voornamelijk denitrificatie-genpotentiaal. Interessant is dat de aanwezigheid van denitrificatie-genen varieerde, wat suggereert dat de verschillende vinasses die als kunstmest worden gebruikt een bron van bacteriën met verschillende N<sub>2</sub>O-producerende genpotentiëlen kunnen zijn, die mogelijk de feitelijke emissies van N<sub>2</sub>O beïnvloeden. Verder werd de potentiële aanwezigheid van antibioticaresistentiegenen gevonden in bijna alle MAG's; dit versterkte het idee dat de bacteriële component van vinasse hoofdzakelijk de bacteriële verontreinigingen van de productiecycclus van bio-ethanol is, die vaak een antibacteriële sterilisatiestap omvat. Verder verhoogt dit resultaat de zichtbaarheid van het potentieel voor horizontale genoverdracht in de suikerriet bodem en de daaruit voortvloeiende risico's voor de volksgezondheid en de gewasproductiviteit. Dit werk benadrukte ook de noodzaak om maatregelen van de variërende biotische component van vinasse op te nemen in het onderzoek naar broeikasgassen uit dit systeem.

Concluderend werden metagenomische en bioinformatische analyses toegepast op gegevens uit veldexperimenten die de effecten van stikstofdepositie op de bodemmicrobiota en gerelateerde bodemfysisch-chemische factoren onderzoeken. Dit proefschrift belicht de complexe en onderling verbonden veranderingen in de microbiële bodemgemeenschap na stikstofbemesting. Twee afzonderlijke studies in Nederland en Brazilië toonden het effect aan van langdurige stikstofdepositie op de bacteriële bodemgemeenschap op hogere taxonomische niveaus, evenals het effect van kortdurende bemesting op bodemmicroben op OTU-niveau. Dit onderzoek ondersteunt het idee dat stikstofbemesting op het veld niet alleen de productie van gewassen beïnvloedt, maar ook de samenstelling van de microbiële gemeenschap in de bodem en de ecologie van de gemeenschappen in deze gebieden, wat op lange termijn gevolgen kan hebben voor de gewasproductiviteit. Tenslotte onthulde genome-binning van bacteriële DNA-sequenties geëxtraheerd uit suikerrietvinasse 21 potentiële bacteriële verontreinigingen van het productieproces van bioethanol. Aangezien vinasse veel wordt gebruikt als meststof, vooral in combinatie met stikstofhoudende meststoffen, voor suikerrietecultuur in Brazilië heeft dit onderzoek de weg geëffend voor toekomstige studies die het genetische potentieel van vinasse-bacteriën, vinasse en stikstofbemesting en veldemissies van N<sub>2</sub>O met elkaar verbinden.