

DOI: 10.5846/stxb202001170141

张静, 杨鹏, 余伟, 张亚洁, 封俊, 闫芳芳, 张宗锦, 辜运富. 攀枝花不同海拔高度烤烟农田红壤中氨氧化细菌与氨氧化古菌的群落结构分析. 生态学报, 2021, 41(8): 3092-3099.

Zhang J, Yang P, Yu W, Zhang Y J, Feng J, Yan F F, Zhang Z J, Gu Y F. Community structure analysis of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea in red soil of flue-cured tobacco farmland at different altitudes in Panzhihua city, China. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(8): 3092-3099.

## 攀枝花不同海拔高度烤烟农田红壤中氨氧化细菌与氨氧化古菌的群落结构分析

张 静<sup>1</sup>, 杨 鹏<sup>2</sup>, 余 伟<sup>2</sup>, 张亚洁<sup>1</sup>, 封 俊<sup>2</sup>, 闫芳芳<sup>2</sup>, 张宗锦<sup>2</sup>, 辜运富<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> 四川农业大学资源学院, 成都 611130

<sup>2</sup> 四川省烟草公司攀枝花市公司, 攀枝花 617099

**摘要:** 为探究攀枝花干热河谷区农田土壤氨氧化古菌 (Ammonia oxidizing archaea, AOA) 与氨氧化细菌 (Ammonia oxidizing bacteria, AOB) 群落对海拔高度的响应特征, 深入认识该区域的氮素循环过程。以攀枝花米易县不同海拔 (1600 m、1800 m 和 2000 m) 农田红壤为研究对象, 运用化学分析和末端限制性片段长度多态性 (Terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP) 分别测定土壤理化性质、AOA 和 AOB 群落组成及多样性, 研究不同海拔农田土壤中 AOA 和 AOB 群落变异及其驱动因子。研究结果显示, 不同海拔农田土壤 pH 均小于 7, 土壤有机碳 (SOC)、全氮 (TN)、速效钾 (AK) 和铵态氮 ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) 含量随海拔升高而降低, 碱解氮 (AN)、有效磷 (AP) 和硝态氮 ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) 含量随海拔升高先增加后降低; 随海拔升高, AOA 群落多样性指数增加, 而 AOB 群落多样性指数先增加后降低; AOA 以亚硝基球菌属 (*Nitrososphaera*) 为优势菌群, AOB 以亚硝化螺菌属 (*Nitrosospira*) 为优势菌群; 土壤有机碳 (SOC)、速效钾 (AK) 和硝态氮 ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) 是影响该区域农田土壤 AOA 和 AOB 群落发育的主要因子。总体而言, 攀枝花干热河谷区不同海拔农田土壤 AOA 和 AOB 群落结构变化明显, 土壤硝态氮、速效钾和有机碳是影响 AOA 和 AOB 群落结构变异的主要因子; 研究结果可为揭示干热河谷区农田红壤氮循环相关微生物的海拔分布格局提供理论依据。

**关键词:** 干热河谷; 海拔高度; 氨氧化细菌; 氨氧化古菌; 群落结构

## Community structure analysis of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea in red soil of flue-cured tobacco farmland at different altitudes in Panzhihua city, China

ZHANG Jing<sup>1</sup>, YANG Peng<sup>2</sup>, YU Wei<sup>2</sup>, ZHANG Yajie<sup>1</sup>, FENG Jun<sup>2</sup>, YAN Fangfang<sup>2</sup>, ZHANG Zongjin<sup>2</sup>, GU Yunfu<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

<sup>2</sup> Panzhihua City Company, Sichuan Tobacco Company, Panzhihua 617099, China

**Abstract:** This paper aims to explore the response of ammonia oxidizing bacteria (AOB) and ammonia oxidizing archaea (AOA) communities to elevation changes in the dry-hot valleys of Panzhihua City, China, and further reveal the nitrogen biogeochemical cycling of this area. Soil samples were collected from the tobacco cultivation field of different altitudes (e.g. 1600 m, 1800 m, and 2000 m) in the dry-hot valleys of Miye county, Panzhihua City, China. Chemical analysis and terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) were used to analyze the soil physicochemical properties and

**基金项目:** 四川省烟草公司攀枝花市公司项目 (202051040024038); 四川省烟草公司攀枝花市公司项目 (PZH2019003); 国家自然科学基金项目 (41201256)

收稿日期: 2020-01-17; 网络出版日期: 2021-02-24

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: guyf@sicau.edu.cn

community structures and diversity of AOB and AOA, respectively. The variation of AOA and AOB communities and the driving factors in farmland soils at different altitudes were also investigated. The results showed that the pH value of soils from the three different elevations were below seven which suggests that the soils being studied were acidic soils. The contents of soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), available potassium (AK) and ammonium nitrogen ( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ) decreased along the increase of elevation. The contents of alkali-hydrolyzable nitrogen (AN), available phosphorus (AP), and nitrate nitrogen ( $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ) first increased and then decreased along the increase of elevation. The highest contents of the AN, AP, and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  were detected in the 1800 m elevation while the lowest were detected in the 2000 m. The diversity index of AOA community increased along the increase of altitude while the diversity index of AOB peaked in 1800m, and both the lowest diversity index of AOA and AOB were detected in 1600 m elevation. *Nitrososphaera* and *Nitrosospira* were the dominant species of AOA and AOB in the dry-hot valleys of Panzhihua City. Redundancy analysis (RDA) showed that the SOC, AK, and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  were key factors in shaping the AOA and AOB communities. In total, both of the composition and diversity of soil AOA and AOB community varied significantly along the increase of altitude in the dry-hot valleys in Panzhihua City, and closely related with SOC, AK, and  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ . The results provide a theoretical basis for revealing the altitude distribution pattern of nitrogen cycling related microorganisms in red soil in dry-hot valley.

**Key Words:** dry-hot valleys; elevation; ammonia-oxidizing bacteria; ammonia-oxidizing archaea; community structure

氮素循环是自然生态系统重要的物质循环过程,由微生物代谢驱动的多种生物化学反应所组成<sup>[1]</sup>。土壤氮循环与植物生产力密切相关。土壤生态系统中,硝化过程是土壤氮循环的重要环节,其中,微生物驱动的氨氧化过程是硝化作用的第一步和限速步骤,对植物生长所需的氮元素起着关键作用<sup>[2]</sup>。氨氧化过程中发挥关键作用的是编码氨单加氧酶的 *amoA* 基因,可将  $\text{NH}_3$  氧化成  $\text{NH}_2\text{OH}$ ,供植物吸收利用<sup>[3]</sup>。土壤氨氧化的主要功能菌群为氨氧化细菌(Ammonia-oxidizing bacteria, AOB)和氨氧化古菌(Ammonia-oxidizing archaea, AOA)<sup>[4-5]</sup>。AOA 和 AOB 在海洋<sup>[6]</sup>、土壤<sup>[7]</sup>和淡水<sup>[8]</sup>等生态环境中的广泛分布,更表明了其在硝化过程中的主导地位<sup>[9]</sup>。因此探究生态系统中 AOA 与 AOB 群落结构的差异及其与环境因子的关系对深入认识生态系统氮素生物地球化学循环特征及其微生物学机制具有重要意义。

近年来,土壤氨氧化微生物群落的地理分布及驱动因素的研究受到广泛关注。路璐等(2018 年)研究表明,在土壤理化性质和硝化潜势显著差异的不同林分土壤中,氨氧化微生物群落结构存在明显的分异特征,土壤总氮和有机质为主导驱动因子<sup>[9]</sup>。王晓胡等研究发现,贡嘎山不同海拔梯度气候和土壤性质的综合作用可能是引起 AOA 和 AOB 数量及丰度变化的因子,且 AOA 和 AOB 数量具有极强的空间异质性<sup>[10]</sup>。AOA 与 AOB 是影响土壤氮循环的重要因素,其群落结构受到不同养分因子的影响,关于不同生态环境中 AOA 与 AOB 分布规律的研究已有较多报道,但由于研究区域的不同,得出的结论也有所差异。目前针对干热河谷区海拔对农田土壤 AOA 与 AOB 群落结构影响的研究还相对较少<sup>[9-11]</sup>。

攀枝花地处于干热河谷山地地形区,区域内的气候、植被和土壤理化性质沿海拔呈现出规律的变化。同时,该地常年为烤烟种植区,因化肥施用不当导致土壤退化、板结,土壤环境恶化,烟叶品质下降。研究表明,氮素中的硝态氮与铵态氮含量对烟草的生长、产量及品质具有非常重要的作用,由 AOA 与 AOB 驱动的硝化作用在氮素循环过程中起着关键作用<sup>[12]</sup>。因此,攀枝花不同海拔高度烤烟农田红壤区为开展 AOA、AOB 与环境相互作用的研究提供了理想场地<sup>[10]</sup>。随海拔升高、温度降低等环境条件可能对 AOA 与 AOB 生存适应性和群落结构产生一定的影响<sup>[13]</sup>。因此本文以攀枝花米易县干热河谷地区农田红壤为研究对象,运用化学分析和末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)分析该区域不同海拔高度农田红壤 AOA 和 AOB 群落结构的差异及其养分驱动因子,为深入研究该区域不同海拔高度红壤氮素循环过程和土壤培肥管理等提供依据。

## 1 研究区域与样地概况

攀枝花米易县地处四川省西南部,青藏高原东南边缘,安宁河谷下游,北纬  $26^{\circ}42'$ — $27^{\circ}10'$ ,东经

101°41'—102°15', 为亚热带干热河谷气候, 雨热同期, 光照时数 2217.3—2413.5 h, 热量、光照充足, 年降雨量 1100 mm, 降水丰沛<sup>[14]</sup>。主要土壤类型为酸性红壤<sup>[15]</sup>。

于 2019 年 4 月在米易县坪山乡 3 个海拔高度: 1600 m, 1800 m, 和 2000 m 的红壤农田耕作区进行土样采集, 种植制度为雨季(4—9 月)种植烤烟, 旱季空闲(10 月至第二年 3 月), 烤烟品种为云烟 87。在每个海拔高度分别设置 6 个采样区, 采样区大小约为 50 m×50 m, 且之间至少间隔 100m。在每个采样区按“五点采样法”原则进行表层土壤(0—20 cm)的采集, 采样时先去除根和砂砾等杂质、充分混匀, 然后装入无菌采样带并放置于冰盒中带回实验室。将土样分成 2 份, 一份自然风干后磨碎过 20 目筛后用于土壤理化性质分析, 另一份新鲜样品立即进行土壤总 DNA 的提取。

## 2 材料和方法

### 2.1 土壤理化性质测定

按照《土壤农化分析》方法测定土壤理化性质, 用电位法测定土壤 pH(水土比为 2.5:1), 土壤有机碳(SOC)含量采用重铬酸钾氧化-容量法测定; 土壤全氮(TN)含量采用重铬酸钾-硫酸消化法测定; 土壤铵态氮( $\text{NH}_4^+\text{-N}$ )和硝态氮( $\text{NO}_3^+\text{-N}$ )采用 2 mol/L KCL, 取滤液分别用靛蓝比色法和紫外分光光度计法测定; 速效钾(AK)采用 1mol/L 醋酸铵浸提-火焰光度计法测定; 有效磷(AP)采用硫酸高氯酸消煮-钼锑抗比色法测定; 速效氮(AN)采用碱解扩散法测定<sup>[16]</sup>。

### 2.2 土壤总 DNA 的提取

利用 Fast DNA<sup>®</sup> SPIN Kit for Soil 试剂盒, 按照试剂盒说明书给定操作步骤进行土壤总 DNA 的提取, 经琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 浓度后, 置于 -20 °C 冰箱中保存备用。

### 2.3 末端限制性片段多态性分析(T-RFLP)

采用 ABI PCR 9700 扩增仪进行扩增。每对正向引物 5'末端带有 6-FAM 荧光标记。AOA 和 AOB 引物分别为 Arch-amoAF/Arch-amoAR (5'-ATGGTCTGGCTAAGACGMTGTA/ GCGGCCATC- CATCTGTATGT- 3') 和 amoA-1F/amoA-1R(5'-STAATGGTCTGGCTTAGACG/ GCGGCCATCCATC-TGTATGT-3')<sup>[10]</sup>。AOA 功能基因扩增反应体系(25  $\mu\text{L}$ )如下: 2×PCR Master Mix(ABI, USA) 12.5  $\mu\text{L}$ , 引物各 0.5  $\mu\text{L}$ , DNA 模板 3  $\mu\text{L}$ , 无菌双蒸水补足至 25  $\mu\text{L}$ 。AOB 功能基因扩增体系(25  $\mu\text{L}$ )如下: 2×PCR Master Mix(ABI, USA) 12.5  $\mu\text{L}$ , 引物各 0.5  $\mu\text{L}$ , DNA 模板 3  $\mu\text{L}$ , 无菌双蒸水补足至 25  $\mu\text{L}$ 。PCR 扩增反应程序如下: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 1 min, 53 °C 退火 1 min, 72 °C 延伸 1 min, 共 34 个循环; 72 °C 最终延伸 10 min。

扩增后的 PCR 产物用限制性内切酶(*HhaI*)进行酶切, 酶切体系: PCR 产物 10  $\mu\text{L}$ , 无菌双蒸水 18  $\mu\text{L}$ , 10 × Buffer Tango 2  $\mu\text{L}$ , *HhaI* 2  $\mu\text{L}$ 。37 °C 酶切 16h, 之后在 80 °C 失活 30min。将酶切产物送至生工生物有限公司进行毛细管电泳测定。

### 2.4 数据处理

通过 SPSS25.0 软件的单因素方差分析(ANOVA)检测不同海拔高度土壤理化性质的差异( $P < 0.05$ )。运用 Excel 2010 计算对 AOA 和 AOB 的多样性指数及群落结构<sup>[17]</sup>。使用 CANOCO5.0 软件对 AOA 与 AOB 进行非度量多维尺度分析(Non-metric Multidimensional Scaling, NMDS)及冗余分析(redundancy analysis, RDA)。

## 3 结果与分析

### 3.1 海拔高度对土壤理化性质的影响

由表 1 可知, 随海拔高度的增加, 土壤理化性质总体上呈现降低的趋势。三个海拔高度的土壤均呈弱酸性(pH5.5—6.5), 与海拔 1600 m 的土壤相比, pH 随海拔高度增加而增加, 但均未达到显著差异。土壤有机碳、全氮和速效钾含量随海拔升高而降低, 且在 1600 m 与 2000 m 的土壤达到显著差异( $P < 0.05$ )。碱解氮和有效磷含量随海拔的升高呈先增加后降低的趋势, 但均未达到显著差异。铵态氮含量在低海拔(1600 m)的

土壤含量最高,但各海拔高度之间无显著差异( $P>0.05$ ),而硝态氮含量在中海拔(1800 m)的土壤含量最高,且与其他两个海拔高度差异显著( $P<0.05$ )。海拔高度的变化在一定程度上改变了土壤环境,尤其是对土壤有机碳、全氮、速效钾及硝态氮影响较大。总体而言,中海拔的土壤具有较高的肥力水平。

表 1 攀枝花干热河谷不同海拔高度农田土壤的理化性质

Table 1 Physicochemical properties of soil samples collected from different altitudes in Panzhihua dry-hot valleys

海拔 Elevation/m	pH	有机碳 SOC/ (g/kg)	全氮 TN/ (g/kg)	碱解氮 AN/ (mg/kg)	有效磷 AP/ (mg/kg)	速效钾 AK/ (mg/kg)	硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/ (mg/kg)	铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/ (mg/kg)
1600	5.54±0.04a	34.15±2.13a	1.21±0.10a	59.27±5.71a	32.92±6.93a	141.91±14.56a	15.23±2.85b	23.90±2.39a
1800	6.06±0.38a	29.02±3.87ab	1.12±0.16a	62.77±7.42a	39.74±8.45a	99.50±20.47ab	28.60±2.01a	23.47±1.71a
2000	5.79±0.23a	23.57±2.43b	0.91±0.09b	49.47±5.89a	28.68±7.44a	68.25±6.99b	11.86±1.83b	22.82±4.188a

表中数据为均值±标准差;不同小写字母表示同一指标在不同处理间的差异显著( $P<0.05$ )

### 3.2 海拔高度变化对土壤氨氧化古菌和氨氧化细菌群落结构的影响

#### 3.2.1 不同海拔高度土壤氨氧化古菌和氨氧化细菌群落结构的变化

不同海拔高度 AOA、AOB 群落 NMDS 分析结果如图 1 所示, AOA 与 AOB 群落结构随海拔高度变化表现出不同的变化规律, AOA 的群落结构较 AOB 分异明显。 AOA 群落各海拔内聚集相对集中, 在三个海拔的群落结构相对独立, 表明不同海拔高度下 AOA 群落结构分异明显。而在不同海拔高度下 AOB 分异变化更大, 1600 m 和 1800 m 的 AOB 群落集中且部分重叠, 在 2000 m 时, AOB 群落与 1600 m 和 1800 m 间隔较大。总体而言, 不同海拔高度下 AOA 群落结构较 AOB 群落结构分异更明显。

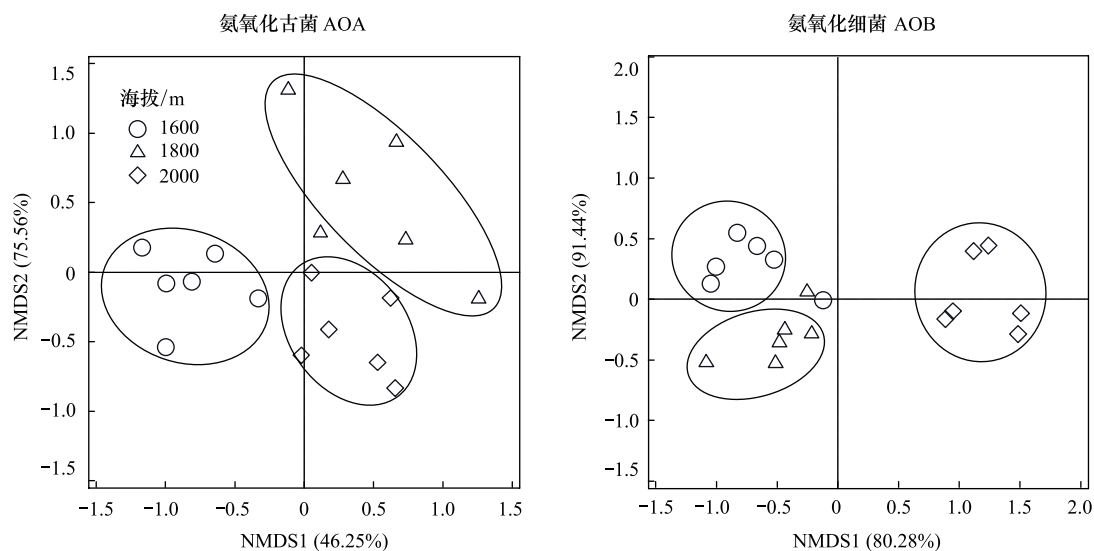


图 1 同海拔高度下 AOA 和 AOB 群落结构差异图

Fig.1 Community structure variation of AOA and AOB at different elevations

#### 3.2.2 海拔高度变化对氨氧化古菌和氨氧化细菌群落多样性的影响

由表 2 可知,海拔高度变化影响土壤 AOA 和 AOB 群落的多样性。就 AOA 而言,多样性指数随海拔高度的增加而增加,在高海拔(2000 m)的土壤中达到最大值。与低海拔(1600 m)的土壤相比,Shannon 多样性指数在 2000 m 时达到显著差异( $P<0.05$ ),丰富度在 1800 m 时达到显著差异( $P<0.05$ ),均匀度随海拔的增加无显著变化。而海拔高度变化对 AOB 多样性指数的影响有所不同, AOB 的 Shannon 多样性指数和均匀度随海拔的增加呈先增加后降低的趋势,在中海拔(1800 m)土壤中最高,显著高于低海拔土壤( $P<0.05$ ),而丰富度随海拔的增加呈先降低后增加的趋势,在中海拔(1800 m)土壤中最低,显著低于其他两个海拔的土壤



( $P<0.05$ )。此外,三个海拔高度的土壤中,AOA 的多样性指数均高于 AOB。

表 2 不同海拔高度下红壤中 AOA 和 AOB 多样性指数  
Table 2 Diversity indices of AOA and AOB genes in red soil at different altitudes

海拔 Elevation/m	氨氧化古菌 AOA			氨氧化细菌 AOB		
	香农-威纳指数( $H$ ) Shannon-wiener index	丰富度( $d$ ) Richness	均匀度( $E$ ) Evenness	香农-威纳指数( $H$ ) Shannon-wiener index	丰富度( $d$ ) Richness s	均匀度( $E$ ) Evenness
1600	2.26±0.10b	15.13±0.46b	1.16±0.05a	1.09±0.10b	4.06±1.11a	0.85±0.02b
1800	2.26±0.21b	16.10±0.78a	1.15±0.11a	1.49±0.23a	3.65±0.22b	1.16±0.16a
2000	2.49±0.08a	16.27±0.82a	1.26±0.03a	1.39±0.21a	4.02±0.79a	1.05±0.08a

表中数据为均值±标准差;不同小写字母表示同一指标在不同处理间的差异显著( $P<0.05$ )

3.2.3 氨氧化古菌和氨氧化细菌群落组成对海拔高度变化的响应

对不同海拔高度的土壤 AOA 和 AOB 群落结构进行 T-RFLP 分析(如图 2),结果表明,在三个海拔高度的土壤中,AOA 的 T-RFs 多于 AOB。其中,260bp、270bp 的 T-RFs 是 AOA 中的优势片段,相对丰度分别为 2%—11%、5%—12%。270bp 的 T-RFs 随海拔增加呈现先增加后减少的趋势。260 bp 的 T-RFs 随海拔地增加呈先减少后增加的趋势。通过从 NCBI 网站中数据库的比对发现,270 bp 的 T-RFs 属于亚硝基球菌属(*Nitrososphaera*),而其余大部分 T-RFs 片段未能找到明确的类别。AOB 酶切后得到 6 个 T-RFs 片段,60 bp 的 T-RFs 是三个海拔梯度的优势片段,相对丰度分别为 45.60%、45.51%、43.84%。65bp 的 T-RFs 在 3 个海拔中的相对丰度为 19.52%、17.45%、25.77%。其中,60 bp、65bp 和 80 bp 的 T-RFs 分别为亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)、亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)和硝化弧菌属(*Nitrosovibrio*)。

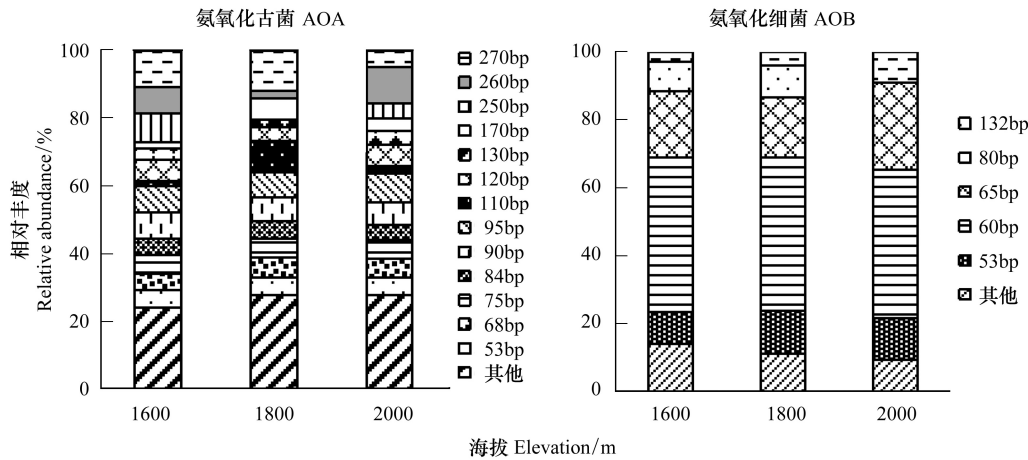


图 2 不同海拔高度下 AOA 和 AOB 基因末端限制性片段(T-RF)的相对丰度对比  
Fig.2 Comparison of relative abundance of AOA and AOB terminal restriction fragment (T-RF) under different treatments

3.3 不同海拔高度红壤氨氧化古菌和氨氧化细菌群落结构相对丰度与土壤理化性质之间的关系

对 AOA 和 AOB 群落结构相对丰度与土壤理化性质之间的 RDA 结果如图 3 所示,图中箭头表示养分因子,箭头所处的象限表示养分因子与排序轴间的正负相关性,箭头连线长度表示该养分因子与样本分布相关程度的大小,箭头连线间的夹角代表养分因子间的相关程度<sup>[18]</sup>。第一轴与第二轴分别解释了 16.44% 和 14.70% AOA 的群落结构相对丰度变化,61.94% 和 6.95% AOB 群落结构相对丰度变化。不管是 AOA 还是 AOB,均与土壤速效钾、有机碳和硝态氮显著相关(图 3),显示土壤硝态氮、速效钾和有机碳是影响攀枝花干热河谷农田红壤 AOA 和 AOB 群落结构变异的主要养分因子。

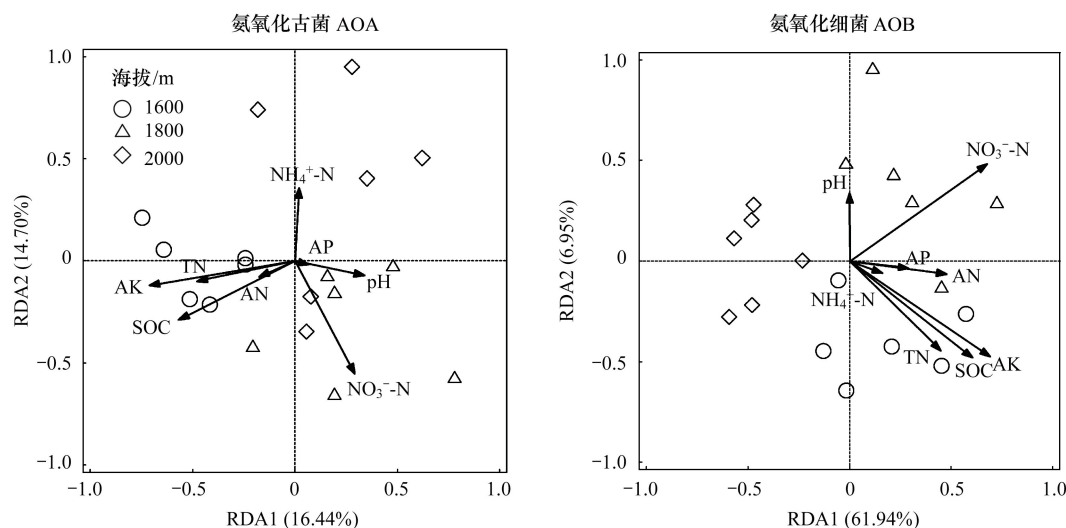


图3 不同海拔高度红壤中氨氧化微生物 AOA 和 AOB 与养分因子变化的 RDA 排序

Fig.3 RDA sequencing of AOA and AOB and nutrient factors in red soil at different altitudes

SOC 为有机碳, TN 为全氮, AN 为碱解氮, AP 为有效磷, AK 为速效钾,  $\text{NO}_3^-$ -N 为硝态氮,  $\text{NH}_4^+$ -N 铵态氮

#### 4 讨论

不同海拔高度下气候等因素的影响通过改变土壤理化性质直接影响 AOA、AOB 的群落结构组成及丰度。研究表明,土壤有机质、pH、有效氮、有效磷及有效钾等理化指标均与海拔呈显著的相关性<sup>[11]</sup>。李相楹等在研究不同海拔高度下梵净山土壤碳、氮、磷分布特征时表示,土层中有机质与海拔高度显著相关,有机质含量随海拔高度增加呈先增加后降低趋势,这主要是因为伴随海拔高度增加,土壤温度和水分降低,且植被丰富度和地上生物量也降低所致<sup>[19]</sup>。但王琳等研究显示,随海拔高度增加水分适宜但温度较低,土壤微生物活动受到抑制,利于有机质的积累<sup>[20]</sup>。此外,土壤有机质含量还受其他因子的影响。本文中,随海拔高度增加,土壤有机碳逐渐降低,这在很大程度上也是由于海拔升高改变了土壤温度和水分含量,而导致土壤有机质含量降低。土壤有机质的变化直接会影响土壤多种营养元素的含量,有机质分解释放氮、植物生长消耗氮,因此,随海拔高度的上升土壤全氮含量也是呈现逐渐降低的趋势<sup>[21]</sup>。但是斯贵才对藏东南森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性随海拔梯度变化时表示土壤中硝态氮随海拔高度增加无显著变化<sup>[22]</sup>。而本文中,硝态氮含量随海拔高度增加呈先增加后减少趋势,在中海拔(1800 m)与高海拔(2000 m)和低海拔(1600 m)差异显著。这可能是因为中海拔高度降雨较少,硝态氮不易随水分流失,从而导致中海拔高度土壤中硝态氮含量较其他海拔差异显著。综上所述,海拔高度变化对土壤理化性质影响较大。

Zhang 等研究发现,土壤中 AOA、AOB 群落组成及相对丰度伴随海拔升高呈现不同的变化规律。在较低海拔土壤中, AOA 群落组成及相对丰度明显高于 AOB;而在高海拔土壤中, AOB 群落组成及相对丰度明显高于 AOA<sup>[23]</sup>。但王晓胡对贡嘎山不同海拔梯度土壤氨氧化微生物数量空间分异特征中表示, AOA、AOB 丰度在低海拔土壤中无显著差异,但在高海拔土壤中 AOA 数量明显高于 AOB<sup>[10]</sup>。本文中,在三个海拔高度中, AOA 群落组成及相对丰度均高于 AOB。Leininger 及贺纪正等研究发现在大多数酸性土壤中, AOA 的群落组成及丰度高于 AOB<sup>[24-25]</sup>。本文中土壤 pH 呈现弱酸性,因 AOA 对酸性环境下相比 AOB 具明显的竞争优势,从而使得 AOA 丰度较 AOB 更高。此外, AOA 多样性指数随海拔升高而增加,而 AOB 多样性随海拔高度增加呈先增加后减少趋势。在 Di 等研究中发现 AOA 和 AOB 生长的土壤氮素含量不同, AOA 倾向于低氮环境而 AOB 对高氮环境更适应<sup>[26]</sup>。本文土壤全氮含量随海拔升高而降低,一定程度上对 AOA 所需的低氮环境更接近;而硝态氮在中海拔(1800 m)与高海拔(2000 m)和低海拔(1600 m)差异显著,且随海拔升高呈先增加后降

低趋势,因此在中海拔(1800 m)时更接近 AOB 所需的高氮环境。总体而言,AOA 群落组成及相对丰度较 AOB 丰富,随海拔高度增加,AOA、AOB 多样性呈现不同的变化规律。

研究表明,土壤理化性质与 AOA、AOB 群落结构及相对丰度有一定的相关性,并且能够影响土壤 AOA、AOB 的数量<sup>[27]</sup>。土壤中增施氮肥可以提高 AOA 和 AOB 的丰富度及多样性<sup>[28]</sup>。杨亚东在研究施氮肥对华北平原土壤氨氧化细菌和古菌数量及群落结构的影响时发现,增施铵态氮显著改变了 AOA 和 AOB 的群落结构且对 AOA 数量的影响更为显著<sup>[29]</sup>。而 Di 等研究认为 AOA 的数量不会随着铵态氮肥的施加而变化,但 AOB 数量与硝态氮含量呈显著正相关<sup>[26]</sup>。本文中通过冗余分析(RDA)发现,不论是 AOA 还是 AOB 的群落结构和相对丰度都与土壤中硝态氮含量显著相关。与杨亚东的研究结果一致。Subrahmanyam 等研究发现 AOA 对氨氮的亲合力较 AOB 高,显示出 AOA 在氨氧化过程中具有更高竞争能力<sup>[30]</sup>。本文中,随海拔高度增加土壤中全氮含量总体呈现降低趋势,AOB 生长所需养分含量减少,从而 AOB 的群落结构相对丰度降低,这与 AOB 对高氮更有耐受力的观点一致。罗培宇等在研究长期施肥对棕壤 AOA、AOB 丰度的影响时发现速效钾与土壤中 AOA、AOB 丰度呈正相关<sup>[31]</sup>。这是因为长期耕作、施肥等对农田土壤的化学性质产生改变,从而影响了 AOA、AOB 的群落结构及相对丰度对环境的不同响应。与本研究结果相似,显示速效钾同样是影响干热河谷区域农田红壤 AOA 和 AOB 群落结构发育的重要养分因子。

## 5 结论

本文运用化学分析和末端限制性片段长度多态性对攀枝花干热河谷区不同海拔农田红壤的养分特性和 AOA 及 AOB 群落结构进行了分析。结果显示该区域的农田红壤均呈弱酸性,土壤养分、AOA 及 AOB 群落结构和多样性均随海拔升高出现明显变化。伴随海拔高度增加,AOA 多样性增加而 AOB 则是先增加后降低。AOA 以亚硝基球菌属(*Nitrososphaera*)为优势菌群而 AOB 中优势菌群为亚硝化螺菌(*Nitrosospira*),二者相对丰度值随海拔高度增加表现为先增加后降低的趋势。土壤硝态氮、速效钾和有机碳是影响该区域 AOA 与 AOB 群落结构变化的主要养分因子。

**致谢:**感谢中国科学院成都生物研究所李超男博士对数据分析的帮助,感谢攀枝花市烟草公司对采样的帮助。

## 参考文献(References):

- [1] Canfield D E, Glazer A N, Falkowski P G. The evolution and future of earth's nitrogen cycle. *Science*, 2010, 330(6001): 192-196.
- [2] Prosser J I. Autotrophic Nitrification in bacteria. *Advances in Microbial Physiology*, 1990, 30: 125-181.
- [3] Gruber N, Galloway J N. An earth-system perspective of the global nitrogen cycle. *Nature*, 2008, 451(7176): 293-296.
- [4] Bock E, Wagner M. Oxidation of inorganic nitrogen compounds as an energy source//Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer K H, Stackebrandt E, eds. *The Prokaryotes*. New York: Springer, 2006: 457-495.
- [5] Könneke M, Bernhard A E, de la Torre J R, Walker C B, Waterbury J B, Stahl D A. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon. *Nature*, 2005, 437(7058): 543-546.
- [6] Klotz M G, Stein L Y. Nitrifier genomics and evolution of the nitrogen cycle. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, 278(2): 146-156.
- [7] Wu Y C, Lu L, Wang B Z, Lin X G, Zhu J G, Cai Z C, Yan X Y, Jia Z J. Long-term field fertilization significantly alters community structure of ammonia-oxidizing bacteria rather than archaea in a paddy soil. *Soil Science Society of America Journal*, 2011, 75(4): 1431-1439.
- [8] Mukherjee M, Ray A, Post A F, McKay R M, Bullerjahn G S. Identification, enumeration and diversity of nitrifying planktonic archaea and bacteria in trophic end members of the Laurentian great lakes. *Journal of Great Lakes Research*, 2016, 42(1): 39-49.
- [9] 路璐, 何燕. 不同林分土壤中氨氧化微生物的群落结构和硝化潜势差异及其驱动因子. *南方农业学报*, 2018, 49(11): 2169-2176.
- [10] 王晓胡, 寇涌苹, 赵文强, 严贤春. 贡嘎山森林土壤氨氧化微生物数量在海拔梯度的空间分异特征. *应用与环境生物学报*, 2019, 25(2): 275-280.
- [11] 刘璐, 祝贵兵, 夏超, 庄林杰, 刘小雷. 青藏高原不同海拔梯度厌氧氨氧化细菌丰度及其生物多样性空间分布. *环境科学学报*, 2016, 36(4): 1298-1308.
- [12] 周冀衡, 朱小平, 王彦亭, 刘国顺, 张明农. 烟草生理与生物化学. 合肥: 中国科学技术大学出版社, 1996: 191-192.

- [13] Liu X Z, Wang G A. Measurements of nitrogen isotope composition of plants and surface soils along the altitudinal transect of the eastern slope of Mount Gongga in Southwest China. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2010, 24(20): 3063-3071.
- [14] 杨鹏. 攀枝花烤烟质量特点分析及综合评价[D]. 北京: 中国农业科学院, 2011.
- [15] 杨军伟, 王昌全, 曾庆宾, 张伟, 杨建春, 李冰, 杨梅. 攀枝花市米易县植烟土壤生态化学计量学特征研究. *中国农学通报*, 2016, 32(17): 111-114.
- [16] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 146-195.
- [17] Kvalseth T O. Note on biological diversity, evenness, and homogeneity measures. *Oikos*, 1991, 62(1): 123-127.
- [18] 秦华, 李国栋, 叶正钱, 徐秋芳, 曹志洪. 集约种植雷竹林土壤细菌群落结构的演变及其影响因素. *应用生态学报*, 2010, 21(10): 2645-2651.
- [19] 李相楹, 张维勇, 刘峰, 张珍明, 何腾兵, 林昌虎. 不同海拔高度下梵净山土壤碳、氮、磷分布特征. *水土保持研究*, 2016, 23(3): 19-24.
- [20] 王琳, 欧阳华, 周才平, 张锋, 白军红, 彭奎. 贡嘎山东坡土壤有机质及氮素分布特征. *地理学报*, 2004, 59(6): 1012-1019.
- [21] 王长庭, 龙瑞军, 王启基, 景增春, 尚占环, 丁路明. 高寒草甸不同海拔梯度土壤有机质氮磷的分布和生产力变化及其与环境因子的关系. *草业学报*, 2005, 14(4): 15-20.
- [22] 斯贵才, 袁艳丽, 王建, 夏燕青, 雷天柱, 张更新. 藏东南森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性随海拔梯度的变化. *微生物学通报*, 2014, 41(10): 2001-2011.
- [23] Zhang L M, Wang M, Prosser J I, Zheng Y M, He J Z. Altitude ammonia-oxidizing bacteria and archaea in soils of Mount Everest. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 70(2): 208-217.
- [24] Leininger S, Urlich T, Schlöter M, Schwark L, Qi J, Nicol G W, Prosser J I, Schuster S C, Schleper C. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature*, 2006, 442(7104): 806-809.
- [25] 贺纪正, 张丽梅. 氨氧化微生物生态学与氮循环研究进展. *生态学报*, 2009, 29(1): 406-415.
- [26] Di H J, Cameron K C, Shen J P, Winefield C S, O'Callaghan M, Bowatte S, He J Z. Ammonia-oxidizing bacteria and archaea grow under contrasting soil nitrogen conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72(3): 386-394.
- [27] Allison S D. Cheaters, diffusion and nutrients constrain decomposition by microbial enzymes in spatially structured environments. *Ecology Letters*, 2005, 8(6): 626-635.
- [28] 程林, 刘桂婷, 王保莉, 曲东. 渭北旱塬长期施肥试验中氨氧化细菌的多样性及群落结构分析. *农业环境科学学报*, 2010, 29(7): 1333-1340.
- [29] 杨亚东, 张明才, 胡君蔚, 张凯, 胡跃高, 曾昭海. 施氮肥对华北平原土壤氨氧化细菌和古菌数量及群落结构的影响. *生态学报*, 2017, 37(11): 3636-3646.
- [30] Subrahmanyam G, Hu H W, Zheng Y M, Archana G, He J Z, Liu Y R. Response of ammonia oxidizing microbes to the stresses of arsenic and copper in two acidic alfisols. *Applied Soil Ecology*, 2014, 77(1): 59-67.
- [31] 罗培宇, 樊耀, 杨劲峰, 葛银凤, 蔡芳芳, 韩晓日. 长期施肥对棕壤氨氧化细菌和古菌丰度的影响. *植物营养与肥料学报*, 2017, 23(3): 678-685.