

DOI: 10.5846/stxb202104010853

郑洁, 程梦华, 栾璐, 孔培君, 孙波, 蒋瑀霁. 秸秆还田对玉米根际氨氧化微生物群落及红壤硝化潜力的影响. 生态学报, 2022, 42(12): 5022-5033.
Zheng J, Cheng M H, Luan L, Kong P J, Sun B, Jiang Y J. Effects of straw returning on the ammonia-oxidizers and nitrification in the rhizosphere of maize in a red soil. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(12): 5022-5033.

秸秆还田对玉米根际氨氧化微生物群落及红壤硝化潜力的影响

郑洁^{1,2}, 程梦华³, 栾璐¹, 孔培君^{1,2}, 孙波¹, 蒋瑀霁^{1,*}

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

3 南京师范大学生命科学学院, 南京 210023

摘要:为探讨酸性红壤根际氨氧化微生物群落以及硝化作用对不同秸秆还田处理的响应,基于中国科学院鹰潭红壤生态实验站设置的秸秆还田长期试验平台(9年),采用荧光定量 PCR 和高通量测序技术,研究不同秸秆还田处理(不施肥(CK);氮磷钾肥(NPK);氮磷钾肥+秸秆(NPKS);氮磷钾肥+秸秆猪粪配施(NPKSM);氮磷钾肥+秸秆生物炭(NPKB))下玉米根际土壤氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)和细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)丰度和群落结构的变化,揭示了秸秆还田对根际氨氧化微生物群落结构和硝化潜力(potential nitrification activity, PNA)的影响机制。结果发现:相比 CK 和 NPK 处理,秸秆还田显著提高了土壤养分含量和硝化潜力,其中有机碳(SOC)、全氮(TN)、全磷(TP)、速效磷(AP)、速效钾(AK)、硝态氮(NO_3^- -N)和铵态氮(NH_4^+ -N)含量显著增加,NPKSM 处理对土壤肥力提升效果最佳。AOA 的硝化潜力显著高于 AOB,表明 AOA 主导了土壤硝化作用。秸秆还田显著提高了 AOA 和 AOB 丰度,改变了群落组成,Shannon 和 Chao1 指数均高于未添加秸秆的处理。SOC、TN 和 NH_4^+ -N 以及 AOA 和 AOB 多样性指数分别与 PNA_{AOA} 和 PNA_{AOB} 呈显著正相关。结构方程模型表明, NH_4^+ -N 和 TN 通过 AOA 丰度和 AOB 多样性间接影响 $\text{PNA}_{\text{total}}$ 。研究结果表明,秸秆还田处理能够显著提高红壤肥力,增加红壤 AOA 和 AOB 数量和活性,从而促进红壤氮素转化过程,其中秸秆猪粪配施的提升效果最佳。

关键词:秸秆还田处理;氨氧化古菌;氨氧化细菌;硝化潜力;红壤

Effects of straw returning on the ammonia-oxidizers and nitrification in the rhizosphere of maize in a red soil

ZHENG Jie^{1,2}, CHENG Menghua³, LUAN Lu¹, KONG Peijun^{1,2}, SUN Bo¹, JIANG Yuji¹

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

3 College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China

Abstract: In the present study, a 9-year field experiment was conducted to investigate the effects of straw returning on the rhizosphere ammonia-oxidizers and nitrification in a red soil. The field experiment included five treatments: no fertilizer, CK; chemical nitrogen, phosphorous and potassium fertilizer, NPK; NPK fertilizer and straw, NPKS; NPK fertilizer and straw combined with pig manure, NPKSM; NPK fertilizer and straw biochar, NPKB, which was located at the National Agro-Ecosystem Observation and Research Station in Yingtan. Here, the abundance and composition of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and bacteria (AOB) in the rhizosphere of maize under different types of straw returning were examined by

基金项目:国家自然科学基金优秀青年基金项目(41922048);国家自然科学基金面上项目(42177298,41771297)

收稿日期:2021-04-01; **网络出版日期:**2022-02-11

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yjjiang@issas.ac.cn

quantitative PCR and Illumina sequencing. The results found that the straw returning treatments significantly increased soil nutrient contents and potential nitrification activity (PNA) compared with the CK and NPK treatments, with the highest soil organic carbon (SOC), total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), available phosphorus (AP), available potassium (AK), nitrate nitrogen (NO_3^- -N), ammonium nitrogen (NH_4^+ -N) and PNA under the NPKSM treatments. AOA-specific PNA (PNA_{AOA}) was significantly higher than AOB-specific PNA (PNA_{AOB}), which indicated that AOA dominated the nitrification in a red soil. The straw returning treatments presented significantly higher abundance and diversity (Shannon and Chao1 indices) of AOA and AOB community than the treatments without straw returning. Furthermore, the straw returning treatments significantly shaped the composition of AOA and AOB community. SOC, TN, NH_4^+ -N, as well as AOA and AOB diversity were significantly correlated with PNA_{AOA} and PNA_{AOB} , respectively. Structural equation modelling showed that NH_4^+ -N and TN indirectly affected $\text{PNA}_{\text{total}}$ through the AOA abundance and AOB diversity. The results indicated that straw returning treatments could improve the abundance and activities of AOA and AOB community, and consequently promoted the process of nitrogen transformation, with the best improvement achieved by straw and pig manure application.

Key Words: straw returning; ammonia-oxidizing archaea; ammonia-oxidizing bacteria; potential nitrification activity; red soil

根际微生物作为土壤生物群落中最活跃且具有决定性影响的组分之一,在土壤-植物生态系统中参与了土壤有机质等养分循环和能量流动。揭示植物—根际微生物根际对话过程及其调控机制,对促进植物生长发育和生产力的提高至关重要^[1-2]。氮是陆地生态系统中控制植物生长的关键限制营养元素,根际土壤微生物驱动着土壤—植物系统中氮素循环过程,将氮素转化为可被植物吸收的形态,满足植物的氮素需求。硝化作用是土壤氮素形态转化的关键步骤之一,我国农田生态系统硝化活性较高,以自养硝化作用为主^[3-4]。作为自养硝化过程的氨氧化过程是第一和限速步骤,主要由含氨单加氧酶基因(*amoA*)的氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)和氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)共同驱动,在有氧环境下将氨氧化为亚硝酸盐^[5]。近年来,全程氨氧化微生物(Comammox)的发现使人们对氮循环有了全新的认识,但是深入研究发现 Comammox 大都来自铵贫瘠的生境,而在高底物浓度的农田土壤硝化过程中典型的氨氧化微生物(AOA 和 AOB)扮演的角色并不能被 Comammox 所取代^[6-7]。农田生态系统中,环境因子(pH、 NH_4 浓度等)和农田管理措施(种植方式、施肥管理等)决定着土壤中氨氧化微生物的生态位分异,影响群落的丰度和硝化潜能^[8]。研究表明低 pH 和低 NH_4 浓度条件下,AOA 在氨氧化过程中发挥着主导作用,而 AOB 则倾向于主导中性和碱性土壤,以及高 NH_4 浓度环境的氨氧化过程^[9-10,11]。Wu 等^[12]和 Su 等^[13]研究发现,不同的施肥管理方式会显著影响 AOA 和 AOB 的群落结构。可见,研究 AOA 和 AOB 群落对农田管理措施和环境因子的响应机制一直是农田生态系统研究的热点问题,对深入认识氮素转化机制具有重要意义。

红壤是中国南方地区的主要土壤类型,其分布地区气候条件优越。由于红壤酸性强,土质粘重,脱硅富铁铝化现象严重,导致土壤氮素供应失衡^[11]。与此同时,农田过度施用氮肥,加剧土壤酸化,导致氮素转化功能微生物丰度和代谢活性下降,降低了作物生产力和氮素养分利用率,同时还会对环境造成负担^[14]。研究表明,秸秆还田是培肥地力,改良土壤性状的有效途径之一。作为土壤养分和有机物质的重要来源,秸秆分解刺激了土壤微生物的活性,通过提高土壤氮素有效性加速氮素循环,促进作物生长发育^[15]。但是秸秆还田存在腐解慢、与作物争氮和土壤疏松等不利因素,导致作物出苗困难、诱发病虫害等问题^[16]。因此,揭示秸秆还田的高效激发效应,对建立贫瘠红壤快速培肥的调控技术具有重要的实践价值。

Tosti 等发现秸秆猪粪配施通过调节秸秆中的碳氮比可以加快微生物的矿化作用,显著提高有机氮的矿化与矿质氮的微生物固持,进而增加作物产量^[17]。Yu 等发现秸秆生物炭可以增加微孔生境的可用性,提高微生物生物量和多样性^[18]。不同秸秆还田方式对培育土壤肥力、增强功能微生物活性具有重要影响,但目前关于秸秆还田处理对根际氨氧化微生物群落和功能的影响机制尚不明确。为此,本研究以南方典型旱地红壤

为研究对象,依托秸秆还田长期定位试验(9年),通过 Illumina 高通量测序技术,研究不同秸秆还田处理对玉米根际氨氧化微生物多样性和群落结构、以及硝化潜势的影响,旨在揭示不同秸秆还田处理对根际氮转化微生物调控机制,以期建立科学高效的秸秆还田措施、提高氮肥利用率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

田间试验于 2010 年设置在江西省鹰潭市中国科学院红壤生态实验站(116°55'E, 28°13'N),属中亚热带季风气候,年平均气温 17.8℃,年降水量约为 1795 mm,其土壤为第四纪红黏土发育的红壤(黏化湿润富铁铝土)。田间试验小区面积为 100 m²(5 m×20 m)。土壤酸性较强、有机质低。试验地开始前表层土壤(0—20 cm)的基本理化性质为:pH 4.73,有机碳 2.52 g/kg,全氮 0.40 g/kg,全磷 0.23 g/kg,碱解氮 38.30 mg/kg,全钾 11.95 g/kg,速效磷 0.76 mg/kg,速效钾 47.58 mg/kg,阳离子交换量 12.12 cmol/kg。

1.2 试验材料与设计

试验共设置 5 个处理,分别为:不施肥(CK);氮磷钾肥(NPK);氮磷钾肥+秸秆(NPKS);氮磷钾化肥+秸秆猪粪配施(秸秆猪粪按 9:1 的碳配比施用,NPKSM);氮磷钾肥+秸秆生物炭(NPKB)。试验供试作物为玉米(*Zea mays* L.,苏玉 24),每年 4 月份种植,7 月份收获。每个处理设置 3 个重复,随机区组排列。秸秆生物炭是利用风干玉米秸秆在生物炭炉中 450℃下通过厌氧闷烧制成。不同秸秆还田处理(NPKS、NPKSM、NPKB)每年的碳输入量为 1000 kg/hm²,各处理的化肥的施入量为:尿素(N, 150 kg/hm²),钙镁磷肥(P₂O₅, 75 kg/hm²),无机钾肥(K₂O, 60 kg/hm²),所有氮磷钾肥、秸秆、猪粪和生物炭在玉米种植前一次性施入土壤并翻耕混匀。

1.3 样品采集与土壤性质测定

在 2019 年 7 月玉米收获前,采集不同秸秆还田处理的根际土壤(0—20 cm)。采用 S 型取样法,在每一个小区中随机选择 10 株玉米植株,抖落表面土壤,然后将植物根际土壤抖落至盆中混匀,用无菌自封袋密封,置于带有干冰的采样箱中带回实验室。所有土壤样品共分为三份:经自然风干过筛后用于土壤理化性质分析;保存于-20℃冰箱在一周内完成氨氧化微生物的硝化潜势测定;保存于-80℃冰箱用于土壤基因组总 DNA 提取分析。土壤 pH 采用水浸提电位法(土/水比为 1:2.5),土壤含水量(Moisture)采用烘干法,有机碳(SOC)采用重铬酸钾-外加热法,全氮(TN)采用凯氏定氮法,全磷(TP)采用高氯酸-硫酸酸溶-钼锑抗比色法,速效磷(AP)采用碳酸氢钠提取法,速效钾(TK)采用原子吸收分光光度法,铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)采用 2 mol/L KCL 溶液浸提,流动分析仪测定^[19]。

1.4 高通量测序与荧光定量 PCR 分析

采用 MoBio PowerSoil DNA (MIBIO laboratories Inc., Carlsbad, USA) 试剂盒提取土壤样品 DNA。通过 NanoDrop® ND-2000 检测 DNA 浓度质量,然后进行 1.2%(w/v)的琼脂糖凝胶电泳,检测 DNA 片段大小。AOA 的扩增引物为 Arch-*amoA* 26F(5'-GACTACATATCTACACWGACTGGGC-3')和 Arch-*amoA* 417R(5'-GGTGTCTATATGAGGCAACGTTGG-3');AOB 的扩增引物为 *amoA*-1F(5'-GGGGTTTCTACTGGTGGT-3')和 *amoA*-2R(5'-CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC-3')。PCR 反应体系为 20 μL:2×SYBR Premix 10 μL,0.8 μL 上下引物,1 μL DNA 模板,加 ddH₂O 补足。PCR 扩增条件为:94℃预变性 2 min,94℃变性 30 s,55℃退火 30 s,72℃延伸 30 s,72℃终末延伸 10 min,循环 30 次。PCR 产物纯化回收后制备测序文库,通过 Illumina Miseq 平台进行高通量测序。生物信息学分析采用 Mothur 软件包对原始序列进行质量筛选,对保留的序列进行修剪。选择与 barcode 完全匹配的序列,将其分配到古菌和细菌的 *amoA* 基因的单文件。使用 FrameBot 工具进一步进行筛选后,采用 RDP 中 FunGene 数据库对 AOA 和 AOB 的 *amoA* 进行相似度检索。最后,对每个样本的序列读数进行聚类,使用 CD-HIT-EST 得出基于 97%相似度的 OTU^[20]。

AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因拷贝数用荧光定量法测定,反应在 ABI StepOne™ 实时荧光定量 PCR 仪上进

行。所用引物与上述相同,反应体系为:2×SYBR® Premix Ex Taq 10 μL ,上下引物各 0.5 μL ,DNA 模板 1 μL ,最后用 ddH₂O 补至 20 μL 。反应程序为:95℃ 预变性 1 min,94℃ 变性 45 s,57℃ 退火 45 s,72℃ 延伸 45 s,72℃ 终末延伸 10 min,重复循环 40 次。每个样品 3 个重复,并设 3 个用无菌水作为空白对照。

1.5 氨氧化微生物功能的测定

称取 5 g(等量干质量)土壤,置于 50 mL 2 mM (NH₄)₂SO₄和 10 mM NaClO₃的溶液中,摇床震荡 25℃ 培养(150 rpm),分别于 0 h、8 h、24 h、30 h、48 h、60 h 和 72 h 取悬浮液,用 Griess 试剂在室温下显色。取 7 支 10 mL 比色管分别加入 0 mL、0.025 mL、0.05 mL、0.1 mL、0.15 mL、0.2 mL、0.25 mL 的 NaNO₂的标准溶液,加蒸馏水至 5 mL,加 0.2 mL 的 0 mg/L、0.025 mg/L、0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.15 mg/L、0.2 mg/L、0.25 mg/L Griess 试剂,在波长 520 nm 处以蒸馏水为参比,依次测定吸光值,各值减去空白对照后制作标准曲线。根据标准曲线计算得到 NO₂⁻-N 浓度,潜在氨氧化速率根据每克干土中 NO₂⁻-N 随时间的累积量进行计算。为了区分 AOA 和 AOB 对硝化潜势的相对贡献,添加 1-辛炔对土壤中 AOB 的活性具有明显的抑制作用,但是却不会影响 AOA 的活性^[21]。因此,设置 2 个实验组,不添加 1-辛炔的实验组可表征 AOA 和 AOB 的总硝化潜能,添加 1-辛炔(4 μM)的实验组可表征 AOA 的硝化能力,总硝化潜能减去添加 1-辛炔的实验组可表征 AOB 的硝化能力,以每小时每克干土中 NO₂⁻-N 的增加速率表示($\mu\text{g NO}_2^- \cdot \text{N g}^{-1} \text{干土 h}^{-1}$)。

1.6 数据处理

使用 Chao 1 指数表征丰富度,以 Shannon 指数表征多样性。采用主坐标分析(principal co-ordinates analysis,PCoA)计算两两样本间 Bray-Curtis 距离,研究样本群落组成的差异性。相关性分析和方差分析等在 SPSS 24.0 中完成,不同处理之间利用 Tukey 法进行单因素方差分析,不同字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。多元分析统计在 Rstudio 软件中完成,其中微生物多样性、主坐标分析(PCoA)和相似性分析(ANOSIM)通过 vegan 包完成。随机森林分析通过 randomForest 程序包计算,并通过 rfUtilities 和 rfPermute 程序包分别检验模型和每个变量的 P 值。结构方程模型(SEM)在 AMOS 23.0 软件中分析。

2 结果与分析

2.1 不同秸秆还田处理的土壤理化性质和硝化潜势

不同秸秆还田处理对玉米根际土壤理化性质的影响显著(表 1)。试验小区的土壤呈酸性,NPKSM 和 NPKB 处理显著提高了土壤 pH($P < 0.05$),但土壤含水量没有显著差异($P > 0.05$)。与 CK 处理相比,不同秸秆还田处理下土壤 SOC、TN、TP、AP 和 AK 显著提高($P < 0.05$)。NPKSM 处理的土壤 TN、TP 和 AP 均显著高于其他处理($P < 0.05$),NPKB 处理中 SOC 含量最高,NPKS 处理的 AK 含量最高。不同秸秆还田处理土壤的 NO₃⁻-N 和 NH₄⁺-N 差异显著,分别介于 0.7—3.64 mg/kg 和 12.62—20.35 mg/kg 之间。NPKS 处理下土壤 NO₃⁻-N 显著高于 NPKSM、NPK 和 NPKB 处理($P < 0.05$),而 NPKSM 和 NPKB 处理下 NH₄⁺-N 显著高于 NPKS 和 NPK 处理($P < 0.05$)。土壤硝化潜势在不同秸秆还田处理间均有显著差异(图 1, $P < 0.05$)。AOA 群落的硝化潜势(PNA_{AOA})介于 0.015—0.058 $\mu\text{g NO}_2^- \cdot \text{N g}^{-1} \text{干土 h}^{-1}$ 之间,其中 NPKSM 和 NPKS 处理显著高于 CK、NPK 和 NPKB 处理($P < 0.05$)。AOB 群落的硝化潜势(PNA_{AOB})介于 0.007—0.033 $\mu\text{g NO}_2^- \cdot \text{N g}^{-1} \text{干土 h}^{-1}$ 之间,其中 NPKSM 处理最高,NPKS、NPKSM 和 NPKB 处理显著高于 CK 和 NPK 处理($P < 0.05$)。不同秸秆还田处理中 AOA 介导的土壤硝化潜势对土壤总硝化潜势(PNA_{total})的贡献高于 AOB。

2.2 不同秸秆还田处理的氨氧化微生物 amoA 基因丰度

通过荧光定量 PCR 对不同秸秆还田处理下土壤 AOA 和 AOB 的 amoA 基因拷贝数进行分析,结果表明,所有处理中 AOA 的 amoA 基因的平均拷贝数(2.6×10^6 拷贝/g)显著高于 AOB(2.73×10^4 拷贝/g)($P < 0.05$,图 2)。AOA 的 amoA 基因拷贝数介于 0.31×10^5 — 7.16×10^6 拷贝/g,与 NPK 处理比较发现,NPKS、NPKSM 和 NPKB 处理下 AOA 的 amoA 基因拷贝数分别增加了 4.88、9.64 和 1.93 倍。AOB 的 amoA 基因拷贝数介于 0.26×10^4 — 4.93×10^4 拷贝/g 之间,NPKS、NPKSM 和 NPKB 处理下 AOB 的 amoA 基因拷贝数分别比 NPK 处理

增加了 4.36、3.93 和 5.42 倍。NPKSM 处理下 AOA 的 *amoA* 基因拷贝数最高,而 NPKB 处理下 AOB 的 *amoA* 基因拷贝数最高。

表 1 不同秸秆还田处理的土壤理化性质(平均值±标准误)

Table 1 Soil physic-chemical properties under different straw returning treatments(Mean±SE)

处理 Treatments	pH	含水量 Moisture/%	有机碳 SOC/ (g/kg)	全氮 TN/ (g/kg)	全磷 TP/ (g/kg)	速效磷 AP/ (g/kg)	速效钾 AK/ (mg/kg)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/ (mg/kg)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/ (mg/kg)
对照 CK	4.49±0.02a	17.59±2.99a	3.48±0.26a	0.45±0.1a	0.25±0.01a	0.72±0.15a	85.83±8.7a	0.7±0.15a	12.62±0.38a
氮磷钾肥 NPK	4.48±0.02a	19.82±1.32a	4.26±0.21ab	0.57±0.01b	0.44±0.03b	8.08±0.41b	103.33±7.26ab	2.08±0.22b	14.5±0.52b
氮磷钾肥+秸秆 NPKS	4.5±0.04a	20.75±1.71a	5.84±0.51bc	0.7±0.02c	0.45±0.01b	6.38±0.09ab	149.17±22.93c	3.64±0.26c	15.66±0.3ab
氮磷钾肥+ 秸秆猪粪配施 NPKSM	4.55±0.02ab	21.42±0.88a	7.62±0.76cd	0.79±0.02d	0.7±0.04c	40.11±4.02c	135.83±8.7bc	2.09±0.24b	20.35±1.41c
氮磷钾肥+ 秸秆生物炭 NPKB	4.64±0.05b	21.45±1.21a	7.97±0.89d	0.7±0.03c	0.41±0.03b	7.56±1.88b	129.17±9.17bc	1.68±0.29b	18.91±0.77c

同一组中数据后跟不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),对照 CK: no fertilizer;氮磷钾肥 NPK: chemical nitrogen, phosphorous and potassium fertilizer;氮磷钾肥+秸秆 NPKS: NPK fertilizer and straw;氮磷钾肥+秸秆猪粪配施 NPKSM: NPK fertilizer and straw combined with pig manure;氮磷钾肥+秸秆生物炭 NPKB: NPK fertilizer and straw biochar;有机碳 SOC: soil organic carbon;全氮 TN: total nitrogen;全磷 TP: total phosphorus;速效磷 AP: available phosphorus;速效钾 AK: available potassium;硝态氮 NO₃⁻-N: nitrate nitrogen;铵态氮 NH₄⁺-N ammonium nitrogen

2.3 不同秸秆还田处理的氨氧化微生物群落多样性和结构特征

不同秸秆还田处理的 AOA 和 AOB 群落多样性的 Shannon 和 Chao1 指数在各处理间均显著改变 ($P<0.05$,图 3)。与 CK 处理相比,NPK 处理提高了 AOA 的 Shannon 和 Chao1 指数,但降低了 AOB 的 Shannon 和 Chao1 指数。与 CK 和 NPK 处理相比,NPKS、NPKSM 和 NPKB 处理的 AOA 和 AOB 的群落多样性指数均显著增加 ($P<0.05$),在 AOA 群落中,NPKB 处理的 Shannon 指数最高,NPKS 处理的 Chao1 指数最高;在 AOB 群落中 NPKS 处理的 Shannon 指数最高,NPKSM 的 Chao1 指数最高。

不同秸秆还田处理的 AOA 群落主要由 *Nitrosotalea* (70.8%)、*Nitrososphaera* (25.1%) 和 *Nitrosopumilus* (0.24%) 组成(图 4),系统发育分析结果表明 *Nitrosotalea* Cluster 1.1 的相对丰度占70.8%,*Nitrososphaera* Cluster 9 的相对丰度占 12.3%,其余主要由 *Nitrososphaera* Cluster 1.1 (4.5%)、*Nitrososphaera* Cluster 2(3.9%)和 *Nitrososphaera* Cluster 7.2(3.1%)组成,其中 *Nitrosotalea* Cluster 1.1 的相对丰度在 CK 处理中最高(90.1%),*Nitrososphaera* Cluster 2 在 NPKSM 处理中相对丰度最高(8.5%),*Nitrososphaera* Cluster 9 在 NPKB 处理中的相对丰度最高(37.1%)。AOB 群落主要由 *Nitrospira* 组成,其中 *Nitrospira* Cluster 9 的丰度占 61.9%,*Nitrospira* Cluster 3a 丰度占18.3%,其余主要由 *Nitrospira* Cluster 10 (6.8%)、*Nitrospira* Cluster 3b(3.86%)、*Nitrospira* Cluster 9(1.9%)等组成,*Nitrospira* Cluster 9 在 CK 处理中丰度最高(7.9%),*Nitrospira* Cluster 12 在 NPK 处理中丰度最高(85.8%),*Nitrososphaera* Cluster 3a 在

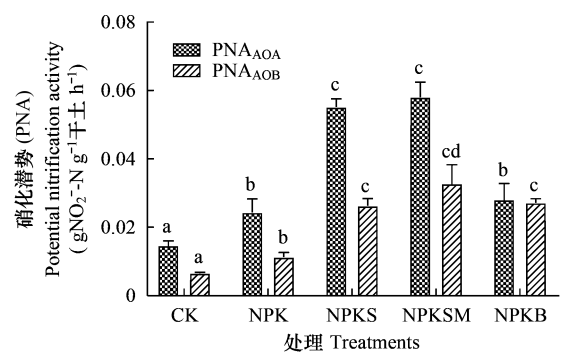
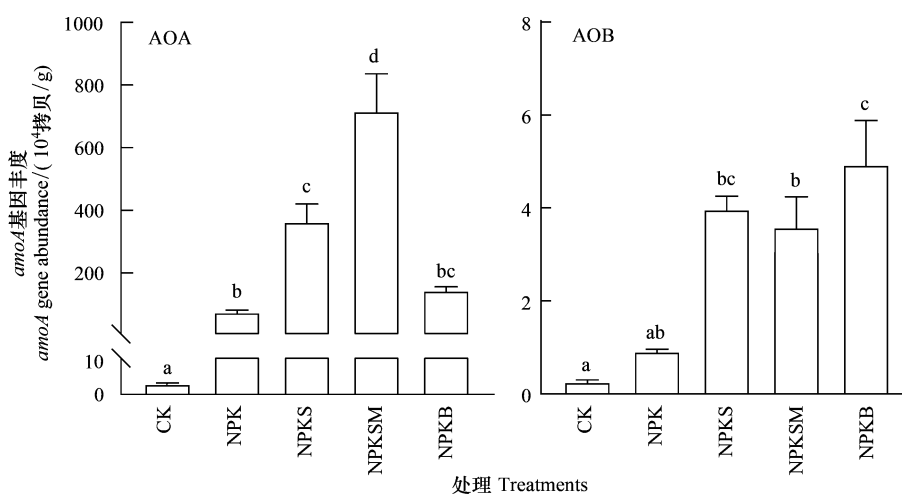


图 1 不同秸秆还田处理的土壤硝化潜势

Fig.1 Potential nitrification activity under treatments with straw returning

误差线表示标准误;不同小写字母表示 PNA_{AOA} 和 PNA_{AOB} 分别在各个处理间的差异显著性 ($P<0.05$);CK: 不施肥;NPK: 氮磷钾肥;NPKS: 氮磷钾肥+秸秆;NPKSM: 氮磷钾肥+秸秆猪粪配施;NPKB: 氮磷钾肥+秸秆生物炭 AOA: 氨氮氧化古菌;AOB: 氨氧化细菌

图2 不同秸秆还田处理的 AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因丰度Fig.2 The *amoA* gene abundance of AOA and AOB under treatments with straw returning不同小写字母表示各处理间差异显著 ($P < 0.05$)

NPKSM 处理中丰度最高 (36.1%), *Nitrosospira* Cluster 10 在 NPKB 处理中丰度最高 (21.3%)。主坐标分析发现 (PCoA), PCoA1 轴和 PCoA2 轴分别解释了 AOA 群落结构 45.27% 和 22.63% 的差异, 解释了 AOB 群落结构 44.49% 和 27.82% 的差异 (图 4)。不同秸秆还田处理下 AOA 和 AOB 群落结构在 PCoA1 轴和 PCoA2 轴上明显分异, ANOSIM 分析表明不同秸秆还田处理下 AOA ($r = 0.752$, $P < 0.01$) 和 AOB ($r = 0.834$, $P < 0.01$) 群落结构的组间差异显著大于组内差异。

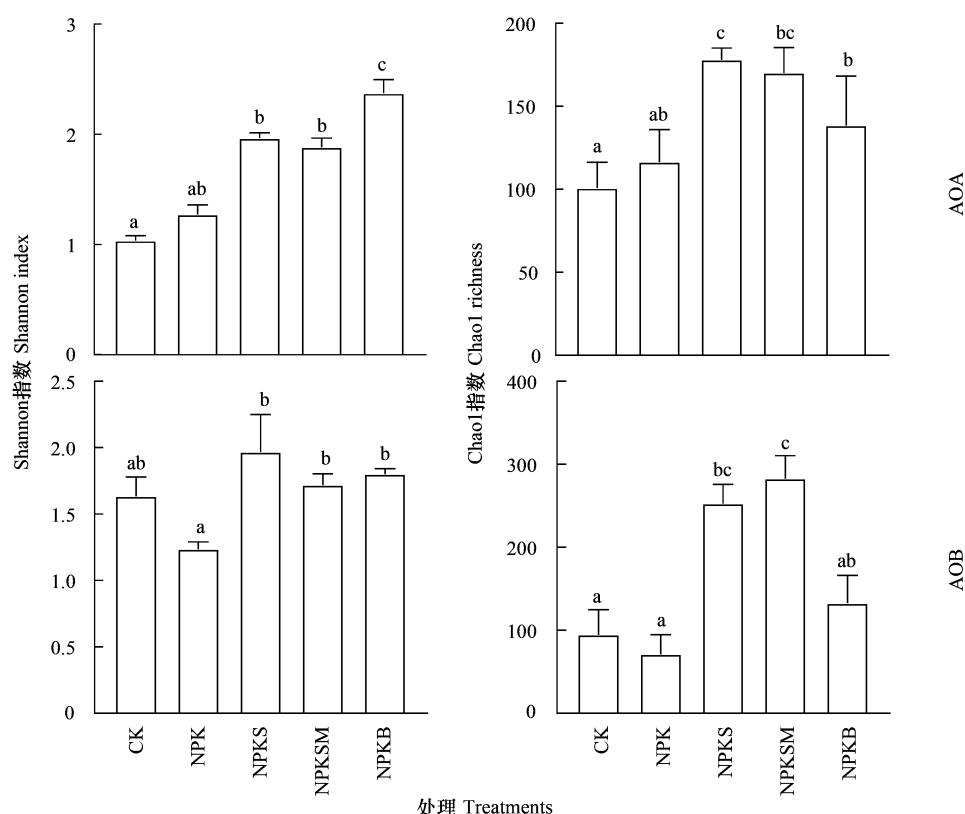


图3 不同秸秆还田处理的 AOA 和 AOB 群落的 Shannon 指数与 Chao 1 指数

Fig.3 The Shannon indices and Chao 1 richness of AOA and AOB under treatments with straw returning

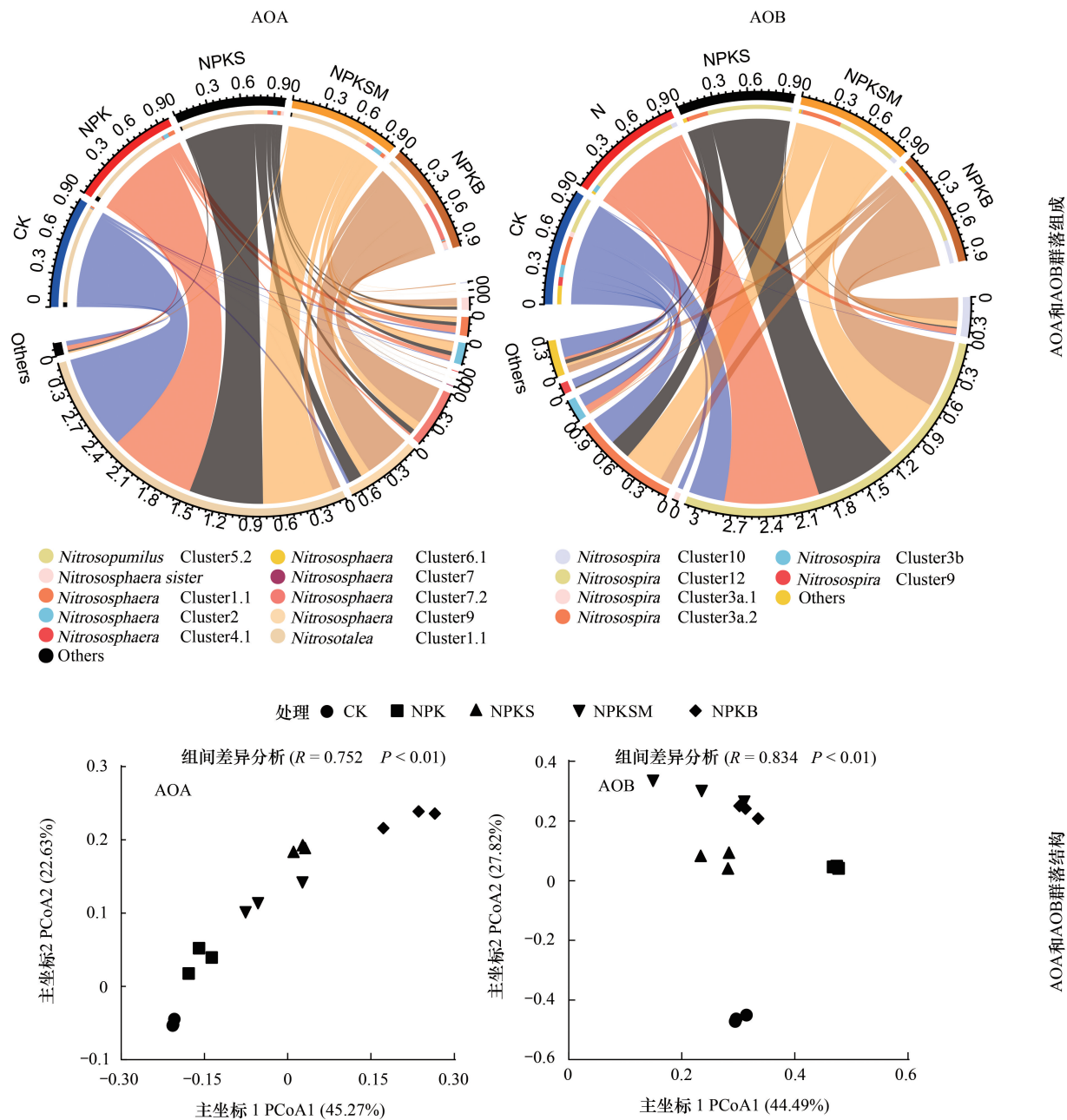


图4 不同秸秆还田处理的 AOA 和 AOB 群落组成和结构

Fig.4 The composition and structure of AOA and AOB under different straw returning treatments

2.4 土壤氨氧化微生物群落与理化性质、硝化潜势的关系

土壤理化性质与氨氧化微生物基因丰度 (Abundance)、多样性 (Shannon 指数、Chao1 指数) 和群落结构 (Composition) 的相关性分析表明 (图 5), AOA 丰度、Shannon 指数、Chao1 指数分别与 SOC、TN、AK 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 呈显著正相关 ($P < 0.05$); 此外, AOA 丰度还与 TP ($r = 0.82, P < 0.01$) 和 AP ($r = 0.81, P < 0.01$) 呈极显著正相关, Chao1 指数与 TP ($r = 0.64, P < 0.01$) 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ($r = 0.63, P < 0.01$) 呈极显著正相关, AOA 群落结构与 SOC ($r = 0.77, P < 0.01$)、TN ($r = 0.68, P < 0.01$) 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ ($r = 0.61, P < 0.05$) 均呈显著正相关。AOB 丰度、Chao1 指数分别与 SOC、TN、AK 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 呈显著正相关 ($P < 0.05$); AOB 群落的 Shannon 指数还与 AK ($r = 0.64, P < 0.01$) 呈极显著正相关, Chao1 指数还与 TP ($r = 0.70, P < 0.01$) 和 AP ($r = 0.64, P < 0.01$) 呈极显著正相关。土壤 SOC、

TN、TP、AP 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 与 PNA_{AOA} 和 PNA_{AOB} 均呈显著正相关 ($r=0.55\text{--}0.75, P<0.05$)。AOA 丰度 ($r=0.68, P<0.01$)、Shannon 指数 ($r=0.75, P<0.01$) 与 PNA_{AOA} 之间呈极显著正相关; AOB 丰度 ($r=0.59, P<0.05$)、Shannon 指数 ($r=0.60, P<0.05$)、Chao1 指数 ($r=0.68, P<0.01$) 与 PNA_{AOB} 之间均呈显著正相关。

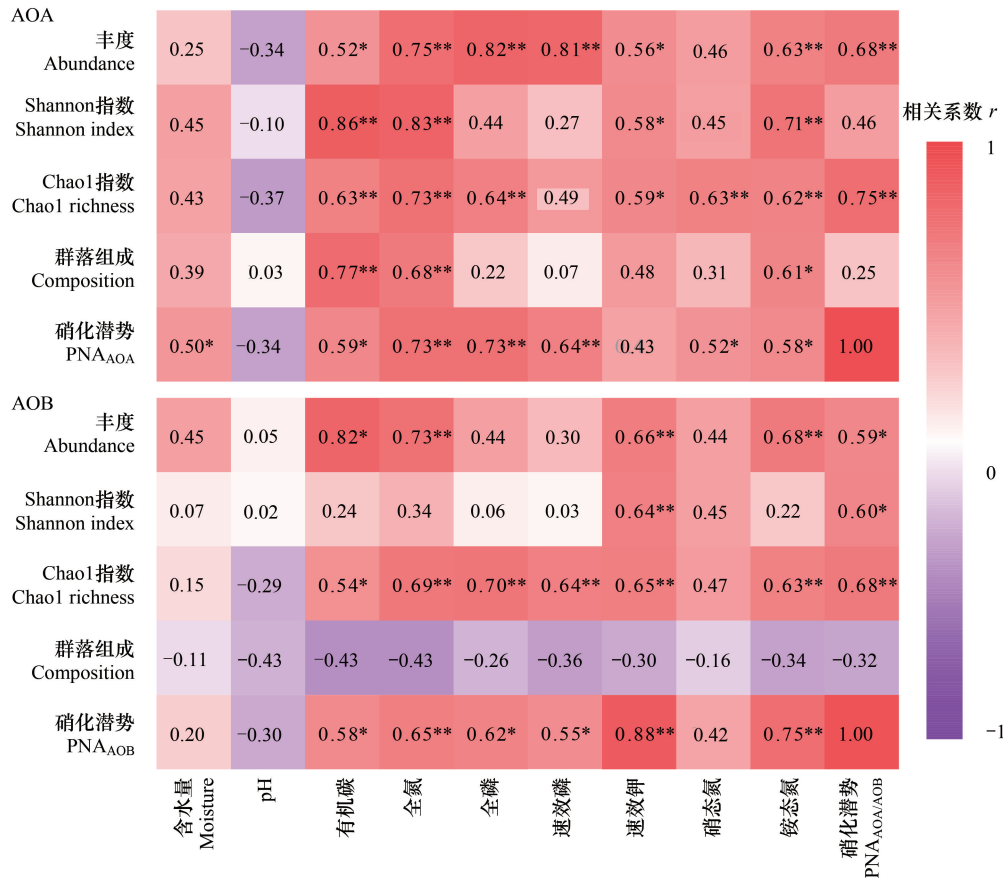


图5 土壤 AOA 和 AOB 群落与理化性质、硝化潜势的 Pearson 相关系数

Fig.5 Pearson correlation coefficients between soil properties, PNA and AOA and AOB community

amoA 基因的拷贝数代表群落丰度 (Abundance); 第一主坐标值 (PCoA1) 代表群落组成 (Composition); PNA_{AOA} 代表 AOA 群落的硝化潜势; PNA_{AOB} 代表 AOB 群落的硝化潜势, $\text{PNA}_{\text{AOA/AOB}}$ 表示在 AOA 热图中是 PNA_{AOA} , 而在 AOB 热图中是 PNA_{AOB} ; *: $P<0.05$, **: $P<0.01$

随机森林分析评估影响 $\text{PNA}_{\text{total}}$ 潜在因子的重要性 (图 6), 结果表明土壤性质中 TN (6.34%)、SOC (4.21%) 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (3.97%) 对 $\text{PNA}_{\text{total}}$ 影响显著 ($P<0.05$); AOA 的丰度 (8.1%)、Shannon 指数 (5.32%)、Chao1 指数 (5.15%) 和 AOB 的丰度 (4.57%)、Chao1 指数 (5.88%) 显著影响 $\text{PNA}_{\text{total}}$ ($P<0.05$)。结构方程模型 (SEM, 图 6) 分析发现, 土壤 TN、SOC 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 直接影响 AOA 丰度和 AOB 多样性, SOC 与 AOA 丰度 ($r=-0.496, P<0.001$)、AOB 多样性呈负相关 ($r=-0.511, P<0.001$)。SOC 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 不仅直接影响 $\text{PNA}_{\text{total}}$, 还可以通过 AOA 丰度和 AOB 多样性间接影响 $\text{PNA}_{\text{total}}$, 而 TN 通过 AOA 丰度和多样性、AOB 多样性间接影响 $\text{PNA}_{\text{total}}$ 。AOA 丰度和多样性、AOB 多样性与 $\text{PNA}_{\text{total}}$ 均呈正相关 ($r=0.333\text{--}0.444, P<0.01$)。AOA 丰度和多样性影响 $\text{PNA}_{\text{total}}$ 的路径系数均高于 AOB 多样性。

3 讨论

3.1 不同秸秆还田处理对土壤理化性质和硝化潜势的影响

在土壤肥力演变的研究中, 人为活动的扰动主要体现在耕作、施肥等管理措施上^[22]。化肥中含氮的营养元素大量进入土壤中会导致土壤退化, 有机肥养分的释放速率又无法及时匹配作物生长需求, 但有机无机配

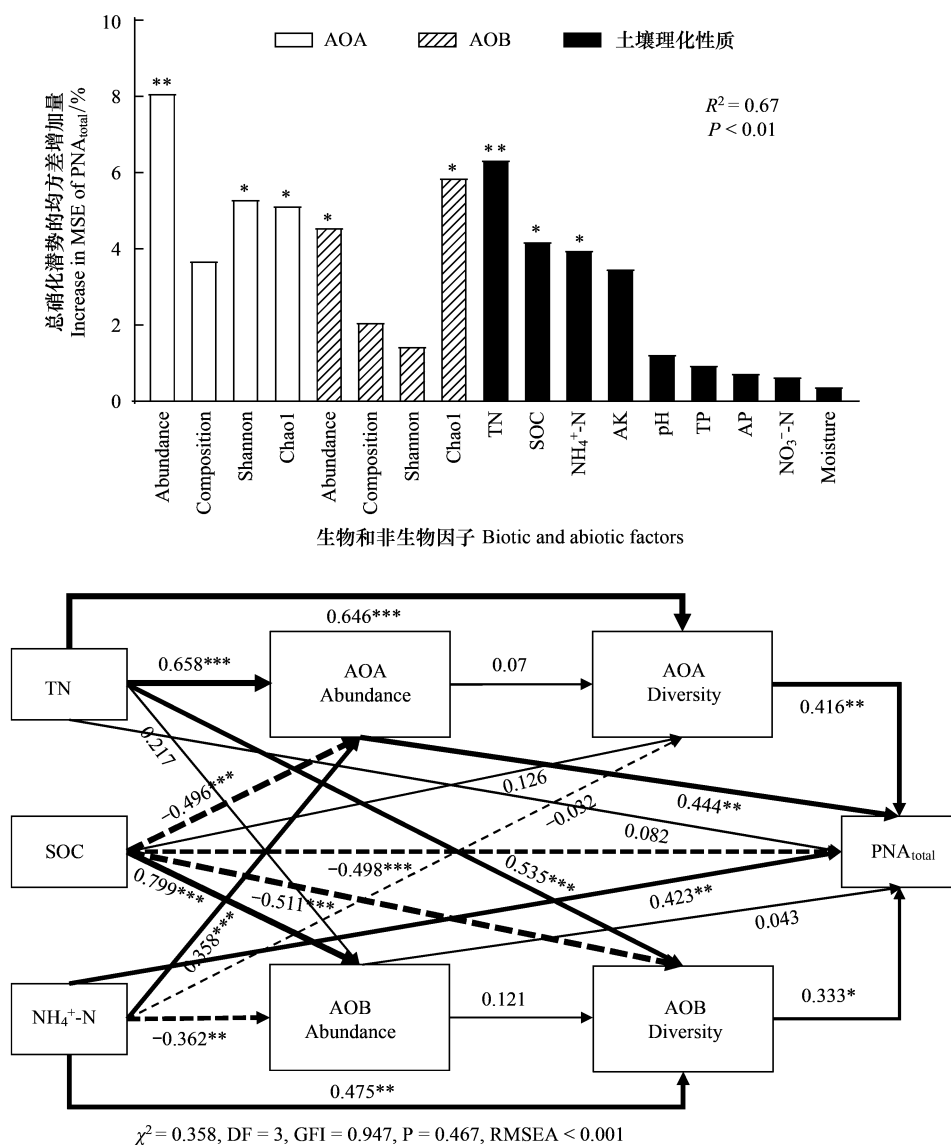


图6 随机森林分析生物因子和非生物因子对土壤硝化潜势(PNA_{total})的平均预测重要性;土壤硝化潜势(PNA_{total})影响因子的结构方程模型

Fig.6 Mean predictor importance (% of increased mean square error, MSE) of abiotic and biotic factors on PNA_{total} based on random forest analysis; Structural equation modelling (SEM) to predict the influence factors of PNA_{total}

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$; 单箭头表示数据之间的因果关系, 箭头上的数字表示标准化的路径系数, 连线的粗细和路径系数呈比例缩放。实线表示正相关, 虚线表示负相关; Abundance: amoA 基因的拷贝数, Diversity: 群落的 Chao 1 指数, PNA_{total}: AOA 与 AOB 的总硝化潜势

施则有利于稳定土壤肥力^[23]。施用秸秆、猪粪和生物炭都被证实能够直接或间接地提升土壤肥力, 对作物生长产生积极影响^[24-26]。本研究中, 三种秸秆还田处理下 SOC、TN、TP、AP、AK、NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 含量均显著高于 CK 和 NPK 处理, 表明不同秸秆还田处理都显著提高了土壤肥力。秸秆中含有大量较稳定的木质素、纤维素和半纤维素, 秸秆分解是农田有机碳的重要来源, 秸秆还田可以增加土壤 SOC 含量。郝翔翔等^[27]研究发现秸秆还田能够显著增加土壤团聚体中 SOC 含量。Chen 等^[28]研究发现施用生物炭具有“负激发”效应, 抑制了微生物的碳矿化作用, 有助于增加土壤 SOC 库容容量, 这与本研究结果一致, NPKB 处理土壤 SOC 含量最高。秸秆还田可以促进土壤无机氮的供应^[29], 但是秸秆 C/N 比较高, 其中有机氮在矿化中具有缓释

效应,在腐解过程中易造成土壤碳氮比失衡,因此需要补充一定量的外源氮素配合施入^[30]。施肥导致土壤中氮素含量增加,土壤中 NO_3^- -N 会随之增加^[31-32]。与秸秆相比,猪粪 C/N 比低的特性能够激发秸秆氮快速矿化,而且猪粪本身含有较高的 SOC 和 NH_4^+ -N^[23,33],因此秸秆猪粪配施在促进秸秆中有机氮矿化的同时,还能够增加土壤碳氮含量。本研究中秸秆还田显著增加土壤 PNA,表明肥力较高的土壤 PNA 较高。在不同秸秆还田处理下,有机无机配施能够显著影响土壤性质和 PNA,秸秆猪粪配施能够快速提升土壤肥力,并维持土壤氮素平衡供应^[34-35]。

3.2 不同秸秆还田处理对根际氨氧化微生物群落结构和多样性的影响

土壤中硝化作用的主要参与者是氨氧化微生物,许多研究报道土壤氮素形态和 pH 是影响氨氧化微生物丰度的驱动因子^[36]。长期施肥处理下养分投入量的差异,引起土壤养分含量改变,进而影响土壤氨氧化微生物群落组成、丰度变化^[12]。在本研究中,土壤中 AOA 丰度显著高于 AOB 丰度,这主要是由于 pH 值决定了 AOA 和 AOB 的生态位分异,AOA 适宜于在酸性环境中,而 AOB 更倾向于碱性环境^[37-38],不同秸秆还田处理虽然影响了土壤 pH,但整体上土壤仍呈强酸性。秸秆还田为 AOA 和 AOB 生长提供大量的碳源和氮源,刺激不同的 AOA 和 AOB 类群在根际土壤定殖^[39]。与高珍珍等^[39]和黄容等^[40]的研究不同,本研究发现秸秆还田处理下土壤 AOA 和 AOB 多样性指数以及群落结构均发生显著改变,这可能是由于施用秸秆、猪粪和生物炭促进了一些特定 AOA 和 AOB 类群的生长。对比 CK 和 NPK 处理,NPKS、NPKSM 和 NPKB 处理均显著增加了 AOA 群落中 *Nitrososphaera* Cluster 9 和 AOB 群落中 *Nitrosospira* Cluster 3a 类群的相对丰度,导致多样性指数和群落结构的改变。长期有机无机配施导致土壤中 NH_4^+ -N 浓度发生明显变化,进而影响了群落组成和多样性^[41]。在本研究中 NPKS、NPKSM、NPKB 处理的土壤 NH_4^+ -N 浓度明显增加,表明不同秸秆还田作为底物供应,刺激了土壤中 AOA 和 AOB 群落变化。

3.3 不同秸秆还田处理对根际氨氧化微生物群落功能的影响

硝化作用与土壤有机氮矿化、氮素肥力的供应密切相关,是根际氮素内循环的中心环节,其发生和速率不仅受到土壤中氨氧化微生物丰度和活性的制约,还受环境因子的综合作用,例如 pH、有机碳、磷素和氮素含量等^[42]。本研究中,相关性和随机森林分析表明不同秸秆还田处理下土壤 TN、SOC、AP、 NH_4^+ -N,以及 AOA 和 AOB 丰度与多样性均是土壤 PNA 的主要影响因素。He 等^[22]研究表明有机无机配施通过提供基质、养分和适宜的生存环境刺激 AOA 和 AOB 生长,猪粪自身携带的和秸秆分解矿化产生的大量 NH_4^+ -N,能够促进土壤 PNA 增加。与王萍萍等^[43]和 Chen 等^[44]研究一致,土壤 PNA 与 TN 含量呈显著正相关关系,这可能因为秸秆还田作为输入底物,为 AOA 和 AOB 生长需求提供大量的有效养分。相比 CK 和 NPK 处理,NPKSM 处理下 AOA 和 AOB 种属变化明显,优势菌转变为硝化能力更强的 *Nitrososphaera* Cluster 3a^[45],因此 AOA 和 AOB 丰度和多样性变化是土壤硝化潜势升高的主要原因之一。Zhang 等^[46]研究发现在中国南方红壤中 AOA 主导土壤硝化作用,这与本研究结果一致,AOA 群落的 PNA_{AOA} 显著高于 AOB,随机森林分析表明 AOA 群落丰度是 $\text{PNA}_{\text{total}}$ 最重要的预测因子,AOA 丰度明显高于 AOB 丰度,表明酸性土壤中 AOA 在与 AOB 竞争养分的过程中可能处于优势地位,这为 AOA 主导土壤硝化作用提供了有力证据。本研究发现 NH_4^+ -N 和 TN 通过 AOA 丰度和 AOB 多样性对 $\text{PNA}_{\text{total}}$ 产生正向影响,研究学者证实 TN 和 NH_4^+ -N 增加对土壤 AOA 丰度和 AOB 多样性产生正反馈效应^[34-35]。秸秆还田处理通过改变土壤养分状况影响氨氧化微生物丰度和多样性,进而决定了土壤硝化潜势。

4 结论

不同秸秆还田处理显著改变了根际红壤的养分含量,AOA 与 AOB 丰度、多样性以及群落结构均发生明显变化。相较于 CK 和 NPK 处理,秸秆还田处理通过增加土壤 SOC、TN、TP、AP、AK、 NO_3^- -N 和 NH_4^+ -N 含量,显著提高了 AOA 和 AOB 丰度和多样性,其中 NPKSM 处理增加最显著。土壤养分含量、AOA、AOB 群落变化与硝化潜势显著相关,其中 NH_4^+ -N 和 TN 通过 AOA 丰度和 AOB 多样性对 $\text{PNA}_{\text{total}}$ 产生正反馈效应。本研究揭

示了秸秆还田对根际氨氧化微生物群落和 PNA 的影响机制,其中秸秆猪粪配施处理的提升效果最佳,为提升微生物多样性和快速培育红壤地力提供了理论依据。

参考文献 (References):

- [1] Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini M T, Landi L, Pietramellara G, Renella G. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54(4): 655-670.
- [2] 郑洁, 刘金福, 吴则焰, 洪伟, 何中声, 蓝亦琦, 刘思迪. 闽江河口红树林土壤微生物群落对互花米草入侵的响应. *生态学报*, 2017, 37(21): 7293-7303.
- [3] Li H, Su J Q, Yang X R, Zhu Y G. Distinct rhizosphere effect on active and total bacterial communities in paddy soils. *Science of the Total Environment*, 2019, 649: 422-430.
- [4] Bai R, Xi D, He J Z, Hu H W, Fang Y T, Zhang L M. Activity, abundance and community structure of anammox bacteria along depth profiles in three different paddy soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 91: 212-221.
- [5] Nunes-Alves C. Do it yourself nitrification. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(2): 61-61.
- [6] Kits K D, Sedlacek C J, Lebedeva E V, Han P, Bulaev A, Pjevac P, Daebeler A, Romano S, Albertsen M, Stein L Y, Daims H, Wagner M. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle. *Nature*, 2017, 549(7671): 269-272.
- [7] Wang Z H, Cao Y Q, Zhu-Barker X, Nicol G W, Wright A L, Jia Z J, Jiang X J. Comammox *Nitrospira* clade B contributes to nitrification in soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 135: 392-395.
- [8] Zhang H L, Bai N L, Sun H F, Zhou S, Zheng X Q, Li S X, Zhang J Q, Zhang H Y, Lv W G. Spatial and temporal responses of ammonia-oxidizing bacteria and archaea to organic amendments in rice-wheat rotation system. *Applied Soil Ecology*, 2019, 139: 94-99.
- [9] Prosser J I, Nicol G W. Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: the quest for niche specialisation and differentiation. *Trends in Microbiology*, 2012, 20(11): 523-531.
- [10] Martens-Habben W, Berube P M, Urakawa H, de la Torre J R, Stahl D A. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria. *Nature*, 2009, 461(7266): 976-979.
- [11] 孙波, 梁音, 徐仁扣, 彭新华, 王兴祥, 周静, 李忠佩, 赵学强. 红壤退化与修复长期研究促进东南丘陵区生态循环农业发展. *中国科学院院刊*, 2018, 33(7): 746-757.
- [12] Wu Y C, Guo Y, Lin X G, Zhong W H, Jia Z J. Inhibition of bacterial ammonia oxidation by organohydrazines in soil microcosms. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3: 10.
- [13] Su J Q, Ding L J, Xue K, Yao H Y, Quensen J, Bai S J, Wei W X, Wu J S, Zhou J Z, Tiedje J M, Zhu Y G. Long-term balanced fertilization increases the soil microbial functional diversity in a phosphorus-limited paddy soil. *Molecular Ecology*, 2015, 24(1): 136-150.
- [14] Li Z P, Liu M, Wu X C, Han F X, Zhang T L. Effects of long-term chemical fertilization and organic amendments on dynamics of soil organic C and total N in paddy soil derived from barren land in subtropical China. *Soil and Tillage Research*, 2010, 106(2): 268-274.
- [15] Moreau D, Bardgett R D, Finlay R D, Jones D L, Philippot L. A plant perspective on nitrogen cycling in the rhizosphere. *Functional Ecology*, 2019, 33(4): 540-552.
- [16] 赵秀玲, 任永祥, 赵鑫, 濮超, 张向前, 张海林. 华北平原秸秆还田生态效应研究进展. *作物杂志*, 2017, (1): 1-7.
- [17] Tosti G, Benincasa P, Farneselli M, Pace R, Tei F, Guiducci M, Thorup-Kristensen K. Green manuring effect of pure and mixed barley-hairy vetch winter cover crops on maize and processing tomato N nutrition. *European Journal of Agronomy*, 2012, 43: 136-146.
- [18] Yu Z, Chen L, Pan S, Li Y, Kuzyakov Y, Xu J, Brookes P C, Luo Y. Feedstock determines biochar - induced soil priming effects by stimulating the activity of specific microorganisms. *European Journal of Soil Science*, 2018, 69(3): 521-534.
- [19] 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.
- [20] Jiang Y J, Sun B, Li H X, Liu M Q, Chen L J, Zhou S. Aggregate-related changes in network patterns of nematodes and ammonia oxidizers in an acidic soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 88: 101-109.
- [21] Taylor A E, Vajjala N, Giguere A T, Gitelman A I, Arp D J, Myrold D D, Sayavedra-Soto L, Bottomley P J. Use of aliphatic *n*-alkynes to discriminate soil nitrification activities of ammonia-oxidizing thaumarchaea and bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(21): 6544-6551.
- [22] He J Z, Shen J P, Zhang L M, Zhu Y G, Zheng Y M, Xu M G, Di H J. Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(12): 3152-3152.
- [23] Xu M G, Tang H J, Yang X Y, Zhou S W. Best soil managements from long-term field experiments for sustainable agriculture. *Journal of Integrative*

- Agriculture, 2015, 14(12): 2401-2404.
- [24] Aytenuw M, Bore G. Effects of organic amendments on soil fertility and environmental quality: a review. *Journal of Plant Sciences*, 2020, 8(5): 112-119.
- [25] 公华锐, 李静, 马军花, 侯瑞星, 张旭博, 欧阳竹. 秸秆还田配施有机无机肥料对冬小麦土壤水氮变化及其微生物群落和活性的影响. *生态学报*, 2019, 39(6): 2203-2214.
- [26] Cai A D, Xu M G, Wang B R, Zhang W J, Liang G P, Hou E Q, Luo Y Q. Manure acts as a better fertilizer for increasing crop yields than synthetic fertilizer does by improving soil fertility. *Soil and Tillage Research*, 2019, 189: 168-175.
- [27] 郝翔翔, 杨春葆, 苑亚茹, 韩晓增, 李禄军, 江恒. 连续秸秆还田对黑土团聚体中有机碳含量及土壤肥力的影响. *中国农学通报*, 2013, 29(35): 263-269.
- [28] Chen L J, Jiang Y J, Liang C, Luo Y, Xu Q S, Han C, Zhao Q G, Sun B. Competitive interaction with keystone taxa induced negative priming under biochar amendments. *Microbiome*, 2019, 7(1): 77.
- [29] 武际, 郭熙盛, 鲁剑巍, 王允青, 张晓玲, 许征宇. 连续秸秆覆盖对土壤无机氮供应特征和作物产量的影响. *中国农业科学*, 2012, 45(9): 1741-1749.
- [30] 赵永超, 李晓鹏, 闫一凡, 王一鸣, 刘建立. 激发式秸秆还田对麦季潮土团聚体中酶活性的影响. *土壤*, 2018, 50(3): 498-507.
- [31] 张燕, 王百群, 何瑞清. 不同施肥下冬小麦生长过程中土壤矿质氮变化及其与冬小麦叶片 SPAD 值的关系. *水土保持研究*, 2016, 23(6): 78-82.
- [32] 王成, 陈波浪, 玉素甫江·玉素音, 王前登, 柴仲平. 施氮量对库尔勒香梨园氨挥发和氧化亚氮排放的影响. *干旱地区农业研究*, 2019, 37(5): 157-164.
- [33] Qiao C L, Liu L L, Hu S J, Compton J E, Greaver T L, Li Q L. How inhibiting nitrification affects nitrogen cycle and reduces environmental impacts of anthropogenic nitrogen input. *Global Change Biology*, 2015, 21(3): 1249-1257.
- [34] Chu H Y, Fujii T, Morimoto S, Lin X G, Yagi K, Hu J L, Zhang J B. Community structure of ammonia-oxidizing bacteria under long-term application of mineral fertilizer and organic manure in a sandy loam soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(2): 485-491.
- [35] Ai C, Liang G Q, Sun J W, Wang X B, He P, Zhou W. Different roles of rhizosphere effect and long-term fertilization in the activity and community structure of ammonia oxidizers in a calcareous fluvo-aquic soil. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 30-42.
- [36] Segal L M, Miller D N, McGhee R P, Loecke T D, Cook K L, Shapiro C A, Drijber R A. Bacterial and archaeal ammonia oxidizers respond differently to long-term tillage and fertilizer management at a continuous maize site. *Soil and Tillage Research*, 2017, 168: 110-117.
- [37] Qin H L, Yuan H Z, Zhang H, Zhu Y J, Yin C M, Tan Z J, Wu J S, Wei W X. Ammonia-oxidizing archaea are more important than ammonia-oxidizing bacteria in nitrification and $\text{NO}_3\text{-N}$ loss in acidic soil of sloped land. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49(6): 767-776.
- [38] Ke X B, Angel R, Lu Y H, Conrad R. Niche differentiation of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers in rice paddy soil. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(8): 2275-2292.
- [39] 高珍珍, 王蓉, 龚松玲, 朱容, 刘章勇, 金涛. 不同类型秸秆还田对稻田土壤氨氧化微生物群落结构的影响. *生态科学*, 2020, 39(4): 66-73.
- [40] 黄容, 高明, 王莹燕, 黎嘉成, 徐国鑫, 罗梅, 徐畅. 紫色土 N_2O 排放及氨氧化微生物群落结构对玉米秸秆与化肥减量配施的响应. *环境科学*, 2019, 40(1): 401-411.
- [41] Shen J P, Zhang L M, Di H J, He J Z. A review of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in Chinese soils. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3: 296.
- [42] 刘建国, 刘卫国. 微生物介导的氮循环过程研究进展. *草地学报*, 2018, 26(2): 277-283.
- [43] 王萍萍, 段英华, 徐明岗, 张水清, 王小利. 不同肥力潮土硝化潜势及其影响因素. *土壤学报*, 2019, 56(1): 124-134.
- [44] Chen X, Zhang L M, Shen J P, Wei W X, He J Z. Abundance and community structure of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in an acid paddy soil. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, 47(3): 323-331.
- [45] Zhou Z F, Shi X J, Zheng Y, Qin Z X, Xie D T, Li Z L, Guo T. Abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in purple soil under long-term fertilization. *European Journal of Soil Biology*, 2014, 60: 24-33.
- [46] Zhang L M, Hu H W, Shen J P, He J Z. Ammonia-oxidizing archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils. *The ISME Journal*, 2012, 6(5): 1032-1045.