

苜蓿种植年限对土壤硝化潜势和 氨氧化微生物丰度的影响

张耀全¹, 马欣¹, 罗珠珠^{1,2}, 牛伊宁²,
李玲玲², 蔡立群^{1,2}, 谢军红²

(1.甘肃农业大学资源与环境学院,甘肃兰州 730070;2.甘肃省干旱生境作物学省部共建国家重点实验室,甘肃兰州 730070)

摘要:依托布设在黄土高原半干旱区的长期定位试验,通过高通量测序研究不同种植年限(L2003、L2005和L2012)苜蓿土壤氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)丰度,并分析揭示了影响氨氧化微生物丰度的环境因子。研究表明,土壤硝化潜势随苜蓿种植年限延长逐渐下降,其中,L2012、L2005和L2003处理硝化潜势分别为0.05、0.04、0.04 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$,且处理间差异显著($P < 0.05$);土壤全氮含量随苜蓿种植年限延长逐渐增加,其中,L2012、L2005和L2003处理的全氮含量分别为1.02、1.14、1.18 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,且处理间差异显著($P < 0.05$),L2003和L2005处理的全氮含量分别比L2012高15.69%和11.76%;土壤硝态氮含量表现为随种植年限延长显著增加($P < 0.05$),L2003处理和L2005处理硝态氮含量分别比L2012处理提高59.73%和33.62%。高通量测序发现,AOA amoA基因拷贝数为 $9.75 \times 10^6 \sim 12.68 \times 10^6$ 个 $\cdot \text{g}^{-1}$,明显高于AOB的 $5.01 \times 10^6 \sim 7.70 \times 10^6$ 个 $\cdot \text{g}^{-1}$,AOA丰度随苜蓿种植年限延长显著增加($P < 0.05$),但AOB丰度表现出随种植年限延长先升高后降低的趋势,这表明黄土高原半干旱区苜蓿土壤氨氧化微生物以AOA占主导地位。相关分析表明,AOA丰度与土壤全氮($r = 0.853$)和硝态氮($r = 0.833$)均呈极显著正相关,但与硝化潜势($r = -0.802$)呈极显著负相关,AOB丰度与土壤氮素含量和硝化潜势没有明显相关性。由此可见,黄土高原半干旱区苜蓿土壤氨氧化微生物以AOA为优势类群,且对苜蓿种植年限有更强烈的响应,但其并未主导土壤硝化过程。

关键词:苜蓿;种植年限;氨氧化微生物丰度;硝化潜势;土壤氮素

中图分类号:S551⁺.7;S151.9⁺4 **文献标志码:**A

Effects of years of alfalfa planting on nitrification potential and abundance of soil ammonia oxidation microorganisms

ZHANG Yaoquan¹, MA Xin¹, LUO Zhuzhu^{1,2}, NIU Yining²,
LI Lingling², CAI Liqun^{1,2}, XIE Junhong²

(1.Resource and Environmental Faculty of Gansu Agricultural University, Lanzhou, Gansu 730070, China;

2.Gansu Key Laboratory of Aridland Crop Science, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: This experiment relied on the alfalfa (*Medicago sativa*) cultivation with different planting years (L2003, L2005, and L2012) on Loess Plateau. We investigated the soil nitrate N, ammonium N, nitrification potential, the abundance of ammonia oxidization Archaea (AOA) and ammonia oxidization Bacteria (AOB), and analyzed the effects of physicochemical indexes on the abundance of ammonia-oxidizing microorganisms. The results showed that the nitrification potential of soil gradually decreased with increasing years of alfalfa planting and different years of planting had significant differences ($P < 0.05$), which nitrification potentials of L2012, L2005 and L2003 were 0.05, 0.04 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ and 0.04 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, respectively. Soil total N gradually significantly increased with increasing years of alfalfa planting ($P < 0.05$), which total nitrogen contents of L2012, L2005 and

收稿日期:2019-10-08

修回日期:2020-08-18

基金项目:国家自然科学基金(31860364,31560379,41461067);甘肃省国际科技合作基地项目(GSPT-2018-56);甘肃省科技计划项目(18JR3RA175);甘肃农业大学学科建设基金项目(GAU-XKJS-2018-195)

作者简介:张耀全(1994-),男,甘肃兰州人,硕士,研究方向为土壤生态。E-mail:1078415443@qq.com

通信作者:罗珠珠(1979-),女,甘肃天水人,教授,博导,主要从事农业生态研究。E-mail:Luozz@gsau.edu.cn

L2003 were 1.02, 1.14 g · kg⁻¹ and 1.18 g · kg⁻¹, respectively. The total N contents of L2003 and L2005 were higher than L2012 by 15.69% and 11.76%, respectively. Soil nitrate N significantly increased gradually with increasing years of alfalfa planting ($P < 0.05$). The soil nitrate N contents of L2003 and L2005 were higher than that of L2012 by 59.73% and 33.62%, respectively. The number of copies of AOA amoA gene was $9.75 \times 10^6 \sim 12.68 \times 10^6 \cdot g^{-1}$, which was significantly higher than $5.01 \times 10^6 \sim 7.70 \times 10^6 \cdot g^{-1}$ of AOB, and the AOA abundance gradually increased with increasing the years of alfalfa planting significantly. The AOB abundance showed a significant trend of increasing first and then decreasing with increasing years of alfalfa planting ($P < 0.01$). This indicates that AOA was the dominant microorganism of ammonia oxidation in alfalfa soil in semi-arid area of loess plateau. The correlation analysis showed that AOA abundance was significantly positively correlated with total N ($r = 0.853$) and nitrate N ($r = 0.833$) but significantly negatively correlated with nitrification potential ($r = -0.802$), and AOB abundance was not significantly correlated with physicochemical properties. The results also showed that AOA was the dominant group of ammonia-oxidizing microorganisms in alfalfa soil in the semi-arid area of the Loess Plateau, which had a stronger response to alfalfa growth years, but it did not lead the soil nitrification process.

Keyword: alfalfa; years of planting; ammonia-oxidizing microorganisms abundance; nitrification potential; soil nitrogen

紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 是豆科苜蓿属多年生草本植物, 是西部黄土高原退耕还林的主要草种^[1], 它不仅耐贫瘠, 产量高^[2], 而且具有土壤改良、培肥地力、植物修复等众多生态功能。苜蓿的根瘤可以固定空气中的游离氮, 从而增加土壤氮素含量, 同时苜蓿地上部枯枝落叶及地下部凋亡的须根可以经微生物分解增加土壤有机碳含量, 改善土壤质量^[3]。有研究发现苜蓿在水土保持方面也有着重要作用, 主要是因为苜蓿在生长期可以完全遮蔽地表, 提高表层土壤抗冲蚀的能力, 并且其根部深入土壤, 能提高土壤聚合力, 从而达到减少土壤侵蚀, 防止土壤质量退化的目的^[4-7]。我国西北黄土高原地区属于旱半干旱气候, 降雨量少, 地表植物稀疏, 土壤肥力低下, 沟壑纵横, 长期以来土壤水蚀非常严重, 生态环境极度脆弱^[8]。紫花苜蓿由于抗逆性强, 长期以来一直是该地区生态恢复的首选牧草, 在生态环境修复、土壤结构改善及土壤肥力提升方面发挥着重要作用。

氮循环是地球生物圈内最基础的一种物质循环过程, 它包括固氮作用、氨化作用、硝化作用和反硝化作用, 硝化作用作为整个氮循环的中心步骤, 在整个过程中扮演着重要角色^[9], 经氨氧化微生物作用的氨氧化过程作为硝化过程的第一步, 起着限速作用, 决定了植物对氮素的利用形态^[10], 它主要是在含有氨单加氧酶 (amo) 的氨氧化古菌 (Ammonia-Oxidizing Archaea, AOA) 和氨氧化细菌 (Ammonia-Oxidizing Bacteria, AOB) 的作用下将土壤中的氨转化为硝酸盐^[11], 因此氨单加氧酶常被用来检测样本中氨氧化微生物的标记基因^[12]。有研

究认为土壤 pH^[13]、有机碳^[14]、氮素类型及含量^[15]等均会影响土壤中氨氧化微生物的丰度。NH₄⁺ 的可利用性是决定氨氧化细菌、氨氧化古菌生态位点的主要因素^[16], 氨氧化细菌丰度只有在土壤高浓度 NH₄⁺ 的情况下与 NH₄⁺ 浓度显著正相关^[17], 在低浓度 NH₄⁺ 的情况下, AOA 在氨氧化过程中比 AOB 发挥着更大的作用^[18]; 在 NO₃⁻ 浓度较高的情况下, 土壤硝化速率保持在较高水平, 促进了氨氧化细菌的繁殖, 相对降低了氨氧化古菌的丰度^[19]。

目前, 关于西部黄土高原紫花苜蓿的研究大都集中在不同种植年限苜蓿的水分效应^[5, 20-21]、地上生物量^[2, 6]、温室气体排放^[22]等方面, 而关于土壤微生物介导的养分循环过程相对较少, 特别是氮素转化的关键步骤——氨氧化过程研究几乎未见报道。苜蓿种植可以提高土壤氮固存, 但土壤氮增加达到峰值的年限因研究区域不同而异。有研究表明种植苜蓿的第 3 年固氮作用开始体现, 随着种植年限的延长苜蓿的固氮量增加^[23]。紫花苜蓿种植前 5 a 为土壤全氮增长期, 之后土壤全氮含量就开始降低, 总体呈现出周期变化^[24]。邵继承等^[25]研究认为土壤全氮含量因苜蓿种植年限的延长而逐渐增加, 但其增长率是随着年限的增加而降低的。徐艳霞等^[26]研究认为, 苜蓿草地土壤氮素含量在生长旺盛期呈下降趋势, 在衰败期呈现逐渐增加的趋势。这些在特定的气候条件和土壤条件下得出的结论表明, 气候和土壤质地等环境条件不同, 种植年限对苜蓿草地土壤氮素的影响也不尽相同, 但这些研究均未从影响土壤氮素循环转化的微生物角度进行探讨。因此, 本研究以生长旺盛期 (L2012) 和衰

退期(L2005和L2003)的紫花苜蓿为研究对象,通过探讨苜蓿由盛转衰后其土壤全氮、硝(铵)态氮、硝化潜势以及氨氧化微生物丰度的变化趋势,以期明确种植年限对影响土壤氮素转化的微生物学机制,亦可为黄土高原苜蓿适宜种植年限的确定提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验设置在甘肃省定西市李家堡镇麻子川村的甘肃农业大学旱作农业综合试验站(104°44' E, 35°27' N),于2012年实施。该站地处黄土高原中部,属于典型的雨养农业区,年均太阳辐射592.9 kJ·cm⁻²,全年光照2476.6 h,年均气温6.4℃,≥0℃年积温2933.5℃,≥10℃年积温2239.1℃;无霜期140 d,年均降水400 mm,年蒸发量1531 mm。土壤类型为黄绵土。土壤容重(BD)、有机碳(SOC)、全氮(TN)、全磷(TP)、全钾(TK)及pH值等基础理化性质见表1。

1.2 试验设计

所选品种为当地传统品种陇东苜蓿,试验共设3个处理,分别为2003年(L2003)、2005年(L2005)、2012年(L2012)建植的紫花苜蓿,各小区面积均为3 m×7 m=21 m²,3次重复,种植期间未施肥灌水,各处理田间管理保持一致,每年刈割2次(6月和9月)。

1.3 土壤样品采集

于2018年5月20日,采集苜蓿头茬花期0~30 cm土层土壤,各小区均采用传统五点取样法采集土壤样品,将样品混匀后,装入灭菌自封袋,干冰保存,及时带回实验室,将土样分为3部分,一部分放入-80℃冰箱用于氨氧化微生物丰度的测定,一部分鲜土保存在4℃冰箱中,测定硝态氮、铵态氮含量及硝化潜势,剩余土样风干后测定土壤全氮含量。

1.4 指标测定

1.4.1 土壤TN、NO₃⁻-N、NH₄⁺-N的测定 土壤TN采用浓硫酸消煮-凯氏定氮法测定;NO₃⁻-N和NH₄⁺-N采用2 mol·L⁻¹KCl溶液为浸提液,以5:1水土比浸提土壤中的可溶性氮,利用半自动化学间断分析仪(Smart Chem AST-6500S)测定。

1.4.2 土壤硝化潜势的测定 土壤硝化潜势(Nitrification potential, NP)测定采用氯酸盐抑制法^[19]。称取5 g鲜土并加入20 mL含1 mM (NH₄)₂SO₄的磷酸盐缓冲液,并加入少量0.2 mol·L⁻¹KClO₃溶液,抑制亚硝酸盐的氧化;将其放入恒温震荡培养箱

中遮光培养24 h后,加入10 mL的2 mol·L⁻¹KCl溶液浸提土壤并震荡1 h,过滤,滤液用来测定亚硝态氮含量,显色剂为N-(1-萘基)-乙二胺,用紫外分光光度计于540 nm波长下测定,单位时间内土壤中增加的亚硝态氮含量即为硝化潜势。

1.4.3 氨氧化微生物丰度的测定 由上海美吉生物医药科技有限公司进行氨氧化微生物丰度测定,共使用2对引物 Arch-amoAF/Arch-amoAR^[27]和 AmoA-1F/AmoA-2R^[28],如表2,PCR采用TransGen AP221-02;TransStartFastpfu DNA Polymerase,PCR仪为ABI7500型荧光定量PCR仪。PCR反应体系(20 μL):2×PCR mix 10 μL,上、下游引物(5 μmol·L⁻¹)各0.8 μL,模板1 μL,补足dd无菌H₂O至20 μL。PCR反应条件:预变性,95℃,5 min;变性,95℃,45 s;退火,58℃(AOA),60℃(AOB),30 s;延伸,72℃,1 min,35个循环。完成上述步骤后,把加好样本的96孔板放在ABI 7500型荧光定量PCR仪中进行反应。共设3个平行实验,以无菌水为空白阴性对照。

1.5 数据处理与分析

数据整理及作图用Excel 2010完成,显著性差异和相关性分析采用SPSS 22.0完成。

2 结果与分析

2.1 不同苜蓿种植年限对土壤硝化潜势的影响

硝化作用将氨氧化成亚硝态氮以及硝态氮,硝化潜势可表征其硝化速率。不同种植年限苜蓿土壤硝化潜势如图1所示。种植年限显著影响苜蓿土壤的硝化潜势,L2012处理土壤硝化潜势最高,为0.05 μg·g⁻¹·h⁻¹,随苜蓿种植年限延长,土壤硝化潜势逐渐降低。统计结果分析显示,L2012处理硝化潜势显著高于L2003和L2005处理(P<0.05),增幅达25%。

表1 土壤基础理化性质

土层深度 Soil depth	容重 BD	pH	有机碳 SOC	全氮 TN	全磷 TP	全钾 TK
/cm	/(g·cm ⁻³)		/(g·kg ⁻¹)	/(g·kg ⁻¹)	/(g·kg ⁻¹)	/(g·kg ⁻¹)
0~30	1.30	8.30	6.79	0.80	0.79	15.19

表2 目标基因的引物名称及引物序列

目的基因 Target group	引物名称 Primer	引物序列 5'-3' Primer sequence(5'-3')
AOA	Arch-amoAF	STAATGGTCTGCGCTTAGACC
	Arch-amoAR	GCGCCATCCATCTGTATGT
AOB	AmoA-1F	GGGGTTTCTACTGCTGGT
	AmoA-2R	CCCCTCKGSAAGCCCTTCTTC

注:F为上游引物,R为下游引物。

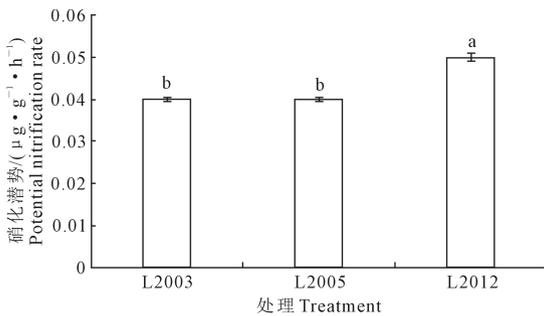
Note:F is upstream primer and R is downstream primer.

2.2 不同苜蓿种植年限对土壤全氮、硝态氮和铵态氮的影响

不同种植年限苜蓿土壤全氮、硝态氮及铵态氮含量如表 3。延长苜蓿种植年限可以提高表层土壤中的全氮及硝态氮含量,且随苜蓿种植时间延长,土壤全氮、硝态氮差异显著。其中 L2003 处理和 L2005 处理土壤全氮含量显著高于 L2012 处理($P<0.05$),分别高 15.69% 和 11.76%;L2003 处理和 L2005 处理硝态氮含量较 L2012 处理增加 59.73% 和 33.62%。土壤铵态氮则对苜蓿种植年限没有明显的响应。

2.3 不同苜蓿种植年限对氨氧化微生物丰度的影响

不同种植年限苜蓿土壤中 AOA 基因拷贝数为 $9.75 \times 10^6 \sim 12.68 \times 10^6$ 个 $\cdot g^{-1}$, AOB 基因拷贝数为 $5.01 \times 10^6 \sim 7.70 \times 10^6$ 个 $\cdot g^{-1}$,且各处理中 AOA 丰度均高于 AOB(图 2)。在表层土壤中, AOA 丰度随种植年限延长显著增加($P<0.05$), L2003 和 L2005 处理 AOA 丰度较 L2012 处理分别增加 30.26% 和 22.05%; AOB 丰度随苜蓿种植年限延长先升高后降低, L2005 处理 AOB 基因拷贝数显著高于 L2003 处理和 L2012 处理($P<0.05$),增幅分别为 44.74% 和 53.69%; AOA : AOB 的比值为 1.55 ~ 2.38, 呈现出先降低后增加的趋势。综合来看,随着苜蓿种植年限



注:不同字母代表差异显著($P<0.05$)。

Note: Different letter represent significant differences among treatments ($P<0.05$).

图 1 不同苜蓿种植年限对土壤硝化潜势的影响

Fig.1 Effects of different alfalfa planting years on soil potential nitrification rate

的增加, AOA 和 AOB 的丰度均呈增加趋势,其比值呈现出先降低后增加的变化趋势。

2.4 土壤氨氧化微生物丰度与氮素、硝化潜势的相关性分析

土壤氨氧化微生物丰度与氮素、硝化潜势的相关分析表明(表 4),氨氧化古菌(AOA)丰度受到土壤硝化潜势($r=-0.802$)、全氮($r=0.853$)和硝态氮含量($r=0.833$)共同影响,其中土壤硝化潜势与全氮含量、AOA 丰度呈极显著负相关($P<0.01$),与土壤硝态氮呈显著负相关关系($P<0.05$);土壤全氮与 AOA 丰度呈极显著正相关($P<0.01$),与硝态氮含量具有显著正相关关系($P<0.05$);氨氧化细菌(AOB)丰度与土壤理化性质没有明显的相关性。

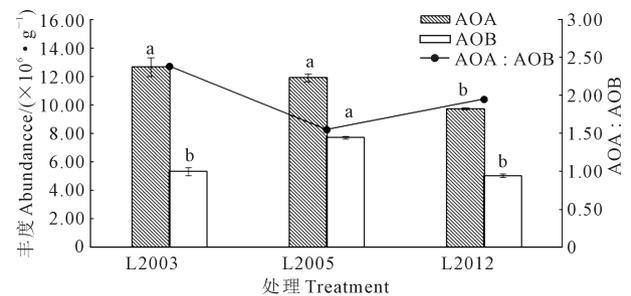
表 3 不同苜蓿种植年限对土壤全氮和硝、铵态氮的影响

Table 3 Effects of different alfalfa planting years on soil total nitrogen, nitrate nitrogen and ammonium nitrogen

处理 Treatment	全氮 TN/(g·kg ⁻¹)	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/(mg·kg ⁻¹)	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/(mg·kg ⁻¹)
L2003	1.18±0.00a	2.56±0.31a	12.97±0.72a
L2005	1.14±0.04a	2.34±0.18a	10.85±0.10b
L2012	1.02±0.03b	2.43±0.11a	8.12±0.45c

注:同列不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Different letters in the same column represent significant differences among treatments ($P<0.05$).



注:同一指标不同字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different letters in the same index indicate significant differences among treatments ($P<0.05$).

图 2 不同苜蓿种植年限对土壤 AOA 和 AOB 丰度的影响

Fig.2 Effects of different alfalfa planting years on soil AOA and AOB abundance

表 4 土壤氨氧化微生物丰度与土壤氮素、硝化潜势相关分析

Table 4 Pearson correlation between abundance of AOA and AOB and potential nitrification, soil N

指标 Item	硝化潜势 Nitrification potential	全氮 TN	硝态氮 NO ₃ ⁻ -N	铵态氮 NH ₄ ⁺ -N	AOA	AOB
硝化潜势 Potential nitrification	1	-0.810**	-0.730*	-0.065	-0.802**	-0.654
全氮 TN		1	0.749*	0.208	0.853**	0.321
硝态氮 NO ₃ ⁻ -N			1	-0.022	0.833**	0.194
铵态氮 NH ₄ ⁺ -N				1	0.416	-0.157
AOA					1	0.385
AOB						1

注: * 代表显著相关($P<0.05$), ** 代表极显著相关($P<0.01$)。

Note: * represents significant correlation ($P<0.05$), ** represents highly significant correlation ($P<0.01$).

3 讨论

北方旱地土壤中的作物对氮素的吸收主要以硝态氮($\text{NO}_3\text{-N}$)为主,当土壤中氮素含量升高时,土壤中的硝态氮也会大量增加,导致向大气中挥发的氮素含量也随之增加,从而降低了氮素的可利用性;因此,在降低土壤氮素损失并提高有效氮利用率的过程中,调控土壤硝态氮含量变得尤为关键^[29]。本研究结果发现,种植年限长的苜蓿土壤全氮含量和硝态氮含量均显著高于种植年限短的苜蓿土壤。长期种植紫花苜蓿后,其生长阶段由旺盛期进入衰败期,地上生物量逐渐减少,植株对养分的需求量也逐渐降低,而其根部由于根瘤菌的侵入,刺激根部膨大形成的根瘤-苜蓿根共生关系更加稳定,固氮能力也相对加强;此外,逐年累积的地上部枯枝落叶和地下部生物的死亡腐烂均会提高土壤有机氮和无机氮含量^[30]。但是,本研究土壤硝化潜势随着苜蓿种植年限的延长而降低,与土壤全氮和硝态氮变化趋势相反,这可能与长期种植苜蓿引起土壤磷素水平显著降低有关,因为土壤P素供应显著影响土壤N素硝化作用^[31]以及氨氧化细菌和古菌的多样性^[32]。硝化潜势强的短种植年限苜蓿土壤硝态氮含量显著低于种植年限长的苜蓿土壤,可能是由于年限较短的苜蓿土壤中氨氧化微生物发生了较为强烈的反硝化作用,将亚硝酸盐还原为 N_2O ,进而显著降低土壤硝态氮含量^[33]。另外,本研究发现土壤硝化潜势与全氮、硝态氮含量呈显著负相关,这与前人^[34]研究结果并不一致。说明土壤硝化潜势可能受多种环境因子的调控,特别是受到土壤微生物生物量碳氮、全氮和硝态氮的协同作用,而土壤微生物生物量碳氮的贡献更高^[34],本研究后续将进一步加强硝化潜势与土壤微生物量碳氮关系的相关研究。

土壤微生物是土壤生态系统中的重要组成部分,在土壤物质循环、有机物的合成和分解、土壤质量改善、土壤肥力的提升以及作物的生长和病虫害防治等方面均发挥重要的作用^[35]。氨氧化微生物是参与硝化作用的最主要微生物,是硝化过程的第一步,也是限速步骤,其丰度与氮素形态及土壤pH显著相关^[9,12,15]。北方碱性土壤中,氨氧化细菌是硝化作用的主要驱动者,而南方酸性土壤中,硝化作用则主要由氨氧化古菌主导^[36-38]。这些结果一致证实了AOA和AOB生态位分异的特征,AOB倾向于在高氮pH值中性或碱性的环境中起主导作用,而AOA则更适宜于在酸性及低氮高的土壤中占

主导优势^[39-40]。本试验研究发现,黄土高原半干旱雨养区苜蓿土壤AOA丰度显著高于AOB,说明由于土壤低氮环境使得AOA演变为优势类群。本研究相关分析发现,硝化潜势和AOA丰度呈显著负相关,而与AOB并无明显相关关系。这表明黄绵土区苜蓿土壤硝化潜势变化与氨氧化微生物丰度变化并不一致,也说明氨氧化微生物群落丰度与其活性之间存在不一致的关系。据此可以推断,除了AOB和AOA这2类半程氨氧化微生物之外,还存在其他类型的氨氧化微生物主导着黄绵土区苜蓿土壤的硝化过程,因为已有研究发现,属于硝化螺菌门谱系II的全程氨氧化微生物(Comammox)广泛分布于农业土壤、森林土壤、稻田水域、淡水等自然环境中,其对底物 NH_3 的亲合力远高于大多数可培养的AOA物种,能够更好地适应极低 NH_3 浓度的胁迫环境^[41]。

4 结论

黄土高原半干旱区长期种植苜蓿后,土壤氨氧化古菌(AOA)数量显著高于氨氧化细菌(AOB),土壤氮素含量显著影响AOA丰度,这表明黄土高原半干旱区苜蓿土壤氨氧化微生物AOA占主导地位,且对长期种植苜蓿后土壤理化性质的改变更为敏感。种植苜蓿会增加土壤氮素含量,年限显著影响着土壤硝化潜势。但是,土壤硝化潜势由于受多种环境因子的调控,相关分析结果并不能确定主导土壤硝化作用的优势微生物类群。

参考文献:

- [1] 李文静,王振,韩清芳,等.黄土高原人工苜蓿草地固碳效应评估[J].生态学报,2013,33(23):7467-7477.
- [2] 胡安,康颖,陈先江,等.刈割时间对黄土高原紫花苜蓿产量与营养品质的影响[J].草业学报,2017,26(9):57-65.
- [3] 吴旭东,张晓娟,谢应忠,等.不同种植年限紫花苜蓿人工草地土壤有机碳及土壤酶活性垂直分布特征[J].草业学报,2013,22(1):245-251.
- [4] 任丽媛,李宗善,王晓春.基于根部年轮与导管特征的黄土高原苜蓿生长衰退分析[J].生态学报,2019,39(3):1041-1051.
- [5] 李富春,王琦,张登奎,等.坡地打结垄沟集雨对水土流失、紫花苜蓿干草产量和水分利用效率的影响[J].水土保持学报,2018,32(1):147-156,161.
- [6] 孙浩峰,张丽萍,高雅玉,等.半干旱黄土丘陵区坡地紫花苜蓿种植模式与径流的关系[J].草业科学,2014,31(5):922-926.
- [7] 于国强,李占斌,裴亮,等.不同植被类型下坡面径流侵蚀产沙差异性[J].水土保持学报,2012,26(1):1-5.
- [8] Xu G C, Tang S S, Lu K X, et al. Runoff and sediment yield under simulated rainfall on sand-covered slopes in a region subject to wind-water erosion[J]. Environmental Earth Sciences, 2015, 74(3):2523-2530.

- [9] 贺纪正,张丽梅.氨氧化微生物生态学与氮循环研究进展[J].生态学报,2009,29(1):406-415.
- [10] 刘建国,刘卫国.微生物介导的氮循环过程研究进展[J].草地学报,2018,26(2):277-283.
- [11] 董兴水,王智慧,黄学茹,等.硝化作用研究的新发现:单步硝化作用与全程氨氧化微生物[J].应用生态学报,2017,28(1):345-352.
- [12] 李虎,黄福义,苏建强,等.浙江省瓯江氨氧化古菌和氨氧化细菌分布及多样性特征[J].环境科学,2015,36(12):4659-4666.
- [13] Zhou Z F, Shi X J, Zheng Y, et al. Abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in purple soil under long-term fertilization[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, 60(1):24-33.
- [14] 张梦阳,夏浩,吕波,等.短期生物炭添加对不同类型土壤细菌和氨氧化微生物的影响[J].中国农业科学,2019,52(7):1260-1271.
- [15] Segal L M, Miller D N, McGhee R P, et al. Bacterial and archaeal ammonia oxidizers respond differently to long-term tillage and fertilizer management at a continuous maize site [J]. *Soil and Tillage Research*, 2017, 168:110-117.
- [16] Yao H Y, Gao Y M, Graeme W, et al. Links between ammonia oxidizer community structure, abundance, and nitrification potential in acidic soils [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2011, 77(13):4618-4625.
- [17] Shen J P, Zhang L M, Di H J, et al. A review of ammonia oxidizing bacteria and archaea in Chinese soil [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3(8):296-303.
- [18] Van Kessel M A, Speth D R, Albertsen M, et al. Complete nitrification by a single microorganism [J]. *Nature*, 2015, 528(7583):555-559.
- [19] 李会琳,路璐.多环芳烃对不同类型稻田土壤硝化潜势及氨氧化微生物的影响[J].应用与环境生物学报,2019,25(3):584-592.
- [20] 罗珠珠,李玲玲,牛伊宁,等.陇中黄土高原半干旱区苜蓿地土壤干燥化特征及适宜种植年限[J].应用生态学报,2015,26(10):3059-3065.
- [21] 姚毓菲,邵明安,贾玉华,等.生长年限对苜蓿和柠条光合特征及土壤水分的影响[J].干旱地区农业研究,2019,37(2):18-24.
- [22] 李渊,王涛,沈禹颖.黄土高原苜蓿生长年限对草地 N_2O 释放通量的影响[J].干旱区研究,2015,32(5):869-874.
- [23] 闻志彬.种植紫花苜蓿对土壤理化性状的影响[D].咸阳:西北农林科技大学,2008.
- [24] 张文文,刘秉儒,牛荣芳.引黄灌区不同种植年限紫花苜蓿土壤养分与细菌群落特征研究[J].草业学报,2019,28(5):46-54.
- [25] 邵继承,杨恒山,张庆国,等.种植年限对紫花苜蓿人工草地土壤碳、氮含量及根际土壤固氮力的影响[J].土壤通报,2010,41(3):603-607.
- [26] 徐艳霞,黄新育,蓝岚,等.不同种植年限紫花苜蓿田土壤理化性质和酶活性研究[J].黑龙江畜牧兽医,2018,(13):157-160.
- [27] 马丽娟,张慧敏,侯振安,等.长期咸水滴灌对土壤氨氧化微生物丰度和群落结构的影响[J].农业环境科学学报,2019,38(12):2797-2807.
- [28] 郭俊丽,刘毅,魏文学,等.双氰胺和 3,4-二甲基吡唑磷酸盐对蔬菜种植土壤氨氧化细菌和古菌的影响[J].环境科学,2019,40(11):5142-5150.
- [29] 王成,陈波浪,玉素甫江·玉素音,等.施氮量对库尔勒香梨园氨挥发和氧化亚氮排放的影响[J].干旱地区农业研究,2019,37(5):157-164.
- [30] 罗珠珠,牛伊宁,李玲玲,等.黄土高原丘陵沟壑区土壤物理性质对苜蓿种植年限的响应[J].中国生态农业学报,2016,24(11):1500-1507.
- [31] 秦子娟,张宇亭,周志峰,等.长期施肥对中性紫色水稻土氮素矿化和硝化作用的影响[J].中国农业科学,2013,46(16):3392-3400.
- [32] Zhou Z F, Shi X J, Zheng Y, et al. Abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in purple soil under long-term fertilization [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, 60(1):24-33.
- [33] Wang Q, Zhang L M, Shen J P, et al. Nitrogen fertilizer-induced changes in N_2O emissions are attributed more to ammonia-oxidising bacteria rather than archaea as revealed using 1-octyne and acetylene inhibitors in two arable soils [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2016, 52(8):1163-1171.
- [34] 王萍萍,段英华,徐明岗,等.不同肥力潮土硝化潜势及其影响因素[J].土壤学报,2019,56(1):124-134.
- [35] 王亚男,曾希柏,王玉忠,等.设施蔬菜种植年限对氮素循环微生物群落结构和丰度的影响[J].应用生态学报,2014,25(4):1115-1124.
- [36] Hu H W, Zhang L M, Dai Y, et al. pH-dependent distribution of soil ammonia oxidizers across a large geographical scale as revealed by high-throughput pyrosequencing [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(8):1439-1449.
- [37] Zhang L M, Hu H W, Shen J P, et al. Ammonia-oxidizing archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils [J]. *Isme Journal Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2012, 6(5):1032-1045.
- [38] Lu L, Han W Y, Zhang J B, et al. Nitrification of archaeal ammonia oxidizers in acid soils is supported by hydrolysis of urea [J]. *International Society for Microbial Ecology*, 2012, 6(10):1978-1984.
- [39] Qin H L, Yuan H Z, Zhang H, et al. Ammonia-oxidizing archaea are more important than ammonia-oxidizing bacteria in nitrification and NO_3^- -N loss in acidic soil of sloped land [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2012, 49(6):767-776.
- [40] Ke X B, Angel R, Lu Y H, et al. Niche differentiation of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers in rice paddy soil [J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(8):2275-2292.
- [41] Kits K D, Sedlacek C J, Lebedeva E V, et al. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle [J]. *Nature*, 2017, 549(7671):269-272.