文章编号:1000-7601(2024)02-0231-14

doi:10.7606/j.issn.1000-7601.2024.02.25

新疆棉田灰漠土氨氧化微生物群落 对灌溉水盐度和施氮量的响应

郭晓雯,杨茂琪,叶 扬,郭慧娟,闵 伟

(石河子大学农学院,新疆石河子 832003)

摘要:采用灌溉水盐度和施氮量两因素试验,其中灌溉水盐度设置 2 个水平:0.35 dS · m⁻¹(淡水,FW)和 8.04 dS · m⁻¹(咸水,SW),施氮量设 2 个水平:0(不施氮,NO)和 360 kg · hm⁻²(施氮,N360),以咸水滴灌的棉田土壤为材料,测定了土壤理化性质和生物学指标,结果显示:(1)咸水滴灌显著增加土壤 *EC*_{1:5}和 NH⁴₄-N 含量,分别增加了 457.74%和 73.02%,但显著降低土壤 NO³₃-N 含量,降低了 35.88%;施氮显著增加土壤 *EC*_{1:5}、NO³₃-N 和 NH⁴₄-N 含量,分别增加了 32.09%、668.33%和 39.88%。(2)咸水滴灌显著降低了土壤潜在硝化势,较淡水处理降低了 28.97%;施氮显著增加了土壤潜在硝化势,较不施氮处理增加了 317.27%。(3)咸水滴灌显著降低氢氧化细菌(AOB)和全程 氨氧化细菌 A 分支(amoA-clade-A)和 B 分支(amoA-clade-B)的基因拷贝数,分别降低了 81.27%、73.49%和 62.51%,但显著增加氧氧化古菌(AOA)的基因拷贝数,增加了 487.94%;氮肥施用均显著增加了氨氧化微生物的基因拷贝数,分别增加了 511.20%(AOA)、958.13%(AOB)、72.66%(amoA-clade-A)和 31.18%(amoA-clade-B)。(4)氨氧化微生物优势菌属为假单胞菌属、嗜甲基菌属、亚硝化螺菌属、慢生根瘤菌属、链霉菌属、硝化螺菌属、寡养单胞菌属、食甲基菌属、螯合球菌属、囊胞杆菌属、亚硝基单胞菌属、红假单胞菌属、链霉菌属、硝化螺菌属、寡养单胞菌属、食甲基菌属、螯合球菌属、囊胞杆菌属、亚硝基单胞菌属、红假单胞菌属、芽孢杆菌属和拉姆利式杆菌。(5)咸水滴灌降低了 AOA 的多样性和丰富度及 amoA-clade-A 的丰富度和多样性和丰富度 及 amoA-clade-A 的丰富度和多样性和丰富度 和oA-clade-A 的丰富度和多样性和丰富度 和oA-clade-B 的丰富度和多样性。增加

关键词: 咸水滴灌; 施氮量; 棉田; 氨氧化微生物群落; RDA 分析 中图分类号: S562; S154.3 文献标志码: A

Response of ammonia-oxidizing microbial community to irrigation water salinity and nitrogen application in grey desert soil of cotton field in Xinjiang

GUO Xiaowen, YANG Maoqi, YE Yang, GUO Huijuan, MIN Wei (College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China)

Abstract: Irrigation water salinity and nitrogen application were used in this experiment. Two levels of irrigation water salinity were set as $0.35 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}(\text{fresh water})$ and $8.04 \text{ dS} \cdot \text{m}^{-1}(\text{saline water})$, and two levels of nitrogen application were set as 0 (no nitrogen application) and 360 (nitrogen application) kg $\cdot \text{hm}^{-2}(\text{represented by FWN0}, \text{FWN360}, \text{SWN0}$ and SWN360, respectively). In this study, cotton soil with saline water drip irrigation was used as material to measure the physicochemical properties and biological indexes, and the results showed that: (1) Saline water drip irrigation significantly increased soil $EC_{1:5}$ and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ contents by 457.74% and 73.02%, but significantly decreased $\text{NO}_3^- - \text{N}$ content by 35.88%; Nitrogen application significantly increased the contents of $EC_{1:5}$, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ in soil by 32.09% 668.33% and 39.88%. (2) Saline water drip irrigation significantly reduced the nitrification potential of soil, which was 28.97% lower than that of freshwater treatment.

基金项目:国家自然科学基金(32160742);新疆生产建设兵团指导性项目(2022DZ011)

通信作者: 闵伟(1986-), 男, 安徽太和人, 副教授, 主要从事土壤肥力与调控研究。E-mail: minwei555@ 126.com

收稿日期:2023-06-15 修回日期:2023-12-27

作者简介:郭晓雯(1998-),女,新疆乌鲁木齐人,硕士研究生,研究方向为土壤肥力与调控。E-mail: guoxiaowen1031@163.com

Nitrogen application significantly increased the nitrification potential of soil, which was 317.27% higher than that without nitrogen application. (3) Saline water drip irrigation significantly decreased the gene copies number of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and the A branch (amoA-clade-A) and B branch (amoA-clade-B) of complete ammonia oxidizing bacteria by 81.27%, 73.49% and 62.51%, but significantly increased the gene copies number of ammonia-oxidizing archaea (AOA) by 487.94%. Nitrogen fertilizer application significantly increased the gene copies number of ammonia oxidizing microorganisms by 511.20% (AOA), 958.13% (AOB), 72.66% (amoA-clade-A) and 31.18% (amoA-clade-B). (4) The dominant bacteria genera of ammonia oxidizing microorganisms were Pseudomonas, Candidatus nitrosocosmicus, Nitrosospira, Bradyrhizobium, Streptomyces, Nitrospira, Stenotrophomonas, Methylovorus, Chelatococcus, Cystobacter, Nitrosomonas, Rhodopseudomonas, Bacillus and Ramlibacter. (5) Saline water drip irrigation decreased the diversity and abundance of AOA and the diversity of amoA-clade-A but increased the abundance and diversity of AOB and amoA-clade-B, and the abundance of amoA-clade-A. Nitrogen application significantly decreased the abundance of AOA and AOB, and the abundance and diversity of amoA-clade-A but increased the abundance and diversity of amoA-clade-B. In conclusion, salinity was the main driving factor affecting the community structure of ammonia-oxidizing microbial community, ammonia-oxidizing archaea were the dominant species of soil ammoxidation, and ammonia-oxidizing bacteria and the A branch of complete ammonia oxidizing bacteria were the dominant microbial populations of ammoxidation in saline water drip irrigation cotton fields.

Keywords: saline water irrigation; nitrogen application; cotton field; ammonia oxidizing microbial community; RDA analysis

淡水资源不足是威胁干旱半干旱地区农业生 产的主要因素。新疆属于典型的干旱区,石灰性土 壤母质普遍含盐,农业用水主要依赖于日益减少的 地表水和储量丰富但具有一定含盐量的浅层地下 水,在节水滴灌条件下,盐分不能被淋洗出土体,长 期咸水灌溉势必造成土壤盐分累积,增加土壤盐渍 化的风险。研究表明咸水灌溉会造成土壤表层聚 盐、土壤理化性状趋于恶化、土壤肥力下降,进而影 响土壤微生物养分转化过程[1]。微生物群落多样 性在维持土壤肥力和生态平衡中发挥着重要作用。 氮是土壤肥力中最活跃的因素,也是作物生产的主 要限制因子之一。氮素的转化和循环是土壤物质 循环的重要组成部分,可影响土壤质量以及农田的 生产力和可持续性。硝化作用是氮素转化的关键 过程,由氨氧化和亚硝酸盐氧化两个连续过程完 成。而氨氧化过程是硝化作用的限速步骤,该过程 主要由氨氧化细菌(AOB)、氨氧化古菌(AOA)和全 程氨氧化细菌(Comammox)的驱动完成^[2-3]。全程 氨氧化细菌属于硝化螺菌门谱系 Ⅱ(Nitrospira spp. Linage Ⅱ),能够直接将 NH₃氧化为 NO₃,分布广泛, 对底物具有更高的亲和力和广泛的代谢多样性,可 能在多种环境中具有竞争力并在硝化作用中起主 导作用[4-7]。盐分和氮肥施用是一个日益受到关注 的问题,然而盐分和氮肥施用对土壤氨氧化微生物 丰度和群落结构影响的认识仍然存在争议,土壤氨 氧化的关键微生物过程及其机制仍未完全明晰,尤 其是 Comammox 在氨氧化过程中的作用尚未可知, 有待进一步探究。

盐分和氮肥施用是影响土壤氮素转化的重要 因素,其二者也可通过改变土壤 pH 值而间接影响 土壤氮素转化。在咸水灌溉条件下,盐分被大量带 入土壤,影响土壤微生物生长和养分转化。有研究 发现盐化土壤 NH⁴-N 含量较高, 而 NO⁵₄-N 含量较 低,原因可能是高浓度的土壤盐分抑制硝化作 用^[8];随盐分含量的增加,土壤硝化势显著降低,氨 氧化作用受到抑制,氨氧化细菌的丰度和硝化贡献 率降低,但增加了氨氧化古菌的硝化贡献率^[9]。施 用氮肥增加了土壤各形态的氮素含量,有研究表 明,低、中施氮条件可增加硝化作用关键微生物的 丰度^[10]:随施氮量的增加,潮土氨氧化细菌的丰度 和硝化速率增加[11]。长期咸水灌溉可增加土壤中 的 Na⁺、Ca²⁺和 K⁺含量,导致土壤 pH 值增加,间接 提高土壤硝化速率[12],而长期施用氮肥会产生较多 的H⁺,从而降低土壤 pH 值,导致土壤硝化速率降 低^[13]。氨氧化微生物对不同酸碱性土壤的亲和力 也存在差异,在酸性土壤环境中,氨氧化古菌起主 导作用,而在中性和碱性土壤环境中,氨氧化细菌 起主导作用[14],对于全程氨氧化细菌而言,其相对 丰度在酸性环境中更高,说明全程氨氧化细菌更适 应酸性环境^[15]。Comammox、AOA 和 AOB 均以氨作 为能量代谢底物,其在氮循环过程中的相对贡献对 硝化作用至关重要。有研究发现土壤有效氮含量 增加后,AOA 和 AOB 的活性随之提高^[16]。也有研 究发现,Comammox、AOA 和 AOB 的生态位分化与 土壤 NH⁴₄-N 的含量密切相关^[17-18]。灌溉水盐度和 施氮量对 Comammox、AOA 和 AOB 群落变化的贡献 率尚未可知,这 3 类氨氧化微生物群落变化的主要 驱动因子是否相同也尚未明晰。

因此,本研究针对干旱区咸水滴灌的现实问题,在长期咸水滴灌田间定位试验的基础上,研究 盐渍土壤的硝化作用机理,探究和阐明干旱区农田 土壤全程氨氧化细菌、氨氧化古菌和氨氧化细菌的分 布特征,明晰咸水滴灌和氮肥施用对农田土壤全程氨 氧化细菌、氨氧化古菌和氨氧化细菌群落多样性的影 响,揭示土壤环境因子调控氨氧化微生物的作用机 制,以期为干旱区咸水资源的合理利用、氮素的有效 管理和土壤氮素循环过程的有效调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验区位于石河子大学农科综合教学实验中 心(44°18′N,86°02′E),属于典型的干旱荒漠气候, 年均蒸发量和降水量分别为1000~1500 mm 和 180~270 mm。土质为灰漠土,供试棉花品种为'新 陆早52号'。2009年测定的土壤基础理化性质为: 土壤容重1.27g·cm⁻³,土壤pH_{1:25}为7.9,土壤电 导率(*EC*_{1:5})0.13 dS·m⁻¹(pH 值和*EC*的下标指的 是水土比),速效磷含量为25.9 mg·kg⁻¹,速效钾含 量为253 mg·kg⁻¹,有机质含量为16.8g·kg⁻¹,全 氮含量为1.1g·kg⁻¹。

1.2 试验设计

于 2009 年开始进行咸水滴灌田间试验,灌溉水 盐度为 0.35 dS · m⁻¹(淡水,FW)和 8.04 dS · m⁻¹ (咸水,SW),各灌溉水盐度下设置氮素水平:0(不 施氮,N0)和 360 kg · hm⁻²(施氮,N360)。本试验为 完全随机区组设计,每个处理重复 3 次,共计 12 个 试验小区,每个试验小区 25 m²。

试验于 2022 年 4 月中旬开展,采用干播湿出的 方式种植棉花,在 9 月中下旬收获,一般采用覆膜栽 培,一膜 3 管 6 行,行距配置为(66+10) cm,播种密 度为 2.22×10⁵株・hm⁻²。棉花播种后,为保证棉花 正常出苗,向各处理滴 30 mm 出苗水,随后在生育 期内共计灌水 9 次,周期为 7~10 d,灌水定额为 450 mm。肥料施用方式采用随水滴施,其中,氮肥(尿 素 N≥46.4%)分 5 次作追肥,磷肥和钾肥全部作基 肥,氮(以N计)、磷(以 P_2O_5 计)和钾肥(以 K_2O 计)施用量分别为:360、105、60 kg・hm⁻²,其他管理 措施参照大田生产。

咸水是通过向淡水中添加质量比为1:1的 CaCl₂和 NaCl 获得,每次灌溉水盐度均保持一致。 两种水质的化学性质如表1所示。

表 1 两种灌溉水质的化学性质

Table 1 Chemical properties of two irrigation water quality

	离子浓度 Ion concentration/(g・L ⁻¹)									
Treatment	K^+	Na^+	Ca ²⁺	Mg^{2+}	HCO_3^-	C1 ⁻	SO_4^{2-}			
FW	0.013	0.005	0.049	0.014	0.060	0.087	0.035			
SW	0.013	1.301	1.165	0.014	0.070	3.534	0.040			

1.3 土壤样品采集

于 2022 年在棉花花铃期采用对角线法采集耕 层(0~30 cm)土样,将采集的土样混匀并去除杂物, 过 2 mm 筛,分为三部分,一部分鲜土用于测定土壤 硝态氮和铵态氮;一部分鲜土保存在-80℃冰箱,用 于土壤氨氧化微生物的丰度和群落结构的测定;另 一部分鲜土风干研磨并过 0.25 mm 和 1.00 mm 筛, 用于土壤速效养分和全量养分的测定。

1.4 土壤理化性质和潜在硝化势的测定

土壤理化性质采用以下研究方法:土壤含水量 (SWC)的测定采用传统烘干法,容重(BD)的测定 采用环刀法,土壤 pH_{1:25}的测定采用 pH 计法,土壤 电导率值(EC_{1:5})的测定采用电导法,土壤硝态氮 含量(NO₃⁻-N)采用双波长紫外分光光度法测定,土 壤铵态氮含量(NH₄⁺-N)采用靛酚蓝比色法测定,土 壤该态氮含量(AP)采用碳酸氢钠钠浸提-钼锑抗 比色法测定,土壤速效钾含量(AK)采用醋酸铵浸 提-火焰光度计法测定,土壤全碳含量(TC)采用 MultiN/C 2100TOC 总氮分析仪(耶拿分析仪器(北 京)有限公司)测定,土壤全氮含量(TN)采用半自 动凯氏定氮仪(K9840,山东海能科学仪器有限公 司)测定。

土壤潜在硝化势(*PNR*)采用 Kurola 等^[19] 提供的方法:在室温下,将5g鲜土置于盛有20ml磷酸盐缓冲溶液的50ml离心管中,并向离心管中添加1mmol·L⁻¹的(NH₄)₂SO₄溶液和最终浓度为10mmol·L⁻¹的 KClO₃溶液,在黑暗中培养24h。为更好地提取 NO₂⁻-N,向培养后的离心管中添加5ml2mol·L⁻¹ KCl溶液进行离心,以磺酰胺和萘乙二胺作为试剂,将处理好的溶液在722型可见分光光度计(上海光谱仪器有限公司)545 nm 处比色,测定 NO₂⁻-N 的含量。

磷酸盐缓冲溶液的制备:将 8.0 g NaCl、0.2 g KCl、0.2 g Na₂ HPO₄和 0.2 g NaH₂PO₄混合在约为 800 ml 的水中,测定此时溶液的 pH 值,若 pH 值< 8.0,则向溶液中添加 0.1 mol·L⁻¹ NaOH,调节溶液 的 pH 值至 8.0,再用水稀释至 1 L。

1.5 土壤氨氧化微生物群落结构的测定

1.5.1 土壤氨氧化微生物的基因拷贝数测定 采 用实时荧光定量 PCR 方法测定氨氧化古菌、氨氧化 细菌和全程氨氧化细菌的基因拷贝数。按照试剂 盒说明书提取、纯化目的基因片段,再对质粒进行 测序验证,然后在分光光度计(NanoDrop © ND-1000 UV-Vis)上测定质粒的浓度,并计算出目的基 因的拷贝数。最后以连续 10 倍的浓度梯度稀释质 粒以制作定量 PCR 的标准曲线^[20]。

1.5.2 土壤氨氧化微生物多样性的测定 氨氧化 微生物的群落结构多样性交由北京诺禾致源科技 股份有限公司测定。

土壤样品 DNA 的提取和扩增:土壤样品 DNA 的提取采用 CTAB-SDS 法,用 1%的琼脂糖凝胶检 测 DNA 的浓度和纯度,根据 DNA 的浓度,将其用无 菌水稀释至 1 μg · μL⁻¹。采用特殊的引物片段进 行扩增,具体过程见表 2。

PCR 产物定量鉴定:将相同体积的缓冲液与 PCR 产物混合,在 2%琼脂糖凝胶上进行电泳检测, PCR 产物按等密度混合,使用 Qiagen 凝胶提取试剂 盒(Qiagen,德国)对混合的 PCR 产物进行纯化。

文库准备和测序:使用 Truseq[©] DNA PCR-Free

样品制备试剂盒(Illumina,美国)生成测序文库,并添加索引代码。文库质量在 Qubit@ 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific)和 Agilent Bioanalyzer 2100 系统上进行评估,最后在 Illumina Novaseq 平台上对文库进行测序,获得 250 bp 的配对端序列。

1.6 数据分析

采用 SPSS 26.0 软件对数据进行方差分析和相 关性分析(P < 0.05),各处理间差异比较采用 Duncan 法($\alpha = 0.05$)。使用 Qiime 1.7.0 软件计算 Species, Chao1, Shannon, Simpson, ACE, Goods – coverage 指 数,通过 T 检验,分析组间物种多样性平均值差异 是否显著。采用 Microsoft Excel 2007 软件绘制散点 图和表格。采用 Origin 2021 绘制氨氧化微生物属水 平的堆积柱状图。热图分析利用 Metaboanalyst 5.0 (https://www.metaboanalyst.ca)软件进行绘制,冗余 分析(RDA)用 R 语言 vegan 软件包进行绘制。

2 结果与分析

2.1 咸水滴灌对土壤理化性质的影响

盐分和氮肥施用量显著改变土壤理化性质(表 3)。随灌溉水盐度的增加,土壤 SWC、EC_{1:5}、AP、TC 和 NH₄⁺-N 的含量显著增加,但土壤 pH 值、AK 和 NO₃⁻-N 的含量显著降低,其中,NH₄⁺-N 含量平均增加 了 73.02%,NO₃⁻-N 含量平均降低了 35.88%。随施氮 量的增加,土壤 EC_{1:5}、NO₃⁻-N 和 NH₄⁺-N 的含量显著 增加,但土壤 pH、AK 和 AP 的含量显著降低,其中, NO₃⁻-N 和 NH₄⁺-N 分别增加了 668.33%和 39.88%。

	Table 2 Amplified primer sequence of ammonia	n-oxidizing microorganism
物种名称 Species	引物片段 Primer fragment	PCR 扩增 PCR amplification
氨氧化古菌 (AOA)	Arch- <i>amoA</i> -F:GACTACATMTTCTAYACWGAYTGGGC Arch- <i>amoA</i> -R:GGKGTCATRTATGGWGGYAAYGTTGG	AOA:初始95℃,1.5 min;40次循环(95℃,30 s;55℃,
氨氧化细菌 (AOB)	amoA-F:CTGGGGTTTCTACTGGTGGTC amoA-R:GCAGTGATCATCCAGTTGCG	45 s;72℃,45 s) Initial 95 ℃, 1.5 minutes; 40 cycles; AOB:初始 95℃,3.0 min; 38 次循环(95℃,30 s;60℃, 1.5 min) Initial 95 ℃, 3.0 minutes; 38 cycles;
全程氨氧化细菌 A 分支 (amoA-clade-A)	amoA-clade-A-F:TACAATTGGGTGAACTA amoA-clade-A-R:AGATCATGGTGCTGTG	amoA-clade-A和 amoA-clade-B:初始 95℃, 3.0 min; 45次循环(95℃, 30 s; 52℃, 45 s; 72℃, 1 min) Initial
全程氨氧化细菌 B 分支 (amoA-clade-B)	amoA-clade-B-F:AAATCCAGACGGTGTGT amoA-clade-B-R:TATTTCTGGACGTTCTACAGG	95 $^\circ\!\!\mathrm{C}$, 3.0 minutes; 45 cycles $^{[21]}{}_\circ$

表 2 氨氧化微生物扩增的引物序列

|--|

Table 3 Effects of saline drip irrigation and nitrogen fertilizer application on soil physical and chemical properties

处理	含水量	EC1:5		速效钾 AK	速效磷 AP	全氮 TN	全碳 TC	硝态氮 NO3-N	铵态氮 NH₄-N
Treatment	SWC	$/(dS\cdot m^{-1})$	рн	$/(mg \cdot kg^{-1})$	$/(mg \cdot kg^{-1})$	$/(g \cdot kg^{-1})$	$/(g \cdot kg^{-1})$	$/(\mathrm{mg} \cdot \mathrm{kg}^{-1})$	$/(mg \cdot kg^{-1})$
FWN0	0.2139b	0.194c	8.30a	247a	19.37c	0.67b	23.13b	6.92c	5.53d
FWN360	0.1723c	0.209c	$8.00\mathrm{b}$	215b	14.94d	0.81a	23.47b	56.56a	8.18c
SWN0	0.2113b	0.948b	7.82c	180c	42.10a	0.73ab	25.42a	5.08d	10.07b
SWN360	0.2380a	1.299a	7.58d	183c	25.44b	0.80a	25.83a	35.62b	13.65a

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。下同。

Note: Different minuscules marked in the same column show significant differences among treatments (P<0.05). The same below.

2.2 咸水滴灌对土壤潜在硝化势的影响

咸水滴灌和氮肥施用显著改变土壤潜在硝化势(PNR),见图1。随灌溉水盐度的增加,土壤PNR显著降低,降低了28.97%。随施氮量的增加,土壤PNR显著增加,增加了317.27%。说明咸水灌溉抑制了土壤硝化作用,但氮肥施用促进了土壤硝化作用。

2.3 咸水滴灌对土壤氨氧化微生物基因拷贝数的 影响

咸水滴灌和氮肥施用显著影响土壤氨氧化微生物的基因拷贝数丰度(图2)。氨氧化微生物中 AOA



注:不同小写字母表示不同处理间差异达到显著 水平(P<0.05)。下同。

Note:Different minuscules show significant differences among treatments (P < 0.05). The same below.

图1 咸水滴灌和氮肥施用对土壤潜在硝化势的影响

Fig.1 Effects of saline drip irrigation and nitrogen fertilizer application on soil potential nitrification potential



的基因拷贝数最高 $(2.49 \times 10^8 \text{ copies} \cdot g^{-1})$,其次是 AOB(1.62×10⁷ copies · g⁻¹), 全程氨氧化细菌 A 分 支(0.89×10⁶ copies · g⁻¹),全程氨氧化细菌 B 分支 基因拷贝数最低(0.89×10⁴ copies · g⁻¹),说明 AOA 和 AOB 是土壤中氨氧化作用的优势物种。在淡水 和咸水滴灌条件下 AOA/AOB 比值分别为 3 和 83, amoA-clade-A/amoA-clade-B比值分别为 109 和 77,在不施氮和施氮条件下 AOA/AOB 比值分别为 25 和 14, amoA-clade-A/amoA-clade-B 比值分别为 85 和 111。随灌溉水盐度的增加 AOA 的基因拷贝 数显著增加,增加了 487.94%;但显著降低 AOB、 amoA-clade-A 和 amoA-clade-B 的基因拷贝数,分 别降低 81.27%、73.49% 和 62.51%。 随施氮量的增 加氨氧化微生物的基因拷贝数均显著增加,分别增 加 511.20% (AOA) 958.13% (AOB) 72.66% (amoA -clade-A)和 31.18% (amoA-clade-B)。说明咸水 滴灌能够促进 AOA 的生长,但会抑制 AOB、amoAclade-A和 amoA-clade-B的生长,而氮肥的施用会 促进氨氧化微生物的生长。

2.4 氨氧化微生物基因拷贝数对土壤潜在硝化势的相对贡献

氨氧化微生物对 PNR 的相对贡献如图 3 所示。 氨氧化微生物的基因拷贝数均与土壤潜在硝化势 呈正相关关系,即土壤潜在硝化势随基因拷贝数的 增加而增加。其中,AOB 基因拷贝数丰度与 PNR 呈



图 2 咸水滴灌和氮肥施用对氨氧化微生物丰度的影响

Fig.2 Effects of saline drip irrigation and nitrogen fertilizer application on

the abundance of ammonia-oxidizing microorganisms

极显著正相关关系($R^2 = 0.8064$, P < 0.01), amoAclade-A 基因拷贝数丰度与 PNR 呈显著正相关关系 ($R^2 = 0.454$, P < 0.05)。说明 PNR 的变化与 AOB 和 amoA-clade-A 具有较高的相关性。

2.5 咸水滴灌对土壤氨氧化微生物 α-多样性的 影响

各处理氨氧化微生物的物种数量在 66~1395 范围内,覆盖度在 99.30%~100.00%,能够较好地反 映样本真实情况(表 4)。对于 AOA,咸水滴灌对其



多样性(Simpson 和 Shannon)和丰富度(Chaol 和 ACE)有降低趋势;氮肥施用显著降低其丰富度。对 于 AOB,咸水滴灌对其多样性和丰富度有增加趋 势;氮肥施用显著降低其丰富度。对于 amoA-clade -A,咸水滴灌降低了其多样性,但增加了丰富度;氮 肥施用显著降低其 Shannon、Chaol 和 ACE 指数。 对于 amoA-clade-B,咸水滴灌显著增加了 Shannon、 Chaol 和 ACE 指数;氮肥施用对其多样性和丰富度 均有增加趋势。



图 3 氨氧化微生物基因拷贝数与土壤潜在硝化势的相关性

D' 0	0 1 1 1	• • • • • •		• •		• • • • • • • •
F10 1	Correlation between	ammonia-oxidizing	microorganisms	gene contes and	notential nitrificat	ion potential of soil
1 19.2	donioidation between	annionia oxiaizing	mercorgamonio	Some copies and	potonniai mumoai	ion potential of som

表 4 咸水滴灌和氮肥施用对氨氧化微生物 α-多样性的影响

D 1 1 4	$\Gamma C \cdot C = 1$	· 1·		•.	C1.	1		• • •	•••	•	•	1	· 1
Ishle 4	Ettente of cal	ine drin	irrigation and	nitrogon	tortilizor	annlieation	on	ammon1a_ov10	17100	mieroor	manieme	0_diversity	indev
rabic τ	LITUULS OF Sal	me unp	miganon and	muogon	101111201	approation	on	annionia-oxio	ILLILE	meroor	gamono	u-unversity	muca
			0	0		11			. C	,	0	J	

氨氧化微生物 Ammonia oxidizing microorganisms	处理 Treatment	物种数量 Number of species	覆盖度 Coverage	香浓指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index
	FWN0	407a	0.9990a	4.50a	0.9133a	441a	455a
101	FWN360	212d	0.9997a	4.30a	0.9150a	234d	242d
AUA	SWN0	271c	0.9997a	4.17a	0.9000a	303c	307c
	SWN360	295b	0.9990a	4.32a	0.9103a	333b	336b
	FWN0	892b	0.9953b	4.95ab	0.9170a	1073a	1097a
AOA AOB amoA-clade-A	FWN360	725e	0.9967ab	4.67b	0.8857b	849d	866c
	SWN0	922a	0.9957b	4.96ab	0.9190a	1064b	1092a
	SWN360	927a	0.9973a	5.21a	0.9213a	1014c	1026b
	FWN0	71b	0.9999a	3.59ab	0.8650ab	75b	77b
4 1 1 4	处理 Treatment物种数量 Number of species覆盖度 Coverage香浓指数 Shannon index辛普森指数 Simpson indexChao1 指数 Chao1 indexFWN0407a0.9990a4.50a0.9133a441aFWN360212d0.9997a4.30a0.9150a234dSWN0271c0.9997a4.17a0.9000a303cSWN360295b0.9990a4.32a0.9103a333bFWN0892b0.9953b4.95ab0.9170a1073aFWN360725c0.9967ab4.67b0.8857b849dSWN0922a0.9957b4.96ab0.9190a1064bSWN360927a0.9973a5.21a0.9213a1014cFWN36066b0.9999a3.59ab0.8650ab75bFWN36066b0.9999a3.20bc0.8277ab69dSWN0230a0.9997a4.26a0.8810a233aSWN36068b0.9999a2.50c0.6833b71cFWN0803d0.9950a4.09c0.8430b1021cFWN3601173c0.9930a6.76b0.9780a1524bSWN01395a0.9937a7.30a0.9777a1601aSWN3601351b0.9945a7.47a0.9770a1601a	69d	69d				
 Ammonia oxidizing microorganisms处理 Treatment物种数量 Number of species覆盖度 Coverage香浓指数 Shannon index辛普森指数 Simpson indexAOAFWN0407a0.9990a4.50a0.9133aAOAFWN360212d0.9997a4.30a0.9150aSWN0271c0.9997a4.17a0.9000aSWN360295b0.9997a4.32a0.9103aAOBFWN0892b0.9953b4.95ab0.9170aAOBFWN360725c0.9967ab4.67b0.8857bSWN0922a0.9957b4.96ab0.9190aSWN360927a0.9973a5.21a0.9213aamoA-clade-AFWN071b0.9999a3.59ab0.8650abSWN0230a0.9997a4.26a0.8810aamoA-clade-BFWN0803d0.9950a4.09c0.8430bFWN0803d0.9997a3.50ab0.66833bSWN3601173c0.9930a6.76b0.9780aSWN3601351b0.9945a7.47a0.9770a	233a	236a					
	SWN360	68b	0.9999a	2.50c	0.6833b	71c	73c
	FWN0	803d	0.9950a	4.09c	0.8430b	1021c	1084d
英乳化鼠生初 Ammonia oxidizing microorganisms AOA AOB amoA-clade-A amoA-clade-B	FWN360	1173c	0.9930a	6.76b	0.9780a	1524b	1543c
	SWN0	1395a	0.9937a	7.30a	0.9777a	1601a	1712a
	SWN360	1351b	0.9945a	7.47a	0.9770a	1601a	1603b

2.6 咸水滴灌对土壤氨氧化微生物群落结构的 影响

AOA 属水平群落结构见图 4A。总体上相对丰 度最高的优势微生物为假单胞菌属(Pseudomonas)和 嗜甲基菌属(Candidatus Nitrosocosmicus)。咸水灌溉 降低了 Pseudomonas 和 Candidatus Nitrosocosmicus 相 对丰度。在不施氮肥处理下,咸水滴灌降低了 Pseudomonas 和 Candidatus Nitrosocosmicus 相对丰度;在施 氮肥处理下,咸水滴灌增加了 Pseudomonas 相对丰 度,但降低了 Candidatus Nitrosocosmicus 相对丰度。

AOB 属水平群落结构见图 4B。总体上相对丰度 最高的优势微生物为假单胞菌属(Pseudomonas)、亚硝 化螺菌属(Nitrosospira)、慢生根瘤菌属(Bradyrhizobium)和链霉菌属(Streptomyces)。咸水灌溉增加 了 Pseudomonas、Nitrosospira、Bradyrhizobium 和 Streptomyces 相对丰度。在不施氮肥处理下,咸水滴灌增 加了 Nitrosospira、Bradyrhizobium 和 Streptomyces 相对 丰度,但降低了 Pseudomonas 相对丰度;在施氮肥处 理下,咸水滴灌增加了 Pseudomonas、Nitrosospira、 Bradyrhizobium 和 Streptomyces 相对丰度。

amoA-clade-A属水平群落结构见图 4C。总体 上相对丰度最高的优势微生物为硝化螺菌属(Nitrospira)、募养单胞菌属(Stenotrophomonas)和食甲基 菌属(Methylovorus)。咸水灌溉增加了 Stenotrophomonas 和 Methylovorus 相对丰度,但降低了 Nitrospira 相对丰度。在不施氮肥处理下,咸水滴灌 增加了 Methylovorus 相对丰度,但降低了 Nitrospira 和 Stenotrophomonas 相对丰度;在施氮肥处理下,咸 水滴灌增加了 Nitrospira、Stenotrophomonas 和 Methylovorus 相对丰度。

amoA-clade-B属水平群落结构见图 4D。总体 上相对丰度最高的优势微生物为螯台球菌属(Chelatococcus)、囊胞杆菌属(Cystobacter)、亚硝基单胞菌 属(Nitrosomonas)、红 假 单 胞 菌 属(Rhodopseudomonas)、芽孢杆菌属(Bacillus)和拉姆利式杆菌 (Ramlibacter)。咸水灌溉增加了 Chelatococcus、Cystobacter、Nitrosomonas、Bacillus 和 Ramlibacter 相对丰 度,但降低了 Rhodopseudomonas 相对丰度。在不施 氮肥处理下,咸水滴灌使 6 种优势菌属的相对丰度均 有所增加;在施氮肥处理下,咸水滴灌增加了 Chelatococcus 和 Ramlibacter 相对丰度,但降低了 Cystobacter、 Nitrosomonas、Rhodopseudomonas 和 Bacillus 相对丰度。

将不同处理的土壤氨氧化微生物进行双向聚 类热图分析可知,各处理中土壤氨氧化微生物群落 存在差异(图5)。对氨氧化古菌而言,与FWN0处理 相比,SWN0处理显著增加了子囊菌门(Ascomycota)、 绿弯菌门(Chloroflexi)和奇古菌门(Thaumarchaeota)的 相对丰度,但显著降低了变形菌门(Proteobacteria)、 拟杆菌门(Bacteroidetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、 放线菌门(Actinobacteria)、蓝细菌(Cyanobacteria)、泉 古菌门(Crenarchaeota)、厚壁菌门(Firmicutes)、Candidatus_Saccharibacteria、异常球菌-栖热菌门(Deinococcus-Thermus)、酸杆菌门(Acidobacteria)和芽单胞 菌门(Gemmatimonadetes)的相对丰度;与FWN360处 理相比,SWN360处理显著增加了Proteobacteria 和疣微 菌门(Verrucomicrobia)的相对丰度,但显著降低了装甲 菌门(Armatimonadetes)的相对丰度(图5A)。

对氨氧化细菌而言,与FWN0处理相比,SWN0 处理显著增加了 Chloroflexi、Bacteroidetes、Planctomycetes、Acidobacteria 和 Candidatus_Peregrinibacteria 的 相对丰度,但显著降低了 Chlorobi 和 Armatimonadetes 的相对丰度;与FWN360处理相比,SWN360处理显 著增加了 Cyanobacteria、Deinococcus-Thermus、Ascomycota、广古菌门(Euryarchaeota)、Verrucomicrobia、 Acidobacteria、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、Proteobacteria、Gemmatimonadetes、Firmicutes、Chlorobi、 Chloroflexi、Bacteroidetes 和 Planctomycetes 的相对丰 度(图 5B)。

对全程氨氧化细菌 A 分支而言, 与 FWN0 处理 相比, SWN0 处理显著增加了 Firmicutes、Cyanobacteria、 Bacteroidetes、Acidobacteria、Chloroflexi、Candidatus _ Saccharibacteria、Gemmatimonadetes、Deinococcus -Thermus、Planctomycetes、Proteobacteria 和 Actinobacteria 的相对丰度, 但显著降低了 Nitrospirae 的相对 丰度(图 5C)。

对于 amoA-clade-B 而言,与 FWN0 处理相比, SWN0 处理显著增加了互养菌门(Synergistetes)、 Gemmatimonadetes、Verrucomicrobia、软壁菌门(Tenericutes)、Bacteroidetes、Thaumarchaeota、担子菌门 (Basidiomycota)、微孢子门(Microsporidia)、Actinobacteria、Cyanobacteria、Planctomycetes、Firmicutes、 梭杆菌门(Fusobacteria)和衣原体门(Chlamydiae)的 相对丰度,但显著降低了隐真菌门(Cryptomycota)和 Chlorobi 的相对丰度;与 FWN360 处理相比, SWN360 处理显著增加了 Verrucomicrobia、 Chloroflexi、Candidatus_Acetothermia和 Ascomycota的 相对丰度,但显著降低了 Thaumarchaeota和 Eurvarchaeota的相对丰度(图 5D)。



图 5 咸水滴灌和氮肥施用的氨氧化微生物热图分析

Fig.5 Thermographic analysis of ammonia-oxidizing microorganisms in saline drip irrigation and nitrogen fertilizer application

2.7 环境因子与氨氧化微生物多样性指数和丰度 的相关性

环境因子对氨氧化微生物群落结构的影响表 现为(表5):氨氧化古菌基因拷贝数与土壤 pH 值 呈极显著的负相关关系,但与 SWC、EC_{1:5}、TC 和 NH⁴₄-N 呈显著正相关关系,其中,EC_{1:5}和 NH⁴₄-N 达到极显著水平;丰度指数(Chao1 和 ACE)与 TN 和 NO₃-N 呈显著负相关关系。

氨氧化细菌基因拷贝数与 NO₃-N 呈极显著正 相关关系,但与 AP 和 SWC 呈显著负相关关系,其 中,SWC 达到极显著水平;香浓指数与 SWC 呈显著 正相关关系;辛普森指数与 SWC 呈极显著正相关关 系,但与 NO₃-N 呈显著负相关关系;丰度指数与 AP 和 SWC 呈显著正相关关系,但与 TN 和 NO₃-N 呈显 著负相关关系,其中,SWC 和 NO₃-N 达到极显著 水平。

全程氨氧化细菌 A 分支基因拷贝数与 AK 和 NO₃-N 呈显著正相关关系,但与 SWC、EC_{1:5}、AP 和

TC 呈显著负相关关系,其中,*EC*_{1:5}、AP 和 TC 达到 极显著水平;香浓指数与 TN 和 NO₃-N 呈显著负相 关关系;辛普森指数与 NH₄-N 呈显著负相关关系; 丰度指数与 AP 呈极显著正相关关系,但与 NO₃-N 呈显著负相关关系。

全程氨氧化细菌 B 分支基因拷贝数与 SWC、 EC_{1:5}、AP、TC 和 NH⁴₄-N 呈显著负相关关系,但与 pH 值和 AK 呈显著正相关关系,其中,SWC、EC_{1:5}、 AK、AP 和 TC 达到极显著水平。香浓指数与 pH 值 和 AK 呈显著负相关关系,但与 EC_{1:5}、TN、TC 和 NH⁴₄-N 呈显著正相关关系,其中,EC_{1:5}、pH 值、AK 和 NH⁴₄-N 达到极显著水平;辛普森指数与 pH 值和 AK 呈显著负相关关系,但与 TC、TN 和 NH⁴₄-N 呈显 著正相关关系,其中,pH 值、AK、TN 和 NH⁴₄-N 呈显 潜正相关关系,其中,pH 值和 AK 呈显著负相关 关系,但与 EC_{1:5}、TC 和 NH⁴₄-N 呈显著正相关关系, 且 Chao1 指数与 TN 呈显著正相关关系,其中,pH 值、 AK 和 NH⁴₄-N 达到极显著水平。

	表 5	圤 境因于与氨氧	$ 化微生物 \alpha $	-多样性指数和基	达拷贝费	[1]的相关	生	
Table 5	Correlation betwe	een environmental	factors and a	mmonia-oxidizing	microbial	α -diversity	index and	gene copies

氨氧化微生物 Ammonia oxidizer	多样性指数 及基因拷贝数 Diversity index and gene copies	含水量 SWC	电导率 EC _{1:5}	рН	速效钾 AK	速效磷 AP	全氮 TN	全碳 TC	硝态氮 NO3-N	铵态氮 NH ₄ -N
	Shannon	-0.059	-0.217	0.339	0.371	-0.275	-0.297	-0.279	-0.054	-0.230
AOA AOB	Simpson	-0.213	-0.188	0.199	0.24	-0.309	0.029	-0.168	0.180	-0.114
	Chao1	0.568	-0.103	0.462	0.537	-0.039	-0.693 *	-0.197	-0.696*	-0.359
ЛОЛ	ACE	0.532	-0.146	0.502	0.569	-0.068	-0.707 *	-0.235	-0.689*	-0.400
	基因拷贝数 Gene copies	0.655 *	0.795 * *	-0.808 * *	-0.551	0.035	0.486	0.660*	硝态氮 NO ₃ ^{-N} -0.054 0.180 -0.696* -0.689* 0* 0.312 -0.276 -0.076* -0.936** -0.936** -0.936** -0.954** 30.593* 30.593* 30.592* -0.638* 2* 0.638* 2* 0.638* 2* 0.511 0* 0.422 5* 0.285 4** 0.535	0.885 * *
AOR	Shannon	0.611*	0.560	-0.292	-0.273	0.254	0.003	0.351	-0.276	0.421
	Simpson	0.773 * *	0.557	-0.189	-0.228	0.521	-0.283	0.448	-0.676*	0.285
	Chao1	0.745 * *	0.357	0.051	-0.03	0.593 *	-0.654 *	0.296	-0.936 * *	0.005
мов	ACE	0.710 * *	0.325	0.082	-0.021	0.607 *	-0.672*	0.264	-0.954 * *	-0.032
	基因拷贝数 Gene copies	-0.837 * *	-0.489	0.094	0.142	-0.608 *	0.571	-0.407	硝态氮 \overline{M} $NO_3^ N$ \overline{P} \overline{P} -0.054 $\overline{8}$ 0.180 7 -0.696^+ 5 -0.698^+ 0^* 0.312 1 -0.276 $\overline{8}$ -0.676^+ 5 -0.676^+ 5 $-0.936^+ *^+$ 7 $0.874^+ *^ \overline{3}$ -0.593^+ 8 -0.593^+ 6 -0.592^+ 3 -0.597^+ 5^+ 0.638^+ 7^* 0.398 2^+ 0.511 0^+ 0.285 $1^+ *$ 0.535	-0.156
氨氧化微生物 Ammonia oxidizer AOA AOB amoA-clade-A amoA-clade-B	Shannon	-0.275	-0.239	0.398	0.057	0.492	-0.635 *	-0.113	-0.593 *	-0.447
	Simpson	-0.400	-0.453	0.567	0.257	0.109	-0.514	-0.438	-0.356	-0.599 *
	Chao1	0.077	0.342	-0.217	-0.542	0.932 * *	-0.232	0.426	-0.592 *	0.126
	ACE	0.081	0.342	-0.215	-0.54	0.933 * *	-0.243	0.433	-0.597 *	0.125
	基因拷贝数 Gene copies	-0.687 *	-0.799 * *	0.543	0.688 *	-0.914 * *	0.195	-0.775 * *	補态氣 件 NO ₃ -N N -0.054 - 0.180 - -0.696* - -0.689* - 0.312 - 0.312 - 0.276 - -0.936** - -0.936** - -0.936** - -0.954** - 0.874** - -0.593* - -0.592* - -0.592* - -0.597* * * 0.638* - 0.398 0.511 0.422 0.285 * * 0.535 -	-0.544
	Shannon	0.079	0.711 * *	-0.906 * *	-0.934 * *	0.446	0.651 *	0.707 *	0.398	0.841 * *
	Simpson	-0.120	0.555	-0.805 * *	-0.853 * *	0.33	0.713 * *	0.612*	0.511	0.731 * *
amo4-clade-B	Chao1	-0.003	0.664 *	-0.871 * *	-0.917 * *	0.433	0.659 *	0.690 *	0.422	0.806 * *
AOA AOB amoA-clade-A amoA-clade-B	ACE	-0.005	0.659 *	-0.833 * *	-0.935 * *	0.564	0.556	0.706 *	0.285	0.752 * *
	基因拷贝数 Gene copies	-0.714 * *	-0.879 * *	0.658*	0.760 * *	-0.894 * *	0.068	-0.821 * *	0.535	-0.664 *

注:**和*分别表示显著性水平为 P<0.01 和 P<0.05。

Note: * * and * represent significance levels of P < 0.01 and P < 0.05, respectively.

2.8 环境因子与氨氧化微生物群落结构的相关性

通过 RDA 分析氨氧化微生物群落结构与土壤理 化性质间的相关关系(图 6)。氨氧化古菌轴 1 的解 释度为 85.160%,轴 2 的解释度为 6.597%,两轴共解释 总变异的 91.739%。其群落结构与 *EC*_{1:5}含量(解释度 8.18%,*P*=0.007)存在极显著相关关系,与 NH⁺₄-N(解 释度 19.38%,*P*=0.032)存在显著相关关系(图 6A)。

氨氧化细菌轴 1 的解释度为 56.040%, 轴 2 的 解释度为 33.590%, 两轴共解释总变异的 89.630%。 其群落结构与 *EC*_{1:5}(解释度 12.210%, *P*=0.004)存 在极显著相关关系, 与 AP(解释度 6.750%, *P*= 0.023)存在显著相关关系(图 6B)。

全程氨氧化细菌 A 分支轴 1 的解释度为 66.220%,轴 2 的解释度为 32.620%,两轴共解释总 变异的 98.840%。其群落结构与 *EC*_{1:5}(解释度 2.241%,*P*=0.004)、TN(解释度 10.521%,*P*=0.009) 和 pH 值(解释度 7.868%,*P*=0.010)存在极显著相 关关系,与TC(解释度 16.684%,*P*=0.021)、NH⁴₄-N (解释度 5.218%, P=0.014)和 AP(解释度 4.714%, P=0.043)存在显著相关关系(图 6C)。

全程氨氧化细菌 B 分支轴 1 的解释度为 45.350%,轴 2 的解释度为 20.250%,两轴共解释总 变异的 65.600%。其群落结构与 SWC (解释度 19.48%, P = 0.004)和 EC_{1:5} (解释度 32.00%, P = 0.006)存在极显著相关关系,与AK (解释度 23.70%, P=0.033)存在显著相关关系(图 6D)。

3 讨 论

3.1 咸水滴灌对土壤理化性质和潜在硝化势的 影响

长期咸水灌溉会恶化土壤结构,降低土壤质 量,改变土壤微生物的活性和结构,进一步影响养 分转化速率,特别是氮素转化速率,最终降低土壤 肥力和农业生产力。本研究发现,咸水滴灌显著增 加了土壤含水量、电导率和铵态氮的含量,但降低 了土壤 pH 值和硝态氮的含量。产生这一结果可能



Fig.6 RDA analysis of the impact of environmental factors on ammonia-oxidizing microbial communities

是由于咸水滴灌向土壤输入大量的盐分离子,导致 土壤电导率值升高,土壤蒸散量降低,进而使土壤 含水量增加,而盐分中的 CI⁻和 SO₄²⁻等酸性离子积 累能够降低土壤的 pH 值^[22]。土壤铵态氮含量的 增加和硝态氮含量的降低可能是由于咸水灌溉抑 制了硝化作用所致^[23]。氮肥的施用对土壤质量和 作物生长及产量也有重要影响。本研究发现,施氮 增加了土壤全氮、硝态氮和铵态氮的含量,但降低 了土壤 pH 值,这是由于氮肥的施用为土壤提供了 不同形态的氮素,补充了土壤氮素养分,同时也能 够促进硝化作用的进行,进而产生更多的 H⁺,导致 土壤 pH 值降低。

咸水灌溉可向土壤输入大量盐分离子,氮肥的 施用为土壤补充了大量氮素养分,改变了土壤环 境,进而影响土壤硝化速率。本研究发现,土壤潜 在硝化势随灌溉水盐分的增加显著降低,随氮肥施 用的增加显著增加,是因为盐分降低了土壤吸附 NH₄-N 的能力,减少了反应的底物,抑制了硝化微 生物的活性,导致土壤硝化速率降低,氮肥的施用 增加了土壤中各种形态的氮素,增加了硝化作用进 行的底物,进而促进了硝化作用的发生^[24]。

3.2 咸水滴灌对氨氧化微生物基因拷贝数的影响

通过分析发现,氨氧化微生物的基因拷贝数大 小依次为:氨氧化古菌>氨氧化细菌>全程氨氧化细 菌 A 分支>全程氨氧化细菌 B 分支,说明氨氧化古 菌是土壤的主要微生物。咸水滴灌显著降低了氨 氧化细菌和全程氨氧化细菌的基因拷贝数,显著增 加了氨氧化古菌的基因拷贝数,而氮肥施用均显著 增加了氨氧化微生物的基因拷贝数。这可能是咸 水灌溉降低了土壤中的 NH4-N 含量,限制了氨氧 化过程,因而降低了氨氧化微生物的基因拷贝数, 但由于各物种对 NH₄-N 亲和力不同,氨氧化古菌 在低浓度 NH₄-N 环境下表现出较高的亲和力,因 此,氨氧化古菌的基因拷贝数呈增加趋势^[25]:氮肥 施用改善了土壤含水量低、物质运输受到限制的局 面,且氮肥施用可促进作物根系和土壤微生物吸收 NH₄-N 释放出 H⁺,为氨氧化微生物营造了适宜生 存环境,因而增加了各物种的基因拷贝数,促进了 硝化作用的进行^[26]。通过进一步分析发现,氨氧化 微生物基因拷贝数均与土壤潜在硝化势存在正相 关关系,其中,氨氧化细菌和全程氨氧化微生物 A 分支表现为显著的正相关关系,说明其二者是促进 硝化作用发生的主导微生物。本研究中咸水滴灌 AOA/AOB 显著高于淡水滴灌,但咸水滴灌条件下 amoA-clade-A/amoA-clade-B显著低于淡水滴灌:

氮肥施用条件下 AOA/AOB 显著低于不施氮条件, 而氮肥施用条件下 amoA-clade-A/amoA-clade-B 显著高于不施氮条件。说明咸水滴灌和氮肥施用 对不同氨氧化微生物的影响存在明显差异。因此, 我们推测 AOA 和 amoA-clade-B 是咸水滴灌条件下 土壤的优势物种, AOB 和 amoA-clade-A 是氮肥施 用条件下土壤的优势物种。

盐分可通过改变土壤微生物活性而影响其群 落结构与组成。氨氧化古菌基因拷贝数与土壤含 水量间存在显著正相关关系,而其他3种氨氧化微 生物基因拷贝数则与土壤含水量间存在显著负相 关关系。有研究表明,土壤含水量是提供反应底物 的媒介,能够提高氨氧化速率[24],但本研究以咸水 进行滴灌,虽增加了土壤含水量,由于土壤环境的 变化,各物种的适应能力不同,导致氨氧化微生物 基因拷贝数与含水量间的关系发生变化。氨氧化 古菌基因拷贝数与土壤 pH 值间存在极显著的负相 关关系,而全程氨氧化细菌 B 分支基因拷贝数与 pH 值间存在显著的正相关关系。这可能是由于干旱 环境降低了土壤中的物质运输和传递,使得作物根 系和微生物在吸收 NH⁺-N 的同时释放出 H⁺, 营造 出酸性环境,有利于氨氧化古菌生存,对于全程氨 氧化细菌 B 分支而言,其适合在酸性环境中生存, 当 pH 值降低时,其基因拷贝数应当增加,但在本研 究中却相反,这可能是该物种对其他环境因素不耐 受所致[26]。本研究中土壤硝态氮含量随盐分增加 而降低,铵态氮含量呈相反趋势,将其与氨氧化微 生物进行相关性分析,发现铵态氮与氨氧化古菌基 因拷贝数间存在极显著正相关关系,而与全程氨氧 化细菌 B 分支间存在显著负相关关系: 硝态氮与氨 氧化细菌和全程氨氧化细菌 A 分支基因拷贝数均 存在极显著的正相关关系,这同样也证明了氨氧化 古菌在盐渍化土壤中占主导地位。

3.3 咸水滴灌对氨氧化微生物群落结构多样性的 影响

在农田土壤中,盐分是主要的限制因素,氮的 添加也会影响氨氧化微生物群落结构的变化。α-多样性分析发现,咸水滴灌仅改变了氨氧化古菌和 全程氨氧化细菌 A 分支的丰度,对于氨氧化细菌和 全程氨氧化细菌 B 分支改变了其多样性和丰度。 说明在咸水滴灌条件下氨氧化细菌和全程氨氧化 细菌 B 分支群落结构变化更为显著,这可能是由于 氨氧化古菌对恶劣环境有较好的耐受性,不易受到 环境因素的影响所致^[27]。氮肥施用仅改变了氨氧 化古菌和氨氧化细菌的丰度,对于全程氨氧化细菌 改变了其多样性和丰度,说明全程氨氧化细菌对氮 肥更加敏感。咸水滴灌和氮肥施用均改变了氨氧 化微生物丰度,此外还改变了部分物种的多样性, 可能是物种通过改变多样性来适应土壤环境的变 化^[28]。将环境因子和多样性指数进行相关性分析 发现,硝态氮含量是影响氨氧化古菌 α-多样性的主 要因素,使得氨氧化古菌群落的丰度随硝态氮含量 的降低而增加,对于其他3个物种而言均受多种因 素的影响,氨氧化细菌群落的多样性和丰度随含水 量的增加而增加,此时硝态氮含量呈降低趋势且与 该物种呈负相关关系,能够促进氨氧化细菌群落结 构的发展:全程氨氧化细菌 B 分支群落的多样性和 丰度随 pH 值的降低而增加,此时电导率和铵态氮 含量均呈增加趋势,同样能够对该群落结构的发展 起到促进作用;但对于全程氨氧化细菌 A 分支来 说,由于各因素的影响程度不同对群落结构变化造 成了差异,全程氨氧化细菌 A 分支群落的香浓指数 和丰度随硝态氮降低而增加,此时铵态氮含量呈增 加趋势,而辛普森指数与铵态氮呈负相关关系,说 明降低了全程氨氧化细菌 A 分支的辛普森指数。 因此,对于全程氨氧化细菌 A 分支群落多样性的变 化还需通过分析铵态氮和硝态氮对该物种群落多 样性贡献程度的大小来判断。

通过冗余分析发现,盐分是影响本试验土壤中 氨氧化微生物物种的主要因素,各氨氧化微生物均 对盐分较为敏感。除此之外,土壤 pH 值对全程氨 氧化细菌 A 分支和 B 分支有显著影响,说明该物种 对环境酸碱变化较为敏感,有研究发现 A 分支在中 性或碱性环境中发挥作用,而 B 分支在酸性环境中 发挥作用,而铵态氮仅对氨氧化古菌有显著影响, 表明该物种具有不同的营养和底物需求^[29]。土壤 含水量对微生物的生存有重要作用,能够促进氨氧 化细菌的生长和繁殖,此外,本研究还发现全程氨 氧化细菌 B 分支也对含水量较为敏感,在白洋淀流 域岸边带土壤的研究中,也证实了土壤含水量是影 响全程氨氧化细菌的关键因素^[30]。盐分对土壤环 境产生的影响会进一步体现在氨氧化微生物的群 落结构中,其中,未定义的泉古菌是氨氧化古菌的 优势物种,此菌种是旱地土壤的优势物种,也是促 进氨氧化作用发生的关键物种[31],随着盐分含量的 增加,泉古菌的相对丰度显著降低,奇古菌门的相 对丰度显著增加,表明盐分可以改变氨氧化古菌的 群落结构^[32]。亚硝化螺旋菌属是氨氧化细菌的优 势物种,其属于β-变形菌门的化能自养微生物,存 在于低 NH₄-N 浓度和肥力较低的土壤,有研究发现 其在低 pH 值环境下占主导地位^[24]。*Nitrosomonas* 是 全程氨氧化细菌 B 分支的优势物种,有较高的耐盐 性,能够在铵浓度较高的环境中生存。假单胞菌属 在氨氧化细菌中高度富集,该物种具有一定的硝化 活性,能够促进硝化作用的进行^[33]。放线菌和拟杆 菌等微生物属于富营养类群,能够有效消耗土壤中 的易分解碳库,对养分有较高的要求,生长速率快, 酸杆菌和绿弯菌等微生物属于贫营养类群,可消耗 土壤中难降解的有机碳库,对养分的亲和力较高, 但生长速率较慢^[34]。

氨氧化微生物是土壤硝化作用的关键物种,其 群落结构变化受多种因素的影响,大部分研究通过 高通量测序的手段,揭示了氨氧化微生物群落结构 的变化及其影响因素,但对于各因素之间的内在联系 尚不明晰,需进一步构建结构方程模型,明确各个变 量之间的关系及其影响程度,更好地揭示环境因子对 氨氧化微生物以及氨氧化微生物对硝化作用的贡献。

4 结 论

1) 咸水滴灌显著提高了土壤 EC_{1:5}和 NH⁴₄-N 含量,但显著降低了土壤 pH 值和 NO⁵₃-N 含量。氮 肥施用显著提高了土壤 TN、NO⁵₃-N 和 NH⁴₄-N 含 量,但显著降低了土壤 pH 值。

2) 咸水滴灌通过降低氨氧化细菌、全程氨氧化 细菌的数量和土壤潜在硝化势,最终抑制土壤硝化 作用的进行;氮肥施用增加了氨氧化微生物的数量 和土壤潜在硝化势,最终促进土壤硝化作用的进 行。其中,氨氧化细菌和全程氨氧化细菌 A 分支是 影响硝化速率的主导微生物。

3) 氨氧化古菌是土壤氨氧化微生物中的优势 物种, 氨氧化细菌次之。咸水滴灌降低了氨氧化古 菌的多样性和丰富度及全程氨氧化细菌 A 分支的 多样性, 但增加了氨氧化细菌和全程氨氧化细菌 B 分支的丰富度和多样性及全程氨氧化细菌 A 分支 的丰富度; 氮肥施用显著降低了氨氧化古菌和氨氧 化细菌的丰富度及全程氨氧化细菌 A 分支的丰富 度和多样性, 但增加了全程氨氧化细菌 B 分支的丰 富度和多样性。

4)盐分和铵态氮含量是影响氨氧化古菌群落 结构的主要驱动因子;盐分和速效磷含量是影响氨 氧化细菌群落结构的主要驱动因子;土壤 pH 值、盐 分、全氮、全碳、铵态氮和速效磷含量是影响全程氨 氧化细菌 A 分支群落结构的主要驱动因子;盐分、 含水量和速效钾含量是影响全程氨氧化细菌 B 分 支群落结构的主要驱动因子。

参考文献:

- [1] GUO H N, SHI X D, MA L J, et al. Long-term irrigation with saline water decreases soil nutrients, diversity of bacterial communities, and cotton yields in a gray desert soil in China[J]. Polish Journal of Environmental Studies, 2020, 29(6): 4077-4088.
- [2] 高珍珍, 王蓉, 龚松玲, 等. 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[J]. 生态科学, 2020, 39(4): 66-73.
 GAO Z Z, WANG R, GONG S L, et al. Effects of different types of straw returning on microbial community structure of ammonia oxidizers in paddy soil[J]. Ecological Science, 2020, 39(4): 66-73.
- [3] 郑洁,程梦华,栾璐,等. 秸秆还田对玉米根际氨氧化微生物群落 及红壤硝化潜势的影响[J]. 生态学报,2022,42(12):5022-5033. ZHENG J, CHENG M H, LUAN L, et al. Effects of straw returning on the ammonia-oxidizers and nitrification in the rhizosphere of maize in a red soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(12): 5022-5033.
- [4] 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.
- [5] PJEVAC P, SCHAUBERGER C, POGHOSYAN L, et al. AmoA-targeted polymerase chain reaction primers for the specific detection and quantification of comammox Nitrospira in the environment [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1508.
- [6] LI C Y, HU H W, CHEN Q L, et al. Comammox Nitrospira play an active role in nitrification of agricultural soils amended with nitrogen fertilizers[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 138: 107609.
- [7] 高复云,李雅颖,姚槐应. 完全氨氧化菌的分子生态学研究进展
 [J]. 应用生态学报, 2020, 31(8): 2831-2840.
 GAO F Y, LI Y Y, YAO H Y. Research progress on primers and molecular ecology of comammox *Nitrospira* [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020, 31(8): 2831-2840.
- [8] BERNHARD A E, BOLLMANN A. Estuarine nitrifiers: new players, patterns and processes [J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2010, 88(1): 1-11.
- [9] 杨易,黄立华,肖扬,等.苏打盐碱化稻田土壤氮素矿化和硝化特 征及其影响因子[J].植物营养与肥料学报,2022,28(10): 1816-1827.

YANG Y, HUANG L H, XIAO Y, et al. Characteristics and influencing factors of soil nitrogen mineralization and nitrification in salinesodic paddy fields[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2022, 28(10): 1816-1827.

- [10] 杨祺,李洁,李刚,等. 施氮量对番茄根际土壤细菌群落及氮转 化功能的影响[J]. 农业资源与环境学报, 2023, 40(2): 403-411.
 YANG Q, LI J, LI G, et al. Effects of nitrogen application on tomato rhizosphere bacterial community and nitrogen transformation function [J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2023, 40 (2): 403-411.
- [11] 陈照明,王强,李燕丽,等. 氮素水平对潮土氨氧化微生物和硝 化作用的影响[J]. 浙江农业学报, 2022, 34(9): 2004-2012. CHEN Z M, WANG Q, LI Y L, et al. Effects of nitrogen levels on ammonia oxidizers and nitrification in fluvo-aquic soil[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2022, 34(9): 2004-2012.
- [12] 徐建宇,毛艳萍. 从典型硝化细菌到全程氨氧化微生物:发现及研究进展[J]. 微生物学通报, 2019, 46(4): 879-890.
 XU J Y, MAO Y P. From canonical nitrite oxidizing bacteria to complete ammonia oxidizer: discovery and advances [J]. Microbiology China, 2019, 46(4): 879-890.
- [13] 武星魁,施卫明,徐永辉,等.长期不同化肥氮用量对设施菜地 土壤氮素矿化和硝化作用的影响[J].土壤,2021,53(6):

1160-1166.

WU X K, SHI W M, XU Y H, et al. Effects of long-term different chemical nitrogen rates on soil nitrogen mineralization and nitrification in greenhouse vegetable field[J]. Soils, 2021, 53(6): 1160-1166.

- [14] LU X D, NICOL G W, NEUFELD J D. Differential responses of soil ammonia-oxidizing archaea and bacteria to temperature and depth under two different land uses[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 120: 272-282.
- [15] 马瑞,赵永鹏,王智慧,等.pH 对水稻土全程氨氧化细菌丰度和 群落结构组成影响[J].环境科学,2022,43(4):2204-2208.
 MA R, ZHAO Y P, WANG Z H, et al. Effect of pH on the abundance and community structure of comammox nitrospira in paddy soils
 [J]. Environmental Science, 2022, 43(4):2204-2208.
- [16] DUAN P P, FAN C H, ZHANG Q Q, et al. Overdose fertilization induced ammonia-oxidizing archaea producing nitrous oxide in intensive vegetable fields[J]. Science of the Total Environment, 2019, 650(Pt 2): 1787-1794.
- [17] BEECKMAN F, MOTTE H, BEECKMAN T. Nitrification in agricultural soils: impact, actors and mitigation[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2018, 50: 166-173.
- [18] LEHTOVIRTA-MORLEY L E. Ammonia oxidation: ecology, physiology, biochemistry and why they must all come together [J]. FEMS Microbiology Letters, 2018, 365(9): fny058.
- [19] KUROLA J, SALKINOJA-SALONEN M, AARNIO T, et al. Activity, diversity and population size of ammonia-oxidising bacteria in oil-contaminated landfarming soil [J]. FEMS Microbiology Letters, 2005, 250(1): 33-38.
- [20] 谢军,王子芳,王蓥燕,等. 化肥和有机肥配施生物炭对根际土 壤反硝化势和反硝化细菌群落的影响[J]. 环境科学,2023,44
 (8):4565-4574.
 XIE J, WANG Z F, WANG Y Y, et al. Effect of chemical fertilizer and manure combined with biochar on denitrification potential and de-

nitrifying bacterial community in rhizosphere soil [J]. Environmental Science, 2023, 44(8): 4565-4574.

- [21] 王梅,王智慧,石孝均,等.长期不同施肥量对全程氨氧化细菌 丰度的影响[J].环境科学,2018,39(10):4727-4734.
 WANG M, WANG Z H, SHI X J, et al. Long-term fertilization effects on the abundance of complete ammonia oxidizing bacteria (comammox *Nitrospira*) in a neutral paddy soil[J]. Environmental Science, 2018, 39(10): 4727-4734.
- [22] 于超,孙池涛,张倩,等.黄河三角洲盐渍土蒸发对土壤盐分变 化的响应特征[J]. 排灌机械工程学报,2023,41(1):89-95.
 YU C, SUN C T, ZHANG Q, et al. Response characteristics of saline soil evaporation in Yellow River Delta under different salinity levels
 [J]. Journal of Drainage and Irrigation Machinery Engineering, 2023, 41(1):89-95.
- [23] 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.
 MALJ, ZHANGHM, HOUZA, et al. Effects of long-term saline

water drip irrigation on the abundance and community structure of ammonia oxidizers [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2019, 38(12): 2797-2807.

[24] 李亚威,徐俊增,卫琦,等.不同水盐条件下盐渍土硝化过程特征[J]. 排灌机械工程学报, 2018, 36(9): 909-913.
LI Y W, XU J Z, WEI Q, et al. Soil nitrification process under different soil moisture and salinity conditions [J]. Journal of Drainage and Irrigation Machinery Engineering, 2018, 36(9): 909-913.

- [25] 宋延静,张晓黎,付娆,等. 滨海盐渍化土壤中氨氧化微生物丰度和多样性特征[J]. 土壤, 2022, 54(6): 1157-1164. SONG Y J, ZHANG X L, FU R, et al. Patterns of activity and community of ammonia oxidizers along salinity gradient in salinized soils [J]. Soils, 2022, 54(6): 1157-1164.
- [26] 陈竹, 郭岩彬, 孟凡乔, 等. 施肥方式对干旱半干旱地区土壤氨 氧化微生物数量和群落的影响[J]. 生态学报, 2021, 41(11): 4577-4585.

CHEN Z, GUO Y B, MENG F Q, et al. Effects of long-term different fertilization regimes on the abundance and community structure of ammonia oxidizers in semi-arid ecosystem [J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(11): 4577-4585.

- [27] 李高洋,黄永相,吴伟健,等.海水稻根际效应对滨海盐碱地土 壤氨氧化微生物的影响[J].土壤学报,2023,60(2):587-598.
 LI G Y, HUANG Y X, WU W J, et al. Effects of seawater rice rhizosphere effect on soil ammonia-oxidizing microorganisms in coastal saline-alkali soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60(2): 587-598.
- [28] 刘灵芝,马诗涵,李秀玲,等.长期施肥对土壤氨氧化微生物的 影响[J].应用生态学报,2020,31(5):1459-1466. LIU L Z, MA S H, LI X L, et al. Effects of long-term fertilization on soil ammonia-oxidizing microorganisms[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020, 31(5): 1459-1466.
- [29] 夏围围,李乙坤,张萌,等.硝化微生物在土壤团聚体中的分布 及其对种植方式的响应[J/OL].土壤学报:1-13.(2022-09-23) [2023-01-11].http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20220922. 1808.006.html.

XIA W W, LI Y K, ZHANG M, et al. Distribution patterns of nitrifiers within soil aggregates under different cropping systems [J/OL]. Acta Pedologica Sinica: 1-13. (2022-09-23) [2023-01-11]. ht-tp://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.P.20220922.1808.006.html.

[30] 李双异,刘旭,张维俊,等.长期施肥与覆膜对土壤细菌、泉古菌和氨氧化微生物丰度的影响[J].土壤通报,2019,50(4): 891-898.

LI S Y, LIU X, ZHANG W J, et al. Effects of long-term fertilization and mulching on the abundance of bacteria, crenarchaeota, and ammonia oxidizersin brown earth [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2019, 50(4): 891-898.

[31] 贺帅兵,胡文革,靳希桐,等.艾比湖湿地芦苇根际土壤氨氧化 古菌的多样性和群落结构[J]. 微生物学报,2019,59(8): 1576-1585.

HE S B, HU W G, JIN X T, et al. Diversity and community structure of ammonia oxidizing archaea in rhizosphere soil of reed in Ebinur Lake Wetland [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2019, 59 (8): 1576-1585.

- [32] PÉREZ-HERNÁNDEZ V, HERNÁNDEZ-GUZMÁN M, SERRANO-SILVA N, et al. Diversity of amoA and pmoA genes in extremely saline alkaline soils of the former lake texcoco[J]. Geomicrobiology Journal, 2020, 37(9): 785-797.
- [33] 左照江,张汝民,高岩. 盐胁迫下植物细胞离子流变化的研究进展[J]. 浙江农林大学学报, 2014, 31(5): 805-811.
 ZUO Z J, ZHANG R M, GAO Y. Advances in plant cell ion flux with salt stress: a review[J]. Journal of Zhejiang A & F University, 2014, 31(5): 805-811.
- [34] 王慧颖,徐明岗,马想,等.长期施肥下我国农田土壤微生物及 氨氧化菌研究进展[J].中国土壤与肥料,2018,(2):1-12.
 WANG H Y, XU M G, MA X, et al. Research advances of microorganism and ammonia oxidizing bacteria under long-term fertilization in Chinese typical cropland[J]. Soils and Fertilizers Sciences in China, 2018,(2): 1-12.

(上接第230页)

- [26] 管珺, 胡永红, 杨文革, 等. 蜡样芽孢杆菌防治植物病虫害的研究 进展[J]. 现代农药, 2007, 6(4): 7-10.
 GUAN J, HU Y H, YANG W G, et al. Advances in plant diseases and pests control by bacillus cereus [J]. Modern Agrochemicals, 2007, 6 (4): 7-10.
- [27] 田凤鸣,陈强,何九军,等. 一株花椒根腐病拮抗菌的分离鉴定及 全基因组序列分析[J]. 微生物学通报, 2022, 49(8): 3205-3219.
 TIAN F M, CHEN Q, HE J J, et al. Isolation, identification, and whole genome analysis of a strain against *Zanthoxylum bungeanum* root rot[J].
 Microbiology China, 2022, 49(8): 3205-3219.
- [28] 田凤鸣, 陈强, 何九军, 等. 花椒根腐病拮抗菌 W-5 的鉴定及发酵 条件的优化[J]. 山东农业科学, 2023, 55(10): 124-132.
 TIAN F M, CHEN Q, HE J J, et al. Identification of antagonistic strain W-5 to *Zanthoxylum bungeanum* root rot and optimization of fermentation conditions [J]. Shandong Agricultural Sciences, 2023, 55(10): 124-132.
- [29] 梁巧兰,魏列新,徐秉良,等.花椒树腐朽病病原菌鉴定及其生防菌剂筛选[J].西北农业学报,2022,31(9):1211-1221.
 LIANG Q L, WEI L X, XU B L, et al. Identification on pathogens of *Zanthoxylum bungeanum* decay disease and screening of its biocontrolfungicides [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2022, 31(9): 1211-1221.
- [30] 李建嫄, 张娜, 刘峰, 等. 花椒枯穂病生防菌的筛选及鉴定[J].

华北农学报, 2013, 28(4): 223-227.

LI J Y, ZHANG N, LIU F, et al. Screening and identification of microbes against pricklyash peel ear blight disease [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2013, 28(4): 223-227.

- [31] 朱天辉,杨启智. 腐皮镰孢菌对花椒抗根腐病诱导作用研究[J].
 林业科学, 1999, 35(6): 67-70.
 ZHU T H, YANG Q Z. Astudy on induced resistance against the root rot in *Zanthoxylum bungeanum* with fusariumsolani [J]. Scientia Silvae Sinicae, 1999, 35(6): 67-70.
- [32] 李妹江,朱天辉,谯天敏,等.花椒根腐病生防芽孢杆菌的筛选鉴定及定殖和防治效果[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2016,44(4):114-122.
 LI S J, ZHU T H, QIAO T M, et al. Screening, identification, colonization and control effect of biocontrol *Bacillus* sp. against root rot of *Zanthoxylum bungeanum* maxim[J]. Journal of Northwest A&F University(Natural Science Edition), 2016, 44(4): 114-122.
- [33] 李梦玮,陈晓霞,补欢欢,等.花椒根腐病拮抗真菌的分离鉴定 及其生防潜力探究[J].中国生物防治学报,2023,39(1): 176-183.

LI M W, CHEN X X, BU H H, et al. Isolation, identification and biocontrol potential of antagonistic fungi against *Zanthoxylum bungeanum* root rot[J]. Chinese Journal of Biological Control, 2023, 39(1): 176-183.