

秸秆还田配施氮肥对土壤氨氧化微生物和玉米产量的影响

任洁昕^{1,2}, 陈帅民¹, 刘剑锋², 王立春¹, 吕艳杰¹, 王永军^{1,2}

(1. 吉林省农业科学院资源与环境研究所, 吉林 长春 130033;

2. 吉林师范大学生命科学学院, 吉林 四平 136000)

摘要: 氨氧化作为硝化作用的限速步骤, 在土壤氮素转化、作物氮素利用过程中发挥重要作用。明确秸秆还田配施氮肥对氨氧化微生物的影响及其与玉米产量的关系, 可为秸秆高效还田、减少化肥投入的绿色农业发展提供理论依据。研究设置了秸秆不还田且不施N(S₀)、秸秆半量(7.5 t/hm²)还田且不施N(S_{1/2})、秸秆全量(15.0 t/hm²)还田且不施N(S₁)、无秸秆还田配施 N 200 kg/hm²(S₀N)、秸秆半量(7.5 t/hm²)还田配施 N 200 kg/hm²(S_{1/2}N)、秸秆全量(15.0 t/hm²)还田配施 N 200 kg/hm²(S₁N)等 6 个处理, 探究不同秸秆还田量和 N 施用量对玉米产量、土壤氮素含量以及土壤氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)丰度和群落结构的影响。结果表明, 秸秆还田处理玉米籽粒产量较无秸秆还田有所降低, 产量降低主要与穗粒数减少有关; 秸秆还田配施氮肥可显著提高玉米籽粒产量和土壤氮素含量。同时可看出, 秸秆还田可显著提高AOA-*amoA*基因拷贝数和群落Shannon指数, 但会降低AOB群落Shannon指数; 施氮则提高了AOB-*amoA*基因丰度, 且增加了以亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)和亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)为代表的氨氧化细菌相对丰度; 其中AOB-*amoA*基因拷贝数与玉米产量相关程度最高($r=0.55$, $P<0.05$)。综上认为, AOA和AOB丰度和群落结构对秸秆和氮肥响应方式不同, 二者配合显著增加土壤氨氧化微生物, 有利于玉米产量提高。

关键词: 秸秆还田; 玉米; 氮肥; 产量; 土壤氨氧化微生物; 氨氧化细菌; 氨氧化古菌

中图分类号: S513; S147.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 2097-2172(2025)07-0665-011

doi: 10.3969/j.issn.2097-2172.2025.07.013

Effects of Straw Returning Combined with Nitrogen Fertilization on Soil Ammonia-oxidizing Microorganisms and Maize Yields

REN Jiexin^{1,2}, CHEN Shuaimin¹, LIU Jianfeng², WANG Lichun¹, LÜ Yanjie¹, WANG Yongjun^{1,2}

(1. Institute of Resources and Environment, Jilin Academy of Agricultural Sciences, Changchun Jilin 130033, China;

2. College of Life Science, Jilin Normal University, Siping Jilin 136000, China)

Abstract: Ammonia oxidation as a rate-limiting step in nitrification, plays an important role in soil nitrogen transformation and crop nitrogen utilization. Clarifying the effects of straw returning with nitrogen fertilizer on ammonia-oxidizing microorganisms and their relationship with maize yield could provide a theoretical basis for the development of green agriculture with efficient straw returning and reduced fertilizer input. Therefore, a field experiment was conducted with 6 treatments: no straw returning and no nitrogen fertilizer (S₀), half straw returning (7.5 t/ha) without nitrogen fertilizer (S_{1/2}), full straw returning (15.0 t/ha) without nitrogen fertilizer (S₁), no straw returning with 200 kg/ha nitrogen (S₀N), half straw returning with 200 kg/ha nitrogen (S_{1/2}N), and full straw returning with 200 kg/ha nitrogen (S₁N). The study aimed to explore the impact of different amount of straw returns and nitrogen rates on maize yield, soil nitrogen content, and the abundance and community structure of soil ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB). The findings obtained as follows: the straw return treatment reduced maize grain yield and the yield reduction was mainly related to a reduction in the number of grains in the spike. Straw returning significantly increased AOA-*amoA* gene copy number and community Shannon index. However, it reduced the Shannon index of the AOB community. Nitrogen

收稿日期: 2025-06-06

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2301703); 国家现代农业产业技术体系(CARS-02-19); 国家自然科学基金(U23A6001-01)。

作者简介: 任洁昕(1999—), 女, 吉林蛟河人, 硕士, 主要从事玉米栽培生理及微生物学研究工作。Email: 1455393467@qq.com。

通信作者: 王永军(1977—), 男, 山东诸城人, 研究员, 博导, 主要从事玉米栽培生理研究工作。Email: yjwang2004@126.com。

共同通信作者: 吕艳杰(1977—), 女, 吉林舒兰人, 研究员, 博导, 主要从事玉米栽培生理研究工作。Email: lvyanjie_1977@163.com。

fertilizer application increased AOB-*amoA* gene abundance and increased the relative abundance of ammonia-oxidizing bacteria represented by the genera *Nitrosospira* and *Nitrosomonas*. The AOB-*amoA* gene copy number showed the highest correlation with maize yield ($r=0.55$, $P<0.05$). In conclusion, the abundance and community structure of AOA and AOB respond differently to straw and nitrogen input, and their combination significantly enhances soil ammonia-oxidizing microorganisms, thereby promoting maize yield.

Key words: Straw returning; Maize; Nitrogen fertilizer; Yield; Soil ammonia-oxidizing microorganism; Ammonia-oxidizing bacterium; Ammonia-oxidizing archaea

玉米(*Zeamays* L.)作为我国第一大粮食作物,广泛用于食品、饲料、和工业原料中,对保障国家粮食安全具有十分重要的意义^[1]。东北地区作为中国最大的玉米产区,播种面积和总产量分别占全国的 30.2%和 32.3%^[2]。然而,为了追求作物高产,农田中化肥尤其是氮肥的过量投入导致土壤退化、土壤营养养分不均衡^[3]。另外,随东北地区玉米产量增加,秸秆总量也随之迅速提高,因此如何合理利用作物秸秆成为玉米产业发展面临的重大课题。

秸秆还田是农业资源循环利用和保护性耕作的重要方法,在改善土壤性质,提高土壤养分有效性方面发挥重要作用^[4-5]。成熟期玉米秸秆中氮、磷、钾含量分别占植株的 35.9%~40.5%、24.5%~35.1%、69.8%~72.6%^[6]。据计算,中国目前秸秆中可提供 746.7 万 t 的 N,相当于目前国内所施氮肥总量的 26%。如将目前有效秸秆还田的比例从 1/3 提高到 2/3,则可减少约 250.0 万 t 氮肥用量且有利于培肥地力^[7]。另外,秸秆还田不仅可以增加土壤有机质含量,还会提高土壤氮、有机碳以及其他微量元素;秸秆埋入土壤会阻止土壤径流和浸出所造成的营养损失,从而提高土壤肥力^[8-11]。同时,Zhao 等^[12]发现,秸秆还田可使总磷脂脂肪酸(PLFA)含量提高,从而增加土壤真菌、细菌等微生物的含量。赵亚丽等^[13]研究结果显示,随秸秆埋入土壤时间增加,细菌多样性以及丰富度也显著提高,表明秸秆还田也能促进微生物多样性及其活力,改善微生物环境。然而,在东北冷凉区推广秸秆还田技术也存在一定问题,如秸秆腐解缓慢,养分释放量低,并会出现与作物争氮现象,不利于作物生长,而外源添加氮肥可有效缓解这一矛盾。因此,秸秆与氮肥协调配施是实现玉米种植系统高效绿色生产的重要方向。

土壤微生物作为农田土壤中的重要成分之一,在农业生态系统生产力中起着至关重要的作用,

包括释放营养物质、促进土壤有机质的转化以及固氮等作用,其在一定程度上主导整个土壤生态系统的养分循环及能量流动^[14-15]。其中,氨氧化微生物参与的氨氧化作用是土壤硝化作用的重要一环,在农业氮循环中发挥着不可替代的作用^[16-17]。氨氧化过程是硝化作用的第一步同时也是限速步骤^[18],主要由含氨单加氧酶 *amoA* 基因的氨氧化细菌(Ammonia oxidizing bacteria, AOB)和氨氧化古菌(Ammonia oxidizing archaea, AOA)共同驱动完成氨向亚硝酸盐的转化^[19-20]。有研究认为 AOA 与 AOB 的丰度及其对硝化作用的相对贡献都直接或间接接受施肥处理的影响^[21-23]。Horz 等^[24]发现氨氧化细菌的群落结构和丰度对氮肥的变化有明显的响应。此外,Wu 等^[25]和 Su 等^[26]研究表明,不同施肥梯度对 AOA 和 AOB 的群落结构均产生显著影响;刘建国等^[27]研究表明,土壤中氨氧化微生物丰度和活性与氮素投入密切相关。也有学者认为,长期施用有机肥会显著提高土壤中有机氮浓度,引起 AOA 丰度提高,长期施用含氮化肥则会提高 AOB 丰度^[28-30]。另外,Galloway 等^[31]和 Battye 等^[32]研究均表明,长期施用过量氮肥会抑制土壤中氮素功能微生物活性,不利于氨氧化微生物的生长,直接影响植物对氮素的有效利用。秸秆和尿素均可作氮肥为土壤和作物提供氮素养分,但二者类型截然不同,其有效性存在巨大差异。秸秆和尿素如何影响氨氧化微生物的丰度和群落结构变化尚需进一步深入研究。

综上所述,目前相关研究主要集中在不同秸秆还田处理对土壤肥力以及氨氧化微生物活性的影响,而秸秆还田配施氮肥对氨氧化微生物群落多样性以及玉米产量之间关系等方面的研究相对薄弱,这显然不利于作物秸秆的直接还田肥料化利用。因此,本研究分析了氨氧化微生物丰度及群落多样性,通过解析秸秆还田配施氮肥对氨氧化微生物、土壤氮素、玉米产量之间关系,以期

为黑土区进一步提高玉米产量和减少化肥投入提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验于 2022—2023 年在位于吉林省公主岭市的吉林省农业科学院主要粮食作物国家工程技术中心 (43° 30' N、124° 48' E) 的水肥渗漏研究池 (规格为长 × 宽 × 深 = 5.4 m × 1.6 m × 2.0 m) 进行。当地采用一年一季的玉米种植制度, 该试验池于 2015 年投入使用。当地属温带大陆性季风气候, 2015—2023 年间的平均年日照时数为 2 712 h, 玉米生长季的平均气温为 19.6 °C, 常年有效积温为 2 800 °C, 年均降水量 594.8 mm, 年均无霜期 133 d。土壤类型为黑土。播前 0 ~ 20 cm 土层土壤含有机质 26.0 g/kg、碱解氮 243.0 mg/kg、速效磷 37.2 mg/kg、速效钾 126 mg/kg, pH 6.5^[33]。

1.2 供试材料

试验指示玉米品种为东北主推玉米品种富民 985, 由吉林省富民种业有限公司选育并提供。供试氮肥为尿素 (含 N 46%), 磷肥为重过磷酸钙 (含 P₂O₅ 50%), 钾肥为硫酸钾 (含 K₂O 52%)。

1.3 试验方法

试验采用完全随机区组设计, 共设 6 个处理, 分别为无秸秆还田且不施 N (S₀)、秸秆半量 (7.5 t/hm²) 还田且不施 N (S_{1/2})、秸秆全量 (15.0 t/hm²) 还田且不施 N (S₁)、无秸秆还田配施 N 200 kg/hm² (S₀N)、秸秆半量 (7.5 t/hm²) 还田配施 N 200 kg/hm² (S_{1/2}N) 和秸秆全量 (15.0 t/hm²) 还田配施 N 200 kg/hm² 氮肥 (S₁N)。每处理重复 3 次。各处理均基施 P₂O₅ 120 kg/hm²、K₂O 120 kg/hm², 其中施氮处理均基施 N 200 kg/hm², 秸秆还田处理分别在 2022 年 10 月 10 日、2023 年 10 月 6 日将当季收获的玉米秸秆机械粉碎至 3 ~ 6 cm 长后人工将均匀翻埋至 20 cm 土层, S₀ 处理和 S₀N 处理则仅深翻 20 cm 土层后回填。其他田间管理与当地农业生产措施保持一致。5 月中旬按种植密度为 60 000 株/hm² 统一播种, 10 月中上旬及时收获。

1.4 观测指标及测定

1.4.1 产量 2023 年在玉米完熟期收获每个栽培池中间 4 行进行测产, 称量总穗重和平均单穗重。根据平均单穗重从中选择 10 个均匀果穗, 风干后

考种, 记录穗行数与行粒数后脱粒。每个处理选取 30 个果穗用于计算玉米籽粒产量和产量构成要素。将玉米籽粒置于烘箱 80 °C 烘至恒重后计算玉米籽粒含水量、千粒重和穗粒重, 并计算籽粒产量 (以籽粒含水量为 140 g/kg 进行折算) 和收获指数^[34-36]。

籽粒产量 = (穗粒数 × 千粒重 × 单位面积收获穗数 × 106) / (1 - 0.14)

收获指数 (HI) = 玉米粒重 / 玉米地上部生物量

1.4.2 土壤样品采集 于玉米成熟期 (9 月 23 日) 每小区选取 3 个点采集 0 ~ 20 cm 土层的土壤, 3 份土壤混合均匀作为 1 个处理, 每个处理重复 3 次。土样剔除杂草、根系、碎石等杂物后分成两部分, 一部分土样迅速装入灭菌的无菌管中, 放入液氮中进行冷冻处理, 带回实验室置于 -80 °C 超低温冰箱保存用作微生物测定分析; 另一部分土样室内风干后保存供后续理化性质分析。

1.4.3 土壤理化性质 土壤 pH 测定: 以水土比 2.5 : 1 浸提, 用 pH 计 (上海雷磁, PHS-25 型) 进行测定。土壤全氮 (TN) 测定: 将风干土壤研磨过 0.148 mm 筛混匀, 称取 0.5 g 左右, 置于消煮管中, 加入少量超纯水湿润, 使用 H₂SO₄-H₂O₂ 混合催化消煮, 380 °C 高温消煮 4 ~ 5 h, 消煮液体呈透明无色为止。将消煮好的液体用去离子水定容至 50 mL 容量瓶中, 静置后倒入 10 mL 离心管中, 作为待测液, 室温密封保存, 采用 AA3 型连续流动分析仪 (Elementar Analysensysteme GmgH, 德国) 测定溶液中的全氮含量。土壤无机氮测定: 将冷冻保存的新鲜土壤过 8 mm 筛后, 称取 5 g 加入 5 mL 1 mol/L KCl 振荡浸提, 采用 AA3 型连续流动分析仪 (Elementar Analysensysteme GmgH, 德国) 测定浸提液中 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 浓度。

1.5 土壤 DNA 提取和荧光定量 PCR

称取 0.25 g 超低温保存的土壤样品, 采用 E.Z. N.A. Soil DNA Kit (Omega Bio-tek, Inc., USA) 试剂盒提取土壤基因组 DNA, 提取方法参照试剂盒说明书。得到的 DNA 通过 Nanodrop 2000 (ThermoFisher Scientific, Inc., USA) 对其浓度和纯度进行检测。氨氧化古菌氨单加氧酶基因 (AOA-*amoA*) 和氨氧化细菌氨单加氧酶基因 (AOB-*amoA*) 采用 SYBR Green 荧光定量法进行测定。PCR 反应体系 (总体积为 25

μL): 12.5 μL 2 × SYB Premix Ex Taq (Takara Biotech Co., Ltd, China)、1 μL Forward Primer(5 μM)、1 μL Reverse Primer (5 μM)、2 μL DNA (DNA 总量为 30 ng) 和 8.5 μL ddH₂O, PCR 引物详见表 1。PCR 扩增条件为: 95 ℃预变性 5 min, 95 ℃变性 45 s, 55 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 45 s, 28 个循环; 72 ℃终末延伸 10 min。PCR 在 ABI 9700 PCR 仪(Applied Biosystems, Inc., USA) 上进行。PCR 产物使用 1%琼脂糖凝胶电泳(170 V, 30 min)检测条带大小(AOA-amoA, 230 bp; AOB-amoA, 230 bp)。

1.6 氨氧化微生物 *amoA* 基因高通量测序和序列分析

采用带有 barcode 序列的引物对 AOA-*amoA* 基因和 AOB-*amoA* 基因进行扩增, 反应体系和反应条件与 1.5 相同, 其中酶使用 2 × Taq Plus Master Mix(Vazyme Biotech Co., Ltd, China)。PCR 产物使用 Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Inc., USA) 试剂盒进行纯化回收。纯化后的 PCR 产物使用 NEB Next Ultra II DNA Library Prep Kit (New England Biolabs, Inc., USA)建库试剂盒进行文库构建, 高通量测序文库的构建基于 Illumina Miseq PE300(Illumina, Inc., USA)平台测序, 由北京奥维森基因科技有限公司完成。使用 QIIME(v1.8.0)和Pear(v0.9.6)软件对原始序列进行拆分、过滤和拼接, 利用

Vsearch(v2.7.1)软件的 uparse 算法对优质序列进行 OTU (Operational Taxonomic Units) 物种分类注释。基于 OTU 及其丰度结果, 使用 QIIME(v1.8.0)软件计算 Alpha 多样指数和 Beta 多样性距离矩阵, 并使用R(v3.6.0)软件进行物种组成柱状图分析以及 PCoA 分析绘图。

1.7 数据分析

采用 Microsoft Excel 2010 进行数据处理, 运用 SPSS 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA)统计软件对数据方差分析(ANOVA)。应用 Origin 2018 (Origin Lab Co., Northampton, MA, USA)作图。

2 结果与分析

2.1 玉米产量及其构成因素

从表 2 可以看出, 在不施用氮肥条件下, 秸秆还田处理的玉米籽粒产量有所降低。其产量降低主要与穗粒数减少有关, S_{1/2}、S₁ 处理的穗粒数分别较 S₀ 处理降低 12.7%、15.8%(*P*<0.05)。单施氮肥和秸秆配施氮肥各处理均显著了提高玉米的籽粒产量, S₀N、S_{1/2}N、S₁N 处理的玉米籽粒产量分别较 S₀ 处理提高 44.4%、57.3%、68.0% (*P*<0.05), 这与穗粒数、千粒重增加密切相关, 其中 S₀N、S_{1/2}N、S₁N 处理的穗粒数分别较 S₀ 处理提高 19.8%、34.2%、28.5% (*P*<0.05), 千粒重分别较 S₀ 处理提高 19.4%、20.5%、29.3% (*P*<0.05)。同

表 1 氨氧化微生物主要引物

目的基因	引物名称	引物序列(5' to 3')	参考文献
AOB <i>amoA</i> 基因	amoA-1F	GGGTTTCTACTGCTGGT	[37]
	amoA-2R	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	
AOA <i>amoA</i> 基因	Arch-amoA26F	GACTACATATTCTACACWGA CTGGGC	[38]
	Arch-amoA417R	GGKGT CATRTATGGWGGY AAYGTTGG	

表 2 不同处理的玉米产量和主要产量构成因素^①

处理	产量 /(t/hm ²)	穗粒数 /粒	千粒重 /g	收获指数 (HI)
S ₀	8.85±1.05 c	432.60±24.74 b	302.23±15.73 c	0.50±0.01 b
S _{1/2}	7.32±0.12 c	377.77±7.11 bc	291.45±1.74 c	0.46±0.01 b
S ₁	7.25±0.52 c	364.43±36.00 c	307.10±2.34 c	0.49±0.01 b
S ₀ N	12.78±0.34 b	518.17±20.39 a	360.83±6.91 b	0.54±0.01 a
S _{1/2} N	13.92±0.19 ab	580.67±10.81 a	364.10±11.22 ab	0.54±0.01 a
S ₁ N	14.87±0.47 a	555.70±3.92 a	390.65±6.48 a	0.55±0.01 a
变异来源				
施氮(F)	***	***	***	***
秸秆还田(S)	ns	ns	ns	ns
F×S	*	*	ns	ns

①不同小写字母分别表示各处理间在 0.05 水平上差异显著, *、**、*** 分别表示在 0.05、0.01、0.001 水平上差异显著, ns 表示无显著差异, 下表同。

时可看出, S₀N、S_{1/2}N、S₁N 处理的收获指数分别较 S₀ 处理分别提高了 8.0%、8.0%、10.0% ($P < 0.05$)。对变异来源进行分析表明, 施用氮肥能显著影响不同秸秆还田水平下玉米籽粒产量、穗粒数、千粒重和收获指数。

2.2 不同秸秆还田配施氮肥处理的土壤氮浓度

由表 3 可知, 施氮肥能够有效提高土壤氮素含量, S₀N、S_{1/2}N、S₁N 处理的土壤全氮(TN)含量较 S₀、S_{1/2}、S₁ 处理分别提高 10.1%、15.6%、27.7%, S₀N、S_{1/2}N、S₁N 处理的土壤铵态氮 (NH₄⁺-N)含量较 S₀、S_{1/2}、S₁ 处理分别提高 104.2%、110.3%、16.9%, S₀N、S_{1/2}N、S₁N 处理的土壤硝态氮(NO₃⁻-N)含量较 S₀、S_{1/2}、S₁ 处理分别提高 36.7%、27.3%、15.9%。同时可看出, 秸秆还田处理可降低土壤硝态氮(NO₃⁻-N)含量, S_{1/2}、S₁ 处理的土壤硝态氮含量分别较 S₀ 处理降低 5.0%、6.6%, S_{1/2}N、S₁N 处理的土壤硝态氮含量分别较 S₀N 处理降低 11.5%、

20.8%。

2.3 氨氧化微生物 *amoA* 基因丰度

从图 1 可知, AOA-*amoA* 基因拷贝数介于 $2.89 \times 10^5 \sim 2.55 \times 10^6$ copies/g, AOB-*amoA* 基因拷贝数介于 $2.29 \times 10^5 \sim 5.63 \times 10^5$ copies/g。除 S₀N 处理外, 各处理土壤中氨氧化古菌的丰度明显高于氨氧化细菌。秸秆还田量显著影响 AOA-*amoA* 基因拷贝数。在不施用氮肥条件下, 与 S₀ 处理相比, S_{1/2} 处理和 S₁ 处理的 AOA-*amoA* 基因拷贝数分别提高了 74.4%、298.4%。在施用氮肥条件下, 与 S₀N 处理相比, S_{1/2}N 处理和 S₁N 处理的 AOA-*amoA* 基因拷贝数分别提高了 626.6%、469.9%。施用氮肥显著影响 AOB-*amoA* 基因拷贝数, 单施氮肥可提高 AOB-*amoA* 基因拷贝数。不施氮肥处理的 AOB-*amoA* 基因拷贝数为 $2.29 \times 10^5 \sim 3.33 \times 10^5$ copies/g, 而施氮肥处理的 AOB-*amoA* 基因拷贝数为 $4.08 \times 10^5 \sim 5.63 \times 10^5$ copies/g。

表 3 不同处理的土壤理化性质			
处理	全氮(TN) /(g/kg)	铵态氮(NH ₄ ⁺ -N) /(mg/kg)	硝态氮(NO ₃ ⁻ -N) /(mg/kg)
S ₀	0.89±0.02 c	0.48±0.02 b	6.05±0.27 c
S _{1/2}	0.90±0.03 c	0.58±0.02 b	5.75±0.26 c
S ₁	0.94±0.03 bc	0.59±0.01 b	5.65±0.18 c
S ₀ N	0.98±0.06 bc	0.98±0.19 a	8.27±0.49 a
S _{1/2} N	1.04±0.05 b	1.22±0.04 a	7.32±0.43 ab
S ₁ N	1.20±0.03 a	0.69±0.06 b	6.55±0.10 bc
变异来源			
施氮(F)	***	***	***
秸秆还田量(S)	**	*	*
F×S	ns	*	ns

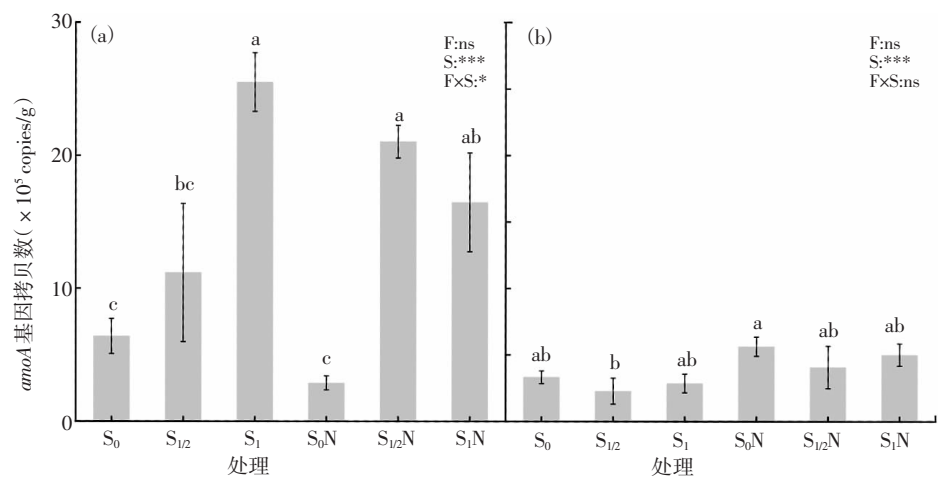


图 1 不同处理下 AOA(a)和AOB(b)的*amoA*基因丰度

2.4 氨氧化微生物的优势菌属

AOA-*amoA* 基因测序结果(图2)表明, 尽管样品中所有 OTU 被明确划分到古菌属中, 但 97.27% 以上的没有具体分类信息, 标记为 Unclassified。 *Candidatus_Nitrosocosmicus* 是鉴定到相对丰度超过 1% 的古菌(图2 a)。单施氮肥处理 S_0N 的 *Candidatus_Nitrosocosmicus* 相对丰度最高(2.64%)。而秸秆还田处理降低了其相对丰度, $S_{1/2}$ 、 S_1 处理分别较 S_0 处理降低 19.5%、18.3%, 而 S_0N 处理和 $S_{1/2}N$ 处理的相对丰度较高; $S_{1/2}N$ 、 S_1N 处理分别较 S_0N 处理降低 151.4%、11.4%。AOB-*amoA* 基因测序结果表明(图2 b), 亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)和亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)的相对丰度显著高于其他细菌属。施氮肥可显著提高亚硝化螺菌属和亚硝化单胞菌属的相对丰度。 S_0 、 $S_{1/2}$ 、 S_1 处理中亚硝化螺菌属和亚硝化单胞菌属的相对丰度为 15.24%~20.53% 和 0.61%~2.93%, 而 S_0N 、 $S_{1/2}N$ 、 S_1N 处理中亚硝化螺菌属和亚硝化单胞菌属的相对

丰度则为 25.56%~37.12% 和 2.26%~5.78%。

2.5 氨氧化微生物群落多样性

由图 3 可见, 对于 AOA 群落而言, Shannon 指数随着秸秆还田量的增加而提高。在不施氮肥条件下, S_1 处理的 Shannon 指数比 S_0 处理高 7.9%。在施氮肥处理中, $S_{1/2}N$ 处理的 Shannon 指数较 $S_{1/2}$ 处理高 8.1%, 较 S_0N 处理高 21.7%。对于 AOB 群落而言, Shannon 指数随着秸秆还田量的增加而降低。在不施氮肥条件下, $S_{1/2}$ 处理和 S_1 处理较 S_0 处理分别降低了 42.2%、16.8%。在施氮肥处理中, $S_{1/2}N$ 处理较 S_0N 处理和 $S_{1/2}N$ 处理分别较降低了 4.3%、3.2%。

由图 4 的主成分分析(PCoA)表明, 秸秆还田和配施氮肥对氨氧化细菌和古菌的群落结构的影响具有一定差异性。氨氧化古菌(AOA)的 PCoA 分析结果如图4(a)所示, 造成样本差异的主成分1(PC1)和主成分2(PC2)贡献率分别为 12.89%、10.67%, 累计贡献率达 23.56%。除 $S_{1/2}$ 处理以外, 秸秆还

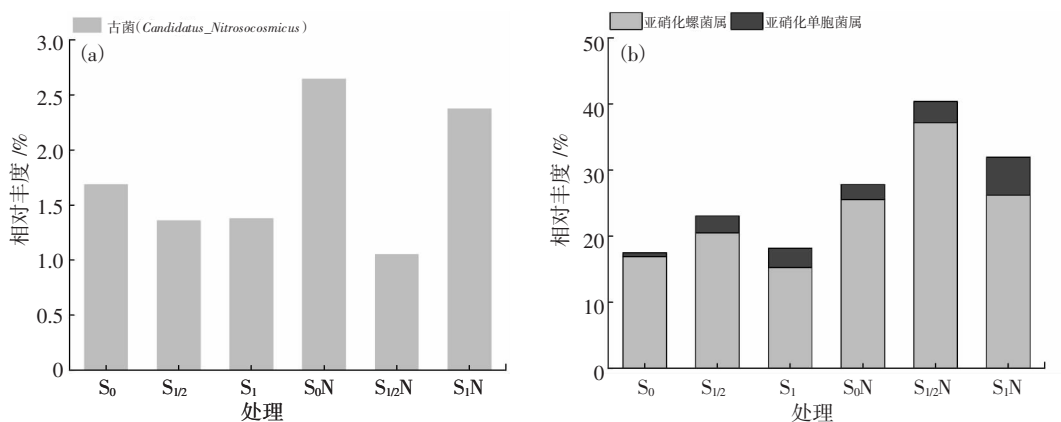


图2 不同处理下优势古菌属(a)和细菌属(b)的相对丰度

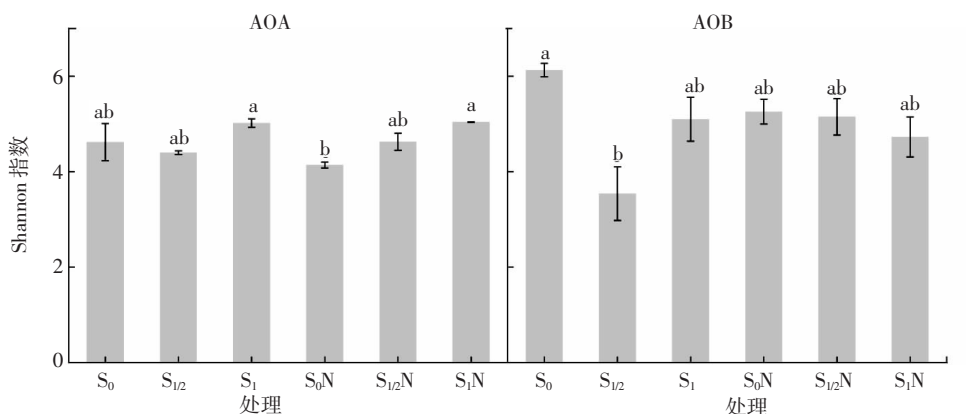


图3 氨氧化细菌和真菌群落 Alpha 多样性指数特征

田配施氮肥的处理间具有相似的细菌群落结果, 并与 S_0 处理的群落具有差异性。氨氧化细菌 (AOB) 的 PCoA 分析结果如图4(b)所示, 造成样本差异的主成分1(PC1)和主成分2(PC2)贡献率分别为 9.30%、9.12%。累计贡献率达 18.42%。与 S_0 处理相比, 单施加氮肥 (S_0N) 改变了 AOB 群落结构, 且添加秸秆处理与不添加秸秆处理的 AOB 群落结构具有差异性。

相关分析(图5)表明, AOA 丰度(AOA-*amoA* 基因拷贝数)与 AOA 群落多样性指标(Shannon 指数)具有显著正相关性($r=0.500$)。土壤 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 呈显著正相关性 ($r=0.720$)。玉米产量与 AOB 丰度 (AOB-*amoA* 基因拷贝数)($r=0.550$)及土

壤 TN ($r=0.720$)、 NH_4^+-N ($r=0.630$) 和 NO_3^--N ($r=0.640$)呈显著正相关关系($P<0.05$)。

3 讨论与结论

肥沃的土壤是可持续农业的基础, 长期施加化肥可培育高肥力土壤, 秸秆还田管理作为一种保护性耕作措施在改善土壤肥力的同时也影响着作物产量以及土壤微生物活性^[39-40]。本研究中发现, 半量(7.5 t/hm²)、全量(15.0 t/hm²)秸秆还田均降低了玉米产量, 而通过配施 N 200 kg/hm² 对玉米籽粒产量、穗粒数和千粒重表现出较为积极的效果。造成这种结果的主要原因可能是因为短期内秸秆没有足够时间分解, 一部分营养资源仍留在农田土壤中, 因此养分供应能力弱, 而氮肥的施

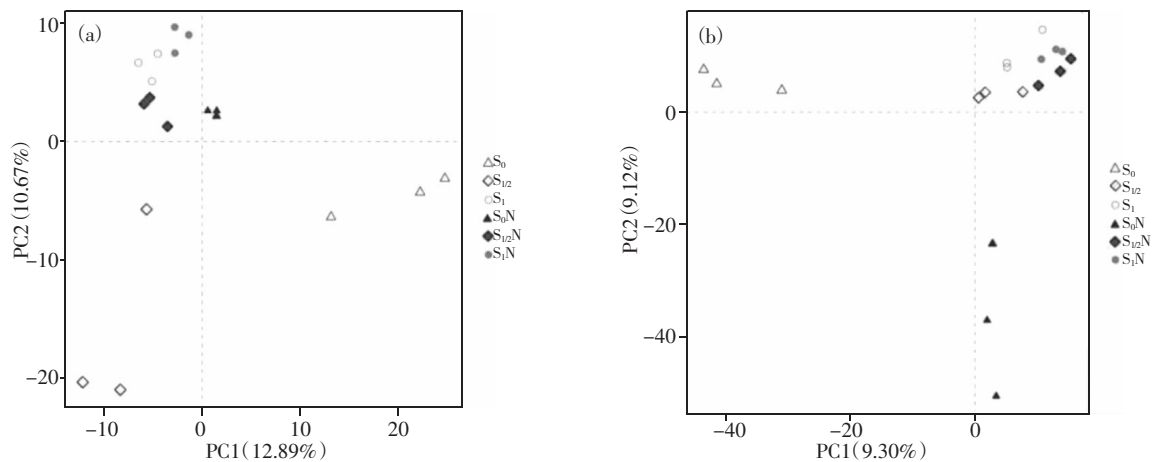


图4 AOA(a)和AOB(b) 的PCoA分析

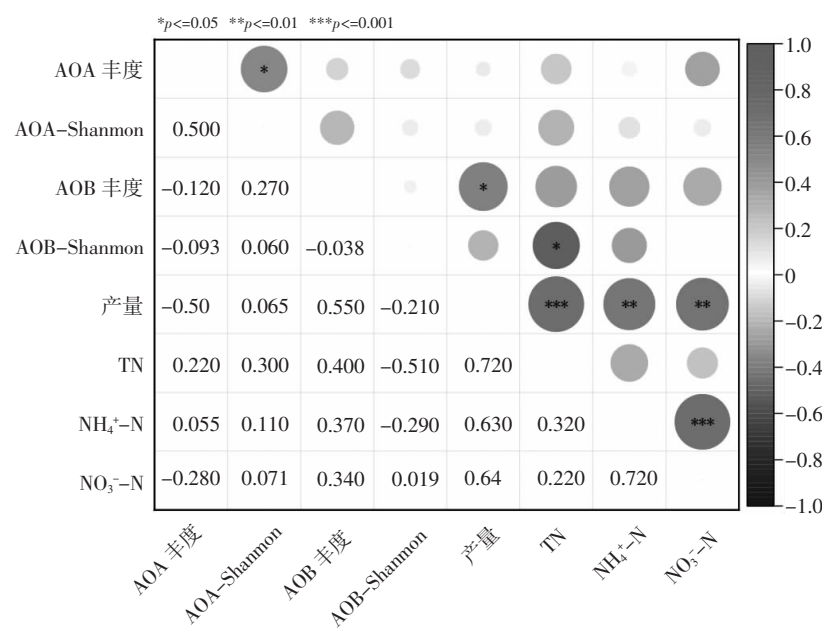


图5 AOA 和 AOB 多样性与土壤理化性质、产量的相关性

用可弥补此缺陷。本结果与 Yan 等^[41]、Han 等^[42]科学家研究显示短期内作物秸秆残留量显著增加导致不利于作物生长的结果相似。而 Xu 等^[43]则研究表明,东北地区秸秆可利用养分资源与化肥施用相结合具有替代单施化肥的巨大潜力,需要长时间持续观察。秸秆还田措施的积极作用则有利于稳定土壤肥力^[43]。本研究中发现,秸秆还田配施氮肥能有效提高土壤中全氮含量,这与龚雪蛟等^[44]研究长期施用有机肥和无机肥配施能显著提高土壤全氮和其他速效养分含量的结果一致。不同秸秆还田水平下配施氮肥均提高了土壤中铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)和硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)含量,这与张燕等^[45]研究施肥会导致土壤中 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 也会随之增加的结果一致。

氨氧化微生物是硝化作用的主要参与者,其丰度可受到秸秆还田或长期施氮的影响^[20]。Yang 等^[46]研究表明,秸秆的投入增加了铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)浓度进而提高了 AOA 丰度,而对 AOB 只产生轻微影响。本研究得出相似结果,即除无秸秆还田配施 $\text{N } 200 \text{ kg/hm}^2$ 的处理外,秸秆还田配施氮肥条件下的氨氧化古菌(AOA)丰度均显著高于氨氧化细菌(AOB),二者比值介于 1.92 ~ 8.91;并且秸秆还田处理均显著提高 AOA 丰度,造成这种现象的原因可能是由于 AOA 对氨具有更高的亲和力^[47-48]。秸秆还田可提供了大量的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$,这种高氨浓度环境条件更有利于 AOA 的生长,同时也表明了 AOA 对氨的高亲和力^[49]。另外,本研究中还发现,氮肥的添加可提高 AOB 丰度,这与 He 等^[50]、Shen 等^[51]的研究发现肥料的添加可显著影响 AOB 丰度,但对 AOA 丰度影响较小的结果一致。Wei 等^[52]的研究也表明了 AOB 对尿素的亲和力高于氨的高亲和力。肥料投入可以增加土壤养分,为氨氧化细菌的生存和繁殖提供了适宜环境。在属分类水平上,本研究结果表明氮肥的输入提高了 AOB 中亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)和亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)的相对丰度。这可能主要与较高的氮输入和高肥力有关,刺激了以 *Nitrosospira* 为主的物种的生长^[53]。

氨氧化微生物在硝化过程中对土壤 N 转化中起着关键作用。有研究表明有机肥和无机肥料的组合施用可以加速氨氧化微生物的生长,从而使

AOA 和 AOB 表现出不同的响应情况^[54-56]。Di 等^[57]在研究表层土壤中发现, AOA 与 AOB 所生长所需的氮含量有所不同。AOA 更倾向于在低 N 环境中生存,而 AOB 更适应于高 N 环境中。本研究表明,秸秆的投入虽对 AOB 的群落多样性没有影响,但秸秆全量还田可以提高 AOA 群落多样性及其丰富度。这可能是在秸秆还田过程中更有利于 AOA 对氮素的固持从而提高丰富度及其多样性。另外,本研究还发现秸秆半量(7.5 t/hm^2)还田处理下的 AOA 群落结构与其余处理群落结构变化比较大,这也进一步说明短期内的秸秆还田虽然没有及时提高足够的氮素含量,但 AOA 在低 N 条件下可以继续生长,提高 AOA 群落结构。

此外,本研究发现施氮肥对 AOA 的群落丰富度没有明显差异,却可显著提高 AOB 的群落丰富度,表明氮肥的施用可提高氨氧化细菌的群落丰富度。正如其他研究所述,施肥对 AOA 都没有显著影响^[53,58],可能是因为 AOA 对氨具有高亲和力。Xiang 等^[59]研究显示,尿素的添加更能提高 AOB 的群落丰富度和多样性的结果相似。Burton 等^[60]也研究表明是 AOB 而非 AOA 群落多样性对氮肥的添加会迅速做出积极反应,可能是因为尿素在快速转化为氨时表现得像无机氮,或者因为一些 AOB 可以产生脲酶,从而直接对尿素的添加做出积极反应。

氨氧化微生物在农业生产系统生产力中同样发挥着重要作用。本研究通过进一步的相关分析表明,秸秆还田与氮肥共同的施用通过提高土壤全氮(TN)、铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)与硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)等土壤理化性质从而显著影响了玉米的产量变化。这与 Zhang 等^[61]研究认为有机肥料和矿物相结合增加了土壤养分含量进而显著提高玉米产量的研究结果一致,表明秸秆还田可以提高土壤的养分供应能力,而氮肥的配施更加促进氨氧化微生物群落结构的改变从而增加硝化作用对氮素的转化,最终改善农业生态系统从而提高玉米产量。本研究中还发现,玉米产量与 AOB 丰度变化近乎呈相同趋势,且二者呈显著正相关,表明了秸秆与氮肥的添加会影响环境因子的改变,同时也导致了氨氧化微生物群落多样性的差异。

以玉米品种富民 985 为指示品种,研究了不

同秸秆还田量配施氮肥对玉米籽粒产量、土壤氮素含量以及土壤氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)丰度和群落结构的影响,结果表明,秸秆还田处理玉米籽粒产量较对应的无秸秆还田处理有所降低,其产量降低主要与穗粒数减少有关,秸秆还田配施氮肥可显著提高了玉米的籽粒产量和收获指数及土壤中的氮素含量。相比于仅施氮肥处理,秸秆还田可通过提高铵态氮含量从而加深 AOA 对氮素的固持,增加了 AOA 的丰度及其多样性。同时,由于氮肥的添加导致土壤中氮素含量快速增加,因 AOB 群落更适宜在高 N 环境中生长所以提高了其丰度及其多样性。故秸秆还田可显著提高 AOA-*amoA* 基因拷贝数和群落 Shannon 指数,但会降低 AOB 群落 Shannon 指数;而施氮提高 AOB-*amoA* 基因丰度,且增加了以亚硝化螺菌属(*Nitrosospira*)和亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)为代表的氨氧化细菌相对丰度;其中 AOB-*amoA* 基因拷贝数与玉米产量相关程度最高($r=0.55$, $P<0.05$)。综上认为, AOA 和 AOB 丰度和群落结构对秸秆和氮肥响应方式不同,二者配合可显著增加土壤氨氧化微生物,有利于玉米产量提高。

参考文献:

- [1] HOU S, REN H, FAN F L, et al. The effects of plant density and nitrogen fertilization on maize yield and soil microbial communities in the black soil region of Northeast China[J]. *Geoderma*, 2023, 430: 116325.
- [2] 国家统计局. 中国统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2021.
- [3] 黄国勤, 王兴祥, 钱海燕, 等. 施用化肥对农业生态环境的负面影响及对策[J]. *生态环境学报*, 2004, 13(4): 656-660.
- [4] ZHA L, JIN W, FANG G W, et al. Long-term residue retention affects seed cotton yield by regulating distribution of photosynthetic carbon, boll capacity of the root system and soil quality[J]. *Field Crops Research*, 2023, 109120.
- [5] RONG H, LAN M L, JIANG L, et al. Soil aggregate and organic carbon distribution at dry land soil and paddy soil: the role of different straws returning[J]. *Environmental science and pollution research international*, 2017, 24(96): 27942-27952.
- [6] 李 梁, 陶洪斌, 周祥利, 等. 吉林省不同地区高产春玉米养分吸收及分配规律研究[J]. *华北农学报*, 2011, 26(4), 159-166.
- [7] 李书田, 金继运. 中国不同区域农田养分输入、输出与平衡[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(20): 4207-4229.
- [8] FAN W, WU J G, AHMED S, et al. Short-term effects of different straw returning methods on the soil physico-chemical properties and quality index in dryland farming in NE China [J]. *Sustainability*, 2020, 12(7): 2631.
- [9] MA S T, KAN Z R, QI J Y, et al. Effects of straw return mode on soil aggregates and associated carbon in the North China Plain[J]. *Agronomy*, 2020, 10(1): 61.
- [10] BICHEL, A, OELBERMANN M, ECHARTE L. Impact of residue addition on soil nitrogen dynamics in inter-crop and sole crop agroecosystems[J]. *Geoderma*, 2017, 304: 12-18.
- [11] CHATTERJEE S, BANDYOPADHYAY K K, PRADHAN S, et al. Effects of irrigation, crop residue mulch and nitrogen management in maize (*Zea mays* L.) on soil carbon pools in a sandy loam soil of Indo-gangetic plain region[J]. *Catena*, 2018, 165: 207-216.
- [12] ZHAO S C, LI K J, ZHOU W, et al. Changes in soil microbial community, enzyme activities and organic matter fractions under long-term straw return in north-central China[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environ*, 2016, 216: 82-88.
- [13] 赵亚丽, 郭海斌, 薛志伟, 等. 耕作方式与秸秆还田对土壤微生物数量、酶活性及作物产量的影响[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(6): 1785-1792.
- [14] 张 薇, 魏海雷, 高洪文, 等. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J]. *生态学杂志*, 2005(1): 48-52.
- [15] HEMKEMEYER M, SCHWALB S, HEINZE S, et al. Functions of elements in soil microorganisms[J]. *Microbiological Research*, 2021, 252, 126832.
- [16] CAI F F, LUO P Y, YANG J F, et al. Effect of long-term fertilization on ammonia-oxidizing microorganisms and nitrification in brown soil of Northeast China [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11, 622454.
- [17] KOWALCHUK G A, STEPHEN J R. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2001, 55(2): 485-529.
- [18] SHEN J P, ZHANG L M, HE J Z, et al. A review of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in Chinese soils [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3, 00296.
- [19] NUNES-ALVISE C. Do it yourself nitrification[J]. *Na-*

- ture Reviews Microbiology, 2016, 14(2): 61.
- [20] 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.
- [21] JIANG H, HUANG L, DENG Y, et al. Latitudinal distribution of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in the agricultural soils of eastern China[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80: 5593–5602.
- [22] LU L, HAN W, ZHANG J, et al. Nitrification of archaeal ammonia oxidizers in acid soils is supported by hydrolysis of urea[J]. ISME Journal, 2012, 6: 1978–1984.
- [23] 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.
- [24] HORZ H P, BARBROOK A, FIELD C B, et al. Ammonia-oxidizing bacteria respond to multifactorial global change[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2004, 101: 15136–15141.
- [25] WU Y C, GUO Y, LIN X G, et al. Inhibition of bacterial ammonia oxidation by organohydrazines in soil microcosms[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 10.
- [26] SU J Q, DING L J, XUE K, et al. Long-term balanced fertilization increases the soil microbial functional diversity in a phosphorus-limited paddy soil[J]. Molecular Ecology, 2015, 24(1): 136–150.
- [27] 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.
- [28] HE J Z, SHEN J P, ZHANG L M, et al. A review of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in Chinese soils[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 296–303.
- [29] KESSEL M A, SPETH D R, ALBERTSEN M, et al. Complete nitrification by a single microorganism[J]. Nature, 2015, 528(7583): 555–559.
- [30] PINTOA A J, MARCUSBCD N, IJAZA U Z, et al. Metagenomic evidence for the presence of comammox nitrospira-like bacteria in a drinking water system[J]. MSphere, 2015, 1(1): 54–69.
- [31] GALLOWAY J N, ABER J D, ERISMAN J W, et al. The nitrogen cascade[J]. BioScience, 2003, 53(4): 341–356.
- [32] BATTYE W, ANEJA V P, SCHLESINGER W H. Is nitrogen the next carbon[J]. Earth's Future, 2017, 5(9): 894–904.
- [33] CHENG M, ZHAN W, CHEN S, et al. Effects of straw return and nitrogen fertilization on grain yield and leaf senescence of maize in Northeast China[J]. International Journal of Plant Production, 2023, 17(3): 503–515.
- [34] 孙和折, 崔云玲, 张立勤, 等. 水氮运筹对膜下滴灌制种玉米生长及产量的影响[J]. 寒旱农业科学, 2024, 3(11): 1025–1031.
- [35] 连彩云, 马忠明, 王智琦, 等. 膜下微喷灌条件下水氮耦合对制种玉米产量及水肥效应的影响[J]. 寒旱农业科学, 2025, 4(1): 39–46.
- [36] 郭晓峰, 史堂, 施斐, 等. 种植密度对不同饲用玉米产量与品质的影响[J]. 寒旱农业科学, 2025, 4(1): 67–72.
- [37] ROTTHAUWE J H, WITZEL K P, LIESACK W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(12): 4704–12.
- [38] PARK S J, PARK B J, RHEE S K. Comparative analysis of archaeal 16S rRNA and *amoA* genes to estimate the abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea in marine sediments[J]. Extremophiles, 2008, 12(4): 605–615.
- [39] NUNES M R, KARLEN D L, VEUM K S, et al. Biological soil health indicators respond to tillage intensity: A US meta-analysis[J]. Geoderma. 2020, 369, 114335.
- [40] 马凌云, 王月, 蔡芳芳, 等. 长期施用含氯化肥对棕壤硝化作用及氨氧化微生物的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(5): 824–831.
- [41] YAN D, WANG D, YANG L. Long-term effect of chemical fertilizer, straw, and manure on labile organic matter fractions in a paddy soil[J]. Biology Fertility of Soils. 2007, 44 (1): 93–101.
- [42] HAN L, WANG X, SPIERTZ H, et al. Spatio-temporal availability of field crop residues for biofuel production in Northwest and Southwest China[J]. BioEnergy Research, 2015, 8(1): 402–414.
- [43] XU M G, TANG H J, YANG X Y, ZHOU S W. Best soil managements from long-term field experiments for sustainable agriculture[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2015, 14(12): 2401–2404.
- [44] 龚雪蛟, 秦琳, 刘飞, 等. 有机类肥料对土壤养分含量的影响[J]. 应用生态学报, 2020, 31(4): 1403–1416.
- [45] 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[J]. 水土保持研究, 2016, 23(6): 78–82.

- [46] YANG Y D, REN Y F, WANG X Q, et al. Ammonia-oxidizing archaea and bacteria responding differently to fertilizer type and irrigation frequency as revealed by Illumina Miseq sequencing[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2018, 18: 1029–1040.
- [47] MARTENS-HABBENA W, BERUBE P M, URAKAWA H, et al. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria[J]. *Nature*, 2009, 461, 976–979.
- [48] STAHL D A, TORRE J R. Physiology and diversity of ammonia-oxidizing archaea [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2012, 66, 83–101.
- [49] VERHAMME D T, PROSSER JI, NICOL G W. Ammonia concentration determines differential growth of ammonia-oxidising archaea and bacteria in soil microcosms [J]. *The ISME Journal*, 2011, 5: 1067–1071.
- [50] HE J Z, SHEN J P, ZHANG L M, et al. 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[J]. *Environmental microbiology*, 2007, 9: 2364–2374.
- [51] SHEN J P, ZHANG L M, ZHU Y G, et al. Abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea communities of an alkaline sandy loam[J]. *Environmental microbiology*, 2008, 10: 1601–1611.
- [52] WEI Q, STEPHANY P, YUE Z, et al. Ammonia-oxidizing bacteria and archaea exhibit differential nitrogen source preferences [J]. *Nature Microbiology*, 2024, 9: 524–536.
- [53] DI H J, CAMERON K C, SHEN J P, et al. Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen rich grassland soils[J]. *Nature Geoscience*, 2009, 2: 621–624.
- [54] LAZCANO C, REVILLA P, DOMÍNGUEZ J. Short-term effects of organic and inorganic fertilizers on soil microbial community structure and function [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49: 723–733.
- [55] KALLENBACH C M, FREY S D, GRANDY A S. Direct evidence for microbial-derived soil organic matter formation and its ecophysiological controls[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 13630.
- [56] CUI Y, FANG L, GUO X, et al. Natural grassland as the optimal pattern of vegetation restoration in arid and semi-arid regions: evidence from nutrient limitation of soil microbes[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 648: 388–397.
- [57] DI H J, CAMERON K C, SHEN J P, et al. Ammonia-oxidizing bacteria and archaea grow under contrasting soil nitrogen conditions[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72: 386–394.
- [58] TAYLOR A E, ZEGLIN L H, WANZEK T A, et al. Dynamics of ammonia-oxidizing archaea and bacteria populations and contributions to soil nitrification potentials [J]. *The ISME Journal*, 2012, 6: 2024–2032.
- [59] XIANG X J, HE D, HE J S. Ammonia-oxidizing bacteria rather than archaea respond to short-term urea amendment in an alpine grassland[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 107: 218–225.
- [60] BURTON S A Q, PROSSER J I. Autotrophic ammonia oxidation at low pH through urea hydrolysis[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67: 2952–2957.
- [61] ZHANG Z M, HE P, HAO X X, et al. Long-term mineral combined with organic fertilizer supports crop production by increasing microbial community complexity [J]. *Applied Soil Ecology*, 2023, 188, 104930.