

doi: 10.11838/sfsc.1673-6257.23070

土壤改良剂对潮土氮循环功能基因丰度、酶活性及肥力指数的影响

李双霜, 张 贺, 杨 静, 李桂花*, 张建峰*

(中国农业科学院农业资源与农业区划研究所 / 农业农村部耕地
质量监测与评价重点实验室, 北京 100081)

摘 要:以虾头蟹壳废弃物为有机土壤改良剂、以凹凸棒为无机土壤改良剂, 采用小麦-玉米轮作方式, 在河北砂质潮土进行4年(2015—2019年)田间定位试验。试验设4个处理: 无改良剂(CK)、无机改良剂(SA)、有机改良剂(SC)、无机改良剂+有机改良剂(SCA)。采集2019年玉米收获后的耕层土壤, 测定土壤化学性质、氮循环功能基因丰度、胞外酶活性等, 并用因子分析法和内梅罗指数法计算土壤综合肥力指数(IFI)。结果表明, (1)改良剂能够显著提升土壤固氮基因(*nifH*)、氨氧化细菌基因(AOB-*amoA*)、反硝化基因(*nirS*和*nosZ*)的绝对丰度($P<0.05$), 且呈现SCA>SC>SA。有机碳是影响土壤氮循环功能基因丰度的关键因子。(2)施入有机改良剂后, 参与碳转化的 β -葡萄糖苷酶和 β -纤维二糖苷酶、氮转化的 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶和亮氨酸氨基肽酶、磷转化的碱性磷酸酶活性均显著增加($P<0.05$)。有机改良剂的添加缓解了磷对微生物的限制, 有效磷成为影响胞外酶活性的关键因子。(3)在涵盖氮循环功能基因和胞外酶活性条件下, 用因子分析法计算得到的IFI与产量的相关性更高; 利用相对稳定的土壤化学指标, 用内梅罗指标法计算的IFI也能很好地反映土壤肥力水平与产量间的正相关关系。综上所述, 有机无机改良剂配合施用可以提高氮循环功能基因丰度和碳、氮、磷循环相关胞外酶活性, 提升土壤综合肥力水平, 是促进养分循环、增加产量的重要措施。

关键词:有机改良剂; 凹凸棒; 功能基因; 土壤酶; 内梅罗肥力指数

华北平原是我国粮食主产区, 在保障粮食安全和国民经济中占据重要地位。华北平原潮土分布最广, 这种土壤沙砾含量高、腐殖质积累能力弱, 因此土壤结构差、保水保肥能力弱^[1]。施用土壤改良剂是培肥砂质土壤的重要手段, 相对于秸秆还田技术而言, 改良剂提升土壤肥力的效果更快更好, 并且更易推广施行^[1]。已有研究表明施用土壤改良剂(尤其是有机无机改良剂配施)在改善潮土理化性质、增强土壤结构稳定性及提升土壤综合肥力方面具有显著效果^[2-3], 而改良剂对土壤微生物的影响研究较少, 因此完善该方面的研究对全面评估改良剂的应用效果具有重要意义。

氮循环作为土壤生态系统中重要的元素循环

之一, 与作物生长、温室气体效应关系密切。氮循环主要包括生物固氮(*nifH*)、硝化(氨氧化古菌AOA-*amoA*和氨氧化细菌AOB-*amoA*)和反硝化(*nirS*和*nosZ*), 每个过程由相关酶控制, 编码这些酶的基因可作为相应微生物的功能基因反映氮转化的遗传潜力^[4]。外源物料的投入改变了土壤微生物的生存条件, 会影响氮循环功能基因的变化。有机物料(秸秆、有机肥)投入增加潮土矿化(*chiA*)、固氮(*nifH*)、反硝化(*nirK*和*nirS*)基因丰度, 降低了执行氨氧化过程的*amoA*基因丰度^[5]; 畜禽粪便则增加黑垆土中所有参与氮循环功能基因的丰度^[6]。添加粘土矿物以及粘土矿物复配堆肥均会增加土壤固氮基因(*nifH*)和反硝化基因(*nosZ*)丰度^[7]。

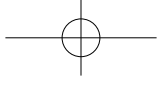
胞外酶是微生物产生的催化土壤养分循环过程的重要活性物质。添加有机物料如秸秆、生物炭、牛粪等都会提高与碳转化相关的 β -纤维二糖苷酶(CBH)和 β -葡萄糖苷酶(BG)活性^[8]。另外, 小麦秸秆生物炭能够提高潮土与氮磷转化相关的

收稿日期: 2023-02-07; 录用日期: 2023-04-03

基金项目: 国家自然科学基金项目(22176215)。

作者简介: 李双霜(1999-), 硕士研究生, 研究方向为土壤环境评价。E-mail: lishuangshuang@caas.cn。

通讯作者: 李桂花, E-mail: liguihua@caas.cn; 张建峰, E-mail: zhangjianfeng@caas.cn。



亮氨酸氨基肽酶 (LAP)、 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶 (NAG) 和碱性磷酸酶 (AKP) 活性^[9]; 相反, 鸡粪会显著降低白浆土 NAG 活性^[10], 玉米秸秆及其制成的生物炭会降低风沙土的 AKP 活性^[11], 因此外源有机物料的添加对土壤胞外酶活性的影响因土壤类型和有机物本身的性质而异。

微生物特性是表征土壤环境变化的敏感指标, 土壤改良剂是提升土壤肥力、改善土壤环境的重要措施, 但目前研究多集中于有机改良剂对退化土壤的培肥效果, 而无机有机改良剂复配对土壤养分循环相关的微生物指标变化缺乏充分的认识。因此, 本文选择黄淮海平原的砂质潮土为研究对象, 在施用虾头蟹壳废弃物合成的有机土壤改良剂、凹凸棒土无机改良剂及其复配条件下, 分析氮循环功能基因丰度、土壤胞外酶活性变化特征, 并在涵盖这两种微生物特征条件下, 利用因子分析法计算综合肥力指数 (IFI), 再与内梅罗法计算的 IFI (只包括土壤基础养分指标) 进行比较, 揭示改良剂对退化砂质潮土肥力和微生物特性的影响, 为新型改良剂的开发与应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤改良剂

有机土壤改良剂选用虾头蟹壳废弃物, 粉碎后与草炭、秸秆和花生壳等混合, 接入微生物菌剂 (地衣芽孢杆菌、干酪乳杆菌、枯草芽孢杆菌), 通过高温好氧发酵制成 (pH 7.75; 有机质 $73.74 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮、全磷、全钾分别为 14.7、21.05、22.88 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$); 无机改良剂为改性凹凸棒土 (pH 8.40; 比表面积 $369 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$; 阳离子交换量 $21.96 \text{ mol} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$)。

1.2 试验基地概况

试验基地位于河北省廊坊市万庄镇 ($39^{\circ}36' \text{ N}$, $116^{\circ}36' \text{ E}$), 属温带大陆性季风气候, 年均气温 11.9°C , 年均降水量 550 mm, 降水集中在 6—8 月。土壤为砂质潮土, 基础肥力指标为: 土壤有机质 (SOM) $12.90 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 全氮 (TN) $0.81 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 有效磷 (AP) $17.55 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 速效钾 (AK) $153.32 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, pH 8.83。

1.3 试验设计

试验于 2015 年 10 月—2019 年 10 月开展, 小麦 (廊研 43) - 玉米 (郑单 958) 轮作。试验设 4 个处理: 1) 空白 (CK), 2) 无机改良剂 $2.25 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ (SA), 3) 有机改良剂 $15 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ (SC), 4) 有机改良剂 $15 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ + 无机改良剂 $2.25 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$

(SCA), 每个处理 3 次重复, 按随机区组排列。小区面积为 30 m^2 , 不同小区间起垄隔开。化肥按照当地习惯处理, 在种植作物前以 $\text{N } 150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5 \text{ } 120 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 和 $\text{K}_2\text{O } 67.5 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 投入复合肥, 后期不再追肥, 改良剂随底肥一同施入, 多次翻耕混匀。其他大田管理措施均与当地习惯一致。

1.4 样品采集、测定项目及方法

2019 年 10 月玉米收获后用 S 型五点采样法收集耕层土壤, 混匀后分 3 份: 一份风干、过筛测定化学性质; 一份 4°C 保存, 测定铵态氮、硝态氮和酶活性; 另一份置于 -80°C 冰箱, 用于提取 DNA。土壤指标采用常规农化分析方法。

土壤酶活性采用 96 孔板酶标荧光法^[12]测定。称取 1.00 g 新鲜土壤样品, 加入浓度为 $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸钠缓冲溶液 100 mL 。调节 pH 接近土壤, 搅拌 1 min , 吸取 $200 \mu\text{L}$ 悬浊液至对应微孔。再加入 $200 \mu\text{L}$ 缓冲液、 $50 \mu\text{L}$ 标准液 (LAP 采用 7-氨基-4-甲基香豆素, 其他用 4-甲基羟基香豆素) 和 $50 \mu\text{L}$ 对应的底物 (表 1)。在 25°C 黑暗条件下培养 4 h , 用 Synergy H/M 酶标仪测定荧光度 (激发光 365 nm 、发射光 450 nm)。

表 1 胞外酶种类、缩写及底物

酶	缩写	底物
β -葡萄糖苷酶	BG	4-甲基伞型酮- β -D-葡萄糖苷
β -纤维二糖苷酶	CBH	纤维二糖苷
β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶	NAG	4-甲基伞型酮-N-乙酰- β -D-氨基葡萄糖苷
亮氨酸氨基肽酶	LAP	L-亮氨酸-7-氨基-4-甲基香豆素盐酸盐
碱性磷酸酶	AKP	4-甲基伞型酮磷酸盐

土壤 DNA 提取: 称取 0.5 g 鲜土, 用 FastDNA® Spin Kit 提取总 DNA。用荧光定量 PCR (博日 LineGene9600plus 型) 测定氮转化功能基因 (AOA-*amoA*、AOB-*amoA*、*nifH*、*nirS* 和 *nosZ*) 的绝对丰度。定量 PCR 混合液包括 $10 \mu\text{L}$ ChamQ SYBR Color qPCR Master Mix, $0.4 \mu\text{L}$ 正反向引物 (均为 $5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$), $2 \mu\text{L}$ DNA 模板和 $7.2 \mu\text{L}$ 双蒸馏水。定量 PCR 详细的反应条件详见表 2。以含有 AOA-*amoA*、AOB-*amoA*、*nifH*、*nirS* 和 *nosZ* 基因片段的质粒 DNA 经过 10 倍梯度稀释绘制标准曲线, 通过熔融曲线确定 qPCR 的特异性, 扩增效率为 $82\% \sim 94\%$, R^2 值为 $0.995 \sim 0.999$ 。

表 2 定量 PCR 的反应条件

基因	引物名称	引物序列	扩增子长度	热循环条件
AOA- <i>amoA</i>	CHEND archamoA23F	ATGGTCTGGCTWAGACG	629	95℃ 3 min × 1 循环; 95℃ 30 s, 56℃ 30 s, 72℃ 40 s × 35 循环;
	CHEND archamoA616R	GCCATCCATCTGTATGTCCA		
AOB- <i>amoA</i>	AmoA1F	GGGGTTTCTACTGCTGCT	491	95℃ 3 min × 1 循环; 95℃ 30 s, 56℃ 30 s, 72℃ 40 s × 35 循环;
	AmoA2R	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC		
<i>nifH</i>	nifHF	AAAGGYGGWATCGGYAARTCCACCAC	458	95℃ 3 min × 1 循环; 95℃ 30 s, 60℃ 循环 30 s, 72℃ 40 s × 35 循环;
	nifHR	TTGTTSGCSGCRTACATSGCCATCAT		
<i>nirS</i>	cd3AF	G TSAACG TSAAGGASACSGG	410	95℃ 3 min × 1 循环; 95℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 40 s × 35 循环;
	R3cd	GASTTCGGRTGSGCTCTGA		
<i>nosZ</i>	DONGC-nosZ-F	AGAACGACCAGCTGATCGACA	313	95℃ 3 min × 1 循环; 95℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 40 s × 35 循环;
	DONGC-nosZ-R	TCCATGGTGACGCCGTGGTTG		

1.5 数据计算

选用 pH、SOC、TN、AP、AK 作为分肥力指标，根据第二次土壤普查标准制定属性值分级标准，计算分肥力系数，最后用修正的内梅罗公式计算 IFI^[13]。将酶活性、氮功能基因丰度和化学性质作为因子，通过因子分析^[13]确定肥力指数。

用 SigmaPlot 12.5 进行单因素方差分析，显著后采用 LSD 法进行多重比较；采用 Pearson 进行 IFI 与产量的相关性分析；用冗余分析法（RDA，Canoco 5.0）计算肥力因素与酶和氮功能基因间的相关性；采用 Excel 2019 绘图。

2 结果与分析

2.1 改良剂对氮循环功能基因丰度的影响

土壤改良剂提高除 AOA-*amoA* 以外的氮循环功能基因丰度，且无机有机改良剂复配效果高于单一改良剂（表 3）。与 CK 相比，SA、SC 和 SCA 处理的硝化基因 AOB-*amoA* 丰度分别增加了 64.11%、64.46% 和 94.46%（ $P<0.05$ ）；固氮基因 *nifH* 丰度分别增加了 35.64%、24.57% 和 34.27%（ $P<0.05$ ）；反硝化基因 *nirS* 和 *nosZ* 丰度也呈现相同规律。与总氮功能基因丰度相比，硝化基因 *amoA* 丰度最高，依次是反硝化基因 *nosZ* 和固氮基因 *nifH*。

表 3 不同改良剂对氮循环功能基因丰度的影响 (×10⁵)

处理	AOA- <i>amoA</i>	AOB- <i>amoA</i>	<i>nifH</i>	<i>nirS</i>	<i>nosZ</i>
CK	15.89 ± 0.54bc	5.60 ± 0.31c	2.89 ± 0.13b	2.02 ± 0.15d	3.56 ± 0.31c
SA	18.28 ± 0.22ab	9.19 ± 0.27b	3.92 ± 0.19a	2.62 ± 0.25c	4.30 ± 0.26ab
SC	19.32 ± 0.16a	9.21 ± 0.22b	3.60 ± 0.16a	3.22 ± 0.03b	4.15 ± 0.25b
SCA	15.15 ± 0.15c	10.89 ± 0.43a	3.88 ± 0.36a	3.98 ± 0.07a	4.77 ± 0.42a

注：数据为均值 ± 标准差，不同小写字母表示各处理之间差异显著（ $P<0.05$ ）。

2.2 改良剂对胞外酶活性的影响

施用有机改良剂显著增加所有胞外酶活性（图 1）。参与土壤碳转化的 CBH 和 BG 活性 SCA>SC>SA>CK。其中 SCA、SC、SA 处理 CBH 活性分别为 CK 处理的 10.6、8.8、1.3 倍，BG 活性分别

为 CK 处理的 2.8、2.5、2.0 倍。参与氮转化过程相关酶也呈现 SCA>SC>SA>CK 的规律，SCA 处理的 LAP 和 NAG 活性分别为 CK 处理的 1.6 和 2.5 倍。AKP 活性与前两种酶的变化类似，其活性以 SCA 处理最高，为 CK 的 2.3 倍；SC 处理次之，为 CK 的 2.0 倍。

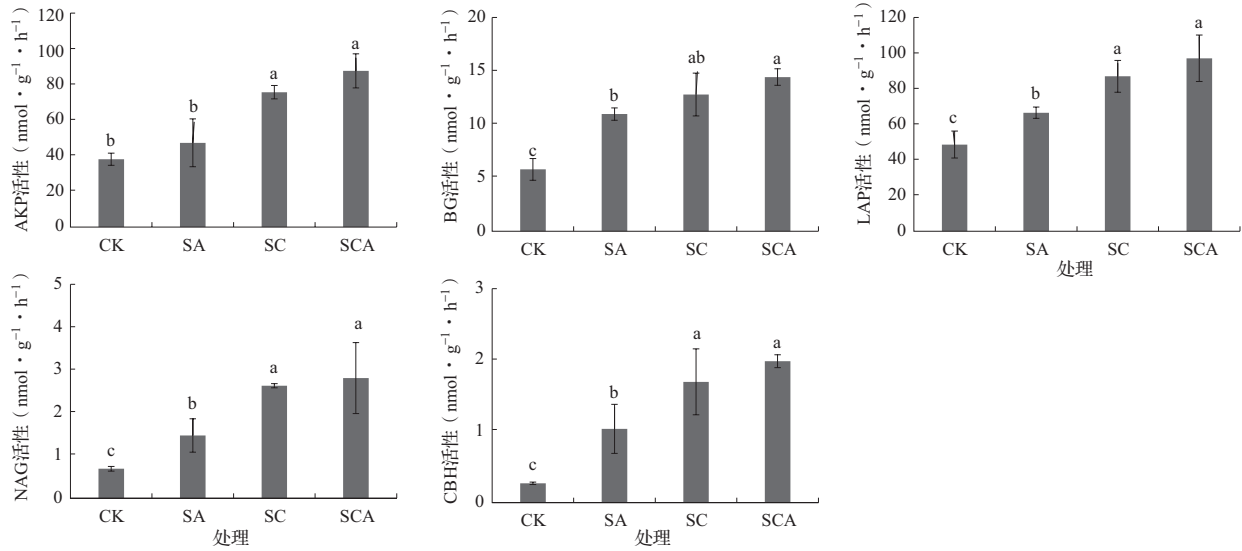


图1 不同改良剂处理对土壤胞外酶活性的影响

注: AKP、BG、LAP、NAG、CBH 分别为碱性磷酸酶、 β -葡萄糖苷酶、亮氨酸氨基肽酶、 β -1,4-N-乙酰氨基葡萄糖苷酶、 β -纤维二糖苷酶。不同小写字母代表各处理间差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

2.3 功能基因丰度、胞外酶活性与土壤化学指标的相关性

氮转化功能基因与土壤化学性状存在密切相关 (图 2A)。硝化古菌 (AOA-*amoA*) 与 NH_4^+ -N 呈正相关。AOB-*amoA*、*nifH*、*nirS* 3 种基因与土壤 TN、SOC、AP 呈正相关。两个坐标轴对功能基因丰度变化的解释率为 77.55%。进一步进行蒙特卡洛置换检验可知, SOC、TN、AP 和 pH 能单独解释功能基因丰度变化的 37.2%、36.6%、35.6%、30.7% ($P < 0.01$)。

酶活性与土壤 SOC、AP、TN、 NO_3^- -N 呈正相关, 与土壤 pH 呈负相关 (图 2B)。第一坐标轴解释绝大部分胞外酶的变异, 解释度达 81.37%。进一步进行蒙特卡洛检验, 表明土壤 AP、SOC、TN 单独解释胞外酶变异的 66.3%、59.6%、58.9% ($P < 0.01$)。综上, 土壤化学性质的变化是氮循环基因丰度和胞外酶活性变化的主要原因。

2.4 土壤肥力指数变化

将与土壤化学性状显著相关的胞外酶活性、氮转化功能基因丰度包含在一起, 用因子分析法计

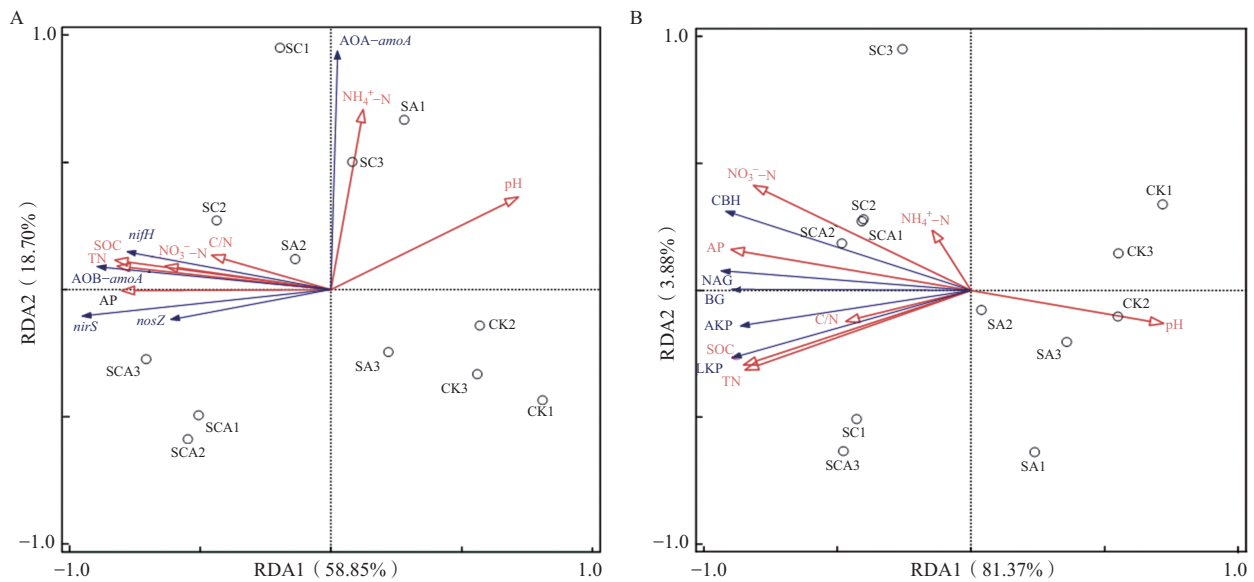


图2 土壤功能基因丰度、胞外酶活性与土壤化学指标的冗余分析

注: SOC、TN、AP、C/N 分别为土壤有机碳、全氮、有效磷、碳氮比。

算土壤 IFI, 与只用化学性状的内梅罗指数进行比较, 因子分析法计算得到的 IFI 为 $SCA > SC > SA > CK$ ($P < 0.05$); 内梅罗指数法得到结果为 SC 和 SCA 处理的 IFI 显著高于 CK 和 SA 处理 ($P < 0.05$, 图 3)。

土壤肥力水平能够在一定程度上反映产量的变化 (图 4)。从产量与 IFI 的相关系数来看, 两种 IFI 都与产量呈正相关。因子分析法中考虑的正相关关系 (如图 2 中酶活性与土壤化学性状) 更多, 所以因子分析法比内梅罗指数法与产量的相关系数更高。

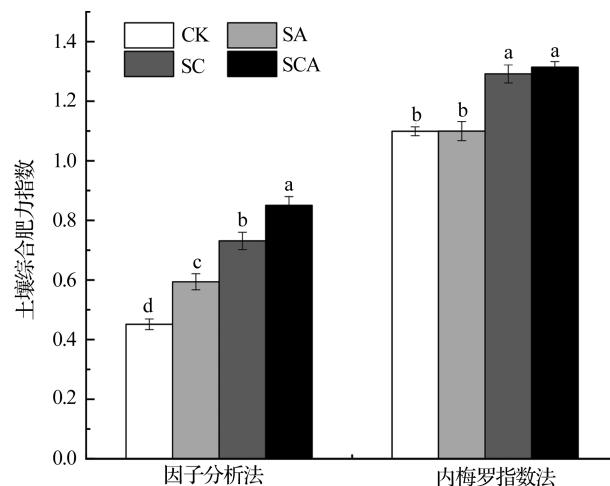


图3 不同改良剂处理下的土壤综合肥力指数

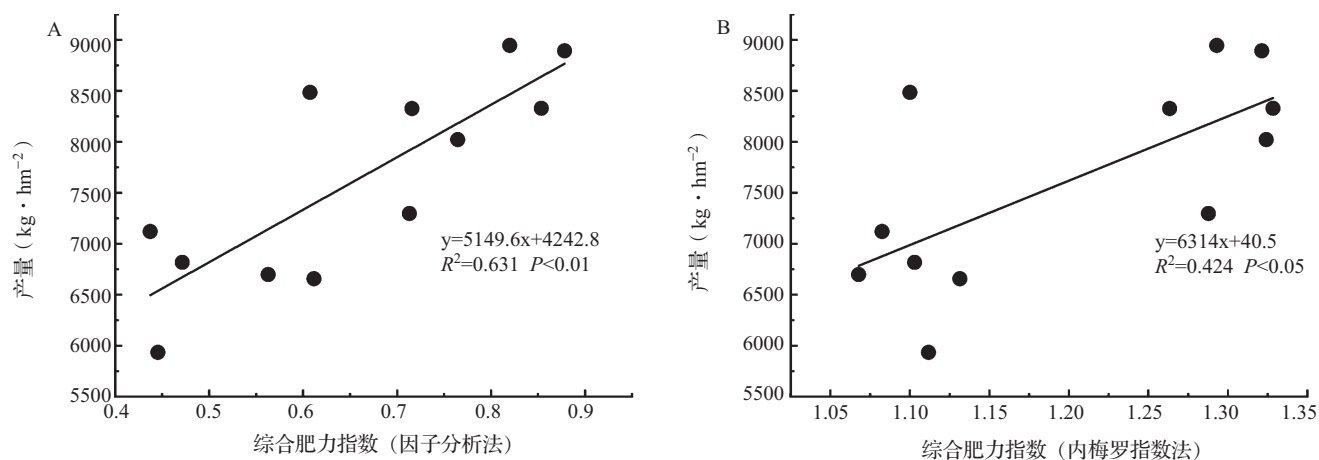


图4 玉米产量与土壤综合肥力指数的相关性分析

3 讨论

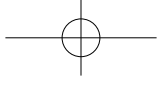
3.1 氮循环功能基因对土壤改良剂的响应

生物固氮是向土壤供给氮源的一种环境友好型和可持续性的方式, 能够减轻集约化农业生产中的能耗和环境污染问题^[14]。施用无机、有机改良剂及两者配施均提高了 *nifH* 基因丰度, 这对土壤有效氮的输入具有积极意义。根据前期研究结果, 增施改良剂, 尤其是有机无机改良剂配施会促进砂质潮土团聚体的形成^[4], 这为微生物提供了更多的生存空间^[15], 土壤通透性的改善会增大氮气在土壤中的分布, 有助于固氮微生物的活动。固氮微生物常受土壤碳和磷有效性的限制^[16], 增施改良剂提高了土壤 BG、CBH 和 AKP 的活性, 这也许是改良剂提高 *nifH* 基因的另一条途径。

本研究结果表明添加土壤改良剂显著增加了 AOB-*amoA* 基因丰度, 对 AOA-*amoA* 基因丰度无影

响。这与 Tao 等^[17] 和 Wang 等^[18] 在石灰性土壤施用有机肥结果一致。氨氧化微生物具有明显的生态位分化特征, 在酸性、贫营养的土壤中 AOA 占主导优势, 中性、碱性、营养丰富土壤中 AOB 占主导优势, 本研究中施用改良剂, 提高了土壤肥力水平, 因此, AOB-*amoA* 的变化表现更明显, 且随着土壤肥力水平的升高呈递增趋势。

反硝化过程与土壤氮素的气态损失密切相关, 改良剂的添加增加了反硝化过程功能基因 (*nirS* 和 *nosZ*) 的数量, 增加了气态损失的潜力。*nirS* 型微生物和 *nosZ* 型微生物通常为异养菌, 对碳源和能源需求较高, 添加有机改良剂会带来丰富的活性有机碳^[3], 会促进土壤中碳和氮的周转, 进而刺激反硝化型微生物生长^[19]。上级反应为下级反应提供底物, 因此硝化与反硝化反应存在极强的耦合关系, 这对土壤氮素的气态损失造成极大的影响^[20]。



许多研究认为,功能基因丰度与养分浓度有显著相关性^[21],改良剂等外源添加物可以通过改变土壤性质来改变土壤微生物丰度^[6, 22]。本研究 RDA 分析(图 3A)也得到了相似的结果,土壤化学性质 SOC、TN、AP、pH、NO₃⁻-N 以及胞外酶活性对不同改良剂处理下的功能基因丰度有较大影响,其中 SOC 和 BG 是主要影响因子。因此,通过施用土壤改良剂提高土壤养分有效性,可能会改变土壤微生物栖息地或间接引起微生物群落结构、活动和丰度的变化,从而调节氮素养分循环。除此之外,土壤结构的改善也可能是影响功能基因丰度的原因之一,施用土壤改良剂提高了土壤大团聚体含量,改善了土壤通气性,从而为微生物提供了更有利的生存环境^[23]。

3.2 土壤胞外酶活性对土壤改良剂的响应

土壤胞外酶活性对不同土壤改良剂的响应存在差异,从整体来看,胞外酶活性表现为有机无机改良剂复配>有机改良剂>无机改良剂(图 1)。凹凸棒土本质上是黏土矿物,能够增加土壤胶体数量,从而提高土壤保水保肥能力,从而增加酶活性。这与刘秉儒等^[24]研究发现的土壤酶活性与土壤黏粒和粉粒呈正相关的结果一致。另外,有机改良剂增加了土壤参与碳、氮、磷循环的胞外酶活性(图 1)。甲壳素类物质多含壳寡糖和几丁质,寡聚糖是一种以 β -1,4-糖苷键连接而成小分子量的低聚糖,几丁质是由氨基葡萄糖缩合而成的有机氮化合物^[25]。因此底物浓度的增加相应会引起对应酶(BG、LAP、NAG)活性的增加。其次有机改良剂显著提升了土壤 AP,缓解了微生物受磷的限制。

通常,当土壤中某一养分匮乏时,微生物会分泌更多的酶来满足对该养分的需求,但也有学者认为,在养分含量较高时,也会增加相应酶的活性^[26]。在本研究中,土壤中的养分含量、作物产量均在有机改良剂的添加下有所升高。并且土壤因子如 AP、SOC、TN 对胞外酶活性有积极影响,尤其是 AP 是调控各类酶活性变化的关键因子。因此,施用改良剂能够提高土壤胞外酶活性的原因更符合 Noah Fierer^[27]提出的观点,即有机改良剂一方面是通过改善土壤的养分状况增加用作土壤酶底物的有机质;另一方面,通过改善土壤结构,促进微生物的生长和繁殖(微生物量碳氮的提高),调节酶的合成和活性^[23]。

3.3 玉米产量及土壤综合肥力指数的变化

本研究结果表明,土壤 IFI 与玉米产量存在正相关,且有机改良剂的 IFI 优于无机改良剂。这与 Luo 等^[28]通过 meta 分析发现的有机改良剂提高作物产量的结果一致。另外,本研究尝试将氮循环功能基因和胞外酶活性纳入考量土壤肥力水平的评价指标(因子分析法),并与传统的内梅罗指数法(仅考察土壤常规化学指标)进行比较,表面上看覆盖微生物特征的因子分析法更能反映土壤的肥力水平。氮循环功能基因和胞外酶活性与土壤化学因子间存在非常显著的正相关关系,这些相关关系在因子分析中进一步得到了强化,所以得到的数值更高。但这些因子间是否存在相对稳定的相关关系,或这种相关关系是否真正合理则没有考虑。包耀贤等^[13]对长期定位试验进行总结时,认为变化太快的因子(如微生物相关的性状,本研究的酶和功能基因丰度)不应该包含在土壤肥力评价指标中。因此,如何将生物学性状合理加入土壤肥力指标有待于进一步研究。

4 结论

有机无机改良剂配施显著增加砂质潮土氮循环功能基因丰度和碳、氮、磷循环相关酶活性;用这些指标和土壤养分状况计算得到的土壤 IFI 与玉米产量呈显著正相关。因此,砂质潮土中配施有机无机改良剂是提升综合肥力、增加作物产量的有效措施。

参考文献:

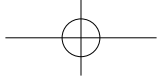
- [1] 王威,吴大付,唐蛟,等. 秸秆全量还田下沼液替代化肥对潮土团聚体及结合有机碳的影响[J]. 土壤通报, 2022, 53(4): 847-857.
- [2] 张贺,杨静,周吉祥,等. 连续施用土壤改良剂对砂质潮土团聚体及作物产量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(5): 791-801.
- [3] 周吉祥,张贺,杨静,等. 连续施用土壤改良剂对砂质潮土肥力及活性有机碳组分的影响[J]. 中国农业科学, 2020, 53(16): 3307-3318.
- [4] 侯海军,秦红灵,陈春兰,等. 土壤氮循环微生物过程的分子生态学研究进展[J]. 农业现代化研究, 2014, 35(5): 588-594.
- [5] 李胜君,胡荷,李刚,等. 化肥减量与有机物料添加对华北潮土微生物氮循环功能基因丰度和氮转化遗传潜力的影响[J]. 环境科学, 2022, 43(10): 4735-4744.

- [6] Sun R, Guo X, Wang D, et al. Effects of long-term application of chemical and organic fertilizers on the abundance of microbial communities involved in the nitrogen cycle [J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 95: 171–178.
- [7] Li W X, Wang C, Zheng M M, et al. Fertilization strategies affect soil properties and abundance of N-cycling functional genes in an acidic agricultural soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 156: 103704.
- [8] 袁访, 李开钰, 杨慧, 等. 生物炭施用对黄壤土壤养分及酶活性的影响 [J]. *环境科学*, 2022, 43 (9): 4655–4661.
- [9] 戚瑞敏, 温延臣, 赵秉强, 等. 长期不同施肥潮土活性有机氮库组分与酶活性对外源牛粪的响应 [J]. *植物营养与肥料学报*, 2019, 25 (8): 1265–1276.
- [10] 陆欣春, 郑永照, 陈旭, 等. 施生物炭与有机肥对白浆土土壤酶活性的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2022, 41 (3): 568–574.
- [11] 孙娇, 梁锦秀, 孔德杰, 等. 生物炭与秸秆还田对风沙土壤-微生物-胞外酶化学计量特征的影响 [J]. *草业学报*, 2021, 30 (11): 29–39.
- [12] 郭康莉, 冀拯宇, 刘晓, 等. 无害化污泥堆肥施用量对沙质潮土土壤活性有机碳组分的影响 [J]. *农业环境科学学报*, 2018, 37 (1): 105–113.
- [13] 包耀贤, 徐明岗, 吕粉桃, 等. 长期施肥下土壤肥力变化的评价方法 [J]. *中国农业科学*, 2012, 45 (20): 4197–4204.
- [14] 马瑞萍, 戴相林, 刘国一, 等. 施肥模式对青稞田土壤潜在固氮速率和自生固氮微生物群落结构的影响 [J]. *中国生态农业学报 (中英文)*, 2021, 29 (10): 1692–1703.
- [15] 李娜, 韩晓增, 尤孟阳, 等. 土壤团聚体与微生物相互作用研究 [J]. *生态环境学报*, 2013, 22 (9): 1625–1632.
- [16] Dynarski K A, Houlton B Z. Nutrient limitation of terrestrial free-living nitrogen fixation [J]. *New Phytologist*, 2018, 217 (3): 1050–1061.
- [17] Tao R, Wakelin S A, Liang Y, et al. Response of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in calcareous soil to mineral and organic fertilizer application and their relative contribution to nitrification [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 114: 20–30.
- [18] Wang J, Zhang L, Lu Q, et al. Ammonia oxidizer abundance in paddy soil profile with different fertilizer regimes [J]. *Applied Soil Ecology*, 2014, 84: 38–44.
- [19] Garcia-Montiel D C, Melillo J M, Steudler P A, et al. Carbon limitations to nitrous oxide emissions in a humid tropical forest of the Brazilian Amazon [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2003, 38 (5): 267–272.
- [20] Templer P H, Groffman P M, Flecker A S, et al. Land use change and soil nutrient transformations in the Los Haitises region of the Dominican Republic [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37 (2): 215–225.
- [21] Tang Y, Zhang X, Li D, et al. Impacts of nitrogen and phosphorus additions on the abundance and community structure of ammonia oxidizers and denitrifying bacteria in Chinese fir plantations [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 103: 284–293.
- [22] Li W X, Wang C, Zheng M M, et al. Fertilization strategies affect soil properties and abundance of N-cycling functional genes in an acidic agricultural soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 156: 103704.
- [23] 张倩. 长期施肥下稻麦轮作体系土壤团聚体碳氮转化特征 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- [24] 刘秉儒, 牛宋芳, 张文文. 荒漠草原区土壤粒径组成对柠条根际土壤微生物数量及酶活性的影响 [J]. *生态学报*, 2019, 39 (24): 9171–9178.
- [25] 李亚飞, 张翔, 常栋, 等. 不同土壤调理剂对土壤性质和烟叶产量、质量的影响 [J]. *土壤通报*, 2021, 52 (6): 1402–1410.
- [26] Fierer N, Wood S A, Bueno de Mesquita C P. How microbes can, and cannot, be used to assess soil health [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 153: 108111.
- [27] Balota E L, Kanashiro M, Colozzi Filho A, et al. Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2004, 35 (4): 300–306.
- [28] Luo G, Li L, Friman V P, et al. Organic amendments increase crop yields by improving microbe-mediated soil functioning of agroecosystems: a meta-analysis [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 124: 105–115.

Effects of soil amendments on nitrogen cycling functional genes' abundance, extracellular enzymes and soil fertility index in a sandy fluvo-aquic soil

LI Shuang-shuang, ZHANG He, YANG Jing, LI Gui-hua*, ZHANG Jian-feng* (Institute of Agricultural Resources and Regional Planning, Chinese Academy of Agriculture Sciences/Key Laboratory of Cultivated Land Quality Monitoring and Evaluation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081)

Abstract: A four-year (2015–2019) field experiment was carried out under wheat-maize rotation system in Langfang city, Hebei province. The purpose of the experiment was to study how inorganic and organic amendments affecting nitrogen cycling functional genes' abundance and extracellular enzymes. The experiment consisted of four treatments: control (CK), inorganic amendment (SA), organic amendment (SC), and organic + inorganic amendments (SCA). After maize were harvested in 2019, soil samples were collected from arable layer. Chemical properties, abundance of nitrogen cycling



functional genes, and extracellular enzyme activities were measured. Soil integrated fertility index (IFI) was calculated using factor analysis method and Nemero index method. The results showed that amendments significantly increased the absolute abundance of soil nitrogen fixation genes (*nifH*), ammonia oxidizing bacteria genes (*AOB-amoA*), and denitrification genes (*nirS* and *nosZ*) ($P<0.05$). The abundance of functional genes was in the order of SCA>SC>SA. The redundancy analysis (RDA) showed that soil organic carbon was the key factor affecting functional gene abundance. Furthermore, organic amendments significantly improved carbon (β -Glucosidase, β -Cellobiohydrolase), nitrogen (β -1, 4-N-acetylglucosaminidase, leucine aminopeptidase) and phosphorus (alkaline phosphatase) related enzyme activities ($P<0.05$). RDA results showed that available phosphorus was the main factor affecting enzyme activities under different amendments. Soil IFIs using factor analysis method and Nemero index method were both positively correlated with maize yield. In conclusion, combined application of organic and inorganic amendments could increase the abundance of functional genes related to nitrogen cycling, and the activities of extracellular enzymes related to carbon, nitrogen and phosphorus cycles, and improve the soil IFI. Therefore, combined application of organic and inorganic amendments is an important strategy to promote nutrient condition and crop yield in sandy soil.

Key words: organic amendment; attapulgit; functional gene; extracellular enzyme; Nemero index