

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.

MA Li-juan, ZHANG Hui-min, HOU Zhen-an, 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.

# 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

马丽娟, 张慧敏, 侯振安, 闵伟\*

(石河子大学农学院农业资源与环境系, 新疆 石河子 832000)

**摘要:**为探讨长期咸水滴灌对棉田土壤氨氧化细菌(AOA)和氨氧化古菌(AOB)的丰度和群落结构的影响,于2018年采集已经过10年咸水滴灌的棉田土壤,通过实时荧光定量PCR和高通量测序技术测定土壤AOA和AOB的丰度和群落结构。试验设3个灌溉水盐度水平:0.35、4.61 dS·m<sup>-1</sup>和8.04 dS·m<sup>-1</sup>(分别代表淡水、微咸水和咸水)。结果表明:微咸水、咸水灌溉显著降低土壤NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N含量和潜在硝化势(PNR),但显著增加土壤盐分和NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N含量。不同处理AOA和AOB的amoA基因拷贝数分别为2.2×10<sup>6</sup>~3.6×10<sup>6</sup> copies·g<sup>-1</sup>和1.9×10<sup>5</sup>~3.2×10<sup>5</sup> copies·g<sup>-1</sup>干土;微咸水、咸水处理AOA和AOB amoA基因拷贝数均显著低于淡水处理,且微咸水处理显著降低AOA/AOB。PNR与AOA丰度( $P<0.001$ )和AOB丰度( $P<0.001$ )均呈显著正相关关系。此外,不同灌溉水盐度下AOA群落操作分类单元(OTUs)的数量大于AOB,微咸水、咸水灌溉显著降低AOB群落的OTUs。与淡水处理相比,咸水、微咸水处理显著增加AOA群落的香农指数,咸水处理显著降低AOB群落的香农指数。AOA和AOB群落的优势类群分别为*Candidatus Nitrosocaldus*和*Nitrosospira*;咸水、微咸水处理抑制AOA群落的Betaproteobacteria生长,而咸水处理中*Candidatus Nitrosocaldus*显著高于淡水和微咸水处理。AOB群落中*Nitrosomonas*的相对丰度随着灌溉水盐度的增加而显著降低。LEfSe分析显示,AOA在咸水灌溉下仅有1个差异物种,而AOB在微咸水灌溉时有5个差异物种。冗余分析结果显示:AOA群落结构的改变与土壤NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、pH和盐度的变化密切相关,而AOB群落结构的改变仅与NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N和pH显著相关。盐分是影响氨氧化微生物生长及群落结构的主导因素,AOA和AOB共同参与土壤硝化作用,淡水、微咸水灌溉条件下AOB可能是硝化作用主导微生物种群,而咸水灌溉条件下AOA可能是主导微生物种群。

**关键词:**咸水滴灌; 氨氧化古菌; 氨氧化细菌; 硝化势; 群落结构

中图分类号:S154.3 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2019)12-2797-11 doi:10.11654/jaes.2019-0604

## Effects of long-term saline water drip irrigation on the abundance and community structure of ammonia oxidizers

MA Li-juan, ZHANG Hui-min, HOU Zhen-an, MIN Wei\*

(Department of Resources and Environmental Sciences, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

**Abstract:** Ammonia-oxidizing microorganisms are the main drivers of soil nitrification. However, little is known about the effects of saline water irrigation on the ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) communities and their relative contribution to soil nitrification. Toward this end, a 10-year field experiment was conducted to evaluate the effects of long-term saline water irrigation on AOA and AOB in alluvial gray desert soil. The experimental design comprised three irrigation water salinity levels established at 0.35, 4.61, and 8.04 dS·m<sup>-1</sup>, representing freshwater, brackish water, and saline water, respectively. Irrigation with brackish water and saline water reduced the soil NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N content and potential nitrification rate (PNR), while the soil salinity and NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N content increased mark-

收稿日期:2019-05-30 录用日期:2019-08-13

作者简介:马丽娟(1990—),女,河南临颍人,博士研究生,从事土壤生物与养分调控研究。E-mail:mlj651@sina.com

\*通信作者:闵伟 E-mail:minwei555@126.com

基金项目:国家自然科学基金项目(41661055)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (41661055)

edly. The *amoA* gene copy numbers of AOA and AOB were in the range of  $2.2 \times 10^6 \sim 3.6 \times 10^6$  and  $1.9 \times 10^5 \sim 3.2 \times 10^5$  copies  $\cdot g^{-1}$  dry soil, respectively. Irrigation with brackish and saline water decreased the *amoA* gene copy numbers of AOA and AOB. The AOA/AOB ratios were 11.3 and 11.2 in the freshwater and saline water treatments, respectively, indicating that more brackish water irrigation decreased the AOA/AOB ratios. Moreover, the PNR was positively correlated with AOA and AOB abundance ( $P < 0.001$ ). The number of operational taxonomic units (OTUs) of AOA based on the *amoA* gene was larger than that of AOB under different irrigation water salinity treatments. Irrigation with brackish and saline water significantly decreased the OTUs of AOB. Compared with freshwater irrigation, irrigation with brackish and saline water significantly increased the Shannon diversity index of AOA, while saline water treatment significantly reduced the Shannon index of AOB. The dominant groups of the AOA and AOB communities were *Candidatus Nitrosocaldus* and *Nitrosospira*, respectively. Irrigation with saline and brackish water inhibited the growth of Betaproteobacteria in the AOA community, while the abundance of *Candidatus Nitrosocaldus* in irrigation with saline water was significantly higher than that under irrigation with freshwater and brackish water. The relative abundance of *Nitrosomonas* in the AOB community decreased significantly with increasing salinity of the irrigation water. Lefse analysis revealed only one differential species in AOA under irrigation with saline water, while five differential species were detected in AOB under irrigation with brackish water. Redundancy analysis showed that the variations in AOA community structure were closely associated with the changes in soil  $\text{NO}_3^-$ -N, pH, and salinity, whereas the AOB community structure was only significantly correlated with  $\text{NO}_3^-$ -N and pH. In conclusion, salinity was the dominant factor affecting the growth of ammonia-oxidizing microorganisms and community structure. AOB may be the dominant microbial population of nitrification with freshwater and brackish water irrigation, while AOA may be the dominant microbial population with saline water irrigation. These results can provide a scientific basis for further exploring the response mechanism of ammonia-oxidizing microorganisms and their roles in nitrogen transformation in the agricultural soils of arid areas.

**Keywords:** saline water drip irrigation; ammonia-oxidizing archaea; ammonia-oxidizing bacteria; nitrification rate; community structure

氮肥一般是作物生长的限制性因素,在盐渍化土壤中合理施用氮肥可有效降低盐分对作物生长的危害。硝化作用是土壤氮循环的重要环节,在氮素形态转化和氮循环过程中起着至关重要的作用,直接影响环境质量和氮肥的利用效率<sup>[1]</sup>。氨氧化作用和亚硝酸氧化作用是硝化作用的两个关键步骤,其中氨氧化作用是硝化作用的限速步骤,主要是在氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)的参与下完成<sup>[2]</sup>。随着分子生物学的不断发展,人们对于AOA和AOB的研究不断深入。越来越多的学者关注不同环境条件对AOA、AOB丰度<sup>[3]</sup>和群落结构组成的影响<sup>[4]</sup>,以及AOA和AOB对硝化作用的相对贡献等<sup>[5]</sup>。

氨氧化微生物的生长受土壤环境的影响。其中土壤盐分是影响氨氧化微生物生长和群落结构的重要因素。有研究发现AOB和AOA的丰度与盐度呈负相关<sup>[6]</sup>,盐分会抑制AOB的生长,对AOA丰度影响不显著<sup>[7]</sup>。但是也有研究发现高盐分可以促进AOA和AOB的生长<sup>[8]</sup>。Caffrey等<sup>[9]</sup>研究也表明河口沉积物中AOA丰度随着盐分的增加而增加,但盐分对AOB没有影响。Mosier等<sup>[10]</sup>研究发现AOB丰度随着土壤盐度的增加而增加,在低盐度条件下AOA *amoA*的基因丰度高于AOB基因。此外,有研究发现在盐碱地中AOB *amoA*基因丰度比AOA *amoA*基因丰度高两个数量级<sup>[11]</sup>。以上研究结果表明盐分对氨氧化微生物丰

度的影响目前尚无定论。此外,盐分在影响AOA和AOB丰度的同时也影响其群落结构的改变。前人研究表明,在不同盐分环境中AOA的群落结构会发生改变,AOB的群落结构多样性和盐分梯度无相关关系<sup>[12]</sup>,而湿地土壤中盐分可显著改变AOA和AOB的群落结构<sup>[13]</sup>。有研究表明AOB的多样性会随着盐分的增加而提高<sup>[14]</sup>,但是Dang等<sup>[15]</sup>研究发现盐分会降低AOB的多样性。盐分是一个日益受到关注的环境因素,然而盐分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。

新疆地处我国的西北部,属于干旱地区,淡水资源短缺问题尤为严重。但是该地区咸水资源比较丰富,在淡水资源短缺不断加剧的背景下,合理利用咸水资源进行灌溉已经成为农业生产中缓解淡水资源不足的较为经济、有效的手段。咸水灌溉一方面提供了作物生长所需要的水分,缓解旱情;另一方面也将盐分带入土壤,改变土壤的理化性质,进而影响土壤养分转化和微生物生长。AOA和AOB共同参与土壤硝化作用,然而,关于长期咸水灌溉对AOB和AOA群落结构的影响及其对土壤硝化作用的贡献所知甚少。因此,了解土壤氨氧化微生物群落结构多样性对咸水灌溉引起的土壤盐分变化的响应具有重要意义。本研究在已连续开展10年咸水滴灌试验的基础上,通过荧光定量PCR方法测定AOA和AOB的丰度,采用

高通量测序分析AOA和AOB群落结构多样性。我们假设经过长期咸水滴灌会改变AOA和AOB的群落结构,降低AOA和AOB丰度并抑制硝化作用。因此,本研究的目的是比较不同灌溉水盐度对氨氧化微生物丰度和群落结构的影响,评价AOA和AOB对于硝化作用的贡献,并探讨分析土壤理化性质与氨氧化微生物丰度和群落结构间的关系。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验区概况

试验区位于石河子大学农学院试验站( $44^{\circ}18'N, 86^{\circ}02'E$ )内,平均海拔450.8 m。试验区属于典型温带干旱大陆性气候,多年平均气温为 $6.5\sim7.2^{\circ}\text{C}$ ,无霜期为168~171 d,年日照时数为2721~2818 h,年蒸发量1660 mm,年平均降水量为210 mm。试验区土壤类型为石灰性冲积土。 $0\sim30\text{ cm}$ 土层基础理化性质(2009年试验开始前)如下:电导率(EC)为 $0.13\text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ ,pH值7.9,速效磷 $25.9\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,速效钾 $253\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,全氮 $1.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,有机质 $16.8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。供试作物为棉花(*Gossypium hirsutum* L. cv Xinluzao No. 52),通常在4月中旬种植,9月中旬收获。

### 1.2 试验设计

试验区在2009—2017年已经连续开展9年的不同盐度灌溉水滴灌田间试验。依据灌溉水盐度设置了3个处理,每个处理3次重复,共9个小区,每个试验小区面积 $25\text{ m}^2$ ,采用完全随机区组设计。3个处理的灌溉水盐度分别为 $0.35$ 、 $4.61$ 、 $8.04\text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ (分别用FW、BW和SW表示),试验中FW取自当地深层地下水,BW和SW处理灌溉水盐分是通过在淡水中加入等量的NaCl和CaCl<sub>2</sub>(质量比1:1)配制而成。氮肥(尿素N $\geq46.4\%$ )施用量为 $N360\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ,此氮肥用量为当地棉花大田生产推荐用量。2018年试验开始前3种灌溉水盐度处理土壤基本理化性见表1。

棉花种植采用覆膜栽培,一膜两管4行,行距配

置为 $(30+60+30)\text{ cm}$ ,播种密度 $22.2\text{ 万株}\cdot\text{hm}^{-2}$ 。2018年棉花于4月20日播种,为保证出苗,播种后滴淡水45 mm。棉花生长期灌水9次,6月中旬开始至8月下旬结束,灌溉周期为7~10 d,每次灌水45~60 mm,总灌溉量450 mm,磷肥(重过磷酸钙,P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> $\geq44.0\%$ )施用量为P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 105 kg·hm<sup>-2</sup>,钾肥(硫酸钾,K<sub>2</sub>O $\geq51.0\%$ )施用量K<sub>2</sub>O 60 kg·hm<sup>-2</sup>,全部作基肥在播种前一次性施入。试验中氮肥全部作追肥,2018年氮肥分别在6月27日(第二水)、7月4日(第三水)、7月12日(第四水)、7月19日(第五水)和7月25日(第六水)通过滴灌系统分五次随水施用。其他栽培管理措施参照当地大田生产。

### 1.3 土壤样品采集与测定

2018年(试验第10年)在棉花蕾铃期,最后一次施肥结束后第3 d(7月28日)用直径 $2.5\text{ cm}$ 土钻在每个小区的棉花行内,按S型线路随机采集3个耕层土壤样品,采集深度为 $0\sim20\text{ cm}$ 。每个小区3个重复,土样混合均匀并去除其中的杂物、细根。将一部分土样过 $2\text{ mm}$ 筛后分成两部分,一部分用于测定土壤理化性质和土壤潜在硝化势,一部分用于氨氧化微生物丰度和多样性的检测。用于提取DNA的土壤样品保存于 $-80^{\circ}\text{C}$ 条件下。

#### 1.3.1 土壤理化性质和潜在硝化势测定

土壤含水量采用烘干法测定;土壤盐度和pH值采用MP521 Lab pH/ Conductivity Meter型电导率仪测定,测定盐度水土比为 $5:1$ <sup>[16]</sup>,测定pH值水土比为 $2.5:1$ <sup>[17]</sup>;土壤NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N和NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N使用 $2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl浸提后使用流动分析仪测定(Smart Chem140, Analytik Jena AG)<sup>[18]</sup>;土壤有机碳(SOC)使用K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>外加热法测定<sup>[16]</sup>;土壤全氮(TN)使用半微量凯氏定氮法测定<sup>[16]</sup>。

土壤潜在硝化势测定采用Kurola等<sup>[19]</sup>测定方法,准确称取 $5\text{ g}$ 新鲜土壤样品于 $50\text{ mL}$ 离心管中振荡培养 $24\text{ h}$ 后,使用 $2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  KCl浸提并通过比色法测定

表1 2018年试验开始前3种灌溉水盐度处理土壤理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the soils under three water salinity treatments prior to the beginning of the experiment in 2018

灌溉水盐度 Water salinity	土壤盐度 EC/dS·m <sup>-1</sup>	pH	土壤含水量 SWC/%	有机碳 SOC/g·kg <sup>-1</sup>	全氮 TN/g·kg <sup>-1</sup>	硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/mg·kg <sup>-1</sup>	铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/mg·kg <sup>-1</sup>
FW	0.20	7.99	16.85	9.77	0.76	23.23	4.80
BW	0.56	7.81	17.69	9.44	0.70	20.42	5.15
SW	0.78	7.76	18.18	8.79	0.64	18.07	5.47

注:FW、BW、SW代表灌溉水的盐度(EC<sub>w</sub>分别为 $0.35$ 、 $4.61$ 、 $8.04\text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ )。下同。

Note:TW, BW, and SW stand for the irrigation water salinity(EC) of 0.35, 4.61, and  $8.04\text{ dS}\cdot\text{m}^{-1}$ , respectively. The same below.

土壤浸提液中  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  的浓度, 潜在硝化势(PNR)以  $\mu\text{g}(\text{NO}_3^-\text{-N}) \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (干土)表征。

土壤潜在硝化势计算公式如下:

$$\text{PNR} = (c \times V \times ts \times 1000) / m \times 24 \quad (1)$$

式中: $c$  为从标曲上查得的显色液  $\text{NO}_3^-\text{-N}$  浓度,  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ;  $V$  为显色液的体积,  $\text{mL}$ ;  $ts$  为分取倍数,  $m$  为烘干样品质量; 24 为 24 h。

### 1.3.2 DNA 提取

称取新鲜土壤样品 0.3 g, 使用 Power Soil<sup>TM</sup> DNA Isolation Kit(Mo Blo Laboratories, Inc, USA)试剂盒, 按照操作说明书提取 DNA 样品, 并将提取的土壤总 DNA 在-80 °C 下保存。

### 1.3.3 qPCR 测定

使用实时荧光定量 PCR 仪检测目标基因丰度, qPCR 的反应体系为 20  $\mu\text{L}$ , 其中包括 10  $\mu\text{L}$  2 × SYBR<sup>®</sup>Green qPCR Master Mix (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA), 前后引物各 1  $\mu\text{L}$ , 2  $\mu\text{L}$  DNA 模板(约  $2 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ )和 6  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O。AOA amoA 基因扩增引物是 Arch-amoAF (5' - STAATGGTCTGGCT-TAGACG - 3') 和 Arch-amoAR (5' - GCGGCCATC-CATC TGTATGT-3')<sup>[20]</sup>。AOB amoA 基因扩增引物是 amoA-1F(5'-GGGG TTTCTACTGGTGGT)和 amoA-2R (5'-CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC - 3')<sup>[21]</sup>。PCR 反应体系如下: 95 °C 5 min, 接着 40 个循环, 95 °C 10 s, 55 °C 20 s, 72 °C 30 s。

### 1.3.4 高通量测序

采用高通量测序技术测定 AOA 和 AOB 群落结构组成。PCR 扩增引物与 qPCR 相同。PCR 扩增体系为 25  $\mu\text{L}$ , 其中包括 2  $\mu\text{L}$  DNA 模板, 前后引物各 1  $\mu\text{L}$ , 5  $\mu\text{L}$  5×PCR buffer, 2  $\mu\text{L}$  (2.5 mmol·L<sup>-1</sup>) dNTP, 5  $\mu\text{L}$  5×Q5High GC Enhancer buffer, 0.25  $\mu\text{L}$  (0.02U· $\mu\text{L}^{-1}$ ) Q5 High - Fidelity DNA polymerase (NEB) 和 8.75  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O。反应体系如下: 98 °C 5 min, 接着 35 个循环, 98 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 最后 72 °C 5 min。

PCR 产物使用 Agencourt AMPure Beads (Beckman Coulter, Indianapolis, IN) 纯化, 并用 PicoGreen dsDNA Assay kits (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA) 质量化, 各样品等量混合后, 在上海派森诺生物科技股份有限公司(上海, 中国)使用 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序, 每个处理重复 3 次。

### 1.4 数据分析

使用 SPSS 软件(Version SPSS 21.0)进行数据方差分析和相关性分析, 显著水平为 0.05; 各处理间差异比较采用 LSD 法( $P<0.05$ ); 高通量测序结果使用 UCHIME 软件(Version 4.2), 鉴定并去除嵌合体序列, 得到最终有效数据。使用 QIIME 软件(Version 1.8.0)对序列在 97% 的相似度水平下进行聚类并获得 OTUs 数, 基于 OTUs 数得到不同分类水平上的物种丰度, 再利用 R 语言(Version 3.2.0)绘制成样品各分类学水平下的群落结构图。使用 Mothur(Version 1.30.1)软件分析样品  $\alpha$  多样性指数(ACE, Chao1, 辛普森指数, 香农指数), 分析时将样品所含序列数进行标准化并在 97% 相似度水平下, 对各样品  $\alpha$  多样性指数值统计。基于 Galaxy 平台进行 LEfSe 分析[Line discriminant analysis(LDA) Effect Size], LDA 值 > 4。RDA 分析(Re-dundancy analysis)使用 R 语言 Vegan 包进行分析和作图。

## 2 结果分析

### 2.1 咸水滴灌对土壤理化性质的影响

灌溉水盐度显著影响土壤理化性质(表 2)。与 FW 处理相比, BW 和 SW 处理土壤盐分、含水量和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量显著增加, 而 pH 值、SOC、TN、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量显著降低( $P<0.05$ , 下同)。BW 和 SW 处理 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量较 FW 处理降低 13.5% 和 30.8%。相反, BW 和 SW 处理 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量较 FW 处理增加 10.4% 和 15.2%。

### 2.2 咸水滴灌对土壤潜在硝化势的影响

BW 和 SW 处理显著降低土壤潜在硝化势(PNR)

表 2 不同灌溉水盐度处理土壤理化性质

Table 2 Soil physicochemical properties as affected by different irrigation water salinity treatments

灌溉水盐度 Water salinity	土壤盐度 EC/dS·m <sup>-1</sup>	pH	土壤含水量 SWC/%	有机碳 SOC/g·kg <sup>-1</sup>	全氮 TN/g·kg <sup>-1</sup>	硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/mg·kg <sup>-1</sup>	铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/mg·kg <sup>-1</sup>
FW	0.21±0.006c	7.97±0.015a	15.57±0.005c	9.75±0.145a	0.73±0.006a	46.19±1.561a	6.82±0.047c
BW	0.60±0.010b	7.77±0.010b	19.09±0.001b	9.39±0.083b	0.68±0.016b	39.95±1.357b	7.53±0.106b
SW	0.94±0.020a	7.74±0.010c	21.04±0.003a	8.75±0.023c	0.62±0.011c	31.96±2.064c	7.86±0.092a

注:同一列不同小写字母表示不同处理间差异达显著水平( $P<0.05$ )。下同。

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

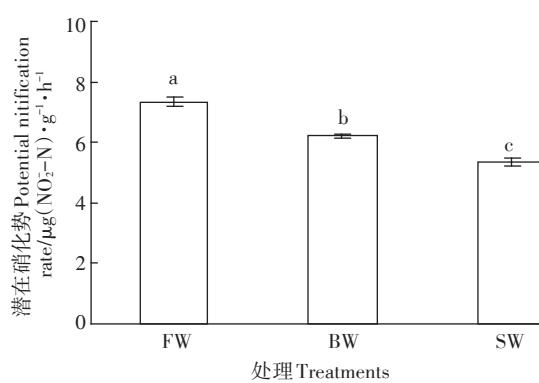


图1 不同灌溉水盐度处理土壤潜在硝化势

Figure 1 Soil potential nitrification rate as affected by different irrigation water salinity treatments

见图1,FW 处理 PNR 分别较 BW 和 SW 处理高 18.1% 和 37.3%。

### 2.3 AOA 和 AOB 丰度及对土壤潜在硝化势的相对贡献

BW 和 SW 处理显著降低土壤 AOA 和 AOB 丰度(表3)。不同处理土壤 AOA *amoA* 基因丰度在  $2.18 \times 10^6 \sim 3.57 \times 10^6$  copies  $\cdot \text{g}^{-1}$ (干土), AOB *amoA* 基因丰度在  $1.94 \times 10^5 \sim 3.15 \times 10^5$  copies  $\cdot \text{g}^{-1}$ (干土)。与 FW 处理相比,BW 和 SW 处理 AOA 和 AOB 丰度分别较 FW 处理降低 28.4%、39.0% 和 23.3%、38.4%。BW 处理 AOA/AOB 显著低于 FW 和 SW 处理,而 SW 和 FW 处理之间无显著差异。

AOA 和 AOB 对 PNR 的相对贡献如图2 所示。AOA 丰度与 PNR 呈极显著正相关关系( $R^2=0.922\ 8, P<0.001$ )。相似地, AOB 丰度也与 PNR 呈极显著正相关关系( $R^2=0.948\ 9, P<0.001$ )。说明 PNR 的变化与 AOA 和 AOB 丰度存在高度的相关性。

### 2.4 AOA 和 AOB $\alpha$ 多样性

各处理 AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因的测序数在 79 812~80 076(表4), 覆盖度在 0.997 1~0.999 7。在 97% 的相似度水平下, AOA 和 AOB 序列分别可划分为 661~664 和 130~140 OTUs。BW 和 SW 处理显著降低 AOB 群落 OTUs, 但对 AOA 无影响。ACE 和 Chao1

表3 不同灌溉水盐度处理 AOA 和 AOB 丰度

Table 3 Abundance of AOA and AOB as affected by different irrigation water salinity treatments

灌溉水盐度 Water salinity	AOA 丰度 AOA abundance/ $\times 10^6$ copies $\cdot \text{g}^{-1}$ dry soil		AOB 丰度 AOB abundance/ $\times 10^5$ copies $\cdot \text{g}^{-1}$ dry soil		AOA/AOB ratio
FW	3.57 $\pm$ 0.13a		3.15 $\pm$ 0.10a		11.32 $\pm$ 0.12a
BW	2.55 $\pm$ 0.11b		2.42 $\pm$ 0.13b		10.57 $\pm$ 0.31b
SW	2.18 $\pm$ 0.13c		1.94 $\pm$ 0.32c		11.21 $\pm$ 0.32a

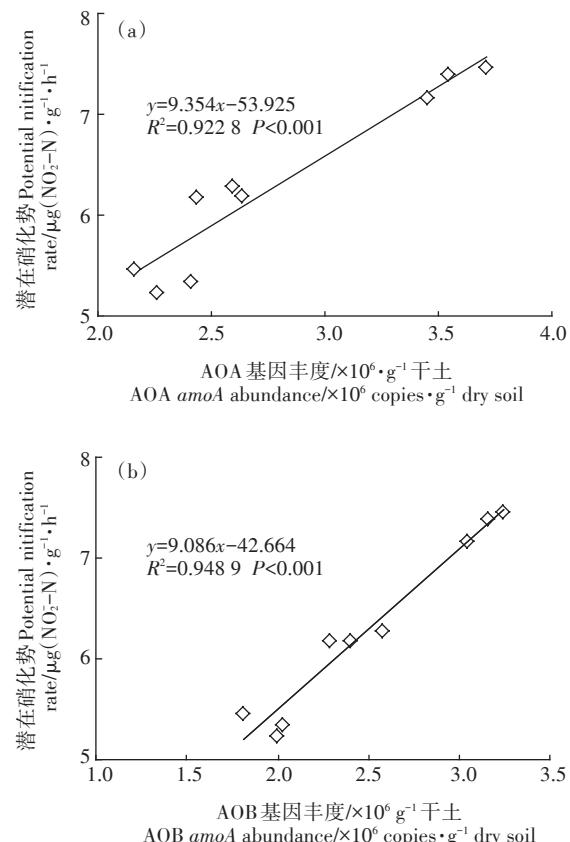


图2 AOA(a) 和 AOB(b) 丰度与土壤潜在硝化势的相关性

Figure 2 Correlations between AOA(a) and AOB(b) abundance and potential nitrification rate of soil

指数通常用来衡量群落中含 OTU 数目的指数, ACE 和 Chao1 指数越大, 表明群落的丰富度越高。辛普森和香农指数用于衡量物种多样性, 受样品群落中物种丰度和物种均匀度的影响, 一般香农指数值越大, 辛普森指数值越小, 说明样品的物种多样性越高。灌溉水盐度对丰富度指数(ACE 和 Chao1)无显著影响。与 FW 处理相比, BW 和 SW 处理显著增加 AOA 香农指数, 且辛普森指数显著降低。SW 处理显著降低 AOB 香农指数, 且显著增加辛普森指数。BW 处理对 AOB 多样性指数无显著影响。

### 2.5 土壤理化性质与 AOA、AOB 的丰度、多样性指数、潜在硝化势之间相关性分析

土壤理化性质与 AOA、AOB 的丰度、多样性指数, 土壤潜在硝化势之间相关关系见表5。土壤潜在硝化势, AOA、AOB 丰度, AOA 群落辛普森指数与 pH、 $\text{NO}_3^-$ -N、SOC、TN 呈显著正相关, 但是和 EC、SWC、 $\text{NH}_4^+$ -N 呈显著负相关。AOA 的香农指数与 EC、SWC、 $\text{NH}_4^+$ -N 呈显著正相关, 而与 pH、 $\text{NO}_3^-$ -N、SOC、TN 呈显

表4 不同灌溉水盐度处理AOA和AOB多样性

Table 4  $\alpha$  diversity properties of AOA and AOB as affected by different irrigation water salinity treatments

氨氧化微生物 Ammonia oxidizer	灌溉水盐度 Water salinity	序列数 Sequence Tags	操作分类单元 OTUs	ACE指数 ACE index	Chao1指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index	覆盖度 Coverage
氨氧化古菌群落 AOA community	FW	79 812±175a	664±1.53a	668.55±2.91a	670.89±5.05a	0.42±0.01a	2.57±0.04c	0.999 7±0.001a
	BW	79 999±263a	662±3.00a	666.01±3.94a	668.11±5.88a	0.36±0.01b	2.82±0.03b	0.999 7±0.001a
	SW	79 895±218a	661±1.15a	665.72±1.99a	666.63±2.83a	0.31±0.11c	2.97±0.05a	0.999 7±0.001a
氨氧化细菌群落 AOB community	FW	79 985±134a	140±2.65a	166.53±11.16a	168.58±8.29a	0.17±0.01b	2.36±0.01a	0.997 1±0.001a
	BW	79 844±94a	130±4.04b	161.38±8.32a	164.68±12.93a	0.18±0.01b	2.42±0.02a	0.997 1±0.001a
	SW	80 076±162a	132±1.15b	157.72±13.44a	155.02±15.13a	0.22±0.01a	2.18±0.08b	0.997 3±0.001a

表5 土壤理化性质与潜在硝化势, AOA、AOB丰度, 多样性指数间相关性分析

Table 5 Correlations among soil physicochemical properties, potential nitrification rates, AOA and AOB abundance and diversity under different water salinity treatments

	EC	pH	SWC	NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> -N	SOC	TN
潜在硝化势 PNR	-0.993**	0.930**	-0.979**	0.935**	-0.962**	0.935**	0.965**
氨氧化古菌群落 AOA community	丰度	-0.930**	0.965**	-0.963**	0.863**	-0.959**	0.849**
	Simpson	-0.985*	0.940**	-0.984**	0.955**	-0.982**	0.949**
	Shannon	0.970**	-0.946**	0.978**	-0.930**	0.980**	-0.927**
氨氧化细菌群落 AOB community	ACE	-0.413	0.492	-0.451	0.526	-0.472	0.475
	Chao1	-0.400	0.442	-0.436	0.540	-0.426	0.511
	丰度	-0.965**	0.922**	-0.968**	0.912**	-0.962**	0.908**
	Simpson	0.850**	-0.608	0.731*	-0.802**	0.692*	-0.879**
	Shannon	-0.672*	0.364	0.549	0.691*	-0.530	0.769*
	ACE	-0.379	0.367	-0.368	0.338	-0.412	0.401
	Chao1	-0.485	0.402	-0.452	0.405	-0.482	0.479
							0.610

注:\*\*表示在0.01水平上显著相关,\*表示在0.05水平上显著相关。

Note: Significant correlations are highlighted with asterisks \*P<0.05,\*\*P<0.01.

著负相关。AOB的辛普森指数与EC、SWC、NH<sub>4</sub>-N呈显著正相关, 而与NO<sub>3</sub>-N、SOC、TN呈显著负相关。AOB的香农指数与NO<sub>3</sub>-N、SOC、TN呈显著正相关, 而仅与EC呈显著负相关。

## 2.6 AOA和AOB群落结构

高通量测序结果显示, 纲水平上, AOA群落由*Candidatus Nitrosocaldus*、*Candidatus Nitrosphaera*、*Betaproteobacteria*、*Marine archaeal group 1*、*Unknown*组成(图3a)。除*Unknown*, *Candidatus Nitrosocaldus*(0.6%~1%)相对丰度较高。*Candidatus Nitrosocaldus*属于自养和需氧氨氧化古菌, 常出现在中性或微碱性陆地地热环境中。不同灌溉水盐度对AOA群落影响不一致, 例如, *Betaproteobacteria*和*Marine archaeal group 1*对灌溉水盐度较为敏感, BW和SW处理中*Betaproteobacteria*相对丰度显著低于FW处理, 而*Marine archaeal group 1*显著高于FW处理; SW处理*Candidatus Nitrosocaldus*显著高于FW和BW处理。

AOB属水平上群落主要由*Nitrosospira*、*Nitrosomonas*、*Nitrosovibrio*和*Unknown*组成(图3b), *Nitrosospira*(52.9%~59.4%)相对丰度较高。*Nitrosospira*属于氨氧化细菌中的一类, 参与氨氧化过程对亚硝酸盐的亲和力较高, 可高效利用底物。*Nitrosomonas*随着灌溉水盐度的增加相对丰度显著降低, SW处理中没有检测到*Nitrosomonas*的存在。BW处理中*Nitrosospira*相对丰度显著低于FW和SW处理。

## 2.7 AOA和AOB群落LEfSe分析

使用LEfSe(LDA>4.0,  $P<0.05$ )进行不同处理间群落比较分析, 得到不同灌溉水盐度条件下氨氧化微生物群落显著差异种群(图4)。AOA仅有1个差异物种(图4a), 出现在SW处理, 说明AOA种群相对稳定, 高盐度灌溉水刺激*Candidatus Nitrosocaldus*生长, AOB共有5个显著差异物种(图4b), 5个差异种群均来自BW处理, 说明中等盐度灌溉水可刺激*Bacteri*、*Proteobacteria*、*Nitrosomonadaceae*、*Betaproteobacteria*、

Nitrosomonadales 的生长。

## 2.8 AOA、AOB 与土壤理化性质间 RDA 分析

利用 RDA 分析 AOA 和 AOB 群落结构与土壤理化性质的关系, AOA 群落结构与土壤理化性质间的关系见图 5a, 轴 1 的解释度为 54.8%, 轴 2 的解释度为 26.9%。AOA 群落结构与  $\text{NO}_3^-$ -N(解释度 59.1%,  $P=0.002$ )、pH 值(解释度 23.2%,  $P=0.032$ )、土壤盐分(解释度 10.4%,  $P=0.042$ ) 存在显著相关关系。对于 AOB, 轴 1 解释度为 57.5%, 轴 2 解释度为 31.2%(图 5b)。AOB 群落结构仅与  $\text{NO}_3^-$ -N(解释度 33.3%,  $P=0.04$ )、pH 值(解释度 47.7%,  $P=0.012$ ) 呈显著相关关系, 与其他土壤理化性质无显著相关关系。

## 3 讨论

### 3.1 咸水滴灌对土壤理化性质的影响

淡水资源短缺是限制农业可持续发展的重要因素, 合理利用咸水灌溉已成为缓解干旱区淡水资源不足的重要手段。然而, 长期咸水灌溉会导致盐分在土

壤中的积累, 影响土壤理化性质和养分的循环转化, 特别是氮素转化的关键过程<sup>[22]</sup>。本研究结果表明微咸水、咸水灌溉使土壤盐分、含水量、 $\text{NH}_4^+$ -N 含量显著增加, 而 pH 值、有机质、 $\text{NO}_3^-$ -N 含量显著降低。土壤含水量增加是因为盐水灌溉土壤蒸散率降低<sup>[23]</sup>。pH 值降低可能是因为土壤中氯离子的积累, 导致土壤 pH 值下降<sup>[24]</sup>。有机质的降低是因为盐渍土壤中植物生物量减少导致有机物输入量下降<sup>[25]</sup>。另外, 微咸水、咸水处理, 土壤  $\text{NH}_4^+$ -N 含量增加, 而  $\text{NO}_3^-$ -N 含量呈现相反的趋势, 可能是土壤盐度的增加抑制了土壤的硝化作用<sup>[26]</sup>。

### 3.2 咸水滴灌对土壤潜在硝化势和 AOA、AOB 丰度的影响

土壤潜在硝化势可直接反映土壤硝化活性。本研究结果表明长期微咸水和咸水灌溉显著抑制土壤潜在硝化势。这与 He 等<sup>[27]</sup>研究相似, 其研究结果显示土壤潜在硝化势随土壤盐度的增加而显著降低。然而, 也有研究表明适度盐分可提高土壤潜在硝化速

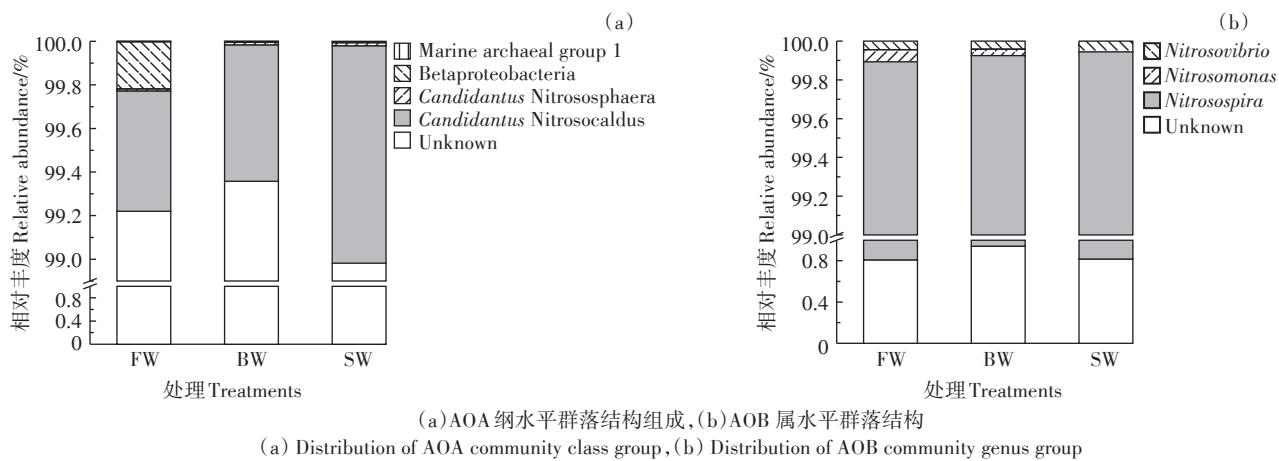


图 3 不同灌溉水盐度处理氨氧化微生物群落结构

Figure 3 Community structure of AOA and AOB as affected by different irrigation water salinity treatments

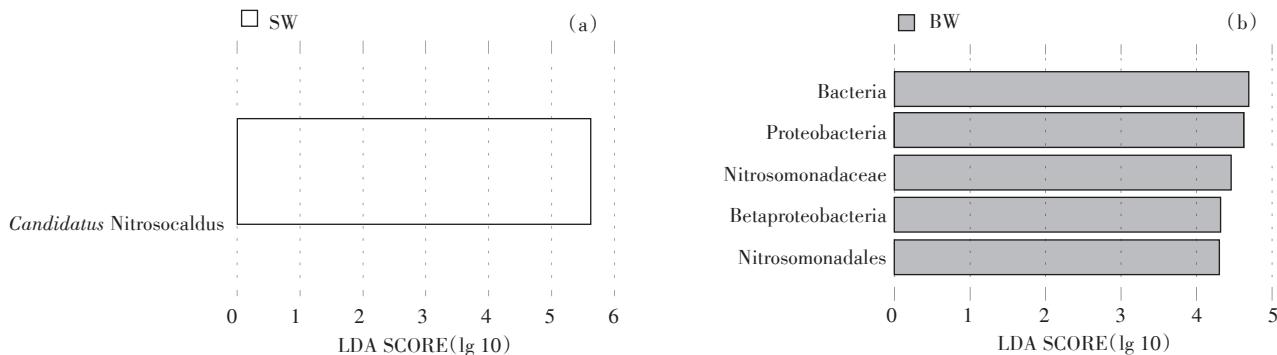


图 4 不同灌溉水盐度处理 AOA(a) 和 AOB(b) 群落 LEfSe 分析

Figure 4 LEfSe analysis of AOA(a) and AOB(b) communities under different irrigation water salinity treatments

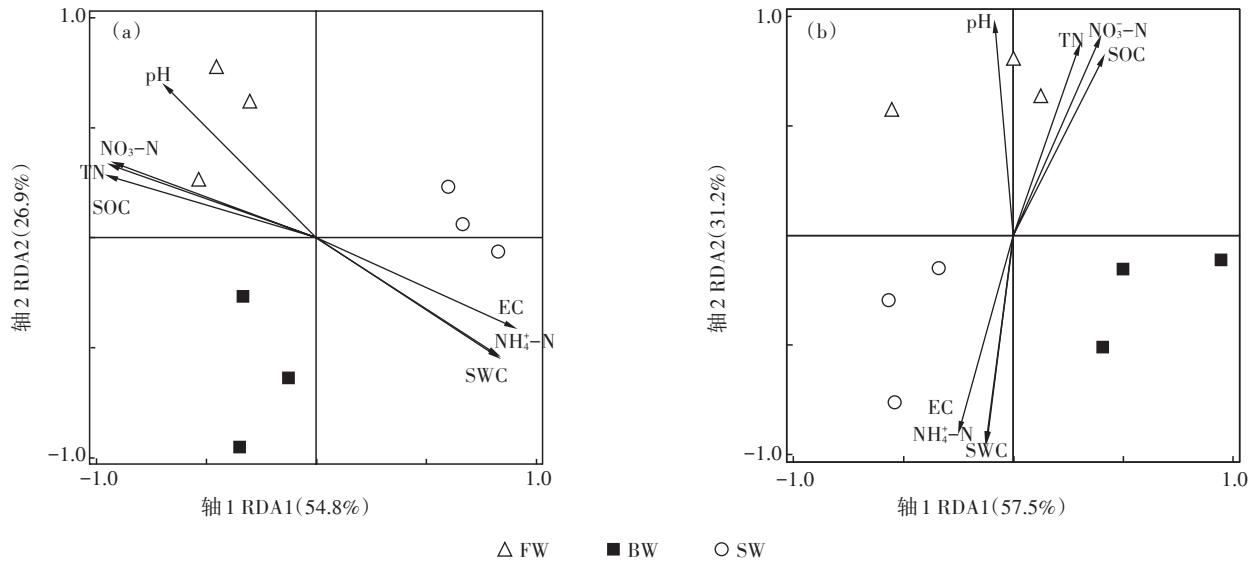


图5 AOA(a)和AOB(b)群落结构与土壤理化性质间RDA分析

Figure 5 Redundancy analysis(RDA) of correlations between soil physicochemical properties and the community structure of AOA(a) and AOB(b)

率,而高盐度抑制土壤潜在硝化速率<sup>[28]</sup>,这可能是因为一些参与硝化作用的微生物具有一定的耐盐性,在一定盐度范围内可促进硝化作用微生物的生长,提高硝化速率<sup>[29]</sup>。

AOA和AOB是参与硝化作用的关键微生物,盐分是影响其生长的重要因素<sup>[30]</sup>,本研究发现随着灌溉水盐度的增加,AOA和AOB丰度均显著降低。Jin等<sup>[31]</sup>研究也发现,较高的盐分会抑制AOB生长。然而也有研究发现盐分对AOA丰度无显著影响<sup>[32]</sup>,或者中等盐度可以刺激AOA生长<sup>[33]</sup>。前人研究表明新疆碱性土壤中AOB丰度高于AOA,是主导微生物类型<sup>[34]</sup>。但本研究表明AOA丰度高于AOB,可能是微咸水和咸水灌溉后土壤盐分成为影响AOA、AOB生长和活性的主导因素。Bernhard等<sup>[35]</sup>也得到相似的研究结果。但也有研究发现河口区AOB丰度高于AOA<sup>[36]</sup>,甚至盐分越高AOB丰度高于AOA的幅度越大<sup>[37]</sup>。这些矛盾的结果可能是AOA和AOB属于两类微生物群体,不同环境条件下,AOA和AOB对于盐分的响应是不同的。另外自然环境复杂多变,可能是多种因素综合作用下共同影响AOA和AOB活性<sup>[38]</sup>。

相关性分析表明,AOA和AOB丰度均与PNR、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N浓度存在极显著正相关关系,说明AOA和AOB共同参与灌耕灰漠土中的硝化作用。本研究中微咸水灌溉条件下AOA/AOB显著低于淡水灌溉,而咸水灌溉条件下AOA/AOB显著高于微咸水灌溉。说

明不同AOA和AOB的生长对于盐分的响应是不同的。我们推测AOB可能是微咸水灌溉条件下硝化作用的主导微生物种群,而AOA可能是咸水灌溉条件下主导微生物种群。

### 3.3 咸水滴灌对土壤AOA和AOB群落组成及多样性的影响

咸水、微咸水灌溉改变了AOA和AOB的群落结构。本研究表明AOA群落多样性高于AOB,在含有盐分的河口区和海岸区环境中也出现相似的结果<sup>[27,39]</sup>。不同灌溉水盐度对AOA和AOB群落多样性的影响是不一致的。对于AOA来说,随着灌溉水盐度的增加,群落辛普森指数显著降低,而香农指数显著增加。而对于AOB来说,咸水灌溉显著增加AOB群落辛普森指数,而降低香农指数。说明,在该环境条件下AOA群落结构对于盐分的变化更为敏感。Gao等<sup>[40]</sup>研究也表明盐分越高AOA多样性越高,而AOB群落多样性在中等盐度时最高,在高盐度时最低。也有研究发现在红树林沉积物中盐分与AOB群落香农指数呈正相关关系,与辛普森指数呈负相关关系,而AOA群落多样性对盐分变化不敏感<sup>[41]</sup>。说明不同土壤环境下盐分对AOA和AOB的群落结构影响存在差异。

虽然灌溉水盐度对AOA群落OTUs无显著影响,但是AOA群落对于不同灌溉水盐度的响应是不同的。通常AOA的耐受性较强,对环境的改变不敏

感<sup>[42]</sup>。本研究结果表明在纲水平上,除 Unknown 外,*Candidatus Nitrosocaldus* 是主要微生物种群,咸水灌溉显著增加 *Candidatus Nitrosocaldus* 相对丰度,说明其对盐分具有较强的耐受性。另外也有可能是 *Candidatus Nitrosocaldus* 一些物种可将尿素直接作为生长的能量来源<sup>[43]</sup>,因此获得能量来源的途径较多,利于其完成整个硝化作用。本研究中随着灌溉水盐度的增加 Marine archaeal group 1 相对丰度显著增加,说明盐分激发了 AOA 耐盐种群的生长。原因可能是 Marine archaeal group 1 主要在海洋环境中出现,对于盐分具有较好的适应性<sup>[44]</sup>。在 AOB 属水平上, *Nitrosospira* 是优势微生物种群,且咸水灌溉 *Nitrosospira* 相对丰度高于微咸水灌溉。另外, *Nitrosomonas* 相对丰度随着灌溉水盐度的增加而显著降低,SW 处理中没有检测到 *Nitrosomonas* 的存在。这与前人研究一致,即 *Nitrosospira* 在高盐环境富集,而 *Nitrosomonas* 在低盐或者中盐环境中富集<sup>[45]</sup>。

LEfSe 分析结果表明 AOA 群落结构较为稳定,只有咸水灌溉时刺激了 *Candidatus Nitrosocaldus* 生长。而 AOB 群落对于盐分的响应较为敏感,微咸水灌溉出现 5 个显著高于其他处理的差异物种,这再一次印证了我们推测的微咸水灌溉条件下 AOB 较为活跃,是参与硝化作用的主导微生物种群,而咸水灌溉条件下 AOA 可能是主导微生物种群。

### 3.4 土壤性质对 AOA 和 AOB 群落结构的影响

咸水灌溉抑制氨氧化微生物的生长,改变其群落结构,然而土壤的环境条件复杂,AOA 和 AOB 对潜在硝化作用的贡献高度依赖于土壤初始环境<sup>[46]</sup>,经过 10 年咸水灌溉,土壤理化性质发生显著改变,环境因素的改变也影响着氨氧化微生物群落的变化。RDA 结果表明,除盐分以外,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 解释 AOA 群落结构总变异量的 59.1% ( $P=0.002$ ),解释 AOB 群落总变异的 33.3% ( $P=0.04$ ),说明咸水、微咸水灌溉条件下,NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 是影响 AOA 和 AOB 群落结构的主要因素之一。但是也有研究表明,土壤 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 仅与 AOB 群落变化存在显著相关关系<sup>[47]</sup>。这可能是由于土壤养分条件不同,长期咸水灌溉土壤氮素水平显著低于淡水灌溉,AOA 一般在较苛刻的环境(低氮、强酸性和高温)中生长更为活跃,表达功能活性更强<sup>[48]</sup>。此外,土壤 pH 是影响 AOA 和 AOB 群落变化的主要因素,pH 对 AOB 群落(解释度 47.7%,  $P=0.012$ )的影响要大于 AOA(解释度 23.2%,  $P=0.032$ )。这可能是因为 AOA 细胞具渗透膜,可维持细胞内 pH 接近中性<sup>[49]</sup>,而本研究中 pH 变

化范围较小,AOB 群落对于 pH 变化响应比 AOA 更敏感。然而,有学者研究表明一般碱性土壤中硝化作用主导微生物类型是 AOB,而与 AOA 关系不大<sup>[50]</sup>。不一致的结果说明盐分是影响农田土壤氨氧化微生物生态位变化的主导因素。然而本试验还不能具体分析出 AOA 和 AOB 分别对硝化作用的贡献率,这仍然需要后续进行深入研究。

## 4 结论

长期微咸水、咸水灌溉显著增加土壤盐分、含水量、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量,降低 pH 值、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量、有机碳和全氮含量。咸水、微咸水灌溉显著降低土壤 PNR 和 AOA、AOB 的 amoA 基因拷贝数。微咸水、咸水灌溉改变了 AOA 和 AOB 的群落结构组成,AOA 群落的纲水平上,以 *Candidatus Nitrosocaldus*、*Candidatus Nitrososphaera*、*Betaproteobacteria* 和 Marine archaeal group 1 为主导,且咸水灌溉显著增加 *Candidatus Nitrosocaldus* 的相对丰度。在 AOB 群落的属水平上,以 *Nitrosospira*、*Nitrosomonas* 和 *Nitrosovibrio* 为主导。盐分是影响硝化作用、氨氧化微生物生长及群落结构改变的主要因素。除盐分外,土壤 pH、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量也是影响 AOA 和 AOB 群落结构改变的主要环境因素。AOA 和 AOB 丰度与土壤 PNR、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 均呈显著正相关关系,共同参与硝化过程,但二者对于盐分的响应不同,淡水和微咸水灌溉条件下 AOB 可能是主导微生物种群,而咸水灌溉条件下 AOA 是主导微生物种群。

## 参考文献:

- [1] 王敬,程谊,蔡祖聪,等.长期施肥对农田土壤氮素关键转化过程的影响[J].土壤学报,2016,53(2):292-304.  
WANG Jing, CHENG Yi, CAI Zu-cong, et al. Effects of long-term fertilization on key processes of soil nitrogen cycling in agricultural soil: A review[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2016, 53(2):292-304.
- [2] 谢月,梁红,宋立全,等.东北沼泽湿地土壤中氨氧化微生物活性和丰度研究[J].农业环境科学学报,2018,37(3):546-551.  
XIE Yue, LIANG Hong, SONG Li-quan, et al. Activity and abundance of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of marsh wetland soil in Northeast of China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(3):546-551.
- [3] Szukics U, Grigulic K, Legay N, et al. Management versus site effects on the abundance of nitrifiers and denitrifiers in European mountain grasslands[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 648:745-753.
- [4] 孙雪微,许修宏,孟庆欣,等.牛粪堆肥中氨氧化细菌群落结构及其与环境因子相关性研究[J].农业环境科学学报,2017,36(1):189-197.  
SUN Xue-wei, XU Xiu-hong, MENG Qing-xin, et al. Research of am-

- monia oxidizing bacterial community structure and its correlation with environmental factors in cow manure composting[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(1):189–197.
- [5] Ouyang Y, Norton J M, Stark J M. Ammonium availability and temperature control contributions of ammonia oxidizing bacteria and archaea to nitrification in an agricultural soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 113:161–172.
- [6] Li X R, Xiao Y P, Ren W W, et al. Abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in different types of soil in the Yangtze River estuary[J]. *Journal of Zhejiang University Science B*, 2012, 13(10):769–782.
- [7] Cui Y W, Zhang H Y, Ding J R, et al. The effects of salinity on nitrification using halophilic nitrifiers in a Sequencing Batch Reactor treating hypersaline wastewater[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6:24825.
- [8] Wang Y F, Gu J D. Effects of allylthiourea, salinity, and pH on ammonia/ammonium-oxidizing prokaryotes in mangrove sediment incubated in laboratory microcosms[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(7):3257–3274.
- [9] Caffrey J M, Bano N, Kalantra K, et al. Ammonia oxidation and ammonia-oxidizing bacteria and archaea from estuaries with differing histories of hypoxia[J]. *The ISME Journal*, 2007, 1(7):660.
- [10] Mosier A C, Francis C A. Relative abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the San Francisco Bay estuary [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11):3002–3016.
- [11] Keshri J, Mishra A, Jha, B. Microbial population index and community structure in saline-alkaline soil using gene targeted metagenomics [J]. *Microbiological Research*, 2013, 168:165–173.
- [12] Beman J M, Francis C A. Diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the sediments of a hypernutritured subtropical estuary : Bahia del Tobi, Mexico[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2006, 72(12):7767–7777.
- [13] He Y, Hu W, Ma D, et al. Abundance and diversity of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the rhizosphere soil of three plants in the Ebinur Lake wetland[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2017, 63(7):573–582.
- [14] Cao H, Hong Y, Li M, et al. Community shift of ammonia-oxidizing bacteria along an anthropogenic pollution gradient from the Pearl River Delta to the south China Sea[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 94(1):247–259.
- [15] Dang H, Li J, Chen R, et al. Diversity, abundance, and spatial distribution of sediment ammonia-oxidizing Betaproteobacteria in response to environmental gradients and coastal eutrophication in Jiaozhou Bay, China[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 76(14):4691–4702.
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 三版. 北京:中国农业出版社, 2011: 23–24, 31–33, 46–48.
- BAO Shi-dan. Soil agrochemical analysis[M]. 3th Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2011:23–24, 31–33, 46–48.
- [17] 王慎强, 余位培. 影响碱化土壤 pH 测定的主要因素[J]. 土壤通报, 1994, 25(6):252–255.
- WANG Shen-qiang, YU Wei-pei. The main factors affecting pH de-termination of alkalinized soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 1994, 25(6):252–255.
- [18] 朱靖蓉, 王成, 肖英, 等. 振荡浸提时间对不同保存方式土壤  $\text{NO}_3^-$ -N 和  $\text{NH}_4^+$ -N 含量测定值的影响[J]. 新疆农业科学, 2014, 51(4):761–767.
- ZHU Jing-rong, WANG Cheng, XIAO Ying, et al. Effect of oscillations and extraction time on measurement of content of  $\text{NO}_3^-$ -N and  $\text{NH}_4^+$ -N in soil held by different saving methods[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2014, 51(4):761–767.
- [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] 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.
- [21] Ebie Y, Noda N, Miura H, et al. Comparative analysis of genetic diversity and expression of *amoA* in wastewater treatment processes[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2004, 64(5):740–744.
- [22] Ma T, Zeng W, Li Q, et al. Effects of water, salt and nitrogen stress on sunflower (*Helianthus annuus* L.) at different growth stages[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2016, 16(4):1024–1037.
- [23] Malash N M, Flowers T J, Rgsrb R. Effect of irrigation methods, management and salinity of irrigation water on tomato yield, soil moisture and salinity distribution[J]. *Irrigation Science*, 2008, 26(4):313–323.
- [24] 范庆峰, 张玉龙, 陈重, 等. 保护地土壤盐分积累及其离子组成对土壤 pH 值的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(1):16–20.
- FAN Qing-feng, ZHANG Yu-long, CHEN Chong, et al. Effects of soil salinity accumulating and ion constitution on pH in the soil of protected field[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2009, 27(1):16–20.
- [25] Rietz D N, Haynes R J. Effects of irrigation-induced salinity and sodium on soil microbial activity[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(6):845–854.
- [26] Bernhard A E, Bollmann A. Estuarine nitrifiers: New players, patterns and processes[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2010, 88(1):1–11.
- [27] He H, Zhen Y, Mi T, et al. Ammonia-oxidizing Archaea and Bacteria differentially contribute to ammonia oxidation in sediments from adjacent waters of Rushan Bay, China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9:116.
- [28] Bernhard A E, Tucker J, Giblin A E, et al. Functionally distinct communities of ammonia-oxidizing bacteria along an estuarine salinity gradient[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(6):1439–1447.
- [29] Duan M, House J, Liu Y, et al. Contrasting responses of gross and net nitrogen transformations to salinity in a reclaimed boreal forest soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(3):385–395.
- [30] Min W, Guo H J, Zhang W, et al. Irrigation water salinity and N fertilization: Effects on ammonia oxidizer abundance, enzyme activity and cotton growth in a drip irrigated cotton field[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2016, 15(5):1121–1131.

- [31] Jin T, Zhang T, Ye L, et al. Diversity and quantity of ammonia-oxidizing Archaea and Bacteria in sediment of the Pearl River Estuary[J]. *China Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 90(3) : 1137-1145.
- [32] Wang H, Gilbert J A, Zhu Y, et al. Salinity is a key factor driving the nitrogen cycling in the mangrove sediment[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 63:1342-1349.
- [33] Zhang Y, Chen L, Dai T, et al. The influence of salinity on the abundance, transcriptional activity, and diversity of AOA and AOB in an estuarine sediment: A microcosm study[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(22):9825-9833.
- [34] 李晨华,贾仲君,唐立松,等.不同施肥模式对绿洲农田土壤微生物群落丰度与酶活性的影响[J].土壤学报,2012,49(3):567-574.  
LI Chen-hua, JIA Zhong-jun, TANG Li-song, et al. Effect of model of fertilization on microbial abundance and enzyme activity in oasis farmland soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2012, 49(3):567-574.
- [35] Bernhard A E, Landry Z C, Blevins A, et al. Abundance of ammonia-oxidizing archaea and bacteria along an estuarine salinity gradient in relation to potential nitrification rates[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2010, 76(4):1285-1289.
- [36] Magalhães C M, Machado A, Bordalo A A. Temporal variability in the abundance of ammonia-oxidizing bacteria vs archaea in sandy sediments of the Douro River estuary[J]. *Portugal Aquatic Microbial Ecology*, 2009, 56(1):13-23.
- [37] Wankel S D, Mosier A C, Hansel C M, et al. Spatial variability in nitrification rates and ammonia-oxidizing microbial communities in the agriculturally impacted Elkhorn Slough estuary[J]. *California Applied Environmental Microbiology*, 2011, 77(1):269-280.
- [38] Santos J P, Mendes D, Monteiro M, et al. Salinity impact on ammonia oxidizers activity and *amoA* expression in estuarine sediments[J]. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 2018, 211:177-187.
- [39] Cao H, Li M, Hong Y, et al. Diversity and abundance of Ammonia-oxidizing Archaea and Bacteria in polluted mangrove sediment[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2011, 34(7):513-523.
- [40] Gao J, Hou L, Zheng Y, et al. Shifts in the community dynamics and activity of ammonia-oxidizing prokaryotes along the Yangtze estuarine salinity gradient[J]. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 2018, 123(11):3458-3469.
- [41] Li M, Cao H, Hong Y, et al. Spatial distribution and abundances of Ammonia-oxidizing Archaea(AOA) and Ammonia-oxidizing Bacteria(AOB) in mangrove sediments[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 89(4):1243-1254.
- [42] Könneke M, Bernhard A E, José R, et al. Isolation of an autotrophic ammonia-oxidizing marine archaeon[J]. *Nature*, 2005, 437 (7058) : 543.
- [43] Qin W, Jewell T N, Russell V V, et al. *Candidatus nitrosocaldales*[J]. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 2015;1-2.
- [44] Karner M B, DeLong E F, Karl D M. Archaeal dominance in the mesopelagic zone of the Pacific Ocean[J]. *Nature*, 2001, 409(6819):507.
- [45] Sahan E, Muyzer G. Diversity and spatio-temporal distribution of Ammonia-oxidizing Archaea and Bacteria in sediments of the Westerschelde estuary[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 64 (2) : 175-186.
- [46] Tao R, Wakelin SA, 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.
- [47] Tago K, Okubo T, Shimomura Y, et al. Environmental factors shaping the community structure of Ammonia-oxidizing Bacteria and Archaea in sugarcane field soil[J]. *Microbes and Environments*, 2014;ME14137.
- [48] 宋亚珩,王媛媛,李占明,等.淹水稻土中氨氧化古菌丰度和群落结构演替特征[J].农业环境科学学报,2014,33(5):999-1006.  
SONG Ya-heng, WANG Yuan-yuan, LI Zhan-ming, et al. Succession of abundance and community structure of Ammonia-oxidizing Archaea in paddy soil during flooding[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(5):999-1006.
- [49] Valentine D L. Opinion: Adaptations to energy stress dictate the ecology and evolution of the archaea[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(4):316.
- [50] 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(6):1601-1611.