

秸秆及其生物质炭输入对毛竹林土壤氨氧化微生物与氮循环相关酶活性的影响

潘丽霞¹, 姜振辉¹, 张雯怡¹, 周家树¹, 刘娟^{1,2}, 蔡延江^{1,2}, 李永夫^{1,2}

(1. 浙江农林大学 省部共建亚热带森林培育国家重点实验室, 浙江 杭州 311300; 2. 浙江农林大学 浙江省森林生态系统碳循环与固碳减排重点实验室, 浙江 杭州 311300)

摘要: 【目的】探讨不同外源碳(玉米 *Zea mays* 秸秆及其生物质炭)输入对亚热带毛竹 *Phyllostachys edulis* 林土壤氨氧化微生物和氮循环相关酶活性的影响, 以揭示其对土壤硝化作用的生物学机制。【方法】以亚热带毛竹林为研究对象, 设置3个处理: 对照(不施用)、施用玉米秸秆 ($5\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$) 和施用玉米秸秆生物质炭 ($5\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$), 进行为期1 a的野外试验。于试验的第3个月和第12个月采集土壤样品, 利用荧光定量聚合酶链式反应(qPCR)及高通量测序技术分析不同处理下毛竹林土壤氨氧化微生物群落结构特征、酶活性与总硝化速率的变化规律。【结果】与对照相比, 秸秆及其生物质炭处理显著改变了土壤氨氧化细菌(AOB)丰度和群落结构 ($P<0.05$), 而对氨氧化古菌(AOA)丰度和群落结构无显著影响; 秸秆处理显著提高土壤氨氧化细菌丰度及其优势菌属亚硝化螺菌属 *Nitrosospira* 的相对丰度、蛋白酶活性和脲酶活性以及总硝化速率, 而生物质炭处理则使其显著降低 ($P<0.05$)。相关性分析表明: 氨氧化细菌丰度及其优势菌属亚硝化螺菌属的相对丰度、蛋白酶活性和脲酶活性与铵态氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、水溶性有机氮 (WSON) 和土壤总硝化速率呈正相关 ($P<0.05$)。冗余分析表明: 土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、微生物生物量氮 (MBN) 和水溶性有机氮质量分数对氨氧化细菌群落结构存在显著影响 ($P<0.05$)。【结论】秸秆生物质炭输入通过降低土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和水溶性有机氮质量分数, 从而降低土壤氨氧化细菌丰度及其优势菌相对丰度, 削弱氮循环相关酶活性, 进而抑制土壤硝化作用。与秸秆直接输入相比, 秸秆生物质炭有利于减少毛竹林土壤氧化亚氮气体排放以及土壤氮素损失。图6表1参57

关键词: 生物质炭; 毛竹林土壤; 氨氧化微生物; 土壤酶活性; 硝化作用

中图分类号: S714.3 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2024)01-0001-11

Effects of straw and its biochar application on soil ammonia-oxidizing microorganisms and N cycling related enzyme activities in a *Phyllostachys edulis* forest

PAN Lixia¹, JIANG Zhenhui¹, ZHANG Wenyi¹, ZHOU Jiashu¹, LIU Juan^{1,2}, CAI Yanjiang^{1,2}, LI Yongfu^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China;

2. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Carbon Cycling in Forest Ecosystems and Carbon Sequestration, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China)

Abstract: [Objective] The objective is to investigate the effects of different exogenous carbon application (*Zea mays* straw and its biochar) on soil ammonia-oxidizing microorganisms and N cycling related enzyme activities in a subtropical *Phyllostachys edulis* forest, so as to reveal the biological mechanism of soil nitrification. [Method] A 1-year field experiment was conducted in a typical subtropical *Ph. edulis* forest. Three treatments

收稿日期: 2023-07-04; 修回日期: 2023-09-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (32271845); 国家重点研发计划项目 (2022YFE0127800)

作者简介: 潘丽霞 (ORCID: 0009-0001-4150-0015), 从事外源碳对土壤氮循环微生物的影响研究。E-mail: panlixiazafu@163.com。通信作者: 李永夫 (ORCID: 0000-0002-8324-5606), 教授, 博士, 从事森林土壤碳氮循环研究。E-mail: yongfuli@zafu.edu.cn

were set up: control (no application), straw ($5 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$) and biochar ($5 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$). Soil samples were collected at the 3rd and 12th month of the treatment. Quantitative PCR and high-throughput sequencing techniques were used to analyze the changes in soil ammonia-oxidizing microbial community structure characteristics, enzyme activities and gross nitrification rate under different treatments. [Result] Straw and its biochar treatment significantly changed the abundance and community structure of ammonia oxidizing bacteria (AOB) in soil ($P < 0.05$), but had no significant effect on the abundance and community structure of ammonia oxidizing archaea (AOA). Compared with the control, straw treatment significantly increased the abundance of AOB and the relative abundance of *Nitrosospora*, the activities of soil protease and urease, and the gross nitrification rate of soil ($P < 0.05$), while biochar treatment had the opposite effect. Correlation analysis showed that AOB abundance and the relative abundance of its dominant genus *Nitrosospora*, protease and urease activity were positively correlated with the content of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ and water-soluble organic nitrogen (WSO), and the soil gross nitrification rate. Redundancy analysis revealed that the contents of $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$, microbial biomass nitrogen (MBN) and WSO had a significant impact on the community structure of AOB ($P < 0.05$). [Conclusion] The application of straw biochar reduces the contents of soil $\text{NH}_4^+\text{-N}$, $\text{NO}_3^-\text{-N}$ and WSO, as well as soil AOB abundance and relative abundance of dominant genera, weakens N cycling related enzyme activity, and inhibits soil nitrification. Compared with direct application of straw, straw biochar is beneficial for reducing soil N_2O emission and soil nitrogen loss in a *Ph. edulis* forest. [Ch, 6 fig. 1 tab. 57 ref.]

Key words: biochar; *Phyllostachys edulis* forest soil; ammonia oxidizing microorganisms; soil enzyme activity; nitrification

毛竹 *Phyllostachys edulis* 是中国亚热带地区种植最广泛的竹种之一，具有减缓气候变化、固碳减排的优势和潜力^[1-2]。毛竹林集约经营具有增产增收等优势，但长期集约经营可能会导致毛竹林生态功能退化、土壤有机碳储量下降以及土壤碳排放加剧等问题^[3]。前人研究发现：外源碳的施用可以显著提升毛竹林土壤肥力和有机碳储量^[4]。农作物秸秆作为一种常见的外源碳，被广泛应用于农林生态系统中^[5]。但是，秸秆直接输入土壤会引发病虫害，导致土壤酸化等问题^[6-7]。相比之下，秸秆生物质炭（秸秆在高温低氧条件下热解产生的一种难以降解的富碳固态产物）具有更多的优势，如提升土壤有机碳储量、降低土壤酸度及促进作物增产等^[8-9]。另外，秸秆及其生物质炭输入土壤后均会改变土壤氮素含量、微生物群落特征及氮转化过程等^[10-12]，从而对氮循环产生显著影响，且影响效应与外源碳类型密切相关^[13-14]。氮素是毛竹生长的必需元素之一^[15-16]，也是其产量的限制因子^[17]，因此，研究不同外源碳输入对毛竹林土壤氮循环的影响具有重要意义。

硝化作用是土壤氮循环中的关键因素之一，也是旱地土壤氧化亚氮 (N_2O) 排放的主要途径^[18]。氨氧化过程是硝化作用的关键和限速步骤，由氨氧化古菌 (AOA) 和氨氧化细菌 (AOB) 共同驱动^[19]。此外，复杂的有机氮需要经过微生物分泌胞外酶进行水解，才能进入下一步氮素转化过程^[20]。因此，研究土壤氨氧化微生物群落及与氮循环相关的酶活性变化，有助于揭示毛竹林土壤硝化过程的生物学调控机制。

目前的研究表明：秸秆及其生物质炭的输入能够显著改变土壤中氨氧化微生物群落和氮循环相关酶活性，但研究结果存在较大差异。这可能是由于外源碳材料、土壤类型以及气候等因素的差异而产生的^[21-24]。此外，现有的研究主要集中在农田土壤，对毛竹林生态系统的研究报道相对较少。因此，本研究以亚热带毛竹林为研究对象，比较玉米 *Zea mays* 秸秆及其生物质炭施用对毛竹林土壤氨氧化微生物群落、氮循环相关酶活性以及总硝化速率的影响，揭示玉米秸秆及其生物质炭输入后毛竹林土壤氮素转化的微生物学机制，为秸秆及其生物质炭在毛竹林生态系统中的合理利用提供理论基础和科学依据。

1 材料与amp;方法

1.1 研究区概况

研究区位于浙江省杭州市临安区高虹镇泥马村 ($30^\circ 19' \text{N}$, $119^\circ 41' \text{E}$)。该地为中亚热带季风气候，年

平均气温为 18.1℃，年平均降水量为 1764.0 mm，日照时数 1950.0 h，无霜期 243.0 d。土壤类型为红壤，0~20 cm 土层土壤的基本理化性质：pH 4.82，有机碳 19.80 g·kg⁻¹，全氮 1.88 g·kg⁻¹，有效磷 7.81 mg·kg⁻¹，速效钾 89.40 mg·kg⁻¹，砂粒 398.00 g·kg⁻¹，粉粒 321.00 g·kg⁻¹，黏粒 281.00 g·kg⁻¹。

1.2 试验设计

本研究于 2020—2021 年在试验地毛竹林中进行。试验设置 3 个处理：对照 (不施用玉米秸秆和生物质炭, ck)、施用玉米秸秆 5 t·hm⁻² (T₁)、施用玉米秸秆生物质炭 5 t·hm⁻² (T₂)。每个处理设 4 个重复，共计 12 个小区。采用随机区组设计，小区面积为 100 m² (10 m×10 m)，小区之间设 5 m 的缓冲地带。

本研究所用的玉米秸秆及其生物质炭由南京智融联科技有限公司提供。玉米秸秆中碳和氮质量分数分别为 412.3 和 6.6 g·kg⁻¹。玉米秸秆生物质炭是在 500 ℃ 限氧条件下热裂解而成，其基本理化性质如下：pH 为 9.24(m:V=1:20)，含碳和氮分别为 550.4 和 11.9 g·kg⁻¹，比表面积为 11.3 m²·g⁻¹。

2020 年 8 月 31 日，将玉米秸秆和玉米秸秆生物质炭分别均匀施入样地，并将其翻耕至土壤表层的 0~20 cm 深度。于 2020 年 11 月 (施用外源碳后的第 3 个月) 和 2021 年 9 月 (施用外源碳后的第 12 个月) 进行采样。采用“五点法”采集土壤表层 (0~20 cm) 土样，随后将采得的土样分成 2 个部分，分别置于 4 和 -80 ℃ 冰箱保存，用于各项指标测定。

1.3 土壤氮组分与酶活性测定

土壤铵态氮 (NH₄⁺-N) 和硝态氮 (NO₃⁻-N) 质量分数用 2 mol·L⁻¹ 氯化钾溶液浸提并测定^[25]；土壤水溶性有机氮 (WSON) 质量分数参考 LI 等^[26] 的方法，即用蒸馏水浸提，取滤液用 TOC-TN 分析仪 (TOC-V_{CPH}) 测定土壤水溶性总氮，另取滤液用离子色谱 (ICS 1500, Thermofisher) 测定溶液 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 质量分数，WSON 质量分数为土壤水溶性总氮质量分数减去 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 质量分数；微生物生物量氮 (MBN) 采用氯仿熏蒸法测定^[27]。土壤脲酶活性测定采用靛酚比色法^[28]；土壤蛋白酶活性测定参照 LADD 等^[29] 的方法。

1.4 土壤总硝化速率的测定

土壤总硝化速率采用气压过程分离 (BaPS) 程序测定^[30]。在每个小区表层 (0~20 cm) 采取 6 个土壤样品。为防止土壤水分损失，样品采集后立即密封包装。随后，将土壤样品放置在带有温度传感器的 BaPS 培养箱中，并将温度设置为野外实际测定的土壤温度。打开 BaPS 系统软件，输入样品参数，测试收集数据 24 h，经 Delta 分析得到土壤总硝化速率，单位为 μg·g⁻¹·d⁻¹^[31]。

1.5 土壤 DNA 提取、扩增与定量分析

称取 0.2 g 新鲜土壤，使用 Fast DNA Spin Kit (MP Biomedals) 提取土壤总 DNA，提取的 DNA 样品保存于 -70 ℃。选用不同引物对土壤氨氧化古菌和氨氧化细菌 *amoA* 基因进行扩增 (引物信息和反应条件见表 1)。PCR 采用 AP221-02 试剂盒 (TransStartFastpfu DNA 聚合酶，20 μL 反应体系，南京诺唯赞生物科技有限公司) 在 ABI GeneAmp®9700 型 PCR 仪 (Applied Biosystems) 中进行。使用质量分数为 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物，利用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒 (PCR Clean-Up Kit) 回收纯化产物。

表 1 氨氧化古菌和氨氧化细菌扩增引物

测序类型	引物名称	引物序列(5'→3')	过程
氨氧化古菌	<i>amoAF</i>	STAATGGTCTGGCTTAGACG	PCR 扩增体系为 20 μL。PCR 扩增条件为 95 ℃ 变性 3 min，然后进行 37 次热循环 (95 ℃ 30 s，60 ℃ 退火 30 s，72 ℃ 45 s)，最后在 72 ℃ 停留 10 min
	<i>amoAR</i>	GCGCCATCCATCTGTATGT	
氨氧化细菌	<i>bamoA1F</i>	GGGGTTTCTACTGGTGGT	
	<i>bamoA2R</i>	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	

通过溶解曲线分析，观察琼脂糖凝胶电泳产物，证实扩增的特异性。随后用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega 公司) 测定氨氧化古菌和氨氧化细菌的 *amoA* 基因拷贝数。对含有克隆 *amoA* 基因的线性化质粒进行 10 倍梯度连续稀释，得到校准曲线。采用 PCR 效率为 90%~110%，调整系数 (R²) 大于 0.98 的标准曲线。

1.6 Illumina 测序与序列分析

引物组的扩增产物同样用于高通量测序。扩增产物经纯化后，使用 TruSeq™DNA Sample Prep Kit 试

剂盒构建文库, 在上海美吉生物医药科技有限公司(中国)的 IlluminaMiSeq 平台(Illumina)上测序, 获得以 FASTQ 格式保存的双端序列数据。测序得到的 PE reads 首先根据 overlap 关系进行拼接, 同时对序列质量进行质控和过滤。根据序列首位两端的 barcode 和引物序列区分样品得到有效序列, 并矫正序列方向, 得到优化数据。利用 UPARSE 11 按照 97% 的相似度对质控拼接后的序列进行操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)聚类并剔除嵌合体。使用 RDPClassifier 对比 FunGene 功能基因数据库进行 OTU 物种分类学注释, 置信度阈值为 70%, 并在不同物种分类水平下统计每个样本的群落组成。

1.7 数据处理

采用 Excel 2010 和 SPSS 21.0 进行数据处理和统计分析。利用单因素方差分析(one-way ANOVA)结合 Tukey 法检验不同处理间的差异显著性($P < 0.05$)。采用 Pearson 相关分析, 分析土壤氮组分、氨氧化微生物、酶活性和总硝化速率之间的相关性。利用 Canoco 5.0 对土壤不同形态氮组分质量分数与氨氧化微生物群落之间的相关性进行冗余分析(redundancy analysis, RDA), 并通过蒙特卡洛检验, 选择出显著影响氨氧化微生物群落结构的土壤氮组分。

2 结果与分析

2.1 秸秆及其生物质炭输入对土壤氮组分的影响

与对照相比, 在试验第 3 个月和第 12 个月, 秸秆处理均显著提高了土壤 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和水溶性有机氮($P < 0.05$), 而生物质炭处理则显著降低这些土壤氮组分的质量分数($P < 0.05$, 图 1A~C)。秸秆及其生物质炭处理均显著提高土壤微生物生物量氮($P < 0.05$), 且在试验第 3 个月, 秸秆及其生物质炭处理分别使土壤微生物生物量氮增加 26.6% 和 14.4%, 两者间差异显著($P < 0.05$), 但在试验第 12 个月, 秸秆及其生物质炭处理分别使微生物生物量氮增加 17.4% 和 12.2%, 两者间无显著差异(图 1D)。

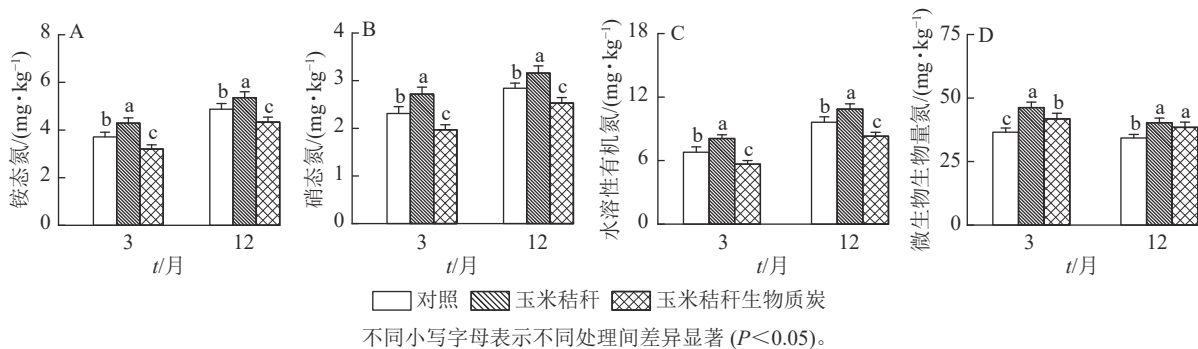


图 1 秸秆及其生物质炭输入对毛竹林土壤不同形态氮组分的影响

Figure 1 Effects of straw and its biochar application on different soil N fractions in a *Ph. edulis* forest

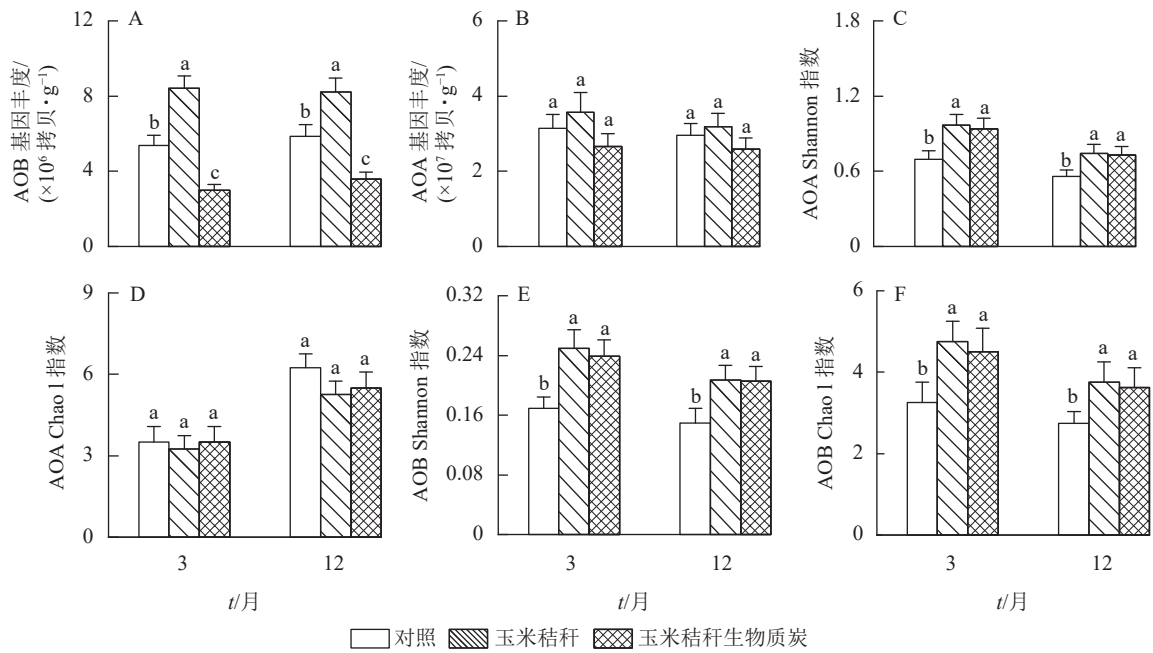
2.2 秸秆及其生物质炭输入对土壤氨氧化微生物的影响

由图 2A 和图 2B 可知: 与对照相比, 在试验第 3 个月和第 12 个月, 施用秸秆显著提高了土壤氨氧化细菌丰度($P < 0.05$); 而生物质炭则降低了土壤氨氧化细菌丰度, 降幅分别为 44.6% 和 39.0% ($P < 0.05$)。秸秆及其生物质炭处理对土壤氨氧化古菌丰度均无显著影响。

与对照相比, 在试验第 3 个月和第 12 个月, 秸秆及其生物质炭处理均显著提高了土壤氨氧化古菌群落的 Shannon 指数($P < 0.05$), 而氨氧化古菌群落 Chao1 指数无显著变化(图 2C~D); 秸秆及其生物质炭处理下, 土壤氨氧化细菌群落 Shannon 指数和 Chao1 指数均显著高于对照($P < 0.05$, 图 2E~F)。

在试验第 3 个月, 氨氧化古菌群落的优势菌属(相对丰度 $> 1\%$) 主要为 norank_c_environmental_samples_p_Crenarchaeota 和 norank_p_environmental_samples_k_norank, 两者相对丰度分别为 70.0%~76.3% 和 17.2%~21.2%(图 3A); 在试验第 12 个月, 氨氧化古菌群落以 norank_p_Crenarchaeota 和 norank_d_Archaea 为主, 两者相对丰度分别为 84.4%~87.3% 和 2.0%~2.8%(图 3B)。在试验第 3 个月和第 12 个月, 与对照相比, 秸秆及其生物质炭处理均对氨氧化古菌群落组成无显著影响。

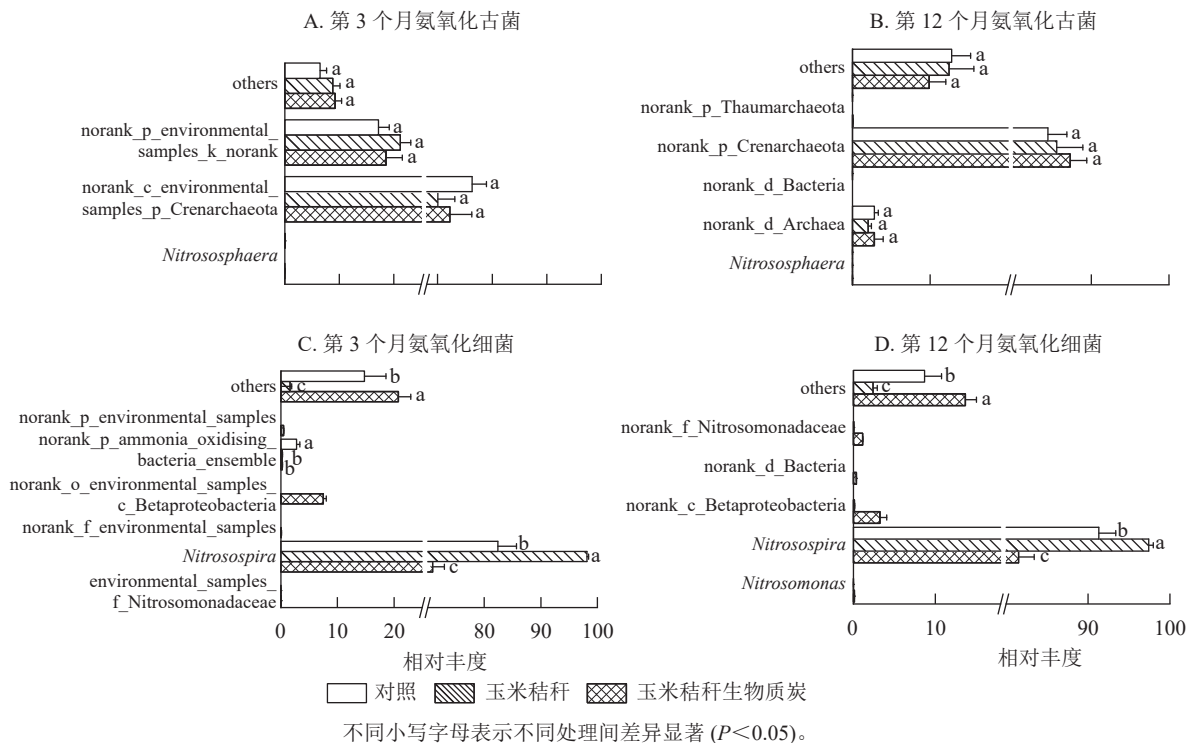
由图 3C~D 可知: 亚硝化螺菌属 *Nitrospira* 在氨氧化细菌群落组成中占绝对优势。在试验第 3 个月, 与对照相比: 秸秆处理显著增加了亚硝化螺菌属的相对丰度($P < 0.05$), 显著降低了 norank_p_



AOA. 氨氧化古菌; AOB. 氨氧化细菌。不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 2 秸秆及其生物质炭输入对毛竹林土壤氨氧化古菌和氨氧化细菌基因丰度及多样性指数的影响

Figure 2 Effects of straw and its biochar application on the abundance and diversity index of soil AOA and AOB in a *Ph. edulis* forest



不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 3 秸秆及其生物质炭输入对毛竹林土壤氨氧化古菌和氨氧化细菌群落物种组成的影响 (属水平)

Figure 3 Effect of straw and its biochar application on the community composition of soil AOA and AOB at genus level in a *Ph. edulis* forest

ammonia_oxidising_bacteria_ensemble 的相对丰度 ($P < 0.05$)。生物质炭处理显著降低了亚硝化螺菌属和 norank_p_ammonia_oxidising_bacteria_ensemble 的相对丰度 ($P < 0.05$), 增加了 norank_o_environmental_samples_c_Betaproteobacteria 的相对丰度。在试验第 12 个月, 秸秆处理显著增加了亚硝化螺菌属的相对丰度 ($P < 0.05$); 而生物质炭处理显著降低亚硝化螺菌属的相对丰度 ($P < 0.05$), 并增加了 norank_c_Betaproteobacteria 和 norank_f_Nitrosomonadaceae 的相对丰度。

对土壤不同形态氮组分质量分数与氨氧化微生物群落之间的相关性进行冗余分析, 并通过蒙特卡洛

检验发现：在试验的第3个月和12个月，土壤氮组分质量分数对氨氧化古菌群落结构均无显著影响(图4A~B)；在试验的第3个月，土壤 NO_3^- -N和微生物生物量氮为氨氧化细菌群落的关键影响因子($P < 0.05$, 图4C)，而在试验第12个月， NH_4^+ -N和水溶性有机氮为影响氨氧化细菌群落的主要因子($P < 0.05$, 图4D)。

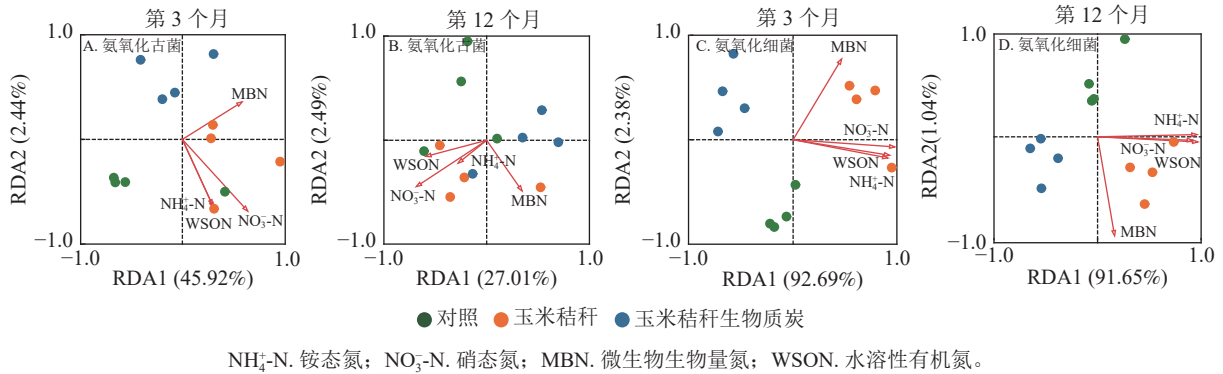


图4 毛竹林土壤氨氧化古菌和氨氧化细菌群落结构与不同形态氮组分的冗余分析
Figure 4 RDA analysis based on community structure of AOA, AOB and different soil N fractions in a *Ph. edulis* forest

2.3 秸秆及其生物质炭输入对土壤氮循环相关酶活性和总硝化速率的影响

在试验第3个月和第12个月，与对照相比，秸秆处理显著提高了土壤蛋白酶和脲酶活性($P < 0.05$)，其中，蛋白酶活性分别提高了19.9%和13.3%，脲酶活性分别提高了17.5%和13.1%；生物质炭处理则显著降低了这2种酶的活性($P < 0.05$)，蛋白酶活性的降幅分别为15.2%和12.7%，脲酶活性的降幅分别为14.6%和12.0%(图5A~B)。在试验第3个月和第12个月，与对照相比，秸秆处理使土壤总硝化速率提高了25.1%和16.6%($P < 0.05$)，生物质炭处理则显著降低了土壤总硝化速率($P < 0.05$)，降幅分别为18.9%和13.6%(图5C)。

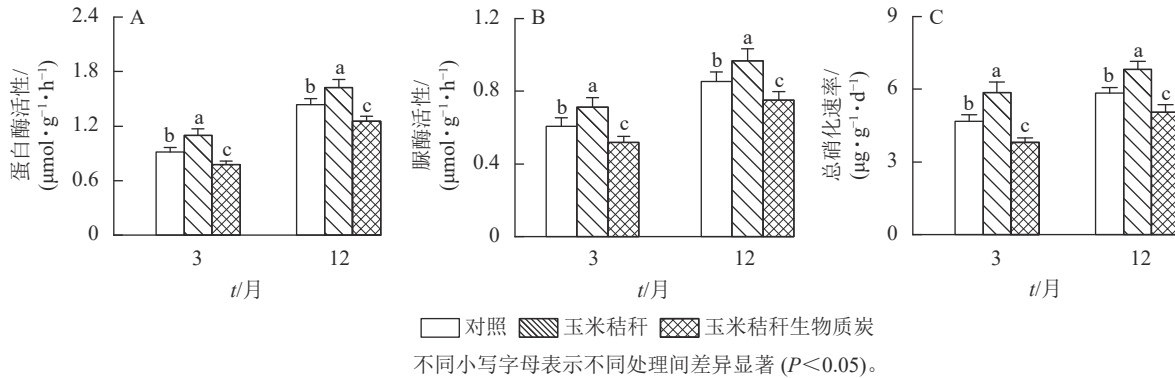


图5 秸秆及其生物质炭输入对毛竹林土壤蛋白酶、脲酶活性及总硝化速率的影响
Figure 5 Effects of straw and its biochar application on the soil protease activity, urease activity, and gross nitrification rate in a *Ph. edulis* forest

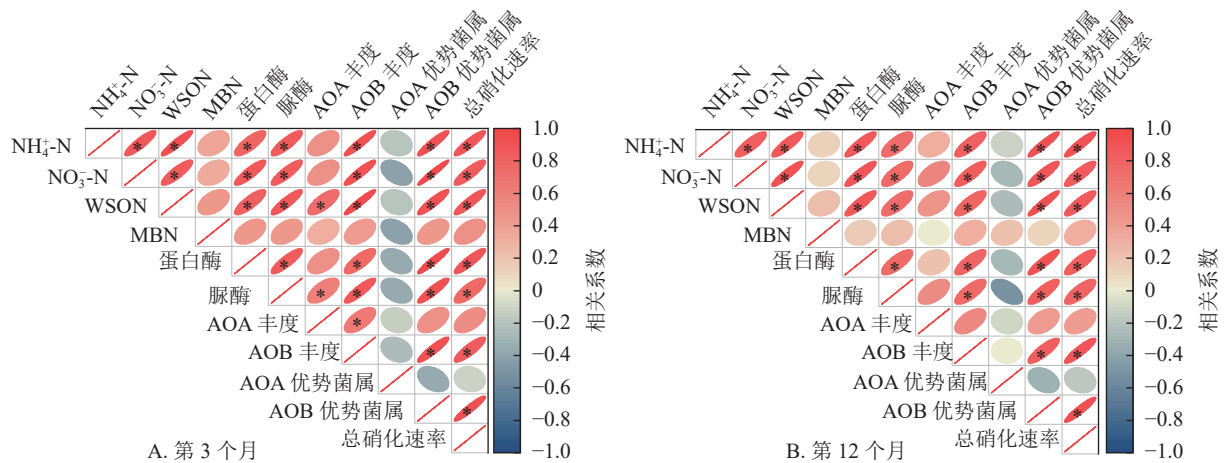
2.4 土壤氮组分、氨氧化微生物、酶活性与总硝化速率的相关性

相关性分析表明(图6)：除在试验第3个月，氨氧化古菌丰度与土壤水溶性有机氮质量分数呈显著正相关($P < 0.05$)之外，氨氧化古菌丰度及其优势菌的相对丰度与土壤氮组分质量分数、总硝化速率之间无显著相关。在第3个月和第12个月，土壤氨氧化细菌丰度及其优势菌属亚硝化螺菌属的相对丰度、蛋白酶活性和脲酶活性均与 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N和水溶性有机氮以及总硝化速率呈显著正相关($P < 0.05$)；土壤 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N和水溶性有机氮也均与总硝化速率呈显著正相关($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 秸秆及其生物质炭输入对土壤氨氧化微生物的影响

土壤氨氧化古菌和氨氧化细菌是土壤硝化作用的关键微生物群体，它们对环境变化的响应存在差



试验第 3 个月 AOA 优势菌为 *norank_c_environmental_samples_p_Crenarchaeota*, 第 12 个月为 *norank_p_Crenarchaeota*; 试验第 3 个月和第 12 个月 AOB 优势菌属均为亚硝化螺菌属。*表示相关显著 ($P < 0.05$)。WSON. 水溶性有机氮; NO₃⁻-N. 硝态氮; NH₄⁺-N. 铵态氮; MBN. 微生物生物量氮; AOA. 氨氧化古菌; AOB. 氨氧化细菌。

图 6 毛竹林土壤氮组分、氨氧化古菌和氨氧化细菌丰度及其优势菌属的相对丰度、酶活性与总硝化速率的相关性

Figure 6 Relationships between soil N fractions, AOA and AOB abundance and the relative abundance of their dominant genus, enzyme activity and gross nitrification rate in a *Ph. edulis* forest

异^[32]。本研究发现：毛竹林土壤氨氧化细菌丰度及其群落结构受秸秆及生物质炭输入显著影响，而土壤氨氧化古菌群落变化受到的影响较小。这可能是由于土壤氨氧化细菌的生态位小于氨氧化古菌，即其在土壤中占据的资源和空间范围较窄；而土壤氨氧化古菌具有更广泛的生态位，能够在不同的温度、pH、氧气和氮素等条件下生存和活^[33-34]。因此，土壤氨氧化细菌对环境变化的适应能力相对较低，对管理措施的响应更加敏感。另外，本研究也发现：土壤中不同形态氮组分对氨氧化细菌丰度及群落结构产生了显著影响，而对氨氧化古菌丰度和群落结构无显著影响。这也进一步证实了土壤氨氧化细菌对环境变化的响应更加敏感。这可能是由于氨氧化古菌和氨氧化细菌对不同形态的氮素反应能力存在差异，氨氧化细菌对于土壤中氮素的利用和转化具有更高的依赖性，因此在面对环境变化的时候更易受影响^[35]。

本研究结果显示：玉米秸秆处理显著提高了土壤氨氧化细菌丰度，这可能是由于秸秆输入提供了充足的底物，从而促使氨氧化细菌生长，这与以往大多数研究结果一致^[36-37]。此外，秸秆的施用还改变了土壤氨氧化细菌群落的结构，显著增加了氨氧化细菌优势菌属亚硝化螺菌属的相对丰度。与秸秆处理相反，玉米秸秆生物质炭输入降低了土壤氨氧化细菌丰度，并减少了亚硝化螺菌属的相对丰度。这可能是因为生物质炭具有较高的比表面积和孔隙结构，对土壤氮素具有吸附作用^[38]，或者其对硝化作用具有抑制作用，减少了土壤中硝酸盐的生成，降低了土壤中可溶性氮组分质量分数^[39]。这导致氨氧化细菌生长所需的氮素减少，降低了氨氧化细菌丰度^[40]。另外，生物质炭本身的物质组成可能包含硝化抑制剂 α -松萘或酚类物质。这些化合物可能与土壤中的氨氧化细菌相互作用，干扰了其正常的代谢活动，导致氨氧化细菌丰度降低^[41]。亚硝化螺菌属主要利用土壤中的氨氮和亚硝酸盐进行生长和代谢，并通过氨氧化和亚硝酸氧化将这些无机氮化合物转化为硝酸盐^[42]。因此，当生物质炭输入使土壤中的无机氮降低时，亚硝化螺菌属可能会面临氮源供应的不足，不利于其生长和繁殖。此外，生物质炭输入还提高了土壤氨氧化细菌群落的多样性，这使得氨氧化细菌属间的竞争加剧，从而对氨氧化细菌优势菌属的生长产生抑制作用^[43]。

3.2 秸秆及其生物质炭输入对土壤酶活性和总硝化速率的影响

土壤蛋白酶和脲酶是参与土壤氮循环的主要酶系，其活性与土壤氮素转化强度和供氮能力紧密相关^[44-45]。本研究中，秸秆输入对土壤蛋白酶和脲酶活性均有刺激作用，导致土壤酶活性显著提高。这可能是由于秸秆输入提高了土壤有机质质量分数，为微生物提供了丰富的营养物质，促使微生物生长，提高了土壤酶活性^[45-46]。相反，秸秆生物质炭的输入会对土壤蛋白酶和脲酶活性产生负面影响，这可能是由于生物质炭对反应底物和酶分子具有吸附作用。这种吸附作用会限制酶与底物接触，阻碍酶促反应，

导致土壤酶活性降低^[47-48]。此外, 生物质炭可能会占据酶的活性位点, 使酶分子无法有效地与底物结合, 降低了酶的活性^[49]。

土壤酶活性与不同氮素组分的水平紧密相关^[50-51]。蛋白酶和脲酶活性的提高有利于促进土壤有机氮分解为铵态氮^[52]。本研究的相关性分析表明: 毛竹林土壤蛋白酶和脲酶活性与土壤 $\text{NH}_4\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3\text{-N}$ 和水溶性有机氮呈正相关, 其中, 土壤水溶性有机氮质量分数与酶活性之间的相关性最高。这与前人研究结果相符^[53], 说明水溶性有机氮质量分数是影响毛竹林土壤酶活性的主要因素之一。

秸秆输入显著提高了毛竹林土壤总硝化速率, 而秸秆生物质炭输入则显著降低了土壤总硝化速率。前者可能是由于秸秆中的有机物质激活和增强了酶的活性, 也为土壤硝化细菌提供底物, 促进其生长和代谢活动, 从而促进硝化作用^[54-55]。后者则可能是由于生物质炭对无机氮的吸附作用以及对土壤酶活性和硝化细菌的抑制作用, 导致土壤硝化作用削弱^[56]。本研究还发现: 氨氧化细菌在毛竹林土壤硝化作用中起主要驱动作用, 而其中亚硝化螺菌属是优势菌属, 其相对丰度与土壤总硝化速率呈显著正相关。前人研究结果也发现: 土壤硝化作用的削弱归因于亚硝化螺菌属相对丰度的降低^[57], 表明亚硝化螺菌属是土壤硝化作用的关键属^[43]。此外, 土壤蛋白酶和脲酶活性也与总硝化速率呈显著正相关, 这说明增强土壤酶活性有利于促进土壤硝化作用。

综上所述, 与玉米秸秆输入相比, 玉米秸秆生物质炭降低了土壤氨氧化细菌丰度及优势菌属亚硝化螺菌属的相对丰度, 同时削弱了土壤中蛋白酶和脲酶的活性, 因而, 抑制了毛竹林土壤硝化作用。

4 结论

玉米秸秆及其生物质炭通过影响毛竹林土壤氮组分质量分数, 对氨氧化细菌群落及氮循环相关酶活性产生影响, 进而调节土壤硝化作用。秸秆输入会刺激土壤硝化作用, 而生物质炭输入则会抑制土壤硝化作用。相较于秸秆直接输入, 将秸秆生物质炭输入毛竹林土壤能够显著抑制土壤硝化作用, 因此可以被视为减少亚热带森林土壤氧化亚氮排放和氮素损失的一种有效途径。

5 参考文献

- [1] SONG Xinzhang, ZHOU Guomo, JIANG Hong, *et al.* Carbon sequestration by Chinese bamboo forests and their ecological benefits: assessment of potential, problems, and future challenges [J]. *Environmental Research*, 2011, **19**(1): 418 – 428.
- [2] ZHOU Guomo, MENG Cifu, JIANG Peikun, *et al.* Review of carbon fixation in bamboo forests in China [J]. *Botanical Review*, 2011, **77**(3): 262 – 270.
- [3] LI Yongfu, ZHANG Jiaojiao, CHANG S X, *et al.* Long-term intensive management effects on soil organic carbon pools and chemical composition in moso bamboo (*Phyllostachys pubescens*) forests in subtropical China [J]. *Forest Ecology and Management*, 2013, **303**: 121 – 130.
- [4] 刘彩霞, 陈俊辉, 秦华, 等. 有机无机肥长期配施对毛竹林土壤固碳和固氮微生物的影响[J]. *林业科学*, 2022, **58**(7): 82 – 92.
LIU Caixia, CHEN Junhui, QIN Hua, *et al.* Effects of long-term combined application of organic and inorganic fertilizers on soil CO_2 - and N_2 -fixing microorganisms in a subtropical bamboo forest [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2022, **58**(7): 82 – 92.
- [5] ZHANG Hanlin, SUN Huifeng, ZHOU Sheng, *et al.* Effect of straw and straw biochar on the community structure and diversity of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in rice-wheat rotation ecosystems [J/OL]. *Scientific Reports*, 2019, **9**: 9367 [2023-06-04]. doi: 10.1038/s41598-019-45877-7.
- [6] 李培培, 仝昊天, 韩燕来, 等. 秸秆直接还田与炭化还田对潮土硝化微生物的影响[J]. *土壤学报*, 2019, **56**(6): 1471 – 1481.
LI Peipei, TONG Haotian, HAN Yanlai, *et al.* Effect of straw return, directly or as biochar, on nitrifying microbes in fluvo-aquic soil [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, **56**(6): 1471 – 1481.
- [7] 李正东, 李懋, 潘根兴, 等. 作物秸秆还田的新问题——对河南商丘地区农民的问卷调查[J]. *中国农学通报*, 2013, **29**(32): 204 – 208.
LI Zhengdong, LI Mao, PAN Genxing, *et al.* New problems of crop straw return: a questionnaire survey on farmers in Shangqiu area, Henan Province [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2013, **29**(32): 204 – 208.

- [8] LIN Yongxin, DING Weixin, LIU Deyan, *et al.* Wheat straw-derived biochar amendment stimulated N₂O emissions from rice paddy soils by regulating the *amoA* genes of ammonia-oxidizing bacteria [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, **113**: 89 – 98.
- [9] HU Yalin, WU Fengping, ZENG Dehui, *et al.* Wheat straw and its biochar had contrasting effects on soil C and N cycling two growing seasons after addition to a black chernozemic soil planted to barley [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, **50**: 1291 – 1299.
- [10] HE Lili, LIU Yuan, ZHAO Jin, *et al.* Comparison of straw-biochar-mediated changes in nitrification and ammonia oxidizers in agricultural oxisols and cambosols [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2016, **52**: 137 – 149.
- [11] 刘杏认, 赵光昕, 张晴雯, 等. 生物炭对华北农田土壤N₂O通量及相关功能基因丰度的影响[J]. 环境科学, 2018, **39**(8): 3816 – 3825.
- LIU Xingren, ZHAO Guangxin, ZHANG Qingwen, *et al.* Effects of biochar on nitrous oxide fluxes and the abundance of related functional genes from agriculture soil in the north china plain [J]. *Environmental Science*, 2018, **39**(8): 3816 – 3825.
- [12] DUAN Min, WU Fengping, JIA Zhikuan, *et al.* Wheat straw and its biochar differently affect soil properties and field-based greenhouse gas emission in a chernozemic soil [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2020, **56**(7): 1023 – 1036.
- [13] WANG Zhanlei, LI Yongfu, CHANG S X, *et al.* Contrasting effects of bamboo leaf and its biochar on soil CO₂ efflux and labile organic carbon in an intensively managed Chinese chestnut plantation [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, **50**(7): 1109 – 1119.
- [14] 肖永恒, 李永夫, 王战磊, 等. 竹叶及其生物质炭输入对板栗林土壤N₂O通量的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, **22**(3): 697 – 706.
- XIAO Yongheng, LI Yongfu, WANG Zhanlei, *et al.* Effects of bamboo leaves and their biochar additions on soil N₂O flux in a Chinese chestnut forest [J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2016, **22**(3): 697 – 706.
- [15] TANNER E V J, FRANCO W. Nitrogen and phosphorus fertilization effects on venezuelan montane forest trunk growth and litterfall [J]. *Ecology*, 1992, **73**(1): 78 – 86.
- [16] VITOUSEK P M, HOWARTH R W. Nitrogen limitation on land and in the sea: how can it occur? [J]. *Biogeochemistry*, 1991, **13**(2): 87 – 115.
- [17] ZHENG Yaxiong, GUAN Fengying, FAN Shaohui, *et al.* Functional trait responses to strip clearcutting in a moso bamboo forest[J/OL]. *Forests*, 2021, **12**(6): 793 [2023-06-04]. doi: 10.3390/f12060793.
- [18] WU Yucheng, LU Lu, WANG Baozhan, *et al.* Long-term field fertilization significantly alters community structure of ammonia-oxidizing bacteria rather than archaea in a paddy soil [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2011, **75**(4): 1431 – 1439.
- [19] LIN Yongxin, HU Hangwei, YE Guiping, *et al.* Ammonia-oxidizing bacteria play an important role in nitrification of acidic soils: a meta-analysis [J/OL]. *Geoderma*, 2021, **404**: 115395 [2023-06-04]. doi: 10.1016/j.geoderma.2021.115395.
- [20] YANG Yang, LIANG Chao, WANG Yunqiang, *et al.* Soil extracellular enzyme stoichiometry reflects the shift from P- to N-limitation of microorganisms with grassland restoration [J/OL]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, **149**: 107928 [2023-06-04]. doi: 10.1016/j.soilbio.2020.107928.
- [21] 刘骁蓓. 秸秆还田方式与施肥对水稻土壤微生物学特性的影响[D]. 雅安: 四川农业大学, 2013.
- LIU Xiaoqian. *Effect of Straw Returning Patterns and Fertilization on Microbial Biological Characteristics in Paddy Soils*[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2013.
- [22] WU Di, SENBAYRAMB M, WELLC R, *et al.* Nitrification inhibitors mitigate N₂O emissions more effectively under straw-induced conditions favoring denitrification [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, **104**: 197 – 207.
- [23] ULLAH S, ALI I, YANG Mei, *et al.* Partial substitution of urea with biochar induced improvements in soil enzymes activity, ammonia-nitrite oxidizers, and nitrogen uptake in the double-cropping rice system [J/OL]. *Microorganisms*, 2023, **11**(2): 527 [2023-06-04]. doi: 10.3390/microorganisms11020527.
- [24] AAMER M, CHATTHA M B, MAHMOOD A, *et al.* Rice residue-based biochar mitigates N₂O emission from acid red soil [J/OL]. *Agronomy*, 2021, **11**(12): 2462 [2023-06-04]. doi: 10.3390/agronomy11122462.
- [25] CAI Xiaoqing, LIN Ziwen, PENTTINEN P, *et al.* Effects of conversion from a natural evergreen broadleaf forest to a moso bamboo plantation on the soil nutrient pools, microbial biomass and enzyme activities in a subtropical area [J]. *Forest*

- Ecology and Management*, 2018, **422**: 161 – 171.
- [26] LI Yongfu, ZHANG Jiaojiao, CHANG S X, *et al.* Converting native shrub forests to Chinese chestnut plantations and subsequent intensive management affected soil C and N pools [J]. *Forest Ecology and Management*, 2014, **312**: 161 – 169.
- [27] VANCE E D, BROOKES P C, JENKINSON D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, **19**(6): 703 – 707.
- [28] KANDELER E, GERBER H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1988, **6**(1): 68 – 72.
- [29] LADD J N, BUTLER J H A. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1972, **4**(1): 19 – 30.
- [30] KIESE R, HEWETT B, BUTTERBACH-BAHL K. Seasonal dynamic of gross nitrification and N₂O emission at two tropical rainforest sites in Queensland, Australia [J]. *Plant Soil*, 2008, **309**: 105 – 117.
- [31] INGWERSEN J, BUTTERBACH-BAHL K, GASCHER R, *et al.* Barometric process separation: new method for quantifying nitrification, denitrification, and nitrous oxide sources in soils [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1999, **63**(1): 117 – 128.
- [32] FALKOWSKI P G, FENCHEL T, DELONG E F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles [J]. *Science*, 2008, **320**(5879): 1034 – 1039.
- [33] 陈秋会. 设施菜地土壤硝化作用的特征及其微生物学机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
CHEN Qiuhei. *Nitrification in Greenhouse Vegetable Soils and Corresponding Microbial Mechanisms* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.
- [34] 黄容, 高明, 黎嘉成, 等. 秸秆与化肥减量配施对菜地土壤温室气体排放的影响[J]. *环境科学*, 2018, **39**(10): 4694 – 4704.
HUANG Rong, GAO Ming, LI Jiacheng, *et al.* Effect of straw residues in combination with reduced fertilization rate on greenhouse gas emissions from a vegetable field [J]. *Environmental Science*, 2018, **39**(10): 4694 – 4704.
- [35] COCA-SALAZAR A, RICHAUME A, FLORIO A, *et al.* Response of ammonia-oxidizing bacteria and archaea abundance and activity to land use changes in agricultural systems of the central Andes [J/OL]. *European Journal of Soil Biology*, 2021, **102**: 103263 [2023-06-04]. doi: 10.1016/j.ejsobi.2020.103263.
- [36] 李嘉琦. 秸秆深还田对土壤氮素利用的影响及其微生物学机制[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022.
LI Jiaqi. *Effects of the Microbial Mechanisms of Straw Deep-Burying to Soil Nitrogen Use* [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2022.
- [37] 刘亥扬. 有机物料对稻田土壤硝化活性及N₂O排放的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2019.
LIU Haiyang. *The Effects of Organic Materials on Nitrification Activity and N₂O Emissions in Paddy Soil* [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2019.
- [38] 王洪媛, 盖霞普, 翟丽梅, 等. 生物炭对土壤氮循环的影响研究进展[J]. *生态学报*, 2016, **36**(19): 5998 – 6011.
WANG Hongyuan, GAI Xiapu, ZHAI Limei, *et al.* Effect of biochar on soil nitrogen cycling: a review [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, **36**(19): 5998 – 6011.
- [39] 王启, 兰婷, 赖晶晶, 等. 生物质炭添加对不同pH紫色土硝化作用及N₂O排放的影响[J]. *土壤*, 2020, **52**(6): 1170 – 1178.
WANG Qi, LAN Ting, LAI Jingjing, *et al.* Effects of biochar application on nitrification and N₂O emission in purple soils with different pH [J]. *Soils*, 2020, **52**(6): 1170 – 1178.
- [40] LIU Xingren, TANG Zhanming, ZHANG Qingwen, *et al.* The contrasting effects of biochar and straw on N₂O emissions in the maize season in intensively farmed soil [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, **28**(23): 29806 – 29819.
- [41] XU Na, TAN Guangcai, WANG Hongyuan, *et al.* Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016, **74**: 1 – 8.
- [42] 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 Jianyu, MAO Yanping. From canonical nitrite oxidizing bacteria to complete ammonia oxidizer: discovery and advances [J]. *Microbiology China*, 2019, **46**(4): 879 – 890.
- [43] YAO Rongjiang, LI Hongqiang, YANG Jingsong, *et al.* Biochar addition inhibits nitrification by shifting community

- structure of ammonia-oxidizing microorganisms in salt-affected irrigation-silting soil [J/OL]. *Microorganisms*, 2022, **10**(2): 436 [2023-06-04]. doi: 10.3390/microorganisms10020436.
- [44] LIU Xiang, WANG Quan, QI Zhiming, *et al.* Response of N₂O emissions to biochar amendment in a cultivated sandy loam soil during freeze-thaw cycles [J/OL]. *Scientific Reports*, 2016, **6**: 35411 [2023-06-04]. doi: 10.1038/srep35411.
- [45] 赵雅. 不同处理水稻秸秆对滨海盐渍型水稻土供氮能力和酶活性的影响 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2018.
ZHAO Ya. *Effect of Different Rice Straw Addition Methods on Nitrogen Supplying Capacity and Activity of Enzyme in Coastal Saline Paddy Soil* [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2018.
- [46] 朱捍华, 朱奇宏, 刘守龙, 等. 稻草还土对红壤氮磷积累及有效性的影响 [J]. *土壤通报*, 2014, **45**(4): 919 – 924.
ZHU Hanhua, ZHU Qihong, LIU Shoulong, *et al.* Effects of straw incorporation on the accumulation and availability of N and P in red soils [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2014, **45**(4): 919 – 924.
- [47] 黄凯平, 李永夫, 宋成芳, 等. 氮沉降和施生物质炭对毛竹林土壤 N₂O 通量的影响 [J]. *应用生态学报*, 2021, **32**(9): 3079 – 3088.
HUANG Kaiping, LI Yongfu, SONG Chengfang, *et al.* Effects of nitrogen deposition and biochar application on soil N₂O fluxes in a moso bamboo plantation [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2021, **32**(9): 3079 – 3088.
- [48] HUANG Min, ZHOU Xuefeng, CHEN Jiana, *et al.* Interaction of changes in pH and urease activity induced by biochar addition affects ammonia volatilization on an acid paddy soil following application of urea [J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2017, **48**(1): 107 – 112.
- [49] CZIMCZIK C I, MASIELLO C A. Controls on black carbon storage in soils [J]. *Global Biogeochemistry Cycles*, 2007, **21**(3): 249 – 259.
- [50] LIU Chunjuan, GONG Xiangwei. Changes in rhizosphere soil nitrogen fractions associated with enzyme activities are linked to the microbial community following intercropping combined with nitrogen fertilization [J]. *Land Degradation and Development*, 2022, **33**(7): 1101 – 1113.
- [51] 蒋容, 余一, 唐玉蓉, 等. 增温和生物炭添加对农田土壤酶活性的影响 [J]. *四川农业大学学报*, 2018, **36**(1): 72 – 77.
JIANG Rong, YU Yi, TANG Yurong, *et al.* Effects of warming and biochar addition on soil enzyme activities in farmland [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2018, **36**(1): 72 – 77.
- [52] XING Shihe, CHEN Chengrong, CHEN Biqing, *et al.* Soil soluble organic nitrogen and active microbial characteristics under adjacent coniferous and broadleaf plantation forests [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2010, **10**: 748 – 757.
- [53] 梁卿雅. 海南岛典型人工林土壤活性有机碳氮及土壤酶活性研究 [D]. 海口: 海南大学, 2017.
LIANG Qingya. *Research of Soil Active Organic Carbon Soil Enzyme Activity for Typical Plantations in Hainan Island* [D]. Haikou: Hainan University, 2017.
- [54] LI Hui, DAI Mingwei, DAI Shunli, *et al.* Current status and environment impact of direct straw return in China's cropland: a review [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, **159**: 293 – 300.
- [55] 许宏伟. 秸秆还田方式及施氮水平对小麦-玉米轮作系统土壤 N₂O 排放的影响 [D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2021.
XU Hongwei. *Effects of Straw Returning Method and Nitrogen Application Level on Soil N₂O Emission in Wheat-maize Rotation System* [D]. Xi'an: Northwest A&F University, 2021.
- [56] BI Qingfang, CHEN Qihui, YANG Xiaoru, *et al.* Effects of combined application of nitrogen fertilizer and biochar on the nitrification and ammonia oxidizers in an intensive vegetable soil [J/OL]. *AMB Express*, 2017, **7**: 198 [2023-06-04]. doi: 10.1186/s13568-017-0498-7.
- [57] LI Shuang, CHEN Diwen, WANG Cong, *et al.* Reduced nitrification by biochar and/or nitrification inhibitor is closely linked with the abundance of comammox *Nitrospira* in a highly acidic sugarcane soil [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2020, **56**: 1219 – 1228.