植物营养与肥料学报 2016, 22(5): 1267–1277
Journal of Plant Nutrition and Fertilizer
doi: 10.11674/zwyf.15306
http://www.plantnutrifert.org

有机无机肥配施提升冷浸田土壤氮转化相关微生物丰度和水稻产量

解开治，徐培智 *，蒋瑞萍，卢钰升，顾文杰，李文英，李 夏，孙丽丽
（广东省农业科学院农业资源与环境研究所，农业部南方植物营养与肥料重点实验室，
广东省养分资源循环利用与耕地保育重点实验室，广东广州 510640）

摘要:【**目的**】以南方典型冷浸田为对象，研究化肥配施不同有机肥对冷浸田水稻产量以及土壤氮相关功能微生物群落丰度的影响，旨在为冷浸田土壤氮素活化和转化过程的定向调控，氮素利用效率提高及水稻高产施肥提供科学依据。【**方法**】通过连续 3 年 6 季的定位试验，采用土壤理化分析、酶学分析和荧光实时定量 PCR 技术深入探讨化肥配施不同堆肥原料有机肥对冷浸田养分活化、水稻产量提升及土壤氮相关功能微生物群落丰度的效应。本试验设 4 个处理，分别为单施化肥 (CK)、化肥配施猪粪 (PIM)、化肥配施牛粪 (CAM)、化肥配施鸡粪 (CHM)。【**结果**】CHM、CAM 处理水稻产量显著高于化肥处理($P < 0.05$)，较 CK 平均增产 10.23%、7.62%。连续施用 CHM、CAM 显著提高了土壤 pH，增加了土壤有机碳、全氮和铵态氮含量。三种堆肥原料的有机无机配施均能够提高土壤氮素循环相关功能微生物基因丰度，其中细菌、古细菌总群落 16s rDNA 丰度和氨氧化古菌 (AOA) 和氨氧化细菌 (AOB) 的氨单加氧酶 (*amoA*) 基因丰度提高趋势一致，以 CHM 处理最高，但细菌总群落 16s rDNA 丰度增幅较小。亚硝酸盐还原酶 (*nirK*、*nirS*) 基因和一氧化二氮还原酶 (*nosZ*) 基因丰度对不同处理的响应并不一致。相关性分析表明，土壤有机碳和全氮含量是影响 AOA、AOB、*nirK*、*nirS* 型反硝化细菌的重要因子。【**结论**】化肥配施鸡粪有机肥能显著提高冷浸田土壤铵态氮、速效磷含量，增加细菌、古菌、AOA 和 AOB 氨单加氧酶 (*amoA*) 的基因丰度，增强土壤脲酶、蛋白酶和磷酸酶的活性，提升冷浸田土壤生产力。

关键词: 堆肥；冷浸田；水稻；氮素循环；功能微生物
中图分类号: S153；S154　　**文献标识码:** A　　**文章编号:** 1008–505X(2016)05–1267–11

Combined application of inorganic and organic fertilizers improve rice yield and the abundance of soil nitrogen-cycling microbes in cold waterlogged paddy fields

XIE Kai-zhi, XU Pei-zhi *, JIANG Rui-ping, LU Yu-sheng, GU Wen-jie, LI Wen-ying, LI Xia, SUN Li-li
(*Institute of Agricultural Resources and Environment, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/Key Laboratory of Plant Nutrition and Fertilizer in South Region, Ministry of Agriculture/Key Laboratory of Nutrient Cycling and Farmland Conservation, Guangzhou 510640, China*)

Abstract:【**Objectives**】Taking the typical cold waterlogged paddy fields in the South China as a research object, the effects of chemical fertilizers combined with different manures on the grain yield of paddy rice and the abundance of soil nitrogen-cycling microbes were compared. The study could provide scientific basis for the theory and practice of nitrogen mobilization, nitrogen redirection control and use efficiency, and fertilizer application scheme for high yield in cold waterlogged fields.【**Methods**】A three year-study was conducted to analyze the influences of the fertilizers combined with different organic manures on nutrient mobilization, rice

收稿日期: 2015–07–08　　**接受日期:** 2016–02–01　　**网络出版日期:** 2016–05–26
基金项目: 公益性行业（农业）科研专项（201003059-04）；广东省农业科学院院长基金项目（201416）；广东省现代农业产业体系建设项目“水稻产业体系”（粤财教[2009]356号）；广州市农业科技攻关项目（GZCQC0902FG06017）；广东省协同创新与平台建设专项资金项目（2015A020224010）资助。
作者简介: 解开治（1977—），男，甘肃民勤人，博士，主要从事植物营养与环境微生物方向的研究。E-mail：xiekzgsau@163.com
* 通信作者 E-mail：pzxu007@163.com

yield and the abundance of nitrogen-cycling bacteria in cold waterlogged soils on the basis of soil properties, enzymatic characteristics and real-time quantification PCR. The field experiment included four treatments: chemical fertilizers (CK), chemical fertilizers combined with pig manure (PIM), chemical fertilizers combined with cattle manure (CAM) or chemical fertilizers combined with chicken manure (CHM).【**Results**】The grain yields responded positively to both CHM and CAM application, and were increased by 10.2% and 7.6% over the yield of CK, respectively. The soil pH, organic carbon, total nitrogen content and ammonium nitrogen content were all increased after continuous application of CHM or CAM. The abundance of microbial genes related to soil nitrogen-cycling was significantly enhanced by the additions of the three fertilizer formulations. Furthermore, the 16s rDNA abundance of bacteria and archae bacteria, and *amoA* (ammonia monooxygenase) abundance of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and anaerobic oxidizing bacteria (AOB) presented consistent increasing patterns, and the highest abundances were exhibited in the CHM-treated soil and the increase rate of bacteria 16s rDNA was smaller than others. However, the gene abundances of nitrite reducate (*nirK*, *nirS*) and nitrous oxide reducate (*nosZ*) responded differently to the fertilizer formulations. Correlation analysis showed that the contents of soil organic carbon and total nitrogen appeared to be the key factors influencing the abundance and diversity of AOA-, AOB-, *nirK*-and *nirS*-type denitrifying bacteria.【**Conclusion**】The application of the fertilizers combined with chicken manure could significantly increase the contents of soil ammonium nitrogen and available phosphate, improve the gene abundances of bacteria, archaebacteria, AOA and AOB-type *amoA* and enhance the activities of soil urease, protease and phosphatase, thereby improving the productivity of cold waterlogged soils.

Key words: compost; cold waterlogged paddy field; rice; nitrogen cycling; function microorganism

氮素在水稻生产中起着重要作用，是水稻产量提升的关键驱动力。与土壤氮素循环密切相关的氨氧化细菌 (ammonia oxidizing bacteria，AOB) 、氨氧化古菌 (ammonia oxidizing archaea，AOA) 和反硝化细菌是参与硝化、反硝化过程的重要功能微生物[1]，其群落丰度、种群结构等因素直接调节氮素在土壤中的转化[2–5]。这些微生物又与土壤酶关系密切，它们共同参与土壤氮素转化的整个生物化学过程，进而影响水稻对氮素的吸收利用[1, 6–7]。

研究表明，施肥会导致这些重要功能微生物群落结构和丰度的变化[7–9]。但大多研究集中在对稻田土壤 AOA 和 AOB 的群落丰度、种群结构的调查，及其在土壤氨氧化中的作用。Chen 等[10]研究发现，AOA 是水稻根际土壤的优势菌。Ying 等[11]、贺纪正等[12]研究发现，在长期施肥处理下，南方酸性土壤中 AOA 的群落丰度显著高于 AOB，在氨氧化作用中起主导作用，且与土壤硝化潜势有一定的正相关性。而在潮土中，长期施肥对 AOB 的影响更显著，且其数量与硝化潜力的变化相关性更高[13]。裴雪霞等[8]采用 PCR-DGGE 方法研究了长期施肥对黄棕壤性水稻土氨氧化细菌遗传多样性的影响，结果表明与不施肥处理相比，长期施肥提高了黄棕壤性水稻土有机质、全氮、微生物量碳氮含量，并改变了氨氧化细菌的群落结构；有机肥与化肥长期配施处理氨氧化细菌的多样性高于化肥处理。现有研究较少涉及到与反硝化作用密切相关的亚硝酸盐还原酶 (*nirK*、*nirS*) 基因和一氧化二氮还原酶 (*nosZ*) 基因[14]。而关于冷浸田中土壤硝化、反硝化过程氮相关功能微生物群落丰度与环境因子的关系，及其与各个氮转化过程的耦合关系更是未见报道，这严重阻碍了人们对冷浸田这一特殊类型的水稻中低产田的氮素转化过程及其机制的全面了解，不利于对冷浸田氮肥的合理调控。

冷浸田是因长期浸水、土层糊烂与还原作用强烈而造成的一种低产田[15]。全国约有 346 万公顷，占全国稻田面积的 15.07%，占低产稻田面积的 44.2%，是南方稻区主要的低产稻田类型之一，每公顷稻谷产量一般不及稻田平均每公顷产量的二分之一[16]。造成冷浸田低产的主要原因是早春水热条件不良，土壤微生物总体活性偏低，速效养分供应不足等。有机肥含有大量有机质和作物生长必需的营养元素，不仅可以提高作物的产量品质，还能改善土壤的物理化学性质，是一种优良的土壤改良剂[17–18]。许多研究表明，长期过量施用氮肥容易造成土壤硝态氮淋溶损失和氮氧化物温室气体的排放[19]，而施用有机肥则有助于维持土壤的氮素供应、微生物的多

样性及活性[20–22]。但不同有机肥堆肥原料性质的差异可能导致土壤功能微生物种群丰度及群落结构的不同演替[22–23]。

因此，本研究通过大田定位试验研究不同原料有机肥配施化肥对冷浸田水稻产量、土壤氮循环相关功能微生物丰度的影响，旨在为冷浸田土壤氮素活化、土壤氮素转化过程的定向调控、氮素利用效率提高及水稻高产施肥提供科学依据。

1　材料与方法

1.1　试验地概况

试验于 2011 年 3 月 29 日～2013 年 11 月 22 日在广东省惠阳区良井镇前锋村（N 22°50′09.30″，E 114°36′03.55″）进行，该地区属南亚热带季风气候。试验地属冷浸田（湖洋田），供试土壤的基本理化性质为有机质 30.4 g/kg、碱解氮 132.1 mg/kg、速效磷 10.5 mg/kg、速效钾 34.0 mg/kg、pH 5.1，质地为粘土。

1.2　试验设计

试验设 4 个处理：1) 单施化肥 (CK) 尿素(N 46%) 325.5 kg/hm^2、过磷酸钙(P_2O_5 12%) 375 kg/hm^2、氯化钾 (K_2O 60%) 199.5 kg/hm^2；2) 化肥配施精制猪粪有机肥（PIM）；3) 化肥配施精制牛粪有机肥（CAM）；4) 化肥配施精制鸡粪有机肥（CHM）。有机肥为分别用猪粪、牛粪、鸡粪为主要原材料堆制而成的各种精制有机肥合格产品，各种精制有机肥 N、P、K 含量分别接近于 1.5%、1.0%、1.0%，有机质 30%，其他主要性质见表 1。各有机肥处理（PIM、CAM 和 CHM）中，有机肥施用量均为 3000 kg/hm^2，尿素用量 228 kg/hm^2，氯化钾 150 kg/hm^2。试验在施用等量氮磷钾养分的基础上进行，各处理均施氮 150 kg/hm^2、磷 (P_2O_5) 45 kg/hm^2、钾 (K_2O) 120 kg/hm^2。每个处理 3 次重复。小区长 8.7 m、宽 7.1 m，随机区组排列。每个小区四周起垄，并覆塑料膜，防止肥水窜流，同时四周留出排水沟和保护行。每季水稻施肥均按照上述试验处理的设计用量施用，所有处理化肥和有机肥均在移栽前 1 天一次性施入。

试验所用水稻品种为‘黄华占’。移栽行距和株距分别为 20.0 cm、18.0 cm，每公顷 27 万穴，田间管理按当地习惯进行。

表 1　不同种类有机肥 pH、水溶性有机碳以及功能微生物群落丰度

Table 1　pH, water-soluble organic carbon (WSOC) and microbial abundances in different organic fertilizers

有机肥种类 Manure type	pH	水溶性有机碳 WSOC (%)	细菌 Bacterial (× 10^{10} copies/g)	古菌 Archaea (× 10^6 copies/g)	氨氧化细菌 AOB (× 10^5 copies/g)	氨氧化古菌 AOA (× 10^5 copies/g)
猪粪有机肥 Pig manure	6.5	0.37	1.32	3.24	2.65	1.21
牛粪有机肥 Cattle manure	7.2	1.03	0.604	1.82	0.125	0.308
鸡粪有机肥 Chicken manure	7.9	3.58	24.9	13.2	8.45	118

注（Note）：AOB—氨氧化细菌 Ammonia oxidizing bacteria; AOA—氨氧化古菌 Ammonia oxidizing archaea.

1.3　样品采集

每季水稻成熟收割前，各小区取 5 株代表性植株样考查穗粒数、结实率和千粒重，各小区实割测产。连续试验至第 6 季水稻收获前 5 天 (2013 年 11 月 8 日)，采集各处理 0—20 cm 的 5 个代表样点的土壤 (土壤处于水分饱和状态)，混合后取 1000 g 于冰盒带回。一部分鲜土保存于 4℃ 冰箱，用于氮素形态、硝化潜势和反硝化潜势的测定；另一部分鲜土保存于 –20℃ 冰箱，用于提取土壤 DNA；其余土样风干后过筛，用于测定土壤理化性质。

1.4　土壤样品测定方法

1.4.1 土壤分析　土壤理化性质与养分的测定按照鲁如坤[24]的方法进行。土壤酶活性的测定根据关松荫[25]的方法，脲酶采用苯酚钠比色法，用 1 g 土样 24 h 生成 NH_4^+-N 1 mg/(g·d) 为 1 个酶活性单位；蛋白酶用茚三酮比色法，以 30℃ 下生成甘氨酸的量 [mg/(g·d)] 为单位；磷酸酶用磷酸苯二钠法，以 37℃ 下生成酚的量 [mg/(g·d)] 为单位。土壤硝化潜势根据修订的 Kurola 方法测定[26]，反硝化潜势利用乙炔(C_2H_2)抑制法[27]测定。

1.4.2 土壤 DNA 提取　采用 NucleoSpin® Soil DNA 试剂盒 (Macherey-Nagel GmbH & Co.KG) 提取土壤 DNA，每 2 mL 管称取土壤样品量为 500 mg，操作步骤按照试剂盒操作说明进行。用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳和核酸蛋白测定仪 (Eppendorf, AG, Hamburg, Germany) 检测所提 DNA 片段大小及质量。

1.4.3 荧光实时定量 PCR 分析 试验选取细菌和古菌的 16S rRNA 基因、AOA 和 AOB 的氨单加氧酶 (*amoA*) 基因、亚硝酸盐还原酶 (*nirK*、*nirS*) 基因和一氧化二氮还原酶 (*nosZ*) 基因进行定量分析，反应在荧光定量 PCR 仪 ABI PRISM7500 (ABI，美国) 仪器上分析。细菌 16S rRNA 基因的定量分析采用 TaqMan 探针法[26]，反应体系为 25 μL，其中包含 SYBR® *Premix Ex Taq*™ (TaKaRa，日本) 12.5 μL，Taqman 探针(3 μmol/L，TaKaRa，日本) 0.5 μL，前、后引物 (10 μmol/L) 各 0.5 μL，DNA 模板 1 μL。其余基因的反应体系均按 SYBR® *Premix Ex Taq*™ (TaKaRa，日本) 说明书操作。质粒及标准曲线的制备参照文献[27]。各基因定量 PCR 分析所用的引物和探针及反应条件见表 2。

表 2 荧光实时定量 PCR 扩增引物和探针及反应条件

Table 2 Primers, probes and reaction procedures of the real-time PCR analysis

基因 Gene	引物和探针 Primer and probe	引物序列 Primer sequence(5'→3') [1)]	定量 PCR 反应程序 Thermal profile for PCR	参考文献 Reference
Bacterial 16S rRNA	1369F 1541R ™1389F	CGGTGAATACGTTCYCGG GGWTACCTTGTTACGACTT CTTGTACACACCGCCCGTC	95℃ 预变性 10 s, 95℃ 变性 15 s, 56℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 30 s, 35 个循环 10 s at 95℃, followed by 35 cycles of 15 s at 95℃, 1 min at 56℃, 30 s at 72℃	[26]
Archaea 16S rRNA	A364aF Ar958R	CGGGGYGCASCAGGCGCGAA YCCGGCGTTGAVTCCAATT	94℃ 预变性 30 s, 94℃ 变性 20 s, 63℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 40 个循环 30 s at 94℃, followed by 40 cycles of 20 s at 94℃, 30 s at 63℃, 30 s at 72℃	[28]
AOA	Arch-amoAF Arch-amoAR	STAATGGTCTGGCTTAGACG GCGGCCATCCATCTGTATGT	95℃ 预变性 30 s, 95℃ 变性 10 s, 53℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 40 个循环 30 s at 95℃, followed by 40 cycles of 10 s at 95℃, 30 s at 53℃, 1 min at 72℃	[26]
AOB	amoA-1F amoA-2R	GGGGTTTCTACTGGTGGT CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	94℃ 预变性 2 min, 94℃ 变性 30 s, 55℃ 退火 45 s, 68℃ 延伸 30 s, 40 个循环 2 min at 94℃, followed by 40 cycles of 30 s at 94℃, 45 s at 55℃, 30 s at 68℃	[26]
nirK	1F 5R	GGMATGGTKCCSTGGCA GCCTCGATCAGRTTRTGG	95℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 30 s, 58℃ 退火 40 s, 72℃ 延伸 30 s, 34 个循环 5 min at 95℃, followed by 34 cycles of 30 s at 95℃, 40 s at 58℃, 30 s at 72℃	[27]
nirS	1F 6R	CCTAYTGGCCGCCRCART CGTTGAACTTRCCGGT	94℃ 预变性 2 min, 94℃ 变性 30 s, 58℃ ~ 53℃（前 5 个循环每循环降低 1℃）退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 40 个循环 2 min at 94℃, 40 cycles of 30 s at 94℃, 30 s at 58–53℃（The first 5 cycles, each cycle was lowered by 1℃）, 30 s at 72℃	[27]
nosZ	F 1622R	CGYTGTTCMTCGACAGCCAG CGCRASGGCAASAAGGTSCG	94℃ 预变性 2 min, 94℃ 变性 30 s, 58℃ ~ 53℃（前 5 个循环每循环降低 1℃）退火 30 s, 72℃ 延伸 1 min, 40 个循环 2 min at 94℃, 40 cycles of 30 s at 94℃, 30 s at 58–53℃（The first 5 cycles, each cycle was lowered by 1℃）, 1 min at 72℃	[27]

注（Note）：1) Y = C or T; M = A or C; W = A or T; R = A or G; K = G or T; S = C or G

1.5 数据分析

试验数据应用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。采用单因素方差分析和 Tukey 多重比较法，检验各处理间的差异显著性 ($P < 0.05$)。相关性分析采用 Pearson 相关分析法进行双尾检验确定显著性。

2 结果与分析

2.1 不同施肥处理对水稻产量的影响

有机肥配施化肥处理的产量均高于单施化肥处理 (图 1)。早、晚稻产量总体以为鸡粪有机肥配施化

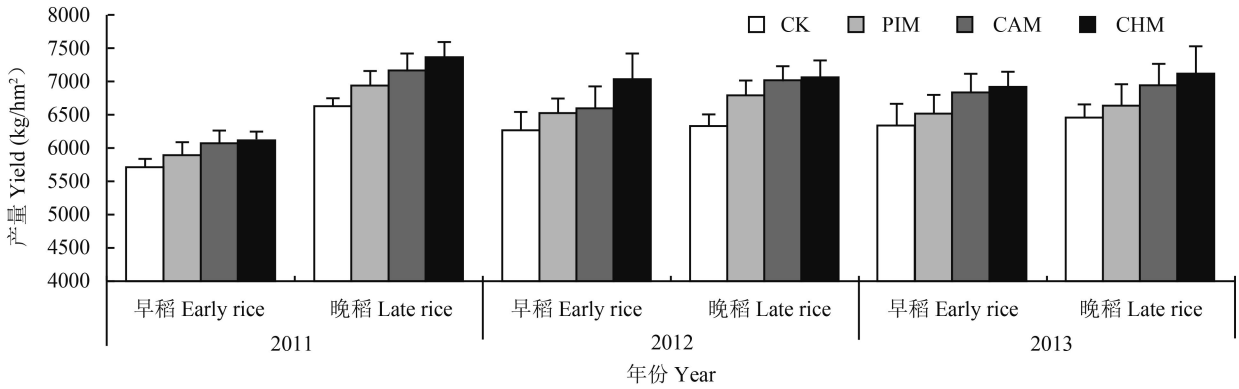

图 1　不同施肥处理对水稻产量的影响

Fig. 1　Grain yields in responding to the fertilizer treatments

肥 (CHM) 处理最高。其中，CHM 处理和 CAM 处理产量与单施化肥 (CK) 处理比较，3 年 6 季平均增产 10.23%、7.62%，达到显著水平 ($P < 0.05$)。同时，各处理晚稻产量普遍高于早稻产量，可能是由于冷浸田晚稻较好的水热条件增强了土壤微生物活性，促进了氮、磷等养分的转化，提高了水稻对养分的可利用性 (表 3)。

2.2　不同施肥处理对土壤基本理化性状的影响

化肥配施有机肥均能提高冷浸田土壤 pH、有机碳、全氮、速效磷和速效钾含量 (表 3)。与 CK 处理比较，PIM 处理显著提高了冷浸田土壤有机碳、全氮和速效磷的含量；CAM 处理显著提高了土壤 pH、有机碳、全氮和速效钾含量；CHM 处理显著提高了土壤 pH、有机碳、全氮和速效磷含量。对不同原料有机肥处理进行比较发现，CAM 处理、CHM 处理与 PIM 处理之间土壤 pH 存在显著差异；PIM 处理与 CHM 处理全氮含量存在显著差异；CAM 处理与 CHM 处理和 PIM 处理之间速效钾存在显著差异。

表 3　不同施肥处理土壤基本理化性状

Table 3　Properties of the soils treated with the various fertilizer formulations

处理 Treatment	pH	有机碳(g/kg) SOC	全氮(mg/kg) Total N	速效磷(mg/kg) Avail. P	速效钾(mg/kg) Avail. K
CK	5.55 b	17.07 b	1.63 c	24.9 b	34.3 b
PIM	5.58 b	19.41 a	1.87 b	32.1 a	37.0 b
CAM	5.78 a	18.68 a	1.90 ab	29.0 ab	48.3 a
CHM	5.83 a	19.37 a	2.08 a	32.3 a	38.7 b

注（Note）：同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by different letters are significantly different among treatments at the 5% level.

2.3　不同施肥处理对土壤氮素转化及相关酶学性质的影响

不同原料有机肥对土壤氮素形态、硝化势和反硝化势影响存在显著差异 (表 4)。CAM 处理、CHM 处理土壤铵态氮含量显著高于 PIM 和 CK 处理，CHM 处理土壤硝态氮显著低于其他处理，其余三个处理之间差异不显著。配施有机肥的三个处理与 CK 处理之间亚硝态氮含量均呈现显著差异，CAM 处理较 CK 处理提高了 157.8%，PIM、CHM 处理分别较 CK 处理降低了 33.8%、22.2%。硝化势、反硝化势均是 PIM > CHM > CAM > CK。

与 CK 处理相比，CHM 处理显著增加了冷浸田土壤脲酶、蛋白酶和磷酸酶的活性；CAM 处理仅显著增加了土壤蛋白酶和磷酸酶的活性；PIM 处理则仅仅显著增加了土壤磷酸酶的活性。从土壤酶活性所增加的倍数来看，CHM 处理对土壤脲酶、蛋白酶和磷酸酶活性影响较大，分别较 CK 处理提高 1.36、2.08、1.19 倍 (图 2)。

2.4　不同施肥处理对土壤氮循环相关功能微生物基因丰度的影响

针对细菌和古菌的 16S rRNA 基因、氨氧化细菌 (AOB)和氨氧化古菌 (AOA) 的氨单加氧酶 (*amoA*) 基

表 4 不同施肥处理土壤各氮素形态含量及硝化势和反硝化势的变化

Table 4 Quantification of the various forms of soil nitrogen and the nitrification/denitrification activity in the soils treated with the various fertilizer formulations

处理 Treatment	铵态氮 Ammonium N (mg/kg)	硝态氮 Nitrate N (mg/kg)	亚硝态氮 Nitrite N (mg/kg)	硝化势 PNR [NO_3-N mg/(kg·h)]	反硝化势 DPNR [NO_2-N mg/(kg·h)]
CK	183.4 b	6.10 a	0.320 b	0.85 d	0.257 c
PIM	200.6 b	6.10 a	0.212 c	1.76 a	0.840 a
CAM	238.2 a	5.88 a	0.505 a	1.22 c	0.657 b
CHM	243.1 a	3.98 b	0.249 c	1.55 b	0.760 ab

注（Note）：PNR—Potential nitrification rate; DPNR—Potential denitrification rate. 同列数据后不同字母表示处理间差异达 5% 显著水平 Values followed by the same letter are not significantly different at the 5% level by the Tukey test.

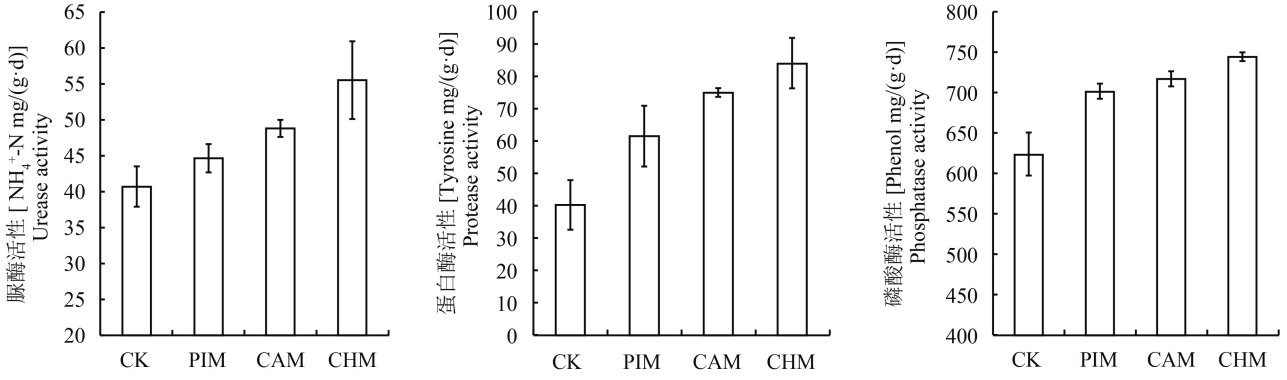

图 2 不同施肥处理土壤脲酶、蛋白酶、磷酸酶活性

Fig. 2 Activities of soil urease, prolease, phosphatase under different fertilizer treatments

因、亚硝酸盐还原酶 (*nirK*、*nirS*) 基因和一氧化二氮还原酶 (*nosZ*) 基因丰度的测定结果 (图 3) 表明，与 CK 处理相比，配施有机肥处理的冷浸田土壤上述基因丰度均有所提高。其中以细菌、古菌、氨氧化古菌 (AOA) 和氨氧化细菌 (AOB) 的氨单加氧酶 (*amoA*) 基因丰度的提高呈现出 CHM 处理 > CAM 处理 > PIM 处理 > CK 处理的趋势。而亚硝酸盐还原酶 (*nirK*)基因丰度以 CAM 处理最高，为 6.46×10^8 copies/g。亚硝酸盐还原酶 (*nirS*) 基因以 CHM 处理最高，为 9.20×10^8 copies/g。一氧化二氮还原酶 (*nosZ*) 基因以 CAM 处理最高，为 3.46×10^7 copies/g。亚硝酸盐还原酶 (*nirK*、*nirS*) 基因和一氧化二氮还原酶 (*nosZ*) 基因丰度在不同有机肥处理间存在差异，这表明不同堆肥原料的有机肥所参与的土壤氮代谢通路可能不同。

2.5 土壤性质与氮循环相关功能微生物基因的相关分析

土壤微生物丰度与土壤性质的相关分析 (表 5) 表明，土壤 pH 与细菌 16S rRNA 基因、*nosZ* 基因拷贝数呈显著正相关，与古菌、AOA、AOB、*nirK* 呈极显著正相关。土壤有机碳与本研究中氮循环相关功能微生物基因拷贝数呈极显著正相关。速效钾与 AOA 显著正相关，与 *nirK*、*nosZ* 极显著正相关。速效磷与细菌、古菌、AOB 显著正相关，与 *nirS* 极显著正相关。除了全氮和铵态氮与细菌、铵态氮与 *nirS* 呈显著正相关外，与其余基因丰度均呈现极显著正相关。硝态氮与细菌、古菌、*nirS* 显著负相关，与 AOA、AOB 呈极显著负相关。硝化势仅与 *nirS* 呈显著正相关，反硝化势除与古菌、*nirS* 极显著正相关外，其余均为显著正相关。土壤酶 (脲酶、蛋白酶、磷酸酶) 活性除蛋白酶与细菌、脲酶与 *nirK* 和 *nosZ* 呈显著正相关以外，与其余基因丰度均呈极显著正相关。不同冷浸田土壤氮循环相关功能微生物之间，除细菌与 *nirK* 和 *nirS*、*nirS* 与 *nirK* 和 *nosZ* 呈显著正相关以外，其余两两之间均呈极显著正相关 (表 6)。

3 讨论

3.1 化肥配施不同堆肥原料有机肥产品对冷浸田土壤生产力的提升作用

有研究表明，长期施用有机肥料可显著改良土

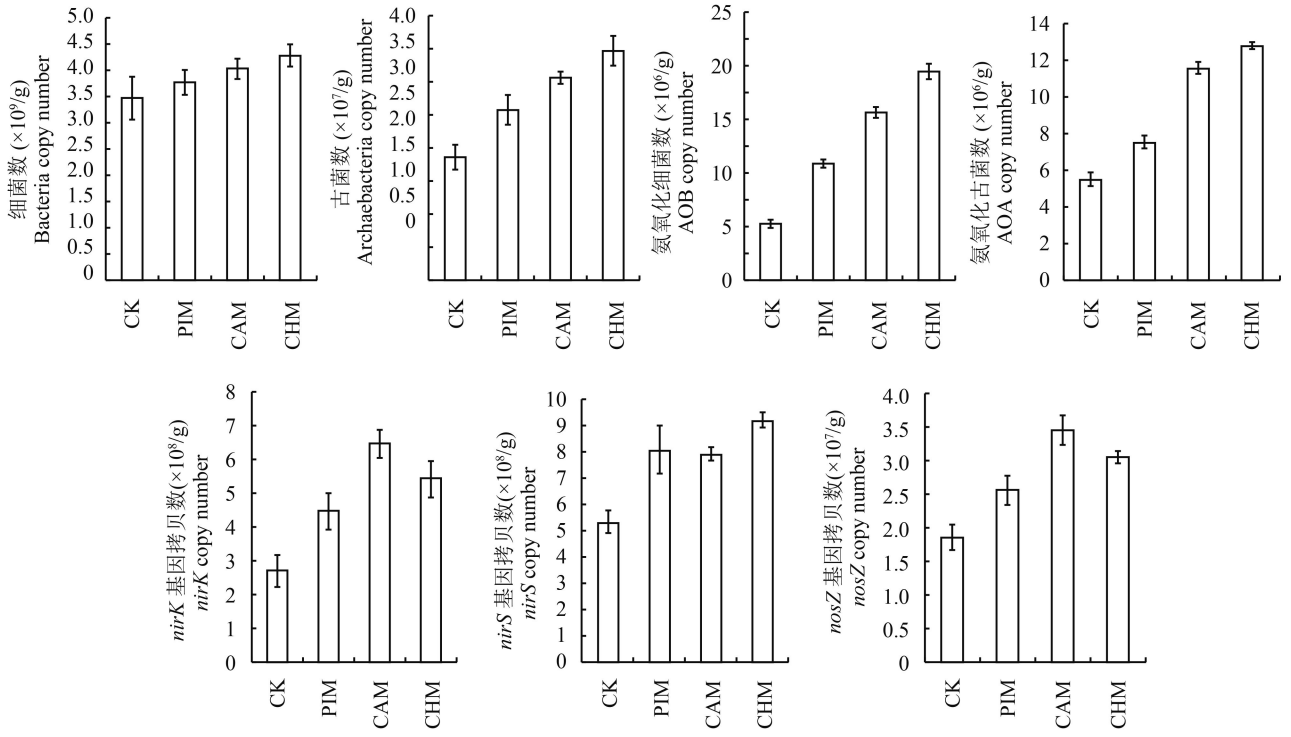

图 3　不同施肥处理土壤中细菌和古菌、AOB、AOA、*nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 基因型硝化、反硝化细菌的拷贝数

Fig. 3　Copy number of 16S rRNA, *amoA*, *nirK*, *nirS* and *nosZ* amplicons in soils sampled from the various fertilizer treatments

表 5　土壤微生物丰度与土壤性质的相关分析

Table 5　Correlations between soil microbial abundances and soil properties

指标 Index	细菌Bacteria	古菌 Archaea	氨氧化古菌 AOA	氨氧化细菌 AOB	*nirK*	*nirS*	*nosZ*
pH	0.616	0.800**	0.851**	0.789**	0.780**	0.552	0.697
有机碳 SOC	0.771**	0.881**	0.854**	0.875**	0.885**	0.869**	0.862**
速效钾 Avail. K	0.402	0.479	0.577	0.494	0.819**	0.372	0.775**
速效磷 Avail. P	0.595	0.679	0.536	0.668	0.561	0.766**	0.531
全氮 Total N	0.661	0.805**	0.771**	0.808**	0.738**	0.699**	0.644**
铵态氮 Ammonium N	0.620	0.813**	0.878**	0.840**	0.854**	0.624	0.773**
硝态氮 Nitrate N	–0.608	–0.691	–0.712**	–0.757**	–0.364	–0.604	–0.391
亚硝态氮 Nitrite N	0.104	0.117	0.269	0.096	0.430	–0.156	0.490
硝化势 PNR	0.418	0.521	0.377	0.522	0.454	0.682	0.409
反硝化势 DPNR	0.591	0.712**	0.586	0.698	0.645	0.826**	0.614
脲酶 Urease	0.832**	0.824**	0.840**	0.874**	0.577	0.789**	0.698
蛋白酶 Protease	0.609	0.872**	0.906**	0.928**	0.852**	0.853**	0.801**
磷酸酶 Phosphatase	0.710**	0.909**	0.865**	0.918**	0.804**	0.935**	0.820**

注（Note）：*—$P < 0.05$; **—$P < 0.01$; $n = 12$.

壤[29–31]，促进矿物质土层氮的转化释放，增加 20 cm 土层的氮含量[32]，提高氮肥效率[30]，改善土壤的生物和化学特性[33]。本研究通过 3 年 6 季水稻田间试验，发现连续施用化肥配施不同有机肥使冷浸田土壤主要理化性质得到明显改善 (表 3、表 4、图 2)。与 CK 处理相比，CAM 和 CHM 处理的土壤 pH 值显著提

表 6 土壤微生物丰度之间的相关分析

Table 6 Correlations between soil microbial abundances and soil properties

指标 Index	细菌 Bacteria	古菌 Archaea	氨氧化古菌 AOA	氨氧化细菌 AOB	*nirK*	*nirS*
古菌 Archaea	0.772**	1.000				
氨氧化古菌 AOA	0.793**	0.951**	1.000			
氨氧化细菌 AOB	0.805**	0.968**	0.979**	1.000		
nirK	0.626	0.819**	0.863**	0.829**	1.000	
nirS	0.669	0.871**	0.782**	0.869**	0.671	1.000
nosZ	0.732**	0.824**	0.888**	0.849**	0.957**	0.662

注（Note）：*—$P < 0.05$；**—$P < 0.01$；$n = 12$.

高 ($P < 0.05$)，分析其主要原因：一是与有机物料本身的灰化碱含量和有机氮的矿化密切相关；二是与有机物料在稻田淹水还原条件下，通过微生物的作用，被分解产生有机酸阴离子，有机酸阴离子进一步被微生物分解产生过量阳离子有关；三是由于部分分解的有机材料含有许多酚、羧酸，能消耗质子与腐殖化物质结合形成烯醇基团。这与 Naramabuye 等[34]研究表明，长期施用有机物如家禽牛粪可提高土壤 pH 值的结论一致。大量研究表明，化肥配施有机肥是提升土壤有机质含量的一种理想施肥方式[18, 35]。本项目组通过对我国冷浸田主要分布的 7 个省份的冷浸田及相同耕作制度下正常稻田的土壤养分指标、微生物特征进行分析发现，土壤速效养分含量低、微生物总量偏低且活性弱是影响冷浸田土壤生产力的主要限制因子[36–37]。尤其是本试验点高产田土壤中速效磷含量 (434.02 mg/kg) 达到了极丰富水平，但冷浸田含量仅为 9.00 mg/kg，远低于正常田。且冷浸田土壤中可培养的细菌、真菌、放线菌、氨化细菌、固氮菌、纤维素分解菌的数量分别仅为高产田土壤的 53.93%、43.33%、47.32%、51.98%、44.83% 和 47.80%。可见，在现有有机无机肥料配施可显著改良土壤的基础上，深入探讨化肥配施不同有机肥对冷浸田养分活化、水稻产量提升及土壤氮相关功能微生物群落丰度的效应至关重要。本研究显示，化肥配施不同堆肥原料有机肥均显著增加冷浸田土壤有机碳和全氮的含量，PIM 和 CHM 处理还可活化冷浸田土壤氮、磷养分，显著增加铵态氮、速效磷含量，有效缓解因冷浸田速效养分不足而引起的禾苗“坐兜”现象。研究还表明，尽管 CHM 处理铵态氮含量最高，硝化反应的底物浓度最大，但相应硝化产物的浓度却最低，分别为硝态氮 3.98 mg/kg 和亚硝态氮 0.249 mg/kg。主要原因可能是该处理土壤反硝化菌活性高于硝化菌 (图 3)，硝态氮含量与土壤 AOA、AOB 丰度呈极显著负相关，反硝化作用强于硝化作用的结果 (表 4、表 5)。因此，通过对冷浸田土壤主要理化性质进行综合分析可看出，CHM 处理土壤生产力提升得最为明显。该处理显著提高了冷浸田土壤 pH 值，增加了有机碳、全氮、速效磷和铵态氮的含量，提高了氮相关转化酶 (脲酶、蛋白酶和磷酸酶) 的活性，减少了硝态氮、亚硝态氮淋溶损失的风险。同时，结合各处理的水稻产量水平，进一步表明化肥配施鸡粪有机肥能显著提升冷浸田土壤生产力。

3.2 化肥配施不同堆肥原料有机肥产品对冷浸田土壤氮相关微生物丰度的影响

土壤氮相关微生物是土壤氨化、硝化、反硝化的驱动者。与化学肥料比较，施用堆肥可为土壤微生物提供持久全面的养分和更多的碳源、能源，更有利于微生物生长，从而提高了微生物数量[28, 32]。Kemnitz 等[28]认为，芳香植物废料堆肥可用于增强土壤微生物活性，从而促进植物的生长。本研究表明，配施有机肥可显著提高土壤古菌、AOA、AOB、*nirK*、*nirS*、*nirZ* 的基因丰度。朱海平等[38]研究表明，施用有机肥的土壤细菌数量和活性远高于单施化肥处理，但本研究中仅 CHM 处理的细菌丰度与 CK 处理的差异显著。另外，本研究中 AOB 的数量高于 AOA，是 AOA 的 1.5 倍。这一结果与已有的大多研究认为的酸性土壤 AOA 的数量远高于 AOB 的结论有很大的不同[35]，这可能与有机肥的施入有关，具体的影响机理尚需进一步深入研究。

3.3 冷浸田土壤氮相关功能微生物丰度与土壤性质的相关关系

AOA、AOB、硝化反硝化细菌是参与土壤氮转化的主要微生物。它们所含有的功能基因—*amoA*、*nirK*、*nirS*、*nosZ* 分别驱动氮素转化的不同阶段，易受土壤理化性质的影响。由 AOA 和 AOB 驱动氨氧

化作用是硝化过程的第一步，是硝化反应的限速步骤。AOA 和 AOB 基因丰度与土壤 pH、有机碳、全氮、铵态氮极显著正相关，相关系数介于 0.771～0.928；与硝态氮含量极显著负相关，相关系数分别为 –0.712、–0.757；与反硝化势显著正相关，相关系数分别为 0.586、0.698。这与 He 等[26]报道的土壤 pH 值与 AOB 丰度 ($r = 0.719$，$P < 0.05$，$n = 8$) 和 AOA 丰度 ($r = 0.775$，$P <0.05$，$n = 8$) 显著相关的结论一致。参与反硝化作用过程的反硝化菌 *nirK*、*nirS* 基因丰度均与有机碳、全氮含量极显著正相关，相关系数介于 0.699～0.885。这也表明土壤有机碳和全氮含量是影响 *nirK*、*nirS* 型反硝化细菌的重要因子[1]。同时，*nirK* 基因丰度还与土壤 pH($r = 0.780$，$P < 0.01$)、速效钾($r = 0.819$，$P < 0.01$)、铵态氮($r = 0.854$，$P < 0.01$)极显著正相关，与反硝化势($r = 0.645$，$P < 0.05$)显著正相关；*nirS* 基因丰度与土壤速效磷 ($r = 0.766$，$P < 0.01$)、反硝化势 ($r = 0.826$，$P < 0.01$)极显著正相关，与铵态氮 ($r = 0.624$，$P < 0.05$)、硝化势 ($r = 0.682$，$P < 0.05$) 显著正相关。上述 *nirK*、*nirS* 基因丰度与其他土壤理化性质之间的相关性差异，说明二者在作用反硝化的代谢通路或机理上存在不同。而参与反硝化作用过程的 *nosZ* 基因丰度与土壤理化性质的相关性与 *nirK* 趋势基本一致，仅是相关系数偏小。与土壤氮素转化密切相关的土壤酶 (脲酶、蛋白酶、磷酸酶) 活性与大多数氮相关功能微生物丰度呈极显著正相关 ($P < 0.01$)，相关系数介于 0.710～0.935(表 5)。说明土壤酶活性与细菌、古菌以及重要功能氨氧化菌 AOA 和 AOB、反硝化菌 *nirK*、*nirS*、*nosZ* 型基因丰度，土壤不同氮素形态养分含量之间具有密切的关系。

3.4　不同堆肥原料有机肥产品对冷浸田产量提升的机理探讨

长期施用有机肥是改良土壤，提高水稻产量的一种有效手段[20, 32, 39]。Shu 等[20]研究指出，化肥配施有机肥能显著促进水稻的生长和对养分的吸收。在本研究中，连续 3 年 6 季水稻产量结果表明，化肥配施有机肥可提高冷浸田水稻产量，尤其是 CHM 和 CAM 处理，6 季平均增产 10.23%、7.62%($P < 0.05$)。而化肥配施不同堆肥原料有机肥产品对冷浸田水稻增产幅度的不同可能有三个方面的原因：一是不同堆肥原料有机肥对冷浸田土壤 pH、速效养分活化、微生物丰度、土壤酶活性等的影响不同(表 3、表 4、图 2、图 3)；二是饲喂猪、牛、鸡的饲料差异较大，鸡饲料相比猪、牛饲料含有更多的能量和蛋白，如谷实类、糠麸类、植物性蛋白质等。尽管不同原料堆肥后用化肥调配了全量氮、磷、钾养分相对一致，但自身氮、磷及微量元素有效性仍存在较大差异，不同堆肥物料对土壤微生态的调控亦有不同；三是不同的有机碳营养供给水平。有机碳营养是指水溶性高、易被植物吸收的有机碳化合物，如糖、醇、酸 (含氨基酸) 等，即不仅有含氮的有机碳营养 (如氨基酸)，还包括不含氮的碳营养。众所周知，碳营养的重要性在于其提供构建植物体内各有机成分的必需成分—碳架，它是植物合成糖类、蛋白质、氨基酸、酶、激素、信号传递物质的基础物质。经典植物营养原理的最小因子律用木桶原理形象地显示了营养元素短板对增产的重要性。但是碳在经典理论中虽有其名而在现有文献中的木桶图中却未得到应有的重视。长期以来，在氮磷钾施肥量大幅度增加的情况下，没有考虑对碳的补充，作物依靠自然状态获得碳营养仅能满足其需求的 1/5，作物远处于碳饥饿中，严重制约了作物产量潜力的提升，而通过施肥补碳调整及优化植物营养平衡可消除碳饥饿[40]。本研究三种畜禽对来源不同的饲料消化吸收差异较大，导致不同堆肥有机肥中有机碳的水溶性不同。鸡粪有机肥的水溶性有机碳为 3.58%，分别是猪粪有机肥、牛粪有机肥的 3.5 倍和 9.7 倍，从补碳角度而言，其肥效增强了 3 倍以上。本研究不仅为选择适宜的有机肥来改良冷浸田、提升水稻产量提供了理论依据，更是为植物营养平衡中碳平衡的研究提供了实践基础。

4　结论

1) 化肥长期配施牛粪和鸡粪有机肥能显著增加冷浸田的水稻产量，而配施猪粪的增产作用不明显。

2) 三种有机无机肥配施均能够显著增强冷浸田土壤的硝化势和反硝化势；但是，不同种类的有机无机肥对冷浸田土壤的养分含量影响不同，长期配施牛粪和鸡粪有机肥显著提高了土壤 pH、有机碳、全氮和铵态氮含量，而配施猪粪对土壤有机碳、全氮、速效磷和亚硝态氮含量有显著的增加作用。

3) 相关性分析表明，土壤有机碳和全氮含量是 AOA、AOB、*nirK* 和 *nirS* 型反硝化细菌的重要环境影响因子，有机无机肥配施能够显著提高这些细菌的基因丰度，且以配施鸡粪效果最佳。

参 考 文 献:

[1] 王亚男, 曾希柏, 王玉忠, 等. 施肥模式对设施菜地根际土壤微生物群落结构和丰度的影响[J]. 生态学杂志, 2015, 34(3): 826–834.
Wang Y N, Zeng X B, Wang Y Z, *et al*. Effects of different fertilization regimes on community structure and abundance of soil microorganisms in greenhouse vegetable rhizosphere soils[J]. Chinese Journal of Ecology 2015, 34(3): 826–834.

[2] Shen J P, Zhang L M, Di H J, *et al*. A review of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in Chinese soils[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 1–7.

[3] 贺纪正, 张丽梅. 土壤氮素转化的关键微生物过程及机制[J]. 微生物学通报, 2013, (1): 98–108.
He J Z, Zhang L M. Key processes and microbial mechanisms of soil nitrogen transformation[J]. Microbiology China, 2013, (1): 98–108.

[4] Wang J, Wang W D, Gu J D. Community structure and abundance of ammonia-oxidizing archaea and bacteria after conversion from soybean to rice paddy in albic soils of Northeast China[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98: 2765–2778.

[5] 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.
Hou H J, Qin H L, Chen C L, *et al*. Research progress of the molecular ecology on microbiological processes in soil nitrogen cycling[J]. Research of Agricultural Modernization, 2014, 35(5): 588–594.

[6] 唐海明, 肖小平, 孙继民, 等. 种植不同冬季作物对稻田甲烷、氧化亚氮排放和土壤微生物的影响[J]. 生态环境学报, 2014, 23(5): 736–742.
Tang H M, Xiao X P, Sun J M, *et al*. Effects of different winter covering crops cultivation on methane and nitrous oxide emission fluxes and soil microorganism in double-cropping paddy field[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2014, 23(5): 736–742.

[7] 万水霞, 朱宏斌, 唐杉, 等. 紫云英与化肥配施对安徽沿江双季稻区土壤生物学特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(2): 387–395.
Wan S X, Zhu H B, Tang S, *et al*. Effects of *Astragalus sinicus* manure and fertilizer combined application on biological properties of soil in Anhui double cropping rice areas along the Yangtze River [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2015, 21(2): 387–395.

[8] 裴雪霞, 周卫, 梁国庆, 等. 长期施肥对黄棕壤性水稻土氨氧化细菌多样性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(3): 724–730.
Pei X X, Zhou W, Liang G Q, *et al*. Effects of long-term fertilization on ammonium oxidizing bacterial diversity in a paddy soil derived from yellow-brown earth [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2011, 17(3): 724–730.

[9] Gubry-Rangin C, Nicol G W, Prosser J I. Archaea rather than bacteria control nitrification in two agricultural acidic soils[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 74: 566–574.

[10] Chen X, Zhu Y, Xia Y, *et al*. Ammonia-oxidizing archaea: important players in paddy rhizosphere soil?[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(8): 1978–1987.

[11] Ying J Y, Zhang L M, He J Z. Putative ammonia-oxidizing bacteria and archaea in an acidic red soil with different land utilization patterns[J]. Environmental Microbiology Reports, 2010, 2(2): 304–312.

[12] 贺纪正, 沈菊培, 张丽梅. 土壤硝化作用的新机理–氨氧化古菌在酸性土壤氨氧化中的主导作用[J]. 科学观察, 2012, 7(6): 58–60.
He J Z, Shen J P, Zhang L M. New theory for the nitrification: Ammonia-oxidizing archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils[J]. Science Focus, 2012, 7(6): 58–60.

[13] Ai C, Liang G Q, Sun J W, *et al*. Different roles of rhizosphere effect and long-term fertilization in the activity and community structure of ammonia oxidizer in a calcareous fluvo-aquic soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 57: 30–42.

[14] Chen Z, Luo X, Hu R G, *et al*. Impact of long-term fertilization on the composition of denitrifier communities based on nitrite reductase analyses in a paddy soil [J]. Microbial Ecology, 2010, 60: 850–861.

[15] 林增泉, 徐朋, 彭加桂, 等. 冷浸田类型与改良研究[J]. 土壤学报, 1986, 23(2): 157–162.
Lin Z Q, Xu P, Peng J G, *et al*. Study on the types and amelioration of cold spring paddy soils[J]. Acta Pedologica Sinica. 1986, 23(2): 157–162.

[16] 吴新德, 戴延寿. 安徽池州地区冷浸田的综合改良[J]. 土壤, 1996, (2): 62–63.
Wu X D, Dai Y S. Comprehensive improvement of cold water paddy field in Anhui Chizhou area[J]. Soils, 1996, (2): 62–63.

[17] Wong J W C, Li G X, Wong M H. The growth of Brassica chinensis in heavy-metal-contaminated sewage sludge compost from Hong Kong[J]. Bioresource Technology, 1996, 58: 309–313.

[18] 罗佳, 蒋小芳, 孟琳, 等. 不同堆肥原料的有机无机复合肥对油菜生长及土壤供氮特性的影响[J]. 土壤学报, 2010, 47(1): 97–106.
Luo J, Jiang X F, Meng L, *et al*. Effects of chemical fertilizer and different composts on growth of oilseed rape and soil nitrogen supply[J]. Acta Pedologica Sinica, 2010, 47(1): 97–106.

[19] 刘若萱, 贺纪正, 张丽梅. 稻田土壤不同水分条件下硝化/反硝化作用及其功能微生物的变化特征[J]. 环境科学, 2014, 35(11): 4275–4283.
Liu R X, He J Z, Zhang L M. Response of nitrification/denitrification and their associated microbes to soil moisture change in paddy soil [J]. Environmental Science, 2014, 35(11): 4275–4283.

[20] Shu Y Y. Effect of application of different types of organic composts on rice growth under laboratory conditions[J]. Soil Science & Plant Nutrition, 2005, 51(3): 443–449.

[21] Chung R S, Wang F N. Effect of different composts on the growth and nitrogen composition of Chinese mustard in an acid red soil[J]. Communication in Soil Science and Plant Analysis, 2000, 31: 1209–1224.

[22] Wang Y, Zhu G B, Song L Y, *et al*. Manure fertilization alters the population of ammonia-oxidizing bacteria rather than ammonia-oxidizing archaea in a paddy soil[J]. Journal of Basic Microbiology, 2014, 54(3): 190–197.

[23] Shen W S, Xu T T, Liu J J, *et al*. Long-term application of organic manure changes abundance and composition of ammonia-oxidizing archaea in an acidic red soil[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2015, 61(1): 1–9.

[24] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社,

2000.
Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.

[25] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
Guan S Y. Soil enzyme and its methodology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1986.

[26] 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(9): 2364–2374.

[27] Guo G X, Deng H, Qiao M, *et al*. Effect of pyrene on denitrification activity and abundance and composition of denitrifying community in an agricultural soil[J]. Environmental Pollution, 2011, 159 (7): 1886–1895.

[28] Kemnitz D, Kolb S, Conrad R. High abundance of Crenarchaeota in a temperate acidic forest soil[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2007, 60(3): 442–448.

[29] Chalhoub M, Coquet Y, Vachier P. Water and bromide dynamics in a soil amended with different urban composts[J]. Vadose Zone Journal, 2012, 12: 1–11.

[30] Han X R, Zheng G D, Liu X Y, *et al*. Dynamics, sources and supply charecteristic of microbial biomass nitrogen in soil applied with manure and fertilizer[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40: 765–772.

[31] Kandeler E, Deiglmayr K, Tscherko D, *et al*. Abundance of *narG*, *nirS*, *nirK*, and *nosZ* genes of denitrifying bacteria during primary successions of a glacier foreland[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72: 5957–5962.

[32] Ros M, Pascual J A, Garcia C, *et al*. Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different composts [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2006, 38: 3443–3452.

[33] Wallenstein M D, Vilgalys R J. Quantitative analyses of nitrogen cycling genes in soils[J]. Pedobiologia, 2005, 49: 665–672.

[34] Naramabuye F X, Haynes R J. The liming effect of five organic manures when incubated with an acid soil [J]. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 2007, 170: 615–622.

[35] 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 C H, Jia Z J, Tang L S, *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.

[36] 柴娟娟, 廖敏, 徐培智, 等. 我国主要低产水稻冷浸田养分障碍因子特征分析[J]. 水土保持学报, 2012, 26(2): 284–288.
Chai J J, Liao M, Xu P Z, *et al*. Feature analysis on nutrient′s restrictive factors of major low productive waterlogged paddy soil in China[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2012, 26(2): 284–288.

[37] 柴娟娟, 廖敏, 徐培智, 等. 我国主要低产水稻冷浸田土壤微生物特征分析[J]. 水土保持学报, 2013, 27(2): 247–257.
Chai J J, Liao M, Xu P Z, *et al*. Feature analysis on microorganism of major low productive waterlogged paddy soil in China[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2013, 27(2): 247–257.

[38] 朱海平, 姚槐应, 张勇勇, 等. 不同培肥管理措施对微生物生态特征的影响[J]. 土壤通报, 2003, 34(2): 140–142.
Zhu H P, Yao H Y, Zhang Y Y, *et al*. Effect of fertilizer system on soil microbial ecology[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2003, 34(2): 140–142.

[39] Dadhich S K, Pandey A K, Prasanna R, *et al*. Optimizing crop residue-based composts for enhancing soil fertility and crop yield of rice[J]. Indian Journal of Agricultural Sciences, 2012, 82: 85–88.

[40] 廖宗文, 刘可星, 毛小云. 高端有机碳营养: 腐植酸优势定位的新高度[J]. 腐植酸, 2014, (5): 63–65.
Liao Z W, Liu K X, Mao X Y. High level organic carbon nutrient: a new level of humic acid’s advantage position[J]. Humic Acid, 2014, (5): 63–65.