

引文格式: 丁凤磊, 张乐, 余磊, 等. 不同基因型玉米品种氮积累与根区土壤氮转化过程差异研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(6): 1004–1013. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202111072

不同基因型玉米品种氮积累与根区土壤 氮转化过程差异研究*

丁凤磊¹, 张乐¹, 余磊¹, 王鹤娟², 张丽丽¹,
李笑笑^{1**}, 宋贺¹, 董召荣¹

(1. 安徽农业大学 农学院, 合肥 230036; 2. 合肥丰乐种业股份有限公司, 合肥 230088)

摘要:【目的】明确影响玉米氮利用的关键过程和主导因素, 为提高玉米植株氮肥利用效率和选育高氮吸收效率玉米品种提供科学依据。【方法】以伟科 702 (WK702)、隆平 206 (LP206)、农华 101 (NH101) 和先玉 335 (XY335) 4 个玉米品种为材料, 设置 0 (CK) 和 220 kg/hm² (N) 2 个氮素水平, 在人工气候室条件下研究不同玉米品种氮素积累和根区土壤氮素转化过程差异。【结果】WK702 和 LP206 地上部氮素积累量在不同氮肥施用水平下均高于 NH101 和 XY335。CK 处理下, WK702 和 LP206 根区土壤硝化势和反硝化能力均低于 NH101 和 XY335; WK702 和 LP206 根区土壤中氨氧化细菌和氨氧化古菌丰度显著低于 NH101; *nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 基因丰度均为 NH101 和 XY335 高于 WK702 和 LP206; 土壤 pH 和 NO₃⁻-N 含量是影响硝化和反硝化基因丰度的主导因子。施氮处理下, WK702 和 LP206 根区土壤反硝化作用也低于 NH101 和 XY335, 但硝化作用没有差异; WK702、LP206 和 NH101 根区土壤 *nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 基因丰度均显著低于 XY335。【结论】WK702 和 LP206 根区土壤硝化和反硝化作用损失的氮素少是其地上部氮素积累量高的主因。在高氮吸收效率玉米选育过程中, 应关注低氮条件下的土壤反硝化损失。

关键词: 玉米; 根区土壤; 硝化; 反硝化; 氮素积累

中图分类号: S513.062

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2022) 06-1004-10

Differences in Nitrogen Accumulation and Root Zone Soil Nitrogen Transformation in Different Maize Genotypes

DING Fenglei¹, ZHANG Le¹, YU Lei¹, WANG Hejuan², ZHANG Lili¹,
LI Xiaoxiao¹, SONG He¹, DONG Zhaorong¹

(1. College of Agronomy, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China;

2. Fengle Seed Limited Company, Hefei 230088, China)

Abstract: [Purpose] To clarify the key processes and leading factors affecting maize nitrogen utilization, providing a basis for improving nitrogen use efficiency and breeding of maize varieties with high nitrogen uptake efficiency. [Methods] Four main maize varieties, Weike702 (WK702), Long-

收稿日期: 2021-11-29

修回日期: 2022-10-07

网络首发日期: 2022-11-21

*基金项目: 安徽农业大学人才科研资助项目 (rc312104); 安徽农业大学校长基金项目 (K2131001); 安徽省高等学校自然科学研究重点项目 (KJ2019A0177); 安徽省自然科学基金项目 (2108085QC112); 大学生创新创业训练计划项目 (202010364050)。

作者简介: 丁凤磊 (1998—), 男, 山东青岛人, 在读硕士研究生, 主要从事中低产耕地氮素循环与产量品质提升研究。E-mail: df19980326@163.com

**通信作者 Corresponding author: 李笑笑 (1990—), 女, 江苏沛县人, 博士, 讲师, 主要从事耕作与农业生态系统研究。E-mail: xxli@ahau.edu.cn

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.s.20221118.1632.003.html>



ping206 (LP206), Nonghua101 (NH101) and Xianyu335 (XY335) were used as materials under artificial climate conditions with two nitrogen levels of 0 (CK) and 220 kg/hm² (N), to clarify the differences of nitrogen accumulation and soil nitrogen transformation of different maize varieties.

[**Results**] At both nitrogen levels, the aboveground nitrogen accumulation of WK702 and LP206 were higher than NH101 and XY335. In CK treatment, nitrification potential and denitrification capacity in the root zone of WK702 and LP206 were lower than those of NH101 and XY335; the abundance in the root zone of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of WK702 and LP206 soil was significantly lower than that of NH101; the abundance of *nirK*, *nirS* and *nosZ* genes were higher in NH101 and XY335 than in WK702 and LP206; the nitrification and denitrification gene abundance were mainly influenced by soil pH and NO₃⁻-N content. In the nitrogen treatment, the soil denitrification in the root zone of WK702 and LP206 was also lower than that of NH101 and XY335, but there was no difference in nitrification; the gene abundance of *nirK*, *nirS* and *nosZ* in the root zone of WK702, LP206 and NH101 were significantly lower than that of XY335.

[**Conclusion**] The high aboveground nitrogen accumulation in WK702 and LP206 depends on the low loss of nitrogen by the root zone soil nitrification and denitrification. In the future, more attentions should focus on the nitrification and denitrification losses of nitrogen under low nitrogen conditions for breeding maize with high nitrogen uptake efficiency.

Keywords: maize; root zone soil; nitrification; denitrification; nitrogen accumulation

玉米是中国重要的粮食作物之一, 2020 年中国玉米总产量达到 2.61 亿 t, 居于三大粮食首位^[1-2]。氮素是玉米生长发育所必需的大量元素, 在玉米生长发育和产量形成过程中起至关重要的作用^[3-4]。中国玉米种植的当季氮肥施用量持续增长, 从 20 世纪 70 年代的 90 kg/hm² 增加到 21 世纪初的 240 kg/hm²^[5]。然而, 中国玉米氮肥利用效率仅为 26.1%, 远低于其他国家和地区^[6]。玉米的氮肥利用效率与根系氮素吸收、植株氮素同化和植株氮素积累分配密切相关^[7]。不同玉米品种氮素吸收受根系构型和空间分布影响, 且具有基因型差异^[8-9]。米国华等^[10]认为: 高氮吸收玉米品种的理想根系构型为根系下扎能力强, 分布深, 根系活力强; 王敬锋等^[11]研究发现: 高氮吸收效率玉米品种根系总量和深层根系多于氮低效品种, 并且根系空间分布更合理。此外, 玉米氮吸收能力还受土壤氮素转化的影响, 但目前关于不同玉米品种根区氮素转化差异的研究较少。深入研究不同玉米品种根区土壤氮素转化差异, 明确关键影响因素, 对提高玉米氮肥利用效率以及氮高效玉米品种选育具有重要意义。

土壤氮素转化主要包括硝化过程和反硝化过程^[12]。硝化过程是指 NH₃ 在好氧微生物的作用下

氧化成 NO₂⁻, 接着被氧化为 NO₃⁻ 的过程, 其中第 1 步的氨氧化过程被认为是限速步骤, 由氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB) 和氨氧化古菌 (ammonia-oxidizing archaea, AOA) 共同驱动^[13-14]。前人研究表明: 不同玉米品种硝化过程存在一定差异^[15]。SARR 等^[16]研究发现: 植株会通过影响 AOA 和 AOB 的丰度来影响硝化过程。硝化过程不仅受品种和氨氧化微生物的影响, 还受土壤 pH^[17]、速效氮^[18]、有机质^[19]和温度^[20]等土壤理化性质的影响。反硝化过程是指在厌氧条件下微生物将硝酸盐或亚硝酸盐还原成 N₂O、NO 和 N₂ 的过程, 其中第 2 步 NO₂⁻ 还原成 NO 是首次将土壤中离子态氮转化成气态氮, 该过程由 *nirS* 和 *nirK* 基因编码的亚硝酸盐还原酶催化, 是反硝化过程的限速步骤^[21]; 第 4 步 N₂O 还原为 N₂ 的过程由 *nosZ* 基因编码的氧化亚氮还原酶催化完成。这两步是土壤氮素损失的主要过程, 也是目前人们关注的重点^[22]。不同玉米品种之间反硝化过程也存在一定差异。前人研究表明: 氮低效玉米品种 T250 根际土壤 *norB/C* 和 *nosZ* 反硝化基因表达量高于氮高效玉米品种 LO5^[15]。尽管前人比较了不同玉米品种硝化或反硝化过程之间的差异, 但由于硝化和反硝化之间相互影响, 需要综

合研究才能更全面地理解玉米品种氮素转化过程,然而,目前鲜有结合 2 个过程的综合研究。

玉米的氮素转化还受土壤供氮量的影响,在不同含氮量下玉米对氮的需求存在一定差异,因此会反向影响土壤氮素转化。本研究设置了传统施氮处理和不施氮处理,比较不同玉米品种之间硝化和反硝化能力的差异,分析 AOA 和 AOB 以及 *nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 型反硝化微生物的丰度差异,结合玉米氮素积累的分析,明确影响玉米氮利用的关键过程和主导因素,以期阐明不同玉米品种氮素转化差异特点、提高玉米氮肥利用效率和氮高效玉米品种选育提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地点

试验于 2018 年 5—7 月在安徽农业大学生物科技楼人工气候室进行。试验用土壤取自安徽农业大学农翠园(N32°52', E117°14'),土壤类型为黄褐土,基础理化性质为:全氮含量 1.26 g/kg,全磷含量 0.48 g/kg,全钾含量 17.97 g/kg,有机质含量 19.43 g/kg,有效磷含量 11.41 g/kg,速效钾含量 184.61 mg/kg, pH 值为 7.37。

1.2 试验设计与样品采集

在前期 14 个玉米品种筛选试验的基础上,选取了具有代表性的 4 个不同基因型玉米品种作为试验材料,分别是:伟科 702、隆平 206、农华 101 和先玉 335。试验设置 2 个氮素水平:0 (CK) 和 220 kg/hm² (N),每个处理 3 次重复。根箱由 PVC 管制成(直径 16 cm,高 30 cm,单边封口),中间用 20 μm 尼龙网分成 3 个隔室以确保根系无法穿过,中间隔层土壤为根区土壤。磷肥(P₂O₅)和钾肥(K₂O)施用量分别为 44.58 和 46.88 mg/kg。氮、磷和钾肥分别选用尿素、过磷酸钙和氯化钾。肥料与土壤掺混均匀后放入根箱内,在中间隔室播种 2 粒玉米种子,到三叶期进行间苗,每个根箱保留 1 株玉米苗。人工气候室设置为:白天温度 30 ℃,持续 16 h;夜间温度 20 ℃,持续 8 h;相对湿度为 70%。

在玉米生长第 20 天,对根箱进行破坏性取样。将玉米植株地上部分从根箱中取出,置于烘箱中 105 ℃ 杀青 30 min,85 ℃ 烘干至恒质量,称量并记录植株干质量。植株样品粉碎过筛,用元素分析仪(Elementar Vario Micro Cube,德

国)测定全氮含量。从中间隔层中取出土壤,去除玉米根系后过 2 mm 筛。将土壤分为两部分储藏,一部分放在-80 ℃ 保存,用于硝化和反硝化功能基因丰度测定;另一部分土壤样品放入 4 ℃ 冰箱保存,用于室内培养试验和土壤理化性质测定。

1.3 土壤理化性质测定

土壤 pH 值由 pH 计(ST3100, 中国)测定,水土体积比为 2.5 : 1.0;称取鲜土 10 g,加入 1 mol/L KCl 溶液 50 mL,振荡浸提 30 min,过滤后使用化学分析仪(Cleverchem380plus, 德国)测定土壤硝态氮(NO₃⁻-N)和铵态氮(NH₄⁺-N)含量;称取鲜土 10 g,用 0.5 mol/L K₂SO₄ 溶液振荡浸提 30 min,过滤后采用有机碳分析仪(Aanalytik Jena, 德国)测定土壤可溶性有机碳(DOC)。

1.4 硝化势测定

采用悬浮液培养法^[23]。称取鲜土 5 g 置于培养瓶中,加入硝化培养液(含 1.5 mmol/L NH₄⁺-N、0.3 mmol/L KH₂PO₄ 和 0.3 mmol/L K₂HPO₄) 50 mL,在恒温振荡器(30 ℃, 180 r/min)中振荡培养 48 h,分别在培养后 6、12、24、36 和 48 h 取样,共取样 5 次。取样前摇匀,每次吸取混合液 4 mL 离心后取上清液,用化学分析仪测定 NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 的含量。硝化势用单位时间内 NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 的产生量表示。

1.5 反硝化能力测定

参照 ŠIMEK 等^[24]的标准方法。称取 2 份相当于 10 g 干土的鲜土置于培养瓶中,再均匀加入 42.9 mmol/L KNO₃ 培养液 5 mL,加铝盖密封;用真空泵抽真空,再用氦气反复冲洗 3 次。一组向瓶中加入乙炔 10 mL,其 N₂O 气体变化率为反硝化能力,代表单位时间内反硝化总量(N₂O+N₂)的产生率;另一组不作处理,N₂O 气体变化率代表反硝化过程 N₂O 排放率。平衡大气压后,将培养瓶置于恒温培养箱静置培养 48 h,期间,分别在 24 和 48 h 时用注射器收集气体 5 mL,取样后加入等量氦气平衡大气压。采用气相色谱仪(Agilent 7890A, 美国)测定 N₂O 含量。

1.6 土壤微生物总 DNA 提取和功能基因荧光定量分析

称取土样 0.5 g,使用土壤 DNA 提取试剂盒(Fast DNA Spin Kit For Soil, 美国)提取土壤微生物总 DNA,提取总量约为 80 μL。AOB 和 AOA

功能基因 *amoA* 的丰度采用实时荧光定量 PCR 系统 (StrataGene Mx3005P, 美国) 测定, 扩增引物分别选择 *amoA1F/amoA2R* 和 *Arch-amoAF/Arch-amoAR*; 反硝化菌功能基因 *nirK*、*nirS*和 *nosZ* 的扩增引物分别选择 *nirK1F/nirK5R*、*nirScd3aF/nir-SR3cd* 和 *nosZ1F/nosZ1R*。质粒和标准曲线的制作按照王晓辉^[25]的方法。

1.7 数据统计与分析

数据采用 SPSS 23 进行方差分析和相关性分析; 采用 Heml 1.0 软件制作热图; 使用 Canoco for Windows 软件 (版本 4.5) 进行冗余分析; 采用 Microsoft Excel 2019 作图。

2 结果与分析

2.1 不同品种玉米根区土壤理化性质差异

由表 1 可知: CK 处理下, WK702 和 LP206 根区土壤 pH 值显著低于 NH101 和 XY335, XY-335 根区土壤硝态氮 ($\text{NO}_3\text{-N}$) 含量为 30.40 mg/kg, 显著高于 WK702 和 LP206; 施氮处理下, 不同品种玉米根区土壤 pH 值无显著差异, WK702 根区土壤中 $\text{NO}_3\text{-N}$ 含量最低, 而 NH101 最高; CK 和施氮处理下, 不同品种玉米根区土壤可溶性有机碳含量均无显著差异, 但铵态氮含量均呈 LP-206<WK702<XY335<NH101 的规律, 且 4 个品种间的差异达到显著水平。

表 1 不同玉米品种根区土壤理化性质差异

Tab. 1 Differences in soil physical and chemical properties in root zone of different maize varieties					
处理 treatments	品种 varieties	pH	硝态氮/(mg·kg ⁻¹) NO ₃ ⁻ -N	铵态氮/(mg·kg ⁻¹) NH ₄ ⁺ -N	可溶性有机碳/(mg·kg ⁻¹) dissolved organic carbon
CK	WK702	6.54±0.12 b	24.76±1.22 b	2.03±0.06 c	53.17±2.30 a
	LP206	6.53±0.04 b	19.59±1.09 c	1.68±0.03 d	58.36±2.06 a
	NH101	6.87±0.11 a	26.72±0.79 ab	2.77±0.01 a	55.50±2.63 a
	XY335	6.98±0.01 a	30.40±1.43 a	2.27±0.04 b	57.81±2.15 a
N	WK702	5.22±0.15 a	114.90±3.27 b	3.00±0.01 c	74.99±2.56 a
	LP206	5.45±0.18 a	136.62±6.71 ab	2.57±0.08 d	77.57±3.04 a
	NH101	5.57±0.11 a	145.23±9.28 a	4.09±0.15 a	69.19±3.79 a
	XY335	5.59±0.12 a	138.33±9.82 ab	3.70±0.11 b	72.81±1.09 a

注: CK. 对照, N. 施氮处理; 不同小写字母表示不同品种间差异在 0.05 水平上显著。
Note: CK. control, N. nitrogen application treatment; different lowercase letters indicate significant differences among varieties at 0.05 level.

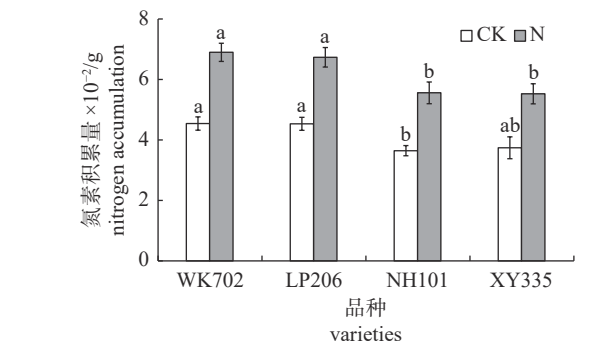
2.2 不同品种玉米地上部氮素积累量差异

由图 1 可知: CK 处理下, WK702 和 LP206 地上部氮素积累量分别比 NH101 高 24.6% 和

24.4% ($P<0.05$), 分别比 XY335 高 21.4% 和 21.2% ($P>0.05$); 施氮处理下, WK702 和 LP206 地上部氮素积累量均显著高于 NH101 和 XY335。

2.3 不同品种玉米根区土壤硝化势及氨氧化细菌和古菌丰度差异

由图 2 可知: CK 处理下, WK702 和 LP206



注: CK. 对照, N. 施氮处理; 不同小写字母表示不同品种间差异在 0.05 水平上显著; 下同。
Note: CK. control, N. nitrogen application treatment; different lowercase letters indicate significant differences among varieties at 0.05 level; the same as below.

图 1 不同品种玉米地上部氮素积累量差异
Fig. 1 Differences in aboveground nitrogen accumulation of different maize varieties

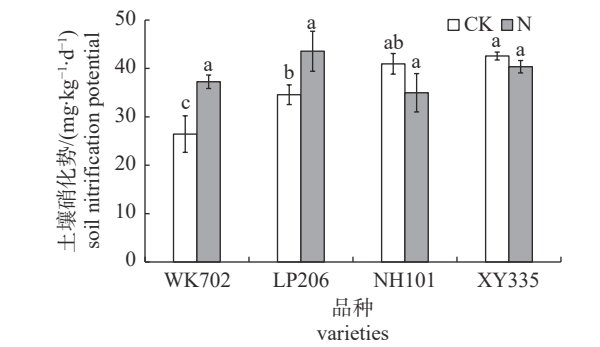


图 2 不同品种玉米根区土壤硝化势差异
Fig. 2 Difference of soil nitrification potential in root zone of different maize varieties

根区土壤硝化势均显著低于 XY335, 且分别较 NH101 低 35.5% 和 15.6%; 施氮处理下, 不同品种玉米根区土壤硝化势无显著差异。

由图 3 可知: CK 处理下, WK702、LP206 和 XY335 根区土壤 AOA-*amoA* 拷贝数显著低于 NH101, 而 WK702、LP206 和 XY335 之间无显著差异; WK702 和 LP206 根区土壤中 AOB-*amoA*

拷贝数显著低于 NH101, XY335 根区土壤 AOB-*amoA* 拷贝数分别是 WK702、LP206 和 NH101 的 2.4 倍、2.5 倍和 1.5 倍; 施氮处理下, XY335 和 WK702 根区土壤 AOA-*amoA* 拷贝数显著高于 LP206 和 NH101, 4 个品种的 AOB-*amoA* 拷贝数大小依次为 XY335>LP206>NH101>WK702, 且差异达到显著水平。

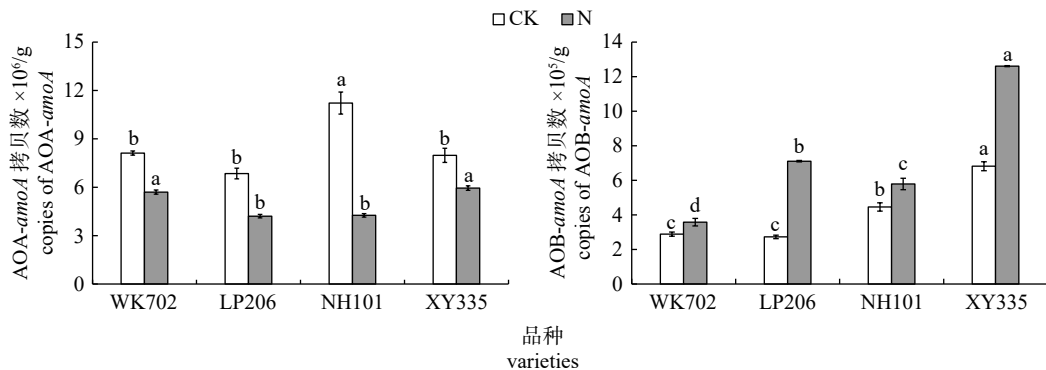


图 3 不同品种玉米根区土壤氨氧化古菌 (AOA) 和氨氧化细菌 (AOB) 丰度差异

Fig. 3 Differences in the abundance of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) in root zone of different maize varieties

2.4 不同玉米品种根区土壤反硝化能力和反硝化菌群丰度差异

由图 4 可知: CK 处理下, WK702 根区土壤反硝化能力显著低于 NH101 和 XY335, 且 LP206 分别比 NH101 和 XY335 低 17.8% 和 19.5%; 施氮处理下, WK702 和 LP206 根区土壤反硝化能力均显著低于 NH101, 且分别比 XY335 低 24.1% 和 29.5%。

由图 5 可知: CK 处理下, *nirS* 基因拷贝数大小依次为 WK702<LP206<NH101<XY335, 且 4 个品种间差异达显著水平; WK702、LP206 和 NH101 根区土壤中 *nirK* 基因拷贝数均显著低于

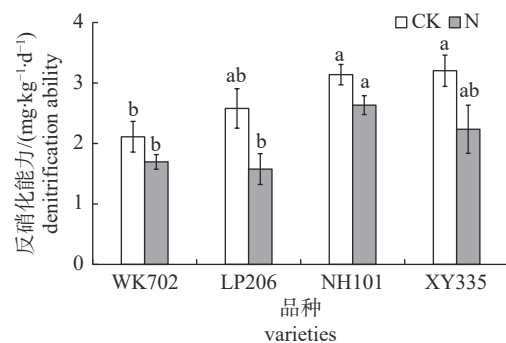


图 4 不同玉米品种根区土壤反硝化能力差异

Fig. 4 Difference of soil denitrification ability in root zone of different maize varieties

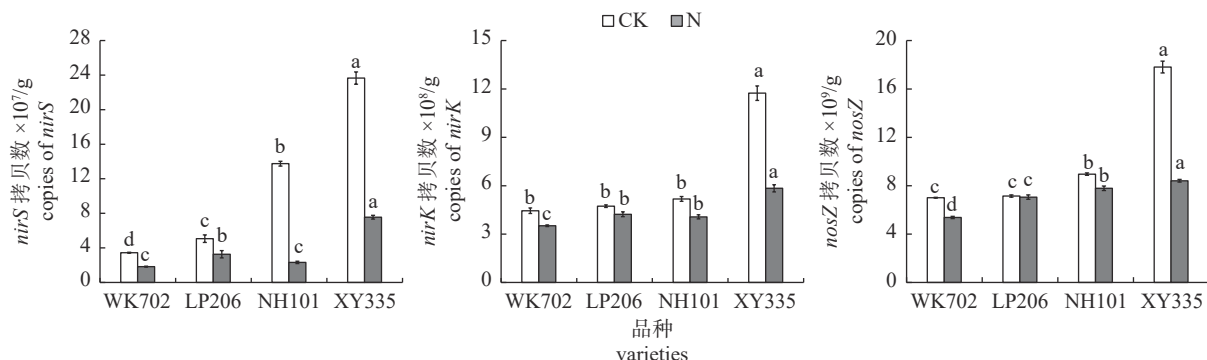


图 5 不同品种玉米根区土壤 *nirS*、*nirK* 和 *nosZ* 丰度差异

Fig. 5 Differences in the abundance of *nirS*, *nirK* and *nosZ* in the root zone of different maize varieties

XY335; WK702 和 LP206 根区土壤中 *nosZ* 基因拷贝数均显著低于 NH101, 且 XY335 比 NH101 高 2 倍; 施氮处理下, WK702 和 NH101 根区土壤中 *nirS* 基因拷贝数显著低于 LP206, 且 LP206 显著低于 XY335; WK702 根区土壤 *nirK* 基因拷贝数显著低于其他 3 个玉米品种, LP206 和 NH101 显著低于 XY335; *nosZ* 基因拷贝数大小依次为 WK702<LP206<NH101<XY335 的趋势, 且 4 个品种间差异达到显著水平。

2.5 不同玉米品种根区土壤氨氧化微生物热度分析

由图 6a 可知: 不施氮条件下, AOA 的 OTU1、OTU2 和 OTU17 在 WK702、LP206、NH101 和 XY335 的根区土壤中占优势地位, 占比分别达到 64.6%、65.8%、66.1% 和 64.6%; WK702

和 LP206 根区土壤中 OTU11 和 OTU19 的丰度高于 NH101 和 XY335; NH101 根区土壤中 OTU4、OTU2 和 OTU13 菌群占优; XY335 根区土壤中 OTU12 和 OTU14 丰度低于其他 3 个品种。由图 6b 可知: WK702、LP206、NH101 和 XY335 根区土壤中均以 OTU1 为优势菌群, 分别占总 OUT 丰度的 65.7%、72.9%、67.8% 和 64.1%; WK702 根区土壤中 OTU6、OTU14、OTU16、OTU21、OTU22 和 OTU24 菌群占优势地位; LP206 根区土壤中 OTU4、OTU6、OTU10、OTU16、OTU19 和 OTU25 的丰度低于其他 3 个品种; NH101 根区土壤中 OTU25 和 OTU23 菌群占优势; NH101 和 XY335 的 OTU3、OTU9、OTU15 和 OTU17 菌群丰度高于 WK702 和 LP206。

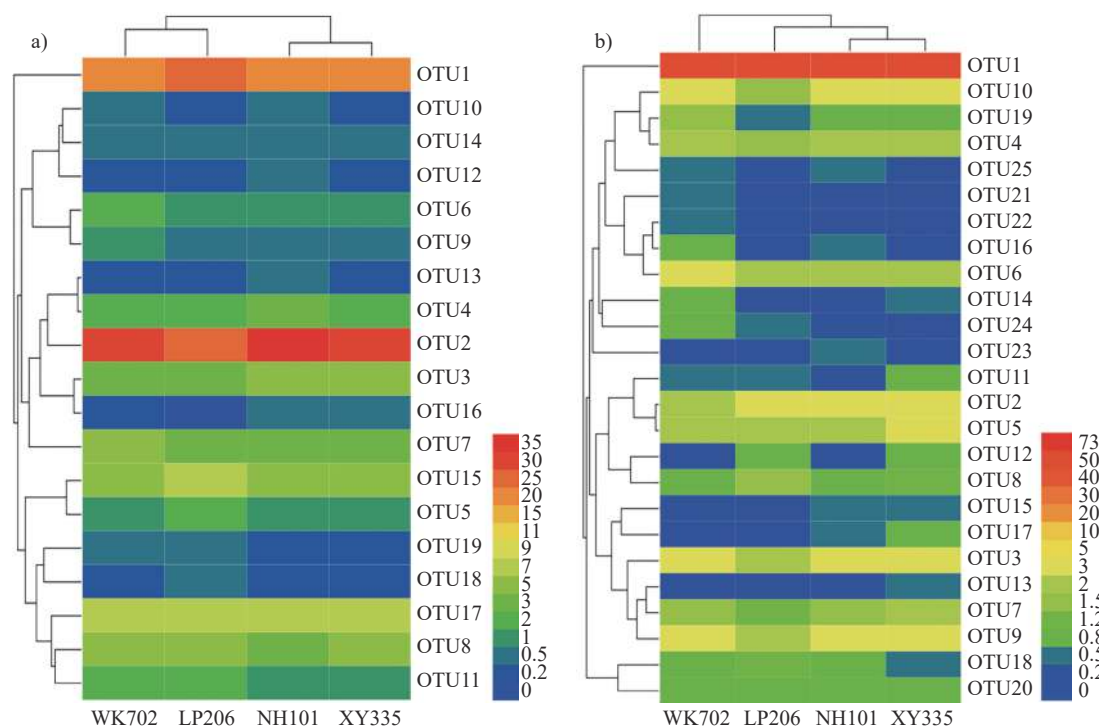


图 6 CK 处理不同品种玉米根区土壤 AOA (a) 和 AOB (b) 热图

Fig. 6 Heat map of soil AOA (a) and AOB (b) in the root zone of different maize varieties treated with CK

2.6 不同品种玉米根区土壤 AOA 和 AOB 群落与环境因子冗余分析

由图 7 可知: 对 AOA 而言, 二维分析解释了 36.2% 的群落环境关系累积方差, AOA 群落结构与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量极显著负相关 ($P<0.01$)、与 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量显著负相关 ($P<0.05$); 对 AOB 而言, 二维分析解释了 32.9% 的群落环境关系累积方

差, AOB 群落结构与根区土壤 pH 值呈显著正相关 ($P<0.05$)。LP206、NH101 和 XY335 的 AOA 和 AOB 群落结构存在显著差异。

2.7 不同品种玉米各因子间相关性分析

CK 处理下, 不同品种玉米地上部氮素积累量与根区土壤硝化势 ($r=-0.608$) 和反硝化能力 ($r=-0.658$) 呈显著负相关 ($P<0.05$); 土壤硝化势

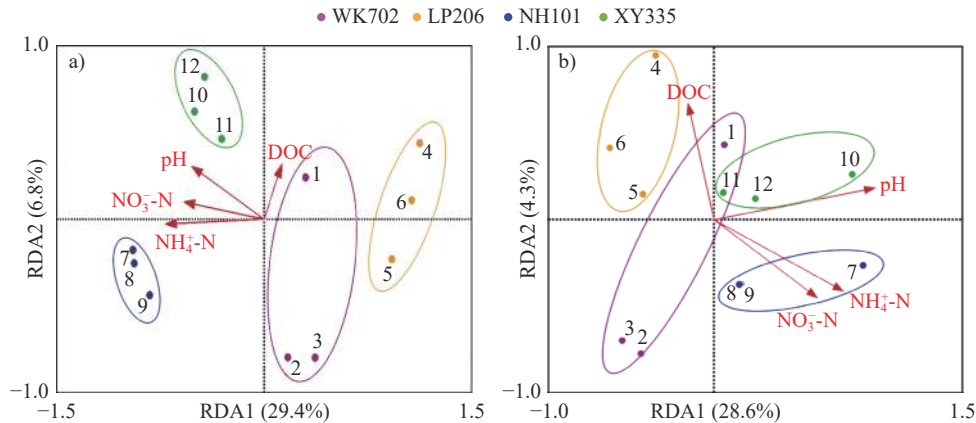


图 7 CK 处理不同品种玉米根区土壤 AOA (a) 和 AOB (b) 群落与环境因子的冗余分析

Fig. 7 Redundancy analysis of soil AOA (a) and AOB (b) community and environmental factors in the root zone of different maize varieties treated with CK

与 AOB-*amoA* 基因拷贝数 ($r=0.723$, $P<0.01$) 呈极显著正相关, 反硝化作用与 *nirS* 基因拷贝数 ($r=0.689$, $P<0.05$) 呈显著正相关; 根区土壤 pH 与 AOB-*amoA* ($r=0.837$) 和 *nirS* 基因拷贝数 ($r=0.816$) 呈极显著正相关 ($P<0.01$), 与 *nirK* ($r=0.673$) 和 *nosZ* 基因拷贝数 ($r=0.701$) 呈显著正相关 ($P<0.05$); NO_3^- -N 含量与 AOB-*amoA* ($r=0.789$)、*nirS* ($r=0.772$) 和 *nosZ* 基因拷贝数 ($r=0.740$) 呈极显著正相关 ($P<0.01$), 与 *nirK* 基因拷贝数 ($r=0.678$, $P<0.05$) 呈显著正相关; NH_4^+ -N 含量与 AOA-*amoA* 基因拷贝数 ($r=0.901$, $P<0.01$) 呈极显著正相关。

施氮处理下, 不同品种玉米地上部氮素积累量与土壤反硝化能力 ($r=-0.734$) 和 *nosZ* 基因拷贝数 ($r=-0.726$) 呈极显著负相关 ($P<0.01$); *nosZ* 基因拷贝数与土壤 pH ($r=0.665$)、 NO_3^- -N ($r=0.630$) 和 NH_4^+ -N 含量 ($r=0.612$) 呈显著正相关 ($P<0.05$); NH_4^+ -N 含量与反硝化能力 ($r=0.676$, $P<0.05$) 呈显著正相关。

3 讨论

3.1 不同品种玉米的氮素积累能力差异

前人研究发现: 不同基因型玉米的氮素吸收速率和氮素吸收能力存在一定差异^[26-27], 而玉米植株在一定时期氮素的积累量从某种意义上反映了玉米的氮素吸收率和吸收能力。本研究中, 无论是否施氮, WK702 和 LP206 地上部氮素积累量均高于 NH101 和 XY335, 说明 WK702 和 LP206 的氮素吸收效率高于 NH101 和 XY335。玉米的氮素积累量反映了植株对氮素的吸收和同化能

力^[28], 此外, 有研究指出: 硝化和反硝化会显著影响玉米根系对氮素的吸收^[29]。本研究相关性分析发现: 地上部氮素积累量与根区土壤硝化和反硝化呈显著负相关, 说明不施氮处理下高氮吸收效率品种根区土壤硝化势和反硝化能力低, 土壤氮素损失少, 植株吸收的氮素多, 地上部氮素积累量高; 而在施氮处理下, 地上部氮素积累量仅与根区土壤反硝化能力呈极显著负相关, 推测土壤氮素充足的情况下, 氮素损失主要以反硝化为主。因此, 在高氮吸收效率品种选育过程中需重视根区氮素的反硝化损失。

3.2 不同品种玉米的硝化过程差异

硝化作用是土壤氮素循环的重要组成部分, 与植物生长所需氮的有效性和氮素利用效率密切相关^[30-31]。本研究分析了不同品种玉米在不同氮素水平下的根区土壤硝化过程差异。CK 处理下, WK702 和 LP206 根区土壤硝化势和 AOB 丰度均低于 NH101; 施氮处理下, 4 个玉米品种硝化势无显著差异。AOA 和 AOB 是驱动土壤硝化作用的关键微生物^[32]。前人研究发现: 在许多生态环境下, AOA 数量均高于 AOB^[33-34], AOA 也在农业土壤氨氧化过程中发挥着重要作用^[35]。本研究中, CK 处理各品种根区土壤中 AOA 丰度均高于 AOB, 这与 AOA 适宜在营养贫瘠的低氮环境中生存的特性^[36-37]相符。相关性分析发现: 土壤硝化势仅与 AOB 丰度呈极显著正相关, 而与 AOA 无相关性, 说明 AOB 在硝化过程中的作用更加重要。此外, AOB 丰度与根区土壤 pH 和 NO_3^- -N 含量呈极显著正相关。在低 pH 或低氮环境下,

植物会产生一类抑制硝化作用的物质——生物硝化抑制剂^[38-39],这种物质会通过抑制 AOA 和 AOB 丰度达到减弱硝化作用的目的^[40]。本研究中, WK702 和 LP206 根区土壤 pH 和 NO_3^- -N 含量低于 NH101 和 XY335,可能会诱导玉米根系分泌某种生物硝化抑制剂,抑制 AOB 丰度,这种物质具有减少土壤氮素损失的潜力,是未来研究的方向。不同品种玉米不仅会影响土壤氮循环微生物丰度,还会影响微生物的群落结构^[15]。热图分析发现:CK 处理下各品种玉米 AOB 群落结构差异较大, NH101 和 XY335 的 OTU3、OTU9、OTU15 和 OTU17 菌群丰度高于 WK702 和 LP206,推测这些菌群可能与不同品种的硝化作用差异有关;AOB 的 OUT1 菌群占比最高,该菌群可能也与硝化作用密切相关。冗余分析发现:土壤 pH 是影响 AOB 群落结构的重要因素,而 AOA 群落结构与土壤 NH_4^+ -N 含量密切相关。本研究发现:低氮土壤中, NH_4^+ -N 含量与 AOA 菌群结构呈极显著负相关,而 AOA 的结构反映了其优势种群的相对丰度。本研究显示:低氮环境中, NH_4^+ -N 含量可显著影响 AOA 菌群中某种优势种群的相对丰度,如土壤 NH_4^+ -N 含量从 1.68 mg/kg 上升到 2.77 mg/kg 时, OTU1 相对丰度从 27.5% 降低到 23.4%,与 VERHAMME 等^[41]的研究结果类似。值得注意的是,低氮土壤中 NH_4^+ -N 与 AOA 丰度呈极显著正相关,说明土壤提供了更多的 NH_4^+ -N,为 AOA 的生长提供了更多的能源和底物,促进了 AOA 丰度的提高^[42]。可见,低氮土壤中, NH_4^+ -N 含量会改变 AOA 菌群结构,也会显著提高 AOA 的丰度,进而影响根区土壤氮素的转化。

3.3 不同品种玉米的反硝化过程差异

前人研究发现:不同玉米品种土壤反硝化过程存在显著差异^[43]。本研究 CK 处理中,不同品种玉米根区土壤反硝化能力存在一定差异, WK-702 根区土壤反硝化能力显著低于 NH101 和 XY-335,说明 WK702 通过反硝化损失的土壤氮素较 NH101 和 XY335 少。反硝化作用由反硝化微生物驱动,其丰度变化会对反硝化作用产生一定的影响^[43]。CK 处理下,各品种根区土壤中 *nirS*、*nirK* 和 *nosZ* 基因拷贝数均表现为 WK702<LP206<NH101<XY335,且 *nirS* 基因拷贝数比 *nirK* 和 *nosZ* 基因低 1~2 个数量级。*nirS* 型反硝化菌适宜

生活在有机质和营养元素丰富的环境中^[44],而 CK 处理根区土壤营养贫瘠,这可能是导致 *nirS* 基因拷贝数低的原因。相关性分析显示:根区土壤反硝化能力仅与 *nirS* 基因拷贝数呈显著正相关,说明 *nirS* 型反硝化菌虽然数量少,但在反硝化过程中起着至关重要的作用。前人研究发现:土壤理化性质会显著影响反硝化菌丰度^[45]。本研究发现:pH 和 NO_3^- -N 含量显著影响 *nirS*、*nirK* 和 *nosZ* 基因拷贝数,且不同品种玉米根区土壤 pH 和 NO_3^- -N 含量存在差异,但彭钰洁等^[46]研究表明:在 85% 常规施氮量下,玉米根系分泌物中苹果酸水平显著上升,说明不同品种玉米根区土壤反硝化微生物丰度出现差异可能与根系分泌的有机酸不同有关。 NO_3^- -N 作为反硝化作用的底物,其含量也会对反硝化微生物丰度产生影响。

4 结论

CK 处理下, WK702 和 LP206 地上部氮素积累量高的原因在于硝化和反硝化造成的氮素损失量少;AOB 在硝化过程中发挥重要作用,其丰度变化与根区土壤 pH 和 NO_3^- -N 含量有关;土壤 NH_4^+ -N 含量是影响 AOA 群落结构的重要因素;pH 和 NO_3^- -N 含量差异也是造成土壤 *nirS*、*nirK* 和 *nosZ* 基因拷贝数变化的主导因子。施氮处理下, WK702 和 LP206 反硝化损失的氮素较少是导致其地上部氮素积累量高的主要原因;减少氮素反硝化损失是提高玉米氮素积累的重要途径。在未来选育高氮吸收效率玉米品种时,要注重在低氮条件下筛选。

[参考文献]

- [1] 陈印军,王琦琪,向雁.我国玉米生产地位、优势与自给率分析[J].中国农业资源与区划,2019,40(1):7. DOI: 10.7621/cjarrp.1005-9121.20190102.
- [2] 沈汀兰.我国玉米产业发展与粮食安全[J].农经,2021(5):44. DOI: 10.3969/j.issn.1001-8573.2021.05.00.
- [3] 张磊,孔丽丽,侯云鹏,等.施氮水平对玉米开花后干物质积累、转运及土壤无机氮含量的影响[J].玉米科学,2020,28(4):155. DOI: 10.13597/j.cnki.maize.science.20200423.
- [4] 常菲,郜翻身,红梅,等.施肥措施对河套灌区氮素淋溶和玉米产量的影响[J].生态学杂志,2018,37(10):2951. DOI: 10.13292/j.1000-4890.201810.035.
- [5] 杨小梅,刘树伟,秦艳梅,等.中国玉米化学氮肥利用率的时空变异特征[J].中国生态农业学报,2013,21(10):1184. DOI: 10.3724/SP.J.1011.2013.30248.

- [6] 张福锁, 王激清, 张卫峰, 等. 中国主要粮食作物肥料利用率现状与提高途径[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 915. DOI: [10.3321/j.issn:0564-3929.2008.05.018](#).
- [7] 申丽霞, 王璞. 不同基因型玉米氮素吸收利用效率研究进展[J]. 玉米科学, 2016, 24(1): 50. DOI: [10.13597/j.cnki.maize.science.20160110](#).
- [8] 彭云峰, 张吴平, 李春俭. 不同氮吸收效率玉米品种的根系构型差异比较: 模拟与应用[J]. 中国农业科学, 2009, 42(3): 843. DOI: [10.3864/j.issn.0578-1752.2009.03.011](#).
- [9] CHEN Y L, XIAO C X, WU D L, et al. Effects of nitrogen application rate on grain yield and grain nitrogen concentration in two maize hybrids with contrasting nitrogen remobilization efficiency[J]. European Journal of Agronomy, 2015, 62: 79. DOI: [10.1016/j.eja.2014.09.008](#).
- [10] 米国华, 陈范骏, 吴秋平, 等. 玉米高效吸收氮素的理想根构型[J]. 中国科学C辑: 生命科学, 2010, 40(12): 1112. DOI: [10.1007/s11427-010-4097-y](#).
- [11] 王敬锋, 刘鹏, 赵秉强, 等. 不同基因型玉米根系特性与氮素吸收利用的差异[J]. 中国农业科学, 2011, 44(4): 699. DOI: [10.3864/j.issn.0578-1752.2011.04.006](#).
- [12] DAVIDSON E A, SWANK W T, PERRY T O. Distinguishing between nitrification and denitrification as sources of gaseous nitrogen production in soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1986, 52(6): 1280. DOI: [10.1128/AEM.52.6.1280-1286.1986](#).
- [13] KOWALCHUK G A, STIENSTRA A W. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology[J]. Annual Review of Microbiology, 2001, 55(1): 485. DOI: [10.1146/annurev.micro.55.1.485](#).
- [14] CAVAGNARO T R, JACKSON L E, HRSTOVA, et al. Short-term population dynamics of ammonia oxidizing bacteria in an agricultural soil[J]. Applied Soil Ecology, 2008, 40(1): 13. DOI: [10.1016/j.apsoil.2008.02.006](#).
- [15] SHAMINA I P, TOMAŠ V, LAURA G, et al. Microbial expression profiles in the rhizosphere of two maize lines differing in N use efficiency[J]. Plant and Soil, 2018, 433(1): 401. DOI: [10.1007/s11104-018-3852-x](#).
- [16] SARR P S, ANDO Y, NAKAMURA S, et al. Sorgho-leone release from sorghum roots shapes the composition of nitrifying populations, total bacteria, and archaea and determines the level of nitrification[J]. Biology and Fertility of Soils, 2020, 56(2): 145. DOI: [10.1007/s00374-019-01405-3](#).
- [17] BERGAMASCO M A M, BRAOS L B, LOPES I G, et al. Nitrogen mineralization and nitrification in two soils with different pH levels[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2019, 50(22): 2873. DOI: [10.1080/00103624.2019.1689250](#).
- [18] 郭媛, 李宜联, 郭策, 等. 不同氮素添加对不同土地利用方式黑土氮素转化特征的影响[J]. 水土保持学报, 2021, 35(1): 236. DOI: [10.13870/j.cnki.stbxb.2021.01.034](#).
- [19] PROMMER J, WANEK W, HOFHANSL F, et al. Biochar decelerates soil organic nitrogen cycling but stimulates soil nitrification in a temperate arable field trial[J]. PLoS One, 2014, 9(1): e86388. DOI: [10.1371/journal.pone.0086388](#).
- [20] LIU R, SUTER H, HE J Z, et al. Influence of temperature and moisture on the relative contributions of heterotrophic and autotrophic nitrification to gross nitrification in an acid cropping soil[J]. Journal of Soils and Sediments, 2015, 15(11): 2304. DOI: [10.1007/s11368-015-1170-y](#).
- [21] HENRY S, BAUDOIN E, LOPEZ-GUTIERREZ J C, et al. Quantification of denitrifying bacteria in soils by *nirK* gene targeted real-time PCR[J]. Journal of Microbiological Methods, 2004, 59(3): 327. DOI: [10.1016/j.mimet.2004.07.002](#).
- [22] ZUMFT W G. Cell biology and molecular basis of denitrification[J]. Microbiology & Molecular Biology Reviews, 1997, 61(4): 533. DOI: [10.1016/j.ccr.2004.08.030](#).
- [23] TAYLOR A E, ZEGLIN L H, DOOLEY S, et al. Evidence for different contributions of archaea and bacteria to the ammonia-oxidizing potential of diverse Oregon soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(23): 7691. DOI: [10.1128/AEM.01324-10](#).
- [24] ŠIMEK M, KALČÍK J. Carbon and nitrate utilization in soils: the effect of long-term fertilization on potential denitrification[J]. Geoderma, 1998, 83(3/4): 269. DOI: [10.1016/S0016-7061\(98\)00002-0](#).
- [25] 王晓辉. 生物炭对设施栽培土壤硝化和反硝化微生物群落的影响研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2013.
- [26] 徐建亭, 姜雯. 不同夏玉米品种氮积累和利用效率差异的研究[J]. 玉米科学, 2014, 22(4): 62. DOI: [10.13597/j.cnki.maize.science.2014.04.038](#).
- [27] LI Q, KONG F L, WU Y W, et al. Increasing nitrogen accumulation and reducing nitrogen loss with N-efficient maize cultivars[J]. Plant Production Science, 2020, 23(3): 260. DOI: [10.1080/1343943X.2019.1710221](#).
- [28] 郭凯杰, 王祎, 熊伟东, 等. 施氮量对砂质潮土不同夏玉米品种产量和氮效率的影响[J]. 玉米科学, 2016, 24(6): 144. DOI: [10.13597/j.cnki.maize.science.20160624](#).
- [29] 杨硕, 金文俊, 黄海蒙, 等. 耕层土层交换对土壤氮素关键转化过程和玉米氮素利用的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2019, 27(10): 1515. DOI: [10.13930/j.cnki.cjea.190265](#).
- [30] SONG H, CHE Z, CAO W C, et al. Changing roles of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in a continuously acidifying soil caused by over-fertilization with nitrogen[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(12): 11964. DOI: [10.1007/s11356-016-6396-8](#).
- [31] SAHRAWAT K L. Factors affecting nitrification in soils[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2008, 39(9/10): 1436. DOI: [10.1080/00103620802004235](#).
- [32] 杨亚东, 张明才, 胡君蔚, 等. 施氮肥对华北平原土壤氨氧化细菌和古菌数量及群落结构的影响[J]. 生态学报, 2017, 37(11): 3636. DOI: [10.5846/stxb201603220512](#).
- [33] 韩梅, 高嵩娟, 李正鹏, 等. 青海高原长期复种绿肥毛叶苕子对土壤氨氧化细菌和氨氧化古菌的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2021, 39(4): 102. DOI: [10.7606/j.issn.1000-7601.2021.04.13](#).
- [34] 马凌云, 王月, 蔡芳芳, 等. 长期施用含氯化肥对棕壤硝

- 化作用及氨氧化微生物的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2019, 25(5): 824. DOI: [10.11674/zwyf.18328](https://doi.org/10.11674/zwyf.18328).
- [35] LEININGER S, URICH T, SCHLOTTER M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils[J]. Nature, 2006, 442(7104): 806. DOI: [10.1038/nature04983](https://doi.org/10.1038/nature04983).
- [36] JIA Z J, RALF C. Bacteria rather than archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil[J]. Environmental Microbiology, 2009, 11(7): 1658. DOI: [10.1111/j.1462-2920.2009.01891.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2009.01891.x).
- [37] LI Y Y, CHAPMAN S J, NICOL G W, et al. Nitrification and nitrifiers in acidic soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 116: 290. DOI: [10.1016/j.soilbio.2017.10.023](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.10.023).
- [38] ZHANG X N, LU Y F, YANG T, et al. Factors influencing the release of the biological nitrification inhibitor 1, 9-decanediol from rice (*Oryza sativa* L.) roots[J]. Plant & Soil, 2019, 436(1/2): 253. DOI: [10.1007/s11104-019-03933-1](https://doi.org/10.1007/s11104-019-03933-1).
- [39] JANKE C K, WENDLING L A, FUJINUMA R. Biological nitrification inhibition by root exudates of native species, *Hibiscus splendens* and *Solanum echinatum*[J]. PeerJ, 2018, 6(1): e4960. DOI: [10.7717/peerj.4960](https://doi.org/10.7717/peerj.4960).
- [40] 陆玉芳, 施卫明. 生物硝化抑制剂的研究进展及其农业应用前景[J]. 土壤学报, 2021, 58(3): 545. DOI: [10.11766/trxb202003120113](https://doi.org/10.11766/trxb202003120113).
- [41] VERHAMME D T, PROSSER J I, NICOL G W. Ammonia concentration determines differential growth of ammonia-oxidising archaea and bacteria in soil microcosms[J]. The ISME Journal, 2011, 5(6): 1067. DOI: [10.1038/ismej.2010.191](https://doi.org/10.1038/ismej.2010.191).
- [42] HE S S, LI Y W, MU H B, et al. Ammonium concentration determines differential growth of comammox and canonical ammonia-oxidizing prokaryotes in soil microcosms[J]. Applied Soil Ecology, 2021, 157: 103776. DOI: [10.1016/j.apsoil.2020.103776](https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2020.103776).
- [43] 宋贺, 金文俊, 车钊, 等. 种植行距和品种对玉米根际反硝化菌群丰度和功能的影响[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(3): 391. DOI: [10.13930/j.cnki.cjea.160882](https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.160882).
- [44] BÁRTA J, MELICHOVÁ T, VANĚK D, et al. Effect of pH and dissolved organic matter on the abundance of *nirK* and *nirS* denitrifiers in spruce forest soil[J]. Biogeochemistry, 2010, 101(1/3): 123. DOI: [10.1007/s10533-010-9430-9](https://doi.org/10.1007/s10533-010-9430-9).
- [45] YANG Y D, NIE J W, WANG S, et al. Differentiated responses of *nirS*-type and *nirK*-type denitrifiers to 30 years of combined inorganic and organic fertilization in a paddy soil[J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2021, 67(1): 79. DOI: [10.1080/03650340.2020.1714032](https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1714032).
- [46] 彭钰洁, 程楠, 李佳佳, 等. 氮肥减施对玉米幼苗根系分泌物影响的根际代谢组学分析[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(6): 807. DOI: [10.13930/j.cnki.cjea.170858](https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.170858).

责任编辑: 何承刚