

南方典型农田土壤剖面氨氧化微生物特征及其 N₂O 排放驱动因素*

陶华柯^{1,2,3}, 王晓敏^{2,3†}, 韩宗洋^{2,3,4}, 毛欣宇^{1†}, 颜晓元^{2,3,4}, 单军

^{2,3,4}

(1. 河海大学农业科学与工程学院, 南京 211100; 2. 土壤与农业可持续发展全国重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 211135; 3. 中国科学院常熟农业生态实验站, 江苏常熟 215555; 4. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 本研究旨在探讨不同土地利用方式与土壤剖面对氨氧化微生物及氮循环过程的影响。以太湖流域典型农田生态系统为研究对象, 选取稻麦轮作(Rice-wheat)、果园(Orchard)和设施菜地(Vegetable)三种土地利用类型, 采集春夏两季 0~100 cm 土壤样本(0~20 cm 为表层, 20~50 cm 为中层, 50~100 cm 为深层), 利用功能基因定量、高通量测序及多抑制剂联用技术, 揭示氨氧化古菌(AOA)、氨氧化细菌(AOB)与完全氨氧化菌(Comammox)的群落分布特征及其对氮循环过程的功能贡献。结果表明: 表层土壤的氨氧化潜势与 N₂O 排放速率最高, 分别为 $6.1 \pm 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (以 N 计, 下同) 和 $17.9 \pm 6.1 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 且随深度显著下降。稻麦轮作土壤 N₂O 排放速率 ($17.5 \pm 5.6 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 显著高于设施菜地 ($1.5 \pm 0.5 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。在季节上, 稻麦轮作夏季 N₂O 排放潜势显著高于春季。AOB 对硝化过程的功能贡献最大(表层占比 56.6%, 深层达 64.9%), Comammox 贡献随土壤深度增加而增强。微生物功能基因丰度和多样性具有显著的剖面异质性, 并受土地利用类型显著影响。相关性分析显示, 三种氨氧化微生物基因丰度与氨氧化潜势呈显著正相关, 铵态氮和溶解性有机碳是调控氨氧化和 N₂O 排放的重要因子, 结构方程模型进一步揭示 AOB 为驱动氨氧化的关键因子。本研究系统评估了不同土地利用与土壤剖面对氨氧化微生物功能分化的影响, 发现 AOB 主导氨氧化全过程, Comammox 在深层土壤中功能增强, 且共同调控 N₂O 排放, 为微生物导向的农业氮素管理策略提供理论支撑。

关键词: 土地利用方式; 土壤剖面; 氨氧化微生物; 硝化速率; N₂O 排放速率

中图分类号: S154

文献标志码: A

Profile Distribution of Ammonia-Oxidizing Microorganisms and Their Role in N₂O Emissions in Typical Farmlands of Southern China

*国家自然科学基金项目(42307395)、江苏省自然科学基金项目(BK20231098)和国家重点研发计划项目(2024YFD1701004)共同资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 42307395), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, China (No. BK20231098), and the National Key R&D Program of China (No. 2024YFD1701004)

†通讯作者 Corresponding author, E-mail: xiaominwang@issas.ac.cn; mxy880731@163.com

作者简介: 陶华柯(2001—), 男, 河南郑州人, 硕士研究生, 主要从事农田氮素循环过程研究。E-mail: taohuake1210@163.com

收稿日期: 2025-08-29; 收到修改稿日期: 2026-01-19; 网络首发日期(www.cnki.net):

Abstract: **【Objective】** This study aimed to investigate the effects of different land use types and soil profiles on ammonia-oxidizing microorganisms and nitrogen (N) cycling processes, with a focus on the community distribution and functional roles of ammonia-oxidizing archaea (AOA), ammonia-oxidizing bacteria (AOB), and complete ammonia oxidizers (Comammox) in agricultural soils under different management regimes. **【Method】** Soil samples (0-100 cm) were collected from three typical farmland ecosystems in Changshu, Jiangsu Province, including rice-wheat rotation, orchard, and vegetable fields, during both spring and summer. Soil physicochemical properties were determined, and microbial community composition and abundance were analyzed using quantitative PCR and high-throughput sequencing. In addition, microcosm incubation experiments with nitrification inhibitors were conducted to determine nitrification and N₂O production rates, enabling clear quantification of microbial contributions to soil nitrogen transformations. **【Result】** The ammonia oxidation rate and N₂O emission rate of the surface soil are the highest, with mean values of $6.1 \pm 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (calculated by N, the same as below) and $17.9 \pm 6.1 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, respectively, and both declined significantly with depth. The N₂O emission rate in rice-wheat soils ($17.5 \pm 5.6 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) was significantly higher than that in vegetable soils ($1.5 \pm 0.5 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). Within the rice-wheat system, summer exhibited a significantly higher N₂O emission potential than spring. Among ammonia oxidizers, AOB contributed most to nitrification, accounting for 56.6% in surface soils and up to 64.9% in subsurface layers, while the contribution of Comammox increased with depth. Microbial functional gene abundance and diversity showed pronounced vertical heterogeneity and were strongly influenced by land use type. Correlation analysis indicated that microbial gene abundance was significantly positively correlated with nitrification rates, and that ammonium nitrogen and dissolved organic carbon were the key factors regulating both nitrification and N₂O emissions. Structural equation modeling further revealed that AOB gene abundance was a major determinant of ammonia oxidation rates and that ammonia oxidation processes were positively linked to N₂O emissions. **【Conclusion】** This study systematically evaluated the effects of land use and soil profile on the functional differentiation of ammonia-oxidizing microorganisms. The findings demonstrated that AOB dominate ammonia oxidation across soil layers, while Comammox play an increasingly important role in deeper soils, and that both groups jointly regulate the potential mechanisms of N₂O emissions. These results provide theoretical support for developing microbe-oriented strategies for agricultural nitrogen management.

Key words: Land use types; Soil profile; Ammonia-oxidizing microorganisms; Nitrification rate; N₂O emission rate

氮素作为植物生长和农作物产量提升的核心营养元素,其在土壤中主要依赖微生物驱动的各种氮转化过程,其中硝化过程是最重要的环节之一,该过程不仅关系到氮素的利用效率,还直接影响土壤氧化亚氮(N₂O)的排放水平^[1-2]。N₂O是农业生产中主要的温室气体之一,其排放量不断增长,已对全球气候系统构成严峻挑战^[3]。在硝化过程中,氨氧化作为限速步骤,主要由氨氧化古菌(Ammonia-oxidizing archaea, AOA)、氨氧化细菌(Ammonia-oxidizing

bacteria, AOB)以及近年来新发现的完全氨氧化菌 (Complete ammonia oxidizer, Comammox) 共同驱动^[4]。而 Comammox 能够独立完成从氨 (NH₃) 到硝酸盐 (NO₃⁻) 的完整硝化过程, 重塑了传统的两步硝化理论^[5]。研究表明, Comammox 纯培养菌具有较高的产率、底物亲和力以及相对较低的最大氧化速率, 表明其适应于寡营养条件下的缓慢生长生态位。然而, 越来越多的证据显示, Comammox 的生态分布并不局限于低氨环境。在农田土壤中, 铵态氮 (NH₄⁺) 被认为是影响 Comammox 群落丰度和组成的关键因子^[6]; 在 NO₃⁻ 浓度较高的土壤中, Comammox 的丰度显著高于 AOA 和 AOB^[7]。在高氮施肥 (施氮量为 506 kg·hm⁻²) 的茶园土壤中, 氮肥的过量添加显著促进了 Comammox 的生长^[8]。其他研究也证实肥料添加可显著提高土壤中 Comammox 的丰度^[9]。上述结果共同表明, 氮输入在调控土壤 Comammox 丰度方面具有重要作用。近年来的研究还表明, Comammox 在低氨环境中分布广泛, 其对氨的亲和力显著高于 AOB, 使其在寡营养生态系统 (如长江上游或湿地沉积物) 中具备竞争优势^[10]。然而, 目前在高氮施肥设施菜地环境中, 关于 Comammox 的研究仍相对有限, 亟需进一步探索其生态功能与响应机制。

农业地块的作物种植类型及其管理措施 (包括施肥方式、灌溉方法等), 通过打破土壤物理—化学平衡, 重构氨氧化微生物群落结构与功能表达^[11]。例如, 有机肥施用可同步促进 AOA、AOB 和 Comammox 的基因丰度增加, 从而加速硝化速率并增强 N₂O 排放^[12]。除此之外, 在高氮胁迫下, Comammox 分支 B (clade B) 丰度显著上升 (增幅达 300%), 而 Comammox 分支 A (clade A) 丰度无变化或降低^[13]。此外, 水分管理与氮肥配施策略亦对氨氧化微生物的组成与功能表达产生显著影响。有研究表明, 浅埋滴灌配合减氮, 使 AOA 多样性提升 26%, 同时降低 N₂O 排放, 且由 AOA 主导的硝化过程产生的 N₂O 远低于 AOB 驱动的过程; 在高盐灌溉并施氮肥 (360 kg·hm⁻²) 条件下, AOB 丰度下降 60%, 但 Comammox 的相对贡献显著提升, 占比达 40%, 成为维持硝化功能的关键群体^[14-15]。综上, 不同土地利用方式对 AOA、AOB 与 Comammox 的调控作用存在明显差异, 深入解析其生态响应特征对于理解农田硝化过程的调控机制及其温室气体排放效应具有重要意义。

目前, 大多数关于土壤硝化作用及其微生物群落的研究集中于表层土壤 (0~20 cm), 主要关注根际作用、氮素输入与微生物活性对氮转化过程的影响^[16-17]。然而, 中深层土壤 (>20 cm) 在农业生态系统中同样扮演着重要角色, 尤其在氮素淋溶、温室气体排放等方面的潜在贡献不容忽视。已有研究表明, AOA 和 AOB 群落结构与多样性随土壤剖面深度的增加呈现显著分化^[18-19]。在西北荒漠草原, 受限于氧气向下扩散, 深层土壤中 AOB 的活性显著降低; 而在湿地和砂质土壤深层, 氨氧化过程则更多由 AOA 主导, 尽管整体硝化速率仍低于表层^[20]。虽然 AOA 和 AOB 在垂向分布上的生态响应已逐步明确, Comammox 在垂直剖面中的分布特征与生态功能尚不清楚。

本研究以太湖流域典型集约化土地利用类型 (稻麦轮作、设施菜地、果园) 为研究对象, 沿 0~100 cm 土壤剖面采样, 系统分析不同土地利用方式下土壤理化性质对氨氧化过程和 N₂O 产生过程的影响。利用多抑制剂联用技术测定三种氨氧化过程 (AOA、AOB 和 Comammox) 的硝化速率及 N₂O 排放潜势。同时, 结合高通量测序技术测定氨氧化微生物的群落组成及多样性, 揭示其在不同土地利用与剖面深度下的生态位分化特征, 进一步采用结构方程模型 (SEM) 探讨土壤理化性质对硝化过程及其微生物群落结构的主导环境驱动因素, 阐明土壤剖面和土地利用类型通过调控土壤养分与氨氧化微生物群落结构功能特征, 影响硝化速率与 N₂O 排放机制, 并揭示集约化农业活动对上述过程的综合调控效应。

1 材料与方法

1.1 土壤采集与基础信息

采样地点位于中国科学院常熟农业生态实验站 (31°32'N, 120°41'E), 该区域属于亚热带季风气候, 年平均降水量 1 055 mm, 年平均气温 16.1 °C^[21]。选择三种当地主要农业种植类型的土壤作为研究对象, 分别为稻麦轮作田、果园和设施蔬菜地。在稻麦轮作田中, 氮肥年施总量约为 576 kg·hm⁻²。水稻期为 6 月至 11 月, 其余阶段为小麦种植。水稻生长期于 6 月中旬施用基肥, 7 月和 8 月下旬分别施分蘖肥与穗肥, 对应施氮量依次为 120、90 和 90 kg·hm⁻²。小麦生长期于 11 月中旬先施基肥, 次年 1 月施越冬肥, 3 月施分蘖肥, 其施氮量分别为 136、80 和 60 kg·hm⁻²。果园 (以葡萄为主) 年施氮约 500 kg·hm⁻²: 3 月进行基肥施用, 4 月施促花肥, 5 月及 6 月各追施一次, 施氮量分别为 240、100、80 和 80 kg·hm⁻²。设施蔬菜大棚年施氮约 600 kg·hm⁻², 施肥时间集中于 10 月、12 月、次年 2 月及 5 月, 四次均匀施用, 每次约 150 kg·hm⁻²^[22]。所有试验地的土壤类型均为太湖沉积母质发育而成的乌栅土。于 2023 年春 (3 月) 和夏 (6 月) 两季, 利用单人手持式高频振动原状土壤取样钻机 (VD51, 科地, 澳大利亚) 在每种土地类型沿 S 形路线钻取深度 1 m 的 3 根原状土柱, 按照 0~20 cm (表层)、20~50 cm (中层) 和 50~100 cm (深层) 分层采集, 每层土样采集三份平行样, 一共采集 54 份土壤样品。各类型对应的试验地块面积分别为: 稻麦轮作田约 0.3 hm², 果园约 0.2 hm², 设施蔬菜大棚约 0.1 hm²。采集的土壤过 2 mm 筛后分为两部分, 一部分风干测其理化性质, 另一部分置于 4°C 冰箱保存。

1.2 试验设计与样品培养

培养试验设置为 5 个处理, 每个处理三次重复, 采用多抑制剂: 氨氧化抑制剂 1-辛炔 (C₈H₁₄)、3,4-二甲基吡唑磷酸盐 (DMPP)、氯酸钾 (KClO₃) 和乙炔 (C₂H₂)。试验设置如下: ①对照组仅添加硫酸铵 ((NH₄)₂SO₄), 施氮量为 50 mg·kg⁻¹ (以 N 计); ②AOB 抑制组, 在 (NH₄)₂SO₄ 基础上添加 C₈H₁₄ (48 μL·L⁻¹); ③AOB 与 Comammox 联合抑制组, 添加 DMPP (0.5 mg·kg⁻¹); ④AOA-AOB-Comammox 联合抑制组, 在 (NH₄)₂SO₄ 基础上添加 C₂H₂ (16 μL·L⁻¹); ⑤Comammox 抑制组, 添加 KClO₃ (15 g·kg⁻¹)。具体试验步骤如下: 取 5 g 鲜土放入 30 mL 血清瓶中, 用塞子和铝盖封住瓶口, 进行三次抽真空—充气操作, 将瓶中空气置换为氮氧混合气 (20% O₂, 80% N₂), 平衡压强后, 根据不同的处理分别加入 (NH₄)₂SO₄ 溶液、C₈H₁₄、KClO₃、DMPP 和 C₂H₂。各处理瓶中加入溶液后的土壤含水量变化微小, 质量百分比变化约 2%。将所有处理放置 25 °C 黑暗恒温培养箱中, 在培养 0、1、3、6、10 d 后进行气体的采集, 用气相色谱仪 (Agilent Technologies 7890A, 美国) 测定 N₂O 浓度, 如下式 (1) 所示。对样品进行破坏性取样, 测定土壤中铵态氮 (NH₄⁺-N) 和硝态氮 (NO₃⁻-N) 含量, 并据此计算氨氧化潜势和氨氧化微生物贡献^[23-24], 详见表 1。

$$F = \frac{p \times \frac{dc}{dt} \times V}{W} \times \frac{273}{273+T} \quad (1)$$

式中, F 为 N₂O 的排放速率, μg·kg⁻¹·h⁻¹; p 为标准状态下 N₂O-N 的密度, 1.25 kg·m⁻³; $dc \cdot dt^{-1}$ 为单位时间内培养瓶内气体浓度增加量, μL·L⁻¹·h⁻¹ 或 nL·L⁻¹·h⁻¹; V 为培养瓶中气体的有效空间体积, m³; W 为培养瓶内的烘干土质量, kg; T 为培养温度, °C。

表 1 完全氨氧化菌 (Comammox)、氨氧化古菌 (AOA) 和氨氧化细菌 (AOB) 对氨氧化的贡献方程式

Table 1 Equations of contribution to ammonia oxidation from complete ammonia oxidizer, ammonia-oxidizing archaea and ammonia-oxidizing bacteria

对氨氧化的贡献 Contribution to ammonia oxidation	公式 Formula
Comammox	$(K_{\text{Comammox}} \div (K_{\text{Comammox}} + K_{\text{AOA}} + K_{\text{AOB}})) \times 100$
AOA	$(K_{\text{AOA}} \div (K_{\text{Comammox}} + K_{\text{AOA}} + K_{\text{AOB}})) \times 100$
AOB	$(K_{\text{AOB}} \div (K_{\text{Comammox}} + K_{\text{AOA}} + K_{\text{AOB}})) \times 100$

注: K_{Comammox} 、 K_{AOA} 和 K_{AOB} 分别表示采用抑制剂法计算得到的完全氨氧化菌、氨氧化古菌和氨氧化细菌的氨氧化速

率,用于估算其对总氨氧化过程的相对贡献。Note: $K_{Comammox}$, K_{AOA} , and K_{AOB} represent the ammonia oxidation rates of complete ammonia oxidizers, ammonia-oxidizing archaea, and ammonia-oxidizing bacteria, respectively, as determined using the inhibitor-based approach and used to estimate their relative contributions to total ammonia oxidation.

1.3 土壤理化性质测定

使用 pH 计以水土质量比 2.5:1 测定土壤 pH。将新鲜采集的土壤样品称重后,置于 105 °C 的恒温干燥箱中烘干 9 h,取出后在干燥器中冷却至室温,再次称重。通过比较烘干前后的质量差,确定土壤中的水分含量。土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 测定:取 5 g 鲜土用 $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 KCl 浸提后采用化学分析仪(Smartchem 200, WESTCO, 法国)测定。土壤溶解性有机碳(DOC)以水土质量比 5:1 浸提,过 0.45 μm 滤膜后测定。

1.4 土壤 DNA 的提取

采用 FastDNA™ Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, 美国)提取土壤样品中的总 DNA。称取 0.5 g 土壤样品,按照试剂盒说明书中的步骤进行操作。利用 FastPrep® FP120 细胞破碎仪以 $6 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ 的速度破碎 40 s,以充分裂解微生物细胞。提取所得 DNA 溶液部分用于测定 DNA 浓度和纯度,采用 NanoDrop-1000 进行检测,记录其 OD260/OD280 与 OD260/OD230 值。提取得到的土壤 DNA 置于 -80 °C 冰箱中保存,供后续分析使用。

1.5 氨氧化微生物基因丰度的测定和高通量测序分析

采用 QuantStudio™3 (美国)对 AOA、AOB 及 Comammox Clade A 的 *amoA* 基因进行实时荧光定量 PCR (qPCR) 扩增,Comammox Clade B *amoA* 引物序列未扩增成功。各类微生物的特异性引物参考 Shi 等^[6]和 S eneca 等^[25]设计并合成。qPCR 反应体系包括:10 μL TB Green Premix ExTaq (2x)、0.8 μL 正反向引物(各 20 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、0.4 μL ROX Reference Dye I、2 μL 模板 DNA (5~20 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 及 6.0 μL 无菌水,总体积为 20 μL 。氨氧化功能基因引物序列及扩增条件详见表 2。为准确计算基因丰度,分别构建各目标基因的重组质粒,经测序验证后使用 NanoDrop ND-1000 测定浓度,并稀释为 8~9 个浓度梯度,绘制标准曲线。所有标准曲线的决定系数 (R^2) 均高于 0.98,扩增效率控制在 90%~110%之间。样品设 3 个技术重复,结果以每克干土中基因拷贝数表示。为解析氨氧化微生物群落结构,提取土壤总 DNA 后,分别对 AOA、AOB 和 Comammox 的 *amoA* 功能基因进行高通量测序。原始序列经 fastp (v0.19.6) 质控、FLASH (v1.2.11) 拼接,并按 barcode 与引物信息区分样品。高质量序列采用 UPARSE (v7.1) 按 97% 相似度聚类为操作分类单元(OTU),并剔除嵌合体、叶绿体和线粒体序列。样本序列统一抽平至 20 000 条,Good's 覆盖度达 99.1%。OTU 的类群注释基于 *amoA* 专用数据库 (fgr/*amoA*),通过系统发育分析 (MAFFT 进行序列比对, FastTree 构建最大似然树)并辅以 BLASTn 验证完成,进而计算各样本中不同 *amoA* 类群的相对丰度。

表 2 功能基因的引物序列

Table 2 Primer sequence of functional gene

基因 Gene	引物 Primer	引物序列 Primer sequence	扩增条件 Amplification conditions	文献 Reference
AOA <i>amoA</i>	Arch-amoAF	STAATGGTCTGGCTTAGACG	95 °C 预变性 30 s; 40×	[25]
	Arch-amoAR	GCGGCCATCCATCTGTATGT	(94 °C 变性 10 s, 56.2 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s)	
AOB <i>amoA</i>	amoA1F	GGGGTTTCTACTGGTGGT	95 °C 预变性 10 min; 40×	[25]
	amoA2R	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	(94 °C 变性 20 s, 56 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s)	
Comammox clade A <i>amoA</i>	comaA-244F	TAYAAYTGGGTSAAAYTA	95 °C 预变性 10 min; 40×	[6]
	comaA-659R	ARATCATSGTGCTRTG	(94 °C 变性 30 s, 52 °C 退火 35 s, 72 °C 延伸 35 s)	

注: *amoA*: 氨单加氧酶亚基 A。Note: *amoA*: Subunit A of ammonia monooxygenase.

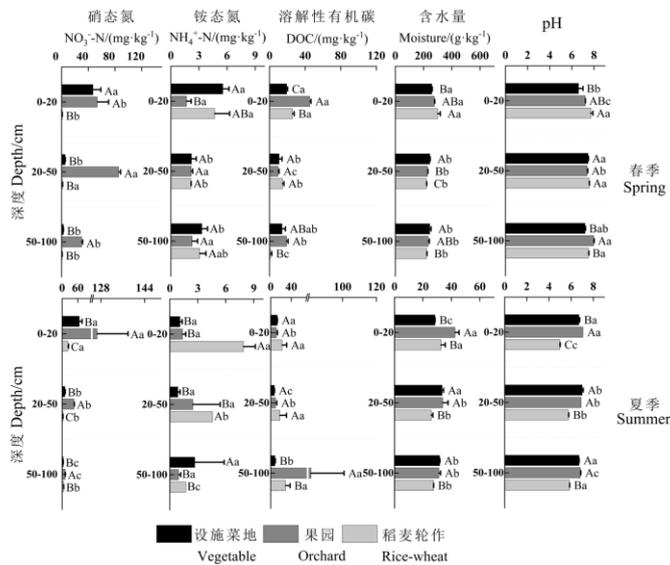
1.6 数据处理

采用 Excel 2019 对数据进行处理和分析, 采用 SPSS 27 对数据进行单因子、多因子方差分析, 采用 Origin 2022 制作土壤理化性质、氨氧化潜势和基因丰度的柱状图。采用 R 语言 (“vegan”, “ggplot2”, “readxl”, “viridis”等包) 探究土壤氨氧化微生物之间的主坐标分析 (PCoA) 和土壤理化性质与氨氧化潜势以及 N₂O 排放速率之间的相关性分析和结构方程模型分析。

2 结果

2.1 不同土地利用类型下土壤剖面理化性质

不同土地利用方式下, 沿土壤剖面尺度表现为 NO₃⁻-N 浓度随着深度显著下降 (图 1), 表层 (52.7 ± 8.9 mg·kg⁻¹) 显著高于深层 (9.1 ± 0.5 mg·kg⁻¹), 在设施菜地土壤中差异尤为显著, 且夏季浓度显著高于春季。NH₄⁺-N 浓度亦呈现随深度降低的趋势, 表层浓度为 3.7 ± 0.8 mg·kg⁻¹, 显著高于深层 (2.3 ± 0.9 mg·kg⁻¹)。其他理化指标 (含水量、pH 和 DOC) 在土壤垂向上差异不显著 (*P* > 0.05)。在不同土地利用类型之间, NO₃⁻-N 浓度存在显著差异, 果园土壤 (58.7 ± 5.9 mg·kg⁻¹) 显著高于稻麦轮作土壤 (5.8 ± 0.5 mg·kg⁻¹); 而稻麦轮作土壤 NH₄⁺-N 浓度 (4.0 ± 0.6 mg·kg⁻¹) 则显著高于果园 (1.8 ± 0.8 mg·kg⁻¹)。此外, 果园的土壤 DOC 浓度 (29.4 ± 4.7 mg·kg⁻¹) 显著高于设施菜地 (12.2 ± 1.5 mg·kg⁻¹)。三种土地利用类型下土壤 pH 范围为 4.97~7.97, 稻麦轮作和果园表层土壤呈弱酸性, 深层土壤则趋于弱碱性。方差分析结果进一步表明, 土壤剖面对理化性质具有显著影响 (*P* < 0.05)。



注: 数据为 3 次重复平均值 ± 标准差, 不同的大写字母表示同一土层不同土地利用方式间差异显著 (*P* < 0.05), 小写字母表示同一土地利用方式下不同土层间差异显著 (*P* < 0.05)。下同。Note: Data are presented as means ± SD of triplicates. Different capital letters indicate significant differences among different land use patterns within the same soil layer (*P* < 0.05), while different lowercase letters indicate significant differences among different soil layers under the same land use pattern (*P* < 0.05). The same below.

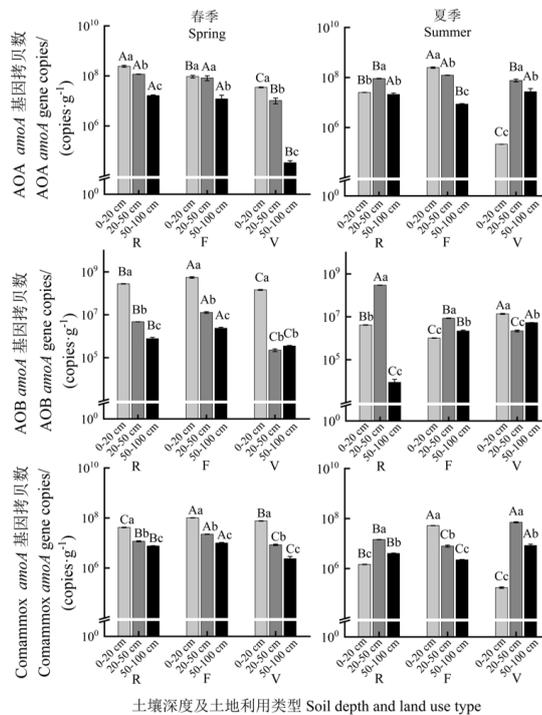
图 1 春夏两季不同土地利用类型土壤剖面基本性质

Fig. 1 Basic properties of soil profiles in different land use types in spring and summer seasons

2.2 不同土地利用类型下土壤剖面氨氧化微生物群落结构及多样性

在剖面尺度上, AOA *amoA*、AOB *amoA* 和 Comammox Clade A *amoA* 功能基因丰度在三种土地利用类型中均随深度显著下降(图 2), 表层 AOA(1.1×10^8 copies·g⁻¹)、AOB(1.6×10^8 copies·g⁻¹) 和 Comammox (4.6×10^7 copies·g⁻¹) 基因丰度显著高于深层 AOA (1.4×10^7 copies·g⁻¹)、AOB (4.1×10^6 copies·g⁻¹) 和 Comammox (5.8×10^6 copies·g⁻¹)。在不同土地类型上, 果园土壤 AOA (9.5×10^7 copies·g⁻¹) 和稻麦轮作土壤 AOA (8.6×10^7 copies·g⁻¹) 显著高于设施菜地土壤 (2.5×10^7 copies·g⁻¹), 果园土壤 AOB (1.5×10^8 copies·g⁻¹) 显著高于稻麦轮作 AOB (5.1×10^7 copies·g⁻¹) 和设施菜地 AOB (2.6×10^7 copies·g⁻¹), 果园土壤 Comammox (3.3×10^7 copies·g⁻¹) 和设施菜地土壤 Comammox (2.8×10^7 copies·g⁻¹) 显著高于稻麦轮作土壤 Comammox (1.4×10^7 copies·g⁻¹)。在季节上, 稻麦轮作和设施菜地表层硝化微生物丰度显著高于夏季 ($P < 0.05$)。

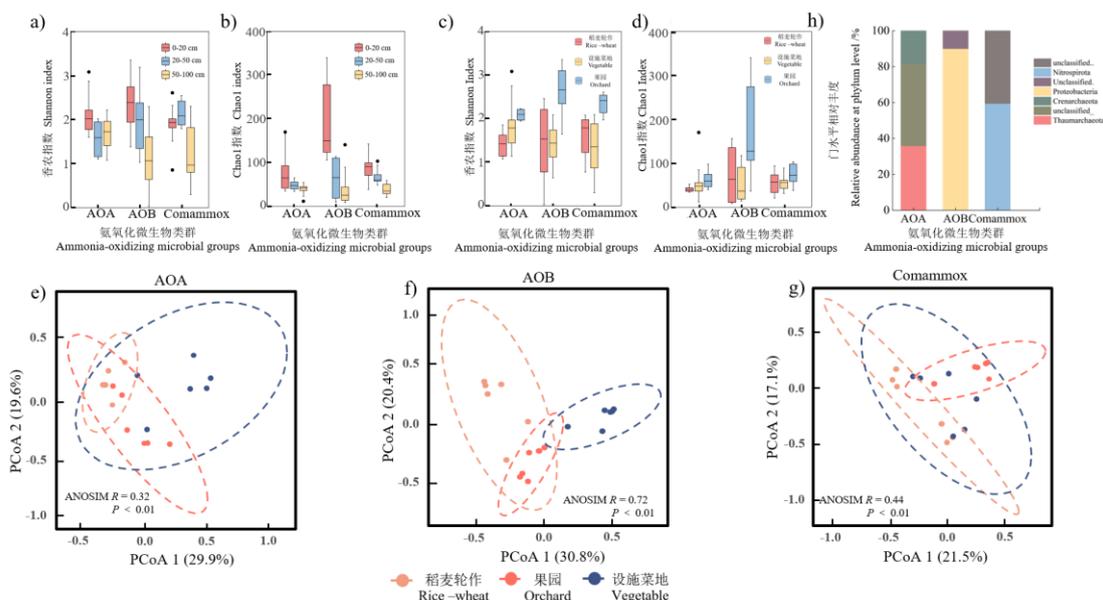
在剖面尺度上, 三种硝化微生物的香农指数 (Shannon) 和 Chao1 指数随深度而下降(图 3), AOB 降幅最大。在不同土地类型上, 果园土壤硝化微生物的 Shannon 和 Chao1 指数显著高于其他土地类型。PCoA 分析得出, 三种硝化微生物在不同土地类型之间存在显著差异, 其中 AOB 差异最为显著 ($R = 0.72$, $P < 0.01$), 在深度和季节上差异不显著 ($P > 0.05$)。综上, 土地利用方式通过调控群落结构与多样性进而影响硝化过程和 N₂O 排放。



注: V: 设施菜地, F: 果园, R: 稻麦轮作。Note: V: Vegetable, F: Orchard, R: Rice-Wheat.

图 2 春夏两季不同土地利用类型土壤剖面硝化微生物功能基因丰度

Fig. 2 Abundance of nitrifying functional microbial genes in soil profiles of different land use types across spring and summer seasons



注: PCoA 基于 Bray-Curtis 距离, 坐标轴括号内为解释的变异比例; 不同颜色表示稻麦轮作、果园和设施菜地土壤, 虚线椭圆为 95% 置信区间。不同土地利用类型间群落结构差异采用相似性分析 (ANOSIM) 检验, R 值表示组间差异程度, P 值表示显著性水平。Note: PCoA was based on the Bray-Curtis distance, with percentages in parentheses indicating the variance explained by each axis. Different colors represent soils from rice-wheat rotation, orchard, and greenhouse vegetable systems, and dashed ellipses indicate the 95% confidence intervals. Community differences among land-use types were assessed using analysis of similarities (ANOSIM), where R and P values represent the degree and significance of between-group differences, respectively.

图 3 不同土地利用类型土壤剖面对土壤微生物群落结构及多样性的影响 (a. 不同土壤深度下的香农指数, b. 不同土壤深度下的 Chao1 指数, c. 不同土地利用类型下的香农指数, d. 不同土地利用类型下的 Chao1 指数, e. 不同土地利用类型下 AOA 群落结构的主坐标分析 (PCoA), f. 不同土地利用类型下 AOB 群落结构的主坐标分析 (PCoA), g. 不同土地利用类型下 Comammox 群落结构的主坐标分析 (PCoA), h. AOA_AOB_Comammox 门水平相对丰度)

Fig. 3 The influence of soil profiles of different land use types on the structure and diversity of soil microbial communities (a. Shannon index at different soil depths, b. Chao1 index at different soil depths, c. Shannon index of different land use types, d. Chao1 index of different land use types, e. Principal coordinate analysis (PCoA) of AOA community structure under different land use types, f. PCoA of AOB community structure under different land use types, g. PCoA of comammox community structure under different land use types, h. Relative abundance of AOA_AOB_Comammox at the phylum level)

2.3 不同土地利用类型下氨氧化微生物沿剖面的硝化过程及对 N_2O 产生的贡献

在土壤剖面尺度上, 氨氧化潜势随深度显著下降 (图 4a), 表层速率 ($6.1 \pm 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ (以 N 计, 下同)) 显著高于深层速率 ($2.2 \pm 0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), 而 NO_3^- 的产生速率变化规律与其相似。 N_2O 的排放速率随深度显著下降, 表层速率 ($17.9 \pm 6.1 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 显著高于深层速率 ($2.7 \pm 0.8 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), 夏季稻麦轮作土壤中下降趋势尤为显著。在不同土地利用类型上, 果园的氨氧化潜势和 NO_3^- 产生速率显著低于其他两种土地类型。稻麦轮作土壤 N_2O 排放速率 ($17.5 \pm 5.6 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 显著高于设施菜地 ($1.5 \pm 0.5 \text{ ng} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) ($P < 0.05$)。硝化速率和 N_2O 排放速率在季节间差异不显著 ($P > 0.05$)。

在土壤剖面尺度上, 氨氧化潜势和 N_2O 的排放速率贡献主要来自 AOB ($42.0\% \pm 16.6\%$, $56.6\% \pm 21.9\%$), 特别在深层土壤中 AOB 贡献达到 $47.3\% \pm 14.0\%$, $64.7\% \pm 25.1\%$ (图 4b)。果园土壤 AOA 贡献随着深度显著下降, Comammox 贡献随深度显著增加 ($P < 0.05$)。在

不同土地利用类型上, 果园土壤氨氧化潜势 AOB 贡献(46.5% ± 15.3%)显著高于 AOA(22.1% ± 14.2%) 和 Comammox (31.3% ± 15.4%)。稻麦轮作和设施菜地的 N₂O 排放速率以 AOB (66.9% ± 16.8%, 57.1% ± 19.9%) 为主导, 显著高于 AOA (20.9% ± 12.1%, 21.0% ± 11.1%) 和 Comammox (12.2% ± 9.6%, 21.3% ± 13.6%), 但果园中三类硝化微生物贡献差异不显著。NO₃⁻ 的产生速率主要由 AOB 和 Comammox 占主导, 特别在设施菜地和果园中表现更为明显。在季节上, 三者贡献无明显差异。

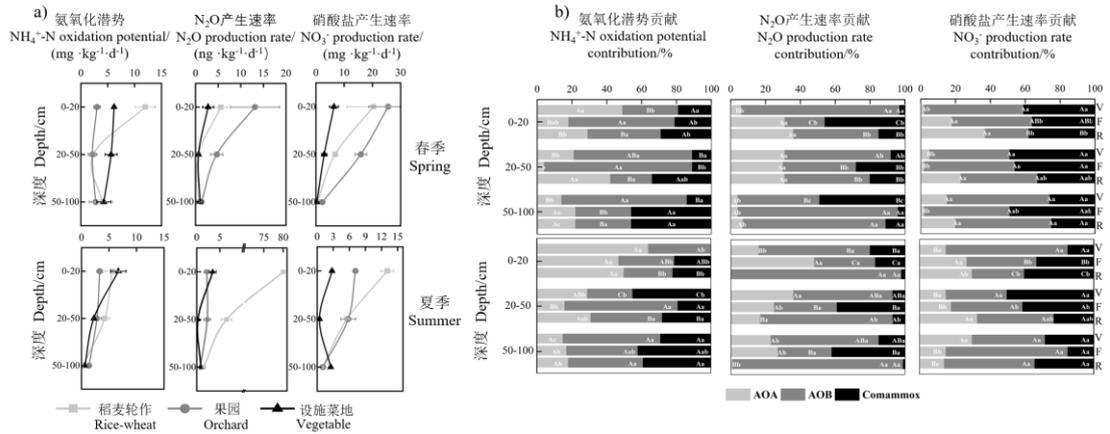


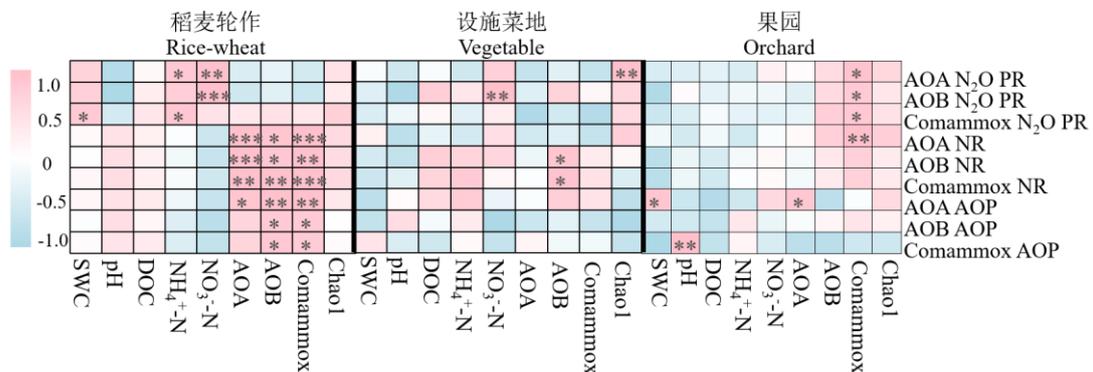
图 4 春夏两季不同土地利用类型土壤剖面硝化速率和 N₂O 排放速率 (a) 及微生物贡献 (b)

Fig. 4 Nitrification rate, N₂O emission rate (a), and microbial contribution (b) of soil profiles of different land use types in spring and summer seasons

2.4 不同土地利用类型下土壤硝化速率和 N₂O 排放的影响因子

相关性分析结果显示, 硝化速率及硝化产物 (NO₃⁻ 和 N₂O) 与微生物丰度和土壤养分呈显著相关性 ($P < 0.05$) (图 5)。在稻麦轮作土壤中, AOA、AOB 和 Comammox 丰度与氨氧化潜势和 NO₃⁻ 产生速率呈显著正相关, 表明微生物数量是驱动硝化的主要因素。N₂O 排放速率与 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 浓度显著正相关。在设施菜地土壤中, NO₃⁻ 生成速率与 AOB 丰度密切相关。果园土壤 Comammox 基因丰度与 N₂O 排放速率呈显著正相关。

结构方程模型 (SEM) 路径分析显示 (图 6), 不同深度和不同土地利用类型通过影响土壤理化和微生物基因丰度进而影响硝化速率和 N₂O 排放速率。其中, AOB 基因丰度是氨氧化潜势的主要驱动因子 (路径系数为 0.47*), 土壤 NH₄⁺-N 浓度显著正向影响氨氧化潜势 (路径系数为 0.51*) 和 N₂O 排放 (路径系数为 0.82**), 氨氧化潜势与 N₂O 排放呈显著正相关 (路径系数 0.48*)。

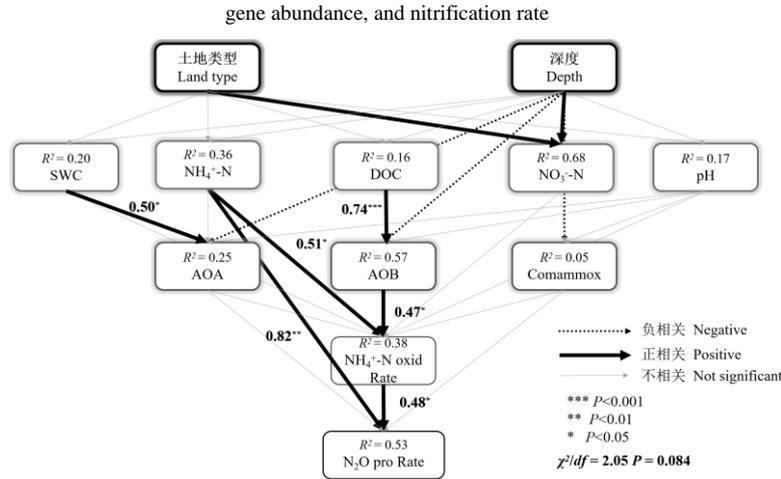


注: SWC: 含水量, NH₄⁺-N: 铵态氮, DOC: 溶解性有机碳, NO₃⁻-N: 硝态氮, AOP: 氨氧化潜势, NR: 硝酸盐产生速率, N₂O PR: 氧化亚氮产生速率, *, **, *** 分别代表 $P < 0.05$, $P < 0.01$ 和 $P < 0.001$ 的显著水平。下同。

Note: SWC: Soil water content, $\text{NH}_4^+\text{-N}$: Ammonium nitrogen, DOC: Dissolved organic carbon, $\text{NO}_3^-\text{-N}$: Nitrate nitrogen, AOP: Ammonia oxidation potential, NR: Nitrate production rate, N_2O PR: Oxidative nitrogen production rate. *, **, *** represent the significant levels of $P < 0.05$, $P < 0.01$ and $P < 0.001$ respectively. The same below.

图 5 土壤理化指标、氨氧化微生物及基因丰度与硝化速率皮尔逊相关系数矩阵

Fig. 5 Pearson correlation coefficient matrix between soil physical and chemical indicators, ammonia-oxidizing microorganisms, gene abundance, and nitrification rate



注: χ^2/df 表示卡方统计量与自由度之比, 用于表征结构方程模型的整体拟合程度。Note: The χ^2/df ratio represents the ratio of the chi-square statistic to the degrees of freedom, and is used to characterize the overall fit of the structural equation model.

图 6 土壤理化指标、氨氧化微生物基因丰度及氨氧化潜势结构方程模型 (SEM)

Fig. 6 Structural equation model (SEM) of soil physical and chemical indicators, abundance of potential ammonia-oxidizing microbial genes, and ammonia oxidation rate

3 讨论

本研究表明, 不同土地利用方式下, 土壤硝化微生物在季节更替和土壤垂直方向上均表现出显著差异 (图 2), 这与前人^[26]在玉米和林地土壤中的研究结果一致。本研究表明, 在农田系统中 AOB 是氨氧化潜势与 N_2O 排放的主要贡献微生物, 相比之下 AOA 和 Comammox 在数量上可能占优, 但其氨氧化潜势和 N_2O 排放贡献低于 AOB (图 4b)。有研究指出, 尽管 AOB 的 *amoA* 基因丰度较低, 但其氨氧化贡献却能达到 AOA 的 50 倍, AOB 仍可能在功能上占据主导地位^[27]; 本研究发现 AOA 主要是由奇古菌门 (Thaumarchaeot) 占主导, AOB 主要是变形菌门 (Proteobacteria) 占主导, Comammox 主要是硝化螺旋菌门 (Nitrospirota) 占主导 (图 3h)。有研究发现, AOB (如 *Nitrosomonas europaea*) 因最大反应速率 (V_{\max}) 更高, 氨氧化代谢更旺盛, 可能伴随更多的 N_2O 生成^[28-29]。在土壤剖面尺度上, 氨氧化潜势随深度增加而下降 (图 4a), 这主要归因于溶解氧含量的降低。整体上氨氧化潜势在 ($0.29\sim 11.96 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$), 与前人^[24]研究结果一致。本实验设置为 20% (v/v) O_2 条件, 该高氧暴露可能增强了深层土壤中好氧氨氧化微生物的活性, 从而高估其在原位低氧环境中的功能贡献。在未来研究中, 应考虑氧浓度梯度或原位监测, 以更真实反映深层氨氧化过程。表层土壤 N_2O 排放以硝化作用为主, 而深层土壤中反硝化过程可产生少量 N_2O ^[3,16]。此外, 通过乙炔抑制氨氧化微生物活性后, 土壤中仍存在 N_2O 排放, 这部分排放不仅包括反硝化过程, 还涉及异养硝化、非生物过程等其他途径^[18]。Comammox 在深层土壤中普遍存在, 丰度高于 AOB, 是因为 Comammox 通过降低代谢速率适应微氧环境, 而 AOB 依赖

高氧进行好氧硝化,在深层活性受限^[30]。这与本文的研究结果(图2)相符合,AOB在多数土层中主导氨氧化过程,Comammox在深层土壤中功能贡献增强(图4b)。不同土地利用方式下,果园土壤的NO₃⁻产生速率显著高于设施菜地,而设施菜地施氮量高于果园(图4a),这可能与落叶和修剪物作为重要的有机物输入来源有关。这类易分解有机碳可为异养硝化菌和反硝化菌提供能源底物,进而促进表层土中NH₄⁺向NO₃⁻的转化^[31]。稻麦轮作田在3月(小麦分蘖肥)和6月(稻田基肥)紧邻施肥节点取样,导致表层速效氮(NH₄⁺和NO₃⁻)快速累积,为优势AOB提供了充足底物^[32],此时,土壤温度28℃至36℃和良好通气条件非常契合AOB的代谢最适环境,并且稻麦轮作土壤pH显著低于设施菜地(图1),从而显著促进N₂O排放^[33]。相比之下,设施菜地虽施氮量更高(约600 kg·hm⁻²),但施肥分散、取样时距上次施肥较远,使表层速效氮较为稳定,因而N₂O排放水平较低。硝化微生物基因丰度随着土壤深度呈现显著下降趋势(图2),这可能是由于夏季表层温度过高导致。

群落结构分析结果(基于Shannon、Chao1和PCoA)表明,不同土地利用方式和土壤剖面对三类氨氧化微生物多样性与结构具有显著影响(图3)。表层土壤具有更高的多样性,这与其较高的有机质、根系分泌物以及氧气含量有关^[34]。在稻麦轮作土壤中,AOA和Comammox微生物多样性显著高于设施菜地土壤,尤其在表层土壤(图3a)。这可能归因于周期性湿润与干燥交替带来的氧化还原波动,增加了生态位多样性,有利于多类氨氧化微生物的共存^[35]。相比之下,果园土壤中AOB的微生物多样性较高,而AOA和Comammox相对较低(图3d)。这可能与果园长期施肥和灌溉形成的高养分、好气环境有关,更适合快速生长的细菌型氨氧化微生物^[36]。PCoA分析(图3e~图3g)显示,不同土地利用类型间AOA、AOB和Comammox群落结构均存在显著差异,其中,AOB群落的分化最为明显;而在土壤剖面上,各群落结构均未表现出显著性差异。说明AOB对土地利用变化(如氮素施用、通气性和pH变化)更为敏感^[37]。AOA和Comammox也表现出一定程度的分离,表明它们在生态位偏好上具有一定差异性。

本研究结合相关性分析和SEM分析,明确了关键环境因子如何影响氨氧化潜势与N₂O排放。在稻麦轮作土壤中氨氧化潜势与AOA、AOB和Comammox基因丰度之间存在显著相关性(图5),同时,土壤N₂O排放与NO₃⁻-N和NH₄⁺-N显著相关。这表明在周期性淹水和施肥条件下,氨氧化微生物对NH₄⁺-N和NO₃⁻-N供应变化反应敏感,与已有研究^[38]相符。Bi等^[39]的研究表明,蔬菜种植土壤中显著相关性较少,仅NO₃⁻-N和AOB基因丰度对N₂O排放和硝化速率呈正相关,AOB是蔬菜土壤氨氧化过程的主要驱动因子,其丰度与N₂O排放显著正相关。菜地土壤的氨氧化潜势贡献随着深度的增加由AOA变为AOB主导,可能是由于pH随深度由弱酸性至碱性导致。已有研究^[40]表明,AOA更适应酸性土壤,AOB则偏好碱性环境。本文研究也发现,稻麦轮作土壤N₂O的排放速率显著高于其他土地类型(图4a)。Qiu等^[41]的研究表明,土壤pH与N₂O排放速率呈驼峰型(单峰)规律,中等酸性土壤(pH5.6~6.5)的N₂O排放速率最高,与本研究结果相符合,稻麦轮作表层土壤的N₂O排放显著高于其他土地类型(图4a)。综合SEM模型分析结果(图6),AOB基因丰度不仅显著正向影响氨氧化潜势,还通过该路径间接驱动了N₂O排放的增强。半干旱农业土壤中发现,AOB基因丰度与总硝化速率呈正相关^[42]。SEM结构方程模型路径分析进一步表明,NH₄⁺-N浓度显著正向影响氨氧化潜势和N₂O排放速率(图6)。已有研究^[43]表明,施用NH₄⁺-N促使AOB活性增强,从而加剧N₂O排放。

综上所述,土地利用方式与土壤剖面通过调控土壤理化属性(如通气性、养分分布)及氨氧化微生物群落结构与活性,直接影响氨氧化过程及N₂O排放。因此,农业生产中应优化施肥结构、控制氮肥投入量,促进深层土壤氧化环境改善,以降低农业氮损失和温室气体排放。

4 结论

本研究系统揭示了稻麦轮作、果园与设施菜地三种典型土地利用方式下, 氨氧化微生物在春夏两季及不同土壤剖面中的分布特征及其对氮循环过程的功能贡献。结果表明, 不同土地利用和土壤剖面显著影响土壤理化性质 (pH、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、DOC), 并驱动 AOA、AOB 和 Comammox 等功能微生物的基因丰度与群落结构。表层土壤氨氧化潜势和 N_2O 排放分别为 $6.1 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 和 $17.9 \text{ ng}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, AOB 在氨氧化中占主导地位, 功能贡献表层占 56.6%, 深层占 64.7%, Comammox 的功能贡献随土壤深度增加逐渐增强。果园土壤微生物 α 多样性最为丰富。结构方程模型进一步表明, AOB 基因丰度是影响氨氧化潜势的核心因子, 土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度则正向驱动 N_2O 排放。本研究通过分析土壤理化环境与氨氧化功能微生物群落结构, 阐明了 AOB 与 Comammox 在不同土地利用与土壤剖面中驱动氮素转化及 N_2O 排放的机制与路径。针对农业实践, 优化氮肥施用策略 (如分层施肥、减量化施用) 和保持土壤适度通气, 可降低 N_2O 排放并提升氮利用效率。未来研究可进一步量化深层 Comammox 功能及其在温室气体排放调控中的作用, 为精准土壤氮素管理提供微生物学指导。

参考文献 (References)

- [1] Brown J R, Blankinship J C, Niboyet A, et al. Effects of multiple global change treatments on soil N_2O fluxes[J]. Biogeochemistry, 2012, 109(1): 85-100.
- [2] House G J, Stinner B R, Crossley D A, et al. Nitrogen cycling in conventional and no-tillage agro-ecosystems: Analysis of pathways and processes[J]. Journal of Applied Ecology, 1984, 21(3): 991-1012.
- [3] Wang J Y, Smith P, Hergoualc'h K, et al. Direct N_2O emissions from global tea plantations and mitigation potential by climate-smart practices[J]. Resources, Conservation and Recycling, 2022, 185: 106501.
- [4] Wang Y Y, Zhao W H, Bai M, et al. Research progress on ammonia oxidizing microorganisms: The discovery, nitrogen metabolic pathways, influencing factors and contribution rate[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2025, 13(5): 117477.
- [5] Daims H, Lebedeva E V, Pjevac P, et al. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria[J]. Nature, 2015, 528(7583): 504-509.
- [6] Shi X Z, Hu H W, Wang J Q, et al. Niche separation of comammox *Nitrospira* and canonical ammonia oxidizers in an acidic subtropical forest soil under long-term nitrogen deposition[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2018, 126: 114-122.
- [7] Osburn E D, Barrett J E. Abundance and functional importance of complete ammonia-oxidizing bacteria (comammox) versus canonical nitrifiers in temperate forest soils[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2020, 145: 107801.
- [8] Takahashi Y, Fujitani H, Hirono Y, et al. Enrichment of comammox and nitrite-oxidizing *Nitrospira* from acidic soils[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1737.
- [9] Lin Y X, Fan J B, Hu H W, et al. Differentiation of individual clusters of comammox *Nitrospira* in an acidic Ultisol following long-term fertilization[J]. Applied Soil Ecology, 2022, 170: 104267.
- [10] Liu S F, Wang H Y, Chen L M, et al. Comammox *Nitrospira* within the Yangtze River continuum: Community, biogeography, and ecological drivers[J]. The ISME Journal, 2020, 14(10): 2488-2504.
- [11] Sun P, Zhao Z T, Fan P S, et al. Ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria are dominant in nitrification of maize rhizosphere soil following combined application of biochar and chemical fertilizer[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 715070.
- [12] Li X, Wang Y W, Zhang Y L, et al. Dynamics of ammonia oxidizers in response to different fertilization inputs in intensively managed agricultural soils[J]. Applied Soil Ecology, 2021, 157: 103729.
- [13] Bai X, Hu X J, Liu J J, et al. Ammonia oxidizing bacteria dominate soil nitrification under different fertilization regimes in black soils of Northeast China[J]. European Journal of Soil Biology, 2022, 111: 103410.
- [14] Qiang R W, Wang M, Li Q, et al. The different responses of AOA and AOB communities to irrigation systems in the semi-arid region of Northeast China[J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15: 1374618.
- [15] Xie J, Jiang J G, Lu J, et al. Comammox and ammonia-oxidizing Archaea dominated the nitrification under different nitrogen fertilizer levels in acid purple soil of Southwest China[J]. Applied Soil Ecology, 2025, 207: 105941.

- [16] Liang D, Ji N N, Kent A, et al. Distinct mechanisms drive plant-nitrifier interactions in topsoil and subsoil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2024, 192: 109370.
- [17] Sun Z C, Xu S Q, Guo H R, et al. Atmospheric N deposition as a key driver of soil nitrate production and accumulation in temperate forests under semi-arid climate[J]. *Geophysical Research Letters*, 2025, 52(12): e2025GL117029.
- [18] Hu L, Dong Z X, Wang Z, et al. The contributions of ammonia oxidizing bacteria and archaea to nitrification-dependent N₂O emission in alkaline and neutral purple soils[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12: 19928.
- [19] Liu H Y, Qin S Y, Li Y, et al. Comammox *Nitrospira* and AOB communities are more sensitive than AOA community to different fertilization strategies in a fluvo-aquic soil[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 342: 108224.
- [20] Wang C. Study on the structure and activity of soil nitrifiers in desert steppe, northwestern China[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2019. [王晨. 西北荒漠草原土壤硝化菌群结构和活性的研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2019.]
- [21] Wei Z J, Shan J, Chai Y C, et al. Regulation of the product stoichiometry of denitrification in intensively managed soils[J]. *Food and Energy Security*, 2020, 9(4): e251.
- [22] Zhou H, Wang X M, Wei Z J, et al. Hot moments and hot spots and the associated influencing factors of denitrification along farmland soil profiles in Southern China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2025, 62(4): 1127-1136. [周晗, 王晓敏, 魏志军, 等. 南方农田土壤剖面硝态氮消纳的热时和热区效应及其影响因素[J]. *土壤学报*, 2025, 62(4): 1127-1136.]
- [23] Wang S Y, Wang X M, Jiang Y Y, et al. Abundance and functional importance of complete ammonia oxidizers and other nitrifiers in a riparian ecosystem[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(8): 4573-4584.
- [24] Jiang L P, Yu J, Wang S Y, et al. Complete ammonia oxidation in agricultural soils: High ammonia fertilizer loss but low N₂O production[J]. *Global Change Biology*, 2023, 29(7): 1984-1997.
- [25] Séneca J, Pjevac P, Canarini A, et al. Composition and activity of nitrifier communities in soil are unresponsive to elevated temperature and CO₂, but strongly affected by drought[J]. *The ISME Journal*, 2020, 14(12): 3038-3053.
- [26] Cai Y J, Shen J P, Zhang C J, et al. Spatial-temporal patterns of soil ammonia oxidizer and denitrifier bacteria under different land-use types[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2022, 42(14): 5847-5858. [蔡玉佳, 沈菊培, 张成军, 等. 不同土地利用方式土壤氨氧化微生物和反硝化微生物时空分布特征[J]. *生态学报*, 2022, 42(14): 5847-5858.]
- [27] Chang Y H, Shen J P, Wu W J, et al. Nitrification inhibitors affect the abundance of ammonia-oxidizing microorganisms and nitrification in black soil in a short-term microcosm[J]. *Microbiology China*, 2024, 51(12): 5037-5050. [常钰海, 沈菊培, 巫文晶, 等. 短期培养下硝化抑制剂对黑土氨氧化微生物丰度和硝化作用的影响[J]. *微生物学通报*, 2024, 51(12): 5037-5050.]
- [28] Jung M Y, Sedlacek C J, Kits K D, et al. Ammonia-oxidizing archaea possess a wide range of cellular ammonia affinities[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16(1): 272-283.
- [29] Yang Y, Zhao Y J, Song X T, et al. Relative contribution of ammonia-oxidizing microorganisms to nitrous oxide emissions in upland agricultural soils[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2024, 61(5): 1398-1409. [杨钰, 赵永鉴, 宋晓桐, 等. 典型旱作农田土壤氧化亚氮排放的氨氧化微生物相对贡献[J]. *土壤学报*, 2024, 61(5): 1398-1409.]
- [30] Yu B H, Zeng Q C, Li J L, et al. Sediment depth-related variations of comammox *Nitrospira*: Evidence in the Three Gorges Reservoir, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 905: 167055.
- [31] Zhang J B, Müller C, Cai Z C. Heterotrophic nitrification of organic N and its contribution to nitrous oxide emissions in soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 84: 199-209.
- [32] Zou J W, Huang Y, Lu Y Y, et al. Direct emission factor for N₂O from rice-winter wheat rotation systems in southeast China[J]. *Atmospheric Environment*, 2005, 39(26): 4755-4765.
- [33] Li Z L, Zeng Z Q, Tian D S, et al. Global variations and controlling factors of soil nitrogen turnover rate[J]. *Earth-Science Reviews*, 2020, 207: 103250.
- [34] Shi X Z, Eisenhauer N, Peñuelas J, et al. Trophic interactions in soil micro-food webs drive ecosystem multifunctionality along tree species richness[J]. *Global Change Biology*, 2024, 30(3): e17234.
- [35] Hu J J, Zhao Y X, Yao X W, et al. Dominance of comammox *Nitrospira* in soil nitrification[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 780: 146558.

- [36] Chinthalapudi D P M, Kingery W, Shanmugam S G. A review of plant-mediated and fertilization-induced shifts in ammonia oxidizers: Implications for nitrogen cycling in agroecosystems[J]. Land, 2025, 14(6): 1182.
- [37] Ohigashi T, Mori S, Tago K, et al. Differential responses of soil ammonia-oxidizing bacterial and archaeal communities to land-use changes in Zambia[J]. Microbes and Environments, 2025, 40(1): ME24049.
- [38] Prosser J I, Nicol G W. Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: The quest for niche specialisation and differentiation[J]. Trends in Microbiology, 2012, 20(11): 523-531.
- [39] Bi R Y, Xu X T, Zhan L P, et al. Proper organic substitution attenuated both N₂O and NO emissions derived from AOB in vegetable soils by enhancing the proportion of *Nitrosomonas*[J]. Science of the Total Environment, 2023, 866: 161231.
- [40] Bi R Y, Xu X T, Wang B X, et al. Evidence of complete ammonia-oxidizing microbial communities and their contribution to N₂O emissions in typical vegetable fields across China[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2024, 194: 109423.
- [41] Qiu Y P, Zhang Y, Zhang K C, et al. Intermediate soil acidification induces highest nitrous oxide emissions[J]. Nature Communications, 2024, 15: 2695.
- [42] Banning N C, Maccarone L D, Fisk L M, et al. Ammonia-oxidising bacteria not archaea dominate nitrification activity in semi-arid agricultural soil[J]. Scientific Reports, 2015, 5: 11146.
- [43] Du M Y, Yuan J Y, Zhuo M C, et al. Effects of different land use patterns on soil properties and N₂O emissions on a semi-arid Loess Plateau of Central Gansu[J]. Frontiers in Ecology and Evolution, 2023, 11: 1128236.

(责任编辑: 陈荣府)