

梁林豪, 王晓敏, 冯雪莹, 何健, 颜晓元, 单军. 设施与露天菜地硝化微生物活性和 N<sub>2</sub>O 产生潜势的差异及热时效应[J]. 土壤学报, 2026,

LIANG Linhao, WANG Xiaomin, FENG Xueying, HE Jian, YAN Xiaoyuan, SHAN Jun. Hot-moment and Differences in Nitrification and N<sub>2</sub>O Production Potential Between Greenhouse and Open-field Vegetable Soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2026,

# 设施与露天菜地硝化微生物活性和 N<sub>2</sub>O 产生潜势的差异及热时效应\*

梁林豪<sup>1, 2, 3</sup>, 王晓敏<sup>2, 3†</sup>, 冯雪莹<sup>2, 3</sup>, 何健<sup>1†</sup>, 颜晓元<sup>2, 3</sup>, 单军<sup>2, 3</sup>

(1. 南京农业大学生命科学学院, 南京 210014; 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)

**摘要:** 设施菜地与露天菜地在环境条件上的差异, 可能导致硝化作用强度及 N<sub>2</sub>O 产生水平不同。然而, 目前对不同管理模式硝化微生物活性、N<sub>2</sub>O 产生的季节性动态及硝化微生物群落响应机制仍不清楚。基于此, 采用静态箱法、多抑制剂法和高通量测序等方法, 系统研究了设施菜地与露天菜地的 N<sub>2</sub>O 通量, 以及完全氨氧化菌(Comammox)、氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)的丰度、硝化活性及 N<sub>2</sub>O 产生潜势的季节变化特征与生态位差异; 并解析了环境因子对群落结构和硝化功能的影响。结果表明, 设施菜地原位 N<sub>2</sub>O 排放通量显著大于露天菜地, 在 3 月和 5 月具有“热时效应”, 贡献全年总通量的 71.23%±25.50%。总体而言, 菜地土壤的硝化活性在 7 月和 9 月出现“热时效应”, 主要受夏季高温驱动, 占全年总硝化活性的 52.41%±1.59%。此时期亦为 N<sub>2</sub>O 产生潜势的高峰期(61.35%±9.24%)。其中, 设施菜地的硝化作用及 N<sub>2</sub>O 产生主要由 AOB 驱动, 而露天菜地则以 AOA 为主导。设施管理增加了 Comammox 的丰度, 但抑制了其硝化功能, 而 AOB 的丰度与功能均被显著增强。相关性分析显示, 土壤温度、溶解性有机碳(DOC)和 pH 是驱动菜地硝化功能变化的重要环境因素, 硝态氮和 DOC 是影响硝化微生物群落结构的关键环境因子。本研究揭示了菜地的差异化管理对硝化微生物硝化过程的影响, 表明露天菜地向设施菜地的转变可能增加由 AOB 所驱动的 N<sub>2</sub>O 产生, 为优化菜地氮素管理与 N<sub>2</sub>O 减排策略提供科学依据。

**关键词:** 设施菜地; 露天菜地; 硝化微生物; 氧化亚氮; 热时效应; 完全氨氧化菌

中图分类号: Q938.1

文献标志码: A

## Hot-moment and Differences in Nitrification and N<sub>2</sub>O Production Potential Between Greenhouse and Open-field Vegetable Soils

LIANG Linhao<sup>1, 2, 3</sup>, WANG Xiaomin<sup>2, 3†</sup>, FENG Xueying<sup>2, 3</sup>, HE Jian<sup>1†</sup>, YAN Xiaoyuan<sup>2, 3</sup>, SHAN Jun<sup>2, 3</sup>

(1. College of Life Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210014, China; 2. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China; 3. Changshu Agro-ecological Experimental Station, Chinese Academy of Sciences, Changshu, Jiangsu 215555, China)

\*国家自然科学基金区域创新发展联合基金项目(U25A20755)和中国博士后科学基金(2023M733594)共同资助 Supported by the Regional Innovation and Development Joint Fund of the National Natural Science Foundation of China (No. U25A20755) and the Postdoctoral Science Foundation of China (No. 2023M733594)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: hejian@njau.edu.cn; xiaominwang@issas.ac.cn

作者简介: 梁林豪(2000—), 男, 江西上饶人, 硕士, 主要从事研究领域为氮循环微生物生态学方面。E-mail: linhaoliang25@163.com

收稿日期: 2025-10-10; 收到修改稿日期: 2026-04-17; 网络首发日期(www.cnki.net):

**Abstract:** 【Objective】 Greenhouse vegetable systems, characterized by greenhouse covering, intensive fertilization, and frequent irrigation, create a semi-closed, warm, and humid microenvironment that more readily intensifies nitrification-driven nitrogen losses and greenhouse gas emissions compared with open-field vegetable systems. Greenhouse and open-field vegetable systems differ markedly in their environmental conditions, which may lead to variations in the intensity of nitrification and the level of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) production. However, the seasonal dynamics of nitrification activity and N<sub>2</sub>O production, as well as the underlying community response mechanisms under different management practices, remain poorly understood. 【Method】 Soil samples were collected bimonthly (January to November) from representative greenhouse and open-field vegetable systems in Changshu, Jiangsu Province, China. Meanwhile, *in situ* N<sub>2</sub>O was collected from the vegetable field using the static chamber method. A microcosm experiment with combined inhibitors was employed to quantitatively assess the annual dynamics of nitrification activity and N<sub>2</sub>O production driven by complete ammonia-oxidizing bacteria (Comammox) and conventional ammonia-oxidizing microorganisms (Ammonia-oxidizing bacteria, AOB and Ammonia-oxidizing archaea, AOA). The absolute abundances of these microbial groups were determined using quantitative real-time PCR (qPCR) targeting the *amoA* gene. Additionally, high-throughput sequencing of the *amoA* gene was conducted to characterize the seasonal shifts in community structure and their responses to different management regimes. 【Result】 Results showed that *in situ* N<sub>2</sub>O flux in greenhouse vegetable soils was significantly higher than that in open-field vegetable soils, with a pronounced “hot-moment effect” in March and May, contributing 71.23% ± 25.50% of the annual total flux. Soil nitrification activity exhibited a pronounced “hot-moment” effect in July and September, accounting for 52.41% ± 1.59% of the annual total, which coincided with the highest N<sub>2</sub>O production potential (61.35% ± 9.24% of the annual release). Functionally, the nitrification process and N<sub>2</sub>O production were predominantly mediated by AOB in greenhouse vegetable soils, whereas AOA dominated in open-field vegetable soils. The greenhouse vegetable system promoted the accumulation of Comammox abundance but suppressed its nitrification function, whereas both the abundance and activity of AOB were significantly enhanced. Correlation analysis revealed that soil temperature, dissolved organic carbon (DOC) and soil pH were the primary drivers of nitrification, while nitrate and DOC were the main factors shaping microbial community composition. 【Conclusion】 This study elucidates the influence of differentiated management practices on the nitrification processes of soil nitrifying microorganisms, and demonstrates that the shift from open-field to greenhouse vegetable systems may increase AOB-driven N<sub>2</sub>O production. These findings provide a scientific foundation for optimizing nitrogen management and developing N<sub>2</sub>O mitigation strategies in vegetable cultivation systems.

**Key words:** Greenhouse vegetable soil; Open-field vegetable soil; Nitrifying microorganisms; Nitrous oxide; Hot moment effect; Comammox

中国的设施蔬菜种植面积已超过 400 万 hm<sup>2</sup>, 占全球设施蔬菜生产系统的 80% 以上, 并且还有不断扩大的趋势。随之增加的氮肥施用和频繁灌溉, 将加剧菜地土壤中氮的积累和氧化亚氮 (N<sub>2</sub>O) 的排放<sup>[1]</sup>。设施菜地通常依赖塑料大棚或日光温室营造出相对稳定而独特的微环境, 更为频繁的水肥管理与高强度耕作导致菜地土壤氮素及有机质的累积<sup>[2]</sup>。这种高度干预的管理方式还会引起土壤酸化<sup>[3]</sup>、温室气体排放<sup>[4]</sup>和土壤质量下降<sup>[5]</sup>等问题。相比之下, 露天菜地受自然降水和季节、气候调控, 施肥与灌溉强度较低<sup>[6]</sup>, 土壤氮素累积程度和理化性质波动特征均显著不同。由于长期管理模式的差异, 设施与露天菜地的土壤理化性质呈现显著不同, 尤其是 pH、铵态氮 (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)、土壤含水率和溶解性有机碳 (DOC)。这种差异化的土壤环境, 为参与氮素转化微生物群落的构建与功能表达提供了不同的生态选择背景。

硝化作用直接影响农业生态系统中氮素的有效性和环境损失, 尤其是 N<sub>2</sub>O 的排放, 其贡献率可达农业生态系统 N<sub>2</sub>O 排放总量的 20%~40%<sup>[7]</sup>。硝化微生物作为硝化作用的主要驱动者, 其群落结构和功能受土壤 pH、底物供给水平、水分条件及碳源可利用性等土壤理化性质的调控。传统硝化微生物——氨氧化古菌 (Ammonia-oxidizing archaea, AOA) 与氨氧化细菌 (Ammonia-oxidizing bacteria, AOB), 在不同环境条件下的生态位分化和功能特征已被广泛报道。近年来发现, 完全氨氧化菌

(Complete ammonia-oxidizing bacteria, Comammox) 具备独立将氨氧化为硝酸盐的能力<sup>[8]</sup>。它们不仅广泛分布于森林<sup>[9]</sup>、草地和海洋<sup>[10]</sup>等低氮环境,对高氮环境也有强烈响应<sup>[11]</sup>。设施菜地作为一种典型高氮系统,长期设施管理已被证实会显著改变 AOA 和 AOB 的群落结构<sup>[12]</sup>及其在硝化过程和 N<sub>2</sub>O 排放中的功能<sup>[13]</sup>。然而,目前关于设施菜地中 Comammox 的研究仍相对匮乏<sup>[14]</sup>。鉴于其在氮素<sup>[15]</sup>和水分<sup>[16]</sup>等条件差异下可能采取不同的生存策略,Comammox 在不同管理模式中的作用亟待深入探究。土壤硝化作用及 N<sub>2</sub>O 的产生受底物供给和灌溉条件的共同调控,对温度变化也具有较为敏感的反应<sup>[17]</sup>。升高温度会刺激硝化作用及 N<sub>2</sub>O 的排放,短时间内高强度的硝化作用或温室气体排放对全年具有不成比例的巨大贡献可概括为热时 (Hot moment) <sup>[18]</sup>,已有研究利用“热时”效应来评估一年中菜地氮转化速率的高峰期<sup>[19]</sup>。季节变化引起的环境差异会影响硝化微生物丰度和转录活性<sup>[20]</sup>,可能直接影响露天菜地的硝化微生物群落结构及硝化过程。然而,设施菜地的大棚条件抵御一定程度的季节气候变化,可能赋予其有别于露天菜地的硝化微生物生态特征。目前,Comammox 与传统硝化微生物的硝化作用在两种管理模式下的季节性变化和生态位差异尚不清楚。

因此,本研究聚焦于长江中下游典型的设施菜地与露天菜地,通过全年多时点采样,结合多抑制剂微宇宙培养实验与分子生物学手段,以期探明 Comammox 和传统硝化微生物的丰度、活性及其 N<sub>2</sub>O 产生潜在在两种管理模式下的年际变化规律,以及驱动群落结构与功能特征的关键土壤环境因子。研究结果将深化对设施农业背景下硝化过程的微生物机制的理解,为优化设施农业系统硝化过程与 N<sub>2</sub>O 减排策略提供微生物生态学理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域与样品采集

本研究依托中国科学院常熟农业生态实验站 (31°33'N, 120°42'E),选择江苏省常熟市辛庄镇种植 5 年以上的两类典型菜地 (设施菜地与露天菜地) 作为样本采集点。该地区属于典型的亚热带季风气候,年均温 15.5 °C,年均降水量为 1 033 mm。菜地均实行以十字花科芸薹属蔬菜为核心的轮作模式,作物类型有上海青、鸡毛菜、黄心菜等。设施菜地采用大棚覆盖的半封闭式管理模式,棚内配备洒水装置以控制土壤水分,平均每年种植 4~5 茬,年施氮量为 600 kg·hm<sup>-2</sup> (以 N 计,下同),分四次施肥。露天菜地则完全暴露于自然环境,主要依赖于自然降水,并辅以少量灌溉,平均每年种植 2~3 茬,年均施氮量为 350 kg·hm<sup>-2</sup>。

于 2023 年 9 月至 2024 年 7 月期间的 1、3、5、7、9、11 月份对以上两类典型菜地进行土壤 (0~20 cm) 样品采集;同时使用静态箱法,在 50 min 内于 0、5、15、30 和 50 min 采集原位气体样品。土壤温度通过地温计测量,气体温度通过静态箱顶部的内置温度显示器获取。后续使用气相色谱仪 (Agilent 7890A, 美国) 测定原位 N<sub>2</sub>O 浓度,采用线性拟合计算原位 N<sub>2</sub>O 排放通量 (式 (1)),各设置三个重复样本。土壤样品合并后置于无菌塑封袋中,4 °C 运回实验室,过 10 目筛去除砂石和根系,并充分均质化。土壤分为三份:一份用于理化指标测定,其余风干和冻干备用于功能分析及 DNA 提取。

新鲜土壤按水土质量比为 1:4 振荡 2 h,经 0.45 μm 微孔滤膜过滤得到浸提液。使用 pH 计 (Sartorius, 德国) 测定 pH;使用总碳分析仪 (Multi N/C 3000, Analytik Jena, 德国) 测定土壤 DO C。采用烘干称重法,经 105 °C,12 h,期间称量三次确定恒重后测定含水量。使用 2 mol·L<sup>-1</sup> KCl (1:5, m/v) 提取土壤中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N,提取液经 0.45 μm 滤膜过滤后,用流动分析仪 (Smartchem 200S/N1104238, WESTCO, 法国) 测定其浓度。基本土壤理化性质见表 1。

$$F = \frac{\rho \times h \times \Delta C}{\Delta t} \quad (1)$$

式中,  $F$  为气体通量, mg·m<sup>-2</sup>·h<sup>-1</sup>;  $\rho$  为气体密度, mol·m<sup>-3</sup>;  $h$  为筒体高度, m;  $\Delta C/\Delta t$  为测量周期内

气体浓度与时间线性拟合方程斜率。

## 1.2 多抑制剂耦合联用技术

采用多抑制剂-微宇宙耦合技术, 通过添加硫酸铵 ( $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) 并联合使用硝化抑制剂 1-辛炔 ( $\text{C}_8\text{H}_{14}$ ,  $0.03\%$  ( $v/v$ ), 抑制 AOB)、3, 4-二甲基吡唑磷酸盐 (DMPP,  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 抑制 AOB+Comammox) 和乙炔 ( $\text{C}_2\text{H}_2$ ,  $0.01\%$  ( $v/v$ ), 抑制 Comammox+AOA+AOB), 区分测定一年两种管理模式的菜地土壤中 Comammox、AOA 和 AOB 的硝化速率、 $\text{N}_2\text{O}$  产生潜势及其相对贡献率。

具体而言, 称取  $5 \text{ g}$  土样并置于  $60 \text{ mL}$  洁净血清瓶中, 用丁基橡胶塞及  $\phi 20 \text{ mm}$  铝盖密封。使用含  $20\%$  ( $v/v$ ) 氧气的氮氧混合气体置换瓶内气体后, 立即加入  $50 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  的硫酸铵 ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) 及相应抑制剂。培养温度对应采样时原位土壤温度, 分别于 0、1、3、6、10 d 取样。在每个时间点, 用配有三通阀的注射器从瓶内上部空间抽取  $25 \text{ mL}$  顶空气体, 转移至  $20 \text{ mL}$  真空瓶中保存, 用于后续  $\text{N}_2\text{O}$  浓度测定 (气相色谱仪分析)。培养结束后, 用  $2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1} \text{ KCl}$  ( $1: 5, m/v$ ) 提取土壤中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  和  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , 提取液经  $0.45 \mu\text{m}$  滤膜过滤后, 用流动分析仪 (Smartchem 200S/N1104238, WES TCO, 法国) 测定其浓度。参考前人<sup>[21]</sup>研究方法, 通过拟合不同时间点  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  减少量与  $\text{N}_2\text{O}$  积累量的线性变化, 计算土壤硝化速率和  $\text{N}_2\text{O}$  产生潜势, 经过不同抑制组之间的速率差减来区分各硝化微生物的硝化速率和  $\text{N}_2\text{O}$  产生潜势 (表 1)。为了方便计算, 本研究以氨氧化速率代表硝化速率, 下同。

表 1 硝化微生物硝化速率和  $\text{N}_2\text{O}$  产生潜势的计算公式

Table 1 The calculation formula for nitrification rate and  $\text{N}_2\text{O}$  production potential of nitrifying microorganisms

微生物类型 Microbial types	速率计算公式 Formula for rate	贡献计算公式 Formula for contribution
AOA	$K_{\text{AOA}}=K_{\text{DMPP}}-K_{\text{C}_2\text{H}_2}$	$C_{\text{AOA}}=K_{\text{AOA}}/(K_{\text{AOA}}+ K_{\text{AOB}}+ K_{\text{Comammox}}) \times 100\%$
AOB	$K_{\text{AOB}}=K_{\text{CK}}-K_{\text{C}_8\text{H}_{14}}$	$C_{\text{AOB}}=K_{\text{AOB}}/(K_{\text{AOA}}+ K_{\text{AOB}}+ K_{\text{Comammox}}) \times 100\%$
Comammox	$K_{\text{Comammox}}=K_{\text{C}_8\text{H}_{14}}-K_{\text{DMPP}}$	$C_{\text{Comammox}}=K_{\text{Comammox}}/(K_{\text{AOA}}+ K_{\text{AOB}}+ K_{\text{Comammox}}) \times 100\%$

注: AOA, 氨氧化古菌; AOB, 氨氧化细菌; Comammox, 完全氨氧化菌;  $K_{\text{AOA}}$ 、 $K_{\text{AOB}}$ 、 $K_{\text{Comammox}}$  分别为 AOA、AOB 和 Comammox 的硝化速率或  $\text{N}_2\text{O}$  产生速率。 $C_{\text{AOA}}$ 、 $C_{\text{AOB}}$ 、 $C_{\text{Comammox}}$  分别为 AOA、AOB 和 Comammox 的硝化速率或  $\text{N}_2\text{O}$  产生的贡献。 $K_{\text{CK}}$ 、 $K_{\text{C}_8\text{H}_{14}}$ 、 $K_{\text{DMPP}}$  和  $K_{\text{C}_2\text{H}_2}$  代表四个处理组的硝化速率和  $\text{N}_2\text{O}$  产生潜势。下同。Note: AOA, ammonia-oxidizing archaea; AOB, ammonia-oxidizing bacteria; Comammox, complete ammonia oxidizers.  $K_{\text{AOA}}$ ,  $K_{\text{AOB}}$ , and  $K_{\text{Comammox}}$  represent the nitrification rates or  $\text{N}_2\text{O}$  production rates of AOA, AOB, and Comammox, respectively.  $C_{\text{AOA}}$ ,  $C_{\text{AOB}}$ , and  $C_{\text{Comammox}}$  represent the contributions of AOA, AOB, and Comammox to nitrification or  $\text{N}_2\text{O}$  production, respectively.  $K_{\text{CK}}$ ,  $K_{\text{C}_8\text{H}_{14}}$ ,  $K_{\text{DMPP}}$ , and  $K_{\text{C}_2\text{H}_2}$  denote the nitrification rates and  $\text{N}_2\text{O}$  production potentials under the four treatment groups. The same below.

## 1.3 DNA 提取、qPCR 扩增和高通量分析

按月份采集的土壤样品经冷冻干燥, 研磨均匀并过 100 目筛后, 利用 Fast DNA™ SPIN Kit for Soil (MP, 美国) 提取总 DNA, 最后通过 Nanodrop 分光光度计 (Thermo Scientific, 美国) 评估其质量与纯度。本研究以氨单加氧酶 (Ammonia monooxygenase, AMO)  $\alpha$  亚基的编码基因 *amoA* 作为目标功能基因, 采用实时荧光定量 PCR (qPCR) 技术定量分析硝化微生物的丰度特征。所用引物为 CA377f (GTGGTGGTGGTCBAAAYTA) /C576r (GAAGCCCATRTARTCNGCC)、Arch-*amoA*F (STAATGGTCTGGCTTAGACG) /Arch-*amoA*R (GCGGCCATCCATCTGTATGT) 和 *amoA*1F9 (GGGGTTTCTACTGGTGTT)/*amoA*-2R5(CCCTCKGSAAAGCCTTCTTC), 分别用于 Comammox、AOA 和 AOB 的扩增。qPCR 反应体系包括:  $10 \mu\text{L}$  TB Green Premix Ex Taq ( $2\times$ )、 $0.8 \mu\text{L}$  正反向引物 (各  $20 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ )、 $0.4 \mu\text{L}$  ROX Reference Dye II、 $2 \mu\text{L}$  模板 DNA ( $5\sim 20 \text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ) 及  $6.0 \mu\text{L}$  无菌水, 总体积为  $20 \mu\text{L}$ 。设置无 DNA 模板为阴性对照, 通过标准质粒构建标准曲线, 并计算样品中 *amoA* 基因拷贝数, 扩增效率均在  $90\%\sim 110\%$ , 决定系数  $R^2$  均大于 0.98。

土壤样品送至上海美吉生物医药科技有限公司的 Illumina 平台对 Comammox、AOB 和 AOA 的

*amoA* 进行高通量测序。所得原始测序数据经 *fastq* 工具进行质量控制与过滤，双端拼接后，使用 *vs earch* 软件进行引物切除、序列去冗余与聚类，并去除嵌合体序列。有效序列以 97% 的相似性聚类为操作分类单元 (Operational taxonomic units, OTUs)，并通过 *blastx* 比对至自建的 *amoA* 蛋白数据库进行功能注释与分类鉴定，获取各类硝化微生物的代表 OTU 信息。原始数据已提交至美国国家生物技术信息中心 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) (登录号: PRJNA1321486)。

#### 1.4 数据分析

统计分析和图形绘制使用 SPSS 27.0.1、R 4.3.2 软件与 Origin 2024b 完成。采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 检验不同月份土壤理化性质、硝化速率和 N<sub>2</sub>O 产生速率的差异，以及三种硝化微生物贡献差异；配对 *t* 检验分析两种管理模式土壤理化性质及硝化功能的差异；斯皮尔曼 (Spearman) 相关性分析、冗余分析 (RDA) 探讨土壤理化因子与硝化微生物丰度、硝化速率和 N<sub>2</sub>O 产生速率，以及群落结构之间的关系；综合使用随机森林 (Random forest)、偏最小二乘判别分析 (Partial least squares discriminant analysis, PLS-DA) 和威尔科克森符号秩检验 (Wilcoxon signed rank test) 筛选关键硝化微生物 OTUs，并使用标准分数标准化 (Z-Score) 显示关键 OTUs 在两种管理模式不同月份之间的相对丰度变异。所有数据分析均以  $P < 0.05$  为显著水平。

## 2 结果

### 2.1 设施和露天菜地土壤的基本理化性质

如表 2 所示，两种不同管理模式，设施菜地土壤温度和含水量均显著大于露天菜地 ( $P < 0.05$ )，其中，除 5 月份外的其他月份设施菜地土壤温度均高于露天菜地，差值范围为 4.14~9.93 °C。设施和露天菜地的 pH 处于 4.5~6.6，呈现弱酸性，两者之间无显著差异。设施菜地 DOC 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 显著高于露天菜地 ( $P < 0.05$ )，两者的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 无显著差异。

表 2 设施和露天菜地土壤的基本理化性质

Table 2 Basic physical and chemical properties of soil in greenhouse and open-field vegetable soils

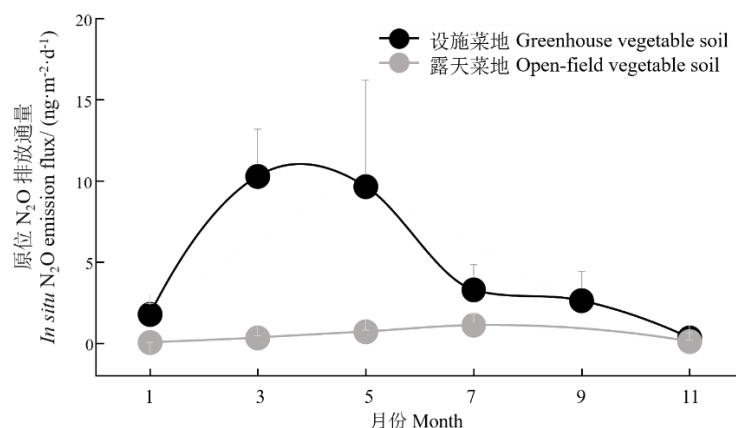
管理模式 Management practice	月份 Month	Te/ °C	pH	SWC/ (g·kg <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	DOC/ (mg·kg <sup>-1</sup> )
设施菜地 Greenhouse vegetable soils	1	9.97±0.12f	5.46 ± 0.06b	210.80 ± 4.10d	0.83 ± 0.00e	76.12 ± 2.43b	52.80 ± 2.89c
	3	20.00±0.16d	4.94 ± 0.32c	303.80 ± 5.60a	24.49 ± 1.39b	154.80 ± 9.11a	53.11 ± 1.19c
	5	25.00±0.14c	5.02 ± 0.03c	284.70 ± 0.00b	0.65 ± 0.06e	63.00 ± 1.96b	53.51 ± 2.67c
	7	34.97±0.17b	6.61 ± 0.40c	258.80 ± 3.50c	5.55 ± 0.66d	47.00 ± 11.77c	103.49 ± 1.48a
	9	36.67±0.78a	5.55 ± 0.04b	285.00 ± 1.20b	9.44 ± 0.09c	165.86 ± 2.20a	108.22 ± 19.30a
露天菜地 Open-field vegetable soils	11	15.00±0.28e	6.06 ± 0.05a	316.10 ± 3.30a	61.79 ± 17.31a	177.97 ± 7.15a	67.43 ± 2.38b
	1	5.07±0.05e	5.10 ± 0.02b	214.30 ± 0.70b	26.14 ± 0.12a	9.24 ± 0.49c	27.24 ± 2.27d
	3	10.07±0.12d	4.79 ± 0.07c	273.80 ± 3.40a	2.95 ± 0.31d	2.30 ± 0.04f	32.44 ± 0.79c
	5	25.00±0.08c	4.46 ± 0.01d	165.40 ± 0.10c	7.79 ± 0.54c	47.17 ± 1.72b	25.06 ± 0.09d
	7	30.03±0.05b	5.09 ± 0.05b	79.10 ± 3.20d	1.23 ± 0.18e	4.54 ± 0.14e	62.72 ± 0.77a
	9	32.53±0.09a	5.98 ± 0.02a	282.50 ± 3.80a	1.91 ± 0.97e	5.12 ± 0.59d	48.63 ± 1.94b
	11	10.13±0.17d	4.69 ± 0.03c	168.40 ± 6.90c	17.18 ± 0.32b	143.13 ± 2.09a	20.57 ± 1.40e

注：Te，土壤温度；SWC，土壤含水量；NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N，铵态氮；NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N，硝态氮；DOC，溶解性有机碳。表中不同小写字母表示设施菜地或露天菜地的不同月份间理化性质的差异显著 ( $P < 0.05$ )。表中时间点已按照自然月顺序排列，以展示年度动态。实际采样时间详见“材料”

与方法”。以下相关图表的呈现均采用此方法。Note: Te, soil temperature; SWC, soil water content;  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ , ammonium nitrogen;  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ , nitrate nitrogen; DOC, dissolved organic carbon. Different lowercase letters in the table indicate significant differences ( $P < 0.05$ ) in physicochemical properties between different months for greenhouse vegetable soils or open-field vegetable soils. The time points in the table are arranged in natural month order to illustrate annual dynamics. The actual sampling times are as detailed in the "Materials and Methods" section. The same method is applied to the presentation of the relevant figures that follow.

## 2.2 设施和露天菜地原位 $\text{N}_2\text{O}$ 通量年际变化

两种不同管理模式下, 设施菜地原位  $\text{N}_2\text{O}$  的排放通量显著大于露天菜地 ( $P < 0.05$ ), 其中 3、5 月份极为明显, 分别高达露天菜地的 29 倍和 13 倍。设施菜地原位  $\text{N}_2\text{O}$  的排放通量年际变化为  $0.35\sim 10.29 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$  (以 N 计, 下同), 在全年的 3 月和 5 月具有明显最高峰期, 贡献全年总通量的  $71.23\% \pm 25.50\%$ ; 露天菜地原位  $\text{N}_2\text{O}$  的排放通量年际变化为  $0.06\sim 1.12 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{d}^{-1}$ , 在 7 月份具有最高排放通量 (图 1)。



注: 由于采样条件限制, 未能采集到 9 月份露天菜地的原位气体; Note: *In situ* gas measurements for the open-field vegetable plot in September were not available due to sampling constraints.

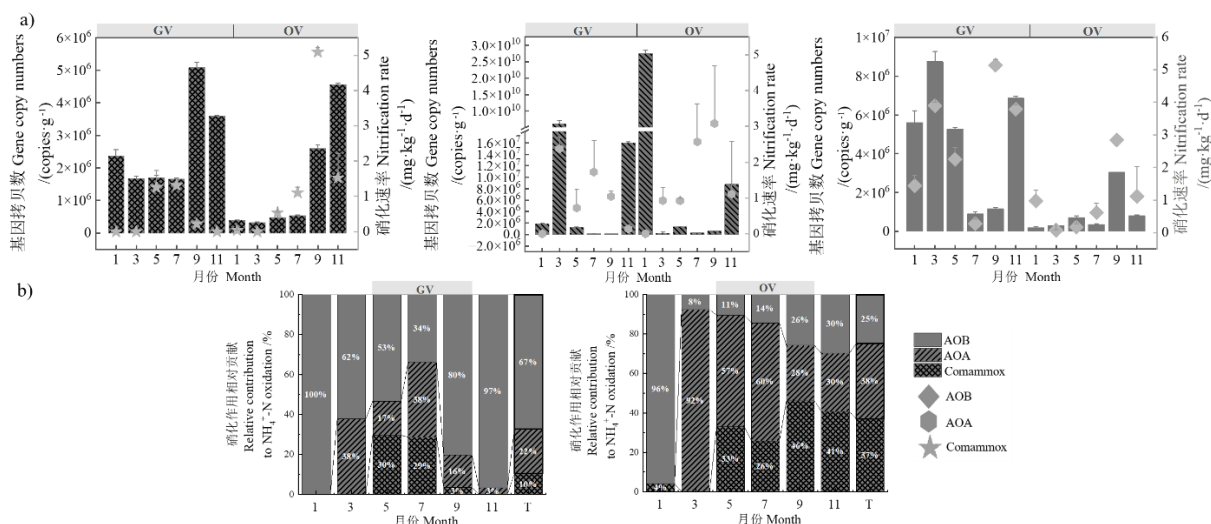
图 1 设施和露天菜地土壤原位氧化亚氮排放通量的时间变化特征

Fig. 1 Temporal variation of *in situ* soil  $\text{N}_2\text{O}$  emission flux in greenhouse and open-field vegetable soils

## 2.3 设施和露天菜地硝化微生物的丰度和硝化速率的年际变化特征

两种管理模式差异对硝化微生物丰度具有显著影响, 设施菜地中的 AOB 和 Comammox (尤其在 1、3、5 月份) 显著高于露天菜地 ( $P < 0.05$ )。总体而言, AOA 年际丰度范围为  $1.86 \times 10^6 \sim 2.75 \times 10^{10} \text{ copies}\cdot\text{g}^{-1}$ , 与 AOB 和 Comammox 无显著差异。两种管理模式三类硝化微生物的丰度在不同月份具有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 其中 Comammox 在 9 月份具有最高丰度 (图 2a)。

两种管理模式下, 设施菜地的总硝化活性与露天菜地无显著差异。AOB 在设施菜地中的硝化活性显著大于露天菜地 ( $P < 0.05$ ), 而 Comammox 在露天菜地的硝化活性显著大于设施菜地 ( $P < 0.05$ ), 特别是在 9 月份。在设施管理模式下, 硝化作用以 AOB 为主导 ( $67\% \pm 0.33\%$ ), AOA 次之, Comammox 贡献最小; 而在露天菜地中, AOA 为主要主导类群 ( $38\% \pm 15.68\%$ ), 其次为 Comammox, AOB 的功能贡献最低 (图 2b)。整体上, AOB 的总年际硝化活性范围为  $0\sim 5.14 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ , 略高于 AOA, Comammox 硝化活性最小。总硝化活性在全年的 7 和 9 月份显著高于其他月份 ( $P < 0.05$ ), 具有明显“热时”效应。



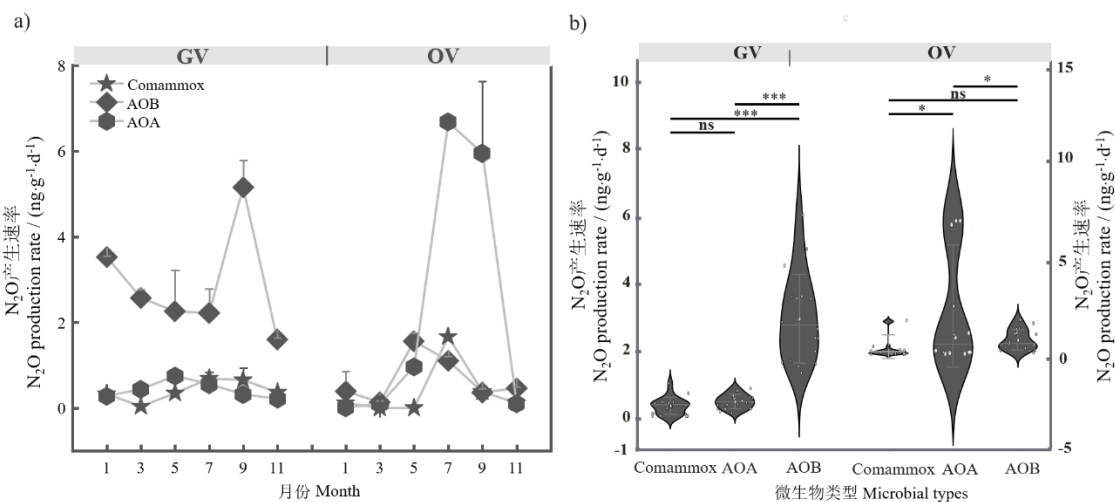
注: GV 为设施菜地, OV 为露天菜地, 下同; T 所指的柱状图表示对应管理模式下三类硝化微生物全年硝化活性贡献的总占比; 四边形、六边形和五角星分别代表氨氧化古菌、氨氧化细菌和完全氨氧化菌的硝化速率。Note: GV denotes greenhouse vegetable soils, while OV represents open-field vegetable soils, the same below. T in the bar plots indicates the annual cumulative contribution of the three types of nitrifying microorganisms to nitrification under each management system. Squares, hexagons, and pentagrams represent the nitrification rates of AOA, AOB, and Comammox, respectively.

图 2 设施菜地和露天菜地土壤硝化微生物丰度、硝化速率 (a) 及其相对贡献 (b) 的时间变化特征

Fig. 2 Temporal variation in the abundance, nitrification rate (a), and relative contribution of nitrifying microorganisms (b) from greenhouse and open-field vegetable soils

## 2.4 设施和露天菜地硝化微生物的 N<sub>2</sub>O 产生潜势的年际变化特征

由图 3 可知, 设施菜地土壤中, AOB 的 N<sub>2</sub>O 产生速率为 1.56~5.15 ng·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> (均值为 2.88 ng·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>), 显著高于 AOA 和 Comammox ( $P < 0.001$ ), 尤其是在 9 月份。而在露天菜地中 AOA 占主导地位 ( $P < 0.05$ ), N<sub>2</sub>O 产生速率为 0.01~6.70 ng·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup> (均值为 2.30 ng·g<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>), 在 7、9 月份具有峰值。总体而言, 硝化微生物 N<sub>2</sub>O 的产生随季节波动, 具有显著时间异质性 ( $P < 0.05$ ), 全年总 N<sub>2</sub>O 产生在 7 月和 9 月出现峰值, 具有“热时”效应。两种管理模式下, 在 N<sub>2</sub>O 产生方面的主导者由设施管理的 AOB (77.70% ± 6.97%) 转变为露天菜地的 AOA (69.48% ± 23.47%); Comammox 始终为 N<sub>2</sub>O 产生最小贡献类群, 分别在设施菜地和露天菜地中贡献 10.88% ± 5.13%、10.26% ± 0.81%。



注: ns,  $P > 0.05$ ; \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ; \*\*\*,  $P < 0.001$ 。下同。Note: ns,  $P > 0.05$ ; \*,  $P < 0.05$ ; \*\*,  $P < 0.01$ ;

\*\*\*,  $P < 0.001$ . The same below.

图 3 设施菜地和露天菜地土壤硝化微生物  $N_2O$  产生速率的年度变化特征

Fig. 3 Interannual variations of  $N_2O$  production rates of nitrifying microorganisms from greenhouse and open-field vegetable soils

## 2.5 设施和露天菜地管理模式的差异对硝化微生物群落结构的影响

设施菜地的管理模式显著提升 AOA 的物种多样性（香农 Shannon 指数， $P < 0.05$ ），AOB 的物种多样性在两种管理模式间差异接近显著水平，而 Comammox 群落的多样性在统计上无显著差异（ $P > 0.05$ ，图 4a）。 $\beta$  多样性分析结果（图 4b~图 4d）表明，三类硝化微生物的群落结构在管理模式间存在显著差异，但时间因素对其结构变异影响不显著。值得注意的是，在 Comammox 群落中，不仅由管理模式引起群落结构的明显分化，在时间上，9 月份也表现出强烈的群落结构异质性特征（图 4b）。两种管理模式的差异导致 AOA 和 AOB 在物种多样性提升及群落结构上表现出显著差异，从而维持群落稳定性以应对环境变化；相比之下，Comammox 的物种多样性并未出现明显提升，具备对环境扰动的更强适应能力和功能冗余水平。

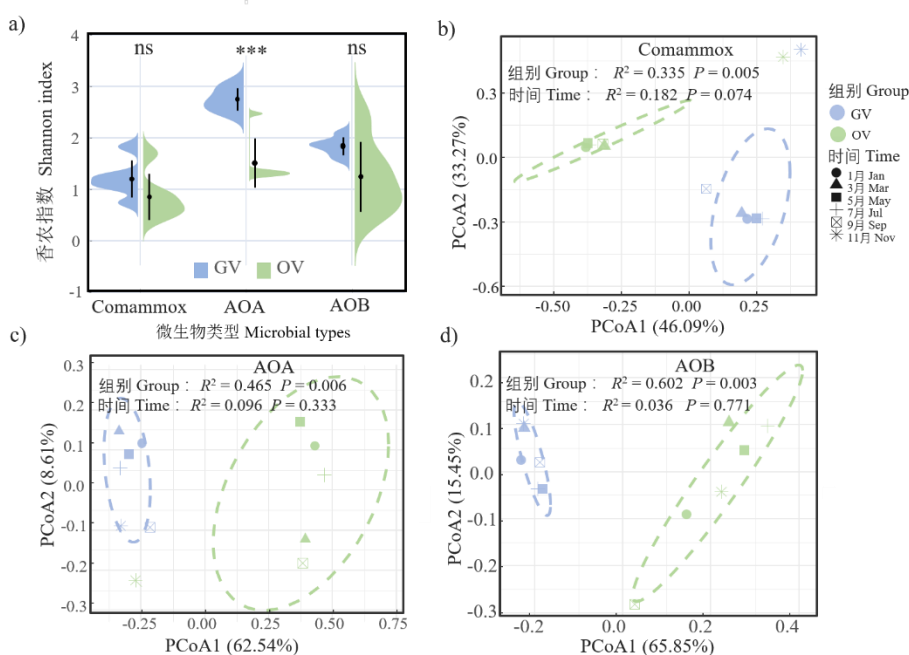
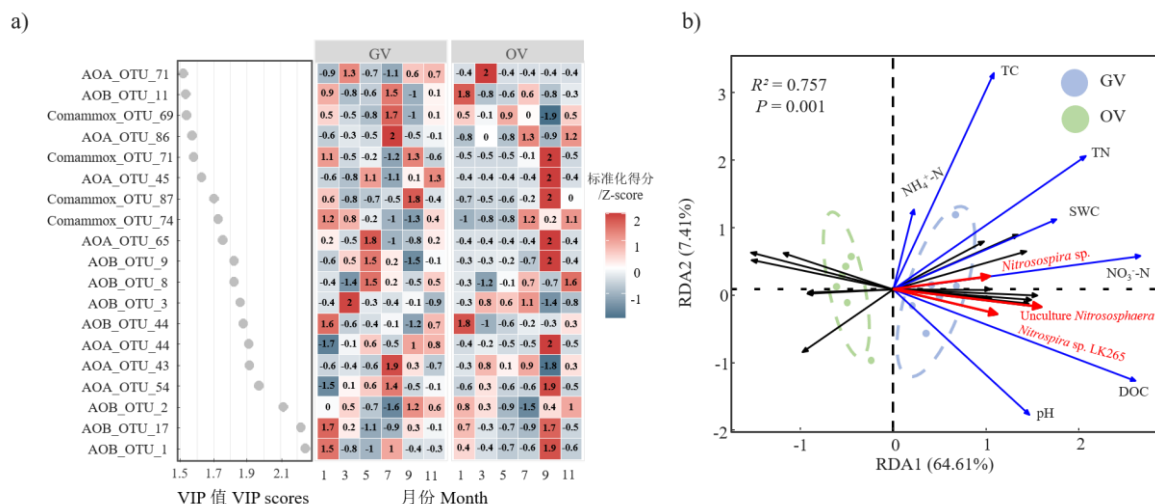


图 4 设施菜地和露天菜地土壤硝化微生物群落结构的  $\alpha$  多样性分析 (a)，Comammox (b)、AOA (c) 和 AOB (d) 群落结构的主坐标轴分析 (PCoA)

Fig. 4 Alpha diversity analysis of nitrifying microbial community structure in greenhouse and open-field vegetable soils (a), and principal coordinates analysis (PCoA) of community structure for Comammox (b), AOA (c), and AOB (d)

基于随机森林 (Random forest) 与偏最小二乘判别分析 (PLS-DA)，结合 Wilcoxon 检验筛选到 12 个涵盖 Comammox、AOA 和 AOB 的关键 OTUs。PLS-DA 模型投影 (VIP) 值和 Z-score 热图 (图 5a) 显示，在设施菜地与露天菜地土壤中均呈现出关键 OTUs 的显著时序差异分布特征。在设施菜地，共有 63% 的关键 OTUs 在 7 月份表现出极高 ( $Z\text{-score} > 1.0$ ) 或极低丰度，数量在全年最高；而在露天菜地，相似分布特征主要集中在 9 月份，且部分 OTU 的 Z-score 接近 2.0，占比亦为 63%。

冗余分析 (RDA) 进一步揭示了土壤理化因子对关键硝化微生物群落结构的驱动机制 (图 5b)。置换多元方差分析 (PERMANOVA) 分析显示，设施菜地与露天菜地土壤中硝化微生物群落结构存在显著差异；关键 OTUs 明确分化指向两种管理模式 ( $R^2 = 0.757$ ,  $P < 0.001$ )。NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N、DOC 和 pH 是驱动关键 OTU 群落结构变化的重要理化因子。其中，NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 DOC 的方向性最为明确，且与部分核心 OTUs 呈强相关关系，包括注释为 *Nitrospira* sp. LK265 (Comammox)、Uncultured *Nitrososphaera* (AOA) 及 *Nitrospira* sp. clone Plot2\_D09 (AOB)。



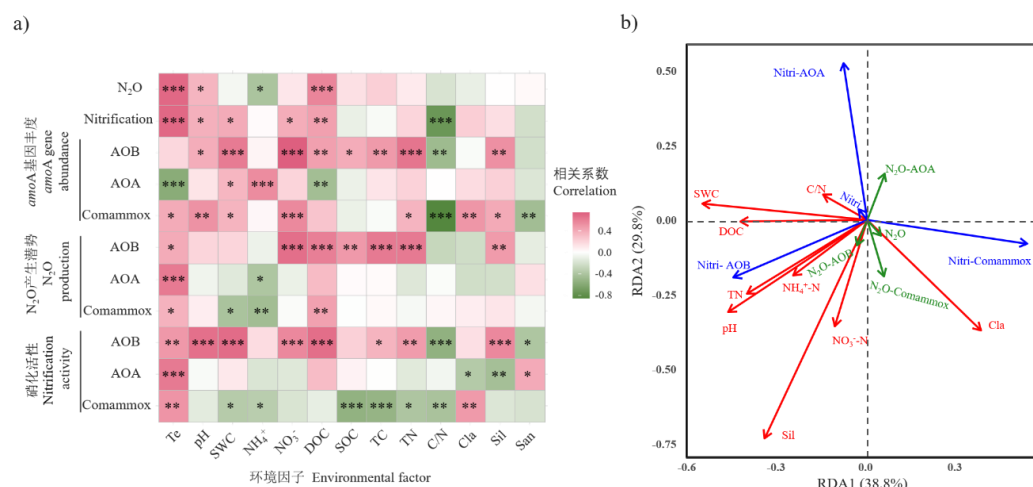
注：冗余分析 (RDA) 排序图的蓝色箭头代表理化因子，黑色箭头代表关键硝化微生物操作分类单元 OTUs，红色箭头代表注释到的物种信息的关键 OTUs。Note: In the redundancy analysis (RDA) ordination, blue arrows correspond to physicochemical variables, black arrows indicate key operational taxonomic units (OTUs) and red arrows highlight key OTUs with taxonomic annotations.

图 5 关键 OTUs 时序分布和影响因素 (a. 基于 PLS-DA 模型投影 (VIP) 值和标准化得分 (Z-score) 热图分析; b. RDA)

Fig. 5 Temporal distribution and influencing factors of key OTUs (a. Variable importance in projection (VIP) scores derived from the partial least squares discriminant analysis (PLS-DA) model and Z-score heatmap analysis; b. RDA)

## 2.6 设施和露天菜地硝化活性及 N<sub>2</sub>O 产生潜势的影响因素

斯皮尔曼相关性分析显示，土壤硝化活性与温度、pH、含水量、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 DOC 呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )，与 C/N 比则呈显著负相关 (图 6a)。N<sub>2</sub>O 产生潜势亦与温度、pH 和 DOC 显著正相关，而与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 呈负相关关系。三类硝化微生物 (AOA、AOB 和 Comammox) 的丰度均与 pH、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 呈显著正相关 ( $P < 0.05$ )。其中，Comammox 的硝化活性和 N<sub>2</sub>O 产生潜势与含水量和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 显著负相关，AOA 表现出相似的相关性趋势。尽管 AOA 的硝化活性与 N<sub>2</sub>O 产生潜势在统计上未达到显著水平，但与土壤含水量及 DOC 之间存在正向关系。冗余分析 (RDA) 进一步揭示了土壤理化因子对功能指标的解释效应，总体解释率 68.6% (图 6b)。其中，pH 和 DOC 为最主要的驱动因子 ( $P = 0.028$ )，其次为 TC ( $P < 0.05$ )、含水量。综上所述，pH、土壤温度和 DOC 是调控菜地土壤中 Comammox 及传统硝化微生物硝化活性及 N<sub>2</sub>O 释放的关键因子，含水量与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 也可能在其中发挥重要作用。



注：SOC，土壤有机碳；TC，全碳；TN，全氮；C/N，碳氮比；Cla，黏粒；Sil，粉粒；San，沙粒；Nitri，总硝化活性；Nitri-AOA，

AOA 的硝化活性; Nitri-AOB, AOB 的硝化活性; Nitri-Comammox, Comammox 的硝化活性; N<sub>2</sub>O-AOA, AOA 的 N<sub>2</sub>O 产生潜势; N<sub>2</sub>O-AOB, AOB 的 N<sub>2</sub>O 产生潜势; N<sub>2</sub>O-Comammox, Comammox 的 N<sub>2</sub>O 产生潜势; 斯皮尔曼相关系数用不同颜色表示红色代表正相关, 绿色代表负相关; 冗余分析排序图的红色箭头代表理化因子, 绿色代表 N<sub>2</sub>O 产生速率, 蓝色代表硝化活性。Note: SOC, soil organic carbon; TC, total carbon; TN, total nitrogen; C/N, carbon-to-nitrogen ratio; Cla, clay fraction; Sil, silt fraction; San, sand fraction. Nitri, total nitrification activity; Nitri-AOA, nitrification activity of AOA; Nitri-AOB, nitrification activity of AOB; Nitri-Comammox, nitrification activity of Comammox; N<sub>2</sub>O-AOA, N<sub>2</sub>O production potential of AOA; N<sub>2</sub>O-AOB, N<sub>2</sub>O production potential of AOB; N<sub>2</sub>O-Comammox, N<sub>2</sub>O production potential of Comammox. Spearman correlation coefficients are visualized using a color scale, with red representing positive correlations and green representing negative correlations; In the RDA ordination, red arrows denote physicochemical factors, green arrows indicate N<sub>2</sub>O production activity, and blue arrows represent ammonia oxidation activity.

图 6 硝化速率及 N<sub>2</sub>O 产生潜势的驱动因素 (a. 斯皮尔曼相关性分析; b. RDA)

Fig. 6 Drivers of nitrification rate and N<sub>2</sub>O production potential (a. Spearman correlation analysis; b. RDA)

## 3 讨论

### 3.1 设施和露天菜地土壤基本理化性质的季节变化

菜地土壤温度随季节温度的变化而变化, 在 1 月份达到最低, 在 7、9 月份达到最高 (表 2)。设施菜地特殊的半封闭管理模式, 营造了显著高于露天菜地的土壤温度。土壤 DOC 含量与土壤温度具有相似的动态变化特征, 在一年中的 7、9 月份达到最高 (表 2), 可能是土壤温度的升高促进了土壤微生物代谢活性, 加速植物残体和复杂有机质的分解, 导致土壤可利用性碳源 DOC 含量的升高<sup>[22]</sup>。菜地土壤的含水量、铵态氮和硝态氮的含量无显著季节动态变化特征 (表 2), 其波动主要受施肥、灌溉等人为管理措施的影响。此外, 氮肥的大量投入和作物残体的分解归还还会提升土壤活性有机碳的含量<sup>[23]</sup>, 使设施菜地的 DOC 含量显著高于露天菜地。由于种植茬次的提升, 更高的施氮量和灌溉频率, 使设施菜地的硝化作用终产物硝态氮的累积和土壤含水量显著高于露天菜地。

### 3.2 设施和露天菜地硝化活性和 N<sub>2</sub>O 产生潜势的季节变化特征

本研究中, 野外原位观测结果显示, 设施菜地中 3、5 月份是 N<sub>2</sub>O 的排放“热时”, 而在露天菜地中 7 月份是田间原位 N<sub>2</sub>O 的排放“热时” (图 1)。对于室内培养方面, 设施菜地和露天菜地的硝化作用及其伴随排放的 N<sub>2</sub>O 的“热时”均在 7、9 月份 (图 2a)。上述结果表明, 温度升高提高了微生物代谢酶活性, 由土壤微生物介导的氮循环过程从同化作用为主转变为分解代谢反应过程为主, 如提升硝化速率, 大幅促进 N<sub>2</sub>O 的排放<sup>[24]</sup>。设施菜地由于大棚的保温作用, 其 3 月和 5 月的春季温度大幅度的升高, 刺激土壤自养硝化、反硝化、异养硝化等过程, 使得原位 N<sub>2</sub>O 排放达到高峰期。进一步分析证实, 硝化活性和 N<sub>2</sub>O 排放潜势与土壤培养温度呈极显著正相关关系 (图 6a)。也有研究表明, 水稻生态系统中升温措施显著促进 N<sub>2</sub>O 的排放<sup>[25]</sup>; 其他生态系统也有类似的规律, Zhang 等<sup>[26]</sup>发现森林土壤自养硝化过程产生的 N<sub>2</sub>O 与温度极显著正相关; Welti 等<sup>[27]</sup>也发现滨海湿地中夏季的 N<sub>2</sub>O 气体通量明显高于其他季节。值得注意的是, Comammox 群落结构在 9 月份明显有别于其他月份 (图 3b)。在设施菜地的 7 月和露天菜地的 9 月, 关键硝化 OTUs 具有时间序列上的丰度极端分异 (图 4a), 这部分关键物种可能扮演着调控整体硝化功能的角色。与此同时, 本研究中在室外温度较低的 1、3 和 11 月, 设施菜地的大棚半封闭管理模式塑造了显著高于露天菜地的温度, 其硝化活性和 N<sub>2</sub>O 排放显著高于露天菜地 ( $P < 0.05$ )。Comammox 硝化活性的“热时”效应在两种管理模式中存在差异: 露天菜地中活性高峰出现在 9 月, 而在设施菜地中则提前至 5 月和 7 月 (图 2a), 这种“热时前移”现象也与温度差异有关。

### 3.3 不同管理模式硝化微生物群落结构及功能的差异

菜地两种管理模式的差异引起硝化微生物群落结构与功能的变化。与露天菜地相比, 设施菜地中 AOA 的物种多样性显著提高 ( $P < 0.05$ , 图 4a), 以适应设施管理下高氮水平或来自 AOB 的竞

争压力所带来的环境胁迫; Comammox 物种多样性无显著变化(图 4a), 表明其具有更强的适应性。各硝化微生物群落结构均在两种管理模式下显著分异(图 4b~图 4d)。冗余分析显示, 关键 OTUs 显著分化为两个集群(图 5b), 且它们与理化因子的相关关系呈现出明显的相反趋势。值得注意的是, 这两个相对分异的集群均包含 Comammox、AOA 和 AOB。该结果表明, 即便同属一类硝化微生物, 不同物种之间仍可能因固有特性而表现出对环境因子的差异化适应性, 这种差异进一步反映在其代谢功能的多样性<sup>[28]</sup>。

本研究发现, 设施菜地中 Comammox 丰度为露天菜地的 181.10%, 但硝化活性仅为其 33.55% (图 2a)。这表明 Comammox 在两种管理模式下表现出不同的生存策略。设施菜地长期氮素添加和环境稳定使其偏向 K-型策略, 长期稳定生长积累较高丰度, 但活性较低; 而在露天菜地中, 氮素波动较大, 更倾向通过高活性而快速响应环境变化。已有研究显示, 弱酸性土壤中 Comammox 采用 K-型策略适应稳定环境<sup>[29]</sup>, 而在低氮条件下, 突发氮输入可引发丰度与活性的短期爆发。AOB 在设施菜地氮循环中具有更强的适应性和主导作用, 丰度和活性均显著增强(图 2a)。此外, 全年菜地总土壤硝化活性和 N<sub>2</sub>O 排放由 AOB 主导, 其次为 AOA, Comammox 发挥最小的作用(图 2b), 这与以往研究结果<sup>[30]</sup>一致。然而, 设施菜地以 AOB 为功能主导者, 而露天菜地则以 AOA 占优势。研究表明, 酸性菜地中硝化速率由 AOA 主导, 其次是 AOB, 最后是 Comammox<sup>[15]</sup>, 这与本研究的露天菜地结果(图 2a)相一致。设施菜地的特殊管理改变了三种硝化微生物的生态位角色, 转变为 AOB 主导(图 2b)。这说明土壤中的硝化微生物群落结构发生重构, 以适应新的环境变化, 最终也导致土壤中硝化微生物所行使功能的主次关系发生变化。以往多项研究证明, AOA 更适应于酸性土壤<sup>[31-32]</sup>, AOA 具有较高的温度适应性<sup>[33]</sup>, 较 AOB 具有更低的温度敏感性和较高热容量, 但在设施菜地中并非主导硝化功能。相对于 AOA, AOB 对设施大棚所营造的高 CO<sub>2</sub> 更具积极响应, 并且基因丰度并不反映实际活性。菜地硝化作用主导者差异受菜地体系硝化过程中多种环境因素的综合影响。

### 3.4 菜地硝化微生物群落结构与功能的影响因素

基于 Spearman 相关性分析和冗余分析(RDA), 温度、pH 和 DOC 是菜地土壤硝化活性和 N<sub>2</sub>O 排放潜能的关键影响因子(图 6)。pH 控制 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>与 NH<sub>3</sub> 的电离平衡, 显著影响硝化微生物的群落组成和相互作用网络结构<sup>[34]</sup>。硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)和 DOC 对菜地硝化微生物群落结构具有显著影响( $P < 0.05$ , 图 5b), 与 Yang 等<sup>[35]</sup>发现温室长期蔬菜种植体系下累积 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 DOC, 对硝化微生物群落结构有显著影响的研究结果一致。DOC 作为可循环有机碳库, 能够为周遭环境微生物食物网提供基础能量, 促进土壤微生物的代谢活动及相互作用, 增加土壤呼吸, 产生的 CO<sub>2</sub> 则可作为自养硝化微生物的无机碳源或引起缺氧胁迫, 抑制某些特殊硝化微生物的生长<sup>[36]</sup>。也有研究表明, DOC 直接影响土壤碳-硫循环, 是微生物群落结构演变的最重要影响因素<sup>[37]</sup>。各理化因子之间常表现出协同作用。例如, pH 不仅直接影响硝化微生物的生长与代谢, 也可调节其最适代谢温度<sup>[38]</sup>。土壤环境因子的综合作用构建了一个复杂的生态网络, 驱动微生物代谢状态的动态变化, 进而塑造关键酶的结构与功能适应性<sup>[39]</sup>。

在设施农业体系中, 要同时实现土壤硝化作用的抑制和 N<sub>2</sub>O 的减排, 需依赖多重土壤环境因素的协同调节。土壤含水量的提升可能会促进旱地 N<sub>2</sub>O 的排放<sup>[40]</sup>。化学硝化抑制剂<sup>[41]</sup>(如 2-氯-6-三氯甲基吡啶)或生物硝化抑制剂(辣木籽提取物)<sup>[42]</sup>的施用, 可通过抑制 AOB 或 AOA 的活性来抑制设施菜地土壤的硝化活性及 N<sub>2</sub>O 的排放。然而, 土壤 N<sub>2</sub>O 的来源途径较为复杂, 除自养硝化作用外, 还涉及异养硝化、反硝化作用等过程。因此, 在未来设施农业系统中制定氮素管理与 N<sub>2</sub>O 减排策略时, 需进一步考虑多重途径的影响。

## 4 结论

本研究显示, 设施和露天菜地管理模式的差异显著改变了硝化微生物群落结构及功能: 露天菜

地中, AOA 主导硝化过程及 N<sub>2</sub>O 产生, 设施菜地中则由 AOB 占据优势, 并表现出更高的原位 N<sub>2</sub>O 通量水平。与此同时, 设施管理增加了 Comammox 的丰度, 但抑制了其硝化功能。环境因子分析进一步揭示, 温度、DOC 和 pH 是影响菜地硝化作用变化的主要因素, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 DOC 是影响硝化微生物群落结构的关键因子。两种管理模式的土壤硝化活性及 N<sub>2</sub>O 产生在时间尺度上呈现出由温度升高所驱动的“热时效应”。研究结果将深化对设施农业背景下氮素转化过程的微生物机制的理解, 可为优化设施农业系统氮素管理与 N<sub>2</sub>O 减排策略提供微生物生态学理论依据。

## 参考文献 (References)

- [1] Li X, Quan Z, Huang K, et al. High soil nitrous oxide emissions from a greenhouse vegetable production system in Shouguang, Northern China[J]. *Atmospheric Environment*, 2024, 319: 120264.
- [2] Shi Y J, Wang M Y, Xu S X, et al. Study on soil structure characteristics of typical greenhouse vegetable field in Taihu Lake Region[J]. *Soils*, 2020, 52(5): 1050-1056. [史艺杰, 王美艳, 徐胜祥, 等. 太湖流域典型设施蔬菜地土壤结构特征研究[J]. *土壤*, 2020, 52(5): 1050-1056.]
- [3] Guo J H, Liu X J, Zhang Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. *Science*, 2010, 327(5968): 1008-1010.
- [4] Ding W H, Zhang G L, Xie H K, et al. Balancing high yields and low N<sub>2</sub>O emissions from greenhouse vegetable fields with large water and fertilizer input: A case study of multiple-year irrigation and nitrogen fertilizer regimes[J]. *Plant and Soil*, 2023, 483(1): 131-152.
- [5] Yu H, Lu W H, Zhang N M. Research progress on degradation characteristics and remediation technologies of protected soils in China[J]. *Vegetables*, 2021(11): 35-42. [于泓, 卢维宏, 张乃明. 我国设施栽培土壤退化特征及修复技术研究进展[J]. *蔬菜*, 2021(11): 35-42.]
- [6] Wu Z, Chen A F, Zhu S G, et al. Assessing nitrous oxide emissions and mitigation potentials from intensive vegetable ecosystems in China—Meta-analysis[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(4): 707-714. [吴震, 陈安枫, 朱爽阁, 等. 集约化菜地 N<sub>2</sub>O 排放及减排——基于文献整合分析[J]. *农业环境科学学报*, 2020, 39(4): 707-714.]
- [7] Liang D, Robertson G P. Nitrification is a minor source of nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) in an agricultural landscape and declines with increasing management intensity[J]. *Global Change Biology*, 2021, 27(21): 5599-5613.
- [8] Daims H, Lebedeva E V, Pjevac P, et al. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria[J]. *Nature*, 2015, 528(7583): 504-509.
- [9] Hu H W, He J Z. Comammox—a newly discovered nitrification process in the terrestrial nitrogen cycle[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2017, 17(12): 2709-2717.
- [10] Yang Q, Zhong Y, Feng S W, et al. Temporal enrichment of comammox *Nitrospira* and *Ca. Nitrosocosmicus* in a coastal plastsphere[J]. *The ISME Journal*, 2024, 18(1): wrae186.
- [11] Wang J C, Wang J L, Rhodes G, et al. Adaptive responses of comammox *Nitrospira* and canonical ammonia oxidizers to long-term fertilizations: Implications for the relative contributions of different ammonia oxidizers to soil nitrogen cycling[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 668: 224-233.
- [12] Liu X, Zhang Y, Ren X J, et al. Long-term greenhouse vegetable cultivation alters the community structures of soil ammonia oxidizers[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2019, 19(2): 883-902.
- [13] Li D, Zhang J B, Gruda N S, et al. The regulation of gross nitrogen transformation rates in greenhouse soil cultivated with cucumber plants under elevated atmospheric [CO<sub>2</sub>] and increased soil temperature[J]. *Geoderma*, 2023, 439: 116680.
- [14] Bi R Y, Xu X T, Wang B X, et al. Evidence of complete ammonia-oxidizing microbial communities and their contribution to N<sub>2</sub>O emissions in typical vegetable fields across China[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2024, 194: 109423.
- [15] Wang Y N, Zeng X B, Ma Q, et al. Differential responses of canonical nitrifiers and comammox *Nitrospira* to long-term fertilization in an Alfisol of Northeast China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1095937.
- [16] Chisholm C, Di H J, Cameron K, et al. Soil moisture is a primary driver of comammox *Nitrospira* abundance in New Zealand soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 858: 159961.
- [17] Dong Y B, Xu J F, Zhang J Q, et al. Thermodynamic response of ammonia-oxidizing Archaea and bacteria in vegetable soils across Yangtze River Basin[J]. *Applied Soil Ecology*, 2025, 215: 106464.
- [18] McClain M E, Boyer E W, Dent C L, et al. Biogeochemical hot spots and hot moments at the interface of terrestrial and aquatic

- ecosystems[J]. *Ecosystems*, 2003, 6(4): 301-312.
- [19] 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.]
- [20] Wang S L, Zhao Y P, Wang Z H, et al. Contrasting seasonal response of comammox *Nitrospira* and canonical ammonia oxidizers in two paddy soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2022, 168: 108641.
- [21] Jiang L P, Yu J, Wang S Y, et al. Complete ammonia oxidization in agricultural soils: High ammonia fertilizer loss but low N<sub>2</sub>O production[J]. *Global Change Biology*, 2023, 29(7): 1984-1997.
- [22] Toosi E R, Schmidt J P, Castellano M J. Soil temperature is an important regulatory control on dissolved organic carbon supply and uptake of soil solution nitrate[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, 61: 68-71.
- [23] Zhou J, Wang Y, Sun D L, et al. Effects of long-term fertilization on soil labile organic carbon content and carbon pool management index in greenhouse[J]. *Soils*, 2024, 56(4): 760-768. [周珺, 王莹, 孙德龙, 等. 长期施肥对设施土壤活性有机碳含量及碳库管理指数的影响[J]. *土壤*, 2024, 56(4): 760-768.]
- [24] Dai Z M, Yu M J, Chen H H, et al. Elevated temperature shifts soil N cycling from microbial immobilization to enhanced mineralization, nitrification and denitrification across global terrestrial ecosystems[J]. *Global Change Biology*, 2020, 26(9): 5267-5276.
- [25] Deng X Z, Xu T T, Xue L X, et al. Effects of warming and fertilization on paddy N<sub>2</sub>O emissions and ammonia volatilization[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 347: 108361.
- [26] Zhang Y, Wang J, Dai S Y, et al. Temperature effects on N<sub>2</sub>O production pathways in temperate forest soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 691: 1127-1136.
- [27] Welti N, Hayes M, Lockington D. Seasonal nitrous oxide and methane emissions across a subtropical estuarine salinity gradient[J]. *Biogeochemistry*, 2017, 132(1): 55-69.
- [28] Wright C L, Lehtovirta-Morley L E. Nitrification and beyond: Metabolic versatility of ammonia oxidising archaea[J]. *The ISME Journal*, 2023, 17(9): 1358-1368.
- [29] Zhao Y X, Hu J J, Wang J Q, et al. Comammox *Nitrospira* act as key bacteria in weakly acidic soil via potential cobalamin sharing[J]. *iMeta*, 2025, 4(1): e271.
- [30] Bi R Y, Xu X T, Zhan L P, et al. Proper organic substitution attenuated both N<sub>2</sub>O and NO emissions derived from AOB in vegetable soils by enhancing the proportion of Nitrosomonas. *Science of the Total Environment*, 2023, 866: 161231.
- [31] Li Y Y, Chapman S J, Nicol G W, et al. Nitrification and nitrifiers in acidic soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018, 116: 290-301.
- [32] Song Y X, Wang B Z, Qin H, et al. Molecular phylogeny suggests a key role of ATPase genes on evolutionary adaption of soil ammonia-oxidizing archaea to acid stress[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59(4): 1136-1147. [宋玉翔, 王保战, 秦华, 等. 土壤氨氧化古菌适应酸性胁迫的 ATP 酶基因分子进化研究[J]. *土壤学报*, 2022, 59(4): 1136-1147.]
- [33] Taylor A E, Giguere A T, Zoebelin C M, et al. Modeling of soil nitrification responses to temperature reveals thermodynamic differences between ammonia-oxidizing activity of Archaea and bacteria[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(4): 896-908.
- [34] Nicol G W, Leininger S, Schleper C, et al. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(11): 2966-2978.
- [35] Yang M X, Zhou N N, Li M F, et al. Changes of soil nitrate accumulation and the abundance and structure of nitrogen cycling microbial communities during long-term solar greenhouse vegetable cultivation[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2025, 25(6): 2017-2031.
- [36] Zhang K H, Lei W L, Zhang H X, et al. Inhibition of autotrophic nitrifiers in a nitrogen-rich paddy soil by elevated CO<sub>2</sub>[J]. *Nature Geoscience*, 2024, 17(12): 1254-1260.
- [37] Tang S, Ma Q X, Marsden K A, et al. Microbial community succession in soil is mainly driven by carbon and nitrogen contents rather than phosphorus and sulphur contents[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2023, 180: 109019.
- [38] Gubry-Rangin C, Novotnik B, Mandić-Mulec I, et al. Temperature responses of soil ammonia-oxidising archaea depend on pH[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 106: 61-68.
- [39] Lemke O, Heineke B M, Viknander S, et al. The role of metabolism in shaping enzyme structures over 400 million years[J]. *Nature*, 2025,

644(8075): 280-289.

- [40] Wei Z J, Shan J, Well R, et al. Land use conversion and soil moisture affect the magnitude and pattern of soil-borne N<sub>2</sub>, NO, and N<sub>2</sub>O emissions[J]. *Geoderma*, 2022, 407: 115568.
- [41] Liu X, Cheng Y N, Zhang Y, et al. Exploring suitable nitrification inhibitor in an intensively cultivated greenhouse soil and its effect on the abundance and community of soil ammonia oxidizers[J]. *Agronomy*, 2025, 15(2): 255.
- [42] Yang M X, Ban C, Zhao T Y, et al. Harnessing *Moringa* seed extract for control of soil nitrate accumulation and nitrous oxide emissions on the Loess Plateau[J]. *Applied Soil Ecology*, 2025, 206: 105862.

(责任编辑: 陈荣府)