DOI: 10. 13718/j. cnki. xdzk. 2025. 04. 006

石秀丽,马瑞,蒋先军,等.土地利用方式对紫色土全程及半程氨氧化微生物的影响 [J].西南大学学报(自然科学版), 2025,47(4):70-79.

土地利用方式对紫色土全程及 半程氨氧化微生物的影响

石秀丽¹, 马瑞², 蒋先军²

1. 西南大学 园艺园林学院, 重庆 400715; 2. 西南大学 资源环境学院, 重庆 400715

摘要:探讨土地利用方式对紫色土全程氨氧化细菌(complete ammonia oxidizer, Comammox)、半程氨氧化微生物 中氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)和氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)的影响。在重庆紫 色土区域采集林地、旱地及水田土壤,测定土壤硝化势和亚硝酸盐氧化势,分析土壤硝化活性;采用定量 PCR 技术分析 Comammox、AOA及 AOB的丰度,通过克隆测序技术分析 Comammox 两个分支 clade A 和 clade B 的 群落组成并构建系统发育树。结果表明:Comammox 与半程氨氧化微生物 AOA、AOB类似,广泛分布于不同土 地利用方式的紫色土中。不同土地利用方式的紫色土氨氧化微生物丰度存在差异,AOA amoA 基因的丰度在林 地中达到最大值,为8.26×10⁷ 拷贝数/g,比旱地高出1个数量级;而 AOB则更适应水田土壤环境,其丰度达 到1.38×10⁷ 拷贝数/g,分别是林地和旱地的38.4 倍和3.4 倍。全程氨氧化细菌的两个分支分别在林地和水田 中达到最大丰度值,其中 clade A 在林地中的丰度达到1.85×10⁸ 拷贝数/g, clade B 在水田中的丰度达到1.48× 10⁷ 拷贝数/g。在紫色土中,全程氨氧化细菌归属于 Nitrospira inopinata。Pearson 相关性分析结果表明:AOB 与 土壤硝化势呈极显著正相关(p < 0.01), clade A 与硝化势呈显著负相关(p < 0.05), clade B 与亚硝酸盐氧化势呈 显著正相关(p < 0.05),说明 AOB 和全程氨氧化细菌可能是紫色土硝化作用的主要推动者。综合表明:土地利 用方式是影响紫色土全程氨氧化细菌及半程氨氧化微生物生态位分化的重要因子。

关键 词:土地利用方式;紫色土;硝化作用;全程氨氧化细菌;

生态位分化

 中图分类号:
 S154
 文献标志码:
 A

 文章编号:
 1673 - 9868(2025)04 - 0070 - 10

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Effects of Land Use Patterns on Complete and Incomplete Ammonia Oxidizer of Purple Soil

SHI Xiuli¹, MA Rui², JIANG Xianjun²

1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: To better understand the effects of land use patterns on ammonia oxidizers of purple soil, the abundance and activity of Comammox (complete ammonia oxidizer), AOA (ammonia-oxidizing archaea) and AOB (ammonia-oxidizing bacteria) of purple soil from three land use patterns (upland, forest and paddy field) were investigated. Nitrification potential and nitrite oxidation potential were measured to analyze the activity of the soil ammonia oxidizers. Comammox, AOA and AOB abundances were analyzed by quantitative PCR, and the community composition of Comammox clade A and clade B was analyzed by clone sequencing and a phylogenetic tree was constructed. Results showed that similar to AOA and AOB, Comammox was widely distributed in purple soils of different land use patterns. The abundance of ammonia oxidizers in purple soil were different among land use patterns, with AOA amoA reaching a maximum abundance of 8. 26×10^7 copies/g dry soil in forest soil, an order of magnitude higher than that of in upland soil. While AOB was better adapted to paddy field soil, with an abundance of 1.38×10^7 copies/g dry soil, which was 38.4 and 3.4 folds higher than that of in forest soil and upland soil, respectively. The most abundance of Comammox clade A and clade B was detected in forest and paddy field soils, respectively. The abundance of clade A and clade B reached 1.85×10^8 copies/g and 1.48×10^7 copies/g in forest land soil. Comammox detected in the soils of three land use patterns were all belonged to the Nitrospira inopinata cluster. Pearson correlation analysis showed a highly significant positive correlation between AOB and soil nitrification activity ($p \leq 0.01$), while Comammox clade A was negatively correlated with potentials nitrification rates ($p \le 0.05$) and Comammox clade B was positively correlated with potentials nitrite oxidation rates ($p \leq 0.05$), implying that AOB and Comammox may play an important role in the nitrification process of purple soil. Taken together, our results indicated that land use pattern was an important factor influencing the ecological niche differentiation of complete and incomplete ammonia oxidizers in purple soil. Key words: land use pattern; purple soil; nitrification; complete ammonia oxidizer; niche differentiation

硝化作用是全球氮素循环的基本过程,在土壤生态系统的氮素转化过程中起着关键作用。土壤中进行 的硝化作用是由微生物主导的两步过程:包括氨氧化微生物主导的氨氧化过程和亚硝化氧化菌主导的亚硝 酸盐氧化过程^[1-2]。直到 2015 年,在硝化螺菌属谱系 II (*Nitrospira lineage* II)中发现了具备完成氨氧化 和亚硝酸盐氧化能力的微生物,打破了由两种微生物来分别完成两步硝化过程的传统观念^[3],因此被命名 为全程氨氧化细菌(complete ammonia oxidizer, Comammox)^[4-5],只能进行氨氧化反应的 AOA、AOB 则 被称为半程氨氧化微生物(incomplete ammonia oxidizers)^[4-6]。根据编码氨单加氧酶基因 α 亚基(*amoA*)的 系统发育分析, Comammox 可被分为两个分支: clade A 和 clade B^[4,7], clade A 则可进一步划分为 clade A.1、A.2 和 A.3^[8]。研究表明 Comammox 广泛存在于土壤生态系统中^[9+10],可能在土壤硝化作用中起着 重要的作用,但目前仅从水生生态系统中培育得到了归属于 clade A 的纯培养物 *Nitrospira inopinata*^[4], 尚未从土壤中获得代表性富集物或分离物^[11],这限制了我们对 Comammox 在土壤硝化作用中的理解。

环境因素是影响微生物地理分异规律的重要驱动力^[12],土地利用方式同时受到人为因素及环境因素的干扰,对土壤微环境、土壤理化性质及栖息微生物都会造成影响^[13]。例如耕作措施、施肥方式及水分管理等差异,会改变土壤性质(如土壤养分、通气状况等),而土壤条件的差异则会进一步影响硝化微生物的丰度及活性^[14-15]。稻田是一种独特的人为水生生态系统,由于施用大量的氮肥及长期进行淹水管理,其土壤内部通气状况差,常形成缺氧环境^[16]。林地受到的人为干扰较小,土壤养分含量较低。有研究表明,不同土地利用方式所形成的土壤环境差异推动了参与氨氧化过程的功能微生物 AOA 和 AOB 的群落组成和生态位分化^[14,17-18],而不同土地利用方式下全程氨氧化细菌与半程氨氧化微生物的分布规律仍不完全清楚。本研究选用由同一母质发育的林地、旱地和水田土壤作为研究对象,分别测定其土壤的硝化活性,通过定量 PCR 技术分析 3 种不同土地利用方式下 AOA、AOB 和 Comammox 的菌群丰度及活性,利用克隆测序分析 Comammox 群落的结构变化,旨在进一步了解土地利用方式对全程氨氧化细菌及半程氨氧化微生物的影响。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

紫色土发育的水田及旱地土壤采自重庆市北碚区西南大学国家紫色土土壤肥力与肥料效益检测基地 (30°26′36″N,106°26′33″E)。该区域为亚热带季风气候,年均温18.2℃,年均降水量1105 mm,供试 土壤为紫色土,由侏罗系沙溪庙组紫色泥岩风化的残积、坡积物发育而成;林地土壤采自邻近区域相同成 土母质发育的土壤(人为干扰少)。3种土地利用方式植被覆盖差异:水田主要进行水稻一大麦轮作,旱地 以喜旱莲子草(42%)和石龙芮(35%)为主,林地则主要生长攀倒甑(15%)及构树(10%)。

1.2 土壤取样与准备

土壤样品采集于 2019 年 5 月,在每个采样地随机选择 3 个间隔 10 m 以上的 5 m×5 m 样方进行采样, 每个采样点以直径为 6.5 cm 的土钻按照 5 点取样法采集 0~20 cm 深度的土壤样品,混合均匀后低温保存 带回实验室。土样剔除树根、其他侵入体及较大石砾后分为 3 份,第 1 份鲜土储存在 4 ℃冰箱中 1 周内测 定土壤硝化势及亚硝酸盐氧化势;第 2 份土样自然风干至不粘手时研磨通过 2 mm 筛,储存于-20 ℃冰箱 中用于提取土壤 DNA;第 3 份土壤样品完全风干后研磨通过 1 mm 筛用于测定土壤基本理化性质,每个土 壤样品 3 次重复。

1.3 土壤硝化势及亚硝酸盐氧化势的测定

硝化势是指示好氧氨氧化微生物硝化活性的重要指标,对土壤样品进行一段时间培养后,测定土壤 样品中硝化过程产生的 NO₃⁻-N 含量,计算单位时间内单位土壤(干质量)所形成 NO₃⁻-N 的量。具体步 骤按照鲁如坤^[19] 所述稍作修改:将 15g 新鲜土壤加入 100 mL 含 NH₄⁺ 的培养液中[培养液组成: 1.5 mL 0.2 mol/L KH₂PO₄、3.5 L 0.2 mol/L K₂ HPO₄、15 mL 0.05 mol/L (NH₄)₂SO₄ 均加入到 1 L 容量瓶中用纯水定容],制备土壤悬浮液,经过 24 h振荡培养(200 r/min, 25 ℃),NH₄⁺ 被氧化为 NO₃⁻;分别在第 2、4、22、24 h采集 10 mL 悬浮液,用 10 mL 2 mol/L KCl 溶液浸提土壤悬浮液后振荡 静置于室温,测定土壤中 NO₃⁻-N 含量。

亚硝酸盐氧化势按 Attard 等^[20]所描述的进行:将5g新鲜的土壤样品(每克干土含 25µg NO₂⁻-N)和 50 mL NaNO₂ 振荡培养 24 h(200 r/min, 25 ℃),分别在第2、4、22、24、30 h 取样,采集 4 mL 土壤悬浮 液,用4 mL 2 mol/L KCl 溶液浸提,将其振荡 2 h(200 r/min, 25 ℃)后静置 30 min,测定土壤中 NO₂⁻-N 含量。土壤 NO₂⁻-N 的含量随培养时间呈线性减少,斜率即可作为土壤亚硝酸盐氧化势。

1.4 土壤微生物总 DNA 的提取

按照制造商的说明方法,采用 Power Soil DNA Isolation Kit(MoBio Laboratories, USA)试剂盒提取土壤 DNA并分别通过 NanoDrop 2000 分光光度法和 1% 琼脂糖凝胶电泳法检测土壤 DNA 的纯度和完整性。

1.5 定量 PCR 及克隆测序

使用实时荧光定量 PCR 仪(Quant Studio TM 6 Flex)测定 AOA、AOB、clade A、clade B amoA 基因的拷贝数。clade A、clade B amoA 基因的引物序列参照 Pjevac 等^[7]所述。实时荧光定量 PCR 的总反应体 系为 20 μ L,包括 DNA 模板 1 μ L,上游引物、下游引物以及 ROX Reference DyeII(50×)各 0.4 μ L, Taq DNA 聚合酶 10 μ L 及无菌水 7.8 μ L。qPCR 反应扩增条件与王梅等^[21]描述一致,每个样品进行 3 个 生物学重复。本研究 qPCR 分析的扩增效率为 96%~105%, R² 值为 0.996~0.999。clade A、clade B amoA 基因克隆测序由上海凌恩生物科技有限公司完成,每个样品挑选 50 个阳性克隆。

1.6 数据分析

利用 SPSS 26.0 软件对土壤硝化势,亚硝酸盐氧化势,AOA、AOB、clade A、clade B amoA 基因拷 贝数进行统计分析,采用 Pearson 法进行氨氧化微生物相对丰度与土壤硝化活性之间的相关性分析,利

用 Origin 8.6 软件作图。clade A 和 clade B 克隆测序得到的 OTU 序列在 NCBI 的 GenBank 数据库中进行 BLAST 比对,获得高度相近的同源基因序列,再采用 MEGA11.0 软件在 97%的相似度下对所有的序列 进行操作分类单元(Operating Taxonomic Unit, OTU)聚类,最后采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ)构建 系统发育树。

2 结果与分析

2.1 不同土地利用方式下土壤的硝化势和亚硝酸盐氧化势

由图 1a 可知,不同土地利用方式下的土壤硝化势差异有统计学意义(p < 0.05),硝化势的变化 范围为 0.18~0.46 μ g/(g・h),其中水田土壤具有最高的硝化势,为 0.46 μ g/(g・h);旱地其次, 为 0.32 μ g/(g・h);林地的硝化势最低,为 0.18 μ g/(g・h)。由图 1b 可知,不同土地利用方式下的亚硝酸 盐氧化势差异有统计学意义(p < 0.05),其中水田具有最高的亚硝酸盐氧化势,为 1.46 μ g/(g・h),分别 是旱地[0.69 μ g/(g・h)]和林地[0.44 μ g/(g・h)]的 2.1 和 3.3 倍。以上结果表明,水田土壤更有利于硝 化作用的进行,而林地土壤硝化潜力最弱。



小写字母不同表示 p<0.05, 差异有统计学意义。



2.2 不同土地利用方式下土壤氨氧化微生物的丰度

定量 PCR 分析比较了紫色土发育的 3 种不同土地利用方式下土壤 AOA、AOB、clade A、clade B amoA 基因的丰度,结果显示紫色土的不同土地利用方式造成了土壤氨氧化微生物相对丰度的差异。由 图 2a 可知,紫色土发育而来的林地土壤 AOA amoA 基因的丰度显著高于其他土壤(p < 0.05),达到 8.26×10⁷ 拷贝数/g;在水田土壤中 AOA amoA 基因的丰度显著降低了 47.34%,为4.35×10⁷ 拷贝数/g; 旱地土壤丰度最低,为4.01×10⁶ 拷贝数/g,表明林地土壤更有利于 AOA 的生长。由图 2b 可知,水田土 壤 AOB amoA 基因的丰度达到最大值,为1.38×10⁷ 拷贝数/g,分别是林地和旱地土壤的 38.4 倍和 3.4 倍,差异有统计学意义(p < 0.05)。由图 2c 可知,紫色土发育而来的 3 种土地利用方式下 clade A amoA 基因的丰度差异有统计学意义(p < 0.05),林地 clade A amoA 基因的丰度为1.85×10⁸ 拷贝数/g, 比旱地(2.10×10⁷ 拷贝数/g)和水田(3.44×10⁷ 拷贝数/g)高出 1 个数量级, clade A 与 AOA 相似,都 在林地土壤中达到丰度最大值。由图 2d 可知,水田的 clade B amoA 基因的丰度为1.48×10⁷ 拷贝数/g, 林地次之(3.94×10⁶ 拷贝数/g),旱地丰度最低,为1.24×10⁶ 拷贝数/g(p < 0.05)。

由表1可知,土地利用方式显著影响了土壤中AOA/AOB和 clade A/ clade B amoA 基因丰度的比率。 具体而言,林地土壤AOA/AOB amoA 基因比率最高,达到229.3,而水田和旱地AOA/AOB amoA 基因 比率分别为3.1和1.1,两者差异不大,说明在利用氨方面,AOA 具有更好的氨亲和力,更适应于低营养 的林地土壤环境。与 AOA/AOB amoA 基因比率结果类似,3 种不同土地利用方式下的 clade A amoA 基因的丰度都高于 clade B,其比率分别为 47.0、16.8 和 2.3,表明在 3 种土壤中全程氨氧化细菌都以 clade A 为 主;并且与 AOA 丰度相似, clade A 在林地土壤中丰度最高,而水田环境中全程氨氧化细菌的不同分支分布更加均匀。



小写字母不同表示 p<0.05, 差异有统计学意义。

表1 不同士	上地利用方式下土	瀼 AOA/AOB 肴	clade A/clade I	3 amoA	基因丰度比率
--------	----------	-------------	-----------------	--------	--------

比率	林地	旱地	水田
AOA/AOB	229.3	1.1	3. 1
clade A/clade B	47.0	16.8	2.3

2.3 土壤硝化活性与氨氧化微生物基因丰度的相关性

Pearson 相关性分析结果表明, 氨氧化微生物的丰度与土壤硝化活性显著相关(表 2)。clade A 与土 壤硝化势呈显著负相关(R = -0.719, p < 0.05), 而与土壤亚硝酸盐氧化势无显著相关性。clade B 与亚 硝酸盐氧化势呈显著正相关(R = 0.671, p < 0.05), 与土壤硝化势无显著相关性。AOA 与硝化势及亚 硝酸盐氧化势无显著相关性。AOB 与土壤硝化势及亚硝酸盐氧化势均呈极显著正相关($R_1 = 0.955$, $R_2 = 0.891$, p < 0.01)。氨氧化微生物的丰度之间也具有相关性,其中 clade A 与 AOA 呈显著正相关 (R = 0.776, p < 0.05), 与 AOB 呈极显著负相关(R = -0.799, p < 0.01)。clade B 与 AOA 呈显著 正相关(R = 0.669, p < 0.05)。

	clade A	clade B	AOA	AOB	硝化势	亚硝酸盐氧化势
clade A	1	0.136	0.776*	-0.799**	-0.719*	-0.610
clade B		1	0.669*	0.421	0.476	0.671*
AOA			1	-0.381	-0.308	-0.018
AOB				1	0.955**	0.891 * *
硝化势					1	0.877**
亚硝酸盐氧化势						1

表 2 氨氧化微生物丰度与土壤硝化势及亚硝酸盐氧化势相关性分析

注: * 表示 p<0.05, * * 表示 p<0.01, 差异有统计学意义。

2.4 全程氨氧化细菌的系统发育分析

将不同土地利用方式土壤下的 Comammox 进行克隆测序分析,并构建系统发育树,如图 3。



F代表林地土壤, U代表旱地土壤, P代表水田土壤。

图 3 不同土地利用方式下土壤 Comammox 的系统发育树

结果表明紫色土发育的林地、旱地和水田土壤的 Comammox 群落结构组成均与 Nitrospira inopinata 物种密切相关,未检测到 Nitrospira nitrosa 物种,但是不同土地利用方式下土壤 OTU 占比存在显著差

异。clade A 系统发育分析总共得到 14 个 OTU,林地土壤共有 4 个 OTU,其中 OTU2 占比最大,为 67%; 旱地土壤共得到 9 个 OTU,其中 OTU10 占比最大,为 43%;水田土壤得到 4 个 OTU,其中 OTU4 占比 最大,为 30%,其次是 OTU1(28%),OTU5(26%)和 OTU20(11%)。clade B 系统发育分析总共得到 8 个 OTU,林地土壤共得到 5 个 OTU,其中 OTU6 占比最高(88%),与序列 MF347205 相关;旱地土壤所涉 及的 OTU 最为广泛,为 6 个 OTU,其中 OTU2 占比最高,为 45%;水田土壤中未发现 clade B 的 OTU。

3 讨论与结论

3.1 讨论

本研究的结果显示,土地利用方式对全程及半程氨氧化微生物的丰度及硝化活性有显著影响(*p* < 0.05),不同土地利用方式导致的氨有效性^[3,22]、水分^[11,17]及氧气有效性^[23-24]的差异可能是导致全程及半 程氨氧化微生物在不同土地利用类型的土壤中发生生态位分化的主要原因。

Comammox 及半程氨氧化微生物 AOA、AOB 都以 NH。为氮源进行自养生长,并且在不同土壤环 境中广泛分布共存。已有的研究确定氨的有效性是造成 AOA 和 AOB 之间生态位分化的一个重要因 素^[25-26]。在氮素含量较低的林地土壤中,AOA的丰度显著高于大量施用氮肥的水田,并且林地土壤 AOA 丰度比 AOB 高出 2 个数量级,而 AOB 在水田中达到丰度最大值(图 2),表明 AOA 在低氮的贫营 养环境中更具有竞争优势, AOB则更适应富氮土壤生境。Dimitri等[3]对 Comammox Nitrospira inopinata 的氨氧化动力学分析结果显示,其氨亲和力高,可能比半程氨氧化微生物更适应贫营养的生存环境。 在低氨浓度的水生生态系统^[27]及生物过滤器^[28]的研究中表明, Comammox Nitrospira inopinata 在贫营 养环境中发挥着重要作用。在本研究中,林地中占优势的氨氧化微生物为 clade A,其丰度分别是半程氨 氧化微生物 AOA 和 AOB 的 2.2 倍和 47.0 倍,表明底物有效性是导致硝化微生物类群生态位分化的重 要因素。在氨限制的贫营养土壤环境中, Comammox Nitrospira inopinata 比半程氨氧化微生物更具竞争 优势。研究指出 clade B 具有 amt 型氨转运蛋白序列,与 clade A 具有的 rh 型转运蛋白序列相比具有更高 的氨亲和力^[24],这一区别可能是造成 clade A 与 clade B 之间生态位分化的一个重要原因。本研究结果显 示,在3种不同土地利用方式中 clade A 的丰度均高于 clade B,这与 Xu 等^[29]对全国采集的典型农业土 壤研究中得出的结果相一致,表明虽然底物浓度是影响 clade A 和 clade B 之间生态位分化的一个因素, 但仍存在其他环境因素的综合作用推动紫色土中两者的生态位分化,并且在紫色土中,全程氨氧化细菌 以 clade A 为主。

氢氧化过程是硝化过程的第一步也是限速步骤,需要氧分子的参与才能完成氨的活化。Santoro等^[30] 对半程氨氧化微生物 AOA 和 AOB 的研究指出,AOB 丰度随着氧气浓度的降低而减少,而 AOA 比 AOB 更适宜于低氧环境。对 Comammox 纯培养物的基因组分析结果表明,Comammox Nitrospira inopinata 可能具有潜在的低氧耐受特性^[4, 24],且多生存于低氧浓度的环境中^[24]。此外,在低氧浓度下运行的生物反应器中,Comammox 的高度富集也表明在微氧环境条件下,Comammox 比半程氨氧化微生物更具有竞争优势^[33],因此,氧的有效性可能是直接调节 Comammox、AOA 和 AOB 在土壤环境中分布格局的一个因素^[34]。与林地和旱地相比,水田由于长期处于淹水状态,氧气的转移受到限制^[32],土壤环境处于缺氧状态。本研究发现,紫色土的 clade A 均属于 Nitrospira inopinata 类群(图 3),虽然在水田与旱地中 clade A 的丰度无显著差异,但水田中 clade A 的丰度是旱地的 1.6 倍,在水田中 clade B 的丰度显著高于林地与旱地(图 2, p < 0.05),进一步证明了 Comammox 对微氧土壤环境的耐受性。在低氧的水田土壤环境中,Comammox 两个分支的丰度均高于 AOB,这与先前对氧气含量较低的沿海水域及三峡库区河流沉积物中得到的 Comammox amoA 基因丰度高于 AOB 的研究结果类似^[7, 33],表明氧气含量可能是造成全程与半程 氨氧化微生物生态位分化的因素之一。

土壤水分对微生物代谢活动及硝化过程同样起着重要作用^[34]。不同土地利用方式所造成的水分状况 差异会改变土壤的微生态环境^[35-36],例如土壤水分的增加会降低气体的扩散速率,直接影响微生物的活 性^[37]。增加土壤水分能加快液体的扩散速度,为硝化微生物提供关键底物^[37-38]。Dai 等^[17]指出,水分条件 可能是导致旱地与稻田土壤 AOA 和 AOB 生态位分化的主要原因,其中 AOA 更适应于淹水环境,而 AOB则在旱地土壤中主导土壤氨氧化过程。在本研究中,AOA 丰度从林地到水田显著降低(*p*<0.05), 而 AOB 则对土壤水分增加产生了积极的响应,这与刘若萱等^[39]对不同水分梯度的土壤模拟实验得出 AOB 对水分变化敏感的结论一致。水田环境同样刺激了 clade B 的活性,并且 clade A 与 clade B 的丰度比 值也从林地的 47.0 降低到水田的 2.3,表明 clade B 可能在缺氧的淹水环境中具有生理活性。Wang 等^[11] 研究中也得到 clade B 在酸性和中性水稻土的硝化作用中有贡献。在旱地和水田处理中, clade A 的丰度并 未表现出显著差异,表明在紫色土中 clade A 可能对土壤水分变化不敏感。

硝化势是指示好氧氨氧化微生物硝化活性的重要指标,亚硝酸盐氧化势则是全程氨氧化细菌和亚硝酸盐氧化菌活性的反映。在本研究中,Pearson相关性分析结果表明,AOB和 clade A 与硝化势呈显著相关性 (*p*<0.05),AOB和 clade B 与亚硝酸盐氧化势呈显著相关性(*p*<0.05),说明这 3 类氨氧化微生物可能在 紫色土的硝化过程中发挥重要作用。相比之下,AOA与土壤硝化活性并无明显相关,表明 AOA 可能在不同土地利用方式的紫色土中硝化活性较弱,对硝化作用贡献不高,因此不同土地利用方式可能会造成氨氧 化微生物的变化,进而影响土壤硝化、亚硝酸盐氧化过程。在本研究中,水田土壤的硝化活性显著高于林 地和旱地土壤(图 1),而在林地土壤中全程及半程氨氧化微生物的总丰度高于旱地和水田土壤,但其土壤 亚硝酸盐氧化势却显著低于旱地和水田土壤(图 1,*p*<0.05),进一步表明土壤环境中微生物功能基因的数量并不一定能反映其功能活性^[9,40]。Bai 等^[41]对不同耕作制度黑土的研究中也指出,虽然 AOA 与 Comammox 在丰度上占有很大比重,但是 AOB 才是促进耕地黑土硝化作用的主要贡献者。

土壤微生物群落结构与土壤环境密切相关,一方面土壤环境的改变会影响土壤微生物的群落结构及其 功能;另一方面土壤微生物的结构及功能活性也会影响土壤中各种养分的循环转化过程^[42]。本研究发现, 不同土地利用方式的紫色土中 clade A 均归属于 *Nitrospira inopinata*,表明紫色土环境中 clade A 的系统 发育多样性较单一,但不同土地利用方式下土壤中优势 Comammox 存在差异性,说明不同土地利用方式 仍会影响紫色土 Comammox 的群落结构。Medriano 等^[43]对不同土地利用类型的热带土壤研究中也得出, 人为土地利用导致了热带土壤微生物组成及多样性的改变。

此外,植被组成在调节微生物群落和功能方面发挥着重要作用^[44-47]。Subbarao等^[48]研究指出胡枝 子对硝化作用的抑制机制是通过向土壤释放根系分泌物来阻断细菌的氨氧化途径,这可能也从另一个 角度解释了本研究中3种土地利用方式下全程及半程硝化微生物丰度的差异。在本研究中,3种土地生 长的植被类型存在差异:林地主要生长攀倒甑(15%)及构树(10%),旱地以喜旱莲子草(42%)和石龙芮 (35%)为主,水田则主要进行水稻一大麦轮作,后续研究可从植被类型对土壤硝化功能微生物菌群的影 响方面加以考虑。

3.2 结论

本研究表明, Comammox、AOA 和 AOB 在不同土地利用方式的紫色土中均广泛分布。土地利用方式 是影响全程氨氧化细菌(Comammox)及半程氨氧化微生物(AOA 和 AOB)生态位分化的关键因子。此外, 土地利用方式也显著影响 Comammox 两个分支(clade A 和 clade B)的生态位分化特征。该研究结果对农 业和林业生产种植具有重要指导意义,有助于根据不同土地利用方式优化氮肥管理,提升土壤氮素利用效 率,促进作物和林木的健康生长。

参考文献:

- [1] KÖNNEKE M, BERNHARD A E, DE LA TORRE J R, et al. Isolation of an Autotrophic Ammonia-oxidizing Marine Archaeon [J]. Nature, 2005, 437(7058): 543-546.
- [2] BOCK E, WAGNER M. Oxidation of Inorganic Nitrogen Compounds as an Energy Source [J]. Springer New York, 2006, 7(16): 83-118.
- [3] DIMITRI K K, SEDLACEK C J, LEBEDEVA E V, et al. Kinetic Analysis of a Complete Nitrifier Reveals an Oligotrophic Lifestyle [J]. Nature, 2017, 549(7671): 269-272.
- [4] DAIMS H, LEBEDEVA E V, PJEVAC P, et al. Complete Nitrification by Nitrospira Bacteria [J]. Nature, 2015, 528(7583): 504-509.
- [5] VAN KESSEL M A H J, SPETH D R, ALBERTSEN M, et al. Complete Nitrification by a Single Microorganism [J].

Nature, 2015, 528(7583): 555-559.

- [6] COSTA E, PÉREZ J, KREFT J U. Why is Metabolic Labour Divided in Nitrification? [J]. Trends in Microbiology, 2006, 14(5): 213-219.
- [7] PJEVAC P, SCHAUBERGER C, POGHOSYAN L, et al. AmoA-targeted Polymerase Chain Reaction Primers for the Specific Detection and Quantification of Comammox Nitrospira in the Environment [J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1508.
- [8] WANG X X, LU L, ZHOU X, et al. Niche Differentiation of Comammox *Nitrospira* in the Mudflat and Reclaimed Agricultural Soils along the North Branch of Yangtze River Estuary [J]. Frontiers in Microbiology, 2021(11): 618287.
- [9] LIU H Y, HU H W, HUANG X, et al. Canonical Ammonia Oxidizers, rather than Comammox Nitrospira, Dominated Autotrophic Nitrification during the Mineralization of Organic Substances in Two Paddy Soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 156: 108192.
- [10] 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.
- [11] WANG Z H, CAO Y Q, ZHU-BARKER X, et al. Comammox Nitrospira Clade B Contributes to Nitrification in Soil
 [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 135: 392-395.
- [12] 王智慧, 蒋先军. 宏基因组技术研究泥岩母质发育的三种不同 pH 紫色土硝化微生物群落演变规律 [J]. 微生物学报, 2021, 61(7): 1933-1944.
- [13] DE VRIES F T, THÉBAULT E, LIIRI M, et al. Soil Food Web Properties Explain Ecosystem Services across European Land Use Systems [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2013, 110(35): 14296-14301.
- [14] 刘天琳,任佳琪,王天佑,等.中性紫色水稻土硝化作用中细菌和古菌的相对贡献 [J]. 土壤通报,2018,49(5): 1091-1096.
- [15] 张晓楠,陆玉芳,杨婷,等.水稻生物硝化抑制剂 1,9-癸二醇的定量方法优化 [J].土壤,2020,52(6):1152-1157.
- [16] KÖGEL-KNABNER I, AMELUNG W, CAO Z H, et al. Biogeochemistry of Paddy Soils [J]. Geoderma, 2010, 157(1-2): 1-14.
- [17] DAI S Y, LIU Q, ZHAO J, et al. Ecological Niche Differentiation of Ammonia-oxidising Archaea and Bacteria in Acidic Soils Due to Land Use Change [J]. Soil Research, 2018, 56(1): 71.
- [18] YING J Y, ZHANG L M, HE J Z. Putative Ammonia-oxidizing Bacteria and Archaea in an Acidic Red Soil with Different Land Utilization Patterns [J]. Environmental Microbiology Reports, 2010, 2(2): 304-312.
- [19] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2000.
- [20] ATTARD E, POLY F, COMMEAUX C, et al. Shifts between Nitrospira- and Nitrobacter-like Nitrite Oxidizers Underlie the Response of Soil Potential Nitrite Oxidation to Changes in Tillage Practices [J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(2): 315-326.
- [21] 王梅,王智慧,石孝均,等. 长期不同施肥量对全程氨氧化细菌丰度的影响 [J]. 环境科学, 2018, 39(10): 4727-4734.
- [22] 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.
- [23] CAMEJO P Y, SANTO DOMINGO J, MCMAHON K D, et al. Genome-enabled Insights into the Ecophysiology of the Comammox Bacterium Candidatus Nitrospira Nitrosa [J]. mSystems, 2017, 2(5): e00059.
- [24] PALOMO A, PEDERSEN A G, JANE FOWLER S, et al. Comparative Genomics Sheds Light on Niche Differentiation and the Evolutionary History of Comammox Nitrospira [J]. The ISME Journal, 2018, 12(7): 1779-1793.
- [25] HU H W, XU Z H, HE J Z. Ammonia-oxidizing Archaea Play a Predominant Role in Acid Soil Nitrification [M] //Advances in Agronomy. Amsterdam: Elsevier, 2014: 261-302.
- [26] 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.
- [27] BARTELME R P, MCLELLAN S L, NEWTON R J. Freshwater Recirculating Aquaculture System Operations Drive Biofilter Bacterial Community Shifts around a Stable Nitrifying Consortium of Ammonia-oxidizing Archaea and Comammox Nitrospira [J]. Frontiers in Microbiology, 2017(8): 101.
- [28] FOWLER S J, PALOMO A, DECHESNE A, et al. Comammox Nitrospira are Abundant Ammonia Oxidizers in

Diverse Groundwater-fed Rapid Sand Filter Communities [J]. Environmental Microbiology, 2018, 20(3): 1002-1015.

- [29] XU S Y, WANG B Z, LI Y, et al. Ubiquity, Diversity, and Activity of Comammox Nitrospira in Agricultural Soils [J]. Science of the Total Environment, 2020, 706: 135684.
- [30] SANTORO A E, FRANCIS C A, DE SIEYES N R, et al. Shifts in the Relative Abundance of Ammonia-oxidizing Bacteria and Archaea across Physicochemical Gradients in a Subterranean Estuary [J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(4): 1068-1079.
- [31] LI C Y, HU H W, CHEN Q L, et al. Niche Specialization of Comammox Nitrospira Clade a in Terrestrial Ecosystems [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 156: 108231.
- [32] WANG X M, WANG S Y, JIANG Y Y, et al. Comammox Bacterial Abundance, Activity, and Contribution in Agricultural Rhizosphere Soils [J]. Science of the Total Environment, 2020, 727: 138563.
- [33] LIN S S, HERNANDEZ-RAMIREZ G. Nitrous Oxide Emissions from Manured Soils as a Function of Various Nitrification Inhibitor Rates and Soil Moisture Contents [J]. Science of the Total Environment, 2020, 738: 139669.
- [34] LIU S, ZHANG J H, WANG Y C, et al. Effects of Dam Building on Niche Differentiation of Comammox *Nitrospira* in the Main Stream of the Three Gorges Reservoir Area [J]. Water, 2022, 14(24): 4014.
- [35] ZHOU S M, ZHANG M, ZHANG K K, et al. Effects of Reduced Nitrogen and Suitable Soil Moisture on Wheat (*Triticum aestivum* L.) Rhizosphere Soil Microbiological, Biochemical Properties and Yield in the Huanghuai Plain, China [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2020, 19(1): 234-250.
- [36] WANG H, YANG J P, YANG S H, et al. Effect of a 10 °C-Elevated Temperature under Different Water Contents on the Microbial Community in a Tea Orchard Soil [J]. European Journal of Soil Biology, 2014, 62: 113-120.
- [37] BLAGODATSKY S, SMITH P. Soil Physics Meets Soil Biology: Towards Better Mechanistic Prediction of Greenhouse Gas Emissions from Soil [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, 47: 78-92.
- [38] 唐瑞杰,胡煜杰,赵彩悦,等.不同水分条件下土地利用方式对我国热带地区土壤硝化过程及 NO 和 N₂O 排放的影响 [J].环境科学,2022,43(11):5159-5168.
- [39] 刘若萱,张丽梅,白刃,等. 模拟条件下土壤硝化作用及硝化微生物对不同水分梯度的响应 [J]. 土壤学报,2015, 52(2):415-422.
- [40] SUN X X, ZHAO J, ZHOU X, et al. Salt Tolerance-based Niche Differentiation of Soil Ammonia Oxidizers [J]. The ISME Journal, 2022, 16(2): 412-422.
- [41] BAI X, HU X J, LIU J J, et al. Ammonia Oxidizing Bacteria Dominate Soil Nitrification under Different Fertilization Regimes in Black Soils of North East China [J]. European Journal of Soil Biology, 2022, 111: 103410.
- [42] 杨东伟,章明奎.水田改果园后土壤性质的变化及其特征 [J]. 生态学报, 2015, 35(11): 3825-3835.
- [43] MEDRIANO C A, CHAN A, DE SOTTO R, et al. Different Types of Land Use Influence Soil Physiochemical Properties, the Abundance of Nitrifying Bacteria, and Microbial Interactions in Tropical Urban Soil [J]. Science of the Total Environment, 2023, 869: 161722.
- [44] SRIKANTHASAMY T, LELOUP J, N'DRI A B, et al. Contrasting Effects of Grasses and Trees on Microbial N-Cycling in an African Humid Savanna [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 117: 153-163.
- [45] 宿少锋, 王小燕, 林之盼, 等. 热带地区 6 种植被类型土壤微生物功能多样性特征 [J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(3): 505-514.
- [46]颜彩缤,赵亚,李少卡,等.不同间作模式对幼龄菠萝蜜土壤酶活性和真菌群落的影响[J].中国南方果树,2024, 53(6):92-99.
- [47] 刘小玉, 付登强, 余凤玉. 解淀粉芽孢杆菌 ck-05 对槟榔生长及土壤微生态的影响 [J]. 中国南方果树, 2023, 52(6): 141-145.
- [48] SUBBARAO G V, NAKAHARA K, HURTADO M P, et al. Evidence for Biological Nitrification Inhibition in Brachiaria Pastures [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2009, 106(41): 17302-17307.

责任编辑 周仁惠