

酸性土壤氨氧化微生物及其影响因素研究进展

刘晶静*, 马文丹, 和松, 吴增学, 李春

江西理工大学能源与机械工程学院, 江西 南昌 330013

刘晶静, 马文丹, 和松, 吴增学, 李春. 酸性土壤氨氧化微生物及其影响因素研究进展[J]. 微生物学通报, 2023, 50(1): 413-426.

LIU Jingjing, MA Wendan, HE Song, WU Zengxue, LI Chun. Ammonia-oxidizing microorganisms in acidic soil and their influencing factors: a review[J]. Microbiology China, 2023, 50(1): 413-426.

摘要: 自然条件变化和人类活动不仅加剧了土壤酸化, 扩大了酸性土壤面积, 而且严重影响了土壤氮循环。氨氧化过程作为硝化作用的限速步骤, 是全球氮循环的核心环节, 受到国内外研究者的广泛关注。探究酸性土壤氨氧化作用及其功能微生物对完善氮循环机制和促进土壤养分循环具有重要意义。本文主要综述了土壤中氨氧化代谢途径, 对比了氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)、氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)和全程硝化菌(complete ammonia oxidizers, Comammox)对酸性土壤氨氧化作用的相对贡献, 分析了微生物内源功能差异及 pH、底物浓度等外部环境因素对氨氧化微生物丰度、活性和群落结构的影响, 最后对氨氧化微生物研究进行了展望, 以期为酸性土壤氨氧化作用研究和微生物修复技术应用与实践提供科学参考。

关键词: 酸性土壤; 氨氧化古菌; 氨氧化细菌; 全程硝化菌

Ammonia-oxidizing microorganisms in acidic soil and their influencing factors: a review

LIU Jingjing*, MA Wendan, HE Song, WU Zengxue, LI Chun

School of Energy and Mechanical Engineering, Jiangxi University of Science and Technology, Nanchang 330013, Jiangxi, China

Abstract: The changes of natural conditions and human activities have not only intensified soil acidification and expanded the area of acidic soil but also seriously affected soil nitrogen cycle.

资助项目: 国家自然科学基金(31760157); 江西省教育厅项目(GJJ160627)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31760157) and the Jiangxi Provincial Department of Education Project (GJJ160627).

*Corresponding author. E-mail: jingjingliu1985@163.com

Received: 2022-04-22; Accepted: 2022-07-20; Published online: 2022-08-16

As a rate-limiting step of nitrification, ammonia oxidation is the core of the global nitrogen cycle, which has attracted extensive attention. Exploring ammonia oxidation in acidic soil and the involved functional microorganisms is of great significance for deciphering the nitrogen cycle mechanism and promoting soil nutrient cycling. This paper summarized the mechanisms of ammonia oxidation in soil and compared the relative contributions of ammonia-oxidizing bacteria (AOB), ammonia-oxidizing archaea (AOA), and complete ammonia oxidizers (Comammox) to ammonia oxidation in acidic soil. Then, we analyzed the effects of microbial endogenous function differences and environmental factors such as pH and substrate concentration on the abundance, activity, and community structure of ammonia-oxidizing microorganisms. Finally, the future studies about ammonia-oxidizing microorganisms were prospected. This paper is expected to provide scientific references for future research on ammonia oxidation in acidic soil, as well as the application and practice of microbial remediation.

Keywords: acidic soil; ammonia-oxidizing archaea; ammonia-oxidizing bacteria; complete ammonia oxidizers

随着社会经济的快速发展, 土壤酸化 (pH<6.5) 日益严重, 成为土壤退化的重要表现形式, 引起了国内外研究者的广泛关注^[1]。目前, 全球酸性土壤面积占陆地总面积的 30% 以上, 我国酸性土壤约占领土总面积的 22.7%^[2]。土壤酸化不仅降低了土壤肥力, 而且削弱了土壤缓冲性能, 导致土壤板结、生态系统退化, 给我国农业生产和环境保护带来严峻挑战^[2-3]。土壤酸化过程进一步活化了重金属等有害物质, 改变了土壤微生物群落结构及多样性, 使得土壤酶活性和微生物生态功能受到抑制, 从而影响元素的生物地球化学循环^[2,4-5]。氨氧化作用是硝化作用的重要环节, 其相关研究对推动氮素循环转化、调节土壤酸碱度、维持生态平衡和促进生态修复具有重要意义。20 世纪以来, 关于酸性土壤氨氧化过程的认识随着研究的深入发生了显著变化。研究者曾认为酸性土壤中不存在氨氧化过程^[6-7], 而氨氧化细菌 (ammonia-oxidizing bacteria, AOB)、氨氧化古菌 (ammonia-oxidizing archaea, AOA) 和全程硝化菌 (complete ammonia oxidizers, Comammox) 的

相继发现改变了研究者对氨氧化作用的认知。目前, 关于酸性土壤氨氧化作用及其功能微生物对环境变化的响应仍缺乏全面的表述。因此, 本文综述 AOB、AOA 和 Comammox 的氨氧化作用机制, 讨论并总结细胞结构差异、土壤 pH、底物浓度等因素对酸性土壤中氨氧化作用及其功能微生物群落结构和活性的影响, 以期补充完善土壤氮素循环机制提供参考。

1 氨氧化代谢途径

氨氧化作用是微生物将 NH_3 氧化为 NO_2^- 的生物化学过程, 作为硝化作用的限速步骤, 其生态学研究在氮素生物地球化学循环过程中一直备受关注。氨氧化关键酶——氨单加氧酶 (ammonia monooxygenase, AMO) 只能催化 NH_3 转化为 NH_2OH , 土壤 pH 值降低引起 NH_4^+ 和 NH_3 动态失衡, 导致底物 NH_3 匮乏, AOB 生长受到限制, 因此传统观点认为, 酸性土壤难以发生氨氧化作用^[8-9]。随着分子生物学技术的发展和研究的深入, 研究者在多种类型酸性土壤中均检测到古菌氨氧化功能基因序列, 不仅其

丰度远高于细菌, 而且在酸性土壤氨氧化过程中发挥主导作用^[9-10]。新发现的 Comammox 给氨氧化作用研究提供了新视角, 并将其驱动 NH_3 转化为 NO_3^- 的代谢过程称为全程硝化^[11]。生态学研究表明, AOB、AOA 和 Comammox 通常共存于土壤生态系统中, 但由于 3 种微生物细胞结构差异较大, 而且对环境变化响应不同, 导致它们对酸性土壤氨氧化作用的相对贡献也不同^[12-14]。

近年来, 现代分子生物学技术的快速发展弥补了传统微生物学研究中大量微生物难以分离培养的不足, 也为研究氨氧化微生物多样性、丰度及其生态功能提供了有效手段。例如, 可以直接从环境样品中提取 DNA 或 RNA 进行 *amoA* 基因 PCR 扩增, 再通过高通量测序、变性梯度凝胶电泳 (denatured gradient gel electrophoresis, DGGE) 和末端限制性片段长度多态性技术 (terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP) 分析环境中氨氧化微生物群落组成和多样性^[15]。稳定同位素核酸探针技术 (DNA/RNA-based stable isotope probing, DNA/RNA-SIP)、宏基因组学和宏转录组学等方法也可以更全面地揭示氨氧化微生物生态功能和活性^[16-17]。传统分离培养和现代分子生物学技术相结合推动了氨氧化微生物及氨氧化作用的理论研究, 丰富了研究内容, 拓展了人们对全球氮素循环的认识。

1.1 氨氧化作用

虽然 AOB 和 AOA 都能独立完成氨氧化作用, 但两者氨氧化功能酶的编码基因结构不同。首先, 编码 AMO 的 3 个亚基 (*amoA*、*amoB*、*amoC*) 在 AOB 基因组中排列顺序是固定的 (*amoC*、*amoA*、*amoB*), 在 AOA 基因组中 AMO 基因簇排列顺序则多种多样^[18-19]; 而且与 AOB

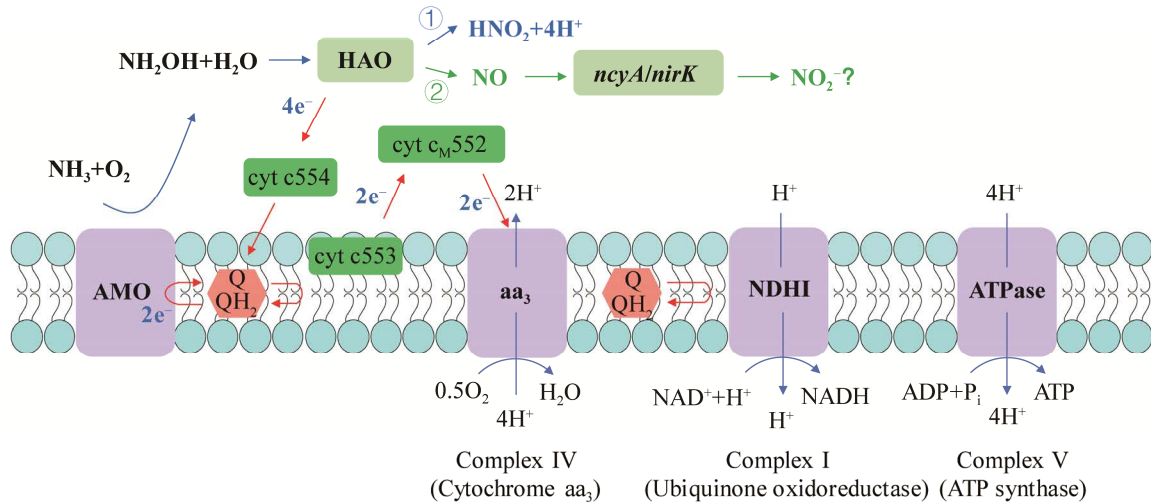
amoB 基因序列的较高可变量度相比, *amoB* 基因在 AOA 基因组中具有高度保守性, 甚至可能存在第 4 种潜在亚基 *amoX*^[20]。其次, AOB 和 AOA 的 AMO 活性中心金属离子不同, AOB 活性中心金属元素是 Fe, 而 AOA 活性中心金属元素是 Cu^[19-21]。最后, AOA 缺乏 AOB 所具有的编码羟胺氧化还原酶 (hydroxylamine oxidoreductase, HAO) 和细胞色素 C 的同源基因, 但其具有大量的含 Cu 蛋白, 可在功能上取代 HAO 和细胞色素 C, 使得 AOA 能够顺利完成氨氧化作用^[18,21]。

AOB 和 AOA 的氨氧化代谢过程也存在较大差异 (图 1)。AOB 有两种代谢途径, NH_3 经 AMO 氧化为 NH_2OH , NH_2OH 在 HAO 催化作用下转化为 NO_2^- (图 1A 中①) 或 NO (图 1A 中②)^[22-24]。当前, 途径①已被证明是 AOB 主要的代谢过程, 还需通过体内代谢组学结合转录组学研究证实 AOB 细胞内 NH_2OH 经 NO 转化为 NO_2^- 的可行性 (图 1A 中②)。从图 1 可知, AOA 细胞内 AMO 可催化 NH_3 氧化为 NH_2OH 或 HNO, 启动 NH_3 氧化为 NH_2OH 的电子来源不同, 表明 AOA 具有多种代谢途径 (图 1B 中①②③)^[22,24]。Walker 等强调了 AOA 细胞内 NO 和含 Cu 蛋白酶在氨氧化和电子传递过程中的重要性^[19,25]; Vajjala 等通过 ¹⁵N 示踪试验研究发现 NH_2OH 是古菌氨氧化作用的直接产物^[26], 因此, 以 NH_2OH 为中间产物的代谢过程 (图 1B 中②) 可能是 AOA 的主要代谢途径。其次, NO 在 AOB 和 AOA 氨氧化过程中的具体作用不同, AOB 代谢过程中 NO 经 *ncyA* 基因编码的亚硝基蓝蛋白或 *nirK* 基因编码的亚硝酸还原酶 (copper-dependent nitrite reductase, CuNIR) 转化为 NO_2^- (图 1A 中②), 而 NO 则在 AOA 细胞内起传递电子的作用 (图 1B 中②)^[22,24,27]。最后,

AOA 在能量传递方面更加高效。AOA 细胞内 HNO_2 经 CuNIR 还原生成的 NO , 可作为氧化还原中介体传递电子至 AMO 启动氨氧化反应,

或以 HNO 为中间体无需电子再循环启动 NH_3 的氧化; 而 AOB 细胞内电子需经醌池传递至 AMO , 驱动 NH_3 氧化成 NH_2OH ^[21-22]。

A



B

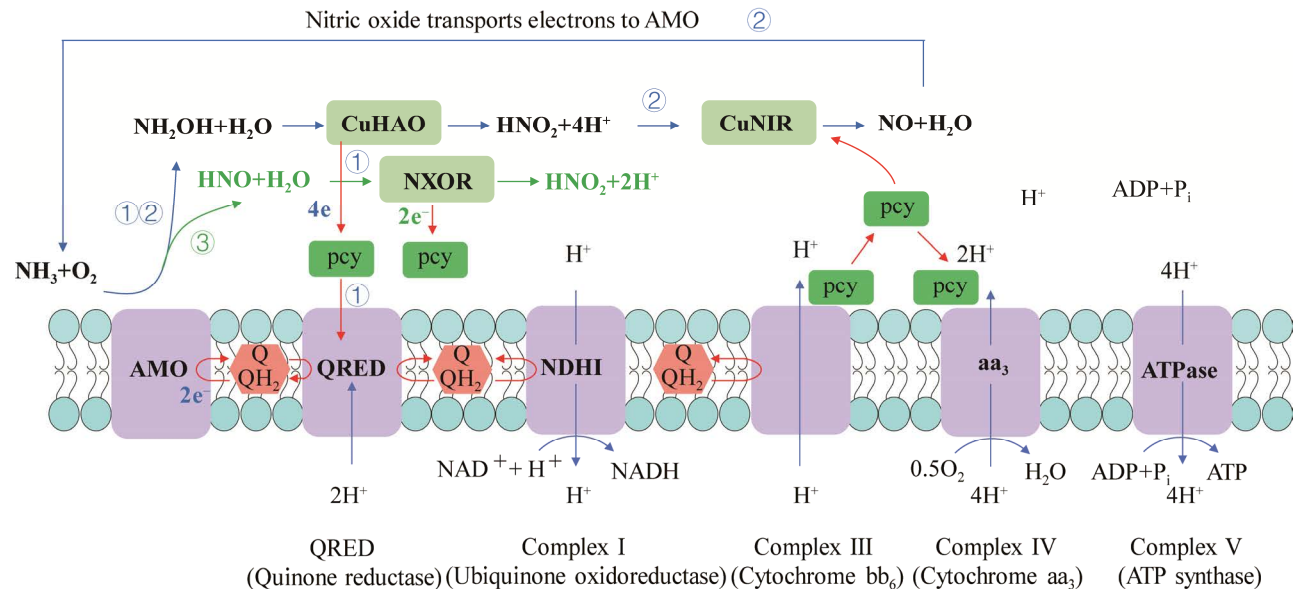


图 1 氨氧化细菌(A)和氨氧化古菌(B)的代谢途径^[22,24] AMO: 氨单加氧酶; HAO: 羟胺氧化还原酶; CuHAO: 含铜的羟胺氧化还原酶; NXOR: 亚硝酸盐氧化还原酶; CuNIR: 含铜的亚硝酸还原酶; Q 或 QH_2 : 醌池; cyt: 细胞色素; pcy: 质体蓝素; 红色箭头: 电子流

Figure 1 Ammonia oxidation metabolism pathways of AOB (A) and AOA (B)^[22,24]. AMO: Ammonia monooxygenase; HAO: Hydroxylamine oxidoreductase; CuHAO: Copper-dependent hydroxylamine oxidoreductase; NXOR: Nitrite oxidoreductase; CuNIR: Copper-dependent nitrite reductase; Q/ QH_2 : Quinone pool; cyt: Cytochrome; pcy: Plastocyanin; Red arrow: Electron flow.

amoA 作为 AOB 和 AOA 的功能标记基因, 其基因表达水平和基因丰度调控着 AOB 和 AOA 代谢过程及它们对氨氧化作用的相对贡献。金属元素 Cu 是 AOA 代谢过程中关键蛋白酶发挥作用的辅助因子, 酸性土壤中 Cu 生物可利用性较高, 使得 AOA 细胞内 AMO、CuHAO 和 CuNIR 等含 Cu 酶的编码基因有效表达^[15]。此外, 在有机质丰富的酸性土壤中, AOB 细胞内编码 HAO 酶的 *hao* 基因丰度降低, 而同时 AMO 酶的编码基因 *amoA* 基因丰度升高, 更有助于 AOA 在酸性土壤中发挥竞争优势^[28]。在 pH 值为 5.11–7.36 的稻田土壤中, AOA *amoA* 和 AOB *amoA* 基因比值为 1.91–1 048^[29]。基于 *amoA* 基因的测序分析表明, AOA *amoA* 和 AOB *amoA* 基因比值随着 pH 值(3.2–6.8)的降低而急剧增加, 可见 AOA *amoA* 基因可在低 pH 条件下高效表达^[10]。然而, 有研究者提出, Comammox 的底物 NH_3 亲和力高于大多数 AOB 和 AOA^[30], 而且偏好低氧环境^[31], 将来有可能挑战 AOA 在酸性土壤中的主导地位。

1.2 全程硝化作用

长期以来, 研究者一直认为硝化作用是由

氨氧化菌(AOB 和 AOA)及亚硝酸盐氧化菌(nitrite oxidizing bacteria, NOB)联合完成。直至 2015 年, 研究者对深油井和水产养殖系统中富集培养物的微生物宏基因组测序分析发现, 存在一种微生物, 其体内既有编码 AMO 和 HAO 的基因, 也有编码亚硝酸盐氧化还原酶(nitrite oxidoreductase, NXOR)的基因, 能够独立完成硝化作用全过程, 将其命名为 Comammox^[32-33], 这一突破性发现扩展了研究者对硝化作用的认知, 并对完善氮循环机制具有重要意义。氨氧化微生物和全程硝化菌都含有氨氧化关键酶 AMO 和 HAO, 但其编码基因的种类、排列顺序和拷贝数均不相同, 表明 Comammox 和 AOB、AOA 具有不同的氨氧化代谢过程(图 2)^[34-35]。目前已知的 Comammox 均属于硝化螺菌属谱系 II (*Nitrospira* cluster II), 根据 *amoA* 基因的系统发育进一步分为 clade A 和 clade B 两个分支^[32]。研究发现, Comammox 可将尿素分解为 NH_3 以供氨氧化微生物生长, 而 AOB 和 AOA 氨氧化过程生成大量 NO_2^- , 利于对 NO_2^- 亲和力低的 Comammox 驱动亚硝酸盐氧化作用, 三者之间可能存在着互利共生关系^[36-37]。在能量利用方面,

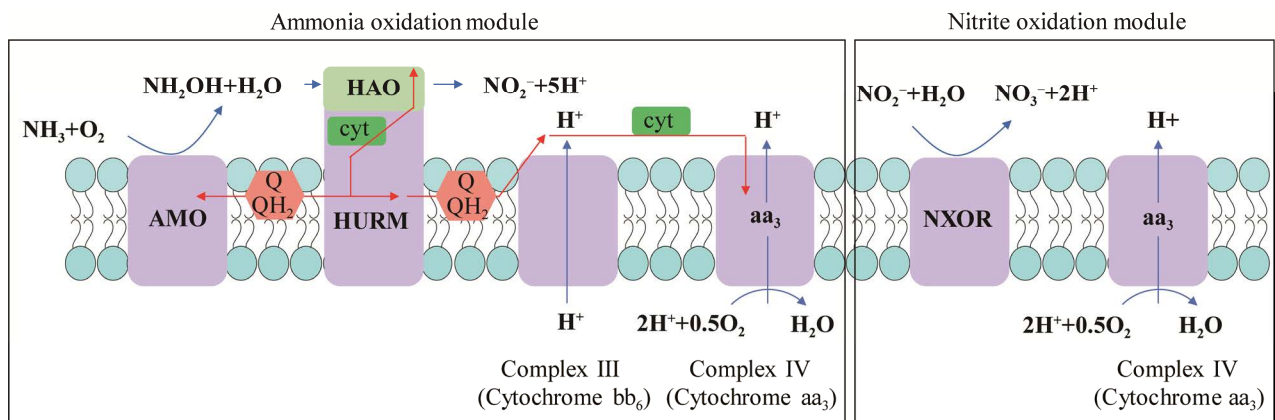


图 2 全程硝化菌(Comammox)代谢途径^[34-35,38] HURM: 羟胺-泛醌氧化还原模块, 其他同上

Figure 2 Ammonia oxidation metabolism pathway of Comammox^[34-35,38]. HURM: Hydroxylamine-ubiquinone redox module, other same as above.

相较于单独的氨氧化($\Delta G^\circ = -274.7$ kJ/mol-NH₃)和亚硝酸盐氧化($\Delta G^\circ = -74.1$ kJ/mol-NO₂⁻), 全程硝化($\Delta G^\circ = -348.9$ kJ/mol-NH₃)可产生更大的能量^[32]。动力学研究结果显示, Comammox 平均表观半饱和常数 [$K_m = (63 \pm 10)$ nmol/L-NH₃] 比绝大多数的 AOB 和 AOA 更低, 表明其具有更高的 NH₃ 亲和力, 可在底物匮乏条件下生长^[30]。然而也有研究指出, 氨氧化微生物代谢能量耗损低、生长速率高, 有利于以 NH₂OH 为中间产物的氨氧化过程顺利进行^[30,38-39]。从土壤生态系统中 Comammox 分布情况及其生化特性的现有研究中可以发现, Comammox 参与了酸性土壤硝化过程, 但是否为氨氧化作用的优势微生物还有待进一步揭示。全程硝化过程具有代谢途径短、ATP 合成效率高等特性, 而且 Comammox 对 NH₃ 亲和力高, 今后必将成为全球氮素循环的重点研究课题之一。

2 酸性土壤中氨氧化微生物生态位分化的影响因素

AOB、AOA 和 Comammox 是酸性土壤氨氧化过程的关键组成部分, 评估它们对氨氧化作用的相对贡献大小, 不仅需要考虑到 3 种微生物细胞结构差异, 还应结合土壤 pH 和底物浓度等环境因素变化^[10,40-41]。本文从微生物内源功能差异和外部环境因素 2 个方面详细探讨了影响酸性土壤氨氧化微生物生态位分化的因素, 明确了 AOA 在酸性土壤氨氧化代谢过程中的重要作用。

2.1 内源功能差异

AOA 在细胞结构、底物亲和力及代谢方式上具有区别于 AOB 和 Comammox 的独特性质, 因此, 在酸性土壤中表现出更大的竞争优势, 并能保持较高的功能活性。

2.1.1 独特的细胞结构

古菌具有区别于细菌的独特细胞膜脂质甘

油二烷基链甘油四醚化合物 (glycerol dialkyl glycerol tetraethers, GDGTs)^[42-43]。这种醚类脂结构结合紧密, 使得古菌的单层脂质比细菌的双层脂质更稳定^[44], 不仅显著降低了细胞膜渗透能力^[42]、减少了无效离子循环和能量消耗、使古菌在能量传递方面占据优势^[45], 而且有助于古菌在极端酸性环境中保持更高的化学稳定性^[42,44]。此外, AOA 还具有表层蛋白和杂多糖等多样性的细胞壁结构, 增加了细胞结构的稳定性^[46-47], 为 AOA 在极端环境中生存并驱动氨氧化作用提供了良好的胞内环境。

2.1.2 pH 自我调节机制

古菌细胞膜中的醚键比细菌的酯键耐酸性更强, 其 GDGTs 质子渗透性低, 使得酸性环境中质子通过渗透压平衡进入细胞内部更困难^[42,44]。而且 AOA 通过基因水平转移获得的 V 型 ATP 酶更适应极端环境胁迫, 可将大量质子泵出细胞外以维持胞内 pH 稳态, 有助于 AOA 适应极端酸性环境^[40,48]。最近发现的嗜酸性古菌 *Candidatus Nitrosotalea devanaterre* 和 *Picrophilus oshimae* 的基因组研究表明, 古菌中含有多种阳离子转运蛋白^[14], 有助于道南电势抑制 H⁺ 流入, 维持细胞内外 pH 平衡^[48]。

2.1.3 较高的底物亲和力

Comammox clade A 和 *Betaproteobacteria* 的 AOB 具有相似的低亲和力 Rh 型氨转运蛋白, 倾向于在中性或碱性条件下发挥作用^[49]; 而 Comammox clade B 和 AOA 具有高亲和性 Amt 型氨转运蛋白^[14,34,50], 在酸性条件下能够更好地发挥功能优势。Qin 等研究发现, Amt 氨转运蛋白包括低亲和力和高亲和力的氨转运蛋白, 随着 NH₃ 浓度降低, 低亲和力转运蛋白表达量下降, 而高亲和力转运蛋白表达量则随之增加^[40,51]。除此之外, 大多数 AOA 细胞体积比 AOB 小 10-100 倍, 因此 AOA 具有更大的比表

面积, 在底物利用方面占据竞争优势^[42,45]。

2.1.4 多样的代谢方式

在酸性土壤中, 尿素水解曾被认为是 AOB 应对底物匮乏的一种代谢机制, 但最新研究发现, AOA 和 Comammox 不仅能够利用尿素作为能量来源, AOA 还可以利用脲酶降解脲酸盐为 NH_3 , 驱动土壤氨氧化过程^[36,38,52]。

2.2 外部因素影响

土壤环境复杂多变, 氨氧化微生物群落组成和多样性还受到 pH、底物浓度、温度和重金属含量等外部环境因素影响。

2.2.1 土壤 pH

AOB、AOA 和 Comammox 对酸性环境适应能力不同, pH 成为氨氧化微生物生态位分化的关键因素^[12,53]。不同酸化程度的菜地土壤(pH 值为 3.97、4.82、6.07、7.04), AOA *amoA* 基因丰度比 AOB 高 2–5 个数量级, 而且 AOA 和 AOB 相对丰度随土壤 pH 值增加分别呈下降和上升的趋势^[54]。土壤 pH 值为 3.2–6.8 时, 林地土壤中 AOA *amoA* 基因丰度和表达活性均随土壤 pH 值降低而升高; 当 pH 值降至最低时, AOA 与 AOB 的 *amoA* 基因表达丰度比值达到最大^[10]。自发现以来, 研究者在多种类型酸性土壤中均检测到 Comammox, 但其 *amoA* 基因表达丰度大多低于 AOA 和 AOB, Wang 等^[12]和 Huang 等^[55]研究结果充分支持了这一现象。在连续施肥 29 年的酸性(pH 4.38–6.52)土壤中, AOA *amoA* 基因表达丰度显著高于 Comammox 且与硝化活性呈显著正相关, 表明 AOA 是酸性土壤硝化作用的主要贡献者^[12]。王智慧等通过宏基因组测序分析发现, AOA 在酸性土壤中的相对丰度(4.839%)高于中性土壤(3.731%)和碱性土壤(0.245%), 约占酸性土壤氨氧化功能微生物总量的 82.9% ($P < 0.05$), 明显高于 AOB (5.2%)

和 Comammox (0.5%)^[13]。这与其他研究者发现 AOB、Comammox 分别在碱性土壤和中性土壤中占优势地位互为补充, 共同阐释了 AOB、AOA 和 Comammox 对土壤 pH 的不同响应^[7,13]。

此外, 土壤 pH 还影响氨氧化微生物群落结构。功能基因 *amoA* 系统发育分析表明, 酸性土壤和中性弱碱性土壤中 AOA 的主要功能类群分别为 *Nitrosotalea* (或 group1.1a-associated) 和 *Nitrososphaera* (或 group1.1b)^[9,56–57]。而 AOB 菌群 *Nitrosomonas* 主要在中性土壤或碱性土壤中占主导, *Nitrosospira* cluster 2 则更偏好酸性土壤^[58–59]。李文兴等研究发现, AOA 类群 *Nitrososphaera* 也可能是酸性土壤氨氧化作用的重要驱动者^[57], 充分体现了酸性土壤氨氧化过程的复杂性和氨氧化微生物的多样性。Comammox 群落组成也受到土壤 pH 的显著影响。森林、草地和农业土壤(pH 值为 4.37–9.48)中 clade A 和 clade B 分别占 Comammox 种群的 71.5%和 28.4%^[60], 这一差异在长期施肥的酸性农田土壤中更加明显, clade A 与 clade B *amoA* 基因表达丰度比值约为 1.05–88.41^[12]。但也有研究指出, 酸性马尾松林土壤中 Comammox 主要类群为 clade B (64%), clade A 仅占 36%^[61]。由于 Comammox 发现时间较短, 存在研究方法不完善、研究内容不充分等问题, 因此, 酸性土壤中 Comammox 优势类群及其对氨氧化作用的相对贡献仍需进一步研究揭示。

2.2.2 底物浓度

作为氨氧化作用的直接底物, NH_3 浓度会直接影响土壤氨氧化微生物活性和氨氧化速率。目前, Comammox 的研究大多集中在淡水^[62]、沉积物^[63]、饮用水和废水处理系统^[64–65]等中性或偏碱性水生生态系统中^[33,66], 酸性环境尤其是酸性土壤 Comammox 和氨氧化菌对底物的竞争作用尚不明确, 但底物亲和力在 AOA 和 AOB

竞争中起着至关重要的作用。酸性土壤中过量的 H^+ 使 NH_3 转化为 NH_4^+ , 导致底物 NH_3 浓度降低, AOA 细胞内 Amt 高亲和力转运蛋白有效表达, 使得 AOA 底物亲和力更高, 成为低浓度 NH_3 酸性土壤中氨氧化作用的重要驱动者^[40]; 而 AOB 则因底物亲和力较低而无法在低浓度 NH_3 酸性土壤中正常生长代谢, 更适合在高 NH_3 条件下发挥作用^[18,67]。有研究发现, AOA 氨氧化活性受抑制的最低底物浓度为 2–20 $\mu\text{mol/L-NH}_3$, 而 AOB 正常代谢的底物抑制浓度较高, 为 39–4 500 $\mu\text{mol/L-NH}_3$ ^[67]。AOA 在低、中和高底物浓度下均可生长, 但在高底物浓度环境中硝化潜力较弱; 当底物浓度降低时, AOA 硝化潜力升高, AOA/AOB 比值也较高^[41,55]。Lu 等发现茶园土壤(pH 值为 3.75)和森林土壤(pH 值为 5.40)中 NH_3 浓度为纳摩尔水平, 不足以支持 AOB 驱动氨氧化, 而 AOA *amoA* 基因丰度与 NO_3^- 浓度呈显著正相关^[68], 表明 AOA 是这两种酸性土壤氨氧化作用的主要贡献者。苏瑜等发现, 湿地土壤(pH 6.03)中高浓度氨氮(32.58 mg/kg)抑制了 AOA 活性, AOB 主导了该生境中氨氧化作用, 而低氨氮含量(5.09 mg/kg)的农田土壤(pH 4.42)氨氧化作用则由 AOA 主导^[69], 进一步证明了底物浓度显著影响了氨氧化微生物生态位分异及其对氨氧化作用的相对贡献。

我国酸性土壤中有机质含量丰富, 有机质矿化可持续产生低浓度 NH_3 , 不但可以满足氨氧化微生物生长需求, 也是氨氧化作用底物 NH_3 的主要来源^[70-71]。与 AOB 相比, AOA 更加适应有机质矿化缓慢释放 NH_3 的过程, 而且矿化微生物可与 AOA 紧密结合, 将矿化产生的 NH_3 直接转运到 AOA 细胞内减少能量消耗, 有助于 AOA 在酸性条件下发挥功能优势^[67]。

2.2.3 其他因素

氨氧化微生物生态位分异及其对氨氧化作

用的贡献大小不仅取决于土壤 pH 和底物浓度, 还受到温度、土地利用方式、重金属含量等其他因素的间接影响。

温度是影响氨氧化作用及其功能微生物的环境因子之一, 通过改变底物有效性和酶活性间接影响氨氧化微生物的活性、群落结构和丰度。AOB 大多为中温菌, 其适宜生长温度为 20–30 $^{\circ}\text{C}$; AOA 具有结构紧密的甘油四醚脂结构, 细胞膜稳定, 膜流动性和质子渗透能力弱, 受温度影响较小, 因此能在更广的温度范围内保持活性并驱动氨氧化作用^[72-74]。Zeng 等通过微宇宙培养试验探讨了不同温度(15、25、35 $^{\circ}\text{C}$)对湖泊沉积物中 AOA 和 AOB 丰度的影响, 发现 AOA *amoA* 基因丰度与温度呈正相关, 而 AOB 的 *amoA* 基因丰度与温度呈负相关^[73]。AOA 广泛存在于酸化程度不同(pH 值为 2.5–7.0)的陆地温泉(38–97 $^{\circ}\text{C}$)中, 但高温热泉中(>80 $^{\circ}\text{C}$)未检测到 AOB 的存在^[74]。虽然 AOA 在高温条件下不会大量繁殖, 但温度升高会加速其代谢过程, 使得 AOA 在极端温度条件下仍可保持较高的功能活性^[75]。例如, 腾冲地热田(温度 50–90 $^{\circ}\text{C}$ 、pH 值为 1.8–9.3)中 AOA 相对丰度和活性与温度呈正相关, 而且 NO_2^- 含量呈指数增加, 表明 AOA 主导了该高温生境的氨氧化作用^[75]。

酸性土壤在全球广泛分布, 多种多样的土地利用方式导致土壤理化性质发生改变, 从而对氨氧化微生物丰度、群落组成和活性也产生了较大影响。氨氧化微生物类群对土地利用方式的响应也不同。He 等通过 qPCR 方法探究了 5 种类型土壤(农田、草地、灌木林、过渡地和林地, pH 值为 4.99–6.50)中的氨氧化微生物丰度, 发现农田土壤中 AOB 丰度显著高于其他类型土壤, 而农田土壤中 AOA 和 Comammox *amoA* 基因表达量则显著低于其他类型土壤^[76]。森林和农田土壤中氨氧化作用主要由 AOA

group1.1a-associated 驱动完成, AOB *Nitrosospira* cluster 1 和 *Nitrosospira* cluster 2 的相对丰度则分别在退耕还林土壤和耕地农田中最高^[72,77]。氨氧化微生物在茶园土壤(pH 值为 3.6–6.3)中底物半饱和常数比森林土壤(pH 值为 3.2–6.8)更低, 可快速达到底物饱和状态, 具有更高的硝化活性^[78–79]。

人类活动导致土壤重金属污染愈加严重的同时, 也间接影响了土壤氨氧化活性及氨氧化微生物群落组成^[80–81]。AOA 具有独特的细胞膜结构和金属抗性基因, 能够制约重金属离子透过细胞膜, 缓解重金属胁迫, 功能活性较 AOB 和 Comammox 更加稳定^[25,42,44]。随着土壤 Cu 含量(0–800、0–1 600、0–2 400 mg/kg)增加, 我国 17 种典型土壤(pH 值为 4.93–8.90)潜在氨氧化速率逐渐降低^[80]。在重金属(Cu、Zn、Cd、Cr)含量丰富的铁矿区内, AOA 和 AOB 丰度与氨氧化潜势均有明显相关性($r=0.672$, $P<0.01$; $r=0.541$, $P<0.05$), AOA 的相关性更显著^[81]。此外, Cu 浓度升高可能诱导 AOA 细胞内 Cu 抗性基因 *copC* 和 *copD* 高效表达, 不仅能够将 Cu 转运至细胞外, 还可将其螯合物固定在细胞内, 减轻重金属的毒害作用^[25]。

3 结论与展望

氨氧化微生物是土壤氮素循环的重要组成部分。人类活动和气候条件变化导致土壤酸化加剧, 不仅严重影响了土壤生态系统的结构与功能, 还改变了土壤氨氧化作用。探究酸性土壤氨氧化过程中影响 AOB、AOA 和 Comammox 相对丰度、群落结构和活性的关键因素, 分析其相对贡献, 对完善酸性土壤氨氧化作用机制具有重要意义。与 AOB 和 Comammox 相比, AOA 具有独特的细胞结构、pH 自我调节机制、多样的代谢方式和较高的底物亲和力等特性,

在酸性土壤氨氧化过程中具有更大的竞争优势, 发挥着主导作用。

氨氧化代谢机制及其微生物群落结构具有多样性和复杂性, 相关研究虽已证实 AOB、AOA 和 Comammox 均参与酸性土壤氨氧化过程, AOA 是氨氧化作用的重要驱动者。然而, 因 AOB 和 AOA 具有多种代谢途径, 两者在酸性土壤中的主要代谢途径尚不明确。此外, Comammox 发现时间短, 酸性土壤中 Comammox 活性、群落结构和作用机制等相关研究不充分, 尚不能完全推断出 Comammox 对酸性土壤氨氧化作用的相对贡献。因此, 在今后的研究中, 可利用微生物富集培养结合现代分子生物学技术, 进一步揭示 AOB、AOA 和 Comammox 的代谢过程差异, 对完善酸性土壤氨氧化作用机制具有十分重要的意义:(1) 进一步明确酸性土壤中 AOA 代谢途径及其影响机制, 探究如何提升其氨氧化速率;(2) 与氨氧化微生物相比, 全程硝化菌具有哪些竞争优势, 在哪些生境中主导氨氧化作用;(3) 明确酸性土壤中占据优势地位的 Comammox 类群及其作用机理。

REFERENCES

- [1] 魏贤, 赵梦霖. 土壤酸化及酸性土壤改良措施[J]. 农业科技与信息, 2016(35): 88–89.
WEI X, ZHAO ML. Soil acidification and acid soil improvement measures[J]. Agricultural Science-Technology and Information, 2016(35): 88–89 (in Chinese).
- [2] 张玲玉, 赵学强, 沈仁芳. 土壤酸化及其生态效应[J]. 生态学杂志, 2019, 38(6): 1900–1908.
ZHANG LY, ZHAO XQ, SHEN RF. Soil acidification and its ecological effects[J]. Chinese Journal of Ecology, 2019, 38(6): 1900–1908 (in Chinese).
- [3] 谢会雅, 陈舜尧, 张阳, 吕书记, 王青, 李迪秦, 祝利. 中国南方土壤酸化原因及土壤酸性改良技术研究进展[J]. 湖南农业科学, 2021(2): 104–107.

- XIE HY, ZHANG SY, ZHANG Y, LYV SJ, WANG Q, LI DQ, ZHU L. Research progress on causes of soil acidification & acid soil improvement technology in south China[J]. *Hunan Agricultural Sciences*, 2021(2): 104-107 (in Chinese).
- [4] 张伟. 土壤颗粒表面电场对酸性土壤硝化作用的影响[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2010.
- ZHANG W. Effect of soil surface electric field on nitrification in acid soil[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2010 (in Chinese).
- [5] LIU JJ, LI C, MA WD, LIU W, WU WX. Molecular characterization of distinct fungal communities in the soil of a rare earth mining area[J]. *Microbial Ecology*, 2021.
- [6] 王梅, 蒋先军. 施用石灰与钙蒙脱石对酸性土壤硝化动力学过程的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2017, 34(1): 47-53.
- WANG M, JIANG XJ. Effects of applying lime and calcium montmorillonite on nitrification dynamics in acidic soil[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2017, 34(1): 47-53 (in Chinese).
- [7] 侯雪燕. 土壤 pH 对硝化作用和氨氧化微生物群落结构的影响[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2014.
- HOU XY. Effects of soil pH on nitrification and community structure of ammonia-oxidizing microorganisms[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2014 (in Chinese).
- [8] HU HW, XU ZH, HE JZ. Ammonia-oxidizing archaea play a predominant role in acid soil nitrification[J]. *Advances in Agronomy*, 2014, 125: 261-302.
- [9] SHEN JP, ZHANG LM, DI HJ, HE JZ. A review of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in Chinese soils[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3.
- [10] STEMPFHUBER B, ENGEL M, FISCHER D, NESKOVIC-PRIT G, WUBET T, SCHÖNING I, GUBRY-RANGIN C, KUBLIK S, SCHLOTTER-HAI B, RATTEI T, WELZL G, NICOL GW, SCHRUMPF M, BUSCOT F, PROSSER JI, SCHLOTTER M. pH as a driver for ammonia-oxidizing archaea in forest soils[J]. *Microbial Ecology*, 2015, 69(4): 879-883.
- [11] 全哲学. 追寻全程硝化菌之路: 基因序列驱动的新功能微生物的发现[J]. *中国科学基金*, 2018, 32(5): 479-484.
- QUAN ZX. Seeking of complete nitrifiers: finding of novel functional microorganisms driven by gene sequence[J]. *Bulletin of National Natural Science Foundation of China*, 2018, 32(5): 479-484 (in Chinese).
- [12] WANG F, LIANG XL, MA SH, LIU LZ, WANG JK. Ammonia-oxidizing archaea are dominant over comammox in soil nitrification under long-term nitrogen fertilization[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2021, 21: 1800-1814.
- [13] 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.
- WANG ZH, JIANG XJ. Metagenomics-centric assembly of nitrifying communities in three pH-distinct soils with the same origin of parent material[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(7): 1933-1944 (in Chinese).
- [14] LEHTOVIRTA-MORLEY LE, SAYAVEDRA-SOTO LA, GALLOIS N, SCHOUTEN S, STEIN LY, PROSSER JI, NICOL GW. Identifying potential mechanisms enabling acidophily in the ammonia-oxidizing archaeon "*Candidatus Nitrosotalea devanaterrea*"[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(9): 2608-2619.
- [15] 胡伟. 酸性土壤中氨氧化微生物参与硝化作用的机理及其生态学特征[D]. 北京: 中国科学院大学博士学位论文, 2013.
- HU HW. Microbial mechanisms of ammonia oxidation and ecological characteristics of ammonia oxidizers in acidic soils[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of University of Chinese Academy of Sciences, 2013 (in Chinese).
- [16] 姬洪飞, 王颖. 分子生物学方法在环境微生物生态学中的应用研究进展[J]. *生态学报*, 2016, 36(24): 8234-8243.
- JI HF, WANG Y. Advances in molecular approach applications in microbial ecology studies[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(24): 8234-8243 (in Chinese).
- [17] 何晴, 王尚, 邓晔. 分子生物学技术在热泉地质微生物学研究中的应用[J]. *微生物学报*, 2019, 59(6): 996-1011.
- HE Q, WANG S, DENG Y. Molecular biological technologies applied in geo-microbiology of terrestrial geothermal environments[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59(6): 996-1011 (in Chinese).
- [18] 刘帅. 典型生境中氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)的微生物生态学研究[D]. 杭州: 浙江大学博士

- 学位论文, 2015.
- LIU S. Microbial ecology of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria(AOB) in typical ecosystems[D]. Hangzhou: Doctoral Dissertation of Zhejiang University, 2015 (in Chinese).
- [19] WALKER CB, de la TORRE JR, KLOTZ MG, URAKAWA H, PINEL N, ARP DJ, BROCHIER-ARMANET C, CHAIN PSG, CHAN PP, GOLLABGIR A, HEMP J, HÜGLER M, KARR EA, KÖNNEKE M, SHIN M, LAWTON TJ, LOWE T, MARTENS-HABBENA W, SAYAVEDRA-SOTO LA, LANG D, et al. *Nitrosopumilus maritimus* genome reveals unique mechanisms for nitrification and autotrophy in globally distributed marine crenarchaea[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010, 107(19): 8818-8823.
- [20] TOLAR BB, HERRMANN J, BARGAR JR, van den BEDEM H, WAKATSUKI S, FRANCIS CA. Integrated structural biology and molecular ecology of N-cycling enzymes from ammonia-oxidizing archaea[J]. Environmental Microbiology Reports, 2017, 9(5): 484-491.
- [21] MARTENS-HABBENA W, QIN W, HORAK REA, URAKAWA H, SCHAUER AJ, MOFFETT JW, ARMBRUST EV, INGALLS AE, DEVOL AH, STAHL DA. The production of nitric oxide by marine ammonia-oxidizing archaea and inhibition of archaeal ammonia oxidation by a nitric oxide scavenger[J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(7): 2261-2274.
- [22] STAHL DA, de la TORRE JR. Physiology and diversity of ammonia-oxidizing archaea[J]. Annual Review of Microbiology, 2012, 66: 83-101.
- [23] CARANTO JD, LANCASTER KM. Nitric oxide is an obligate bacterial nitrification intermediate produced by hydroxylamine oxidoreductase[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2017, 114(31): 8217-8222.
- [24] STEIN LY. Insights into the physiology of ammonia-oxidizing microorganisms[J]. Current Opinion in Chemical Biology, 2019, 49: 9-15.
- [25] REYES C, HODGSKISS LH, KEROU M, PRIBASNIG T, ABBY SS, BAYER B, KRAEMER SM, SCHLEPER C. Genome wide transcriptomic analysis of the soil ammonia oxidizing archaeon *Nitrososphaera viennensis* upon exposure to copper limitation[J]. The ISME Journal, 2020, 14(11): 2659-2674.
- [26] VAJRALA N, MARTENS-HABBENA W, SAYAVEDRA-SOTO LA, SCHAUER A, BOTTOMLEY PJ, STAHL DA, ARP DJ. Hydroxylamine as an intermediate in ammonia oxidation by globally abundant marine archaea[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(3): 1006-1011.
- [27] LANCASTER KM, CARANTO JD, MAJER SH, SMITH MA. Alternative bioenergy: updates to and challenges in nitrification metalloenzymology[J]. Joule, 2018, 2(3): 421-441.
- [28] 储成, 吴赵越, 黄欠如, 韩成, 钟文辉. 有机质提升对酸性红壤氮循环功能基因及功能微生物的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(5): 2468-2475.
- CHU C, WU ZY, HUANG QR, HAN C, ZHONG WH. Effect of organic matter promotion on nitrogen-cycling genes and functional microorganisms in acidic red soils[J]. Environmental Science, 2020, 41(5): 2468-2475 (in Chinese).
- [29] LI H, WENG BS, HUANG FY, SU JQ, YANG XR. pH regulates ammonia-oxidizing bacteria and archaea in paddy soils in southern China[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(14): 6113-6123.
- [30] KITS KD, SEDLACEK CJ, LEBEDEVA EV, HAN P, BULAEV A, PJEVAC P, DAEBELER A, ROMANO S, ALBERTSEN M, STEIN LY, DAIMS H, WAGNER M. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle[J]. Nature, 2017, 549(7671): 269-272.
- [31] 曹彦强, 王智慧, 莫永亮, 王梅, 蒋先军. 施肥和淹水管理对水稻土氨氧化微生物数量的影响[J]. 土壤学报, 2019, 56(4): 1004-1011.
- CAO YQ, WANG ZH, MO YL, WANG M, JIANG XJ. Effects of fertilization and water management on abundance of ammoniaoxidizing microorganisms in paddy soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2019, 56(4): 1004-1011 (in Chinese).
- [32] DAIMS H, LEBEDEVA EV, PJEVAC P, HAN P, HERBOLD C, ALBERTSEN M, JEHLICH N, PALATINSZKY M, VIERHEILIG J, BULAEV A, KIRKEGAARD RH, von BERGEN M, RATTEI T, BENDINGER B, NIELSEN PH, WAGNER M. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria[J]. Nature, 2015, 528(7583): 504-509.

- [33] van KESSEL MAHJ, SPETH DR, ALBERTSEN M, NIELSEN PH, den CAMP HJMO, KARTAL B, JETTEN MSM, LÜCKER S. Complete nitrification by a single microorganism[J]. *Nature*, 2015, 528(7583): 555-559.
- [34] PALOMO A, PEDERSEN AG, FOWLER SJ, DECHESNE A, SICHERITZ-PONTÉN T, SMETS BF. Comparative genomics sheds light on niche differentiation and the evolutionary history of comammox *Nitrospira*[J]. *The ISME Journal*, 2018, 12(7): 1779-1793.
- [35] 杨赛, 朱琳, 魏巍. 土壤生态系统硝化微生物研究进展[J]. *中国土壤与肥料*, 2018(6): 1-10.
YANG S, ZHU L, WEI W. Research progress on nitrifying microorganisms of soil ecosystem[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2018(6): 1-10 (in Chinese).
- [36] KOCH H, LÜCKER S, ALBERTSEN M, KITZINGER K, HERBOLD C, SPIECK E, NIELSEN PH, WAGNER M, DAIMS H. Expanded metabolic versatility of ubiquitous nitrite-oxidizing bacteria from the genus *Nitrospira*[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(36): 11371-11376.
- [37] HAN S, TAN S, WANG AC, CHEN WL, HUANG QY. Deciphering belowground nitrifier assemblages with elevational soil sampling in a subtropical forest ecosystem (Mount Lu, China)[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2020, 96(1).
- [38] KOCH H, van KESSEL MAHJ, LÜCKER S. Complete nitrification: insights into the ecophysiology of comammox *Nitrospira*[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, 103(1): 177-189.
- [39] CHUA FJD, SUN FQ, MUKHERJEE M, ZHOU Y. Comparison of nitrous oxide emission between a partial and full nitrification enriched ammonia-oxidising culture[J]. *Chemosphere*, 2019, 220: 974-982.
- [40] QIN W, ZHENG Y, ZHAO F, WANG YL, URAKAWA H, MARTENS-HABBENA W, LIU HD, HUANG XW, ZHANG XX, NAKAGAWA T, MENDE DR, BOLLMANN A, WANG BZ, ZHANG Y, AMIN SA, NIELSEN JL, MORI K, TAKAHASHI R, VIRGINIA ARMBRUST E, WINKLER MKH, et al. Alternative strategies of nutrient acquisition and energy conservation map to the biogeography of marine ammonia-oxidizing archaea[J]. *The ISME Journal*, 2020, 14(10): 2595-2609.
- [41] VERHAMME DT, PROSSER JI, NICOL GW. Ammonia concentration determines differential growth of ammonia-oxidising archaea and bacteria in soil microcosms[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(6): 1067-1071.
- [42] YIN ZX, BI XJ, XU CL. Ammonia-oxidizing archaea (AOA) play with ammonia-oxidizing bacteria (AOB) in nitrogen removal from wastewater[J]. *Archaea*, 2018: 8429145.
- [43] ZENG ZR, CHEN HH, YANG H, CHEN YF, YANG W, FENG X, PEI HY, WELANDER PV. Identification of a protein responsible for the synthesis of archaeal membrane-spanning GDGT lipids[J]. *Nature Communications*, 2022, 13.
- [44] VILLANUEVA L, DAMSTÉ JSS, SCHOUTEN S. A re-evaluation of the archaeal membrane lipid biosynthetic pathway[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(6): 438-448.
- [45] VALENTINE DL. Adaptations to energy stress dictate the ecology and evolution of the archaea[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(4): 316-323.
- [46] 冯军, 李江海, 牛向龙. 现代海底热液微生物群落及其地质意义[J]. *地球科学进展*, 2005, 20(7): 732-739.
FENG J, LI JH, NIU XL. Research advances in hydrothermal vent microbial communities and its significance for geology[J]. *Advances in Earth Science*, 2005, 20(7): 732-739 (in Chinese).
- [47] BANG C, SCHMITZ RA. Archaea: forgotten players in the microbiome[J]. *Emerging Topics in Life Sciences*, 2018, 2(4): 459-468.
- [48] 张月明, 乔建军. 嗜酸菌耐酸 pH 平衡机制及潜在应用[J]. *中国生物工程杂志*, 2017, 37(12): 103-110.
ZHANG YM, QIAO JJ. Mechanism of acid tolerance in acidophiles with pH homeostasis and its potential applications[J]. *China Biotechnology*, 2017, 37(12): 103-110 (in Chinese).
- [49] OFFRE P, KEROU M, SPANG A, SCHLEPER C. Variability of the transporter gene complement in ammonia-oxidizing archaea[J]. *Trends in Microbiology*, 2014, 22(12): 665-675.
- [50] SØGAARD R, ALSTERFJORD M, MACAULAY N, ZEUTHEN T. Ammonium ion transport by the AMT/Rh homolog TaAMT1;1 is stimulated by acidic pH[J]. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 2009, 458(4): 733-743.
- [51] WANG BZ, QIN W, REN Y, ZHOU X, JUNG MY, HAN P, ELOE-FADROSH EA, LI M, ZHENG Y, LU L,

- YAN X, JI JB, LIU Y, LIU LM, HEINER C, HALL R, MARTENS-HABBENA W, HERBOLD CW, RHEE S, et al. Expansion of *Thaumarchaeota* habitat range is correlated with horizontal transfer of ATPase operons[J]. The ISME Journal, 2019, 13(12): 3067-3079.
- [52] KITZINGER K, PADILLA CC, MARCHANT HK, HACH PF, HERBOLD CW, KIDANE AT, KÖNNEKE M, LITTMANN S, MOOSHAMMER M, NIGGEMANN J, PETROV S, RICHTER A, STEWART FJ, WAGNER M, KUYPERS MMM, BRISTOW LA. Cyanate and urea are substrates for nitrification by *Thaumarchaeota* in the marine environment[J]. Nature Microbiology, 2019, 4(2): 234-243.
- [53] LIU JJ, LIU W, ZHANG YB, CHEN CJ, WU WX, ZHANG TC. Microbial communities in rare earth mining soil after *in-situ* leaching mining[J]. Science of the Total Environment, 2021, 755(Pt 1).
- [54] 席瑞娇. 土壤 pH 和抑制剂对氨氧化微生物的影响及其作用机制[D]. 北京: 中国科学院大学硕士学位论文, 2017.
- XI RJ. The effects and mechanism of soil pH and inhibitors on ammonia oxidizers[D]. Beijing: Master's Thesis of University of Chinese Academy of Sciences, 2017 (in Chinese).
- [55] HUANG LB, CHAKRABARTI S, COOPER J, PEREZ A, JOHN SM, DAROUB SH, MARTENS-HABBENA W. Ammonia-oxidizing archaea are integral to nitrogen cycling in a highly fertile agricultural soil[J]. ISME Communications, 2021, 1.
- [56] HUANG R, WU YC, ZHANG JB, ZHONG WH, JIA ZJ, CAI ZC. Nitrification activity and putative ammonia-oxidizing archaea in acidic red soils[J]. Journal of Soils and Sediments, 2012, 12(3): 420-428.
- [57] 李文兴, 郑曼曼, 王超, 沈仁芳. 亚硝化球菌属 (*Nitrososphaera*) 可能是酸性土壤硝化作用的重要驱动者[J]. 土壤, 2021, 53(1): 13-20.
- LI WX, ZHENG MM, WANG C, SHEN RF. *Nitrososphaera* may be a major driver of nitrification in acidic soils[J]. Soils, 2021, 53(1): 13-20 (in Chinese).
- [58] LI YY, CHAPMAN SJ, NICOL GW, YAO HY. Nitrification and nitrifiers in acidic soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 116: 290-301.
- [59] SONG H, CHE Z, CAO WC, HUANG T, WANG JG, DONG ZR. Changing roles of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in a continuously acidifying soil caused by over-fertilization with nitrogen[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(12): 11964-11974.
- [60] HU JJ, ZHAO YX, YAO XW, WANG JQ, ZHENG P, XI CW, HU BL. Dominance of comammox *Nitrospira* in soil nitrification[J]. Science of the Total Environment, 2021, 780.
- [61] 唐修峰, 秦华, 匡璐, 王欣欣, 宋玉翔, 高豪, 刘林梦, 任一, 单军, 张焕朝, 王保战. 基于宏基因组学的酸性森林土壤氨氧化微生物群落特征研究[J]. 土壤学报, 2021, 58(5): 1311-1321.
- TANG XF, QIN H, KUANG L, WANG XX, SONG YX, GAO H, LIU LM, REN Y, SHAN J, ZHANG HC, WANG BZ. Metagenomics based study on community characteristics of ammonia-oxidizing microorganisms in acid forest soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(5): 1311-1321 (in Chinese).
- [62] CAI MW, NG SK, LIM CK, LU HY, JIA YY, LEE PKH. Physiological and metagenomic characterizations of the synergistic relationships between ammonia- and nitrite-oxidizing bacteria in freshwater nitrification[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 280.
- [63] YU CD, HOU LJ, ZHENG YL, LIU M, YIN GY, GAO J, LIU C, CHANG YK, HAN P. Evidence for complete nitrification in enrichment culture of tidal sediments and diversity analysis of clade a comammox *Nitrospira* in natural environments[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2018, 102(21): 9363-9377.
- [64] PINTO AJ, MARCUS DN, IJAZ UZ, BAUTISTA-DE LOSE SANTOS QM, DICK GJ, RASKIN L. Metagenomic evidence for the presence of comammox *Nitrospira*-like bacteria in a drinking water system[J]. mSphere, 2016, 1(1): e00054-15.
- [65] LUO SP, PENG Y, LIU Y, PENG YZ. Research progress and prospects of complete ammonia oxidizing bacteria in wastewater treatment[J]. Frontiers of Environmental Science & Engineering, 2022, 16(9): 123.
- [66] XIA F, WANG JG, ZHU T, ZOU B, RHEE SK, QUAN ZX. Ubiquity and diversity of complete ammonia oxidizers (comammox)[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2018, 84(24): 24.
- [67] PROSSER JI, NICOL GW. Archaeal and bacterial ammonia-oxidisers in soil: the quest for niche specialisation and differentiation[J]. Trends in Microbiology, 2012, 20(11): 523-531.

- [68] LU L, HAN WY, ZHANG JB, WU YC, WANG BZ, LIN XG, ZHU JG, CAI ZC, JIA ZJ. Nitrification of archaeal ammonia oxidizers in acid soils is supported by hydrolysis of urea[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(10): 1978-1984.
- [69] 苏瑜, 王为东. 我国北方四类土壤中氨氧化古菌和氨氧化细菌的活性及对氨氧化的贡献[J]. *环境科学学报*, 2017, 37(9): 3519-3527.
SU Y, WANG WD. Activity of AOA and AOB and their contributions to ammonia oxidization in four soils in north China[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(9): 3519-3527 (in Chinese).
- [70] 黄学茹. 铁氧化物与有机质对酸性土壤硝化作用的影响[D]. 重庆: 西南大学博士学位论文, 2016.
HUANG XR. Effects of iron oxide and organic matter on acidic soil nitrification[D]. Chongqing: Doctoral Dissertation of Southwest University, 2016 (in Chinese).
- [71] 苏静. 酸性土壤硝化过程中 NH₃ 来源的研究[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2016.
SU J. The quest for the source of NH₃ during nitrification in acidic soils[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2016 (in Chinese).
- [72] 刘倩. 土地利用方式对红壤氨氧化微生物种类的影响及其驱动因子[D]. 南京: 南京师范大学硕士学位论文, 2016.
LIU Q. The effects of land use on soil ammonia-oxidizing microorganisms and its driving factors in red soil region[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Normal University, 2016 (in Chinese).
- [73] ZENG J, ZHAO DY, YU ZB, HUANG R, WU QLL. Temperature responses of ammonia-oxidizing prokaryotes in freshwater sediment microcosms[J]. *PLoS One*, 2014, 9(6).
- [74] REIGSTAD LJ, RICHTER A, DAIMS H, URICH T, SCHWARK L, SCHLEPER C. Nitrification in terrestrial hot springs of Iceland and Kamchatka[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 64(2): 167-174.
- [75] LI HZ, YANG QH, LI J, GAO H, LI P, ZHOU HY. The impact of temperature on microbial diversity and AOA activity in the Tengchong Geothermal Field, China[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5.
- [76] HE ZY, SHEN JP, ZHANG LM, TIAN HJ, HAN B, DI HJ, HE JZ. DNA stable isotope probing revealed no incorporation of ¹³CO₂ into comammox *Nitrospira* but ammonia-oxidizing archaea in a subtropical acid soil[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2020, 20(3): 1297-1308.
- [77] 刘天琳. 不同 pH 及土地利用方式对土壤硝化作用及硝化微生物的影响[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2020.
LIU TL. The effect of soil pH and land use on soil nitrification and nitrifying microorganisms[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2020 (in Chinese).
- [78] YE HJ, TANG CY, CAO YJ, LI X, HUANG PY. Contribution of ammonia-oxidizing archaea and bacteria to nitrification under different biogeochemical factors in acidic soils[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2022, 29(12): 17209-17222.
- [79] YAO HY, GAO YM, NICOL GW, CAMPBELL CD, PROSSER JI, ZHANG LM, HAN WY, SINGH BK. Links between ammonia oxidizer community structure, abundance, and nitrification potential in acidic soils[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(13): 4618-4625.
- [80] 孙晋伟, 黄益宗, 招礼军, 李小方, 高卫国. Cu 对我国 17 种典型土壤硝化速率的影响[J]. *生态毒理学报*, 2008, 3(5): 513-520.
SUN JW, HUANG YZ, ZHAO LJ, LI XF, GAO WG. Effects of copper on nitrification rates in 17 kinds of typical soils in China[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2008, 3(5): 513-520 (in Chinese).
- [81] 洪晨, 邢奕, 司艳晓, 李洋. 铁矿区内重金属对土壤氨氧化微生物群落组成的影响[J]. *中国环境科学*, 2014, 34(5): 1212-1221.
HONG C, XING Y, SI YX, LI Y. Impact of long-term heavy metals pollution on ammonia oxidizing microbial community in an iron mine soil[J]. *China Environmental Science*, 2014, 34(5): 1212-1221 (in Chinese).