

氮循环过程功能基因的研究进展

项鸿志

安徽理工大学地球与环境学院, 安徽 淮南

收稿日期: 2024年11月18日; 录用日期: 2024年12月17日; 发布日期: 2024年12月27日

摘要

氮循环包括固氮、氨化、硝化、反硝化和厌氧氨氧化等过程, 这些过程均由特定功能基因介导。本文总结了氮循环过程功能基因与转化速率的研究进展, 全面梳理了氮循环关键功能基因的多样性及其功能, 总结了环境因子如土壤结构、氧气、湿度、温度、pH值、碳源及氮肥添加等功能基因与氮转化速率的影响特征, 阐明了构建多功能基因联合预测模型预测氮转化速率的原理及其方法, 为农业管理、环境修复和全球氮循环模型提供科学依据。

关键词

氮循环过程, 功能基因, 氮转化速率

Research Progress of Functional Genes in Nitrogen Cycle Process

Hongzhi Xiang

School of Earth and Environment, Anhui University of Science and Technology, Huainan Anhui

Received: Nov. 18th, 2024; accepted: Dec. 17th, 2024; published: Dec. 27th, 2024

Abstract

Nitrogen cycle includes nitrogen fixation, ammonification, nitrification, denitrification and anaerobic ammonia oxidation, which are all mediated by specific functional genes. In this paper, the research progress of functional genes and transformation rate in nitrogen cycle process is summarized, and the diversity and functions of functional genes which are key to nitrogen cycle are comprehensively combed. The influence characteristics of environmental factors such as soil structure, oxygen, humidity, temperature, pH value, carbon source and nitrogen fertilizer addition on functional genes and nitrogen transformation rate are summarized, and the principle and method of constructing multifunctional gene joint prediction model to predict nitrogen transformation rate

are expounded, which provides scientific basis for agricultural management, environmental restoration and global nitrogen cycle model.

Keywords

Nitrogen Cycle Process, Functional Genes, Nitrogen Transformation Rate

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

氮是构成生命必需分子的核心元素之一,也是生物生长不可缺少的营养元素。完整的氮循环(CNC, Complete Nitrogen Cycle)是地球生物化学循环的基础之一,它确保氮在生物圈中不断被利用和再生[1]。在这个循环过程中,大量的氮从大气转移到陆地和海洋生态系统,通过土壤、淡水和海水中的各种微生物的硝化和反硝化作用,以 N_2 的形式重新返回到大气中[2]。氮循环主要包括固氮、氨化、硝化、反硝化、厌氧氨氧化等过程,且不同阶段均由特定功能基因介导氮形态转化,促进氮元素能被各种生物体利用。这些微生物活动不仅维持了生态系统中氮的流通和再生,也对土壤肥力、植物生长及全球氮平衡起着决定性作用[1]。

自然界氮循环对生态平衡至关重要,但化肥施用、化石燃料燃烧等人类活动使全球氮负荷显著增加,超出了自然界氮素承载能力,导致全球氮循环失衡,造成不良影响[3]。如氮含量过高导致水体富营养化、产生水华或赤潮,损害水生生态系统健康;氮氧化物的过量排放会加剧全球气候变暖,甚至形成酸雨影响土壤和水体质量;农业施肥和畜牧业导致土壤氮的过量输入,抑制了某些植物物种的生长,降低了生物多样性,土壤氮渗透到地下水中,还会影响饮用水质量[4]。为应对这些挑战,恢复氮循环平衡,厘清氮循环过程中关键功能基因种类、功能及其影响机制,对保持氮动态平衡,维持生物多样性及生态稳定性具有重要意义。

目前微生物驱动氮转化研究已较为广泛,国内外学者通过基因组学、宏基因组学、转录组学等技术,深入研究了氮循环中的关键微生物及其功能基因,揭示了如盐沼和潮汐湿地、农田、森林、湿地湖泊、牧场和草原等各个生态系统[5]中氮转化过程,在代谢途径解析、基因工程应用等方面取得了重要进展[6]。此外,当前国内更侧重于对局部地区和特定环境中氮转化途径的研究,而国际上的研究可能更关注全球模式和跨系统的比较[7]。研究特定环境中氮转化速率进一步揭示氮循环中微生物的作用机制,以及各种环境因子对氮转化过程的影响,可以识别哪些条件下氮素更容易固定或流失,从而调整生态管理和修复措施[8]。环境 DNA (eDNA)技术能够在不同生态系统中利用功能基因标记(如 *amg*、*nin* 等),检测氮循环功能基因的表达情况,评估土壤中氮循环微生物的活动水平,进而评估土壤的肥力和健康状况[9]。研究人员结合氮微生物的基因丰度、代谢途径和转化速率等,构建相关氮转化模型,提供了更精确的氮循环行为预测,可以有效模拟氮在自然和农业系统中的动态转化过程[10]。研究不同环境介质下微生物群落结构和氮转化速率的差异,有利于理解微生物生态系统的复杂性和评估人类活动对全球氮循环整体动态和氮平衡的影响。基于氮转化功能基因和速率的研究,通过预测未来全球氮循环的变化趋势,从而为全球环境治理提供科学依据[11]。

2. 微生物介导的氮转化过程

微生物群落一直是氮循环的核心参与者,多个氮循环过程均是由微生物介导[12]。上世纪 80 年代,

人们通过分子生物学技术发现固氮过程的功能基因——固氮酶(nif), 随后陆续发现硝化、反硝化相关功能基因[13]。随着高通量测序技术的进步, 研究人员发现了其他氮循环过程微生物及其功能基因, 并揭示了它们在氮循环中的具体功能。

生物固氮指微生物携带的固氮酶将大气中的 N_2 固定为氨的过程。固氮酶普遍分布于细菌和古菌中, 但从生物学上讲, 只有携带金属固氮酶的微生物才能进行生物固氮, 并且这些金属固氮酶均由含铁的电子转运蛋白与含金属离子的催化蛋白二聚体共同组成[14]。根据起催化作用的金属离子种类不同, 固氮酶主要有三种类型: 铁-铁(FeFe)、钒-铁(VFe)和钼-铁(MoFe), 其催化成分的编码基因分别为 *anfDGK*、*vnfDGK* 和 *nifDK* [15]。而含铁的电子转运蛋白的编码基因为 *nifH*、*anfH* 和 *vnfH*, 其中 *nifH* 可以用来检测环境中是否有固氮微生物的标记基因[16]。

硝化作用是在需氧条件下 NH_3 或 NH_4^+ 向 NO_3^- 转化的一系列氧化过程, 主要涉及 3 个氮素转化阶段($NH_3/NH_4^+ \rightarrow NH_2OH \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO_3^-$), 在前两个氮素转化过程中, NH_3 或 NH_4^+ 向羟胺(NH_2OH)转化过程主要由氨氧化细菌(AOB)或古菌(AOA)代谢产生的氨单加氧酶(AMO, *amoA* 基因编码)催化[17]; NH_2OH 向 NO_2^- 转化过程由氨氧化细菌代谢的羟胺还原酶(HAO, *hao* 基因编码)控制(氨氧化古菌不能代谢此酶)[18]。 NO_2^- 向 NO_3^- 的转化则由亚硝酸盐氧化细菌、光能利用菌(不产生氧的菌属)和厌氧氨氧化细菌代谢的亚硝酸盐氧化还原酶(NXR)完成, 其编码基因为 *nrxAB* [19]。

反硝化作用是在缺氧条件下 NO_3^- 还原为 N_2O 或 N_2 的一系列还原反应($NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NO \rightarrow N_2O \rightarrow N_2$)。该过程以细菌和真菌参与为主, 又称细菌反硝化作用和真菌反硝化作用, 其中部分真菌因不能代谢 N_2O 还原酶(NOS)而不能进行 N_2O 还原过程。 NO_3^- 向 NO_2^- 的转化主要受细胞质中膜结合硝酸还原酶(NAR, *narG* 基因编码)或细胞外的周质硝酸还原酶(NAP, *napA* 基因编码)催化[20], 一般发生在富含 NO_3^- 的缺氧环境且多数生物都同时含有这两种酶[21]。 NO_2^- 向 NO 转化由外周质细胞内的两种不相关的亚硝酸盐还原酶(NIR)催化, 包括 *nirS* 基因编码的 *cd1-NIR* 和 *nirK* 编码的 *Cu-NIR*, 这两种酶普遍存在于细菌和古菌中。 NO 向 N_2O 转化由一氧化氮还原酶(NOR, *narB* 基因编码)催化[22]。 N_2O 向 N_2 的转化则受氧化亚氮还原酶(NOS, *nosZ* 基因编码)的催化, 在多种细菌(变形菌门、拟杆菌门和绿菌门)和古菌(泉古菌门和嗜盐菌门)中均有发现[23]。

同化/异化作用主要指 NO_3^- 还原为 NH_4^+ 的过程($NO_3^- \rightarrow NO_2^- \rightarrow NH_4^+$)。 NO_3^- 同化吸收还原为 NO_2^- 的过程由同化硝酸盐还原酶(NAS, *nasA* 和 *nirA* 基因编码)催化[24], NO_2^- 同化吸收还原为 NH_4^+ 的过程由同化亚硝酸盐还原酶(*cNIR*、*nasB* 和 *nirB* 基因编码)催化[14]。异化过程也称硝酸盐异化还原成铵(DNRA), 其中 NO_3^- 还原为 NO_2^- 的过程由膜结合硝酸还原酶(NAR, *narG* 基因编码)或周质硝酸还原酶(NAP, *napA* 基因编码)催化[19]。

厌氧氨氧化指在厌氧条件下, 以 NH_4^+ 为电子供体、 NO_2^- 为电子受体, 实现氨氮和亚硝氮的同步脱除并生成氮气。Anammox 菌为自养细菌, 研究发现 Anammox 菌的羟胺氧化还原酶(HAO)和联氨氧化还原酶(HZO)酶具有较近的遗传距离, 可能均由反硝化菌的硝酸盐异化还原酶(NrfA)演化而来[25]。

3. 环境因子对基因的影响

3.1. 土壤结构和质地

不同的土地利用方式, 如耕作、放牧、森林和城市用地, 会造成不同的土壤质地和结构, 主要影响土壤水分和空气的分布, 进而影响微生物的活动, 都会影响土壤氮转化速率和功能基因的表达。

氧气是好氧硝化过程的必要条件, 影响着硝化作用中功能基因(如 *amoA*、*nirK* 和 *nirS*)的表达。沙质土壤中氧气充足, 硝化作用活跃, 硝酸盐的生成速度加快, 较粘重的土壤容易形成厌氧环境, 此时, 反硝化作用(由 *nirK* 和 *nirS* 基因主导)和厌氧氨氧化作用(由 *hzs* 和 *hzo* 基因主导)占主导地位。

湿度影响土壤的氧气扩散速率,从而间接影响硝化和反硝化过程[26]。高湿度条件下,厌氧环境更有利于反硝化和厌氧氨氧化作用。

3.2. 温度

温度对土壤微生物活性和酶活性有直接影响,从而影响氮转化速率。比如,硝化细菌和反硝化细菌在不同的温度下表现出不同的代谢活性。研究表明,升温降低土壤微生物的氮素利用率,导致微生物对氮素的转化过程从微生物的同化过程向异化过程转变:即升温条件下,微生物把从外界环境中获取的氮素转变成自身组成物质的能力减弱,而把自身体内已合成的物质转化为小分子并释放出能量的过程增强[27]。增温可能会提高土壤中氮矿化作用、硝化作用和反硝化作用的速率,这与土壤微生物量、功能基因丰度和酶活性的变化有关[28]。

3.3. pH 值

土壤的 pH 值显著影响氮转化过程中的微生物活动和基因表达[29]。矿化作用通常在中性或接近中性的 pH 值下速率较高,因为这是大多数土壤微生物的最适 pH 范围,在过酸或过碱的条件下,矿化速率可能会降低。硝化和反硝化作用在中性到弱碱性(pH = 6.5~8.5)条件下最为活跃,硝化作用相关功能基因(如 *amoA*)在这一 pH 范围内表达更强,在酸性条件下,如 pH = 6 左右,硝化速率可能会受到抑制,而反硝化仍然可以发生,此时反硝化作用(由 *nirK* 和 *nirS* 基因主导)更占优势。厌氧氨氧化过程对 pH 值的适应范围较宽,但最适宜的 pH 值通常在中性或微碱性条件下[30]。

3.4. 碳源和有机质

土壤中的有机质是微生物生长和代谢的基质,碳源的添加可以提高土壤氮素的有效性,产生的“激发效应”可能增加植物对氮的吸收和利用[31],同时也影响土壤氮素的形态和转化速率[32]。有机质的含量和组成直接影响氮的矿化和固持,低碳氮比可能促进氮的氧化,而高碳氮比则可能抑制硝化过程[33]。土壤中丰富的有机质可以为反硝化细菌提供电子供体,增强反硝化基因(如 *narG*、*nirK*、*nirS* 等)的表达,从而加快反硝化速率[34]。同时过量的碳源能促进异养微生物的生长,它们通过与硝化细菌竞争氧气和氨态氮,进一步抑制硝化过程。有机质分解过程中产生的有机酸可以改变土壤的 pH 值,进而影响硝化作用和微生物活性[35]。碳源能促进微生物活性,影响氨态氮的转化和利用,间接影响氨挥发的速度。

3.5. 氮肥添加

外源氮(如尿素、铵态氮和硝态氮)的添加会直接增加土壤中的有机碳和氮含量,从而提高土壤氮素的初级矿化速率,即土壤有机氮矿化成无机氮的过程[36]。此外,氮肥施用会影响土壤中氮的形态分布,有机肥的施用可能会导致土壤中无机氮以 NH_4^+ 形态为主,会提高土壤自养硝化作用和反硝化作用,而化学氮肥的施用可能会导致 NO_3^- 的积累,并抑制铵态氮同化[37]。氮肥的施用通常会增强与硝化和反硝化相关的基因(如 *amoA*、*nirS*、*nirK* 等)的表达[38],进而加速氮转化过程[39]。但长期过量施氮及作物收获可能会降低土壤中碱性阳离子含量,引起人为导致的土壤酸化,驱动土壤微生物群落结构和功能基因的丰度发生改变[40],从而抑制某些功能基因的表达,最终影响氮转化速率[41]。

4. 微生物功能基因丰度预测氮转化速率

高通量测序技术、定量 PCR (qPCR)以及宏基因组学等技术的发展,为更深入全面地揭示环境中微生物的组成、多样性及功能,精确地测量与氮循环相关的功能基因丰度提供了重要的技术手段[42]。研究人员通过开发和应用功能基因数据库,建立各种模型分析基因丰度与氮转化速率之间的关系,使得预测氮

转化速率成为可能。

4.1. 数据库的开发与应用

研究人员开发了多种数据库用于注释功能基因,如KEGG、NCBI、UniProt、Pfam、FunGene、COG和EggNOG等[43]。这些数据库提供了丰富的基因序列信息,通过比对宏基因组或宏转录组数据与数据库中的序列,注释氮循环功能基因。这种注释有助于理解微生物在海洋、废水、饮用水、林地、农田等不同的环境介质中氮代谢过程中的作用,以及它们如何影响氮转化速率[44]。根据不同环境介质的特点或比对方法(如序列相似性比对、蛋白质结构域比对等)可以选择相应的数据库。例如,KEGG和NCBI数据库常用于序列相似性比对[45][46],而FunGene和Pfam数据库则在蛋白质结构域比对时应用较广[47][48]。为了提高注释的准确性,研究人员有时会根据特定功能基因(如固氮作用的 *nifH* 基因)重构基因数据库,这种自定义数据库能够提供更准确的功能基因信息。

4.2. 功能基因丰度与氮转化速率的相关性研究

利用qPCR技术测量土壤样品中关键功能基因(如 *amoA*、*nirK*、*nirS*、*hzs* 等)的丰度[49],研究人员发现这些基因的丰度往往与相应的氮转化过程(如硝化、反硝化、厌氧氨氧化)的速率有显著的正相关性[50]。研究表明,土壤和水体中高丰度的 *amoA* 基因通常意味着较高的硝化速率,而 *nirS* 和 *nirK* 这些基因较高的丰度与更活跃的反硝化速率相关。*nosZ* 基因的丰度与一氧化二氮(N_2O)向氮气(N_2)转化的速率相关,因此也是减少温室气体排放的重要研究基因。*hzs* 和 *hzo* 基因的丰度与厌氧氨氧化速率有显著的相关性,尤其是在水体、污水处理厂和湿地等厌氧环境中,较高的这些基因丰度意味着更高的氮去除效率。在不同的生态系统(如农田、森林、湿地等)中,微生物存在的环境条件不同,功能基因丰度与氮转化速率的相关性可能因环境条件的差异而有所变化。因此,研究的不同环境下的区域性特征对预测全球氮循环非常重要。

4.3. 多功能基因联合预测模型

研究人员通过网络分析方法探究不同功能基因之间的相互作用及其对氮转化速率的影响,揭示了功能基因网络的复杂性,并表明单一基因丰度可能不足以解释整个氮循环过程[51]。为了提高预测的准确性,研究者们开发了多功能基因联合预测模型,这些模型将多个与氮循环相关的基因丰度结合起来[52],利用多元回归分析或机器学习方法,能够更准确地预测氮转化速率[53]。

微生物群落的多样性和结构也是影响氮转化速率的重要因素,某些功能基因的丰度可能在特定微生物群落背景下对氮转化速率有更强的预测能力[54]。由于微生物群落固有的功能冗余性,微生物群落的功能变化通常与其物种组成变化是解耦的,并且相比物种结构,功能结构与环境变化和生态系统功能的关系更加密切[55]。如土壤pH值和土地利用类型是导致土壤过程和养分有效性变化的主要因素,这可能直接或间接改变土壤微生物群落结构[56]。因此最新的研究开始将土壤理化性质(如土壤pH、湿度、温度、有机质含量等)与功能基因丰度结合起来,以建立更为全面的预测模型并提高预测精度[57]。一些研究还提出了动态模型,考虑了氮转化速率在不同时间和空间尺度上的变异性,试图通过功能基因丰度的时间变化来预测氮转化速率的动态变化[58],这有助于理解氮循环过程在不同季节或不同土地管理措施下的响应。

5. 氮循环微生物功能基因和转化速率生态应用

常用于环境中氮转化功能的生物标志物功能基因,如 *amoA*、*nirS*/*nirK* 等,其定量与功能分析可以帮助监测土壤、湿地、湖泊等生态系统中氮素的循环状态,进而评估氮的利用效率以及潜在的氮损失。微

生物功能基因与氮转化速率的研究为理解和调控氮循环提供了重要的手段，在农业、环境修复、废水处理等领域具有广泛的应用前景。

越来越多的研究认为，土地利用变化的发生是影响陆地生态系统生物多样性的最关键驱动因素之一。由于社会生产需要，大量的植被区为牧场和农作物清理了土地，原始植被覆盖所剩无几，与相邻残余原生植被的区域相比，农业土壤氮循环基因的出现频率更高[59]。澳洲草地林地长时间放牧和停止放牧后土壤中氮微生物功能基因丰度变化差异较小，相比未放牧土壤，停止放牧的林地土壤养分库依然可以持续数十年，因此其更多地受长时间放牧形成的土壤养分富集的影响，而杂草入侵改变的根际微生物丰度变化并不明显[60]。如果在受干扰最严重的地点人为保持较高水平的反硝化生物潜力，这可能有助于减少土壤氮库。

在废水处理中，厌氧氨氧化和反硝化作用是去氮的关键过程，通过定量微生物功能基因来控制和优化微生物群落的组成和活性，可以提高氮的去除效率。研究认为，转录表达比功能基因本身对环境因素的变化更敏感[61]，因此提高基因的转录本能改变厌氧氨氧化菌的生长速度相对较慢、培养困难的问题。通过添加低剂量的 NaNO_2 和 NaAc 刺激 *amoA* 和 *hzsA* 基因的转录本保持并稳定在较高水平，提高这些基因的生长速率，在 SBR 反应器中运行 261 天后，厌氧氨氧化菌的丰度占据主导地位，能显著提高 TN 的去除率[62]。在污染场地修复中，通过调控微生物的功能基因表达，促进污染物(如硝酸盐、铵离子等)转化为无害的氮气，从而进行生态修复。

微生物功能基因和氮转化速率可以为全球氮循环模型的构建提供基础数据，预测人类活动如何影响区域和全球尺度的碳氮循环过程和微生物响应机制。Tong 等结合生物地球化学模型构建了生物固氮(BNF)模型，并模拟全球自然陆地生态系统中的固氮速率，模型估计在 20 世纪最后十年，每年自然陆地生态系统中的生物固氮量为 $6.15 \times 10^7 \text{ t}$ ，温度是生物固氮过程最主要的控制因素[63]。此外，Asaadi 等将氮循环与碳循环模型结合，通过耦合的土壤-植被系统的 N 循环模型模拟叶片氮量和最大羧化能力，预测全球陆地系统碳汇能力和 CO_2 增加、气候变化和氮沉降等因素的贡献[64]。这些模型使用观测数据进行校准，在全球氮监测中发挥着关键作用，有助于预测氮可用性的变化以及对生物多样性、农业和全球变暖的影响[65]。

6. 结论与展望

随着测序技术变得更加多样和快捷，氮循环各过程微生物基因组逐渐被解析。本文总结了氮循环过程中功能基因与转化速率的研究进展，具体包括：

- (1) 氮循环主要包括固氮、氨化、硝化、反硝化和厌氧氨氧化等关键过程，这些过程均由特定功能基因介导。
- (2) 环境因子如土壤结构和质地、温度、pH 值、碳源及氮肥添加等通过调控氮转化过程中的微生物活动和基因表达，从而影响氮转化速率。
- (3) 通过开发和应用功能基因数据库，基于功能基因的丰度和环境因子建立的模型能够预测各过程氮转化速率。
- (4) 微生物功能基因与转化速率的联合应用为调控局部氮循环和监测全球氮循环提供了新的方案。

测序手段的发展极大地推动了氮循环研究的深入，未来研究应进一步探索微生物功能基因与氮转化速率之间的相互作用及其环境响应机制，为理解氮循环的复杂性、提高氮素管理效率和制定环境政策提供强有力的工具：

- (1) 随着高通量测序技术和生物信息学的发展，可以更精确地测量与氮循环相关的功能基因丰度，从而提高氮转化速率预测的准确性。

(2) 多功能基因联合预测模型的开发和应用, 将有助于更全面地理解和预测全球氮循环动态。

(3) 关注人类活动对氮循环的影响, 将氮循环功能基因和转化速率的研究应用于实际的农业管理和环境修复策略中, 减轻环境污染和提高生态系统服务功能。

(4) 长期监测不同生态系统中的氮循环过程, 进一步验证和完善预测模型, 以便在更大范围和更复杂的生态系统中实现准确预测, 为维持氮动态平衡和生态稳定性提供重要指导。

参考文献

- [1] Wu, S., Yan, X., Tang, J., Tan, E., Luo, L., Tong, S., *et al.* (2024) Nitrogen Cycling in China Marginal Seas: Progress and Challenges. *Marine Chemistry*, **265**, Article ID: 104421. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2024.104421>
- [2] Fowler, D., Coyle, M., Skiba, U., Sutton, M.A., Cape, J.N., Reis, S., *et al.* (2013) The Global Nitrogen Cycle in the Twenty-First Century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, **368**, Article ID: 20130164. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0164>
- [3] Dansgaard, W., Johnsen, S.J., Clausen, H.B., Dahl-Jensen, D., Gundestrup, N.S., Hammer, C.U., *et al.* (1993) Evidence for General Instability of Past Climate from a 250-Kyr Ice-Core Record. *Nature*, **364**, 218-220. <https://doi.org/10.1038/364218a0>
- [4] Suddick, E.C., Whitney, P., Townsend, A.R. and Davidson, E.A. (2012) The Role of Nitrogen in Climate Change and the Impacts of Nitrogen-Climate Interactions in the United States: Foreword to Thematic Issue. *Biogeochemistry*, **114**, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s10533-012-9795-z>
- [5] 陈宏, 王泓, 吴敏, 等. 淡水湿地生态系统中微生物驱动氮转化过程研究进展[J]. 水利学报, 2020, 51(2): 158-168.
- [6] Lu, Y., Li, Q. and Li, T. (2024) A Novel Hierarchical Network-Based Approach to Unveil the Complexity of Functional Microbial Genome. *BMC Genomics*, **25**, Article No. 786. <https://doi.org/10.1186/s12864-024-10692-6>
- [7] Byun, E., Müller, C., Parisse, B., Napoli, R., Zhang, J., Rezanezhad, F., *et al.* (2024) A Global Dataset of Gross Nitrogen Transformation Rates across Terrestrial Ecosystems. *Scientific Data*, **11**, Article No. 1022. <https://doi.org/10.1038/s41597-024-03871-3>
- [8] 白皎杰, 孟岑, 李裕元, 等. 典型高原湖泊人类活动净氮磷输入时空变化及其影响因素——以云南星云湖为例[J]. 湖泊科学, 2024, 36(4): 1110-1122.
- [9] Barnes, M.A. and Turner, C.R. (2015) The Ecology of Environmental DNA and Implications for Conservation Genetics. *Conservation Genetics*, **17**, 1-17. <https://doi.org/10.1007/s10592-015-0775-4>
- [10] Liu, R., Liu, Y., Gao, Y., Zhao, F. and Wang, J. (2023) The Nitrogen Cycling Key Functional Genes and Related Microbial Bacterial Community A-Diversity Is Determined by Crop Rotation Plans in the Loess Plateau. *Agronomy*, **13**, Article No. 1769. <https://doi.org/10.3390/agronomy13071769>
- [11] 付伟, 武慧, 赵爱花, 等. 陆地生态系统氮沉降的生态效应: 研究进展与展望[J]. 植物生态学报, 2020, 44(5): 475-493.
- [12] Wang, H., Deng, N., Wu, D. and Hu, S. (2017) Quantitative Response Relationships between Net Nitrogen Transformation Rates and Nitrogen Functional Genes during Artificial Vegetation Restoration Following Agricultural Abandonment. *Scientific Reports*, **7**, Article No. 7752. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08016-8>
- [13] Aryal, B., Gurung, R., Camargo, A.F., Fongaro, G., Treichel, H., Mainali, B., *et al.* (2022) Nitrous Oxide Emission in Altered Nitrogen Cycle and Implications for Climate Change. *Environmental Pollution*, **314**, Article ID: 120272. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.120272>
- [14] Kuypers, M.M.M., Marchant, H.K. and Kartal, B. (2018) The Microbial Nitrogen-Cycling Network. *Nature Reviews Microbiology*, **16**, 263-276. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>
- [15] McRose, D.L., Zhang, X., Kraepiel, A.M.L. and Morel, F.M.M. (2017) Diversity and Activity of Alternative Nitrogenases in Sequenced Genomes and Coastal Environments. *Frontiers in Microbiology*, **8**, Article No. 267. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00267>
- [16] Zehr, J.P., Jenkins, B.D., Short, S.M. and Steward, G.F. (2003) Nitrogenase Gene Diversity and Microbial Community Structure: A Cross-System Comparison. *Environmental Microbiology*, **5**, 539-554. <https://doi.org/10.1046/j.1462-2920.2003.00451.x>
- [17] Pjevac, P., Schaubberger, C., Poghosyan, L., Herbold, C.W., van Kessel, M.A.H.J., Daebeler, A., *et al.* (2017) AmoA-Targeted Polymerase Chain Reaction Primers for the Specific Detection and Quantification of Comammox Nitrospira in the Environment. *Frontiers in Microbiology*, **8**, Article No. 1508. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01508>
- [18] Simon, J. and Klotz, M.G. (2013) Diversity and Evolution of Bioenergetic Systems Involved in Microbial Nitrogen

- Compound Transformations. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)—Bioenergetics*, **1827**, 114-135. <https://doi.org/10.1016/j.bbabo.2012.07.005>
- [19] Schweiger, P.F. (2016) Nitrogen Isotope Fractionation during N Uptake via Arbuscular Mycorrhizal and Ectomycorrhizal Fungi into Grey Alder. *Journal of Plant Physiology*, **205**, 84-92. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2016.08.004>
- [20] Falkinham, J. and Butala, N. (2018) Nitrate and Nitrite Reductase Activities of Mycobacterium Avium. *International Journal of Mycobacteriology*, **7**, Article No. 328. https://doi.org/10.4103/ijmy.ijmy_118_18
- [21] Philippot, L., Hallin, S. and Schlöter, M. (2007) Ecology of Denitrifying Prokaryotes in Agricultural Soil. In: *Advances in Agronomy*, Elsevier, 249-305. [https://doi.org/10.1016/s0065-2113\(07\)96003-4](https://doi.org/10.1016/s0065-2113(07)96003-4)
- [22] Saraiva, L.M., Vicente, J.B. and Teixeira, M. (2004) The Role of the Flavodiiron Proteins in Microbial Nitric Oxide Detoxification. In: *Advances in Microbial Physiology*, Elsevier, 77-129. [https://doi.org/10.1016/s0065-2911\(04\)49002-x](https://doi.org/10.1016/s0065-2911(04)49002-x)
- [23] Zumft, W.G. and Kroneck, P.M.H. (2006) Respiratory Transformation of Nitrous Oxide (N₂O) to Dinitrogen by Bacteria and Archaea. In: *Advances in Microbial Physiology*, Elsevier, 107-227. [https://doi.org/10.1016/s0065-2911\(06\)52003-x](https://doi.org/10.1016/s0065-2911(06)52003-x)
- [24] Maia, L.B. and Moura, J.J.G. (2014) How Biology Handles Nitrite. *Chemical Reviews*, **114**, 5273-5357. <https://doi.org/10.1021/cr400518y>
- [25] Khadka, R., Clothier, L., Wang, L., Lim, C.K., Klotz, M.G. and Dunfield, P.F. (2018) Evolutionary History of Copper Membrane Monooxygenases. *Frontiers in Microbiology*, **9**, Article No. 2493. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02493>
- [26] 何芳, 张丽梅, 申聪聪, 等. 青藏高原林地土壤的氮转化特征及其影响因素分析: 以祁连山和藏东南地区为例[J]. 环境科学, 2021, 42(5): 2449-2456.
- [27] Dai, Z., Yu, M., Chen, H., Zhao, H., Huang, Y., Su, W., et al. (2020) Elevated Temperature Shifts Soil N Cycling from Microbial Immobilization to Enhanced Mineralization, Nitrification and Denitrification across Global Terrestrial Ecosystems. *Global Change Biology*, **26**, 5267-5276. <https://doi.org/10.1111/gcb.15211>
- [28] 张晶, 林先贵, 尹睿. 参与土壤氮素循环的微生物功能基因多样性研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(5): 1029-1034.
- [29] Huang, J., Liu, X., Liu, J., Zhang, Z., Zhang, W., Qi, Y., et al. (2023) Changes of Soil Bacterial Community, Network Structure, and Carbon, Nitrogen and Sulfur Functional Genes under Different Land Use Types. *Catena*, **231**, Article ID: 107385. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2023.107385>
- [30] 曹竞雄, 韦梦, 陈孟次, 等. 温度对厌氧条件下不同 pH 水稻土氮素矿化的影响[J]. 中国生态农业学报, 2014, 22(10): 1182-1189.
- [31] 李嵘, 常瑞英. 土壤有机碳对外源氮添加的响应及其机制[J]. 植物生态学报, 2015, 39(10): 1012-1020.
- [32] 潘剑玲, 代万安, 尚占环, 等. 秸秆还田对土壤有机质和氮素有效性影响及机制研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(5): 526-535.
- [33] Huang, W., Kuzyakov, Y., Niu, S., Luo, Y., Sun, B., Zhang, J., et al. (2023) Drivers of Microbially and Plant-Derived Carbon in Topsoil and Subsoil. *Global Change Biology*, **29**, 6188-6200. <https://doi.org/10.1111/gcb.16951>
- [34] 周圆, 支丽玲, 郑凯凯, 等. 城镇污水处理厂活性污泥反硝化速率的影响因素及优化运行研究[J]. 环境工程, 2020, 38(7): 100-108.
- [35] 李健, 曲植, 张立鑫, 等. 添加碳源对不同 pH 水稻土中反硝化关键功能基因的影响[J]. 南京信息工程大学学报(自然科学版), 2022, 14(4): 473-483.
- [36] 陶健宇, 杨劲松, 姚荣江, 等. 河套灌区土壤盐分对化肥氮素转化过程的影响研究[J]. 土壤, 2020, 52(4): 802-810.
- [37] 王敬, 程谊, 蔡祖聪, 等. 长期施肥对农田土壤氮素关键转化过程的影响[J]. 土壤学报, 2016, 53(2): 292-304.
- [38] 郭俊杰, 朱晨, 刘文波, 等. 不同施肥模式对土壤氮循环功能微生物的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(5): 751-759.
- [39] Du, L., Zhong, H., Guo, X., Li, H., Xia, J. and Chen, Q. (2024) Nitrogen Fertilization and Soil Nitrogen Cycling: Unraveling the Links among Multiple Environmental Factors, Functional Genes, and Transformation Rates. *Science of the Total Environment*, **951**, Article ID: 175561. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.175561>
- [40] Chen, Y., Li, Y., Qiu, T., He, H., Liu, J., Duan, C., et al. (2023) High Nitrogen Fertilizer Input Enhanced the Microbial Network Complexity in the Paddy Soil. *Soil Ecology Letters*, **6**, Article ID: 230205. <https://doi.org/10.1007/s42832-023-0205-3>
- [41] Xu, D.H., Lakshmanan, P., et al. (2024) Mitigation Strategies for Soil Acidification Based on Optimal Nitrogen Management. *Frontiers of Agricultural Science & Engineering*, **11**, 229-242.

- [42] Zhong, X., Zeng, Y., Wang, S., Sun, Z., Tang, Y. and Kida, K. (2020) Insight into the Microbiology of Nitrogen Cycle in the Dairy Manure Composting Process Revealed by Combining High-Throughput Sequencing and Quantitative PCR. *Bioresource Technology*, **301**, Article ID: 122760. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122760>
- [43] 张博雅, 余珂. 微生物基因数据库在氮循环功能基因注释中的应用[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 3021-3038.
- [44] Zehr, J.P. and Kudela, R.M. (2011) Nitrogen Cycle of the Open Ocean: From Genes to Ecosystems. *Annual Review of Marine Science*, **3**, 197-225. <https://doi.org/10.1146/annurev-marine-120709-142819>
- [45] Kanehisa, M. (2000) KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes. *Nucleic Acids Research*, **28**, 27-30. <https://doi.org/10.1093/nar/28.1.27>
- [46] Schoch, C.L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C.L., Kannan, S., Khovanskaya, R., *et al.* (2020) NCBI Taxonomy: A Comprehensive Update on Curation, Resources and Tools. *Database*, **2020**, baaa062. <https://doi.org/10.1093/database/baaa062>
- [47] Fish, J.A., Chai, B., Wang, Q., Sun, Y., Brown, C.T., Tiedje, J.M., *et al.* (2013) Fungene: The Functional Gene Pipeline and Repository. *Frontiers in Microbiology*, **4**, Article No. 291. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00291>
- [48] Bateman, A. (2004) The PFAM Protein Families Database. *Nucleic Acids Research*, **32**, 138D-141. <https://doi.org/10.1093/nar/gkh121>
- [49] Khanal, A. and Lee, J. (2020) Functional Diversity and Abundance of Nitrogen Cycle-Related Genes in Paddy Soil. *Applied Biological Chemistry*, **63**, Article No. 17. <https://doi.org/10.1186/s13765-020-00500-6>
- [50] 张淼, 刘俊杰, 刘株秀, 等. 黑土区农田土壤氮循环关键过程微生物基因丰度的分布特征[J]. 土壤学报, 2022, 59(5): 1258-1269.
- [51] Louca, S., Polz, M.F., Mazel, F., Albright, M.B.N., Huber, J.A., O'Connor, M.I., *et al.* (2018) Function and Functional Redundancy in Microbial Systems. *Nature Ecology & Evolution*, **2**, 936-943. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0519-1>
- [52] Li, D., Zhang, J., Gruda, N.S., Wang, Z., Duan, Z., Müller, C., *et al.* (2023) The Regulation of Gross Nitrogen Transformation Rates in Greenhouse Soil Cultivated with Cucumber Plants under Elevated Atmospheric [CO₂] and Increased Soil Temperature. *Geoderma*, **439**, Article ID: 116680. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2023.116680>
- [53] Mosley, O.E., Gios, E., Close, M., Weaver, L., Daughney, C. and Handley, K.M. (2022) Nitrogen Cycling and Microbial Cooperation in the Terrestrial Subsurface. *The ISME Journal*, **16**, 2561-2573. <https://doi.org/10.1038/s41396-022-01300-0>
- [54] Levy-Booth, D.J., Prescott, C.E. and Grayston, S.J. (2014) Microbial Functional Genes Involved in Nitrogen Fixation, Nitrification and Denitrification in Forest Ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, **75**, 11-25. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2014.03.021>
- [55] Wang, P., Li, J., Luo, X., Ahmad, M., Duan, L., Yin, L., *et al.* (2021) Biogeographical Distributions of Nitrogen-Cycling Functional Genes in a Subtropical Estuary. *Functional Ecology*, **36**, 187-201. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13949>
- [56] Cui, Y., Wang, X., Zhang, X., Ju, W., Duan, C., Guo, X., *et al.* (2020) Soil Moisture Mediates Microbial Carbon and Phosphorus Metabolism during Vegetation Succession in a Semiarid Region. *Soil Biology and Biochemistry*, **147**, Article ID: 107814. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107814>
- [57] Yang, Z., Peng, C., Cao, H., Song, J., Gong, B., Li, L., *et al.* (2022) Microbial Functional Assemblages Predicted by the FAPROTAX Analysis Are Impacted by Physicochemical Properties, but C, N and S Cycling Genes Are Not in Mangrove Soil in the Beibu Gulf, China. *Ecological Indicators*, **139**, Article ID: 108887. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2022.108887>
- [58] Zhu, G., Song, X., Ju, X., Zhang, J., Müller, C., Sylvester-Bradley, R., *et al.* (2019) Gross N Transformation Rates and Related N₂O Emissions in Chinese and UK Agricultural Soils. *Science of the Total Environment*, **666**, 176-186. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.02.241>
- [59] Colloff, M.J., Wakelin, S.A., Gomez, D. and Rogers, S.L. (2008) Detection of Nitrogen Cycle Genes in Soils for Measuring the Effects of Changes in Land Use and Management. *Soil Biology and Biochemistry*, **40**, 1637-1645. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2008.01.019>
- [60] Lindsay, E.A., Colloff, M.J., Gibb, N.L. and Wakelin, S.A. (2010) The Abundance of Microbial Functional Genes in Grassy Woodlands Is Influenced More by Soil Nutrient Enrichment than by Recent Weed Invasion or Livestock Exclusion. *Applied and Environmental Microbiology*, **76**, 5547-5555. <https://doi.org/10.1128/aem.03054-09>
- [61] Wang, Y., Ma, X., Zhou, S., Lin, X., Ma, B., Park, H., *et al.* (2016) Expression of the *nirs*, *hzsa*, and *hdh* Genes in Response to Nitrite Shock and Recovery in Candidatus Kuenenia Stuttgartiensis. *Environmental Science & Technology*, **50**, 6940-6947. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b00546>
- [62] Sui, Q., Zheng, R., Zhang, J., Di, F., Zuo, F., Zhang, Y., *et al.* (2021) Successful Enrichment of Anammox Consortium in a Single-Stage Reactor at Full-Scale: The Difference in Response of Functional Genes and Transcriptional Expressions.

-
- Chemical Engineering Journal*, **426**, Article ID: 131935. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.131935>
- [63] Yu, T. and Zhuang, Q. (2020) Modeling Biological Nitrogen Fixation in Global Natural Terrestrial Ecosystems. *Biogeosciences*, **17**, 3643-3657. <https://doi.org/10.5194/bg-17-3643-2020>
- [64] Asaadi, A. and Arora, V.K. (2021) Implementation of Nitrogen Cycle in the CLASSIC Land Model. *Biogeosciences*, **18**, 669-706. <https://doi.org/10.5194/bg-18-669-2021>
- [65] Zheng, X., Liu, C. and Han, S. (2008) Description and Application of a Model for Simulating Regional Nitrogen Cycling and Calculating Nitrogen Flux. *Advances in Atmospheric Sciences*, **25**, 181-201. <https://doi.org/10.1007/s00376-008-0181-7>