

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第8期

Vol.38 No.8

2017

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

用于滤膜称重的饱和氯化镁溶液恒湿系统搭建与评估	李晓晓, 张强, 邓建国, 蒋靖坤, 郝吉明 (3095)
钢铁工业排放颗粒物中碳组分的特征	张进生, 吴建会, 马威, 冯银厂 (3102)
常州市大气 PM _{2.5} 中 PAHs 污染特征及来源解析	顾爱军, 刘佳澍, 罗世鹏, 毕承路, 苏亚兰, 叶招莲, 盖鑫磊 (3110)
兰州河谷盆地大气多环芳烃干沉降通量及来源	尉媛丽, 刘攀亮, 于周锁, 高宏, 毛潇萱, 马建民, 黄韬 (3120)
株洲市大气降尘中元素特征及来源分析	王世豪, 张凯, 柴发合, 钟学才, 周广柱, 杨晴, 柯馨妹 (3130)
传统北京烤鸭烤制过程中大气污染物的排放特征	徐敏, 何万清, 聂磊, 韩力慧, 潘涛, 石爱军 (3139)
基于车载测试的重型柴油车尾气典型烷烃排放特征	史纯珍, 郝雪薇, 申现宝, 曹鑫悦, 张伟, 吴辉, 姚志良 (3146)
基于 wavelet-SVM 的 PM ₁₀ 浓度时序数据预测	王平, 张红, 秦作栋, 姚清晨, 耿红 (3153)
广州港船舶停泊工况排放因子实测及排放量初步估算	黄学良, 张洲, 杨威强, 李晟, 朱明, 方华, 何俊杰, 陈俊文, 万承浩, 张艳利, 刘国光, 黄祖照, 王宇骏, 王新明 (3162)
沙尘天气对生物气溶胶中总微生物浓度及粒径分布的影响	李鸿涛, 祁建华, 董立杰, 高冬梅 (3169)
典型生活垃圾处理设施恶臭排放特征及污染评价	芦会杰 (3178)
杭州地区城区降雪中全氟化合物的污染特征	张明, 唐访良, 俞雅雲, 徐建芬, 陈金汉, 余波, 周姗, 张伟 (3185)
黄浦江流域典型污水中不同粒径胶体的三维荧光光谱特征	聂明华, 晏彩霞, 杨毅, 周俊良, 刘敏 (3192)
漓江地表水体有机碳来源	赵海娟, 肖琼, 吴夏, 刘凡, 苗迎, 蒋勇军 (3200)
夏季热分层效应对典型岩溶水库水化学及溶解无机碳的影响	吴飞红, 蒲俊兵, 李建鸿, 张陶, 李丽, 黄思宇 (3209)
城市不同功能区地表水重金属污染特性比较: 以宁波为例	徐美娟, 童桂华, 孙丹, 李建新, 虞效益 (3218)
地下水主要组分水化学异常识别方法对比: 以柳江盆地为例	张小文, 何江涛, 彭聪, 张昌延, 倪泽华 (3225)
人为扰动背景下城郊溪流底质磷的生物-非生物吸收潜力分析	李如忠, 叶舟, 高苏蒂, 郑悦 (3235)
长江口低氧区沉积物中磷的形态及其环境意义	刘军, 臧家业, 冉祥滨, 赵晨英, 刘季花, 王小静 (3243)
三峡库区小流域不同土地利用类型“土壤-水体”氮磷含量特征及其相互关系	陈成龙, 高明, 木志坚, 倪九派, 祁乐 (3254)
黄土高原降雨驱动下流域碳输移特征及其碳流失评估: 以羊圈沟坝系流域为例	鄂馨卉, 汪亚峰, 高扬, 陈利顶, 陈世博, 陈维梁 (3264)
新型溴代苯酚类消毒副产物的氯化降解机制	李欢, 李正魁, 李爱民, 周庆, 王莹, 潘咏 (3273)
藻形态及混凝剂组成对混凝-超滤过程的影响	张大为, 徐慧, 王希, 门彬, 王东升, 段晋明 (3281)
汝溪河浮游硅藻功能群特征及其与环境因子相关性分析	向蓉, 李巧玉, 喻焱, 张洪波, 董聪聪, 施军琼, 吴忠兴 (3290)
石岩水库叶绿素 a 时空分布及其影响因子分析	宋云龙, 张金松, 郭小雅, 朱佳, 王丽, 陶益, 张丽 (3302)
不同湿地模型中根系微生物的多样性	王林, 李冰, 余家辉, 朱加宾, 朱健 (3312)
北海湖微生物群落结构随季节变化特征	张雅洁, 李珂, 朱浩然, 张洪勋 (3319)
基于高通量测序的流化床生物滤器细菌群落结构分析	张海耿, 宋红桥, 顾川川, 单建军, 张宇雷, 倪琦 (3330)
高效反硝化菌和包埋填料性能及微生物群落分析	孟婷, 杨宏 (3339)
基于城市污水资源化的微藻筛选与污水预处理	韩松芳, 金文标, 涂仁杰, 陈洪一 (3347)
生物膜贴壁培养小球藻净化猪粪沼液废水的效果	王愿珠, 程鹏飞, 刘德富, 刘天中 (3354)
微气泡臭氧催化氧化-生化耦合工艺深度处理煤化工废水	刘春, 周洪政, 张静, 陈晓轩, 张磊, 郭延凯 (3362)
pH 冲击对海洋厌氧氨氧化菌处理含海水污水脱氮效能的影响	于德爽, 周同, 李津, 王晓霞, 吴国栋, 王骁静 (3369)
酒精废水部分亚硝化-厌氧氨氧化脱氮的可行性	周正, 林兴, 王凡, 顾澄伟, 沈婧, 袁砚, 金润 (3377)
模拟废水中钼的微生物回收及其对亚甲基蓝的催化特性	康乃馨, 朱能武, 郭雯颖, 何志心 (3385)
采用颜色空间表征 ANAMMOX 启动与冲击过程	王利君, 李志华, 韩冬, 张天宇, 杨成建 (3393)
CSTR 和 MBR 反应器的短程硝化快速启动	张婷, 吴鹏, 沈耀良, 闫刚, 徐乐中, Samwine Thomas (3399)
硫酸盐还原氨氧化体系中基质转化途径	完颜德卿, 黄勇, 毕贞, 刘忻, 姚鹏程, 张文静 (3406)
不同 TOC/NH ₄ ⁺ -N 对厌氧氨氧化脱氮效能的影响	王凡, 刘凯, 林兴, 周正, 李祥, 黄勇 (3415)
盐度对 EGSB 反应器的运行及厌氧颗粒污泥的影响	谭潇, 黄靛, 杨平, 涂奔州 (3422)
CANON 颗粒污泥工艺的启动与负荷提高策略	孙延芳, 韩晓宇, 张树军, 李星, 曹相生 (3429)
胞外聚合物对活性污泥吸附去除全氟辛酸磺酸 (PFOS) 的影响	刘鑫彤, 尹华, 彭辉, 李浩榕, 杨萍萍, 曹雅娟 (3435)
不同施肥方式下紫色土 N ₂ O 与 NO _x 的排放特征	胡磊, 刘韵, 朱波 (3442)
地膜覆盖对蔬菜地甲烷排放的影响	张凯莉, 郝庆菊, 冯迪, 石将来, 石孝均, 江长胜 (3451)
模拟的增温增雨对内蒙古温带草原土壤氨氧化微生物的影响	张翠景, 沈菊培, 孙翼飞, 王军涛, 杨中领, 韩红艳, 张丽梅, 万师强, 贺正 (3463)
长期施肥酸性旱地土壤硝化活性及自养硝化微生物特征	徐白璐, 钟文辉, 黄欠如, 秦红益, 邓欢, 韩成 (3473)
施加碳酸钙对酸性土壤微生物氮循环的影响	郭安宁, 段桂兰, 赵中秋, 唐仲, 王杨扬, 王伯勋 (3483)
水稻不同生育期根际与非根际土壤胞外酶对施氮的响应	魏亮, 汤珍珠, 祝贞科, 蔡观, 葛体达, 王久荣, 吴金水 (3489)
凋落物呼吸温度敏感性的变化特征及其影响因素	张彦军 (3497)
西北干旱区农田土壤磁性特征及其环境意义	王新, 夏敦胜, 王博, 陈红, 刘浩 (3507)
小麦秸秆驱动菱铁矿热解制备磁性生物炭及其吸附 Cd ²⁺ 活性	张如玉, 刘海波, 邹雪华, 庆承松, 李梦雪, 陈冬, 陈天虎 (3519)
交通污染暴露对 DNA 甲基化的影响	汪婷, 丁锐, 黄丹妮, 祝子逸, 章军, 叶怀庄, 徐迎春, 金永堂 (3529)
外接菌种对污泥堆肥效能及堆体细菌群落的影响	杨萍萍, 尹华, 彭辉, 唐少宇, 卢妙, 刘皓 (3536)
中国电动自行车动力铅酸蓄电池生命周期评价	刘巍, 田金平, 陈吕军 (3544)
《环境科学》征稿简则 (3280) 《环境科学》征订启事 (3301) 信息 (3353, 3472, 3535)	

模拟的增温增雨对内蒙古温带草原土壤氨氧化微生物的影响

张翠景^{1,2}, 沈菊培^{1,2*}, 孙翼飞^{1,2}, 王军涛¹, 杨中领³, 韩红艳³, 张丽梅^{1,2}, 万师强³, 贺纪正^{1,2}

(1. 中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 河南大学生命科学学院全球变化生态学实验室, 开封 475004)

摘要: 土壤氨氧化微生物是草地生态系统氮循环过程特别是氨氧化过程的主要驱动者, 对全球变化具有响应、适应和反馈机制。通过采集在内蒙古温带草原设置的长期增温增雨野外控制实验的土壤样品, 应用定量 PCR、限制性末端片段长度多态性 (terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP) 和克隆文库等方法研究氨氧化古菌和细菌的丰度、多样性和群落结构对增温增雨的响应。结果表明, 增雨显著升高了土壤 pH, 而增温显著降低了土壤呼吸。氨氧化微生物丰度在各处理之间没有显著差异。T-RFLP 结果表明, 增雨显著影响土壤氨氧化细菌的群落结构, 增温和增雨对土壤氨氧化微生物群落结构的交互作用并不显著。结构方程模型的结果显示植物多样性与氨氧化古菌和细菌的群落结构有显著的相关关系, 表明气候变化-微生物-植物三者之间存在着一定的关系。研究结果预示土壤微生物对长期气候变化有一定的适应能力, 这对预测未来生态系统的变化具有重要的参考价值。

关键词: 增温; 增雨; 交互作用; 氨氧化细菌; 氨氧化古菌; 植物多样性

中图分类号: X171 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)08-3463-10 DOI: 10.13227/j.hjxx.201702178

Responses of Soil Ammonia Oxidizers to Simulated Warming and Increased Precipitation in a Temperate Steppe of Inner Mongolia

ZHANG Cui-jing^{1,2}, SHEN Ju-pei^{1,2*}, SUN Yi-fei^{1,2}, WANG Jun-tao¹, YANG Zhong-ling³, HAN Hong-yan³, ZHANG Li-mei^{1,2}, WAN Shi-qiang³, HE Ji-zheng^{1,2}

(1. State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Laboratory of Global Change Ecology, College of Life Sciences, Henan University, Kaifeng 475004, China)

Abstract: Soil ammonia oxidizers, as key players for the ammonia oxidation process in soil N cycling, could respond, adapt, and give feedback to global change. In this research, soil samples were collected from a long-term field experiment with increased precipitation and warming in a temperate steppe of Inner Mongolia. We analyzed the responses of the abundance, diversity, and community structure of ammonia-oxidizing archaea (AOA) and ammonia-oxidizing bacteria (AOB) to warming and increased precipitation using quantitative real-time PCR, terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP), and clone library. The results showed that increased precipitation significantly stimulated soil pH and warming significantly reduced soil respiration (SR). No significant difference was detected regarding the abundances of *amoA* genes across all treatments, whereas increased precipitation significantly affected the community structure of soil AOB. However, the interactive effect between warming and increased precipitation had no significant influence on the community structure of soil ammonia oxidizers. The result of the structural equation model indicated that the plant diversity and community structures of soil ammonia oxidizers were significantly correlated, suggesting that there were certain relationships among climate change, microbes, and plants. In conclusion, this study confirmed that soil microorganisms had the ability to adapt to climate change, which could provide important information for predicting future changes in ecosystems.

Key words: global warming; increased precipitation; interaction; ammonia-oxidizing bacteria; ammonia-oxidizing archaea; plant diversity

由于人类活动干扰的加剧, 全球气候变化及其生态效应早已成为科学研究的热点。全球气候变化包括气候变暖、降水格局改变等现象, 会显著影响生态系统过程。据 IPCC 2013 报道, 地球表面平均温度在本世纪末将会升高 1.8 ~ 4.0℃, 降水格局也会发生显著变化, 包括降水量、降水时间、降水频率等^[1]。中国北方半干旱温带草原是欧亚草原生物

区系的重要组成部分。据预测, 这一地区的年平均温度和降水在未来将继续增加^[2]。土壤微生物是驱

收稿日期: 2017-02-27; 修订日期: 2017-03-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(41371265); 国家重点基础研究发展计划(973)项目(2013CB956300)

作者简介: 张翠景(1989~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为气候变化对土壤微生物的影响, E-mail: zhangcj2008@foxmail.com

* 通信作者, E-mail: jpshen@rcees.ac.cn

动生物地球化学循环的引擎,对气候变化响应敏感.为了适应环境的变化,微生物的生物量、群落结构和功能活性将会改变^[3].微生物参与调节的生物地球化学过程可能会随着微生物特征的改变而产生变化,并对地上植被和生态系统功能产生潜在的正负反馈^[4].

半干旱温带草原生态系统中水分是主要的限制因素,模拟增雨可能会缓解这一地区的水分限制状况,对生态系统功能有促进作用^[5].降水格局的改变对植物的影响之前有过很多研究,水分可以促进植物的多样性,改变植物的群落结构^[6].水热条件也是影响微生物生长的重要环境因子.对于微生物而言,增雨可能通过改变土壤含氧量、降低水分抑制性而刺激微生物生长和活性^[7],也可能通过增加土壤 pH 影响微生物的群落组成^[8].一些研究发现,增雨对多种细菌类群的丰度和群落组成有显著影响.氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)在增雨的条件下丰度保持不变,而氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)的丰度可能升高^[9].另外,研究结果显示气候变暖对陆地生态系统中的植物群落结构和组成具有深远影响,可能会降低植物的多样性^[10].气候变暖可能会增加微生物的酶活性,进而增加微生物的呼吸和分解速率^[11].研究发现增温导致真菌与细菌的比例上升^[12],细菌的群落结构也随着增温产生显著变化^[13].室内培养实验结果表明 AOA 更适宜生长在 30℃ 以上的高温环境中;而对于 AOB,不同温度梯度都会有相应生态位的菌株生长^[14],所以在内蒙古地区,增温可能会促进 AOA 的生长,改变 AOB 的群落组成.增温可能通过降低土壤含水量与增雨产生拮抗的交互作用影响微生物群落结构^[15],也可能通过促进微生物活性与增雨产生协同的交互作用影响生态系统^[16].多种气候变化因子之间的交互作用可能对调节植物群落多样性和预测未来陆地生态系统功能构成巨大的挑战,因此目前迫切需要明确增温增雨及其交互作用对土壤微生物群落的影响和潜在机制.

测量生物多样性常用的指标包括 α 多样性指数和 β 多样性指数. α 多样性是一个样品内物种的多样性,反映物种间内部竞争的结果;而 β 多样性是比较不同样品多样性的分布差异,反映生物对外部环境变化的响应.对于增温、增雨条件下,微生物和植物多样性之间的相互作用如何变化还不清楚^[17].例如,增雨可能改变微生物的代谢活动,影

响植物的多样性.增温提高微生物酶活,改变凋落物的降解,从而影响土壤的养分有效性.区分影响植物群落的生物和非生物因子有助于人们发现植物多样性对气候变化响应的潜在机制.随着免培养的分子生物学技术的发展,世界范围内已开展了大量的野外控制实验,从分子水平分析土壤氨氧化微生物的群落组成,用以评估未来气候变化对土壤氮循环过程的影响^[18].然而,对于微生物对全球变化的响应和适应机制还存在很大的不确定性.鉴于此,为了研究气候变化对草地生态系统的潜在影响,笔者提出了以下假设:①增雨会促进氨氧化微生物的多样性;②增温和增雨会对氨氧化微生物的群落结构产生交互作用;③气候变化会通过影响地下微生物的群落而改变地上植物的多样性.本文依托内蒙古多伦恢复生态学试验示范研究站这一研究平台,采用基于 DNA 的分子生物学手段,研究模拟全球变化两因素(气候变暖、降水增加)对土壤氨氧化微生物的影响,并对上述的假设进行验证.

1 材料与方法

1.1 实验样地与设计

实验样地位于内蒙古多伦县(东经 116°17',北纬 42°02',海拔 1324 m),该区域属于半干旱温带草原^[5].气候类型为大陆性季风气候,年平均降雨量是 378 mm,6~9 月的降水量占总体的 80%;年平均温度为 2.1℃,温度范围从 1 月的 -17.5℃ 到 7 月的 18.9℃.根据中国土壤分类,土壤类型为栗钙土.主要植被类型是克氏针茅(*Stipa krylovii*)、冷蒿(*Artemisia frigida*)、星毛委陵菜(*Potentilla acaulis*)、糙隐子草(*Cleistogenes squarrosa*)、砂韭(*Allium bidentatum*)、冰草(*Agropyron cristatum*)等^[10].

模拟气候变暖(增温)及降水增加(增雨)的野外控制实验开始于 2005 年 4 月,采用巢式设计,增雨为主要因子,共 3 个 44 m × 28 m 的区组,每个区组中有两个 10 m × 15 m 的小区,分别为增雨和对照处理.每个小区有 4 个 3 m × 4 m 的亚区,随机设置成两个增温和两个对照.共 4 个处理,每个处理有 6 个重复,共 24 个亚区.每个小区采用 6 个洒水装置,在 7 月和 8 月每周增雨 15 mm,共增加 120 mm 的降水.暖化处理采用 165 cm × 15 cm MSR-2420 红外散热器(Kalglo Electronics, Bethlehem, PA, USA)悬挂在地上 2.5 m 高.增温对照的亚区中设置了一个具有相同形状和大小的“虚拟”加热器来模拟阴影的影响.增温处理的土壤温度大约升高了

0.98℃^[19].

本研究于2014年5月底采集表层(0~20 cm)土壤样品,每个亚区用直径7.5 cm的土钻随机取3个样品混合.所有的样品都在3 d内运到实验室.土壤样品通过2 mm筛去除草根和石块,之后被分为两部分:一部分储存在4℃用于分析理化性质和微生物活性,另一部分存储在-80℃适用于分子分析.

1.2 土壤理化性质和微生物活性

在105℃烘箱中烘干12 h来测量土壤含水量.土壤pH用1 g:2.5 mL的土水比测定.土壤总碳(total carbon, TC)、总氮(total nitrogen, TN)的测定使用杜马斯燃烧法,用元素分析仪(Vario EL III, Elementar, Germany)测定.土壤铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)用1 mol·L⁻¹氯化钾提取(土壤:水=1 g:5 mL),用连续流动分析仪(SAN++ , Skalar, Holand)测定浓度.

硝化潜势(potential nitrification rate, PNR)的测定使用氯酸盐抑制方法:将5.0 g新鲜土壤和20 mL包含1 mmol·L⁻¹ (NH₄)₂SO₄和50 mg·L⁻¹ KClO₃的磷酸缓冲溶液(PBS: NaCl 8 g·L⁻¹, KCl 0.2

g·L⁻¹, Na₂HPO₄ 1.44 g·L⁻¹, KH₂PO₄ 0.24 g·L⁻¹, pH 7.4)添加到50 mL离心管,在25℃以180 r·min⁻¹的速度培养24 h,之后用5 mL氯化钾(2 mol·L⁻¹)提取亚硝酸盐,以N-(1-萘胺)乙二胺盐酸盐显色,并在530 nm波长下用分光光度法测定浓度.土壤呼吸(soil respiration, SR)的测定方法如下:将10 g新鲜土壤添加到120 mL血清瓶中,在25℃培养24 h,收集二氧化碳并用气相色谱仪(Agilent 7890A GC System)测定浓度.

1.3 土壤DNA提取和实时定量PCR

称取0.3 g冻土,用PowerSoil™ Total DNA Isolation试剂盒(Mo Bio Laboratories, Inc., San Diego, CA, USA),参照说明书的方法提取土壤DNA. DNA浓度和纯度用NanoDrop分光光度计(NanoDrop Technologies, USA)测定. DNA样品存储在-20℃,10倍稀释后用于下游分子实验的模板.古菌16S rRNA、细菌16S rRNA、AOA-*amoA*、AOB-*amoA*基因的定量PCR采用iCycler iQ5荧光定量PCR仪(Bio-Rad Laboratories, Inc., USA),使用的引物和扩增条件在表1中列出.

表1 PCR所用的引物序列和反应条件
Table 1 Primer sequences and reaction conditions used for PCR

目标基因	引物	序列	反应条件
古菌 16S rRNA	A364aF	CGGGGYGCASCAGGCGCCAA	94℃ for 60 s; 94℃ for 20 s, 59℃ for 30 s, 72℃ for 30 s, and plate read at 83℃ for 15 s (40 cycles)
	A934b ^[20]	GTGCTCCCCGCCAATTCCT	
细菌 16S rRNA	BACT1369F	CGGTCAATACGTTTCYCGG	95℃ for 10 s; 95℃ for 15 s, 56℃ for 60 s (plate read) (35 cycles)
	PROK1492R	GGWTACCTTCFTACGACTT	
	Probe TM1389F ^[21]	CTTGTACACACCGCCCGTC	
AOA- <i>amoA</i>	CrenamoA23f	ATGGTCTGGCTWAGACG	95℃ for 3 min; 95℃ for 10 s, 55℃ for 30 s, 72℃ for 60 s, and plate read at 83℃ for 10 s (35 cycles)
	CrenamoA616r ^[22]	GCCATCCATCTGTATGTCCA	
AOB- <i>amoA</i>	<i>amoA</i> -1F	GGGGTTTCTACTGGTGTT	95℃ for 60 s; 95℃ for 10 s, 55℃ for 30 s, 72℃ for 60 s, and plate read at 85℃ for 10 s (35 cycles)
	<i>amoA</i> -2R ^[23]	CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	

细菌16S rRNA基因采用TaqMan探针法,25 μL反应体系包含12.5 μL 2×Premix Ex Taq™(Takara Biotechnology, Japan),前后引物各0.5 μL(10 μmol·L⁻¹),1.5 μmol TaqMan探针(细菌16S rRNA基因)和2 μL的DNA模板(1~10 ng).其他基因采用SYBR GREEN法,25 μL反应体系包含12.5 μL 2×SYBR Premix Ex Taq™(Takara Biotechnology, Japan),前后引物各0.5 μL(10 μmol·L⁻¹)和2 μL的DNA模板(1~10 ng).10倍连续稀释的质粒被用作模板制作标准曲线,所有基因的扩增效率范围在89.2%~100.3%,R²为0.99.利用溶解曲线和琼脂糖凝胶电泳检测扩增的特异性.

1.4 末端限制性片段长度多态性(T-RFLP)

T-RFLP的方法被用来分析AOA和AOB的*amoA*基因群落结构.使用的引物与定量PCR的相同,但正向引物的5'末端标记了6-carboxyfluorescein(FAM)荧光染料. PCR产物用Wizard SV Gel and PCR Clean-Up System试剂盒纯化(Promega, USA).纯化后的产物用限制性内切酶进行酶切,AOA-*amoA*基因采用的是内切酶*HhaI*(Takara Biotechnology, Japan),AOB-*amoA*基因采用的是内切酶*MspI*(Takara Biotechnology, Japan).反应体系为20 μL,包括酶4 U和大约500 ng DNA样品,反应条件为37℃酶切3 h.酶切产物送至睿博兴科测序公司利用ABI PRISM 3700 DNA分析仪(Applied

Biosystems, USA)进行毛细管电泳检测. T-RFLP 得到的图谱使用 GeneMarker 软件(SoftGenetics, USA)进行分析,选取末端片段长度位于 30 bp 到目的基因长度之间的片段,合并长度相差 1 bp 的片段. 用每个片段的峰面积除以总的峰面积得到各 T-RFs 的相对丰度,舍去相对丰度低于 1% 的酶切片段.

1.5 克隆文库和测序

分别构建了 AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因的克隆文库. 构建过程简述如下:使用与定量 PCR 相同的引物和条件分别对各土壤样品中的上述基因进行 PCR 扩增,随后将 24 个样品的 PCR 产物混合,并进行切胶纯化;纯化后的产物连接到 pMD™ 19-T 载体(Takara Biotechnology, Japan),然后转化入感受态细胞(大肠杆菌 JM109)中进行蓝白斑筛选;然后从每个文库中随机选取约 50 个阳性克隆子,在 ABI 3730 测序仪(Applied Biosystems, USA)上测序. 获得的序列经 Bio-Edit 7.0 进行编辑、比对后,利用 MOTHUR 在 97% 相似性水平下划分操作分类单位(OTU). 从 GeneBank 上下载标准参比序列及与各代表性 OTU 高度同源的 *amoA* 序列,使用 Mega 6.0 软件的 neighbor-joining 方法构建系统发育树. 本研究中获取的 AOA-*amoA* 和 AOB-*amoA* 基因已提交至 NCBI,其序列号分别为 KY118386-KY118431 和 KY118519-KY118563.

1.6 统计分析

基因的拷贝数在进行统计分析之前进行了对数转换以符合数据正态分布. 所有统计分析都在 R. 3.3.2 软件(<http://cran.r-project.org>)中进行,以 $P < 0.05$ 作为阈值来判断各土壤处理间的差异显著性. 采用单因素方差分析(Duncan 检验)进行差异显著性检验. 使用双因素方差分析来考察增温、增雨和交互作用对土壤理化性质和微生物活性的影响. 用 Spearman 相关分析考察土壤化学性质之间的相关性. 基于 T-RFLP 的群落组成结果,计算

了 α 多样性(Shannon 指数). 增温、增雨对基于 Bray-Curtis 矩阵的土壤微生物群落的影响也在 R 软件 Vegan 包中,利用排列多元方差分析(PerMANOVA)进行了评估. 冗余分析(Redundancy analysis, RDA)用来揭示土壤化学性质(即 pH、土壤水分、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TC 和 TN)和微生物群落结构之间的关系.

基于先验假设,使用 AMOS 20.0 (Amos, Development Corporation, Meadville, PA, USA)软件构建结构方程模型(structural equation model, SEM),来评估增温、增雨对氨氧化微生物和植物群落的 α (Shannon 指数)和 β 多样性(基于 Bray-Curtis 矩阵的主坐标分析的第一轴 PCO1)的直接和间接影响. 植物多样性的数据由河南大学生命科学学院万师强老师团队提供. 将增温和增雨分别设置为 0 和 1 两个外生变量水平,对 α 和 β 多样性分别构建结构方程模型,模型的拟合优度使用以下指标评价:卡方检验, Akaike 讯息指标(AIC),适配度指数(GFI),渐进残差均方和平方根(RMSEA).

2 结果与分析

2.1 增温增雨对土壤化学性质和微生物活性的影响

土壤化学性质和微生物活性在不同的处理间有显著差异(表 2). 在表层土壤中含水量没有显著差异,而 pH 在增雨处理中显著升高($P < 0.001$). 总氮、总碳、氨态氮、硝态氮的含量,在不同处理间没有显著差异. 表层土壤的硝化潜势(PNR)在不同处理间没有显著差异,而增温显著降低了土壤呼吸(SR, $P = 0.011$). Spearman 相关分析发现,土壤含水量与总氮、总碳、硝态氮显著正相关(分别为 $\rho = 0.78, P < 0.001, n = 24$; $\rho = 0.69, P < 0.001, n = 24$ 和 $\rho = 0.42, P = 0.04, n = 24$),SR 与土壤 pH 显著负相关($\rho = -0.46, P = 0.02, n = 24$).

表 2 土壤化学性质和微生物活性¹⁾

Table 2 Soil chemical properties and microbial activities

处理	土壤含水量 /%	pH (H ₂ O)	总氮 /g·kg ⁻¹	总碳 /g·kg ⁻¹	NH ₄ ⁺ -N /mg·kg ⁻¹	NO ₃ ⁻ -N /mg·kg ⁻¹	PNR(以 NO ₃ ⁻ -N 计) /mg·(kg·h) ⁻¹	SR(以 CO ₂ 计) /μL·(g·d) ⁻¹
对照	7.94 ± 0.63a	7.13 ± 0.05c	2.10 ± 0.16a	26.21 ± 2.23a	4.02 ± 0.43a	3.27 ± 0.64a	0.31 ± 0.03a	12.43 ± 1.33a
增温	7.83 ± 0.71a	7.26 ± 0.04b	2.02 ± 0.11a	24.83 ± 1.48a	4.33 ± 0.35a	3.63 ± 0.54a	0.42 ± 0.03a	7.43 ± 1.14b
增雨	8.39 ± 0.46a	7.39 ± 0.03a	2.02 ± 0.08a	24.14 ± 1.22a	3.78 ± 0.46a	3.36 ± 0.44a	0.31 ± 0.08a	9.46 ± 1.14ab
增温增雨	8.44 ± 0.75a	7.38 ± 0.04a	2.07 ± 0.09a	25.18 ± 1.34a	5.74 ± 1.34a	4.36 ± 0.95a	0.39 ± 0.07a	8.41 ± 0.56b

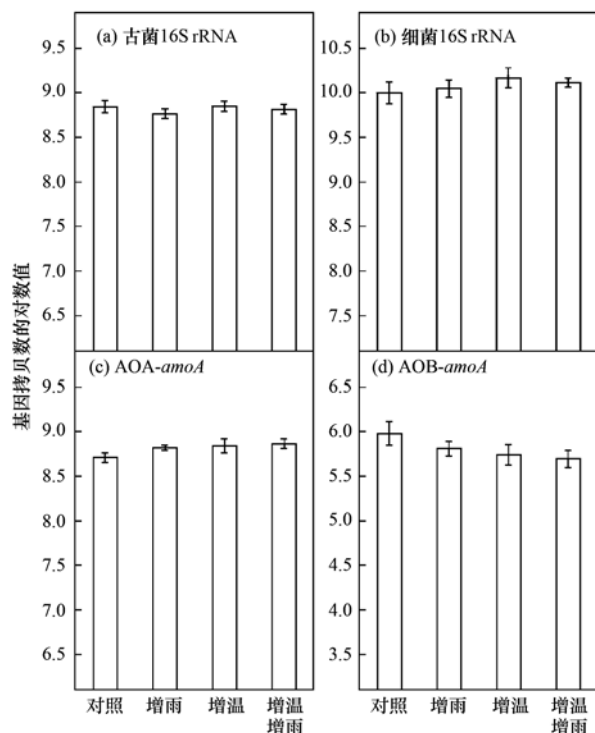
1) 表中数值为平均值 ± 标准误($n = 6$); 不同字母表示同一列不同处理间差异显著($P < 0.05$); PNR:硝化潜势, SR:土壤呼吸

2.2 增温增雨对微生物基因丰度的影响

各相关微生物基因定量 PCR 的结果见图 1. 古

菌和细菌的 16S rRNA 基因、AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因的丰度在不同处理间均没有显著差异. 古菌和

细菌的 16S rRNA 基因丰度范围分别为每克干土 $0.41 \times 10^9 \sim 1.22 \times 10^9$ 和 $4.67 \times 10^9 \sim 3.8 \times 10^{10}$ 拷贝数. AOA 和 AOB *amoA* 基因丰度范围分别为每克干土 $3.39 \times 10^8 \sim 13.5 \times 10^8$ 和 $1.95 \times 10^5 \sim 1.96 \times 10^6$ 拷贝数.



图中误差线代表 6 个重复样品的标准误差

图 1 不同处理下微生物的基因丰度

Fig. 1 Abundances of microbial genes under the treatments of increased precipitation and warming

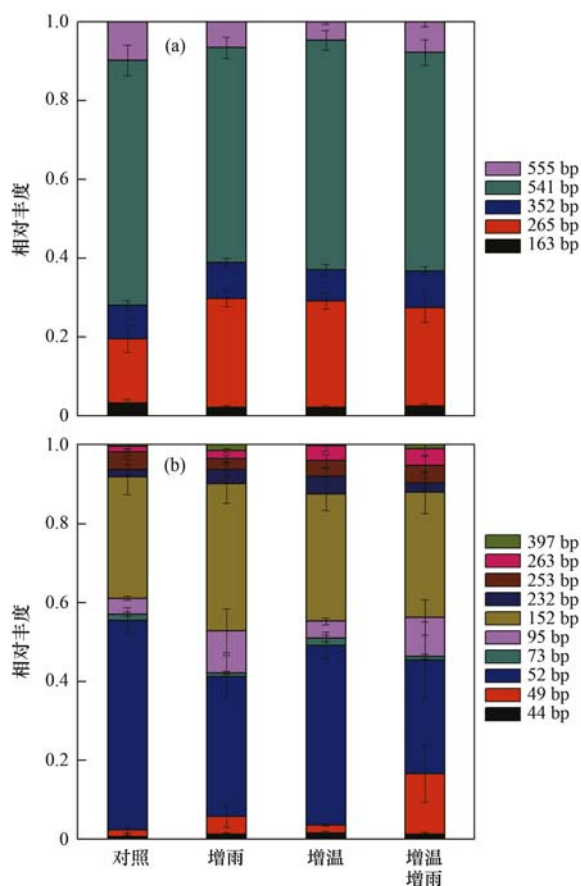
进一步分析发现增温显著增加了 AOA 与 AOB 丰度之比 ($P = 0.046$). Spearman 相关分析发现, 古菌 16S rRNA 基因丰度与土壤 TN ($\rho = 0.7, P = 0.0, n = 24$) 和 TC ($\rho = 0.74, P = 0.01, n = 24$) 显著正相关, 细菌 16S rRNA 基因丰度则与土壤含水量、TN 和 TC 显著正相关 ($\rho = 0.75, P = 0.01, n = 24$; $\rho = 0.83, P < 0.001, n = 24$ 和 $\rho = 0.82, P < 0.001, n = 24$).

2.3 增温增雨对微生物群落结构的影响

土壤 AOA-*amoA* 基因用 *Hha* I 酶切, 共得到 5 个末端限制片段 (T-RFs; 即 163、265、352、541 和 555bp), 见图 2(a), 其中 265 bp 和 541 bp 是优势 T-RFs, 平均相对丰度分别为 23.96% 和 57.55%. 47 个克隆子的序列基于 97% 的相似性被分成 12 个 OTU. 系统发育分析识别 3 个 T-RFs (265、541、555 bp), 它们都属于 Group 1.1b (图 3). PerMANOVA 结果表明 AOA-*amoA* 群落不同处理之间没有显著

差异, 但 265 bp T-RF 的相对丰度在增温、增雨的处理中比对照处理高.

获取的 AOB-*amoA* 基因序列经 *Msp* I 酶切, 共得到 10 个 T-RFs (44、49、52、73、95、152、232、253、263 和 397bp), 见图 2(b), 其中 T-RFs 52 bp 和 152 bp 是两个主要的 T-RFs, 分别占总 T-RFs 的 40.83% 和 33.01%. 49 个克隆子的序列基于 97% 的相似性被分成 6 个 OTU. 两个 T-RFs (232bp 和 253bp) 被系统发育分析识别, 分别属于亚硝化螺菌属 (*Nitrosospira*) 的 Cluster 3a.1 和 3a.2 (图 4). PerMANOVA 结果表明增雨显著改变 AOB-*amoA* 基因的群落组成. 与对照相比, T-RF 52bp 随着增雨而降低, 而 49bp 和 95bp 的 T-RFs 则显示出相反的趋势.



(a) AOA-*amoA* 基因、(b) AOB-*amoA* 基因;

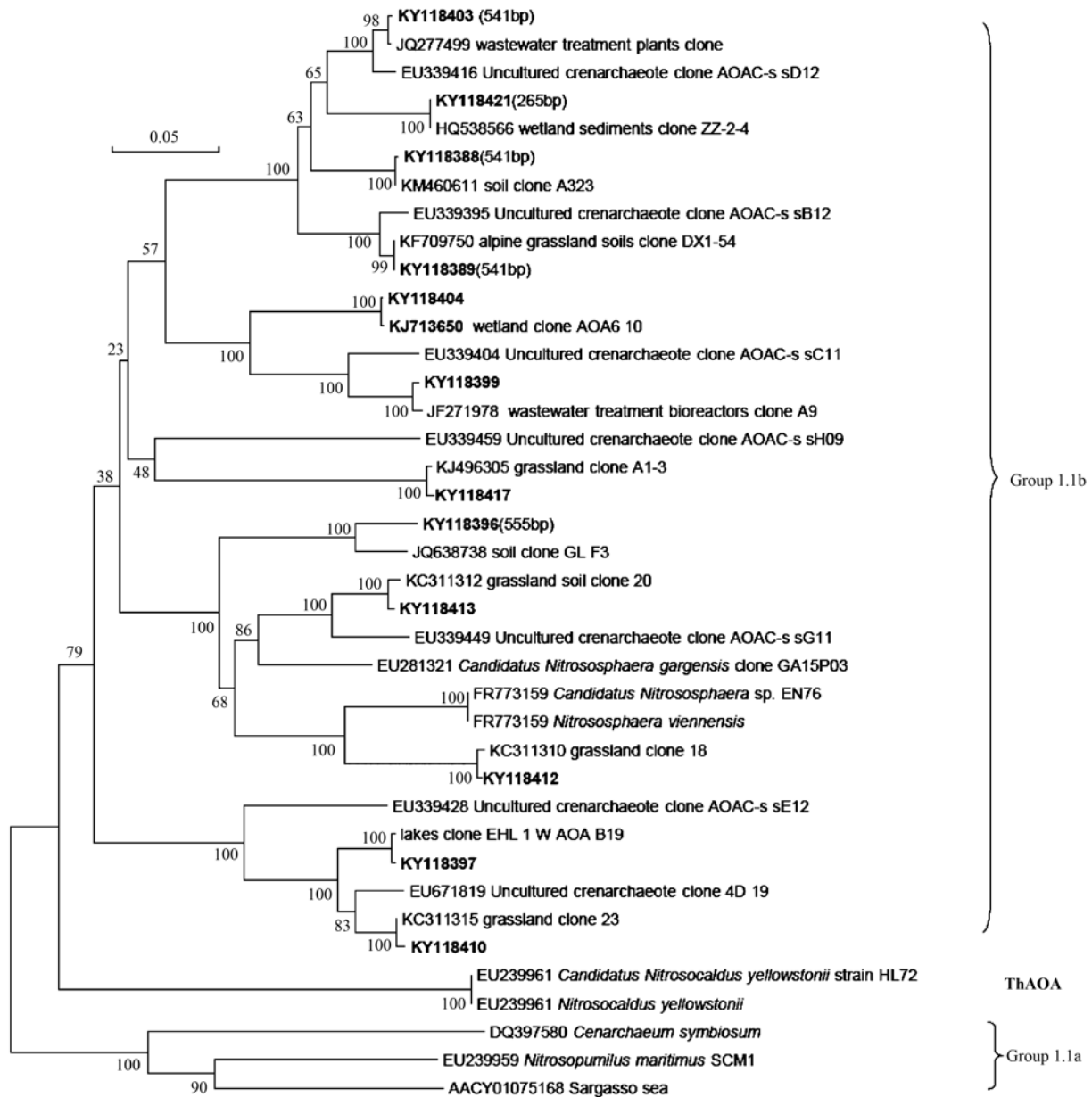
图中误差线代表 6 个重复样品的标准误差

图 2 不同处理下 AOA-*amoA* 基因、AOB-*amoA* 基因的群落组成

Fig. 2 Relative abundances of T-RFs of AOA-*amoA* gene and AOB-*amoA* gene under the treatments of increased precipitation and warming

2.4 增温增雨对氨氧化微生物和植物多样性的影响

本研究用冗余分析 (RDA) 表征微生物群落和土壤化学性质之间的关系, 发现 RDA 前两轴共能解



样品序列信息包括:序列号(加粗)和识别的 *HhaI* 酶切片长度

图3 基于 AOA-*amoA* 基因序列构建的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree of AOA-*amoA* sequences

释 52.55% 的 AOA 群落组成变化,其中含水量、总氮(TN)和总碳(TC)是影响 AOA-*amoA* 群落结构的主要环境因子(P 为 0.001、0.001 和 0.001),见图 5(a). 对于 AOB-*amoA*,前两轴的解解释量为 24.96%,只有土壤 pH 显著影响其群落结构 [$P = 0.037$, 图 5(b)].

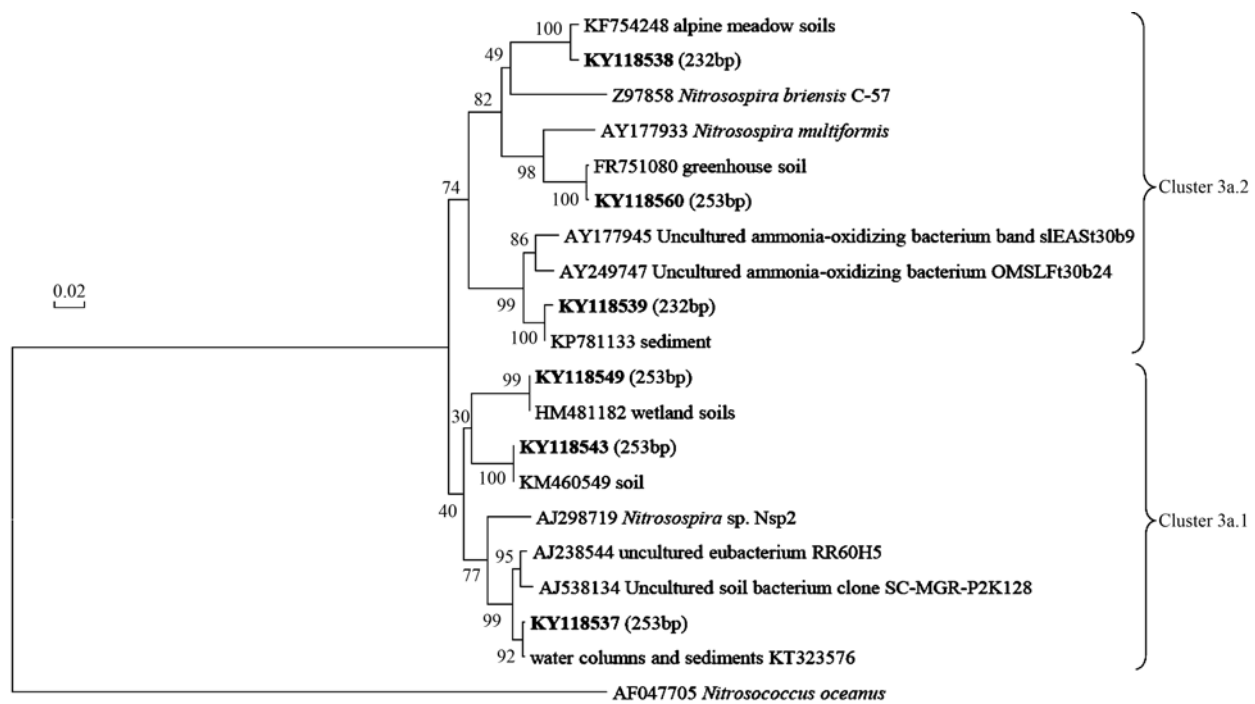
根据结构方程模型的结果(图 6),发现增雨可以对土壤 pH 产生直接的影响,这与之前方差分析的结果相一致. 土壤含水量和硝态氮含量之间呈显著正相关. AOA-*amoA* 基因的 α 和 β 多样性明显与土壤含水量和 pH 显著相关. 对于 AOB-*amoA* 基因,

β 多样性被增温增雨直接影响,同时发现与铵态氮含量显著相关. 另外,检测到地上植物的 α 多样性与 AOA-*amoA* 的 α 多样性和土壤含水量显著相关,而 β 多样性则与 AOA-*amoA* 和 AOB-*amoA* 基因的 β 多样性显著相关,预示着气候变化主要通过影响微生物的多样性间接对植物多样性产生影响.

3 讨论

3.1 增温增雨对氨氧化微生物群落的影响

研究表明,水分是影响半干旱温带草原生态系统最重要的因素,增加降水显著提高了土壤的含水



样品序列信息包括：序列号（加粗）和识别的 *Msp* I 酶切片段长度

图 4 基于 AOB-*amoA* 基因序列构建的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree of AOB-*amoA* sequences

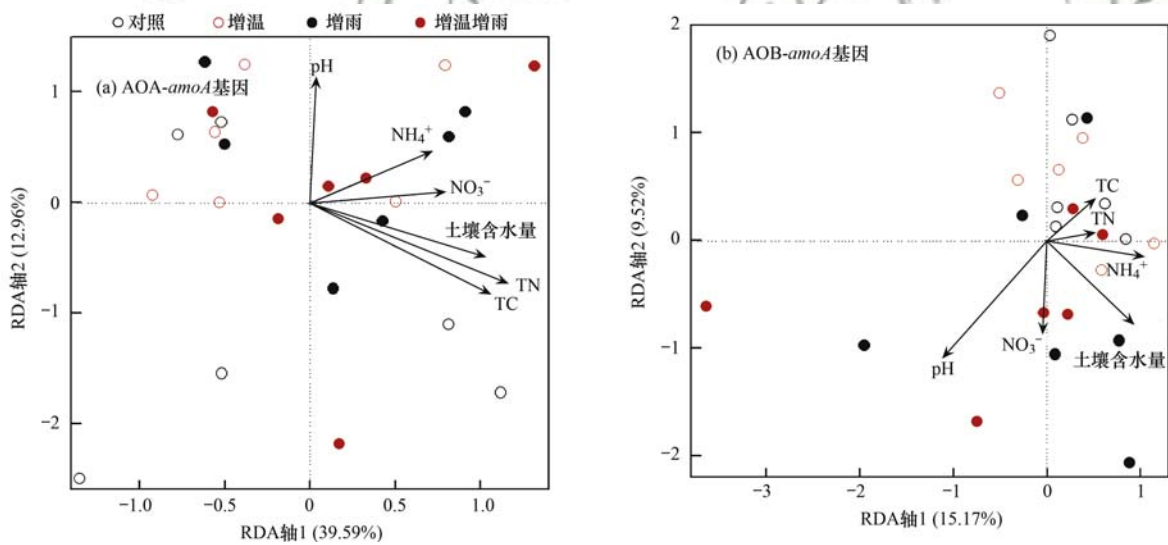
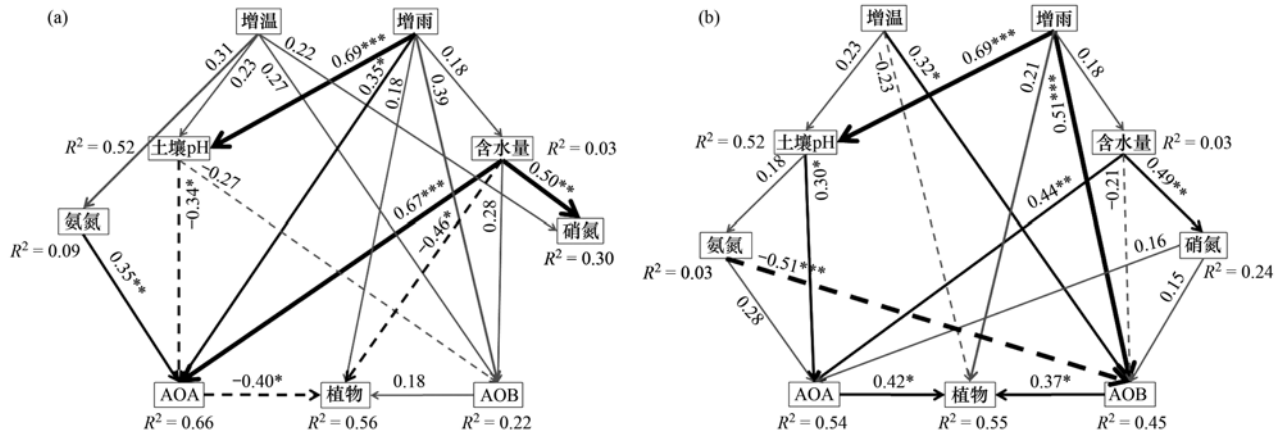


图 5 AOA-*amoA* 基因、AOB-*amoA* 基因的群落组成和环境变量的冗余分析

Fig. 5 Biplot of redundancy analysis (RDA) of the relationships between soil properties and communities structure of AOA-*amoA* gene and AOB-*amoA* gene

量和 pH,这与之前的研究结果一致^[2, 5]. 虽然增雨对各基因丰度的影响都不显著,但对微生物的群落结构有显著的影响. 结构方程模型显示,增雨与 AOA-*amoA* 基因的 α 多样性有直接的正相关关系,同时 AOA-*amoA* 基因的 α 多样性与土壤含水量呈显著的正相关,表明增雨可以通过增加土壤含水量促进 AOA 的多样性. RDA 显示 AOA-*amoA* 的群落结构与土壤含水量、TN 和 TC 显著相关,表明这些土

壤性质是影响 AOA-*amoA* 群落最重要的因素^[24]. 笔者发现增雨可以直接影响 AOB-*amoA* 基因的群落结构,这与先前的研究结果一致^[9]. 潜在的机制可能有两种,一是增雨改变了土壤含水量,因为 AOB 属于革兰氏阳性菌,对水分变化更为敏感^[25];另一个可能原因是增雨升高了土壤 pH,从而影响氨氧化微生物的群落结构. RDA 结果显示 AOB-*amoA* 群落结构受到土壤 pH 的显著影响,暗示着增雨通过改



(a) α 多样性 (Shannon 指数) 和 (b) β 多样性 (主坐标分析第一轴) 多样性; 箭头上的数字代表路径系数, 星号表示显著性水平: * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$ 和 *** 表示 $P < 0.001$; 灰色箭头代表不显著, 箭头宽度代表相关性的程度; R^2 表示解释量; 模型的显著性检验结果: (a) $\chi^2 = 11.433$; $P = 0.833$; AIC = 67.433; GFI = 0.909; RMSEA = 0.000; (b) $\chi^2 = 12.652$; $P = 0.759$; AIC = 68.652; GFI = 0.893; RMSEA = 0.000

图 6 结构方程模型表征气候变化对氨氧化微生物及植物的 α (Shannon 指数) 和 β (主坐标分析第一轴) 多样性的直接和间接影响

Fig. 6 Structural equation models (SEM) reveal the direct and indirect effects of climate change on α (Shannon index) and β (first principal coordinate) diversity of ammonia oxidizers and plants

变 pH 间接影响微生物群落^[8]。

增温显著降低了土壤呼吸, 增雨减缓了增温对土壤呼吸的抑制作用。推测可能的解释是增雨增加了土壤含水量, 缓解由于增温导致的土壤干旱, 土壤呼吸与含水量呈正相关^[26]。土壤呼吸降低的另一种可能原因是增温改变了微生物的群落结构^[25]。之前也有研究发现土壤温度增加会升高 α 变形菌门和酸杆菌门的相对丰度之比, 从而刺激土壤呼吸^[27]。结论存在差异的原因可能是微生物对气候变化的响应随不同生长季节和不同的采样点而有差异^[28, 29]。另外, 本研究发现 AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因丰度之比随着温度升高而显著增加, 增温导致了 AOA-*amoA* 基因丰度更具优势。可能的原因在于 AOA 比 AOB 更能适应升温的环境, 温度增长条件下 AOB 的丰度会下降^[30]。和我们的假设相反, 增温增雨对氨氧化微生物的群落结构没有显著的交互作用。

3.2 气候变化对植物多样性的直接和间接的影响

在半干旱温带草原, 地上植物多样性主要受水分可利用性限制^[10]。根据 SEM 结果, 增雨可以通过改变含水量进而间接降低植物的 α 多样性, 增加 AOA 的 α 多样性, 可能的原因是植物和微生物之间存在对营养物质的竞争关系^[31]。而增温和增雨可以通过影响 AOA 和 AOB-*amoA* 的群落结构来间接影响植物的 β 多样性, 表明微生物群落结构的变化可以解释植物对气候变化的响应。之前的研究也显示, 微生物和植物多样性之间存在关联, 微生物对气

候变化的响应可以间接地影响植物多样性^[32]。地上和地下生物可能通过植物凋落物的分解相联系, 而土壤微生物的群落结构可以介导有机质的矿化, 驱动土壤生态系统功能和地上生物量的变化^[33]。此外, 根据 SEM 模型的结果, 植物多样性变化的解释量只有 56% 和 53%, 表明还有很多未知的机制没有包含在模型中, 下一步的模型构建中需要纳入更多的环境因素和不同采样时间的调查数据。

4 结论

水分的可用性可能是影响半干旱温带草原中氨氧化微生物多样性最重要的因素。增雨可以直接影响 AOA-*amoA* 的 α 多样性, 还可通过改变土壤 pH 而间接影响 AOB-*amoA* 的群落结构。但增温和增雨对氨氧化微生物的群落结构没有显著的交互作用。同时, 长期增温对土壤呼吸的负面影响, 预示着长期的全球气候变暖可能会抑制温室气体 CO_2 的排放。SEM 模型显示氨氧化微生物与植物多样性之间存在着一定的相关关系, 表明在半干旱草原生态系统中微生物在调节植物多样性对气候变化的响应中发挥了一定的作用, 为进一步深入探讨气候变化-微生物-植物之间的关系提供了依据。

参考文献:

- [1] IPCC. Climate change 2013-the physical science basis; working group I contribution to the fifth assessment report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [M]. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 2013.
- [2] Bai W M, Wan S Q, Niu S L, et al. Increased temperature and

- precipitation interact to affect root production, mortality, and turnover in a temperate steppe: implications for ecosystem C cycling[J]. *Global Change Biology*, 2010, **16**(4): 1306-1316.
- [3] 沈菊培, 贺纪正. 微生物介导的碳氮循环过程对全球气候变化的响应[J]. *生态学报*, 2011, **31**(11): 2957-2967.
- Shen J P, He J Z. Responses of microbes-mediated carbon and nitrogen cycles to global climate change[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, **31**(11): 2957-2967.
- [4] 孙良杰, 齐玉春, 董云社, 等. 全球变化对草地土壤微生物群落多样性的影响研究进展[J]. *地理科学进展*, 2012, **31**(12): 1715-1723.
- Sun L J, Qi Y C, Dong Y S, *et al.* Research progresses on the effects of global change on microbial community diversity of grassland soils[J]. *Progress in Geography*, 2012, **31**(12): 1715-1723.
- [5] Niu S L, Wu M Y, Han Y, *et al.* Water-mediated responses of ecosystem carbon fluxes to climatic change in a temperate steppe[J]. *New Phytologist*, 2008, **177**(1): 209-219.
- [6] Wu Z T, Dijkstra P, Koch G W, *et al.* Responses of terrestrial ecosystems to temperature and precipitation change: a meta-analysis of experimental manipulation[J]. *Global Change Biology*, 2011, **17**(2): 927-942.
- [7] Chen S P, Lin G H, Huang J H, *et al.* Responses of soil respiration to simulated precipitation pulses in semiarid steppe under different grazing regimes[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2008, **1**(4): 237-246.
- [8] Zhang X M, Wei H W, Chen Q S, *et al.* The counteractive effects of nitrogen addition and watering on soil bacterial communities in a steppe ecosystem[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, **72**: 26-34.
- [9] Chen Y L, Xu Z W, Hu H W, *et al.* Responses of ammonia-oxidizing bacteria and archaea to nitrogen fertilization and precipitation increment in a typical temperate steppe in Inner Mongolia[J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, **68**: 36-45.
- [10] Yang H J, Wu M Y, Liu W X, *et al.* Community structure and composition in response to climate change in a temperate steppe[J]. *Global Change Biology*, 2011, **17**(1): 452-465.
- [11] 张乃莉, 郭继勋, 王晓宇, 等. 土壤微生物对气候变暖和大气 N 沉降的响应[J]. *植物生态学报*, 2007, **31**(2): 252-261.
- Zhang N L, Guo J X, Wang X Y, *et al.* Soil microbial feedbacks to climate warming and atmospheric N deposition[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2007, **31**(2): 252-261.
- [12] Zhang W, Parker K, Luo Y, *et al.* Soil microbial responses to experimental warming and clipping in a tallgrass prairie[J]. *Global Change Biology*, 2005, **11**(2): 266-277.
- [13] Xiong J B, Sun H B, Peng F, *et al.* Characterizing changes in soil bacterial community structure in response to short-term warming[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, **89**(2): 281-292.
- [14] Wu Y C, Ke X B, Hernández M, *et al.* Autotrophic growth of bacterial and archaeal ammonia oxidizers in freshwater sediment microcosms incubated at different temperatures[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, **79**(9): 3076-3084.
- [15] Zhang N L, Liu W X, Yang H J, *et al.* Soil microbial responses to warming and increased precipitation and their implications for ecosystem C cycling[J]. *Oecologia*, 2013, **173**(3): 1125-1142.
- [16] Wang C H, Wan S Q, Xing X R, *et al.* Temperature and soil moisture interactively affected soil net N mineralization in temperate grassland in Northern China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, **38**(5): 1101-1110.
- [17] van der Putten W H, Bardgett R D, Bever J D, *et al.* Plant-soil feedbacks: the past, the present and future challenges[J]. *Journal of Ecology*, 2013, **101**(2): 265-276.
- [18] 张翠景, 贺纪正, 沈菊培. 全球变化野外控制试验及其在土壤微生物生态学研究中的应用[J]. *应用生态学报*, 2016, **27**(5): 1663-1673.
- Zhang C J, He J Z, Shen J P. Global change field manipulative experiments and their applications in soil microbial ecology[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2016, **27**(5): 1663-1673.
- [19] Zhou X Q, Chen C R, Wang Y F, *et al.* Warming and increased precipitation have differential effects on soil extracellular enzyme activities in a temperate grassland[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, **444**: 552-558.
- [20] Kemnitz D, Kolb S, Conrad R. Phenotypic characterization of rice cluster III archaea without prior isolation by applying quantitative polymerase chain reaction to an enrichment culture[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, **7**(4): 553-565.
- [21] Suzuki M T, Taylor L T, DeLong E F. Quantitative analysis of small-subunit rRNA genes in mixed microbial populations via 5'-nuclease assays[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, **66**(11): 4605-4614.
- [22] Tournier M, Freitag T E, Nicol G W, *et al.* Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(5): 1357-1364.
- [23] Rothauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(2): 4704-4712.
- [24] 刘若萱, 贺纪正, 张丽梅. 稻田土壤不同水分条件下硝化/反硝化作用及其功能微生物的变化特征[J]. *环境科学*, 2014, **35**(11): 4275-4283.
- Liu R X, He J Z, Zhang L M. Response of nitrification/denitrification and their associated microbes to soil moisture change in paddy soil[J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(11): 4275-4283.
- [25] Hu H W, Macdonald C A, Trivedi P, *et al.* Water addition regulates the metabolic activity of ammonia oxidizers responding to environmental perturbations in dry subhumid ecosystems[J]. *Environmental Microbiology*, 2015, **17**(2): 444-461.
- [26] Liu W X, Zhang Z, Wan S Q. Predominant role of water in regulating soil and microbial respiration and their responses to climate change in a semiarid grassland[J]. *Global Change Biology*, 2009, **15**(1): 184-195.
- [27] Yergeau E, Bokhorst S, Kang S, *et al.* Shifts in soil microorganisms in response to warming are consistent across a range of Antarctic environments[J]. *The ISME Journal*, 2012, **6**(3): 692-702.
- [28] Luo Y Q, Wan S Q, Hui D F, *et al.* Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie[J]. *Nature*, 2001, **413**(6856): 622-625.

- [29] Gutknecht J L M, Field C B, Balser T C. Microbial communities and their responses to simulated global change fluctuate greatly over multiple years[J]. *Global Change Biology*, 2012, **18**(7): 2256-2269.
- [30] Avrahami S, Bohannon B J M. Response of *Nitrosospira* sp. strain AF-Like ammonia oxidizers to changes in temperature, soil moisture content, and fertilizer concentration[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(4): 1166-1173.
- [31] Osanai Y, Tissue D T, Bange M P, *et al.* Plant-soil interactions and nutrient availability determine the impact of elevated CO₂ and temperature on cotton productivity[J]. *Plant and Soil*, 2017, **410**(1-2): 87-102.
- [32] Wang J T, Zheng Y M, Hu H W, *et al.* Coupling of soil prokaryotic diversity and plant diversity across latitudinal forest ecosystems[J]. *Scientific Reports*, 2016, **6**(1): 19561.
- [33] Delgado-Baquerizo M, Maestre F T, Reich P B, *et al.* Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems[J]. *Nature Communications*, 2016, **7**: 10541.

《环境科学》再获“百种中国杰出学术期刊”称号

2016年10月12日,中国科技论文统计结果发布会在北京举行,会议公布了“百种中国杰出学术期刊”获奖名单。《环境科学》连续15次荣获“百种中国杰出学术期刊”称号。“百种中国杰出学术期刊”是根据中国科技学术期刊综合评价指标体系进行评定。该体系利用总被引频次、影响因子、基金论文比、他引总引比等多个文献计量学指标进行统计分析,对期刊分学科进行评比,其评价结果客观公正,为我国科技界公认,并具有广泛影响。



CONTENTS

Evaluation and Development of a Weighing Chamber by Using Saturated MgCl_2 Solution	LI Xiao-xiao, ZHANG Qiang, DENG Jian-guo, <i>et al.</i> (3095)
Characteristics Research on Carbonaceous Component of Particulate Matter Emitted from Iron and Steel Industry	ZHANG Jin-sheng, WU Jian-hui, MA Xian, <i>et al.</i> (3102)
Pollution Characteristics and Source Identification of PAHs in Atmospheric $\text{PM}_{2.5}$ in Changzhou City	GU Ai-jun, LIU Jia-shu, LUO Shi-peng, <i>et al.</i> (3110)
Atmospheric Dry Deposition Fluxes and Sources of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Lanzhou Valley, Northwest China	JU Yuan-li, LIU Pan-liang, YU Zhou-suo, <i>et al.</i> (3120)
Characteristics and Sources of Elements in Atmospheric Dust Fall in Zhuzhou City, Central China	WANG Shi-hao, ZHANG Kai, CHAI Fa-he, <i>et al.</i> (3130)
Atmospheric Pollutant Emission Characteristics from the Cooking Process of Traditional Beijing Roast Duck	XU Min, HE Wan-qing, NIE Lei, <i>et al.</i> (3139)
Exhaust Emission Characteristics of Typical Alkanes from Heavy-Duty Diesel Vehicles Based on a Portable Emission Measurement System	SHI Chun-zhen, HAO Xue-wei, SHEN Xian-bao, <i>et al.</i> (3146)
PM_{10} Concentration Forecasting Model Based on Wavelet-SVM	WANG Ping, ZHANG Hong, QIN Zuo-dong, <i>et al.</i> (3153)
Emission Factors and Preliminary Emission Estimates of Air Pollutants from Ships at Berth in the Guangzhou Port	HUANG Xue-liang, ZHANG Zhou, YANG Wei-qiang, <i>et al.</i> (3162)
Influence of Dust Events on the Concentration and Size Distribution of Microorganisms in Bioaerosols	LI Hong-tao, Qi Jian-hua, DONG Li-jie, <i>et al.</i> (3169)
Odor Emission Characteristics and Pollution Evaluation from Typical Household Rubbish Disposal Facilities	LU Hui-jie (3178)
Perfluorinated Compounds in Snow from Downtown Hangzhou, China	ZHANG Ming, TANG Fang-liang, YU Ya-yun, <i>et al.</i> (3185)
Fluorescence Characterization of Fractionated Colloids in Wastewaters Received by Huangpu River	NIE Ming-hua, YAN Cai-xia, YANG Yi, <i>et al.</i> (3192)
Sources of Organic Carbon in the Surface Water of Lijiang River	ZHAO Hai-juan, XIAO Qiong, WU Xia, <i>et al.</i> (3200)
Impacts of Thermal Stratification on the Hydrochemistry and Dissolved Inorganic Carbon in a Typical Karst Reservoir in Summer	WU Fei-hong, PU Jun-bing, LI Jian-hong, <i>et al.</i> (3209)
Comparison of Heavy Metal Contamination Characteristics in Surface Water in Different Functional Areas; A Case Study of Ningbo	XU Mei-juan, TONG Gui-hua, SUN Dan, <i>et al.</i> (3218)
Comparison of Identification Methods of Main Component Hydrochemical Anomalies in Groundwater; A Case Study of Liujiang Basin	ZHANG Xiao-wen, HE Jiang-tao, PENG Cong, <i>et al.</i> (3225)
Biotic and Abiotic Uptake of Phosphorus in Benthic Sediments of Suburban Streams Under Intense Human Disturbance Scenario	LI Ru-zhong, YE Zhou, GAO Su-di, <i>et al.</i> (3235)
Sedimentary Phosphorus Speciation in the Coastal Hypoxic Area of Changjiang Estuary and Its Environmental Significance	LIU Jun, ZANG Jia-ye, RAN Xiang-bin, <i>et al.</i> (3243)
Characteristics and the Relationship of Nitrogen and Phosphorus in Soil and Water of Different Land Use Types of a Small Watershed in the Three Gorges Reservoir Area	CHEN Cheng-long, GAO Ming, MU Zhi-jian, <i>et al.</i> (3254)
Characteristics of Carbon Transportation Under Rainfall Events and Associated Carbon Loss Evaluation in Loess Plateau, China; A Case Study of Yangjuangou Dam Watershed	E Xin-hui, WANG Ya-feng, GAO Yang, <i>et al.</i> (3264)
New Bromated Phenolic Disinfection Byproducts: Mechanism of Their Decomposition During Chlorination	LI Huan, LI Zheng-kui, LI Ai-min, <i>et al.</i> (3273)
Effects of Algal Morphology and Al Species Distribution on the Coagulation-Ultrafiltration Process	ZHANG Da-wei, XU Hui, WANG Xi, <i>et al.</i> (3281)
Functional Group Characteristics of Planktonic Diatoms and Their Relationship with Environmental Factors in the Ruxi River	XIANG Rong, LI Qiao-yu, YU Yi, <i>et al.</i> (3290)
Spatiotemporal Variations of Chlorophyll <i>a</i> and Its Relationship to Environmental Factors in Shiyan Reservoir	SONG Yun-long, ZHANG Jin-song, Guo Xiao-ya, <i>et al.</i> (3302)
Rhizosphere Microbial Diversity in Different Wetland Microcosms	WANG Lin, LI Bing, YU Jia-hui, <i>et al.</i> (3312)
Community Structure of Microorganisms and Its Seasonal Variation in Beihai Lake	ZHANG Ya-jie, LI Ke, ZHU Hao-ran, <i>et al.</i> (3319)
Analysis of Microbial Diversity in a Fluidized-Sand Biofilter Based on High-Throughput Sequencing Technology	ZHANG Hai-geng, SONG Hong-qiao, GU Chuan-chuan, <i>et al.</i> (3330)
Analysis of High-efficiency Denitrifying Bacteria and Embedding Filler Performance and Microflora	MENG Ting, YANG Hong (3339)
Selection of Microalgae for Biofuel Using Municipal Wastewater as a Resource	HAN Song-fang, JIN Wen-biao, TU Ren-jie, <i>et al.</i> (3347)
Purification Effect of Piggery Wastewater with <i>Chlorella pyrenoidosa</i> by Immobilized Biofilm-Attached Culture	WANG Yuan-zhu, CHENG Peng-fei, LIU De-fu, <i>et al.</i> (3354)
Combination of Microbubble Catalytic Ozonation and Biological Process for Advanced Treatment of Biotreated Coal Chemical Wastewater	LIU Chun, ZHOU Hong-zheng, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (3362)
Effect of pH Shock on Nitrogen Removal Performance of Marine Anaerobic Ammonium-Oxidizing Bacteria Treating Saline Wastewater	YU De-shuang, ZHOU Tong, LI Jin, <i>et al.</i> (3369)
Removal of Nitrogen from Alcohol Wastewater by PN-ANAMMOX	ZHOU Zheng, LIN Xing, WANG Fan, <i>et al.</i> (3377)
Biorecovery of Palladium from Simulated Wastewaters and Its Catalytic Property for Methylene Blue	KANG Nai-xin, ZHU Neng-wu, GUO Wen-ying, <i>et al.</i> (3385)
Investigation of Initiation and Shock Process of ANAMMOX Based on Color Space	WANG Li-jun, LI Zhi-hua, HAN Dong, <i>et al.</i> (3393)
Fast Start-up of Shortcut Nitrification in a CSTR and an MBR	ZHANG Ting, WU Peng, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (3399)
Conversion Pathways of Substrates in Sulfate-Reducing Ammonia Oxidation System	WANYAN De-qing, HUANG Yong, BI Zhen, <i>et al.</i> (3406)
Effect of Different TOC to NH_4^+ -N Ratios on Nitrogen Removal Efficiency in the ANAMMOX Process	WANG Fan, LIU Kai, LIN Xing, <i>et al.</i> (3415)
Effects of Salinity on the Operation of EGSB Reactors and the Anaerobic Granular Sludge	TAN Xiao, HUANG Liang, YANG Ping, <i>et al.</i> (3422)
Start-up of Granule CANON Process and the Strategy for Enhancing Total Nitrogen Removal Rate	SUN Yan-fang, HAN Xiao-yu, ZHANG Shun-jun, <i>et al.</i> (3429)
Effect of Extracellular Polymeric Substance (EPS) on the Adsorption of Perfluorooctane Sulfonate (PFOS) onto Activated Sludge	LIU Xin-tong, YIN Hua, PENG Hui, <i>et al.</i> (3435)
Characteristics of N_2O and NO_x Emissions from Purple Soil Under Different Fertilization Regimes	HU Lei, LIU Yun, ZHU Bo (3442)
Effect of Plastic Film Mulching on Methane Emission from a Vegetable Field	ZHANG Kai-li, HAO Qing-ju, FENG Di, <i>et al.</i> (3451)
Responses of Soil Ammonia Oxidizers to Simulated Warming and Increased Precipitation in a Temperate Steppe of Inner Mongolia	ZHANG Cui-jing, SHEN Ju-pei, SUN Yi-fei, <i>et al.</i> (3463)
Nitrification Activity and Autotrophic Nitrifiers in Long-term Fertilized Acidic Upland Soils	XU Bai-lu, ZHONG Wen-hui, HUANG Qian-ru, <i>et al.</i> (3473)
Effects of CaCO_3 Application on Soil Microbial Nitrogen Cycle in an Acid Soil	GUO An-ning, DUAN Gui-lan, ZHAO Zhong-qiu, <i>et al.</i> (3483)
Responses of Extracellular Enzymes to Nitrogen Application in Rice of Various Ages with Rhizosphere and Bulk Soil	WEI Liang, TANG Zhen-zhu, ZHU Zhen-ke, <i>et al.</i> (3489)
Variation in the Temperature Sensitivity of Surface Litter Respiration and Its Influencing Factors	ZHANG Yan-jun (3497)
Magnetic Properties of Farmland Soils in Arid Regions in Northwest China and Their Environmental Implications	WANG Xin, XIA Dun-sheng, WANG Bo, <i>et al.</i> (3507)
Preparation of Magnetic Biomass Carbon by Thermal Decomposition of Siderite Driven by Wheat Straw and Its Adsorption on Cadmium	ZHANG Ru-yu, LIU Hai-bo, ZOU Xue-hua, <i>et al.</i> (3519)
Effects of Traffic-related Air Pollution Exposure on DNA Methylation	WANG Ting, DING Rui, HUANG Dan-ni, <i>et al.</i> (3529)
Effects of Exogenous Microorganism Inoculation on Efficiency and Bacterial Community Structure of Sludge Composting	YANG Ping-ping, YIN Hua, PENG Hui, <i>et al.</i> (3536)
Life Cycle Assessment of Traction Lead-acid Batteries for Electric Bikes in China	LIU Wei, TIAN Jin-ping, CHEN Lü-jun (3544)