

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

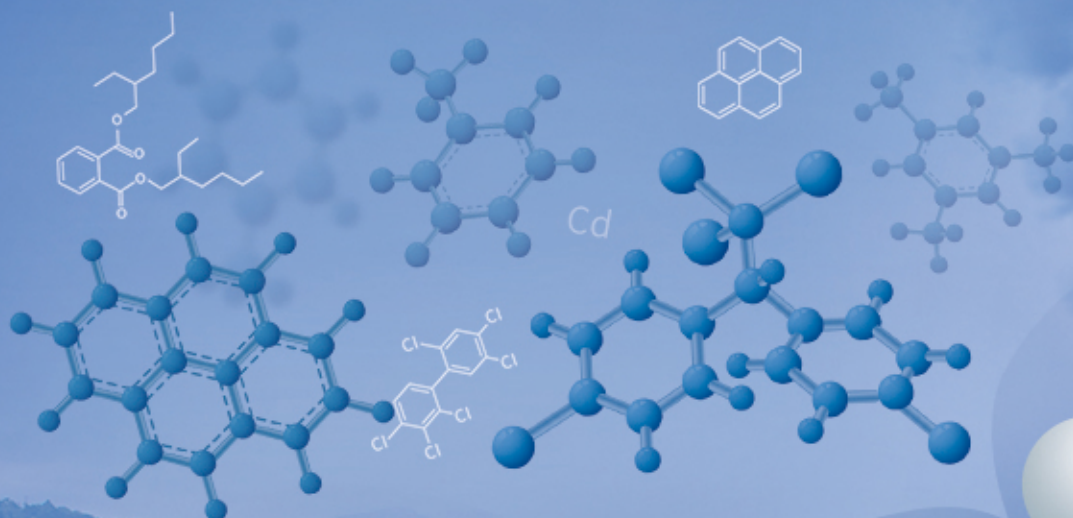
环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

升金湖水体优先污染物筛选与风险评价

龚雄虎, 丁琪琪, 金苗, 薛滨, 张路, 姚书春, 王兆德, 卢少勇, 赵中华



PAHs

VOCs

HMs

PCBs

PAEs

OCPs

ANTs

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2021年10月

第42卷 第10期
Vol.42 No.10

目次

PM _{2.5} 化学组分连续观测在污染事件源解析中的应用	蔡凡涛, 尚玥, 戴维, 谢鸣捷 (4575)
汾渭平原 PM _{2.5} 空间分布的地形效应	黄小刚, 赵景波, 孙从建, 汤慧玲, 梁旭琦 (4582)
华中地区冬季灰霾天气下 PM _{2.5} 中重金属污染特征及健康风险评价: 以湖北黄冈为例	李星谕, 毛瑶, 陈展乐, 刘威杰, 程铖, 石明明, 许安, 苏业旺, 胡天鹏, 祁士华, 邢新丽 (4593)
华北区域大气中羰基化合物体积分数水平及化学反应活性	黄禹, 陈曦, 王迎红, 刘子锐, 唐贵谦, 李杏茹 (4602)
成都市春季 O ₃ 污染特征及关键前体物识别	韩丽, 陈军辉, 姜涛, 徐晨曦, 李英杰, 王成辉, 王波, 钱骏, 刘政 (4611)
基于边界观测的长三角某工业区 O ₃ 来源特征	黄晴, 黄银芝, 张珊, 金丹, 高松, 修光利 (4621)
廊坊开发区 8~9 月 O ₃ 污染过程 VOCs 污染特征及来源分析	张敬巧, 王宏亮, 方小云, 刘锐泽, 丁文文, 凌德印, 王淑兰 (4632)
广东省家具行业基于涂料类型的 VOCs 排放特征及其环境影响	曾春玲, 邵霞, 刘锐源, 姚懿娟, 李银松, 侯墨, 刘洋, 范丽雅, 叶代启 (4641)
厦门湾空气质量对新冠疫情管控的响应	徐超, 吴水平, 刘怡靖, 钟雪芬 (4650)
北京平原和延庆地区山谷风异同及对污染的影响	吴进, 李琛, 马志强, 孙兆彬, 韩婷婷, 邱雨露, 马小会, 李颖若, 朱晓娟 (4660)
两湖盆地冬季区域大气颗粒物污染特征及独特的风场和下垫面影响	朱燕, 赵天良, 白永清, 徐家平, 孙晓芸, 胡未央, 常嘉成, 杨婕, 朱从祯 (4669)
燃煤电厂颗粒物中硫酸根与硝酸根离子的转化规律	杨柳, 何晴, 盛重义 (4678)
长江流域主要干/支流化学特征及外源酸的影响	王琪, 于爽, 蒋萍萍, 孙平安 (4687)
土地利用对太湖入湖河道营养盐的影响	连心桥, 朱广伟, 杨文斌, 康丽娟, 朱梦圆, 许海 (4698)
基于 eDNA 技术的渭河浮游动物多样性及关键种生态位特征	梁东, 夏军, 宋进喜, 常剑波, 吴琼, 程丹东, 张怡恒, 孔飞鹤, 任源鑫 (4708)
三亚市水体中 PPCPs 的污染水平、分布特征及生态风险评价	任丙南, 耿静 (4717)
升金湖水体优先污染物筛选与风险评价	龚雄虎, 丁琪琪, 金苗, 薛滨, 张路, 姚书春, 王兆德, 卢少勇, 赵中华 (4727)
天目湖沙河水库水生态安全状况长期变化及影响因素	杨文斌, 段文秀, 崔扬, 朱广伟, 吴天浩, 许海, 朱梦圆 (4739)
华中地区供水水库抗生素抗性基因的季节变化及影响因素	张凯, 辛蕊, 李观家, 王倩, 王亚南, 许智恒, 崔向超, 魏巍 (4753)
快速城镇化进程中珠江三角洲硝酸型地下水赋存特征及驱动因素	吕晓立, 刘景涛, 韩占涛, 朱亮, 张玉玺 (4761)
盐城地区地表水化学空间特征及控制因素分析	王建, 张华兵, 许君利, 彭俊 (4772)
基于沉积物中总氮和总磷垂向分布与吸附解吸特征的白洋淀清淤深度	周亚婷, 陈兴宏, 李立青, 张伟军, 张美一, 王东升, 王洪杰 (4781)
硼酸和磷酸对 PMS/Co ²⁺ 均相催化氧化有机物的影响因素与机制	万琪琪, 陈铸昊, 曹瑞华, 王静怡, 文刚 (4789)
磁性生物炭负载 α-MnO ₂ 活化过一硫酸盐降解 2,2',4,4'-四溴联苯醚	李鑫, 尹华, 罗昊昱, 欧阳晓芳, 刘航, 祝铭韩 (4798)
紫外活化过硫酸钠灭活水中噬菌体 MS2 的特性及机制	张崇森, 杨昊明, 王真 (4807)
铈改性水葫芦生物炭对磷酸盐的吸附特性	王光泽, 曾薇, 李帅帅 (4815)
低温地下水净化工艺中氨氮去除性能及机制	李冬, 刘孟浩, 张瑞苗, 曾辉平, 张杰 (4826)
我国城市污泥中重金属的赋存形态与生态风险评价	耿源濂, 张传兵, 张勇, 黄豆豆, 闫姝晓, 孙腾飞, 程柳, 王静, 毛宇翔 (4834)
不同气候类型下污水厂活性污泥中微生物群落比较	杨思航, 秦泽生, 梁漫春 (4844)
部分亚硝化-厌氧氨氧化协同反硝化处理生活污水脱氮除碳	秦彦荣, 袁忠玲, 张明, 张民安, 刘安迪, 付雪, 马娟, 陈永志 (4853)
同步短程硝化-厌氧氨氧化-短程反硝化颗粒污泥培育过程及其性能	周峰, 刘勇弟, 厉巍 (4864)
多种微塑料提取方法在中国典型土壤中的应用	赵小丽, 刘子涵, 从辰宇, 韩剑桥 (4872)
柴达木盆地表土重金属污染与来源分析	陈亮, 张西营, 唐启亮, 耿盛, 王二龙, 李姜瑶 (4880)
快速城市化区域不同用地类型土壤重金属含量分布特征及生态风险	李梦婷, 沈城, 吴健, 黄沈发, 李大雁, 王敏 (4889)
广西都安县典型水田土壤地球化学特征及影响因素	刘飞, 杨柯, 徐仁廷, 唐世琪 (4897)
炭化苹果枝通过减少土壤 DTPA-Cd 降低苹果砷木镉积累和镉伤害	邓波, 荀咪, 张玮玮, 杨洪强 (4908)
海南省集约化种植园中谷物、蔬菜和水果中重金属累积程度及健康风险	杨剑洲, 王振亮, 高健翁, 严慧, 胡树起, 唐世新, 龚晶晶 (4916)
环境中抗生素抗性基因丰度与抗生素和重金属含量的相关性分析: 基于 Web of Science 数据库检索	苗荪, 陈磊, 左剑恶 (4925)
银川市农田土壤中四环素类抗生素的污染特征及生态风险评估	张小红, 陶红, 王亚娟, 马志义, 周泽英 (4933)
施用不同来源粪肥对土壤中抗生素淋溶的影响	李斌绪, 朱昌雄, 宋婷婷, 马金莲, 张治国, 李红娜 (4942)
我国典型森林土壤微生物驱动的氮代谢途径特征解析	吕雪丽, 赵永鹏, 林清火, 彭显龙, 尹云锋, 蒋先军 (4951)
青藏高原高寒湿地春夏两季根际与非根际土壤反硝化速率及 nirS 型反硝化细菌群落特征分析	李玉倩, 马俊伟, 高超, 霍守亮, 夏星辉 (4959)
松嫩平原芦苇湿地退化与修复过程中土壤细菌和甲烷代谢微生物的群落结构	王秋颖, 王娜, 刘颖, 陈功, 何辉, 高婕, 庄绪亮, 庄国强 (4968)
不同轮作休耕下潮土细菌群落结构特征	南镇武, 刘柱, 代红翠, 张磊, 王娜, 徐杰, 刘开昌, 孟维伟, 王旭清 (4977)
稻田土壤光合细菌群落对镉污染的响应	罗路云, 金德才, 王殿东, 陈昂, 张德咏, 曾军, 匡炜, 张卓, 刘勇 (4988)
铁尾矿芦苇根际微生物和根内生菌群落分布及其限制性因子解析	曹曼曼, 王飞, 周北海, 陈辉伦, 袁蓉芳 (4998)
有机无机氮配施对不同程度盐渍土硝化和反硝化作用的影响	周慧, 史海滨, 张文聪, 王维刚, 苏永德, 闫妍 (5010)
水稻产量、稻田 CH ₄ 和 N ₂ O 排放对长期大气 CO ₂ 浓度升高的响应	于海洋, 宋开付, 黄琼, 王天宇, 张广斌, 马静, 朱春梧, 徐华 (5021)
原料和热解温度对生物炭中可溶性有机质的影响	闫代红, 马亚培, 宋凯悦, 马红亮, 高人, 尹云锋 (5030)
中国 84 个主要城市大气热岛效应的时空变化特征及影响因素	李宇, 周德成, 闫章美 (5037)
室内建筑装饰装修材料气味物质及其释放研究进展	张万众, 张彭义 (5046)
《环境科学》征订启事 (4814) 《环境科学》征稿简则 (4871) 信息 (4907, 5009, 5029)	

青藏高原高寒湿地春夏两季根际与非根际土壤反硝化速率及 *nirS* 型反硝化细菌群落特征分析

李玉倩¹, 马俊伟^{1*}, 高超¹, 霍守亮², 夏星辉¹

(1. 北京师范大学环境学院, 北京 100875; 2. 中国环境科学研究院环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京 100012)

摘要: 反硝化是生态系统氮循环的关键过程。目前对于生态系统氮排放及反硝化细菌群落的研究大多基于人为影响显著的环境, 对于人为干扰较低的自然生态系统的研究较少。本研究选取青藏高原黄河源区不同海拔(唐克、久治、玛多和达日)不同季节(春季和夏季)的高寒湿地植物根际与非根际土壤作为研究对象, 采用¹⁵N同位素标记法测定反硝化速率, 高通量测序技术测定 *nirS* 反硝化细菌群落组成及相对丰度, 并探究环境因子(气温、海拔)和土壤理化性质(pH、土壤有机碳、铵态氮、硝态氮和亚硝态氮)对 *nirS* 型反硝化细菌群落的影响。结果表明, 高寒湿地土壤反硝化速率范围为 0.80 ~ 14.98 nmol·(g·h)⁻¹, 对总 N₂ 释放的贡献率为 11.23% ~ 71.16%。唐克、久治和达日的土壤样品, 均呈现出根际土壤反硝化速率高于非根际的趋势($P < 0.05$)。Proteobacteria 是青藏高原高寒湿地植物根际和非根际土壤中主要的反硝化细菌门; 在属水平上, 各土壤样本中相对丰度最高的是一种未分类的变形杆菌(unclassified Proteobacteria, 2.86% ~ 29.41%), 这表明主导青藏高原高寒湿地反硝化作用的可能有一些独特的未被鉴定的反硝化菌属, 相对丰度其次为假单胞菌属(*Pseudomonas*, 2.45% ~ 26.52%)和贪铜菌属(*Cupriavidus*, 0% ~ 34.14%)。基于距离的冗余分析结果表明, 高寒湿地的反硝化细菌群落结构主要受到海拔、pH、NO₂⁻ 含量影响($P < 0.05$); 相关分析表明反硝化速率和 Shannon 指数与 pH 呈显著负相关($P < 0.05$), 且主要反硝化菌相对丰度受到温度和 pH 的影响。本研究结果可为进一步了解青藏高原高寒湿地这一特殊生境中的氮循环提供参考依据。

关键词: 高寒湿地; 根际; 反硝化; *nirS*; 群落结构; 环境因子; 冗余分析

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)10-4959-09 DOI: 10.13227/j.hjkk.202101258

Denitrification Rates and *nirS*-type Denitrifying Bacteria Community Structure Characteristics of Bulk and Rhizosphere Soil in Spring and Summer in the Alpine Wetlands of the Qinghai-Tibet Plateau

LI Yu-qian¹, MA Jun-wei^{1*}, GAO Chao¹, HUO Shou-liang², XIA Xing-hui¹

(1. School of Environment, Beijing Normal University, Beijing 100875, China; 2. State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China)

Abstract: Denitrification is a key process in the nitrogen cycle of ecosystems. Most existing studies of nitrogen emissions and denitrifying bacterial communities are carried out in ecosystems with significant human interference, yet few focus in natural ecosystems with low human disturbance. Here, the denitrification rates and characteristics of *nirS*-type denitrifying bacterial communities in rhizosphere and bulk soils from alpine wetland plants at different altitudes (Tangke, Jiuzhi, Maduo, and Dari) and seasons (spring and summer) in the Yellow River source region of the Qinghai-Tibet Plateau were investigated. The ¹⁵N isotope tracer technique was used to estimate the denitrification rates, and high-throughput sequencing technology was used to determine the composition and relative abundance of *nirS*-type denitrifying bacterial communities. We also investigated the environmental factors (temperature and altitude) and soil physical and chemical properties (pH, soil organic carbon, ammonia, nitrate, and nitrite) controlling the denitrification and related microorganisms. The results show that the denitrification rates of alpine wetland soils ranged from 0.80 to 14.98 nmol·(g·h)⁻¹, and the contribution to the total N₂ production ranged from 11.23% to 71.16%. The soil samples from Tangke, Jiuzhi, and Dari showed higher denitrification rates in rhizosphere soils than the corresponding bulk soils ($P < 0.05$). Proteobacteria was the most dominate denitrifying bacteria phylum. At the genus level, unclassified Proteobacteria (2.86% - 29.41%) showed the highest relative abundance, indicating that unique unidentified bacteria may dominate denitrification in these wetland soils. The genera with the next highest relative abundances were *Pseudomonas* (2.45% - 26.52%) and *Cupriavidus* (0% - 34.14%). Distance-based redundancy analysis showed that the community structure of the *nirS*-type denitrifying bacteria was mainly affected by altitude, pH, and nitrite concentrations; Pearson correlation analysis showed that denitrification rates and the Shannon index are significantly negatively correlated with soil pH ($P < 0.05$), and the relative abundance of the main denitrifying bacterial genera were influenced by temperature and soil pH ($P < 0.05$). This study provides valuable insights for understanding the nitrogen cycle in the unique alpine wetlands of the Qinghai-Tibet Plateau.

Key words: alpine wetland; rhizosphere; denitrification; *nirS*; community structure; environmental factor; redundancy analysis

氮是生态系统重要的营养元素, 为生命体生长提供必不可少的物质和能量。由于人类活动的干扰, 全球氮循环失衡, 引发了温室气体排放、水体富营养化和土壤酸化等一系列环境问题^[1]。反硝化作为氮循环的关键过程, 是一个兼性厌氧的微生物过程, 通过氧化中间体将 NO₃⁻ 或 NO₂⁻ 还原成 N₂ 或

N₂O^[2,3]。其中, 亚硝酸盐还原酶(nitrite reductase,

收稿日期: 2021-01-27; 修订日期: 2021-03-21

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFA0605003); 国家自然科学基金项目(52039001)

作者简介: 李玉倩(1992~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为固体废物处理与资源化和土壤生态学, E-mail: liyuqian_liyq@163.com

* 通信作者, E-mail: jwma@bnu.edu.cn

Nir)具有催化 NO₂⁻ 还原的能力,是限制土壤反硝化过程的关键酶和限速步骤^[4,5]. Nir 有两种结构不同而功能相似的同工酶: *nirK* 基因编码的含铜亚硝酸盐还原酶和 *nirS* 基因编码的同源二聚体细胞色素 CD1 亚硝酸盐还原酶. Mosier 等^[6] 的研究发现 *nirS* 型反硝化细菌比 *nirK* 型分布更广泛,其微生物活性、多样性和丰富度也更高; Zhao 等^[7] 的研究发现 *nirS* 型反硝化细菌对土壤含氮气体排放的贡献高于 *nirK* 型. 因此, *nirS* 型反硝化细菌标记物常用来研究土壤反硝化细菌群落组成、多样性和丰度.

反硝化细菌群落与环境条件紧密相关: pH、温度、有机碳和无机氮含量等环境参数均可能影响反硝化菌群的结构与功能^[8-10]; 植物根系微环境具有丰富的根系分泌物如有机酸、氨基酸和糖类等可作为微生物的底物或对微生物产生刺激效应,同时因根系的泌氧作用形成好氧-兼氧-厌氧的氧气浓度梯度也对氮循环相关微生物的耦合产生重要影响^[2,3]. 不同的生态系统中反硝化过程的主控因素可能不同: 热带森林土壤中, NO₃⁻、微生物量碳和全氮是反硝化细菌群落的主控因子^[11]; NH₄⁺、NO₂⁻、总磷、NO₃⁻ 和溶解氧对景观水体反硝化微生物多样性影响较大^[12]; Wu 等^[3] 的研究发现沉水植物的根际有利于洪湖沉积物的氮排放. 然而,目前对于生态系统氮排放及反硝化细菌群落的研究大多数是基于人为影响显著的环境,而对于人为干扰较低的自然生态系统的研究较少. 青藏高原平均海拔在 4 000 m 以上,素有“地球第三极”之称,是地球上分布面积最大、纬度最低、海拔最高且形成时代最新的巨型地貌单元; 是长江和黄河等 10 余条河流的发源地; 拥有独特的高寒湿地生态系统,面积超过 1 × 10⁵ km²,占全国湿地面积的近 30%^[13,14]. 相比于低海拔湿地,青藏高原的高寒湿地海拔高,氧气含量低,人为影响较少,氮污染负荷较小,且拥有较为独

特的植被^[15,16]. 对于青藏高原地区氮循环相关微生物的研究, Zhang 等^[17] 的研究发现青藏高原高海拔河流沉积物的氨氧化细菌和古菌丰度随着海拔升高而降低; Zhao 等^[18] 的研究发现青藏高原旱地土壤的厌氧氨氧化菌多样性高于高寒湿地. 因此,进一步探究在青藏高原高寒湿地这一人为影响低的特殊生境下,反硝化速率以及反硝化细菌群落结构,将有助于完善人们对自然生态系统氮循环的理解.

本研究通过¹⁵N 同位素示踪技术测定青藏高原不同季节和不同海拔的高寒湿地植物根际与非根际土壤的反硝化速率及其对总脱氮的贡献; 通过高通量测序技术调查分析 *nirS* 型反硝化细菌的群落结构; 通过冗余分析和相关分析探讨反硝化细菌群落组成及反硝化速率与环境因子的关系.

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集

2017 年 5 月(春季)和 8 月(夏季)在青藏高原黄河源区不同海拔的高寒湿地: 唐克(Tangke, TK)、久治(Jiuzhi, JZ)、玛多(Maduo, MD)和达日(Dari, DR),采集植物的根际和非根际土壤,各采样地位置和概况如图 1 和表 1 所示. 根际土壤样品采样时,选择 3 棵相似大小的当地优势植物,将植株整棵连同土壤挖出(0 ~ 20 cm),用刷子刷下附着于根系表面的土壤作为根际样品,得到 3 个根际土壤样品; 采集根际土壤样品的植株附近 20 m 内,在无植被覆盖土壤采集同深度土壤作为非根际土壤,非根际土壤采集 3 个平行样品. 春季与夏季采集根际土壤的植物为相同地点的同一种植物但并非同一植株,每个季节采集 24 个土壤样品,于无菌密封袋中保存,放置于冰盒带回驻地,部分在驻地进行泥浆培养实验,部分转入 - 80℃ 保存用于后续土壤理化指标测定和分子生物学分析.

表 1 春季和夏季青藏高原黄河源区不同海拔高寒湿地采样地概况和优势植物种

Table 1 Environmental conditions and dominant plant species at the sampling sites along an altitudinal gradient and among seasons on the Qinghai-Tibet Plateau

采样地点	经纬度	海拔/m	采样月平均温度/℃	根际土壤采样的植物种类
TK	33. 48°N, 102. 48°E	3 531	4. 63 ± 2. 75 (春); 11. 10 ± 1. 80 (夏)	三裂碱毛茛(<i>Halimolobos tricuspidata</i>)
JZ	33. 63°N, 101. 41°E	3 733	5. 02 ± 2. 34 (春); 11. 91 ± 1. 72 (夏)	三裂碱毛茛(<i>Halimolobos tricuspidata</i>)
MD	34. 38°N, 98. 53°E	4 218	1. 51 ± 3. 05 (春); 9. 05 ± 1. 93 (夏)	藏蒿草(<i>Kobresia tibetica</i>)
DR	33. 54°N, 99. 89°E	4 513	3. 93 ± 2. 51 (春); 10. 91 ± 1. 76 (夏)	藏蒿草(<i>Kobresia tibetica</i>)

1.2 土壤理化性质测定

土壤样品剔除石块、植物细根等,过 2 mm 筛. 新鲜土壤用 2 mol·L⁻¹ 的 KCl 溶液浸提后,使用 AA3 流动分析仪(SEAL, Germany)测定土壤中的铵态氮(NH₃-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)和亚硝态氮(NO₂⁻-N)

含量. 土壤 pH 采用 pH 计(SevenGo Duo™ SG23, Mettler Toledo)在 1: 2. 5 质量比的土水悬浊液下测定. 室温风干的土壤样品,研磨后用 Vario EL CN 元素分析仪(Elementar, Germany)测定土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)含量.

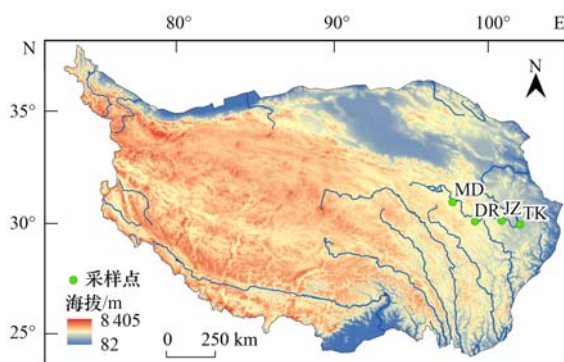


图1 青藏高原黄河源区不同海拔高寒湿地采样点示意

Fig. 1 Location of sampling sites in the alpine wetlands of the Yellow River source region on the Qinghai-Tibet Plateau

1.3 同位素示踪培养

经由 ^{15}N 同位素-泥浆培养实验测定反硝化速率,该实验在驻地进行.新鲜采集的土壤样品以1:5质量比加入去离子水,置于12 mL的小瓶(Labco, High Wycombe, Buckinghamshire, UK)中,用氦气吹扫30 min 去除氧气,用气密盖密封.小瓶在黑暗中预培养24 h 去除 NO_3^- 和 NO_2^- ,随后分为3组分别添加:① $^{15}\text{NH}_4^+$;② $^{15}\text{NH}_4^+$ 和 $^{14}\text{NO}_3^-$;③ $^{15}\text{NO}_3^-$,最终 ^{15}N 含量为 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.培养8 h后,向小瓶中注入200 μL 的饱和 ZnCl_2 溶液停止微生物活动^[19,20].用MAT253 稳定同位素质谱仪(Thermo Fisher Scientific Inc., MA, U. S.)测定 $^{28}\text{N}_2$ 、 $^{29}\text{N}_2$ 和 $^{30}\text{N}_2$ 的产生量.根据公式(1)计算反硝化速率,根据公式(2)计算厌氧氨氧化速率,公式(3)为反硝化速率产生的 N_2 对总 N_2 的贡献^[9,20]:

$$D_{\text{total}} = P_{30} \times F_{\text{N}}^{-2} \quad (1)$$

$$A_{\text{total}} = [P_{29} + 2 \times (1 - F_{\text{N}}^{-1}) \times P_{30}] / F_{\text{N}} \quad (2)$$

$$R_{\text{D}} = \frac{D_{\text{total}}}{D_{\text{total}} + A_{\text{total}}} \times 100\% \quad (3)$$

式中, D_{total} 和 A_{total} 分别为反硝化速率和厌氧氨氧化速率 $[\text{nmol}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}]$, P_{29} 和 P_{30} 分别为 $^{29}\text{N}_2$ 和 $^{30}\text{N}_2$ 的释放速率 $[\text{nmol}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}]$, F_{N} 为添加 $^{15}\text{NO}_3^-$ 组中 $^{15}\text{NO}_3^-$ 占总 NO_3^- 的百分比.

1.4 土壤微生物 DNA 提取和高通量测序

准确称量0.5 g 新鲜土壤,根据 OMEGA Soil DNA Kit 试剂盒提取总 DNA,使用 NanoDrop2000 分光光度计(Thermo Scientific, USA)检测 DNA 的浓度和纯度,保存在 -20°C 待用.采用 *nirS* 型反硝化功能基因引物对: cd3aF (5'-GTSAACGTSAAAGGACACGG-3') 和 R3cd (5'-GASTTCGGRTGSGTC TTGA-3') 进行 *nirS* 反硝化功能基因的扩增.扩增体系为20 μL : DNA 模板10 ng、5 $\times$ FastPfu 缓冲液4 μL 、dNTPs 2 μL (2.5 mmol $\cdot\text{L}^{-1}$)、FastPfu 聚合酶0.4 μL 、0.8 μL 引物(5 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)、剩余体积用双

蒸水补足.扩增程序为:95 $^\circ\text{C}$ 预变性3 min,27个循环(95 $^\circ\text{C}$ 变性30 s,55 $^\circ\text{C}$ 退火30 s,72 $^\circ\text{C}$ 延伸30 s),最后72 $^\circ\text{C}$ 延伸10 min.纯化后的 PCR 样本在 Illumina MiSeq 测序平台测序.测序得到的双端序列数据,首先根据 PE reads 之间的 overlap 关系,将成对的 reads 拼接成一条序列,同时对 reads 的质量和拼接效果进行质控,根据序列首尾两段的 barcode 和引物序列区分样品得到有效序列,并校正序列方向,即为优化数据.利用 UPARSE 按照 97% 的序列相似度聚类成 OTU,对比 GenBank 数据库,得到 OTU 的物种分类信息.序列及物种分类信息已经提交至国家微生物科学数据中心,accession 编号为 NMDCN0000JBH ~ NMDCN0000LT7.

1.5 数据分析

采用 Excel 2016 进行数据整理,OriginPro 2018 进行图形绘制与分析.使用 R 语言的“vegan”包进行基于距离的冗余分析(Distance-based redundancy analysis, db-RDA),分析环境因子对反硝化微生物群落的影响.利用 SPSS 25.0 进行 Pearson 相关分析,分析反硝化速率和贡献与环境因子的关系.

2 结果与讨论

2.1 土壤理化性质

不同季节和海拔青藏高原黄河源区高寒湿地根际与非根际土壤理化性质如表2所示.高寒湿地土壤 pH 值在7.30~8.19之间,呈弱碱性.整体来看,高寒湿地土壤 pH 值随海拔升高而升高(春季相关系数0.74, $P < 0.05$;夏季相关系数0.93, $P < 0.05$),春季土壤样品 pH 值显著高于同一地点对应的夏季土壤样品 pH ($P < 0.05$),pH 随海拔和季节的变化可能与温度有关.Ji 等^[21]曾报道青藏高原土壤 pH 与温度呈负相关关系,温度升高,土壤有机质将释放更多的 H^+ 导致 pH 降低,因此,夏季低海拔地区土壤 pH 较低.同一地点的非根际土壤 pH 值和 SOC 略高于根际土壤,原因可能是植物的根系分泌物如糖类、氨基酸和其他有机酸的释放导致根际区域 SOC 含量较高且 pH 值较低^[22,23].

整体上看,土壤中铵态氮、硝态氮和亚硝态氮的含量与海拔没有显著相关关系,而与采样月温度显著正相关(相关系数0.44, $P < 0.05$),这可能是温度更高导致的有机质矿化速率增加造成的.根际土壤的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量低于非根际土壤(达日夏季除外),根际 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量高于非根际土壤.这与吴讷等^[24]的研究结果类似.原因可能是植物对不同氮素形态的需求的差异性造成的^[25].且先前的研究表明,藏区

的牧草在生长初期更易吸收 NH_4^+ , 后期更易吸收 NO_3^- 和 NO_2^- [26], 因此, 整体上春季的 $\text{NH}_3\text{-N}$ 含量可能低于夏季, 而 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^- \text{-N}$ 含量高于夏季. 例如, 植物根系需要分泌质子交换 NH_4^+ , NH_4^+ 在生物膜上释放质子以氨的形态通过生物膜; 而 NO_3^- 通过生物膜一般采用 H^+/NO_3^- 共转运的方式 [26].

表 2 不同季节和海拔青藏高原高寒湿地根际与非根际土壤理化性质¹⁾

Table 2 Rhizosphere and bulk soil physicochemical properties of alpine wetlands along an altitudinal and gradient and among seasons on the Qinghai-Tibet Plateau

季节	采样地点	土壤类型	pH	SOC/%	$\text{NH}_3\text{-N}$ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\text{NO}_3^-\text{-N}$ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\text{NO}_2^-\text{-N}$ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
春季	TK	根际	7.68 ± 0.27	4.80 ± 1.13	4.09 ± 0.47	3.52 ± 0.28	0.292 ± 0.036
		非根际	7.73 ± 0.11	3.64 ± 0.31	8.75 ± 1.78	1.34 ± 0.26	0.189 ± 0.017
	JZ	根际	7.74 ± 0.15	5.34 ± 0.54	5.48 ± 1.38	5.73 ± 0.79	0.204 ± 0.076
		非根际	7.89 ± 0.48	4.64 ± 0.33	7.05 ± 0.87	0.55 ± 0.03	0.094 ± 0.020
	MD	根际	7.62 ± 0.09	4.29 ± 2.34	9.64 ± 2.82	0.98 ± 0.22	0.104 ± 0.056
		非根际	8.05 ± 0.07	5.88 ± 1.26	14.25 ± 3.37	0.87 ± 0.09	0.212 ± 0.046
	DR	根际	8.14 ± 0.12	5.56 ± 0.02	9.85 ± 0.86	7.63 ± 0.96	0.125 ± 0.065
		非根际	8.19 ± 0.02	3.36 ± 0.12	10.04 ± 1.78	2.50 ± 0.62	0.496 ± 0.052
	夏季	根际	7.42 ± 0.03	5.10 ± 0.14	8.18 ± 1.14	33.22 ± 2.37	0.038 ± 0.005
		非根际	7.53 ± 0.04	3.75 ± 1.77	8.83 ± 0.46	9.80 ± 1.33	0.628 ± 0.024
	JZ	根际	7.30 ± 0.92	4.39 ± 0.81	8.18 ± 0.75	18.39 ± 2.54	0.042 ± 0.002
		非根际	7.57 ± 0.05	3.81 ± 0.48	14.86 ± 1.05	0.78 ± 0.25	0.039 ± 0.005
	MD	根际	7.82 ± 1.07	4.93 ± 0.99	2.64 ± 0.62	4.46 ± 0.14	0.044 ± 0.010
		非根际	8.00 ± 0.69	4.72 ± 0.31	11.93 ± 1.21	0.17 ± 0.07	0.028 ± 0.008
	DR	根际	8.04 ± 1.53	5.39 ± 1.33	13.74 ± 3.02	0.28 ± 0.05	0.103 ± 0.036
		非根际	8.10 ± 0.45	3.65 ± 0.78	11.53 ± 1.41	0.17 ± 0.04	0.028 ± 0.002

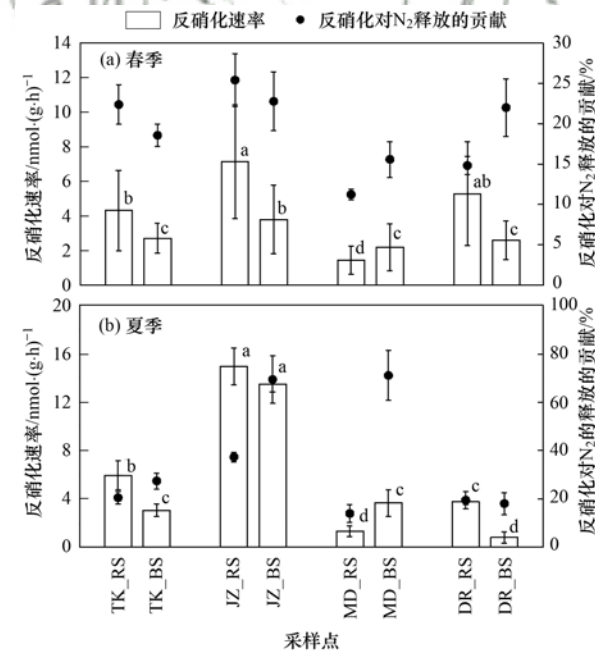
1) 表中数据表示为平均值 $\pm$ 标准偏差 ($n=3$)

2.2 反硝化速率及反硝化对总 N_2 释放量的贡献

高寒湿地土壤反硝化作用产生 N_2 的速率及其对总 N_2 释放量的贡献如图 2 所示. 春季, 高寒湿地

土壤反硝化速率范围为 $1.44 \sim 7.13 \text{ nmol}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$; 夏季, 高寒湿地土壤反硝化速率范围为 $0.80 \sim 14.98 \text{ nmol}\cdot(\text{g}\cdot\text{h})^{-1}$. 所有采样点中, 春季和夏季 JZ 的土壤反硝化速率最高. 反硝化同时受到温度以及底物含量的影响 [27], 土壤的反硝化速率与采样月温度呈显著正相关 (春季相关系数 $0.67, P < 0.05$; 夏季相关系数 $0.68, P < 0.05$). 不同季节, TK、JZ、DR 地区根际反硝化速率显著高于非根际土壤 ($P < 0.05$), 而 MD 高寒湿地非根际土壤的反硝化速率比根际更高 ($P < 0.05$), 表明整体看来植物根际微环境可能比非根际更适合反硝化作用. 原因可能是植物根系的泌氧造成了根系存在氧气梯度, 氧气的存在不利于反硝化的进行, 但对氨氧化和硝化作用有促进作用 [28], 为反硝化微生物提供了更多的底物来源 [29]; 同时, 根系分泌物以及有机物残屑也会为反硝化菌提供营养来源 [24], 因此整体表现出根际土壤的反硝化速率较高.

春季, 反硝化对总氮释放的贡献率为 $11.23\% \sim 25.39\%$; 夏季, JZ 和 MD 的非根际土壤反硝化对总氮释放的贡献率分别为 69.48% 和 71.16% , 其余土壤样品反硝化的贡献率为 $13.95\% \sim 37.34\%$. 本研究的反硝化贡献率低于之前的研究, 如印度河河口沉积物反硝化脱氮贡献率为 21.9% [30]、水稻土 ($87.8\% \sim 99.8\%$) [31] 和高海拔河流沉积物 (27%) [10] 等. 而姜博等 [32] 研究了天山天池沉积物



柱状图上不同小写字母表示反硝化速率在不同采样点之间统计上具有显著性差异 ($P < 0.05$)

图 2 高寒湿地根际和非根际土壤反硝化速率及反硝化对总 N_2 产量的贡献

Fig. 2 N_2 production rates through denitrification in the rhizosphere and bulk soil samples of alpine wetlands, and denitrification contributions to N_2 production in spring and summer

中反硝化对脱氮贡献率, 约为 17.22%。天山天池和青藏高原地区反硝化脱氮贡献较低的原因可能是这些地区几乎没有大规模的人工氮素输入, 且高海拔、强光照和低温环境可能限制了硝化细菌的生长和活性, 极大地限制了 NO_3^- 的生成, 底物不足导致反硝化过程受限。而与此同时, 若该环境下 NO_2^- 底物并不受限, 则自养的厌氧氨氧化细菌不会受到明显抑制, 导致反硝化的脱氮效率较低。

2.3 反硝化微生物群落结构

本研究每个样品的有效序列范围为 13 427 ~ 24 843 条, 平均长度为 371 bp。按照最低序列数抽平后按照 97% 的相似度进行 OTU 的聚类。不同季节和海拔高寒湿地根际与非根际土壤 *nirS* 型反硝化微生物 α 多样性指数如表 3 所示。Coverage 指各样品文库的覆盖率, 本研究中各样本的 Coverage 范围为 0.97 ~ 1.00, 表明测序结果接近样本中微生物群落

结构的实际情况。ACE 和 Chao 指数反映微生物群落的丰度, 数值越大表明菌群丰度越高。除了春季和夏季的 TK 和夏季的 DR 外, 其余采样点的 ACE 指数、Chao 指数和 OTU 数量均呈现出根际高于非根际的趋势。Shannon 和 Simpson 指数反映微生物群落的多样性, Shannon 指数越大, Simpson 指数越小表明多样性越高。TK 的根际土壤多样性低于非根际, JZ、MD 和 DR 的根际土壤多样性高于非根际土壤。这与已有研究类似: 陈悦等^[33]研究了独子山区优势草本植物的根际与非根际土壤微生物功能多样性, 发现植物根际土壤微生物多样性指数大于自身非根际土; 潘福霞等^[34]的研究发现人工湿地植物根际的土壤微生物多样性也高于非根际。原因可能是植物根系和植物残体为根际微生物提供了适宜生长的环境和物质来源, 丰富了微生物多样性和丰度。

表 3 不同季节和海拔青藏高原高寒湿地根际与非根际 *nirS* 型反硝化细菌多样性指数¹⁾
Table 3 The *nirS*-type denitrifying bacteria community diversity index for rhizosphere and bulk soil of alpine wetlands along an altitudinal gradient and among seasons on the Qinghai-Tibet Plateau

季节	采样地点	土壤类型	ACE 指数	Chao 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	OTUs
春季	TK	根际	440.58c	448.07c	4.14b	0.0486b	353d
		非根际	860.34ab	859.02ab	4.95a	0.0175d	615b
	JZ	根际	1055.67a	1048.47a	5.34a	0.0151d	737ab
		非根际	827.84ab	816.05ab	4.44b	0.0497b	606b
	MD	根际	420.18c	407.95c	4.33b	0.0304c	329d
		非根际	312.17d	302.00d	3.86b	0.0424c	231e
	DR	根际	443.00c	445.06c	4.11b	0.0439bc	356d
		非根际	274.96d	268.58d	3.63c	0.0614a	228e
夏季	TK	根际	370.12c	370.82c	3.90b	0.0518b	297d
		非根际	977.52a	970.13a	5.20a	0.0129d	676ab
	JZ	根际	991.88a	1013.09a	5.49a	0.0105d	777a
		非根际	716.00b	716.77b	5.36a	0.0159d	676ab
	MD	根际	1038.37a	1032.71a	5.55a	0.0085d	778a
		非根际	652.87b	654.16b	5.03a	0.0153d	543bc
	DR	根际	476.20c	457.48c	3.99b	0.0492b	333d
		非根际	711.86b	719.76b	3.93b	0.0636a	477c

1) 不同小写字母表示处理间的差异显著 ($P < 0.05$)

本研究发现 Proteobacteria 是青藏高原高寒湿地土壤中主要的反硝化细菌门, 这与大多数的研究结果一致^[35,36]。不同季节和海拔青藏高原高寒湿地根际与非根际 *nirS* 型反硝化细菌群落在属水平上的相对丰度如图 3 所示。除未分类的反硝化细菌属 (uncultured denitrifying bacteria) 和相对丰度在所有样本中不足 1% 的细菌属外, 各土壤样本中含量最高的为一种未分类的变形杆菌 (unclassified Proteobacteria), 相对丰度为 2.86% ~ 29.41%, 且春季明显高于夏季, 尤其是春季高海拔的 DR 土壤, 根际与非根际土壤的相对丰度均达到了 29% 以上, 这说明主导青藏高原高寒湿地反硝化作用的可能有一

些独特的未被鉴定的反硝化菌属。相对丰度其次为假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 2.45% ~ 26.52%), 从春季到夏季, 假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 在 TK 和 JZ 相对丰度增加, 而在 DR 和 MD 降低。杨文焕等^[37]研究了包头南海湖高原湖泊沉积物和 Wu 等^[3]研究了洪湖植物根际沉积物, 均发现假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 是最优势的反硝化菌属。假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 是目前已知的反硝化细菌中最大的类群之一, 可以去除较高的硝酸盐氮, 因此可能对脱氮有较大作用^[38]。春季 MD 的假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 相对丰度最低, 这可能一定程度上解释春季 MD 的反硝化速率低于其他地点。贪铜菌属

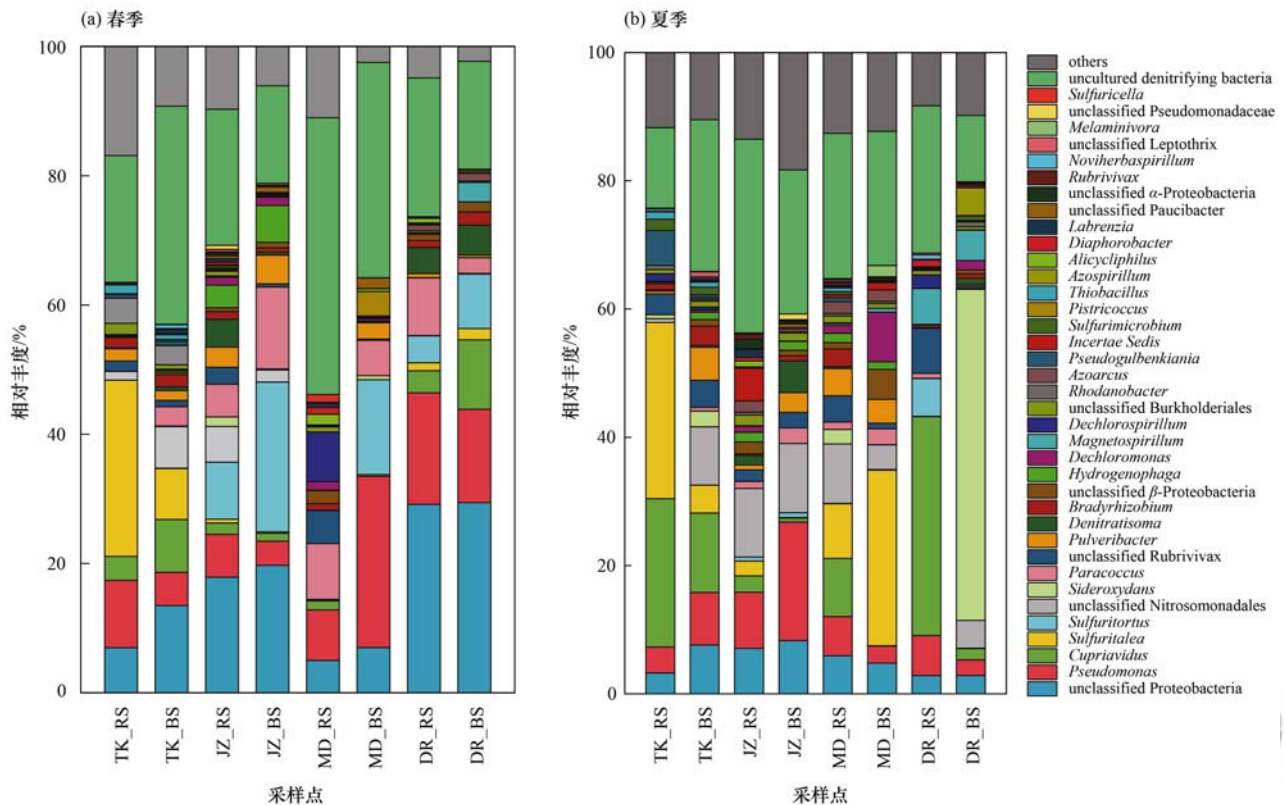


图3 不同季节和海拔青藏高原高寒湿地根际与非根际 *nirS* 型反硝化细菌群落在属水平上的相对丰度
Fig. 3 Relative abundance of *nirS*-type denitrifying bacteria at the genus level for rhizosphere and bulk soil of alpine wetlands along an altitudinal gradient and among seasons on the Qinghai-Tibet Plateau

(*Cupriavidus*, 0% ~ 34.14%) 的相对丰度也整体表现为夏季 > 春季, 根际 > 非根际, 尤其是夏季 DR 和 TK 根际土壤贪铜菌属相对丰度分别达到了 34.14% 和 23.12%。两种硫氧化菌 *Sulfuritalea* (0.04% ~ 27.46%) 和 *Sulfuritortus* (0% ~ 23.18%) 显示不同的趋势, *Sulfuritalea* 在夏季样本中含量较高; 而 *Sulfuritortus* 在春季样本中明显高于夏季, 且非根际土壤中的相对丰度高于根际。且 unclassified Nitrosomonadales 也呈现夏季 (0.01% ~ 10.81%) 相对丰度高于春季 (0% ~ 6.45%); 副球菌属 (*Paracoccus*) 相对丰度春季 (0.04% ~ 12.66%) 高于夏季 (0 ~ 2.49%)。较为特殊的铁氧化细菌属 (*Sideroxydans*), 在夏季 MD 非根际土壤中的相对丰度极高, 为 51.64%, 而其余土壤样本中相对丰度范围为 0 ~ 2.45%。

2.4 环境因子的影响

采用基于距离的冗余分析 (distance-based redundancy analysis, db-RDA) 探究环境因子 (海拔、温度) 和土壤理化性质 (pH、SOC、铵态氮、硝态氮和亚硝态氮) 对春季和夏季 *nirS* 型反硝化微生物群落组成的影响 (图 4)。结果发现, 春季第一和第二排序轴占总特征值的 43.16%, 夏季的第一和第二排序轴占总特征值的 42.26%。其中, 春季土壤样本, 海

拔显著影响 *nirS* 型反硝化微生物群落 ($P < 0.05$); 夏季海拔、pH 和 NO_2^- 含量对 *nirS* 型反硝化微生物群落的影响均显著 ($P < 0.05$); 其余环境因子和土壤理化性质对 *nirS* 型反硝化微生物群落的影响不显著。Song 等^[39]的研究也发现 pH 与 *nirS* 型反硝化微生物群落组成密切相关。 NO_2^- 是 *nirS* 基因控制过程的底物, *nirS* 型反硝化微生物参与将 NO_2^- 还原的过程, 因此其含量通常与 *nirS* 反硝化微生物群落相关^[40]; 文献[41]也发现 NO_2^- 是对 *nirS* 型反硝化微生物影响最大的因素。而海拔通过对植被、温度、辐射强度以及大气含氧量等多种条件的影响来影响微生物群落结构^[42]。

反硝化速率和贡献、菌群的多样性和丰富度指数、以及主要菌属与环境因子的 Pearson 相关性如表 4 所示。unclassified Nitrosomonadales 的相对丰度与采样月温度呈显著正相关 ($P < 0.05$), 与土壤 pH 显著负相关 ($P < 0.05$)。Paracoccus 的相对丰度与采样月温度呈显著负相关 ($P < 0.05$)。反硝化速率和 Shannon 指数与土壤 pH 显著负相关 ($P < 0.05$), Simpson 指数与土壤 pH 显著正相关 ($P < 0.05$)。Šimek 等^[43]的研究也发现反硝化速率与 pH 呈现负相关趋势。这说明, 适当提高土壤的 pH 有利于降低反硝化细菌的多样性和丰度, 以及减缓反硝化的气

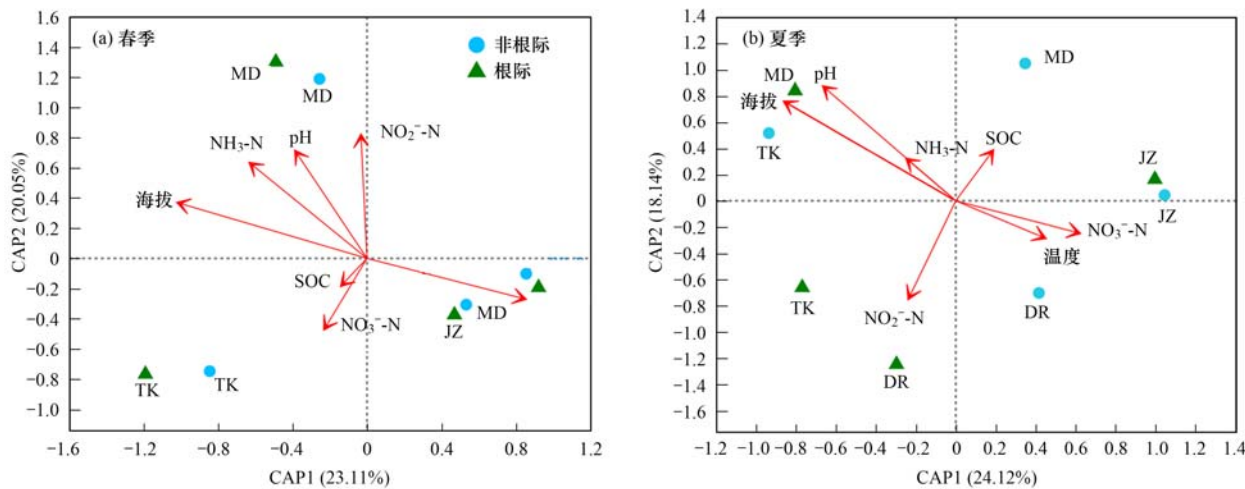


图4 青藏高原高寒湿地土壤 *nirS* 型反硝化细菌群落与环境因子相关性的 db-RDA 分析
Fig. 4 The db-RDA plots of correlation between the *nirS*-type denitrifying bacterial community and environmental variables of alpine wetland soils on the Qinghai-Tibet Plateau

表4 青藏高原高寒湿地土壤反硝化速率、*nirS* 型反硝化细菌群落多样性及相对丰度前十的菌属与环境因子的 Pearson 相关分析¹⁾
Table 4 Pearson correlation coefficients between environmental variables and denitrification rates and *nirS*-type denitrifying bacterial community diversity indexes of alpine wetland soils on the Qinghai-Tibet Plateau

项目	海拔	采样月温度	pH	SOC	NH ₃ -N	NO ₃ ⁻ -N	NO ₂ ⁻ -N
反硝化速率	-0.377	0.441	-0.578 *	-0.017	0.116	0.374	-0.256
反硝化贡献/%	-0.173	0.464	-0.188	-0.216	0.375	-0.085	-0.205
ACE 指数	-0.408	0.400	-0.396	-0.201	-0.432	-0.002	-0.062
Chao 指数	-0.413	0.410	-0.406	-0.207	-0.435	0.011	-0.070
Shannon 指数	-0.443	0.382	-0.536 *	-0.147	-0.303	0.019	-0.118
Simpson 指数	0.404	-0.233	0.506 *	0.052	0.201	-0.020	0.052
OTUs	-0.431	0.453	-0.459	-0.224	-0.371	0.008	-0.146
unclassified Proteobacteria	0.167	-0.494	0.415	-0.056	-0.134	-0.135	0.351
<i>Pseudomonas</i>	0.180	-0.382	0.198	0.248	0.416	-0.158	0.235
<i>Cupriavidus</i>	0.076	0.380	-0.019	0.132	0.080	0.346	0.110
<i>Sulfuritalea</i>	-0.366	0.152	-0.233	0.127	-0.304	0.392	-0.092
<i>Sulfuritortus</i>	0.090	-0.443	0.396	0.323	0.069	-0.264	0.077
unclassified Nitrosomonadales	-0.419	0.590 *	-0.543 *	-0.398	-0.166	0.078	-0.045
<i>Sideroxydans</i>	0.338	0.269	0.283	-0.317	0.141	-0.156	-0.187
<i>Paracoccus</i>	0.117	-0.641 **	0.251	0.252	0.005	-0.300	-0.128
unclassified Rubrivivax	-0.037	0.377	0.227	0.234	0.005	-0.314	-0.135
<i>Pulveribacter</i>	-0.411	0.105	-0.126	0.013	-0.267	-0.193	0.227

1) * 表示在 $P < 0.05$ 水平上显著相关, ** 表示在 $P < 0.01$ 水平上显著相关

体释放,青藏高原高寒湿地的土壤 pH 偏碱性,反硝化速率较低,对总 N_2 释放的贡献较小。而 SOC、铵态氮、硝态氮和亚硝态氮含量对反硝化速率和微生物多样性和丰富度以及主要菌属的影响均不显著,这与 Jiao 等^[44]的研究结果类似。汪银龙等^[8]的研究表明汾河下游水体的 *nirS* 反硝化细菌优势属主要受到温度、pH 和溶解氧这 3 个因素影响,而无机氮几乎没有影响。

3 结论

(1)青藏高原高寒湿地土壤反硝化速率范围为 $0.80 \sim 14.98 \text{ nmol} \cdot (\text{g} \cdot \text{h})^{-1}$,整体上呈现出根际土壤的反硝化速率高于非根际的趋势($P < 0.05$);反

硝化对总 N_2 释放的贡献率为 $11.23\% \sim 71.16\%$,贡献率低于其他生态系统。

(2)高通量测序结果显示,各土壤样本中相对丰度较高的为一种未分类的变形杆菌(unclassified Proteobacteria, $2.86\% \sim 29.41\%$),其次为假单胞菌属(*Pseudomonas*, $2.45\% \sim 26.52\%$)和贪铜菌属(*Cupriavidus*, $0 \sim 34.14\%$)。说明主导青藏高原高寒湿地这一特殊生境反硝化作用的可能包括独特的未被鉴定的反硝化菌属。

(3)高寒湿地的反硝化细菌群落结构主要受到海拔、pH 和亚硝态氮的影响($P < 0.05$);主要反硝化菌群的相对丰度受到温度和 pH 的影响;SOC 和无机氮对 *nirS* 反硝化细菌的影响均不显著。

参考文献:

- [1] 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.
- He F, Zhang L M, Shen C C, *et al.* Analysis of nitrogen transformation characteristics and influencing factors of forestland soil in the Qinghai-Tibet Plateau: a case study of the Qilian Mountains and Southeast Tibet [J]. Environmental Science, 2021, **42**(5): 2449-2456.
- [2] Vilas M P, Marti C L, Adams M P, *et al.* Invasive macrophytes control the spatial and temporal patterns of temperature and dissolved oxygen in a shallow lake: a proposed feedback mechanism of macrophyte loss[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, **8**, doi: 10.3389/fpls.2017.02097.
- [3] Wu H P, Hao B B, Cai Y P, *et al.* Effects of submerged vegetation on sediment nitrogen-cycling bacterial communities in Honghu Lake (China) [J]. Science of the Total Environment, 2021, **755**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142541.
- [4] Sun Y L, Li A, Zhang X N, *et al.* Regulation of dissolved oxygen from accumulated nitrite during the heterotrophic nitrification and aerobic denitrification of *Pseudomonas stutzeri* T13[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, **99**(7): 3243-3248.
- [5] Pajares S, Bohannan B J M. Ecology of nitrogen fixing, nitrifying, and denitrifying microorganisms in tropical forest soils [J]. Frontiers in Microbiology, 2016, **7**, doi: 10.3389/fmicb.2016.01045.
- [6] Mosier A C, Francis C A. Denitrifier abundance and activity across the San Francisco Bay estuary [J]. Environmental Microbiology Reports, 2010, **2**(5): 667-676.
- [7] Zhao S Y, Zhou J M, Yuan D D, *et al.* *NirS*-type N_2O -producers and *nosZ* II-type N_2O -reducers determine the N_2O emission potential in farmland rhizosphere soils [J]. Journal of Soils and Sediments, 2020, **20**(1): 461-471.
- [8] 汪银龙, 冯民权, 董向前. 汾河下游水体 *nirS* 型反硝化细菌群落组成与无机氮关系[J]. 环境科学, 2019, **40**(8): 3596-3603.
- Wang Y L, Feng M Q, Dong X Q. Community composition of *nirS*-type denitrifying bacteria in the waters of the lower reaches of the Fenhe River and its relationship with inorganic nitrogen [J]. Environmental Science, 2019, **40**(8): 3596-3603.
- [9] 陈志浩, 覃云斌, 丁帮璟, 等. 宛山荡农田土壤氮迁移过程反硝化与厌氧氨氧化[J]. 环境科学, 2020, **41**(1): 412-419.
- Chen Z H, Qin Y B, Ding B J, *et al.* Denitrification and anaerobic ammonium oxidation in soil nitrogen migration process in a farmland of Wanshandang Lake [J]. Environmental Science, 2020, **41**(1): 412-419.
- [10] Zhang S B, Qin W, Bai Y B, *et al.* Linkages between anammox and denitrifying bacterial communities and nitrogen loss rates in high-elevation rivers [J]. Limnology and Oceanography, 2021, **66**(3): 765-778.
- [11] 曹乾斌, 王邵军, 陈闽昆, 等. 不同恢复阶段热带森林土壤 *nirS* 型反硝化微生物群落结构及多样性特征[J]. 生态学报, 2021, **41**(2): 626-636.
- Cao Q B, Wang S J, Chen M K, *et al.* The structure and diversity of *nirS*-denitrifying microbial community across three restoration stages of Xishuangbanna tropical forests [J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, **41**(2): 626-636.
- [12] 张艺冉, 李再兴, 孙悦, 等. 石家庄市春季景观水体 *nirS* 型反硝化细菌群落特征分析[J]. 环境科学, 2019, **40**(7): 3295-3303.
- Zhang Y R, Li Z X, Sun Y, *et al.* Community structure characteristics of *nirS* denitrifying bacteria of spring typical parkland waterbodies in Shijiazhuang City [J]. Environmental Science, 2019, **40**(7): 3295-3303.
- [13] Bai J H, Ouyang H, Xiao R, *et al.* Spatial variability of soil carbon, nitrogen, and phosphorus content and storage in an alpine wetland in the Qinghai-Tibet Plateau, China [J]. Australian Journal of Soil Research, 2010, **48**(8): 730-736.
- [14] 赵志龙, 张懿锂, 刘林山, 等. 青藏高原湿地研究进展[J]. 地理科学进展, 2014, **33**(9): 1218-1230.
- Zhao Z L, Zhang Y L, Liu L S, *et al.* Advances in research on wetlands of the Tibetan Plateau [J]. Progress in Geography, 2014, **33**(9): 1218-1230.
- [15] Xia X H, Li S L, Wang F, *et al.* Triple oxygen isotopic evidence for atmospheric nitrate and its application in source identification for river systems in the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. Science of the Total Environment, 2019, **688**: 270-280.
- [16] Wang S Y, Liu W Y, Zhao S Y, *et al.* Denitrification is the main microbial N loss pathway on the Qinghai-Tibet Plateau above an elevation of 5000 m [J]. Science of the Total Environment, 2019, **696**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.133852.
- [17] Zhang S B, Qin W, Xia X H, *et al.* Ammonia oxidizers in river sediments of the Qinghai-Tibet Plateau and their adaptations to high-elevation conditions [J]. Water Research, 2020, **173**, doi: 10.1016/j.watres.2020.115589.
- [18] Zhao S Y, Zhuang L J, Wang C, *et al.* High-throughput analysis of anammox bacteria in wetland and dryland soils along the altitudinal gradient in Qinghai-Tibet Plateau [J]. Microbiologyopen, 2018, **7**(2), doi: 10.1002/mbo3.556.
- [19] Hou L J, Zheng Y L, Liu M, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacterial diversity, abundance, and activity in marsh sediments of the Yangtze Estuary [J]. Journal of Geophysical Research: Biogeosciences, 2013, **118**(3): 1237-1246.
- [20] Xue D M, Yu H, Fang Y T, *et al.* ^{15}N -tracer approach to assess nitrogen cycling processes: nitrate reduction, anammox and denitrification in different pH cropland soils [J]. CATENA, 2020, **193**, doi: 10.1016/j.catena.2020.104611.
- [21] Ji C J, Yang Y H, Han W X, *et al.* Climatic and edaphic controls on soil pH in alpine grasslands on the Tibetan Plateau, China: a quantitative analysis [J]. Pedosphere, 2014, **24**(1): 39-44.
- [22] Finn D, Page K, Catton K, *et al.* Ecological stoichiometry controls the transformation and retention of plant-derived organic matter to humus in response to nitrogen fertilisation [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, **99**: 117-127.
- [23] Du L S, Zhu Z K, Qi Y T, *et al.* Effects of different stoichiometric ratios on mineralisation of root exudates and its priming effect in paddy soil [J]. Science of the Total Environment, 2020, **743**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140808.
- [24] 吴訥, 邵嘉薇, 盛荣, 等. 水稻分蘖期和孕穗期根际反硝化菌群落结构及功能变化[J]. 应用生态学报, 2019, **30**(4): 1344-1350.
- Wu N, Shao J W, Sheng R, *et al.* Variation of community structure and function of rhizospheric denitrifiers at tillering and booting stages of rice [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, **30**(4): 1344-1350.
- [25] Jampeetong A, Konnerup D, Piwpuan N, *et al.* Interactive

- effects of nitrogen form and pH on growth, morphology, N uptake and mineral contents of *Coix lacryma-jobi* L. [J]. Aquatic Botany, 2013, **111**: 144-149.
- [26] Cui J H, Yu C Q, Qiao N, *et al.* Plant preference for NH_4^+ versus NO_3^- at different growth stages in an alpine agroecosystem [J]. Field Crops Research, 2017, **201**: 192-199.
- [27] 赵锋, 许海, 詹旭, 等. 太湖春夏两季反硝化与厌氧氨氧化速率的空间差异及其影响因素[J]. 环境科学, 2021, **42** (5): 2296-2302.
- Zhao F, Xu H, Zhan X, *et al.* Spatial differences and influencing factors of denitrification and anammox rates in spring and summer in Lake Taihu[J]. Environmental Science, 2021, **42** (5): 2296-2302.
- [28] Zheng Y L, Hou L J, Liu M, *et al.* Community composition and activity of anaerobic ammonium oxidation bacteria in the rhizosphere of salt-marsh grass *Spartina alterniflora* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2016, **100** (18): 8203-8212.
- [29] Zhang Z X, Zhang W Z, Yang H C, *et al.* Elevated N_2O emission by the rice roots: based on the abundances of *narG* and bacterial *amoA* genes [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, **24** (2): 2116-2125.
- [30] Fozia, Zheng Y L, Hou L J, *et al.* Anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacterial diversity, abundance, and activity in sediments of the Indus Estuary [J]. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 2020, **243**, doi: 10.1016/j.eccs.2020.106925.
- [31] Bai R, Xi D, He J Z, *et al.* Activity, abundance and community structure of anammox bacteria along depth profiles in three different paddy soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, **91**: 212-221.
- [32] 姜博, 祝贵兵, 周磊榴, 等. 低温高海拔湖泊岸边带厌氧氨氧化菌的存在、生物多样性及活性——以天山天池为例 [J]. 环境科学学报, 2015, **35** (7): 2045-2051.
- Jiang B, Zhu G B, Zhou L L, *et al.* The activity and diversity analysis of anaerobic ammonium oxidation bacteria in the littoral sediments of the Heavenly Lake [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2015, **35** (7): 2045-2051.
- [33] 陈悦, 吕光辉, 李岩. 独山子区优势草本植物根际与非根际土壤微生物功能多样性 [J]. 生态学报, 2018, **38** (9): 3110-3117.
- Chen Y, Lv G H, Li Y. Soil microbial functional diversity of rhizosphere and non-rhizosphere of three dominant herbaceous plants in the Dushanzi District [J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, **38** (9): 3110-3117.
- [34] 潘福霞, 来晓双, 李欣, 等. 不同湿地植物脱氮效果与根际土壤微生物群落功能多样性特征分析 [J]. 环境科学研究, 2020, **33** (6): 1497-1503.
- Pan F X, Lai X S, Li X, *et al.* Nitrogen removal efficiencies and rhizosphere soil microbial community functional diversities of different plants in constructed wetlands [J]. Research of Environmental Sciences, 2020, **33** (6): 1497-1503.
- [35] 胡晓婧, 刘俊杰, 于镇华, 等. 东北黑土 *nirS* 型反硝化细菌群落和网络结构对长期施用化肥的响应 [J]. 植物营养与肥料学报, 2020, **26** (1): 1-9.
- Hu X J, Liu J J, Yu Z H, *et al.* Response of *nirS*-type denitrifier community and network structures to long-term application of chemical fertilizers in a black soil of Northeast China [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2020, **26** (1): 1-9.
- [36] Hou S P, Ai C, Zhou W, *et al.* Structure and assembly cues for rhizospheric *nirK*- and *nirS*-type denitrifier communities in long-term fertilized soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, **119**: 32-40.
- [37] 杨文焕, 石大钧, 张元, 等. 高原湖泊沉积物中反硝化微生物的群落特征——以包头南海湖为例 [J]. 中国环境科学, 2020, **40** (1): 431-438.
- Yang W H, Shi D J, Zhang Y, *et al.* Community characteristics of denitrifying microorganisms in plateau lake sediments—taking Nanhaihu lake as example [J]. China Environmental Science, 2020, **40** (1): 431-438.
- [38] 王弘宇, 马放, 杨开, 等. 两株异养硝化细菌的氨氮去除特性 [J]. 中国环境科学, 2009, **29** (1): 47-52.
- Wang H Y, Ma F, Yang K, *et al.* Ammonia-removal by two strains of heterotrophic nitrifying bacteria [J]. China Environmental Science, 2009, **29** (1): 47-52.
- [39] Song H, Che Z, Jin W J, *et al.* Changes in denitrifier communities and denitrification rates in an acidifying soil induced by excessive N fertilization [J]. Archives of Agronomy and Soil Science, 2020, **66** (9): 1203-1217.
- [40] Yin X J, Lu J, Wang Y C, *et al.* The abundance of *nirS*-type denitrifiers and anammox bacteria in rhizospheres was affected by the organic acids secreted from roots of submerged macrophytes [J]. Chemosphere, 2020, **240**, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124903.
- [41] 毛铁墙, 董宏坡, 陈法锦, 等. 湛江湾沉积物中反硝化和厌氧氨氧化细菌的丰度、多样性及分布特征 [J]. 海洋与湖泊, 2020, **51** (1): 59-74.
- Mao T Q, Dong H P, Chen F J, *et al.* Abundance, diversity, and distribution of denitrifier and anammox bacteria in Zhanjiang Bay sediments [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2020, **51** (1): 59-74.
- [42] 王晓彤, 靳振江, 周军波, 等. 龙脊稻作梯田土壤细菌群落结构和功能类群及影响因子分析 [J]. 农业资源与环境学报, 2021, **38** (3): 365-376.
- Wang X T, Jin Z J, Zhou J B, *et al.* Community structure and functional groups of soil bacteria and their influencing factors in Longji rice terraces [J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2021, **38** (3): 365-376.
- [43] Šimek M, Jiřová L, Hopkins D W. What is the so-called optimum pH for denitrification in soil? [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, **34** (9): 1227-1234.
- [44] Jiao L J, Wu J P, He X, *et al.* Significant microbial nitrogen loss from denitrification and anammox in the land-sea interface of low permeable sediments [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2018, **135**: 80-89.

CONTENTS

Continuous PM _{2.5} Composition Measurements for Source Apportionment During Air Pollution Events	CAI Fan-tao, SHANG Yue, DAI Wei, <i>et al.</i> (4575)
Orographic Influences on the Spatial Distribution of PM _{2.5} on the Fen-Wei Plain	HUANG Xiao-gang, ZHAO Jing-bo, SUN Cong-jian, <i>et al.</i> (4582)
Characteristics and Health Risk Assessment of Heavy Metals in PM _{2.5} Under Winter Haze Conditions in Central China: A Case Study of Huanggang, Hubei Province	LI Xing-yu, MAO Yao, CHEN Zhan-le, <i>et al.</i> (4593)
Concentration and Reactivity of Carbonyl Compounds in the Atmosphere of North China	HUANG Yu, CHEN Xi, WANG Ying-hong, <i>et al.</i> (4602)
Characteristics of O ₃ Pollution and Key Precursors in Chengdu During Spring	HAN Li, CHEN Jun-hui, JIANG Tao, <i>et al.</i> (4611)
O ₃ Source Characteristics of an Industrial Area in the Yangtze River Delta Based on Boundary Observations	HUANG Qing, HUANG Yin-zhi, ZHANG Shan, <i>et al.</i> (4621)
Characteristics and Source of VOCs During O ₃ Pollution Between August to September, Langfang Development Zones	ZHANG Jing-qiao, WANG Hong-liang, FANG Xiao-yun, <i>et al.</i> (4632)
Coating-derived VOCs Emission Characteristics and Environmental Impacts from the Furniture Industry in Guangdong Province	ZENG Chun-ling, SHAO Xia, LIU Rui-yuan, <i>et al.</i> (4641)
Response of Air Quality to COVID-19 Lockdown in Xiamen Bay	XU Chao, WU Shui-ping, LIU Yi-jing, <i>et al.</i> (4650)
Similarities and Differences of Valley Winds in the Beijing Plain and Yanqing Areas and Its Impact on Pollution	WU Jin, LI Chen, MA Zhi-qiang, <i>et al.</i> (4660)
Characteristics of Atmospheric Particulate Matter Pollution and the Unique Wind and Underlying Surface Impact in the Twain-Hu Basin in Winter	ZHU Yan, ZHAO Tian-liang, BAI Yong-qing, <i>et al.</i> (4669)
Conversion Characterizations of Sulfate Ion and Nitrate Ion in Particulate Matter from Coal-fired Power Plants	YANG Liu, HE Qing, SHENG Zhong-yi (4678)
Water Chemical Characteristics and Influence of Exogenous Acids in the Yangtze River Basin	WANG Qi, YU Shi, JIANG Ping-ping, <i>et al.</i> (4687)
Effects of Land Use on Nutrient Concentrations in the Inflow River of Lake Taihu, China	LIAN Xin-qiao, ZHU Guang-wei, YANG Wen-bin, <i>et al.</i> (4698)
Diversity of Zooplankton and Niche Characteristics of Keystone Species in the Weihe River Based on eDNA	LIANG Dong, XIA Jun, SONG Jin-xi, <i>et al.</i> (4708)
Occurrence, Distribution, and Ecological Risk Assessment of Pharmaceutical and Personal Care Products in the Aquatic Environment of Sanya City, China	REN Bing-nan, GENG Jing (4717)
Screening of Priority Pollutants and Risk Assessment for Surface Water from Shengjin Lake	GONG Xiong-hu, DING Qi-qi, JIN Miao, <i>et al.</i> (4727)
Long-term Changes and Drivers of Ecological Security in Shahe Reservoir, China	YANG Wen-bin, DUAN Wen-xiu, CUI Yang, <i>et al.</i> (4739)
Seasonal Variation and Influencing Factor Analysis of Antibiotic Resistance Genes in Water Supply Reservoirs of Central China	ZHANG Kai, XIN Rui, LI Kuang-jia, <i>et al.</i> (4753)
Geochemical Characteristics and Driving Factors of NO ₃ -Type Groundwater in the Rapidly Urbanizing Pearl River Delta	LÜ Xiao-li, LIU Jing-tao, HAN Zhan-tao, <i>et al.</i> (4761)
Spatial Hydrochemical Characteristics and Controlling Factors of Surface Water in the Yancheng Area	WANG Jian, ZHANG Hua-bing, XU Jun-li, <i>et al.</i> (4772)
Identification of Dredging Depths Based on Sediment Vertical Distribution Profiles of Total Nitrogen and Total Phosphorus and Their Adsorption-desorption Equilibria	ZHOU Ya-ting, CHEN Xing-hong, LI Li-qing, <i>et al.</i> (4781)
Role of Borate and Phosphate Buffers in the Degradation of Organic Compounds in a PMS/Co ²⁺ System: Influencing Factors and Mechanisms	WAN Qi-qi, CHEN Zhu-hao, CAO Rui-hua, <i>et al.</i> (4789)
Degradation 2,2',4,4'-Tetrabromodiphenyl Ether by Activated Peroxymonosulfate Using Magnetic Biochar Supported α -MnO ₂	LI Xin, YIN Hua, LUO Hao-yu, <i>et al.</i> (4798)
Characteristics and Mechanisms of Bacteriophage MS2 Inactivation in Water by UV Activated Sodium Persulfate	ZHANG Chong-miao, YANG Hao-ming, WANG Zhen (4807)
Adsorption Characteristics of Phosphate on Cerium Modified Water Hyacinth Biochar	WANG Guang-ze, ZENG Wei, LI Shuai-shuai (4815)
Removal Efficiency and Mechanism of Ammonia Nitrogen in a Low Temperature Groundwater Purification Process	LI Dong, LIU Meng-hao, ZHANG Rui-miao, <i>et al.</i> (4826)
Speciation and Ecological Risk Assessment of Heavy Metal(loid)s in the Municipal Sewage Sludge of China	GENG Yuan-meng, ZHANG Chuan-bing, ZHANG Yong, <i>et al.</i> (4834)
Meta-analysis of Microbial Communities in the Activated Sludge of Wastewater Treatment Plants Under Different Climate Types	YANG Si-hang, QIN Ze-sheng, LIANG Man-chun (4844)
Partial Nitrification and Anaerobic Ammonia Oxidation Synergistic Denitrification to Remove Nitrogen and Carbon from Domestic Sewage	QIN Yan-rong, YUAN Zhong-ling, ZHANG Ming, <i>et al.</i> (4853)
Cultivation and Performance Analysis of Simultaneous Partial Nitrification, ANAMMOX, and Denitrification Granular Sludge	ZHOU Feng, LIU Yong-di, LI Wei (4864)
Application of Various Methods to Extract Microplastic from Typical Soils in China	ZHAO Xiao-li, LIU Zi-han, CONG Chen-yu, <i>et al.</i> (4872)
Evaluation and Sources of Heavy Metal Pollution in the Surface Soil of the Qaidam Basin	CHEN Liang, ZHANG Xi-ying, TANG Qi-liang, <i>et al.</i> (4880)
Content and Ecological Risks of Heavy Metals in Soil with Different Land Uses in a Rapidly Urbanizing Area	LI Meng-ting, SHEN Cheng, WU Jian, <i>et al.</i> (4889)
Selenium Geochemical Characteristics and Influencing Factors of Paddy Fields in Du'an County, Guangxi	LIU Fei, YANG Ke, XU Ren-ting, <i>et al.</i> (4897)
Carbonized Apple Branches Decrease the Accumulation and Damage of Cadmium on Apple Rootstock by Reducing DTPA-Cd in Soil	DENG Bo, XUN Mi, ZHANG Wei-wei, <i>et al.</i> (4908)
Accumulation and Health Risk of Heavy Metals in Cereals, Vegetables, and Fruits of Intensive Plantations in Hainan Province	YANG Jian-zhou, WANG Zhen-liang, GAO Jian-weng, <i>et al.</i> (4916)
Correlation Analysis among Environmental Antibiotic Resistance Genes Abundance, Antibiotics Concentrations, and Heavy Metals Concentrations Based on Web of Science Searches	MIAO Sun, CHEN Lei, ZUO Jian-e (4925)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of Tetracycline Antibiotics in Farmland Soil in Yinchuan	ZHANG Xiao-hong, TAO Hong, WANG Ya-juan, <i>et al.</i> (4933)
Effect of Manure from Different Sources on the Leaching of Antibiotics in Soil	LI Bin-xu, ZHU Chang-xiong, SONG Ting-ting, <i>et al.</i> (4942)
Analysis of the Traits of Nitrogen Metabolism Pathways for Several Forest Soils in Eastern China	LÜ Xue-li, ZHAO Yong-peng, LIN Qing-huo, <i>et al.</i> (4951)
Denitrification Rates and <i>nirS</i> -type Denitrifying Bacteria Community Structure Characteristics of Bulk and Rhizosphere Soil in Spring and Summer in the Alpine Wetlands of the Qinghai-Tibet Plateau	LI Yu-qian, MA Jun-wei, GAO Chao, <i>et al.</i> (4959)
Microbial Community Structure of Soil Methanogens and Methanotrophs During Degradation and Restoration of Reed Wetlands in the Songnen Plain	WANG Qiu-ying, WANG Na, LIU Ying, <i>et al.</i> (4968)
Characteristics of Bacterial Community Structure in Fluvio-aquic Soil Under Different Rotation Fallow	NAN Zhen-wu, LIU Zhu, DAI Hong-cui, <i>et al.</i> (4977)
Response of Photosynthetic Bacterial Community to Cadmium Contamination in Paddy Soil	LUO Lu-yun, JIN De-cai, WANG Dian-dong, <i>et al.</i> (4988)
Community Distribution of the Rhizospheric and Endophytic Bacteria of <i>Phragmites australis</i> and Their Limiting Factors in Iron Tailings	CAO Man-man, WANG Fei, ZHOU Bei-hai, <i>et al.</i> (4998)
Effects of Combination of Organic and Inorganic Nitrogen on Nitrification and Denitrification in Two Salinized Soils	ZHOU Hui, SHI Hai-bin, ZHANG Wen-cong, <i>et al.</i> (5010)
Response of Yield, CH ₄ , and N ₂ O Emissions from Paddy Fields to Long-term Elevated CO ₂ Concentrations	YU Hai-yang, SONG Kai-fu, HUANG Qiong, <i>et al.</i> (5021)
Effects of Feedstock Material and Pyrolysis Temperature on Dissolved Organic Matter in Biochars	YAN Dai-hong, MA Ya-pei, SONG Kai-yue, <i>et al.</i> (5030)
Spatiotemporal Variations in Atmospheric Urban Heat Island Effects and Their Driving Factors in 84 Major Chinese Cities	LI Yu, ZHOU De-cheng, YAN Zhang-mei (5037)
Research Progress in the Odorants and Their Emissions from Indoor Building Decoration Materials	ZHANG Wan-zhong, ZHANG Peng-yi (5046)