

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

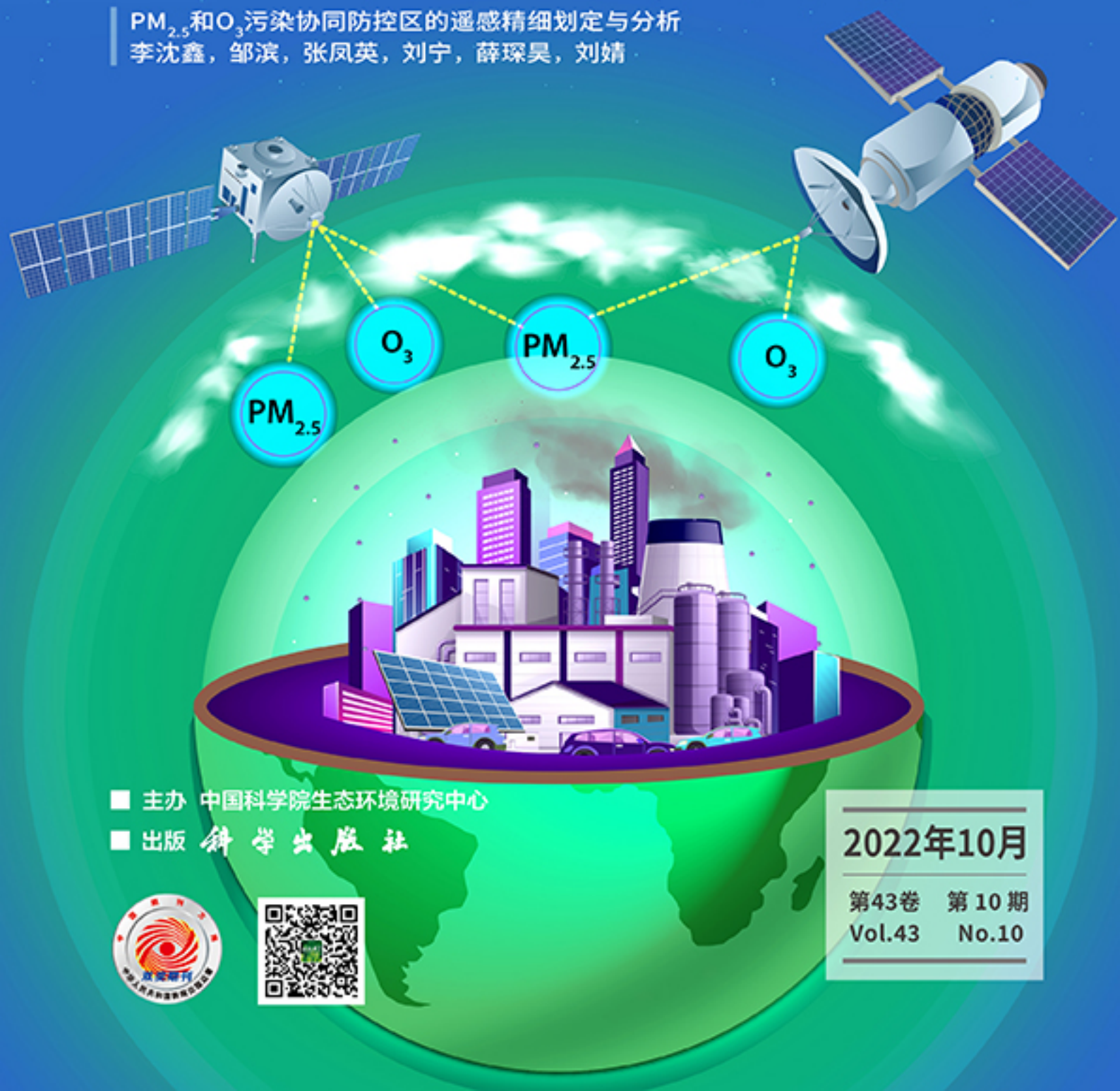
环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

PM_{2.5}和O₃污染协同防控区的遥感精细划定与分析
李沈鑫, 邹滨, 张凤英, 刘宁, 薛琛昊, 刘婧



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2022年10月

第43卷 第10期
Vol.43 No.10

目次

PM _{2.5} 和O ₃ 污染协同防控区的遥感精细划定与分析	李沈鑫, 邹滨, 张凤英, 刘宁, 薛琛昊, 刘婧 (4293)
广州市冬季一次典型臭氧污染过程分析	裴成磊, 谢雨彤, 陈希, 张涛, 邱晓暖, 王瑜, 王在华, 李梅 (4305)
佛山臭氧浓度预报方程的建立与应用	陈辰, 洪莹莹, 谭浩波, 司徒淑婷, 程银琳, 步巧利, 吴蒙, 潘巧英 (4316)
乌海市高分辨率大气污染源排放清单构建及其在臭氧污染成因探究中的应用	张瑞欣, 楚波, 尚春林, 曹喜萍, 李光耀, 朱玉凡, 刘晓, 夏佳琦, 陈强 (4327)
结合在线监测和自动识别系统分析东海沿岸船舶排放特征	邱浩, 刘丹彤, 吴杨周, 李思远, 丁朔, 胡康, 张家乐, 陈梅汀 (4338)
机动车制动磨损颗粒物及挥发性有机物的组分特征	门正宇, 刘笃优, 郭全有, 张静, 彭剑飞, 吴琳, 毛洪钧 (4348)
笼养鸡舍冬季挥发性有机物排放特征	曹甜甜, 郑云昊, 张羽, 王悦, 丛群欣, 王源昊, 董红敏 (4357)
上海市生活垃圾房气溶胶中可培养细菌污染状况及种群特征	卢冰洁, 张翔, 王川, 邱俊, 李丹 (4367)
浙江省2008~2018年人为源氨排放清单及分布特征	方利江, 杨一群, 叶观琼 (4380)
“双碳”目标下钢铁行业控煤降碳路线图	薛英岚, 张静, 刘宇, 陈瑜, 孙健, 蒋洪强, 张伟, 曹东 (4392)
空间关联网络结构特征的减排效应: 基于城市群视角	郑航, 叶阿忠 (4401)
中国对外直接投资的减污降碳效应及其实现机制	白梓函, 吕连宏, 赵明轩, 张楠, 罗宏 (4408)
近年全国地表水水质变化特征	嵇晓燕, 侯欢欢, 王姗姗, 杨凯 (4419)
湟水河流域地表水体微塑料分布、风险及影响因素	范梦苑, 黄懿梅, 张海鑫, 李好好, 黄倩 (4430)
汾河流域地表水化学同位素特征及其影响因素	赵春红, 申豪勇, 王志恒, 梁永平, 赵一, 谢浩, 唐春雷 (4440)
城镇化进程中珠江三角洲高锰地下水赋存特征及成因	吕晓立, 刘景涛, 韩占涛, 朱亮, 李海军 (4449)
喀什噶尔河下游平原区地下水咸化特征及成因分析	鲁涵, 曾妍妍, 周金龙, 孙英 (4459)
重庆市老龙洞地下河流域硝酸盐来源和生物地球化学过程的识别	王雨畅, 杨平恒, 张洁茹 (4470)
蓝藻水华过程中优势种群演替模式、效应及驱动因子分析	欧阳添, 赵璐, 纪璐璐, 杨宋琪, 郑保海, 杜雨欣, 李佳欣, 李玉鑫, 施军琼, 吴忠兴 (4480)
珠海市磨刀门水道输水水源水库群浮游植物群落特征及其环境驱动因子	张茉莉, 王思瑞, 昌盛, 王山军, 金德才, 樊月婷, 张坤峰, 谢琼, 付青 (4489)
营养物质对铜绿微囊藻生长和藻际细菌的影响	吕萍, 李慧莉, 徐勇, 郑效旭, 黄振华, 王聪, 徐圣君, 庄绪亮 (4502)
老化作用对微塑料吸附四环素的影响及其机制	王林, 王姝歆, 曾祥英, 何杨, 黄雯, 郑世界, 张建强 (4511)
沉积物和土壤中胶体对氯霉素吸附行为的影响	晏彩霞, 罗燕清, 聂明华, 周旋, 丁明军 (4522)
历史抗生素胁迫改变磺胺甲噁唑和甲氧苄啶对活性污泥的影响: ARGs及其潜在宿主	张忠兴, 樊晓燕, 李星, 高玉玺, 赵君如 (4536)
阳朔典型铅锌矿区流域土壤重金属空间分布特征及来源解析	陈盟, 潘泳兴, 黄奕翔, 王耀耀, 张睿东 (4545)
白洋淀及周边土壤重金属的分布特征及生态风险评估	郑飞, 郭欣, 汤名扬, 朱冬, 董四君, 康乐, 陈兵 (4556)
基于地理探测器的镇域尺度土壤重金属含量空间分异及其影响因素分析	龚仓, 王亮, 王顺祥, 张志翔, 董航, 刘玖芬, 王德伟, 严步青, 陈映 (4566)
燃煤电厂重金属排放与周边土壤中重金属污染特征及健康风险	车凯, 陈崇明, 郑庆宇, 范辉, 魏明磊, 罗蓬, 郁金星 (4578)
海南岛半干旱区农用地土壤重金属富集因素、健康风险及来源识别	杨剑洲, 龚晶晶, 王振亮, 高健翁, 杨建坤, 胡树起, 唐世新 (4590)
九龙江口红树林表层沉积物重金属赋存形态及污染评价	张华兰, 于瑞莲, 王瑞安, 胡恭任, 黄华斌, 吴雅清 (4601)
我国茶叶主产区有机肥重金属含量现状	伊晓云, 方丽, 杨向德, 马立峰, 刘美雅, 张群峰, 倪康, 石元值 (4613)
甘肃省农业土壤邻苯二甲酸酯累积特征及来源分析	陈玉玉, 张光全, 张杨, 李明凯, 郝佳欣, 熊有才, 李崇霄, 曹靖 (4622)
三峡库区澎溪河不同高程消落带土壤磷形态及磷酸酶活性分布特征	高艺伦, 方芳, 唐子超, 张蕊, 蒋艳雪, 郭劲松 (4630)
塔里木盆地北缘绿洲不同连作年限棉田土壤有机碳组分特征及其与理化因子的相关性	李昕竹, 贡璐, 唐军虎, 罗艳, 丁肇龙, 朱海强, 张涵, 李蕊希 (4639)
黄土丘陵区柠条人工林不同深度土壤呼吸速率对土壤湿度的响应	孙亚荣, 王亚娟, 赵敏, 薛文艳, 梁思琦, 刘乐, 刘超, 陈云明 (4648)
基于Meta-analysis的生物炭对土壤硝态氮淋失和磷酸盐固持影响	姜志翔, 崔爽, 张鑫, 郝敏, 孙德茂 (4658)
低分子有机酸强化植物修复重金属污染土壤的作用与机制	方治国, 谢俊婷, 杨青, 卢焯桢, 黄海, 朱芸娟, 尹思敏, 吴鑫涛, 都韶婷 (4669)
无机钝化剂对镉污染酸性水稻土的修复效果及其机制	张剑, 孔繁艺, 卢升高 (4679)
改良铅锌矿渣对栎树幼苗铅锌富集与耐性机制	谢天志, 陈永华, 苏荣葵, 刘慧, 姚海松 (4687)
CaO ₂ /FA复合材料富集磷效能及其回收物对土壤改良作用	岳薇, 李大鹏, 吴玲予, 王璐, 汤尧禹, 朱企, 黄勇 (4697)
早稻秸秆还田和减钾对晚稻产量和土壤肥力的影响	黄巧义, 黄建凤, 黄旭, 吴永沛, 李苹, 付弘婷, 唐拴虎, 刘一峰, 徐培智 (4706)
秸秆连续还田配施化肥对稻-油轮作土壤碳库及作物产量的影响	蔡影, 付思伟, 张博睿, 胡宏祥, 刘文雯, 俞金涛, 贾临东, 刘运峰 (4716)
化肥减量配施秸秆对双季稻田固氮微生物群落的影响	陈凯鹏, 韦菊娟, 陈丹, 王聪, 沈健林, 李勇, 吴金水 (4725)
化肥减量与有机物料添加对华北潮土微生物氮循环功能基因丰度和氮转化遗传潜力的影响	李胜君, 胡荷, 李刚, 王蕊, 赵建宁, 张贵龙, 修伟明 (4735)
长期覆膜条件下农田土壤微生物群落的响应特征	胡志娥, 肖谋良, 丁济娜, 李剑虹, 陈剑平, 葛体达, 鲁顺保 (4745)
长期秸秆还田对潮土真菌群落、酶活性和小麦产量的影响	马垒, 李燕, 魏建林, 李子双, 周晓琳, 郑福丽, 吴小宾, 王利, 刘兆辉, 谭德水 (4755)
土壤改良剂对再生水滴灌根际土壤菌群多样性及病原菌和抗生素抗性基因丰度的影响	崔丙健, 崔二革, 刘春成, 胡超, 樊向阳, 李中阳, 高峰 (4765)
氮素对苜蓿植物修复垃圾堆场镉-多环芳烃复合污染土壤及土壤细菌群落结构的影响	李怡佳, 马俊伟, 李玉倩, 肖琛, 沈心怡, 牛云, 陈家军 (4779)
抗生素降解剂对猪粪堆肥腐熟和细菌群落演替的影响	李琳琳, 张昕, 马军伟, 孙万春, 成琪璐, 林辉 (4789)
《环境科学》征订启事 (4337) 《环境科学》征稿简则 (4407) 信息 (4521, 4705, 4800)	

化肥减量与有机物料添加对华北潮土微生物氮循环功能基因丰度和氮转化遗传潜力的影响

李胜君, 胡荷, 李刚*, 王蕊, 赵建宁, 张贵龙, 修伟明*

(农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191)

摘要: 有机物料作为生态友好型的化肥替代品为农业生态系统带来了巨大的经济和环境效益。然而, 在化肥减量的基础上添加有机物料会对土壤氮(N)循环产生何种影响依旧知之甚少。在此, 设置了常规施肥(NPK)、化肥减量(NPKR)、化肥减量配施秸秆(NPKRS)、化肥减量配施有机肥(NPKRO)、化肥减量配施秸秆和有机肥(NPKROS)共5种施肥处理, 采用实时定量PCR方法测定微生物N循环功能基因丰度, 并估算微生物N转化遗传潜力。结果表明, 与NPK处理相比, 有机物料添加显著增加了参与有机N分解、N固定和N还原的异养微生物数量, 而降低了执行氨氧化的自养微生物丰度。因此, 异养微生物的比例增加, 自养微生物的比例降低。施肥措施变化显著提高了微生物N存储和气态N排放潜力, 降低了 NO_3^- 淋溶潜力, N_2O 还原潜力也有所提升。基于距离的冗余分析(db-RDA)表明, 5种施肥处理间N循环功能基因丰度差异显著(PERMANOVA, $P = 0.002$), NH_4^+ 是驱动这种变化的关键因子, 施用有机肥有利于异养N循环功能微生物, 并且同时加入秸秆增强了这种影响。Pearson相关分析表明N存储潜力和气态N排放潜力均与 NH_4^+ 含量显著负相关; NO_3^- 淋溶潜力与SOC和TN含量显著负相关, 而与 NH_4^+ 含量显著正相关。综上所述, 在化肥减量基础上添加有机物料有利于增加农田土壤N库, 降低土壤N淋溶损失, 甚至在特定环境下可以降低 N_2O 排放的环境风险。

关键词: 化肥减量; 有机物料; N循环功能微生物; 丰度; N转化遗传潜力; 小麦-玉米轮作

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2022)10-4735-10 DOI: 10.13227/j.hjks.202201030

Impacts of Co-application of Chemical Fertilizer Reduction and Organic Material Amendment on Fluvo-aquic Soil Microbial N-cycling Functional Gene Abundances and N-converting Genetic Potentials in Northern China

LI Sheng-jun, HU He, LI Gang*, WANG Rui, ZHAO Jian-ning, ZHANG Gui-long, XIU Wei-ming*

(Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China)

Abstract: The emerging environment-associated issues due to the overuse of inorganic fertilizers in agricultural production are of global concern despite the benefit of high yields. Eco-friendly organic materials with the capability to fertilize soil are encouraged to partially replace mineral fertilizer. The N cycle conducted by soil microorganisms is the most important biogeochemical process, dictating the N bioavailability in farmland ecosystems; however, little is known about how organic material amendment affects soil microbial N cycling under chemical fertilizer reduction. Hence, a fixed field trial with five fertilization practices was implemented to experimentally alter microorganisms essential for the soil N cycle, including conventional chemical fertilization (NPK), reduced chemical fertilization (NPKR), reduced chemical fertilization plus straw (NPKRS), reduced chemical fertilization plus organic fertilizer (NPKRO), and reduced chemical fertilization plus organic fertilizer and straw (NPKROS). The microbial N-cycling gene abundances and associated N-converting genetic potentials were evaluated using real-time quantitative PCR. In comparison to conventional chemical fertilization (NPK), organic addition significantly increased the amounts of heterotrophic microbes involved in organic N decomposition, N fixation, and N reduction; however, it reduced autotrophic microbes performing ammonia oxidation. Consequently, the overall proportion of heterotrophic microbes was remarkably enhanced, and the autotrophic proportion was correspondingly lowered. The fertilization practice shift significantly improved N fixation and gaseous N emission potentials, whereas it suppressed NO_3^- leaching potential. A significant discrepancy among five fertilization treatments was observed based on functional gene abundances (PERMANOVA, $P = 0.002$), as revealed by distance-based redundancy analysis (db-RDA), with NH_4^+ as the dominant factor. Organic fertilizer addition was beneficial for heterotrophic N functional microorganisms, with simultaneous input of straw augmenting such an effect. Pearson's correlation analysis revealed that N storage and gaseous N emission potentials were both substantially negatively correlated with NH_4^+ ; NO_3^- leaching potential was notably negatively associated with SOC and TN but significantly related to NH_4^+ . In conclusion, chemical fertilizer reduction combined with organic material amendments, a main fertilization recommendation, may enhance soil N storage, diminish N loss by leaching, and mitigate the environmental risk of N_2O emission. This deserves attention considering that healthy and sustainable agricultural soil environment can be cultivated from the view of microbial N-cycling.

Key words: chemical fertilizer reduction; organic material; N-cycling functional microorganism; abundance; nitrogen-converting genetic potential; wheat-maize rotation system

在过去的几十年里, 化肥使用量急剧增加, 旨在提高农业产量以满足日益增长的粮食需求^[1]。尽管带来了巨大的农业效益, 然而越来越多的研究发现长期过量投入造成的不利影响和环境风险直接导致现代农业不可持续, 全球农业正面临着前所未有的威胁^[2,3]。作为世界最大的农业生产国之一, 中国同

收稿日期: 2022-01-05; 修订日期: 2022-02-25

基金项目: 农业农村部环境保护科研监测所基础前沿项目(2021-jcqrw-xwm); 公益性行业(农业)科研专项(201503121-04); 中国农业科学院科技创新工程项目

作者简介: 李胜君(1998~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为农田土壤氮功能微生物群落与土壤健康, E-mail: lsj19811822491@163.com

* 通信作者, E-mail: ligang20032002@126.com; xiuweiming@126.com

样面临着严峻的农业环境问题.为此,中国政府于2015年决定实施化肥减施行动,以缓解紧迫的农业环境问题并保障粮食安全和农业可持续发展^[4].

为实现农业可持续发展,必须降低化肥用量^[5],并通过添加有机物料补充养分^[6].秸秆和有机肥作为主推的有机物料能够维持和提升作物产量,有利于健康土壤的培育^[7],归因于其改善了土壤养分循环,提升了土壤肥力^[8~10],同时提高了土壤物理结构稳定性,形成了健康的土壤微环境^[11].目前,已有研究主要关注有机添加对土壤理化性质、酶活性、微生物群落和作物产量的影响^[12~15],而对土壤N循环变化却缺乏了解.

N是作物必需的常量元素,决定着农业生产^[16].土壤N循环是由固氮、氨氧化和反硝化等多个相互关联过程构成的闭合网络,由包括固氮细菌(nitrogen-fixing bacteria)、氨氧化微生物(ammonia-oxidizing microorganisms)和反硝化微生物(denitrifying microorganisms)在内的多种微生物所驱动^[17].施肥措施变化所致的N投入改变将直接影响N循环微生物,功能基因标志物的应用为研究这些N循环微生物如何响应施肥措施变化提供了技术方法.*nifH*基因用于表征固定大气N₂的固氮细菌,*chiA*基因用于表征分解有机N的细菌^[18],这两种微生物能够提升土壤中生物有效N含量.氨氧化是硝化作用的第一步也是限速步骤,主要由氨氧化细菌和古菌(ammonia-oxidizing bacteria and archaea, AOB和AOA)驱动,其生物标志物为*amoA*基因^[19].亚硝酸盐还原为NO的过程主要由*nirK*和*nirS*型反硝化细菌介导^[20],随后NO被还原成N₂O,成为气态N损失和温室气体增加的主要根源^[21].近期研究发现含*nirK*基因的真菌在土壤反硝化过程中同样发挥着关键作用^[22~24].含*nosZ*基因的细菌能够将N₂O还原为N₂,其系统发育包括*nosZ* I和*nosZ* II共2个进化枝,对于减少农田土壤N₂O排放至关重要^[25].

鉴于N循环功能微生物的重要性,本研究通过田间定位试验探究小麦-玉米轮作制度下化肥减量结合有机物料添加对土壤微生物N循环功能基因丰度和N转化遗传潜力的影响,并明确其与土壤性质变化的关系.笔者假设:①由于化肥施用量减少和有机物料投入,与N获取相关的*chiA*和*nifH*基因丰度增加,进而提升N存储潜力;②*amoA*基因丰度因有效N减少和能量获取需求减弱而降低,导致NO₃⁻淋溶潜力下降;③由于营异养生活,细菌和真菌*nirK*基因以及细菌*nirS*基因丰度均因有机物料的添加而增加,将增强气态N排放潜力,同样营异养

生活的N₂O还原细菌的*nosZ*基因丰度也将有所提升.本研究以期对化肥减量结合有机物料添加对土壤微生物N循环策略的潜在生态学影响提供新的见解,并且为集约化种植制度下施肥措施合理调整和农业可持续发展提供技术支撑.

1 材料与方法

1.1 研究区概况与试验设计

本研究布设于农业农村部环境保护科研监测所试验站,该试验站坐落于天津市宁河区(117°43'E, 39°28'N),属于典型的温带大陆性季风气候,土壤类型为潮土,耕作方式为小麦-玉米轮作.本试验始于2015年10月,共包括5种处理:①常规施肥(NPK),同时作为对照;②化肥减量(NPKR);③化肥减量配施秸秆(NPKRS);④化肥减量配施有机肥(NPKRO);⑤化肥减量配施秸秆和有机肥(NPKROS).各处理(22 m × 22 m)按照随机区组设计布设,由于小区面积较大能够反映耕作措施的影响,因此未设置重复.在小麦季和玉米季,化肥施用总量均为200 kg·hm⁻²(以N计)、187.5 kg·hm⁻²(以P₂O₅计)和63 kg·hm⁻²(以K₂O计),而减量后施用总量均为140 kg·hm⁻²(以N计)、131.25 kg·hm⁻²(以P₂O₅计)和44.1 kg·hm⁻²(以K₂O计).所施用的化肥为无机复合肥、尿素、过磷酸钙和氯化钾.60%的氮肥(无机复合肥)以及全量磷肥和钾肥作为基肥于小麦和玉米播种时施入,而40%的氮肥(尿素)作为追肥于小麦的苗期和玉米的拔节期施入.按照当地常规管理方式,所有处理中小麦秸秆全部还田,那么NPKRS和NPKROS处理中的秸秆专指玉米秸秆,于玉米收获后粉碎还田.有机肥仅在小麦季施入相应处理中,施用量为15 t·hm⁻².

2019年9月,在玉米收获前采集土壤样品.在每个小区中,随机选择3个假重复样带^[26].在每个假重复样带中,使用直径5 cm的土壤采样器按照5点采样法采集5个土芯(0~20 cm),随后混合成一个复合样品.所有土壤样品置于低温保藏箱中,迅速运送至实验室.将所有土壤样品均匀混合并过2 mm筛以去除可见的石块、作物残体和动物残骸等杂质.用于分子生物学分析的子样品于-80℃冰箱中保存.本研究所采用的化学性质分析方法见文献[14],其中用土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)代替土壤有机质(soil organic matter, SOM),相关试验数据见文献[14]和表1.

1.2 土壤基因组DNA提取和实时定量PCR分析

使用DNeasy PowerSoil Isolation Kit (Qiagen, Hilden, USA)从0.25 g冻存土壤样品中提取土壤基

因组 DNA, 按照操作说明进行. 通过 1.0% (10 mg·mL⁻¹) 琼脂糖凝胶电泳验证是否成功提取 DNA, 并使用 NanoDrop ND-2000 spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Thermo Scientific, MA, USA) 检测 DNA 的纯度和浓度. 在分子生物学分析前, 所有 DNA 样品均保存于 -80℃ 冰箱中.

表 1 不同施肥措施下土壤化学性质¹⁾
Table 1 Soil chemical properties under different fertilization practices

处理	pH	ω(SOC) /g·kg ⁻¹	ω(TN) /g·kg ⁻¹	ω(TP) /g·kg ⁻¹	ω(AP) /mg·kg ⁻¹	ω(NH ₄ ⁺ -N) /mg·kg ⁻¹	ω(NO ₃ ⁻ -N) /mg·kg ⁻¹
NPK	8.08 ± 0.12a	16.21 ± 1.46c	0.92 ± 0.08c	0.63 ± 0.07a	25.19 ± 4.35ab	2.22 ± 0.28a	23.91 ± 2.96a
NPKR	8.13 ± 0.02a	17.17 ± 1.60bc	0.98 ± 0.02bc	0.64 ± 0.03a	14.40 ± 1.72c	2.14 ± 0.16ab	16.31 ± 5.62a
NPKRS	8.11 ± 0.05a	20.08 ± 1.04a	1.03 ± 0.02b	0.64 ± 0.06a	20.69 ± 3.56bc	1.82 ± 0.08ab	18.75 ± 6.40a
NPKRO	8.08 ± 0.03a	22.22 ± 1.91a	1.16 ± 0.05a	0.70 ± 0.03a	35.10 ± 5.23a	1.75 ± 0.27b	21.17 ± 6.57a
NPKROS	8.14 ± 0.06a	19.62 ± 1.36ab	1.06 ± 0.06b	0.67 ± 0.02a	34.89 ± 9.29a	1.36 ± 0.19c	21.27 ± 10.67a

1) 数据为平均值 ± 标准差 ($n = 3$); 同列中不同小写字母表示差异达到显著水平 ($P < 0.05$); NPK 表示常规施肥, NPKR 表示化肥减量, NPKRS 表示化肥减量配施秸秆, NPKRO 表示化肥减量配施有机肥, NPKROS 表示化肥减量配施秸秆和有机肥; SOC 表示土壤有机碳, TN 表示总氮, TP 表示总磷, AP 表示速效磷, NH₄⁺-N 表示铵态氮, NO₃⁻-N 表示硝态氮, 下同

使用 CFX 96 touch 实时定量 PCR 系统 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) 测定 N 功能基因丰度. 25 μL 的 PCR 反应体系包括 12.5 μL 的 TB Green™ Premix Ex Taq™ (TaKaRa, Japan), 0.5 μL 的每种引物 (10 μmol·L⁻¹) (除真菌 *nirK* 基因测定中加入 1.25 μL 外), 0.05 μL 的 T4 gene 32 protein (10 ng·μL⁻¹) (Roche, Laval, Quebec, Canada) 和 1.0 μL 的 10 倍稀释的 DNA 模板, 最后加入相应体积的灭

菌去离子水. 用于实时定量 PCR 分析的引物集和热反应程序见表 2. 试验过程中设置阴性对照以判定是否存在环境污染. 使用 10 倍连续稀释的含有靶标基因片段的质粒绘制标准曲线. 样品、标准质粒和阴性对照均设置 3 次重复. 在延伸步骤收集荧光数据. 为证实扩增的特异性, 在 qPCR 程序的最后进行熔解曲线分析. 靶标基因的扩增效率范围为 82.5% ~ 92.5%, R^2 值范围为 0.998 ~ 1.000.

表 2 实时定量 PCR 的引物集和热循环程序
Table 2 Primer sets and thermal procedures for real-time quantitative PCR

基因名称	引物名称	引物序列 (5'-3')	热循环条件	扩增子长度/bp	文献
<i>chiA</i>	chiI2 chir	GACGGCATCGACATCGATTGG CSGTCCAGCCGCGSCCRTA	95℃, 2 min; 40 个循环 95℃, 30 s, 55℃, 30 s, 72℃, 30 s	439	[27]
<i>nifH</i>	PolF PolR	TGCCAYCCSAARGCBGACTC ATSGCCATCATYTCRCCGGA	95℃, 2 min; 40 个循环 95℃, 30 s, 55℃, 30 s, 72℃, 30 s	365	[28]
AOA <i>amoA</i>	Arch-amoAF Arch-amoAR	STAATGGTCTGGCTTAGACG GCGGCCATCCATCTGTATGT	95℃, 2 min; 40 个循环 95℃, 30 s, 55℃, 30 s, 72℃, 30 s	635	[29]
AOB <i>amoA</i>	amoA-1F amoA-2R	GGGTTTCTACTGCTGGT CCCCTCKGSAAAGCCTTCTTC	95℃, 2 min; 40 个循环 95℃, 30 s, 60℃, 30 s, 72℃, 30 s	491	[30]
细菌 <i>nirK</i>	nirK FlaCuF nirK R3CuR	ATCATGGTSCCTGCCGCG GCCTCGATCAGRTTGTGGTT	95℃, 2 min; 6 个循环 95℃, 30 s, 63℃, 30 s (-1℃/cycle), 72℃, 30 s; 35 个循环 95℃, 30 s, 58℃, 30 s, 72℃, 30 s	473	[31]
真菌 <i>nirK</i>	nirKf nirKr	TACGGGCTCATGTAYGTNSARCC AGGAATCCACASCNCCYTTNTC	95℃, 2 min; 40 个循环 95℃, 30 s, 55℃, 30 s, 72℃, 30 s	480	[32]
<i>nirS</i>	nirScd3aF nirSR3cd	AACGYSAAGGARACSGG GASTTCGGRTGSGTCTTSAYGAA	95℃, 2 min; 6 个循环 95℃, 30 s, 63℃, 30 s (-1℃/cycle), 72℃, 30 s; 35 个循环 95℃, 30 s, 58℃, 30 s, 72℃, 30 s	425	[33]
<i>nosZ I</i>	nosZ2F nosZ2R	CGCRACGGCAASAAGGTSMSST CAKRTGCAKSGCRTGGCAGAA	95℃, 2 min; 6 个循环 95℃, 30 s, 65℃, 30 s (-1℃/cycle), 72℃, 30 s; 35 个循环 95℃, 30 s, 60℃, 30 s, 72℃, 30 s	267	[34]
<i>nosZ II</i>	nosZ-II-F nosZ-II-R	CTIGGICCIYTKCAYAC GCIGARCARAATCBGTRC	95℃, 2 min; 40 个循环 95℃, 30 s, 54℃, 30 s, 72℃, 45 s	697	[35]

1.3 统计分析

为满足方差齐性假设, 将功能基因拷贝数进行对数转换. 采用 N 循环功能基因的相对丰度评价微生物 N 转化中的能量投入, 用每种基因的丰度对基

因总丰度的百分比表示^[35]. 考虑到真菌在土壤反硝化作用中的重要地位, 本研究加入了真菌 *nirK* 基因丰度分析. (*chiA* + *nifH*)/(AOA *amoA* + AOB *amoA*)、(AOA *amoA* + AOB *amoA*)/(细菌 *nirK* + 真

菌 *nirK* + *nirS*) 和 (*nosZ* I + *nosZ* II)/(细菌 *nirK* + 真菌 *nirK* + *nirS*) 的丰度比分别用于评价土壤微生物的 N 存储潜力^[36,37]、 NO_3^- 淋溶潜力^[36] 和 N_2O 还原潜力(本研究). 此外, 采用(细菌 *nirK* + 真菌 *nirK* + *nirS*) 的总丰度评价土壤微生物的气态 N 排放潜力(本研究). 采用单因素方差分析(one-way analysis of variance, ANOVA)并结合 Duncan 多重比较分析 5 种施肥处理间基因丰度的差异显著性, $P < 0.05$ 时差异显著. 采用 Pearson 相关分析评价 N 循环功能基因丰度和 N 转化遗传潜力与化学性质间的相关性. 根据 N 循环功能基因丰度, 采用基于距离的冗余分析(distance-based redundancy analysis, db-RDA) 评价施肥处理间的关系, 并挖掘关键驱动因子, 采用 Canoco 5.0 for Windows 软件完成(Microcomputer Power, Inc., Ithaca, NY). 使用 Rstudio 中“vegan”包的 adonis 功能进行置换多元方差分析.

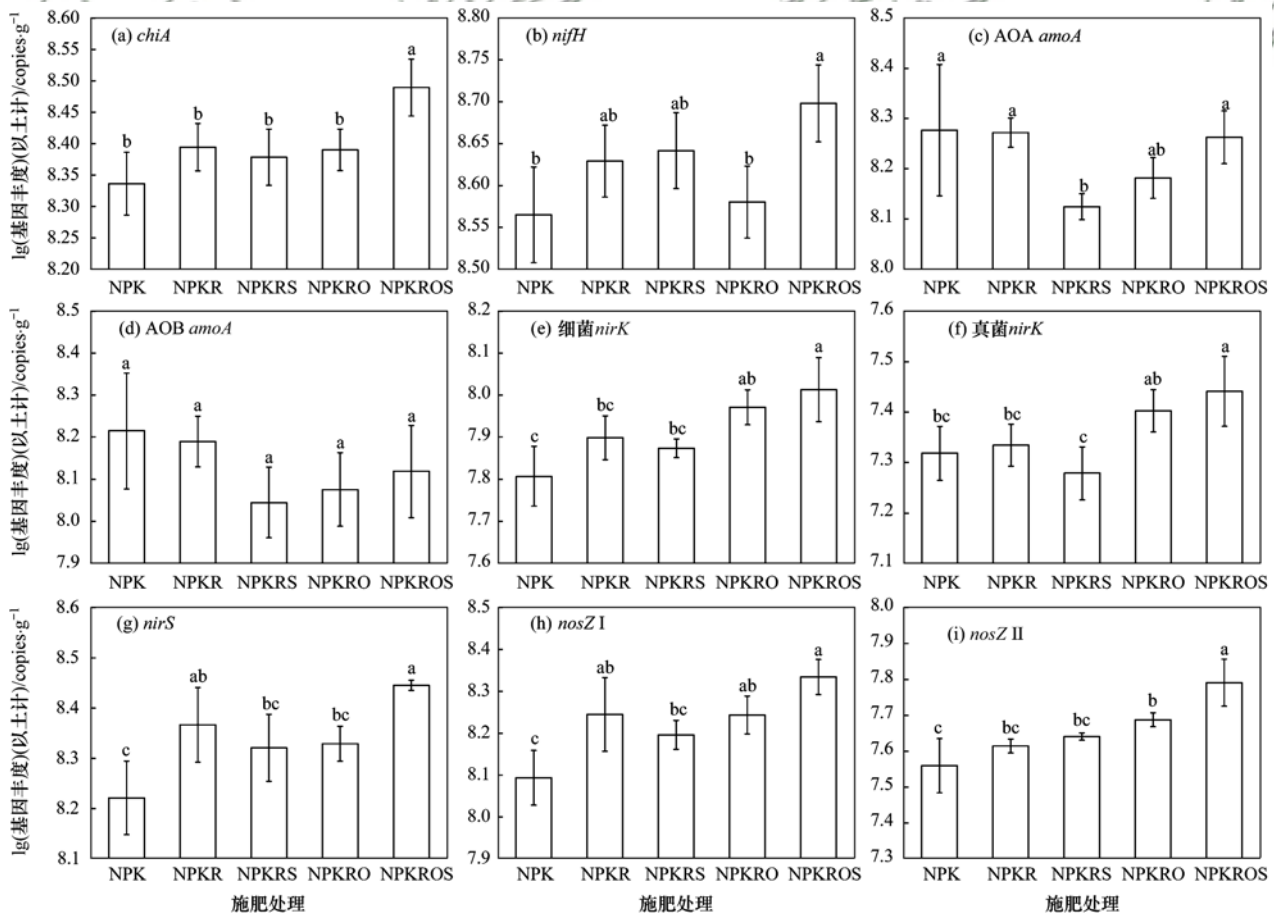
2 结果与分析

2.1 N 循环功能基因丰度

除 AOA 和 AOB *amoA* 基因外, 施肥措施变化对

N 循环功能基因丰度影响显著(图 1, $P < 0.05$). 对于 *chiA* 基因丰度, NPKROS 处理最高, NPK 处理最低, 并且 NPKROS 处理显著高于其他处理($P < 0.05$). 相似地, 施肥措施变化提高了 *nifH* 基因丰度, NPKROS 处理最高, 并且 NPKROS 处理显著高于 NPK 和 NPKRO 处理($P < 0.05$). 细菌 *nirK* 基因丰度因施肥措施改变而增加, 相比于 NPK 处理, NPKROS 和 NPKRO 处理增幅显著($P < 0.05$). 真菌 *nirK* 基因丰度整体上升, 最低值出现在 NPKRS 处理, 而非 NPK 处理, 最高值亦然出现在 NPKROS 处理. *nirS* 基因丰度明显高于两种 *nirK* 基因, NPKROS 和 NPKR 处理的 *nirS* 基因丰度较 NPK 处理显著增加($P < 0.05$). *nosZ* I 和 *nosZ* II 基因丰度也因施肥措施变化而增加, 与 NPK 处理相比, NPKROS、NPKR 和 NPKRO 处理的 *nosZ* I 基因丰度显著升高($P < 0.05$), NPKROS 和 NPKRO 处理的 *nosZ* II 基因丰度增幅显著($P < 0.05$).

由图 2 可见, *chiA* 基因的相对丰度(约占基因总丰度的 16%)未发生显著变化. *nifH* 基因丰度在基因总丰度中的占比超过 25%, 其中 NPKRS 处理的



不同小写字母表示差异达到显著水平($P < 0.05$); NPK 代表常规施肥, NPKR 代表化肥减量, NPKRS 代表化肥减量配施秸秆, NPKRO 代表化肥减量配施有机肥, NPKROS 代表化肥减量配施秸秆和有机肥, 下同

图 1 不同施肥措施下土壤微生物 N 循环功能基因丰度

Fig. 1 Abundances of soil microbial N-cycling functional genes under different fertilization practices

nifH 基因比例显著高于其他处理 ($P < 0.05$). 从整体上看, 施肥措施变化后 AOA 和 AOB *amoA* 基因的相对丰度均显著降低. 与 NPK 处理相比, 4 种施肥处理中细菌 *nirK* 基因的相对丰度均增加, 其中 NPKRO 和 NPKROS 处理增幅显著 ($P < 0.05$). 所有处理的真菌 *nirK* 基因占比均低于 2%. *nirS* 和 *nosZ I* 基因的相对丰度均因施肥措施改变而显著增加 ($P < 0.05$). 对于 *nosZ II* 基因, NPKRO 和 NPKROS 处理的相对丰度较高, 分别为 NPK 处理的 1.24 倍和 1.26 倍.

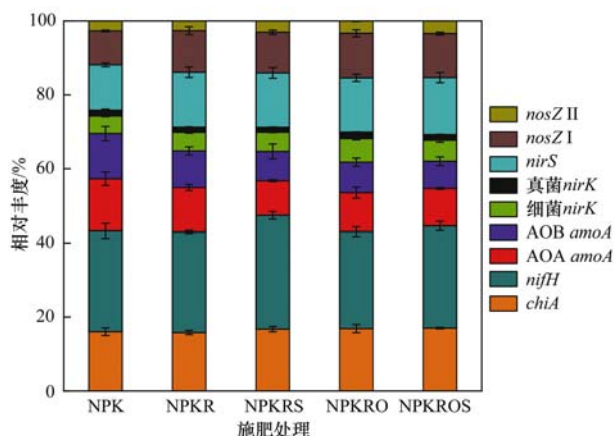


图2 不同施肥措施下土壤微生物 N 循环功能基因的相对丰度

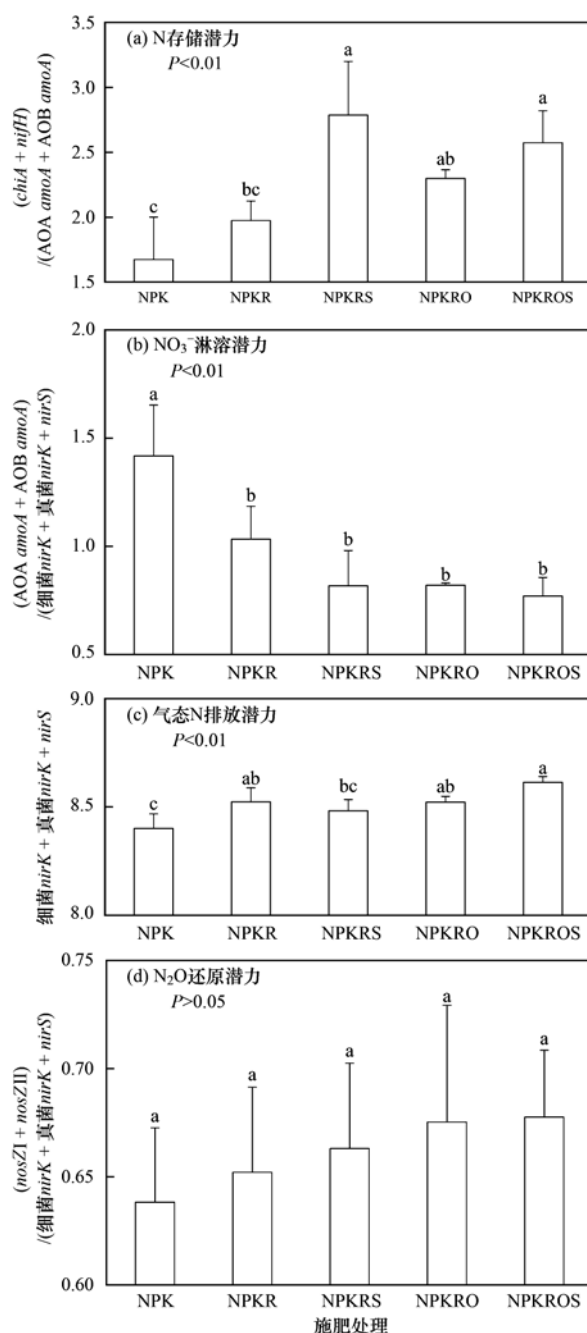
Fig. 2 Relative abundances of soil microbial N-cycling functional genes under different fertilization practices

2.2 N 转化遗传潜力

微生物 N 存储潜力因有机物料的添加而显著增加[图 3(a)], 其中 NPKRO、NPKROS 和 NPKRS 处理分别为 NPK 处理的 1.38、1.54 和 1.67 倍. NO_3^- 淋溶潜力因施肥措施变化而显著降低, 添加有机物料处理的数值几乎为 NPK 处理的一半[图 3(b)]. 与 N 存储潜力相似, 气态 N 排放潜力因施肥措施变化而增加, 其中 NPKROS、NPKR 和 NPKRO 处理与 NPK 处理间差异显著 [$P < 0.05$, 图 3(c)]. 此外, 施肥措施变化也提高了 N_2O 还原潜力, 但差异并不显著 [$P > 0.05$, 图 3(d)].

2.3 N 功能基因丰度与土壤化学性质间的关系

如 db-RDA 排序所示(图 4), 前两轴共计解释约 83.59% 的 N 循环功能基因丰度总变异. PERMANOVA (permutational multivariate analysis of variance, $R^2 = 0.645$, $P = 0.002$) 表明 5 种施肥处理间差异显著. 在所选择的 7 种土壤化学性质中, NH_4^+ 是影响 N 循环功能基因丰度的决定因素[图 4(a)]. 对于 N 循环功能基因丰度, 添加有机肥的处理(NPKRO 和 NPKROS 处理)的分布表现出明显的相似性. 同时, 基于样品分布与 N 循环功能基因丰度的关系[图 4(b)], 有机肥投入有利于除 AOA 和



不同小写字母表示差异达到显著水平 ($P < 0.05$)

图3 不同施肥措施下土壤微生物 N 转化遗传潜力

Fig. 3 Soil microbial N-converting genetic potentials under different fertilization practices

AOB *amoA* 基因外的 N 循环功能基因丰度, 而秸秆的加入增强了这种影响.

Pearson 相关性分析表明(表 3), *chiA* 基因丰度与 NH_4^+ 显著负相关 ($P < 0.05$). AOB *amoA* 基因丰度与 TN 显著负相关 ($P < 0.05$). 此外, 细菌 *nirK* 基因拷贝数与 SOC、AP 和 TN 间均表现出显著正相关关系 ($P < 0.05$). 同样, 真菌 *nirK* 基因丰度与 AP 显著正相关 ($P < 0.05$). *nosZ II* 基因丰度与 SOC、AP 和 TN 显著正相关 ($P < 0.05$), 而与 NH_4^+ 显著负相关 ($P < 0.01$). 然而, 未见 *nifH*、AOA *amoA*、*nirS* 和

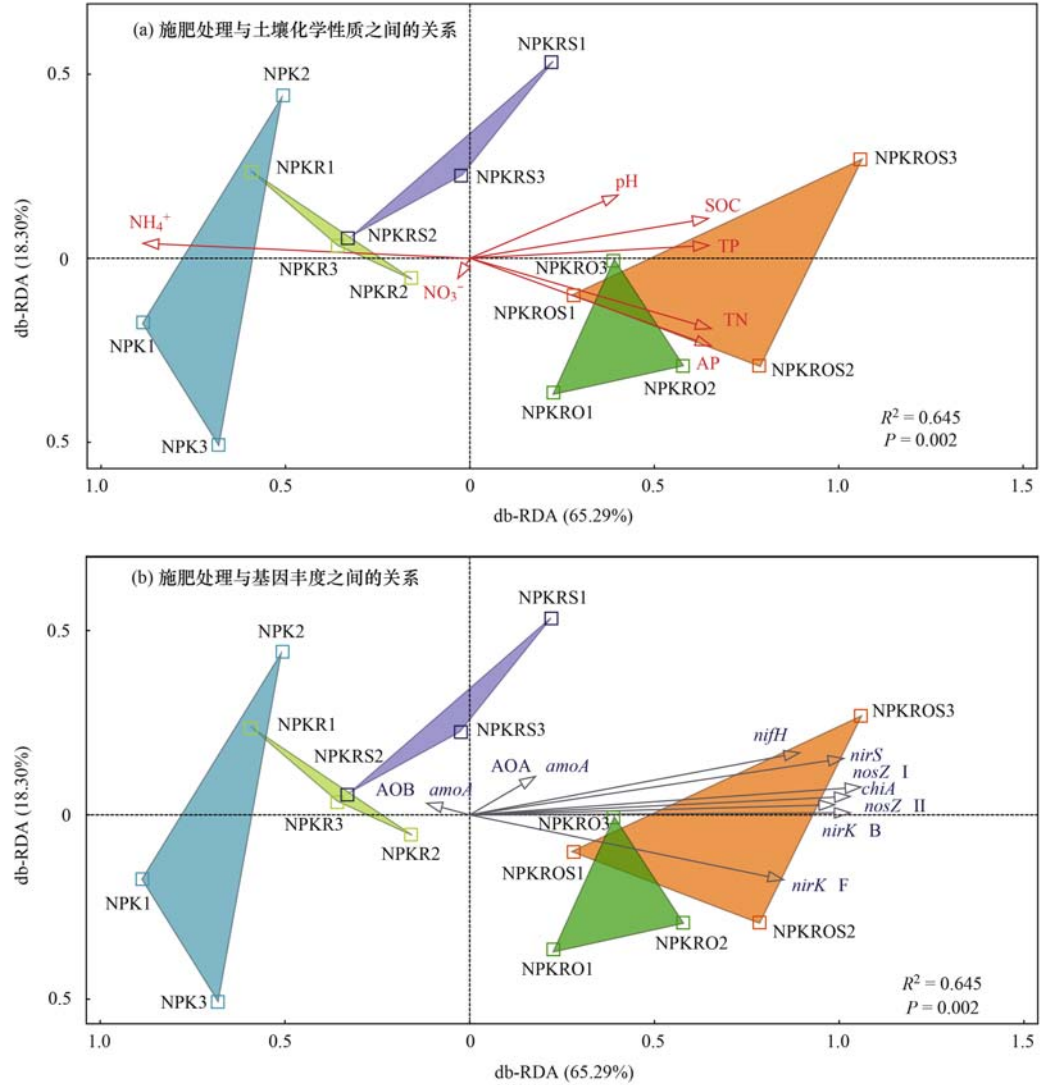


图 4 基于 N 循环功能基因丰度的 db-RDA 排序

Fig. 4 Distance-based redundancy analysis (db-RDA) according to the abundances of N-cycling genes

表 3 N 循环功能基因丰度和 N 转化遗传潜力与化学性质间的 Pearson 相关性分析¹⁾

Table 3 Relationships of N-cycling functional gene abundances and N-converting genetic potentials with soil chemical properties as revealed by Pearson correlation analysis

	pH	SOC	TN	TP	AP	NH ₄ ⁺ -N	NO ₃ ⁻ -N	N 存储	NO ₃ ⁻ 淋溶	气态 N 排放	N ₂ O 还原
<i>chiA</i>						-0.518 *		ND	ND	ND	ND
<i>nifH</i>								ND	ND	ND	ND
AOA <i>amoA</i>								ND	ND	ND	ND
AOB <i>amoA</i>			-0.531 *					ND	ND	ND	ND
细菌 <i>nirK</i>		0.549 *	0.531 *		0.525 *			ND	ND	ND	ND
真菌 <i>nirK</i>					0.595 *			ND	ND	ND	ND
<i>nirS</i>								ND	ND	ND	ND
<i>nosZ</i> I								ND	ND	ND	ND
<i>nosZ</i> II		0.521 *	0.531 *		0.551 *	-0.773 **		ND	ND	ND	ND
N 存储						-0.568 *		1	-0.892 **		
NO ₃ ⁻ 淋溶		-0.604 *	-0.700 **			0.594 *			1	-0.618 *	
气态 N 排放						-0.514 *				1	
N ₂ O 还原											1

1) 数值为相关系数, 仅列出显著相关的数值; * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$, ND 表示未进行相关分析

nosZ I 基因拷贝数与任何化学指标呈现显著相关关系. N 存储潜力与 NO₃⁻ 淋溶潜力 ($P < 0.01$) 和 NH₄⁺

($P < 0.05$) 间均呈现显著负相关关系. NO₃⁻ 淋溶潜力与气态 N 排放潜力 ($P < 0.05$)、SOC ($P < 0.05$)

和 TN ($P < 0.01$) 间均显著负相关, 而与 NH_4^+ ($P < 0.05$) 显著正相关。气态 N 排放潜力与 NH_4^+ 显著负相关 ($P < 0.05$)。然而, N_2O 还原潜力与所有化学性质间均无显著相关关系。

3 讨论

3.1 有机 N 分解和 N 固定表征的土壤微生物 N 存储
与第一个假设一致, 相比于 NPK 处理, 施肥措施发生变化的处理中 *chiA* 基因丰度增加。含 *chiA* 基因的细菌能够以几丁质作为 C 和 N 源^[38]。有机物料带来的大量 C 和 N 源刺激了解解几丁质细菌的生长和繁殖。出乎意料的是仅化肥减量配施秸秆和有机肥的处理 (NPKROS 处理) 中, *chiA* 基因丰度显著高于对照 (NPK 处理)。细菌分解几丁质在有氧和缺氧条件下均可以发生, 而有氧条件更为有利^[38]。在农田中, 几丁质分解主要发生在充气的表土中^[39]。秸秆还田形成的富氧微环境能够促进几丁质分解细菌, 然而秸秆中相对较少的底物类型可能会限制几丁质分解者。有机肥因其含有丰富且易分解的底物同样会激发几丁质分解细菌, 但仅添加有机肥无法形成与秸秆还田相似的通风条件。同时添加秸秆和有机肥能够形成底物类型多样和富氧条件的微区, 几丁质分解细菌快速繁殖。仅降低化肥施用量同样增加了几丁质分解细菌的丰度, 可能与化肥对微生物的抑制作用减弱有关。

固氮细菌通过生物 N 固定将大气 N 转变为生物可利用 N, 此过程是农田土壤有效 N 的第二大来源^[40]。与几丁质分解细菌相似, N 固定细菌数量也因施肥措施变化而增加, 并且在 NPKROS 处理中增幅显著。化肥施用量降低直接导致生物有效 N 减少, 一方面, 可能会减弱化学施肥的不利影响, 另一方面, 可能会引发作物与微生物间的 N 竞争, 最终表现在 N 固定细菌的 N 捕获过程得到增强^[41]。有研究报道有机物料单独或与化肥联合施用均有利于 N 固定细菌^[42], 归因于其对有机物质和能量的依赖^[29], 因此土壤中较高的有机质含量有利于固氮细菌, 这与本研究的结果相一致。与同时添加有机肥和秸秆的处理 (NPKROS 处理) 相比, 单独添加有机肥 (NPKRO 处理) 却显著降低了固氮菌丰度, 可能是由于有机肥富含的有机 N 矿化后补充了无机 N, 而富 C 的秸秆的加入改变了 C 和 N 平衡, 增强了 N 素利用, 激发固氮群落增殖以执行 N 固定。此外, 土壤通透性的改善也会提供充足的 N_2 , 但固氮菌通过何种机制保证固氮酶免受同时引入的 O_2 的抑制作用有待深入研究。

N 循环微生物倾向于降低 N 存储并增加 N 损

失以应对 N 富集, 这是通过调控富 N 环境中 N 功能群丰度实现的^[36], 反之亦然。综合以上研究结果, 由于有效 N 投入降低和有机 C 投入增加, 参与有机 N 分解和 N 固定的微生物数量增加, 土壤 N 存储潜力显著增强, 土壤向 N 自给的方向发展。

3.2 氨氧化主导的土壤 NO_3^- 淋溶损失

化能自养型氨氧化微生物群落 (如 AOA 和 AOB) 的丰度、组成和结构受土壤 N 有效性的强烈影响^[43,44]。本研究中降低化肥施用量直接导致用作电子供体和能量来源的无机 N 底物减少^[45]。与常规施肥措施相比, 仅降低化肥用量表现出对 AOA 和 AOB 的轻微抑制作用, 说明在这两种施肥措施下 N 底物供应是相当的。然而, 有机物料的添加表现出明显的抑制效果, 这不同于 Xue 等^[46]的研究结果。对于 AOA, 化肥减量配施秸秆处理 (NPKRS 处理) 中丰度最低, 可能归因于富 C 贫 N 秸秆所引发的无机 N 源被大量利用。有机肥本身含有一定数量的无机 N, 而且其富含的有机 N 在微生物 N 矿化下生成无机 N, 同时秸秆添加提升了有氧条件和土壤 C 含量, 进一步刺激有机 N 分解, 进而产生更多的可用于硝化作用的 N 底物。AOB 表现出相似的丰度变化, 尽管处理间差异并不显著, 产生这种结果的原因可能与 AOA 相似。尽管有机 N 分解和 N 固定增强, 但在作物和其他微生物利用后, 剩余的可为氨氧化微生物直接利用的 N 可能是不足的。此外, 氨氧化微生物通过氧化氨获得电子和能量以固定大气 CO_2 用于合成有机化合物^[19], 有机物料的添加可能会改变微生物对有机 C 的需求, 异养型微生物因有机物料的投入而快速增殖, 压缩了 AOA 和 AOB 的生存空间。

总之, 在化肥减量的基础上添加有机物料降低了氨氧化微生物的丰度, 暗示由氨向下转化直接供应 NO_3^- 能力的减弱, 同时结合产 N_2O 微生物丰度的有机 C 升高, 表明可能在遗传水平上直接缓解 NO_3^- 淋溶损失, 说明该措施的实施可能会减轻硝态氮淋溶进入地下水的环境风险。

3.3 反硝化介导的土壤气态 N 损失和 N_2O 还原

与硝化作用紧密关联的反硝化作用是陆地生态系统中主要的 N_2O 排放途径之一^[47], 其 2 个关键步骤 (NO_2^- 和 N_2O 还原) 通常被用于研究气态 N 损失和 N_2O 汇^[48,49]。正如所预期的, 参与 NO_2^- 还原为 NO 的 2 种细菌亚硝酸还原酶基因的丰度因施肥措施变化而增加, 并且 NPKROS 处理下丰度最高。 *nirK* 和 *nirS* 型反硝化细菌均为严格的异养菌, 其通过分解有机化合物获取能量用于生长和繁殖^[50], 因此, 与常规施肥措施相比, 有机物料投入增加了 C 底物并对这 2 种细菌产生积极影响。值得注意的是, 仅实施

化肥减量的处理(NPKR 处理)同样增加了这 2 种细菌数量,可能是因为 NPKR 处理中 AOA 和 AOB 丰度较高,其为细菌 N_2O 生产者提供可直接利用的无机 N 源,并且与减弱的化学施肥不利影响有关.此外,在所有处理中 *nirS* 基因拷贝数均高于 *nirK* 基因,这与 Zhao 等^[49]的研究结果一致,其研究表明 *nirS* 型 N_2O 生产者在农田土壤中占据数量优势.与细菌 N_2O 生产者相似,施肥措施变化同样提高了真菌 *nirK* 基因数量,除 NPKRS 处理的丰度略低于 NPK 处理.化肥减量配施秸秆下真菌 *nirK* 基因丰度的降低可能与相对较少的有机底物类型和有限的无机 N 源有关.此外,与细菌反硝化微生物相似,化肥减量配施有机肥和秸秆对真菌反硝化菌群最为有利.

本研究中进化枝 I 和 II 的 *nosZ* 基因丰度均因有机物料添加而增加,并与产 N_2O 微生物表现出相似的生态偏好.作为异养型微生物, N_2O 还原细菌同样需要有机物质作为能量源和电子供体^[51],因此有机物料投入有利于 2 个进化枝的生长和繁殖.与 NPK 处理相比,仅实施化肥减量的处理同样表现出较高的丰度,可能是由于在连续还原过程中产 N_2O 微生物产生了更多可以直接利用的电子受体,另一个原因可能是化肥减量缓解了对土壤微生物的不利影响.2 种进化枝丰度间的比较表明进化枝 I 在数量上高于进化枝 II,与此前在农田中进行的研究一致^[49].然而,据报道 *nosZ* II 型 N_2O 还原微生物决定了 N_2O 排放潜力^[49],说明数量优势并不一定代表高生物化学活性^[52],并且本研究中是否也存在这种现象需要进一步探索.

N_2O 生产者和消费者间的平衡一定程度上决定了土壤的净 N_2O 排放^[53].尽管气态 N 排放潜力的增强意味着会产生更多的 N_2O ,但 N_2O 还原微生物数量同样增加(N_2O 还原潜力增加),则 N_2O 被还原的量增加.尽管如此,必须认识到虽然反硝化作用是兼性厌氧过程^[54],但由于其偏爱厌氧环境^[55],本研究所采用的参数可能无法全面反映与 N_2O 产生和消耗有关的真实环境,但当遇到灌溉、降雨事件,甚至是土壤含水量较高的微环境时,所获得的结果为预测这种潜力提供了有价值的信息.值得注意的是硝化微生物的反硝化作用被证实是另一个重要的 N_2O 排放途径^[45],仅采用细菌 *nirK* + 真菌 *nirK* + 细菌 *nirS* 丰度总和可能低估了真实的气态 N 排放潜力,因此必须进行长期监测以证实气态 N 排放和 N_2O 还原潜力的可应用性.

3.4 N 循环功能微生物的能量投入策略和潜在驱动因素

本研究中,除营自养生活的氨氧化微生物外,其

他微生物均为异养型.相比于常规施肥,施肥措施的变化,尤其是有机物料添加,有利于异养菌群,反而抑制了自养菌群,说明微生物能量投入与平衡策略因能量、资源和养分组成变化而发生改变^[36].由于 C 源增加, C 利用和有效 N 供应中的能量投入相应增加,而能量获取途径中的投入则会降低,以调节 C/N 化学计量平衡.由于固氮细菌和亚硝酸盐还原微生物偏爱富含有机 C 的土壤环境^[21,56],因此参与耗能的 N 供应和还原过程的微生物比例整体上升. *nifH* 基因在数量上占主导地位,说明本研究的土壤具有极大的生物 N 固定遗传潜力.

db-RDA 分析表明 5 种施肥处理间差异显著,说明施肥措施强烈影响 N 循环功能基因丰度, NH_4^+ 在此过程中发挥关键作用. NPKRO 和 NPKROS 处理间关系紧密,均对异养型 N 循环微生物数量产生积极影响,说明有机肥可能是潜在的积极因素,并且秸秆的加入起到促进作用. N 存储和 NO_3^- 淋溶潜力与 NH_4^+ 分别呈显著负相关和正相关关系,表明化肥施用不利于土壤 N 存储并且极易引发 N 淋溶,较低的气态 N 排放能力同样会增加 NO_3^- 淋溶,可能与反硝化作用受到抑制有关.

4 结论

化肥减量结合有机物料投入对异养 N 循环微生物产生了积极的影响,而对自养 N 循环微生物造成了不利影响. N 转化过程的能量投入和多数 N 循环微生物的生态位因施肥措施变化而发生改变.施肥措施变化提高了微生物 N 存储、气态 N 排放和 N_2O 还原潜力,而降低 NO_3^- 淋溶潜力.与化肥投入密切相关的 NH_4^+ 在驱动 N 功能微生物丰度变化中发挥关键作用.总之,化肥减量耦合有机物料投入具有促进土壤 N 存储,抑制淋溶所致的 N 损失,并缓解因 N_2O 排放所致的环境风险的潜力,暗示可以从 N 循环功能基因丰度及 N 转化遗传潜力角度揭示健康和可持续农业土壤培育的生物学机制.

参考文献:

- [1] Galloway J N, Townsend A R, Erisman J W, et al. Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, and potential solutions[J]. Science, 2008, **320**(5878): 889-892.
- [2] Guo J H, Liu X J, Zhang Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. Science, 2010, **327**(5968): 1008-1010.
- [3] Raza S, Miao N, Wang P Z, et al. Dramatic loss of inorganic carbon by nitrogen-induced soil acidification in Chinese croplands[J]. Global Change Biology, 2020, **26**(6): 3738-3751.
- [4] 农业部种植业管理司. 农业部 020 年化肥使用量零增长行动方案》和《到 2020 年农药使用量零增长行动方案》的通知[EB/OL]. <http://www.zzyz.moa.gov.cn/gzdt/201503/>

- t20150318_6309945.htm, 2015-03-18.
- [5] Ju X T, Xing G X, Chen X P, *et al.* Reducing environmental risk by improving N management in intensive Chinese agricultural systems[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, **106**(9): 3041-3046.
- [6] Bai H Z, Tao F L. Sustainable intensification options to improve yield potential and eco-efficiency for rice-wheat rotation system in China[J]. *Field Crops Research*, 2017, **211**: 89-105.
- [7] Sun R B, Zhang X X, Guo X S, *et al.* Bacterial diversity in soils subjected to long-term chemical fertilization can be more stably maintained with the addition of livestock manure than wheat straw[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **88**: 9-18.
- [8] Steiner C, Teixeira W G, Lehmann J, *et al.* Long term effects of manure, charcoal and mineral fertilization on crop production and fertility on a highly weathered Central Amazonian upland soil[J]. *Plant and Soil*, 2007, **291**(1-2): 275-290.
- [9] Zhu H H, Wu J S, Huang D Y, *et al.* Improving fertility and productivity of a highly-weathered upland soil in subtropical China by incorporating rice straw[J]. *Plant and Soil*, 2010, **331**(1-2): 427-437.
- [10] Zhao H L, Ning P, Chen Y L, *et al.* Effect of straw amendment modes on soil organic carbon, nitrogen sequestration and crop yield on the North-Central Plain of China[J]. *Soil Use and Management*, 2019, **35**(3): 511-525.
- [11] Lin Y X, Ye G P, Kuzakov Y, *et al.* Long-term manure application increases soil organic matter and aggregation, and alters microbial community structure and keystone taxa[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, **134**: 187-196.
- [12] 靳玉婷, 李先藩, 蔡影, 等. 秸秆还田配施化肥对稻-油轮作土壤酶活性及微生物群落结构的影响[J]. *环境科学*, 2021, **42**(8): 3985-3996.
- Jin Y T, Li X F, Cai Y, *et al.* Effects of straw returning with chemical fertilizer on soil enzyme activities and microbial community structure in rice-rape rotation[J]. *Environmental Science*, 2021, **42**(8): 3985-3996.
- [13] Zhu J, Peng H, Ji X H, *et al.* Effects of reduced inorganic fertilization and rice straw recovery on soil enzyme activities and bacterial community in double-rice paddy soils[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2019, **94**, doi: 10.1016/j.ejsobi.2019.103116.
- [14] Wu X, Zhang T, Zhao J N, *et al.* Variation of soil bacterial and fungal communities from fluvo-aquic soil under chemical fertilizer reduction combined with organic materials in North China Plain[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2021, **21**(1): 349-363.
- [15] Chen A L, Zhang W Z, Sheng R, *et al.* Long-term partial replacement of mineral fertilizer with *in situ* crop residues ensures continued rice yields and soil fertility: a case study of a 27-year field experiment in subtropical China[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, **787**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.147523.
- [16] Thomas R Q, Brookshire E N J, Gerber S. Nitrogen limitation on land: how can it occur in Earth system models? [J]. *Global Change Biology*, 2015, **21**(5): 1777-1793.
- [17] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, **16**(5): 263-276.
- [18] Geisseler D, Horwath W R, Joergensen R G, *et al.* Pathways of nitrogen utilization by soil microorganisms? A review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, **42**(12): 2058-2067.
- [19] Lehtovirta-Morley L E. Ammonia oxidation: ecology, physiology, biochemistry and why they must all come together[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2018, **365**(9), doi: 10.1093/femsle/fny058.
- [20] Zumft W G. Cell biology and molecular basis of denitrification[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1997, **61**(4): 533-616.
- [21] Levy-Booth D J, Prescott C E, Grayston S J. Microbial functional genes involved in nitrogen fixation, nitrification and denitrification in forest ecosystems [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, **75**: 11-25.
- [22] Ma S T, Shan J, Yan X Y. N₂O emissions dominated by fungi in an intensively managed vegetable field converted from wheat-rice rotation[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, **116**: 23-29.
- [23] Xu H F, Sheng R, Xing X Y, *et al.* Characterization of fungal *nirK*-containing communities and N₂O emission from fungal denitrification in arable soils[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, **10**, doi: 10.3389/fmicb.2019.00117.
- [24] Aldossari N, Ishii S. Fungal denitrification revisited - Recent advancements and future opportunities [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, **157**, doi: 10.1016/j.soilbio.2021.108250.
- [25] Jones C M, Graf D R, Bru D, *et al.* The unaccounted yet abundant nitrous oxide-reducing microbial community: a potential nitrous oxide sink[J]. *The ISME Journal*, 2013, **7**(2): 417-426.
- [26] Merloti L F, Mendes L W, Pedrinho A, *et al.* Forest-to-agriculture conversion in Amazon drives soil microbial communities and N-cycle[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, **137**, doi: 10.1016/j.soilbio.2019.107567.
- [27] Xiao X, Yin X B, Lin J, *et al.* Chitinase genes in lake sediments of Ardley Island, Antarctica [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(12): 7904-7909.
- [28] Huang L N, Tang F Z, Song Y S, *et al.* Biodiversity, abundance, and activity of nitrogen-fixing bacteria during primary succession on a copper mine tailings[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, **78**(3): 439-450.
- [29] Francis C A, Roberts K J, Beman J M, *et al.* Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, **102**(41): 14683-14688.
- [30] 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**(12): 4704-4712.
- [31] Hallin S, Lindgren P E. PCR detection of genes encoding nitrite reductase in denitrifying bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(4): 1652-1657.
- [32] Wei W, Isobe K, Shiratori Y, *et al.* Development of PCR primers targeting fungal *nirK* to study fungal denitrification in the environment[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **81**: 282-286.
- [33] Su M X, Kleineidam K, Schlöter M. Influence of different litter quality on the abundance of genes involved in nitrification and denitrification after freezing and thawing of an arable soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2010, **46**(5): 537-541.
- [34] Melero S, Pérez-de-Mora A, Murillo J M, *et al.* Denitrification in a vertisol under long-term tillage and no-tillage management in dryland agricultural systems: key genes and potential rates[J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, **47**(3): 221-225.

- [35] Stone M M, Kan J J, Plante A F. Parent material and vegetation influence bacterial community structure and nitrogen functional genes along deep tropical soil profiles at the Luquillo Critical Zone Observatory[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **80**: 273-282.
- [36] Tang Y Q, Yu G R, Zhang X Y, *et al.* Changes in nitrogen-cycling microbial communities with depth in temperate and subtropical forest soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, **124**: 218-228.
- [37] Song Z L, Wang J, Liu G B, *et al.* Changes in nitrogen functional genes in soil profiles of grassland under long-term grazing prohibition in a semiarid area[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, **673**: 92-101.
- [38] Wiczorek A S, Schmidt O, Chatzinotas A, *et al.* Ecological functions of agricultural soil bacteria and microeukaryotes in chitin degradation: a case study[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, **10**, doi: 10.3389/fmicb.2019.01293.
- [39] Fernandez C W, Koide R T. The role of chitin in the decomposition of ectomycorrhizal fungal litter[J]. *Ecology*, 2012, **93**(1): 24-28.
- [40] Ollivier J, Töwe S, Bannert A, *et al.* Nitrogen turnover in soil and global change[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, **78**(1): 3-16.
- [41] Vitousek P M, Menge D N L, Reed S C, *et al.* Biological nitrogen fixation: rates, patterns and ecological controls in terrestrial ecosystems[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013, **368**(1621), doi: 10.1098/rstb.2013.0119.
- [42] Liao H K, Li Y Y, Yao H Y. Fertilization with inorganic and organic nutrients changes diazotroph community composition and N-fixation rates[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2018, **18**(3): 1076-1086.
- [43] Zhang Y, Chen L J, Dai T J, *et al.* Ammonia manipulates the ammonia-oxidizing archaea and bacteria in the coastal sediment-water microcosms[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, **99**(15): 6481-6491.
- [44] Norman J S, Barrett J E. Substrate availability drives spatial patterns in richness of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in temperate forest soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, **94**: 169-172.
- [45] Wrage-Mönnig N, Horn M A, Well R, *et al.* The role of nitrifier denitrification in the production of nitrous oxide revisited[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, **123**: A3-A16.
- [46] Xue C, Zhang X, Zhu C, *et al.* Quantitative and compositional responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria to long-term field fertilization[J]. *Scientific Reports*, 2016, **6**, doi: 10.1038/srep28981.
- [47] Butterbach-Bahl K, Baggs E M, Dannenmann M, *et al.* Nitrous oxide emissions from soils: how well do we understand the processes and their controls? [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013, **368**(1621), doi: 10.1098/rstb.2013.0122.
- [48] Li D D, Zhang X Y, Green S M, *et al.* Nitrogen functional gene activity in soil profiles under progressive vegetative recovery after abandonment of agriculture at the Puding Karst Critical Zone Observatory, SW China[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, **125**: 93-102.
- [49] 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.
- [50] Zhang Y, Cai Z C, Zhang J B, *et al.* C:N ratio is not a reliable predictor of N_2O production in acidic soils after a 30-day artificial manipulation[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **725**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.138427.
- [51] Groffman P M. Terrestrial denitrification: challenges and opportunities[J]. *Ecological Processes*, 2012, **1**(1), doi: 10.1186/2192-1709-1-11.
- [52] Liu Z B, Zhang C J, Wei Q Y, *et al.* Temperature and salinity drive comammox community composition in mangrove ecosystems across southeastern China[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **742**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.140456.
- [53] Domeignoz-Horta L A, Spor A, Bru D, *et al.* The diversity of the N_2O reducers matters for the N_2O : N_2 denitrification end-product ratio across an annual and a perennial cropping system[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, **6**, doi: 10.3389/fmicb.2015.00971.
- [54] Liu B B, Zhang X J, Bakken L R, *et al.* Rapid succession of actively transcribing denitrifier populations in agricultural soil during an anoxic spell[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, **9**, doi: 10.3389/fmicb.2018.03208.
- [55] Philippot L, Hallin S, Schlöter M. Ecology of denitrifying prokaryotes in agricultural soil[J]. *Advances in Agronomy*, 2007, **96**: 249-305.
- [56] Chen Z, Luo X Q, Hu R G, *et al.* Impact of long-term fertilization on the composition of denitrifier communities based on nitrite reductase analyses in a paddy soil[J]. *Microbial Ecology*, 2010, **60**(4): 850-861.

CONTENTS

Regionalization and Analysis of PM _{2.5} and O ₃ Synergetic Prevention and Control Areas Based on Remote Sensing Data	LI Shen-xin, ZOU Bin, ZHANG Feng-ying, <i>et al.</i>	(4293)
Analysis of a Typical Ozone Pollution Process in Guangzhou in Winter	PEI Cheng-lei, XIE Yu-tong, CHEN Xi, <i>et al.</i>	(4305)
Establishment and Application of Foshan Ozone Concentration Forecast Equation	CHEN Chen, HONG Ying-ying, TAN Hao-bo, <i>et al.</i>	(4316)
Establishment of High-Resolution Emissions Inventory in Wuhai and Its Application in Exploring the Causes of Ozone Pollution	ZHANG Rui-xin, CHU Bo, SHANG Chun-lin, <i>et al.</i>	(4327)
Investigating the Pollutants of Marine Shipping Emissions Along the East China Sea by Combining in-situ Measurements and Automatic Identification System	QIU Hao, LIU Dan-long, WU Yang-zhou, <i>et al.</i>	(4338)
Chemical Component of Particulate Matters and VOCs Characteristics During Vehicle Brake Processes	MEN Zheng-yu, LIU Du-you, GUO Quan-you, <i>et al.</i>	(4348)
Characterization of VOCs Emissions from Caged Broiler House in Winter	CAO Tian-tian, ZHENG Yun-hao, ZHANG Yu, <i>et al.</i>	(4357)
Concentrations and Community Structures of Culturable Bacteria in Aerosols of Household Garbage Stations in Shanghai	LU Bing-jie, ZHANG Xiang, WANG Chuan, <i>et al.</i>	(4367)
Inventory and Distribution Characteristics of Anthropogenic Ammonia Emissions in Zhejiang Province from 2008 to 2018	FANG Li-jiang, YANG Yi-qun, YE Guan-qiong	(4380)
Roadmap of Coal Control and Carbon Reduction in the Steel Industry Under the Carbon Peak and Neutralization Target	XUE Ying-lan, ZHANG Jing, LIU Yu, <i>et al.</i>	(4392)
Carbon Emission Reduction Effect of Spatial Correlation Network Structure Characteristics: From the Perspective of Urban Agglomeration	ZHENG Hang, YE A-zhong	(4401)
Pollution and Carbon Reduction Effect of OFDI in China and Its Mechanism	BAI Zi-han, LÜ Lian-hong, ZHAO Ming-xuan, <i>et al.</i>	(4408)
Variation Characteristics of Surface Water Quality in China in Recent Years	JI Xiao-yan, HOU Huan-huan, WANG Shan-shan, <i>et al.</i>	(4419)
Distribution, Risk, and Influencing Factors of Microplastics in Surface Water of Huangshui River Basin	FAN Meng-yuan, HUANG Yi-mei, ZHANG Hai-xin, <i>et al.</i>	(4430)
Hydrochemical and Isotopic Characteristics in the Surface Water of the Fenhe River Basin and Influence Factors	ZHAO Chun-hong, SHEN Hao-yong, WANG Zhi-heng, <i>et al.</i>	(4440)
Characteristics and Causes of High-manganese Groundwater in Pearl River Delta During Urbanization	LÜ Xiao-li, LIU Jing-tao, HAN Zhan-tao, <i>et al.</i>	(4449)
Characteristics and Causes of Groundwater Salinization in the Plain Area of the Lower Kashgar River	LU Han, ZENG Yan-yan, ZHOU Jin-long, <i>et al.</i>	(4459)
Sources and Biogeochemical Processes of Nitrate in the Laolongdong Karst Underground River Basin, Chongqing	WANG Yu-yang, YANG Ping-heng, ZHANG Jie-ru	(4470)
Succession Pattern and Consequences of the Dominant Species During Cyanobacterial Bloom and Its Influencing Factors	OUYANG Tian, ZHAO Lu, JI Lu-lu, <i>et al.</i>	(4480)
Structural Characteristics of Phytoplankton Communities and Its Relationship with Environmental Factors in a Group of Drinking Water Reservoirs by Water Transmission from Modaomen Waterway in Zhuhai	ZHANG Mo-li, WANG En-rui, CHANG Sheng, <i>et al.</i>	(4489)
Effects of Nutrients on the Growth of <i>Microcystis aeruginosa</i> and Bacteria in the Phycosphere	LÜ Ping, LI Hui-li, XU Yong, <i>et al.</i>	(4502)
Effect of Aging on Adsorption of Tetracycline by Microplastics and the Mechanisms	WANG Lin, WANG Shu-xin, ZENG Xiang-ying, <i>et al.</i>	(4511)
Effect of Colloids in Sediment and Soil on Their Sorption Behavior of Chloramphenicol	YAN Cai-xia, LUO Yan-qing, NIE Ming-hua, <i>et al.</i>	(4522)
Historical Antibiotic Stress Changed the Effects of Sulfamethoxazole and Trimethoprim on Activated Sludge: ARGs and Potential Hosts	ZHANG Zhong-xing, FAN Xiao-yan, LI Xing, <i>et al.</i>	(4536)
Spatial Distribution and Sources of Heavy Metals in Soil of a Typical Lead-Zinc Mining Area, Yangshuo	CHEN Meng, PAN Yong-xing, HUANG Yi-xiang, <i>et al.</i>	(4545)
Distribution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Soil Heavy Metals in Baiyangdian Lake	ZHENG Fei, GUO Xin, TANG Ming-yang, <i>et al.</i>	(4556)
Spatial Differentiation and Influencing Factor Analysis of Soil Heavy Metal Content at Town Level Based on Geographic Detector	GONG Cang, WANG Liang, WANG Shun-xiang, <i>et al.</i>	(4566)
Heavy Metal Emissions from Coal-fired Power Plants and Heavy Metal Pollution Characteristics and Health Risks in Surrounding Soils	CHE Kai, CHEN Chong-ming, ZHENG Qing-yu, <i>et al.</i>	(4578)
Enrichment Factors, Health Risk, and Source Identification of Heavy Metals in Agricultural Soils in Semi-arid Region of Hainan Island	YANG Jian-zhou, GONG Jing-jing, WANG Zhen-liang, <i>et al.</i>	(4590)
Speciation and Pollution Assessment of Heavy Metals in Mangrove Surface Sediments in Jiulong River Estuary	ZHANG Hua-lan, YU Rui-lian, WAN Rui-an, <i>et al.</i>	(4601)
Status of Heavy Metal in Organic Fertilizers in Main Tea Growing Regions of China	YI Xiao-yun, FANG Li, YANG Xiang-de, <i>et al.</i>	(4613)
Accumulation Characteristics and Sources of PAEs in Agricultural Soils in Gansu Province	CHEN Yu-yu, ZHANG Guang-quan, ZHANG Yang, <i>et al.</i>	(4622)
Distribution Characteristics of Soil Phosphorus Forms and Phosphatase Activity at Different Altitudes in the Soil of Water-Level-Fluctuation Zone in Pengxi River, Three Gorges Reservoir	GAO Yi-lun, FANG Fang, TANG Zi-chao, <i>et al.</i>	(4630)
Characteristics of Soil Organic Carbon Components and Their Correlation with Other Soil Physical and Chemical Factors in Cotton Fields with Different Continuous Cropping Years in the Oasis on the Northern Edge of Tarim Basin	LI Xin-zhu, GONG Lu, TANG Jun-hu, <i>et al.</i>	(4639)
Response of Soil Respiration Rates to Soil Temperature and Moisture at Different Soil Depths of <i>Caragana korshinskii</i> Plantation in the Loess-Hilly Region	SUN Ya-rong, WANG Ya-juan, ZHAO Min, <i>et al.</i>	(4648)
Influence of Biochar Application on Soil Nitrate Leaching and Phosphate Retention: A Synthetic Meta-analysis	JIANG Zhi-xiang, CUI Shuang, ZHANG Xin, <i>et al.</i>	(4658)
Role and Mechanism of Low Molecular-Weight-Organic Acids in Enhanced Phytoremediation of Heavy Metal Contaminated Soil	FANG Zhi-guo, XIE Jun-ting, YANG Qing, <i>et al.</i>	(4669)
Remediation Effect and Mechanism of Inorganic Passivators on Cadmium Contaminated Acidic Paddy Soil	ZHANG Jian, KONG Fan-yi, LU Sheng-gao	(4679)
Mechanism of Lead-zinc Enrichment and Resistance of Spent Mushroom Compost to Lead-Zinc Slag in <i>Koeleria paniculata</i>	XIE Tian-zhi, CHEN Yong-hua, SU Rong-kui, <i>et al.</i>	(4687)
Phosphorus Enrichment Efficiency of CaO ₂ @FA Composites and the Effect of Its Recovered Material on Soil Improvement	YUE Wei, LI Da-peng, WU Ling-yu, <i>et al.</i>	(4697)
Effects of Early Rice Straw Returning with Reducing Potassium Fertilizer on Late Rice Yield and Soil Fertility	HUANG Qiao-yi, HUANG Jian-feng, HUANG Xu, <i>et al.</i>	(4706)
Effects of Continuous Straw Returning with Chemical Fertilizer on the Carbon Pool and Crop Yield of Rice-Rape Rotation Soils	CAI Ying, FU Si-wei, ZHANG Bo-rui, <i>et al.</i>	(4716)
Effects of Chemical Fertilizer Reduction Combined with Straw Application on Diazotrophic Communities in a Double Rice Cropping System	CHEN Kai-peng, WEI Ju-xian, CHEN Dan, <i>et al.</i>	(4725)
Impacts of Co-application of Chemical Fertilizer Reduction and Organic Material Amendment on Fluvio-aquic Soil Microbial N-cycling Functional Gene Abundances and N-converting Genetic Potentials in Northern China	LI Sheng-jun, HU He, LI Gang, <i>et al.</i>	(4735)
Response Characteristics of Soil Microbial Community Under Long-term Film Mulching	HU Zhi-e, XIAO Mou-liang, DING Ji-na, <i>et al.</i>	(4745)
Effects of Long-term Straw Returning on Fungal Community, Enzyme Activity and Wheat Yield in Fluvio-aquic Soil	MA Lei, LI Yan, WEI Jian-lin, <i>et al.</i>	(4755)
Effects of Soil Amendments on the Bacterial Diversity and Abundances of Pathogens and Antibiotic Resistance Genes in Rhizosphere Soil Under Drip Irrigation with Reclaimed Water	CUI Bing-jian, CUI Er-ping, LIU Chun-cheng, <i>et al.</i>	(4765)
Effect of Nitrogen on the Phytoremediation of Cd-PAHs Co-contaminated Dumpsite Soil by Alfalfa (<i>Medicago sativa</i> L.) and on the Soil Bacterial Community Structure	LI Yi-jia, MA Jun-wei, LI Yu-qian, <i>et al.</i>	(4779)
Effect of Antibiotic-Degrading Bacteria on Maturity and Bacterial Community Succession During Pig Manure Composting	LI Wei-lin, ZHANG Xin, MA Jun-wei, <i>et al.</i>	(4789)