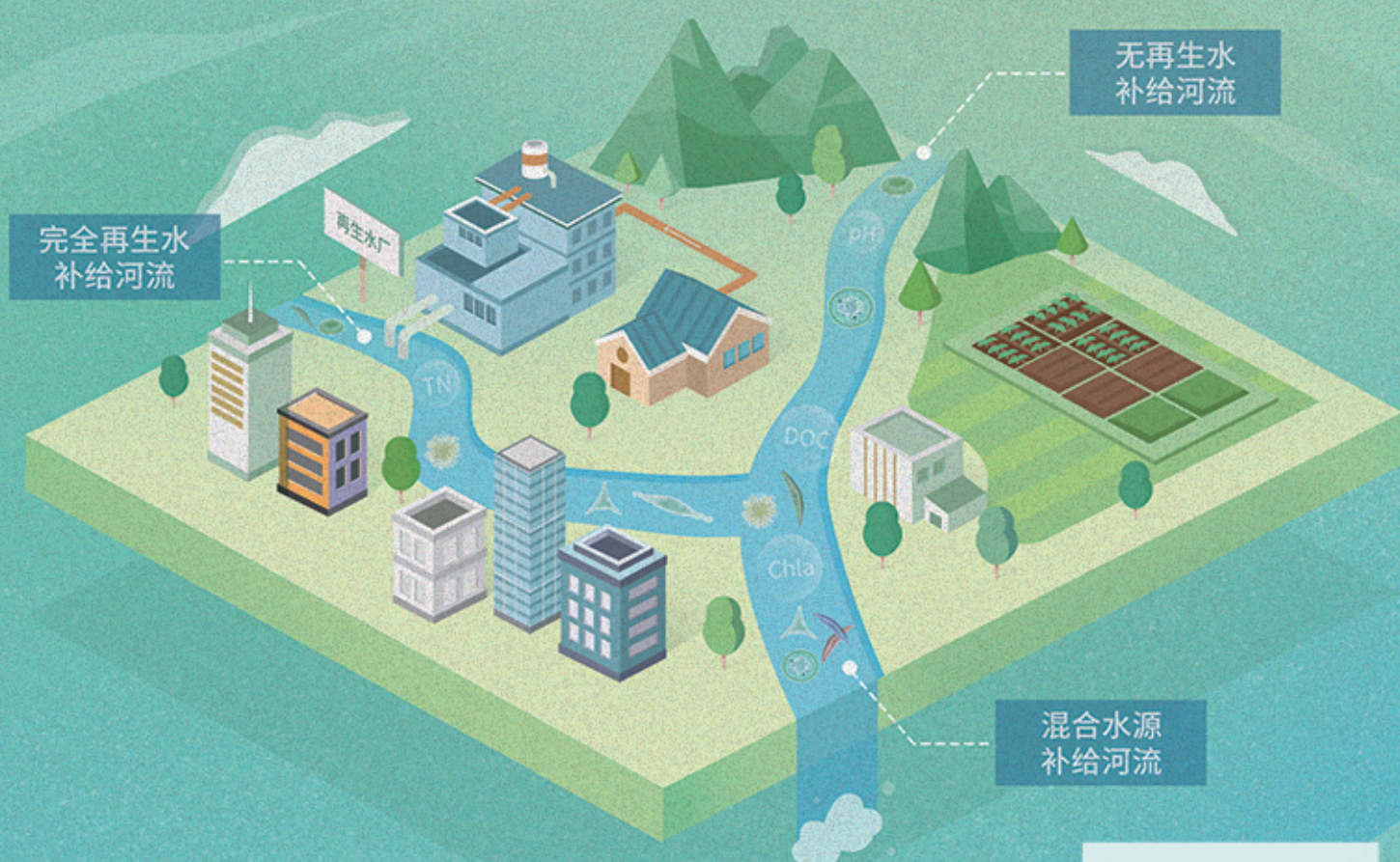


不同水源补给河流浮游植物群落结构特征及其与环境因子的关系

侯颖, 李信, 白灵, 白乙娟, 张淑荣, 王圣瑞, 郑蕾, 丁爱中



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2022年12月

第43卷 第12期

Vol.43 No.12

目次(卷终)

关中平原城市群 PM _{2.5} 时空演变格局及其影响因素	张军, 金梓函, 王玥, 李旭, 戴恩华 (5333)
中原城市群 PM _{2.5} 浓度驱动因子联动效应及非线性影响	周志衡, 周廷刚, 秦宁 (5344)
长株潭城市群 PM _{2.5} 和 O ₃ 浓度时空分布特征及影响因素分析	刘贤赵, 张国桥, 杨文涛, 吴业荣, 李朝奎, 任毅 (5354)
张掖市城区大气细颗粒物 PM _{2.5} 的化学组成及来源解析	潘成珂, 黄韬, 高宏, 常莉敏, 宋世杰, 毛潇萱, 王佳欣, 赵渊, 马建民 (5367)
2018~2019年冬季天津和青岛 PM _{2.5} 中重金属污染特征与健康风险评估	赵明升, 任丽红, 李刚, 刘亚妮, 赵刚, 张佳浩, 高元官, 杨小阳 (5376)
青岛大气降水中金属浓度、溶解度及其来源解析	孔令冬, 祁建华, 张旭 (5387)
2015~2021年陕西关中城市群臭氧污染变化趋势	赵伟, 王硕, 庞晓蝶, 高博, 卢清, 刘明, 陈来国, 范绍佳 (5399)
海南省背景区域臭氧及其前体物污染特征	谢文晶, 邢巧, 谢东海, 吴晓晨, 胡珊珊, 徐文帅 (5407)
基于双维度校验的珠三角区域臭氧生成机制长期时空演化特征识别	杨雷峰, 谢丹平, 杨俊, 韩静磊, 刘丽君, 袁自冰 (5421)
郑州市夏季大气 VOCs 污染特征及来源解析	齐一谨, 王玲玲, 倪经纬, 何海洋, 赵东旭, 龚山陵 (5429)
兰州市夏季挥发性有机物污染特征及来源解析	杨燕萍, 陈强, 孟宪红, 孙健, 王莉娜, 陶会杰, 杨丽丽 (5442)
地下停车场 VOCs 污染特征与健康风险评估	刘妍, 杨宁, 孙露娜, 吴亚君, 宋鹏飞, 赵耀, 姜昆, 毛洪钧 (5453)
缸内直喷汽油车颗粒物化学组分特征	李家琛, 葛蕴珊, 王浩浩, 王欣, 郝利君, 谭建伟 (5464)
废弃物焚烧处理温室气体排放情景模拟与预测	严薇, 刘舒乐, 吴正方, 高庆先, 杜海波, 马占云, 冯鹏 (5470)
长江颗粒(类)金属元素分布、来源和向海输送	刘珈铭, 吴文涛, 刘笑天, 刘军, 王昊, 臧家业, 张爱周, 冉祥滨 (5478)
澜沧江水系氮磷污染及硝酸盐来源解析	郭树芳, 陈安强, 刁斌, 居学海, 黄宏坤, 刘建香, 毛妍婷, 郭云周, 雷宝坤 (5491)
小浪底水库水沙调控期滨河湿地地下水与河水转化关系	肖春艳, 刘怡凡, 赵同谦, 郭晓明, 陈飞宏, 杨晨 (5499)
磨刀门水道输水水库群饮用水水源水质的时空变化	张坤峰, 昌盛, 张琦, 王思瑞, 谢琼, 张茉莉, 樊月婷, 杨光, 付青 (5509)
疫情背景下长江中游地区典型饮用水源中 PPCPs 分布特征与风险评估	樊月婷, 昌盛, 张坤峰, 涂响, 杨光, 王山军, 张茉莉, 谢琼, 付青 (5522)
北江中上游地表水和沉积物中 PAHs 和 PCBs 污染特征和风险评估	昌盛, 白云松, 涂响, 付青, 张坤峰, 潘杨, 王山军, 杨光, 汪星 (5534)
平朔矿区不同水体水化学特征及氟分布成因	孙龙, 刘廷玺, 段利民, 张文瑞, 郑国峰 (5547)
三峡水库典型消落带土壤 DOM 组分特征及其对有效态镉释放影响	张宝豪, 武亚遵, 徐东昱, 高丽, 李艳艳, 王启文, 高博 (5560)
不同溶解氧条件下沉积物-水体系磷循环	刘笑天, 刘军, 王以斌, 刘珈铭, 吴文涛, 冯耀, 臧家业, 冉祥滨 (5571)
2011~2019年鄱阳湖水水质演化特征及主要污染因子解析	谢慧钰, 胡梅, 嵇晓燕, 曹炳伟, 贾世琪, 徐建, 金小伟 (5585)
乌梁素海表层沉积物中营养盐和重金属分布特征以及风险评价	杜彩丽, 黎佳茜, 李国文, 李晓光, 赵琛, 张列宇 (5598)
生物炭吸附雨水径流难生物降解有机氮效能及机制	苏增辉, 孙萍, 陈友媛, 罗冠杨, 王秀海, 郑天元 (5608)
不同水源补给河流浮游植物群落结构特征及其与环境因子的关系	侯颖, 李信, 白灵, 白乙娟, 张淑荣, 王圣瑞, 郑蕾, 丁爱中 (5616)
锰氧化物改性生物炭基质材料对典型喹诺酮类抗生素的吸附及其在人工湿地的应用	高惠子, 田伟君, 张子钰, 邹梦圆, 杨淑洁, 赵婧, 储美乐, 江俊峰 (5627)
KOH 活化小麦秸秆生物炭对废水中四环素的高效去除	徐晋, 马一凡, 姚国庆, 张宇珊, 杨李琪, 周娜, 范世锁 (5635)
改性凹凸棒负载硫化亚铁的制备及其对水中 Mo(VI)的吸附机制	练建军, 郭洪艳, 叶天然, 孔巧平, 徐晴, 吴朝阳, 陈波, 牛司平 (5647)
桉树生物炭负载绿色合成纳米零价铁去除水中 Cr(VI)	刘沁文, 丁爱中, 梁信, 谢领辉, 鄢俊彬, 李娜 (5657)
镁改性硅藻土回收废水氮磷产物对水中 Pb ²⁺ 和 Zn ²⁺ 的去除	吴盈秋, 夏鹏, 李远, 王学江 (5667)
钠化改性河南南部膨润土吸附亚甲基蓝性能分析	程飞鹏, 杨冬亮, 常乐, 吴登峰 (5676)
上海市典型工业用地土壤和地下水重金属复合污染特征及生态风险评价	李晓曼, 李青青, 杨洁, 黄沈发, 张施阳, 吉敏 (5687)
重庆市煤矸山周边农用地土壤重金属污染评价和定量溯源解析	马杰, 刘萍, 刘今朝, 郭春会, 张秀, 王玲灵 (5698)
典型石油场地周边土壤重金属形态特征及源解析	官健, 何连生, 李强, 王耀锋, 曹莹, 刘晓雪, 高存富 (5710)
基于 PMF 模型的垃圾焚烧厂周边农田土壤重金属源解析	张恬雨, 胡恭任, 于瑞莲, 林承奇, 黄华斌 (5718)
香河县农田土壤重金属污染生态与健康风险评估	陈瑜佳, 屈星辰, 张斌, 李现涛, 朱国平, 查同刚 (5728)
地质构造单元交接带表土中重金属污染特征对比及源解析:以重庆城口地区为例	刘永林, 吴梅, 刘睿, 李军, 倪润祥, 刘双燕, 田兴磊, 赵家宇, 刘怡, 夏传波 (5742)
新疆典型地区植物和土壤多环芳烃污染特征、来源解析及健康风险评估	杨北辰, 解启来, 郑芊, 郑晓波, 叶金明, 唐成金, 梁晓晖 (5751)
肥料调控强化象草对重度 Cd 污染农田修复效果	伍港繁, 周航, 唐棋, 辜娇峰, 曾鹏, 廖柏寒 (5761)
微碱性土壤施用烟秆生物炭与磷酸盐降低小麦籽粒镉积累	杨艳征, 张银鸽, 李畅, 扶海超, 秦世玉, 王龙, 刘亥扬, 刘红恩, 睢福庆, 赵鹏 (5769)
产多胺细菌提高小麦 Cd 抗性和消减 Cd 吸收机制	姬明飞, 吴雪姣, 李晓哲, 陈兆进, 姚伦广, 张君, 庞发虎, 韩群 (5778)
硫酸盐还原菌对碱性和酸性农田土壤中重金属的钝化效果及其作用机制	高羽, 刘雨辰, 郭晓方, 吉莉, 张桂香, 张哲海, 夏红丽, 何文峰, 张博远 (5789)
巨大芽孢杆菌对土壤理化性质及植物富集镉的影响	王萍, 李一曼, 王雪佳, 许亚琼, 张书强, 李倩, 徐凯莉, 李荣华, 张增强 (5798)
嘉陵江滨岸带不同土地利用类型土壤真菌群落结构与功能多样性	竹兰萍, 徐飞, 王佳颖, 朱智豪, 张拓, 张富斌 (5808)
添加生物炭对琼北地区双季稻田生物固氮的影响	赵炎, 袁新生, 唐瑞杰, 邵晓辉, 李凯凯, 文昌丽, 陈琦琦, 伍延正, 孟磊, 汤水荣 (5819)
基于 g-C ₃ N ₄ 研究环境中甲氧苄啶的光降解行为及其毒性	朱娜, 王星阳, 焦俊恒, 王磊, 梁栋, 李广科, 桑楠 (5832)
“双碳”目标下中国省域碳排放核算分析	杨柏, 秦广鹏, 郭钦 (5840)
长株潭城市群地类转移的碳传导效应与预测	杨旭, 刘贤赵 (5850)
基于分类的张家港市生活垃圾典型处置情景环境效益分析	张涛, 郑钧文, 孙煜豪, 白冬锐, 杨婷, 张冰, 郭含文, 陈坦, 王洪涛 (5861)
《环境科学》第43卷(2022年)总目录	(5873)
《环境科学》征订启事(5386) 《环境科学》征稿简则(5521) 信息(5607,5741,5768)	

添加生物炭对琼北地区双季稻田生物固氮的影响

赵炎, 袁新生, 唐瑞杰, 邵晓辉, 李凯凯, 文昌丽, 陈琦琦, 伍延正*, 孟磊*, 汤水荣
(海南大学热带作物学院, 海口 570228)

摘要: 生物固氮有助于植物对土壤中有效氮的利用, 减少农业生态系统中无机氮肥的使用. 生物炭可以通过其特殊物理结构调节土壤理化性质, 提高土壤微生物的丰度和活性, 然而关于生物炭对水稻土生物固氮方面的研究并未深入了解. 试验共设置3个处理: 施磷钾肥对照(CK)、当地常规施肥处理(CON)和常规处理配施20 t·hm⁻²生物炭(B), 采用qPCR和高通量测序分析固氮基因(*nifH*)的丰度和群落结构变化, 探讨生物炭添加对琼北地区双季稻田土壤固氮微生物的影响. 结果表明, 相比CK和CON处理, 添加生物炭提高了土壤pH和土壤有机碳(SOC)含量以及作物产量. 同时*nifH*基因丰度与土壤pH和SOC呈显著正相关. 与CK处理相比, 添加生物炭处理增加了*nifH*基因丰度以及显著改变了早稻季土壤固氮微生物的群落结构, 常规施肥处理减少了*nifH*基因丰度而对固氮微生物群落影响相对较小. 施用生物炭使固氮微生物群落优势属发生了变化, 地杆菌属(*Geobacter*)、嗜糖假单胞菌属(*Pelomonas*)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)、厌氧粘细菌属(*Anaeromyxobacter*)和铁氧化细菌属(*Sideroxydans*)等是所有处理中的优势菌属. 相比CK处理, 生物炭处理显著增加了嗜糖假单胞菌属的相对丰度, 而常规施肥处理增加了地杆菌属的相对丰度. 结果表明, 生物炭添加具有一定的减肥潜力, 为减少琼北地区稻田氮肥施用, 提高氮肥利用率提供了理论依据.

关键词: 双季稻田; 生物固氮; 生物炭; *nifH*基因; 微生物多样性; 微生物群落结构

中图分类号: X144 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2022)12-5819-13 DOI: 10.13227/j.hjxx.202112262

Effect of Biochar Application on Biological Nitrogen Fixation in Double Cropping Paddy Field in Northern Hainan

ZHAO Yan, YUAN Xin-sheng, TANG Rui-jie, SHAO Xiao-hui, LI Kai-kai, WEN Chang-li, CHEN Qi-qi, WU Yan-zheng*, MENG Lei*, TANG Shui-rong

(College of Tropical Crops, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: Biological nitrogen fixation contributes to the pool of plant-available N in soil and helps to minimize the use of inorganic N fertilizer in agricultural ecosystems. Biochar can regulate the physical and chemical properties of soil and improve the abundance and activity of soil microorganisms through its special physical structure. However, research on the diazotrophs of paddy soil by biochar is insufficient. This experiment consisted of three treatments: no nitrogen as the control (CK), conventional fertilization (CON), and conventional fertilization combined with 20 t·hm⁻² biochar (B). qPCR and high-throughput sequencing were used to analyze the abundance and community structure of nitrogen-fixing genes (*nifH*) and to investigate the effects of biochar on soil diazotrophs in double-cropping paddy fields in northern Hainan province. The results showed that the addition of biochar increased soil pH, soil organic carbon (SOC) content, and crop yield compared with that in the CK and CON treatments. Meanwhile, the abundance of the *nifH* gene was significantly positively correlated with soil pH and SOC. Compared with that in the CK treatment, biochar treatment increased the abundance of the *nifH* gene and significantly changed the community structure of the soil diazotroph community in the early-rice seasons, whereas the conventional fertilization treatment reduced the abundance of *nifH* genes and had relatively no significant effect on the diazotroph community. The application of biochar changed the dominant genus of soil diazotrophs. *Geobacter*, *Pelomonas*, *Azospirillum*, *Anaeromyxobacter*, and *Sideroxydans* were the dominant bacteria in all the treatments. Compared with that in the CK treatment, biochar significantly increased the relative abundance of *Pelomonas*, whereas conventional fertilization increased the relative abundance of *Geobacter*. The results showed that biochar addition had the potential to reduce fertilizer application, which provides a theoretical basis for reducing nitrogen fertilizer application and improving nitrogen use efficiency in paddy fields in northern Hainan province.

Key words: double-cropping paddy fields; biological nitrogen fixation; biochar; *nifH* gene; microbial diversity; microbial community structure

随着化学氮肥生产和施用量的增加, 氮肥利用率越来越低, 而化肥的过度使用已经引起了严重的环境问题, 例如土壤酸化、重金属污染及温室气体排放增加并且气态和溶解态的氮流失导致了水和空气污染的增加及生物多样性的丧失等一系列环境问题^[1,2]. 海南地处热带地区, 水稻是该地区主要的粮食作物, 土壤受发育母质及气候影响, SOC含量低、土壤偏酸性或弱酸性且保水保肥能力较差, 使得当地农户为满足作物生长而进行化肥的大量投入, 因而有必要减少稻田土壤氮肥施用. 稻田生态系统具有保持土壤肥力、提供粮食保障和生态调节等多种

功能, 我国水稻土面积约3 000万 hm², 约占全国耕地面积的1/4, 在我国主要粮食中占60%^[3], 在不施氮肥的条件下, 水稻种植可以提供的蛋白质是玉米种植的1.5倍^[4,5], 其中主要原因是稻田生态系统能进行生物固氮而不断为水稻生长提供氮素^[6].

氮是农业生态系统中的重要元素^[7], 尽管在大

收稿日期: 2021-12-27; 修订日期: 2022-04-01

基金项目: 海南省自然科学基金青年基金项目(320QN196); 海南省自然科学基金高层次人才项目(320RC493, 2019RC049); 国家自然科学基金项目(41671243)

作者简介: 赵炎(1996~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤生物固氮, E-mail: 2455063819@qq.com

* 通信作者, E-mail: wyz198712@163.com; menglei@hainanu.edu.cn

气中含量丰富,但植物不能直接利用氮气,而是通过固氮、硝化和有机氮矿化吸收无机氮来满足生长需要^[8].生物固氮是固氮微生物通过固氮酶的催化作用把空气中的 N_2 转化为活性氮的过程,其有助于植物对土壤中有效氮的吸收利用,并有利于减少农业生态系统中无机氮肥的使用.土壤是微生物的聚集地,微生物对周围环境变化比较敏感,其中固氮微生物中的固氮菌是一组能够固定大气中 N_2 的土壤微生物,它可以向宿主植物提供容易获得的氮源^[9],固氮微生物活性在细菌和古细菌分类群中高度保守,包括一些自主生活细菌、硫酸盐还原细菌和共生固氮微生物^[10,11].编码部分固氮酶的 *nifH* 基因已被广泛用于研究陆地生态系统中的固氮微生物群落^[12,13].了解不同施肥措施对稻田土壤固氮微生物的丰度及群落结构的影响将有利于提出合理的减肥增产措施.

生物炭作为一种新型土壤改良剂,已在世界范围内作为改良剂进行试验,以提高土壤肥力^[14],生物炭的稳定性决定了其固碳、改善土壤结构和提高土壤肥力等功能的有效性^[15].有研究表明生物炭有益于增加共生生物固氮(63%),提高植物对氮素的吸收(11%),减少土壤氮素的淋失(26%)^[16],而生物炭增加氮素固持的作用取决于生物炭类型、添加率、土壤特性和环境条件,并且表明生物炭添加在热带地区对作物产量的效益要高于温带地区^[17].有研究报道了不同施肥方式、施肥处理以及耕作方式等因素对稻田土壤固氮微生物和群落结构及丰度的影响^[7,18~21],而对于生物炭添加对稻田土壤固氮微生物影响的研究较少,固氮微生物主要受到氧含量、SOC 含量、土壤 pH 以及施氮含量的影响^[22].添加生物炭对这些环境因素会产生影响,从而影响固氮微生物的群落结构和丰度,所以有必要了解生物炭添加下水稻田固氮微生物的丰度和群落结构的变化规律.椰子壳是一类数量极其丰富且廉价的废弃木质纤维源,其中含有椰糠(70%),以椰壳为原料制备生物炭^[23],由于制备过程相对简单且产品性能突出,近几年来相关的研究较多.相对于普通活性炭而言,椰糠生物炭具有较大的比表面积和丰富的孔隙结构^[24],将其用于粮食作物生产将有益于改良土壤 pH、增加作物产量.

因此,本试验以琼北地区的双季稻为研究对象,在当地农户常规施肥基础上添加椰糠生物炭处理,通过两年的田间试验,以 qPCR 和高通量测序技术并且结合作物产量来研究:生物炭的添加是否影响了琼北地区稻田土壤的 *nifH* 丰度和固氮微生物群落数量、结构及多样性,对其有何影响?分析固

氮微生物群落与土壤理化性质相关性及其影响群落结构差异的关键因子,有利于解决此类问题.

1 材料与方法

1.1 试验地概况

研究地点位于海南省澄迈县桥头镇西岸村(109°56'01"E,19°56'58"N),此地属于热带季风性气候^[25],年平均气温为 23.80℃,年均降雨量为 1786.10 mm.该地区的土壤为滨海沉积物母质发育的砂壤土.

1.2 试验设计

本试验共设置 3 个处理:仅施磷钾肥对照(CK)、当地常规施肥处理(CON)和氮肥配施 20 t·hm⁻²生物炭(B),生物炭过 2 mm 筛后,在第一年早稻季种植前以撒施的方式施入田中,后进行土壤翻耕处理.每个处理设置 3 个重复,共 9 个小区,每个小区面积为 21 m²(3 m×7 m).各试验小区随机区组排列,每个小区四周起陇,覆盖防水塑料膜,四周埋入地下 50 cm,以防各小区间串水串肥.常规施肥处理在各小区插秧后保持田面水直到返青期和分蘖期,分蘖肥施用后让田面水自然落干晒田以减少无效分蘖,分蘖后期反复灌水-落干调节水分,抽穗期保持田面水至灌浆期,灌浆结束后自然落干到水稻收获.田间管理措施见表 1.

表 1 田间施肥管理

季节	田间管理	月-日	
		2019 年	2020 年
早稻季	基肥和插秧	04-20	05-01
	蘖肥	05-13	05-08
	中期晒田	05-31~06-06	05-20~05-27
	穗肥	06-13	06-14
	收获	07-20	08-05
晚稻季	插秧	07-30	08-14
	蘖肥	08-12	08-22
	中期晒田	08-26~09-03	09-15~09-22
	穗肥	09-09	09-21
	收获	11-05	11-08

早稻季施肥量为氮肥:120 kg·hm⁻²(尿素,含氮 46%)、磷肥:90 kg·hm⁻²(过磷酸钙,含 P₂O₅ 16%)和钾肥:90 kg·hm⁻²(氯化钾,含 K₂O 60%);晚稻季肥料施用量为 150 kg·hm⁻²(氮肥)、90 kg·hm⁻²(磷肥)和 120 kg·hm⁻²(钾肥).早稻季施用氮肥比例是基肥:蘖肥:穗肥=5:3:2,晚稻季施用氮肥比例是蘖肥:穗肥=6:4,空白处理仅施用磷钾肥,磷钾肥均一次性施入,以撒施入田.

供试土壤:pH 为 5.9, ω [全氮(TN)]为 2.8 g·kg⁻¹, ω (SOC)为 15.7 mg·kg⁻¹, ω [碱解氮

(AN)] 为 $147.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ω [速效磷(AP)] 为 $122.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ω [速效钾(AK)] 为 $49.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, CEC 为 $4.0 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, ω (砂粒) 为 62.7%, ω (粉粒) 为 20.5%, ω (黏粒) 为 16.8%; 供试生物炭由椰糠在 600°C 下厌氧热解制成, 其 pH 为 9.7, $\omega(\text{N})$ 为 0.3%, 阳离子交换量(CEC) 为 $8.2 \text{ cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$, 灰分为 35.1%, 比表面积为 $5.8 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, $\omega(\text{AP})$ 为 $99.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $\omega(\text{AK})$ 为 $65.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

1.3 土壤样品采集与处理

每一季水稻收获时, 在田间观察试验小区, 了解情况后按照 S 形线路采样, 各点随机决定, 在每个小区内采取 0 cm ~ 20 cm 的土壤样本, 共选取 5 个样本点组成一个混合样品, 重量在 1 kg 左右, 其中一部分新鲜土壤样品放入液氮罐中冷冻, 带回实验室后放入 -80°C 冰箱中保存, 用于微生物指标的测定. 用于测定土壤理化指标的样品, 在进行实验室分析之前, 先进行风干处理, 之后过 2 mm 筛; 用于测定微生物指标的样品, 在测定前在冷冻干燥机中去除水分后进行测定.

1.4 理化指标的测定

pH 采用电位法(水:土为 2.5:1); 速效磷采用钼蓝比色法; 碱解氮采用碱解扩散法; 速效钾采用 $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸铵溶液(pH=7)浸提, 用火焰光度计测定; 阳离子交换量采用乙酸铵交换-蒸馏法测定; 有机质采用重铬酸钾-硫酸消化法; 生物炭灰分测定: 马弗炉 600°C 高温灼烧 3 h, 之后进行测定; 土壤机械组成采用比重法测定^[26].

1.5 土壤微生物 DNA 提取

采用土壤 DNA 提取试剂盒 DNeasy PowerSoil Kit(100)12888-100 提取土壤 DNA, 称取约 0.5 g 新鲜土壤, 按照试剂盒提取说明书进行有序操作, 提取完毕后采用微量紫外分光光度计(Nano drop 2000, USA)测定核酸浓度, 将收集管中的 DNA 冷冻保存(-80°C).

1.6 固氮基因丰度测定

固氮微生物基因丰度采用实时荧光定量(qPCR)法测定水稻土壤中 *nifH* 基因拷贝数. 所用引物为: *nifH*-FAAAGGYGGWATCGGYAARTCCACCAC/*nifH*-RTTGTTSGCGCRTACATSGCCATCAT^[27]. 将提取的 DNA 样品稀释 10 倍后作为 qPCR 模板进行扩增, 反应体系为 20 μL , 其中 10 μL 2 $\times$ T5 Fast qPCR Mix(SYBR Green I), 正反向引物各 1 μL , 1 μL DNA 模板, 其余用无菌水补齐. 梯度稀释标准质粒同时进行荧光定量 PCR 扩增, 计算 *nifH* 基因的丰度.

1.7 Illumina MiSeq 测序及生物信息学分析

提取样品总 DNA 后, 根据保守区设计得到引

物, 在引物末端加上测序接头, 进行 PCR 扩增并对其产物进行纯化、定量和均一化形成测序文库, 建好的文库先进行文库质检, 质检合格的文库用 Illumina HiSeq 2500 进行测序. 高通量测序(如 Illumina HiSeq 等测序平台)得到的原始图像数据文件, 经碱基识别(Base Calling)分析转化为原始测序序列(Sequenced Reads); 对数据进行分析, 原始数据利用 QIIME(version 1.8.0)和 USEARCH(version 10.0)软件进行分析, 通过数据预处理、质量过滤、双端序列拼接去除嵌合体、引物及低质量序列, 从而得到最终有效序列. 然后利用 FunGene Pipeline 转换成氨基酸, 转换成的蛋白质序列不符合 *nifH* 蛋白的将被舍弃, 剩下的按照 97% 序列相似性水平划分成不同的分类操作单元(OTU). 选取的 OTU 代表序列使用 MEGAN(version 5.8.1)软件在 NCBI 数据库进行序列比对(序列号为 PRJNA 810776), 鉴定出代表序列相应的微生物分类. 使用 QIIME 软件对序列进行多样性指数(ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 指数)计算.

1.8 数据处理与分析方法

本试验数据用微软 Excel 处理, 使用 SPSS 23.0 对数据进行皮尔森相关性分析(Pearson correlation)和单因素方差分析(One-way ANOVA), $P < 0.05$ 表示有显著差异; R 语言 Vegan 软件包做非度量多维尺度(non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析, 随机森林分析和作图. CANOCO 4.5 软件做固氮微生物群落结构与环境因子的 RDA 分析.

2 结果与分析

2.1 添加生物炭对水稻土壤理化性质的影响

由表 2 可知, 2019 年早晚稻季收割后, 土壤 AN 含量在 CK 处理高于其它处理, 但在 2020 年早稻季中, AN 含量明显下降, 在晚稻季与其他处理含量无显著差异. 相比于 CK 处理和 CON 处理, 在两年四季水稻中, 生物炭添加显著提高了土壤 pH($P < 0.05$), 其中在 2019 年晚稻季和 2020 年早稻季 pH 较高; 与 CON 处理相比, B 处理降低了土壤 AP 含量(2020 年早稻季除外), 并且每年晚稻季达到显著($P < 0.05$); B 处理相比 CON 处理显著提高了水稻土壤 SOC 含量($P < 0.05$), 相比 CK 处理 SOC 含量提高, 并且自每年晚稻季达到显著; B 处理相比 CK 处理和 CON 处理, AK 含量有所提高(2020 年晚稻季除外), 仅在 2020 年早稻季达到显著($P < 0.05$).

2.2 添加生物炭对 *nifH* 基因丰度影响

如图 1 所示, 固氮微生物群落丰度通过使用 qPCR 定量 *nifH* 基因来确定, 在 2019 年双季稻所有

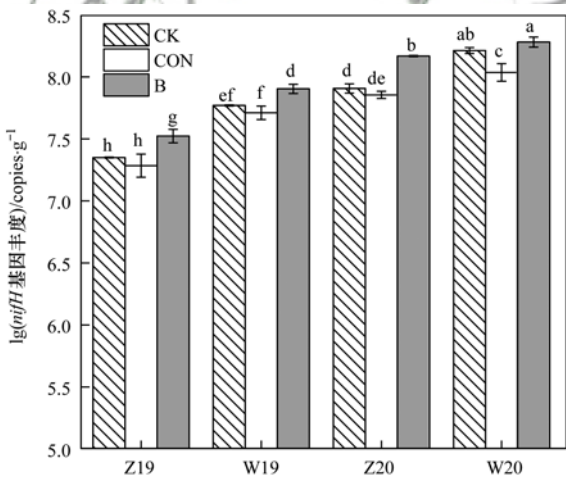
表 2 土壤基本理化性质¹⁾

Table 2 Basic physical and chemical properties of soil

年份	项目	处理	pH	$\omega(\text{SOC})$ / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\omega(\text{AN})$ / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\omega(\text{AP})$ / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\omega(\text{AK})$ / $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$
2019	早稻季	CK	5.47 ± 0.19fg	16.34 ± 0.41de	216.79 ± 14.31a	101.13 ± 17.05ab	29.81 ± 2.39de
		CON	5.36 ± 0.09g	15.36 ± 0.43e	199.79 ± 25.71a	120.41 ± 12.40a	20.51 ± 1.64e
		B	6.06 ± 0.19cd	17.30 ± 1.54cd	116.44 ± 10.12bc	117.22 ± 14.91a	44.53 ± 0.15d
	晚稻季	CK	5.68 ± 0.09ef	17.60 ± 0.18cd	189.54 ± 27.42a	113.87 ± 5.49a	30.15 ± 8.92de
		CON	5.53 ± 0.01efg	17.63 ± 1.03cd	113.51 ± 6.19bcd	121.68 ± 18.10a	26.84 ± 1.12de
		B	6.40 ± 0.29ab	21.20 ± 0.01a	140.99 ± 18.72b	83.02 ± 7.36bc	42.61 ± 4.96d
2020	早稻季	CK	5.83 ± 0.04de	19.95 ± 0.26ab	81.37 ± 12.12e	56.16 ± 3.21d	148.6 ± 12.02b
		CON	5.56 ± 0.07efg	16.80 ± 0.72cde	114.11 ± 6.64bcd	48.31 ± 2.71d	98.96 ± 12.61c
		B	6.47 ± 0.02a	20.47 ± 0.06a	118.71 ± 5.72b	64.14 ± 3.34cd	168.51 ± 22.15a
	晚稻季	CK	5.58 ± 0.09efg	18.28 ± 0.84bc	83.67 ± 3.56de	105.01 ± 14.66ab	29.81 ± 2.39de
		CON	5.34 ± 0.05g	18.33 ± 0.73bc	73.73 ± 1.78e	115.92 ± 11.96a	20.51 ± 0.71e
		B	6.16 ± 0.15bc	20.20 ± 1.44a	85.13 ± 5.86cde	84.39 ± 1.27bc	25.61 ± 0.87de

1) 同一列中不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$) ; CK 表示不施氮肥处理,CON 表示常规施肥处理,B 表示氮肥配施 $20 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 生物炭

处理中 *nifH* 基因丰度(以干土计,下同)范围在 $(1.49 \sim 8.81) \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$,2020 年早稻、晚稻季土壤的所有处理中 *nifH* 基因的丰度在 $(6.59 \sim 20.96) \times 10^7 \text{ copies} \cdot \text{g}^{-1}$,整体上看,2020 年的 *nifH* 基因丰度高于 2019 年.两年双季稻中相比于 CK 处理,B 处理 *nifH* 基因丰度分别增加了 50%、37%、82% 和 17%;而 CON 处理 *nifH* 基因丰度则在两年早、晚稻季中分别减少了 12%、12%、11% 和 33%.相关分析表明, *nifH* 基因丰度与土壤 pH 和 SOC 呈显著正相关($P < 0.05$),而与 AN 呈显著负相关($P < 0.05$)(图 2).



不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$) ; Z19 表示 2019 年早稻季,W19 表示 2019 年晚稻季,Z20 表示 2020 年早稻季,W20 表示 2020 年晚稻季

图 1 各处理水稻土壤中 *nifH* 基因丰度的变化

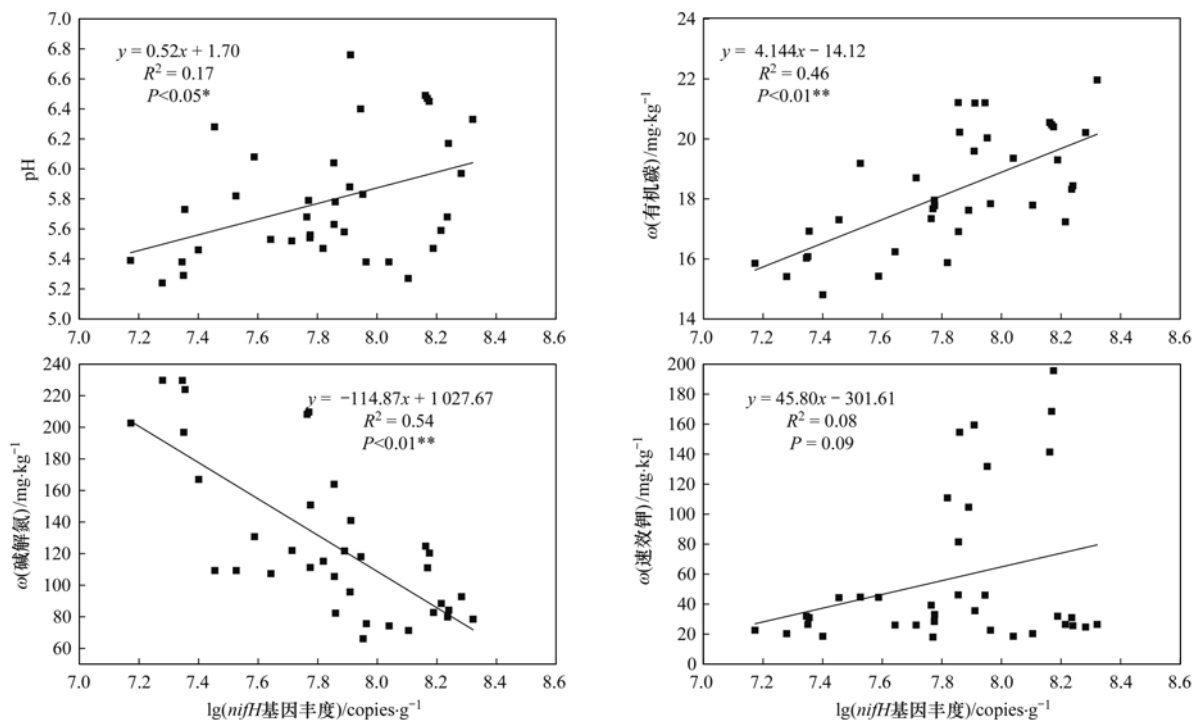
Fig. 1 Changes in *nifH* gene abundance in paddy field soils under different treatments

2.3 固氮微生物群落的多样性和组成

经过质量过滤后,从四季 36 个样品中共获得了 138 459 个高质量序列,OTU (97% 相似性) 范围为 784 ~ 938,具体取决于样本(表 3). Chao1 指数和

ACE 指数常用来分析微生物群落的丰富程度,Shannon 指数和 Simpson 指数用来估算样品中微生物的多样性,其中 Shannon 值越大,说明群落的多样性越高,而 Simpson 值则相反,与 Shannon 指数不同的是可以表示其分布的均匀性.在两年四季水稻中,B 处理显著提高了 ACE 指数和 Chao1 指数($P < 0.05$),并且随着种植季数的增加而增加;与 CK 处理相比,B 处理增加 Shannon 指数在 2019 年早稻季和 2020 年晚稻季达到显著水平;Simpson 指数在四季水稻中 B 处理均低于 CK 和 CON 处理;CON 处理的 ACE 指数和 Chao1 指数比 CK 处理高,在 2020 年早稻季显著增高($P < 0.05$).

如图 3 所示,在门水平上,相对丰度较高的有变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、蓝细菌门(Cyanobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes),相对丰度共计为 95.4% ~ 99.4%,其中变形菌门是绝对优势菌门,占比为 89.9% ~ 98.8% (图 3).在纲水平上,放线菌纲(Actinobacteria)、 γ -变形菌纲(γ -Proteobacteria)、 β -变形菌纲(β -Proteobacteria)、 δ -变形菌纲(δ -Proteobacteria)和 α -变形菌纲(α -Proteobacteria)相对丰度较高,共计 67.0% ~ 78.0%,其中变形菌纲占比为 49.1% ~ 57.2% (图 4).在属水平上,四季水稻土壤样品中的优势属为地杆菌属(*Geobacter*, 3.1% ~ 10.8%)、嗜糖假单胞菌属(*Pelomonas*, 0.2% ~ 11.8%)、固氮螺菌属(*Azospirillum*, 1.3% ~ 5.6%)、厌氧黏细菌属(*Anaeromyxobacter*, 1.2% ~ 2.1%)、铁氧化细菌属(*Sideroxydans*, 0.3% ~ 5.3%)、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*, 0.5% ~ 2.2%)、弗兰克氏菌属(*Frankia*, 0.3% ~ 1.8%)和伯克霍尔德菌属(*Burkholderia*, 0.4% ~ 2.2%),它们占样品中固氮基



* 表示在 0.05 级别(双尾),相关性显著; ** 表示在 0.01 级别(双尾),相关性显著
图 2 土壤 *nifH* 基因与环境因子相关性

Fig. 2 Correlation between soil *nifH* genes and environmental factors

表 3 各处理水稻土壤中的 OTU 数量和固氮微生物群落多样性指数¹⁾

Table 3 Number of OTUs and diversity indices of the diazotrophic communities in the paddy soils in all the treatments

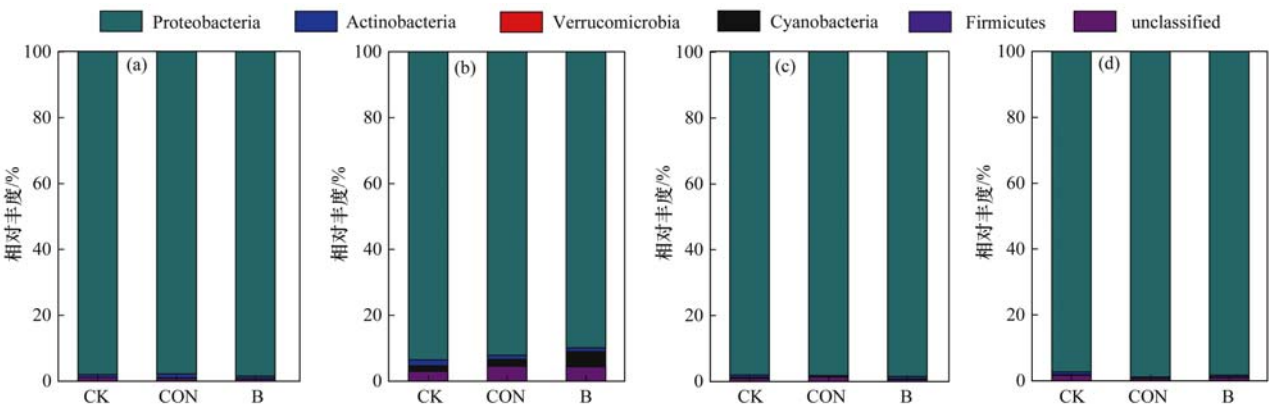
年份	项目	处理	ACE 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
2019	早稻季	CK	619.05 ± 7.32f	622.62 ± 7.31g	4.51 ± 0.09d	0.89 ± 0.01ab
		CON	614.93 ± 2.88f	621.76 ± 9.59g	4.42 ± 0.11d	0.88 ± 0.01abc
		B	689.24 ± 16.44de	693.20 ± 15.87ef	5.42 ± 0.07a	0.82 ± 0.01f
	晚稻季	CK	692.69 ± 11.65de	708.31 ± 15.73def	5.44 ± 0.01a	0.89 ± 0.01ab
		CON	664.53 ± 12.57e	688.22 ± 20.23f	5.33 ± 0.02ab	0.89 ± 0.01a
		B	748.03 ± 22.02bc	761.85 ± 22.39c	5.51 ± 0.07a	0.87 ± 0.00abc
2020	早稻季	CK	721.27 ± 28.52cd	749.02 ± 14.41cd	5.33 ± 0.03ab	0.86 ± 0.02bcd
		CON	669.36 ± 4.60e	699.75 ± 10.05ef	5.17 ± 0.08b	0.88 ± 0.00ab
		B	771.75 ± 23.06ab	811.09 ± 2.08ab	5.47 ± 0.08a	0.84 ± 0.01de
	晚稻季	CK	764.88 ± 13.30abc	772.20 ± 29.50bc	5.18 ± 0.07b	0.84 ± 0.01de
		CON	734.39 ± 28.12bcd	739.61 ± 24.55cde	4.78 ± 0.03c	0.85 ± 0.00cd
		B	804.26 ± 32.56a	822.01 ± 43.63a	5.41 ± 0.03a	0.83 ± 0.00ef

1) 同一列中不同小写字母表示处理间差异显著(P < 0.05); CK 表示不施氮肥处理, CON 表示常规施肥处理, B 表示氮肥配施 20 t·hm⁻² 生物炭

因总序列的 13.9%~24.2% (图 5). B 处理中嗜糖假单胞菌属丰度明显高于 CK 和 CON 处理, 相比 CK 处理, B 处理嗜糖假单胞菌属增加 36.7%~1 444.9%, CON 处理地杆菌属增加 9.5%~29.2% (图 5). 利用非度量多维尺度分析(NMDS)对不同处理的固氮菌群落结构相似性进行二维排序, 结果表明生物炭处理固氮菌群落结构在每年的早稻季都与 CK 处理和 CON 处理能很好地区分, B 处理与 CON 和 CK 处理相似性较远, 晚稻季中这种差异不明显(图 6), 说明添加生物炭影响了早稻季土壤固氮菌群落结构.

2.4 固氮微生物群落结构及其与土壤性质的关系

通过 RDA 分析来观察所有处理中微生物群落结构的差异, 并且可视化了土壤理化性质与微生物群落组成的关系, 四季水稻中前两个主坐标一起分别解释了 98.4%、84.3%、94.5% 和 96.5% 的群落结构变化. 添加生物炭的处理和对照处理之间的群落组成差异与 pH、SOC、AP 和 AK 的含量差异有关(图 7). 由表 4 所示, 在 4 个水稻季中嗜糖假单胞菌属与 pH 呈正相关, 并且在 2020 年早稻季达到显著, 与 SOC 和 AK 在前 3 个季水稻中呈正相关, 其中与 SOC 相关性在 2019 年晚稻季达到显著(P <



(a) 2019 年早稻季, (b) 2019 年晚稻季, (c) 2020 年早稻季, (d) 2020 年晚稻季, 下同
图 3 不同水稻季土壤固氮菌群落门水平上的相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of diazotrophic genera at phylum level in different rice seasons

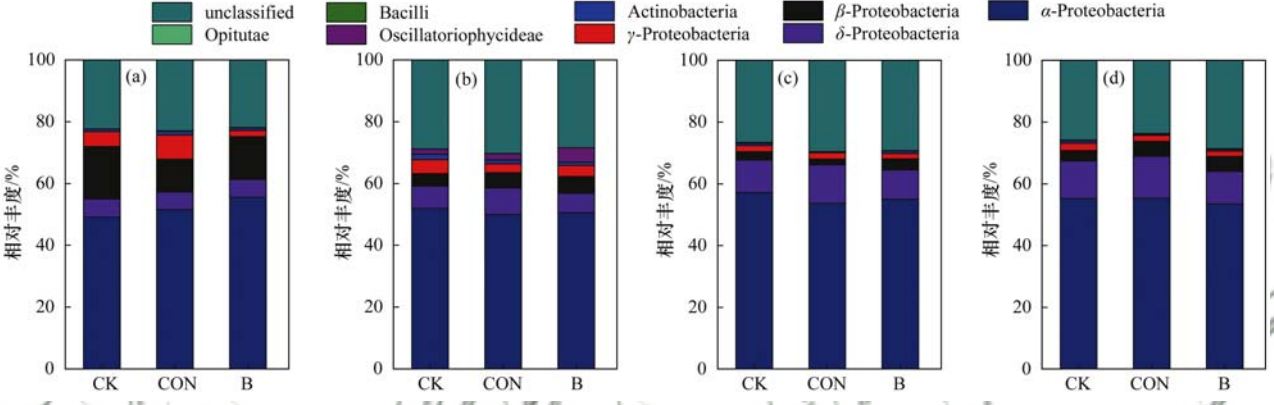


图 4 不同水稻季土壤固氮菌群落纲水平的相对丰度 (>1%)

Fig. 4 Relative abundances of diazotrophic genera at class level in different rice seasons (>1%)

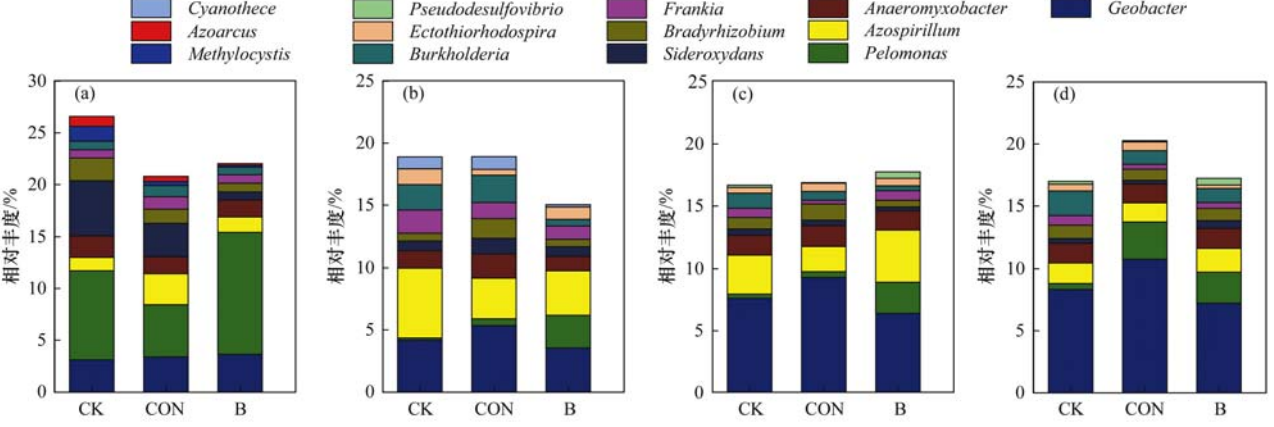
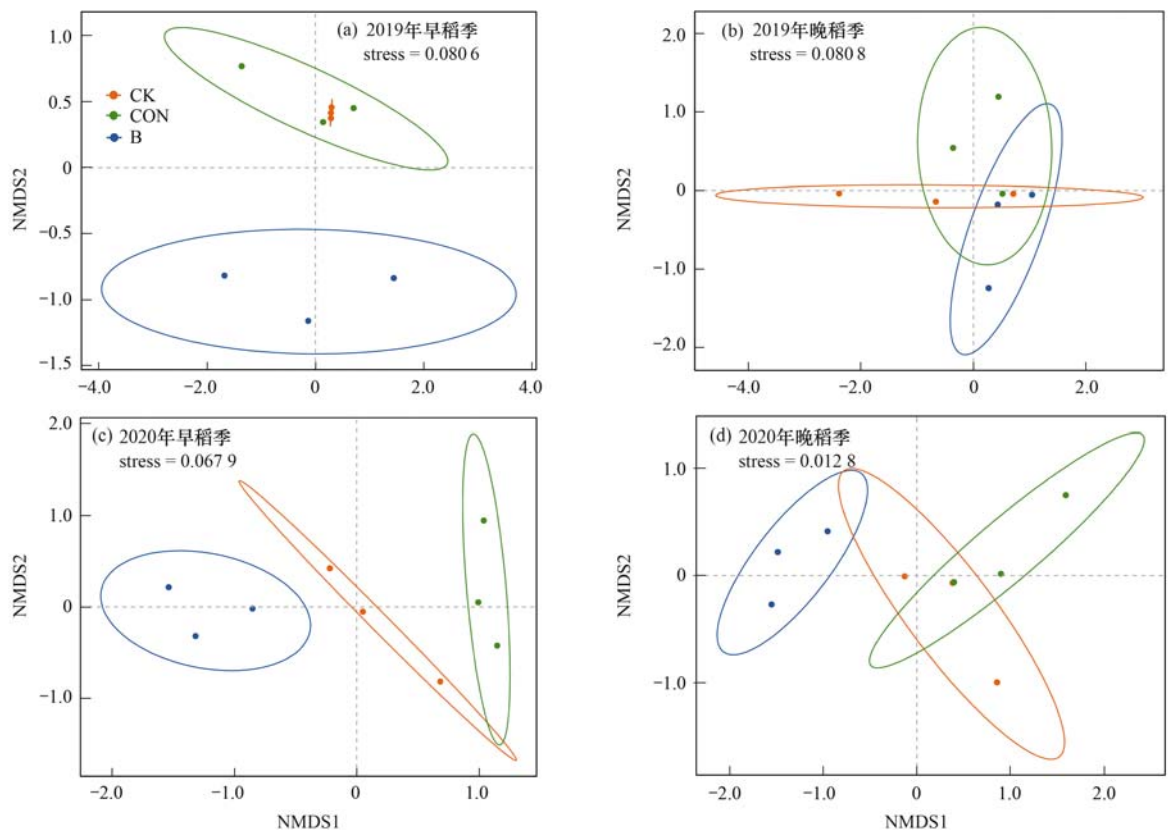


图 5 不同水稻季土壤固氮菌群落属水平的相对丰度 (>1%)

Fig. 5 Relative abundances of diazotrophic genera at genus level in different rice seasons (>1%)

0.05), 在 2019 年早稻与 AK 呈显著正相关 ($P < 0.05$); 嗜糖假单胞菌属与 AP 在 2020 年早稻季达到显著正相关 ($P < 0.05$), 而在 2019 年晚稻季呈现负相关; 地杆菌与土壤理化性质相关性变异较大, 仅在 2020 年晚稻季与 pH 呈显著负相关 ($P < 0.05$); 慢生根瘤菌属与 pH 和 SOC 呈负相关, 其中在 2020 年早稻季达到显著 ($P < 0.05$); 除了 2020 年早稻季之外, 固氮螺菌属在其他三季与 AN 都呈

正相关, 与 pH 在 2020 年早稻季呈显著正相关 ($P < 0.05$) (表 4). 随机森林分析可以用来表征固氮微生物群落中对样品间差异具有重要性的物种, 如图 8 所示, 对每季土壤样品中影响较大的菌分别为嗜糖假单胞菌属、弗兰克氏菌属、蓝杆菌属和外硫红螺菌属. 各水稻季中, 固氮菌的贡献率均有所变化, 整体来看, 在四季水稻土壤中, 嗜糖假单胞菌属对于固氮群落间的差异具有较为重要的作用, 另外固氮螺

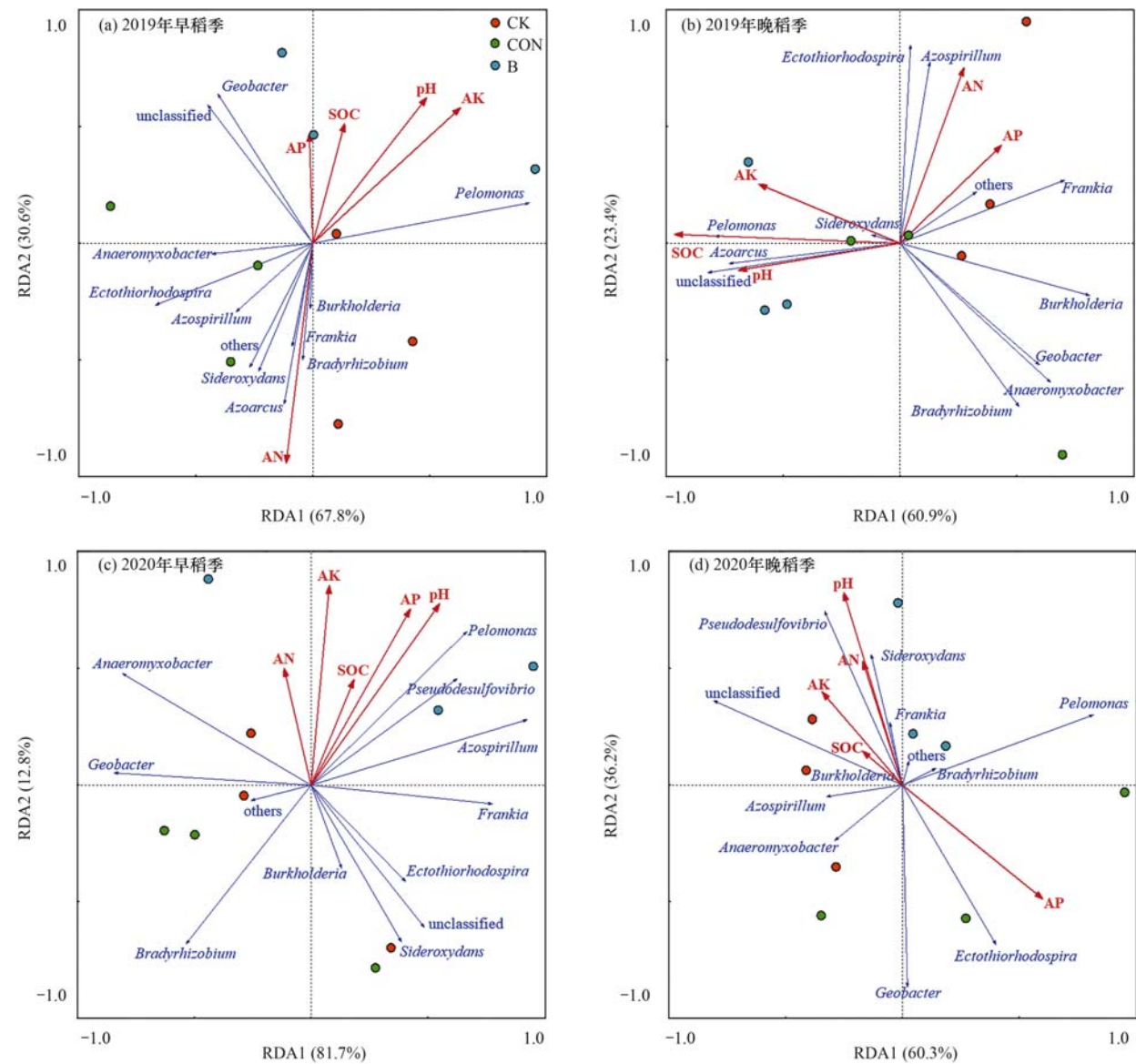


当 stress 小于 0.2 时,表明 NMDS 分析具有一定的可靠性
图 6 基于 OTU 水平下四季水稻土壤的固氮菌群落非度量多维尺度分析
Fig. 6 NMDS analysis of diazotroph communities in paddy soil in four seasons at OTU level

表 4 固氮优势菌属相对丰度与土壤理化性质之间的相关性分析¹⁾

菌属	2019 年早稻季					2019 年晚稻季				
	pH	SOC	AN	AP	AK	pH	SOC	AN	AP	AK
嗜糖假单胞菌属 (<i>Pelomonas</i>)	0.56	0.20	-0.27	0.08	0.68 *	0.65	0.82 **	-0.04	-0.51	0.52
地杆菌属 (<i>Geobacter</i>)	0.21	0.55	-0.51	0.12	0.16	-0.33	-0.60	-0.21	0.11	-0.63
固氮螺菌属 (<i>Azospirillum</i>)	-0.34	-0.28	0.30	-0.06	-0.40	-0.26	-0.11	0.53	0.40	0.23
铁氧化细菌属 (<i>Sideroxydans</i>)	-0.46	-0.36	0.54	-0.22	-0.48	-0.37	-0.04	-0.14	0.40	-0.21
厌氧黏细菌属 (<i>Anaeromyxobacter</i>)	-0.16	0.15	0.06	-0.27	-0.16	-0.39	-0.64	-0.28	0.06	-0.49
弗兰克氏菌属 (<i>Frankia</i>)	-0.46	-0.19	0.42	-0.40	-0.26	-0.41	-0.61	0.55	0.30	-0.33
慢生根瘤菌属 (<i>Bradyrhizobium</i>)	-0.48	-0.29	0.50	-0.29	-0.34	-0.34	-0.52	-0.38	-0.11	-0.40
伯克霍尔德菌属 (<i>Burkholderia</i>)	-0.31	-0.14	0.37	-0.04	-0.30	-0.57	-0.78 *	-0.10	0.14	-0.19
外硫红螺菌属 (<i>Ectothiorhodospira</i>)	-0.74 *	-0.38	0.42	0.01	-0.74 *	0.17	0.1	0.73 *	0.07	0.41
固氮弧菌属 (<i>Azoarcus</i>)	-0.42	-0.26	0.62	-0.45	-0.38	0.47	0.72 *	-0.30	-0.51	0.70 *
菌属	2020 年早稻季					2020 年晚稻季				
	pH	SOC	AN	AP	AK	pH	SOC	AN	AP	AK
嗜糖假单胞菌属 (<i>Pelomonas</i>)	0.86 **	0.48	0.47	0.70 *	0.50	0.04	-0.11	-0.03	0.36	-0.18
地杆菌属 (<i>Geobacter</i>)	-0.43	-0.29	0.14	-0.32	-0.03	-0.73 *	-0.15	-0.53	0.46	-0.37
固氮螺菌属 (<i>Azospirillum</i>)	0.70 *	0.59	-0.07	0.62	0.36	0.35	0.57	0.29	-0.55	-0.13
铁氧化细菌属 (<i>Sideroxydans</i>)	-0.27	-0.18	-0.60	-0.44	-0.30	0.66	0.42	-0.07	-0.27	0.15
厌氧黏细菌属 (<i>Anaeromyxobacter</i>)	-0.17	-0.17	0.31	-0.07	0.34	0.12	0.46	0.21	-0.31	-0.03
弗兰克氏菌属 (<i>Frankia</i>)	0.53	0.61	-0.38	0.44	0.18	0.05	-0.27	0.27	-0.07	0.30
慢生根瘤菌属 (<i>Bradyrhizobium</i>)	-0.93 **	-0.91 *	-0.08	-0.87 **	-0.76 *	-0.21	-0.45	0.56	-0.04	0.19
伯克霍尔德菌属 (<i>Burkholderia</i>)	-0.21	-0.04	-0.43	-0.16	-0.17	-0.06	-0.09	0.19	0.04	0.22
外硫红螺菌属 (<i>Ectothiorhodospira</i>)	0.05	-0.07	0.07	0.07	-0.50	-0.84 **	-0.44	-0.72 *	0.91 **	-0.21
假单胞菌属 (<i>Pseudodesulfobivrio</i>)	0.84 **	0.64	0.26	0.81 **	0.4	0.89 **	0.47	0.59	-0.84 **	0.18

1) ** 表示在 0.01 级别 (双尾),相关性显著, * 表示在 0.05 级别 (双尾),相关性显著



红线和红色表示不同的环境因子,蓝线和蓝字表示相对丰度大于1%的物种

图 7 各处理间固氮微生物群落的冗余分析 (RDA)

Fig. 7 Redundancy analysis (RDA) of diazotroph microbial communities across treatments

菌属、地杆菌属在群落间的重要性也相对较大。

2.5 添加生物炭对水稻产量的影响

在两年的大田试验期间,除 2020 年早稻季种植水稻期间受台风影响产量较低外,其余水稻季中添加生物炭处理的水稻产量显著高于对照处理 ($P < 0.05$),并且高于 CON 处理的产量. 2019 年早稻季和晚稻季的平均产量分别为 $7.66 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 和 5.69

$\text{t} \cdot \text{hm}^{-2}$,与对照处理相比,B 处理在早稻季增产 18.87%,晚稻季增产 63.17%; 2020 年早稻和晚稻季平均产量分别为 $3.24 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$ 和 $7.68 \text{ t} \cdot \text{hm}^{-2}$,与对照处理相比,B 处理在晚稻季增产 102.92% (图 9). 从增产率来看,在第二年晚稻季中,B 处理增加较多. 表 5 显示,水稻产量与嗜糖假单胞菌属呈显著正相关,与固氮螺菌属、弗兰克氏菌属、伯克霍尔

表 5 水稻产量与 *nifH* 及固氮优势菌属相对丰度的相关性分析¹⁾

Table 5 Correlation analysis between rice yield and relative abundance of dominant diazotrophs

	<i>nifH</i>	<i>Pelomonas</i>	<i>Geobacter</i>	<i>Azospirillum</i>	<i>Sideroxydans</i>
产量	0.11	0.42 *	0.17	-0.46 *	-0.02
	<i>Anaeromyxobacter</i>	<i>Frankia</i>	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Burkholderia</i>	<i>Ectothiorhodospira</i>
产量	0.01	-0.62 **	-0.04	-0.40 *	-0.48 *

1) 由于 2020 年早稻季产量数据受台风影响不准确,此处去除产量、固氮菌和 *nifH* 的相关性; ** 表示在 0.01 级别 (双尾),相关性显著, * 表示在 0.05 级别 (双尾),相关性显著

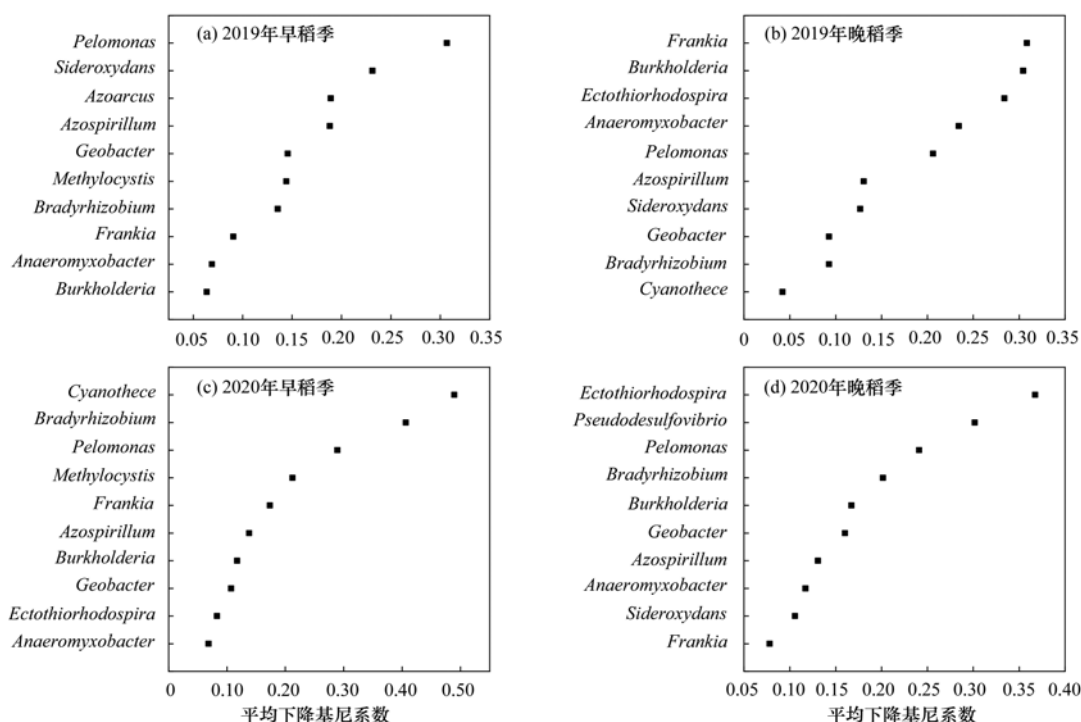
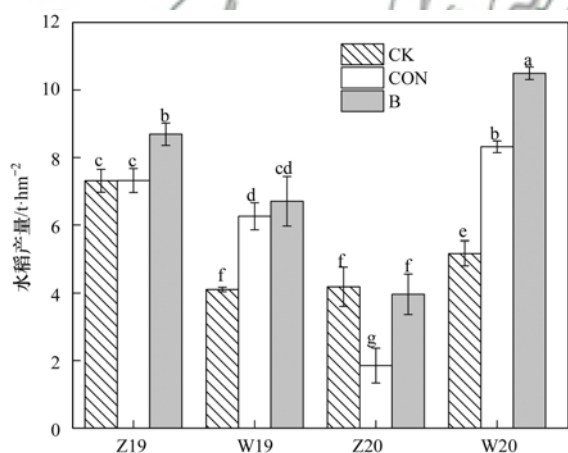


图8 四季水稻土壤样品的随机森林分析

Fig. 8 Random forest analysis of paddy soil samples in four seasons



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$); Z19 表示 2019 年早稻季, W19 表示 2019 年晚稻季, Z20 表示 2020 年早稻季, W20 表示 2020 年晚稻季

图9 四季水稻各处理产量

Fig. 9 Yield of rice in four seasons under different treatments

德菌属和外硫红螺菌属呈显著负相关。

3 讨论

3.1 添加生物炭对土壤理化性质与 *nifH* 基因丰度的影响

施肥和添加生物炭改变了水稻土营养状况,并可能通过影响土壤性质而影响土壤固氮微生物^[28~30],在本研究中,生物炭添加提高了 pH 和 SOC 含量,众所周知,碳有效性对固氮率有很大影响,并且碳有效性的增加通常会增强生物固氮^[31]。

在土壤中添加生物炭后,土壤固氮微生物可以直接利用生物炭中的活性有机碳。另外,不同的 pH 值也会促进或抑制微生物生长代谢活性^[32]。本研究结果也表明,B 处理下,AN 含量在 2019 年双季稻中相比于 CK 处理显著降低,但在 2020 年双季稻田中增加,其中早稻季呈显著水平,这可能是由于生物炭经过 1 a 的分解熟化,土壤碳源消耗较多,微生物在前一年固定的氮素被缓慢释放,因而促进了第二年的土壤养分供应^[33],即生物炭对土壤 AN 的影响具有年际差异。

本研究中,与 CK 处理相比,B 处理显著提高了水稻土中 *nifH* 基因丰度 ($P < 0.05$),CON 处理降低了 *nifH* 基因丰度(在 2020 年晚稻达到显著, $P < 0.05$),说明添加生物炭和施氮肥会影响水稻土中固氮微生物的数量。邓少虹等^[34]的研究表明土壤固氮细菌 *nifH* 基因丰度与 SOC 含量呈极显著正相关,与本研究的结果一致,因此对于生物炭处理来说,导致水稻土中 *nifH* 基因丰度增加的可能原因是:本研究中 *nifH* 基因丰度与 SOC 显著正相关,生物炭提高了土壤 SOC,给固氮微生物提供物质和能量来源促进生长和代谢,从而有益于固氮微生物的繁殖^[35,36]。另外,高的水稻产量也会带来更多的根际分泌物,为固氮菌提供更多的碳源,促进其生长^[37,38],同时添加生物炭提高了土壤的 pH。有研究表明^[39,40],酸性土壤 pH 提升能够增强营养物质的可利用性,降低铝离子对作物生长的抑制作用,从而

促进微生物和作物生长. 王晓洁等^[41]的研究表明, 随着土壤 pH 的提高, 水稻土的固氮作用明显增强. 因此, 在施用氮肥的基础上添加适量生物炭有利于水稻土固氮微生物的生长和繁殖. 也有报道指出, 氮肥添加会增加 *nifH* 基因丰度^[42,43], 而 Wang 等^[44]的研究结果与本研究的一致, 降低了 *nifH* 的丰度, 这种差异可能源于施肥时间跨度的不同, 也可能是水稻土壤对施用肥料的响应不一致, 会随着施肥方式、土壤类型及外源材料的添加表现出不同的趋势^[45,46]. 2020 年的 *nifH* 基因含量要高于 2019 年, 这可能是土壤的 AN 含量在 2019 年要高于 2020 年 (除早稻季的生物炭处理外), 或者是生物炭对水稻土壤中养分的影响会随着试验年限的变化而发生改变, 因此对 *nifH* 基因丰度的提升作用也可能具有一定的时间效应^[38], 所以 2019 年 *nifH* 丰度较低. 另外, *nifH* 基因丰度与 AN 含量呈显著负相关也表明氮肥在本区域对固氮菌有一定的抑制效果.

3.2 添加生物炭对土壤中固氮微生物多样性和群落结构的影响

土壤的理化性质, 例如土壤水分、碳源、氮源含量及土壤结构组成和 pH 等, 能够引起土壤中固氮微生物多样性的改变^[32]. 其中有研究表明土壤 pH 可显著影响细菌的多样性, 并发现细菌群落的分布显著受到土壤 pH 的影响^[47], 本研究中, 随着生物炭添加之后种植季数的增加, ACE 指数和 Chao1 指数也增加, 原因在于, 生物炭的添加改变了四季水稻土壤中的 pH, 并且在 2020 年双季稻田中相比于 2019 年早稻季 pH 更高.

据报道, 生物炭作为改良剂会影响土壤微生物群落结构^[48], 本研究中, 观察了生物炭处理下的固氮微生物群落变化, 主要与土壤 pH、SOC 有关, NMDS 分析表明每年早稻季 B 处理与 CK 和 CON 处理明显区分, 晚稻季区分较小 (图 6), 可能的原因是早稻季种植前的作物为辣椒, 晚稻季种植前作物为水稻, 对相关微生物的影响存在差异. 在四季水稻中 CK 和 CON 处理并未明显区分, 此结果与陆锋等^[38]的研究氮肥的施用不会影响土壤固氮微生物的群落组成一致, 但与 Wang 等^[44]研究的结果不一致, 其可能的原因是 SOC 是生物固氮的限制性养分, 且低 SOC 含量会限制固氮微生物的群落与丰度^[44]. 在本研究中, 两年田间试验结果显示, 相比于 CK 处理, CON 处理并未显著提高 SOC 的含量, 生物炭单独施用或与肥料一起添加到土壤中时, 通常会提高土壤 SOC 以及 pH, 因此间接对固氮微生物的群落结构产生影响. 在本研究中, 嗜糖假单胞菌属在 2019 年早稻季生物炭处理下占比高达 11.9%, 相比 CK 处理

和 CON 处理, B 处理显著增加了嗜糖假单胞菌属的相对丰度. 嗜糖假单胞菌属是一种利用 H_2 固定大气中的 N_2 的固氮细菌^[49], 具有自生固氮能力, 主要受到温度和碳源的影响, 在本研究中, 相关分析表明其相对丰度与 pH 和 SOC 呈正相关 (表 4), 生物炭处理提高了 pH 和 SOC 含量, 从而提高了嗜糖假单胞菌属的含量. 慢生根瘤菌属在土壤中普遍存在, 是一种众所周知的固氮细菌^[50], Yang 等^[30]和 Meng 等^[51]指出慢生根瘤菌属为主要的优势菌, 在两年双季稻试验所有土壤处理中均发现了慢生根瘤菌属的存在, 仅占 0.5%~2.2%, 与 pH 和 SOC 呈负相关, 由于 B 处理增加了 pH 和 SOC 含量, 因此在 B 处理中, 慢生根瘤菌属的含量相对较低. 地杆菌属在本研究中也是一种优势菌属, 广泛分布于厌氧沉积环境, 在有氧水稻土泥浆环境中能够较好地生长. 有研究表明^[52], 长期施肥将会抑制地杆菌属相对丰度, 这与本研究结果施肥增加了其丰度不一致, 可能是长期施肥致土壤酸化严重. 朱超^[53]的研究发现 pH 过低对地杆菌属造成持续的抑制, 但适当调低土壤 pH 对后期地杆菌属的生长起促进作用. 本研究中, 相比 CK 处理, CON 处理降低了土壤 pH, 但降幅较小, 因此施肥增加了地杆菌属的丰度. 另外, 地理因素也会影响固氮微生物群落结构, 例如, Wang 报道了黄杆菌属^[44], Coelho 报道了既具有固氮能力也可通过产生植物激素影响植物生长的拟杆菌属^[50], 而这两个菌属在本研究中并未发现, 然而在其他研究中报道水稻土中的嗜糖假单胞菌属则较少.

3.3 添加生物炭对水稻产量的影响

有研究表明生物炭配施氮肥处理下可在 2 a 内持续提高水稻产量, 增产率在 8%~12%^[54]. 本研究结果表明, 与 CK 处理相比, CON 和 B 处理水稻产量均有不同程度的增加, 且达显著水平 (受台风季影响 2020 年早稻季除外), 这说明在当前试验条件下, 施用 $20\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 的生物炭配施化肥具有一定的可行性, 而与史登林等^[55]的研究在贵州中等肥力黄壤稻田中生物炭与氮肥减量配施的增产效果不一致可能是由于土壤类型、土壤肥力以及耕作模式不同. 人们常认为固氮微生物越丰富的农田土壤, 其作物的产量应该越高. 本研究中, 水稻产量与嗜糖假单胞菌属呈显著正相关, 与 *nifH* 丰度呈正相关, 但不显著 (表 5), B 处理下水稻产量增加, 可能的原因是生物炭提高了 *nifH* 丰度和嗜糖假单胞菌属的相对丰度, 从而增加了水稻的固氮量, 并且嗜糖假单胞菌属在水稻土壤中具有较为重要的固氮作用. CON 处理降低了 *nifH* 基因丰度, 但未达显著水平, 相关分析中产量与固氮螺菌属和弗兰克氏菌属显著负相关 ($P < 0.05$,

表5),除2019年早稻季外,CON处理下二者的相对丰度降低,加上肥料本身的氮素养分,因此也增加了水稻的产量。另外,因生物炭自身含有丰富的氮素,尽管并非都是易分解或可有效利用的,但由于能吸附氮素,因此可提高土壤养分含量保证作物实现增产或稳产^[56]。

4 结论

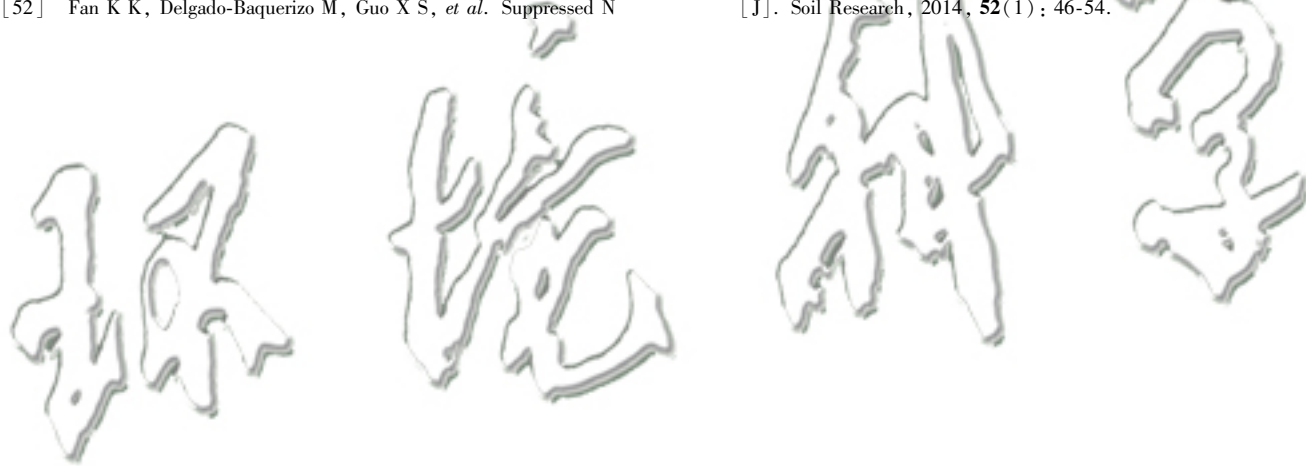
本研究表明,生物炭增加了土壤固氮微生物的 *nifH* 基因丰度,改变了土壤固氮微生物的群落结构。具体而言,添加生物炭后,土壤 pH 和 SOC 显著提高,与之显著相关的嗜糖假单胞菌属的丰度显著提高,且嗜糖假单胞菌属与产量显著正相关,因此产量也有所增加。添加生物炭对土壤养分的富集及 *nifH* 丰度有积极影响,并在形成这些固氮群落中发挥了重要作用。本研究结果表明,生物炭改良剂在提高海南水稻土壤的生物固氮方面具有很大的潜力,添加适量生物炭条件下可考虑减少氮肥的施用量。

参考文献:

- [1] Erisman J W, Galloway J N, Seitzinger S, *et al.* Consequences of human modification of the global nitrogen cycle [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013, **368**(1621), doi: 10.1098/rstb.2013.0116.
- [2] Storkey J, Macdonald A J, Poulton P R, *et al.* Grassland biodiversity bounces back from long-term nitrogen addition [J]. *Nature*, 2015, **528**(7582): 401-404.
- [3] 谢祖彬, 张燕辉, 王慧. 稻田生物固氮研究进展及方向 [J]. *土壤学报*, 2020, **57**(3): 540-546.
Xie Z B, Zhang Y H, Wang H. Advances and perspectives in paddy biological nitrogen fixation [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2020, **57**(3): 540-546.
- [4] 符佩娇, 吉恒宽, 何秋香, 等. 氮肥分施次数及硝化抑制剂对盆栽玉米 N_2O 排放的影响 [J]. *环境科学*, 2021, **42**(9): 4538-4547.
Fu P J, Ji H K, He Q X, *et al.* Effects of nitrogen fertilizer application times and nitrification inhibitor on N_2O emission from potted maize [J]. *Environmental Science*, 2021, **42**(9): 4538-4547.
- [5] 吉恒宽, 吴月颖, 符佩娇, 等. 热带滨海区不同土地利用背景下土壤溶解性有机氮的组成与粒径分布特征 [J]. *生态环境学报*, 2020, **29**(3): 525-535.
Ji H K, Wu Y Y, Fu P J, *et al.* Composition and size distribution characteristics of soil dissolved organic nitrogen under different land use types in tropical coastal areas [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2020, **29**(3): 525-535.
- [6] Galloway J N. The global nitrogen cycle: past, present and future [J]. *Science in China Series C: Life Sciences*, 2005, **48**(S2): 669-678.
- [7] Feng M M, Adams J M, Fan K K, *et al.* Long-term fertilization influences community assembly processes of soil diazotrophs [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, **126**: 151-158.
- [8] Luo G W, Friman V P, Chen H, *et al.* Long-term fertilization regimes drive the abundance and composition of N-cycling-related prokaryotic groups via soil particle-size differentiation [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, **116**: 213-223.
- [9] 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.
- [10] Sellstedt A, Richau K H. Aspects of nitrogen-fixing *Actinobacteria*, in particular free-living and symbiotic *Frankia* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2013, **342**(2): 179-186.
- [11] Xun W B, Li W, Huang T, *et al.* Long-term agronomic practices alter the composition of asymbiotic diazotrophic bacterial community and their nitrogen fixation genes in an acidic red soil [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, **54**(3): 329-339.
- [12] Chen J, Wang P F, Wang C, *et al.* Dam construction alters function and community composition of diazotrophs in riparian soils across an environmental gradient [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, **132**: 14-23.
- [13] Hu X J, Liu J J, Zhu P, *et al.* Long-term manure addition reduces diversity and changes community structure of diazotrophs in a neutral black soil of northeast China [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2018, **18**(5): 2053-2062.
- [14] Zheng J F, Han J M, Liu Z W, *et al.* Biochar compound fertilizer increases nitrogen productivity and economic benefits but decreases carbon emission of maize production [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2017, **241**: 70-78.
- [15] Liu B J, Liu Q, Wang X J, *et al.* A fast chemical oxidation method for predicting the long-term mineralization of biochar in soils [J]. *Science of the Total Environment*, 2020, **718**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.137390.
- [16] Liu Q, Zhang Y H, Liu B J, *et al.* How does biochar influence soil N cycle? A meta-analysis [J]. *Plant and Soil*, 2018, **426**(1-2): 211-225.
- [17] Liu Q, Liu B J, Zhang Y H, *et al.* Biochar application as a tool to decrease soil nitrogen losses (NH_3 volatilization, N_2O emissions, and N leaching) from croplands: options and mitigation strength in a global perspective [J]. *Global Change Biology*, 2019, **25**(6): 2077-2093.
- [18] Dong W Y, Zhang X Y, Dai X Q, *et al.* Changes in soil microbial community composition in response to fertilization of paddy soils in subtropical China [J]. *Applied Soil Ecology*, 2014, **84**: 140-147.
- [19] Ahn J H, Song J, Kim B Y, *et al.* Characterization of the bacterial and archaeal communities in rice field soils subjected to long-term fertilization practices [J]. *Journal of Microbiology*, 2012, **50**(5): 754-765.
- [20] Ramirez K S, Lauber C L, Knight R, *et al.* Consistent effects of nitrogen fertilization on soil bacterial communities in contrasting systems [J]. *Ecology*, 2010, **91**(2): 3463-3470.
- [21] Wakelin S A, Colloff M J, Harvey P R, *et al.* The effects of stubble retention and nitrogen application on soil microbial community structure and functional gene abundance under irrigated maize [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, **59**(3): 661-670.
- [22] Lauber C L, Hamady M, Knight R, *et al.* Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, **75**(15): 5111-5120.
- [23] 李桥, 雍毅, 丁文川, 等. 紫外辐照改性生物炭对 VOCs 的动态吸附 [J]. *环境科学*, 2016, **37**(6): 2065-2072.
Li Q, Yong Y, Ding W C, *et al.* Studies of dynamic adsorption behavior of VOCs on biochar modified by ultraviolet irradiation [J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(6): 2065-2072.
- [24] 王紫君, 王鸿浩, 李金秋, 等. 椰糠生物炭对热区双季稻田

- N₂O和CH₄排放的影响[J]. 环境科学, 2021, **42**(8): 3931-3942.
- Wang Z J, Wang H H, Li J Q, *et al.* Effects of coconut chaff biochar amendment on methane and nitrous oxide emissions from paddy fields in hot areas[J]. Environmental Science, 2021, **42**(8): 3931-3942.
- [25] 田伟, 伍延正, 汤水荣, 等. 不同施肥模式对热区晚稻水田CH₄和N₂O排放的影响[J]. 环境科学, 2019, **40**(5): 2426-2434.
- Tian W, Wu Y Z, Tang S R, *et al.* Effects of different fertilization modes on greenhouse gas emission characteristics of paddy fields in hot areas[J]. Environmental Science, 2019, **40**(5): 2426-2434.
- [26] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. (第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [27] Rosch C, Mergel A, Bothe H. Biodiversity of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in an acid forest soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, **68**(8): 3818-3829.
- [28] Kondo M, Yasuda M. Seasonal changes in N₂ fixation activity and N enrichment in paddy soils as affected by soil management in the northern area of Japan[J]. Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ, 2003, **37**(2): 105-111.
- [29] Wang X J, Liu B J, Ma J, *et al.* Soil aluminum oxides determine biological nitrogen fixation and diazotrophic communities across major types of paddy soils in China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, **131**: 81-89.
- [30] Yang L, Bai J S, Zeng N H, *et al.* Diazotroph abundance and community structure are reshaped by straw return and mineral fertilizer in rice-rice-green manure rotation[J]. Applied Soil Ecology, 2019, **136**: 11-20.
- [31] Orr C H, Leifert C, Cummings S P, *et al.* Impacts of organic and conventional crop management on diversity and activity of free-living nitrogen fixing bacteria and total bacteria are subsidiary to temporal effects[J]. PLoS One, 2012, **7**(12), doi: 10.1371/Journal.pone.0052891.
- [32] 刘杰云, 邱虎森, 汤宏, 等. 生物质炭对双季水稻土壤微生物生物量碳、氮及可溶性有机碳氮的影响[J]. 环境科学, 2019, **40**(8): 3799-3807.
- Liu J Y, Qiu H S, Tang H, *et al.* Effects of biochar amendment on soil microbial biomass carbon, nitrogen and dissolved organic carbon, nitrogen in paddy soils[J]. Environmental Science, 2019, **40**(8): 3799-3807.
- [33] Pan F X, Li Y Y, Chapman S J, *et al.* Effect of rice straw application on microbial community and activity in paddy soil under different water status[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, **23**(6): 5941-5948.
- [34] 邓少虹, 郑小东, 毛婉琼, 等. 稻田与旱地土壤中真菌和细菌对秸秆碳的利用特征[J]. 环境科学, 2022, **43**(2): 1069-1076.
- Deng S H, Zheng X D, Mao W Q, *et al.* Characteristics of microbial utilization for crop residue-derived C in paddy and upland soils[J]. Environmental Science, 2022, **43**(2): 1069-1076.
- [35] Mehmood I, Qiao L, Chen H Q, *et al.* Biochar addition leads to more soil organic carbon sequestration under a maize-rice cropping system than continuous flooded rice[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2020, **298**, doi: 10.1016/j.agee.2020.106965.
- [36] 吴家梅, 纪雄辉, 彭华, 等. 南方双季稻田稻草还田的碳汇效应[J]. 应用生态学报, 2011, **22**(12): 3196-3202.
- Wu J M, Ji X H, Peng H, *et al.* Carbon sequestration effects of rice straw return in double season paddy field in Southern China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, **22**(12): 3196-3202.
- [37] 张苗苗, 刘毅, 盛荣, 等. 稻草还田对水稻土固氮基因(*nifH*)组成结构和多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2013, **24**(8): 2339-2344.
- Zhang M M, Liu Y, Sheng R, *et al.* Effects of rice straw returning on the community structure and diversity of nitrogen-fixing gene (*nifH*) in paddy soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2013, **24**(8): 2339-2344.
- [38] 睦锋, 廖萍, 黄山, 等. 施用生物炭对双季水稻产量和氮素吸收的影响[J]. 核农学报, 2018, **32**(10): 2062-2068.
- Sui F, Liao P, Huang S, *et al.* Effects of biochar amendment on yield and nitrogen uptake in a double rice-cropping system[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2018, **32**(10): 2062-2068.
- [39] 杨彩迪, 宗玉统, 卢升高. 不同生物炭对酸性农田土壤性质和作物产量的动态影响[J]. 环境科学, 2020, **41**(4): 1914-1920.
- Yang C D, Zong Y T, Lu S G. Dynamic effects of different biochars on soil properties and crop yield of acid farmland[J]. Environmental Science, 2020, **41**(4): 1914-1920.
- [40] 冯慧琳, 徐辰生, 何欢辉, 等. 生物炭对土壤酶活和细菌群落的影响及其作用机制[J]. 环境科学, 2021, **42**(1): 422-432.
- Feng H L, Xu C S, He H H, *et al.* Effect of biochar on soil enzyme activity & the bacterial community and its mechanism[J]. Environmental Science, 2021, **42**(1): 422-432.
- [41] 王晓洁, 卑其成, 刘钢, 等. 不同类型水稻土微生物群落结构特征及其影响因素[J]. 土壤学报, 2021, **58**(3): 767-776.
- Wang X J, Bei Q C, Liu G, *et al.* Microbial abundance and community composition in different types of paddy soils in China and their affecting factors[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, **58**(3): 767-776.
- [42] Tang H M, Xu Y L, Li C, *et al.* Effects of long-term fertilizer management on soil bacterial diversity in double-cropping paddy field of southern China[J]. Agronomy Journal, 2020, **112**(5): 3644-3652.
- [43] 王聪, 吴讷, 侯海军, 等. DNA和cDNA水平对比研究施肥对稻田土壤细菌多样性的影响[J]. 环境科学, 2016, **37**(11): 4372-4379.
- Wang C, Wu N, Hou H J, *et al.* Effects of fertilization on soil microbial abundance and community structure at DNA and cDNA levels in paddy soils[J]. Environmental Science, 2016, **37**(11): 4372-4379.
- [44] Wang C, Zheng M M, Song W F, *et al.* Impact of 25 years of inorganic fertilization on diazotrophic abundance and community structure in an acidic soil in southern China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, **113**: 240-249.
- [45] 曹彦强, 张中峰, 徐广平, 等. 水稻土细菌群落对长期施肥和短期氮添加的响应[J]. 广西科学, 2021, **28**(4): 389-395.
- Cao Y Q, Zhang Z F, Xu G P, *et al.* Response of bacterial community in paddy soil to long-term fertilization and short-term nitrogen addition[J]. Guangxi Sciences, 2021, **28**(4): 389-395.
- [46] Ai C, Zhang S Q, Zhang X, *et al.* Distinct responses of soil bacterial and fungal communities to changes in fertilization regime and crop rotation[J]. Geoderma, 2018, **319**: 156-166.
- [47] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. Proceedings of the National Academy

- of Sciences of the United States of America, 2006, **103**(3): 626-631.
- [48] Yao Q, Liu J J, Yu Z H, *et al.* Three years of biochar amendment alters soil physiochemical properties and fungal community composition in a black soil of northeast China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, **110**: 56-67.
- [49] 樊慧俐, 燕永亮, 李燕斯, 等. 斯氏假单胞菌 A1501 固氮新基因 PST1305 的功能分析[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2009, **49**(5): 580-584.
- Fan H L, Yan Y L, Li Y S, *et al.* Analysis of a new nitrogen fixation gene in *Pseudomonas stutzeri* A1501 [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2009, **49**(5): 580-584.
- [50] Coelho M R R, De Vos M, Carneiro N P, *et al.* Diversity of *nifH* gene pools in the rhizosphere of two cultivars of sorghum (*Sorghum bicolor*) treated with contrasting levels of nitrogen fertilizer[J]. FEMS Microbiology Letters, 2008, **279**(1): 15-22.
- [51] Meng X T, Liao H K, Fan H X, *et al.* The geographical scale dependence of diazotroph assembly and activity: effect of a decade fertilization[J]. Geoderma, 2021, **386**, doi: 10.1016/j.geoderma.2020.114923.
- [52] Fan K K, Delgado-Baquerizo M, Guo X S, *et al.* Suppressed N fixation and diazotrophs after four decades of fertilization[J]. Microbiome, 2019, **7**, doi: 10.1186/s40168-019-0757-8.
- [53] 朱超. 环境因素对水稻土中地杆菌和厌氧粘细菌群落的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
- Zhu C. Effects of environmental factors on *geobacteraceae* and *anaeromyxobacter* spp. Communities in paddy soils [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2011.
- [54] Zhang A F, Bian R J, Pan G X, *et al.* Effects of biochar amendment on soil quality, crop yield and greenhouse gas emission in a Chinese rice paddy: a field study of 2 consecutive rice growing cycles[J]. Field Crops Research, 2012, **127**: 153-160.
- [55] 史登林, 王小利, 刘安凯, 等. 黄壤稻田土壤微生物量碳氮及水稻品质对生物炭配施氮肥的响应[J]. 环境科学, 2021, **42**(1): 443-449.
- Shi D L, Wang X L, Liu A K, *et al.* Response of microbial biomass carbon and nitrogen and rice quality in a yellow soil paddy field to biochar combined with nitrogen fertilizer [J]. Environmental Science, 2021, **42**(1): 443-449.
- [56] Ouyang L, Yu L Q, Zhang R D. Effects of amendment of different biochars on soil carbon mineralisation and sequestration [J]. Soil Research, 2014, **52**(1): 46-54.



CONTENTS

Temporal and Spatial Evolution Pattern of PM _{2.5} and Its Influencing Factors in Guanzhong Plain Urban Agglomeration	ZHANG Jun, JIN Zi-han, WANG Yue, <i>et al.</i> (5333)
Linkage Effect and Nonlinear Impact of PM _{2.5} Concentration Driving Factors in Central Plains Urban Agglomeration	ZHOU Zhi-heng, ZHOU Ting-gang, QIN Ning (5344)
Analysis of Spatiotemporal Distribution Characteristics and Influencing Factors of PM _{2.5} and O ₃ in Changsha-Zhuzhou-Xiangtan Urban Agglomeration, China	LIU Xian-zhao, ZHANG Guo-qiao, YANG Wen-tao, <i>et al.</i> (5354)
Chemical Composition and Source Apportionment of PM _{2.5} in Zhangye City	PAN Cheng-ke, HUANG Tao, GAO Hong, <i>et al.</i> (5367)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of PM _{2.5} Heavy Metals in Tianjin and Qingdao in Winter of 2018-2019	ZHAO Ming-sheng, REN Li-hong, LI Gang, <i>et al.</i> (5376)
Concentration, Solubility, and Sources of Metal Elements in Atmospheric Precipitation in Qingdao	KONG Ling-dong, QI Jian-hua, ZHANG Xu (5387)
Trends of Ozone Pollution in Guanzhong Urban Agglomeration from 2015 to 2021	ZHAO Wei, WANG Shuo, PANG Xiao-die, <i>et al.</i> (5399)
Pollution Characteristics of Ozone and Its Precursors in Background Region of Hainan Province	XIE Wen-jing, XING Qiao, XIE Dong-hai, <i>et al.</i> (5407)
Identification of Ozone Formation Mechanism Long-term Spatio-temporal Evolutions in PRD Based on Two-dimensional Mutual Verification	YANG Lei-feng, XIE Dan-ping, YANG Jun, <i>et al.</i> (5421)
Characteristics and Source Apportionment of Ambient Summer Volatile Organic Compounds in Zhengzhou, China	QI Yi-jin, WANG Ling-ling, NI Jing-wei, <i>et al.</i> (5429)
Summer Pollution Characteristics and Sources of Volatile Organic Compounds in Lanzhou	YANG Yan-ping, CHEN Qiang, MENG Xian-hong, <i>et al.</i> (5442)
Characteristics and Health Risk Assessment of VOCs in an Underground Parking Garage	LIU Yan, YANG Ning, SUN Lu-na, <i>et al.</i> (5453)
Chemical Characterizations of Particles from Direct-injection Gasoline Vehicles	LI Jia-chen, GE Yun-shan, WANG Hao-hao, <i>et al.</i> (5464)
Scenario Simulation and Prediction of Greenhouse Gas Emissions from Incineration of Solid Waste	YAN Wei, LIU Shu-le, WU Zheng-fang, <i>et al.</i> (5470)
Distribution, Sources, and Export of the (Sub-) Metal Elements in the Changjiang River	LIU Jia-ming, WU Wen-tao, LIU Xiao-tian, <i>et al.</i> (5478)
Analysis of Nitrogen and Phosphorus Pollution and Nitrogen Sources in the Lancang River	GUO Shu-fang, CHEN An-qiang, XI Bin, <i>et al.</i> (5491)
Transformation Relationship of Groundwater and River Water in Riparian Wetland During Water and Sediment Regulation of Xiaolangdi Reservoir in Yellow River	XIAO Chun-yan, LIU Yi-fan, ZHAO Tong-qian, <i>et al.</i> (5499)
Spatiotemporal Variation in Water Quality of Modaomen Waterway Conveyance Reservoir Drinking Water Sources	ZHANG Kun-feng, CHANG Sheng, ZHANG Qi, <i>et al.</i> (5509)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of PPCPs in Typical Drinking Water Sources in the Middle Reaches of the Yangtze River During the COVID-19 Pandemic	FAN Yue-ting, CHANG Sheng, ZHANG Kun-feng, <i>et al.</i> (5522)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of PAHs and PCBs in Surface Water and Sediments in Middle and Upper Reaches of Beiji River	CHANG Sheng, BAI Yun-song, TU Xiang, <i>et al.</i> (5534)
Hydrochemical Characteristics and Fluorine Distribution and Causes of Different Water Bodies in Pingshuo Mining Area	SUN Long, LIU Ting-xi, DUAN Li-min, <i>et al.</i> (5547)
Characteristics of Dissolved Organic Matters and Their Influence on Labile Cadmium Release from Soils of Typical Water Level Fluctuation Zones of Three Gorges Reservoir	ZHANG Bao-hao, WU Ya-zun, XU Dong-yu, <i>et al.</i> (5560)
Phosphorus Cycling in a Sediment-water System Controlled by Different Dissolved Oxygen Levels of Overlying Water	LIU Xiao-tian, LIU Jun, WANG Yi-bin, <i>et al.</i> (5571)
Water Quality Evolution Characteristics and Pollution Factor Analysis in Poyang Lake from 2011 to 2019	XIE Hui-yu, HU Mei, JI Xiao-yan, <i>et al.</i> (5585)
Distribution and Risk Assessment on the Nutrients and Heavy Metals in Surface Sediments of Wuliangshui Lake	DU Cai-li, LI Jia-xi, LI Guo-wen, <i>et al.</i> (5598)
Effect and Mechanism of Biochar Adsorption on Unbiodegradable Organic Nitrogen in Stormwater Runoff	SU Zeng-hui, SUN Ping, CHEN You-yuan, <i>et al.</i> (5608)
Phytoplankton Community Structures and Their Relationship with Environmental Factors in Rivers Supplied with Different Water Sources	HOU Ying, LI Xin, BAI Ling, <i>et al.</i> (5616)
Adsorption of Typical Quinolone Antibiotics by Manganese Oxide-Modified Biochar Substrate and Its Application in CWs	GAO Hui-zi, TIAN Wei-jun, ZHANG Zi-yu, <i>et al.</i> (5627)
Effect of KOH Activation on the Properties of Biochar and Its Adsorption Behavior on Tetracycline Removal from an Aqueous Solution	XU Jin, MA Yi-fan, YAO Guo-qing, <i>et al.</i> (5635)
Preparation of Modified Attapulgite-supported Iron Sulfide and Its Adsorption Mechanism for Mo(VI)	LIAN Jian-jun, WU Hong-yan, YE Tian-ran, <i>et al.</i> (5647)
Removal of Cr(VI) from Water Using Green Synthesis Nanoscale Zero-Valent Iron Supported on <i>Eucalyptus</i> Biochar	LIU Qin-wen, DING Ai-zhong, LIANG Xin, <i>et al.</i> (5657)
Removal of Pb(II) and Zn(II) from Wastewater via Magnesium-Modified Diatomite Product Recovering Nitrogen and Phosphorus	WU Ying-qiu, XIA Peng, LI Yuan, <i>et al.</i> (5667)
Adsorption of Methylene Blue on Sodium-Modified Bentonite from Southern Part of Henan	CHENG Fei-peng, YANG Dong-liang, CHANG Le, <i>et al.</i> (5676)
Compound Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Soil and Groundwater of Typical Industrial Lands in Shanghai	LI Xiao-man, LI Qing-qing, YANG Jie, <i>et al.</i> (5687)
Pollution Evaluation and Quantitative Traceability Analysis of Heavy Metals in Farmland Soils Around the Gangue Heap of a Coal Mine in Chongqing	MA Jie, LIU Ping, LIU Jin-zhao, <i>et al.</i> (5698)
Species Distribution and Source Analysis of Heavy Metals in Surrounding Soil Around Typical Petroleum Sites	GONG Jian, HE Lian-sheng, LI Qiang, <i>et al.</i> (5710)
Source Analysis of Heavy Metals in Farmland Soil Around a Waste Incineration Plant Based on PMF Model	ZHANG Tian-yu, HU Gong-ren, YU Rui-lian, <i>et al.</i> (5718)
Ecological and Health Risk Assessment of Heavy Metal Pollution in Farmland Soil of Xianghe County	CHEN Yu-jia, QU Xing-chen, ZHANG Bin, <i>et al.</i> (5728)
Comparison of the Concentrations, Sources, and Distributions of Heavy Metals in Topsoils of the Junction Zone of Geological Tectonic Units: A Case Study in Chengkou County, China	LIU Yong-lin, WU Mei, LIU Rui, <i>et al.</i> (5742)
Occurrence, Source Analysis, and Health Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Plants and Soils from Typical Areas of Xinjiang, China	YANG Bei-chen, XIE Qi-lai, ZHENG Qian, <i>et al.</i> (5751)
Effects of Strengthening <i>Pennisetum purpureum</i> Schumacher with Fertilizer Application Strategy on Remediation of Severely Cadmium-polluted Farmland	WU Gang-fan, ZHOU Hang, TANG Qi, <i>et al.</i> (5761)
Tobacco Stem Biochar and Phosphate Application Decrease Wheat Grain Cadmium Accumulation in Alkaline Soils	YANG Yan-zheng, ZHANG Yin-ge, LI Chang, <i>et al.</i> (5769)
Polyamine-producing Bacteria Improve Cd Resistance and Reduce Uptake of Cd in Wheat	JI Ming-fei, WU Xue-jiao, LI Xiao-zhe, <i>et al.</i> (5778)
Effect and Mechanism of Sulfate-Reducing Bacteria on the Passivation of Heavy Metals in Alkaline and Acidic Agricultural Soils	GAO Yu, LIU Yu-chen, GUO Xiao-fang, <i>et al.</i> (5789)
Effects of <i>Bacillus megaterium</i> on Soil Physicochemical Properties and Its Effects on the Accumulation of Cd and Zn in Plant	WANG Ping, LI Yi-man, WANG Xue-jia, <i>et al.</i> (5798)
Soil Fungal Community Structure and Function Diversity of Different Land Use Types in the Waterfront Area Along the Jialing River	ZHU Lan-ping, XU Fei, WANG Jia-ying, <i>et al.</i> (5808)
Effect of Biochar Application on Biological Nitrogen Fixation in Double Cropping Paddy Field in Northern Hainan	ZHAO Yan, YUAN Xin-sheng, TANG Rui-jie, <i>et al.</i> (5819)
Photodegradation Behaviors and Toxicity Characteristics of Trimethoprim into Different Environmental Media with the Presence of g-C ₃ N ₄	ZHU Na, WANG Xing-yang, JIAO Jun-heng, <i>et al.</i> (5832)
Analysis of Provincial CO ₂ Emission Accounting in China Under the Carbon Peaking and Carbon Neutrality Goals	YANG Bai, QIN Guang-peng, WU Qin (5840)
Temporal and Spatial Differences in Carbon Conduction and Prediction Effect of Land Type Transfer in Chang-Zhu-Tan Urban Agglomeration	YANG Xu, LIU Xian-zhao (5850)
Environmental Benefit Analysis of Municipal Solid Waste Typical Disposal Scenarios in Zhangjiagang City Based on Classification	ZHANG Tao, ZHENG Jun-wen, SUN Yu-can, <i>et al.</i> (5861)