

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第12期

Vol.39 No.12

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次(卷终)

中国燃煤电厂大气污染物排放的健康影响特征	秦雨, 张强, 李鑫, 赵红艳, 同丹, 郑逸璇, 耿冠楠, 贺克斌 (5289)
基于 LUR 模型的中国 PM _{2.5} 时空变化分析	刘炳杰, 彭晓敏, 李继红 (5296)
长三角淳安地区二次颗粒物污染形成机制	黄丹丹, 周敏, 余传冠, 朱书慧, 王裕成, 乔利平, 楼晟荣, 陶士康, 杨强, 李莉 (5308)
春季沙尘过程北京市不同粒径大气气溶胶污染特征及来源分析	杨阳, 李杏茹, 陈曦, 刘水桥, 刘雨思, 徐静, 王莉莉, 陶明辉, 王格慧 (5315)
成都双流夏秋季环境空气中 VOCs 污染特征	邓媛元, 李晶, 李亚琦, 吴蓉蓉, 谢绍东 (5323)
佛山市典型铝型材行业表面涂装 VOCs 排放组成	李霞, 苏伟健, 黎碧霞, 龙森, 黎丽莉, 张洲, 于跃刚, 王云鹏, 王新明 (5334)
四川省人为源大气污染物排放清单及特征	周子航, 邓也, 谭钦文, 吴柯颖, 杨欣悦, 周小玲 (5344)
炼焦工序颗粒物排放特征	王彦辉, 赵亮, 孙文强, 叶竹, 蔡九菊 (5359)
小流域大气氮干湿沉降特征	王焕晓, 庞树江, 王晓燕, 樊彦波 (5365)
流域氮素主要输出途径及变化特征	李文超, 雷秋良, 翟丽梅, 刘宏斌, 胡万里, 刘申, 任天志 (5375)
生物炭配施缓控释肥对稻田田面水氮素动态变化及径流流失的影响	斯林林, 周静杰, 吴良欢, 胡兆平 (5383)
长江上游农业源溪流雨季中 N ₂ O 间接排放特征	田琳琳, 王正, 朱波 (5391)
不同氮污染特征河流 N ₂ O 浓度、释放通量与排放系数	王森, 李亚峰, 雷坤, 杨丽标 (5400)
多种同位素手段的硝酸盐污染源解析: 以会仙湿地为例	彭聪, 潘晓东, 焦友军, 任坤, 曾洁 (5410)
典型岩溶槽谷区土壤水 δD 和 δ ¹⁸ O 时空分布特征: 以重庆市中梁山岩溶槽谷为例	吴韦, 蒋勇军, 贾亚男, 彭学义, 段世辉, 刘九缠, 王正雄 (5418)
沁河冲洪积扇地下水水化学特征及成因分析	刘江涛, 蔡五田, 曹月婷, 蔡月梅, 边超, 吕永高, 陈远铭 (5428)
2017 年最大降水对再生水受水河道径流组成的影响	廖安然, 宋献方, 张应华, 杨丽虎, 卜红梅, 马英, 韩冬梅, 秦文婧, 杨胜天 (5440)
周村水库主库区水体热分层形成过程中沉积物间隙水 DOM 的光谱演变特征	周石磊, 张艺冉, 黄廷林, 李再兴, 罗晓 (5451)
三峡库区沉积物中镍污染特征评价	张伟杰, 殷淑华, 徐东昱, 高丽, 高博 (5464)
四面山大洪湖底泥/水界面汞的迁移转化规律	郭攀, 孙涛, 杨光, 马明 (5473)
大兴安岭南麓湿地类型对土壤中甲基汞分布的影响	周心功, 刘玉荣, 李晶, 周志峰 (5480)
模拟三峡库区消落带土壤有机磷酸酯类水释放特征	杨婷, 何明靖, 杨志豪, 魏世强 (5487)
典型旅游城市河流水体及污水厂出水中全氟烷基类化合物的空间分布及其前体物的转化	王世亮, 孙建树, 杨月伟, 张敏 (5494)
4 种不同工况生物滤池净化效能与微生物特性分析	江肖良, 李孟, 张少辉, 张世羊 (5503)
微量元素锰对威氏海链藻生长及叶绿素荧光的影响	王木兰, 姜玥璐 (5514)
广东省水库拟柱胞藻 (<i>Cylindropermopsis raciborskii</i>) 的分布特征及影响因素分析	雷敏婷, 彭亮, 韩博平, 雷腊梅 (5523)
磁性壳聚糖接枝聚丙烯酰胺去除水体中腐殖酸	尤雯, 刘海成, 曹家玮, 沈耀良, 陈卫 (5532)
臭氧-生物活性炭对微污染原水中典型持久性有机物的去除效果	兰亚琼, 刘锐, 马正杰, 陈吕军 (5541)
水解酸化/AO 组合工艺处理印染废水色度去除与脱氮性能	顾梦琪, 尹启东, 刘爱科, 吴光学 (5550)
“异养-硫自养”组合工艺去除高浓度高氯酸盐特性	刘颖男, 陶华强, 宋圆圆, 张春青, 逯彩彩, 韩懿, 李海波, 郭建博 (5558)
静压快速启动亚硝酸盐依赖型甲烷厌氧氧化反应	王一因, 胡振, 茹东云, 姜丽萍, 刘华清 (5565)
多级 AO 耦合流离生化工艺流量分配比优化及脱氮机制	王帆, 李军, 边德军, 聂泽兵, 张莉, 孙艺齐 (5572)
主流条件下两级式 PN-ANAMMOX 工艺的高效能脱氮过程	刘文如, 杨殿海, 沈耀良, 王建芳, 吴鹏, 钱飞跃, 陈重军 (5580)
不同基质浓度对 ANAMMOX 菌短期储存的影响	高雪健, 张杰, 李冬, 曹正美, 郭跃洲, 李帅 (5587)
主流厌氧氨氧化工艺的优化及其微生物的群落变迁	付昆明, 李慧, 姜姗, 仇付国, 曹秀芹 (5596)
厌氧氨氧化污泥恢复过程中的颗粒特性	陈方敏, 顾澄伟, 胡羽婷, 黄勇, 李祥, 陆明羽, 方文辉, 金润 (5605)
低温反硝化菌——施氏假单胞菌 N3 的筛选及脱氮性能	路俊玲, 陈慧萍, 肖琳 (5612)
复垦工业场地土壤和周边河道沉积物重金属污染及潜在生态风险	吴健, 王敏, 张辉鹏, 黄宇驰, 徐志豪, 李青青, 陈昊, 黄沈发 (5620)
不同土地利用类型土壤重金属生态风险与人体健康风险	李春芳, 曹见飞, 吕建树, 姚磊, 吴泉源 (5628)
某大型神渣场土壤 As 污染特征及生态风险评价	刘庚, 石瑛, 田海金, 李豪, 张蕾, 牛俊杰, 郭观林, 张朝 (5639)
亚热带典型岩溶水库细菌丰度和细菌生产力及其与环境因子的关系	辛胜林, 梁月明, 彭文杰, 宋昂, 靳振江, 朱美娜, 李强 (5647)
岩溶区典型灌丛植物根系丛枝菌根真菌群落结构解析	梁月明, 苏以荣, 何寻阳, 陈香碧 (5657)
模拟氮沉降对干旱半干旱温带草原土壤细菌群落结构的影响	李宗明, 沈菊培, 张丽梅, 刘国平, 白文明, 贺纪正 (5665)
添加磷素对低磷稻田根际土壤固碳自养微生物数量的影响	柏菁, 李奕霏, 刘守龙, 祝贞科, 李科林, 彭佩钦, 吴小红, 葛体达, 吴金水 (5672)
长期不同施肥对稻田土壤有机碳矿化及激发效应的影响	马欣, 魏亮, 唐美玲, 徐福利, 祝贞科, 葛体达, 吴金水 (5680)
黄土丘陵区撂荒恢复过程中植物群落组成与土壤养分及酶活性变化的关系	乔文静, 戴银月, 张伟, 付淑月, 杨改河, 韩新辉, 陈正兴, 高德新, 冯永忠 (5687)
生活垃圾不同填埋阶段的富里酸对五氯苯酚的降解	刘思佳, 何小松, 张慧, 祖国峰, 席北斗, 李丹, 党秋玲 (5699)
CO ₂ 倍增条件下不同生育期水稻碳氮磷含量及其计量比特征	唐美玲, 肖谋良, 袁红朝, 王光军, 刘守龙, 祝贞科, 葛体达, 吴金水 (5708)
基于层次分析法的医疗废物处置技术评价	许晓芳, 谭全银, 刘丽丽, 李金惠 (5717)
中国农田畜禽粪尿氮负荷量及其还田潜力	刘晓永, 王秀斌, 李书田 (5723)
《环境科学》第 39 卷(2018 年) 总目录	(5740)
《环境科学》征订启事(5343) 《环境科学》征稿简则(5439) 信息(5595, 5619, 5638)	

添加磷素对低磷稻田根际土壤固碳自养微生物数量的影响

柏菁¹, 李奕霏¹, 刘守龙², 祝贞科², 李科林¹, 彭佩钦^{1*}, 吴小红^{3*}, 葛体达², 吴金水²

(1. 中南林业科技大学环境科学与工程学院, 长沙 410004; 2. 中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125; 3. 中南林业科技大学生命科学与技术学院, 长沙 410004)

摘要: 为了探讨磷素添加对低磷稻田土壤固碳自养微生物数量的影响, 以低磷水稻土为研究对象, 设置添加磷素(P 添加量为 80 mg·kg⁻¹) 和不添加磷素两种处理土壤, 种植水稻进行室内培养实验. 利用实时荧光定量 PCR(real-time PCR) 技术分析了水稻分蘖期(移栽后 14 d) 和拔节期(移栽后 22 d) 添加磷素(P) 和对照(CK) 处理根际土壤固碳自养微生物 *cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB* 基因数量的差异, 同时测定了土壤理化性质, 并分析了不同处理方式下固碳功能基因丰度与土壤理化性质之间的关系. 结果表明, 分蘖期磷素添加降低了土壤 MBC 和 NH₄⁺-N 含量, 提高了土壤 DOC、Olsen-P 和 pH; 分蘖期 P 处理 NO₃⁻-N 含量比 CK 处理低, 而拔节期反而比 CK 处理高. 分蘖期, 磷素添加显著提高了 *cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB* 基因的数量, 与 CK 处理相比, 分别提高 156%、99%、110% 和 193%. 而磷素添加对拔节期 *cbbL*、*accA* 和 *aclB* 基因数量的促进作用并不明显, 对 *cbbM* 基因数量反而产生了抑制作用. 冗余分析(RDA) 显示, 土壤 Olsen-P 含量是影响固碳自养微生物丰度最显著的环境因子.

关键词: 磷素; 低磷水稻土; 根际土壤; 固碳自养微生物; 丰度

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)12-5672-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201803210

Effect of Phosphorus Addition on the Abundance of Autotrophic CO₂-Fixation Microorganisms in Rhizospheric Soil from a Phosphorus-Limited Paddy Field

BAI Jing¹, LI Yi-fei¹, LIU Shou-long², ZHU Zhen-ke², LI Ke-lin¹, PENG Pei-qin^{1*}, WU Xiao-hong^{3*}, GE Ti-da², WU Jin-shui²

(1. College of Environmental Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; 2. Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Regions, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 3. College of Life Science and Technology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

Abstract: A rice pot experiment was conducted to investigate the effect of phosphorus addition on the abundance of autotrophic CO₂-fixation microorganisms using phosphorus-limited paddy soil from the Changsha Observation and Research Station for the Agricultural Environment. Rice seedlings were transplanted in the paddy soil with or without phosphorus addition, corresponding to P-treated-pot (P) or control pot (CK), respectively. Rhizosphere soils were collected from the P and CK treatments during the tillering and shooting stages. The physical and chemical soil properties were measured and the abundance of autotrophic CO₂-fixation microorganisms was quantified with a real-time PCR technique based on four functional genes (*cbbL*, *cbbM*, *accA*, and *aclB*) involved in three CO₂-fixation pathways (CBB cycle, rTCA cycle, and 3-hydroxypropionate/4-hydroxybutyrate cycle). The results show that phosphorus addition improves the concentrations of DOC and Olsen-P and the pH value, whereas negative effects on the MBC and NH₄⁺-N concentrations are revealed during the tillering stage. The effect of phosphorus addition on the NO₃⁻-N concentration in the tillering and shooting stages differs. Phosphorus addition significantly increases the abundances of the *cbbL*, *cbbM*, *accA*, and *aclB* genes, which are 156%, 99%, 110%, and 193% higher than those of the CK treatment in the tillering stage. However, this positive effect is not notable for the *cbbL*, *accA*, and *aclB* genes during the shooting stage. Redundancy analysis (RDA) shows that Olsen-P is the environmental factor that most significantly affects the abundance of autotrophic CO₂-fixation microorganisms.

Key words: phosphorus; phosphorus-limited paddy soil; rhizosphere soil; autotrophic CO₂-fixation microorganism; gene abundance

我国南方稻田磷素含量低, 土壤有效磷供应能力差, 水稻生长易受到磷素供给缺乏的限制^[1]. 为提高土地生产力和水稻产量, 施用磷肥已成为常规的农业增肥增产措施^[2]. 磷肥的加入使得土壤理化性质和土壤酶活性发生变化^[3,4], 同时也会影响土

收稿日期: 2018-03-29; 修订日期: 2018-06-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(41503081, 41771337)

作者简介: 柏菁(1996~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤微生物生态, E-mail: 2303172017@qq.com

* 通信作者, E-mail: pqpeng123@sina.com; wxh16403@163.com

壤磷素周转的主要驱动者——微生物的生长代谢活动^[5-7]。由于土壤微生物之间存在“生物地下交易”法则, 因此, 磷素的添加也会一定程度地影响土壤碳循环相关的微生物的生长和代谢活动^[8,9]。

自养微生物能将大气中的 CO_2 转化为土壤有机质, 对土壤碳循环有着重要影响^[10]。稻田土壤中的固碳自养微生物以兼性自养菌为主, 专性自养菌所占比例小^[10-12]。兼性自养菌不仅能自养生长, 而且还能够利用有机物作为碳源进行异养繁殖^[13], 因此, 施肥带来的土壤环境和养分的变化也会对固碳自养微生物的生长繁殖产生影响。以往研究发现, 碳同化微生物对土壤特性和环境因子变化比较敏感, 植被类型、土壤有机质含量、土壤质地、施肥方式、根际效应、光照和深度等因素对土壤固碳关键基因的丰度均有显著影响^[14]。王群艳等^[15]的研究发现, 土壤 SOC 含量更高时, 具有更好的固碳潜力。固碳功能基因微生物多样性和丰度受土壤性质的影响, 一定的田间管理措施可增强自养固碳微生物的活性和多样性^[14]。已有研究表明, 单施化肥或化肥配施有机肥均可显著提高卡尔文循环中固碳关键基因 *cbbL* 的丰度, 主要是因为施肥提高了土壤中营养物质含量, 为含 *cbbL* 基因的兼性自养菌的生长提供了丰富的能源和碳源^[16,17]。然而, 以往的研究多针对卡尔文循环的关键固碳基因^[14,18], 而对参与其他固碳途径的关键功能基因的研究还比较少。事实上, 由于地球大气环境的演变, 自养微生物固定 CO_2 的途径也发生了变化, 不同的自养微生物固定 CO_2 的途径有多条, 每条固碳途径由不同的关键基因控制^[19,20]。

为了更全面地揭示施肥对固碳自养微生物及其固碳过程的影响, 本研究采用实时荧光定量 PCR 技术研究了磷素添加对土壤中 3 条重要的 CO_2 固定途径(卡尔文循环、还原性三羧酸循环和 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸)的关键功能基因(*cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB*)数量的影响, 并分析了固碳自养微生物丰度与土壤理化性质之间的关系, 以期对稻田土壤养分的高效管理提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤样品采集

供试土壤为花岗岩母质发育的红壤性水稻土, 采自湖南长沙农业环境观测站试验田, 该区域属于亚热带季风气候, 年平均气温 17.5°C , 年均降水量为 1330 mm 。采用铁锹挖取 $0\sim20\text{ cm}$ 表层土壤, 去

除植物残体和石块后自然风干, 取部分土壤过 0.25 mm 和 0.149 mm 筛, 用于土壤基本理化性质测定; 剩余土壤用于室内培养实验。供试土壤基本理化性质为: pH 值 5.43 , 有机质 (SOC) 含量 $14.26\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 全氮 (TN) 含量 $1.45\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 总磷 (TP) 含量 $0.75\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 有效磷 (Olsen-P) 含量 $4.96\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 阳离子交换量 (CEC) $7.71\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.2 实验设计

剩余土壤过 2 mm 筛, 25°C 预培养 14 d 后添加硫酸铵和氯化钾作为基肥, N 和 K 的添加量(以干土计)分别为 $250\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $160\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。混匀后称取 1.0 kg (干基重)土壤分装于 PVC 盆钵(直径 17.2 cm , 高度 20 cm), 盆钵中部放入尼龙网袋, 内装 0.5 kg 土壤代表根际土壤。为了探讨磷素添加对固碳自养微生物数量的影响, 设置添加磷素处理 (P) 和不添加磷素的对照处理 (CK), 每个处理设置 9 个重复。磷素以磷酸二氢钾的形式加入, P 添加量(以干土计)为 $80\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

水稻品种选用“粘性常规水稻中早 39”, 稻苗在田间培养 14 d 后, 选取长势一致的稻苗, 小心洗净根系后, 移栽至 PVC 盆钵的尼龙网袋($\phi 5\text{ cm}\times 17\text{ cm}$, $48\text{ }\mu\text{m}$)内, 每盆移栽 3 株。移栽后的稻苗置于阳光充足、通风良好的空地。生长期间用去离子水浇灌, 并及时除草。于 2015 年 6 月 29 日将水稻盆栽移入标记箱进行标记。培养装置和方法参见文献^[21]。 $^{13}\text{C}\text{-CO}_2$ 通过 $^{13}\text{C}\text{-NaHCO}_3$ ($50\%\text{ atom }^{13}\text{C}$, 100 mL , $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和 H_2SO_4 (50 mL , $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) 反应自动产生。通过控制 H_2SO_4 加入速度使标记箱内 CO_2 维持在 $380\sim400\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ 。标记箱内外安置两个温度传感器(智能型精密数显温度控制器, SNT-96S, 杭州), 箱内安置控温空调, 使标记过程中标记箱内外温度控制在 $\pm 1^\circ\text{C}$ 。标记过程中隔天补充去离子水以保持土壤呈淹水状态(土壤表层保持 $2\sim3\text{ cm}$ 水层)。分别于水稻生长的分蘖期(移栽后 14 d)和拔节期(移栽后 22 d)进行破坏性取样, 采集添加磷素和对照处理水稻根际土壤。土壤分成 3 份: 一份于 4°C 保存, 用于土壤微生物量碳 (MBC) 测定; 一份液氮速冻后于 -80°C 保存, 用于分子生物学分析; 一份室内自然风干, 用于土壤基本理化性质测定。

1.3 样品分析

土壤 pH 采用电位法测定, 测定水土比为 $2.5:1$, 土壤可溶性有机碳 (DOC) 采用 $0.05\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸钾直接浸提, 土壤微生物量碳 (MBC) 采用氯仿熏

蒸-硫酸钾浸提-碳自动分析法测定,有效磷(Olsen-P)采用碳酸氢钠浸提-比色法测定,铵态氮(NH_4^+ -N)和硝态氮(NO_3^- -N)采用氯化钾浸提-自动连续流动分析仪测定。

土壤总 DNA 采用 Fast DNA[®] Spin Kit for Soil (MP Bio, USA)试剂盒提取, DNA 的浓度和纯度通过微量紫外分光光度计(NanoDrop ND-1000)进行测定. 采用实时荧光定量 PCR 仪(ABI7900, USA)

对 *cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB* 基因拷贝数进行定量分析. *cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB* 基因 PCR 扩增引物分别为 K2f/V2r^[22]、*cbbM*-f/*cbbM*-r^[23]、Crena_529F/Crena_981R^[24] 和 892F/1204R^[25](表 1). 扩增体系为上游引物 0.15 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 下游引物 0.15 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 1 $\times$ SYBR Premix Ex Taq (Takara) 5 μL , DNA 模板 5 ng, 用无菌水补充至终体积 10 μL . qPCR 反应程序见表 1.

表 1 qPCR 反应引物和程序

Table 1 Primers and thermal cycling conditions for qPCR

基因	引物序列	qPCR 反应程序
<i>cbbL</i>	K2f: 5'-ACCAYCAAGCCSAAGCTSGG-3' V2r: 5'-GCCTTCSAGCTTGCCSACCRC-3'	95℃ 30 s; 95℃ 30 s, 62℃ 30 s, 40 个循环; 72℃ 20 s
<i>cbbM</i>	<i>cbbM</i> -f: 5'-GGCACCATCATCAAGCCCAAG-3' <i>cbbM</i> -r: 5'-TCTTGCCGTAGCCCATGGTGC-3'	95℃ 30 s; 95℃ 30 s, 57℃ 30 s, 40 个循环; 72℃ 20 s
<i>accA</i>	Crena_529F: 5'-GCWATGACWGAYTTTGTYRTAATG-3' Crena_981R: 5'-TGGWTKRYTTGCAAYTATWCC-3'	95℃ 30 s; 95℃ 30 s, 50℃ 30 s, 40 个循环; 72℃ 20 s
<i>aclB</i>	892F: 5'-TGGACMATGCTDGCYGGKGGT-3' 1204R: 5'-ATAGTTKGGSCCACCCTCTTC-3'	95℃ 30 s; 95℃ 30 s, 54℃ 30 s, 40 个循环; 72℃ 20 s

1.4 数据处理

采用 SPSS 16.0 for Windows 和 Microsoft Excel 2010 软件进行数据处理和统计分析. 不同处理之间、相同处理不同生育期之间土壤理化性质和固碳功能基因的差异显著性采用独立样本 *t* 检验. 利用 Canoco 5.0 软件以 *cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB* 基因的丰度作为响应变量, 土壤理化性质作为解释变量进行约束性排序分析, 考察了土壤理化性质对固碳自养微生物群落的影响.

2 结果与分析

2.1 添加磷素对土壤理化性质的影响

由图 1 可以看出, 添加磷素后土壤理化性质表现出不同的变化趋势. 施磷后, 土壤 MBC 含量在分蘖期和拔节期分别达 493.0 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 475.7 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 比 CK 处理分别降低 7.0% 和 30%, 且分蘖期处理间差异达显著性水平 ($P < 0.05$). P 处理 DOC 含量在分蘖期和拔节期分别为 50.3 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 97.4 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 均高于对照处理, 但不同处理间差异不显著. 与 DOC 相反, P 处理 NH_4^+ -N 含量在分蘖期和拔节期分别比 CK 处理显著低 41% 和 82% ($P < 0.05$). Olsen-P 含量在 P 和 CK 处理间差异显著 ($P < 0.05$), 分蘖期和拔节期 P 处理土壤 Olsen-P 含量分别为 18.2 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 6.7 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 比 CK 处理分别高 105% 和 80%. 在不同的生长时期, P 处理和 CK 处理 NO_3^- -N 含量均呈显著性差异 ($P < 0.05$), 拔节期 P 处理 NO_3^- -N 含量比 CK 处理显著

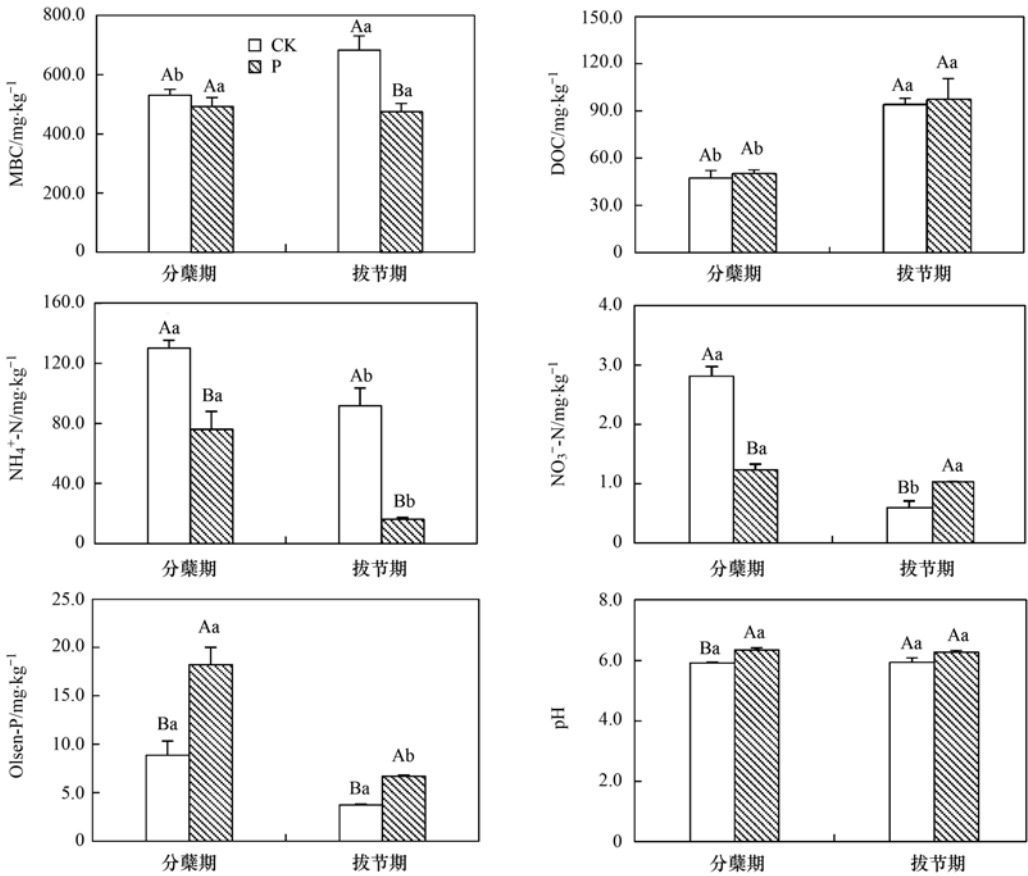
增加 78%, 而分蘖期规律相反. 分蘖期和拔节期 P 处理 pH 均高于 CK, 且在拔节期处理间差异达显著性水平 ($P < 0.05$).

随着培养时间的推移, P 处理 MBC、 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、Olsen-P 和 pH 均呈下降趋势, 而 DOC 含量表现出相反的变化规律. 与分蘖期相比, P 处理 MBC、 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N、Olsen-P 和 pH 分别比拔节期降低 4%、79%、14%、63% 和 1%, 而 DOC 含量显著增加了 94%. CK 处理土壤理化性质随着水稻生长的变化规律与 P 处理不同, 随着培养时间的推移 CK 处理 DOC、MBC 和 pH 呈增加趋势, 而 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 和 Olsen-P 含量呈下降趋势.

2.2 添加磷素对固碳自养微生物的影响

添加磷素后土壤固碳自养微生物的数量发生了变化(图 2). 在分蘖期, P 处理 *cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB* 基因拷贝数分别为 1.93×10^9 、 1.23×10^8 、 1.98×10^7 和 $3.5 \times 10^8 \text{ copies}\cdot\text{g}^{-1}$, 分别比 CK 处理显著提高 156%、99%、110% 和 193%. 在拔节期, 除 *cbbM* 基因外, P 处理提高了 *cbbL*、*accA* 和 *aclB* 基因数量, 分别比 CK 处理增加 16%、8% 和 73%, 但处理间差异未达显著性水平.

P 和 CK 处理固碳自养微生物数量随水稻生长发育而发生的动态变化具有较好的一致性. 随着水稻的生长发育, P 和 CK 处理 *cbbL*、*accA* 和 *aclB* 基因拷贝数呈下降趋势, 且 P 处理 3 种基因拷贝数在水稻不同生长期的差异达显著性水平. 相反, P 和 CK 处理 *cbbM* 基因拷贝数随着水稻生长表现出上升



CK:对照处理, P:添加磷素处理; 大写字母不同表示不同处理之间差异显著, 小写字母不同表示相同处理不同生育期之间差异显著, 下同
图1 添加磷素对土壤理化性质的影响

Fig. 1 Effect of phosphorus addition on physical-chemical soil properties

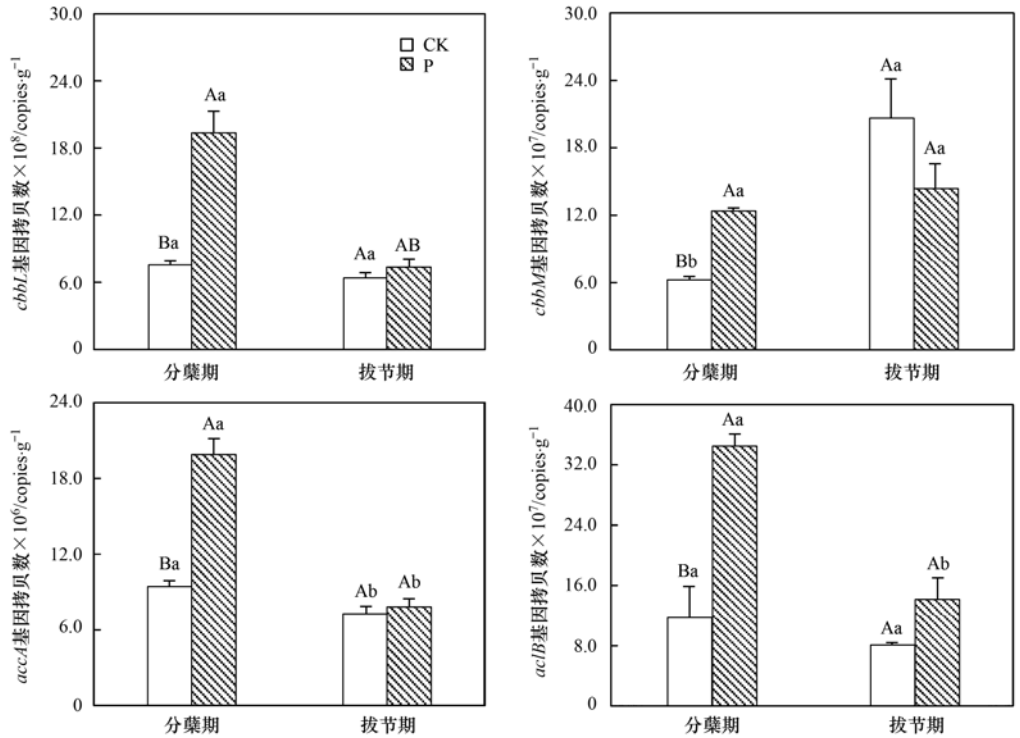


图2 添加磷素对固碳自养微生物数量的影响

Fig. 2 Effect of phosphorus addition on the abundances of autotrophic CO₂-fixation microorganisms

趋势.

2.3 土壤理化性质对固碳自养微生物数量的影响

选择冗余分析 (RDA) 考察了不同处理土壤 *cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB* 基因丰度与土壤理化性质之间的关系 (图 3), 其中黑色箭头表示土壤理化性质, 灰色箭头表示固碳功能基因. 可以看出, 在分蘖期和拔节期, P 处理和 CK 处理土壤在二维排序图中的位置彼此分离明显, 说明施磷造成了土壤固碳自养微生物群落分化 (蒙特卡罗检验值为 $P = 0.018$), 而且相比拔节期, 在分蘖期 P 处理和 CK 处理之间固碳自养微生物差异更大. 第一和第二排序轴特征值占总特征值的 78.58%, 说明所测定的环境因子能解释大部分固碳自养微生物数量的变化, 其中 Olsen-P 是对固碳功能基因丰度影响最显著的环境因子 (蒙特卡罗检验值为 $P = 0.002$).

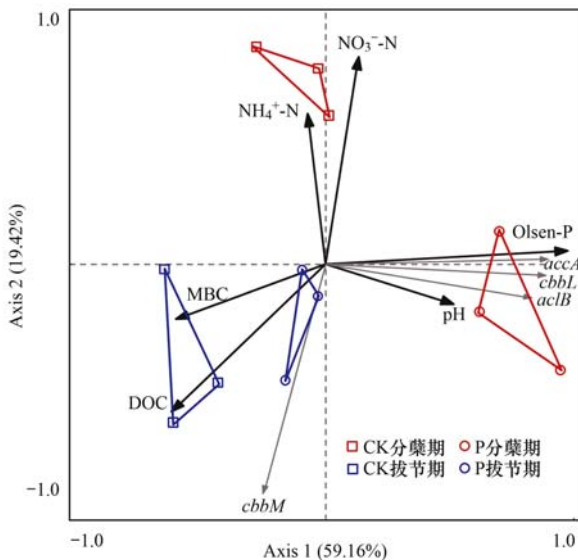


图 3 不同处理土壤固碳自养微生物群落的 RDA 分析

Fig. 3 RDA analysis of the autotrophic CO_2 -fixation microbial community in soils with or without phosphorus addition

3 讨论

3.1 添加磷素对水稻不同生育期土壤理化性质的影响

土壤理化分析结果显示土壤 pH 值在 5.92 ~ 6.36 之间, P 处理土壤 pH 值均高于 CK 处理, 这可能与 CK 处理土壤中铵态氮含量相对较高有关^[26,27]. 添加磷素后土壤 Olsen-P 含量升高, 而 MBC 和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量下降. 产生这一结果的原因是 P 处理土壤中加入无机磷肥, 无疑会增加土壤 Olsen-P 含量. MBC 则不同, 虽然微生物在生长繁殖过程中需要磷素^[28], 但有研究表明施用适量的磷肥可促进微生物的生长, 增加 MBC 含量, 但是过

量磷素反而会对微生物的生长产生抑制作用^[29]. 与 CK 处理相比, P 处理土壤磷素供应充足, 水稻生长快, 为了满足自身生长需求, 水稻也需要从土壤中吸收大量的氮素^[30], 从而使得 P 处理 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (氮源) 消耗量相比 CK 处理高. 由于氮素是水稻和微生物生长都必须的养分元素, 所以水稻和微生物在氮素利用上具有竞争关系^[31]. 相比未施肥处理, P 处理促进了水稻的生长, 增加了水稻对氮素的消耗, 使得土壤对微生物的供氮能力下降, 微生物生长变缓, 造成添加磷素后 MBC 含量的下降. $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 是反硝化功能微生物进行反硝化作用的底物, 磷素添加可能促进了水稻分蘖期反硝化功能微生物的生长, 增强了反硝化作用^[32], 从而加速了 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的损耗, 使得该时期 P 处理 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量低于 CK. 然而, 反硝化作用是一个厌氧的过程, 随着水稻的生长, 在拔节期 P 处理水稻根系愈来愈发达, 水稻根系的泌氧功能可能反而抑制了反硝化作用^[33,34], 使得拔节期 P 处理 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量反而高于 CK. 反硝化微生物并不是影响 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 变化的唯一因素, 水稻在不同生育期对 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 需求量的变化可能与反硝化微生物共同影响着土壤 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 含量.

添加磷素和不施肥对照处理中, 从水稻分蘖期到拔节期 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、Olsen-P 和 pH 均降低, 其中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 Olsen-P 呈显著下降趋势, 这与魏亮等^[31]的研究结果一致, 可能与水稻在不同生育期对养分的需求不同有关. 从分蘖期到拔节期, 水稻植株对氮、磷等养分的需求量不断增加, 因而使得土壤中氮磷含量下降^[35]. 随着水稻的生长, 水稻根系越来越发达, 根系分泌物增加, 因此, 相比分蘖期, 拔节期 P 和 CK 处理 DOC 含量均显著增加^[36]. CK 处理中 MBC 含量随着水稻的生长升高, 而 P 处理 MBC 含量下降, 这可能是因为磷素添加改变了水稻与微生物之间的营养竞争, 导致不同处理中 MBC 含量随水稻生长呈现不同的变化规律.

3.2 添加磷素对水稻不同生育期土壤固碳自养微生物的影响

磷素添加改变了土壤中 *cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB* 固碳自养基因的丰度. 有研究表明, 添加磷素后土壤养分元素化学计量关系和理化性质的变化不仅会影响磷素转化相关酶及功能微生物, 还会调控参与碳循环过程的酶及其功能微生物数量^[37]. 相比其他 3 个基因, *aclB* 基因受磷素添加的影响最明显. 这可能是因为添加磷素后水稻生长和根际环境

发生了变化^[38], 而参与不同固碳途径的关键酶及其编码基因对变化的根际环境响应不同. qPCR 和 RDA 分析结果显示在水稻不同生育期磷素添加对不同固碳途径固碳自养微生物数量的影响程度不同. 水稻分蘖期, P 处理固碳自养微生物数量显著高于 CK 处理, 而拔节期处理间差异变小且差异并不显著. 这是因为微生物的生长繁殖需要多种养分元素来维持^[20,28], 添加磷素后虽然土壤 Olsen-P 含量显著升高, 土壤磷素供应充足, 但由于磷素添加促进了水稻生长, 因而加剧了水稻和微生物之间对其他养分的竞争. 在这种情况下, 微生物对异养途径获取外源营养物质的依赖性降低, 可能更倾向于通过自养固碳途径来获取碳以满足自身生长对养分的需求^[39]. 在拔节期, 随着水稻的生长, 水稻根系生物量和根系分泌物增加(如 DOC 含量), 因此, P 处理水稻和微生物之间对养分的竞争有所缓解, 对自养途径固碳的依赖性下降, 因而处理间固碳自养微生物数量差异变小.

从分蘖期到拔节期, *cbbL*、*accA* 和 *aclB* 基因丰度随着水稻的生长有所下降, 而 *cbbM* 基因丰度随着水稻的生长呈增加趋势, 这可能与水稻根际土壤 CO₂ 和 O₂ 浓度的相对变化有关. 由于不同固碳基因编码酶对 CO₂ 和 O₂ 的敏感程度不同^[40], 因此, 水稻生长带来的根际环境的变化可能对不同固碳基因产生不同影响. 一般 *cbbM* 基因的编码酶在低氧和高二氧化碳浓度具有较高活性^[41], 在淹水条件下水稻土壤溶解氧含量低, 加上根系和微生物的呼吸作用消耗 O₂ 释放 CO₂, 容易形成低氧和高二氧化碳环境, 随着水稻根系生长, 这种情况可能会加剧, 从而有利于携带 *cbbM* 基因的微生物生长.

陈晓娟等^[42]的研究认为土壤中固碳自养微生物数量主要与土壤有机质含量、土壤碳氮比显著正相关, 与土壤全磷含量并无显著性相关关系, 而本研究中 RDA 分析表明 Olsen-P 含量是显著影响固碳自养微生物的环境因子. 这是因为本研究是取自同一土壤的磷素添加室内培养实验, 有机质含量并无差异, 而磷添加直接增加土壤 Olsen-P 的含量. 因此, CK 和 P 处理中 Olsen-P 的差异可能掩盖了土壤有机质和土壤碳氮比对固碳自养微生物的影响.

4 结论

(1) 磷素添加改变了根际土壤理化性质, 与 CK 相比, 分蘖期和拔节期 P 处理 MBC 含量分别下降 7% 和 30%, NH₄⁺-N 含量分别下降 41% 和 82%; 而

DOC、Olsen-P 和 pH 分别比 CK 处理提高 6% 和 3%、105% 和 80%、7% 和 6%; 分蘖期 P 处理 NO₃⁻-N 含量比 CK 处理低 56%, 而拔节期 P 处理 NO₃⁻-N 含量反而比 CK 处理高 78%.

(2) 磷素添加改变了根际土壤固碳自养微生物的丰度, 随着水稻的生长, 磷素添加对固碳自养微生物数量的影响减弱. 在分蘖期, P 处理 *cbbL*、*cbbM*、*accA* 和 *aclB* 基因拷贝数分别比 CK 处理显著提高 156%、99%、110% 和 193%. 在拔节期, 除 *cbbM* 基因外, P 处理提高了 *cbbL*、*accA* 和 *aclB* 基因数量, 分别比 CK 处理增加 16%、8% 和 73%, 但处理间差异未达显著性水平, 说明磷素的添加能够长效刺激缺磷土壤中固碳自养微生物的生长.

(3) RDA 分析显示低磷稻田土壤固碳功能基因丰度受 Olsen-P 含量影响最显著.

参考文献:

- [1] 郝文英, 曹正邦. 红壤中的微生物[A]. 见: 中国红壤[M]. 北京: 科学出版社, 1983. 128-144.
- [2] Vance C P, Uhde-Stone C, Allan D L. Phosphorus acquisition and use: critical adaptations by plants for securing a nonrenewable resource[J]. New Phytologist, 2003, **157**(3): 423-447.
- [3] 赵小春, 周然, 李贵桐, 等. 低磷石灰性土壤施磷和小麦秸秆后土壤微生物量磷的变化[J]. 应用生态学报, 2009, **20**(2): 325-330.
Zhao X R, Zhou R, Li G T, et al. Effects of applying inorganic P and wheat straw on the microbial biomass P and microbial P concentration in a calcareous soil with low concentration available P[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2009, **20**(2): 325-330.
- [4] 王超. 不同供磷量对玉米根系与土壤微生物互作及吐丝后地上部碳磷分配的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2017.
Wang C. Influences of phosphorus supply on interactions between roots and soil microbes and post-silking partitioning of shoot carbon/phosphorus in field-grown maize[D]. Beijing: China Agricultural University, 2017.
- [5] 刘俊杰, 王光华, 金剑, 等. 磷浓度处理对大豆根际土壤微生物群落结构的影响[J]. 大豆科学, 2008, **27**(5): 801-805.
Liu J J, Wang G H, Jin J, et al. Effect of different phosphorus concentrations on microbial communities in soybean rhizosphere[J]. Soybean Science, 2008, **27**(5): 801-805.
- [6] 施瑶, 王忠强, 张心昱, 等. 氮磷添加对内蒙古温带典型草原土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态学报, 2014, **34**(17): 4943-4949.
Shi Y, Wang Z Q, Zhang X Y, et al. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil microbial community composition in temperate typical grassland in Inner Mongolia[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, **34**(17): 4943-4949.
- [7] 张四海, 黄健, 骆争荣, 等. 添加秸秆和磷素对土壤微生物群落的影响[J]. 应用生态学报, 2014, **25**(3): 797-802.
Zhang S H, Huang J, Luo Z R, et al. Effect of adding different

- amounts of wheat straw and phosphorus on soil microorganism community[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, **25** (3): 797-802.
- [8] Huang J S, Hu B, Qi K B, *et al.* Effects of phosphorus addition on soil microbial biomass and community composition in a subalpine spruce plantation [J]. European Journal of Soil Biology, 2016, **72**: 35-41.
- [9] 林先贵, 冯有智, 陈瑞蕊. 农田潮土养分耦合循环的微生物学机理研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, **23**(6): 1575-1589.
- Lin X G, Feng Y Z, Chen R R. Research progresses of soil microorganisms driven nutrient coupling cycles in fluvo-aquic soils of China [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2017, **23**(6): 1575-1589.
- [10] Yuan H Z, Ge T D, Chen C Y, *et al.* Significant role for microbial autotrophy in the sequestration of soil carbon [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, **78**(7): 2328-2336.
- [11] 钱明媚, 肖永良, 彭文涛, 等. 免耕水稻土固定 CO₂ 自养微生物多样性[J]. 中国环境科学, 2015, **35**(12): 3754-3761.
- Qian M M, Xiao Y L, Peng W T, *et al.* Diversities of autotrophic CO₂-fixing microbes in no-tillage paddy soils [J]. China Environmental Science, 2015, **35**(12): 3754-3761.
- [12] Wu X H, Ge T D, Wang W, *et al.* Cropping systems modulate the rate and magnitude of soil microbial autotrophic CO₂ fixation in soil[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, **6**: 379.
- [13] Meyer O, Schlegel H G. Biology of aerobic carbon monoxide-oxidizing bacteria[J]. Annual Review of Microbiology, 1983, **37**: 277-310.
- [14] 刘琼, 魏晓梦, 吴小红, 等. 稻田土壤固碳功能微生物群落结构和数量特征[J]. 环境科学, 2017, **38**(2): 760-768.
- Liu Q, Wei X M, Wu X H, *et al.* Characteristic of abundances and diversity of carbon dioxide fixation microbes in Paddy soils [J]. Environmental Science, 2017, **38**(2): 760-768.
- [15] 王群艳, 吴小红, 祝贞科, 等. 土壤质地对自养固碳微生物及其同化碳的影响[J]. 环境科学, 2016, **37**(10): 3987-3995.
- Wang Q Y, Wu X H, Zhu Z K, *et al.* Effects of soil texture on autotrophic CO₂ fixation bacterial communities and their CO₂ assimilation contents [J]. Environmental Science, 2016, **37** (10): 3987-3995.
- [16] Selesi D, Schmid M, Hartmann A. Diversity of green-like and red-like ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large-subunit genes (*cbbL*) in differently managed agricultural soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71**(1): 175-184.
- [17] Yuan H Z, Ge T D, Wu X H, *et al.* Long-term field fertilization alters the diversity of autotrophic bacteria based on the ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) large-subunit genes in paddy soil [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, **95**(4): 1061-1071.
- [18] 方峰, 王磊, 席雪飞, 等. 南海水域不同深度非光合微生物的固碳潜能及其对不同电子供体的响应[J]. 环境科学, 2015, **36**(5): 1550-1556.
- Fang F, Wang L, Xi X F, *et al.* Potential carbon fixation capability of non-photosynthetic microbial community at different depth of the south china sea and its response to different electron donors[J]. Environmental Science, 2015, **36**(5): 1550-1556.
- [19] 巩伏雨, 蔡真, 李寅. CO₂ 固定的合成生物学[J]. 中国科学: 生命科学, 2015, **45**(10): 993-1002.
- Gong F Y, Cai Z, Li Y. Synthetic biology for CO₂ fixation[J]. Science China Life Sciences, 2016, **59**(11): 1106-1114.
- [20] Hügler M, Sievert S M. Beyond the Calvin cycle: autotrophic carbon fixation in the ocean [J]. Annual Review of Marine Science, 2011, **3**: 261-289.
- [21] Ge T D, Yuan H Z, Zhu H H, *et al.* Biological carbon assimilation and dynamics in a flooded rice-soil system[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, **48**: 39-46.
- [22] Tolli J, King G M. Diversity and structure of bacterial chemolithotrophic communities in pine forest and agroecosystem soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, **71** (12): 8411-8418.
- [23] Alfreider A, Vogt C, Hoffmann D, *et al.* Diversity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large-subunit genes from groundwater and aquifer microorganisms[J]. Microbial Ecology, 2003, **45**(4): 317-328.
- [24] Yakimov M M, La Cono V, Denaro R. A first insight into the occurrence and expression of functional *amoA* and *accA* genes of autotrophic and ammonia-oxidizing bathypelagic *Grenarchaeota* of Tyrrhenian Sea[J]. Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography, 2009, **56**(11-12): 748-754.
- [25] Campbell B J, Stein J L, Cary S C. Evidence of chemolithoautotrophy in the bacterial community associated with *Alvinella pompejana*, a hydrothermal vent polychaete [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, **69**(9): 5070-5078.
- [26] 李景云, 秦嗣军, 葛鹏, 等. 不同生育期苹果园土壤氨氧化微生物丰度研究[J]. 植物营养与肥料学报, 2016, **22**(4): 1149-1156.
- Li J Y, Qin S J, Ge P, *et al.* Abundance of ammonia oxidizers in apple orchard soil at different growth stages[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2016, **22**(4): 1149-1156.
- [27] Jiang X J, Hou X Y, Zhou X, *et al.* pH regulates key players of nitrification in paddy soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, **81**: 9-16.
- [28] Beauregard M S, Hamel C, Atul-Nayyar, *et al.* Long-term phosphorus fertilization impacts soil fungal and bacterial diversity but not AM fungal community in Alfalfa[J]. Microbial Ecology, 2010, **59**(2): 379-389.
- [29] 王继红, 刘景双, 于君宝, 等. 氮磷肥对黑土玉米农田生态系统土壤微生物量碳、氮的影响[J]. 水土保持学报, 2004, **18**(1): 35-38.
- Wang J H, Liu J S, Yu J B, *et al.* Effect of fertilizing N and P on soil microbial biomass carbon and nitrogen of black soil corn agroecosystem [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2004, **18**(1): 35-38.
- [30] 侯云鹏, 杨建, 孔丽丽, 等. 施磷对苏打盐碱土区水稻养分吸收、转运及分配的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2017, **39** (1): 60-66.
- Hou Y P, Yang J, Kong L L, *et al.* Effects of phosphorus fertilizer application on nutrient absorption, translocation and distribution of rice in saline-sodic soil region[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2017, **39**(1): 60-66.
- [31] 魏亮, 汤珍珠, 祝贞科, 等. 水稻不同生育期根际与非根际

- 土壤胞外酶对施氮的响应[J]. 环境科学, 2017, **38**(8): 3489-3496.
- Wei L, Tang Z Z, Zhu Z K, *et al.* Responses of extracellular enzymes to nitrogen application in rice of various ages with rhizosphere and bulk soil[J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(8): 3489-3496.
- [32] 王佩琦, 周伟丽, 何圣兵, 等. 磷对混养反硝化污泥活性和微生物群落结构的影响[J]. 环境科学, 2018, **39**(3): 1350-1356.
- Wang P Q, Zhou W L, He S B, *et al.* Effects of phosphorus on the activity and bacterial community in mixotrophic denitrification sludge[J]. *Environmental Science*, 2018, **39**(3): 1350-1356.
- [33] Cavigelli M A, Robertson G P. The functional significance of denitrifier community composition in a terrestrial ecosystem[J]. *Ecology*, 2000, **81**(5): 1402-1414.
- [34] 王海涛, 郑天凌, 杨小茹. 土壤反硝化的分子生态学研究进展及其影响因素[J]. 农业环境科学学报, 2013, **32**(10): 1915-1924.
- Wang H T, Zheng T L, Yang X R. Molecular ecology research progress for soil denitrification and research status for its influencing factors[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, **32**(10): 1915-1924.
- [35] Wei X M, Hu Y J, Peng P Q, *et al.* Effect of P stoichiometry on the abundance of nitrogen-cycle genes in phosphorus-limited paddy soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2017, **53**(7): 767-776.
- [36] Ge T D, Li B Z, Zhu Z K, *et al.* Rice rhizodeposition and its utilization by microbial groups depends on N fertilization[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2017, **53**(1): 37-48.
- [37] Su J Q, Ding L J, Xue K, *et al.* Long-term balanced fertilization increases the soil microbial functional diversity in a phosphorus-limited paddy soil[J]. *Molecular Ecology*, 2015, **24**(1): 136-150.
- [38] Vejchasarn P, Lynch J P, Brown K M. Genetic variability in phosphorus responses of rice root phenotypes[J]. *Rice*, 2016, **9**: 29.
- [39] Baltar F, Lundin D, Palovaara J, *et al.* Prokaryotic responses to ammonium and organic carbon reveal alternative CO₂ fixation pathways and importance of alkaline phosphatase in the mesopelagic North Atlantic[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, **7**: 1670.
- [40] Berg I A. Ecological aspects of the distribution of different autotrophic CO₂ fixation pathways [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, **77**(6): 1925-1936.
- [41] 袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 等. 固碳微生物分子生态学研究[J]. 中国农业科学, 2011, **44**(5): 2951-2958.
- Yuan H Z, Qin H L, Liu S L, *et al.* Advances in research of molecular ecology of carbon fixation microorganism[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, **44**(5): 2951-2958.
- [42] 陈晓娟, 吴小红, 简燕, 等. 农田土壤自养微生物碳同化潜力及其功能基因数量、关键酶活性分析[J]. 环境科学, 2014, **35**(3): 1144-1150.
- Chen X J, Wu X H, Jian Y, *et al.* Carbon dioxide assimilation potential, functional gene amount and RubisCO activity of autotrophic microorganisms in agricultural Soils [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(3): 1144-1150.

CONTENTS

Patterns of Mortality from Air Pollutant Emissions in China's Coal-fired Power Plants	QIN Yu, ZHANG Qiang, LI Xin, <i>et al.</i> (5289)
Analysis of the Temporal and Spatial Variation of PM _{2.5} in China Based on the LUR Model	LIU Bing-jie, PENG Xiao-min, LI Ji-hong (5296)
Physicochemical Properties of the Aerosol Particles and Their Impacts on Secondary Aerosol Formation at the Background Site of the Yangtze River Delta	 HUANG Dan-dan, ZHOU Min, YU Chuan-guan, <i>et al.</i> (5308)
Analysis of Different Particle Sizes, Pollution Characteristics, and Sources of Atmospheric Aerosols During the Spring Dust Period in Beijing	YANG Yang, LI Xing-ru, CHEN Xi, <i>et al.</i> (5315)
Characteristics of Ambient VOCs at the Shuangliu Site in Chengdu, China, During Summer and Autumn	DENG Yuan-yuan, LI Jing, LI Ya-qi, <i>et al.</i> (5323)
Source Profiles and Chemical Reactivity of Volatile Organic Compounds from Surface Coating of Aluminum Products in Foshan, China	LI Xia, SU Wei-jian, LI Bi-xia, <i>et al.</i> (5334)
Emission Inventory and Characteristics of Anthropogenic Air Pollutant Sources in the Sichuan Province	ZHOU Zi-hang, DENG Ye, TAN Qin-wen, <i>et al.</i> (5344)
Characteristics of Particulate Matter Emissions from the Coking Process	WANG Yan-hui, ZHAO Liang, SUN Wen-qiang, <i>et al.</i> (5359)
Dry and Wet Deposition of Atmospheric Nitrogen in Small Catchments	WANG Huan-xiao, PANG Shu-jiang, WANG Xiao-yan, <i>et al.</i> (5365)
Seasonal Changes of the Pathways of Nitrogen Export from an Agricultural Watershed in China	LI Wen-chao, LEI Qiu-liang, ZHAI Li-mei, <i>et al.</i> (5375)
Dynamics and Runoff Losses of Nitrogen in Paddy Field Surface Water Under Combined Application of Biochar and Slow/Controlled-Release Fertilizer	 SI Lin-lin, ZHOU Jing-jie, WU Liang-huan, <i>et al.</i> (5383)
Indirect Nitrous Oxide Emissions from an Agricultural Headwater Stream During the Rainy Season in the Upper Reach of the Yangtze River	TIAN Lin-lin, WANG Zheng, ZHU Bo (5391)
Concentration, Flux, and Emission Factor of N ₂ O in Rivers with Different Nitrogen Pollution Features	WANG Miao, LI Ya-feng, LEI Kun, <i>et al.</i> (5400)
Identification of Nitrate Pollution Sources Through Various Isotopic Methods: A Case Study of the Huixian Wetland	PENG Cong, PAN Xiao-dong, JIAO You-jun, <i>et al.</i> (5410)
Temporal and Spatial Distribution of the Soil Water δD and $\delta^{18}O$ in a Typical Karst Valley: A Case Study of the Zhongliang Mountains, Chongqing City	 WU Wei, JIANG Yong-jun, JIA Ya-nan, <i>et al.</i> (5418)
Hydrochemical Characteristics of Groundwater and the Origin in Alluvial-proluvial Fan of Qinhe River	LIU Jiang-tao, CAI Wu-tian, CAO Yue-ting, <i>et al.</i> (5428)
Impact of Maximum Precipitation in 2017 on the Runoff Component of Reclaimed Water-Intaking River	LIAO An-ran, SONG Xian-fang, ZHANG Ying-hua, <i>et al.</i> (5440)
Spectral Evolution Characteristics of DOM in Sediment Interstitial Water During the Formation Stage of Thermal Stratification in the Main Reservoir Area of the Zhoucun Reservoir	 ZHOU Shi-lei, ZHANG Yi-ran, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (5451)
Pollution Characteristic of Ni in Sediments in the Three Gorges Reservoir	ZHANG Wei-jie, YIN Shu-hua, XU Dong-yu, <i>et al.</i> (5464)
Migration and Transformation of Mercury at Sediment-Water Interface of the Dahong Lake Reservoir in the Simian Mountains	GUO Pan, SUN Tao, YANG Guang, <i>et al.</i> (5473)
Effects of Wetland Types on Distribution of Soil Methylmercury Based on the Region of Nanweng River in the Greater Xing'an Mountains	ZHOU Xin-quan, LIU Yu-rong, LI Jing, <i>et al.</i> (5480)
Simulation of the Migration and Release Characteristics of Organophosphate Esters in Fluctuation Zone Soil of the Three Gorges Reservoir During Flooding	 YANG Ting, HE Ming-jing, YANG Zhi-hao, <i>et al.</i> (5487)
Spatial Distribution of Perfluoroalkyl Acids and Transformation of Their Precursors in River Water Samples and Effluents of Wastewater Treatment Plants in a Typical Tourism City	 WANG Shi-liang, SUN Jian-shu, YANG Yue-wei, <i>et al.</i> (5494)
Purification Efficiency and Microbial Characteristics of Four Biofilters Operated Under Different Conditions	JIANG Xiao-liang, LI Meng, ZHANG Shao-hui, <i>et al.</i> (5503)
Effects of Manganese on the Growth and Fluorescence Induction Kinetics of <i>Conticribra weisflogii</i>	WANG Mu-lan, JIANG Yue-lu (5514)
Distribution and Factors Affecting <i>Cylindrospermopsis raciborskii</i> in Guangdong Reservoirs	LEI Min-ting, PENG Liang, HAN Bo-ping, <i>et al.</i> (5523)
Removal of Humic Acid from Water by Magnetic Chitosan-Grafted Polyacrylamide	YOU Wen, LIU Hai-cheng, CAO Jia-wei, <i>et al.</i> (5532)
Ozone-Biological Activated Carbon for Advanced Removal of Typical Persistent Organic Pollutants from Micro-Polluted Source Water in the Yangtze Delta Region	 LAN Ya-qiong, LIU Rui, MA Zheng-jie, <i>et al.</i> (5541)
Color and Nitrogen Removal from Synthetic Dye Wastewater in an Integrated Hydrolysis/Acidification and Anoxic/Aerobic Process	GU Meng-qi, YIN Qi-dong, LIU Ai-ke, <i>et al.</i> (5550)
Removal Characteristics of High Concentrations of Perchlorate Using a "Heterotrophic Sulfur Autotrophic" Combination Process	LIU Ying-nan, TAO Hua-qiang, SONG Yuan-yuan, <i>et al.</i> (5558)
Rapid Start-up of a Nitrite-Dependent Methane Anaerobic Oxidation Reaction Under Static Pressure Conditions	WANG Yi-nan, HU Zhen, RU Dong-yun, <i>et al.</i> (5565)
Optimization of the Flow Distribution Ratio and Mechanism of Nitrogen Removal in a Multi-level AO Coupled Flow Biochemical Process	WANG Fan, LI Jun, BIAN De-jun, <i>et al.</i> (5572)
High-rate Nitrogen Removal in a Two-stage Partial Nitrification-ANAMMOX Process Under Mainstream Conditions	LIU Wen-ru, YANG Dian-hai, SHEN Yao-liang, <i>et al.</i> (5580)
Effects of Different Substrate Concentrations on the Short-term Storage of ANAMMOX Bacteria	GAO Xue-jian, ZHANG Jie, LI Dong, <i>et al.</i> (5587)
Optimization of the Mainstream Anaerobic Ammonia Oxidation Process and Its Changes of the Microbial Community	FU Kun-ming, FU Chao, LI Hui, <i>et al.</i> (5596)
Granular Characteristics of Anaerobic Ammonia Oxidation Sludge During the Recovery Process	CHEN Fang-min, GU Cheng-wei, HU Yu-ting, <i>et al.</i> (5605)
Characterization of a Newly Isolated Strain <i>Pseudomonas</i> sp. N3 for Denitrification at Low Temperature	LU Jun-ling, CHEN Hui-ping, XIAO Lin (5612)
Heavy Metal Pollution and Potential Ecological Risk of Soil from Reclaimed Industrial Sites and Surrounding River Sediments	WU Jian, WANG Min, ZHANG Hui-peng, <i>et al.</i> (5620)
Ecological Risk Assessment of Soil Heavy Metals for Different Types of Land Use and Evaluation of Human Health	LI Chun-fang, CAO Jian-fei, LÜ Jian-shu, <i>et al.</i> (5628)
Soil Pollution Characteristics and Ecological Risk Assessment of As at a Large-scale Arsenic Slag-contaminated Site	LIU Geng, SHI Ying, TIAN Hai-jin, <i>et al.</i> (5639)
Relationship Between the Bacterial Abundance and Production with Environmental Factors in a Subtropical Karst Reservoir	XIN Sheng-lin, LIANG Yue-ming, PENG Wen-jie, <i>et al.</i> (5647)
Structure Analysis of Arbuscular Mycorrhizal in Roots from Different Shrubs in Karst Regions	LIANG Yue-ming, SU Yi-rong, HE Xun-yang, <i>et al.</i> (5657)
Effects of Stimulated Nitrogen Deposition on the Bacterial Community Structure of Semiarid Temperate Grassland	LI Zong-ming, SHEN Ju-pei, ZHANG Li-mei, <i>et al.</i> (5665)
Effect of Phosphorus Addition on the Abundance of Autotrophic CO ₂ -Fixation Microorganisms in Rhizospheric Soil from a Phosphorus-Limited Paddy Field	 BAI Jing, LI Yi-fei, LIU Shou-long, <i>et al.</i> (5672)
Effects of Varying Long-term Fertilization on Organic Carbon Mineralization and Priming Effect of Paddy Soil	MA Xin, WEI Liang, TANG Mei-liang, <i>et al.</i> (5680)
Relationship Between the Vegetation Community and Soil Nutrient and Enzyme Activity During the Restoration of Abandoned Land in the Loess Hilly Region	 QIAO Wen-jing, DAI Yin-yue, ZHANG Wei, <i>et al.</i> (5687)
Degradation of Pentachlorophenol by Fulvic Acid in a Municipal Solid Waste Landfill	LIU Si-jia, HE Xiao-song, ZHANG Hui, <i>et al.</i> (5699)
Effect of CO ₂ Doubling and Different Plant Growth Stages on Rice Carbon, Nitrogen, and Phosphorus and Their Stoichiometric Ratios	 TANG Mei-ling, XIAO Mou-liang, YUAN Hong-zhao, <i>et al.</i> (5708)
Assessment of Medical Waste Disposal Technologies Based on the AHP	XU Xiao-fang, TAN Quan-yin, LIU Li-li, <i>et al.</i> (5717)
Livestock and Poultry Faeces Nitrogen Loading Rate and Its Potential Return to Farmland in China	LIU Xiao-yong, WANG Xiu-bin, LI Shu-tian (5723)