

方知库  
Eco-Environmental  
Knowledge Web

# 环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



## 2019

Vol.40 No.5  
第40卷 第5期

# 目次

|                                                    |                                                        |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------|
| 2016年10~11月期间北京市大气颗粒物污染特征与传输规律                     | 张晗宇,程水源,姚森,王晓琦,张俊峰(1999)                               |
| 餐饮排放有机颗粒物的质量浓度、化学组成及排放因子特征                         | 王红丽,景盛翱,乔利平(2010)                                      |
| 泰山顶(1534 m)夏季气溶胶粒径分布特征                             | 沈利娟,王红磊,银燕,陈魁,陈景华,施双双(2019)                            |
| 郑州-新乡冬季PM <sub>2.5</sub> 中元素浓度特征及其源分析              | 闫广轩,张朴真,黄海燕,高雅,张靖雯,宋鑫,张佳羽,李怀刚,曹治国,姜继韶,樊静,王跃思,金彩霞(2027) |
| 我国PM <sub>2.5</sub> 浓度分阶段改善目标情景分析                  | 贺晋瑜,燕丽,王彦超,雷宇,汪旭颖(2036)                                |
| 安阳市典型工业源PM <sub>2.5</sub> 排放特征及减排潜力估算              | 杜小申,燕丽,贺晋瑜,汪旭颖,王克,张瑞芹(2043)                            |
| 郑州市典型工业炉窑细颗粒物排放特征及清单                               | 赵庆炎,韩士杰,张铁舜,杨留明,张瑞芹,燕启社(2052)                          |
| 2015年南京市城区挥发性有机物组成特征及大气反应活性                        | 乔月珍,陈凤,赵秋月,刘倩(2062)                                    |
| 兰州市化石燃料燃烧源排放VOCs的臭氧及二次有机气溶胶生成潜势                    | 刘镇,朱玉凡,郭文凯,刘晓,陈强(2069)                                 |
| 12种常见落叶果树BVOCs排放清单和排放特征                            | 李双江,袁相洋,李琦,冯兆忠(2078)                                   |
| 我国典型陆地生态系统水化学离子特征及空间分布                             | 黄丽,张心昱,袁国富,朱治林,唐新斋,孙晓敏(2086)                           |
| 我国典型区域地表水环境中抗生素污染现状及其生态风险评价                        | 刘昔,王智,王学雷,李珍,杨超,厉恩华,位慧敏(2094)                          |
| 我国七大流域水体多环芳烃的分布特征及风险评价                             | 范博,王晓南,黄云,李霖,高祥云,李雯雯,刘征涛(2101)                         |
| 大连海域入海污染源中PFASs的赋存、输入通量和季节特征                       | 陈虹,韩建波,张灿,程嘉熠(2115)                                    |
| 干旱内陆河流域降水稳定同位素的时空特征及环境意义                           | 袁瑞丰,李宗省,蔡玉琴,邹海明(2122)                                  |
| 柳林泉域岩溶地下水区域演化规律及控制因素                               | 黄奇波,覃小群,刘朋雨,程瑞瑞,李腾芳(2132)                              |
| 崇左响水地区岩溶地下水主要离子特征及控制因素                             | 周巾枚,蒋忠诚,徐光黎,覃小群,黄奇波,张连凯(2143)                          |
| 三峡水库水体溶解磷与颗粒磷的输移转化特征分析                             | 秦延文,韩超南,郑丙辉,马迎群,杨晨晨,刘志超,张雷,赵艳民(2152)                   |
| 三峡水库蓄水至175 m后干流沉积物磷蓄积特征及释放潜力                       | 黎睿,潘婵娟,汤显强,肖尚斌,李青云,杨文俊(2160)                           |
| 不同水期洞庭湖水体中磷分布特征及影响因素                               | 李莹杰,王丽婧,李虹,欧阳美凤(2170)                                  |
| 巢湖十五里河沉积物磷平衡浓度对外源磷的响应及释放风险                         | 李如忠,鲍琴,戴源(2178)                                        |
| 闽江上游溪流沉积物有机磷空间分布及其环境意义分析                           | 徐健,袁旭音,叶宏萌,张晓辉,周慧华,韩年(2186)                            |
| 生态工程综合治理系统对农业小流域氮磷污染的治理效应                          | 蒋倩文,刘锋,彭英湘,王华,姚燃,李红芳,罗沛,刘新亮,吴金水(2194)                  |
| 太湖流域河流沉积物重金属分布及污染评估                                | 张杰,郭西亚,曾野,邓建才(2202)                                    |
| 三峡水库支流汝溪河口水体汞的时空变化特征                               | 马尉斌,陈秋禹,尹德良,孙涛,王永敏,王定勇(2211)                           |
| 多功能型城市人工湿地水体汞分布特征及其量变分析                            | 刘伟豪,王永敏,樊宇飞,吕东威,王定勇(2219)                              |
| 不同类型城市人工湿地水体汞的分布特征                                 | 樊宇飞,刘伟豪,孙涛,苑萌,吕东威,李先源,王永敏,王定勇(2226)                    |
| 微塑料对河口沉积物抗生素抗性基因的影响                                | 黄福义,杨凯,张子兴,苏建强,朱永官,张娟(2234)                            |
| 上海市郊道路地表径流多环芳烃污染特征对比及源解析                           | 吴杰,熊丽君,吴健,沙晨燕,唐浩,林匡飞,李大雁,沈城(2240)                      |
| 异龙湖不同湖区浮游植物群落特征及其与环境因子的关系                          | 王振方,张玮,杨丽,徐玉萍,赵凤斌,王丽卿(2249)                            |
| 水库热分层期藻类水华与温跃层厌氧成因分析                               | 刘雪晴,黄廷林,李楠,杨尚业,李扬,徐进,王涵玥(2258)                         |
| 绿狐尾藻对铜绿微囊藻和羊角月牙藻的抑藻效应                              | 毕业亮,吴诗敏,周思宁,吴尚华,宿辉,白志辉,徐圣君(2265)                       |
| 紫外/亚硫酸钠还原降解三氯乙酰胺的效能                                | 伏芝萱,郭迎庆,楚文海(2271)                                      |
| UV降解水溶液中拉法辛的影响因素及机制                                | 吕娟,许志伟,王言(2278)                                        |
| 铝代水铁矿协同吸附砷的机制                                      | 黄博,郭朝晖,肖细元,彭驰,朱惠文,史磊,阳安迪(2287)                         |
| 新型材料磁性氧化铁的除氟效能                                     | 方文侃,李小娣,方菁,吴德意(2295)                                   |
| 羧基改性阴极对微生物电合成系统产乙酸性能的影响机制                          | 祁家欣,曾翠平,骆海萍,刘广立,张仁铎,卢耀斌(2302)                          |
| 基于分区供氧与溶解氧调控的低C/N比污水短程硝化反硝化                        | 吴春雷,荣懿,刘晓鹏,史会欣,章武首,金鹏康,马文伟(2310)                       |
| 不同COD浓度下低基质厌氧氨氧化的启动特征                              | 马艳红,赵智超,安芳娇,黄利,师晓娟,慕浩,陈永志(2317)                        |
| 15℃SBBR短程硝化快速启动和稳定运行性能                             | 孙艺齐,卞伟,李军,赵青,王文啸,梁东博,吴耀东(2326)                         |
| 长期低聚磷条件对AO-SBR系统Accumulibacter代谢特性的影响              | 王少坡,李柱,赵乐丹,于静洁,赵明,郑胜达,孙力平(2333)                        |
| 厌氧氨氧化颗粒污泥EPS及其对污泥表面特性的影响                           | 杨明明,刘子涵,周杨,祁菁,赵凡,郭劲松,方芳(2341)                          |
| HN-AD菌生物强化接触氧化工艺处理猪场沼液                             | 刘向阳,张千,吴恒,李宸,唐健泓,封丽,肖芃颖,赵天涛(2349)                      |
| 温度对自养型同步脱氮工艺处理猪场废水厌氧消化液性能及微生物群落的影响                 | 黄方玉,邓良伟,杨红男,杨含,肖友乾,王兰(2357)                            |
| 城市污水处理系统真核微生物群落特性与地域性差异                            | 秦文韬,张冰,孙晨翔,陈湛,文湘华(2368)                                |
| 三江平原湿地开垦对土壤微生物群落结构的影响                              | 王娜,高婕,魏静,刘颖,庄绪亮,庄国强(2375)                              |
| 亚高山湖群中真菌群落的分布格局和多样性维持机制                            | 刘晋仙,李鑫,罗正明,王雪,暴家兵,柴宝峰(2382)                            |
| 生物质炭对双季稻田土壤反硝化功能微生物的影响                             | 刘杰云,邱虎森,王聪,沈健林,吴金水(2394)                               |
| 地膜覆盖和施肥对菜地CH <sub>4</sub> 排放的影响                    | 倪雪,江长胜,陈世杰,李晓茜,石孝均,郝庆菊(2404)                           |
| 亏缺灌溉对冬小麦农田温室气体排放的影响                                | 王晓云,蔡焕杰,李亮,徐家屯,陈慧(2413)                                |
| 不同施肥模式对热区晚稻田CH <sub>4</sub> 和N <sub>2</sub> O排放的影响 | 田伟,伍延正,汤水荣,胡玉麟,赖倩倩,文冬妮,孟磊,吴川德(2426)                    |
| 周期性变温对紫色土有机碳矿化的影响                                  | 曾蔓蔓,慈恩,樊晶晶,李江文,翁吴璐,李松(2435)                            |
| 广西高镉异常区水田土壤Cd含量特征及生态风险评价                           | 宋波,王佛鹏,周浪,吴勇,庞瑞,陈同斌(2443)                              |
| 超富集植物藿香薹(Ageratum conyzoides L.)对镉污染农田的修复潜力        | 张云霞,宋波,宾娟,周子阳,陈记玲,陈同斌(2453)                            |
| 种植油菜麦评价多环芳烃污染土壤的农用风险                               | 焦海华,郭佳佳,张婧旻,张晓霞,茹文明,白志辉(2460)                          |
| 土壤重金属累积对土地利用与景观格局的响应                               | 舒心,李艳,李锋,冯靖仪,沈嘉瑜,史舟(2471)                              |
| 某区生活垃圾焚烧发电厂周边及厂区内土壤中重金属元素的污染特征及评价                  | 吕占禄,张金良,陆少游,邹天森,刘凯,张晗,谷亚亚(2483)                        |
| 《环境科学》征订启事(2018)                                   | 《环境科学》征稿简则(2042)                                       |
| 信息(2114, 2348, 2393)                               |                                                        |

# 生物质炭对双季稻田土壤反硝化功能微生物的影响

刘杰云<sup>1,2</sup>, 邱虎森<sup>1,2</sup>, 王聪<sup>2,3</sup>, 沈健林<sup>2\*</sup>, 吴金水<sup>2</sup>

(1. 中国农业科学院农田灌溉研究所农业农村部节水灌溉工程重点实验室, 新乡 453002; 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. 广东省生态环境技术研究所广东省农业环境污染综合治理重点实验室, 广州 510650)

**摘要:** 目前, 基于田间条件下生物质炭添加对稻田反硝化微生物的调控效应还不甚明确。为此, 本研究采用小区试验, 通过在双季稻田添加不同量的小麦秸秆生物质炭(0、24 和 48 t·hm<sup>-2</sup>, 分别用 CK、LC 和 HC 代表), 结合实时荧光定量 PCR (qPCR) 和末端限制性片段长度多态性 (T-RFLP) 分析技术, 研究了生物质炭添加对双季稻田休闲季和水稻季土壤反硝化微生物相关功能基因(调控硝酸还原酶的 *narG* 基因, 亚硝酸还原酶的 *nirK* 基因和氧化亚氮还原酶的 *nosZ* 基因)的影响。由于生物质炭呈碱性, 添加到土壤后, 可提高稻田休闲季土壤 pH 0.2 ~ 0.8 个单位。生物质炭本身含有部分可溶性 N, 因此, 添加生物质炭可增加休闲季土壤铵态氮 (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N) 和硝态氮 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N) 含量, 增幅分别达 21.1% ~ 32.5% 和 63.0% ~ 176.0%, 但由于其吸附作用, 降低了水稻季 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量 48.8% ~ 60.1%。生物质炭添加增加了休闲季微生物生物量氮 (MBN) 含量, 这可能是由于生物质炭较大的比表面积为微生物生存提供了适宜的环境, 可利用养分的增加促进了微生物的生长。与对照相比, 休闲季生物质炭引起的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量增加, 促进 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 向 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的转化, 进而增加 *narG* 和 *nosZ* 的基因丰度 ( $P < 0.05$ ), 同时, 生物质炭处理 pH 的提高促进了 *nosZ* 的基因丰度的增加, 显著改变了反硝化功能基因 *narG* 和 *nosZ* 的群落结构, 并以此对反硝化作用产生影响, 但未对休闲季氧化亚氮 (N<sub>2</sub>O) 排放产生影响。而在水稻季, 生物质炭增加了土壤 *nosZ* 的基因丰度 ( $P < 0.05$ ), HC 处理增加了 *nirK* 基因丰度 ( $P < 0.05$ ), 这也是导致水稻季 HC 处理 N<sub>2</sub>O 排放增加的重要原因。生物质炭通过降低水稻季土壤 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量, 改变了 *nirK* 和 *nosZ* 基因的群落结构, 而 *narG* 基因群落结构的变化影响了土壤 N<sub>2</sub>O 排放。综上所述, 生物质炭可通过改变双季稻田土壤性质, 来影响参与土壤反硝化作用的相关微生物, 进而影响土壤 N<sub>2</sub>O 排放及 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的淋失。

**关键词:** 生物质炭; 反硝化微生物; 双季稻田; 土壤性质; N<sub>2</sub>O 排放

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)05-2394-10 DOI: 10.13227/j.hj.kx.201810182

## Influence of Biochar Amendment on Soil Denitrifying Microorganisms in Double Rice Cropping System

LIU Jie-yun<sup>1,2</sup>, QIU Hu-sen<sup>1,2</sup>, WANG Cong<sup>2,3</sup>, SHEN Jian-lin<sup>2\*</sup>, WU Jin-shui<sup>2</sup>

(1. Key Laboratory of Water-Saving Irrigation Engineering, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Farmland Irrigation Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang 453002, China; 2. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 3. Guangdong Key Laboratory of Integrated Agro-environmental Pollution Control and Management, Guangdong Institute of Eco-environmental Science and Technology, Guangzhou 510650, China)

**Abstract:** At present, it is not explicit how biochar regulates the microbial process of denitrification in paddy fields. Therefore, a field experiment was carried out in a double rice cropping system with three wheat straw biochar treatments: no biochar treatment (CK), added 24 t·hm<sup>-2</sup> biochar (LC), and added 48 t·hm<sup>-2</sup> biochar (HC). Real time PCR (qPCR) and terminal-restricted fragment length polymorphism (T-RFLP) technology were adopted to analyze the abundances and microbial community structures of denitrification functional genes (*narG*, *nirK* and *nosZ*) in the fallow season and rice season. Due to its alkalinity, biochar amendment increased soil pH by 0.2-0.8. Biochar amendment also increased soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N contents by 21.1%-32.5% and 63.0%-176.0% in the fallow season due to the presence of soluble N. Nevertheless, it reduced NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N content by 48.8%-60.1% in the rice season due to the adsorption of biochar. The amendment increased soil MBN content in the fallow season, which may be a result of the large surface of biochar supplying nutrients and a suitable survival environment for the microorganisms. In the fallow season, compared to CK treatment, the increased soil NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N and NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N with biochar amendment promoted the conversion of NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N to NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, and thus increased the abundances of *narG* and *nosZ* ( $P < 0.05$ ). The higher soil pH with biochar addition increased the abundances of *nosZ* and altered the community structures of *narG* and *nosZ* in the fallow season. Biochar amendment altered the denitrification process, but it did not change N<sub>2</sub>O emissions in the fallow season, which might reduce NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N leaching losses. In the rice season,

收稿日期: 2018-10-24; 修订日期: 2018-12-12

基金项目: 广东省科学院实施创新驱动发展能力建设专项(2017GDASX-0106); 中央级科研院所基本科研业务费专项(FIRI2019-01-02); 国家自然科学基金项目(41101247); 湖南省自然科学基金项目(13JJ4114)

作者简介: 刘杰云(1985~), 女, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为农田温室气体减排, E-mail: liujieyun66@163.com

\* 通信作者, E-mail: jishen@isa.ac.cn

biochar amendment increased *nosZ* abundance ( $P < 0.05$ ). HC increased the *nirK* gene abundance, which contributed to increased  $N_2O$  emission in the rice season ( $P < 0.05$ ). Biochar converted the community structures of *nirK* and *nosZ* by decreasing the  $NH_4^+-N$  content in the rice season. The changes of the *narG* community structure with HC treatment contributed to the increased  $N_2O$  emission. In conclusion, biochar amendment can influence the microbes involved in soil denitrification by changing the soil properties, and thus impact the  $N_2O$  emissions and  $NO_3^- -N$  leaching.

**Key words:** biochar; denitrification microbe; double rice cropping system; soil properties;  $N_2O$  emission

$N_2O$ 是一种重要的温室气体. 2011 年, 大气中  $N_2O$  浓度已高达  $324 \mu g \cdot m^{-3}$ , 是 1750 年的 1.2 倍<sup>[1]</sup>. 施肥及高强度的农业活动使得农田土壤成为  $N_2O$  的重要排放源. 在稻田土壤中,  $N_2O$  的产生主要来自于反硝化作用. 反硝化作用是由许多厌氧或兼性厌氧微生物参与的将  $NO_3^-$  转化为  $N_2O/N_2$  的一系列酶催化过程. 这些酶主要由功能基因 *narG/napA* (硝酸还原酶)、*nirK/nirS* (亚硝酸还原酶)、*norB* (一氧化氮还原酶) 和 *nosZ* (氧化亚氮还原酶) 编码. 土壤性质如土壤质地、pH、含水量、土壤 N 的种类等的变化均可影响反硝化微生物, 进而影响反硝化速率<sup>[2~4]</sup>. 因此, 可采取措施改变微生物的生存环境, 减缓  $N_2O$  排放的微生物过程.

生物质炭是生物质(包括作物秸秆、木屑等)在缺氧条件下热解炭化产生的一类高度芳香化的固态难溶性物质<sup>[5]</sup>. 生物质炭具有碱性、多孔性、高比表面积和含有大量表面负电荷及高电荷密度等特点<sup>[6]</sup>, 添加到土壤中, 可通过改变土壤性质来影响反硝化微生物的生长及  $N_2O$  的排放<sup>[7~10]</sup>. 近年来, 不少学者开展了生物质炭对反硝化功能微生物及  $N_2O$  排放影响的研究<sup>[8,11]</sup>. Chen 等<sup>[12]</sup> 通过培养试验, 在 Cd 污染的水稻土中添加生物质炭, 发现生物质炭增加了亚硝酸还原酶功能基因(*nirK* 和 *nirS*) 和氧化亚氮还原酶功能基因(*nosZ*) 的丰度,  $N_2O$  排放较对照增加了 10 倍多, 将其归因于生物质炭本身含有的可溶性有机碳及  $NO_3^- -N$  和增加的土壤 pH. Liu 等<sup>[11]</sup> 利用煤矿塌陷区土壤进行小麦盆栽试验, 发现添加 4% 的生物质炭可增加 *nirK* 和 *nirS* 基因丰度, 同时还增加了 *nirK* 基因的群落多样性, 但对 *nirS* 基因群落多样性并无影响. 冗余分析(RDA)结果表明, *nirK* 基因群落多样性的增加与土壤  $NO_3^- -N$ 、有效磷和 pH 有关, 而 *nirS* 基因群落多样性仅与土壤  $NO_3^- -N$  有关. Harter 等<sup>[13]</sup> 则认为生物质炭可作为电子穿梭体, 促进土壤中电子向反硝化微

生物转移, 虽然对 *nirK* 和 *nirS* 基因无影响, 但增加了 *nosZ* 基因的丰度和活性, 促进了  $N_2O$  向  $N_2$  的转化, 使得  $N_2O$  排放较对照降低了 47% ~ 96%. Anderson 等<sup>[14]</sup> 利用高通量测序技术分析发现, 生物质炭添加对具有 *narG* 功能基因的分支杆菌 *Mycobacterium* 和具有 *nosZ* 功能基因的慢生根瘤菌 *Bradyrhizobium* 具有促进作用. 也有研究证明, 生物质炭添加对参与反硝化作用的 *nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 基因丰度均无影响<sup>[15]</sup>.

综上所述, 前人多以室内培养、盆栽等人工控制试验条件下开展生物质炭对土壤反硝化微生物的效应研究, 而自然条件下的大田环境, 因受多种因素的影响, 与人工控制试验差异较大. 基于此, 本研究利用田间原位试验, 开展了生物质炭对亚热带双季稻田休闲季和水稻季土壤反硝化功能微生物的影响, 拟探明生物质炭对稻田反硝化过程调控的机制, 以期为生物质炭在亚热带双季稻田  $N_2O$  减排中的应用提供理论基础.

1 材料与方法

1.1 试验地概况

本研究的试验小区位于湖南省长沙县中国科学院亚热带农业生态研究所长沙农业环境观测研究站 ( $113^{\circ}19'52''E$ ,  $28^{\circ}33'04''N$ ), 海拔 80 m. 本区域为典型的亚热带湿润季风气候, 年平均温度为  $17.5^{\circ}C$ , 年均降雨量为 1 330 mm, 且多集中在 3 ~ 8 月(占全年降雨量的 60% 以上), 无霜期为 274 d. 土壤为花岗岩发育的麻沙泥水稻土. 生物质炭产自河南商丘三利新能源有限责任公司, 为小麦秸秆在  $350 \sim 550^{\circ}C$  条件下制成. 供试土壤和生物质炭的基本理化性质见表 1.

1.2 试验设置

本试验小区面积为  $35 m^2 (7 m \times 5 m)$ . 设置 3 个处理: ①无生物质炭添加(CK); ②添加 24

表 1 土壤及生物质炭基本理化性质<sup>1)</sup>

Table 1 Basic properties of soil and biochar

| 项目   | 总碳<br>/g·kg <sup>-1</sup> | 总氮<br>/g·kg <sup>-1</sup> | 总磷<br>/g·kg <sup>-1</sup> | 总钾<br>/g·kg <sup>-1</sup> | pH  | 容重<br>/g·cm <sup>-3</sup> | 灰分<br>/% | 砂粒<br>/% | 粉粒<br>/% | 黏粒<br>/% |
|------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----|---------------------------|----------|----------|----------|----------|
| 土壤   | 18.9                      | 2.1                       | 0.39                      | 28.4                      | 5.4 | 1.2                       | —        | 42.4     | 30.4     | 27.2     |
| 生物质炭 | 418.3                     | 5.8                       | 0.58                      | 9.2                       | 9.3 | 0.18                      | 37.2     | —        | —        | —        |

1) “—”表示未测

t·hm<sup>-2</sup>生物质炭,相当于0~20 cm土层重的1% (LC);③添加48 t·hm<sup>-2</sup>生物质炭,相当于0~20 cm土层重的2% (HC). 每个小区内安置1个面积为0.4 m<sup>2</sup>的底座,用于温室气体的采集. 生物质炭只在2012年早稻季开始前添加,以后不再添加. 每个处理3个重复,随机设置.

2013年晚稻品种为T优207,氮肥施用量按照当地常规施肥施用,总施氮量为150 kg·hm<sup>-2</sup>,分3次施入土壤,即水稻移栽前的基肥,追肥分两次,即分蘖肥和穗肥,其比例为5:3:2. 而磷肥(过磷酸钙, P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 40 kg·hm<sup>-2</sup>)、钾肥(硫酸钾, K<sub>2</sub>O, 100 kg·hm<sup>-2</sup>)和锌肥(硫酸锌, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 5 kg·hm<sup>-2</sup>)则以基肥一次性施入土壤. 水分管理为间歇灌溉,即淹水-晒田-淹水的干湿交替,病虫害防治及其他的田间管理均采用常规管理模式. 休闲季不进行农事活动. 2013年晚稻季田间管理具体措施:7月16~17日翻地,7月18日施肥,7月19日移栽秧苗,行距和株距均为20 cm,底座内插9穴,7月26日喷施除草剂,8月3日按照45 kg·hm<sup>-2</sup>的施肥量(以N计)追施分蘖肥,8月21日烤田,8月25日喷洒杀虫剂,9月3日复水,9月7日按照30 kg·hm<sup>-2</sup>的施肥量追施穗肥. 9月25日进行收获前排水,10月22日收获水稻.

### 1.3 样品采集与测定

分别于2013年4月22日(即休闲季结束时,整个休闲季土壤性质较一致)和2013年8月22日(晚稻季排水第2 d,土壤干湿状况较能代表整个水稻季的平均状况)采集土壤样品. 在每个小区内按照“S”型取5个点,采集0~20 cm耕层土壤,混合后作为1个样品. 将土壤样品中的根系和石子等挑出来,并将其充分混匀,实验室4℃保存. 另取其中200 g左右迅速用锡箔纸包好,放入灭菌的袋子中,投入到液氮中,运送至实验室,-80℃冰箱保存备用.

气体采用静态暗箱法采集,采样箱箱体(长×宽×高=64 cm×64 cm×120 cm)由不锈钢制成,外覆绝热泡沫材料,箱体内部顶端安装有2个风扇,采样时将其打开可混匀箱体内部的气体,箱子侧面安装有风扇电源线接头、温度表接头以及样品采集管接头. 为防止采样时对采样点周围水稻及土壤的破坏和影响,在采样点附近架了1个栈桥. 采样时,将采样箱扣在底座上. 采样一般在上午的09:00~11:00,因N<sub>2</sub>O排放通量受土壤温度的影响较大,此时段的温室气体排放通量接近一天的平均值<sup>[16]</sup>. 采样时,每隔10 min采集一次样品,连续采集5次,即在0、10、20、30和40 min时分别从采

样箱内用注射器抽取60 mL的气体,然后注入12 mL的真空瓶中待测. 水稻季和休闲季均一周采一次样,遇到重要事件如施肥、烤田和复水等,加大采样频率为每2~3 d一次. 休闲季采样时间段为:2012年11月1日~2013年4月21日;晚稻季采样时间段为:2013年7月20日~10月22日. 在气体采集的同时,温度计(JM624, Tianjin Jinming Instrument Co. Ltd., China)测定土壤温度、箱体内部温度,用尺子测定水深.

取80 mL的0.5 mol·L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>加到30 g土中,振荡1 h后过滤. 滤液用连续流动分析仪(Tecator FIA Star 5000 Analyzer, Foss Tecator, Sweden)测定土壤中的铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)和硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N)含量;取滤液用TOC仪(TOC-VWP, Shimadzu Corporation, Japan)测定土壤中的可溶性有机碳(DOC)的含量. 土壤微生物生物量氮(MBN)采用“氯仿熏蒸-0.5 mol·L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>提取法”测定<sup>[17,18]</sup>:称取相当于烘干重20 g新鲜土样,在真空干燥器中用氯仿蒸气在25℃下避光熏蒸培养24 h,熏蒸后反复抽真空以除去残留氯仿,再加入80 mL 0.5 mol·L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>溶液振荡1 h后过滤;取10 mL提取液,加CuSO<sub>4</sub>溶液和浓硫酸消化后采用连续流动分析仪分析测定其中的N<sup>[18]</sup>. 以熏蒸与不熏蒸土样提取的氮的差值除以转换系数(K<sub>N</sub>=0.45)来计算土壤MBN. 用不熏蒸土样提取的氮减去无机氮中的铵态氮即为可溶性有机氮(DON);土壤含水量采用烘干称重法测定. 土壤pH值测定:蒸馏水(土水比1:2.5)浸提30 min,用Mettler-toledo320 pH计测定.

N<sub>2</sub>O用气相色谱仪(Agilent 7890A, Agilent Technologies, USA)测定. 电子捕获检测器(ECD)用于测定N<sub>2</sub>O浓度,检测温度为350℃,N<sub>2</sub>为载气. N<sub>2</sub>O排放通量根据盖箱时箱体内气体浓度变化的线性关系(当5次气体的线性回归系数小于0.90,则舍弃该通量值)、箱体高度、箱体内温度及压强来计算<sup>[19]</sup>,N<sub>2</sub>O累积排放量通过每两次采样的通量平均值与采样时间间隔的乘积来计算<sup>[16]</sup>.

### 1.4 反硝化微生物功能基因丰度测定与群落结构分析

土壤中微生物的总DNA用DNA提取试剂盒(PowerSoil™ DNA Isolation Kit, Mo Bio Laboratories Inc., CA)提取,使用Nanodrop ND-1000核酸分析仪测定DNA浓度和纯度,置于-20℃保存.

构建narG、nirK和nosZ基因标准曲线参见Chen等<sup>[20]</sup>的方法:首先构建克隆文库,然后选择阳

性克隆子, 吸取 10 μL 菌液于 5 mL 含氨苄青霉素的 LB 培养基中, 37℃ 摇床培养 10 h, 提取重组质粒, 测量 OD 值, 换算成拷贝数. 10 倍梯度稀释作为标准曲线的模板. 标准曲线的范围为 10<sup>2</sup> ~ 10<sup>8</sup> 之间. 拷贝数计算:

拷贝数(copies · g<sup>-1</sup>) =

$$\frac{6.02 \times 10^{23} \times \text{质粒浓度}(\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}) \times 10^{-9}}{\text{插入片段长度} \times 660}$$

实时荧光定量 PCR (qPCR) 分析: 所用仪器为 ABI 7900 (Applied Biosystem). *narG*、*nirK* 和 *nosZ* 的反应体系为: 5 ng DNA 模板, 0.4 μL 上游引物 (*narG*-571F<sup>[20]</sup>、*nirK*-876F<sup>[21]</sup> 和 *nosZ*-1126F<sup>[22]</sup>), 0.4 μL 下游引物 (*narG*-773R、*nirK*-1040R 和 *nosZ*-1381R), 5 μL SYBR-Green II (Takara), 0.2 μL Rox 参比染料 (Takara), 补充 ddH<sub>2</sub>O 至 10 μL. *narG*、*nirK* 和 *nosZ* 的片段长度分别为 256、165 和 203 bp. *narG* 和 *nosZ* 的扩增程序相同: 95℃ 预变性 30 s, 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 72℃ 10 s, 40 个循环; 95℃ 15 s, 60℃ 15 s, 90℃ 15 s 溶解曲线. *nirK* 的扩增程序: 95℃ 预变性 1 min, 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 40 个循环; 95℃ 15 s, 60℃ 15 s, 90℃ 15 s 溶解曲线.

末端限制性片段长度多态性 (T-RFLP) 分析. *narG* 基因反应体系为 50 μL: 上下游引物各 2 μL (145F、773R)<sup>[20]</sup>, 25 μL PCRMix, DNA 模板 140 ng, 补充 ddH<sub>2</sub>O 至 50 μL. 反应程序为: 95℃ 预变性 5 min, 95℃ 30 s, 60℃ 45 s, 72℃ 1 min, 2 个循环; 95℃ 30 s, 55℃ 45 s, 72℃ 1 min, 10 个循环; 95℃ 30 s, 50℃ 45 s, 72℃ 1 min, 30 个循环; 72℃ 延伸 15 min. *nirK* 和 *nosZ* 基因反应体系均为 50 μL: 上下游引物各 2 μL (*nirK*-F1aCu/*nirK*-R3Cu<sup>[21]</sup> 和 *nosZ*-1121F/*nosZ*-1662R<sup>[20]</sup>), 25 μL PCRMix, DNA 模板 60 ng, 补充 ddH<sub>2</sub>O 至 50 μL. 反应程序为: 95℃ 预变性 3 min, 94℃ 30 s, 65℃ 45 s, 72℃ 45 s, 10 个循环; 94℃ 30 s, 55℃ 45 s, 72℃ 45 s, 35 个循环; 72℃ 延伸 15 min. *narG*、*nirK* 和 *nosZ* 片段长度分别为 629、472 和 411 bp. *narG*、*nirK* 和 *nosZ* 上游引物

的 5' 端均被羧基荧光素 (FAM, carboxyfluorescein-5-succinidyl ester) 标记. 所使用的 PCR 仪器为 Eppendorf-6321. PCR 产物先经 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳分离, 利用 DNA 凝胶纯化试剂盒 (天根) 回收纯化目的片段, 然后对回收的片段进行酶切, 其中 *narG* 基因使用 *RsaI* 酶, *nirK* 使用 *TaqI* 酶, *nosZ* 使用 *CfoI* 酶, 酶切产物送上海桑尼生物科技有限公司进行 T-RFLP 分析, 分析仪器为 ABI 3100 基因分析仪 (ABI Prism 3100 Genetic Analyzer).

1.5 数据分析

运用 SPSS 20.0 分析软件对数据进行单因素方差分析 (ANOVA, 置信水平 95%) 和相关性分析. T-RFLP 数据采用 Primer5 进行群落相似性分析, 同时利用 R 语言分析软件中曼特尔-亨塞尔检验 (Mantel test) 分析微生物群落组成与土壤因子之间的相关性, 利用 Canoco 4.5 软件对微生物群落结构组成进行主成分分析 (PCA).

2 结果与分析

2.1 生物质炭添加对稻田土壤性质及 N<sub>2</sub>O 排放的影响

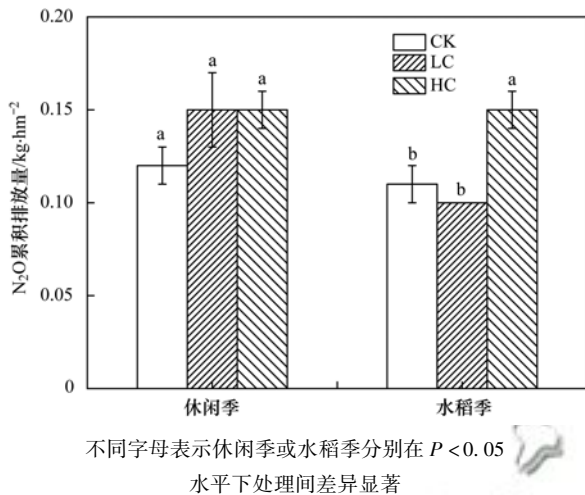
各处理的土壤性质如表 2 所示, 生物质炭提高了休闲季土壤 pH, 增幅为 0.2 ~ 0.8 个单位, 且随着生物质炭添加量的增加, pH 逐渐提高, 与对照相比, HC 显著提高了土壤 pH ( $P < 0.05$ ). 休闲季, LC 和 HC 的 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量分别较对照增加了 21.1% 和 32.5%, HC 和 CK 之间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 但生物质炭却降低了水稻季 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量 ( $P < 0.05$ ), 降幅达 48.8% ~ 60.1%. 生物质炭增加了休闲季土壤 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 含量, 且随着添加量的增加而增加, 各处理之间均差异显著 ( $P < 0.05$ ), 而水稻季各处理之间均未表现出显著差异性 ( $P > 0.05$ ). 虽然 LC 和 HC 增加了土壤 DOC (休闲季和水稻季) 和 DON 含量, 但各处理之间差异性均不显著 ( $P > 0.05$ ). 与对照相比, 休闲季 LC 和 HC 的 MBN 含量分别增加了 16.7 mg·kg<sup>-1</sup> 和 13.1 mg·kg<sup>-1</sup>.

表 2 生物质炭对土壤性质的影响<sup>1)</sup>  
Table 2 Effects of biochar amendment on soil chemical properties

| 季节  | 处理 | 土壤性质       |                                                         |                                                         |                             |                             |                             |
|-----|----|------------|---------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|     |    | pH         | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N<br>/mg·kg <sup>-1</sup> | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N<br>/mg·kg <sup>-1</sup> | DOC<br>/mg·kg <sup>-1</sup> | DON<br>/mg·kg <sup>-1</sup> | MBN<br>/mg·kg <sup>-1</sup> |
| 休闲季 | CK | 5.8 ± 0.1b | 3.6 ± 0.4b                                              | 0.1 ± 0.0c                                              | 48.2 ± 0.9a                 | 3.8 ± 0.8a                  | 41.2 ± 2.9b                 |
|     | LC | 6.0 ± 0.3b | 4.4 ± 1.1ab                                             | 0.1 ± 0.0b                                              | 49.2 ± 8.6a                 | 5.2 ± 0.9a                  | 57.9 ± 7.3a                 |
|     | HC | 6.6 ± 0.1a | 4.8 ± 0.0a                                              | 0.2 ± 0.0a                                              | 48.5 ± 3.8a                 | 4.3 ± 0.6a                  | 54.3 ± 8.7ab                |
| 水稻季 | CK | —          | 7.8 ± 2.1a                                              | 0.2 ± 0.1a                                              | 38.2 ± 2.8a                 | —                           | —                           |
|     | LC | —          | 4.0 ± 0.7b                                              | 0.3 ± 0.1a                                              | 41.2 ± 3.1a                 | —                           | —                           |
|     | HC | —          | 3.1 ± 0.6b                                              | 0.2 ± 0.0a                                              | 43.4 ± 2.9a                 | —                           | —                           |

1) “—”表示未测; 不同字母表示各指标休闲季或水稻季分别在  $P < 0.05$  水平下处理间差异显著

如图 1 所示, 2012 ~ 2013 年休闲季各处理的  $\text{N}_2\text{O}$  累积排放量分别为 0.12、0.15 和 0.15  $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ , 与对照相比, 生物质炭对休闲季  $\text{N}_2\text{O}$  排放并无显著影响. 但在水稻季, HC 较对照增加了  $\text{N}_2\text{O}$  累积排放量 ( $P < 0.05$ ), 增幅达 32.8%, LC 和 CK 之间无显著差异 ( $P > 0.05$ ).



不同字母表示休闲季或水稻季分别在  $P < 0.05$

水平下处理间差异显著

图 1 休闲季和水稻季各处理的  $\text{N}_2\text{O}$  累积排放量

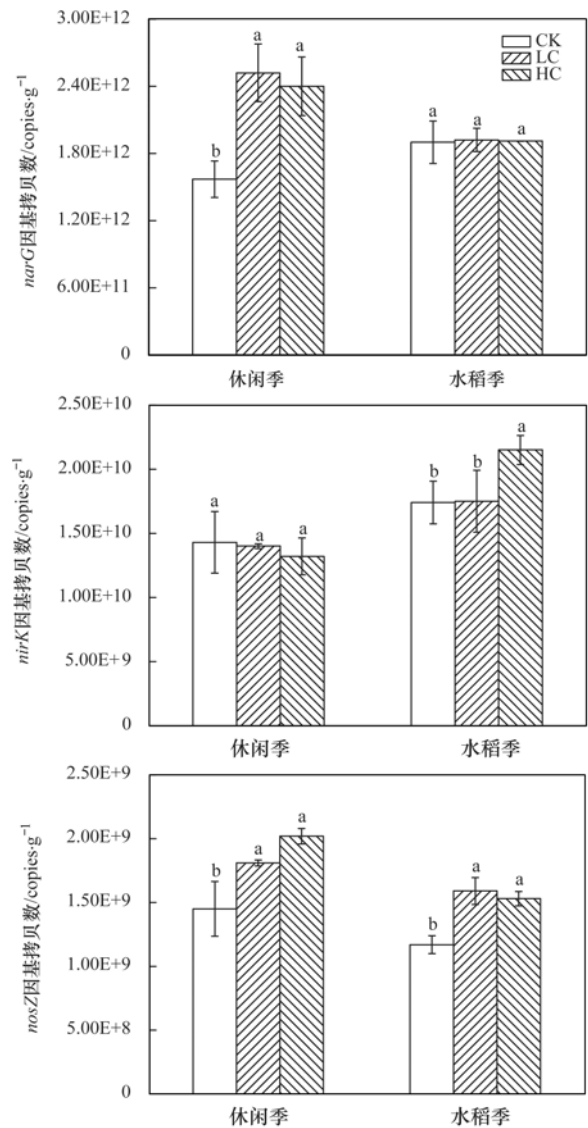
Fig. 1 Cumulative  $\text{N}_2\text{O}$  emissions in the fallow and rice seasons

## 2.2 生物质炭添加对稻田土壤反硝化功能基因丰度的影响

生物质炭对休闲季和水稻季参与反硝化过程的主要功能基因丰度的影响见图 2. 生物质炭处理增加了休闲季 *narG* 基因拷贝数 ( $P < 0.05$ ), 增幅分别为 60.8% 和 52.8%, 而水稻季生物质炭并未对 *narG* 基因丰度产生影响 ( $P > 0.05$ ). 生物质炭不影响休闲季 *nirK* 基因丰度, 但在水稻季, HC 较对照增加了 *nirK* 基因拷贝数 23.5% ( $P < 0.05$ ). 生物质炭增加了休闲季和水稻季 *nosZ* 基因的拷贝数 ( $P < 0.05$ ), 增幅分别为 24.8%、39.5% 和 36.1%、30.7%, 而 LC 和 HC 之间无显著性差异 ( $P > 0.05$ ). 水稻季的 *narG* 和 *nosZ* 基因丰度均较休闲季有所降低, 但对于 *nirK* 基因丰度, 水稻季高于休闲季.

## 2.3 生物质炭添加对稻田土壤反硝化功能基因群落结构的影响

生物质炭改变了休闲季和水稻季 *narG*、*nirK* 和 *nosZ* 基因的群落结构 (图 3). *narG*、*nirK* 和 *nosZ* 的末端限制性片段 (T-RFs) 相对丰度变化及相似性分析显示 (图 4), 休闲季和水稻季 *narG* 基因群落在 76% 相似性水平下被分成两簇, 水稻季 HC 一簇, 其他处理一簇, 在 83% 相似水平下, 休闲季 HC 一簇, 水稻季 CK、LC 及休闲季 CK、LC 一簇, 在 86% 相似水平下又被分为两簇, 水稻季 CK 一簇,



不同字母表示休闲季或水稻季分别在  $P < 0.05$

水平下处理间差异显著

图 2 生物质炭对反硝化功能基因丰度的影响

Fig. 2 Effects of biochar amendment on the abundances of denitrification functional genes

水稻季 LC 和休闲季 CK、LC 一簇, 然后在 90% 相似水平下被分成两簇, 水稻季 LC 一簇, 休闲季 CK、LC 一簇, 最后二者又在 91% 相似水平下被分为两簇, 表明生物质炭, 尤其是水稻季 HC, 改变了 *narG* 基因群落结构. *nirK* 基因群落在 70% 相似性水平下, 被分为两簇, 水稻季的 CK 一簇, 其他处理一簇, 在 86% 相似性水平下又分为两簇, 休闲季 LC、HC 一簇, 休闲季 CK 和水稻季 LC、HC 一簇, 然后在 88% 相似水平下被分为两簇, 休闲季 CK 一簇, 水稻季 LC、HC 一簇, 最后分别在 91% 和 93% 相似水平下, 水稻季和休闲季的 LC 和 HC 又各分为两簇, 说明生物质炭影响了 *nirK* 基因群落组成. 在 61% 相似水平下, *nosZ* 基因群落被分为两簇, 休闲季 HC 一簇, 其他处理一簇, 在 63% 相似水平

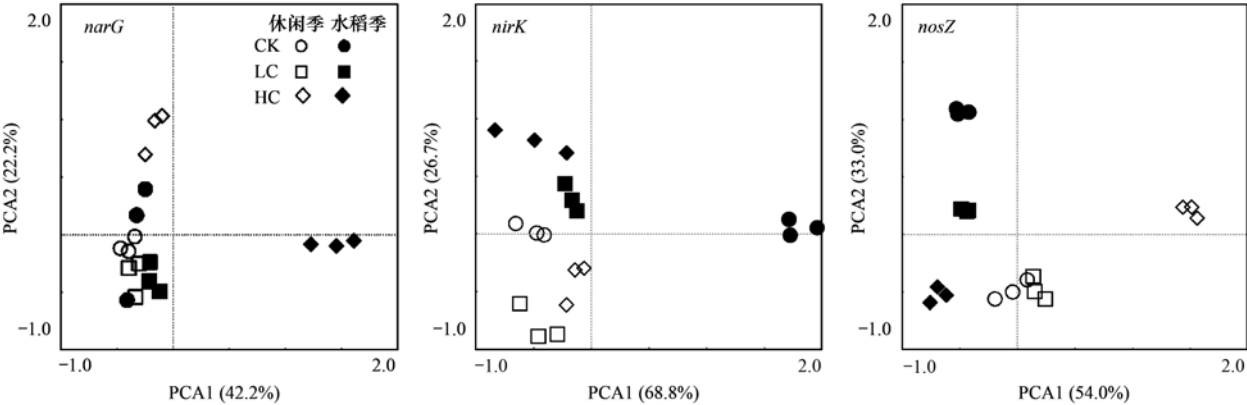
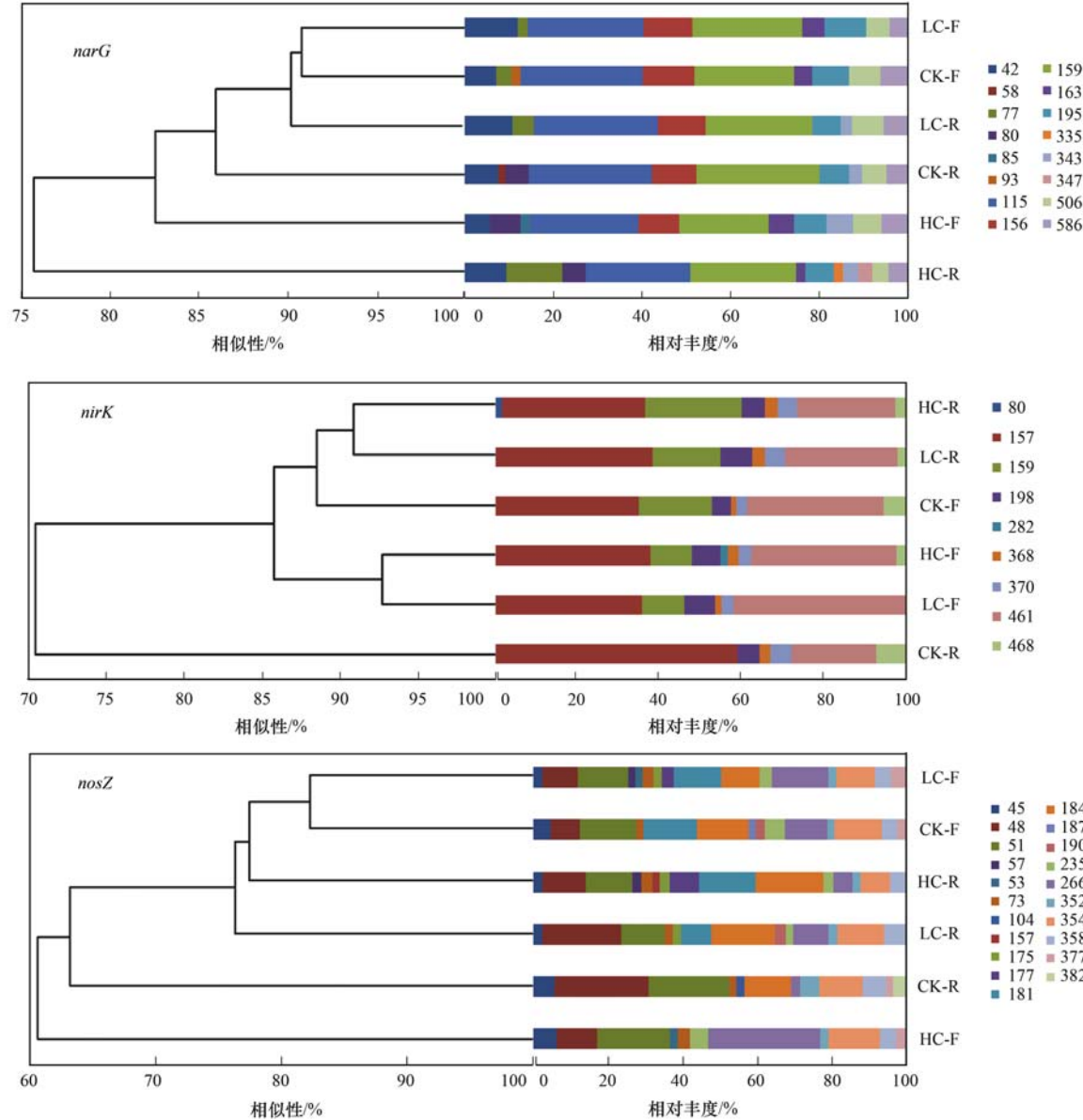


图3 不同处理的反硝化微生物群落结构组成 PCA 分析  
Fig. 3 PCA of denitrification community structures analysis for treatments



CK-F、LC-F、HC-F、CK-R、LC-R 和 HC-R 分别表示休闲季和水稻季的 CK、LC 和 HC 处理；不同颜色图标数字表示 T-RFs 片段长度 (bp)

图4 不同处理的反硝化功能基因群落结构组成及相似性分析

Fig. 4 Community structures and similarities of denitrifying function genes for different treatments

下，又分为水稻季 CK 一簇，水稻季 LC、HC 和休闲季 CK、LC 一簇，然后在 78% 相似水平下，水稻季

的 LC 一簇, 水稻季 HC 和休闲季 CK、LC 一簇, 在 79% 相似水平下被分为两簇, 水稻季 HC 一簇, 休闲季 CK、LC 一簇, 最后二者又在 83% 相似水平下被分为两簇, 故生物质炭改变了 *nosZ* 基因的群落结构.

### 2.4 稻田土壤性质、N<sub>2</sub>O排放与反硝化功能基因的关系

相关性分析表明(表 3), 休闲季, *narG* 基因丰度与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ), *nosZ* 基因丰度与 pH 和 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 与 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ ). 水稻季, *nirK*

基因丰度与 N<sub>2</sub>O 排放呈显著的正相关 ( $P < 0.05$ ), *nosZ* 基因丰度与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 呈极显著负相关 ( $P < 0.01$ ).

曼特尔-亨塞尔检验结果表明(表 4), 休闲季, pH 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 与 *narG* 和 *nosZ* 基因群落均存在极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 而 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 MBN 与 *nirK* 基因群落存在显著正相关 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). 水稻季, *narG* 基因群落与 N<sub>2</sub>O 排放呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 与 *nirK* 和 *nosZ* 基因群落均存在极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), DOC 与 *nirK* 基因群落之间呈显著正相关 ( $P < 0.05$ ).

表 3 土壤性质、N<sub>2</sub>O排放与反硝化功能基因丰度的相关性分析<sup>1)</sup>

| Table 3 Correlations between soil chemical properties as well as cumulative N <sub>2</sub> O emissions and denitrifying function genes abundances |             |             |             |       |                                 |                                 |      |      |     |                  |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------------|-------------|-------|---------------------------------|---------------------------------|------|------|-----|------------------|
|                                                                                                                                                   | <i>narG</i> | <i>nirK</i> | <i>nosZ</i> | pH    | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N | DOC  | DON  | MBN | N <sub>2</sub> O |
| 休闲季                                                                                                                                               |             |             |             |       |                                 |                                 |      |      |     |                  |
| <i>narG</i>                                                                                                                                       | 1           |             |             |       |                                 |                                 |      |      |     |                  |
| <i>nirK</i>                                                                                                                                       | -0.3        | 1           |             |       |                                 |                                 |      |      |     |                  |
| <i>nosZ</i>                                                                                                                                       | 0.8*        | -0.4        | 1           |       |                                 |                                 |      |      |     |                  |
| pH                                                                                                                                                | 0.4         | -0.2        | 0.7*        | 1     |                                 |                                 |      |      |     |                  |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N                                                                                                                   | 0.7*        | -0.5        | 0.8*        | 0.7*  | 1                               |                                 |      |      |     |                  |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N                                                                                                                   | 0.4         | -0.0        | 0.9**       | 0.9** | 0.7*                            | 1                               |      |      |     |                  |
| DOC                                                                                                                                               | 0.0         | 0.2         | 0.1         | -0.2  | -0.5                            | 0.0                             | 1    |      |     |                  |
| DON                                                                                                                                               | 0.4         | -0.3        | 0.4         | 0.2   | 0.5                             | 0.1                             | 0.0  | 1    |     |                  |
| MBN                                                                                                                                               | 0.7         | -0.3        | 0.5         | 0.2   | 0.4                             | 0.5                             | 0.2  | 0.2  | 1   |                  |
| N <sub>2</sub> O                                                                                                                                  | 0.5         | 0.2         | 0.2         | 0.1   | 0.2                             | -0.1                            | -0.3 | -0.4 | 0.5 | 1                |
| 水稻季                                                                                                                                               |             |             |             |       |                                 |                                 |      |      |     |                  |
| <i>narG</i>                                                                                                                                       | 1           |             |             |       |                                 |                                 |      |      |     |                  |
| <i>nirK</i>                                                                                                                                       | -0.1        | 1           |             |       |                                 |                                 |      |      |     |                  |
| <i>nosZ</i>                                                                                                                                       | 0.3         | 0.4         | 1           |       |                                 |                                 |      |      |     |                  |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N                                                                                                                   | -0.4        | -0.3        | -0.8**      | —     | 1                               |                                 |      |      |     |                  |
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N                                                                                                                   | -0.3        | -0.6        | 0.1         | —     | 0.2                             | 1                               |      |      |     |                  |
| DOC                                                                                                                                               | -0.2        | 0.3         | 0.5         | —     | -0.5                            | 0.3                             | 1    |      |     |                  |
| N <sub>2</sub> O                                                                                                                                  | 0.0         | 0.7*        | 0.1         | 1     | -0.3                            | -0.5                            | 0.2  | —    | —   | 1                |

1) “—”表示未分析; \* 表示在  $P < 0.05$  水平下显著相关, \*\* 表示在  $P < 0.01$  水平下极显著相关, 下同

表 4 土壤性质、N<sub>2</sub>O排放与反硝化功能基因群落结构的相关性分析<sup>1)</sup>

| Table 4 Spearman's correlations between soil chemical properties as well as cumulative N <sub>2</sub> O emissions and denitrification microbial community structure determined by Mantel test |             |       |                                 |                                 |      |      |       |                  |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|-------|---------------------------------|---------------------------------|------|------|-------|------------------|
| 季节                                                                                                                                                                                            | 功能基因        | pH    | NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N | NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N | DOC  | DON  | MBN   | N <sub>2</sub> O |
| 休闲季                                                                                                                                                                                           | <i>narG</i> | 0.7** | 0.2                             | 0.8**                           | -0.2 | -0.2 | 0.2   | -0.1             |
|                                                                                                                                                                                               | <i>nirK</i> | 0.2   | 0.3                             | 0.5*                            | -0.1 | 0.0  | 0.6** | -0.1             |
|                                                                                                                                                                                               | <i>nosZ</i> | 0.7** | 0.3                             | 0.8**                           | -0.2 | -0.2 | 0.1   | -0.1             |
| 水稻季                                                                                                                                                                                           | <i>narG</i> | —     | 0.2                             | -0.1                            | 0.3  | —    | —     | 0.6**            |
|                                                                                                                                                                                               | <i>nirK</i> | —     | 0.7**                           | -0.1                            | 0.3* | —    | —     | -0.1             |
|                                                                                                                                                                                               | <i>nosZ</i> | —     | 0.6**                           | -0.1                            | 0.2  | —    | —     | 0.3              |

1) N<sub>2</sub>O表示休闲季/水稻季的N<sub>2</sub>O累积排放量

### 3 讨论

生物质炭添加可改善土壤性质<sup>[23]</sup>. 生物质炭表面含有一定量的碱性物质, 如碳酸盐、有机阴离子等, 故一般呈碱性<sup>[24]</sup>. 有研究表明, 生物质炭添

加到土壤中可显著提高土壤 pH, 有效降低土壤酸度<sup>[25]</sup>. 在本研究中, 亚热带稻田土壤呈酸性 (pH = 5.4), 添加生物质炭后, 提高了休闲季土壤 pH, 且添加量越大, 效果越好. 生物质炭具有发达的孔隙结构和巨大的比表面积<sup>[26]</sup>, 因而具有较强的吸附

性,可吸附土壤中的营养元素及各种离子(如  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NO}_3^-$  等),降低土壤中  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 含量<sup>[27]</sup>. 在本研究中,由于生物质炭本身无机氮含量较高( $\text{NH}_4^+$ -N 含量为  $109.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $\text{NO}_3^-$ -N 含量为  $3.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ),添加到土壤后,增加了休闲季土壤  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 含量,这与王月玲等<sup>[28]</sup>的研究结果一致. 但本研究于 2012 年早稻开始前添加生物质炭,到 2013 年晚稻季,生物质炭本身的无机氮基本被完全消耗或转化,又由于生物质炭的吸附作用,导致水稻季生物质炭处理较对照降低了  $\text{NH}_4^+$ -N 含量. 生物质炭添加并没有显著影响休闲季土壤可溶性有机氮含量,说明增加的无机氮没有向有机氮转化,而是参与到土壤硝化和反硝化过程中,或被微生物吸收利用,转化为微生物生物量氮. 生物质炭本身含有易分解的有机质、N、P、K 养分及 Ca、Mg、Al、Fe 等微量元素<sup>[29]</sup>,可为土壤微生物生长提供营养,从而促进其生长、繁殖,进而增加土壤微生物的生物量<sup>[9]</sup>.

目前,关于生物质炭对土壤反硝化作用影响的研究较多,但结果不一,至于其作用机制,研究者的观点也不尽相同<sup>[9]</sup>. 在本研究中,生物质炭添加增加了稻田休闲季 *narG* 基因丰度、水稻季 *nirK* 基因丰度及休闲季和水稻季 *nosZ* 基因丰度,改变了 *nirK*、*nirS* 和 *nosZ* 基因的群落结构,这与 Anderson 等<sup>[14]</sup>的研究结果一致,但与 Liu 等<sup>[11]</sup>的研究结果相反. 生物质炭可通过影响土壤理化性质,如 pH、含水率、土壤 N 的种类( $\text{NH}_4^+$ -N/ $\text{NO}_3^-$ -N)及有效性等,来影响土壤反硝化微生物<sup>[14,30]</sup>. 生物质炭可吸附土壤中的  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N,促进  $\text{NH}_4^+$ -N 向  $\text{NO}_3^-$ -N 的转化,进而影响反硝化微生物的群落组成<sup>[31]</sup>. 在本研究中,生物质炭添加增加了休闲季土壤  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 含量. 相关性分析表明,休闲季  $\text{NH}_4^+$ -N 与反硝化功能基因丰度呈极显著正相关,且与  $\text{NO}_3^-$ -N 呈显著的正相关,说明增加的  $\text{NH}_4^+$ -N 可促进硝化作用,向  $\text{NO}_3^-$ -N 转化,使得生物质炭处理的  $\text{NO}_3^-$ -N 较对照增加了 63.0% ~ 176.0%,进而间接增加 *narG* 和 *nosZ* 的基因丰度.  $\text{NO}_3^-$ -N 可为反硝化微生物提供底物,休闲季增加的  $\text{NO}_3^-$ -N 也间接促进了 *nosZ* 的基因丰度的增加,同时改变了 *narG*、*nirK* 和 *nosZ* 的群落结构组成. 水稻季中,生物质炭降低了土壤  $\text{NH}_4^+$ -N 含量,相关性分析表明,  $\text{NH}_4^+$ -N 与 *nosZ* 基因丰度呈显著负相关.  $\text{NH}_4^+$ -N 是硝化作用的底物,水稻季生物质炭处理  $\text{NH}_4^+$ -N 含量的降低,理论上会导致土壤  $\text{NO}_3^-$ -N 的减少,但本研究  $\text{NO}_3^-$ -N 含量并未降低,且参与反硝化作用的 *narG* 基因丰度也未降

低, *nirK* 和 *nosZ* 基因丰度反而增加,故生物质炭引起的水稻季  $\text{NH}_4^+$ -N 降低没有引起反硝化作用的减弱,反而增强,这可能受其他因素的影响,需要进一步地研究. 土壤  $\text{NH}_4^+$ -N 与 *nirK* 和 *nosZ* 的群落结构呈及显著正相关,这可能是水稻季生物质炭处理的 *nirK* 基因中优势种群 157 bp 代表的菌种相对丰度降低、*nosZ* 基因中优势种群 48 bp 和 51 bp 等代表的菌种相对丰度降低的主要原因. 因此,生物质炭可通过改变  $\text{NH}_4^+$ -N 和  $\text{NO}_3^-$ -N 含量影响反硝化微生物的丰度和群落组成.

pH 是影响土壤微生物多样性的关键因子<sup>[32]</sup>. 土壤中反硝化作用的最适酸碱范围为 6.0 ~ 8.0,当 pH 为 5.6 ~ 8.0 时,反硝化速率会随着土壤 pH 的上升而增大<sup>[9]</sup>. Liu 等<sup>[33]</sup>认为生物质炭的石灰效应为微生物生长提供了适宜的生存环境,进而提高了反硝化功能基因的丰度. 在本研究中,生物质炭提高了休闲季土壤 pH,促进了 *nosZ* 基因丰度的增加,显著改变了反硝化功能基因 *narG* 和 *nosZ* 的群落组成,并以此对反硝化作用产生影响. 此外,2013 年晚稻季结束时,生物质炭处理的 pH 仍较对照高出 0.2 ~ 0.7 个单位,故笔者推测生物质炭仍持续提高水稻季 pH,这可能与水稻季 *nirK* 和 *nosZ* 基因丰度增加有关,从而影响反硝化作用,相关内容有待进一步地研究验证.

本试验休闲季采样在 2013 年 4 月,正值梅雨季节,土壤较为湿润,2013 年晚稻季虽然是在晒田期采样,但是在排水的第 2 天,土壤仍处于淹水状态,因此,本研究土壤  $\text{N}_2\text{O}$  排放的主要来源为反硝化作用. 生物质炭添加对休闲季  $\text{N}_2\text{O}$  排放无显著影响. 生物质炭使 *narG* 基因丰度增加和群落结构的变化会促进土壤  $\text{NO}_3^-$  向  $\text{NO}_2^-$  的转化,进而促进反硝化作用. 而 *nosZ* 基因丰度增加及群落结构的变化又促使  $\text{N}_2\text{O}$  向  $\text{N}_2$  转化. 因此,本研究生物质炭促进了休闲季土壤反硝化作用,可降低  $\text{NO}_3^-$  的淋失,且能够促进反硝化作用的最后一步反应,不增加  $\text{N}_2\text{O}$  排放. 而在水稻季,HC 显著增加了土壤  $\text{N}_2\text{O}$  排放,这与祁乐等<sup>[34]</sup>的研究结果相一致. 水稻季 LC 和 HC 增加了 *nosZ* 的基因丰度,增加了  $\text{N}_2\text{O}$  向  $\text{N}_2$  的转化,促使 LC 的  $\text{N}_2\text{O}$  排放较对照有小幅度降低,但 HC 的  $\text{N}_2\text{O}$  排放不降反增,说明 *nosZ* 基因丰度不是影响休闲季  $\text{N}_2\text{O}$  排放的主要因素. HC 显著增加了 *nirK* 基因丰度,而亚硝酸还原酶是反硝化作用的限速酶,本研究的相关性分析也表明 *nirK* 基因丰度与  $\text{N}_2\text{O}$  排放呈显著正相关,因此, *nirK* 基因丰度增加是导致水稻季 HC 的  $\text{N}_2\text{O}$  排放增加的重要原因. 另外,HC 的 *narG* 群落结构也与 LC 和 CK 处理有

较大差异,如 HC 增加了 77 bp 的相对丰度,而 58 bp 和 156 bp 却基本消失,新增了 335 bp 和 347 bp,这也是 HC 增加 $\text{N}_2\text{O}$ 排放的一个重要原因.因此,HC 通过增加 *nirK* 基因丰度和改变 *narG* 基因群落,增加了水稻季 $\text{N}_2\text{O}$ 排放.

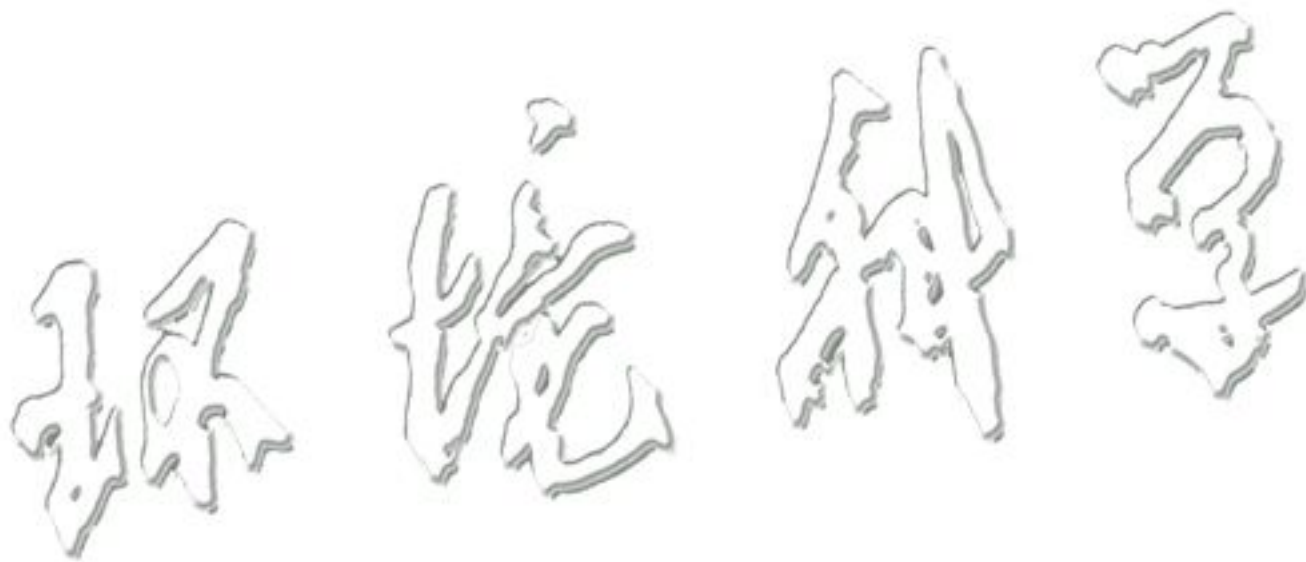
#### 4 结论

本研究表明,生物质炭增加了稻田休闲季土壤 pH、 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 、 $\text{NO}_3^--\text{N}$  及 MBN 含量,降低了水稻季土壤 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 含量. qPCR 及 T-RFLP 分析表明,生物质炭添加增加了休闲季 *narG* 基因丰度及休闲季和水稻季 *nosZ* 基因丰度,HC 显著增加了水稻季 *nirK* 基因丰度.同时生物质炭改变了休闲季和水稻季 *narG*、*nirK* 和 *nosZ* 基因群落结构.生物质炭对反硝化功能基因丰度的影响是通过改变土壤 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 和 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 来实现的. pH 和 $\text{NO}_3^--\text{N}$ 是影响休闲季反硝化微生物群落结构的主要因子,而 $\text{NH}_4^+-\text{N}$ 则是影响水稻季反硝化微生物群落结构的主要因子.生物质炭通过改变土壤理化性质,改变了反硝化微生物的基因丰度和群落结构,进而影响 $\text{N}_2\text{O}$ 排放.

#### 参考文献:

- [1] Stocker T F, Qin D, Plattner G K, *et al.* Climate change 2013: the physical science basis[M]. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press, 2013. 159-254.
- [2] Baggs E M, Smales C L, Bateman E J. Changing pH shifts the microbial source as well as the magnitude of  $\text{N}_2\text{O}$  emission from soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2010, **46**(8): 793-805.
- [3] Braker G, Conrad R. Diversity, structure, and size of  $\text{N}_2\text{O}$ -producing microbial communities in soils—What matters for their functioning? [J]. *Advances in Applied Microbiology*, 2011, **75**: 33-70.
- [4] Philippot L, Spor A, Hénault C, *et al.* Loss in microbial diversity affects nitrogen cycling in soil[J]. *The ISME Journal*, 2013, **7**(8): 1609-1619.
- [5] Antal M J, Grønli M. The art, science, and technology of charcoal production [J]. *Industrial & Engineering Chemistry*, 2003, **42**(8): 1619-1640.
- [6] 刘玉学. 生物质炭输入对土壤氮素流失及温室气体排放特性的影响[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- [7] 刘杰云, 沈健林, 邱虎森, 等. 生物质炭添加对农田温室气体净排放的影响综述[J]. *农业环境科学学报*, 2015, **34**(2): 205-212.  
Liu J Y, Shen J L, Qiu H S, *et al.* Effects of biochar amendments on net emissions of greenhouse gases from croplands: a review[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, **34**(2): 205-212.
- [8] 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.
- [9] 吴伟祥, 孙雪, 董达, 等. 生物质炭土壤环境效应[M]. 北京: 科学出版社, 2015.
- [10] Liu J Y, Shen J L, Li Y, *et al.* Effects of biochar amendment on the net greenhouse gas emission and greenhouse gas intensity in a Chinese double rice cropping system[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, **65**: 30-39.
- [11] Liu Y, Zhu J R, Ye C Y, *et al.* Effects of biochar application on the abundance and community composition of denitrifying bacteria in a reclaimed soil from coal mining subsidence area[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **625**: 1218-1224.
- [12] Chen G H, Zhang Z R, Zhang Z Y, *et al.* Influence of biochar addition on the denitrification process and  $\text{N}_2\text{O}$  emission in Cd-contaminated soil[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2017, **228**(1): 47.
- [13] Harter J, Krause H M, Schuettler S, *et al.* Linking  $\text{N}_2\text{O}$  emissions from biochar-amended soil to the structure and function of the N-cycling microbial community[J]. *The ISME Journal*, 2014, **8**(3): 660-674.
- [14] Anderson C R, Condron L M, Clough T J, *et al.* Biochar induced soil microbial community change: implications for biogeochemical cycling of carbon, nitrogen and phosphorus[J]. *Pedobiologia*, 2011, **54**(5-6): 309-320.
- [15] Hagemann N, Harter J, Kaldamukova R, *et al.* Does soil aging affect the  $\text{N}_2\text{O}$  mitigation potential of biochar? A combined microcosm and field study [J]. *Global Change Biology Bioenergy*, 2017, **9**(5): 953-964.
- [16] Zou J W, Huang Y, Lu Y Y, *et al.* Direct emission factor for  $\text{N}_2\text{O}$  from rice-winter wheat rotation systems in southeast China [J]. *Atmospheric Environment*, 2005, **39**(26): 4755-4765.
- [17] Wu J, Joergensen R G, Pommerening B, *et al.* Measurement of soil microbial biomass C by fumigation-extraction—an automated procedure[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1990, **22**(8): 1167-1169.
- [18] Brookes P C, Landman A, Pruden G, *et al.* Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, **17**(6): 837-842.
- [19] Zheng X H, Xie B H, Liu C Y, *et al.* Quantifying net ecosystem carbon dioxide exchange of a short-plant cropland with intermittent chamber measurements[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2008, **22**(3): GB3031, doi: 10.1029/2007GB003104.
- [20] Chen Z, Liu J B, Wu M N, *et al.* Differentiated response of denitrifying communities to fertilization regime in paddy soil[J]. *Microbial Ecology*, 2012, **63**(2): 446-459.
- [21] Hallin S, Jones C M, Schlöter M, *et al.* Relationship between N-cycling communities and ecosystem functioning in a 50-year-old fertilization experiment[J]. *The ISME Journal*, 2009, **3**(5): 597-605.
- [22] Rösch 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.
- [23] Lehmann J. A handful of carbon [J]. *Nature*, 2007, **447**(7141): 143-144.
- [24] Yuan J H, Xu R K. The amelioration effects of low temperature biochar generated from nine crop residues on an acidic Ultisol [J]. *Soil Use and Management*, 2011, **27**(1): 110-115.
- [25] 袁金华, 徐仁扣. 生物质炭对酸性土壤改良作用的研究进展[J]. *土壤*, 2012, **44**(4): 541-547.  
Yuan J H, Xu R K. Research progress of amelioration effects of biochars on acid soils[J]. *Soils*, 2012, **44**(4): 541-547.
- [26] Liang B, Lehmann J, Solomon D, *et al.* Black carbon increases cation exchange capacity in soils[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2006, **70**(5): 1719-1730.
- [27] Lehmann J, Gaunt J, Rondon M. Bio-char sequestration in

- terrestrial ecosystems-a review [J]. Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change, 2006, **11**(2): 403-427.
- [28] 王月玲, 耿增超, 王强, 等. 生物炭对壤土土壤温室气体及土壤理化性质的影响[J]. 环境科学, 2016, **37**(9): 3634-3641.
- Wang Y L, Geng Z C, Wang Q, *et al.* Influence of biochar on greenhouse gases emissions and physico-chemical properties of loess soil [J]. Environmental Science, 2016, **37**(9): 3634-3641.
- [29] Yamato M, Okimori Y, Wibowo I F, *et al.* Effects of the application of charred bark of *Acacia mangium* on the yield of maize, cowpea and peanut, and soil chemical properties in south Sumatra, Indonesia[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2006, **52**(4): 489-495.
- [30] Ducey T F, Ippolito J A, Cantrell K B, *et al.* Addition of activated switchgrass biochar to an aridic subsoil increases microbial nitrogen cycling gene abundances [J]. Applied Soil Ecology, 2013, **65**: 65-72.
- [31] Harter J, Guzman-Bustamante I, Kuehfuss S, *et al.* Gas entrapment and microbial N<sub>2</sub>O reduction reduce N<sub>2</sub>O emissions from a biochar-amended sandy clay loam soil [J]. Scientific Reports, 2016, **6**: 39574, doi: 10.1038/srep39574.
- [32] Griffiths R I, Thomson B C, James P, *et al.* The bacterial biogeography of British soils [J]. Environmental Microbiology, 2011, **13**(6): 1642-1654.
- [33] Liu Q, Liu B J, Zhang Y H, *et al.* Can biochar alleviate soil compaction stress on wheat growth and mitigate soil N<sub>2</sub>O emissions? [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, **104**: 8-17.
- [34] 祁乐, 高明, 郭晓敏, 等. 生物炭施用量对紫色水稻土温室气体排放的影响[J]. 环境科学, 2018, **39**(5): 2351-2359.
- Qi L, Gao M, Guo X M, *et al.* Effects of biochar application rates on greenhouse gas emissions in the purple paddy soil [J]. Environmental Science, 2018, **39**(5): 2351-2359.



## CONTENTS

|                                                                                                                                                                   |                                                                    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Pollution Characteristics and Regional Transport of Atmospheric Particulate Matter in Beijing from October to November, 2016                                      | ZHANG Han-yu, CHENG Shui-yuan, YAO Sen, <i>et al.</i> (1999)       |
| Chemical Compositions, Mass Concentrations, and Emission Factors of Particulate Organic Matters Emitted from Catering                                             | WANG Hong-li, JING Sheng-ao, QIAO Li-ping (2010)                   |
| Size Distributions of Aerosol During the Summer at the Summit of Mountain Taishan (1534 m) in Central East China                                                  | SHEN Li-juan, WANG Hong-lei, YIN Yan, <i>et al.</i> (2019)         |
| Concentration Characteristics and Source Analysis of PM <sub>2.5</sub> During Wintertime in Zhengzhou-Xinxiang                                                    | YAN Guang-xuan, ZHANG Pu-zhen, HUANG Hai-yan, <i>et al.</i> (2027) |
| Scenario Analysis of PM <sub>2.5</sub> Concentration Targets and Milestones in China                                                                              | HE Jin-yu, YAN Li, WANG Yan-chao, <i>et al.</i> (2036)             |
| PM <sub>2.5</sub> Emission Characteristics and Estimation of Emission Reduction Potential from Typical Industrial Sources in Anyang                               | DU Xiao-shen, YAN Li, HE Jin-yu, <i>et al.</i> (2043)              |
| Emission Characteristics and List of Inorganic Elements in Fine Particles of Typical Industrial Kilns in Zhengzhou City                                           | ZHAO Qing-yan, HAN Shi-jie, ZHANG Yi-shun, <i>et al.</i> (2052)    |
| Composition and Atmospheric Reactivity of Ambient Volatile Organic Compounds(VOCs) in the Urban Area of Nanjing, China                                            | QIAO Yue-zhen, CHEN Feng, ZHAO Qiu-yue, <i>et al.</i> (2062)       |
| Formation Potential of Ozone and Secondary Organic Aerosol of VOCs from Fossil Fuel Combustion in Lanzhou City                                                    | LIU Zhen, ZHU Yu-fan, GUO Wen-kai, <i>et al.</i> (2069)            |
| Inventory and Characteristics of Biogenic Volatile Organic Compounds (BVOCs) for 12 Deciduous Fruit Trees                                                         | LI Shuang-jiang, YUAN Xiang-yang, LI Qi, <i>et al.</i> (2078)      |
| Ion Concentrations and Their Spatial Variability in Underground Water and Surface Water in Typical Terrestrial Ecosystems in China                                | HUANG Li, ZHANG Xin-yu, YUAN Guo-fu, <i>et al.</i> (2086)          |
| Status of Antibiotic Contamination and Ecological Risks Assessment of Several Typical Chinese Surface-Water Environments                                          | LIU Xi, WANG Zhi, WANG Xue-lei, <i>et al.</i> (2094)               |
| Distribution and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Water Bodies in Seven Basins of China                                                     | FAN Bo, WANG Xiao-nan, HUANG Yun, <i>et al.</i> (2101)             |
| Occurrence, Input, and Seasonal Variations of Poly- and Perfluoroalkyl Substances (PFASs) in Rivers and Drain Outlets from the Dalian Coastal Area, China         | CHEN Hong, HAN Jian-bo, ZHANG Can, <i>et al.</i> (2115)            |
| Space-time Characteristics and Environmental Significance of Stable Isotopes in Precipitation at an Arid Inland River Basin                                       | YUAN Rui-feng, LI Zong-xing, CAI Yu-qin, <i>et al.</i> (2122)      |
| Regional Evolution and Control Factors of Karst Groundwater in Liulin Spring Catchment                                                                            | HUNAG Qi-bo, QIN Xiao-qun, LIU Peng-yu, <i>et al.</i> (2132)       |
| Major Ionic Characteristics and Controlling Factors of Karst Groundwater at Xiangshui, Chongzuo                                                                   | ZHOU Jin-mei, JIANG Zhong-cheng, XU Guang-li, <i>et al.</i> (2143) |
| Analysis of Transport and Transformation Characteristics Between Dissolved Phosphorus and Particulate Phosphorus in Water of the Three Gorges Reservoir           | QIN Yan-wen, HAN Chao-nan, ZHENG Bing-hui, <i>et al.</i> (2152)    |
| Vertical Distribution Profiles and Release Potential of Mainstream Column Sediments in the Three Gorges Reservoir After Impoundment to 175 m                      | LI Rui, PAN Chan-juan, TANG Xian-qiang, <i>et al.</i> (2160)       |
| Distribution Characteristics and Influencing Factors of Phosphorus in the Dongting Lake at Different Water Periods                                                | LI Ying-jie, WANG Li-jing, LI Hong, <i>et al.</i> (2170)           |
| Effects of Exogenous Carbon Addition on Equilibrium Phosphate Concentration and Risk of Phosphorus Release from Sediments in the Shiwuli River, Chaohu Lake Basin | LI Ru-zhong, BAO Qin, DAI Yuan (2178)                              |
| Spatial Distribution of Organic Phosphorus in Sediment and Its Environmental Implication in the Upper Stream of Minjiang River                                    | XU Jian, YUAN Xu-yin, YE Hong-meng, <i>et al.</i> (2186)           |
| Nitrogen and Phosphorus Removal by Integrated Ecological Engineering Treatment System in a Small Agricultural Watershed                                           | JIANG Qian-wen, LIU Feng, PENG Ying-xiang, <i>et al.</i> (2194)    |
| Spatial Distribution and Pollution Assessment of Heavy Metals in River Sediments from Lake Taihu Basin                                                            | ZHANG Jie, GUO Xi-ya, ZENG Ye, <i>et al.</i> (2202)                |
| Temporal and Spatial Variation of Mercury in the Water of the Ruxi River Estuary, a Typical Tributary of the Three Gorges Reservoir Area                          | MA Wei-bin, CHEN Qiu-yu, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2211)        |
| Mercury Distribution Characteristics and Its Mass Balance in a Multifunctional Urban Wetland                                                                      | LIU Wei-hao, WANG Yong-min, FAN Yu-fei, <i>et al.</i> (2219)       |
| Distribution Characteristics of Mercury in Different Urban Constructed Wetlands                                                                                   | FAN Yu-fei, LIU Wei-hao, SUN Tao, <i>et al.</i> (2226)             |
| Effects of Microplastics on Antibiotic Resistance Genes in Estuarine Sediments                                                                                    | HUANG Fu-yi, YANG Kai, ZHANG Zi-xing, <i>et al.</i> (2234)         |
| Comparison and Source Apportionment of PAHs Pollution of Runoff from Roads in Suburb and Urban Areas of Shanghai                                                  | WU Jie, XIONG Li-jun, WU Jian, <i>et al.</i> (2240)                |
| Characteristics of Phytoplankton Community and Its Relationship with Environmental Factors in Different Regions of Yilong Lake, Yunnan Province, China            | WANG Zhen-fang, ZHANG Wei, YANG Li, <i>et al.</i> (2249)           |
| Algal Bloom and Mechanism of Hypoxia in the Metalimnion of the Lijiahe Reservoir During Thermal Stratification                                                    | LIU Xue-qing, HUANG Ting-lin, LI Nan, <i>et al.</i> (2258)         |
| Allelopathic Effects and Allelochemicals of <i>Myriophyllum elatinoide</i> s on <i>Microcystis aeruginosa</i> and <i>Selenastrum capricornutum</i>                | BI Ye-liang, WU Shi-min, ZHOU Si-ning, <i>et al.</i> (2265)        |
| Removal Efficiency of Trichloroacetamide by UV/Sodium Sulfite                                                                                                     | FU Zhi-xuan, GUO Ying-qing, CHU Wen-hai (2271)                     |
| Influencing Factors and Transformation Mechanism of Venlafaxine Degradation by UV                                                                                 | LÜ Juan, XU Zhi-wei, WANG Yan (2278)                               |
| Mechanism of Synergistic Adsorption of Arsenic and Cadmium by Aluminium-substituted Ferrihydrites                                                                 | HUANG Bo, GUO Zhao-hui, XIAO Xi-yuan, <i>et al.</i> (2287)         |
| Fluoride Removal Efficiency of Novel Material: Magnetite Core/Zirconia Shell Nanocomposite                                                                        | FANG Wen-can, LI Xiao-di, FANG Jing, <i>et al.</i> (2295)          |
| Impact Mechanisms of Carboxyl Group Modified Cathode on Acetate Production in Microbial Electrosynthesis Systems                                                  | QI Jia-xin, ZENG Cui-ping, LUO Hai-ping, <i>et al.</i> (2302)      |
| Partial Nitrification and Denitrification of Low C/N Ratio Sewage Based on Zoning Oxygen and Dissolved Oxygen Control                                             | WU Chun-lei, RONG Yi, LIU Xiao-peng, <i>et al.</i> (2310)          |
| Start-up Performance of Low-substrate Anaerobic Ammonium Oxidation Under Different COD Concentrations                                                             | MA Yan-hong, ZHAO Zhi-chao, AN Fang-jiao, <i>et al.</i> (2317)     |
| Partial Nitrification Fast Start-up and Stable Performance of 15°C SBBR                                                                                           | SUN Yi-qi, BIAN Wei, LI Jun, <i>et al.</i> (2326)                  |
| Effects of Long-term Poly-P Deficiency on the Metabolic Properties of <i>Accumulibacter</i> in AO-SBR System                                                      | WANG Shao-po, LI Zhu, ZHAO Le-dan, <i>et al.</i> (2333)            |
| Extracellular Polymeric Substances of ANAMMOX Granular Sludge and Its Effects on Sludge Surface Characteristics                                                   | YANG Ming-ming, LIU Zi-han, ZHOU Yang, <i>et al.</i> (2341)        |
| Treatment of Piggery Biogas Slurry by Enhanced Biological Contact Oxidation with HN-AD Bacteria                                                                   | LIU Xiang-yang, ZHANG Qian, WU Heng, <i>et al.</i> (2349)          |
| Effect of Different Temperatures on the Performance of Autotrophic Nitrogen Removal and Microbial Community from Swine Wastewater                                 | HUANG Fang-yu, DENG Liang-wei, YANG Hong-nan, <i>et al.</i> (2357) |
| Characteristics and Regional Heterogeneity of Eukaryotic Microbial Community in Wastewater Treatment Plants                                                       | QIN Wen-tao, ZHANG Bing, SUN Chen-xiang, <i>et al.</i> (2368)      |
| Effects of Wetland Reclamation on Soil Microbial Community Structure in the Sanjiang Plain                                                                        | WANG Na, GAO Jie, WEI Jing, <i>et al.</i> (2375)                   |
| Distribution Pattern and Diversity Maintenance Mechanisms of Fungal Community in Subalpine Lakes                                                                  | LIU Jin-xian, LI Cui, LUO Zheng-ming, <i>et al.</i> (2382)         |
| Influence of Biochar Amendment on Soil Denitrifying Microorganisms in Double Rice Cropping System                                                                 | LIU Jie-yun, QIU Hu-sen, WANG Cong, <i>et al.</i> (2394)           |
| Effects of Plastic Film Mulching and Nitrogen Fertilizer Application on CH <sub>4</sub> Emissions from a Vegetable Field                                          | NI Xue, JIANG Chang-sheng, CHEN Shi-jie, <i>et al.</i> (2404)      |
| Effects of Water Deficit on Greenhouse Gas Emission in Wheat Field in Different Periods                                                                           | WANG Xiao-yun, CAI Huan-jie, LI Liang, <i>et al.</i> (2413)        |
| Effects of Different Fertilization Modes on Greenhouse Gas Emission Characteristics of Paddy Fields in Hot Areas                                                  | TIAN Wei, WU Yan-zheng, TANG Shui-rong, <i>et al.</i> (2426)       |
| Effects of Cyclical Temperature Fluctuations on Organic Carbon Mineralization in Purple Soil                                                                      | ZENG Man-man, CI En, FAN Jing-jing, <i>et al.</i> (2435)           |
| Cd Content Characteristics and Ecological Risk Assessment of Paddy Soil in High Cadmium Anomaly Area of Guangxi                                                   | SONG Bo, WANG Fo-peng, ZHOU Lang, <i>et al.</i> (2443)             |
| Remediation Potential of <i>Ageratum conyzoides</i> L. on Cadmium Contaminated Farmland                                                                           | ZHANG Yun-xia, SONG Bo, BIN Juan, <i>et al.</i> (2453)             |
| Evaluation of the Potential Agricultural Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon Contaminated Soil by Planting <i>Lactuca sativa</i> L.                          | JIAO Hai-hua, GUO Jia-jia, ZHANG Jing-min, <i>et al.</i> (2460)    |
| Impacts of Land Use and Landscape Patterns on Heavy Metal Accumulation in Soil                                                                                    | SHU Xin, LI Yan, LI Feng, <i>et al.</i> (2471)                     |
| Pollution Characteristics and Evaluation of Heavy Metal Pollution in Surface Soil Around a Municipal Solid Waste Incineration Power Plant                         | LÜ Zhan-lu, ZHANG Jin-liang, LU Shao-you, <i>et al.</i> (2483)     |