

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第33卷 第4期

Vol.33 No.4

2012

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

碳同位素比技术定量估算城市大气 CO ₂ 的来源	刘卫, 位楠楠, 王广华, 姚剑, 曾友石, 范雪波, 耿彦红, 李燕 (1041)
广州大气降水中稳定同位素对 2008 年初华南地区冰雪灾害期间水汽来源的反映	廖聪云, 钟巍, 马巧红, 薛积彬, 尹焕玲, 龙昆 (1050)
北京雾霾天气期间气溶胶光学特性	于兴娜, 李新妹, 登增然登, 德庆央宗, 袁帅 (1057)
白马泉风景区夏季大气 PM _{2.5} 中二次有机物的初步研究	代东决, 李黎, 刘子芳, 赵敏, 冯加良, 赖玮, 曾燕梅, 周宇, 刘露云, 邓仕槐 (1063)
机动车尾气排放 VOCs 源成分谱及其大气反应活性	乔月珍, 王红丽, 黄成, 陈长虹, 苏雷燕, 周敏, 徐骅, 张钢锋, 陈宜然, 李莉, 陈明华, 黄海英 (1071)
法国梧桐叶片氮含量及氮同位素对城市大气湿沉降氮的响应研究	王燕丽, 肖化云, 肖红伟 (1080)
胶州湾及邻近海域表层海水中一氧化氮浓度分布及其影响因素探讨	薛超, 刘春颖, 杨桂朋, 祝陈坚, 张洪海 (1086)
基于不确定性分析的太湖水体多环芳烃的生态风险评价	郭广慧, 吴丰昌, 何宏平, 冯承莲, 张瑞卿, 李会仙 (1091)
流域水质时空分布特征及其影响因素初析	黄金良, 黄亚玲, 李青生, 周增荣, 冯媛, 张祯宇 (1098)
潮白河周丛生物群落元素组成与水质变化的生态计量学关系研究	崔经国, 单保庆, 王帅 (1108)
春季盘溪水质日变化规律及水质评价	张千千, 王效科, 郝丽岭, 逯非, 欧阳志云, 侯培强 (1114)
西南喀斯特流域风化作用季节性变化研究	肖琼, 沈立成, 杨雷, 伍坤宇, 陈展图 (1122)
三峡水库开县消落区水域冬季蓄水期间藻类群落结构与水质评价	郭劲松, 谢丹, 李哲, 陈园, 孙志禹, 陈永柏, 龙曼 (1129)
淀山湖水华高发期浮游植物群落变化特征研究	徐春燕, 杨洁, 马明睿, 胡雪芹, 由文辉 (1136)
三峡库区典型消落带草本植物氮磷养分浸泡释放实验	王建超, 朱波, 汪涛, 易礼军 (1144)
沂蒙山区典型小流域特殊降雨的磷素输出特征	李振伟, 于兴修, 刘前进, 井光花 (1152)
合肥城区地表灰尘氮磷形态分布及生物有效性	李如忠, 周爱佳, 童芳, 李峰, 钱家忠 (1159)
鹤地水库沉积物营养盐及重金属分布和污染特征分析	张华俊, 陈修康, 韩博平, 罗勇, 杨浩文, 曾艳, 陈敬安 (1167)
三门峡库区河流湿地沉积物重金属赋存形态和风险评价	敖亮, 单保庆, 张洪, 唐文忠 (1176)
黄河三角洲滨海湿地表层沉积物重金属区域分布及生态风险评价	刘志杰, 李培英, 张晓龙, 李萍, 朱龙海 (1182)
竺山湾重金属污染底泥环保疏浚深度的推算	姜霞, 王雯雯, 王书航, 金相灿 (1189)
雷州近海、流沙湾和深圳湾沉积物 PAHs 污染特征分析	赵利容, 孙省利, 柯盛 (1198)
中国与印度典型城市道路街尘中多环芳烃与黑碳的对比研究	潘苏红, 张千, 孙亚莉, 解启来 (1204)
三江平原典型灌区井灌地下水中铁的随水迁移特征	邹元春, 于晓菲, 霍莉莉, 吕宪国, 姜明 (1209)
海水淡化水在既有管网输配的铁释放控制研究	田一梅, 刘扬, 赵鹏, 单金林, 杨所印, 刘伟 (1216)
新生态铁的混凝作用探索	杨雪, 张景成, 关小红 (1221)
饮用水中甲羟孕酮的臭氧氧化降解研究	岳婵媛, 缪恒锋, 任洪艳, 阮文权 (1227)
核壳式磁性碳纳米吸附剂的制备及其对水环境中金霉素的吸附研究	王懿萱, 张娣, 牛红云, 孟昭福, 蔡亚岐 (1234)
络合-超滤耦合工艺去除水中镍离子的研究	秦妹, 邵嘉慧, 何义亮, 李雯玺 (1241)
赤铁矿光助类 Fenton 降解有毒有机污染物	张钰, 顾彦, 杨慧, 何燕, 李瑞萍, 黄应平, 张爱清 (1247)
掺氮 Ta ₂ O ₅ 诱发可见光-类 Fenton 体系降解阿特拉津研究	赵璐, 邓一荣, 杜瑛珣, 傅翔 (1252)
O ₃ /H ₂ O ₂ 降解水中扑灭通效能研究	李绍峰, 孙楚 (1260)
Pr-N 共掺杂 TiO ₂ 光电催化降解孔雀石绿动力学	沙爽, 周少奇, 张小娜, 周晓 (1267)
铜陵相思谷尾矿用于处理酸性矿山排水的实验研究	张楠, 陈天虎, 周跃飞, 黎少杰, 金杰, 王延明 (1272)
聚合铝铁对 A ² /O 系统 EPS 及生物絮凝性能的影响	温沁雪, 刘爱翠, 陈志强, 施汉昌, 吕炳南 (1278)
温度对污水脱氮系统污染物去除效果及氧化亚氮释放的影响	张婷婷, 张建, 杨芳, 谢慧君, 胡振, 李一冉 (1283)
温度对厌氧氨氧化反应器脱氮效能稳定性的影响	李祥, 黄勇, 郑宇慧, 袁怡, 李大鹏, 潘杨, 张春蕾 (1288)
好氧颗粒污泥处理制糖工业废水厌氧出水的除磷特性研究	王硕, 于水利, 时文歆, 暴瑞玲, 衣雪松, 李建政 (1293)
除磷颗粒污泥系统中不同粒径颗粒的理化特性分析	李志华, 张玉蓉, 杨帆, 李胜, 姬晓琴 (1299)
利用氧化亚氮还原酶基因 (nosZ) 评价人工湿地系统中的反硝化菌	王晓君, 陈少华, 张兆基, 肖俊超 (1306)
紫外诱变法提高好氧反硝化菌降解性能的研究	于佳佳, 陈浚, 杨宣, 陈建孟 (1313)
1 株异养硝化菌胞外聚合物的研究	陈哲, 张斌, 湛志强, 邱志刚, 郭迎庆, 李君文, 王景峰 (1318)
氨氮对稀有鮕鲫胚胎及卵黄囊期仔鱼的毒性效应研究	王志坚, 鲁增辉, 石萍 (1323)
多年蔬菜连作对土壤氨氧化微生物群落组成的影响	孟德龙, 杨扬, 伍延正, 吴敏娜, 秦红灵, 朱亦君, 魏文学 (1331)
生物质炭施用对土壤中氯虫苯甲酰胺吸附及消解行为的影响	王廷廷, 余向阳, 沈燕, 张超兰, 刘贤进 (1339)
水稻光合同化碳向土壤有机碳库输入的定量研究: ¹⁴ C连续标记法	聂三安, 周萍, 葛体达, 童成立, 肖和艾, 吴金水, 张杨珠 (1346)
油田污染土壤残油组成与特征参数分析	王坚, 张旭, 李广贺 (1352)
挥发性氯代烃在湿润土壤中的平衡吸附研究	孟凡勇, 刘锐, 小林刚, 万梅, 余素林, 陈吕军 (1361)
田间土壤外源铜镍在小麦中的累积及其毒害研究	黄锦孙, 韦东普, 郭雪雁, 马义兵 (1369)
中国磷消费结构的变化特征及其对环境磷负荷的影响	马敦超, 胡山鹰, 陈定江, 李有润 (1376)
基于 3MRA 模型的填埋场安全填埋废物污染物阈值评估方法与应用研究	袁英, 席北斗, 何小松, 魏自民, 李鸣晓, 姜永海, 苏婧, 安达 (1383)
填埋垃圾初始含水率对渗滤液产量的影响及修正渗滤液产量计算公式	兰吉武, 詹良通, 李育超, 陈云敏 (1389)
生物反应器填埋场中邻苯二甲酸二丁酯的迁移转化	方程冉, 龙於洋, 沈东升 (1397)
岩溶区峰丛洼地植被指数的克里格分析	杨奇勇, 蒋忠诚, 马祖陆, 曹建华, 罗为群, 李文军, 段晓芳 (1404)
《环境科学》征订启事 (1062) 《环境科学》征稿简则 (1107) 信息 (1135, 1215, 1396)	

多年蔬菜连作对土壤氨氧化微生物群落组成的影响

孟德龙^{1,2,3}, 杨扬^{1,2,3}, 伍延正^{1,2,3}, 吴敏娜^{1,2,4}, 秦红灵^{1,2}, 朱亦君^{1,2}, 魏文学^{1,2*}

(1. 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; 2. 中国科学院桃源农业生态试验站, 桃源 415700; 3. 中国科学院研究生院, 北京 100049; 4. 新乡医学院, 新乡 450003)

摘要: 为揭示农业生产中长期大量施用化学肥料对土壤硝化过程微生物种群的影响及其与土壤硝化能力的偶联关系, 本研究通过在长沙黄兴蔬菜基地采集长期连作蔬菜(20 a以上, VL)和短期蔬菜种植地(2 a左右, VS)表层土壤(0~20 cm), 利用末端限制性片段多态性(T-RFLP)和实时定量PCR(Q-PCR)等手段系统研究了蔬菜连作对氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria, AOB)和氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA)的组成和丰度的影响及其与土壤硝化势的偶联关系。结果表明, 长期蔬菜连作显著使得土壤中AOB *amoA* 的组成趋于单一, 同时也影响了土壤中AOA *amoA* 的群落组成; RDA分析结果表明, 影响AOB *amoA* 群落结构的主要土壤因素为土壤pH以及Olsen-P的含量。土壤中AOA *amoA* 基因拷贝数明显高于AOB, 平均为细菌丰度的6倍, 但土壤硝化势(PNF)与土壤中AOB *amoA* 基因丰度成显著的正相关, 而与土壤中AOA *amoA* 基因丰度没有显著的相关性。尽管多年蔬菜连作对AOB和AOA丰度的影响还不清楚, 却使得AOB优势种群富集, 土壤硝化能力增强。

关键词: 蔬菜连作; 硝化势; AOA和AOB群落组成; T-RFLP; Q-PCR; *amoA* 基因

中图分类号: X171.3; X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2012)04-1331-08

Effects of Continuous Cropping of Vegetables on Ammonia Oxidizers Community Structure

MENG De-long^{1,2,3}, YANG Yang^{1,2,3}, WU Yan-zheng^{1,2,3}, WU Min-na^{1,2,4}, QIN Hong-ling^{1,2}, ZHU Yi-jun^{1,2}, WEI Wen-xue^{1,2}

(1. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 2. Taoyuan Station of Agro-ecology Research, Chinese Academy of Sciences, Taoyuan 415700, China; 3. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 4. Xinxiang Medical University, Xinxiang 450003, China)

Abstract: Investigations were conducted on the effects of intensive application of chemical fertilizers in crop production on soil nitrifier communities and the relationship between nitrifier communities and soil nitrification ability. Two series of vegetable soils were selected from Huangxing, Changsha, reflecting continuous vegetable cropping with about 20 years and new vegetable field with only about 2 years vegetable growing history. In each series five independent topsoils (0-20 cm) were sampled and each soil was a mixture of 10 cores randomly taken in the same field. Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) and quantity PCR (Q-PCR) were used to determine the composition and abundance of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and ammonia-oxidizing archaea (AOA) communities. Results indicated that long-term and continuous vegetable cropping obviously changed the compositions of both AOB and AOA *amoA* gene, soil pH and Olsen-P content were the dominant factors affecting the composition of AOB *amoA*. In the vegetable soils, although the copy number of AOA *amoA* gene was about 5 times higher than AOB *amoA* gene, no significant correlation was detected between AOA *amoA* gene abundance and soil nitrification rate. It was not sure whether long-term and continuous vegetable cropping could shift the abundance of AOB and AOA, but it resulted in the enrichment of some dominant AOB species and increase of soil nitrification potential (PNF).

Key words: continuous cropping of vegetables; nitrification potential (PNF); AOA and AOB community structure; T-RFLP; Q-PCR; *amoA* gene

我国的蔬菜种植面积达1 600多万 km², 约占世界蔬菜种植面积的35%, 在农业生产中占重要地位^[1]。然而, 蔬菜生产中普遍存在不合理施肥的现象, 单位面积肥料施用量一般是其它主要农作物的数倍。大量化肥施用导致氮素在蔬菜和土壤中的残留量高, 一方面造成了蔬菜硝酸盐含量超标和蔬菜品质下降^[2,3], 另一方面也造成了温室气体(N₂O)

排放和NO₃⁻淋失等环境污染问题。近年来, 菜地硝酸盐的淋失和污染问题受到广泛关注。

收稿日期: 2011-05-25; 修订日期: 2011-09-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(40901125, 41071181); 中国科学院创新团队项目(KZCX2-YW-T07)

作者简介: 孟德龙(1986~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤分子生态, E-mail: mengdelong1214@126.com

* 通讯联系人, E-mail: wenxuewei@isa.ac.cn

土壤中硝酸盐主要是通过硝化作用产生. 硝化过程是土壤氮素循环的重要步骤^[4], 主要包括氨氧化和硝化 2 个阶段, 其中氨氧化过程是硝化作用的第一步反应, 也是硝化作用的限速环节, 因而受到了广泛的关注并成为研究热点^[5]. 在氨氧化过程中, 由 *amoA* 基因编码的氨单加氧酶 (AMO) 的 α 亚基催化 NH_3 到 NH_2OH 的反应^[6]. 在土壤中, 含有 *amoA* 基因的微生物主要包括氨氧化古菌 (AOA) 和氨氧化细菌 (AOB)^[7,8], 且氨氧化古菌比氨氧化细菌有着更高的丰度^[9~11]. 然而二者在氨氧化过程中的作用和分工还不清楚. 有研究表明在低 pH、贫瘠土壤中, AOA 对氨氧化过程有很大的贡献^[12,13]. 然而有学者认为, 一般农田土壤^[14] 和草地土壤^[15] 中主导氨氧化过程的是 AOB 而不是 AOA.

不同的农业管理措施可以导致氨氧化微生物多样性和丰度的变化^[16]. Chu 等^[17] 对 *amoA* 基因 PCR-DGGE 分析发现, 在沙壤土中施用氮肥使 AOB 群落多样性比不施氮肥高; 但陈春兰等^[18] 的研究表明, 长期使用氮肥降低了水稻土壤中 AOB *amoA* 基因的多样性, 同时显著的改变了其群落组成, 增加了优势种群的数量; He 等^[10] 研究也发现长期不同施肥制度下中国南方丘陵土壤中 AOA 和 AOB 的组成和丰度发生了明显的变异.

蔬菜土壤不同于普通大田作物土壤, 其种植强

度高、化肥投入量大以及氮肥利用效率低. 氮肥在长期种植蔬菜的土壤中的转化有可能不同于大田作物土壤, 但在这方面的研究较少. 对蔬菜土壤氮素转化过程中功能微生物作用机制缺乏了解.

本研究通过系统采集河流冲积物发育的种植年限不同的蔬菜土壤样品, 利用分子生物学技术分析土壤硝化功能微生物种群多样性、群落组成的变化与硝化作用的偶联关系, 以期对蔬菜土氮素的调控提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 土壤样品采集

土壤样品均采自湖南省长沙市黄兴镇蔬菜基地, 属浏阳河冲积物发育的壤质土. 在对蔬菜基地农户进行蔬菜种植历史和蔬菜生产管理调查的基础上, 分别选取连续种植蔬菜 20 a 以上的老菜地 (VL) 和种植蔬菜 2~3 a 的新菜地 (VS) 土壤为供试土壤, 每种类型分别采集 5 个土样, 每个土壤样品采自独立田块, 按“S”型取样法采集表层 0~20 cm 的土柱 10 个, 然后充分混匀, 拣出石块、动植物残体, 一部分立即液氮速冻, 并且保存于 -70°C , 用于分子生物学分析; 另一部分过 2 mm 筛, 保存于 4°C , 用于常规理化性质分析和硝化势测量. 土壤样品信息见表 1.

表 1 采样点具体信息¹⁾

Table 1 Information of sample sites

编号 ²⁾	GPS 定位	当季作物	种植年限和管理情况
VL1	N28°09'06.6" E113°04'24.7"	莴笋	蔬菜种植历史超过 20 a, 先前主要施用普通农家肥料, 后来施用各种化肥. 近一个月无施肥, 农药管理
VL2	N28°09'08.8" E113°04'24.7"	莴笋	蔬菜种植历史超过 20 a, 主要施用复合肥, 磷肥, 尿素及少量猪粪. 近一个月无施肥, 农药管理
VL3	N28°09'04.5" E113°04'25.8"	莴笋	蔬菜种植历史超过 20 a, 近年来主要施用化学肥料; 近一个月无施肥, 农药管理
VL4	N28°09'04.1" E113°04'23.3"	莴笋	蔬菜种植历史超过 20 a, 近年来主要施用化学肥料; 近一个月无施肥, 农药管理
VL5	N28°09'04.0" E113°04'19.8"	莴笋	30 a 蔬菜种植历史, 近年来主要施用化学肥料; 近一个月无施肥, 农药管理
VS1	N28°07'26.3" E113°05'01.4"	红菜	蔬菜种植 1 a, 只施粪肥; 近一个月无施肥, 农药管理
VS2	N28°07'31.9" E113°05'03.9"	莴笋	2 季水稻, 一季菜地. 8 月中旬施肥: 碳铵、磷肥、尿素; 猪粪若干. 近一个月无施肥, 农药管理
VS3	N28°07'34.3" E113°05'02.6"	白菜苔	年前由水稻地改种蔬菜, 主要施用各种化肥. 近一个月无施肥, 农药管理
VS4	N28°07'48.1" E113°04'50.3"	莴笋	已种植蔬菜 2 a, 喷除草剂 4~5 d, 在公路下. 肥料: 复合肥、碳铵、钙镁磷肥、猪粪
VS5	N28°07'45.7" E113°04'53.9"	生菜	之前种植水稻, 2008 年开始种菜. 主要施用复合肥, 磷肥. 8 月下旬施肥

1) 采样时间为 2009 年 10 月 30 日; 2) VL1~VL5 代表连续 20 a 以上种植蔬菜地 5 个独立样区, VS1~VS5 代表种植蔬菜 2~3 a 的新蔬菜地的 5 个独立样区

1.2 土壤基本理化性质

实验室分析土壤样品各项理化指标,包括:有机质、硝态氮、铵态氮、有效磷、全磷、速效钾、全钾、pH、全碳、全氮、机械组成.

1.3 硝化势(PNF)

土壤样品采集回实验室后,立即进行硝化势的测定.采用好气培养法^[19],并根据实验条件稍作修改,具体如下.

取新鲜土壤充分混匀,并过 2 mm 筛,称取与 550 g 烘干土样等重的鲜土.按 100 mg·kg⁻¹烘干土的量向土样中加入 1% 的硫酸铵,充分混匀.用双蒸水补充水分至 60% 饱和含水量.称取 200 g 土样装入 250 mL 广口瓶中,每个土样分装 3 瓶,用扎孔的锡箔纸封口,置于 25℃ 黑暗条件下培养,并定时向每个培养瓶中补充损失水分.分别于培养 0、2、4、6 d 后于每个培养瓶中取出 10 g 土壤,用 2 mol·L⁻¹ KCl 浸提,流动分析仪分析硝态氮含量.

硝化势(PNF)计算:

$$PNF = (\text{培养 6 d 后 NO}_3^- \text{-N 含量} - \text{培养前}$$

$$\text{NO}_3^- \text{-N 含量}) / \text{培养时间}$$

1.4 土壤微生物总 DNA 提取及 PCR 扩增

土壤总 DNA 提取采用 SDS-GITC-PEG8000 方法^[20],从 0.5 g 冷冻干燥土壤中提取 DNA 后用 30 μL 灭菌水溶解 DNA;用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测所提取 DNA 片段大小,并用 NanoDrop 核酸蛋白仪(ND-1000)测定 DNA 的浓度及质量.

AOB 和 AOA *amoA* 基因分别采用表 2 所示引物进行 PCR 扩增.

50 μL PCR 扩增体系包括:2 × Power Taq PCR MasterMix (百泰克,中国) 25 μL;上下游引物(10 μmol·L⁻¹)各 3 μL;DNA 模板 80 ng;最后加灭菌双蒸水至 50 μL.

AOB *amoA* 基因 PCR 反应条件如下:95℃,预变性 5 min;40 个循环为 94℃ 45 s,60℃ 1 min,72℃ 1 min;最后在 72℃ 下延伸 10 min.

AOA *amoA* 基因扩增条件为:94℃ 预变性 5 min;3 个循环包括 94℃ 45 s,60℃ 45 s,72℃ 45 s;35 个循环包括 94℃ 50 s,57℃ 50 s,72℃ 50 s;最后 72℃ 延伸 10 min.

表 2 *amoA* 基因扩增引物

Table 2 Primers used for *amoA* gene

引物名称 ¹⁾	引物序列 ²⁾ (5'-3')	微生物	片段长度/bp	文献
<i>amoA</i> -1F	GGGG TTT CTA CTG GTG GT	AOB	491	[21]
<i>amoA</i> -2R	CCCC TCK GSA AAGCCTTCTTC			
<i>arch-amoA</i> -23F ³⁾	ATG GTC TGG CTW AGACG	AOA	594	[22]
<i>arch-amoA</i> -616R	GCC ATC CAT CTG TAT GTCCA			

1) 上下游引物分别标注为 F 和 R; 2) S = C or G; W = A or T; 3) 用于 PCR T-RFLP 实验的上游引物都用 6-FAM 荧光标记.

1.5 末端限制性酶切片段多态性 (T-RFLP)

将每个样品按上述同样条件各扩增 3 管,切胶后,用琼脂糖凝胶电泳柱式回收纯化试剂盒(天根,中国)进行纯化回收.产物回收后,对 AOA 和 AOB *amoA* 基因扩增产物用内切酶 *Taq* I (TaKaRa,日本)进行酶切反应^[23].反应(体系和条件)按各内切酶说明书进行.酶切产物送至 Sangni 公司(上海,中国)进行 T-RFLP 分析.

1.6 实时荧光定量 PCR (Q-PCR)

标准曲线的构建方法参照文献[24]的方法,首先构建克隆文库,然后选择阳性克隆子,从中吸取 10 μL 菌液于 1 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,测量浓度,并换算成拷贝数.10 倍梯度稀释作为标准曲线的模板.分别构建 AOB 和 AOA *amoA* 基因的质粒标准曲线,标准曲线的范围在 10² ~ 10⁸ 之间,稀释成浓度相差

10 倍的 6 个梯度.扩增效率通过标准曲线斜率计算.

拷贝数与 DNA 浓度的换算:

$$\text{拷贝数} (\mu\text{L}) = 6.02 \times 10^{23} \times \text{质粒浓度} (\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}) \times 10^{-9} / (\text{DNA 长度} \times 660).$$

扩增效率计算公式:

$$\text{扩增效率} = 10^{-1/\text{slope}} - 1, \text{式中 slope 为 Q-PCR 标准曲线斜率.}$$

AOA 和 AOB *amoA* 基因 Q-PCR 反应为 3 个平行,体系包括 2.5 ng 的纯化后的 DNA 模板,上下游引物各 150 nmol·L⁻¹,5 μL 2 × SYBR® Premix Ex Taq TM (TaKaRa 日本),最后用双蒸水补足 10 μL. AOA 和 AOB *amoA* 基因分别采用两步法和三步法进行 Q-PCR 扩增.具体如下.

两步法:95℃ 30 s;40 个循环包括 95℃ 5 s 和 60℃ 30 s;最后加上熔解曲线过程.

三步法: 95℃ 30 s; 40 个循环包括 95℃ 5 s, 55℃ 30 s, 72℃ 30 s; 最后加上熔解曲线过程(熔解曲线过程: 95℃ 15 s, 60℃ 15 s, 95℃ 15 s)。

1.7 数据统计分析

应用统计软件 SPSS 17.0 对数据进行 *t* 检验, 相关分析. 并且用 CANOCO 软件对 AOB 和 AOA *amoA* 基因 T-RFLP 结果进行 PCA、RDA 分析等。

2 结果与分析

2.1 样品采集和土壤基本性质

蔬菜种植年限不同, 土壤中硝态氮、有机碳、全氮、有效磷、全磷也有显著的不同(表 3). 与短期蔬菜种植相比, 长期连作蔬菜使土壤中全磷和有效磷含量分别增加了 2.16 和 1.22 倍; 而有机碳、全氮

表 3 土壤基本理化性质

Table 3 Soil physico-chemical properties

项目	硝态氮 /mg·kg ⁻¹	铵态氮 /mg·kg ⁻¹	有效磷 /mg·kg ⁻¹	全磷 /mg·kg ⁻¹	速效钾 /mg·kg ⁻¹	全钾 /g·kg ⁻¹	有机碳 /g·kg ⁻¹	全氮 /g·kg ⁻¹	pH
VL1	108.81 ± 0.70	4.72 ± 0.74	190.58 ± 1.06	2 532.85 ± 23.86	160.09 ± 1.11	17.62 ± 2.79	5.86 ± 0.75	1.47	5.92
VL2	73.91 ± 3.26	4.62 ± 0.08	167.86 ± 4.26	2 581.42 ± 48.86	107.64 ± 0.66	16.75 ± 0.01	7.96 ± 0.08	1.76	6.77
VL3	102.23 ± 1.43	13.36 ± 0.02	162.75 ± 0.41	2 316.34 ± 31.68	156.74 ± 0.68	18.68 ± 0.04	6.20 ± 0.19	2.77	5.66
VL4	96.71 ± 1.68	2.72 ± 0.47	149.67 ± 3.93	2 352.43 ± 32.03	215.50 ± 0.48	16.71 ± 0.31	7.35 ± 0.70	1.69	6.98
VL5	114.09 ± 0.37	1.65 ± 0.28	225.78 ± 5.01	2 738.54 ± 74.16	211.09 ± 5.85	17.37 ± 0.69	9.26 ± 0.37	2.01	6.99
VS1	61.08 ± 0.65	3.33 ± 0.36	46.71 ± 2.20	1 057.77 ± 25.12	114.74 ± 3.62	16.77 ± 0.12	12.83 ± 0.75	2.24	5.56
VS2	99.50 ± 0.37	8.11 ± 1.21	69.99 ± 0.28	1 153.54 ± 15.50	293.00 ± 2.48	16.86 ± 0.32	10.09 ± 0.04	2.20	6.35
VS3	35.84 ± 0.22	1.93 ± 0.27	16.19 ± 0.13	721.38 ± 12.26	47.07 ± 4.11	18.84 ± 0.29	10.86 ± 0.52	2.22	5.39
VS4	108.79 ± 0.68	16.32 ± 0.98	73.30 ± 2.54	1 340.63 ± 1.74	234.88 ± 20.48	35.74 ± 0.75	9.78 ± 0.26	2.04	4.54
VS5	114.75 ± 0.37	8.98 ± 0.05	77.32 ± 1.86	1 375.58 ± 10.31	198.10 ± 2.99	18.26 ± 0.15	11.21 ± 0.15	2.16	5.85

含量则分别降低 34% 和 11%; 土壤中的硝态氮含量在长期蔬菜连作土壤中也比短期蔬菜种植土壤平均高出 15.16 mg·kg⁻¹。

2.2 硝化势 (nitrification potential, PNF)

硝化势 (nitrification potential, PNF) 表示土壤硝化的能力, 即将氨态氮 (NH₄⁺) 氧化成为硝态氮 (NO₃⁻) 的能力. 结果表明, 在高强度化肥投入条件下长期种植蔬菜的土壤硝化势 (以干土计, 下同) [25.57 ± 4.78 mg·(d·kg)⁻¹] 平均比短期蔬菜种植土壤 [15.63 ± 3.77 mg·(d·kg)⁻¹] 高出 9.94 mg·(d·kg)⁻¹ (图 1, 平均值 ± 标准误), 但在短期蔬菜种植的土壤也有例外, 如 VS2 土壤的硝化势较高。

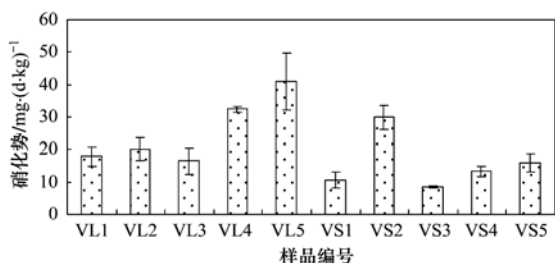


图 1 不同蔬菜地土壤的硝化势

Fig. 1 Nitrification potential (PNF) in different soil samples

2.3 *amoA* 群落组成

从 *Taq* I 酶切 AOB *amoA* 基因 T-RFLP 分析结

果[图 2(a)]可以看出, AOB 的 T-RFs 数目比较少, 且分布很不均匀. T-RFs 280 和 T-RFs 283 在不同的蔬菜土壤样品中都有较高的丰度(相对丰度均 > 10%), 二者相对丰度之和占到了 80% 以上, 其代表的类群是构成土壤 AOB 的优势微生物种群. 随种植年限的不同, 蔬菜土壤中 AOB *amoA* 基因的优势类群发生了明显的改变; T-RFs 283 在长期蔬菜种植土壤(VL)中的相对丰度要显著高于短期蔬菜种植土壤(VS), 而 T-RFs 280 则相反; 同时, 长期蔬菜种植土壤(VL) AOB *amoA* 基因种群有单一化的趋势。

对 T-RFLP 结果中的 T-RFs 进行主成分分析 (PCA), 结果如[图 2(b)]所示. 主成分 1 (PC1) 和主成分 2 (PC2) 分别解释了 40.8% 和 25.4% 的物种变量, 而且除了 VL1, 长期蔬菜种植的其余 4 个样区都与短期蔬菜种植的样区有明显的分开, 分布于 PC1 轴的正轴, 但相互之间的距离也分开较远, 说明 VL 样品相互之间 AOB *amoA* 基因组成差异较大. 而短期蔬菜种植的样区 (VS1-5) 则全部分布于 PC1 轴的副轴, 且 VS1、3、4 明显的聚集在一起, 与其它样区明显分开, 但 VS2 和 VS5 则和 VL 样区相隔较近, 说明 VS 和 VL AOB *amoA* 基因组成上有明显的差异, 且 VS1、3、4 中 AOB *amoA* 组成非常相似, 而 VS2 和 VS5 群落组成比较类似, 且与 VL 样品中 AOB *amoA* 基因组成的差异相对较小。

Taq I 酶切 AOA *amoA* 基因 T-RFLP 分析结果

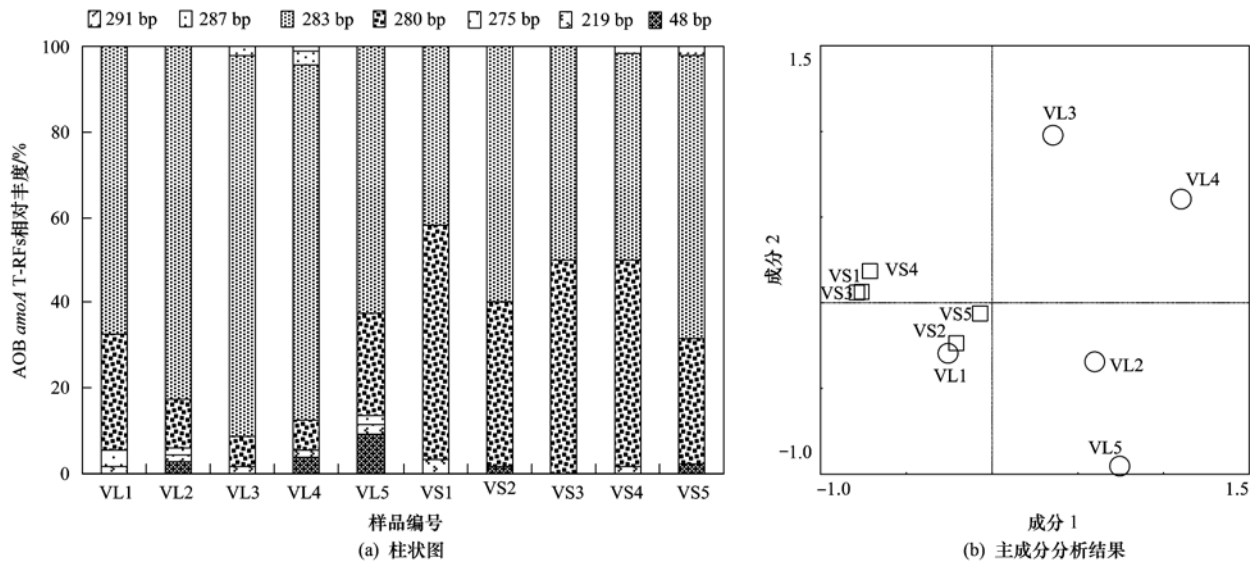


图2 AOB *amoA* 基因 T-RFLP 结果

Fig. 2 Result of AOB *amoA* gene T-RFLP

[图 3(a)]显示,AOA 的 T-RFs 数目相对于 AOB 更为丰富,AOA 的组成中没有一个特别优势的种群.用 SPSS 17.0 对所有片段相对丰度进行 *t* 检验,结果显示 T-RF59、436、447 的相对丰度在 2 种不同土壤中有显著的差异.其中 T-RF436 只出现在 VS 土壤中,T-RF59 和 447 在 VL 中有更高的丰度.

同样,对 AOA *amoA* 基因 T-RFLP 结果进行主成分分析(PCA)[图 3(b)].主成分 1 和 2 对 AOA *amoA* 基因变量的解释量分别为 44.5% 和 17.2%.长期蔬菜种植的样区(VL1-5)全部分布于 PC1 轴的负轴;而短期蔬菜种植除了 VS5 样区以外,则全部分布于 PC1 轴的正轴,VS 和 VL 在 PC1 轴上明显分开(VS5 除外),说明 VL 和 VS 土壤中 AOA *amoA* 基因的组成有显著的差异.多年连作影响了土壤中氨氧化古菌的群落组成.

2.4 *amoA* 基因丰度

用 Q-PCR 技术对 AOB 和 AOA *amoA* 基因丰度进行定量检测,AOA 和 AOB *amoA* 基因扩增效率分别为 97.29% 和 101.37%,标准曲线的 R^2 值分别为 0.994 9 和 0.996 1,测得 *amoA* 基因的拷贝数结果如图 4 所示.细菌和古菌 *amoA* 基因的丰度并不随蔬菜种植年限的改变而发生变化.但土壤中古菌 *amoA* 基因拷贝数 ($10^8 \sim 10^9$) 明显高于细菌 ($< 3.5 \times 10^8$),比值为 2~12,平均为 6 倍.而且长期高强度施肥有可能导致部分土壤古菌 *amoA* 基因拷贝数减少,有待进一步研究.

2.5 *amoA* 群落、PNF 和土壤性质之间的关系

土壤硝化势(PNF)与氨氧化细菌种群、土壤性质之间的关系如图 5 所示. RDA 分析结果表明,影响 AOB *amoA* 群落结构的主要土壤因素为土壤 pH 以及

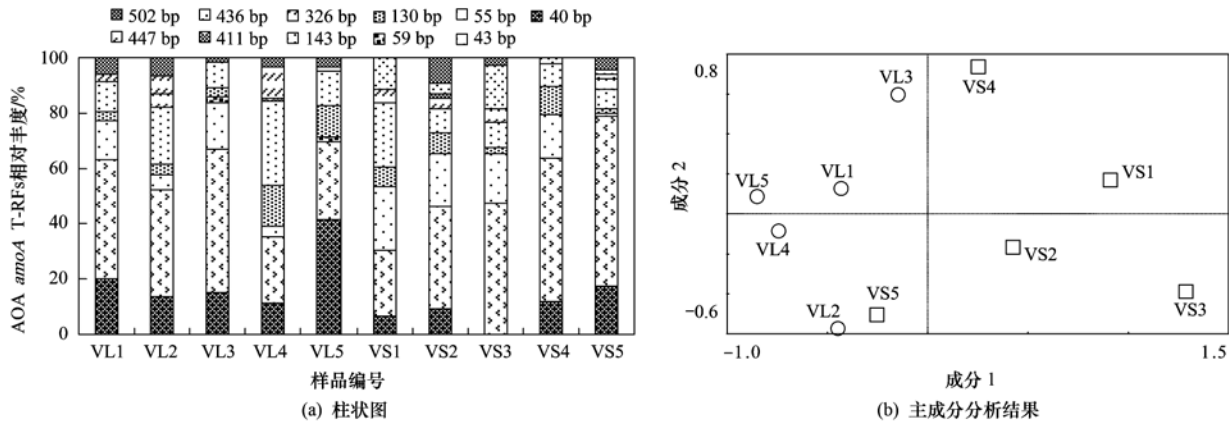
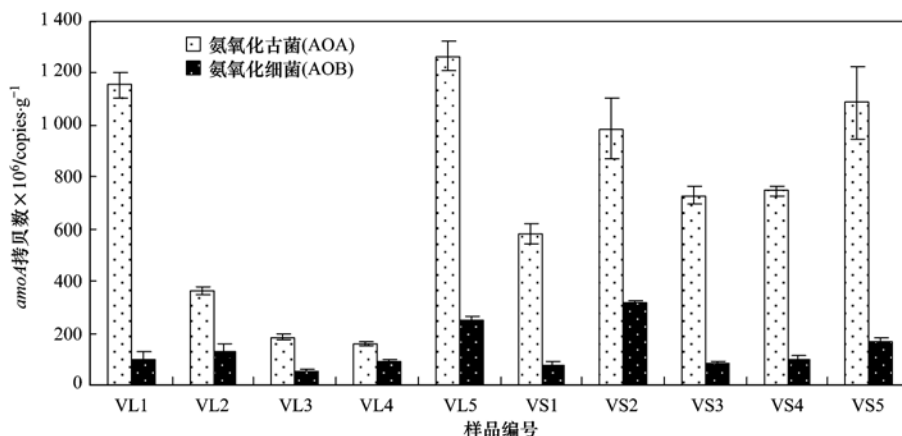
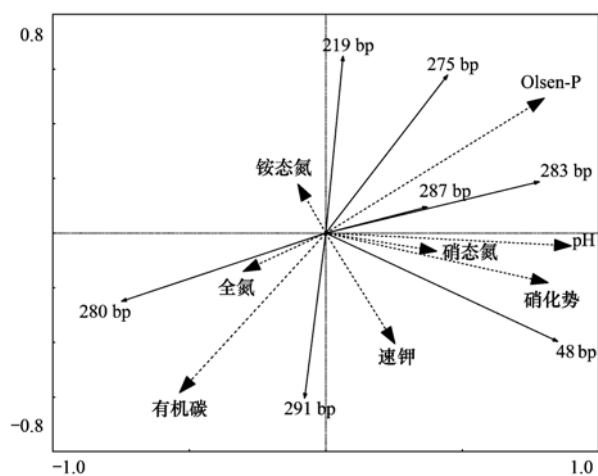


图3 AOA *amoA* 基因 T-RFLP 结果

Fig. 3 Result of AOA *amoA* gene T-RFLP

图4 *amoA* 基因拷贝数Fig. 4 The *amoA* gene copy numbers

Olsen-P 的含量,对应的相关系数分别为0.887 7和0.830 6,均已达到了显著的相关水平,而且硝化势也与土壤中 AOB *amoA* 结构有显著的相关性 ($R = 0.796 6$),同时,与硝化势有显著相关性的土壤因素还有 pH ($R = 0.805 9$). RDA 分析图还表明,随着 T-RFs 283、287、48 的丰度的增加土壤的硝化势有增加的趋势,而此时 T-RFs 280 的丰度下降. 根据 Horz 等^[23] 的报道,T-RF 283 可能属于 *Nitrosospira*.

图5 AOB *amoA* 基因 T-RFLP 结果和土壤性质 RDA 分析Fig. 5 RDA analysis of AOB *amoA* T-RFLP and soil properties

通过 SPSS 17.0 分析土壤硝化势 (PNF) 和 *amoA* 基因丰度之间相关性表明,土壤硝化势 (PNF) 与土壤中 AOB *amoA* 基因丰度成显著的正相关 ($N = 10, R^2 = 0.445$),而与土壤中 AOA *amoA* 基因丰度没有显著的相关性.

3 讨论

菜地土壤性质与蔬菜生产和管理有紧密关系. 调查结果显示,长沙地区蔬菜基地以施用化学肥料

为主,单位面积年累积施用量超过大田作物的 3 倍,土壤中有有效磷和硝酸盐大量累积,其结果可能导致土壤养分失衡和土壤肥力下降. 另一方面,在蔬菜种植中很少施用有机肥料,土壤有机质含量低也是导致土壤肥力退化的重要因素之一.

本研究发现,长期种植蔬菜土壤中硝化势明显比短期种植蔬菜土壤高[平均值分别为 25.57 和 15.63 $\text{mg} \cdot (\text{d} \cdot \text{kg})^{-1}$],虽然随机田间采集的土壤样品间存在一定的变异,长期和短期种植蔬菜土壤间硝化势的总体差异说明两类菜地土壤间的硝化过程和硝化功能微生物组成可能发生了较大的变化. T-RFLP 结果显示,长期蔬菜连作改变了土壤 AOB 的群落组成,使 AOB 组成趋向单一化,而这种 AOB 组成的演变可能是导致硝化势差异的关键驱动因素. Kowalehuk 等^[25] 指出,土壤硝化势与不同硝化微生物的活性密切相关. 在硝化能力强的沉积物中 AOB 的主要类群是 *Nitrosospira*^[26]. 本研究结果显示,长期蔬菜连作土壤中 TRF 283bp 所代表的种群 *Nitrosospira* 的相对丰度显著增加^[23],而且与硝化势的变化正相关. 由此可以推断,蔬菜种植过程中长期大量施用化学肥料导致优势种群 *Nitrosospira* 富集,使土壤硝化作用能力增强,从而加速施入土壤中的氮肥转化,其结果是土壤硝酸盐积累和氮素损失加剧.

土壤中 AOB 群落组成的改变,可能与长期施用大量无机氮磷肥引起的土壤性质改变有一定的关系. 土壤 Olsen-P 大量积累、pH 的改变可能是引起了土壤中氨氧化细菌群落结构改变的主要因素. RDA 的分析结果表明土壤中 Olsen-P 含量和 pH 显著影响了土壤中 AOB *amoA* 的群落结构. Nicol 等^[27] 通过对酸性土壤中 AOB 的群落分析,发现 pH

的改变能够导致 AOB 群落组成的变化, Purchase^[28] 的研究表明了磷的含量也能对硝化速率产生影响。

虽然 5 个长期蔬菜连作的土壤中有 3 个土壤的 AOA 丰度很低, 但这一现象是否是长期种植蔬菜引起还需要进一步验证; 而且本研究发现土壤硝化势只与 AOB *amoA* 基因丰度呈显著的正相关关系, 而与 AOA *amoA* 基因丰度没有显著的相关性, 但由于土壤间的变异较大, 这种相互关系还有待进一步确定。Di 等^[15] 指出在氮源丰富的土壤中主导氨氧化过程的是 AOB, 蔬菜土壤氮肥使用量很高, 在菜地土壤中可能是 AOB 起关键作用。

因此, 在长期高强度化肥投入背景下蔬菜连作使土壤硝化作用能力增加, 其主要驱动因子可能是 AOB 的群落组成向单一化优势种群方向演变, 使得土壤氨氧化作用强势 AOB 种群 *Nitrosospora* (T-RFs 283) 富集, 从而加速施入土壤的氮肥转化, 降低氮肥利用效率。

4 结论

长期蔬菜连作使土壤硝化势增强, 土壤 AOB 群落组成发生改变, 优势 AOB 类群 *Nitrosospora* (T-RFs 283) 富集。引起 AOB 群落发生改变的因素可能是长期高强度化学肥料施入导致土壤 pH 改变和有效磷的积累。

参考文献:

- [1] 冯红贤, 杨暹, 李欣允, 等. 蔬菜连作对土壤生物化学性质的影响 [J]. 长江蔬菜, 2004, (11): 40-43.
- [2] 林琳, 王波, 刘朝霞, 等. 西安市郊区蔬菜硝酸盐污染现状评价 [J]. 陕西农药科学, 2003, (3): 39-40.
- [3] 郝永娟, 刘春艳, 王勇, 等. 设施蔬菜连作障碍的研究现状及综合调控 [J]. 中国农学通讯, 2007, 23(8): 396-398.
- [4] Kowalchuk G A, Stephen J R. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology [J]. Annual Reviews in Microbiology, 2001, 55(1): 485-529.
- [5] 董莲华, 杨金水, 袁红莉. 氨氧化细菌的分子生态学研究进展 [J]. 应用生态学报, 2008, 19(6): 1381-1388.
- [6] Mendun T A, Hirsch P R. Changes in the population structure of β -group autotrophic ammonia oxidising bacteria in arable soils in response to agricultural practice [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(10): 1479-1485.
- [7] Venter J C, Remington K, Heidelberg J F, et al. Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea [J]. Science, 2004, 304(5667): 66-74.
- [8] Treusch A H, Leininger S, Kletzin A, et al. Novel genes for nitrite reductase and amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling [J]. Environmental Microbiology, 2005, 7(12): 1985-1995.
- [9] Leininger S, Urlich T, Schlöter M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils [J]. Nature, 2006, 442(7104): 806-809.
- [10] He J Z, Shen J P, Zhang L M, et al. Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices [J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(9): 2364-2374.
- [11] Adair K L, Schwartz E. Evidence that ammonia-oxidizing archaea are more abundant than ammonia-oxidizing bacteria in semiarid soils of Northern Arizona, USA [J]. Microbial Ecology, 2008, 56(3): 420-426.
- [12] Valentine D L. Adaptations to energy stress dictate the ecology and evolution of the Archaea [J]. Nature Reviews Microbiology, 2007, 5(4): 316-323.
- [13] Erguder T H, Boon N, Wittebolle L, et al. Environmental factors shaping the ecological niches of ammonia-oxidizing archaea [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2009, 33(5): 855-869.
- [14] Jia Z J, Conrad R. Bacteria rather than Archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil [J]. Environmental Microbiology, 2009, 11(7): 1658-1671.
- [15] Di H J, Cameron K C, Shen J P, et al. Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils [J]. Nature Geoscience, 2009, 2(9): 621-624.
- [16] 蔡祖聪, 赵维. 土地利用方式对湿润亚热带土壤硝化作用的影响 [J]. 土壤学报, 2009, 46(5): 796-801.
- [17] Chu H Y, Fujii T, Morimoto S, et al. Community structure of ammonia-oxidizing bacteria under long-term application of mineral fertilizer and organic manure in a sandy loam soil [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(2): 485-491.
- [18] 陈春兰, 吴敏娜, 魏文学. 长期施用氮肥对土壤细菌硝化基因多样性及组成的影响 [J]. 环境科学, 2011, 32(5): 1489-1496.
- [19] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法 [M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999. 256-262.
- [20] Chen Z, Luo X Q, Hu R G, et al. Impact of long-term fertilization on the composition of denitrifier communities based on nitrite reductase analyses in a paddy soil [J]. Microbial Ecology, 2010, 60(4): 850-861.
- [21] Rothauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(12): 4704-4712.
- [22] Sahan E, Muyzer G. Diversity and spatio-temporal distribution of ammonia-oxidizing Archaea and Bacteria in sediments of the Westerschelde estuary [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2008, 64(2): 175-186.
- [23] Horz H P, Rothauwe J H, Lukow T, et al. Identification of major subgroups of ammonia-oxidizing bacteria in environmental samples by T-RFLP analysis of *amoA* PCR products [J]. Journal of Microbiological Methods, 2000, 39(3): 197-204.
- [24] Kuo D H W, Robinson K G, Layton A C, et al. Real-time PCR

- quantification of ammonia-oxidizing bacteria (AOB): solids retention time (SRT) impacts during activated sludge treatment of industrial wastewater [J]. *Environmental Engineering Science*, 2006, **23**(3): 507-520.
- [25] Kowalehuk G A, Stienstra A W, Heilig G H J, *et al.* Changes in the community structure of ammonia-oxidizing bacteria during secondary succession of calcareous grasslands [J]. *Environmental Microbiology*, 2000, **2**(1): 99-110.
- [26] Shen W S, Liu X G, Gao N, *et al.* Land use intensification affects soil microbial populations, functional diversity and related suppressiveness of cucumber Fusarium wilt in China's Yangtze River Delta [J]. *Plant Soil*, 2008, **306**(1-2): 117-127.
- [27] Nicol G W, Leininger S, Schleper C, *et al.* The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria [J]. *Environmental Microbiology*, 2008, **10**(11): 2966-2978.
- [28] Purchase B S. The influence of phosphate deficiency on nitrification [J]. *Plant and Soil*, 1974, **41**(3): 541-547.

CONTENTS

Quantitative Estimation Source of Urban Atmospheric CO ₂ by Carbon Isotope Composition	LIU Wei, WEI Nan-nan, WANG Guang-hua, <i>et al.</i> (1041)
Moisture Sources of Guangzhou During the Freezing Disaster Period in 2008 Indicated by the Stable Isotopes of Precipitation	LIAO Cong-yun, ZHONG Wei, MA Qiao-hong, <i>et al.</i> (1050)
Optical Properties of Aerosol During Haze-Fog Episodes in Beijing	YU Xing-na, LI Xin-mei, DENG Zen-grandeng, <i>et al.</i> (1057)
Secondary Organic Tracers in Summer PM _{2.5} Aerosols from Baima Spring Scenic Area, Yaan, Sichuan Province	DAI Dong-jue, LI Li, LIU Zi-fang, <i>et al.</i> (1063)
Source Profile and Chemical Reactivity of Volatile Organic Compounds from Vehicle Exhaust	QIAO Yue-zhen, WANG Hong-li, HUANG Cheng, <i>et al.</i> (1071)
<i>Platanus orientalis</i> Foliar N% and δ ¹⁵ N Responses to Nitrogen of Atmospheric Wet Deposition in Urban Area	WANG Yan-li, XIAO Hua-yun, XIAO Hong-wei (1080)
Distribution and Controlling Factors of Nitric Oxide Concentrations in Surface Seawater of Jiaozhou Bay and Adjacent Waters	XUE Chao, LIU Chun-ying, YANG Gui-peng, <i>et al.</i> (1086)
Uncertainty Characterization Approaches for Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbon in Taihu Lake	GUO Guang-hui, WU Feng-chang, HE Hong-ping, <i>et al.</i> (1091)
Preliminary Analysis of Spatiotemporal Variation of Water Quality and Its Influencing Factors in the Jiulong River Watershed	HUANG Jin-liang, HUANG Ya-ling, LI Qing-sheng, <i>et al.</i> (1098)
Ecological Stoichiometric Relationships of Periphyton Community Elemental Composition and Variations of Water Quality in the Chaobai River	 CUI Jing-guo, SHAN Bao-qing, WANG Shuai (1108)
Diurnal Variation and Evaluation of Water Quality of Panxi River in Spring	ZHANG Qian-qian, WANG Xiao-ke, HAO Li-ling, <i>et al.</i> (1114)
Weathering Seasonal Variations in Karst Valley in Southwest China	XIAO Qiong, SHEN Li-cheng, YANG Lei, <i>et al.</i> (1122)
Algal Community Structure and Water Quality Assessment on Drawdown Area of Kaixian Waters in Three Gorges Reservoir During Winter Storage Period	 GUO Jing-song, XIE Dan, LI Zhe, <i>et al.</i> (1129)
Characteristics of Phytoplankton Community Changes in Dianshan Lake During Peak Period of Algal Blooms	XU Chun-yan, YANG Jie, MA Ming-rui, <i>et al.</i> (1136)
Nitrogen and Phosphorus Release from Herbaceous Vegetation Under Simulated Inundation Experiment of Water-Level Fluctuation Zone in the Three Gorges Reservoir Area	 WANG Jian-chao, ZHU Bo, WANG Tao, <i>et al.</i> (1144)
Output Characteristics of Non-point Phosphorus from a Typical Small Watershed in Yimeng Mountainous Area Under the Special Rainfall	LI Zhen-wei, YU Xing-xiu, LIU Qian-jin, <i>et al.</i> (1152)
Distribution and Bioavailability of Nitrogen and Phosphorus Species in the Urban Dusts from Hefei City	LI Ru-zhong, ZHOU Ai-jia, TONG Fang, <i>et al.</i> (1159)
Distribution and Pollution Characteristics of Nutrients and Heavy Metals in Sediments of Hedi Reservoir	ZHANG Hua-jun, CHEN Xiu-kang, HAN Bo-ping, <i>et al.</i> (1167)
Heavy Metals Distribution and Risk Assessment of Sediments in the Riverine Wetland of Sanmenxia Reservoir	AO Liang, SHAN Bao-qing, ZHANG Hong, <i>et al.</i> (1176)
Regional Distribution and Ecological Risk Evaluation of Heavy Metals in Surface Sediments from Coastal Wetlands of the Yellow River Delta	 LIU Zhi-jie, LI Pei-ying, ZHANG Xiao-long, <i>et al.</i> (1182)
Calculation of Environmental Dredging Depth of Heavy Metal Polluted Sediments in Zhushan Bay of Taihu Lake	JIANG Xia, WANG Wen-wen, WANG Shu-hang, <i>et al.</i> (1189)
Characteristics of PAHs Pollution in Sediments from Leizhou Coastal Marine Area, Liusha Bay and Shenzhen Bay	ZHAO Li-rong, SUN Sheng-li, KE Sheng (1198)
Distribution Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Black Carbon in Road Dusts from Typical Cities of China and India	PAN Su-hong, ZHANG Gan, SUN Ya-li, <i>et al.</i> (1204)
Waterborne Iron Migration by Groundwater Irrigation Pumping in a Typical Irrigation District of Sanjiang Plain	ZOU Yuan-chun, YU Xiao-fei, HUO Li-li, <i>et al.</i> (1209)
Research on Controlling Iron Release of Desalted Water Transmitted in Existing Water Distribution System	TIAN Yi-mei, LIU Yang, ZHAO Peng, <i>et al.</i> (1216)
Exploration of Newly-Formed Ferric as the Coagulant	YANG Xue, ZHANG Jing-cheng, GUAN Xiao-hong (1221)
Degradation of Medroxyprogesterone in Drinking Water by Ozone Oxidation	YUE Chan-yuan, MIAO Heng-feng, REN Hong-yan, <i>et al.</i> (1227)
Synthesis of Core/Shell Structured Magnetic Carbon Nanoparticles and Its Adsorption Ability to Chlortetracycline in Aquatic Environment	 WANG Yi-xuan, ZHANG Di, NIU Hong-yun, <i>et al.</i> (1234)
Removal of Nickel from Aqueous Solutions Using Complexation-Ultrafiltration Process	QIN Shu, SHAO Jia-hui, HE Yi-liang, <i>et al.</i> (1241)
Degradation of Organic Pollutants by Photo-Fenton-Like System with Hematite	ZHANG Yu, GU Yan, YANG Hui, <i>et al.</i> (1247)
Study on the Degradation of Atrazine in Photo-Fenton-Like System Under Visible Light Irradiation Promoted by N-doped Ta ₂ O ₅	ZHAO Lu, DENG Yi-rong, DU Ying-xun, <i>et al.</i> (1252)
Degradation of Prometon by O ₃ /H ₂ O ₂	LI Shao-feng, SUN Chu (1260)
Photoelectrocatalytic Degradation Kinetics of Malachite Green by Pr-N Co-doped TiO ₂ Photocatalyst	SHA Shuang, ZHOU Shao-qi, ZHANG Xiao-na, <i>et al.</i> (1267)
Experimental Study on Acid Mine Drainage Treatment Using Mine Tailings of Xiangsi Valley, Tongling, China	ZHANG Nan, CHEN Tian-hu, ZHOU Yue-fei, <i>et al.</i> (1272)
Effect of Polymeric Aluminum-iron on EPS and Bio-flocculation in A ² /O System	WEN Qin-xue, LIU Ai-cui, CHEN Zhi-qiang, <i>et al.</i> (1278)
Effect of Temperature on Pollutant Removal and Nitrous Oxide Emission of Wastewater Nitrogen Removal System	ZHANG Ting-ting, ZHANG Jian, YANG Fang, <i>et al.</i> (1283)
Effect of Temperature on Stability of Nitrogen Removal in the ANAMMOX Reactor	LI Xiang, HUANG Yong, ZHENG Yu-hui, <i>et al.</i> (1288)
Phosphorus Removal Characteristics by Aerobic Granules in Normal Molasses Wastewater After Anaerobic Treatment	WANG Shuo, YU Shui-li, SHI Wen-xin, <i>et al.</i> (1293)
Physicochemical Characteristics of Granules with Different Size in a Granular Sludge System for Phosphorus Removal	LI Zhi-hua, ZHANG Yu-rong, YANG Fan, <i>et al.</i> (1299)
Denitrifying Bacteria of Constructed Wetland System Based on Nitrous Oxide Reductase Gene (<i>nosZ</i>)	WANG Xiao-jun, CHEN Shao-hua, ZHANG Zhao-ji, <i>et al.</i> (1306)
Improving Degradation Ability of an Aerobic Denitrifier by Ultraviolet Mutagenesis	YU Jia-jia, CHEN Jun, YANG Xuan, <i>et al.</i> (1313)
Characteristics of the Extracellular Polymeric Substances of a Heterotrophic Nitrifying Bacterium Strain	CHEN Zhe, ZHANG Bin, SEN Zhi-qiang, <i>et al.</i> (1318)
Study on Toxic Effects of Ammonia on Embryonic and Yolk-sac Stage Larvae of Rare minnow	WANG Zhi-jian, LU Zeng-hui, SHI Ping (1323)
Effects of Continuous Cropping of Vegetables on Ammonia Oxidizers Community Structure	MENG De-long, YANG Yang, WU Yan-zheng, <i>et al.</i> (1331)
Impact of Biochar Amendment on the Sorption and Dissipation of Chlorantraniliprole in Soils	WANG Ting-ting, YU Xiang-yang, SHEN Yan, <i>et al.</i> (1339)
Quantifying Rice (<i>Oryza sativa</i> L.) Photo-assimilated Carbon Input into Soil Organic Carbon Pools Following Continuous ¹⁴ C Labeling	NIE San-an, ZHOU Ping, GE Ti-da, <i>et al.</i> (1346)
Compositions and Diagnostic Ratios of Heavily Degraded Crude Oil Residues in Contaminated Soil in Oilfields	WANG Jian, ZHANG Xu, LI Guang-he (1352)
Study on Equilibrium Adsorption of Volatile Chlorinated Hydrocarbons on Humid Soils	MENG Fan-yong, LIU Rui, Kobayashi Takeshi, <i>et al.</i> (1361)
Toxicity and Accumulation of Copper and Nickel in Wheat Plants Cropped on Alkaline and Acidic Field Soils	HUANG Jin-sun, WEI Dong-pu, GUO Xue-yan, <i>et al.</i> (1369)
Change Traits of Phosphorous Consumption Structure in China and Their Effects on Environmental Phosphorous Loads	MA Dun-chao, HU Shan-ying, CHEN Ding-jiang, <i>et al.</i> (1376)
Research Based on 3MRA Model About the Risk Assessment Methods and Applications of the Landfill Waste	YUAN Ying, XI Bei-dou, HE Xiao-song, <i>et al.</i> (1383)
Impacts of Initial Moisture Content of MSW Waste on Leachate Generation and Modified Formula for Predicting Leachate Generation	LAN Ji-wu, ZHAN Liang-tong, LI Yu-chao, <i>et al.</i> (1389)
Transformation of Dibutyl Phthalate in Bioreactor Landfill	FANG Cheng-ran, LONG Yu-yang, SHEN Dong-sheng (1397)
Kriging Analysis of Vegetation Index Depression in Peak Cluster Karst Area	YANG Qi-yong, JIANG Zhong-cheng, MA Zu-lu, <i>et al.</i> (1404)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2012年4月15日 33卷 第4期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 33 No. 4 Apr. 15, 2012

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科学出版社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科学出版社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 70.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行人