

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



2020

Vol.41 No.4
第41卷 第4期

目次

基于深度学习的华东地区 PM _{2.5} 浓度遥感反演	刘林钰, 张永军, 李彦胜, 刘欣怡, 万一 (1513)
秋冬季区域性大气污染过程对长三角北部典型城市的影响	李瑞, 李清, 徐健, 李亮, 葛朝军, 黄凌, 孙登红, 刘子义, 张坤, 周国柱, 王杨君, 胡子梅, 宋燕西, 陈勇航, 李莉 (1520)
基于 GAM 模型的西安市 O ₃ 浓度影响因素解析	黄小刚, 邵天杰, 赵景波, 曹军骥, 吕晓虎 (1535)
北京及周边 6 个城市大气 PM _{2.5} 中左旋葡聚糖及其异构体的时空分布特征	朱红霞, 陶雪梅, 王超, 张霖琳, 郑晓燕 (1544)
典型沿海城市采暖期细颗粒物组分特征及来源解析	李明燕, 杨文, 魏敏, 朱红晓, 刘厚凤 (1550)
成都地区黑碳气溶胶变化特征及其来源解析	王璐, 袁亮, 张小玲, 贾月涛 (1561)
天津夏季郊区 VOCs 对臭氧生成的影响	姚青, 韩素芹, 张裕芬, 毕晓辉, 王晓佳, 蔡子颖 (1573)
涂料制造行业挥发性有机物排放成分谱及影响	吴健, 高松, 陈曦, 杨勇, 伏晴艳, 车祥, 焦正 (1582)
典型超低排放燃煤电厂可凝结颗粒物特征和成因	邓建国, 王刚, 张莹, 李妍菁, 段雷, 蒋靖坤 (1589)
中国地表水硝酸盐分布及其来源分析	张鑫, 张妍, 毕直磊, 山泽萱, 任丽江, 李琦 (1594)
中、韩滨海城市化区域水体全氟化合物的空间特征及生态风险	杨洪法, 史斌, 周云桥, 杨璐, 孟晶, 陈礼强, 王铁宇 (1607)
小清河入海口近十年水质变化及驱动因素分析	范新风, 韩美, 王磊, 李秀萍, 周璟 (1619)
浙江省 H 市水处理及供水系统 4 种人工甜味剂的分布特征	马晓雁, 胡慧, 陆思嘉, 李青松, 薛乐飞, 李雪纯, 邓靖 (1629)
三峡库区支流梅溪河附石藻类群落变化及其与环境因子的关系	米文梅, 施军琼, 杨燕君, 杨宋琪, 何书哈, 吴忠兴 (1636)
骆马湖浮游植物演替规律及驱动因子	张庆吉, 王业宇, 王金东, 王日昕, 邓建明, 蔡永久, 彭凯, 陈业, 龚志军 (1648)
拉鲁湿地水生植物群落多样性与水环境因子的关系	王佳俊, 田瀚鑫, 周磊, 徐德福, 张建伟, 彭措次仁 (1657)
基于网络分析解析水源水库春季水体反硝化群落演变特征及驱动因素	周石磊, 孙悦, 张艺冉, 黄廷林, 张春华, 方凯开, 曾明正, 李再兴, 崔建升 (1666)
岱海水体氮、磷时空分布特征及其差异性分析	赵丽, 陈俊伊, 姜霞, 郑朔方, 王书航 (1676)
巢湖滨岸水塘洼地沉积物反硝化速率及对外源碳氮的响应	李如忠, 王莉, 刘超 (1684)
镁改性芦苇生物炭控磷效果及其对水体修复	丁玉琴, 李大鹏, 张帅, 陈丽媛, 徐楚天, 陈姝彤, 朱企, 黄勇 (1692)
氢氧化镁对水体内源磷释放的控制作用	杨春懿, 詹艳慧, 林建伟, 邱波, 徐文隆, 俞阳, 黄良君 (1700)
北京市道路雨水径流溶解性有机物化学组分特性	陈梦瑶, 杜晓丽, 于振亚, 朱英杰, 梁卉, 吴凡 (1709)
新型三维多孔光热材料制备及其高盐废水处理应用	黄乐, 徐颖峰, 谢茜青, 赵炯, 冯华军 (1716)
Ni 掺杂 Sb-SnO ₂ 瓷环粒子电极电催化氧化磺胺嘧啶	石秋俊, 刘安迪, 唐柏彬, 魏世强, 张进忠 (1725)
磁性 Fe ₃ O ₄ -CuO 非均相活化过碳酸钠降解 AO7	徐劫, 王琳, 陈家斌, 许芬, 王柯晴, 侯梓峰, 黄天寅 (1734)
赤泥活化过一硫酸盐降解环丙沙星: 性能和机制	史京转, 魏红, 周孝德, 李克斌, 史颖娟 (1743)
工业废水水质对微气泡臭氧氧化深度处理影响	张静, 张守敬, 刘春, 施佳泽, 陈晓轩, 张磊, 张瑞娜 (1752)
污泥水热炭对亚甲基蓝的吸附特性	陈丽媛, 李大鹏, 朱文娟, 徐楚天, 丁玉琴, 黄勇 (1761)
改性西瓜皮生物炭的制备及其对 Pb(II) 的吸附特性	毕景望, 单锐, 韩静, 袁浩然, 史月月, 张兴庆 (1770)
A ² /O 短程硝化耦合厌氧氨氧化系统构建与脱氮特性	刘小钗, 荣懿, 汶丽杰, 李党勇, 金鹏康 (1779)
基于甲烷氧化菌的城镇污水厂尾水极限脱氮系统构建及机制	杨娅男, 李彦澄, 李江, 吴攀, 杨钊, 向福亮 (1787)
HRT 对 CSTR 亚硝化颗粒污泥性能影响	王建芳, 齐泽坤, 钱飞跃, 刘文如, 张俊, 王伟, 沈聪 (1794)
低基质颗粒污泥反应器中亚硝化的实现过程及其污泥变化特征	朱琳, 程诚, 宋家俊, 郭凯成, 汪倩, 刘文如, 沈耀良 (1801)
不同 HRT 下污水中有机物在 ABR 中的转化过程及污泥形态特征	程诚, 朱琳, 郭凯成, 汪倩, 宋家俊, 刘文如, 沈耀良 (1808)
投加颗粒活性炭和二氧化锰对剩余污泥厌氧消化的影响	杨波, 贾丽娟, 徐辉, 李方, 刘艳彪 (1816)
中国 193 个城市规划区土壤微量元素污染与健康风险	李括, 彭敏, 杨峥, 杨柯, 刘飞, 赵传冬, 成晓梦, 马宏宏, 郭飞, 唐世琪, 刘应汉, 成杭新 (1825)
基于随机森林评价的兰州市主城区校园地表灰尘重金属污染	胡梦瑶, 王佳, 张亚云, 李春艳, 李娜娜 (1838)
扬州市不同功能区表层土壤中多环芳烃的含量、来源及其生态风险	姚成, 倪进治, 刘瑞, 杨柳明, 陈卫锋, 魏然 (1847)
桂西南土壤镉地质异常区水稻种植安全性评估	陈同斌, 庞瑞, 王佛鹏, 周浪, 宋波 (1855)
重庆市主要农耕地土壤 Cd 生物有效性及影响因素	王锐, 胡小兰, 张永文, 余飞, 朱海山, 李瑜 (1864)
棉秆炭对碱性水稻土壤-水稻中镉迁移转化的阻控作用	刘师豆, 朱新萍, 韩耀光, 赵一, 金航, 贾宏涛 (1871)
连续 4 a 施有机肥降低紫泥田镉活性与稻米镉含量	薛毅, 尹泽润, 盛浩, 马颖榴, 周清, 宋达清, 张杨珠 (1880)
纳米氢氧化镁对不同类型土壤镉形态的影响	邓继宝, 张春来, 徐卫红 (1888)
矿业废弃地复垦土壤-作物硒吸收特征及其对重金属拮抗效应	尹炳, 汪建飞, 师胜, 卜中原, 霍天满, 张世文 (1904)
不同生物炭对酸性农田土壤性质和作物产量的动态影响	杨彩迪, 宗玉统, 卢升高 (1914)
化肥减量有机替代对紫色土旱坡地土壤氮磷养分及作物产量的影响	朱浩宇, 高明, 龙翼, 徐国鑫, 王富华, 王子芳 (1921)
紫色土旱坡地氮流失通量对减肥施肥秸秆的响应	熊子怡, 王子芳, 龙翼, 严冬春, 徐国鑫, 高明 (1930)
浒苔生物炭对滨海盐碱土壤改良的效果及途径	吴丹, 孙萍, 路鹏展, 陈友媛, 郭嘉梦, 刘明, 王磊, 张彩杰 (1941)
极端干旱区咸水灌溉人工防护林土壤可溶性碳的垂直分布及其影响因素	孟天歌, 吴路遥, 张少磊, 徐燕莹, 李雄, 张建国 (1950)
红松人工林土壤酶活性与化学性质对氮添加的响应	吕来新, 宋蕾, 刘志理, 张金波, 金光泽 (1960)
稻田土壤 N ₂ O 消纳能力及 nosZ-I 型功能种群应答机制	郭俊丽, 田美洁, 葛体达, 魏文学, 王光军, 孙志龙, 刘毅 (1968)
京津冀电子废弃物回收利用潜力预测及环境效益评估	陈盼, 施晓清 (1976)
中国城市工业化发展与 PM _{2.5} 的关系: 兼论 EKC 曲线形成的内在机制	李雅男, 丁振民, 邓元杰, 侯孟阳, 姚顺波 (1987)
《环境科学》征订启事 (1618) 《环境科学》征稿简则 (1635) 信息 (1724, 1769, 1800)	

稻田土壤 N_2O 消纳能力及 *nosZ-I* 型功能种群应答机制

郭俊丽^{1,2}, 田美洁³, 葛体达¹, 魏文学¹, 王光军², 孙志龙⁴, 刘毅^{1*}

(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. 中南林业科技大学生命科学与技术学院, 长沙 410004; 3. 湖南农业大学农学院, 长沙 410128; 4. 湖南省宁乡市回龙铺镇农业综合服务中心, 宁乡 410606)

摘要: 稻田土壤长期的淹水厌氧环境有利于反硝化作用的进行, 是导致 N_2O 大量排放的重要原因之一。目前, 关于稻田土壤 N_2O 排放特征的相关研究已有不少, 然而关于稻田土壤 N_2O 的消纳能力及相关功能微生物的应答机制尚不明确。本研究以淹水水稻土原状土柱(0~5 cm)为研究对象, 在土柱底部输入外源 N_2O 气体, 系统监测所添加外源 N_2O 通过土柱的浓度及关键土壤因子的动态变化特征, 以及分析 *nosZ-I* 型功能种群组成的演替规律, 以期揭示淹水水稻土 N_2O 的消纳能力及 *nosZ-I* 型功能种群的应答机制。结果表明, 外源 N_2O 输入后约 97.39% 扩散进入土柱, 逸散出土表的 N_2O 占 0.72%~7.75%, 达到排放高峰后被土壤继续消耗, 培养 192 h 后外源 N_2O 处理比对照多消耗 67.10% N_2O , N_2O 消耗速率提高 144.2%。同时, NH_4^+-N 、 $NO_3^- -N$ 和 DOC 分别多消耗了 19.65%、16.29% 和 8.41%。 N_2O 输入 192 h 后 *nosZ-I* 的群落多样性没有显著差异, 但是其种群组成发生显著改变: 优势菌株 OTU5004、OTU5065、OTU960 和 OTU1282 (*Proteobacteria*) 相对丰度显著提高, 其中 OTU5004 菌株相对丰度比初始样和 CK 升高 7.30% 和 4.63%, 非优势菌株 OTU5265 (*Azoarcus* sp.) 比初始样和 CK 升高 0.33% 和 0.15%。上述结果表明, 0~5 cm 深度渍水水稻土壤具有很强的 N_2O 消耗能力, 外源 N_2O 添加使 N_2O 消耗速率明显加快, 提高了淹水水稻土壤对 N_2O 的消纳潜力, 促进碳氮转化和 *nosZ-I* 群落组成变化, 这将为降低大气 N_2O 排放提供新的参考。

关键词: 外源 N_2O ; 水稻土; 淹水厌氧; N_2O 消纳; *nosZ-I* 型

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2020)04-1968-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.201908220

Consumption Capacity of N_2O in Paddy Soil and the Response Mechanism of *nosZ-I*-containing Communities

GUO Jun-li^{1,2}, TIAN Mei-jie³, GE Ti-da¹, WEI Wen-xue¹, WANG Guang-jun², SUN Zhi-long⁴, LIU Yi^{1*}

(1. Key Laboratory of Agro-ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 2. College of Life Science and Engineering, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; 3. College of Agronomy, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 4. Agricultural Comprehensive Service Center of Hunan Province Ningxiang Huilongpu Town, Ningxiang 410606, China)

Abstract: The long-term flooding anaerobic environment in paddy soils is conducive to denitrification, which is one of the most important reasons for N_2O emissions. N_2O can be transformed to nitrogen gas (N_2) by bacteria and archaea containing nitrous oxide reductase (N_2OR) encoded by the *nosZ* gene, which is the only known biological pathway of N_2O consumption in soil. *nosZ-I* is known to be typical in denitrifying bacteria, which is one of the clades of the *nosZ* gene and is mainly possessed a Tat signal peptide motif. Although many researchers have studied N_2O emission characteristics of paddy soil, the capacity of N_2O consumption and the response mechanism of related functional microorganisms in paddy fields is not yet clear. To verify the effect of exogenous N_2O on N_2O consumption and *nosZ-I* gene, a pot trial experiment was performed under anaerobic conditions. We collected intact soil cores from flooding paddy fields at a 0-5 cm depth, and exogenous N_2O gas was input through the bottom of flooding paddy soil cores. Meanwhile, a control treatment (CK) with no additional N_2O gas was also performed. The dynamic characteristics of the added exogenous N_2O concentration through the intact soil cores, the content of inorganic nitrogen, and DOC were systematically monitored. In addition, the change in the *nosZ-I* population diversity and community composition were investigated by high-throughput sequencing approaches, with the purpose of revealing the N_2O uptake ability of flooded paddy soil and the response mechanism of the *nosZ-I* population. The results showed that 97.39% of exogenous N_2O diffused into the soil cores, and only 0.72%-7.75% of exogenous N_2O escaped from the soil surface. The N_2O released in the headspace of soil cores could continue being absorbed and consumed by the flooding soil column. In addition, 67.10% of the N_2O escaped to the headspace was consumed in exogenous N_2O treatment after 192 h of incubation, which was higher than that in CK treatment, and the N_2O consumption rate increased by 144.2% than that in CK treatment. Meanwhile, the consumption of NH_4^+-N , $NO_3^- -N$, and DOC consumed during exogenous N_2O addition treatment was 19.65%, 16.29%, and 8.41% higher than that in CK treatment, respectively. However, the diversity of the *nosZ-I* gene community had no significant difference; the community composition of *nosZ-I*-containing bacteria changed significantly after 192 h when exogenous N_2O was input. The abundances of OTU5004, OTU5065, OTU960, and OTU1282 (*Proteobacteria*) significantly increased, which were the dominant bacterial strain of

收稿日期: 2019-08-27; 修订日期: 2019-11-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(41771300, 41301274); 中国科学院亚热带农业生态研究所青年创新团队项目(2017QNCXTD_GTD)

作者简介: 郭俊丽(1993~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为微生物生态, E-mail: 1342219040@qq.com

* 通信作者, E-mail: liuyi@isa.ac.cn

nosZ-I gene on the OTU level. Compared with the initial sample and CK, the abundance of the OTU5004 strain increased by 7.3% and 4.63%, and the abundance of the OTU5265 strain (*Azoarcus* sp.) increased by 0.33% and 0.15%, respectively. The result indicated that the flooding paddy soil column at the soil layer of 0-5 cm has a strong N₂O absorption and consumption ability. In summary, compared with CK, the addition of exogenous N₂O significantly accelerated the N₂O consumption rate, improved the consumption potential of flooding paddy soil column, promoted carbon and nitrogen conversion, and changed *nosZ-I* community composition. These results would provide a new reference for reducing atmospheric N₂O emissions.

Key words: exogenous N₂O; paddy soil; flooding-anaerobic condition; N₂O consumption; *nosZ-I*

氧化亚氮(N₂O)是一种强效的温室气体^[1~3],对全球气候变暖及大气平流层臭氧耗竭具有重要的影响^[4~6]. 农业土壤是N₂O排放的主要源头之一^[7,8],主要由土壤硝化和反硝化作用来驱动^[8,9]. 其中,氮肥的过量施用是农业土壤N₂O大量排放的重要原因^[4,10]. 据报道,施入农业土壤中的高达70%氮肥通过硝化-反硝化作用转化为氮氧化物气体和N₂而损失^[4,11]. 目前,关于农业土壤N₂O的排放特征已经有了初步认识^[2,12],然而,农业土壤N₂O的最终排放量由N₂O的产生和消纳两个过程共同决定^[13,14]. 虽然关于农业土壤N₂O的产生机制已有少量研究^[15],然而,关于农业土壤N₂O的消纳过程及相关功能微生物的作用机制还缺乏深入了解^[14].

土壤N₂O消纳的唯一生物途径是由*nosZ*基因编码的氧化亚氮还原酶(nitrous oxide reductase, N₂O R)催化N₂O还原成N₂的过程^[16]. 在*nosZ*基因中,*nosZ-I*是N₂O还原剂类群的其中一支,被称为典型反硝化细菌^[16,17]. 已有研究表明,含有*nosZ-I*基因的微生物属于α-变形菌、β-变形菌以及γ-变形菌,主要编码Tat信号肽基序^[18]. *nosZ-I*分支内不同的反硝化菌还原N₂O速率存在差异,即使同一个种的不同*nosZ-I*菌株还原N₂O的能力差异也很大^[19]. 因此,明确*nosZ-I*型功能种群的组成特征及其对N₂O浓度变化的应答机制,对了解土壤N₂O的消纳过程具有重要意义^[20].

水稻田是一类连续淹水厌氧的人工湿地^[15],不仅是强烈的N₂O源,也是急速的N₂O汇^[21]. 其在微生物驱动下极易发生完全反硝化作用^[22],最终将N₂O进一步还原为N₂^[14,23],因而对于全球N₂O气体减排

控制具有重要的意义^[11]. 有研究表明,无氧条件更有利于氧化亚氮还原酶基因的微生物将N₂O转化为N₂^[6,14,24],且高含水量或淹水条件会导致N₂O在土壤溶液中暂时储存,从而使N₂O在排放到土壤表面之前进一步还原为N₂的几率增加^[14,25]. 进一步的研究表明,外源添加N₂O^[13,14]可刺激反硝化过程中的N₂O彻底还原为N₂^[25~29]. 目前,关于稻田土壤N₂O的消纳过程主要围绕与土壤理化性质之间的关系来开展^[4,26,27,30,31],而对于稻田土壤N₂O的消纳潜力及其微生物驱动机制研究较少.

本研究通过采集南方典型水稻土表层0~5 cm的小型原状土柱,在严格密闭淹水厌氧条件下,在土柱底部添加一定浓度的外源N₂O气体,系统监测N₂O的消纳过程以及*nosZ-I*型功能种群组成的演替规律,探索稻田土壤N₂O的消纳潜力以及*nosZ-I*型功能种群的应答特征,以期减少稻田N₂O排放提供重要的科学依据.

1 材料与方法

1.1 土样采集与预处理

供试土壤于2017年11月采自湖南省常德市桃源县古市镇的水稻田(N28°55',E111°26'),为多年连续种植水稻土壤,此时田间土壤处于休耕渍水状态. 该土壤发源于河流冲积物母质,是典型的中国亚热带地区水稻田土壤. 土样采集采用随机多点采样法,尽量避免残留主根区域,用自制PVC管(*d* = 7 cm, *h* = 7 cm)采集多个0~7 cm原状水稻土柱,尽量保证土柱结构完整无破坏. 标注方向后用保鲜膜包裹紧实,带回实验室做后续处理. 土壤基本理化性质见表1.

表1 供试土样基础理化性质¹⁾

Table 1 Physicochemical properties of paddy soil

项目	SOM /g·kg ⁻¹	TN /g·kg ⁻¹	AN /mg·kg ⁻¹	TP /g·kg ⁻¹	AP /mg·kg ⁻¹	TK /g·kg ⁻¹	AK /mg·kg ⁻¹	pH
参数值	30.96	2.09	87.41	0.56	10.48	22.45	194.53	5.77

1) 表中数据为平均值

将取回的原状土柱从土表沿PVC管内壁向下移动2 cm,并距离土表1 cm处标注记号(用于后续淹水),用小刀切掉多余的底土,获得0~5 cm小型土柱(*d* = 7 cm, *h* = 7 cm PVC管包裹). 在小型土柱底部覆

盖相同尺寸的PVC管(*d* = 7 cm, *h* = 3 cm)自制的通气底座,并密封边缘. 通气底座底部用未打孔的PVC板覆盖并密封边缘,上部用均匀打孔的PVC板覆盖密封边缘后再覆盖一层透气不透水的硅胶片并密封

边缘. 确保每个边缘密封完好后将整套装置套于培养用塑料杯($d=113\text{ mm}$, $h=177\text{ mm}$, 体积 $=1.3\text{ L}$)中, 用带有三通阀的 F46 管连接通气底座与塑料杯外壁, 作为 N_2O 充气口. 整套装置如图 1 所示.

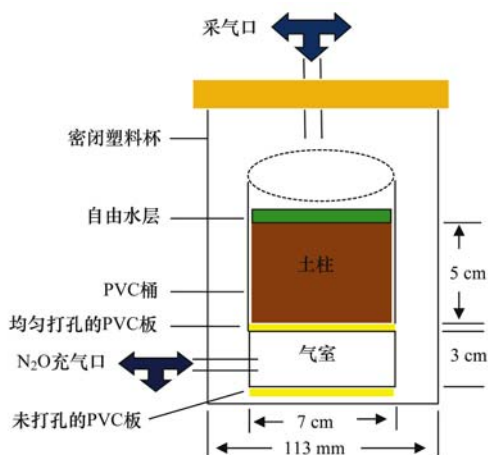


图 1 实验装置示意

Fig. 1 Schematic diagram of the experimental device

利用图 1 所示的实验装置, 将各水稻土柱维持土表 1 cm 深自由水层不变, 置于 $25^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ 温室均质化预培养 10 d. 预培养结束后盖上塑料杯盖并完全密封, 浸水测试整体密封效果. 随后注射器分别与塑料杯盖采气口和 N_2O 充气口三通阀连接, 对原状土柱塑料杯组合装置重复抽真空-充高纯氮气 5 次左右, 保证空间内外气压平衡.

1.2 实验设计和样品采集

本实验包括 2 个处理: 分别为 0 mL (CK, 不充 N_2O) 和 10 mL (N_2O) $8\,000\text{ }\mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ (以 N_2O /盆计), 每处理 12 盆. 气体置换完成后, 将整套装置置于厌氧罩 (真空压缩袋制, 抽真空后通入高纯 He 气), 用注射器连接通气底座三通阀, 分别抽出 0 和 10 mL 气体后外源输入设定浓度的 N_2O 气体, 开始培养计时, 共密闭培养 192 h.

气体样品采集: 用注射器分别在密闭培养的 24、48、96、144 和 192 h 采集通气底座内气体, 并在 6、12、24、36、48、60、72、84、96、120、144、168 和 192 h 采集塑料杯内气体样品 1 mL 于 12 mL 真空血清瓶中, 充入 29 mL 高纯 He 使气瓶内气体维持高压, 用于 N_2O 含量的测定. 每次采集气体样品前用注射器反复 (10 ~ 15 次) 抽打装置空间内气体使空间气体混匀, 气体样品采集后立即补入等量高纯 He 使装置内各空间气压平衡, 采集的气体用气相色谱仪测定其浓度.

土壤样品采集: 分 4 个时间点采集土样, 每个时间点每个处理取 3 盆土作为重复. 4 个时间点包括: 0 h (培养前获得的起始土样作为对照)、48 h (N_2O

浓度上升期)、96 h (N_2O 浓度稳定期) 和 192 h (N_2O 浓度消耗后期). 采集方法为: 倒掉自由水后充分混匀土样, 取出约 20 g 土样迅速用锡箔纸包裹, 经由液氮速冻, 放入 -80°C 保存用于相关分子生物学分析. 将剩余土样装入密封袋, 放入 4°C 保存用于 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 和 DOC 含量分析, 并在 72 h 内完成测定.

1.3 氧化亚氮浓度、无机氮和 DOC 测定

采用气相色谱仪 (GC 7890A, Agilent, 美国) 测定 N_2O 浓度. 检测器为微池电子捕获器 63Ni-ECD, 以高纯 N_2 作为色谱柱载气, 载气流压力为 28 psi, 检测器温度为 300°C , 柱箱温度为 50°C .

采集新鲜土壤样品, 采用硫酸钾共提法浸提. 用 50 mL $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ K}_2\text{SO}_4$ 溶液萃取, 并分别用流动注射仪-2018 (AA3, 德国) 和岛津-有机碳分析仪 (湿法, TOC-vwp, 日本) 测定铵态氮 (NH_4^+-N)、硝态氮 (NO_3^--N) 含量和 DOC 含量.

1.4 土壤微生物总 DNA 抽提和 PCR 扩增

根据 E. Z. N. A.® soil 试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U. S.) 说明书进行总 DNA 抽提, DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop2000 进行检测, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量.

测序选用引物 *nosZ-F*^[32] 和 *nosZ-1622R*^[33] 扩增 *nosZ-I* 基因. PCR 扩增体系为 $5\times\text{FastPfu}$ 缓冲液 4 μL , dNTPs (2.5 mmol) 2 μL , 上下游引物 (5 μmol) 0.8 μL , FastPfu 聚合酶 0.4 μL , BSA 0.2 μL , DNA 模板 10 ng, 补 ddH₂O 至 20 μL . PCR 扩增程序为: 95°C 3 min; 95°C 30 s, 55°C 30 s, 72°C 45 s, 35 个循环; 最后 72°C 延伸 10 min (PCR 仪: ABI GeneAmp® 9700 型).

1.5 高通量测序及结果处理

选取水稻土两个处理中培养了 0 和 192 h 的土壤样品, PCR 扩增 *nosZ-I* 基因, 利用 Illumina Miseq PE300 测序平台对 *nosZ-I* 基因进行双末端 (Paired-end) 测序 (上海美吉生物医药科技有限公司, 中国), 每个样品至少获得 3 万条有效序列. 利用上海美吉生物医药科技有限公司生信云平台进行数据分析和比对, 得到 *nosZ-I* 群落 α 多样性指数, 选择相对丰度大于 1% 的 OTU 进行群落组成分析和系统发育树分析.

1.6 数据分析

采用 Microsoft Excel 2007 进行相关数据的计算和预处理. 图形制作采用 Origin 8.5 软件和 Word 2007 完成, 数据的统计分析均采用 IBM SPSS Statistics 21 进行. 无机氮和 DOC 含量、氧化亚氮还原酶基因 *nosZ-I* 群落 α 多样性指数差异性分析采

用单因素方差分析(One-way ANOVA, Duncan 法)进行比较, $P < 0.05$ 时显著差异. 系统发育树构建通过美吉 I-Sanger 云平台计算(最大似然法, Maximum likelihood ML), 并用 MEGA7 绘制树.

2 结果与分析

2.1 外源 N_2O 添加处理下表层淹水原状水稻土柱 N_2O 消纳动态

在外源 N_2O 添加处理中, 外源实际充入的 N_2O 起始浓度为 $1\,086\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 随着培养时间延长, 土柱底部的 N_2O 气体浓度逐渐降低, 在培养 192 h 后土柱底部剩余 N_2O 气体浓度为 $28.38\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 比起始 N_2O 气体浓度减少了 97.39%, 表明外源 N_2O 气体大部分扩散、迁移进了原状土柱. 而在不充 N_2O 的对照处理中, 在 24 h 时土柱底部存在少量 N_2O , 其浓度为 $71.92\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 这可能是反硝化过程中产生的 N_2O 气体扩散进入土柱底座气室, 随着反硝化过程持续进行被土壤再次吸收消耗, 最终底部 N_2O 气体浓度为 $15.17\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (图 2). 逸出土表到土柱顶部空间的 N_2O 浓度, 对照处理与外源 N_2O 处理均呈现先上升后下降的变化趋势, 但 N_2O 气体排放高峰时间出现了差异(图 2), 外源 N_2O 处理在培养第 48 h 达到排放最高峰值 $84.12\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 占初始 N_2O 气体浓度的 7.75%, 对照处理在第 24 h 达到最高峰值 $36.60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 进一步说明 0~5 cm 表层原状水稻土柱对土壤释放的 N_2O 吸收率极高. 土柱顶部空间, 对照处理和外源 N_2O 处理在厌氧培养至 192 h 后 N_2O 浓度为 $7.78\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $23.62\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 外源 N_2O 处理比对照多消耗 67.10% N_2O , N_2O 浓度消耗速率分别约为 $0.172\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$ 和 $0.420\text{ mg}\cdot(\text{L}\cdot\text{h})^{-1}$, 随着时间延长外源 N_2O 有被土壤全部吸收的趋势, 且外源 N_2O 气体极大地提高了土体对 N_2O 气体的吸收速率.

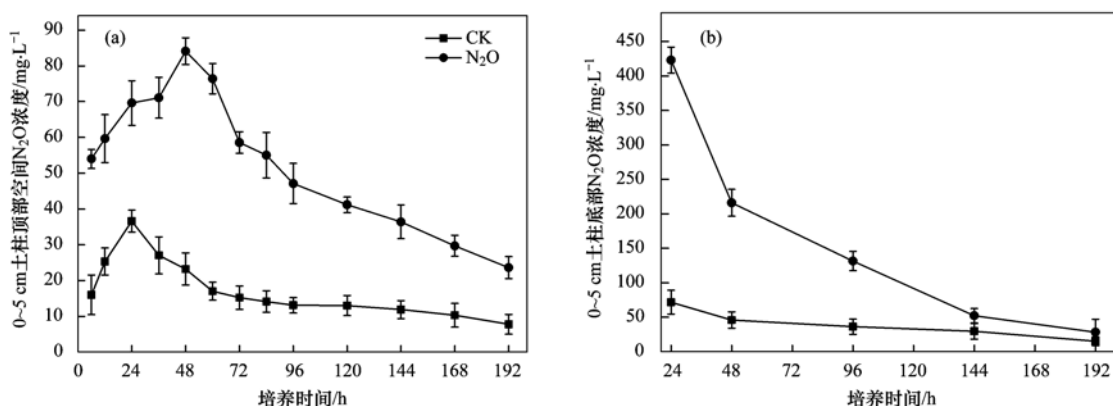
结果表明, 同一水稻土壤淹水土柱在完全厌氧条件下不添加 N_2O 和外源添加 N_2O 气体处理都能够将土壤产生的 N_2O 消耗完全, 进一步说明淹水厌氧条件下外源 N_2O 气体可以增强原状水稻土对 N_2O 的消耗能力.

2.2 外源 N_2O 添加处理下土壤无机氮和 DOC 含量动态

起始土样 NH_4^+-N 含量本底值为 $10.69\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. 在淹水密闭厌氧培养的 48~96 h 对照和 N_2O 处理的 NH_4^+-N 含量分别下降 6.86% 和 6.25% (图 3), 在 192 h 后 NH_4^+-N 含量消耗比例占起始样 NH_4^+-N 含量的 16.73% 和 36.38% ($P < 0.05$). 表明淹水密闭厌氧和外源 N_2O 气体添加显著促进了土壤 NH_4^+-N 的消耗, 被消耗的 NH_4^+-N 可能通过硝化微生物的反硝化作用而转化为 N_2O .

培养前的起始土样 NO_3^--N 含量较低, 仅为 $4.59\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 淹水密闭培养的 48 h 和 96 h NO_3^--N 含量对照和外源 N_2O 处理消耗比例分别占本底 NO_3^--N 含量的 10.71%、67.16% 和 46.53%、86.52% (图 3), 192 h 后对照和外源 N_2O 处理分别消耗了 $3.43\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $4.18\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 消耗比例分别约占 74.83%、91.12% ($P < 0.05$). 这些被消耗的 NO_3^--N 极大可能是在厌氧培养前期被水稻土中反硝化微生物作为底物利用而产生 N_2O . 表明外源 N_2O 气体添加显著促进了 0~5 cm 表层土壤对 NO_3^--N 的消耗.

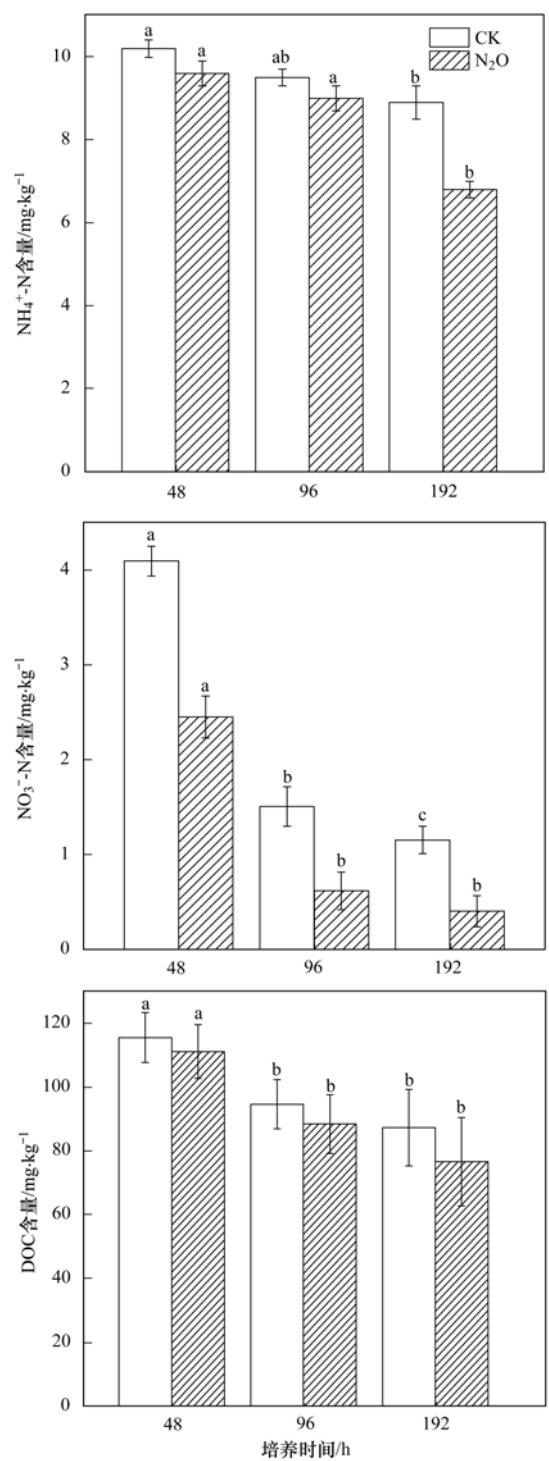
表层水稻土柱本底可利用的有机碳含量较为丰富, DOC 含量高达 $126.69\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (图 3), 随着培养时间的延长两个处理的 DOC 含量均呈下降趋势. 在淹水密闭培养 192 h 后 CK 和 N_2O 处理的 DOC 含量分别消耗了 $39.50\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $50.15\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 相对于起始点消耗比例分别占约 31.18% 和 39.59%. DOC 是土壤活性有机质, 容易被土壤微生物分解,



CK 代表不充 N_2O 气体处理, N_2O 代表充 10 mL N_2O 气体处理; 数值均以平均值表示; 误差棒代表标准偏差 ($n = 3$), 下同

图 2 0~5 cm 深度水稻土柱底部 N_2O 消减动态与土柱顶部空间 N_2O 释放动态

Fig. 2 Dynamics of N_2O reduction in the bottom space and N_2O emission in the headspace for the paddy soil cores (0-5 cm)



不同小写字母代表同一处理不同时间差异显著
图3 土壤无机养分动态

Fig. 3 Dynamics of soil inorganic nutrients

在提供水稻土壤养分方面起着重要的作用,说明淹水厌氧环境下外源N₂O气体添加刺激更多的微生物对DOC的摄取.

2.3 氧化亚氮还原酶基因 *nosZ-I* 群落 α 多样性指数

选取0和192 h的土壤样品进行Illumina MiSeq测序,每个样品至少获得3万条有效序列.多重比较结果表明,0~5 cm原状土柱外源N₂O添加前后*nosZ-I*型反硝化细菌群落α多样性指数均无显著性差异(表2).此外,各处理Sobs、Ace和Chao指数较高,表明0~5 cm水稻土柱*nosZ-I*型反硝化细菌群落十分丰富.

2.4 氧化亚氮还原酶基因 *nosZ-I* 群落组成分析和系统发育分析

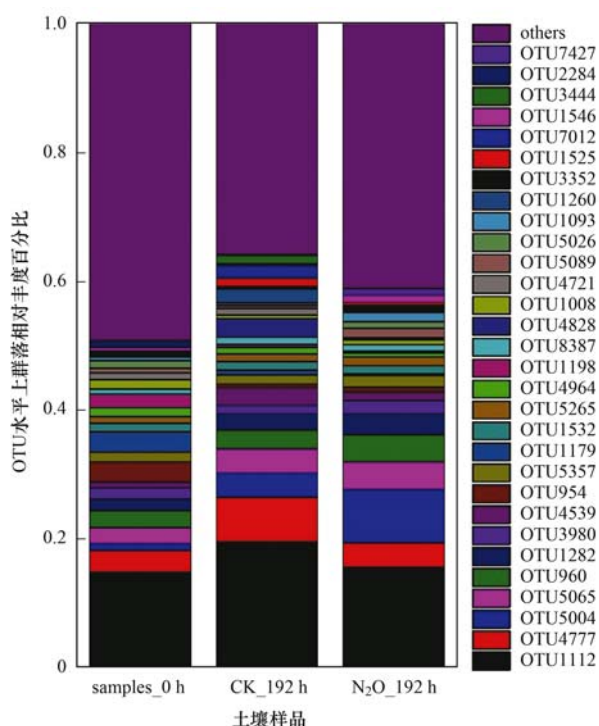
选择相对丰度大于1%的OTU进行群落组成分析和系统发育树分析(图4和图5).结果表明,初始土样、192 h外源N₂O添加和CK这3种处理的土壤中*nosZ-I*群落组成差异显著.首先,N₂O添加后优势菌株OTU5004、OTU5065、OTU960和OTU1282变化较明显,其相对丰度显著提高.系统发育树结果表明它们亲缘关系密切,都归为Proteobacteria.其中,N₂O添加192 h后,OTU5004菌株相对丰度分别比初始样和CK升高7.30%和4.63%.其次,外源N₂O的添加对一些相对丰度较小的菌株也会产生一定的影响,甚至同一个属或种的不同菌株在不同处理中相对丰度出现差异.例如,相比初始样,CK和N₂O处理的OTU1532和OTU4828两个菌株丰度分别降低0.09%、0.15%和1.07%、0.15%,OTU5265菌株丰度升高0.18%、0.33%.系统发育树结果表明,OTU1532、OTU5265(unclassified_d_Bacteria)和OTU4828(*Azoarcus* sp. KH32C)的同源可信度为85%,显示这3个菌种是*Azoarcus* sp.的同一个亚种或者变种.另外,相比初始样,CK、N₂O处理的土壤中OTU1008菌株丰度分别降低0.89%、0.68%,OTU1093菌株丰度在CK处理中降低0.25%,在N₂O处理中升高0.78%.系统发育树结果表明,OTU1008和OTU1093(unclassified_d_Bacteria)同源度高达92%,是同一个菌种,最终和OTU4828的同源可信度为84%,显示两枝菌株是*Azoarcus* sp..

表2 外源N₂O添加处理 *nosZ-I* 基因群落 α 多样性指数¹⁾

Table 2 The α diversity index of the *nosZ-I* gene community under the addition of N₂O treatment

N ₂ O 添加前后	Sobs	Shannon	Simpson	Ace	Chao	Shannoneven	Simpsoneven
Samples-0 h	1 135.60 ± 36.27a	4.61 ± 0.12a	0.04 ± 0.01a	1 668.72 ± 63.09a	1 387.49 ± 56.70a	0.54 ± 0.01a	0.01 ± 0.00a
CK-192 h	935.33 ± 66.69a	4.13 ± 0.33a	0.08 ± 0.03a	1 651.47 ± 108.30a	1 393.36 ± 88.14a	0.60 ± 0.04a	0.03 ± 0.01a
N ₂ O-192 h	932.33 ± 65.09a	4.39 ± 0.05a	0.05 ± 0.00a	1 840.97 ± 122.37a	1 522.26 ± 91.05a	0.67 ± 0.01a	0.04 ± 0.00a

1) Samples-0 h代表培养前获得的0 h起始土样;CK-192 h和N₂O-192 h分别代表培养至192 h不充N₂O气体和充N₂O气体处理采集的土壤样品;数据为平均值 ± 标准误(n = 3);同一小写字母表示同一类型α多样性指数不同处理间差异不显著(P > 0.05)



Samples-0 h 代表培养前获得的 0 h 起始土样; CK-192 h、 N_2O -192 h 分别代表培养至 192 h 不充 N_2O 气体和充 N_2O 气体处理采集的土壤样品; 数据为平均值 ($n=3$)

图 4 外源 N_2O 添加处理 *nosZ-I* 种群在 OTU 水平上相对丰度

Fig. 4 Abundance of the *nosZ-I*-containing community on the OTU level under the addition of N_2O treatment

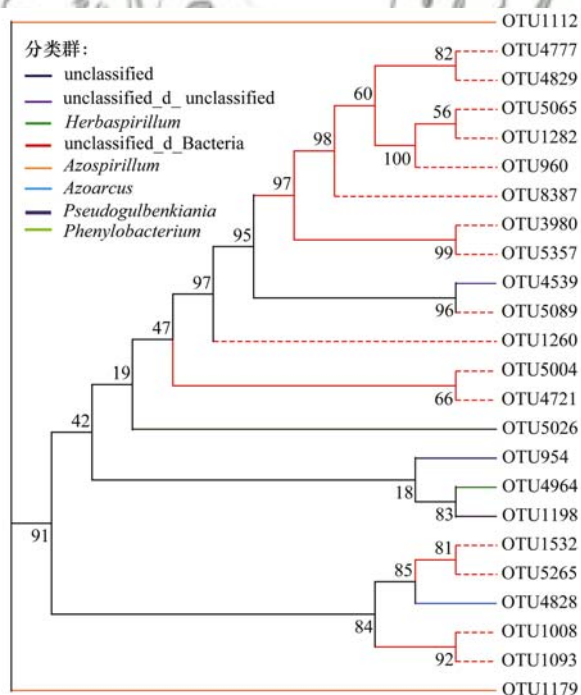


图 5 基于 *nosZ-I* 基因序列的系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree based on the sequences of the *nosZ-I* gene

3 讨论

水稻土是典型的农田土壤,长期淹水厌氧环境

导致土壤反硝化能力很强^[13,15,34]. 因此,水稻土普遍存在 N_2O 消纳现象,可以成为大气 N_2O 的汇库^[13,14].

土壤中的 N_2O 通量主要是由微生物驱动发生,其扩散也受土壤物理因素影响^[14]. 厌氧培养 192 h 后, N_2O 处理土柱底部剩余 N_2O 气体占初始添加量的 2.61%,在持续强烈的反硝化作用下对照处理土柱底部排放的少量 N_2O 气体也几乎全部迁移扩散进入土柱. 其可能的原因是绝大部分外源 N_2O 迁移扩散进了水稻土柱, N_2O 气体向上传输的过程中会被土壤孔隙、结构、水分、微生物截留,大部分 N_2O 在氧化亚氮还原酶的催化下发生了强烈的完全反硝化作用,被消耗转化为 N_2 排放,只有少部分 N_2O 气体逸散到土柱顶部空间^[23,34]. 进一步说明,持续淹水厌氧水稻田浅表层土壤 N_2O 排放量很低,甚至具有很强的 N_2O 吸收能力^[14,35,36].

有研究认为土壤 N_2O 的排放是 N_2O 产生和还原的净效应^[14,37]. 本研究结果显示,厌氧培养开始时 NO_3^- -N 浓度较低,外源 N_2O 处理和对照处理土柱顶部空间 N_2O 浓度上升,其原因可能是反硝化作用强烈, N_2O 的产生速率高于其还原(消耗)速率,未被还原成 N_2 的 N_2O 排放进入土柱顶部空间,表现为 N_2O 在顶部空间的累积^[14,36,37]. Chapuis-Lardy 等^[14]报道, N_2O 的消耗和 N_2 的产生受土壤 N_2O 浓度影响. 本研究发现随着厌氧培养时间延长, NO_3^- -N 浓度逐渐降低,积累在土柱顶部空间的 N_2O 达到排放高峰后又迅速被土壤吸收(消耗),外源 N_2O 处理比对照处理土柱顶部空间 N_2O 消耗速率更快,这与之前的报道一致. 例如,Clough 等^[29]和王玲等^[36]的土柱培养研究证实外源添加 N_2O 到土壤中或提高土壤 N_2O 浓度,可以加快土壤 N_2O 消耗速率.

之前的研究表明,表层土壤可能是 N_2O 通量的重要贡献者^[8],并且土壤物理生化特性会对氮素循环和 N_2O 排放产生影响^[38]. 厌氧、低 NO_3^- 浓度、丰富的有机碳和高水分含量有利于 *nosZ* 微生物通过反硝化作用将 N_2O 充分还原为 N_2 ,促进土壤 N_2O 消纳^[13]. 还有研究报道高 C 含量也可能刺激呼吸,导致无氧微区发生正常的反硝化作用^[24]. 本研究中土壤本底 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 含量较低,但有机碳含量较为丰富,厌氧培养 192 h 结束后,对照和 N_2O 添加处理 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 和 DOC 分别被消耗了 16.73% 和 36.38%、74.83% 和 91.12%、31.18% 和 39.59%,表明淹水厌氧环境和外源 N_2O 添加刺激了更多微生物的呼吸消耗和对碳氮养分的利用,这可能与 N_2O 还原酶有关^[36].

土壤反硝化微生物是土壤生态系统中 N_2O 还原的重要驱动因素^[38,39],生态系统的差异、尚未探明的环境因素会影响反硝化微生物的群落多样性和组成^[40]. Rich 等^[41]在厌氧条件下向泥浆中添加 N_2O 的研究证实了 *nosZ* 群落多样性没有差异. 本研究结果发现,不管是添加还是不添加 N_2O 气体, *nosZ-I* 细菌群落多样性没有显著差异. 群落组成分析结果显示初始土样、192 h 外源 N_2O 添加和 CK 处理这 3 种土壤中 *nosZ-I* 优势菌株 OTU5004、OTU5065、OTU960 和 OTU1282 的相对丰度差异显著,外源 N_2O 显著提高 OTU5004 菌株的相对丰度,且外源 N_2O 添加比 CK 的 N_2O 消耗速率提高了约 1.45 倍. 其可能原因是当土壤硝酸盐浓度较低时 N_2O 成为反硝化过程的唯一电子受体^[13,26],提高土壤 N_2O 浓度或外源添加 N_2O 会刺激反硝化过程中更多氧化亚氮还原酶微生物的响应,将 N_2O 彻底还原为 N_2 ^[13,14,28,36,42]. 已有研究报道微生物群落组成的差异可能会影响 N_2O 的消耗速率,从而影响土壤中的 N_2O 通量^[14]. 此外,本研究发现淹水厌氧环境下外源 N_2O 气体添加后, *nosZ-I* 同一个属内的菌株或者同一个种的不同菌株(如 *Azoarcus* sp.) 相对丰度差异显著. Sameshima-Saito 等^[19]证实了 *nosZ-I* 分支内不同的反硝化菌或同一个种的不同 *nosZ-I* 菌株 N_2O 还原速率存在差异.

4 结论

(1) 外源 N_2O 添加显著促进土壤 N_2O 消耗速率,激发土壤 N_2O 的消纳能力,从而降低水稻土 N_2O 的排放量.

(2) 外源 N_2O 的添加显著促进稻田土壤对 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和 DOC 的消耗,显著改变 *nosZ-I* 型功能微生物的群落组成.

(3) 总之,外源 N_2O 添加促进 0 ~ 5 cm 深度稻田土壤中 N_2O 还原成 N_2 的过程,这为降低稻田 N_2O 排放提供新的理论依据.

参考文献:

- [1] Crutzen P J. The influence of nitrogen oxides on atmospheric ozone content [A]. Paul J. Crutzen: A Pioneer on Atmospheric Chemistry and Climate Change in the Anthropocene [M]. Cham: Springer, 2016. 108-116.
- [2] Loick N, Dixon E, Abalos D, et al. "Hot spots" of N and C impact nitric oxide, nitrous oxide and nitrogen gas emissions from a UK grassland soil [J]. Geoderma, 2017, **305**: 336-345.
- [3] 邹娟, 胡学玉, 张阳阳, 等. 生物炭介导的不同地表条件下土壤 N_2O 的排放特征 [J]. 环境科学, 2017, **38**(5): 2093-2101.
- [4] Zou J, Hu X Y, Zhang Y Y, et al. Characteristics of biochar-mediated N_2O emissions from soils of different surface conditions [J]. Environmental Science, 2017, **38**(5): 2093-2101.
- [5] Braker G, Conrad R. Diversity, structure, and size of N_2O -producing microbial communities in soils—what matters for their functioning? [J]. Advances in Applied Microbiology, 2011, **75**: 33-70.
- [6] Pomowski A, Zumft W G, Kroneck P M, et al. N_2O binding at a [4Cu:2S] copper-sulphur cluster in nitrous oxide reductase. [J]. Nature, 2011, **477**(7363): 234-237.
- [7] 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.
- [8] Mosier A R, Duxbury J M, Freney J R, et al. Assessing and mitigating N_2O emissions from agricultural soils [J]. Climatic Change, 1998, **40**(1): 7-38.
- [9] Yano M, Toyoda S, Tokida T, et al. Isotopomer analysis of production, consumption and soil-to-atmosphere emission processes of N_2O at the beginning of paddy field irrigation [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, **70**: 66-78.
- [10] 刘杏, 赵光昕, 张晴雯, 等. 生物炭对华北农田土壤 N_2O 通量及相关功能基因丰度的影响 [J]. 环境科学, 2018, **39**(8): 3816-3825.
- [11] Liu X R, Zhao G X, Zhang Q W, et al. Effects of biochar on nitrous oxide fluxes and the abundance of related functional genes from agriculture soil in the north China plain [J]. Environmental Science, 2018, **39**(8): 3816-3825.
- [12] 朱永官, 王晓辉, 杨小茹, 等. 农田土壤 N_2O 产生的关键微生物过程及减排措施 [J]. 环境科学, 2014, **35**(2): 792-800.
- [13] Zhu Y G, Wang X H, Yang X R, et al. Key microbial processes in nitrous oxide emissions of agricultural soil and mitigation strategies [J]. Environmental Science, 2014, **35**(2): 792-800.
- [14] Cucu M A, Marhan S, Said-Pullicino D, et al. Resource driven community dynamics of NH_4^+ assimilating and N_2O reducing archaea in a temperate paddy soil [J]. Pedobiologia, 2017, **62**: 16-27.
- [15] Wu D, Wei Z J, Well R, et al. Straw amendment with nitrate-N decreased $\text{N}_2\text{O}/(\text{N}_2\text{O} + \text{N}_2)$ ratio but increased soil N_2O emission; A case study of direct soil-born N_2 measurements [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, **127**: 301-304.
- [16] Majumdar D. Biogeochemistry of N_2O uptake and consumption in submerged soils and rice fields and implications in climate change [J]. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2013, **43**(24): 2653-2684.
- [17] Chapuis-Lardy L, Wragge N, Metay A, et al. Soils, a sink for N_2O ? A review [J]. Global Change Biology, 2007, **13**(1): 1-17.
- [18] Wang L, Sheng R, Yang H C, et al. Stimulatory effect of exogenous nitrate on soil denitrifiers and denitrifying activities in submerged paddy soil [J]. Geoderma, 2017, **286**: 64-72.
- [19] Juhanson J, Hallin S, Söderström M, et al. Spatial and phylogeographical analyses of *nosZ* genes underscore niche differentiation amongst terrestrial N_2O reducing communities [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, **115**: 82-91.
- [20] Hallin S, Philippot L, Löffler F E, et al. Genomics and ecology of novel N_2O -reducing microorganisms [J]. Trends in Microbiology, 2018, **26**(1): 43-55.
- [21] Jones C M, Graf D R H, Bru D, et al. The unaccounted yet abundant nitrous oxide-reducing microbial community: a potential nitrous oxide sink [J]. The ISME Journal, 2013, **7**(2): 417-26.
- [22] Sameshima-Saito R, Chiba K, Hirayama J, et al. Symbiotic *Bradyrhizobium japonicum* reduces N_2O surrounding the soybean root system via nitrous oxide reductase [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, **72**(4): 2526-2532.

- [20] Conthe M, Parchen C, Stouten G, *et al.* O_2 versus N_2O respiration in a continuous microbial enrichment [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, **102**(20): 8943-8950.
- [21] Schlesinger W H. An estimate of the global sink for nitrous oxide in soils [J]. *Global Change Biology*, 2013, **19**(10): 2929-2931.
- [22] 刘若萱, 贺纪正, 张丽梅. 稻田土壤不同水分条件下硝化/反硝化作用及其功能微生物的变化特征[J]. *环境科学*, 2014, **35**(11): 4275-4283.
Liu R X, He J Z, Zhang L M. Response of nitrification/denitrification and their associated microbes to soil moisture change in paddy soil [J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(11): 4275-4283.
- [23] Liu L J, Kong J B, Chen W W, *et al.* Cui H. Effect of land use on the denitrification, abundance of denitrifiers, and total nitrogen gas production in the subtropical region of China [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, **50**(1): 105-113.
- [24] Mathieu O, Lévêque J, Hénault C, *et al.* Emissions and spatial variability of N_2O , N_2 and nitrous oxide mole fraction at the field scale, revealed with ^{15}N isotopic techniques [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, **38**(5): 941-951.
- [25] Clough T J, Sherlock R R, Rolston D E. A review of the movement and fate of N_2O in the subsoil [J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2005, **72**(1): 3-11.
- [26] Jones C M, Spor A, Brennan F P, *et al.* Recently identified microbial guild mediates soil N_2O sink capacity [J]. *Nature Climate Change*, 2014, **4**(9): 801-805.
- [27] Buchen C, Lewicka-Szczebak D, Flessa H, *et al.* Estimating N_2O processes during grassland renewal and grassland conversion to maize cropping using N_2O isotopocules [J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2018, **32**(13): 1053-1067.
- [28] Rosenkranz P, Brüggemann N, Papen H, *et al.* N_2O , NO and CH_4 exchange, and microbial N turnover over a mediterranean pine forest soil [J]. *Biogeosciences*, 2005, **3**(2): 673-702.
- [29] Clough T J, Kelliher F M, Wang Y P, *et al.* Diffusion of ^{15}N -labelled N_2O into soil columns: a promising method to examine the fate of N_2O in subsoils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, **38**(6): 1462-1468.
- [30] Domeignoz-Horta L A, Putz M, Spor A, *et al.* Non-denitrifying nitrous oxide-reducing bacteria-an effective N_2O sink in soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, **103**: 376-379.
- [31] Assémien F L, Cantarel A A M, Florio A, *et al.* Different groups of nitrite-reducers and N_2O -reducers have distinct ecological niches and functional roles in West African cultivated soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, **129**: 39-47.
- [32] Kloos K, Mergel A, Rösch C, *et al.* Denitrification within the genus *azospirillum* and other associative bacteria [J]. *Functional Plant Biology*, 2001, **28**(9): 991-998.
- [33] Throbäck I N, Enwall K, Jarvis Å, *et al.* Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **49**(3): 401-417.
- [34] Goldberg S D, Gebauer G. N_2O and NO fluxes between a norway spruce forest soil and atmosphere as affected by prolonged summer drought [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, **41**(9): 1986-1995.
- [35] Hansen M, Clough T J, Elberling B. Flooding-induced N_2O emission bursts controlled by pH and nitrate in agricultural soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, **69**: 17-24.
- [36] 王玲, 邢肖毅, 秦红灵, 等. 淹水水稻土消耗 N_2O 能力及机制 [J]. *环境科学*, 2017, **38**(4): 1633-1639.
Wang L, Xing X Y, Qin H L, *et al.* N_2O consumption ability of submerged paddy soil and the regulatory mechanism [J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(4): 1633-1639.
- [37] 续勇波, 蔡祖聪. 亚热带土壤氮素反硝化过程中 N_2O 的排放和还原 [J]. *环境科学学报*, 2008, **28**(4): 731-737.
Xu Y B, Cai Z C. Nitrous oxide emission and reduction during denitrification in subtropical soils [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, **28**(4): 731-737.
- [38] Yang H C, Sheng R, Zhang Z X, *et al.* Responses of nitrifying and denitrifying bacteria to flooding-drying cycles in flooded rice soil [J]. *Applied Soil Ecology*, 2016, **103**: 101-109.
- [39] 冯洁, 张克强, 陈思, 等. 土壤 N_2O 吸收和消耗机制及研究进展 [J]. *农业环境科学学报*, 2014, **33**(11): 2084-2089.
Feng J, Zhang K Q, Chen S, *et al.* Mechanism of N_2O uptake and consumption by soil. A review [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, **33**(11): 2084-2089.
- [40] Wallenstein M D, Myrold D D, Firestone M, *et al.* Environmental controls on denitrifying communities and denitrification rates: insights from molecular methods [J]. *Ecological Applications*, 2006, **16**(6): 2143-2152.
- [41] Rich J J, Myrold D D. Community composition and activities of denitrifying bacteria from adjacent agricultural soil, riparian soil, and creek sediment in Oregon, USA [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, **36**(9): 1431-1441.
- [42] 朱思佳, 马莹玲, 高人, 等. 中亚热带森林土壤 N_2O 消耗潜势及其控制因素研究 [J]. *环境科学学报*, 2019, **39**(5): 1673-1681.
Zhu S J, Ma Y L, Gao R, *et al.* N_2O consumption potentials and controlling factors in forest soils of mid-subtropical China [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2019, **39**(5): 1673-1681.

CONTENTS

PM _{2.5} Inversion Using Remote Sensing Data in Eastern China Based on Deep Learning	LIU Lin-yu, ZHANG Yong-jun, LI Yan-sheng, <i>et al.</i> (1513)
Regional Air Pollution Process in Winter over the Yangtze River Delta and Its Influence on Typical Northern Cities	LI Rui, LI Qing, XU Jian, <i>et al.</i> (1520)
Influencing Factors of Ozone Concentration in Xi'an Based on Generalized Additive Models	HUANG Xiao-gang, SHAO Tian-jie, ZHAO Jing-bo, <i>et al.</i> (1535)
Spatial and Temporal Distribution Characteristics of Levoglucosan and Its Isomers in PM _{2.5} in Beijing and Six Surrounding Cities	ZHU Hong-xia, TAO Xue-mei, WANG Chao, <i>et al.</i> (1544)
Characteristics and Sources Apportionment of Fine Particulate Matter in a Typical Coastal City During the Heating Period	LI Ming-yan, YANG Wen, WEI Min, <i>et al.</i> (1550)
Characteristics and Source Apportionment of Black Carbon in Chengdu	WANG Lu, YUAN Liang, ZHANG Xiao-ling, <i>et al.</i> (1561)
Effects of VOCs on Ozone Formation in the Tianjin Suburbs in Summer	YAO Qing, HAN Su-qin, ZHANG Yu-fen, <i>et al.</i> (1573)
Source Profiles and Impact of Volatile Organic Compounds in the Coating Manufacturing Industry	WU Jian, GAO Song, CHEN Xi, <i>et al.</i> (1582)
Characteristics of Condensable Particulate Matter in Ultra-low Emission Coal-Fired Power Plants	DENG Jian-guo, WANG Gang, ZHANG Ying, <i>et al.</i> (1589)
Distribution and Source Analysis of Nitrate in Surface Waters of China	ZHANG Xin, ZHANG Yan, BI Zhi-lei, <i>et al.</i> (1594)
Spatial Characteristics and Ecological Risks of Perfluoroalkyl Substances in Coastal Urbanized Areas of China and South Korea	YANG Hong-fa, SHI Bin, ZHOU Yun-qiao, <i>et al.</i> (1607)
Analysis of Water Quality Change and Its Driving Factors of the Xiaoqing River Estuary in Recent Ten Years	FAN Xin-feng, HAN Mei, WANG Lei, <i>et al.</i> (1619)
Distribution of Four Artificial Sweeteners in Water Treatment and Water Supply System in City H of Zhejiang Province	MA Xiao-yan, HU Hui, LU Si-jia, <i>et al.</i> (1629)
Changes in Epilithic Algae Community and Its Relationship with Environmental Factors in the Meixi River, a Tributary of the Three Gorges Reservoir	MI Wen-mei, SHI Jun-qiong, YANG Yan-jun, <i>et al.</i> (1636)
Succession Pattern of Phytoplankton and Its Drivers in Lake Luoma, Jiangsu Province	ZHANG Qing-ji, WANG Ye-yu, WANG Jin-dong, <i>et al.</i> (1648)
Relationship Between Diversity of Aquatic Plant Communities and Water Environmental Factors in Lhalu Wetland	WANG Jia-jun, TIAN Han-xin, ZHOU Lei, <i>et al.</i> (1657)
Evolution Characteristics and Driving Factors of Denitrification Community Based on Network Analysis in the Process of Spring Thermal Layer Formation in Zhoucun Reservoir	ZHOU Shi-lei, SUN Yue, ZHANG Yi-ran, <i>et al.</i> (1666)
Temporal and Spatial Distribution Characteristics and Difference Analysis of Nitrogen and Phosphorus in Daihai Lake	ZHAO Li, CHEN Jun-yi, JIANG Xia, <i>et al.</i> (1676)
Sediment Denitrification Rate and Its Response to Exogenous Carbon and Nitrogen in the Ponds and Bottomland of the Chaohu Lakeshore Zone	LI Ru-zhong, WANG Li, LIU Chao (1684)
Phosphate Control Effect and Water Body Remediation of Magnesium Modified Reed Biochar	DING Yu-qin, LI Da-peng, ZHANG Shuai, <i>et al.</i> (1692)
Efficiency of Magnesium Hydroxide Capping and Amendment to Control Phosphorus Release from Sediments	YANG Chun-yi, ZHAN Yan-hui, LIN Jian-wei, <i>et al.</i> (1700)
Characteristics of Chemical Fractions of Dissolved Organic Matter in Road Runoff in Beijing	CHEN Meng-yao, DU Xiao-li, YU Zhen-ya, <i>et al.</i> (1709)
3D Porous Photothermal Materials for High Salt Wastewater Treatment	HUANG Le, XU Ying-feng, XIE Qian-qing, <i>et al.</i> (1716)
Electrocatalytic Oxidation of Sulfadiazine with Ni-Doped Sb-SnO ₂ Ceramic Ring Particle Electrode	SHI Qiu-jun, LIU An-di, TANG Bo-bin, <i>et al.</i> (1725)
Degradation of A07 with Magnetic Fe ₃ O ₄ -CuO Heterogeneous Catalyzed Sodium Percarbonate System	XU Jie, WANG Lin, CHEN Jia-bin, <i>et al.</i> (1734)
Red Mud-activated Peroxymonosulfate for Ciprofloxacin Degradation: Efficiency and Mechanism	SHI Jing-zhuan, WEI Hong, ZHOU Xiao-de, <i>et al.</i> (1743)
Influence of Industrial Wastewater Quality on Advanced Treatment of Microbubble Ozonation	ZHANG Jing, ZHANG Shou-jing, LIU Chun, <i>et al.</i> (1752)
Adsorption Properties of Sludge-hydrochar for Methylene Blue	CHEN Li-yuan, LI Da-peng, ZHU Wen-juan, <i>et al.</i> (1761)
Preparation of Modified Watermelon Biochar and Its Adsorption Properties for Pb(II)	BI Jing-wang, SHAN Rui, HAN Jing, <i>et al.</i> (1770)
Construction and Denitrification Performance of A ² /O Based on Partial Nitrification Coupled with an ANAMMOX System	LIU Xiao-chai, RONG Yi, WEN Li-jie, <i>et al.</i> (1779)
Construction and Mechanism of Methanotroph-based Ultimate Denitrification System for Tailwater of Urban Sewage Plants	YANG Ya-nan, LI Yan-cheng, LI Jiang, <i>et al.</i> (1787)
Impact of Hydraulic Retention Time on Performance of Partial Nitrification Granular Sludge in Continuous Stirred-Tank Reactor	WANG Jian-fang, QI Ze-kun, QIAN Fei-yue, <i>et al.</i> (1794)
Realization Process of Nitrification and Changes in Sludge Characteristics in Granular Sludge Reactor for Low Strength Sewage Treatment	ZHU Lin, CHENG Cheng, SONG Jia-jun, <i>et al.</i> (1801)
Characteristics of Organics Transformation and Sludge Morphology in an ABR for Sewage Treatment with Different HRTs	CHENG Cheng, ZHU Lin, GUO Kai-cheng, <i>et al.</i> (1808)
Effect of Adding Granular Activated Carbon (GAC)/Manganese Dioxide (MnO ₂) for the Anaerobic Digestion of Waste Activated Sludge	YANG Bo, JIA Li-juan, XU Hui, <i>et al.</i> (1816)
Trace Metals Pollution and Health Risks for Planning Area Soils of 193 Chinese Cities	LI Kuo, PENG Min, YANG Zheng, <i>et al.</i> (1825)
Assessment of Heavy Metal Pollution in Surface Dust of Lanzhou Schools Based on Random Forests	HU Meng-jun, WANG Jia, ZHANG Ya-yun, <i>et al.</i> (1838)
Contents, Sources, and Ecological Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Surface Soils of Various Functional Zones in Yangzhou City, China	YAO Cheng, NI Jin-zhi, LIU Rui, <i>et al.</i> (1847)
Safety Assessment of Rice Planting in Soil Cadmium Geological Anomaly Areas in Southwest Guangxi	CHEN Tong-bin, PANG Rui, WANG Fo-peng, <i>et al.</i> (1855)
Bioavailability and Influencing Factors of Soil Cd in the Major Farming Areas of Chongqing	WANG Rui, HU Xiao-lan, ZHANG Yong-wen, <i>et al.</i> (1864)
Control of Cadmium Migration and Transformation in Alkaline Paddy Soil-Rice Using Cotton Stalk Biochar	LIU Shi-dou, ZHU Xin-ping, HAN Yao-guang, <i>et al.</i> (1871)
Reduction of Soil Cadmium Activity and Rice Cadmium Content by 4-year-consecutive Application of Organic Fertilizer	XUE Yi, YIN Ze-run, SHENG Hao, <i>et al.</i> (1880)
Effects of Nano-magnesium Hydroxide on the Forms of Cadmium in Different Types of Soil	DENG Ji-bao, ZHANG Chun-lai, XU Wei-hong (1888)
Selenium Uptake Characteristics of Reclaimed Soil-Crop from Mining Wasteland and Its Antagonistic Effects on Heavy Metals	YIN Bing, WANG Jian-fei, SHI Sheng, <i>et al.</i> (1904)
Dynamic Effects of Different Biochars on Soil Properties and Crop Yield of Acid Farmland	YANG Cai-di, ZONG Yu-tong, LU Sheng-gao (1914)
Effects of Fertilizer Reduction and Application of Organic Fertilizer on Soil Nitrogen and Phosphorus Nutrients and Crop Yield in a Purple Soil Sloping Field	ZHU Hao-yu, GAO Ming, LONG Yi, <i>et al.</i> (1921)
Response of Nitrogen Loss Flux in Purple Soil Sloping Field to Reduced Fertilizer and Combining Straw	XIONG Zi-yi, WANG Zi-fang, LONG Yi, <i>et al.</i> (1930)
Effect and Approach of <i>Enteromorpha prolifera</i> Biochar to Improve Coastal Saline Soil	WU Dan, SUN Ping, LU Peng-zhan, <i>et al.</i> (1941)
Vertical Distribution of Soil Dissolved Carbon and Its Influencing Factors in the Artificial Shelterbelt Irrigated with Saline Water in an Extreme Drought Desert	MENG Tian-ge, WU Lu-yao, ZHANG Shao-lei, <i>et al.</i> (1950)
Response of Soil Enzyme Activity and Chemical Properties to Nitrogen Addition in a Korean Pine Plantation	LÜ Lai-xin, SONG Lei, LIU Zhi-li, <i>et al.</i> (1960)
Consumption Capacity of N ₂ O in Paddy Soil and the Response Mechanism of <i>nosZ-I</i> -containing Communities	GUO Jun-li, TIAN Mei-jie, GE Ti-da, <i>et al.</i> (1968)
Predicting the Recycling Potential and Evaluating the Environmental Benefits of Waste Electrical and Electronic Equipment in Beijing-Tianjin-Hebei	CHEN Pan, SHI Xiao-qing (1976)
Relationship Between Urban Industrialization and PM _{2.5} Concentration in China and the Internal Mechanism of EKC	LI Ya-nan, DING Zhen-min, DENG Yuan-jie, <i>et al.</i> (1987)