万方知库
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.5
第41卷 第5期

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第41卷 第5期
2020年5月15日

目 次

上海大气 $PM_{2.5}$ 来源解析对比:基于在线数据运用3种受体模型 …… 周敏(1997)
不同浓度臭氧对单颗粒气溶胶化学组成的影响 …… 吴梦曦,成春雷,黄渤,李梅,陈多宏(2006)
二次有机气溶胶壳对氯化钠核吸湿性的影响:基于单颗粒微观尺度 …… 张淑佳,徐亮,郭新梅,黄道,李卫军(2017)
城区与县区不同空气质量下碳组分污染特征对比分析 …… 李欣悦,张凯山,邓林俐,向锌鹏,武文琪,殷子渊(2026)
临沂市 $PM_{2.5}$ 和 PM_{10} 中元素分布特征及来源解析 …… 陆平,赵雪艳,殷宝辉,张楠,王歆华,余浩,杨文,王晓丽(2036)
西安市秋冬季市区与山区微生物气溶胶组成特征及来源 …… 谢雯文,路瑞,慕飞飞,戚玉珍,白文艳,李彦鹏(2044)
北京市典型餐饮企业大气污染物排放特征 …… 何万清,王天意,邵霞,聂磊,石爱军(2050)
基于随机森林模型的中国 $PM_{2.5}$ 浓度影响因素分析 …… 夏晓圣,陈菁菁,王佳佳,程先富(2057)
大气污染联合治理分区视角下的中国 $PM_{2.5}$ 关联关系时空变异特征分析 …… 杨文涛,黄慧坤,魏东升,赵斌,彭焕华(2066)
基于地-空观测数据的粤港澳大湾区大气污染调查及时空演变特征 …… 王耀庭,梁加成,郑祚芳,李青春,李威,窦有俊(2075)
龙子祠泉域岩溶地下水水化学特征及成因 …… 唐春雷,郑秀清,梁永平(2087)
三峡水库总磷时空变化特征及滞留效应分析 …… 唐小娅,童思陈,黄国鲜,许光祥,李丹(2096)
三峡水库汛后蓄水期典型支流溶解氧与叶绿素a垂向分布特征 …… 杨凡,纪道斌,王丽婧,李虹,李莹杰(2107)
汉丰湖正式运行年水体营养盐分布特征 …… 付适,倪九派,何丙辉,李天阳,唐毅,钱田,向可翠(2116)
白洋淀水体富营养化和沉积物污染时空变化特征 …… 刘鑫,史斌,孟晶,周云桥,可欣,王铁宇(2127)
新安江水库悬浮颗粒物时空分布、沉降通量及其营养盐效应 …… 史鹏程,朱广伟,杨文斌,许海,朱梦圆,刘明亮,虞左明,吴志旭,郑文婷,王裕成,笪文怡,胡林娜(2137)
不同水文情景下高邮湖、南四湖和东平湖有色可溶性有机物的生物可利用性特征 …… 张柳青,石玉,李元鹏,郭燕妮,周蕾,周永强,张运林,杨艳(2149)
水源水库藻类功能群落演替特征及水质评价 …… 李衍庆,黄廷林,张海涵,温成成,杨尚业,林子深,高欣(2158)
人工强制混合对金盆水库水体藻类群落结构时空演替的影响 …… 王晨旭,黄廷林,李楠,齐允之,徐金兰,司凡,张晗,路林超(2166)
雄安新区-白洋淀冬季冰封期水体好氧反硝化菌群落空间分布特征及驱动因素 …… 周石磊,孙悦,岳哿丞,张航,王周强,刘世崇,彭瑞哲,苑世超,李再兴,崔建升(2177)
分层型水库水体好氧不产氧光合细菌时空演替特征 …… 张海涵,王燕,黄廷林,王晨旭,路林超,司凡,李楠,刘凯文,闫苗苗,苗雨甜(2188)
大型通江湖泊有色可溶性有机物对不同水文情景的响应 …… 郭燕妮,李元鹏,石玉,张柳青,周蕾,周永强,张运林,韩龙飞(2198)
秦岭北麓河流夏季有色溶解有机物分布特征及影响因素 …… 林子深,黄廷林,杨尚业,温成成,李衍庆,周石磊,宋选社(2210)
长江下游支流水体中多环芳烃的分布及生态风险评估 …… 贾天琪,雷荣荣,武小琳,倪涛涛,孙树睿,郭伟,刘文彬(2221)
太湖水体中 NSAIDs 的时空分布规律和生态风险评价 …… 廉杰,李祎飞,王晓暄,叶彬,邹华,史红星(2229)
8种典型 PhACs 在水中的赋存、生态风险及其对大型溞的影响 …… 徐鑫磊,刘建超,陆光华(2239)
我国南方桉树人工林区水库沉积物污染物的分布特征及迁移规律 …… 朱雅,李一平,罗凡,李荣辉,黄列,程一鑫,蒋裕丰(2247)
基于连续监测的城市内河返黑返臭机制初探:以南宁市二坑溪为例 …… 李永新,王威,何妹,申泰铭(2257)
城郊流域源汇景观格局与水体抗生素的关系 …… 李敏,唐剑锋,陈利顶,赵方凯,冯青郁,杨磊(2264)
城市雨水径流中溶解性有机物的分子化学多样性 …… 聂云汉,陈浩,李磊,朱弈,赵昕,贾其隆,徐慧婷,叶建锋(2272)
方解石/氯磷灰石混合物添加对水体内源磷迁移转化的调控效应和机制 …… 柏晓云,林建伟,詹艳慧,常明玥,吴俊麟,辛慧敏,黄良君(2281)
不同环境条件下水铁矿和针铁矿纳米颗粒稳定性 …… 王智巧,马杰,陈雅丽,翁莉萍,顾亚陶,李永涛(2292)
向日葵秸秆生物炭强化Fe(Ⅲ)/$S_2O_8^{2-}$ 体系降解苯甲酸 …… 孙鹏,张凯凯,张玉,张延荣(2301)
非活化单过硫酸盐降解柳氮磺胺吡啶:动力学及机制 …… 丁曦,张学维,周润生,宋哲,严佳颖,周磊,修光利(2310)
贵州某规模化养猪场废水中抗生素的污染特征及去除效果 …… 杨钊,李江,向福亮,李彦澄,马凯,谢锋(2320)
新型填料 A/O 生物滤池处理低碳氮比农村污水脱氮 …… 赵远哲,杨永哲,王海燕,储昭升,常洋,董伟羊,闫国凯,王欢,李丛宇(2329)
贫营养好氧反硝化菌株的脱氮特性及氮/碳平衡分析 …… 文刚,王彤,黄廷林,万琪琪,曹瑞华,寇莉青,杨尚业(2339)
连续流 SNAD 工艺处理猪场沼液启动过程中微生物种群演变及脱氮性能 …… 秦嘉伟,信欣,鲁航,张萍萍,王露蓉,邹长武,郭俊元(2349)
不同培养条件厌氧氨氧化颗粒污泥性质及微生物群落结构差异 …… 姜滢,郭萌蕾,谢军祥,常尧枫,谢嘉玮,陈重军,沈耀良(2358)
反硝化除磷耦合部分亚硝化-厌氧氨氧化一体式工艺的启动 …… 陈亚,印雯,张星星,张钰,宋吟玲,吴鹏,徐乐中(2367)
土壤环境承载力评价体系构建与应用 …… 李笑诺,丁寿康,陈卫平,王夏晖,吕斯丹,刘睿(2373)
磁性生物炭的合成及对土壤重金属污染的钝化效果 …… 王俊楠,程珊珊,展文豪,任强,马晓宇,王洋洋(2381)
还原增溶强化 EGTA 淋洗修复重金属污染土壤 …… 张金永,朱玉婷,王明新,韩莹,葛嘉琦(2390)
不同价态铬和土壤理化性质对大麦根系毒性阈值的影响 …… 付平南,贡晓飞,罗丽韵,王琪,李花粉(2398)
生物炭施用对紫色土旱坡地土壤氮流失形态及通量的影响 …… 王舒,王子芳,龙翼,严冬春,慈恩,徐国鑫,李娇,高明(2406)
长期撂荒恢复土壤团聚体组成与有机碳分布关系 …… 王兴,钟泽坤,张欣怡,吴少君,卢绪巧,杨改河,任成杰,韩新辉(2416)
施用生物炭对塿土土壤微生物代谢养分限制和碳利用效率的影响 …… 王强,耿增超,许晨阳,郭靖宇,李倩倩,刘莉丽,赵汉红,杜旭光(2425)
间种高粱及施用大颗粒尿素对茶园 N_2O 排放的影响 …… 张珂彬,刘新亮,康曼,王毅,沈健林,李勇(2434)
缙云山森林植被类型对土壤产 N_2O 相关功能微生物的影响 …… 王蓥燕,王富华,罗东海,吕盛,王子芳,高明(2445)
咸水滴灌对棉田土壤 N_2O 排放和反硝化细菌群落结构的影响 …… 郭慧楠,马丽娟,黄志杰,李美琪,侯振安,闵伟(2455)
有机质提升对酸性红壤氮循环功能基因及功能微生物的影响 …… 储成,吴赵越,黄欠如,韩成,钟文辉(2468)
模拟酸雨对毛竹阔叶林过渡带土壤真菌结构及其多样性的影响 …… 王楠,潘小承,王传宽,白尚斌(2476)
海洋沉积物中细菌 DNA 和 RNA 水平群落差异 …… 李明月,杨雨虹,米铁柱,贺惠,甄毓(2485)
2003~2013年中国湿地变化的空间格局与关联性 …… 周婷,马姣娇,徐颂军(2496)
《环境科学》征订启事(2086) 《环境科学》征稿简则(2187) 信息(2209,2263,2309)

Eco-Environmental Knowledge Web
环 境 科 学
Environmental Science
第41卷第5期 2020年5月
Vol.41, No.5 May, 2020

有机质提升对酸性红壤氮循环功能基因及功能微生物的影响

储成[1], 吴赵越[1], 黄欠如[2], 韩成[1,3], 钟文辉[1,3]*
(1. 南京师范大学地理科学学院, 江苏省物质循环与污染控制重点实验室, 南京 210023; 2. 江西省红壤研究所, 南昌 331717; 3. 江苏省地理信息资源开发与利用协同创新中心, 南京 210023)

摘要: 外源有机物质输入是提升酸性红壤有机质含量的主要方式,氮素是土壤肥力的重要限制因子. 有机质提升后土壤生态系统的变化会影响土壤氮循环过程及功能微生物,但目前还未见报道. 本研究选择长期施有机肥的酸性旱地红壤及不施肥对照土壤作为研究材料,基于宏基因组测序及氮循环功能基因数据库比对,研究32 a的连续有机物质输入导致的土壤有机质含量上升对酸性红壤氮循环功能基因及相关功能微生物的影响. 结果表明,酸性红壤有机质提升显著增加了土壤总有机碳和总氮含量,缓解了土壤酸化. 有机质提升增加了土壤净硝化活性和氨氧化潜势. 有机质提升显著增长了编码古菌氨单加氧酶 *amoA* 基因和反硝化过程还原酶的功能基因 *nar*、*nap*、*nir*、*nor* 和 *nos* 的丰度,降低了编码羟胺氧化酶 *hao* 基因及执行硝酸盐异化还原成铵过程的功能基因 *nrf* 的丰度,提升了有机氮代谢功能基因 *glnA*、*gdh*、*glsA*、*ansB* 和 *nao* 丰度,改变了硝酸盐同化过程功能基因丰度以及硝化过程功能微生物群落组成. 有机质提升后土壤酸化的缓解和总有机碳含量的提升是影响氮循环各过程功能基因丰度及功能微生物组成的最主要因子. 本研究全面研究了无机氮和有机氮循环功能基因,关联了氨氧化过程的功能基因、功能微生物类群和功能活性,可为把握酸性红壤氮循环特征提供数据依据,也可为酸性土壤改良提供思路.

关键词: 氮循环; 宏基因组学; 功能基因; 长期施肥; 有机质; 酸性土壤
中图分类号: X172 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2020)05-2468-08 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.201911013

Effect of Organic Matter Promotion on Nitrogen-Cycling Genes and Functional Microorganisms in Acidic Red Soils

CHU Cheng[1], WU Zhao-yue[1], HUANG Qian-ru[2], HAN Cheng[1,3], ZHONG Wen-hui[1,3]*
(1. Jiangsu Provincial Key Laboratory of Materials Cycling and Pollution Control, School of Geography Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210023, China; 2. Jiangxi Institute of Red Soil, Nanchang 331717, China; 3. Jiangsu Center for Collaborative Innovation in Geographical Information Resource Development and Application, Nanjing 210023, China)

Abstract: The application of exogenous organic matter is considered the main method of increasing the organic matter content of acidic red soils. Nitrogen is an important limiting factor for soil fertility. Changes to the soil ecosystem under organic matter promotion can affect soil nitrogen cycling and related functional microorganisms; however, there have been no studies on this aspect. Acidic upland red soils, with or without long-term organic fertilizer application, were chosen as the research materials in this study. Based on metagenomic sequencing and alignment in the nitrogen-cycling gene database, the present study aimed to investigate the effect of organic matter promotion on nitrogen-cycling genes and functional microorganisms in acidic red soils, which had been amended with exogenous organic matter for 32 years. The results showed that organic matter promotion in acidic soils increased the total organic carbon and total nitrogen content, and alleviated soil acidification. Organic matter promotion increased the soil net nitrification activity and potential for ammoxidation. Organic matter promotion increased the abundance of *amoA* genes (encoding ammonia monooxygenase) and *nar*, *nap*, *nir*, *nor*, and *nos* genes (encoding denitrification reductase); decreased the abundance of *hao* genes (encoding hydroxylamine oxidase) and *nrf* genes related to the dissimilatory nitrate reduction to ammonia; increased the abundance of *glnA*, *gdh*, *glsA*, *ansB*, and *nao* genes related to organic nitrogen metabolism; altered the abundance of functional genes related to assimilatory nitrate reduction; and changed the community composition of nitrogen-cycling microorganisms. After organic matter promotion, alleviation of soil acidification and enhancement of total organic carbon were the most important factors that affected the abundance of nitrogen-cycling genes and the community composition of functional microorganisms. Our results comprehensively investigated the inorganic and organic nitrogen-cycling genes, and correlated the functional genes, microbial populations, and functional activities in the ammonia oxidizing process, which provided supporting data to understand the nitrogen-cycling characteristics of acidic red soils and provided ideas for acidic soil improvement.

Key words: nitrogen cycle; metagenomics; functional genes; long-term fertilization; organic matter; acidic soil

氮循环是土壤生态系统中重要的元素循环之一,主要包括氮素固定、有机氮矿化以及各种形态无

收稿日期: 2019-11-02; **修订日期**: 2019-12-05
基金项目: 国家自然科学基金项目(41730753, 41771286, 41401293); 国家重点研发计划项目(2016YFD0200302)
作者简介: 储成(1987~), 女, 硕士, 主要研究方向为土壤氮素转化过程及功能微生物, E-mail: cc2096@163.com
* 通信作者, E-mail: zhongwenhui@njnu.edu.cn

机氮的相互转化[1]. 微生物是介导土壤氮循环过程的载体和引擎,刻画和关联功能微生物类群(或功能基因簇)与氮循环生态过程是环境组学和微生物生态学研究的重要内容之一[2]. 为此,行业先驱们做出了很多努力,通过分析 *nifH*、*amoA*、*narG* 和 *nir/nos* 等功能基因来研究单个氮循环生态过程[3~6]. 然而,氮循环各过程承先启后、相互关联,且部分功能基因簇缺少合适的扩增引物,因此全面、综合地研究复杂土壤生态系统中的氮循环过程十分受限[7,8]. 2010 年后基因芯片技术的发展,使得环境样品的功能基因研究快速发展[9,10];但受现有数据库及芯片制作技术所限,该技术对新发现基因及多样性较高的基因簇研究存在缺陷[11]. 近年来,随着宏基因组(metagenome)测序技术的发展,使得在一个生态系统中同步对多个氮循环功能基因进行研究成为可能;即在宏基因组深度测序的基础上,通过与 COG、KEGG、eggNOG 和 NCycDB 等综合数据库比对,筛选出氮循环过程中的功能基因类群及相对丰度[12,13]. 因此,基于宏基因组测序技术,可全面、综合地评估气候变化[12,14]和人为活动[13]引起的土壤生态系统演变下的微生物功能基因簇变化及其生态过程潜力.

酸度值低于 5.5 的酸性红壤主要分布在我国南方地区,约占全国土地总面积的 22.7%;酸性土壤有机质含量低、生物可利用养分含量低、土壤淋溶强、氧化势高,使得该土壤肥力普遍较低[15]. 长期定位施肥试验发现,相比于不施肥土壤, 30 a 的长期有机粪肥施加显著提高了我国江西地区酸性玉米地土壤有机质含量近 40%[3],而该地区另一长期定位施肥试验研究发现长期施用化肥也能提升土壤肥力,但对土壤有机质的提升较小(3.8%~6.1%)[16]. 因此,施有机肥是提升酸性土壤有机质含量、提高土壤质量的最有效措施之一,也是提高土壤通气性、缓解土壤酸化的重要措施之一[3,17,18]. 相关研究发现,土壤有机质提升会显著增加土壤硝化活性[3],改变土壤氨氧化微生物群落丰度和组成[3,16,19],可见酸性土壤有机质提升确实显著影响了土壤微生物群落及其生态功能. 但是,有机质提升后对土壤多个氮循环过程、氮循环功能基因及相关功能微生物的研究,目前还未见报道.

本文以位于江西进贤的长期施有机粪肥处理的酸性红壤及不施肥土壤为研究材料,结果发现,相比于不施肥处理, 32a 的有机粪肥施加显著提升了土壤有机质含量,增幅达 38.2%. 采用基于 Illumina HiSeq 高通量测序平台的宏基因组测序技术定量土壤氮循环功能基因及氮循环相关功能微生物类群的相对丰度,结合基于室内培养试验的土壤硝化强度及氨氧化微生物绝对丰度数据评估土壤硝化过程功能基因丰度与功能微生物丰度及硝化作用强度的匹配程度,综合研究酸性土壤氮循环功能基因及关键功能微生物类群对有机质提升的响应. 本研究有助于全面把握土壤中的无机氮和有机氮循环功能基因及无机氮循环功能微生物类群,以期为把握酸性红壤氮循环特征提供试验数据,也可为酸性土壤改良提供思路.

1　材料与方法

1.1　土壤样品采集和预处理

本研究依托位于江西进贤的江西省红壤研究所红壤生态实验站,以其长期施肥旱地玉米地试验田为研究平台. 该地区属亚热带季风气候(28°21′04″N, 116°10′16″E),年均温 17.7℃,种植期日平均气温 23.1℃,年降水量1 727 mm;该试验田建于 1986 年,设双季玉米轮作种植方式,种植期为每年的 4~11 月[3,17]. 试验田设有不施肥(CK)和长期施有机肥(OM)两个处理,有机肥为猪粪,施用量为2 000 $kg\cdot hm^{-2}$,施肥时间为早季玉米种植前;每个处理设有 3 个随机分布的重复小区,各小区面积约为 20 m^2. 于 2018 年 4 月早季玉米种植前,使用土钻采集耕作层土壤样本(0~15 cm),每个小区采用 S 型采集 10 个点混合后作为 1 份土壤样品. 土壤样品立即于 4℃下保存,并于 2 d 内去除杂物和植物残留,过 2 mm 筛后,分成 3 份. 一份储存于 -80℃用于土壤总 DNA 提取;一份储存于 4℃用于无机氮含量测定及土壤硝化强度测定;一份风干后用于基础理化性质测定.

1.2　土壤理化性质及硝化强度测定

土壤理化性质测定方法参照文献[3,18]. 采用玻璃电极法测定土壤 pH 值(Mettler-Toledo,瑞士),浸提液分别为去离子水和 2 $mol\cdot L^{-1}$ KCl 溶液,水土比为 2.5∶1. 采用重铬酸钾氧化法测定土壤总有机碳(Total organic carbon,TOC)含量,采用微波消解-凯氏定氮法测定土壤总氮(Total nitrogen,TN)含量. 采用 KCl 浸提-流动分析仪法(SKALA,荷兰)测定土壤铵态氮和硝态氮含量. 采用硝态氮累计法测定土壤净硝化活性[3],采用氯酸钾抑制-亚硝态氮累计法测定土壤氨氧化潜势[19]. 测定结果均以土壤干重计.

1.3　土壤总 DNA 提取及宏基因组测序

称取 0.5 g 储存于 -80℃的土壤样品,采用 FastDNA(Spin Kit for Soil MP Biomedicals,美国)试剂盒提取土壤总 DNA,提取步骤及所用设备参照试

剂盒说明书. 采用 NanoDrop 2000(Thermo Fisher,美国)测定提取液中 DNA 浓度及纯度. 检测合格的 DNA 溶液加入 fragmentation 缓冲液(Thermo Fisher,美国),超声破碎法随机打断后得到短片段 DNA 用于测序文库构建,采用 HiSeq2500 高通量测序平台(Illumina,美国)进行 PE150 测序. 本研究宏基因组测序工作委托广东美格基因科技有限公司完成. 获得每个样本的宏基因组测序数据后,首先采用 Trimmomatic(http://www.usadellab.org/cms/index.php?page=trimmomatic)进行质量控制来去除低质量数据,获得 Clean Reads,以保证结果可信度;采用 MEGAHIT(http://www.l3-bioinfo.com/products/megahit.html)对 Clean Reads 进行 de novo 拼接获得 500 bp 以上的 Scaftig,k-min = 35,k-max = 95,k-step = 20;采用 MetaGeneMark(http://exon.gatech.edu/meta_gmhmmp.cgi)进行开放阅读框预测[20];采用 Linclust 进行基因聚类及去冗余,得到 Unigenes 序列[21];将非冗余的 Unigenes 序列与 NCBI-NR 数据库(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/)比对,结合 MetaPhlAn2(http://www.huttenhower.org/metaphlan2)对 Clean Reads 快速分类,共同对物种进行注释. 同时,利用预测出来的蛋白序列与 NCycDB 数据库进行比对,以获取相关氮循环功能基因注释信息[11];该数据库综合了 KEGG、COG、eggNOG、Uniprot 等数据库中的氮循环功能基因信息,共收录 68 个氮循环功能基因家族的基因,包含 219 146条参考序列,数据库信息及比对方法参见 https://github.com/qichao1984/NCyc.

1.4 古菌和细菌 *amoA* 基因的定量 PCR 分析

采用基于 SYBR 染料法的定量 PCR 分析土壤中氨氧化古菌(ammonia-oxidizing archaea, AOA) *amoA* 基因(*amoA-A*)和氨氧化细菌(ammonia-oxidizing bacteria,AOB) *amoA* 基因(*amoA-B*)的绝对丰度. *amoA-A* 和 *amoA-B* 基因扩增引物分别为 Arch-amoAF(5′-STA ATG GTC TGG CTT AGA CG-3′)/Arch-amoAR(5′-GCG GCC ATC CAT CTG TAT GT-3′)[22] 和 amoA-1F(5′-GGG GTT TCT ACT GGT GGT-3′)/amoA-2R(5′-CCC CTC KGS AAA GCC TTC TTC-3′)[23]. 定量 PCR 扩增设备为 CFX96(Bio-Rad Laboratories,美国),扩增试剂为 HiScript II Q RT SuperMix for qPCR(Vazyme Biotech,中国),反应体系、扩增程序及熔解曲线程序见文献[3,18]. 采用 10 倍稀释含有标靶基因的重组质粒制作标准曲线,AOA 和 AOB 的 *amoA* 基因标准曲线模板浓度分别为 $1.39\times10^2\sim1.39\times10^8$ copies·μL^{-1}和 $2.30\times10^2\sim2.30\times10^8$ copies·μL^{-1},扩增效率分别为 94.0% ($R^2>0.991$)和 102.8% ($R^2>0.985$).

1.5 数据分析

采用 SPSS 16.0(IBM,美国)统计软件对试验数据进行分析,采用独立样本 *T* 检验比较 CK 和 OM 土壤中各指标的显著性差异($n=3$,$P<0.05$). 采用 CIRCOS 平台(http://circos.ca/)绘制微生物群落组成图,以表征不同功能微生物属在氮循环类群和土壤样品中的分布.

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质和硝化强度

长期有机物质输入后,土壤理化性质显著变化(表 1). 与 CK 土壤相比,OM 土壤 pH 值显著提升($P<0.05$),有效缓解了土壤酸化;土壤总有机碳和总氮含量显著增加,增幅分别为 38.2% 和 44.1% ($P<0.05$). OM 土壤硝态氮含量显著高于 CK 土壤($P<0.05$),而两种土壤铵态氮含量无差异($P>0.05$). 与 CK 土壤相比,OM 土壤净硝化速率和氨氧化潜势显著升高,增幅分别为 70.6% 和 78.6% ($P<0.05$).

表 1 土壤基本理化性质、硝化强度及 *amoA* 基因丰度1)

Table 1 Basic physicochemical properties, nitrification activity, and *amoA* gene abundance of soils

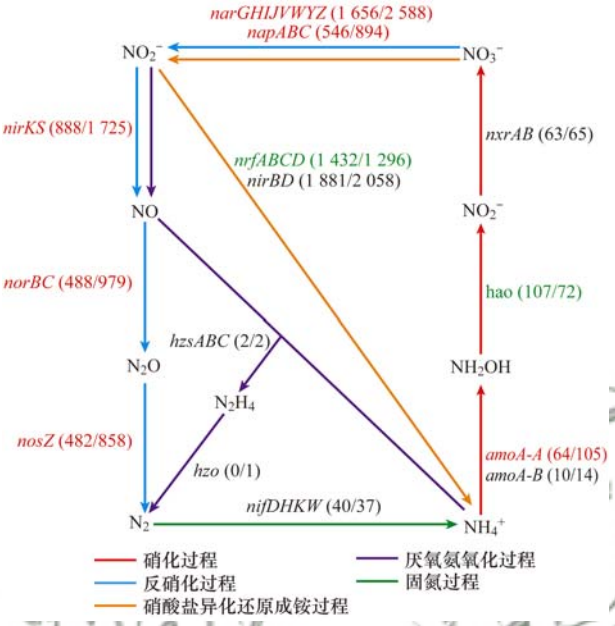
土壤	pH (H_2O)	pH (KCl)	总有机碳 /g·kg^{-1}	总氮 /g·kg^{-1}	铵态氮 /mg·kg^{-1}	硝态氮 /mg·kg^{-1}	净硝化速率 /mg·(kg·d)$^{-1}$	氨氧化潜势 /mg·(kg·d)$^{-1}$	古菌 *amoA* 基因 /copies·g^{-1}	细菌 *amoA* 基因 /copies·g^{-1}
CK	4.97b	3.75a	13.1b	1.61b	3.95a	7.25b	5.30b	23.8b	7.05×10^8b	4.40×10^6b
OM	6.35a	4.87b	18.1a	2.32a	3.45a	21.9a	9.04a	42.5a	1.65×10^9a	1.09×10^7a

1)同一列中不同字母代表 CK 和 OM 土壤存在显著差异(*T*-test,$n=3$,$P<0.05$)

2.2 土壤无机氮循环功能基因丰度

有机质提升后,酸性红壤中与无机氮循环过程相关的功能基因丰度发生明显变化(图 1). 好氧硝化过程中,有机质提升显著增加了 *amoA-A* 基因丰度($P<0.05$),增幅为 64.1%,但对 *amoA-B* 基因丰度没有影响($P>0.05$);定量 PCR 结果发现有机质提升后土壤古菌和细菌 *amoA* 基因丰度均显著增长(表 1),增幅分别为 134% 和 147%. 有机质提升显著降低了编码羟胺氧化酶的 *hao* 基因丰度($P<0.05$),降幅为 32.7%;有机质提升对编码亚硝酸盐氧化酶的 *nxrAB* 基因丰度无显著影响($P>0.05$). 有机质提升显著增加了反硝化过程中各功能基因的

丰度，包括编码硝酸盐还原酶的 *narGHIJVWYZ* 基因和 *napABC* 基因丰度、编码亚硝酸盐还原酶的 *nirKS* 基因、编码 NO 还原酶的 *norBC* 基因及编码N_2O还原酶的 *nosZ* 基因（$P<0.05$），增幅分别达到 56.3%、63.7%、94.3%、100.6% 和 71.2%. 硝酸盐异化还原成铵（DNRA）过程，有机质提升显著增加了 *nrfABCD* 基因丰度（$P<0.05$）. 有机质提升对厌氧氨氧化过程（ANAMMOX）和生物固氮（Nitrogen fixation）过程中的功能基因丰度无显著影响（$P>0.05$）. 有机质提升后，土壤氨氧化过程功能基因 *amoA* 丰度与硝化强度（表 1）变化趋势一致.



基因名称旁括号内的左边和右边数字分别代表 CK 和 OM 土壤中基于宏基因组测序得出的标准化功能基因丰度数据；有机质提升后丰度显著增加的基因用红色标注（*T*-test，$n=3$，$P<0.05$）；有机质提升后丰度显著降低的基因用绿色标注（*T*-test，$n=3$，$P<0.05$）；CK 和 OM 土壤中丰度无显著差异的基因用黑色标注（*T*-test，$n=3$，$P>0.05$）；不同颜色的带箭头线代表不同的氮循环过程

图 1　土壤无机氮循环功能基因丰度

Fig. 1　Abundance of soil inorganic nitrogen cycling genes

2.3　土壤无机氮循环功能微生物相对丰度

有机质提升也改变了酸性土壤中无机氮循环过程主要微生物属（>0.5%）的相对丰度（图 2）. CK 土壤中氨氧化古菌属 *Nitrososphaera* 和 *Nitrosopumilus* 相对丰度分别为 40.8% 和 3.4%，有机质提升后分别显著下降至 33.1% 和 2.1%（$P<0.05$）. CK 土壤中氨氧化细菌属 *Nitrosospira* 和 *Nitrosomonas* 相对丰度分别为 4.0% 和 1.1%，有机质提升后分别上升至 6.8% 和 1.6%（$P<0.05$）；而 *Nitrosococcus* 相对丰度则由 3.2% 显著下降至 2.6%（$P<0.05$）. 有机质提升后，土壤中亚硝酸盐氧化菌属 *Nitrolance* 和 *Nitrospina* 相对丰度分别从 23.4% 和 2.5% 下降至 6.0% 和 1.9%（$P<0.05$），而 *Nitrospira* 相对丰度从 14.9% 上升至 40.1%（$P<0.05$）；有机质提升对 *Nitrobacter* 和 *Nitrospirillum* 相对丰度无显著影响（$P>0.05$）. 本研究还检测到厌氧氨氧化菌属 *Candidatus Brocadia* 和 *Candidatus Kuenenia*，其相对丰度均未受有机质提升影响（$P>0.05$）.

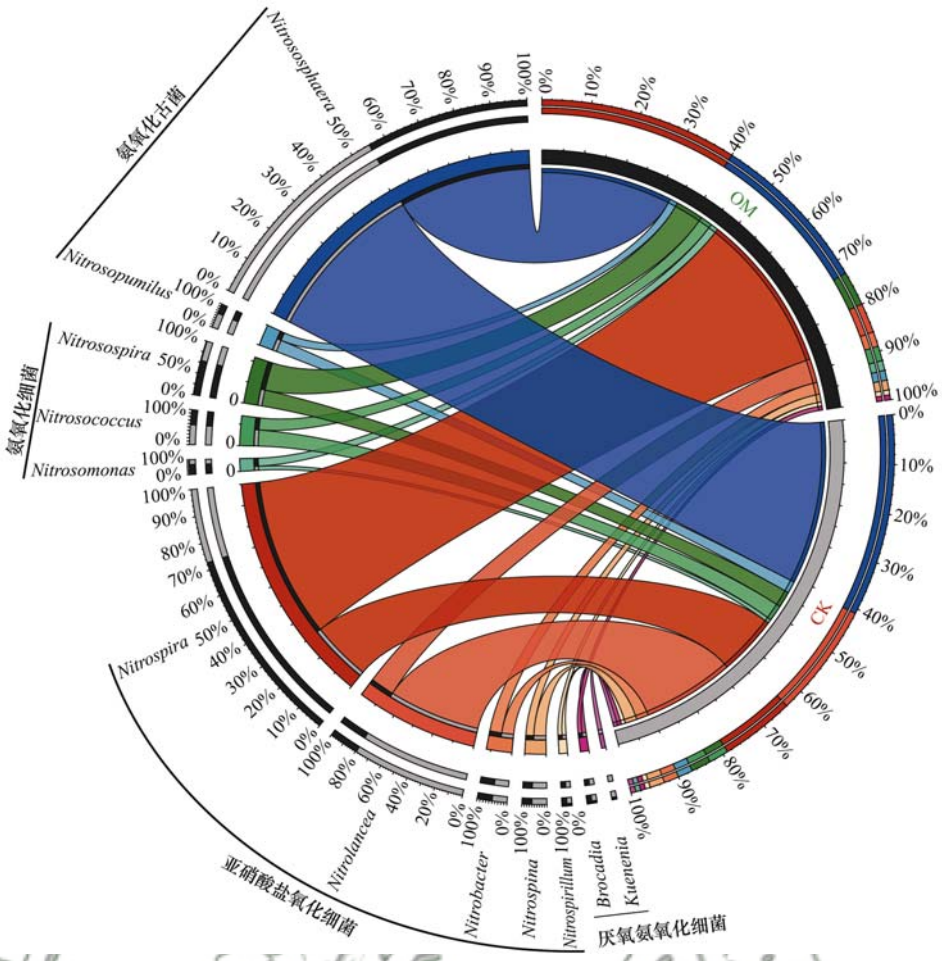
2.4　土壤有机氮循环功能基因丰度

酸性土壤有机氮循环过程主要包括硝酸盐同化过程和有机氮代谢过程，也显著受有机质提升影响（图 3）；而铵盐的同化过程功能基因在本研究土壤中并未检测到. 硝酸盐同化还原过程中，有机质提升显著增加了编码硝酸盐还原酶的 *nasAB* 基因丰度（增幅为 16.5%，$P<0.05$），显著降低了编码亚硝酸盐还原酶的 *nirA* 和 *NR* 基因丰度（降幅分别为 22.5% 和 20.2%，$P<0.05$），对编码另一类硝酸盐还原酶的 *narBC* 基因丰度无显著影响（$P>0.05$）. 有机氮代谢过程中，有机质提升显著增加了编码谷氨酰胺合成酶的 *glnA*、编码谷氨酸脱氢酶的 *gdh*、编码谷氨酰胺酶的 *glsA/ansB* 和编码硝基烷氧化酶的 *nao* 基因丰度（$P<0.05$），增幅分别为 10.1%、11.4%、141.5%、85.8% 和 72.5%，而对其它有机氮代谢功能基因丰度无显著影响（$P>0.05$）.

3　讨论

过去 20 a，许多报道调查了酸性土壤中的氮循环过程、功能基因及功能微生物[3,5,24,25]，但同时关联多个氮循环功能基因及微生物的研究鲜有报道. 本研究基于宏基因组测序及 NCycDB 氮循环功能基因数据库，研究了有机质提升对酸性红壤氮循环功能基因丰富及相关功能微生物组成的影响. 虽然本研究仅测定了一个时间点的数据，但是研究对象是经过 32 a 严格、持续的长期定位施肥管理的具有稳定生态系统的土壤，且选取冬休结束时刻进行采样以避免当年的人为干扰，其结果应该能够代表该地区酸性红壤中氮循环功能基因丰度及微生物组成的变化对有机质提升的响应.

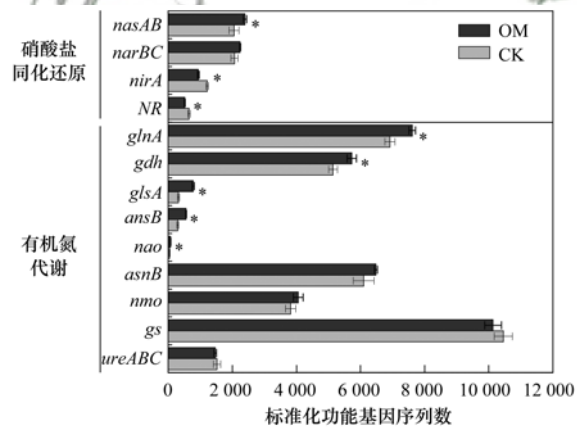
硝化过程被认为是氮循环过程的中心环节，氨氧化是硝化过程的第一及限速步骤[15]. 本研究发现有机质提升显著增加了土壤净硝化活性和氨氧化潜势（$P<0.05$），增幅分别为 70.6% 和 78.6%（表 1），和已报道研究结果一致[3,16,19]. Wang 等[3] 在 2014 年调查该地区土壤，也发现有机质提升增加了土壤净硝化活性 45.5%；He 等[19] 调查了湖南祁阳红壤实验站小麦-玉米轮作的酸性红壤，相比于不施肥土壤，16 a 的长期有机肥-无机肥配施提升了 56.6%



不同颜色的模块代表执行不同无机氮循环过程的功能微生物;同一颜色的不同拆分模块所占比例数值代表的是不同微生物属占各自功能微生物的相对丰度以及在 CK 和 OM 土壤中的相对丰度

图 2 土壤氮循环功能微生物类群及其相对丰度

Fig. 2 Abundance of soil inorganic nitrogen cycling genes



横坐标代表基于宏基因组测序得出的标准化功能基因序列数;柱子右侧的星号表示该功能基因丰度在 CK 和 OM 土壤中有显著差异(T-test, $n=3$, $P<0.05$)

图 3 土壤有机氮循环功能基因丰度

Fig. 3 Abundance of soil organic nitrogen cycling genes

的土壤有机质含量,土壤氨氧化潜势也增加了196%;Liu 等[16]调查江西千烟洲生态试验站桔园施肥试验也发现类似结果. 氨氧化古菌(AOA)和氨氧化细菌(AOB)是执行氨氧化过程的功能微生物[22]. AOA 普遍存在于各种土壤环境中[26],且通常丰度较高[24];大部分研究结果均认为 pH[3,25,27]、底物浓度[28]、有机物含量[29,30]和氧气含量[31]等是影响氨氧化微生物在土壤中生长并发挥氨氧化功能的主要因素. 例如,研究者运用稳定同位素探针技术(SIP)发现在中性或者偏碱性(pH 6.9 ~ 8.0)土壤中 AOB 具有较高氨氧化活性[27,32];但在强酸性土壤(pH < 5.5)中仅检测到 AOA 具有自养氨氧化活性[3,25,33]. 本研究土壤经过 32 a 的有机质输入,土壤有机质提升的同时,土壤 pH 值(水溶液提取)从 4.97 上升至 6.35(表 1);前期 SIP 研究也发现 CK 土壤中活性氨氧化微生物是 AOA,但 OM 土壤中活性氨氧化微生物转变为 AOB[3],可见土壤酸化缓解应是有机质提升增加酸化红壤硝化强度的最主要因素. 本研究还发现有机质提升后,古菌和细菌 *amoA* 基因绝对丰度均显著增加(表 1),但是宏基因组测定结果发现仅古菌 *amoA* 基因丰度显著增加,细菌 *amoA* 基因丰度略有增加,但统计上不显著(图 1). 绝对定量和相对丰度的结果不一致的原因可能是:土壤中古菌/细

菌 *amoA* 基因绝对丰度比是 151 ~ 160，即酸性红壤中 AOA 占据明显数量优势，AOB 群落丰度较低；而宏基因组测序结果仅在 CK 和 OM 土壤中找到 10 ~ 14 条细菌 *amoA* 基因序列，即测序深度不足可能是 CK 和 OM 土壤中细菌 *amoA* 基因相对丰度无差异的主要原因. 另外，有研究还发现 AOA 具有独特的代谢途径和生理代谢特点，也可能在有机质含量较高的土壤具有生长优势. Alonso-Sáez 等[29]在海洋中发现 AOA 具有尿素水解为基础的氨氧化代谢路径[30]，Lu 等[33,34]在酸性土壤（pH 3.75 ~ 5.40）硝化作用中占据主导地位的 AOA 中也发现了脲酶基因，证实复杂的土壤环境中也存在以尿素水解为基础的古菌氨氧化代谢路径. 许多研究还表明 AOA 具有利用有机底物的潜力[35,36]或能够受有机底物刺激生长[37,38]. 本研究有机质提升降低了土壤 AOA 属 *Nitrososphaera* 和 *Nitrosopumilus* 相对丰度，而增加了 AOB 属 *Nitrosospira* 和 *Nitrosomonas* 相对丰度（图 2）. 相比于 AOB 和亚硝酸盐氧化细菌，AOA 代时较长、生长较慢[22,28]，导致有机质提升后古菌 *amoA* 基因丰度显著上升（表 1），而 *Nitrososphaera* 和 *Nitrosopumilu* 相对丰度分别降低了 7.7% 和 1.3%（图 2）. 大数据分析发现 *Nitrososphaera* 分布与土壤 pH 值呈正相关[39]，但是 SIP 试验证明 *Nitrososphaera* 在酸性红壤中有重要生态活性[40]；本研究有机质提升后土壤 pH 值上升了近 1.5 个单位（表 1），导致 *Nitrososphaera* 相对丰度有所下降. 而 *Nitrosopumilus* 是海洋中普遍存在的 AOA 类群[26]，在土壤中丰度较低，在低营养的酸性土壤中有分布[3]，本研究中 *Nitrosopumilus* 相对丰度也较低（2.1% ~ 3.4%），pH 上升后其生长也不占优势. 本研究还发现有机质提升显著降低了编码羟胺氧化酶的 *hao* 基因丰度（图 1），但是目前对于 *hao* 基因主要还集中在纯菌株的基因结果和功能蛋白研究上[41]，所以尚无法解释在复杂的土壤生态系统中基因丰度的变化. 土壤中亚硝酸氧化过程是非限速步骤[15]，因此本研究发现有机质提升对编码亚硝酸盐氧化酶的 *nxrAB* 基因丰度无显著影响，该结果也得到其他研究证实[32,33]. 亚硝酸盐氧化菌优势类群从 CK 土壤中的 *Nitrolancea* 变为 OM 土壤中的 *Nitrospira*，因为 *Nitrospira* 具有更强的适应性和更高的亚硝酸盐氧化能力[32,42].

酸性红壤有机质提升显著刺激了反硝化过程各还原酶的功能基因丰度（图 1）. Dambreville 等[43]的研究发现长期粪肥输入提升了土壤有机质含量 6.5%，显著刺激反硝化过程，刺激了 N_2O 还原酶活性，从而降低了土壤 N_2O 排放量；Yu 等[5]在调查酸性红壤反硝化活性时，发现高有机质含量的针叶林土壤 NO 排放量显著高于低有机质含量的农田土壤. 由于缺乏合适的保守序列和分类标准，目前对于反硝化微生物的研究还停留在功能基因上. 反硝化微生物是异养微生物[44]，有机质提升后带来的 TOC 和 TN 含量的增加（表 1），以及土壤 pH 的提升[5]，应是反硝化过程各还原酶的功能基因丰度上升的主要原因. 以往一直认为细菌是主要的反硝化微生物，近年来也发现真菌在酸性土壤 N_2O 产生过程中具有重要作用[45,46]，值得进一步研究. 本研究材料是旱地玉米土壤，不适合需要严格厌氧环境的厌氧氨氧化过程发生[47]，好氧氨氧化过程是铵盐转化的最主要过程，因此有机质提升并未显著影响厌氧氨氧化过程相关功能基因丰度及功能微生物类群（图 1 和图 2）. 本研究检测到的 *nif* 基因丰度较低，且 CK 和 OM 土壤间无显著差异（图 1），表明该土壤的固氮能力较弱. 另外，厌氧或缺氧条件下，硝酸盐还能被还原为铵盐，即 DNRA 过程，由于反应能耗高于反硝化过程[48]，DNRA 过程通常被忽视. 虽然本研究是好氧的旱地土壤，但是也检测出大量的 DNRA 过程功能基因 *nrf* 和 *nir*，且有机质提升后降低了 DNRA 过程功能基因 *nrfABCD* 的丰度（图 1）；相关研究发现土壤总有机碳含量及厌氧环境通常是影响 DNRA 活性和功能基因 *nrfA* 丰度的主要因子[2,49]，与本研究结论一致. 该结果可为旱地土壤无机氮蓄持研究提供启示.

氮源是微生物生长的基本要素之一，无机氮是土壤微生物生长的主要氮源类型，尤其是在土壤含氮量较低的酸性土壤中尤为明显；酸性土壤中，大量无机氮通过硝酸盐淋溶、反硝化和 N_2O 排放等途径流失，因此增加酸性土壤无机氮同化量可能是提高土壤氮素固持水平的重要途径[15]. 有研究表明，微生物会优先同化铵态氮作为氮源[50,51]，但在高有机碳含量土壤中，硝态氮也可被微生物迅速同化[52,53]；大数据分析也发现土壤有机碳含量是土壤有机-无机态氮转化的重要影响因子[54]. *nasAB* 基因是本研究土壤中执行硝酸盐同化功能丰度最高的功能基因，有机质提升显著增加了 *nasAB* 基因丰度（图 3），表明有机碳增加会促进硝酸盐同化；有机质提升降低 *nirA* 和 *NR* 基因丰度的原因，目前尚不清楚. 本研究共检测到 24 种与有机氮循环相关的功能基因，涵盖了尿素分解、氨基酸合成和分解代谢[11]，数据具有一定的代表性. 长期的有机质输入提高了编码氨基酸、谷氨酸、谷氨酰胺等含氮有机物合成或者分解代谢的功能基因丰度（图 3）；Tu 等[12]的研究发现大气 CO_2 浓度升高后，植株分泌的光合作用碳增加，土壤中编码硝基烷氧化酶的 *nao* 基因丰度

也相应增加,与本研究的结果一致.

4 结论

(1)有机质提升显著增加了酸性红壤总有机碳和总氮含量,缓解了土壤酸化,增加了土壤净硝化活性和氨氧化潜势.

(2)有机质提升显著增长了酸性红壤无机氮代谢过程中编码古菌氨单加氧酶及反硝化过程各还原酶的功能基因丰度,降低了编码羟胺氧化酶及执行DNRA 过程的功能基因丰度,改变了硝化过程功能微生物群落组成.有机质提升显著增加了酸性红壤有机氮代谢过程中谷氨酰胺转化功能基因丰度,改变了硝酸盐同化过程功能基因丰度.

(3)有机质提升后土壤酸化的缓解(上升约 1.5 个单位)及 TOC 含量的提升(增幅为 38.2%)是影响氮循环各过程功能基因丰度及功能微生物组成的最主要因素.研究结果全面关联了无机氮和有机氮循环过程中的功能基因及相关功能微生物类群,为把握酸性红壤氮循环特征提供数据依据,并为酸性土壤改良提供思路.

参考文献:

[1] Gruber N, Galloway J N. An Earth-system perspective of the global nitrogen cycle[J]. Nature, 2008, **451**(7176): 293-296.

[2] 贺纪正, 张丽梅. 土壤氮素转化的关键微生物过程及机制[J]. 微生物学通报, 2013, **40**(1): 98-108.
He J Z, Zhang L M. Key processes and microbial mechanisms of soil nitrogen transformation[J]. Microbiology China, 2013, **40**(1): 98-108.

[3] Wang X L, Han C, Zhang J B, *et al*. Long-term fertilization effects on active ammonia oxidizers in an acidic upland soil in China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, **84**: 28-37.

[4] 郭安宁, 段桂兰, 赵中秋, 等. 施加碳酸钙对酸性土壤微生物氮循环的影响[J]. 环境科学, 2017, **38**(8): 3483-3488.
Guo A N, Duan G L, Zhao Z Q, *et al*. Effects of $CaCO_3$ application on soil microbial nitrogen cycle in an acid soil[J]. Environmental Science, 2017, **38**(8): 3483-3488.

[5] Yu Y J, Zhang J B, Chen W W, *et al*. 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.

[6] Harter J, Krause H M, Schuettler S, *et al*. Linking N_2O 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.

[7] Danczak R E, Johnston M D, Kenah C, *et al*. Members of the Candidate Phyla Radiation are functionally differentiated by carbon-and nitrogen-cycling capabilities[J]. Microbiome, 2017, **5**: 112.

[8] Souza R C, Cantão M E, Vasconcelos A T R, *et al*. Soil metagenomics reveals differences under conventional and no-tillage with crop rotation or succession[J]. Applied Soil Ecology, 2013, **72**: 49-61.

[9] Ding JJ, Zhang YG, Deng Y, *et al*. Integrated metagenomics and network analysis of soil microbial community of the forest timberline[J]. Scientific Reports, 2015, **5**: 7994.

[10] 孙欣, 汪诗平, 林巧燕, 等. 基于分子生态学网络探究西藏草地放牧对土壤微生物群落的影响[J]. 微生物学通报, 2015, **42**(9): 1818-1831.
Sun X, Wang S P, Lin Q Y, *et al*. Molecular ecological network analyses revealing the effects of livestock grazing on soil microbial community in the Tibetan grassland[J]. Microbiology China, 2015, **42**(9): 1818-1831.

[11] Tu Q C, Lin L, Cheng L, *et al*. NCycDB: a curated integrative database for fast and accurate metagenomic profiling of nitrogen cycling genes[J]. Bioinformatics, 2019, **35**(6): 1040-1048.

[12] Tu Q C, He Z L, Wu L Y, *et al*. Metagenomic reconstruction of nitrogen cycling pathways in a CO_2-enriched grassland ecosystem[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, **106**: 99-108.

[13] Nelson M B, Martiny A C, Martiny J B H. Global biogeography of microbial nitrogen-cycling traits in soil[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, **113**(29): 8033-8040.

[14] Xue K, Yuan M M, Shi Z J, *et al*. Tundra soil carbon is vulnerable to rapid microbial decomposition under climate warming[J]. Nature Climate Change, 2016, **6**(6): 595-600.

[15] De Boer W, Kowalchuk G A. Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001, **33**(7-8): 853-866.

[16] Liu H F, Wu X, Wang Q, *et al*. Responses of soil ammonia oxidation and ammonia-oxidizing communities to land-use conversion and fertilization in an acidic red soil of southern China[J]. European Journal of Soil Biology, 2017, **80**: 110-120.

[17] Zhong W H, Gu T, Wang W, *et al*. The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity[J]. Plant and Soil, 2010, **326**(1-2): 511-522.

[18] 徐白璐, 钟文辉, 黄欠如, 等. 长期施肥酸性旱地土壤硝化活性及自养硝化微生物特征[J]. 环境科学, 2017, **38**(8): 3473-3482.
Xu B L, Zhong W H, Huang Q R, *et al*. Nitrification activity and autotrophic nitrifiers in long-term fertilized acidic upland soils[J]. Environmental Science, 2017, **38**(8): 3473-3482.

[19] 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.

[20] Zhu W C, Lomsadze A, Borodovsky M. *Ab initio* gene identification in metagenomic sequences[J]. Nucleic Acids Research, 2010, **38**(12): e132.

[21] Steinegger M, Söding J. Clustering huge protein sequence sets in linear time[J]. Nature Communications, 2018, **9**: 2542.

[22] Francis C A, Roberts K J, Beman J M, *et al*. Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, **102**(41): 14683-14688.

[23] Rotthauwe 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.

[24] He J Z, Hu H W, Zhang L M. Current insights into the autotrophic thaumarchaeal ammonia oxidation in acidic soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, **55**: 146-154.

[25] Zhang L M, Hu H W, Shen J P, *et al*. Ammonia-oxidizing

archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils[J]. The ISME Journal, 2012, **6**(5): 1032-1045.

[26] Hatzenpichler R. Diversity, physiology, and niche differentiation of ammonia-oxidizing archaea[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, **78**(21): 7501-7510.

[27] 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.

[28] Martens-Habbena W, Berube PM, Urakawa H, *et al*. Ammonia oxidation kinetics determine niche separation of nitrifying Archaea and Bacteria[J]. Nature, 2009, **461**(7266): 976-979.

[29] Alonso-Sáez L, Waller A S, Mende D R, *et al*. Role for urea in nitrification by polar marine Archaea[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, **109**(44): 17989-17994.

[30] Kirchman D L. Marine archaea take a short cut in the nitrogen cycle[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2012, **109**(44): 17732-17733.

[31] Wang B Z, Zhao J, Guo Z Y, *et al*. Differential contributions of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers to nitrification in four paddy soils[J]. The ISME Journal, 2015, **9**(5): 1062-1075.

[32] Xia W W, Zhang C X, Zeng X W, *et al*. Autotrophic growth of nitrifying community in an agricultural soil [J]. The ISME Journal, 2011, **5**(7): 1226-1236.

[33] Lu L, Han W Y, Zhang J B, *et al*. Nitrification of archaeal ammonia oxidizers in acid soils is supported by hydrolysis of urea [J]. The ISME Journal, 2012, **6**(10): 1978-1984.

[34] Lu L, Jia Z J. Urease gene-containing *Archaea* dominate autotrophic ammonia oxidation in two acid soils [J]. Environmental Microbiology, 2013, **15**(6): 1795-1809.

[35] Hallam S J, Mincer T J, Schleper C, *et al*. Pathways of carbon assimilation and ammonia oxidation suggested by environmental genomic analyses of marine *Crenarchaeota*[J]. PLoS Biology, 2006, **4**(4): e95.

[36] Mußmann M, Brito I, Pitcher A, *et al*. Thaumarchaeotes abundant in refinery nitrifying sludges express *amoA* but are not obligate autotrophic ammonia oxidizers[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, **108**(40): 16771-16776.

[37] Levičnik-Höfferle Š, Nicol G W, Ausec L, *et al*. Stimulation of thaumarchaeal ammonia oxidation by ammonia derived from organic nitrogen but not added inorganic nitrogen[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, **80**(1): 114-123.

[38] 徐杰, 韩成, 张金波, 等. 有机碳氮添加对酸性森林土壤氨氧化过程的影响. 土壤学报, 2017, **54**(4): 1029-1037.
Xu J, Han C, Zhang J B, *et al*. Effects of amendment of organic carbon or nitrogen on ammonia oxidation in the subtropical acidic forest soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2017, **54**(4): 1029-1037.

[39] Gubry-Rangin C, Hai B, Quince C, *et al*. Niche specialization of terrestrial archaeal ammonia oxidizers[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, **108**(52): 21206-21211.

[40] Wang B Z, Zheng Y, Huang R, *et al*. Active ammonia oxidizers in an acidic soil are phylogenetically closely related to neutrophilic archaeon [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, **80**(5): 1684-1691.

[41] Moran M A, Buchan A, González J M, *et al*. Genome sequence of *Silicibacter pomeroyi* reveals adaptations to the marine environment[J]. Nature, 2004, **432**(7019): 910-913.

[42] Daebeler A, Bodelier P L E, Yan Z, *et al*. Interactions between Thaumarchaea, *Nitrospira* and methanotrophs modulate autotrophic nitrification in volcanic grassland soil[J]. The ISME Journal, 2014, **8**(12): 2397-2410.

[43] Dambreville C, Hénault C, Bizouard F, *et al*. Compared effects of long-term pig slurry applications and mineral fertilization on soil denitrification and its end products (N_2O, N_2)[J]. Biology and Fertility of Soils, 2006, **42**(6): 490-500.

[44] Zhang J B, Cai Z C, Zhu T B. N_2O production pathways in the subtropical acid forest soils in China [J]. Environmental Research, 2011, **111**(5): 643-649.

[45] Zhang J B, Müller C, Cai Z C. Heterotrophic nitrification of organic N and its contribution to nitrous oxide emissions in soils [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, **84**: 199-209.

[46] Shoun H, Fushinobu S, Jiang L, *et al*. Fungal denitrification and nitric oxide reductase cytochrome P450nor[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences, 2012, **367**(1593): 1186-1194.

[47] Qin H, Han C, Jin Z, *et al*. Vertical distribution and community composition of anammox bacteria in sediments of a eutrophic shallow lake[J]. Journal of Applied Microbiology, 2018, **125**(1): 121-132.

[48] Fdz-Polanco F, Fdz-Polanco M, Fernández N, *et al*. Combining the biological nitrogen and sulfur cycles in anaerobic conditions [J]. Water Science and Technology, 2001, **44**(8): 77-84.

[49] Rütting T, Boeckx P, Müller C, *et al*. Assessment of the importance of dissimilatory nitrate reduction to ammonium for the terrestrial nitrogen cycle[J]. Biogeosciences, 2011, **8**(7): 1779-1791.

[50] Recous S, Machet J M, Mary B. The partitioning of fertilizer-N between soil and crop: comparison of ammonium and nitrate applications[J]. Plant and Soil, 1992, **144**(1): 101-111.

[51] 程谊, 黄蓉, 余云飞, 等. 应重视硝态氮同化过程在降低土壤硝酸盐浓度中的作用[J]. 土壤学报, 2017, **54**(6): 1326-1331.
Cheng Y, Huang R, Yu Y F, *et al*. Role of microbial assimilation of soil in reducing soil concentration[J]. Acta Pedologica Sinica, 2017, **54**(6): 1326-1331.

[52] Cheng Y, Wang J, Wang J Y, *et al*. The quality and quantity of exogenous organic carbon input control microbial NO_3^- immobilization: a meta-analysis [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, **115**: 357-363.

[53] Romero C M, Engel R, Chen C C, *et al*. Microbial immobilization of nitrogen-15 labelled ammonium and nitrate in an agricultural soil[J]. Soil Science Society of America Journal, 2015, **79**(2): 595-602.

[54] Colman B P, Schimel J P. Drivers of microbial respiration and net N mineralization at the continental scale[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2013, **60**: 65-76.

HUANJING K0EXUE Vol. 41 No. 5
Environmental Science (monthly) May 15, 2020

CONTENTS

Comparison of Three Receptor Models for Source Apportionment of $PM_{2.5}$ in Shanghai: Using Hourly Resolved $PM_{2.5}$ Chemical Composition Data ····· ZHOU Min (1997)
Impact of Differents in the Concentrations of Ozone on the Chemical Composition of Single Particles ····· WU Meng-xi, CHENG Chun-lei, HUANG Bo, *et al.* (2006)
Influence of Secondary Organic Coating on Hygroscopicity of a Sodium Chloride Core: Based on Mircro-scale Single Particle Analysis ····· ZHANG Shu-jia, XU Liang, GUO Xin-mei, *et al.* (2017)
Comparative Analysis of Pollution Characteristics of Carbonaceous Aerosol Components in the Atmosphere Between Urban and Suburban Areas ····· LI Xin-yue, ZHANG Kai-shan, DENG Lin-li, *et al.* (2026)
Distribution Characteristics and Source Apportionment of Elements Bonded with $PM_{2.5}$ and PM_{10} in Linyi ····· LU Ping, ZHAO Xue-yan, YIN Bao-hui, *et al.* (2036)
Characteristics and Sources of Microbial Aerosols in Urban and Mountainous Areas in Autumn and Winter in Xi'an, China ····· XIE Wen-wen, LU Rui, MU Fei-fei, *et al.* (2044)
Pollution Characteristics of Cooking Fumes, Particulates, and Non-methane Hydrocarbons in the Exhaust of Typical Beijing Restaurants ····· HE Wan-qing, WANG Tian-yi, SHAO Xia, *et al.* (2050)
$PM_{2.5}$ Concentration Influencing Factors in China Based on the Random Forest Model ····· XIA Xiao-sheng, CHEN Jing-jing, WANG Jia-jia, *et al.* (2057)
Spatio-temporal Variation of $PM_{2.5}$ Related Relationships in China from the Perspective of Air Pollution Regional Linkage Control and Prevention ····· YANG Wen-tao, HUANG Hui-kun, WEI Dong-sheng, *et al.* (2066)
Characteristics of Spatial and Temporal Evolution and Investigation of Air Pollution in Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area Based on Ground-Space Observation Data ····· WANG Yao-ting, LIANG Jia-cheng, ZHENG Zuo-fang, *et al.* (2075)
Hydrochemical Characteristics and Formation Causes of Ground Karst Water Systems in the Longzici Spring Catchment ····· TANG Chun-lei, ZHENG Xiu-qing, LIANG Yong-ping (2087)
Tempo-spatial and Retention Analysis of Total Phosphorus in the Three Gorges Reservoir ····· TANG Xiao-ya, TONG Si-chen, HUANG Guo-xian, *et al.* (2096)
Vertical Distribution Characteristics of Dissolved Oxygen and Chlorophyll a in Typical Tributaries During the Impoundment Period of the Three Gorges Reservoir ····· YANG Fan, JI Dao-bin, WANG Li-jing, *et al.* (2107)
Spatial-temporal Distribution of Nutrients in Hanfeng Lake After Official Operation ····· FU Shi, NI Jiu-pai, HE Bing-hui, *et al.* (2116)
Spatio-temporal Variations in the Characteristics of Water Eutrophication and Sediment Pollution in Baiyangdian Lake ····· LIU Xin, SHI Bin, MENG Jing, *et al.* (2127)
Spatial-temporal Distribution of Suspended Solids and Its Sedimentation Flux and Nutrients Effects in Xin'anjiang Reservoir, China ····· SHI Peng-cheng, ZHU Guang-wei, YANG Wen-bin, *et al.* (2137)
Bioavailability Characteristics of Chromophoric Dissolved Organic Matter in Lake Gaoyou, Lake Nansi, and Lake Dongping Under Different Hydrological Scenarios ····· ZHANG Liu-qing, SHI Yu, LI Yuan-peng, *et al.* (2149)
Succession Characteristics of Algae Functional Groups and Water Quality Assessment in a Drinking Water Reservoir ····· LI Yan-qing, HUANG Ting-lin, ZHANG Hai-han, *et al.* (2158)
Effect of Artificial Mixing on Temporal and Spatial Succession of Algae Community Structure in Jinpen Reservoir ····· WANG Chen-xu, HUANG Ting-lin, LI Nan, *et al.* (2166)
Spatial Distribution Characteristics and Driving Factors of Aerobic Denitrification Bacterial Community Structure from Baiyangdian Lake in Xiong'an New Area During the Winter Freezing Period ····· ZHOU Shi-lei, SUN Yue, YUE Ge-cheng, *et al.* (2177)
Spatial and Temporal Succession Characteristics of Aerobic Anoxygenic Photosynthesis Bacteria in a Stratified Reservoir ····· ZHANG Hai-han, WANG Yan, HUANG Ting-lin, *et al.* (2188)
Response of Chromophoric Dissolved Organic Matter Dynamics to Different Hydrological Scenarios in the Two Largest Freshwater Lakes Connected to the Yangtze River ····· GUO Yan-ni, LI Yuan-peng, SHI Yu, *et al.* (2198)
Distribution Characteristics and Influencing Factors of Chromophoric Dissolved Organic Matter in a Northern-Side River of the Qinling Mountains in Summer ····· LIN Zi-shen, HUANG Ting-lin, YANG Shang-ye, *et al.* (2210)
Distribution, Sources, and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Tributary Waters of the Lower Reaches of the Yangtze River, China ····· JIA Tian-qi, LEI Rong-rong, WU Xiao-lin, *et al.* (2221)
Temporal and Spatial Occurrence of NSAIDs in Taihu Lake and Relevant Risk Assessment ····· LIAN Jie, LI Yi-fei, WANG Xiao-xuan, *et al.* (2229)
Occurrence and Ecological Risk of Eight Typical PhACs in Surface Water and Its Impact on *Daphnia magna* ····· XU Xin-lei, LIU Jian-chao, LU Guang-hua (2239)
Distribution Characteristics and Migration Rules of Pollutants in Sediments of Reservoirs with *Eucalyptus* Plantation, Southern China ····· ZHU Ya, LI Yi-ping, LUO Fan, *et al.* (2247)
Mechanism of Urban Black Odorous Water Based on Continuous Monitoring: A Case Study of the Erkeng Stream in Nanning ····· LI Yong-xin, WANG Wei, HE Mei, *et al.* (2257)
Relationship Between Source-Sink Landscape Pattern and Antibiotics in Surface Water in Peri-urban Watershed ····· LI Min, TANG Jian-feng, CHEN Li-ding, *et al.* (2264)
Molecular Chemo-diversity of the Dissolved Organic Matter Occurring in Urban Stormwater Runoff ····· NIE Yun-han, CHEN Hao, LI Lei, *et al.* (2272)
Regulating Effect and Mechanism of Calcite/Chlorapatite Mixture Addition on Transformation and Transport of Phosphorus in Sediments ····· BAI Xiao-yun, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, *et al.* (2281)
Stability of Ferrihydrite and Goethite Nanoparticles Under Different Environmental Conditions ····· WANG Zhi-qiao, MA Jie, CHEN Ya-li, *et al.* (2292)
Sunflower-Straw-Derived Biochar-Enhanced Fe(Ⅲ)/$S_2O_8^-$ System for Degradation of Benzoic Acid ····· SUN Peng, ZHANG Kai-kai, ZHANG Yu, *et al.* (2301)
Non-activated Peroxymonosulfate-Induced Degradation of Sulfasalazine: Kinetics and Mechanism Investigations ····· DING Xi, ZHANG Xue-wei, ZHOU Run-sheng, *et al.* (2310)
Pollution Characteristics and Removal Effects of Antibiotics in Wastewater from Large-Scale Pig Farms in Guizhou ····· YANG Zhao, LI Jiang, XIANG Fu-liang, *et al.* (2320)
Nitrogen Removal in Low-C/N Rural Sewage Treatment by Anoxic/Oxic Biofilter Packed with New Types of Fillers ····· ZHAO Yuan-zhe, YANG Yong-zhe, WANG Hai-yan, *et al.* (2329)
Nitrogen Removal Performance and Nitrogen/Carbon Balance of Oligotrophic Aerobic Denitrifiers ····· WEN Gang, WANG Tong, HUANG Ting-lin, *et al.* (2339)
Bacterial Community Shifts and Nitrogen Removal Characteristics for a SNAD Process Treating Anaerobic Digester Liquor of Swine Wastewater (ADLSW) in a Continuous-Flow Biofilm Reactor (CFBR) ····· QIN Jia-wei, XIN Xin, LU Hang, *et al.* (2349)
Characteristics of ANAMMOX Granular Sludge and Differences in Microbial Community Structure Under Different Culture Conditions ····· JIANG Ying, GUO Meng-lei, XIE Jun-xiang, *et al.* (2358)
Start-up of an Integrated Process of Denitrifying Phosphorus Removal Coupled with Partial Nitritation and Anaerobic Ammonium Oxidation ····· CHEN Ya, YIN Wen, ZHANG Xing-xing, *et al.* (2367)
Construction and Application of an Evaluation System for Soil Environmental Carrying Capacity ····· LI Xiao-nuo, DING Shou-kang, CHEN Wei-ping, *et al.* (2373)
Synthesis of Magnetic Biochar and Its Application in the Remediation of Heavy-Metal-Contaminated Soils ····· WANG Jun-nan, CHENG Shan-shan, ZHAN Wen-hao, *et al.* (2381)
Remediation of Heavy-Metal-Contaminated Soil by EGTA Washing Enhanced with Reduction Solubilization ····· ZHANG Jin-yong, ZHU Yu-ting, WANG Ming-xin, *et al.* (2390)
Toxicity of Chromium to Root Growth of Barley as Affected by Chromium Speciation and Soil Properties ····· FU Ping-nan, GONG Xiao-fei, LUO Li-yun, *et al.* (2398)
Effect of Fertilizer Reduction and Biochar Application on Soil Nitrogen Loss in Purple Upland ····· WANG Shu, WANG Zi-fang, LONG Yi, *et al.* (2406)
Relationship Between the Composition of Soil Aggregates and the Distribution of Organic Carbon Under Long-Term Abandoned Restoration ····· WANG Xing, ZHONG Ze-kun, ZHANG Xin-yi, *et al.* (2416)
Effects of Biochar Application on Soil Microbial Nutrient Limitations and Carbon Use Efficiency in Lou Soil ····· WANG Qiang, GENG Zeng-chao, XU Chen-yang, *et al.* (2425)
N_2O Emissions from Tea Plantations with Sorghum Intercropping and Application of Big Urea Pills ····· ZHANG Ke-bin, LIU Xin-liang, KANG Man, *et al.* (2434)
Effects of Different Forest Vegetation Types on Soil Nitrogen-Related Microbial Communities and Functions in Jinyun Mountain ····· WANG Ying-yan, WANG Fu-hua, LUO Dong-hai, *et al.* (2445)
Nitrous Oxide Emission and Denitrifying Bacterial Communities as Affected by Drip Irrigation with Saline Water in Cotton Fields ····· GUO Hui-nan, MA Li-juan, HUANG Zhi-jie, *et al.* (2455)
Effect of Organic Matter Promotion on Nitrogen-Cycling Genes and Functional Microorganisms in Acidic Red Soils ····· CHU Cheng, WU Zhao-yue, HUANG Qian-ru, *et al.* (2468)
Effects of Simulated Acid Rain on Soil Fungi Diversity in the Transition Zone of Moso Bamboo and Broadleaf Forest ····· WANG Nan, PAN Xiao-cheng, WANG Chuan-kuan, *et al.* (2476)
Differences Between DNA- and RNA-Based Bacterial Communities in Marine Sediments ····· LI Ming-yue, YANG Yu-hong, MI Tie-zhu, *et al.* (2485)
Spatial Patterns and Spatial Autocorrelations of Wetland Changes in China During 2003-2013 ····· ZHOU Ting, MA Jiao-jiao, XU Song-jun (2496)