

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.11

第40卷 第11期

目次

2018年中国长江三角洲地区气溶胶的垂直分布特征	沈吉, 曹念文(4743)
2018年石家庄市秋冬季典型霾污染特征	宿文康, 鲍晓磊, 倪爽英, 赵卫凤(4755)
武汉市PM _{2.5} 化学组分时空分布及聚类分析	张会涛, 田瑛泽, 刘保双, 杨佳美, 郁佳, 官攀, 吴建会, 张裕芬(4764)
郑州市某生活区大气PM _{2.5} 中重金属污染特征及生态、健康风险评估	何瑞东, 张轶舜, 陈永阳, 靳孟洁, 韩士杰, 赵金帅, 张瑞芹, 燕启社(4774)
厦门市降水中金属元素含量分布特征及来源解析	王珊珊, 程奕枫, 颜金培, 胡恭任(4783)
2015~2017年上海郊区大气新粒子生成特征	霍俊涛, 王新宁, 段玉森, 伏晴艳, 陈冰怡(4791)
太原市秋冬季大气污染特征和输送路径及潜在源区分析	闫世明, 王雁, 郭伟, 李莹, 张逢生(4801)
东北区域空气质量时空分布特征及重度污染成因分析	陈卫卫, 刘阳, 吴雪伟, 鲍秋阳, 高枳亭, 张学磊, 赵红梅, 张世春, 修艾军, 程天海(4810)
艾比湖流域气溶胶光学厚度时空演变及影响因素	陈香月, 丁建丽, 王敬哲, 葛翔宇, 梁静(4824)
中国住宅室内BTEX浓度水平及其影响因素	侯贝贝, 尹奕卉, 裴晶晶, 刘俊杰(4833)
石家庄地区芳香族化合物的污染特征及来源分析	杨阳, 李杏茹, 刘永桥, 杨玉磊, 赵清, 陈曦, 徐静(4841)
郑州市碳素行业无组织VOCs排放特征分析及健康风险评估	张轶舜, 王佳, 韩士杰, 何瑞东, 陈永阳, 靳孟洁, 赵庆炎, 张瑞芹, 燕启社(4847)
典型化工行业有害VOCs排放清单及长三角地区应用	鲁君, 黄奕玮, 黄成(4856)
2013~2017年江苏省人为源氨排放清单的建立及特征	侯新红, 于兴娜, 沈丽, 赵睿东, 王国祯, 张毓秀(4862)
焦化厂建构筑物和生产设施表面PAHs的赋存特征及健康风险	赵一澍, 廖晓勇, 李尤, 罗俊鹏, 龚雪刚, 侯艺璇(4870)
中国南海流沙湾中雄激素、糖皮质激素和孕激素的污染特征及其生态风险评价	杨雷, 张晋娜, 徐敏, 彭涛, 史文俊, 石义静, 应光国(4879)
岩溶流域洪水过程水化学动态变化及影响因素	原雅琼, 孙平安, 苏钊, 于爽, 钟丽华, 何师意, 徐茜(4889)
长江水体常量和微量元素的来源、分布与向海输送	吴文涛, 冉祥滨, 李景喜, 王昊, 李梦露, 刘军, 臧家业(4900)
望虞河西岸河网重金属污染特征及生态风险评价	徐晨, 王沛芳, 陈娟, 袁秋生, 胡斌(4914)
不同雨强对太湖河网河道入湖营养盐负荷影响	陈洁, 朱广伟, 许海, 詹旭, 朱梦圆, 宣文怡, 黄亚文(4924)
合肥市十八联圩湿地表层沉积物营养盐与重金属分布及污染评价	陈娜, 许凡, 谢三桃, 郭天星, 彭久赞, 雷琦, 张玮, 王丽卿(4932)
三峡库区不同河段支流丰水期叶绿素a和营养盐的空间分布特征	杨凡, 杨正健, 纪道斌, 苏青青, 龙良红, 刘心愿, 王耀耀, 赵冲(4944)
丹江口水库氮磷内源释放对比	王志齐, 刘新星, 姚志宏, 姚伦广, 常跃, 刘卓初, 曹连海(4953)
不同沉水植物净水能力与植株体细菌群落组成相关性	李琳, 岳春雷, 张华, 李贺鹏, 杨乐, 王琚(4962)
纳米氧化锌粒径对人工湿地性能及微生物群落的影响	王森, 任伶, 刘琳琳, 李颖, 张振, 孔范龙(4971)
水生植物生物炭去除水体中氮磷性能	刘舒蕾, 彭慧君, 杨佳怡, 肖琳(4980)
MgO改性莲蓬壳生物炭的制备及其磷吸附特性	王盛华, 朱丹晨, 邵敬爱, 向家涛, 杨海平, 易娟, 张世红, 陈汉平(4987)
微塑料对短流程膜工艺中膜污染的影响	王博东, 薛文静, 吕永涛, 苗瑞, 马百文(4996)
基于铁锰泥的除硝颗粒吸附剂制备及其比较	曾辉平, 于亚萍, 吕赛赛, 李冬, 张杰(5002)
氯氧铁非均相催化过氧化氢降解罗丹明B	张少朋, 陈瑞, 白淑琴, 刘锐平(5009)
天津市规模化奶牛养殖场废水中典型抗生素处理效果及生态风险评估	陈乾, 赵润, 牟美睿, 白鸽, 史宏伟, 刘海学, 吴惠惠(5015)
废水处理系统中抗生素抗性基因分布特征	姚鹏城, 陈嘉瑜, 张永明, 温东辉, 陈吕军(5024)
全程自养脱氮耦合反硝化除磷的启动及稳定运行	印雯, 陈亚, 张钰, 徐乐中, 吴鹏, 刘文如(5032)
FeCl ₃ -生化耦合技术调控未知诱因的污泥膨胀	魏东洋, 肖才林, 周雯, 李睿华, 曹茜(5040)
污泥龄对除磷亚硝化颗粒系统的影响	李冬, 刘博, 王文琪, 曹美忠, 李帅, 张杰(5048)
厌氧氨氧化耦合反硝化工艺的启动及微生物群落变化特征	宋壮壮, 吕爽, 刘哲, 时兴东, 潘傲, 张智(5057)
基质暴露水平对ANAMMOX微生物活性及生物量的影响	陈方敏, 高佳琦, 黄勇, 胡羽婷, 李祥, 顾澄伟, 谈新伟, 殷记强, 方文烨, 倪敏(5066)
太浦河流域农田土壤重金属污染特征与来源解析	李伟迪, 崔云霞, 曾撑撑, 朱永青, 彭月, 王凯, 李士俊(5073)
土壤重金属污染风险筛选值划分方法:以Cd为例	王锐, 张风雷, 徐姝姝, 张永文(5082)
半壁山金矿矿业活动区砷赋存的矿物特征及其对农田土壤砷累积的影响	温其谦, 阎秀兰, 申俊峰, 李鸣凤(5090)
土壤调理剂对镉污染稻田修复效果	周利军, 武琳, 林小兵, 王惠明, 刘晖, 张鸿燕, 胡敏, 石利萍, 张云, 黄欠如(5098)
改性蒙脱土对稻田土壤甲基汞的阻控修复	韩怡新, 何天容, 王祖波(5107)
铈锰改性生物炭对土壤As的固定效应	梁婷, 李莲芳, 朱昌雄, 叶婧(5114)
温和预氧化提高后续生物修复石油污染土壤	徐金兰, 王慧芳, 王荣, 章秋菊, 王杰(5124)
重金属污染农田生菜根际重金属固定细菌群落组成及其阻控效应	王铁军, 苏楠楠, 雷鹏, 邱明洋, 陈兆进, 姚伦广, 韩辉(5133)
双氰胺和3,4-二甲吡唑磷酸盐对蔬菜种植土壤氨氧化细菌和古菌的影响	郭俊丽, 刘毅, 魏文学, 葛体达, 王光军(5142)
不同再生水灌溉方式对土壤-辣椒系统中细菌群落多样性及病原菌丰度的影响	崔丙健, 高峰, 胡超, 李中阳, 樊向阳, 崔二革(5151)
黄土高原地区两种土地利用方式CO ₂ 和N ₂ O排放特征	韩佳乐, 郝珊, 刘振杰, 张曼, 张阿凤(5164)
生物炭对华北平原4种典型土壤N ₂ O排放的影响	张秀玲, 孙贇, 张水清, 岳克, 曹红亮, 林杉(5173)
优化施肥模式对我国热带地区水稻-豇豆轮作系统N ₂ O和CH ₄ 排放的影响	胡玉麟, 汤水荣, 陶凯, 何秋香, 田伟, 秦兴华, 伍延正, 孟磊(5182)
《环境科学》征订启事(4995)	
《环境科学》征稿简则(5039)	
信息(4782, 4979, 5056)	

双氰胺和3,4-二甲基吡唑磷酸盐对蔬菜种植土壤氨氧化细菌和古菌的影响

郭俊丽^{1,2}, 刘毅², 魏文学², 葛体达², 王光军^{1*}

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

摘要: 硝化抑制剂双氰胺 (DCD) 和 3,4-二甲基吡唑磷酸盐 (DMPP) 在抑制农业土壤硝化作用和提高氮肥利用率等方面效果显著, 为了探讨它们对蔬菜种植土壤氨氧化细菌 (AOB) 和古菌 (AOA) 的作用机制, 选取 40 a 以上蔬菜种植土壤, 在施加尿素 (CK) 基础上, 分别添加 DCD 和 DMPP 进行室内培养, 系统监测了土壤中 NH_4^+ -N、 NO_3^- -N 和硝化势的变化, 同时运用荧光定量 PCR 和高通量测序等技术揭示了 AOB 和 AOA 种群丰度和多样性的演替规律. 结果表明, 相比 CK 处理, DCD 处理和 DMPP 处理的 NH_4^+ -N 含量升高了 213% 和 675%; NO_3^- -N 含量降低了 13.3% 和 37.2%; 硝化势降低了 20.4% 和 82.4%; 同时, AOB 丰度降低了 51.2% 和 56.5%; AOA 丰度降低了 6.0% 和 27.0%. 不同抑制剂处理间 AOB 和 AOA 的 α 多样性指数没有显著差异; nork-environmental-samples、unclassified-Nitrosomonadaceae、unclassified-Bacteriota 和 *Nitrososphaera* 是 AOB 序列属水平的主要优势类群; norank-Crenarchaeota、norank-environmental-samples 和 *Nitrososphaera* 是 AOA 序列属水平的主要优势类群, 施用 DCD 和 DMPP 显著改变了 AOB 和 AOA 的群落组成. 综上所述, 尿素与 DCD 和 DMPP 配施显著抑制 NH_4^+ -N 的转化, 降低 AOB 和 AOA 的种群丰度并改变其群落组成. 相比 DCD, DMPP 对硝化作用的抑制和对 AOB 和 AOA 群落的影响更强.

关键词: 双氰胺 (DCD); 3,4-二甲基吡唑磷酸盐 (DMPP); 蔬菜种植土壤; 氨氧化细菌; 氨氧化古菌

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)11-5142-09 DOI: 10.13227/j.hjxx.201902031

Impact of Dicyandiamide (DCD) and 3,4-Dimethylpyrazole Phosphate (DMPP) on Ammonia-oxidizing Bacteria and Archaea in a Vegetable Planting Soil

GUO Jun-li^{1,2}, LIU Yi², WEI Wen-xue², GE Ti-da², WANG Guang-jun^{1*}

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

Abstract: Nitrification inhibitors (NIs) dicyandiamide (DCD) and 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) showed significant effects in the inhibition of nitrification and the improvement of the utilization efficiency of nitrogen fertilizer in agricultural soils. However, the effects of different NIs on ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and archaea (AOA) is still unclear. To verify the inhibitory effect of DCD and DMPP on AOB and AOA, a pot experiment was performed, including Urea, Urea + DCD, and Urea + DMPP treatments. The dynamics of NH_4^+ -N and NO_3^- -N and nitrification potential among different treatments were measured. In addition, real-time PCR and high-throughput sequencing approaches were applied to investigate the changes in the AOB and AOA population abundance and composition. The results revealed that the concentrations of NH_4^+ -N in Urea + DCD and Urea + DMPP treatments were 213% and 675% higher than that in the CK treatment, respectively. However, the concentrations of NO_3^- -N and the nitrification potentials were 13.3% and 37.2%, and 20.4% and 82.4% lower than that in CK treatment, respectively; Furthermore, the copy numbers of the bacterial and archaeal *amoA* gene were 51.2% and 56.5%, and 6.0% and 27.0% lower than that in the CK treatment, respectively. However, the diversity indexes of AOB and AOA communities, including evenness and richness, exhibited no significant differences after addition of DCD and DMPP. The nork-environmental-samples, unclassified-Nitrosomonadaceae, unclassified-Bacteriota, and *Nitrososphaera* were the predominant genera of the AOB community. The no rank-Crenarchaeota, no rank-environmental-samples and *Nitrososphaera* were the predominant groups in the AOA community. Summarily, application of DCD and DMPP significantly delayed the transformation of NH_4^+ -N, decreased the formation of NO_3^- -N, inhibited the abundance and changed the composition of AOB and AOA communities. DMPP had a stronger inhibitory effect on nitrification, and on AOB and AOA than DCD. Therefore, compared with DCD, DMPP had a better application prospect regarding the improvement of the nitrogen utilization efficiency in vegetable soil.

Key words: dicyandiamide (DCD); 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP); vegetable planting soil; ammonia-oxidizing bacteria; ammonia-oxidizing archaea

收稿日期: 2019-02-13; 修订日期: 2019-05-31

基金项目: 中国科学院战略性先导科技专项 (XDB15020200); 国家自然科学基金项目 (41771300, 41301274)

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: wanggj652@163.com

氮是植物生长的限制性因子^[1]. 为了提高农作物产量, 大量的化学氮肥被应用于农业生态系统^[2]. 然而, 过量氮肥的施用不仅导致农业生态系统地下水硝酸盐污染^[3], 同时也导致温室气体 N_2O 的大量排放^[4,5]等. 因此, 如何提高氮肥利用率和降低环境污染风险, 已成为国内外广泛关注的焦点.

土壤氮素循环过程主要由微生物驱动^[6]. 其中, 硝化作用是旱地土壤氮素转化的关键过程. 硝化作用共包括氨氧化为亚硝酸盐以及亚硝酸盐被氧化成硝酸盐二步反应^[3,5]. 氨氧化过程是硝化作用的第一个限速步骤^[7], 含 *amoA* 基因的氨氧化细菌 (AOB) 和氨氧化古菌 (AOA) 是驱动该过程的主要功能微生物^[6]. 目前, 针对土壤硝化微生物及其作用机制已有大量研究^[3,5,7]. AOB 占据较高的生态位, 是驱动硝化作用的主要功能微生物^[3,8,9], 尤其是在含氮水平较高土壤中^[3]. 然而最新研究表明, AOA 在驱动硝化作用中的贡献不容忽视, 尤其是在酸性土壤中, AOA 被认为是硝化作用的主导者^[10].

硝化抑制剂由于能够有效抑制硝化作用, 减缓铵态氮转化为硝态氮的速率, 因而被认为是提高氮肥利用效率和减少硝酸盐污染的有效调控手段^[11]. 其中, 双氰胺 (DCD) 和 3,4-二甲基吡唑磷酸盐 (DMPP) 是普遍应用的两种硝化抑制剂^[12,13]. DCD 和 DMPP 主要通过以底物竞争的形式^[14], 干扰 AMO 酶的活性来抑制 AOB 和 AOA 对底物的利用和自身的生长, 从而延长 NH_4^+-N 在土壤中的时间, 控制 NO_3^--N 的形成^[15,16], 达到抑制硝化作用的目的^[16,17]. 目前, 关于 DCD 和 DMPP 的应用效果已

有初步地了解^[18~20], 但二者对土壤 AOB 和 AOA 的影响机制还缺乏深入了解^[16,20].

蔬菜种植土壤是我国农业土壤的主要类型之一^[5]. 由于其复种指数大、氮肥用量高, 但利用率低, 导致我国蔬菜产地普遍存在农产品硝酸盐超标、地下水硝酸盐污染严重等突出问题^[20~22]. 且氮肥的施用会影响土壤生态系统中微生物群落结构的变化^[23~25], 因此, 深入了解蔬菜土氮素转化过程及相关功能微生物特征十分必要.

本研究选取亚热带地区连续耕种蔬菜 40 a 以上的蔬菜种植土壤, 利用荧光定量 PCR 分子技术和高通量测序技术, 系统比较 DCD 和 DMPP 对氮素形态稳定性的调控效果及对 AOB 和 AOA 丰度、群落组成的影响, 以期对蔬菜土氮肥的合理使用和蔬菜品质、产量的提高, 提供重要参考.

1 材料与方法

1.1 采样及室内培养土壤

1.1.1 土壤样品采集

供试土壤于 2017 年 5 月采自湖南省长沙市黄兴镇蔬菜基地 (N28°07'45.7", E113°04'53.9"), 种植时间为 40 a 以上的蔬菜土, 该土壤发源于河流冲积母质, 是典型的中国亚热带地区旱地菜田土壤, 之前种植作物为水稻. 采用 5 点法采集 0~20 cm 的表层土, 混匀后备用. 新鲜土壤样品经过风干和过 2 mm 筛剔除杂物及残留根系后, 一部分土壤被用来测定土壤持水容量, 其余部分在 25℃ 下均质化并预实验培养 1 周. 土壤基本理化性质见表 1.

表 1 供试土壤基本理化性质¹⁾

Table 1 Physical and chemical properties of the soils tested

项目	硝态氮 (NO_3^--N) /mg·kg ⁻¹	铵态氮 (NH_4^+-N) /mg·kg ⁻¹	全氮 (TN) /g·kg ⁻¹	全磷 (TP) /g·kg ⁻¹	全钾 (TK) /g·kg ⁻¹	速效氮 (AN) /mg·kg ⁻¹	速效磷 (AP) /mg·kg ⁻¹	速效钾 (AK) /mg·kg ⁻¹	土壤有机质 (SOM) /g·kg ⁻¹	pH
参数值	28.5 ± 0.3	7.4 ± 0.3	1.5 ± 0.1	3.7 ± 0.1	17.4 ± 0.2	63.9 ± 0.2	44.6 ± 1.3	573.6 ± 23.0	27.0 ± 0.5	7.0 ± 0.1

1) 表中数据为平均值 ± 标准误 (n=3)

1.1.2 土壤培养实验

供试硝化抑制剂为双氰胺 (dicyandiamide, DCD) 和 3,4-二甲基吡唑磷酸盐 (3,4-dimethylpyrazole, DMPP), 处理如下: 对照处理 (CK), 单施尿素态氮 0.2 g·kg⁻¹; DMPP 处理 (DMPP), 0.2 g·kg⁻¹ + 0.01 g·kg⁻¹ (尿素态氮 + DMPP, 以干土计); DCD 处理 (DCD), 0.2 g·kg⁻¹ + 0.02 g·kg⁻¹ (尿素态氮 + DCD, 以干土计), 每个处理 3 个重复. 然后将土壤含水量调整至饱和持水量 (WHC) 的 60%, 充分混匀后, 分装放入培养钵

(每钵 3 kg 干土). 钵口覆盖有针孔的锡箔纸, 保持有氧条件, 在 25℃ 恒温室培养, 培养过程中保持土壤水分恒定. 每个处理 18 钵, 分别在培养 3、7、14、21、28 和 35 d 取新鲜土壤样品用于氮素动态、硝化势和土壤微生物 DNA 分析.

1.2 无机氮动态测定

采集新鲜土壤样品用 2 mol·L⁻¹ KCl 溶液萃取并在流动注射分析仪 (Flastar 5000 Analyzer, 瑞典福斯) 测定土壤铵态氮 (NH_4^+-N) 和硝态氮 (NO_3^--N) 的含量. 第 0 d 的土壤铵态氮和硝态氮用来作为预

实验培养的土壤使用.

1.3 土壤硝化势测定

采用 Hart 等^[26]的方法,新鲜土壤过 2 mm 筛,取 15 g 土样放入 250 mL 锥形烧瓶,加入 100 mL [0.2 mol·L⁻¹ KH₂PO₄ 和 0.2 mol·L⁻¹ K₂HPO₄, 50 μmol·L⁻¹ (NH₄)₂SO₄] 培养液混合溶液,烧瓶盖上排气盖.将所有烧瓶放在摇床上,以 180 r·min⁻¹ 速度振荡 24 h,过滤后流动注射分析仪(Flastar 5000 Analyzer, 瑞典福斯)分析硝化势,见公式(1).

硝化势[mg·(kg·h)⁻¹] = NO₃⁻-N
× $\frac{\text{培养液体积(L)} + \text{土样中水的体积(L)}}{\text{干土重(kg)}}$ (1)

式中, NO₃⁻-N [mg·(L·h)⁻¹] 是每小时 NO₃⁻-N 的浓度,即每小时每升土壤溶液中 NO₃⁻-N 的含量.

1.4 土壤微生物总 DNA 提取

采用 SDS-GITC-PEG 方法^[27] 提取土壤微生物总 DNA,用 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳检测所提 DNA 片段大小,并用 (Nano Drop ND-1000) 核酸蛋白测定仪测定 DNA 的浓度及纯度.

1.5 荧光定量 PCR

采用实时荧光定量 PCR (real-time PCR) 技术测定 AOB 和 AOA 的 *amoA* 基因丰度.反应在罗氏荧光定量 PCR 仪 (LightCycler 480 II, 瑞士) 上进行,所用引物见表 2. 反应体系如下: DNA 模板 1 μL (5 ng), 上下游引物各 (10 μmol) 0.3 μL, SYBR Green I (Takara, 日本) 5 μL, Rox Reference Dye (Takara, 日本) 0.2 μL, 无菌水 (ddH₂O, 实验室) 补至 10 μL. 细菌 *amoA*、古菌 *amoA* 基因实时荧光定量 PCR 扩增条件均为: 95℃ 预变性 2 min, 95℃ 5 s, 55℃ 30 s, 72℃ 10 s, 40 个循环; 95℃ 15 s, 60℃ 15 s, 95℃ 15 s. 质粒及标准曲线的制备参考文献[28].

1.6 高通量测序及结果处理

采用 Illumina MiSeq 测序平台对第 3 d (氨氮含量上升期) 和第 21 d (氨氮含量下降期) 的 AOB 和 AOA (*amoA*) 基因进行双末端 (Paired-end) 测序,测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成. 每个样品至少获得 3 万条有效序列以上,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

表 2 定量 PCR 引物信息¹⁾

Table 2 Primers for RT-PCR

目的基因	引物	引物序列(5'-3')	长度/bp	文献
细菌 <i>amoA</i>	<i>amoA</i> -1F	GGGGTTTCTACTGCTGCT	491	[23]
	<i>amoA</i> -2R	CCCCTGKGSAAAGCCTTCTTC		
古菌 <i>amoA</i>	<i>amoA</i> -23F	ATGGTCTGGCTWAGACG	594	[29]
	<i>amoA</i> -616R	GCCATCCATCTGTATGTCCA		

1) 上下游引物分别标注为 F 和 R, S 为 C 或 G; K 为 G 或 T; Y 为 C 或 T; V 为 A、C 或 G; R 为 A 或 G

对,得到 AOB 和 AOA 群落 α 多样性指数及群落组成等信息.

1.7 数据分析

采用 Microsoft Excel 2007 进行相关数据的计算和预处理. 用 Origin 8 绘图,所有的数据均使用 IBM SPSS Statistics 21 分析,氨氧化微生物群落 α 多样性指数显著性用 Duncan 法单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行比较,当 P < 0.05 时接受.

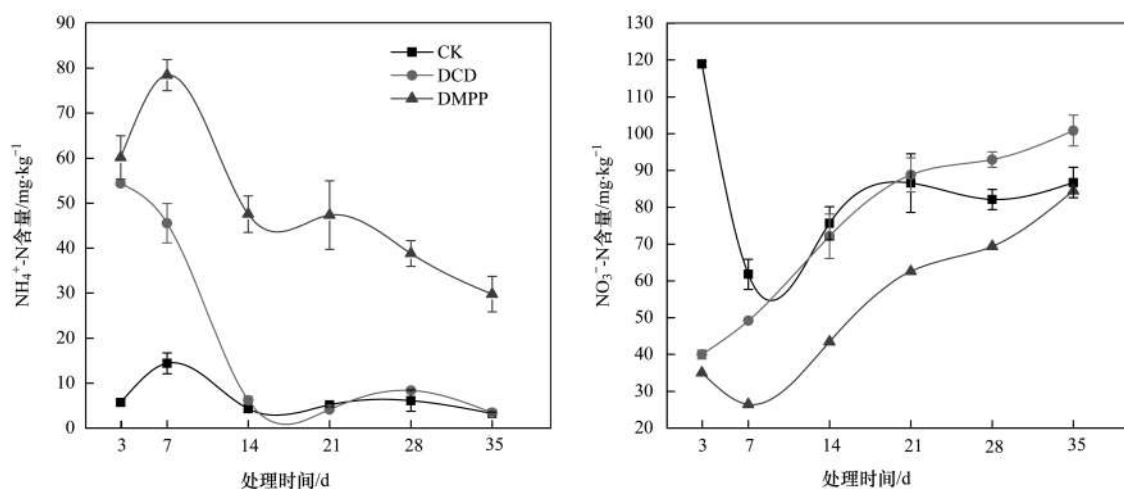
2 结果与分析

2.1 不同硝化抑制剂处理对蔬菜土氮素动态变化的影响.

土壤培养过程中,两种抑制剂处理的 NH₄⁺-N 含量均显著高于 CK (单施尿素) 处理,整个培养期间 DCD 处理和 DMPP 处理分别比 CK 处理平均升高 213% 和 675% (图 1). 培养初始阶段 CK 处理的菜地土壤 NH₄⁺-N 含量逐渐上升,第 7 d 达到最大值 (14.41 mg·kg⁻¹),后开始缓慢下降,14 d 后基本保持不变,稳定在 4.71 mg·kg⁻¹. 然而 DCD 处理后

菜地土壤 NH₄⁺-N 含量迅速升高,第 3 d 时显著高于对照,之后 NH₄⁺-N 含量逐渐下降,最终稳定在 5.54 mg·kg⁻¹; DMPP 处理的 NH₄⁺-N 含量初期显著高于对照和 DCD 处理,在第 7 d 达到最大值 (78.49 mg·kg⁻¹),之后有缓慢下降的趋势,最终稳定在 29.8 mg·kg⁻¹. 在培养后期,两种硝化抑制剂处理间也表现出明显的差异,DMPP 处理的菜地 NH₄⁺-N 含量始终显著高于 DCD 处理 (14 ~ 35d 平均值高 7.38 倍),但 DCD 处理与 CK 处理的菜地 NH₄⁺-N 含量在 14 d 后没有显著差异. 结果表明两种硝化抑制剂都可以抑制蔬菜地土壤的硝化作用,减缓 NH₄⁺-N 的转化. 相比 DCD,DMPP 对 NH₄⁺-N 的延缓效果更好,尤其在培养后期二者差异更为明显.

土壤 NO₃⁻-N 含量变化趋势与土壤 NH₄⁺-N 完全相反. 在整个培养期间,DCD 处理和 DMPP 处理的 NO₃⁻-N 含量分别比 CK 处理平均降低 13.3% 和 37.2%. CK 处理 NO₃⁻-N 含量初期处于较高水平,培养过程中,先逐渐下降至 61.8 mg·kg⁻¹,后期

图 1 不同抑制剂处理下蔬菜土 NH_4^+ -N 和 NO_3^- -N 含量动态Fig. 1 Dynamics of NH_4^+ -N and NO_3^- -N concentrations in vegetable soil with different nitrification inhibitors

又开始缓慢上升, 最终稳定在 $86.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. 添加硝化抑制剂处理的 NO_3^- -N 含量均在培养初期迅速下降, 明显低于 CK 处理, 这种抑制效应持续到第 7 d, 后期出现了差异. 其中, DCD 处理的 NO_3^- -N 含量在施用后一直呈缓慢上升趋势, 第 7 d 后与 CK 处理没有显著差异, 最终高达 $100.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; DMPP 处理 NO_3^- -N 含量先下降后又逐渐回升, 最终升高至 $84.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. 结果表明在菜地土壤中施用硝化抑制剂均可以抑制 NO_3^- -N 的产生, 且 DMPP 相比 DCD 对抑制 NO_3^- -N 产生具有更好地效果.

2.2 不同硝化抑制剂处理对蔬菜土硝化势的影响

土壤培养过程硝化抑制剂处理的土壤硝化势数值显著低于 CK 处理, 其中 DCD 处理和 DMPP 处理分别比对照平均降低 20.4% 和 82.4% (图 2). 前期施加硝化抑制剂显著降低了蔬菜土壤的硝化势, 在后期各处理就发生了差异. CK 处理始终表现出较高硝化势数值, 后期表现出曲折上升趋势. 两种抑制剂处理在土壤培养整个时期表现出明显差异. DCD 处理硝化势数值在初期 (3~7 d) 上升较快, 中期缓慢增长, 第 21 d 达到最大值 [$3.74 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{h})^{-1}$, 以 N 计, 下同], 后期又开始逐渐下降, 最终降到 $2.36 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{h})^{-1}$. DMPP 处理始终维持在较低的硝化势水平, 变化趋势相对缓和, 平均值稳定在 $0.59 \text{ mg} \cdot (\text{kg} \cdot \text{h})^{-1}$. 结果表明, 施加 DCD 和 DMPP 可以有效降低蔬菜土壤硝化势, 且 DMPP 在整个培养过程中硝化势均较低.

2.3 不同硝化抑制剂处理对蔬菜土氨氧化微生物 (*amoA*) 基因丰度的影响

整个实验培养期间, 施加抑制剂处理的 AOB 基因丰度都显著低于对照 (图 3), 其中 DCD 处理

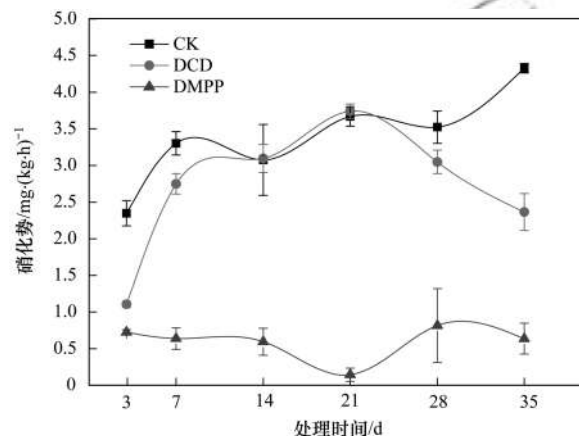


图 2 不同硝化抑制剂处理下蔬菜土硝化势动力学

Fig. 2 Dynamics of nitrification potential in vegetable soil with different nitrification inhibitors

和 DMPP 处理的 AOB (*amoA*) 基因拷贝数分别比对照平均降低 51.2% 和 56.5%. CK 处理的 AOB (*amoA*) 基因拷贝数在初期随时间变化逐渐下降, 14 d 之后先回升后又下降, DCD 处理和 DMPP 处理 AOB (*amoA*) 基因拷贝数整体上都呈现缓慢地下降趋势. 结果表明, 两种抑制剂都可以有效地抑制菜地土 AOB (*amoA*) 基因丰度, DMPP 处理比 DCD 处理对 AOB 的抑制效果好一点, 但是这种影响在培养末期消失.

蔬菜土壤培养实验前期, 各处理 AOA (*amoA*) 基因拷贝数都处于较低水平, 后期出现了明显的差异. 整个培养期内 DCD 处理和 DMPP 处理的 AOA (*amoA*) 基因拷贝数比对照平均降低 6% 和 27%. 在实验培养前期, DCD 处理的 AOA (*amoA*) 基因拷贝数与 CK 处理没有显著差异, 21 d 后差异逐渐明显; DMPP 处理的 AOA (*amoA*) 基因拷贝数处于较低值, 显著低于对照和 DCD 处理. 结果表明, 蔬菜土壤培养前期、中期 DCD 处理对 AOA (*amoA*) 基因丰

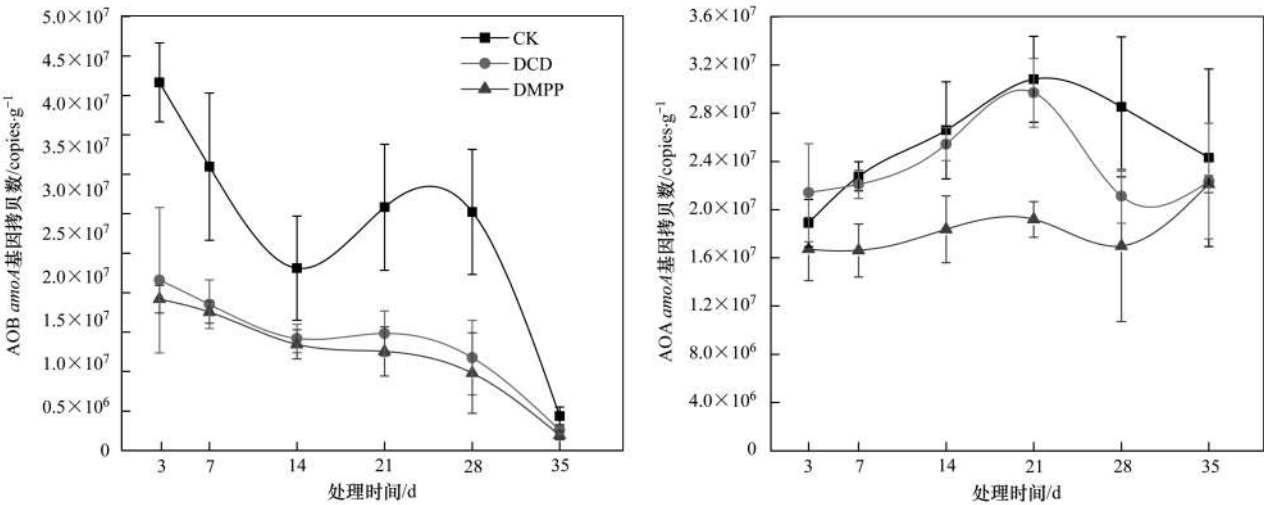


图3 不同硝化抑制处理下氨氧化细菌(AOB)和氨氧化古菌(AOA) *amoA* 基因丰度变化情况

Fig. 3 Abundance of bacterial and archaeal *amoA* gene with application of different nitrification inhibitors

度的抑制效果不明显,但DMPP对其抑制效果较强,DCD和DMPP的抑制影响均在末期消失.

2.4 不同硝化抑制剂处理氨氧化微生物群落α多样性指数

采用Illumina MiSeq测序平台对第3 d(氨氮含量上升期)和第21 d(氨氮含量下降期)的AOB和AOA(*amoA*)基因进行双末端(Paired-end)测序,分析后发现:Sobs丰富度值、ACE指数、Chao1指数和Simpson均匀度指数显示第3和21 d不同抑制剂处理AOB群落丰富度和AOB Simpson均匀度都

无显著差异;但是,第3 d各处理AOB群落多样性和AOB Shannon均匀度具有显著差异,其中Shannon多样性指数和Shannoneven均匀度指数CK>DCD>DMPP, Simpson多样性指数CK<DCD<DMPP(表3),第21 d无显著差异.然而,AOA群落α多样性指数表明不同抑制剂处理AOA的群落丰富度出现了显著差异,其中第3 d的Sobs丰富度值、ACE指数处理DCD>DMPP>CK,第21 d的Sobs丰富度值DCD>CK>DMPP, AOA群落多样性和群落均匀度无显著差异(表4).

表3 不同硝化抑制剂处理AOB群落α多样性指数¹⁾

Table 3 The α diversity index of the AOB ammonia oxidizing bacteria community in different nitrification inhibitors treatments

处理	Sobs 丰富度值	ACE 指数	Chao1 指数	Shannon 多样性指数	Simpson 多样性指数	Shannoneven 均匀度指数	Simpsoneven 均匀度指数
3-CK	54.33 ± 0.510a	57.29 ± 0.370a	55.47 ± 0.520a	2.36 ± 0.013a	0.14 ± 0.003a	0.59 ± 0.002a	0.13 ± 0.002a
3-DMPP	53.33 ± 1.020a	55.61 ± 1.140a	55.48 ± 1.360a	2.17 ± 0.022b	0.17 ± 0.001b	0.55 ± 0.004b	0.11 ± 0.001a
3-DCD	56.67 ± 1.680a	59.65 ± 2.750a	60.50 ± 3.170a	2.28 ± 0.026ab	0.16 ± 0.005ab	0.56 ± 0.009ab	0.11 ± 0.006a
21-CK	53.67 ± 1.680a	62.06 ± 4.970a	58.75 ± 3.660a	2.32 ± 0.042a	0.15 ± 0.006a	0.58 ± 0.006a	0.13 ± 0.002a
21-DMPP	53.00 ± 1.530a	54.48 ± 1.630a	54.08 ± 1.500a	2.21 ± 0.048a	0.17 ± 0.010a	0.56 ± 0.010a	0.11 ± 0.005a
21-DCD	55.33 ± 0.840a	57.69 ± 0.490a	58.20 ± 0.120a	2.18 ± 0.030a	0.18 ± 0.007a	0.54 ± 0.007a	0.10 ± 0.004a

1)3-CK、3-DMPP和3-DCD分别代表第3 d单施尿素的对照处理、尿素与硝化抑制剂DMPP混合施用的处理、尿素与硝化抑制剂DCD混合施用的处理;21-CK、21-DMPP和21-DCD分别代表第21 d单施尿素的对照处理、尿素与硝化抑制剂DMPP混合施用的处理、尿素与硝化抑制剂DCD混合施用的处理;第3和21 d分别代表氨氮含量上升期、下降期;数据为平均值±标准误(n=3);不同小写字母表示不同处理间差异显著(P<0.05),下同

表4 不同硝化抑制剂处理AOA群落α多样性指数

Table 4 The α diversity index of the AOA ammonia oxidizing archaea community in different nitrification inhibitors treatments

处理	Sobs 丰富度值	ACE 指数	Chao1 指数	Shannon 多样性指数	Simpson 多样性指数	Shannoneven 均匀度指数	Simpsoneven 均匀度指数
3-CK	55.00 ± 0.67a	59.04 ± 0.94a	60.73 ± 1.90a	2.42 ± 0.09a	0.15 ± 0.02a	0.60 ± 0.02a	0.13 ± 0.01a
3-DMPP	55.67 ± 0.38ab	65.19 ± 1.44ab	62.58 ± 1.88a	2.66 ± 0.04a	0.11 ± 0.01a	0.66 ± 0.01a	0.17 ± 0.01a
3-DCD	62.33 ± 0.77b	74.86 ± 3.56b	69.28 ± 1.44a	2.64 ± 0.02a	0.12 ± 0.01a	0.64 ± 0.00a	0.14 ± 0.01a
21-CK	58.00 ± 1.00ab	63.93 ± 1.91a	65.40 ± 3.14a	2.61 ± 0.02a	0.11 ± 0.00a	0.64 ± 0.00a	0.16 ± 0.00a
21-DMPP	52.67 ± 1.71a	69.49 ± 3.48a	68.08 ± 4.98a	2.58 ± 0.02a	0.11 ± 0.00a	0.65 ± 0.00a	0.17 ± 0.01a
21-DCD	61.67 ± 0.69b	65.94 ± 1.21a	64.70 ± 1.22a	2.63 ± 0.03a	0.11 ± 0.00a	0.64 ± 0.01a	0.15 ± 0.01a

2.5 不同硝化抑制剂处理氨氧化微生物群落组成分析

AOB 群落在属水平上有 4 个优势类群, 其中 norank-environmental-samples 占总序列 19.0% ~ 31.0%, 第 3 和 21 d 两种抑制剂处理都明显高于

CK; unclassified-Nitrosomonadaceae、unclassified-Bacteria 和 *Nitrosospira* 分别占总序列的 7.0% ~ 20.6%、21.3% ~ 28.0% 和 19.0% ~ 26.9%, 它们的群落丰度在第 3 d 和 21 d 处理 DCD、DMPP 都显著低于 CK(表 5)。

表 5 不同硝化抑制剂处理在属水平上 AOB 群落丰度百分比¹⁾/%

属	3-CK	3-DMPP	3-DCD	21-CK	21-DMPP	21-DCD
norank- β -proteobacteria	4.54	5.48	5.97	6.13	6.06	6.91
unclassified-Nitrosomonadales	2.12	2.72	3.01	2.17	3.18	3.68
norank-environmental-samples	19.17	27.29	28.07	18.98	31.00	28.99
unclassified-Nitrosomonadaceae	20.61	20.58	18.52	15.70	11.55	7.02
unclassified-Bacteria	22.95	22.47	21.30	28.04	23.10	28.02
<i>Nitrosospira</i>	26.93	19.02	19.50	25.12	21.85	22.42
<i>Nitrosovibrio</i>	1.19	0.71	0.73	0.87	0.86	0.71
<i>Nitrosomonas</i>	0.99	0.52	0.67	1.53	0.49	0.36
norank-environmental-samples	0.80	0.87	0.96	0.78	1.18	0.98
others	0.70	0.34	1.27	0.70	0.74	0.91

1) 数据为平均值, 下同

AOA 群落在属水平上有 3 个优势类群, 其中 norank-Crenarchaeota 占总序列 58.2% ~ 72.2%, DCD、DMPP 处理下其群落丰度均显著低于 CK. norank-environmental-samples 占总序列 10.3% ~

21.2%, 第 3 d 处理 DCD 和 DMPP 都显著高于 CK; 第 21 d 处理 DCD 比 CK 升高了 21.9%, 处理 DMPP 比 CK 降低了 32.8%. *Nitrososphaera* 占总序列 9.2% ~ 18.0%, 其群落丰度处理均高于 CK(表 6)。

表 6 不同硝化抑制剂处理在属水平上 AOA 群落丰度百分比/%

属	3-CK	3-DMPP	3-DCD	21-CK	21-DMPP	21-DCD
norank-Crenarchaeota	72.24	58.22	62.05	66.33	63.08	64.54
norank-environmental-samples	10.31	21.23	17.53	17.53	11.78	21.38
unclassified-Archaea	4.55	4.96	5.10	6.88	7.18	3.00
<i>Nitrososphaera</i>	12.87	15.52	15.20	9.21	17.95	10.92
others	0.03	0.07	0.12	0.05	0.01	0.16

3 讨论

菜地土壤是我国现代农业生产中具有鲜明特点的一类农田土壤, 由于其蔬菜根系浅、生产力高、复种指数大、化肥施用量是粮棉作物的数倍, 而且氮肥利用效率远低于其它作物, 因此, 我国菜地土壤普遍存在农产品硝酸盐超标和地下水硝酸盐污染等突出问题。

NH_4^+ -N 是蔬菜生长必需的养分之一。蔬菜土壤中 NH_4^+ -N 主要由尿素水解作用产生, 并在硝化细菌和古菌的作用下由亚硝酸盐转换为硝酸盐, 从而导致土壤中 NH_4^+ -N 浓度下降^[8]。本研究中, DMPP 和 DCD 的施用显著延缓了土壤 NH_4^+ -N 向 NO_3^- -N 的转化, 降低了 NO_3^- -N 的累积(图 1)。有研究也指出, DMPP 和 DCD 分别与 NH_4^+ 基肥联合施用可以有效减少农业土壤 N_2O 的排放和 NO_3^- -N 的损失^[7,8,23]。在

培养前期, DMPP 和 DCD 都可以明显抑制蔬菜土壤的硝化作用, 使 NH_4^+ -N 含量维持较高水平, NO_3^- -N 含量和硝化势相比 CK 处理均显著降低。在培养后期, DMPP 对硝化作用的抑制效果相比 DCD 要更显著^[30~32]。其原因可能为, 相比 DCD, DMPP 挥发性更低, 且在土壤中流动性低^[30]。另外, DMPP 和 DCD 在培养过程中, 会随着培养时间的延长而逐渐被土壤微生物降解。之前的研究表明, 在 25℃ 温度条件下, DCD 的降解速度显著高于 DMPP^[8,33]。因此, DMPP 比 DCD 在土壤中具有较高的持久性和稳定性, 以及持久的抑制作用^[7]。

土壤 NH_4^+ -N 的转化主要由氨氧化细菌和古菌驱动, 抑制微生物氨氧化过程可以降低土壤硝态氮的累积速率, 降低反硝化过程中氮素流失的风险^[7]。其中氮素含量影响 AOB 和 AOA 的分布, 以往的研究普遍认为, 在高氮环境或营养丰富的农田

土壤中 AOB 在氨氧化过程中发挥更重要的作用, 古菌在与细菌的竞争中处于劣势地位^[8,34,35]. 另外, 土壤理化性质也会显著影响 AOB 和 AOA 的分布^[7,8], 有研究发现土壤类型和 pH 值很大程度上决定了 AOB 和 AOA 的丰度和组成. 例如, 稻田中 AOA 较丰富, 氮丰富的湿地和湿地沉积物中 AOB 更丰富^[36]. Xi 等^[37]研究了土壤 pH 值与 AOB 和 AOA 丰度的关系, 结果表明土壤 pH 值对 AOA 丰度的影响更大, 而对 AOB 丰度的影响较小. 有研究认为在中性土壤中 AOA 的作用会受到抑制^[38,39]. 本研究采用了 pH 为 7.0、长期施氮肥的蔬菜种植土壤, 结果表明 AOB 的种群丰度明显高于 AOA 的种群丰度, 这与之前的研究结论基本一致. DMPP 和 DCD 的添加均显著抑制了 AOB 的种群丰度, 且 DMPP 相比 DCD 对 AOB 的抑制作用更为明显. 之前的报道也指出 DMPP 对 AOB 的丰度和硝化反应的抑制作用强于 DCD^[7,8]. 对于 AOA 来说, 本研究中 DMPP 显著抑制了 AOA 的种群丰度, 但是其抑制程度要低于对 AOB 的抑制效果, 其原因可能为 DMPP 对土壤中 AOB 氨单加氧酶的转录活性的抑制作用大于 AOA^[8]. 有报道又指出, DMPP 的应用使细菌胞体略有增大从而加速氨向亚硝酸盐和硝酸盐的转化^[40], 但 DMPP 对 AOA 的显著抑制效果可以确保 NH_4^+ -N 的转化显著放缓. 然而, 本研究中 DCD 的添加并没有显著影响 AOA 的种群丰度. 其原因可能是 DCD 添加到土壤后通过螯合 AOA 中氨氧化酶的铜离子而逐渐失去对 AOA 氨氧化酶的抑制效果, 因此 DCD 对 AOA 的抑制能力不如 DMPP^[8].

有研究指出硝化抑制剂的添加短期内对 AOB 和 AOA 的群落多样性没有显著影响^[41], 本研究施用 DCD 和 DMPP, α 多样性指数分析也出现了类似的结果(表 3 和表 4). 然而, Chen 等^[8]认为尿素 + DCD 或尿素 + DMPP 处理中 AOB 的种群组成存在显著差异. 本研究群落组成分析发现 DMPP 和 DCD 的施用显著改变了 AOB 和 AOA 的种群组成, 且 DMPP 对 AOB 和 AOA 种群组成的影响更大. Norank-environmental-samples、unclassified-Bactertia、unclassified-Nitrosomonadaceae 和 *Nitrososphaera* 为 AOB 优势属水平类群, 尿素与 DCD、DMPP 配施显著改变了其各自组成. 这可能是连续集约化蔬菜生产刺激了土壤 AOB 群落单一优势群体 *Nitrososphaera* 的形成^[39]. 同时, 本研究中 norank-Crenarchaeota、norank-environmental-samples 和 *Nitrososphaera* 是 AOA 的优势属水平类群. Zhong 等^[42]也指出蔬菜土壤中 AOA 的优势种群主要隶属于 group 1.1b thaumarchaeota, Prosser 等^[43]报道来源于土壤中的

氨氧化古菌大多聚类于 group 1.1b, 此外 *Nitrososphaera* 的功能基因序列与 group 1.1b 有较高的同源性, 也具有氨氧化能力^[44]. 但是, Gong 等^[41]在棕色土壤上也发现 AOA 的优势种群主要隶属于泉古菌门 Crenarchaeota, 与本研究中发现的 norank-Crenarchaeota 具有较高的同源性, 都隶属于 AOA 类群. 已有研究证实 DMPP 和 DCD 主要是通过抑制土壤硝化微生物活性和氨氧化微生物群落组成^[20,23], 延缓氨氧化进程, 从而降低硝化作用强度.

4 结论

(1) 与单施尿素相比, DCD 和 DMPP 施用显著抑制了蔬菜土壤 NH_4^+ -N 的转化、 NO_3^- -N 的产生和硝化势, 且 DMPP 的抑制程度比 DCD 更显著.

(2) DMPP 的添加显著降低了 AOB 和 AOA 的种群丰度和改变了 AOB 和 AOA 的种群组成, 且对 AOB 的影响比 AOA 更显著; DCD 的添加主要通过显著抑制 AOB 的种群丰度和改变 AOB 的种群组成, 而对 AOA 的种群丰度和组成影响较小.

(3) 综上, DMPP 对土壤硝化过程和 AOB、AOA 的抑制效果较 DCD 强, 说明 DMPP 是一种较 DCD 更为理想的硝化抑制剂, 在提高蔬菜土壤氮肥利用率方面具有更好地应用前景.

参考文献:

- [1] Gilsanz C, Báez D, Misselbrook T H, et al. Development of emission factors and efficiency of two nitrification inhibitors, DCD and DMPP[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2016, **216**: 1-8.
- [2] Song A L, Liang Y C, Zeng X B, et al. Substrate-driven microbial response: a novel mechanism contributes significantly to temperature sensitivity of N_2O emissions in upland arable soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, **118**: 18-26.
- [3] Ouyang Y, Norton J M, Stark J M, et al. Ammonia-oxidizing bacteria are more responsive than archaea to nitrogen source in an agricultural soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, **96**: 4-15.
- [4] Scheer C, Rowlings D, Firrell M, et al. Nitrification inhibitors can increase post-harvest nitrous oxide emissions in an intensive vegetable production system[J]. Scientific Reports, 2017, **7**: 43677.
- [5] Duan P P, Wu Z, Zhang Q Q, et al. Thermodynamic responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria explain N_2O production from greenhouse vegetable soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, **120**: 37-47.
- [6] 刘远, 王光利, 李恋卿, 等. 土壤硝化和反硝化微生物群落及活性对大气 CO_2 浓度和温度升高的响应[J]. 环境科学, 2017, **38**(3): 1245-1252.
- [7] Liu Y, Wang G L, Li L Q, et al. Response of soil nitrifier and denitrifier community and activity to elevated atmospheric CO_2 concentration and temperature[J]. Environmental Science, 2017, **38**(3): 1245-1252.
- [8] Fan X P, Yin C, Chen H, et al. The efficacy of 3, 4-

- dimethylpyrazole phosphate on N_2O emissions is linked to niche differentiation of ammonia oxidizing archaea and bacteria across four arable soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, **130**: 82-93.
- [8] Chen Q H, Qi L Y, Bi Q F, *et al.* Comparative effects of 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) and dicyandiamide (DCD) on ammonia-oxidizing bacteria and archaea in a vegetable soil [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, **99**(1): 477-487.
- [9] 刘莹, 王丽华, 郝春博, 等. 酸性矿山废水库周边土壤微生物多样性及氨氧化菌群落研究[J]. *环境科学*, 2014, **35**(6): 2305-2313.
- Liu Y, Wang L H, Hou C B, *et al.* Microbial diversity and ammonia-oxidizing microorganism of a soil sample near an acid mine drainage lake[J]. *Environmental Science*, 2014, **35**(6): 2305-2313.
- [10] Rui L, Hayden H L, Hu H W, *et al.* Effects of the nitrification inhibitor acetylene on nitrous oxide emissions and ammonia-oxidizing microorganisms of different agricultural soils under laboratory incubation conditions [J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, **119**: 80-90.
- [11] Kong X W, Eriksen J, Petersen S O. Evaluation of the nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) for mitigating soil N_2O emissions after grassland cultivation[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018, **259**: 174-183.
- [12] Rodrigues J M, Lasa B, Aparicio-Tejo P M, *et al.* 3, 4-dimethylpyrazole phosphate and 2-(N-3, 4-dimethyl-1H-pyrazol-1-yl) succinic acid isomeric mixture nitrification inhibitors: quantification in plant tissues and toxicity assays[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **624**: 1180-1186.
- [13] Zhang Z Z, Shi X J, Li H, *et al.* Inorganic nitrogen transformation in purple soil as affected by major nitrification inhibitors in China [A]. 2016 5th International Conference on Energy and Environmental Protection (ICEEP 2016) [C]. Amsterdam: Atlantis Press, 2016.
- [14] 张苗苗, 沈菊培, 贺纪正, 等. 硝化抑制剂的微生物抑制机理及其应用[J]. *农业环境科学学报*, 2014, **33**(11): 2077-2083.
- Zhang M M, Shen J P, He J Z, *et al.* Microbial mechanisms of nitrification inhibitors and their application[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, **33**(11): 2077-2083.
- [15] 伍延正, 张苗苗, 秦红灵, 等. 双氰胺对冬闲稻田和油菜地 N_2O 排放的影响[J]. *环境科学*, 2017, **38**(5): 2084-2092.
- Wu Y Z, Zhang M M, Qing H L, *et al.* Effect of dicyandiamide on N_2O emission in fallow paddy field and rape cropping[J]. *Environmental Science*, 2017, **38**(5): 2084-2092.
- [16] Wang Q, Zhang L M, Shen J P, *et al.* Effects of dicyandiamide and acetylene on N_2O emissions and ammonia oxidizers in a fluvo-aquic soil applied with urea [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, **23**(22): 23023-23033.
- [17] Keiblinger K M, Zehetner F, Mentler A, *et al.* Biochar application increases sorption of nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate in soil [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, **25**(11): 11173-11177.
- [18] Scheer C, Rowlings D W, Firrel M, *et al.* Impact of nitrification inhibitor (DMPP) on soil nitrous oxide emissions from an intensive broccoli production system in sub-tropical Australia[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, **77**: 243-251.
- [19] Xu J J, Zhu T B, Xue W F, *et al.* Influences of nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) and application method on nitrogen dynamics at the centimeter-scale [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2019, **90**: 44-50.
- [20] Li J, Shi Y L, Luo J F, *et al.* Effects of 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on the abundance of ammonia oxidizers and denitrifiers in two different intensive vegetable cultivation soils [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2019, **19**(3): 1250-1259.
- [21] 许超, 邝丽芳, 吴启堂, 等. 2-氯-6(三氯甲基)吡啶对菜地土壤氮素转化和径流流失及菜心品质的影响[J]. *水土保持学报*, 2013, **27**(6): 26-30.
- Xu C, Kuang L F, Wu Q T, *et al.* Effects of nitrification inhibitor nitrapyrin on nitrogen transformation and nitrogen loss and quality of brassica parachinensis in vegetable soil [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2013, **27**(6): 26-30.
- [22] 俞巧钢, 符建荣, 马军伟, 等. DMPP 对菜地土壤氮素径流损失的影响[J]. *环境科学*, 2009, **30**(3): 870-874.
- Yu Q G, Fu J R, Ma J W, *et al.* Effect of DMPP on inorganic nitrogen runoff loss from vegetable soil [J]. *Environmental Science*, 2009, **30**(3): 870-874.
- [23] 杨扬, 孟德龙, 秦红灵, 等. 硝化抑制剂对蔬菜土硝化和反硝化细菌的影响[J]. *生态学报*, 2012, **32**(21): 6803-6810.
- Yang Y, Meng D L, Qing H L, *et al.* Mechanism of nitrification inhibitor on nitrogen-transformation bacteria in vegetable soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, **32**(21): 6803-6810.
- [24] Segal L M, Miller D N, McGhee R P, *et al.* Bacterial and archaeal ammonia oxidizers respond differently to long-term tillage and fertilizer management at a continuous maize site[J]. *Soil and Tillage Research*, 2017, **168**: 110-117.
- [25] 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.
- [26] Hart S C, Stark J M, Davidson E A, *et al.* Nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification [A]. In: Weaver R W, Angle J S, Bottomley P J, *et al.* (Eds.). *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Bio-Chemical Properties* [C]. Madison, Wisconsin: Soil Science Society of America, 1994. 985-1018.
- [27] 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.
- [28] Lopez-Gutiérrez J C, Henry S, Hallet S, *et al.* Quantification of a novel group of nitrate-reducing bacteria in the environment by real-time PCR [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, **57**(3): 399-407.
- [29] 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.
- [30] Wu D, Zhao Z C, Han X, *et al.* Potential dual effect of nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate on nitrifier denitrification in the mitigation of peak N_2O emission events in north China Plain cropping systems [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, **121**: 147-153.
- [31] Fanguero D, Fernandes A, Coutinho J, *et al.* Influence of two nitrification inhibitors (DCD and DMPP) on annual ryegrass yield and soil mineral N dynamics after incorporation with cattle slurry[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2009, **40**(21-22): 3387-3398.
- [32] Wissemeier A H, Linzmeier W, Gutser R, *et al.* The new nitrification inhibitor DMPP (ENTEC®) — comparisons with DCD in model studies and field applications [A]. Horst W J

- (ed.). Plant Nutrition[M]. Dordrecht: Springer, 2001.
- [33] 戴宇, 贺纪正, 沈菊培. 双氰胺在农业生态系统中的应用效果及其影响因素[J]. 应用生态学报, 2014, **25**(1): 279-286.
- Dai Y, He J Z, Shen J P. Effects and influence factors of dicyandiamide (DCD) application in agricultural ecosystem[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2014, **25**(1): 279-286.
- [34] Kou Y P, Wei K, Chen G X, *et al.* Effects of 3, 4-dimethylpyrazole phosphate and dicyandiamide on nitrous oxide emission in a greenhouse vegetable soil[J]. Plant Soil and Environment, 2015, **61**(1): 29-35.
- [35] Kong X W, Duan Y F, Schramm A, *et al.* 3, 4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) reduces activity of ammonia oxidizers without adverse effects on non-target soil microorganisms and functions[J]. Applied Soil Ecology, 2016, **105**: 67-75.
- [36] 刘天琳, 任佳琪, 王天佑, 等. 中性紫色水稻土硝化作用中细菌和古菌的相对贡献[J]. 土壤通报, 2018, **49**(5): 1091-1096.
- Liu T L, Ren J Q, Wang T Y, *et al.* Relative contribution of bacteria and Archaea to soil nitrification in neutral paddy soil[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2018, **49**(5): 1091-1096.
- [37] Xi R J, Long X E, Huang S, *et al.* pH rather than nitrification and urease inhibitors determines the community of ammonia oxidizers in a vegetable soil[J]. AMB Express, 2017, **7**: 129.
- [38] 毛新伟, 程敏, 徐秋芳, 等. 硝化抑制剂对毛竹林土壤 N_2O 排放和氨氧化微生物的影响[J]. 土壤学报, 2016, **53**(6): 1528-1540.
- Mao X W, Cheng M, Xu Q F, *et al.* Effects of nitrification inhibitors on Soil N_2O Emission and community structure and abundance of ammonia oxidation microorganism in soil under extensively managed phyllostachys edulis stands[J]. Acta Pedologica Sinica, 2016, **53**(6): 1528-1540.
- [39] Shen W S, Lin X G, Gao N, *et al.* Nitrogen fertilization changes abundance and community composition of ammonia-oxidizing bacteria[J]. Soil Science Society of America Journal, 2011, **75**(6): 2198-2205.
- [40] Benckiser G, Christ E, Herbert T, *et al.* The nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole-phosphat (DMPP)-quantification and effects on soil metabolism[J]. Plant and Soil, 2013, **371**(1-2): 257-266.
- [41] Gong P, Zhang L L, Wu Z J, *et al.* Responses of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in two agricultural soils to nitrification inhibitors DCD and DMPP: A Pot Experiment[J]. Pedosphere, 2013, **23**(6): 729-739.
- [42] Zhong W H, Bian B Y, Gao N, *et al.* Nitrogen fertilization induced changes in ammonia oxidation are attributable mostly to bacteria rather than archaea in greenhouse-based high N input vegetable soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, **93**: 150-159.
- [43] Prosser J I, Nicol G W. Relative contributions of archaea and bacteria to aerobic ammonia oxidation in the environment[J]. Environmental Microbiology, 2008, **10**(11): 2931-2941.
- [44] 陈秋会. 设施菜地土壤硝化作用的特征及其微生物学机制[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
- Chen Q H. Nitrification in greenhouse vegetable soils and corresponding microbial mechanisms[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.

CONTENTS

Characteristics of Aerosol Vertical Distribution over the Yangtze River Delta Region of China in 2018	SHEN Ji, CAO Nian-wen (4743)
Characteristics of Haze Pollution Episodes During Autumn and Winter in 2018 in Shijiazhuang	SU Wen-kang, BAO Xiao-lei, NI Shuang-ying, <i>et al.</i> (4755)
Spatial Temporal Characteristics and Cluster Analysis of Chemical Components for Ambient PM _{2.5} in Wuhan	ZHANG Hui-tao, TIAN Ying-ze, LIU Bao-shuang, <i>et al.</i> (4764)
Heavy Metal Pollution Characteristics and Ecological and Health Risk Assessment of Atmospheric PM _{2.5} in a Living Area of Zhengzhou City	HE Rui-dong, ZHANG Yi-shun, CHEN Yong-yang, <i>et al.</i> (4774)
Distribution Characteristics and Sources of Metal Elements in Rainwater in Xiamen	WANG Shan-shan, CHENG Yi-feng, YAN Jin-pei, <i>et al.</i> (4783)
First Long-Term Study of Atmospheric New Particle Formation in the Suburb of Shanghai from 2015 to 2017	HUO Jun-tao, WANG Xin-ning, DUAN Yu-sen, <i>et al.</i> (4791)
Characteristics, Transportation, Pathways, and Potential Sources of Air Pollution During Autumn and Winter in Taiyuan	YAN Shi-ming, WANG Yan, GUO Wei, <i>et al.</i> (4801)
Spatial and Temporal Characteristics of Air Quality and Cause Analysis of Heavy Pollution in Northeast China	CHEN Wei-wei, LIU Yang, WU Xue-wei, <i>et al.</i> (4810)
Spatiotemporal Evolution and Driving Mechanism of Aerosol Optical Depth in the Ebinur Lake Basin	CHEN Xiang-yue, DING Jian-li, WANG Jing-zhe, <i>et al.</i> (4824)
Concentration Levels and Impact Factors of Benzene Series in Chinese Residential Building	HOU Bei-bei, YIN Yi-hui, PEI Jing-jing, <i>et al.</i> (4833)
Pollution Characteristics and Source Analysis of Aromatic Compounds in Shijiazhuang	YANG Yang, LI Xing-ru, LIU Shui-qiao, <i>et al.</i> (4841)
Emission Characteristics Analysis and Health Risk Assessment of Unorganized VOCs in the Carbon Industry, Zhengzhou	ZHANG Yi-shun, WANG Jia, HAN Shi-jie, <i>et al.</i> (4847)
Hazardous Volatile Organic Compound Emission Inventory Study and Its Application in a Typical Chemical Industry in the Yangtze River Delta	LU Jun, HUANG Yi-wei, HUANG Cheng (4856)
Establishment and Characteristics of an Artificial Ammonia Emissions Inventory in Jiangsu Province from 2013 to 2017	HOU Xin-hong, YU Xing-na, SHEN Li, <i>et al.</i> (4862)
Occurrence Characteristics and Health Risks of PAHs on the Surface of Buildings and Devices in the Coking Plant	ZHAO Yi-shu, LIAO Xiao-yong, LI You, <i>et al.</i> (4870)
Contamination Characteristics and Ecological Risk Assessment of Androgens, Glucocorticoids, and Progesterone in the Liusha Bay, South China Sea	YANG Lei, ZHANG Jin-na, XU Min, <i>et al.</i> (4879)
Dynamic Changes in Hydrochemical Characteristics and Influencing Factors in the Karst Watershed Flood Process	YUAN Ya-qiong, SUN Ping-an, SU Zhao, <i>et al.</i> (4889)
Sources, Distribution, and Fluxes of Major and Trace Elements in the Yangtze River	WU Wen-tao, RAN Xiang-bin, LI Jing-xi, <i>et al.</i> (4900)
Contaminant Characteristics and Ecological Risk Assessments of Heavy Metals from River Networks in the Western Area of the Wangyu River	XU Chen, WANG Pei-fang, CHEN Juan, <i>et al.</i> (4914)
Influence of Rainfall Intensity on the Nutrient Loading from an Inflowing River in the Plain River Network of the Taihu Catchment	CHEN Jie, ZHU Guang-wei, XU Hai, <i>et al.</i> (4924)
Distribution and Pollution Assessment of Nutrients and Heavy Metals in Surface Sediments from Shibalianwei Wetland in Hefei, Anhui Province, China	CHEN Shan, XU Fan, XIE San-tao, <i>et al.</i> (4932)
Spatial Distribution Characteristics of Chlorophyll-a and Nutrient Salts in Tributaries of Different River Sections in the Three Gorges Reservoir Area During the Flood Season	YANG Fan, YANG Zheng-jian, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (4944)
Endogenous Release of Nitrogen and Phosphorus in the Danjiangkou Reservoir	WANG Zhi-qi, LIU Xin-xing, YAO Zhi-hong, <i>et al.</i> (4953)
Correlation Between Water Purification Capacity and Bacterial Community Composition of Different Submerged Macrophytes	LI Lin, YUE Chun-lei, ZHANG Hua, <i>et al.</i> (4962)
Size-dependent Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Performance and Microbial Community Structure of a Constructed Wetland	WANG Sen, REN Ling, LIU Lin-lin, <i>et al.</i> (4971)
Removal of Nitrogen and Phosphorus from Water by Biomass Carbon of Aquatic Plants	LIU Shu-lei, PENG Hui-jun, YANG Jia-yi, <i>et al.</i> (4980)
Preparation of MgO Modified Lotus Shell Biochar and Its Phosphorus Adsorption Characteristics	WANG Sheng-hua, ZHU Dan-chen, SHAO Jing-ai, <i>et al.</i> (4987)
Effects of Microplastics on Membrane Fouling During a Shortened Ultrafiltration Membrane Process	WANG Bo-dong, XUE Wen-jing, LÜ Yong-tao, <i>et al.</i> (4996)
Preparation and Comparison of Arsenic Removal Granular Adsorbent Based on Iron-Manganese Sludge	ZENG Hui-ping, YU Ya-ping, LÜ Sai-sai, <i>et al.</i> (5002)
Catalytic Degradation of Rhodamine B by FeOCl Activated Hydrogen Peroxide	ZHANG Shao-peng, CHEN Yu, BAI Shu-qin, <i>et al.</i> (5009)
Treatment Effect and Ecological Risk Assessment of Typical Antibiotics in Wastewater from Large-scale Dairy Farms in Tianjin	CHEN Qian, ZHAO Run, MOU Mei-rui, <i>et al.</i> (5015)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Wastewater Treatment Plants	YAO Peng-cheng, CHEN Jia-yu, ZHANG Yong-ming, <i>et al.</i> (5024)
Start-up and Stable Operation of CANON Coupled with Denitrifying Phosphorus Removal	YIN Wen, CHEN Ya, ZHANG Yu, <i>et al.</i> (5032)
Control of Sludge Bulking Caused by Unknown Reason Through FeCl ₃ Coupled with Biochemical Methods	WEI Dong-yang, XIAO Cai-lin, ZHOU Wen, <i>et al.</i> (5040)
Effects of Solid Retention Time on the Phosphorus Removal and Nitrosation Granules System	LI Dong, LIU Bo, WANG Wen-qi, <i>et al.</i> (5048)
Start-up of Simultaneous ANAMMOX and Denitrification Process and Changes in Microbial Community Characteristics	SONG Zhuang-zhuang, LÜ Shuang, LIU Zhe, <i>et al.</i> (5057)
Influence of Substrate Exposure Level on ANAMMOX Microbial Activity and Biomass	CHEN Fang-min, GAO Jia-qi, HUANG Yong, <i>et al.</i> (5066)
Pollution Characteristics and Source Analysis of Heavy Metals in Farmland Soils in the Taige Canal Valley	LI Wei-di, CUI Yun-xia, ZENG Cheng-cheng, <i>et al.</i> (5073)
Method of Dividing the Value of Soil Heavy Metal Pollution Risk Screening: Using Cd as an Example	WANG Rui, ZHANG Feng-lei, XU Shu-shu, <i>et al.</i> (5082)
Mineral Characteristics of Arsenic in the Active Area of the Banbishan Gold Mine and Its Effect on Arsenic Accumulation in Farmland Soil	WEN Qi-qian, YAN Xiu-lan, SHEN Jun-feng, <i>et al.</i> (5090)
Remediation of Cadmium Contaminated Paddy Fields Using Soil Conditioners	ZHOU Li-jun, WU Lin, LIN Xiao-bing, <i>et al.</i> (5098)
Inhibition and Remediation of Methylmercury Contaminated Soil by Use of Modified Montmorillonite	HAN Yi-xin, HE Tian-rong, WANG Zu-bo (5107)
Cerium-manganese Modified Biochar Immobilizes Arsenic in Farmland Soils	LIANG Ting, LI Lian-fang, ZHU Chang-xiong, <i>et al.</i> (5114)
Improving Bioremediation of Crude Oil-contaminated Soil by Mild Pre-oxidation	XU Jin-lan, WANG Hui-fang, WANG Rong, <i>et al.</i> (5124)
Community Structure of Heavy Metal Immobilized Bacteria in the Lettuce (<i>Lactuca sativa</i> L.) Rhizosphere in Soil Polluted by Heavy Metals and Its Effects on Reducing Heavy Metal Accumulation in Lettuce	WANG Tie-jun, SU Nan-nan, LEI Peng, <i>et al.</i> (5133)
Impact of Dicyandiamide (DCD) and 3,4-Dimethylpyrazole Phosphate (DMPP) on Ammonia-oxidizing Bacteria and Archaea in a Vegetable Planting Soil	GUO Jun-li, LIU Yi, WEI Wen-xue, <i>et al.</i> (5142)
Effect of Different Reclaimed Water Irrigation Methods on Bacterial Community Diversity and Pathogen Abundance in the Soil-Pepper Ecosystem	CUI Bing-jian, GAO Feng, HU Chao, <i>et al.</i> (5151)
Characteristics of CO ₂ and N ₂ O Emissions Under Two Land Use Types in the Loess Plateau of China	HAN Jia-le, HAO Shan, LIU Zhen-jie, <i>et al.</i> (5164)
Effects of Biochar on N ₂ O Emission from Four Typical Soils in the North China Plain	ZHANG Xiu-ling, SUN Yun, ZHANG Shui-qing, <i>et al.</i> (5173)
Effects of Optimizing Fertilization on N ₂ O and CH ₄ Emissions in a Paddy-Cowpea Rotation System in the Tropical Region of China	HU Yu-lin, TANG Shui-rong, TAO Kai, <i>et al.</i> (5182)