

ISSN 0564-3929

Acta Pedologica Sinica 土壤学报

Turang Xuebao



中国土壤学会
科学出版社

主办
出版

2015

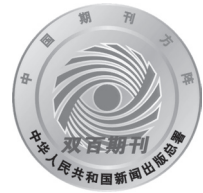
第 52 卷 第 4 期

Vol.52 No.4



土壤学报

(Turang Xuebao)



第 52 卷 第 4 期 2015 年 7 月

目 次

综述与评论

亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化微生物生态学研究进展····· 沈李东 (713)

土壤科学与现代农业

近30年江西省耕地土壤全氮含量时空变化特征····· 赵小敏 邵 华 石庆华等 (723)

北京市土壤重金属潜在风险预警管理研究····· 蒋红群 王彬武 刘晓娜等 (731)

秸秆深还对土壤团聚体中胡敏酸结构特征的影响····· 朱 姝 窦 森 陈丽珍 (747)

生物炭添加对酸化土壤中小白菜氮素利用的影响····· 俞映惊 薛利红 杨林章等 (759)

水肥对高产无性系油茶果实产量的影响····· 张文元 郭晓敏 涂淑萍等 (768)

研究论文

基于VRML的土壤电导率三维空间变异性虚拟现实建模研究····· 李洪义 顾呈剑 但承龙等 (776)

不同样点数量对土壤有机质空间变异表达的影响····· 海 南 赵永存 田 康等 (783)

基于稳定同位素的土壤水分运动特征····· 靳宇蓉 鲁克新 李 鹏等 (792)

中国玉米区域氮磷钾肥推荐用量及肥料配方研究····· 吴良泉 武 良 崔振岭等 (802)

不同施肥方式下滩涂围垦农田土壤有机碳及团聚体有机碳的分布····· 候晓静 杨劲松 王相平等 (818)

长期施肥对浙江稻田土壤团聚体及其有机碳分布的影响····· 毛霞丽 陆扣萍 何丽芝等 (828)

不同时期施用生物炭对稻田N₂O和CH₄排放的影响····· 李 露 周自强 潘晓健等 (839)

秸秆生物炭对潮土作物产量和土壤性状的影响····· 刘 园 M. Jamal Khan 靳海洋等 (849)

单一电解质体系下恒电荷土壤胶体扩散双电层中滑动层厚度的计算····· 丁武泉 朱启红 王 磊等 (859)

化工厂遗留地铬污染土壤化学淋洗修复研究····· 李世业 成杰民 (869)

离子型稀土矿尾砂地植被恢复障碍因子研究····· 刘文深 刘 畅 王志威等 (879)

辽东与山东半岛土壤中有机氯农药残留特征研究····· 朱英月 刘全永 李 贺等 (888)

长期冬种绿肥改变红壤稻田土壤微生物生物量特性····· 高嵩涓 曹卫东 白金顺等 (902)

豆科间作对番茄产量、土壤养分及酶活性的影响····· 代会会 胡雪峰 曹明阳等 (911)

研究简报

蚕豆根系分泌物中氨基酸含量与枯萎病的关系····· 董 艳 董 坤 汤 利等 (919)

小麦与蚕豆间作对根际真菌代谢功能多样性的影响····· 胡国彬 董 坤 董 艳等 (926)

不同年限毛竹林土壤固氮菌群落结构和丰度的演变····· 何冬华 沈秋兰 徐秋芳等 (934)

长期不同施肥模式下砂姜黑土的固碳效应分析····· 李 玮 孔令聪 张存岭等 (943)

果园生草对¹⁵N利用及土壤累积的影响····· 彭 玲 文 昭 安 欣等 (950)

封面图片: 离子型稀土矿废弃地全景 (由汤叶涛、刘文深提供)

DOI: 10.11766/trxb201408260424

亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化微生物生态学研究进展*

沈李东

(南京信息工程大学农业资源与环境系, 南京 210044)

摘要 亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化 (nitrite-dependent anaerobic methane oxidation, N-DAMO) 是指以亚硝酸盐为电子受体将甲烷氧化为二氧化碳的微生物生理过程。虽然目前人们对于 N-DAMO 的研究主要集中于人工环境, 但不断有证据表明 N-DAMO 菌广泛分布于不同类型生境 (如河流、湖泊、湿地和海洋等) 中, 且在部分生境中已被证实 N-DAMO 反应的发生。这表明 N-DAMO 是一种被忽视的甲烷汇, 其在全球温室气体减排中可能起着重要作用。本文介绍了 N-DAMO 菌的分类和生化反应机理, 总结了 N-DAMO 菌在不同自然生态系统中的分布特征与作用强度, 浅析了影响 N-DAMO 菌在自然生态系统中分布和发挥作用的主要环境因子, 并探讨了 N-DAMO 反应作为一种被忽视的甲烷汇在控制温室气体排放中的贡献。

关键词 亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化; 甲烷汇; 分类; 分布; 活性; 环境因子

中图分类号 X172 **文献标识码** A

甲烷是最简单的碳氢化合物, 在地球生物演化过程和人类的生产生活中扮演着重要的角色。例如, 甲烷的温室效应是等摩尔 CO₂ 的 20 倍~30 倍^[1], 对全球温室效应的贡献率达 20%^[2]。据估算, 目前全球甲烷年排放总量约为 500~600 Tg^[3]。研究表明, 最近 20 余年内, 大气甲烷浓度的增加速率是 CO₂ 的 100 倍^[4], 且大气甲烷浓度仍以每年 1.0%~1.2% 的速度递增^[3]。微生物是地球环境中甲烷的主要生产者, 其贡献率高达 69%^[5]。与甲烷的产生相对应, 微生物在甲烷的消耗方面也发挥了重要作用。甲烷的消耗主要是由甲烷氧化菌介导的甲烷氧化过程实现, 该过程约氧化了微生物甲烷产生总量的 60%, 是海洋、河流、湖泊和湿地等生态系统物质和能量循环的重要内容^[5-6]。

甲烷的生物氧化主要可分为两大类型: 一类是在有氧条件下由微生物利用氧气作为电子受体将甲烷氧化; 另一类是在厌氧条件下由微生物利用除氧气外的其他电子受体 (如 SO₄²⁻ 等) 将甲烷氧化。一般认为, 甲烷的厌氧氧化主要是通过耦合 SO₄²⁻ 的还原过程完成。这一过程已被证实是控制海洋甲烷排放的重要途径, 在海洋碳循环过程中具有不可

忽视的作用^[2]。然而, 热力学理论计算表明, 亚硝酸盐/硝酸盐也可作为电子受体并介导微生物的甲烷厌氧氧化过程^[7]。2006 年, 荷兰科学家在实验室条件下获得了一类能够利用亚硝酸盐为电子受体的甲烷氧化微生物富集培养物, 证实了甲烷的氧化可耦合亚硝酸盐的还原^[8]。此生物过程被称之为亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化 (nitrite-dependent anaerobic methane oxidation, N-DAMO)。这一发现完善了学术界对全球碳氮循环的已有理论认识, N-DAMO 可能代表了温室气体甲烷氧化的重要途径, 成为全球气候变化研究的重要内容^[9-10]。

N-DAMO 微生物的发现, 意味着亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化在自然环境中可能发挥了重要作用。近年来自然生态系统中 N-DAMO 菌的分布、N-DAMO 作用强度及其作为甲烷汇的贡献已成为微生物生态学研究领域的热点之一。特别是以 N-DAMO 分子标记物为基础的 DNA 测序技术与同位素示踪方法, 在研究不同类型生态系统中 N-DAMO 菌的地理分布规律及其生理生态功能方面发挥了重要作用^[11-13]。本文介绍了 N-DAMO 菌的分类与生化反应机理, 总结了 N-DAMO 菌在淡水生态系统、湿地生态系统和

* 南京信息工程大学人才启动项目 (S8113112001) 和江苏高校优势学科建设工程项目 (PAPD) 资助

作者简介: 沈李东 (1986—), 男, 博士, 讲师, 主要从事环境微生物与微生物生态研究。E-mail: shenld@nuist.edu.cn

收稿日期: 2014-08-26; 收到修改稿日期: 2015-02-11

海洋生态系统中的分布特征与作用强度, 浅析了影响N-DAMO菌在自然生态系统中分布和发挥作用的主要环境因子, 并探讨了N-DAMO对温室气体甲烷的贡献。

1 亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化菌的分类及其生化反应机理

1.1 N-DAMO菌的分类

催化N-DAMO反应的微生物是一类新的微生物——*Candidatus Methyloirabilis oxyfera*^[14], 隶属于新发现的细菌门(NC10门), 该门的细菌迄今都是不可培养的, 且与其他门细菌的亲缘关系较远(16S rRNA基因相似度小于85%)^[15]。随后, Ettwig等^[11]根据N-DAMO菌16S rRNA基因系统发育分析, 将此类微生物分为group A和group B两种基因型。自然环境中group A和group B两种基因型的N-DAMO菌往往是共存的, 但富集培养结果表明, 只有前者能够从各种(淡水)环境中得以成功富集^[11, 16-19], 表明此基因型的N-DAMO菌是主要的功能微生物, 而group B基因型的N-DAMO菌是否具有甲烷氧化功能还有待探明。目前, group A和group B两种基因型的N-DAMO菌已被证实分布于河流生态系统^[20]、湖泊生态系统^[21-22]和湿地生态系统^[13, 18, 23-27]等。最近, Chen等^[28]对南海沉积物中获得的N-DAMO菌序列以及目前在GenBank上公布的N-DAMO菌序列进行系统发育分析后发现, 南海沉积物中N-DAMO菌序列的归属明显区别于淡水环境中获得的N-DAMO菌序列的归属, 海洋沉积物中主要形成了group D和group E两种基因型的N-DAMO菌。这表明, 海洋沉积物特殊的环境条件(如高盐度和低营养物浓度)可能导致其形成了区别于淡水沉积物和湿地土壤的特殊N-DAMO菌生态位。

1.2 N-DAMO菌的生化反应机理

Ettwig等^[14]研究发现, *Candidatus Methyloirabilis oxyfera*并不具备催化完整反硝化途径必需的所有基因, 缺少N₂O还原酶编码基因, 却拥有完整的甲烷好氧化途径的编码基因, 进一步通过稳定性同位素示踪发现, 此类微生物具有内产氧功能, 并提出了N-DAMO反应的微生物机制。在亚硝酸还原方面, *Candidatus Methyloirabilis oxyfera*首先在亚硝酸还原酶的作用下将NO₂还原为NO, 然后

在NO歧化酶作用下将产生的2分子NO歧化生成O₂, 最后用生成的一部分O₂(3/4)用于甲烷的氧化, 剩余部分O₂(1/4)则用于正常的呼吸产能^[14, 29]。Wu等^[30]发现*Candidatus Methyloirabilis oxyfera*基因组中存在4组呼吸末端氧化酶的编码基因, 且这些基因被证实具有转录活性。据此, Wu等^[29-30]认为*Candidatus Methyloirabilis oxyfera*可通过呼吸产能。在甲烷氧化途径方面, *Candidatus Methyloirabilis oxyfera*首先在颗粒性甲烷单加氧酶的作用下将甲烷转化为甲醛, 然后甲醛在亚甲基-四氢甲基蝶呤脱氢酶或亚甲基-四氢叶酸脱氢酶的作用下转化为甲酸, 最后甲酸在甲酸脱氢酶的作用下最终转化为二氧化碳^[29-30]。但至今, N-DAMO反应的关键酶(NO歧化酶)尚未被分离和纯化, 其生化机制仍待进一步验证。

2 自然生态系统中的亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化过程

2.1 淡水生态系统

N-DAMO反应的前提是CH₄和NO₂/NO₃共存及严格的缺氧环境^[31]。淡水沉积物由于长期淹水具有好氧/厌氧界面, 同时淡水沉积物通常含有丰富的有机质, 其厌氧降解的产物如乙酸可作为产甲烷古菌的底物产生大量甲烷并富集于厌氧区域, 在厌氧区域发生的好氧硝化过程和厌氧区域的反硝化等生物过程可释放出中间代谢产物NO₂, 因此淡水沉积物的厌氧区是发生N-DAMO反应的理想生境之一(图1)。此外, 由于受人类活动(如富含硝态氮的农田径流排放)的影响, 淡水沉积物受到了不同程度的氮素污染, 进一步为N-DAMO菌的生存提供了氮素来源。

Deutzmann和Schink^[21]首次报道了湖泊生态系统中的N-DAMO过程。他们在德国的康斯坦茨湖(Lake Constance)沉积物中检测到了N-DAMO菌, 发现group A基因型的N-DAMO菌及其*pmoA*功能基因(甲烷单加氧酶 α 亚基的编码基因)仅分布于深层湖泊沉积物中, 而group B基因型的N-DAMO菌主要分布于沿岸的浅层湖泊沉积物。¹⁴C放射性同位素示踪试验表明, 深层湖泊沉积物中N-DAMO活性明显高于浅层湖泊沉积物中N-DAMO活性, 深层湖泊沉积物中N-DAMO的反应速率(以CO₂的产生速率计, 下同)为1.8~3.6 nmol ml⁻¹ d⁻¹, 约占

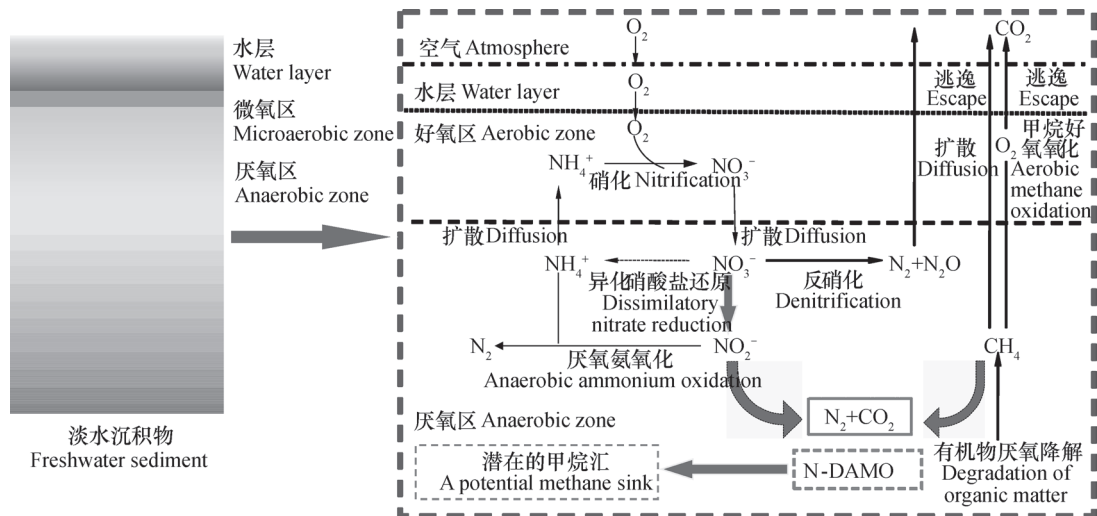


图1 淡水沉积物中N-DAMO过程及其他相关生物过程

Fig.1 N-DAMO process and other related microbial processes in freshwater sediment

微生物甲烷氧化总速率的5%。康斯坦茨湖深层沉积物较高的N-DAMO活性是由于此区域存在丰度较高的group A基因型的N-DAMO菌；而浅层沉积物未能检测到明显的N-DAMO活性是由于该区域只存在group B基因型的N-DAMO菌^[21]。Kojima等^[22]在日本琵琶湖（Lake Biwa）的深层沉积物中也发现有group A基因型的N-DAMO菌及*pmoA*基因的分布。为此，相较于湖泊浅层沉积物，深层沉积物被认为更适合N-DAMO菌的生长。其主要原因是由于N-DAMO菌生长缓慢，倍增期较长（1~2周，甚至超过1个月^[17-18, 32-33]），生长繁殖需要相对较为稳定的环境^[22]。湖泊深层沉积物受氧气的扰动较小具有稳定的缺氧状态，而浅层沉积物受氧气的扰动相对较大不具有稳定的缺氧状态。此外，湖泊深层沉积物相对于浅层沉积物具有更为稳定的温度、pH等理化环境。

最近，Shen等^[20]发现group A基因型的N-DAMO菌及*pmoA*基因广泛分布于钱塘江沉积物中。钱塘江与先前报道的湖泊生态系统不同，其整体水位相对较浅（平均水位为6~7 m），加之受潮汐的影响，钱塘江沉积物受水环境条件扰动较大。这意味着N-DAMO菌不仅仅适宜生存于具有稳定环境条件的湖泊深层沉积物，拓宽了对N-DAMO菌的生境适应性的认识。但遗憾的是钱塘江河流生态系统中N-DAMO过程的研究缺少原位活性的数据支撑。然而，就目前的认识而言，已有的N-DAMO富集培养物大多来自于河道沉积物^[8, 11, 16-17, 33]，暗

示着河流沉积物中N-DAMO菌具有潜在的甲烷氧化活性。

综上，N-DAMO菌在湖泊沉积物和河流沉积物中均有分布，且被证实具有在湖泊沉积物中具有甲烷氧化活性，表明N-DAMO作为甲烷汇在控制湖泊生态系统甲烷排放中具有潜在的重要地位。此外，N-DAMO作为无机氮汇在控制湖泊等水体氮素污染方面也可能起着一定作用。然而，至今尚未见有研究报告河流生态系统中的N-DAMO活性，为此关于河流生态系统中N-DAMO的作用还不明确。

2.2 湿地生态系统

湿地被称为地球之肾，在维持生态系统平衡、保持生物多样性等方面均起到重要作用，同时，湿地土壤过饱和的水分环境使得动植物残体分解缓慢，有机质大量积累，为产甲烷古菌提供了大量的底物，从而使湿地成为全球最大的甲烷自然排放源之一^[34]。据估算，湿地每年向大气中排放的甲烷总量为100~200 Tg，约占全球甲烷年排放总量的三分之一^[35-36]。甲烷的好氧化被认为是湿地系统中甲烷最主要的汇，该反应可氧化湿地土壤中产生的50%以上的甲烷^[37]。然而，也有证据表明，N-DAMO是湿地土壤厌氧区域中的重要过程，可能在湿地甲烷减排方面发挥了重要作用^[13]。

Wang等^[23]和Zhou等^[24]均在稻田湿地中发现了N-DAMO菌，其广泛分布于水稻田不同深度土壤中。研究发现，group A基因型的N-DAMO菌及*pmoA*基因主要分布于深层（40~120 cm）土

壤^[23]。Zhou等^[24]发现水稻田深层土壤和地下水的交错区是N-DAMO菌的分布热区,交错区的厌氧环境及其高效的基质供给被认为是N-DAMO菌大量分布的主要原因。随后,Zhu等^[25]发现N-DAMO菌广泛存在于我国境内13种不同类型的典型湿地,特别在极端环境湿地中也检测到了此类微生物,如在高温(>80℃)、低温(-25℃)、碱性(pH>9)和酸性(pH<5)等湿地环境发现了与已知N-DAMO菌高度相似的分子标记物序列。这些研究拓宽了N-DAMO菌地理分异规律的认识,表明此类微生物具有较强的生理生态适应特征。最近,Hu等^[13]通过¹³C稳定性同位素示踪手段发现,稻田、天然湿地和城市次生湿地中均存在N-DAMO反应,其反应速率为0.3~5.4 nmol g⁻¹ d⁻¹,据此全球湿地系统中N-DAMO可氧化甲烷的量高达4.1~6.1 Tg,约占全球湿地甲烷排放总量的2%~6%。随后,Shen等^[26]也获得了类似的结果,发现稻田湿地中N-DAMO的反应速率为0.2~2.1 nmol g⁻¹ d⁻¹,稻田N-DAMO反应的年均甲烷消耗量约为0.14 g m⁻²,表明N-DAMO反应是控制稻田甲烷排放潜在的重要汇。氮肥施用是稻作生产的重要管理方式,并可能作为电子受体促进稻田土壤厌氧区域的N-DAMO反应^[26]。研究表明,湿地系统不同深度土壤中N-DAMO菌的群落组成和活性存在明显差异,与Wang等^[23]和Zhou等^[24]的研究结果一致,Hu等^[13]和Shen等^[26]发现,Group A基因型的N-DAMO菌及*pmoA*基因仅存在于深层(50~100 cm)土壤,而group B基因型的N-DAMO菌主要分布于表层(0~30 cm)土壤,且深层土壤中N-DAMO菌群数量明显高于表层土壤。与N-DAMO菌的群落垂直分布特征一致,Hu等^[13]和Shen等^[26]还发现深层土壤N-DAMO活性明显高于表层土壤,甚至部分表层土壤中未检测到明显的N-DAMO活性。这些研究结果表明,相较于表层土壤,湿地深层土壤更有利于N-DAMO菌的分布和N-DAMO反应的发生,其主要原因可能是,深层土壤长期处于较稳定的缺氧状态,同时其中的甲烷浓度较高,较之表层土壤更适合N-DAMO菌的生长^[27]。

根据现有的研究发现,N-DAMO菌已被证实广泛分布于不同类型湿地系统中。通过稳定性同位素示踪试验,研究者还证实了在淡水湿地生态系统中存在N-DAMO活性,并且,N-DAMO被认为可氧化当前全球湿地甲烷排放总量的2%~6%。不过,

目前湿地系统中N-DAMO活性的报道仅限于淡水湿地,滨海湿地系统是否也有发生N-DAMO反应尚不清楚。同时,湿地作为全球温室气体甲烷最大的天然排放源之一,对于湿地系统中是否存在大规模的N-DAMO反应也是一个值得研究的问题,该问题的解答有助于揭示N-DAMO在控制全球温室气体甲烷排放中的重要性。

2.3 海洋生态系统

海洋是一个庞大的甲烷库,据估算海洋每年产生的甲烷量高达85~300 Tg,约占全球甲烷产生总量的30%^[6]。已有研究表明硫酸盐型甲烷厌氧氧化广泛存在于海洋生态系统,在海洋温室气体甲烷减排中发挥了重要作用,该反应可氧化高达90%的甲烷气体,使得甲烷在进入大气圈之前即被消耗^[2]。同时,随着人类活动的加剧,大量无机氮素污染物不断进入到海洋生态系统,尤其在河口和海湾等近海系统,NO₃/NO₂作为电子受体亦可促进甲烷厌氧氧化,成为硫酸盐型甲烷厌氧氧化之外的另一种甲烷汇,得到了国际学术界的广泛关注。

Shen等^[38]通过分子生物学手段证实在椒江河口沉积物中广泛分布有N-DAMO菌及*pmoA*基因,证实了除淡水生境外,N-DAMO菌还分布于近海环境。研究还发现,group A基因型的N-DAMO菌在椒江河口系统中占据绝对优势,表明N-DAMO反应可能是控制该河口甲烷排放的重要微生物过程^[38]。除了河口生态系统,Valentine^[39]预测大洋系统中也应存在N-DAMO过程。虽然海洋中广泛存在硫酸盐型甲烷厌氧氧化过程,但大洋沉积物中通常含有较高浓度的甲烷,部分甲烷可从大洋沉积物逃逸至海洋水体并利用亚硝酸盐作为电子受体发生甲烷生物氧化^[40]。事实上,N-DAMO菌对甲烷的亲合力较高,其甲烷的亲合力常数仅为μmol L⁻¹级别^[8,41],这一生理特点有利于N-DAMO菌对大洋水体中低浓度甲烷的竞争利用。此外,大洋水体中通常存在一定浓度的NO₃/NO₂,也可为N-DAMO菌提供电子受体。最近,Chen等^[28]利用16S rRNA和*pmoA*基因特异分子标记物,发现N-DAMO菌广泛存在于南海沉积物,表明大洋环境中确实可能存在N-DAMO反应。

总体而言,人们对海洋生态系统中N-DAMO过程的研究相对匮乏。最近,本课题组通过稳定性同位素示踪手段证实了杭州湾海域中N-DAMO反应的发生,表明N-DAMO同样是近海系统中又一不

可忽视的甲烷汇^[42]。随着近海系统外源无机氮输入的持续增加, N-DAMO反应作为甲烷汇在近海系统甲烷氧化中会扮演越来越重要的角色。海洋系统中N-DAMO过程的研究无疑是今后自然生态系统N-DAMO研究的重点方向之一。

3 影响自然生态系统亚硝酸盐型甲烷厌氧氧化过程的主要环境因子

目前学术界对N-DAMO微生物过程及其生理生化机制仍然处于初步的研究阶段, 已有的研究也大多局限于富集物的室内分析, 对自然环境中N-DAMO菌的影响因子、适应机制及进化路径知之甚少, 大多处于推测阶段。例如, pH是影响微生物群落结构及活性的重要环境因子之一, 目前N-DAMO菌富集培养的pH范围为6.8~7.6^[11, 17, 43], 而He等^[44]考察了不同pH条件下N-DAMO富集培养物的甲烷氧化活性, 发现N-DAMO菌的最适pH为7.6, 暗示了N-DAMO菌偏好弱碱性环境, 然而迄今未见pH对自然生态系统中N-DAMO菌分布及其生物活性的影响报道。总体而言, 温度、氧气、亚硝酸盐/硝酸盐浓度、水体盐度、甲烷浓度以及有机质含量可能在调控自然环境N-DAMO过程中发挥了重要作用。

3.1 温度

温度几乎是所有生物生理生长的关键环境调控因子。已有的富集物培养研究表明, N-DAMO菌属中温微生物, 其最适温度为30~35℃^[45]。Chen等^[28]研究发现, 温度对南海沉积物中N-DAMO菌16S rRNA基因的多样性产生了显著影响, 随着温度的升高, N-DAMO菌16S rRNA基因的多样性随之增加。在低温环境中, 温度被认为是控制微生物活性的重要环境因子, 然而目前尚未见有研究报道温度对N-DAMO活性的影响。Deutzmann和Schink^[21]在模拟原位温度的条件下, 在温度只有4℃的湖泊沉积物中检测到了N-DAMO活性, 表明N-DAMO对低温环境具有较好的适应性。值得注意的是, 温度对不同的微生物甲烷厌氧氧化过程具有明显的选择性。Hu等^[16]利用淡水沉积物、厌氧消化污泥和回流污泥作为混合接种物, 研究了不同温度培养条件下N-DAMO富集培养物的活性及涉及的功能微生物菌群。结果表明, 45℃条件下培养40d后N-DAMO活性消失, 无法获得富集培养物。在

35℃和22℃条件下均检测到了明显的N-DAMO活性, 但35℃条件下富集培养物的N-DAMO活性明显高于22℃条件下的富集培养物。此外, 他们还发现在22℃的富集培养物内仅含有N-DAMO菌, 而在35℃的富集培养物同时存在N-DAMO菌和甲烷氧化古菌。Ettwig等^[41]的研究同样发现, 随着温度从25℃增加至30℃, N-DAMO富集培养物的活性明显提高, 但却发现古菌逐渐减少直至完全消失。Ettwig等^[41]认为富集培养物中古菌的消失并非温度升高所致, 而可能是由于培养方式的变化(从间歇流培养到连续流培养), 古菌失去了与N-DAMO菌对甲烷的竞争优势所致。此外, 培养基中某些物质(如NH₄Cl、半胱氨酸、维生素和海藻盐)的添加也可能导致了富集培养物中古菌的消失^[41]。大多数自然生态系统的环境温度低于N-DAMO菌的理想生长范围(30~35℃), 自然环境中N-DAMO菌对温度的适应过程及其与其他微生物的相互作用机制仍待进一步研究。

3.2 氧气

N-DAMO菌被认为是厌氧微生物。尽管同位素示踪研究表明该菌具有内产氧功能, 但已有的研究表明, 2%或8%的氧气浓度均可明显抑制N-DAMO菌活性及其关键酶的表达水平^[46]。需注意的是, 在自然环境中微氧区域或厌氧环境中, 氧气浓度通常远低于2%, 自然环境中微量溶解氧或间歇性供氧对N-DAMO菌的影响迄今尚未见相关报道。Hu等^[13]认为土壤中的氧气浓度(氧化还原电位)对湿地土壤中N-DAMO菌的分布和活性具有重要影响。研究发现, 较高数量的N-DAMO菌和N-DAMO活性主要分布于氧化还原电位较低的湿地深层土壤^[13, 23-24, 26-27]。此外, 已有的湖泊生态系统分子调查研究表明, N-DAMO菌及其功能基因主要分布于湖泊的深层沉积物, 而在浅层沉积物中较难检测到明显的N-DAMO活性^[21-22]。深层沉积物氧气浓度通常低于浅层沉积物, 但在更加精细的氧气梯度下, N-DAMO菌的地理分异规律及其环境适应性仍需进一步研究。

3.3 硝酸盐和亚硝酸盐(NO₃/NO₂)

亚硝酸盐是N-DAMO反应的电子受体, 缺氧环境中的NO₂大多来源于NO₃还原。因此, 环境中硝酸盐浓度也可能对N-DAMO产生显著影响。事实上, 目前报道的N-DAMO富集培养物大多来源于受硝态氮污染较为严重的淡水沉积物或污水处理厂污

泥^[8, 11, 16-17, 19, 43]。同时, 在原位稻田湿地中, Wang等^[23]发现N-DAMO菌的数量与NO₃⁻浓度呈显著正相关。Chen等^[28]也在南海沉积物中发现了类似规律。本课题组在近海生态系统N-DAMO过程的研究中发现, NO₃⁻浓度对杭州湾沉积物N-DAMO菌的数量和活性分布均有显著影响, NO₃⁻浓度与N-DAMO菌的数量和活性呈显著正相关^[42]。此外, 相对于河流、湖泊和近海等系统, 大洋环境中NO₃⁻/NO₂⁻浓度往往较低, 为此NO₃⁻/NO₂⁻也可能是影响大洋沉积物中N-DAMO菌分布和活性的限制性环境性因子。Haroon等^[47]最近发现了一类硝酸盐型甲烷厌氧氧化反应, 该反应可耦合甲烷的氧化和硝酸盐的还原。此类生物过程由一类新发现的古菌(*Candidatus Methanoperedens nitroreducens*)催化完成^[47]。硝酸盐是环境中相对于亚硝酸盐更加普遍存在的电子受体, 因而缺氧沉积物或湿地土壤中理应存在硝酸盐型甲烷厌氧氧化反应。同时, 硝酸盐型甲烷氧化可为N-DAMO提供电子受体亚硝酸盐。为此, 从两类生物过程的反应特性来看, 缺氧沉积物或湿地土壤中很可能先发生硝酸盐型甲烷厌氧氧化反应, 继而再发生N-DAMO反应。然而, 目前尚未有明确的证据表明N-DAMO菌可直接利用NO₃⁻作为电子受体对甲烷进行厌氧氧化。亚硝酸盐/硝酸盐对N-DAMO及氮素转化微生物群落相互作用的影响仍需进一步研究。

3.4 甲烷/有机碳

CH₄是N-DAMO反应的电子供体, 是N-DAMO菌的唯一能源, N-DAMO菌通过将CH₄氧化成CO₂来获得能量^[14, 48], 为此环境中CH₄的浓度直接制约着N-DAMO反应。Shen等^[26]研究发现, 水稻田深层土壤中较高的CH₄浓度可以促进N-DAMO反应的发生。CH₄是沉积物或土壤有机碳厌氧分解的最终产物, 因此有机碳的供应速率直接影响了沉积物或土壤中CH₄的产生。有研究表明, 有机碳含量与湿地土壤CH₄产生速率有较强的相关性^[49-51]。Wang等^[23]报道了有机碳含量对稻田土壤中N-DAMO菌的数量分布有显著影响, N-DAMO菌数量与土壤有机碳含量呈显著正相关。Shen等^[20, 38]报道了有机碳含量分别与钱塘江沉积物和椒江河口沉积物中N-DAMO菌数量呈显著正相关。沉积物或土壤较高的有机碳含量会导致较高浓度甲烷的产生, 继而促进N-DAMO菌的生长。甲烷的产生强度

还与环境中有机物的种类密切相关, 易降解的低分子有机物容易被产甲烷菌利用, 而难降解的高分子有机物则不易被产甲烷菌利用。为此, 有机物的种类亦会对环境中N-DAMO菌的生态分布和活性产生间接影响。

3.5 盐度

目前已有个别研究报道了海洋环境中的N-DAMO过程^[28, 38]。Chen等^[28]研究发现, 盐度对南海沉积物中N-DAMO菌的群落结构有显著影响。本课题组的研究结果发现, N-DAMO菌群落在近海生态系统中的分布存在较强的空间异质性: 在盐度小于20 g L⁻¹的杭州湾海域近岸沉积物中group A基因型的N-DAMO菌占据优势地位, 而在盐度大于20 g L⁻¹的外海沉积物中group B基因型的N-DAMO菌占据优势地位^[42]。统计学分析发现, 杭州湾沉积物中N-DAMO菌的数量和活性均与盐度呈显著负相关^[42]。最近, He等^[44]研究发现, 当培养基中氯化钠浓度超过20 g L⁻¹时, N-DAMO富集培养物的甲烷氧化活性受到明显抑制。这些研究表明, 盐度对N-DAMO菌的生态分布和生物活性具有抑制作用, 同时N-DAMO菌对盐度具有一定的耐受性, 但其耐受机理尚不清楚, 有待探明。盐度对N-DAMO菌的抑制主要可以从以下几个方面进行解释。首先, 较高的盐度会导致N-DAMO菌细胞内较高的渗透压, 不利于细胞内各种生化反应的进行。其次, 较高的盐度可以直接影响N-DAMO菌细胞周质空间中各种代谢酶的活性, 如亚硝酸还原酶、一氧化氮歧化酶和甲醇脱氢酶等^[52]。此外, 较高的盐度会降低液相中甲烷的溶解度, 进而对N-DAMO菌的生长和生理活性产生影响。海水的盐度较高(平均为35 g L⁻¹), 为此推测N-DAMO作为甲烷汇在控制海洋生态系统(尤其是远海生态系统)温室气体排放中的作用可能较弱。

4 展望

N-DAMO 作为一类新发现的生物反应, 不仅具有重要的生态学意义, 也极大地丰富了地球生态系统的碳氮循环研究。然而, N-DAMO的生理生化过程尚未被清楚解析, 其生态与环境功能研究仍处于初步阶段, 在控制全球温室气体排放过程的作用仍待深入研究。已有的研究表明温度、氧气(氧化

还原电位)、 $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ 、甲烷/有机碳以及盐度可能影响N-DAMO菌的分布及活性,并且在不同生态系统中影响规律各异,但这些环境因素如何作用于N-DAMO过程,并如何在不同时间与空间尺度发挥作用,同时,各环境因子对N-DAMO的综合影响及其与其他微生物类群之间的相互作用和共进化机制,是未来研究的重点。近年来,组学技术和单细胞等先进方法在微生物生态研究中广泛应用,将会极大地推动地球生态系统中N-DAMO生理生态过程的研究,清楚阐明N-DAMO菌在土壤等不同环境中的地理分异规律及其环境驱动机制,有助于更好认识并调控N-DAMO在控制全球温室气体排放中的重要作用。

参考文献

- [1] IPCC. Summary for policymakers//Climate change 2014: Impacts, adaptation, and vulnerability. Part A: Global and sectoral aspects. Contribution of Working Group II to the Fifth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA: Cambridge University Press, 2014: 1—32
- [2] Knittel K, Boetius A. Anaerobic oxidation of methane: progress with an unknown process. Annual Review of Microbiology, 2009, 63: 311—334
- [3] Conrad R. The global methane cycle: Recent advances in understanding the microbial processes involved. Environmental Microbiology, 2009, 1 (5) : 285—292
- [4] Shindell D T, Faluvegi G, Koch D M, et al. Improved attribution of climate forcing to emissions. Science, 2009, 326 (5953) : 716—718
- [5] Borrel G, Jézéquel D, Biderre-Petit C, et al. Production and consumption of methane in freshwater lake ecosystems. Research in Microbiology, 2011, 162 (9) : 832—847
- [6] Reeburgh W S. Oceanic methane biogeochemistry. Chemical Reviews, 2007, 107 (2) : 486—513
- [7] Strous M, Jetten M S M. Anaerobic oxidation of methane and ammonium. Annual Review of Microbiology, 2004, 58: 99—117
- [8] Raghoebarsing A A, Pol A, van de Pas-Schoonen K T, et al. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification. Nature, 2006, 440 (7086) : 918—921
- [9] 沈李东, 胡宝兰, 郑平. 甲烷厌氧氧化微生物的研究进展. 土壤学报, 2011, 48 (3) : 619—628. Shen L D, Hu B L, Zheng P. Progress in study on microorganisms responsible for anaerobic oxidation of methane (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2011, 48 (3) : 619—628
- [10] Shen L D, He Z F, Zhu Q, et al. Microbiology, ecology and application of the nitrite-dependent anaerobic methane oxidation process. Frontiers in Microbiology, 2012, 3: 269. doi: 10.3389/fmicb.2012.00269
- [11] Ettwig K F, van Alen T, van de Pas-Schoonen K T, et al. Enrichment and molecular detection of denitrifying methanotrophic bacteria of the NC10 phylum. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75 (11) : 3656—3662
- [12] Luesken F A, Zhu B, van Alen T A, et al. *pmoA* primers for detection of anaerobic methanotrophs. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77 (11) : 3877—3880
- [13] Hu B L, Shen L D, Lian X, et al. Evidence for nitrite-dependent anaerobic methane oxidation as a previously overlooked microbial methane sink in wetlands. Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America, 2014, 111 (12) : 4495—4500
- [14] Ettwig K F, Butler M K, Le Paslier D, et al. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria. Nature, 2010, 464 (7288) : 543—548
- [15] Rappé M S, Giovannoni S J. The uncultured microbial majority. Annual Review of Microbiology, 2003, 57: 369—394
- [16] Hu S H, Zeng R J, Burow L C, et al. Enrichment of denitrifying anaerobic methane oxidizing microorganisms. Environmental Microbiology Reports, 2009, 1 (5) : 377—384
- [17] Kampman C, Hendrickx T L G, Luesken F A, et al. Enrichment of denitrifying methanotrophic bacteria for application after direct low temperature anaerobic sewage treatment. Journal of Hazardous Materials, 2012, 227/228: 164—171
- [18] Zhu B L, van Dijk G, Fritz C, et al. Anaerobic oxidation of methane in a minerotrophic peatland: Enrichment of nitrite-dependent methane-oxidizing bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78 (24) : 8657—8665
- [19] He Z F, Cai C, Shen L D, et al. Effect of inoculum sources on the enrichment of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacteria. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, doi: 10.1007/s00253-014-6033-8

- [20] Shen L D, Liu S, Zhu Q, et al. Distribution and diversity of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidising bacteria in the sediments of the Qiantang River. *Microbial Ecology*, 2014, 67 (2): 341—349
- [21] Deutzmann J S, Schink B. Anaerobic oxidation of methane in sediments of Lake Constance, an oligotrophic freshwater lake. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77 (13): 4429—4436
- [22] Kojima H, Tsutsumi M, Ishikawa K, et al. Distribution of putative denitrifying methane oxidizing bacteria in sediment of a freshwater lake, Lake Biwa. *Systematic and Applied Microbiology*, 2012, 35 (4): 233—238
- [23] Wang Y, Zhu G B, Harhangi H R, et al. Co-occurrence and distribution of nitrite-dependent anaerobic ammonium and methane oxidizing bacteria in a paddy soil. *FEMS Microbiology Letters*, 2012, 336 (2): 79—88
- [24] Zhou L, Xia C, Long X E, et al. High abundance and diversity of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacteria in a paddy field profile. *FEMS Microbiology Letters*, 2014, doi: 10.1111/1574—6968.12567
- [25] Zhu G B, Zhou L, Wang Y, et al. Biogeographical distribution of denitrifying anaerobic methane oxidizing bacteria in Chinese wetland ecosystems. *Environmental Microbiology Reports*, 2014, doi: 10.1111/1758—2229.12214
- [26] Shen L D, Liu S, Huang Q, et al. Evidence for the co-occurrence of nitrite-dependent anaerobic ammonium and methane oxidation processes in a flooded paddy field. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80 (24): 7611—7619
- [27] Shen L D, Huang Q, He Z F, et al. Vertical distribution of nitrite-dependent anaerobic methane-oxidising bacteria in natural freshwater wetland soils. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, doi: 10.1007/s00253—014—6031—x
- [28] Chen J, Zhou Z C, Gu J D. Occurrence and diversity of nitrite-dependent anaerobic methane oxidation bacteria in the sediments of the South China Sea revealed by amplification of both 16S rRNA and *pmoA* genes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98 (12): 5685—5696
- [29] Wu M L, Ettwig K F, Jetten M S M, et al. A new intra-aerobic metabolism in the nitrite-dependent anaerobic methane-oxidizing bacterium *Candidatus 'Methylomirabilis oxyfera'*. *Biochemical Society Transactions*, 2011, 39 (1): 243—248
- [30] Wu M L, de Vries S, van Alen T A, et al. Physiological role of the respiratory quinol oxidase in the anaerobic nitrite-reducing methanotroph '*Candidatus Methylomirabilis oxyfera'*'. *Microbiology*, 2011, 157 (3): 890—898
- [31] Thauer R K, Shima S. Biogeochemistry: Methane and microbes. *Nature*, 2006, 440 (7086): 878—879
- [32] He Z F, Cai C, Geng S, et al. Modelling a nitrite-dependent anaerobic methane oxidation process: Parameters identification and model evaluation. *Bioresource Technology*, 2013, 147: 315—320
- [33] Kampman C, Temmink H, Hendrickx T L, et al. Enrichment of denitrifying methanotrophic bacteria from municipal wastewater sludge in a membrane bioreactor at 20 °C. *Journal of Hazardous Materials*, 2014, 274: 428—435
- [34] Mitch W J, Gosselink J G. The value of wetlands: importance of scale and landscape setting. *Ecological Economics*, 2000, 35 (1): 23—33
- [35] Dlugokencky E J, Nisbet E G, Fisher R, et al. Global atmospheric methane: budget, changes and dangers. *Philosophical Transactions of the Royal Society A*, 2011, 369 (1943): 2058—2072
- [36] Bridgman S D, Cadillo-Quiroz H, Keller J K, et al. Methane emissions from wetlands: biogeochemical, microbial and modeling perspectives from local to global scales. *Global Change Biology*, 2013, 19 (5): 1325—1346
- [37] Bodelier P L E. Interactions between nitrogenous fertilizers and methane cycling in wetland and upland soils. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 2011, 3 (5): 379—388
- [38] Shen L D, Zhu Q, Liu S, et al. Molecular evidence for nitrite-dependent anaerobic methane-oxidising bacteria in the Jiaojiang Estuary of the East Sea (China). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98 (11): 5029—5038
- [39] Valentine D L. Emerging topics in marine methane biogeochemistry. *Annual Review of Marine Science*, 2011, 3: 147—171
- [40] Orcutt B N, Sylvan J B, Knab N J, et al. Microbial ecology of the dark ocean above, at, and below the seafloor. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2011, 75 (2): 361—422
- [41] Ettwig K F, Shima S, van de Pas-Schoonen K T, et al. Denitrifying bacteria anaerobically oxidize methane in the absence of *Archaea*. *Environmental Microbiology*, 2008, 10 (11): 3164—3173

- [42] Shen L D, Liu S, Chai X P, et al. Anaerobic methane oxidation coupled to nitrite reduction: A novel methane sink in marine environments. *The ISME Journal*, ISMEJ-14-013510A, 2015
- [43] Shen L D, He Z F, Wu H S, et al. Nitrite-dependent anaerobic methane-oxidising bacteria: Unique microorganisms with special properties. *Current Microbiology*, 2014, doi: 10.1007/s00284-014-0762-x
- [44] Luesken F A, Wu M L, Op den Camp H J, et al. Effect of oxygen on the anaerobic methanotroph ‘*Candidatus Methyloirabilis oxyfera*’: Kinetic and transcriptional analysis. *Environmental Microbiology*, 2012, 14 (4) : 1024—1034
- [45] Luesken F A, van Alen T A, van der Biezen E, et al. Diversity and enrichment of nitrite-dependent anaerobic methane oxidizing bacteria from wastewater sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 92 (4) : 845—854
- [46] Haroon M F, Hu S H, Shi Y, et al. Anaerobic oxidation of methane coupled to nitrate reduction in a novel archaeal lineage. *Nature*, 2013, 500 (7464) : 567—570
- [47] Rasigraf O, Kool D M, Jetten M S, et al. Autotrophic carbon dioxide fixation via the Calvin-Benson-Bassham cycle by the denitrifying methanotroph “*Candidatus Methyloirabilis oxyfera*”. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80 (8) : 2451—2460
- [48] Chan O C, Claus P, Casper P, et al. Vertical distribution of structure and function of the methanogenic archaeal community in Lake Dagow sediment. *Environmental Microbiology*, 2005, 7 (8) : 1139—1149
- [49] Schwarz J I, Eckert W, Conrad R. Response of the methanogenic microbial community of a profundal lake sediment (Lake Kinneret, Israel) to algal deposition. *Limnology and Oceanography*, 2008, 53 (1) : 113—121
- [50] Bastviken D, Weisner S E B, Thiery G, et al. Effects of vegetation and hydraulic load on seasonal nitrate removal in treatment wetlands. *Ecological Engineering*, 2009, 35 (5) : 946—952
- [51] He Z F, Geng S, Shen L D, et al. The short- and long-term effects of environmental conditions on anaerobic methane oxidation coupled to nitrite reduction. *Water Research*, 2015, 68: 554—562
- [52] Zhao W, Wang Y, Liu S, et al. Denitrification activities and N_2O production under salt stress with varying COD/N ratios and terminal electron acceptors. *Chemical Engineering Journal*, 2013, 215/216 (15) : 252—260

A REVIEW OF STUDY ON MICROBIAL ECOLOGY OF NITRITE-DEPENDENT ANAEROBIC METHANE OXIDATION

Shen Lidong

(Department of Agricultural Resources and Environment, Nanjing University of Information Science and Technology, Nanjing 210044, China)

Abstract Nitrite-dependent anaerobic methane oxidation (N-DAMO) refers to a process of microbial physiology that allows methane to be oxidised to carbon dioxide with nitrite as electron acceptor. Although current researches on N-DAMO focus mainly on its importance to artificial environments, more and more evidence becomes available indicating that N-DAMO bacteria distribute extensively in a variety of natural ecosystems, such as rivers, lakes, wetlands and marine ecosystems, and confirming that N-DAMO process occurs in several natural ecosystems, which demonstrates that the N-DAMO process as a previously overlooked methane sink may play an important role in reducing global methane emissions. This review presents an introduction to classification of N-DAMO bacteria and mechanisms of their biochemical reactions, a summary of distribution characteristics and effect intensity of N-DAMO bacteria in various natural ecosystems, and analyses of major environmental factors that may affect distribution and role of

N-DAMO bacteria in various natural ecosystems. In addition, the review also explores potential importance of the N-DAMO process as an overlooked methane sink in controlling emission of greenhouse gases.

Key words Nitrite-dependent anaerobic methane oxidation (N-DAMO); Methane sink; Classification; Distribution; Activity; Environmental factor

(责任编辑: 陈德明)

CONTENTS

Reviews and Comments

A review of study on microbial ecology of nitrite-dependent anaerobic methane oxidation Shen Lidong (721)

Soil Science and Modern Agriculture

- Spatio-temporal variation of total N content in farmland soil of Jiangxi Province in the past 30 years Zhao Xiaomin, Shao Hua, Shi Qinghua, et al. (730)
- Early warning of heavy metals potential risk governance in Beijing Jiang Hongqun, Wang Binwu, Liu Xiaona, et al. (745)
- Effect of deep application of straw on composition of humic acid in soil aggregates Zhu Shu, Dou Sen, Chen Lizhen (758)
- Effect of biochar application on pakchoi (*Brassica chinensis* L.) utilizing nitrogen in acid soil Yu Yingliang, Xue Lihong, Yang Linzhang, et al. (766)
- Effects of water and fertilizer on fruit yield of high-yielding clonal *Camellia oleifera* Abel Zhang Wenyuan, Guo Xiaomin, Tu Shuping, et al. (774)

Research Articles

- VRML-based virtual reality modeling of three dimensional variation of soil electrical conductivity Li Hongyi, Gu Chengjian, Dan Chenglong, et al. (781)
- Effect of number of sampling sites on characterization of spatial variability of soil organic matter Hai Nan, Zhao Yongcun, Tian Kang, et al. (790)
- Research on soil water movement based on stable isotopes Jin Yurong, Lu Kexin, Li Peng, et al. (800)
- Basic NPK fertilizer recommendation and fertilizer formula for maize production regions in China Wu Liangquan, Wu Liang, Cui Zhenling, et al. (816)
- Effects of fertilization on soil organic carbon and distribution of SOC in aggregates in tidal flat polders Hou Xiaojing, Yang Jingsong, Wang Xiangping, et al. (827)
- Effect of long-term fertilizer application on distribution of aggregates and aggregate-associated organic carbon in paddy soil Mao Xiali, Lu Kouping, He Lizhi, et al. (837)
- Effects of biochar on N₂O and CH₄ emissions from paddy field under rice-wheat rotation during rice and wheat growing seasons relative to timing of amendment Li Lu, Zhou Ziqiang, Pan Xiaoqian, et al. (847)
- Effects of successive application of crop-straw biochar on crop yield and soil properties in cambosols Liu Yuan, M. Jamal Khan, Jin Haiyang, et al. (857)
- Calculation of thickness of shear plane in diffuse double layer of constant charge soil colloid in single electrolyte system Ding Wuqun, Zhu Qihong, Wang Lei, et al. (867)
- Effect of chemical leaching remedying chromium contaminated soil in deserted chemical plant site Li Shiye, Cheng Jiemin (877)
- Limiting factors for restoration of dumping sites of ionic rare earth mine tailings Liu Wenshen, Liu Chang, Wang Zhiwei, et al. (887)
- Residues of organochlorine pesticides in soils of Liaodong and Shandong Peninsulas Zhu Yingyue, Liu Quanyong, Li He, et al. (900)
- Long-term application of winter green manures changed the soil microbial biomass properties in red paddy soil Gao Songjuan, Cao Weidong, Bai Jinshun, et al. (909)
- Effects of intercropping with leguminous crops on tomato yield, soil nutrients and enzyme activity Dai Huihui, Hu Xuefeng, Cao Mingyang, et al. (917)

Research Notes

- Relationship of free amino acids in root exudates with wilt disease (*Fusarium oxysporum*) of faba bean Dong yan, Dong Kun, Tang Li, et al. (924)
- Effects of intercropping of wheat and faba bean on diversity of metabolic function of rhizosphere fungal community Hu Guobin, Dong Kun, Dong Yan, et al. (933)
- Evolvement of structure and abundance of soil nitrogen-fixing bacterial community in *Phyllostachys edulis* plantations with age of time He Donghua, Shen Qiulan, Xu Qiufang, et al. (941)
- Effect of long-term fertilization on carbon sequestration in lime concretion black soil relative to fertilization pattern Li Wei, Kong Lingcong, Zhang Cunling, et al. (949)
- Effects of interplanting grass on utilization, loss and accumulation of ¹⁵N in apple orchard Peng Ling, Wen Zhao, An Xin, et al. (955)

Cover Picture: Full view of ionic rare earth mine desert (by Tang Yetao, Liu Wenshen)

《土壤学报》编辑委员会

主 编: 史学正

执行编委: (按姓氏笔画为序)

丁维新	巨晓棠	王敬国	王朝辉	史 舟	宇万太	朱永官
李永涛	李芳柏	李保国	李 航	吴金水	沈其荣	张玉龙
张甘霖	张福锁	陈德明	邵明安	杨劲松	杨明义	杨林章
林先贵	依艳丽	周东美	周健民	金继运	逢焕成	胡 锋
施卫明	骆永明	赵小敏	贾仲君	徐国华	徐明岗	徐建明
崔中利	常志州	黄巧云	章明奎	蒋 新	彭新华	雷 梅
窦 森	廖宗文	蔡祖聪	蔡崇法	潘根兴	魏朝富	

编辑部主任: 陈德明

责任编辑: 汪枳生 卢 萍 檀满枝

土 壤 学 报

Turang Xuebao

(双月刊, 1948年创刊)

第 52 卷 第 4 期 2015 年 7 月

ACTA PEDOLOGICA SINICA

(Bimonthly, Started in 1948)

Vol. 52 No. 4 July, 2015

编 辑 《土壤学报》编辑委员会
地址: 南京市北京东路 71 号 邮政编码: 210008
电话: 025 - 86881237
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

Edited by Editorial Board of Acta Pedologica Sinica
Add: 71 East Beijing Road, Nanjing 210008, China
Tel: 025 - 86881237
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

主 编 史 学 正
主 管 中 国 科 学 院
主 办 中 国 土 壤 学 会
承 办 中国科学院南京土壤研究所

Editor-in-Chief Shi Xuezheng
Superintended by Chinese Academy of Sciences
Sponsored by Soil Science Society of China
Undertaken by Institute of Soil Science,
Chinese Academy of Sciences

出 版 科 学 出 版 社
地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717

Published by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

印刷装订 北京中科印刷有限公司
总发行 科 学 出 版 社
地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717
电话: 010 - 64017032
E-mail: journal@mail.sciencep.com

Printed by Beijing Zhongke Printing Limited Company
Distributed by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China
Tel: 010 - 64017032
E-mail: journal@mail.sciencep.com

国外发行 中国国际图书贸易总公司
地址: 北京 399 信箱 邮政编码: 100044

Foreign China International Book Trading Corporation
Add: P. O. Box 399, Beijing 100044, China

国内统一刊号: CN 32-1119/P

国内邮发代号: 2-560

国外发行代号: BM45

定价: 60.00 元

国 内 外 公 开 发 行



ISSN 0564-3929

