

DOI: 10.11766/trxb202412270511

CSTR: 32215.14.trxb202412270511

张警缔, 邹建文, 刘树伟. 农药百菌清对土壤 N₂O 排放的影响及机制[J]. 土壤学报, 2025, 62 (6): 1734–1744.

ZHANG Jingdi, ZOU Jianwen, LIU Shuwei. Effects of the Addition of Pesticide Chlorothalonil on Soil N₂O Emissions and Related Mechanisms[J]. Acta Pedologica Sinica, 2025, 62 (6): 1734–1744.

农药百菌清对土壤 N₂O 排放的影响及机制*

张警缔, 邹建文, 刘树伟[†]

(江苏省低碳农业与温室气体减排重点实验室, 南京农业大学资源与环境科学学院 南京 210095)

摘要: 农田土壤是温室气体氧化亚氮 (N₂O) 重要排放源。农药百菌清被广泛用于农业生产中, 其对土壤生态环境产生了重要影响, 但针对百菌清影响农业土壤 N₂O 排放及其关联微生物机制的研究较少。通过室内培养试验揭示了三种农田土壤 (S1-菜地土、S2-稻田土和 S3-麦田土) N₂O 排放对不同浓度百菌清添加的响应特征, 百菌清浓度梯度设置为 0 (CK)、5 (T5)、10 (T10) 和 25 mg·kg⁻¹ (T25)。通过实时定量 PCR, 同步分析了微生物功能基因丰度。结果表明: (1) 与 CK 相比, 百菌清添加均增加了三种农田土壤 N₂O 排放。与 CK 相比, S1 酸性菜地土壤 T5、T10 和 T25 处理分别导致 N₂O 排放增加 1868%、1264% 和 232%; S2 中性稻田土壤 T5、T10 和 T25 处理分别导致 N₂O 排放增加 4%、138% 和 334%; S3 碱性麦田土壤 T5、T10 和 T25 处理导致 N₂O 排放分别增加 230%、119% 和 23%。(2) 百菌清添加改变了土壤理化及微生物特性, 显著增加了土壤可溶性有机碳 (DOC) 含量、氨氧化细菌 (AOA)、氨氧化古菌 (AOB)、亚硝酸还原菌基因 (*nirK*, *nirS*)、氧化亚氮还原菌基因 (*nosZ*) 及总细菌 (16S rRNA) 基因丰度。相关性分析表明, N₂O 排放上升主要与土壤碳氮底物含量和微生物功能基因丰度的增加有关, 且主要归因于总细菌、氨氧化菌和 *nir* 型反硝化菌基因丰度的增加, 以及土壤 DOC 含量的增加。综上, 百菌清通过提高土壤 DOC 含量和微生物功能基因丰度共同驱动土壤 N₂O 排放增加, 其影响程度取决于土壤性质及施用浓度。本研究结果为深入了解百菌清施用驱动农田土壤 N₂O 排放及其微生物学机制提供了科学依据, 同时对科学评估农业百菌清施用的潜在生态环境风险具有重要指导意义。

关键词: 农田土壤; 农药百菌清; 氧化亚氮; 功能基因; 可溶性有机碳 (DOC)

中图分类号: S154 **文献标志码:** A

Effects of the Addition of Pesticide Chlorothalonil on Soil N₂O Emissions and Related Mechanisms

ZHANG Jingdi, ZOU Jianwen, LIU Shuwei[†]

(Jiangsu Key Laboratory of Low Carbon Agriculture and GHGs Mitigation, College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: [Objective] The heavy use of pesticides such as chlorothalonil (CTN) in agricultural production inevitably has an

* 江苏省碳达峰碳中和科技创新专项资金项目 (BE2023398) 和中央高校基本科研业务费专项资金项目 (KJJQ2025016) 资助 Supported by the Technology Innovation Special Fund for Carbon Dioxide Emission Peaking and Carbon Neutrality of Jiangsu Province, China (No. BE2023398) and the Fundamental Research Funds for the Central Universities, China (No. KJJQ2025016)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: swliu@njau.edu.cn

作者简介: 张警缔 (1999—), 女, 河南驻马店人, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤氮循环及其环境效应。E-mail: zhangjingdi6@163.com

收稿日期: 2024-12-17; 收到修改稿日期: 2025-05-07; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2025-07-01

impact on the soil's ecological environment, thus, exacerbating nitrous oxide (N₂O) emission from farmland soils, considered an important emission source of greenhouse gasses. However, there are few studies on how CTN affects agricultural soil N₂O emission and its associated microbial mechanism. [Method] In this study, the response characteristics of N₂O emission in three kinds of farmland soils (S1-vegetable field soil, S2-rice field soil, and S3-wheat field soil) to different concentrations of CTN were studied through indoor culture experiments. The concentration gradients of chlorothalonil were set as 0(CK), 5(T5), 10(T10) and 25 mg·kg⁻¹ (T25). The abundance of microbial functional genes was analyzed simultaneously through real-time quantitative PCR. [Result] The results showed that (1) Compared with CK, the treatments of T5, T10, and T25 in the acidic vegetable field soil of S1 led to an increase of 1 868%, 1 264%, and 232% in N₂O emissions, respectively. In the S2 neutral paddy soil, T5, T10, and T25 respectively led to an increase of 4%, 138%, and 334% in N₂O emissions, while for the alkaline wheat field soil S3, T5, T10, and T25 led to an increase of 230%, 119%, and 23% in N₂O emissions respectively. (2) The addition of CTN changed soil physicochemical and microbial characteristics, and significantly increased soil dissolved organic carbon (DOC) content, ammonia-oxidizing archaea (AOA), ammonia-oxidizing bacteria (AOB), nitrite-reducing bacteria (*nirK*, *nirS*), N₂O reducing bacteria (*nosZ*), and total bacteria (16S rRNA) genes abundance. Correlation analysis showed that the increase in N₂O emissions was mainly related to the increase in soil carbon and nitrogen substrate contents whereas the abundance of microbial functional genes was mainly attributed to the increase in the gene abundance of total bacteria, ammonia-oxidizing bacteria, and *nir*-type denitrifying bacteria, as well as the increase in soil DOC content. [Conclusion] CTN can increase soil DOC content and microbial gene abundance, and eventually lead to an increase in soil N₂O emission. Also, the effect of CTN on soil N₂O emission depends on soil properties and application concentration. The results of this study provide a scientific basis for further understanding of soil N₂O emission driven by CTN application and its microbiological mechanism and also have important significance for understanding the potential ecological and environmental risks of agricultural CTN application.

Key words: Cropland soil; Pesticide chlorothalonil; Nitrous oxide; Functional genes; Dissolved organic carbon (DOC)

氧化亚氮 (N₂O) 是一种强效温室气体, 百年时间尺度上, 其气候变暖效应是二氧化碳 (CO₂) 的 298 倍^[1]。N₂O 还是破坏平流层臭氧的主要物质, 可在大气中存留长达百年^[2]。农业氮肥施用导致农田土壤 N₂O 排放增加, 使其成为大气 N₂O 排放的主要来源, 威胁生态环境^[3]。农业土壤 N₂O 排放所引发的生态环境问题已成为全球关注的焦点。土壤硝化和反硝化过程是氮循环的两个关键过程, 它影响土壤氮平衡和生产力。研究土壤 N₂O 的产生过程、影响因素及其微生物作用机制对于寻求土壤 N₂O 减排对策、服务国家“双碳”目标具有重要意义^[4-5]。

为保障粮食生产, 化学农药被广泛使用。百菌清 (Chlorothalonil, CTN), 化学名 2, 4, 5, 6-四氯间苯二甲腈, 化学式为 C₈Cl₄N₂, 相对分子质量为 265.9, 是一种广谱性有机氯杀菌剂。百菌清能在酸性、中性和微碱性水溶液中稳定存在, 当 pH>9 时缓慢降解。其杀菌原理是抑制微生物细胞代谢使其失去活性, 可用来防治多种由真菌引起的植物病害, 高效低毒和杀菌范围广等优势使其成为农业生产中应用最广泛的农药之一, 在作物病害严重时被连续

大量喷洒于农田, 大大减少了植物病害引起的经济损失^[6-7]。据调查, 每年用于作物的百菌清高达 4.8×10⁶ kg^[6]。然而喷施的农药仅有少部分发挥作用, 大部分落入土壤中, 经常在土壤中检测到百菌清残留物, 可能会影响土壤生态系统和氮循环^[8]。百菌清主要通过微生物降解进行耗散, 半衰期为 3 d 至 6 个月, 受土壤类型、pH、浓度和施用次数的影响^[8-9]。

百菌清进入土壤后能改变土壤微生物的数量和生物多样性^[10]。作为非专一性杀菌剂, 百菌清不仅抑制病原微生物, 还影响非目标微生物的数量及活性^[8]。研究表明, 百菌清延缓尿素水解, 原因是其抑制了硝化和反硝化过程^[11]。百菌清由于其杀真菌作用, 显著降低产 N₂O 真菌的丰度, 导致真菌参与的 N₂O 排放量显著下降^[12]。因此百菌清可能通过影响氮循环微生物, 进而调控土壤 N₂O 排放。以往研究表明, 40 倍田间推荐剂量的百菌清抑制酸性土壤 N₂O 排放^[13]。然而 Su 等^[14]发现百菌清抑制反硝化过程但促进 N₂O 排放。连续施用百菌清降低亚硝酸还原菌基因 (*nirK*, *nirS*) 丰度, 而增加氧化亚氮还

原菌基因(*nosZ*)丰度^[15]。然而,也有研究表明百菌清抑制N₂O还原酶活性,但不影响*nosZ*基因丰度^[16]。以往关于土壤氮循环的研究集中在自然因素和氮肥施用上,忽视了农药的作用,且不同土壤条件下百菌清对土壤N₂O排放的影响并不一致,作用机制也存在争议,需要进一步深入探究。本研究以三种典型农田土壤进行室内培养实验,探究不同浓度百菌清对N₂O排放的影响。该研究对揭示百菌清对土壤氮循环的作用机理、减少N₂O排放以及指导农业安全用药和评估其生态环境效应具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 供试土壤概况

供试土壤采自江苏省内三种农田生态系统,依次编号为S1、S2和S3,分别为黏壤土、黏土、砂质壤土,该地区属于亚热带季风气候。S1和S2土壤采自镇江句容(31°55' N, 119°17' E),年平均气温为15.4 °C,年平均降水量为1 106.5 mm; S3土壤采自盐城大丰(33°19' N, 120°45' E),年平均气温为16.0 °C,年平均降水量为1 045 mm。供试土壤的详细信息如表1所示。每种类型的土壤样品分

别从5个不同的点采集表层(0~20 cm)土壤混合,带回实验室后立即将新鲜土样过筛(2 mm)以去除植物残体和石头,混匀后分成两部分。一部分土壤于4 °C下保存用于培养试验;另一部分土壤在室内通风处风干,待土样完全风干磨细过筛后常温下储存,用于土壤基本理化性质测定。

1.2 实验设计

本实验共设置空白对照(CK)、5 mg·kg⁻¹百菌清添加(T5)、10 mg·kg⁻¹百菌清添加(T10)、25 mg·kg⁻¹百菌清添加(T25)四个处理,每个处理3个重复。在农业生产中,5 mg·kg⁻¹百菌清添加量为农药施用推荐剂量,10和25 mg·kg⁻¹分别为2倍和5倍推荐剂量,代表未来累积浓度^[7, 15, 17]。

称取80 g风干土(以干物质量计)于250 mL锥形瓶内,调节土壤含水量至50%田间持水量(WHC)后于25 °C黑暗条件下预培养7 d。将商业百菌清制剂(75%(质量百分比)活性成分)用超纯水溶解后均匀喷洒于土壤表面,分别使其在土壤中的浓度达到5 mg·kg⁻¹、10 mg·kg⁻¹、25 mg·kg⁻¹,对照组加入等量超纯水,同时每个处理加入尿素(200 mg·kg⁻¹,以N计)作为初始氮源。用去离子水调节土壤含水率至70%WHC,随即称量并记录锥形瓶质量。恒温培养30 d左右,实验期间定期补水。

表1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Physicochemical properties of tested soils

Soil code	土壤颗粒组成			pH	SOC/(g·kg ⁻¹)	TN/(g·kg ⁻¹)	NH ₄ ⁺ -N/(mg·kg ⁻¹)	NO ₃ ⁻ -N/(mg·kg ⁻¹)
	黏粒	粉粒	砂粒					
	Clay	Silt	Sand					
S1	240	360	400	5.47	14.09	1.51	2.88	10.64
S2	300	320	380	7.12	15.41	1.94	1.23	17.52
S3	140	360	500	8.71	5.2	1.07	0.18	11.26

注:S1、S2和S3表示采自三种农田系统土壤代号,S1为菜地土,S2为稻田土,S3为麦田土。SOC: 土壤有机碳; TN: 全氮; NH₄⁺-N: 铵态氮; NO₃⁻-N: 硝态氮。下同。Note: S1, S2, and S3 represent the soil codes collected from three farmland systems, S1 represents vegetable field soil, S2 represents paddy field soil, and S3 represents wheat field soil. SOC: Soil organic carbon; TN: Total nitrogen; NH₄⁺-N: Ammonium nitrogen; NO₃⁻-N: Nitrate nitrogen. The same below.

1.3 土壤理化指标测定

土壤铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N)采用2 mol·L⁻¹氯化钾浸提(土水质量比1:5),流动分析仪(Skalar SANplus analyser, Skalar, 荷兰)

测定。土壤可溶性有机碳(DOC)用超纯水浸提(土水质量比1:5),总有机碳分析仪(multi N/C 3100/1, analytikjena, 德国)测定。土壤全碳(TC)和全氮(TN)含量使用元素分析仪(multi EA 5000,

analytikjena, 德国) 测定; 土壤电导率 (EC) 和 pH 按照土水质量比 1:2.5 浸提, 分别用电导率仪和 pH 计测定; 土壤硝化潜势 (PNR) 和反硝化潜势 (PDR) 分别采用氯酸盐抑制法和乙炔抑制法测定^[18-19]。

1.4 气体采集与分析

实验正式开始后每天采集气体, 在 N₂O 排放峰值出现后每 2~3 天采集一次气体, 采气时间固定在上午 7:00—9:00。培养期间, 根据土壤 N₂O 峰值出现的时间破坏性采集土壤。通过气相色谱仪 (Agilent 7890B, Agilent, 美国) 测定采集的气体样品浓度。土壤气体排放通量计算公式如下:

$$F = \rho \cdot \frac{\Delta C}{\Delta T} \cdot \frac{273.15}{273.15 + T} \cdot \frac{V}{m} \quad (1)$$

式中, F 是指气体排放通量, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; ρ 为标准状态下 N₂O 密度, 为 1.25 $\text{kg}\cdot\text{m}^{-3}$; $\Delta C/\Delta T$ 为特定时间密封容器内气体浓度变化, $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; V 为锥形瓶内顶部空间体积, m^3 ; m 为培养土壤干物质量, kg ; T 为培养温度, $^\circ\text{C}$ 。

气体累积排放量计算公式如下:

$$M = \sum_{i=1}^n \frac{1}{2}(F_i + F_{i+1}) \cdot 24(t_{i+1} - t_i) \quad (2)$$

式中, M 为气体累积排放量, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; t 为采样时间, d ; i 为采样次数。

1.5 DNA 提取

由 DNA 提取试剂盒 (Dneasy® PowerSoil® kit, QIAGEN, 德国) 提取土壤样品, 具体步骤参考说明书, 使用超微量紫外分光光度计 (Nanodrop, Thermo Scientific, 美国) 测定所提样品中 DNA 浓度和纯度。检测质量合格的样品进行实时荧光定量 PCR (Applied-Biosystems Real-Time PCR, Thermo Scientific, 美国) 分析, 反应体系为 20 μL , 按添加顺序如下: ①SYBR® Premix Ex Taq TM (2×), 10 μL ; ②正向引物, 0.4 μL ; ③反向引物, 0.4 μL ; ④ROX 参考染料 (50×), 0.4 μL ; ⑤DNA 或质粒模板, 2 μL ; ⑥ddH₂O, 6.8 μL 。扩增程序如下: ①预变性 95 $^\circ\text{C}$, 30 s; ②循环 40 次: 变性 95 $^\circ\text{C}$, 5 s, 退火 55 $^\circ\text{C}$, 30 s, 延伸 72 $^\circ\text{C}$, 1 min; ③溶解曲线程序: 95 $^\circ\text{C}$, 15 s, 60 $^\circ\text{C}$, 1 min, 95 $^\circ\text{C}$, 15 s, 确定扩增产物的特异性。

1.6 数据处理

本研究中, 数据均以平均值 \pm 标准误差 (mean \pm SE) 形式表示, $n=3$ 。微生物基因丰度的拷贝数均经过对数转换处理, 借助 SPSS 25 软件对数据进行单因素方差分析 (ANOVA) 和皮尔逊 (Pearson) 相关性分析。采用最小显著差异法 (LSD) 进行多重比较, Origin 2021 绘图, 使用 Excel 2016 制作表格。通过单因素方差分析评价百菌清浓度对土壤 N₂O 累积排放量、土壤理化性质 (DOC、NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 等) 和微生物基因丰度的影响。通过相关分析, 确定了百菌清添加下土壤 N₂O 排放与土壤性质 (DOC、NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 等) 或微生物基因丰度的关系。

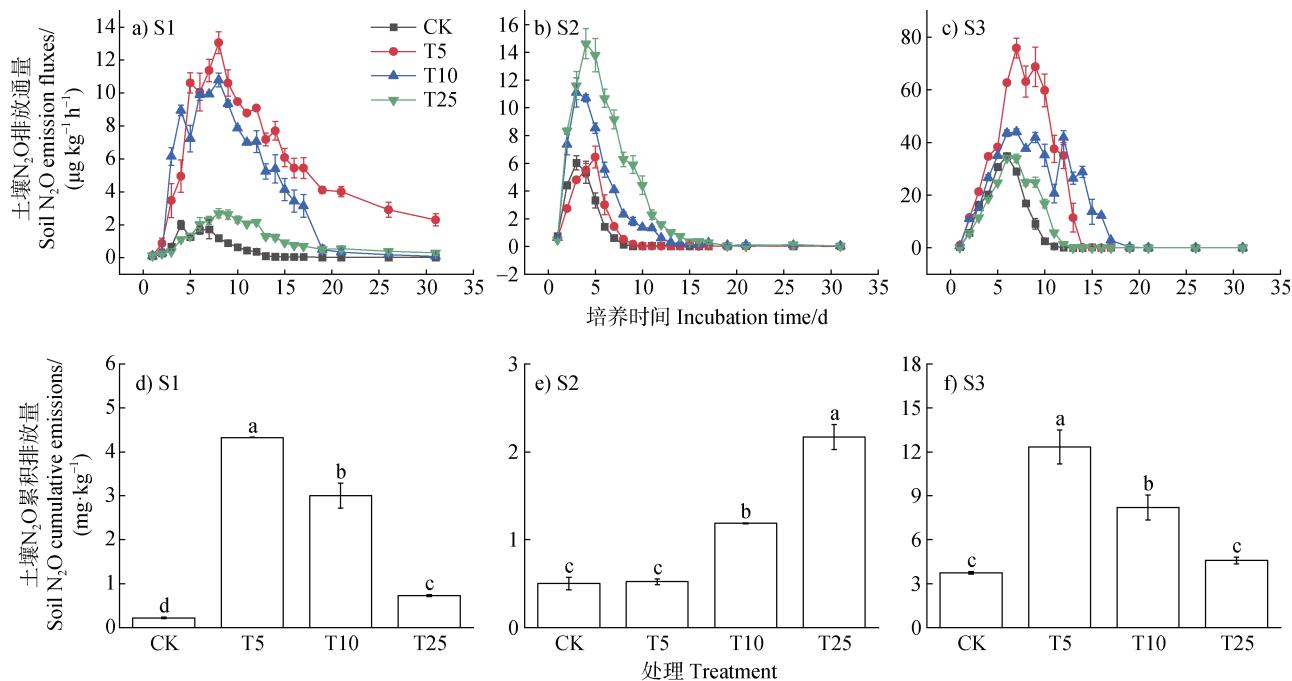
2 结 果

2.1 百菌清对土壤 N₂O 排放的影响

图 1 为培养期间各处理土壤 N₂O 排放通量及累积排放量, 在三种土壤中, 百菌清添加处理均增加了土壤 N₂O 排放, 除 S2 土壤 T5 处理及 S3 土壤 T25 处理外, 其余处理均达显著水平。百菌清添加量对 S1 和 S3 土壤 N₂O 累积排放量的促进作用均表现为: T5>T10>T25>CK。S1 土壤 T5、T10、T25、CK 处理下 N₂O 累积排放量分别为 4.33、3.00、0.73、0.22 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。与 CK 相比, T5、T10、T25 处理导致 N₂O 排放分别增加 1868%、1264%、232%; S3 土壤 T5、T10、T25、CK 处理下 N₂O 累积排放量分别为 12.33、8.20、4.59、3.74 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。与 CK 相比, T5、T10、T25 处理导致 N₂O 排放分别增加 230%、119%、23%。而在 S2 土壤中, 不同浓度百菌清对 N₂O 促进作用表现为: T25>T10>T5>CK, T25、T10、T5、CK 处理下土壤 N₂O 累积排放量分别为 2.17、1.19、0.52、0.50 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 与 CK 相比, T25、T10、T5 分别导致 N₂O 排放增加 334%、138%、4%。

2.2 百菌清添加下土壤理化性质差异特征

通过测定土壤理化指标 (表 2, 图 2) 发现, S2、S3 土壤各理化指标对百菌清添加变化明显, 而 S1 土壤部分理化指标对百菌清添加响应不敏感。相较于 CK, 百菌清添加处理对土壤 NH₄⁺-N、pH、EC、TC、TN 和硝化潜势的影响无明显规律。但百菌清添加均增加了三种土壤 NO₃⁻-N 和 DOC 含量, 且降低了土壤反硝化潜势。



注: N_2O : 氧化亚氮。CK、T5、T10 和 T25 分别为空白对照、5、10 和 $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 百菌清添加。不同小写字母表示处理间显著差异 ($P < 0.05$)。下同。Note: N_2O : nitrous oxide. CK, T5, T10 and T25 were control, and 5, 10 and $25 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ chlorothalonil was added respectively. Different lowercase letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$). The same below.

图 1 百菌清添加下土壤 N_2O 排放通量 (a~c) 和累积排放量 (d~f)

Fig. 1 Soil N_2O emission fluxes (a~c) and cumulative emissions (d~f) under chlorothalonil addition

表 2 百菌清添加下土壤理化性质的差异

Table 2 Differences in physicochemical properties of soils under chlorothalonil addition

土壤 Soil	处理 Treatment	pH	EC/ ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	TC/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	DOC/ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	TN/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	$\text{NH}_4^+ \text{-N}/$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	$\text{NO}_3^- \text{-N}/$ ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)
S1	CK	$4.70 \pm 0.02\text{a}$	$621.83 \pm 5.13\text{a}$	$15.16 \pm 0.91\text{a}$	$14.90 \pm 0.86\text{ab}$	$2.92 \pm 0.08\text{a}$	$0.84 \pm 0.07\text{b}$	$208.83 \pm 0.65\text{c}$
	T5	$4.75 \pm 0.02\text{a}$	$590.73 \pm 18.44\text{ab}$	$15.1 \pm 0.70\text{a}$	$15.24 \pm 0.14\text{a}$	$2.74 \pm 0.12\text{ab}$	$0.69 \pm 0.04\text{b}$	$225.38 \pm 2.12\text{b}$
	T10	$4.75 \pm 0.01\text{a}$	$619.73 \pm 14.54\text{a}$	$15.43 \pm 0.57\text{a}$	$15.00 \pm 0.74\text{ab}$	$2.48 \pm 0.18\text{b}$	$0.66 \pm 0.01\text{b}$	$227.20 \pm 2.58\text{ab}$
	T25	$4.74 \pm 0.03\text{a}$	$613.10 \pm 7.65\text{a}$	$14.70 \pm 0.10\text{ab}$	$16.63 \pm 0.85\text{a}$	$2.37 \pm 0.09\text{b}$	$1.18 \pm 0.14\text{a}$	$231.71 \pm 0.44\text{a}$
S2	CK	$7.13 \pm 0.04\text{a}$	$908.33 \pm 7.82\text{a}$	$14.75 \pm 0.02\text{ab}$	$33.43 \pm 0.96\text{c}$	$2.89 \pm 0.06\text{b}$	$1.98 \pm 0.09\text{a}$	$228.83 \pm 3.51\text{b}$
	T5	$7.11 \pm 0.04\text{ab}$	$908.60 \pm 24.93\text{a}$	$15.76 \pm 0.58\text{ab}$	$38.10 \pm 0.76\text{b}$	$2.80 \pm 0.14\text{b}$	$2.39 \pm 0.2\text{a}$	$251.82 \pm 2.57\text{a}$
	T10	$6.98 \pm 0.04\text{b}$	$892.07 \pm 6.28\text{a}$	$15.91 \pm 0.85\text{a}$	$39.79 \pm 0.91\text{b}$	$2.92 \pm 0.08\text{ab}$	$0.07 \pm 0.03\text{b}$	$254.01 \pm 7.04\text{a}$
	T25	$6.98 \pm 0.05\text{b}$	$891.33 \pm 8.44\text{a}$	$14.06 \pm 0.18\text{b}$	$43.10 \pm 0.77\text{a}$	$3.29 \pm 0.16\text{a}$	$0.43 \pm 0.16\text{b}$	$262.32 \pm 4.25\text{a}$
S3	CK	$7.84 \pm 0.02\text{b}$	$1695.67 \pm 32.38\text{ab}$	$17.37 \pm 0.30\text{b}$	$22.87 \pm 0.27\text{a}$	2.42 ± 0.14	$0.42 \pm 0.1\text{b}$	$209.57 \pm 2.02\text{c}$
	T5	$7.91 \pm 0.01\text{ab}$	$1739.33 \pm 17.15\text{ab}$	$17.22 \pm 0.06\text{b}$	$24.48 \pm 0.74\text{ab}$	2.36 ± 0.12	$0.99 \pm 0.03\text{a}$	$243.65 \pm 1.47\text{a}$
	T10	$7.92 \pm 0.04\text{ab}$	$1683.33 \pm 29.76\text{b}$	$17.31 \pm 0.25\text{b}$	$25.46 \pm 0.53\text{bc}$	2.21 ± 0.04	$0.49 \pm 0.15\text{b}$	$223.88 \pm 6.79\text{b}$
	T25	$7.93 \pm 0.02\text{a}$	$1766.67 \pm 19.01\text{a}$	$19.17 \pm 0.92\text{a}$	$26.71 \pm 0.37\text{c}$	2.50 ± 0.10	$0.64 \pm 0.00\text{b}$	$251.45 \pm 4.89\text{a}$

注: EC: 电导率; TC: 全碳; DOC: 可溶性有机碳。同列不同小写字母表示同一土壤不同处理间显著差异 ($P < 0.05$)。下同。

Note: EC: Electric conductivity; TC: Total carbon; DOC: Dissolved organic carbon. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments of the same soil ($P < 0.05$). The same below.

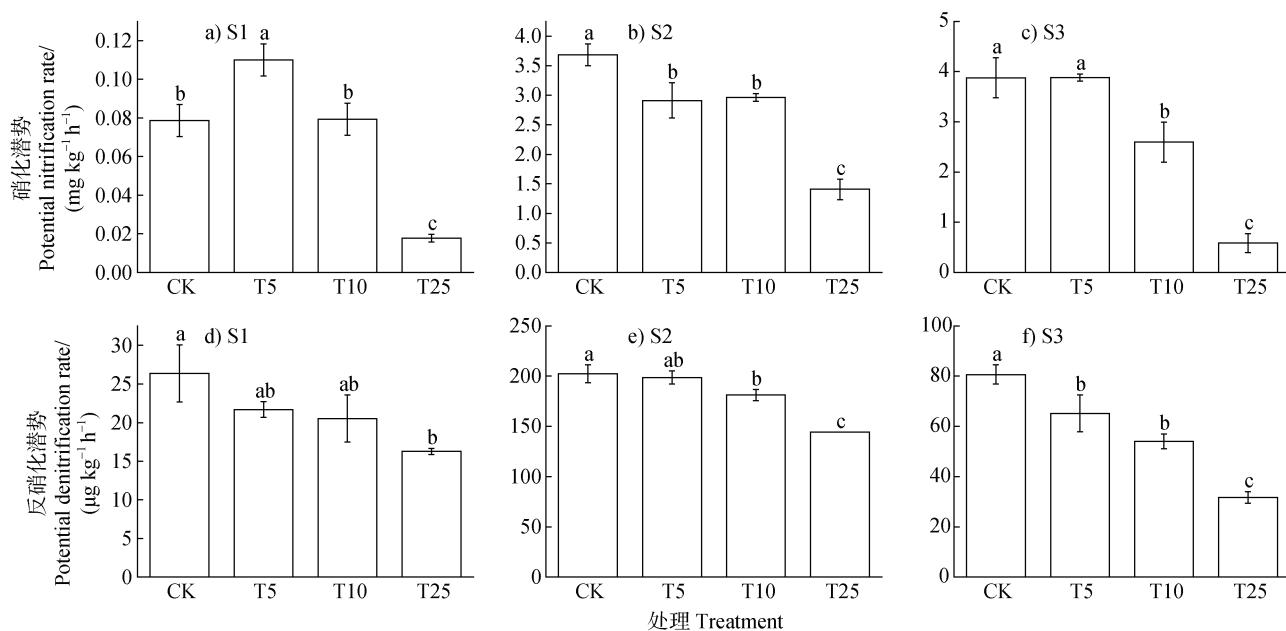


图 2 百菌清添加下土壤硝化 (a~c) 和反硝化潜势 (d~f)

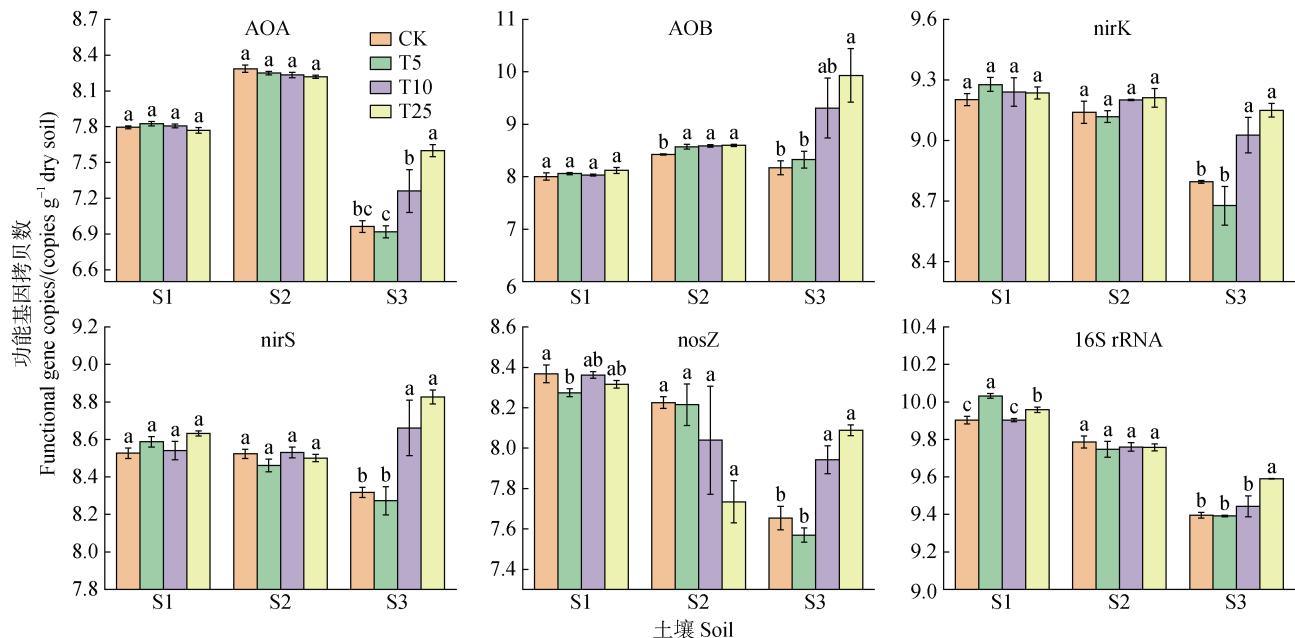
Fig. 2 Potential nitrification (a-c) and denitrification (d-f) rate under chlorothalonil addition

对于土壤 $\text{NH}_4^+ \text{-N}$ 含量, S1 土壤 T25 处理显著高于 CK, S2 土壤 T10 和 T25 处理显著低于 CK, S3 土壤 T5 处理显著高于 CK。对于土壤 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量, 三种土壤中不同浓度百菌清添加处理均显著增加了土壤 $\text{NO}_3^- \text{-N}$ 含量。对于三种土壤 DOC 含量, 百菌清添加均增加土壤 DOC 含量, 相较于 CK, S2 土壤中百菌清添加处理均达显著水平, S3 土壤中 T10 和 T25 处理达显著水平。对于土壤 pH, 与 CK 相比, 百菌清添加对 S1 土壤 pH 无显著影响, S2 土壤 T10 和 T25 处理显著降低了土壤 pH, S3 土壤 T25 处理显著增加了土壤 pH。百菌清添加对三种土壤 EC 均无显著影响。对于土壤 TC 含量, T25 处理显著增加了 S3 土壤 TC 含量。对于土壤 TN 含量, 与 CK 相比, S1 土壤中 T10 和 T25 显著降低了土壤 TN 含量, S2 土壤 T25 处理显著增加了土壤 TN 含量。对于土壤硝化潜势, 与 CK 相比, S1 土壤中 T5 处理显著增加了土壤硝化潜势, T25 处理显著降低了土壤硝化潜势。S2 土壤中三种浓度百菌清添加处理均显著降低了土壤硝化潜势。S3 土壤 T10 和 T25 处理显著降低土壤硝化潜势。对于土壤反硝化潜势, S1 土壤中 T25 处理显著降低土壤反硝化潜势, S2 土壤中 T10 和 T25 处理显著降低土壤反硝化潜势, S3 土壤中三种浓度百菌清添加处理均显著降低土壤反硝化潜势。

壤反硝化潜势。

2.3 百菌清对土壤微生物基因丰度的影响

通过测定土壤硝化及反硝化微生物基因丰度可发现, 如图 3 所示, 对于土壤硝化相关功能微生物基因丰度, 三种浓度百菌清添加处理对 S1 土壤 AOA 和 AOB 基因丰度均无显著影响。与 CK 相比, 三种浓度百菌清添加处理均显著增加了 S2 土壤 AOB 基因丰度, 而对土壤 AOA 基因丰度无显著影响。在 S3 土壤中, T10 和 T25 处理显著增加了土壤 AOA 和 AOB 基因丰度, 而 T5 处理无显著影响。对于土壤反硝化相关功能微生物基因丰度, 与 CK 相比, 在 S1 土壤中, 除 T5 处理显著降低了土壤 nosZ 基因丰度外, 其余处理均无显著影响。在 S2 土壤中, 三种浓度百菌清添加对土壤 nirK、nirS 及 nosZ 基因丰度均无显著影响。在 S3 土壤中, T10 和 T25 处理显著增加了土壤 nirK、nirS 及 nosZ 基因丰度, 而 T5 处理无显著影响。对于土壤总细菌丰度, 与 CK 相比, T5 和 T25 处理显著增加了 S1 土壤 16S rRNA 基因丰度, 而 T10 处理无影响; 在 S2 土壤中, 三种浓度百菌清添加均对 16S rRNA 基因丰度无显著影响; 在 S3 土壤中, T25 处理显著增加土壤 16S rRNA 基因丰度, 而对于 T5 和 T10 处理均无显著影响。



注: AOA: 氨氧化古菌; AOB: 氨氧化细菌; *nirK*、*nirS*: 亚硝酸还原菌; *nosZ*: N₂O 还原菌; 16S rRNA: 总细菌。不同字母表示同一土壤不同处理间显著差异 ($P<0.05$)。Note: AOA: Ammonia-oxidizing archaea; AOB: Ammonia-oxidizing bacteria; *nirK*, *nirS*: Nitrite-reducing bacteria; *nosZ*: N₂O reducing bacteria; 16S rRNA: Total bacteria. Different letters indicate significant differences between treatments of the same soil ($P < 0.05$)。

图 3 土壤硝化和反硝化功能基因丰度
Fig. 3 Abundances of soil nitrification and denitrification functional gene

2.4 N₂O 排放与土壤理化性质和微生物基因丰度的相关性

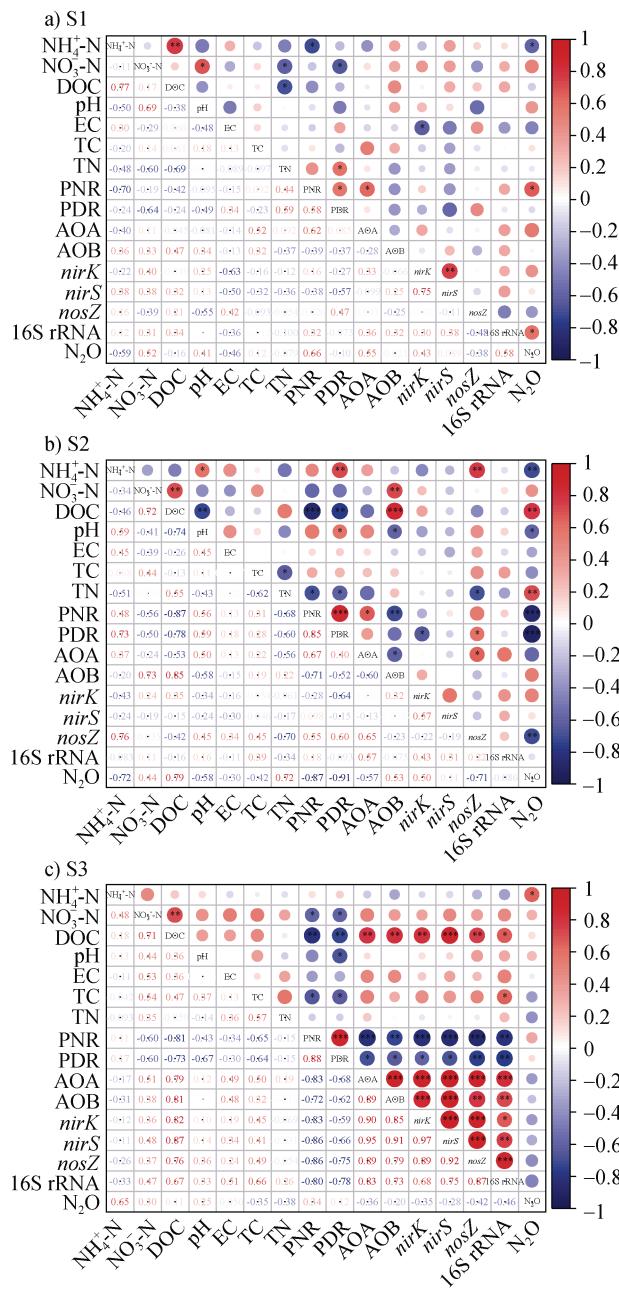
如图 4 所示, 对 N₂O 排放量与理化性质、基因丰度进行了相关性分析。结果表明, 在 S1 土壤中, N₂O 排放量与 PNR、16S rRNA 显著正相关 ($P<0.05$), 与土壤 NH₄⁺-N 含量显著负相关 ($P<0.05$)。PNR 与 AOA 显著正相关 ($P<0.05$), 与土壤 NH₄⁺-N 含量显著负相关 ($P<0.05$); PDR 与土壤 TN 显著正相关 ($P<0.05$), 与 NO₃⁻-N 显著负相关 ($P<0.05$)。在 S2 土壤中, N₂O 排放量与土壤 DOC、TN 含量极显著正相关 ($P<0.01$), 与 pH 显著负相关 ($P<0.05$), 与 NH₄⁺-N、PNR、PDR、*nosZ* 基因丰度极显著负相关 ($P<0.01$); PNR 与 AOA 显著正相关 ($P<0.05$), 与 TN 显著负相关 ($P<0.05$)、与 AOB、DOC 极显著负相关 ($P<0.01$); PDR 与 pH、*nosZ* 显著正相关 ($P<0.05$), 与 NH₄⁺-N 极显著正相关 ($P<0.01$), 与 *nirK* 显著负相关 ($P<0.05$), 与 DOC 极显著负相关 ($P<0.01$); AOB 与 NO₃⁻-N、DOC 极显著正相关 ($P<0.01$), 与 pH 显著负相关 ($P<0.05$); *nosZ* 与 NH₄⁺-N 极显著正相关 ($P<0.01$), 与 TN 显著负相关

($P<0.05$)。在 S3 土壤中, N₂O 排放量与 NH₄⁺-N 含量显著正相关 ($P<0.05$); PNR 与 NO₃⁻-N、TC 显著负相关 ($P<0.05$), 与 DOC、AOA、AOB、*nirK*、*nirS*、*nosZ*、16S rRNA 极显著负相关 ($P<0.01$); PDR 与 NO₃⁻-N、pH、TC、AOA、AOB、*nirK*、*nirS* 显著负相关 ($P<0.05$)、与 DOC、*nosZ*、16S rRNA 极显著负相关 ($P<0.01$); AOA 与 DOC 极显著正相关 ($P<0.01$); AOB 与 DOC 极显著正相关 ($P<0.01$); *nirK* 与 DOC 显著正相关 ($P<0.05$); *nirS* 与 DOC 显著正相关 ($P<0.05$); *nosZ* 与 DOC 极显著正相关 ($P<0.01$); 16S rRNA 与 DOC、TC 显著正相关 ($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 百菌清添加对土壤微生物基因丰度的影响机制

土壤微生物是调节氮素循环和维持土壤生态系统稳定性的主要驱动力。微生物功能基因丰度是预测潜在 N₂O 产生速率的重要参数指标, 已知微生物功能基因会影响 N₂O 的产生和排放^[20]。在 S1 土壤



注: PNR: 硝化潜势; PDR: 反硝化潜势。*、**和***分别表示显著性水平在 $P<0.05$ 、 $P<0.01$ 和 $P<0.001$ 。Note: PNR: Potential nitrification rate; PDR: Potential denitrification rate. * indicates a significant correlation at the 0.05 level, ** at the 0.01 level, and *** at the 0.001 level.

图 4 土壤 N₂O 排放与土壤理化性质、微生物基因丰度间的相关性

Fig. 4 Correlation between soil N₂O emissions, soil physicochemical properties, and microbial gene abundance

中, N₂O 排放量与 PNR、16S rRNA 呈显著正相关, 与土壤 NH₄⁺-N 含量呈显著负相关; 在 S2 土壤中, N₂O 排放量与土壤 DOC、TN 含量呈极显著正相关,

与 pH 呈显著负相关, 与 NH₄⁺-N、PNR、PDR、nosZ 基因丰度呈极显著负相关; 在 S3 土壤中, N₂O 排放量与 NH₄⁺-N 含量呈显著正相关(图 4)。表明土壤碳氮底物含量和微生物功能基因丰度是控制 N₂O 排放的关键因子。有研究表明, 在农业土壤中, N₂O 排放与土壤铵态氮、有机碳以及全氮含量呈显著正相关^[21], 这与本研究结果(图 4)一致。

本研究中, 百菌清添加表现出促进或不影响土壤硝化和反硝化相关微生物功能基因丰度变化, 在酸性土壤 S1 中, 无论百菌清浓度如何, AOA 基因丰度始终低于 AOB(图 3), 与前人研究结果^[22]一致, 在酸性较低的土壤中, AOB 在 N₂O 排放中占主导地位。

在 S2 土壤中, 百菌清对 AOA 和 AOB 的影响不同(图 3), 这可能是因为 AOA 对百菌清的敏感性低于 AOB^[23]。本研究发现, 百菌清添加显著提高了 S2 土壤 AOB 基因丰度, 但对 AOA 基因丰度无影响, 且 AOB 基因丰度与 DOC、硝态氮呈极显著正相关, 与土壤 pH 呈显著负相关(图 3, 图 4)。因此, 推测百菌清添加诱导的土壤理化性质的变化可提高 AOB 基因丰度。百菌清在进入土壤后可通过矿化作用提高土壤 DOC 含量和微生物活性, 进一步增强 AOB 的功能。该结果得到前人研究结果的支持, 例如, 有机质输入能增加土壤 AOB 基因丰度^[24]。

在 S3 土壤中, 中浓度(T10)和高浓度(T25)百菌清添加显著增加了土壤 AOA 和 AOB 基因丰度(图 3)。本研究还发现 S3 土壤硝化及反硝化微生物基因丰度主要受土壤 DOC 含量的影响(图 4), 其原因可能是施用氮肥导致土壤中氮源增加, 土壤 C/N 发生改变, 此时反硝化过程将受到土壤碳源的制约, 而百菌清作为外源碳加入可能为反硝化过程提供了电子供体。以往研究表明, 有机肥额外的碳输入为微生物反硝化提供了能量^[25-26]。百菌清的施用可通过为异养反硝化微生物提供丰富的底物来增强它们的活性。在本研究中, T10 和 T25 显著增加了 S3 土壤中 nirK、nirS 基因丰度(图 3), 部分解释了百菌清添加显著增加了 N₂O 排放(图 1)。此外, 百菌清添加还显著增加了 S3 土壤中 nosZ 基因丰度(图 3)。有相关研究表明, 5 倍推荐剂量($25 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的百菌清添加在培养后期能显著增加土壤 nosZ 基因丰度^[15]。这可能由于百菌清被微生物分解, 可强化厌氧环境条件, 有利于 N₂O 还原菌的生长, 导致

百菌清添加处理中 *nosZ* 基因的丰度升高。需要指出的是, 百菌清作为一种杀真菌剂, 其主要靶标是真菌, 可能通过抑制真菌活性导致细菌结构变化。遗憾的是, 由于条件有限, 本研究未能测定百菌清添加对土壤真菌群落的影响, 有待后续进一步研究。

3.2 百菌清添加对不同土壤 N₂O 排放的影响机制

本研究发现, 不同浓度梯度百菌清添加均不同程度增加三种土壤 N₂O 排放(图 1), 这与以往研究的结果^[14]相一致, 可能主要由于百菌清添加改变了土壤理化特性, 进而通过影响氮循环相关微生物过程来促进 N₂O 排放。该结果在百菌清添加后土壤中 DOC 和 NO₃⁻-N 含量的变化(表 2)中得到了证实。研究结果表明, 在添加百菌清后三种土壤 DOC 和 NO₃⁻-N 含量均有升高趋势, 尤其在 S2 和 S3 土壤中表现更明显, 达到显著水平(表 2)。DOC 和 NO₃⁻-N 含量增加可能主要与百菌清添加至土壤后的自身降解过程及其介导的微生物代谢活动有关。具体而言, 百菌清进入土壤后, 可能通过两种途径影响土壤碳含量, 一方面, 由于百菌清本身为碳氮化合物, 进入土壤后可通过生物或非生物途径而分解转化为土壤不同碳氮组分, 从而增加土壤 DOC 和 NO₃⁻-N 含量。另一方面, 百菌清作为一种广谱性杀真菌剂, 能够杀死土壤敏感微生物, 导致微生物残体来源的土壤碳氮含量发生变化^[27]。土壤有机质含量对 N₂O 的产生和排放有显著影响, 因为大多数异养微生物以土壤有机质为碳源和电子供体^[28]。因此, 土壤中有机质含量的增加可促进微生物的异养硝化和反硝化, 进而导致 N₂O 排放增加。综上, 在控制土壤含水量相同的条件下, 百菌清作为外源有机质输入可为土壤微生物提供碳氮活性底物, 进而促进 N₂O 的排放。

本研究结果表明, 中性土壤中 N₂O 排放量随百菌清浓度增加而增加, 而在酸碱性土壤中则呈现相反趋势(图 1)。这种差异可能与土壤 pH 对微生物活性、氮循环过程以及百菌清降解的调控作用有关。在酸性或碱性土壤中, pH 的极端条件可能抑制了部分参与氮循环的微生物群落活性, 导致氮转化效率降低。百菌清作为一种广谱杀菌剂, 在土壤中的持久性会随其浓度的增加而增加^[7], 可能会进一步加剧这种抑制效应。具体而言, 低浓度百菌清不会对土壤硝化微生物产生显著影响, 而百菌清在高浓度下会抑制硝化作用关键微生物, 从而减少了 N₂O 的

产生和排放^[29]。此外, 百菌清在土壤中的快速耗散主要归因于土壤微生物^[9], 酸碱性土壤中微生物受极端 pH 环境条件胁迫, 百菌清的降解速率可能较慢, 导致其在土壤中积累并持续抑制微生物活性。相比之下, 中性土壤中的微生物群落可能对百菌清的耐受性较强, 且百菌清在中性条件下降解较快^[30], 百菌清的快速降解一方面降低了对土壤微生物毒害作用, 另一方面可为土壤氮循环微生物提供碳源, 进而出现中性土壤中 N₂O 排放量随百菌清浓度增加而增加的现象(图 1)。综上所述, 酸碱性土壤中 N₂O 排放量随百菌清浓度增加而减少的现象, 可能与百菌清和土壤 pH 对土壤微生物的胁迫存在协同作用有关。

硝化反硝化潜势在百菌清处理下有所下降, 而 N₂O 累积排放量显著增加(图 2), 这可能与微生物群落结构变化、化学反硝化增加有关。土壤硝化及反硝化潜势反映了土壤产 N₂O 的潜能, 是由土壤整体微生物决定的, 百菌清是一种杀菌剂, 会对土壤部分微生物产生毒害作用^[10], 这可能导致土壤硝化及反硝化潜势降低。反硝化潜势测定方法主要基于微生物活性, 通常不包括化学反硝化过程。因此, 尽管反硝化潜势有所下降, 但化学反硝化可能是导致 N₂O 排放增加的重要原因之一。

此外, 在三种农田土壤中, 百菌清对硝化反硝化相关微生物功能基因丰度及 16S rRNA 影响不同(图 3)。但对比发现, 百菌清添加对 S2 土壤微生物影响最小, 仅显著影响了土壤 AOB 基因丰度, 对其他微生物均无显著影响。而对 S3 土壤硝化反硝化微生物及 16S rRNA 影响最大, 这可能与 S2 土壤黏粒含量高, 而 S3 土壤黏粒含量低有关(表 1), 原因是黏粒含量高的土壤增加了土壤对百菌清的吸附, 降低了微生物的降解。百菌清作为一种有机化合物, 其进入土壤后可能与土壤黏粒紧密结合, 形成有机—矿物态结合物, 进而增加 SOC 分子化合物的自身稳定性。这种物理保护作用影响微生物对有机质的分解利用, 进而降低对土壤微生物的影响^[31-32]。此外, 百菌清在土壤中的降解率与土壤 pH 有关^[33]。土壤黏粒含量及 pH 强烈影响百菌清在土壤中的耗散和累积, 进而影响土壤硝化和反硝化微生物, 因此, 三种土壤质地及 pH 的明显差异可能是百菌清添加对 N₂O 排放影响不一致的另一种原因。

4 结 论

百菌清添加刺激了土壤N₂O排放,土壤N₂O累积排放量随百菌清浓度的增加而变化,且在不同浓度百菌清处理间存在显著差异。不同浓度百菌清添加对三种类型农田土壤N₂O排放影响的剂量效应不同,在S1和S3土壤中N₂O排放量呈现出:T5>T10>T25>CK,而在S2土壤中N₂O排放量呈现出:T25>T10>T5>CK。此外,不同浓度百菌清添加抑制土壤硝态氮还原,降低土壤反硝化潜势,且增加土壤DOC含量;T5处理显著降低了S1土壤中nosZ基因丰度;三种不同浓度的百菌清均增加了S2土壤AOB基因丰度;T10和T25显著增加了S3土壤中AOA、AOB、nirK、nirS和nosZ基因丰度。对于土壤总细菌丰度而言,T5和T25处理显著增加了S1土壤中16S rRNA基因丰度;T10和T25处理显著增加了S3土壤中16S rRNA基因丰度。相关性分析结果表明,土壤N₂O排放与土壤碳氮含量和微生物基因丰度有关。然而,本研究也存在一些局限性,仅限于室内培养实验,尚未结合田间试验进行验证,未来可开展大田试验进一步验证大田施用条件下对土壤N₂O排放的影响,以进一步明确农药百菌清施用对土壤N₂O排放的作用机制。

参考文献 (References)

- [1] Yang Y Y, Liu L, Zhang F, et al. Soil nitrous oxide emissions by atmospheric nitrogen deposition over global agricultural systems[J]. Environmental Science & Technology, 2021, 55 (8): 4420—4429.
- [2] Ma R Y, Yu K, Xiao S Q, et al. Data-driven estimates of fertilizer-induced soil NH₃, NO and N₂O emissions from croplands in China and their climate change impacts[J]. Global Change Biology, 2022, 28 (3): 1008—1022.
- [3] Li Y, Wang R, Chen Z J, et al. Increasing net ecosystem carbon budget and mitigating global warming potential with improved irrigation and nitrogen fertilization management of a spring wheat farmland system in arid Northwest China[J]. Plant and Soil, 2023, 489 (1/2): 193—209.
- [4] Wang C, Shen Y, Fang X T, et al. Reducing soil nitrogen losses from fertilizer use in global maize and wheat production[J]. Nature Geoscience, 2024, 17 (10): 1008—1015.
- [5] Xiang H, Hong Y G, Wu J P, et al. Denitrification contributes to N₂O emission in paddy soils[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 14: 1218207.
- [6] Jiang J L, Yang Y W, Wang L, et al. Effects of chlorothalonil application on the physio-biochemical properties and microbial community of a yellow-brown loam soil[J]. Agriculture, 2022, 12 (5): 608.
- [7] Wu X W, Cheng L Y, Cao Z Y, et al. Accumulation of chlorothalonil successively applied to soil and its effect on microbial activity in soil[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 81: 65—69.
- [8] Su X X. The impacts mechanism of pesticide chlorothalonil on soil microbial denitrification and N₂O Emission[D]. Chongqing: Chongqing University, 2019. [苏晓轩. 农药百菌清胁迫下土壤微生物反硝化及N₂O释放机制研究[D]. 重庆: 重庆大学, 2019.]
- [9] Regitano J B, Tornisielo V L, Lavorenti A, et al. Transformation pathways of ¹⁴C-chlorothalonil in tropical soils[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2001, 40 (3): 295—302.
- [10] Baćmaga M, Wyszkowska J, Kucharski J. The influence of chlorothalonil on the activity of soil microorganisms and enzymes[J]. Ecotoxicology, 2018, 27 (9): 1188—1202.
- [11] Ding H, Zheng X Z, Zhang J, et al. Influence of chlorothalonil and carbendazim fungicides on the transformation processes of urea nitrogen and related microbial populations in soil[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26 (30): 31133—31141.
- [12] Yang Z, Deng Y, Zhong L, et al. Responses of soil bacterial and fungal denitrification and associated N₂O emissions to organochloride pesticide[J]. Science of the Total Environment, 2023, 905: 167321.
- [13] Lang M, Cai Z C. Effects of fungicide chlorothalonil on soil nitrous oxide and carbon dioxide emissions [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2008, 19 (12): 2745—2750. [郎漫, 蔡祖聪. 百菌清对土壤氧化亚氮和二氧化碳排放的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19 (12): 2745—2750.]
- [14] Su X X, Chen Y, Wang Y Y, et al. Disturbances of electron production, transport and utilization caused by chlorothalonil are responsible for the deterioration of soil denitrification[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2019, 134: 100—107.
- [15] Teng Y, Zhang M Y, Yang G M, et al. Successive chlorothalonil applications inhibit soil nitrification and discrepantly affect abundances of functional genes in soil nitrogen cycling[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24 (4): 3562—3571.
- [16] Su X X, Wang Y Y, Peng G L, et al. Long-term effects of chlorothalonil on microbial denitrification and N₂O emission in a tea field soil[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27 (14): 17370—17381.
- [17] Chen Y, Su X X, Wang Y Y, et al. Short-term responses of denitrification to chlorothalonil in riparian sediments:

- Process, mechanism and implication[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, 358: 1390—1398.
- [18] Hu H W, MacDonald C A, Trivedi P, et al. Effects of climate warming and elevated CO₂ on autotrophic nitrification and nitrifiers in dryland ecosystems[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2016, 92: 1—15.
- [19] Petersen D G, Blazewicz S J, Firestone M, et al. Abundance of microbial genes associated with nitrogen cycling as indices of biogeochemical process rates across a vegetation gradient in Alaska[J]. *Environmental Microbiology*, 2012, 14 (4): 993—1008.
- [20] Lin J T, Xu Z Y, Xue Y H, et al. N₂O emissions from soils under short-term straw return in a wheat-corn rotation system are associated with changes in the abundance of functional microbes[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2023, 341: 108217.
- [21] Rubaiyat A, Hossain M L, Kabir M H, et al. Dynamics of greenhouse gas fluxes and soil physico-chemical properties in agricultural and forest soils[J]. *Journal of Water and Climate Change*, 2023, 14(10): 3791—3809.
- [22] Tzanakakis V A, Taylor A E, Bakken L R et al. Relative activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria determine nitrification-dependent N₂O emissions in Oregon forest soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2019, 139: 107612.
- [23] Zhang M Y, Xu Z H, Teng Y, et al. Non-target effects of repeated chlorothalonil application on soil nitrogen cycling: The key functional gene study[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 543: 636—643.
- [24] Fisk L M, Barton L, Maccarone L D, et al. Seasonal dynamics of ammonia-oxidizing bacteria but not Archaea influence soil nitrogen cycling in a semi-arid agricultural soil[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12 (1): 7299.
- [25] Wang J, Huang Q, Li Y, et al. A shift from nitrification to denitrification-dominated N₂O emission in an acidic soil following organic amendment[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2023, 59 (1): 117—122.
- [26] Shakoor A, Shakoor S, Rehman A, et al. Effect of animal manure, crop type, climate zone, and soil attributes on greenhouse gas emissions from agricultural soils—A global meta-analysis[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 278: 124019.
- [27] Cui J, Zhu Z K, Xu X L, et al. Carbon and nitrogen recycling from microbial necromass to cope with C: N stoichiometric imbalance by priming[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2020, 142: 107720.
- [28] Lazcano C, Zhu-Barker X, Decock C. Effects of organic fertilizers on the soil microorganisms responsible for N₂O emissions: A review[J]. *Microorganisms*, 2021, 9 (5): 983.
- [29] Lang M, Cai Z C. Effects of chlorothalonil and carbendazim on nitrification and denitrification in soils[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2009, 21 (4): 458—467.
- [30] Wang H L, Wang C J, Chen F, et al. Anaerobic degradation of chlorothalonil in four paddy soils[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, 74 (4): 1000—1005.
- [31] Zhao J N, Feng X H, Hu J, et al. Mineral and microbial properties drive the formation of mineral-associated organic matter and its response to increased temperature[J]. *Global Change Biology*, 2024, 30 (12): e70004.
- [32] Wang W Y, Shen P F, Zhang H P, et al. Study on the relationship between total nitrogen and nitrogen functional microorganisms in soil aggregates under long-term conservation tillage[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2024, 61 (6): 1653—1667. [王威雁, 沈鹏飞, 张侯平, 等. 长期保护性耕作下土壤团聚体全氮与氮功能微生物关系研究[J]. 土壤学报, 2024, 61 (6): 1653—1667.]
- [33] Zhang M Y, Teng Y, Zhu Y, et al. Residues of chlorothalonil successively applied to soil and effect on microbial communities in two soil types[J]. *Soils*, 2014, 46 (5): 839—844. [张满云, 滕应, 朱烨, 等. 百菌清重复施用后在土壤中的残留及其对微生物群落的影响[J]. 土壤, 2014, 46 (5): 839—844.]

(责任编辑: 陈荣府)