

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第38卷 第2期

Vol.38 No.2

**2017**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

北京大气颗粒物和重金属铅干沉降通量及季节变化 ..... 姚利, 刘进, 潘月鹏, 田世丽, 王振波, 韦霞, 张国忠, 周保华, 王跃思 (423)

海西城市群 PM<sub>2.5</sub> 中重金属元素的污染特征及健康风险评估 ..... 陈衍婷, 杜文娇, 陈进生, 徐玲玲 (429)

岷泗地区大气 PM<sub>2.5</sub> 中汞形态污染及其与碳组分的关系 ..... 程娜, 钱冠磊, 段炼, 赵梦飞, 修光利 (438)

泰山夏季 PM<sub>2.5</sub> 中二元羧酸类 SOA 的分子组成及来源 ..... 孟静静, 侯战方, 刘晓迪, 邢继钊 (445)

南京北郊大气 BTEX 变化特征和健康风险评估 ..... 张玉欣, 安俊琳, 王健宇, 王俊秀, 师远哲, 刘静达, 梁静舒 (453)

长株潭城市群人为源 VOCs 排放清单及其对环境的影响 ..... 尤翔宇, 罗达通, 刘湛, 苏艳蓉 (461)

南京城市交通甲烷排放特征 ..... 张雪, 胡凝, 刘寿东, 王淑敏, 高韵秋, 赵佳玉, 张圳, 胡勇博, 李旭辉, 张国君 (469)

2003~2014年东北三省气溶胶光学厚度变化分析 ..... 张宸赫, 赵天良, 王富, 徐祥德, 苏航, 程兴宏, 谭成好 (476)

基于增强回归树的城市 PM<sub>2.5</sub> 日均值变化分析: 以常州为例 ..... 葛跃, 王明新, 孙向武, 齐今笛 (485)

重庆市燃煤电厂汞排放特征及排放量 ..... 张成, 张雅惠, 王永敏, 王定勇, 徐凤, 杨熹, 何秀清 (495)

几种可能来源对广东某地空气中二噁英的影响 ..... 付建平, 韩静磊, 于晓巍, 杨艳艳, 尹文华, 冯桂贤, 张素坤, 黄锦琼, 任明忠 (502)

养鸡场空气中抗性基因和条件致病菌污染特征 ..... 高敏, 仇天雷, 秦玉成, 王旭明 (510)

百年来滇池沉积物中不同形态氮分布及埋藏特征 ..... 吴亚林, 李帅东, 江俊武, 沈胤胤, 黄昌春, 黄涛, 杨浩, 余艳红, 罗玉 (517)

岩溶地下河补给的地表溪流溶解无机碳及其稳定同位素组成的时空变化 ..... 李丽, 蒲俊兵, 李建鸿, 张陶 (527)

三峡水库大宁河支流浮游植物演变过程及其驱动因素 ..... 张佳磊, 郑丙辉, 刘德富, 王丽婧, 谭纤茹 (535)

分层型水库夏季水质对极端厄尔尼诺事件的响应 ..... 邱晓鹏, 黄廷林, 曾明正, 史建超, 曹占辉 (547)

淹水-落干与季节性温度升高耦合过程对消落带沉积物氮矿化影响 ..... 林俊杰, 刘丹, 张帅, 于志国, 何立平, 余顺慧 (555)

湖泊水体中铁(III)-草酸络合物驱动有机磷光解释放磷酸根 ..... 蒋永参, 彭云霄, 刘广龙, 周易勇, 朱端卫 (563)

高效磷吸附剂 Mg/Al-LDO 的制备及除磷机制 ..... 王卫东, 郝瑞霞, 张晓娴, 万京京, 钟丽燕 (572)

改性沸石湿地脱氮除磷效能及机制 ..... 吴鹏, 陆爽君, 徐乐中, 梁奇奇, 沈耀良 (580)

几种水陆交错带植物对底质氮磷释放的抑制作用 ..... 姚程, 胡小贞, 卢少勇, 耿荣妹 (589)

模拟三峡库区消落带优势植物根系低分子量有机酸对土壤中铅的解吸动力学 ..... 何沅洁, 刘江, 江韬, 黄京晶, 成晴, 陈宏 (600)

TiO<sub>2</sub>/膨润土复合材料对 Hg<sup>2+</sup> 的吸附性能研究 ..... 唐兴萍, 周雄, 张金洋, 张成, 王定勇 (608)

氨氮及 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对溴酸盐和消毒副产物控制的影响 ..... 王永京, 杜旭, 金萌, 冯思捷, 杨凯, 张明露, 于建伟 (616)

配水管网细菌活性影响因素 ..... 王晓丹, 赵新华 (622)

施氏矿物的化学合成及其对含 Cr(VI) 地下水吸附修复 ..... 朱立超, 刘元元, 李伟民, 牟海燕, 王婉玉, 石德智, 王涛 (629)

臭氧-混凝耦合工艺污水深度处理特性及其机制 ..... 侯瑞, 金鑫, 金鹏康, 王晓昌 (640)

单级和多级 A/O 工艺中氮的去除效果及 N<sub>2</sub>O 的产生特性 ..... 郭昌梓, 张凤燕, 刘富宇, 朱超, 裴立影 (647)

有机碳源作用下厌氧氨氧化系统的脱氮效能 ..... 管勇杰, 于德爽, 李津, 齐泮晴, 魏思佳 (654)

完全混合式曝气系统运行特性及微生物群落结构解析 ..... 王硕, 徐巧, 张光生, 李激 (665)

颗粒+絮体污泥 CANON 工艺的启动与 SRT 影响研究 ..... 孙延芳, 韩晓宇, 张树军, 李星, 曹相生 (672)

游离氨调控对污泥高含固厌氧消化反应器性能的影响 ..... 戴晓虎, 何进, 严寒, 李宁, 丁月玲, 董滨, 戴翎翎 (679)

利用卷枝毛霉成球特性高效收获微藻 ..... 顾琼, 金文标, 陈远清, 郭仕达, 万超凡 (688)

零价铁对污泥高温厌氧消化过程中四环素抗性基因及第一类整合子的消减影响 ..... 魏欣, 薛顺利, 杨帆, 李响, 刘振鸿, 薛罡, 高品 (697)

沈抚新城不同土地利用类型多环芳烃含量、来源及人体健康风险评估 ..... 王静, 刘明丽, 张士超, 鲁垠涛, 姚宏 (703)

河南某市驾校地表灰尘多环芳烃组成、来源与健康风险 ..... 陈轶楠, 马建华, 段海静, 魏林恒 (711)

外源微生物对植物根系修复十溴联苯醚污染底泥的强化作用 ..... 杨雷峰, 尹华, 彭辉, 李跃鹏 (721)

微生物修复油污土壤过程中氮素的变化及菌群生态效应 ..... 叶茜琼, 吴蔓莉, 陈凯丽, 李炜, 袁婧 (728)

沼泽红假单胞菌 PSB06 对辣椒根际微生物群落结构的影响 ..... 罗路云, 金德才, 左晖, 张卓, 谭新球, 张德咏, 卢向阳, 刘勇 (735)

再生水补水对河道底泥细菌群落组成与功能的影响 ..... 邱琰茗, 王广煊, 黄兴如, 郭道宇 (743)

矿区不同植被复垦模式对土壤细菌群落结构的影响 ..... 贺龙, 李艳琴, 李彬春, 李君剑 (752)

稻田土壤固碳功能微生物群落结构和数量特征 ..... 刘琼, 魏晓梦, 吴小红, 袁红朝, 王久荣, 李裕元, 葛体达, 吴金水 (760)

不同温度制备的生物质炭对土壤有机碳及其组分的影响: 对土壤腐殖物质组成及性质的影响 ..... 赵世翔, 于小玲, 李忠徽, 杨艳, 张霞, 王旭东, 张阿凤 (769)

复合菌剂秸秆堆肥对土壤碳氮含量和酶活性的影响 ..... 聂文翰, 戚志萍, 冯海玮, 孙玉静, 支月娥, 张进忠, 张丹 (783)

秸秆/生物炭施用对关中地区小麦-玉米轮作系统净增温潜势影响的对比分析 ..... 成功, 陈静, 刘晶晶, 张阿凤, 王旭东, 冯浩, 赵英 (792)

1株氯苯高效降解菌的分离鉴定及降解特性 ..... 叶杰旭, 林彤晖, 骆煜昊, 陈东之, 陈建孟 (802)

1株异养反硝化硫细菌的分离鉴定及代谢特性 ..... 谭文勃, 马晓丹, 黄聪, 陈川, 王爱杰 (809)

连续施用污泥堆肥土壤剖面中重金属积累迁移特征及对小麦吸收重金属的影响 ..... 孙娜, 商和平, 茹淑华, 苏德纯 (815)

施氮对小麦(Ⅵ)吸收、转运和分配的影响 ..... 陈玉鹏, 彭琴, 梁东丽, 宋卫卫, 雷凌明, 喻大松 (825)

长期暴露下纳米二氧化钛对典型淡水藻体砷累积与生物转化的影响 ..... 李金丽, 王振红, 严雅萌, 黄兵, 罗专溪 (832)

不同热解温度制备的玉米芯生物炭对对硝基苯酚的吸附作用 ..... 马锋锋, 赵保卫 (837)

《环境科学》征稿简则(526) 《环境科学》征订启事(720) 信息(678, 696, 844)

# 稻田土壤固碳功能微生物群落结构和数量特征

刘琼<sup>1,2</sup>, 魏晓梦<sup>1</sup>, 吴小红<sup>1,3</sup>, 袁红朝<sup>1,4\*</sup>, 王久荣<sup>1,4</sup>, 李裕元<sup>1</sup>, 葛体达<sup>1</sup>, 吴金水<sup>1</sup>

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125; 2. 中国科学院大学, 北京 100049; 3. 中南林业科技大学生命科学与技术学院, 长沙 410004; 4. 中国科学院亚热带农业生态研究所公共技术服务中心, 长沙 410125)

**摘要:** 研究不同类型稻田土壤自养微生物数量和多样性差异及其影响因子, 对全面认识稻田生态系统的固碳潜力及其机制具有重要意义. 鉴于此, 本文选取 4 种典型稻田土壤, 通过室内培养实验对具备卡尔文循环途径碳同化微生物进行了研究. 利用荧光定量 PCR (qPCR)、克隆文库以及末端限制性长度多态性分析 (T-RFLP) 技术, 研究了卡尔文循环关键酶 (1,5 二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶 RubisCO) 的 2 种编码基因 (*cbbL* 和 *cbbM*) 的丰度和多样性. 结果表明, 与培养前相比, 培养 45 d 后碳同化自养微生物数量有所增加, *cbbL* 基因丰度比 *cbbM* 基因高 3 个数量级. 不同稻田土壤中碳同化功能微生物优势种群存在差异, 且这些微生物大多不能归类到已知的细菌类群中, 部分可归类的与变形菌和放线菌有较高相似度. RDA 分析结果显示土壤有机碳 (SOC)、阳离子交换量 (CEC)、pH、黏粒、粉粒和砂粒含量对碳同化功能微生物群落结构有显著影响. 本文的研究结果对于理解微生物在碳循环过程中的作用具有一定的科学意义, 也可以为稻田土壤肥力科学化管理和构建低碳农业提供科学依据.

**关键词:** 稻田土壤; 自养固碳微生物; *cbbL*; *cbbM*; 群落结构

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2017)02-0760-09 DOI: 10.13227/j.hjxk.201607143

## Characteristic of Abundances and Diversity of Carbon Dioxide Fixation Microbes in Paddy Soils

LIU Qiong<sup>1,2</sup>, WEI Xiao-meng<sup>1</sup>, WU Xiao-hong<sup>1,3</sup>, YUAN Hong-zhao<sup>1,4\*</sup>, WANG Jiu-rong<sup>1,4</sup>, LI Yu-yuan<sup>1</sup>, GE Ti-da<sup>1</sup>, WU Jin-shui<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. Faculty of Life Science and Technology, Central-South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; 4. The Public Service Technology Center, Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China)

**Abstract:** To get a better understanding of the microbial autotrophic carbon sequestration potential of paddy fields and its mechanisms, soil incubation experiment was conducted for four representative paddy soils. The molecular biological methods [quantitative PCR (qPCR), clone library and terminal-restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) technique] based on *cbbL* and *cbbM* genes encoding the key enzymes [ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO)] of Calvin cycle were used to determine the abundance and diversity of autotrophic microbes. The results showed that, after 45 days of incubation, carbon dioxide fixation autotrophic microbial abundances were generally increased compared with those before incubation, and *cbbL* gene abundances were approximately three magnitudes higher than those of *cbbM*. Dominant microbial populations varied among the four paddy soils, and most of these OTUs were distantly related to known sequences, only part of them could be grouped into Proteobacteria and Actinobacteria. RDA analysis results showed that soil organic carbon (SOC), cation exchange capacity (CEC), pH, clay, silk and sand content had significant effects on the CO<sub>2</sub> fixation microbial community. Consequently, the results of this study provide significant reference to understand the role of microorganisms in carbon cycle process. The results are helpful for providing a scientific basis for scientific management of paddy soil fertility and low carbon agriculture construction.

**Key words:** paddy soil; carbon dioxide fixation autotrophic microbes; *cbbL*; *cbbM*; community structure

自养微生物能够利用简单的无机物作为营养物质进行正常生长代谢活动, 广泛分布于各生态系统中. 土壤对大气 CO<sub>2</sub> 的固定主要是土壤自养微生物参与的同化过程<sup>[1]</sup>. 稻田是我国典型的农田生态系统, 我国现有稻田面积 340 多万 hm<sup>2</sup>, 约占全国耕地总面积的 27%<sup>[2]</sup>. IPCC 报告两次指出<sup>[3,4]</sup>, 包括稻

田生态系统在内的农田生态系统对扼制大气 CO<sub>2</sub> 浓度升高发挥着不可忽视的作用. 据估算, 农田土

收稿日期: 2016-07-21; 修订日期: 2016-09-05

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41522107, 41301275)

作者简介: 刘琼 (1992 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤微生物生态, E-mail: gtd@isa.ac.cn

\* 通信作者, E-mail: yuanhongzhao@isa.ac.cn

壤微生物的年碳同化速率为  $100 \sim 450 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ , 其对全球碳循环的贡献率为  $0.9\% \sim 4.1\%$  [2, 5, 6].

迄今为止发现的 5 条固碳途径中, 卡尔文循环是自养微生物同化  $\text{CO}_2$  的最主要的途径 [7]. 该过程中起关键作用的酶是 1, 5-二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶 (RubisCO). 根据 RubisCO 大亚基氨基酸序列同源性、空间结构多样性、催化性能以及对  $\text{O}_2$  的敏感程度, 可将其分为 Form I、Form II、Form III 和 Form IV 这 4 种类型 [8]. 其中 Form I 存在于藻类、蓝细菌、全部陆地植物和绝大多数好氧光能及化能自养微生物中, Form II 存在于数种鞭毛藻类、光合细菌和好氧及兼性厌氧化能自养细菌中, Form III 仅存在于古菌中, Form IV 在氨基酸序列和三级结构上与其他 RubisCO 相似, 但对 1, 5-二磷酸核酮糖的羧化或氧化过程并无催化作用 [9]. *cbbL* 和 *cbbM* 分别是 RubisCO Form I 和 Form II 的编码基因, 由于其具有高度保守性, 常作为研究不同环境中卡尔文循环自养固碳微生物群落多样性研究的标记物 [10~12]. 目前, 借助现代分子生物学技术, 通过分析环境样品中功能基因的多样性进而研究自养微生物固碳的分子机制及其对不同生境的响应和反馈已成为这一领域的研究热点.

RubisCO 在土壤 C 固定过程中发挥重要的作用. 在本实验室的前期研究中, 通过功能基因 *cbbL* 分子标记技术, 发现稻田土壤 *cbbL* 具有很高的多样

性, 细菌 *cbbL* 丰度与碳同化速率呈显著正相关关系 ( $r=0.903$ ) [13, 14]. 此外, 大量研究表明, 碳同化微生物对土壤特性和环境因子变化比较敏感, 植被类型、土壤有机质含量、土壤质地、施肥方式、根际效应、光照和深度等因素对土壤 *cbbL* 和 *cbbM* 的多样性和丰度均有显著影响 [6, 14~19]. 然而, 以往的研究很少同时对 *cbbL* 和 *cbbM* 两种基因的数量与种群结构多样性进行研究, 无法将两者的数量与多样性进行同步分析和比较.

本研究选取 4 种典型水稻土, 通过室内培养, 结合 DNA 水平上的分子生物学研究手段 (qPCR、克隆测序、T-RFLP 等), 对卡尔文循环功能基因 *cbbL* 和 *cbbM* 的丰度和群落结构多样性进行研究, 探讨典型水稻土中的固碳微生物数量和系统发育关系, 以期对水稻土的固碳潜力及稻田可持续管理提供数据支撑和理论依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 供试土壤采集

选取中国南方 4 个不同水稻产区 4 种典型稻田土壤: 江西鹰潭 (P1)、浙江嘉兴 (P2)、湖南桃源古市 (P3) 和湖南桃源宝洞峪 (P4) 为供试土壤. 将 2012 年 7 月早稻收割后采集的耕层土壤 ( $0 \sim 20 \text{ cm}$ ) 风干, 用于室内培养实验. 风干土壤样品分别过  $0.25 \text{ mm}$  和  $0.149 \text{ mm}$  筛, 用于测定土壤基本理化性质. 供试土壤基本理化性质见表 1.

表 1 4 种供试水稻土壤的基本理化性质<sup>1)</sup>

Table 1 Basic physico-chemical properties of four paddy soils used in this study

| 类型 | pH                      | SOC<br>/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | Clay/%                   | Silt/%                    | Sand/%                   | MBC<br>/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | MBN<br>/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ | CEC<br>/ $\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ |
|----|-------------------------|--|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---|---|---|
| P1 | $5.24 \pm 0.04\text{b}$ | $13.74 \pm 0.67\text{c}$                 | $7.60 \pm 0.39\text{b}$  | $78.28 \pm 0.41\text{b}$  | $14.13 \pm 2.70\text{a}$ | $267.43 \pm 2.93\text{d}$                 | $41.26 \pm 6.15\text{d}$                  | $10.26 \pm 0.01\text{c}$                    |
| P2 | $5.95 \pm 0.06\text{a}$ | $17.24 \pm 1.33\text{b}$                 | $7.72 \pm 0.17\text{b}$  | $83.00 \pm 0.52\text{a}$  | $9.28 \pm 0.78\text{b}$  | $320.76 \pm 4.44\text{c}$                 | $70.99 \pm 15.46\text{c}$                 | $20.66 \pm 0.17\text{a}$                    |
| P3 | $5.17 \pm 0.01\text{b}$ | $19.78 \pm 1.02\text{a}$                 | $11.71 \pm 0.83\text{a}$ | $75.06 \pm 0.95\text{c}$  | $13.23 \pm 1.77\text{a}$ | $1095.55 \pm 21.35\text{a}$               | $128.25 \pm 3.19\text{a}$                 | $5.36 \pm 0.01\text{d}$                     |
| P4 | $5.94 \pm 0.03\text{a}$ | $18.00 \pm 1.40\text{ab}$                | $8.56 \pm 0.97\text{b}$  | $77.75 \pm 2.82\text{bc}$ | $13.69 \pm 1.85\text{a}$ | $754.45 \pm 38.57\text{b}$                | $109.85 \pm 7.05\text{b}$                 | $14.76 \pm 0.11\text{b}$                    |

1) 不同小写字母表示不同供试土壤之间差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同

### 1.2 室内培养实验

为了排除自然环境因素的影响, 本研究采用室内培养方式进行. 培养实验开始前, 将每种土样的  $200 \text{ g}$  风干土的含水量调节至  $45\%$ , 密封放于  $25^\circ\text{C}$  恒温培养室 2 周使微生物复苏. 然后将土样等量分装于  $50 \text{ mL}$  离心管中, 加入  $\text{ddH}_2\text{O}$  充分混匀, 静置沉淀  $30 \text{ min}$ , 调整液面使所有土壤淹水  $2 \text{ cm}$ , 每种土壤设置 3 个重复. 所有离心管置于恒温培养箱中, 管壁裹上锡箔纸使光照方向为正上方,  $25^\circ\text{C}$  连续

培养  $45 \text{ d}$ . 培养过程中每天光照  $12 \text{ h}$  (光照强度  $4000 \text{ lx}$ ), 黑暗  $12 \text{ h}$ . 培养结束后的土壤样品均匀混合用液氮冷冻后保存在  $-80^\circ\text{C}$  冰箱.

### 1.3 土壤理化性质测定

pH 测定以水为浸提剂, 水土比为  $2.5:1$ ; 阳离子交换量采用乙酸铵交换法测定; 含水量在  $105^\circ\text{C}$  烘箱中过夜干燥至恒重后测定; 土壤 SOC 采用元素分析仪测定; 土壤 MBC、MBN 采用氯仿熏蒸- $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$  浸提法测定.

#### 1.4 土壤 DNA 提取

土壤总 DNA 的提取采用经适当修改的 SDS-GITC-PEG 法<sup>[13, 20]</sup>. 提取后的 DNA 用 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外检测仪 (NanoDrop ND-1000, Germany) 进行浓度和质量检测.

#### 1.5 定量 PCR

用 qPCR 对不同稻田土壤细菌和古菌 16S rRNA 及固碳功能基因 *cbbL*、*cbbM* 的丰度进行分析. 引物信息如下: 细菌 16S rRNA: Eub-8F (5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3'), Eub-926R (5'-CCGTC AATTCTTTTRAGTTT-3'); 古菌 16S rRNA: Arc109F (5'-ACKGCTCA-GTAACACGT-3'), Arc934R (5'-GTGCTCCCCCGCCAATTCCT-3'); *cbbL*: k2f (5'-ACCA YCAAGCCSAAGCTSGG-3'), v2r (5'-GCCTTCSAGCTTGCCSACRC-3')<sup>[11]</sup>; *cbbM*: cbbM-F (5'-GGCACCATCATCAAGCCCAAG-3'), cbbM-R (5'-TCTTGCCGTAGCCCA-TGCTGC-3')<sup>[12]</sup>; qPCR 体系含 SYBR Premix ExTaq I (TaKaRa Biotechnology, Japan) 5  $\mu$ L, 前后引物各 0.5  $\mu$ L, 模板 DNA (稀释至 5 ng  $\cdot$   $\mu$ L<sup>-1</sup>) 1  $\mu$ L, 补无菌 ddH<sub>2</sub>O 水至 10  $\mu$ L. 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 52 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 终延伸 10 min. 取通过测序、序列比对确定序列正确性的阳性克隆子进行扩大培养, 提取质粒 DNA, 紫外检测仪检测浓度后以 10 倍梯度稀释作为标准样品, 制作标准曲线. 所扩增的溶解曲线都为单峰, 说明引物特异性良好, 扩增效率为 90% ~ 110%, 标线  $R^2$  均大于 0.990.

#### 1.6 末端限制性长度多态性分析 (T-RFLP)

采用 T-RFLP 技术研究不同土壤样品中卡尔文循环功能基因 *cbbL* 和 *cbbM* 的多样性差异, 引物分别为 k2f/v2r 和 cbbM-F/cbbM-R, 其中正向引物 5' 端用 6-羧基二乙酸荧光素 (FAM) 标记. 反应体系如下: TaqDNA 聚合酶 Mix (全式金, 中国) 25  $\mu$ L, 正向和反向引物各 1  $\mu$ L, 模板 50 ~ 100 ng, ddH<sub>2</sub>O 补水至 50  $\mu$ L. *cbbL* PCR 条件为: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 66 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 退火温度每 1 个循环降 1 $^{\circ}$ C, 5 个循环; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 62 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min. *cbbM* PCR 条件为: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C 30 s, 57 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 35 个循环; 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min. 扩增的 PCR 产物用琼脂糖凝胶纯化试剂盒 (天根, 中国) 纯化, 纯化后的产物分别用常规型限制性内切酶 *Hha*I、*Msp*I (TaKaRa Biotechnology, Japan) 进行消化, 操作步骤按照说明

书进行. 酶切产物送至上海桑尼生物技术有限公司进行自动测序分析 (Model 373A, Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany). 相差  $\pm 1$  bp 的片段归为同一片段, 参照文献 [21] 的方法进行相对丰度计算, 所有丰度 > 1% 的片段为有义片段并纳入分析, > 10% 的片段定义为该样品的优势种群<sup>[13]</sup>. 生物多样性用香农指数 ( $H$ ) 和 Pielou 均匀度指数 ( $E$ ) 评价,  $H$  指数计算公式为:

$$H = - \sum (A_i) (\ln A_i)$$

式中,  $A_i$  为一种片段长度的相对丰度. 以  $H$  指数的计算结果为基础,  $E = H/H_{\max}$ , 其中  $H_{\max} = \ln S$ ,  $S$  为不同片段的种类数<sup>[13, 22]</sup>.

#### 1.7 克隆、测序和系统发育分析

将培养 45 d 后的土样 DNA 的 3 个重复混合均匀作为模板, 进行 PCR 扩增, 引物及反应条件同 1.5 节, PCR 体系同 1.6 节. 扩增产物用凝胶回收试剂盒 (天根, 中国) 纯化后连入 pGEM-T Easy 载体, 再导入感受态细胞 *Escherichia coli* DH5 $\alpha$  (天根, 中国), 经载体特异引物 T7/SP6 扩增检验后, 每种水稻土 *cbbL* 基因随机挑取 100 个阳性克隆子, *cbbM* 基因挑取 50 个阳性克隆进行测序. 测序反应由北京六合华大基因科技有限公司广州分公司完成. 利用 mothur 软件将相似性大于 97% 的序列归为同一操作分类单元 (OTU), 用 BLAST 和 NCBI 数据库进行序列比对, 用 MEGA 6.0 构建系统发育树. 同时分别计算各土样克隆文库的覆盖率 (coverage,  $C$ ), 计算公式为:

$$C = 1 - n/N$$

式中,  $n$  代表每种土样中仅有 1 个克隆子的 OTU 数,  $N$  代表每种土样克隆总数. 选择有两条及以上序列的主要 OTU, 采用邻接法 (neighbor-joining) 构建系统发育树 (1 000 次重复计算 bootstrap 值). 所获得的 *cbbL* 和 *cbbM* 基因序列提交至 GenBank 中, 同一 OTU 提交一条代表性序列, 序列登录号 KX265792-KX265981 (*cbbL*), KX265735-KX265791 (*cbbM*).

#### 1.8 数据分析

数据处理采用 Excel 2007 和 SPSS 19.0, 不同土壤之间的差异显著性分析用单因素的邓肯法, 培养时间 (第 0 d、第 45 d) 的差异显著性采用  $t$  检验. 群落多样性和基因与环境因子的关系采用 CANOCO 4.5 软件分析, 基于 DCA 的结果, 选用 RDA 进行关联分析, 采用手动前置选择和蒙特卡洛置换检验进

行显著性分析( $P < 0.05$ ).

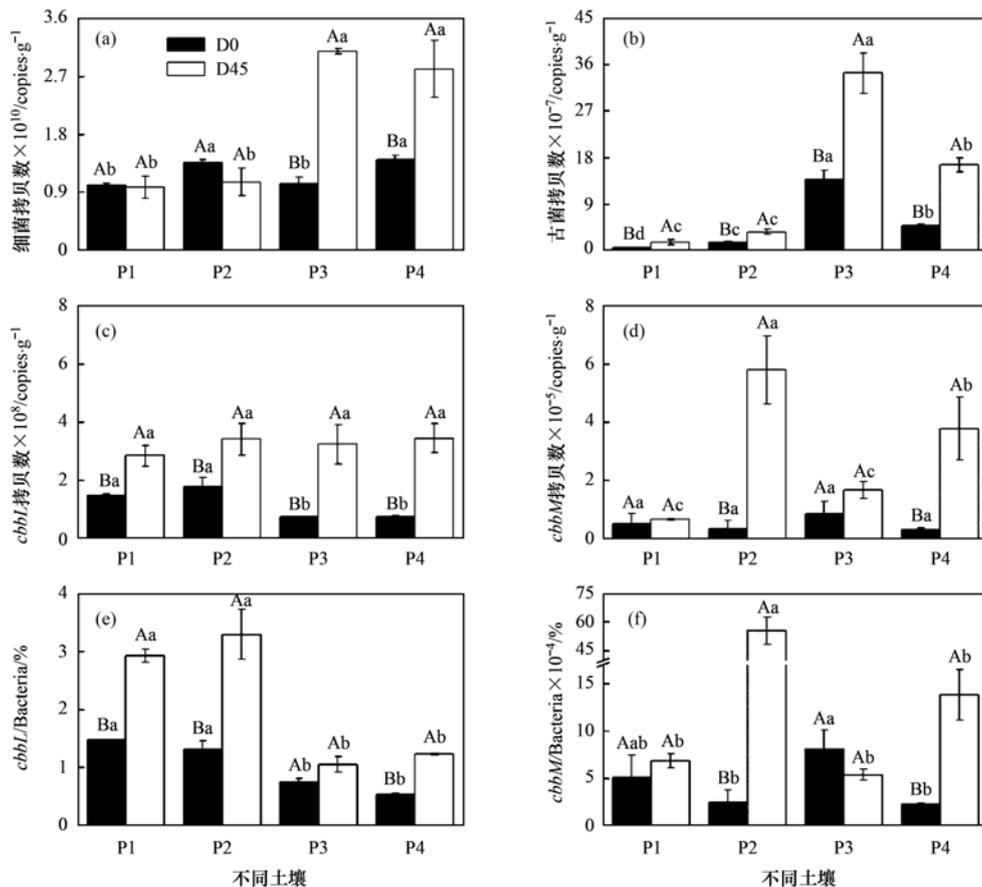
## 2 结果与分析

### 2.1 不同水稻土碳同化功能基因的绝对丰度和相对丰度

以基因拷贝数作为碳同化功能基因的绝对丰度,结果如图 1(a)~1(d)所示. 培养前(D0),土壤细菌16S rRNA丰度范围为  $1.01 \times 10^{10} \sim 1.40 \times 10^{10}$  copies·g<sup>-1</sup>,其中 P1 最低,P4 最高;古菌拷贝数 P1 最低,最高出现在 P3. 4 种水稻土的 *cbbL* 丰度差异较大,其中 P2 显著较高,达  $1.78 \times 10^8$  copies·g<sup>-1</sup>,其次为 P1、P3,P4 最低,仅  $0.74 \times 10^8$  copies·g<sup>-1</sup>. *cbbM* 在 P3 中的丰度显著较高,在其他 3 种土中无显著差异. 培养 45 d (D45) 后,细菌和古菌 16S rRNA拷贝数在 P1、P2 中无显著变化,在 P3、P4 中则出现较大幅度的提升,培养结束时,其丰度顺序依次为 P3 > P4 > P2 > P1. 与培养前相比,4 种土中 *cbbL* 和 *cbbM* 的丰度均大幅升高,*cbbL* 为 2.48

$\times 10^8 \sim 3.44 \times 10^8$  copies·g<sup>-1</sup>,比 *cbbM* 高 3 个数量级,其中 P1 中两种功能基因丰度均为最低,*cbbL* 在 P4 中最高,*cbbM* 在 P2 中最高. 除了 P1 和 P2 的细菌16S rRNA以及 P1 和 P3 的 *cbbM* 拷贝数,培养 45 d 后微生物数量都是显著增加的.

培养前和培养后碳同化功能基因的相对丰度以功能基因拷贝数占细菌 16S rRNA 的百分比表示 [图 1(e)~1(f)]. 培养前 *cbbL* 相对丰度在 P1、P2 中最高,分别为 1.47% 和 1.37%. 其次为 P3,在 P4 中最低,仅 0.53%. 经过 45 d 的培养,4 种土中 *cbbL* 的相对丰度均显著增加,其大小依次为 P2 > P1 > P4 > P3,其中初始相对丰度最高的 P2 增加幅度最大,达培养前的 1.51 倍,P3 的增加幅度最小. *cbbM* 初始土样的相对丰度依次为 P3 > P1 > P4 > P2. 培养过程 *cbbM* 相对丰度极大地增加,且促进作用的强度随初始相对丰度的增大而减小. 培养结束时,P2 的相对丰度高达培养前的 21.85 倍,P3 则仅为培养前的 66%.



(a) 细菌, (b) 古菌, (c) *cbbL*, (d) *cbbM*, (e) *cbbL* 与细菌丰度的比值, (f) *cbbM* 与细菌丰度的比值; 不同大写字母表示培养前 (D0) 与培养后 (D45) 土壤之间差异显著, 不同小写字母表示不同供试土壤之间差异显著 ( $P < 0.05$ )

图 1 4 种不同水稻土中基因丰度以及 *cbbL*、*cbbM* 与细菌 16S rRNA 拷贝数的比值

Fig. 1 Gene abundances of four different paddy soils and the ratio of *cbbL*, *cbbM* copies to the bacterial 16S rRNA gene

## 2.2 多样性和系统发育分析

*cbbL* 的 *Hha*I 酶切 T-RFLP 图谱显示,从 4 种水稻土中共获得 25 种不同长度的末端片段,其中 58bp(丰度 9.3% ~ 20.4%)和 125bp(丰度 13.9% ~ 34.8%)的片段所代表的物种为所有土样共有的优势种群. 58 bp 片段在 P2 中的丰度略低于 10%,在另外 3 种土壤中均超过 15%,最高值出现在 P1; 125bp 片段在 P4 中丰度最高,在 P1 ~ P3 中均低于 20%. 此外,还存在部分土样共有或单一土样特有的优势种群,其中 25bp 为 P1、P3 共有,44bp 为 P1、P2 共有,118bp 和 165bp 为 P3 特有,133bp 为 P4 特有[图 2(a)].

4 种水稻土 *cbbM* 基因的 *Msp*I 酶切 T-RFLP 共获得 14 种不同的末端片段,其中共有的优势种群是 179bp,所占比例为 48.6% ~ 90.6%,丰度高低依次

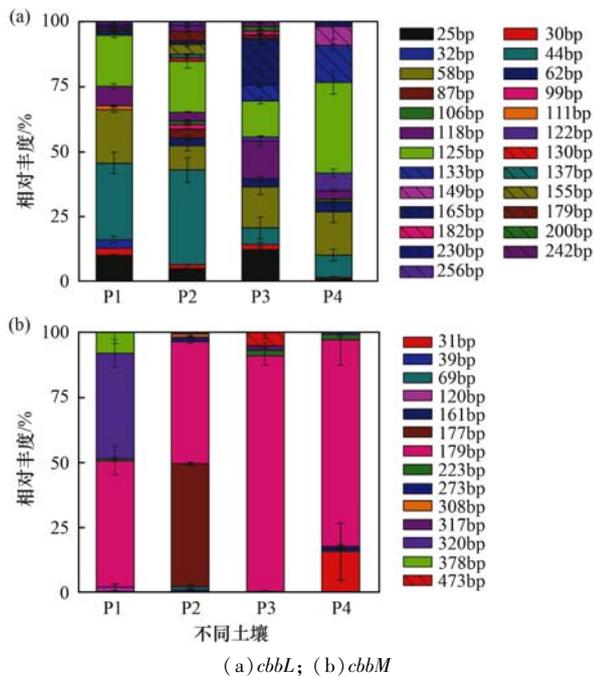


图 2 4 种不同水稻土壤中 *cbbL*、*cbbM* 的限制性片段的相对丰度  
 Fig. 2 Average relative abundances of marker genes T-RFs in four different paddy soils for *cbbL*, *cbbM*

表 2 基于 T-RFLP 数据的 4 种典型水稻土样的多样性指数<sup>1)</sup>

Table 2 Diversity index of four typical paddy soils based on T-RFLP data

| 项目 | <i>cbbL</i> |               |               | <i>cbbM</i> |              |               |
|----|-------------|---------------|---------------|-------------|--------------|---------------|
|    | S           | H             | E             | S           | H            | E             |
| P1 | 12          | 1.91 ± 0.07bc | 0.77 ± 0.03ab | 6           | 1.00 ± 0.03a | 0.56 ± 0.02a  |
| P2 | 17          | 2.13 ± 0.07ab | 0.75 ± 0.03b  | 7           | 0.95 ± 0.04a | 0.49 ± 0.02ab |
| P3 | 14          | 2.22 ± 0.05a  | 0.84 ± 0.02a  | 5           | 0.40 ± 0.12b | 0.25 ± 0.07c  |
| P4 | 12          | 1.86 ± 0.06c  | 0.75 ± 0.03b  | 6           | 0.57 ± 0.13b | 0.32 ± 0.08bc |

1) S: 片段种类; H: 香农指数; E: 均匀度指数

## 2.4 RDA 分析

对 4 种水稻土 *cbbL* 和 *cbbM* 的 T-RFLP 结果进

为 P3 > P4 > P1 > P2, 320bp (40.4%)、177bp (47.2%)、31bp (15.7%) 片段所代表的物种分别为 P1、P2 和 P4 各自特有的优势种群[图 2(b)].

从 4 种水稻土的 *cbbL* 克隆文库中共获得 190 个 OTU,克隆文库覆盖率分别为 63% (P1)、47% (P2)、52% (P3) 和 85% (P4),其中 40% 左右的 OTU 形成了 4 个未知 Cluster 簇 (I ~ IV),余下的序列与  $\alpha$ -Proteobacteria (17%)、 $\beta$ -Proteobacteria (11%) 和 Actinobacteria (11%) 的微生物具有较高相似度,还有 21% 的序列与  $\alpha$ -Proteobacteria、 $\beta$ -Proteobacteria 的微生物都具有较高相似度. P2 获得的阳性克隆子明显聚集在 Cluster II 和 mixed-Proteobacteria 处,P1、P3 主要分布于 Actinobacteria,属于 Cluster I 和  $\alpha$ -Proteobacteria 的物种主要存在于 P1、P3 和 P4(图 3). T-RFLP 图谱结合系统发育分析的结果可以发现,165/166bp 片段的微生物主要分布在 Cluster I.

从所有水稻土的 *cbbM* 序列中共获得 57 个 OTU,克隆文库覆盖率分别为 81% (P1)、84% (P2)、80% (P3) 和 80% (P4),其中 67% 的序列形成 2 个未知 Cluster 簇,余下的序列与  $\alpha$ -Proteobacteria (17%)、 $\beta$ -Proteobacteria (8%) 和  $\gamma$ -Proteobacteria (8%) 相似度较高. P1 中的 *cbbM* 相关物种主要属于  $\alpha$ -Proteobacteria I, P2、P3 和 P4 则主要属于 Cluster I、Cluster II 和  $\alpha$ -Proteobacteria (图 4). 模拟酶切结果显示,182bp 片段的微生物主要分布在 Cluster I、Cluster II 和  $\gamma$ -Proteobacteria.

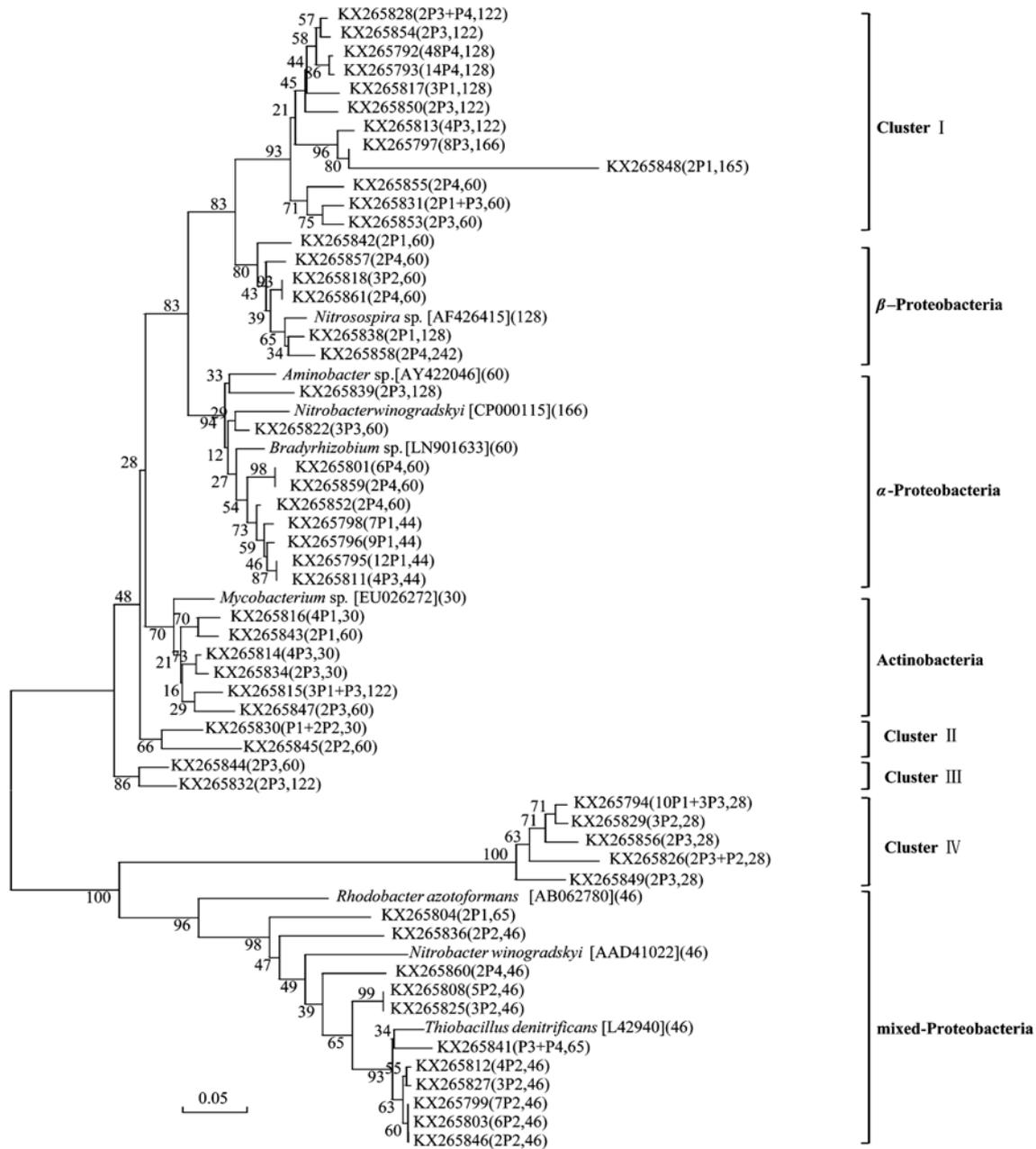
## 2.3 *cbbL* 和 *cbbM* 多样性指数

根据 T-RFLP 图谱中末端限制性片断的种类及其峰高值,计算了 4 种典型稻田土壤中 *cbbL* 和 *cbbM* 基因的多样性指数和均匀度指数. 从表 2 中可以看出,所有样品中,*cbbL* 的多样性指数均显著高于 *cbbM*. 其中 P3 中香农指数和均匀度最高; P1 和 P2 中 *cbbM* 多样性指数均显著高于 P3 和 P4.

行 RDA 分析,结果显示,前两轴分别可解释 *cbbL* 和 *cbbM* 多样性变化的 67.5% 和 68.7%. 粉粒含量(P

= 0.006)、CEC ( $P = 0.002$ )、pH ( $P = 0.002$ ) 和 SOC ( $P = 0.012$ ) 与含 *cbbL* 基因的微生物群落组成显著相关[图 5(a)]; *cbbM* 基因的微生物群落组成

则受到砂粒含量 ( $P = 0.004$ )、SOC ( $P = 0.002$ )、CEC ( $P = 0.004$ ) 和黏粒含量 ( $P = 0.028$ ) 的显著影响[图 5(b)].



括号中 P1 ~ P4 代表 4 种典型水稻土,其前后的数字分别代表克隆子的数目和 *HhaI* 模拟酶切片段长度,比例尺代表进化距离 5% 的序列变异

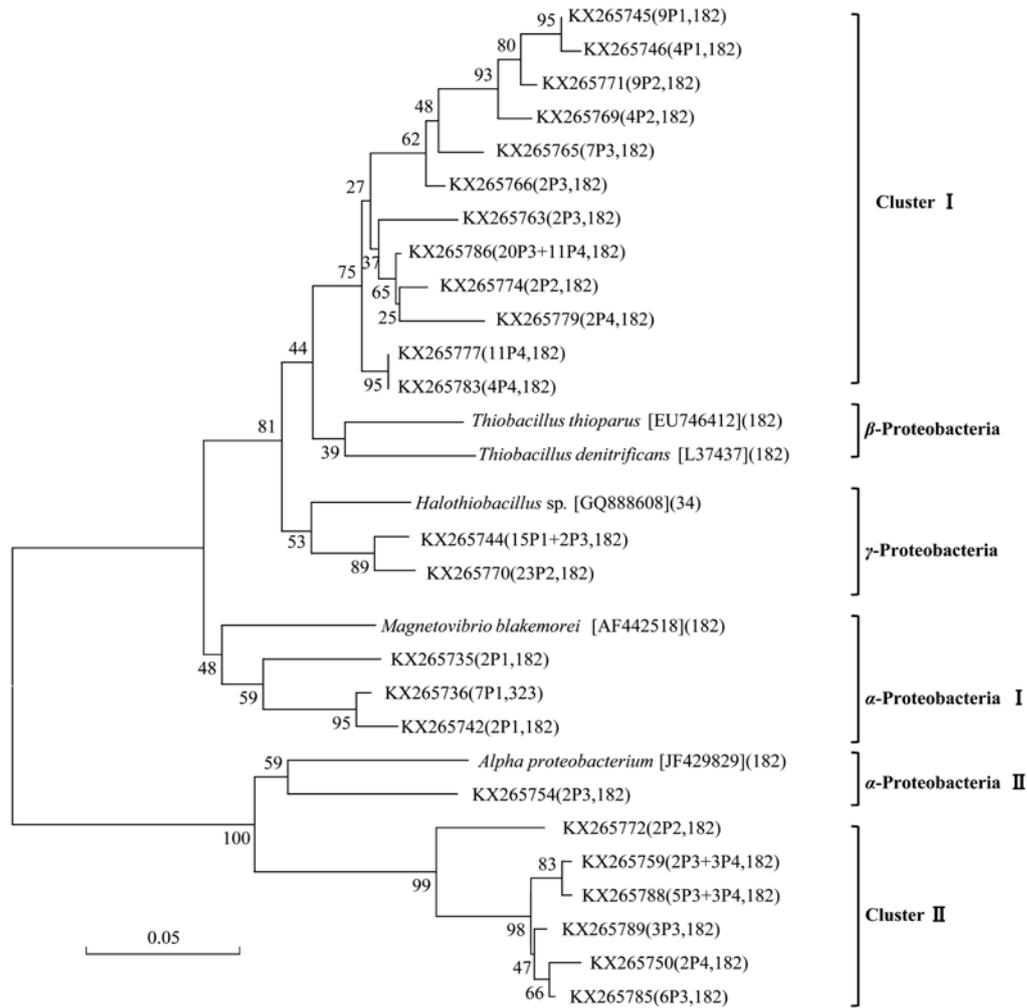
图 3 基于部分 *cbbL* 序列的系统发育树

Fig. 3 Phylogenetic tree based on partial *cbbL* sequences

### 3 讨论

通过 45 d 的室内培养, 4 种水稻土中均检测出高丰度的 *cbbL* 基因以及较低丰度的 *cbbM* 基因, 说明稻田土壤中的确存在相当数量的自养微生物. 有研究表明, 不同的土地利用方式和土壤类型会影响

微生物数量及其群落多样性<sup>[23, 24]</sup>. 多样性指数是评价不同土壤微生物群落多样性的有效手段, 高的香农指数和均匀度表明高的微生物群落多样性. *cbbL* 在 P3 的丰度较低, 但香农指数和均匀度均最高, 说明微生物群落多样性与丰度没有明显的正相关关系. 培养 45 d 后, 两种功能基因的相对丰度均



括号中 P1 ~ P4 代表 4 种典型水稻土,其前后的数字分别代表克隆子数目和 *Msp*I 模拟酶切片段长度,比例尺代表进化距离 5% 的序列变异

图 4 基于部分 *cbbM* 序列的系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic tree based on partial *cbbM* sequences

有增加,其中 *cbbL* 在有机质含量较低的 P1 和 P2 土壤中最高,而 *cbbM* 则在 pH 较高的 P2 和 P4 中较高. Yuan 等<sup>[17]</sup> 的最新研究发现 *cbbL*/16S rRNA 的比值在旱地土壤中最高,认为贫瘠土壤有利于碳同化微生物中的活性表达;而 *cbbM* 基因丰度表现为 P2 > P4 > P3 > P1, pH 大的土壤中该基因丰度较高,其与细菌 16S rRNA 的比值可能与 *cbbM* 类群微生物受 pH 影响有关.

4 种稻田土壤都含有共有的及各自特有的 *cbbL* 和 *cbbM* 优势种群(图 2). 碳同化自养微生物有光能自养微生物和化能自养微生物两种,克隆文库分析结果显示 *cbbL* 的阳性克隆子多为化能自养菌,主要与变形菌的慢生根瘤菌、维氏硝酸杆菌、亚硝化螺菌和硫杆菌等的序列相似,也有一部分与固氮红细菌等一些不产氧光合细菌聚类;*cbbM* 的阳性克

隆子与变形菌门的硫化菌等专性化能自养菌的相似度较高. Wu 等<sup>[6]</sup> 的研究显示光照主要影响表层 1 cm 左右的碳同化自养微生物,化能自养菌以 CO<sub>2</sub> 为主要碳源,通过氧化无机物获得能量进行自养生长,成为了在光照条件不足的土层中的优势物种. Yuan 等<sup>[5]</sup> 的研究发现,稻田土壤碳同化细菌主要是不产氧兼性自养菌,如变形菌门的红假单胞菌、慢生根瘤菌和固氮红螺菌等,与本文结果较为一致. 同时,P2 中的 *cbbL* 和 P1 中的 *cbbM* 与其他样品中的阳性克隆子系统发育关系较远,说明不同的土壤中的碳同化自养微生物物种差异较大(图 3 ~ 4),*cbbL* 克隆文库显示还存在有放线菌门的分枝杆菌等一些新的自养固碳微生物类群,还有待进一步深入研究.

RDA 分析结果显示 4 种不同稻田土壤分别聚集在二维排序图的不同位置,说明不同稻田土壤

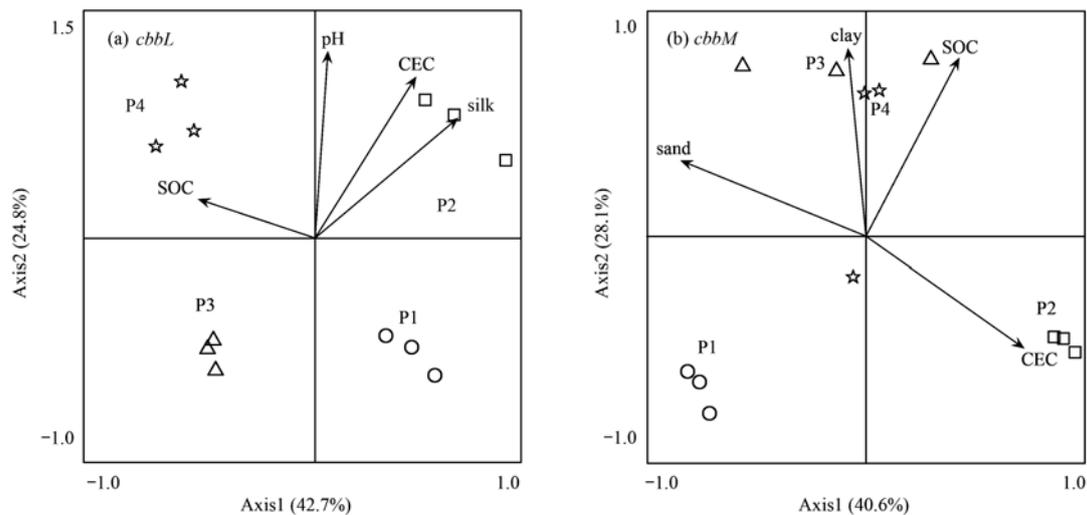


图5 卡尔文循环功能基因 *cbbL*、*cbbM* 的 T-RFLP 数据与环境因子 RDA 分析

Fig. 5 Redundancy analysis of T-RFLP of the marker genes of Calvin cycle for *cbbL* T-RFLP profiles, *cbbM* T-RFLP profiles

*cbbL* 和 *cbbM* 群落结构存在差异, SOC 和 CEC 是其显著影响因素(图 5), 这与 Yuan 等<sup>[14]</sup> 和 Xiao 等<sup>[24]</sup> 的研究结果一致, CEC 可以直接影响土壤肥力及其对微生物元素的可利用性<sup>[25]</sup>; Yuan 等对不同施肥条件下固碳细菌的研究发现 SOC 也对固碳细菌丰度和群落结构有显著影响, 这可能是由于其降解能为微生物提供各类无机元素等营养物质和能量. 此外, pH 可以通过  $H^+$  浓度改变土壤中营养元素的形态从而影响自养微生物类群<sup>[26]</sup>. 另外, 黏粒含量也是影响固碳微生物多样性和丰度变异的重要因素, 这可能与一般更小的土壤组分中常常有利于有机碳积累和基因多样性的存在的原因有关<sup>[27]</sup>. Selesi 等<sup>[28]</sup> 发现 *cbbL* 基因主要分布在黏粒和粉粒中, 而在粗颗粒中几乎检测不到 *cbbL* 基因, P1 黏粒含量最低, 砂粒含量最高, 土壤粗颗粒组分中营养物质难以积累, 不利于自养微生物的生长, 因此 16S rRNA 以及卡尔文功能基因拷贝数量最低, 而 P3、P4 土壤中黏粒含量较高, 因而微生物数量相对较高. 不同的施肥措施和土地利用方式使得土壤环境和养分发生改变从而影响了对环境变化敏感的自养微生物的生长和代谢活动, 最终导致碳同化功能微生物种群结构的变化. 本文研究表明, 土壤性质的不同会导致固碳功能基因微生物多样性和丰度的变化, 基于此, 可以采取一定的田间管理措施来增强自养固碳微生物的活性和多样性.

#### 4 结论

(1) 稻田土壤室内培养实验表明, 在没有其他

外来扰动的条件下, 碳同化微生物数量会随着时间增加, 卡尔文循环关键酶 RubisCO 的 2 种编码基因 (*cbbL* 和 *cbbM*) 丰度范围 (干土中) 为  $10^5 \sim 10^8$  copies  $\cdot g^{-1}$ , *cbbL* 丰度比 *cbbM* 高 3 个数量级, 且多样性高于 *cbbM*.

(2) 不同稻田土壤的碳同化微生物群落组成存在明显差异, 且具有共有和各自特有的优势种群, 这些微生物多为变形菌和放线菌.

(3) 土壤性质的不同会导致固碳微生物功能基因丰度和多样性的变化, SOC 和 CEC 是编码 *cbbL* 和 *cbbM* 基因的功能微生物群落结构的显著影响因素.

#### 参考文献:

- [1] 陈晓娟, 吴小红, 简燕, 等. 农田土壤自养微生物碳同化潜力及其功能基因数量、关键酶活性分析[J]. 环境科学, 2014, **35**(3): 1144-1150.  
Chen X J, Wu X H, Jian Y, et al. Carbon dioxide assimilation potential, functional gene amount and RubisCO activity of autotrophic microorganisms in agricultural soils [J]. Environmental Science, 2014, **35**(3): 1144-1150.
- [2] Ge T D, Yuan H Z, Zhu H H, et al. Biological carbon assimilation and dynamics in a flooded rice-soil system[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2012, **48**: 39-46.
- [3] IPCC. Climate Change 1995: The Science of Climate Change [M]. Cambridge, UK: Cambridge University Press, 1995.
- [4] IPCC. Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [M]. Geneva, Switzerland: Cambridge University Press, 2007.
- [5] Yuan H Z, Ge T D, Chen C Y, et al. Significant role for microbial autotrophy in the sequestration of soil carbon [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, **78**(7): 2328-2336.

- [ 6 ] Wu X H, Ge T D, Yuan H Z, *et al.* Changes in bacterial CO<sub>2</sub> fixation with depth in agricultural soils[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, **98**(5): 2309-2319.
- [ 7 ] Berg I A. Ecological aspects of the distribution of different autotrophic CO<sub>2</sub> fixation pathways [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, **77**(6): 1925-1936.
- [ 8 ] Tabita F R. Microbial ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase: a different perspective[J]. *Photosynthesis Research*, 1999, **60**(1): 1-28.
- [ 9 ] Tabita F R, Satagopan S, Hanson T E, *et al.* Distinct form I, II, III, and IV Rubisco proteins from the three kingdoms of life provide clues about Rubisco evolution and structure/function relationships[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2008, **59**(7): 1515-1524.
- [ 10 ] Bassham J A, Benson A A, Kay L D, *et al.* The path of carbon in photosynthesis. XXI. the cyclic regeneration of carbon dioxide acceptor[J]. *Journal of the American Chemical Society*, 1954, **76**(7): 1760-1770.
- [ 11 ] Nanba K, King G M, Dunfield K. Analysis of facultative lithotroph distribution and diversity on volcanic deposits by use of the large subunit of ribulose 1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, **70**(4): 2245-2253.
- [ 12 ] Alfreider A, Vogt C, Hoffmann D, *et al.* Diversity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large-subunit genes from groundwater and aquifer microorganisms[J]. *Microbial Ecology*, 2003, **45**(4): 317-328.
- [ 13 ] Yuan H Z, Ge T D, Zou S Y, *et al.* Effect of land use on the abundance and diversity of autotrophic bacteria as measured by ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) large subunit gene abundance in soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, **49**(5): 609-616.
- [ 14 ] Yuan H Z, Ge T D, Wu X H, *et al.* Long-term field fertilization alters the diversity of autotrophic bacteria based on the ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) large-subunit genes in paddy soil [ J ]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, **95**(4): 1061-1071.
- [ 15 ] Selesi D, Schmid M, Hartmann A. Diversity of green-like and red-like ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large-subunit genes (*cbbL*) in differently managed agricultural soils [ J ]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(1): 175-184.
- [ 16 ] Yousuf B, Keshri J, Mishra A, *et al.* Application of targeted metagenomics to explore abundance and diversity of CO<sub>2</sub>-fixing bacterial community using *cbbL* gene from the rhizosphere of *Arachis hypogaea*[J]. *Gene*, 2012, **506**(1): 18-24.
- [ 17 ] Yuan H Z, Ge T D, Chen X B, *et al.* Abundance and diversity of CO<sub>2</sub>-assimilating bacteria and algae within red agricultural soils are modulated by changing management practice[J]. *Microbial Ecology*, 2015, **70**(4): 971-980.
- [ 18 ] Miltner A, Kopinke F D, Kindler R, *et al.* Non-photosynthetic CO<sub>2</sub> fixation by soil microorganisms[J]. *Plant and Soil*, 2005, **269**(1): 193-203.
- [ 19 ] Xiao K Q, Nie S A, Bao P, *et al.* Rhizosphere effect has no effect on marker genes related to autotrophic CO<sub>2</sub> fixation in paddy soils? [ J ]. *Journal of Soils and Sediments*, 2014, **14**(6): 1082-1087.
- [ 20 ] 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.
- [ 21 ] Lukow T, Dunfield P F, Liesack W. Use of the T-RFLP technique to assess spatial and temporal changes in the bacterial community structure within an agricultural soil planted with transgenic and non-transgenic potato plants [ J ]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, **32**(3): 241-247.
- [ 22 ] Shannon C E. A mathematical theory of communication[J]. *Acm Sigmoble Mobile Computing and Communications Review*, 2001, **5**(1): 3-55.
- [ 23 ] 沈冰洁, 祝贞科, 袁红朝, 等. 不同种植方式对亚热带红壤微生物多样性的影响[J]. *环境科学*, 2015, **36**(10): 3839-3844.
- Shen B J, Zhu Z K, Yuan H Z, *et al.* Effects of different plantation type on the abundance and diversity of soil microbes in subtropical red soils [ J ]. *Environmental Science*, 2015, **36**(10): 3839-3844.
- [ 24 ] Xiao K Q, Bao P, Bao Q L, *et al.* Quantitative analyses of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) large-subunit genes (*cbbL*) in typical paddy soils [ J ]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, **87**(1): 89-101.
- [ 25 ] Zhang L M, Hu H W, Shen J P, *et al.* Ammonia-oxidizing archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils [ J ]. *The ISME Journal*, 2012, **6**(5): 1032-1045.
- [ 26 ] Stockdale E A, Shepherd M A, Fortune S, *et al.* Soil fertility in organic farming systems-fundamentally different? [ J ]. *Soil Use and Management*, 2002, **18**(1): 301-308.
- [ 27 ] Balesdent J, Chenu C, Balabane M. Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage [ J ]. *Soil and Tillage Research*, 2000, **53**(3-4): 215-230.
- [ 28 ] Selesi D, Pattis I, Schmid M, *et al.* Quantification of bacterial RubisCO genes in soils by *cbbL* targeted real-time PCR [ J ]. *Journal of Microbiological Methods*, 2007, **69**(3): 497-503.

## CONTENTS

|   |   |
|---|---|
| Atmospheric Dry Deposition Fluxes and Seasonal Variations of Particulate Matter and Lead in Urban Beijing .....   | YAO Li, LIU Jin, PAN Yue-peng, <i>et al.</i> ( 423 )                  |
| Pollution Characteristics of Heavy Metals in PM <sub>2.5</sub> and Their Human Health Risks Among the Coastal City Group Along Western Taiwan Straits Region, China .....               | CHEN Yan-ting, DU Wen-jiao, CHEN Jin-sheng, <i>et al.</i> ( 429 )     |
| Correlation of Speciated Mercury with Carbonaceous Components in Atmospheric PM <sub>2.5</sub> in Shengsi Region .....  | CHENG Na, QIAN Guan-lei, DUAN Lian, <i>et al.</i> ( 438 )             |
| Compositions and Sources of Summertime Dicarboxylic Acids and Related SOA in PM <sub>2.5</sub> from Mt. Taishan .....   | MENG Jing-jing, HOU Zhan-fang, LIU Xiao-di, <i>et al.</i> ( 445 )     |
| Variation Characteristics and Health Risk Assessment of BTEX in the Atmosphere of Northern Suburb of Nanjing .....  | ZHANG Yu-xin, AN Jun-lin, WANG Jian-yu, <i>et al.</i> ( 453 )         |
| Inventory and Environmental Impact of VOCs Emission from Anthropogenic Source in Chang-Zhu-Tan Region .....   | YOU Xiang-yu, LUO Da-tong, LIU Zhan, <i>et al.</i> ( 461 )            |
| Characteristics of Methane Emission from Urban Traffic in Nanjing .....   | ZHANG Xue, HU Ning, LIU Shou-dong, <i>et al.</i> ( 469 )              |
| Variations in Aerosol Optical Depth over Three Northeastern Provinces of China, in 2003-2014 .....  | ZHANG Chen-he, ZHAO Tian-liang, WANG Fu, <i>et al.</i> ( 476 )        |
| Variation Analysis of Daily PM <sub>2.5</sub> Concentrations Based on Boosted Regression Tree: A Case Study in Changzhou .....  | GE Yue, WANG Ming-xin, SUN Xiang-wu, <i>et al.</i> ( 485 )            |
| Characteristics of Mercury Emissions from Coal-fired Power Plants in Chongqing .....  | ZHANG Cheng, ZHANG Ya-hui, WANG Yong-min, <i>et al.</i> ( 495 )       |
| Possible Sources of PCDD/Fs in Atmosphere of a Certain District in Guangdong .....  | FU Jian-ping, HAN Jing-lei, YU Xiao-wei, <i>et al.</i> ( 502 )        |
| Sources and Pollution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes and Conditional Pathogenic Bacteria in Concentrated Poultry Feeding Operations .....                               | GAO Min, QIU Tian-lei, QIN Yu-cheng, <i>et al.</i> ( 510 )            |
| Distribution and Burial Characteristics of Nitrogen Forms in Sediment of Dianchi Lake During Last Century .....   | WU Ya-lin, LI Shuai-dong, JIANG Jun-wu, <i>et al.</i> ( 517 )         |
| Temporal and Spatial Variations of Dissolved Inorganic Carbon and Its Stable Isotopic Composition in the Surface Stream of Karst Groundwater Recharge .....                             | LI Li, PU Jun-bing, LI Jian-hong, <i>et al.</i> ( 527 )               |
| Succession Pattern of Phytoplankton of Daning River in the Three Gorges Reservoir and Its Driving Factors .....   | ZHANG Jia-lei, ZHENG Bing-hui, LIU De-fu, <i>et al.</i> ( 535 )       |
| Response of the Water Quality of a Stratified Reservoir to an Extreme El Niño Event During Summer .....   | QIU Xiao-peng, HUANG Ting-lin, ZENG Ming-zheng, <i>et al.</i> ( 547 ) |
| Effect of Coupling Process of Wetting-Drying Cycles and Seasonal Temperature Increasing on Sediment Nitrogen Minerization in the Water Level Fluctuating Zone .....                     | LIN Jun-jie, LIU Dan, ZHANG Shuai, <i>et al.</i> ( 555 )              |
| Photo-induced Phosphate Release from Organic Phosphorus Decomposition Driven by Fe(III)-oxalate Complex in Lake Water .....   | JIANG Yong-can, PENG Yun-xiao, LIU Guang-long, <i>et al.</i> ( 563 )  |
| Preparation and Phosphorus Removal Mechanism of Highly Efficient Phosphorus Adsorbent Mg/Al-LDO .....   | WANG Wei-dong, HAO Rui-xia, ZHANG Xiao-xian, <i>et al.</i> ( 572 )    |
| Efficiency and Mechanism of Nitrogen and Phosphorus Removal in Modified Zeolite Wetland .....   | WU Peng, LU Shuang-jun, XU Le-zhong, <i>et al.</i> ( 580 )            |
| Repression of Nitrogen and Phosphorus Release from Lakeshore Sediment by Five Littoral-zone Plants .....  | YAO Cheng, HU Xiao-zhen, LU Shao-yong, <i>et al.</i> ( 589 )          |
| Simulated Desorption Kinetics of Lead by the Dominant Plant Roots Released Low Molecular Weight Organic Acids from the Water-Level-Fluctuating Zone in the Three Gorges Reservoir ..... | HE Yuan-jie, LIU Jiang, JIANG Tao, <i>et al.</i> ( 600 )              |
| Experimental Research of Hg <sup>2+</sup> Removal by TiO <sub>2</sub> /Bentonite Composite .....  | TANG Xing-ping, ZHOU Xiong, ZHANG Jin-yang, <i>et al.</i> ( 608 )     |
| Impact of Ammonia and H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> on Bromate and Disinfection By-products Control .....   | WANG Yong-jing, DU Xu, JIN Meng, <i>et al.</i> ( 616 )                |
| Influencing Factors of Bacterial Activity in Water Distribution Networks .....  | WANG Xiao-dan, ZHAO Xin-hua, <i>et al.</i> ( 622 )                    |
| Adsorptive Remediation of Cr(VI) Contaminated Groundwater with Chemically Synthesized Schwertmannite .....  | ZHU Li-chao, LIU Yuan-yuan, LI Wei-min, <i>et al.</i> ( 629 )         |
| Characteristics and Mechanism of Hybrid Ozonation-Coagulation Process in Wastewater Reclamation .....   | HOU Rui, JIN Xin, JIN Peng-kang, <i>et al.</i> ( 640 )                |
| Nitrogen Removal Effect and Conversion Characteristics of Nitrous Oxide in Single-stage and Multi-stage A/O Processes .....   | GUO Chang-zi, ZHANG Feng-yan, LIU Fu-yu, <i>et al.</i> ( 647 )        |
| Nitrogen Removal Performance of ANAMMOX with Different Organic Carbon Sources .....   | GUAN Yong-jie, YU De-shuang, LI Jin, <i>et al.</i> ( 654 )            |
| Operational Performance and Microbial Community Structure in a Completely Mixed Aeration System .....   | WANG Shuo, XU Qiao, ZHANG Guang-sheng, <i>et al.</i> ( 665 )          |
| Start-up of Combined Floc-granule CANON Process and the Effects of SRT on Reactor Performance .....   | SUN Yan-fang, HAN Xiao-yu, ZHANG Shun-jun, <i>et al.</i> ( 672 )      |
| Effects of Free Ammonia Regulation on the Performance of High Solid Anaerobic Digesters with Dewatered Sludge .....   | DAI Xiao-hu, HE Jin, YAN Han, <i>et al.</i> ( 679 )                   |
| Highly Efficient Bioflocculation of Microalgae Using <i>Mucor circinelloides</i> .....  | GU Qiong, JIN Wen-biao, CHEN Yuan-qing, <i>et al.</i> ( 688 )         |
| Effect of Zero Valent Iron on the Decline of Tetracycline Resistance Genes and Class 1 Integrons During Thermophilic Anaerobic Digestion of Sludge .....                                | WEI Xin, XUE Shun-li, YANG Fan, <i>et al.</i> ( 697 )                 |
| Concentration, Sources and Ecological Risks of PAHs of Different Land Use Types in Shenfu New City .....  | WANG Jing, LIU Ming-li, ZHANG Shi-chao, <i>et al.</i> ( 703 )         |
| Compositions, Sources and Health Risks of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) in Surface Dusts from Driving-schools in a City of Henan Province, China .....                        | CHEN Yi-nan, MA Jian-hua, DUAN Hai-jing, <i>et al.</i> ( 711 )        |
| Remediation of Decabromodiphenyl Ether Contaminated Sediment Through Plant Roots Enhanced by Exogenous Microbes .....   | YANG Lei-feng, YIN Hua, PENG Hui, <i>et al.</i> ( 721 )               |
| Impacts of Bioremediation on Microbial Communities and Different Forms of Nitrogen in Petroleum Contaminated Soil .....   | YE Xi-qiong, WU Man-li, CHEN Kai-li, <i>et al.</i> ( 728 )            |
| Effects of <i>Rhodospseudomonas palustris</i> PSB06 on Pepper Rhizosphere Microbial Community Structure .....   | LUO Lu-yun, JIN De-cai, ZUO Hui, <i>et al.</i> ( 735 )                |
| Effect of Reclaimed Water on Bacterial Community Composition and Function in Urban River Sediment .....   | DI Yan-ming, WANG Guang-xuan, HUANG Xing-ru, <i>et al.</i> ( 743 )    |
| Effects of Different Vegetation Types and Reclamation Years on Soil Bacterial Community Structure in Reclaimed Mine Areas .....   | HE Long, LI Yan-qin, LI Bin-chun, <i>et al.</i> ( 752 )               |
| Characteristic of Abundances and Diversity of Carbon Dioxide Fixation Microbes in Paddy Soils .....   | LIU Qiong, WEI Xiao-meng, WU Xiao-hong, <i>et al.</i> ( 760 )         |
| Effects of Biochar Pyrolyzed at Varying Temperatures on Soil Organic Carbon and Its Components: Influence on the Composition and Properties of Humic Substances .....                   | ZHAO Shi-xiang, YU Xiao-ling, LI Zhong-hui, <i>et al.</i> ( 769 )     |
| Straw Composts with Composite Inoculants and Their Effects on Soil Carbon and Nitrogen Contents and Enzyme Activity .....   | NIE Wen-han, QI Zhi-ping, FENG Hai-wei, <i>et al.</i> ( 783 )         |
| Comparative Analysis on Effect of Wheat Straw and Its Biochar Amendment on Net Global Warming Potential Under Wheat-Maize Rotation Ecosystem in the Guanzhong Plain .....               | CHENG Gong, CHEN Jing, LIU Jing-jing, <i>et al.</i> ( 792 )           |
| Isolation and Identification of a Chlorobenzene-degrading Bacterium and Its Degradation Characteristics .....   | YE Jie-xu, LIN Tong-hui, LUO Yu-hao, <i>et al.</i> ( 802 )            |
| Isolation, Identification and Metabolic Characteristics of a Heterotrophic Denitrifying Sulfur Bacterial Strain .....   | TAN Wen-bo, MA Xiao-dan, HUANG Cong, <i>et al.</i> ( 809 )            |
| Effects of Continuous Application of Sewage Sludge Compost on Heavy Metals Accumulation and Mobility Characteristics in Soil Profile and on Heavy Metals Uptake of Wheat .....          | SUN Na, SHANG He-ping, RU Shu-hua, <i>et al.</i> ( 815 )              |
| Effects of Nitrogen Application on Selenium Uptake, Translocation and Distribution in Winter Wheat .....  | CHEN Yu-peng, PENG Qin, LIANG Dong-li, <i>et al.</i> ( 825 )          |
| Accumulation and Biotransformation in Typical Freshwater Algae Species Influenced by Titanium Dioxide Nanoparticles Under Long-term Exposure .....                                      | LI Jin-li, WANG Zhen-hong, YAN Ya-meng, <i>et al.</i> ( 832 )         |
| Sorption of <i>p</i> -Nitrophenol by Biochars of Corn cob Prepared at Different Pyrolysis Temperatures .....  | MA Feng-feng, ZHAO Bao-wei, <i>et al.</i> ( 837 )                     |

# 《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 赵进才

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军  
朱永官 刘志培 刘 毅 汤鸿霄 孟 伟 周宗灿 林金明  
赵进才 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞  
黄耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

## 环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2017年2月15日 第38卷 第2期

## ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 38 No. 2 Feb. 15, 2017

|         |  |                  |    |   |
|---------|--|------------------|----|---|
| 主 管     | 中国科学院  | Superintended    | by | Chinese Academy of Sciences   |
| 主 办     | 中国科学院生态环境研究中心  | Sponsored        | by | Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences   |
| 协 办     | (以参加先后为序)<br>北京市环境保护科学研究院<br>清华大学环境学院  | Co-Sponsored     | by | Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection<br>School of Environment, Tsinghua University  |
| 主 编     | 赵进才  | Editor-in -Chief |    | ZHAO Jin-cai  |
| 编 辑     | 《环境科学》编辑委员会<br>北京市2871信箱(海淀区双清路<br>18号, 邮政编码:100085)<br>电话:010-62941102, 010-62849343<br>传真:010-62849343<br>E-mail: hjkx@rcees. ac. cn<br>http://www. hjkx. ac. cn | Edited           | by | The Editorial Board of Environmental Science ( HUANJING KEXUE)<br>P. O. Box 2871, Beijing 100085, China<br>Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343<br>E-mail: hjkx@rcees. ac. cn<br>http://www. hjkx. ac. cn |
| 出 版     | 科 学 出 版 社<br>北京东黄城根北街16号<br>邮政编码:100717  | Published        | by | Science Press<br>16 Donghuangchenggen North Street,<br>Beijing 100717, China  |
| 印 刷 装 订 | 北京宝昌彩色印刷有限公司   | Printed          | by | Beijing Baochang Color Printing Co., Ltd.   |
| 发 行     | 科 学 出 版 社<br>电话:010-64017032<br>E-mail: journal@ mail. sciencep. com   | Distributed      | by | Science Press<br>Tel:010-64017032<br>E-mail: journal@ mail. sciencep. com   |
| 订 购 处   | 全国各地邮电局  | Domestic         |    | All Local Post Offices in China   |
| 国外总发行   | 中国国际图书贸易集团有限公司<br>(北京399信箱)  | Foreign          |    | China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China  |

中国标准刊号: ISSN 0250-3301  
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 140.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行

ISSN 0250-3301



9 770250 330172