

# 环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第5期

Vol.39 No.5

**2018**

中国科学院生态环境研究中心 主办  
科学出版社 出版



目次

餐饮行业细颗粒物(PM<sub>2.5</sub>)排放测算方法:以上海市为例 ..... 王红丽, 景盛翱, 楼晟荣, 陶士康, 乔利平, 李莉, 黄成, 林立, 陈长虹 (1971)

上海夏季PM<sub>2.5</sub>中有机物的组分特征、空间分布和来源 ..... 高雅琴, 王红丽, 景盛翱, 乔利平, 李莉, 朱书慧, 楼晟荣, 陶士康, 冯加良, 李想, 陈长虹 (1978)

北京南郊区PM<sub>2.5</sub>中水溶性无机盐季节变化及来源分析 ..... 高韩钰, 魏静, 王跃思 (1987)

基于样方法的天津市春季道路扬尘PM<sub>2.5</sub>中水溶性离子特征及来源解析 ..... 赵静琦, 姬亚芹, 张蕾, 王士宝, 李越洋 (1994)

广州秋季HONO污染特征及夜间来源分析 ..... 田智林, 杨闻达, 虞小芳, 张曼曼, 张贺伟, 程丁, 程鹏, 王伯光 (2000)

基于硫氧同位素研究南京北郊夏季大气中硫酸盐来源及氧化途径 ..... 韩珣, 任杰, 陈善莉, 王瑾瑾, 沈潇雨, 魏英, 郭照冰, 朱彬 (2010)

区县尺度机动车高分辨率排放清单建立方法及应用 ..... 樊守彬, 郭津津, 李雪峰 (2015)

典型工业生物质锅炉多环芳烃排放特征 ..... 林玉君, 白莉, 王焕香, 肖文, 刘军, 向运荣, 张春林 (2023)

多时间尺度HSPF模型参数不确定性研究 ..... 庞树江, 王晓燕, 马文静 (2030)

氮氧同位素联合稳定同位素模型解析水源地氮源 ..... 金赞芳, 张文辽, 郑奇, 朱晨阳, 李非里 (2039)

白洋淀水体挥发性有机物污染特征与风险评价 ..... 高秋生, 赵永辉, 焦立新, 田自强, 杨柳, 杨苏文, 崔志丹, 郝子峰 (2048)

太湖颗粒态有机质的荧光特征及环境指示意义 ..... 吕伟伟, 姚昕, 张保华, 刘延龙, 李元鹏 (2056)

长江口滩涂表层沉积物中微塑料的分布及沉降特点 ..... 朱晓桐, 衣俊, 强丽媛, 程金平 (2067)

桂林五里峡水库丰水期溶解有机碳特征 ..... 卢晓漩, 李强, 靳振江, 彭文杰, 房君佳, 黄炳惠, 宋昂 (2075)

青藏高原多年冻土区典型植被下河流溶解性有机碳的生物可利用性 ..... 马小亮, 刘桂民, 吴晓东, 徐海燕, 叶琳琳, 张晓兰, 白炜 (2086)

城郊与城镇河流中溶解性有机质与重金属的相关性 ..... 梁梦琦, 邵美玲, 曹昌丽, 纵亚男, 唐剑锋 (2095)

溶解性有机质在岩溶水系统中的迁移转化及影响因素分析 ..... 张连凯, 刘朋雨, 覃小群, 单晓静, 刘文, 赵振华, 姚昕, 邵明玉 (2104)

三峡库区澎溪河回水区溶解态金属离子来源和时空分布特征分析 ..... 赵晓松, 蔚建军, 付莉, 姜伟, 周川, 李波, Douglas Haffner, Christopher Weisener, 张磊 (2117)

澜沧江流域沉积物间隙水-上覆水营养盐特征与交换通量分析 ..... 望雪, 程豹, 杨正健, 刘德富, 徐雅倩 (2126)

蓄水期三峡水库香溪河沉积物-水系统营养盐分布特征 ..... 苏青青, 刘德富, 纪道斌, 宋林旭, 崔玉洁, 李欣, 陈秀秀, 刘心愿 (2135)

两种水生植物对上覆水和间隙水中各形态磷的影响 ..... 杨文斌, 高顺峰, 万锐, 孙祥, 王赢 (2145)

于桥水库沉积物-水界面氮磷剖面特征及交换通量 ..... 文帅龙, 龚琬晴, 吴涛, 郑小兰, 江雪, 李鑫, 钟继承 (2154)

岷江干流表层沉积物中磷形态空间分布特征 ..... 杨耿, 秦延文, 韩超南, 马迎群, 刘志超, 杨晨晨 (2165)

农业排水沟渠硝态氮吸收动力学特征及相关性分析 ..... 李如忠, 殷齐贺, 高苏蒂, 陈广州 (2174)

不同合成条件对ZnAl-LDHs覆膜改性生物陶粒除磷效果的影响 ..... 向洋, 张翔凌, 雷雨, 方晨佳, 袁野, 姜应和, 徐舟影 (2184)

真空紫外/过二硫酸盐去除饮用水中嗅味物质 ..... 孙昕, 史路肖, 张燧, 杨煜, 唐晓 (2195)

石墨烯负载铁锰氧化物活化过一硫酸盐降解金橙G ..... 夏文君, 刘锋, 郝尚斌, 黄天寅, 王忠明, 陈家斌 (2202)

载镧或铈生物炭吸附水体中As(V)的作用机制 ..... 李锦, 祖艳群, 李刚, 孙国新 (2211)

DOM不同相对分子质量组分在无机矿物上的吸附及其对卡马西平吸附的影响实验 ..... 梁雨, 何江涛, 张思 (2219)

污水处理厂中有机磷阻燃剂的污染特征 ..... 孙佳薇, 丁炜楠, 张占恩, 王俊霞, 顾海东 (2230)

低温污水前置强化混凝 ..... 刘海龙, 任宇霞, 张忠民 (2239)

印染废水反渗透脱盐系统运行性能及膜污堵特性 ..... 谭玉琚, 张泽田, 吴乾元, 姚颖, 胡洪营, 丘培文 (2249)

生物膜CANON反应器性能的优化:从FBBR到MBBR ..... 付昆明, 李慧, 周厚田, 仇付国 (2256)

两次污泥颗粒化过程中微生物群落的动态变化 ..... 高景峰, 张丽芳, 张树军, 高永青, 王时杰, 樊晓燕, 潘凯玲 (2265)

铝、铁、钛3种金属盐基混凝剂调理污泥的性能比较 ..... 王晓萌, 王鑫, 杨明辉, 张淑娟 (2274)

热、热碱处理对污泥溶胞和溶解性有机物的影响 ..... 代勤, 张文哲, 于潘芬, 易皓, 刘俊新, 肖本益 (2283)

曝气时间对比亚硝化颗粒污泥形成的影响 ..... 李冬, 郭跃洲, 曹美忠, 劳会妹, 李帅, 张杰 (2289)

中国城市污泥中汞含量的时空分布特征 ..... 王宁, 刘清伟, 职音, 程柳, 麻冰涓, 毛宇翔 (2296)

夏季太湖草/藻型湖区N<sub>2</sub>O生成与迁移特征及其影响因素 ..... 郑小兰, 文帅龙, 李鑫, 龚琬晴, 刘德鸿, 钟继承 (2306)

太湖藻型湖区CH<sub>4</sub>、CO<sub>2</sub>排放特征及其影响因素分析 ..... 贾磊, 蒲旖旎, 杨诗俊, 苏荣明珠, 秦志昊, 张弥 (2316)

内蒙古典型草原季节性冻土区土壤剖面CO<sub>2</sub>、N<sub>2</sub>O特征 ..... 李晋波, 姚楠, 李秀, 赵英, 张阿凤, 兰志龙, 范庭 (2330)

黄土高原成龄苹果园生态系统CO<sub>2</sub>通量特征 ..... 杨剑锋, 杨小妮, 王俊花, 段宇敏, 祁香宁, 张林森 (2339)

生物炭施用对紫色水稻土温室气体排放的影响 ..... 祁乐, 高明, 郭晓敏, 牛海东, 李婷, 孙涛, 曹群玲, 汤稼豪 (2351)

不同施肥处理对东北黑土温室气体排放的短期影响 ..... 李平, 郎漫, 李森, 魏玮, 李凯凯 (2360)

ITS高通量测序研究黄海微型真核浮游生物多样性及分布特征 ..... 张莉, 林佳宁, 张远, 王书平, 张晓娇 (2368)

不同排海方式城市尾水微生物扩散规律 ..... 郎秀璐, 宋志文, 徐爱玲, 牛成洁, 郭明月 (2380)

旅游活动对岩溶洞穴地下水中细菌群落的影响:以重庆丰都两个洞穴为例 ..... 吕现福, 贺秋芳, 王凤康, 赵瑞一, 张弘 (2389)

不同沼灌年限稻田土壤微生物群落分析 ..... 朱金山, 张慧, 马连杰, 廖敦秀, 杨星勇, 王龙昌, 王定勇 (2400)

生物炭对褐土理化特性及真菌群落结构的影响 ..... 阎海涛, 殷金玉, 丁松爽, 任天宝, 许家来, 宗浩, 高强, 刘国顺 (2412)

铅锌尾矿砂污染下的岩溶土壤微生物群落碳源代谢特征 ..... 房君佳, 李强, 刘畅, 靳振江, 梁月明, 黄炳惠, 卢晓漩, 彭文杰 (2420)

湖库沉积物好氧反硝化菌群脱氮特性及种群结构 ..... 康鹏亮, 张海涵, 黄廷林, 陈胜男, 商潘路, 冯稷, 贾克宇 (2431)

反硝化菌群的氮代谢与反硝化偶联机制 ..... 张泽宇, 王明霞, 程永毅, 周志峰 (2438)

广西西江流域土壤铅空间分布与污染评价 ..... 张云霞, 宋波, 陈同斌, 伏凤艳, 黄飞, 庞瑞, 潘惠妹 (2446)

三峡库区消落带农业活动对土壤汞变化的影响 ..... 陈秋禹, 孙松, 尹德良, 王永敏, 张成, 王定勇 (2456)

水稻不同生长时期不同组织中抗内生菌的筛选与鉴定 ..... 王伯勋, 王学东, 段桂兰 (2464)

汞在酸性紫色水稻土的转化与水稻汞富集特征 ..... 李雨琴, 孙涛, 邓晗, 张成, 王永敏, 王定勇 (2472)

华北平原不同生产模式设施蔬菜生命周期环境影响评价 ..... 徐强, 胡克林, 李季, 韩卉, 杨合法 (2480)

基于细菌毒性测试与小鼠肺基因转录分析的PM<sub>2.5</sub>健康效应 ..... 宋鹏程, 陆书玉, 魏永杰, 陈倩倩, 罗丽娟 (2489)

中国PM<sub>2.5</sub>污染空间分布的社会经济影响因素分析 ..... 段杰雄, 翟卫欣, 程承旗, 陈波 (2498)

《环境科学》征订启事(2094) 《环境科学》征稿简则(2164) 信息(2183, 2411, 2445)

# 水稻不同生长时期不同组织中抗砷内生菌的筛选与鉴定

王伯勋<sup>1,2</sup>, 王学东<sup>1\*</sup>, 段桂兰<sup>2\*</sup>

(1. 首都师范大学资源环境与旅游学院, 北京 100048; 2. 中国科学院生态环境研究中心土壤环境研究室, 北京 100085)

**摘要:** 微生物对于土壤-植物系统中砷的迁移转化有重要作用, 植物内生菌是一种极其丰富的微生物资源, 但至今尚未有研究报道植物内生菌对砷污染的响应. 采用组织分离法和涂布平板法, 以水稻(甬优-538)为研究对象, 分别于水稻幼苗期、分蘖期、开花期和成熟期(2015年5~8月)分离根部、茎部、叶部、穗部(仅成熟期)可培养内生细菌, 并通过 16S rDNA 序列进行菌种鉴定. 对分离所得内生菌先用 1 mmol·L<sup>-1</sup> 亚砷酸钠[As(Ⅲ)]和 10 mmol·L<sup>-1</sup> 砷酸钠[As(V)]进行抗砷筛选, 再用 2 mmol·L<sup>-1</sup> 的 As(Ⅲ)和 20 mmol·L<sup>-1</sup> 的 As(V)对初筛抗砷菌株进行复筛, 以鉴定内生菌对不同砷形态的抗性. 结果表明:共获得 126 株水稻内生菌, 归为 13 个属, 水稻幼苗期分离出 8 个属共 37 株菌; 分蘖期分离出 5 个属共 25 株菌; 开花期分离出 8 个属共 24 株菌; 成熟期分离出 8 个属共 30 株菌. 主要优势菌属为芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)和不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.). 抗砷初筛实验中得到 20 株菌对 1 mmol·L<sup>-1</sup> 的 As(Ⅲ)和 10 mmol·L<sup>-1</sup> 的 As(V)的抗性较强, 复筛发现其中 16 株菌对 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ)有较强抗性, 13 株菌对 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V)有较强抗性, 其中菌株 CS1 对两种形态砷的耐性最显著.

**关键词:** 水稻; 砷; 内生菌; 16S rDNA; 抗砷性

中图分类号: X171; X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)05-2464-08 DOI: 10.13227/j.hjck.201709184

## Screening and Identification of Arsenic-resistant Endophytic Bacteria from Different Rice Tissues (*Oryza sativa* L.) in Different Growth Stages

WANG Bo-xun<sup>1,2</sup>, WANG Xue-dong<sup>1\*</sup>, DUAN Gui-lan<sup>2\*</sup>

(1. College of Resource Environment and Tourism, Capital Normal University, Beijing 100048, China; 2. Department of Soil Environmental Science, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

**Abstract:** Soil microorganisms are critical for arsenic transport and transformation in the soil-plant system. Endophytes are a very rich microbial resource, but to date no study has reported the responses of endophytes to arsenic pollution. In this study, the cultivable endophytic bacteria were isolated from the root, stem, leaf, and panicle of rice (*Oryza sativa* L. cv. Yongyou-538) at the seedling stage, tillering stage, flowering stage, and productive stage. All isolates were first screened by 1 mmol·L<sup>-1</sup> arsenite [As(Ⅲ)] and 10 mmol·L<sup>-1</sup> arsenate [As(V)], and further screened by 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) and 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V). From this study, a total of 126 strains of rice endophytes were obtained, belonging to 13 genera. Among them, 37 strains (8 genus) were isolated from the rice seedling stage, 25 strains (5 genus) were isolated from the rice tillering stage, 24 strains (8 genus) from the rice flowering stage, and 30 strains (8 genus) from the rice productive stage. The dominant genera were *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., and *Acinetobacter* sp. After twice screening, 20 strains were found to be resistant to 1 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) and 10 mmol·L<sup>-1</sup> As(V), including 16 strains that were resistant to 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) and 13 strains were resistant to 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V). Importantly, the strain CS1 was found to be the most resistant bacteria to both As(Ⅲ) and As(V) among all the isolated strains.

**Key words:** rice; arsenic; endophytic bacteria; 16S rDNA; arsenic resistance

德国科学家 De Bary 最早于 1866 年提出内生菌(endophyte)一词<sup>[1]</sup>. 内生菌不是生物分类学单位, 而是一个生态学概念. 植物内生菌(endophyticbacteria)是指一定阶段或全部阶段生活于健康植物的组织和器官内部的微生物, 学术上对内生菌公认的概念是从经过表面消毒的植物组织器官或植物体内分离提取出来的对植物本身不表现或暂时不表现外在病症的细菌或真菌<sup>[1]</sup>. 植物内生菌的多样性和分布与土壤类型、组织类型、宿主基因型密切相关<sup>[2]</sup>. 大量报道表明, 许多作物中普遍存在内生菌, 在农作物和经济作物中发现的内生菌有

54 个属, 超过 129 种, 其中水稻内生菌有 33 属 64 种<sup>[1,3]</sup>. 植物内生菌可以调节、促进宿主植物生长发育<sup>[4,5]</sup>, 减轻污染物对植物的毒性, 调节宿主植物对矿物质的吸收, 增强对重金属的耐性, 从而提高宿主植物对恶劣生长环境的适应性<sup>[6,7]</sup>. Li 等<sup>[8]</sup>的研究发现接种了内生真菌 EF08-01 的水稻不仅增

收稿日期: 2017-09-20; 修订日期: 2017-11-20

基金项目: 国家自然科学基金项目(41371458, 21677157); 北京市教育委员会科技计划项目(KM201610028012)

作者简介: 王伯勋(1992~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为农田土壤重金属污染修复, E-mail: 864768524@qq.com

\* 通信作者, E-mail: wangxuedong9801@126.com; duangl@rcees.ac.cn

强了对铅的耐性, 而且显著增加了根伸长和干物重; Idris 等<sup>[9]</sup>的研究发现, 从镍超富集植物——遏蓝菜中分离的内生菌株与根际菌株相比, 其对镍的耐性更强。

水稻是人类的主要粮食作物之一, 东亚和东南亚以及大部分发展中国家都以稻米为主食, 中国也是水稻的主要生产和消费国之一。由于淹水的生长条件, 导致水稻比其他粮食作物更容易吸收富集重金属, 如砷, 镉等<sup>[10]</sup>。砷在地壳中的含量占第 20 位, 是一种广泛分布的化学元素, 被世界卫生组织 (WHO) 和美国环保局 (EPA) 定级为一种“已知人类致癌物质”, 人体长期的暴露砷会导致皮肤癌和肝、肾等内脏器官的癌变<sup>[11]</sup>。当前, 东南亚地区许多水稻生产区的土壤和灌溉水砷污染严重, 导致砷在水稻籽粒中积累, 并通过食物链的传递, 严重威胁人体健康。所以, 稻米砷污染问题已成为东南亚地区比较突出且急需解决的环境问题之一, 而解决这一问题的关键途径就是减少水稻对砷的吸收和控制水稻体内砷向籽粒的转移。

许多研究已经证明土壤微生物对土壤中砷的迁移转化有重要作用, 例如, Lomax 等<sup>[12]</sup>报道水稻、番茄和红三叶草等植物都不具备砷甲基化的能力, 植物体内大量积累的甲基砷源于土壤微生物主导的无机砷甲基化过程; Huang 等<sup>[13]</sup>从湖南石门的砷污染水稻土中筛选得到 1 株高效砷甲基化和砷挥发的细菌 SM-1, 在  $10 \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  As (III) 的培养基中生长 12 h, 能将培养基中的无机砷全部转化为有机砷; 另外, Chen 等<sup>[14]</sup>发现土壤中铁还原菌的丰度能显著影响土壤矿物质对砷的吸附解吸, 进而影响土壤中砷的生物有效性。由此可见, 土壤微生物对砷在土壤-植物系统中迁移转化的影响至关重要, 鉴于此, 土壤或水体砷污染的微生物修复技术得到了研究者的广泛关注。植物内生菌是一种极其丰富的新微生物资源, 但至今尚未有研究报道植物内生菌对砷污染的响应, 及其对砷迁移转化的影响。而水稻作为湿生禾本科作物, 是植物与内生菌相互作用的理想模式植物, 因此研究二者之间的作用关系、模式、机制, 对土壤砷污染的生物修复带来了活力与希望<sup>[15]</sup>。

本研究通过分离、鉴定水稻幼苗期、分蘖期、开花期和成熟期不同组织的内生菌, 分析水稻内生菌群落结构的多样性, 揭示内生菌群落结构与水稻组织、生长时期的关系, 并通过评价这些菌株对砷的耐性, 发掘植物抗砷内生菌, 了解其对水稻体内

砷形态转化及对水稻的危害, 以期降低水稻籽粒砷污染风险提供实践指导。

## 1 材料与方法

### 1.1 水稻的培养

实验所用水稻品种为甬优-538, 该品种为籼粳杂交稻 (偏粳), 生育期约为 150 d。选择均匀饱满的种子约 100 粒, 用 30%  $\text{H}_2\text{O}_2$  溶液浸泡消毒 15 min, 然后用自来水清洗干净, 再逐步用去离子水和超纯水各漂洗 5 次。消毒后的种子于  $28^\circ\text{C}$ , 黑暗条件下催芽 2 d, 精选露白种子于珍珠岩中培养 7 d。然后挑选生长一致的幼苗移栽至 PVC 盆钵 (5 L) 中, 每盆装 5 kg 采于湖南祁阳的砷污染土 ( $\text{pH}$ : 6.41, 钾:  $15.59 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 总磷:  $799.8 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 总砷:  $108.86 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ), 每盆种植 4 株幼苗, 设置 4 个重复。为保证植物的正常生长, 施肥包括: 尿素 (含 N 46.6%) 6.48 g、氯化钾 (含  $\text{K}_2\text{O}$  62.9%) 0.72 g 和过磷酸钙 (含  $\text{P}_2\text{O}_5$  14.0%) 1.20 g, 磷钾肥作基肥一次性施用, 氮肥按: 基肥: 苗肥: 分蘖肥: 穗肥为 30%: 25%: 20%: 25% 的比例施用。盆栽水稻于人工气候箱培养 (光照度  $4000 \text{ lx}$ , 光照时长  $12 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ , 温度  $28^\circ\text{C}/20^\circ\text{C}$ , RH 80%), 水稻生长期的水分按常规进行管理。于 2016 年 5~8 月分别采集水稻幼苗期、分蘖期、开花期和成熟期的植株样品。

### 1.2 水稻内生菌的分离

采用组织分离和涂布平板法提取内生菌: 将水稻连根带土挖出, 先用自来水冲洗植株, 再用无菌水冲洗干净, 然后将水稻植株分为根、茎、叶和穗 (仅成熟期) 四部分, 并将样品切成小段, 用无菌滤纸吸干水分。称取水稻组织 5 g 于 50 mL 离心管中, 用 20 mL 5%  $\text{NaClO}$  浸泡 5 min, 用无菌水冲洗干净, 再用 20 mL 75% 酒精浸泡 5 min, 然后用无菌超纯水漂洗 5 次, 最后一次漂洗水涂布于 LB (Luria-Bertani) 培养基进行细菌培养, 若无细菌生长则证明水稻组织表面已完全消毒。将漂洗好的植物组织用无菌滤纸吸干水分, 移入无菌研钵, 并用无菌剪刀将组织剪碎, 加入 10 mL 无菌超纯水, 充分研磨 10 min, 吸取  $100 \mu\text{L}$  研磨液直接涂布于 LB 培养基,  $28^\circ\text{C}$  培养 48 h。待平板上长出菌落后, 挑取特征菌落进行分区划线纯培养, 重复 3 次。再从划线培养的平板上挑取单菌落接种于液体 LB 培养基, 振荡摇床的培养温度为  $28^\circ\text{C}$ , 转速为  $150 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ , 培养 24 h。吸取 0.5 mL 菌液及等体积 50% 的灭菌

甘油于冻存管中,于 $-80^{\circ}\text{C}$ 保存。

### 1.3 抗砷的内生菌筛选

首先将分离所得水稻内生菌种分别划线接种于含有 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(III)}$ ( $\text{NaAsO}_2$ )和 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(V)}$ ( $\text{Na}_3\text{AsO}_4$ )的M9培养基, $30^{\circ}\text{C}$ 培养24 h,观察平板上菌落的生长情况。以野生型大肠杆菌W3110作为对照。

将初筛中同时抗两种形态砷的菌株接种于LB培养基进行活化培养,然后将菌液按10倍的浓度梯度稀释成 $10^{-1}$ 、 $10^{-2}$ 、 $10^{-3}$ 、 $10^{-4}$ 和 $10^{-5}$ 菌液,吸取 $5\ \mu\text{L}$ 稀释菌液,按菌液浓度从低到高的顺序分别滴涂于含有 $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(III)}$ 和 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(V)}$ 的M9固体培养基, $28^{\circ}\text{C}$ 培养48 h,同样以大肠杆菌W3110作为对照。同时将初筛所得菌株接种于含有 $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(III)}$ 和 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(V)}$ 的M9液体培养基, $30^{\circ}\text{C}$ 培养48 h,然后测定菌液在波长为600 nm的吸光度( $D_{600}$ )。

### 1.4 水稻内生菌的菌种鉴定

将供试菌株活化后接种到LB液体培养基中,于 $30^{\circ}\text{C}$ 振荡培养48 h,待菌体生长至对数中后期,离心收集菌体于2 mL离心管中。采用Bacterial DNA Kit(MP Biomedicals,美国)试剂盒提取细菌DNA。具体提取步骤参考试剂盒说明书,DNA的浓度和质量( $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ )用NanoDrop(ND-1000,美国)检测。以提取的内生菌DNA稀释5倍为模板扩增细菌16S rDNA,正向引物为27F(5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCA-3'),反向引物为1492R(5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3')。 $50\ \mu\text{L}$ 的PCR反应体系包括:DNA模板( $10\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ ) $1\ \mu\text{L}$ ,引物( $10\text{ pmol}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ )各 $1\ \mu\text{L}$ , $2\times\text{Go TaqGreenMasterMix}$ (Promega) $25\ \mu\text{L}$ , $\text{ddH}_2\text{O}$  $22\ \mu\text{L}$ 。PCR扩增程序为: $95^{\circ}\text{C}$ 预变性3 min, $95^{\circ}\text{C}$ 变性30 s, $57^{\circ}\text{C}$ 复性30 s, $72^{\circ}\text{C}$ 延伸1.4 min,共35个循环; $72^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。将PCR产物进行序列分析,将测序得到的结果进行拼接。登录NCBI-BLAST进行序列比对,确定其与已知序列的同源关系,序列相似性达到98%以上的归为同一个种。

## 2 结果与分析

### 2.1 水稻各组织可培养内生菌的分离鉴定

通过组织分离和涂布平板法,从4个生长时期共16株水稻的不同组织中分离到126株内生菌。扩增这126个菌株的16S rDNA基因片段(1 320 ~

1 445 bp),并进行同源性比对分析,结果表明,126个菌株可归为13个属(图1),即:不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)、芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)、气单胞菌属(*Aeromonas* sp.)、肠杆菌属(*Enterobacter* sp.)、乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.)、微杆菌属(*Microbacterium* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)、赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus* sp.)、寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas* sp.)、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus* sp.)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter* sp.)、沙雷氏菌属(*Serratia* sp.)、无色杆菌属(*Achromobacter* sp.)。在得到的126个菌株中,主要优势菌群为不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)、假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)和芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.),相对丰度分别为19.84%、15.87%和15.08%。

幼苗期水稻共分离出37个菌株,归为8个属,不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)和芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.)同为主要优势菌,相对丰度均为21.62%;分蘖期水稻共分离出25个菌株,归为5个属,假单胞菌属(*Pseudomonas* sp.)为主要优势菌,相对丰度为36%;开花期水稻共分离出24个菌株,归为8个属,气单胞菌属(*Aeromonas* sp.)为主要优势菌,相对丰度为20.83%;成熟期水稻共分离出30个菌株,归为8个属,不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.)为主要优势菌,相对丰度为35%。可见,水稻在不同生长时期的内生菌群落结构显著不同,其中苗期的内生菌多样性最高。

在水稻的4个生长时期中,均发现赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus* sp.)。除分蘖期,其他3个时期均含有特异性水稻内生细菌,乳杆菌属(*Lactobacillus* sp.)仅分离于幼苗期水稻;类芽孢杆菌属(*Paenibacillus* sp.)仅分离于开花期水稻;柠檬酸杆菌属(*Citrobacter* sp.)、沙雷氏菌属(*Serratia* sp.)、无色杆菌属(*Achromobacter* sp.)仅分离于成熟期水稻。

### 2.2 水稻内生菌对砷的抗性结果

将分离所得菌种分别接种于含有 $1\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(III)}$ 和 $10\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(V)}$ 的M9培养基,进行抗砷初步筛选。将初筛所得20个抗砷菌株AL6~DT6(A:幼苗期,B:分蘖期,C:开花期,D:成熟期;L:叶,S:茎,R:根,T:穗;例如,AL即幼苗期在叶片分离到内生菌)在LB液体培养基中活化,然后将菌液按10倍梯度依次稀释( $10^{-1}\sim 10^{-5}$ ),用 $2\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(III)}$ 和 $20\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ As(V)}$ 进行复

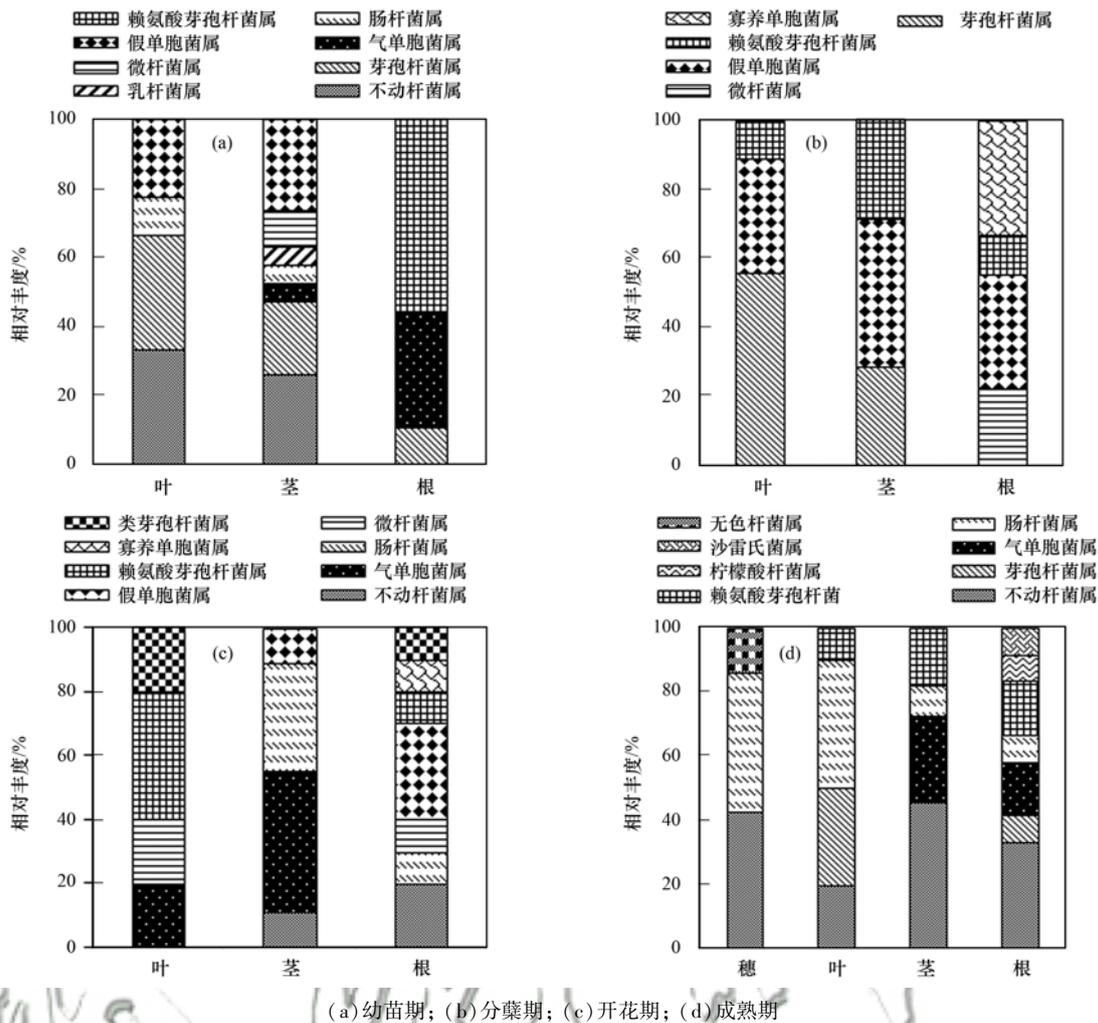


图1 水稻不同生长时期不同组织内生菌组成

Fig. 1 Community of endophytic bacteria in different rice tissues during four growing stages

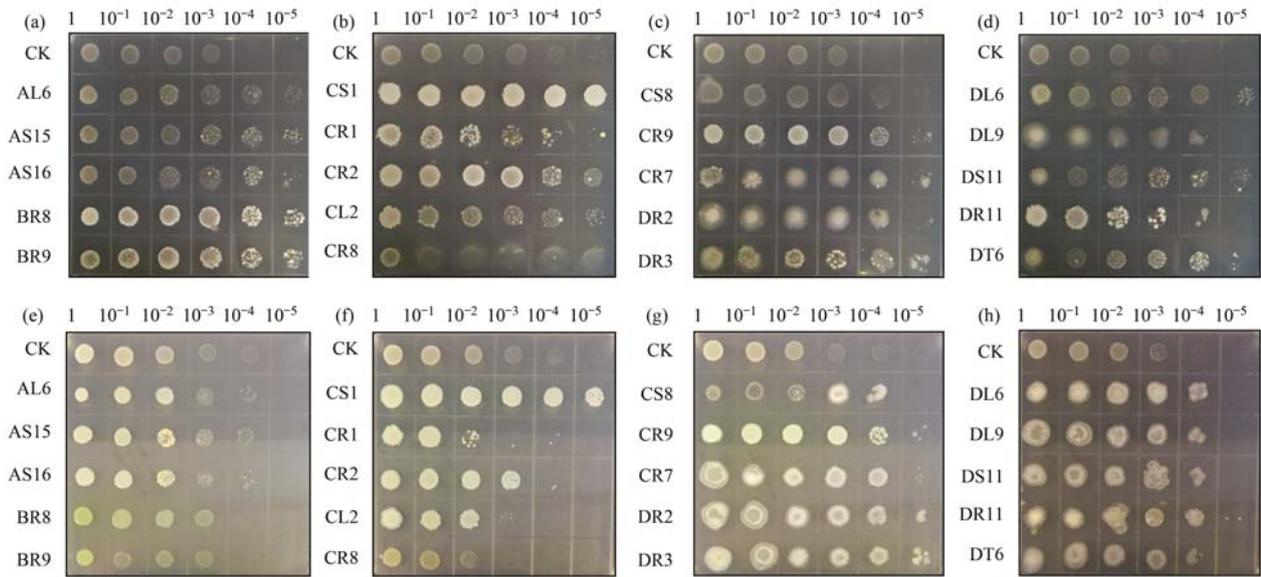
筛,通过观察菌斑的生长情况来进一步判断菌株对砷的耐性.

如图2(a)~2(d)所示,在2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ)处理中,对照*E. coli*随着菌液浓度降低,菌落逐渐变薄,菌落生长情况逐渐减弱,当菌液稀释1万倍时,无正常生长菌落.而其余20个菌株的1万倍稀释菌液的菌落均可以生长,说明这些菌对As(Ⅲ)的抗性强于*E. coli*,而在菌液稀释10万倍时,CR8、CS8、DR2和DL9不能形成菌落,其余16株菌均能形成菌落,说明其对2 mmol·L<sup>-1</sup>的As(Ⅲ)耐性较好.值得注意的是CS1菌的10万倍稀释菌液与原菌液的菌落生长情况无明显差异,说明该菌株对As(Ⅲ)的耐性很好.

如图2(e)~2(h)所示,在20 mmol·L<sup>-1</sup>的As(V)处理中,对照组*E. coli*在稀释1000倍情况下,尚可形成肉眼可见的圆形菌落,但是菌落很薄,颜

色很浅;继续稀释则无正常生长的菌斑.通过对比,可以明显发现,BR8、BR9、CR1、CR2、CL2、CR8和CS8对As(V)的耐性较弱,弱于*E. coli*,其中CR1的抗性最弱,其余14株菌对As(V)的耐性强于*E. coli*,其中对As(Ⅲ)的耐性最好的CS1菌对As(V)的耐性也最强.

将初步筛选所得的20株抗生内生菌分别接种于2 mmol·L<sup>-1</sup>As(Ⅲ)和20 mmol·L<sup>-1</sup>As(V)的M9液体培养基,28℃,150 r·min<sup>-1</sup>振荡培养48 h后测定菌液在波长为600 nm的吸光度.结果如图3(a)所示,在As(Ⅲ)处理条件下,对照组*E. coli*的D<sub>600</sub>值约为1,CR8、CS8、DR2和DL9菌株与对照十分接近,差异不显著;CS1、DL6、DR11菌株的D<sub>600</sub>值在1.5~2之间,明显大于对照,差异极显著(P<0.01);其余13株菌的D<sub>600</sub>值在1.2~1.5之间,差异显著(P<0.05).在As(V)处理条件下



(a) ~ (d) : M9 + 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) 培养基; (e) ~ (h) : M9 + 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V) 培养基

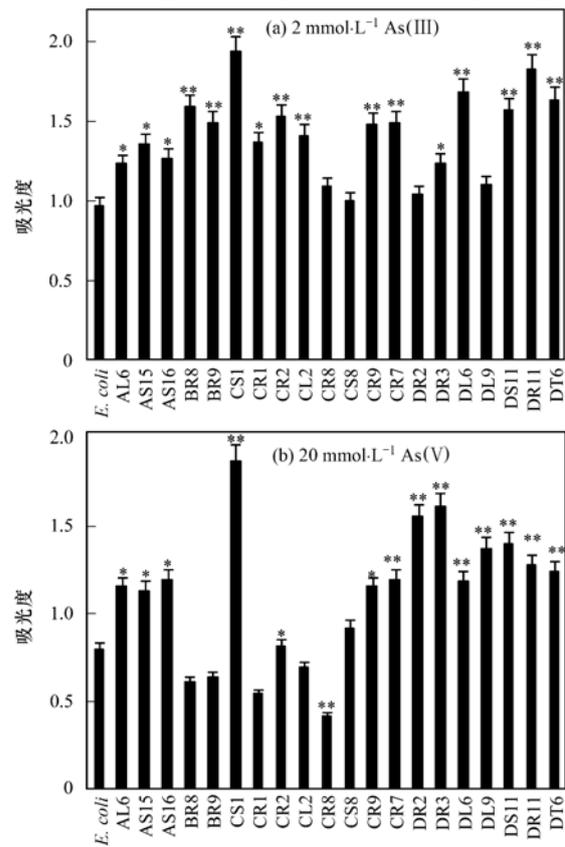
图 2 水稻内生菌对砷的抗性

Fig. 2 Arsenic resistance of endophytic bacteria from rice

[图 3(b)], 对照组 *E. coli* 的  $D_{600}$  值约为 0.8, 其中 BR8、BR9、CR1、CR2、CL2、CR8 和 CS8 这 7 株菌的  $D_{600}$  值均接近甚至小于对照, 而 CS1、DR2 和 DR3 的  $D_{600}$  值明显大于对照, 差异极显著, 其余 10 株菌的生长在 1 ~ 1.5 之间, 差异显著。

菌液稀释涂布结果与菌液的生长情况吻合, 综合分析可知: CS1 与对照相比, 差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 对 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) 的抗性最强; DL6 和 DR11 对 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) 的抗性较好; CS8、CR8、DR8、DL9 和 DS11 对 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) 的抗性与 *E. coli* 相当。CS1、DR2 和 DR3 对 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V) 的抗性较好; BR8、BR9、CR1、CR2、CL2 和 CR8 对 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V) 较敏感。其中, CS1 对 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) 和 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V) 均有很好的抗性, 而 CR8 对 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V) 较敏感。

如表 1 所示, 初筛所得的 20 株抗砷菌中, 共有 7 株为革兰氏阳性菌, 13 株为革兰氏阴性菌。其中 3 株分离于幼苗期水稻, 2 株分离于分蘖期水稻, 8 株分离于开花期水稻, 7 株分离于成熟期水稻。20 株菌中有 4 株分离于叶部组织, 5 株分离于茎部组织, 10 株分离于根部组织, 还有 1 株分离于稻穗组织。从数量上来看, 根部组织所分离的抗砷菌株最多; 开花期和成熟期的抗砷菌株明显大于幼苗期和分蘖期。菌株 CS1 对两种形态砷的抗性最强, 其分离于开花期的水稻茎部组织, 归属于类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus* sp.), 为革兰氏阴性菌。



\* 表示菌液生长与对照存在差异显著 ( $P < 0.05$ );  
\*\* 表示与对照存在差异极显著 ( $P < 0.01$ )

图 3 抗砷内生菌对 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) 或 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V) 的抗性

Fig. 3 Resistance of endophytic bacteria to 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) or 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V)

表 1 20 株抗砷菌的抗砷特性及菌种鉴定<sup>1)</sup>

Table 1 Arsenic resistance and identification of 20 rice endophytes

菌株代码	As(Ⅲ) 耐性		As(V) 耐性		属名	革兰氏染色
	1 mmol·L <sup>-1</sup>	2 mmol·L <sup>-1</sup>	10 mmol·L <sup>-1</sup>	20 mmol·L <sup>-1</sup>		
<i>E. coli</i>	+	-	+	-	埃希氏杆菌属	G <sup>-</sup>
AL6	+	+	+	+	不动杆菌属	G <sup>-</sup>
AS15	+	+	+	+	芽孢杆菌属	G <sup>+</sup>
AS16	+	+	+	+	肠杆菌属	G <sup>-</sup>
BR8	+	+	+	-	假单胞菌属	G <sup>-</sup>
BR9	+	+	+	-	假单胞菌属	G <sup>-</sup>
CS1	+++	+++	+++	+++	类芽孢杆菌属	G <sup>-</sup>
CR1	+	+	+	-	假单胞菌属	G <sup>-</sup>
CR2	+	+	+	-	不动杆菌属	G <sup>-</sup>
CL2	+	+	+	-	微杆菌属	G <sup>+</sup>
CR8	+	-	+	-	气单胞菌属	G <sup>-</sup>
CS8	+	-	+	-	赖氨酸芽孢杆菌	G <sup>+</sup>
CR9	+	+	+	+	气单胞菌属	G <sup>-</sup>
CR7	+	+	+	+	类芽孢杆菌属	G <sup>+</sup>
DR2	+	+	++	++	赖氨酸芽孢杆菌	G <sup>+</sup>
DR3	+	+	++	++	气单胞菌属	G <sup>-</sup>
DL6	++	++	+	+	不动杆菌属	G <sup>-</sup>
DL9	+	-	+	+	赖氨酸芽孢杆菌	G <sup>+</sup>
DS11	+	-	+	+	肠杆菌属	G <sup>-</sup>
DR11	++	++	+	+	节杆菌属	G <sup>+</sup>
DT6	+	+	+	+	肠杆菌属	G <sup>-</sup>

1) G<sup>+</sup>: 革兰氏阳性菌, G<sup>-</sup>: 革兰氏阴性菌; +++: 很好, ++: 较好, +: 一般, -: 差

### 3 讨论

在植物微生态环境中, 不同微生物之间及植物与微生物之间能协同作用, 形成微妙复杂的生态平衡<sup>[16]</sup>。据李龚程等<sup>[1]</sup>报道水稻内生菌种类有 33 属 64 种, 这些内生菌最常见的菌属主要有肠杆菌属 (*Enterobacter* sp.)、芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 等。本研究采用传统的分离培养方法对生长于砷污染土壤中的水稻在 4 个不同生长期的不同组织内生细菌进行分离、纯化和 16S rDNA 鉴定, 并用不同浓度的 As(Ⅲ) 和 As(V) 进行抗性分析。实验分离出 126 株水稻内生菌, 分为 13 个属。其中, 水稻幼苗期、分蘖期、开花期和结实期的主要优势菌为芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.), 这与刘云霞等<sup>[17]</sup>、胡桂萍等<sup>[18]</sup>和王雪君等<sup>[19]</sup>报道的从水稻中分离到的内生细菌优势菌为芽孢杆菌属和假单胞菌属的结果基本一致。

水稻内生菌数量随着生长时期的变化规律是从幼苗期到分蘖期下降, 从开花期到成熟期上升。而王雪君等<sup>[19]</sup>发现从幼苗期到分蘖期上升, 开花期到结实期上升。黎起秦等<sup>[20]</sup>的研究发现, 广西水稻

内生菌数量从苗期到分蘖期上升, 于孕穗期达到最高, 从灌浆期到乳熟期数量下降。前者与本研究的结果类似, 后者与本研究结果不完全一致, 这可能是由于水稻内生菌主要来源于土壤、空气、种子, 与水稻品种、栽培条件、生长气候等有着直接的关系。水稻内生细菌的数量随着组织部位的分布规律是根部最多, 茎部次之, 这与文献<sup>[17, 20]</sup>的研究结果类似。这可能是因为内生菌进入植物体内的途径和方式主要是从植物幼根和自然形成的伤口进入<sup>[21]</sup>, 因此根部组织聚集的内生菌比其他器官组织多, 而茎是水稻中重量最大的组织器官, 因此在内生菌数量上也占一定优势。

本研究对分离所得的 126 株水稻内生菌进行抗砷筛选。环境中的砷有无机砷和有机砷两类, 砷的毒性与其存在形态密切相关, 且不同形态的砷毒性相差甚远。各类砷的毒性大小依次递减的顺序是: 砷化氢、无机亚砷酸盐 [As(Ⅲ)]、无机砷酸盐 [As(V)]、有机砷化合物、砷元素<sup>[11]</sup>。本研究初筛实验中用 1 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) 和 10 mmol·L<sup>-1</sup> As(V) 对 126 株水稻内生菌进行筛选, 并用野生型大肠杆菌 W3110 作为对照菌株。结果筛得 20 株抗砷菌; 复筛实验中用 2 mmol·L<sup>-1</sup> As(Ⅲ) 和 20 mmol·L<sup>-1</sup> As(V) 对初筛所得抗砷菌株进行筛选,

进一步筛得对  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{As}(\text{III})$  有较强抗性的 16 株菌, 对  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{As}(\text{V})$  有较强抗性的 13 株菌. 其中, 从开花期水稻茎组织中分离所得的菌株 CS1 对两种形态砷的耐性明显强于其他菌株. 通过 16S rDNA 鉴定为类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus* sp.) (表 1). 类芽孢杆菌属微生物在环境中广泛存在, Govarthanan 等<sup>[22]</sup>从长柄菊的根部组织分离到的抗砷内生菌 RM 也属于类芽孢杆菌属, 对砷的最低抑制浓度 (MIC) 为  $400 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 经鉴定为类芽孢杆菌属 (*Paenibacillus* sp.); 邓博环等<sup>[23]</sup>从河流沉积物中筛选得到芽孢杆菌属的 1 株细菌 DX-04, 该菌株在培养 96 h 内可还原液相中 39.6% 的  $\text{As}(\text{V})$ . 本研究筛得的抗砷菌株 CS1 对  $\text{As}(\text{III})$  和  $\text{As}(\text{V})$  的抗性都显著高于对照, 也高于其它菌株 (图 1 和图 2). 因此, 在未来有必要深入研究菌株 CS1 的抗砷机制, 以及 CS1 对水稻体内砷迁移转化和水稻籽粒中砷积累的影响.

近年来, 内生菌在植物修复中的作用开始受到广泛关注. 有研究表明, 侵染了某些种类内生细菌的植物抗胁迫环境和抗病原菌的能力明显强于未被侵染内生细菌的植物<sup>[24]</sup>. 随着生物技术和基因工程的发展, “内生菌-植物”关系已被广泛开发并应用于有机污染物和重金属污染土壤的微生物修复. 例如, 使用自然或者工程内生菌对毒死蜱<sup>[25]</sup>、甲苯<sup>[26]</sup>、2,4-二氯苯氧基乙酸<sup>[27]</sup>和一氯或二氯苯甲酸<sup>[28]</sup>污染土壤进行微生物修复. 在重金属污染土壤的植物修复过程中, 内生菌通过独特的降解途径和新陈代谢将重金属固定于地下部, 减少了重金属向地上部的迁移转运<sup>[29]</sup>. Wang 等<sup>[30]</sup>将锌富集植物东南景天中所提取的内生菌 SaMR12 和 SaCS20 接种到水稻上, 不仅提高了水稻的产量, 而且减少了水稻籽粒中锌的积累. 水稻砷污染是我国南方当前的一个重要环境问题, 本研究筛选获得了抗砷的水稻内生菌, 未来需利用这些内生菌探索“内生菌-水稻”关系在解决稻米砷污染问题中的应用, 为稻米食品安全和砷污染土壤修复开辟新途径.

#### 4 结论

通过分离培养砷污染土壤栽培水稻根、茎、叶和穗在不同生长期的生细菌, 并利用 16S rDNA 系列对内生菌进行菌种鉴定, 结果表明分离得到的 126 株水稻内生菌归为 13 个属, 主要优势菌为芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)、假单胞菌属 (*Pseudomonas* sp.) 和不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.). 对分离得到

的内生菌进行不同浓度的  $\text{As}(\text{III})$  和  $\text{As}(\text{V})$  的抗性分析, 发现 16 株菌对  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{As}(\text{III})$  有较强抗性, 13 株菌对  $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{As}(\text{V})$  有较强抗性. 其中, 从开花期水稻茎组织中分离所得的菌株 CS1 对  $\text{As}(\text{III})$  和  $\text{As}(\text{V})$  的抗性都显著强于其他菌株.

#### 参考文献:

- [1] 李龚程, 张仕颖, 肖炜, 等. 水稻中内生菌研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, **31**(12): 157-162.  
Li G C, Zhang S Y, Xiao W, et al. Research progress on endophytes in rice[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, **31**(12): 157-162.
- [2] Stone J K, Bacon C W, White J F Jr. An overview of endophytic microbes: endophytism defined[A]. In: Bacon C M, White J F Jr (Eds.). Microbial Endophytes[M]. New York, NY: Marcel Dekker, Inc., 2000. 29-33.
- [3] Hameed A, Yeh M W, Hsieh Y T, et al. Diversity and functional characterization of bacterial endophytes dwelling in various rice (*Oryza sativa* L.) tissues, and their seed-borne dissemination into rhizosphere under gnotobiotic P-stress[J]. Plant and Soil, 2015, **394**(1-2): 177-197.
- [4] Ma Y, Rajkumar M, Freitas H. Isolation and characterization of Ni mobilizing PGPB from serpentine soils and their potential in promoting plant growth and Ni accumulation by *Brassica* spp. [J]. Chemosphere, 2009, **75**(6): 719-725.
- [5] Montañez A, Blanco A B, Barocco C, et al. Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and their inoculation effects *in vitro*[J]. Applied Soil Ecology, 2012, **58**: 21-28.
- [6] 王志勇, 刘秀娟. 植物内生菌分离方法的研究现状[J]. 贵州农业科学, 2014, **42**(1): 152-155.  
Wang Z Y, Liu X J. Research status on separation methods of plant endophytes[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2014, **42**(1): 152-155.
- [7] 姚领爱, 胡之璧, 王莉莉, 等. 植物内生菌与宿主关系研究进展[J]. 生态环境学报, 2010, **19**(7): 1750-1754.  
Yao L A, Hu Z B, Wang L L, et al. Research development of the relationship between plant endophyte and host[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2010, **19**(7): 1750-1754.
- [8] Li X M, Bu N, Li Y Y, et al. Growth, photosynthesis and antioxidant responses of endophyte infected and non-infected rice under lead stress conditions[J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, **213-214**: 55-61.
- [9] Idris R, Trifonova R, Puschenreiter M, et al. Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goesingense* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, **70**(5): 2667-2677.
- [10] Chen Y S, Han Y H, Cao Y, et al. Arsenic transport in rice and biological solutions to reduce arsenic risk from rice[J]. Frontiers in Plant Science, 2017, **8**: 268.
- [11] 段桂兰, 王利红, 陈玉, 等. 水稻砷污染健康风险与砷代谢机制的研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, **26**(2): 430-435.  
Duan G L, Wang L H, Chen Y, et al. Health risk from consumption of rice with elevated arsenic and studies of arsenic

- metabolism in rice plants [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2007, **26**(2): 430-435.
- [12] Lomax C, Liu W J, Wu L Y, *et al.* Methylated arsenic species in plants originate from soil microorganisms [J]. *New Phytologist*, 2012, **193**(3): 665-672.
- [13] Huang K, Chen C, Zhang J, *et al.* Efficient arsenic methylation and volatilization mediated by a novel bacterium from an arsenic-contaminated paddy soil [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **50**(12): 6389-6396.
- [14] Chen Z, Wang Y P, Xia D, *et al.* Enhanced bioreduction of iron and arsenic in sediment by biochar amendment influencing microbial community composition and dissolved organic matter content and composition [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2016, **311**: 20-29.
- [15] 余天红, 黎华寿. 砷污染土壤微生物修复机制及其研究进展 [J]. *环境污染与防治*, 2014, **36**(12): 77-82.
- Yu T H, Li H S. Mechanism of bioremediation in arsenic contaminated soil and its research progress [J]. *Environmental Pollution & Control*, 2014, **36**(12): 77-82.
- [16] Fisher P J, Petrini O, Scott H M L. The distribution of some fungal and bacterial endophytes in maize (*Zea mays* L.) [J]. *New Phytologist*, 1992, **122**(2): 299-305.
- [17] 刘云霞, 张青文, 周明群. 水稻体内细菌的动态研究 [J]. *应用生态学报*, 1999, **10**(6): 735-738.
- Liu Y X, Zhang Q W, Zhou M Z. Population dynamics of endophytic bacteria in symptomfree rice plants [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1999, **10**(6): 735-738.
- [18] 胡桂萍, 尤民生, 刘波, 等. 水稻茎部内生细菌及根际细菌与水稻品种特性的相关性 [J]. *热带作物学报*, 2010, **31**(6): 1026-1030.
- Hu G P, You M S, Liu B, *et al.* Relationship between the stem endophytic and rhizosphere bacteria and the variety characteristics of *Oryza sativa* [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2010, **31**(6): 1026-1030.
- [19] 王雪君, 贾瑞宗, 郭运玲, 等. 水稻 4 个生长时期茎部可培养内生菌多样性分析 [J]. *热带作物学报*, 2015, **36**(6): 1078-1085.
- Wang X J, Jia R Z, Guo Y L, *et al.* Diversity of culturable endobacterial communities in rice (*Oryza sativa* L.) stem at different growth stages [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2015, **36**(6): 1078-1085.
- [20] 黎起秦, 焦成, 农倩, 等. 广西水稻内生细菌的动态分布及其对水稻纹枯病菌的拮抗作用 [J]. *中国生物防治*, 2010, **26**(3): 312-319.
- Li Q Q, Jiao C, Nong Q, *et al.* Dynamic distribution of endophytic bacteria in rice from Guangxi and their antagonism to the pathogen of rice sheath blight [J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2010, **26**(3): 312-319.
- [21] Petrovic T, Burgess L W, Cowie I, *et al.* Diversity and fertility of *Fusarium sacchari* from wild rice (*Oryza australiensis*) in northern Australia, and pathogenicity tests with wild rice, rice, sorghum and maize [J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2013, **136**(4): 773-788.
- [22] Govarathanan M, Mythili R, Selvakumar T, *et al.* Bioremediation of heavy metals using an endophytic bacterium *Paenibacillus* sp. RM isolated from the roots of *Tridax procumbens* [J]. *Biotechnology*, 2016, **6**(2): 242.
- [23] 邓博环, 许丽英, 王玉龙, 等. 一株芽孢杆菌对含砷矿物中砷的还原作用 [J]. *生态学杂志*, 2016, **35**(12): 3374-3381.
- Deng B H, Xu L Y, Wang Y L, *et al.* Reduction of arsenic in arsenic bearing minerals by a *Bacillus* strain [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, **35**(12): 3374-3381.
- [24] 安千里, 杨学健, 董越梅, 等. 用共聚焦激光扫描显微镜观测 GFP 标记的内生固氮菌 *Klebsiella oxytoca* SA2 侵染水稻根 [J]. *植物学报*, 2001, **43**(6): 558-564.
- An Q L, Yang X J, Dong Y M, *et al.* Using confocal laser scanning microscope to visualize the infection of rice roots by GFP-labelled *Klebsiella oxytoca* SA2, an endophytic diazotroph [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2001, **43**(6): 558-564.
- [25] Feng F, Ge J, Li Y S, *et al.* Enhanced degradation of chlorpyrifos in rice (*Oryza sativa* L.) by five strains of endophytic bacteria and their plant growth promotional ability [J]. *Chemosphere*, 2017, **184**: 505-513.
- [26] Taghavi S, Barac T, Greenberg B, *et al.* Horizontal gene transfer to endogenous endophytic bacteria from poplar improves phytoremediation of toluene [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(12): 8500-8505.
- [27] Germaine K J, Liu X M, Cabellos G G, *et al.* Bacterial endophyte-enhanced phytoremediation of the organochlorine herbicide 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, **57**(2): 302-310.
- [28] Siciliano S D, Goldie H, Germida J J. Enzymatic activity in root exudates of Dahurian wild rye (*Elymus dauricus*) that degrades 2-chlorobenzoic acid [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1998, **46**(1): 5-7.
- [29] Weyens N, van der Lelie D, Taghavi S, *et al.* Phytoremediation: plant-endophyte partnerships take the challenge [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2009, **20**(2): 248-254.
- [30] Wang Y Y, Yang X E, Zhang X C, *et al.* Improved plant growth and Zn accumulation in grains of rice (*Oryza sativa* L.) by inoculation of endophytic microbes isolated from a Zn hyperaccumulator, *Sedum alfredii* H. [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, **62**(8): 1783-1791.

## CONTENTS

Estimation of Fine Particle (PM <sub>2.5</sub> ) Emission Inventory from Cooking: Case Study for Shanghai	WANG Hong-li, JING Sheng-ao, LOU Sheng-rong, <i>et al.</i> (1971)
Chemical Characterization, Spatial Distribution, and Source Identification of Organic Matter in PM <sub>2.5</sub> in summertime Shanghai, China	GAO Ya-qin, WANG Hong-li, JING Sheng-ao, <i>et al.</i> (1978)
Seasonal Variation and Source Analysis of Water-soluble Inorganic Salts in PM <sub>2.5</sub> in the Southern Suburbs of Beijing	GAO Han-yu, WEI Jing, WANG Yue-si (1987)
Characteristics and Source Apportionment of Water-soluble Inorganic Ions in Road Dust PM <sub>2.5</sub> During Spring in Tianjin Using the Quadrat Sampling Method	ZHAO Jing-qi, JI Ya-qin, ZHANG Lei, <i>et al.</i> (1994)
HONO Pollution Characteristics and Nighttime Sources During Autumn in Guangzhou, China	TIAN Zhi-lin, YANG Wen-da, YU Xiao-fang, <i>et al.</i> (2000)
Sulfur Sources and Oxidation Pathways in Summer Aerosols from Nanjing Northern Suburbs Using S and O Isotopes	HAN Xun, REN Jie, CHEN Shan-li, <i>et al.</i> (2010)
Methods for Determining and Applications of High-Resolution Vehicle Emission Inventory at County Scale	FAN Shou-bin, GUO Jin-jin, LI Xue-feng (2015)
Characteristics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Emitted from Typical Industrial Biomass Boilers	LIN Yu-jun, BAI Li, WANG Huan-xiang, <i>et al.</i> (2023)
Research of Parameter Uncertainty for the HSPF Model Under Different Temporal Scales	PANG Shu-jiang, WANG Xiao-yan, MA Wen-jing (2030)
Contribution of Nitrogen Sources in Water Sources by Combining Nitrogen and Oxygen Isotopes and SIAR	JIN Zan-fang, ZHANG Wen-liao, ZHENG Qi, <i>et al.</i> (2039)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Volatile Organic Compounds in Baiyangdian Lake	GAO Qiu-sheng, ZHAO Yong-hui, JIAO Li-xin, <i>et al.</i> (2048)
Fluorescent Characteristics and Environmental Significance of Particulate Organic Matter in Lake Taihu, China	LÜ Wei-wei, YAO Xin, ZHANG Bao-hua, <i>et al.</i> (2056)
Distribution and Settlement of Microplastics in the Surface Sediment of Yangtze Estuary	ZHU Xiao-tong, YI Jun, QIANG Li-yuan, <i>et al.</i> (2067)
Water Chemistry and Characteristics of Dissolved Organic Carbon During the Wet Season in Wulixia Reservoir, SW China	LU Xiao-xuan, LI Qiang, JIN Zhen-jiang, <i>et al.</i> (2075)
Bioavailability of Dissolved Organic Carbon in Rivers for Typical Vegetation Types in the Permafrost Regions on the Qinghai-Tibet Plateau	MA Xiao-liang, LIU Gui-min, WU Xiao-dong, <i>et al.</i> (2086)
Characteristics of Dissolved Organic Matter (DOM) and Relationship with Dissolved Heavy Metals in a Peri-urban and an Urban River	LIANG Meng-qi, SHAO Mei-ling, CAO Chang-li, <i>et al.</i> (2095)
Migration and Transformation of Dissolved Organic Matter in Karst Water Systems and an Analysis of Their Influencing Factors	ZHANG Lian-kai, LIU Peng-yu, QIN Xiao-qun, <i>et al.</i> (2104)
Source and Distribution of Dissolved Metal Ions in the Backwater Area of Pengxi River in Three Gorges Reservoir	ZHAO Xiao-song, YU Jian-jun, FU Li, <i>et al.</i> (2117)
Differences in Diffusive Fluxes of Nutrients from Sediment Between the Natural River Areas and Reservoirs in the Lancang River Basin	WANG Xue, CHENG Bao, YANG Zheng-jian, <i>et al.</i> (2126)
Nutrient Distribution Characteristics of the Sediment-water System in the Xiangxi River During the Impoundment of TGR	SU Qing-qing, LIU De-fu, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (2135)
Effects of Submerged Macrophytes on Different Phosphorus Fractions in Overlying Water and Interstitial Water	YANG Wen-bin, GAO Shun-feng, WAN Rui, <i>et al.</i> (2145)
Distribution Characteristics and Fluxes of Nitrogen and Phosphorus at the Sediment-water Interface of Yuqiao Reservoir	WEN Shuai-long, GONG Wan-qing, WU Tao, <i>et al.</i> (2154)
Distribution of Phosphorus Fractions in Surface Sediments of Minjiang Mainstreams	YANG Geng, QIN Yan-wen, HAN Chao-nan, <i>et al.</i> (2165)
Nitrate Uptake Kinetics and Correlation Analysis in an Agricultural Drainage Ditch	LI Ru-zhong, YIN Qi-he, GAO Su-di, <i>et al.</i> (2174)
Influencing Factors for Phosphorus Removal by Modified Bio-ceramic Substrates Coated with ZnAl-LDHs Synthesized by Different Modification Conditions	XIANG Yang, ZHANG Xiang-ling, LEI Yu, <i>et al.</i> (2184)
Removal of Odorants in Drinking Water Using VUV/Persulfate	SUN Xin, SHI Lu-xiao, ZHANG Yi, <i>et al.</i> (2195)
Degradation of OG with Peroxymonosulfate Activated by a MnFe <sub>2</sub> O <sub>4</sub> -graphene Hybrid	XIA Wen-jun, LIU Feng, HAO Shang-bin, <i>et al.</i> (2202)
Mechanism of As(V) Removal from Water by Lanthanum and Cerium Modified Biochars	LI Jin, ZU Yan-qun, LI Gang, <i>et al.</i> (2211)
Adsorption of Dissolved Organic Matter with Different Relative Molecular Masses on Inorganic Minerals and Its Influence on Carbamazepine Adsorption Behavior	LIANG Yu, HE Jiang-tao, ZHANG Si (2219)
Pollution Characteristics of Organophosphorus Flame Retardants in a Wastewater Treatment Plant	SUN Jia-wei, DING Wei-nan, ZHANG Zhan-en, <i>et al.</i> (2230)
Enhanced Coagulation as a Pretreatment for Low Temperature Wastewater	LIU Hai-long, REN Yu-xia, ZHANG Zhong-min (2239)
Operating Characteristics and Fouling Characteristics of a RO Membrane System for Desalination of Dyeing Wastewater	TAN Yu-jun, ZHANG Ze-tian, WU Qian-yuan, <i>et al.</i> (2249)
Optimization of the Nitrogen Removal Performance on the CANON Process in a Biofilm Reactor: From FBBR to MBBR	FU Kun-ming, LI Hui, ZHOU Hou-tian, <i>et al.</i> (2256)
Microbial Community Dynamics During Two Sludge Granulation Processes	GAO Jing-feng, ZHANG Li-fang, ZHANG Shu-jun, <i>et al.</i> (2265)
Sludge Conditioning Performance of Polyaluminum, Polyferric, and Titanium Xerogel Coagulants	WANG Xiao-meng, WANG Xin, YANG Ming-hui, <i>et al.</i> (2274)
Effects of Heat and Heat-alkaline Treatments on Disintegration and Dissolved Organic Matter in Sludge	DAI Qin, ZHANG Wen-zhe, YU Pan-fen, <i>et al.</i> (2283)
Effect of Different Ratios of Anaerobic Time and Aeration Time on the Formation of Partial Nitrification Granules	LI Dong, GUO Yue-zhou, CAO Mei-zhong, <i>et al.</i> (2289)
Spatial and Temporal Variation of Mercury in Municipal Sewage Sludge in China	WANG Ning, LIU Qing-wei, ZHI Yin, <i>et al.</i> (2296)
Characteristics of N <sub>2</sub> O Release and Influencing Factors in Grass-type and Algae-type Zones of Taihu Lake During Summer	ZHENG Xiao-lan, WEN Shuai-long, LI Xin, <i>et al.</i> (2306)
Analysis of Greenhouse Gas Emission Characteristics and Their Influencing Factors in the Algae Zone of Lake Taihu	JIA Lei, PU Yi-ni, YANG Shi-jun, <i>et al.</i> (2316)
Dynamics of CO <sub>2</sub> and N <sub>2</sub> O in Seasonal Frozen Soil Profiles for a Typical Steppe in Inner Mongolia	LI Jin-bo, YAO Nan, LI Xiu, <i>et al.</i> (2330)
Characteristics of CO <sub>2</sub> Flux in a Mature Apple ( <i>Malus domestica</i> ) Orchard Ecosystem on the Loess Plateau	YANG Jian-feng, YANG Xiao-ni, WANG Jun-hua, <i>et al.</i> (2339)
Effects of Biochar Application Rates on Greenhouse Gas Emissions in the Purple Paddy Soil	QI Le, GAO Ming, GUO Xiao-min, <i>et al.</i> (2351)
Short-Term Effects of Different Fertilization Treatments on Greenhouse Gas Emissions from Northeast Black Soil	LI Ping, LANG Man, LI Miao, <i>et al.</i> (2360)
Eukaryotic Micro-plankton Community Diversity and Characteristics of Regional Distribution in the Yellow Sea by ITS High-throughput Sequencing	ZHANG Li, LIN Jia-ning, ZHANG Yuan, <i>et al.</i> (2368)
Influence of Different Patterns of Discharge on Microbial Diffusion in Municipal Treated Wastewater	LANG Xiu-lu, SONG Zhi-wen, XU Ai-ling, <i>et al.</i> (2380)
Impact of Tourism on Bacterial Communities of Karst Underground River: A Case Study from Two Caves in Fengdu, Chongqing	LÜ Xian-fu, HE Qiu-fang, WANG Feng-kang, <i>et al.</i> (2389)
Diversity of the Microbial Community in Rice Paddy Soil with Biogas Slurry Irrigation Analyzed by Illumina Sequencing Technology	ZHU Jin-shan, ZHANG Hui, MA Lian-jie, <i>et al.</i> (2400)
Effect of Biochar Amendment on Physicochemical Properties and Fungal Community Structures of Cinnamon Soil	YAN Hai-tao, YIN Quan-yu, DING Song-shuang, <i>et al.</i> (2412)
Carbon Metabolism Characteristics of the Karst Soil Microbial Community for Pb-Zn Mine Tailings	FANG Jun-jia, LI Qiang, LIU Chang, <i>et al.</i> (2420)
Denitrification Characteristics and Community Structure of Aerobic Denitrifiers from Lake and Reservoir Sediments	KANG Peng-liang, ZHANG Hai-han, HUANG Ting-lin, <i>et al.</i> (2431)
Investigation of the Coupling Mechanism Between Naphthalene Degradation and Denitrification of a Naphthalene Degraded Bacterial Consortium Under Denitrification	ZHANG Ze-yu, WANG Ming-xia, CHENG Yong-yi, <i>et al.</i> (2438)
Spatial Distribution Study and Pollution Assessment of Pb in Soils in the Xijiang River Drainage of Guangxi	ZHANG Yun-xia, SONG Bo, CHEN Tong-bin, <i>et al.</i> (2446)
Effects of Agricultural Activities on Soil Mercury Changes in the Water-Level-Fluctuating Zone of the Three Gorges Reservoir	CHEN Qiu-yu, SUN Song, YIN De-liang, <i>et al.</i> (2456)
Screening and Identification of Arsenic-resistant Endophytic Bacteria from Different Rice Tissues ( <i>Oryza sativa</i> L.) in Different Growth Stages	WANG Bo-xun, WANG Xue-dong, DUAN Gui-lan (2464)
Characteristics of Mercury Transformation in Soil and Accumulation in Rice Plants in an Acidic Purple Paddy Soil Area	LI Yu-qin, SUN Tao, DENG Han, <i>et al.</i> (2472)
Life Cycle Environmental Impact Assessment on Different Modes of Greenhouse Vegetable Production in the North China Plain	XU Qiang, HU Ke-lin, LI Ji, <i>et al.</i> (2480)
Health Effects of PM <sub>2.5</sub> Based on Bacterial Toxicity Test and Transcriptional Analysis in Lungs of Mice	SONG Peng-cheng, LU Shu-yu, WEI Yong-jie, <i>et al.</i> (2489)
Socio-economic Factors Influencing the Spatial Distribution of PM <sub>2.5</sub> Concentrations in China: An Exploratory Analysis	DUAN Jie-xiong, ZHAI Wei-xin, CHENG Cheng-qi, <i>et al.</i> (2498)