

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第7期

Vol.39 No.7

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

近20年来中国典型区域PM _{2.5} 时空演变过程	罗毅,邓琼飞,杨昆,杨扬,商春雪,喻臻钰 (3003)
西安市PM _{2.5} 健康损害价值评估	魏国茹,史兴民 (3014)
河北香河亚微米气溶胶组分特性、来源及其演变规律分析	江琪,王飞,孙业乐 (3022)
南京北郊秋季PM _{2.5} 碳质组分污染特征及来源分析	徐足飞,曹芳,高嵩,鲍孟盈,石一凡,章炎麟,刘晓妍,范美益,张雯淇,卞航,刘寿东 (3033)
临安夏季霾和清洁天气PM _{2.5} 化学组成特征比较	梁林林,孙俊英,张养梅,刘畅,徐婉筠,张根,刘旭艳,马千里 (3042)
盘锦市秋冬季节PM _{2.5} 中碳组分特征及来源解析	张蕾,姬亚芹,张军,王士宝,李越洋,赵静琦,张伟 (3051)
南京冬季气溶胶光学特性及黑碳光吸收增强效应	黄聪聪,马嫣,郑军 (3057)
夏季青岛大气粗细粒子中微量元素的浓度、溶解度及干沉降通量	李鹏志,李茜,石金辉,高会旺,姚小红 (3067)
太原市夏季降水中溶解态重金属特征及来源	叶艾玲,程明超,张璐,何秋生,郭利利,王新明 (3075)
杭州地区大气CO ₂ 体积分数变化特征及影响因素	浦静姣,徐宏辉,姜瑜君,杜荣光,齐冰 (3082)
典型工业源VOCs治理现状及排放组成特征	景盛翱,王红丽,朱海林,杨强,卢滨,夏阳,余传冠,陶士康,李莉,楼晟荣,黄成,唐伟,井宝莉 (3090)
地级市域工业VOCs排放源产排特性及其控制技术应用现状:以秦皇岛市为例	胡旭睿,虎啸宇,王灿 (3096)
青霉素发酵尾气VOCs污染特征及健康风险评价	郭斌,么瑞静,张硕,马磊,康江,王姗姗 (3102)
轻型汽油车尾气OC和EC排放因子实测研究	黄成,胡馨遥,鲁君 (3110)
南京市大气降尘重金属污染水平及风险评价	田春晖,杨若杼,古丽扎尔·依力哈木,钱新,王金花,李慧明 (3118)
西安城区路面细颗粒灰尘重金属污染水平及来源分析	石栋奇,卢新卫 (3126)
三峡库区主要河流秋季pCO ₂ 及其影响因素	罗佳宸,毛蓉,李思悦 (3134)
泾河支流地表水地下水的水化学特征及其控制因素	寇永朝,华琨,李洲,李志 (3142)
生物滞留对城市地表径流磷的去除途径	李立青,刘雨倩,杨佳敏,王娟 (3150)
淀山湖浮游植物功能群演替特征及其与环境因子的关系	杨丽,张玮,尚光霞,张军毅,王丽卿,魏华 (3158)
抚仙湖硅藻群落的时空变化特征及其与水环境的关系	李蕊,陈光杰,康文刚,陈丽,王教元,陈小林,刘园园,冯钟,张涛 (3168)
蓝藻水华及其降解对沉积物-水微界面的影响	王永平,谢瑞,晁建颖,姬昌辉,于剑 (3179)
生物炭对人工湿地植物根系形态特征及净化能力的影响	徐德福,潘潜澄,李映雪,陈晓艺,王佳俊,周磊 (3187)
Mn-Co/蜂窝陶瓷催化剂制备及催化臭氧化对苯二酚效能	张兰河,高伟国,陈子成,张海丰,王旭明 (3194)
Fe/Cu双金属活化过一硫酸盐降解四环素的机制	李晶,鲍建国,杜江坤,冷一非,孔淑琼 (3203)
铈酸盐改性钛酸纳米片对水中Cd(II)的吸附行为及机制	康丽,刘文,刘晓娜,刘宏芳,李一菲 (3212)
铁锰原位氧化产物吸附微量磷的实验	蔡言安,毕学军,张嘉凝,董杨,刘文哲 (3222)
制备方法对铁钛复合氧化物磷吸附性能的影响:共沉淀法与机械物理混合法	仲艳,王建燕,陈静,张高生 (3230)
电导率对厌氧产酸、正渗透与微生物燃料电池耦合工艺运行性能的影响	陆宇琴,刘金梦,王新华,李秀芬,李晔 (3240)
不同磷浓度下生物除磷颗粒系统的COD需求	李冬,曹美忠,郭跃洲,梅宁,李帅,张杰 (3247)
基质浓度对ABR反应器SAD协同脱氮除碳效能影响	张敏,姜滢,汪瑶琪,韦佳敏,陈重军,沈耀良 (3254)
采用含硫铁化学污泥作为反硝化电子供体进行焦化废水中总氮深度去除	付炳炳,潘建新,马景德,王丰,吴海珍,韦朝海 (3262)
间歇曝气下短程硝化耦合污泥微膨胀稳定性	高春娣,孙大阳,安冉,赵楠,焦二龙,祝海兵 (3271)
基于高通量测序的SBR反应器丝状膨胀污泥菌群分析	洪颖,姚俊芹,马斌,徐双,张彦江 (3279)
纳米零价铁(NZVI)对厌氧产甲烷活性、污泥特性和微生物群落结构的影响	苏润华,丁丽雨,任洪强 (3286)
气水比对后置固相反硝化滤池工艺脱氮及微生物群落影响	张千,吉芳英,付旭芳,陈晴空 (3297)
活性污泥胞外多聚物提取方法的比较	孙秀玥,唐珠,杨新萍 (3306)
耐冷嗜碱蒙氏假单胞菌H97的鉴定及其好氧反硝化特性	蔡茜,何腾霞,冶青,李振轮 (3314)
PFOS前体物质(PreFOSs)降解菌的分离鉴定及其降解特性	赵淑艳,周涛,王博慧,梁田坤,柳丽芬 (3321)
采油井场土壤微生物群落结构分布	蔡萍萍,宁卓,何泽,张敏,石建省 (3329)
铜尾矿坝不同恢复年限土壤理化性质和酶活性的特征	王瑞宏,贾彤,曹苗文,柴宝峰 (3339)
广西某赤泥堆场周边土壤重金属污染风险	郭颖,李玉冰,薛生国,廖嘉欣,王琼丽,吴川 (3349)
邻苯二甲酸酯在重庆市城市土壤中的污染分布特征及来源分析	杨志豪,何明靖,杨婷,卢俊峰,魏世强 (3358)
成都平原区水稻土有机碳剖面分布特征及影响因素	李珊,李启权,王昌全,张浩,肖怡,唐嘉玲,代天飞,李一丁 (3365)
塔里木盆地北缘绿洲不同连作年限棉田土壤有机碳、无机碳含量与环境因子的相关性	赵晶晶,贡璐,安申群,李杨梅,陈新 (3373)
塔里木盆地北缘绿洲4种土地利用方式土壤有机碳组分分布特征及其与土壤环境因子的关系	安申群,贡璐,李杨梅,陈新,孙力 (3382)
高原喀斯特土壤有机碳短期稳定的温度作用机制	唐国勇,张春华,刘方炎,马艳 (3391)
施硼对水稻幼苗吸收和分泌砷的影响	朱毅,孙国新,陈正,胡莹,郑瑞伦 (3400)
不同改良剂对铅镉污染农田水稻重金属积累和产量影响的比较分析	胡雪芳,田志清,梁亮,陈俊德,张志民,朱祥民,王士奎 (3409)
南京大气臭氧浓度的季节变化及其对主要作物影响的评估	赵辉,郑有飞,魏莉,关清 (3418)
三峡库区涪陵和忠县两地居民发汞含量水平及影响因素分析	程楠,谢青,樊宇飞,王永敏,张成,王定勇 (3426)
人粪便好氧堆肥过程中典型抗生素的消减特性	时红蕾,王文昌,李倩 (3434)
COD/SO ₄ ²⁻ 对青霉素菌渣厌氧消化影响	强虹,李玉友,裴梦富 (3443)
果蔬类垃圾主发酵堆肥产物储放和利用的恶臭释放特征	何品晶,蒋宁玲,徐贤,韦顺艳,邵立明,吕凡 (3452)
曾用抗生素磺胺二甲嘧啶对稻田NH ₃ 挥发的影响	庞炳坤,张敬沙,吴杰,李志琳,蒋静艳 (3460)
《环境科学》征订启事(3141)	
《环境科学》征稿简则(3202)	
信息(3229, 3433, 3451)	

采油井场土壤微生物群落结构分布

蔡萍萍^{1,2}, 宁卓^{1,3,4,5*}, 何泽^{1,4,5}, 张敏^{1,4,5}, 石建省¹

(1. 中国地质科学院水文地质环境地质研究所, 石家庄 050061; 2. 合肥工业大学资源与环境工程学院, 合肥 230009; 3. 中国地质大学(北京)中国地质科学院, 北京 100083; 4. 河北省地下水污染机理与修复重点实验室, 石家庄 050061; 5. 中国地质调查局地下水污染机理与修复重点实验室, 石家庄 050061)

摘要: 为了评价采油井场石油污染的微生物修复潜力, 选取油井旁持续污染区(W)、井场曾经污染区(S)、原泥浆池区(M)和周边农田区(F)这 4 个不同位置, 对 0~400 cm 不同深度土壤进行调查取样。利用高通量测序技术, 对样品 16S rRNA 基因 V4 区序列进行测定, 结合石油含量、三氮等物化性质, 分析了微生物的生物多样性、群落组成及其和环境因子的关系。结果表明, 石油污染减少了土壤的生物多样性, 石油含量、盐度是造成微生物群落结构差异的最主要环境因子。通过组间差异分析发现, W 和 M 土壤不仅存在着大量的石油降解细菌, 其中的高盐样品中还含有嗜盐石油降解古菌。S 与 F 具有相似的群落结构, 表明石油烃的自然衰减。因此, 该井场具有丰富的石油修复菌种资源, 具有很好的微生物修复潜力。

关键词: 采油井场; 石油污染; 群落结构; 石油降解菌; 修复潜力

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)07-3329-10 DOI: 10.13227/j.hj.kx.201711233

Microbial Community Distributions in Soils of an Oil Exploitation Site

CAI Ping-ping^{1,2}, NING Zhuo^{1,3,4,5*}, HE Ze^{1,4,5}, ZHANG Min^{1,4,5}, SHI Jian-sheng¹

(1. Institute of Hydrogeology and Environmental Geology, Chinese Academy of Geological Sciences, Shijiazhuang 050061, China; 2. School of Resources and Environmental Engineering, Hefei University of Technology, Hefei 230009, China; 3. Chinese Academy of Geological Sciences, China University of Geosciences (Beijing), Beijing 100083, China; 4. Key Laboratory of Groundwater Remediation of Hebei Province, Shijiazhuang 050061, China; 5. Key Laboratory of Groundwater Remediation of China Geological Survey, Shijiazhuang 050061, China)

Abstract: To design a reasonable and effective remediation scheme for soil in contaminated sites, it is necessary to understand the microbial communities in the soil. Samples were collected at different depths (0 cm to 400 cm) in four locations: one that was persistently contaminated and near an oil well, one that was historically contaminated in the middle of the site, one in a mud pit, and one in farmland. High-throughput sequencing of the V4 region of 16S rRNA in these samples was performed. In addition to physico-chemical properties of the soil, the α -diversity, species composition, and differences in species between groups of microorganisms were analyzed, and a principal coordinate analysis and canonical correlation analysis were conducted. Results showed that oil and salt contents in soils were the dominant factors affecting microbial community structure. Hydrocarbon-degrading microorganisms were abundant in oil-contaminated soils, whereas halophilic hydrocarbon-degrading microorganisms were present in soils with high salt contents. Therefore, hydrocarbon-degrading microorganisms might be useful in remediation of oil-contaminated sites.

Key words: oil exploitation site; oil contamination; microbial communities; hydrocarbon degradation microorganism; remediation potential

采油井场是石油污染最为集中的场地之一,其来源于成井时期的井喷、钻井泥浆及开采过程中的漏油事故。这些石油不仅影响到周边农田的耕地和粮食安全,若其迁移到地表或地下水体,还会威胁生态和人体健康^[1]。石油能够被微生物降解已成为科学家们的共识。人们利用微生物这一特性,为石油污染环境的修复做了大量工作^[2~6]。由于微生物之间存在着竞争和协作等相互关系^[7],微生物功能的发挥是在一定的群落结构进行的^[8]。因此,石油污染与微生物群落结构的关系成为功能微生物资源开发方面关注的重点^[9]。人们研究了不同油田、不同污染程度、不同深度土壤的微生物群落结构^[9,10],

结果均显示,石油含量是造成微生物群落结构差异的最主要因素。一般认为,采油井场的石油污染多集中在土壤表层,由于土壤的吸附作用和黏滞效应,石油类污染物很难迁移进入深部土壤^[11]。因此,人们对于该类场地的研究多集中在表层(0~50 cm),而深层土壤,尤其是采油井场不同深度土壤的微生物种群结构鲜有研究。

收稿日期: 2017-11-25; 修订日期: 2018-01-17

基金项目: 国家自然科学基金项目(41402233); 中国地质科学院水文地质环境地质研究所基本科研业务费专项(SK201702)

作者简介: 蔡萍萍(1985~),女,博士研究生,主要研究方向为地下水环境, E-mail: cppyjy@163.com

* 通信作者, E-mail: ningzhuozhuo@163.com

在以前的调查研究中发现,采油井场的深部土壤(大于 50 cm),同样受到了不同程度的污染^[12]. 该层位是表层落地原油进入含水层的必经通道. 该区域土壤对石油的降解程度直接影响着地下水的水质安全程度. 而石油的降解主要靠微生物的代谢作用^[13]. 因此,对深层土壤的微生物种群结构研究具有重要意义. 微生物在降解石油烃的过程中需要包括氧气和硝酸盐等在内的电子受体^[14],还需要氮源等营养^[15]. 相对于表层土壤,深层土壤缺少氧气,处于相对厌氧状态. 并且一般污染场地污染时代比较久远,微生物的生命活动消耗了大量的电子受体和氮源,所以石油污染场地土壤一般处于贫营养和缺电子受体状态. 因此,深部土壤的微生物群落结构应该不同于井场表层土壤和未污染土壤. 但是该环境下微生物群落结构有何特性,这些微生物对石油烃的降解潜力如何,这是需要回答的问题.

在以往的研究中,人们注意到泥浆池是采油井场中重要污染源^[16],但对其的微生物群落结构研究较少. 泥浆池部位土壤往往是高盐高油环境^[17]. 该环境常被视作极端环境,微生物存活难度大^[18]. 该区域是否有石油降解菌,能否支持以后的修复工作,这也是需要研究的问题.

针对以上问题,本研究选取中原油田某一废弃石油污染井场,对油井旁持续污染区、井场曾经污染区、原泥浆池区和周边农田区这 4 个不同位置,0~400 cm 不同深度土壤进行调查取样. 利用高通量测序技术,对这些样品进行基于 16S rRNA 基因 V4 区序列进行测定,结合土壤石油含量、三氮等物理化学性质的分析,通过了解不同污染条件、不同深度下的微生物群落结构变化特征,以期为后续修复方案的制定提供理论基础.

1 材料与方法

1.1 研究场地和取样

本次研究选取中原油田某一废弃井场为研究对象. 该井场建成于 2000 年,仅开采 1 a 就因产量低而废弃. 但迄今为止,该井口一直有石油不断渗出,对井口南部造成持续性严重污染. 据了解,该井在钻井过程中发生过井喷,井喷方向为北向. 在该井场的东北部,有成井时的泥浆池,其中可能存在大量的含油泥浆. 成井以后,该场地上部覆盖有 20 cm 的不含油土壤. 井场的示意图如图 1 所示. 本研究在该油井南部持续污染区(W)、井场曾经污染区(S)、原泥浆池位置区域(M)和农田(F)布置了 4

个采样点. 利用洛阳铲,对这些采样点 0~400 cm 不同深度土壤样品进行了采集. 其中一部分样品用无菌小刀放入无菌采样袋,并置于干冰保温箱中进行保存,并尽快运回实验室存于 -86℃ 冰箱. 该部分样品用于 DNA 提取及后续的测序分析. 另一部分样品存入自封袋,运回实验室自然风干,用于测定其物化性质.

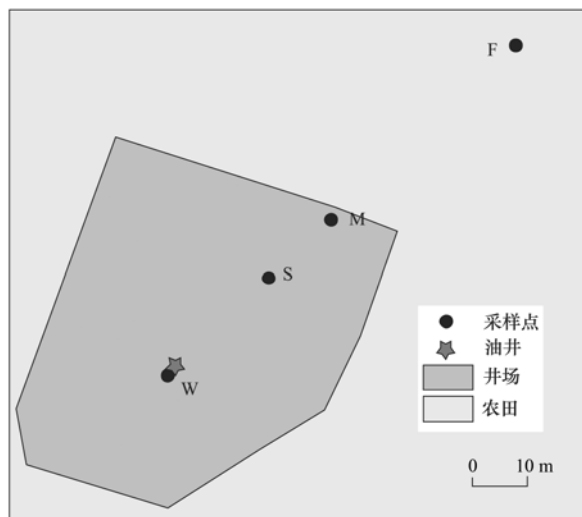


图1 调查场地及取样示意

Fig. 1 Diagrammatic sketch of the site and sampling locations

1.2 土壤物化性质测试分析

取回的土样送回实验室后自然风干,研磨,过 2 mm 筛子后进行物化性质测试. 土壤石油含量的测定采用超声-紫外法^[19]. pH 值和电导率(EC)分别采用 pH 计和电导率仪测定水土比为 5:1 的水溶液读数;含水量(MC)用 105℃ 烘干法;铵(NH_4^+)采用靛酚蓝分光光度法; NO_2^- 采用重氮-偶合分光光度法; NO_3^- 采用紫外分光光度法. 其中石油和三氮(NH_4^+ 、 NO_2^- 和 NO_3^-) 含量测定两次. 具体方法详见文献[20].

1.3 DNA 提取、PCR 扩增、MiSeq 文库构建与测序

将样品在冰上融化后,充分混匀并离心,取 0.5 g 湿土,利用 MP 的 FastDNA™ Spin Kit for Soil 试剂盒进行 DNA 抽提,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳对 DNA 质量进行检测,用 Nano Drop 2000 对其进行质量浓度测定. 利用兼顾细菌和古菌的扩增引物,515F (GTGYCAGCMGCCGCGTAA) 和 806R (GGACTA CNVGGGTWTCTAAT),对 16S rRNA 基因的 V4 区进行扩增,片段大小约为 291bp^[21]. 试剂为 TransGen AP221-02; TransStart Fastpfu DNA Polymerase,扩增仪为 ABI GeneAmp® 9700 型,体系为 20μL. 将扩增后的产物进行回收,利用美吉生物

公司的 MiSeq 测序平台进行测序。

1.4 数据统计分析

首先进行测序数据的质控过滤与拼接,具体方法和参数如下^[22]: 过滤 reads 尾部质量值 20 以下的碱基,设置 50bp 的窗口,如果窗口内的平均质量值低于 20,从窗口开始截去后端碱基,过滤质控后 50bp 以下的 reads,去除含 N 碱基的 reads。根据 PE reads 之间的 overlap 关系,将成对 reads 拼接成一条序列,最小 overlap 长度为 10bp。拼接序列的 overlap 区允许的最大错配比率为 0.2,筛选不符合序列。根据序列首尾两端的 barcode 和引物区分样品,并调整序列方向,barcode 允许的错配数为 0,最大引物错配数为 2。在此过程中使用软件为 FLASH 和 Trimmomatic。

对优化序列的非重复序列(不含单序列),按照 97% 相似性聚类进行可操作单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类,在聚类过程中去除嵌合体,得到 OTU 的代表序列。按最小样本序列数进行样本序列抽平。为了得到每个 OTU 对应的物种分类信息,采用 RDP(ribosomal database project) classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学比对,在 phylum(门)和 genus(属)分类水平上统计各样本的群落组成,物种分类数据库为 silva128/16S^[23]。

基于该分类,在属(gene)水平上进行了群落组成分析,在 OUT 水平上进行了 α 多样性分析和 β 多样性分析。 α 多样性分析主要有反映群落丰富度的 Chao、ACE 和 Sobs 指数,反映群落多样性的 Shannon 和 Simpson 指数,以及反映测序深度的覆盖度。 β 多样性分析采用 Weighted normalized unifrac 距离算法的主坐标分析(PCoA)。在该分析的基础上,按照取样点位置,把样品分为 W、S、M 和 F 这 4 个组。为分析物种、环境和样品之间的关系,对分组样品进行了典型关联分析(CCA)。为了了解不同物种在组间的差异,利用克氏秩和检验法,在 OUT 水平上,对样品进行了组间差异显著性检验分析,其中,显著性 P 值多重检验校正方法采用 fdr, CI 计算方法采用 scheffe。这些分析在 I-sanger 云平台(<http://www.i-sanger.com/>)完成。

2 结果与分析

2.1 物理化学性质

根据文献分析方法,对采集样品的物化性质进行测定,结果如表 1 所示。W 点的上部(深度小于

100 cm)和 M 点的中部(50 ~ 100 cm)受到了石油的严重污染。井场 W、S、M 点的电导率明显高于 F 点,证明该井场的这些部位曾受到过油盐污染,这与前期调查结果相一致。但是 S 点 50 cm 及其以下样品具有较低的石油含量, NO_3^- 含量也明显偏低,证明该点的石油烃发生了较为强烈的自然衰减。因为微生物对石油烃的降解过程中,要利用电子受体^[24]。而 NO_3^- 是除 O_2 之外的最佳电子受体^[14]。电子受体的减少证明了自然衰减的发生^[25]。M 点样品 EC 及 pH 值较高,是一个高盐碱性极端环境。其 NH_4^+ 含量低,而 NH_4^+ 是微生物的最佳氮源^[26], NH_4^+ 的减小说明该极端环境中仍有微生物的生长。W 点有石油的持续渗入,其表层 20 cm 处的土壤 NO_3^- 和 NO_2^- 表层含量较高,可能有外来的 NH_4^+ 或 NO_3^- 输入。20 cm 以下土壤硝酸盐含量较低,而硝酸盐具有较强的随水迁移能力,说明该氮源输入后可能降水量较小,不足以使硝酸盐迁移到下部土壤。该点 50 cm 及以下样品 NO_3^- 含量较低而石油含量中等,可能正在发生着石油烃的微生物降解。

2.2 稀释曲线与 α 多样性指数分析

样本序列抽平后,每个样本得到 38 942 个序列。根据序列数和 OUT 数目、Shannon 指数绘制稀释曲线(图 2)。从图 2 中可以看出,在该测序深度上,样品的稀释曲线在 0.97 相似性水平下趋于平坦,覆盖度大于 0.98,显示了本次测序具有很好的覆盖度,数据可靠性高。

表 2 展示了该场地样品的 α 多样性指数随位置和深度的变化情况。其中 Chao、Ace 和 Sobs 指数用于分析群落物种丰富程度,它的数值越大,表示物种种类越多。Shannon 和 Simpson 指数是反映分析群落的多样性的两个指数,它们不仅反映物种丰富度,还指示了物种的均匀度。Shannon 数值越大,表示该样品中的物种多样性越高,而 Simpson 指数反之^[27]。总体上来看,Chao、Ace、Sobs 和 Shannon 指数随着深度的增加而增加,油井旁(W)和泥浆池(M)土样的指数普遍小于其它采样点土样。而 Simpson 指数与上述 4 个指数的变化规律正好相反。这表明了表层和含油量高的土样物种多样性较低。从 DNA 提取质量浓度(表 1)可以看出,对于微生物量而言,表层土壤大于深部土壤,这与多样性指数相反。表层土壤由于有充足的氧气而使微生物大量繁殖,但是这会使优势物种得到大量繁殖,减少了物种的多样性。尤其是石油含量较高的油井 50 cm 上部土壤,由于石油的微生物毒害性,物种丰富度大量减

表 1 场地土壤石油含量、物理化学性质和提取 DNA 质量浓度

Table 1 Oil contents, physico-chemical parameters, and DNA concentrations in soils at the site

样点	深度 /cm	石油 /mg·kg ⁻¹	NO ₃ ⁻ /mg·kg ⁻¹	NH ₄ ⁺ /mg·kg ⁻¹	NO ₂ ⁻ /mg·kg ⁻¹	温度 /℃	含水率	pH	电导率 /μS·cm ⁻¹	DNA /ng·μL ⁻¹
W	0	26 221 ± 1 503	— ¹⁾	—	—	13	0.06	8.4	257	22.5
	20	2 198 ± 36	105.3 ± 1.4	5.04 ± 0.13	3.07 ± 0.08	15	0.12	8.42	1260	16.9
	50	1 714 ± 285	20.8 ± 2.4	9.86 ± 0.38	0.14 ± 0.04	16	0.19	8.61	2 140	6.1
	100	1 533 ± 34	8.4 ± 0.9	5.82 ± 0.37	0.05 ± 0	18	0.17	8.97	1 317	3.7
	150	296 ± 53	5.5 ± 0.5	5.68 ± 0.36	0.08 ± 0.04	20	0.18	9.27	478	3
	200	142 ± 41	15.4 ± 1.4	4.26 ± 0.05	0.11 ± 0	21	0.17	9.61	251	5.1
	300	141 ± 33	38.5 ± 1.6	1.68 ± 0.03	0.16 ± 0	21	0.32	9.37	265	3.8
	400	321 ± 48	23.6 ± 0.2	4.56 ± 0.02	0.11 ± 0	21	0.35	9.4	271	6.6
S	20	650 ± 41	24.6 ± 0.2	5.31 ± 0.08	0.16 ± 0	16	0.18	8.73	1 226	10.9
	50	58 ± 11	7.3 ± 0.7	2.96 ± 0.13	0.11 ± 0	18	0.24	8.79	1 504	6.2
	100	61 ± 11	6.6 ± 0.3	5.1 ± 0.08	0.11 ± 0	19	0.17	9.22	965	4.8
	200	80 ± 4	20.1 ± 0.3	3.1 ± 0.08	0.11 ± 0	20	0.26	9.98	772	4.4
	300	75 ± 5	9 ± 1.7	3.79 ± 0.1	0.11 ± 0	21	0.39	8.7	2 860	3.3
	350	121 ± 9	5 ± 0.5	4.73 ± 0.17	0.11 ± 0	21	0.36	8.69	2 720	7.5
	400	82 ± 9	6.7 ± 1.2	1.45 ± 0.04	0.05 ± 0	20	0.29	9.22	1 748	5.8
M ²⁾	20	269 ± 14	16.5 ± 0.5	2.64 ± 0.05	1.59 ± 0.08	17	0.27	9.98	2540	29
	50	5 575 ± 666	50.2 ± 0.7	1.93 ± 0.13	0.16 ± 0	19	0.37	10.02	4 090	38.6
	100	2 192 ± 20	62.3 ± 1.2	0.87 ± 0.05	0.19 ± 0.04	19	0.24	10.11	4 280	137.9 ³⁾
	200	360 ± 7	38.3 ± 0.9	2.02 ± 0.03	0.19 ± 0.04	19	0.27	10.26	1 821	10.2
	300	253 ± 7	28.5 ± 0.2	1.51 ± 0.03	0.19 ± 0.04	18	0.33	9.84	2 240	5.9
	400	866 ± 77	21.2 ± 3.3	3.25 ± 0.03	0.16 ± 0	18	0.47	9.69	3 320	1.8
F	20	77 ± 5	121.3 ± 2.3	5.04 ± 0.03	0.39 ± 0.46	21	0.23	8.95	226	27.8
	50	43 ± 7	175.7 ± 6.8	5.84 ± 0.13	0.54 ± 0.62	15	0.37	8.99	299	15.2
	100	49 ± 10	45.8 ± 0.3	5.49 ± 0.19	0.57 ± 0.66	18	0.12	9.6	126	5.3
	200	54 ± 3	69.9 ± 0.2	2.7 ± 0.09	0.41 ± 0.04	18	0.34	9.28	203	3.2
	300	61 ± 3	23.2 ± 0.3	3.56 ± 0.03	0.33 ± 0	17	0.36	9.41	204	2.5

1) “—”表示石油含量太大,该含量无法测定;2)该处样品由于含油泥浆的干扰,NO₃⁻和DNA质量浓度不能准确测定,提供数据仅供参考;3)该处样品由于含油泥浆的干扰,PCR无法扩增

表 2 样品 α 多样性指数

Table 2 Microbial α-diversity in samples

样品		α 多样性指数					
位置	深度/cm	Sobs	Shannon	Simpson	Ace	Chao	覆盖度
W	0	531	3.19	0.144	905	878	1.00
	20	473	2.65	0.188	964	828	1.00
	50	1376	3.69	0.154	1 789	1 861	0.99
	100	1430	4.60	0.056	1 902	1 925	0.99
	150	1 819	5.69	0.013	2 196	2 209	0.99
	200	1 366	5.43	0.020	1 489	1 536	0.99
	300	2 081	6.32	0.005	2 351	2 421	0.99
	400	2 138	5.85	0.010	2 806	2 827	0.98
S	20	1 495	5.67	0.011	1 771	1 791	0.99
	50	2 279	6.45	0.004	2 721	2 781	0.99
	100	2 167	6.26	0.005	2 584	2 633	0.99
	200	2 122	6.33	0.006	2 395	2 411	0.99
	300	2 333	6.40	0.004	2 789	2 808	0.99
	350	2 416	6.36	0.005	3 087	3 168	0.98
	400	3 081	6.86	0.003	3 713	3 708	0.98
M	20	1 432	5.58	0.010	1 870	1 950	0.99
	50	1 129	4.96	0.035	1 400	1 449	0.99
	200	1 962	5.99	0.010	2 436	2 473	0.99
	300	2 208	5.96	0.012	2 795	2 829	0.98
	400	2 396	6.46	0.005	2 747	2 764	0.99
F	20	1 662	5.90	0.011	1 908	1 995	0.99
	50	2 220	6.46	0.006	2 553	2 626	0.99
	100	2 307	6.53	0.003	2 628	2 637	0.99
	200	2 314	6.45	0.004	2 782	2 778	0.99
	300	2 120	6.41	0.004	2 463	2 491	0.99

少,而剩余的嗜油菌等物种大量繁殖.

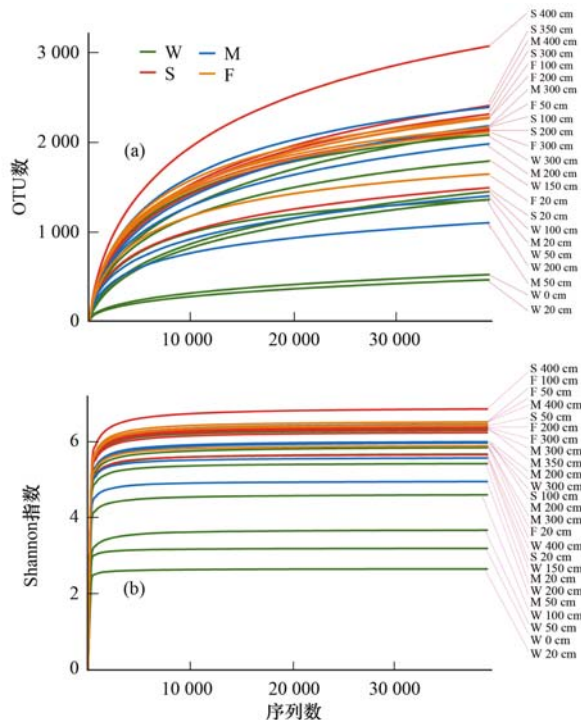


图2 OTU 和 Shannon 指数稀释曲线
Fig. 2 Rarefaction curves of operational taxonomic units and Shannon indices

2.3 种群组成及相关性分析

各样品在门水平上的种群组成如图 3 所示. 从整体上看,除了农田 100 cm 和 200 cm 样品外,其它样品的 Proteobacteria、Chloroflexi 和 Actinobacteria 丰度之和均超过了 50%. 尤其 W 点的表层 0 ~ 50 cm 土壤,其丰度之和超过了 80%. Actinobacteria 在不同采样点的丰度变化值比较小. Proteobacteria 在 W 和 M 采样点有较高的丰度. 而 Chloroflexi 在除 150 和 200 cm 外的 W 点样品中具有相对较高的丰度. 在 F 点的样品中, Proteobacteria、Actinobacteria 和 Thaumarchaeota 丰度随着深度的增加而减少,而 Chloroflexi、Nitrospirae(除 300 cm)、一门未分类菌 (unclassified) 和其它丰度小于 2% 菌门 (others) 的丰度随着深度的增加而增加. 其它采样点没有发现菌门随深度变化而有规律的变化特征.

各采样点在属水平上的群落组成如图 4 所示. 从中可以看出,相比于其它样品,油井(W)采样点 50 cm 之上土壤的群落结构较为特殊,其 *norank_f_Annaerolineaceae* (Chloroflexi 门) 和 *Marinobacter* (Proteobacteria 门) 两个菌属丰度之和大于 45%.

对这两个属在种水平上进行分类. *norank_f_*

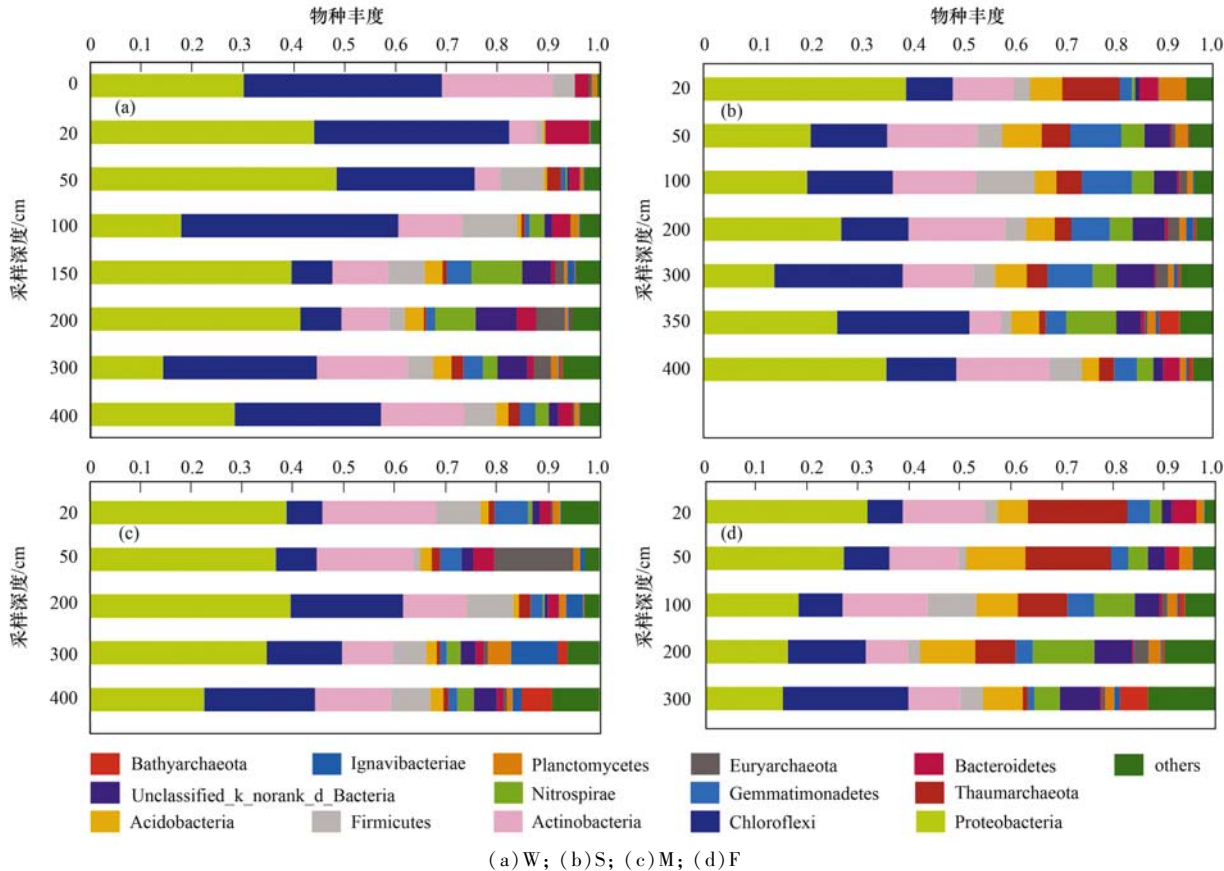


图3 不同采样点在门水平(丰度>2%)的微生物种群结构
Fig. 3 Microbial community members at the phylum level (abundance > 2%) in samples collected at different locations

Anaerolineaceae 在这 3 个土壤中均为 Anaerobic digester metagenome,而在其它样品中均属于未分类种(norank). Anaerobic digester metagenome 最初发现于厌氧消化池中,能够降解糖和蛋白质等有机物^[28]. 也有科学家发现它能够降解短链烷烃^[29]. *Marinobacter* 属在这 3 个土壤中 OTU 序列和 *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain 有 99% 的相似度,可以认为是同种微生物,该菌耐盐,并能够降解多种烃类^[30].

对比不同取样点可以发现,场地(S) 50 ~ 350 cm 和农田(F)所取土样具有较为相似的种群结构. 菌属以 *norank_f_Anaerolineaceae*、*Nitrospira* (Nitrospirae 门)、一种未分类细菌(*unclassified_norank_d_Bacteria*)、*norank_f_Gemmatimonadaceae*

(*Gemmatimonadetes* 门)、*norank_c_Acidobacteria* (*Acidobacteria* 门)、*norank_c_S085* (*Chloroflexi* 门)、*norank_f_OM1_clade* (*Actinobacteria* 门)等细菌为主,并且这几种菌丰度相差不大. 在这些菌属中,除 *norank_f_Anaerolineaceae* 外,其余均未在严重污染土样中(W 点的 0 ~ 50 cm 样品)高丰度出现. 对比石油含量还可以发现,这些样品的石油含量较低,并且没有出现石油降解指示菌,如 *Marinobacter* 和 *Alkanindiges*. 因此,该群落结构指示了较为健康的土壤生态结构. 这也表明,场地中部历史污染土壤,在没有持续性石油污染情况下,土壤中的石油能够发生自然衰减而使土壤得到修复.

PCoA 分析(图 5)可以看出样本之间群落组成的差异性. 不同的颜色表示不同类型取样点,不同

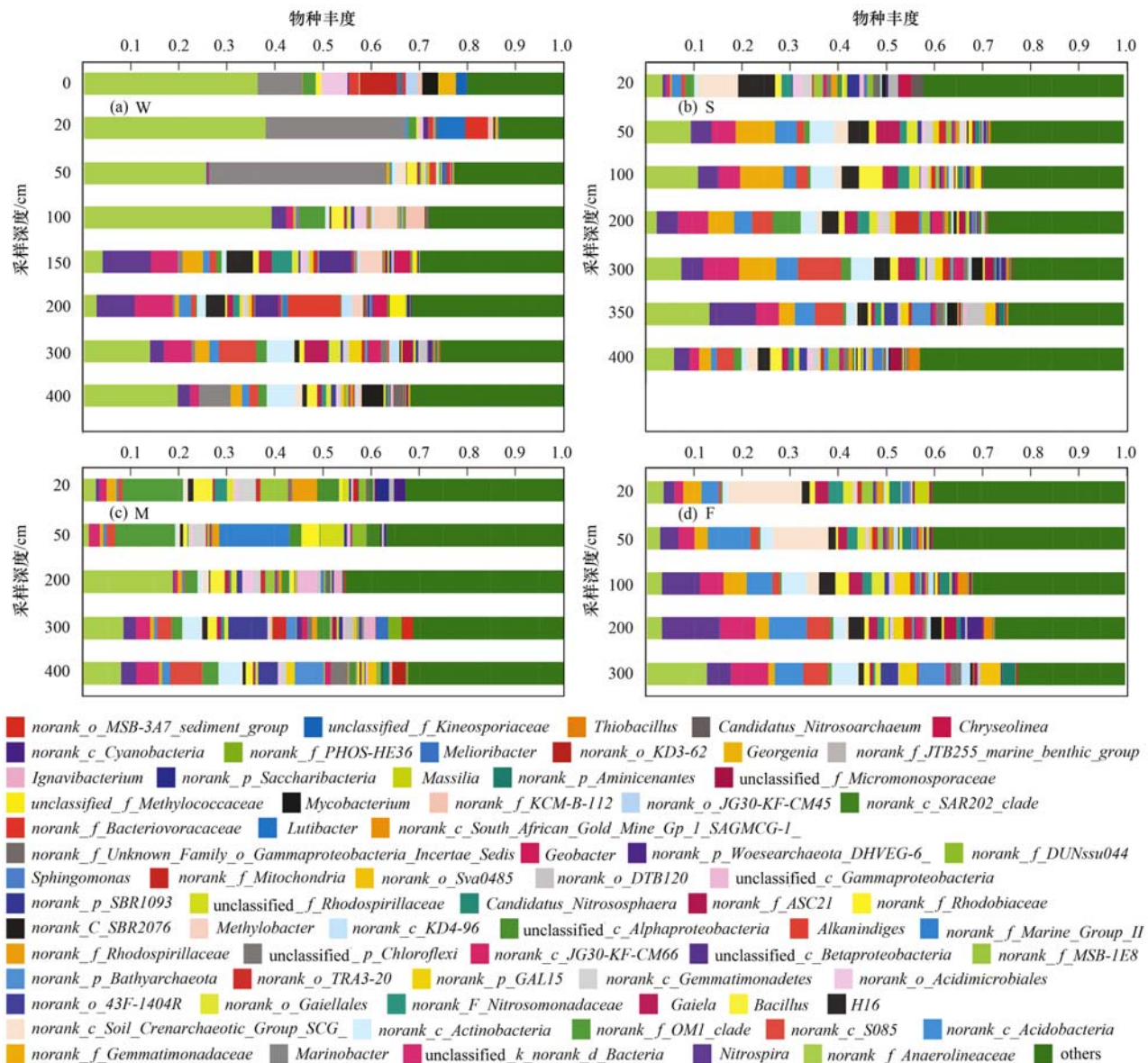


图 4 不同采样点在属水平(丰度 > 2%)的微生物种群结构

Fig. 4 Microbial community members at the genus level (abundance > 2%) in samples collected at different locations

形状表示不同的采样深度. 从图 5 中可以看出, 相对于形状, 同一种颜色较为集中. W 样品主要分布于 PC1 轴的负值区域, M 样品分布于 PC1 轴的零值左右, 而 S 和 F 样品分布于 PC1 轴的正值区域. 这说明, 相对于不同深度, 不同取样点是造成菌群结构的最主要影响因素.

W 的 100 cm 以上样品 PC1 值严重偏负, 与其它样品偏离较远. 这些样品石油含量较高, 受石油的影响, 菌群中丰度较大的菌多以石油降解或石油耐受菌为主. 农田(F 点)耕作层(深度小于 50 cm)和 S 点 20 cm 处, 由于长期耕作或近地表, 具有较为充足的氧气, 和深部土样优势菌有较为明显的差异. 除了 M 的 200 cm 以上部位和 W 的 400 cm 样品外, 所有点 100 cm 及以下土样的菌群结构较为一致. 若该场地无污染, 在不同位置所采集微生物样本应该和农田采样点具有相似的群落结构. 而受石油污染影响, 不同污染区域的菌群结构不同. 因此, 该场地微生物群落结构受石油含量和深度共同影响.

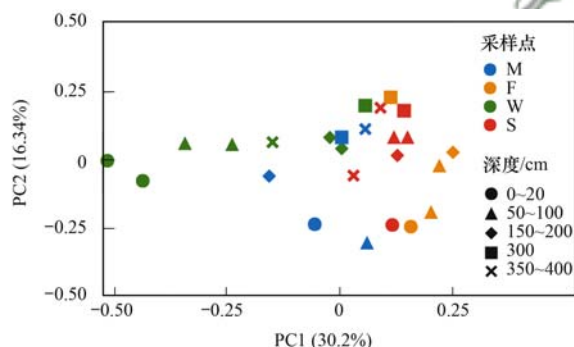


图 5 不同采样点不同深度样品 PCoA 分析

Fig. 5 Principal coordinate analysis plot of samples collected at different locations and depths

由于不同取样点是造成菌群结构的最主要影响因素, 因此, 同一取样点的土样归为一组, 共分为 W、S、M 和 F 这 4 组. 根据分组绘制 OTU 分布韦恩图(图 6). 从图 6 中可以看出, 这 4 个采样点共有 OTU 数目为 2131 个, M、W、S 和 F 独有 OTU 数目分别为 275、140、104 和 49 个. 每个采样点独有 OTU 数目远小于共有数目, 说明该场地的微生物种类大体上一致的. M 点受到石油、盐和泥浆的多重作用, 具有最多数目的独有 OTU. 而 W 和 S 正接受, 或曾经受到过石油污染, 具有较多数目的独有 OTU. 而 F 没受到污染, 具有较少的独有 OTU. 这表明, 石油等污染在较小程度上改变了微生物物种种类.

利用克氏秩和检验法, 在 OUT 水平上, 对 W、S、M 和 F 这 4 组样品进行了组间差异显著性检验

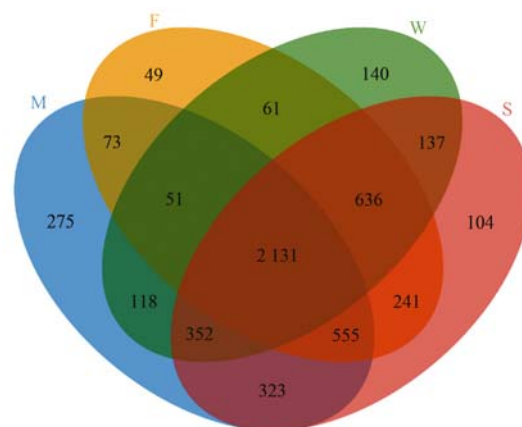


图 6 OTU 分布维恩图

Fig. 6 Venn diagram showing the distribution of operational taxonomic units

分析, 图 6 展示了有统计学差异的前 10 的 OTU. 从中可以看出, OTU7762、OTU9858、OTU3447、OTU8701、OTU7765 和 OTU6181 组间样品具有极其显著的统计学差异 ($P < 0.001$), 其序列经过 NCBI BLAST 比对, 对应的物种依次为: Anaerobic digester metagenome (99%)、*Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain (99%)、一种未培养古菌克隆 BC-F (Uncultured archaeon clone BC-F) (96%)、*Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain (99%)、*Alkanindiges* sp. (99%) 和 *Uncultured desulfuromonadales bacterium* (99%). 其中 OTU7762、OTU9858、OTU8701 和 OTU7765 在 W 采样点中的丰度远大于其余 3 个采样点, 其对应的 Anaerobic digester metagenome^[29] (99%)、*Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain^[30] 和 *Alkanindiges* sp.^[31] (99%) 均属于石油降解菌. OTU3447 在 M 采样点中的丰度远高于其他 3 组, 其对应的物种为 Uncultured archaeon clone BC-F (96%), 是与石油污染的滨海沉积物有关的古菌^[32], 说明其可能为耐盐烃类降解菌. OTU6181 分布丰度从大到小依次为 S、F、M 和 W, 其对应的微生物 *desulfuromonadales bacterium* 中的 H16 属, 和硫代谢有关, 石油影响了该菌的繁殖. OTU7811 组间样品具有显著的统计学差异 ($P < 0.01$), 仅在含油样品 W 和 M 中大量出现, 其对应的物种为 Anaerolineaceae 科, 可能也与石油烃降解相关. OTU7352、OTU3693 和 OTU9577 具有统计学差异 ($P < 0.05$). OTU7352 对应奇古菌门下的 SCG (soil crenarchaeotic group) 纲, 丰度从大到小依次为 F、S、M (W). 可见, 该菌对石油较为敏感.

OTU3693 对应的物种为 Acidimicrobiales 目下的 *OM1_clade* 属 *bacterium_YC-LK-LKJ36* 种 (99%), 该种从盐湖中分离出来, 为中度嗜盐菌^[33], 该菌指示了土壤盐分的高低. OTU9577 对应甲基杆菌属 (*Methylobacter*), 主要消化以甲烷为代表的化合

物^[34]. 该物种在 W 采样点中丰度较高 (图 7), 在 S 中有少量分布, 说明这些位置的样品有较为充裕的简单甲基化合物. 这些石油降解菌在石油污染土壤的大量出现, 显示了该场地石油烃自然衰减的巨大潜力.

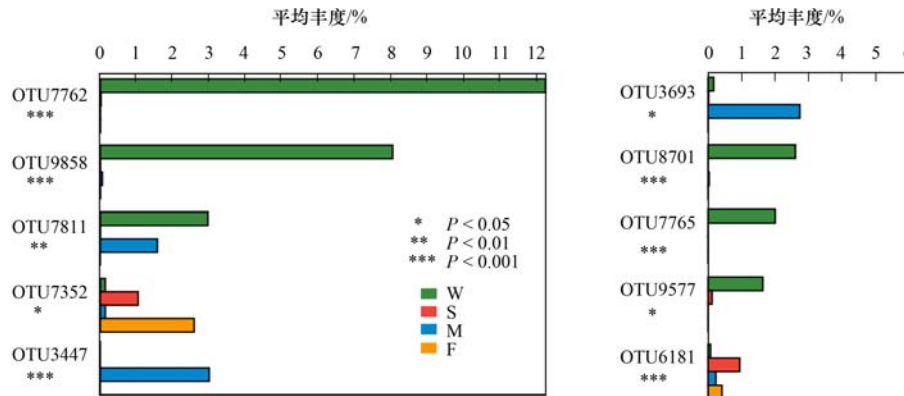


图 7 组间差异显著性检验分析

Fig. 7 Statistical significance of differences between groups

2.4 环境影响因子和微生物交互作用

为了寻求样品、物种和环境变量之间的关系, 对样品数据做了 CCA 分析, 结果如图 8 所示. 从环境因子来看, 石油含量、电导率 (EC)、三氮 (NH_4^+ 、 NO_2^- 和 NO_3^-) 含量与采样深度的夹角为钝角, 其关系为负相关^[35], 说明这些石油、盐离子和氮素都来源于地表, 通过下渗进入到土壤深部. 石油含量和电导率正相关, 说明石油和盐分同源. CCA 分析图的主轴 CCA1 几乎与石油含量轴平行, 且箭头最长, 说明石油含量是影响微生物种群结构的最主要因素. W 点样品沿三氮轴分布, 说明三氮对其种群结构影响较大. 而 M 点样品沿 EC 轴分布, 证明盐度对其种群结构有较大影响^[36]. 而 F 和 S 大部分点样品聚在一起, 说明其有较为相似的种群结构和环境因子. 从物种 (OTU) 分布来看, 大部分优势物种集中在一起, 并且与 F 和 S 点的样品点具有较近的距离, 说明健康土壤物种具有相似的种群结构. 有几个特殊的物种 (OTU) 分布在高油高盐样品区域, 其中, OTU9858 和 OTU7762 距离高含量石油污染的 W 点 20 cm 和 50 cm 样品较近, OTU7811 距离 W 点 100 cm 样品较近, OTU3447 和 OTU3693 距离 M 点的 50 cm 样品较近. 其序列经过 NCBI BLAST 比对, OTU9858 和 OTU7762 对应的物种 *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain 和 *Anaerobic digester metagenome* 都具有烃降解能力. OTU7811 对应的物种属于 *Anaerolineaceae* 科未分类菌, 可能具有烃降解能力^[29]. OTU3447 对应的物种为

Uncultured archaeon clone BC-F (96%), 是与石油污染的滨海沉积物有关的古菌^[32]. OTU3693 对应的物种为 Acidimicrobiales 目下的 *OM1_clade* 属 *bacterium_YC-LK-LKJ36* 种 (99%), 该种从盐湖中分离出来, 为中度嗜盐菌^[33]. 因此, 这几种分布在高油或高盐样品点周围的特殊物种 (OTU) 具有降解石油烃的能力或具有嗜盐性.

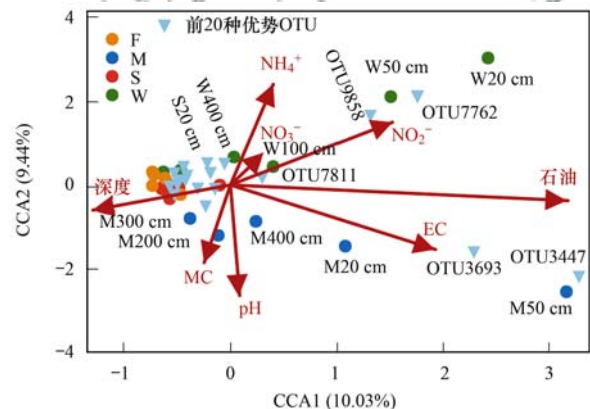


图 8 样品、环境因子和 OTUs 关系 CCA 分析

Fig. 8 Canonical correlation analysis plot of relationships between samples, environmental factors, and operational taxonomic units

3 结论

(1) 石油含量和盐度是影响该场地微生物群落结构的最主要环境因子.

(2) 在石油持续输入情况下, 表层聚集有大量的石油和石油烃降解微生物. 土壤深部 (深度 > 50 cm) 仍然有石油污染, 并且有石油烃降解微生物存在. 该处微生物群落结构与农田健康土壤有很大

不同。

(3) 泥浆池污染区域受盐度和石油影响, 聚集有嗜盐噬油古菌。该处土壤微生物群落结构也不同于农田健康土壤。

(4) 历史污染区域土壤具有较低的石油含量, 其群落结构和农田健康土壤相似, 说明了在没有持续性石油污染条件下, 石油烃会经自然衰减作用而使土壤得到修复。

(5) 因此, 该石油污染井场具有丰富的石油烃降解微生物, 对于类似石油污染场地的修复, 应在污染源控制的同时, 制定合理措施来充分发挥场地自身微生物降解石油的潜力。

参考文献:

- [1] Ramadass K, Megharaj M, Venkateswarlu K, *et al.* Ecological implications of motor oil pollution: earthworm survival and soil health[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, **85**: 72-81.
- [2] Adetutu E M, Bird C, Kadali K K, *et al.* Exploiting the intrinsic hydrocarbon-degrading microbial capacities in oil tank bottom sludge and waste soil for sludge bioremediation[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2015, **12** (4): 1427-1436.
- [3] Hamzah A, Phan C W, Bakar N F A, *et al.* Biodegradation of crude oil by constructed bacterial consortia and the constituent single bacteria isolated from Malaysia [J]. *Bioremediation Journal*, 2013, **17** (1): 1-10.
- [4] Szulc A, Ambrozewicz D, Sydow M, *et al.* The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: Feasibility during field studies[J]. *Journal of Environmental Management*, 2014, **132**: 121-128.
- [5] 吴蔓莉, 陈凯丽, 叶茜琼, 等. 堆肥-生物强化对重度石油污染土壤的修复作用[J]. *环境科学*, 2017, **38** (10): 4412-4419.
- Wu M L, Chen K L, Ye X Q, *et al.* Remediation of petroleum-contaminated soil using a bioaugmented compost technique[J]. *Environmental Science*, 2017, **38** (10): 4412-4419.
- [6] Fatima K, Afzal M, Imran A, *et al.* Bacterial rhizosphere and endosphere populations associated with grasses and trees to be used for phytoremediation of crude oil contaminated soil [J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2015, **94** (3): 314-320.
- [7] Ghoul M, Mitri S. The ecology and evolution of microbial competition[J]. *Trends in Microbiology*, 2016, **24** (10): 833-845.
- [8] Vanwonterghem I, Jensen P D, Ho D P, *et al.* Linking microbial community structure, interactions and function in anaerobic digesters using new molecular techniques[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2014, **27**: 55-64.
- [9] 杨萌青, 李立明, 李川, 等. 石油污染土壤微生物群落结构与分布特性研究[J]. *环境科学*, 2013, **34** (2): 789-794.
- Yang M Q, Li L M, Li C, *et al.* Microbial community structure and distribution characteristics in oil contaminated soil [J]. *Environmental Science*, 2013, **34** (2): 789-794.
- [10] 宋佳宇, 陈梅梅, 张海涛, 等. 石油污染土壤微生物群落代谢特征分析[J]. *环境科学与技术*, 2013, **36** (10): 63-66.
- Song J Y, Chen M M, Zhang H T, *et al.* Metabolic characteristics of oil contaminated soil microbial communities [J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, **36** (10): 63-66.
- [11] 李龙媛, 罗泽娇, 彭辉. 石油类污染物在黏性土壤中的垂直分布规律[J]. *安全与环境工程*, 2014, **21** (2): 57-62.
- Li L Y, Luo Z J, Peng H. Research on the vertical distribution of petroleum pollutants in clayed soil[J]. *Safety and Environmental Engineering*, 2014, **21** (2): 57-62.
- [12] 宁卓, 张翠云, 张胜, 等. 某废弃采油井场周边土壤石油污染及微生物分布特征研究[J]. *生态科学*, 2014, **33** (1): 127-133.
- Ning Z, Zhang C Y, Zhang S, *et al.* The study of distribution of oil contamination and microorganism in the soils in an abandoned oil well site[J]. *Ecological Science*, 2014, **33** (1): 127-133.
- [13] 左小虎, 王明霞, 姚炎红, 等. 江汉油田区典型农田土壤烃类降解微生物功能基因 *bssA* 的遗传多样性研究[J]. *土壤学报*, 2017, **54** (3): 794-803.
- Zuo X H, Wang M X, Yao Y H, *et al.* Genetic diversity of hydrocarbons degrading microbial functional gene (*bssA*) in the farmland soil typical of Jiangnan oilfield [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2017, **54** (3): 794-803.
- [14] 蔡婧怡, 陈宗宇, 蔡五田, 等. 某石化污染场地含水层自然降解 BTEX 能力评估[J]. *现代地质*, 2015, **29** (2): 383-389.
- Cai J Y, Chen Z Y, Cai W T, *et al.* The assessment of aquifer natural attenuation (BTEX) capacity in a petrochemical contaminated site[J]. *Geoscience*, 2015, **29** (2): 383-389.
- [15] 王鑫, 王学江, 卜云洁, 等. 外加氮源强化石油降解菌降解性能[J]. *同济大学学报(自然科学版)*, 2014, **42** (6): 924-929.
- Wang X, Wang X J, Bu Y J, *et al.* Enhanced biodegradation characteristics of oil degrading strains supplemented with nitrogen source[J]. *Journal of Tongji University (Natural Science)*, 2014, **42** (6): 924-929.
- [16] 王建, 祁迎春, 伍东东. 陕北油田钻井废弃物中污染物分析[J]. *延安大学学报(自然科学版)*, 2017, **36** (3): 41-44.
- Wang J, Qi Y C, Wu D D. Analysis of pollutants in northern Shaanxi oilfield drilling waste[J]. *Journal of Yanan University (Natural Science Edition)*, 2017, **36** (3): 41-44.
- [17] 张坤, 苗长春, 徐圆圆, 等. 麦秸强化石油烃污染耕地水浸洗盐过程及场地试验[J]. *环境科学*, 2009, **30** (1): 231-236.
- Zhang K, Miao C C, Xu Y Y, *et al.* Process fundamentals and field demonstration of wheat straw enhanced salt leaching of petroleum contaminated farmland [J]. *Environmental Science*, 2009, **30** (1): 231-236.
- [18] Tazi L, Breakwell D P, Harker A R, *et al.* Life in extreme environments: microbial diversity in Great Salt Lake, Utah[J]. *Extremophiles*, 2014, **18** (3): 525-535.
- [19] 李纪云, 李丽, 冯成武. 超声-紫外法测定土壤中石油类物质含量[J]. *石油大学学报(自然科学版)*, 1999, **23** (6): 82-83, 93.
- Li J Y, Li L, Feng C W. Determination of oil content in soil by ultraviolet-visible spectrophotometric method and supersonic

- extraction [J]. Journal of the University of Petroleum, China, 1999, **23**(6): 82-83, 93.
- [20] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [21] Barret M, Briand M, Bonneau S, *et al.* Emergence shapes the structure of the seed microbiota[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, **81**(4): 1257-1266.
- [22] 赵广红, 周立志, 董元秋, 等. 安徽升金湖越冬白头鹤(*Grus monacha*)肠道菌群组成的时间变化[J]. 湖泊科学, 2017, **29**(3): 670-677.
- Zhao G H, Zhou L Z, Dong Y Q, *et al.* The temporal variations of gut microbiota composition in overwintering Hooded Crane (*Grus monacha*) at Lake Shengjin, Anhui Province[J]. Journal of Lake Sciences, 2017, **29**(3): 670-677.
- [23] 徐飞, 蔡体久, 杨雪, 等. 三江平原沼泽湿地垦殖及自然恢复对土壤细菌群落多样性的影响[J]. 生态学报, 2016, **36**(22): 7412-7421.
- Xu F, Cai T J, Yang X, *et al.* Effect of cultivation and natural restoration on soil bacterial community diversity in marshland in the Sanjiang Plain[J]. Acta Ecologica Sinica, 2016, **36**(22): 7412-7421.
- [24] Lueders T. The ecology of anaerobic degraders of BTEX hydrocarbons in aquifers [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2017, **93**(1): fiw220.
- [25] Kern M, Watzinger A, Scherr K E. ¹⁵N-nitrate and ³⁴S-sulfate isotopic fractionation reflects electron acceptor 'recycling' during hydrocarbon biodegradation[J]. New Biotechnology, 2017, **38**: 91-100.
- [26] Andrade M V F, Sakamoto I K, Corbi J J, *et al.* Effects of hydraulic retention time, co-substrate and nitrogen source on laundry wastewater anionic surfactant degradation in fluidized bed reactors[J]. Bioresource Technology, 2017, **224**: 246-254.
- [27] Feng Y, Li X, Song T, *et al.* Stimulation effect of electric current density (ECD) on microbial community of a three dimensional particle electrode coupled with biological aerated filter reactor (TDE-BAF) [J]. Bioresource Technology, 2017, **243**: 667-675.
- [28] McIlroy S J, Kirkegaard R H, Dueholm M S, *et al.* Culture-independent analyses reveal novel anaerolineaceae as abundant primary fermenters in anaerobic digesters treating waste activated sludge[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, **8**: 1134.
- [29] Liang B, Wang L Y, Mbadinga S M, *et al.* Anaerolineaceae and Methanosaeta turned to be the dominant microorganisms in alkanes-dependent methanogenic culture after long-term of incubation[J]. AMB Express, 2015, **5**: 37.
- [30] Ling J, Lin L Y, Zhang Y Y, *et al.* Draft genome sequence of *Marinobacter hydrocarbonoclasticus* strain STW2, a polycyclic aromatic hydrocarbon-degrading and denitrifying bacterium from the rhizosphere of seagrass *Enhalus acodoides* [J]. Genome Announcements, 2017, **5**(8): e01412-16.
- [31] Sun W M, Dong Y R, Gao P, *et al.* Microbial communities inhabiting oil-contaminated soils from two major oilfields in Northern China: implications for active petroleum-degrading capacity[J]. Journal of Microbiology, 2015, **53**(6): 371-378.
- [32] Rölöf W F M, Couto de Brito I R, Swannell R P J, *et al.* Response of archaeal communities in beach sediments to spilled oil and bioremediation [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, **70**(5): 2614-2620.
- [33] Li X, Yu H Y. Biodiversity and screening of halophilic bacteria with hydrolytic and antimicrobial activities from Yuncheng Salt Lake, China[J]. Biologia, 2015, **70**(2): 151-156.
- [34] Wei M, Qiu Q F, Qian Y X, *et al.* Methane oxidation and response of *Methylobacter/Methylosarcina* methanotrophs in flooded rice soil amended with urea[J]. Applied Soil Ecology, 2016, **101**: 174-184.
- [35] ter Braak C J F, Verdonschot P F M. Canonical correspondence analysis and related multivariate methods in aquatic ecology[J]. Aquatic Sciences, 1995, **57**(3): 255-289.
- [36] 张金屯. 植被数量生态学方法[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1995.

CONTENTS

Spatial-Temporal Change Evolution of PM _{2.5} in Typical Regions of China in Recent 20 Years	LUO Yi, DENG Qiong-fei, YANG Kun, <i>et al.</i>	(3003)
Evaluation the Extent of Health Damage Caused by PM _{2.5} Particulate in Xi'an City	WEI Guo-ru, SHI Xing-min	(3014)
Analysis of Chemical Composition, Source and Evolution of Submicron Particles in Xianghe, Hebei Province	JIANG Qi, WANG Fei, SUN Ye-le	(3022)
Characteristics and Source Analysis of Carbonaceous Components of PM _{2.5} During Autumn in the Northern Suburb of Nanjing	XU Zu-fei, CAO Fang, GAO Song, <i>et al.</i>	(3033)
Comparison of Chemical Components Characteristics of PM _{2.5} Between Haze and Clean Periods During Summertime in Lin'an	LIANG Lin-lin, SUN Jun-ying, ZHANG Yang-mei, <i>et al.</i>	(3042)
Characteristics and Sources of Carbon Components in PM _{2.5} During Autumn and Winter in Panjin City	ZHANG Lei, JI Ya-qin, ZHANG Jun, <i>et al.</i>	(3051)
Aerosol Optical Properties and Light Absorption Enhancement of EC During Wintertime in Nanjing	HUANG Cong-cong, MA Yan, ZHENG Jun	(3057)
Concentration, Solubility, and Dry Deposition Flux of Trace Elements in Fine and Coarse Particles in Qingdao During Summer	LI Peng-zhi, LI Qian, SHI Jin-hui, <i>et al.</i>	(3067)
Characteristics and Sources of Dissolved Heavy Metals in Summer Precipitation of Taiyuan City, China	YE Ai-ling, CHENG Ming-chao, ZHANG Lu, <i>et al.</i>	(3075)
Characteristics of and Factors Affecting Atmospheric CO ₂ Concentration in Hangzhou	PU Jing-jiao, XU Hong-hui, JIANG Yu-jun, <i>et al.</i>	(3082)
Treatment Status and Emission Characteristics of Volatile Organic Compounds from Typical Industrial Sources	JING Sheng-ao, WANG Hong-li, ZHU Hai-lin, <i>et al.</i>	(3090)
Characteristics of Industrial VOCs Emission Sources and Control Technology Application in a Prefecture-level City Region-Based on Qinhuangdao City	HU Xu-rui, HU Xiao-yu, WANG Can	(3096)
Pollution Condition and Health Risk Assessment of VOCs in Fermentation Exhaust from Penicillin Production	GUO Bin, YAO Rui-jing, ZHANG Shuo, <i>et al.</i>	(3102)
Measurements of OC and EC Emission Factors for Light-duty Gasoline Vehicles	HUANG Cheng, HU Qing-yao, LU Jun	(3110)
Pollution Levels and Risk Assessment of Heavy Metals from Atmospheric Deposition in Nanjing	TIAN Chun-hui, YANG Ruo-zhu, Gulizhaer Yilihamu, <i>et al.</i>	(3118)
Contamination Levels and Source Analysis of Heavy Metals in the Finer Particles of Urban Road Dust from Xi'an, China	SHI Dong-qi, LU Xin-wei	(3126)
pCO ₂ in the Main Rivers of the Three Gorges Reservoir and Its Influencing Factors	LUO Jia-chen, MAO Rong, LI Si-yue	(3134)
Major Ionic Features and Their Possible Controls in the Surface Water and Groundwater of the Jinghe River	KOU Yong-chao, KUA Kun, LI Zhou, <i>et al.</i>	(3142)
Urban Runoff Phosphorus Removal Pathways in Bioretention Systems	LI Li-qing, LIU Yu-qing, YANG Jia-min, <i>et al.</i>	(3150)
Succession Characteristics of Phytoplankton Functional Groups and Their Relationships with Environmental Factors in Dianshan Lake, Shanghai	YANG Li, ZHANG Wei, SHANG Guang-xia, <i>et al.</i>	(3158)
Spatio-temporal Variations of Diatom Community and Their Relationship with Water Environment in Fuxian Lake	LI Rui, CHEN Guang-jie, KANG Wen-gang, <i>et al.</i>	(3168)
Effects of Algal Blooms and Their Degradation on the Sediment-water Micro-interface	WANG Yong-ping, XIE Rui, CHAO Jian-ying, <i>et al.</i>	(3179)
Effect of Biochar on Root Morphological Characteristics of Wetland Plants and Purification Capacity of Constructed Wetland	XU De-fu, PAN Qian-cheng, LI Ying-xue, <i>et al.</i>	(3187)
Preparation of Mn-Co/Ceramic Honeycomb Catalyst and Its Performance on Catalytic Ozonation of Hydroquinone	ZHANG Lan-he, GAO Wei-wei, CHEN Zi-cheng, <i>et al.</i>	(3194)
Degradation Mechanism of Tetracycline Using Fe/Cu Oxides as Heterogeneous Activators of Peroxymonosulfate	LI Jing, BAO Jian-guo, DU Jiang-kun, <i>et al.</i>	(3203)
Behavior and Mechanisms of Cd(II) Adsorption from Water by Niobate-Modified Titanate Nanosheets	KANG Li, LIU Wen, LIU Xiao-na, <i>et al.</i>	(3212)
Trace Amounts of Phosphorus Removal Based on the in-suit Oxidation Products of Iron or Manganese in a Biofilter	CAI Yan-an, BI Xue-jun, ZHANG Jia-ning, <i>et al.</i>	(3222)
Effect of Preparation Methods on Phosphate Adsorption by Iron-Titanium Binary Oxide: Coprecipitation and Physical Mixing	ZHONG Yan, WANG Jiang-yan, CHEN Jing, <i>et al.</i>	(3230)
Effects of Conductivity on Performance of a Combined System of Anaerobic Acidification, Forward Osmosis, and a Microbial Fuel Cell	LU Yu-qin, LIU Jin-meng, WANG Xin-hua, <i>et al.</i>	(3240)
COD Requirement for Biological Phosphorus Removal Granule System Under Different Phosphorus Concentrations	LI Dong, CAO Mei-zhong, GUO Yue-zhou, <i>et al.</i>	(3247)
Effect of Substrate Concentration on SAD Collaborative Nitrogen and Carbon Removal Efficiency in an ABR Reactor	ZHANG Min, JIANG Ying, WANG Yao-qi, <i>et al.</i>	(3254)
Evaluation of Advanced Nitrogen Removal from Coking Wastewater Using Sulfide Iron-containing Sludge as a Denitrification Electron Donor	FU Bing-bing, PAN Jian-xin, MA Jing-de, <i>et al.</i>	(3262)
Stability of Nitrification Combined with Limited Filamentous Bulking Under Intermittent Aeration	GAO Chun-di, SUN Da-yang, AN Ran, <i>et al.</i>	(3271)
Filamentous Sludge Microbial Community of a SBR Reactor Based on High-throughput Sequencing	HONG Ying, YAO Jun-qin, MA Bin, <i>et al.</i>	(3279)
Impact of Nano Zero-Valent Iron (NZVI) on Methanogenic Activity, Physiological Traits, and Microbial Community Structure in Anaerobic Digestion	SU Run-hua, DING Li-li, REN Hong-qiang	(3286)
Effects of Gas/Water Ratio on the Characteristics of Nitrogen Removal and the Microbial Community in Post Solid-Phase Denitrification Biofilter Process	ZHANG Qian, JI Fang-ying, FU Xu-fang, <i>et al.</i>	(3297)
Comparison of Extraction Methods of Extracellular Polymeric Substances from Activated Sludge	SUN Xiu-yue, TANG Zhu, YANG Xin-ping	(3306)
Identification and Characterization of a Hypothermic Alkaliphilic Aerobic Denitrifying Bacterium <i>Pseudomonas monteilii</i> Strain H97	CAI Xi, HE Teng-xia, YE Qing, <i>et al.</i>	(3314)
Isolation, Identification, and Biodegradation Behaviors of a Perfluorooctane Sulfonic Acid Precursor (PreFOSs) Degrading Bacterium from Contaminated Soil	ZHAO Shu-yan, ZHOU Tao, WANG Bo-hui, <i>et al.</i>	(3321)
Microbial Community Distributions in Soils of an Oil Exploitation Site	CAI Ping-ping, NING Zhuo, HE Ze, <i>et al.</i>	(3329)
Characteristics of Soil Physicochemical Properties and Enzyme Activities over Different Reclaimed Years in a Copper Tailings Dam	WANG Rui-hong, JIA Tong, CAO Miao-wen, <i>et al.</i>	(3339)
Risk Analysis of Heavy Metal Contamination in Farmland Soil Around a Bauxite Residue Disposal Area in Guangxi	GUO Ying, LI Yu-bing, XUE Sheng-guo, <i>et al.</i>	(3349)
Occurrence and Distribution of Phthalate Esters in Urban Soils of Chongqing City	YANG Zhi-hao, HE Ming-jing, YANG Ting, <i>et al.</i>	(3358)
Profile Distribution of Paddy Soil Organic Carbon and Its Influencing Factors in Chengdu Plain	LI Shan, LI Qi-quan, WANG Chang-quan, <i>et al.</i>	(3365)
Correlation Between Soil Organic and Inorganic Carbon and Environmental Factors in Cotton Fields in Different Continuous Cropping Years in the Oasis of the Northern Tarim Basin	ZHAO Jing-jing, GONG Lu, AN Shen-qun, <i>et al.</i>	(3373)
Soil Organic Carbon Components and Their Correlation with Soil Physicochemical Factors in Four Different Land Use Types of the Northern Tarim Basin	AN Shen-qun, GONG Lu, LI Yang-mei, <i>et al.</i>	(3382)
Short-term Mechanism of Warming-induced Stability for Organic Carbon in the Karst Plateau Soil	TANG Guo-yong, ZHANG Chun-hua, LIU Fang-yan, <i>et al.</i>	(3391)
Effects of Boron Treatment on Arsenic Uptake and Efflux in Rice Seedlings	ZHU Yi, SUN Guo-xin, CHEN Zheng, <i>et al.</i>	(3400)
Comparative Analysis of Different Soil Amendment Treatments on Rice Heavy Metal Accumulation and Yield Effect in Pb and Cd Contaminated Farmland	HU Xue-fang, TIAN Zhi-qing, LIANG liang, <i>et al.</i>	(3409)
Seasonal Variation in Surface Ozone and Its Effect on the Winter Wheat and Rice in Nanjing, China	ZHAO Hui, ZHENG You-fei, WEI Li, <i>et al.</i>	(3418)
Hair Mercury Concentrations in Residents of Fuling and Zhongxian in the Three Gorges Reservoir Region and Their Influence Factors	CHENG Nan, XIE Qing, FAN Yu-fei, <i>et al.</i>	(3426)
Removal of Typical Antibiotics During Aerobic Composting of Human Feces	SHI Hong-lei, WANG Xiao-chang, LI Qian	(3434)
Effect of COD/SO ₄ ²⁻ Ratio on Anaerobic Digestion of Penicillin Bacterial Residues	QIANG Hong, LI Yu-you, PEI Meng-fu	(3443)
Characteristics of Odor Emissions from Fresh Compost During Storage and Application	HE Pin-jing, JIANG Ning-ling, XU Xian, <i>et al.</i>	(3452)
Effects of the Veterinary Antibiotic Sulfamethazine on Ammonia Volatilization from a Paddy Field Treated with Conventional Synthetic Fertilizer and Manure	PANG Bing-kun, ZHANG Jing-sha, WU Jie, <i>et al.</i>	(3460)