

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.2
第40卷 第2期

目次

冬季山谷风和海陆风对京津冀地区大气污染分布的影响	李青春, 李炬, 郑祚芳, 王耀庭, 于淼 (513)
珠三角地区利用 PM _{2.5} 反演气溶胶数浓度谱方法	李菲, 谭浩波, 邓雪娇, 邹宇, 刘礼, 蔡明甫, 张芷言, 周声圳 (525)
广州冬季气溶胶中水溶性有机物和类腐殖质的吸光性和荧光光谱特性	范行军, 余旭芳, 操涛, 王艳, 肖新, 谢越, 李飞跃, 宋建中, 彭平安 (532)
扬州市 PM _{2.5} 中重金属来源及潜在健康风险评估	董世豪, 谢扬, 皇甫延琦, 史旭荣, 易睿, 史国良, 冯银厂 (540)
聊城市冬季 PM _{2.5} 中正构烷烃和糖类的污染特征及来源解析	刘晓迪, 孟静静, 侯战方, 衣雅男, 魏本杰, 伏梦璇 (548)
博斯腾湖流域大气多环芳烃污染特征、干沉降通量及来源	宋世杰, 黄韬, 赵留元, 毛潇萱, 穆熙, 高宏, 马建民 (558)
某集约化肉鸡饲养场 PM _{2.5} 中抗生素抗性基因的分布特征	刘菲, 许霞, 屠博文, 汪楚乔, 江晓栋, 王利平, 薛银刚 (567)
水汽源地和局地蒸发对大气降水氢氧稳定同位素组分的影响	胡勇博, 肖薇, 钱雨妃, 刘强, 谢成玉, 张秀芳, 张文庆, 温学发, 刘寿东, 李旭辉 (573)
滇池大气沉降氮磷形态特征及其入湖负荷贡献	任加国, 贾海斌, 焦立新, 王一茹, 杨苏文, 武倩倩, 高秋生, 崔志丹, 郝子峰 (582)
基于地统计学分析的太湖颗粒态和溶解态氮、磷营养盐时空分布特征及来源分析	吕伟伟, 姚昕, 张保华, 高光, 邵克强 (590)
湖泊蓝藻水华对连通河道水质的影响	余茂蕾, 洪国喜, 许海, 朱广伟, 朱梦圆, 权秋梅 (603)
异龙湖沉积物重金属人为污染与潜在生态风险	李小林, 刘恩峰, 于真真, 张恩楼, 王荣, 沈吉 (614)
珠江河口悬浮物中重金属时空变化特征及其影响因素	杜佳, 王永红, 黄清辉, 戴琦, 杨远东 (625)
北运河粪源微生物分布特征及健康风险评价	陈磊, 李蕾芳, 邱晓沙, 张普, 戴莹, 肖月晨, 沈珍瑶 (633)
氧化还原循环过程中沉积物磷的形态及迁移转化规律	郝文超, 王从锋, 杨正健, 刘德富, 纪道斌, 赵萍, 丹勇, 胡子龙 (640)
磁性赭铁改性膨润土添加对河道底泥磷迁移与形态转化的影响	王艳, 林建伟, 詹艳慧, 张宏华, 张志斌, 何思琪, 赵钰颖, 吴小龙, 俞阳 (649)
钙预处理对磁性赭铁改性膨润土吸附水中磷酸盐的影响	赵钰颖, 林建伟, 张宏华, 张志斌, 詹艳慧, 姜博汇, 何思琪, 俞阳, 吴小龙, 王艳, 陈璐, 李十盛 (658)
NH ₄ ⁺ 对镁改性生物炭除磷效果的影响	郭蒙蒙, 王鹏飞, 侯泽英, 曹晶, 储昭升, 杨永哲 (669)
3 种吸附剂对污水磷污染去除性能与机制比较	吴露, 刘锋, 龙睿, 罗沛, 肖润林, 陈向, 吴金水 (677)
硝酸纤维素膜光降解水中对硝基苯酚的机制	代志峰, 赵同谦, 阴永光, 余加平, 武俐, 邵超, 孙静阳, 罗玉俊 (685)
ZnTiO ₂ -TiO ₂ 复合光催化剂的制备及光催化降解有机污染物机制分析	张文海, 吉庆华, 兰华春, 李静 (693)
高指数晶面 TiO ₂ 对铬的吸附及光催化去除	钟德健, 张建峰, 李尧, 谢晓丹 (701)
Fe ⁰ /海藻酸钙微球还原-Fenton 氧化协同降解酸性红 B	张环, 李爽爽, 魏俊富, 傅敏, 李雪曦, 丁琦, 白蓉 (708)
不同滤料滤池启动期对铁锰离子的去除机制	蔡言安, 毕学军, 张嘉凝, 何静, 董杨, 王海港 (717)
SGO 改性复合纳滤膜的制备及分盐性能	张彦君, 张少峰, 赵长伟, 王军 (724)
一体式铝盐絮体-超滤膜净水效能与机制	薛文静, 李文江, 刘娟, 马百文 (730)
臭氧-CNT 膜改性联用工艺处理高盐废水及膜污染分析	王凯伦, 刘芳, 关羽琪, 祝学东, 董丹, 薛小雷, 马燕林, 栾桂荣, 郭瑾 (738)
多环芳烃及其衍生物在 SBR/MBBR 工艺中的分布与去除	刘淑惠, 周伟君, 周建仁, 赵婧, 王喆 (747)
微气泡曝气生物膜反应器处理低 C/N 比废水脱氮过程	刘春, 王聪聪, 陈晓轩, 张静, 张瑞娜, 张磊 (754)
从枝菌根强化型生态浮床处理煤化工模拟含盐废水	窦文清, 何皓, 宋文萍, 王曙光, 戴东伟 (761)
夏季高温下污水处理厂生物处理系统的硝化性能及强化方法	宋天伟, 盛晓琳, 王家德, 刘锐, 陈吕军 (768)
硝化包埋菌颗粒氨吸附性能及动力学特性	于德爽, 吕廷廷, 陈光辉, 王晓霞, 唐鹏, 黄硕, 刘诚诚, 杜世明 (774)
乙酸钠作为碳源不同污泥源短程反硝化过程亚硝酸盐积累特性	毕春雪, 于德爽, 杜世明, 王晓霞, 陈光辉, 王钧, 巩秀珍, 都叶奇 (783)
DPR-SNED 系统处理低 C/N 城市污水与硝酸盐废水的运行特性	杜世明, 于德爽, 毕春雪, 王晓霞, 陈光辉, 袁梦飞, 甄建国, 张帆, 吕廷廷 (791)
间歇曝气连续流反应器同步硝化反硝化除磷	赵智超, 黄剑明, 李健, 张为堂, 张力航, 吴雪晴, 陈永志 (799)
ABR-MBR 反硝化除磷工艺的启动及稳定运行	韦佳敏, 蒋志云, 程诚, 朱琳, 刘文如, 沈耀良 (808)
进水 C/N 对 SNEDPR 系统脱氮除磷的影响	都叶奇, 于德爽, 甄建国, 王晓霞, 陈光辉, 唐鹏, 王钧, 毕春雪, 巩秀珍, 黄硕, 刘诚诚 (816)
ABR 除碳-CANON 耦合工艺除碳脱氮特性	李田, 印雯, 王昕竹, 沈耀良, 吴鹏, 宋吟玲 (823)
不同曝气密度对 CANON 工艺启动的影响	李冬, 高雪健, 张杰, 曹正美, 郭跃洲, 李帅 (829)
调控温度和沉降时间实现 ANAMMOX 颗粒快速启动及其稳定运行	李海玲, 李冬, 张杰, 刘博, 李帅 (837)
C/N 和污泥浓度对以 pH 值调控的亚硝化系统影响	张敏, 韦佳敏, 黄慧敏, 姜滢, 郭萌蕾, 陈重军, 沈耀良 (845)
基于活性微生物特征的供水管壁生物膜生长特性	王杨, 朱斌, 童俊, 白晓慧 (853)
黄山土壤细菌群落和酶活性海拔分布特征	姚兰, 胡立煌, 张焕朝, 方炎明, 王良梅 (859)
基于高通量测序分析的生物修复石油污染土壤菌群结构变化	祁燕云, 吴蔓莉, 祝长成, 叶茜琼, 徐会宁 (869)
硝化作用对盐碱湿地 N ₂ O 排放的影响及其环境因子分析	杨曲, 高伟峰, 刘凤琴, 王文锋, 马建华, 徐卓, 梁红, 高大文 (876)
长期定位施用牛粪对夏玉米-冬小麦体系农田 N ₂ O 和 NO 排放的影响	聂皇华, 张家升, 和周明, 安梅, 杨学云, 顾江新 (885)
地膜覆盖和施氮对菜地 N ₂ O 排放的影响	倪雪, 郝庆菊, 陈世杰, 李晓茜, 石孝均, 江长胜 (893)
双季稻品种根际特征与甲烷排放差异及其关系	肖志祥, 傅志强, 徐华勤, 苏姗, 郭昱, 张浪, 唐剑武 (904)
多年施用生物炭对河南烤烟种植区土壤呼吸的影响	李亚森, 丁松爽, 殷全玉, 李佳轶, 周迪, 刘国顺 (915)
桂林毛村不同土地利用方式下土壤呼吸空间变异特征	丁梦凯, 胡晓农, 曹建华, 吴夏, 黄芬, 王奇岗, 闵佳 (924)
工业发达城市土壤重金属时空变异与源解析	李峰, 刘思源, 李艳, 史舟 (934)
膨润土对不同类型农田土壤重金属形态及生物有效性的影响	林海, 靳晓娜, 董颖博, 罗明科, 赵一鸣 (945)
缙云山不同林分下土壤有机碳及矿化特征	陈仕奇, 吕盛, 高明, 黄容 (953)
复杂地形条件下根系对土壤有机碳的贡献	张彦军, 郭胜利 (961)
不同水平外源碳在稻田土壤中转化与分配的微生物响应特征	王季斐, 童瑶瑶, 祝贞科, 陈珊, 邓扬悟, 葛体达, 吴金水 (970)
宝鸡市植被叶子重金属分布规律及生态风险评价	张俊辉, 林青, 姜珊, 刘滨, 李东兴, 王彦虎 (978)
生物炭对污泥堆肥及其利用过程重金属有效态的影响	周楫, 余亚伟, 蒋越, 杨雨滢, 张成 (987)
污泥停留时间对餐厨垃圾与剩余污泥中温厌氧混合发酵系统的影响	袁宏林, 马静, 邢保山, 温俊伟, 韩宇乐, 李倩, 王晓昌 (994)
热碱-分步酶水解-厌氧消化工艺处理秸秆畜禽粪混合物料及其甲烷高值化条件	卞爱琴, 远野, 张璐璐, 付强, 陈天明, 何磊, 丁成, 王爱杰 (1003)
《环境科学》征订启事 (547)	
《环境科学》征稿简则 (828)	
信息 (581, 933, 952)	

基于高通量测序分析的生物修复石油污染土壤菌群结构变化

祁燕云, 吴蔓莉*, 祝长成, 叶茜琼, 徐会宁

(西安建筑科技大学环境与市政工程学院, 陕西省环境工程重点实验室, 西北水资源与环境生态教育部重点实验室, 西安 710055)

摘要: 利用高通量测序技术对微生物修复石油污染土壤过程中的微生物群落结构变化进行研究。结果表明, 经修复处理的土壤微生物群落结构及多样性发生明显变化。利用生物强化修复处理(BA)的土壤中, 微生物丰富度与均匀度明显降低, 土著菌群受到抑制, 外加变形菌门(Proteobacteria)成为主要的优势菌门, 相对丰度由修复前的37.44%增加为87.44%。假单胞菌属(*Pseudomonas*)成为土壤中的优势菌属, 丰度由2.99%增加为76.37%; 进行生物刺激修复处理的土壤(BS)菌群丰富度和均匀度与原污染土壤相比略有降低。菌群结构组成上, 原优势菌门变形菌门(Proteobacteria)丰度由37.44%降低为10.90%, 厚壁菌门(Firmicutes)丰度由9.16%增加为35.32%, 属水平上, 原优势菌属微小杆菌属(*Exiguobacterium*)和原小单胞菌属(*Promicromonospora*)丰度由8.49%和18.96%分别降低为2.19%和14.97%, 诺卡氏菌属(*Nocardioides*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)丰度由5.56%和0.29%分别增加至28.95%和22.70%, 成为主要优势菌属。生物强化修复处理引起土壤菌群多样性和结构发生明显变化, 生物刺激修复处理可基本保持土壤菌群结构多样性不被破坏, 土壤菌群结构的稳定有利于石油烃的生物降解。

关键词: 石油污染土壤; 微生物修复; 高通量测序; 微生物群落结构; 多样性

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)02-0869-07 DOI: 10.13227/j.hjxx.201805174

Microbial Community Structure Shift During Bioremediation of Petroleum Contaminated Soil Using High Throughput Sequencing

QI Yan-yun, WU Man-li*, ZHU Chang-cheng, YE Xi-qiong, XU Hui-ning

(Shaanxi Key Laboratory of Environmental Engineering, Key Laboratory of Northwest Water Resource, Environment and Ecology, School of Environmental and Municipal Engineering, Xi'an University of Architecture and Technology, Xi'an 710055, China)

Abstract: The shift in microbial community structure during the bioremediation of oil-polluted soil was analyzed by high-throughput sequencing. The results demonstrated obvious changes in the soil microbial community structure and diversity during bioremediation. The species richness and evenness of the microbial community decreased substantially due to the bioaugmentation treatment. Proteobacteria became the predominant phylum, with a relative increase in abundance from 37.44% to 87.44%. *Pseudomonas* was the most dominant genus, which increased in abundance from 2.99% to 76.37%. In the biostimulation treated soil, the relative abundance of Proteobacteria decreased from 37.44% to 10.90%, while the phylum Firmicutes increased from 9.16% to 35.32%. At the genus level, the relative abundances of *Exiguobacterium* and *Promicromonospora* decreased from 8.49% and 18.96% to 2.19% and 14.97%, respectively. *Nocardioides* and *Bacillus* became the dominant genera and increased from 5.56% and 0.29% to 28.95% and 22.70%, respectively. The results indicated that bioaugmentation substantially influenced the soil microbial diversity and community structure. Additionally, the biostimulation treatment maintained the balance in the soil microbial community structure. The stabilization of bacteria community structure is beneficial to petroleum biodegradation in the soil.

Key words: petroleum contaminated soil; bioremediation; high throughput sequencing; microbial community structure; biodiversity

在石油的开采、运输、提炼和使用过程当中, 由于泄漏或者运输不当造成的土壤污染问题日益严重^[1]。石油类污染物进入土壤环境后, 会使土壤结构和性质发生改变, 破坏土壤生态平衡, 影响土壤微生物群落组成和结构^[2,3]。

微生物修复法被认为是最有前景的石油污染土壤修复技术^[4,5]。在利用微生物技术对土壤进行修复时, 石油烃的去除效果与土壤微生物活性、降解菌数量及土壤菌群结构变化密切相关。一些研究认为当土壤中石油烃降解菌数量达到 1×10^8

CFU·g⁻¹, 土壤 C/N/P 比接近 100/10/1 时, 降解菌活性较大, 对土壤中石油烃的去除作用最好^[6~8]。修复过程中土壤菌群结构发生相应变化, 石油烃的去除与土壤微生物群落结构变化有关^[9]。有研究发现, 利用微生物法修复油污土壤前期, 细菌菌群对

收稿日期: 2018-05-21; 修订日期: 2018-07-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(21577109); 陕西省自然科学基金项目(2015JM5163)

作者简介: 祁燕云(1993~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为石油污染土壤的微生物修复技术, E-mail: 1218750691@qq.com

* 通信作者, E-mail: 447005853@qq.com

易降解石油烃的去除起主要作用,修复后期,难降解石油烃的去除主要依靠土壤真菌的代谢作用完成^[10].经微生物修复处理的土壤中烃降解菌所占丰度明显增加,石油烃降解效果的提高与土壤中烃降解菌丰度的增加有关^[11].

对于微生物修复油污土壤过程中菌群结构变化,已有研究多采用变性梯度凝胶电泳(denatured gradient gel electrophoresis, DGGE)^[12, 13],磷脂脂肪酸(phospholipid fatty acid, PLFA)^[14, 15],末端限制性片段长度多态性(terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)^[16]等技术.这些传统的分子指纹图谱一次分析获得的微生物序列通常低于100条,检测限较低,在对土壤中复杂的微生物进行分析时,具有较大的局限性.

高通量测序技术是近几年发展起来的新兴分子生物学测序技术.高通量测序技术(high-

throughput sequencing)可以在一次分析测定中对几十万到几百万条DNA分子进行序列分析.利用高通量测序技术能够准确反映土壤微生物群落结构变化情况^[17].本文利用MiSeq高通量测序平台对微生物修复石油污染土壤过程中的菌群结构变化进行详细研究,结果对于明确修复过程中的土壤菌群变化机制并定向调控石油污染场地土壤菌群结构,以提高土壤中石油烃的去除效果具有重要的理论和现实意义.

1 材料及方法

1.1 土壤基本理化性质

石油污染土壤取自陕北地区某油井周围.对采集的土样进行除杂、碎散、过筛(0.85 mm)并混匀后,作为生物修复实验的供试土壤.土壤的基本理化性质及测定方法如表1所示.

表1 石油污染土壤的理化性质
Table 1 Physiological properties of oil-polluted soil

理化指标	数值	测定方法
总石油烃/mg·kg ⁻¹	20 000	超声萃取-重量法
湿度/%	5.4	重量法(NY/T 52-1987)
pH	7.68	pH电极法(GB/T 16136-1997)
总氮/mg·kg ⁻¹	1 170	过硫酸钾氧化-紫外分光光度法(GB/T 5750.5-2006)
有效磷/mg·kg ⁻¹	15.92	钼锑抗比色法
氨氮/mg·kg ⁻¹	0.38	靛酚蓝比色法
硝氮/mg·kg ⁻¹	12.39	紫外分光光度法

1.2 生物修复方案设计

称取12份0.8 kg石油污染土壤分装于圆形花盆中,分别对土壤进行保持土壤湿度为15%(WHC)、生物强化(BA)和生物刺激(BS)的修复处理,连续修复12周.以未进行任何修复处理的石油污染土壤为控制实验(IS),每个处理3个平行,具体修复方案见表2.

表2中,生物强化修复(BA)中所用的石油烃降

解菌群为课题组从石油污染土壤中分离获得^[18].降解菌群主要由变形菌门(Proteobacteria 96.26%)与厚壁菌门(Firmicutes 3.71%)组成.主要的纲、目、科、属分别为γ-变形菌纲(γ-Proteobacteria 90.03%)、假单胞菌目(Pseudomonadales 89.98%)、假单胞菌科(Pseudomonadaceae 89.95%)、假单胞菌属(Pseudomonas 87.22%)、无色杆菌属(Achromobacter 6.12%)、芽孢杆菌属(Bacillus 3.51%).

表2 石油污染土壤的修复方案

Table 2 Remediation of petroleum-polluted soil with different treatments

名称	土壤修复处理方案
IS	0.8 kg 油污土壤
WHC	0.8 kg 油污土壤 + 灭菌纯水(保持土壤湿度15%)
BA	0.8 kg 油污土壤 + 降解菌群悬液(保持菌数10 ⁸ CFU·g ⁻¹) + 灭菌纯水(保持土壤湿度15%)
BS	0.8 kg 油污土壤 + 氮磷营养液(C:N:P = 100:10:1) + 灭菌纯水(保持土壤湿度15%)

生物刺激修复(BS)为向土壤中加入NH₄NO₃和KH₂PO₄调节土壤C:N:P = 100:10:1.

1.3 测定方法

1.3.1 高通量测序分析

对修复第1周和修复结束时(第12周)的土壤样品进行高通量测序分析.主要分析步骤如下.

利用OMEGA试剂盒提取土壤样品的总DNA,利用Qubit 3.0 DNA检测试剂盒对基因组DNA精确定量,利用V3-V4通用引物进行第一轮PCR扩增,引入Illumina桥式PCR兼容引物后,进行第二轮扩增^[19].

扩增结束后,对PCR产物进行琼脂糖电泳检

测, 对于细菌的 PCR 产物和正常扩增片段在 400bp 以上的 PCR 产物, 选用 0.6 倍的磁珠 (AgencourtAMPure XP) 处理进行纯化回收. 利用 Qubit3.0 DNA 检测试剂盒对回收的 DNA 精确定量, 以方便按照 1:1 的等量混合后测序. 等量混合时, 每个样品 DNA 量取 10 ng, 最终上机测序浓度为 20 pmol.

对测序结果按图 1 所示进行处理及分析. 利用 Prinseq 软件对高通量测序结果进行质量控制, 将所测序列与 RDP 数据库进行序列比对, 使用 Mothur 软件归类同种可操作分类单元 (OTU), 计算多样性指数并绘制稀释性曲线, 对测序结果进行物种分类分析和菌种差异分析.

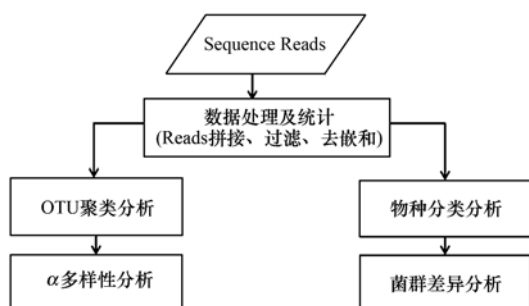


图 1 高通量测序分析流程

Fig. 1 High-throughput sequencing analysis program

1.3.2 土壤石油烃含量的测定

利用超声破碎法提取土壤中的石油烃并用重量法进行测定^[20]. 将土壤样品置于通风橱中风干, 准确称取风干后的土样 3.000 g 于玻璃管中, 加入 15 mL 正己烷与二氯甲烷 (1:1) 混合液, 冰浴条件下利用超声细胞破碎仪 (JY92-II, 美国 SONICS) 超声萃取 10 min (萃取功率为 170 W), 8 000 r·min⁻¹ 离心 15 min, 过滤并收集提取液于已烘干的三角瓶中, 重复萃取 3 次, 合并萃取液置于通风橱中, 使萃取剂完全挥发至恒重后称重. 石油烃的总降解率和修复第 1 周的周降解率计算分别见式 (1) 和式 (2).

$$R_{\text{总}} = \frac{w_i - w_{12}}{w_i} \times 100\% \quad (1)$$

$$R_1 = \frac{w_i - w_1}{w_i} \times 100\% \quad (2)$$

式中, w_i 为土壤石油烃初始含量; w_1 为修复 1 周后土壤石油烃含量; w_{12} 为修复 12 周后土壤石油烃含量.

2 结果与讨论

2.1 生物修复对土壤中石油烃的去除作用

一些研究认为, 向石油污染土壤中接种降解菌群对石油烃的去除效果好于单株降解菌^[21~23]. 本

研究中, 利用从石油污染土壤中筛选出的降解菌群对土壤进行生物强化 (BA) 处理, 同时对土壤进行了生物刺激 (BS) 及保持土壤湿度为 15% (WHC) 的修复处理, 3 种不同处理对石油烃的总降解率及第 1 周降解率结果如图 2 所示.

修复结束时, WHC、BA 和 BS 处理的土壤中总石油烃的去除率分别为 13.94%、11.29% 和 38.45%. 3 种处理在修复第 1 周时对石油烃的去除率分别为 8.92%、14.80% 和 15.80%. 结果表明, 与生物强化修复处理相比, 利用生物刺激法对土壤中石油烃的去除效果相对较好. 且在修复第 1 周时石油烃的降解最为快速有效.

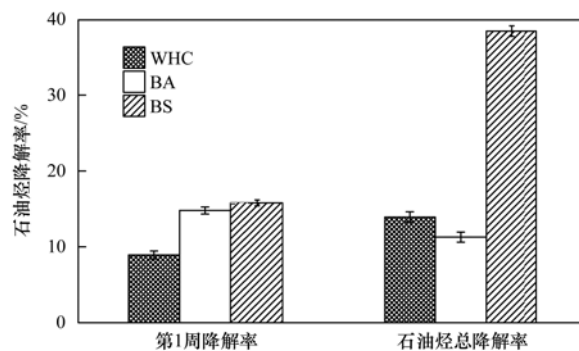


图 2 生物修复对土壤中石油烃的去除效果

Fig. 2 TPH degradation efficiencies by different remediation treatments

2.2 土壤菌群的高通量测序结果

2.2.1 优化序列统计及测序质量评价

表 3 中 WHC1、BA1、BS1、WHC12、BA12 和 BS12 分别为保持土壤湿度为 15%、生物强化、生物刺激第 1 周和第 12 周的土壤样品高通量测序优化及质量评价结果. 利用 Usearch 软件去除序列中的嵌合体与靶区域外序列后, 对测序结果进行优化序列统计及测序质量评价, 获得的有效序列均在 30 000 以上, 除 WHC1 样品优化率略低外, 其余样品的序列优化率均在 90% 以上, 说明本次序列优化步骤有效. 各样品的覆盖率在 98% 以上, 说明测序量合理, 能够满足后续的分析要求.

根据 97% 相似度对处理后剩余序列进行 OTU 分类, 利用 Mothur 软件进行 rarefaction 分析, 绘制稀疏性曲线, 结果如图 3 所示. 随着序列数目增加, 各处理的稀疏性曲线趋于平缓. 说明扩增序列可以真实反映各个土壤样品的细菌群落结构, 测序深度足够.

2.2.2 多样性指数

多样性指数是评价土壤微生物群落丰富度和均匀度的综合指标, Ace 指数和 Chao 1 指数大, 说明土壤菌群的丰富度高. Shannon 指数值大, 辛普森指数值小, 说明土壤菌群的均匀度越高^[24,25].

表 3 优化序列统计及测序质量评价

Table 3 Sequence statistics and quality evaluation of high-throughput sequencing						
不同处理 ¹⁾	优化前序列总数	非靶区域序列数目	嵌合体数目	有效序列	优化率/%	覆盖率/%
IS	45 501	1	2 038	43 455	95. 5	98
WHC1	51 880	21	3 365	45 917	88. 51	98
BA1	43 274	10	188	41 031	94. 82	99
BS1	32 449	42	253	30 489	93. 96	98
WHC12	48 063	35	524	45 132	93. 90	98
BA12	42 716	7	260	40 858	95. 65	99
BS12	42 269	14	152	40 418	95. 62	98

1) WHC1、BA1、BS1、WHC12、BA12、BS12 分别为保持土壤湿度、生物强化修复、生物刺激修复第 1 周和第 12 周的土壤样品

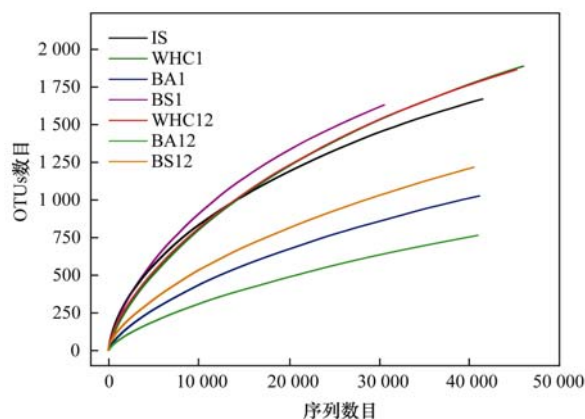


图 3 测序结果的稀疏性曲线

Fig. 3 Rarefaction curves of high-throughput sequencing

表 4 为土壤微生物群落多样性指数测定结果. 经生物强化(BA)修复的土壤样品, 其 Ace 指数与 Shannon 指数值与石油污染原土壤相比显著降低. 说明向油污土壤中投加降解菌群抑制了土著菌的生

长, 使得土壤微生物的丰富度与均匀度降低. 利用生物刺激法修复处理的土壤(BS1、BS12)与原土壤相比, 生物多样性略有降低.

保持土壤湿度为 15% 的处理(WHC1、WHC12)与原土壤(IS)相比, Ace 指数值略有降低, Shannon 指数值在修复第 1 周时减小, 第 12 周时增大, 说明保持土壤湿度为 15% 修复 1 周时, 会使土壤微生物均匀度和丰富度降低, 随着修复时间的增加, 菌群均匀度逐渐增加.

有研究认为, 向农业土壤中施入 NPK 肥会使农田土壤微生物多样性降低^[26,27]. 本研究中, 向石油污染土壤中补充氮磷进行生物刺激修复处理时, 土壤微生物的多样性也略有降低. 原因可能是由于施入的 NPK 肥或者补充的氮磷营养(本研究中使用了 NH_4NO_3 和 KH_2PO_4) 多为酸性物质, 加入后改变了土壤 pH 值, 进而对某些土壤微生物的生长起到抑制作用, 结果导致了土壤微生物多样性降低.

表 4 不同处理土壤的微生物群落多样性

Table 4 Biodiversity of petroleum-polluted soil remediated by different treatments				
编号 ¹⁾	OTU 数目	Shannon 指数	Ace 指数	Simpson 指数
IS	1 669	4. 38	3 327. 3	0. 053
WHC1	1 888	3. 66	3 096. 71	0. 09
BA1	1 027	2. 00	2 674. 37	0. 39
BS1	1 631	4. 10	3 180. 42	0. 07
WHC12	1 865	4. 03	3 003. 61	0. 07
BA12	765	1. 62	2 699. 62	0. 5
BS12	1 217	3. 25	3 009. 18	0. 12

1) IS 为石油污染的原土壤, WHC1、BA1、BS1、WHC12、BA12、BS12 分别为保持土壤湿度为 15%、生物强化、生物刺激修复第 1 周和第 12 周的土壤样品

2.2.3 土壤微生物群落结构变化

(1) 门水平群落结构分析

对各样品前 12 种优势菌门的相对丰度进行分析, 结果如图 4 所示. 变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)与放线菌门(Actinobacteria)为所有土壤样品的主要优势菌门. 这 3 种菌门是石油污染土壤中普遍存在的微生物菌门^[28~30].

当对土壤的修复方法不同时, 优势菌门的相对

丰度发生变化. 与石油污染的原土壤(IS)相比, 保持土壤湿度修复 1 周后(WHC1), 变形菌门(Proteobacteria)与放线菌门(Actinobacteria)丰度分别从 37. 44%、47. 34% 降至 14. 72% 与 19. 44%, 厚壁菌门(Firmicutes)丰度从 9. 16% 增至 62. 29%. 修复 12 周之后, 变形菌门(Proteobacteria)与放线菌门(Actinobacteria)的丰度略有增加, 厚壁菌门(Firmicutes)的丰度降低至 40. 81%. 利用生物刺激

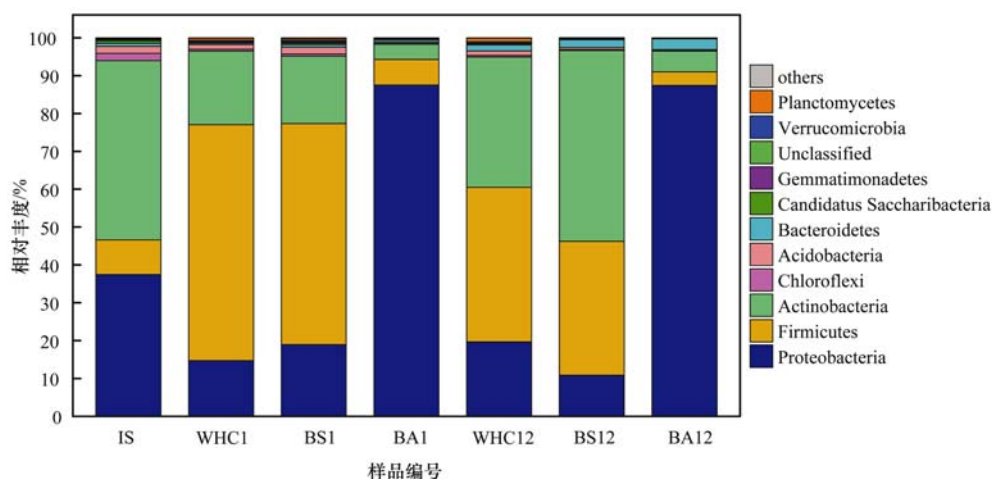


图4 土壤微生物门水平相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of the dominant phyla in different treatments

法修复的土壤(BS1 和 BS12)中, 3 种优势菌门丰度变化趋势与 WHC 处理类似。

利用生物强化法修复的土壤中, 变形菌门(Proteobacteria)成为主要优势菌门, 相对丰度为 87.44%, 其他各菌门丰度相对较低。

(2) 属水平群落结构分析

对各土壤样品前 20 种优势菌属丰度进行分析, 结果如图 5 所示。未经修复处理的石油污染土壤(IS)中的优势菌属为原小单胞菌属(*Promicromonospora*, 18.96%), 次优势菌属包括微小杆菌属(*Exiguobacterium*, 8.49%)、诺卡氏菌属(*Nocardioides*, 5.56%)和柠檬酸细菌属(*Citrobacter*, 5.76%)。

调节土壤湿度为 15% 修复 1 周(WHC1)后, 芽孢杆菌属(*Bacillus*)的丰度由原来的 0.29% 增至 38.2%, 成为最主要的优势菌属。原小单胞菌属

(*Promicromonospora*)与诺卡氏菌属(*Nocardioides*)丰度由原来的 18.96% 和 5.56% 分别降低为 10.63% 与 1.18%。修复 12 周时, 芽孢杆菌属(*Bacillus*)丰度变为 22.46%, 原小单胞菌属(*Promicromonospora*, 18.62%)与诺卡氏菌属(*Nocardioides*, 6.94%)丰度略有增加。

生物刺激修复处理(BS)的土壤中, 大部分优势菌属丰度的变化趋势与 WHC 处理类似, 修复 12 周时, 诺卡氏菌属(*Nocardioides*)丰度明显增加, 成为 BS 处理中最优势菌属。

利用生物强化法修复的土壤(BA1 和 BA12), 优势菌属为假单胞菌属(*Pseudomonas*, 75.24% 和 76.37%), 次优势菌属为无色杆菌属(*Achromobacter*, 8.81% 和 7.57%), 其余菌属丰度较小。

在本次生物强化修复处理中, 接种的石油烃降

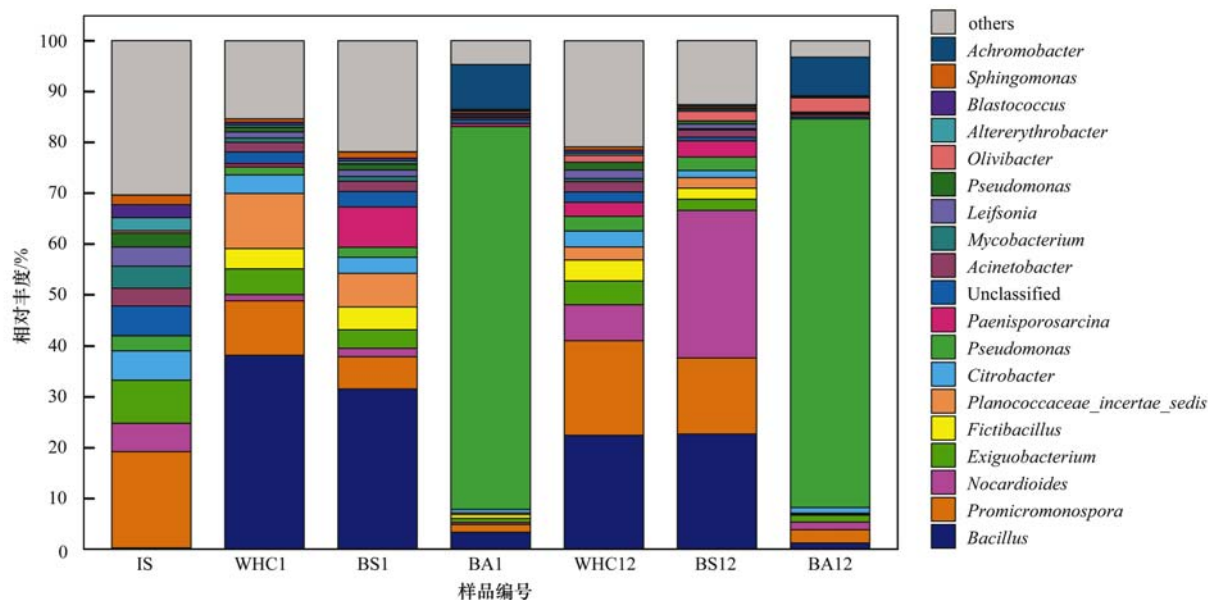


图5 土壤微生物属水平相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of the dominant genera in different treatments

解菌群主要由变形菌门(Proteobacteria)、假单胞属(*Pseudomonas*)组成。对污染土壤进行生物强化修复处理1周后,变形菌门(Proteobacteria)、假单胞属(*Pseudomonas*)成为土壤中的主要优势菌,说明生物强化修复处理中接种的石油烃降解菌可在土壤中存活并迅速生长为土壤中最主要的优势菌属,并抑制了土壤微生物的生长。由于生物强化处理使土壤微生物多样性显著降低(表4),菌群结构上的失衡有可能导致了土壤中石油烃的去除效果相对较差。

3 结论

(1)利用高通量测序技术对微生物修复石油污染土壤过程中的微生物群落结构变化进行分析。测序结果表明,所测样品的序列优化率均在90%以上,覆盖率在98%以上,随着序列数目的增加,稀疏性曲线趋于平缓。说明本次序列优化步骤有效,测序深度足够,测序结果可以真实反映各个土壤样品的细菌群落结构。

(2)生物刺激修复处理的石油污染土壤中,厚壁菌门(Firmicutes)丰度增加为35.32%,变形菌门(Proteobacteria)丰度降低为10.90%。属水平上,诺卡氏菌属(*Nocardioide*s, 28.95%)和芽孢杆菌属(*Bacillus*, 22.70%)成为土壤中的优势菌属,原小单胞菌属(*Promicromonospora*, 14.97%)和微杆菌属(*Exiguobacterium*, 2.19%)为土壤中的次优势菌属。

(3)投加降解菌进行生物强化处理的土壤菌群结构发生明显变化,变形菌门(Proteobacteria, 87.44%)成为土壤中的优势菌门,放线菌门(Actinobacteria, 5.46%)丰度显著降低。属水平上,假单胞菌属(*Pseudomonas*, 76.37%)成为土壤中的最优势菌属,无色杆菌属(*Achromobacter*, 7.57%)和原小单胞菌属(*Promicromonospora*, 2.58%)成为土壤中的次优势菌属。生物强化修复处理引起土壤菌群结构发生明显变化。

参考文献:

- [1] 郝春博,王广才,董健楠,等.石油污染地下水中细菌多样性研究[J].环境科学,2009,30(8):2464-2472.
Hao C B, Wang G C, Dong J N, et al. Bacterial biodiversity in the groundwater contaminated by oil[J]. Environmental Science, 2009, 30(8): 2464-2472.
- [2] Lim M W, Lau E V, Poh P E. A comprehensive guide of remediation technologies for oil contaminated soil-Present works and future directions[J]. Marine Pollution Bulletin, 2016, 109(1): 14-45.
- [3] 胡迪,李川,董倩倩,等.油田区土壤石油烃组分残留特性研究[J].环境科学,2014,35(1):227-232.
Hu D, Li C, Dong Q Q, et al. Compositions and residual properties of petroleum hydrocarbon in contaminated soil of the oilfields[J]. Environmental Science, 2014, 35(1): 227-232.
- [4] 王泽华,王峰.低温条件下土壤石油烃微生物修复研究进展[J].环境科学与技术,2017,40(S1):139-144.
Wang Z H, Wang F. Review on bioremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soil in cold condition [J]. Environmental Science & Technology, 2017, 40(S1): 139-144.
- [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] 杨茜,吴蔓莉,聂麦茜,等.石油污染土壤的生物修复技术及微生物生态效应[J].环境科学,2015,36(5):1856-1863.
Yang Q, Wu M L, Nie M Q, et al. Effects and biological response on bioremediation of petroleum contaminated soil[J]. Environmental Science, 2015, 36(5): 1856-1863.
- [7] 吴蔓莉,袁婧,李炜,等.石油污染土壤的微生物修复及土壤微生物活性变化[J].应用与环境生物学报,2016,22(5):878-883.
Wu M L, Yuan J, Li W, et al. Bioremediation of petroleum contaminated soil and activity of hydrocarbon degrading bacteria [J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2016, 22(5): 878-883.
- [8] Wu M L, Dick W A, Li W, et al. Bioaugmentation and biostimulation of hydrocarbon degradation and the microbial community in a petroleum-contaminated soil [J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 107: 158-164.
- [9] Shahi A, Aydin S, Ince B, et al. Reconstruction of bacterial community structure and variation for enhanced petroleum hydrocarbons degradation through biostimulation of oil contaminated soil [J]. Chemical Engineering Journal, 2016, 306: 60-66.
- [10] Liu P W G, Chang T C, Whang L M, et al. Bioremediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil: Effects of strategies and microbial community shift[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2011, 65(8): 1119-1127.
- [11] 刘艳秋,赵嫣然,刘梦娇,等.外源环烷酸在土壤中的降解过程及对微生物群落结构的影响[J].环境科学,2017,38(11):4756-4762.
Liu Y Q, Zhao Y R, Liu M J, et al. Degradation process of exogenous naphthenic acids and their effects on microbial community structure in soil[J]. Environmental Science, 2017, 38(11): 4756-4762.
- [12] Pacwa-Płociniczak M, Płaza G A, Piotrowska-Seget Z. Monitoring the changes in a bacterial community in petroleum-polluted soil bioaugmented with hydrocarbon-degrading strains [J]. Applied Soil Ecology, 2016, 105: 76-85.
- [13] 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.
- [14] Jiao H H, Bai Z H, Liu Y, et al. Impact of super absorbent polymer and plants on microbial community and petroleum hydrocarbon degradation in contaminated soil [J]. Advanced Materials Research, 2013, 807-809: 353-360.
- [15] 焦海华,崔丙健,吴尚华,等.紫茉莉对石油污染盐碱土壤微生物群落与石油烃降解的影响[J].环境科学,2015,36

- (9): 3471-3478.
- Jiao H H, Cui B J, Wu S H, *et al.* Influence of *Mirabilis jalapa* Linn. Growth on the microbial community and petroleum hydrocarbon degradation in petroleum contaminated saline-alkali soil[J]. Environmental Science, 2015, **36**(9): 3471-3478.
- [16] Grant R J, Muckian L M, Clipson N J W, *et al.* Microbial community changes during the bioremediation of creosote-contaminated soil[J]. Letters in Applied Microbiology, 2010, **44**(3): 293-300.
- [17] Wang L W, Li F, Zhan Y, *et al.* Shifts in microbial community structure during in situ surfactant-enhanced bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated soil [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, **23**(14): 14451-14461.
- [18] 叶茜琼. 微生物修复对石油烃的去除特性及土壤微生态环境变化研究[D]. 西安: 西安建筑科技大学, 2017.
- [19] 叶茜琼, 吴蔓莉, 陈凯丽, 等. 微生物修复油污土壤过程中氮素的变化及菌群生态效应[J]. 环境科学, 2017, **38**(2): 728-734.
- Ye X Q, Wu M L, Chen K L, *et al.* Impacts of bioremediation on microbial communities and different forms of nitrogen in petroleum contaminated soil[J]. Environmental Science, 2017, **38**(2): 728-734.
- [20] Wu M L, Li W, Dick W A, *et al.* Bioremediation of hydrocarbon degradation in a petroleum-contaminated soil and microbial population and activity determination[J]. Chemosphere, 2017, **169**: 124-130.
- [21] 王鑫, 王学江, 刘免, 等. 高效石油降解菌群构建及降解性能[J]. 海洋环境科学, 2014, **33**(4): 576-579, 597.
- Wang X, Wang X J, Liu M, *et al.* Construction of high-effective microbial consortium and characteristics of oil biodegrading[J]. Marine Environmental Science, 2014, **33**(4): 576-579, 597.
- [22] 乔俊. 油田区石油污染土壤的生物修复及不同修复方法的比较[D]. 天津: 南开大学, 2011.
- [23] Poi G, Aburto-Medina A, Mok P C, *et al.* Large scale bioaugmentation of soil contaminated with petroleum hydrocarbons using a mixed microbial consortium[J]. Ecological Engineering, 2017, **102**: 64-71.
- [24] Li H, Ye D D, Wang X G, *et al.* Soil bacterial communities of different natural forest types in Northeast China[J]. Plant and Soil, 2014, **383**(1-2): 203-216.
- [25] Sengupta A, Dick W A. Bacterial community diversity in soil under two tillage practices as determined by pyrosequencing[J]. Microbial Ecology, 2015, **70**(3): 853-859.
- [26] Sun H Y, Deng S P, Raun W R. Bacterial community structure and diversity in a century-old manure-treated agro ecosystem[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, **70**(10): 5868-5874.
- [27] 王光华, 刘俊杰, 齐晓宁, 等. Biolog 和 PCR-DGGE 技术解析施肥对德惠黑土细菌群落结构和功能的影响[J]. 生态学报, 2008, **28**(1): 220-226.
- Wang G H, Liu J J, Qi X N, *et al.* Effects of fertilization on bacterial community structure and function in a black soil of Dehui region estimated by Biolog and PCR-DGGE methods[J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, **28**(1): 220-226.
- [28] 刘健. 胜利油田采油区土壤石油污染状况及其微生物群落结构[D]. 济南: 山东大学, 2014.
- [29] Khan M A I, Biswas B, Smith E, *et al.* Microbial diversity changes with rhizosphere and hydrocarbons in contrasting soils. [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, **156**: 434-442.
- [30] 谭银萍, 马媛, 吕杰. 石油污染对土壤细菌结构特征的影响[J]. 生物技术, 2016, **26**(2): 193-198.
- Tan Y P, Ma Y, Lv J. Effect of oil pollution on soil bacteria structure characteristics[J]. Biotechnology, 2016, **26**(2): 193-198.

CONTENTS

Influence of Mountain Valley Breeze and Sea Land Breeze in Winter on Distribution of Air Pollutants in Beijing-Tianjin-Hebei Region	LI Qing-chun, LI Ju, ZHENG Zuo-fang, <i>et al.</i> (513)
A Method of Aerosol Particle Number Size Distribution Inversed by PM _{2.5} Mass Concentration in PRD	LI Fei, TAN Hao-bo, DENG Xue-jiao, <i>et al.</i> (525)
Light Absorption and Fluorescence Characteristics of Atmospheric Water-soluble Organic Compounds and Humic-like Substances During the Winter Season in Guangzhou	FAN Xing-jun, YU Xu-fang, CAO Tao, <i>et al.</i> (532)
Source Apportionment and Heath Risk Quantification of Heavy Metals in PM _{2.5} in Yangzhou, China	DONG Shi-hao, XIE Yang, HUANGFU Yan-qi, <i>et al.</i> (540)
Pollution Characteristics and Source Analysis of <i>n</i> -alkanes and Saccharides in PM _{2.5} During the Winter in Liaohe City	LIU Xiao-di, MENG Jing-jing, HOU Zhan-fang, <i>et al.</i> (548)
Pollution Characteristics, Dry Deposition Fluxes, and Sources for Atmospheric Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Bosten Lake Watershed	SONG Shi-jie, HUANG Tao, ZHAO Liu-yuan, <i>et al.</i> (558)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in PM _{2.5} of a Concentrated Broiler Feeding Operation	LIU Fei, XU Xia, TU Bo-wen, <i>et al.</i> (567)
Effects of Water Vapor Source and Local Evaporation on the Stable Hydrogen and Oxygen Isotopic Compositions of Precipitation	HU Yong-bo, XIAO Wei, QIAN Yu-fei, <i>et al.</i> (573)
Characteristics of Nitrogen and Phosphorus Formation in Atmospheric Deposition in Dianchi Lake and Their Contributions to Lake Loading ...	REN Jia-guo, JIA Hai-bin, JIAO Li-xin, <i>et al.</i> (582)
Temporal-spatial Distribution of Nitrogen and Phosphorus Nutrients in Lake Taihu Based on Geostatistical Analysis	LÜ Wei-wei, YAO Xin, ZHANG Bao-hua, <i>et al.</i> (590)
Effects of Cyanobacterial Blooms in Eutrophic Lakes on Water Quality of Connected Rivers	YU Mao-lei, HONG Guo-xi, XU Hai, <i>et al.</i> (603)
Contamination and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in the Sediments of Yilong Lake, Southwest China	LI Xiao-lin, LIU En-feng, YU Zhen-zhen, <i>et al.</i> (614)
Temporal and Spatial Characteristics of Heavy Metals in Suspended Particulate Matter in Pearl River Estuary and Its Influencing Factors	DU Jia, WANG Yong-hong, HUANG Qing-hui, <i>et al.</i> (625)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Microorganism Pollutions in the Beiyun River	CHEN Lei, LI Lei-fang, ZHI Xiao-sha, <i>et al.</i> (633)
Speciation and Transformation of Phosphorus in Sediments During the Redox Cycle	HAO Wen-chao, WANG Cong-feng, YANG Zheng-jian, <i>et al.</i> (640)
Effect of Magnetic Zirconium/Iron-Modified Bentonite Addition on Phosphorus Mobilization and Species Transformation in River Sediments	WANG Yan, LIN Jian-wei, ZHAN Yan-hui, <i>et al.</i> (649)
Influence of Calcium Ion Pre-treatment on Phosphate Adsorption onto Magnetic Zirconium/Iron-modified Bentonite	ZHAO Yu-ying, LIN Jian-wei, ZHANG Hong-hua, <i>et al.</i> (658)
Effect of Nitrogen on Magnesium Modified Biochar Adsorption to Phosphorus	ZHI Meng-meng, WANG Peng-fei, HOU Ze-ying, <i>et al.</i> (669)
Removal Performance and Mechanism for Treating Phosphorus in Agricultural Wastewater by Three Adsorbents	WU Lu, LIU Feng, LONG Rui, <i>et al.</i> (677)
Photolysis Mechanism of <i>p</i> -Nitrophenol by Nitrocellulose Membrane in Aqueous Solution	DAI Zhi-feng, ZHAO Tong-qian, YIN Yong-guang, <i>et al.</i> (685)
Preparation of ZnTiO ₃ /TiO ₂ Photocatalyst and Its Mechanism on Photocatalytic Degradation of Organic Pollutants	ZHANG Wen-hai, JI Qing-hua, LAN Hua-chun, <i>et al.</i> (693)
Adsorption and Photocatalytic Removal of Chromium on High-index TiO ₂ Facet	ZHONG De-jian, ZHANG Jian-feng, LI Yao, <i>et al.</i> (701)
Reduction Cooperated Fenton Oxidation of Zero-valent Iron (ZVI) Immobilized in Alginate Microsphere for Degradation of Acid Red B	ZHANG Huan, LI Shuang-shuang, WEI Jun-fu, <i>et al.</i> (708)
Mechanism of Removing Iron and Manganese from Drinking Water Using Manganese Ore Sand and Quartz Sand as Filtering Material	CAI Yan-an, BI Xue-jun, ZHANG Jia-ning, <i>et al.</i> (717)
Preparation of Sulfonated Graphene Oxide Modified Composite Nanofiltration Membrane and Application in Salts Separation	ZHANG Yan-jun, ZHANG Shao-feng, ZHAO Chang-wei, <i>et al.</i> (724)
Purification Efficiency and Mechanism of Integrated Al Salt Flocculation-ultrafiltration Membrane Process	XUE Wen-jing, LI Wen-jiang, LIU Juan, <i>et al.</i> (730)
Threshold Flux and Membrane Fouling Analysis of the Hybrid Pre-ozonation and CNTs Membrane Modification Process	WANG Kai-lun, LIU Fang, GUAN Yu-qi, <i>et al.</i> (738)
Distribution and Removal of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Their Derivatives in SBR/MBBR Process	LIU Shu-hui, TIAN Wei-jun, ZHOU Jian-ren, <i>et al.</i> (747)
Biological Nitrogen Removal Process in a Microbubble-aerated Biofilm Reactor Treating Low C/N Wastewater	LIU Chun, WANG Cong-cong, CHEN Xiao-xuan, <i>et al.</i> (754)
Treatment of Simulated Saline Wastewater from the Coal Chemical Industry Using Ecological Floating Beds Enhanced with Arbuscular Mycorrhiza	DOU Wen-qing, HE Hao, SONG Wen-ping, <i>et al.</i> (761)
Nitrification and Bioaugmentation of Biological Treatment System of Sewage Treatment Plant at High Temperature in Summer	SONG Tian-wei, SHENG Xiao-lin, WANG Jia-de, <i>et al.</i> (768)
Characteristics of Ammonia Adsorption and Kinetics by Nitrifying Sludge Immobilized Pellets	YU De-shuang, LÜ Ting-ting, CHEN Guang-hui, <i>et al.</i> (774)
Nitrite Accumulation Characteristics of Partial Denitrification in Different Sludge Sources Using Sodium Acetate as Carbon Source	BI Chun-xue, YU De-shuang, DU Shi-ming, <i>et al.</i> (783)
Operating Characteristics of a DPR-SNED System Treating Low C/N Municipal Wastewater and Nitrate-containing Sewage	DU Shi-ming, YU De-shuang, BI Chun-xue, <i>et al.</i> (791)
Simultaneous Nitrification and Denitrifying Phosphorus Removal in Continuous Flow Reactor with Intermittent Aeration	ZHAO Zhi-chao, HUANG Jian-ming, LI Jian, <i>et al.</i> (799)
Start-up and Stable Operation of ABR-MBR Denitrifying Phosphorus Removal Process	WEI Jia-min, JIANG Zhi-yun, CHENG Cheng, <i>et al.</i> (808)
Effect of Influent C/N Ratio on the Nutrient Removal Characteristics of SNEDPR Systems	DU Ye-qi, YU De-shuang, ZHEN Jian-yuan, <i>et al.</i> (816)
Carbon and Nitrogen Removal Characteristics of ABR Decarbonization-CANON Coupling Process	LI Tian, YIN Wen, WANG Xin-zhu, <i>et al.</i> (823)
Effect of Aeration Density on Start-up of CANON Process	LI Dong, GAO Xue-jian, ZHANG Jie, <i>et al.</i> (829)
Adjusting Temperature and Settling Time to Achieve ANAMMOX Particles Rapid Start-up and Stable Operation	LI Hai-ling, LI Dong, ZHANG Jie, <i>et al.</i> (837)
Effect of C/N and Sludge Concentration on the pH-Regulated Nitrosation System	ZHANG Min, WEI Jia-min, HUANG Hui-min, <i>et al.</i> (845)
Growth Features of Water Supply Pipeline Biofilms Based on Active Microorganisms	WANG Yang, ZHU Bin, TONG Jun, <i>et al.</i> (853)
Elevational Distribution Characteristics of Soil Bacterial Community and Enzyme Activities in Mount Huangshan	YAO Lan, HU Li-huang, ZHANG Huan-chao, <i>et al.</i> (859)
Microbial Community Structure Shift during Bioremediation of Petroleum Contaminated Soil Using High Throughput Sequencing	QI Yan-yun, WU Man-li, ZHU Chang-cheng, <i>et al.</i> (869)
Effect of Nitrification on N ₂ O Emissions and Their Environmental Factors in Saline-alkali Wetlands	YANG Qu, GAO Wei-feng, LIU Feng-qin, <i>et al.</i> (876)
Effect of Long-term Dairy Manure Amendment on N ₂ O and NO Emissions from Summer Maize-Winter Wheat Cropping Systems	NIE Huang-hua, ZHANG Jia-sheng, HE Zhou-ming, <i>et al.</i> (885)
Effects of Plastic Film Mulching and Nitrogen Fertilizer Application on N ₂ O Emissions from a Vegetable Field	NI Xue, HAO Qing-ju, CHEN Shi-jie, <i>et al.</i> (893)
Differences and Relationship Between Rhizosphere Characteristics and Methane Emissions of Double-cropping Rice Variety	XIAO Zhi-xiang, FU Zhi-qiang, XU Hua-qin, <i>et al.</i> (904)
Effect of Long-Term Biochar Application on Soil Respiration in Flue-Cured Tobacco Planting Fields in Henan Province	LI Ya-sen, DING Song-shuang, YIN Quan-yu, <i>et al.</i> (915)
Spatial Variability in Soil Respiration Under Different Land Use Patterns in Maocun Village, Guilin	DING Meng-kai, HU Xiao-nong, CAO Jian-hua, <i>et al.</i> (924)
Spatiotemporal Variability and Source Apportionment of Soil Heavy Metals in a Industrially Developed City	LI Feng, LIU Si-yuan, LI Yan, <i>et al.</i> (934)
Effects of Bentonite on Chemical Forms and Bioavailability of Heavy Metals in Different Types of Farmland Soils	LIN Hai, JIN Xiao-na, DONG Ying-bo, <i>et al.</i> (945)
Characteristics of Soil Organic Carbon and Mineralization with Different Stands in Jinyun Mountain	CHEN Shi-qi, LÜ Sheng, GAO Ming, <i>et al.</i> (953)
Contribution of Root Biomass to Soil Organic Carbon Under Complex Landforms Conditions	ZHANG Yan-jun, GUO Sheng-li, <i>et al.</i> (961)
Transformation and Distribution of Soil Organic Carbon and the Microbial Characteristics in Response to Different Exogenous Carbon Input Levels in Paddy Soil	WANG Ji-fei, TONG Yao-yao, ZHU Zhen-ke, <i>et al.</i> (970)
Analysis of Heavy Metal Pollution and Ecological Risk Assessment on Vegetation Leaves in Baoji City	ZHANG Jun-hui, LIN Qing, JIANG Shan, <i>et al.</i> (978)
Effect of Biochar on Available Heavy Metals During Sewage Sludge Composting and Land Application of Compost	ZHOU Ji, YU Ya-wei, JIANG Yue, <i>et al.</i> (987)
Influence of Sludge Retention Time on the Performance and Stability of Mesophilic Anaerobic Co-digestion of Food Waste with Waste Activated Sludge	YUAN Hong-lin, MA Jing, XING Bao-shan, <i>et al.</i> (994)
Performance of Treating Straw and Animal Manure Mixture by an Integrated Process of Thermo-alkali-bi-enzyme Hydrolysis-anaerobic Digestion and Conditions of High Methane Yield	BIAN Ai-qin, YUAN Ye, ZHANG Lu-lu, <i>et al.</i> (1003)