

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



2020

Vol.41 No.12
第41卷 第12期

目次(卷终)

我国地级及以上城市臭氧污染来源及控制区划分 闫慧, 张维, 侯墨, 李银松, 高平, 夏青, 孟晓艳, 范丽雅, 叶代启(5215)

2015~2018年我国PM_{2.5}健康损害价值的动态评估 李惠娟, 周德群, 魏永杰(5225)

2011~2017年中国PM_{2.5}多尺度时空分异特征分析 杨文涛, 谯鹏, 刘贤赵, 雷雨亮(5236)

关中地区PM_{2.5}时空演化及人口暴露风险 黄晓军, 祁明月, 李艳雨, 王森, 黄馨(5245)

中原城市冬季两次重污染形成机制及来源 贾佳, 丛怡, 高清敏, 王玲玲, 杨静静, 张国辉(5256)

西北工业城市冬季PM_{2.5}污染特征及理化性质 杨燕萍, 陈强, 王莉娜, 杨丽丽(5267)

基于PMF模型的PM_{2.5}中金属元素污染及来源的区域特征分析 邓林俐, 张凯山, 殷子渊, 李欣悦, 武文琪, 向铎鹏(5276)

重庆主城大气降尘中重金属污染特征及评价 张夏, 刘斌, 肖柏林, 王佳, 万达(5288)

鄂尔多斯市夏秋季气溶胶新粒子生成过程影响因素分析 孔祥晨, 王红磊, 张连霞, 呼群, 李瑞锋, 许彩琴(5295)

杭州市城区挥发性有机物污染特征及反应活性 景盛翱, 高雅琴, 沈建东, 王倩, 彭亚荣, 李英杰, 王红丽(5306)

成都市区夏季大气挥发性有机物污染特征及来源解析 徐晨曦, 陈军辉, 姜涛, 韩丽, 王波, 李英杰, 王成辉, 刘政, 钱骏(5316)

石家庄市挥发性有机物和臭氧的污染特征及源解析 王帅, 崔建升, 冯亚平, 刘大喜, 陈静, 田亮, 冯超, 王梦璇, 王学臣, 王婷婷(5325)

厦门市工业源VOCs排放清单及控制对策分析 吴冬阳, 庄马展, 吴艳聪, 金磊, 吴义诚, 高攀峰, 刘建福, 金月正, 潘亚雷, 傅海燕(5336)

建筑胶黏剂使用VOCs排放系数与排放清单 梁小明, 孙西勃, 苏燕花, 黄礼海, 陈锋, 任璐, 卢清, 赖君怡, 陈朋龙, 陈来国(5345)

我国西北工业区城市大气多氯联苯来源及健康风险 毛潇萱, 李子璇, 宋世杰, 章晓冬, 高宏, 李春新, 黄韬, 马建民(5352)

基于广州塔观测的城市近地面甲醛垂直分布特征 黄山, 裴成磊, 张莹, 宋奇聪, 齐吉朋, 赵一鸣, 王鸣, 邵敏(5362)

新水沙条件下长江中下游干流水体总磷时空变化分析 卓海华, 娄保锋, 吴云丽, 王瑞琳, 陈杰, 兰静(5371)

三峡库区汉丰湖水体氮磷及化学计量比季节变化特征 钱田, 黄祺, 何丙辉, 李天阳, 刘淑婧, 付适, 曾荣昌, 向可翠(5381)

衡水湖沉积物营养盐形态分布特征及污染评价 张嘉雯, 魏健, 刘利, 王俭, 朱元荣, 段亮(5389)

宜兴市横山水库底泥内源污染及释放特征 崔会芳, 陈淑云, 杨春晖, 唐婉莹, 殷鹏, 尹洪斌(5400)

梅江流域清凉山水库沉积物重金属污染、生态风险评价及来源解析 江涛, 林伟稳, 曹英杰, 黎坤, 禚映雪, 李睿, 陈建耀(5410)

汉江流域金水河与淇河潜在硝化速率及硝化功能基因的影响因子 赵彬洁, 王旭, 张健, 谭香, 何睿, 周全, 史航, 张全发(5419)

山东省滨海旅游度假区水体环境典型全氟化合物污染特征及潜在生态风险 王世亮, 曹雪雅(5428)

太湖重点区域多介质水体中有机磷酸酯的分布特征及来源解析 吕佳佩, 张振飞, 刘杨, 张恒, 王春英, 罗莹, 郭昌胜, 徐建(5438)

岩溶地下水水体中有机氯农药和多氯联苯的残留特征及健康风险评价 叶凯, 孙玉川, 贾亚男, 朱琳跃, 徐昕(5448)

澜沧江硅藻的地理分布模式与关键驱动因素 孙胜浩, 陈娟, 王沛芳, 王超, 王洵, 苗令占, 刘胜, 袁秋生(5458)

白洋淀优势鱼类中喹诺酮类抗生素的生物累积特征及其与环境因子相关性 申立娜, 付雨, 张璐璐, 秦珊, 剧泽佳, 姚波, 崔建升(5470)

生物质粒径对负载MgO生物炭吸附水体中磷的影响 王鹏飞, 甄蒙蒙, 储昭升, 崔冠楠(5480)

Bi₂MoO₆/Bi₂S₃异质结构催化降解四环素-铜复合物 黄文鑫, 魏虎, 蒋彩云, 王玉萍(5488)

超滤膜负载UiO-66@Fe₃O₄@UiO-66强化PPCPs去除和膜污染控制 尹越, 吴道文, 孙梦瑶, 吕路, 张炜铭(5500)

低温季节水平潜流和垂直潜流人工湿地尾水深度处理中试 廖雪珂, 严晗璐, 王智源, 陈诚, 何东, 吴月龙, 陈求稳(5509)

盐度渐增对水解微生物群落结构与功能的影响 高京, 张少华, 王锐, 金鹏康(5518)

限NH₄⁺和限NO₂⁻厌氧氨氧化系统的运行特性及微生物种群特征 宋家俊, 朱明奕, 郭凯成, 汪倩, 刘文如, 沈耀良(5527)

厌氧氨氧化菌富集培养过程微生物群落结构及多样性 闫冰, 夏嵩, 桂双林, 付嘉琦, 吴九九, 熊继海, 魏源送(5535)

二价铁活化过氧化钙提高剩余活性污泥的脱水性能 毕薇薇, 阮书瑜, 陈昊傲啸, 梁方艺, 陈智文, 谢松儒, 唐晶, 邓靖(5544)

中国北方某城市绿地土壤重金属空间分布特征、污染评价及来源解析 赵靓, 梁云平, 陈倩, 徐谦, 荆红卫(5552)

我国南方水稻产地镉环境质量类别划分技术 窦韦强, 安毅, 秦莉, 林大松, 董明明(5562)

晒在土壤-农作物系统中的分布特征及富硒土壤阈值 王锐, 邓海, 贾中民, 严明书, 周皎, 何忠庠, 梁绍标, 董金秀, 苏黎明(5571)

广东鼻咽癌高发区土壤-作物系统重金属迁移特征及健康风险评价 叶脉, 张景茹, 张路路, 李朝晖, 李兴远, 周永章(5579)

胺鲜酯与螯合剂GLDA联合强化柳枝稷吸收积累镉效果 王正, 孙兆军, SAMEH Mohamed, 王珍, 何俊, 韩磊(5589)

毛竹遗态Fe/C复合材料对As(V)污染土壤的钝化修复性能 赵宁宁, 何豪, 冯国杰, 朱宗强, 方雅莉, 李超, 朱义年, 张立浩(5600)

大麦虫幼虫肠道菌群对聚苯乙烯泡沫塑料降解 杨莉, 刘颖, 高婕, 彭霞薇, 白志辉, 庄绪亮(5609)

1株耐油甲醛降解菌的分离鉴定及降解特性 韩茜, 王蓉蓉, 史纯珍(5617)

铜尾矿白羊草叶际和根际细菌群落特征 贾彤, 姚玉珊, 王瑞宏(5628)

生物质炭施用对再生水灌溉空心菜根际微生物群落结构及多样性的影响 崔丙健, 崔二革, 胡超, 樊向阳, 高峰(5636)

废弃物基水热炭改良对水稻产量及氮素吸收的影响 侯朋福, 薛利红, 冯彦房, 余姗, 杨林章(5648)

基于GIS和PMF模型的石嘴山市土壤多环芳烃空间分布及来源解析 夏子书, 王玉玉, 钟艳霞, 白一茹, 王幼奇, 杨帆, 李鸣骥(5656)

氮肥和秸秆还田方式对麦玉轮作土壤N₂O排放的影响 许宏伟, 李娜, 冯永忠, 任广鑫, 谢呈辉, 吕宏菲, 马星霞, 郝嘉琪(5668)

《环境科学》第41卷(2020年)总目录 (5677)

《环境科学》征订启事(5344) 《环境科学》征稿简则(5361) 信息(5287, 5499, 5508)

生物质炭施用对再生水灌溉空心菜根际微生物群落结构及多样性的影响

崔丙健^{1,2}, 崔二苹^{1,2}, 胡超^{1,2}, 樊向阳^{1,2}, 高峰^{1,2*}

(1. 中国农业科学院农田灌溉研究所, 新乡 453002; 2. 中国农业科学院农业水资源高效安全利用重点开放实验室, 新乡 453002)

摘要: 再生水利用是缓解农业灌溉水资源短缺的重要途径之一。生物质炭作为生物质废弃物一种有效的处置方式, 已被广泛用于农业环境的改良与修复等方面, 但关于施加生物质炭对再生水灌溉根际土壤微生物群落结构及病原菌丰度变化的影响研究较少。基于盆栽试验, 采用高通量测序技术和定量 PCR 方法考察生物质炭种类对再生水灌溉根际土壤微生物群落结构多样性与病原菌丰度特征的影响及差异性。结果表明, 不同种类生物质炭对改善土壤养分状况存在差异, 稻壳生物质炭和水稻秸秆生物质炭导致再生水灌溉根际土壤 pH 显著增加, 4 种生物质炭均显著增加根际土壤的 EC 值 ($P < 0.05$)。水稻秸秆生物质炭处理下根际土壤细菌群落的 Sobs 指数、Shannon 指数和 Chao1 指数显著增加, 而添加花生壳生物质炭、稻壳生物质炭和小麦秸秆生物质炭使 Simpson 指数均显著降低 ($P < 0.05$)。不同处理根际土壤细菌群落相对丰度存在差异, 门水平的优势类群主要为 Proteobacteria、Actinobacteria、Chloroflexi、Bacteroidetes 和 Acidobacteria, 优势菌属包括 *Pseudomonas*、*Rheinheimera*、*Arthrobacter*、*Sphingomonas* 和 *Aeromonas* (相对丰度 $> 5\%$)。RDA 和相关性 Heatmap 分析表明, 不同处理根际土壤细菌群落多样性和组成与土壤 EC 值、有机质、总氮和镉含量显著相关 ($P < 0.05$)。生物质炭种类对病原菌 *Aeromonas hydrophila* 和 *Bacillus cereus* 丰度均无显著影响, 水稻秸秆生物质炭和花生壳生物质炭能够显著降低 γ -Proteobacteria 的相对丰度, 而稻壳生物质炭和小麦秸秆生物质炭显著降低 AOA 的相对丰度 ($P < 0.05$)。综上所述, 再生水灌溉对土壤质量未产生明显的负面效应, 添加生物质炭能够显著改善土壤理化性质, 生物质炭的种类对根际土壤细菌群落结构和功能菌群丰度会产生一定的影响, 并且这种影响与土壤性质密切相关。

关键词: 再生水灌溉; 生物质炭; 细菌群落; 病原菌

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2020)12-5636-12 DOI: 10.13227/j.hjks.202006087

Effects of Selected Biochars Application on the Microbial Community Structures and Diversities in the Rhizosphere of Water Spinach (*Ipomoea aquatica* Forssk.) Irrigated with Reclaimed Water

CUI Bing-jian^{1,2}, CUI Er-ping^{1,2}, HU Chao^{1,2}, FAN Xiang-yang^{1,2}, GAO Feng^{1,2*}

(1. Farmland Irrigation Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang 453002, China; 2. Key Laboratory of High-efficient and Safe Utilization of Agriculture Water Resources, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xinxiang 453002, China)

Abstract: The utilization of reclaimed water is one of the most important ways of alleviating the shortage of water resources for agricultural irrigation. As an effective disposal method for biomass waste, biochar has been widely used in the improvement and remediation of agricultural environments. However, few studies have been performed on the effects of biochar application on microbial community structures and pathogen abundances in rhizosphere soils irrigated with reclaimed water. Based on a pot experiment, high throughput sequencing technology and quantitative polymerase chain reaction (PCR) methods were used to investigate the effects of different biochars on the microbial community structure and diversity and pathogen abundance of rhizosphere soils irrigated with reclaimed water. The results showed that four different types of biochars had different effects on the soil nutrient status. Rice hull-derived biochar and rice straw-derived biochar resulted in significantly increased soil pH with reclaimed water irrigation, while peanut shell-derived biochar, rice straw-derived biochar, and wheat straw-derived biochar significantly increased EC values ($P < 0.05$). The Sobs index, Shannon index, and Chao1 index of bacterial community in the rhizosphere soil significantly increased with rice straw-derived biochar treatment, while the Simpson index significantly decreased by adding peanut shell-derived biochar, rice hull-derived biochar, and wheat straw-derived biochar ($P < 0.05$). There were differences in the relative abundances of bacterial communities in rhizosphere soils under different treatments. The dominant taxonomic groups at the phylum level were Proteobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Bacteroidetes, and Acidobacteria. The dominant genera included *Pseudomonas*, *Rheinheimera*, *Arthrobacter*, *Sphingomonas*, and *Aeromonas* (relative abundance $> 5\%$). Redundancy (RDA) and heatmap analyses showed that the diversities and

收稿日期: 2020-06-08; 修订日期: 2020-06-22

基金项目: 国家重点研发计划项目(2017YFC0403503-2); 河南省科技攻关项目(192102110094); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(FIRI2019-04-02, FIRI202001-02, FIRI202003-01)

作者简介: 崔丙健(1985~), 男, 博士, 助理研究员, 主要研究方向为再生水安全利用, E-mail: ayangcbj@126.com

* 通信作者, E-mail: gaofengcaas@sina.com

compositions of bacterial communities in rhizosphere soils in different treatments were closely related to soil EC values, organic matter, total nitrogen, and cadmium contents. Biochar application had no significant effect on the abundances of *Aeromonas hydrophila* and *Bacillus cereus*. Rice straw-derived biochar and peanut shell-derived biochar could significantly reduce the γ -Proteobacteria, while rice hull-derived biochar and wheat straw-derived biochar could significantly reduce the relative abundance of AOA ($P < 0.05$). In conclusion, there were no obvious negative effects observed from reclaimed water irrigation on soil quality. Biochar application not only significantly improved the physicochemical properties of the soil, but also impacted the bacterial community structure and the abundance of the functional bacteria in the rhizosphere soil, which was closely related to the soil properties.

Key words: reclaimed water irrigation; biochar; bacterial community; pathogens

据 2009 ~ 2018 年《中国水资源公报》统计数据 显示,我国农业用水量在全年总用水量中占比始终 保持在 60% 以上. 文献[1]指出,水资源短缺已成 为我国生态文明建设和经济社会可持续发展的瓶 颈制约,要求加强再生水、雨水和微咸水等非常 规水多元、梯级和安全利用. 水资源短缺和农业 用水量、效率低等问题日益突出,再生水作为一 种可靠、有效的替代水源成为发展节水灌溉和 缓解农业用水供需矛盾的重要途径之一. 文献 [2] 中明确指出城镇污水处理设施建设要实现由“污 水处理”向“再生利用”的转变. 2017 年全国城 市再生水利用量为 71.34 亿 m^3 [3], 预计到 2030 年,农业可 利用非常规水资源量为 34.38 亿 m^3 , 其中再生 水农田灌溉量可达 16.45 亿 m^3 [4]. 然而,随着 农业灌溉利用的大力发展,再生水中盐分、重金 属、有机污染物及病原菌引入农业环境可能导 致土壤环境质量恶化和农产品污染风险[5], 影响再生水农业灌溉的可持续利用.

生物质炭 (biochar) 是动植物残体在完全或部 分缺氧条件下,经缓慢高温热解 (通常 $< 700^\circ C$) 产 生的一类难溶的、稳定的、高度芳香化的和富含 碳素的固态物质[6]. 其作为一类新型环境功能材 料引起广泛关注,在土壤改良、温室气体减排以 及污染环境修复等方面表现出极大的应用潜力. 生物质炭对于因土壤质量恶化导致的粮食产量 不足以及全球变暖的缓解具有重要意义,成为近 年来农业和环境领域的研究热点[7]. 生物质炭 能够增加再生水灌溉土壤和作物养分含量,并 且降低了土壤有效态重金属和植株重金属含量 [8]. 施用生物质炭影响作物根区土壤微生物 数量及其对碳源的利用,降低作物疫病的发生, 但其效果因生物质炭种类而异[9]. 前期研究 表明,再生水灌溉会导致辣椒果实和根际土壤中 *Legionella* spp. 和 *Pseudomonas syringae* 丰度 显著增加[10]. 崔二莘等[11]的研究发现,生物质 炭可以不同程度地增加或降低再生水灌溉根 际土壤病原菌的检出量. 已有研究表明,生物 质炭不仅可以改善土壤结构和提高作物产量, 还能有效抑制土壤真菌病原对作物根部的侵 袭[12]. Duan 等[13]的研究也报道了生物质炭 作为农田改良剂,可有效降低土壤和作物

中人类条件致病菌的数量. 大量研究证实,施 用生物质炭可以改变土壤酶活和微生物群落 结构,这对于土壤养分积累与转化过程有着 重要作用[14~16].

生物质炭是废弃生物质资源化利用的一种 有效处置方式,将其与再生水灌溉有机结合 是再生资源开发利用与环境污染治理的重要 途径. 当前大多数研究主要关注生物质炭对 土壤物化环境和作物产量的影响,而对于再 生水灌溉条件下施用生物质炭对微生物群 落结构与组成重塑作用的研究以及病原菌 抑制有效性的认识还非常有限. 本文拟采 用盆栽试验,研究花生壳生物质炭、水稻 秸秆生物质炭、稻壳生物质炭和小麦秸秆 生物质炭对根际土壤细菌群落组成及病原 菌丰度的影响,探讨生物质炭种类对再生 水灌溉根际土壤微生物群落结构及菌群 丰度变化的影响因素,以期 为生物质炭在再生水灌溉农业生产中的 应用与实践提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

LB 液体和固体培养基 (生工生物工程股份有 限公司,上海); pMDTM 19-T Vector (TaKaRa 公 司,大连); TB GreenTM Premix Ex TaqTM (TliRNaseH Plus, TaKaRa 公司,大连); FastDNA Spin Kit for Soil 试剂 盒 (MP Biomedicals, 美国); E. Z. N. ATM Gel Extraction Kit (Omega Bio-tek 公司,美国); E. Z. N. A[®] Plasmid Mini Kit Spin Kit (Omega Bio-tek 公司,美国); 生物质 炭购自河南省商丘市三利新能源有限公司:花生 壳生物质炭 (PBC)、水稻秸秆生物质炭 (RBC)、稻 壳生物质炭 (RKBC)、小麦秸秆生物质炭 (WBC), 制备温度 $500^\circ C$ 左右,具体理化性质见表 1.

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计及样品采集

本试验用再生水取自某城市生活污水处理厂, 其采用 A/O + 连续砂滤池组合工艺,处理后的出 水水质符合《城镇污水处理厂污染物排放标准 GB 18918-2002》一级 A 排放标准,并符合国家《城市 污水再生利用农田灌溉用水水质 GB 20922-2007》 和《农田灌溉水质标准 GB 5084-2005》.

表 1 供试生物质炭理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the selected biochars

供试材料	pH	EC / $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	Na^+ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	K^+ / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	TOC / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	氨氮 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	总磷 / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
花生壳生物质炭(PBC)	9.58	1 378	34	449	12.94	0.3	29.4
水稻秸秆生物质炭(RBC)	9.11	773	53	246	11.65	1.0	38.8
稻壳生物质炭(RKBC)	9.01	1 398	76	397	88.99	0.9	83.3
小麦秸秆生物质炭(WBC)	8.34	1 917	32	519	21.63	0.9	10.5

盆栽试验于中国农业科学院新乡农业水土环境野外科学观测试验站的人工气候室中进行,供试作物为空心菜.人工气候室环境条件:温度 $30^{\circ}\text{C}/18^{\circ}\text{C}$ (光照/黑暗),光照强度为 $300\mu\text{mol}\cdot(\text{m}^2\cdot\text{s})^{-1}$,光照时间 $12\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$.试验设置6组处理,分别为清水灌溉(PW_CK)、再生水灌溉(RW_CK)、再生水灌溉施加花生壳生物质炭(RW_PBC)、再生水灌溉施加水稻秸秆生物质炭(RW_RBC)、再生水灌溉施加稻壳生物质炭(RW_RKBC)、再生水灌溉施加小麦秸秆生物质炭(RW_WBC),每组处理3个重复.花盆盛土 3.5kg ,土壤基肥施用量为尿素 $200\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、过磷酸钙 $150\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 、氯化钾 $150\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,生物质炭添加量按占土壤质量分数2%混合均匀.试验周期2个月,每隔两天灌水 100mL .

本试验结束后,参考李春格等^[17]的方法,用毛刷轻轻刷取黏附在根表面的土壤即为根际土壤,收集于无菌自封袋中带回实验室,经真空冷冻干燥后研磨过 2mm 筛,用于理化测试与微生物分析.

1.2.2 土壤理化性质测定

土壤理化性质测定参考文献[18].土壤pH和电导率(EC)按水土比1:5混匀后静置过夜测定.有机质(OM)测定采用低温外热重铬酸钾氧化-比色法.土壤总氮(TN)和总磷(TP)分别经过浓硫酸和高氯酸消煮后利用连续流动化学分析仪(Seal-AA3,德国)测定.土壤重金属含量(铅Pb、镉Cd、铜Cu和锌Zn)经盐酸-硝酸-氢氟酸微波消解后利用原子吸收分光光度计测定(Shimadzu AA-6300,日本).

1.2.3 基因组DNA提取和Illumina测序

利用FastDNA Spin Kit for Soil试剂盒(MP Biomedicals,美国)提取根际土壤基因组DNA.利用1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测(电压 110V , 30min)DNA的提取效果,DNA浓度及纯度利用超微量分光光度计(SpectraMax[®] QuickDrop[™],Molecular Devices公司,美国)测定,保存于 -80°C 冰箱待用.

采用Illumina MiSeq测序平台测定根际土壤细菌群落的组成和多样性.选用16S rRNA基因V3-V4区引物338F(CTCCTACGGGAGGCAGCAG)和806R(GGACTACHVGGGTWTCTAAT)对各处理基因组DNA进行PCR扩增及后续的高通量测序^[19].

PCR反应采用TransGen AP221-02:TransStart FastPfu DNA Polymerase进行,每个反应体系中包含 $4\mu\text{L}$ FastPfu Buffer ($5\times$ TransGen), $2\mu\text{L}$ dNTPs ($2.5\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$),正反向引物各 $0.8\mu\text{L}$ ($5\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), $0.4\mu\text{L}$ FastPfu Polymerase, 10ng 模板DNA, ddH_2O 补足至 $20\mu\text{L}$.反应于ABI GeneAmp[®] 9700PCR扩增仪上进行,反应条件如下: 95°C 预变性 3min ; 95°C 变性 30s , 50°C 退火 30s , 72°C 延伸 45s ,30个循环;最后 72°C 延伸 10min , 10°C 保持.利用AxyPrepDNA试剂盒(Axygen,美国)对PCR产物目的条带进行切胶回收.基于Illumina MiSeq PE300测序平台,利用TruSeq[™] DNA Sample Prep Kit构建PE文库进行双末端测序.

1.2.4 定量PCR检测

利用门水平细菌菌群引物和病原菌特异性引物对根际基因组DNA进行PCR扩增,引物信息见表2.标准曲线质粒制备参照前期研究报道^[10].根据质粒DNA浓度计算基因拷贝数,将已知拷贝数的质粒DNA 10倍梯度稀释作为标准模板.定量PCR反应体系: $10\mu\text{L}$ TB Green[™] Premix Ex Taq[™] (TliRNaseH Plus),上下游引物各 $0.4\mu\text{L}$ ($10\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$),模板 $2\mu\text{L}$,加无菌 ddH_2O 补齐至 $20\mu\text{L}$.具体扩增程序如下: 95°C 预变性 30s ; 95°C 变性 5s , $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ 退火 30s , 72°C 延伸 30s ,40个循环.熔解曲线条件:以 $0.5^{\circ}\text{C}\cdot\text{s}^{-1}$ 温度递增速率从 $65\sim 95^{\circ}\text{C}$.反应于CFX96 Touch[™]荧光定量PCR检测系统上进行,所有反应均设置3个重复,以无菌 ddH_2O 作为阴性对照,每轮反应结束后样品与标准曲线的 C_t 值进行比较确定目标基因的初始拷贝数.

1.2.5 数据分析

根际土壤微生物高通量测序数据利用I-Sanger生信云平台分析(上海桑格信息技术有限公司).①物种注释与评估:利用Usearch (Version 7.0 <http://drive5.com/uparse/>)划分97%以上相似性的OTU,并通过mothur计算 α 多样性指数.利用R语言工具绘制稀疏曲线图;②物种组成分析:采用QIIME平台(http://qiime.org/scripts/assign_taxonomy.html)对97%相似水平的OTU代表序列进行不同的分类学分析,使用Silva (Release 128

表 2 用于定量 PCR 检测的引物

Table 2 Primers for quantitative PCR detection

项目	目的基因	序列(5'-3')	产物长度 /bp	文献
α -Proteobacteria	16S	F: ACTCCTACGGGAGGCAGCAG; R: TCTACGRATTCACCYCTAC	365	[20]
β -Proteobacteria	16S	F: ACTCCTACGGGAGGCAGCAG; R: TCACTGCTACACGYG	360	[20]
γ -Proteobacteria	16S	F: TCGTCAGCTCGTGTGTGA; R: CGTAAGGGCCATGATG	170	[21]
Acidobacteria	16S	F: GATCCTGGCTCAGAATC; R: ATTACCGCGCTGCTGG	500	[20]
Actinobacteria	16S	F: CGCGCCTATCAGCTTGTG; R: ATTACCGCGCTGCTGG	300	[20]
Bacteroidetes	16S	F: GTACTGAGACACGGACCA; R: ATTACCGCGCTGCTGG	220	[20]
Firmicutes	16S	F: GCAGTAGGGAATCTTCCG; R: ATTACCGCGCTGCTGG	180	[20]
Ammonia-oxidizing archaea	archaeal <i>amoA</i>	F: STAATGCTTGGCTTAGACG; R: GCGGCCATCCATCTGTATGT	635	[22]
Ammonia-oxidizing bacteria	bacterial <i>amoA</i>	F: GGGGTTTCTACTGGTGCT; R: CCCCTCKGSAAGCCTTCTTC	491	[23]
Nitrogen-fixing bacteria	<i>nifH</i>	F: AAAGGYGGWATCGGYAARTCCACCAC; R: TTGTTSGCSGCRATCATSGCCATCAT	432	[24]
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Cytolytic enterotoxin	F: GAGAAGGTGACCACCAAGAACA; R: AACTGACATCGGCCTTGAAGCTC	232	[25]
<i>Bacillus cereus</i>	Hemolysin	F: CTGTAGCGAATCGTACGTATC; R: TACTGCTCCAGCCACATTAC	185	[26]
<i>Escherichia coli</i>	<i>uidA</i>	F: CTGCTGCTGTCGGCTTTA; R: CCTTGGGACGGGTAT	205	[27]
<i>Enterococcus faecium</i>	23S	F: AGAAATTCACAAACGAAGCTT; R: CAGTGTCTACCTCCATCATT	92	[28]
<i>Pseudomonas syringae</i>	<i>oprF</i>	F: AACTGAAAAACACCTTGGGC; R: CCTGGGTTGTTGAAGTGGTA	304	[29]
<i>Legionella</i> spp.	16S	F: GAGGGTTGATAGTTAAGAGC; R: GTCAACTTATCGCGTTTGCT	430	[30]
<i>Mycobacterium</i> spp.	16S	F: ATGCACCACCTGCACACAGG; R: GGTGGTTTGTGCGGTTGTTTC	470	[31]
细菌总数	16S	F: ACTCCTACGGGAGGCAGCAG; R: ATTACCGCGCTGCTGG	200	[32]
真菌总数	18S	F: GTAGTCATATGCTTGTCTC; R: ATTCGCCGTTACCCGTTG	350	[33]

http://www.arb-silva.de) 比对数据库分析各样本的群落组成, 利用 R 语言工具绘制 Venn 图; ③样本比较分析: PCoA (Principal co-ordinates analysis) 即主坐标分析利用 R 语言 PCoA 统计分析和作图; ④环境因子关联分析: 利用 R 语言 vegan 包中 RDA 分析和作图, 相关性 Heatmap 分析利用 R (pheatmap package) 语言作图。

各处理数据利用 Excel 2007 和 Origin 8.0 进行分析绘图, 利用 Hem I 热图软件对定量的病原菌丰度进行绘图, 采用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和 LSD 多重比较检验各处理间差异的显著性 ($\alpha = 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 土壤理化指标分析

不同处理根际土壤理化性质如表 3 所示。清水和再生水灌溉土壤的理化性质基本相同, 4 种生物质炭的添加均显著增加土壤 EC 值、有机质和总氮含量 ($P < 0.05$)。添加稻壳生物质炭显著增加土壤 pH 和总磷含量, 而显著降低锌和镉含量; 水稻秸秆生物质炭显著增加土壤 pH, 降低镉含量; 小麦秸秆生物质炭能够显著增加总磷和锌含量, 降低镉含量; 花生壳生物质炭显著增加铜和锌含量 ($P < 0.05$)。这表明由于不同来源生物质炭的结构性质存在较大

表 3 不同处理根际土壤样品理化性质¹⁾

Table 3 Physicochemical characteristics of rhizosphere soil in different samples

处理	pH	EC / $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	OM /%	TN / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	TP / $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	Cu / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Zn / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Cd / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	Pb / $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$
PW_CK	8.12ab	1580ab	0.60a	0.22b	0.64a	11.62a	37.39a	0.11a	12.77a
RW_CK	7.63a	1221a	0.60a	0.17a	0.65ab	12.17a	37.90ab	0.13a	12.50a
RW_PBC	7.70a	2136c	1.20b	0.29c	0.68ab	14.42b	39.85b	0.15a	12.29a
RW_RBC	8.27b	1839bc	1.06b	0.25bc	0.68ab	12.33a	38.72ab	0.05b	12.34a
RW_RKBC	8.25b	1635b	1.25b	0.30c	0.71bc	11.62a	35.23c	0.07b	12.61a
RW_WBC	8.07ab	1693b	1.32b	0.34d	0.74c	12.33a	39.91b	0.07b	11.48a

1) 不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著, $n = 3$, 下同

差异, 对土壤环境质量造成不同程度的影响。

2.2 细菌群落结构与多样性分析

不同处理各样本抽平后的有效序列数为 21 872。18 个根际土壤样本共获得 4 724 个 OTUs, 将其进行物种分类统计包括: 33 个门、82 个纲、225 个目、406 个科和 797 个属。各处理根际土壤细菌

群落的 α 多样性指数如表 4 所示。通过比较分析可以看出生物质炭处理显著增加了根际土壤细菌的丰富度和多样性。与对照相比, 添加水稻秸秆生物质炭 (RW_RBC) 显著增加了 Sobs 指数、Shannon 指数和 Chao1 指数 ($P < 0.05$), 表明这种生物质炭处理下的物种总数最高。花生壳生物质炭 (RW_PBC)、

稻壳生物质炭 (RW_RKBC) 和小麦秸秆生物质炭 (RW_WBC) 处理均使 Simpson 指数显著降低 ($P < 0.05$), 表明群落多样性和丰富度较其他处理高. 不同处理方式下用于估计群落中 OTU 数目的 Ace 指

数和代表测序深度的覆盖度 (Coverage) 均无显著差异, 反映了本次测序结果能够代表所有样本中微生物的真实情况和一致性, 可以较为准确地描述样本的微生物群落信息.

表 4 不同处理细菌 α 多样性指数

Table 4 Bacterial community α diversity indices for different samples

处理	Sobs 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Ace 指数	Chao1 指数	覆盖度
PW_CK	1 785a	5.14a	0.055 0a	2 747a	2 521a	0.968 9a
RW_CK	1 748a	5.02a	0.050 0a	2 925a	2 574ab	0.968 0a
RW_PBC	1 983ab	5.97ab	0.010 9b	2 811a	2 851ab	0.967 1a
RW_RBC	2 279b	6.41b	0.005 9ab	3 091a	3 080b	0.965 0a
RW_RKBC	2 106b	6.04ab	0.010 6b	2 995a	2 992ab	0.964 9a
RW_WBC	2 051ab	6.06ab	0.011 0b	2 885a	2 950ab	0.966 2a

各处理的根际土壤细菌在门分类水平和属分类水平的群落组成信息如图 1 所示. 门分类水平上, 各处理间细菌群落结构组成相似性较高, 主要优势菌群包括变形菌门 (Proteobacteria, 38.53% ~ 64.47%)、放线菌门 (Actinobacteria, 8.55% ~ 15.22%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes, 6.53% ~ 12.46%)、绿弯菌门 (Chloroflexi, 7.35% ~ 13.25%)、酸杆菌门 (Acidobacteria, 4.55% ~ 10.98%)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes, 2.13% ~ 4.55%)、厚壁菌门 (Firmicutes, 0.59% ~ 4.31%), 这 7 个菌群相对丰度占根际土壤细菌群落的 90% 以上, 其中变形菌门 (Proteobacteria) 占比最高. 根际土壤细菌群落组成变化对生物质炭种类的响应存在差异, 但整体趋势一致. 添加生物质炭处理均降低了变形菌门 (Proteobacteria) 的相对丰度, 尤其是 γ -变形菌纲 (γ -Proteobacteria) 的相对丰度表现出大幅度下降. 添加生物质炭处理后拟杆菌门 (Bacteroidetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、酸杆菌门 (Acidobacteria) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 相对丰度均有增加的趋势, 而厚壁菌门 (Firmicutes) 表现出下降趋势. 属分类水平上, 丰度 Top 37 的优势属占总序列相对比例的 50% ~ 60%, 各处理间优势属均为假单胞菌属 (*Pseudomonas*, 2.41% ~ 21.31%)、莱茵海默氏菌属 (*Rheinheimera*, 1.90% ~ 4.68%)、节杆菌属 (*Arthrobacter*, 3.15% ~ 6.11%)、鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 1.53% ~ 5.99%)、气单胞菌属 (*Aeromonas*, 0.36% ~ 7.35%)、福格斯氏菌属 (*Vogesella*, 1.53% ~ 5.99%) 和红色杆菌属 (*Erythrobacter*, 1.53% ~ 5.99%), 这些优势菌属的相对丰度在不同处理间存在较大差异. RW_RBC 和 RW_WBC 相较于 RW_RKBC 和 RW_PBC 处理中假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 相对丰度下降幅度更大. 与添加生物质炭的对照相比, 生物质炭处理降低了莱茵海默氏菌属 (*Rheinheimera*)、节杆菌属

(*Arthrobacter*)、气单胞菌属 (*Aeromonas*) 和福格斯氏菌属 (*Vogesella*) 的相对丰度, 而增加了红色杆菌属 (*Erythrobacter*) 的相对丰度.

2.3 细菌群落聚类特征与环境因子相关性分析

基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 研究不同种类生物质炭处理根际土壤的细菌群落组成的相似性和差异性. 图 2 中不同形状图例分别代表对照及不同种类生物质炭处理的根际土壤样本, PC1 轴和 PC2 轴对结果的解释度分别为 26.01% 和 10.83%. 结果表明, 不同种类生物质炭处理的根际土壤细菌群落组成更加相似, 与未经处理的细菌群落组成存在差异. 这说明相较于灌溉水源, 生物质炭对根际土壤细菌群落组成有更大影响.

通过 RDA 揭示不同处理根际土壤样本细菌属水平群落组成与不同环境因子之间的相关性 (图 3). 结果表明, 土壤 EC 值、有机质、总氮和重金属镉含量与根际土壤样本中细菌群落变化具有明显的相关性 ($P < 0.05$), 说明这些环境因子是影响根际土壤细菌群落多样性和组成的重要驱动因素.

通过相关性 Heatmap 图分析不同的环境因子对根际土壤细菌属水平群落组成的影响 (图 4). *Pseudomonas* 与 EC ($r = -0.567, P = 0.014$)、TN ($r = -0.501, P = 0.034$)、TP ($r = -0.478, P = 0.045$) 呈负相关, 而与 Pb ($r = 0.583, P = 0.011$)、Cd ($r = 0.652, P = 0.003$) 呈正相关; *Rheinheimera* 与 OM 和 TN 呈显著负相关关系, 与 EC 呈极显著相关; *Sphingomonas* 和 *Erythrobacter* 与 EC、OM 和 TN 呈显著正相关关系; *Aeromonas* 与 OM、TN 和 TP 呈显著负相关关系, 而与 Pb、Cd 呈显著正相关. 依据 Spearman 相关系数与 P -value 将细菌群落与环境因子的相关性划分为 4 类. Cluster I 中所有菌属与 pH、EC、OM、TN、TP 和 Zn 呈显著或极显著负相关, 与 Pb 和 Cd 呈显著正相关; Cluster II 所有菌属与 Zn 呈显著正相关, 其他部分菌属与 OM、TN、TP 和 Cu

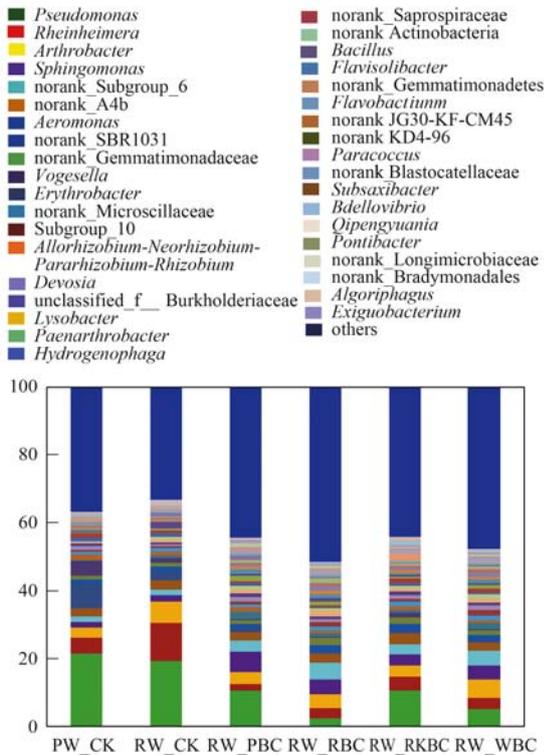
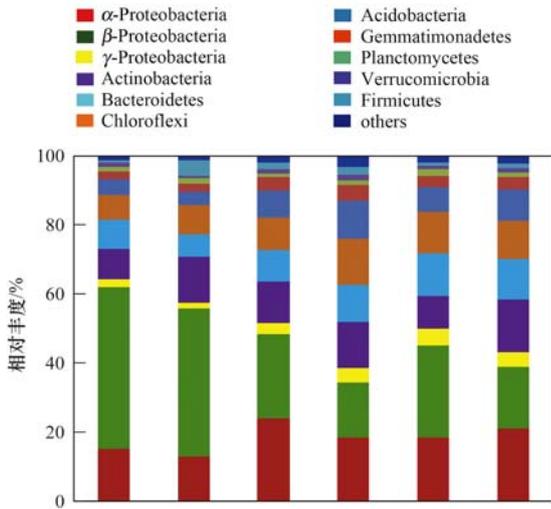


图 1 门水平和属水平根际土壤细菌群落组成相对丰度

Fig. 1 Histograms of the relative abundances of bacterial communities in the rhizosphere soil at the phylum and genus levels

呈显著正相关；Cluster III 中 *Bdellovibrio* 和 *Paenarthrobacter* 与 pH 呈显著正相关，其他几种 norank 菌属与 OM、TN 和 TP 呈显著正相关，而与 Pb 和 Cd 呈显著负相关；Cluster IV 中部分菌属与重金属含量呈负相关，而 *Janibacter* 和 norank_f_Saprospiraceae 分别与 Zn、TP 呈显著正相关。上述结果表明根际土壤细菌群落受土壤理化性质的影响，这种差异与灌溉水源及添加生物质炭改善土壤质量有关。

选择分类(属)水平总丰度前 40 的物种进行物种相关性分析,图 5(a)为单因素相关性网络,根据物种与物种之间的相关关系绘制网络图,用于反映

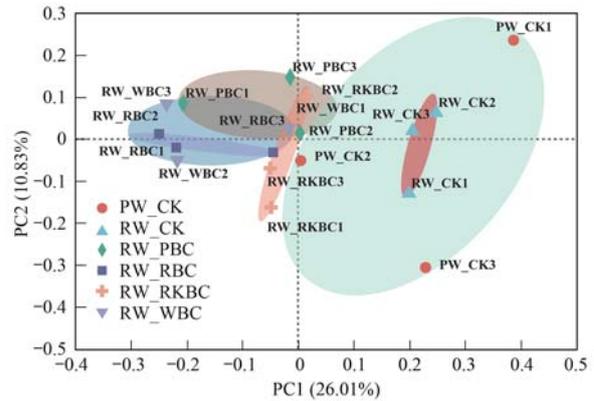


图 2 不同处理根际土壤微生物 PCoA 图

Fig. 2 Principal coordinate analysis (PCoA) of bacterial communities in the rhizosphere of different samples

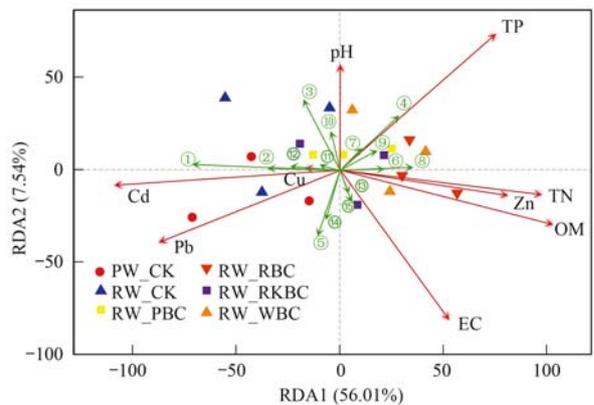


图 3 不同处理菌群与环境因子的 RDA

Fig. 3 Redundancy analysis of bacterial communities and environmental factors in different samples

样本中物种间的相互作用。属水平相关性网络图揭示了不同属之间具有显著的相互作用(红色连线表示正相关,绿色连线表示负相关,连线的粗细代表相关性系数的大小,线的多少表示节点之间联系的密切程度)。Proteobacteria 和 Actinobacteria 与其他物种的相关性较密切,而 Firmicutes 和 Planctomycetes 与其他物种的相关性较低。40 个菌属间相关性程度不同,其中有 127 个呈正相关关系和 108 个负相关关系, *Aeromonas* 分别与 *Pseudomonas* 和 *Vogesella* 呈最大正相关($r^2 = 0.641, r^2 = 0.797$)。图 5(b)为双因素相关性网络,根据物种与环境因子之间的相关关系绘制网络图,用于反映样本中环境因子与物种间的相互作用。与相关性 Heatmap 分析结果一致,属于 Proteobacteria 的 *Pseudomonas*、*Aeromonas*、*Vogesella*、*Devosia* 和 *Bdellovibrio* 与各种环境因子均

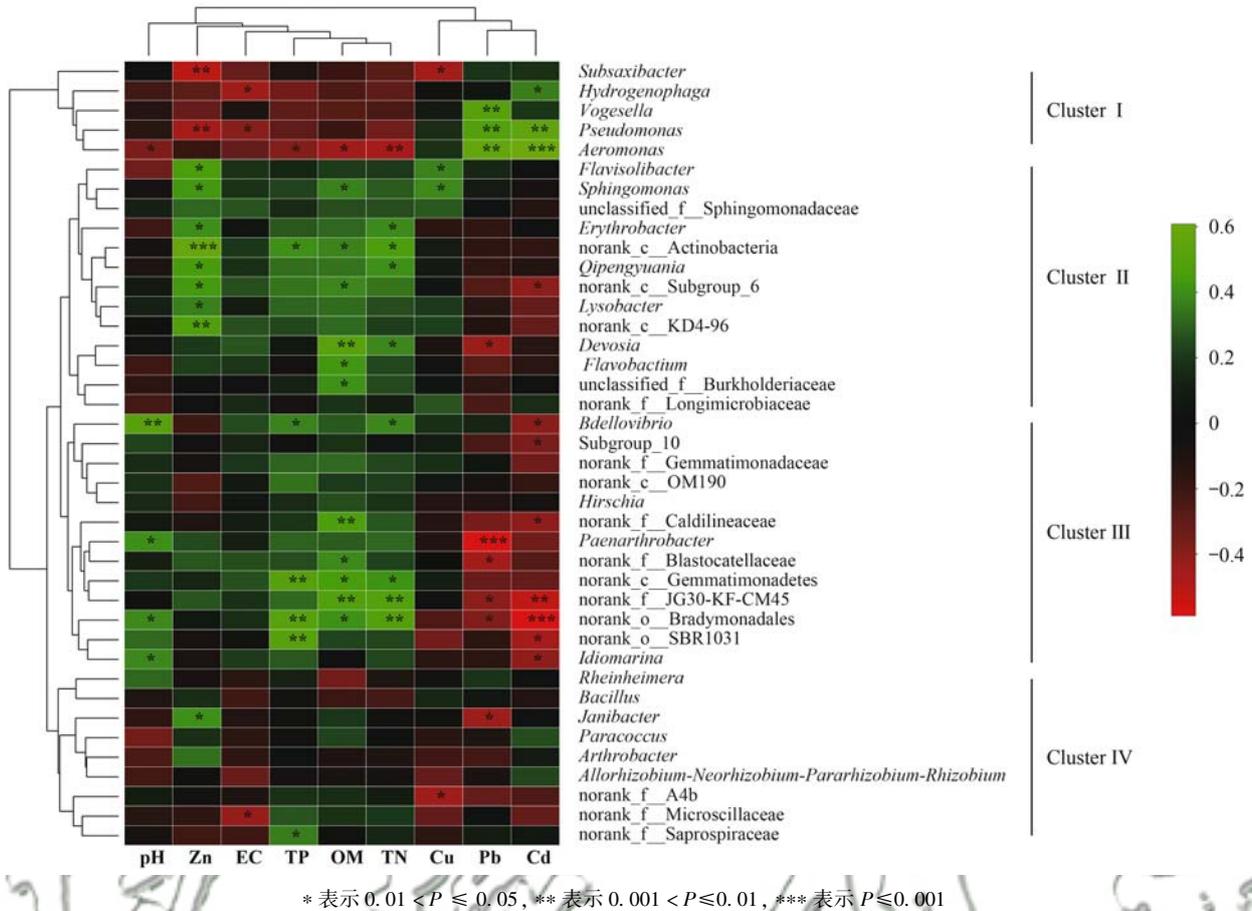


图 4 环境因子与细菌群落组成 Spearman 相关性热图

Fig. 4 Spearman rank correlation Heatmap used to study the environmental factors and bacterial community compositions

呈显著正相关。

2.4 定量 PCR 结果

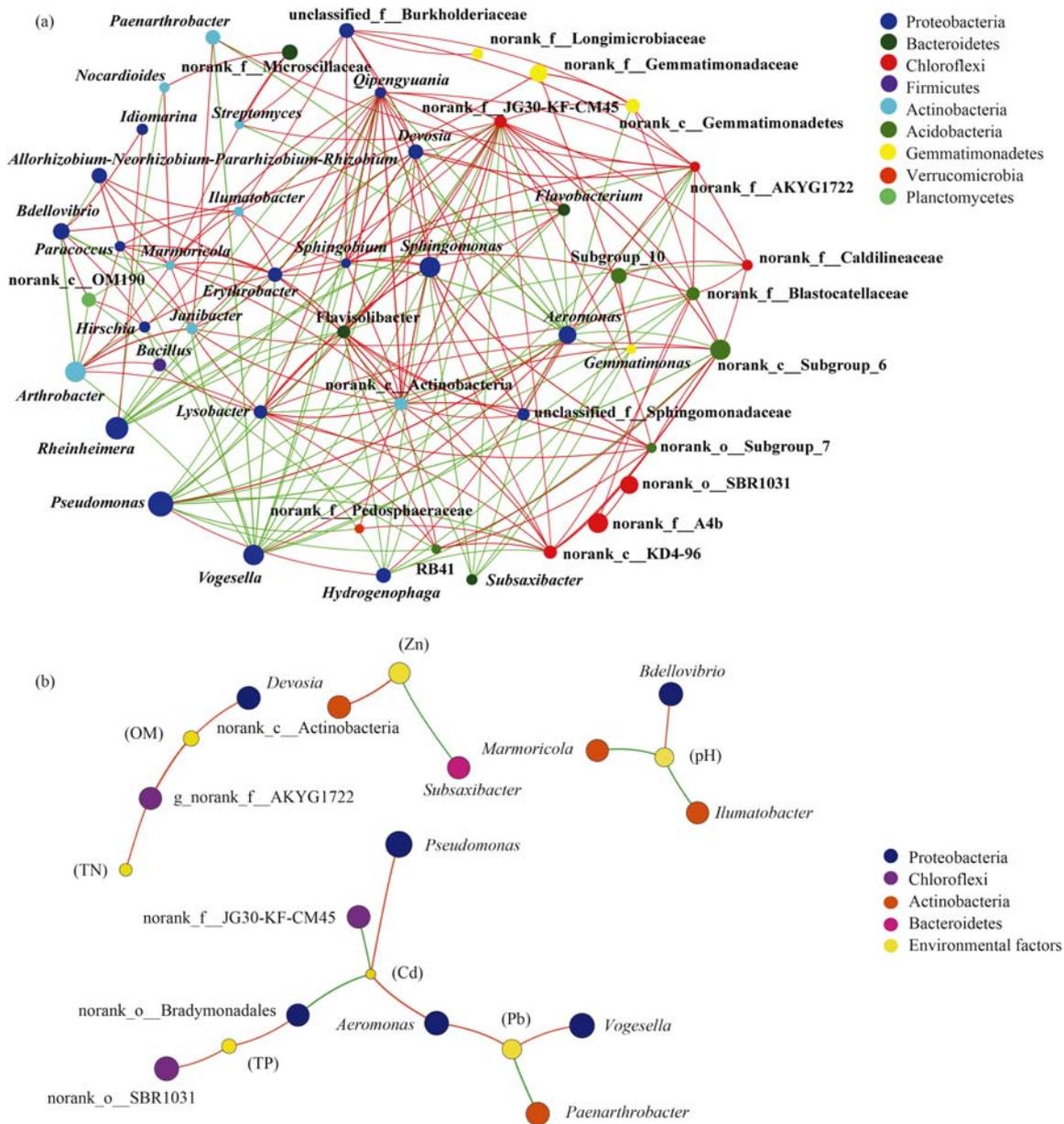
利用特异性引物对不同生物质炭处理下根际土壤中的门水平菌群、氮功能菌群和病原菌种属进行定量检测。从图 6 中可以看出,添加生物质炭对根际土壤细菌群落与功能菌群有一定的影响。再生水灌溉显著降低了 β -Proteobacteria 的丰度 ($P < 0.05$),添加生物质炭处理 β -Proteobacteria 的丰度有降低趋势,但不显著。花生壳生物质炭(RW_PBC)和水稻秸秆生物质炭(RW_RBC)处理显著降低了 γ -Proteobacteria 的丰度 ($P < 0.05$),其他处理下的菌群变化均无显著差异。小麦秸秆生物质炭(RW_WBC)和稻壳生物质炭(RW_RKBC)处理下再生水灌溉根际土壤氨氧化古菌(AOA)的丰度显著降低 ($P < 0.05$),各种生物质炭处理未对氨氧化细菌(AOB)和固氮菌群产生明显影响。与清水灌溉相比,再生水灌溉显著增加了 *E. coli* 的丰度,而添加生物质炭(RW_PBC、RW_RBC 和 RW_RKBC)能够显著降低再生水灌溉 *E. coli* 的丰度。RW_PBC 处理显著降低了 *Enterococcus faecium*、*Legionella* spp. 和 *Mycobacterium* spp. 丰度。RW_RKBC 和 RW_WBC 处理下再生水灌溉根际土壤 *Pseudomonas*

syringae 丰度显著降低,而其他处理均无显著差异。因生物质炭种类的不同,造成各类菌群丰度呈现差异变化,但各处理间样本的细菌总数和真菌总数并未受灌溉水源和生物质炭的影响而产生显著变化,表明根际菌群丰度在受外界环境压力条件下始终维持一定的动态平衡。

3 讨论

3.1 生物质炭对再生水灌溉土壤理化性质的影响

与清水灌溉相比,再生水灌溉并未对土壤理化性质造成不利影响。从表 3 可以看出土壤理化性质的差异是由于生物质炭输入造成的,而非灌溉水源。生物质炭具有改良土壤、促进植物生长、固碳减排、降低重金属及其他污染物生物有效性等作用,在农业和环境领域应用广泛。生物质炭对根际土壤理化性质的影响及差异性取决于其种类和性质的不同。有研究表明生物炭添加到土壤中后,形成了稳定的有机碳,有利于土壤有机质的形成和积累,这对稳定土壤有机碳库和提高土壤肥力有重要意义^[34]。相对于土壤中的养分来说,尽管生物质炭本身养分含量较低,但仍可在一定程度上补充土壤养分^[35]。生物质炭施入增加了土壤养分,显著提高了有机质、总



(a) 单因素相关性网络; (b) 双因素相关性网络

图5 物种相关性网络分析

Fig. 5 Species-level network analysis

氮和总磷含量. 添加稻壳生物质炭和水稻秸秆生物质炭处理均能显著增加再生水灌溉土壤 pH 和 EC 值. 而已有研究表明再生水灌溉条件下添加小麦秸秆生物质炭并未引起土壤 pH 和 EC 值的显著变化, 但显著降低了土壤中重金属铜和镍的含量^[8], 这与本研究中生物质炭对重金属的影响结果不一致, 可能是由于生物质炭种类和性质的差异造成的. Tu 等^[36]的研究表明土壤中氮磷含量的增加可以有效降低土壤中水溶性和可交换态 Cd 的含量, 可见添加生物质炭提高土壤养分含量对重金属的影响较大. 生物质炭能够改变重金属在土壤中的形态, 具有稳定固化作用, 但随着土壤环境的改变, 被固化的重金属可能重新被释放, 对土壤造成二次污染. 但

改性处理可以增加生物质炭的比表面积以及官能团的种类与数量, 使生物质炭对水体或土壤中 Cd 的吸附具有良好的稳固性^[37]. 已有研究报道, 呈碱性的生物炭施入土壤后可提高酸性土壤 pH 值, 并能够显著影响土壤中重金属的形态和迁移行为, 降低土壤中 Pb 和 Cd 的可提取态含量, 影响土壤重金属污染物的生物有效性^[38,39]. 也有报道指出, 小麦秸秆生物质炭降低碱性土壤中作物吸收 Cd 的量并非通过提高土壤 pH 和吸附能力实现的^[40]. 王海波等^[41]的研究认为生物质炭输入后能够使土壤重金属由有效态向无效态转化, 从而达到修复重金属污染土壤和降低作物累积的目的. 不同原料来源、制备条件和施用量的生物质炭在农业生产实践中的适

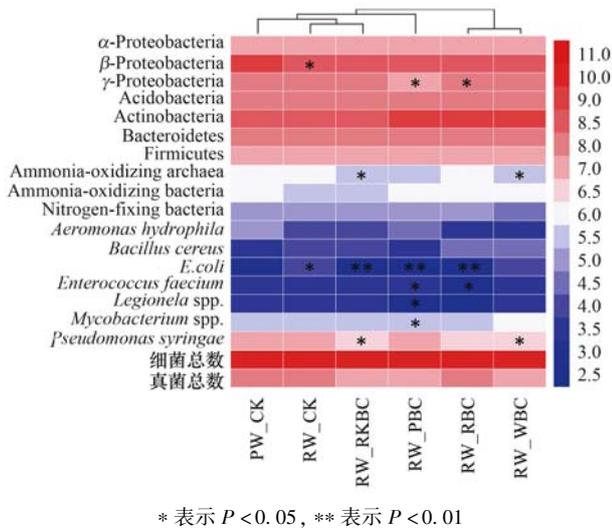


图6 不同处理间菌群数量与病原菌丰度变化热图

Fig. 6 Heatmap analysis of the abundances of bacterial communities and pathogens in different treatments

用性也是人们关注的研究热点. 本研究中, RW_RBC、RW_RKBC 和 RW_WBC 处理均能显著降低 Cd 含量, 而 RW_PBC 处理增加了 Cu 和 Zn 含量, 这表明尽管花生壳生物质炭对改善土壤肥力状况作用显著, 但其应用的潜在环境风险还有待进一步研究.

3.2 生物质炭对根际土壤细菌群落多样性及其动态变化的影响

根际为根系周围、受根系生长影响的土体, 是土壤-植物生态系统物质交换的活跃界面^[42]. 根际作为土壤微生物群体富集的微生境之一, 其微生物多样性不仅受植物种类、土壤类型及其相互作用关系的影响, 还受灌溉水源及水质的影响. 再生水中的营养成分可以被微生物利用, 其用于灌溉会促进根际土壤中真菌、氨化细菌、反硝化细菌的繁殖^[43]. 各处理根际土壤细菌群落组成以 Proteobacteria 为主, 其次为 Actinobacteria、Bacteroidetes、Chloroflexi、Acidobacteria、Gemmatimonadetes 和 Firmicutes, 这与文献^[44]的报道一致. 细菌群落组成分析结果表明不同处理在门分类水平优势类群相同, 但相对丰度呈现差异, 其中 Proteobacteria 的 α -Proteobacteria 和 γ -Proteobacteria 相对丰度占比最高. 从灌溉水质来看, 物种差异性主要表现在属分类水平的菌群组成, 再生水灌溉增加了根际土壤 *Rheinheimera*、*Arthrobacter* 和 *Sphingomonas* 等菌属的相对丰度, 而降低了 *Aeromonas* 和 *Vogesella* 的相对丰度. 由于生物质炭具有优良的吸附性能、高孔隙率和低成本等特点, 已被作为农业实践中常用的土壤改良剂. 研究发现施用生物质炭有利于提高土壤微生物的物种丰富度, 促进微生物种类的均匀分布^[45]. 与未添加生物质炭处理相比, 生物质炭增加了根际土壤微生物

物群落的多样性和丰富度, 但因生物质炭种类不同而呈现差异. 相较于其他生物质炭处理, 花生壳生物质炭 (RW_PBC) 处理的细菌群落丰富度和多样性较低. 生物质炭能够通过改变土壤养分状况直接或间接影响土壤微生物, 有研究表明生物质炭种类与用量均会对土壤微生物群落结构产生一定影响, 并且生物质炭的影响程度与土壤有机质含量密切相关^[46]. β 多样性分析表明清水与再生水灌溉下微生物群落组成具有相似性, 而与添加生物质炭处理的组间比较差异明显. 细菌群落组成主要受土壤养分和重金属含量的影响, 在添加生物质炭条件下, 土壤理化因子是微生物群落结构动态变化的主要驱动因素, 这表明生物质炭对根际微生物多样性具有重要的调控作用. 生物质炭可通过自身性质和改变土壤理化性质来影响土壤微生物群落结构与功能多样性^[47, 48]. 本研究中土壤有机质、总氮、总磷和 EC 值是生物质炭添加对微生物群落结构影响的关键环境因子. 添加不同种类生物质炭处理均会显著降低 *Pseudomonas* 和 *Rheinheimera* 的相对丰度, 而 *Sphingomonas* 和 norank_Subgroup_6 相对丰度呈增加趋势. *Pseudomonas* 菌属包括多种人类条件致病菌, 也是植物病原细菌中一个重要菌群. 前期研究表明, 再生水灌溉会显著增加根际土壤 *Pseudomonas* 丰度^[10]. 相关性 Heatmap 图分析结果表明, 根际土壤细菌群落受土壤特性的影响, 不同细菌菌属的影响程度因添加生物质炭种类不同而存在差异. *Pseudomonas* 相对丰度与 Cd 含量呈显著相关, 生物质炭处理 (除 RW_PBC 处理) 均显著降低了两者的量. *Sphingomonas* 是一类具有很强代谢能力的降解菌, 在环境污染治理方面研究应用广泛. 物种相关性网络分析反映出不同分类水平核心菌群之间的共存关系, 并获取了优势菌属与环境因子的关联, 其中 *Arthrobacter*、*Lysobacter*、*Marmoricola* 和 *Nocardioides* 等关键菌属与文献报道一致^[49]. 由此可见, 在根际细菌群落组成中, 即使添加生物质炭会增加细菌种群的丰富度和多样性, 而一些优势菌群与其他菌群也始终维持着密切的相关性. 张秀等^[50]的研究表明, 重金属 Cd 胁迫下土壤微生物的代谢功能多样性明显降低, 而添加生物质炭可转变土壤微生物的代谢模式, 从而缓解并改善土壤微生物群落功能多样性. 重金属浓度增加产生的非生物胁迫导致土壤微生物生物量碳和氮含量降低, 生物质炭处理提高了土壤碳源利用率和微生物群落功能多样性, 这主要归因于生物质炭降低重金属的生物可利用性, 并且通过提高土壤持水能力、pH 等对微生物种群的生长、繁殖和活性产生积极影响^[51].

3.3 生物质炭对根际土壤中功能菌和病原菌的影响

蔡九茂等^[52]的研究发现施用生物质炭对设施农业土壤硝态氮含量及其转化的关键微生物影响较大, 生物质炭处理降低了根际土壤 AOA 基因拷贝数, 这与本文的部分研究结果一致. 生物质炭添加对 AOB 数量影响不明显, 但会降低 AOA 菌群丰度, 原因可能是 AOA 菌群更适宜在酸性环境中生长, 而生物质炭的输入提高了土壤 pH 值^[53]. 添加生物质炭后, 根际土壤的固氮菌丰度并无显著增加, 这可能与生物质炭的添加量及作用时间有关^[54]. 多数研究集中于考察生物炭对控制植物病原体的影响^[55,56], 而对人类条件致病菌的抑制效率研究相对较少. 本文研究了 4 种不同原料来源的生物质炭对再生水灌溉根际土壤病原菌丰度变化的影响. 生物质炭对病原菌的影响因其种类不同而差异明显, 添加花生壳生物质炭对病原菌谱影响较其他处理更广. 以竹子为原料制备的生物质炭应用于农业土壤中可以降低人类致病菌的传播^[13]. Novak 等^[57]的研究表明, 由于生物质炭添加增加了对细菌的吸附作用, 导致 *E. coli* 在土壤中的运移能力降低. 小麦秸秆生物质炭对土壤-作物病原菌的影响随灌溉水源与灌溉时间而变化, 表明根际土壤病原菌丰度与灌溉水源、生物质炭具有更强的相关性^[11]. 生物质炭的多孔结构为各种微生物在其孔隙形成活性生物膜提供了生态位, 研究发现生物质炭在水中吸附 *E. coli* 的效率与其颗粒大小有关^[58]. Gu 等^[12]的研究发现生物质炭可有效吸附植物根系分泌物, 通过减少根际微生物对营养物质的可利用量, 增强根际土壤中病原菌的趋化能力, 从而降低了病原菌的群集运动能力和根际定殖能力. 这些结果表明, 生物质炭的应用可能是减少人类条件致病菌与植物病原菌在根际定殖的一种潜在途径. 目前尚不清楚生物质炭是如何影响病原菌吸附以及病原菌对根系分泌物可利用程度, 生物质炭的作用机制与效应是否取决于其自身性质及颗粒大小仍需进一步探索.

4 结论

(1) 尽管再生水灌溉未对根际土壤质量造成不利影响, 但生物质炭仍不失为改良土壤的一种有效手段. 生物质炭能够显著影响根际土壤的 pH、EC、有机质、总氮、总磷以及重金属含量, 但由于生物质炭制备原料和条件以及土壤类型的不同, 使其作用效果的差异较大.

(2) 灌溉水源的不同并未导致细菌群落多样性和丰富度呈现显著差异, 而不同生物质炭处理对再生水灌溉根际土壤细菌群落多样性和丰富度的作用

效果较为明显. 根际土壤细菌群落结构在门、属分类水平上类似, 优势菌群的种类没有发生改变. 门分类水平优势菌群为 Proteobacteria、Actinobacteria、Chloroflexi、Bacteroidetes 和 Acidobacteria, 共同优势菌属包括 *Pseudomonas*、*Rheinheimera*、*Arthrobacter*、*Sphingomonas* 和 *Aeromonas*, 其相对丰度因生物质炭种类不同而存在差异.

(3) 不同种类生物质炭对根际土壤理化性质的影响程度不同, 其中 EC、有机质、总氮和 Cd 含量变化是导致再生水灌溉根际土壤细菌群落结构及其多样性变化的主要驱动因子.

(4) 生物质炭的添加不易扰动菌群的稳定性, 仅水稻秸秆生物质炭 (RW_RBC) 和花生壳生物质炭 (RW_PBC) 处理下 γ -Proteobacteria 丰度显著降低. 4 种生物质炭对病原菌丰度均有不同程度的影响, 其中花生壳生物质炭 (RW_PBC) 显著降低 *Escherichia coli*、*Enterococcus faecium*、*Legionella* spp. 和 *Mycobacterium* spp. 的丰度.

参考文献:

- [1] 国家发展改革委, 水利部. 国家节水行动方案[Z]. 2019.
- [2] 国家发展改革委, 住房和城乡建设部. “十三五”全国城镇污水处理及再生利用设施建设规划[Z]. 2017.
- [3] 余鹏明, 管孝艳, 陈俊英, 等. 基于 Spearman 秩相关的再生水利用量影响因素研究[J]. 节水灌溉, 2019, (10): 78-82, 88.
Yu P M, Guan X Y, Chen J Y, et al. Study on factors affecting reclaimed water utilization based on Spearman Rank correlation [J]. Water Saving Irrigation, 2019, (10): 78-82, 88.
- [4] 胡雅琪, 吴文勇. 中国农业非常规水资源灌溉现状与发展策略[J]. 中国工程科学, 2018, 20(5): 69-76.
Hu Y Q, Wu W Y. Review and development strategy of irrigation with unconventional water resources in China [J]. Engineering Science, 2018, 20(5): 69-76.
- [5] 刘源, 崔二苹, 李中阳, 等. 再生水和养殖废水灌溉下生物质炭和果胶对土壤盐碱化的影响[J]. 灌溉排水学报, 2018, 37(6): 16-23.
Liu Y, Cui E P, Li Z Y, et al. Effects of irrigating biochar- and pectin-amended soil with treated municipal wastewater and swine wastewater on soil salinity and sodicity [J]. Journal of Irrigation and Drainage, 2018, 37(6): 16-23.
- [6] 李力, 刘娅, 陆宇超, 等. 生物炭的环境效应及其应用的研究进展[J]. 环境化学, 2011, 30(8): 1411-1421.
Li L, Liu Y, Lu Y C, et al. Review on environmental effects and applications of biochar [J]. Environmental Chemistry, 2011, 30(8): 1411-1421.
- [7] Lehmann J, Rondon M. Biochar soil management on highly weathered soils in the humid tropics [A]. In: Uphoff N (Ed.). Biological Approaches to Sustainable Soil Systems [M]. Boca Raton: CRC Press, 2006.
- [8] 刘源, 崔二苹, 李中阳, 等. 生物质炭和果胶对再生水灌溉下玉米生长及养分、重金属迁移的影响[J]. 水土保持学报, 2017, 31(6): 242-248, 271.
Liu Y, Cui E P, Li Z Y, et al. Different effects of biochar and pectin on maize growth, nutrient and heavy metals migration irrigated by reclaimed water [J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2017, 31(6): 242-248, 271.

- [9] 李成江, 李大肥, 周桂凤, 等. 不同种类生物炭对植烟土壤微生物及根茎病害发生的影响[J]. 作物学报, 2019, **45**(2): 289-296.
Li C J, Li D F, Zhou G S, *et al.* Effects of different types of biochar on soil microorganism and rhizome diseases occurrence of flue-cured tobacco[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2019, **45**(2): 289-296.
- [10] 崔丙健, 高峰, 胡超, 等. 不同再生水灌溉方式对土壤-辣椒系统中细菌群落多样性及病原菌丰度的影响[J]. 环境科学, 2019, **40**(11): 5151-5163.
Cui B J, Gao F, Hu C, *et al.* Effect of different reclaimed water irrigation methods on bacterial community diversity and pathogen abundance in the soil-pepper ecosystem [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(11): 5151-5163.
- [11] 崔二苹, 崔丙健, 刘源, 等. 生物炭对非常规水源灌溉下土壤-作物病原菌的影响[J]. 中国环境科学, 2020, **40**(3): 1203-1212.
Cui E P, Cui B J, Liu Y, *et al.* Effects of biochar supplementation on the behavior of pathogens in soil-plant system under unconventional water resources irrigation [J]. *China Environmental Science*, 2020, **40**(3): 1203-1212.
- [12] Gu Y A, Hou Y G, Huang D P, *et al.* Application of biochar reduces *Ralstonia solanacearum* infection via effects on pathogen chemotaxis, swarming motility, and root exudate adsorption[J]. *Plant and Soil*, 2017, **415**(1-2): 269-281.
- [13] Duan M L, Li H C, Gu J, *et al.* Effects of biochar on reducing the abundance of oxytetracycline, antibiotic resistance genes, and human pathogenic bacteria in soil and lettuce[J]. *Environmental Pollution*, 2017, **224**: 787-795.
- [14] 马泊泊, 黄瑞林, 张娜, 等. 秸秆生物炭对根际土壤细菌-真菌群落分子生态网络的影响[J]. 土壤学报, 2019, **56**(4): 964-974.
Ma B B, Huang R L, Zhang N, *et al.* Effect of straw-derived biochar on molecular ecological network between bacterial and fungal communities in rhizosphere soil [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, **56**(4): 964-974.
- [15] 袁颖红, 芮绍云, 周际海, 等. 生物质炭及过氧化钙对旱地红壤酶活性和微生物群落结构的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2019, (1): 93-101.
Yuan Y H, Rui S Y, Zhou J H, *et al.* Effects of biochar and calcium peroxide on soil enzyme activities and soil microbial community structure in upland red soil[J]. *Soils and Fertilizers Sciences in China*, 2019, (1): 93-101.
- [16] Bailey V L, Fansler S J, Smith J L, *et al.* Reconciling apparent variability in effects of biochar amendment on soil enzyme activities by assay optimization [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, **43**(2): 296-301.
- [17] 李春格, 李晓鸣, 王敬国. 大豆连作对土体和根际微生物群落功能的影响[J]. 生态学报, 2006, **26**(4): 1144-1150.
Li C G, Li X M, Wang J G. Effect of soybean continuous cropping on bulk and rhizosphere soil microbial community function[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2006, **26**(4): 1144-1150.
- [18] 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.
- [19] Xu N, Tan G C, Wang H Y, *et al.* Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016, **74**: 1-8.
- [20] Fierer N, Jackson J A, Vilgalys R, *et al.* Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, **71**(7): 4117-4120.
- [21] De Gregoris T B, Aldred N, Clare A S, *et al.* Improvement of phylum- and class-specific primers for real-time PCR quantification of bacterial taxa [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2011, **86**(3): 351-356.
- [22] Francis C A, Roberts K J, Beman J M, *et al.* Ubiquity and diversity of ammonia-oxidizing archaea in water columns and sediments of the ocean[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, **102**(41): 14683-14688.
- [23] Rothauwe J H, Witzel K P, Liesack W. The ammonia monooxygenase structural gene *amoA* as a functional marker: molecular fine-scale analysis of natural ammonia-oxidizing populations [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(12): 4704-4712.
- [24] Rösch C, Mergel A, Bothe H. Biodiversity of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in an acid forest soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, **68**(8): 3818-3829.
- [25] Kingombe C I B, Huys G, Tonolla M, *et al.* PCR detection, characterization, and distribution of virulence genes in *Aeromonas* spp [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, **65**(12): 5293-5302.
- [26] Wang R F, Cao W W, Cerniglia C E. A universal protocol for PCR detection of 13 species of foodborne pathogens in foods[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1997, **83**(6): 727-736.
- [27] Kaushik R, Balasubramanian R, de la Cruz A A. Influence of air quality on the composition of microbial pathogens in fresh rainwater[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, **78**(8): 2813-2818.
- [28] Scott T M, Jenkins T M, Lukasik J, *et al.* Potential use of a host-associated molecular marker in *Enterococcus faecium* as an index of human fecal pollution [J]. *Environmental Science & Technology*, 2005, **39**(1): 283-287.
- [29] Brouwer M, Lievens B, van Hemelrijck W, *et al.* Quantification of disease progression of several microbial pathogens on *Arabidopsis thaliana* using real-time fluorescence PCR[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, **228**(2): 241-248.
- [30] Miyamoto H, Yamamoto H, Arima K, *et al.* Development of a new seminested PCR method for detection of *Legionella* species and its application to surveillance of legionellae in hospital cooling tower water [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, **63**(7): 2489-2494.
- [31] Mendum T A, Chilima B Z, Hirsch P R, *et al.* The PCR amplification of non-tuberculous mycobacterial 16S rRNA sequences from soil[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2000, **185**(2): 189-192.
- [32] Boon N, Top E M, Verstraete W, *et al.* Bioaugmentation as a tool to protect the structure and function of an activated-sludge microbial community against a 3-chloroaniline shock load[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, **69**(3): 1511-1520.
- [33] May L A, Smiley B, Schmidt M G. Comparative denaturing gradient gel electrophoresis analysis of fungal communities associated with whole plant corn silage[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001, **47**(9): 829-841.
- [34] Zavalloni C, Alberti G, Biasiol S, *et al.* Microbial mineralization of biochar and wheat straw mixture in soil: a short-term study [J]. *Applied Soil Ecology*, 2011, **50**: 45-51.
- [35] Novak J M, Busscher W J, Laird D L, *et al.* Impact of biochar amendment on fertility of a southeastern coastal plain soil [J]. *Soil Science*, 2009, **174**(2): 105-112.
- [36] Tu C, Zheng C R, Chen H M. Effect of applying chemical fertilizers on forms of lead and cadmium in red soil [J].

- Chemosphere, 2000, **41**(1-2): 133-138.
- [37] 陈雪娇, 林启美, 肖弘扬, 等. 改性油菜秸秆生物质炭吸附/解吸 Cd^{2+} 特征[J]. 农业工程学报, 2019, **35**(18): 221-228.
Chen X J, Lin Q M, Xiao H Y, *et al.* Characteristics of Cd^{2+} sorption/desorption of modified oilrape straw biochar [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2019, **35**(18): 221-228.
- [38] Sandhu S S, Ussiri D A N, Kumar S, *et al.* Analyzing the impacts of three types of biochar on soil carbon fractions and physiochemical properties in a corn-soybean rotation [J]. Chemosphere, 2017, **184**: 473-481.
- [39] Lu K P, Yang X, Gielen G, *et al.* Effect of bamboo and rice straw biochars on the mobility and redistribution of heavy metals (Cd, Cu, Pb and Zn) in contaminated soil [J]. Journal of Environmental Management, 2017, **186**: 285-292.
- [40] 任心豪, 陈乔, 李锦, 等. 小麦秸秆生物质炭对碱性土壤中油菜生长和镉吸收的影响[J/OL]. 农业资源与环境学报, 2020, doi:10.13254/j.jare.2020.0012.
Ren X H, Chen Q, Li J, *et al.* Effect of wheat straw-derived biochar on rape growth and cadmium uptake in an alkaline soil [J/OL]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2020, doi:10.13254/j.jare.2020.0012.
- [41] 王海波, 尚艺婕, 史静. 生物质炭对土壤镉形态转化的影响[J]. 环境科学与技术, 2016, **39**(4): 22-26.
Wang H B, Shang Y J, Shi J. Influence of biochar on the transformation of soil cadmium form [J]. Environmental Science & Technology, 2016, **39**(4): 22-26.
- [42] 陆雅海, 张福锁. 根际微生物研究进展[J]. 土壤, 2006, **38**(2): 113-121.
Lu Y H, Zhang F S. The advances in rhizosphere microbiology [J]. Soils, 2006, **38**(2): 113-121.
- [43] 裴亮, 孙莉英, 张体彬. 再生水滴灌对蔬菜根际土壤微生物的影响研究[J]. 中国农村水利水电, 2015, (11): 39-42.
Pei L, Sun L Y, Zhang T B. Effect of soil microorganism of greens with reclaimed water drip irrigation of rural domestic sewage [J]. China Rural Water and Hydropower, 2015, (11): 39-42.
- [44] Guo W, Andersen M N, Qi X B, *et al.* Effects of reclaimed water irrigation and nitrogen fertilization on the chemical properties and microbial community of soil [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2017, **16**(3): 679-690.
- [45] 赵兰凤, 张新明, 程根, 等. 生物炭对菜园土壤微生物功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2017, **37**(14): 4754-4762.
Zhao L F, Zhang X M, Cheng G, *et al.* Effects of biochar on microbial functional diversity of vegetable garden soil [J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, **37**(14): 4754-4762.
- [46] 樊诗亮, 何丽芝, 秦华, 等. 生物质炭对邻苯二甲酸二丁酯污染土壤微生物群落结构多样性的影响[J]. 环境科学学报, 2016, **36**(5): 1800-1809.
Fan S L, He L Z, Qin H, *et al.* Effect of biochar on diversity of microbial community in soils contaminated with dibutyl phthalate [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2016, **36**(5): 1800-1809.
- [47] 于小彦, 杨艳芳, 张平究, 等. 不同水分条件下生物质炭添加对湿地土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2019, **35**(9): 1163-1171.
Yu X Y, Yang Y F, Zhang P J, *et al.* Effects of biochar addition on soil microbial community structure under different water conditions [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2019, **35**(9): 1163-1171.
- [48] 曹坤坤, 张沙沙, 胡学玉, 等. 生物质炭影响下土壤呼吸温度敏感性及细菌群落结构的变化[J]. 环境科学, 2020, **41**(11): 5185-5192.
Cao K K, Zhang S S, Hu X Y, *et al.* Effect of biochar on the changes of the temperature sensitivity of soil respiration and bacterial community structure [J]. Environmental Science, 2020, **41**(11): 5185-5192.
- [49] 陈兆进, 李英军, 邵洋, 等. 新乡市镉污染土壤细菌群落组成及其对镉固定效果[J]. 环境科学, 2020, **41**(6): 2889-2897.
Chen Z J, Li Y J, Shao Y, *et al.* Bacterial community composition in cadmium-contaminated soils in Xinxiang city and its ability to reduce cadmium bioaccumulation in Pak Choi (*Brassica chinensis* L.) [J]. Environmental Science, 2020, **41**(6): 2889-2897.
- [50] 张秀, 夏运生, 尚艺婕, 等. 生物质炭对镉污染土壤微生物多样性的影响[J]. 中国环境科学, 2017, **37**(1): 252-262.
Zhang X, Xia Y S, Shang Y J, *et al.* Effects of biochar (BC) on microbial diversity of cadmium (Cd) contaminated soil [J]. China Environmental Science, 2017, **37**(1): 252-262.
- [51] Hmid A, Al Chami Z, Sillen W, *et al.* Olive mill waste biochar: a promising soil amendment for metal immobilization in contaminated soils [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, **22**(2): 1444-1456.
- [52] 蔡九茂, 刘杰云, 邱虎森, 等. 滴灌方式和生物质炭对温室土壤矿质态氮及其微生物调控的影响[J]. 环境科学, 2020, **41**(8): 3836-3845.
Cai J M, Liu J Y, Qiu H S, *et al.* Effects of drip irrigation patterns and biochar addition on soil mineral nitrogen and microbial regulation of greenhouse [J]. Environmental Science, 2020, **41**(8): 3836-3845.
- [53] 潘逸凡. 生物质炭对稻田土壤氨氧化微生物的影响研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2014.
Pan Y F. Influence of biochar on ammonia oxidation microbial community in paddy soil [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014.
- [54] 宋延静, 张晓黎, 龚骏. 添加生物质炭对滨海盐碱土固氮菌丰度及群落结构的影响[J]. 生态学杂志, 2014, **33**(8): 2168-2175.
Song Y J, Zhang X L, Gong J. Effects of biochar amendment on the abundance and community structure of nitrogen-fixing microbes in a coastal alkaline soil [J]. Chinese Journal of Ecology, 2014, **33**(8): 2168-2175.
- [55] Elmer W H, Pignatello J J. Effect of biochar amendments on mycorrhizal associations and fusarium crown and root rot of asparagus in replant soils [J]. Plant Disease, 2011, **95**(8): 960-966.
- [56] Jaiswal A K, Frenkel O, Tsechansky L, *et al.* Immobilization and deactivation of pathogenic enzymes and toxic metabolites by biochar: a possible mechanism involved in soilborne disease suppression [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, **121**: 59-66.
- [57] Novak J M, Ippolito J A, Lentz R D, *et al.* Soil Health, crop productivity, microbial transport, and mine spoil response to biochars [J]. Bioenergy Research, 2016, **9**(2): 454-464.
- [58] Mohanty S K, Boehm A B. *Escherichia coli* removal in biochar-augmented biofilter: effect of infiltration rate, initial bacterial concentration, biochar particle size, and presence of compost [J]. Environmental Science & Technology, 2014, **48**(19): 11535-11542.

CONTENTS

Sources and Control Area Division of Ozone Pollution in Cities at Prefecture Level and Above in China	YAN Hui, ZHANG Wei, HOU Mo, <i>et al.</i>	(5215)
Dynamic Assessment of PM _{2.5} Health Damage Value in China from 2015 to 2018	LI Hui-juan, ZHOU De-qun, WEI Yong-jie	(5225)
Analysis of Multi-scale Spatio-temporal Differentiation Characteristics of PM _{2.5} in China from 2011 to 2017	YANG Wen-tao, QIAO Peng, LIU Xian-zhao, <i>et al.</i>	(5236)
Spatio-temporal Evolution and Population Exposure Risk to PM _{2.5} in the Guanzhong Area	HUANG Xiao-jun, QI Ming-yue, LI Yan-yu, <i>et al.</i>	(5245)
Formation Mechanism and Source Analysis of Two Heavy Pollution Periods in Winter in a Central Plains City	JIA Jia, CONG Yi, GAO Qing-min, <i>et al.</i>	(5256)
Winter Pollution Characteristics and Physicochemical Properties of PM _{2.5} in a Northwest Industrial City	YANG Yan-ping, CHEN Qiang, WANG Li-na, <i>et al.</i>	(5267)
Characterization of Metal Pollution of Regional Atmospheric PM _{2.5} and Its Sources Based on the PMF Model	DENG Lin-li, ZHANG Kai-shan, YIN Zi-yuan, <i>et al.</i>	(5276)
Pollution Characteristics and Assessment of Heavy Metals in Atmospheric Deposition in Core Urban Areas, Chongqing	ZHANG Xia, LIU Bin, XIAO Bo-lin, <i>et al.</i>	(5288)
Factors Influencing New Atmospheric Particle Formation in Ordos During Summer and Autumn 2019	KONG Xiang-chen, WANG Hong-lei, ZHANG Lian-xia, <i>et al.</i>	(5295)
Characteristics and Reactivity of Ambient VOCs in Urban Hangzhou, China	JING Sheng-ao, GAO Ya-qin, SHEN Jian-dong, <i>et al.</i>	(5306)
Characteristics and Sources of Atmospheric Volatile Organic Compounds Pollution in Summer in Chengdu	XU Chen-xi, CHEN Jun-hui, JIANG Tao, <i>et al.</i>	(5316)
Characteristics and Source Apportionment of VOCs and O ₃ in Shijiazhuang	WANG Shuai, CUI Jian-sheng, FENG Ya-ping, <i>et al.</i>	(5325)
Analysis of Industrial VOCs Emission Inventory and Countermeasures in Xiamen	WU Dong-yang, ZHUANG Ma-zhan, WU Yan-cong, <i>et al.</i>	(5336)
Emission Inventory and Emission Factors of Volatile Organic Compounds (VOCs) from Architectural Adhesives	LIANG Xiao-ming, SUN Xi-bo, SU Yan-hua, <i>et al.</i>	(5345)
Sources and Health Risks of Atmospheric Polychlorinated Biphenyls in an Urban/Industrial Areas, Northwest China	MAO Xiao-xuan, LI Zi-xuan, SONG Shi-jie, <i>et al.</i>	(5352)
Vertical Distribution of Surface Formaldehyde in the Pearl River Delta Urban Area Based on Observations at the Canton Tower	HUANG Shan, PEI Cheng-lei, ZHANG Ying, <i>et al.</i>	(5362)
Temporal and Spatial Characteristics of Total Phosphorus in the Middle and Lower Yangtze River Mainstem Under New Water and Sediment Conditions	ZHUO Hai-hua, LOU Bao-feng, WU Yun-li, <i>et al.</i>	(5371)
Seasonal Variations in Nitrogen and Phosphorus Concentration and Stoichiometry of Hanfeng Lake in the Three Gorges Reservoir Area	QIAN Tian, HUANG Qi, HE Bing-hui, <i>et al.</i>	(5381)
Distribution Characteristics and Pollution Assessment of Nutrients in Hengshui Lake Sediments	ZHANG Jia-wen, WEI Jian, LIU Li, <i>et al.</i>	(5389)
Endogenous Pollution and Release Characteristics of Bottom Sediments of Hengshan Reservoir in Yixing City	CUI Hui-fang, CHEN Shu-yun, YANG Chun-hui, <i>et al.</i>	(5400)
Pollution and Ecological Risk Assessment and Source Apportionment of Heavy Metals in Sediments of Qingliangshan Reservoir in the Meijiang Basin	JIANG Tao, LIN Wei-wen, CAO Ying-jie, <i>et al.</i>	(5410)
Influence Factors of Potential Nitrification Rates and Functional Genes Abundance in the Jinshui River and the Qihe River of the Hanjiang River Basin	ZHAO Bin-jie, WANG Xu, ZHANG Jian, <i>et al.</i>	(5419)
Contamination Characteristics and Potential Ecological Risks of Typical Perfluoroalkyl Substances in the Water and Sediment of Coastal Tourism Resorts in Shandong Province	WANG Shi-liang, CAO Xue-zhi	(5428)
Distribution Characteristics and Source Identification of Organophosphate Esters in Key Waters Areas of Taihu Lake	LÜ Jia-pei, ZHANG Zhen-fei, LIU Yang, <i>et al.</i>	(5438)
Residual Characteristics and Health Assessment Analysis of OCPs and PCBs in Karst Groundwater	YE Kai, SUN Yu-chuan, JIA Ya-nan, <i>et al.</i>	(5448)
Biogeographic Distribution Patterns of Diatoms in Lancang River and Their Key Drivers	SUN Sheng-hao, CHEN Juan, WANG Pei-fang, <i>et al.</i>	(5458)
Bioaccumulation Characteristics of Quinolones (QNs) in Dominant Fish Species and Their Correlation with Environmental Factors in Baiyangdian Lake	SHEN Li-na, FU Yu, ZHANG Lu-lu, <i>et al.</i>	(5470)
Effect of Biomass Particle Size on the Adsorption of Phosphorus from Aqueous Solution by MgO-loaded Biochar	WANG Peng-fei, ZHI Meng-meng, CHU Zhao-sheng, <i>et al.</i>	(5480)
Photocatalytic Degradation of Tetracycline and Copper Complex by Bi ₂ MoO ₆ /Bi ₂ S ₃ Heterojunction	HUANG Wen-xin, WEI Hu, JIANG Cai-yun, <i>et al.</i>	(5488)
Enhancing PPCPs Removal and Membrane Fouling Control of Ultrafiltration Membrane by UiO-66@Fe ₃ O ₄ @UiO-66	YIN Yue, WU Dao-wen, SUN Meng-yao, <i>et al.</i>	(5500)
Advanced Treatment of Tail Water Using Pilot-scale Horizontal and Vertical Subsurface Flow Constructed Wetlands in Low-temperature Seasons	LIAO Xue-ke, YAN Han-lu, WANG Zhi-yuan, <i>et al.</i>	(5509)
Metagenomic Insights into Salinity Build-up in Microbial Communities and Metabolism of Hydrolytic Bioreactor Treating High-color PDWW	GAO Jing, ZHANG Shao-hua, WANG Rui, <i>et al.</i>	(5518)
Performance and Microbial Characteristics of Ammonium-limited and Nitrite-limited ANAMMOX Systems	SONG Jia-jun, ZHU Ming-yi, GUO Kai-cheng, <i>et al.</i>	(5527)
Microbial Community Structure and Diversity During the Enrichment of Anaerobic Ammonium Oxidation Bacteria	YAN Bing, XIA Song, GUI Shuang-lin, <i>et al.</i>	(5535)
Enhanced Dewaterability of Waste-Activated Sludge in Presence of Fe(II)-Activated Calcium Peroxide	BI Wei-wei, RUAN Shu-yu, CHEN Wu-ao-xiao, <i>et al.</i>	(5544)
Spatial Distribution, Contamination Assessment, and Sources of Heavy Metals in the Urban Green Space Soils of a City in North China	ZHAO Liang, LIANG Yun-ping, CHEN Qian, <i>et al.</i>	(5552)
Technological Classification of Cadmium Quality in the Rice Producing Areas of South China	DOU Wei-qiang, AN Yi, QIN Li, <i>et al.</i>	(5562)
Distribution Characteristics of Selenium in a Soil-Crop System and the Threshold of Selenium-Rich Soils	WANG Rui, DENG Hai, JIA Zhong-min, <i>et al.</i>	(5571)
Transfer Factor and Health Risk Assessment of Heavy Metals in a Soil-Crop System in a High Incidence Area of Nasopharyngeal Carcinoma, Guangdong	YE Mai, ZHANG Jing-ru, ZHANG Lu-lu, <i>et al.</i>	(5579)
DA-6 and GLDA Enhanced <i>Panicum virgatum</i> L. to Phytoextract Cd from Contaminated Soils	WANG Zheng, SUN Zhao-jun, Sameh Mohamed, <i>et al.</i>	(5589)
Remediation Performance via the Passivation of a Porous Biomorph Genetic Composite of α -Fe ₂ O ₃ /Fe ₃ O ₄ /C Using a Bamboo Template on As(V) Contaminated Soils	ZHAO Ning-ning, HE Hao, FENG Guo-jie, <i>et al.</i>	(5600)
Biodegradation of Expanded Polystyrene Foams in <i>Zophobas morio</i> : Effects of Gut Microbiota	YANG Li, LIU Ying, GAO Jie, <i>et al.</i>	(5609)
Isolation, Identification, and Degrading Characteristics of an Oil Resistant Formaldehyde-Degrading Bacterium	HAN Xi, WANG Rong-rong, SHI Chun-zhen	(5617)
Characteristics of Phyllosphere and Rhizosphere Bacterial Communities in <i>Bothriochloa ischaemum</i> in Copper Tailings	JIA Tong, YAO Yu-shan, WANG Rui-hong	(5628)
Effects of Selected Biochars Application on the Microbial Community Structures and Diversities in the Rhizosphere of Water Spinach (<i>Ipomoea aquatica</i> Forss.) Irrigated with Reclaimed Water	CUI Bing-jian, CUI Er-ping, HU Chao, <i>et al.</i>	(5636)
Effects of Modified Biowaste-based Hydrochar on Rice Yield and Nitrogen Uptake	HOU Peng-fu, XUE Li-hong, FENG Yan-fang, <i>et al.</i>	(5648)
Spatial Distribution Characteristics and Source Apportionment of Soil PAHs in Shizuishan City Based on GIS and PMF Model	XIA Zi-shu, WANG Yu-yu, ZHONG Yan-xia, <i>et al.</i>	(5656)
Effects of Nitrogen Fertilizer and Straw Returning Methods on N ₂ O Emissions in Wheat-Maize Rotational Soils	XU Hong-wei, LI Na, FENG Yong-zhong, <i>et al.</i>	(5668)