

目次

北京市2014~2020年PM_{2.5}和O₃时空分布与健康效应评估..... 陈菁, 彭金龙, 徐彦森 (4071)

京津冀地区高分辨率PM_{2.5}浓度时空变化模拟与分析..... 杨晓辉, 宋春杰, 范丽行, 张凌云, 魏强, 李夫星, 王丽艳, 王卫 (4083)

京津冀典型城市冬季人为源减排与气象条件对PM_{2.5}污染影响..... 邵玄逸, 王晓琦, 钟焜盛, 王瑞鹏 (4095)

太行山两侧污染物传输对横谷城市气溶胶的影响分析..... 王雁, 郭伟, 闫世明, 裴坤宁, 李明明, 陈二萍 (4104)

嘉善冬季碳质气溶胶变化特征及其来源解析..... 张颖龙, 李莉, 吴伟超, 吕升, 秦阳, 祝新明, 高晋徽, 唐倩, 夏崢 (4116)

基于机器学习算法的新冠疫情管控对河南省空气质量影响的模拟分析..... 魏煜, 徐起翔, 赵金帅, 张瑞芹 (4126)

新乡市大气PM_{2.5}载带金属元素季节分布、来源特征与健康风险..... 刘桓嘉, 贾梦珂, 刘永丽, 赵艺洁, 郑爱华, 刘恒志, 徐肃阳, 肖晴晴, 苏晓燕, 任言 (4140)

黄渤海气溶胶中砷的分布特征和季节变化..... 袁帅, 王艳, 刘汝海, 种习习, 刘晓雨, 邵龙 (4151)

天津市2020年冬季重污染过程气溶胶消光特性及其来源..... 李立伟, 肖致美, 杨宁, 蔡子颖, 闫斌峰, 元洁, 白宇, 郑乃源, 唐逸 (4158)

中国暖季近地面臭氧浓度空间格局演变及主要气象驱动因素..... 何超, 慕航, 杨璐, 王丹璐, 邸彦峰, 叶志祥, 易嘉慧, 柯碧钦, 田雅, 洪松 (4168)

乌海市夏季臭氧污染特征及基于过程分析的成因探究..... 张瑞欣, 陈强, 夏佳琦, 刘晓, 郭文凯, 李光耀, 陈梅 (4180)

珠江三角洲海岸背景区大气VOCs污染特征与来源..... 云龙, 李成柳, 张明棣, 何龙, 郭键锋 (4191)

永定河上游地表水-地下水水化学特征及其成因分析..... 孔晓乐, 杨永辉, 曹博, 王艺璇, 裴宏伟, 沈彦军 (4202)

汉江中下游水质时空变异与驱动因素识别..... 程兵芬, 张远, 夏瑞, 张楠, 张新飞 (4211)

环境持久性药物在江苏省地表水中的污染水平、分布特征及生态风险评估..... 赵美美, 范德玲, 古文, 汪贞, 梁梦园, 刘济宁, 张志 (4222)

柳江流域河流溶解态重金属时空分布及污染评价..... 张婉军, 辛存林, 于爽, 刘齐, 曾鹏 (4234)

雷州半岛地下水重金属来源解析及健康风险评价..... 师环环, 潘羽杰, 曾敏, 黄长生, 侯清芹, 皮鹏程, 彭红霞 (4246)

龙子祠泉域地下水金属元素分布特征及健康风险评价..... 谢浩, 梁永平, 李军, 邹胜章, 申豪勇, 赵春红, 王志恒 (4257)

硫氧同位素解析典型岩溶地下河流域硫酸盐季节变化特征和来源..... 任坤, 潘晓东, 兰干江, 彭聪, 梁嘉鹏, 曾洁 (4267)

包头南海湿地磷形态及污染源定量识别..... 拜亚红, 钱晨歌, 袁思静, 谢子嫣, 来凌子, 张敏, 刘颖, 苗春林 (4275)

城市新城区公园沟塘沉积物磷释放风险及影响因素分析..... 李如忠, 宋敏, 杨继伟 (4287)

水力停留时间对潜流湿地净化效果影响及脱氮途径解析..... 齐冉, 张灵, 杨帆, 颜昌宙 (4296)

锰砂人工湿地对污染物的强化去除..... 马权, 王东麟, 林慧, 柏耀辉 (4304)

4种典型沉水植物对去除磷污染底泥的应用效果..... 陶理, 王沛芳, 袁秋生, 王洵, 胡斌 (4311)

输水情景下白洋淀好氧反硝化菌群落对溶解性有机物的响应..... 周石磊, 张甜娜, 陈召莹, 张紫薇, 于明会, 姚波, 崔建升, 罗晓 (4319)

木屑生物炭在雨水径流中的氮磷淋出和吸附特性..... 孟依柯, 王媛, 汪传跃 (4332)

海州湾潮间带沙蚕对沉积物微塑料的指示作用..... 王嘉旋, 宋可心, 孙一鑫, 方涛, 李瑾祯, 张涛, 冯志华 (4341)

纳米二氧化钛与镉对斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)生长的拮抗效应及其作用机制..... 王璞, 赵丽红, 朱小山 (4350)

螺旋霉素废水处理过程中菌群结构、水质特征及抗性基因之间关系分析..... 武彩云, 李慧莉, 覃彩霞, 佟娟, 魏源送 (4358)

螯合铁对厌氧铁氨氧化脱氮效能及微生物群落的影响..... 廖宏燕, 宋诚, 万柳杨, 时绍鹏, 王兴祖 (4366)

溶解氧对低碳源城市污水处理系统脱氮性能与微生物群落的影响..... 池玉蕾, 石炬, 任童, 王晓昌, 金鹏康 (4374)

间歇梯度曝气下缩短SRT强化短程SNEDPR系统脱氮除磷..... 张玉君, 李冬, 王歆鑫, 张杰 (4383)

生物膜系统中部分反硝化实现特性..... 于莉芳, 张兴秀, 张琼, 王晓玉, 彭党聪, 张日霞 (4390)

厌氧推流进水对反硝化除磷好氧颗粒污泥系统的影响..... 李冬, 曹思雨, 王琪, 张杰 (4399)

不同好氧/缺氧时长联合分区排泥优化生活污水短程硝化反硝化除磷颗粒系统运行..... 王文琪, 李冬, 高鑫, 张杰 (4406)

中国西南地区金属矿开采对矿区土壤重金属影响的Meta分析..... 张健琳, 瞿明凯, 陈剑, 杨兰芳, 赵永存, 黄标 (4414)

青藏高原典型流域土壤重金属分布特征及其生态风险评价..... 杜昊霖, 王莺, 王劲松, 姚玉璧, 周悦, 刘晓云, 芦亚玲 (4422)

电子垃圾拆解区土壤-农作物系统中镉元素的空间分布特征及其风险评价..... 张璐瑶, 赵科理, 傅伟军 (4432)

改性生物炭特性表征及对冶炼厂周边农田土壤铜镉形态的影响..... 王鑫宇, 孟海波, 沈玉君, 王佳锐, 张曦, 丁京涛, 周海宾, 李春燕, 程琼仪 (4441)

组配改良剂联合锌肥对土壤-水稻系统镉迁移转运的影响..... 周坤华, 周航, 王子钰, 刘雅, 刘佳伟, 辜娇峰, 曾鹏, 廖柏寒 (4452)

不同结构改良剂对铜镉污染土壤水稻生长和重金属吸收的影响..... 魏玮, 李平, 郎漫 (4462)

1株草螺属植物内生菌R-13的分离鉴定及对龙葵吸收土壤镉的影响..... 鹿杰, 刘月敏, 黄永春, 王常荣, 刘斌, 刘仲齐, 黄益宗, 黄雁飞, 张长波 (4471)

不同地区土壤古菌群落对重金属污染响应..... 李雨桐, 杨杉, 张艺, 范例, 刘坤, 张晟 (4481)

高通量测序分析黄土高原退耕还林区土壤细菌群落特征..... 刘晓华, 魏天兴 (4489)

餐厨垃圾生物发酵液对黄土丘陵区土壤质量的影响试验..... 邵立明, 任俊达, 吕凡, 章骅, 何品晶 (4500)

秦岭不同海拔土壤团聚体稳定性及其与土壤酶活性的耦合关系..... 马震菲, 胡汗, 李益, 郭鑫鑫, 任成杰, 赵发珠 (4510)

电活性微生物激活生物质炭/零价铁协同钝化Cr(VI)及机制..... 廖聪坚, 赵晓蕾, 刘凯, 钟松雄, 李芳柏, 方利平, 叶挺进, 石虎砚 (4520)

降水变化对荒漠草原土壤呼吸的影响..... 蒿廉伊, 张丽华, 谢忠奎, 赵锐锋, 王军锋, 郭亚飞, 高江平 (4527)

氮肥分施次数及硝化抑制剂对盆栽玉米N₂O排放的影响..... 符佩娇, 吉恒宽, 何秋香, 汤水荣, 王鸿浩, 伍延正, 孟磊 (4538)

负载NH₄⁺-N生物炭对土壤N₂O-N排放和NH₃-N挥发的影响..... 马晓刚, 何建桥, 陈玉蓝, 李德天, 刘川, 董建新, 郑学博 (4548)

微塑料添加对橘园土壤有机碳矿化的影响..... 张秀玲, 鄢紫薇, 王峰, 王玺, 徐晗, 胡荣桂, 严昶, 林杉 (4558)

1985~2019年中国全氟辛酸磺酰基化合物的动态物质流分析..... 王佳钰, 陈景文, 唐伟豪, 崔蕴晗, 王中钰, 宋国宝, 陈伟强 (4566)

《环境科学》征订启事(4201) 《环境科学》征稿简则(4340) 信息(4382, 4537, 4565)

1 株草螺属植物内生菌 R-13 的分离鉴定及对龙葵吸收土壤镉的影响

庞杰^{1,2}, 刘月敏^{1*}, 黄永春^{2*}, 王常荣², 刘斌³, 刘仲齐², 黄益宗², 黄雁飞³, 张长波²

(1. 天津城建大学环境与市政工程学院, 天津 300384; 2. 农业农村部环境保护科研监测所, 天津 300191; 3. 广西壮族自治区农业科学院资源与环境研究所, 南宁 530007)

摘要: 植物内生菌联合超积累植物修复重金属污染土壤可显著提高植物修复效率. 从镉污染稻田水稻根系中分离获得 1 株编号为 R-13 的植物内生菌. 分别利用显微观察、碳源利用及分子生物学手段将该菌株鉴定为 1 株红苍白草螺菌 (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*); 该菌株具有较强的耐 Cd²⁺ 能力, 在镉含量为 300 mg·kg⁻¹ 的固体培养基上仍能生长. 经显色反应发现 R-13 菌株具有产生铁载体和分泌吲哚乙酸 (IAA) 能力, 此外, 经 Pikovskaya's 固体培养基和 Ashby 固体培养基试验表明 R-13 菌株溶磷作用微弱, 但是具有较强的固氮能力. 在盆栽试验中, 利用高通量测序技术追踪 R-13 菌株在龙葵根部定殖情况, 发现接种 1 次 3 d 后草螺菌属在龙葵根系内相对丰度相比空白对照 (CK) 增加 201.88%, 两次接种可使草螺菌属在龙葵根部的相对丰度相比 CK 增加 1182.44%, 接种 5 d 后草螺菌属在龙葵根系内相对丰度开始出现显著降低趋势. 当接种 20 mL·pot⁻¹ 菌液时对龙葵的根、茎、叶及果实中镉含量无显著影响, 当接种菌液达到 40 mL·pot⁻¹ 时可显著提高龙葵营养器官中的镉含量, 当接种量达到 200 mL·pot⁻¹ 时龙葵营养器官中镉含量最高. 此时, 根系中镉含量与对照组相比提高 84.42%, 茎秆中提高 43.67%, 叶片中提高 64.06%, 果实中提高 20.29%. 综上所述, 根系接种植物内生草螺菌 R-13 可显著提高龙葵根系中草螺菌属的相对含量, 同时可起到强化龙葵吸收镉的作用, 该菌株在植物修复镉污染土壤技术中具有较好应用前景.

关键词: 植物内生菌; 草螺菌属; 植物修复; 镉; 龙葵

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)09-4471-10 DOI: 10.13227/j.hjks.202101192

Isolation and Identification of the Plant Endophyte R-13 and Its Effect on Cadmium Accumulation in *Solanum nigrum* L.

PANG Jie^{1,2}, LIU Yue-min^{1*}, HUANG Yong-chun^{2*}, WANG Chang-rong², LIU Bin³, LIU Zhong-qi², HUANG Yi-zong², HUANG Yan-fei³, ZHANG Chang-bo²

(1. School of Environmental and Municipal Engineering, Tianjin Chengjian University, Tianjin 300384, China; 2. Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China; 3. Agricultural Resources and Environment Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract: The combination of endophytes and hyperaccumulator plants can significantly improve the efficiency of heavy metal phytoremediation in contaminated soil. A plant endophyte named *Herbaspirillum* R-13 was isolated from rice roots in a cadmium (Cd) contaminated paddy field. This strain exhibited a strong tolerance to Cd²⁺ and could grow on a solid medium with a Cd²⁺ concentration of 300 mg·kg⁻¹. The R-13 strain was able to produce siderophores and Indole acetic acid (IAA), through color reactions. In addition, Pikovskaya's and Ashby's solid medium tests showed that the R-13 strain had a lower capacity for dissolving phosphorus but a higher capacity for fixing nitrogen. In the pot experiment, high-throughput sequencing technology was used to track the colonization of the R-13 strain in *Solanum nigrum* L. roots. Three days after inoculation, the relative abundance of *Herbaspirillum* in the root of *Solanum nigrum* L. had increased by 201.88% compared to the blank control (CK) and after two inoculations, the relative abundance of *Herbaspirillum* in the root of *Solanum nigrum* L. had increased by 1182.44% compared to CK. The relative abundance of *Herbaspirillum* in the root of *Solanum nigrum* L. began to decrease significantly from 5 days after inoculation. Inoculation with 20 mL·pot⁻¹ of R-13 fermentation broth resulted in no significant effects on the Cd content of roots, stems, leaves, or fruits of *S. nigrum* L. With 40 mL·pot⁻¹ of fermentation broth, the Cd content of vegetative organs and fruits was significantly increased. When it reached 200 mL·pot⁻¹, the Cd content of vegetative organs was the highest, with Cd concentrations in the roots, stems, leaves, and fruits increasing by 84.42%, 43.67%, 64.06%, and 20.29%, respectively. In conclusion, root inoculation with endophytic *Herbaspirillum* R-13 can significantly increase the relative content of *Herbaspirillum* in the root system and enhance Cd absorption of *S. nigrum* L. Therefore, this strain has excellent prospects for application in the phytoremediation of soil contaminated with Cd.

Key words: endophytes; *Herbaspirillum*; phytoremediation; cadmium; *Solanum nigrum* L.

收稿日期: 2021-01-22; 修订日期: 2021-02-26

基金项目: 中国农业科学院协同创新项目 (CAAS-GXAAS-XTX2019026-03); 国家重点研发计划项目 (2016YFD0800803)

作者简介: 庞杰 (1995 ~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为农田重金属污染防治与环境微生物, E-mail: 869558254@qq.com

* 通信作者, E-mail: lyuenn@126.com; nylab@126.com

随着我国工、农业生产活动的迅猛发展,耕地土壤重金属污染问题愈加凸显. 重金属在土壤中具有不可降解性^[1]、生物蓄积性^[2,3]和沿食物链传递性^[4],因此土壤重金属污染给农业生产、食品安全以及人体健康都造成潜在的巨大威胁. 在已知的土壤重金属污染物中,又以镉污染最为突出^[5]. 土壤中的镉具有较强的迁移性,尤其易于被大宗粮食作物如水稻^[6]和小麦^[7]吸收并在籽粒中富集. 如何修复现有中、轻度重金属污染土壤,使现有耕地生产出合格农产品已经成为社会各界广泛关注的热点问题.

为使重金属污染耕地土壤发挥出正常的农业生产功能,现已开发出多种土壤修复技术,如土壤重金属钝化技术^[8]、植物修复技术^[9]、种植低积累品种^[10]和水肥调控相关农艺调控措施^[11]等. 在众多修复技术中,植物修复技术通过采用种植超积累植物来吸收富集土壤中的重金属^[12],此法相比其他物理和化学法,具有成本低廉、简单高效且兼具美化环境等优点^[13]. 然而由于重金属超积累植物往往存在生长缓慢、生物量较小且重金属在土壤中存在多种不同化学形态等问题,单独采用植物修复技术效率较低,为加速植物从土壤中吸收和富集土壤重金属,提高植物修复效率,在植物修复过程中往往需要向土壤中添加强化萃取剂如 EDTA^[14]和柠檬酸^[15]等化学强化萃取剂. 但是,这些物质过量添加可能对土壤造成二次污染. 在这种背景下,植物根际促生菌(PRPG)^[16]和植物内生菌^[17,18]与超积累植物联合使用提高重金属污染土壤修复效率的研究得到广泛重视.

在长期相互作用下,植物内生菌与宿主植物间结成了稳定的共生关系. 内生菌可通过多种途径定殖于宿主植物中,植物为其提供营养环境而内生菌则能通过分泌赤霉素^[19,20]和生长素^[21]等物质促进植物生长,此外内生菌还可通过产生铁载体^[22]、生物固氮^[23,24]和溶磷^[25]等作用为宿主植物提供营养物质,减轻植物的非生物胁迫. 邓平香等^[26]通过接种植物内生荧光假单胞菌从而显著增加了东南景天对土壤镉的吸收能力. Li 等^[27]将 1 株内生细菌接种到苏丹草中显著提高了苏丹草对铜离子的萃取效率. 这种超积累植物和内生菌的联合工艺相比较传统的植物修复技术来说,有效提高了对重金属污染土壤的修复效率,而且更加高效、无二次污染且低成本,具有较好的应用前景.

本课题组从广西桂平市重金属污染稻田水稻根系中分离获得 1 株编号为 R-13 植物内生菌,经鉴定为红苍白草螺菌(*Herbaspirillum rubrisubalbicans*). 本文研究了 R-13 菌株对重金属镉的耐受性以及产铁

载体、分泌吡啶乙酸(IAA)、溶磷和固氮等促生能力,并通过盆栽试验研究了菌株 R-13 在龙葵根系定殖的时间动态变化及强化龙葵吸收镉的能力.

1 材料与方 法

1.1 材 料

水稻根系样品:分离植物内生菌的水稻根系样品采集自广西桂平市重金属污染稻田.

固体培养基:LB 培养基、Pikovskaya's 培养基、CAS 培养基和 Ashby 培养基.

主要试剂:青霉素、链霉素、铬天青、色氨酸、十六烷基三甲基溴化铵和哌嗪二乙醇磺酸购于中国医药集团有限公司.

Biolog GEN III 微孔板:购于美国 BIOLOG 中国代理;龙葵种子(黑悠悠):购于寿光市嘉运农业科技有限公司;盆栽土壤:采集自广西壮族自治区桂平市重金属污染稻田.

1.2 菌 株 分 离

将采集的水稻样品根部用自来水冲洗干净,挑选出生长良好且健康的幼根(颜色较浅的根系). 用无菌剪刀剪下后放入无菌培养皿中用无菌水反复清洗表面附着的泥沙等杂质. 在无菌操作台中将水稻根系样品剪成 2~3 cm 小段. 依次用配制好的 70% 酒精消毒 2 min, 5% 的次氯酸钠消毒 10 min, 抗生素溶液(0.05% 青霉素, 0.05% 氨苄青霉素, 0.05% 链霉素, 0.05% 四环素)消毒 15 min. 将消毒后的根系样品用无菌水反复清洗 5 次,取 100 μ L 最后 1 次无菌水洗液涂布于 LB 固体培养基平板表面,于 28 $^{\circ}$ C 下恒温培养 3 d 作为表面消毒的对照(若对照平板无菌落形成则证明表面消毒充分,后续步骤所分离获得的均为植物内生菌).

将消毒后的根用无菌手术刀切去两端,切成 2~3 mm 的小段,将小段均匀放置在装有 LB 固体培养基直径 9 cm 的培养皿表面(每皿放 4~6 个小段). 将样品放入 28 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中培养 3~7 d,挑选培养基表面长出的单菌落,在 LB 固体培养基上进行划线传代. 传代 3 次后将菌株保存在 25% 的甘油管中,于 -20 $^{\circ}$ C 下保存^[28].

1.3 菌 株 特 性

1.3.1 菌株 R-13 对镉的耐受性

分别配制含有不同含量 Cd²⁺(氯化镉, 0、30、60、90、120、180、240、300 和 360 mg \cdot kg⁻¹)的固体 LB 培养基,灭菌并冷却至 40~50 $^{\circ}$ C 后倒入 24 孔无菌塑料板中,用接种环挑取少量纯化后的单菌落划线接种于培养基表面,置于 28 $^{\circ}$ C 恒温培养箱中,

培养 1 周后, 观察菌落的生长状况。

1.3.2 菌株 R-13 产铁载体能力

参照文献[29]的方法: 将铬天青(CAS)溶于双蒸水中, 并与适量 FeCl_3 溶液混匀, 得到溶液 a; 将适量十六烷基三甲基溴化铵(HDTMA)溶于双蒸水中混匀得溶液 b; 将 a 液缓慢加入 b 液中, 充分混匀即得溶液 c. 将适量 $10 \times \text{MM9}$ 盐溶液和哌嗪二乙醇磺酸加入盛有双蒸水的洁净三角瓶中, 混匀后用 NaOH 溶液调节 pH 至 6.8, 再加入琼脂粉得培养基 d. 分别量取灭菌后的 CaCl_2 溶液、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、葡萄糖溶液和酪蛋白氨基酸加入培养基 d 中. 再沿瓶壁加入染液 c, 充分摇匀, 即得蓝色检测培养基. 将菌株点接于检测培养基平板中, 置于生化培养箱中于 30°C 下培养 48 h. 观察菌落周围有无黄色晕圈, 出现晕圈时说明有铁载体产生。

1.3.3 菌株 R-13 的溶磷作用

参照文献[30]的方法, 将菌株 R-13 在 LB 液体培养基上活化 24 h 后, 取 $10 \mu\text{L}$ 菌液点接到 Pikovskaya's 固体培养基上, 每皿接种两滴, 重复 4 次. 30°C 下培养 48 h, 观察菌落周围是否出现明显的亮圈, 如果有亮圈出现即说明该菌株对无机磷化合物有溶解作用。

1.3.4 菌株 R-13 产 IAA 能力

参照文献[31]的方法, 配制 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的色氨酸溶液, 过滤除菌. 将 LB 液体培养基按每管 4 mL 分装于试管中, 于 121°C 灭菌后加入适量无菌色氨酸溶液. 接入培养 24 h 菌液 0.1 mL, 培养 12 h 后, 吸取 2 mL 菌液并加入 4 mL 显色液观察. 呈粉红色者为阳性, 否则为阴性, 通过颜色反应确定该菌株有无产生 IAA 的能力。

1.3.5 菌株 R-13 固氮能力

参照文献[32]的方法, 用接种环挑取菌落在 Ashby 琼脂平板上划线, 置于 30°C 恒温生化培养箱中培养 5~7 d, 观察菌株的生长状况. 若菌株生长良好, 则表明菌株具有一定的固氮能力。

1.3.6 菌株 16S rDNA 序列分析

16S rDNA 序列分析: 按照文献[33]的方法提取 R-13 菌株基因组 DNA 并以此为模板进行 PCR 扩增. 16S rDNA 的 PCR 扩增引物: (5'-AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG-3', 5'-ACG GTT ACC TTC TTA CGA CTT-3'). PCR 扩增条件: 95°C 5 min; 94°C 1 min, 56°C 1 min, 72°C 3 min, 40 个循环. PCR 产物测序由北京宝杰罗生物科技有限公司完成, 将所测得 16S rDNA 序列与 GenBank 数据库中 16S rDNA 进行相似性比较, 利用 MEGA7 软件绘制系统发育树。

1.3.7 菌株生理生化分类测试

利用 Biolog GEN III 微孔板进行菌株唯一碳源利用试验^[34]. 利用非苛养非肠道革兰氏阴性杆菌鉴定试剂盒(API20NE), 进行菌株氧化还原活性及底物同化试验。

1.4 龙葵盆栽种植

1.4.1 龙葵种子预处理

取龙葵种子(黑悠悠)放入烧杯中, 用去离子水反复冲洗 3 遍, 5% 过氧化氢浸泡 30 min, 再用去离子水冲洗 3 遍. 清洗后的种子用 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 过氧化氢浸泡 20 h, 常温晾干后备用。

1.4.2 盆栽种植

将晾干后的龙葵种子分散在铺有经无菌水润湿滤纸的大培养皿中, 放置于恒温培养箱中在 28°C 下催芽 1~2 d. 将萌动露白的种子移入蛭石盘中, 每孔放置 1~2 粒种子, 保持蛭石湿润. 待龙葵幼苗长至 7~8 片叶时, 选取大小相同的幼苗移栽至盛有 4 kg 稻田镉污染土壤的花盆中。

1.4.3 接种菌液处理

将 R-13 菌株接种于 LB 液体培养基中, 在 28°C 下于回旋式摇床上以 $150 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 培养 48 h, 用稀释平板法测得其菌密度 $6.2 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 后备用. 待龙葵幼苗在花盆中缓苗 10 d 后进行接种菌液处理. 分别设定根际接种量为 20、40、80、100、200 和 400 mL (菌密度 $6.2 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$) 6 个处理, 每个处理 5 次重复, 同时设定接种相同体积 LB 液体培养基的空白对照处理. 待龙葵果实长至紫色后采集全株样品. 将采集的植株用剪刀分为根系、茎秆、叶片和果实这 4 个部分, 常温下晾干备用。

1.4.4 测定 R-13 定植效果

将 R-13 菌液 40 mL (菌密度 $6.2 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$) 加入至龙葵盆栽中, 在第 1 次接种菌液后 3、5 和 7 d 时间点取龙葵根部样品, 第 7 d 取样后进行第 2 次接种, 施加菌液 40 mL (菌密度 $6.2 \times 10^8 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$), 在第 2 次接种后 3、5 和 7 d 时间点取龙葵根部样品. 所采样品送至上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序, 分析其根系内生菌群相对丰度。

1.4.5 镉含量测定

将晾干后的龙葵样品在粉碎机中粉碎成粉末. 称取 0.2 g 样品粉末于消解管中, 加入 7 mL 浓硝酸和 1 mL 过氧化氢在常温下浸泡隔夜. 将消解管放入电热消解仪(Digi Block ED54)进行消解, 110°C 加热消解 2.5 h 后冷却至室温, 加入 1 mL 过氧化氢摇匀, 110°C 继续加热 1.5 h, 最后于 170°C 将消解管内的液体浓缩至 0.5 mL 以内, 去离子水稀释至 10 mL

后转移至 25 mL 容量瓶中并定容,采用石墨炉-原子吸收法测定样品中的镉含量^[35]。

2 结果与分析

2.1 植物内生菌 R-13 对镉的耐受能力

利用 LB 培养基,从采集的根系样品中共计分离获得 36 株植物内生细菌。将获得的纯培养菌株接种在含有不同含量 Cd^{2+} 的 LB 固体培养基上,3 d 后可清晰地观察到菌株在培养基表面的生长情况,部分抗性最强菌株生长情况如表 1 所示。

表 1 分离获得的部分内生菌的耐镉性能¹⁾

Table 1 Tolerance of screened endophytes to cadmium

菌株	Cd^{2+} 含量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$							
	30	60	90	120	180	240	300	360
R-2	+++	+++	++	++	++	+	-	-
R-8	+++	+	+	-	-	-	-	-
R-13	+++	+++	+++	++	++	+	+	-
R-20	+++	+++	+	+	-	-	-	-
R-24	+++	+++	+	-	-	-	-	-
R-27	+++	+++	++	+	+	-	-	-
R-30	+++	++	+	-	-	-	-	-
R-36	+++	++	++	-	-	-	-	-

1) +++ 表示生长状况良好; ++ 表示略受抑制; + 表示受到较严重抑制; - 表示完全抑制

2.2 内生菌 R-13 显微形态观察及菌株特性

在 10×100 (目镜 \times 物镜)倍光学显微镜下观察到 R-13 菌株的细胞形态如图 1(a)所示,菌株 R-13 细胞形态为长杆状,革兰氏染色结果显示为阴性。

如图 1(b)所示,与 CK 对照试管相比,在接种 R-13 菌株的试管中可产生鲜艳的粉红色,说明内生菌 R-13 具有产吲哚乙酸 (IAA) 能力。

如图 1(c)所示,在菌苔周围产生大面积的黄褐色晕圈,说明内生菌 R-13 具有产生铁载体的功能。

如图 1(d)所示,在 R-13 菌苔周围仅可见一条极微弱透明亮圈,说明内生菌 R-13 溶解无机磷化合物的能力较弱。

如图 1(e)和 1(f)所示,与 CK 对照相比 R-13 菌株在无氮源添加的 Ashby 琼脂培养基上仍能生长,说明内生菌 R-13 具有一定固氮作用。

2.3 菌株 R-13 的生理生化分类鉴定

利用 Biolog GEN III 微孔板对菌株 R-13 进行的唯一碳源利用试验结果表明,菌株 R-13 可以利用 α -D-葡萄糖、D-甘露糖、D-果糖、D-半乳糖、L-岩藻糖、L-鼠李糖、1% 乳酸钠、D-山梨醇、D-葡萄糖-6-磷酸、D-果糖-6-磷酸、D-天冬氨酸、利福霉素 SV、L-天冬氨酸、L-谷氨酸、林可霉素、D-半乳糖醛酸、L-半乳糖酸内酯、D-葡萄糖酸、D-葡萄糖醛酸、葡萄糖醛酰胺、奎宁酸、糖质酸、万古霉素、四唑紫、四唑蓝、*p*-羟基苯乙酸、柠檬酸、 α -酮戊二酸、D-苹果酸、L-苹果酸、萘啶

从表 1 可知,分离获得的部分菌株均对 Cd^{2+} 具有较强的耐受性,当培养基中添加 Cd^{2+} 含量达到 $60 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,大部分菌株在培养基表面生长良好。但是当 Cd^{2+} 含量达到 $90 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,分离到的 36 株菌株中共有 28 株菌株生长受到完全抑制,只有 8 株菌株在培养基表面可见菌苔出现。当培养基中 Cd^{2+} 含量进一步上升达到 $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时,只有编号为 R-13 的菌株在培养基表面仍有菌苔出现。因此,下一步试验中继续选用编号为 R-13 的菌株进一步开展详细研究。

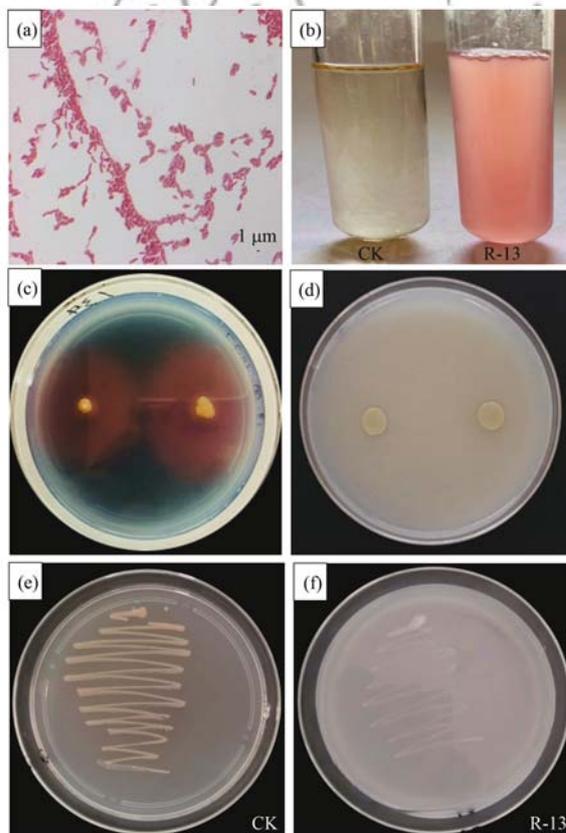


图 1 内生菌 R-13 的菌株特性

Fig. 1 Characteristics of endophyte strain R-13

酸、乙酸、甲酸和丁酸钠等作为唯一碳源。

对菌株进行的 API20NE 测试结果如表 2 所示,

菌株 R-13 具有硝酸盐还原活性、发酵葡萄糖产酸活性、精氨酸二水解酶活性和脲酶活性. 同化葡萄糖、阿拉伯糖、甘露糖、甘露醇、葡萄糖酸盐、癸酸、己二酸、苹果酸、柠檬酸钠和苯乙酸的活性.

表 2 菌株 R-13 的 API20NE 测试结果¹⁾

Table 2 API20NE test results for strain R-13

测试项目	活性	测试项目	活性
硝酸盐还原	+	葡萄糖发酵产酸	+
脲酶	+	明胶液化	-
葡萄糖	+	甘露糖	+
N-乙酰葡萄糖胺	-	葡萄糖酸盐	+
己二酸	+	柠檬酸钠	+
苯乙酸	+	精氨酸双水解	+
七叶灵水解	-	β -半乳糖苷酶	+
阿拉伯糖	+	甘露醇	+
麦芽糖	-	癸酸	+
苹果酸	+		

1) + 表示具有活性; - 表示不具有活性

2.4 内生菌 R-13 的 16S rDNA 序列分析

以 R-13 菌株基因组为模板进行 PCR 扩增, 产物经纯化后进行碱基序列测定. R-13 的 16S rDNA 基因序列全长 1 394 bp. 将测得的基因序列提交至 GenBank 与数据库中已有模式菌株进行比对. 利用 MEGA7 软件采用邻位连接法构建菌株与相关模式菌株的 16S rDNA 系统发育树, 进行 1 000 次的相似度重复计算, 结果如图 2 所示.

如图 2 所示, R-13 菌株在系统发育树中与草螺属中的 *Herbaspirillum rubrisubalbicans* 相似度最高, 相似度可达到 85%. 综合菌株显微形态学观察、碳源利用试验和 16S rDNA 测试结果将 R-13 菌株鉴定为红苍白草螺菌 (*Herbaspirillum rubrisubalbicans*).

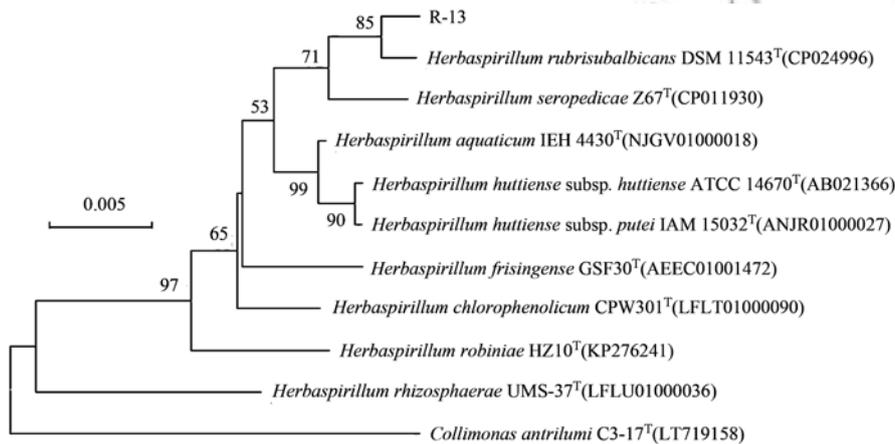


图 2 R-13 菌株系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic neighbor-joining tree based on 16S rDNA gene sequences analysis

2.5 接种 R-13 对龙葵根部草螺菌属种群相对丰度影响

根部接种 R-13 菌液 3 d 和 5 d 后龙葵根部草螺菌属种群变化如图 3 和图 4 所示, 样品采样时间如表 3 所示.

如图 4 所示, 接种 R-13 菌液 (菌密度 6.2×10^8 CFU·mL⁻¹) 40 mL 1 次间隔 3 d 后龙葵根部草螺菌属的相对丰度显著增加, 与空白对照组 (CK) 相比增加了 201.88%; 接种后 5 d 草螺菌属的相对丰度相比接种后 3 d 明显下降了 35.75%, 此时相对丰度接近 CK 但仍高于 CK; 随着时间延长至接种后 7 d 时, 龙葵根系内草螺菌属相对丰度仍高于 CK 对照 98.95%.

接种 1 次 R-13 菌液后 7 d 时进行第 2 次接种. 接种 R-13 菌液 2 次相对于接种 1 次可大幅增加草螺菌属在龙葵根部的相对丰度. 第 2 次接种 R-13 菌液间隔 3 d 后龙葵根部草螺菌属的相对丰度比 CK

增加 182.44%, 间隔 5 d 后草螺菌属相对丰度相比 3 d 仍大幅度降低了 61.50%, 但仍高于 CK 对照 393.82%; 随着时间延长至接种后 7 d 时, 龙葵根系内草螺菌属相对丰度仍高于 CK 对照 393.82%.

表 3 草螺菌属在龙葵根系内的时间动态变化

Table 3 Temporal dynamics of *Herbaspirillum* in the root of *Solanum nigrum* L.

样品编号	处理	取样时间 (接种菌液后) /d	草螺菌属 相对丰度 /%
CK	不接种菌液	3	0.132 7
R_13_1		3	0.400 6
R_13_2	第 1 次接种 R-13 菌液 40 mL	5	0.257 4
R_13_3		7	0.264 0
R_13_4		3	1.701 8
R_13_5	第 2 次接种 R-13 菌液 40 mL	5	0.655 3
R_13_6		7	0.628 0

2.6 接种内生菌 R-13 对龙葵吸收镉的影响

接种植物内生菌 R-13 对龙葵各器官中镉含量

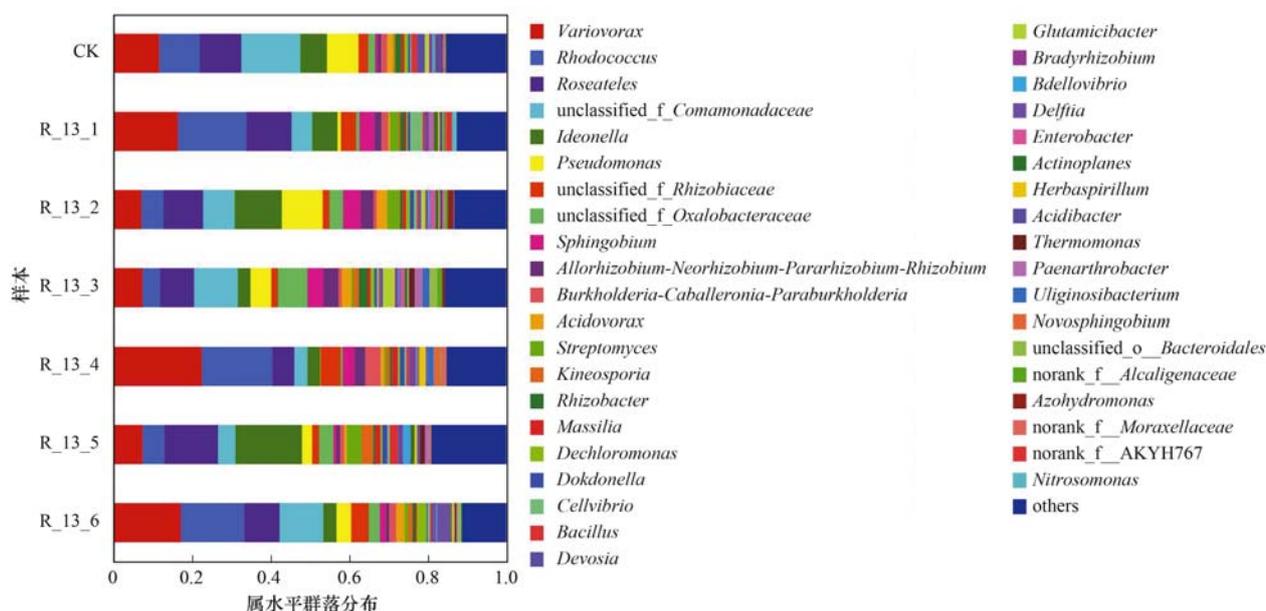
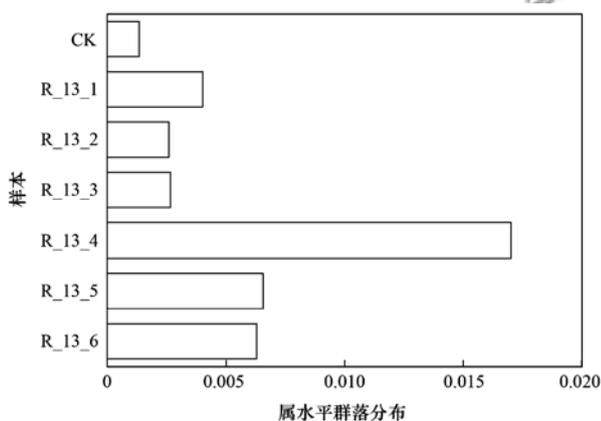


图 3 龙葵根系内生菌群组成

Fig. 3 Composition of plant endophytes in *Solanum nigrum* L. roots图 4 龙葵根系草螺菌属 (*Herbaspirillum*) 相对丰度Fig. 4 Relative abundance of *Herbaspirillum* in roots of *Solanum nigrum* L.

的影响如图 5 所示,接种菌液密度均为 6.2×10^8 CFU·mL⁻¹.如图 5(a)所示,当 R-13 的接种量为 20 mL·pot⁻¹时,对龙葵的根、茎、叶和果中镉含量无显著影响。

如图 5(b)~5(d)所示,当 R-13 的接种量超过 40 mL·pot⁻¹时,显著增加了龙葵的根、茎和叶这 3 种营养器官中镉含量,但是对果实中镉含量无显著影响.随着接种量的增加,龙葵根系中镉含量呈现出逐渐增加的趋势.当接种量达到 100 mL·pot⁻¹时,根系中镉含量达到 4 mg·kg⁻¹.在龙葵各营养器官中叶片镉含量最高,当接种菌液 100 mL·pot⁻¹时与对照组相比叶片中镉含量提高了 69.92%。

如图 5(e)所示,当 R-13 的接种量达到 200 mL·pot⁻¹时,龙葵的根、茎、叶及果实中镉含量均出现显著增加.与对照组相比根、茎、叶和果实中镉含

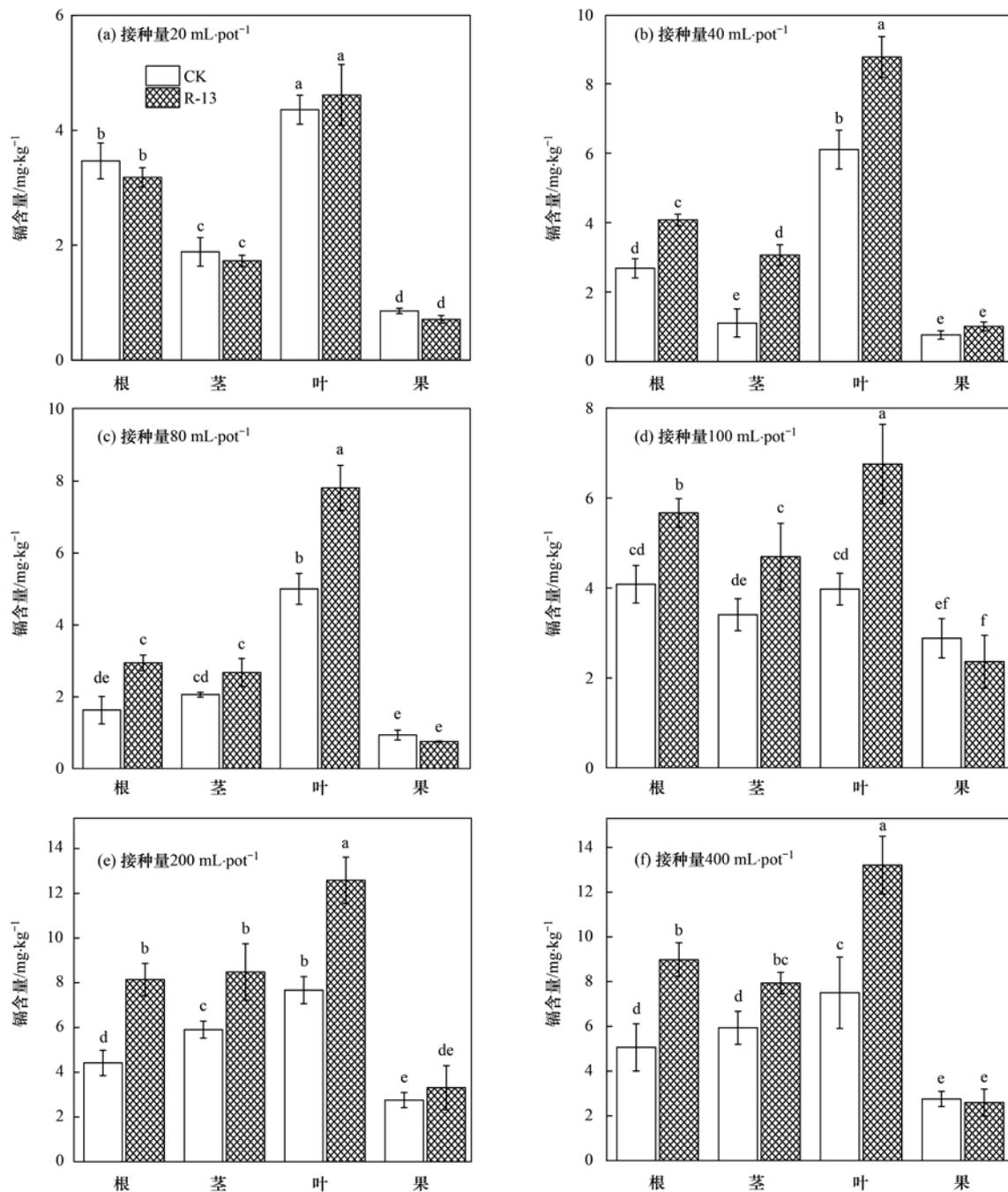
量分别提高 84.42%、43.67%、64.06% 和 20.29%。此时,营养器官中镉含量也高于各接种处理组[图 5(a)~5(d)]中镉含量,叶片中镉含量达到 12.59 mg·kg⁻¹。

如图 5(f)所示,持续增加 R-13 接种量至 400 mL·pot⁻¹时并未持续显著增加龙葵的根、茎、叶和果实中镉含量.表明最佳接种量为 200 mL·pot⁻¹(菌密度 6.2×10^8 CFU·mL⁻¹)。

3 讨论

利用超积累植物通过吸收富集来移除土壤重金属是一种重要的土壤修复治理技术,受到世界各国广泛关注^[36].其通过接种植物根际促生菌^[16]或植物内生菌^[17]与超积累植物产生协同作用,可显著提高超积累植物的修复效率^[37].通常土壤菌群由于结构复杂,对外来菌群具有较强竞争优势,一些土壤环境因素^[38]如土壤含水量、土壤肥力和土壤温度等对根际促生菌株定殖也有较大影响,因此如何使接种的根际促生菌高效定殖在植物根系表面一直是困扰学界的难题.相对于根际菌群,植物内生菌则可定殖在环境较为稳定的植物内部,而且可以和植物形成互惠互利的共生关系,从而更加有利于植物内生菌的定殖,因此采用内生菌联合超积累植物进行重金属污染土壤修复的技术日益受到重视^[18].本研究从广西稻田分离获得 1 株植物内生菌,编号 R-13,经鉴定为草螺菌属.有研究表明^[39],该类菌株具有促生、固氮和解磷等功能,在重金属污染土壤植物修复中具有潜在应用前景。

植物内生菌定殖在植物体内后可通过分泌植物



不同小写字母表示处理间差异达到 5% 显著水平 ($n = 5$)

图 5 接种 R-13 菌液对龙葵各器官镉含量的影响

Fig. 5 Effect of R-13 inoculation on cadmium content in different organs of *Solanum nigrum* L.

生长素来增强植物生长能力,减轻植物的环境胁迫^[7],还可通过产铁载体^[40]、溶磷^[25]和生物固氮^[8]等作用促进植物生长,改善植物适应外部环境胁迫的能力。本研究中分离获得的草螺属植物内生菌 R-13 具有较强的产吡啶乙酸 (IAA)、分泌铁载体及生物固氮能力,但是溶磷能力较微弱。有研究表明,部分草螺属内生菌具有生物固氮功能^[41],但是也有部分菌株不具备生物固氮能力^[42]。本研究中分离获得的草螺属内生菌株 R-13 具有一定的固氮能力表明其具备为共生植物提供额外氮源的潜力。铁载体是

一种由微生物产生的高亲和力低分子量的金属螯合剂,微生物铁载体对三价铁具有极强的络合作用,一方面供给自身生长所需的铁元素能抑制有害微生物的生长繁殖,另一方面铁载体在植物根际的大量沉积具有促进植物生长的作用。与此同时,铁载体也会影响其他金属离子的迁移性,因此产铁载体能力是筛选植物促生菌的一个重要指标^[43]。IAA 是最常见的植物生长素类物质之一,它参与了植物体内许多生理生化过程的调控,可以促进细胞分裂、刺激植物根系发育、增大叶片和果实等,对于促进植物生长发

育具有重要的作用^[44]. 综上所述, 本研究中分离获得的草螺属植物内生菌 R-13 具有较强的促进植物生长、解除重金属胁迫并促进超累积植物吸收富集土壤重金属的能力.

植物内生菌既可通过自然孔口如叶片气孔进入植物内部也可以通过植物伤口进入植物内部, 因此内生菌的接种方法比根际菌群更加多样化^[45], 如采用灌根法使内生菌从根部定殖, 采用伤茎法和涂茎法使菌株从茎部定殖, 采用喷雾法使菌株从叶片进入从而定殖在植物内部. 由于植物根际或根系内部同时存在多种共生菌群, 因此对接种菌株的定殖情况进行追踪往往比较困难, 传统方法通常采用抗生素标记法^[46]或荧光标记^[47]技术对菌株进行追踪, 而这两种方法存在基因漂移风险, 因此在应用范围上存在一定局限性且技术难度较大. 本研究采用灌根法接种草螺属植物内生菌 R-13 并采用高通量测序技术追踪菌株定殖情况, 结果发现草螺菌属在不接种菌液的对照处理根系中相对丰度极低, 仅为 0.1327%, 接种菌液 1 次后 3 d 时根系内的草螺菌属相对丰度达到最大值, 此时根系内草螺属相对丰度与 CK 对照相比增加了 201.88%, 说明灌根接种法可使 R-13 菌株成功定殖在龙葵根系内部, 接种 5 d 后草螺菌属在龙葵根系的相对丰度出现降低但仍维持在一个高于接种前的水平, 接种 7 d 后根系内菌株相对丰度与 5 d 时差异不大. 而两次接种更加有利于菌株在根系的定殖, 接种两次菌液后 3 d 时龙葵根部草螺菌属的相对丰度比 CK 增加了 1182.44%, 这表明 R-13 在龙葵根系内的定殖情况在时间上处于动态变化过程中. 与之相似的是, 刘涛^[48]对 1 株内生芽孢杆菌在番茄根系内定殖情况的研究也表现出先增后减的时间动态变化趋势, 并于接种后 15 d 达到最大值. Plociniczak 等^[49]对 1 株植物内生假单胞菌在白芥子 (*Sinapis alba* L.) 根系定殖的研究也表现出先增加后减少的时间动态变化趋势, 并在接种后 10 d 达到顶峰. 本研究中分离获得的草螺属植物内生菌 R-13 于接种后 3 d 在龙葵根系内相对丰度即达最大值, 说明该菌株在龙葵根系内的定殖能力较强, 可以迅速繁殖种群数量, 更加有利于菌株在根系内的定殖.

在本研究中, 当草螺属植物内生菌 R-13 接种量达到 40 mL·pot⁻¹ 时, 即开始显著增加龙葵的镉富集能力. 此时, 龙葵营养器官根、茎和叶中镉含量与对照组相比分别增加 52.02%、177.02% 和 43.75%, 但是对龙葵果实镉含量未产生显著影响, 而且叶片中累积的镉含量最高, 达到 8.77 mg·kg⁻¹. 当 R-13 接种量增加至 200 mL·pot⁻¹ 时, 叶片中累积的镉含

量可达到 12.58 mg·kg⁻¹, 与对照组相比显著增加 64.06%, 其它器官根、茎和果实中镉含量与对照相比分别显著增加 84.42%、43.67% 和 20.29%. 当继续增加 R-13 接种量达到 400 mL·pot⁻¹ 时, 叶片中镉含量达到 13.21 mg·kg⁻¹, 与对照组相比增加了 76.06%, 与接种 200 mL·pot⁻¹ 相比并未产生大幅度增加, 其他器官根和茎中镉含量与对照组相比分别增加 77.58% 和 33.64%. 综合以上结果表明 R-13 最佳接种量为 200 mL (菌密度 6.2 × 10⁸ CFU·mL⁻¹), 此时可显著增加龙葵富集镉的能力.

4 结 论

(1) 分离获得的草螺属 (*H. rubrisubalbicans*) 植物内生菌 R-13 具有促进植物生长缓解植物环境胁迫的潜力.

(2) 分离获得的草螺属 (*H. rubrisubalbicans*) 植物内生菌 R-13 可在龙葵根系内迅速定殖.

(3) 接种分离获得的草螺属植物内生菌 (*H. rubrisubalbicans*) R-13 可显著增加龙葵各营养器官中镉含量.

参 考 文 献:

- [1] 刘立华, 杨正池, 赵露. 重金属吸附材料的研究进展[J]. 中国材料进展, 2018, 37(2): 100-108.
Liu L H, Yang Z C, Zhao L. Research progress in adsorption materials for heavy metals[J]. Materials China, 2018, 37(2): 100-108.
- [2] 全双梅, 侯文娟, 杨琴, 等. 六盘水市不同功能区土壤重金属蓄积特征及人群健康风险评估[J]. 环境与健康杂志, 2019, 36(3): 214-219.
Tong S M, Hou W J, Yang Q, et al. Accumulation characteristic and health risk assessment of soil heavy metals in different functional areas in Liupanshui[J]. Journal of Environment and Health, 2019, 36(3): 214-219.
- [3] 李萌竹, 何作顺, 谷仕艳. 表观遗传学在镉毒性中的研究进展[J]. 现代预防医学, 2020, 47(1): 119-122.
Li M Z, He Z S, Gu S Y. Advances on epigenetic regulation in the cadmium toxicity[J]. Modern Preventive Medicine, 2020, 47(1): 119-122.
- [4] 杜森, 周岩岩, 张黎. 应用碳氮同位素技术研究重金属在大亚湾食物网中的累积[J]. 应用生态学报, 2017, 28(7): 2327-2338.
Du S, Zhou Y Y, Zhang L. Application of stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) in studies on heavy metals bioaccumulation in Daya Bay food web[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(7): 2327-2338.
- [5] 于靖靖, 师华定, 王明浩, 等. 湘江流域重点污染企业影响区土壤重金属镉污染源识别[J]. 环境科学研究, 2020, 33(4): 1013-1020.
Yu J J, Shi H D, Wang M H, et al. Identification of soil cadmium pollution sources in affected areas of key pollution enterprises in Xiangjiang sub-Basin [J]. Research of Environmental Sciences, 2020, 33(4): 1013-1020.
- [6] Chen H P, Tang Z, Wang P, et al. Geographical variations of cadmium and arsenic concentrations and arsenic speciation in

- Chinese rice [J]. *Environmental Pollution*, 2018, **238**: 482-490.
- [7] 杨玉敏, 陈春秀, 雷建容, 等. 四川推广小麦品种在镉胁迫下籽粒镉积累和生长响应[J]. *西南农业学报*, 2018, **31**(9): 1796-1801.
Yang Y M, Chen C X, Lei J R, *et al.* Cadmium accumulation and growth of different Sichuan wheat varieties under cadmium stress [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2018, **31**(9): 1796-1801.
- [8] 刘顺翱, 吴昊, 胡钧铭, 等. 农田重金属土壤健康钝化技术研究及应用趋势[J]. *农学学报*, 2020, **10**(3): 6-11.
Liu S A, Wu H, Hu J M, *et al.* Heavy metal passivation technology for farmland soil health; research and application trend[J]. *Journal of Agriculture*, 2020, **10**(3): 6-11.
- [9] Sumiahadi A, Acar R. A review of phytoremediation technology: heavy metals uptake by plants[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2018, **142**, doi: 10.1088/1755-1315/142/1/012023.
- [10] 林园园, 陈慧茹, 刘斌美, 等. $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子束诱变水稻籽粒 Cd 低积累突变体的研究[J]. *原子核物理评论*, 2016, **33**(4): 488-493.
Lin Y Y, Chen H R, Liu B M, *et al.* Study on low-cadmium rice mutants induced by $^{12}\text{C}^{6+}$ ion beam [J]. *Nuclear Physics Review*, 2016, **33**(4): 488-493.
- [11] 冯英, 马璐瑶, 王琼, 等. 我国土壤-蔬菜作物系统重金属污染及其安全生产综合农艺调控技术[J]. *农业环境科学学报*, 2018, **37**(11): 2359-2370.
Feng Y, Ma L Y, Wang Q, *et al.* Heavy-metal pollution and safety production technologies of soil-vegetable crop systems in China [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, **37**(11): 2359-2370.
- [12] 李燕, 马瑜, 朱海云, 等. 重金属污染土壤植物及其联合修复的研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2016, **39**(S2): 299-303.
Li Y, Ma Y, Zhu H Y, *et al.* Research progress on phytoremediation and its combination technology of heavy metal contaminated soil [J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, **39**(S2): 299-303.
- [13] Patra D K, Pradhan C, Patra H K. Toxic metal decontamination by phytoremediation approach: concept, challenges, opportunities and future perspectives [J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2020, **18**, doi: 10.1016/j.eti.2020.100672.
- [14] 韩甘, 黄益宗, 魏祥东, 等. 螯合剂对油葵修复镉砷复合污染土壤的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2019, **38**(8): 1891-1900.
Han N, Huang Y Z, Wei X D, *et al.* Effect of chelating agents on remediation of cadmium and arsenic complex contaminated soil using oil sunflower[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, **38**(8): 1891-1900.
- [15] 沈莉萍, 宗良纲, 蒋培, 等. 螯合剂和泥炭对苧麻吸收土壤镉的影响[J]. *环境科学*, 2009, **30**(9): 2767-2772.
Shen L P, Zong L G, Jiang P, *et al.* Extraction of Cd by ramie from soils as affected by applications of chelators and peat [J]. *Environmental Science*, 2009, **30**(9): 2767-2772.
- [16] Khan N, Bano A. Modulation of phytoremediation and plant growth by the treatment with PGPR, Ag nanoparticle and untreated municipal wastewater [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2016, **18**(12): 1258-1269.
- [17] 古添源, 余黄, 曾伟民, 等. 功能内生菌强化超积累植物修复重金属污染土壤的研究进展[J]. *生命科学*, 2018, **30**(11): 1228-1235.
Gu T Y, Yu H, Zeng W M, *et al.* Progress on the endophyte of hyperaccumulators and their beneficial role in heavy metal phytoremediation[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2018, **30**(11): 1228-1235.
- [18] Ma Y, Rajkumar M, Moreno A, *et al.* Serpentine endophytic bacterium *Pseudomonas azotoformans* ASS1 accelerates phytoremediation of soil metals under drought stress [J]. *Chemosphere*, 2017, **185**: 75-85.
- [19] 李冠军, 刘鑫铭, 梁安洁, 等. 两株木麻黄内生真菌代谢产物对 NaCl 胁迫的响应[J]. *应用与环境生物学报*, 2019, **25**(4): 902-908.
Li G J, Liu X M, Liang A J, *et al.* Effects of NaCl stress on metabolites of two endophytic fungi of *Casuarina equisetifolia* [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2019, **25**(4): 902-908.
- [20] Bilal L, Asaf S, Hamayun M, *et al.* Plant growth promoting endophytic fungi *Aspergillus fumigatus* TS1 and *Fusarium proliferatum* BRL₁ produce gibberellins and regulates plant endogenous hormones [J]. *Symbiosis*, 2018, **76**(2): 117-127.
- [21] Zerrouk I Z, Rahmoune B, Auer S, *et al.* Growth and aluminum tolerance of maize roots mediated by auxin- and cytokinin-producing *Bacillus toyonensis* requires polar auxin transport [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2020, **176**, doi: 10.1016/j.envexpbot.2020.104064.
- [22] 雷平, 黄军, 黄彬彬, 等. 1 株产铁载体辣椒内生细菌的分离鉴定及其促生长作用[J]. *激光生物学报*, 2020, **29**(4): 379-384.
Lei P, Huang J, Huang B B, *et al.* Isolation, identification and growth promoting effect of a siderophore-producing endophytic bacterium from capsicum [J]. *Acta Laser Biology Sinica*, 2020, **29**(4): 379-384.
- [23] Puri A, Padda K P, Chanway C P. Can naturally-occurring endophytic nitrogen-fixing bacteria of hybrid white spruce sustain boreal forest tree growth on extremely nutrient-poor soils? [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, **140**, doi: 10.1016/j.soilbio.2019.107642.
- [24] Rai A, Kumar S, Baudhh K, *et al.* Improvement in growth and alkaloid content of *Rauwolfia serpentina* on application of organic matrix entrapped biofertilizers (*Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas putida*) [J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2017, **40**(16): 2237-2247.
- [25] Zega A, Suryanto D, Yurnaliza. An ability of endophytic bacteria from nutgrass (*Cyperus rotundus*) from lafau beach of north nias in producing indole acetic acid and in solubilizing phosphate [J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2018, **130**, doi: 10.1088/1755-1315/130/1/012007.
- [26] 邓平香, 张馨, 龙新宪. 产酸内生菌荧光假单胞菌 R1 对东南景天生长和吸收、积累土壤中重金属镉的影响[J]. *环境工程学报*, 2016, **10**(9): 5245-5254.
Deng P X, Zhang X, Long X X. Effects of acid producing endophytic bacteria *Pseudomonas fluorescens* R1 on the growth responses, Zn and Cd accumulation in *Sedum alfredii* [J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2016, **10**(9): 5245-5254.
- [27] Li Y, Wang Q, Wang L, *et al.* Increased growth and root Cu accumulation of *Sorghum sudanense* by endophytic *Enterobacter* sp. K3-2: Implications for *Sorghum sudanense* biomass production and phytostabilization [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, **124**: 163-168.
- [28] Ahlich K, Sieber T N. The profusion of dark septate endophytic

- fungi in non-ectomycorrhizal fine roots of forest trees and shrubs [J]. *New Phytologist*, 1996, **132**(2): 259-270.
- [29] 王东升, 王立立, 李取生, 等. 产铁载体菌对龙葵修复土壤 Cd 污染的促进效应[J]. *环境工程学报*, 2018, **12**(8): 2311-2319.
Wang D S, Wang L L, Li Q S, *et al.* Enhancing effect of siderophore-producing bacteria on remediation of cadmium-contaminated soil by *Solanum nigrum* L[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2018, **12**(8): 2311-2319.
- [30] 李章雷, 刘爽, 王艳宇, 等. 5 株耐盐碱促生细菌的筛选鉴定及其对红小豆的促生作用[J]. *微生物学通报*, 2021, **48**(5): 1580-1592.
Li Z L, Liu S, Wang Y N, *et al.* Screening and identification of five Saline-alkali tolerant growth-promoting bacterial strains and its promoting effect on red adzuki bean[J]. *Microbiology China*, 2021, **48**(5): 1580-1592.
- [31] Mehmood A, Khan N, Irshad M, *et al.* IAA producing endopytic fungus *Fusarium oxysporum* wlv colonize maize roots and promoted maize growth under hydroponic condition[J]. *European Journal of Experimental Biology*, 2018, **8**(4), doi: 10.21767/2248-9215.100065.
- [32] 陆依琳, 赵晴雨, 彭学. 2 株固氮菌的分离与鉴定[J]. *江苏农业科学*, 2020, **48**(16): 298-302.
Lu Y L, Zhao Q Y, Peng X. Isolation and identification of 2 strains of nitrogen-fixing bacteria [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2020, **48**(16): 298-302.
- [33] 陈佩, 岳巧云, 刘德星, 等. 适用于二代测序技术的细菌 DNA 提取方法的比较研究[J]. *检验检疫学报*, 2018, **28**(2): 55-60, 29.
Chen P, Yue Q Y, Liu D X, *et al.* Comparative study on bacterial DNA extraction methods for NGS technique[J]. *Journal of Inspection and Quarantine*, 2018, **28**(2): 55-60, 29.
- [34] Wragg P, Randall L, Whatmore A M. Comparison of Biolog GEN III MicroStation semi-automated bacterial identification system with matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and 16S ribosomal RNA gene sequencing for the identification of bacteria of veterinary interest [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2014, **105**: 16-21.
- [35] Liu Y, Zhang C B, Zhao Y L, *et al.* Effects of growing seasons and genotypes on the accumulation of cadmium and mineral nutrients in rice grown in cadmium contaminated soil [J]. *Science of the Total Environment*, 2017, **579**: 1282-1288.
- [36] 魏树和, 周启星, 王新. 超积累植物龙葵及其对镉的富集特征[J]. *环境科学*, 2005, **26**(3): 167-171.
Wei S H, Zhou Q X, Wang X. Cadmium-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and its accumulating characteristics [J]. *Environmental Science*, 2005, **26**(3): 167-171.
- [37] 陈可, 胡南, 陈威, 等. 两种植物根际促生菌对博落回抗旱及富集镉性能的增强作用研究[J]. *环境科学学报*, 2018, **38**(10): 4142-4149.
Chen K, Hu N, Chen W, *et al.* Effects of two plant growth promoting rhizobacteria on drought resistance and uranium bioaccumulation abilities by *Macleaya cordata* [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2018, **38**(10): 4142-4149.
- [38] 王媛. 生物炭配施植物根际促生菌(PGPR)对作物生长及土壤理化和生物性状的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2019. 1-4.
Wang Y. Effects of biochar combined with plant growth promoting rhizobacteria(PGPR) on crop growth and soil physical, chemical and biological properties [D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2019. 1-4.
- [39] Andreozzi A, Prieto P, Mercado-Blanco J, *et al.* Efficient colonization of the endophytes *Herbaspirillum huttiense* RCA24 and *Enterobacter cloacae* RCA25 influences the physiological parameters of *Oryza sativa* L. cv. Baldo rice[J]. *Environmental Microbiology*, 2019, **21**(9): 3489-3504.
- [40] 韩辉, 王晓宇, 蔡红, 等. 重金属固定植物促生细菌的筛选及其阻控小麦富集重金属效应[J]. *环境科学*, 2019, **40**(7): 3339-3346.
Han H, Wang X Y, Cai H, *et al.* Isolation of heavy metal immobilizing and plant growth-promoting bacteria and its effects on reducing heavy metal accumulation in wheat [J]. *Environmental Science*, 2019, **40**(7): 3339-3346.
- [41] 林标声, 范锦琳, 宋昭昭, 等. 巨菌草不同生长时期的内生固氮菌群组成分析[J]. *微生物学通报*, 2018, **45**(7): 1479-1490.
Lin B S, Fan J L, Song Z Z, *et al.* Endophytic diazotrophs composition of *Pennisetum* sp. at different growth stages [J]. *Microbiology China*, 2018, **45**(7): 1479-1490.
- [42] 刘伟林, 占桂婷, 王婷, 等. 草螺菌 *Herbaspirillum* sp. WT00F 的生理生化性质和促生作用研究[J]. *湖北大学学报(自然科学版)*, 2017, **39**(3): 291-298, 304.
Liu W L, Zhan G T, Wang T, *et al.* Physiochemical properties and growth-promoting effects of *Herbaspirillum* sp. WT00F [J]. *Journal of Hubei University (Natural Science)*, 2017, **39**(3): 291-298, 304.
- [43] Dahlheimer S R, Neal C R, Fein J B. Potential mobilization of platinum-group elements by siderophores in surface environments [J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, **41**(3): 870-875.
- [44] Liu Y, Shi Z Q, Yao L X, *et al.* Effect of IAA produced by *Klebsiella oxytoca* Rs-5 on cotton growth under salt stress [J]. *Journal of General and Applied Microbiology*, 2013, **59**(1): 59-65.
- [45] 王吉永, 郭龙妹, 高林怡, 等. 植物内生菌的侵染定殖研究概况[J]. *江苏农业科学*, 2019, **47**(14): 36-39.
Wang J Y, Guo L M, Gao L Y, *et al.* Study overview on infection and colonization of plant endophytes [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2019, **47**(14): 36-39.
- [46] 程杰杰, 殷超凡, 萨尔山别克·热阿合曼, 等. 固氮菌 *Kosakonia radicincitans* GXGL-4A 对玉米和水稻的促生作用及其根际定殖动态[J]. *江苏农业科学*, 2018, **46**(2): 33-37.
- [47] 刘雨晴, 许奕涵, 刘选明, 等. 内生白色链霉菌 OsiSh-10 对拟南芥根系结构的影响[J]. *基因组学与应用生物学*, 2018, **37**(8): 3503-3509.
Liu Y Q, Xu Y H, Liu X M, *et al.* Effects of endophytic *Streptomyces albus* OsiSh-10 on *Arabidopsis thaliana* root architecture[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2018, **37**(8): 3503-3509.
- [48] 刘涛. 西宁地区番茄内生芽孢杆菌定殖规律及促生效应的研究[D]. 西宁: 青海师范大学, 2010. 46-53.
Liu T. A study on the colonization and promoting plant growth of tomato endophytic *bacillus* in Xining area [D]. Xi'ning: Qinghai Normal University, 2010. 46-53.
- [49] Plociniczak T, Chodór M, Pacwa-Plociniczak M, *et al.* Metal-tolerant endophytic bacteria associated with *Silene vulgaris* support the Cd and Zn phytoextraction in non-host plants [J]. *Chemosphere*, 2019, **219**: 250-260.

CONTENTS

Spatiotemporal Distribution and Health Impacts of PM _{2.5} and O ₃ in Beijing, from 2014 to 2020	CHEN Jing, PENG Jin-long, XU Yan-sen (4071)
High-resolution Estimation of Spatio-temporal Variation in PM _{2.5} Concentrations in the Beijing-Tianjin-Hebei Region	YANG Xiao-hui, SONG Chun-jie, FAN Li-hang, <i>et al.</i> (4083)
Impacts of Anthropogenic Emission Reduction and Meteorological Conditions on PM _{2.5} Pollution in Typical Cities of Beijing-Tianjin-Hebei in Winter	SHAO Xuan-yi, WANG Xiao-qi, ZHONG Yi-sheng, <i>et al.</i> (4095)
Influence of Pollutant Transport from Both Sides of the Taihang Mountains on Cross-Valley Urban Aerosols	WANG Yan, GUO Wei, YAN Shi-ming, <i>et al.</i> (4104)
Variation Characteristics and Source Analysis of Carbonaceous Aerosols in Winter in Jiashan	ZHANG Ying-long, LI Li, WU Wei-chao, <i>et al.</i> (4116)
Simulation Analysis of the Impact of COVID-19 Pandemic Control on Air Quality in Henan Province based on Machine Learning Algorithm	WEI Yu, XU Qi-xiang, ZHAO Jin-shuai, <i>et al.</i> (4126)
Seasonal Variation, Source Identification, and Health Risk of PM _{2.5} -bound Metals in Xinxiang	LIU Huan-jia, JIA Meng-ke, LIU Yong-li, <i>et al.</i> (4140)
Distribution Characteristics and Seasonal Variations of Arsenic in Atmospheric Aerosols over the Yellow Sea and Bohai Sea	YUAN Shuai, WANG Yan, LIU Ru-hai, <i>et al.</i> (4151)
Extinction Characteristics of Aerosols and the Contribution of Pollution Sources to Light Extinction During Three Heavy Pollution Episodes in the Winter of 2020 in Tianjin	LI Li-wei, XIAO Zhi-mei, YANG Ning, <i>et al.</i> (4158)
Spatial Variation of Surface Ozone Concentration During the Warm Season and Its Meteorological Driving Factors in China	HE Chao, MU Hang, YANG Lu, <i>et al.</i> (4168)
Exploring Characteristics and Causes of Summer Ozone Pollution Based on Process Analysis in Wuhai	ZHANG Rui-xin, CHEN Qiang, XIA Jia-qi, <i>et al.</i> (4180)
Pollution Characteristics and Source Analysis of Atmospheric VOCs in the Coastal Background of the Pearl River Delta	YUN Long, LI Cheng-liu, ZHANG Ming-di, <i>et al.</i> (4191)
Hydrochemical Characteristics and Factors of Surface Water and Groundwater in the Upper Yongding River Basin	KONG Xiao-le, YANG Yong-hui, CAO Bo, <i>et al.</i> (4202)
Temporal and Spatial Variations in Water Quality of Hanjiang River and Its Influencing Factors in Recent Years	CHENG Bing-fen, ZHANG Yuan, XIA Rui, <i>et al.</i> (4211)
Pollution Level, Distribution Characteristic, and Ecological Risk Assessment of Environmentally Persistent Pharmaceutical Pollutants in Surface Water of Jiangsu Province	ZHAO Mei-mei, FAN De-ling, GU Wen, <i>et al.</i> (4222)
Spatial and Temporal Distribution and Pollution Evaluation of Soluble Heavy Metals in Liujiang River Basin	ZHANG Wan-jun, XIN Cun-lin, YU Shi, <i>et al.</i> (4234)
Source Analysis and Health Risk Assessment of Heavy Metals in Groundwater of Leizhou Peninsula	SHI Huan-huan, PAN Yu-jie, ZENG Min, <i>et al.</i> (4246)
Distribution Characteristics and Health Risk Assessment of Metal Elements in Groundwater of Longzici Spring Area	XIE Hao, LIANG Yong-ping, LI Jun, <i>et al.</i> (4257)
Seasonal Variation and Sources Identification of Dissolved Sulfate in a Typical Karst Subterranean Stream Basin Using Sulfur and Oxygen Isotopes	REN Kun, PAN Xiao-dong, LAN Gan-jiang, <i>et al.</i> (4267)
Phosphorus Fractions and Quantitative Identification of Pollution Sources in Nanhai Wetland, Baotou	BAI Ya-hong, QIAN Chen-ge, YUAN Si-jing, <i>et al.</i> (4275)
Release Risk of Phosphorus by Sediments and Its Influencing Factors in Ponds and Ditches of a New Urban District Park	LI Ru-zhong, SONG Min, YANG Ji-wei (4287)
Effect of Hydraulic Residence Time on Removal Efficiency of Pollutants in Subsurface Flow Constructed Wetlands and Analysis of Denitrification Mechanism	QI Ran, ZHANG Ling, YANG Fan, <i>et al.</i> (4296)
Enhanced Removal of Pollutants in Constructed Wetlands with Manganese Sands	MA Quan, WANG Dong-lin, LIN Hui, <i>et al.</i> (4304)
Application Effect of Four Typical Submerged Macrophytes on Removing Cadmium from Polluted Sediment	TAO Li, WANG Pei-fang, YUAN Qiu-sheng, <i>et al.</i> (4311)
Structure of Aerobic Denitrification Bacterial Community in Response to Dissolved Organic Matter in Baiyangdian Lake During the Water Delivery Period	ZHOU Shi-lei, ZHANG Tian-na, CHEN Zhao-ying, <i>et al.</i> (4319)
Nitrogen and Phosphorus Leaching Characteristics and Adsorption Properties of Hardwood Biochar in Stormwater Runoff	MENG Yi-ke, WANG Yuan, WANG Chuan-yue (4332)
Indicator Function of Ragworm (Nereididae) on Sediment Microplastic in Haizhou Bay Intertidal Zone	WANG Jia-xuan, SONG Ke-xin, SUN Yi-xin, <i>et al.</i> (4341)
Antagonistic Effect and Mechanism of Nano Titanium Dioxide and Cadmium on the Growth of <i>Scenedesmus obliquus</i>	WANG Pu, ZHAO Li-hong, ZHU Xiao-shan (4350)
Mutual Influence Between Microbial Community, Wastewater Characteristics, and Antibiotic Resistance Genes During Spiramycin Production Wastewater Treatment	WU Cai-yun, LI Hui-li, QIN Cai-xia, <i>et al.</i> (4358)
Effect of Chelated Iron on Nitrogen Removal Efficiency and Microbial Community Structure in the Anaerobic Ferric Ammonium Oxidation	LIAO Hong-yan, SONG Cheng, WAN Liu-yang, <i>et al.</i> (4366)
Effects of Dissolved Oxygen on Nutrient Removal Performance and Microbial Community in Low Carbon/Nitrogen Municipal Wastewater Treatment Process	CHI Yu-lei, SHI Xuan, REN Tong, <i>et al.</i> (4374)
Shortening SRT of Intermittent Gradient Aeration to Realize Nitrogen and Phosphorus Removal in Short-range SNEDPR System	ZHANG Yu-jun, LI Dong, WANG Xin-xin, <i>et al.</i> (4383)
Characteristics of Partial Denitrification in Biofilm System	YU Li-fang, ZHANG Xing-xiu, ZHANG Qiong, <i>et al.</i> (4390)
Effect of Anaerobic Plug-flow on Nitrification Denitrifying Phosphorus Removal Aerobic Granular Sludge with Intermittent Aeration	LI Dong, CAO Si-yu, WANG Qi, <i>et al.</i> (4399)
Combining Different Aerobic/Anoxic Durations with Zoned Sludge Discharge to Optimize Short-cut Nitrification Denitrifying Phosphorus Removal Granules in Domestic Sewage	WANG Wen-qi, LI Dong, GAO Xin, <i>et al.</i> (4406)
Meta-analysis of the Effects of Metal Mining on Soil Heavy Metal Concentrations in Southwest China	ZHANG Jian-lin, QU Ming-kai, CHEN Jian, <i>et al.</i> (4414)
Distribution Characteristics and Ecological Risk Assessment of Soil Heavy Metals in Typical Watersheds of the Qinghai-Tibet Plateau	DU Hao-lin, WANG Ying, WANG Jin-song, <i>et al.</i> (4422)
Spatial Distribution Characteristics and Risk Assessment of Cadmium Pollution in Soil-crops system of an E-waste Dismantling Area	ZHANG Lu-yao, ZHAO Ke-li, FU Wei-jun (4432)
Characteristics of Modified Biochars and Their Immobilization Effect on Cu and Cd in Polluted Farmland Soil Around Smelter	WANG Xin-yu, MENG Hai-bo, SHEN Yu-jun, <i>et al.</i> (4441)
Combined Effects of Soil Amendment and Zinc Fertilizer on Accumulation and Transportation of Cadmium in Soil-Rice System	ZHOU Kun-hua, ZHOU Hang, WANG Zi-yu, <i>et al.</i> (4452)
Effects of Different Soil Conditioners on Rice Growth and Heavy Metal Uptake in Soil Contaminated with Copper and Cadmium	WEI Wei, LI Ping, LANG Man (4462)
Isolation and Identification of the Plant Endophyte R-13 and Its Effect on Cadmium Accumulation in <i>Solanum nigrum</i> L.	PANG Jie, LIU Yue-min, HUANG Yong-chun, <i>et al.</i> (4471)
Response of Soil Archaeal Community to Heavy Metal Pollution in Different Typical Regions	LI Yu-tong, YANG Shan, ZHANG Yi, <i>et al.</i> (4481)
High-throughput Sequencing Analysis of Soil Bacterial Community in the Grain for Green Project Areas of the Loess Plateau	LIU Xiao-hua, WEI Tian-xing (4489)
Experimental Influence of Food Waste Fermentation Broth on the Soil Quality in a Loess Hilly Area	SHAO Li-ming, REN Jun-da, LÜ Fan, <i>et al.</i> (4500)
Stability of Soil Aggregates at Different Altitudes in Qinling Mountains and Its Coupling Relationship with Soil Enzyme Activities	MA Huan-fei, HU Han, LI Yi, <i>et al.</i> (4510)
Reactivation of Passivated Biochar/Nanoscale Zero-Valent Iron by an Electroactive Microorganism for Cooperative Hexavalent Chromium Removal and Mechanisms	LIAO Cong-jian, ZHAO Xiao-lei, LIU Kai, <i>et al.</i> (4520)
Influence of Precipitation Change on Soil Respiration in Desert Grassland	HAO Lian-yi, ZHANG Li-hua, XIE Zhong-kui, <i>et al.</i> (4527)
Effects of Nitrogen Fertilizer Application Times and Nitrification Inhibitor on N ₂ O Emission from Potted Maize	FU Pei-jiao, JI Heng-kuan, HE Qiu-xiang, <i>et al.</i> (4538)
Gaseous Nitrogen Emission from Soil After Application of NH ₄ ⁺ -N Loaded Biochar	MA Xiao-gang, HE Jian-qiao, CHEN Yu-lan, <i>et al.</i> (4548)
Effects of Microplastics Addition on Soil Organic Carbon Mineralization in Citrus Orchard	ZHANG Xiu-ling, YAN Zi-wei, WANG Feng, <i>et al.</i> (4558)
Dynamic Material Flow Analysis of Perfluorooctane Sulfonate in China; 1985-2019	WANG Jia-yu, CHEN Jing-wen, TANG Wei-hao, <i>et al.</i> (4566)