

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

不同国家农用地土壤环境标准比较与启示
李勳之, 姜榕, 王国庆, 陈玉东, 龙涛, 林玉锁

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心
■ 出版 科学出版社



2022年2月

第43卷 第2期
Vol.43 No.2

目次

综述

不同国家农用地土壤环境标准比较与启示 李勛之, 姜蓉, 王国庆, 陈玉东, 龙涛, 林玉锁 (577)
再生水水质稳定性评价指标与体系 张馨怡, 魏东斌, 杜宇国 (586)

研究报告

兰州市采暖期和非采暖期大气降尘重金属的分布特征及来源 黄文, 王胜利 (597)
基于多种新型受体模型的PM_{2.5}来源解析对比 王振宇, 李永斌, 郭凌, 宋志强, 许艳玲, 王丰, 梁维青, 史国良, 冯银厂 (608)
华中地区夏季PM_{2.5}中水溶性离子污染特征及来源分析 苏业旺, 刘威杰, 毛瑶, 程铨, 石明明, 许安, 李星谕, 胡天鹏, 祁士华, 邢新丽 (619)

淄博2021年元宵节PM_{2.5}水溶性离子污染特征 陈巧, 吴丽萍, 徐勃, 张向炎, 李梦辉, 赵雪艳, 杨文 (629)
浙江省大气颗粒物PM_{2.5}中全氟化合物污染特征分析及健康风险评估 李冰洁, 陈金媛, 刘铮铮, 王静, 何士冲 (639)

2001~2019年气象条件对江苏省PM_{2.5}分布的影响 潘晨, 康志明 (649)
基于神经网络和数值模型的重点区域PM_{2.5}预报比较分析 高愈霄, 汪巍, 黄永海, 王晓彦, 朱媛媛, 朱莉莉, 许荣, 李健军 (663)

2015~2020年海南省臭氧时空变化及其成因分析 符传博, 徐文帅, 丹利, 佟金鹤 (675)
济南市城区夏季臭氧污染过程及来源分析 孙晓艳, 赵敏, 申恒青, 刘杨, 杜明月, 张文娟, 许宏宇, 范国兰, 公华林, 李青松, 李大秋, 高晓梅, 张丽娜 (686)

山东临沂大气夏季典型时段臭氧污染特征及其控制因素分析 杨雪, 安馨悦, 刘玉启, 江春美, 张鹏程, 李灵婕, 赵世阳, 张书源 (696)
基于气团老化程度对挥发性有机物分类改善PMF源解析效果 朱玉凡, 陈强, 刘晓, 张瑞欣, 郭文凯 (707)

日照市夏季VOCs物种空间分布特征及其对臭氧生成的影响 姚维杰, 王大玮, 谢付莹, 朱宏伟, 孟祥宇, 田雨, 刘航, 刘晓咏, 张宇婷, 雷山东, 孙业乐, 吴林, 潘小乐, 王自发 (714)
泰山大气卤代烃的长期变化趋势与来源 赵峰, 陈天舒, 董灿, 李洪勇, 刘子璐, 毕于健, 国兆新, 王新锋, 杨凌霄, 王韬, 王文兴, 薛丽坤 (723)

典型内燃叉车尾气挥发性有机物与正构烷烃的排放特征 周文钦, 李成, 刘俊文, 朱曼妮, 桂小亮, 余飞, 廖松地, 姜帆, 李光辉, 蒋斌, 郑君瑜 (735)
2000~2020年黄河流域植被时空演化驱动机制 田智慧, 任祖光, 魏海涛 (743)

西南喀斯特流域土地利用对河流溶解无机碳及其同位素的影响 徐森, 李思亮, 钟君 (752)
生物炭添加对太湖滨岸带土壤氮化和淋失特征的影响 熊钰婷, 袁旭音, 周慧华, 高一丹, 汪宜敏 (762)

不同降雨条件下北运河河岸带类型对径流污染削减效果的影响 朱利英, 赵凯, 张俊亚, 王春荣, 魏源送 (770)
雨源型城市河流污染特征及水质联合评价:以深圳龙岗河为例 毕业亮, 王华彩, 夏兵, 姜参参, 吴伟业, 李志林, 李诗敏, 宿辉, 白志辉, 徐圣君, 庄绪亮 (782)

廊坊市区径流污染时空分布特征及来源解析 潘欣荣, 左剑恶, 张宇, 门聪, 张丽萍, 黄守斌 (795)
北运河京津冀段河道浮游微生物群落多样性变化分析 郭芝芝, 苏振华, 邱琰蓉, 郭道宇 (803)

河北省典型景观水体反硝化菌群落时空分布特征及驱动因素:以石家庄为例 陈召堂, 张紫薇, 张甜娜, 周石磊, 张艺冉, 董宛佳, 于明会, 张一凡, 张家丰 (813)
青海湖流域有色可溶性有机物来源与特征分析 俞晓琴, 孟先强, 吴华武, 陈慧敏, 李宇阳, 朱俊羽, 郭燕妮, 姚磊 (826)

鄱阳湖丰枯情景对有色可溶性有机物生物可利用性及收支平衡的影响 郭燕妮, 姚晓龙, 陈慧敏, 俞晓琴, 李宇阳, 朱俊羽, 韩龙飞, 周蕾, 周永强 (837)
鄱阳湖沉积物溶解性有机质光谱特征 罗燕清, 万智巍, 晏彩霞, 聂明华, 丁明军, 鞠民, 刘赞 (847)

汤逊湖表层沉积物重金属污染与潜在生态风险评价 李星谕, 李朋, 苏业旺, 石明明, 胡天鹏, 毛瑶, 刘力, 张雅, 邢新丽, 祁士华 (859)
基于核密度估计的城市基础要素与街尘营养元素含量特征关联 王子娇, 李叙勇 (867)

新冠疫情下武汉典型饮用水水源中DBPs污染特征与风险评估 张坤峰, 昌盛, 涂响, 付青, 杨光, 樊月婷, 孙兴滨 (878)
铁改性石英砂过滤协同控制饮用水含氮消毒副产物和条件致病菌 齐鹏, 胡春, 邢学群, 毕志浩, 李泽松 (887)

氮掺杂生物炭催化臭氧对于布洛芬的降解特性与机制 柴铨, 许路, 金鑫, 石炬, 吴晨曦, 金鹏康 (896)
环糊精多孔聚合物对水中染料分子的吸附性能及主客效应 赵传靓, 王子婕, 闫仪, 徐慧, 周俊垣, 杨利伟, 王东升 (907)

冷冻PN/A颗粒污泥快速活化过程中的污泥形态与菌群演化特征分析 黄子恒, 张立, 崔舒惠, 张绮英, 文言, 钱飞跃 (920)
不同阳离子聚丙烯酰胺有机脱水剂对污泥脱水性能的影响 冯齐云, 高宝玉, 岳钦艳, 石伟杰, 冯春晖, 周继柱, 王国瑞 (928)

云南某矿区小流域土壤重金属健康风险评价 刘洋, 何朝辉, 牛学奎, 张迪, 潘波 (936)
山地平原过渡带耕地土壤重金属空间特征及潜在生态风险因素探析 张丁, 黄容, 高雪松 (946)

地累积指数法评价多金属环境质量的方法优化探索:以农业发达地区为例 鞠铁男, 雷梅 (957)
西南地质高背景区蔬菜Pb的安全生产阈值与土地质量类别划分 穆德苗, 孙约兵 (965)

典型锰矿区周边农田土壤-农作物重金属污染特征及生态风险评价 黄钟霆, 易盛炜, 陈贝贝, 彭锐, 石雪芳, 李峰 (975)
矿业废弃地不同生态修复模式下植物多样性及重金属富集迁移特征 周鹏飞, 张世文, 罗明, 魏洪斌, 宋强, 方兵, 庄红娟, 陈弘扬 (985)

不同种植年限蔬菜大棚土壤特性、重金属累积和生态风险 任强, 孙瑞玲, 郑凯旋, 刘祎丹, 阮心玲, 王洋洋 (995)
温室与大田种植方式对胡萝卜生长过程中重金属吸收的影响 曹春, 任丹, 吕贞英, 张鹏, 李锦超, 陈勋文, 王俊坚 (1004)

两种淹水模式下施用钝化材料对镉污染农田水稻安全的影响 王港, 余海英, 李廷轩, 唐婵 (1015)
复合淋洗条件下农用地耕作层土壤去镉效率及其功能调节 曹坤坤, 张沙沙, 胡学玉, 张敏, 胡晓晓, 王子劲 (1023)

产多胺细菌调控根际细菌群落阻控小麦Cd吸收效应 李晓哲, 覃善梅, 陈兆进, 张君, 姚伦广, 李娜, 庞发虎, 韩辉 (1031)
土壤phoC和phoD微生物群落对化肥和有机肥配施生物炭的响应 杨文娜, 余烁, 罗东海, 熊子怡, 王莹燕, 王子芳, 高明 (1040)

刺槐林恢复过程中土壤微生物碳降解酶的变化及与碳库组分的关系 李文杰, 张颖敏, 赵雅萍, 许森平, 任成杰, 杨改河, 冯永忠, 任广鑫, 王晓娟, 韩新辉 (1050)
中亚热带不同林龄马尾松林土壤酶学计量特征 焦鹏宇, 郭文, 陈泽龙, 刘先, 胡亚林, 王玉哲 (1059)

稻田与旱地土壤中真菌和细菌对秸秆碳的利用特征 邓少虹, 郑小东, 毛婉琼, 陈香碧, 胡亚军, 程爱武, 何寻阳, 苏以荣 (1069)
模拟及实际根系分泌物对镉污染土壤微生物群落的影响 韩博远, 张闻, 胡芳雨, 赵庆庆, 卢媛, 孔学, 吕俊岗 (1077)

德兴铜矿区抗生素抗性基因污染特征及其驱动因子 韩柳, 楼倩, 乔敏, 刘梦婷, 钟家有, 丁惠君 (1089)
陕西渭北旱塬区农田土壤有机质空间预测方法 尉芳, 刘京, 夏利恒, 徐仲伟, 龙小翠 (1097)

长三角农田轮作系统氨排放特征、转化机制和减排潜力 徐昶, 苗文亮, 倪远之, 沈根祥, 钱晓雍, 付侃, 高宗源, 王振旗 (1108)
《环境科学》征订启事(618) 《环境科学》征稿简则(761) 信息(685, 935, 956)

模拟及实际根系分泌物对芘污染土壤微生物群落的影响

韩博远¹, 张闻^{1*}, 胡芳雨¹, 赵庆庆¹, 卢媛², 孔学¹, 吕俊岗³

(1. 齐鲁工业大学(山东省科学院), 山东省科学院生态研究所, 山东省应用微生物重点实验室, 济南 250103; 2. 南开大学环境科学与工程学院, 天津 300350; 3. 最高人民检察院检察技术信息研究中心, 北京 100144)

摘要: 为了解根系分泌物对芘污染土壤中微生物群落的影响,应用 Illumina NovaSeq 高通量测序技术,研究了模拟根系分泌物和实际黑麦草根分泌物添加至芘污染土壤后,细菌群落组成、 α 和 β 多样性以及基因功能的变化。结果表明,根系分泌物未明显改变芘污染土壤细菌群落的组成,土壤细菌群落中主要优势菌门为变形菌门、放线菌门、厚壁菌门和拟杆菌门等;主要优势菌属为鞘氨醇单胞菌属、乳酸杆菌属和芽孢杆菌属等。根系分泌物的添加导致优势物种相对丰度发生了不同程度的变化,并产生了差异物种。隶属变形菌门的毛螺旋菌属和隶属厚壁菌门的瘤胃梭菌属分别为模拟根系分泌物组和黑麦草实际根系分泌物组的标志性差异物种。2个根系分泌物组相较于对照组的共同差异物种均为多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)降解优势菌,根系分泌物的添加选择性地促进了 PAHs 降解菌的生长。根系分泌物对芘污染土壤细菌群落的丰富度和多样性影响不大,但对群落结构的影响较为显著,主要归因于低丰度物种的较大变化。模拟根系分泌物和实际根系分泌物处理组之间的群落结构较为相近。根系分泌物使土壤中的芘含量分别降低了 14.0% 和 8.7%,归因于其对 PAHs 降解菌的生长促进以及部分功能基因丰度的显著增加。结果可为研究植物根际修复 PAHs 污染土壤的作用机制提供数据支撑。

关键词: 根系分泌物; 芘; 土壤; 微生物群落; 高通量测序技术

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2022)02-1077-12 DOI: 10.13227/j.hjxx.202103204

Influence of Artificial Root Exudates and Actual Root Exudates on the Microbial Community in Pyrene-contaminated Soil

HAN Bo-yuan¹, ZHANG Wen^{1*}, HU Fang-yu¹, ZHAO Qing-qing¹, LU Yuan², KONG Xue¹, LÜ Jun-gang³

(1. Shandong Province Key Laboratory of Applied Microbiology, Ecology Institute of Shandong Academy of Sciences, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Nankai University, Tianjin 300350, China; 3. Procuratorial Technology and Information Research Center, Supreme People's Procuratorate, Beijing 100144, China)

Abstract: The high-throughput Illumina NovaSeq sequencing method was adopted to study the effect of artificial root exudates and *Lolium perenne* L. root exudates on the community structure, α and β diversity, and gene function of the bacterial communities in pyrene-contaminated soils to understand the impact of root exudates on microbial communities. The results showed that root exudates did not significantly change the composition of pyrene-contaminated soil bacterial communities. The main dominant bacterial phyla were Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes, etc. The main dominant bacterial genera were *Sphingomonas*, *Lactobacillus*, *Bacillus*, etc. Root exudates changed the relative abundance of dominant species to a different extent and resulted in discriminating bacteria. The genus *Lachnospiraceae* belonging to Proteobacteria and *Ruminiclostridium* belonging to Firmicutes were the biomarkers in the artificial root exudates group and the actual root exudate group, respectively. The common discriminating bacteria in both root exudate groups compared to those in the control group were polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs)-degrading bacteria. Root exudates selectively promoted the growth of PAHs-degrading bacteria. Root exudates had little effect on the richness and diversity of the bacterial communities in pyrene-contaminated soil. However, they significantly influenced the soil bacterial community structure, which resulted from significant changes in low-abundance species. The bacterial community structures of the two root exudate groups were similar. Root exudates decreased pyrene concentration in the soil by 14.0% (artificial root exudates) and 8.7% (actual root exudates). The promotion of pyrene degradation affected by root exudates was due to the growth promotion of PAHs-degrading bacteria and the significant increase in the abundance of some functional genes. This research can supply data for the exploration of a rhizoremediation mechanism in PAHs-contaminated soils.

Key words: root exudates; pyrene; soil; microbial community; high-throughput sequencing method

多环芳烃(polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs)是环境中广泛存在的一类典型持久性有机污染物,因其大多具有致癌、致畸和致突变等毒理效应,被国际公认为应优先控制的有机污染物^[1,2]。土壤是 PAHs 的汇,也是源^[3]。国内外大量农田和工业场地土壤中检出了不同程度的 PAHs 污染^[4,5]。修复 PAHs 污染土壤,管控污染风险,对于保障土壤生态环境和人居环境安全具有重要的现实意义。植物修复技术是近年来最具潜力的有机污染土壤修复技术之一,具备可操作性强、成本低

廉和环境友好等优点^[6]。在植物修复过程中,相比于植物自身对土壤中 PAHs 的吸收和积累,根系分泌物的存在发挥了更为关键的作用^[7-9],其所营造的根际微环境是有机污染物有效性和毒性得以快速消减的重要原因。

收稿日期: 2021-03-24; 修订日期: 2021-07-14

基金项目: 山东省重点研发计划项目(2019GSF109102); 国家自然科学基金联合基金项目(U1806217); 山东省科学院青年基金项目(2020QN0015); 齐鲁工业大学(山东省科学院)青年博士合作基金项目(2018BSHZ0027)

作者简介: 韩博远(1997~),女,硕士研究生,主要研究方向为有机污染土壤修复, E-mail: 2453605137@qq.com

* 通信作者, E-mail: zw-sunshine@163.com

根系分泌物是植物与根际微生物相互作用中的中间媒介,其不仅为根际微生物提供主要碳源和能源,而且不同植物根系分泌物的种类和数量也影响根际微生物种群的结构及数量,塑造出有独特性与代表性的微生物群落^[10,11]. 根系分泌物种类繁多,已鉴定的约有 200 多种. 植物根系分泌物会对污染物胁迫产生响应^[12],修复过程中污染物种类和浓度的变化影响着根系分泌物的组分和浓度,且根系分泌物随着离根系距离的增加呈浓度递减效应,这使得根际土壤微生物群落具备时空的多样性. Miao 等^[13]的研究表明,PAHs 的去除与土壤微生物群落结构动态变化相关. Jiao 等^[14]的研究发现豆科植物根际土细菌群落的 β 多样性对预测菲的降解速率具有重要作用,越复杂的细菌群落表现出越高的 PAHs 降解能力. 目前学者们对植物根际修复过程及效果进行了较深入地研究^[15-17],但根系分泌物自身的作用被嵌合在复杂的根际效应中不易剥离分析;并且受植物种类、环境条件、土壤性质、采样时间和采样点根际距离等因素影响,目前针对根系分泌物自身对有机污染土壤微生物群落的影响效应的研究不便直接比较. 因此,有必要研究确定组分和浓度的根系分泌物对 PAHs 污染土壤微生物群落的影响,从而为揭示植物根系分泌物在 PAHs 污染土壤修复中的作用机制提供理论依据.

模拟根系分泌物包含了根系分泌物中最常见的含碳化合物,如糖类、小分子酸和氨基酸等,组分明确,浓度可控,适合作为模式根系分泌物对植物修复作用机制进行同领域对比研究. 目前关于模拟根系分泌物对土壤中 PAHs 去除的影响已有相关报道,但其对 PAHs 污染土壤中微生物群落的影响仍缺乏足够的了解. 芘是一种有代表性的高分子量 PAHs,含有 4 个对称苯环,结构上与多种致癌 PAHs 相似,其生物降解过程和路径已被广泛研究,适于作为 PAHs 的模式化合物进行修复机制研究. 因此,本文通过 Illumina NovaSeq 高通量测序技术,研究模拟根系分泌物对芘污染土壤微生物群落结构和功能的影响;同时以有机污染土壤常用的修复植物黑麦草为受试植物,采集其根系分泌物,研究等量的植物实际根系分泌物对芘污染土壤微生物群落的效应,并对二者进行比较分析,以期研究植物根际修复 PAHs 污染土壤提供科学参考.

1 材料与方法

1.1 供试材料

以芘作为 PAHs 的代表,购自 Sigma-Aldrich 公司,纯度 >98%. 供试植物为多年生黑麦草 (*Lolium*

perenne L.). 供试土壤为山东济南农田土,采自 36°42'29"N, 117°04'40"E. 部分性质如下: pH 为 8.25, ω (有机质) 为 5.2%, 阳离子交换量为 22.6 $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$, ω (全氮) 为 2.28 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, ω (全磷) 为 0.96 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, ω (全钾) 为 13 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$, 质地为壤土. 土壤中本底 ω (芘) 为 346 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$. 土壤经自然阴干、过 2 mm 筛后,加入适量芘的丙酮储备液至芘含量为 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. 将土样置于通风橱使丙酮充分挥发,封口避光室温老化 60 d,备用.

1.2 实验设置

称取 10 g 老化后的芘污染土壤于 40 mL 棕色无菌 EPA 瓶中,加入无菌水或根系分泌物溶液使其含水率为 20%,用封瓶膜封口后置于生化培养箱中, 25°C 培养 30 d,每 6 d 称重补水. 具体处理如下:①自然衰减组,向 EPA 瓶中加入无菌水,记作 CK;②模拟根系分泌物组,向 EPA 瓶中加入模拟根系分泌物溶液,记作 ARE (artificial root exudates);③实际根系分泌物组,向 EPA 瓶中加入实际黑麦草根分泌物溶液,记作 RE (root exudates). 土壤中初始添加的模拟根系分泌物及实际黑麦草根分泌物含量均为 40 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$. 各处理均设置 3 平行,共 9 个样本. 本实验结束后,取各处理土壤样本分别提取 DNA 进行高通量测序,并测定芘的残留量.

1.3 模拟根系分泌物的配制

模拟根系分泌物依据文献 [18,19] 配制,组成为:果糖 (50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、葡萄糖 (50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、蔗糖 (50 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、琥珀酸 (25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、苹果酸 (25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、精氨酸 (12.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)、丝氨酸 (12.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$) 和半胱氨酸 (12.5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$). 使用无菌水配制.

1.4 实际根系分泌物的获取

以黑麦草根分泌物作为实际根系分泌物的代表. 黑麦草根分泌物采用水培法获取^[20]. 黑麦草种子浸于 3% H_2O_2 溶液中消毒 20 min,无菌水冲洗 3 次,无菌水浸泡过夜. 次日将种子置于无菌培养皿灭菌滤纸上催芽. 将催芽 1 d 的种子嵌入自制聚四氟乙烯板搁种孔内. 将种子整板转移至含 170 mL 无菌 Hoagland's 营养液的 1 L 量筒中,控制搁板位置在营养液液面处. 将量筒置于 25°C 培养箱 (光暗比 14 h:10 h, 25°C) 中培养 15 d. 取出整板黑麦草,用无菌水冲洗板及黑麦草根,然后置于 100 mL 无菌水中 (500 mL 高型烧杯),根部避光,培养箱中培养 24 h,收集的溶液过 0.45 μm 水系滤膜即为黑麦草根分泌物. 对根系分泌物冷冻干燥,保存于 -20°C 冰箱备用.

1.5 土壤 DNA 提取、PCR 扩增及高通量测序

土壤 DNA 的提取及 16S rDNA 扩增子测序工作委托北京诺禾致源科技股份有限公司完成. 采用 CTAB 法从土壤样本提取基因组 DNA, 对 16S rDNA 的 V3 ~ V4 区进行 PCR 扩增. 扩增引物为 341F (5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') 和 806R (5'-GGAC TACNNGGCTATCTAAT-3'). PCR 产物经电泳检测后, 对目的条带进行回收和文库构建. 对合格文库使用 NovaSeq6000 上机测序, 采用双端测序的 PE250 策略. 对测序得到的原始数据进行拼接和过滤, 得到有效数据进行处理分析.

1.6 苾的测定

土壤中的苾采用超声提取 HPLC 法测定^[21,22]. 称取 2 g 冷冻干燥后的土样于离心管中, 加入 10 mL 二氯甲烷, 用涡旋振荡器混匀后, 于超声清洗仪中超声 10 min (功率 500 W, 频率 40 kHz), 取出离心管进行离心, 将上清液转移至 50 mL 鸡心瓶中. 重复 3 次, 合并萃取液. 将鸡心瓶旋蒸至近干, 加入 4 mL 甲醇, 超声促溶后, 溶液过 0.45 μm 有机系针头过滤器转移至自动进样小瓶中, 通过 HPLC 测定 (安捷伦 1260). 检测条件为: 流动相为甲醇: 水 = 9: 1, 流速 1 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$, 进样量 2 μL , 色谱柱为安捷伦 InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 (4.6 mm \times 100 mm, 2.7 μm), 柱温 25 $^{\circ}\text{C}$, DAD 检测器, 检测波长 240 nm, 采集时长 4 min. 方法回收率为 84.7% ~ 87.7%.

1.7 数据处理与分析

测序数据在诺禾致源售后工具平台 (<https://magic.novogene.com/>) 进行处理. 利用 Uparse 软件 (Version 7.0.1001) 以 97% 的一致性将有效数据聚类成为最小分类操作单元 (operational taxonomic unit, OTU). 用 Mothur 方法与 SILVA132 的

SSUrRNA 数据库对代表 OTU 进行物种注释分析, 在各分类水平统计各样本的群落组成. 使用 Qiime 软件 (Version 1.9.1) 计算 OTU、Chao1、ACE 和 Shannon 等 α 多样性指数以及欧式距离、非加权距离和 Bray-Curtis 距离, 基于距离分别进行 PCA、PCoA 和 NMDS 等 β 多样性分析^[23]. 使用 LEfSe 软件进行 LEfSe 分析. 使用 R 软件 (Version 2.15.3) 进行 α 多样性及 β 多样性指数组间差异分析、ANOSIM 分析和组间差异物种分析. 提取 KEGG 数据库原核生物全基因组 16S rRNA 基因序列利用 BLASTN 算法将其比对至 SILVA 数据库, 实现 SILVA 数据库功能注释, 获取测序样品的功能注释信息, 进行 Tax4Fun 功能预测.

苾的测定数据通过 SPSS Statistics 19.0 软件进行处理和方差分析.

2 结果与分析

2.1 测序结果

3 组土壤样本共检测出 4 901 个 OTU, 分属 32 个门、54 个纲、122 个目、233 个科、585 个属和 389 个种. 各组稀释曲线如图 1(a) 所示, OTU 数目先快速上升, 后趋于平缓, 说明随着测序量的增大, 初期检出大量物种, 后期样本群落的物种丰富度变化趋缓, 低丰度物种逐渐被检出, OTU 上升速率降低, 更多的数据量只会产生少量新的 OTU. 以 OTU 排序编号为横坐标, OTU 相对丰度为纵坐标, 绘制了等级聚类曲线 [图 1(b)], 来直观反映样本中物种的丰富度和均匀度. 随着测序量增大, 3 条曲线在横轴上的跨度变大, 反映物种的丰富度越来越高, 曲线在纵轴上趋于平缓, 反映物种分布逐渐均匀. 表 1 中的覆盖度指数显示, 3 组样本的文库覆盖率为 99.0% 左右, 说明测序数据量合理, 序列信息能够反映样本

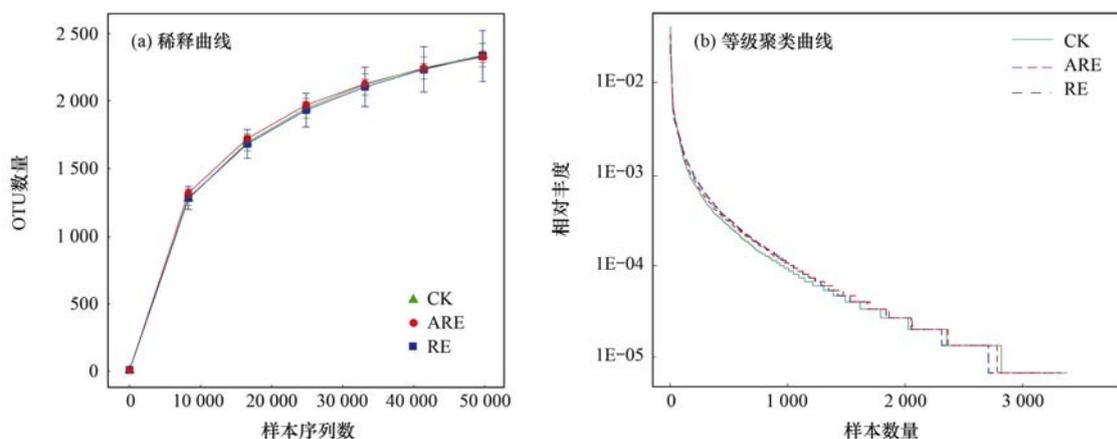


图 1 在相似度 97% 水平下的稀释曲线和等级聚类曲线

Fig. 1 Rarefaction curve and rank abundance at 97% similarity level

群落的真实信息.

表 1 土壤细菌群落 α 多样性

项目	CK	ARE	RE
OTU $\times 10^3$	2.34 \pm 0.107	2.33 \pm 0.051	2.34 \pm 0.232
Chao1 指数 $\times 10^3$	2.58 \pm 0.120	2.55 \pm 0.063	2.65 \pm 0.405
ACE 指数 $\times 10^3$	2.71 \pm 0.120	2.64 \pm 0.090	2.81 \pm 0.525
Shannon 指数	8.50 \pm 0.127	8.77 \pm 0.190	8.80 \pm 0.243
覆盖度指数/%	99.0 \pm 0.058	99.1 \pm 0.100	98.9 \pm 0.404

对 3 组土壤样本的 OTU 进行比较,结果如图 2 所示. CK、ARE 和 RE 组的 OTU 数分别为 3 377、3 306 和 3 323,其中 3 组共有 OTU 数目为 2 157,占各组 OTU 的 63.9% 以上,说明 3 组样本的共有微生物占大多数. 3 组各自特有的 OTU 数目分别为 728、363 和 344,分别占总 OTU 数的 21.6%、11.0% 和 10.4%. CK 组特有 OTU 数目最多,说明 CK 组较另外 2 组有较多的特有微生物种类. 3 组两两比较,ARE 与 RE 组共有 OTU 数最大,为 2 715 个,高于 CK 与 ARE (2 385) 组或 CK 与 RE 组共有 OTU 数 (2 421),说明与 CK 组相比,ARE 与 RE 这两组的微生物种类具有更高的相似性.

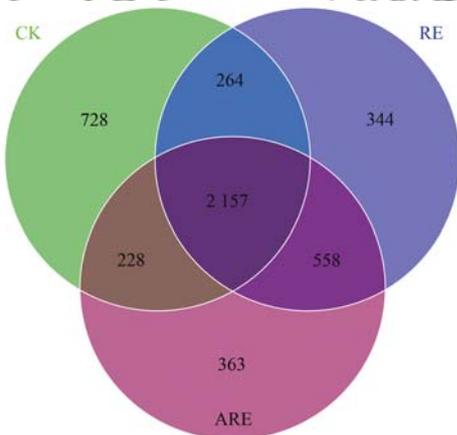


图 2 基于 OTU 的 Venn 图

Fig. 2 Venn graph based on OTU distribution

2.2 土壤细菌群落组成

门水平上的细菌群落组成如图 3(a) 所示. 各处理组的主要共同优势物种有变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 和绿弯菌门 (Chloroflexi) 的微生物,相对丰度占总体的 96.1% 以上. 变形菌门的相对丰度最高,在各处理组中的占比分别为 47.3% (CK 组)、44.8% (ARE 组) 和 41.4% (RE 组). ARE 和 RE 处理分别使其丰度降低了 2.5% 和 5.9%,RE 处理的降低幅度略大. 拟杆菌门的相对丰

度受根系分泌物影响较为明显,在 CK 组中为 3.6%,添加 ARE 和 RE 分别使其提高了 3.0% 和 7.9%,且 RE 的影响程度大于 ARE. ARE 组相较于其它两组,芽单胞菌门的占比相对略高,为 6.7% (CK 5.5%; RE 5.9%). 但不论是变形菌门、拟杆菌门还是芽单胞菌门,其相对丰度在各处理组间的变化未达到统计学意义上的显著程度 ($P > 0.05$).

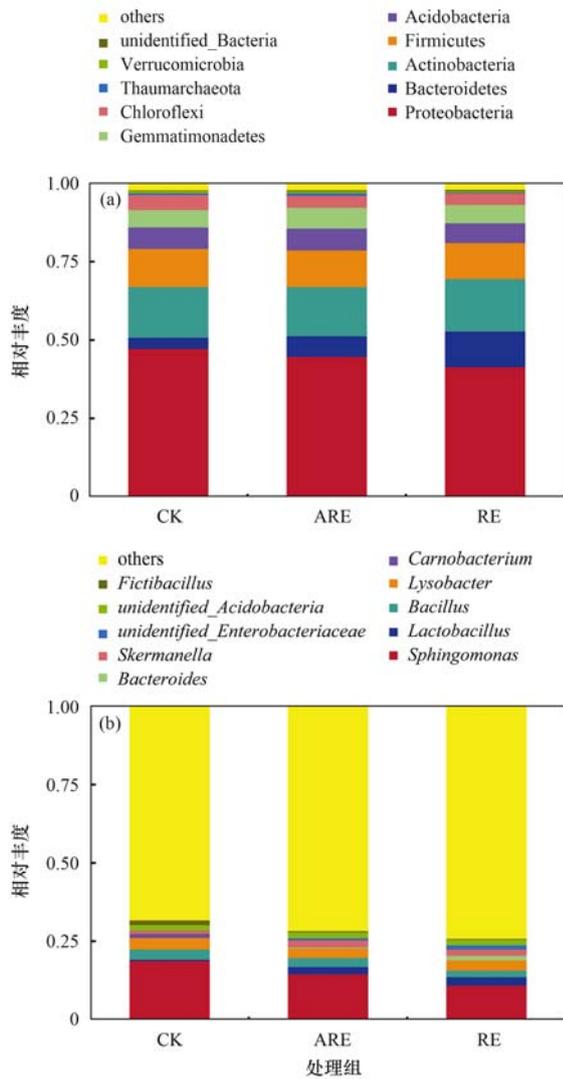
属水平上的细菌群落组成如图 3(b) 所示. CK 组可鉴定出的主要优势物种有鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 18.9%)、乳酸杆菌属 (*Lactobacillus*, 0.4%)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*, 3.2%)、溶杆菌属 (*Lysobacter*, 3.7%)、肉杆菌属 (*Carnobacterium*, 1.3%) 和斯科曼氏球菌属 (*Skermanella*, 0.9%),合计占比为 28.4%. 与 CK 组相比,ARE 和 RE 处理分别使鞘氨醇单胞菌属丰度降低了 4.3% 和 7.9% (P 为 0.155 和 0.024),使乳酸杆菌属增加 1.9% 和 2.3% (P 为 0.015 和 0.238),使斯科曼氏球菌属增加 1.4% 和 1.1% (P 为 0.043 和 0.093). 此外,CK 组中的肉杆菌属在 ARE 和 RE 组未被检出,但 CK 组中未被鉴定出的拟杆菌属 (*Bacteroides*) 在 ARE 和 RE 组被检出,分别占比 0.3% 和 1.5%.

2.3 α 多样性分析

α 多样性是指特定群落或生境内的物种多样性,常用指标为 OTU、Chao1、ACE 和 Shannon 指数等. 前 3 个指标反映物种丰富度. Shannon 指数兼顾丰富度和均匀度,反映了细菌群落多样性. 3 个处理组的 α 多样性相关指标如表 1 所示. CK、ARE 和 RE 组的 OTU 值分别为 2.34×10^3 、 2.33×10^3 和 2.34×10^3 ,较为接近. 模拟根系分泌物及实际根系分泌物加入土壤后没有显著改变土壤中的物种数. Chao1 和 ACE 指数大小顺序为: RE 组 > CK 组 > ARE 组,但组间差异不显著 ($P > 0.05$),即细菌群落丰富度无显著差别. ARE 和 RE 组的 Shannon 指数高于 CK 组,说明添加模拟或实际根系分泌物使土壤细菌群落多样性有了一定程度的提高,但提高不显著 ($P > 0.05$).

2.4 β 多样性分析

β 多样性是生境之间的物种多样性,用以衡量群落之间的差别,反映样本之间的多样性距离关系以及生物群落之间的分化程度. 3 组土壤样本的主成分分析 (principle component analysis, PCA)、主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA) 和多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 结果如图 4 所示. PCA 是根据 OTU 个数和欧氏距离的应用方差分解,对多维数据进行降维来揭



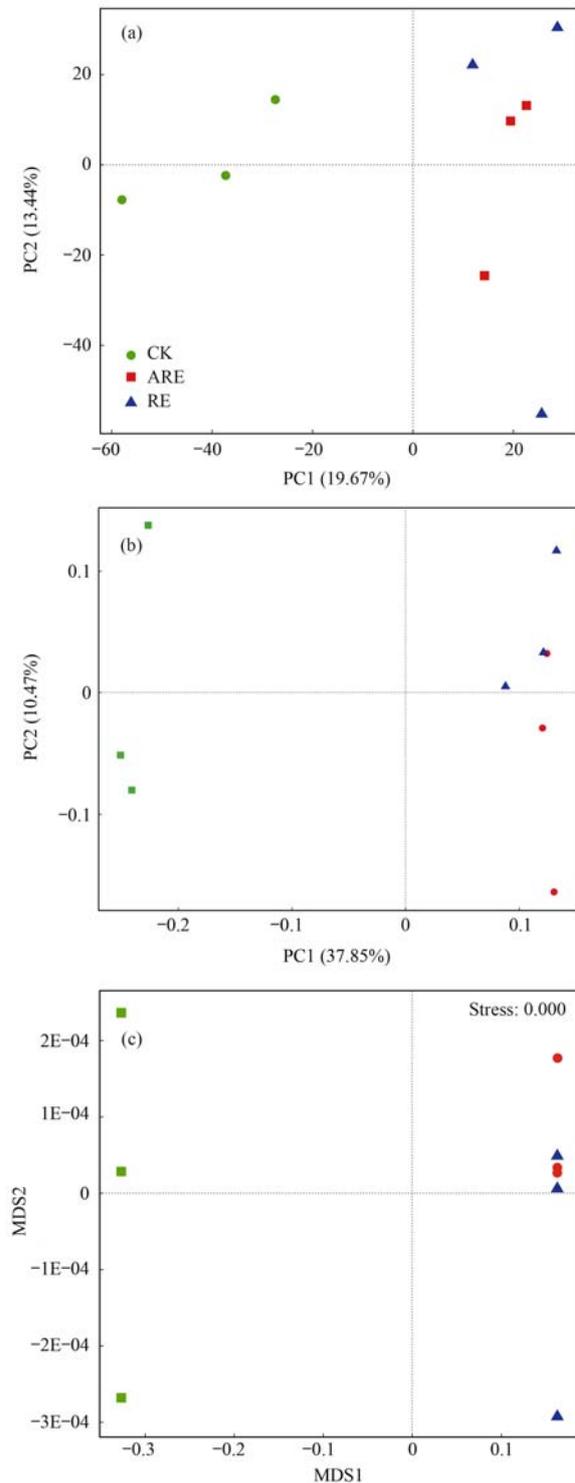
(a) 门水平; (b) 属水平

图 3 门水平和属水平上土壤细菌群落组成

Fig. 3 Composition of soil bacterial community at the phylum level and genus level

示样本间群落组成的相似性[图 4(a)]. 结果显示, CK 组样本分布在 PC1 的左轴, 而 ARE 和 RE 组分布在 PC1 的右轴, 说明 CK 组与 ARE 和 RE 组的细菌群落结构存在差异. ARE 和 RE 组的细菌群落分散于 PC2 的上下轴, 两组未成簇分开, 表明两组群落结构较为相似. 基于非加权距离和 Bray-Curtis 距离分别进行了 PCoA 和 NMDS 的分析, 结果如图 4(b) 和 4(c) 所示, 样本点分布与 PCA 结果大致相同. 以上表明, 添加 ARE 或 RE 使土壤细菌群落结构发生了改变, 但 ARE 与 RE 组的彼此细菌群落结构差异不大.

对样本进行了 ANOSIM 分析, 比较样本的组间差异和组内差异, 如图 5 所示. CK 与 ARE 或 RE 组的 R 值均大于 0, 说明组间差异显著, ARE 或 RE 处理使得细菌群落结构发生了改变. ARE 与 RE 组的 R 值小于 0, 说明组内差异大于组间差异, 佐证了



(a) 主成分分析 (PCA); (b) 主坐标分析 (PCoA); (c) 无度量多维标定法 (NMDS)

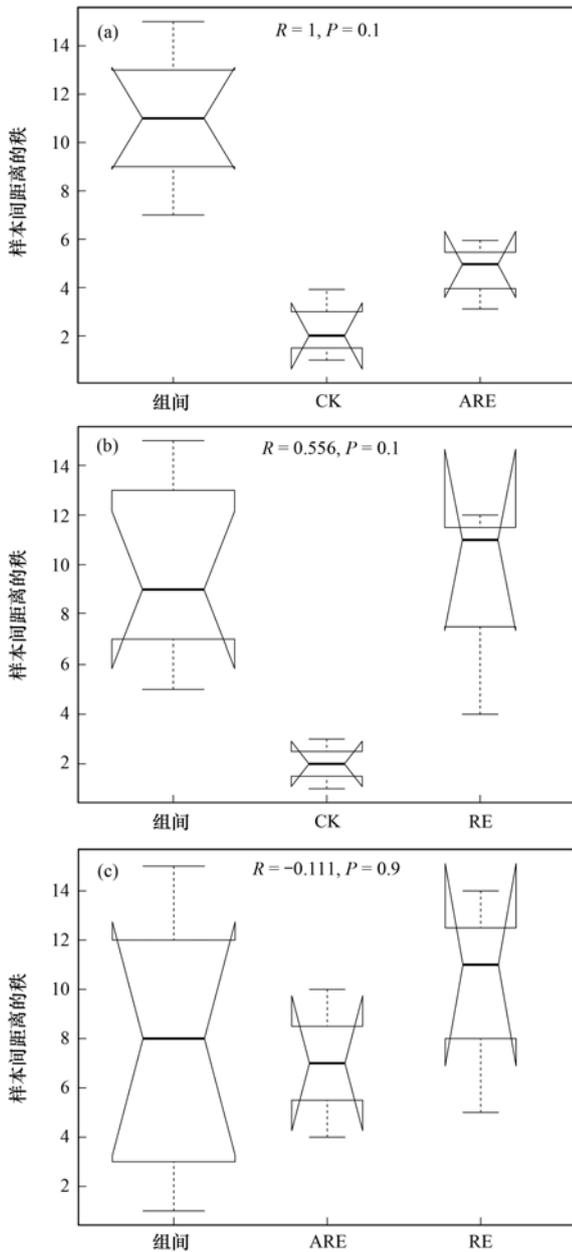
图 4 基于 OTU 信息的多样本比较分析

Fig. 4 Multivariate analysis based on OTU information

ARE 与 RE 组之间的细菌群落结构相似.

2.5 差异物种分析

采用基于线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 效应量的分析方法 (LDA effect size, LEfSe), 寻找在组间具有统计学差异的细菌物种. 图 6 展示了 CK、ARE 和 RE 组两两之间丰度差异显著



(a) ARE 组与 CK 组; (b) CK 组与 RE 组; (c) ARE 组与 RE 组

图 5 Anosim 组间差异分析

Fig. 5 Anosim analysis between groups

的物种类别. CK 与 ARE 和 RE 组分别比较时的 LDA 得分设置为大于 3, ARE 与 RE 两组比较时 LDA 得分大于 2.

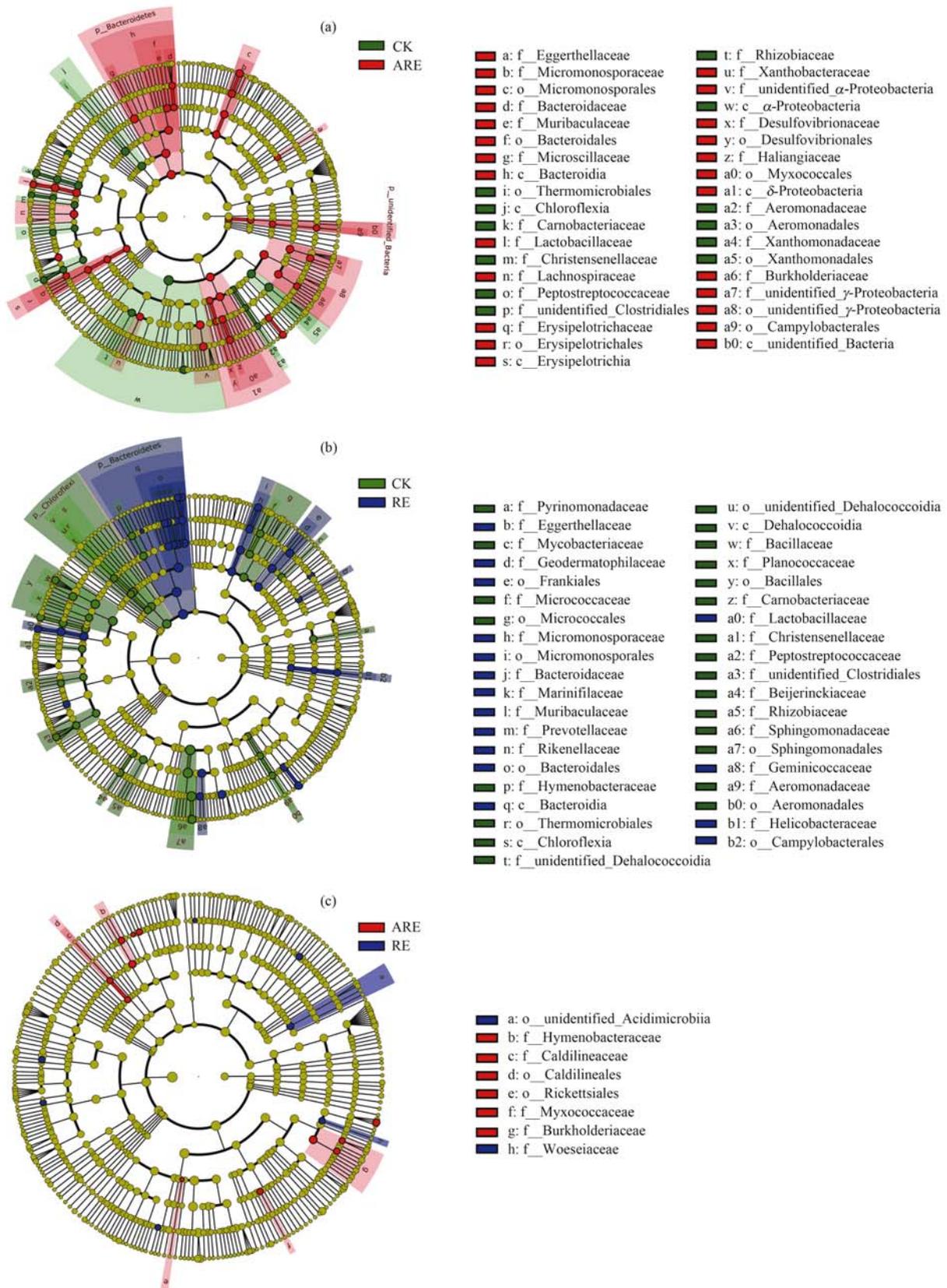
图 6(a)展示了 CK 组与 ARE 组丰度差异显著的物种类别. 两组比较共得到 37 个组间差异物种, 其中 CK 组的差异物种有 12 个, ARE 组的差异物种有 25 个. ARE 组的差异物种具体为: 纲水平上: 类杆菌纲 (Bacteroidia)、韦荣球菌纲 (Erysipelotrichia)、变形菌纲 (δ -Proteobacteria) 和 unidentified_Bacteria; 目水平上: 小单孢菌目 (Micromonosporales)、拟杆菌目 (Bacteroidales)、韦荣球菌目 (Erysipelotrichales)、脱硫弧菌目

(Desulfovibrionales)、粘球菌目 (Myxococcales)、弯曲菌目 (Campylobacterales) 和 unidentified_ γ -Proteobacteria; 科水平上: 伊格尔兹氏菌科 (Eggerthellaceae)、小单孢菌科 (Micromonosporaceae)、拟杆菌科 (Bacteroidaceae)、Muribaculaceae、微纤毛科 (Microscillaceae)、乳酸杆菌科 (Lactobacillaceae)、毛螺菌科 (Lachnospiraceae)、韦荣球菌科 (Erysipelotrichaceae)、黄色杆菌科 (Xanthobacteraceae)、unidentified_ α -Proteobacteria、脱硫弧菌科 (Desulfovibrionaceae)、哈林吉亚科 (Haliangiaceae)、伯克氏菌科 (Burkholderiaceae) 和 unidentified_ γ -Proteobacteria. 以上物种在 ARE 组的丰度均显著高于 CK 组.

在图 6(b)中可观察到, CK 组和 RE 组共存在 39 个丰度差异显著的物种类别, 其中 CK 组 23 个, RE 组有 16 个. RE 组的差异物种中有 8 个同样也是 ARE 组的差异物种, 分别为: 拟杆菌目 (Bacteroidales)、小单孢菌目 (Micromonosporales)、弯曲菌目 (Campylobacterales)、伊格尔兹氏菌科 (Eggerthellaceae)、小单孢菌科 (Micromonosporaceae)、拟杆菌科 (Bacteroidaceae)、Muribaculaceae 和乳酸杆菌科 (Lactobacillaceae); 除此之外, RE 组特有的差异物种还有拟杆菌纲 (Bacteroidia)、弗兰克氏目 (Frankiales)、地衣门菌科 (Geodermatophilaceae)、马兜铃菌科 (Marinidilaceae)、普雷沃氏菌科 (Prevotellaceae)、理研菌科 (Rikenellaceae)、Gemnicoccaceae 和螺杆菌科 (Helicobacteraceae). ARE 和 RE 组相较于 CK 组存在差异物种, 说明 ARE 和 RE 处理会影响芘污染土壤中的微生物种群, 使部分物种的丰度显著高于 CK 组. ARE 和 RE 组存在共同的差异物种说明 ARE 和 RE 处理对土壤中微生物物种的影响具有一定的相似性.

图 6(c)展示了 ARE 与 RE 两组间的丰度差异显著的物种. 两组样本共存在 8 个差异物种. 膜壳菌科 (Hymenobacteraceae)、暖绳菌科 (Caldilineaceae)、粘球菌科 (Myxococcaceae)、伯克氏菌科 (Burkholderiaceae)、暖绳菌目 (Caldilineales) 和立克次体目 (Rickettsiales) 等 6 个物种在 ARE 组的丰度显著高于 RE 组. 目水平上的 unidentified_Acidimicrobiia 和科水平上的苦参科 (Woeseiaceae) 等 2 个物种在 RE 组的丰度显著高于 ARE 组. 总体上看, ARE 与 RE 组之间的差异物种较少.

采用 LEfSe 法对 CK、ARE 和 RE 这三组同时进



(a)CK 与 ARE; (b)CK 与 RE; (c)ARE 与 RE

图 6 组间差异物种进化分支图

Fig. 6 Cladogram of discriminating bacteria between groups

行比较(LDA 得分 >3),结果如图 7 所示. 3 个处理组间丰度存在显著差异的细菌类群为 6 个. 在 CK 组中存在 4 个差异物种, 分别为肉杆菌科

(Carnobacteriaceae)、unidentified_Clostridiales 科、动球菌科(Planococcaceae)和鞘氨醇单胞菌科(Sphingomonas_sp), ARE 和 RE 处理使它们丰度显

著降低.毛螺旋菌属(*parasutterella*)在 ARE 组中的丰度最高,瘤胃梭菌属(*Ruminiclostridium*)在 RE 组中的丰度最高.

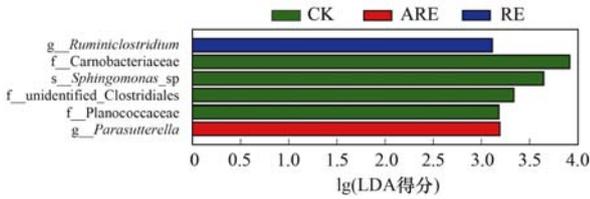


图 7 不同处理组间土壤细菌差异物种
Fig. 7 Discriminating bacteria among groups

2.6 Tax4Fun 功能预测

2.6.1 功能组成

通过功能注释 Venn 图可以考察土壤样本间的基因数目分布情况(图 8). CK、ARE 和 RE 组土壤样本共有的基因信息为 6510 个 KEGG 同源序列 (KEGG ortholog group, KO),各自特有的基因信息较少,分别为 5、2 和 1 个 KO. 3 组土壤样本在不同注释层级上最大丰度排名前 10 的基因功能信息如图 9(a)和 9(b)所示. 在第一层级(Level 1)主要有 6 类丰度较高的基因功能[图 9(a)],其相对丰度在 CK、ARE 和 RE3 组间较为相似. 按丰度从高到低依次为:新陈代谢(metabolism, 47.8%~48.3%)、遗传信息处理(genetic information processing, 21.1%~21.3%)、环境信息处理(environmental information processing, 13.1%~13.3%)、细胞过程(cellular processes, 7.7%~7.8%)、人类疾病(human diseases, 2.7%~2.8%)和生物体系统(organismal systems, 1.7%~1.8%),前 3 类功能的丰度之和超过 82.4%. 在第二层级上[Level 2,图 9(b)],丰度排名前 10 的功能信息分别是:碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)、氨基酸代谢(amino acid metabolism)、膜转运(membrane transport)、翻译(translation)、复制和修复(replication and repair)、能量代谢(energy metabolism)、脂代谢(lipid metabolism)、信号转导(signal transduction)、辅助因子和维生素代谢(metabolism of cofactors and vitamins)和核苷酸代谢(nucleotide metabolism),其总相对丰度在 3 个处理组中均为 62.4%~62.5%,这 10 类基因功能各自的占比在 3 组间也较为相似,表明添加 ARE 或 RE 没有明显改变土壤微生物群落的基因功能. 在 Level 2 丰度排名前 10 的功能信息中,代谢类功能信息有 6 个,分别是碳水化合物代谢、氨基酸代谢、能量代谢、脂代谢、辅助因子和维生素的代谢和核苷酸代谢. 这 6 类代谢类功能信息相对丰度占总体比例的 35.5%~35.9%,占 Level 1 新陈代谢功能的 74.3%,其中碳水化合物代谢

(10.5%)属于代谢中占比最高的基因功能,这与 PAHs 污染土壤中微生物可能以 PAHs 为主要碳源的代谢活动相吻合.

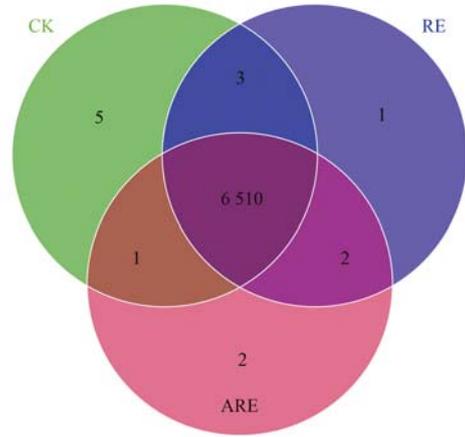
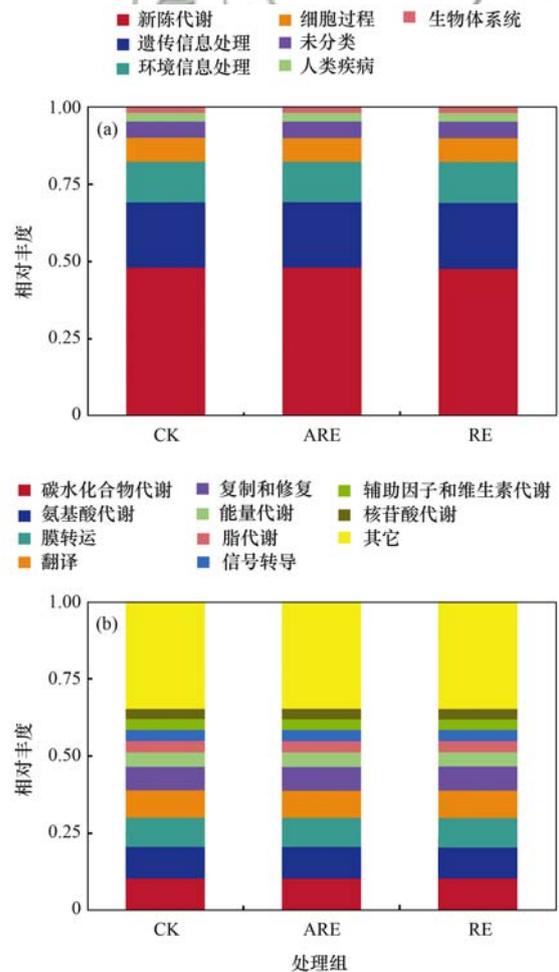


图 8 基于 Tax4Fun 功能注释的 Venn 图
Fig. 8 Venn graph based on Tax4Fun functional annotation



(a) Level 1 功能; (b) Level 2 功能
图 9 基于 Tax4Fun 功能注释的功能基因相对丰度
Fig. 9 Relative abundance of functional genes based on Tax4Fun functional annotation

2.6.2 功能差异

根据样品在数据库中的功能注释及丰度信息,

选取丰度排名前 35 的功能及它们在每组样品中的丰度信息绘制热图,并从功能差异层面进行聚类,结果如图 10 所示.在第一层级的 6 类主要基因功能中,CK 组中细胞过程 (cellular processes) 的功能基因丰度高于 ARE 和 RE 组,即向芘污染土壤加入 ARE 或 RE 后,涉及细胞过程的功能基因丰度有所降低,具体到第二层级为细胞群落原核生物 (cellular community prokaryotes) 和细胞运动 (cell

motility). 在 ARE 组中,丰度较另两组更高的基因功能在第一层级上是新陈代谢,在第二层级为转运和代谢 (transport and catabolism)、转录 (transcription) 和酶系 (enzyme families) 等.第三层级上,果糖和甘露糖代谢 (fructose and mannose metabolism) 基因丰度显著高于 CK 组,可能与 ARE 组分中含有较高浓度的果糖相关. RE 组中的遗传信息处理 (genetic information processing) 及环境信息处理 (environmental information processing) 等基因丰度在第一层级相对较高,在第二层级中免疫系统 (immune system)、内分泌及代谢疾病 (endocrine and metabolic diseases)、膜转运 (membrane transport)、基因信息处理 (genetic information processing) 和聚糖生物合成与代谢 (glycan biosynthesis and metabolism) 等较另两组更高.第三层级上,unclassified metabolism 基因丰度显著高于 CK 组,可能与 RE 组分较为复杂有关.注释为 PAHs 降解相关的功能基因 (第三层级) 在 3 个处理组之间的丰度未显示出显著差异,但在第四层级上,观察到 ARE 组和 RE 组分别有 596 和 135 个 KO 丰度与 CK 组有显著差异,ARE 组和 RE 组之间有 12 个 KO 丰度存在显著差异.在第四层级上丰度发生显著改变的功能基因,在芘的降解过程起了何种作用,有必要在今后研究中进一步探索.

2.7 芘的含量

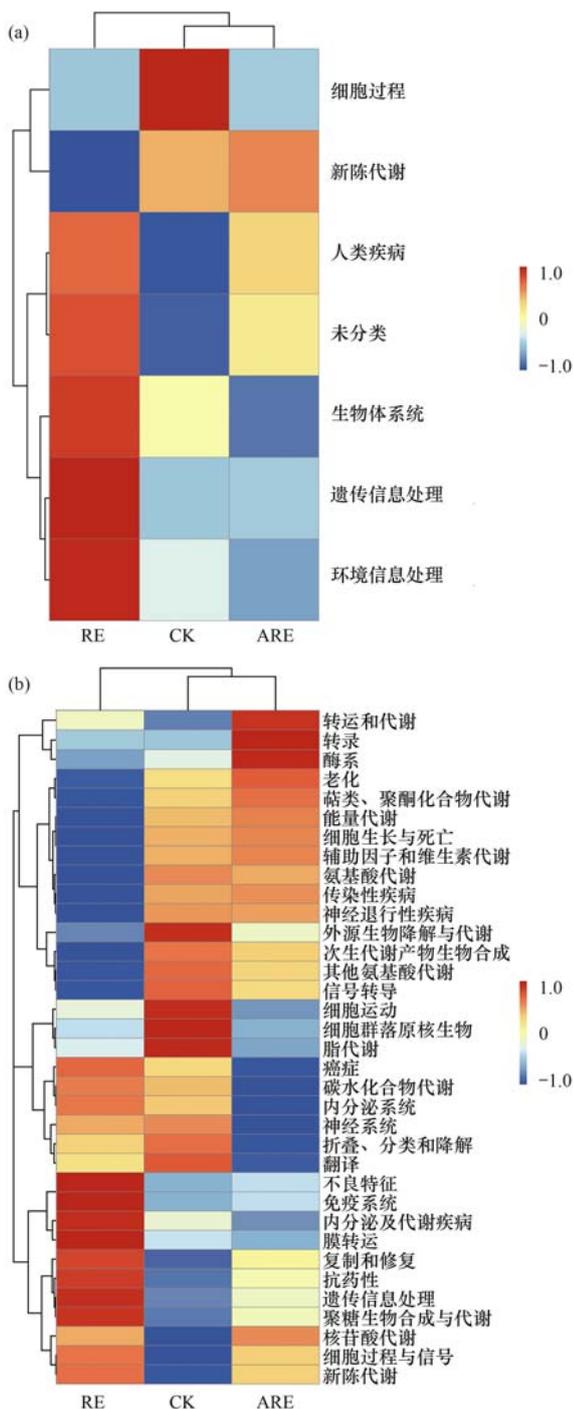
向含芘土壤中投加根系分泌物 30 d 后,ARE 和 RE 组中的 ω (芘) 分别为 $(4.2 \pm 0.2) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $(4.4 \pm 0.1) \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,比 CK 组分别降低了 14.0% 和 8.7%,ARE 的促进作用略高于 RE. 这表明添加了模拟和实际根系分泌物后不同程度地促进了土壤中的芘的去除.

3 讨论

3.1 根系分泌物对物种的影响

本实验芘污染土壤中的优势物种有变形菌门、放线菌门、厚壁菌门和拟杆菌门等,其中变形菌门的占比最大,隶属变形菌门的鞘氨醇单胞菌属在属水平上相对丰度最高.这些优势物种是较常见的 PAHs 耐受及降解物种^[24-26].

ARE 和 RE 的添加没有改变细菌群落的优势物种组成,处理前后土壤中主要优势菌门和菌属一致,但不同程度地影响了其相对丰度. ARE 和 RE 处理使变形菌门及其鞘氨醇单胞菌属的丰度有所降低,但不显著 ($P > 0.05$). 对于隶属变形菌门的伯克氏菌科添加根系分泌物则有不同表现,ARE 处理使其丰度显著提高 ($P < 0.05$). 伯克氏菌可产生邻苯二



(a) Level 1 水平; (b) Level 2 水平

图 10 土壤细菌基因功能多样性聚类热图

Fig. 10 Heatmap of bacterial functional diversity

酚 2,3-双加氧酶使芳香族化合物开环裂解,对芳香族化合物具有高效降解效果^[27],ARE 的存在促进了其对芘的共代谢. 拟杆菌门和拟杆菌纲经 ARE 和 RE 处理后丰度增加,但未达到显著程度($P > 0.05$),其下的拟杆菌目和拟杆菌科的相对丰度则增加显著($P < 0.05$),是 ARE 和 RE 组相较 CK 组的差异物种.

ARE 和 RE 组与 CK 组比较,有 8 个区别于 CK 组的共同差异物种. 这 8 个物种中,拟杆菌目和拟杆菌科属于拟杆菌门,小单孢菌目、小单孢菌科和伊格尔兹氏菌科属于放线菌门,弯曲菌目隶属于变形菌门,乳酸杆菌科属于厚壁菌门,均为 PAHs 降解优势菌. 它们在根系分泌物加入后相对丰度得到了显著提高,说明根系分泌物的添加选择性地促进了 PAHs 降解菌的生长. 同时比较 3 个处理组,ARE 组和 RE 组的标志物种分别是隶属变形菌门的毛螺旋菌属和隶属厚壁菌门的瘤胃梭菌属.

3.2 根系分泌物对细菌群落的影响

添加 ARE 和 RE 对芘污染土壤中细菌群落的丰富度和多样性指数有一定影响,但不显著($P > 0.05$),说明 ARE 和 RE 的添加未显著改变土壤细菌群落的 α 多样性. 降维分析结果表明,ARE 或 RE 组改变了土壤细菌群落的 β 多样性,即添加 ARE 或 RE 改变了芘污染土壤中的细菌群落结构,ARE 与 RE 组彼此间群落结构较接近.

ARE 和 RE 的添加没有改变细菌群落的优势物种组成,但改变了土壤细菌群落结构,其中的原因值得探究. β 降维分析查看的是总体情况,会展示整体的样本群落组成,优势物种在处理前后变化不大,可能低丰度物种发生了较大的变化. 差异物种分析结果显示,CK 组与 ARE 组共存在 37 个丰度差异显著的物种. 将这些物种与各分类学水平上的优势物种(TOP10)进行比对,其中 12 个为优势物种,25 个为低丰度物种. CK 组与 RE 组共存在 39 个丰度差异显著的物种,其中 9 个高丰度物种,30 个低丰度物种. 以上结果佐证了土壤细菌群落结构的改变与低丰度物种的较大变化有关.

目前关于根系分泌物及其组分对 PAHs 污染土壤中细菌群落多样性影响的报道较少. Wang 等^[28]的研究发现,根系分泌物中两种常见脂肪酸的衍生物棕榈酸钠和亚油酸钠使老化 PAHs 污染土壤中 α 多样性指数显著降低,且使细菌群落结构发生了显著变化. 王蛟龙等^[29]研究了根系分泌物中的低分子有机酸对非污染土壤中细菌群落的影响,发现了类似结果. Guo 等^[30]研究了玉米和大豆的根系分泌物对土壤微生物群落的影响,发现添加根系分泌物使

多样性指数有所增加,且添加初期的多样性指数高于后期;同时观察到根系分泌物对 PAHs 的降解有促进效应,该效应也在添加初期最为显著,后期减弱,认为根系分泌物可能随时间被消耗掉了. Li 等^[15]的研究则表明黑麦草根分泌物存在未影响土壤中菲的去除率,但显著增加了总细菌的丰度,改变了总细菌群落及菲降解细菌群落的组成和结构.

本研究中,ARE 和 RE 的存在不同程度地促进了土壤中芘的去除,这与其对土壤微生物物种及群落结构的影响有关. 有研究表明污染物的降解较多地依赖于具有特定功能的分类群^[31,32]. 根系分泌物的添加选择性促进了 PAHs 降解菌的生长,显著提高了其相对丰度. Tax4Fun 功能预测显示,ARE 组和 RE 组分别有 596 和 135 个 KO 丰度与 CK 组相比发生了显著改变. 因此推断,根系分泌物的添加促进了 PAHs 降解菌的生长,改变了部分功能基因的相对丰度,增强了芘的降解效率,进而降低了土壤中芘的含量.

4 结论

(1) 根系分泌物未明显改变芘污染土壤细菌群落的组成,处理前后土壤中主要优势菌门和菌属一致. 然而,根系分泌物使得优势物种的相对丰度发生了不同程度地变化,并产生了差异物种. 2 个根系分泌物组相较于对照组的共同差异物种均为 PAHs 降解优势菌,根系分泌物的添加选择性地促进了 PAHs 降解菌的生长.

(2) 根系分泌物对芘污染土壤细菌群落的丰富度和多样性影响不大,对群落结构的影响较为显著,归因于低丰度物种的较大变化. 模拟根系分泌物和黑麦草实际根系分泌物两个处理组之间的群落结构较为相近.

(3) 根系分泌物对土壤中芘的去除有促进作用,源于 PAHs 降解菌相对丰度的提高,部分相关功能基因的丰度得以增加,从而提高了芘的降解效率,降低了芘的含量. 根系分泌物影响下丰度发生显著变化的功能基因在芘降解中发挥的作用需要进一步探究.

参考文献:

- [1] Fu X W, Li T Y, Ji L, *et al.* Occurrence, sources and health risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils around oil wells in the border regions between oil fields and suburbs [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, **157**: 276-284.
 - [2] 吴志远, 张丽娜, 夏天翔, 等. 基于土壤重金属及 PAHs 来源的人体健康风险定量评价: 以北京某工业污染场地为例 [J]. *环境科学*, 2020, **41**(9): 4180-4196.
- Wu Z Y, Zhang L N, Xia T X, *et al.* Quantitative assessment of

- human health risks based on soil heavy metals and PAHs sources: take a polluted industrial site of Beijing as an example [J]. *Environmental Science*, 2020, **41**(9): 4180-4196.
- [3] Alegbeleye O O, Opeolu B O, Jackson V A. Polycyclic aromatic hydrocarbons: a critical review of environmental occurrence and bioremediation[J]. *Environmental Management*, 2017, **60**(4): 758-783.
- [4] Han J, Liang Y S, Zhao B, *et al.* Polycyclic aromatic hydrocarbon (PAHs) geographical distribution in China and their source, risk assessment analysis [J]. *Environmental Pollution*, 2019, **251**: 312-327.
- [5] Kuppasamy S, Thavamani P, Venkateswarlu K, *et al.* Remediation approaches for polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) contaminated soils; technological constraints, emerging trends and future directions[J]. *Chemosphere*, 2017, **168**: 944-968.
- [6] Wei Z H, Van Le Q, Peng W X, *et al.* A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, **403**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123658.
- [7] Liao Q H, Liu H, Lu C, *et al.* Root exudates enhance the PAH degradation and degrading gene abundance in soils [J]. *Science of the Total Environment*, 2021, **764**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144436.
- [8] Lu H N, Sun J T, Zhu L Z. The role of artificial root exudate components in facilitating the degradation of pyrene in soil [J]. *Scientific Reports*, 2017, **7**(1): 7130.
- [9] 潘声旺, 袁馨, 刘灿, 等. 芘胁迫对 5 种羊茅属植物根系分泌的几类低分子量有机物的影响 [J]. *环境科学*, 2016, **37**(6): 2368-2375.
- Pan S W, Yuan X, Liu C, *et al.* Effects of pyrene on low molecule weight organic compounds in the root exudates of five species of *Festuca* [J]. *Environmental Science*, 2016, **37**(6): 2368-2375.
- [10] Sasse J, Martinofa E, Northen T. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome? [J]. *Trends in Plant Science*, 2018, **23**(1): 25-41.
- [11] Chiniquy D, Barnes E M, Zhou J L, *et al.* Microbial community field surveys reveal abundant *Pseudomonas* population in sorghum rhizosphere composed of many closely related phylotypes [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, **12**, doi: 10.3389/fmicb.2021.598180.
- [12] Lapie C, Sterckeman T, Paris C, *et al.* Impact of phenanthrene on primary metabolite profiling in root exudates and maize mucilage [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, **27**(3): 3124-3142.
- [13] Miao R H, Guo M X, Zhao X Y, *et al.* Response of soil bacterial communities to polycyclic aromatic hydrocarbons during the phyto-microbial remediation of a contaminated soil [J]. *Chemosphere*, 2020, **261**, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.127779.
- [14] Jiao S, Li Q P, Zai X Y, *et al.* Complexity of bacterial communities within the rhizospheres of legumes drives phenanthrene degradation [J]. *Geoderma*, 2019, **353**: 1-10.
- [15] Li J B, Luo C L, Zhang D Y, *et al.* Diversity of the active phenanthrene degraders in PAH-polluted soil is shaped by ryegrass rhizosphere and root exudates [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, **128**: 100-110.
- [16] Guo M X, Gong Z Q, Miao R H, *et al.* Microbial mechanisms controlling the rhizosphere effect of ryegrass on degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in an aged-contaminated agricultural soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, **113**: 130-142.
- [17] Jiang L F, Luo C L, Zhang D Y, *et al.* Shifts in a phenanthrene-degrading microbial community are driven by carbohydrate metabolism selection in a ryegrass rhizosphere [J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, **55**(2): 962-973.
- [18] Joner E J, Corgié S C, Amellal N, *et al.* Nutritional constraints to degradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in a simulated rhizosphere [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, **34**(6): 859-864.
- [19] Brandt K K, Sjøholm O R, Krogh K A, *et al.* Increased pollution-induced bacterial community tolerance to sulfadiazine in soil hotspots amended with artificial root exudates [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, **43**(8): 2963-2968.
- [20] 胡芳雨, 孟凡波, 张闻, 等. 黑麦草根分泌物氨基酸组分对 PAHs 胁迫的响应 [J]. *农业环境科学学报*, 2020, **39**(9): 1937-1945.
- Hu F Y, Meng F B, Zhang W, *et al.* Response of amino acids in ryegrass root exudates to polycyclic aromatic hydrocarbon stress [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, **39**(9): 1937-1945.
- [21] Gou Y L, Yang S C, Cheng Y J, *et al.* Enhanced anaerobic biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in aged soil pretreated by hydrogen peroxide [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2019, **356**: 524-533.
- [22] Košnář Z, Částíková T, Wiesnerová L, *et al.* Comparing the removal of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil after different bioremediation approaches in relation to the extracellular enzyme activities [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2019, **76**: 249-258.
- [23] 刘晓华, 魏天兴. 高通量测序分析黄土高原退耕还林区土壤细菌群落特征 [J]. *环境科学*, 2021, **42**(9): 4489-4499.
- Liu X H, Wei T X. High throughput sequencing analysis of soil bacterial community characteristics in areas under grain for green project in the Loess Plateau [J]. *Environmental Science*, 2021, **42**(9): 4489-4499.
- [24] 冯琦. PAHs 污染对农田土壤微生物群落组成的影响 [D]. 大连: 大连理工大学, 2019.
- Feng Q. Effects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) pollution on microbial community composition in farmland [D]. Dalian: Dalian University of Technology, 2019.
- [25] 唐涛涛, 李江, 杨钊, 等. 多环芳烃生物降解及转化途径的研究进展 [J]. *石油学报 (石油加工)*, 2019, **35**(2): 403-413.
- Tang T T, Li J, Yang Z, *et al.* Research progress on biodegradation and transformation pathways of polycyclic aromatic hydrocarbons [J]. *Acta Petrolei Sinica (Petroleum Processing Section)*, 2019, **35**(2): 403-413.
- [26] Koshlaf E, Shahsavari E, Halezur N, *et al.* Effect of biostimulation on the distribution and composition of the microbial community of a polycyclic aromatic hydrocarbon-contaminated landfill soil during bioremediation [J]. *Geoderma*, 2019, **338**: 216-225.
- [27] Morya R, Salvachúa D, Thakur I S. *Burkholderia*: an untapped but promising bacterial genus for the conversion of aromatic compounds [J]. *Trends in Biotechnology*, 2020, **38**(9): 963-975.
- [28] Wang Q L, Hou J Y, Yuan J, *et al.* Evaluation of fatty acid derivatives in the remediation of aged PAH-contaminated soil and microbial community and degradation gene response [J].

- Chemosphere, 2020, **248**, doi: 10.1016/j.chemosphere.2020.125983.
- [29] 王蛟龙, 谌小勇, 闫文德. 低分子有机酸对土壤中非降解及细菌群落结构的影响[J]. 生态学报, 2019, **39**(19): 7179-7188.
Wang J L, Chen X Y, Yan W D. Effects of low-molecular-weight organic acids on the degradation of phenanthrene and bacterial community structure in soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, **39**(19): 7179-7188.
- [30] Guo M X, Gong Z Q, Miao R H, *et al.* The influence of root exudates of maize and soybean on polycyclic aromatic hydrocarbons degradation and soil bacterial community structure [J]. Ecological Engineering, 2017, **99**: 22-30.
- [31] Kumar A, Singh V K, Singh P, *et al.* Microbe mediated remediation of environmental contaminants [M]. Duxford: Woodhead Publishing, 2021.
- [32] Yu X M, Shen T, Kang X, *et al.* Long-term phytoremediation using the symbiotic *Pongamia pinnata* reshaped soil micro-ecological environment [J]. Science of the Total Environment, 2021, **774**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145112.

环 境 科 学

CONTENTS

A Comparative Study of Soil Environmental Standards for Agricultural Land Among Different Countries and Its Implication for China	LI Xu-zhi, JIANG Rong, WANG Guo-qing, <i>et al.</i>	(577)
Evaluation Parameters and System for Reclaimed Water Quality Stability	ZHANG Xin-yi, WEI Dong-bin, DU Yu-guo	(586)
Distribution Characteristics and Sources of Heavy Metals in Atmospheric Deposition During Heating and Non-heating Period in Lanzhou	HUANG Wen, WANG Sheng-li	(597)
PM _{2.5} Source Apportionment Based on a Variety of New Receptor Models	WANG Zhen-yu, LI Yong-bin, GUO Ling, <i>et al.</i>	(608)
Characteristics and Source Analysis of Water-soluble Inorganic Pollution in PM _{2.5} During Summer in Central China	SU Ye-wang, LIU Wei-jie, MAO Yao, <i>et al.</i>	(619)
Pollution Characteristics of Water-soluble Ions in PM _{2.5} During the Lantern Festival of 2021 in Zibo City	CHEN Qiao, WU Li-ping, XU Bo, <i>et al.</i>	(629)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of Perfluorinated Compounds in PM _{2.5} in Zhejiang Province	LI Bing-jie, CHEN Jin-yuan, LIU Zheng-zheng, <i>et al.</i>	(639)
Impact of Meteorological Conditions on PM _{2.5} in Jiangsu Province from 2001 to 2019	PAN Chen, KANG Zhi-ming	(649)
Comparison and Analysis of PM _{2.5} Forecast in Key Areas Based on the Neural Network Model and Numerical Model	GAO Yu-xiao, WANG Wei, HUANG Yong-hai, <i>et al.</i>	(663)
Temporal and Spatial Variations in Ozone and Its Causes over Hainan Province from 2015 to 2020	FU Chuan-bo, XU Wen-shuai, DAN Li, <i>et al.</i>	(675)
Ozone Formation and Key VOCs of a Continuous Summertime O ₃ Pollution Event in Ji'nan	SUN Xiao-yan, ZHAO Min, SHEN Heng-qing, <i>et al.</i>	(686)
Pollution Characteristic and Control Factor Analysis of Atmospheric Ozone During Summer Typical Periods in Linyi, Shandong	YANG Xue, AN Xin-yue, LIU Yu-qi, <i>et al.</i>	(696)
Improved Performance of PMF Source Apportionment for Volatile Organic Compounds Based on Classification of VOCs' Aging Degree in Air Mass	ZHU Yu-fan, CHEN Qiang, LIU Xiao, <i>et al.</i>	(707)
Spatial Distribution Characteristics of VOCs and Its Impact on Ozone Formation Potential in Rizhao City in Summer	YAO Wei-jie, WANG Da-wei, XIE Fu-ying, <i>et al.</i>	(714)
Long-term Trends and Sources of Atmospheric Halocarbons at Mount Taishan, Northern China	ZHAO Feng, CHEN Tian-shu, DONG Can, <i>et al.</i>	(723)
Emission Characteristics of VOCs and <i>n</i> -alkanes from Diesel Forklifts	ZHOU Wen-qin, LI Cheng, LIU Jun-wen, <i>et al.</i>	(735)
Driving Mechanism of the Spatiotemporal Evolution of Vegetation in the Yellow River Basin from 2000 to 2020	TIAN Zhi-hui, REN Zu-guang, WEI Hai-tao	(743)
Effects of Land Use on Riverine Dissolved Inorganic Carbon (DIC) and $\delta^{13}\text{C}_{\text{DIC}}$ in a Karst River Basin, Southwestern China	XU Sen, LI Si-liang, ZHONG Jun	(752)
Effects of Biochar Addition on Soil Nitrogen Mineralization and Leaching Characteristics in Riparian Zone of Taihu Lake	XIONG Yu-ting, YUAN Xu-yin, ZHOU Hui-hua, <i>et al.</i>	(762)
Impacts of Riparian Buffer Zone Type on Reduction in Runoff Pollution in the North Canal River Under Different Rainfall Events	ZHU Li-ying, ZHAO Kai, ZHANG Jun-ya, <i>et al.</i>	(770)
Pollution Characterization and Comprehensive Water Quality Assessment of Rain-source River: A Case Study of the Longgang River in Shenzhen	BI Ye-liang, WANG Hua-cai, XIA Bing, <i>et al.</i>	(782)
Temporal and Spatial Distribution Characteristics and Source Apportionment of Runoff Pollution in Langfang City	PAN Xin-rong, ZUO Jian-e, ZHANG Yu, <i>et al.</i>	(795)
Analysis on Diversity of Plankton Microbial Community in the Beijing-Tianjin-Hebei Section of the North Canal River	GUO Zhi-zhi, SU Zhen-hua, DI Yan-ming, <i>et al.</i>	(803)
Temporal and Spatial Distribution Characteristics and Driving Factors of Denitrification Bacterial Community Structure from Landscape Water in Hebei Province: Taking Shijiazhuang as Example	CHEN Zhao-ying, ZHANG Zi-wei, ZHANG Tian-na, <i>et al.</i>	(813)
Source and Optical Dynamics of Chromophoric Dissolved Organic Matter in the Watershed of Lake Qinghai	YU Xiao-qin, MENG Xian-qiang, WU Hua-wu, <i>et al.</i>	(826)
Influences of Hydrological Scenarios on the Bioavailability, Fate, and Balance of Chromophoric Dissolved Organic Matter in Lake Poyang	GUO Yan-ni, YAO Xiao-long, CHEN Hui-min, <i>et al.</i>	(837)
Spectral Characteristics of Dissolved Organic Matter in Sediments from Poyang Lake	LUO Yan-qing, WAN Zhi-wei, YAN Cai-xia, <i>et al.</i>	(847)
Pollution and Potential Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Surface Sediments of Tangxun Lake	LI Xing-yu, LI Peng, SU Ye-wang, SHI Ming-ming, <i>et al.</i>	(859)
Identifying Relationship Between Nutrient Contents in Road-Deposited Sediment and Urban Basic Elements Based on Kernel Density Estimation	WANG Zi-qiao, LI Xu-yong	(867)
Pollution Characteristics and Risk Assessment of DBPs in Typical Drinking Water Sources in Wuhan Under the COVID-19 Pandemic	ZHANG Kun-feng, CHANG Sheng, TU Xiang, <i>et al.</i>	(878)
Synergistic Control of Nitrogenous Disinfection By-products and Opportunistic Pathogens in Drinking Water by Iron-Modified Quartz Sand Filtration	QI Peng, HU Chun, XING Xue-ci, <i>et al.</i>	(887)
Degradation Characteristics and Mechanism of Ibuprofen by Ozone Catalyzed by Nitrogen-Doped Biochar	CHAI Cheng, XU Lu, JIN Xin, <i>et al.</i>	(896)
Adsorption Properties and Host-guest Effects of Porous Cyclodextrin Polymers for Dye Molecules in Water	ZHAO Chuan-liang, WANG Zi-jie, YAN Yi, <i>et al.</i>	(907)
Characterization of Sludge Morphology and Bacterial Community Evolution in the Rapid Activation of Freeze-stored PV/A Granular Sludge	HUANG Zi-heng, ZHANG Li, CUI Shu-hui, <i>et al.</i>	(920)
Effect of Different Cationic Polyacrylamide Organic Dehydrating Agents on Sludge Dewatering Performance	FENG Qi-yun, GAO Bao-yu, YUE Qin-yan, <i>et al.</i>	(928)
Health Risk Assessment of Soil Heavy Metals in a Small Watershed of a Mining Area in Yunnan	LIU Yang, HE Zhao-hui, NIU Xue-kui, <i>et al.</i>	(936)
Spatial Characteristics and Potential Ecological Risk Factors of Heavy Metals in Cultivated Land in the Transition Zone of a Mountain Plain	ZHANG Ding, HUANG Rong, GAO Xue-song	(946)
Geo-accumulation Index Method to Optimize the Evaluation Method of Polymetallic Environment Quality: Taking Developed Agricultural Areas as an Example	JU Tie-nan, LEI Mei	(957)
Safety Production Threshold and Land Quality Classification of Vegetable Pb in High Geological Background Area of Southwest China	MU De-miao, SUN Yue-bing	(965)
Pollution Properties and Ecological Risk Assessment of Heavy Metals in Farmland Soils and Crops Around a Typical Manganese Mining Area	HUANG Zhong-ting, YI Sheng-wei, CHEN Bei-bei, <i>et al.</i>	(975)
Characteristics of Plant Diversity and Heavy Metal Enrichment and Migration Under Different Ecological Restoration Modes in Abandoned Mining Areas	ZHOU Peng-fei, ZHANG Shi-wen, LUO Ming, <i>et al.</i>	(985)
Soil Properties, Heavy Metal Accumulation, and Ecological Risk in Vegetable Greenhouses of Different Planting Years	REN Qiang, SUN Rui-ling, ZHENG Kai-xuan, <i>et al.</i>	(995)
Effects of Greenhouse and Open-field Cultivation on Heavy Metal Uptake During Carrot Growth	CAO Chun, REN Dan, LÜ Zhen-ying, <i>et al.</i>	(1004)
Effects of Different Amendments on Cadmium Accumulation in Rice Safety in Cadmium-Contaminated Farmland Under Two Flooding Treatments	WANG Gang, YU Hai-ying, LI Ting-xuan, <i>et al.</i>	(1015)
Effect of Composite Leaching on Cadmium Removal Efficiency in Plow Layer Soil of Agricultural Land and Its Functional Regulation	CAO Kun-kun, ZHANG Sha-sha, HU Xue-yu, <i>et al.</i>	(1023)
Polyamine-producing Bacteria Regulated the Community Structure of Rhizosphere Bacteria and Reduced the Absorption of Cd in Wheat	LI Xiao-zhe, QIN Shan-mei, CHEN Zhao-jin, <i>et al.</i>	(1031)
Responses of Soil <i>PhoC</i> and <i>PhoD</i> Gene Microbial Communities to the Combined Application of Biochar with Chemical Fertilizers and Organic Fertilizers	YANG Wen-na, YU Luo, LUO Dong-hai, <i>et al.</i>	(1040)
Changes in Soil Microbial Carbon-Degrading Enzymes and Their Relationships with Carbon Pool Components During the Restoration Process of <i>Robinia pseudoacacia</i>	LI Wen-jie, ZHANG Zhen-jiao, ZHAO Ya-ping, <i>et al.</i>	(1050)
Soil Enzyme Stoichiometric Characteristics of <i>Pinus massoniana</i> Plantations at Different Stand Ages in Mid-subtropical Areas	JIAO Peng-yu, GUO Wen, CHEN Ze-long, <i>et al.</i>	(1059)
Characteristics of Microbial Utilization for Crop Residue-Derived C in Paddy and Upland Soils	DENG Shao-hong, ZHENG Xiao-dong, MAO Wan-qiong, <i>et al.</i>	(1069)
Influence of Artificial Root Exudates and Actual Root Exudates on the Microbial Community in Pyrene-contaminated Soil	HAN Bo-yuan, ZHANG Wen, HU Fang-yu, <i>et al.</i>	(1077)
Pollution Characteristics and Driving Factors of Antibiotic Resistance Genes in Dexing Copper Mine	HAN Liu, LOU Qian, QIAO Min, <i>et al.</i>	(1089)
Spatial Prediction Method of Farmland Soil Organic Matter in Weibei Dryland of Shaanxi Province	WEI Fang, LIU Jing, XIA Li-heng, <i>et al.</i>	(1097)
Emission Characteristics, Transformation Mechanism, and Reduction Potential of Ammonia Emissions from a Crop Rotation System in Yangtze River Delta	XU Chang, MIAO Wen-liang, NI Yuan-zhi, <i>et al.</i>	(1108)