

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第34卷 第10期

Vol.34 No.10

2013

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

南京地区大气气溶胶 PM _{2.5} 中稳定碳同位素组成研究	吴梦龙, 郭照冰, 刘凤玲, 孙德玲, 卢霞, 姜文娟 (3727)
太原市空气颗粒物中正构烷烃分布特征及来源解析	胡冬梅, 彭林, 白慧玲, 牟玲, 韩峰, 刘效峰, 冀豪栋, 张鹏九 (3733)
交通与气象因子对不同粒径大气颗粒物的影响机制研究	罗娜娜, 赵文吉, 晏星, 官兆宁, 熊秋林 (3741)
公交车燃用生物柴油的颗粒物排放特性	楼狄明, 陈峰, 胡志远, 谭丕强, 胡炜 (3749)
兰州及其周边区域大气降水 δ ¹⁸ O 特征及其水汽来源	陈粉丽, 张明军, 马潜, 李小飞, 王圣杰, 李菲 (3755)
天山乌鲁木齐河源 1 号冰川区气溶胶水溶性离子变化特征及来源分析	岳晓英, 李忠勤, 张明军, 周平, 樊晋 (3764)
O ₃ /H ₂ O ₂ 氧化苯乙烯气体性能及机制	何觉聪, 黄倩茹, 叶杞宏, 罗雨薇, 张再利, 樊青娟, 魏在山 (3772)
马尾松针叶组织稳定硫同位素地球化学特征及来源示踪	关晖, 肖化云, 朱仁果, 郑能建, 瞿玲露 (3777)
江西省表层土壤和苔藓硫含量及硫同位素组成对比研究	李男, 肖化云, 陈永忠, 周丹, 罗笠, 吴代敏 (3782)
辽河流域非点源污染空间特征遥感解析	王雪蕾, 蔡明勇, 钟部卿, 姚延娟, 殷守敬, 吴迪 (3788)
景观带尺度高寒区水文特征时空变化规律研究	杨永刚, 胡晋飞, 肖洪浪, 邹松兵, 尹振良 (3797)
金普湾海域表层沉积物中基质结合态磷化氢的分布特征	游丽丽, 宗海波, 张淑芳, 尹国宇, 李涛, 侯立军 (3804)
崇明东滩湿地干湿交替过程脲酶活性变化初探	韩建刚, 曹雪 (3810)
FDA 水解酶分析法表征近海泥滩微生物活性	刘叶, 邹立, 刘陆, 高冬梅 (3818)
中国东北主要河流沉积物中多溴二苯醚的含量状况及生态风险分析	袁海峰, 成杭新, 赵传冬, 刘应汉, 杨柯, 李括, 彭敏, 刘飞 (3825)
深圳大鹏湾海域表层沉积物和生物体中多环芳烃残留及其风险评价	孙闰霞, 柯常亮, 谷阳光, 卢腾腾, 杜飞雁, 马胜伟, 林钦 (3832)
PMF 和 PCA/MLR 法解析上海市高架道路地表径流中多环芳烃的来源	边璐, 李田, 侯娟 (3840)
三峡库区蓄水初期大宁河重金属食物链放大特征研究	余杨, 王雨春, 周怀东, 高博, 赵高峰 (3847)
小型封闭水体环境因子与叶绿素 a 的时空分布及相关性研究	李飞鹏, 张海平, 陈玲 (3854)
太湖氮、磷自净能力的实验与模型模拟	韩涛, 翟淑华, 胡维平, 张红举, 李钦钦 (3862)
湖泊疏浚方式对内源释放影响的模拟研究	陈超, 钟继承, 范成新, 孔明, 余居华 (3872)
水体/底泥生物基城市河道富营养化水体修复试验研究	周慧华, 宋晓光, 吴革, 谢鑫源 (3879)
底泥调控剂对感潮河涌沉积物中重金属的影响	区凤荏, 孙国萍, 许玫英 (3888)
区域水化学条件对淮南采煤沉陷区水域沉积物磷吸附特征的影响研究	易齐涛, 孙鹏飞, 谢凯, 曲喜杰, 王婷婷 (3894)
4 种人工湿地填料的 f2 噬菌体吸附特性	陈迪, 郑祥, 魏源送, 杨勇 (3904)
稻壳灰对抗生素磺胺的吸附特性研究	纪莹雪, 王凤贺, 张帆, 张艳红, 王国祥, 顾中铸 (3912)
紫外辐射对腐殖酸化学稳定性影响机制研究	王文东, 周礼川, 丁真真, 王洪平, 孙学军 (3921)
基于石墨烯载体的铁基材料制备及除砷性能比较	朝木尔乐格, 冯流, 霍艳霞 (3927)
nTiO ₂ 在水中的分散沉降行为研究	陈金媛, 方金凤, 魏秀珍 (3933)
微生物-铁氧化物交互作用对黄土中砷活化迁移的影响	谢芸芸, 陈天虎, 周跃飞, 谢巧勤 (3940)
两性离子在聚偏氟乙烯 (PVDF) 膜表面接枝改性的研究	周桂花, 肖峰, 肖萍, 王东升, 段晋明, 石健, 臧莉 (3945)
化粪池排口处土壤对典型农户生活污水氮素污染物的消减测算研究	周锋, 王文林, 王国祥, 马久远, 万寅婧, 唐晓燕, 梁斌, 季斌 (3954)
珠江三角洲典型集约化猪场废水污染特征及风险评价	李文英, 彭智平, 于俊红, 黄继川, 徐培智, 杨少海 (3963)
污泥堆肥草坪基质利用对草坪生长及土壤和水环境的影响	金树权, 周金波, 陈若霞, 林斌, 王德耀 (3969)
活性污泥絮体粒径分布与分形维数的影响因素	李振亮, 张代钧, 卢培利, 曾善文, 杨永浩 (3975)
不同恢复方式对硝化颗粒污泥活性的影响	郭秀丽, 高大文, 卢健聪 (3981)
生物陶粒反应器的氨自养反硝化研究	陈丹, 王弘宇, 宋敏, 杨开, 刘晨 (3986)
亚高山草甸土壤呼吸的空间异质性研究	严俊霞, 李君剑, 李洪建, 张义辉 (3992)
SiB3 模式对作物区 CO ₂ 通量的模拟研究	张庚军, 卢立新, 蒋玲梅, 蒋磊, Ian Baker (4000)
缙云山土地利用方式对土壤活性有机质及其碳库管理指数的影响	徐鹏, 江长胜, 郝庆菊, 祝滔 (4009)
典型农业城市街道灰尘重金属特征及其环境风险评价: 以许昌市为例	闫慧, 陈杰, 肖军 (4017)
苏州、无锡和南通道路灰尘中的多溴联苯醚和多氯联苯	史双昕, 董亮, 李玲玲, 张辉, 李斯明, 张天野, 黄业茹 (4024)
废旧汽车拆解区土壤中多环芳烃垂向分布特性	吴彦瑜, 胡小英, 洪鸿加, 彭晓春 (4031)
铬污染土壤的稳定化处理及其长期稳定性研究	王旌, 罗启仕, 张长波, 谈亮, 李旭 (4036)
典型磺胺类抗生素在土柱中的淋溶规律研究	李曼, 陈卫平, 魏福祥, 焦文涛 (4042)
3 种金属氧化物纳米材料在不同土壤中迁移行为研究	方婧, 余博阳 (4050)
多孔介质中 NAPLs 流体毛细管指进形态及分形表征	李慧颖, 杜晓明, 杨宾, 伍斌, 徐竹, 史怡, 房吉敦, 李发生 (4058)
毛竹入侵对常绿阔叶林主要树种的化感作用研究	白尚斌, 周国模, 王懿祥, 梁倩倩, 陈娟, 程艳艳, 沈蕊 (4066)
珠江口典型水产养殖区抗生素抗性基因污染的初步研究	梁惜梅, 袁湘平, 施震 (4073)
江苏盐城地区水产品重金属含量与安全评价	刘洋, 付强, 高军, 徐网谷, 殷波, 曹亚乔, 秦卫华 (4081)
铜胁迫对不同基因型谷子幼苗基因组 DNA 多态性的影响	张义贤, 付亚萍, 肖志华, 张喜文, 李萍 (4090)
利用高通量测序对封存 CO ₂ 泄漏情景下土壤细菌的研究	田地, 马欣, 李玉娥, 查良松, 伍洋, 邹晓霞, 刘爽 (4096)
酸性矿山废水区域废矿石中真核生物多样性分析	李思远, 郝春博, 王丽华, 吕铮, 张丽娜, 刘莹, 冯传平 (4105)
十溴联苯醚降解菌的特性及功能蛋白初步分析	常晶晶, 尹华, 秦华明, 叶锦韶, 彭辉, 宋小飞 (4112)
硒对水稻吸收积累和转运锰、铁、磷和硒的影响	胡堂, 黄益宗, 黄艳超, 刘云霞, 梁建宏 (4119)
外源铁对不同番茄品种生理特性、镉积累及化学形态的影响	刘俊, 周坤, 徐卫红, 陈惠, 张明中, 江玲, 杨芸, 王崇力, 熊治庭 (4126)
电子废物排放持久性有毒污染物的控制政策分析	李力, 吕永龙, 王铁宇 (4132)
《环境科学》征稿简则 (3926) 《环境科学》征订启事 (4057) 信息 (3878, 3953, 3999, 4041)	

利用高通量测序对封存 CO₂ 泄漏情景下土壤细菌的研究

田地^{1,2}, 马欣^{2*}, 李玉娥², 查良松¹, 伍洋³, 邹晓霞², 刘爽^{1,2}

(1. 安徽师范大学国土资源与旅游学院, 芜湖 241003; 2. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所/农业部农业环境与气候变化重点实验室, 北京 100081; 3. 中国气象局工程咨询中心, 北京 100081)

摘要: 全球 CO₂ 浓度不断升高的背景下, 地质封存 CO₂ 为控制大气 CO₂ 浓度上升提供了全新的思路, 但封存 CO₂ 潜在的泄漏风险也对生态系统产生重大威胁。土壤微生物与土壤健康密切联系。鉴于目前地质封存 CO₂ 泄漏对土壤微生物影响的研究鲜有报道, 本研究通过模拟地质封存 CO₂ 泄漏情景, 利用 Miseq 平台 Illumina 第二代高通量测序土壤细菌 16S rRNA 基因, 结合相关生物信息学分析, 初步探讨了封存 CO₂ 泄漏情景下农田土壤细菌群落丰富度、多样性和群落结构的变化。试验共获得 15 个土壤样本的 43 017 个 OTU 共 486 645 条读数, 生物学分析结果表明, 封存 CO₂ 泄漏通量和时间不同的情景下, 农田土壤细菌丰富度和细菌群落多样性的变化存在差异, 初步推测 CO₂ 泄漏量增大和泄漏时间持续更长的情景下, 土壤细菌丰富度和多样性下降幅度较大, 土壤细菌群落中优势菌群向若干细菌集中, 其中土壤酸杆菌门细菌相对增多可能作为地质封存 CO₂ 泄漏对土壤生态系统影响的生物监测指标。

关键词: 地质封存 CO₂ (CCS); CO₂ 泄漏; 土壤细菌; Illumina 高通量测序

中图分类号: X171; X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2013)10-4096-09

Research on Soil Bacteria Under the Impact of Sealed CO₂ Leakage by High-throughput Sequencing Technology

TIAN Di^{1,2}, MA Xin², LI Yu-e², ZHA Liang-song¹, WU Yang³, ZOU Xiao-xia², LIU Shuang^{1,2}

(1. College of Territorial Resources and Tourism, Anhui Normal University, Wuhu 241003, China; 2. Key Laboratory of Agro-Environment and Climate Change, Ministry of Agriculture, Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3. China Meteorological Administration Engineering Consulting Center, Beijing 100081, China)

Abstract: Carbon dioxide Capture and Storage has provided a new option for mitigating global anthropogenic CO₂ emission with its unique advantages. However, there is a risk of the sealed CO₂ leakage, bringing a serious threat to the ecology system. It is widely known that soil microorganisms are closely related to soil health, while the study on the impact of sequestered CO₂ leakage on soil microorganisms is quite deficient. In this study, the leakage scenarios of sealed CO₂ were constructed and the 16S rRNA genes of soil bacteria were sequenced by Illumina high-throughput sequencing technology on Miseq platform, and related biological analysis was conducted to explore the changes of soil bacterial abundance, diversity and structure. There were 486 645 reads for 43 017 OTUs of 15 soil samples and the results of biological analysis showed that there were differences in the abundance, diversity and community structure of soil bacterial community under different CO₂ leakage scenarios while the abundance and diversity of the bacterial community declined with the amplification of CO₂ leakage quantity and leakage time, and some bacteria species became the dominant bacteria species in the bacteria community, therefore the increase of Acidobacteria species would be a biological indicator for the impact of sealed CO₂ leakage on soil ecology system.

Key words: carbon dioxide capture and storage (CCS); CO₂ leakage; soil bacteria; Illumina high-throughput sequencing

地质封存 CO₂ (carbon dioxide capture and storage, CCS) 是指把工业或相关能源利用过程中产生的 CO₂ 分离并输送到一个封存点后使其与大气隔绝^[1]。全球已经实施的 CCS 示范项目证实地质封存 CO₂ 对大型 CO₂ 排放源的减排具有重要意义^[2]。但由于 CCS 过程的复杂性, 现有技术条件并不能保证地质封存 CO₂ 的绝对安全, 封存于特定地质构造中的 CO₂ 均存在一定的泄漏风险^[3~6], 对人和动植物及整个陆地生态系统构成潜在的威胁^[1,7~9]。CCS 泄漏风险评估研究显示土壤 CO₂ 浓度上升对植被和土壤

环境产生负面影响^[10~14], 但由于技术条件等限制, 关于土壤 CO₂ 浓度上升对土壤微生物的影响研究尚未得到一致的确切结论, 使得 CCS 泄漏对整个农田生态系统的风险评估存在空白。

以往大气 CO₂ 浓度升高对土壤微生物影响的研

收稿日期: 2013-01-19; 修订日期: 2013-05-03

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2011BAC08B01-01); 国际科技合作专项 (S2012GR0304); 国家自然科学基金项目 (41271545)

作者简介: 田地 (1989~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为气候、环境变化与人类活动响应, E-mail: tdwy22@sina.com

* 通讯联系人, E-mail: maxinwork@gmail.com

究发现大气 CO₂ 浓度升高对根际、根外土壤中的微生物生物量 C、N 以及微生物总数量有促进作用^[15], 大气中高浓度 CO₂ 增加了土壤微生物生物量和活性, 改变了土壤中真菌/细菌的比例, 提高了土壤酶活性^[16~20]. 但有研究者对土壤 CO₂ 浓度升高区域微生物的调查仅发现微生物生物量存在下降趋势^[13]; CO₂ 浓度极高的土壤中细菌以厌氧和耐酸菌类为主, 土壤微生物群落通过物种替代适应了区域高 CO₂ 浓度的土壤环境^[20]. 近期, 英国人工模拟 CCS 泄漏试验发现土壤微生物生物量无明显变化规律, 但微生物呼吸受到抑制^[21], 然而研究并未涉及土壤中菌群结构和多样性的变化. 由于封存 CO₂ 泄漏对土壤微生物影响的研究十分有限, CO₂ 泄漏情景下农田土壤微生物的种类、活性和群落多样性的变化及其与农作物间相互影响的过程暂不清晰, 因此进行封存 CO₂ 泄漏对土壤微生物的研究迫在眉睫.

随着分子生物学的快速发展, 对环境中微生物的研究方法已经跳出了传统的实验室纯培养的限制. 宏基因组学 (Metagenomics) 作为分子生态学发展的典型技术策略, 能够从环境样本中直接获得总 DNA 进行文库构建、测序^[22], 在整体水平解析微生物群落结构, 尽可能真实地揭示原位环境中微生物群落的复杂性和多样性^[23], 在土壤微生物多样性研究中显示出强大的功能^[24], 在植被根际细菌群落、水域底泥及其他极端/特殊环境中细菌群落等方面被广泛应用^[19, 25~28]. MiSeq 是 2011 年 Illumina 公司新开发的第二代高通量测序平台, 利用索引策略和重叠的 2 × 150 bp 读数, 每次运行产生 1 000 Mb 以上的数据, 而且成本较低. 采用 Illumina 高通量测序仪进行土壤宏基因组的研究, 较传统的单克隆、DGGE、RFLP 等技术具有明显的通量优势和极高的分辨率.

CCS 泄漏情景下农田土壤菌群结构、多样性及其变化研究是认识 CCS 泄漏对农田作物-土壤生态系统影响机理的重要途径. 为了获得 CCS 泄漏对农田土壤微生物影响方面更丰富的信息, 探寻农田生态系统对 CCS 泄漏反应灵敏的预警指标, 进而更准确地评估 CCS 泄漏对农田生态系统的风险, 本研究利用 MiSeq 测序平台, 在高通量测序的基础上, 揭示不同封存 CO₂ 泄漏情景下土壤细菌群落结构及多样性的变化.

1 材料与方法

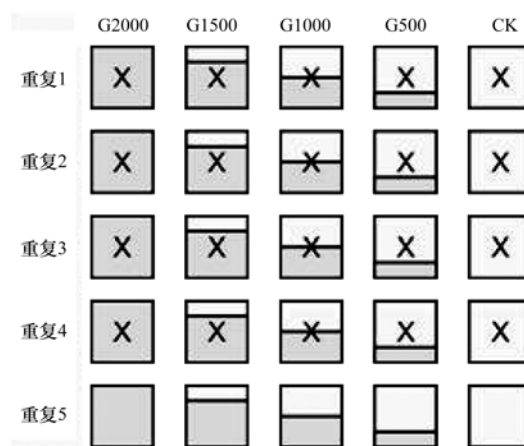
1.1 试验点概况

试验点选择在中国农业科学院延庆试验站 (116°03'37"E, 40°32'37"N), 平均海拔 534 m, 属大陆性季风气候, 是温带与中温带、半干旱与半湿润的过渡带, 多年平均降水量为 423.3 mm, 年平均气温 8.5℃, 无霜期为 161 d^[29]. 试验地土壤为普通褐土, 土地利用类型为农业用地.

1.2 模拟试验平台设计

CCS 泄漏对农田生态系统风险评估的人工模拟试验平台是通过向土壤中以拟定速率释放 CO₂ 气体, 形成不同的土壤 CO₂ 通量, 模拟封存 CO₂ 泄漏的不同情景, 通过一套观测系统记录不同泄漏模拟情景下各生态系统的响应, 评估封存 CO₂ 泄漏对地表生态系统的影响, 具体见文献^[30], 试验地布局见图 1 和图 2.

整个模拟试验平台共设置 5 个重复, 其中重复 1~3 供土壤样本的采集. 每个重复设置 5 个不同的通气量处理分别为 CK: 0 g·(m²·d)⁻¹ (Y1); G500: 500 g·(m²·d)⁻¹ (Y2); G1000: 1 000 g·(m²·d)⁻¹ (Y3); G1500: 1 500 g·(m²·d)⁻¹ (Y4); G2000: 2 000 g·(m²·d)⁻¹ (Y5).



灰色占方形面积比, 表示各处理注入 CO₂ 通量

大小比例; × 代表种植作物

图 1 试验地布局平面示意

Fig. 1 Plans for the testing site

作物选择夏玉米, 玉米品种为“中糯 2 号”, 于 2011 年 8 月 18 日播种, 待玉米长势稳定后进行定苗, 每盆留 1 株, 试验于 2011 年 9 月 18 日进行 CO₂ 通气, 2011 年 10 月 31 日通气结束.

在各盆钵中安装不同长度的采气管, 利用便携式 PGM-54 复合式 O₂ 和 CO₂ 气体检测仪, 监测不同深度土层的 CO₂ 和 O₂ 浓度. 使用便携式土壤原位酸碱度测量仪 (IQ, Scientific Instruments 150, 美国) 测定土壤 pH 值. 春玉米整个生育期内的农田管理



图2 试验地实际布局示意

Fig. 2 Actual layout diagram of the testing site

措施与当地农田管理措施一致。

1.3 土样采集

利用带有刻度的管型取土器采集玉米根际土壤(采样深度约为10~20 cm),相同处理的土壤充分混合后,取20 g备用。采样时间为2011年9月18日CO₂通气前(T1),10月9日CO₂通气持续中(T2),10月31日CO₂通气结束前(T3),土壤采样方法参考文献[31]。3组土样的编号分别为:背景值Y1,Y2,Y3,Y4,Y5;T2时:2Y1,2Y2,2Y3,2Y4,2Y5;T3时:3Y1,3Y2,3Y3,3Y4,3Y5。采集到的15个土样均封闭于密封袋中放置于-21℃的冰箱中储存,以备后续检测分析。

1.4 土壤细菌的16S rRNA基因测序

(1)土壤微生物基因组DNA提取及其16S rRNA基因的V4区片段扩增分析

利用土壤DNA提取试剂盒(Felix bio-tech,美国)提取15个土壤样本的DNA(具体DNA提取步骤参考试剂盒说明书QA28)。针对16S rRNA V4区进行PCR预试验,然后进行大批量PCR扩增(Pyrobest DNA Polymerase, TaKaRa, DR500A),使用的兼并引物为:F 5'-AYTGGGYDTAAAGNG-3',R 5'-AYTGGGYDTAAAGNG-3' (A,G=R; A,C=M; A,T=W; C,G=S; C,T=Y; G,T=K; A,T,C=H; G,T,C=B; G,A,T=D; A,C,G=V; A,C,G,T=N)。PCR扩增程序如下:95℃预变性5 min;95℃变性30 s,55℃退火30 s,72℃延伸90 s,共25个循环;最后72℃终延伸10 min结束。

(2)PCR产物纯化与定量

通过PCR聚合酶链式反应获得不同土壤样品细菌的PCR产物后,进行琼脂糖凝胶电泳分析,针对目标条带进行割胶回收,获得纯化的PCR产物

(AxyPrep DNA Gel Extraction Kit, Axygen, AP-Gx-500)。进一步将2 μL DNA扩增片段+98 μL TE buffer混合,加入100 μL Picogreen染料,使用激发波长485 nm和发射波长528 nm测定PCR产物浓度,利用BioTek酶标仪对其定量(BioTek Flx800酶标仪; Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit, Invitrogen, P7589)。

(3)DNA双末端修复与富集(TruSeq DNA Sample Prep Kit, Illumina)

通过3'-5'核酸外切酶及聚合酶的共同作用,修复带有突出末端的DNA片段。在修复平整的DNA片段3'端引入单碱基“A”,接头的3'末端含有单碱基“T”,从而保证DNA片断和接头能够通过“A”“T”互补配对连接,并防止接头连接DNA片段的过程中,DNA插入片断彼此相连。在连接酶的作用下,孵育含有标签的接头与DNA片段,使其相连。利用PCR选择性地富集两端连有接头的DNA片段,同时扩增DNA文库。

(4)验证文库、均一化并混合文库、上机测序

利用Picogreen和荧光分光光度计方法定量DNA(Quantifluor-ST fluorometer, Promega, E6090; Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit, Invitrogen, P7589),通过Agilent 2100对PCR富集片段进行电泳完成质量控制,验证DNA文库的片段大小及分布规律(Agilent 2100 Bioanalyzer, Agilent, 2100; Agilent High Sensitivity DNA Kit, Agilent, 5067-4626)。多样品DNA文库(Multiplexed DNA libraries)均一化至10 nmol·L⁻¹后等体积混合。将混合好的文库(10 nmol·L⁻¹)逐步稀释定量至4~5 pmol·L⁻¹后进行上机测序。

1.5 数据处理

(1)原始数据处理与样本序列数目统计

试验采用双端(pair-end)测序。首先对原始数据进行质量控制,截断或舍弃低质量序列(50个连续碱基平均质量>25,序列长度>50)。用软件Flash连接通过质量控制的序列对应的两端序列进行,舍弃无法连接的序列。根据试验要求,对连接上的序列进行过滤(连续相同碱基<6;模糊碱基<1),获得最终用于分析的序列。

(2)生物信息学分析

应用Qiime(quantitative insights into microbial ecology),根据序列的相似度,将序列归为多个OTU(operational taxonomic unit)。OTU产出后,统计各个样品含有OTU情况及每个OTU中含有序列的数

目. 通过寻找最近亲缘物种的方法,得到每个 OTU 的分类学信息. 选取相似度在 97% 条件下的 OTU 生成预期的稀释曲线,并利用软件 mothur 计算丰富度指数 Chao1 和 ACE,覆盖度指数 (good's coverage) 以及多样性指数 Simpson 和 Shannon 指数进行 Alpha 多样性分析. 利用 Excel、PCoA、Correlation 聚类法分别进行数据处理、细菌群落分布、主成分分析和聚类分析.

2 结果与分析

2.1 土壤样本测序结果及取样深度验证

高通量测序结果显示,15 个土壤样本共获得 43 017 个 OTU 的 486 645 条读数 (reads). 各样本测序获得的细菌 OTU 序列读数如表 1 所示.

表 1 土壤样本测序获得的细菌 OTU 读数					
Table 1 Reads of the observed soil bacteria OTUs					
样本	读数	样本	读数	样本	读数
Y1	24 100	2Y1	42 677	3Y1	35 848
Y2	21 423	2Y2	39 139	3Y2	34 407
Y3	21.983	2Y3	39 566	3Y3	30 776
Y4	24 244	2Y4	34 599	3Y4	36 051
Y5	27 405	2Y5	40 109	3Y5	34 318

稀释曲线 (rarefaction curve) 表明每个样品的取样深度. 从稀释曲线图 3 中可以看出,15 个样本的稀释曲线均趋向于平缓,能够比较真实地反映土壤样本的细菌群落,代表细菌群落多样性. 各样本的覆盖率指数 (good's coverage) 显示在相似度为 0.95 的条件下,土壤 OTUs 涵盖了土壤中 87.46% ~ 93.23% 的细菌;相似度为 0.97 的条件下,土壤

OTUs 涵盖了土壤中 82.03% ~ 89.87% 的细菌. 可见, Illumina 第二代高通量测序能够较准确地反映土壤微生物的丰富度和多样性.

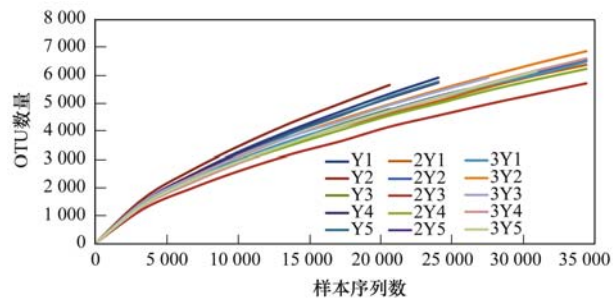


图 3 相似度为 0.97 条件下各土壤样本的稀释曲线
Fig. 3 Rarefaction curves of OTUs clustered at 97% sequence identity across different soil samples

2.2 土壤环境的变化

春玉米生育期内,对照处理土壤 30 ~ 40 cm 和 10 ~ 20 cm 土层 CO₂ 体积分数均在 0.5% ~ 1% 之间,且 30 ~ 40 cm 土层 CO₂ 体积分数略高于 10 ~ 20 cm 土层 CO₂ 体积分数;而各 CO₂ 泄漏情景下,土壤 CO₂ 体积分数在较短的时间内上升到 5% 以上,相应地土壤 O₂ 体积分数不断下降,如表 2 所示,CO₂ 泄漏量越大,泄漏时间持续越长,盆栽玉米下层和上层土壤 O₂ 体积分数下降幅度越大.

春玉米整个生育期内,各 CO₂ 泄漏情景下土壤 pH 值均显著低于对照 ($P < 0.01$),土壤弱酸化 (表 2). G500 情景下,土壤 pH 值在玉米生长季内的波动趋势与对照相似,而 G1000、G1500 和 G2000 情景下,土壤 pH 存在下降趋势,尽管在玉米生长后期土壤 pH 值有所上升,但 pH 值仍低于背景值.

表 2 盆栽玉米土壤 pH 值和不同深度土层 O ₂ 体积分数的变化/%						
Table 2 Soil pH and O ₂ concentration changes of different soil layers in maize potting experiment/%						
处理时间 (月-日)	30 ~ 40 cm/10 ~ 20 cm 土层土壤 O ₂ 体积分数(土壤 pH 值)					
	CK	G500	G1000	G1500	G2000	
09-18	20.4 ± 0.1/20.9 ± 0.0 (7.4)	20.6 ± 0.3/20.9 ± 0.0 (7.2)	20.4 ± 0.1/20.7 ± 0.1 (7.5)	20.3 ± 0.2/20.9 ± 0.1 (7.2)	20.3 ± 0.2/20.9 ± 0.0 (7.3)	
09-19	19.3 ± 0.5/19 ± 0.3 (7.4)	15.6 ± 0.5/18.0 ± 0.6 (6.4)	12.4 ± 1.4/15.9 ± 1.4 (6.7)	7.3 ± 1.5/13.5 ± 2.5 (6.7)	6.5 ± 1.1/12.1 ± 1.3 (6.4)	
09-26	18.4 ± 0.3/18.2 ± 0.0 (7.6)	14.0 ± 0.2/16.0 ± 0.1 (7.2)	10.1 ± 0.7/14.0 ± 0.3 (7.0)	9.0 ± 1.1/14.1 ± 0.0 (6.7)	9.1 ± 0.6/12.9 ± 0.0 (6.3)	
10-06	17.4 ± 0.0/17.6 ± 0.1 (6.7)	12.1 ± 0.6/14.7 ± 0.3 (6.5)	8.3 ± 1.2/12.1 ± 1.2 (6.8)	8.2 ± 0.9/12.2 ± 0.8 (6.7)	4.9 ± 1.6/7.9 ± 2.6 (6.4)	
10-17	17.2 ± 0.0/17.1 ± 0.0 (6.6)	13.0 ± 0.1/15.5 ± 0.0 (6.2)	9.1 ± 0.1/13.3 ± 0.1 (6.3)	7.9 ± 0.8/13.5 ± 0.1 (6.3)	6.4 ± 0.5/11.7 ± 0.0 (6.3)	
10-25	17.7 ± 0.0/17.7 ± 0.1 (7.6)	10.5 ± 0.2/12.3 ± 0.7 (7.2)	4.6 ± 1.6/7.3 ± 2.0 (7.1)	2.5 ± 0.2/5.6 ± 0.5 (7.1)	1.7 ± 0.5/3.5 ± 1.4 (7.1)	

2.3 土壤细菌群落丰富度和多样性分析

利用 Alpha 多样性分析土壤中细菌群落的丰富

度和多样性. 各土壤样本的丰富度指数 Chao1、均匀度指数 ACE 和多样性指数 Simpson/Shannon 如表

3 所示.

就物种丰富度而言,T1-T2 时间段,各土壤样本中细菌丰富度指数 Chao1 数值主要表现为增大的趋势,表明在玉米生育前期,各处理中土壤细菌的物种数量有可能增多; T2-T3 时间段,对照土壤细菌丰富度指数 Chao1 数值略有下降,2Y2-3Y2、2Y4-3Y4 中 Chao1 数值增大,3Y3 中 Chao1 数值也明显大于 Y3,但 2Y5-3Y5 中 Chao1 数值大幅减小,表明玉米生育后期,土壤细菌物种数可能比生育前期略有减少. 500 ~ 1 500 g·(m²·d)⁻¹ 通量的 CO₂ 泄漏可能促进了土壤细菌中某些菌类的发育,使得土壤细菌丰富度提高,细菌种类增多,而 2 000 g·(m²·d)⁻¹ 通量的 CO₂ 泄漏可能会抑制部分细菌的生长,造成土壤细菌丰富度大幅下降.

ACE 指数变化显示 G500 ~ G1500 情景下土壤细菌群落均匀度上升,但 G2000 情景下土壤细菌群落均匀度下降幅度较大,这表明 2 000 g·(m²·d)⁻¹ 的 CO₂ 泄漏情景下土壤细菌群落中某些细菌种群发育较好,在群落中的优势度上升,相反原本可以生长发育在土壤中的细菌受到抑制甚至消失; 土壤细菌种群优势度的变化可能与土壤细菌群落丰富度的变化有关,但这也反映出 2 000 g·(m²·d)⁻¹ 通量的 CO₂ 泄漏不仅会影响土壤细菌丰富度,而且还有可能为某些菌类提供良好的生长与繁殖环境,使得某些菌类成为优势种.

Simpson 和 Shannon 指数显示,玉米生育期内对照土壤细菌群落多样性不断上升,而 CO₂ 泄漏影响下土壤细菌群落多样性存在下降的趋势.

表 3 15 个土壤样本中细菌丰富度和多样性指数
Table 3 OTUs' abundance and diversity of 15 soil samples

样本	Chao1 指数	ACE 指数	Simpson 指数	Shannon 指数
Y1	17 442. 10	30 615. 31	0. 005 26	7. 063
2Y1	18 770. 12	30 438. 15	0. 003 14	7. 147
3Y1	17 720. 37	27 516. 66	0. 003 81	7. 157
Y2	16 132. 31	28 542. 96	0. 002 75	7. 337
2Y2	17 678. 71	28 469. 14	0. 003 54	7. 127 2
3Y2	18 245. 00	29 456. 63	0. 002 92	7. 227
Y3	14 434. 47	23 528. 09	0. 004 43	6. 961
2Y3	17 568. 5	29 593. 39	0. 004 77	6. 786
3Y3	17 216. 72	27 467. 36	0. 002 64	7. 249
Y4	16 122. 61	27 118. 72	0. 003 12	7. 197
2Y4	15 787. 27	25 345. 55	0. 003 55	7. 064
3Y4	19 129. 16	33 064. 58	0. 004 29	6. 965
Y5	19 855. 81	36 404. 72	0. 004 32	7. 099
2Y5	20 109. 31	33 081. 49	0. 004 67	7. 033
3Y5	16 925. 01	28 462. 3	0. 003 86	7. 076

2.4 土壤细菌相对丰度的变化

土壤样本细菌包含变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Actinobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、浮霉菌门(Planctomycetes)等菌群,土壤细菌类型丰富(图 4). 除未确定种属的其他菌类外,变形菌门、拟杆菌门、酸杆菌门和放线菌门菌类在土壤细菌中相对丰度较高.

随着时间的变化,土壤细菌群落中主要菌群相对丰度发生了变化. 对照处理土壤变形菌、放线菌相对丰度先上升后下降,酸杆菌相对丰度不断下降,拟杆菌相对丰度不断上升. 在 CO₂ 泄漏初期,各 CO₂ 泄漏情景下土壤放线菌门、拟杆菌门和酸杆菌门细菌相对丰度无明显变化,变形菌门细菌相对丰

度上升; 随着 CO₂ 泄漏时间的延长,各处理土壤细菌相对丰度出现差异. G500 ~ G1500 情景下土壤变形菌门细菌相对丰度继续上升,但 G2000 情景下土壤变形菌门细菌相对丰度下降; G500 ~ G1000 情景下土壤酸杆菌门细菌相对丰度下降,而 G1500 ~ G2000 情景下土壤酸杆菌相对丰度上升.

对比 CO₂ 泄漏处理前后土壤细菌群落的优势菌群,发现 5 组对照处理土壤细菌优势菌群为:变形菌 + 酸杆菌(CK),变形菌 + 酸杆菌(G500),变形菌 + 拟杆菌(G1000),变形菌 + 拟杆菌(G1500),变形菌 + 酸杆菌(G2000). 试验结束时 5 组处理土壤细菌中优势菌群分别为:变形菌 + 拟杆菌,变形菌 + 拟杆菌,变形菌 + 放线菌,变形菌 + 酸杆菌,变形菌 + 酸杆菌. G1500 和 G2000 情景下,变形菌门、酸杆菌门细菌作为优势菌群占土壤细菌的 64% 以上.

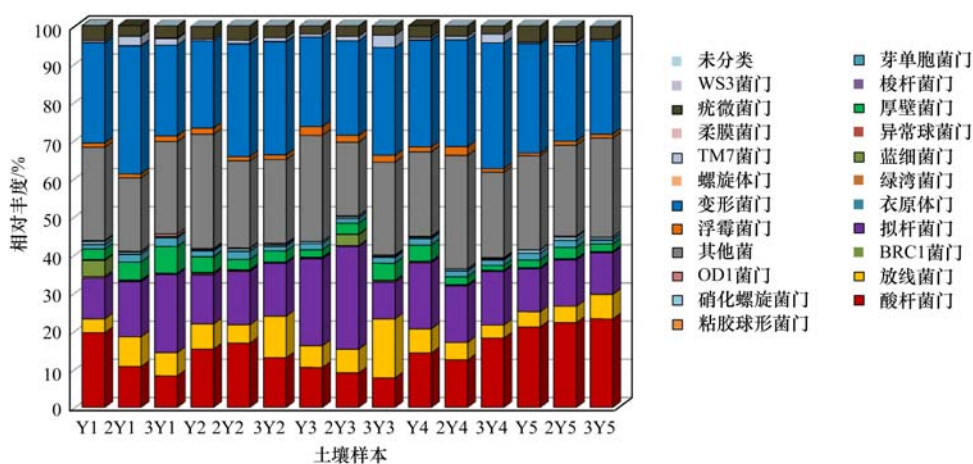


图4 土壤细菌相对丰度变化

Fig. 4 Changes in relative abundance of soil bacteria species

结合封存 CO₂ 泄漏情景下土壤环境的变化 (2.2 节), 可以推测 CO₂ 泄漏情景下土壤 O₂ 不足, 土壤好氧细菌可能减少, 厌氧细菌大量繁殖. 如在 G2000 情景下土壤变形菌门细菌相对丰度下降, 可能是由于 α 变形菌中好氧细菌减少引起的. 另外, 土壤酸杆菌相对丰度可能与封存 CO₂ 持续泄漏导致土壤酸碱性及其他理化性质和营养成分的变化有关. 土壤酸化可能会促使嗜酸细菌大量繁殖, 因此酸杆菌门细菌数量或相对丰度的上升可能作为地质封存 CO₂ 泄漏对农田土壤生态系统影响的生物监测指标.

2.5 不同处理土壤细菌群落间的关系

对各土壤样本序列进行主成分分析 (图 5), 结

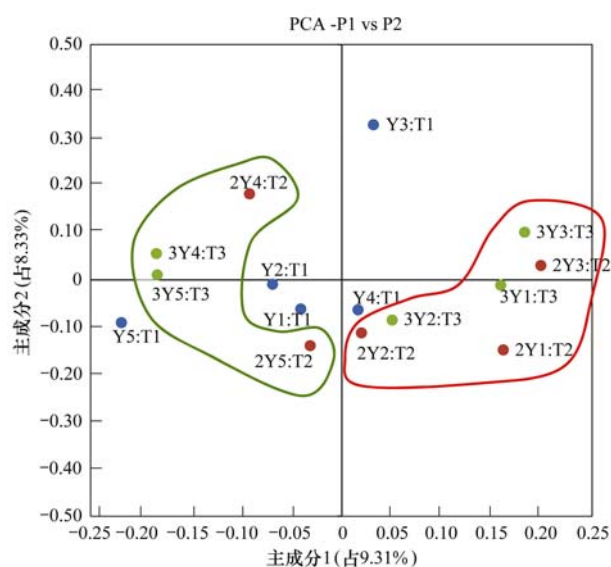


图5 不同通气量处理土壤细菌群落 PCA 分析

Fig. 5 PCA analysis of soil bacterial community of different disposed soil

果显示不同处理土壤细菌群落在分布上呈现一定的规律性, $0 \sim 1\,000\text{ g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}$ 处理的土壤样本细菌趋向集中于右半象限 (绿色线条圈出部分), $1\,500 \sim 2\,000\text{ g} \cdot (\text{m}^2 \cdot \text{d})^{-1}$ 情景下土壤样本细菌趋向集中于左半象限 (红色线条圈出部分). 可见, CK、G500 和 G1000 这 3 种情景下土壤细菌具有相对一致性, G1500 和 G2000 土壤细菌群落具有相对一致性, 但前者 and 后者之间存在较大差异. 利用分层聚类对各土壤样本细菌进行亲缘关系分析 (图 6), 样本间亲缘关系显示: G500 和 G1000 处理土壤细菌与对照亲缘关系较近, 而 G1500 和 G2000 土壤样本细菌与对照亲缘关系较远.

3 讨论

该试验是第二代高通量测序技术在 CCS 泄漏对土壤微生物影响研究中的首次运用. 对盆栽玉米进行不同 CO₂ 泄漏情景的模拟, 结果发现土壤细菌群落结构、群落丰富度和多样性、主要细菌种群相对丰度均发生了变化. CO₂ 泄漏发生初期, 土壤细菌群落丰富度上升, 这与前人关于大气 CO₂ 浓度升高对土壤细菌影响研究的结论存在一致性^[32], 原因可能在于, 不论是大气 CO₂ 浓度上升还是土壤中外源 CO₂ 的泄漏均引起了土壤中 CO₂ 浓度的增加, 可能造成土壤 C 累积增多, 促进了自养微生物的生长; 同时 CO₂ 泄漏到近地表引起局部大气 CO₂ 浓度升高, 对植被产生肥效作用^[33], 刺激植被根系分泌物的增加, 促进了以根际分泌物为营养源的细菌群落的繁殖^[34], 从而导致细菌种群数增多. 但随着 CO₂ 泄漏量的增大和泄漏时间的持续, 土壤中 CO₂

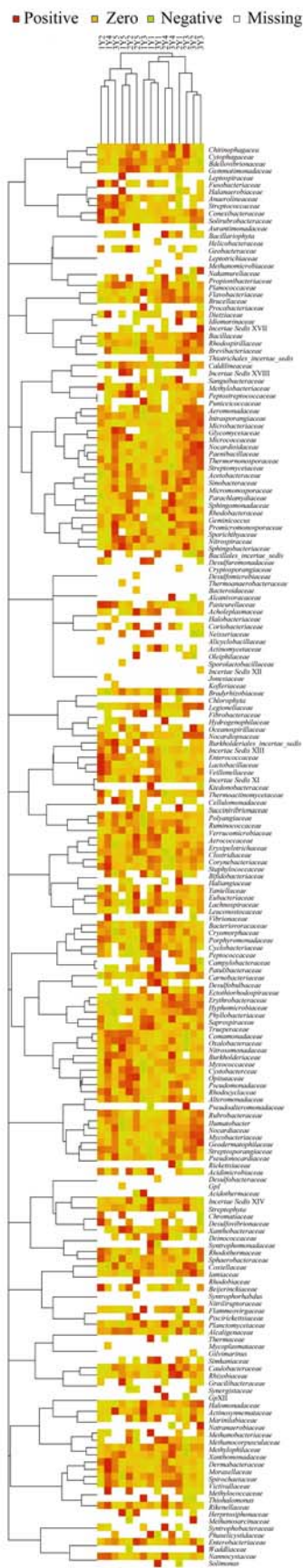


图6 分层聚类图

Fig. 6 Hierarchical clustering diagram

浓度不断上升, O_2 浓度持续下降, 盆钵中土壤形成了一个区域性的厌氧环境, 这就使得部分好氧细菌窒息死亡, 导致土壤细菌丰富度和群落多样性降低; 另外, O_2 匮乏的土壤环境对作物生长极其不利, 导致作物出现光合作用下降、植株早衰、枯萎、死亡等状况^[14,35], 间接影响土壤细菌群落的活性和种群数量。

变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门细菌是土壤中的主要细菌。在模拟 CO_2 泄漏的情景下, 土壤细菌主要菌群的变化与作物生长发育有密切联系, 另一方面与土壤环境中 CO_2 泄漏量和泄漏时间有关, 尤其是酸杆菌在 $1\ 500 \sim 2\ 000\ g \cdot (m^2 \cdot d)^{-1}$ 通量的 CO_2 泄漏情景下相对丰度上升值得关注。酸杆菌属于嗜酸菌, 在发生 CO_2 泄漏土壤中大量出现可能与土壤 pH 密切相关。有关研究指出土壤中酸杆菌的丰富度与土壤 pH 呈显著的负相关^[36], 在土壤 pH 最低的环境中酸杆菌丰度最高^[37,38]。本试验中对土壤 pH 的监测发现, 随着 CO_2 泄漏量的增大, 土壤 pH 值明显降低, 这一结果与前人关于天然 CO_2 排气口的调查结论相似^[13,20]。据此推测, 盆栽玉米土壤中大量 CO_2 气体受盆钵的限制, 迁移扩散受阻, 土壤中过量的 CO_2 导致 pH 值降低, 为酸杆菌提供了适宜的生存环境, 促进了酸杆菌的大量繁殖, 但酸性土壤不利于土壤细菌的活动, 根瘤菌、褐色固氮菌、氨化细菌和硝化细菌等在酸性土壤中难以生存^[39]。

随着 CO_2 泄漏量的增大和泄漏时间的持续, 土壤中细菌多样性呈下降的趋势。这可能是由于大量 CO_2 泄漏到土壤中, 刺激了酸杆菌门等细菌的活性, 同时抑制了其他门类细菌的活性, 导致细菌群落结构单一化, 群落多样性下降, 尤其是当土壤 CO_2 通量达到 $2\ 000\ g \cdot (m^2 \cdot d)^{-1}$ 后, 除酸杆菌外的其他土壤细菌活性均受到抑制, 土壤细菌多样性下降到最低值。另外, 试验中还发现随着 CO_2 通气量的增大, 土壤湿度升高, O_2 浓度下降。缺氧、高湿的土壤环境可能会对土壤中原有的多种细菌带来极大的生存挑战。

从土壤细菌群落结构和多样性变化、菌群间亲缘关系方面分析, 发现当 CO_2 泄漏导致土壤中 CO_2 通量达到 $1\ 000\ g \cdot (m^2 \cdot d)^{-1}$ 以上并长时间持续影响, 土壤细菌群落结构和多样性的变化趋势将可能偏离对照, 影响正常农田土壤细菌群落的多样性和群落演变, 对农田土壤生态系统可能造成不利影响。

从农田管理的角度分析土壤细菌的变化, 推测 CO_2 泄漏初期土壤细菌丰富度升高, 很可能是得益

于玉米生育旺盛期的农田管理措施和适宜的气象条件。施肥、灌溉、翻土等为土壤细菌提供了充足的养分和供呼吸的氧气,此时作物长势也很旺盛。但随着 CO₂ 泄漏量增大和泄漏时间的持续,大量 CO₂ 进入土壤并迅速置换了土壤中的 O₂,造成植被根系和土壤微生物缺氧导致窒息死亡,并引起土壤 pH、土壤湿度以及其它土壤理化性质的变化,导致整个土壤环境的变化,使得作物光合作用受到抑制,出现叶片卷曲、枯黄、植株生长减缓、生物量下降等现象。高通量 CO₂ 泄漏的长期持续影响下,土壤中部分细菌可能无法耐受较高的土壤 CO₂ 浓度而死亡,导致细菌多样性的下降。嗜酸细菌的大量繁殖与土壤 pH 的进一步相互作用,也可能导致植物无法耐受偏酸性的土壤环境,结果生长停止、植株枯死。据此,CCS 泄漏对农田生态系统的影响是一个极为复杂的过程,CCS 泄漏可能直接影响农作物生长,改变土壤物理化学性质等环境条件并进一步影响土壤微生物群落结构,而变化的土壤微生物多样性也可能进一步对农田生态系统产生影响。

另外,相关研究发现^[40],在天然的 CO₂ 释放口附近的土壤中甲烷古生菌(Methanogenic Archaea)、地杆菌科(Geobacteraceae)和硫酸盐还原菌(Sulphate-reducing Bacteria)为优势菌群,土壤微生物有朝厌氧、嗜酸菌群发展的趋势。本试验中仅关注了土壤细菌群落丰富度和多样性的变化状况,对与土壤温室气体密切相关的土壤产甲烷菌、硝化-反硝化细菌以及上述菌群的关注等研究成为本课题组未来利用高通量测序平台研究的重点方向。

4 结论

基于宏基因组学高通量二代测序技术,在地质封存 CO₂ 泄漏模拟平台上进行的土壤细菌群落结构、丰富度和多样性变化以及样本间亲缘关系研究,显示出高通量测序技术在土壤微生物研究中的极大优势和可行性。研究结果表明,受封存 CO₂ 泄漏影响,玉米田土壤细菌群落结构、丰富度和多样性均发生了变化,且随着 CO₂ 泄漏通量增大和泄漏时间的持续,土壤细菌丰富度和多样性有下降的趋势,土壤细菌群落中优势菌群向若干细菌集中,其中土壤酸杆菌门细菌相对增多可能作为地质封存 CO₂ 泄漏对土壤生态系统影响的生物监测指标。

参考文献:

[1] Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). IPCC Special Report on Carbon Dioxide Capture and Storage[A]. In;

Prepared by Working Group III of the Intergovernmental Panel on Climate Change [C]. Cambridge, United Kingdom and New York: Cambridge University Press, 2005.

- [2] Eiken O, Ringrose P, Hermanrud C, *et al.* Lessons learned from 14 years of CCS operations: Sleipner, In Salah and Snøhvit[J]. Energy Procedia, 2011, **4**(1): 5541-5548.
- [3] Annunziatellis A, Beaubien S E, Bigi S, *et al.* Gas migration along fault systems and through the vadose zone in the Latera caldera (central Italy): Implications for CO₂ geological storage [J]. International Journal of Greenhouse Gas Control, 2008, **2**(3): 353-372.
- [4] Bohnhoff M, Zoback M D, Chiamonte L, *et al.* Seismic detection of CO₂ leakage along monitoring wellbores [J]. International Journal of Greenhouse Gas Control, 2010, **4**(4): 687-697.
- [5] Giammarco S, Gurrieri S, Valenza M. Fault-controlled soil CO₂ degassing and shallow magma bodies: Summit and lower east rift of Kilauea Volcano (Hawaii) [J]. Pure and Applied Geophysics, 2006, **163**(4): 853-867.
- [6] Humez P, Audigane P, Lions J, *et al.* Modeling of CO₂ leakage up through an abandoned well from deep saline aquifer to shallow fresh groundwaters [J]. Transport in Porous Media, 2011, **90**(1): 153-181.
- [7] Duong M H, Loisel R. Zero is the only acceptable leakage rate for geologically stored CO₂: An editorial comment [J]. Climatic Change, 2009, **93**(3-4): 311-317.
- [8] Pearce J, West J. Study of potential impacts of leaks from onshore CO₂ storage projects on terrestrial ecosystems [R]. Greenhouse Gas R&D Programme (IEAGHG) Technical Study, 2007.
- [9] Heinrich J J, Herzog H J, Reiner D M. Environmental assessment of geological storage of CO₂ [R]. The Second National Conference on Carbon Sequestration, Washington, DC, 2003.
- [10] Patil R H, Colls J J, Steven M D. Effects of CO₂ gas as leaks from geological storage sites on agro-ecosystems [J]. Energy, 2010, **35**(12): 1-5.
- [11] Male E J, Pickles W L, Silver E A, *et al.* Using hyperspectral plant signatures for CO₂ leak detection during the 2008 ZERT CO₂ sequestration field experiment in Bozeman, Montana [J]. Environmental Earth Sciences, 2010, **60**(2): 251-261.
- [12] Noomen M F, Skidmore A K. The effects of high soil CO₂ concentrations on leaf reflectance of maize plants [J]. International Journal of Remote Sensing, 2009, **30**(2): 481-497.
- [13] Beaubien S E, Ciotoli G, Coombs P, *et al.* The impact of a naturally occurring CO₂ gas vent on the shallow ecosystem and soil chemistry of a Mediterranean pasture (Latera, Italy) [J]. International Journal of Greenhouse Gas Control, 2008, **2**(3): 373-387.
- [14] Al-Traboulsi M A, Sjögersten S, Colls J, *et al.* Potential impact of CO₂ leakage from carbon capture and storage (CCS) systems

- on growth and yield in spring field bean[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2012, **80**(1): 43-53.
- [15] 张林波, 曹洪法, 高吉喜, 等. 大气 CO₂ 浓度升高对土壤微生物的影响[J]. *生态学杂志*, 1998, **17**(4): 33-38.
- [16] French S, Levy-Booth D, Samarajeewa A, *et al.* Elevated temperatures and carbon dioxide concentrations: effects on selected microbial activities in temperate agricultural soils[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2009, **25**(11): 1887-1900.
- [17] Anderson T H, Heinemeyer O, Weigel H J. Changes in the fungal-to-bacterial respiratory ratio and microbial biomass in agriculturally managed soils under free-air CO₂ enrichment (FACE)-A six-year survey of a field study[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, **43**(5): 895-904.
- [18] Kandeler E, Mosier A R, Morgan J A, *et al.* Response of soil microbial biomass and enzyme activities to the transient elevation of carbon dioxide in a semi-arid grassland[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, **38**(8): 2448-2460.
- [19] He Z L, Xu M Y, Deng Y, *et al.* Metagenomic analysis reveals a marked divergence in the structure of belowground microbial communities at elevated CO₂ [J]. *Ecology Letters*, 2010, **13**(5): 564-575.
- [20] Krüger M, West J, Frerichs J, *et al.* Ecosystem effects of elevated CO₂ concentrations on microbial populations at a terrestrial CO₂ vent at Laacher See, Germany [J]. *Energy Procedia*, 2009, **1**(1): 1933-1939.
- [21] Pierce S, Sjögersten S. Effects of below ground CO₂ emissions on plant and microbial communities[J]. *Plant and Soil*, 2009, **325**(1-2): 197-205.
- [22] 秦楠, 栗东芳, 杨瑞霞. 高通量测序技术及其在微生物学研究中的应用[J]. *微生物学报*, 2011, **51**(4): 445-457.
- [23] 李庆岗, 陶立. 高通量测序技术及其在生命科学中的应用[J]. *畜牧与饲料科学*, 2012, **33**(2): 25-28.
- [24] 艾芳芳, 杨桦, 曲媛媛, 等. 宏基因组研究及其应用研究进展[J]. *环境科学与技术*, 2007, **30**(12): 100-103.
- [25] Monteiro J M, Vollú R E, Coelho M R R, *et al.* Bacterial communities within the rhizosphere and roots of vetiver (*Chrysopogon zizanioides* (L.) Roberty) sampled at different growth stages[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2011, **47**(4): 236-242.
- [26] Santos H F S, Cury J C, Carmo F L, *et al.* Mangrove Bacterial diversity and the impact of oil contamination revealed by Pyrosequencing: bacterial proxies for oil pollution[J]. *PLoS ONE*, 2011, **6**(3): 1-8.
- [27] Yu Y, Wang H, Liu J, *et al.* Shifts in microbial community function and structure along the successional gradient of coastal wetlands in Yellow River Estuary[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2012, **49**(3): 12-21.
- [28] 侯梅锋, 何士龙, 李栋, 等. 连云港海底底泥及青海湖底泥细菌多样性研究[J]. *环境科学*, 2011, **32**(9): 2681-2688.
- [29] 张心昱, 陈利顶, 傅伯杰, 等. 不同农业土地利用方式和管理对土壤有机碳的影响——以北京市延庆盆地为例[J]. *生态学报*, 2006, **26**(10): 3198-3204.
- [30] 伍洋, 马欣, 李玉娥, 等. 地质封存 CO₂ 泄漏对农田生态系统的影响评估及耐受阈值[J]. *农业工程学报*, 2012, **28**(2): 196-198.
- [31] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社出版, 2000. 14-24.
- [32] 贾夏, 韩士杰, 周玉梅, 等. 不同二氧化碳浓度条件下红松和长白赤松幼苗根际土壤微生物数量研究[J]. *应用生态学报*, 2005, **16**(7): 1295-1298.
- [33] Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). Climate Change 2007-The Physical Science Basis[A]. In: Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change [C]. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
- [34] 贾夏, 韩士杰, 赵永华, 等. 高浓度 CO₂ 对红松根际及根外土壤微生物群落结构的影响[J]. *环境科学学报*, 2006, **26**(11): 1833-1837.
- [35] 伍洋. 地质封存 CO₂ 泄漏对玉米和苜蓿模拟实验研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2012.
- [36] Jones R T, Robeson M S, Lauber C L, *et al.* A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses [J]. *International Society for Microbial Ecology Journal*, 2009, **3**(4): 442-453.
- [37] Lauber C L, Strickland M S, Bradford M A, *et al.* The influence of soil properties on the structure of bacterial and fungal communities across land-use types [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2008, **40**(9): 2407-2415.
- [38] 王春香, 田宝玉, 吕睿瑞, 等. 西双版纳地区热带雨林土壤酸杆菌(Acidobacteria)群体结构和多样性分析[J]. *微生物学通报*, 2010, **37**(1): 24-29.
- [39] 孙儒泳, 李博, 诸葛阳, 等. 普通生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993. 48-50.
- [40] Oppermann B I, Michaelis W, Blumenberg M, *et al.* Soil microbial community changes as a result of long-term exposure to a natural CO₂ vent [J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2010, **74**(9): 2697-2716.

CONTENTS

Stable Carbon Isotopic Composition in PM _{2.5} in Nanjing Region	WU Meng-long, GUO Zhao-bing, LIU Feng-ling, <i>et al.</i> (3727)
Distribution and Source Apportionment of <i>n</i> -Alkanes in Atmospheric Particle in Taiyuan, China	HU Dong-mei, PENG Lin, BAI Hui-ling, <i>et al.</i> (3733)
Study on Influence of Traffic and Meteorological Factors on Inhalable Particle Matters of Different Size	LUO Na-na, ZHAO Wen-ji, YAN Xing, <i>et al.</i> (3741)
Particle Emission Characteristics of Diesel Bus Fueled with Bio-diesel	LOU Di-ming, CHEN Feng, HU Zhi-yuan, <i>et al.</i> (3749)
Characteristics of δ ¹⁸ O in Precipitation and Water Vapor Sources in Lanzhou City and Its Surrounding Area	CHEN Fen-li, ZHANG Ming-jun, MA Qian, <i>et al.</i> (3755)
Characteristics and Sources of Soluble Ions in Aerosols from Glacier No. 1 at the Headwater of Urumqi River, Tianshan Mountains, China	YUE Xiao-ying, LI Zhong-qin, ZHANG Ming-jun, <i>et al.</i> (3764)
Mechanism and Performance of Styrene Oxidation by O ₃ /H ₂ O ₂	HE Jue-cong, HUANG Qian-ru, YE Qi-hong, <i>et al.</i> (3772)
Sulfur Isotopic Signatures in Leaves of <i>Pinus massoniana</i> Lamb. and Source Apportionment	GUAN Hui, XIAO Hua-yun, ZHU Ren-guo, <i>et al.</i> (3777)
Comparisons of Sulfur Contents and Isotopes Between Mosses and Surface Soils in Jiangxi Province	LI Nan, XIAO Hua-yun, CHEN Yong-zhong, <i>et al.</i> (3782)
Research on Spatial Characteristic of Non-point Source Pollution in Liaohe River Basin	WANG Xue-lei, CAI Ming-yong, ZHONG Bu-qing, <i>et al.</i> (3788)
Spatial and Temporal Variations of Hydrological Characteristic on the Landscape Zone Scale in Alpine Cold Region	YANG Yong-gang, HU Jin-fei, XIAO Hong-lang, <i>et al.</i> (3797)
Distribution of Matrix-Bound Phosphine in Surface Sediments of Jinpu Bay	YOU Li-li, ZONG Hai-bo, ZHANG Shu-fang, <i>et al.</i> (3804)
Effects of Drying-Rewetting Alternation on Urease Activity in Chongming East Intertidal Flat; Results of a Simulation Study	HAN Jian-gang, CAO Xue (3810)
Characterization of Microbial Activities in Marine Mudflat Sediment Using FDA Hydrolase Analysis	LIU Ye, ZOU Li, LIU Lu, <i>et al.</i> (3818)
Analysis of Ecological Risk and the Content Situation of Polybrominated Diphenyl Ethers in Sediments from Northeast China River Basin	NIE Hai-feng, CHENG Hang-xin, ZHAO Chuan-dong, <i>et al.</i> (3825)
Residues and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Surface Sediments and Marine Organisms from Dapeng Bay, Shenzhen	SUN Run-xia, KE Chang-liang, GU Yang-guang, <i>et al.</i> (3832)
Source Apportionment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Using Two Mathematical Models for Runoff of the Shanghai Elevated Inner Highway, China	BIAN Lu, LI Tian, HOU Juan (3840)
Biomagnification of Heavy Metals in the Aquatic Food Chain in Daning River of the Three Gorges Reservoir During Initial Impoundment	YU Yang, WANG Yu-chun, ZHOU Huai-dong, <i>et al.</i> (3847)
Temporal and Spatial Distribution of Environmental Factors and Chlorophyll-a and Their Correlation Analysis in a Small Enclosed Lake	LI Fei-peng, ZHANG Hai-ping, CHEN Ling (3854)
Experiment and Model Simulation of Self-Purification Capacity of Nitrogen and Phosphorus in Lake Taihu	HAN Tao, ZHAI Shu-hua, HU Wei-ping, <i>et al.</i> (3862)
Simulation Research on the Release of Internal Nutrients Affected by Different Dredging Methods in Lake	CHEN Chao, ZHONG Ji-cheng, FAN Cheng-xin, <i>et al.</i> (3872)
Research of Urban Eutrophic Water Repair by Water/Sediment Biological Bases	ZHOU Hui-hua, SONG Xiao-guang, WU Ge, <i>et al.</i> (3879)
Effects of Regulatory Agent on the Heavy Metal Stability in Tidal Sediments	OU Feng-zhuang, SUN Guo-ping, XU Mei-ying (3888)
Impact of Regional Water Chemistry on the Phosphorus Isothermal Adsorption of the Sediments in Three Subsidence Waters of the Huainan Mine Areas	YI Qi-tao, SUN Peng-fei, XIE Kai, <i>et al.</i> (3894)
Adsorption Characteristics of f2 Bacteriophages by Four Substrates in Constructed Wetland	CHEN Di, ZHENG Xiang, WEI Yuan-song, <i>et al.</i> (3904)
Adsorption Characteristics of the Antibiotic Sulfanilamide onto Rice Husk Ash	JI Ying-xue, WANG Feng-he, ZHANG Fan, <i>et al.</i> (3912)
Study on the Stability Variation Mechanism of Humic Acid Water Solution After Radiated by the UV Light	WANG Wen-dong, ZHOU Li-chuan, DING Zhen-zhen, <i>et al.</i> (3921)
Comparison of As Removal Performance by Graphene/Iron-Based Material	Chaomuerlege, FENG Liu, HUO Yan-xia (3927)
Studies on the Dispersion and Deposition Behavior of Nano-TiO ₂ in Aquatic System	CHEN Jin-yuan, FANG Jin-feng, WEI Xiu-zhen (3933)
Effect of the Interaction of Microorganisms and Iron Oxides on Arsenic Releasing into Groundwater in Chinese Loess	XIE Yun-yun, CHEN Tian-hu, ZHOU Yue-fei, <i>et al.</i> (3940)
Surface Modification of Polyvinylidene Fluoride (PVDF) Membrane by Using the Zwitterionic Substance	ZHOU Gui-hua, XIAO Feng, XIAO Ping, <i>et al.</i> (3945)
Estimate the Abatement Rate of Septic Tank Sewage Outfall Soil on Nitrogen Pollutants of Typical Farmer Household Sewage	ZHOU Feng, WANG Wen-lin, WANG Guo-xiang, <i>et al.</i> (3954)
Wastewater Pollution Characteristics from Typical Intensive Pig Farms in the Pearl River Delta and Its Ecological Risk Assessment	LI Wen-ying, PENG Zhi-ping, YU Jun-hong, <i>et al.</i> (3963)
Effects of Sludge Compost Used as Lawn Medium on Lawn Growth and Soil and Water Environment	JIN Shu-quan, ZHOU Jin-bo, CHEN Ruo-xia, <i>et al.</i> (3969)
Influencing Factors of Floc Size Distribution and Fractal Dimension of Activated Sludge	LI Zhen-liang, ZHANG Dai-jun, LU Pei-li, <i>et al.</i> (3975)
Influence of Different Recovery Methods on the Activity of Nitrification Granular Sludge	GUO Xiu-li, GAO Da-wen, LU Jian-cong (3981)
Study on Hydrogen Autotrophic Denitrification of Bio-ceramic Reactor	CHEN Dan, WANG Hong-yu, SONG Min, <i>et al.</i> (3986)
Studies on Spatial Heterogeneity of Soil Respiration in a Subalpine Meadow	YAN Jun-xia, LI Jun-jian, LI Hong-jian, <i>et al.</i> (3992)
Modeling of CO ₂ Fluxes at Cropland by Using SIB3 Model	ZHANG Geng-jun, LU Li-xin, JIANG Ling-mei, <i>et al.</i> (4000)
Effects of the Different Land Use on Soil Labile Organic Matter and Carbon Management Index in Junyun Mountain	XU Peng, JIANG Chang-sheng, HAO Qing-ju, <i>et al.</i> (4009)
Heavy Metal Content in Street Dust and Environmental Risk Assessment of Agricultural City: A Case Study of Xuchang City	YAN Hui, CHEN Jie, XIAO Jun (4017)
Polybrominated Diphenyl Ethers and Polychlorinated Biphenyls in Road Dust from Suzhou, Wuxi and Nantong	SHI Shuang-xin, DONG Liang, LI Ling-ling, <i>et al.</i> (4024)
Vertical Distribution of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Abandoned Vehicles Dismantling Area Soil	WU Yan-yu, HU Xiao-ying, HONG Hong-jia, <i>et al.</i> (4031)
Stabilization and Long-term Effect of Chromium Contaminated Soil	WANG Jing, LUO Qi-shi, ZHANG Chang-bo, <i>et al.</i> (4036)
Leaching Characteristics of Sulfadiazine and Sulfamethoxazole in Soil Column	LI Man, CHEN Wei-ping, WEI Fu-xiang, <i>et al.</i> (4042)
Transport Behaviors of Metal Oxide Nanomaterials in Various Soils	FANG Jing, YU Bo-yang (4050)
Fractal Characteristics of Capillary Finger Flow for NAPLs Infiltrated in Porous Media	LI Hui-ying, DU Xiao-ming, YANG Bin, <i>et al.</i> (4058)
Allelopathic Potential of <i>Phyllostachys edulis</i> on Two Dominant Tree Species of Evergreen Broad-leaved Forest in Its Invasive Process	BAI Shang-bin, ZHOU Guo-mo, WANG Yi-xiang, <i>et al.</i> (4066)
Preliminary Studies on the Occurrence of Antibiotic Resistance Genes in Typical Aquaculture Area of the Pearl River Estuary	LIANG Xi-mei, NIE Xiang-ping, SHI Zhen (4073)
Concentrations and Safety Evaluation of Heavy Metals in Aquatic Products of Yancheng, Jiangsu Province	LIU Yang, FU Qiang, GAO Jun, <i>et al.</i> (4081)
Effects of Cu ²⁺ Stress on DNA Polymorphism of Genome in Foxtail Millet of Different Genotypes	ZHANG Yi-xian, FU Ya-ping, XIAO Zhi-hua, <i>et al.</i> (4090)
Research on Soil Bacteria Under the Impact of Sealed CO ₂ Leakage by High-throughput Sequencing Technology	TIAN Di, MA Xin, LI Yu-e, <i>et al.</i> (4096)
Microeukaryotic Biodiversity in the Waste Ore Samples Surrounding an Acid Mine Drainage Lake	LI Si-yuan, HAO Chun-bo, WANG Li-hua, <i>et al.</i> (4105)
Characteristics and Functional Protein Analysis of an Effective Decabromodiphenyl Ether-Degrading Strain	CHANG Jing-jing, YIN Hua, QIN Hua-ming, <i>et al.</i> (4112)
Effect of Selenium on the Uptake and Translocation of Manganese, Iron, Phosphorus and Selenium in Rice (<i>Oryza sativa</i> L.)	HU Ying, HUANG Yi-zong, HUANG Yan-chao, <i>et al.</i> (4119)
Effect of Exogenous Iron on Accumulation and Chemical Forms of Cadmium, and Physiological Characterization in Different Varieties of Tomato	LIU Jun, ZHOU Kun, XU Wei-hong, <i>et al.</i> (4126)
Analysis of Control Policy for Persistent Toxic Substances from Electronic Wastes in China	LI Li, LÜ Yong-long, WANG Tie-yu (4132)

《环境科学》第6届编辑委员会

主 编: 欧阳自远

副主编: 赵景柱 郝吉明 田 刚

编 委: (按姓氏笔画排序)

万国江 王华聪 王凯军 王绪绪 田 刚 田 静 史培军
朱永官 刘志培 汤鸿霄 陈吉宁 孟 伟 周宗灿 林金明
欧阳自远 赵景柱 姜 林 郝郑平 郝吉明 聂永丰 黄 霞
黄 耀 鲍 强 潘 纲 潘 涛 魏复盛

环 境 科 学

(HUANJING KEXUE)

(月刊 1976年8月创刊)

2013年10月15日 34卷 第10期

ENVIRONMENTAL SCIENCE

(Monthly Started in 1976)

Vol. 34 No. 10 Oct. 15, 2013

主 管	中国科学院	Superintended	by	Chinese Academy of Sciences
主 办	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences
协 办	(以参加先后为序) 北京市环境保护科学研究院 清华大学环境学院	Co-Sponsored	by	Beijing Municipal Research Institute of Environmental Protection School of Environment, Tsinghua University
主 编	欧阳自远	Editor-in -Chief		OUYANG Zi-yuan
编 辑	《环境科学》编辑委员会 北京市2871信箱(海淀区双清路 18号, 邮政编码:100085) 电话:010-62941102, 010-62849343 传真:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn	Edited	by	The Editorial Board of Environmental Science (HUANJING KEXUE) P. O. Box 2871, Beijing 100085, China Tel:010-62941102, 010-62849343; Fax:010-62849343 E-mail: hjkx@ rcees. ac. cn http://www. hjkx. ac. cn
出 版	科 学 出 版 社 北京东黄城根北街16号 邮政编码:100717	Published	by	Science Press 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷 装 订	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House
发 行	科 学 出 版 社 电话:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com	Distributed	by	Science Press Tel:010-64017032 E-mail: journal@ mail. sciencep. com
订 购 处	全国各地邮电局	Domestic		All Local Post Offices in China
国外总发行	中国国际图书贸易总公司 (北京399信箱)	Foreign		China International Book Trading Corporation (Guoji Shudian), P. O. Box 399, Beijing 100044, China

中国标准刊号: ISSN 0250-3301
CN 11-1895/X

国内邮发代号: 2-821

国内定价: 90.00元

国外发行代号: M 205

国内外公开发行