

环境科学

(HUANJING KEXUE)

ENVIRONMENTAL SCIENCE

第39卷 第11期

Vol.39 No.11

2018

中国科学院生态环境研究中心 主办
科学出版社 出版



目次

2010~2015年我国水泥工业NO_x排放清单及排放特征 蒋春来, 宋晓晖, 钟悦之, 孙亚梅, 雷宇 (4841)

兰州市煨炕污染物排放清单及其对PM_{2.5}浓度贡献 郭文凯, 刘晓, 朱玉凡, 陈强, 杜永刚 (4849)

北京地区气溶胶水溶性组分粒径分布特征 杜翔, 赵普生, 苏捷, 董群 (4858)

郑州市夏、秋季大气颗粒物中水溶性无机离子质量浓度及粒径分布特征 赵庆炎, 姜楠, 燕启社, 王申博, 韩世杰, 杨留明, 张瑞芹 (4866)

菏泽市冬季PM_{2.5}中二元羧酸类SOA的昼夜变化特征 孟静静, 刘晓迪, 侯战方, 李静, 魏本杰, 邢继钊 (4876)

我国典型钢铁行业主要工艺环节排放颗粒物源成分谱特征 温杰, 杨佳美, 李蒲, 郁佳, 吴建会, 田瑛泽, 张进生, 史国良, 冯银厂 (4885)

嘉兴市2015年人为源VOCs排放清单 郝欢, 万梅, 戎宇, 兰亚琼, 熊传芳, 晁娜 (4892)

上海某石化园区周边区域VOCs污染特征及健康风险 盛涛, 陈筱佳, 高松, 刘启贞, 李学峰, 伏晴艳 (4901)

SBR工艺城市污水处理厂微生物气溶胶逸散特征 杨凯雄, 侯红勋, 王颖哲, 史昊然, 许光素, 韩云平, 刘俊新, 李琳 (4909)

太湖有色可溶性有机物组成结构对不同水文情景的响应 石玉, 周永强, 张运林, 姚晓龙, 黄昌春 (4915)

巢湖2016年蓝藻水华时空分布及环境驱动力分析 胡旻琪, 张玉超, 马荣华, 张壹萱 (4925)

蓝藻水华形成过程对氮磷转化功能细菌群的影响 彭宇科, 路俊玲, 陈慧萍, 肖琳 (4938)

三峡水库低水位运行时干流回水对支流水环境的影响 陈紫娟, 宋献方, 张应华, 魏潇, 唐瑜, 秦文婧 (4946)

纳米银对胶州湾西北部海区及河口区沉积物反硝化能力和功能基因丰度的影响 白洁, 田延昭, 孙鹏飞, 白晓岩, 李岩然, 赵阳国 (4956)

澜沧江流域水体悬浮颗粒物δ¹⁵N空间差异及成因分析 唐咏春, 徐飘, 杨正健, 张思思, 刘德富, 纪道斌 (4964)

潮白河冲洪积扇典型包气带剖面反硝化强度垂向空间分布规律 耿宏志, 邹环, 李鸣晓, 张莹, 从辉, 席北斗 (4972)

蛤蟆通河流域地下水化学特征及控制因素 张涛, 何锦, 李敬杰, 曹月婷, 龚磊, 刘金巍, 边超, 蔡月梅 (4981)

典型岩溶地区岩溶泉溶解性碳浓度变化及其通量估算 熊佰炼, 张进忠, 彭韬, 郝卓, 高扬 (4991)

农村多水塘系统景观结构对非点源污染中氮截留效应的影响 李玉凤, 刘红玉, 刘军志, 娄彩荣, 王娟 (4999)

城市典型不透水下垫面径流中邻苯二甲酸酯的污染特征 刘雨童, 李田, 彭航宇 (5007)

不同降雨条件下植被对绿色屋顶径流调控效益影响 葛德, 张守红 (5015)

四氧化三铁改性沸石改良底泥对水中磷酸盐的吸附作用 王丹赫, 张宏华, 林建伟, 詹艳慧, 何思琪, 梁舒静, 汲雨, 奚秀清 (5024)

厌氧条件下可溶性有机质对汞的还原与氧化作用 卞永荣, 顾宝华, 朱波, 程虎, 谷成刚, 杨兴伦, 宋洋, 王芳, 叶茂, 蒋新 (5036)

光助二茂铁/H₂O₂非均相体系降解磺胺二甲基嘧啶 张彪军, 赵姚云川, 房岐, 石凤丽, 张月起, 赵群, 田森林, 李英杰 (5043)

基于同位素技术的短程硝化过程N₂O产生途径 杨玉兵, 杨庆, 李洋, 周薛扬, 李健敏, 刘秀红 (5051)

基质比对厌氧氨氧化耦合反硝化脱氮除碳的影响 安芳娇, 黄剑明, 黄利, 乔瑞, 王瑾, 陈永志 (5058)

厌氧/好氧SPNDPR系统实现低C/N城市污水同步脱氮除磷的优化运行 于德爽, 袁梦飞, 王晓霞, 陈光辉, 甄建园, 杜世明, 张帆 (5065)

污水处理厂SNAD工艺小试 李冬, 崔雅倩, 赵世勋, 刘志诚, 张杰 (5074)

盐度对中试厌氧氨氧化脱氮特性的影响及其恢复动力学 唐佳佳, 于德爽, 王晓霞, 陈光辉, 张军, 赵红, 韩长民 (5081)

中试ANAMMOX-ASBR处理火电厂脱硫脱硝尾液的抑制及恢复特性 张军, 于德爽, 王晓霞, 唐佳佳, 赵红, 韩长民, 应凌俏 (5090)

碳氮比对颗粒污泥CANON反应器脱氮性能和N₂O释放的冲击影响 付昆明, 姜姍, 苏雪莹, 廖敏辉, 仇付国, 曹秀芹 (5101)

污泥性质对微波预处理-厌氧消化的影响及古菌群落结构分析 房平, 唐安平, 付兴民, 李伟, 文洋, 佟娟, 魏源送 (5108)

重庆市农地重金属基线值的厘定及其积累特征分析 伍福琳, 陈丽, 易廷辉, 杨志敏, 陈玉成 (5116)

韩江流域土壤中有有机氯农药的特征分布 刘佳, 丁洋, 祁士华, 翟程凯 (5127)

有机磷酸酯在重庆不同城市功能区土壤的分布特征及来源 杨志豪, 何明靖, 杨婷, 卢俊峰, 魏世强 (5135)

纳米零价铁和过氧化钙联合降解土壤淋洗废液的α-HCH 姚静波, 周杰, 王明新, 苟志祥, 薛金娟 (5142)

株洲清水塘工业区周边土壤微生物群落特征 申丽, 李振桦, 曾伟民, 余润兰, 吴学玲, 李交昆, 王烁琨 (5151)

生物炭对施粪肥土壤中根际真菌群落多样性及相互作用的影响 王丹丹, 杨泽平, 赵远, 梁玉婷 (5163)

生物炭负载氮还田对水稻生长、根系形态及氮素利用的影响 俞映惊, 王悦满, 侯朋福, 杨林章, Alfred Oduor Odindo, 薛利红 (5170)

颗粒有机质对水稻稻吸收及转运的影响 曹柳, 杨俊兴, 郭劲君, 郭俊梅, 郑国砥, 卢一富 (5189)

施肥对向日葵吸收积累Cd的影响 林小兵, 周利军, 王惠明, 刘晖, 武琳, 俞莹, 胡敏, 何波, 周青辉, 黄久如 (5198)

不同水稻品种对重金属的积累特性 曹鹏, 郭朝晖, 肖细元, 彭驰, 黄博 (5207)

芦竹和木本植物间种修复重金属污染土壤 罗佳宸, 李思悦 (5217)

三峡库区典型河流水-气界面CO₂通量日变化观测及其影响因素分析 商东耀, 肖启涛, 胡正华, 谢燕红, 黄文晶, 张弥 (5227)

富营养化湖区CH₄排放特征及其影响因素 申颜, 孙建平, 罗玉坤, 刁华杰, 闫卫东, 王常慧, 董宽虎 (5237)

短期放牧对半干旱草地生态系统CO₂和N₂O排放的影响 罗晓琦, 张阿凤, 陈海心, 冯浩 (5246)

覆膜方式和灌溉对夏玉米产量及农田碳排放强度的影响 冯兆忠, 袁相洋 (5257)

臭氧浓度升高对植物源挥发性有机化合物(BVOCs)影响的研究进展 杜新强, 方敏, 冶雪艳 (5266)

地下水“三氮”污染来源及其识别方法研究进展 张翔宇, 李茹莹, 季民 (5276)

污水生物处理中抗生素的去除机制及影响因素

《环境科学》征订启事(4848) 《环境科学》征稿简则(4990) 信息(5188, 5216, 5236)

株洲清水塘工业区周边土壤微生物群落特征

申丽^{1,2}, 李振桦^{1,2}, 曾伟民^{1,2*}, 余润兰^{1,2}, 吴学玲^{1,2}, 李交昆^{1,2}, 王烁琨^{1,2}

(1. 中南大学资源加工与生物工程学院, 长沙 410083; 2. 中南大学教育部生物冶金重点实验室, 长沙 410083)

摘要: 基于 Illumina 高通量测序技术分析株洲清水塘工业区周边土壤的微生物群落特征, 研究重金属污染对土壤微生物群落的影响。结果表明, 土壤微生物群落的相对丰度和多样性变化趋势一致, 均随着重金属污染程度增加而减小; 稻田土壤平均相对丰度最高的门是变形菌门(49.56%), 其次为绿弯菌门(13.07%)和酸杆菌门(8.77%); 较高重金属污染程度下伴随着更高丰度的变形菌门、绿弯菌门与更低丰度的硝化螺旋菌门、酸杆菌门; 4 组样品的微生物群落结构相似性较高, OTU 重叠度达 52.64%, 丰度较高的 OTU 其微生物群落更趋向于相似; 结合 Spearman 相关性分析, Cr 与变形菌门显著负相关, 与绿弯菌门显著正相关, Cd、Cu、Pb 和 Zn 与硝化螺旋菌门显著负相关。以上结果表明, 重金属污染是影响清水塘工业区周边土壤微生物群落结构的重要因素。

关键词: 株洲清水塘工业区; 土壤; 重金属污染; 高通量测序; 微生物多样性; 微生物群落结构

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2018)11-5151-12 DOI: 10.13227/j.hj.kx.201801039

Microbial Communities in Soils of Qingshuitang Industrial District in Zhuzhou

SHEN Li^{1,2}, LI Zhen-hua^{1,2}, ZENG Wei-min^{1,2*}, YU Run-lan^{1,2}, WU Xue-ling^{1,2}, LI Jiao-kun^{1,2}, WANG Shuo-kun^{1,2}

(1. School of Minerals Processing and Bioengineering, Central South University, Changsha 410083, China; 2. Key Laboratory of Biometallurgy of Ministry of Education, Central South University, Changsha 410083, China)

Abstract: To study the effect of heavy metal pollution on microbial communities, microbial diversity and community structure of soils near Qingshuitang industrial district in Zhuzhou, China, were analyzed by Illumina high-throughput sequencing technology. In this study, the microbial diversity and community relative abundance decreased with increased heavy metal pollution level. Proteobacteria (49.56%) were the most abundant phylum in all samples, followed by Chloroflexi (13.07%) and Acidobacteria (8.77%). The microbial community structures of all samples were similar. The overlap of OTUs was 52.64%, and the structures of the abundant OTUs subcommunities were more similar than the rare OTUs community structures were. Heavy metals caused increases in Proteobacteria and Chloroflexi and decreases in Acidobacteria and Nitrospirae. According to Spearman's correlation, Proteobacteria was significantly negatively correlated with Cr, whereas Chloroflexi was positively correlated with Cr. Cd, Cu, Pb, and Zn were significantly negatively correlated with Nitrospirae. These results showed that heavy metal pollution is an important factor affecting the soil microbial structure in the soil of the Qingshuitang industrial district.

Key words: Qingshuitang industrial district; soils; heavy metal pollution; high-throughput sequencing; microbial diversity; microbial community structure

由于采矿、冶炼、污水灌溉等人类活动, 我国土壤重金属污染问题愈发严重^[1~3]。据统计, 超过 10% 的耕地已遭受不同程度的重金属污染^[4]。土壤重金属浓度的增加是土壤退化的重要原因, 高浓度的重金属污染对土壤植被和微生物非常有害^[5,6]。土壤微生物参与土壤生物化学过程、有机物分解和维持土壤结构, 对陆地生态系统的能量流动和物质循环至关重要^[7~9]。土壤为土壤微生物提供生存环境的同时也增加了土壤微生物对有害物质的敏感度^[10]。在许多研究中, 土壤微生物群落特征已作为一个重要指标反映土壤生态功能和土壤肥力^[11~14]。国内外学者对重金属污染土壤, 尤其是对工业区周边土壤微生物的研究日益增多。

Stefanowicz 等^[15]对英国和波兰 4 个废弃铅锌、

铜和镍冶炼厂附近的 39 个土壤样品中细菌和真菌多样性分析发现, 细菌和真菌的多样性指数均随着重金属浓度升高而减小, 细菌变化幅度更大; 张雪晴等^[16]比较安徽铜陵铜矿土壤样品中细菌和真菌的多样性和丰度发现, 重金属污染程度增加, 真菌丰度变化更为显著; Gołębiewski 等^[17]对波兰南部工业区周边土壤微生物群落分析发现, 在高浓度 Zn 环境下, 属和种水平上细菌的多样性和丰度均显著减小; He 等^[18]对重金属 Pb、Cd 和 Zn 污染稻

收稿日期: 2018-01-04; 修订日期: 2018-04-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31470230); 国家自然科学基金青年科学基金项目(51604308)

作者简介: 申丽(1979~), 女, 博士, 副教授, 主要研究方向为环境微生物学, E-mail: lishen@csu.edu.cn

* 通信作者, E-mail: zengweimin1024@sina.com

田的土壤微生物群落研究,发现 Zn 不仅与细菌多样性、丰度负相关,且显著影响细菌的群落结构; Berg 等^[19]采用基于 16S rRNA 高通量测序技术和 [³H] 标记亮氨酸掺入法研究长期遭受 Cu 污染的土壤细菌,发现 Cu 显著影响细菌群落结构与对 Cu 的耐受能力,但与细菌的丰度无显著关系; Marcin 等认为^[13],重金属污染对微生物群落的影响会受到其他环境因素的影响而不同。

清水塘工业区位于湖南省株洲市,是我国著名的老工业基地,由于产业结构和技术工艺等原因,园区周边土壤重金属污染严重^[20]。目前关于该区域土壤微生物群落结构的研究较少^[10, 21]。本文选择株洲清水塘工业区以西的 4 块水稻田 12 个土壤样点作为研究对象,基于 16S rRNA 高通量测序技术分析了其微生物群落结构差异,探讨了微生物多样性和群落结构与重金属的关系,以期对清水塘工业区周边土壤重金属污染与生态风险的评估提供较为全面的微生物信息参考,进一步提高对工业区周边土壤重金属污染对微生物影响的认知,并为该地区或其他相似地区的土壤重金属修复提供理论依据。

1 材料与与方法

1.1 样品采集与处理

2016 年 10 月土壤样品采集于株洲市清水塘工业区以西 5 km 范围内的 4 块稻田,分别编号为 A、B、C、D,其与工业区(株冶为中心)的距离分别为 5、3、1、0.5 km,如图 1 所示。

每块稻田设置 3 个采样点(距离大于 50 m)。样品采集方法采用 5 点法^[22],即挖取 5 个深度 5~10 cm、约 100 g、直径为 1.5 cm 的土块,混匀作为一个样品,用 2 mm 尼龙筛筛去石块,恒温箱低温保存,运输至实验室。

采集的土壤样品一部分风干,用于土壤理化性质分析;一部分保存于 -20℃,用于后续生物学分析。

1.2 土壤理化参数测定

土壤 pH(按照水土质量比为 2.5:1)采用 pH 计测定;土壤总有机碳(TOC)采用重铬酸钾氧化法测定^[23],总氮(TN)采用凯氏法测定^[23];Cu、Zn、Pb、Cd、Cr 和 As 含量采用 ICP-OES 方法测定。

1.3 DNA 提取、PCR 扩增及 MiSeq 测序

取 0.25 g 样品,用土壤 DNA 提取试剂盒(mobio powersoil dna isolation kit)提取 DNA,测定



图 1 研究区域及采样地示意

Fig. 1 Research areas and sampling sites

浓度后置于 -80℃ 冰箱保存。

对 16S rRNA 基因的 V4 高变区片段进行 PCR 扩增,引物序列为 515F (5'-GTGYCAGCMG CCGCGTA-3'), 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTC TAAT-3')。PCR 扩增条件为:95℃, 5 min; 95℃, 30 s; 55℃, 30 s; 72℃, 45 s), 30 个循环; 72℃, 10 min。每个样本 3 个重复,将同一样本的 PCR 产物混合后用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEN 公司)切胶回收 PCR 产物,Tris-HCl 洗脱;2% 琼脂糖电泳检测。根据电泳初步定量结果,将 PCR 产物用 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)进行检测定量,按照每个样本的测序量要求,进行相应比例的混合。

DNA 样品送至上海美吉生物医药科技有限公司 Illumina MiSeq PE300 平台上机测序。

1.4 原始数据处理

MiSeq PE300 测序平台获得双端序列数据,每个样本数据量约为 30000 条序列。为了保证后续生物信息分析的准确性,在 Trimmomatic 和 FLASH 软件平台上对测序数据进行过滤和拼接:过滤 Read 尾部质量值 20 以下的碱基;根据 PE reads 之间的 overlap 关系,将对 reads 拼接(merge)成一条序列,最小 overlap 长度为 10bp;拼接序列的 overlap 区允许的最大错配比率为 0.2,筛选不符合序列;根据序列首尾两端的 barcode 和引物区分样品,并调整序列方向,barcode 允许的错配数为 0,最大引物错配数为 2。

1.5 数据分析

基于 97% 相似度水平,在 Usearch (vsesion 7.0)平台上进行 OTU 聚类,所获得的结果与 Silva 16S rRNA 数据库相似性比对,采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进

行分类学分析,统计并分析各分类学水平上各样品的群落组成;根据 OTU 分析结果分类学信息,利用 R 语言工具,作图并分析样品稀释性曲线(rarefaction curve),并计算丰度指数(ACE 和 Chao)、多样性指数(Shannon)和覆盖率;利用韦恩图和距离热图比较样本间 OTU 相似性;通过 Spearman 相关性热图研究重金属与微生物群落结构的关系。

2 结果与分析

2.1 土壤理化特性参数及各区域样品重金属污染状况

土壤理化特性见表 1。如表所示,4 块稻田土壤重金属含量差异较大,主要重金属的分布如下: Cd (4.17 ~ 16 mg·kg⁻¹), Cu (38.5 ~ 136 mg·kg⁻¹), Pb (105 ~ 465 mg·kg⁻¹), Zn (330 ~ 1620 mg·kg⁻¹), Cr (84.2 ~ 156 mg·kg⁻¹), As (29.3 ~

64.3 mg·kg⁻¹);其中样地 D 土壤中的 Cd、Cu、Pb、Zn 浓度均最高。

重金属污染程度,可用内梅罗指数法来评估。内梅罗指数法是当前国内外进行综合污染指数计算的最常用的方法之一^[24, 25]。

$$P_i = C_i/S_i \tag{1}$$

$$P_N = \sqrt{\frac{(\bar{P})^2 + P_{imax}^2}{2}} \tag{2}$$

式中, P_N 为综合污染指数; P_i 为重金属 i 的污染指数; C_i 为重金属含量实测值; S_i 为土壤环境质量标准值(国家二级标准值); \bar{P} 为各污染物种污染指数的平均值; P_{imax} 为各污染物中污染指数最大值。

如表 1 所示,4 个样地的 P_N 均大于 3,根据土壤综合污染程度分级标准(表 2),均为重污染,污染程度高低为:样地 D(38.62) > 样地 C(32.77) > 样地 B(11.02) > 样地 A(10.09)。

表 1 土壤理化参数和综合污染指数

Table 1 Physical and chemical properties of the soil and pollution appraisal indexes

样地	含量/mg·kg ⁻¹						含量/g·kg ⁻¹		pH	P _N
	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn	As	TOC	TN		
A	4.17	84.2	38.5	105	330	35.6	45.73	1.53	6.09	10.09
B	4.39	150	59	256	375	35.3	35.03	1.54	6.36	11.02
C	13.60	156	87.9	390	1076	29.3	44.67	1.43	6.11	32.77
D	16.00	130	136	465	1620	64.3	53.45	1.48	6.01	38.62
S _i ^[26]	0.3	300	100	300	250	30				

表 2 土壤重金属污染分级标准^[25]

Table 2 Criteria for classification of soil heavy metal pollution

等级划分	单项污染指数	综合污染指数	污染等级	污染水平
1	P _i ≤ 0.7	P _N ≤ 0.7	安全	清洁
2	0.7 < P _i ≤ 1.0	0.7 < P _N ≤ 1.0	警戒限	尚清洁
3	1.0 < P _i ≤ 2.0	1.0 < P _N ≤ 2.0	轻污染	土壤开始受到污染
4	2.0 < P _i ≤ 3.0	2.0 < P _N ≤ 3.0	中污染	土壤受中度污染
5	P _i > 3.0	P _N > 3.0	重污染	土壤受污染已相当严重

2.2 测序结果

12 个土壤样品一共检测到 471 008 条 16S rRNA 有效序列,平均序列数为 39 250 条序列,平均长度为 273bp,以 97% 相似性聚类分析,共得到 3 273 个 OTUs,各样本的覆盖率范围为 0.981 0 ~ 0.983 3,说明土样中基因被检测概率较高。

稀释性曲线(如图 2)走向趋于平缓,说明测序数量趋于饱和,测序所获得的数据充足。

2.3 α 多样性分析

微生物 α 多样性指数如表 3 所示。Sobs 为实测 OTU 数目; Chao、ACE 指数为群落丰度指数,

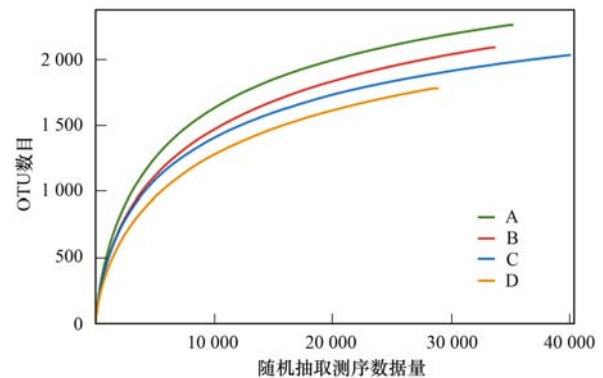


图 2 稀释性曲线

Fig. 2 Rarefaction curves

Shannon 指数为群落多样性指数. 样本微生物群落丰度和多样性指数趋向规律与重金属污染程度趋向一

致: 样地 A > 样地 B > 样地 C > 样地 D, 重金属污染程度越高, 土壤微生物群落丰度和多样性均越低.

表 3 群落丰度和多样性指数¹⁾

Table 3 Species richness and diversity estimators

采样地	Sobs 指数	Chao 指数	ACE 指数	Shannon 指数	覆盖率
A	2129	2548	2499	6.574	0.9817
B	1978	2432	2397	6.184	0.9810
C	1860	2256	2215	6.015	0.9833
D	1748	2192	2146	5.793	0.9824

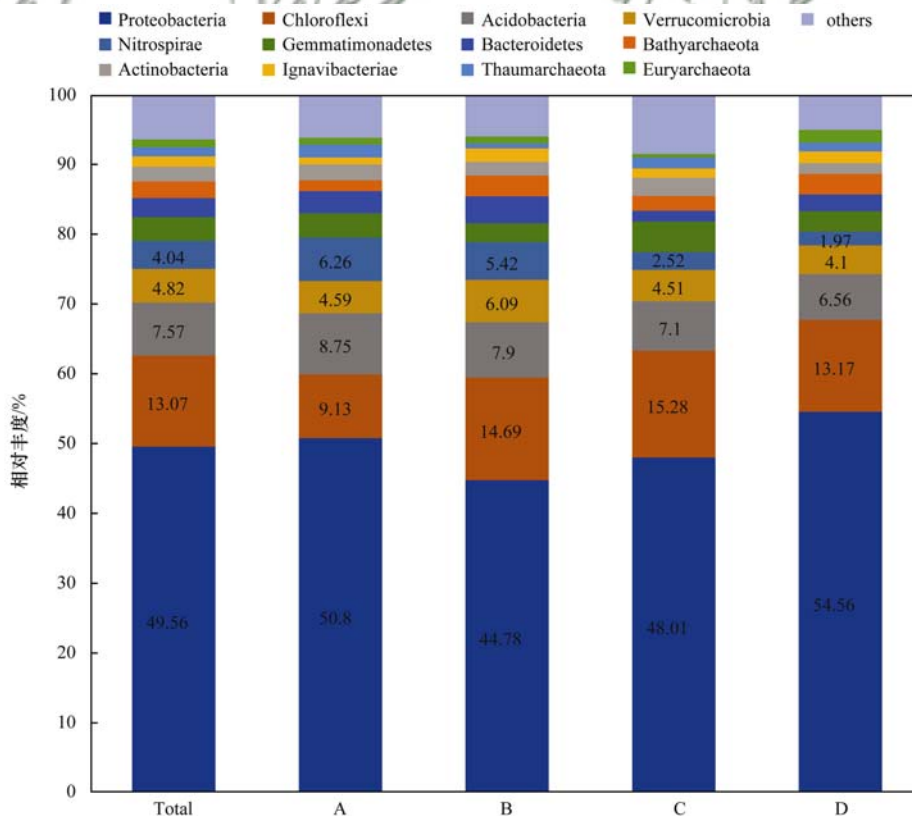
1) 将所有样本的序列随机抽取至统一数据量(30 900 条序列)

2.4 微生物群落结构

4 组土壤样品共检测出 3 273 个 OTUs, 分属于细菌和古菌, 共 48 个门, 119 个纲, 230 个目, 379 个科, 562 个属和 1 061 个种.

以门作为分类学水平分析 4 组土壤样品的微生物群落结构, 如图 3 所示. 4 组样品中平均相对丰度最高的门是变形菌门 (Proteobacteria), 为 49.56%, 其相对丰度的分布为样地 D (54.56%) > 样地 A (50.8%) > 样地 C (48.01%) > 样地 B (44.78%), 随着污染程度的增加先减后增; 平均相对丰度仅次于变形菌门 (Proteobacteria) 的是绿弯菌门 (Chloroflexi), 平均相对丰度为 13.07%, 其相

对丰度的分布为样地 C (15.28%) > 样地 B (14.69%) > 样地 D (13.17%) > 样地 A (9.13%), 随着污染程度增加无明显变化趋势, 但在样地 A 中最低; 酸杆菌门 (Acidobacteria) 的平均相对丰度为 8.77%, 其相对丰度的分布为样地 A (8.75%) > 样地 B (7.9%) > 样地 C (7.1%) > 样地 D (6.56%), 随着污染程度增加递减; 疣微菌门 (Verrucomicrobia) 的平均相对丰度为 4.82%, 其相对丰度的分布为样地 B (6.09%) > 样地 A (4.59%) > 样地 C (4.51%) > 样地 D (4.10%), 随着污染程度增加无明显变化趋势, 在样地 B 中最高; 硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 的平均相对丰度为 4.04%, 其相



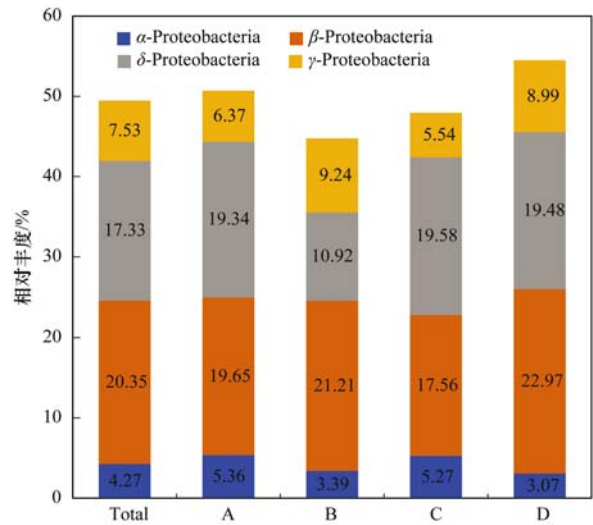
Total 为门分类水平上所有样本的微生物相对丰度的平均值

图 3 土壤微生物门分类水平组成

Fig. 3 Microbial community structure in samples at phylum level

相对丰度的分布为 样地 A (6.26%) > 样地 B (5.42%) > 样地 C (2.52%) > 样地 D (1.97%)，随着污染程度的增加递减。

在纲分类学水平上，变形菌门的组成在 4 组土壤样品中差异最为明显。图 4 为 4 组土壤样品变形菌门群落组成。 β -变形菌纲(β -Proteobacteria)的平均相对丰度最高，为 20.35%，其相对丰度的分布为样地 D (22.97%) > 样地 B (21.21%) > 样地 A (19.65%) > 样地 C (17.56%)，随着污染程度的增加呈递减趋势，在样地 C 中最低； δ -变形菌纲(δ -Proteobacteria)的平均相对丰度为 17.33%，其相对丰度的分布为样地 C (19.58%) > 样地 D (19.48%) > 样地 A (19.34%) > 样地 B (10.92%)，随着污染程度增加无明显变化趋势； γ -变形菌纲(γ -Proteobacteria)的平均相对丰度为 7.53%，其相对丰度的分布为样地 B (9.24%) > 样地 D (8.99%) > 样地 A (6.37%) > 样地 C (5.54%)，随着污染程度增加呈递减趋势，在样地 C 中最低； α -变形菌纲(α -Proteobacteria)的平均相对丰度最低，为 4.27%，其相对丰度的分布为样地 A (5.36%) > 样地 C (5.27%) > 样地 B (3.39%) > 样地 D (3.07%)，随着污染程度增加呈递减趋势。

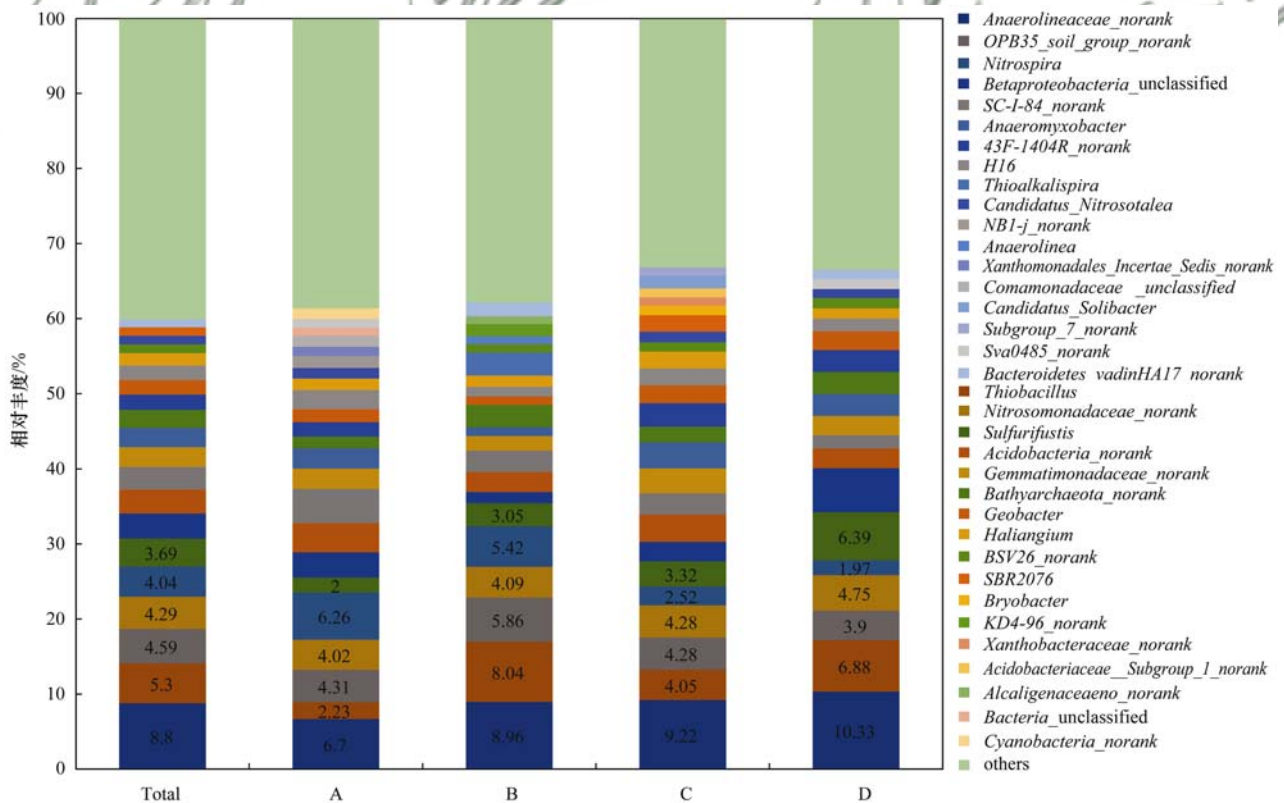


Total 为纲分类水平上所有样本的微生物相对丰度的平均值

图 4 变形菌门群落及结构

Fig. 4 Communities and distribution of Proteobacteria

以属作为分类学水平分析 4 组土壤样品的微生物群落结构，如图 5 所示。将平均丰度低于 1% 的部分合并为 others，剩余 36 个属水平分类微生物包括已分类的 13 个、未科学命名(norank) 19 个和未分类(unclassified) 3 个。Anaerolineaceae_norank 属于厌氧绳菌科(Anaerolineaceae)，平均相对丰度为



Total 为属分类水平上所有样本的微生物相对丰度的平均值

图 5 土壤微生物属水平组成

Fig. 5 Microbial community structure in samples at genus level

8.8%，占绿弯菌门 67.3%，是 4 组土壤样品相对丰度均最高的属，其相对丰度的分布为样地 D (10.33%) > 样地 C (9.22%) > 样地 B (8.96%) > 样地 A (6.70%)，随着污染程度增加而递减；氧化亚铁硫杆菌属 (*Thiobacillus*) 的平均相对丰度为 5.3%，占变形菌门 10.69%，其相对丰度的分布为样地 B (8.04%) > 样地 D (6.88%) > 样地 C (4.05%) > 样地 A (2.23%)，随着污染程度增加呈递减趋势，在样地 B 中最高；硝化螺旋菌属 (*Nitrospira*) 的平均相对丰度为 4.04%，是硝化螺旋菌门唯一的属，其相对丰度的分布为样地 A (6.26%) > 样地 B (5.42%) > 样地 C (2.52%) > 样地 D (1.97%)，随着污染程度增加递减；*Sulfurifustis* 的平均相对丰度为 3.69%，占变形菌门的 7.44%，其相对丰度的分布为样地 D (6.39%) >

样地 C (3.32%) > 样地 B (3.05%) > 样地 A (2.00%)，随着重金属污染程度增加而递增。

以上从门、纲、属这 3 个水平对 4 个样地群落组成的分析表明重金属污染是影响微生物群落结构的重要因素。

2.5 样本间的相似性分析

Morisita-Horn 距离热图反映丰度较高物种的相似性，Bray-Curtis 距离热图反映丰度较低物种的相似性，样本间距离热图颜色的深浅反映了其相似性的高低，颜色越深，相似性越低^[17]。以 97% 的聚类水平，Morisita-Horn 距离热图的颜色明显比 Bray-Curtis 距离热图的更浅，说明 Morisita-Horn 相似性比 Bray-Curtis 相似性更高，即样本间丰度较高的 OTUs 子群落比丰度较低的 OTUs 子群落更为相似(图 6)。

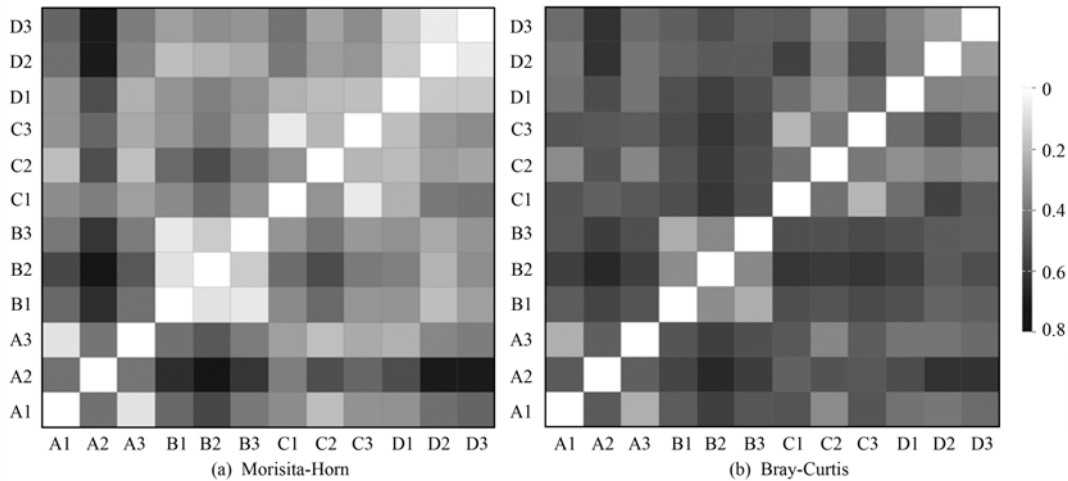


图 6 Morisita-Horn 和 Bray-Curtis 的距离热图

Fig. 6 Community distance heatmaps based on Morisita-Horn and Bray-Curtis dissimilarities

OTU 分布韦恩图如图 7 所示. 4 组样本共有 OTU 数目为 1723, 占总 OTU 个数的 52.64%, 说明不同重金属污染程度下稻田土壤微生物群落结构相似性很高. 样地 A、样地 B、样地 C、样地 D 特有的 OTU 数目分别为 101、85、46、53, 其特有的 OTU 数目随重金属污染程度增加而减少.

2.6 重金属对微生物多样性指数的影响

不同重金属对微生物多样性指数的影响用非线性回归分析来表征^[17, 18]. 如图 8 所示, 重金属 Cd、Zn 与多样性指数 Sobs、Shannon、Chao 均有显著负相关关系 ($P \leq 0.05$), 即随着重金属 Zn 和 Cd 含量的升高, 微生物群落实测 OTUs (Sobs)、物种多样性指数 (Shannon) 和物种丰度指数 (Chao) 显著降低, 而其它重金属与微生物群落多样性指数间无显著相关性.

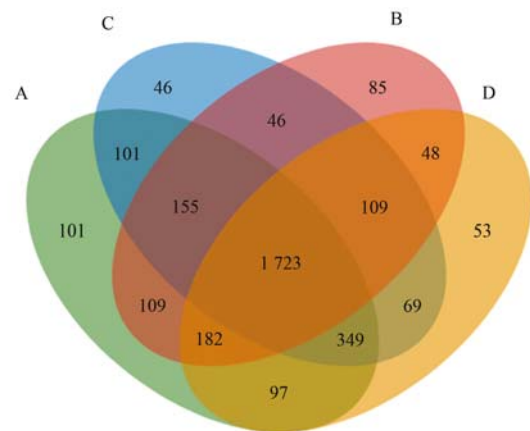


图 7 OTU 分布韦恩图

Fig. 7 Venn diagrams of shared OTUs

2.7 重金属对微生物群落结构的影响

微生物与重金属含量的 Spearman 相关性, 可反

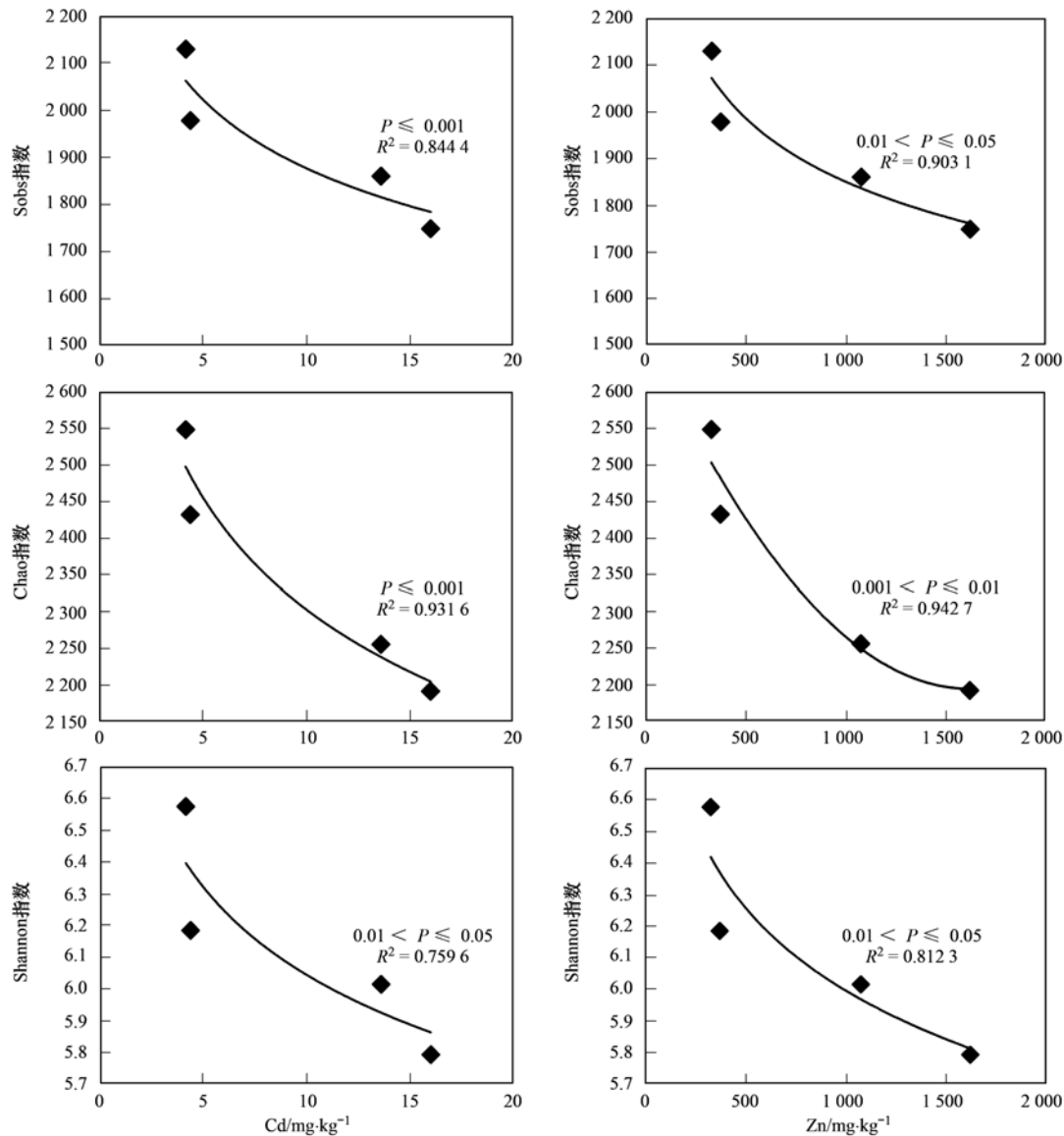


图 8 微生物多样性指数与重金属 Cd、Zn 含量的关系

Fig. 8 Correlations between microbial diversity indices (Sobs, Chao, and Shannon) and Cd and Zn concentrations

映重金属对微生物群落结构的影响^[27]. 本研究选择相对丰度高于 0.05% 的 404 个 OTU, 分析其与重金属含量的 Spearman 相关性关系, 发现共有 159 个 OTU 具有显著相关, 其中正相关 73 个, 负相关 89 个.

不同丰度区间的 OTU 和重金属显著相关不同 (如表 4). 微生物群落相对丰度在 0.05% ~ 0.1% 之间, 与重金属显著正/负相关的 OTU 数目最多, 为 85 个; 其次是在 0.1% ~ 0.5% 之间, 为 66 个;

表 4 不同丰度区间的 OTU 和重金属的显著相关性个数

Table 4 Significant relation numbers of heavy metals with different richness threshold values at OTU level

相对丰度区间	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn	As
高于 0.5%	4	1, -1	4, -1	3, -1	5, -1	0
合计	4	2	5	4	6	0
0.1% ~ 0.5%	19, -15	8, -12	9, -16	9, -13	11, -16	3, -4
合计	34	20	25	22	27	7
0.05% ~ 0.1%	14, -17	19, -20	12, -19	10, -16	10, -16	1, -6
合计	31	39	31	26	26	7
高于 0.05%	37, -32	28, -33	25, -36	22, -30	26, -33	4, -10
合计	69	61	61	52	59	14

高于 0.5% 最少, 为 8 个. 这反映了相对丰度在 0.05% ~ 0.1% 之间的微生物受重金属影响最大, 高于 0.5% 受重金属影响较小. 与重金属 Cd、Cr、Cu、Pb、Zn、As 显著相关的 OTU 数目分别为 69、61、61、52、59、14, 说明重金属 Cd 对相对丰度高于 0.05% 的微生物群落影响最大.

如表 5 所示, 159 个与重金属显著相关的 OTU

序列属于 13 个门. 相对丰度最高的变形菌门与重金属显著相关的 OTU 数目最多, 为 85 个. 其中 δ -变形菌纲与重金属 Cd、Cu、Pb、Zn 主要为显著正相关, β -变形菌纲与 6 种重金属均为显著正相关. 硝化螺旋菌门与 6 种重金属均为显著负相关; 绿弯菌门与 6 种重金属主要为显著正相关; 其他门类微生物与重金属也具有显著的相关性.

表 5 重金属对微生物门类 Spearman 相关性统计¹⁾

Table 5 Spearman's correlation of heavy metals at phylum level

门/纲		Cd	Cr	Cu	Pb	Zn	As	Total
变形菌门/ α -变形菌纲	$P \leq 0.05$ 合计	1-1 2	-3 3	-1 1	-1 1	1, -1 2	1 1	1, -4 5
变形菌门/ β -变形菌纲	$P \leq 0.05$ 合计	3, -8 11	-11 11	1, -12 13	2, -9 11	1, -9 10	1, -2 3	5, -26 31
变形菌门/ δ -变形菌纲	$P \leq 0.05$ 合计	17, -2 19	3, -8 11	10, -3 13	7, -3 10	12, -3 15	0 0	20, -13 33
变形菌门/ γ -变形菌纲	$P \leq 0.05$ 合计	6, -4 10	1, -5 6	2, -7 9	1, -5 6	3, -6 9	0 0	6, -10 16
酸杆菌门	$P \leq 0.05$ 合计	1, -1 2	6 6	-1 1	-2 2	-1 1	-4 4	7, -6 12
硝化螺旋菌门	$P \leq 0.05$ 合计	-9 9	-3 3	-6 6	-4 4	-9 9	0 0	-14 14
绿弯菌门	$P \leq 0.05$ 合计	7, -1 8	10, -1 11	5 5	5 5	4 4	-2 2	17, -4 19
芽单胞菌门	$P \leq 0.05$ 合计	-2 2	4 4	-1 1	-1 1	-2 2	1 1	5, -2 7
拟杆菌门	$P \leq 0.05$ 合计	-1 1	0 0	1, -2 3	1, -2 3	1, -1 2	0 0	1, -4 5
疣微菌门	$P \leq 0.05$ 合计	0 0	1, -1 2	-1 1	-1 1	0 0	1, -2 3	2, -3 5
螺旋菌门	$P \leq 0.05$ 合计	0 0	0 0	1 1	2 2	1 1	0 0	1, -1 2
广古菌门	$P \leq 0.05$ 合计	0 0	1, -1 2	0 0	0 0	0 0	0 0	1, -1 2
深古菌门	$P \leq 0.05$ 合计	0 0	1 1	1 1	1 1	1 1	0 0	2 2
放线菌门	$P \leq 0.05$ 合计	1 1	0 0	1 1	1 1	1 1	0 0	1 1
Ignavibacteria	$P \leq 0.05$ 合计	0 0	1 1	2 2	1 1	0 0	0 0	2 2
Latescibacteria	$P \leq 0.05$ 合计	-1 1	0 0	-1 1	-1 1	-1 1	0 0	-1 1
unclassified	$P \leq 0.05$ 合计	1 1	0 0	1, -1 2	1, -1 2	1 1	0 0	1, -1 2

1) 相对丰度 > 0.05%; Total 为该门分类水平所有样品和重金属显著相关的 OTU 数目

将 159 个与重金属显著相关的 OTU 序列比到到属水平, 如表 6 所示. 发现 60 个 OTU 序列能比到到属水平, 分属于 25 个属. 鞘脂单胞菌属、H16、硫碱螺旋菌属、硝化螺旋菌属、芽单胞菌属和多种重金属有显著的负相关, 说明这几类微生物对重金属的耐受能力较弱; 厌氧黏细菌属、地杆菌属、*Haliangium*、螺旋体属和多种重金属有显著的正相

关, 说明这几类微生物对重金属的耐受能力较强.

3 讨论

3.1 稻田土壤微生物群落的结构组成

4 个样地土壤样品的优势菌门均为变形菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、疣微菌门、硝化螺旋菌门, 表明这些优势菌群能在重金属污染环境生存, 是

表 6 基于 OTU 分类学水平 Spearman 相关性分析¹⁾

Table 6 Spearman's correlation at OTU level

门/纲	属	OTU 序号	Cd	Cr	Cu	Pb	Zn	As	相对丰度/%
变形菌门 /α-变形菌纲	苯基杆菌属	2274	0.151	-0.679 *	-0.021	-0.072	0.15	0.627 *	0.09
	鞘脂单胞菌属	2217	-0.812 **	-0.021	-0.798 **	-0.769 **	-0.784 **	-0.301	0.07
	<i>Defluviococcus</i>	2484	0.732 **	0.178	0.549	0.537	0.668*	-0.124	0.06
变形菌门 /β-变形菌纲	<i>Sideroxydans</i>	2190	-0.207	0.043	-0.344	-0.394	-0.347	-0.653 *	0.11
	<i>Dechloromonas</i>	898	-0.547	-0.477	-0.691 *	-0.512	-0.558	-0.087	0.05
变形菌门 /δ-变形菌纲	厌氧黏细菌属	1030	0.771 **	-0.29	0.522	0.513	0.654 *	0.435	0.25
		2220	0.643 *	0.095	0.476	0.382	0.589 *	-0.095	0.14
		992	0.503	0.11	0.615 *	0.498	0.543	0.54	0.10
		1372	0.725 **	0.372	0.774 **	0.61 *	0.767 **	0.069	0.09
	<i>Desulfatiglans</i>	2530	0.221	-0.727 **	-0.102	-0.032	0.072	0.428	0.16
	<i>Desulfobacca</i>	2194	-0.62 *	-0.182	-0.431	-0.332	-0.442	0.177	0.09
	地杆菌属	2552	0.755 **	0.329	0.65 *	0.691 *	0.705 **	-0.095	0.13
		1406	-0.295	0.732 **	0.133	0.141	-0.035	-0.428	0.08
		2661	0.648 *	-0.437	0.371	0.366	0.534	0.548	0.07
	2600	0.769 **	0.074	0.755 **	0.737 **	0.737 **	0.233	0.27	
<i>Geothermobacter</i>	2137	0.65 *	0.095	0.35	0.277	0.557	-0.134	0.14	
H16	344	-0.424	-0.326	-0.757 **	-0.671 *	-0.604 *	-0.403	0.14	
	2293	0.07	-0.743 **	-0.28	-0.234	-0.018	0.449	0.13	
	1618	0.588 *	-0.048	0.312	0.228	0.424	-0.18	0.10	
	2688	-0.42	-0.364	-0.769 **	-0.839 **	-0.593 *	-0.194	0.06	
	2151	-0.593 *	-0.362	-0.495	-0.467	-0.496	0.448	0.06	
	2590	0.699 *	0.212	0.629 *	0.53	0.624 *	0.018	0.15	
Haliangium	2166	0.745 **	0.128	0.629 *	0.654 *	0.695 *	0.067	0.08	
	2503	0.578 *	0.687 *	0.722 **	0.759 **	0.675 *	-0.141	0.07	
	3166	0.681 *	-0.438	0.428	0.454	0.535	0.476	0.06	
互营菌属	3117	0.783 **	-0.329	0.476	0.477	0.617 *	0.342	1.58	
	2583	0.783 **	0.042	0.776 **	0.737 **	0.748 **	0.272	0.73	
	2665	-0.182	0.643 *	0.336	0.302	0.046	-0.046	0.46	
	2529	0.615 *	-0.018	0.364	0.379	0.483	0.007	0.27	
	2482	0.614 *	-0.28	0.349	0.396	0.523	0.31	0.11	
变形菌门 /γ-变形菌纲	Sulfurifustis	1035	-0.732 **	0.143	-0.494	-0.402	-0.562	-0.233	0.50
		657	-0.916 **	-0.117	-0.72 **	-0.688 *	-0.794 **	-0.106	0.41
	硫碱螺旋菌属	2867	0.028	-0.581 *	-0.137	-0.012	-0.041	0.205	0.06
		1012	-0.658 *	-0.096	-0.49	-0.409	-0.592*	0.053	0.30
		1076	-0.084	-0.633 *	-0.526	-0.447	-0.32	0.06	0.23
	940	-0.629 *	0.254	-0.413	-0.365	-0.596 *	-0.215	0.22	
	1225	-0.774 **	-0.17	-0.729 **	-0.64 *	-0.77 **	-0.11	0.20	
	934	-0.585 *	-0.31	-0.599 *	-0.51	-0.627 *	-0.004	0.17	
	1024	-0.684 *	-0.309	-0.818 **	-0.757 **	-0.782 **	-0.149	0.16	
	1056	-0.786 **	0.202	-0.458	-0.38	-0.642 *	-0.008	0.16	
2386	-0.767 **	-0.2	-0.592 *	-0.51	-0.691 *	0.12	0.09		
967	-0.368	-0.555	-0.635 *	-0.59 *	-0.549	0.055	0.08		
硝化螺旋菌门 硝化螺旋菌纲	1424	-0.79 **	-0.444	-0.945 **	-0.924 **	-0.922 **	-0.286	0.08	
	3212	-0.592 *	-0.09	-0.403	-0.297	-0.495	0.148	0.07	
	2215	0.263	-0.613 *	-0.084	-0.009	0.124	0.28	0.05	
	1154	-0.55	-0.115	-0.543	-0.501	-0.624 *	-0.208	0.05	
	2890	0.052	-0.687 *	-0.455	-0.412	-0.228	-0.008	0.05	
	<i>Bryobacter</i>	2691	-0.07	0.675 *	0.385	0.421	0.116	-0.106	0.23
	1657	-0.095	0.283	-0.21	-0.265	-0.24	-0.576 *	0.16	
	1487	-0.067	0.644 *	0.337	0.254	0.092	-0.248	0.08	
	3207	-0.077	0.756 **	0.238	0.242	0.032	-0.406	0.06	
	2639	-0.203	0.704 *	0.221	0.193	-0.049	-0.279	0.06	
AKIW659	1151	-0.141	0.707 **	0.081	0.071	-0.112	-0.722 **	0.05	
绿弯菌门 厌氧绳菌纲	1291	-0.196	0.721 **	0	-0.084	-0.099	-0.631 *	0.29	
芽单胞菌门 芽单胞菌纲	2447	-0.669 *	-0.196	-0.729 **	-0.779 **	-0.763 **	-0.281	0.12	
	1032	-0.595 *	0.359	-0.452	-0.534	-0.613 *	-0.481	0.06	
螺旋体门 螺旋体纲	3202	0.406	-0.081	0.559	0.621 *	0.511	0.466	0.11	
	1007	0.488	0.284	0.575 *	0.687 *	0.581 *	0.186	0.08	
广古菌门 甲烷绳菌纲	32	0.427	-0.662 *	0.085	0.084	0.262	0.309	0.08	
	<i>Methanocella</i>	854	-0.252	0.859 **	0.147	0.137	-0.032	-0.511	0.06

1) 相对丰度 > 0.05%; * 表示 0.01 < P ≤ 0.05, ** 表示 P ≤ 0.01; 黑体字表示显著相关

清水塘工业区周边稻田土壤的优势微生物群落。Chen 等^[2]利用 DGGE 技术研究发现, 中国江苏省某冶炼厂周边长期遭受重金属 Pb、Cd、Zn 和 Cu 污染的稻田土壤中主要为变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门; He 等^[18]利用 Illumina 高通量测序技术发现中国广东省几个矿区周边长期遭受重金属 Cd、Pb 和 Zn 污染的稻田土壤中主要为变形菌、放线菌、厚壁菌门、酸杆菌门。本研究中变形菌门的相对丰度最高, 得到与上述研究相近的微生物优势菌群, 说明在不同地理环境下受重金属污染的稻田土壤都有相似的微生物组成。

从韦恩图(如图 7)结果看出, 尽管 4 个样地土壤的重金属污染程度不同, OTU 的重叠率仍很高, 这说明在相近地理环境下, 重金属污染程度不同的稻田土壤微生物组成也趋于相近。

3.2 重金属对稻田土壤微生物群落丰度和多样性的影响

有研究发现, 重金属污染是影响微生物群落丰度和多样性的重要因素, 高重金属污染环境下, 土壤微生物群落丰度和多样性均显著减小^[28-32]。4 个样地土壤样品中, 重金属污染程度越高, 其微生物群落丰度和多样性越低, 并与重金属 Cd、Zn 显著负相关(如图 8), 这与 Chen 等^[3]和 He 等^[18]的研究结果相近。Berg 等^[19]认为微生物群落丰度和多样性与重金属 Cu 并无显著关系, 本研究也得出与其类似的结果。Marcin 等认为^[13]高浓度 Zn 对微生物群落的均匀度也有显著负面影响, 但本研究中各组样品的均匀度无差异(文中并无显示), 这可能是由于本研究的土壤类型和重金属浓度不同, 其研究的土壤类型是沙质土且重金属 Zn、Cr 含量更高。

3.3 重金属对稻田土壤微生物群落结构的影响

不同重金属污染对不同微生物群落的影响不同^[33]。通过样本距离热图(如图 6)发现, 重金属污染程度不同的样品中, 相对丰度较高的微生物群落比相对丰度较低的微生物群落之间更为相似, 说明重金属污染对优势微生物群落的影响更小。比较不同丰度区间 OTU 和重金属相关性(如表 4)也得到类似的结果: 相对丰度高于 0.5% 的微生物和重金属主要为显著正相关, 相对丰度在 0.1% ~ 0.5% 之间的微生物和重金属显著正/负相关的 OTU 数目相近, 相对丰度在 0.05% ~ 0.1% 之间的微生物和重金属主要为显著负相关。说明相对丰度更高的微生物群落对重金属的耐受能力更强。

在重金属污染更高的环境下, 变形菌门类微生

物的相对丰度更高^[17, 34, 35]。但在 4 个样地土壤中, 变形菌门相对丰度的高低为: 样地 D > 样地 A > 样地 C > 样地 B, 随着重金属污染程度增加先减后增。可能是由于样地 A 土壤样品的重金属 Cr 浓度明显低于其他 3 组。重金属 Cr 与微生物群落结构、物种多样性和物种丰度有显著的负相关关系^[36]。从门水平 Spearman 相关性分析发现(如表 5), 变形菌门和重金属 Cr 显著负相关的 OTU 数最多, Cr 是影响变形菌门丰度的重要因素。绿弯菌门是 4 组样品中平均相对丰度第二高的微生物群落, 在重金属污染程度更高的样地 B、C、D 中相对丰度更高, 与重金属 Cr 主要为显著正相关(如表 5)。酸杆菌门相对丰度的分布为: 样地 A > 样地 B > 样地 C > 样地 D, 随着重金属污染程度增加递减, 与 Chen 等^[3]所研究的相似, 从门水平 Spearman 相关性分析发现(如表 5), 酸杆菌门与 Cd、Cu、Pb、Zn、As 显著负相关, 说明重金属对酸杆菌门主要为负面影响; 硝化螺旋菌门相对丰度的分布为: 样地 A > 样地 B > 样地 C > 样地 D, 随着重金属污染程度增加递减, 从门水平 Spearman 相关性分析发现(如表 5), 硝化螺旋菌门有 14 个 OTU 与 Cd、Cr、Cu、Pb、Zn 显著负相关, 说明重金属污染不利于硝化螺旋菌门生存。Li 等^[37]认为古菌对重金属污染有一定的抵抗能力, 本研究也发现广古菌门和深古菌门均与重金属有正相关关系。

δ -变形菌纲与 Cd、Cr、Cu、Pb、Zn 主要为显著正相关, 其中厌氧黏细菌属、地杆菌属、*Haliangium* 均和多种重金属显著正相关。有研究发现, 厌氧黏细菌属、地杆菌属参与变价重金属的氧化还原和有机卤代物的生物代谢过程, 可作为环境修复的理想菌群^[38-41]; Hemme 等^[42]发现 γ -变形菌纲的微生物有多种重金属抗性机制, 重金属耐性能力较强。本研究中发现 γ -变形菌纲的 *Sulfurifustis* 和 Cd、Cr、Cu、Pb、Zn 均有显著正相关, 说明 *Sulfurifustis* 对重金属耐受能力较强。硝化螺菌属为硝化螺旋菌门唯一属, 与多种重金属均为显著负相关, 说明硝化螺菌属对重金属污染敏感度较高, 在高重金属污染的环境下相对丰度显著降低。

4 结论

(1) 清水塘工业区周边 4 块稻田土壤微生物群落主要有: 变形菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、疣微菌门、硝化螺旋菌门, 其平均相对丰度分别为 49.56%、13.07%、8.77%、4.82%、4.04%。

(2)不同重金属污染程度下样本间相似性较高,相对丰度较高的微生物群落比相对丰度较低的微生物群落更趋向于相似。

(3)重金属 Cd、Zn 的含量和稻田土壤微生物群落丰度和多样性指数有显著负相关关系。

(4)相对丰度在 0.05% ~ 0.1% 之间的微生物群落和重金属显著相关的 OTU 数目最多,相对丰度高于 0.05% 的微生物群落和重金属 Cd 显著相关的 OTU 数目最多。

(5)相对丰度最高的变形菌门和重金属显著相关的 OTU 数目最多,其中 δ -变形菌纲的微生物群落和 Cd、Cr、Cu、Pb、Zn 主要为显著正相关;绿弯菌门和重金属 Cr 为显著正相关;酸杆菌门、硝化螺旋菌门和多种重金属均为显著负相关。

参考文献:

- [1] Wei B G, Yang L S. A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China [J]. *Microchemical Journal*, 2010, **94**(2): 99-107.
- [2] Chen H Y, Teng Y G, Lu S J, *et al.* Contamination features and health risk of soil heavy metals in China[J]. *Science of the Total Environment*, 2015, **512-513**: 143-153.
- [3] Chen J H, He F, Zhang X H, *et al.* Heavy metal pollution decreases microbial abundance, diversity and activity within particle-size fractions of a paddy soil [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, **87**(1): 164-181.
- [4] Zhang X Y, Zhong T Y, Liu L, *et al.* Impact of soil heavy metal pollution on food safety in China[J]. *PLoS One*, 2015, **10**(8): e0135182.
- [5] Xu X Y, Schierz A, Xu N, *et al.* Comparison of the characteristics and mechanisms of Hg(II) sorption by biochars and activated carbon [J]. *Journal of Colloid and Interface Science*, 2015, **463**: 55-60.
- [6] Wang N, Xue X M, Juhasz A L, *et al.* Biochar increases arsenic release from an anaerobic paddy soil due to enhanced microbial reduction of iron and arsenic [J]. *Environmental Pollution*, 2017, **220**: 514-522.
- [7] Giller K E, Witter E, Mcgrath S P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, **30**(10-11): 1389-1414.
- [8] Kowalchuk G A, Stephen J R. Ammonia-oxidizing bacteria: a model for molecular microbial ecology [J]. *Annual Review of Microbiology*, 2001, **55**: 485-529.
- [9] Lens P N, Kuenen J G. The biological sulfur cycle: novel opportunities for environmental biotechnology[J]. *Water Science and Technology*, 2001, **44**(8): 57-66.
- [10] Deng L J, Zeng G M, Fan C Z, *et al.* Response of rhizosphere microbial community structure and diversity to heavy metal co-pollution in arable soil [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, **99**(19): 8259-8269.
- [11] Wang Y P, Shi J Y, Wang H, *et al.* The influence of soil heavy metals pollution on soil microbial biomass, enzyme activity, and community composition near a copper smelter[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, **67**(1): 75-81.
- [12] Antunes S C, Pereira R, Marques S M, *et al.* Impaired microbial activity caused by metal pollution: A field study in a deactivated uranium mining area [J]. *Science of the Total Environment*, 2011, **410-411**: 87-95.
- [13] Marcin C, Marcin G, Justyna M P, *et al.* Diversity of microorganisms from forest soils differently polluted with heavy metals[J]. *Applied Soil Ecology*, 2013, **64**: 7-14.
- [14] Elzobair K A, Stromberger M E, Ippolito J A, *et al.* Contrasting effects of biochar versus manure on soil microbial communities and enzyme activities in an Aridisol [J]. *Chemosphere*, 2015, **142**: 145-152.
- [15] Stefanowicz A M, Niklińska M, Laskowski R. Metals affect soil bacterial and fungal functional diversity differently [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2008, **27**(3): 591-598.
- [16] 张雪晴, 张琴, 程园园, 等. 铜矿重金属污染对土壤微生物群落多样性和酶活力的影响 [J]. *生态环境学报*, 2016, **25**(3): 517-522.
- Zhang X Q, Zhang Q, Cheng Y Y, *et al.* The impact of heavy metal contamination on soil microbial diversity and enzyme activities in a copper mine [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2016, **25**(3): 517-522.
- [17] Gołębiewski M, Deja-sikora E, Cichosz M, *et al.* 16S rDNA pyrosequencing analysis of bacterial community in heavy metals polluted soils[J]. *Microbial Ecology*, 2014, **67**(3): 635-647.
- [18] He H D, Li W C, YU R Q, *et al.* Illumina-based analysis of bulk and rhizosphere soil bacterial communities in paddy fields under mixed heavy metal contamination[J]. *Pedosphere*, 2017, **27**(3): 569-578.
- [19] Berg J, Brandt K K, Al-Soud W A, *et al.* Selection for Cu-tolerant bacterial communities with altered composition, but unaltered richness, via long-term Cu exposure[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, **78**(20): 7438-7446.
- [20] Jiang M, Zeng G M, Zhang C, *et al.* Assessment of heavy metal contamination in the surrounding soils and surface sediments in Xiwangang River, Qingshuitang District[J]. *PLoS One*, 2013, **8**(8): e71176.
- [21] 王振中, 胡觉莲, 张友梅, 等. 湖南省清水塘工业区重金属污染对土壤动物群落生态影响的研究[J]. *地理科学*, 1994, **14**(1): 64-72.
- Wang Z Z, Hu J L, Zhang Y M, *et al.* Influence of heavy metal pollution on soil animal community ecology in Qingshuitang area in Hunan[J]. *Scientia Geographica Sinica*, 1994, **14**(1): 64-72.
- [22] Yang Y F, Gao Y, Wang S P, *et al.* The microbial gene diversity along an elevation gradient of the Tibetan grassland[J]. *The ISME Journal Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2014, **8**(2): 430-440.
- [23] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [24] 范拴喜, 甘卓亭, 李美娟, 等. 土壤重金属污染评价方法进展[J]. *中国农学通报*, 2010, **26**(17): 310-315.
- Fan S X, Gan Z T, Li M J, *et al.* Progress of assessment methods of heavy metal pollution in soil[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, **26**(17): 310-315.

- [25] 郭伟, 赵仁鑫, 张君, 等. 内蒙古包头铁矿区土壤重金属污染特征及其评价[J]. 环境科学, 2011, **32**(10): 3099-3105.
Guo W, Zhao R X, Zhang J, *et al.* Distribution characteristic and assessment of soil heavy metal pollution in the iron mining of Baotou in Inner Mongolia[J]. Environmental Science, 2011, **32**(10): 3099-3105.
- [26] GB 15618-1995, 土壤环境质量标准[S].
GB 15618-1995, Environmental quality STANDARD for soils [S].
- [27] Guo H, Nasir M, Lv J, *et al.* Understanding the variation of microbial community in heavy metals contaminated soil using high throughput sequencing [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, **144**: 300-306.
- [28] Xie Y, Fan J B, Zhu W X, *et al.* Effect of heavy metals pollution on soil microbial diversity and bermudagrass genetic variation[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, **7**: 755.
- [29] Yang Y R, Dong M, Cao Y P, *et al.* Comparisons of soil properties, enzyme activities and microbial communities in heavy metal contaminated bulk and rhizosphere soils of Robinia pseudoacacia L. in the northern foot of Qinling Mountain [J]. Forests, 2017, **8**(11): 430.
- [30] Oliveira A, Pampulha M E. Effects of long-term heavy metal contamination on soil microbial characteristics [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2006, **102**(3): 157-161.
- [31] Khan S, Hesham A E L, Qiao M, *et al.* Effects of Cd and Pb on soil microbial community structure and activities [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2010, **17**(2): 288-296.
- [32] Ding Z L, Wu J P, You A Q, *et al.* Effects of heavy metals on soil microbial community structure and diversity in the rice (*Oryza sativa* L. subsp. japonica, food crops institute of Jiangsu academy of agricultural sciences) rhizosphere[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2017, **63**(1): 75-83.
- [33] Prasad M N V. Metals in the environment, analysis by biodiversity[J]. Journal of Organometallic Chemistry, 2001, **669**(1): 207.
- [34] Bourceret A, Cébron A, Tisserant E, *et al.* The bacterial and fungal diversity of an aged PAH-and heavy metal-contaminated soil is affected by plant cover and edaphic parameters [J]. Microbial Ecology, 2016, **71**(3): 711-724.
- [35] Liu Y R, Wang J J, Zheng Y M, *et al.* Patterns of bacterial diversity along a long-term mercury-contaminated gradient in the paddy soils[J]. Microbial Ecology, 2014, **68**(3): 575-583.
- [36] Sheik C S, Mitchell T W, Rizvi F Z, *et al.* Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure[J]. PLoS One, 2012, **7**(6): e40059.
- [37] Li X Q, Meng D L, Li J, *et al.* Response of soil microbial communities and microbial interactions to long-term heavy metal contamination[J]. Environmental Pollution, 2017, **231**: 908-917.
- [38] Shelobolina E S, Vrionis H A, Findlay R H, *et al.* *Geobacter uraniireducens* sp. nov., isolated from subsurface sediment undergoing uranium bioremediation [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2008, **58**, 1075-1078
- [39] Prakash O, Gihring T M, Dalton D D, *et al.* *Geobacter daltonii* sp. nov., an Fe (III)-and uranium (VI)-reducing bacterium isolated from a shallow subsurface exposed to mixed heavy metal and hydrocarbon contamination [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2010, **60**: 546-553.
- [40] Hwang C, Copeland A, Lucas S, *et al.* Complete genome sequence of *Anaeromyxobacter* sp. Fw109-5, an anaerobic, metal-reducing bacterium isolated from a contaminated subsurface environment [J]. Genome Announcements, 2015, **3**(1): e01449-14.
- [41] Sun M, Xiao T F, Ning Z P, *et al.* Microbial community analysis in rice paddy soils irrigated by acid mine drainage contaminated water [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, **99**(6): 2911-2922.
- [42] Hemme C L, Deng Y, Gentry T J, *et al.* Metagenomic insights into evolution of a heavy metal-contaminated groundwater microbial community [J]. The ISME Journal Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology, 2010, **4**(5): 660-672.

CONTENTS

Emissions Inventory and Characteristics of NO _x from Cement Industry	JIANG Chun-lai, SONG Xiao-hui, ZHONG Yue-zhi, <i>et al.</i> (4841)
Emissions Inventory of Smoldering Chinese Kangs and Their Contribution to PM _{2.5} Pollution in Lanzhou City	GUO Wen-kai, LIU Xiao, ZHU Yu-fan, <i>et al.</i> (4849)
Size Distributions of Water-soluble Components in Ambient Aerosol of Beijing	DU Xiang, ZHAO Pu-sheng, SU Jie, <i>et al.</i> (4858)
Size Distribution Characteristics of Water-Soluble Inorganic Ions During Summer and Autumn in Zhengzhou	ZHAO Qing-yan, JIANG Nan, YAN Qi-she, <i>et al.</i> (4866)
Diurnal Variation of Dicarboxylic Acids and Related SOA in PM _{2.5} from Heze City in Winter	MENG Jing-jing, LIU Xiao-di, HOU Zhan-fang, <i>et al.</i> (4876)
Chemical Source Profiles of PM Emitted from the Main Processes of the Iron and Steel Industry in China	WEN Jie, YANG Jia-mei, LI Pu, <i>et al.</i> (4885)
VOCs Emission Inventory of Anthropogenic Sources in Jiaxing	HAO Huan, WAN Mei, RONG Yu, <i>et al.</i> (4892)
Pollution Characteristics and Health Risk Assessment of VOCs in Areas Surrounding a Petrochemical Park in Shanghai	SHENG Tao, CHEN Xiao-jia, GAO Song, <i>et al.</i> (4901)
Characteristics of Bioaerosols Emitted from WWTP with SBR Treatment Process	YANG Kai-xiong, HOU Hong-xun, WANG Ying-zhe, <i>et al.</i> (4909)
Response of Chromophoric Dissolved Organic Matter Composition to Different Hydrological Scenarios in Large Eutrophic Lake Taihu	SHI Yu, ZHOU Yong-qiang, ZHANG Yun-lin, <i>et al.</i> (4915)
Spatial and Temporal Dynamics of Floating Algal Blooms in Lake Chaohu in 2016 and Their Environmental Drivers	HU Min-qi, ZHANG Yu-chao, MA Rong-hua, <i>et al.</i> (4925)
Dynamic Changes of Nitrogen-Transforming and Phosphorus-Accumulating Bacteria Along with the Formation of Cyanobacterial Blooms	PENG Yu-ke, LU Jun-ling, CHEN Hui-ping, <i>et al.</i> (4938)
Impact of Mainstream Backwater on the Water Environment of the Tributaries of the Three Gorges Reservoir at Low Water Level	CHEN Zi-juan, SONG Xian-fang, ZHANG Ying-hua, <i>et al.</i> (4946)
Effect of Silver Nanoparticles on Denitrification and Functional Gene Abundances of Sediment in Dagu River Estuary and Northwest of Jiaozhou Bay	BAI Jie, TIAN Yan-zhao, SUN Peng-fei, <i>et al.</i> (4956)
Spatial Difference and Causes Analysis of the δ ¹⁵ N of Suspended Particulate Matter in the Lancang River Basin	TANG Yong-chun, XU Piao, YANG Zheng-jian, <i>et al.</i> (4964)
Vertical Spatial Distribution of Denitrification Intensity in the Vadose Zone of Typical Sections of Chaobai River Alluvial Fan	GENG Hong-zhi, HUAN Huan, LI Ming-xiao, <i>et al.</i> (4972)
Major Ionic Features and Possible Controls in the Groundwater in the Hamatong River Basin	ZHANG Tao, HE Jin, LI Jing-jie, <i>et al.</i> (4981)
Concentration Variations and Flux Estimation of Dissolved Carbon in Karst Spring of a Typical Karst Area	XIONG Bai-lian, ZHANG Jin-zhong, PENG Tao, <i>et al.</i> (4991)
Effect of Different Multi-pond Network Landscape Structures on Nitrogen Retention Over Agricultural Watersheds	LI Yu-feng, LIU Hong-yu, LIU Jun-zhi, <i>et al.</i> (4999)
Characteristics of Phthalic Acid Esters Pollution in Urban Surface Runoff in Shanghai, China	LIU Yu-tong, LI Tian, PENG Hang-yu (5007)
Impacts of Vegetation on Hydrological Performances of Green Roofs Under Different Rainfall Conditions	GE De, ZHANG Shou-hong (5015)
Adsorption of Phosphate from Aqueous Solutions on Sediments Amended with Magnetite-Modified Zeolite	WANG Dan-he, ZHANG Hong-hua, LIN Jian-wei, <i>et al.</i> (5024)
Reduction and Oxidation of Mercury by Dissolved Organic Matter Under Anaerobic Conditions	BIAN Yong-rong, GU Bao-hua, ZHU Bo, <i>et al.</i> (5036)
Photo-assisted Degradation of Sulfamethazine by Ferrocene-catalyzed Heterogeneous Fenton-like System	ZHANG Biao-jun, ZHAO Yao-yun-chuan, FANG Qi, <i>et al.</i> (5043)
N ₂ O Production Pathways in Partial Nitrification Based on Isotope Technology	YANG Yu-bing, YANG Qing, LI Yang, <i>et al.</i> (5051)
Effect of Substrate Ratio on Removal of Nitrogen and Carbon Using Anaerobic Ammonium Oxidation and Denitrification	AN Fang-jiao, HUANG Jian-ming, HUANG Li, <i>et al.</i> (5058)
Simultaneous Nitrogen and Phosphorus Removal Characteristics of An Anaerobic/Aerobic Operated SPNDPR System Treating Low C/N Urban Sewage	YU De-shuang, YUAN Meng-fei, WANG Xiao-xia, <i>et al.</i> (5065)
Lab-scale SNAD Process in Wastewater Treatment Plant	LI Dong, CUI Ya-qian, ZHAO Shi-xun, <i>et al.</i> (5074)
Effect of Salinity on Nitrogen Removal Performance of a Pilot-scale Anaerobic Ammonia Oxidation Process and Its Recovery Kinetics	TANG Jia-jia, YU De-shuang, WANG Xiao-xia, <i>et al.</i> (5081)
Suppression and Recovery Characteristics of Pilot-scale ANAMMOX-ASBR System Treating Desulfurization and Denitrification Tailings from Thermal Power Plant	ZHANG Jun, YU De-shuang, WANG Xiao-xia, <i>et al.</i> (5090)
Impact of C/N Ratio on Nitrogen Removal Performance and N ₂ O Release of Granular Sludge CANON Reactor	FU Kun-ming, JIANG Shan, SU Xue-ying, <i>et al.</i> (5101)
Impacts of Sludge Characteristics on Anaerobic Digestion with Microwave Pretreatment and Archaeal Community Structure Analysis	FANG Ping, TANG An-ping, FU Xing-min, <i>et al.</i> (5108)
Determination of Heavy Metal Baseline Values and Analysis of Its Accumulation Characteristics in Agricultural Land in Chongqing	WU Fu-lin, CHEN Li, YI Ting-hui, <i>et al.</i> (5116)
Characteristics of Organochlorine Pesticides (OCPs) in Soil Samples of Hanjiang River Basin, Southeast China	LIU Jia, DING Yang, QI Shi-hua, <i>et al.</i> (5127)
Occurrence and Distribution of the Organophosphate Esters in Soils of Mixed-land Use Area in Chongqing City	YANG Zhi-hao, HE Ming-jing, YANG Ting, <i>et al.</i> (5135)
Degradation of α-HCH in Soil Washing Solutions with nZVI and CaO ₂	YAO Jing-bo, ZHOU Jie, WANG Ming-xin, <i>et al.</i> (5142)
Microbial Communities in Soils of Qingshuitang Industrial District in Zhuzhou	SHEN Li, LI Zhen-hua, ZENG Wei-min, <i>et al.</i> (5151)
Effect of Biochar Addition on the Diversity and Interaction of Rhizosphere Fungi in Manure-fertilized Soil	WANG Dan-dan, YANG Ze-ping, ZHAO Yuan, <i>et al.</i> (5163)
Effects of Returning Nitrogen by Biochar Loading on Paddy Growth, Root Morphology, and Nitrogen Use Efficiency	YU Ying-liang, WANG Yue-man, HOU Peng-fu, <i>et al.</i> (5170)
Effect of Particulate Organic Matter on Cadmium Uptake and Transport in Rice	GUO Yi-xuan, ZHAO Xiu-lan (5180)
Effect of Fertilizers on Cadmium Uptake and Accumulation by Sunflowers	CAO Liu, YANG Jun-xing, GUO Jin-jun, <i>et al.</i> (5189)
Accumulation of Heavy Metals in Different Rice Varieties	LIN Xiao-bing, ZHOU Li-jun, WANG Hui-ming, <i>et al.</i> (5198)
Intercropping <i>Arundo donax</i> with Woody Plants to Remediate Heavy Metal-Contaminated Soil	ZENG Peng, GUO Zhao-hui, XIAO Xi-yuan, <i>et al.</i> (5207)
Daily Variation of CO ₂ Flux at Water-Air Interface and Analysis of Its Affecting Factors in a Typical River of the Three Gorges Reservoir	LUO Jia-chen, LI Si-yue (5217)
CH ₄ Emissions Characteristics and Its Influencing Factors in an Eutrophic Lake	SHANG Dong-yao, XIAO Qi-tao, HU Zheng-hua, <i>et al.</i> (5227)
Short-term Effects of Different Grazing Intensities on Greenhouse Gas Fluxes in Semi-arid Grassland	SHEN Yan, SUN Jian-ping, LUO Yu-kun, <i>et al.</i> (5237)
Effects of Plastic Film Mulching Patterns and Irrigation on Yield of Summer Maize and Greenhouse Gas Emissions Intensity of Field	LUO Xiao-qi, ZHANG A-feng, CHEN Hai-xin, <i>et al.</i> (5246)
Effects of Elevated Ozone on Biogenic Volatile Organic Compounds (BVOCs) Emission: A Review	FENG Zhao-zhong, YUAN Xiang-yang (5257)
Research Progress on the Sources of Inorganic Nitrogen Pollution in Groundwater and Identification Methods	DU Xin-qiang, FANG Min, YE Xue-yan (5266)
Mechanisms and Influencing Factors of Antibiotic Removal in Sewage Biological Treatment	ZHANG Xiang-yu, LI Ru-ying, JI Min (5276)