

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2019

Vol.40 No.11

第40卷 第11期

目次

2018年中国长江三角洲地区气溶胶的垂直分布特征	沈吉, 曹念文(4743)
2018年石家庄市秋冬季典型霾污染特征	宿文康, 鲍晓磊, 倪爽英, 赵卫凤(4755)
武汉市PM _{2.5} 化学组分时空分布及聚类分析	张会涛, 田瑛泽, 刘保双, 杨佳美, 郁佳, 官攀, 吴建会, 张裕芬(4764)
郑州市某生活区大气PM _{2.5} 中重金属污染特征及生态、健康风险评估	何瑞东, 张轶舜, 陈永阳, 靳孟洁, 韩士杰, 赵金帅, 张瑞芹, 燕启社(4774)
厦门市降水中金属元素含量分布特征及来源解析	王珊珊, 程奕枫, 颜金培, 胡恭任(4783)
2015~2017年上海郊区大气新粒子生成特征	霍俊涛, 王新宁, 段玉森, 伏晴艳, 陈冰怡(4791)
太原市秋冬季大气污染特征和输送路径及潜在源区分析	闫世明, 王雁, 郭伟, 李莹, 张逢生(4801)
东北区域空气质量时空分布特征及重度污染成因分析	陈卫卫, 刘阳, 吴雪伟, 鲍秋阳, 高枳亭, 张学磊, 赵红梅, 张世春, 修艾军, 程天海(4810)
艾比湖流域气溶胶光学厚度时空演变及影响因素	陈香月, 丁建丽, 王敬哲, 葛翔宇, 梁静(4824)
中国住宅室内BTEX浓度水平及其影响因素	侯贝贝, 尹奕卉, 裴晶晶, 刘俊杰(4833)
石家庄地区芳香族化合物的污染特征及来源分析	杨阳, 李杏茹, 刘永桥, 杨玉磊, 赵清, 陈曦, 徐静(4841)
郑州市碳素行业无组织VOCs排放特征分析及健康风险评估	张轶舜, 王佳, 韩士杰, 何瑞东, 陈永阳, 靳孟洁, 赵庆炎, 张瑞芹, 燕启社(4847)
典型化工行业有害VOCs排放清单及长三角地区应用	鲁君, 黄奕玮, 黄成(4856)
2013~2017年江苏省人为源氨排放清单的建立及特征	侯新红, 于兴娜, 沈丽, 赵睿东, 王国祯, 张毓秀(4862)
焦化厂建构筑物和生产设施表面PAHs的赋存特征及健康风险	赵一澍, 廖晓勇, 李尤, 罗俊鹏, 龚雪刚, 侯艺璇(4870)
中国南海流沙湾中雄激素、糖皮质激素和孕激素的污染特征及其生态风险评价	杨雷, 张晋娜, 徐敏, 彭涛, 史文俊, 石义静, 应光国(4879)
岩溶流域洪水过程水化学动态变化及影响因素	原雅琼, 孙平安, 苏钊, 于爽, 钟丽华, 何师意, 徐茜(4889)
长江水体常量和微量元素的来源、分布与向海输送	吴文涛, 冉祥滨, 李景喜, 王昊, 李梦露, 刘军, 臧家业(4900)
望虞河西岸河网重金属污染特征及生态风险评价	徐晨, 王沛芳, 陈娟, 袁秋生, 胡斌(4914)
不同雨强对太湖河网河道入湖营养盐负荷影响	陈洁, 朱广伟, 许海, 詹旭, 朱梦圆, 宣文怡, 黄亚文(4924)
合肥市十八联圩湿地表层沉积物营养盐与重金属分布及污染评价	陈娜, 许凡, 谢三桃, 郭天星, 彭久赞, 雷琦, 张玮, 王丽卿(4932)
三峡库区不同河段支流丰水期叶绿素a和营养盐的空间分布特征	杨凡, 杨正健, 纪道斌, 苏青青, 龙良红, 刘心愿, 王耀耀, 赵冲(4944)
丹江口水库氮磷内源释放对比	王志齐, 刘新星, 姚志宏, 姚伦广, 常跃, 刘卓初, 曹连海(4953)
不同沉水植物净水能力与植株体细菌群落组成相关性	李琳, 岳春雷, 张华, 李贺鹏, 杨乐, 王琄(4962)
纳米氧化锌粒径对人工湿地性能及微生物群落的影响	王森, 任伶, 刘琳琳, 李颖, 张振, 孔范龙(4971)
水生植物生物炭去除水体中氮磷性能	刘舒蕾, 彭慧君, 杨佳怡, 肖琳(4980)
MgO改性莲蓬壳生物炭的制备及其磷吸附特性	王盛华, 朱丹晨, 邵敬爱, 向家涛, 杨海平, 易娟, 张世红, 陈汉平(4987)
微塑料对短流程膜工艺中膜污染的影响	王博东, 薛文静, 吕永涛, 苗瑞, 马百文(4996)
基于铁锰泥的除硝颗粒吸附剂制备及其比较	曾辉平, 于亚萍, 吕赛赛, 李冬, 张杰(5002)
氯氧铁非均相催化过氧化氢降解罗丹明B	张少朋, 陈瑞, 白淑琴, 刘锐平(5009)
天津市规模化奶牛养殖场废水中典型抗生素处理效果及生态风险评估	陈乾, 赵润, 牟美睿, 白鸽, 史宏伟, 刘海学, 吴惠惠(5015)
废水处理系统中抗生素抗性基因分布特征	姚鹏城, 陈嘉瑜, 张永明, 温东辉, 陈吕军(5024)
全程自养脱氮耦合反硝化除磷的启动及稳定运行	印雯, 陈亚, 张钰, 徐乐中, 吴鹏, 刘文如(5032)
FeCl ₃ -生化耦合技术调控未知诱因的污泥膨胀	魏东洋, 肖才林, 周雯, 李睿华, 曹茜(5040)
污泥龄对除磷亚硝化颗粒系统的影响	李冬, 刘博, 王文琪, 曹美忠, 李帅, 张杰(5048)
厌氧氨氧化耦合反硝化工艺的启动及微生物群落变化特征	宋壮壮, 吕爽, 刘哲, 时兴东, 潘傲, 张智(5057)
基质暴露水平对ANAMMOX微生物活性及生物量的影响	陈方敏, 高佳琦, 黄勇, 胡羽婷, 李祥, 顾澄伟, 谈新伟, 殷记强, 方文烨, 倪敏(5066)
太浦河流域农田土壤重金属污染特征与来源解析	李伟迪, 崔云霞, 曾撑撑, 朱永青, 彭月, 王凯, 李士俊(5073)
土壤重金属污染风险筛选值划分方法:以Cd为例	王锐, 张风雷, 徐姝姝, 张永文(5082)
半壁山金矿矿业活动区砷赋存的矿物特征及其对农田土壤砷累积的影响	温其谦, 阎秀兰, 申俊峰, 李鸣凤(5090)
土壤调理剂对镉污染稻田修复效果	周利军, 武琳, 林小兵, 王惠明, 刘晖, 张鸿燕, 胡敏, 石利萍, 张云, 黄欠如(5098)
改性蒙脱土对稻田土壤甲基汞的阻控修复	韩怡新, 何天容, 王祖波(5107)
铈锰改性生物炭对土壤As的固定效应	梁婷, 李莲芳, 朱昌雄, 叶婧(5114)
温和预氧化提高后续生物修复石油污染土壤	徐金兰, 王慧芳, 王荣, 章秋菊, 王杰(5124)
重金属污染农田生菜根际重金属固定细菌群落组成及其阻控效应	王铁军, 苏楠楠, 雷鹏, 邱明洋, 陈兆进, 姚伦广, 韩辉(5133)
双氰胺和3,4-二甲吡唑磷酸盐对蔬菜种植土壤氨氧化细菌和古菌的影响	郭俊丽, 刘毅, 魏文学, 葛体达, 王光军(5142)
不同再生水灌溉方式对土壤-辣椒系统中细菌群落多样性及病原菌丰度的影响	崔丙健, 高峰, 胡超, 李中阳, 樊向阳, 崔二革(5151)
黄土高原地区两种土地利用方式CO ₂ 和N ₂ O排放特征	韩佳乐, 郝珊, 刘振杰, 张曼, 张阿凤(5164)
生物炭对华北平原4种典型土壤N ₂ O排放的影响	张秀玲, 孙贇, 张水清, 岳克, 曹红亮, 林杉(5173)
优化施肥模式对我国热带地区水稻-豇豆轮作系统N ₂ O和CH ₄ 排放的影响	胡玉麟, 汤水荣, 陶凯, 何秋香, 田伟, 秦兴华, 伍延正, 孟磊(5182)
《环境科学》征订启事(4995)	《环境科学》征稿简则(5039)
信息(4782, 4979, 5056)	

重金属污染农田生菜根际重金属固定细菌群落组成及其阻控效应

王铁军, 苏楠楠, 雷鹏, 邱明洋, 陈兆进, 姚伦广, 韩辉*

(南阳师范学院农业工程学院, 南水北调中线水源区水安全河南省协同创新中心, 南阳 473061)

摘要: 为了了解高含量重金属对蔬菜根际土壤可培养细菌和重金属固定细菌群落的影响, 发掘其中的微生物资源, 从河南省新乡市郊区采集一份高含量重金属污染(HY)和一份低含量重金属污染(DK)意大利生菜根际土壤, 通过可培养分离技术和溶液吸附实验比较其重金属固定细菌的群落差异, 通过水培实验研究功能菌株对生菜生长和富集Cd和Pb的影响。从HY和DK样品中各分离出400株细菌; HY样品中的400株细菌隶属于3门14属, 其中 β -Proteobacteria是优势门, 而DK样品中的400株细菌隶属于4门30属, Firmicutes是优势门。HY样品中的400株细菌中有146株细菌对Cd和Pb的吸附率均大于80%, *Brevundimonas*、*Serratia*、*Arthrobacter*和*Pseudarthrobacter*为主要的属。而DK样品中的400株细菌中有44株细菌对Cd和Pb的吸附率均大于80%, *Bacillus*为主要的属。与不接菌对照相比, 重金属固定细菌*Serratia liquefaciens* HY-22、*Bacillus thuringiensis* HY-53和*Acinetobacter lwoffii* HY-157均能显著提高意大利生菜和花叶生菜根部(7.5%~77.6%)和地上部(15.4%~67.2%)干重, 降低意大利生菜根部和地上部Cd(38.7%~66.6%)和Pb(34.7%~62.5%)的含量, 此外*Bacillus thuringiensis* HY-53能够使意大利生菜和花叶生菜新鲜叶片中Cd和Pb的含量达到食品安全国家标准。研究结果为Cd和Pb污染农田的修复和农作物的安全生产提供菌种资源和理论依据。

关键词: 重金属固定细菌; 生菜; 群落结构; 钝化; 吸附

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2019)11-5133-09 DOI: 10.13227/j.hjkk.201906055

Community Structure of Heavy Metal Immobilized Bacteria in the Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Rhizosphere in Soil Polluted by Heavy Metals and Its Effects on Reducing Heavy Metal Accumulation in Lettuce

WANG Tie-jun, SU Nan-nan, LEI Peng, QIU Ming-yang, CHEN Zhao-jin, YAO Lun-guang, HAN Hui*

(Collaborative Innovation Center of Water Security for Water Source Region of Mid-route Project of South-North Water Diversion of Henan Province, School of Agricultural Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China)

Abstract: To investigate the diversity of culturable bacteria and heavy metal-immobilizing bacteria in vegetable rhizosphere soil with high concentrations of heavy metals and explore these microbial resources, two samples of Italian lettuce rhizosphere soil with high heavy metal concentration (HY) and low heavy metal concentration (DK) were collected from Xinxiang, Henan Province. The diversity of culturable bacteria and heavy metal-immobilizing bacteria in the rhizosphere soil of lettuce was compared by culturable separation technology and a solution adsorption experiment. The enhancement of Cd and Pb immobilization and lettuce growth by the strains was also investigated in a hydroponic experiment. The results showed that 400 strains belonging to 3 phyla and 14 genera were isolated from the HY sample, with β -Proteobacteria being the dominant phylum. Meanwhile, 400 strains belonging to 4 phyla and 30 genera were isolated from the DK sample, with Firmicutes being the dominant phylum. A total of 146 strains had a strong ability to immobilize heavy metal and the Cd and Pb removal rates were greater than 80% in the HY sample; *Brevundimonas*, *Serratia*, *Arthrobacter*, and *Pseudarthrobacter* were the main genera. However, 44 strains had a strong ability to immobilize heavy metal and the Cd and Pb removal rates were greater than 80% in the DK sample, with *Bacillus* being the main genus. Compared with the control, inoculation with *Serratia liquefaciens* HY-22, *Bacillus thuringiensis* HY-53, and *Acinetobacter lwoffii* HY-157 significantly increased the dry weight of roots (7.5%-77.6%) and shoots (15.4%-67.2%) of the Italian lettuce and cauliflower lettuce and reduced the contents of Cd (38.7%-66.6%) and Pb (34.7%-62.5%) in roots and shoots of Italian lettuce. In addition, the contents of Cd and Pb in the fresh shoots of Italian lettuce and cauliflower lettuce in the presence of *Bacillus thuringiensis* HY-53 were lower than the Cd and Pb limits set by national food safety standards. Thus, the results provided strain resources and a theoretical basis for the remediation of Cd-and Pb-contaminated farmlands for the safe production of crops.

Key words: heavy metal-immobilizing bacteria; lettuce; community structure; immobilization; absorb

菜地是利用强度大、投入和产出高、受人类活动影响较大的一类农业土壤。Cd和Pb在土壤中移动性差、滞留时间长和不能被微生物降解等, 并可通过蔬菜等食物链进入人体, 严重损害人类健康, 因此必须采取有效措施阻控蔬菜对Cd和Pb的吸

收稿日期: 2019-06-08; 修订日期: 2019-06-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(41601332); 河南省科技攻关计划项目(172102110108)

作者简介: 王铁军(1983~), 男, 博士研究生, 主要研究方向为微生物修复重金属污染农田, E-mail: 179144456@qq.com

* 通信作者, E-mail: 17657311626@163.com

收^[1~3]. 利用生物炭等化学钝化剂可以固定土壤中的重金属, 减少植物对重金属的吸收^[4~6]. 但是长期使用化学钝化剂可能导致土壤理化性质的改变、土壤微生物数量和活性的下降和土壤肥力退化等问题^[7]. 微生物固定修复技术是指利用土壤微生物对重金属的钝化作用可使重金属在土壤中沉淀或被吸附固定, 从而减少植物对重金属的吸收^[8]. 重金属固定细菌不仅能够固定重金属, 改变土壤重金属赋存状态, 降低作物对重金属的吸收, 还能促进作物生长, 提高作物品质, 改善土壤质量, 环境友好, 有益于可持续发展等优点^[9,10].

长期高含量重金属污染会对土壤中的微生物有不同程度的毒性, 影响微生物种群的分布, 同时, 微生物为了应对重金属的胁迫, 它们也会进化出应对重金属毒性的机制, 包括金属还原、细胞通透性降低和细胞外隔离等, 因此从原位重金属污染蔬菜根际土壤中筛选得到的重金属固定细菌, 将具有更好的环境适应性和更高的阻控蔬菜吸收重金属的能力. 虽然有部分学者采用高通量测序研究不同重金属污染条件下微生物种群的分布^[11,12], 但是长期高含量重金属污染条件下, 关于高含量重金属对生菜根际土壤中可培养细菌和重金属固定细菌的群落影响的研究较少. 此外, 虽然有学者已报道使用重金属固定细菌降低向日葵、小麦和水稻等对重金属的吸收^[13,14], 但是目前关于具有阻控生菜吸收重金属的功能细菌仍较少. 前期测定发现河南省新乡市郊区(35°36'N, 113°85'E)部分农田土壤中的 Cd 和 Pb 含量超过土壤安全标准几十到一百多倍^[15]. 因此为了了解长期高含量重金属污染对生菜根际可培养细菌和重金属固定细菌群落的影响以及筛选得到高效阻控生菜吸收重金属的功能菌株, 本研究从河南省新乡市郊区农田采集两份意大利生菜根际土壤样品, 采用平板分离其可培养细菌, 采用摇瓶实验分析其吸附重金属能力, 比较不同样品可培养细菌和重金属固定细菌群落差异. 采用水培实验筛选得到具有促进生菜生长和阻控生菜富集 Cd 和 Pb 的功能菌株, 以期实施重金属污染农田生态整治与安全高效利用策略提供菌种资源和技术支撑.

1 材料与方法

1.1 样品采集及理化性质分析

2018 年 5 月, 在河南省新乡市郊区农田使用五点采样法采集两份意大利生菜根际土壤样品. 第一份样品位于环宇集团有限公司厂区旁边(35°36'N, 113°85'E), 记为环宇样品(HY); 另一份样品位于环宇电池厂 6 km 外的大块镇附近农田(35°36'N,

113°80'E), 记为大块镇样品(DK), 位置如图 1. 土壤 pH、有机质、总 N、总 P 和总 K 的测定参考文献[16]. 土壤样品中 Cd 和 Pb 的含量采用微波消解仪(SINEO MDS-6G, 中国)进行消解, 然后使用电感耦合等离子发射光谱仪(Inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, ICP-OES, SHIMADZ ICPE-9820, 日本)进行测定^[17].



图 1 生菜根际土采样地点示意

Fig. 1 Sampling sites of lettuce rhizosphere soil

1.2 生菜根际土壤可培养细菌分离和鉴定

分别称取 HY 和 DK 样品各 1.0 g 放到含有 50 mL 无菌去离子水的三角瓶内, 150 r·min⁻¹ 振荡 30 min, 然后取 1 mL 土悬液梯度稀释成 10⁻⁴、10⁻⁵ 和 10⁻⁶, 涂布在 LB 固体平板上, 30℃ 培养 3 d. 对所有平板上长出的单菌落进行计数, 计算出 HY 和 DK 样品中可培养细菌的总数量. 之后依据菌落大小、边缘形状和颜色等指标对 HY 和 DK 样品各随机挑取 400 个单菌落, 进行纯化和保藏. 利用刘瑞等^[18]的方法, 采用细菌基因组 DNA 提取试剂盒提取每个菌株的 DNA, 采用细菌通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGCTCAG-3') 和 1492R (5'-GGT TACCTTGTACGACTT-3') 进行 16S rRNA 基因扩增, 扩增产物送到上海生工进行测序.

1.3 菌株吸附固定 Cd 和 Pb 能力测定

配制含有 Cd 质量浓度为 3 mg·L⁻¹, Pb 质量浓度为 5 mg·L⁻¹ 的 LB 液体培养基, 分装到三角瓶中, 每瓶 50 mL. 将培养 18 h 左右的供试菌株制备成菌悬液, 按 1% 的比例接入上述培养基中, 30℃, 180 r·min⁻¹ 振荡培养 24 h. 培养结束后, 取 5 mL 发酵液, 5 000 r·min⁻¹ 离心 5 min, 采用 ICP-OES 测定上清液中 Cd 和 Pb 的质量浓度. 通过计算得出各个菌株对 Cd 和 Pb 的吸附率(%), 计算公式如下:

$$\text{吸附率} = \frac{c_0 - c_s}{c_0} \times 100\%$$

式中, c_0 表示溶液中重金属的初始质量浓度, mg·L⁻¹; c_s 表示供试菌株上清液中重金属质量浓度, mg·L⁻¹.

1.4 功能菌株对重金属的抗性和促生指标测定

采用连续梯度平板法测定菌株对 Cd 和 Pb 的抗性和致死浓度 (minimal inhibitory concentrations, MICs). 即用接种环挑取供试菌株接种到含不同质量浓度 Cd ($100 \sim 1\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 每隔 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 一个浓度梯度) 和 Pb ($1\,000 \sim 2\,500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 每隔 $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 一个浓度梯度) 的 LB 固体培养基平板上, 30°C 培养 3 d, 若能长出菌落, 则重新转到含有相应重金属浓度的 LB 平板上, 30°C 培养 3 d. 若两次均能长出菌落, 说明该菌株具有相应重金属浓度的抗性. 菌株产吲哚乙酸 (indole-3-acetic acid, IAA) 的测定参考 Jiang 等^[19] 的方法, 产铁载体能力测定参考 Rajkumar 等^[20] 的方法, 产 1-氨基环丙烷羧酸 (1-Amino-1-cyclopropanecarboxylic acid, ACC) 脱氨酶的能力测定方法参考 Belimov 等^[21] 的方法.

1.5 生菜水培实验

选取若干籽粒饱满的两种生菜种子 (意大利生菜和红花生菜, *Lactuca sativa* L.), 用 75% 乙醇进行消毒 3 min, 再用无菌水漂洗 3 次, 然后置于水琼脂 (0.4%) 平板上, 30°C 恒温培养, 待到种子长出四片小叶后, 挑取大小一致的生菜苗移栽于装有 Hoagland 营养液的盆卜中进行培养, 盆卜上层装有 200 g 石英砂, 起固定作用, 下层为 Hoagland 营养液. 当生菜幼苗长到 5 cm 高后, 添加重金属, 使培养液中 Cd 终质量浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, Pb 终质量浓度为 $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. 选取 1.3 节和 1.4 节实验中筛选到的高效固定 Cd 和 Pb 的菌株作为供试菌株进行接种. 采用菌悬液浸根 2 h 的方式对生菜进行接种, 同时

以不接种处理作为对照. 接菌完成后继续培养 30 d. 将培养完成后的生菜从盆卜中取出, 根部用 $0.01 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA-2Na 溶液浸泡 10 min, 以除去生菜根部表面吸附的重金属, 然后用剪刀将生菜分为地上部和根部, 测量其鲜重, 然后置于烘箱 80°C 烘干, 测量生菜各组织干重. 将烘干的生菜根和叶用粉碎机磨碎, 准确称取 0.5 g 进行微波消解, 采用 ICP-OES 测定消解液中 Pb 和 Cd 质量浓度.

1.6 数据处理

采用 SPSS 17.0 软件进行数据统计分析, 用 Microsoft Excel 2010 软件绘图.

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质

HY 和 DK 两个土样的基本理化性质如表 1 所示. HY 样品中的 Cd ($24.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 Pb ($503 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的含量均显著高于 DK 样品中的 Cd ($0.8 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 Pb ($214 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 的含量. 根据文献 [22], 农田土壤重金属污染程度被分为 5 个等级 (I、II、III、IV 和 V, 分别代表十分清洁、清洁、轻度污染、中度污染和重度污染), HY 中的 Cd 和 Pb 污染均处于重度污染程度, 而 DK 中的 Cd 和 Pb 污染均处于中度污染程度. HY 样品中的有机质 ($20.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、TP ($2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、TN ($5.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 TK ($5.46 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 含量显著低于 DK 样品中的有机质 ($25.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、TP ($6.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、TN ($7.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 和 TK ($12.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 含量, 而 HY 样品的 pH (6.67) 显著高于 DK 样品 (6.02) 的 pH.

表 1 土壤样品主要理化参数¹⁾

Table 1 Main physical and chemical properties of soil samples

样品	土壤重金属含量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$		pH 值	有机质 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	总磷 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	总氮 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	总钾 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	细菌数量 $/\text{个} \cdot \text{g}^{-1}$
	Cd	Pb						
HY	$24.2 \pm 3.7\text{a}$	$503 \pm 7\text{a}$	$6.67 \pm 0.04\text{a}$	$20.4 \pm 1.2\text{b}$	$2.5 \pm 0.28\text{b}$	$5.3 \pm 0.5\text{b}$	$5.46 \pm 0.5\text{b}$	$6.4 \times 10^3 \pm 356\text{b}$
DK	$0.8 \pm 0.3\text{b}$	$214 \pm 4\text{b}$	$6.02 \pm 0.07\text{b}$	$25.4 \pm 1.6\text{a}$	$6.5 \pm 0.8\text{a}$	$7.5 \pm 0.4\text{a}$	$12.5 \pm 0.9\text{a}$	$1.65 \times 10^4 \pm 174\text{a}$

1) 数值为平均值 $\pm$ 标准偏差 ($n=3$); 同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)

2.2 不同含量重金属对生菜根际土壤可培养细菌群落的影响

分别称取 HY 和 DK 样品 0.5 g 放入含有 50 mL 无菌去离子水的三角瓶内, 经过振荡和培养, 然后稀释涂布在 LB 固体平板上, 培养 3 d 后依据菌落大小、边缘形状和颜色等指标挑选单菌落, 最终 HY 和 DK 的平板上各挑取 400 个单菌落, 然后进行菌种鉴定, 结果如图 1 所示. HY 样品中的 400 个细菌隶属于 3 门 14 属. 其中 β -Proteobacteria 是优势门, 占到 51%, 而 Actinobacteria 占 32%, Firmicutes 占 17%. *Acinetobacter*、*Brevundimonas*、

Serratia、*Arthrobacter* 和 *Pseudarthrobacter* 是优势属, 菌株的数量都超过 40 个. 而 DK 样品中的 400 个菌隶属于 4 门 30 属, Firmicutes 是优势门, 占到 45%, 而 β -Proteobacteria 占 31%, Actinobacteria 占 15%, Bacteroidetes 占 9%. *Bacillus* 是绝对的优势属, 菌株数量达到 102 个, 这说明高含量的重金属降低了生菜根际土壤细菌在门和属水平上的分类单元, 降低了细菌的多样性. 此外, 由表 1 可知, DK 样品每克土壤中的细菌数量为 1.65×10^4 个, 而 HY 样品每克土壤中的细菌数量为 6.4×10^3 个, 说明土壤中高含量的重金属抑制了细菌的生长和繁殖.

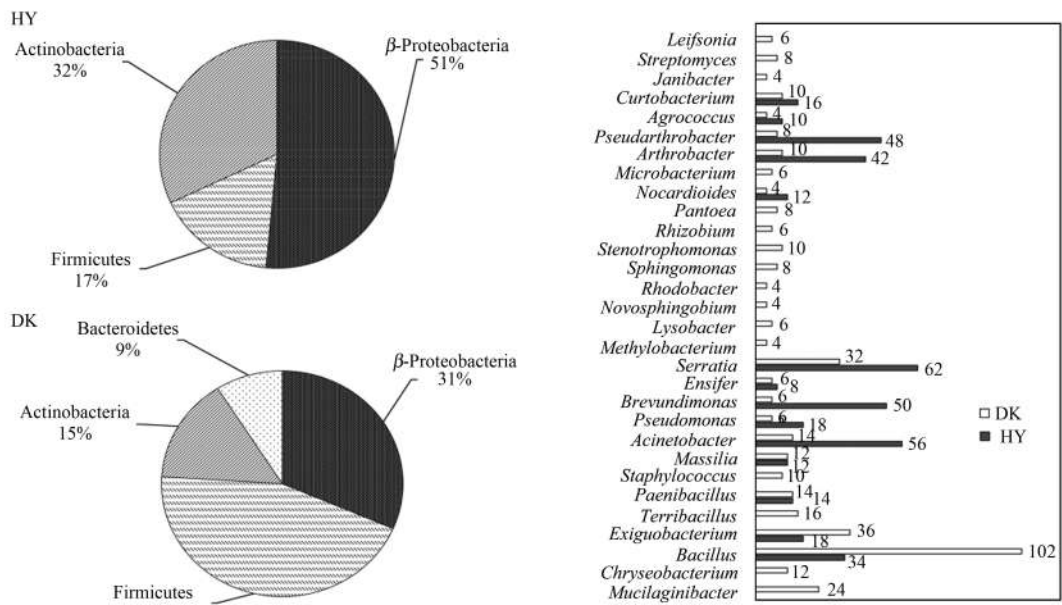


图 2 HY 和 DK 样品中可培养细菌在门和属上的群落结构
Fig. 2 Community structure of culturable bacteria by phyla and genera in the HY and DK samples

2.3 菌株吸附 Cd 和 Pb 能力比较

对 HY 和 DK 样品各自分离得到的 400 株菌做了摇瓶吸附实验,通过测定上清液中 Cd 和 Pb 的质量浓度,得出菌株对溶液中重金属的吸附率.以重金属吸附率大于 80% 为分界线,吸附率大于 80%,说明该菌株具有很强的重金属固定吸附能力;吸附率小于 80%,说明该菌株固定吸附 Cd 和 Pb 的能力较弱,结果如图 3 所示. HY 样品中的 400 株细菌,对 Cd 和 Pb 吸附率均大于 80% 的菌株共有 146 株 (82% ~ 95%), 占比为 36.5%, 其中 *Brevundimonas*、*Serratia*、*Arthrobacter* 和 *Pseudarthrobacter* 属具有固定重金属能力的菌株较多,均大于 10 个菌株.而 DK 样品中的 400 株细菌,对 Cd 和 Pb 吸附率均大于 80% 的菌株共有 44 株菌(81% ~ 90%), 占比为 11%, *Bacillus* 是固定重金属能力的主要属,含有 26 株细菌.这说明土壤中的细菌为了应对高含量重金属的胁迫,它们也会进化出应对重金属毒性的机制,进行固定钝化重金属,从而得以繁殖下去.

2.4 功能菌株对重金属的抗性和促生指标测定

对 HY 和 DK 样品中具有高 Cd 和 Pb 固定能力的 190 株细菌测定了产 IAA、铁载体和 ACC 脱氨酶的能力以及对 Cd 和 Pb 的致死浓度测定.最终筛选到 17 株高产 IAA、铁载体和 ACC 脱氨酶以及耐受高浓度 Cd 和 Pb 的菌株,结果如表 2 所示.这 17 株菌株均能分泌 IAA,介于 20.35 ~ 79.63 mg·L⁻¹ 之间,其中 *Serratia liquefaciens* HY-22、*Bacillus thuringensis* HY-53 和 *Acinetobacter lwoffii* HY-157 产

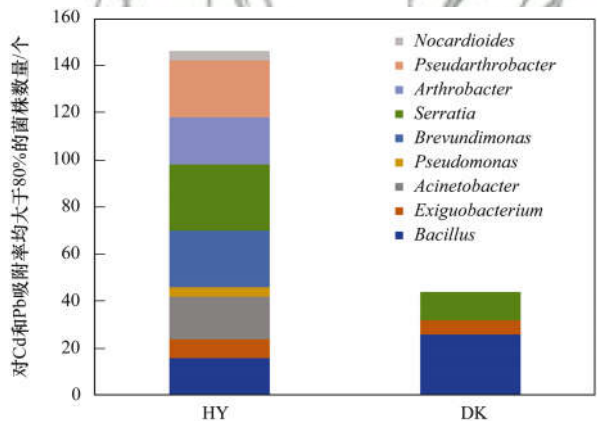


图 3 HY 和 DK 样品中具有高效重金属固定能力的菌株在属水平上的差异
Fig. 3 Genus-level differences in the heavy metal-immobilizing bacteria in the HY and DK samples

的 IAA 质量浓度最高,分别为 65.34、71.65 和 79.63 mg·L⁻¹.这 17 株菌株均能耐受高浓度的 Cd (250 ~ 750 mg·L⁻¹) 和 Pb (1 200 ~ 2 300 mg·L⁻¹),其中菌株 *Serratia liquefaciens* HY-22 的 Cd 致死浓度为 800 mg·L⁻¹, Pb 致死浓度为 2 400 mg·L⁻¹;菌株 *Bacillus thuringensis* HY-53 的 Cd 致死浓度为 750 mg·L⁻¹, Pb 致死浓度为 2 300 mg·L⁻¹;菌株 *Acinetobacter lwoffii* HY-157 的 Cd 致死浓度为 800 mg·L⁻¹, Pb 致死浓度为 2 400 mg·L⁻¹.

2.5 功能菌株对生菜生长和富集 Cd 和 Pb 的影响

对 HY 样品中高产 IAA、铁载体和 ACC 脱氨酶的 3 株重金属固定细菌 *Serratia liquefaciens* HY-22、*Bacillus thuringensis* HY-53 和 *Acinetobacter lwoffii* HY-157 进行生菜水培实验,研究他们在不同重金

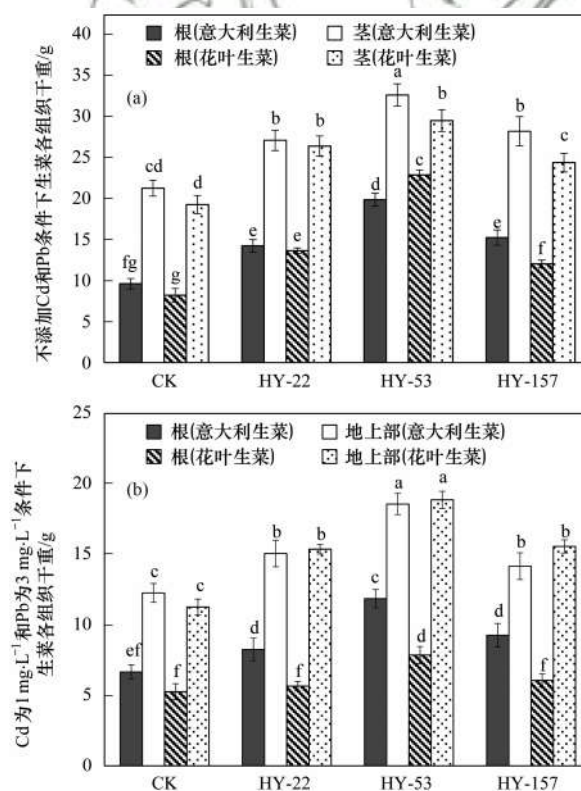
表 2 重金属固定细菌的促生特性和重金属抗性¹⁾

Table 2 Growth promotion characteristics and heavy metal resistance of the heavy metal-immobilizing bacteria

菌株	IAA /mg·L ⁻¹	铁载体	ACC 脱氨酶	Cd 致死浓度 /mg·L ⁻¹	Pb 致死浓度 /mg·L ⁻¹
HY-4	24.45	++	+	450	1 800
HY-12	25.12	+++	+	300	1 900
HY-22	65.34	+++++	+	800	2 400
HY-53	71.65	+++++	+	750	2 300
HY-67	54.23	+++	+	400	2 100
HY-72	28.67	+++	+	350	2 000
HY-83	29.13	+++	+	400	1 600
HY-102	34.57	++	+	450	1 400
HY-111	32.65	+++	+	400	1 500
HY-123	41.36	+++	+	450	1 400
HY-153	48.46	++	+	350	1 800
HY-157	79.63	+++++	+	800	2 400
HY-161	20.35	+++	+	450	1 600
HY-162	37.46	+++	+	300	1 400
DK-8	31.65	+++	+	450	1 500
DK-42	49.56	++	+	300	1 300
DK-123	45.26	+++	+	500	1 400

1) 第三列中“+”越多,表示菌株产铁载体的能力越强;第四列中“+”表示菌株能产 ACC 脱氨酶

属浓度下对生菜生长和富集 Cd 和 Pb 的影响,结果如图 4 和表 3 所示。由图 4(a)可知,在不添加重金属条件下,与不接菌对照相比,接种这 3 株细菌均能显著提高意大利生菜和花叶生菜根(47.5% ~ 175%)和地上部(26.4% ~ 53.1%)的干重。其中菌株 *Bacillus thuringiensis* HY-53 的促生效果最好,使意大利生菜根部干重提高了 105%,地上部干重提高了 53.1%;使花叶生菜根部干重提高了 175%,地上部干重提高了 52.8%。由图 4(b)可知,在 Cd 为 1 mg·L⁻¹ 和 Pb 为 3 mg·L⁻¹ 条件下,与不接菌对照相比,接种这 3 株细菌均能显著提高意大利生菜和花叶生菜根(7.5% ~ 77.6%)和地上部(15.4% ~ 67.2%)的干重。其中菌株 *Serratia liquefaciens* HY-22 使意大利生菜根部干重提高了 23.8%,地上部干重提高了 22.8%;使花叶生菜根部干重提高了 7.5%,地上部干重提高了 36.2%。菌株 *Bacillus thuringiensis* HY-53 使意大利生菜根部干重提高了 77.6%,地上部干重提高了 51.2%;使花叶生菜根部干重提高了 49.1%,地上部干重提高了 67.3%。菌株 *Acinetobacter lwoffii* HY-157 使意大利生菜根部干重提高了 38.8%,地上部干重提高了 15.4%;使花叶生菜根部干重提高了 15.1%,地上部干重提高了 38.2%。这说明这 3 株重金属固定细菌均具有促进生菜生长的能力。此外,综合图 4 来看,没有接种菌的条件下,与没有重金属胁迫相比,在 Cd 为 1 mg·L⁻¹ 和 Pb 为 3 mg·L⁻¹ 条件下,意大利生菜和花叶生菜根部干重降低了 30.9% ~ 36.1%,地上部干重降低了 41.4% ~ 42.5%。



不同小写字母表示处理之间有显著差异 ($P < 0.05$)

图 4 不同重金属浓度下重金属固定细菌对生菜各组织干重的影响

Fig. 4 Effects of heavy metal-immobilizing bacteria on the tissue dry weight of lettuce on the different levels of Cd and Pb-contaminated solution

由表 3 可知,在 Cd 为 1 mg·L⁻¹ 和 Pb 为 3 mg·L⁻¹ 条件下,与不接菌对照相比,接菌 *Serratia liquefaciens* HY-22、*Bacillus thuringiensis* HY-53 和

Acinetobacter lwoffii HY-157 均能显著降低意大利生菜根部和地上部 Cd (38.7% ~ 66.6%) 和 Pb (34.7% ~ 62.5%) 的含量. 不接菌处理组中意大利生菜地上部 Cd 含量为 0.62 mg·kg⁻¹, Pb 含量为 0.95 mg·kg⁻¹; 而菌株 *Serratia liquefaciens* HY-22 使意大利生菜地上部 Cd 的含量下降到 0.26 mg·kg⁻¹, Pb 的含量下降到 0.44 mg·kg⁻¹; 菌株 *Bacillus thuringensis* HY-53 使意大利生菜地上部 Cd 的含量下降到 0.25 mg·kg⁻¹, Pb 的含量下降到 0.42 mg·kg⁻¹; 菌株 *Acinetobacter lwoffii* HY-157 使生菜地上部 Cd 的含量下降到 0.38 mg·kg⁻¹, Pb 的含量下降到 0.62 mg·kg⁻¹. 中华人民共和国食品安全国家标准-食物中污染物限量 (GB 2762-

2017)^[23] 中规定新鲜叶菜蔬菜 Cd 的限量标准是 0.2 mg·kg⁻¹, Pb 的限量标准是 0.3 mg·kg⁻¹, 而菌株 *Serratia liquefaciens* HY-22 和 *Bacillus thuringensis* HY-53 均能使意大利生菜鲜叶中 Cd (0.12 ~ 0.15 mg·kg⁻¹) 和 Pb (0.18 ~ 0.21 mg·kg⁻¹) 的含量达到食品安全国家标准. 与不接菌对照相比, 菌株 *Serratia liquefaciens* HY-22 和 *Acinetobacter lwoffii* HY-157 对花叶生菜根部和地上部 Cd 和 Pb 的含量无显著影响, 但菌株 *Bacillus thuringensis* HY-53 能够显著降低花叶生菜根部和地上部 Cd (57.1% ~ 70.1%) 和 Pb (58.1% ~ 65.2%) 的含量, 且花叶生菜鲜叶中 Cd 和 Pb 的含量达到食品安全国家标准.

表 3 在 Cd 为 1 mg·L⁻¹ 和 Pb 为 3 mg·L⁻¹ 条件下重金属固定细菌对生菜各组织 Cd 和 Pb 含量的影响¹⁾
Table 3 Effects of heavy metal-immobilizing bacteria on the Cd and Pb concentration in lettuce in Cd (1 mg·L⁻¹) and Pb (3 mg·L⁻¹)

处理	意大利生菜/mg·kg ⁻¹				花叶生菜/mg·kg ⁻¹			
	根部		地上部		根部		地上部	
	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb	Cd	Pb
CK	1.26 ± 0.14a	2.27 ± 0.14a	0.62 ± 0.07a	0.95 ± 0.08a	1.56 ± 0.11a	2.84 ± 0.16a	0.87 ± 0.09a	1.12 ± 0.11a
HY-22	0.51 ± 0.06b	1.03 ± 0.11b	0.26 ± 0.03c	0.44 ± 0.03c	1.51 ± 0.14a	2.64 ± 0.13a	0.81 ± 0.06a	1.11 ± 0.09a
HY-53	0.42 ± 0.04c	0.85 ± 0.08c	0.25 ± 0.02c	0.42 ± 0.02c	0.67 ± 0.06b	1.19 ± 0.1b	0.37 ± 0.04b	0.39 ± 0.03b
HY-157	0.58 ± 0.07b	1.17 ± 0.12b	0.38 ± 0.03b	0.62 ± 0.02b	1.52 ± 0.12a	2.81 ± 0.12a	0.78 ± 0.08a	1.08 ± 0.08a

1) 数值为平均值 ± 标准偏差 (n = 3); 同列不同小写字母表示处理之间有显著差异 (P < 0.05)

3 讨论

3.1 高含量重金属提高生菜根际土壤重金属固定细菌的比例

重金属对土壤微生物的影响, 主要表现在改变微生物群落结构, 降低生物量, 影响其生物活性等方面^[24,25]. Singh 等^[26] 发现在不同浓度重金属污染下土壤中微生物的生物量也不相同, 在土壤中加入一定量的 Cd, 能使土壤细菌数目由每克土壤 4.8 × 10⁷ 个减少为 2 000 个. Kalndeler 等的^[27] 研究表明在污染矿区土壤中, 靠近矿区土壤的微生物量明显低于远离矿区的土壤, 并且距离矿区越近, 生物量的下降幅度越明显. 在本研究中, HY 样品 (高浓度 Cd 和 Pb) 中每 g 土壤可培养细菌的数量为 6.4 × 10⁴ 个, 而 DH 样品 (低浓度 Cd 和 Pb) 中每克土壤可培养细菌的数量为 1.2 × 10⁵ 个, 说明高浓度重金属抑制了部分细菌的生长繁殖, 减少了土壤中细菌的生物量.

重金属污染不仅能够降低土壤微生物的生物量, 同时也能影响土壤微生物群落结构, 即土壤微生物多样性, 包括物种多样性、功能多样性、遗传多样性和生态特征多样性^[28,29]. 在本研究中, Cd 和 Pb 污染水平的提高改变了生菜根际土壤可培养细菌群落结构 (图 2), HY 根际土中 400 个细菌隶

属于 3 门 14 属. 其中 β -Proteobacteria 是优势门, 占到 51%; *Acinetobacter*、*Brevundimonas*、*Serratia*、*Arthrobacter* 和 *Pseudarthrobacter* 是优势属. 而 DK 样品中的 400 个细菌隶属于 4 门 30 属, Firmicutes 是优势门, 占到 45%, 而 β -Proteobacteria 占 31%, Actinobacteria 占 15%, Bacteroidetes 占 9%; *Bacillus* 是绝对的优势属. 这表明高浓度的重金属减少了生菜根际可培养细菌在门和属上的分类单位, 降低了生菜根际可培养细菌多样性. 一般来说, 重金属毒性会作用于一部分抗性较低的微生物, 减少它们的丰度, 如 Firmicutes 和 Bacteroidetes 门, 研究表明它们的丰度与镉浓度呈负相关^[30], 另一方面, 重金属会增加一些金属抗性细菌的丰度^[31]. 本研究中发现 HY 样品中的 400 株细菌, 吸附率大于 80% 的菌株共有 146 株, 占比为 36.5%, 其中 *Brevundimonas*、*Serratia*、*Arthrobacter* 和 *Pseudarthrobacter* 属具有固定重金属能力的菌株较多. 而 DK 样品中的 400 株细菌, 吸附率大于 80% 的菌株共有 44 株菌, 占比为 11%, *Bacillus* 是固定重金属能力的主要属. 这说明高浓度重金属显著提高了生菜根际土壤中重金属固定细菌的比例. 在高镉铅污染下, *Acinetobacter*、*Serratia* 和 *Bacillus* 属的一些细菌, 已被鉴定为重金属污染土壤中的优势属, 在抵抗和固定重金属作用中发挥某些特定作

用^[32]. *β-Proteobacteria* 是高镉铅污染水平下生菜根际土壤最为重要的优势菌门, 它在之前的研究中已被认定为重金属污染土壤中最为重要的一类微生物^[33]. Wei 等^[34]的研究发现土壤 Mn 浓度对超累积植物商陆 (*Phytolacca americana*) 叶片组织的内生细菌多样性和群落结构有显著影响, 随着土壤 Mn 浓度的增加, 其 Shannon 指数显著下降. 重金属抗性菌随重金属浓度增加而增加, 而敏感菌则减少^[35]. 导致本研究中 HY 和 DK 样品的意大利生菜根际土壤可培养细菌群落结构变化的原因可能为: 某些重金属抗性低的根际细菌因不能适应高浓度的 Cd 和 Pb 而减少或消失, 如 *Mucilaginibacter*、*Chryseobacterium*、*Terribacillus* 和 *Staphylococcus* 等, 而那些具有重金属抗性和固定能力的根际细菌则具有竞争优势而大量增殖, 比如具有重金属抗性的 *Acinetobacter*、*Arthrobacter* 和 *Pseudarthrobacter*, 同时作物为了抵抗 Cd 和 Pb 的毒害作用, 也会选择让对其有利的根际和内生细菌大量增殖.

3.2 重金属固定细菌阻控生菜吸收重金属

重金属固定细菌对重金属的钝化作用可使重金属在土壤中沉淀或被吸附固定, 改变重金属赋存状态, “钝化”其生物有效性, 从而降低作物对重金属的吸收^[8,9,24]. 林晓燕等^[36]从重金属镉污染稻田土壤中筛选到两株对镉具有较强耐性的细菌菌株 LCd1 和 LCd2, 并研究了两株菌株对 7 种重金属离子的吸附情况, 结果显示两株菌都对铅和镉有较高的吸附率. Chen 等^[17]从南京市栖霞山铅锌矿区中分离到 1 株重金属固定细菌 *Neorhizobium huautilense* T1-17, 能够使辣椒果实中 Cd 和 Pb 含量比不接菌对照分别降低 39.1% 和 81.3%. 本研究从重金属污染农田生菜根际土壤中筛选到 3 株重金属固定细菌 *Serratia liquefaciens* HY-22, *Bacillus thuringensis* HY-53 和 *Acinetobacter lwoffii* HY-157, 具有很强的固定钝化 Cd 和 Pb 的能力. 与不接菌对照相比, 这 3 株菌均能显著降低意大利生菜根和叶中 Cd (38.7% ~ 66.6%) 和 Pb (34.7% ~ 62.5%) 的含量, 且菌株 *Serratia liquefaciens* HY-22 和 *Bacillus thuringensis* HY-53 能够使意大利生菜地上部 Cd 和 Pb 的含量达到国家食品安全标准. 重金属固定细菌可以通过自身细胞壁的吸附、与磷酸盐络合、或通过细菌代谢产生的其他阴离子与重金属发生沉淀或吸附反应, 从而达到重金属固定的作用^[37,38]. 因此可以通过测定供试菌株对重金属离子的吸附能力判定供试菌株钝化重金属的能力. 在本研究中, 从 HY 样品中分离出 146 株对 Cd 和 Pb 吸附率大于 80% 的菌株, 其中 *Serratia liquefaciens* HY-22、

Bacillus thuringensis HY-53 和 *Acinetobacter lwoffii* HY-157 均具有很强的吸附固定 Cd 和 Pb 的能力. 这说明菌株通过吸附固定溶液中的 Cd 和 Pb, 降低溶液中 Cd 和 Pb 的质量浓度, 从而降低了生菜对 Cd 和 Pb 的吸收. 但是微生物-植物相互作用存在着一个匹配的过程, 同一株菌对不同品种作物作用不尽相同. 所以, 开展重金属固定细菌与蔬菜的匹配性研究, 具有重要的应用价值^[39]. 本研究中 *Serratia liquefaciens* HY-22、*Bacillus thuringensis* HY-53 和 *Acinetobacter lwoffii* HY-157 均能显著降低意大利生菜根部和地上部 Cd 和 Pb 的含量, 但只有 *Bacillus thuringensis* HY-53 能显著降低花叶生菜根部和地上部 Cd 和 Pb 的含量, 这说明菌株 *Bacillus thuringensis* HY-53 具有更广的适应性和更强的阻控蔬菜吸收重金属的能力, 具有广阔的应用前景.

4 结论

(1) 与低含量重金属污染 (DK) 生菜根际土壤相比, 高含量重金属污染 (HY) 生菜根际土壤中可培养细菌的生物量显著降低, 重金属固定细菌的比例显著提高. 其中 *Brevundimonas*、*Serratia*、*Arthrobacter* 和 *Pseudarthrobacter* 为主要的固定重金属的细菌种属.

(2) 重金属固定细菌 *Serratia liquefaciens* HY-22, *Bacillus thuringensis* HY-53 和 *Acinetobacter lwoffii* HY-157 均能显著降低意大利生菜和花叶生菜根和地上部中 Cd 和 Pb 的含量.

(3) *Bacillus thuringensis* HY-53 能够使意大利生菜和花叶生菜新鲜叶片中 Cd 和 Pb 的含量达到食品安全国家标准.

参考文献:

- [1] Franca F C S S, Albuerque A M A, Almeida A C, et al. Heavy metals deposited in the culture of lettuce (*Lactuca sativa* L.) by the influence of vehicular traffic in Pernambuco, Brazil[J]. Food Chemistry, 2017, **215**: 171-176.
- [2] León-Cañedo J A, Alarcón-Silvas S G, Fierro-Sañudo J F, et al. Mercury and other trace metals in lettuce (*Lactuca sativa*) grown with two low-salinity shrimp effluents: accumulation and human health risk assessment[J]. Science of the Total Environment, 2019, **650**: 2535-2544.
- [3] 靳琪, 高红, 岳波, 等. 村镇生活垃圾重金属含量及其来源分析[J]. 环境科学, 2018, **39**(9): 4385-4392.
Jin Q, Gao H, Yue B, et al. Heavy metal content of rural living solid waste and related source and distribution analysis[J]. Environmental Science, 2018, **39**(9): 4385-4392.
- [4] Wang D F, Zhang G L, Zhou L L, et al. Immobilizing arsenic and copper ions in manure using a nanocomposite[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2017, **65**(41): 8999-9005.
- [5] 孙延琛, 曾祥峰, 杨立琼, 等. 强还原过程对设施菜地土壤重金属形态转化的影响[J]. 应用生态学报, 2017, **28**(11): 3759-3766.

- Sun Y C, Zeng X F, Yang L Q, *et al.* Effects of strong reductive process on transformation of heavy metals in protected vegetable soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, **28**(11): 3759-3766.
- [6] 赵军超, 王权, 任秀娜, 等. 钙基膨润土辅助对堆肥及土壤 Cu、Zn 形态转化和白菜吸收的影响[J]. 环境科学, 2018, **39**(4): 1926-1933.
- Zhao J C, Wang Q, Ren X N, *et al.* Effect of Ca-bentonite on Cu and Zn forms in compost and soil, and their absorption by Chinese cabbage[J]. Environmental Science, 2018, **39**(4): 1926-1933.
- [7] Udeigwe T K, Eze P N, Teboh J M, *et al.* Application, chemistry, and environmental implications of contaminant-immobilization amendments on agricultural soil and water quality [J]. Environment International, 2011, **37**(1): 258-267.
- [8] Lin X Y, Mou R X, Cao Z Y, *et al.* Characterization of cadmium-resistant bacteria and their potential for reducing accumulation of cadmium in rice grains[J]. Science of the Total Environment, 2016, **569-570**: 97-104.
- [9] Etesami H. Bacterial mediated alleviation of heavy metal stress and decreased accumulation of metals in plant tissues: Mechanisms and future prospects [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, **147**: 175-191.
- [10] Wang Q, Chen L, He L Y, *et al.* Increased biomass and reduced heavy metal accumulation of edible tissues of vegetable crops in the presence of plant growth-promoting *Neorhizobium huautlense* T1-17 and biochar[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2016, **228**: 9-18.
- [11] Zheng X, Chen L, Chen M M, *et al.* Functional metagenomics to mine soil microbiome for novel cadmium resistance genetic determinants[J]. Pedosphere, 2019, **29**: 298-310.
- [12] 李鑫, 景炬辉, 刘晋仙, 等. 十八河铜尾矿库坝面细菌群落时空动态及其驱动力[J]. 应用生态学报, 2018, **29**(6): 1975-1982.
- Li C, Jing J H, Liu J X, *et al.* Spatiotemporal dynamics and driving forces of soil bacterial communities on the dam of Shibahe copper mine tailings in Shanxi, China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, **29**(6): 1975-1982.
- [13] Marques A P G C, Moreira H, Franco A R, *et al.* Inoculating *Helianthus annuus* (sunflower) grown in zinc and cadmium contaminated soils with plant growth promoting bacteria-Effects on phytoremediation strategies[J]. Chemosphere, 2013, **92**(1): 74-83.
- [14] Li Y, Pang H D, He L Y, *et al.* Cd immobilization and reduced tissue Cd accumulation of rice (*Oryza sativa* wuyun-23) in the presence of heavy metal-resistant bacteria[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, **138**: 56-63.
- [15] 韩辉, 王晓宇, 蔡红, 等. 重金属固定植物促生细菌的筛选及其阻控小麦富集重金属效应[J]. 环境科学, 2019, **40**(7): 3339-3346.
- Han H, Wang X Y, Cai H, *et al.* Isolation of heavy metal immobilized and plant growth-promoting bacteria and its effects on reducing heavy metal accumulation in wheat[J]. Environmental Science, 2019, **40**(7): 3339-3346.
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. (第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000. 86-115.
- [17] Chen L, He L Y, Wang Q, *et al.* Synergistic effects of plant growth-promoting *Neorhizobium huautlense* T1-17 and immobilizers on the growth and heavy metal accumulation of edible tissues of hot pepper[J]. Journal of Hazardous Materials, 2016, **312**: 123-131.
- [18] 刘瑞, 于章龙, 薛冲, 等. 市售豆芽携带细菌种属鉴定及酸性电解水的杀菌效果[J]. 食品科学, 2017, **38**(17): 168-173.
- Liu R, Yu Z L, Xue C, *et al.* Identification of bacterial species and microbial inactivation by acidic electrolyzed water on commercial bean sprouts[J]. Food Science, 2017, **38**(17): 168-173.
- [19] Jiang C Y, Sheng X F, Qian M, *et al.* Isolation and characterization of a heavy metal-resistant *Burkholderia* sp. from heavy metal-contaminated paddy field soil and its potential in promoting plant growth and heavy metal accumulation in metal-polluted soil[J]. Chemosphere, 2008, **72**(2): 157-164.
- [20] Rajkumar M, Nagendran R, Lee K J, *et al.* Influence of plant growth promoting bacteria and Cr^{6+} on the growth of Indian mustard[J]. Chemosphere, 2006, **62**(5): 741-748.
- [21] Belimov A A, Hontzeas N, Safronova V I, *et al.* Cadmium-tolerant plant growth-promoting bacteria associated with the roots of Indian mustard (*Brassica juncea* L. Czern.) [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, **37**(2): 241-250.
- [22] Yang Z F, Yu T, Hou Q Y, *et al.* Geochemical evaluation of land quality in China and its applications [J]. Journal of Geochemical Exploration, 2014, **139**: 122-135.
- [23] GB 2762-2017, 食品安全国家标准 食品中污染物限量[S].
- [24] Han H, Wang Q, He L Y, *et al.* Increased biomass and reduced rapeseed Cd accumulation of oilseed rape in the presence of Cd-immobilizing and polyamine-producing bacteria[J]. Journal of Hazardous Materials, 2018, **353**: 280-289.
- [25] 金笑, 寇文伯, 于昊天, 等. 鄱阳湖不同区域沉积物细菌群落结构、功能变化及其与环境因子的关系[J]. 环境科学研究, 2017, **30**(4): 529-536.
- Jin X, Kou W H, Yu H T, *et al.* Environmental factors influencing the spatial distribution of sediment bacterial community structure and function in Poyang Lake[J]. Research of Environmental Sciences, 2017, **30**(4): 529-536.
- [26] Singh S, Kayastha A M, Asthana R K, *et al.* Response of rhizobium leguminosarum to nickel stress[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2001, **17**(7): 667-672.
- [27] Kandeler E, Kampichler C, Horak O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities[J]. Biology and Fertility of Soils, 1997, **23**(3): 299-306.
- [28] 刘沙沙, 付建平, 蔡信德, 等. 重金属污染对土壤微生物生态特征的影响研究进展[J]. 生态环境学报, 2017, **27**(6): 1173-1178.
- Liu S S, Fu J P, Cai X D, *et al.* Effect of heavy metals pollution on ecological characteristics of soil microbes: a Review [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2017, **27**(6): 1173-1178.
- [29] Wang K, Zhang D M, Xiong J B, *et al.* Response of bacterioplankton communities to cadmium exposure in coastal water microcosms with high temporal variability[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, **81**(1): 231-240.
- [30] Pishchik V N, Vorob'ev N I, Provorov N A, *et al.* Mechanisms of plant and microbial adaptation to heavy metals in plant-microbial systems[J]. Microbiology, 2016, **85**(3): 257-271.
- [31] Wood J L, Zhang C, Mathews E R, *et al.* Microbial community dynamics in the rhizosphere of a cadmium hyper-accumulator [J]. Scientific Reports, 2016, **6**: 36067, doi: 10.1038/srep36067.
- [32] Idris R, Trifonova R, Puschenreiter M, *et al.* Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goesingense* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, **70**(5): 2667-2677.

- [33] Chen Y, Jiang Y M, Huang H Y, *et al.* Long-term and high-concentration heavy-metal contamination strongly influences the microbiome and functional genes in Yellow River sediments[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, **637-638**: 1400-1412.
- [34] Wei Y, Hou H, Shangguan Y X, *et al.* Genetic diversity of endophytic bacteria of the manganese-hyperaccumulating plant *Phytolacca americana* growing at a manganese mine [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, **62**: 15-21.
- [35] Rajkumar M, Ae N, Freitas H. Endophytic bacteria and their potential to enhance heavy metal phytoextraction [J]. *Chemosphere*, 2009, **77**(2): 153-160.
- [36] 林晓燕, 牟仁祥, 曹赵云, 等. 耐镉细菌菌株的分离及其吸附镉机理研究[J]. *农业环境科学学报*, 2015, **34**(9): 1700-1706.
- Lin X Y, Mou R X, Cao Z Y, *et al.* Isolation and cadmium adsorption mechanisms of cadmium-resistant bacteria strains[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2015, **34**(9): 1700-1706.
- [37] Huang J H, Yuan F, Zeng G M, *et al.* Influence of pH on heavy metal speciation and removal from wastewater using micellar-enhanced ultrafiltration [J]. *Chemosphere*, 2017, **173**: 199-206.
- [38] Xu C R, He S B, Liu Y M, *et al.* Bioadsorption and biostabilization of cadmium by *Enterobacter cloacae* TU [J]. *Chemosphere*, 2017, **173**: 622-629.
- [39] 伍惠, 钟喆栋, 樊伟, 等. 8 株优良大豆根瘤菌与不同地区 27 个大豆主栽品种的匹配性研究[J]. *大豆科学*, 2017, **36**(3): 405-418.
- Wu H, Zhong Z D, Fan W, *et al.* Symbiotic compatibility among eight elite soybean rhizobia strains and twenty-seven soybean cultivars from different planting regions [J]. *Soybean Science*, 2017, **36**(3): 405-418.

环境科学

CONTENTS

Characteristics of Aerosol Vertical Distribution over the Yangtze River Delta Region of China in 2018	SHEN Ji, CAO Nian-wen (4743)
Characteristics of Haze Pollution Episodes During Autumn and Winter in 2018 in Shijiazhuang	SU Wen-kang, BAO Xiao-lei, NI Shuang-ying, <i>et al.</i> (4755)
Spatial Temporal Characteristics and Cluster Analysis of Chemical Components for Ambient PM _{2.5} in Wuhan	ZHANG Hui-tao, TIAN Ying-ze, LIU Bao-shuang, <i>et al.</i> (4764)
Heavy Metal Pollution Characteristics and Ecological and Health Risk Assessment of Atmospheric PM _{2.5} in a Living Area of Zhengzhou City	HE Rui-dong, ZHANG Yi-shun, CHEN Yong-yang, <i>et al.</i> (4774)
Distribution Characteristics and Sources of Metal Elements in Rainwater in Xiamen	WANG Shan-shan, CHENG Yi-feng, YAN Jin-pei, <i>et al.</i> (4783)
First Long-Term Study of Atmospheric New Particle Formation in the Suburb of Shanghai from 2015 to 2017	HUO Jun-tao, WANG Xin-ning, DUAN Yu-sen, <i>et al.</i> (4791)
Characteristics, Transportation, Pathways, and Potential Sources of Air Pollution During Autumn and Winter in Taiyuan	YAN Shi-ming, WANG Yan, GUO Wei, <i>et al.</i> (4801)
Spatial and Temporal Characteristics of Air Quality and Cause Analysis of Heavy Pollution in Northeast China	CHEN Wei-wei, LIU Yang, WU Xue-wei, <i>et al.</i> (4810)
Spatiotemporal Evolution and Driving Mechanism of Aerosol Optical Depth in the Ebinur Lake Basin	CHEN Xiang-yue, DING Jian-li, WANG Jing-zhe, <i>et al.</i> (4824)
Concentration Levels and Impact Factors of Benzene Series in Chinese Residential Building	HOU Bei-bei, YIN Yi-hui, PEI Jing-jing, <i>et al.</i> (4833)
Pollution Characteristics and Source Analysis of Aromatic Compounds in Shijiazhuang	YANG Yang, LI Xing-ru, LIU Shui-qiao, <i>et al.</i> (4841)
Emission Characteristics Analysis and Health Risk Assessment of Unorganized VOCs in the Carbon Industry, Zhengzhou	ZHANG Yi-shun, WANG Jia, HAN Shi-jie, <i>et al.</i> (4847)
Hazardous Volatile Organic Compound Emission Inventory Study and Its Application in a Typical Chemical Industry in the Yangtze River Delta	LU Jun, HUANG Yi-wei, HUANG Cheng (4856)
Establishment and Characteristics of an Artificial Ammonia Emissions Inventory in Jiangsu Province from 2013 to 2017	HOU Xin-hong, YU Xing-na, SHEN Li, <i>et al.</i> (4862)
Occurrence Characteristics and Health Risks of PAHs on the Surface of Buildings and Devices in the Coking Plant	ZHAO Yi-shu, LIAO Xiao-yong, LI You, <i>et al.</i> (4870)
Contamination Characteristics and Ecological Risk Assessment of Androgens, Glucocorticoids, and Progesterone in the Liusha Bay, South China Sea	YANG Lei, ZHANG Jin-na, XU Min, <i>et al.</i> (4879)
Dynamic Changes in Hydrochemical Characteristics and Influencing Factors in the Karst Watershed Flood Process	YUAN Ya-qiong, SUN Ping-an, SU Zhao, <i>et al.</i> (4889)
Sources, Distribution, and Fluxes of Major and Trace Elements in the Yangtze River	WU Wen-tao, RAN Xiang-bin, LI Jing-xi, <i>et al.</i> (4900)
Contaminant Characteristics and Ecological Risk Assessments of Heavy Metals from River Networks in the Western Area of the Wangyu River	XU Chen, WANG Pei-fang, CHEN Juan, <i>et al.</i> (4914)
Influence of Rainfall Intensity on the Nutrient Loading from an Inflowing River in the Plain River Network of the Taihu Catchment	CHEN Jie, ZHU Guang-wei, XU Hai, <i>et al.</i> (4924)
Distribution and Pollution Assessment of Nutrients and Heavy Metals in Surface Sediments from Shibalianwei Wetland in Hefei, Anhui Province, China	CHEN Shan, XU Fan, XIE San-tao, <i>et al.</i> (4932)
Spatial Distribution Characteristics of Chlorophyll-a and Nutrient Salts in Tributaries of Different River Sections in the Three Gorges Reservoir Area During the Flood Season	YANG Fan, YANG Zheng-jian, JI Dao-bin, <i>et al.</i> (4944)
Endogenous Release of Nitrogen and Phosphorus in the Danjiangkou Reservoir	WANG Zhi-qi, LIU Xin-xing, YAO Zhi-hong, <i>et al.</i> (4953)
Correlation Between Water Purification Capacity and Bacterial Community Composition of Different Submerged Macrophytes	LI Lin, YUE Chun-lei, ZHANG Hua, <i>et al.</i> (4962)
Size-dependent Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Performance and Microbial Community Structure of a Constructed Wetland	WANG Sen, REN Ling, LIU Lin-lin, <i>et al.</i> (4971)
Removal of Nitrogen and Phosphorus from Water by Biomass Carbon of Aquatic Plants	LIU Shu-lei, PENG Hui-jun, YANG Jia-yi, <i>et al.</i> (4980)
Preparation of MgO Modified Lotus Shell Biochar and Its Phosphorus Adsorption Characteristics	WANG Sheng-hua, ZHU Dan-chen, SHAO Jing-ai, <i>et al.</i> (4987)
Effects of Microplastics on Membrane Fouling During a Shortened Ultrafiltration Membrane Process	WANG Bo-dong, XUE Wen-jing, LÜ Yong-tao, <i>et al.</i> (4996)
Preparation and Comparison of Arsenic Removal Granular Adsorbent Based on Iron-Manganese Sludge	ZENG Hui-ping, YU Ya-ping, LÜ Sai-sai, <i>et al.</i> (5002)
Catalytic Degradation of Rhodamine B by FeOCl Activated Hydrogen Peroxide	ZHANG Shao-peng, CHEN Yu, BAI Shu-qin, <i>et al.</i> (5009)
Treatment Effect and Ecological Risk Assessment of Typical Antibiotics in Wastewater from Large-scale Dairy Farms in Tianjin	CHEN Qian, ZHAO Run, MOU Mei-rui, <i>et al.</i> (5015)
Distribution Characteristics of Antibiotic Resistance Genes in Wastewater Treatment Plants	YAO Peng-cheng, CHEN Jia-yu, ZHANG Yong-ming, <i>et al.</i> (5024)
Start-up and Stable Operation of CANON Coupled with Denitrifying Phosphorus Removal	YIN Wen, CHEN Ya, ZHANG Yu, <i>et al.</i> (5032)
Control of Sludge Bulking Caused by Unknown Reason Through FeCl ₃ Coupled with Biochemical Methods	WEI Dong-yang, XIAO Cai-lin, ZHOU Wen, <i>et al.</i> (5040)
Effects of Solid Retention Time on the Phosphorus Removal and Nitrosation Granules System	LI Dong, LIU Bo, WANG Wen-qi, <i>et al.</i> (5048)
Start-up of Simultaneous ANAMMOX and Denitrification Process and Changes in Microbial Community Characteristics	SONG Zhuang-zhuang, LÜ Shuang, LIU Zhe, <i>et al.</i> (5057)
Influence of Substrate Exposure Level on ANAMMOX Microbial Activity and Biomass	CHEN Fang-min, GAO Jia-qi, HUANG Yong, <i>et al.</i> (5066)
Pollution Characteristics and Source Analysis of Heavy Metals in Farmland Soils in the Taige Canal Valley	LI Wei-di, CUI Yun-xia, ZENG Cheng-cheng, <i>et al.</i> (5073)
Method of Dividing the Value of Soil Heavy Metal Pollution Risk Screening: Using Cd as an Example	WANG Rui, ZHANG Feng-lei, XU Shu-shu, <i>et al.</i> (5082)
Mineral Characteristics of Arsenic in the Active Area of the Banbishan Gold Mine and Its Effect on Arsenic Accumulation in Farmland Soil	WEN Qi-qian, YAN Xiu-lan, SHEN Jun-feng, <i>et al.</i> (5090)
Remediation of Cadmium Contaminated Paddy Fields Using Soil Conditioners	ZHOU Li-jun, WU Lin, LIN Xiao-bing, <i>et al.</i> (5098)
Inhibition and Remediation of Methylmercury Contaminated Soil by Use of Modified Montmorillonite	HAN Yi-xin, HE Tian-rong, WANG Zu-bo (5107)
Cerium-manganese Modified Biochar Immobilizes Arsenic in Farmland Soils	LIANG Ting, LI Lian-fang, ZHU Chang-xiong, <i>et al.</i> (5114)
Improving Bioremediation of Crude Oil-contaminated Soil by Mild Pre-oxidation	XU Jin-lan, WANG Hui-fang, WANG Rong, <i>et al.</i> (5124)
Community Structure of Heavy Metal Immobilized Bacteria in the Lettuce (<i>Lactuca sativa</i> L.) Rhizosphere in Soil Polluted by Heavy Metals and Its Effects on Reducing Heavy Metal Accumulation in Lettuce	WANG Tie-jun, SU Nan-nan, LEI Peng, <i>et al.</i> (5133)
Impact of Dicyandiamide (DCD) and 3,4-Dimethylpyrazole Phosphate (DMPP) on Ammonia-oxidizing Bacteria and Archaea in a Vegetable Planting Soil	GUO Jun-li, LIU Yi, WEI Wen-xue, <i>et al.</i> (5142)
Effect of Different Reclaimed Water Irrigation Methods on Bacterial Community Diversity and Pathogen Abundance in the Soil-Pepper Ecosystem	CUI Bing-jian, GAO Feng, HU Chao, <i>et al.</i> (5151)
Characteristics of CO ₂ and N ₂ O Emissions Under Two Land Use Types in the Loess Plateau of China	HAN Jia-le, HAO Shan, LIU Zhen-jie, <i>et al.</i> (5164)
Effects of Biochar on N ₂ O Emission from Four Typical Soils in the North China Plain	ZHANG Xiu-ling, SUN Yun, ZHANG Shui-qing, <i>et al.</i> (5173)
Effects of Optimizing Fertilization on N ₂ O and CH ₄ Emissions in a Paddy-Cowpea Rotation System in the Tropical Region of China	HU Yu-lin, TANG Shui-rong, TAO Kai, <i>et al.</i> (5182)