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

2020
Vol.41 No.6
第41卷 第6期

环境科学
(HUANJING KEXUE)
ENVIRONMENTAL SCIENCE
第41卷 第6期
2020年6月15日

目 次

基于SPAMS的天津市夏季环境受体中颗粒物的混合状态及来源 …… 林秋菊, 徐娇, 李梅, 王玮, 史国良, 冯银厂 (2505)
南京北郊降水无机离子和有机酸的化学特征及来源分析 …… 杨笑影, 曹芳, 林煜棋, 章炎麟 (2519)
西安市 $PM_{2.5}$ 中水溶性离子的季节变化特征 …… 黄含含, 王羽琴, 李升苹, 陈庆彩 (2528)
新疆石化工业区颗粒物含水量和酸度对二次无机组分形成的影响 …… 刘会斌, 迪丽努尔·塔力甫, 王新明, 张潇潇, 王威, 阿布力克木·阿不力孜, 买里克扎提·买合木提, 刘伟 (2536)
长春秋季生物质燃烧对 $PM_{2.5}$ 中 WSOC 吸光性的影响 …… 孟德友, 曹芳, 翟晓瑶, 张世春, 章炎麟 (2547)
2019年5月上海复合污染过程中挥发性有机物的污染特征及来源 …… 王倩 (2555)
南京工业区秋季大气挥发性有机物污染特征及来源解析 …… 曹梦瑶, 林煜棋, 章炎麟 (2565)
郑州市春季大气污染过程 VOCs 特征、臭氧生成潜势及源解析 …… 任义君, 马双良, 王思维, 于世杰, 李一丹, 张瑞芹, 尹沙沙 (2577)
上甸子区域背景站 VOCs 污染特征及其对臭氧生成贡献 …… 韩婷婷, 李颖若, 邱雨露, 何迪, 王垚, 马志强 (2586)
北京市餐饮业大气污染物排放特征 …… 孙成一, 白画画, 陈雪, 翟翼飞, 高启天, 何万清, 聂磊, 石爱军, 李国傲 (2596)
北京市农业机械排放因子与排放清单 …… 王凯, 樊守彬, 亓浩雲 (2602)
北京市土壤风蚀扬尘排放因子本地化 …… 李贝贝, 黄玉虎, 毕晓辉, 刘李阳, 秦建平 (2609)
基于 MODIS_C061 的长三角地区 AOD 与 Angström 指数时空变化分析 …… 张颖蕾, 崔希民 (2617)
环渤海地区 2,4,4′-三氯联苯的多介质归趋模拟 …… 张毅, 马艳飞, 宋帅, 吕永龙, 张盛, 吴强 (2625)
岗南水库沉积物间隙水有色溶解有机物的时空分布特征及差异分析 …… 周石磊, 孙悦, 苑世超, 彭瑞哲, 刘世崇, 岳哲丞, 张航, 王周强, 李再兴, 罗晓 (2635)
"河-湖"沉积物重金属环境特征及来源解析 …… 李悦昭, 陈海洋, 孙文超 (2646)
伊通河(城区段)沉积物重金属形态分布特征及风险评价 …… 姜时欣, 翟付杰, 张超, 王蒙蒙, 单保庆 (2653)
典型岩溶地下河流域水体中硝酸盐源解析 …… 赵然, 韩志伟, 申春华, 张水, 涂汉, 郭永丽 (2664)
沉积物参与下氮磷脉冲式输入对太湖水体营养盐浓度和藻类生长的影响 …… 陈洁, 许海, 詹旭, 许笛, 朱广伟, 朱梦圆, 季鹏飞, 康丽娟 (2671)
丰水期东洞庭湖超微型浮游藻类时空分布特征及其影响因子 …… 李胜男, 陈豪宇, 彭华, 李尝君, 朱坚, 简燕, 纪雄辉 (2679)
胶网藻对水体中恩诺沙星的毒性响应及去除作用 …… 王振方, 韩子玉, 王梦雪, 马逸驰, 王婷, 王丽卿, 张玮 (2688)
不同光照和磷水平下两种沉水植物磷富集和钙磷含量的比较 …… 桑雨璇, 杨珈乐, 熊怡, 尹文博, 汪华, 王和云 (2698)
过氧化钙复合片剂对水体修复和底泥磷控制的作用 …… 张帅, 李大鹏, 丁玉琴, 徐楚天, 许鑫澎, 孙培荣, 赵哲豪, 黄勇 (2706)
基于区域 DNDC 的稻田轮作氮素空间分异与驱动分析:以晋江流域为例 …… 王亚楠, 税伟, 祁新华, 范水生 (2714)
不同铁锰浓度的低温铁锰氨地下水净化中氨氮去除途径 …… 张杰, 梅宁, 刘孟浩, 叶雪松, 李冬 (2727)
高晶度 Mn-Fe LDH 催化剂活化过一硫酸盐降解偶氮染料 RBK5 …… 李立, 吴丽颖, 董正玉, 王霁, 张倩, 洪俊明 (2736)
Fe-cyclam/H_2O_2 体系催化降解罗丹明 B 机制 …… 余雨清, 陈翔宇, 蔡权华, 黄歆珏, 陈曼 (2746)
微生物光电化学池去除硝酸盐氮:以 PANI/TiO_2-NTs 为光阳极 …… 卢忆, 周海珊, 彭瑞建, 叶杰旭, 陈建孟, 宋爽, 张士汉 (2754)
缺氧 MBR-MMR 处理海水养殖废水性能及膜污染特性 …… 陈凡雨, 徐仲, 尤宏, 柳锋, 李之鹏, 陈其伟, 韩红卫 (2762)
HRT 对改良式 A^2/O-BAF 反硝化除磷脱氮的影响 …… 赵凯亮, 刘安迪, 南彦斌, 梁利民, 王云霞, 陈永志 (2771)
重金属Ni(Ⅱ)对厌氧氨氧化脱氮性能的影响及其动力学特征变化 …… 孙琪, 赵白航, 范飒, 周邦磊, 李玉琪 (2779)
异养硝化-好氧反硝化混合菌对尿素的去除及重金属和盐度的影响 …… 王萌萌, 曹刚, 张迪, 冯乃宪, 潘涌璋 (2787)
火山岩填料曝气生物滤池的 SNAD 工艺启动特性及功能菌丰度演替 …… 薛嘉俊, 张绍青, 张立秋, 李淑更, 姚海楠, 耿忠轩, 李鸿, 刘晓玲 (2796)
游离羟胺对两种典型亚硝态氮氧化菌活性的影响 …… 沈琛, 张树军, 彭永臻 (2805)
死菌 DNA 对厌氧消化污泥中抗生素抗性基因及微生物群落分析的干扰 …… 苏宇傲, 刘宏波, 毛秋燕, 张慧旻, 张衍, 刘和 (2812)
中国农田土壤重金属空间分布特征及污染评价 …… 陈文轩, 李茜, 王珍, 孙兆军 (2822)
土壤环境质量预警体系构建与应用 …… 李笑诺, 丁寿康, 陈卫平, 王夏晖, 吕斯丹, 刘睿 (2834)
不同母质发育土壤团聚体分布对外源输入秸秆的响应及其与有机碳矿化的关系 …… 毛霞丽, 邱志腾, 张爽, 沈倩, 章明奎 (2842)
长期施肥稻田土壤胞外酶活性对底物可利用性的响应特征 …… 宁玉菲, 魏亮, 魏晓梦, 祝贞科, 袁红朝, 葛体达, 吴金水 (2852)
生物质炭对磷镉富集土壤中两种元素生物有效性及作物镉积累的影响 …… 黄洋, 郭晓, 胡学玉 (2861)
基于田块尺度的农田土壤和小麦籽粒镉砷铅污染特征及健康风险评价 …… 肖冰, 薛培英, 韦亮, 刘成程, 高培培, 樊利敏, 杜佳燕, 刘文菊 (2869)
重构土壤垂直剖面重金属 Cd 赋存形态及影响因素 …… 胡青青, 沈强, 陈飞, 尹炳, 邹宏光, 庄红娟, 张世文 (2878)
新乡市镉污染土壤细菌群落组成及其对镉固定效果 …… 陈兆进, 李英军, 邵洋, 林立安, 徐鸽, 陈彦, 田伟, 姚伦广, 韩辉 (2889)
三峡消落带适生植物根系活动调控土壤养分与细菌群落多样性特征 …… 李丽娟, 李昌晓, 陈春桦, 杨治华, 陈雪梅 (2898)
滇池水中细菌和古菌氮代谢功能基因的空间分布 …… 张宇, 左剑恶, 王丝可, Alisa Salimova, 李爱军, 李玲玲 (2908)
模拟升温对冰川前缘地微生物种群的影响 …… 王愉琬, 马安周, 种国双, 谢飞, 周汉昌, 刘国华, 庄国强 (2918)
水肥气耦合对温室番茄地土壤 N_2O 排放及番茄产量的影响 …… 商子惠, 蔡焕杰, 陈慧, 孙亚楠, 李亮, 朱艳, 王晓云 (2924)
矸石山及其周边村庄土壤浸出液对大麦的毒性作用 …… 尚誉, 杨丰隆, 宁夏, 董轶茹, 桑楠 (2936)
海南省昌化江河口海域生物体中多环芳烃污染特征、来源解析及健康风险评价 …… 汪慧娟, 旷泽行, 周贤, 覃晓青, 黄洪辉 (2942)
春季北京市河流大型底栖动物群落结构特征及影响因子分析 …… 贺玉晓, 李珂, 任玉芬, 王思琪, 方文颖 (2951)
热解温度和时间对香蒲生物炭性质的影响及生态风险评估 …… 蔡朝卉, 楚沉静, 郑浩, 罗先香, 李锋民 (2963)
长江经济带交通碳排放测度及其效率格局(1985~2016年) …… 蒋自然, 金环环, 王成金, 叶士琳, 黄艳豪 (2972)
《环境科学》征订启事(2595) 《环境科学》征稿简则(2687) 信息(2697, 2713, 2811)

Eco-Environmental Knowledge Web

环 境 科 学
Environmental Science

第41卷第6期 2020年6月
Vol.41, No.6 Jun., 2020

新乡市镉污染土壤细菌群落组成及其对镉固定效果

陈兆进[1], 李英军[2], 邵洋[2], 林立安[2], 徐鸽[2], 陈彦[2], 田伟[3], 姚伦广[1], 韩辉[1*]

(1. 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; 2. 南阳师范学院生命科学与技术学院, 南阳 473061; 3. 生态环境部南京环境科学研究所, 南京 210042)

摘要: 重金属污染土壤中具有丰富的微生物群落组成,为生物修复提供了微生物资源. 本研究以新乡市某电池厂周边 Cd 污染土壤为研究对象,采用高通量测序和平板分离方法分析其细菌群落组成. 传统培养方法表明新乡市重金属污染土壤细菌由厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门这 4 个门,芽孢杆菌属、节杆菌属和根瘤菌属等 30 个属组成;高通量测序表明,其由变形菌门、放线菌门和酸杆菌门等 25 门及 400 属组成. 相较于培养方法,高通量测序群落组成更为丰富. 基于高通量测序的分子生态网路分析表明其关键细菌分别为 *Arthrobacter*、*Marmoricola*、*Nocardioides*、*Ferruginibacter*、*Flavitalea*、*Nitrospira* 和 *Lysobacter* 等组成. 对分离的 159 株可培养菌株进行 Cd 摇瓶吸附实验,结果表明 *Aneurinibacillus*、*Arthrobacter* 和 *Bacillus* 等 11 个属的 30 株菌具有较好地固定效果. 效果验证实验表明,*Ochrobactrum* sp. 1-6、*Bacillus* sp. 2-11 和 *Pseudomonas* sp. 1-9 等 6 株高效菌株能提高青菜(鸡毛菜)生物量、降低青菜不同组织中的 Cd 含量. 本研究为新乡市重金属污染土壤修复提供菌种资源,同时为重金属污染土壤细菌群落和功能提供参考依据.

关键词:重金属污染; 重金属固定细菌; 植物促生细菌; 高通量测序; 分子生态网络分析

中图分类号: X172 **文献标识码**: A **文章编号**: 0250-3301(2020)06-2889-09 **DOI**: 10.13227/j.hjkx.201912039

Bacterial Community Composition in Cadmium-Contaminated Soils in Xinxiang City and Its Ability to Reduce Cadmium Bioaccumulation in Pak Choi (*Brassica chinensis* L.)

CHEN Zhao-jin[1], LI Ying-jun[2], SHAO Yang[2], LIN Li-an[2], XU Ge[2], CHEN Yan[2], TIAN Wei[3], YAO Lun-guang[1], HAN Hui[1*]

(1. 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; 2. School of Life Science and Technology, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China; 3. Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Ecology and Environment, Nanjing 210042, China)

Abstract: There are many types of bacteria in heavy metal-contaminated soils, including plant growth-promoting bacteria and heavy metal-immobilizing bacteria, which may potentially be used for the bioremediation of contaminated soil. In this study, the Cd-contaminated soil around a battery factory in Xinxiang City was collected and its bacterial community composition was analyzed using high-throughput sequencing (HTS) and the plate lineation separation method. The traditional culture method showed that bacteria isolated from contaminated soil belonged to four phyla (Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria, and Bacteroidetes) and 30 genera including *Bacillus*, *Arthrobacter*, and *Rhizobium*. HTS showed that the soil contained 25 phyla including Proteobacteria, Actinobacteria, and Acidobacteria and 400 genera. The HTS analysis revealed a greater diversity of the bacterial community than the traditional culture method. Network analysis was performed using the relative abundances of bacteria based on the phylogenetic molecular ecological network (pMEN) method. Network analysis showed that the key bacteria included *Arthrobacter*, *Marmoricola*, *Nocardioides*, *Ferruginibacter*, *Flavitalea*, *Nitrospira*, and *Lysobacter*. The Cd fixation and adsorption abilities of the 159 cultivable strains were determined. The results showed that 30 strains from 11 genera, including *Aneurinibacillus*, *Arthrobacter*, and *Bacillus*, were highly efficient. Six high-efficiency strains were shown to increase the biomass of pak choi (*Brassica chinensis* L.) and reduce the content of Cd in different pak choi tissues. This study provides candidate bacterial species for the remediation of heavy metal-contaminated soil in Xinxiang City and provides references for the bacterial community and its function in heavy metal-contaminated soil.

Key words: heavy metal contamination; heavy metal-immobilizing bacteria; plant growth-promoting bacteria; high-throughput sequencing; phylogenetic molecular ecological network

由于矿山开采、重金属污水灌溉等原因,我国约 1/5 面积的耕地受不同程度重金属污染,严重影响我国粮食安全[1]. 因此,土壤重金属污染治理与修复迫在眉睫[2,3]. 轻微、轻度污染的农田可通过物化稳定-低吸收作物联合阻控、农艺调控等措施改变重金属在土壤中的存在形态,降低其迁移性和生物可利用性,减少植物吸收富集,实现边修复边利用[4,5]. 其中微生物固定重金属修复技术,具有环境

收稿日期: 2019-12-05; **修订日期**: 2019-12-28

基金项目: 国家自然科学基金项目(41601332, 41907143)

作者简介: 陈兆进(1985~),男,博士,讲师,主要研究方向为环境微生物学,E-mail: zhaojin_chen@163.com

* 通信作者,E-mail:17657311626@163.com

友好、无二次污染等特点,逐渐成为国内外研究的热点[6~10].有研究表明细菌通过钝化作用可使重金属在土壤中沉淀或被吸附固定,改变土壤重金属赋存形态,"钝化"其生物有效性,从而降低植物对重金属的吸收和转运. Xu 等[11]的研究表明 *Enterobacter cloacae* TU 对 Cd 的吸附率高达 97%,吸附的 Cd 主要位于胞外,其胞外聚合物中的 O—H、N—H 和 S—H是 Cd 结合的主要位点. 细菌具有分泌吲哚乙酸(IAA)、1-氨基环丙烷-1-羟酸(ACC)脱氨酶、溶磷等植物促生特性,能与生物炭、有机肥等其他固定剂联合使用,取长补短,降低吸收植物重金属同时提高植物生物量、品质等,具有较好的应用前景[9]. Dary 等[12]的研究发现接种植物促生菌(*Bradyrhizobium* sp. 750、*Pseudomonas* sp. 和 *Ochrobactrumcytisi cytisi*)能够缓解重金属对于黄羽扇豆(*Lupinus luteus*)毒害作用,显著增加其生物量,并且显著降低植物根部重金属(Cd、Pb、Zn 和 Cu)含量与地上部重金属(Cd 和 Pb)含量. Wang 等[13]的研究发现生物炭与植物促生细菌 *Neorhizobium huautlense* T1-17 联合施用能够显著增加蔬菜生物量,并且显著降低蔬菜可食用部位 Cd 和 Pb 浓度.

新乡市是我国电池生产的重要基地,被授予"中国电池工业之都".由于电池行业重金属耗用量大,长期生产容易造成周边土壤、水体重金属超标.据调查新乡市环宇大道工业区周边土壤 Cd 含量超标 176.85 倍,小麦中重金属 Cd 含量超标 1.7~12.8 倍[14,15].重金属污染土壤中具有丰富的微生物群落组成,为生物修复提供了微生物资源[10,16].因此,本研究以新乡 Cd 污染土壤为研究对象,采用高通量测序和平板分离方法分析其细菌群落组成,并测定 Cd 固定细菌降低青菜富集 Cd 效果,以期为新乡市重金属污染土壤修复提供菌种资源,同时为重金属污染土壤细菌群落和功能提供参考依据.

1 材料与方法

1.1 样品采集

根据相关资料,以河南省新乡市郊区某电池厂为中心,设置厂旁(编号 CP,电池厂 600 m 外土壤)、河道(HD,电池厂 3 km 外河道)和农田(NT,电池厂 3 km 外农田)这 3 个采样点,采用土钻采集 Cd 污染土壤.去除土样中的植物和动物残体等杂质后测定土壤理化性质,厂旁样品理化性质为:pH 值 6.03、有机质 24.42 $g\cdot kg^{-1}$、总磷 6.55 $g\cdot kg^{-1}$、总氮 7.43 $g\cdot kg^{-1}$和总钾 12.35 $g\cdot kg^{-1}$,河道样品理化性质为:pH 值 6.73、有机质 22.48 $g\cdot kg^{-1}$、总磷 3.46 $g\cdot kg^{-1}$、总氮 5.83 $g\cdot kg^{-1}$和总钾 9.67 $g\cdot kg^{-1}$,农田样品理化性质为:pH 值 6.67、有机质 20.62 $g\cdot kg^{-1}$、总磷 2.53 $g\cdot kg^{-1}$、总氮 5.44 $g\cdot kg^{-1}$和总钾 5.52 $g\cdot kg^{-1}$.采用电感耦合等离子发射光谱仪(ICP-OES)测定土壤 Cd,结果表明厂旁、河道和农田样品 Cd 含量分别为 24.2、7.5 和 0.8 $mg\cdot kg^{-1}$,根据《土壤环境质量农用地土壤污染风险管控标准(试行)》(GB 15618-2018)分析评价,土壤镉污染达到重度或中度污染.

1.2 高通量测序和分子生态网络分析

土壤细菌总 DNA 采用美国 MP 公司 FastDNA® Spin Kit for Soil 试剂盒提取.采用通用引物(338F/806R)对细菌 16S rRNA 基因的 V3~V4 区进行 PCR 扩增,具体 PCR 扩增体系和反应条件参照文献[17].修饰后的通用引物含有不同的 Tag 标签用以区分不同样品,利用上海美吉生物医药科技有限公司的 MiSeq PE300 测序仪(Illumina Inc,San Diego,CA,USA)完成序列测定.高通量数据的生物信息学分析采用 QIIME(quantitative insights into microbial ecology)进行,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,得到每个 OTU 的分类学信息[18].采用 LEfSe 在线工具寻找组与组之间有统计学差异的生物标志物[19].分子生态网络分析选取随机矩阵理论(random matrix theory, RMT),在 Molecular Ecological Network Analyses Pipeline (MENAP, http://ieg2.ou.edu/MENA/main.cgi)上完成[20,21].利用软件 Cytoscape 3.7.0 对网络进行可视化处理,得到可视网络结构图及相关信息,包括类别、模块化属性、相关性和模块枢纽等[22].在可视化网络结构中,节点代表群落中的种群,节点之间的连线代表种群之间的相互作用关系(正、负相关性等).

1.3 可培养细菌分离和鉴定

可培养细菌分离采用稀释梯度平板法,将取 1.0 g 土壤加入 100 mL 无菌水中,稀释到合适梯度,取 100 μL 涂布于 LB 培养基.根据菌落形态、颜色、大小分别挑取不同细菌,在平板上划线纯化.参考 Sun 等[23]的方法提取细菌基因组 DNA,采用通用引物 27F 和 1492R 对细菌 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增,PCR 产物送公司进行序列测定.将测序结果与 EzBioCloud 网站(https://www.ezbiocloud.net)模式菌株的 16S rRNA 基因序列相比对,判定菌株所属类群.菌株产 IAA 能力采用 Salkowski 显色法进行测定[24],ACC 脱氨酶测定参照文献[25].

1.4　菌株吸附 Cd 能力测定

将 Cd 质量浓度为 5 mg·L^{-1}的培养基 50 mL 分装到三角瓶中，按 1% 的比例接种培养至对数生长期的供试菌株菌悬液，30℃、180 r·min^{-1}条件下摇床振荡培养 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 的质量浓度. 通过计算得出各个菌株对 Cd 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}.

1.5　菌株降低青菜富集重金属效果实验

采集南阳市西郊无污染农田土壤，风干后过 20 目筛，去除植物组织和石块，加入分析纯 $CdSO_4 \cdot 8H_2O$ 使土壤中 Cd 的浓度分别为 10 mg·kg^{-1}，充分混合并放置 1 个月，将 300 g 土样加入 350 mL 塑料杯中. 选取表面消毒的青菜（品种为鸡毛菜）种子，种植于塑料杯，每盆留苗 2 株. 待苗长至 5 cm 时，选取 1.3 节和 1.4 节实验中筛选到高效固定 Cd 的菌株作为供试菌株进行接种. 供试细菌接种于液体 LB 培养基中，振荡培养至对数生长期后期，菌液离心收集菌体，用无菌去离子水清洗两遍，使细胞悬液中菌体数量约为10^8 cfu·mL^{-1}，用无菌镊子将植物根部四周表层土壤挖开，沿着植物根系接种 10 mL 菌悬液. 种植 50 d 后，从盆中小心取出植物，根部用去离子水充分洗净，将植物根部浸泡于 0.01 mol·L^{-1} EDTA-2Na 溶液中 10 min，以去除植物根表面吸附的重金属离子及沉淀. 样品置于烘箱中 105℃烘干，沿根茎结合处分离根部、茎部和叶部，称取植物干重，采用 ICP-OES 测定植物组织中 Cd 含量.

2　结果与分析

2.1　高通量测序分析细菌群落组成

2.1.1　高通量测序结果及多样性的评估

厂旁、河道和农田的 3 样品测序条带均高于 27 000条，样品的文库覆盖率高于 99.00%，稀释性曲线趋向平稳，表明测序数据量合理，能够代表物种的丰富度. 实际观测到的 OTU 数 Sobs 排序为厂旁 > 农田 > 河道，均达到显著差异水平（$P < 0.05$）. 对群落丰富度和多样性指数（Chao1、ACE、Shannon、Simpson）进行分析，结果表明 Chao1、ACE 和 Shannon 指数为厂旁最高，河道最低，Simpson 指数与之相反（表 1）. 综合 Sobs、群落丰富度和多样性指数，新乡重金属污染土壤细菌多样性排序为厂旁 > 农田 > 河道.

表 1　不同样品细菌多样性评估[1)]

Table 1　Estimation of bacterial community diversity in different samples

样品	序列条带数	Sobs	Shannon 指数	Simpson 指数	ACE 指数	Chao 1 指数	覆盖度/%
厂旁	39 133 ± 3 920b	1 393 ± 13c	6.47 ± 0.04b	0.003 9 ± 0.000 8	1 446 ± 14c	1 462 ± 18c	99.36 ± 0.04b
河道	49 274 ± 2 298c	1 162 ± 8a	5.86 ± 0.04a	0.012 7 ± 0.002 3	1 265 ± 25a	1 295 ± 42a	99.14 ± 0.09a
农田	27 327 ± 4 773a	1 261 ± 19b	6.11 ± 0.34ab	0.015 2 ± 0.016 7	1 335 ± 7b	1 362 ± 5b	99.25 ± 0.08ab

1）数据数值为平均值 ± 标准偏差（$n = 3$），同一列不同小写字母表示处理在 $P < 0.05$ 水平达到显著

2.1.2　细菌群落组成及 Beta 多样性分析

高通量测序结果表明，厂旁样品由 20 门、43 纲、93 目、170 科和 198 属组成；河道样品由 22 门、45 纲、97 目、166 科和 276 属组成；农田样品细菌由 19 门、42 纲、81 目、128 科和 201 属组成. 门的水平上包括变形菌门（Proteobacteria）、放线菌门（Actinobacteria）、酸杆菌门（Acidobacteria）、绿弯菌门（Chloroflexi）、拟杆菌门（Bacteroidetes）、芽单胞菌门（Gemmatimonadetes）、Saccharibacteria 和疣微菌门（Verrucomicrobia）等（图 1）. 其中变形菌门、放线菌门、酸杆菌门和绿弯菌门为优势种群，总占比为 74.94% ~ 81.36%. 属的水平上鞘氨醇单胞菌（*Sphingomonas*）、*Skermanella*、硝化螺旋菌（*Nitrospirae*）、*Steroidobacter*、*Bryobacter* 等属的细菌占比超过 1.00%.

采用非加权组平均聚类分析（UPGMA）对不同样品 β 多样性进行分析，结果如图 2 所示. 在 0.2 的相似性水平上，厂旁、河道和农田样品各自分开，分为 3 大组，结果表明不同样品细菌群落结构有所差异. 其中厂旁和农田样品在 UPGMA 聚类图中更为接近，河道样品细菌群落差异最大.

2.1.3　不同样品差异细菌分析

为分析不同样品差异细菌组成，采用 LEfSe 软件寻找各组间差异的细菌种类，图 3 所示在 LDA score 大于 3.5 时不同组中相对丰度差异显著的物种. 在门的水平上，农田样品硝化螺旋菌（平均占比 2.54%）显著高于厂旁（1.30%）和河道样品（0.66%）. 在属的水平上，厂旁样品中变形菌门的德沃斯氏菌（*Devosia*）存在显著差异；河道样品中放线菌门的 *Nocardioides*、大理石雕菌（*Marmoricola*）、冷杆菌（*Cryobacterium*），拟杆菌门的 *Arcticibacter*，芽单胞菌门的 *Longimicrobium*，变形菌门的马赛菌

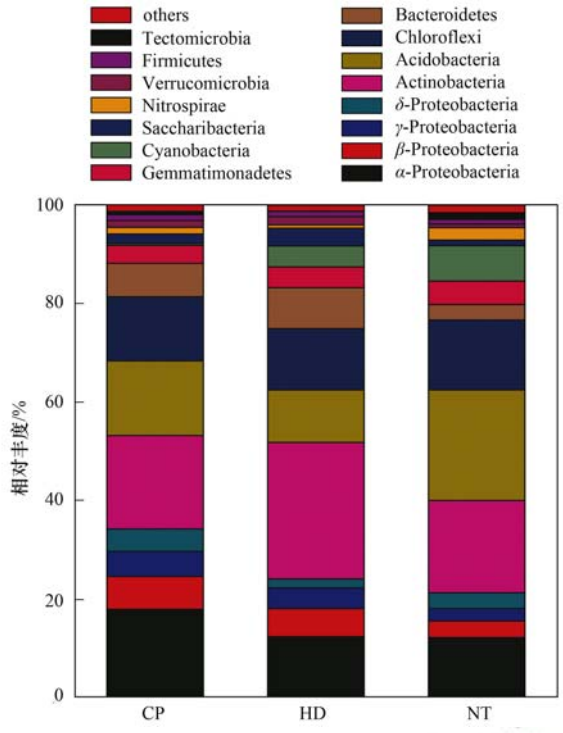


图 1 不同样品门水平上物种相对丰度分布

Fig. 1 Relative read abundance of bacterial community structures at the phylum levels in different samples

(*Massilia*)存在显著差异.

2.1.4 分子生态网路分析

将厂旁、河道和农田样品高通量测序得到的细菌相对丰度表基于 RMT 方法构建分子生态网络,采用 Cytoscape 3.7.0 软件进行可视化分析,具体如图 4 所示. 其中每个节点代表一个 OTU,节点之间颜色(红色或者蓝色)代表正负相关关系,由此显示细菌之间的相互联系. 网络的基本属性为:相关性阈值

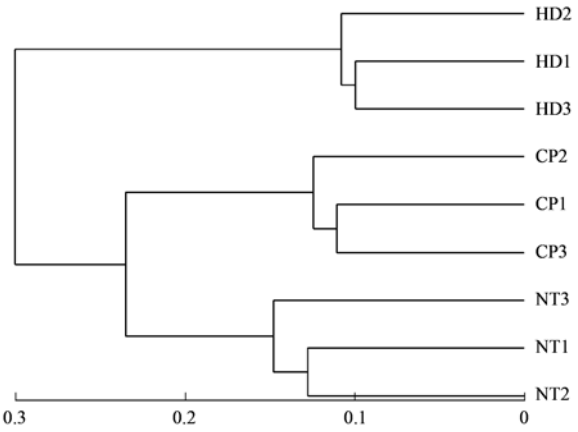


图 2 不同样品 UPGMA 聚类

Fig. 2 UPGMA clusters of different bacterial communities

(similarity threshold)为 0.970、节点数(total nodes)为 449 个、连接数为(total links)为 1352、幂律分布系数(R^2)为 0.904、平均群聚系数(average clustering coefficient)0.226、平均路径长度(average path length)为 4.318、模块性(modularity)为 0.531. 在分子生态网络的拓扑结构中,不同节点的拓扑学角色可以作为识别关键微生物的依据. 参考 Deng 等[26]的研究,将模块内连通度 $Z_i \geqslant 2.5$ 或是模块间连通度 $P_i \geqslant 0.62$ 的所有节点定为关键细菌(key bacteria),这些细菌在各自的大模块中起着联系模块内部细菌的重要作用. 关键细菌分别为放线菌门的 *Arthrobacter*(OTU15,Z_i = −0.112、P_i = 0.686)、*Marmoricola*(OTU376,Z_i = −0.181、P_i = 0.625)、*Nocardioides*(OTU2187,Z_i = −0.37、P_i = 0.750);拟杆菌门的 *Ferruginibacter*(OTU2019,Z_i = 2.568、P_i = 0.244)、*Flavitalea*(OTU2336,Z_i = 2.504、P_i = 0.314);厚壁菌门

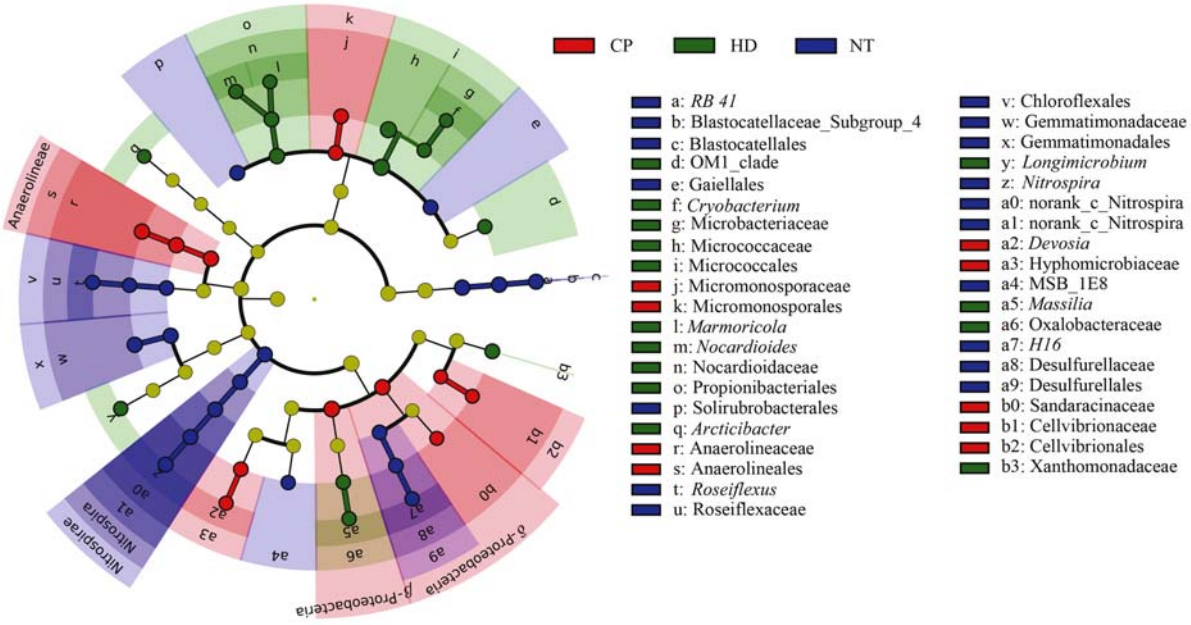
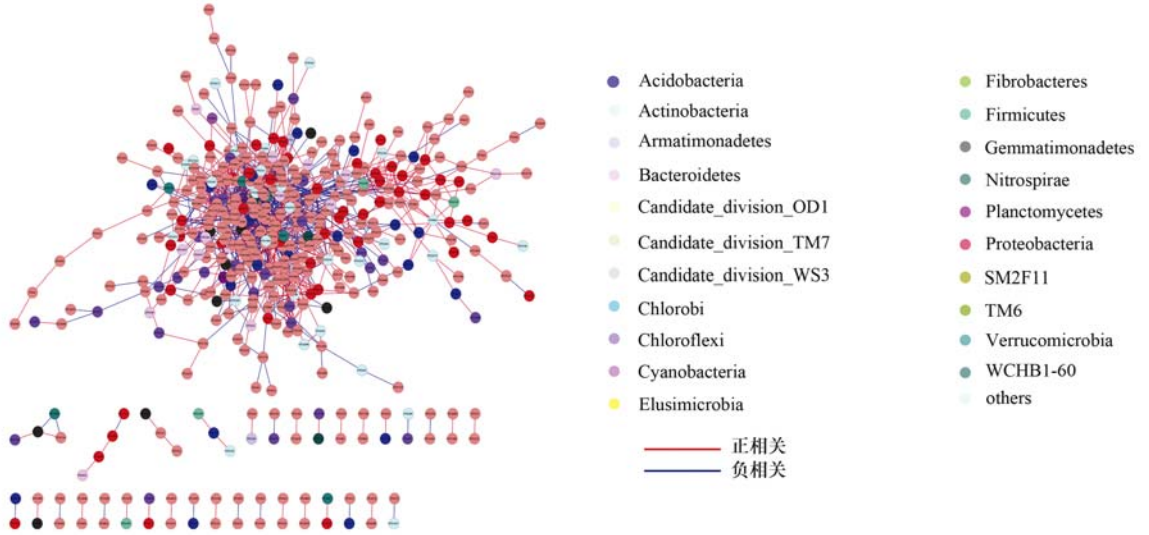


图 3 不同样品差异细菌分布

Fig. 3 Taxa with statistical differences between different bacterial communities



图中每个节点代表一个 OTU，节点颜色与右侧相同颜色门分类单元对应，节点之间的红色或者蓝色连线代表 OTU 之间正、负相关关系

图 4　新乡重金属污染土壤细菌生态网络

Fig. 4　Overview of the bacterial networks in the heavy metal contaminated soils in Xinxiang City

（Firmicutes）的 *Clostridium_sensu_stricto*_1（OTU1474，$Z_i = 0.874$、$P_i = 0.659$）；硝化螺旋菌门（Nitrospira）的 *Nitrospira*（OTU1038，$Z_i = 2.568$、$P_i = 0.628$）；变形菌门的 *G55*（OTU2376，$Z_i = -0.613$、$P_i = 0.625$）和 *Lysobacter*（OTU1235，$Z_i = 3.041$、$P_i = 0.593$）.

2.2　可培养细菌群落组成及其 Cd 吸附能力分析

平板上生长的细菌，根据菌落形态、颜色、大小分别挑取不同细菌，经纯化、保藏最终从厂旁、河道和农田样品中各成功分离到菌株 52 株、52 株和 55 株，共计 159 株细菌. 对其 16S rRNA 基因进行 PCR 扩增，序列测定，并与 EzBioCloud 网站中模式菌株进行比对，确定其分类学地位，结果如图 5 所示. 结果表明，可培养细菌分布于厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门这 4 个门，其中厚壁菌门、放线菌

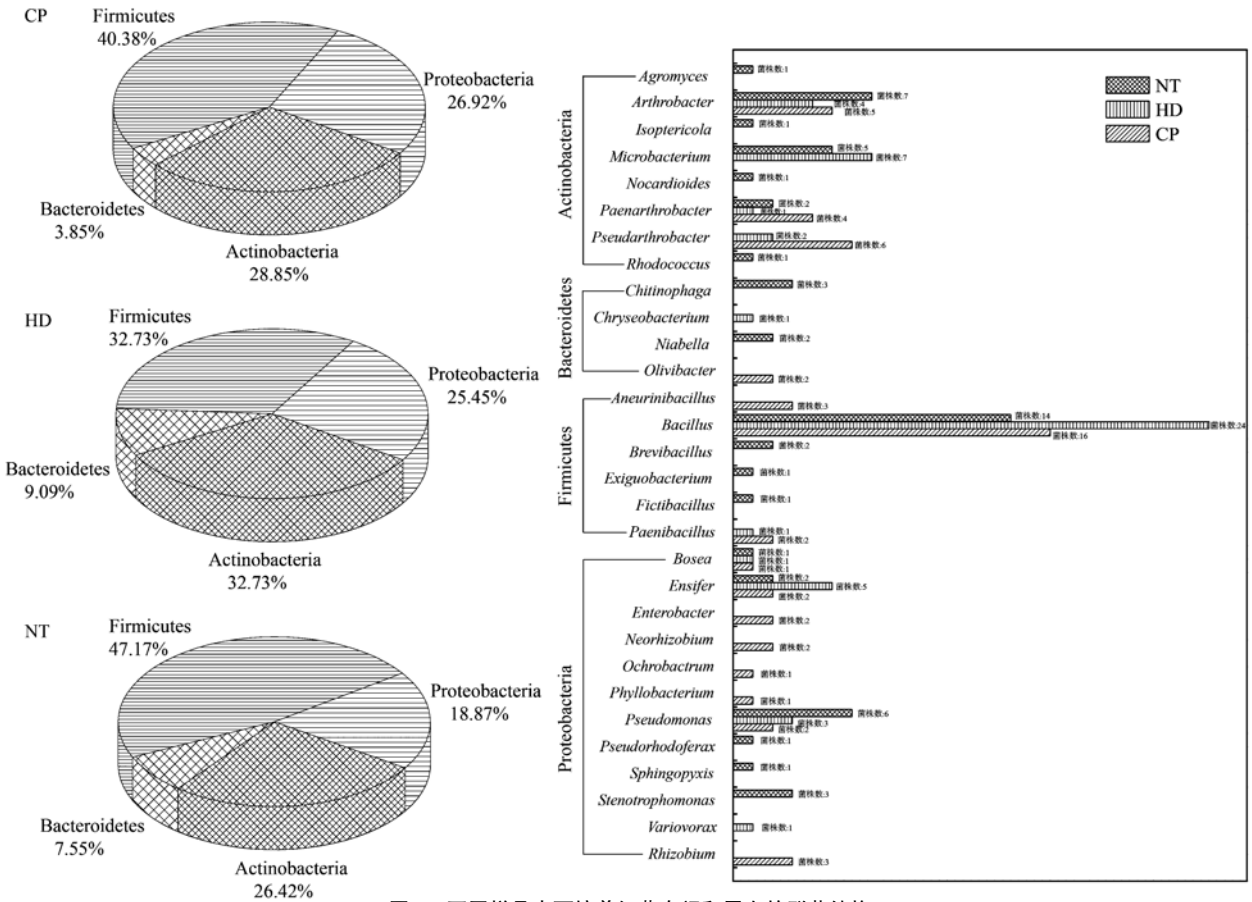


图 5　不同样品中可培养细菌在门和属上的群落结构

Fig. 5　Community structure of culturable bacteria at the phylum and genus level of different samples

门和变形菌门在 3 个样品中占比均高于 18.87%,为其主要组成. 与高通量测序的变形菌门、放线菌门、酸杆菌门和绿弯菌门为优势组成结果相比,有所差异(图 1). 可培养细菌属的水平上由芽孢杆菌属(*Bacillus*)、*Pseudarthrobacter*、节杆菌属(*Arthrobacter*)、*Paenarthrobacter*、根瘤菌属(*Rhizobium*)、*Paenibacillus* 和剑菌属(*Ensifer*)等 30 个属组成(图 5). 不同样品可培养细菌群落组成有所差异,其中芽孢杆菌属在厂旁、河道和农田样品中菌株数分别为 16、24 和 14,为优势组成. 厂旁样品由 15 个属组成,其中 *Pseudarthrobacter*(株菌数 6 株,下同)、节杆菌属(5 株)、*Paenarthrobacter*(4 株)、*Aneurinibacillus*(3 株)和根瘤菌属(3 株)占比较高;河道样品由 11 个属组成,其中微杆菌属(*Microbacterium*, 7 株)、剑菌属(5 株)、节杆菌属(4 株)、假单胞菌属(*Pseudomonas*, 3 株)和 *Pseudarthrobacter*(2 株)占比较高;农田样品由 19 个属组成,其中节杆菌属(7 株)、假单胞菌属(6 株)、微杆菌属(5 株)、*Chitinophaga*(3 株)和寡养单胞菌(*Stenotrophomonas*, 3 株)占比较高.

对厂旁、河道和农田样品分离得到的 159 株细菌进行摇瓶吸附实验,通过测定上清液中 Cd 的质量浓度,得出菌株对溶液中 Cd 的吸附率. 结果表明大多数菌株具有不同程度 Cd 吸附能力,吸附率介于 0~65.56% 之间. 以 Cd 吸附率大于 25% 为分界线,分析具有较高吸附能力的菌株群落组成和分类学地位,结果如图 6 所示. 厂旁、河道和农田样品 Cd 吸附率大于 25% 菌株数分别为 17、8 和 5 株,分别占各自总细菌的 32.68%、15.38% 和 9.09%. 这些细菌主要分布于 *Aneurinibacillus*、*Arthrobacter*、芽孢杆菌属、*Chitinophaga* 和假单胞菌属等 11 个属(图 6). 厂旁样品 Cd 吸附率细菌主要为芽孢杆菌属(4 株)、*Aneurinibacillus*(3 株)和根瘤菌属(2 株),其中菌株 *Ochrobactrum* sp. 1-6、*Bacillus* sp. 2-28、*Rhizobium* sp. 1-3 和 *Pseudomonas* sp. 1-9 的吸附率高于 50%;河道和农田样品主要 Cd 吸附率细菌分别为假单胞菌属(3 株)和孢杆菌属(2 株). 以上结果表明 Cd 污染高的土壤中,具有重金属固定能力的细菌种类更为丰富,占可培养细菌比例更高.

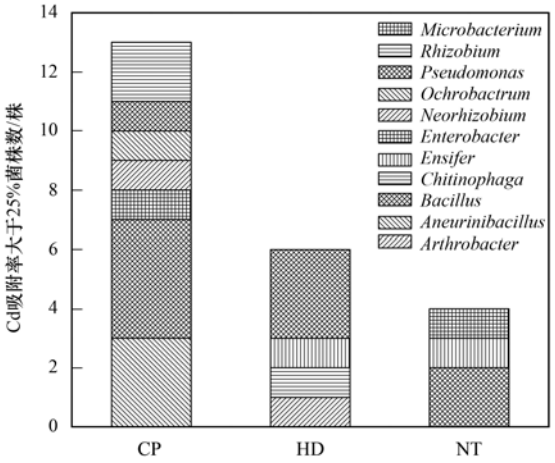


图 6 不同样品中 Cd 固定能力大于 25% 的菌株在属水平上的分布

Fig. 6 Community structure of the Cd-immobilizing bacteria at the genus level of different samples

2.3 Cd 固定细菌对青菜生长和 Cd 富集效果影响

从 30 株高效吸附菌株中挑选出 6 株吸附率高于 40% 的菌株用于效果实验(表 2). 经比对,这 6 株菌分别与根瘤菌属 *Agrobacterium deltaense* YIC 4121^T(菌株编号:1-3,下同)、*Ochrobactrum* 属 *Ochrobactrum anthropic* ATCC 49188^T(1-6)、假单胞菌属 *Pseudomonas yamanorum* 8H1^T(1-9)和芽孢杆菌属 *Bacillus tequilensis* KCTC 13622^T(2-28)、*Bacillus pseudomycoides* DSM 12442^T(2-11)、*Bacillus wiedmannii* FSL W8-0169^T(2-12)相似度最高. 供试菌株均能产生 ACC 脱氨酶,能产不同量的 IAA(33.45~62.87 mg·kg^{-1}),表明供试菌株具有植物促生特性. 土壤接种实验表明,供试菌株接种能提高青菜生物量,根部提高比例 36.92%~95.18%,茎部和叶部除 *Bacillus* sp. 2-28 外,提高比例分别为 0.81%~27.52% 和 9.25%~26.63%. 青菜不同组

表 2 供试菌株促生特性及其对青菜各组织 Cd 含量的影响[1)]

Table 2 Growth promotion characteristics of the heavy metal-immobilizing bacteria and its effect on the Cd concentration in Pak Choi

处理	最相近模式种	Cd 吸附率/%	IAA/mg·kg^{-1}	ACC 脱氨酶	生物量/mg			Cd 含量/mg·kg^{-1}		
					根	茎	叶	根	茎	叶
对照					6.52±3.18a	16.37±5.42	198.32±23.17ab	93.9±13.73c	43.83±15.11c	26.88±5.57b
菌株 1-3	*Agrobacterium deltaense* YIC 4121^T	53.45	53.19	+	8.93±1.54ab	16.50±1.93	221.63±13.22abc	42.40±0.72a	16.18±1.39a	25.66±0.52b
菌株 1-6	*Ochrobactrum anthropic* ATCC 49188^T	65.56	28.74	+	12.23±2.66b	20.40±3.90	251.13±9.71c	80.12±45.16bc	22.76±4.48ab	21.50±0.47ab
菌株 1-9	*Pseudomonas yamanorum* 8H1^T	52.52	62.87	+	11.90±0.99b	20.87±1.21	216.67±20.25abc	58.63±6.14ab	20.36±1.46ab	21.5±0.50ab
菌株 2-28	*Bacillus tequilensis* KCTC 13622^T	56.97	33.45	+	10.43±2.33ab	15.60±3.43	192.60±27.38a	67.32±8.85ab	28.90±1.64b	25.76±0.53b
菌株 2-11	*Bacillus pseudomycoides* DSM 12442^T	47.61	53.92	+	12.73±1.47b	19.50±3.54	233.47±12.85bc	67.88±14.54ab	21.97±6.86ab	23.31±0.42b
菌株 2-12	*Bacillus wiedmannii* FSL W8-0169^T	40.13	46.31	+	10.40±2.98ab	18.47±1.30	220.73±9.28abc	53.27±23.65ab	23.62±0.87b	19.90±3.95a

1)"+"表示菌株能产 ACC 脱氨酶;数据数值为平均值±标准偏差($n=3$),同一列不同小写字母表示处理在 $P<0.05$ 水平达到显著

织中 Cd 含量测定结果表明，供试菌株接种能降低青菜不同组织中的 Cd 含量，根、茎和叶降低比例分别为 14.67% ~ 54.84%、34.06% ~ 63.09% 和 4.52% ~ 25.96%. 不同菌株对青菜促生或 Cd 固定效果有所差异，其中菌株 *Ochrobactrum* sp. 1-6 和 *Bacillus* sp. 2-11 对青菜生物量具有较好的促生效果，*Pseudomonas* sp. 1-9 对青菜不同组织中 Cd 含量均具有较好的固定效果，*Agrobacterium* sp. 1-3 和 *Bacillus* sp. 2-11 对茎部 Cd 含量均具有较好的固定效果（分别降低 63.09% 和 49.88%），*Bacillus* sp. 2-12 和 *Ochrobactrum* sp. 1-6 对叶部 Cd 含量均具有较好的固定效果（分别降低 25.96% 和 20.00%）.

3　讨论

土壤微生物作为土壤生态系统的重要组成部分，其群落结构是土壤生态功能的基础[27]. 新乡市因长期电池生产，造成部分电池生产厂周边土壤重金属污染严重[14, 15]. 目前针对新乡市重金属污染土壤细菌群落组成研究较少开展[16]. 土壤微生物中很多具有丰富的功能，如能产生植物激素（IAA 等）和活化土壤中的矿质营养元素（溶磷和解钾等）的植物促生细菌，能通过沉淀、吸附固定重金属的细菌，纯培养菌株的获得是这些微生物资源开发利用的重要前提和关键因素[28]. 采用传统培养方法共从新乡市重金属污染土壤中分离 159 株细菌，经鉴定分布于厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门这 4 个门，芽孢杆菌属、节杆菌属和根瘤菌属等 30 个属，表明其具有较为丰富的可培养细菌群落. 有研究表明芽孢杆菌属、根瘤菌属、微杆菌属、节杆菌属和 *Chryseobacterium* 等出现在重金属污染土壤中，同时具有植物促生特性、重金属固定或活化能力，在重金属污染土壤植物-微生物联合修复中起到重要作用[29, 30]. 由于绝大多数的微生物不能纯培养（>99%），本实验同时采用高通量测序对细菌群落进行分析[31]. 与曹荣等[32]的研究结果类似，高通量结果表明新乡市重金属污染土壤细菌由 25 门 400 属组成，相较于培养方法，群落组成更为丰富. 可培养和高通量测序细菌群落组成分析表明，可培养细菌群落绝大多数同时出现在高通量测序的结果中，但因所采用的培养基组成等所限，很多关键种群未能分离得到. 高通量测序技术及其分子生态网络在微生物生态研究中的关键种群识别和微生物之间相互作用等方向得到良好的应用[33~35]. 本实验样品分子生态网络分析表明，关键细菌为：*Arthrobacter*、*Marmoricola*、*Nocardioides*、*Ferruginibacter* 和 *Flavitalea* 等. 比对可培养细菌可以发现，除 *Arthrobacter* 和 *Nocardioides* 外，其他关键细菌均未分离培养得到. 因此后续实验可针对这些关键细菌种群，参照 KOMODO 数据库（http://komodo.modelseed.org/default.htm）等[36]针对性设计、优化培养基，以此指导重要功能菌株的筛选，同时根据细菌正负相互作用构建功能菌群，提高修复效率[34].

重金属进入土壤后，某些种类的微生物能适应环境压力，并能通过钝化作用使重金属在土壤中沉淀或被吸附固定，改变土壤重金属赋存形态，降低植物对重金属的吸收[9,37]. 为了研究新乡市重金属污染土壤细菌固定细菌种群分布，对分离的菌株进行摇瓶吸附实验. 结果表明芽孢杆菌属、根瘤菌属、假单胞菌属等 11 个属具有较高吸附能力，该结果表明所采集的新乡市重金属污染土壤蕴含较为丰富的可固定重金属的细菌（图 6）. 这与之前报道的芽孢杆菌属[38]、根瘤菌属[39]、假单胞菌属[40]、*Arthrobacter*[41]、*Ochrobactrum*[42]和 *Neorhizobium*[43]具有重金属固定能力，能降低植物富集重金属的研究结果一致. 对不同样品高效吸附（>25%）的菌株占总细菌比例分析发现，厂旁、河道和农田样品比例分别为 32.68%、15.38% 和 9.09%，表明随着重金属污染的加重，能高效固定重金属的细菌比例明显提升. 细菌通过产生胞外聚合物等物质固定土壤重金属，这是其耐受高浓度重金属的机制之一，因此随着土壤重金属浓度的增加，具有重金属固定能力的菌株得以富集，比例有所提升[44]. 选取 6 株高效固定菌株进行效果验证实验，结果表明供试菌株均能不同程度提高青菜生物量，同时能降低青菜 Cd 含量. 不同菌株提高青菜量和降低 Cd 含量有所差异，可能与其具体的固定机制有关，需后续研究证实.

4　结论

（1）传统培养方法表明新乡市重金属污染土壤由厚壁菌门、放线菌门、变形菌门和拟杆菌门这 4 个门，芽孢杆菌属、节杆菌属、根瘤菌属等 30 个属组成；高通量测序表明其由变形菌门、放线菌门、酸杆菌门和绿弯菌门等 25 门，鞘氨醇单胞菌、*Skermanella* 和硝化螺旋菌等 400 属组成.

（2）基于高通量测序的分子生态网路分析新乡市重金属污染土壤关键细菌分别为：*Arthrobacter*、*Marmoricola*、*Nocardioides*、*Ferruginibacter*、*Flavitalea*、*Nitrospira* 和 *Lysobacter* 等组成.

（3）可培养菌株 Cd 摇瓶吸附实验表明 *Aneurinibacillus*、*Arthrobacter* 和芽孢杆菌属等 11 个属的 30 株菌具有较好的固定效果. 效果验证实验表明，6 株高效菌株能提高青菜生物量和降低青菜不

同组织中的 Cd 含量.

参考文献:

[1] 张小敏, 张秀英, 钟太洋, 等. 中国农田土壤重金属富集状况及其空间分布研究[J]. 环境科学, 2014, **35**(2): 692-703.
Zhang X M, Zhang X Y, Zhong T Y, *et al*. Spatial distribution and accumulation of heavy metal in arable land soil of China[J]. Environmental Science, 2014, **35**(2): 692-703.

[2] Zhao F J, Ma Y B, Zhu Y G, *et al*. Soil contamination in China: current status and mitigation strategies [J]. Environmental Science & Technology, 2015, **49**(2): 750-759.

[3] 徐建明, 孟俊, 刘杏梅, 等. 我国农田土壤重金属污染防治与粮食安全保障[J]. 中国科学院院刊, 2018, **33**(2): 153-159.
Xu J M, Meng J, Liu X M, *et al*. Control of heavy metal pollution in farmland of china in terms of food security[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2018, **33**(2): 153-159.

[4] 庄国泰. 我国土壤污染现状与防控策略[J]. 中国科学院院刊, 2015, **30**(4): 477-483.
Zhuang G T. Current situation of national soil pollution and strategies on prevention and control[J]. Bulletin of Chinese Academy of Sciences, 2015, **30**(4): 477-483.

[5] 胡鹏杰, 李柱, 吴龙华. 我国农田土壤重金属污染修复技术、问题及对策诌议[J]. 农业现代化研究, 2018, **39**(4): 535-542.
Hu P J, Li Z, Wu L H. Current remediation technologies of heavy metal polluted farmland soil in China: progress, challenge and countermeasure[J]. Research of Agricultural Modernization, 2018, **39**(4): 535-542.

[6] Abdu N, Abdullahi A A, Abdulkadir A. Heavy metals and soil microbes[J]. Environmental Chemistry Letters, 2017, **15**(1): 65-84.

[7] 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.

[8] Li L J, Wang S T, Li X Z, *et al*. Effects of *Pseudomonas chenduensis* and biochar on cadmium availability and microbial community in the paddy soil [J]. Science of the Total Environment, 2018, **640-641**: 1034-1043.

[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] 王铁军, 苏楠楠, 雷鹏, 等. 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[J]. 环境科学, 2019, **40**(11): 5133-5141.
Wang T J, Su N N, Lei P, *et al*. 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[J]. Environmental Science, 2019, **40**(11): 5133-5141.

[11] 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.

[12] Dary M, Chamber-Pérez M A, Palomares A J, *et al*. "*In situ*" phytostabilisation of heavy metal polluted soils using *Lupinus luteus i*noculated with metal resistant plant-growth promoting rhizobacteria[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, **177**(1-3): 323-330.

[13] 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.

[14] 王学锋, 何聪聪. 新乡市环宇大道工业区周边土壤重金属的污染特征和评价[J]. 土壤通报, 2012, **43**(4): 962-966.
Wang X F, He C C. Pollution characteristics and risk evaluation of heavy metals pollution in soils around Huanyu avenue industrial area, Xinxiang City [J]. Chinese Journal of Soil Science, 2012, **43**(4): 962-966.

[15] 沈凤斌. 含镉小麦再敲土壤污染警钟[J]. 生态经济, 2017, **33**(9): 10-13.

[16] 韩辉, 王晓宇, 蔡红, 等. 重金属固定植物促生细菌的筛选及其阻控小麦富集重金属效应[J]. 环境科学, 2019, **40**(7): 3339-3346.
Han H, Wang X Y, Cai H, *et al*. Isolation of heavy metal immobilizing and plant growth-promoting bacteria and its effects on reducing heavy metal accumulation in wheat [J]. Environmental Science, 2019, **40**(7): 3339-3346.

[17] 段鹏飞, 陈彦, 张菲, 等. 芒草种植对土壤细菌群落结构和功能的影响[J]. 应用生态学报, 2019, **30**(6): 2030-2038.
Duan P F, Chen Y, Zhang F, *et al*. Effect of *Miscanthus* planting on the structure and function of soil bacterial community [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, **30**(6): 2030-2038.

[18] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al*. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nature Methods, 2010, **7**(5): 335-336.

[19] Segata N, Izard J, Waldron L, *et al*. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. Genome Biology, 2011, **12**(6): R60.

[20] Zhou J Z, Deng Y, Luo F, *et al*. Functional molecular ecological networks[J]. mBio, 2010, **1**(4): e00169-10.

[21] Zhou J Z, Deng Y, Luo F, *et al*. Phylogenetic molecular ecological network of soil microbial communities in response to elevated CO_2 [J]. mBio, 2011, **2**(4): doi: 10.1128/mBio.00122-11.

[22] Shannon P, Markiel A, Ozier O, *et al*. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks[J]. Genome Research, 2003, **13**(11): 2498-2504.

[23] Sun L N, Zhang Y F, He L Y, *et al*. Genetic diversity and characterization of heavy metal-resistant-endophytic bacteria from two copper-tolerant plant species on copper mine wasteland[J]. Bioresource Technology, 2010, **101**(2): 501-509.

[24] Glickmann E, Dessaux Y. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indolic compounds produced by phytopathogenic bacteria [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, **61**(2): 793-796.

[25] Zhang Y F, He L Y, Chen Z J, *et al*. Characterization of ACC deaminase-producing endophytic bacteria isolated from copper-tolerant plants and their potential in promoting the growth and copper accumulation of *Brassica napus*[J]. Chemosphere, 2011, **83**(1): 57-62.

[26] Deng Y, Jiang Y H, Yang Y, *et al*. Molecular ecological network analyses[J]. BMC Bioinformatics, 2012, **13**(1): 113.

[27] Hong C, Si Y X, Xing Y, *et al*. Illumina MiSeq sequencing investigation on the contrasting soil bacterial community structures in different iron mining areas[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, **22**(14): 10788-10799.

[28] 邢磊，赵圣国，郑楠，等. 未培养微生物分离培养技术研究进展[J]. 微生物学通报，2017，**44**(12)：3053-3066.
Xing L，Zhao S G，Zheng N，*et al*. Advance in isolation and culture techniques of uncultured microbes：a review [J]. Microbiology China，2017，**44**(12)：3053-3066.

[29] Manoj S R，Karthik C，Kadirvelu K，*et al*. Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria：a review[J]. Journal of Environmental Management，2020，**254**：109779.

[30] Sher S，Rehman A. Use of heavy metals resistant bacteria—a strategy for arsenic bioremediation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology，2019，**103**(15)：6007-6021.

[31] Van Dijk E L，Auger H，Jaszczyszyn Y，*et al*. Ten years of next-generation sequencing technology [J]. Trends in Genetics，2014，**30**(9)：418-426.

[32] 曹荣，张井，孟辉辉，等. 高通量测序与传统纯培养方法在牡蛎微生物群落分析中的应用对比[J]. 食品科学，2016，**37**(24)：137-141.
Cao R，Zhang J，Meng H H，*et al*. Microbial flora analysis of oyster：a comparison between traditional plate culture method and high throughput sequencing[J]. Food Science，2016，**37**(24)：137-141.

[33] Toju H，Peay K G，Yamamichi M，*et al*. Core microbiomes for sustainable agroecosystems [J]. Nature Plants，2018，**4**(5)：247-257.

[34] Kong Z Y，Hart M，Liu H G. Paving the way from the lab to the field：using synthetic microbial consortia to produce high-quality crops[J]. Frontiers in Plant Science，2018，**9**：1467

[35] 刘炜伟，吴冰，向梅春，等. 从微生物组到合成功能菌群[J]. 微生物学通报，2017，**44**(4)：881-889.
Liu W W，Bing W，Xiang M C，*et al*. From microbiome to synthetic microbial community[J]. Microbiology China，2017，**44**(4)：881-889.

[36] Oberhardt M A，Zarecki R，Gronow S，*et al*. Harnessing the landscape of microbial culture media to predict new organism-media pairings[J]. Nature Communications，2015，**6**：8493.

[37] Jing R，Kjellerup B V. Biogeochemical cycling of metals impacting by microbial mobilization and immobilization [J]. Journal of Environmental Sciences，2018，**66**：146-154.

[38] Li Z G，Wang P，Yue X Y，*et al*. Effects of *Bacillus thuringiensis* HC-2 combined with biochar on the growth and Cd and Pb accumulation of radish in a heavy metal-contaminated farmland under field conditions [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health，2019，**16**(19)：3676.

[39] Li Y，Yu X，Cui Y，*et al*. The potential of cadmium ion-immobilized *Rhizobium pusense* KG2 to prevent soybean root from absorbing cadmium in cadmium-contaminated soil[J]. Journal of Applied Microbiology，2019，**126**(3)：919-930.

[40] Teng Z D，Shao W，Zhang K Y，*et al*. Characterization of phosphate solubilizing bacteria isolated from heavy metal contaminated soils and their potential for lead immobilization[J]. Journal of Environmental Management，2019，**231**：189-197.

[41] Chuaphasuk C，Prapagdee B. Effects of biochar-immobilized bacteria on phytoremediation of cadmium-polluted soil [J]. Environmental Science and Pollution Research，2019，**26**(23)：23679-23688.

[42] Villagrasa E，Ballesteros B，Obiol A，*et al*. Multi-approach analysis to assess the chromium (Ⅲ) immobilization by *Ochrobactrum anthropi* DE2010[J]. Chemosphere，2020，**238**：124663.

[43] 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.

[44] 王泽煌，王蒙，蔡昆争，等. 细菌对重金属吸附和解毒机制的研究进展[J]. 生物技术通报，2016，**32**(12)：13-18.
Wang Z H，Wang M，Cai K Z，*et al*. Research advances on biosorption and detoxification mechanisms of heavy metals by bacteria[J]. Biotechnology Bulletin，2016，**32**(12)：13-18.

HUANJING K0EXUE

Environmental Science (monthly)

Vol. 41 No. 6

Jun. 15, 2020

CONTENTS

Mixed State and Sources of Fine Particulate Matter in the Summer in Tianjin City Based on Single Particle Aerosol Mass Spectrometer (SPAMS) ····· LIN Qiu-ju, XU Jiao, LI Mei, *et al.* (2505)

Characteristics and Sources of Inorganic Ions and Organic Acids in Precipitation in the Northern Suburb of Nanjing, China ····· YANG Xiao-ying, CAO Fang, LIN Yu-qi, *et al.* (2519)

Seasonal Variation of Water-soluble Ions in $PM_{2.5}$ in Xi'an ····· HUANG Han-han, WANG Yu-qin, LI Sheng-ping, *et al.* (2528)

Effect of Liquid Water Content of Particles and Acidity of Particulate Matter on the Formation of Secondary Inorganic Components in Xinjiang Petrochemical Industrial Area ····· LIU Hui-bin, Dilinuer·Talifu, WANG Xin-ming, *et al.* (2536)

Effect of Biomass Burning on the Light Absorption Properties of Water Soluble Organic Carbon in Atmospheric Particulate Matter in Changchun ····· MENG De-you, CAO Fang, ZHAI Xiao-yao, *et al.* (2547)

Chemical Characteristics and Sources of Volatile Organic Compounds in Shanghai During an Ozone and Particulate Pollution Episode in May 2019 ····· WANG Qian (2555)

Characteristics and Source Apportionment of Atmospheric VOCs in the Nanjing Industrial Area in Autumn ····· CAO Meng-yao, LIN Yu-chi, ZHANG Yan-lin (2565)

Ambient VOCs Characteristics, Ozone Formation Potential, and Source Apportionment of Air Pollution in Spring in Zhengzhou ····· REN Yi-jun, MA Shuang-liang, WANG Si-wei, *et al.* (2577)

Characteristics of VOCs and Their Roles in Ozone Formation at a Regional Background Site in Beijing, China ····· HAN Ting-ting, LI Ying-ruo, QIU Yu-lu, *et al.* (2586)

Emission Characteristics of the Catering Industry in Beijing ····· SUN Cheng-yi, BAI Hua-hua, CHEN Xue, *et al.* (2596)

Emission Factors and Emission Inventory of Agricultural Machinery in Beijing Under Real-world Operation ····· WANG Kai, FAN Shou-bin, QI Hao-yun (2602)

Localization of Soil Wind Erosion Dust Emission Factor in Beijing ····· LI Bei-bei, HUANG Yu-hu, BI Xiao-hui, *et al.* (2609)

Spatial and Temporal Characteristics of AOD and Angström Exponent in the Yangtze River Delta Based on MODIS_C061 ····· ZHANG Ying-lei, CUI Xi-min (2617)

Fate Simulation of 2,4,4′-Trichlorobiphenyl in the Bohai Rim Using the Multimedia Model ····· ZHANG Yi, MA Yan-fei, SONG Shuai, *et al.* (2625)

Temporal and Spatial Distribution Characteristics and Difference Analysis of Chromophoric Dissolved Organic Matter in Sediment Interstitial Water from Gangnan Reservoir ····· ZHOU Shi-lei, SUN Yue, YUAN Shi-chao, *et al.* (2635)

Environmental Characteristics and Source Apportionment of Heavy Metals in the Sediments of a River-Lake System ····· LI Yue-zhao, CHEN Hai-yang, SUN Wen-chao (2646)

Speciation Distribution and Risk Assessment of Heavy Metals in Sediments from the Yitong River City Area ····· JIANG Shi-xin, ZHAI Fu-jie, ZHANG Chao, *et al.* (2653)

Identifying Nitrate Sources in a Typical Karst Underground River Basin ····· ZHAO Ran, HAN Zhi-wei, SHEN Chun-hua, *et al.* (2664)

Influence of Nutrient Pulse Input on Nitrogen and Phosphorus Concentrations and Algal Growth in the Sediment-Water System of Lake Taihu ····· CHEN Jie, XU Hai, ZHAN Xu, *et al.* (2671)

Temporal and Spatial Variation Patterns of Picophytoplankton and Their Correlations with Environmental Factors During the Wet Season in East Lake Dongting ····· LI Sheng-nan, CHEN Hao-yu, PENG Hua, *et al.* (2679)

Toxicological Effects of Enrofloxacin and Its Removal by Freshwater Micro-Green Algae *Dictyosphaerium* sp. ····· WANG Zhen-fang, HAN Zi-yu, WANG Meng-xue, *et al.* (2688)

Comparative Phosphorus Accumulation and Ca-P Content of Two Submerged Plants in Response to Light Intensity and Phosphorus Levels ····· SANG Yu-xuan, YANG Jia-le, XIONG Yi, *et al.* (2698)

Effect of Calcium Peroxide Composite Tablets on Water Remediation and Phosphorus Control in Sediment ····· ZHANG Shuai, LI Da-peng, DING Yu-qin, *et al.* (2706)

Spatial Differentiation and Driving Analysis of Nitrogen in Rice Rotation Based on Regional DNDC: Case Study of Jinjiang River Watershed ····· WANG Ya-nan, SHUI Wei, QI Xin-hua, *et al.* (2714)

Low Temperature Ammonia Nitrogen Removal from an Iron, Manganese, and Ammonia Groundwater Purification Process with Different Concentrations of Iron and Manganese ····· ZHANG Jie, MEI Ning, LIU Meng-hao, *et al.* (2727)

Degradation of RBK5 by High Crystallinity Mn-Fe LDH Catalyst Activating Peroxymonosulfate ····· LI Li, WU Li-ying, DONG Zheng-yu, *et al.* (2736)

Mechanisms of Fe-cyclam/H_2O_2 System Catalyzing the Degradation of Rhodamine B ····· YU Yu-qing, CHEN Xiang-yu, CAI Quan-hua, *et al.* (2746)

Removal of Nitrate Nitrogen by Microbial Photoelectrochemical Cell: PANI/TiO_2-NTs as a Photoanode ····· LU Yi, ZHOU Hai-shan, PENG Rui-jian, *et al.* (2754)

Performance and Membrane Fouling Characteristics of Mariculture Wastewater Treated by Anoxic MBR-MMR ····· CHEN Fan-yu, XU Zhong, YOU Hong, *et al.* (2762)

Effect of HRT on Denitrifying Phosphorus and Nitrogen Removal in Modified A^2/O-BAF ····· ZHAO Kai-liang, LIU An-di, NAN Yan-bin, *et al.* (2771)

Effect of Ni(Ⅱ) on Anaerobic Ammonium Oxidation and Changes in Kinetics ····· SUN Qi, ZHAO Bai-hang, FAN Sa, *et al.* (2779)

Removal of Urea by Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification Mixed Strains and Effects of Heavy Metals and Salinity ····· WANG Meng-meng, CAO Gang, ZHANG Di, *et al.* (2787)

Start-up Characteristics of SNAD Process and Functional Abundance Succession of Volcanic Rock Biological Aerated Filter ····· XUE Jia-jun, ZHANG Shao-qing, ZHANG Li-qiu, *et al.* (2796)

Effect of Free Hydroxylamine on the Activity of Two Typical Nitrite-oxidizing Bacteria ····· SHEN Chen, ZHANG Shu-jun, PENG Yong-zhen (2805)

Interference of Dead Cell DNA on the Analysis of Antibiotic Resistance Genes and Microbial Community in Anaerobic Digestion Sludge ····· SU Yu-ao, LIU Hong-bo, MAO Qiu-yan, *et al.* (2812)

Spatial Distribution Characteristics and Pollution Evaluation of Heavy Metals in Arable Land Soil of China ····· CHEN Wen-xuan, LI Qian, WANG Zhen, *et al.* (2822)

Construction and Application of Early Warning System for Soil Environmental Quality ····· LI Xiao-nuo, DING Shou-kang, CHEN Wei-ping, *et al.* (2834)

Response of Aggregate Distribution to Input Straw and Their Linkages to Organic Carbon Mineralization in Soils Developed from Five Different Parent Materials ····· MAO Xia-li, QIU Zhi-teng, ZHANG Shuang, *et al.* (2842)

Response of Extracellular Enzyme Activities to Substrate Availability in Paddy Soil with Long-term Fertilizer Management ····· NING Yu-fei, WEI Liang, WEI Xiao-meng, *et al.* (2852)

Effects of Biochar on Bioavailability of Two Elements in Phosphorus and Cadmium-Enriched Soil and Accumulation of Cadmium in Crops ····· HUANG Yang, GUO Xiao, HU Xue-yu (2861)

Characteristics of Cd, As, and Pb in Soil and Wheat Grains and Health Risk Assessment of Grain-Cd/As/Pb on the Field Scale ····· XIAO Bing, XUE Pei-ying, WEI Liang, *et al.* (2869)

Reconstructed Soil Vertical Profile Heavy Metal Cd Occurrence and Its Influencing Factors ····· HU Qing-qing, SHEN Qiang, CHEN Fei, *et al.* (2878)

Bacterial Community Composition in Cadmium-Contaminated Soils in Xinxiang City and Its Ability to Reduce Cadmium Bioaccumulation in Pak Choi (*Brassica chinensis* L.) ····· CHEN Zhao-jin, LI Ying-jun, SHAO Yang, *et al.* (2889)

Root Activities of Re-Vegetated Plant Species Regulate Soil Nutrients and Bacterial Diversity in the Riparian Zone of the Three Gorges Reservoir ····· LI Li-juan, LI Chang-xiao, CHEN Chun-hua, *et al.* (2898)

Spatial Distribution of Nitrogen Metabolism Functional Genes of Eubacteria and Archaebacteria in Dianchi Lake ····· ZHANG Yu, ZUO Jian-e, WANG Si-ke, *et al.* (2908)

Effect of Simulated Warming on Microbial Community in Glacier Forefield ····· WANG Yu-wan, MA An-zhou, CHONG Guo-shuang, *et al.* (2918)

Effect of Water-Fertilizer-Gas Coupling on Soil N_2O Emission and Yield in Greenhouse Tomato ····· SHANG Zi-hui, CAI Huan-jie, CHEN Hui, *et al.* (2924)

Toxicity of Soil Leachate from Coal Gangue and Its Surrounding Village of Barley(*Hordeum vulgare*) ····· SHANG Yu, YANG Feng-long, NING Xia, *et al.* (2936)

Characteristics, Source Analysis, and Health Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) Pollution in Marine Organisms from Estuaries of Changhua River in Hainan Province ····· WANG Hui-juan, KUANG Ze-xing, ZHOU Xian, *et al.* (2942)

Characteristics of Macrobenthos Community Structure and Their Relationships with Environmental Factors in Rivers of Beijing in Spring ····· HE Yu-xiao, LI Ke, REN Yu-fen, *et al.* (2951)

Effect of Pyrolytic Temperature and Time on Characteristics of *Typha angustifolia* Derived Biochar and Preliminary Assessment of the Ecological Risk ····· CAI Zhao-hui, CHU Chen-jing, ZHENG Hao, *et al.* (2963)

Measurement of Traffic Carbon Emissions and Pattern of Efficiency in the Yangtze River Economic Belt (1985-2016) ····· JIANG Zi-ran, JIN Huan-huan, WANG Cheng-jin, *et al.* (2972)