

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV
HUANJING KEXUE

长江经济带工业污染排放空间分布格局及其影响因素

李芸邑, 刘利萍, 刘元元



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2021年8月

第42卷 第8期
Vol.42 No.8

目次

上海市夏季臭氧污染特征及削峰方案	严茹莎, 王红丽, 黄成, 王倩, 安静宇 (3577)
天津市夏季不同臭氧浓度级别 VOCs 特征及来源	王文美, 高璟赞, 肖致美, 李源, 毕温凯, 李立伟, 杨宁, 徐虹, 孔君 (3585)
重庆市主城区 O ₃ 污染时期大气 VOCs 污染特征及来源解析	李陵, 李振亮, 张丹, 方维凯, 徐芹, 段林丰, 卢培利, 王锋文, 张卫东, 翟崇治 (3595)
汽车维修行业挥发性有机物排放特征及大气化学反应活性	陈鹏, 张月, 张梁, 熊凯, 邢敏, 李珊珊 (3604)
2016 冬季京津冀一次持续重度霾天气过程分析	毛曳, 张恒德, 朱彬 (3615)
北京与成都大气污染特征及空气质量改善效果评估	党莹, 张小玲, 饶晓琴, 康平, 何建军, 卢宁生, 华明, 向卫国 (3622)
郑州市 PM _{2.5} 组分、来源及其演变特征	赵孝因, 王申博, 杨洁茹, 马秋红, 刘洋, 张瑞芹 (3633)
上海市 PM _{2.5} 中重金属元素对 COVID-19 控制的高频响应	程凯, 常运华, 旷雅琼, 邹忠 (3644)
粤港澳大湾区吸收性气溶胶的解析	段家乐, 巨天珍, 黄蕊蕊, 梁卓红, 范佳晨 (3652)
河南省 2016~2019 年机动车大气污染物排放清单及特征	高丹丹, 尹沙沙, 谷幸珂, 卢轩, 张欢, 张瑞芹, 王玲玲, 齐艳杰 (3663)
广州地区室内灰尘中典型非邻苯增塑剂的污染特征与暴露风险	刘晓途, 彭长凤, 陈达, 石玉盟, 汤书琴, 谭弘李, 黄维 (3676)
天津市主要河流和土壤中全氟化合物空间分布、来源及风险评价	武倩倩, 吴强, 宋帅, 任加国, 杨胜杰, 吴颜岐 (3682)
河网水源生态湿地水氢氧同位素分异特征	杨婷, 王阳, 徐静怡, 吴萍, 王为东 (3695)
重要饮用水源地天目湖水库有色可溶性有机物来源与组成特征	周蕾, 周永强, 张运林, 朱广伟 (3709)
城市不同类型水体有色可溶性有机物来源组成特征	俞晓琴, 崔扬, 陈慧敏, 朱俊羽, 李宇阳, 郭燕妮, 周永强, 韩龙飞 (3719)
白洋淀典型淀区沉积物间隙水溶解性有机物的光谱时空演变特征	周石磊, 陈召莹, 张甜娜, 张紫薇, 孙悦, 姚波, 崔建升, 李再兴, 罗晓 (3730)
夏季巢湖入湖河流溶解性有机质来源及其空间变化	宁成武, 包妍, 黄涛, 王杰 (3743)
洪泽湖浮游动物时空分布特征及其驱动因素	陈业, 彭凯, 张庆吉, 蔡永久, 张永志, 龚志军, 项贤领 (3753)
农业耕作对三峡水库支流库湾消落带土壤氮、磷含量及流失的影响	罗芳, 鲁伦慧, 李哲, 韦方强 (3763)
沱江流域总氮面源污染负荷时空演变	肖宇婷, 姚婧, 湛书, 樊敏 (3773)
微塑料对海水抗生素抗性基因的影响	周曙屹, 朱永官, 黄福义 (3785)
磺胺甲噁唑对海水养殖废水处理过程中抗性细菌及抗性基因的富集作用	王金鹏, 赵阳国, 胡钰博 (3791)
潮汐-复合流人工湿地系统优化及对抗生素抗性基因的去除效果	程羽霄, 吴丹, 陈铨乐, 高方舟, 杨永强, 刘有胜, 应光国 (3799)
三峡库区香溪河库湾土壤多环芳烃时空分布特征及风险评价	黄应平, 金蕾, 朱灿, 李锐, 谢平, David Johnson, 刘慧刚, 席颖 (3808)
长江经济带工业污染排放空间分布格局及其影响因素	李芸邑, 刘利萍, 刘元元 (3820)
淡水系统中 4 种塑料颗粒的老化过程及 DOC 产物分析	李婉逸, 刘智临, 苗令占, 侯俊 (3829)
DOM 对沉积物悬浮颗粒吸附铜的促进作用及机制	丁翔, 李忠武, 徐卫华, 黄梅, 文佳骏, 金昌盛, 周咪, 陈佳 (3837)
市政污水二级出水中溶解性有机质在紫外/氯处理过程中的转化特性	王雪凝, 张炳亮, 潘丙才 (3847)
亚硝酸盐不同生成方式对短程硝化反硝化除磷颗粒系统的影响	王文琪, 李冬, 高鑫, 张杰 (3858)
A ² /O 与倒置 A ² /O 工艺低温条件下的氨氮去除能力解析	李金成, 郭雅妮, 齐嵘, 杨敏 (3866)
厌氧氨氧化启动过程细菌群落多样性及 PICRUS2 功能预测分析	闫冰, 付嘉琦, 夏嵩, 易其臻, 桂双林, 吴九九, 熊继海, 魏源送 (3875)
活性污泥微生物群落结构及与环境因素响应关系分析	马切切, 袁林江, 牛泽栋, 赵杰, 黄崇 (3886)
汾河沿岸农田土壤微塑料分布特征及成因解析	朱宇恩, 王瀚萱, 李唐慧烟, 李华, 吴超, 张桂香, 阎敬 (3894)
基于 GIS 及 APCS-MLR 模型的兰州市主城区土壤 PAHs 来源解析	管贤贤, 周小平, 雷春妮, 彭熾雯, 张松林 (3904)
典型碳酸盐岩区耕地土壤剖面重金属形态迁移转化特征及生态风险评价	唐世琪, 刘秀金, 杨柯, 郭飞, 杨峰, 马宏宏, 刘飞, 彭敏, 李括 (3913)
大气 CO ₂ 摩尔分数升高对高、低应答水稻稻田 N ₂ O 排放的影响	于海洋, 黄琼, 王天宇, 张广斌, 马静, 朱春梧, 徐华 (3924)
椰糠生物炭对热区双季稻田 N ₂ O 和 CH ₄ 排放的影响	王紫君, 王鸿浩, 李金秋, 伍延正, 符佩娇, 孟磊, 汤水荣 (3931)
不同水分管理条件下添加生物炭对琼北地区水稻土 N ₂ O 排放的影响	王鸿浩, 谭梦怡, 王紫君, 符佩娇, 李金秋, 汤水荣, 伍延正, 孟磊 (3943)
物种多样性对铅锌尾矿废弃地植被及土壤的生态效应	杨胜香, 曹建兵, 李凤梅, 彭禧柱 (3953)
来利山锡尾矿区优势植物调查与生态修复潜力分析	秦芙蓉, 张仕颖, 夏运生, 张乃明, 吴程龙, 何忠俊, 岳献荣, 田森林 (3963)
黄河源区高寒沼泽湿地土壤微生物群落结构对不同退化的响应	林春英, 李希来, 张玉欣, 孙华方, 李成一, 金立群, 杨鑫光, 刘凯 (3971)
秸秆还田配施化肥对稻-油轮作土壤酶活性及微生物群落结构的影响	靳玉婷, 李先藩, 蔡影, 胡宏祥, 刘运峰, 付思伟, 张博睿 (3985)
镉胁迫对芒草根际细菌群落结构、共发生网络和功能的影响	陈兆进, 林立安, 李英军, 陈彦, 张浩, 韩辉, 吴乃成, Nicola Fohrer, 李玉英, 任学敏 (3997)
岩溶区稻田土壤真菌群落结构及功能类群特征	周军波, 靳振江, 肖筱怡, 冷蒙, 王晓彤, 潘复静 (4005)
锌冶炼地块剖面土壤对镉、铅的吸附特征及机制	刘凌青, 肖细元, 郭朝晖, 彭驰, 姜智超, 阳安迪 (4015)
不同土壤调理剂对土壤镉和邻-苯二甲酸酯迁移转化影响	王璨, 张煜行, 何明靖, 刘文新, 卢俊峰, 魏世强 (4024)
4 种钝化剂对污染水稻土中 Cu 和 Cd 的固持机制	丁园, 敖师营, 陈怡红, 肖亮亮 (4037)
叶施 L-半胱氨酸对水稻镉和矿质元素含量的影响	张雅芸, 王常荣, 刘月敏, 刘雅萍, 刘仲齐, 张长波, 黄永春 (4045)
镉对不同生长期籽粒菹植物螯合肽的影响	刘佳欣, 陈文清, 杨力, 李娜, 王宇豪, 康愉晨 (4053)
中国造纸业物质代谢演化特征	刘欣, 杨涛, 武慧君, 袁增伟 (4061)
《环境科学》征订启事 (3651) 《环境科学》征稿简则 (3718) 信息 (3836, 3885, 3893)	

镉胁迫对芒草根际细菌群落结构、共发生网络和功能的影响

陈兆进¹, 林立安², 李英军², 陈彦², 张浩², 韩辉², 吴乃成³, Nicola Fohrer³, 李玉英¹, 任学敏^{2*}

(1. 南阳师范学院水资源与环境工程学院, 河南省南水北调中线水源区流域生态安全国际联合实验室, 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农业工程学院, 南阳 473061; 3. 德国基尔大学水文与水资源管理系, 基尔 24098)

摘要: 芒草 (*Miscanthus*) 作为第二代能源植物, 已用于重金属污染土壤修复研究, 但目前该过程中土壤细菌群落组成和功能研究开展较少. 以芒草品种南荻 (*M. sacchariflorus*) 为研究对象, 通过高通量测序结合分子生态网络分析和 PICRUSt 功能预测, 分析研究 100 mg·kg⁻¹ Cd 的胁迫对芒草根际细菌群落组成、共发生网络和功能的影响. MiSeq 测序表明芒草根际细菌群落由 32 个门和 425 个属的细菌组成, 包含鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*) 和链霉菌属 (*Streptomyces*) 等植物促生细菌 (PGPR) 种群. 相似性分析 (ANOSIM) 和非参数多元方差分析 (Adonis) 表明, Cd 的添加能显著影响芒草根际细菌群落组成, 降低其群落多样性. 同时分子生态网络分析表明 Cd 的添加降低了芒草根际细菌之间的相互作用, 导致其网络结构更为简单; 降低了网络缓冲环境变化的能力; 提高了负相关连线数, 使根际细菌物种之间的竞争关系更强; 改变关键细菌组成. PICRUSt 功能预测分析表明 Cd 的胁迫降低了芒草根际土壤细菌功能. 本研究初步分析了芒草根际细菌群落组成及其对镉胁迫的响应, 为后续调控芒草修复效率提供了基础.

关键词: 镉污染; 芒草; 高通量测序; 分子生态网络分析; PICRUSt 分析

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2021)08-3997-08 DOI: 10.13227/j.hjxx.202011198

Shifts in Rhizosphere Bacterial Community Structure, Co-occurrence Network, and Function of *Miscanthus* Following Cadmium Exposure

CHEN Zhao-jin¹, LIN Li-an², LI Ying-jun², CHEN Yan², ZHANG Hao², HAN Hui², WU Nai-cheng³, Nicola Fohrer³, LI Yu-ying¹, REN Xue-min^{2*}

(1. International Joint Laboratory of Watershed Ecological Security and Collaborative Innovation Center of Water Security for Water Source Region of Middle Route Project of South-North Water Diversion in Henan Province, School of Water Resources and Environmental Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China; 2. School of Life Science and Agricultural Engineering, Nanyang Normal University, Nanyang 473061, China; 3. Department of Hydrology and Water Resources Management, University of Kiel, Kiel 24098, Germany)

Abstract: As a representative of second-generation bioenergy plants, *Miscanthus* has received increasing attention in the studies of heavy metal (HM)-contaminated soil remediation. Currently, few studies have examined the effects of using *Miscanthus* to remediate HM-contaminated soils on the composition and function of microbial communities. In this study, the *Miscanthus* cultivar *M. sacchariflorus* was examined for its tolerance and enrichment abilities when grown in soils containing 100 mg·kg⁻¹ of cadmium (Cd). The structure, function, and co-occurrence network of their rhizosphere bacterial communities were analyzed during the remediation process. MiSeq sequencing showed that the *Miscanthus* rhizosphere bacterial community comprised 32 phyla and 425 genera, including plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR), such as *Sphingomonas*, *Bacillus*, *Gemmatimonas*, and *Streptomyces*. The addition of Cd affected the *Miscanthus* rhizosphere bacterial community and reduced community diversity. Phylogenetic molecular ecological networks indicated that Cd addition reduced the interactions between *Miscanthus* rhizosphere bacteria to generate a simpler network structure, increased the number of negative-correlation links, enhanced the competition between rhizosphere bacterial species, and changed the composition of key bacteria. PICRUSt functional predictive analysis indicated that Cd stress reduced soil bacterial functions in the *Miscanthus* rhizosphere. The results of this study provide a reference for the subsequent regulation of efficient *Miscanthus* remediation by PGPRs or key bacteria.

Key words: cadmium contamination; *Miscanthus*; high-throughput sequencing; phylogenetic molecular ecological networks; PICRUSt analysis

收稿日期: 2020-11-23; 修订日期: 2021-01-13

基金项目: 国家自然科学基金项目 (U2004145, 41601332)

作者简介: 陈兆进 (1985 ~), 男, 博士, 副教授, 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: renxuemin2520@126.com

随着工农业的飞速发展,我国面临较为严重的土壤重金属污染,其中镉(Cd)污染占比最高,超标率达7.0%,土壤重金属污染治理与修复迫在眉睫^[1,2].植物修复是目前重金属污染修复研究中的热点.之前的修复植物主要集中于超积累植物和高生物量植物等,近年来因能源植物自身独特的优势,在重金属污染土壤修复中得到越来越多的关注^[3-6].选用能源植物作为修复植物既可以修复重金属污染土壤,同时又能发展能源农业,缓解发展能源产业所面临的耕地压力,为治理和合理利用重金属污染土壤开辟了一条新的途径^[7,8].芒草(*Miscanthus*)作为第二代能源植物的代表,研究表明其对重金属具有良好的耐受能力,已用于重金属污染土壤修复研究^[9-13].

土壤中具有种类丰富、功能多样的微生物,这些微生物对修复植物的生长起到重要作用^[14].目前关于芒草修复土壤重金属污染过程中土壤微生物群落组成和功能研究开展较少. Pham 等^[15]的研究表明重金属污染能影响芒草根际细菌群落组成. Bourgeois 等^[16]的研究表明污水灌溉农田中种植芒草能富集 *Rhizobiales*、*Nitrospira*、*Glomeromycota* 和 *Mortierella* 等细菌和真菌群落. Zhao 等^[17]的研究表明汞污染土壤种植中国芒(*M. sinensis*)能提高微生物多样性和丰度.这些研究结果为探究芒草修复土壤重金属污染过程中微生物组成提供依据,但其主要关注于微生物群落结构及其影响因素,对微生物之间的相互作用和生态功能研究尚未开展.基于高通量测序技术的分子生态网络分析和 PICRUST 功能预测分析已应用于土壤、植物和水体等多种生境,在微生物之间相互作用、关键种群的识别、微生物生态功能等分析中得到良好应用^[17-24],其在芒草修复土壤重金属污染中应用,将为探究该过程中微生物生态功能提供重要帮助.

我国是芒草集中分布区,具有丰富的芒草自然资源,为重金属污染土壤修复提供了良好的材料^[25].本研究测定芒草品种南荻(*M. sacchariflorus*)对土壤 Cd 的耐受和富集能力,通过高通量测序和分子生态网络分析 Cd 胁迫对芒草根际细菌群落组成的影响,通过 PICRUST 分析细菌功能,以期为探究芒草根际细菌群落组成及其在修复 Cd 污染中的作用提供帮助.

1 材料与方法

1.1 芒草种植及 Cd 含量测定

芒草品种南荻(*M. sacchariflorus*)繁殖材料取自河南南阳国家农业科技园区能源植物栽培示范基地

(32°56′45.34″N, 112°24′56.28″E),选取芒草根状茎进行栽培,在温室完成盆栽实验.本实验设置高浓度 100 mg·kg⁻¹ Cd 污染土壤水平和对照.将采集的无污染农田土壤风干,过 4 mm 筛充分混匀后分为 2 份,其中一份加入分析纯 CdSO₄·8H₂O 使土壤中的 Cd 离子含量为 100 mg·kg⁻¹,搅拌均匀装入盆钵中,每盆 2 kg,放置 30 d 使土壤充分吸附和固定 Cd 离子.挑选长势相同且生长旺盛的根状茎种入盆钵中,保持土壤含水量,控制湿度、温度以满足芒草生长.盆栽种植 60 d 后,将芒草植株连根拔起,采用抖落法收集根际土壤.每组样品设置 9 个重复(编号分别为 Cd0-1~Cd0-9 和 Cd100-1~Cd100-9).将芒草植株分为根、茎、叶 3 部分,于 105℃ 下杀青 20 min,然后在 70℃ 下烘干至恒重,测定干重.烘干样品研磨后采用 HNO₃-HClO₄ 法(1:3,体积比)消煮,使用 1% HNO₃ 定容后用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)测定 Cd 含量.

1.2 根际土壤细菌总 DNA 提取

根际土壤细菌总 DNA 提取采用 FastDNA® Spin Kit for Soil 试剂盒(MP Biomedicals, USA),按照说明书的提取步骤进行,将提取得到的土壤总 DNA 通过微量紫外分光光度计(NanoDrop® ND-1000, Wilmington, DE, USA)测定 DNA 浓度和纯度.

1.3 高通量测序和 PCR 扩增

采用通用引物 338F(5′-ACTCCTACGGGAGG CAGCA-3′)和 806R(5′-GGACTACHVGGGTWTC TAAT-3′)对细菌 V3-V4 区进行扩增,以获得目的基因片段. PCR 反应体系为 20 μL,包含 5×FastPfu 缓冲液 4 μL、2.5 mmol·L⁻¹ dNTPs 2 μL、Forward Primer(5 μmol·L⁻¹) 0.8 μL、Reverse Primer(5 μmol·L⁻¹) 0.8 μL、FastPfu Polymerase 0.4 μL、BSA 0.2 μL 和 DNA 模板 10 ng,补充 dH₂O 至 20 μL. PCR 反应条件为 95℃ 预变性 3 min, 27×(95℃ 变性 30 s; 55℃ 复性 30 s; 72℃ 延伸 45 s); 72℃ 延伸 10 min, 10℃ 直到停止.将不同样品的 PCR 扩增物均一化后寄送上海美吉生物医药科技有限公司,使用 MiSeq PE300 测序仪(Illumina Inc, San Diego, CA, USA)完成序列测定.

1.4 高通量数据分析

将 Illumina MiSeq 测序得到的下机数据(raw data)经处理后得到有效数据(effective tags).采用 QIIME 软件进行生物信息学分析,根据序列的相似度,将序列归为多个 OTU(operational taxonomic unit)^[26].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,并在各个分类水平下统计每个样品的群落组成.基于 OTU 计

算稀释曲线、群落丰富度指数(Chao1、ACE)和群落多样性指数(Shannon、Simpson)等^[27]. 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^[28]. 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^[29,30]. 利用软件 Cytoscape 3.1.1 对网络进行可视化处理, 得到可视网络结构图及相关信息. 功能和代谢途径预测采用 PICRUST2 软件进行分析, 利用 QIIME 获得的 closed OTU-table 与 COG、KEGG 数据库进行比对, 获得不同的数据库功能预测信息, 具体

分析步骤基于在线分析平台 <https://github.com/picrust/picrust2>)^[31].

2 结果与分析

2.1 芒草生物量及其 Cd 积累

从表 1 可以看出, 100 mg·kg⁻¹ Cd 的添加会抑制芒草的生长, 不同组织生物量与无污染对照相比均有所降低, 幅度为根部 26.72%、茎部 57.24%、叶部 32.41%, 均显著低于对照 ($P < 0.05$). 不同组织 Cd 含量测定结果表明, 根部 Cd 含量远高于茎部和叶部含量(表 1). Cd 积累量与之类似, 根部远高于茎部和叶部积累量.

表 1 芒草不同组织生物量、Cd 含量和积累量¹⁾

处理	干重/g			Cd 含量/mg·kg ⁻¹			Cd 积累量/μg·pot ⁻¹		
	根	茎	叶	根	茎	叶	根	茎	叶
Cd0	3.48 ± 0.32	2.90 ± 0.51	3.98 ± 0.40	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cd100	2.55 ± 0.44 *	1.24 ± 0.46 *	2.69 ± 0.16 *	158.24 ± 2.86	3.13 ± 0.65	3.69 ± 0.03	403.45 ± 74.01	3.78 ± 1.39	9.93 ± 0.59

1) * 表示处理组间差异均达到显著水平 ($P < 0.05$), nd 表示未检测

2.2 群落组成与多样性指数分析

高通量测序结果表明, 无污染芒草根际土壤样品细菌由 32 个门和 373 个属组成, Cd 污染组细菌由 28 个门和 365 个属组成. 其中变形菌门(Proteobacteria, 占比 24.20% ~ 32.99%)、酸杆菌门(Acidobacteria, 12.58% ~ 15.00%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 7.93% ~ 15.84%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 9.23% ~ 16.14%)、放线菌门(Actinobacteria, 5.89% ~ 16.87%) 为其优势种群(图 1). 对属水平的丰度占比前 30 种群进行分析, 其主要由鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、RB41、玫瑰弯菌(*Roseiflexus*)、*Haliangium*、*Ohtaekwangia* 和链霉菌属(*Streptomyces*)等组成, 总丰度占比分别为

20.36% 和 21.80%. 其中鞘氨醇单胞菌属、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、链霉菌属和德沃斯氏菌属是报道的具有植物促生特性的种群(图 2).

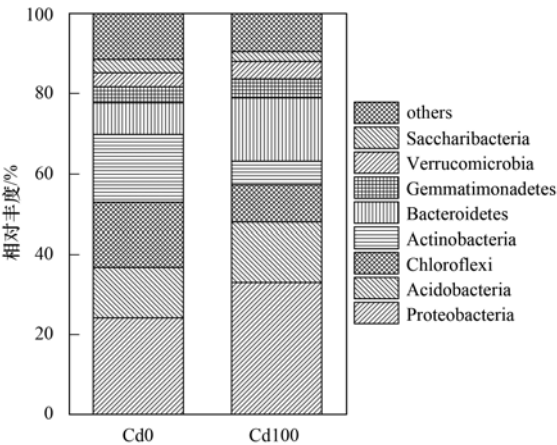


图 1 门分类水平细菌群落相对丰度分布

Fig. 1 Relative abundance of sequences at the phylum level of the bacterial communities in the different samples

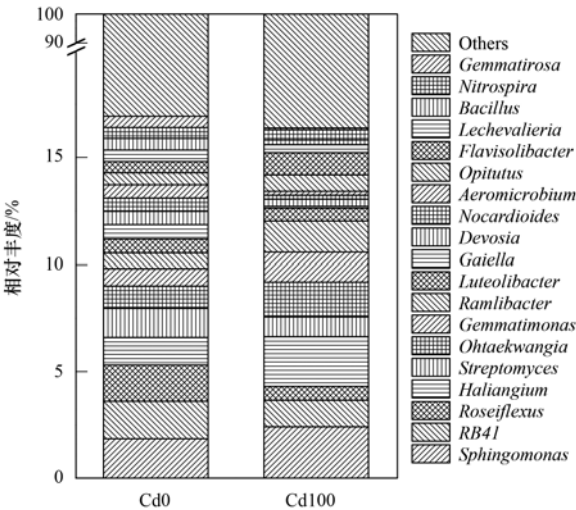


图 2 属分类水平细菌群落相对丰度分布

Fig. 2 Relative abundance of sequences at the genera level of the bacterial communities in the different samples

采用基于 UniFrac 的 PCoA 分析和 UPGMA 分析不同芒草样品细菌群落差异, 无污染组聚集于图 3(a), 添加 Cd 污染组分布于图 3(b). UPGMA 聚类结果与 PCoA 分析类似, 在 0.2 相似性水平上分为无污染组和添加 Cd 污染组两大组, 以上结果表明 100 mg·kg⁻¹ Cd 的添加影响了芒草根际细菌群落组成(图 4). 非参数检验方法 ADONIS 和 ANOSIM 分

析结果表明,Cd 胁迫导致细菌群落结构存在极显著差异($P < 0.01$). 多样性指数分析表明,无污染组芒草根际细菌 Sobs 数、Shannon 指数、ACE 指数、Chao1 指数均显著高于相对应添加 Cd 污染组,

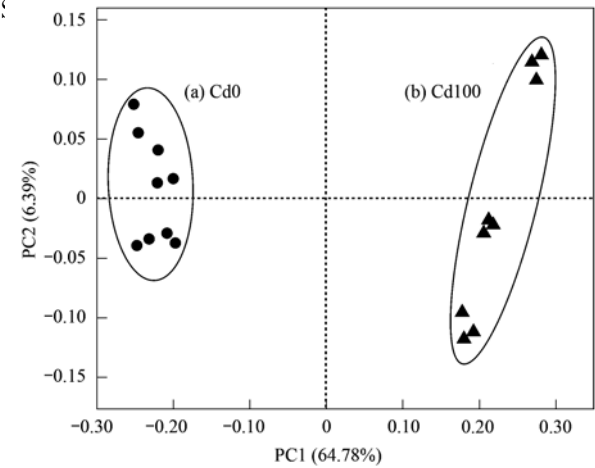


图3 不同样品细菌群落的 PCoA 分析

Fig. 3 Principal coordinates analysis (PCoA) of the bacterial communities in the different samples

数显著低于相对应添加 Cd 污染组($P < 0.05$),表明 Cd 的添加能影响芒草根际细菌群落,降低其群落多样性(表 2).

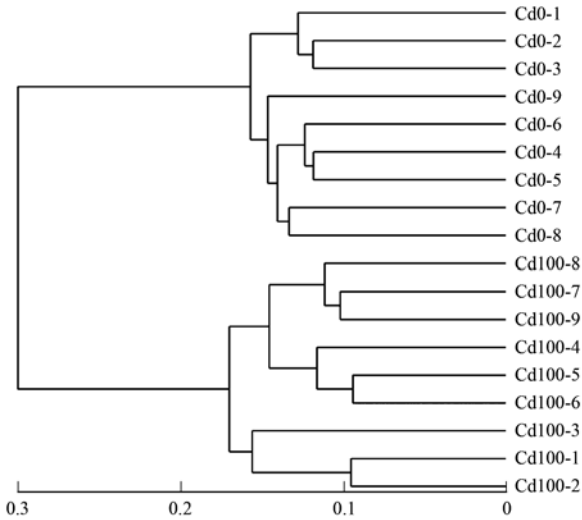


图4 不同样品 UPGMA 聚类

Fig. 4 UPGMA tree of the bacterial communities in the different samples

表 2 不同样品细菌群落多样性评估¹⁾

Table 2 Estimation of bacterial community diversity in different samples

处理	Sobs 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	ACE 指数	Chao1 指数	覆盖度/%
Cd0	3 124 ± 50	6.98 ± 0.03	0.002 2 ± 0.000 3 *	4 032 ± 51	4 017 ± 42	96.63 ± 0.06 *
Cd100	2 460 ± 56 *	6.58 ± 0.06 *	0.003 4 ± 0.000 4	3 211 ± 104 *	3 229 ± 105 *	97.35 ± 0.12

1) *表示处理组间差异均达到显著水平($P < 0.05$)

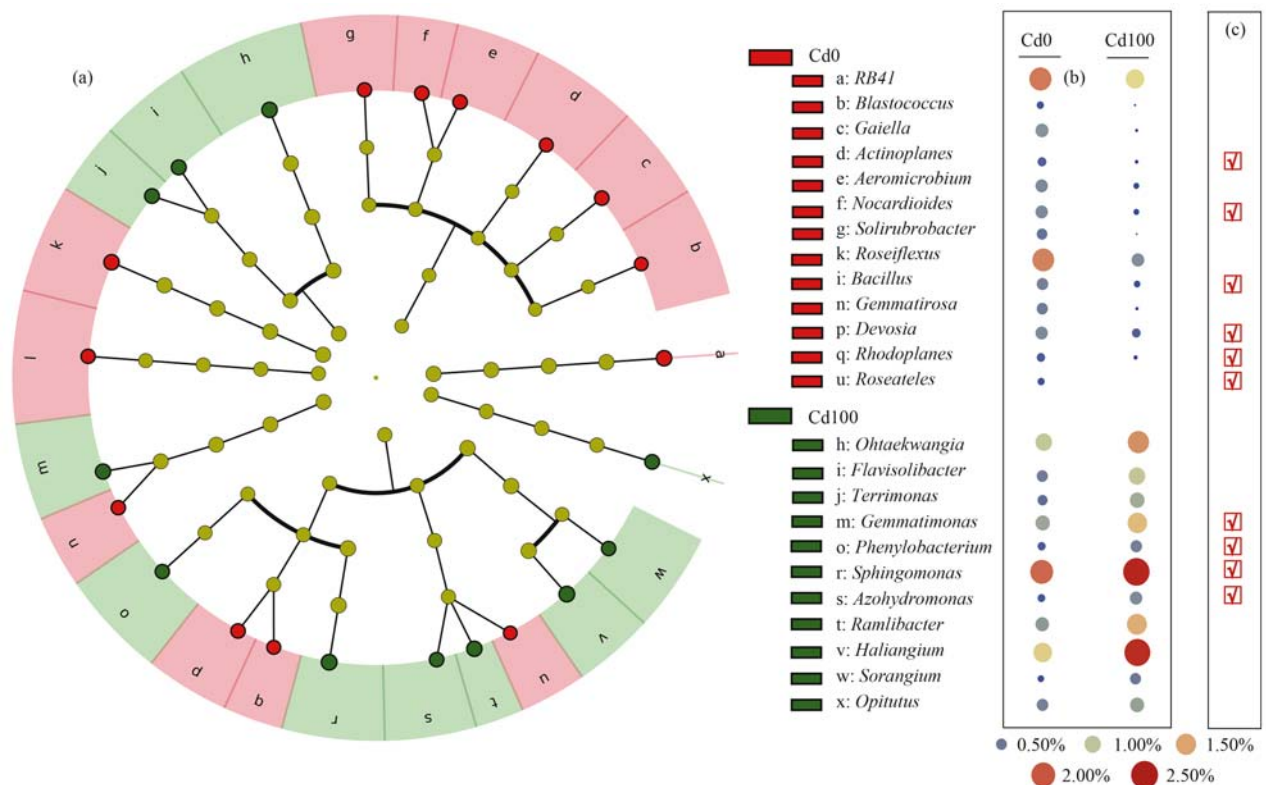
2.3 差异分析

采用 LEFSE 软件寻找芒草根际细菌群落具有统计学差异的生物标志物(biomarker),结果表明在 $LDA \geq 3.0$ 的水平上共有 24 个属细菌存在差异,主要分布于变形菌门(9 属)、放线菌门(6 属)和拟杆菌门(3 属)[图 5(a)]. 在无污染土壤中存在显著差异的为酸杆菌门的 *RB41*,放线菌门的游动放线菌属(*Actinoplanes*)、气微菌属(*Aeromicrobium*)、芽生球菌属(*Blastococcus*)、*Gaiella*、类诺卡氏属(*Nocardioides*)和壤红杆菌属(*Solirubrobacter*),绿弯菌门的玫瑰弯菌属(*Roseiflexus*),厚壁菌门(*Firmicutes*)的芽孢杆菌属,芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)的 *Gemmatirosa*,变形菌门的德沃斯氏菌属、红游动菌属(*Rhodoplanes*)和 *Roseateles*. 添加 Cd 污染组中显著差异的为拟杆菌门的黄色土源菌属(*Flavisolibacter*)、*Ohtaekwangia* 和 *Terrimonas*,芽单胞菌门的芽单胞菌属,变形菌门的 *Azohydromonas*、*Haliangium*、苯基杆菌属(*Phenyllobacterium*)、沙壤土杆菌属(*Ramlibacter*)、堆囊菌属(*Sorangium*)和鞘氨醇单胞菌属,疣微菌门(*Verrucomicrobia*)的丰佑菌属(*Opitutus*). 添加 Cd

污染组中显著差异细菌丰度均显著高于无污染组[图 5(b)],其中芽单胞菌属、苯基杆菌属、鞘氨醇单胞菌属和 *Azohydromonas* 具有植物促生特性,鞘氨醇单胞菌属被用于植物-PGPR 联合修复重金属污染土壤研究[图 5(c)].

2.4 PICRUS 功能预测

采用 PICRUS 软件对芒草根际细菌功能进行预测分析,共获得代谢(metabolism)、遗传信息处理(genetic information processing)和环境信息处理(environmental information processing)为主要组成的 6 类一级功能层生物代谢通路,占比分别为 69.06%~69.68%、10.73%~10.76%和 7.09%~7.15%(图 6). 除人类疾病(human diseases)外,其他 5 个一级功能层无污染组预测基因拷贝数均高于添加 Cd 污染组. 对二级功能层生物代谢通路进行分析,发现其由碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)、氨基酸代谢(amino acid metabolism)和能量代谢(energy metabolism)等 46 个子功能组成. 其中环境适应(environmental adaptation)、转运与分解代谢(transport and catabolism)、细胞生长和死亡(cell growth and death)、信号转导(signal transduction)、细



(a) 差异细菌分布; (b) 相对丰度; (c) 植物促生细菌分布

图 5 不同样品差异细菌与潜在功能

Fig. 5 LEfSe analysis identifying the most differentially abundant taxa and their potential function

胞运动 (cell motility) 和其他氨基酸代谢 (metabolism of other amino acids) 等 20 个二级功能层预测基因拷贝数均为添加 Cd 污染组高于无污染组。

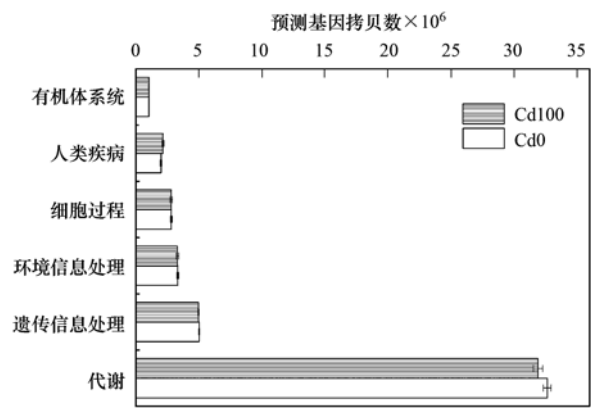


图 6 不同样品细菌 PICRUSt 功能预测

Fig. 6 PICRUSt metabolic predictions of the bacterial communities from different samples

2.5 网络分析

利用细菌相对丰度基于 RMT 方法构建无污染组和污染组芒草根际细菌分子生态网络,在可视化网络结构图中,每个节点代表一个 OTU,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 7(a) 和 7(b)]. 描述分子生态网络性质的指标主要有总节点数 (total nodes)、总连接数 (total

links)、相关性阈值 (similarity threshold)、平均路径长度 (geodesic distance)、平均聚集系数 (average clustering coefficient, avgCC)、平均连通度 (average degree, avgK) 和正相关连线数比例 (positive link percentage, %) 等. 所构建的 2 个网络相关性阈值 (similarity threshold) 均高于 0.90,可以用于后续微生物相互关系的研究. 与无污染组芒草根际样品相比,污染组网络的总节点数 (468 vs. 631)、总连接数 (902 vs. 1217) 均有所降低. 同时无污染组网络每个节点的平均连通度相近 (3.857 vs. 3.855)、平均路径长度更大 (6.705 vs. 6.046)、聚集能力 (0.182 vs. 0.217) 和模块性 (0.665 vs. 0.719) 稍弱、模块数 (96 vs. 55) 更高. 无污染和污染组网络中负相关连线数分别为 472 和 394,分别占相应总连线数的 38.78% 和 43.68%.

参考 Deng 等^[29] 的研究,将 $Z_i \geq 2.5$ 或是 $P_i \geq 0.62$ 的所有节点 (OTU) 定为关键细菌 (key bacteria). 无污染组样品关键细菌数 (OTU 数) 为 13 个,其中鉴定到属水平的分别为酸杆菌门的 *Haliangium*、拟杆菌门的玫瑰弯菌、绿弯菌门的 *Ohtaekwangia* 和拟杆菌门的黄色土源菌属. 污染组样品关键细菌数 (OTU 数) 同为 13 个,其中鉴定到属水平的分别为酸杆菌门的 *RB41*、放线菌门的 *CL500-29_marine_group*、壤红杆菌属和变形菌门的

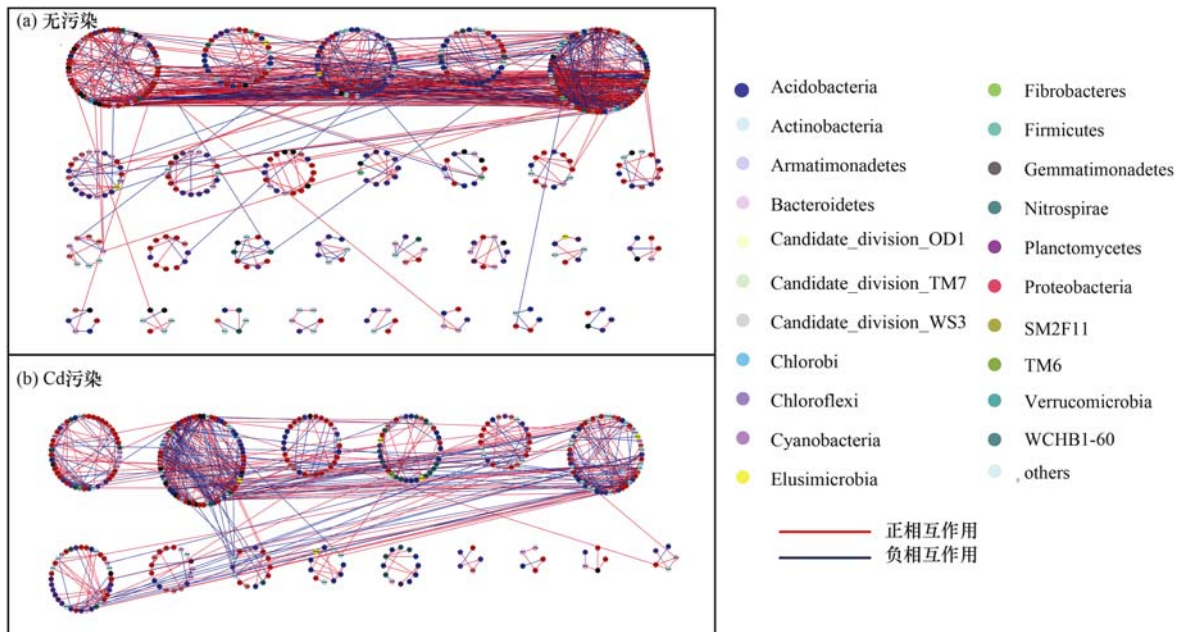


图7 芒草根际细菌生态网络

Fig. 7 Overview of the bacterial networks in the *Miscanthus* rhizosphere soil samples

土壤土杆菌属,关键细菌组成与无污染组有所差异。

3 讨论

3.1 芒草根际细菌组成及其潜在功能

土壤微生物能影响重金属污染土壤中植物的生长和修复效率,目前关于芒草修复重金属污染过程中微生物群落组成开展较少^[32,33]。Pham等^[15]采用MiSeq测序分析发现芒草根际细菌主要由变形菌门、拟杆菌门、酸杆菌门和芽单胞菌门等组成,重金属污染能影响细菌群落结构。本实验MiSeq测序结果表明,芒草无污染和Cd污染条件下根际细菌由变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、放线菌门等32个门和425个属组成(图1)。有研究表明植物根际土壤存在大量具有植物促生特性的细菌,其在植物生长、植物耐受逆境胁迫等方面起到重要的作用^[34]。Pham等^[15]的研究发现芒草根际含有假单胞菌属(*Pseudomonas*)、草螺菌属(*Herbaspirillum*)、固氮螺菌属(*Azospirillum*)和梭菌属(*Clostridium*)等植物促生细菌种群。Zadel等^[35]的研究发现,芒草根际*Luteolibacter*和小单胞菌属(*Micromonospora*)在重金属胁迫条件下到显著地富集,是后续芒草-植物促生细菌(PGPR)联合修复的良好菌株材料。与之类似,本研究对芒草属水平上丰度占比前30种群(图2)以及种群差异分析[图5(c)]发现,鞘氨醇单胞菌属、芽孢杆菌属、芽单胞菌属和链霉菌属等优势种群或差异种群为已报告的PGPR,其中芽孢杆菌属^[36]、鞘氨醇单胞菌属^[37]和链霉菌属^[38]已用于重金属污染土壤植物-PGPR联合修复研究中。目前芒草生长

过程中PGPR的有效利用开展较少,对芒草根际PGPR分离、纯化并开展联合修复是后续研究的重要内容之一。

3.2 Cd的胁迫改变芒草根际细菌网络和功能

重金属污染对土壤微生物具有毒害作用,其对芒草根际微生物群落组成影响研究已有开展。Pham等^[15]的研究表明重金属能改变芒草根际细菌群落和组成。与之类似,本实验中Cd的添加能显著影响芒草根际细菌群落组成,降低其群落多样性(表2、图3和图4)。基于高通量测序的PICRUST分析能预测细菌群落的代谢功能,在植物修复土壤HM污染研究中已有应用。Jiang等^[20]采用PICRUST预测了海州香薷(*Elsholtzia splendens*)根际细菌功能,发现其主要由氨基酸代谢、碳水化合物代谢等41个子功能组成。本实验芒草根际细菌预测分析表明,其由碳水化合物代谢、氨基酸代谢和能量代谢等子功能组成。高浓度的重金属对土壤微生物产生明显的毒害作用,降低微生物活性和群落结构^[39]。本实验多样性指数分析表明,Cd的添加能降低芒草根际细菌群落的Sobs数、Shannon指数、ACE指数和Chao1指数(表2),对预测基因拷贝数进行分析发现,无污染样品均高于Cd污染样品(图6),结果表明Cd的胁迫同时降低了芒草根际土壤细菌功能。

在生态系统中,微生物以复杂的网络结构共存和相互作用^[40]。分子生态网络(phylogenetic molecular ecology networks, pMEN)是基于随机矩阵理论来研究生态系统内作用关系的一种方法,对理解微生物群落内潜在的相互作用关系提供了解决途

径^[29,30]. 本实验构建了无污染和 Cd 污染两组芒草根际细菌分子生态网络, 结果发现 Cd 的胁迫降低了芒草根际细菌之间的相互作用, 导致其网络结构更为简单, 表现为更低的总节点数和总连接数. 同时污染组网络平均路径长度和聚集能力等网络特性表明当外界环境发生扰动时, 该网络能在很短的时间内将环境扰动传递到整个网络, 导致网络结构不稳定, 表明 Cd 的胁迫降低了网络缓冲环境变化的能力^[29,41]. 网络中物种间的相互关系可描述为正相关和负相关, 正相关表示物种的生态位相同或具有共生关系, 负相关代表着竞争或捕食关系^[42]. 污染组网络负相关连线数高于无污染组, 表明 Cd 的胁迫使芒草根际细菌物种之间的竞争关系更强. 同时 pMENs 在关键细菌识别得到广泛应用, 这些关键细菌在生态系统维持稳定和发挥功能中起到重要作用^[42]. 网络节点的拓扑学角色分析表明 Cd 的胁迫使关键细菌组成发生了改变, 这些关键细菌可能在芒草耐受和富集 Cd 过程中起到作用.

4 结论

(1) MiSeq 测序表明芒草根际细菌群落由变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、绿弯菌门和放线菌门等 32 个门组成, 包含鞘氨醇单胞菌属、芽孢杆菌属、芽单胞菌属和链霉菌属等植物促生细菌 (PGPR) 种群.

(2) PCoA 分析和 UPGMA 分析表明 Cd 的添加能显著影响芒草根际细菌群落组成, 多样性指数分析 Cd 的添加降低其群落多样性. LEFSE 分析表明 Cd 的添加能显著提高黄色土源菌属、苯基杆菌属、芽单胞菌属、鞘氨醇单胞菌属等 11 个属的相对丰度, 这些细菌可能在芒草耐受和富集重金属中起到作用.

(3) 分子生态网络分析表明, Cd 的添加改变了芒草根际细菌间的相互作用, 导致其网络结构更为简单、降低了网络缓冲环境变化的能力、提高了负相关连线数并改变关键细菌组成. PICRUST 功能预测分析表明, Cd 的胁迫降低了芒草根际土壤细菌功能.

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 骆永明, 章海波, 涂晨, 等. 中国土壤环境与污染修复发展现状与展望[J]. *中国科学院院刊*, 2015, **30**(S1): 257-266.
- [3] Luo Y M, Zhang H B, Tu C, *et al.* Soil environment and pollution remediation in China: current status and prospectives research development [J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2015, **30**(S1): 257-266.
- [4] Tripathi V, Edrisi S A, Abhilash P C. Towards the coupling of phytoremediation with bioenergy production [J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2016, **57**: 1386-1389.
- [5] Gomes H I. Phytoremediation for bioenergy: challenges and opportunities [J]. *Environmental Technology Reviews*, 2012, **1**(1): 59-66.
- [6] 余海波, 宋静, 骆永明, 等. 典型重金属污染农田能源植物示范种植研究[J]. *环境监测管理与技术*, 2011, **22**(3): 71-76.
- [7] Yu H B, Song J, Luo Y M, *et al.* Field demonstration of energy plants production on heavy metal contaminated farmland [J]. *The Administration and Technique of Environmental Monitoring*, 2011, **22**(3): 71-76.
- [8] 贾伟涛, 吕素莲, 冯娟娟, 等. 利用能源植物治理土壤重金属污染[J]. *中国生物工程杂志*, 2015, **35**(1): 88-95.
- [9] Jia W T, Lv S L, Feng J J, *et al.* Restore heavy metal contaminated soil with energy plants [J]. *China Biotechnology*, 2015, **35**(1): 88-95.
- [10] Weyens N, van der Lelie D, Taghavi S, *et al.* Exploiting plant-microbe partnerships to improve biomass production and remediation [J]. *Trends in Biotechnology*, 2009, **27**(10): 591-598.
- [11] 丁传雨, 郑远, 任学敏, 等. 能源植物修复土壤镉污染过程中细菌群落分析[J]. *环境科学学报*, 2016, **36**(8): 3009-3016.
- [12] Ding C Y, Zheng Y, Ren X M, *et al.* Changes in bacterial community composition during the remediation of Cd-contaminated soils of bioenergy crops [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, **36**(8): 3009-3016.
- [13] Rusinowski S, Krzyzak J, Sitko K, *et al.* Cultivation of C4 perennial energy grasses on heavy metal contaminated arable land: impact on soil, biomass, and photosynthetic traits [J]. *Environmental Pollution*, 2019, **250**: 300-311.
- [14] Nurzhanova A, Pidlisnyuk V, Abit K, *et al.* Comparative assessment of using *Miscanthus x giganteus* for remediation of soils contaminated by heavy metals: a case of military and mining sites [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, **26**(13): 13320-13333.
- [15] Zhao A Q, Gao L Y, Chen B Q, *et al.* Phytoremediation potential of *Miscanthus sinensis* for mercury-polluted sites and its impacts on soil microbial community [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, **26**(34): 34818-34829.
- [16] Zhang J, Yang S Y, Huang Y J, *et al.* The tolerance and accumulation of *Miscanthus Sacchariflorus* (maxim.) benth., an energy plant species, to cadmium [J]. *International Journal of Phytoremediation*, 2015, **17**(6): 538-545.
- [17] 吴道铭, 陈晓阳, 曾曙才. 芒属植物重金属耐性及其在矿山废弃地植被恢复中的应用潜力 [J]. *应用生态学报*, 2017, **28**(4): 1397-1406.
- [18] Wu D M, Chen X Y, Zeng S C. Heavy metal tolerance of *Miscanthus* plants and their phytoremediation potential in abandoned mine land [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, **28**(4): 1397-1406.
- [19] Wood J L, Tang C X, Franks A E. Microbial associated plant growth and heavy metal accumulation to improve phytoextraction of contaminated soils [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, **103**: 131-137.
- [20] Pham H N, Pham P A, Nguyen T T H, *et al.* Influence of metal contamination in soil on metabolic profiles of *Miscanthus x giganteus* belowground parts and associated bacterial communities [J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, **125**: 240-249.

- [16] Bourgeois E, Dequiedt S, Lelièvre M, *et al.* Miscanthus bioenergy crop stimulates nutrient-cycler bacteria and fungi in wastewater-contaminated agricultural soil [J]. Environmental Chemistry Letters, 2015, **13**(4): 503-511.
- [17] Chen Z J, Zheng Y, Ding C Y, *et al.* Integrated metagenomics and molecular ecological network analysis of bacterial community composition during the phytoremediation of cadmium-contaminated soils by bioenergy crops [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, **145**: 111-118.
- [18] Chen Z J, Xu G, Ding C Y, *et al.* Illumina MiSeq sequencing and network analysis the distribution and co-occurrence of bacterioplankton in Danjiangkou Reservoir, China[J]. Archives of Microbiology, 2020, **202**(4): 859-873.
- [19] Wang M, Chen S B, Chen L, *et al.* Responses of soil microbial communities and their network interactions to saline-alkaline stress in Cd-contaminated soils [J]. Environmental Pollution, 2019, **252**: 1609-1621.
- [20] Jiang L F, Song M K, Yang L, *et al.* Exploring the influence of environmental factors on bacterial communities within the rhizosphere of the Cu-tolerant plant, *Elsholtzia splendens* [J]. Scientific Reports, 2016, **6**(1), doi: 10.1038/srep36302.
- [21] 胡晓婧, 刘俊杰, 魏丹, 等. 东北黑土区不同纬度农田土壤真菌分子生态网络比较[J]. 应用生态学报, 2018, **29**(11): 3802-3810.
- Hu X J, Liu J J, Wei D, *et al.* Comparison on fungal molecular ecological networks of agricultural soils with different latitudes in the black soil region of Northeast China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, **29**(11): 3802-3810.
- [22] 李冰, 李玉双, 魏建兵, 等. 不同土地利用方式对土壤细菌分子生态网络的影响[J]. 环境科学, 2020, **41**(3): 1456-1465.
- Li B, Li Y S, Wei J B, *et al.* Effects of different land use types on the molecular ecological network of soil bacteria [J]. Environmental Science, 2020, **41**(3): 1456-1465.
- [23] 周石磊, 孙悦, 张艺冉, 等. 基于网络分析解析水源水库春季水体反硝化群落演变特征及驱动因素[J]. 环境科学, 2020, **41**(4): 1666-1675.
- Zhou S L, Sun Y, Zhang Y R, *et al.* Evolution characteristics and driving factors of denitrification community based on network analysis in the process of spring thermal layer formation in Zhoucun reservoir [J]. Environmental Science, 2020, **41**(4): 1666-1675.
- [24] 孙峰, 田伟, 张菲, 等. 丹江口库区库滨带植被土壤细菌群落多样性及PICRUSt功能预测分析[J]. 环境科学, 2019, **40**(1): 421-429.
- Sun F, Tian W, Zhang F, *et al.* Composition and predictive functional analysis of rhizosphere bacterial communities in riparian buffer strips in the Danjiangkou Reservoir, China[J]. Environmental Science, 2019, **40**(1): 421-429.
- [25] 易自力. 芒属能源植物资源的开发与利用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2012, **38**(5): 455-463.
- Yi Z L. Exploitation and utilization of *Miscanthus* as energy plant [J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2012, **38**(5): 455-463.
- [26] 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.
- [27] Schloss P D, Westcott S L, Ryabin T, *et al.* Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, **75**(23): 7537-7541.
- [28] Segata N, Izard J, Waldron L, *et al.* Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. Genome Biology, 2011, **12**(6), doi: 10.1186/gb-2011-12-6-r60.
- [29] Deng Y, Jiang Y H, Yang Y, *et al.* Molecular ecological network analyses[J]. BMC Bioinformatics, 2012, **13**, doi: 10.1186/1471-2105-13-113.
- [30] Zhou J Z, Deng Y, Luo F, *et al.* Phylogenetic molecular ecological network of soil microbial communities in response to elevated CO₂ [J]. mBio, 2011, **2**(4), doi: 10.1128/mBio.00122-11.
- [31] Douglas G M, Maffei V J, Zaneveld J, *et al.* PICRUSt2: an improved and extensible approach for metagenome inference[J]. bioRxiv, 2019, doi: 10.1101/672295.
- [32] Chen Y, Tian W, Shao Y, *et al.* *Miscanthus* cultivation shapes rhizosphere microbial community structure and function as assessed by Illumina MiSeq sequencing combined with PICRUSt and FUNGUId analyses[J]. Archives of Microbiology, 2020, **202**(5): 1157-1171.
- [33] Li D F, Voigt T B, Kent A D. Plant and soil effects on bacterial communities associated with *Miscanthus x giganteus* rhizosphere and rhizomes[J]. GCB Bioenergy, 2016, **8**(1): 183-193.
- [34] Timmusk S, Paalme V, Pavlicek T, *et al.* Bacterial distribution in the rhizosphere of wild barley under contrasting microclimates [J]. PLoS One, 2011, **6**(3), doi: 10.1371/journal.pone.0017968.
- [35] Zadel U, Nesme J, Michalke B, *et al.* Changes induced by heavy metals in the plant-associated microbiome of *Miscanthus x giganteus* [J]. Science of the Total Environment, 2020, **711**, doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.134433.
- [36] Babu A G, Kim J D, Oh B T. Enhancement of heavy metal phytoremediation by *Alnus firma* with endophytic *Bacillus thuringiensis* GDB-1 [J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, **250-251**: 477-483.
- [37] Chen B, Zhang Y B, Rafiq M T, *et al.* Improvement of cadmium uptake and accumulation in *Sedum alfredii* by endophytic bacteria *Sphingomonas SaMR12*: effects on plant growth and root exudates [J]. Chemosphere, 2014, **117**: 367-373.
- [38] Ali A, Guo D, Mahar A, *et al.* Role of *Streptomyces pactum* in phytoremediation of trace elements by *Brassica juncea* in mine polluted soils [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2017, **144**: 387-395.
- [39] Wang F, Yao J, Si Y, *et al.* Short-time effect of heavy metals upon microbial community activity [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, **173**(1-3): 510-516.
- [40] Coyte K Z, Schluter J, Foster K R. The ecology of the microbiome: networks, competition, and stability[J]. Science, 2015, **350**(6261): 663-666.
- [41] Wang Y, Zhang R, Zheng Q, *et al.* Bacterioplankton community resilience to ocean acidification: evidence from microbial network analysis[J]. ICES Journal of Marine Science, 2016, **73**(3): 865-875.
- [42] Layeghifard M, Hwang D M, Guttman D S. Disentangling interactions in the microbiome: a network perspective [J]. Trends in Microbiology, 2017, **25**(3): 217-228.

CONTENTS

Characteristics and Control Strategies on Summertime Peak Ozone Concentration in Shanghai	YAN Ru-sha, WANG Hong-li, HUANG Cheng, <i>et al.</i> (3577)
Characteristics and Sources of VOCs at Different Ozone Concentration Levels in Tianjin	WANG Wen-mei, GAO Jing-yun, XIAO Zhi-mei, <i>et al.</i> (3585)
Pollution Characteristics and Source Apportionment of Atmospheric VOCs During Ozone Pollution Period in the Main Urban Area of Chongqing	LI Ling, LI Zhen-liang, ZHANG Dan, <i>et al.</i> (3595)
Emission Characteristics and Atmospheric Chemical Reactivity of Volatile Organic Compounds(VOCs) in Automobile Repair Industry	CHEN Peng, ZHANG Yue, ZHANG Liang, <i>et al.</i> (3604)
Analysis of the Continuous Heavy Pollution Process in the Winter of 2016 in Beijing, Tianjin, and Hebei	MAO Ye, ZHANG Heng-de, ZHU Bin (3615)
Evaluation of Air Pollution Characteristics and Air Quality Improvement Effect in Beijing and Chengdu	DANG Ying, ZHANG Xiao-ling, RAO Xiao-qin, <i>et al.</i> (3622)
Chemical Components and Sources of PM _{2.5} and Their Evolutive Characteristics in Zhengzhou	ZHAO Xiao-nan, WANG Shen-bo, YANG Jie-ru, <i>et al.</i> (3633)
High-frequency Responses to the COVID-19 Shutdown of Heavy Metal Elements in PM _{2.5} in Shanghai	CHENG Kai, CHANG Yun-hua, KUANG Ya-qiong, <i>et al.</i> (3644)
Analysis of Ultraviolet Aerosol Index in Guangdong-Hong Kong-Macao Greater Bay Area	DUAN Jia-le, JU Tian-zhen, HUANG Rui-ni, <i>et al.</i> (3652)
Vehicle Air Pollutant Emission Inventory and Characterization in Henan Province from 2016 to 2019	GAO Dan-dan, YIN Sha-sha, GU Xing-ke, <i>et al.</i> (3663)
Characterization and Exposure Risk Assessment of Non-phthalate Plasticizers in House Dust from Guangzhou	LIU Xiao-tu, PENG Chang-feng, CHEN Da, <i>et al.</i> (3676)
Distribution, Sources, and Risk Assessment of Polyfluoroalkyl Substances in Main Rivers and Soils of Tianjin	WU Qian-qian, WU Qiang, SONG Shuai, <i>et al.</i> (3682)
Differentiation of Hydrogen and Oxygen Isotopes in the Water Source Treatment Wetlands of Stream Networks	YANG Ting, WANG Yang, XU Jing-yi, <i>et al.</i> (3695)
Characterizing Sources and Composition of Chromophoric Dissolved Organic Matter in a Key Drinking Water Reservoir Lake Tianmu	ZHOU Lei, ZHOU Yong-qiang, ZHANG Yun-lin, <i>et al.</i> (3709)
Sources and Optical Dynamics of Chromophoric Dissolved Organic Matter in Different Types of Urban Water Bodies	YU Xiao-qin, CUI Yang, CHEN Hui-min, <i>et al.</i> (3719)
Temporal and Spatial Evolution Characteristics of DOM Spectra in Sediment Interstitial Water in Typical Zones of Baiyangdian Lake	ZHOU Shi-lei, CHEN Zhao-ying, ZHANG Tian-na, <i>et al.</i> (3730)
Sources and Spatial Variation of Dissolved Organic Matter in Summer Water of Inflow Rivers Along Chaohu Lake Watershed	NING Cheng-wu, BAO Yan, HUANG Tao, <i>et al.</i> (3743)
Spatio-temporal Distribution Characteristics and Driving Factors of Zooplankton in Hongze Lake	CHEN Ye, PENG Kai, ZHANG Qing-ji, <i>et al.</i> (3753)
Effects of Farming Practices on Soil Nitrogen and Phosphorus Concentrations and Its Loss in the Drawdown Area of the Tributary Embayment of the Three Gorges Reservoir	LUO Fang, LU Lun-hui, LI Zhe, <i>et al.</i> (3763)
Temporal and Spatial Evolution of Non-point Source Pollution Load of Total Nitrogen in Tuojiang River Basin	XIAO Yu-ting, YAO Jing, CHEN Shu, <i>et al.</i> (3773)
Microplastic-Induced Alterations to Antibiotic Resistance Genes in Seawater	ZHOU Shu-yi-dan, ZHU Yong-guan, HUANG Fu-yi (3785)
Enrichment of Antibiotic Resistant Bacteria and Antibiotic Resistance Genes by Sulfamethoxazole in the Biological Treatment System of Mariculture Wastewater	WANG Jin-peng, ZHAO Yang-guo, HU Yu-bo (3791)
Optimization of Tidal-Combined Flow Constructed Wetland System and Its Removal Effect on Antibiotic Resistance Genes	CHENG Yu-xiao, WU Dan, CHEN Quan-le, <i>et al.</i> (3799)
Temporal-spatial Distribution and Risk Assessment of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil of Xiangxi Bay in Three Gorges Reservoir Area	HUANG Ying-ping, JIN Lei, ZHU Can, <i>et al.</i> (3808)
Spatial Distribution Pattern and Influencing Factors of Industrial Pollution Emissions in Yangtze River Economic Belt	LI Yun-yi, LIU Li-ping, LIU Yuan-yuan (3820)
Aging Process and DOC Analysis of Four Different Types of Plastic Particles in Freshwater Systems	LI Wan-yi, LIU Zhi-lin, MIAO Ling-zhan, <i>et al.</i> (3829)
Promotion and Mechanisms of DOM on Copper Adsorption by Suspended Sediment Particles	DING Xiang, LI Zhong-wu, XU Wei-hua, <i>et al.</i> (3837)
Transformation Characteristics of Dissolved Organic Matter During UV/Chlorine Treatment of Municipal Secondary Effluent	WANG Xue-ning, ZHANG Bing-liang, PAN Bing-cai (3847)
Effects of Different Nitrite Generation on the Short-cut Nitrification Denitrifying Phosphorus Removal Granules System	WANG Wen-qi, LI Dong, GAO Xin, <i>et al.</i> (3858)
Ammonia Nitrogen Removal Performance with Parallel Operation of Conventional and Inverted A ² /O Sewage Treatment Processes in Winter	LI Jin-cheng, GUO Ya-ni, QI Rong, <i>et al.</i> (3866)
Diversity and PICRUS2-based Predicted Functional Analysis of Bacterial Communities During the Start-up of ANAMMOX	YAN Bing, FU Jia-qi, XIA Song, <i>et al.</i> (3875)
Microbial Community Structure of Activated Sludge and Its Response to Environmental Factors	MA Qie-qie, YUAN Ling-jiang, NIU Ze-dong, <i>et al.</i> (3886)
Distribution and Sources of Microplastics in Farmland Soil Along the Fenhe River	ZHU Yu-en, WEN Han-xuan, LI Tang-hui-xian, <i>et al.</i> (3894)
Source Apportionment of Soil PAHs in Lanzhou Based on GIS and APCS-MLR Model	GUAN Xian-xian, ZHOU Xiao-ping, LEI Chun-ni, <i>et al.</i> (3904)
Migration, Transformation Characteristics, and Ecological Risk Evaluation of Heavy Metal Fractions in Cultivated Soil Profiles in a Typical Carbonate-Covered Area	TANG Shi-qi, LIU Xiu-jin, YANG Ke, <i>et al.</i> (3913)
Effect of Elevated CO ₂ on N ₂ O Emissions from Different Rice Cultivars in Rice Fields	YU Hai-yang, HUANG Qiong, WANG Tian-yu, <i>et al.</i> (3924)
Effects of Coconut Chaff Biochar Amendment on Methane and Nitrous Oxide Emissions from Paddy Fields in Hot Areas	WANG Zi-jun, WANG Hong-hao, LI Jin-qiu, <i>et al.</i> (3931)
Effects of Biochar Addition Under Different Water Management Conditions on N ₂ O Emission From Paddy Soils in Northern Hainan	WANG Hong-hao, TAN Meng-yi, WANG Zi-jun, <i>et al.</i> (3943)
Ecological Effects of Species Diversity on Plant Growth and Physico-Chemical Properties in a Pb-Zn Mine Tailings	YANG Sheng-xiang, CAO Jian-bing, LI Feng-mei, <i>et al.</i> (3953)
Investigation of Dominant Plants and Analysis of Ecological Restoration Potential in Lailishan Tin Tailings	QIN Fu-rong, ZHANG Shi-ying, XIA Yun-sheng, <i>et al.</i> (3963)
Responses of Different Degradation Stages of Alpine Wetland on Soil Microbial Community in the Yellow River Source Zone	LIN Chun-ying, LI Xi-lai, ZHANG Yu-xin, <i>et al.</i> (3971)
Effects of Straw Returning with Chemical Fertilizer on Soil Enzyme Activities and Microbial Community Structure in Rice-Rape Rotation	JIN Yu-ting, LI Xian-fan, CAI Ying, <i>et al.</i> (3985)
Shifts in Rhizosphere Bacterial Community Structure, Co-occurrence Network, and Function of <i>Miscanthus</i> Following Cadmium Exposure	CHEN Zhao-jin, LIN Li-an, LI Ying-jun, <i>et al.</i> (3997)
Investigation of Soil Fungal Communities and Functionalities within Karst Paddy Fields	ZHOU Jun-bo, JIN Zhen-jiang, XIAO Xiao-yi, <i>et al.</i> (4005)
Adsorption Characteristics and Mechanism of Cd and Pb in Tiered Soil Profiles from a Zinc Smelting Site	LIU Ling-qing, XIAO Xi-yuan, GUO Zhao-hui, <i>et al.</i> (4015)
Influence of Different Soil Conditioner on the Transfer and Transformation of Cadmium and Phthalate Esters in Soil	WANG Can, ZHANG Yu-liang, HE Ming-jing, <i>et al.</i> (4024)
Immobilization Mechanism of Four Types of Amendments on Cu and Cd in Polluted Paddy Soil	DING Yuan, AO Shi-ying, CHEN Yi-hong, <i>et al.</i> (4037)
Foliar Application of L-Cysteine: Effects on the Concentration of Cd and Mineral Elements in Rice	ZHANG Ya-hui, WANG Chang-rong, LIU Yue-min, <i>et al.</i> (4045)
Effect of Cadmium Stress on Phytochelatins in <i>Amaranthus hypochondriacus</i> L. During Different Growth Periods	LIU Jia-xin, CHEN Wen-qing, YANG Li, <i>et al.</i> (4053)
Evolution of Material Metabolism in China's Pulp and Paper Industry	LIU Xin, YANG Tao, WU Hui-jun, <i>et al.</i> (4061)