

史晓凯,马茹茹,颜道浩,等. 外源砷胁迫对土壤细菌群落结构的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(14):242-246,252.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.14.060

# 外源砷胁迫对土壤细菌群落结构的影响

史晓凯<sup>1,2,3</sup>, 马茹茹<sup>3</sup>, 颜道浩<sup>2</sup>, 刘利军<sup>2</sup>, 刘永杰<sup>2</sup>

(1. 山西省土壤环境与养分资源重点实验室,山西太原 030027; 2. 山西省环境科学研究院,山西太原 030027;

3. 山西晋环科源环境资源科技有限公司,山西太原 030024)

**摘要:**研究不同浓度外源砷胁迫对土壤细菌群落结构的影响,采集山西省某污灌区土壤,经不同浓度外源砷处理、培养、稳定后,盆栽油菜,并利用土壤微生物 Miseq 测序方法,研究不同处理样本微生物的群落组成。结果表明,A 处理下土壤中变形菌门(Proteobacteria)相对丰度较 B 处理、C 处理土壤中比例明显降低,而酸杆菌门(Acidobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)在土壤中的丰度表现出相反的趋势,A 处理土壤中这 2 种菌门的相对丰度明显低于 B 处理、C 处理土壤。表明砷污染程度的加大,将引起细菌物种数量的下降,并导致细菌群落丰富度和多样性降低;污染土壤中变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)菌群丰度较高,不同菌门砷的胁迫能力不同,促使不同砷污染土壤中细菌的相对丰度不同。

**关键词:**砷;细菌;群落结构;丰富度;多样性

**中图分类号:** S154.38<sup>+</sup>1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)14-0242-05

砷是广泛存在于自然界的一种类金属元素,是五大剧毒元素之一。土壤砷污染已经成为世界范围内严重的环境问题,受到了国内外的普遍关注和重视<sup>[1]</sup>。我国土壤中砷平均浓度为 11.2 mg/kg,约为世界平均值(6 mg/kg)的 2 倍<sup>[2]</sup>。2014 年全国土壤污染状况调查公报显示,我国土壤中 As 含量点位超标率为 2.7%,是仅次于 Cd 的第二大污染物。山西省为全国砷污染最为严重的地区,主要分布于桑干河、黄水河及两河间的大同盆地及磁窑河和文裕河之间的晋中盆地,区域内地下水中砷含量最高达 1 932 μg/L,是典型的地方性砷病区。

土壤微生物是土壤生态系统中最活跃的部分,土壤结构的形成、土壤中物质的降解循环和能量转化等重要过程都有微生物的参与。此外,土壤微生物在维持土壤功能方面也有很大贡献,土壤生态系统的正常运转、净化、缓冲污染物等功能都离不开土壤微生物的作用。土壤微生物对土壤质量变化响应灵敏,是土壤环境质量评价的重要指标<sup>[3-12]</sup>。不同砷污染土壤环境中微生物的种类和特征各不相同。针对砷污染对土壤微生物菌群的影响已有相关研究,结果显示,砷污染土壤中微生物数量呈现下降趋势,并与砷含量呈显著负相关<sup>[8,13]</sup>。砷污染也能影响土壤微生物多样性,改变土壤微生物群落结构<sup>[14]</sup>。

本研究利用 Illumina Miseq 高通量测序法从分子水平定量分析了不同外源砷胁迫下根际土壤中微生物群落结构的组成、丰度、遗传多样性,采用聚类分析、PCA 主成分分析等手段,对不同处理样本微生物的群落组成进行了深入探究。

收稿日期:2017-10-25

基金项目:国家自然科学基金(编号:201601D102057);山西省科技重大专项(编号:MH2015-07);山西省土壤环境与养分资源重点实验室开放基金(编号:2015003)。

作者简介:史晓凯(1985—),男,山西晋城人,博士研究生,工程师,主要从事土壤污染防治研究。E-mail:shixiaokai001@126.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集与试验设计

**1.1.1 样品前处理** 本研究土壤样品于 2016 年 3 月采集于山西省某污灌区,共选取了 6 个采样点位,每个点位分别取距地表 0~20 cm 深度的土壤样品 2 kg,将所采集的土壤样品风干后充分混合均匀,去除土壤中的植物残体和石子砖块等杂物,用木棍和玛瑙研钵研磨后过 2 mm 筛备用。

将自然风干的、过 2 mm 筛的备用土壤平均分成 3 组,记为 A、B、C。向 B、C 2 组中分别添加配制好的 NaAsO<sub>2</sub> 溶液,使 B 组、C 组土壤中的总砷含量分别达到 20、40 mg/kg,并用消毒后的筷子搅拌,使其混合均匀,以获得低浓度梯度和高浓度梯度砷污染土壤。将砷污染土壤再次自然风干,过 2 mm 筛后装入塑料保鲜盒中。将处理好的土壤在室温下进行培养,培养时间为 1 年。期间每隔 7 d 查看土壤情况,若土壤缺水,则适当添加一定量去离子水。培养完成后测定土壤理化性质及总砷、有效态砷含量。

**1.1.2 试验设计** 供试土壤培养 1 年后,将 3 组土壤样品分别风干研磨,混合均匀,过 2 mm 筛备用。选取 14.5 cm × 11.0 cm × 17.0 cm 的聚乙烯塑料盆为试验用花盆,称取过筛土壤样品 1 kg 放入花盆中,每组土壤花盆做 3 个平行试验,其中不加外源砷的花盆编号分别为 A1、A2、A3;土壤砷含量为 20 mg/kg 的花盆编号为 B1、B2、B3;土壤砷含量为 40 mg/kg 的花盆编号为 C1、C2、C3。购买市售油菜种子,挑选饱满均匀无明显损伤的种子在 10% 的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消毒 30 min,用蒸馏水冲洗干净后浸泡在饱和 CaSO<sub>4</sub> 中 2 h,用自来水和蒸馏水冲洗干净后待用。将处理好的油菜种子种植到花盆中,每盆种植 10 颗种子,待发芽记录发芽率后,间苗留 5 株,每天早晚 2 次称质量添加水分,保持土壤湿度。植物生长 40 d 后收割,利用 Miseq 高通量测序法研究外源砷添加对土壤微生物群落结构和多样性的影响。

## 1.2 土壤理化性质和砷测定方法

土壤 pH 值采用电位法测定(水土比为 2.5:1);土壤有机质含量采用高温外热重铬酸钾氧化-容量法测定<sup>[15]</sup>;土壤全氮含量采用凯氏定氮法测定;土壤全磷含量采用钼锑抗比色法测定;土壤含水率采用烘干法测定。土壤总砷采用王水消煮法提取;土壤有效砷采用 0.1 mol/L HCl 提取法提取(液土比为 10:1)<sup>[16]</sup>;土壤总砷、有效砷的含量均采用 ICP-MS 测定。

## 1.3 土壤微生物 Miseq 测序

1.3.1 DNA 抽提 取 0.5 g 土样,使用 OMEGA 公司生产的 E. Z. N. AsoilDNA 试剂盒,按说明书抽提,完成基因组 DNA 抽提后,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA。

1.3.2 PCR 扩增 真菌引物(SSU0817F;5'-TTAGCATGGAATAATRRATAGGA-3';1196R;5'-TCTGGACCTGGTGAGTTTCC-3');细菌引物(515F;5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3';907R;5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')

PCR 采用 TransGen AP221-02;TransStart Fastpfu DNA Polymerase,20  $\mu$ L 反应体系。2.0  $\mu$ L 2.5  $\times 10^{-3}$  mol/L 脱氧核苷酸(dntps),0.8  $\mu$ L Forward Primer 引物,0.8  $\mu$ L Reverse Primer 引物,4.0  $\mu$ L 5  $\times$  Fastpufu 缓冲液,10 ng 模板以及 0.4  $\mu$ L Fastpufu 聚合酶,补 ddH<sub>2</sub>O 到 20  $\mu$ L。

反应条件:95  $^{\circ}$ C 预变性 3 min;95  $^{\circ}$ C 变性 30 s,55  $^{\circ}$ C 退火 30 s,72  $^{\circ}$ C 延伸 4 s,27 个循环;72  $^{\circ}$ C 延伸 10 min。

每个样本 3 个重复,将同一样本的 PCR 产物混合后用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,使用 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEN 公司)切胶回收 PCR 产物,Tris-HCl 洗脱;2% 琼脂糖电泳检测。

1.3.3 荧光定量 参照电泳定量结果,将 PCR 产物用 QuantiFluor<sup>TM</sup>-ST 蓝色荧光定量系统(Promega 公司)进行检测定量,之后按照每个样本的测序量要求,进行相应比例的混合。

1.3.4 Miseq 测序 根据 Illumina Miseq 测序平台的标准流程进行双端测序。

## 1.4 数据分析

将 Miseq 测序得到的 PE reads 首先根据 overlap 关系进行拼接,再根据 PE reads 之间的 overlap 关系,将成对的 reads 拼接(merge)成 1 条序列,同时对 reads 的质量和 merge 的效果进行质控过滤,根据序列首尾 2 端的 barcode 和引物序列区分样品,得到有效序列,并校正序列方向。过滤读长尾部质量值 20 以下的碱基,设置 50 bp 的窗口,如果窗口内的平均质量值低于 20,从窗口开始截去后端碱基,过滤质控后 50 bp 以下的读长;根据双端读长之间的重叠关系,将成对读长拼接成 1 条序列,最小重叠长度为 10 bp;拼接序列的重叠区允许的最大错配比率为 0.2,筛选不符合序列;根据序列首尾 2 端的条形码和引物区分样品,并调整序列方向,条形码允许的错配数为 0,最大引物错配数为 2;且去掉包含模糊碱基的序列。

区分样本后进行 OTU 聚类分析和物种分类学分析,基于 OTU 可以进行多种多样性指数分析,基于 OTU 聚类分析结果,可以对 OTU 进行多种多样性指数分析,以及对测序深度进行检测;基于分类学信息,可以在各个分类水平上进行群落结构的统计分析。在上述分析的基础上,可以对样本的群落组成进行多元分析和差异显著性检验等一系列统计学和可视化分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤理化性质、总砷、有效砷含量

土壤基本理化性质、总砷、有效砷含量见表 1,从表 1 可以看出,3 组土壤均呈弱碱性。

表 1 供试土壤基本理化性质

处理	pH 值	总氮含量 (g/kg)	总磷含量 (g/kg)	有机质 含量 (g/kg)	总砷含量 (g/kg)	有效砷 含量 (g/kg)
A	7.23	0.74	14.81	11.06	11.20	0.76
B	7.56	0.86	15.12	12.38	20.70	0.91
C	7.83	1.13	17.28	16.18	41.50	1.24

土壤中总氮、总磷、有机质的含量与添加外源砷浓度的变化趋势相同,即随着外源砷浓度的升高,总氮、总磷、有机质的含量逐渐增加。

土壤中总砷含量和有效砷含量均随着土壤中外源砷添加量的增加而增加,其中 B、C 点位总砷含量(pH 值 > 6.5,旱地)超过国家土壤环境质量三级标准(GB 15618—1995《土壤环境质量标准》),分别为质量标准的 1.04 倍、2.08 倍,且 B、C 点位有效砷含量为 A 点位的 1.20 倍、1.63 倍。同时土壤中有有效砷含量占总砷的比例呈下降趋势。

### 2.2 土壤细菌群落结构分析

2.2.1 土壤细菌群落丰富度和  $\alpha$  多样性分析 对不添加外源砷(A1、A2、A3)、添加低浓度外源砷(B1、B2、B3)、添加高浓度外源砷(C1、C2、C3)等不同处理条件下 3 组土壤样品进行 MiSeq 测序,经去杂优化共得到 318 542 条有效序列,平均每个样品的有效序列为 35 394 条;有效碱基数目为 126 410 768,占原始总碱基数目 159 908 084 的 79.05%,平均每个样品为 14 045 641,平均长度为 396.841 496 1。不同处理条件土壤样品细菌测序序列长度分布在 381~420 范围内,其中大多分布于 381~400 之间。以 97% 的相似水平划分标准 OTUs,依据所划分 OTUs,对不同处理下的细菌做  $\alpha$  多样性分析,通过计算丰富度指数和多样性指数,分析不同浓度梯度砷污染对细菌丰富度和多样性的影响。细菌群落丰富度指数用 Ace 指数和 Chao1 指数表示,其值越高说明群落物种丰富度越高<sup>[17-18]</sup>;样品的多样性程度用 Shannon 指数表示,Shannon 指数越高,表明土壤细菌群落多样性越高<sup>[19]</sup>;Simpson 指数能反映物种的优势度<sup>[17,20]</sup>,Simpson 指数值越大代表菌群多样性越低;Coverage 覆盖度指数主要用于指示物种覆盖度表。不同砷浓度处理条件下土壤细菌丰富度和多样性分析结果见表 2。

从表 2 可以看出,不同处理条件下,细菌丰富度指数和多样性指数有明显差异。对土壤丰富度指数而言(Ace 指数和 Chao1 指数),未添加外源砷土壤细菌丰富度指数最高,高浓度砷污染土壤中细菌丰富度指数最低。未添加外源砷条件下,Ace 指数和 Chao1 指数范围分别为 1 698.571~1 743.115,1 719.505~1 772.841;高浓度砷污染土壤条件下,Ace 指数和 Chao1 指数范围分别为 1 376.947~1 420.341,1 306.883~1 448.328。结果表明,随着土壤中砷浓度的提高,土壤中细菌的丰富度指数降低。对多样性指数而言,随着外源砷添加量的提高,土壤中细菌的 Shannon 指数减小,Simpson 指数增大,表明随外源砷添加量提高,土壤细

表 2 97%相似度水平上的细菌 α多样性分析

处理	Ace 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Coverage 指数
A1	1 721.656	1 772.841	6.332 578	0.004 035	0.986 470
A2	1 698.571	1 719.505	6.127 751	0.005 277	0.991 280
A3	1 743.115	1 760.870	6.241 363	0.004 592	0.981 675
B1	1 521.569	1 591.779	6.007 265	0.005 807	0.984 522
B2	1 498.182	1 573.520	6.132 645	0.004 888	0.984 070
B3	1 549.621	1 682.435	6.103 710	0.005 147	0.992 059
C1	1 420.341	1 448.328	5.538 759	0.011 305	0.986 979
C2	1 397.813	1 342.624	5.656 099	0.008 596	0.992 449
C3	1 376.947	1 306.883	5.322 405	0.021 092	0.989 945

菌群落的多样性降低。此外,本次测定 3 组数据的 Coverage 覆盖度指数均接近于百分之百,表明本次测序基本捕捉到了试验区土壤的全部物种信息,能真实反映各灌溉模式下真菌的群落结构。结果表明,外源砷添加降低了土壤细菌群落的丰富度和多样性,且添加量越高,对土壤细菌的丰富度和多样性抑制性越强。

2.2.2 土壤物种多样性曲线 为了进一步分析测序数据的合理性,对土壤样品进行稀释曲线分析。曲线走势平坦表示更多的数据量只会产生少量新 OTUs,以此说明测序数据量合理,并且间接反映物种的丰富程度。本研究所有土壤样品在相似度 97% 条件下的稀释性曲线见图 1。

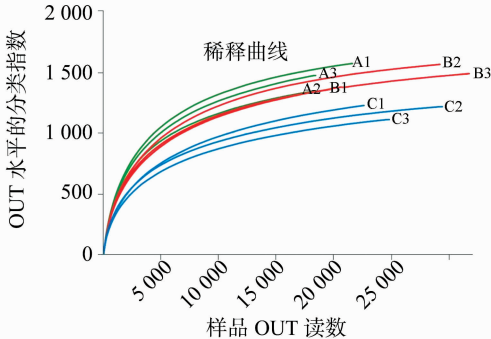


图1 相似度为 97% 条件下不同处理土壤中细菌稀释性曲线

从图 1 可以看出,当测序量数据超过 15 000 之后,稀释曲线逐渐趋于平缓,基本达到饱和,同时相似度为 97% 条件下测得的样品覆盖度在 0.981 7~0.992 4,表明目前的细菌样本测序量数据基本合理,能够真实有效反映不同砷浓度污染条件下土壤中细菌的种类和结构,只有少量细菌群落未被发现。对比不同组别的曲线可知,不同处理条件下根际土壤中细菌 OTUs 数量呈现以下规律:未添加外源砷(A1、A2、A3)>添加低浓度梯度外源砷(B1、B2、B3)>添加高浓度梯度外源砷(C1、C2、C3),表明随着外源砷浓度的升高,对土壤中细菌群落产生影响,但对不同土壤中的影响不同。结果表明,不同处理条件下细菌的稀疏性曲线分析与细菌 α多样性分析结果一致。因此,外源砷能够胁迫影响土壤细菌的丰富度及其多样性。

2.3 土壤细菌类群分析

2.3.1 土壤微生物群落组成总体特征 对土壤样品的细菌 16S rRNA 基因进行了 MiSeq 测序和分类学分析,分类结果见图 2,研究区土壤有细菌 33 门、70 纲、164 目、282 科以及 397

属。其中细菌门(phylum)主要包括变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae),占有土壤样品细菌总量的 90% 以上,除上述细菌门类外,土壤样品中还检测到装甲菌门(Armatimonadetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、Latescibacteria 和热袍菌门(Thermotogae)等的存在,但丰度较低,占细菌总数不足 10%。可以看出,研究区土壤中占主导地位的细菌门为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi),说明这几类菌群对研究区环境有较强的适应性。

分析结果还显示,各样品中还有少量序列未被分归到任何现存的门类中,占序列总数不足 2%,说明研究区土壤中还有未被认知的菌种资源。在优势菌门中,变形菌门(Proteobacteria)在各样品中所占的比例范围为 13.86%~28.90%,酸杆菌门(Acidobacteria)在各样品中所占的比例为 16.56%~24.09%,放线菌门(Actinobacteria)在各样品中所占的比例为 9.63%~28.73%,这 3 个门的菌群在样本群落结构中占主导地位,其中,丰度最大为变形菌门(Proteobacteria)。

2.3.2 不同砷处理条件下土壤细菌群落组成及分布差异分析 采用贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 序列进行分类分析。从图 3 可以看出,不同砷污染浓度梯度条件下土壤中优势菌的结构和相对丰度存在差异。在细菌门分类水平上,未添加外源砷土壤(A1、A2、A3)、添加低浓度外源砷土壤(B1、B2、B3)、添加高浓度外源砷土壤(C1、C2、C3)在细菌菌落种类上的差别并不显著。在 3 种不同外源砷浓度处理方式下,研究土壤中主要包括变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi),这几类细菌为优势菌,所占相对丰度较高,且在该类型处理土壤中变形菌门(Proteobacteria)所占丰度最高;其次是放线菌门(Actinobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria)。此外,浮霉菌门(Planctomycetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)等菌门所占丰度也较高。

但是,3 种不同的处理方式在细菌的相对丰度上有差异性,相比而言,未添加外源砷的土壤中变形菌门(Proteobacteria)相对丰度较添加外源砷的土壤中比例明显降低,而酸杆菌门(Acidobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)在土壤中的丰度表现出相反的趋势,未添加外源砷的土壤中这 2 种菌门的相对丰度明显低于添加外源砷土壤,可能是因为不同菌门对砷的胁迫能力不同。

由图 3 可看出,3 种不同浓度外源砷处理土壤中的优势类群在门水平下的变化水平各不相同。随着土壤中添加外源砷浓度的升高,在门水平下土壤中的优势类群变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)所占的相对丰度基本呈现逐渐增加的趋势,而放线菌门(Actinobacteria)呈现出相反的变化趋势。因此,不同门的细菌类群对外源砷的耐受程度不同,随着外源砷浓度的升高,最终细菌菌门的相对丰度表现出不同的变化趋势。

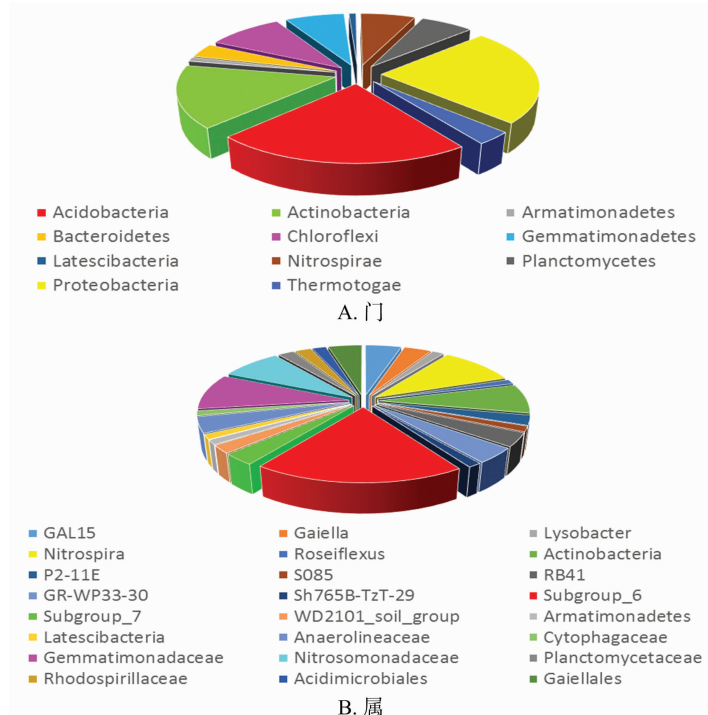


图2 土壤优势细菌在门和属水平上的分布

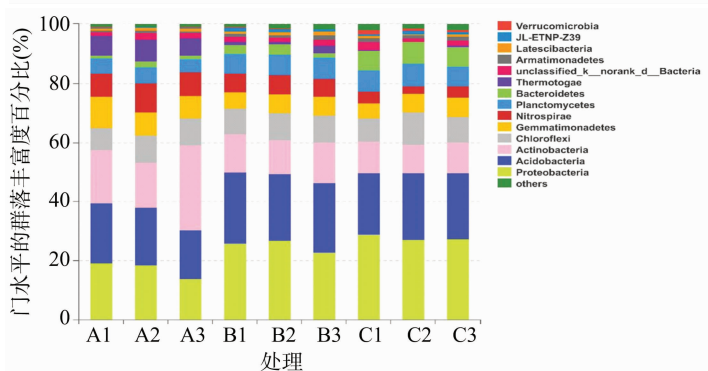


图3 不同处理土壤优势细菌相对丰度(门水平)

2.3.3 OTU 水平细菌的  $\beta$  多样性分析 通过 Bray - curtis 距离,对土壤样品进行树状图(图 4 - A)和主坐标分析(图 4 - B),二者的结果基本相同。图 4 - A 为对原始土壤和添加不同浓度外源砷之后土壤环境中细菌的聚类情况,结果显示,未处理土壤和不同浓度外源砷处理的土壤聚类成 2 个类型,且差异较大,表明 2 种处理之间的 OTU 种类存在差异,说明不同浓度的外源砷对细菌的 OTU 种类有影响,平行之间的差异不明显。

主坐标分析表明(图 4 - B),第 1 坐标阐述了 OTU 水平细菌菌落结构 52.84% 的变异,在 PCoA1 上 A 和 B、C 这 2 种土壤明显分开,由于 2 种不同浓度外源砷处理的土壤存在差异,表明不同浓度的外源砷是导致土壤细菌菌落变异的最主要因素。第 2 坐标阐述了 OTU 水平细菌菌落结构 17.25% 的变异,在 PCoA 2 上 A、B、C 不同处理土壤中的细菌菌落结构均存在差异,处理 A、处理 C 之间差异不明显,处理 B、处理 C 之间差异明显,表明 PCoA 2 坐标也与外源的添加有关。因此,对于土壤细菌菌落结构的变异也源于外源砷的影响。结果分析表明,外源砷对土壤细菌的多样性影响明显,并且高浓

度外源砷对土壤细菌多样性的影响更加明显。

### 3 讨论与结论

#### 3.1 外源砷添加对土壤中有效态砷含量的影响

当外源砷进入土壤环境中后,首先会参与土壤环境中的吸附解吸的过程,并且多种环境因素影响 pH 值、氧化还原电位(Eh)、外源砷浓度、环境温度、土壤质地、矿物组分等土壤介质对砷的吸附能力,土壤环境中的砷浓度越高,越容易把其他离子从胶体等上置换下来<sup>[21]</sup>。李道林等的相关研究指出,在土壤中添加不同浓度的外源砷之后,土壤中砷各种形态均随外源砷的含量的增加而增加<sup>[22]</sup>,本研究结果与此相似,并且在土壤中 As(Ⅲ)、As(V)都以阴离子形式被吸附。

相关研究指出,有效态砷在土壤中占总砷的比例很少,并且以可溶性砷或者吸附在土壤胶体表面的砷的形式存在<sup>[23-25]</sup>,本研究中 3 个不同处理的有效态砷占总砷的比例分别为 6.285 7%、1.980 7%、0.578 3%,即随着外源砷添加浓度的升高,土壤中有效态砷所占的比例逐渐减少。高雪等的研究指出,外源砷进入土壤伴随陈化过程,有效态砷的含量呈



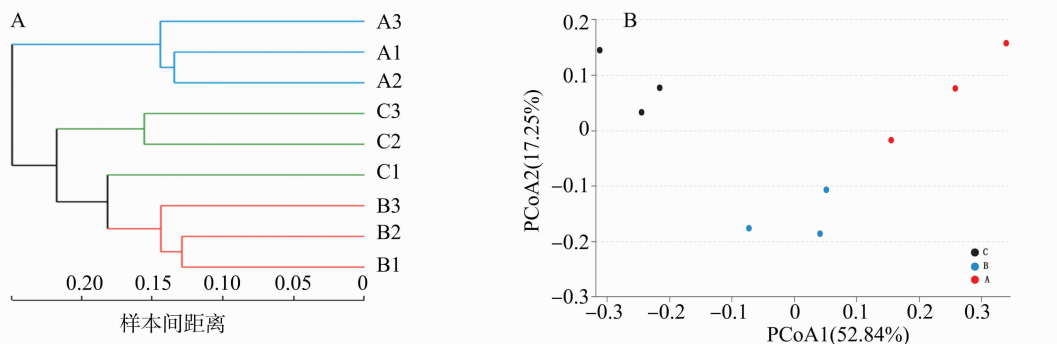


图4 不同样品细菌树状图分析(A)和主坐标分析(B)

现逐渐下降趋势<sup>[26-27]</sup>,本研究结果与此相似,并且土壤 pH 值呈碱性,土壤中的负电荷吸附位点增加,而且土壤中的砷都以阴离子形式被吸附,此外土壤胶体对于外源砷的吸附及其转化产物的吸附、固定是个长期、复杂、缓慢的过程。

### 3.2 外源砷添加对土壤中细菌群落组成与类群差异的影响

外源砷不仅使土壤中总砷含量增加,亦使土壤中有效态砷含量明显增加。利用 Miseq 高通量测序技术分析结果显示,土壤中砷含量的增加明显抑制了土壤细菌的丰富度和多样性。随着砷污染的加剧,土壤中 Shannon - Wiener 指数和丰富度指数均显著性降低,张雪晴等研究发现重金属污染程度的加大,将引起细菌物种数量的下降,并导致细菌群落多样性降低。本研究结果与之一致。

蒋德明等研究发现,砷污染土壤中变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 菌群丰度较高,本研究结果与之一致。砷污染程度的不同直接影响着细菌的相对丰度,这可能是由于不同菌门对砷的胁迫能力不同所造成,Lorenz 等研究结果,砷污染土壤中微生物群落变化发现,变形菌门 (Proteobacteria) 与酸杆菌门 (Acidobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 相比,其对砷有更强的耐受能力<sup>[28-30]</sup>。研究表明,变形菌门 (Proteobacteria) 中部分种属含有三价砷氧化基因 (*aioA* 和 *arrA*)、五价砷还原基因 [*ACR3(1)*] 和将三价砷外排出体内的基因 (*arsB*),这些基因的存在使得微生物对砷具有较高的耐性,从而可以长期在砷污染或高砷污染的土壤或沉积物中形成优势种群<sup>[31-33]</sup>。

本研究以山西省某污灌区土壤及不同浓度的外源砷处理土壤为环境样本,研究利用 Miseq 高通量测序技术系统地分析了 3 种不同浓度的外源砷对污灌区土壤中细菌群落结构的变化和特点。通过比较分析,明确污灌区土壤细菌群落对高浓度外源砷的适应机制,为灌区砷污染土壤的生物修复提供技术支持及指导。主要有以下结论:(1)砷污染程度的加大,将引起细菌物种数量的下降,并导致细菌群落丰富度和多样性降低;(2)污染土壤中变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 菌群丰度较高,不同菌门砷的胁迫能力不同,促使不同砷污染土壤中细菌的相对丰度不同。

### 参考文献:

[1] 孙璐,丛海扬,姚一夫. 土壤砷污染的微生物修复技术研究进展[J]. 污染防治技术,2012,25(4):9-14.

[2] 魏复盛,陈静生,吴燕玉,等. 中国土壤环境背景值研究[J]. 环境科学,1991,12(4):12-19.

[3] Mummey D L, Stahl P D, Buyer J S. Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation[J]. Applied Soil Ecology,2002,21(3):251-259.

[4] 王亚男. 外源砷在土壤中的老化及其对土壤微生物影响的机理研究[D]. 北京:中国农业大学,2016:32-35.

[5] Turpeinen R, Kairesalo T, Häggblom M M. Microbial community structure and activity in arsenic -, chromium - and copper - contaminated soils[J]. FEMS Microbiology Ecology,2004,47(1):39-50.

[6] Giller K E, Witter E, Mcgrath S P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils:a review[J]. Soil Biology & Biochemistry,1998,30(10/11):1389-1414.

[7] Pearson A, Menichol A P, Benitez - Nelson B C, et al. Origins of lipid biomarkers in Santa Monica Basin surface sediment:a case study using compound - specific  $\Delta^{14}\text{C}$  analysis [J]. Geochimica et Cosmochimica Acta,2001,65(18):3123-3137.

[8] Edvantoro B B, Naidu R, Megharaj M, et al. Changes in microbial properties associated with long - term arsenic and DDT contaminated soils at disused cattle dip sites[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety,2003,55(3):344-351.

[9] Wuchter C, Schouten S, Boschker H T, et al. Bicarbonate uptake by marine Crenarchaeota [J]. FEMS Microbiology Letters,2003,219(2):203-207.

[10] Treusch A H, Leininger S, Kletzin A, et al. Novel genes for nitrite reductase and Amo - related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling [J]. Environmental Microbiology,2005,7(12):1985-1995.

[11] Liao M, Xie X M. Effect of heavy metals on substrate utilization pattern, biomass, and activity of microbial communities in a reclaimed mining wasteland of red soil area[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety,2007,66(2):217-223.

[12] Zhao Y, Fang X, Mu Y, et al. Metal pollution (Cd,Pb,Zn, and As) in agricultural soils and soybean, glycine max, in southern China [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2014,92(4):427-432.

[13] 段学军,盛清涛. 土壤重金属污染的微生物生态效应[J]. 中原工学院学报,2005,16(1):1-4,8.

[14] 吴佳,谢明吉,杨倩,等. 砷污染微生物修复的进展研究[J]. 环境科学,2011,32(3):817-824.

[15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社,2000:1-4,8.

- (1):100-103.
- [2] Cromartie E, Reichel W L, Locke L N, et al. Residues of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls and autopsy data for bald eagles[J]. Pesticides Monitoring Journal, 1975, 9(1): 11-14.
- [3] Kutz F W, Wood P H, Bottimore D P. Organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue[M]//Reviews of environmental contamination and toxicology. New York: Springer, 1991:1-82.
- [4] Yang Y Y, Toor G S, Williams C F. Pharmaceuticals and organochlorine pesticides in sediments of an urban river in Florida, USA[J]. Journal of Soils and Sediments, 2015, 15(4): 993-1004.
- [5] Eqani S A M A S, Malik R N, Cincinelli A, et al. Uptake of organochlorine pesticides (OCPs) and polychlorinated biphenyls (PCBs) by river water fish: the case of River Chenab[J]. Science of the Total Environment, 2013, 450: 83-91.
- [6] Ali U, Syed J H, Malik R N, et al. Organochlorine pesticides (OCPs) in South Asian region: a review [J]. Science of the Total Environment, 2014, 476: 705-717.
- [7] Barakat A O, Khairy M, Aukaily I. Persistent organochlorine pesticide and PCB residues in surface sediments of Lake Qarun, a protected area of Egypt[J]. Chemosphere, 2013, 90(9): 2467-2476.
- [8] 安琼,董元华,王辉,等. 苏南农田土壤有机氯农药残留规律[J]. 土壤学报, 2004, 41(3): 414-419.
- [9] 安琼,董元华,王辉,等. 南京地区土壤中有机氯农药残留及其分布特征[J]. 环境科学学报, 2005, 25(4): 470-474.
- [10] 龚钟明,曹军,朱雪梅,等. 天津市郊污灌区农田土壤中的有机氯农药残留[J]. 农业环境保护, 2002, 21(5): 459-461.
- [11] 赵玲,马永军. 有机氯农药残留对土壤环境的影响[J]. 土壤, 2001, 33(6): 309-311.
- [12] 游远航,祁士华,叶琴,等. 土壤环境有机氯农药残留的研究进展[J]. 资源环境与工程, 2005, 19(2): 115-119.
- [13] 张红艳,高如泰,江树人,等. 北京市农田土壤中有机氯农药残留的空间分析[J]. 中国农业科学, 2006, 39(7): 1403-1410.
- [14] 蒋煜峰,王学彤,孙阳昭,等. 上海市城区土壤中有机氯农药残留研究[J]. 环境科学, 2010, 31(2): 409-414.
- [15] 赵中华,张路,于鑫,等. 太湖表层沉积物中有机氯农药残留及遗传毒性初步研究[J]. 湖泊科学, 2008, 20(5): 579-584.
- [16] 李炳华,任仲宇,陈鸿汉,等. 太湖流域某农业区浅层地下水有机氯农药残留特征初探[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(5): 1714-1718.
- [17] 袁旭音,王禹,陈骏,等. 太湖沉积物中有机氯农药的残留特征及风险评估[J]. 环境科学, 2003, 24(1): 121-125.
- [18] 史双昕,周丽,邵丁丁,等. 北京地区土壤中有机氯农药类 POPs 残留状况研究[J]. 环境科学研究, 2007, 20(1): 24-29.
- [19] 孙可,刘希涛,高博,等. 北京通州灌区土壤和河流底泥中有机氯农药残留的研究[J]. 环境科学学报, 2009, 29(5): 1086-1093.
- [20] 张瑜,吴以中,宗良纲,等. POPs 污染场地土壤健康风险评估[J]. 环境科学与技术, 2008, 31(7): 135-140.
- (上接第 246 页)
- 版社, 2000: 20-25.
- [16] 黄瑞卿,王果,汤榕雁,等. 酸性土壤有效砷提取方法研究[J]. 农业环境科学学报, 2005, 24(3): 610-615.
- [17] Chao A. Nonparametric estimation of the number of classes in a population[J]. Scandinavian Journal of Statistics, 1984, 11(4): 265-270.
- [18] 赵彤. 宁南山区植被恢复工程对土壤原位矿化中微生物种类和多样性的影响[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2014: 20-25.
- [19] 王伏伟,王晓波,李金才,等. 施肥及秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(10): 1302-1311.
- [20] 张薇,胡跃高,黄国和,等. 西北黄土高原柠条种植区土壤微生物多样性分析[J]. 微生物学报, 2007, 47(5): 751-756.
- [21] 王忠全,游植麟,廖宗文. 土壤砷的吸持研究[J]. 农业环境保护, 1996, 15(6): 274-276.
- [22] 李道林,程磊. 砷在土壤中的形态分布与青菜的生物学效应[J]. 安徽农业大学学报, 2000, 27(2): 131-134.
- [23] Onken B M, Adriano D C. Arsenic availability in soil with time under saturated and subsaturated conditions[J]. Soil Science Society of America Journal, 1997, 61(3): 746-752.
- [24] 王援高,陆景冈,潘洪明. 茶园土壤砷的形态研究[J]. 浙江农业大学学报, 1999, 25(1): 10-12.
- [25] 魏显有,王秀敏,刘云慧. 土壤中砷的吸附行为及其形态分布研究[J]. 河北农业大学学报, 1999, 22(3): 28-30.
- [26] 高雪,王亚男,曾希柏,等. 外源 As(Ⅲ)在不同母质发育土壤中的老化过程[J]. 应用生态学报, 2016, 27(5): 1453-1460.
- [27] Yang J K, Barnett M O, Zhuang J, et al. Adsorption, oxidation, and bioaccessibility of As(Ⅲ) in soils[J]. Environmental Science & Technology, 2005, 39(18): 7102-7110.
- [28] Lorenz N, Hintemann T, Kramarewa T, et al. Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2006, 38(6): 1430-1437.
- [29] Elshahed M S, Youssef N H, Spain A M, et al. Novelty and uniqueness patterns of rare members of the soil biosphere[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(17): 5422-5428.
- [30] Sheik C S, Mitchell T W, Rizvi F Z, et al. Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e40059.
- [31] Achour A R, Bauda P, Billard P. Diversity of arsenite transporter genes from arsenic-resistant soil bacteria[J]. Research in Microbiology, 2007, 158(2): 128-137.
- [32] Costa P S, Scholte L L, Reis M P, et al. Bacteria and genes involved in arsenic speciation in sediment impacted by long-term gold mining[J]. PLoS One, 2014, 9(4): e95655.
- [33] Poirel J, Joulian C, Leyval C, et al. Arsenite-induced changes in abundance and expression of arsenite transporter and arsenite oxidase genes of a soil microbial community[J]. Research in Microbiology, 2013, 164(5): 457-465.