

稻虾共作水域沉积物有机磷农药残留特征及其对磷循环驱动机制

瞿梦洁, 韩玉成, 万智鹏, 谭艳, 安珈奇, 梅运军, 刘广龙

引用本文:

瞿梦洁, 韩玉成, 万智鹏, 谭艳, 安珈奇, 梅运军, 刘广龙. 稻虾共作水域沉积物有机磷农药残留特征及其对磷循环驱动机制[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(2): 434–442.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0607>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

长期施无机磷肥对黄泥土稻田土壤磷库的影响

许琛, 沈素素, 何竹, 王宁, 周贝贝, 沈明星, 施林林, 薛利红

农业环境科学学报. 2022, 41(11): 2506–2514 <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-0153>

磷高效转基因水稻OsPT4根际高效解有机磷细菌的分离鉴定

张乐, 张思宇, 王亚露, 李刚, 杨殿林, 赵建宁

农业环境科学学报. 2022, 41(4): 834–840 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0936>

会仙湿地水体有机磷农药污染特征及生态风险

张健威, 曾莎莎, 梁延鹏, 覃礼堂, 曾鸿鹄, 马诚佑

农业环境科学学报. 2021, 40(9): 1990–1997 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0208>

具毒死蜱降解功能的水稻内生菌降解特性及应用

卢映菲, 马丽雅, 张召贤, 孙星, 葛静, 吴祥为, 余向阳

农业环境科学学报. 2022, 41(12): 2763–2771 <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1193>

养殖肥液灌溉土壤磷淋失阻控: 镧改性生物炭

赵迪, 张理胜, 罗元, 张克强, 王凤

农业环境科学学报. 2021, 40(11): 2574–2581 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-1027>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

瞿梦洁, 韩玉成, 万智鹏, 等. 稻虾共作水域沉积物有机磷农药残留特征及其对磷循环驱动机制[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(2): 434-442.

QU M J, HAN Y C, WAN Z P, et al. Iron-based biochar sponge and submerged plant synergistic purification on nitrogen and phosphorus in water[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2023, 42(2): 434-442.



开放科学 OSID

稻虾共作水域沉积物有机磷农药残留特征及其对磷循环驱动机制

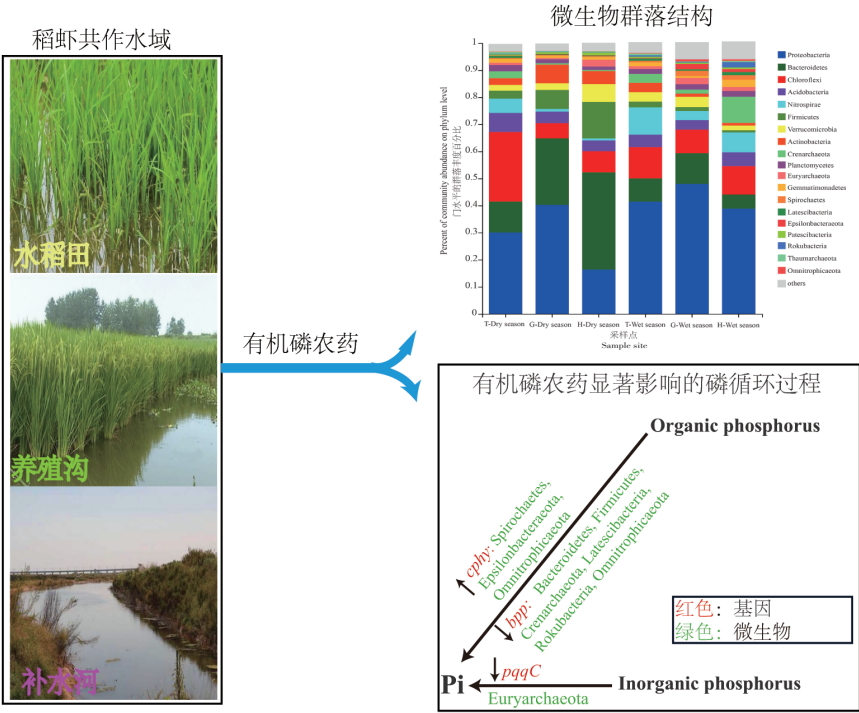
瞿梦洁^{1,2}, 韩玉成¹, 万智鹏¹, 谭艳¹, 安珈奇², 梅运军¹, 刘广龙^{2*}

(1. 武汉轻工大学化学与环境工程学院, 武汉 430023; 2. 华中农业大学资源与环境学院, 武汉 430070)

摘要:为探明稻虾共作水域有机磷农药对磷循环的驱动机制,本试验采用野外采样与室内分析相结合的方式,测定沉积物中有机磷农药含量、微生物群落结构和磷循环功能基因丰度,并利用冗余分析(RDA)和Spearman相关性检验分析有机磷农药与磷循环功能基因的关系。结果表明:沉积物中乐果检出率最高,达到97.22%,其次为敌敌畏达到22.22%,甲基对硫磷为2.78%,马拉硫磷和毒死蜱均未检出。在枯水期和丰水期,沉积物中乐果含量分别达到1.42 mg·kg⁻¹和0.46 mg·kg⁻¹,敌敌畏含量分别达到1.37 mg·kg⁻¹和0.05 mg·kg⁻¹;在所有沉积物中,最主要的磷循环过程为ppx基因参与Proteobacteria和Omnitrophicaeota作用下的多聚磷酸盐水解,phoD基因参与有机磷矿化,phnK基因参与Gemmatimonadetes作用下的磷酸盐利用;有机磷农药并未影响最主要的磷循环过程,但是乐果含量增加极显著增加了cphy基因(半胱氨酸植酸酶)的数量(P<0.01),敌敌畏含量增加显著降低了pqqC基因(吡咯啉-酮合成酶)和bpp基因(β-螺旋桨植酸酶)的数量(P<0.05)。研究表明,在稻虾共作水域沉积物中,有机磷农药乐果和敌敌畏主要通过改变无机磷溶溶作用和植酸盐矿化作用来影响磷循环进程。

关键词: 稻虾共作水域; 有机磷农药; 磷循环; 微生物; 功能基因

中图分类号: X52 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2023)02-0434-09 **doi:**10.11654/jaes.2022-0607



收稿日期: 2022-06-17 录用日期: 2022-09-13

作者简介: 瞿梦洁(1990—), 女, 博士, 讲师, 从事水污染物控制研究。E-mail: qumengjie2020@163.com

*通信作者: 刘广龙 E-mail: liugl@mail.hzau.edu.cn

基金项目: 湖北省教育厅科学研究计划项目(Q20211601)

Project supported: Research Project of Hubei Provincial Department of Education, China(Q20211601)

Residual characteristics of organophosphorus pesticides in sediments of rice–crayfish water and mechanisms driving phosphorus cycling

QU Mengjie^{1,2}, HAN Yucheng¹, WAN Zhipeng¹, TAN Yan¹, AN Jiaqi², MEI Yunjun¹, LIU Guanglong^{2*}

(1. School of Chemical and Environmental Engineering, Wuhan Polytechnic University, Wuhan 430023, China; 2. College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: To investigate the mechanisms through which organophosphorus pesticides drive the phosphorus cycle in rice–crayfish water, we used a combination of field sampling and indoor analysis to determine the organophosphorus pesticide contents, microbial community structure, and phosphorus cycle functional gene abundance in sediments, and we analyzed the relationship between organophosphorus pesticides and functional phosphorus–cycle genes using redundancy analysis (RDA) and Spearman correlation test, and that the highest detection rates were 97.22% for dimethoate, 22.22% for dichlorvos, 2.78% for parathion–methyl; we did not detect malathion or chlorpyrifos was not detected in the sediment. During the dry and wet periods, the sediment concentrations reached $1.42 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $0.46 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for dimethoate and $1.37 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ and $0.05 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ for dichlorvos, respectively. In all sediments, the most important phosphorus cycling processes were as follows: the *ppx* gene was involved in the hydrolysis of polyphosphate by Proteobacteria and Omnitrophiaeota, the *phoD* gene was involved in organophosphorus mineralization, and the *phnK* gene was involved in phosphate use by Gemmatimonadetes. Organophosphorus pesticides did not affect the most important phosphorus cycling processes, but an increase in the concentration of dimethoate significantly increased the expression of *cphy* (cysteine phosphatase phytase) genes ($P < 0.01$). An increase in the concentration of dichlorvos significantly decreased the expressions of *pqqC* (pyrroloquinoline–quinone synthase) and *bpp* (β –propeller phytase–propeller phytase) genes ($P < 0.05$). Therefore, in the sediments of rice–crayfish water, organophosphorus pesticides dimethoate and dichlorvos affected the phosphorus cycling process mainly by altering inorganic phosphorus solubilization and phytate mineralization.

Keywords: rice–crayfish water; organophosphorus pesticide; phosphorus cycle; microorganism; functional gene

稻虾共作(水稻–克氏原螯虾)是我国长江中下游地区常见的稻田复合种养模式,即在稻田中养殖小龙虾并种植水稻^[1]。稻虾共作农田中有机磷农药的来源主要有两种:之前种植方式残留的有机磷农药;直接用于防治水稻和小龙虾病虫害的低毒有机磷农药^[2]。农田中的有机磷农药会随降雨或地表径流进入到附近水域。在使用过有机磷农药地区的土壤和地表水中都已检测到该物质的残留^[3]。在西班牙埃布罗河流域,沉积物中检出的有机磷农药有毒死蜱、二嗪农、双氯芬硫磷、乙硫磷和马拉硫磷,其总量最高达到 $0.23 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[4]。我国上海崇明区水稻田土壤检测出的有机磷农药包括甲拌磷、乐果、二嗪农、马拉硫磷和对硫磷,其总量为 $0.23 \sim 0.69 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[5]。这些残留物质会造成水环境污染、抗药性和农药残留等问题^[6–7]。目前,有关稻虾共作水域有机磷农药的研究还比较少见。因此,测定稻虾共作水域有机磷农药残留量,对稻虾共作模式下水环境的生态风险评估具有重要意义^[8–9]。

有机磷农药会导致土壤微生物群落结构和酶活性发生一定程度的改变。有机磷杀虫剂硫代磷酸酯的反复施用,会改变土壤微生物的群落结构,使得 *Burkholderia* 在土壤中占主导地位^[10]。毒死蜱会抑制

磷酸盐增溶细菌的生长^[11]。此外,有机磷农药的反复和大量施用会造成微生物种群、酶活性、矿物质循环和呼吸作用的显著减少,改变植物根际促生菌的各种功能,从而影响农作物的生长状况和产量^[12]。农药还可能抑制磷循环中涉及的酶的活性^[13]。这些研究结果表明,有机磷农药可能改变稻虾共作水域磷循环进程,从而影响水稻的产量和农田水域的富营养化进程^[14]。

稻虾共作水域主要包括稻田、养殖沟和补水河水体。本实验选取长江中下游地区的典型稻虾共作水域为研究靶区,在不同降雨期,通过野外采样与室内分析相结合的方式,测定稻虾共作水域有机磷农药的残留情况,分析沉积物中微生物和功能基因参与下的磷循环过程,并结合磷循环功能基因的测定结果,探究有机磷农药对沉积物中磷循环的驱动机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

供试沉积物:湖北省监利市位于长江中游,属于亚热带季风气候,年日照时数 $1\,800 \sim 2\,000 \text{ h}$,年平均气温 $15.9 \sim 16.6 \text{ }^{\circ}\text{C}$,年降雨量在 $1\,100 \sim 1\,300 \text{ mm}$ 之间,有足够的气候资源供农作物生长。监利市是小龙虾

稻田野生寄养发源地之一,目前,监利市的稻虾共作种养面积达到17.2万 hm^2 。本研究的供试沉积物采自湖北省监利市分盐镇的稻虾共作水域。采样点分布如图1所示。稻虾共作农田中农药的使用高峰期是每年的6—10月,一般选择低毒高效的农药。选取监利市的枯水期和丰水期,具体采样日期分别为2021年3月1日和2021年7月1日,采样之前均有过降雨^[15]。每次采样分别选取6个水稻田采样点(T1、T2、T3、T4、T5和T6)、6个养殖沟采样点(G1、G2、G3、G4、G5和G6)和6个补水河采样点(H1、H2、H3、H4、H5和H6),共18个采样点,每个采样点采集2个样品。使用Peterson采泥器(长、宽、高分别为21、15、11 cm)采集0~11 cm沉积物样品,部分样品采回后放置于4℃冰箱保存,用于理化性质测定,其余部分样品置于-40℃冰箱用于DNA提取。

有机磷农药标准品:乐果(Dimethoate)、敌敌畏(Dichlorvos)、甲基对硫磷(Parathion-methyl)、马拉硫磷(Malathion)、毒死蜱(Chlorpyrifos)5种有机磷农药标准品均购于上海阿拉丁生化科技股份有限公司,纯度 $\geq 99.5\%$ 。

1.2 测定方法

1.2.1 沉积物理化性质的测定

沉积物的pH值用氯化钾浸提法测定,有效磷含量采用 $\text{HClO}_4\text{--H}_2\text{SO}_4$ 消煮法测定,有机质(OM)含量采用重铬酸钾外加热法测定^[16]。沉积物间隙水中磷

酸盐含量的测定采用钼锑抗分光光度法。

1.2.2 有机磷农药含量测定

称取3.00 g冻干沉积物样品于50 mL离心管中,加10 mL色谱纯甲醇(上海阿拉丁生化科技股份有限公司,中国)。在 $200\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、25℃下充分振荡30 min。将离心管振荡后静置10 min,以 $4\,800\times g$ 的转速离心10 min,将上清液倒入100 mL锥形瓶中。向离心管中再加入10 mL甲醇,相同条件超声、离心、合并离心液。将两次的离心液用定量滤纸过滤,将滤液用氮吹仪吹至近干,然后用甲醇定容至3 mL,用HLB固相萃取小柱(60 mg/3 mL, Waters, 美国)净化,过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 有机微孔滤膜后用高效液相色谱法(HPLC)测定。检测条件:甲醇和水作为流动相,其体积比为68.5:31.5,流动相流速为 $0.6\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,紫外检测器的波长为225 nm,进样量为 $20\text{ }\mu\text{L}$,检出限为 $5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。高效液相色谱仪的型号为Agilent Technologies 1200 Series,色谱柱为Agilent Zorbax SB C18 ($4.6\text{ mm}\times 150\text{ mm}, 5\text{ }\mu\text{m}$)。

1.2.3 沉积物微生物多样性测定

称取湿质量为0.45 g的沉积物样品,使用FastDNA Spin Kit for Soil 试剂盒(Mpbio, Carlsbad, CA, 美国)提取沉积物DNA。试剂盒中的Lysing Matrix E管中含有的陶瓷和二氧化硅颗粒混合物用于裂解所有微生物,MT缓冲液和磷酸钠缓冲液用来促进所有样品的均质化和蛋白质溶解,特有的二氧化硅基质被用

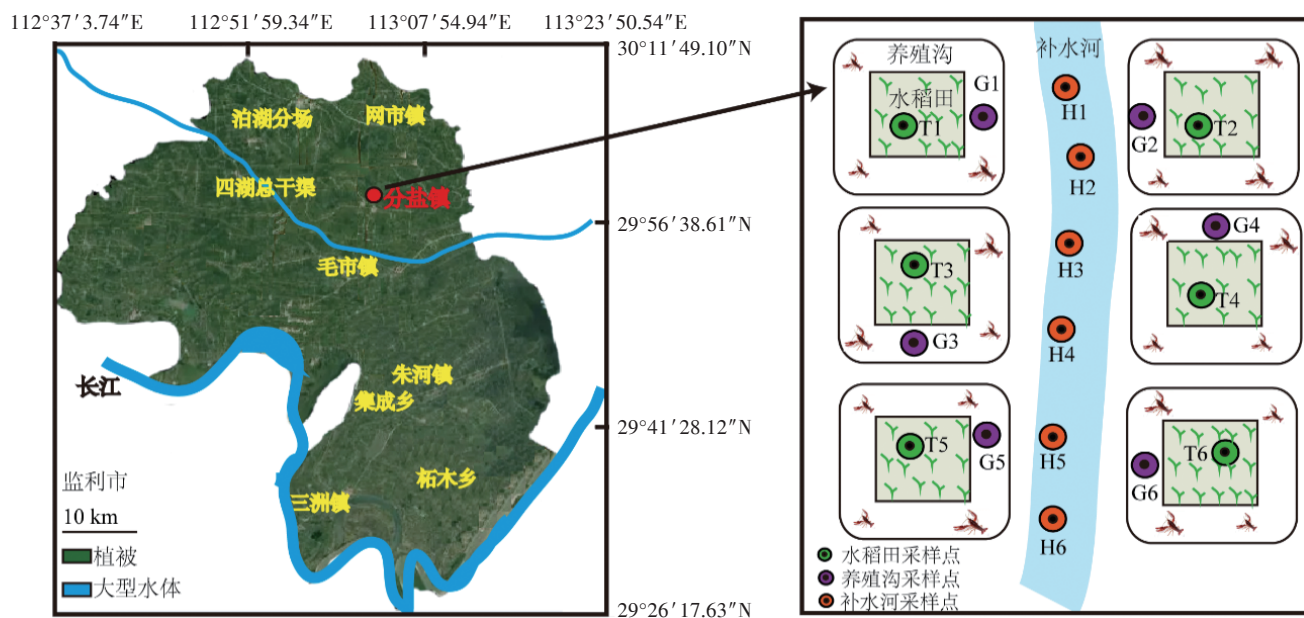


图1 稻虾共作水域沉积物采样点分布图

Figure 1 Distribution of sediment sampling sites in rice-crayfish waters

来纯化DNA并消除会抑制后续反应的污染物。使用Nanodrop microvolume spectrophotometer(Thermo Fisher Scientific, Wilmington, Delaware, 美国)测定DNA的纯度和浓度。使用GeneAmpPCR System 9700(ABI, 美国)对DNA进行扩增,扩增的16S rRNA基因区域为V4,采用的引物为515F和806R。PCR反应条件如下:94℃ 5 min;94℃ 30 s,52℃ 30 s,72℃ 30 s,30个循环;72℃下扩展10 min。本实验以超纯水作为阴性对照,无阳性对照。使用聚类程序VSEARCH(1.9.6)将序列分类为操作分类单位(Operational Taxonomic Units, OTUs),序列的同一性≥97%。使用具有80%阈值的RDP数据库对代表性OTUs的序列进行分类,预测到细菌的门水平和种水平。为质量过滤和质量加丰度过滤的数据集生成稀疏曲线,以观察采样效率。使用Mothur计算α多样性指数,以观测各个样本的内部复杂度。

1.2.4 沉积物中磷循环功能基因的定量PCR检测

一种基于PCR的高通量定量芯片被用来评估微生物功能潜力,其中包括8个磷循环功能基因(*ppk*、*phoD*、*phoX*、*pqqC*、*bpp*、*phnK*、*cphy*、*ppx*)和1个16S rRNA基因^[17]。将检测合格的DNA样品和定量PCR所用的试剂添加至384孔板作为样品板,同时将引物和qPCR所用的试剂添加至另一384孔板作为引物。将样品板和引物试剂添加至高通量定量PCR芯片的纳米孔中,在SmartChip Real-Time PCR System中进行定量PCR扩增。对于每个引物组,所有qPCR反应一式三份,非模板对照为阴性对照。PCR反应条件如下:94℃ 5 min;94℃ 30 s,52℃ 40 s,72℃ 40 s,30个循环,72℃下扩展5 min。

1.3 数据分析

使用Microsoft Excel处理数据,并用SPSS 16.0 (IBM, 美国)进行数据的方差分析。采用美格云平台

(<http://cloud.magigene.com/>)绘制微生物群落组成图和磷循环功能基因分布图。使用CANOCO software (v. 4.5)进行冗余分析(RDA)。使用R. 4.1.3进行Spearman相关性检验。数据均为每组处理的平均值±标准差。

2 结果与讨论

2.1 沉积物中有机磷农药含量

各采样点沉积物的理化性质如表1所示。从pH来看,所有采样点pH范围为6.54~7.30,枯水期沉积物pH显著高于丰水期沉积物pH($P<0.05$)。在水稻田中,丰水期沉积物pH的降低可能是由于无机化肥施用所导致的土壤酸化。枯水期沉积物有效磷和磷酸盐含量分别为0.45~1.42 mg·kg⁻¹和0.028~0.129 mg·L⁻¹,丰水期沉积物有效磷和磷酸盐含量分别为0.11~0.38 mg·kg⁻¹和0.012~0.072 mg·L⁻¹。丰水期的有效磷含量整体低于枯水期($P<0.05$),可能是由于雨水冲淡了沉积物中有效磷和磷酸盐含量,同时水稻和水生植物生长摄取了大量的磷,导致沉积物中有效磷和磷酸盐含量的下降^[18]。从有机质含量来看,枯水期的养殖沟沉积物中有机质含量显著高于丰水期($P<0.05$),表明小龙虾排泄物提高了沉积物有机质含量。

稻虾共作水域沉积物中有机磷农药的检出量如图2所示,其中乐果检出率最高,达97.22%,其次为敌敌畏达到22.22%,甲基对硫磷为2.78%,马拉硫磷和毒死蜱均未检出。不同降雨期有机磷农药含量不同。在枯水期,稻田、养殖沟和补水河中乐果含量分别为0~0.68、0.23~1.29 mg·kg⁻¹和0~1.42 mg·kg⁻¹。此时,只在养殖沟的G1采样点同时检测到乐果、敌敌畏和甲基对硫磷,其含量分别达到1.29、1.37 mg·kg⁻¹和0.81 mg·kg⁻¹;在丰水期,稻田、养殖沟和补水河中乐果的含量分别为0.07~0.46、0.003~0.08 mg·kg⁻¹和

表1 沉积物的理化性质
Table 1 Physicochemical properties of sediments

采样期 Sampling period	采样点 Sampling site	pH	有效磷 Available phosphorus/(mg·kg ⁻¹)	磷酸盐 Phosphate/(mg·L ⁻¹)	有机质 Organic matter/(mg·kg ⁻¹)
枯水期 Dry season	稻田(n=12)	7.16±0.10a	0.54±0.07bc	0.044±0.010b	18.11±5.59ab
	养殖沟(n=12)	7.09±0.12a	1.08±0.25a	0.046±0.007b	21.59±2.11a
	补水河(n=12)	7.03±0.09a	0.70±0.17b	0.093±0.022a	18.75±5.19ab
丰水期 Wet season	稻田(n=12)	6.72±0.12b	0.19±0.07d	0.025±0.008b	13.60±4.30ab
	养殖沟(n=12)	6.78±0.04b	0.32±0.05cd	0.025±0.013b	12.61±2.84b
	补水河(n=12)	6.83±0.09b	0.29±0.09d	0.040±0.021b	14.93±2.61ab

注:不同小写字母表示不同采样点间具有显著差异($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant differences among sampling sites ($P<0.05$).

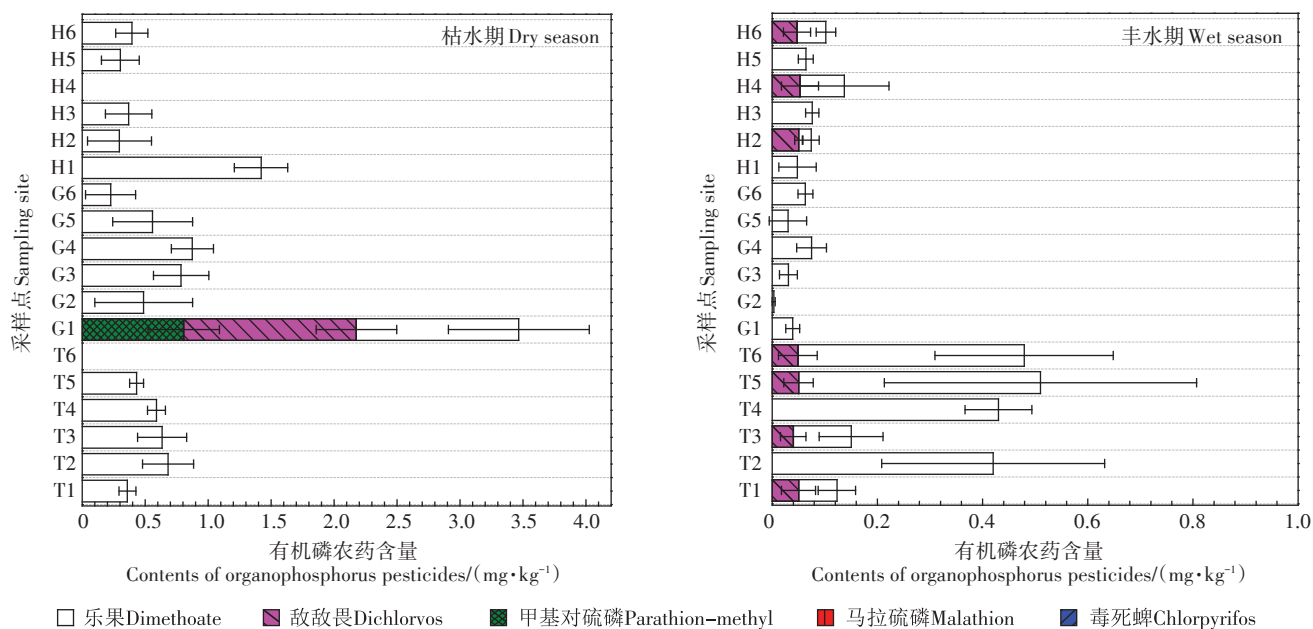


Figure 2 Concentration of organophosphorus pesticides in sediment at different sampling points

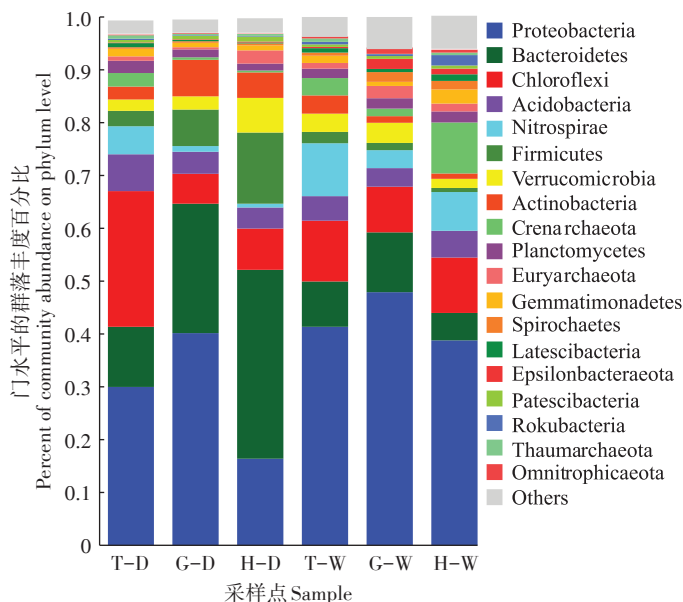
0.02~0.08 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。在稻田和补水河沉积物中检测到了敌敌畏,其含量均达到0.05 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。一般在每年6月份种植水稻,此时农药施用量较大,所以丰水期稻田沉积物中有机磷农药含量较高,随着时间推移,有机磷农药发生了光解、水解或微生物降解,因此枯水期有机磷农药含量下降^[19]。在水稻种植之后,水稻田中有机磷农药可能随灌溉、降雨和径流进入到养殖沟中,部分未降解的有机磷农药会积累在沉积物中,导致枯水期养殖沟有机磷农药含量的升高^[20]。作为农田汇水区,补水河中会长期积累大量有机磷农药,从而使得有机磷农药在不同降雨期均维持在一定浓度。

2.2 沉积物中微生物和功能基因参与的磷循环过程

通过高通量测序测定了不同降雨期稻田、养殖沟和补水河水体沉积物中的微生物多样性。微生物的Simpson、Chao和Shannon指数分别代表了主要微生物种群的大小、微生物丰度和微生物多样性。稻田和养殖沟沉积物的Simpson指数范围为0.003~0.004,显著低于补水河沉积物(0.009~0.028, $P < 0.05$)。所有沉积物的Chao指数水平在4 021~5 660之间。同时,沉积物中的Shannon指数范围为5.75~7.22。各采样点沉积物的细菌群落结构组成如图3所示,T-D、G-D和H-D分别代表枯水期采集的水稻田、养殖沟和补水河沉积物,T-W、G-W和H-W分别代表丰水期采集的水稻田、养殖沟和补水河沉积物。Proteobacteria、Bacteroidetes、Chloroflexi、Acidobacteria、Nitrospirae、

Firmicute、Verrucomicrobia、Actinobacteria和Crenarchaeota占沉积物中细菌总数的80%以上。其中Proteobacteria(16.39%~48.00%)是所有沉积物中的主要菌门。作为水稻田和养殖沟中最主要的菌门,Proteobacteria能参与稻虾共作农田中的各种生物地球化学过程^[21]。在枯水期沉积物中,Bacteroidetes(11.42%~35.87%)所占比例低于丰水期沉积物(5.18%~11.35%),表明Bacteroidetes丰度会随着水稻田水量的增加而增加。在沉积物中,Chloroflexi和Acidobacteria的比例分别达到25.71%和7.00%的峰值。其他相对含量较低的菌门分别是Nitrospirae(0.72~10.06%)、Firmicute(0.79~13.49%)、Verrucomicrobia(1.74~6.55%)、Actinobacteria(0.97~6.89%)和Crenarchaeota(0.38~9.70%)。

为了揭示沉积物中的磷循环过程,测定了磷循环功能基因的基因丰度:*cphy*(半胱氨酸植酸酶)、*ppx*(外切聚磷酸酶)、*phoD*(碱性磷酸酶D)、*phnK*(磷酸盐运输系统ATP结合蛋白)、*pqqC*(吡咯啉-酮合成酶)、*phoX*(碱性磷酸酶)、*ppk*(聚磷酸酯激酶)和*bpp*(β -螺旋桨植酸酶)。如图4A所示,在所有沉积物中,*ppx*、*phoD*和*phnK*基因丰度最高,分别为1 470.89~27 437.99、3 173.23~11 969.19 $\text{copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 和7 638.96~11 616.18 $\text{copies} \cdot \mu\text{L}^{-1}$,基因*cphy*、*pqqC*、*phoX*、*ppk*和*bpp*的丰度均较低。稻虾共作水域沉积物中磷循环功能基因的种类与草原土壤和休耕土壤相似,但是高丰度基因种



T-D, G-D and H-D 分别代表枯水期采集的水稻田、养殖沟和补水河沉积物, T-W, G-W 和 H-W 分别代表丰水期采集的水稻田、养殖沟和补水河沉积物。下同

T-D, G-D, and H-D represent the sediments of rice fields, breeding ditches, and recharge river collected during the dry season, respectively. T-W, G-W, and H-W represent the sediments of rice fields, breeding ditches, and recharge river collected during the wet season, respectively.

The same below

图3 不同沉积物中主要菌门的相对丰度

Figure 3 Relative abundances of the dominant microbial phyla in sediments

类不同于这两种土壤^[22]。与枯水期沉积物相比,丰水期沉积物中的 *ppx* 基因丰度显著增加 ($P<0.05$)。 *ppx* 基因能促使微生物将聚合态磷水解成无机磷^[23]。丰

水期沉积物中磷酸盐含量较低,但是作物对磷酸盐的需求量更大,此时微生物可能通过增加 *ppx* 基因的数量,促进多聚磷酸盐水解成磷酸盐来满足农田水域中磷酸盐的需求^[24-25]。因此,在沉积物类型影响磷循环功能基因丰度的同时,降雨量变化也会导致磷酸盐转化基因 *ppx* 丰度的改变。

通过 Spearman 相关性分析,得到磷循环基因与微生物的相关性,再结合磷循环功能基因的作用,得到稻虾共作水域沉积物中磷循环过程、磷循环功能基因和微生物的关系图^[26]。如图 4B 所示,丰度最高的 *ppx* 基因与 Proteobacteria 和 Omnitrophicaeota 显著相关 ($P<0.05$), *phoD* 基因丰度与微生物无显著相关性 ($P>0.05$), *phnK* 基因与 Gemmatimonadetes 呈极显著相关 ($P<0.01$)。低丰度的 *cphy* 基因与 Spirochaetes、Epsilonbacteraeota 和 Omnitrophicaeota 显著相关 ($P<0.05$), *pqqC* 基因与 Euryarchaeota 显著相关 ($P<0.05$), *phoX* 基因与 Euryarchaeota 显著相关 ($P<0.05$), *ppk* 基因与 Actinobacteria 极显著相关 ($P<0.01$), *bpp* 基因与 Bacteroidetes、Firmicutes、Crenarchaeota、Latescibacteria、Rokubacteria 和 Omnitrophicaeota 显著相关 ($P<0.05$)。有报道称 *ppx* 基因存在于 Proteobacteria 和 Actinobacteria 中,本研究的 *ppx* 基因可能不仅来自于 Proteobacteria,而且还来自于 Omnitrophicaeota^[27]。 *phoD* 基因存在于 Gemmatimonadetes 和 Proteobacteria 中,但是在本研究中,并未发现 *phoD* 基因与微生物菌群的相关性^[22,28]。 *phnK* 基因主要参与磷酸盐的降解,已被证实存在于 *Raphidiopsis raciborskii* 中,在稻虾共

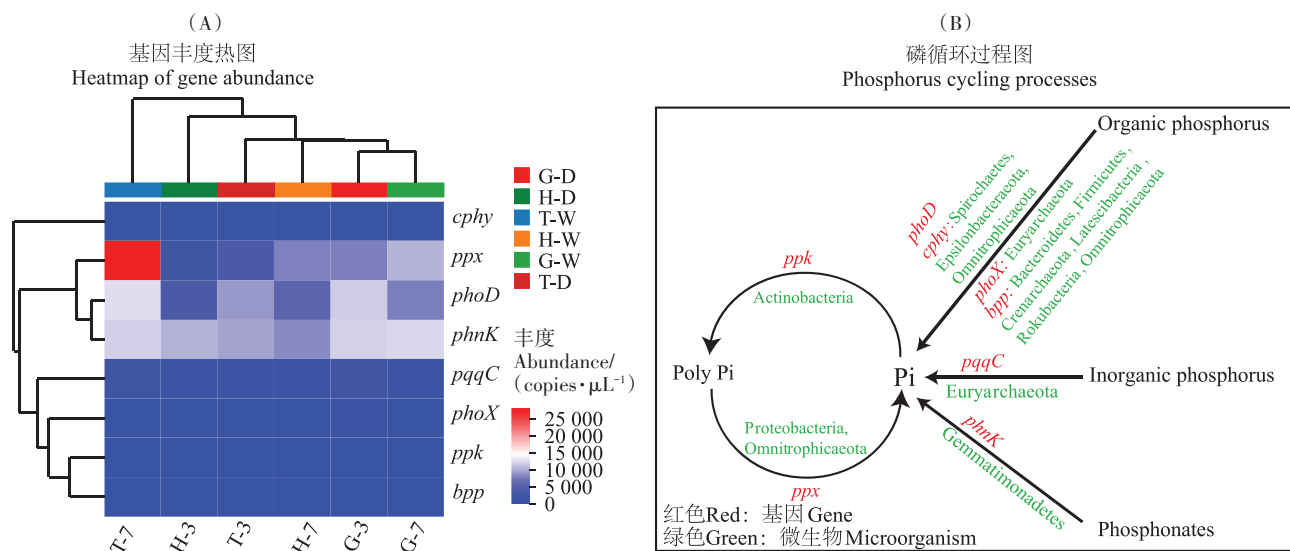


图4 沉积物中磷循环功能基因丰度的热图和磷循环过程图

Figure 4 The heatmap of phosphorus cycle functional gene abundance in sediments and main phosphorus cycling processes

作水域沉积物中,*phnK*基因可能来自于 Gemmatimonadetes^[29]。研究结果表明,稻虾共作水域沉积物中最主要的磷循环过程为 Proteobacteria 和 Omnitrophicaeota 作用下多聚磷酸盐的水解、有机磷的矿化和 Gemmatimonadetes 作用下磷酸盐的利用。

2.3 有机磷农药残留特征对磷循环的驱动机制

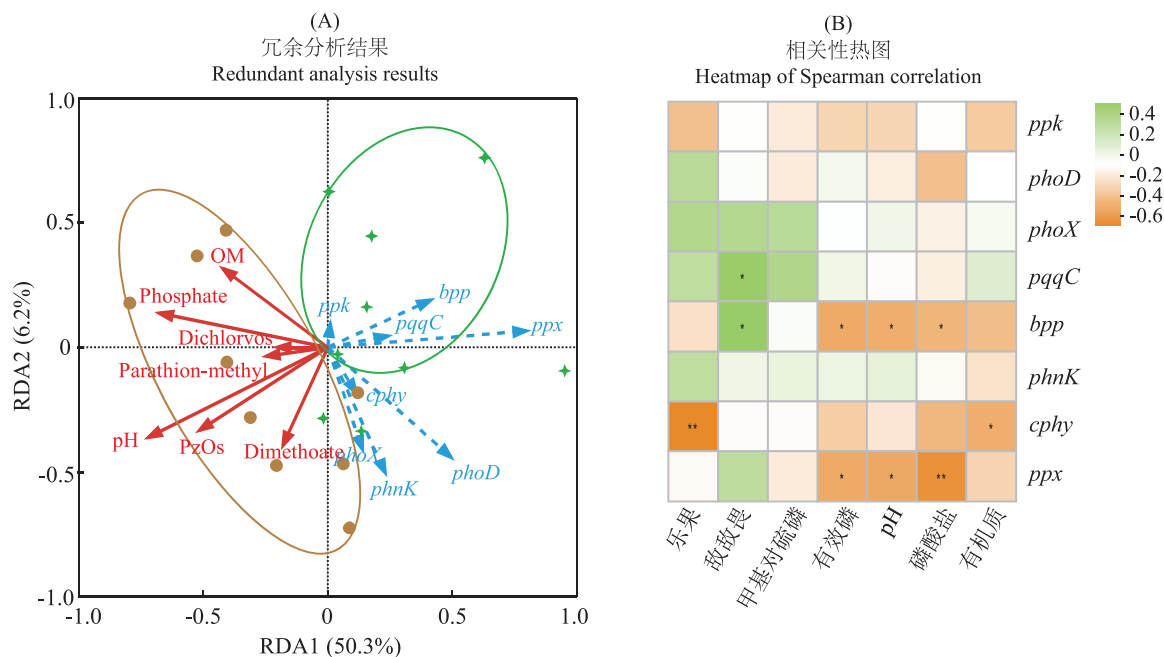
为评估磷循环功能基因与环境因子之间的关系,对磷循环功能基因数量、有机磷农药含量和沉积物理化性质进行了 RDA 分析。同时 Spearman 相关系数被用于评估单个环境因子与磷循环功能基因之间的显著相关性。如图 5A 所示,环境因子解释了 56.5% 的磷循环功能基因的变化因素。RDA1 解释了 50.3% 的变化,RDA2 解释了 6.2% 的变化。结合图 5B 的结果可知,随着 pH、有效磷含量和磷酸盐浓度的增加,沉积物中 *ppx* 基因和 *bpp* 基因数量显著减少 ($P<0.05$)。随着有机质含量的增加,沉积物中 *cphy* 基因数量显著减少 ($P<0.05$)。不同于其他环境因子,有机磷农药乐果含量的增加,极显著地增加了 *cphy* 基因的数量 ($P<0.01$)。此外,敌敌畏显著降低 *pqqC* 基因和 *bpp* 基因

的数量 ($P<0.05$)。

有研究报道,*cphy* 基因仅存在于陆地环境中,而 *bpp* 基因存在于水环境和陆地环境中,稻虾共作水域兼有水体和陆地的磷循环特征^[30]。在本研究中,随着乐果含量的增加,沉积物中 *cphy* 基因数量显著增加。半胱氨酸植酸酶(*cphy* 基因)主要参与植酸盐的矿化作用^[31-32],表明乐果能促进植酸盐向无机磷转化。不同于乐果,敌敌畏会显著降低 *pqqC* 基因和 *bpp* 基因的数量。*pqqC* 基因主要参与无机磷的溶解作用^[26],说明在敌敌畏作用下,无机磷的增溶作用会减弱。 β -螺旋桨植酸酶(*bpp* 基因)属于自然界最丰富的植酸酶,已被广泛发现于水体和土壤中^[33]。在敌敌畏作用下, β -螺旋桨植酸酶介导的植酸盐矿化作用会减弱。因此,在稻虾共作水域沉积物中,有机磷农药主要通过改变无机磷增溶作用和植酸盐矿化作用来影响磷循环过程。

3 结论

(1) 稻虾共作水域沉积物中检测到了有机磷农药



蓝色虚线代表磷循环功能基因,红色实线表示环境变量,褐色圆点和绿色星点分别代表枯水期沉积物和丰水期沉积物。*和**分别表示环境因素显著影响 ($P<0.05$) 和极显著 ($P<0.01$) 影响沉积物中磷循环功能基因的总数

The blue dashed line represents phosphorus cycle functional genes. The red solid line represents environmental variables. The brown and green dots represent dry water and abundant water sediments, respectively. *Asterisk and **Double asterisks indicate that environmental factors significantly ($P<0.05$) and highly significantly ($P<0.01$) affect the total number of phosphorus cycle functional genes in sediments, respectively

图5 磷循环功能基因、采样点和环境因子的冗余分析(RDA)结果和环境因子与磷循环功能基因的相关性热图

Figure 5 The redundancy analysis(RDA) of the relationship between phosphorus cycle functional genes, samples, and sediment environmental variables and the heatmap of Spearman correlation between phylum level microbial communities and phosphorus cycle functional genes

乐果、敌敌畏和甲基对硫磷的残留,其最高含量分别为 1.42 、 $1.37\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 和 $0.806\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,表明稻虾共作水域仍然存在有机磷农药污染的风险。

(2)残留的有机磷农药会影响稻虾共作水域沉积物的磷循环进程,其中乐果能促进半胱氨酸植酸酶介导的植酸盐矿化作用,而敌敌畏会减弱无机磷的增溶作用和 β -螺旋桨植酸酶介导的植酸盐矿化作用。

参考文献:

- [1] 曹湊贵,江洋,汪金平,等.稻虾共作模式的“双刃性”及可持续发展策略[J].中国生态农业学报,2017,25(9):1245–1253. CAO C G, JIANG Y, WANG J P, et al. “Dual character” of rice–crayfish culture and strategy for its sustainable development[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2017, 25(9):1245–1253.
- [2] YANG Q, LI Q, LI H, et al. pH-response quantum dots with orange-red emission for monitoring the residue, distribution, and variation of an organophosphorus pesticide in an agricultural crop[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2021, 69(9):2689–2696.
- [3] VELASCO A, RODRÍGUEZ J, CASTILLO R, et al. Residues of organochlorine and organophosphorus pesticides in sugarcane crop soils and river water[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part B, Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 2012, 47(9):833–841.
- [4] CCANCCAPA A, MASIA A, NAVARRO-ORTEGA A, et al. Pesticides in the ebro river basin: Occurrence and risk assessment[J]. *Environmental Pollution*, 2016, 211:414–424.
- [5] 周婕成,陈振楼,毕春娟,等.上海崇明农田土壤中有机磷农药的残留特征[J].土壤通报,2010,41(6):1456–1459. ZHOU J C, CHEN Z L, BI C J, et al. Residues of organophosphorus pesticides in agricultural fields of Chongming Island in Shanghai[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2010, 41(6):1456–1459.
- [6] SHARMA A, SHUKLA A, ATTRI K, et al. Global trends in pesticides: A looming threat and viable alternatives[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 201:110812.
- [7] 薛颖昊,黄宏坤,靳拓,等.土壤微塑料和农药污染及其对土壤动物毒性效应的研究进展[J].农业环境科学学报,2021,40(2):242–251. XUE Y H, HUANG H K, JIN T, et al. Research progress on microplastic and pesticide pollutions and their toxic effects on soil organisms[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(2):242–251.
- [8] JAYASIRI M, YADAV S, DAYAWANSA N D K, et al. Spatio-temporal analysis of water quality for pesticides and other agricultural pollutants in Deduru Oya River basin of Sri Lanka[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2022, 330:129897.
- [9] 周慙,石雷,李取生,等.珠江河口水体有机磷农药的含量与季节变化[J].中国环境科学,2013,33(2):312–318. ZHOU M, SHI L, LI Q S, et al. The concentration and seasonal variation of organophosphorus pesticide residues in the Pearl River estuary[J]. *China Environmental Science*, 2013, 33(2):312–318.
- [10] ITOH H, NAVARRO R, TAKESHITA K, et al. Bacterial population succession and adaptation affected by insecticide application and soil spraying history[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5:457.
- [11] SUPREETH M, CHANDRASHEKAR M A, SACHIN N, et al. Effect of chlorpyrifos on soil microbial diversity and its biotransformation by *Streptomyces* sp. HP-11[J]. *3 Biotech*, 2016, 6(2):147–153.
- [12] BHENDE R S, JHARIYA U, SRIVASTAVA S, et al. Environmental distribution, metabolic fate, and degradation mechanism of chlorpyrifos: Recent and future perspectives[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2022, 194(5):2301–2335.
- [13] RIAH W, LAVAL K, LAROCHE-AJZENBERG E, et al. Effects of pesticides on soil enzymes: A review[J]. *Environmental Chemistry Letters*, 2014, 12(2):257–273.
- [14] 姜海斌,沈仕洲,谷艳茹,等.洱海流域不同施肥模式对稻田氮磷径流流失的影响[J].农业环境科学学报,2021,40(6):1305–1313. JIANG H B, SHEN S Z, GU Y R, et al. Effects of different fertilization treatments on runoff losses of nitrogen and phosphorus in paddy fields in Erhai Lake basin, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2021, 40(6):1305–1313.
- [15] 肖潇,毛北平,吴时强,等.近100年来长江与洞庭湖汇流河段水文特征演变[J].湖泊科学,2021,33(1):266–276. XIAO X, MAO B P, WU S Q, et al. Dynamics of hydrological characteristics in Changjiang River and Lake Dongting confluence reach in the past 100 years[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2021, 33(1):266–276.
- [16] 鲍士旦.土壤农化分析[M].3版.北京:中国农业出版社,2000:30–74. BAO S D. Soil agro-chemical analysis[M]. 3th Edition. Beijing:China Agriculture Press, 2000:30–74.
- [17] ZHENG B, ZHU Y, SARDANS J, et al. QMEC: A tool for high-throughput quantitative assessment of microbial functional potential in C, N, P, and S biogeochemical cycling[J]. *Science China Life Sciences*, 2018, 61(12):1451–1462.
- [18] 冯国禄,杨仁斌.耕作模式和滞水时间对稻田中氮磷动态变化的影响研究[J].农业环境科学学报,2011,30(5):917–924. FENG G L, YANG R B. Effect of tillage models and water logging time on dynamics of nitrogen and phosphorus in paddy field[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(5):917–924.
- [19] FENNER K, CANONICA S, WACKETT L P, et al. Evaluating pesticide degradation in the environment: Blind spots and emerging opportunities[J]. *Science*, 2013, 341(6147):752–758.
- [20] OLISAH C, RUBIDGE G, HUMAN L R D, et al. Organophosphate pesticides in South African eutrophic estuaries: Spatial distribution, seasonal variation, and ecological risk assessment[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 306:119446.
- [21] CHAUHAN P S, MISHRA S K, MISRA S, et al. Evaluation of fertility indicators associated with arsenic-contaminated paddy fields soil[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2018, 15(11):2447–2458.
- [22] NEAL A L, ROSSMANN M, BREARLEY C, et al. Land-use influences phosphatase gene microdiversity in soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(7):2740–2753.
- [23] KEASLING J D, BERTSCH L, KORNBERG A. Guanosine pentaphosphate phosphohydrolase of *Escherichia coli* is a long-chain exopoly-

- phosphatase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90(15):7029–7033.
- [24] ADAMS M M, GOMEZ-GARCIA M R, GROSSMAN A R, et al. Phosphorus deprivation responses and phosphonate utilization in a thermophilic *Synechococcus* sp. from microbial mats[J]. *Journal of Bacteriology*, 2008, 190(24):8171–8184.
- [25] TANUWIDJAJA I, VOGEL C, PRONK G J, et al. Microbial key players involved in P turnover differ in artificial soil mixtures depending on clay mineral composition[J]. *Microbial Ecology*, 2021, 81(4):897–907.
- [26] NUNES I, HANSEN V, BAK F, et al. Succession of the wheat seed-associated microbiome as affected by soil fertility level and introduction of *Penicillium* and *Bacillus* inoculants in the field[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2022, 98(3):fiac028.
- [27] KAWAKOSHI A, NAKAZAWA H, FUKADA J, et al. Deciphering the genome of polyphosphate accumulating actinobacterium *microlunatus* phosphovorus[J]. *DNA Research*, 2012, 19(5):383–394.
- [28] BI Q F, LI K J, ZHENG B X, et al. Partial replacement of inorganic phosphorus (P) by organic manure reshapes phosphate mobilizing bacterial community and promotes P bioavailability in a paddy soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 703:134977.
- [29] WILLIS A, CHUANG A W, DYHRMAN S, et al. Differential expression of phosphorus acquisition genes in response to phosphorus stress in two *Raphidiopsis raciborskii* strains[J]. *Harmful Algae*, 2019, 82:19–25.
- [30] LIM B L, YEUNGP, CHENG C, et al. Distribution and diversity of phytate-mineralizing bacteria[J]. *The ISME Journal*, 2007, 1(4):321–330.
- [31] KALSI H K, SINGH R, DHALIWAL H S, et al. Phytases from enterobacter and serratia species with desirable characteristics for food and feed applications[J]. *3 Biotech*, 2016, 6(1):64.
- [32] SHEN L, WU X Q, ZENG Q W, et al. Regulation of soluble phosphate on the ability of phytate mineralization and β -propeller phytase gene expression of *Pseudomonas fluorescens* JZ-DZ1, a phytate-mineralizing rhizobacterium[J]. *Current Microbiology*, 2016, 73(6):915–923.
- [33] HUANG H Q, SHAO N, WANG Y R, et al. A novel beta-propeller phytase from *Pedobacter nyackensis* MJ11 CGMCC 2503 with potential as an aquatic feed additive[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 83(2):249–259.

(责任编辑:朱晓昱)