

中文核公期刊/CSCD

请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

泗顶矿区植物根际和非根际土壤反硝化细菌群落特征

于方明,林秋娟,韦嘉裕,李宋颖,唐炽健,唐舒婷,李艺

引用本文:

于方明,林秋娟,韦嘉裕,李宋颖,唐炽健,唐舒婷,李艺.泗顶矿区植物根际和非根际土壤反硝化细菌群落特征[J].农业环境科学学报,2023,42(11):2494-2506.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2023-0077

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

单壁碳纳米管对紫花苜蓿根际土壤中PAHs降解及微生物群落的影响

王慧敏,陈莉荣,任文杰,郑春丽,黄怡雯,滕应,张铁军 农业环境科学学报.2021,40(12):2647-2659 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0332

氟磺胺草醚及其降解菌对大豆生长及生物固氮的影响

周聪,陈未,高岩,施曼,李江叶,刘丽珠,陈金林 农业环境科学学报. 2021, 40(12): 2660-2668 https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0264

镉铜复合污染土壤中南方红豆杉的重金属提取效果及根际细菌群落特征

魏帅, WoldeTeferaBeri, 王润泽, 林之, 谢若瀚, 乔亚蓓, 卢玲丽, 田生科 农业环境科学学报. 2019, 38(8): 1919-1928 https://doi.org/10.11654/jaes.2019-0345

转cry1Ab和epsps基因玉米C0030.3.5对土壤古菌丰度和多样性的影响

王晶, 王蕊, 朱珂, 修伟明, 赵建宁, 杨殿林, 李刚, 田秀平 农业环境科学学报. 2017, 36(10): 2048-2057 https://doi.org/10.11654/jaes.2017-0446

土壤nirS、nosZ型反硝化菌群落结构及多样性对牛场肥水灌溉水平的响应 高文萱, 闫建华, 杜会英, 张克强 农业环境科学学报. 2019, 38(5): 1089-1100 https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0901



关注微信公众号,获得更多资讯信息

于方明,林秋娟,韦嘉裕,等. 泗顶矿区植物根际和非根际土壤反硝化细菌群落特征[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(11): 2494-2506. YUFM, LINQJ, WEIJY, et al. Community characteristics of denitrifiers from rhizosphere and bulk soil of plants in the Siding mine area, China[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(11): 2494-2506.

泗顶矿区植物根际和非根际土壤反硝化细菌群落特征

于方明^{1,2},林秋娟²,韦嘉裕²,李宋颖²,唐炽健²,唐舒婷²,李艺^{1,2*}

(1.广西师范大学珍稀濒危动植物生态与环境保护教育部重点实验室,广西 桂林 541004;2.广西师范大学环境与资源学院,广 西 桂林 541004)

摘 要:为了探讨植物种类和土壤性质如何影响重金属污染严重矿区的土壤反硝化过程,本研究以广西柳州泗顶铅锌矿区上游、 尾矿和下游3个区域优势植物——蜈蚣草、芦苇和五节芒的根际和非根际土壤为研究对象,采用高通量测序技术和荧光定量PCR 技术,分析了3种优势植物根际和非根际土壤中*nirK型和nirS型*反硝化细菌的群落结构、丰度和多样性特征。结果表明:罗河杆 菌属(*nirS型*)和慢生根瘤菌属(*nirK型*)为根际和非根际土壤中的优势菌属,所占比例分别为2.6%~67.8%和4.1%~38.1%。尾矿区 根际及非根际土壤中*nirS*和*nirK*基因的丰度范围分别为1.45×10⁶~7.78×10⁶基因拷贝数·g⁻¹(以干土计)和1.10×10⁶~5.70×10⁶基因 拷贝数·g⁻¹,显著低于上游区和下游区(P<0.05)。3种优势植物根际土壤的Shannon指数和ACE指数均大于非根际土壤。多元线 性回归分析和Mantel检验表明,土壤含水率、总碳、总氮和总磷含量是影响泗顶矿区3种优势植物根际和非根际反硝化细菌群落 组成的主要因素。研究表明,植物种类和土壤性质共同影响了矿区土壤的反硝化过程,并对反硝化微生物的丰度、群落结构和多 样性产生了影响。

关键词:矿区;反硝化细菌;nirS基因丰度;nirK基因丰度;群落结构 中图分类号:S154.3 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2023)11-2494-13 doi:10.11654/jaes.2023-0077

Community characteristics of denitrifiers from rhizosphere and bulk soil of plants in the Siding mine area, China

YU Fangming^{1,2}, LIN Qiujuan², WEI Jiayu², LI Songying², TANG Chijian², TANG Shuting², LI Yi^{1,2*}

(1. Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection (Guangxi Normal University), Ministry of Education, Guilin 541004, China; 2.College of Environment and Resources, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: The effects of plant species and soil properties on soil denitrification was explored in three areas of the Siding lead-zinc mining region. The microbial diversity and community compositions of *nirK*-type and *nirS*-type denitrifiers in rhizosphere and bulk soils from three dominant plant species (*Pteris vittata* L., *Phragmites australis*, and *Miscanthus floridulus*) were analyzed. *Rhodanobacter*(*nirS*) and *Bradyrhizobium*(*nirK*) dominated the soil denitrifier communities, with abundances ranging from 2.6% to 67.8% and from 4.1% to 38.1%, respectively. The *nirS* and *nirK* gene abundances in the mine tailing area ranged from 1.45×10^6 to 7.78×10^6 gene copies $\cdot g^{-1}$ (calculated by dry weight) and from 1.10×10^6 to 5.70×10^6 gene copies $\cdot g^{-1}$, respectively, which were significantly lower than the corresponding values in the upstream and downstream areas (*P*<0.05). The Shannon and ACE index values from the rhizosphere samples of the three dominant plant species were higher than the index values recorded from the bulk soil samples. Multiple linear regression analysis and the Mantel test showed that soil moisture content, total carbon, total nitrogen and total phosphorus were key factors that strongly influenced the soil

收稿日期:2023-02-06 录用日期:2023-03-24

作者简介:于方明(1975—),男,湖南绥宁人,博士,教授,主要研究方向为土壤重金属污染生态修复。E-mail:fmyu1215@163.com

^{*}通信作者:李艺 E-mail:liyi412@mailbox.gxnu.edu.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(41967019,41907096);广西自然科学基金项目(2021GXNSFAA220024);南通市基础科学研究计划项目 (JC2021160)

Project supported: National Natural Science Foundation of China (41967019, 41907096); Natural Science Foundation of Guangxi, China (2021GXNSFAA220024); Basic Scientific Research of Nantong Science and Technology Project(JC2021160)

denitrifier community. The results indicate that plant species and soil properties impact the soil denitrification process in mine areas and also affect the abundance, composition, and diversity of the denitrifier community.

Keywords: mine area; denitrifier; nirS gene abundance; nirK gene abundance; community structure

氮是地球上所有生命体的必需元素,主要用于合 成细胞关键组分,如核苷酸、氨基酸和蛋白质10。近 年来,农业活动(肥料使用与豆科作物种植)和化石燃 料燃烧等人类活动对陆地环境的氮输入产生了深远 的影响四。土壤微生物在生物地球化学氮循环中起 着重要的作用。一般来说,微生物驱动的氮循环过程 包括固氮、硝化和厌氧氨氧化和反硝化的。反硝化作 用是土壤生态系统中氮循环的重要过程之一,是在缺 氧条件下,细菌将可溶性硝酸盐(NO3)或亚硝酸盐 (NO₂),通过一系列的中间产物(NO₂、NO和N₂O)还原 为氮气(N₂)的过程^[4-5]。在这些过程中,限速步骤是 将NO5还原为NO的过程,这取决于亚硝酸盐还原酶 (nir)蛋白的活性¹⁶。研究表明,亚硝酸盐还原酶有两 种类型,它们在功能上一致,但在形态结构上不同。 一种是细胞色素酶cd1(nirS基因编码)^[7],另一种是亚 硝酸铜还原酶(nirK基因编码)^[8]。尽管这两种基因不 完全相同,但都适合用来研究土壤环境中反硝化细菌 多样性的丰度[9-10]。研究表明, nirK型反硝化细菌比 nirS型反硝化细菌对土壤环境的变化更敏感,如土壤 类型、温度、酸碱度和土壤含水率等[11-13]。目前,关于 反硝化细菌的研究主要涉及不同的环境,如湿地、高 原、农田、河口沉积物等[14-17]。然而,针对矿区及周边 土壤反硝化过程的研究较少,因此,本研究主要围绕 重金属污染严重的矿区展开相关研究。

泗顶矿区位于广西柳州(24°46′~25°34′N,109° 13′~109°47′E)^[18]。研究表明,泗顶矿区土壤受到铅、 锌和镉等重金属的污染;对矿区优势植物的调查表明, 芦苇(Phragmites australis)、蜈蚣草(Pteris vittata L.)、 蒲公英(Herba taraxaci)、白茅(Imperata cylindrical)、地 瓜榕(Ficus tikoua)、五节芒(Miscanthus floridulus)和节 节草(Equisetum ramosissimum)等表现出良好的重金属 耐受能力^[19-20]。同时,Dennis等^[21]的研究指出,陆生植 物通过根际沉积释放一系列基质,这些基质可以促进 植物与根际各种微生物之间发生相互作用。Guyonnet 等^[22]的研究也表明,植物根系分泌物在植物和土壤微 生物的相互作用中起着关键作用,并可能导致根际土 壤环境中反硝化细菌活性的变化。另外,相同的根际 环境可能对nirK型和nirS型反硝化细菌产生不同的影 响。Bañeras等^[23]的研究表明,植物种类对nirK型反硝 化细菌的影响大于nirS型反硝化细菌。此外,土壤反硝 化过程还受到一系列环境因素的影响,如土壤类型、重 金属含量、土壤含水率、酸碱度、温度和土壤有机质 等^[10,15,24]。因此,在土壤重金属污染严重的矿区,植物种 类和土壤性质如何影响反硝化过程值得深入探讨。

基于此,本研究以泗顶矿区上游区、下游区和尾 矿区常见的3种优势植物——芦苇、蜈蚣草和五节芒 的根际和非根际土壤为研究对象,采用高通量测序技 术和荧光定量 PCR技术,对3种植物根际和非根际土 壤中*nirK*型和*nirS*型反硝化细菌群落结构、丰度和多 样性进行研究,探讨不同植物根际和非根际土壤环境 中*nirK*型和*nirS*型反硝化细菌群落结构、丰度和多样 性的分布特征,阐明驱动*nirK*型和*nirS*型反硝化细菌 群落组成的主要土壤环境因子,以期深入认识矿区不 同优势植物根际土壤中反硝化细菌的群落结构特征, 为利用优势植物促进矿区土壤氮素调控和生态恢复 提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集与理化性质分析

泗顶矿区面积约为13.64 km²,已于2006年开采 完毕,冶炼厂附近有一条河流,冶炼污水通过排污口 排入河流。土壤样品采自泗顶矿区上游区(25°02′ 53″~25°02′58″N,109°41′57″~109°41′59″E)、下游 区(25°08′53″~25°08′55″N,109°41′55″~109°41′57″ E)和尾矿区(25°06′57″~25°06′59″N,109°41′56″~ 109°41′57″E)中3种优势植物(芦苇、蜈蚣草和五节 芒)的根际。在每个区域选择3个采样点,在每个采 样点针对每种优势植物随机采集3株。上游区土壤 简称为U,尾矿区土壤简称为M,下游区土壤简称为 D;蜈蚣草简称为PA,五节芒简称为MF,芦苇简称为 PV;根际土简称为R,非根际土简称为B。如上游区 蜈蚣草根际土简称为U-PA-R,其余土壤编号以此 类推。

为了防止边缘效应,我们对四面都有相邻植物的 优势植物进行了采集。非根际土采集表层土(0~15 cm),去除植物根系和碎石等杂物后,同一样点同一 植物类型的非根际土充分混匀,采用四分法选取适当 样品置于无菌袋中,冷藏保存运回实验室^[14]。根际土

www.gev.org.cn

的采集采用抖根法,对植物根冠上的土壤进行收集, 同一样点同一植物类型的根际土充分混匀,置于无菌 袋中,冷藏保存运回实验室。根际和非根际土壤样品 均分为两部分,一部分自然风干后用于分析土壤理化 性质,另一部分保存至-80℃冰箱以便后续土壤微生 物DNA的提取。

土壤重金属(镉、铅和锌)总量测定方法:称取 0.25g土壤样品,置于12mL的HCl-HNO₃-HClO₄(体 积比3:1:1)混合液中进行加热消解;消解后过滤获 得上清液,采用原子吸收分光光度计(AAnalyst 800, Perkin Elmer,美国)对重金属总量进行测定。上游区 土壤铅、锌和镉的含量分别为4031~4650、12346~ 14090 mg·kg⁻¹和50.1~66.4 mg·kg⁻¹;尾矿区土壤铅、 锌和镉的含量分别为1070~1369、5048~6640 mg· kg⁻¹和85.7~103.4 mg·kg⁻¹;下游区土壤铅、锌和镉的 含量分别为5999~6798、17554~20778 mg·kg⁻¹和 144.7~169.7 mg·kg⁻¹。土壤其他理化性质参考《土壤 农业化学分析方法》^[25]进行测定,结果见表1。

1.2 土壤 DNA 提取、高通量测序和反硝化基因丰度分析 采用 Fast[®] DNA SPIN Kit (MP Biomedical, Solon, OH,美国)试剂盒对0.5g土壤进行DNA提取。nirK 基因引物为:1aCuF(5'-ATCATGGTS CTGCCGCG-3')和 R3CuR (5'-GCCTCGATCAGRTT GTGGTT-3')。nirS基因引物为:cd3aF(5'-GTS AACGTSAA-GGARACSGG-3')和R3cdR(5'-GA STTCGGRTGS-GTCTTGA-3')^[26]。其中,PCR扩增体系(20 µL)为: 引物各 0.5 µL, 10 µL SYBR Premix Ex Tag[™], 5×FastPfu缓冲液 4.0 µL, 土壤 DNA 0.4 µL, 补无菌 ddH2O 至 20 μL。PCR 的扩增条件为:95 ℃预变性 60 s;95 ℃变 性15 s,60 ℃退火60 s,循环40次;最后50 ℃延伸10 min。土壤样品完成 DNA 提取后,送至上海美吉生物 科技有限公司运用Illumina Miseq测序平台进行高通 量测序。利用荧光定量 PCR(Real-time PCR)技术分 析植物根际土和非根际土中nirK和nirS基因。反应 引物如上所示,nirK和nirS基因丰度最终被计算为每 克干土的拷贝数(基因拷贝数·g⁻¹)。

1.3 数据处理与分析

数据处理、分析和绘图分别采用 Excel 2019、 SPSS 19.0和 Origin 2021 软件完成。利用 Uparse 软件 对高通量测序样本进行聚类,默认以 97% 的一致性

土样 Soil sample	рН	含水率 Soil moisture/%	总碳 Total carbon/ (mg•g ⁻¹)	总氮 Total nitrogen/ (mg·g ⁻¹)	铵态氮 Ammonia nitrogen/ (mg・kg ⁻¹)	硝态氮 Nitrate nitrogen/ (mg•kg ⁻¹)	总磷 Total phosphrous/ (mg•g ⁻¹)	有效磷 Available phosphrous/ (mg•kg ⁻¹)
U-PA-R	6.74	17.6	11.6	3.8	6.0	27.6	9.5	6.7
U-PA-B	6.74	14.3	11.5	3.6	5.3	26.3	8.3	4.2
U-MF-R	6.73	23.6	12.9	5.4	7.9	18.4	9.3	4.4
U-MF-B	6.72	24.4	11.8	5.8	8.1	16.5	9.4	4.5
U-PV-R	6.61	53.5	8.3	5.3	12.5	15.5	9.5	4.1
U-PV-B	6.67	39.8	6.9	5.7	11.7	15.7	9.8	3.8
M-PA-R	6.67	12.0	3.5	3.9	1.5	35.7	3.5	1.8
М-РА-В	6.65	10.9	2.4	3.8	1.4	32.7	3.3	1.6
M-MF-R	6.64	12.0	3.6	4.1	2.8	35.3	4.2	1.7
M-MF-B	6.67	11.1	3.2	4.2	2.6	34.9	4.1	1.3
M-PV-R	6.65	19.2	4.5	3.9	2.9	35.8	4.3	1.6
M-PV-B	6.64	10.7	3.4	4.4	2.8	30.6	4.0	1.1
D-PA-R	6.64	10.5	9.2	2.7	4.9	51.1	4.8	2.2
D-PA-B	6.66	9.9	9.4	2.6	4.8	48.3	4.9	2.0
D-MF-R	6.61	23.4	6.4	2.9	8.6	60.8	4.5	2.7
D-MF-B	6.60	19.3	7.6	2.8	7.3	54.9	4.4	2.6
D-PV-R	6.65	34.1	7.8	3.5	2.8	44.8	2.9	2.3
D-PV-B	6.64	29.2	8.1	3.7	3.1	40.6	3.1	1.7

表1 泗顶矿区3种优势植物根际和非根际土基本理化性质 Table 1 Soil physicochemical properties from rhizosphere and bulk soil in three dominant plants in Siding mine area

注:表中数据为平均值(n=3)。

Note: The data in the table represente the means (n=3).

将序列聚类成为OTUs^{127]}。采用QIIME(Version 1.9.1) 软件对样本序列进行抽平, α -多样性指数(Shannon 和ACE指数)和β多样性指数(NMDS1指数)的计算 利用QIIME平台完成。nirK和nirS基因拷贝数和多 样性指数的单因素方差分析采用SPSS 19.0软件完 成。土壤理化性质与nirK和nirS型反硝化细菌群落 结构之间的相关性采用基于Bray-Curtis算法的Mantel检验进行分析。环境因子对 α -多样性指数和 NMDS1指数影响的多元线性回归分析采用SPSS 19.0 软件完成。其中,不同区域间nirK和nirS基因数和 α -多样性的差异性通过*t*检验进行分析,采用SPSS 19.0软件完成。土壤环境变化与反硝化基因丰度之 间的级联关系通过SmartPLS 3软件,用偏最小二乘路

2 结果与分析

径模型(PLS-PM)进行分析。

2.1 土壤反硝化细菌群落丰度和多样性分析

对泗顶矿区上游、尾矿和下游区域3种优势植物 根际和非根际土壤的反硝化细菌 nirK和 nirS 基因进 行测序,获得质控后的 nirK 序列数为 294 964条(序列 范围为 11 283~21 731条), nirS 序列数为 382 580(序 列范围为 13 936~24 345条)。

如图1a所示,矿区不同区域土壤反硝化细菌nirS 基因丰度差异显著(P<0.05)。尾矿区的nirS基因丰 度范围为1.45×10°~7.78×10°基因拷贝数·g-1,显著低 于上游区和下游区(P<0.001)。其中,上游区五节芒 非根际土壤的nirS基因丰度最大,为1.15×107基因拷 贝数·g⁻¹;尾矿区和下游区蜈蚣草非根际土壤的nirS 基因丰度最大,分别为7.78×10°基因拷贝数·g⁻¹和 1.37×107 基因拷贝数·g⁻¹;各区最大值均显著高于同 区域其他植物的根际/非根际土壤(P<0.05)。由图1b 可知,尾矿区的反硝化细菌 nirK 基因丰度范围为 1.10×10°~5.70×10°基因拷贝数·g⁻¹,显著低于上游区 和下游区(P<0.001)。其中,上游区五节芒非根际土 壤的nirK基因丰度最大,为1.46×107基因拷贝数·g⁻¹; 尾矿区芦苇非根际土壤的 nirK 基因丰度最大,为 5.70×10°基因拷贝数·g⁻¹;下游区蜈蚣草的非根际土 壤和五节芒的根际土壤 nirK 基因丰度最大,分别为 1.36×107基因拷贝数·g⁻¹和1.36×107基因拷贝数·g⁻¹; 各区最大值均显著高于同区域其他植物的根际和非 根际土壤(P<0.05)。

由图1可知,3种优势植物根际土壤的Shannon指数和ACE指数均大于非根际土壤。由图1c可知,尾

矿区的nirS-Shannon指数范围为2.56~3.46,显著低于 上游区和下游区(P<0.01)。其中,上游区芦苇根际土 的nirS-Shannon指数最大,达到了4.57。由图1d可 知,矿区不同区域植物根际和非根际土nirS-ACE指数 差异显著。下游区的ACE指数范围为277.3~548.4,显 著高于上游区和尾矿区(P<0.01或P<0.001)。由图1e 和图1f可知,尾矿区的nirK-Shannon指数和ACE指 数范围分别为2.73~3.34和175.9~439.4,显著低于上 游区和下游区。

2.2 土壤反硝化细菌群落组成分析

nirS型和nirK型反硝化细菌优势菌门均为变形 菌门(Proteobacteria)。nirS型反硝化细菌的优势菌纲 和优势菌属分别是 β -变形菌纲(c_Betaproteobacteria)和 γ -变形菌纲(Gamma-proteobacteria)下的罗河 杆菌属(*Rhodanobacter*),所占比例分别为0.3%~ 22.2%和2.6%~67.8%。其中罗河杆菌属nirS型反硝 化细菌在尾矿区蜈蚣草和五节芒的根际和非根际土 以及芦苇的根际土中相对丰度较高(图2a)。另外, nirK型反硝化细菌的优势菌目是 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)下的根瘤菌目(o_Rhizobiales),所占比 例范围为1.8%~23.9%(图2b)。同时,nirK型反硝化 细菌的优势菌科和优势菌属分别为根瘤菌目下的慢 生根瘤菌科(Bradyrhizobiaceae)和慢生根瘤菌属 (Bradyrhizobium),所占比例范围分别为2.5%~65.1% 和4.1%~38.1%。

2.3 土壤环境变化对反硝化细菌群落结构多样性指数的影响

采用多元线性回归分析环境因子变化对土壤反 硝化细菌群落的α-多样性指数(Shannon指数和ACE 指数)和β-多样性指数(NMDS1指数)的影响结果见 表2。结果表明,对于nirS型反硝化细菌,土壤钠、镁、 总磷、有效磷、总氮和硝态氮含量以及含水率的变化 显著影响了 Shannon 指数; 土壤钾、总磷、有效磷、总 氮和总碳含量以及pH和含水率变化显著影响了 NMDS1指数。其中,含水率的变化对Shannon指数和 NMDS1指数的影响尤其显著(P<0.001),F值分别为 17.23 和19.26。同时,含水率的变化对ACE指数也产 生了显著的影响(P<0.05)。对于nirK型反硝化细菌, 土壤总氮和总碳含量的变化显著影响了 Shannon 指 数,其中总碳的变化对 Shannon 指数尤其显著(F= 19.10, P<0.001)。同时,总碳含量变化显著影响了 ACE指数(P<0.05)。另外,土壤钾、总磷、有效磷、总 氮和总碳含量以及pH和含水率变化显著影响了

www.aer.org.cn

农业环境科学学报 第42卷第11期

NMDS1 指数。其中, 钾含量和含水率的变化对 NMDS1 指数的影响尤其显著(P<0.001), F 值分别为 17.34和22.29。 2.4 土壤环境变化对反硝化细菌群落组成和结构的 影响

基于 Spearman 等级相关系数分析环境因子对反



不同小写字母表示同一区域不同植物根际和非根际间差异显著(P<0.05)。右侧箱型图是基于Student's t-检验的不同区域间 nirS 和 nirK 基因数和 α-多样性指数的差异性,* P<0.05,** P<0.01,*** P<0.001。下同。

Different lowercase letters indicate significant differences among rhizosphere and bulk soil in plants in the same region at 0.05 level. Box diagram in the right side based on Student's *t*-test is used to examine the significance of differences of gene abundance and α -diversity among the abundances of *nirS*-type and *nirK*-type denitrifiers in different regions, * *P*<0.05, ** *P*<0.01, *** *P*<0.001. The same below.

图1 泗顶矿区3种优势植物根际土和非根际土反硝化细菌 nirS 和 nirK 基因数和 α-多样性指数

Figure 1 nirS and nirK gene copies and α -diversity indices in denitrifiers from rhizosphere and bulk soil in

three dominant plants in Siding mine area





不同小写字母表示同一区域不同植物根际和非根际间差异显著(P<0.05)。右侧箱型图是基于Student's t-检验的不同区域间 nirS 和 nirK 基因数和 α-多样性指数的差异性,* P<0.05,** P<0.01,*** P<0.001。下同。

Different lowercase letters indicate significant differences among rhizosphere and bulk soil in plants in the same region at 0.05 level. Box diagram in the right side based on Student's *t*-test is used to examine the significance of differences of gene abundance and α -diversity among the abundances of *nirS*-type and *nirK*-type denitrifiers in different regions, * *P*<0.05, ** *P*<0.01, *** *P*<0.001. The same below.

续图1 泗顶矿区3种优势植物根际土和非根际土反硝化细菌 nirS和 nirK基因数和 α-多样性指数

Continued figure 1 nirS and nirK gene copies and α -diversity indices in denitrifiers from rhizosphere and bulk soil in

three dominant plant in Siding mine area

硝化细菌相对丰度影响的热图如图3所示。结果表明,对于nirK型反硝化细菌,变形菌门的丰度与土壤

铅、锌和硝态氮含量呈负相关(P<0.05)。根瘤菌目的 丰度与土壤镉、铅、锌、钙和镁含量以及碳氮比呈正相

www.aer.org.cn





图2 泗顶矿区3种优势植物根际土和非根际土反硝化微生物群落组成

Figure 2 Community composition of soil denitrifiers from rhizosphere and bulk soil in three dominant plants in Siding mine area

关(P<0.05、P<0.01或P<0.001);同时,与土壤钠、总磷和有效磷含量以及含水率呈正相关(P<0.05或P<0.01)。另外,慢生根瘤菌属的丰度与土壤镉含量呈正相关(P<0.01)。

对于nirS型反硝化细菌,变形菌门的丰度与土壤 镉、铅、锌、钙和镁含量呈正相关(P<0.05、P<0.01或P< 0.001);同时与土壤钠、总磷和有效磷含量以及含水 率呈负相关(P<0.05或P<0.01)。β-变形菌纲的丰度 与土壤锌、钙和总磷含量呈正相关(P<0.05或P< 0.001)。另外,罗河杆菌属的丰度与土壤钙含量呈负 相关(P<0.05)。以上结果表明土壤环境因子变化在 不同程度上影响了反硝化细菌的群落组成。

基于 Bray-Curtis 算法的 Mantel 检验分析环境因 子对反硝化细菌群落组成的影响如表 3 所示。结果 表明, 土壤钾、钙、钠、镁、总磷、有效磷和总碳含量以 及含水率和碳氮比的变化对 nirK 型和 nirS 型反硝化 细菌群落结构产生了显著的正相关性影响(P<0.05 或 P<0.01)。另外,土壤锌含量变化对 nirK 型反硝化细 菌群落结构产生了显著的正相关性影响(P<0.05)。 2.5 偏最小二乘路径模型分析环境因子变化与反硝 化基因丰度之间的级联关系

基于 PLS-PM 模型分析土壤环境因子(包括植物 种类、土壤类型和研究区域的交互影响)变化与 nirK 和 nirS 基因丰度之间的级联关系见图 4。结果表明, 环境因子变化对含水率(-0.633)、总氮(-0.712)和有 效磷(-0.701)产生显著的负相关性影响(P<0.001); 但是对钙和钠含量(0.500, P<0.05)及重金属含量 (0.738, P<0.001)产生显著的正相关影响。同时,环 境因子与含水率共同变化对 nirK 基因(0.841)和 nirS 基因(1.052)丰度产生显著的正相关性影响(P<

表2 多元线性回归分析环境因子对多样性指数的影响

Table 2 Multiple linear regression between the diversity indices and the environmental parameters

		114.14			LLAND -	
		α-指数 Alpha	β-指数 Beta-index			
项目Item	Shannon指数	Shannon index	ACE 指数 ACE index		NMDS1指数 NMDS1 score	
	nirS	nirK	nirS	nirK	nirS	nirK
铅 Lead	0.03	0.51	0.79	0.13	0.99	0.05
锌 Zinc	0.04	1.76	2.25	0.14	0.37	0.51
镉 Cadmium	0.67	0.11	1.79	0.02	0.14	1.45
钾 Potassium	0.49	2.38	0.01	4.91*	5.25*	17.34***
钙 Calcium	1.10	2.38	0.03	4.47*	0.32	0.26
钠 Sodium	4.96*	0.01	0.41	0.14	0.90	1.51
镁 Magnesium	3.91*	0.67	0.38	1.48	0.87	1.11
pH	2.48	0.31	0.37	0.01	12.63**	8.40*
电导率 Electric conductivity	0.64	0.01	0.36	0.32	0.45	0.35
含水率 Soil moisture	17.23***	2.81	4.72*	1.01	19.26***	22.29***
总磷 Total phosphorus	9.16**	1.95	1.37	0.01	5.24*	6.91*
有效磷 Available phosphorus	12.84**	3.12	2.36	0.36	10.77**	14.68**
总氮 Total nitrogen	8.02**	6.25*	1.93	0.97	8.34*	13.14**
铵态氮 Ammonia nitrogen	0.42	0.92	3.54	0.51	0.01	0.12
硝态氮 Nitrate nitrogen	4.51*	1.51	0.31	1.49	2.24	2.18
总碳 Total carbon	0.64	19.10***	1.63	6.54*	6.29*	7.59*
碳氮比 C/N	2.11	0.49	0.01	1.59	0.05	0.02

注:*P<0.05,**P<0.01,***P<0.001。下同。

Note: * P<0.05, ** P<0.01, *** P<0.001. The same below.



* $P{<}0.05\,,**$ $P{<}0.01\,,***$ $P{<}0.001.$ The same below.

图3 环境因子对反硝化细菌相对丰度影响的热图

Figure 3 Heatmap of the environmental parameters impact on relative abundance of denitrifiers

表3 Mantel检验分析环境因子对反硝化细菌群落结构的影响

Table 3 Mantel test between environmental parameters and denitrifier community structures
参数Property nirS nirK

铅 Lead	0.117	0.110
锌 Zinc	0.113	0.213*
镉 Cadmium	0.161	0.217
钾 Potassium	0.193*	0.237**
钙 Calcium	0.284**	0.270*
钠 Sodium	0.211*	0.283**
镁 Magnesium	0.293**	0.520**
pH	0.179	0.296
电导率 Electric conductivity	-0.127	-0.101
含水率 Soil moisture	0.278*	0.303*
总磷 Total phosphorus	0.317**	0.295*
有效磷 Available phosphorus	0.234*	0.289*
总氮 Total nitrogen	0.171	0.174
铵态氮 Ammonia nitrogen	0.072	0.101
硝态氮 Nitrate nitrogen	0.098	0.126
总碳 Total carbon	0.306**	0.207*
碳氮比 C/N	0.339**	0.268**

0.01);并且环境因子与总氮共同变化对nirK基因 (1.532)和nirS基因(1.562)丰度产生显著的正相关性 影响(P<0.001)。可以看出,环境因子、总氮和总碳共 同变化对nirK基因丰度产生显著的正相关性影响(P< (0.05),但与*nirS*基因丰度变化无显著性关系(P> 0.05)。另外,环境因子与有效磷共同变化对nirK基 因(-2.086)和nirS基因(-2.231)丰度产生显著的负 相关性影响(P<0.001)。从路径系数可以看出,环境 因子与有效磷共同变化对反硝化基因丰度的影响最 大。此外,环境因子与重金属含量共同变化对nirK 基因(0.848)和nirS基因(0.767)丰度产生显著的正 相关性影响(P<0.001)。环境因子与钙和钠含量共 同变化对nirK基因丰度产生显著的负相关性影响 (P<0.05),但与nirS基因丰度变化无显著性关系(P> 0.05)。同时, nirK 基因丰度变化对硝态氮含量 (0.548)产生显著的正相关性影响(P<0.05),但与铵 态氮含量变化无显著性关系(P>0.05)。并目, 铵态 氮含量变化对硝态氮含量(-0.456)产生显著的负相 关性影响(P<0.001)。



图4 偏最小二乘路径模型分析环境因子变化与反硝化基因丰度之间的级联关系

Figure 4 Cascading relationships between environmental parameters and gene abundance of denitrifier based on PLS-PM

3 讨论

3.1 植物根际和非根际土壤反硝化细菌群落组成及 多样性变化

研究表明,重金属富集植物蜈蚣草、重金属耐受 植物五节芒和具有气候调节和水分供给功能的芦苇 对矿区的恢复具有一定的作用^[28-30]。PLS-PM 模型结 果表明,土壤重金属含量变化对nirK和nirS基因丰度 的变化均产生了显著的正相关影响(P<0.001),目重 金属含量变化对nirK基因丰度的影响更大(图4)。 反硝化微生物暴露于重金属后,土壤微生物的功能可 以通过耐重金属物种的增殖和染色体或质粒基因的 修饰而恢复^[31]。根瘤菌目和β-变形菌纲与土壤重金 属含量呈正相关,这可能是导致nirK型和nirS型反硝 化细菌在重金属暴露下增加的原因之一。然而大部 分研究表明重金属对反硝化基因主要起抑制作用并 降低其遗传多样性^[32]。因此,重金属胁迫下,nirK和 nirS基因丰度增加的原因有待进一步探索。此外, Mantel 检验也表明, 土壤锌含量对 nirK 型反硝化微生 物群落结构产生了显著的正相关性影响(表3)。这 表明nirK型反硝化微生物对重金属污染环境更为敏 感。重金属与反硝化细菌之间的复杂作用可能是由 不同群落组成变化所导致的[33]。从图3中可以看出, nirK型反硝化微生物优势菌门变形菌门、优势菌目根 瘤菌目以及优势菌属短根瘤菌属,nirS型反硝化微生 物优势菌门变形菌门以及优势菌纲β-变形菌纲均受 到重金属含量变化的影响。这可能是由于泗顶矿区 及周边土壤中大量重金属的存在刺激了nirK和nirS 基因的抗性机制,以适应当前不利的环境[34]。

研究表明,变形菌门是反硝化细菌最常见的菌 门^[35]。Helen等^[8]的研究表明,*nirK*型反硝化细菌比 *nirS*型反硝化细菌的种类更加丰富,其中α-变形菌纲 是最常见的*nirK*型反硝化细菌类群之一。在本研究 中,*nirK*型α-变形菌纲在目水平上主要鉴定为根瘤 菌目,在科水平上进一步鉴定为慢生根瘤菌科,在属 水平上进一步鉴定为慢生根瘤菌属(图2b)。Schmidt 等^[36]的研究表明,慢生根瘤菌具有固氮和反硝化作 用,在土壤氮循环过程中起着重要的作用。研究表 明,γ-变形菌纲是*nirS*型反硝化细菌中最常见的菌 纲,其中的罗河杆菌属是最常见的优势菌属^[7]。本研 究也发现了同样的结果,罗河杆菌属在3种优势植物 的根际和非根际土壤中相对丰度较高,尤其是在尾矿 区(图2a)。同时,慢生根瘤菌属和罗河杆菌属微生 物可以存在于酸性或重金属污染的环境中^[37];并且罗 河杆菌属反硝化细菌在控制氧化亚氮的排放过程中 起重要作用^[38]。因此,在重金属污染严重的泗顶矿 区,植物根际和非根际土壤中慢生根瘤菌属和罗河杆 菌属微生物在土壤反硝化过程中起重要作用。

3.2 土壤环境变化对植物根际和非根际反硝化细菌 群落特征的影响

植物根际和非根际土壤微生物群落的建立并不 是随机的,而是受到植物种类、土壤类型和季节变化 等一系列因素的影响^[39]。总体而言,3种优势植物根 际土壤的*nirK*型和*nirS*型反硝化细菌α-多样性均高 于非根际土,且在同一区域的不同植物种类间存在差 异(图1)。这表明反硝化细菌的α-多样性与植物种 类和土壤类型密切相关。研究表明,植物根系分泌的 有机酸、糖类和氨基酸有利于微生物的生长代谢,可 导致有益微生物的选择性富集,以维持植物在恶劣环 境中的生存^[40-42];另外,植物残体在根际土壤中的分 解可能为根际微生物提供了更多的碳源^[43],因此植物 根际土壤微生物的α-多样性更为丰富。

含水率是土壤微生物群落形成的主要限制因子 之一,对土壤微生物的群落结构和组成均起到至关重 要的作用[44]。本研究结果表明,土壤含水率对反硝化 细菌群落多样性、结构和组成均起到了显著的影响。 Kim 等[45]的研究表明,土壤含水率的增加可以促进土 壤微生物的生长和活性。对于nirS型反硝化微生物, 土壤含水率显著影响了 Shannon 指数和 NMDS1 指数 (表2)。上游区芦苇的根际土壤含水率最高 (53.5%),此时其反硝化细菌群落的 Shannon 指数也 达到最高。同时,有研究表明土壤含水率的变化也会 影响土壤的碳和氮含量,进而影响反硝化过程并驱动 反硝化细菌的分布^[9,46]。此外,PLS-PM模型表明含水 率的变化对nirK和nirS基因丰度也产生了显著的正 相关性影响(P<0.001,图4)。因此,土壤含水率变化 是影响泗顶矿区3种优势植物根际和非根际反硝化 细菌群落多样性、丰度、结构和组成的主要因素之一。

一些研究如小规模的田间施肥、长期种植以及实验室土壤培养表明,土壤钙、钠、总氮、总碳、总磷和有效磷含量的变化也是影响反硝化细菌群落多样性、结构和组成的关键因素^[47-50]。本研究也表明土壤钙、钠、总磷、有效磷和总碳含量的变化对反硝化细菌群落结构产生了显著影响(表3)。此外,土壤pH值显著影响了*nirK*和*nirS*型反硝化细菌的 NMDS1 指数(表2)。研究表明,*nirK*型反硝化细菌在酸性土壤中

比 nirS 型反硝化细菌对反硝化过程的贡献更大^[51]。 在本研究中,可以看出大多样点 nirK 的 Shannon 和 ACE 指数均高于对应的 nirS(表 2)。同时,钙和钠作 为微生物生长必需的元素,在泗顶矿区土壤反硝化过 程中的作用也不容忽视,PLS-PM模型结果反映了钙 和钠含量的改变对 nirK 基因丰度产生了显著的负相 关性影响(P<0.05,图4)。

土壤碳含量变化是影响土壤反硝化细菌nirK和 nirS基因丰度,改变土壤反硝化细菌群落结构和组成 的关键因素之一^[12,52]。Bárta 等^[53]的研究表明,土壤碳 含量是nirK型反硝化细菌丰度的最重要影响因素。 本研究结果表明,3种优势植物根际和非根际土壤总 碳含量变化对反硝化细菌群落多样性、结构和组成均 起到了显著的影响。总碳含量显著影响nirK型反硝 化细菌的Shannon指数、ACE指数和NMDS1指数(表 2);此外,在总碳含量较高的上游区和下游区(表1), nirK型反硝化细菌的 Shannon 指数显著高于尾矿区 (图 1e);同时,PLS-PM模型结果也表明,总碳含量对 nirK基因丰度变化产生了显著的正相关性影响(P< 0.05)。并且, Mantel检验的结果也表明总碳含量变化 对nirK型和nirS型反硝化细菌群落结构产生了显著的 正相关性影响(表3)。因此,土壤总碳含量变化是影 响泗顶矿区3种优势植物根际和非根际反硝化细菌群 落多样性、丰度、结构和组成的主要因素之一,尤其对 nirK型反硝化细菌的影响更显著。

氮和磷作为土壤微生物必不可缺的营养元素,是 微生物能量储存、光合作用、新陈代谢和细胞分裂等 过程的重要参与者^[1,38]。多元线性回归分析结果表 明,总氮含量变化显著影响*nirK*型反硝化细菌的 Shannon指数以及两种类型反硝化微生物的NMDS1 指数(表2);并且总氮含量对*nirK*型和*nirS*型反硝化 细菌的基因丰度产生了显著的正相关性影响(*P*< 0.001,图4),这与Zhang等^[9]和Yang等^[47]的研究结果 一致。此外,*nirK*型反硝化细菌对土壤中硝态氮含量 变化的影响大于*nirS*型反硝化细菌的电子供体和底 物,帮助其在恶劣的环境中生存;相比之下,*nirK*型反 硝化细菌对重金属污染环境的适应性更强,因此在硝 态氮的转化过程中发挥着更重要的作用^[54]。

磷元素作为植物根系形成和植物生长必不可缺的元素^[55],本研究中总磷和有效磷含量显著影响了 nirS型反硝化细菌的Shannon指数以及两种类型反硝 化微生物的NMDS1指数(表2),并且显著影响了反硝

农业环境科学学报 第42卷第11期

化细菌的群落结构(表3)。已有研究表明,磷可以通 过沉淀作用缓解重金属的毒性,有利于土壤微生物的 生存^[56]。从本研究的结果可以看出,土壤磷含量的变 化对反硝化细菌,尤其是nirS型反硝化细菌的影响更 显著,这与Chen等^[57]的研究结果一致。PLS-PM模型 结果反映土壤有效磷含量的变化对nirK型和nirS的 基因丰度产生了显著的负相关性影响(P<0.001,图 4),这可能是由于泗顶矿区土壤的有效磷含量过低不 利于反硝化细菌生存所致。有效磷与反硝化细菌丰 度的具体联系,将在未来的研究中进行探索。

4 结论

(1)变形菌门在芦苇、蜈蚣草和五节芒3种优势 植物的根际和非根际土中均为优势菌门。nirS型反 硝化细菌优势菌属是罗河杆菌属,所占比例为2.6%~ 67.8%;nirK型反硝化细菌优势菌属是慢生根瘤菌属, 所占比例为4.1%~38.1%;这两种优势菌属均可在酸 性或重金属污染土壤环境下生存,在土壤反硝化过程 中起重要作用,在一定程度上能够缓解泗顶矿区重金 属污染严重及氮贫瘠的状况。

(2)3种优势植物根际和非根际土壤的 nirK 和 nirS 基因丰度及反硝化细菌群落多样性均受到重金 属含量变化的显著影响;其中,nirK型反硝化微生物 对重金属污染环境更为敏感。

(3)土壤含水率、总碳、总氮和总磷含量的变化是 影响泗顶矿区3种优势植物根际和非根际反硝化细 菌群落多样性、丰度、结构和组成的主要因素,其中, 总碳变化对nirK型反硝化细菌的影响更显著,总磷变 化对nirS型反硝化细菌的影响更显著。

参考文献:

- KUYPERS M M M, MARCHANT H K, KARTAL B. The microbial nitrogen-cycling network[J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16:263.
- [2] CANFIELD D E, GLAZER A N, FALKOWSKI P G. The evolution and future of earth's nitrogen cycle[J]. Science, 2010, 330 (6001) : 192– 196.
- [3] WISE B R, ROANE T M, MOSIER A C. Community composition of nitrite reductase gene sequences in an acid mine drainage environment [J]. *Microbial Ecology*, 2020, 79(3):562–575.
- [4] BARNARD R, LEADLEY P W, HUNGATE B A. Global change, nitrification, and denitrification: a review[J]. *Global Biogeochemical Cycles*, 2005, 19(1):GB1007.
- [5] HOU S, AI C, ZHOU W, et al. Structure and assembly cues for rhizospheric *nirK*- and *nirS*-type denitrifier communities in long-term fertilized soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 119:32-40.

2023年11月 于方明,等:泗顶矿区植物根际和非根际土壤反硝化细菌群落特征

- [6] LIU Y, ZHU J, YE C, et al. Effects of biochar application on the abundance and community composition of denitrifying bacteria in a reclaimed soil from coal mining subsidence area[J]. Science of the Total Environment, 2018, 625:1218–1224.
- [7] HU X, LIU J, WEI D, et al. Chronic effects of different fertilization regimes on *nirS*-type denitrifier communities across the black soil region of northeast China[J]. *Pedosphere*, 2020, 30(1):73-86.
- [8] HELEN D, KIM H, TYTGAT B, et al. Highly diverse *nirK* genes comprise two major clades that harbour ammonium-producing denitrifiers [J]. *BMC Genomics*, 2016, 17:155.
- [9] ZHANG D, CUI R, FU B, et al. Shallow groundwater table fluctuations affect bacterial communities and nitrogen functional genes along the soil profile in a vegetable field[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 146: 103368.
- [10] CHEN W B, PENG S L. Land-use legacy effects shape microbial contribution to N₂O production in three tropical forests[J]. *Geoderma*, 2020, 358:113979.
- [11] BRAKER G, SCHWARZ J, CONARD R. Influence of temperature on the composition and activity of denitrifying soil communities[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 73(1):134-148.
- [12] LI H, ZHANG Y, WANG T, et al. Responses of soil denitrifying bacterial communities carrying *nirS*, *nirK*, and *nosZ* genes to revegetation of moving sand dunes[J]. *Ecological Indicators*, 2019, 107:105541.
- [13] SZUKICS U, ABELL G C J, HÖDL V, et al. Nitrifiers and denitrifiers respond rapidly to changed moisture and increasing temperature in a pristine forest soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72(3):395– 406.
- [14] 周婷婷, 胡文革, 钟镇涛, 等. 不同季节艾比湖湿地盐角草根际 nirS-型与 nirK-型反硝化细菌群落组成分析[J]. 生态学报, 2022, 42(13): 5314-5327. ZHOU T T, HU W G, ZHONG Z T, et al. Community composition of nirS-type and nirK-type denitrifying bacteria in rhizosphere of Salicornia europaea in the Ebinur Lake Wetland during different seasons[J]. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(13):5314-5327.
- [15] WANG S, LIU W, ZHAO S, et al. Denitrification is the main microbial N loss pathway on the Qinghai–Tibet Plateau above an elevation of 5 000 m[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 696:133852.
- [16] FU G P, HAN J Y, YU T, et al. The structure of denitrifying microbial communities in constructed mangrove wetlands in response to fluctuating salinities[J]. *Journal of Environmental Management*, 2019, 238: 1–9.
- [17] 雷善钰, 辜运富, 张亚洁, 等. 攀枝花干热河谷区不同海拔高度农田土壤 nirS型反硝化细菌的群落结构分析[J]. 土壤通报, 2022, 53 (6):1368-1375. LEISY, GUYF, ZHANGYJ, et al. Community structure analysis of nirS denitrifying bacteria in farmland soil at different altitudes in the dry-hot valley of Panzhihua[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2022, 53(6):1368-1375.
- [18] 李艺,张海春,刘媛,等. 泗顶矿区剖层土固氮微生物群落结构和 丰度[J]. 中国环境科学, 2022, 42(4):1819-1828. LI Y, ZHANG H C, LIU Y, et al. Characteristics on the community structure and abundance of diazotrophs from the soil profile in the Siding mine area [J]. *China Environmental Science*, 2022, 42(4):1819-1828.

- [19] 路畅, 王英辉, 杨进文. 广西铅锌矿区土壤重金属污染及优势植物 筛选[J]. 土壤通报, 2010, 41(6):1471-1475. LU C, WANG Y H, YANG J W. Soil heavy metal pollution and dominant plants selection in Pb-Zn mining areas of Guangxi[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2010, 41(6):1471-1475.
- [20] 尹仁湛, 罗亚平, 李金城, 等. 泗顶铅锌矿周边土壤重金属污染潜 在生态风险评价及优势植物对重金属累积特征[J]. 农业环境科学 学报, 2008, 27(6):2158-2165. YIN R Z, LUO Y P, LI J C, et al. Evaluation of the potential ecological risk of heavy metal pollution in soil and bioaccumulation characteristics of dominant plants in Siding Pb-Zn mine[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2008, 27(6): 2158-2165.
- [21] DENNIS P G, MILLER A J, HIRSCH P R. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities?[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72(3): 313–327.
- [22] GUYONNET J P, VAUTRIN F, MEIFFREN G, et al. The effects of plant nutritional strategy on soil microbial denitrification activity through rhizosphere primary metabolites[J]. *FEMS Microbiology Ecol*ogy, 2017, 93(4):fix022.
- [23] BAÑERAS L, RUIZ-RUEDA O, LÓPEZ-FLORES R, et al. The role of plant type and salinity in the selection for the denitrifying community structure in the rhizosphere of wetland vegetation[J]. *International Microbiology*, 2012, 15(2):89–99.
- [24] SCHMIDT J E, KENT A D, BRISSON V L, et al. Agricultural management and plant selection interactively affect rhizosphere microbial community structure and nitrogen cycling[J]. *Microbiome*, 2019, 7(1):18.
- [25] 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, 1999. LU R K. Agrochemical analysis method of soil[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999.
- [26] THROBÄCK I N, ENWALL K, JARVIS Å, et al. Reassessing PCR primers targeting *nirS*, *nirK* and *nosZ* genes for community surveys of denitrifying bacteria with DGGE[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 49(3):401–417.
- [27] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10):996–998.
- [28] WEIS J S, WEIS P. Metal uptake, transport and release by wetland plants: implications for phytoremediation and restoration[J]. *Environment International*, 2004, 30(5):685–700.
- [29] KOHDA Y H T, ENDO G, KITAJIMA N, et al. Arsenic uptake by *Pteris vittata* in a subarctic arsenic-contaminated agricultural field in Japan: an 8-year study[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 831:154830.
- [30] WU B, LUO S, LUO H, et al. Improved phytoremediation of heavy metal contaminated soils by *Miscanthus floridulus* under a varied rhizosphere ecological characteristic[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 808:151995.
- [31] LU L, CHEN C, KE T, et al. Long-termmetal pollution shifts microbial functional profiles of nitrification and denitrification in agricultural soils[J]. Science of the Total Environment, 2022, 830:154732.
- [32] TANG J Y, ZHANG J C, REN L H, et al. Diagnosis of soil contamina-

www.aer.org.cn

tion using microbiological indices: a review on heavy metal pollution [J]. Journal of Environmental Management, 2019, 242:121-130.

- [33] LIU Y, LIU Y, ZHOU H, et al. Abundance, composition and activity of denitrifier communities in metal polluted paddy soils[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6:19086.
- [34] SUN W, XIAO E, HAGGBLOM M, et al. Bacterial survival strategies in an alkaline tailing site and the physiological mechanisms of dominant phylotypes as revealed by metagenomic analyses[J]. *Environmental Science Technology*, 2018, 52(22):13370-13380.
- [35] ZOU Y, LIN M, XIONG W, et al. Metagenomic insights into the effect of oxytetracycline on microbial structures, functions and functional genes in sediment denitrification[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 161:85–91.
- [36] SCHMIDT J, FESTER T, SCHULZ E, et al. Effects of plant-symbiotic relationships on the living soil microbial community and microbial necromass in a long-term agro-ecosystem[J]. Science of the Total Environment, 2017, 581/582:756-765.
- [37] GREEN S J, PRAKASH O, GIHRING T M, et al. Denitrifying bacteria isolated from terrestrial subsurface sediments exposed to mixedwaste contamination[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2010, 76(10):3244-3254.
- [38] BENT E, NÉMETH D, WAGNER-RIDDLE C, et al. Residue management leading to higher field-scale N₂O flux is associated with different soil bacterial nitrifier and denitrifier gene community structures [J]. Applied Soil Ecology, 2016, 108:288-299.
- [39] HASSANI M A, DURAN P, HACQUARD S. Microbial interactions within the plant holobiont[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1):58.
- [40] OLANREWAJU O S, AYANGBENRO A S, GLICK B R, et al. Plant health: feedback effect of root exudates-rhizobiome interactions[J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 2019, 103(3):1155-1166.
- [41] YUAN J, ZHAO J, WEN T, et al. Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 156.
- [42] WANG Y, REN W, LI Y, et al. Nontargeted metabolomic analysis to unravel the impact of di (2-ethylhexyl) phthalate stress on root exudates of alfalfa(*Medicago sativa*)[J]. Science of the Total Environment, 2019, 646:212-219.
- [43] MAARASTAWI S A, FRINDTE K, BODELIER P L E, et al. Rice straw serves as additional carbon source for rhizosphere microorganisms and reduces root exudate consumption[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 135:235–238.
- [44] HEDÊNEC P, RUI J, LIN Q, et al. Functional and phylogenetic response of soil prokaryotic community under an artificial moisture gradient[J]. Applied Soil Ecology, 2018, 124:372-378.
- [45] KIM H, BAE H S, REDDY K R, et al. Distributions, abundances and activities of microbes associated with the nitrogen cycle in riparian

and stream sediments of a river tributary[J]. Water Research, 2016, 106:51-61.

- [46] ABID A A, GU C, ZHANG Q, et al. Nitrous oxide fluxes and nitrifier and denitrifier communites as affected by dry-wet cycles in long term fertilized paddy soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, 125:81–87.
- [47] YANG Y, ZHAO J, JIANG Y, et al. Response of bacteria harboring nirS and nirK genes to different N fertilization rates in an alkaline northern Chinese soil[J]. European Journal of Soil Biology, 2017, 82: 1–9.
- [48] YU Z, LIU J, LI Y, et al. Impact of land use, fertilization and seasonal variation on the abundance and diversity of *nirS*-type denitrifying bacterial communities in a Mollisol in northeast China[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2018, 85:4-11.
- [49] JIN Z J, LI L Q, LIU X Y, et al. Impact of long-term fertilization on community structure of ammonia oxidizing and denitrifying bacteria based on *amoA* and *nirK* genes in a rice paddy from Tai Lake region, China[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2014, 13(10):2286-2298.
- [50] YIN C, FAB F, SONG A, et al. Different denitrification potential of aquic brown soil in northeast China under inorganic and organic fertilization accompanied by distinct changes of *nirS*- and *nirK*-denitrifying bacterial community[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, 65:47-56.
- [51] BOWWEN H, MAUL J E, CAVIGELLI M A, et al. Denitrifier abundance and community composition linked to denitrification activity in an agricultural and wetland soil[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 151: 103521.
- [52] LIU J, SUI Y, YU Z, et al. High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of northeast China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 70: 113-122.
- [53] BÁRTA J, MELICHOVÁ T, VANÊK D, et al. Effect of pH and dissolved organic matter on the abundance of *nirK* and *nirS* denitrifiers in spruce forest soil[J]. *Biogeochemistry*, 2010, 101(1):123–132.
- [54] LIU H, ZHENG X, LI Y, et al. Soil moisture determines nitrous oxide emission and uptake[J]. Science of the Total Environment, 2022, 822: 153566.
- [55] KWON H K, OH S J, YANG H S. Growth and uptake kinetics of nitrate and phosphate by benthic microalgae for phytoremediation of eutrophic coastal sediments[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 129:387–395.
- [56] GUPTA D K, CHATTERJEE S, DATTA S, et al. Role of phosphate fertilizers in heavy metal uptake and detoxification of toxic metals[J]. *Chemosphere*, 2014, 108:134–144.
- [57] CHEN Z, LUO X, HU R, et al. Impact of long-term fertilization on the composition of denitrifier communities based on nitrite reductase analyses in a paddy soil[J]. *Microbial Ecology*, 2010, 60(4):850-861.

(责任编辑:李丹)

中文核心期刊