

石油污染盐碱土壤棉花根际微生物与石油烃降解关系

焦海华^{1,2} 边高鹏¹ 崔丙健² 白志辉^{2*} 黄占斌^{3*}

(1. 长治学院 生物科学与技术系 山西 长治 046011)

(2. 中国科学院生态环境研究中心 北京 100085)

(3. 中国矿业大学(北京) 化学与环境工程学院 北京 100083)

摘要: 【目的】探讨棉花(*Gossypium* spp.)生长对石油烃(TPH)污染盐碱土壤微生物群落结构的影响,揭示根际微生物与TPH降解的相关关系。【方法】利用磷脂脂肪酸(PLFA)方法解析根际土壤活性微生物群落随棉花生长的动态变化特征。【结果】根际土壤先后出现了21种PLFAs,包括:饱和脂肪酸(SAT),标识除放线菌之外的细菌;甲基支链末端型饱和脂肪酸(TBSAT),标识除放线菌之外的革兰氏阳性(G^+)细菌;标识真菌的多不饱和脂肪酸(PUFA);标识放线菌的甲基支链中间型饱和脂肪酸(MBSAT);标识革兰氏阴性(G^-)细菌的单不饱和脂肪酸(MONO)和环丙基脂肪酸(CYCLO)。棉花根际与未栽种棉花的对照(CK)相比,根际土壤微生物PLFAs种类在苗期、蕾期、吐絮期分别增加了100%、83.3%、20.0%,生物量分别增加了53.9%、6.60倍和60.7%;土壤TPH降解率分别提高13.0%、28.0%和30.6%。相关性分析表明:根际土壤TPH降解与根际土壤微生物总生物量具有低度正相关关系($|r|=0.5$),但与a14:0、a16:0、i15:0标记的 G^+ 细菌生物量高度正相关($|r|\geq 0.8$)。【结论】棉花生长对石油污染盐碱土壤活性微生物群落结构具有显著($P<0.05$)的影响,且加速了土壤TPH的降解。该结果将为今后更好地开展石油污染盐碱土壤的生物修复技术研究提供理论依据。

关键词: 石油污染盐碱土壤, 磷脂脂肪酸(PLFA), 根际微生物, 棉花(*Gossypium* spp.)

基金项目: 国家 863 计划项目(No. 2013AA06A205); 国家科技重大专项项目(No. 2014ZX07204-005); 中国科学院环境生物技术重点实验室开放基金课题(No. EBT2013A001)

*通讯作者: 白志辉: zhbai@rcees.ac.cn; 黄占斌: zbh Huang2003@163.com

收稿日期: 2015-03-07; 接受日期: 2015-06-02; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-06-17

Correlation between rhizosphere microbial community of *Gossypium* spp. and petroleum hydrocarbon degradation in the petroleum contaminated saline-alkali soil

JIAO Hai-Hua^{1,2} BIAN Gao-Peng¹ CUI Bing-Jian² BAI Zhi-Hui^{2*}
HUANG Zhan-Bin^{3*}

(1. Department of Biological Sciences and Technology, Changzhi University, Changzhi, Shanxi 046011, China)

(2. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

(3. School of Chemical and Environmental Engineering, China University of Mining and Technology-Beijing, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] Open out the correlation between rhizosphere microbial community of *Gossypium* spp. and petroleum hydrocarbon (TPH) degradation in the petroleum contaminated saline-alkali soil. [Methods] Phospholipid fatty acid (PLFA) analysis method in different growing periods (seedling, bud and boll opening season) of *Gossypium* spp. was used to evaluate the microbial community diversity in the soil. [Results] It was found 21 kinds of PLFAs in the soil, including bacteria (except actinomycetes) biomarkers of saturated fatty acids (SAT), fungi species biomarkers of polyunsaturated fatty acid (PUFA), actinomycetes biomarkers of middle branched saturated fatty acids (MBSAT), Gram positive (G^+) bacteria (except actinomycetes) biomarkers of terminal branched saturated fatty acids (TBSAT), Gram negative bacteria (G^-) biomarkers of monounsaturated fatty acids (MONO) and Cyclopropyl fatty acids (CYCLO). There are significant differences on microbial diversity in the rhizosphere soil between the *Gossypium* spp. and without cotton (CK), the differences were also observed in the different growth periods. Compared with the CK, the microbial diversity increased by 100%, 83.3%, and 20.0% and biomass of soil microbes increased by 53.9%, 6.60 times, and 60.5% for seedling, bud and boll opening periods, respectively. In addition, when *Gossypium* spp. was grown in the petroleum contaminated saline-alkali soil, the degradation rates of total petroleum hydrocarbon (TPH) in the rhizosphere soils increased by 13.0%, 28.0% and 30.6% in seedling, bud and boll opening periods, respectively. Correlation analysis (Spearman method) was used to determine the correlation between the soil microbial community and the TPH degradation. Although the total soil microbial biomass had a low correlation with TPH degradation with a correlation coefficient $|r|=0.5$, whereas i15:0, a14:0, a16:0 had a high positive correlation with the correlation coefficient $|r|\geq 0.8$. [Conclusion] The study indicate that the structure and the biomass of the soil microbial community have significant changed ($P<0.05$) and the TPH degradation have improved in the rhizospheres soils of *Gossypium* spp.. The planting of *Gossypium* spp. can effectively improve TPH contaminated saline-alkali soil, and the results have a great reference value in application of TPH contaminated saline-alkali soil.

Keywords: Petroleum contaminated saline-alkali soil, Phospholipid fatty acid (PLFA), Rhizosphere microbe, *Gossypium* spp.

磷脂脂肪酸(Phospholipid fatty acid, PLFA)分析方法是基于 PLFAs 发展起来的现代生物化学技术。虽然具有一定的局限性,但与传统的培养基分离技术、生理学及分子生物学方法相比,具有许多优点:(1) PLFAs 不受培养体系的影响,对细胞生理活性没有特殊的要求;(2) PLFAs 是活性微生物膜结构物

质,细胞一旦死亡 PLFAs 将迅速分解。在自然生理条件下,其含量相对恒定(约占细胞干重的 5%)^[1];(3) PLFAs 可通过不同的代谢途径合成,具有结构多样性和生物多样性。不同的微生物具有不同的种类和含量。某些 PLFAs 特异性地存在于某类(种)微生物的细胞膜中^[2]。(4) PLFAs 提取不受质粒损失或增

加, 或有机体变化的影响, 实验结果更为客观、可靠; (5) 试验条件要求低、操作难度小、样品测试价格相对较低并能反应多种功能。鉴于 PLFAs 的生理特征, PLFAs 的存在及其丰富度可以作为微生物群落结构和生物量变化的生物标记分子, 能有效提供微生物群落的信息, 直接反应微生物群落的动态变化, 揭示特定微生物种群的存在及其丰富度的动态变化^[3]。研究^[4]认为, PLFAs 不但可以用来区分革兰氏阳性(G⁺)细菌、革兰氏阴性(G⁻)细菌、好氧细菌、厌氧细菌、真菌和放线菌等, 还可以根据具有种属特异性的 PLFAs 来指示特定的微生物, 如 Ludvigsen 等^[5]以环丙基脂肪酸作为硫酸盐还原菌的生物指示物。Albrechtsen 等^[6]基于 PLFAs 方法在受燃料油污染的土壤发现了大量的硫酸盐还原细菌。Ibekwe 等^[7]用 19:1 ω 8、16:1 ω 6c、15:2 ω 2,14 等指示诺卡氏菌(*Nocardia*), 取得较好的研究效果。

土壤微生物是土壤有机物质(包括有机污染物)的分解者, 在物质循环和能量流动中具有极其重要的作用^[8]。此外, 土壤微生物对环境的变化极为敏感, 容易受污染物的浓度、土壤理化因子等的影响。因此, 土壤微生物不仅是土壤肥力的源和库, 而且还能够作为灵敏的生物学指标指示土壤受干扰的程度^[9]。土壤微生物量已成为土壤生物学、土壤生态学等领域研究的热点问题之一^[10]。根际土壤环境是微生物活跃区域, 根际土壤形成具有不同结构与功能特征的微生物群落^[11]。Lynch 等^[12]和 Reilley 等^[13]认为地表植被是土壤微生物多样性发展的重要推动力。

棉花(*Gossypium* spp.)属于锦葵科, 棉属(*Gossypium hirsutum* L.)植物, 是全球种植最广泛的经济作物之一。具有发达的直根, 能吸收较深土层的水分和养分, 具有较强的耐盐碱、耐干旱能力。关于棉花的育种、栽培、田间管理等方面的研究很多, 但关于棉花生长对石油污染盐碱土壤微生物群落结构与功能特征的影响研究报道还较少。

本研究通过 PLFAs 指纹图谱法分析根际土壤活性微生物的种类和生物量的动态变化情况, 揭示棉花生长对土壤微生物群落和 TPH 降解功能的影

响, 以期石油污染盐碱土壤的植物修复技术研究提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 实验设计和土壤样品采集

实验土壤类型为石油污染盐碱性土壤, 取自天津大港油田区。石油烃含量 6.36 \pm 1.80 g/kg、pH 8.930 \pm 0.485 (pHs-3C)、电导率 306 \pm 2.53 μ s/cm、总氮 0.521 \pm 0.101 g/kg、总碳 3.710 \pm 0.421 g/kg、有效磷 (26.600 \pm 0.523) mg/kg、有效钾 7.930 \pm 0.105 mg/kg。

盆栽实验, 棉花(*Gossypium* spp.) (中棉 16 号), 购买于中国农业科学院农业花卉研究所。盆径 25 cm \times 30 cm, 共 30 盆, 其中 10 盆为未种植棉花的对照(CK)。棉花于 2013 年 4 月 1 日播种, 每盆 5 粒, 长出第一片真叶后间苗, 每盆留苗 2 株, 整个生长期 180 d, 采用自然光源, 温度为 15–35 $^{\circ}$ C, 湿度保持在 50%–60%。分别在棉花生长的苗期、蕾期、吐絮期分别取 3 次样, 整个生长期共取 9 次样。采用打孔器分别在根区周围 0–20 cm 取 40 个根际土样, 然后混合均匀, 先去除石块、动植物残体等杂质, 用四分法取需用量的土样, 装入密封袋运送实验室。其中, PLFAs 提取采用鲜土。石油烃含量分析采用冷冻干燥土样, 研磨过 100 目金属筛。文中 3 个生长期所列数据均为该生长期 3 次取样测定的平均值。

1.2 测定指标及方法

土壤总碳、氮测定采用元素分析仪测定; pH 和电导率(EC)用 pH 计和电导仪测定; 有效磷采用钼锑抗比色法测定^[14]; 石油烃含量根据 Riser-Roberts 等^[15]文献测定。参照 Bligh 和 Dyer 的方法提取 PLFAs^[16], PLFAs 样品利用气相色谱-气相质谱联用仪(GC-MS)测定。

1.3 PLFAs 命名与生物量的确定

PLFAs 命名采用“ ω ”系统, 分子通式: (i/a/me/cy)X:Y ω Z(c/t), 其中, X: 主链碳原子的个数; Y: 碳链中双键的个数; ω : 双键; Z: 双键的位置(距离分子末端碳原子的个数); i 或 a: 甲基支链的位置(分别在距离分子末端第 2、3 个碳原子

上); me: 甲基支链的位置(距离分子始端碳原子的个数); cy: 分子中的环丙基; c 或 t: 分子的顺、反式结构^[17]。

根据文献[18-19], 不同 PLFAs 标记的微生物类型分别为: 饱和型脂肪酸(SAT)如 C14:0、C15:0、C16:0、C18:0、n16:0 标识除放线菌之外的细菌(以下相同); 单不饱和型脂肪酸(MONO)如 16:1 ω 7t、i16:1 ω 5、18:1 ω 9c、18:1 ω 9t 和环丙脂肪酸(CYCLO)如 cy16:0、cy18:0 等标识革兰氏阴性(G⁻)细菌; 支链末端型脂肪酸(TBSAT)如 i13:0、i15:0、i16:0、a14:0、a16:0 等标识除放线菌之外的革兰氏阳性(G⁺)细菌(以下相同); 多不饱和型脂肪酸(PUFA)如 18:2 ω 6,9 等标识真菌; 支链中间型脂肪酸(MBSAT)如 10me18:0、9me14:0、9me16:0、2me14:0 等标识放线菌; 以 SAT、MONO、CYCLO、TBSAT 总和表征细菌总生物量; 以 PUFA 表征真菌生物量; 以 MBSAT 表征放线菌生物量; 以 TBSAT 表征 G⁺菌生物量; 以 MONO 和 CYCLO 之和表征 G⁻菌生物量。特征 PLFAs 的相对含量为该 PLFAs 的量占土

壤样品中所有提取量的百分比。

1.4 数据分析

对 PLFAs 的 GC-MS 测定结果, 利用 NEST 5.0 图谱库进行解析; 利用 SPSS 17.0 软件对数据进行主成分和相关性分析。PLFAs 与土壤 TPH 降解相关性分析采用 Spearman 方法。

2 结果与分析

2.1 棉花根际土壤微生物 PLFAs 指纹图谱

将提取的微生物 PLFAs 利用 GC-MS 分析得到谱图, 以吐絮期为例(图 1)。其中, 横坐标表示各 PLFAs 在气相色谱中出现特征峰的时间, 纵坐标则表示各 PLFAs 的峰高。

将 GC-MS 图谱信息量化, 转化成数据形式, 不同特征 PLFAs 的类型及其相对含量见表 1。由表 1 可知, PLFAs 根据分子结构可分为: SAT、TBSAT、MBSAT、MONO、PUFA、CYCLO 等 6 大类型。棉花根际土壤先后共出现了 21 种 PLFAs, 其中, 苗期 16 种, 蕾期 11 种, 吐絮期 12 种; CK 土壤中

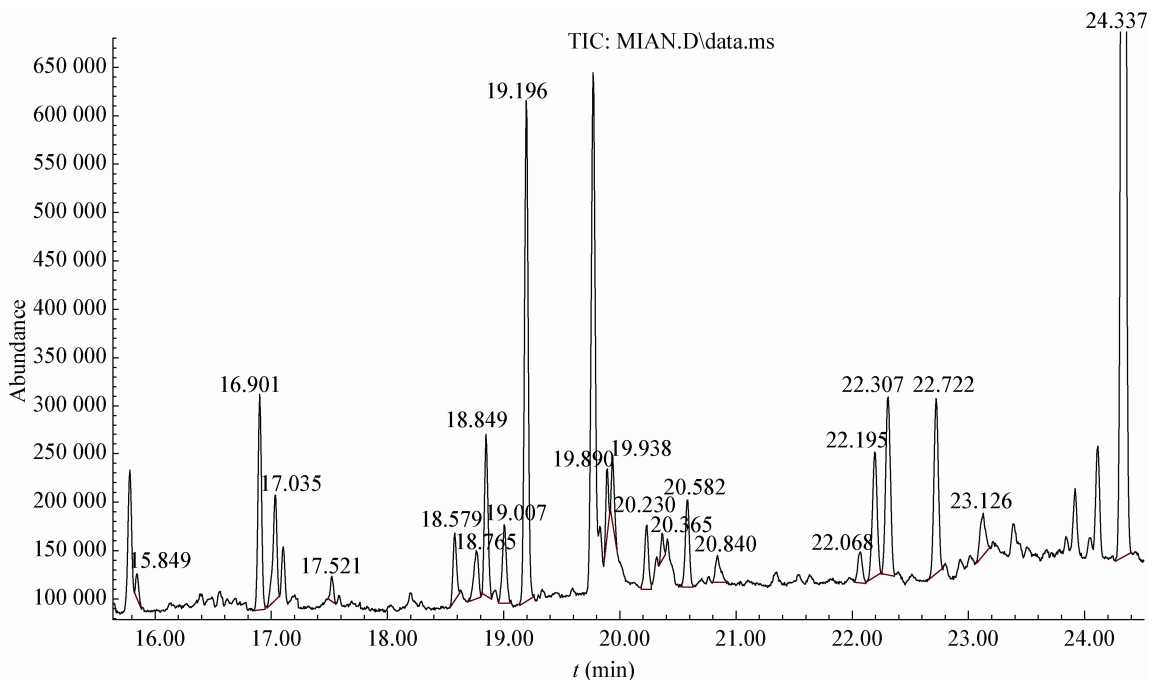


图 1 棉花吐絮期根际土壤样品微生物磷脂脂肪酸(PLFAs)气相色谱图

Figure 1 Chromatogram profiles of phospholipids fatty acids (PLFAs) of soil microbial community at opening period of *Gossypium* spp.

表 1 棉花根际和对照土壤中微生物 PLFAs 的相对生物量

Table 1 Relative biomass amounts of the microbial PLFAs in cotton rhizosphere and the control soils (%)

序号 Number	名称 Name	苗期 Seeding		蕾期 Bud		吐絮 Opening	
		Control	Rhizosphere	Control	Rhizosphere	Control	Rhizosphere
1	c14:0	0	1.030	0	1.320	0.887	2.270
2	c15:0	3.190	11.600	0	0	9.990	0.709
3	c16:0	0	2.810	7.450	0	23.200	0
4	c18:0	0	1.180	0	1.470	10.200	0
5	i13:0	0	0	0	0	5.420	0
6	i15:0	23.000	23.700	27.400	30.200	2.830	22.100
7	i16:0	0	0.882	0	0	0	0
8	a14:0	0	5.920	0	15.400	0	0
9	a16:0	7.580	8.270	30.500	22.500	6.560	6.780
10	n16:0	0	0	0	0	2.770	3.340
11	2me14:0	0	0	0	0.982	0	0
12	9me14:0	0	1.110	0	13.200	0	16.500
13	10me18:0	17.200	1.650	0	0	0	0
14	9me16:0	0	0	21.900	0	0	0
15	i16:1ω5	0	2.420	0	0	0	0
16	16:1ω7t	0	11.800	10.800	6.130	15.200	15.700
17	18:1ω9c	16.100	15.900	0	4.160	10.600	0
18	18:1ω9t	21.900	0	1.940	1.580	7.490	21.600
19	18:2ω6,9	8.150	0.891	0	0	4.810	8.080
20	cy16:0	2.840	4.920	0	3.140	0	2.820
21	cy18:0	0	5.900	0	0	0	0
	SAT	3.19	16.70	7.45	2.79	44.30	2.98
	TBSAT	30.60	38.80	57.90	68.10	14.80	28.90
	MONO	38.00	30.10	12.70	11.90	33.30	37.30
	PUFA	2.270	0.892	0	0	4.820	8.080
	CYCLO	2.84	10.80	0	3.14	0	2.82
	MBSAT	17.20	2.75	21.90	14.20	0	16.50

先后检测到 14 种 PLFAs, 在对应的 3 个时期分别为 8 种、6 种和 10 种。两者相比, 根际土壤 PLFAs 种类分别增加了 100%、83.3%和 20.0%。增加的 PLFAs 类型包括: i16:0 (0.294%)、16:1ω5 (0.807%) 和 a14:0 (7.11%)等。根际土壤微生物 PLFAs 的优势

类群是 TBSAT, 其中, 3 个时期的相对含量分别为 38.8%、68.1%、28.9%, 其次是 MONO, 相对含量分别为 30.1%、11.9%、37.3%。其中, 优势 PLFAs 种类是 iC15:0 (18.9%)、a16:0 (12.4%)、18:1ω7t (10.2%)、16:1ω7t (11.0%)(表 1)。同时, 不同生长期

群落组成差异较大, SAT 的相对含量在苗期、吐絮期与 CK 相比分别增加了 3.83 倍与 12.9 倍,但蕾期均减少了 62.4%; TBSAT 相对含量在苗期、蕾期均表现为增加,但吐絮期表现为减少; MONO、PUFA 和 MBSAT 的相对含量在 3 个时期均表现为减少趋势。

2.2 PLFAs 主成分分析(PCA)

因子分析(图 2A)表明根际与 CK 土壤微生物群落组成的差异性。对不同生长期土壤微生物 PLFAs 相对含量进行 PCA 分析(图 2B)。根据主成分个数提取原则(特征值>1 的前 n 个主成分),提取土壤微生物 PLFAs 主成分的特征根及方差贡献率,选取方差贡献率最高的主成分 1 (PC1)可解释变量的 29.0%和主成分 2 (PC2)可解释变量的 24.8%。由图 2 可知,苗期根际土壤与 CK 土壤微生物的差异主要是 c16:0、c15:0、c18:0 标识的细菌和 16:1 ω 7、18:1 ω 9c 标识受环境营养胁迫的 G⁻菌^[20];蕾期微生物种类的差异较多,主要表现为 cy18:0、cy16:0、i16:1 ω 5 标识受环境营养胁迫的 G⁻细菌和 i16:0、a14:0、9me16:0、2me14:0 等标识的具有较高 TPH 降解功能的 G⁺细菌^[21];吐絮期的差异主要表现为

i15:0、a16:0 标识的 G⁺细菌和 18:1 ω 9t、18:2 ω 6,9 标识的真菌类型。

2.3 棉花根际土壤活性微生物量的变化情况

由图 3 可知,棉花生长的苗期、蕾期、吐絮期,根际土壤活性微生物生物量(Σ PLFAs)分别为 25.700、6.350 和 36.000 nmol/g,其中,细菌 Σ PLFAs 分别为 24.800、5.410 和 27.000 nmol/g;真菌 Σ PLFAs 分别为 0.215、0 和 2.680 nmol/g;放线菌 Σ PLFAs 分别为 0.681、0.949 和 6.310 nmol/g;CK 土壤,相应的 3 个时期活性微生物生物量分别为:16.700、0.840、22.400 nmol/g,其中,细菌 Σ PLFAs 分别为 12.700、0.660 和 21.400 nmol/g;真菌 Σ PLFAs 分别为:1.340、0 和 1.010 nmol/g;放线菌 Σ PLFAs 分别为:2.670、0.180 和 0 nmol/g。

2.4 棉花根际土壤石油烃降解情况变化

从图 4 可知,棉花生长对根际土壤 TPH 的降解具有明显的促进作用。整个生长期根际土壤石油烃的总降解率为 72.3%,其中,苗期为 22.6%,蕾期为 38.2%,吐絮期为 42.2%;CK 土壤中石油烃的总降解率为 28.3%,与棉花生长相对应的 3 个时期,石油烃的降解率分别为 9.64%、10.2%和 11.6%。

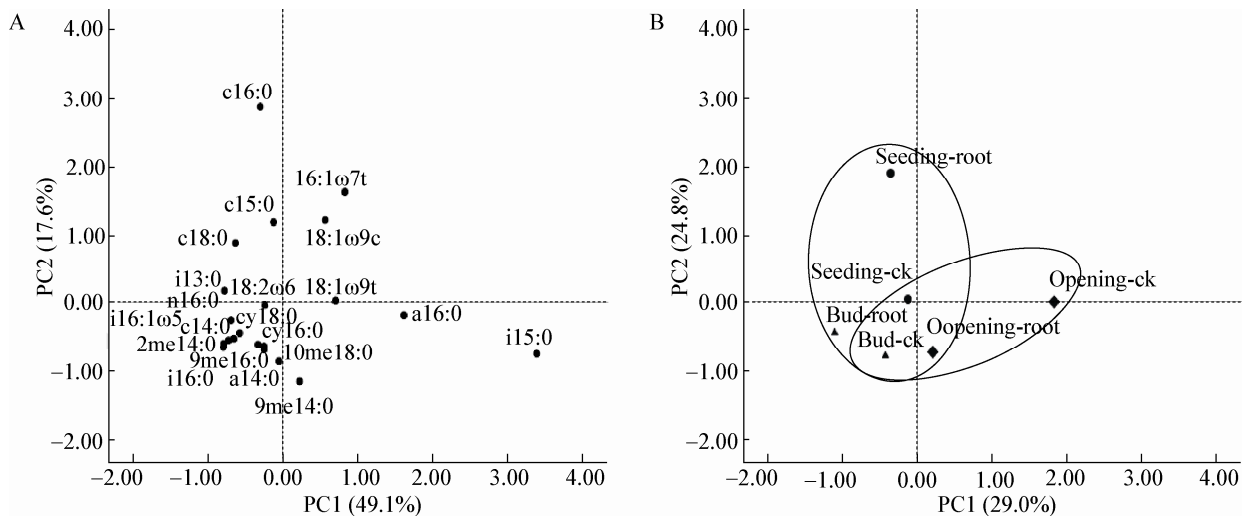


图 2 土壤微生物 PLFAs 的主成分分析(PCA)及因子分析

Figure 2 Principal component analysis (PCA) of PLFAs of the soils microorganism and the factors

Note: A: PLFAs of soil microbe. B: Soils sample; seeding-CK, bud-CK, opening-CK indicated soil sample in seeding, bud, and opening periods among the control without growth of cotton; seeding-root, bud-root, opening-root represent soil of the sample soils in seeding, bud, and opening periods cotton growth.

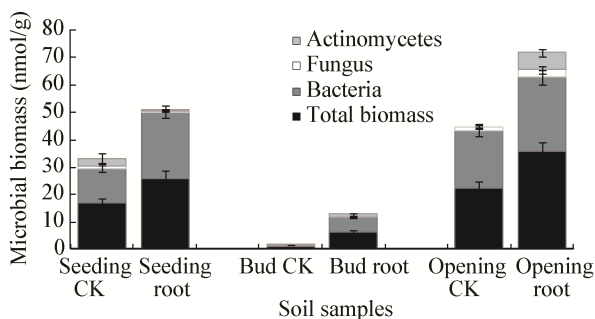


图3 棉花根际与对照土壤活性微生物生物量变化情况
Figure 3 Changes of different microbial biomass in cotton rhizosphere and the control soil

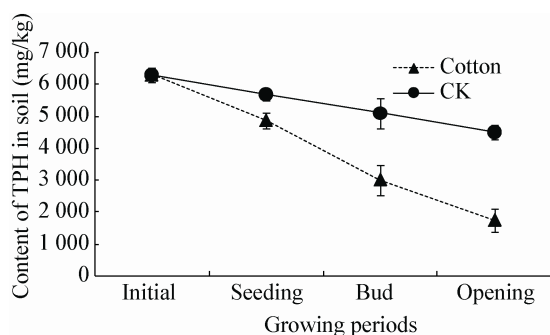


图4 棉花根际与对照土壤石油烃浓度变化情况
Figure 4 Changes of TPH concentration in the cotton rhizosphere and the control soil

2.5 土壤活性微生物与石油烃降解相关性分析

2.5.1 特征 PLFAs 与石油烃降解相关性分析:土壤活性微生物特征 PLFAs 的含量与 TPH 降解的相关性分析结果见图 5。图 5A 表明: CK 土壤中与 TPH 降解高度正相关(相关系数 $|r| \geq 0.8$)的微生物类型主要是 c14:0、c15:0、c16:0、c18:0、nc16:0、i13:0 标记的细菌和 16:1 ω 7 标识的在环境毒性或饥饿胁迫诱导产生的细菌;图 5B 表明:棉花根际土壤中与 TPH 降解高度正相关的微生物类型主要是 i15:0、a14:0 标识的 G⁺细菌;中、低度正相关(相关系数 $0.3 \leq |r| < 0.8$)的微生物类型主要是 i16:0、a16:0、i16:1 ω 5、cy16:0、cy18:0、9me14:0、10me18:0 标识的 G⁺细菌、G⁻细菌和放线菌。

2.5.2 特征微生物类群 PLFAs 与石油烃降解相关性分析:对土壤活性微生物的总生物量(Σ PLFAs)和 SAT、PUFAT、TBSAT、MBSAT、MONO、CYCLO

等不同微生物类群的生物量与土壤 TPH 降解进行相关性分析,结果见图 6。由图 6A 可知,CK 土壤石油烃的降解与 Σ PLFAs、SAT、MONO 有正相关性,相关系数均为 $|r|=0.5$;与 TBSAT、MBSAT、PUFA、CYCLO 负相关性,相关系数分别为 $|r|=0.5$ 、 $|r|=1.0$ 、 $|r|=0.5$ 、 $|r|=0.87$ 。由图 6B 可知,棉花根际土壤石油烃的降解与 Σ PLFAs、TBSAT、MONO、PUFA 有正相关性,相关系数均为 $|r|=0.5$,与 MBSAT 高度正相关($|r|=1.0$),而与 SAT、CYCLO 负相关,相关系数均为 $|r|=0.5$ 。

2.6 土壤酸碱度(pH)和电导率(EC)的变化情况

在棉花的整个生长期内,根际土壤的 pH 在 3 个生长期分别为 9.05、9.04、8.45,降低 6.63%;EC 在 3 个生长期分别为 306、306、292 μ s/cm,降低 4.52%。CK 土壤 pH 8.93 \pm 0.50, EC 306.00 \pm 2.53 μ s/cm 均没有明显($P > 0.05$)变化。

3 讨论

3.1 棉花生长对石油污染盐碱土壤微生物群落结构的影响

结果表明,棉花根际土壤微生物群落的种群结构及其生物量均有很大程度的变化。与 CK 相比,不同生长期棉花根际土壤微生物 PLFAs 种类分别增加了 100%、83.3%和 20.0%,生物量(Σ PLFAs)分别增加了 53.9%、6.6 倍和 60.7%。整个生长期,棉花根际土壤细菌、真菌和放线菌 Σ PLFAs 分别增加 64.4%、23.9%和 1.79 倍。主成分分析表明,苗期土壤中标识环境胁迫的类群较多,随着生长期的延长具有 TPH 降解功能的 i15:0、a14:0、a16:0 标识的 G⁺菌类群增加。根际土壤微生物群落种类和生物量增加的主要原因,可以归结为根系的分泌物不断增加土壤有机质含量。Reilley 等^[13]研究发现 PAHs 污染土壤中,根际土壤微生物数量比非根际土壤高 10–100 倍。颜家保等^[22]认为土壤中营养物质较多时,真菌具有高的活性和生长率,而在营养不足时,真菌的量较少。棉花生长对根际土壤中不同物质的代谢与吸收作用改善了土壤环境条件,降低了 TPH

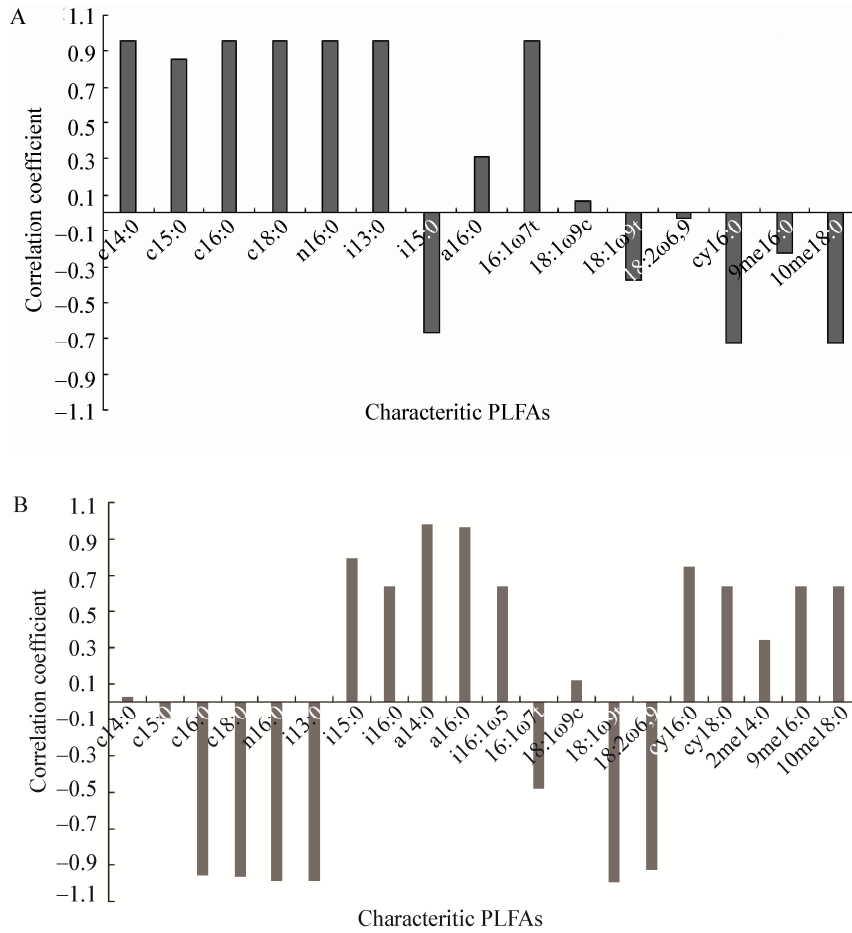


图5 石油烃降解与特征 PLFAs 相对含量的相关系数

Figure 5 Pearson correlation coefficient of the ratio of the TPH degradation to the relative content of microbial PLFAs

注: A: 没植物的对照组; B: 棉花根际。

Note: A: Control soil (CK); B: Cotton rhizosphere soil.

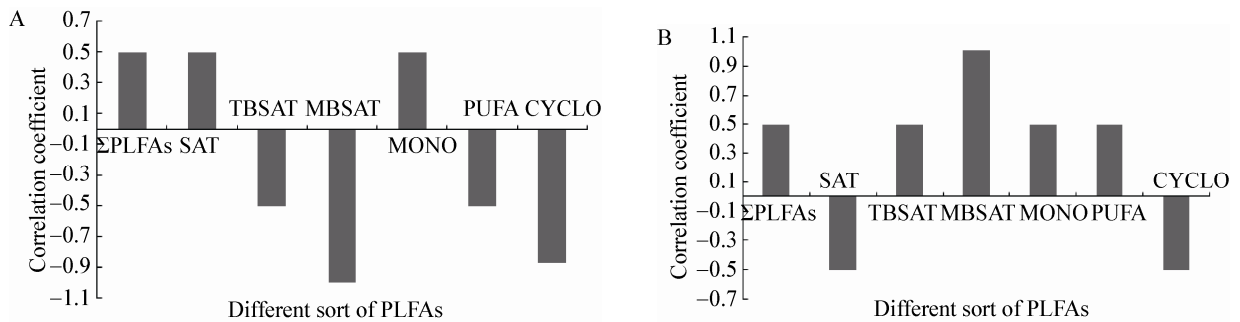


图6 石油烃降解率与不同土壤微生物类群生物量的相关系数

Figure 6 Pearson correlation coefficient of TPH degradation to the biomass of soil microbial varieties

注: A: 没植物的对照组; B: 棉花根际。

Note: A: Control soil (CK); B: Cotton rhizosphere soil.

和盐碱等对环境的胁迫作用是不同生长期微生物的不同类群发生改变的主要因素。Hegde 等^[23]和 Fletcher 等^[24]研究表明, 植物种类和植物发育阶段不同, 根系分泌物的类型与分泌量将有很大差异, 因此, 选择性地促进了某些类型微生物的生长。涂书新等^[25]研究表明植物种类不同根系分泌物相差很大, 不同植物根系分泌物对根际微生物的种类、种属、品种及其生理特征产生很大影响。研究^[26]表明真菌具有降解各种有机污染物的巨大能力。

3.2 棉花根际微生物与土壤 TPH 降解的相关性

Spearman 分析表明: CK 土壤 TPH 降解与 46.7%的特征 PLFAs 类型呈高度正相关关系, 根际土壤与 15.0%的特征 PLFAs 类型呈高度正相关关系。CK 土壤 TPH 的降解率与土壤微生物生物总量(Σ PLFAs)、细菌(SAT)和革兰氏阴性菌(MONO)的生物量有中度正相关关系, 相关系数均为 $|r|=0.50$; 棉花根际 TPH 降解率与放线菌(MBSAT)的生物量高度正相关($|r|=1.0$), 与真菌(PUFA)、 G^+ 菌(TBSAT)和 G^- 菌(MONO)的生物量有中度正相关关系 $0.3 \leq |r| < 0.8$ 。表明根际土壤 TPH 的降解取决于多种群微生物的联合作用。Zhang 等^[27]认为大多数情况下, 污染物的降解往往有一组微生物联合进行。由于根际土壤微生物种类多样性和生物量的增加, 尤其是真菌、放线菌的增加, 使根际土壤 TPH 的降解明显提高。整个生长期, 根际土壤与 CK 相比 TPH 降解率提高了 44.0%。同时, 由于不同生长期棉花根系分泌物性质与分泌量会有一定的差异, 不同的分泌物选择性地促进了降解菌的生长, 提高了降解菌的代谢机能。根际土壤苗期、蕾期、吐絮期 TPH 的降解量分别提高了 13.0%、28.0%和 30.5%。Kirk 等^[28]报道, 在 TPH 类污染物胁迫下, 植物根际具有降解功能的菌群数量比对照土壤中增加, TPH 的降解速率随微生物群落组成与生物量的增加而提高。Gao 等^[29]和 Lu 等^[30]认为, 根的表面能为微生物的生长提供更大的生存空间, 根的分泌物能不断

刺激根际微生物的种类、数量与代谢活性发生改变, 不同根际环境形成特定的微生物群落, 从而加速污染物的生物代谢降解过程。黄建等^[31]报道 4 种盐生植物生长在不同浓度 TPH 污染土壤。生长 4 个月后, 土壤石油烃降解率在鞑靼滨藜根际土壤为 32.3%–63.5%, 盐地碱蓬根际为 25.3%–61.0%, 野榆钱菠菜根际土壤为 33.3%–58.5%, 盐角草根际土壤为 49.0%–54.0%。棉花根际土壤 TPH 的降解率(72.3%)与其相比较为高。分析其原因可概括为棉花生长对土壤 pH (降低 6.63%)和 EC (降低 4.52%)产生了较大的影响, 从而改变污染物的可降解性。Reid 等^[32]认为土壤的 pH 和氧化还原电位是影响土壤有机污染物可吸收性的主要因素。另一方面, 棉花属直根系植物, 根系发达, 能深入较深的土层吸收水分和营养物质, 耐盐性和抗旱能力较强, 生物量比野榆钱菠菜等大, 通过代谢、生长活动对根际微生物产生更大的影响。杨勇等^[33]认为植物对有机污染物的修复作用, 其中 80%的污染物被根际微生物降解, 而约有 20%被植物同化。棉花是否对 TPH 具有同化作用及其作用大小, 还有待今后进一步深入研究。

4 结论

(1) 棉花生长对根际土壤微生物群落结构具有显著的影响, 不同生长期根际土壤微生物种类与生物量均高于对照组。微生物 PLFAs 种类, 苗期增长幅度最大(100%), 蕾期(83.3%)、吐絮期最小(20.0%); 微生物 Σ PLFAs 在苗期、蕾期和吐絮期分别增加了 53.9%、6.6 倍和 60.7%。

(2) 棉花生长对土壤 TPH 降解及其相关菌群具有显著影响。根际土壤 TPH 降解率提高 44.0%, 且随生长期的延长呈现梯度性增加, 苗期(13.0%)<蕾期(28.0%)<吐絮期(30.6%)。根际土壤 TPH 的降解与 MBSAT 标记的放线菌、TBSAT 标记的 G^+ 菌、MONO 标记的 G^- 菌、PUFA 标记的真菌等菌群的共同作用相关($0.5 \leq |r| \leq 1.0$)。其中, i15:0、a14:0、a16:0 标记的 G^+ 菌是主要的降解菌($|r| \geq 0.8$)。

参 考 文 献

- [1] Madigan MT, Martinko JM, Parkerer J. Brock-Biology of Microorganisms[M]. 9th Edition. London: Prentice Hall, 1999: 53-55
- [2] Tunlid A, Barid BH, Trexler MB, et al. Determination of phospholipid ester linked fatty acid and poly β -hydroxybutyrate for the stimulation of bacterial biomass and activity in the rhizosphere of the rape plant *Brassic napus*[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1985, 31(12): 1113-1119
- [3] Vestal JR, White DC. Lipid analysis in microbial ecology: quantitative approaches to the study of microbial communities[J]. Bioscience, 1989, 39(8): 535-541
- [4] Wu JS, Lin QM, Huang QY, et al. Measurement Methods and Application of Soil Microbial Biomass[M]. Beijing: Meteorological Press, 2006: 102-116 (in Chinese)
吴金水, 林琦美, 黄巧云, 等. 土壤微生物生物量测定方法及应用[M]. 北京: 气象出版社, 2006: 102-116
- [5] Ludvigsen L, Albrechtsen H, Ringelberg DB, et al. Distribution and composition of microbial populations in a landfill leachate contaminated aquifer (Grindsted, Denmark)[J]. Microbial Ecology, 1999, 37(3): 197-207
- [6] Albrechtsen HJ, Heron G, Christensen TH. Limiting factors for microbial Fe(III) reduction in a landfill leachate polluted aquifer (Vejen, Denmark)[J]. FEMS Microbiol Ecology, 1995, 16(3): 233-247
- [7] Ibekwe AM, Kennedy AC. Fatty acid methyl ester (FAME) profiles as a tool to investigate community structure of two agricultural soils[J]. Plant and Soil, 1999, 206(2): 151-161
- [8] Romaniuk R, Giuffrè L, Costantini A, et al. Assessment of soil microbial diversity measurements as indicators of soil functioning in organic and conventional horticulture systems[J]. Ecological Indicators, 2011, 11(5): 1345-1353
- [9] Shi Y, Wang ZQ, Zhang XY, et al. Effects of nitrogen and phosphorus addition on soil microbial community composition in temperate typical grassland in Inner Mongolia[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(17): 4943-4949 (in Chinese)
施瑶, 王忠强, 张心昱, 等. 氮磷添加对内蒙古温带典型草原土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(17): 4943-4949
- [10] Kong WD, Zhu YG, Fu BJ, et al. A review on microbial gene and community diversity in agricultural soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(12): 2894-2900 (in Chinese)
孔维栋, 朱永官, 傅伯杰, 等. 农业土壤微生物基因与群落多样性研究进展[J]. 生态学报, 2004, 24(12): 2894-2900
- [11] Grayston SJ, Prescott CE. Microbial communities in forest floors under four tree species in coastal British Columbia[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(6): 1157-1167
- [12] Lynch JM, Whipps JM. Substrate flow in the rhizosphere[J]. Plant and Soil, 1990, 12(9): 1-10
- [13] Reilley KA, Banks MK, Schwab AP. Dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere[J]. Journal of Environmental Quality, 1996, 25(2): 212-219
- [14] Lu RK. Method of Analysis in Soil and Agro-chemistry[M]. Beijing: Agricultural Science and Technology Press, 2000: 145-149 (in Chinese)
鲁如坤. 土壤农化分析[M]. 北京: 农业科学与技术出版社, 2000: 145-149
- [15] Riser-Roberts E. Remediation of Petroleum Contaminated Soils: Biological, Physical, and Chemical Process[M]. Boca Raton London New York Washington, DC: Lewis Publishers, 1998: 213-218
- [16] Bligh EG, Dyer WJ. A rapid method for total lipid extraction and purification[J]. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, 1959, 37(8): 911-917
- [17] Zhang HX, Wang XY, Qi HY. Development in research methods of microbial ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2003, 29(5): 988-995 (in Chinese)
张洪勋, 王晓谊, 齐鸿雁. 微生物生态学研究方法进展[J]. 生态学报, 2003, 29(5): 988-995
- [18] Jiao HH, Liu Y, Jin DC, et al. Effect of *Pharbitis nil* (Linn.) Choisy growth on the microbial community and petroleum hydrocarbon degradation in petroleum contaminated saline-alkali soil[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 33(12): 1-8 (in Chinese)
焦海华, 刘颖, 金德才, 等. 牵牛花对石油污染盐碱土壤微生物群落与石油烃降解的影响[J]. 环境科学学报, 2013, 33(12): 1-8
- [19] Liu C, Liu YK, Jin GZ. Seasonal dynamics of soil microbial biomass in six forest types in Xiaoxing-an Mountains, China[J]. Acta Ecologica Sinica. 2014, 34(2): 451-459 (in Chinese)
刘纯, 刘延坤, 金光泽. 小兴安岭6种森林类型土壤微生物量的季节变化特征[J]. 生态学报, 2014, 34(2): 451-459
- [20] Wang XJ, Zhou YM, Jiang XJ, et al. Effects of warming on soil microbial community structure in Changbai Mountain Tundra[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(20): 5706-5713 (in Chinese)
王学娟, 周玉梅, 江肖洁, 等. 增温对长白山苔原土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(20): 5706-5713
- [21] Fang J, Barcelona MJ. Structural determination and quantitative analysis of bacterial phospholipids using liquid chromatography/electrospray ionization/ mass spectrometry[J]. Journal of Microbiological Methods, 1998, 33(1): 23-35
- [22] Yan JB, Wang QF, Wei X. Biodegradation Characteristics of DBP by *Elizabethkingia* sp. DBP-WUST[J]. Journal of Xuzhou institute of technology (Natural Science Edition), 2012, 27(3): 16-20 (in Chinese)
颜家保, 王巧凤, 魏鑫, 等. *Elizabethkingia* sp. DBP-WUST对邻苯二甲酸二丁酯的降解特性研究[J]. 徐州工学院学报: 自然科学版, 2012, 27(3): 16-20
- [23] Hegde RS, Fletcher JS. Influence of plant growth stage and season on the release of root phenolics by mulberry as related to development of phytoremediation technology[J]. Chemosphere, 1997, 32(13): 2471-2479
- [24] Fletcher JS, Hedge RS. Release of phenols by perennial plant

- roots and their potential importance in bioremediation[J]. *Chemosphere*, 1995, 31(4): 3009-3016
- [25] Tu SX, Sun JH, Guo ZF, et al. On relationship between root exudates and plant nutrition in rhizosphere[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(1): 64-67 (in Chinese)
涂书新, 孙锦荷, 郭智芬. 植物根系分泌物与根际营养关系评述[J]. *土壤与环境*, 2000, 9(1): 64-67
- [26] Lin L, Cui J, Chen XP, et al. Effects of reclamation on tidal flat and land use on soil microbial community[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(4): 899-906 (in Chinese)
林黎, 崔军, 陈学萍, 等. 滩涂围垦和土地利用对土壤微生物群落的影响[J]. *生态学报*, 2014, 34(4): 899-906
- [27] Zhang YX, Tao S. Global atmospheric emission inventory of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) for 2004[J]. *Atmospheric Environment*, 2009, 43(4): 812-819
- [28] Kirk JL, Beaudette LA, Hart M. Methods of studying soil microbial diversity[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, 58(2): 169-188
- [29] Gao YZ, Zhu LZ. Plant uptake, accumulation and translocation of phenanthrene and pyrene in soils[J]. *Chemosphere*, 2004, 55(9): 1169-1178
- [30] Lu H, Zhang Y, Liu B, et al. Rhizodegradation gradients of phenanthrene and pyrene in sediment of mangrove (*Kandelia candel* (L.) Druce)[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2011, 196(20): 263-269
- [31] Huang J, Tian CY, Bian WG, et al. Response of growth of four halophyte species in oil contaminated soil[J]. *Arid Zone Research*, 2014, 31(1): 100-104 (in Chinese)
黄建, 田长彦, 卞卫国, 等. 4种盐生植物生长对土壤石油污染的响应[J]. *干旱区研究*, 2014, 31(1): 100-104
- [32] Reid BJ, Jones KC, Semple KT. Bioavailability of persistent pollutants in soils and sediments-a perspective on mechanisms, consequences and assessment[J]. *Environmental Pollution*, 2000, 108(1): 103-112
- [33] Yang Y, He YM, Luan JL, et al. Comprehensive analysis on soil remediation technologies of international contaminated sites[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 35(10): 92-98 (in Chinese)
杨勇, 何艳明, 栾景丽, 等. 国际污染场地土壤修复技术综合分析[J]. *环境科学与技术*, 2012, 35(10): 92-98

征订启事

欢迎订阅 《微生物学通报》

《微生物学通报》创刊于 1974 年, 是中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办, 国内外公开发行, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。刊登内容包括: 基础微生物学研究, 农业微生物学研究, 工业微生物学研究, 医学微生物学研究, 食品微生物学研究, 环境微生物学研究, 微生物功能基因组研究, 微生物蛋白组学研究, 微生物模式菌株研究, 微生物工程与药物研究, 微生物技术成果产业化及微生物教学研究改革等。

本刊为中国自然科学核心期刊。曾获国家优秀科技期刊三等奖, 中国科学院优秀科技期刊三等奖, 北京优秀科技期刊奖, 被选入新闻出版总署设立的“中国期刊方阵”并被列为“双效”期刊。

自 2008 年本刊已经全新改版, 由双月刊改为月刊, 发表周期缩短, 内容更加丰富详实。**欢迎广大读者到邮局订阅或直接与本刊编辑部联系购买**, 2015 年每册定价 58 元, 全年 696 元, 我们将免邮费寄刊。

邮购地址: (100101) 北京朝阳区北辰西路 1 号院 3 号中国科学院微生物研究所 《微生物学通报》编辑部

Tel: 010-64807511; E-mail: bjb@im.ac.cn, tongbao@im.ac.cn

网址: <http://journals.im.ac.cn/wswxtbcn>

国内邮发代号: 2-817; 国外发行代号: M413