



## 研究报告

## 镉胁迫对 2 种油菜土壤真菌群落的影响

杜云燕<sup>1,2</sup> 张大为<sup>1,3</sup> 陈红松<sup>4</sup> 吴金锋<sup>1,3</sup> 周定港<sup>1,3</sup> 金德才<sup>\*2</sup> 严明理<sup>\*1,3,5</sup>

1 湖南科技大学生命科学学院 湖南 湘潭 411201

2 中国科学院生态环境研究中心环境生物技术重点实验室 北京 100085

3 经济作物遗传改良与综合利用湖南省重点实验室 湖南 湘潭 411201

4 广西农业科学院植物保护研究所 广西作物病虫害生物学重点实验室 广西 南宁 530007

5 湖南省作物研究所 湖南 长沙 410125

**摘要:**【背景】人类活动引起的农田重金属污染已成为严重的环境问题。镉(Cd)是最具毒性的重金属之一,能对人体和生态系统构成威胁。【目的】研究不同浓度镉处理对 2 种油菜(甘蓝型油菜和芥菜型油菜)的土壤(根际和非根际)真菌群落的影响,为镉的生物修复和健康风险评估提供理论基础。【方法】对 2 种油菜土壤(根际和非根际)真菌转录间隔区(Internal Transcribed Spacer, ITS)进行高通量测序,分析镉对根际和非根际土壤真菌群落的影响。【结果】镉胁迫改变了土壤真菌群落的组成和结构,但对 2 种油菜土壤真菌群落的  $\alpha$  多样性几乎无显著影响。土壤镉浓度和生物量与 2 种油菜根际土壤真菌群落显著相关,芥菜型油菜非根际土壤真菌群落也与镉污染浓度显著相关。土壤真菌分子生态网络也受到镉污染的影响,甘蓝型油菜根际土壤网络稳定性降低,共生关系减少。甘蓝型油菜非根际土壤网络稳定性升高,但共生关系减少。芥菜型油菜的根际和非根际土壤的网络稳定性升高,而且共生关系增多。【结论】镉污染会影响土壤系统中的本土真菌群落,从而可能进一步改变土壤的生态系统功能。

**关键词:** 镉, 油菜, 根际, 非根际, 真菌群落, 分子生态网络

## Effect of cadmium stress on the soil fungal communities of two oilseed rape species

DU Yunyan<sup>1,2</sup> ZHANG Dawei<sup>1,3</sup> CHEN Hongsong<sup>4</sup> WU Jinfeng<sup>1,3</sup> ZHOU Dinggang<sup>1,3</sup>  
JIN Decai<sup>\*2</sup> YAN Mingli<sup>\*1,3,5</sup>

1 College of Life Sciences, Hunan University of Science and Technology, Xiangtan, Hunan 411201, China

2 Key Laboratory of Environmental Biotechnology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

3 Hunan Key Laboratory of Economic Crops Genetic Improvement and Integrated Utilization, Xiangtan, Hunan 411201, China

4 Institute of Plant Protection, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Guangxi Key Laboratory of Biology for Crop Diseases and Insect Pests, Nanning, Guangxi 530007, China

5 Crop Research Institute, Hunan Academy of Agricultural Sciences, Changsha, Hunan 410125, China

**Abstract:** [Background] Heavy metal contamination of agricultural soil is an environmental problem as a

**Foundation items:** National Key Research and Development Program of China (2018YFD1000904); Key Research and Development Program of Hunan Province (2020NK2045)

**\*Corresponding authors:** E-mail: JIN Decai: dcjin@rcees.ac.cn; YAN Mingli: ymljack@126.com

**Received:** 03-02-2021; **Accepted:** 31-03-2021; **Published online:** 28-04-2021

**基金项目:** 国家重点研发计划(2018YFD1000904); 湖南省重点研发计划(2020NK2045)

**\*通信作者:** E-mail: 金德才: dcjin@rcees.ac.cn; 严明理: ymljack@126.com

**收稿日期:** 2021-02-03; **接受日期:** 2021-03-31; **网络首发日期:** 2021-04-28

result of anthropogenic activities. Cadmium (Cd), one of the most toxic heavy metals, poses health risks to both human being and the ecosystem. **[Objective]** Aiming at laying a theoretical basis for bioremediation and health risk assessment of Cd, we explored the effect of different levels of Cd on soil (rhizosphere and bulk soil) fungal communities of two oilseed rape species (*Brassica napus* and *B. juncea*). **[Methods]** Through high-throughput sequencing of fungal ribosomal internal transcribed spacer (ITS), the impact of Cd on soil fungal communities of the two species was evaluated. **[Results]** Cd stress changed the composition and structure of soil fungal communities, but had no significant influence on the alpha diversity of them. Soil Cd concentration and biomass were in significant correlation with the rhizosphere soil fungal communities of the two species and the fungal community of *B. juncea* bulk soil was significantly correlated with Cd concentration. The molecular ecological networks of soil fungal communities were also affected by Cd pollution, as manifested by the reduced stability and symbiosis of the networks for the fungal communities of *B. napus* rhizosphere soil, improved stability and attenuated symbiosis of the networks for the fungal communities of *B. napus* bulk soil, and increased stability and symbiosis of the networks for fungal communities of *B. juncea* rhizosphere and bulk soil. **[Conclusion]** Cd pollution influences the indigenous fungal community in soil, which might further change soil ecosystem functions.

**Keywords:** cadmium, oilseed rape, rhizosphere, bulk, fungal community, molecular ecological network

重金属在土壤中流动性强, 难以被微生物吸收且无法降解, 进而长时间滞留在土壤中<sup>[1]</sup>。这些有毒金属一般通过土壤进入地下水, 而且可通过植物根的吸收作用进入食物链, 因此, 食用受重金属污染的粮食将对人类健康造成严重威胁, 农业土壤重金属污染已成为严重的环境问题<sup>[2]</sup>。镉(Cd)是毒性最大的重金属之一, 迁移性强, 微量即可严重阻碍农作物生长<sup>[3]</sup>, 2014 年全国土壤污染普查报告显示, 约 7.0% 的土壤镉超标, 镉被认为是主要无机污染物; 中国 11 个省 25 个地区的农田土壤受镉污染超过 1.3 万  $\text{hm}^2$ <sup>[4]</sup>。长期摄入含镉的食物会导致人得痛痛病(即骨癌病)和肾衰竭<sup>[5]</sup>。虽然母体材料和火山碎屑等自然材料是土壤镉的来源之一, 但人类活动, 如电池、磷肥和农药等的使用是镉污染的主要原因<sup>[6]</sup>。

许多研究表明镉可以影响作物生长, 例如马铃薯<sup>[7]</sup>、玉米<sup>[8]</sup>、番茄<sup>[9]</sup>、小麦<sup>[10]</sup>和花生<sup>[11]</sup>。因此, 农业土壤中镉污染的风险引起了广泛关注。但镉如何影响农业土壤生态功能仍不清楚。一些研究集中于土壤细菌群落对镉污染的响应<sup>[12-14]</sup>。然而, 研究镉污染后农田土壤真菌群落变化的研究较少。

土壤真菌在陆地生态系统的稳定和功能中发挥着许多重要作用, 包括对复杂化合物(如纤维素和污染物)的分解和矿化, 以及控制土壤含水量和土壤结构; 此外, 真菌(菌根)与陆地植物能形成有益的共生关系, 帮助陆地植物在营养和水分胁迫下生存<sup>[15]</sup>。真菌多样性或相对丰度的变化影响着地上和地下生态系统的稳定和功能<sup>[16]</sup>。一些真菌类群与植物形成互惠关系, 可增强植物对重金属胁迫的防御<sup>[17]</sup>, 如丛枝菌根 (Arbuscular Mycorrhiza, AM) 等功能真菌群落可以通过形成物理性防御体系、调控植物的生理代谢活动、产生生化拮抗物质等方式使宿主植物减少重金属积累或增加其对金属的耐受性, 从而帮助宿主植物在重金属污染区生长<sup>[18]</sup>。Khan 等<sup>[19]</sup>从镉和铬(Cr)污染的土壤中分离鉴定了 3 种本土耐金属真菌菌株, 发现菌株黑曲霉是最优的菌株, 镉和铬去除率最高分别为 98% 和 43%。真菌因其对重金属的高耐受性, 而被认为是最适合进行生物修复的微生物<sup>[20]</sup>。将真菌用于重金属污染修复已引起广泛关注。

油菜是全球重要的作物, 具有作为高营养食用蔬菜、提供植物油、生产生物能源、植物修复污染潜能等价值<sup>[21]</sup>, 然而, 我国油菜种植区重金

属污染状况不容忽视,其能影响油菜的产量和质量安全。研究表明,土壤中重金属的空间分布具有明显的区域特征,我国长江流域土壤中 Cr 含量较高,土壤中铬浓度对油菜的栽培和生长有很大影响<sup>[22]</sup>。同时在长江流域也存在较为严重的铝毒危害,影响中国南方的油菜产量<sup>[23]</sup>。农田土壤中也存在较高浓度的镉污染,可导致油菜叶绿素含量下降,光合效率下降,根系生长抑制和茎部生物量下降,严重限制了中国油菜产量的增长<sup>[24]</sup>。然而镉污染对油菜种植区的土壤真菌群落的影响研究尚未见报道。

本研究采用盆栽试验模拟蔬菜生长的农业生态系统,以甘蓝型油菜(*Brassica napus*)和芥菜型油菜(*Brassica juncea*)为模型蔬菜,采集根际土壤和非根际土壤样品的环境 DNA,采用高通量测序技术对真菌转录间隔区(Internal Transcribed Spacer, ITS)进行测序,研究镉胁迫对土壤真菌群落的影响,以期为镉的生物修复和健康风险评估提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

Fast DNA Spin Kit for Soil 试剂盒, MP Biomedicals 公司; 10×PCR Buffer、dNTP Mixture、*Taq* DNA 聚合酶, TaKaRa 公司; 引物, 生工生物工程(上海)股份有限公司; 实时荧光定量 PCR 试剂盒, 莫纳生物科技有限公司; E.Z.N.A. Gel Extraction Kit, Omega Bio-Tek 公司。Fast Prep 破壁机, MP Biomedicals 公司; 高速离心机, 上海精宏实验设备有限公司; PCR 扩增仪、实时荧光定量 PCR 仪, Bio-Rad 公司; 凝胶成像仪, 北京原平皓生物技术有限公司; NanoDrop Spectrophotometer DNA 浓度测定仪, Wilmington 公司。

### 1.2 温室实验

实验土壤取自湖南科技大学生物园(27°54'15"N, 112°55'06"E)表层(0–20 cm)耕作土,

委托中国科学院南京地理湖泊所测得初始土壤理化性质如下: pH 5.56, 总有机碳(Total Organic Carbon, TOC)比例 1.62%, 总氮(Total Nitrogen, TN)含量 1 803.74 mg/kg, 总磷(Total Phosphorus, TP)含量 921.04 mg/kg, 有效磷(Available Phosphorus, AP)含量 78.14 mg/kg, 速效钾(Available Potassium, AK)含量 135.41 mg/kg, 氨氮(Ammonia Nitrogen, NH<sub>3</sub>-N)含量 17.65 mg/kg, 以及硝态氮(Nitrate Nitrogen, NO<sub>3</sub>-N)含量 19.44 mg/kg, 未检测出镉。

甘蓝型油菜和芥菜型油菜种子分别为中双 11 和紫叶芥。植物种植在湖南科技大学温室大棚, 一共种植 50 d (2018.10.11–2018.11.30)。土壤经过自然风干、研磨和 5 mm 过筛。镉以 CdCl<sub>2</sub>·2.5H<sub>2</sub>O 水溶液方式喷洒于土壤中, 边喷洒边混合。获得 3 种镉浓度的土壤: 0 mg/kg (对照, CK)、10 mg/kg (C10)、30 mg/kg (C30)。混匀之后, 平衡 3 周, 7 kg 土壤被转移在塑料盆中(49 cm 长×14 cm 宽×20 cm 高), 种子直接播种在盆上, 最后每盆定苗 10 株, 保持适宜湿度, 温度维持在 20±10 °C。所有处理为 6 个重复。

### 1.3 样本收集

土壤样本分为 2 个部分, 一份用于测量土壤理化性质, 另一部分用于分子实验。种植 50 d 后获得植物样本, 地上部分和地下部分用无菌剪刀收割获得。土壤微生物根据 Kong 等<sup>[25]</sup>的方法收集。

### 1.4 DNA 提取、PCR 扩增以及测序

72 份样品(36 份根际土和 36 份非根际土)由以下步骤完成测序。使用 Fast DNA Spin Kit for Soil 试剂盒提取 DNA。利用上游引物 gITS 7 (5'-GTGARTCATCGARTCTTTG-3')和下游引物 ITS 4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')进行 rDNA ITS 扩增子扩增。

PCR 反应体系(50 μL): ddH<sub>2</sub>O 37.5 μL, 10×PCR Buffer 5 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 4 μL, *Taq* DNA 聚合酶(5 U/μL) 0.5 μL, 正、反向引物

(10  $\mu\text{mol/L}$ )各 1  $\mu\text{L}$ , DNA 模板(20–30  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ) 1  $\mu\text{L}$ 。PCR 反应条件: 94  $^{\circ}\text{C}$  1 min; 94  $^{\circ}\text{C}$  20 s, 57  $^{\circ}\text{C}$  25 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  45 s, 33 个循环; 72  $^{\circ}\text{C}$  10 min。通过琼脂糖凝胶电泳回收 PCR 产物, 并用 E.Z.N.A. Gel Extraction Kit 进行纯化。纯化的 PCR 产物浓度利用 NanoDrop Spectrophotometer 测定。每个 PCR 纯化产物以 150 ng 的含量混合, 根据 NEB Next Ultra 试剂盒方案建立测序文库。样本由北京新科开源基因科技有限公司 Illumina MiSeq 平台测序。

### 1.5 实时荧光定量 PCR (Real-Time Quantitative PCR, RT-qPCR)检测

利用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR)测定真菌的数量, 上游引物为 gITS 7 (5'-GTGARTCATCGA RTCTTTG-3'), 下游引物为 ITS 4 (5'-TCCTCCGCT TATTGATATGC-3'), 在 CFX Connect<sup>TM</sup> Real-Time PCR 检测系统中完成。采用 MonAmp<sup>TM</sup> SYBR<sup>®</sup> qPCR Mix 提供的试剂, RT-qPCR 反应体系 (20  $\mu\text{L}$ ): qPCR Mix 10  $\mu\text{L}$ , 上、下游引物 (10  $\mu\text{mol/L}$ )各 1  $\mu\text{L}$ , DNA 模板(20–30  $\text{ng}/\mu\text{L}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , 去核酸水 7  $\mu\text{L}$ 。RT-qPCR 反应条件: 95  $^{\circ}\text{C}$  30 s; 95  $^{\circ}\text{C}$  5 s, 52  $^{\circ}\text{C}$  10 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  30 s, 40 个循环。

### 1.6 测序数据处理

测序的原始数据在中国科学院生态环境研究中心的可用 Galaxy Pipeline (<http://mem.rcees.ac.cn:8080>)平台上分析。分析步骤如下: 通过 Barcodes 对原始序列分配到对应的样本后, 去除序列上的引物片段, 然后将上下游序列进行融合<sup>[26]</sup>, 将融合后长度低于 200 bp 的序列去除。利用 UPARSE 算法检查并去除嵌合体<sup>[27]</sup>, 将相似度为 97% 的序列归为一个操作分类单元 (Operational Taxonomic Unit, OTU)。利用 RDP 分类器数据库进行物种分类<sup>[28]</sup>。为避免由于不用测序深度带来的影响, 数据根据样本最低序列数进一步重抽, 使所有样本具有相同序列数量(20 000)。重抽后的 OTU 表用于进一步的分析。测序原始数据已提交至 NCBI, 登录号为 SRP312252。

### 1.7 数据分析

单因素方差分析 (One-Way Analysis of Variance, ANOVA)用于分析不同处理之间的差异性 ( $P < 0.05$ ), 并在 SPSS 21 软件中进行操作。置换多元方差分析 (Permutational Multivariate Analysis of Variance, PERMANOVA)、相似性分析 (Analysis of Similarities, ANOSIM)及多元响应置换过程分析 (Multi Response Permutation Procedure, MRPP)用于评估聚类之间的差异性。非度量多维尺度分析 (Non-Metric Multi-Dimensional Scaling, NMDS)用于比较不同样本之间真菌群落结构的差异性。Mantel 分析和典范对应分析 (Canonical Correspondence Analysis, CCA)用于揭示环境因子显著影响微生物群落结构, 基于 CCA 的方差分解分析 (Variance Partitioning Analysis, VPA)用于研究环境因子对真菌群落的贡献值。

### 1.8 分子生态网络构建及分析

利用在线分子生态网络分析平台 (<http://ieg4.rccc.ou.edu/mena>)<sup>[29]</sup>, 分析不同浓度镉处理下 2 种油菜土壤真菌分子生态网络。分析过程如下: 筛选在 6 个重复的样本中至少出现 3 次的 OTU, 并将其进行 Spearman 相关性排序; 然后选择合适的阈值构建网络, 所有处理网络的阈值一致。最后, 网络分析结果采用软件 Cytoscape 3.3.0 进行可视化。

## 2 结果与分析

### 2.1 镉对土壤真菌数量及群落 $\alpha$ 多样性的影响

对真菌 rDNA ITS 区域进行定量 PCR, 研究镉胁迫对土壤真菌 rDNA ITS 拷贝数的影响。结果表明, 不同镉处理下, 甘蓝型油菜和芥菜型油菜根际土壤真菌 ITS 拷贝数无显著变化 (图 1A)。高镉浓度 (30  $\text{mg/kg}$ ) 胁迫下, 2 种油菜非根际土壤真菌 ITS 拷贝数显著降低 ( $P < 0.05$ ), 由 CK 时的甘蓝型油菜非根际土壤  $10.08 \times 10^7$  copies/g、芥菜型油菜非根际土壤的  $16.08 \times 10^7$  copies/g, 分别下降到 30  $\text{mg/kg}$  镉处理时的  $7.83 \times 10^7$  copies/g 和  $6.76 \times 10^7$  copies/g (图 1B)。

土壤样品中共测得 4 657 093 条高质量有效序列。通过分类学分析,在 97%的相似性水平上,共优化得到 1 992 个真菌 OTU 单元。稀释曲线趋势发现序列数量达到一定值时,OTU 的数量没有明显增加,表明测序深度合适可以进行下一步分析(图 2)。

镉胁迫对 2 种油菜土壤真菌群落  $\alpha$  多样性几乎无显著影响,仅芥菜型油菜根际土壤真菌群落的 Shannon 指数和非根际土壤真菌群落丰富度(Richness)及 Chao1 对比空白在 30 mg/kg 镉处理下显著下降( $P<0.05$ ) (图 3)。

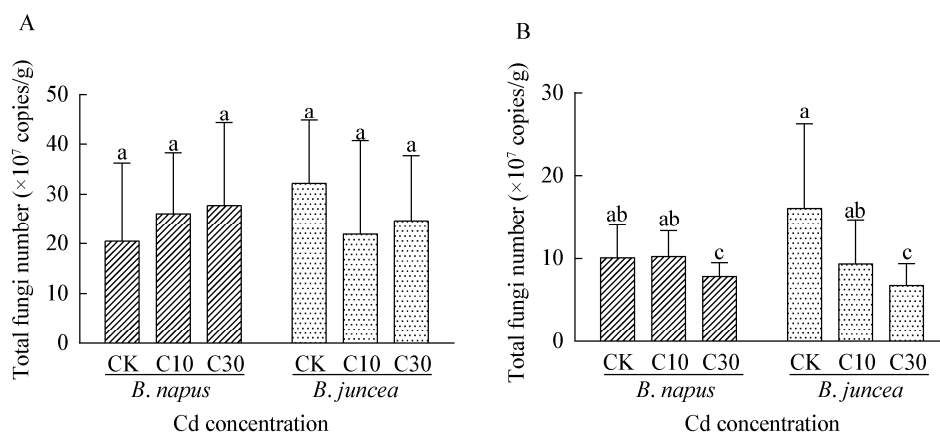


图 1 镉胁迫下根际(A)和非根际(B)土壤真菌数量的变化

Figure 1 Changes of total fungi copies in rhizosphere (A) and bulk soil (B) under cadmium stress

注: 不同小写字母表示在不同浓度镉处理和不同油菜类型土壤总真菌数量在  $P < 0.05$  水平下具有显著差异

Note: Means with different small letters are significantly different from one another under the different cadmium concentration treatments, and different rapeseed types ( $P < 0.05$ )

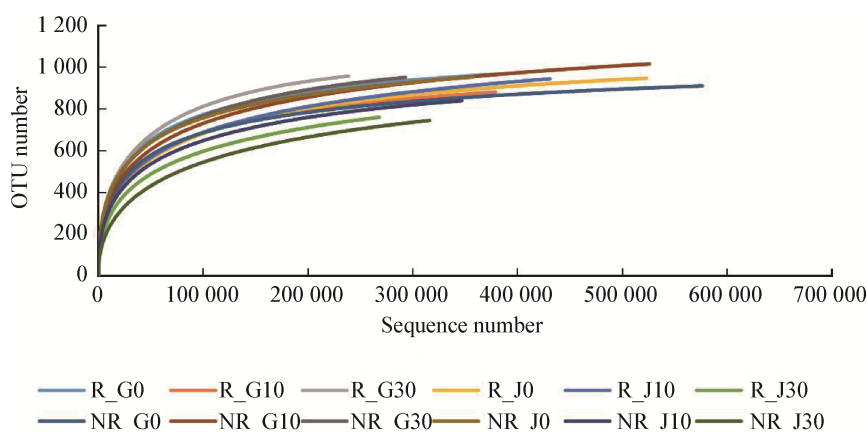


图 2 土壤真菌群落的稀释曲线

Figure 2 Rarefaction curve of the fungal community in soils

注: R: 根际土壤样本; NR: 非根际土壤样本; G0/J0: 0 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本; G10/J10: 10 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本; G30/J30: 30 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本

Note: R: Rhizosphere soil samples; NR: Bulk soil samples; G0/J0: Treatment with 0 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G10/J10: Treatment with 10 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G30/J30: Treatment with 30 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*

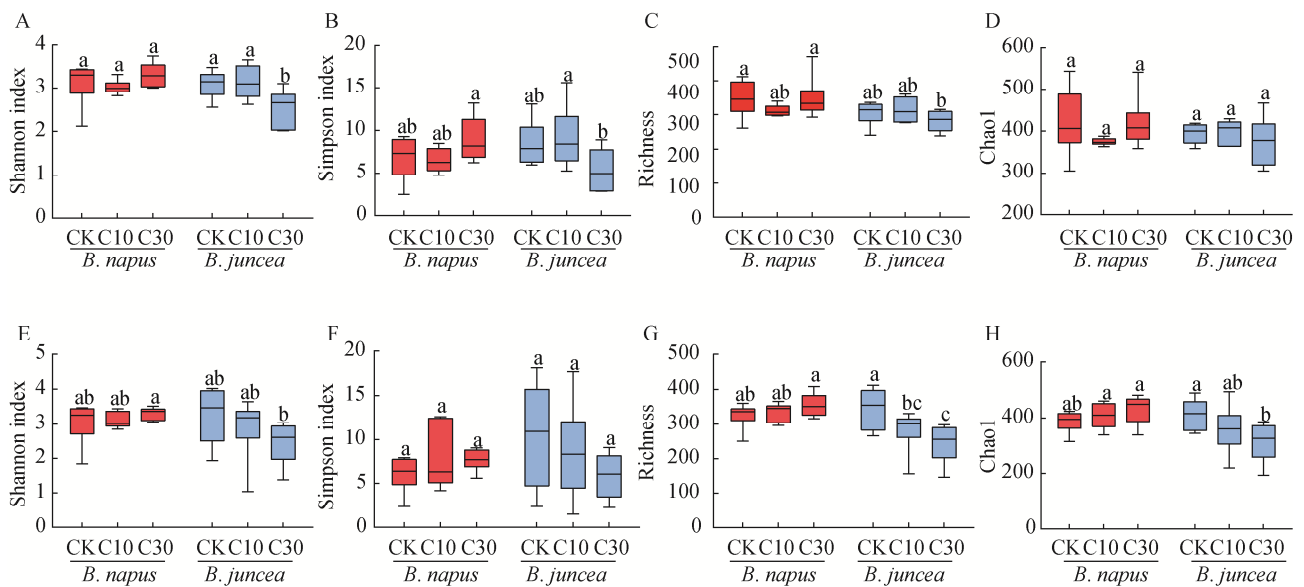


图 3 土壤真菌群落多样性的动态变化

Figure 3 The dynamics diversity of soil fungal communities

注: 在不同浓度镉处理下, 根际土壤样本真菌群落的 A: Shannon 指数; B: Simpson 指数; C: 丰富度; D: Chao1 值; 以及非根际土壤样本真菌群落的 E: Shannon 指数; F: Simpson 指数; G: 丰富度; H: Chao1 值; 不同小写字母表示在不同浓度镉处理和不同油菜类型, 土壤真菌群落  $\alpha$  多样性在  $P < 0.05$  水平下具有显著差异

Note: A: Shannon index; B: Simpson index; C: Richness; D: Chao1 of rhizosphere fungal communities under different cadmium treatment; E: Shannon index; F: Simpson index; G: Richness; H: Chao1 of bulk soil fungal communities under different cadmium treatment; Means with different small letters are significantly different from one another under the different cadmium concentration treatments, and different rapeseed types ( $P < 0.05$ )

## 2.2 镉对真菌群落组成和结构的影响

镉能影响油菜土壤真菌群落的组成。2 种油菜土壤真菌群落主要由 5 个门组成, 其中子囊菌门和担子菌门为优势菌门(图 4)。子囊菌门的相对丰度除了在甘蓝型油菜根际土壤呈现先降低后升高的趋势, 芥菜型根际土壤和 2 种油菜的非根际土壤子囊菌门相对丰度随镉浓度增加而升高。担子菌门的相对丰度除了在甘蓝型油菜根际土壤呈现先升高后降低的趋势, 芥菜型根际土壤和 2 种油菜的非根际土壤担子菌门相对丰度随镉浓度增加而降低。

皮尔森相关系数是用来反映 2 个变量线性相关程度的统计量, 本研究采用皮尔森相关性分析研究环境因子与优势菌门相对丰度的相关关系。皮尔森相关性分析表明(表 1), pH 与甘蓝型油菜根际土壤子囊菌门相对丰度呈显著负相关关系, 而与

担子菌门相对丰度则呈显著正相关关系。非根际土壤子囊菌门的相对丰度与环境因子均无显著关系, 而担子菌门相对丰度与 pH 和总氮呈显著正相关关系。芥菜型油菜根际土壤子囊菌门相对丰度与 pH 呈显著负相关关系, 与镉浓度则呈显著正相关关系, 而担子菌门相对丰度情况则完全相反, 与 pH 呈显著正相关关系, 与镉浓度则呈显著负相关关系; 其非根际土壤子囊菌门和担子菌门的相对丰度与环境因子均无显著关系。

非度量多维尺度分析(NMDS)是一种通过降维的方式将多维的研究对象(样本或变量)降为低维, 以点的形式反映在平面, 是分析群落数据时最有效的方法之一, 点之间的距离代表了样本或物种之间的差异<sup>[30-31]</sup>。PERMANOVA、ANOSIM 和 MRPP 这 3 种不相似性分析方法相似, 均可用来检

验组间(两组或多组)差异是否显著大于组内差异, 给出对不同分组因素对样品差异的解释度( $R$  值)与分组显著性( $P$  值), 从而判断分组是否有意义<sup>[32]</sup>。

本研究中 NMDS 分析(图 5)和不相似性分析(表 2)结果表明, 较高浓度镉处理改变了 2 种油菜根际和非根际土壤真菌群落结构。

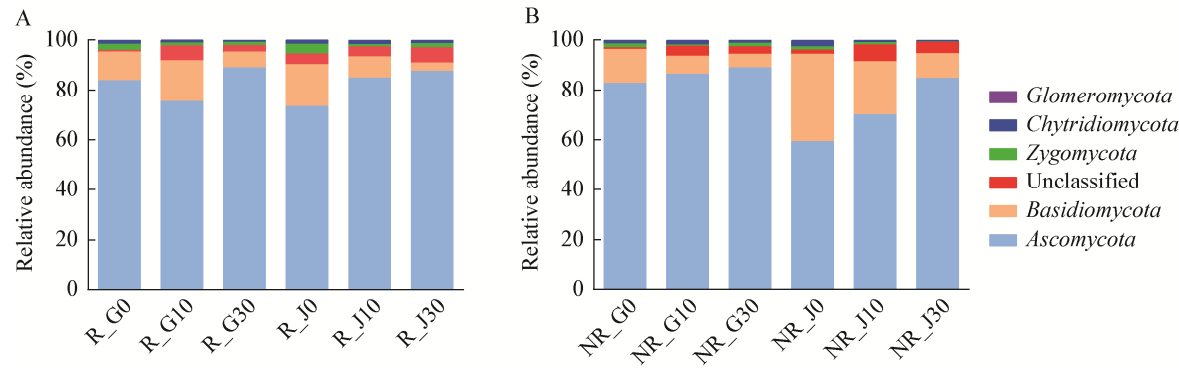


图 4 根际(A)和非根际(B)土壤真菌群落门水平的相对丰度  
Figure 4 Relative abundance of the fungal phyla in rhizosphere soil (A) and bulk soil (B)

表 1 真菌群落优势门与环境因子的皮尔森相关性分析  
Table 1 The Pearson correlation test between the dominant phylum and environmental parameters

Dominant phylum		pH	TOC	TN	TP	NH <sub>3</sub> _N	NO <sub>3</sub> _N	AP	AK	Cd
Ascomycota	R_G	A*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	R_J	A*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	**
	NR_G	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Basidiomycota	NR_J	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	R_G	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	R_J	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	A**
	NR_G	**	ns	*	ns	ns	ns	ns	ns	ns
	NR_J	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

注: A: 负相关; ns (Not Significant): 无显著影响; \*: 0.05 的置信水平, \*\*: 0.01 的置信水平; R: 根际土壤; NR: 非根际土壤; G: 甘蓝型油菜; J: 芥菜型油菜  
Note: A: Negative correlation; ns: Not significant; \*: Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed), \*\*: Correlation is significant at the 0.01 level; R: Rhizosphere soil samples; NR: Bulk soil samples; G: *Brassica napus*; J: *Brassica juncea*

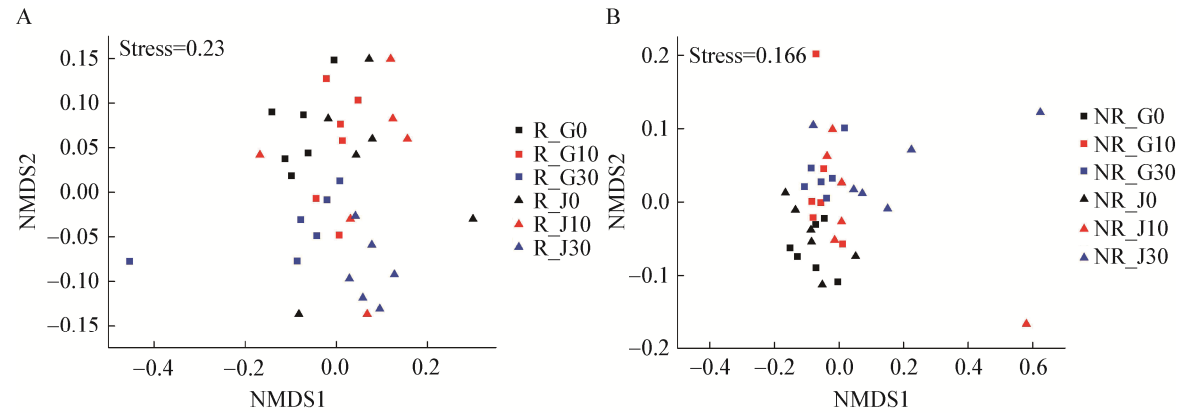


图 5 根际(A)和非根际(B)土壤真菌群落非度量多维尺度分析  
Figure 5 Non-metric multi-dimensional scaling (NMDS) of fungi communities in rhizosphere (A) and bulk soil (B)



表 2 2 种分组情况下甘蓝型油菜和芥菜型油菜土壤真菌群落的不相似性分析  
Table 2 Dissimilarity tests of fungal communities in soil of *B. napus* and *B. juncea* from two different group types

Rapeseed types		MRPP		ANOSIM		PERMANOVA	
		$\delta$	$P$	$R$	$P$	$R$	$P$
<i>Brassica napus</i>	NR	0.567 8	**	0.260 4	**	1.332 8	**
	R	0.551 3	**	0.188 4	**	1.211 4	**
	CK	0.560 8	**	0.229 6	*	1.225 4	**
	C10	0.566 6	*	0.202 7	*	1.157 2	*
	C30	0.551 3	**	0.246 2	**	1.327 8	**
<i>Brassica juncea</i>	NR	0.567 9	**	0.237 0	**	1.205 8	**
	R	0.585 8	**	0.270 1	**	1.451 8	**
	CK	0.570 1	ns	-0.040 7	ns	0.983 7	ns
	C10	0.584 9	ns	0.069 4	ns	1.095 2	ns
	C30	0.575 5	ns	0.124 0	ns	1.126 2	ns

注: \*表示  $P$  值在 0.05 水平上显著; \*\*表示  $P$  值在 0.01 水平上显著; ns 表示不显著; R: 根际土壤样本; NR: 非根际土壤样本; CK: 0 mg/kg 镉处理下的样本; C10: 10 mg/kg 镉处理下的样本; C30: 30 mg/kg 镉处理下的样本  
Note: \*:  $P$  values were significant at 0.05 level; \*\*:  $P$  values were significant at 0.01 level; ns: Not significant; R: Rhizosphere soil samples; NR: Bulk soil samples; CK: Treatment with 0 mg/kg cadmium; C10: Treatment with 10 mg/kg cadmium; C30: Treatment with 30 mg/kg cadmium

2.3 真菌群落结构与环境因子的关系

所测镉浓度、植物生理特性及土壤理化性质作为环境因子,用于分析其与土壤真菌群落结构的关系。相关系数无法处理 2 个矩阵之间的相关性,而 Mantel 分析却可对 2 个矩阵相关关系进行检验,可以直观地根据所求  $r$  值和显著性水平  $P$  值来评估环境因子和微生物群落分布的相关性<sup>[33-34]</sup>。本研究中, Mantel 分析结果表明生物量(株高、鲜重和叶面积)和镉浓度与甘蓝型油菜根际土壤真菌群落显著相关,生物量、pH、总氮和镉浓度与芥菜型油菜根际土壤真菌群落显著相关(表 3),而 pH 和镉浓度与芥菜型油菜非根际土壤真菌群落显著相关,其中土壤镉浓度与 2 种油菜土壤真菌群落相关性最高。

CCA 主要用于解析物种、样本和环境因子三者关系,环境箭头的夹角大小代表着因子之间的相关性,长度表示影响力,样本点与箭头的连线位置代表环境因素的影响程度。通过 CCA 的可视化结果中的点与箭头的位置,可以判断环境因子是否对物种产生影响<sup>[35]</sup>。VPA 可以研究哪一种因

素更为重要,值越大,贡献度越高,对群落的影响越大<sup>[35]</sup>。为研究环境因子与真菌群落的关系及相对贡献率,本研究进行了 CCA 和 VPA。非根际土壤真菌群落的 CCA 模型不显著,而根际土壤真菌群落的 CCA 模型具有显著性( $P<0.05$ ,图 6)。VPA 表明,生物量、pH、土壤营养和土壤镉浓度对甘蓝型油菜根际土壤真菌群落的贡献率分别为: 19.5%、6.1%、37.6%和 6.3%;而对芥菜型油菜根际土壤真菌群落的贡献率分别为: 15.0%、7.6%、39.5%和 5.2%(图 7)。

2.4 分子生态网络分析

分子生态网络可以反映不同物种间的互作关系,本研究中真菌群落网络的拓扑性质如表 4 所示。这 12 个经典网络的平均路径长(Average Path Length)、平均聚类系数(Average Clustering Coefficient)和模块性(Modularity)数值均高于其对应的随机网络,表明构建的网络符合无标度、小世界、模块化等特点,可进行以后的真菌相互作用的分析。



表 3 甘蓝型油菜和芥菜型油菜土壤真菌群落结构与环境因子间的相关性分析(基于 Bray Curtis 方法)  
Table 3 Mantel analysis of the relationship between the soil fungal community structure and environmental factors based on Bray Curtis (BC) method

Samples	Environmental factors	<i>B. napus</i>		<i>B. juncea</i>	
		<i>R</i>	<i>P</i>	<i>R</i>	<i>P</i>
Rhizosphere soil	Height	0.250 0	0.011	0.411 6	0.001
	Weight	0.155 2	0.029	0.372 8	0.005
	Leaf_area	0.260 1	0.003	0.356 8	0.001
	pH	0.052 3	0.342	0.232 7	0.017
	TOC	-0.007 3	0.461	0.002 1	0.444
	TN	-0.114 8	0.762	0.206 3	0.025
	TP	-0.189 8	0.915	0.036 1	0.351
	NH <sub>3</sub> _N	0.051 6	0.321	0.056 6	0.251
	NO <sub>3</sub> _N	-0.060 6	0.666	0.093 6	0.154
	AP	-0.081 4	0.715	0.159 6	0.058
	AK	-0.125 7	0.795	0.029 3	0.355
	Soil_Cd	0.351 5	0.001	0.427 5	0.002
Bulk soil	pH	-0.010 6	0.449	0.328 2	0.005
	TOC	-0.128 1	0.648	-0.181 0	0.905
	TN	0.020 1	0.392	-0.097 3	0.744
	TP	-0.098 7	0.682	-0.179 0	0.901
	NH <sub>3</sub> _N	0.236 9	0.093	-0.068 2	0.613
	NO <sub>3</sub> _N	-0.003 4	0.481	-0.186 9	0.907
	AP	0.346 7	0.051	-0.101 5	0.701
	AK	-0.126 3	0.742	0.097 9	0.233
	Soil_Cd	-0.067 8	0.698	0.325 1	0.007

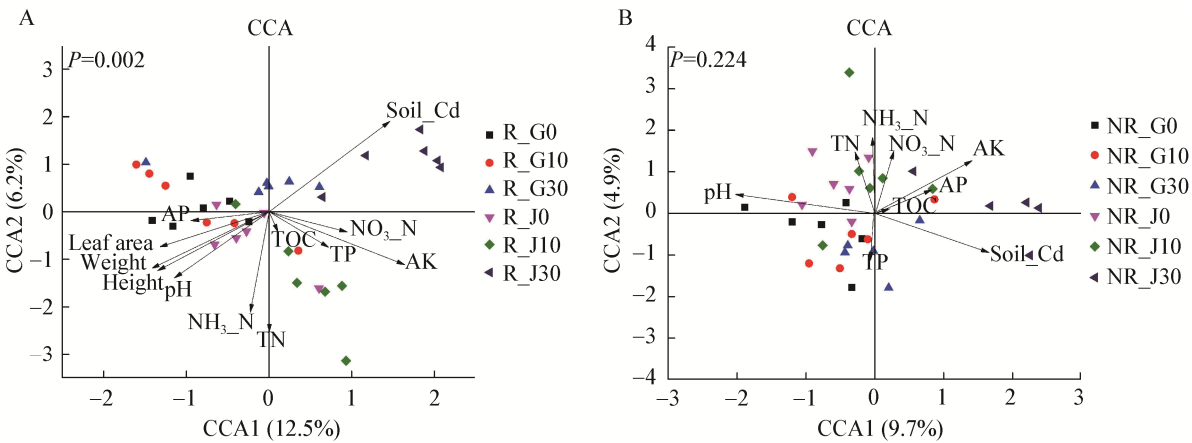


图 6 根际(A)和非根际(B)土壤真菌群落和环境因子的典范对应分析(CCA)  
Figure 6 Canonical correspondence analysis on rhizosphere soil (A) and bulk soil (B) fungal communities with the environmental variables

注: R: 根际土壤样本; NR: 非根际土壤样本; G0/J0: 0 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本; G10/J10: 10 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本; G30/J30: 30 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本  
Note: R: Rhizosphere soil samples; NR: Bulk soil samples; G0/J0: Treatment with 0 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G10/J10: Treatment with 10 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G30/J30: Treatment with 30 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*

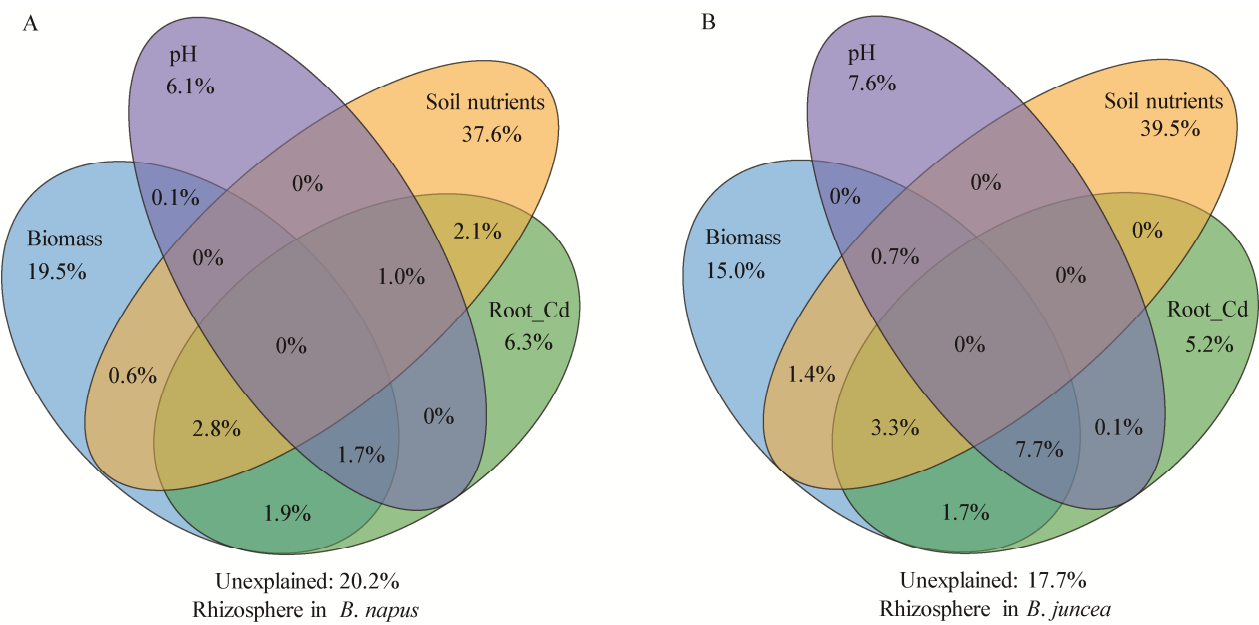


图 7 甘蓝型油菜(A)和芥菜型油菜(B)根际土壤真菌群落 VPA 方差分解分析  
Figure 7 CCA-based variation partitioning analysis (VPA) of rhizosphere fungal communities of *B. napus* (A) and *B. juncea* (B) explained by environmental variables

表 4 不同处理条件下真菌群落的经典分子生态网络及其对应的随机网络的拓扑特性  
Table 4 Topological properties of the empirical molecular ecological networks (MENs) of microbial communities under different treatments and their associated random MENs

Empirical networks									Random networks		
Treatments	Similarity threshold	Nodes	Links	R2 of power law	Average connectivity	Average clustering coefficient	Average path distance	Modularity (module No.)	Average clustering coefficient±SD	Average path distance±SD	Modularity±SD
R_G0	0.90	171	363	0.655	4.246	0.440	7.979	0.795(14)	0.028±0.008	3.682±0.046	0.465±0.010
R_G10	0.90	147	208	0.485	2.830	0.458	6.017	0.873(21)	0.013±0.009	4.943±0.114	0.617±0.012
R_G30	0.90	168	282	0.515	3.357	0.454	8.879	0.846(19)	0.017±0.007	4.379±0.071	0.552±0.009
R_J0	0.90	130	206	0.558	3.169	0.423	6.497	0.824(18)	0.021±0.010	4.249±0.104	0.558±0.012
R_J10	0.90	147	335	0.778	4.558	0.417	5.888	0.689(14)	0.057±0.011	3.363±0.062	0.421±0.010
R_J30	0.90	147	241	0.679	3.279	0.404	6.960	0.824(16)	0.019±0.010	4.275±0.082	0.555±0.011
NR_G0	0.90	167	358	0.535	4.287	0.483	7.557	0.759(12)	0.038±0.010	3.592±0.064	0.456±0.010
NR_G10	0.90	168	366	0.535	4.357	0.443	7.619	0.760(16)	0.027±0.007	3.613±0.044	0.453±0.009
NR_G30	0.90	181	385	0.605	4.254	0.448	7.502	0.758(15)	0.028±0.009	3.684±0.051	0.464±0.010
NR_J0	0.90	159	426	0.603	5.358	0.435	5.895	0.679(13)	0.046±0.008	3.225±0.041	0.387±0.008
NR_J10	0.90	121	258	0.455	4.264	0.458	5.896	0.739(12)	0.040±0.012	3.437±0.058	0.446±0.011
NR_J30	0.90	105	320	0.682	6.095	0.468	4.982	0.479(9)	0.160±0.019	2.815±0.050	2.815±0.050

注：R：根际土壤样本；NR：非根际土壤样本；G0/J0：0 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本；G10/J10：10 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本；G30/J30：30 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本  
Note: R: Rhizosphere soil samples; NR: Bulk soil samples; G0/J0: Treatment with 0 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G10/J10: Treatment with 10 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G30/J30: Treatment with 30 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*

实验结果表明，甘蓝型油菜中，根际土壤真菌分子网络的节点和边的数量，空白处理的比镉处理的多；而非根际土壤真菌分子网络的节点和边，空白处理的数量少于镉处理。芥菜型油菜土壤真菌分子网络的节点和边的数量变化则与甘蓝型油菜相反，即根际土壤真菌群落中空白处理的数量少于镉处理，非根际土壤的真菌群落中空白处理的数量多于镉处理。同时，甘蓝型油菜根际

土壤真菌群落的分子网络的平均连通度在镉处理下显著降低，其他网络的平均连通度不仅未降，还有升高。甘蓝型油菜根际和非根际土壤网络的

正相关连线减少，负相关连线增加。然而芥菜型油菜根际和非根际土壤情况相反，网络正相关连线增加，负相关连线减少(图 8)。

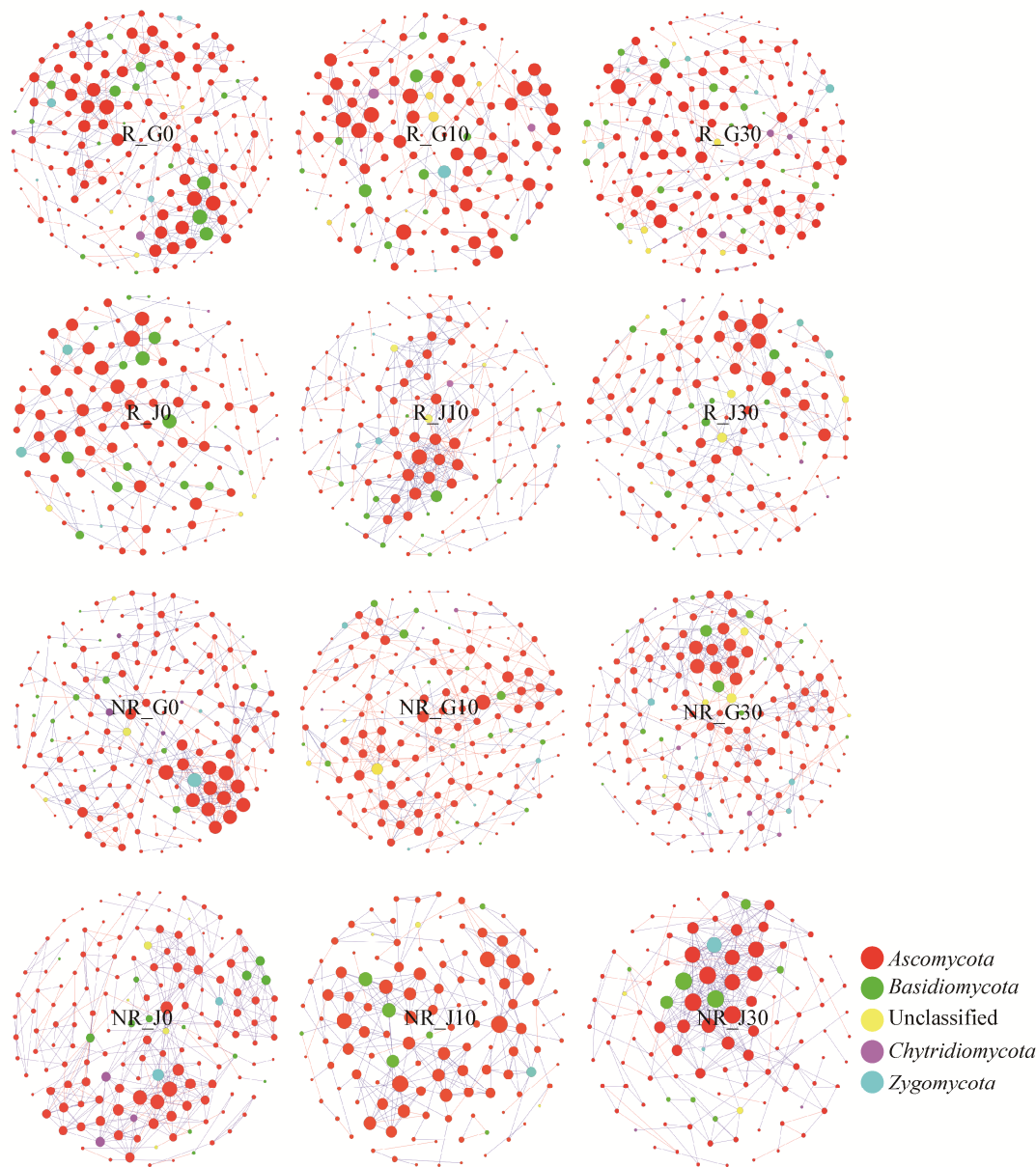


图 8 土壤真菌分子网络

Figure 8 Molecular ecological networks of soil fungal communities

注：图中每个节点代表 1 个 OTU，即相应的真菌物种；不同颜色的节点代表不同优势真菌菌门；点之间的蓝色连线表示正相关关系，红色连线表示负相关关系；R：根际土壤样本；NR：非根际土壤样本；G0/J0：0 mg/kg 镉处理的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本；G10/J10：10 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本；G30/J30：30 mg/kg 镉处理下的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本

Note: Each node means an OTU, which could correspond to a fungal species; Colors of the nodes represented different dominant phylum of fungi; Blue lines represented positive interactions between two individual nodes, while red lines represented negative interactions; R: Rhizosphere soil samples; NR: Bulk soil samples; G0/J0: Treatment with 0 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G10/J10: Treatment with 10 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G30/J30: Treatment with 30 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*

根据网络模块内连通度( $Z_i$ )和模块间连通度( $P_i$ )来表征节点的拓扑角色(图 9)。将  $Z_i \geq 2.5$  或  $P_i \geq 0.62$  的所有节点定为关键真菌(Key Fungi)<sup>[36]</sup>, 这些真菌在各自的大模块中起着联系模块内部真菌的重要作用。结果表明, 所有网络的大部分节点落在外围, 剩余节点落在模块枢纽和连接器内, 而所有分子生态网络均没有网络枢纽节点。仅 C30 (30 mg/kg)处理的甘蓝型油菜根际土壤网络、CK 处理的甘蓝型油菜非根际土壤网络以及 C10 (10 mg/kg)处理的芥菜型油菜非根际土壤网络各有 1 个模块枢纽。CK、C10、C30 处理下的芥菜型油菜根际土壤网络连接数分别是: 1、2、3 个, 而甘蓝型油菜非根际土壤网络连接数分别是: 2、3、1 个。此外, CK 处理的芥菜型油菜非根际土壤网络有 1 个连接器。

### 3 讨论与结论

本实验研究了镉污染对土壤真菌群落的影响。结果表明, 高镉胁迫下 2 种油菜非根际土壤真菌数量显著降低, 而对根际真菌数量无显著影响。镉能够改变根际和非根际土壤真菌群落的组成和结构, 但对真菌群落  $\alpha$  多样性影响不显著。此

外, 镉污染还能影响 2 种油菜土壤真菌群落分子生态网络。

土壤微生物在土壤生态系统中起着重要的作用<sup>[37]</sup>。本研究中镉对 2 种油菜根际土壤真菌群落 rDNA ITS 拷贝数无显著影响, 但在 C30 (30 mg/kg)处理下, 2 种油菜非根际土壤真菌群落 rDNA ITS 拷贝数显著降低, 这可能是由于植物的存在缓解了镉对根际土壤真菌的危害。Wood 等<sup>[38]</sup>发现镉超积累植物 *Carpobrotus rossii* (Haw.)的存在改变了土壤中真菌群落 rDNA ITS 拷贝数。本研究中发现, 镉处理对油菜土壤真菌群落的  $\alpha$  多样性影响不显著(图 3), 但改变了真菌群落的物种组成。研究表明, 镉胁迫下, 子囊菌门与担子菌门是优势菌门, 2 种油菜真菌群落优势菌门子囊菌门的相对丰度升高, 而担子菌门的相对丰度下降。Ye 等<sup>[39]</sup>也发现在重金属污染区优势菌门为子囊菌门与担子菌门, 同时, 有研究发现子囊菌门在中等重金属污染水平下重金属耐受性会明显升高<sup>[40]</sup>。已有研究表明, 重金属污染能使敏感性真菌的丰度相应降低, 而耐受性真菌的丰度在适应新生境后增加, 从而引起真菌群落结构的变化<sup>[41]</sup>。优势菌门与环境因子关系分析

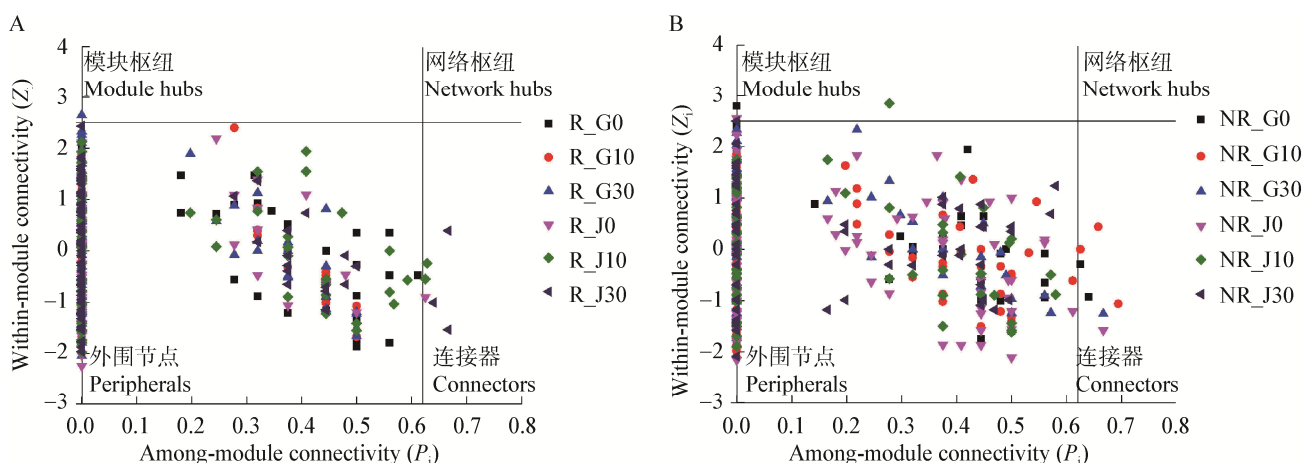


图 9 根际土壤(A)和非根际土壤(B)真菌网络的拓扑角色

Figure 9 Topological roles of rhizosphere soil (A) and bulk soil (B) fungi network

注: R: 根际土壤样本; NR: 非根际土壤样本; G0/J0: 0 mg/kg 镉处理的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本; G10/J10: 10 mg/kg 镉处理的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本; G30/J30: 30 mg/kg 镉处理的甘蓝型油菜/芥菜型油菜样本

Note: R: Rhizosphere soil samples; NR: Bulk soil samples; G0/J0: Treatment with 0 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G10/J10: Treatment with 10 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*; G30/J30: Treatment with 30 mg/kg cadmium in *B. napus*/*B. juncea*

结果表明, 镉污染主要是通过引起 pH 的变化, 从而进一步影响优势菌门的相对丰度; 此外, 镉还能直接影响芥菜型油菜根际和非根际土壤子囊菌门和担子菌门的相对丰度。

高通量测序技术可以准确识别有毒重金属引起的真菌群落结构的变化, 进而解释真菌的功能调控<sup>[42]</sup>。土壤中的重金属会影响真菌的功能, 导致真菌群落结构的变化, 从而对土壤真菌产生选择压力<sup>[43]</sup>。已有研究表明土壤真菌通过改变真菌群落的结构来适应不同水平的重金属污染<sup>[44]</sup>, 本研究中, NMDS 分析和不相似性分析的结果表明, 较高的镉浓度(30 mg/kg)明显改变了土壤真菌群落结构。Rajapaksha 等<sup>[45]</sup>发现在镉(Cd)、锌(Zn)污染的土壤中, 重金属污染显著影响真菌群落结构。Hu 等<sup>[46]</sup>也发现铬污染改变土壤的真菌群落的组成和结构, 而且发现重金属对微生物具有直接的毒害作用。研究还表明, 土壤微生物群落结构的变化是由多种因素驱动的<sup>[17]</sup>, 本研究通过 Mantel 分析和 CCA 分析发现镉污染浓度和生物量与 2 种油菜根际土壤真菌群落均显著相关, 然而, 仅 pH 和 TN 与芥菜型油菜土壤真菌群落结构关系显著, 其他土壤理化性质关系不显著。Frossard 等<sup>[47]</sup>发现土壤微生物群落是由土壤的理化性质(如养分)和有毒污染物(如重金属)共同驱动的。

节点和边的数量比较多的网络比较大<sup>[48]</sup>。结果表明镉处理减小了甘蓝型油菜根际土壤和芥菜型油菜非根际土壤的网络, 却增大了甘蓝型油菜非根际土壤和芥菜型油菜根际土壤的网络大小。平均连通度越高, 网络的复杂性越高, 网络的稳定性升高<sup>[49]</sup>, 而结果显示镉污染使甘蓝型油菜根际土壤分子网络的复杂性和稳定性降低; 其他网络的复杂性和稳定性不仅未降, 还有升高。网络的正相关关系通常代表共生关系, 而负相关关系代表竞争关系<sup>[50]</sup>。结果表明, 镉污染使甘蓝型油菜根际和非根际土壤真菌之间的共生关系被打破, 竞争关系加强。然而芥菜型油菜根际和非根际土壤真菌群落情况相反, 镉污染使其共生关系

得到加强。复杂的生态网络意味着微生物活动和相互作用更加活跃和密集, 这可能会对土壤重金属的植物修复具有有益的作用<sup>[51]</sup>。结果显示, 对比甘蓝型油菜, 芥菜型油菜可能具有更强的重金属修复能力。同时, 中国芥菜型油菜不仅种类繁多, 而且大部分品种具有生物量大、生长速度快、可多年栽培、适宜种植等优点, 更重要的是, 在污染土壤中应用本土植物对土壤的干扰较小, 同时减少了补种、割草和收获的费用, 具有很强的植物修复优势。因此, 芥菜型油菜在中国的植物修复应用可能更经济、实用<sup>[52]</sup>。

本研究结果表明, 镉能影响土壤系统真菌群落, 包括群落的组成、结构以及分子生态网络。这种影响可能会间接地影响油菜的生长以及对镉的积累。真菌是土壤中生物量的重要组成部分, 真菌具有提供给植物养分、分解有机质等作用, 尤其是根际真菌在植物生长过程中发挥着极为重要和复杂的作用<sup>[53-54]</sup>。贾彤等<sup>[55]</sup>研究发现, 根际真菌可以调节重金属在宿主植物中的吸收、转运和分布。因此, 研究油菜根际土壤及非根际土壤真菌群落在受到镉胁迫时的应对情况, 对保障在镉胁迫下油菜高产和重金属污染的土壤修复均具有重要作用。

## REFERENCES

- [1] El-Meihy RM, Abou-Aly HE, Tewfike TA, El-Alkshar EA, Youssef AM. Characterization and identification of cadmium-tolerant bacteria isolated from contaminated regions in Egypt[J]. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 2019, 21: 101299
- [2] Huang SH, Rao GS, Ashraf U, He LX, Zhang ZZ, Zhang HL, Mo ZW, Pan SG, Tang XR. Application of inorganic passivators reduced Cd contents in brown rice in oilseed rape-rice rotation under Cd contaminated soil[J]. *Chemosphere*, 2020, 259: 127404
- [3] Jia RX, Ding XC, Tang DF, Wei F, Chang MM, Li ZQ, Liang ZC, Chen P. Effects of seed germination and seedling growth of two homonuclear-heterocyttoplasmic kenaf hybrid cultivars under cadmium stress[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50(8): 1688-1694 (in Chinese)  
贾瑞星, 丁鑫超, 汤丹峰, 韦范, 常蒙蒙, 李增强, 梁志辰, 陈鹏. 镉对两个同核异质红麻杂交种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *南方农业学报*, 2019, 50(8): 1688-1694



- [4] Yang WT, Zhou H, Gu JF, Liao BH, Zhang J, Wu P. Application of rapeseed residue increases soil organic matter, microbial biomass, and enzyme activity and mitigates cadmium pollution risk in paddy fields[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 264: 114681
- [5] Kong XX, Li BZ, Yang JS. Research progress in microalgae resistance to cadmium stress[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(8): 1980-1987 (in Chinese)  
孔祥雪, 李宝珍, 杨金水. 微藻去除重金属镉的抗性机理研究进展[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(8): 1980-1987
- [6] Wu C, Shi LZ, Xue SG, Li WC, Jiang XX, Rajendran M, Qian ZY. Effect of sulfur-iron modified biochar on the available cadmium and bacterial community structure in contaminated soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 647: 1158-1168
- [7] Xia MM, He GD, Fu DS, Fu TL, Guo C, Yang SM, He TB. Effects of cadmium stress on morphology and physiology of different potato cultivars and cadmium-tolerant evaluation[J]. *Seed*, 2020, 39(9): 41-46 (in Chinese)  
夏蔓蔓, 何冠帝, 符东顺, 付天岭, 郭超, 杨世梅, 何腾兵. 镉胁迫对不同马铃薯品种形态和生理特性的影响及评价[J]. *种子*, 2020, 39(9): 41-46
- [8] Xu XH, Liu CY, Zhao XY, Li RY, Deng WJ. Involvement of an antioxidant defense system in the adaptive response to cadmium in maize seedlings (*Zea mays* L.)[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2014, 93(5): 618-624
- [9] Nogueiro RC, Monteiro FA, De Souza Junior JC, Azevedo RA.  $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$  proportions affect cadmium bioaccumulation and tolerance of tomato[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(14): 13916-13928
- [10] Zhang Q, Li RY, Xu XH, Xie XJ, Chambe EA. Effects of cadmium pollution in soil on growth and cadmium uptake of wheat[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2019, 36(4): 522-527 (in Chinese)  
张琦, 李仁英, 徐向华, 谢晓金, Chambe EA. 土壤镉污染对小麦生长及镉吸收的影响[J]. *农业资源与环境学报*, 2019, 36(4): 522-527
- [11] Wang LX, Chen H, Guo F, Zhang X, Fan ZX, Wan SB. Effects of cadmium on peanut growth and mineral nutrient uptake[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(6): 1106-1110 (in Chinese)  
王丽香, 陈虎, 郭峰, 张欣, 范仲学, 万书波. 镉胁迫对花生生长和矿质元素吸收的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(6): 1106-1110
- [12] Pham HN, Pham PA, Nguyen TTH, Meiffren G, Brothier E, Lamy I, Michalet S, Dijoux-Franca MG, Nazaret S. Influence of metal contamination in soil on metabolic profiles of *Miscanthus x giganteus* belowground parts and associated bacterial communities[J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, 125: 240-249
- [13] Hou DD, Wang RZ, Gao XY, Wang K, Lin Z, Ge J, Liu T, Wei S, Chen WK, Xie RH, et al. Cultivar-specific response of bacterial community to cadmium contamination in the rhizosphere of rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Environmental Pollution*, 2018, 241: 63-73
- [14] Hu L, Wang R, Liu XL, Xu B, Xie TH, Li YY, Wang MK, Wang G, Chen YH. Cadmium phytoextraction potential of king grass (*Pennisetum sinense* Roxb.) and responses of rhizosphere bacterial communities to a cadmium pollution gradient[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(22): 21671-21681
- [15] Mukhtar H, Lin CM, Wunderlich RF, Cheng LC, Ko MC, Lin YP. Climate and land cover shape the fungal community structure in topsoil[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 751: 141721
- [16] Huang Q, Jiao F, Huang YM, Li N, Wang BR, Gao H, An SS. Response of soil fungal community composition and functions on the alteration of precipitation in the grassland of Loess Plateau[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 751: 142273
- [17] Lin YB, Xiao W, Ye YM, Wu CF, Hu YM, Shi HK. Adaptation of soil fungi to heavy metal contamination in paddy fields-a case study in eastern China[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(22): 27819-27830
- [18] Luo QY, Wang XJ, Lin SS, Li YY, Sun L, Jin L. Mechanism and application of bioremediation to heavy metal polluted soil using arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(13): 3898-3906 (in Chinese)  
罗巧玉, 王晓娟, 林双双, 李媛媛, 孙莉, 金樑. AM 真菌对重金属污染土壤生物修复的应用与机理[J]. *生态学报*, 2013, 33(13): 3898-3906
- [19] Khan I, Aftab M, Shakir S, Ali M, Qayyum S, Rehman MU, Haleem KS, Touseef I. Mycoremediation of heavy metal (Cd and Cr)-polluted soil through indigenous metallotolerant fungal isolates[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2019, 191(9): 585
- [20] Nath S, Deb B, Sharma I. Isolation of toxic metal-tolerant bacteria from soil and examination of their bioaugmentation potentiality by pot studies in cadmium- and lead-contaminated soil[J]. *International Microbiology*, 2018, 21(1/2): 35-45
- [21] Mourato MP, Moreira IN, Leitão I, Pinto FR, Sales JR, Martins LL. Effect of heavy metals in plants of the genus *Brassica*[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, 16(8): 17975-17998
- [22] Zhang XM, Zhang XY, Zhong TY, Jiang H. Spatial distribution and accumulation of heavy metal in arable land soil of China[J]. *Environmental Science*, 2014, 35(2): 692-703 (in Chinese)  
张小敏, 张秀英, 钟太洋, 江洪. 中国农田土壤重金属富集状况及其空间分布研究[J]. *环境科学*, 2014, 35(2):

692-703

- [23] Xiong J, Zou XY, Chen LL, Li SY, Zou XF, Song LQ. Screening of rapeseed genotypes with aluminum tolerance at seedling stage and evaluation of selecting indices[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2015, 48(16): 3112-3120 (in Chinese)  
熊洁, 邹小云, 陈伦林, 李书宇, 邹晓芬, 宋来强. 油菜苗期耐铝基因型筛选和鉴定指标的研究[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(16): 3112-3120
- [24] Benáková M, Ahmadi H, Dučaiová Z, Tylová E, Clemens S, Tůma J. Effects of Cd and Zn on physiological and anatomical properties of hydroponically grown *Brassica napus* plants[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(25): 20705-20716
- [25] Kong X, Jin DC, Jin SL, Wang ZG, Yin HQ, Xu MY, Deng Y. Responses of bacterial community to dibutyl phthalate pollution in a soil-vegetable ecosystem[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 353: 142-150
- [26] Magoč T, Salzberg SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963
- [27] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998
- [28] Wang Q, Garrity GM, Tiedje JM, Cole JR. Naïve Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(16): 5261-5267
- [29] Deng Y, Jiang YH, Yang YF, He ZL, Luo F, Zhou JZ. Molecular ecological network analyses[J]. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13(1): 113
- [30] Zhu CC, Li QH, Chen WS, He Y, Xiao J. Metazooplankton community structure and its relationship with environmental factors of Caohai, Guizhou Province, China[J]. *Ecological Science*, 2018, 37(6): 131-138 (in Chinese)  
朱冲冲, 李秋华, 陈文生, 何应, 肖晶. 贵州草海后生浮游动物群落季节动态特征及与环境因子的关系[J]. *生态科学*, 2018, 37(6): 131-138
- [31] Fei L, Deng JM, Qin BQ, Zhu GW, Zuo SP, Sarvala J, Ventelä A, Kirkkala T. Phytoplankton community response to the increasing summer daily minimum temperature in Lake Pyhäjärvi, Finland[J]. *Journal of Lake Sciences*, 2016, 28(3): 592-598 (in Chinese)  
费磊, 邓建明, 秦伯强, 朱广伟, 左胜鹏, Jouko SARVALA, Anne-Mari VENTELÄ, Teija KIRKKALA. 夏季日最低温度升高对芬兰皮海湖浮游植物群落的影响[J]. *湖泊科学*, 2016, 28(3): 592-598
- [32] Paliy O, Shankar V. Application of multivariate statistical techniques in microbial ecology[J]. *Molecular Ecology*, 2016, 25(5): 1032-1057
- [33] Qin GL, Tan JY. Mantel test and its applications in ecology[J]. *Journal of Biomathematics*, 2014, 29(3): 507-512 (in Chinese)  
覃光莲, 谭劲英. Mantel 方法在生态学中的应用[J]. *生物数学学报*, 2014, 29(3): 507-512
- [34] Legendre P, Fortin MJ. Spatial pattern and ecological analysis[J]. *Vegetatio*, 1989, 80(2): 107-138
- [35] Ramette A. Multivariate analyses in microbial ecology[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 62(2): 142-160
- [36] Zheng Y, Li YY, Ding CY, Ren XM, Chen ZJ. Effects of bioenergy cropping on rhizosphere bacteria networks structure in Cd-contaminated soil[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, 36(7): 2605-2612 (in Chinese)  
郑远, 李玉英, 丁传雨, 任学敏, 陈兆进. 能源植物修复镉污染土壤对根际细菌网络结构的影响[J]. *环境科学学报*, 2016, 36(7): 2605-2612
- [37] Schulz S, Brankatschk R, Dümig A, Kögel-Knabner I, Schlöter M, Zeyer J. The role of microorganisms at different stages of ecosystem development for soil formation[J]. *Biogeosciences*, 2013, 10(6): 3983-3996
- [38] Wood JL, Zhang C, Mathews ER, Tang C, Franks AE. Microbial community dynamics in the rhizosphere of a cadmium hyper-accumulator[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 36067
- [39] Ye FC, Gong DF, Pang CP, Luo JL, Zeng XM, Shang CH. Analysis of fungal composition in mine-contaminated soils in Hechi city[J]. *Current Microbiology*, 2020, 77(10): 2685-2693
- [40] Lin YB, Ye YM, Hu YM, Shi HK. The variation in microbial community structure under different heavy metal contamination levels in paddy soils[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019, 180: 557-564
- [41] Mohammad A, Mittra B. Effects of inoculation with stress-adapted arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus deserticola* on growth of *Solanum melongena* L. and *Sorghum sudanese* Staph. seedlings under salinity and heavy metal stress conditions[J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2013, 59(2): 173-183
- [42] Xu YL, Seshadri B, Bolan N, Sarkar B, Ok YS, Zhang W, Rumpel C, Sparks D, Farrell M, Hall T, et al. Microbial functional diversity and carbon use feedback in soils as affected by heavy metals[J]. *Environment International*, 2019, 125: 478-488
- [43] Xie Y, Fan JB, Zhu WX, Amombo E, Lou YH, Chen L, Fu JM. Effect of heavy metals pollution on soil microbial diversity and bermudagrass genetic variation[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 755
- [44] Zhao XQ, Huang J, Lu J, Sun Y. Study on the influence of soil microbial community on the long-term heavy metal pollution of different land use types and depth layers in mine[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2019,



- 170: 218-226
- [45] Rajapaksha RMCP. Heavy metal tolerance of culturable bacteria and fungi in a long-term cultivated tropical ultisol[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2011, 47(1): 9-15
- [46] Hu J, Meng DL, Liu XD, Liang YL, Yin HQ, Liu HW. Response of soil fungal community to long-term chromium contamination[J]. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 2018, 28(9): 1838-1846
- [47] Frossard A, Hartmann M, Frey B. Tolerance of the forest soil microbiome to increasing mercury concentrations[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 105: 162-176
- [48] Chen GZ, Jiang XY, Hu Y. The characteristics of bacterial communities and their co-occurrence networks in lake ecosystem with different trophic states[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2020, 33(2): 375-384 (in Chinese)  
陈光哲, 姜星宇, 胡洋. 不同营养程度湖泊中细菌群落组成及其分子生态网络特征[J]. *环境科学研究*, 2020, 33(2): 375-384
- [49] Kong X, Jin DC, Wang XX, Zhang FS, Duan GL, Liu HJ, Jia MH, Deng Y. Dibutyl phthalate contamination remolded the fungal community in agro-environmental system[J]. *Chemosphere*, 2019, 215: 189-198
- [50] Deng Y, Zhang P, Qin YJ, Tu QC, Yang YF, He ZL, Schadt CW, Zhou JZ. Network succession reveals the importance of competition in response to emulsified vegetable oil amendment for uranium bioremediation[J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(1): 205-218
- [51] Hou JY, Liu WX, Wu LH, Ge YY, Hu PJ, Li Z, Christie P. *Rhodococcus* sp. NSX2 modulates the phytoremediation efficiency of a trace metal-contaminated soil by reshaping the rhizosphere microbiome[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 133: 62-69
- [52] Du J, Guo ZY, Li RH, Ali A, Guo D, Lahori AH, Wang P, Liu XY, Wang XJ, Zhang ZQ. Screening of Chinese mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars for the phytoremediation of Cd and Zn based on the plant physiological mechanisms[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 261: 114213
- [53] Yan HM, Zhang XY, Tan WJ, Chen WM. Biodiversity and composition of rhizosphere fungal communities associated with five plant species[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2020, 26(2): 364-369 (in Chinese)  
燕红梅, 张欣钰, 檀文君, 陈卫民. 5 种植物根际真菌群落结构与多样性[J]. *应用与环境生物学报*, 2020, 26(2): 364-369
- [54] Zeng Q. Dynamic changes of rhizosphere fungi community in different growth periods of soybean[D]. Harbin: Master's Thesis of Harbin Normal University, 2019 (in Chinese)  
曾齐. 不同生长期大豆根际真菌群落结构动态变化研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学硕士学位论文, 2019
- [55] Jia T, Guo TY, Wang RH, Chai BF. Effects of heavy metal contents on phyllosphere and rhizosphere fungal communities for *Bothriochloa ischaemum* in copper tailings area[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(11): 5193-5200 (in Chinese)  
贾彤, 郭婷艳, 王瑞宏, 柴宝峰. 铜尾矿白羊草重金属含量对叶际和根际真菌群落的影响[J]. *环境科学*, 2020, 41(11): 5193-5200