DOI: 10.5846/stxb201809272101
王拓,唐璐,栾玥,张淼,陈佳欣,郭长虹.小黑麦对石油污染盐碱土壤细菌群落与石油烃降解的影响.生态学报,2019,39(24):9143-9151.
Wang T,Tang L,Luan Y,Zhang M,Chen J X,Guo C H.Effect of triticale (*Triticale hexaploide* L.) growth on the bacterial community and petroleum hydrocarbon degradation in petroleum-contaminated saline-alkali soil.Acta Ecologica Sinica,2019,39(24):9143-9151.

小黑麦对石油污染盐碱土壤细菌群落与石油烃降解的影响

王 拓,唐 璐,栾 玥,张 淼,陈佳欣,郭长虹*
哈尔滨师范大学生命科学与技术学院, 黑龙江省分子细胞遗传与遗传育种重点实验室, 哈尔滨 150025

摘要:为了研究小黑麦对石油污染盐碱土壤中的细菌群落与石油烃降解率的影响,采用高通量测序技术,设置 0 g/kg,1 g/kg 和 5 g/kg 三个石油浓度,以未种植小黑麦的土壤作为对照,对 6 组不同处理的盐碱土壤样品的细菌群落结构及其多样性进行测定,并分析土壤中的石油烃降解率。结果表明:在土壤石油浓度为 1 g/kg 和 5 g/kg 时,小黑麦根际土壤中的石油烃降解率相较对照组分别提高了 36.67%和 33.20%。从 6 个土壤样品中分别获得 21398—27899 条测序序列。在石油污染土壤中,小黑麦根际土壤的细菌群落多样性和丰度均大于对照组的土壤。同时,在“门”,“纲”,“属”的分类水平上,小黑麦根际土壤细菌群落中的一些根际细菌的相对丰度增加了,主要包括变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、γ-变形菌纲(Gammaproteobacteria)、烷烃降解菌科-未命名菌属(*Alcanivoracaceae_norank*)、黄单胞菌属(*Xanthomonas*)、亚硝化单胞菌-不可培养菌属(*Nitrosomonadaceae_unculture*)等。有一些相对丰度增加的根际细菌是以石油及石油分解物为碳源的微生物。本研究证明种植小黑麦改变了石油污染盐碱土壤根际土壤细菌群落结构组成和多样性,促进了降解石油微生物群落的构建,显著提高了盐碱土壤石油污染的降解效果。研究结果为石油污染盐碱土壤的植物修复奠定了理论基础。

关键词:石油污染盐碱土壤;细菌群落;小黑麦;石油烃降解率; 高通量测序

Effect of triticale (*Triticale hexaploide* L.) growth on the bacterial community and petroleum hydrocarbon degradation in petroleum-contaminated saline-alkali soil

WANG Tuo,TANG Lu,LUAN Yue,ZHANG Miao,CHEN Jiaxin,GUO Changhong*
Laboratory of Molecular Cytogenetics and Genetic Breeding of Heilongjiang Province, College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, *China*

Abstract: In order to study the effect of triticale on the bacterial community and petroleum hydrocarbon degradation rate in petroleum-contaminated saline-alkali soil, three concentrations of petroleum with 0 g/kg, 1 g/kg and 5 g/kg were introduced into the research and non-triticale-planted soil was set as control group for corresponding concentration of petroleum which formed six different experiment groups. The high-throughput sequencing technology was utilized to study the structure and diversity of the microbial community of six soil samples and to analyze the petroleum hydrocarbon degradation rate. The results showed that the cultivation of triticale increased the degradation of petroleum hydrocarbon by 36.67% and 33.20% in the condition of 1 g/kg and 5 g/kg petroleum, respectively. 21398 to 27899 sequencing sequences were obtained from 6 soil samples. The diversity and abundance of the bacterial communities in the rhizosphere of triticale were higher than those of the soil without plant in the petroleum-contaminated soil. Moreover, the abundance of some rhizosphere bacteria

基金项目:国家自然科学基金项目(31470571, 31170575);哈尔滨师范大学研究生创新基金项目(HSDSSCX2018-50)
收稿日期:2018-09-27; **网络出版日期**:2019-09-17
* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: kaku3008@126.com

increased in the classification level of "phylum", "class", "genus", such as Proteobacteria, Acidobacteria, Gammaproteobacteriaria, Alcanivoracaceae_norank, Xanthomonas, Nitrosomonadaceae_unculture, etc. Some rhizosphere bacteria with the increased relative abundance are microorganisms that use petroleum and petroleum decomposition as carbon sources. This study proved that planting triticale changed the composition and diversity of bacterial community in rhizosphere soil of petroleum-contaminated saline-alkali soil, promoted the construction of petroleum-degrading microbial community, and significantly improved the degradation effect of petroleum-contaminated saline-alkali soil. The results laid a theoretical foundation for phytoremediation of petroleum-contaminated saline-alkali soils.

Key Words: petroleum-contaminated saline-alkali soil; bacterial community; triticale; petroleum hydrocarbon degradation rate; high throughput sequencing

石油是当下社会经济发展不可或缺的主要能源之一,广泛运用在各行各业,为人类生活带来便利[1]。然而,在石油开采、储运和使用过程中,油溢渗漏等事故导致石油污染日益严重[2]。大量的石油烃类化合物进入土壤,会影响和改变土壤结构的组成,生物化学循环以及土壤微生物群落多样性,对土壤肥力的可持续性和环境造成严重的负面影响[3]。另外,许多石油开采区的地理位置往往位于海域盐碱滩或内陆盐碱土区域,从而导致盐碱土受到原油溢油污染的现象广泛出现,例如墨西哥湾曾发生石油泄漏和溢油事故污染了当地盐碱土[4]。目前,这种盐碱土石油污染所造成的土壤环境恶化已经成为一类突出的环境问题。

植物修复是用特定的植物来清除或降低土壤中污染物质的一种技术,这种技术依赖于植物的生长,植物的生长状态直接影响修复效果。有研究表明,盐碱胁迫和石油污染会改变土壤环境,导致大部分植物难以在石油污染的盐碱土壤中生长,无法在环境修复中有效的发挥作用[5]。小黑麦(*Triticale hexaploide* L.),是普通小麦和黑麦属间杂交和染色体加倍而人工合成的物种,具有光合作用能力旺盛、抗逆性强等优点[6-8]。我们在之前的研究中,筛选到了在石油污染的盐碱土壤中可以较好地存活并生长的小黑麦品种[9],并将其作为本研究的修复植物。同时,石油污染盐碱土的植物修复研究无法忽略土壤中的微生物群落,尤其是植物的根际微生物被认为在植物修复进程中起到关键作用。土壤微生物群落可以敏感地察觉出土壤环境的改变,其中细菌作为土壤微生物中重要的组成成分,它的群落结构组成可以反映出土壤的理化性质,以及对不良环境的耐受性[10]。修复植物可以提高土壤对污染物的降解作用,且修复过程会使土壤微生物的结构呈现出明显的变化[11]。研究石油污染土壤细菌的群落结构和多样性对植物修复的响应会为了解污染土壤的修复机制提供一定的帮助。

本研究采用高通量测序技术,分析小黑麦种植对不同浓度石油污染的盐碱土壤中根际细菌群落结构及多样性的影响,同时测定了土壤石油烃的降解率,以揭示石油污染盐碱土壤的植物修复过程中根际细菌群落结构的变化规律,为石油污染盐碱土壤的植物修复技术提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验植物及土壤的制备

小黑麦(*Triticale hexaploide* L.)哈师 2 号种子,由哈尔滨师范大学分子细胞遗传与遗传育种实验室提供。盆栽实验所需土壤取自黑龙江省大庆市盐碱样地,土壤取回后经风干,过筛,得到无石块和杂物的盐碱土,留以使用。石油污染盐碱土壤的制备:根据实验设计中 1 g/kg、5 g/kg 的石油浓度,称取相应质量的石油(采自大庆油田)和盐碱土壤(土壤基础理化性质:pH 值 9.0、磷 21.1 mg/kg、钾 176 mg/kg、有机物 18.22 g/kg),用一定量的石油醚完全溶解石油,将石油—石油醚溶液按相应浓度倒入对应的盐碱土壤中,搅拌混匀后放在通风处,待石油醚挥发彻底即可制成实验所需土壤。

1.2 盆栽实验方案

设定 0 g/kg、1 g/kg 和 5 g/kg 三个石油浓度的处理组,将种植小黑麦的不同石油浓度实验组记为 X0、X1、

X5,并以对应的石油浓度的未种植小黑麦的土壤作为对照组,分别记为 CK0、CK1、CK5,每个处理设置 4 个重复。将制备好的土壤分装入各花盆中,定量称取 0.5 kg 土/盆,每盆播种 10 粒小黑麦种子。待小黑麦种植 1.5 个月后测定小黑麦的株高,并取其根际土,土样去除大土块、植物残体等杂质,装入密封袋,一部分放于-80℃用以高通量测序,另一部分自然风干,用于石油烃含量测定。

1.3　土壤石油烃含量的测定

土壤中石油烃含量的测定采用索式萃取重量法进行[12-13]。在每种石油浓度处理组中各取一定质量(m_1)的风干土样(研磨过筛 1 mm)与 1 g 无水硫酸钠混合,搅拌均匀后,用滤纸包裹并放入索氏提取器中,滴加 0.6 mL 1 mol/L HCl 到滤纸包上,于 50℃下用二氯甲烷回流 5 h。取下接收瓶,冷却后,将接收瓶中的二氯甲烷提取液倒入分液漏斗中。摇晃振动分液漏斗 1—2 min,静置分层,将其下层的二氯甲烷提取液用 10 g 无水硫酸钠过滤脱水,将滤液滤入蒸发皿(称取重量 m_2)。将蒸发皿置于 50℃的烘箱中烘干,待其恒重时称取重量(m_3)。根据土壤样品的质量变化计算出石油烃降解率。石油烃降解率计算公式为:$[m_0-(m_2-m_3)\times1000/m_1]/m_0\times100\%$,$m_0$为土壤中添加的石油浓度。

1.4　土壤 DNA 提取、PCR 扩增和高通量测序

土壤样品的 DNA 提取采用 PowerSoil DNA 提取试剂盒(Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.),称取 0.3—0.5 g新鲜土壤样品,按试剂盒规定的实验步骤提取土壤总 DNA。利用细菌引物对 515F-907R 区进行 PCR 扩增,引物序列分别为 515F(5′-GTGCCAGCMGCCGCGG-3′),907R(5′-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3′)。接头后的引物含有不同的 Barcode 以区分不同样品。PCR 反应体系为 20 μL:5×PCR buffer 4 μL, dNTPs(2.5 mmol/L)2 μL,正向引物 0.4 μL(5 μmol/L),反向引物 0.4 μL(5 μmol/L),0.4 μL Premix Taq DNA 聚合酶,DNA 模板量 10 ng。PCR 扩增条件:94℃ 3 min;94℃ 20 s,55℃ 20 s,72℃ 30 s,20 个循环;72℃ 5 min。PCR 结束后,引入 Illumina 桥式 PCR 兼容引物进行第二轮扩增。对 PCR 产物进行琼脂糖电泳,并采用琼脂糖试剂盒回收,QuantiFluorTM-ST (Promega, USA)检测试剂盒对回收的 DNA 精确定量,每一样品 DNA 量取 10 ng,按 1:1 等量混合后采用 Illumina 公司的 Miseq 平台测序。

1.5　数据分析及处理

根据 Barcode 序列拆分各样品数据,截取 Barcode 和引物的序列使用 FLASH 对其进行拼接。高通量测序数据使用 QIIME 进行数据处理:利用 UPARSE 软件对全部有效序列进行聚类,默认以 97%序列相似性对序列聚类获得操作分类单元(operational taxonomic unit,OTU)。采用 RDP classifier 2.12 对 97%相似度水平的 OTU 代表序列进行分类学分析,得到每个 OTU 对应的物种分类信息,并在界、门、纲、目、科、属水平上统计各个样品的细菌群落组成。基于物种分类分析,绘制物种分类条形图和物种丰度热图。利用 QIIME 1.8 软件进行样品 Alpha 多样性分析,计算 ACE、Chao1、Shannon、Simpson 等物种多样性指数[14-16]。基于 Alpha 多样性指数进行稀释性分析。在分析细菌群落结构时,将样品中无法鉴定到这个分类水平的类群统称为未知类群(Unclassified),将相对丰度较低的类群合并,统称为其他类群(Others),然后绘制不同分类水平上细菌类群的相对丰度图。

实验数据采用 Microsoft Excel 2010 处理,显著性分析采用 IBM SPSS Statistics 20 统计软件单因素方差分析(ANOVA)得到各处理间数据差异[14],利用邓肯(Duncan)检验进行多重比较,显著差异水平 $P < 0.05$。

2　结果与分析

2.1　小黑麦对土壤石油烃降解作用的影响

对土壤的石油烃含量进行测定,并对土壤石油烃降解率进行了分析(图 1)。结果表明,X1 组的石油烃降解率是 56%,而 CK1 组的土壤石油烃降解率为 19.33%,表明在土壤石油浓度为 1 g/kg 时,种植小黑麦提高了土壤 36.67%的石油烃降解率。X5 组的石油烃降解率是 44.27%,而 CK5 组的土壤石油烃降解率为 11.07%,表明在土壤石油浓度为 5 g/kg 时,种植小黑麦提高了土壤 33.20%的石油烃降解率。因此,种植小黑麦组的石

油烃降解率均显著高于无植物种植的对照组($P < 0.05$)。

2.2 土壤细菌多样性和群落结构分析

2.2.1 土壤测序数据分析

为了解种植小黑麦对石油污染盐碱土壤的细菌群落结构的影响,利用 Illumina Miseq 高通量测序技术,对不同处理样品的细菌 16S rRNA 进行测序。经优化后 6 个处理组分别得到 21398—27899 条序列。基于样品稀释性曲线(图 2),6 个土壤样品的 OTUs 数随着序列读取数量的增加先快速上升而后转变为缓慢地上升,说明随着序列读取数量的增加 OTUs 数已经开始趋于平缓,此外,测序的覆盖度(Coverage 值)均大于 96%(表 1),证明该测序量已可以代表样本中微生物的真实情况。

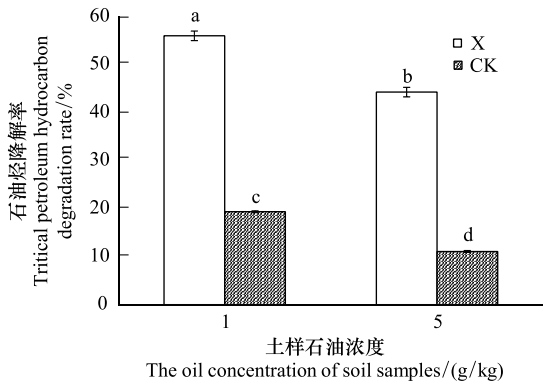

图 1 石油烃降解率

Fig.1 degradation rate of Total Petroleum Hydrocarbons(TPH)

不同字母表示统计学上的差异($P<0.05$)

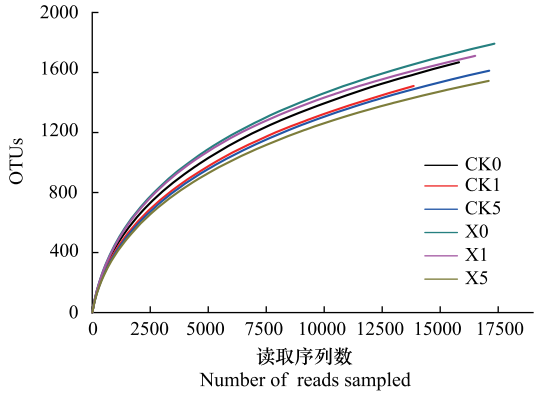

图 2 样品稀释曲线

Fig.2 Rarefaction curve analysis of OTUs

2.2.2 土壤细菌多样性分析

通过计算土壤样品的 Ace 指数(Ace index)、Chao1 指数(Chao1 index)、辛普森指数(Simpson index)和香农指数(Shannon index),对土壤细菌多样性进行了分析(表 1)。Ace 指数和 Chao1 指数可代表土壤细菌群落的丰度,辛普森指数和香农指数可代表土壤细菌群落的多样性。结果表明,X1 组的细菌群落香农多样性指数是 6.25,而 CK1 组是 5.95;X5 组的细菌群落香农多样性指数是 5.97,而 CK5 组的土壤细菌群落香农多样性指数为 5.84,表明在土壤石油浓度为 1 g/kg 和 5 g/kg 时,种植小黑麦均会提高土壤细菌多样性。另外,从 Chao1 指数也可以看出,种植小黑麦提高了土壤细菌的丰度。在种植小黑麦以后土壤细菌群落的土壤的香农指数、Ace 指数、Chao1 指数值显著增加,辛普森指数降低.说明向土壤中种植小黑麦进行修复处理可提高污染土壤的微生物丰富度和均匀度。以上结果表明,种植小黑麦提高了石油污染盐碱土壤细菌的丰度和多样性。

表 1 不同处理组土壤细菌丰富度和多样性

Table 1 Richness and diver index of bacteria in different treatments

处理 Treatment	序列数 Reads	97%相似水平 Similarity					
		分类单元 OTU	Ace 指数 Ace index	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index	覆盖率/% Coverage
CK0	15812	1668	2374	2374	0.0050	6.16	96.14
X0	17337	1792	2452	2500	0.0047	6.27	96.43
CK1	13858	1510	2235	2311	0.0083	5.95	95.74
X1	16510	1711	2292	2342	0.0046	6.25	96.55
CK5	17113	1612	2286	2201	0.0109	5.84	96.61
X5	17092	1644	2295	2295	0.0082	5.97	96.86

2.2.3　土壤细菌群落结构组成分析

在细菌群落“门”的分类水平上对土壤的细菌群落结构组成进行了分析(图 3)。结果表明,在 6 个土壤样品中,放线菌门(Actinobacteria 8.33%—26.61%)、变形菌门(Proteobacteria 20.00%—51.16%)、酸杆菌门(Acidobacteria 13.96%—17.04%)、拟杆菌门(Bacteroidetes 6.51%—26.12%)、绿弯菌门(Chloroflexi 3.40%—7.37%)占有主要优势地位。

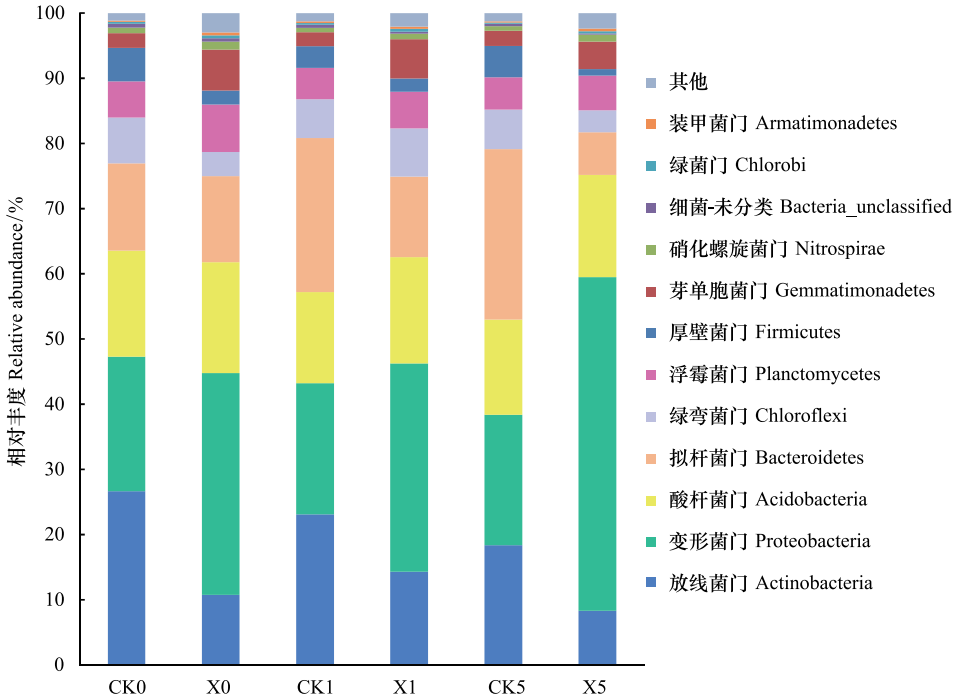

图 3　门水平土壤细菌群落结构

Fig.3　Soil bacterial community at the phylum levels

在无石油污染的盐碱的土壤中,与未种植小黑麦的对照组相比(CK0),种植小黑麦处理组(X0)的变形菌门、芽单胞菌门、浮霉菌门和酸杆菌门的相对丰度较高,而放线菌门的相对丰度明显下降。在 1 g/kg 和 5 g/kg 浓度的石油污染土壤中,X1 和 X5 土样中的变形菌门的相对丰度为 31.94%和 51.16%,而在 CK1 和 CK5 土样中其相对丰度为 20.15%和 20.00%。酸杆菌门 X1 和 X5 土样中的相对丰度为 16.35%和 15.71%,在 CK1 和 CK5 土样中其相对丰度为 13.96%和 14.64%。而放线菌门,拟杆菌门和厚壁菌门(Firmicutes)较对照的相对丰度有所降低。在 6 个土壤样品中,不同土壤样品中的未分类种群的数值有一定的波动变化,种植小黑麦后相对丰度显著增加。

在细菌群落“纲”的分类水平上发现(图 4),6 个土壤样品中放线菌纲(Actinobacteria)、酸杆菌纲(Acidobacteria)、α-变形菌纲(Alphaproteobacteria)、黄杆菌纲(Flavobacteriia)、γ-变形菌纲(Gammaproteobacteria)、β-变形菌纲(Betaproteobacteria)占有主要优势地位。种植小黑麦以后,γ-变形菌纲、β-变形菌纲、芽单胞菌纲、δ-变形菌纲的相对丰度都有上升,而放线菌纲、黄杆菌纲、微酸菌纲、芽孢杆菌纲、热微菌纲这几种菌纲的相对丰度都有降低。在 X0 组中,酸杆菌纲、β-变形菌纲、α-变形菌纲、γ-变形菌纲为主要分类群。在 1 g/kg 和 5 g/kg 石油浓度下,酸杆菌纲在 X1 组中的丰度最高,为 16.35%;而 γ-变形菌纲在 X5 土壤样品中的丰度值最高,为 28.33%。除此之外,在石油污染的盐碱土壤中,黑麦草的种植提高了芽单胞菌纲、δ-变形菌纲、鞘脂杆菌纲 、浮霉菌纲、硝化螺旋菌纲以及未分类的其他菌群的相对丰度。

进一步利用热图在细菌“属”的水平上进行了分析(图 5)。共统计了 36 个主要优势菌属,与 CK0 相比,X0 组的土壤样品中亚硝化单胞菌-不可培养菌属(*Nitrosomonadaceae_uncultured*,5.83%)、噬纤维菌科-不可培

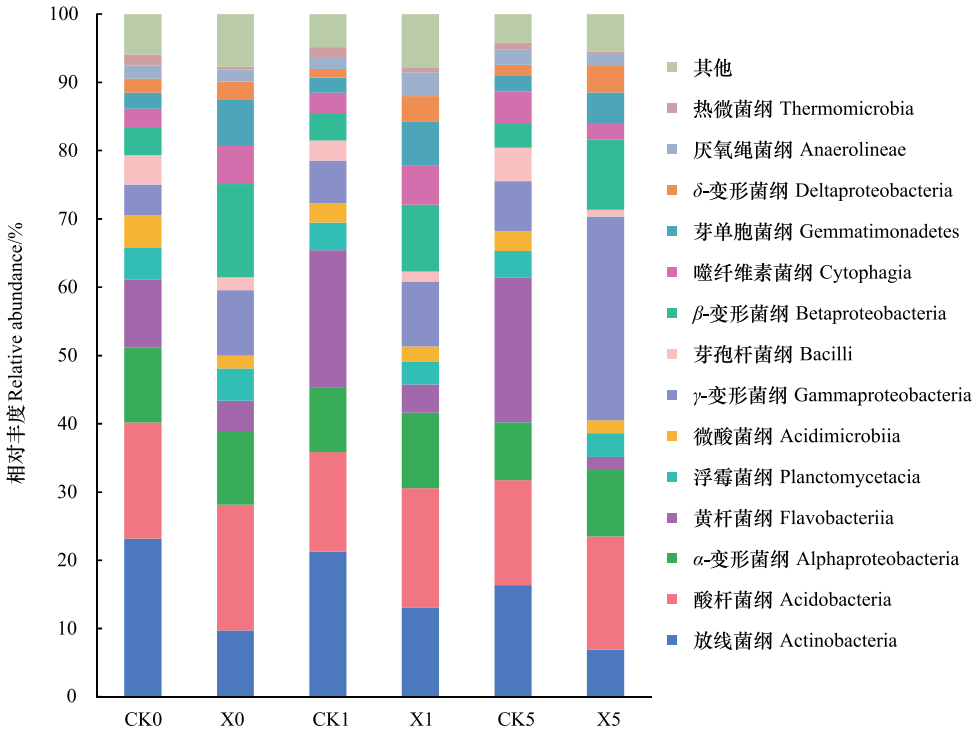

图 4 纲水平土壤细菌群落结构

Fig.4 Soil bacterial community at the class levels

养菌属(*Cytophagaceae_uncultured*,3.37%)和芽单胞菌科-不可培养菌属(*Gemmatimonadaceae_uncultured*,2.19%)这三个菌属的相对丰度提高。在 1 g/kg 和 5 g/kg 石油浓度下,与 CK1 相比较,X1 组中的亚硝化单胞菌-不可培养菌属(4.63%)、噬纤维菌科-不可培养菌属(4.42%)、烷烃降解菌科-未命名菌属(*Alcanivoracaceae_norank*,2.63%)的相对丰度明显增加;与 CK5 相比较,X5 组土壤样品中的烷烃降解菌科-未分类菌属、黄单胞菌属(*Xanthomonas*)、亚硝化单胞菌-不可培养菌属、丛毛单胞菌科-未分类菌属(*Comamonadaceae_unclassified*)这几个菌群的相对丰度增加。种植小黑麦后在石油污染的土壤中有一部分菌属的数量相比未种植土壤更多,比如硝化单胞菌-不可培养菌属、噬纤维菌科-不可培养菌属、芽单胞菌科-不可培养菌属、烷烃降解菌科-未命名菌属、黄单胞菌属、丛毛单胞菌科-未分类菌属、浮霉状菌属(*Planctomyces*)、芽单胞菌属(*Gemmatimonas*)、丰佑菌属(*Opitutus*)、水小杆菌属(*Aquabacterium*)、鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*),其中烷烃降解菌科-未命名菌属、Subgroup_6_norank、黄单胞菌属、亚硝化单胞菌-不可培养菌属、34P16_norank 这几个菌群的相对丰度比较高。

3 讨论

植物修复具有成本低、可进行大面积原位操作、无二次污染等特点,因而备受人们的青睐[17-18]。但是针对于石油污染的盐碱土壤环境,许多植物都无法正常生长,也就无法发挥出修复作用。盐碱土壤的高盐含量以及高 pH 值会影响植物的生长状况,所以本研究选取耐盐碱的小黑麦作为石油盐碱双重污染地区的修复植物。许多研究表明,种植植物能够增加土壤根际微生物的多样性与丰度,以提高土壤对污染物的消除修复能力[11]。在石油烃污染的土壤中种植麒麟草、大叶钻天杨、深裂欧地草,显著改变了根际土壤细菌群落结构[19]。种植狗牙根(*Cynodon dactylon*)、马蔺(*Iris lactea*)等植物均可以提高土壤微生物的多样性,改善根际土壤的微环境,降低土壤中的石油烃含量,从而有效地修复 PHCs 污染土壤[20-21]。本研究发现,种植小黑麦不仅显著提高了盐碱土壤的石油烃降解率,还增加了根际土壤细菌多样性和丰度,这与利用黄花苜蓿(*Medicago*

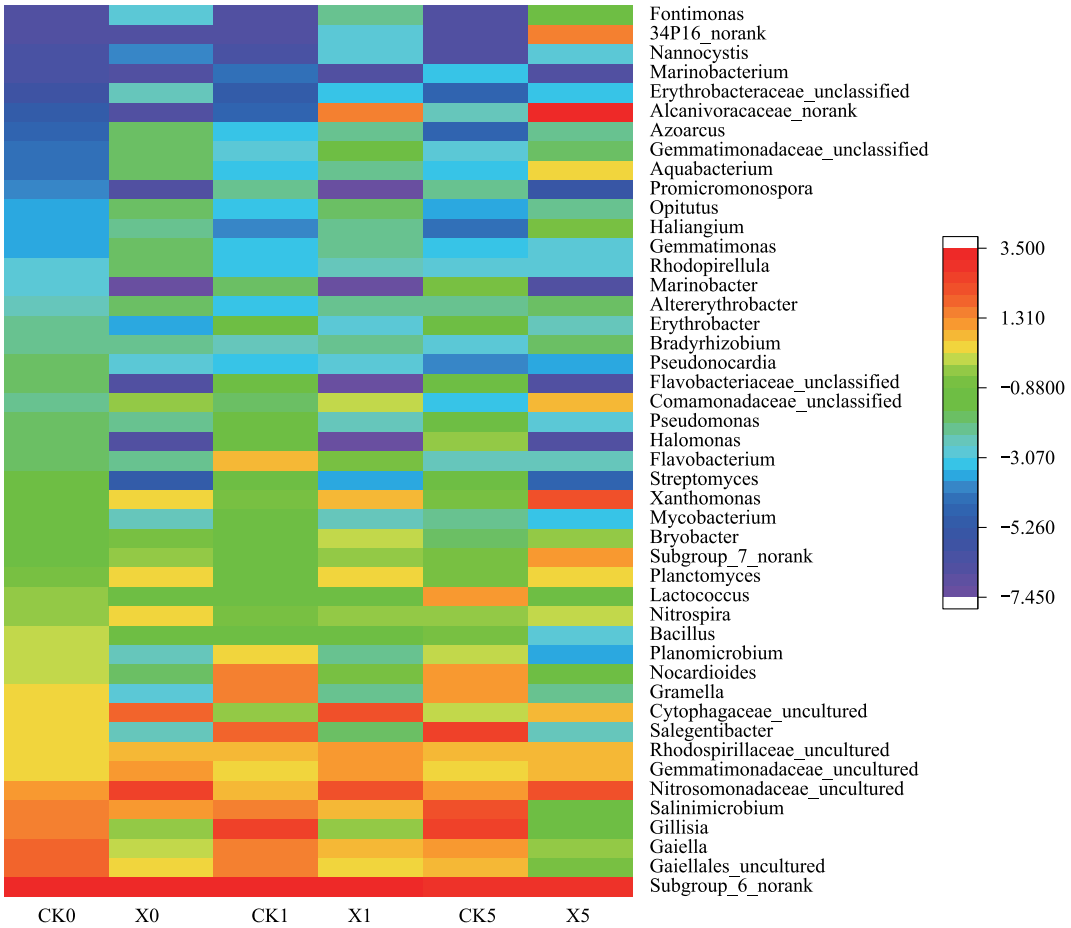

图 5　各土壤样品在属水平上的细菌群落结构热图

Fig.5　The heatmap of bacterial community structures of soil sampiems at level of genus

热图的纵坐标表示的为不同的细菌菌属,横坐标表示的为每一个土壤样品,图中不同颜色色代表着菌属的丰度变化,越偏向红色丰度越高,而越偏向蓝色丰度越低

falcata L.)和紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)[22]等植物进行盐碱土石油污染修复的研究结果相一致。根据调查研究发现,种植植物后对石油污染土壤的修复作用体现在以下几点,一是修复植物自身可以吸附利用有机污染物,二是由于根系分泌物为微生物提供了营养,故增加了根际微生物的丰度,从而促进土壤中石油烃类化合物的降解[23],三是植物根系可以通过向土壤中释放分泌物和氧气,同时打破土壤的物理化学结构,从而有效增加污染土壤中的微生物群落,促进石油烃的降解[24]。这表明了植物修复的过程不仅是植物本身在起作用还包含着土著微生物的参与以及植物与土著微生物之间的相互作用带来的影响。

土壤微生物是重要的土壤活性组成成分,在土壤的有机物质的分解和转化过程中发挥重要的作用[25]。植物生长可以影响其凋落物的产生和分解、根系的周转以及根系分泌物的产生等活动,这些活动能够影响土壤碳和氮含量等微生物生长和繁殖提供所必需的碳源和能量,从而影响微生物群落结构[26]。同时,土壤中的石油也会影响土壤的细菌群落组成。Sutton 等人对长期柴油污染土壤 26 个样品微生物群落组成和多样性的研究结果表明,变形杆菌、放线菌门、酸杆菌门和绿弯菌门是主要的微生物类群[27]。在 Liao 等人的研究中发现,华北油田中的优势菌为放线菌及拟杆菌[28]。而在本研究中,发现石油污染的盐碱土壤的优势细菌菌群是放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门和绿弯菌门,这与他人的研究结果基本相符。在种植小黑麦的土壤中,还会发现变形菌门相对丰度明显增加,而放线菌门,拟杆菌门和厚壁菌门较对照的相对丰度有所降低。变形菌门由一群革兰氏阴性细菌组成,可以降解石油碳氢化合物[29]。在“纲”的分类水平上,种植小黑麦后 γ-

变形菌纲、芽单胞菌纲、β-变形菌纲和 δ-变形菌纲的相对丰度有小幅度增加。属于变形菌门的 γ-变形菌纲的相对丰度增加幅度较明显。Gao 等人通过研究不同程度盐碱化和原油污染的土壤中微生物群落的变化,发现 γ-变形菌纲在修复石油污染土壤的过程中起着重要作用[5]。同样,在放线菌门和酸杆菌门中也包含有特异的碳氢化合物降解细菌,它们对于土壤中的碳、氮和其他的营养物质的循环有着重要的作用。Allen 的研究表明,在长期石油污染的地区可以发现酸杆菌门,认为这部分细菌参与了污染土壤的修复过程[30]。

本研究通过细菌菌属的相对丰度分析发现,在石油污染的盐碱土壤种植的小黑麦根际,亚硝化单胞菌属、噬纤维菌科-不可培养菌属、芽单胞菌属、烷烃降解菌科-未命名菌属、黄单胞菌属和丛毛单胞菌科-未分类菌属等优势度较高,而在无石油污染及未种植植物对照组中这些菌群的优势度较低,清楚地表明石油污染土壤中含有独特的石油降解细菌群落,同时小黑麦的种植会增加石油降解细菌群落的相对丰度。这些优势菌属中,亚硝化单胞菌是一种氨氧化细菌,能把氨氧化为亚硝酸,在土壤氮循环中发挥着重要作用,有助于给植物提供氮素[31]。而烷烃降解菌科-未命名菌属和黄单胞菌属则与石油污染物的降解有关,研究发现烷烃降解菌科-未命名菌属是一种能够降解烷烃的嗜盐菌,可以利用石油烃组分作为碳源在中度至高盐环境中生长,同时在研究中发现黄单胞菌是一种污染程度较低时的高效石油降解菌[32-34]。在本研究中检测出来的丛毛单胞菌科是一类有机物质的天然分解者,这与 Sun 等人的研究对次生污染(运移油)样品中丛毛单胞菌科含量显著的结果相似[35]。本研究结果表明,在石油污染的中会出现一类独特的以石油及石油分解物为碳源的微生物群,例如烷烃降解菌、黄单胞菌以及丛毛单胞菌等等,同时种植小黑麦会促进石油污染的盐碱土壤中这类微生物的生长,加速对土壤中石油烃类污染物的降解。

综上所述,种植小黑麦不仅自身可以耐受石油盐碱的双重胁迫,还可以增加根际土壤细菌群落的多样性,并通过构建良好的微生物群落结构来加强修复效果,从而在盐碱土壤中达到一个较高的石油烃的降解率。

参考文献(References):

[1] 赵秀芳, 宋国香, 谢志远, 王振宇, 张涛. 我国盐碱土修复现状与特点. 环境卫生工程, 2017.25(4): 96-99.

[2] 方芳, 刘佳莉, 史煦涵, 陈红艳, 郭长虹. 石油污染土壤中植物根际促生菌的筛选及特性分析. 生物技术通报, 2012.28(6): 154-158.

[3] 赵慧慧, 肖娴, 裴孟, 赵远, 梁玉婷. 长期石油污染对盐碱化土壤中微生物群落分子生态网络的影响. 环境科学, 2016.37(9): 3582-3589.

[4] Castro-Silva C, Ruíz-Valdiviezo V M, Valenzuela-Encinas C, Alcántara-Hernández R J, Navarro-Noya Y E, Vázquez-Núñez E, Luna-Guido M, Marsch R, Dendooven L. The bacterial community structure in an alkaline saline soil spiked with anthracene. Electronic Journal of Biotechnology, 2013, 16(5):10.

[5] Gao Y, Wang J, Guo S, Hu Y, Li T, Mao R, Zeng D H. Effects of salinization and crude oil contamination on soil bacterial community structure in the Yellow River Delta region, China. Applied Soil Ecology, 2015, 86: 165-173.

[6] Cantale C, Petrazzuolo F, Correnti A, Farneti A, Felici F, Latini A, Galeffi P. Triticale for Bioenergy Production. Agriculture and Agricultural Science Procedia, 2016, 8: 609-616.

[7] 李雪, 田新会, 杜文华. 小黑麦品系成株期抗旱性研究. 核农学报, 2018, 32(2): 377-388.

[8] 李春艳, 李诚, 艾尼瓦尔, 孔广超, 虎小兵, 曹连莆. 春性饲草型小黑麦抗旱性的综合评价. 麦类作物学报, 2008, 28(6): 1080-1085.

[9] 方芳. 石油污染的盐碱土壤中植物根际土壤微生物群落的研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨师范大学, 2013.

[10] 陈熙, 刘以珍, 李金前, 葛刚, 吴兰, 李永绣. 稀土尾矿土壤细菌群落结构对植被修复的响应. 生态学报, 2016, 36(13): 3943-3950.

[11] 焦海华, 崔丙健, 吴尚华, 白志辉, 黄占斌. 紫茉莉对石油污染盐碱土壤微生物群落与石油烃降解的影响. 环境科学, 2015, 36(9): 3471-3478.

[12] 张金. 石油污染土壤修复植物根际修复潜力评价研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017.

[13] 王如刚, 王敏, 牛晓伟, 唐景春. 超声-索氏萃取-重量法测定土壤中总石油烃含量. 分析化学, 2010.38(3): 417-420.

[14] Kemp P F, Aller J Y. Bacterial diversity in aquatic and other environments: what 16S rDNA libraries can tell us. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 47(2): 161-177.

[15] Lu L, Xing D, Ren N. Pyrosequencing reveals highly diverse microbial communities in microbial electrolysis cells involved in enhanced H2 production from waste activated sludge. Water Research, 2012, 46(7): 2425-2434.

[16] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman F D, Costello E K, Fierer N, Peña A G, Goodrich J K, Gordon J I, Huttley G

A, Kelley S T, Knights D, Koenig J E, Ley R E, Lozupone C A, McDonald D, Muegge B D, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky J R, Turnbaugh P J, Walters W A, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336.

[17] Al-Mansoory A F, Idris M, Abdullah S R S, Anuar N. Phytoremediation of contaminated soils containing gasoline using Ludwigia octovalvis (Jacq.) in greenhouse pots. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(13): 11998-12008.

[18] Xun F F, Xie B M, Liu S S, Guo C H. Effect of plant growth-promoting bacteria (PGPR) and arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on oats in saline-alkali soil contaminated by petroleum to enhance phytoremediation. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(1): 598-608.

[19] Iffis B, St-Arnaud M, Hijri M. Petroleum Contamination and Plant Identity Influence Soil and Root Microbial Communities While AMF Spores Retrieved from the Same Plants Possess Markedly Different Communities. Frontiers in Plant Science, 2017, 8: 1381.

[20] 岳冰冰, 李鑫, 任芳菲, 孟凡娟, 孙广玉. 石油污染对紫花苜蓿部分生理指标的影响. 草业科学, 2011.28(2): 236-240.

[21] Cheng L J, Wang Y N, Cai Z, Liu J, Yu B B, Zhou Q X. Phytoremediation of petroleum hydrocarbon-contaminated saline-alkali soil by wild ornamental Iridaceae species. International Journal of Phytoremediation, 2017, 19(3): 300-308.

[22] Panchenko L, Muratova A, Turkovskaya O. Comparison of the phytoremediation potentials of Medicago falcata L. And Medicago sativa L. in aged oil-sludge-contaminated soil. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(3): 3117-3130.

[23] 程国玲, 李培军. 石油污染土壤的植物与微生物修复技术. 环境工程学报, 2007.1(6): 91-96.

[24] Hajabbasi M A. Importance of soil physical characteristics for petroleum hydrocarbons phytoremediation: a review. African Journal of Environmental Science and Technology, 2016, 10(11): 394-405.

[25] 甄丽莎, 谷洁, 胡婷, 吕睿, 贾凤安, 刘晨, 李燕. 黄土高原石油污染土壤微生物群落结构及其代谢特征. 生态学报, 2015.35(17): 5703-5710.

[26] 袁庆叶, 安菁, 高俊琴, 韩广轩, 于飞海. 芦苇克隆整合对石油污染湿地土壤微生物群落结构和生物量的影响. 生态学报, 2018.38(1): 215-225.

[27] Sutton N B, Maphosa F, Morillo J A, Abu Al-Soud W, Langenhoff A A M, Grotenhuis T, Rijnaarts H H M, Smidt H. Impact of Long-Term Diesel Contamination on Soil Microbial Community Structure. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 79(2): 619-630.

[28] Liao J Q, Wang J, Jiang D L, Wang M C, Huang Y. Long-term oil contamination causes similar changes in microbial communities of two distinct soils. Applied Microbiology and Biotechnology, 2015, 99(23): 10299-10310.

[29] 杨洋, 邵宗泽. 印度洋深海沉积物石油烃降解菌分离、鉴定与多样性分析. 生物资源, 2017.39(6): 423-433.

[30] Allen J P, Atekwana E A, Atekwana E A, Duris J W, Werkema D D, Rossbach S. The microbial community structure in petroleum-contaminated sediments corresponds to geophysical signatures. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(9): 2860-2870.

[31] 高怡宁, 陈锴新, 余诗怡, 潘怡秀, 陶珺杨, 王婷, 蔡贤雷. 温州市境内城市河流底泥氨氧化菌富集培养物微生物群落结构分析. 微生物学通报, 2018.45(8): 1676-1684.

[32] Shen Y Y, Ji Y, Li C R, Luo P P, Wang W K, Zhang Y, Nover D. Effects of phytoremediation treatment on bacterial community structure and diversity in different petroleum-contaminated soils. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2018, 15(10): 2168.

[33] 宜慧, 常波, 杨玲引, 侯丽芳. 高效石油烃降解菌的筛选及其对原油污染土壤的修复. 化工环保, 2018, 38(4): 1-6461-465.

[34] 李红,李小康,鱼涛,李彦,屈撑囤.嗜盐微生物降解石油烃污染物研究进展.现代化工:1-5[2019-04-27].http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2172.TQ.20190222.1427.087.html.

[35] Sun Y J, Lu S D, Zhao X H, Ding A Z, Wang L. Long-term oil pollution and in situ microbial response of groundwater in northwest China. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2017, 72(4): 519-529.