

DOI: 10.7524/AJE.1673-5897.20190417001

瞿梦洁,李娜,刘广龙,等. 穗花狐尾藻对沉积物微生态受阿特拉津胁迫的缓解作用[J]. 生态毒理学报,2020,15(5):310-318

Qu M J, Li N, Liu G L, et al. The alleviating action of *Myriophyllum spicatum* on sediment microenvironment under atrazine exposure [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2020, 15(5): 310-318 (in Chinese)

穗花狐尾藻对沉积物微生态受阿特拉津胁迫的缓解作用

瞿梦洁1,李娜1,刘广龙1,李慧冬13,刘伟4,朱端卫12,*

1. 华中农业大学资源与环境学院生态与环境工程研究室,武汉 430070

2. 生猪健康养殖协同创新中心, 武汉 430070

3. 山东省农业科学院农业质量标准与检测技术研究所,济南 250100

4. 齐鲁工业大学(山东省科学院),山东省分析测试中心,山东省中药质量控制技术重点实验室,济南 250014

收稿日期:2019-04-17 录用日期:2019-07-24

摘要: 以穗花狐尾藻为供试植物,在种植或未种植穗花狐尾藻的不同培养时期,测定了对照沉积物及 2.0 mg·kg⁻¹阿特拉津污染沉积物中可溶性有机碳(DOC)、硝态氮和铵态氮含量以及脱氢酶活性和细菌总数,并对沉积物中阿特拉津降解菌进行了筛选与鉴定。主要结果表明,根际和非根际沉积物中 DOC 呈现先下降再上升的趋势,在培养 60 d 后,根际沉积物和非根际沉积物中 DOC 含量分别为(311.95±15.51) mg·kg⁻¹和(307.00±6.11) mg·kg⁻¹,并无显著差异(P>0.05)。根际沉积物中铵态氮为(66.49±1.57) mg·kg⁻¹,显著低于非根际沉积物的(78.65±1.37) mg·kg⁻¹,并无显著差异(P>0.05)。根际沉积物中嵌氢酶活性呈增加趋势, 且根际沉积物脱氢酶活性一直显著高于非根际沉积物(P<0.05),最终达到(253.50±7.82) mg·(kg·d)⁻¹。与此同时,根际沉积物、空白沉积物和非根际沉积物中平均细菌总量分别为 1.19×10⁸、1.15×10⁸和 1.04×10⁸ cfu·g⁻¹。从培养 60 d 后的沉积物中分别筛选得到赖氏菌属(*Leifsonia* sp.) J1(非根际沉积物)、伯克氏菌属(*Burkholderia* sp.) J2(根际沉积物)和成对杆菌属(*Dyadobacter* sp.) J3(根际沉积物)等 3 株阿特拉津降解菌,表明穗花狐尾藻能在一定程度上缓解阿特拉津对沉积物中微生态的胁迫。 关键词: 阿特拉津;穗花狐尾藻;铵态氮;脱氢酶;降解菌

文章编号:1673-5897(2020)5-310-09 中图分类号:X171.5 文献标识码:A

The Alleviating Action of *Myriophyllum spicatum* on Sediment Microenvironment under Atrazine Exposure

Qu Mengjie¹, Li Na¹, Liu Guanglong¹, Li Huidong^{1,3}, Liu Wei⁴, Zhu Duanwei^{1,2,*}

1. Laboratory of Eco-Environmental Engineering Research, College of Resources and Environment, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

2. The Cooperative Innovation Center for Sustainable Pig Production, Wuhan 430070, China

3. Institute of Quality Standard and Testing Technology, Shandong Academy of Agricultural Sciences, Jinan 250100, China

4. Shandong Key Laboratory of TCM Quality Control Technology, Shandong Analysis and Test Center, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250014, China

Received 17 April 2019 accepted 24 July 2019

Abstract: To study the alleviating action of submerged plants on sediment microenvironment under atrazine expo-

基金项目:国家科技重大专项子课题(2012ZX07104-001);山东省自然科学基金资助项目(ZR2016YL006)

第一作者:瞿梦洁(1990—),女,博士研究生,研究方向为水体污染物控制,E-mail: 916759036@qq.com

^{*} 通讯作者(Corresponding author), E-mail: zhudw@mail.hzau.edu.cn

sure, Myriophyllum spicatum was used as the tested species and the content of dissolved organic carbon (DOC), nitrate and ammonium, the dehydrogenase activity and total bacteria amount in the planted sediment and unplanted were determined when the concentration of atrazine was set to 0 and 2.0 mg \cdot kg⁻¹. Moreover, the atrazine-degrading bacterial strains have been isolated and identified from sediments. The main results showed that the DOC content of rhizosphere sediments and non-rhizosphere sediments decreased firstly and then increased. After a 60-day exposure, the DOC content in these two sediments was (311.95 ± 15.51) mg·kg⁻¹ and (307.00 ± 6.11) mg·kg⁻¹, respectively, and there was no significant difference between various sediments (P>0.05). Meanwhile, the content of ammonium in the rhizosphere sediments ((66.49 ± 1.57) mg \cdot kg⁻¹) was significantly lower than that in the non-rhizosphere sediments ((78.65±1.37) mg·kg⁻¹) (P < 0.05). The dehydrogenase activity in sediments increased with the incubation time. The dehydrogenase activity in rhizosphere sediments was always significantly higher than that in non-rhizosphere sediments (P < 0.05), and finally reached to (253.50±7.82) mg·(kg·d)⁻¹. Furthermore, the average total bacteria in rhizosphere sediments, blank sediments and non-rhizosphere sediments were 1.19×10^8 , 1.15×10^8 and 1.04×10^8 cfu \cdot g⁻¹, respectively. Notably, the strain *Leifsonia* sp. J1 was screened from the non-rhizosphere sediment on the 60th day, while strain Burkholderia sp. J2 and strain Dyadobacter sp. J3 strains were screened from the rhizosphere sediment. Myriophyllum spicatum was effective in relieving the pernicious effects in sediment microenvironment under atrazine exposure. This study provides a potential bioremediation for atrazine-contaminated sediments.

Keywords: atrazine; Myriophyllum spicatum; ammonium nitrogen; dehydrogenase; degradative bacteria

阿特拉津是多种禾本科作物种植过程中广泛使用的选择性内吸传导型除草剂^[1]。约5%的阿特拉 津会随地表径流进入水生系统^[2-3],一旦其被水体沉 积物吸附,就很难从中释放^[4]。美国 Olentangy 河流 域沉积物中阿特拉津的半衰期最长可达6~7周,超 过了该湿地的水力停留时间^[5]。阿特拉津在被其污 染的湖泊沉积物中降解半衰期达到 14.3 d,稍高于 湿地沉积物中阿特拉津半衰期 9.72 d^[4,6]。水生植物 对阿特拉津具有一定抗性,菖蒲、千屈菜和水葱能在 阿特拉津浓度<8.0 mg·L⁻¹的培养液中存活^[7]。在根 系分泌物的作用下,有机污染物在根际环境中的代 谢行为不同于非根际环境^[8]。沉积物中阿特拉津残 留可能会对根际微生物繁衍造成一定影响,其生态 风险有待进一步评价。

微生物是污染土壤/沉积物生态环境的敏感指 示物^[9-10],在降解土壤/沉积物中污染物的同时,其本 身生理生化活性、代谢过程和多样性也受到不同程 度的影响^[11]。植物根系能促进微生物生长,产生特 定的根际细菌群落,使得根际沉积物中微生物数量 远多于非根际沉积物^[12-13]。对比空白土壤,种植了 狼尾草土壤中阿特拉津和西玛津的降解率更高,相 关微生物生物量和脱氢酶活性与对照相比均呈显著 增长,其中,节细菌属(*Arthrobacter* sp.)-DNS10 菌株 被证明能有效地去除根际的阿特拉津^[14-15]。因此, 在阿特拉津胁迫下,研究沉水植物根际微环境变化 并对相关细菌进行筛选与鉴定,可以为评估水体中 阿特拉津的生态风险提供依据。

穗花狐尾藻是长江中下游湖泊中最常见的一种 沉水植物,属夏季优势种^[16]。本研究选择穗花狐尾 藻为供试植物,进行生物模拟实验,试图考察:(1) 阿 特拉津对根际和非根际沉积物生理生化性质的影 响;(2) 阿特拉津对沉水植物根际细菌数量的影响; (3) 在根际和非根际沉积物中阿特拉津降解菌的筛 选与鉴定基础上,测定其对阿特拉津的降解率。

1 材料与方法(Materials and methods)

1.1 供试材料

供试沉积物:采自武汉市洪山区南湖(30°28' 23.52"N;114°22'9.81"E)。沉积物采回后过 10 目 筛,以去除各种杂质,覆水静置备用。沉积物 pH 值 为7.47,有机质含量为 54.91 g·kg⁻¹,阳离子交换量 为3.48 cmol·kg⁻¹。

供试植物:沉水植物穗花狐尾藻采自武汉市植物园,将自来水经太阳暴晒 30 min 去除次氯酸对植物生长的影响,选用生长状态良好的成熟植株放入水中驯化备用。

试验培养箱:用345 mm×220 mm×60 mm (长× 宽×高)的聚丙烯盆种植植物,再将盆置于550 mm× 450 mm×350 mm (长×宽×高)的聚丙烯水箱模拟天 然水体环境。

阿特拉津:标准品购于德国 Dr. Ehrenstorfer 公司,纯度≥99.5%;称取 100 mg 阿特拉津,溶于1 L 甲醇,配制成 100 mg·L⁻¹的阿特拉津的甲醇溶液。

超净工作台:SW-CJ-2FD 双人单面净化工作台 (中国智净净化设备有限公司)。

1.2 试验设计

为使阿特拉津对微生物保持高浓度的逆境胁 迫,定量得到微生物对阿特拉津的响应数据,配制 100 mg·L⁻¹的阿特拉津的甲醇溶液,取480 mL 溶液 至 24 kg 沉积物中,机械混合,使沉积物中阿特拉津 浓度达到 2.0 mg·kg⁻¹。与此同时,取 240 mL 纯甲 醇溶液至 12 kg 沉积物中机械混合待用。模拟试验 采用如下 3 个处理:(1) 空白沉积物处理(空白处理, CK);(2) 沉积物中添加阿特拉津,未种植沉水植物 (非根际沉积物处理,AT);(3) 沉积物中添加阿特拉 津,种植穗花狐尾藻(根际沉积物处理,AT-P)。

取9个培养箱,每组处理设置3个平行培养箱。 根据上述处理,分别在每个培养箱中放置4个塑料 盆,每个塑料盆中加入1kg沉积物,虹吸法加入50 L暴晒后的自来水进行培养,并定期补充上覆水抵 消蒸发。AT处理的培养箱中所取沉积物视为非根 际沉积物;AT-P处理培养箱中均匀种植60株株长 20 cm的穗花狐尾藻,将其根系黏着沉积物视为根 际沉积物。试验运行60 d,每隔15 d取各自沉积物 样品。每次取样后将取出的塑料盆中的沉积物和植 物样丢弃,不再放回培养箱。

1.3 测定方法

1.3.1 沉积物理化性状测定

沉积物可溶性有机碳(DOC)测定采用超纯水浸 提($m(\pm): m(x) = 1:5$),25 ℃振荡 30 min 后,在 3 500 r·min⁻¹下离心 20 min,上清液过 0.45 µm 有机 滤膜后用 Varia TOC cube 总有机碳分析仪(德国 Elementar 公司)进行测定^[17]。沉积物可溶性硝态氮和 铵态氮采用 1 mol·L⁻¹ KCl 浸提($m(\pm): m(x) = 1:$ 5),25 ℃振荡 30 min 后,在 3 500 r·min⁻¹下离心 20 min,上清液过 0.45 µm 有机滤膜后用 AA3 全自动 连续流动分析仪(德国 SEAL Analytical GmbH 公司) 进行测定^[18]。

1.3.2 沉积物中脱氢酶活性测定

称取4g沉积物于试管中,加入2mL氯化三苯 基四氮唑(TTC)溶液(体积分数为1%)和2mL葡萄 糖溶液(体积分数为1%)摇匀,同时每个处理用2 mL 三羟甲基氨基甲烷缓冲液代替 TTC 作为对照。 将试管于恒温箱暗室 37 ℃培养 24 h,加甲醇 20 mL,移入 50 mL 三角瓶振荡 1 h 后过滤,取滤液测 定脱氢酶活性(mg·(kg·d)⁻¹)^[19]。

1.3.3 沉积物中细菌数量测定

称取2g沉积物于灭菌离心管中,添加无菌水 配制成稀释度为10⁻¹的悬液,于30℃下振荡混匀1 h,再配制成稀释度为10⁻²、10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵和10⁻⁶ 的系列悬浮液,移取0.1 mL接种于盛有灭菌培养基 的培养皿中,涂布均匀。每个浓度梯度设置3个重 复,于30℃培养。细菌的数量分别以每克沉积物中 细菌数量的对数计^[20]。

1.3.4 沉积物中阿特拉津降解菌筛选

称取沉积物鲜样 5 g 于含有 45 mL 无菌水的三 角瓶中,在 25 ℃、150 r·min⁻¹转速下振荡 1 h,吸取 1 mL 沉积物悬液用于梯度稀释,涂布于基础无机盐 培养基平板,该培养基以阿特拉津为唯一氮源。将 平板放在 25 ℃培养箱中培养至有菌落产生,挑取菌 落在 LB 培养基上进行划线纯化,再将其转接至液 体无机盐培养基中培养。

1.3.5 沉积物中阿特拉津降解菌的鉴定

以菌株基因组 DNA 为模板,对其 16S rRNA 基 因进行克隆和分析。16S rRNA 的 PCR 引物为:27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'), PCR 扩增条 件为:95 ℃预变性 2 min,95 ℃变性 30 s,58 ℃退火 30 s,72 ℃延伸 90 s,共 35 个循环,最终 72 ℃延伸 10 min^[21]。使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物 大小并用试剂盒纯化 PCR 产物,纯化后的产物送至 上海美吉生物公司测定全长序列。序列在 NCBI 网 站中的 GeneBank 数据库比对,使用 MEGA 6.0 软件 中的 Neighbor-Joining 法对菌株的 16S rRNA 基因 序列构建系统发育树,并通过 1 000 次重抽样(bootstrap)来评估所得结果的可靠性。

1.4 数据处理和分析

各项指标测定每处理重复3次。用 OriginPro 8.5和 SPSS 18.0软件进行绘图及统计分析,所有结 果均表示为平均值±标准差(mean±SD),方差分析采 用 Tukey 显著性检验,当不同处理间有显著差异时, 先标注最小值,图中误差线表示标准差。

2 结果(Results)

2.1 沉积物中 DOC 含量变化

沉积物中 DOC 含量会随培养时间的增加而变

化,如图1所示。在AT-P(根际)、CK(空白)和AT(非 根际)处理中,第15天时DOC含量出现了明显的下 降,随后呈上升趋势。培养结束时,DOC含量与初 始值相近。在培养第30天时,根际沉积物中DOC 含量显著高于未添加阿特拉津且未种植物的空白沉 积物(P<0.05)。在第45天时,非根际、根际沉积物中 DOC含量分别为(327.35±7.50)mg·kg⁻¹和(304.18± 8.32)mg·kg⁻¹,差异显著(P<0.05)。其他时间内,实 验处理中的DOC含量与对照处理中的DOC含量 并无显著差异(P>0.05)。

2.2 沉积物中硝态氮和铵态氮含量变化

如表1所示,AT-P(根际)及AT(非根际)处理沉 积物中硝态氮含量在培养第15天时显著上升,分别 达到(5.82±2.10) mg·kg⁻¹和(19.51±16.75) mg·kg⁻¹, 随后含量一直呈下降趋势,在培养第60天时下降为 (0.58±0.006) mg·kg⁻¹和(0.61±0.07) mg·kg⁻¹。在整 个培养过程中,非根际处理中硝态氮含量均高于根 际处理,CK(空白)沉积物中硝态氮含量呈缓慢下降 趋势。培养结束时,根际和非根际沉积物中硝态氮 含量显著低于 CK(空白)沉积物; 与此同时, 根际和 非根际沉积物铵态氮含量整体呈先增加再减少的趋 势。培养第15天时,AT-P(根际)处理和AT(非根际) 处理沉积物中铵态氮含量都显著增加达到最高值, 分别为(247.54±14.56) mg·kg⁻¹和(202.13±20.90) mg· kg⁻¹。在培养 30 d 和 45 d 时,根际沉积物和非根际 沉积物中铵态氮含量无显著差异。在整个培养过程 中,CK(空白)沉积物中铵态氮含量呈缓慢下降趋势。

2.3 沉积物中脱氢酶活性变化

Table 1

种植穗花狐尾藻后,在整个培养过程中,AT-P (根际)处理沉积物中脱氢酶活性一直显著高于AT (非根际)处理和 CK(空白)处理(P<0.05)。如图 2 所示,第 15 天时,AT-P、CK 和 AT 处理中脱氢酶活性分别达到(203.42±3.38)、(188.84±9.12)和(191.39± 5.42) mg·(kg·d)⁻¹。随着培养时间增加,根际和非根



图 1 阿特拉津胁迫下 AT-P(根际)和 AT(非根际)沉积 物中可溶性有机碳(DOC)含量比较

注:AT-P 表示添加阿特拉津且种植穗花狐尾藻的沉积物,CK 表示未添加阿特拉津且未种植植物的沉积物,AT 表示添加阿特拉津但未种 植植物的沉积物;图中不同小写字母表示阿特拉津胁迫下2种处理 沉积物中 DOC 含量差异显著(P<0.05)。

Fig. 1 The comparison of total dissolved organic carbon (DOC) concentrations in AT-P (rhizosphere) sediment and AT (non-rhizosphere) sediment after atrazine exposure Note: AT-P, CK and AT represent the sediment treated with atrazine

and *Myriophyllum spicatum*, sediment treated without atrazine and *M. spicatum*, and sediment treated with atrazine but without *M. spicatum*, respectively; different lowercase letters represent significant differences among the concentrations of DOC in two treatment sediments after atrazine exposure (P < 0.05).

The content variation of nitrate nitrogen and ammonium nitrogen in sediments

		0			
培养时间/d	处理 Treatment ———				
		Nutrient nitrogen content/(mg.kg ⁻¹)			
Incubation time/d		Nutrent introgen content/(ing kg)			

Incubation time/d	Treatment	8 (88)					
medbation time/d		0 d	15 d	30 d	45 d	60 d	
硝态氮 Nitrate nitrogen	AT-P	1.60±0.57a	5.82±2.10b	0.78±0.17a	1.06±0.22a	0.58±0.06a	
	CK	1.32±0.87a	1.36±0.75a	1.32±0.77ab	1.20±0.45a	$1.11 \pm 0.07 b$	
	AT	1.35±0.92a	19.51±16.75c	1.93±1.33b	1.10±0.38a	$0.61 \pm 0.07 a$	
铵态氮 Ammonium nitrogen	AT-P	188.76±13.24a	247.54±14.56c	106.03±24.97a	74.37±15.81a	66.49±1.57a	
	СК	175.44±5.32a	155.31±13.27a	147.68±19.32b	120.36±8.99b	123.35±9.37c	
	AT	177.39±6.10a	$202.13 \pm 20.90b$	98.57±12.90a	83.40±16.86a	78.65±1.37b	

注:不同字母表示同列不同处理间具有显著差异(P<0.05)。

Note: The different letters indicate significant difference between treatments in the same column (P < 0.05).

表1 沉积物中硝态氮和铵态氮含量的变化



图 2 阿特拉津胁迫下 AT-P(根际)和 AT(非根际) 沉积物中脱氢酶活性比较

注:图中不同小写字母分别表示培养期间不同处理沉积物中 脱氢酶活性差异显著(P<0.05)。

Fig. 2 The comparison of dehydrogenase activity in AT-P (rhizosphere) sediment and AT (non-rhizosphere) sediment after atrazine exposure

Note: Different lowercase letters represent significant differences among the dehydrogenase activity in two treatment sediments after atrazine exposure (P < 0.05).

际沉积物中脱氢酶活性也持续增加,CK(空白)沉积 物中脱氢酶活性基本保持稳定。到实验结束的第 60 天时,AT-P 处理中脱氢酶活性为(253.50±7.82) mg·(kg·d)⁻¹,AT 处理中脱氢酶活性为(236.60±6.91) mg·(kg·d)⁻¹,两者比值约为1.07。

2.4 沉积物中细菌数量变化

种植穗花狐尾藻能显著提高沉积物中细菌的总数。在整个培养过程,AT-P(根际)沉积物中细菌总数始终高于未种植植物的AT(非根际)沉积物。如图3所示,在培养60d内,沉积物中细菌数量随培养时间的增加而增加。在培养15d和30d后,AT-P处理中细菌总数显著高于CK和AT处理(P < 0.05)。在培养结束的第60天,AT-P和CK处理中细菌数差异不显著(P < 0.05),但均高于AT处理,此时,AT-P、CK和AT处理中平均细菌总量分别为 $1.19 \times 10^8 \ x 1.15 \times 10^8 \ m 1.04 \times 10^8 \ cfu \cdot g^{-1}$ 。

2.5 沉积物中阿特拉津降解菌的筛选与鉴定

本研究从不同沉积物中筛选出3株以阿特拉津 为唯一氮源生长的菌株,分别命名为J1、J2和J3,其 中,J1为非根际沉积物(AT)中筛选得到的菌株,J2、 J3为根际沉积物(AT-P)中筛选得到的菌株,通过对 不同菌株的16SrRNA进行扩增测序,将J1、J2和J3



图 3 阿特拉津胁迫下 AT-P(根际)、CK(空白)和 AT(非根际)处理沉积物中细菌总数变化

注:图中不同小写字母分别表示培养期间不同处理 沉积物中细菌数量差异显著(P<0.05)。

Fig. 3 Changes of the bacterial quantities in AT-P (rhizosphere), CK (control) and AT (non-rhizosphere) sediments after atrazine exposure

Note: Different lowercase letters represent significant differences among the bacterial population in two treatment sediments after atrazine exposure (P < 0.05).

的 16S rRNA 基因序列用 BLAST 程序与 GenBank 中已登录的 16S rRNA 基因序列进行序列同源性比 较,并构建系统进化树对细菌进行分类。如图 4 所 示,J1 细菌与赖氏菌属(*Leifsonia* sp.)的 4 株菌在系 统进化树上处于同一分支,推测 J1 为 *Leifsonia* sp. 菌属;与此同时,J2 细菌与 2 株伯克氏菌属(*Burkholderia* sp.)的系统进化树上处于同一分支,推测 J2 为 *Burkholderia* sp.菌属;J3 细菌与成对杆菌属(*Dyadobacter* sp.)的 2 株菌在系统进化树上处于同一分 支,推测 J3 为 *Dyadobacter* sp.菌属。

3 讨论(Discussion)

植物生长能改变其根际微环境。DOC 能够增强土壤或沉积物中有机污染物的溶解,对有机污染物的生物有效性及迁移过程都有重要影响^[22-23]。在培养 15 d时,根际和非根际沉积物中 DOC 含量出现了明显下降,随后都呈上升趋势,可能是因为在培养前 15 d内阿特拉津的浓度较高,阿特拉津降解菌代谢旺盛导致了沉积物中 DOC 下降。据报道,在淹水条件下,土壤矿质态氮主要以铵态氮为主,水稻根系对铵态氮的强烈吸收会导致根际铵态氮含量显



图 4 以阿特拉津为唯一氮源的 J1、J2 和 J3 细菌的 16S rRNA 基因序列系统进化树

注:图中括号表示系统发育分析的基因序列登录号,黑色粗体表示鉴定出的菌种 J1、J2 和 J3,分支上面数值显示

相关分类群在测试中聚集在一起的百分比(1000个重复)。

Fig. 4 Phylogenetic trees of J1, J2 and J3 strains using atrazine as a sole nitrogen source

Note: Accession numbers of the gene sequences used for the phylogenetic analysis are shown; J1, J2, and J3 were indicated by bold; the percentage of replicate trees in which the associated taxa clustered together in the bootstrap test (1 000 replicates) is shown next to the branches.

氮含量低于非根际沉积物,在培养结束时,差异达到 显著水平(P<0.05),可能是因为穗花狐尾藻对铵态氮 的吸收所致。实际上,沉积物硝态氮的变化也与此 类似,只是硝态氮不易滞留在沉积物中,故其变化并 不明显。从沉积物总的碳氮循环看,氮的变化更能 反映植物存在下微生物对阿特拉津的降解。植物和 微生物对土壤脱氢酶活性变化起着重要作用^[25]。在 阿特拉津污染土壤中,种植狼尾草(Pennisetum clandestinum)的土壤脱氢酶活性比未种植植物时增加了 7倍^[15]。在本实验中,根际沉积物中脱氢酶活性始 终高于非根际沉积物,在培养结束时,根际沉积物脱 氢酶活性比非根际沉积物的高 7%,表明穗花狐尾 藻对沉积物中脱氢酶活性产生了显著影响。

在施用阿特拉津和种植穗花狐尾藻后,沉积物 中酸杆菌门(Acidobacteria)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)的相对数量分别增加^[26]。在本实验中,非根际 沉积物中细菌数量一直显著低于空白处理(P<0.05), 说明阿特拉津介入会抑制细菌生长,给沉积物带来 生态风险。杜浩^[27]利用平板计数法研究了 10 mg· kg⁻¹阿特拉津对土壤细菌群落的影响,结果表明,阿 特拉津对细菌总数有明显的抑制作用,该结论同本 研究得到的结果基本一致。与之相反,Kolekar 等^[28] 的研究表明,在 1 000 mg·kg⁻¹阿特拉津污染土壤 中,阿特拉津降解菌与其他天然微生物的数量均随 培养时间增加而增加。可能是因为土壤微生物可以 利用高浓度的阿特拉津作为碳源和氮源,当阿特拉 津浓度较低,不足以为细菌生长提供足够氮源与氮 源,相反会对细菌生长产生一定抑制作用。在种植 穗花狐尾藻后,本研究中根际沉积物中细菌数量一 直显著高于非根际沉积物(P<0.05)。有报道称,在培 养 80 d 后,土壤中 23% ~30% 的初始浓度为 19.52 mg·kg⁻¹的阿特拉津被铺地狼尾草(Pennisetum clandestinum)降解^[15]。植物根系分泌物可增加植物对污 染物生物利用度,也是根际微生物生长代谢或共代 谢的基质^[29]。这表明,穗花狐尾藻能直接降解阿特 拉津和产生根系分泌物来解除阿特拉津对细菌群落 的伤害^[26],在一定程度上缓解阿特拉津对沉积物微 生物的胁迫。随着培养时间的推移,植物根系越来 越发达,根际沉积物中的细菌数量也随之增加。

部分微生物能将阿特拉津作为碳源和氮源,从 而降解阿特拉津。在土壤中,阿特拉津主要在微生 物作用下脱去烷基或被羟基化^[30]。有研究报道,从 耕作土壤中分离出的阿特拉津降解菌主要包括节杆 菌属(Arthrobacter sp.)、螯合杆菌属(Chelatobacter sp.) 和寡氧单胞菌属(Stenotrophomonas sp.)^[31-32]。沉积 物中阿特拉津降解菌也偶有报道,包括类诺卡氏菌 属(Nocardioides sp.)、路德维希肠杆菌(Enterobacter ludwigii)和戴尔福特菌(Delftia tsuruhatensis)^[33-34]。 在本实验中,根际和非根际中都筛选出了能够以阿 特拉津为唯一氮源生长的菌株。非根际沉积物中筛 选得到 Leifsonia sp. J1。目前少见 Leifsonia sp.降解 阿特拉津的报道,只有一篇文献报道称从阿特拉津 溢油位点分离出的 Arthrobacter sp. TC1 基因组与 Leifsonia sp.具有高度相似性^[35]。与此同时,从种植 穗花狐尾藻的根际沉积物中筛选得到了 Burkholderia sp. J2 和 Dyadobacter sp. J3。有文献报道, Burkholderia sp.含有 atzA 和 atzB 这 2 种阿特拉津降解 基因,其中,atzA 基因能将阿特拉津降解为羟基阿 特拉津, atzB 基因能将阿特拉津降解为氰尿酰胺 (ammelide)或脱异丙基羟基阿特拉津(N-isopropylammelide)^[56]。不同于 Burkholderia sp., Dyadobacter sp.是一种未报道过的阿特拉津降解菌。总之,水生 植物的种植可能促进了细菌对阿特拉津的降解作 用,增加了沉积物中可被筛选利用的阿特拉津降解 菌的种类[37]。

通讯作者简介:朱端卫(1956--),男,博士,教授,博士生导师,

主要研究方向为植物营养与环境生态工程。

参考文献(References):

- [1] Chen N, Valdes D, Marlin C, et al. Water, nitrate and atrazine transfer through the unsaturated zone of the chalk aquifer in northern France [J]. Science of the Total Environment, 2019, 652: 927-938
- [2] Mersie W, Seybold C A, Wu J, et al. Atrazine and metolachlor sorption to switchgrass residues [J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2006, 37 (3-4): 465-472
- [3] Solomon K R, Giesy J P, LaPoint T W, et al. Ecological risk assessment of atrazine in North American surface waters [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2013, 32(1): 10-11
- [4] Qu M J, Li H D, Li N, et al. Distribution of atrazine and its phytoremediation by submerged macrophytes in lake sediments [J]. Chemosphere, 2017, 168: 1515-1522
- [5] Douglass J F, Radosevich M, Tuovinen O H. Mineralization of atrazine in the river water intake and sediments of a constructed flow-through wetland [J]. Ecological Engineering, 2014, 72: 35-39
- [6] Lin T, Wen Y, Jiang L, et al. Study of atrazine degradation in subsurface flow constructed wetland under different salinity [J]. Chemosphere, 2008, 72: 122-128
- [7] Wang Q H, Que X E, Zheng R L, et al.Phytotoxicity assessment of atrazine on growth and physiology of three emergent plants [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22(13): 9646-9657
- [8] Muhammad A, Khan Q M, Angela S. Endophytic bacteria: Prospects and applications for the phytoremediation of organic pollutants [J]. Chemosphere, 2014, 117: 232-242
- [9] Cheema S A, Khan M I, Shen C, et al. Degradation of phenanthrene and pyrene in spiked soils by single and combined plants cultivation [J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 177(1-3): 384-389
- [10] Toyama T, Sato Y, Inoue D, et al. Biodegradation of bisphenol A and bisphenol F in the rhizosphere sediment of-*Phragmites australis* [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2009, 108(2): 147-150
- [11] Zhou J, Sun X, Jiao J, et al. Dynamic changes of bacterial community under the influence of bacterial-feeding nematodes grazing in prometryne contaminated soil [J]. Applied Soil Ecology, 2013, 64: 70-76
- [12] Liu Y, Chen L, Zhang N, et al. Plant-microbe communication enhances auxin biosynthesis by a root-associated bacterium, *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2016, 29(4): 324-330

- [13] Toyama T, Furukawa T, Maeda N, et al. Accelerated biodegradation of pyrene and benzo[a]pyrene in the *Phragmites australis* rhizosphere by bacteria-root exudate interactions [J]. Water Research, 2011, 45(4): 1629-1638
- [14] Zhang Y, Ge S, Jiang M, et al. Combined bioremediation of atrazine-contaminated soil by *Pennisetum* and *Arthrobacter* sp. strain DNS₁₀[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2014, 21(9): 6234-6238
- [15] Singh N, Megharaj M, Kookana R S, et al. Atrazine and simazine degradation in *Pennisetum* rhizosphere [J]. Chemosphere, 2004, 56(3): 257-263
- [16] Xing W, Wu H P, Hao B B, et al. Bioaccumulation of heavy metals by submerged macrophytes: Looking for hyperaccumulators in eutrophic lakes [J]. Environmental Science & Technology, 2013, 47(9): 4695-4703
- [17] 刘德燕,宋长春.磷输入对湿地土壤有机碳矿化及可 溶性碳组分的影响[J].中国环境科学,2008,28(9):769-774

Liu D Y, Song C C. Effects of phosphorus enrichment on mineralization of organic carbon and contents of dissolved carbon in a freshwater marsh soil [J]. China Environmental Science, 2008, 28(9): 769-774 (in Chinese)

[18] 张英利,许安民,尚浩博,等.连续流动分析仪测定土 壤硝态氮和有效磷的试验及改进[J].中国土壤与肥料, 2008(2):77-80

Zhang Y L, Xu A M, Sheng H B, et al. Determination study and improvement of nitrate and available phosphorus in soil by continuous flow analytical system [J]. Soil and Fertilizer Sciences in China, 2008(2): 77-80 (in Chinese)

- [19] Chu H Y, Zhu J G, Xie Z B, et al. Effects of lanthanum on dehydrogenase activity and carbon dioxide evolution in a Haplic Acrisol [J]. Australian Journal of Soil Research, 2003, 41(4): 731-739
- [20] 郝月崎, 孙扬, 李晓晶, 等. 赤子爱胜蚓对乙草胺污染 土壤微生物群落的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(11): 2456-2466
 Hao Y Q, Sun Y, Li X J, et al. The impact of earthworm

(*Eisenia fetida*) on the microbial community in an acetochlor contaminated soil [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37(11): 2456-2466 (in Chinese)

[21] 杨晓燕,李艳苓,魏环宇,等. 阿特拉津降解菌 CS3 的 分离鉴定及其降解特性的研究[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(6): 1149-1158

Yang X Y, Li Y L, Wei H Y, et al. Isolation, identification, and characterization of atrazine-degrading bacterial strain CS3 [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2018, 37 (6): 1149-1158 (in Chinese)

- [22] Feng J, Zhao J, Xi N, et al. Parabens and their metabolite in surface water and sediment from the Yellow River and the Huai River in Henan Province: Spatial distribution, seasonal variation and risk assessment [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019, 172: 480-487
- [23] Moore T R, Matos L. The influence of source on the sorption of dissolved organic carbon by soils [J]. Canadian Journal of Soil Science, 1999, 79(2): 321-324
- [24] 李奕林, 张亚丽, 胡江, 等. 淹水条件下籼稻与粳稻苗 期根际土壤硝化作用的时空变异[J]. 生态学报, 2006, 26(5): 1461-1467

Li Y L, Zhang Y L, Hu J, et al. Spatiotemporal variations of nitrification in rhizosphere soil for two different rice cultivars at the seedling stage growing under waterlogged conditions [J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(5): 1461-1467 (in Chinese)

[25] 孔德康, 王红旗, 刘自力, 等. 植物-微生物修复石油烃 污染土壤与根际微生态环境变化[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(3): 644-651

Kong D K, Wang H Q, Liu Z L, et al. Remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil by plant-microbe and the change of rhizosphere microenvironment [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12 (3): 644-651 (in Chinese)

- [26] Qu M J, Li N, Li H D, et al. Phytoextraction and biodegradation of atrazine by *Myriophyllum spicatum* and evaluation of bacterial communities involved in atrazine degradation in lake sediment [J]. Chemosphere, 2018, 209: 439-448
- [27] 杜浩. 莠去津污染土壤的生物强化修复及其细菌群落 动态分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2012: 34-37
 Du H. Bioremediation of atrazine contaminated soil using bioaugmentation technology and dynamics analysis of bacterial community [D]. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2012: 34-37 (in Chinese)
- [28] Kolekar P D, Patil S M, Suryavanshi M V, et al. Microcosm study of atrazine bioremediation by indigenous microorganisms and cytotoxicity of biodegraded metabolites [J]. Journal of Hazardous Materials, 2019, 374: 66-73
- [29] Shaw L J, Burns R G. Biodegradation of organic pollutants in the rhizosphere [J]. Advances in Applied Microbiology, 2003, 53: 1-60
- [30] Krutz L J, Shaner D L, Zablotowicz R M. Enhanced degradation and soil depth effects on the fate of atrazine and major metabolites in Colorado and Mississippi Soils [J]. Journal of Environmental Quality, 2010, 39(4): 1369-1377
- [31] Zhang Y, Cao B, Jiang Z, et al. Metabolic ability and individual characteristics of an atrazine-degrading consortium

DNC5 [J]. Journal of Hazardous Materials, 2012, 237: 376-381

- [32] Rousseaux S, Hartmann A, Soulas G. Isolation and characterisation of new Gram-negative and Gram-positive atrazine degrading bacteria from different French soils [J]. Fems Microbiology Ecology, 2001, 36(2-3): 211-222
- [33] Satsuma K. Characterisation of new strains of atrazine-degrading *Nocardioides* sp. isolated from Japanese riverbed sediment using naturally derived river ecosystem [J]. Pest Management Science, 2006, 62(4): 340-349
- [34] Kafilzadeh F, Farhadi N. Molecular identification and resistance investigation of atrazine degrading bacteria in the sediments of Karun River, Ahvaz, Iran [J]. Microbiology, 2015, 84(4): 531-537

- [35] Mongodin E F, Shapir N, Daugherty S C, et al. Secrets of soil survival revealed by the genome sequence of Arthrobacter aurescens TC1 [J]. PLoS Genetics, 2006, 2(12): e214
- [36] Fang H, Lian J, Wang H, et al. Exploring bacterial community structure and function associated with atrazine biodegradation in repeatedly treated soils [J]. Journal of Hazardous Materials, 2015, 286: 457-465
- [37] James A, Singh D K, Khankhane P J. Enhanced atrazine removal by hydrophyte-bacterium associations and *in vitro* screening of the isolates for their plant growth-promoting potential [J]. International Journal of Phytoremediation, 2018, 20(2): 89-97