2019-06-25

DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x.2019.01016

***<http://www.cibj.com/>***

应用与环境生物学报 ***Chin J Appl Environ Biol*** 2019，**25** ( 3) : 0501-0509

种植杞柳在镉污染土壤修复过程中对土壤微生物

群落结构和理化性质的影响[[1]](#footnote-2) [[2]](#footnote-3) [[3]](#footnote-4)

高卓田1 牛小云1 周 健1 王 芸2 黄大庄1\*\*

1河北农业大学园林与旅游学院 保定 071000

2石家庄市植物园管理处 石家庄 050000

**■摘 要** 研究种植杞柳在镉污染土壤修复过程中对微生物群落结构的影响，可为应用杞柳-微生物联合修复镉污染土 壤提供理论依据. 以 1年生杞柳扦插苗为试验材料进行盆栽试验，设置4个镉浓度梯度处理（0、50、100以及150 mg/ kg），每个处理同时设置种植杞柳组和未种植杞柳组.种植杞柳1年后收集根际、非根际以及未种植杞柳土壤，对土 壤理化性质、不同形态重金属含量进行测定，利用Biolog-ECO平板法对微生物代谢功能多样性进行测定以及利用 T-RFLP法对微生物群落结构多样性进行测定.采用冗余分析（RDA）对微生物群落结构多样性与土壤理化性质、不 同形态重金属含量的相关性进行分析. 结果表明，在镉污染处理组中养分含量总体呈现种植杞柳组高于未种植杞柳 组，不同土壤来源对6类碳源的平均利用率存在显著差异，碳水化合物和酚酸类相对利用率呈现种植杞柳土壤**v**未种 植土壤，而氨基酸、羧酸、多聚物以及胺类相对利用率都在根际土壤中最高. 对照组与处理组根际微生物丰富度与多 样性指数差异不显著，但优势微生物种类明显不同.RDA分析表明，与对照相比，受污染的土壤中微生物与环境因子 的相关性更强，可还原态镉与优势菌株B-T-RFs（137） 、 B-T-RFs（141）等有较强的相关性.综上，种植杞柳能显著促进

镉污染土壤中微生物代谢活性、微生物丰富度指数以及多样性指数，对优势微生物种群、代谢组成有明显影响；影响

根际与非根际土壤中优势微生物的主要环境因子不同，污染组微生物受环境影响更大. （图8 表1 参50）

杞柳；镉污染；养分；微生物代谢活性；微生物群落结构

**关键词**

**CLC** S53 : Q948.122.3

**Effects of planting *Sailx integra* on the microbial community structure and the physical and chemical properties during cadmium contaminated soil remediation**\* GAO Zhuotian1, NIU Xiaoyun1, ZHOU Jian1, WANG Yun2 & HUANG Dazhuang1\*\*

1. *College of Landscape and Travel, Agricultural University of Hebei*, Baoding 071000, China
2. *Shijiazhuang Botanical Garden Management O ffice*, Shijiazhuang 050000, China

**Agstrac^B**In order to study the effects of planting *Salix integra* on the microbial community structure in cadmium- contaminated soil, a pot experiment was carried out with one-year old cuttings of seedlings as starting material. We set up un­planted and planted *S. integra* areas with four levels of cadmium treatments (0, 50, 100, and 150 mg/kg). After one year of planting, the rhizosphere soil, non-rhizosphere soil, and unplanted soil were collected. The physical and chemical properties of the soil and the fractionation of heavy metal content were determined. The Biolog-ECO plate method was used to measure the microbial metabolic functional diversity and the T-RFLP method was used to measure the diversity of the microbial community structure. Redundancy analysis (RDA) was used to analyze the correlation between microbial community structure diversity, physical and chemical properties of the soil, and fractionation of heavy metal content. The nutrient content in the cadmium-contaminated treatment group was higher than that in the un-planted group. The average utilization rate of the six types of carbon sources was significantly different among different soil sources. The relative utilization ratio of carbohydrates and phenolic acids was higher in un-planted soil than in planted soil, and the amount of amino acids, carboxylic acids, polymers, and amines was the highest in rhizosphere soil. There was no significant difference in the rhizosphere microbial richness and the diversity index between the control group and the treatment group, but the dominant microbial species were significantly different. RDA analysis showed that the microorganisms in the contaminated soil were more strongly correlated with environmental factors, and the reducible cadmium had a strong correlation with the dominant B-T-RFs (137), and B-T-RFs

(141). Planting *S. integra* can significantly promote microbial metabolic activity, microbial richness index, and diversity index in cadmium-contaminated soil, which in turn has a significant impact on the dominant microbial population and metabolic composition. The main environmental factors affecting dominant microorganisms in rhizosphere and non-rhizosphere soils are different. Microorganisms in the treatment group are more affected by the environment.

KeyWOrdS|*Salix integra;* cadmium pollution; nutrient; microbial metabolic activity; microbial community structure

土壤是人类赖以生存的重要资源之一，随着近两百年的 工业革命发展，土壤中污染物急剧增加，土壤质量下降，影 响农作物品质，危害人类身体健康［1］. 2014年《全国土壤污染 状况调查公报》数据显示，全国土壤总的点位超标率为16%， 镉（Cd）的点位超标率为7%,居重金属污染的首位.镉具有 生物迁移性强、极易被植物吸收和积累的特点，对动植物和 人体均可产生毒害作用［2］,因此镉污染治理迫在眉睫.

土壤重金属污染修复手段包括物理修复、化学修复及生 物修复等3种主要方式［3-4］,但由于物理修复与化学修复工程 量大,操作不便捷,并存在二次污染风险,因此生物修复成 为了近些年研究热点［5］. 植物修复通过植物固定、挥发及吸 收等方式,改变有毒重金属在土壤中的存在形式,降低其毒 性或将重金属从土壤中清除［6］. 植物修复基于植物与微生物 的相互作用. 根系分泌物为根际微生物提供能源,从而改变 微生物的群落结构［7-9］,微生物反过来改变根系分泌物的组 成、重金属活性,分泌植物促生物质增加植物生物量以及影 响土壤理化性质［10-11］.

目前对植物修复研究多集中于超富集植物如东南景天 *（Sedum alfredii）*、印度芥菜（*Brassica juncea）*等，然而超富 集植物由于生长慢、生物量小,提取效率低,在应用中受到 限制［12］. 木本植物因其较高的生物量、强大的根系系统，近 些年逐渐应用到土壤修复中.杞柳*（Salix integra）*属杨柳科 柳属，多年生灌木柳，具有抗逆性强、耐短期水淹、速生丰 产等优点. 已有大量研究表明杞柳对镉的吸收、与转运系数 都很高，有研究显示在50 ymol/L的CdCl2水培溶液中，杞柳 根中镉浓度达到了852.76-927.59 mg/kg ［13-15］. 而关于杞柳修复 重金属污染土壤的研究多集中于杞柳对重金属的吸收效果 评价以及生理特性方面变化［15-16］，对杞柳种植后土壤中微生 物影响这方面研究还较少，尤其是在不同污染水平条件下. 土壤理化性质以及重金属都与微生物群落结构有重要的相 互作用［17-18］，陆文龙等研究指出镉对不同土壤微生物不但具 有抑制作用，某些条件下还具有促进作用［19］，但是此方面研 究比较少. 这些都限制了我们进一步了解杞柳修复重金属污 染的机制. 因此本研究设置4个镉污染处理土壤（0、50、100 以及150 mg/kg）种植1年生杞柳扦插苗，探究种植杞柳在镉 污染土壤修复过程中对土壤中微生物群落的影响，以期为应 用杞柳-微生物联合修复镉污染土壤提供理论依据.

材料与方法

1.1 试验材料

本试验植物材料为1年生杞柳扦插苗. 供试土壤采自河 北农业大学教学实验农场三分场的潮褐土（ 0-20cm） . 土壤 理化性质自然背景值为pH 7.97,有机质含量11.3 g/kg，阳离子 交换量6.3 cmol/kg，全钾 15.11 g/kg，速效钾 130.84 mg/kg，全 磷0.58 g/kg，速效磷 13.48 mg/kg，全氮0.28 g/kg，碱解氮83.82 mg/kg.

1.2 试验设计

本试验于2017年3月在河北农业大学教学实验农场三分 场进行，采用盆栽方法. 试验场地全部铺设塑料布，每个花 盆下均设有托盘，防止试验过程对圃地土壤造成污染. 镉以 2CdC.5H2O固体粉末的形式拌入土壤，本实验设置4个处 理，镉添加量分别为0 mg/kg（CK）、50 mg/kg（L）、100 mg/ kg （M）、150 mg/kg （H）（以Cd2+计）.每盆装 16 kg沙土（土:沙 为3:1；花盆直径30 cm、高34 cm）老化30 d后栽种杞柳.每个 处理同时设置种植组和未种植组，种植组每个处理各栽种 25盆，未种植组每个处理各3盆. 移栽杞柳扦插苗后在场地内 随机摆放，所有杞柳采取相同的管理措施（浇水、松土、除 草、除虫等）.

1. 样品采集

种植1年后采集样品，根际土壤*（*R）采取抖落法［20-21］，挖 取完整的根系土球，轻微抖落至大块土体掉落暴露出完整根 系,轻轻刮下根系周围的土壤，装袋保存.非根际土壤（N） 在距根系约15 cm的花盆边缘，深度范围与根际土壤的深度 范围相对应，未种植土壤（U）将上下层土混匀装袋保存.取 样时不同处理之间注意器材的清洗、消毒. 取得的土壤分为 3部分，其中用于微生物代谢测定，过2 mm筛放置于4 **t**冰 箱，测定微生物群落多样性部分（T-RFLP），保存于-80 **t；** 其余土壤自然风干，测定养分部分土壤过60目筛，测定重金 属形态部分的土壤过100目筛.

1. 测定方法
2. **土壤养分测定** pH用电极电位法测定（土液比 1:2.5）；阳离子交换量（CEC）采用氯化钡-硫酸交换法；有 机质（SOM）采用硫酸消煮-重铬酸钾外加热法；水解性氮

（AN）采用碱解扩散法；速效磷（AP）采用NaHCO3浸提- 钼锑抗比色法；速效钾（AK）采用NH4OAC浸提-火焰光度 法［22］.

1. **土壤重金属测定** 采用BCR逐级提取方法，针对 弱酸提取态（EX）采用1 mol/L的醋酸提取液；针对可还原 态（ORG）采用0.5 mol/L的盐酸羟胺提取液；针对可氧化态

（OXI）采用过氧化氢消化，1 mol/L醋酸铵溶液提取；针对残 渣态（RES）用王水-高氯酸体系消解，用原子吸收分光光度 计测定不同形态的镉含量.

1.4.3**微生物群落功能多样性分析** 土壤微生物群落功 能多样性采用美国BIOLOG公司生产的96孔Ecoplate微平 板（Biolog，Hayward，CA，USA）进行分析.制备接种液方 法参考文献［23］.置于25 t恒温箱进行暗培养，每隔24 h在 SpectraMax384酶标仪上读取O D590 „m与OD750 nm**fi**，微生物 代谢活性用590 nm下的吸光度值减去750 nm下的吸光度值 表示，其中小于0.06的数值按0处理. 各孔平均颜色变化率 (AWCD) = *(C-R)/n*，其中*C,*为第*i*个非对照孔的吸光值，*R*为 对照孔的吸光值，*n*为培养基碳源种类数(*n*= 31).直到OD值 基本不再变化，本实验进行了9 d.

BIOLOG微平板板孔平均颜色变化率(AWCD)在144 h后 变化比较缓慢，因此我们选择144 h的数据进行进一步分析.

1.4.4**微生物多样性分析** 微生物多样性分析采用PCR扩 增与末端限制性酶切片段长度多态性技术(T-RFLP)相结合 的方法.采用土壤样品提取试剂盒(FastDNA® Spin Kit for Soil)提取样品基因组DNA. DNA质量检测合格后进行PCR 扩增.

PCR扩增：采用通用引物27F (5，-AGAGTTTGATCM- TGGCTCAG-3，)和 1492r( *5，-* TACGGYTACCTT GTTACGACTT -3，)扩增细菌16S rDNA片段，其中正向 引物5,端用6-FAM进行荧光标记.真菌的扩增引物为 ITS1 ( 5，- TCCGTAGGTGAACCTGCGG -3,)和1 TS4 ( 5，- TCCTCCGCTTATTGATATGC -3，)，正向弓【物5,端用6-FAM进 行荧光标记. 引物由北京瑞博兴科生物技术有限公司合成并 标记.

细菌和真菌扩增体系相同(30吐):15吐2 x Taq Master Mix，2 “L DNA模板，上下游引物(32 pmol/L)各0.5吐， ddH?O补足至30 “L. PCR运行程序：细菌为95 **T** 5 min, (95 **T** 30 s，55 **T** 30 s, 72 **T** 1 min 30 s) 35个循环，72 **T** 10 min； 真菌为95 **T** 25 min, (95 **T** 30 s，50 **T** 40 s, 72 **T** 1 min) 35 个循环，72 **T** 10 min.

酶切：PCR产物用PCR产物纯化试剂盒(Omega)进行 纯化.分别用限制性内切酶*MSP***I**和*Hinf!*对纯化后的细菌 和真菌PCR产物进行酶切.酶切体系为20 “L:0.5 “L酶(细菌 5 U/“L,真菌 10 U/“L)，2 “L 10 x buffer (*MSP***I** 中力加入0.1 % BSA 2 “L)，ddH2O补足至20 “L. 37 **T**酶切2 min，65 **T**失活 15 min. 基因扫描由北京瑞博兴科生物技术有限公司完成， 细菌和真菌均使用GS500Liz内标.

使用GeneMarker V2.2.0对各样品的T-RFLP图谱进行分 析,剔除＜ 60 bp和〉500 bp的片段和荧光强度＜ 50单位的峰. 单个T-RFs的峰面积占总峰面积的百分比表示不同微生物的 相对含量.

1.5 数据分析

所测数据用Microsoft Excel 2016进行数据整理.用SPSS 22.0进行单因素方差分析(One-way ANOVA)*、*双因素方差 分析(Two-way ANOVA)以及LSD法多重比较，*P* ＜ 0.05差异 显著.土壤微生物群落功能多样性指数分析采用Shannon指 数、Shannon均匀度和丰富度指数[24].利用Canoco V4.5进行冗 余分析.数据以平均值士标准差表示*(N* = 3).

结果与分析

2.1 土壤理化性质

土壤来源(指根际、非根际或未种植)和镉处理浓度对 有机质、速效钾、速效磷及碱解氮(图1A、B、C、D)都有显 著的交互影响.在CK中，种植杞柳与未种植杞柳土壤中有机 质、速效钾与速效磷含量差异不显著.与CK相比，总体上种 植杞柳对镉污染土壤中速效钾、碱解氮有显著的促进作用， 且随污染浓度加大促进作用增加，而未种植土壤中速效钾、 碱解氮没有显著变化. 镉污染对未种植杞柳土壤中的速效磷 有显著的抑制作用. 总的来说，在镉污染处理组中养分含量 总体呈现种植杞柳组高于未种植杞柳组.

土壤来源和镉处理浓度对CEC和pH的交互作用不显著， 因此仅对差异显著的主效应进行分析(图1E、F). 土壤来源 对pH影响显著，未种植杞柳土壤中pH显著高于种植杞柳土 壤，而在种植杞柳土壤中，根际与非根际土壤差异不显著. 土 壤来源与镉处理浓度均对CEC值有显著性影响，未种植杞 柳土壤中CEC值显著高于种植杞柳土壤，而在种植杞柳土壤 中，根际与非根际土壤差异不显著.与CK相比，镉污染对L处 理中CEC值没有显著影响，而对M与H处理中的CEC值有显著 抑制作用.

* 1. 土壤中不同形态镉含量

土壤来源和镉处理浓度(图2)对可氧化态有显著的交互 影响，而对弱酸提取态、可还原态及残渣态的交互作用不显 著. 弱酸可提取态、可还原态结果表明，随着种植时间的增 加根际含量显著小于非根际和未种植(*P* ＜ 0.05**).**可氧化态 在结果中呈现出根际**v**非根际**v**未种植(*P* ＜ 0.05**).**

* 1. 微生物代谢多样性

为了进一步了解种植杞柳对微生物代谢活动的影响，结 合植株实际生长情况，选择有代表性的M组处理进行实验.

2.3.1**微生物对**31**种碳源的平均利用率** BIOLOG微平板板 孔平均颜色变化率(AWCD)反映了土壤微生物对碳源的利用 能力，是土壤微生物活性和群落功能多样性的重要指标. 利 用BIOLOG-ECO平板对M处理中的根际、非根际以及未种植 土壤进行土壤微生物群落代谢活性进行测定.AWCD值随时 间变化曲线如图3. 随着培养时间的增加，土壤微生物利用 碳源能力逐渐增加.0-72 h内根际、非根际与未种植3种土壤 AWCD值差异不明显，72 h之后未种植杞柳土壤组速度比种 植杞柳土壤组低，在120 h后增长放缓，AWCD值总体趋势为 根际〉非根际＞未种植.

2.3.2**微生物对**6**类碳源代谢的能力差异** 培养至144 h时，

微生物对ECO板中碳源的利用基本稳定，增长速率放缓.因 此选用144 h的AWCD值分析6类不同碳源的代谢能力差异情 况(图4). 在分析过程中根据其化学基团不同将31种碳源分 为6类：碳水化合物类、氨基酸类、羧酸类、多聚物类、酚酸 类和胺类化合物[25-26]. 土壤来源和不同碳源对碳源利用率有 显著的交互影响，总体上不同土壤来源情况下微生物对碳源 利用率呈现出根际〉非根际＞未种植；种植杞柳土壤中微生 物对碳水化合物类、氨基酸类和羧酸类的利用率显著大于多 聚物、酚酸类和胺类，未种植杞柳土壤中微生物中氨基酸类 的利用率最低，显著低于碳水化合物和氨基酸. 根际、非根 际与未种植土壤中6种碳源的相对利用率如图5所示，碳水化 合物和酚酸类与相对利用率呈现植杞柳土壤**v**未种植杞柳 土壤，而氨基酸、羧酸、多聚物以及胺类都呈现根际最高.

* 1. 土壤微生物群落多样性

本研究采用T-RFLP技术对CK与 M处理中根际与非根际 土壤中的微生物多样性进行分析. 不同处理微生物群落结

§

启o

16.00

14.00

10.00

8.00

6.00

4.00

2.00

SS *P* < 0.01

CdC*P* < 0.01

SS\*CdC *P* = 0.011

*d* 口

门 门 门 a n

门

c n c EH

Aab工

0000

5 0 5 0

2211

E.ssselod UIqeI-sA<  
(一③&nE/M)\*俎啟談槪

SS *P* < 0.01

CdC *P* < 0.01 SS\*CdC *P* = 0.011

def ef

s s

bcd

def

E

ef

E

a

S  
bc

cde

def



0.00

*&寺令冬命总*不同处理

Different treatment

0 I I I I I I 1 I I I 1 I I I I I 1 I I I 1 I I I I I 1 I I I 1 I I I I I 1 I I  
*冬总总*妒2  
不同处理

Different treatment

a  
a  
Ca

ed

ab

de

e

b

SS *P* < 0.01 CdC *P* < 0.01 SS\*CdC *P* < 0.01

de

de

c

0000000

16 14 12 10 8 6 4 Uoao-I 七 u olqel-sAy (一剪答/w

cd

J

0

0

不同处理

Different treatment

土壤来源 处理浓度

Soil source Treatment concentration

SS *P* = 0.014

CdC *P* < 0.01

SS\*CdC *P* = 0.015

bcd

J

bcd bcd bcdcd

abc

J

bcd

cd

de

s

ab

s

de

s

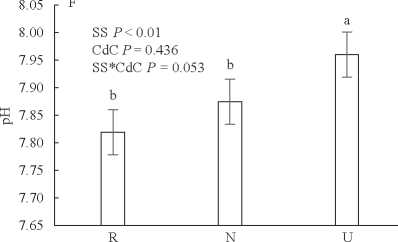
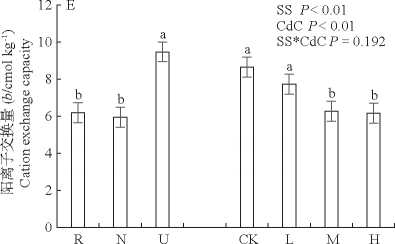
0 「【ill

不同处理

Different treatment

土壤来源

Soil source



图**1** 土壤理化性质分析**.**不同字母代表在*尸*< 0.05水平差异显著.SS：不同土壤来源；CdC：镉处理浓度.

**Fig. 1 Analysis of soil physical and chemical properties.** Different letters represent significant difference at 0.05 level. SS means different soil sources; CdC means cadmium treatment concentration.

构差异较大. 作图时仅将相对含量高于5%的主要类群列出， 如图6A、B所示.T-RFs (148)在CK与M处理的根际与非根际 土壤中都是优势细菌. 此外相对含量大于8%的优势细菌种 群,在CK-R中还包括T-RFs (128)、T-RFs (138)、T-RFs (141). 在CK-N中还包括T-RFs (137)、T-RFs (138)、T-RFs (141), T-RFs (158)和T-RFs (293).在MR中还包括T-RFs (137)、 T-RFs (138)、T-RFs (150)和T-RFs (486).在MN中还包括 T-RFs (150)和T-RFs (489).

在CK-R的优势真菌种群为T-RFs (241)、T-RFs (244) 和T-RFs (280).在CK-N的优势真菌种群为T-RFs (202)、 T-RFs (257)和T-RFs (282).在MR的优势真菌种群为T-RFs (196)、T-RFs (253)和T-RFs (280).在MN的优势真菌种群 为T-RFs (196)、T-RFs (232)和T-RFs (243).

对不同处理微生物进行多样性指数分析，从表1可以看 出根际土壤微生物群落多样性指数和物种丰富度显著大于 非根际土壤(*P* < 0.05)，根际与非根际土壤微生物群落均匀 度差异不显著.

* 1. 土壤微生物与土壤理化性质、不同形态重金属的 相关性

利用冗余分析(RDA)分别探讨CK与M组中主要根际微 生物(7a)与非根际微生物(7b) T-RFs与各环境因子(理化性 质)之间的相关关系.

如图7a所示，前两个排序轴的特征值分别为0.622和 0.148，第一排序轴解释了所有信息的62.2%，第二排序轴解释 了所有信息的14.8%，前两轴总共解释了77%. 对根际微生物 群落影响较大的环境因子碱解氮*(F* = 6.447, *P* = 0.004)、速

000000

10 8 6 4 2

XM401U2UOO

(一.型*13*\*俎檢蛊腮番霭

SS *P* < 0.01

CdC *P* < 0.01

SS\*CdC *P* = 0.292 ab

NU

土壤来源

Soil source

LMH

处理浓度

Treatment concentration

(一③*13*\*俎燥疤0向

土壤来源 处理浓度

Soil source Treatment concentration

0 654321

IXO1UBUOO

(一③*13*\*俎燥单疇向

SS *P* < 0.01

CdC *P* < 0.01

SS\*CdC *P* < 0.01

LR LN LU

图**2**重金属**Cd**形态分析**.**

MR MN MU

不同处理

Different treatment

d

bc

HR HN HU

已。1UBUOO

(曲*13*\*俎檢炯皑

SS *P* = 0.055

CdC *P* < 0.01

SS\*CdC *P* = 0.492

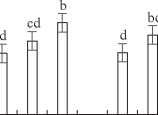
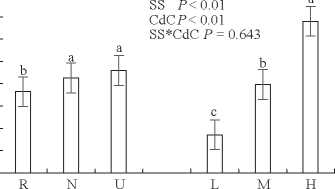
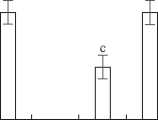
c

b

a

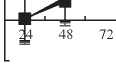
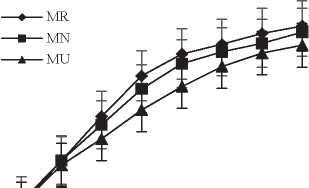
处理浓度

Treatment concentration



Oxidizable state; RES: Residual state.

**Fig. 2 Analysis of Cd forms.** EX: Weak acid extraction; ORG: Organically-bound fraction; OXI:



20

0

8

11000

20

96 120 144 168 192 216

时间 Time (*f*/h)

0.00

-0.20

图**3** 土壤微生物群落对**31**种碳源的平均利用率(**AWCD**, ***N* = 3**)**.**

**Fig. 3 Average utilization rate of soil microbial communities to thirty- one carbon sources (AWCD, *N* = 3).**

效钾(*F* = 4.698, *P* = 0.018)、pH (*F* = 3.824, *P* = 0.028). AP、 AK、pH与B-T-RFs (486)、F-T-RFs (253)等呈现显著正相关， 与B-T-RFs (75)、B-T-RFs (484)等呈现显著负相关.

如图7b所示，前两个排序轴的特征值分别为0.506和 0.223，第一排序轴解释了所有信息的50.6%，第二排序轴解释 了所有信息的22.3%，前两轴总共解释了72.9%. 对非根际微 生物群落影响较大的环境因子速效钾(*F* = 3.78, *P* = 0.02)、 速效磷(*F* = 3.593, *P* = 0.026)、有机质(*F* = 2.728, *P* = 0.032). AK、AN、AP、SOM与B-148、F-243、B-92呈现显著正相关， 与B-T-RFs (224)、F-T-RFs (244)呈现显著负相关.CEC与 F-T-RFs (249) 、 B-F-RFs (489) 、 F-T-RFs (247)等呈显著正 相关，与B-T-RFs (141)、B-T-RFs(293)呈显著负相关.pH与 F-T-RFs(244)、F-T-RFs (289)等呈现显著正相关，与B-T-RFs (150)、B-T-RFs (92)等呈现显著负相关.

因CK组中重金属形态含量低于检出限，故单独对M 组进行微生物与理化因子、重金属形态分析，在根际微生 物(图8a)分析中发现OXI、RES与B-T-RFs(137)、B-T-RFs (141)等片段存在显著正相关，其他环境因子与微生物片段 夹角较大，相关性不强.非根际微生物(图8b)分析中重金属 因子与微生物片段相关性不强.

根际土壤中优势微生物种群与环境因子多呈负相关，但 是F-T-RFs (76)、B-T-RFs (486)及F-T-RFs (253) 3个片段与环 境因子呈现显著正相关，这3个片段均为MR中的优势微生物 种群；非根际环境中优势微生物种群与环境因子多呈现正相 关，在MN中尤其明显.

3!讨论

pH与CEC值在根际与非根际中差异不显著，但均显著低 于未种植土壤中，其他几种养分元素基本呈现根际〉非根 际〉未种植的趋势，高污染处理组中趋势更为明显.植物根 系分泌物以及根际微生物呼吸释放的CO2导致pH降低，因此 以往研究报道显示根际土壤pH小于非根际土壤［27-28］,而在本 研究中根际土壤与非根际土壤pH差异不显著，这可能是由于 种植时间短导致. 根际土壤速效磷、速效钾和碱解氮含量显 著高于非根际和未种植土壤［29］，这与以往的研究结果［30-31］相 同，主要是由于根际土壤中植物根系分泌较多，另一方面本 研究也表明根际土壤微生物代谢活性以及多样性都较高，这 两方面相互作用促进了根际土壤中养分循环.

重金属镉污染也显著影响土壤理化性质的变化. 本研究 中与对照相比，镉污染对根际与非根际土壤中速效钾、碱解 氮有显著的促进作用，且随污染浓度加大促进作用增加，这

1.20

UORezjsn UQ.mos uoqle。M旺慝黑議

1.00 ab

0.80

0.60

0.40

0.20

ab

c

c

ab

SS *P* < 0.01

CS *P* < 0.01  
ab SS\*CS *P* < 0.01

efg

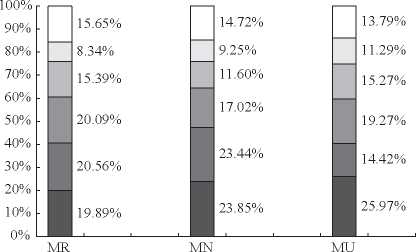
cd

cd

ef

hi





不同土壤来源 Different soil source

o 口 uo 口 ez 一9n oo-mos uoq」eo

A100%

0%

B100%

BU

|  | CK-R | CK-N | | MR | MN | |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| □ Other | **□62** | **□63** | **■75** | *592* | **□ 128** | **□ 135** |
| □ 137 | **□ 138** | □ 141 | **□ 146** | **[1148** | **□ 150** | **□ 158** |
| □ 187 | **□224** | **□293** | **□400** | **□ 484** | **□486** | **□489** |

0%

1U2UOQ 0A 畫03\*<mRKr

00000000

98765432

0%

一 ■■一 二

| CK-R | | CK-N | | MR | | MN |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| □ Other | □ 76 | □ 137 | □ 196 | □ 200 | □ 202 | □ 232 |
| □ 236 | □ 239 | □ 241 | □ 243 | □ 244 | □ 247 | □ 249 |
| □ 251 | □ 253 | □ 257 | □ 280 | □ 282 | □ 289 |  |

0.00

图**4 6**类碳源利用率.不同字母代表在*P*<0.05水平差异显著.CH：碳水化合物；AA：氨基酸；CA：羧酸类；PL：多聚物；PA：酚 酸类；AM：胺类.

**Fig. 4 Utilization rate of the six types of carbon sources.** Different letters represent significant differences at 0.05 level. CH: Carbohydrate; AA: Amino acid; CA: Carboxylic acid; PL: Polymer; PA: Phenolic acid; AM: Amine.

□ ^^^^化合物 Carbohydrate □酚酸类 Phenolic acids □多聚物Polymer □竣酸类 Carboxylic acids ■氨基酸 Amino acid ■胺类 Amine

图**5** 不同土壤**6**种碳源相对利用率**.**

**Fig. 5 The utilization ratio of the six carbon sources from different soil sources.**

图**6**不同土壤类型下土壤细菌(**a**)和真菌(**b**)组成的**T-RFLP**分析.

**Fig. 6 T-RFLP analysis of soil bacteria (a) and fungi (b) compositions under different types of soil.**

表1 不同处理微生物多样性分析

Table 1 Assessment of microbial community functional diversity in different soil types

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 评价指数 Evaluation index | CK-R | CK-N | MR | MN |
| 物种丰富度 Species richness | 31.67 ± 2.05a | 22 ± 2.00b | 28 ± 2.16a | 17 ± 3.27b |
| Shannon 指数 Shannon index | 3.01 ± 0.19a | 2.43 ± 0.19b | 2.91 ± 0.22a | 2.29 ± 0.21b |
| 均匀度指数 Evenness index | 0.87 ± 0.05a | 0.79 ± 0.07a | 0.84 ± 0.07a | 0.72 ± 0.03a |

*F-\*

A^ AK

二 *B-486* ■:- r *F-253*

*F-280*

局30

*F-243*

*B-196*

*F-76* SOM

*B-135*

*F-251*

\ 5-737 也昭加96 *F-239*

*F-196F-249*

*F-247B-146*

-1.0^-

-1.5

*B-224^20(r*

*越M蹲•二*

1.5

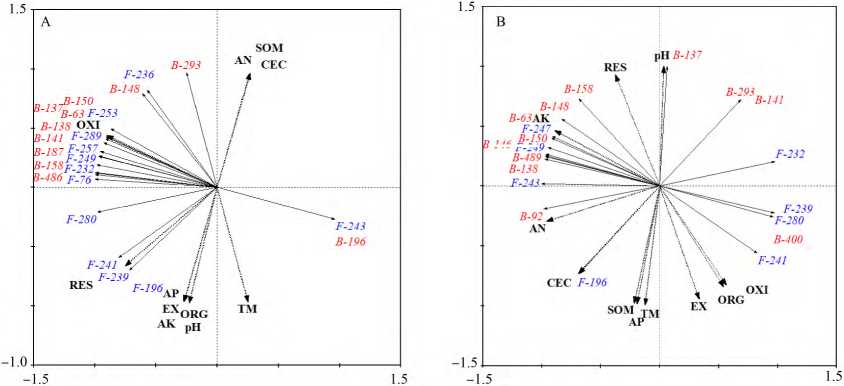
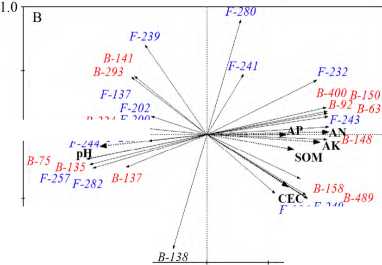
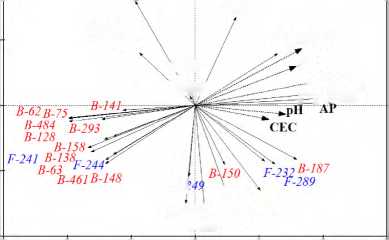
图7不同土壤类型下根际土壤微生物(a)和非根际土壤微生物(b)优势T-RFs与环境因子的分析图• B代表细菌T-RFs片段，F代表真菌T-RFs片段；实 线段代表物种因子，虚线段代表环境因子.

Fig. 7 Analysis of dominated T-RFs of soil rhizosphere microbe (a) and soil non-rhizosphere microbe (b) and environmental factors under different types of soil. B represents the bacterial T-RFs fragment; F represents the fungal T-RFs fragment. The solid line represents the species factor, and the dotted line represents the environmental factor.

5-776 *p.749*

图8 M处理下根际土壤微生物（a）和非根际土壤微生物（b）优势T-RFs与重金属、养分因子的分析图.

Fig. 8 Analysis of dominated T-RFs of soil rhizosphere microbe (a) and non-rhizosphere microbe (b) and heavy metals, nutrient factors under M treatment.



可能是由于土壤胶体或土壤矿物晶格中铵根离子和钾离子发 生代换,使其在土壤水溶液中的浓度增大［32］. 镉污染对种植 杞柳与未种植杞柳土壤中速效钾、碱解氮作用不同，这可能 是由于种植杞柳与镉污染浓度的交互作用导致.与CK相比， 镉污染对速效磷有显著的抑制作用，可能是由于镉离子与磷 酸根离子容易形成难溶于水的磷酸镉，使得土壤中速效磷含 量下降［33］. 非根际土壤与未种植土壤中理化性质存在显著性 差异，我们推测种植杞柳不仅对根际土壤产生影响，也对非 根际土壤产生了影响. 以往的研究也表明植物根系对土壤的 影响不仅限于根际土壤，尽管这种影响会随着距离增加而减 小［34-35］.

弱酸提取态镉在4种形态中含量最大，其次是可还原 态，这两种对植物具有生物有效性的金属形态在根际中的含 量均低于非根际，一方面可能是由于杞柳的根际活化变弱， 呼吸作用和分泌有机酸的过程受到了抑制，另一方面可能是 根系对弱酸提取态镉吸收速率大于活化速率和重金属镉向 根际迁移的速率［36］.

微生物对碳源的代谢能力在一定程度上反映了微生物 群落的活性［37］. 在本研究中微生物群落对31种碳源的平均利 用率呈现根际土壤〉非根际土壤〉未种植土壤.这与以往的 研究报道［9, 35, 38-39］相似，这一方面是由于根系分泌物为根际土 壤中微生物提供了更多的能源［9-11］，另一方面可能是由于杞 柳对根际土壤中重金属的吸收，根际土壤中重金属镉浓度低 于非根际土壤，促进了微生物的繁殖［35］. 微生物的丰富度指 数、多样性指数均在根际土壤中显著高于非根际土壤，这可 能是由于在非根际土壤中较高的镉污染造成微生物的一些 类群的死亡［40-41］. 受污染土壤微生物多样性与对照相比并未 明显减少，这与Zhang的研究结果［42］相悖，原因可能在于长时 间的污染下会导致微生物群落结构发生改变，对污染敏感 的物种逐渐减少甚至灭绝，而具有一定抗性的物种能够存 活下来并且形成新的群落结构［43］. 这一推测正好与本研究结 果一致，微生物的优势种群在不同处理条件下明显不同，尤 其是真菌. 微生物群落结构的变化进一步导致了微生物代谢 的变化，在本研究中不同处理中微生物对6类碳源的利用率 存在差异.碳水化合物类相对利用率呈现根际**V**非根际**V**未 种植，氨基酸、羧酸表现出相反的趋势，氨基酸、羧酸通过 降低土壤pH值进而活化重金属，促进植物对重金属的吸 收[44-47]，而碳水化合物可以对重金属进行络合，降低重金属 的毒性和活性[48]. 微生物与植物的相互作用正好促进了杞柳 对重金属的吸收.

根际与非根际土壤中优势微生物种群与环境因子相关 性存在差异，根际土壤优势微生物种群与环境因子基本成负 相关，非根际土壤中优势微生物种群与环境因子多呈现正相 关，尤其是在重金属污染组. 可还原态镉与部分微生物有较 强的相关性，Blake研究表明，根际微生物可以催化氧化还原 反应从而影响土壤重金属生物有效性[49]，作为生物有效性较 高、易受氧化还原反应影响的可还原态，可能是由于根系分 泌物的存在，微生物参与微域内氧化还原反应[50]. 因此我们 推测根系分泌物在植物-微生物联合修复土壤重金属中发挥 着重要作用.

4!结论

种植杞柳促进了根际与非根际养分的循环，尤其是在高 污染处理组. 种植杞柳对根际土壤中微生物代谢活性以及微 生物种群的丰富度指数、多样性指数都有显著的促进作用， 并且根际与非根际土壤优势微生物种群、代谢组成存在明显 差异. 污染越严重对土壤养分循环影响越大，但促进或抑制 作用取决于养分元素与重金属离子的相互作用，并且杞柳与 镉污染对养分循环有交互作用. 镉污染后土壤微生物丰富度 指数与多样性指数影响不显著，但优势微生物种群明显不同. 影响根际微生物与非根际微生物环境因子存在差异，污染组 微生物受环境影响更大.

**参考文献**

1. 李宏图.英国工业革命时期的环境污染和治理[〕]•探索与争鸣，2009,
2. (2): 60-64 [Li HT. Environmental pollution and governance during the British Industrial Revolution [J]. *Expl Free Views*, 2009, **1** (2): 60-64]
3. 茹淑华, 苏德纯, 王激清. 土壤镉污染特征及污染土壤的植物修复 技术机理[〕]■中国生态农业学报，2006, **14** (4): 29-33 [Ru SH, Su DC, Wang JQ. Characteristics of Cd pollution in soil and the mechanisms of phytoremediation for soil contamination [J]. *Chin J Eco-Agric*, 2006, **14** (4): 29-33]
4. Sheoran, V, Sheoran A, Poonia P. Role of hyperaccumulators in phytoextraction of metals from contaminated mining sites: a review[J]. *Cr Rev Environ Sci Technol,* 2010, **41** (2): 168-214
5. Wuana RA, Okieimen FE. Heavy metals in contaminated soils: a review of sources, chemistry, risks and best available strategies for remediation [J]. *ISRN Ecol*, 2011, **2011** (2090-4614): 1-20
6. 串丽敏, 赵同科, 郑怀国, 赵静娟, 张晓静, 谭翠萍, 李光达. 土壤重金 属污染修复技术研究进展[〕]■环境科学与技术,2014, **37** (S2): 213-222 [Chuan LM, Zhao TK, Zheng HG, Zhao JJ, Zhang XJ, Tan XC, Li GD. Research advances in remediation of heavy metal contaminated soils [J]. *Environ Sci Techn*, 2014, **37** (120): 213-222]
7. 骆永明•污染土壤修复技术研究现状与趋势[J].化学进展，2009,

**21** (2): 558-565 [Luo YM. Current research and development in soil

remediation technologies [J]. *Progr Chem*, 2009, **21** (2): 558-565]

1. Cui HB, Fan YC, Yang J, Xu L, Zhou J, Zhu ZQ. *In situ* phytoextraction of copper and cadmium and its biological impacts in acidic soil [J]. *Chemosphere*, 2016, **161**: 233-241
2. Qin H, Brookes PC, Xu JM. *Cucurbita* spp. and *Cucumis sativus* enhance the dissipation of polychlorinated biphenyl congeners by stimulating soil microbial community development [J]. *Environ Pollut*, 2014 (184): 306-312
3. Jakub R, Michal K, Michal S, Hynek S, Petr S, Jan P, Tomas M, Ondrej U. Plants rather than mineral fertilization shape microbial community structure and functional potential in legacy contaminated soil [J]. *Front Microb*, 2016, **7**: 995
4. Sheng XF, Xia JJ. Improvement of rape (*Brassica napus*) plant growth and cadmium uptake by cadmium-resistant bacteria [J]. *Chemosphere*, 2006, **64** (6): 1036-1042
5. Sun XY, Zhou YL, Tan YJ, Wu ZX, Lu P, Zhang GH, Yu FX. Restoration with pioneer plants changes soil properties and remodels the diversity and structure of bacterial communities in rhizosphere and bulk soil of copper mine tailings in Jiangxi Province, China [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2018, **25** (22): 22106-22119

12苗欣宇，周启星.污染土壤植物修复效率影响因素研究进展[J].生 态学杂志, 2015, **3**4 (3): 870 -877 [Miao XY, Zhou QX. Some research progresses in influencing factors for the efficiency of contaminated soil phy-toremediation [J]. *Chin J Ecol*, 2015, **34** (3): 870-877]

1. Felix H. Field trials for in situ decontamination of heavy metal polluted soils using crops of metal-accumulating plants [J]. *J Plant Nutr Soil Sci*, 1997, **160** (4): 525-529
2. Klang Westin E, Eriksson J. Potential of Salix as phytoextractor for Cd on moderately contaminated soils [J]. *Plant Soil*, 2003, **249** (1): 127-137

15杨卫东，陈益泰.不同杞柳品种对镉(Cd)吸收与忍耐的差异[J].林业 科学研究, 2008, **21** (6): 857-861 [Yang WD, Chen YT. Differences in uptake and tolerance to cadmium in varieties of *Salix integra* [J]. *For Res*, 2008, **21** (6): 857-861]

1. 王树凤, 施翔, 田生科, 孙海菁, 杨肖娥, 陈益泰, 刘婷. 杞柳不同品 种对铅的积累、耐性及叶片元素原位微区分布特征[〕]■林业科学, 2016, **52** (5): 71-80 [Wang SF, Shi X, Tian SK, Sun HJ, Yang XE, Chen YT, Liu T. Variation in lead accumulation and tolerance in different varieties of *Sailx integra* and *in situ* distribution of elements in leaves under Pb stress [J]. *Sci Silv Sin*, 2016, **52** (5): 71-80]
2. 江玉梅, 张晨, 黄小兰, 倪才英, 王金凤, 宋鹏飞, 张志斌. 重金属污 染对鄱阳湖底泥微生物群落结构的影响[〕]■中国环境科学，2016,
3. (11): 3475-3486 [Jiang Y M, Zhang C, Huang X L, Ni CY, Wang JF, Song PF, Zhang ZB. Effect of heavy metals in the sediment of Poyang Lake estuary on microbial communities structure base on Mi- sequencing [J]. *Chin Environ Sci*, 2016, **36** (11): 3475-3486]
4. 陈欣瑶, 杨惠子, 陈楸健, 王丽娜, 王贵鑫, 张园. 重金属胁迫下不同 区域土壤的生态功能稳定性与其微生物群落结构的相关性[〕]■环 境化学, 2017, **36** (2): 356-364 [Cheng XY, Yang HZ, Chen QJ, Wang

LN, Wang GX, Zhang Y. Correlation between microbial community structure and soil ecosystem functional stability under heavy metal stress [J]. *Environ Chem*, 2017, **36** (2): 356-364]

1. 陆文龙, 徐松巍, 李英华. 重金属镉对土壤呼吸和土壤微生物群落的 影响研究[〕]■吉林化工学院学报，2013, **30** (7): 65-67 [Lu WL, Xu SW,

Li YH. Influence of heavy metal cadmium on the soil breath and the soilmicrobial community [J]. *J Jilin Inst Chem Technol*, 2013, **30** (7): 65-67] Riley D, Baeber SA. Bicarbonate accumulation and pH changes at the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root-soil interface [J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1969, **33** (6): 905-908

Riley D, Baeber SA. Salt accumulation at the soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) root-soil interface [J]. *Soil Sci Soc Am J*, 1970, **34** (1): 154-155 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京：中国农业出版社，2000 [Bao SD. Soil Agro - Chemistrical Analysis [M]. Beijing: Agriculture Press, China, 2000]

高晓奇，肖能文，叶瑶，付梦娣，李俊生•基于Biolog-eco分析长庆油 田土壤微生物群落功能多样性特征[〕]■应用与环境生物学报，2014, **20** (5): 913-918 [Gao XQ, Xiao NW, Ye Y, Fu MD, Li JS. Analysis of microbial community functional diversity in the Changqing Oilfield based on Biology-ECO method [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2014, **20** (5): 913-918]

王强, 戴九兰, 吴大千, 余悦, 申天琳, 王仁卿. 微生物生态研究中基 于BIOLOG方法的数据分析[J].生态学报,2010, **30** (3): 817-823 [Wang Q, Dai JL, Wu DQ, Yu Y, Shen TL, Wang RQ. Statistical analysis of data from BIOLOG method in the study of microbial ecology [J]. *Acta Ecol Sin*, 2010, **30** (3): 817-823]

Haack S K, Garchow H, Klug M J, Forney LJ. Analysis of factors affecting the accuracy, reproducibility, and interpretation of microbial community carbon source utilization patterns [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1995, **61** (4): 1458-68

Preston-Mafham J, Boddy L, Randerson PF. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles-a critique [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2002, **42** (1): 1-14 杨肖娥, 龙新宪, 倪吾钟. 超积累植物吸收重金属的生理及分子机 制[〕]■植物营养与肥料学报，2002, **8** (1): 8-15 [Yang XE, Long XX, Ni WZ. Physiological and molecular mechanisms of heavy metal uptake by hyperaccumulating plants [J]. *J Plant Nutr Fert*, 2002, **8** (1): 8-15] 张福锁.植物根引起的根pH值改变的原因及效应[J]. 土壤通报， 1993, **24** (1): 43-45 [Zhang FS. Causes and effects of root pH changes caused by plant roots [J]. *Chin J Soil Sci*, 1993, **24** (1): 43-45] Materechera SA, Dexter AR, Alston AM. Formation of aggregates by plant roots in homogenised soils [J]. *Plant Soil*, 1992, **142** (1): 69-79 Schulin R, Geiger G, Furrer G. Heavy metal retention by soil organic matter under changing environmental conditions [J]. *Bioge Pollut Soils Sed*, 1995, 53-85

李廷强, 朱恩, 杨肖娥, 申屠佳丽. 超积累植物东南景天根际可溶 性有机质对土壤锌吸附解吸的影响[〕]■应用生态学报，2008, **19** (4): 838-844 [Li TQ, ZhuE, Yang XE, Shentu JL. Effects of dissolved organic matter derived from hyper accumulator *Sedum alfredii Hance* rhizosphere on Zn adsorption and desorption in soil [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2008, **19** (4): 838-844]

朱江, 周俊, 费群燕, 兰京, 马荣艳. 外源铅在土壤中的形态、分布及 其对土壤养分的影响[〕]■水土保持学报，2008, **22** (1): 74-77 [Zhu J, Zhou J, Fei QY, Lan J, Ma RY. Form and distribution of exogenous Pb in soil and its effect on soil nutrition [J]. *J Soil Water Conserv*, 2008, **22** (1): 74-77]

刁展.外源重金属对不同类型土壤养分及微生物活性的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2016 [Diao Z. Effects of exogenous heavy metals on soil nutrients and biological activity in different types of soil

[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2016]

1. He Y, Xu JM, Lu XF, Ma ZH, Wu JJ, Shi JC. Does the depletion of pentachlorophenol in root-soil interface follow a simple linear dependence on the distance to root surfaces? [J]. *Soil Biol Biochem*,
2. **41**: 1807-1813
3. Yang WH, Zhang TX, Lin S, Ni W. Distance-dependent varieties of microbial community structure and metabolic functions in the rhizosphere of *Sedum alfredii Hance* during phytoextraction of a cadmium- contaminated soil [J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2017, **24** (16): 1-15

36林琦，郑春荣，陈怀满，陈英旭.根际环境中镉的形态转化[J]. 土壤 学报, 1998, **35** (4): 461-467 [Lin Q, Zheng CR, Chen HM. Chen YX. Transformation of cadmium species in rhizosphere [J]. *Acta Pedol Sin*, 1998, **35** (4): 461-467]

1. Hu K, Wang LB. Application of BIOLOG Microplate Technique to the Study of Soil Microbial Ecology [J]. *Chin J Soil Sci*, 2007, **39** (4): 819-821
2. Hortal S, Bastida F, Armas C, Lozano YM. Soil microbial community under a nurse-plant species changes in composition, biomass and activity as the nurse grows [J]. *Soil Biol Biochem*, 2013, **64**: 139-146
3. Shinpei Y, Masaaki F, Kenichi W. Takehiro M. Successional changes in the soil microbial community along a vegetation; development sequence in a subalpine volcanic desert on Mount Fuji [J]. *Jpn Plant Soil*, 2013, **364** (1-2): 261-272
4. Pishchik VN, Vorob'Ev NI, Provorov NA, Khomyakov YV. Mechanisms of plant and microbial to heavy metals in plant-microbial systems [J]. *Microbiology*, 2016 (85): 257-271
5. Roane TM, Pepper IL. Microbial responses to environmentally toxic cadmium [J]. *Microbial Ecol*, 1999, **38** (4): 358-364
6. Zhang J, Wang LH, Yang JC, Liu H. Health risk to residents and stimulation to inherent bacteria of various heavy metals in soil [J]. *Sci Total Environ*, 2015, **508**: 29-36
7. Yan X, Fan JB, Zhu WX, Erick A. Effect of heavy metals pollution on soil microbial diversity and bermudagrass genetic variation [J]. *Front Plant Sci*, 2016, **7**: 755
8. Niu ZX, Li XD, Sun LN, Sun TX. Dynamics of three organic acids (malic, acetic and succinic acid) in sunflower exposed to cadmium and lead [J]. *Int J Phyt*, 2013, **15**: 690-702
9. Seshadri B, Bolan NS, Naidu R. Rhizosphere-induced heavy metal (loid) transformation in relation to bioavailability and remediation [J]. *J Soil Sci Plant Nutr*, 2015, **15** (ahead): 35-38
10. Luo Q, Wang SY, Sun LN, Wang H. Identification of root exudates from the Pb-accumulator *Sedum alfredii* under Pb stresses and assessment of their roles [J]. *J Plant Interact*, 2017, **12**: 272-278
11. Tao Q, Hou DD, Yang XE, Li TQ. Oxalate secretion from the root apex of *Sedum alfredii* contributes to hyperaccumulation of Cd [J]. *Plant Soil*, 2016, **398** (1-2): 139-152
12. Kuang YW, Wen DZ, Zhong CW, Zhou GY. Root exudates and their roles in phytoremediation [J]. *Acta Phytoecol Sin*, 2003, **27**: 709-717
13. Blake RCI, Choate DM. Chemical transformation of toxic metals by a *Pseudomonas* strain from a toxic waste site [J]. *Environ Toxicol Chem*,
14. **12** (8): 1365-1376

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

1. Peruzzi E, Masciandaro G, Macci C, Serena D. Heavy metal fractionation and organic matter stabilization in sewage sludge treatment wetlands [J]. *Ecol Eng*, 2011, **37** (5): 771-778

1. 收稿日期 Received: 2019-01-10 接受日期 Accepted: 2019-02-26 [↑](#footnote-ref-2)
2. 河北省教育厅青年基金项目(QN2016131)和国家自然科学基金项目(31600486)资助Supported by the Hebei Provincial Education Department

   Youth Foundation (QN2016131) and the National Natural Science Foundation of China (31600486) [↑](#footnote-ref-3)
3. 通讯作者 Corresponding author (E-mail: [huangdazhuang@126.com](mailto:huangdazhuang@126.com)) [↑](#footnote-ref-4)