

DOI: 10.11766/trxb202411120435

CSTR: 32215.14.trxb202411120435

杨中芹, 陈禹竹, 饶雷振, 曾军, 林先贵, 吴宇澄. 三种农田土壤中阿特拉津矿化及细菌群落响应的比较研究[J]. 土壤学报, 2025, 62 (6): 1711–1721.

YANG Zhongqin, CHEN Yuzhu, RAO Leizhen, ZENG Jun, LIN Xiangui, WU Yucheng. A Comparative Study on the Mineralization and Bacterial Community Responses to Atrazine in Three Typical Agricultural Soils [J]. Acta Pedologica Sinica, 2025, 62 (6): 1711–1721.

三种农田土壤中阿特拉津矿化及细菌群落响应的比较研究*

杨中芹^{1, 2}, 陈禹竹¹, 饶雷振^{1, 2}, 曾 军¹, 林先贵¹, 吴宇澄^{1, 2†}

(1. 土壤与农业可持续发展全国重点实验室 (中国科学院南京土壤研究所), 南京 211135; 2. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘 要: 阿特拉津是广泛使用的三嗪类除草剂, 其在不同类型农田土壤中的矿化特征和微生物群落效应差异及其原因尚缺乏研究。选取黑土、潮土和红壤区旱地土壤, 开展微宇宙培养试验, 借助同位素示踪、降解基因定量、高通量测序等手段, 研究了阿特拉津的矿化动态及细菌群落变化情况。结果表明, 阿特拉津在不同土壤中的矿化过程差异明显: 潮土中快速矿化, 黑土矿化速率稳定, 而红壤矿化活性低; 56 d 内三种土壤阿特拉津累积矿化率分别为 75.2%、35.5%和 0.810%。阿特拉津刺激潮土和黑土中三嗪氯水解酶基因 *trzN* 丰度显著增加, 结合细菌相对丰度变化, 推测拟节杆菌 (*Paenarthrobacter*) 是潮土中的主要降解菌, 但黑土中降解菌仍不明确。三种土壤中细菌群落对阿特拉津具有不同的响应: 潮土中阿特拉津作为生长底物促进降解菌的富集, 细菌种间协同和多样性增加; 黑土细菌群落对阿特拉津较不敏感; 阿特拉津残留严重影响红壤细菌群落结构和多样性, 体现为胁迫效应。上述发现揭示了不同类型土壤中阿特拉津矿化的巨大差异及其对微生物群落的决定作用, 提示阿特拉津残留风险与土壤类型存在关联, 为除草剂的合理使用和污染控制提供了科学依据。

关键词: 阿特拉津; 土壤类型; 矿化; 生物降解; 生态风险

中图分类号: X172; X592 **文献标志码:** A

A Comparative Study on the Mineralization and Bacterial Community Responses to Atrazine in Three Typical Agricultural Soils

YANG Zhongqin^{1, 2}, CHEN Yuzhu¹, RAO Leizhen^{1, 2}, ZENG Jun¹, LIN Xiangui¹, WU Yucheng^{1, 2†}

(1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 211135, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: 【Objective】Atrazine is a chlorotriazine herbicide, which interferes with photosynthesis in some broadleaf plants and is widely used on corn, sorghum, and sugarcane. Residual atrazine may persist in agricultural soil for an extended period due to its long half-life, posing threats to succeeding crops and human health. The fate of atrazine in the environment is normally regulated by lots of pedological and microbial factors. However, the biodegradability of atrazine across soil types as well as the underlying microbial mechanisms remains elusive. In this study, it is aimed to compare the mineralization dynamics of atrazine and bacterial

* 中国科学院战略性先导科技专项 (XDA28030501) 资助 Supported by the Strategic Priority Research Program of the Chinese Academy of Sciences (No. XDA28030501)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: ycwu@issas.ac.cn

作者简介: 杨中芹 (1999—), 女, 云南保山人, 硕士研究生, 研究方向为污染土壤生物修复。E-mail: yangzhongqin@issas.ac.cn

收稿日期: 2024–11–12; 收到修改稿日期: 2025–04–21; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2025–06–24

community responses in three typical agricultural soils. 【 Method 】 Three upland soils classified as black soil (BS), fluvo-aquic soil (FA) and red soil (RS), were collected from corn fields located in geographically distinct areas of China. Soil microcosms spiked with a ^{14}C tracer were established and mineralization of atrazine to CO_2 was monitored during an 56-days incubation. In parallel, the soil bacterial communities in atrazine-added or clean soil (as a control) microcosms were examined using quantitative PCR and 16S rRNA gene sequencing. 【 Result 】 The fastest mineralization of atrazine occurred in the FA soil, while the RS showed minimal mineralization activity. The accumulative mineralization over 56 d was 75.2%, 35.5%, and 0.810% of the initially added tracer in the FA, BS, and RS, respectively. Fitting the CO_2 curves with the Gompertz model obtained distinct parameters of accumulative mineralization, maximal rate, and lag time for the three soils. Atrazine markedly increased the abundance of the triazine hydrolase (*trzN*) gene in the FA and BS soils, and caused significant enrichment of *Paenarthrobacter* in FA. In light of the well-documented degradation capacity of *Paenarthrobacter*-related bacteria, this genus perhaps played a major role in atrazine mineralization in the FA soil. Nevertheless, it was impossible to link any taxon to atrazine degradation in the BS microcosms. Nevertheless, an acidic pH (4.16) might account for the particularly low mineralization in the RS. Moreover, the three soils displayed contrasting bacterial community responses to atrazine contamination. In the FA, atrazine was used as a growth substrate, enhancing interspecies cooperation as indicated by increased positive correlation in the co-occurrence network whereas the BS community was less sensitive to atrazine. Residual atrazine severely impacted the structure and diversity of the bacterial community in RS, implicating potential ecological risks to this acidic soil. 【 Conclusion 】 These findings highlight the substantial differences in atrazine mineralization and resultant bacterial community responses in different soils, indicating an association between herbicide residue and soil type, thus providing a scientific basis for the safe use and pollution control of herbicides.

Key words: Atrazine; Soil type; Mineralization; Biodegradation; Ecological risk

阿特拉津 (Atrazine, 商品名: 莠去津) 是一种人工合成的三嗪类除草剂, 广泛用于玉米、高粱、甘蔗等作物的杂草控制。在农业生产中长期大量施用阿特拉津易导致土壤残留, 引起后茬敏感作物的药害^[1]。同时, 阿特拉津干扰内分泌、神经系统, 影响生物多样性^[2]、生态系统结构和功能^[3], 具有人体健康及生态风险^[4]。因此, 消除农田土壤中残存的阿特拉津是保障粮食安全、生态环境以及人体健康的重要举措。

微生物经脱氯、脱烷基、开环等过程降解阿特拉津^[5-6]。已经分离获得多个降解菌株, 如 *Pseudomonas* sp. ADP、*Arthrobacter aureus* TC1 等, 它们编码阿特拉津氯水解酶 (Atrazine chlorohydrolase, AtzA) 或三嗪水解酶 (Triazine hydrolase, TrzN) 两种在结构、催化机制等方面存在重大差异的脱氯酶^[7]。需要指出阿特拉津降解中间产物的毒性可能较母体更高^[8], 因此, 污染物矿化量 (即转化为 CO_2 的量) 较土壤残留浓度更适宜作为评估其解毒程度的指标。另一方面, 土壤微生物高度多样, 可能存在复杂降解行为。例如, 降解菌和非降解菌通过代谢互养 (Cross-feeding) 协同降解阿特拉津^[9]。通过分析土壤微生物的群落响应, 可获得阿特拉津生物降解

机制的线索。

不同来源土壤中阿特拉津的降解可能存在明显差异^[10], 但目前尚缺乏针对土壤类型效应的比较研究。黑土、潮土和红壤广泛分布于我国东北、华北和南方, 总计超过全国耕地面积的 65%^[11-12]。这些地区玉米等作物种植中阿特拉津的使用较为普遍, 导致局部土壤阿特拉津残留浓度较高^[13]。当前对土壤阿特拉津降解的研究多以单一土壤类型为主^[14-16], 限于方法、设置等, 不同研究结果间难以比较, 阿特拉津在不同类型土壤中的转化规律、生态效应尚不清楚。基于此, 本研究选择黑土、潮土和红壤区旱地农田土壤, 综合采用同位素示踪、微生物群落分析等技术手段研究阿特拉津的降解和微生物效应及其机制, 以期对不同土壤类型区合理使用除草剂、有效治理农药残留提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试土壤分别为采自吉林省农安县的黑土 (44°4' N, 125°7' E, 均腐土, 记为 BS)、河南省通许

县的潮土 (37°27' N, 114°32' E, 锥形土, 记为 FA)、云南省昌宁县的红壤 (24°27' N, 99°38' E, 淋溶土, 记为 RS) 农田。采样时田块均种植玉米, 经调查均有使用阿特拉津的历史, 但三种土壤均未检出阿特拉津残留。采用五点采样法采集表层 0~10 cm 土壤, 剔除土壤中的砂砾、石块以及动植物残体等杂质, 充分混匀, 自然风干后过 2 mm 筛备用。三种土壤的理化性质如表 1 所示。

表 1 供试土壤理化性质

Table 1 Physicochemical properties of the soils

土壤编号 Soil code	土壤类型 Soil type	pH	阳离子交换量	有机质 SOM/ (g·kg ⁻¹)	全氮 TN/ (g·kg ⁻¹)	碱解氮 AN/ (mg·kg ⁻¹)	全磷 TP/ (mg·kg ⁻¹)	有效磷 AP/ (mg·kg ⁻¹)	全钾 TK/ (g·kg ⁻¹)	速效钾 AK/ (mg·kg ⁻¹)
			CEC/ (cmol·kg ⁻¹)							
BS	黑土	5.91	28.2	22.8	1.15	105	384	29.3	14.3	167
FA	潮土	8.59	9.42	23.7	0.913	148	889	19.3	27.0	114
RS	红壤	4.16	9.16	13.8	0.984	62.0	481	44.5	21.3	101

1.2 化学试剂

¹⁴C 标记阿特拉津购自 American Radiolabeled Chemicals, Inc., ¹²C-阿特拉津 (纯度大于 97%) 购自梯西爱 (上海) 化成工业发展有限公司, 其他所用试剂均为分析纯或以上。

1.3 试验设计

设置两组平行试验, 采用土壤微宇宙培养方法探究三种土壤中阿特拉津的矿化特征及其微生物响应。第一组试验 (试验 I) 用于测定阿特拉津的矿化特征, 土壤中阿特拉津终浓度为 50 μg·g⁻¹, ¹⁴C-阿特拉津为 2.0×10⁵ DPM (DPM 表示每分钟内放射性物质中发生衰变的原子核数量), 每周取样测定 ¹⁴CO₂ 的产生量。第二组试验 (试验 II) 则仅添加 50 μg·g⁻¹ 的 ¹²C-阿特拉津 (ATZ), 同时设立不添加阿特拉津的空白对照 (CK), 于培养第 28 天和第 56 天进行破坏性取样, 用于研究微生物对阿特拉津的响应。土壤微宇宙的设置^[15]和阿特拉津的加入^[17]参照文献进行, 所有处理均设置 3 个重复, 于 25 ℃ 下避光培养, 定期通气。

1.4 阿特拉津矿化的测定

在试验 I 中, 矿化管橡胶塞下悬挂有一个盛有 1 mol·L⁻¹ NaOH 溶液的 2 mL 小瓶作为 CO₂ 捕集器。每周取出 CO₂ 捕集器, 并用新鲜的 NaOH 替换, 同时通气 15 min。使用液体闪烁计数器 (LSC, Beckman-Coulter, 美国) 测定 NaOH 溶液中的放射性, 通过计算 NaOH 溶液中检测到的放射性占总 ¹⁴C 阿特拉津放射性 (2.0×10⁵ DPM) 的百分比计算阿特拉津矿化率, 即矿化为 ¹⁴CO₂ 的阿特拉津占添加

[U-ring-¹⁴C]-阿特拉津总量的百分比。

1.5 阿特拉津矿化累积模型及其参数估计

使用 Gompertz 非线性模型^[18]对累积矿化量进行拟合, 得到相应各个参数的估计值和拟合优度 (R² 值)。Gompertz 模型如下式:

$$y = a \times \exp[-\exp(b - cx)] \tag{1}$$

式中, y 为累积矿化率, %; x 为时间, d; a、b、c 无明确的生物学意义, 因此通过引入 A (矿化速率降低为零时的累积矿化率, 即最大累积矿化率, %)、μ_m (最大矿化速率, %·d⁻¹) 和 λ (滞后时间, d) 对方程进行优化, 得到累积矿化率 y (%) 关于培养时间 t (d) 的方程 (2):

$$y = A \times \exp \left\{ -\exp \left[\frac{\mu_m \times e}{A} (\lambda - t) \right] + 1 \right\} \tag{2}$$

1.6 DNA 提取、高通量测序及分析

对试验 II 中包括 0 d 样品在内的总共 45 个土壤样品进行微生物群落分析。称取 0.50 g 土壤, 使用 FastDNA® SPIN Kit for Soils 试剂盒 (MP Biomedicals) 按其说明进行 DNA 的提取, 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量, NanoDrop ND-1000 分光光度计测定 DNA 浓度和纯度。高通量测序委托上海美吉公司在 Illumina MiSeq 平台上完成, 使用 Qiime 2 以及默认参数去除低质量序列, 基于 99% 序列同一性阈值划分扩增序列变体 (ASV), 与 Silva 132 数据库比较确定序列的系统学分类。

1.7 细菌 16S rRNA 及降解功能基因荧光定量 PCR 分析

采用定量 PCR (qPCR) 测定细菌 16S rRNA 和三嗪氯水解酶基因 *trzN* 的拷贝数。16S rRNA 使用引物: 338F-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG; 518R-ATTACCGCGGCTGCTGG, 扩增条件为 95 °C 预变性 3 min、95 °C 变性 30 s、56 °C 退火 30 s、72 °C 延伸 30 s, 共 30 个循环。*trzN* 引物为: *trzN*-F- CACC AGCACCTGTACGAAGG; *trzN*-R-GATTCTGAACCA TTCCAAACG, 扩增条件为 94 °C 预变性 4 min、94 °C 变性 30 s、53 °C 退火 1 min、72 °C 延伸 45 s, 共计 40 个循环^[19]。

制备 qPCR 标准品, 经梯度稀释制备标准曲线 (拷贝数范围 $10^2 \sim 10^9$ copies· μL^{-1})。采用 SYBR PremixExTaq™ 试剂盒 (TaKaRa Biomedical Technology) 在实时荧光定量 PCR 扩增仪 (耶拿, 德国) 上进行扩增分析。每个样品重复三次, 以无菌水作为阴性对照。细菌 16S rRNA 基因的扩增效率 112.8%, R^2 为 0.997; *trzN* 基因的扩增效率 85.4%, R^2 为 0.999。根据熔解曲线评价扩增的特异性。

1.8 数据处理

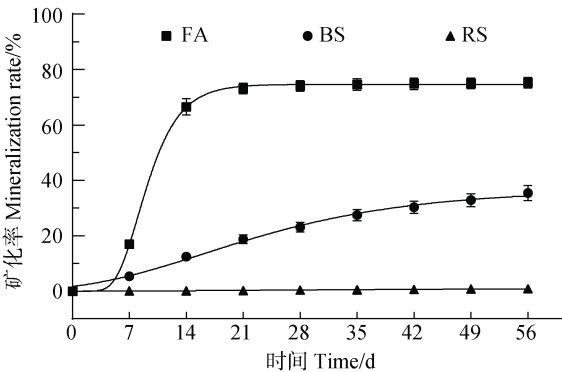
使用 SPSS 26 对不同处理进行单因素方差分析 (ANOVA), 并采用邓肯 (Duncan) 多重比较来判断差异显著性 ($P < 0.05$)。采用 R 4.3.3 的 vegan 包计算微生物多样性指数和布雷距离 (Bray-Curtis); 筛选相对丰度总和高于 0.5%、在样品中出现次数大于 4 的 ASV, 使用 igraph 包进行相关性矩阵分析, 选择相关系数 $|r| > 0.8$ 且显著性 $P < 0.001$ 的 ASV 进行网络分析; 采用 limma 包进行差异表达分析, 采用 ggplot2 包绘制气泡图和物种组成堆叠图等, 寻找土壤中的响应微生物。

2 结果

2.1 阿特拉津矿化特征

同位素示踪显示, 三种土壤中阿特拉津的矿化动态存在明显差异 (图 1)。潮土中阿特拉津快速矿化, 培养前 21 d 内累计矿化率呈指数快速增长, 在 21 d 时矿化率达 73.2%, 之后趋缓, 直至培养结束矿化率为 75.2%。黑土中阿特拉津矿化活性稳定, 累积矿化率基本呈线性增长, 培养结束时矿化率为

35.5%。红壤则缺乏阿特拉津矿化能力, 在整个培养期间累积矿化率几乎未变化, 培养 56 d 后矿化率仅为 0.810%。



注: FA 为潮土; BS 为黑土; RS 为红壤。下同。Note: FA is fluvo-aquic soil; BS is black soil; RS is red soil. The same below.

图 1 阿特拉津在三种土壤中的累积矿化曲线
Fig. 1 The mineralization dynamics of atrazine in three types of soils

使用 Gompertz 非线性模型对土壤中阿特拉津的累积矿化曲线进行拟合, 相关参数如表 2 所示。三种土壤的拟合优度 (R^2) 均达到 0.90 以上, 潮土和黑土拟合效果相对较好。比较拟合参数可知, 潮土最大累积矿化率 (A) 约为黑土的 2 倍, 约为红壤的 74 倍, 矿化程度显著大于后两者; 潮土的 μ_m 最高, 为黑土的 10.6 倍, 而红壤的 μ_m 仅有 0.0185, 矿化速率极其缓慢; 滞后时间 (λ) 表明, 黑土较潮土和红壤更快结束延滞期, 而红壤滞后时间最长, 约为黑土的 4.5 倍, 为潮土的 1.5 倍。

表 2 不同土壤中阿特拉津矿化的模型拟合参数

Table 2 Gompertz model parameters of atrazine mineralization in the three types of soils

土壤 Soil	模型参数 Model Parameters			
	$A/\%$	$\mu_m/(\% \cdot \text{d}^{-1})$	λ/d	R^2
FA	74.7	9.96	5.33	0.997
BS	36.6	0.939	1.76	0.979
RS	1.01	0.0185	7.93	0.907

注: A 为最大累积矿化率, μ_m 为最大矿化速率, λ 为滞后时间, R^2 值为模型拟合优度。Note: A is the maximum cumulative mineralization rate, μ_m is the maximum mineralization rate, λ is the lag time, and R^2 value is the model fitting goodness.

2.2 16S rRNA 与 *trzN* 基因定量

采用 qPCR 分别对不同培养时期 16S rRNA 和 *trzN* 基因进行定量, 以评估土壤细菌及阿特拉津降解菌的数量动态 (图 2)。三种土壤中, 潮土整体上具有更高的 16S rRNA 基因拷贝数, 但在 56 d 的培养期间增长幅度不大。而在黑土和红壤中, 经培养后 16S rRNA 基因拷贝数明显增加 (图 2a)。

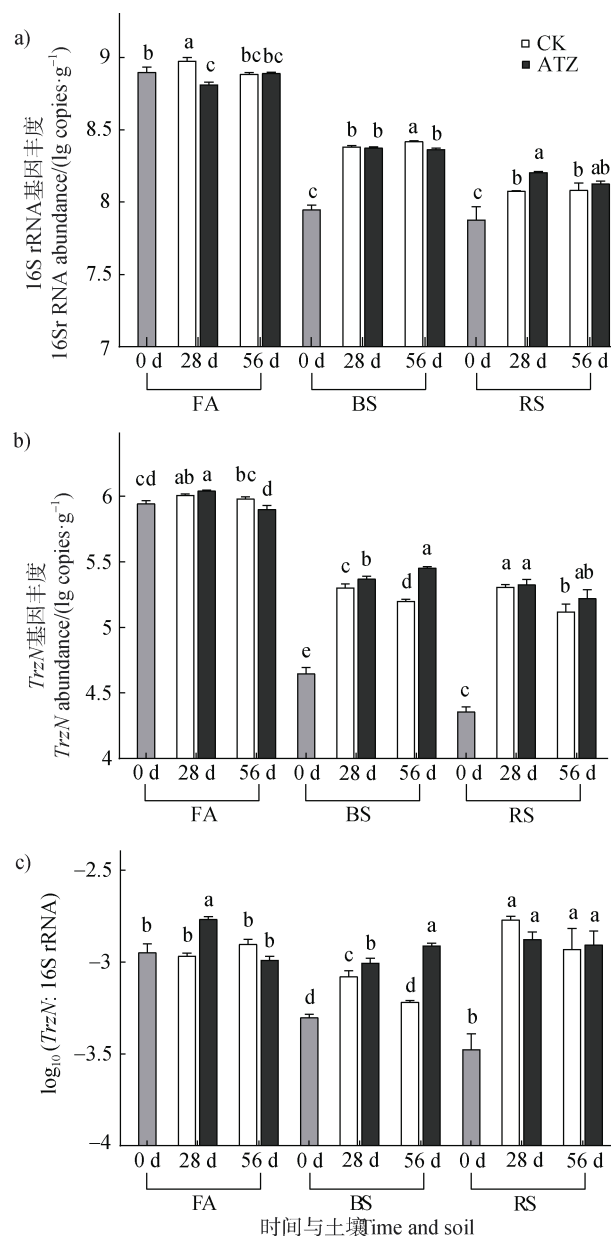
与 16S rRNA 基因的情况类似, 在培养开始时 (0 d) 潮土中 *trzN* 基因的丰度分别是黑土和红壤的 20 倍和 38 倍。潮土的 FA-ATZ (潮土添加阿特拉津的处理) 处理中 *trzN* 随时间先增加后减少, 且在 28 d 时 FA-ATZ (1.10×10^6 copies·g⁻¹) 与 FA-CK (1.02×10^6 copies·g⁻¹) 无显著差异, 但在 56 d 时 FA-ATZ (7.97×10^5 copies·g⁻¹) 显著低于 FA-CK (9.56×10^5 copies·g⁻¹)。黑土经培养后 *trzN* 有大幅增加, 且 BS-ATZ (黑土添加阿特拉津的处理) 在不同培养时间始终显著高于 BS-CK (黑土未添加阿特拉津的空白对照)。而在红壤中, 经过培养后 *trzN* 有显著增长, 但 RS-CK (红壤未添加阿特拉津的空白对照) 和 RS-ATZ (红壤添加阿特拉津的处理) 两个处理之间无显著差异 (图 2b)。

trzN 与 16S rRNA 两个基因拷贝数的比值 (*trzN*: 16S rRNA) 可近似地反映降解菌在总体细菌中的占比。在潮土中, 阿特拉津处理对该比值的效应随时间发生变化。培养第 28 天时, FA-ATZ 处理显著高于 FA-CK, 而第 56 天时两者无显著差异, 且均低于 28 d 的 FA-ATZ。黑土 BS-ATZ 处理中该比值始终高于 BS-CK, 且随培养时间增加幅度不断加大。红壤中, 经培养后该比值较初始值有明显增加, 但 RS-CK 和 RS-ATZ 处理之间无显著差异 (图 2c)。

2.3 土壤细菌群落多样性

对所有样品开展 16S rRNA 基因高通量测序, 共获得 271 万条序列, 划分为 35 138 个 ASVs, 基于此进行细菌多样性分析。整体上, 潮土细菌群落的 α -多样性始终高于黑土和红壤 (图 3)。同一土壤的变化趋势类似, 但不同土壤间存在差异。在潮土中, FA-ATZ 处理中微生物多样性逐渐增加, 至第 56 天显著高于 FA-CK 处理。红壤则相反, 在第 28 天, 阿特拉津处理下微生物多样性均低于对照。在黑土

中, 28 d 时 BS-ATZ 相较 BS-CK 较低, 56 d 时两处理间无显著差异。



注: CK 为不添加阿特拉津的对照处理、ATZ 为添加阿特拉津的处理; 0 d、28 d 和 56 d 培养时间。图中不同小写字母表示相同土壤不同处理间存在统计学差异 ($P < 0.05$)。下同。Note: CK is the control without atrazine addition, and ATZ represents the treatment of $50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ atrazine. Time is 0 d, 28 d, and 56 d respectively. Different lowercase letters indicated significant differences at the $P < 0.05$ level among different treatments of the same soil. The same below.

图 2 三种土壤中 16S rRNA 基因丰度 (a) 与 *trzN* 基因丰度 (b) 及其比值 (c)

Fig. 2 The abundances of 16S rRNA genes (a) and *trzN* genes (b), and their ratio (c) in the three types of soils

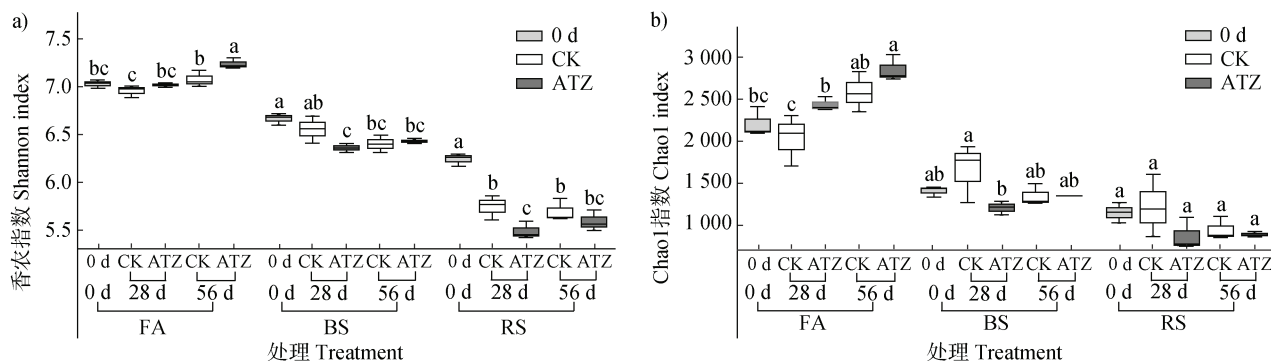
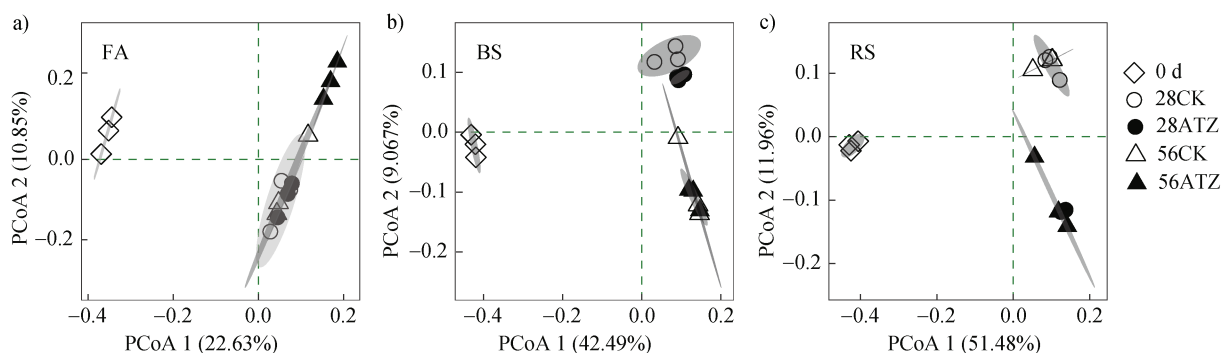


图3 三种土壤中细菌群落的 α 多样性分析 (a. 香农指数; b. Chao1 指数)

Fig. 3 α -diversity of the bacterial community in the three types of soils (a. Shannon index; b. Chao 1 index)

采用基于 Bray-Curtis 距离的主坐标分析法 (PCoA) 评估土壤细菌群落结构变化 (图 4)。对潮土群落, PCoA1 和 PCoA2 的累计方差解释率为 33.5%, 培养至 28 d 的 FA-CK、FA-ATZ 及 56 d 的 FA-CK 相对聚集, 而 56 d 的 FA-ATZ 与三者距离较远, 表明阿特拉津处理在 28 d 时对潮土中微生物群落结构无显著影响, 但在 56 d 时效应明显 (图 4a)。对于黑土群落,

PCoA1、PCoA2 的累计方差解释率达 51.6%, 各样品根据培养时间聚为两类, 但 BS-CK 和 BS-ATZ 处理之间的距离相对较小 (图 4b)。红壤中 PCoA1 与 PCoA2 合并解释率达 63.4%, 其群落响应表现出与潮土、黑土明显不同的模式, 即根据阿特拉津的添加与否聚为两类, RS-CK 与 RS-ATZ 分别形成两组, 阿特拉津对微生物群落结构的影响明显 (图 4c)。



注: 0d 代表 0 d 样品; 28CK 代表培养至 28 d 时不添加阿特拉津的对照处理; 28ATZ 代表培养至 28 d 时添加阿特拉津的处理; 56CK 代表培养至 56 d 时不添加阿特拉津的对照处理; 56ATZ 代表培养至 56 d 时添加阿特拉津的处理。椭圆表示 95% 置信区间。Note: 0d indicates the sample of 0 day; 28CK indicates the control without atrazine addition for 28 days; 28ATZ indicates the treatment of $50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ atrazine for 28 days; 56CK indicates the control without atrazine addition for 56 days; 56ATZ indicates the treatment of $50 \mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ atrazine for 56 days. Ellipse represents 95% confidence intervals.

图4 三种不同农田土壤中细菌群落的主坐标分析 (a. 潮土; b. 黑土; c. 红壤)

Fig. 4 Principal coordinates analysis of bacterial communities in the three types of soils (a. fluvo-aquic soil, b. black soil, c. red soil)

2.4 土壤细菌共现网络

为进一步研究阿特拉津对土壤细菌群落结构的影响, 针对 3 种土壤构建共现网络, 网络拓扑特征如表 3 所示。结果表明阿特拉津对微生物网络的拓扑特性产生了不同影响, 具体影响因土壤而异。对于潮土, FA-ATZ 网络相对于 FA-CK 网络的节点、边和平均度并无明显变化, 但阿特拉

津处理网络中正相关关系达 64.7%, 较对照中的 55.3% 有明显增加。红壤中, 阿特拉津明显降低了 RS-ATZ 网络中的边数和平均度, 与对照相比网络结构变得简单。黑土的 BS-ATZ 与 BS-CK 网络相比, 边和平均度均有所减少, 但变化幅度小于红壤, 同时 BS-ATZ 网络的正相关系数也有所增加。

表 3 阿特拉津影响下的土壤微生物网络拓扑特性

Table 3 Topological characteristics of microbial networks in the three soils

处理	节点	边	平均度	正相关	负相关
Treatment	Node	Edge	Average degree	Positive correlation	Negative correlation
FA-CK	246	434	3.53	55.3%	44.7%
FA-ATZ	239	431	3.61	64.7%	35.3%
BS-CK	288	1 759	12.2	56.5%	43.5%
BS-ATZ	296	1 532	10.4	59.1%	40.9%
RS-CK	260	1 831	14.1	56.9%	43.2%
RS-ATZ	258	1 393	10.8	53.8%	46.2%

注：FA-CK 为潮土中不添加阿特拉津的对照处理、FA-ATZ 为潮土中添加阿特拉津的处理；BS-CK 为黑土中不添加阿特拉津的对照处理、BS-ATZ 为黑土中添加阿特拉津的处理；RS-CK 为红壤中不添加阿特拉津的对照处理、RS-ATZ 为红壤中添加阿特拉津的处理。Note: FA-CK is the control without atrazine addition in fluvo-aquic soil; FA-ATZ represents the treatment of 50 μg·g⁻¹ atrazine in fluvo-aquic soil. BS-CK is the control without atrazine addition in black soil; BS-ATZ represents the treatment of 50 μg·g⁻¹ atrazine in black soil. RS-CK is the control without atrazine addition in red soil; RS-ATZ represents the treatment of 50 μg·g⁻¹ atrazine in red soil.

2.5 土壤细菌组成及差异

土壤细菌在门水平的物种组成如图 5 所示。第一优势菌门为变形菌门 (Proteobacteria)，潮土和黑土中 CK 和 ATZ 均无显著差异 ($P>0.05$)；而在红

壤中，无论 28 d 还是 56 d，ATZ 丰度显著高于 CK ($P<0.05$)。其次为酸杆菌门 (Acidobacteriota)，其在潮土中无显著差异 ($P>0.05$)；黑土中 28 d 的 CK 显著低于除 0 d 外的其他处理 ($P<0.05$)；红壤中则是 56 d 的 CK 显著高于其他处理 ($P<0.05$)。第三为绿弯菌门 (Chloroflexi)，无论 28 d 还是 56 d，三种土壤中 CK 和 ATZ 均无显著差异 ($P>0.05$)。浮霉菌门 (Planctomycetota) 在潮土和红壤中 28 d 的 ATZ 均显著高于 CK ($P<0.05$)。其他优势菌门包括放线菌门 (Actinobacteriota)、厚壁菌门 (Firmicutes)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadota)、拟杆菌门 (Bacteroidota)、黏菌门 (Myxococcota) 等。

为进一步揭示细菌群落对阿特拉津的响应差异，选择每种土壤不同培养时间中变化较明显 ($P<0.05$ 及 $\text{Log}_2(\text{fold change})>1$) 的前 10 个属进行分析 (图 6)，其中，拟节杆菌属 (*Paenarthrobacter*) 是潮土中增长幅度最大的物种，其在 FA-CK 中未检出，而在 FA-ATZ 处理中平均丰度增加至 0.12%。此外，亚硝化单胞菌属 (*Nitrosomonas*) 丰度也显著增加，其在 FA-ATZ 中平均相对丰度为 FA-CK 的 2 倍。

黑土加入阿特拉津后，培养后期 (56 d) 增长幅度最大的是土生单胞菌属 (*Terrimonas*)，其在 BS-CK 中未检出，而 BS-ATZ 中平均相对丰度增加至 0.025%。亚硝化螺菌属 (*Nitrospira*) 相对丰度

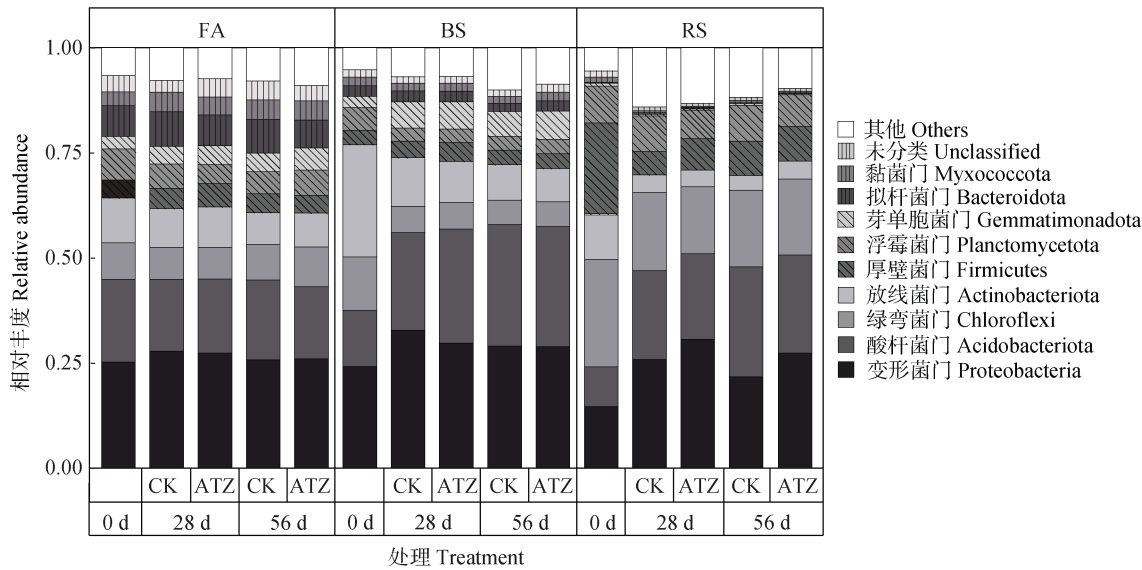


图 5 三种农田土壤中细菌群落门水平组成

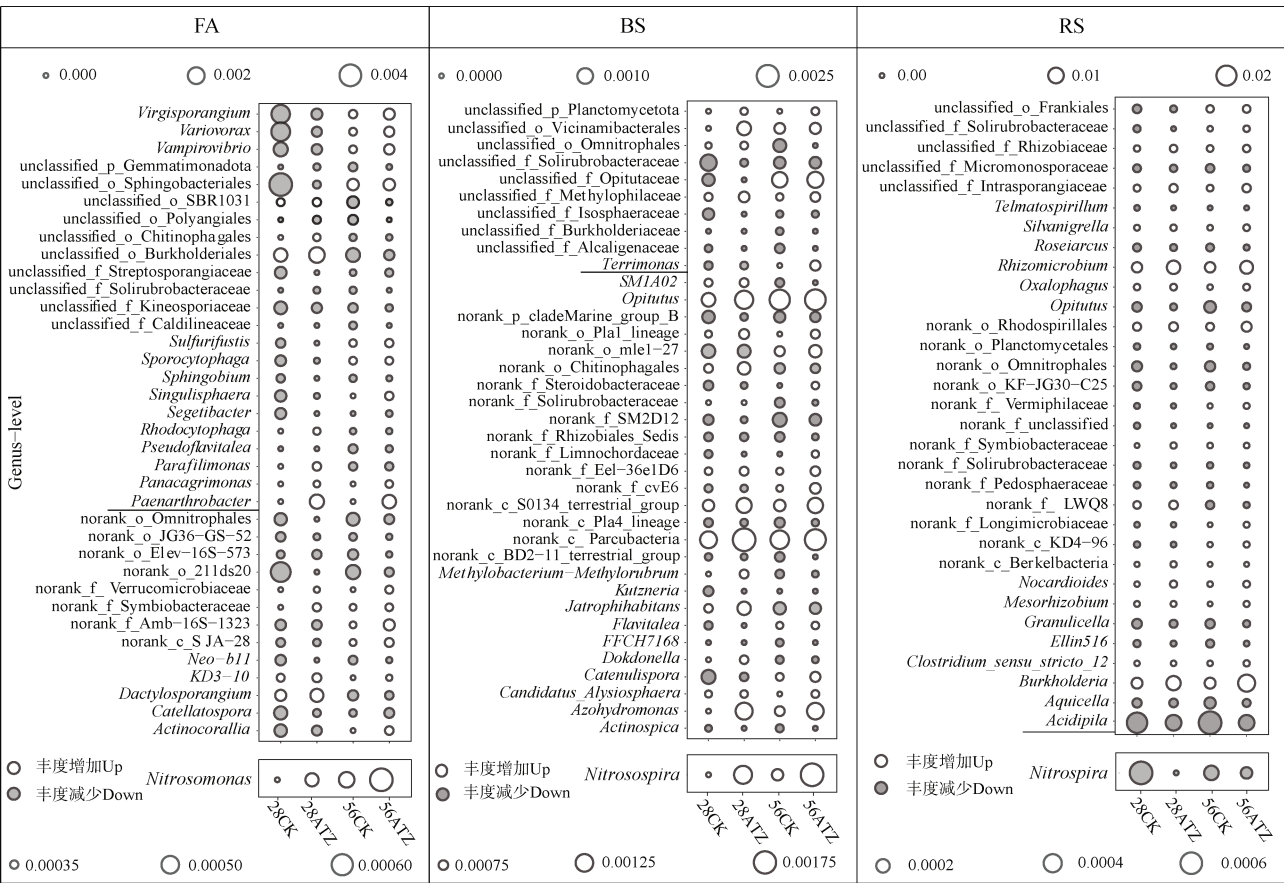
Fig. 5 Soil bacteria community composition at the phylum level in the three soils

也有所增加，在 BS-ATZ 中达 0.18%，相较 BS-CK 增长了 2 倍。

红壤细菌群落对阿特拉津产生正响应的种属较少，一些优势细菌受阿特拉津影响甚至出现负响应。如酸球菌（*Acidipila*），在 28 d 时 RS-CK 中的相对

丰度为 2.08%，但在 RS-ATZ 中降低至 1.02%；56 d 时则由 RS-CK 的 2.73%降低为 RS-ATZ 的 1.00%。

硝化螺旋菌属（*Nitrospira*）在添加阿特拉津后丰度也受到抑制，前期由 0.067%降至 0.0054%，后期则由 0.024%降低为 0.014%。



注：通过差异分析，在不同土壤及不同培养时间中选择 $P < 0.05$ 、 $\text{Log}_2(\text{fold change}) > 1$ 前十的属作气泡图。○代表 ATZ 相较 CK 丰度显著增加的属 (Up)；●代表 ATZ 相较 CK 丰度显著降低的属 (Down)。点的大小对应于相对丰度。Note: The most abundant top ten genera of $P < 0.05$ and $\text{Log}_2(\text{fold change}) > 1$ were selected by differential analysis to create the bubble plot. ○ shows significantly increased genus by ATZ treatment, while ● represents diminished genus. The size of the bubble corresponds to its abundance.

图 6 三种土壤细菌群落差异分析气泡图（属水平）

Fig. 6 The bubble plot of bacterial communities in the three soils at the genus level

3 讨论

农药与土壤微生物的交互作用分为生物降解和微生物群落胁迫两方面。三种土壤中阿特拉津的降解和细菌群落响应形成鲜明反差，充分说明两者紧密联系，特定情境下可能突出表现为某一方面。

3.1 三种土壤中阿特拉津的生物降解差异及可能原因

矿化作用可指示土壤对有机污染物的自净能

力。本研究采用 Gompertz 模型对矿化累积曲线进行拟合，其常用来拟合细菌生长曲线，也可用于解释微生物生产动力学^[20]。拟合参数显示三种土壤中阿特拉津的矿化特征差异明显（表 2）：潮土具有最高的累积矿化率 A 和最快的矿化速率 μ_m ；红壤的上述参数与潮土形成鲜明对比，指示极低的矿化活性；黑土的矿化特征介于潮土和红壤之间。这种不同类型土壤间有机污染物降解的差异似乎具有普遍性，如黑土和潮土中多环芳烃和抗生素的降解均远快于

红壤^[21-22]。有研究发现某旱地红壤中阿特拉津矿化率仅为 0.33%^[15], 接近本研究中的测定值 0.81%。

阿特拉津的矿化差异与降解菌的数量和活性有关。已知微生物编码两种三嗪氯水解酶基因 *trzN* 与 *atzA*。本研究中三种土壤中均检出 *trzN*, 但未能成功扩增 *atzA* (图 2b)。*atzA* 基因序列高度保守, 由于引物错配导致扩增失败的可能性相对较小^[23]。目前的研究发现土壤中阿特拉津降解基因以 *trzN* 为主^[24], 这可能与两者的结构差异有关^[7], 决定了 *trzN* 相较于 *atzA* 具有更广泛的底物范围、更高的底物亲和力和动力学参数 (K_{cat}/K_m)^[25]。

三种土壤中, *trzN* 基因拷贝数由高到低依次为潮土、黑土、红壤 (图 2), 与土壤矿化活性趋势 (图 2b) 一致; 潮土与黑土的阿特拉津处理中可观察到 *trzN* 丰度、*trzN*: 16S rRNA 比值随矿化显著增加的趋势 (图 2)。前人研究发现, 土壤中三嗪类除草剂的降解与 *trzN* 丰度密切相关^[26]。鉴于此, 在本研究中, 携带 *trzN* 基因的土壤细菌很可能在潮土和黑土的阿特拉津转化中发挥关键作用。

另一方面, 红壤虽然缺乏矿化活性, 但也可检出丰度水平与黑土类似的 *trzN* 基因 (图 2b)。这种现象并不罕见^[27], 可能表明红壤中的 *trzN* 基因并不表达为降解活性; 亦可能是红壤中缺乏下游降解基因, 导致阿特拉津降解不彻底, 主要以中间代谢产物状态存在于土壤中。此外, 红壤特殊的酸性条件也可能导致阿特拉津有效性偏低而抑制降解: 阿特拉津水溶性低 (约 $33 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 酸解离常数 (pK_a) 为 1.68, 在较低 pH 下电离分数减少, 不利于微生物降解^[28]。许多研究指出酸性土壤中阿特拉津降解或矿化速率明显低于中性或碱性土壤^[29]。董攀月等^[15]发现调节红壤 pH 后阿特拉津矿化率大幅增加。上述研究均表明红壤的低 pH 条件可能是影响阿特拉津降解率的关键因素。

3.2 潮土、黑土中的阿特拉津降解菌

潮土中加入阿特拉津显著促进了拟节杆菌的相对丰度 (图 6)。拟节杆菌、节杆菌、假节杆菌是相互关联的一类细菌^[30], 许多成员具有阿特拉津降解能力, 如 *Arthrobacter aurescens* TC1、*Paenarthrobacter* sp. AT 和 *P. ureafaciens* ZY 等, 它们一般携带 *trzN*、*atzB* 和 *atzC* 降解基因, 能将阿特拉津降解为无毒的氰尿酸^[31-32]。Arbeli 和 Fuentes^[23]从 13 种农田土壤中分离的 83 株降解菌中节杆菌占 54 株, 表明这类

细菌可能在阿特拉津降解中发挥重要作用。鉴于 FA-ATZ 处理中拟节杆菌的高度富集, 其很可能是潮土中最主要的阿特拉津降解菌。

黑土虽表现出明显的阿特拉津矿化活性, 但经物种差异分析并未发现已报道的典型阿特拉津降解菌 (图 6)。其可能原因有二, 一是降解基因如 *trzN* 等一般位于质粒^[33], 可通过基因水平转移扩散, 导致存在许多功能尚未挖掘的降解微生物。二是可能存在共代谢途径, 即微生物利用其他碳源生长时伴随着部分污染物的降解^[34], 此时微生物的丰度不会随阿特拉津发生显著变化, 导致无法识别降解菌。

在经阿特拉津处理的潮土和黑土中, 观察到硝化细菌如 *Nitrosomonas*、*Notrosospira* 丰度的显著增加 (图 6)。阿特拉津分子含 5 个氮原子, 它们在微生物降解过程中将以铵态氮形式释放, 可能被硝化细菌利用。黑土中 BS-ATZ 培养后期高度富集的 *Terrimonas*, 是一种潜在的反硝化细菌^[35]。*Nitrosomonas*、*Notrosospira*、*Terrimonas* 的富集表明, 阿特拉津作为含氮底物可能影响土壤氮转化微生物^[36]。

3.3 土壤细菌群落对阿特拉津的响应

三种土壤中的细菌群落对阿特拉津产生不同响应。潮土中, 相较于培养前期, 阿特拉津在后期 (56 d) 显著提高了 Shannon 指数 (图 3a), 改变了细菌群落结构 (图 4a)。鉴于潮土中阿特拉津快速矿化, 在 28 d 时的响应微生物以拟节杆菌等降解菌为主, 对土壤细菌整体结构影响较小。但阿特拉津降解过程中释放出铵态氮等, 这可能是培养期间硝化菌富集、细菌群落结构持续变化的可能原因。同时, FA-ATZ 共现网络中正相关比例的增加 (表 3) 说明微生物之间的联系加强、协同合作增加。有研究表明, 阿特拉津降解菌和非降解菌间存在代谢互养关系 (Cross-feeding), 在改善细菌生长的同时促进阿特拉津降解^[9, 32, 37], 是潮土中细菌协同降解阿特拉津的又一证据。

红壤中阿特拉津矿化活性低, 可以推断加入红壤的阿特拉津主要以未修饰结构或部分修饰中间物的形式存在。PCoA 分析显示阿特拉津是影响红壤微生物群落的关键因素 (图 4c), RS-ATZ 处理中细菌多样性减少、网络破碎化、竞争趋势增加; 优势细菌如 *Acidipila* 等适应酸性土壤环境的化能异养菌^[38]也受到抑制, 显示出一定的生态毒性效应。Ren

等^[39]的研究发现,低剂量多环芳烃就能导致红壤微生物群落的丰富度和多样性降低,群落结构改变。由此观之,红壤中微生物群落易受外界污染物的影响,抵御外界变化的能力较弱,提示阿特拉津污染的生态风险。

相比潮土和红壤,阿特拉津对黑土细菌群落影响较小,培养时间成为决定其群落结构的主要因素(图4b)。总体而言,黑土细菌群落对阿特拉津污染具有一定的抗性。

4 结 论

不同类型农田土壤中阿特拉津的矿化动力学和细菌群落响应模式存在较大差异。潮土中矿化活性显著高于黑土和红壤,出现了拟节杆菌、硝化细菌等功能菌的富集,表明其阿特拉津残留风险较低。相较而言,黑土矿化速率稳定但稍低,细菌群落对阿特拉津不敏感,必要时需采取外接菌剂、共代谢底物等措施加快降解进程。红壤则几乎完全缺乏矿化能力,受阿特拉津影响,细菌群落多样性和网络复杂度降低、群落结构改变、优势物种被抑制,表现出明显的生态风险。综上,提示不同类型土壤中阿特拉津残留的治理可参照分区原则,从潮土等较高矿化活性土壤中挖掘降解微生物资源,对红壤等易产生残留的土壤则应重点从源头控制,加强土壤生态系统的保护。

致 谢 感谢南京大学季荣教授在同位素实验中给予的协助。

参考文献 (References)

- [1] Huang X W, Yang X L, Lin J H, et al. Biochar alleviated the toxicity of atrazine to soybeans, as revealed by soil microbial community and the assembly process[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 834: 155261.
- [2] Miao H, Xu J M, Yu Y, et al. Toxic effects of atrazine on earthworms in three forest soils[J]. *Soils*, 2023, 55 (6): 1316—1322. [苗桓, 许加明, 虞悦, 等. 三种森林土壤中莠去津对蚯蚓的毒性效应[J]. *土壤*, 2023, 55 (6): 1316—1322.]
- [3] Fang H, Lian J J, Wang H F, 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.
- [4] Zhao H T, Qian H H, Cui J W, et al. Endocrine toxicity of atrazine and its underlying mechanisms[J]. *Toxicology*, 2024, 505: 153846.
- [5] Udiković-Kolić N, Scott C, Martin-Laurent F. Evolution of atrazine-degrading capabilities in the environment[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2012, 96(5): 1175—1189.
- [6] Lee T H Y, Ziegler A D, Li C X, et al. Riverine pesticides in an agricultural catchment in northern Thailand: With focus on atrazine and metabolites[J]. *ACS ES&T Water*, 2024, 4 (9): 3758—3772.
- [7] Peat T S, Newman J, Balotra S, et al. The structure of the hexameric atrazine chlorohydrolase AtzA[J]. *Acta Crystallographica Section D Biological Crystallography*, 2015, 71 (3): 710—720.
- [8] Bhatti P, Duhan A, Pal A, et al. Ultimate fate and possible ecological risks associated with atrazine and its principal metabolites (DIA and DEA) in soil and water environment[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2022, 248: 114299.
- [9] Xu X H, Zarecki R, Medina S, et al. Modeling microbial communities from atrazine contaminated soils promotes the development of biostimulation solutions[J]. *The ISME Journal*, 2019, 13 (2): 494—508.
- [10] Liu Z Y, Han L X, Zhang X, et al. Core bacteria carrying the genes associated with the degradation of atrazine in different soils[J]. *Environment International*, 2023, 181: 108303.
- [11] Ren W J, Teng Y, Luo Y M. Research progress and perspective on the pollution process and abatement technology of herbicides in black soil region in northeastern China[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2022, 59 (4): 888—898. [任文杰, 滕应, 骆永明. 东北黑土地农田除草剂污染过程与消减技术研究进展与展望[J]. *土壤学报*, 2022, 59 (4): 888—898.]
- [12] Sun B, Zhu A N, Yao R J, et al. Research progress on barrier remediation technology and productivity enhancement model for fluvo-aquic soil, red soil, and saline-alkali soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2023, 60 (5): 1231—1247. [孙波, 朱安宁, 姚荣江, 等. 潮土、红壤和盐碱地障碍消减技术与产能提升模式研究进展[J]. *土壤学报*, 2023, 60 (5): 1231—1247.]
- [13] Dou R N, Sun J T, Deng F C, et al. Contamination of pyrethroids and atrazine in greenhouse and open-field agricultural soils in China[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 701: 134916.
- [14] Gao T C, Tian H X, Xiang L L, et al. Characteristics of bacterial community and extracellular enzymes in response to atrazine application in black soil[J]. *Environmental Pollution*, 2024, 343: 123286.
- [15] Dong P Y, Chen Y Z, Zeng J, et al. Environmental fate and regulation of atrazine in upland red soil under different fertilization regimes[J]. *Soils*, 2022, 54 (6): 1201—1209. [董攀月, 陈禹竹, 曾军, 等. 不同施肥处理下旱地红壤中阿特拉津的环境归趋及其调控研究[J]. *土壤*, 2022, 54 (6): 1201—1209.]
- [16] Yao B, Gu X J, Shu Y G, et al. Degradation of atrazine

- and changes in soil biological indices throughout dendroremediation using poplars[J]. *Journal of Forestry Research*, 2019, 30 (6): 2331—2339.
- [17] Wu Y C, Zhu Q H, Zeng J, et al. Effects of pH and polycyclic aromatic hydrocarbon pollution on thaumarchaeotal community in agricultural soils[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2016, 16 (7): 1960—1969.
- [18] Zwietering M H, Jongenburger I, Rombouts F M, et al. Modeling of the bacterial growth curve[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1990, 56(6): 1875—1881.
- [19] Zhang J P, Liang S, Wang X H, et al. Biodegradation of atrazine by the novel *Klebsiella variicola* strain FH-1[J]. *BioMed Research International*, 2019, 2019: 4756579.
- [20] Wang J L, Guo X. The Gompertz model and its applications in microbial growth and bioproduction kinetics: Past, present and future[J]. *Biotechnology Advances*, 2024, 72: 108335.
- [21] Ren G D, Teng Y, Ren W J, et al. *Pyrene* dissipation potential varies with soil type and associated bacterial community changes[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 103: 71—85.
- [22] Shen D H, Gu X, Zheng Y Y, et al. The fate of erythromycin in soils and its effect on soil microbial community structure[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 820: 153373.
- [23] Arbeli Z, Fuentes C. Prevalence of the gene *trzN* and biogeographic patterns among atrazine-degrading bacteria isolated from 13 Colombian agricultural soils[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 73 (3): 611—623.
- [24] Douglass J F, Radosevich M, Tuovinen O H. Microbial attenuation of atrazine in agricultural soils: Biometer assays, bacterial taxonomic diversity, and catabolic genes[J]. *Chemosphere*, 2017, 176: 352—360.
- [25] Esquirol L, Peat T S, Sugrue E, et al. Chapter Four Bacterial catabolism of s-triazine herbicides: Biochemistry, evolution and application[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2020, 76: 129—186.
- [26] Fernandes A F T, Wang P, Staley C, et al. Impact of atrazine exposure on the microbial community structure in a Brazilian tropical latosol soil[J]. *Microbes and Environments*, 2020, 35 (2): 215596631.
- [27] Nousiainen A O, Björklöf K, Sagarkar S, et al. Atrazine degradation in boreal nonagricultural subsoil and tropical agricultural soil[J]. *Journal of Soils & Sediments*, 2014, 14 (6): 1179—1188.
- [28] Lin Z, Zhen Z, Ren L, et al. Effects of two ecological earthworm species on atrazine degradation performance and bacterial community structure in red soil[J]. *Chemosphere*, 2018, 196: 467—475.
- [29] Houot S, Topp E, Yassir A, et al. Dependence of accelerated degradation of atrazine on soil pH in French and Canadian soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32 (5): 615—625.
- [30] Busse H J. Review of the taxonomy of the genus *Arthrobacter*, emendation of the genus *Arthrobacter sensu lato*, proposal to reclassify selected species of the genus *Arthrobacter* in the novel Genera *Glutamicibacter gen. nov.*, *Paeniglutamicibacter gen. nov.*, *Pseudoglutamicibacter gen. nov.*, *Paenarthrobacter gen. nov.* and *Pseudarthrobacter gen. nov.*, and emended description of *Arthrobacter roseus*[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, 66 (1): 9—37.
- [31] Li X L, Wu S H, Fan H N, et al. Simultaneous Cr (VI) reduction and atrazine degradation by an isolated *Paenarthrobacter* sp. AT[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2023, 43 (4): 236—242.[李祥龙, 吴尚华, 樊浩楠, 等. 一株类节杆菌协同还原六价铬和降解阿特拉津的研究[J]. *环境科学学报*, 2023, 43 (4): 236—242.]
- [32] Zhao Y, Li X, Li Y Y, et al. Rapid biodegradation of atrazine by a novel *Paenarthrobacter ureafaciens* ZY and its effects on soil native microbial community dynamic[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 13: 1103168.
- [33] Sajjaphan K, Shapir N, Wackett L P, et al. *Arthrobacter aurescens* TC1 atrazine catabolism genes *trzN*, *atzB*, and *atzC* are linked on a 160-kilobase region and are functional in *Escherichia coli*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(7): 4402—4407.
- [34] Hazen T C. Cometabolic bioremediation//Steffan R J. Consequences of microbial interactions with hydrocarbons, oils, and lipids: biodegradation and bioremediation[C]. Cham: Springer International Publishing, 2019: 233—247.
- [35] Ren Z Y, Guo H, Jin H K, et al. P, N, and C-related functional genes in SBR system promoted antibiotics resistance gene transmission under polystyrene microplastics stress[J]. *Water Research*, 2023, 235: 119884.
- [36] Dhakar K, Medina S, Ziadna H, et al. Comparative study of bacterial community dynamics in different soils following application of the herbicide atrazine[J]. *Environmental Research*, 2023, 220: 115189.
- [37] Abdelgawad D M, Marei A S, Mansee A H. Managing the efficiencies of three different bacterial isolates for removing atrazine from wastewater[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*, 2022, 57 (12): 948—959.
- [38] Okamura K, Kawai A, Yamada T, et al. *Acidipila rosea* gen. nov., sp. nov., an acidophilic chemoorganotrophic bacterium belonging to the Phylum Acidobacteria[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2011, 317 (2): 138—142.
- [39] Ren G D, Ren W J, Teng Y, et al. Evh ident bacterial community changes but only slight degradation when polluted with *Pyrene* in a red soil[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 22.

(责任编辑：陈荣府)