

多氯联苯污染土壤的微生物生态效应研究

高 军^{1,2}, 骆永明¹, 滕 应¹, 李振高¹

(1.中国科学院南京土壤研究所 土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 江苏 南京 210008; 2.淮阴工学院生命科学与化学工程学院, 江苏 淮安 223003)

摘 要:以多氯联苯(Polychlorinated biphenyls, PCBs)自然污染的农田土壤为材料,分析土壤中微生物区系组成、生物量 C、N、土壤基础呼吸以及微生物群落功能多样性的变化。研究结果表明,在以 4-氯、5-氯同系物为主的 PCBs 污染土壤中,污染程度对土壤细菌、放线菌的数量影响不明显,而真菌的数量除与土壤污染程度有关,可能还受到土壤 pH 等性状的影响;土壤微生物 C、N 与土壤基础呼吸随污染程度的加剧呈下降趋势,但微生物 C/N 基本没有变化;Biolog 分析显示,土壤微生物代谢剖面(AWCD)及 Simpson 指数在污染程度相差较大的两组土壤样品中差异均达到了显著性水平,表明 PCBs 污染引起了土壤微生物群落功能多样性下降,降低了微生物对不同单一碳源底物的利用能力。

关键词:多氯联苯;微生物群落功能多样性;微生物生物量;土壤基础呼吸

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)02-0228-06

Mircrobial Ecological Effects in Soil Contaminated with Polychlorinated Biphenyls

GAO Jun^{1,2}, LUO Yong-ming¹, TENG Ying¹, LI Zhen-gao¹

(1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Science, Nanjing 210008, China; 2. Department of Life Science and Chemical Engineering, Institute of Huaiyin Technology, Huai'an 223003, China)

Abstract:Four soils samples, which were collected from farmland soil contaminated with polychlorinated biphenyls (PCBs) for long term, were used to assess the effects of PCBs contents in soils on the soil microbial community structures, soil microbial biomass C, N, soil basic respiration. Meantime, the relationship between diversity of soil microbial community function and PCBs soil concentrations were evaluated by Biolog method. In the soils predominantly contaminated with 4-Cl and 5-Cl congeners of PCBs, fungal population was influenced by PCBs contents as well as by other properties of soils such as pH. Meanwhile, populations of bacteria and actinomycetes were little influenced by PCBs in soils. However, soil microbial biomass C, N, and soil basal respiration all decreased with PCBs contents increasing in soils. Among them, significant differences were detected between heavily contaminated and lightly contaminated soil. And compared with soil basal respiration in S1 sample, it decreased 20.23% in S4 sample. The microbial C/N ratios were little influenced by PCBs soil concentrations. Soil microbial metabolic profiles (AWCD) values increased with incubation time, and significant differences of AWCD and Simpson indexes were both found by Biolog method between the heavily contaminated soils and lightly contaminated soils, especially in incubation 48 h. Therefore the diversity of soil microbial function and microbial capability to utilize the single carbon substrates were influenced by PCBs in soil.

Keywords: polychlorinated biphenyls; diversity of microbial community; microbial biomass; soil basal respiration

多氯联苯作为持久性有机污染物对人体和生态系统的危害已经越来越受到重视,被联合国环境规划

署(UNEP)和美国环保局(USEPA)列入优先控制污染物的黑名单。由于人类在上世纪的大量生产和使用,使其在环境中广泛存在,土壤就是其在环境中重要的库和源^[1]。土壤中的 PCBs 可以通过土-气、土-水交换以及人为扰动,重新在环境各相之间进行平衡分配^[2]。

土壤微生物被认为是土壤污染最好的指示物^[3], Edvantoro 等研究表明在长期遭受砷和 DDT 污染的土壤中真菌数量、微生物碳和基础呼吸都有显著减少^[4]。Megharaj 等发现在 DDT 长期污染的土壤中,土壤微

收稿日期:2008-04-21

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(2002CB410810/9);国家自然科学基金重点项目(40432005, 40701080);中国科学院知识创新工程项目(KZCX2-YW-404);江苏省高校自然科学基金基础研究项目(08KJB610001)

作者简介:高 军(1968—),男,江苏淮安人,博士,副教授,主要从事土壤生物环境与污染修复研究。E-mail: gj6869@163.com

通讯作者:骆永明 E-mail: ymluo@issas.ac.cn

生物数量、生物量和土壤酶的活性都显著下降^[5]。大量的研究表明,土壤微生物的数量、土壤呼吸以及微生物的种群结构等生物指标能反映出土壤质量和健康状况等信息^[6-8]。此外,随着 Biolog 微平板分析方法和技术的的确立和完善,微生物群落结构和功能多样性等指标已被广泛应用于土壤环境质量的监测和研究^[9-10],而遗憾的是在 PCBs 污染的土壤中这方面的研究几乎是空白。本研究正是从土壤微生物的种群数量、土壤呼吸、微生物生物量以及利用 Biolog GN 微平板鉴定系统从种群结构和功能多样性等方面来探讨 PCBs 自然污染的农田土壤中微生物学效应,旨在对土壤中微生物指标的分析反映出 PCBs 对土壤的污染状况,同时又能从微生物角度对修复污染土壤机理有更深入的理解,对 PCBs 污染土壤的健康风险评价和促进污染土壤的微生物修复也都具有重要的现实意义。

1 材料和方法

1.1 土壤样品

供试土壤为普通铁渗水耕人为土,采自长江三角洲某典型污染区,土样分别命名为 S1~S4,均为表层土壤(0~20 cm),新鲜土壤去除植物残体、砾石后,过 2 mm 筛,供微生物相关指标的测定。另一部分样品经过风干,研磨过筛,供土壤理化性质和 PCBs 测定。土壤理化性质见表 1。

表 1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 Basic physico-chemical properties of the soils used

土壤 Soil	pH (H ₂ O)	有机质/% O.M./%	全氮 Total N/g·kg ⁻¹	水解氮 Available N/mg·kg ⁻¹	C/N 比 C/N ratio
S1	5.4	6.8	5.2	312.6	7.6
S2	4.8	7.2	6.1	305.8	6.8
S3	5.4	5.6	5.2	298.5	6.2
S4	5.6	7.5	5.0	322.6	8.7

1.2 测定方法

土壤中 PCBs 的测定方法见文献[11];土壤微生物生物量碳(Cmic)测定采用氯仿熏蒸法^[12],土壤微生物生物量碳系数取 2.64^[13];土壤微生物生物量氮(Nmic)的测定采用熏蒸提取-开氏定氮法^[14];土壤基础呼吸测定采用室内密封培养碱液吸收法^[15];土壤细菌、真菌、放线菌采用平板培养法,细菌采用牛肉膏蛋白冻培养基,放线菌采用淀粉氮盐琼脂培养基,真菌采样马丁氏培养基^[16]。

土壤微生物群落功能多样性测定采样 Biolog GN 测试法^[17]。操作过程:将 Biolog GN 平板从冰箱内取出,25℃下预热。用 8 通道自动多头移液器向 Biolog GN 微平板(Biolog, Inc., Hayward, USA)各孔中添加土壤微生物提取液(10⁻³),每孔加 150 μL,每个土壤样品做 3 次重复。28℃培养 7 d,每隔 12 h 在 Emax 自动读盘机上利用 Microlog Rel 4.2 软件读取 590 nm 下的吸光值。数据的表达:Biolog GN 微平板中多底物酶联反应采用每孔的平均吸光度值(Average well color development, AWCD)来描述,计算表达式:AWCD 值=[Σ(C-R)]/95,其中 C 是所测定的 95 孔中每孔反应的吸光度值,R 是对照孔的吸光度值。土壤群落功能多样性的测试采用培养 48 h 的 Biolog GN 微平板孔中吸光度值计算土壤微生物群落功能多样性指数^[18]。

1.3 数据处理

所用数据为 3 次重复样的平均值,采用 SPSS10.0 软件进行统计分析,其中显著性检验采用最小显著差(LSD)法,超过 LSD 0.05 水平视为显著,图表采用 Microsoft Excel 2000 软件绘制。

2 结果与讨论

2.1 供试土壤中 PCBs 的组成特征

4 个土壤样品中 PCBs 的组成和含量见表 2。在 PCBs 的组成上,基本上以 4~6 氯同系物为主,占 70% 以上,尤其是以 4-氯联苯为主,占 PCBs 总量的 33.8%~40.4%(S3 占 25.4%),其中 S3 样品中 5-氯联苯占 36.2%,这主要由我国在上世纪生产的 PCBs 同系物组成特点所决定的。值得注意的是在 4 个土壤样品中,3-氯以下(含 3-氯)的同系物所占 PCBs 总量的比例在 16.0%~27.8%之间,其中污染较轻的 S1、S2 样品其比例分别为 26.0% 和 27.8%,S3、S4 分别为 16.0%~19.9%。土壤微生物对多氯联苯的降解首先是对高氯化同系物的还原脱氯,形成低氯同系物,然后再进一步降解^[19]。污染程度较轻的两个土壤样品低氯同系物比例较高,不能排除此因素的作用;另一方面,低氯同系物比例高也有可能是有新的污染源存在,据

表 2 供试土壤中 PCBs 的组成与含量(ng·g⁻¹DW)

Table 2 Components and contents of PCBs in soils used(ng·g⁻¹DW)

土壤 Soil	≤3-Cl	4-Cl	5-Cl	6-Cl	7-Cl	ΣPCBs
S1	12.4	18.2	11.4	5.3	0.5	47.7
S2	18.6	22.6	15.5	8.9	1.2	66.9
S3	22.3	35.3	50.3	28.6	2.6	139.1
S4	31.4	63.9	42.2	19.7	0.9	158.1

对该地区的调查发现,目前该地区焚烧电子垃圾的现象尚较普遍,而这类垃圾中含有大量的多氯联苯等持久性有机污染物^[1]。

2.2 PCBs 污染土壤的微生物区系效应

土壤细菌、放线菌、真菌是土壤生态系统中微生物区系的主要组成部分。Edvantoro 等认为在土壤受到 DDT 污染的情况下,土壤中放线菌、真菌数量会有所下降,但细菌数量没有明显的变化^[4]。供试土壤的细菌、真菌和放线菌数量结果如图 1 所示。在 4 种不同污染程度的土壤中,真菌在 S1、S3 土样中的数量显著多于 S2、S4,但在 S1 和 S3、S2 和 S4 之间差异不明显;对放线菌而言,在 S2、S3 中的数量略多于 S1、S4,但差异都没有达到显著性水平;而对细菌来说,在 S2 中数量最大,接近其他 3 个样品中的 2 倍,其他 3 个土样中数量基本上没有明显差异。Edvantoro 等认为:在长期污染的土壤中细菌要比真菌较少受到影响,因为细菌具有对污染土壤更快的适应性,在生理上对污染物能较快产生抗性^[4]。在本研究中 S2 和另外 3 个土样相比,pH 稍微偏低,这可能是造成细菌和真菌数量变化的主要原因,因为研究表明:土壤 pH 值和细菌数量呈现负相关,而和真菌数量呈现正相关^[20];此外,S2 的全氮含量也略高于其余土样,可能也是造成彼此间细菌数量差异的另一个原因,但其确切的原因还有待进一步研究。真菌数量在 S1 和 S3 之间没有明显变化,但在 S4 中呈现显著下降。可能是由于真菌对 PCBs 的耐受阈值在 3、4 号土壤污染程度之间,因为这 3 个土壤样品的理化性状基本接近,因此应该表现出类似的微生物特性^[5]。可见,在 PCBs 长期污染的土壤中细菌数量可能受土壤中 PCBs 污染程度影响较小,而与土壤性质尤其是土壤 pH 以及全氮含量相

关,放线菌数量变化不明显,真菌可能也受 pH 的影响较大,在 pH 相近的情况下,对 PCBs 表现出一定的耐性,其在土壤中数量的变化决定于土壤污染程度。

2.3 PCBs 污染土壤的微生物基础呼吸效应

微生物的基础呼吸往往被用来监测污染物在土壤中的残留状态^[21-22]。从图 2 可以看出,随着土壤中 PCBs 含量的增加,土壤基础呼吸下降,其中污染较重的 S4 土壤和污染最轻的 S1 土壤相比,平均下降了 20.23%,达到了显著性水平,其他土壤间的比较虽然没有达到显著性水平,但总体呈现出随土壤 PCBs 含量增加而下降的趋势,说明土壤中 PCBs 污染程度对微生物的基础呼吸有抑制作用。这种现象在类似的研究中也有报道^[23]。究其原因,一方面由于土壤中的一些真核生物受到 PCBs 的胁迫,使得其代谢活性发生了改变。因为土壤呼吸作用不仅有细菌,还有真菌、藻类和原生动物等参与。有研究表明^[24]PCBs 能进入真核生物细胞中对细胞色素 P450 发生作用,从而影响细胞对氧的利用,影响生理代谢过程。另一方面,土壤中 PCBs 可能对土壤中原核生物特别是好氧细菌发生作用,影响了细菌对氧的利用,但有关具体影响机理方面的研究到目前尚未见报道。

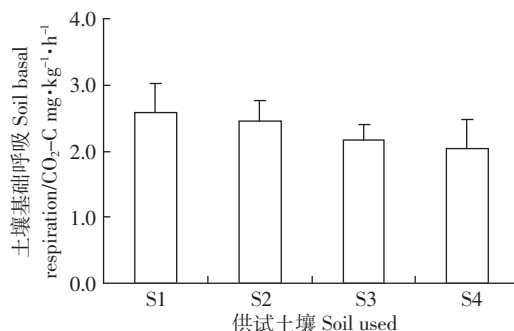
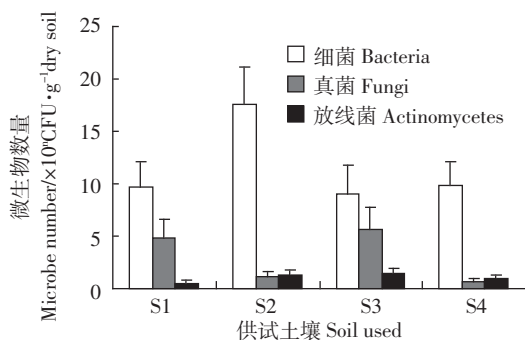


图 2 PCBs 不同污染土壤基础呼吸比较

Figure 2 Comparison of soil basal respiration in soils contaminated with PCBs



细菌、放线菌数量为图中数值×10⁷ CFU·g⁻¹干土,
真菌数量为图中数值×10⁵ CFU·g⁻¹干土

图 1 供试土壤中的微生物数量

Figure 1 Number of microbes in soils used

2.4 PCBs 污染土壤的微生物生物量碳、生物量氮效应

微生物生物量是土壤中除植物根茬等残体和大于 5×10³ μm³ 的土壤动物以外的具有生命活动的有机物质的量,其主要生物群体有细菌、真菌、藻类和原生动物等,它常常作为衡量土壤生态系统是否受到人为影响的生物学指标之一^[25]。本研究对 4 种土壤的微生物生物量进行了测定(见图 3、图 4),结果显示,微生物的生物量碳、氮在 4 种污染土壤中都表现出随土壤污染程度的增加而下降的趋势,其中生物量碳在 S1、S2 土壤与 S3、S4 土壤之间差异明显,生物量氮的

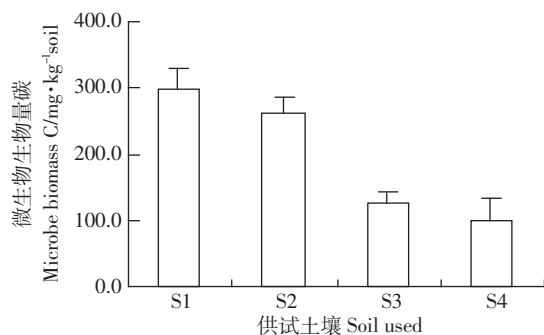


图 3 PCBs 不同污染土壤微生物生物量碳比较

Figure 3 Comparison of microbial biomass C in soils contaminated with PCBs

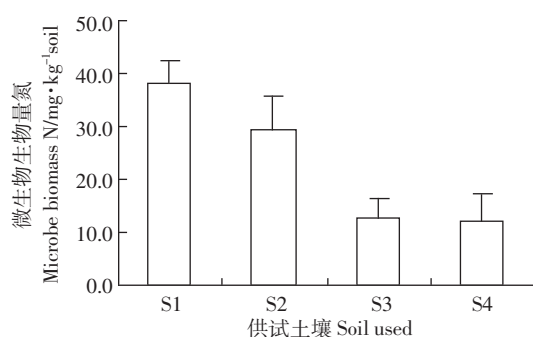


图 4 PCBs 不同污染土壤微生物生物量氮比较

Figure 4 Comparison of soil microbial biomass N in soils contaminated with PCBs

变化趋势与生物量碳基本类似。由于土壤中有机质含量差异不大,造成这种区别的主要原因可能与土壤中 PCBs 的污染程度有关。土壤长期受到 PCBs 污染,导致土壤微生物对营养物质的利用率下降,从而造成土壤微生物生物量下降。该结果与已有的研究结果类似^[4],但也有文献认为有机污染物存在会造成土壤中微生物的生物量、基础呼吸等指标的上升^[26],不同的有机污染物可能是造成这种研究结果不同的主要原因。如果污染物容易成为微生物利用的底物,则会对微生物起到刺激作用。相反,当污染物不能(或较难)被微生物所利用,这时往往会对微生物产生抑制作用。微生物会通过降低生理活性来抵御污染物的毒害作用,从而造成生物量、基础呼吸等指标的下降,这从微生物对不同底物利用上可以看出其差异^[27]。另外,Hiroki 认为土壤中污染物对微生物是产生刺激还是抑制作用不但与土壤性质以及微生物种类有关外,而且与污染物在土壤中的含量有关^[28]。

在本研究中微生物生物量 C/N 在 7.8~9.8 之间,没有呈现出随土壤污染程度的增加而增加的趋势,在 S1、S2、S3 土壤中呈现递增趋势,但在污染最重的 S4

土壤中反而下降。可能是由于在土壤环境受到胁迫或干扰情况下,微生物为了维持生存需要更多的能量而使土壤微生物的代谢活性发生改变,但在污染最重的 S4 土壤中,PCBs 对微生物的抑制占据主导地位,使得其对碳源的利用较困难,反过来使 C/N 下降。Edvartoro 等在研究 DDT 和砷混合污染的土壤中发现,微生物的 C/N 和土壤呼吸呈现正相关^[4]。上述分析表明,自然污染土壤微生物 C/N 和基础呼吸之间的相关关系因土壤污染特征、土壤性质等条件而异。

2.5 PCBs 污染土壤的微生物功能多样性效应

污染土壤土壤微生物多样性一直是国内外土壤环境生物生态领域研究的热点。近年来采用 Biolog、PLFA 和 DGGE 等分析手段从微生物群落功能、结构组成、遗传等方面研究其群落多样性,在土壤污染和生物修复中这类研究越来越多^[29-31]。其中 Biolog GN 微平板反应系统是基于革兰氏阴性菌(Gram-negative bacteria)对 95 种不同的单一碳源有不同的代谢能力的原理,用于研究微生物群落结构和功能上的差异,土壤微生物群落的 ELISA 反应速度和最终能达到的程度与群落内能利用单一碳源的微生物数量和种类相关^[17]。

本文采用 BIOLOG GN 微平板对 4 种土壤的微生物群落结构进行了测定,土壤平均吸光值(AWCD)随培育时间的变化见图 5。从图 5 中可以看出,在 1 周的培养时间内,4 个供试土样的 AWCD 值随着培养时间的增加呈现明显上升的趋势,整个曲线形成脊柱后凸的态势,这种曲线变化关系与微生物对环境变化反应的特征相吻合^[32]。4 种曲线之间也存在区别,其中 S1、S2 的 AWCD 值始终高于 S3、S4,并且 S1、S2 的 Biolog 盘的颜色变化较 S3、S4 快,说明微生物的 ELISA 反应很快,在 48 h 时,区别最大。而在 S1 与 S2

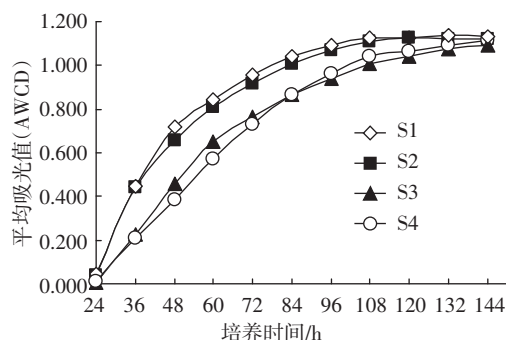


图 5 PCBs 不同污染土壤的微生物培育过程中 AWCD 变化

Figure 5 AWCD changes during incubation of microbial community in soils contaminated with PCBs

之间差异不明显,S3 与 S4 土壤之间差异也不明显,这与土壤基础呼吸、微生物生物量碳、氮的变化趋势一致。Biolog 盘的颜色变化取决于能利用单一碳源的土壤微生物的种类和数量。在 4 个土样中,144 h 时 AWCD 值均达到最高,分别是 1.13、1.12、1.09、1.11,比较接近,可能是由于随测定时间较长,可利用单一碳源的微生物因碳源逐渐减少其数量变化所致,同时说明在 4 种土壤中微生物种群组成基本相同。从图 5 还可看出,4 种土壤中微生物的 ELISA 反应速度不同,说明在供试土壤中参与反应的微生物数量不同,其中在 S1、S2 土壤中微生物数量要多于 S3、S4 土壤,从而也说明土壤中 PCBs 含量影响土壤微生物种内数量。该结果较菌落平板培养计数能更准确地反映出土壤污染程度对微生物数量(主要是好氧细菌)的影响。

为了进一步比较微生物群落功能多样性的差异,采用了能从不同侧面反映微生物群落功能多样性的指数进行了比较。Shannon 指数受群落物种丰富度影响较大,Simpson 指数较多地反映了群落中最常见物种,而 McIntosh 指数则是群落物种均一性的度量^[9,33]。对 4 种土壤在反应 48 h 时的 AWCD 和由此计算出的 5 种多样性指数进行了比较(见表 3),可以看出 4 个土壤样品的功能多样性指数是存在一定差别的,基本上可以分为 2 组(S1、S2 和 S3、S4)。在两组之间,Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数差异较明显,其中 Simpson 指数达到显著水平,5 种指数在土壤中的差别基本与 PCBs 在土壤中的污染程度相对应的。这说明土壤中 PCBs 对土壤微生物的物种丰富度、常见物种数以及均一度方面都产生了影响。

3 结论

(1)本研究 PCBs 自然污染土壤中细菌、放线菌数量的变化不明显,真菌数量除与土壤污染程度有关,还受到土壤其他性质的影响。

(2)在微生物的生理活性方面,土壤基础呼吸、微生物生物量碳、氮随着土壤 PCBs 污染程度加重呈现

下降趋势,但微生物的 C/N 并没有随土壤污染程度的增加而增加,基本上保持稳定。而且 PCBs 污染对供试土壤的微生物群落功能多样性产生了一定程度的影响,体现在微生物的种群丰富度和常见物种数等方面的改变。

参考文献:

- [1] Valle M D, Jurado E, Dachs J, et al. The maximum reservoir capacity of soils for persistent organic pollutants: implications for global cycling[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 134: 153–164.
- [2] Backe C, Cousins I T, Larsson P. PCB in soils and estimated soil–air exchange fluxes of selected PCB congeners in the south of Sweden[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 128: 59–72.
- [3] Andreoni V, Cavalca L, Rao M A, et al. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils[J]. *Chemosphere*, 2004, 57: 401–412.
- [4] Edvantoro B B, Naidu R, Megharaj M, et al. Changes in microbial properties associated with long-term arsenic and DDT contaminated soils at disused cattle dip sites[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2003, 55: 344–351.
- [5] Megharaj M, Kantachote D, Singleton I, et al. Effects of long-term contamination of DDT on soil microflora with special reference to soil algae and algal transformation of DDT[J]. *Environmental Pollution*, 2000, 109: 35–42.
- [6] Stenberg B. Monitoring soil quality of arable land: microbial indicators[J]. *Acta Agric Scand, B Soil Plant Science*, 1999, 49: 1–24.
- [7] Kasyanova Y V, Ananyeva N D, Blagodatskaya Y V, et al. Ecologo-microbiological soil monitoring in the vicinity of a chemical plant[J]. *Eurasian Soil Science*, 1996, 28: 133–143.
- [8] Hofman J, Dusek L, Klanova J, et al. Monitoring microbial biomass and respiration in different soils from the Czech Republic—a summary of results[J]. *Environment International*, 2004, 30: 19–30.
- [9] 杨永华,姚 键,华晓梅.农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. *微生物学杂志*, 2000, 20(2): 23–25, 47.
- [10] YANG Yong-hua, YAO Jian, HUA Xiao-mei. Effect of pesticide pollution against functional microbial diversity in soil[J]. *Journal of Microbiology*, 2000, 20(3): 23–25, 47.
- [10] Fang C, Radosevich M, Fuhrmann J J. Characterization of rhizosphere microbial community structure in five similar grass species using FAME and BIOLOG analyses[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33: 679–682.

表 3 PCBs 不同污染下土壤微生物群落功能多样性指数的比较

Table 3 Comparison of diversity indices of microbial communities in soils contaminated with PCBs

土壤 Soil	AWCD	Shannon index	Shannon evenness	Simpson index	McIntosh index	McIntosh evenness
S1	0.717±0.004	4.353±0.023	0.956±0.005	71.20±0.129	8.078±0.600	0.982±0.000
S2	0.655±0.004	4.323±0.025	0.949±0.005	68.51±0.142	7.528±0.552	0.980±0.001
S3	0.459±0.005	4.033±0.036	0.886±0.008	49.92±0.273	6.180±0.521	0.957±0.002
S4	0.384±0.004	4.099±0.035	0.900±0.008	50.57±0.305	5.128±0.405	0.958±0.000

- [11] 高 军. 长江三角洲典型污染农业土壤多氯联苯分布、微生物效应和生物修复研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2005.
- GAO Jun. Distribution, microbial effects and bioremediation of PCBs in typical polluted agricultural soils in the Yangtze River Delta [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2005.
- [12] Parkinson D, Paul E A. Methods of soil analysis, part 2, microbial biomass[M]. Madison, Wis: America Society of Microscopy, 1982: 21–829.
- [13] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring microbial biomass C[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19: 703–707.
- [14] Brookes P C, Landman A, Pruden G. Chloroform fumigation and the release of soil N: a rapid extraction method to measure microbial biomass N in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17: 837–842.
- [15] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 上海: 上海科技出版社, 1986: 226–228.
- XU Guang-hui, ZHEN Hong-yuan. Analytical methods manual of soil microbe[M]. Shanghai: Science & Technology Press, 1986: 226–228.
- [16] 李阜棣, 喻子牛, 何绍江, 等. 农业微生物学实验技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 69–72.
- LI Fu-di, YU Zi-niu, HE Shao-jiang, et al. Experiment skills of agricultural microbiology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996: 69–72.
- [17] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on basis of community-level sole-carbon-source utilization[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 1991, 57: 2351–2359.
- [18] Bronwyn D H, Raymond L C. Using the Gini coefficient with BIOLOG substrate utilization data to provide an alternative quantitative measure for comparing bacterial soil communities[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30: 91–101.
- [19] Borja J, Taleon D M, Aurensen J, et al. Polychlorinated biphenyls and their biodegradation[J]. *Process Biochemistry*, 2005, 40(6): 1999–2013.
- [20] 尹 睿, 张华勇, 黄锦法, 等. 保护地菜田与稻麦轮作田土壤微生物学特征的比较[J]. 植物营养与肥料学报, 2004, 10(1): 57–62.
- YIN Rui, ZHANG Hua-yong, HUANG Ji-fa, et al. Comparison of microbiological properties between soils of rice-wheat rotation and vegetable cultivation[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2004, 10(1): 57–62.
- [21] Top E M, Maila M P, Clerinx M, et al. Methane oxidation as method to evaluate the removal of 2, 4-D from soil by plasmid-mediated bioaugmentation[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1999, 28: 203–213.
- [22] Margesin R, Schinner F, Zimmerbauer A. Monitoring of bioremediation by soil biological activities[J]. *Chemosphere*, 2000, 40: 339–346.
- [23] Ghosha A K, Bhattacharyya P, Pal R. Effect of arsenic contamination on microbial biomass and its activities in arsenic contaminated soils of Gangetic West Bengal[J]. *India Environment International*, 2004, 30: 491–499.
- [24] Borgå K, Wolkers H, Skaare J U, et al. Bioaccumulation of PCBs in Arctic seabirds: influence of dietary exposure and congener biotransformation[J]. *Environmental Pollution*, 2005, 134: 397–409.
- [25] Garcá C, Hernández T, Roldán A, et al. Organic amendment and mycorrhizal inoculation as a practice in afforestation of soils with *Pinus halepensis* Miller: effect on their microbial activity[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32: 1173–1181.
- [26] Caravaca, Roldán. Assessing changes in physical and biological properties in a soil contaminated by oil sludge under semiarid Mediterranean conditions[J]. *Geoderma*, 2003, 117: 53–61.
- [27] Bünemann E K, Bossio D A, Smithson P C, et al. Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36: 889–901.
- [28] Hiroki M. Effect of arsenic pollution on soil microbial population[J]. *Soil Science & Plant Nutrition*, 1993, 39: 227–235.
- [29] Macnaughton S J, Stephen J R, Venosa A D, et al. Microbial population changes during bioremediation of an experimental oil spill[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65: 3566–3574.
- [30] 王秀丽, 徐建明, 姚槐应, 等. 重金属铜、锌、镉、铅复合污染对土壤环境微生物群落的影响 [J]. 环境科学学报, 2003, 23 (1): 22–27.
- WANG Xiu-li, XU Jian-ming, YAO Huai-yin, et al. Effects of Cu, Zn, Cd and Pb compound contamination on soil microbial community[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2003, 23(1): 22–27.
- [31] Leys N M, Ryngaert A, Bastiaens L, et al. Occurrence and community composition of fast-growing *Mycobacterium* in soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2005, 51: 375–388.
- [32] Giller K E, Beare M H, Lavelle P, et al. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function[J]. *Applied Soil Ecology*, 1997(6): 3–16.
- [33] 孔维栋, 刘可星, 廖宗文. 有机物料种类及腐熟水平对土壤微生物群落的影响[J]. 应用生态学报, 2004, 15(3): 487–492.
- KONG Wei-dong, LIU Ke-xing, LIAO Zong-wen. Effects of different organic materials and their composting levels on soil microbial community[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(3): 487–492.