

耐镉菌株对土壤镉形态及土壤微生物群落结构的影响

王京文¹, 李 丹¹, 柳 俊², 侯昌萍², 张奇春^{2*}

(1.杭州市植保土肥总站, 杭州 310020; 2.浙江大学环境与资源学院, 杭州 310058)

摘要:通过传统的分离方法和室内培养实验,从污染土壤中筛选和分离耐镉菌株并分析耐镉菌株对土壤镉形态及微生物群落结构的影响。从浙江省富阳市电镀厂污染土壤中分离得到具有强活化作用的耐镉菌株 m6,形态学观察和 16S rDNA 序列分析可知, m6 与 *Arthrobacter* 的 16S rDNA 序列具有 99% 的同源性,其在系统发育地位上属于 *Bacteria*, *Actinobacteria*, *Actinobacteridae*, *Actinomycetales*, *Micrococcineae*, *Arthrobacter*。研究表明耐镉菌株 m6 可使土壤中水溶态镉增加 2 倍多,可交换态镉增加 16%。Biolog-ECO 法的结果表明,接种耐镉菌株培养后土壤的 AWCD 值提高 14%~146%,而且土壤微生物对 31 种碳源中的糖及衍生物、胺类碳源和多聚物类利用程度增加;磷脂脂肪酸法(PLFA)分析结果表明,与不接种菌株 m6 相比,接种土壤的脂肪酸总量增加了 23.65%,代表真菌的特征脂肪酸(如 18:2 ω 6, 9, 16:1 ω 5c, 18:1 ω 9c)明显增加,但土壤的 G⁻/G⁺比值与对照相比降低 38.6%,而且土壤中代表放线菌的特征脂肪酸(如 10Me 16:0, 10Me 17:0 和 10Me 18:0)的多样性有所降低。

关键词:土壤;镉形态分级;耐镉菌;磷脂脂肪酸;微生物群落结构

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2015)09-1693-07 doi:10.11654/jaes.2015.09.010

Effects of Cadmium Tolerant Bacteria on Soil Cadmium Forms and Microbial Community Structure

WANG Jing-wen¹, LI Dan¹, LIU Jun², HOU Chang-ping², ZHANG Qi-chun^{2*}

(1.Plant Protection and Soil-Fertilizer Station of Hangzhou City, Hangzhou 310020, China; 2.College of Environmental and Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract: Soil pollution with heavy metals is one of the most severe environmental and human health problems. Microbial remediation of heavy metal polluted soils has received increasing interests. Here a cadmium-resistant bacterial strain m6 that could activate cadmium was isolated from heavy metal-polluted soils in Fuyang City, Zhejiang Province, and was identified as *Arthrobacter* by 16S rDNA gene sequence analysis. Then, the effects of the isolated strain on heavy metal solubilization and soil microbial community structure were investigated in a pot experiment. Soil cadmium fractions were also evaluated using modified Tessier sequential extraction method. Inoculation of the isolate m6 increased the concentration of soluble cadmium by 43.47% and soil exchangeable cadmium by 16%, indicating the ability of the strain to solubilize cadmium. After inoculation with the strain, the average well color development (AWCD) values of soil were increased by 14%~146% and the utilization of sugar and derivatives, amines, and polymer were also enhanced. Inoculation of cadmium-tolerant bacterial isolates increased total phospholipid fatty acid (PLFA) by 23.56%, and enhanced the fungal signature PLFAs (18:2 ω 6, 9, 16:1 ω 5c, and 18:1 ω 9c) significantly, but reduced the actinomycete PLFAs (10Me 16:0, 10Me 17:0 and 10Me 18:0) significantly, and decreased G⁻/G⁺ ratio by 38.6%.

Keywords: soil; cadmium fractionation; cadmium tolerant bacteria; phospholipid fatty acid (PLFA); microbial community structure

镉因移动性大、毒性高、污染面积广被称为“五毒之首”。矿产资源的不合理开采及废物排放等因素

导致我国土壤镉污染严重^[1]。目前,重金属的修复方法主要有化学修复、生物修复和动物修复^[2]。微生物特别是细菌数量多、比表面积大、带电、代谢活动旺盛,在修复被重金属污染的土壤方面具有独特的作用,不仅可以通过吸附和累积重金属降低土壤中重金属的毒性,以此来净化有毒金属污染或回收有经济价值的金属^[3-4],而且可以通过其代谢活动及代谢产物促进重金

收稿日期:2015-04-07

基金项目:杭州市科技局项目(20140533B10);国家自然科学基金青年基金项目(J20140634)

作者简介:王京文(1974—),女,高级农艺师,主要从事土壤肥力和土壤污染研究。

* 通信作者:张奇春 E-mail:qc Zhang@zju.edu.cn

属的溶解,使土壤中呈固态的重金属活化成为可溶态或交换态^[5-6],便于植物吸收富集,因而大幅度提高植物修复效率,解决植物修复技术(Phytoremediation)中土壤重金属低生物有效性的限制。许多研究者对土壤中的耐镉菌进行了研究,但已报道的大部分微生物修复技术只局限在科研和实验室水平,实例研究还不多。

土壤中微生物数量巨大、种类繁多,是土壤中最活跃的生物群体^[7]。土壤微生物在土壤的物质循环和能量流动等方面发挥着巨大作用,推动着土壤有机质的矿化。但是土壤微生物具有复杂性,当外源微生物添加之后,必然会引起土壤微生物群落结构的变化,但目前对其原因及发生变化微生物的种类都不明确。Biolog-ECO 微平板技术是以碳源利用为基础的定量分析,为描述微生物群落功能多样性提供了一种行之有效而快速的方法,并且已被广泛应用^[8-9]。磷脂脂肪酸(PLFA)是活生物体细胞膜的重要成分,不同种类的微生物可以通过不同的生化途径生成不同的磷脂脂肪酸,磷脂构成的变化能够反映样品中微生物群落结构的变化,通过此方法可以对不同土壤微生物群落,如表征细菌、真菌、放线菌、革兰氏阳性细菌、革兰氏阴性细菌的磷脂脂肪酸标进行识别和定量描述^[10-12]。因此,本研究联合运用 Biolog 法和 PLFA 法,在筛选和鉴定对镉具有活化作用的细菌基础上,研究其对土壤镉形态以及土壤微生物群落结构的影响,弄清土壤微生物与耐镉菌之间的相互关系,对于微生物在修复被重金属污染的土壤方面具有重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 样品采集

土壤样品采自浙江省富阳电镀厂附近土壤(采样深度 0~20 cm),共采集 5 个混合样。该地区属亚热带季风气候,冬季多偏北风和西北风,风速较大;夏季多东南风及西南风,风速较小。年均气温 16.1℃,7—8 月最热,1 月最冷,年均日照时数 1 927.7 h,无霜期约 231 d,年均降雨量 1 441.9 mm。供试土壤基本理化性质及重金属含量如表 1。

表 1 供试土壤的基本理化性质及重金属含量

Table 1 Basic properties and heavy metal content of tested soil

理化指标	pH	有效磷/ mg·kg ⁻¹	速效钾/ mg·kg ⁻¹	碱解氮/ mg·kg ⁻¹	Hg/ mg·kg ⁻¹	As/ mg·kg ⁻¹	Pb/ mg·kg ⁻¹	Cr/ mg·kg ⁻¹	Cd/ mg·kg ⁻¹	Cu/ mg·kg ⁻¹	Zn/ mg·kg ⁻¹
实测值	7.56	13.38	146.67	162.96	0.11	10.12	52.39	74.86	4.41	75.44	1087

1.2 耐镉细菌的筛选

取 10 g 土样 4 份,无菌条件下将其置于装有适量玻璃珠和 90 mL 无菌水的三角瓶中,在旋转式摇床上 150 r·min⁻¹、28℃振荡 30 min 后稀释到 10⁻³、10⁻⁴、10⁻⁵,分别取 200 μL 涂布在含有 100 mg·L⁻¹ 镉的牛肉膏蛋白胨培养基平板上,于 28℃培养箱中倒置培养 2~3 d。将平板表面形态有差异单菌落挑出,然后在含 100 mg·L⁻¹ 镉的平板上划线,经过七次划线培养,分离出耐镉的纯种细菌菌株并制成菌液。分别准确吸取各菌液 1 mL 接入 100 mL 预先灭菌的牛肉膏蛋白胨液体培养基,培养基含镉浓度为 100 mg·L⁻¹ (先将 3CdSO₄·8H₂O 溶液单独灭菌,然后将一定体积的该溶液加入到牛肉膏蛋白胨液体培养基中,使培养基中镉的终浓度为 100 mg·L⁻¹,培养液中可见一定的沉淀物),于 28℃下振荡培养 48 h。取 5 mL 培养液,10 000 r·min⁻¹ 离心 10 min,取 1 mL 上清液,用火焰光度计测定镉的浓度,计算活化率,筛选活化率最高的菌株。

1.3 耐镉菌株 16S rDNA 的 PCR 扩增和序列测定

将筛选出的菌株摇床培养至对数期,离心并收集菌体,抽取基因组 DNA。采用细菌通用引物 27f(5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492r(5'-TAC-CTTGTACGACTT-3') 对菌株分别扩增总 DNA 中的细菌 16S rDNA 片段。

PCR 反应条件:94℃变性 5 min;94℃ 30 s,55℃ 45 s,72℃ 45 s,35 个循环;最后 72℃延伸 7 min。PCR 扩增体系 20 μL,各组分如下:2x Easytap MIX 10 μL;引物 27f(10 μmol·L⁻¹)1 μL;引物 1492r(10 μmol·L⁻¹)1 μL;DNA 模板 1 μL;ddH₂O 7 μL。扩增产物用 DNA 回收试剂盒(上海生工)回收后连接到 pMD18-Tector (大连宝生物工程)转化到 *E.coli* DH5α 中,挑取阳性克隆子,由上海生工生物工程公司进行测序。测得的 DNA 序列经 NCBI(National Center for Biotechnology Information)BLAST 引擎搜索后,用 CLUSTAL X (Ver. 1.8)软件将这些序列与若干个近缘种以及其他几个系统发育相关属的 16S rRNA 基因序列进行排列比对。利用 MEGA 5.05 软件构建细菌的系统进化树,综合各菌株的理化性质测定结果确定分类地位。

1.4 耐镉菌株对土壤镉形态及微生物影响的培养试验

处理 T:将鉴定的菌株制成菌悬液,28 ℃ 培养 18 h,接入富阳电镀厂被镉污染的土壤中,使菌株的细胞数量达到 $8.0 \times 10^6 \sim 9.0 \times 10^6$ CFU $\cdot$ g $^{-1}$ 土。处理 C:不加菌液,加液体培养基。各处理均为 5 个重复,分别为 T1~T5 和 C1~C5。28 ℃ 恒温培养 5 d 后进行土壤重金属 Cd 的形态和微生物群落功能和结构多样性分析。

土壤重金属 Cd 的形态采用 Tessier 多级连续提取法^[13-14],土壤微生物功能多样性采用含有 31 种碳源的 Biolog-ECO 微平板培养技术测定。具体方法为:称取新鲜土样 5.00 g,加入 45 mL 无菌水在摇床上振荡 30 min,然后将土壤样品稀释 1000 倍,再从中取 150 μ L 该悬浮液接种到 Biolog-ECO 微平板的每一个孔中,于 1 h 内测定第一次吸光值,最后将接种的微平板放在 28 ℃ 的恒温培养箱中暗培养 152 h,每隔 12 h 采用 BIOLOG 读数仪(BIOLOG, Hayward, USA)测定各孔在 750 nm 和 590 nm 波长下的光吸收值。土壤微生物结构多样性采用传统的 PLFA 法^[15],称取土样 2.0 g 于试管内,用氯仿-甲醇-柠檬酸缓冲液(体积比 1:2:0.8)振荡提取脂类,通过硅胶柱层析分离得到磷酸酯脂肪酸,碱性甲酯化后用气相色谱分析各种脂肪酸的含量。

1.5 数据处理

以每孔平均吸光度(Average well color development, 简称 AWCD)作为整体活性的有效指数之一。采用 Excel 2003 计算土壤微生物 AWCD 值及多样性指数,并采用 SPSS 19.0 进行方差分析和主成分分析。

2 结果与讨论

2.1 耐镉细菌的筛选与鉴定

从污染土壤样品中共分离到生长良好的耐镉菌 17 株,生长较快的用 k 命名,生长较慢的用 m 命名,分别命名为 k1~k10 和 m1~m7。这些菌株呈杆状,末端呈圆形。在 LB 琼脂平板上,k1~k10 耐镉菌表面光滑湿润,边缘整齐,生长快,颜色为白色或暗黄;m1~m10 耐镉菌表面粗糙干燥,边缘整齐,生长慢。从表 2 可以看出,分离的 17 株耐镉菌株中 9 株表现出对液体中镉的浓度具有不同程度的钝化作用,占到分离菌株的 53%。从表 2 中可以看出,大部分使镉浓度降低的菌是以 k 命名的,说明生长较快的菌表现出对镉的钝化。研究^[16]表明微生物特别是细菌,数量多、比表面积大、带电、代谢活动旺盛,可通过多种方式对重金属进行生物吸附。耐镉菌中 k1 对液体中有效镉吸附

表 2 耐镉菌处理后液体培养基中重金属镉浓度的变化

Table 2 Variation of cadmium concentration in medium after treatment with cadmium-resistant bacteria

菌株	培养基镉浓度/mg $\cdot$ L $^{-1}$	活化率或钝化率/%	培养液 pH
k1	70.60e	-33.03	6.70b
k2	100.12c	-5.03	6.50b
k3	103.52c	-1.80	7.00a
k4	114.87b	8.96	6.00c
k5	94.22d	-10.62	6.00c
k6	104.07c	-1.28	6.80b
k7	101.05c	-4.15	6.30c
k8	114.12b	8.25	6.50b
k9	104.20c	-1.16	7.00a
k10	88.72d	-15.84	6.80b
m1	100.10c	-5.05	6.00c
m2	115.12b	9.20	6.20c
m3	112.72b	6.92	6.50b
m4	113.27b	7.45	6.70b
m5	114.75b	8.85	6.00c
m6	151.25a	43.47	4.50d
m7	106.70c	1.21	6.50b
CK	105.42c	0.00	7.00a

注:同一列中数据后的字母相同表示未达 5% 差异水平。

Note: In a column, data followed by the same letters denote no difference at LSD 5%.

能力较强,使液体中有效镉的浓度降低了 33%。对比 k1,其他菌株对有效镉的吸附能力一般。除了 9 株耐镉菌对有效镉表现出吸附能力,其他 8 株菌一致表现出对液体培养基中重金属镉的活化作用。从表 2 还可以看出,接种耐镉菌分别使培养液中有效态镉的浓度增加了 1.21%~43%,其中耐镉菌 m6 使培养液中有效态镉增加了 43.47%,为活化率最高值。不接菌的培养液 pH 值为 7.0,接种耐镉菌株 m6 的培养液 pH 值为 4.5,说明这些菌株在生长代谢过程中产生大量酸性物质,而这些酸性物质可能会使培养基中原来处于沉淀态的重金属被活化成为可溶态离子^[17]。根据本实验目的,选择活化率最高的 m6 菌株进行分析。将 m6 的 16S rDNA 部分序列(Gene Bank 上的注册号为 KM349307)在 NCBI 上进行 BLAST 比较,结果表明 m6 与 *Arthrobacter* 的 16S rDNA 序列具有 99% 的同源性,从系统进化树(图 1)可以看出,m6 菌株同 *Arthrobacter scleromae* 和 *Arthro-bacter aurescens* 两个种关系密切。在系统发育地位上属于 *Bacteria*, *Actinobacteria*, *Actinobacteridae*, *Actinomycetales*, *Micrococcineae*, *Arthrobacter*。节杆菌(*Arthrobacter*)属于革

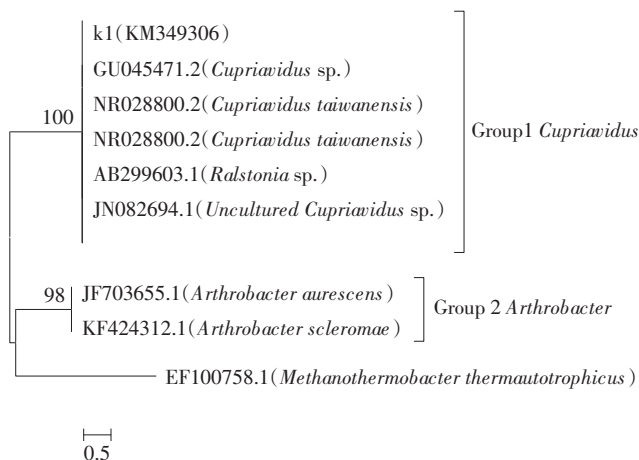


图1 细菌 m6 的 16S rDNA 序列的系统发育树

Figure 1 Phylogenetical tree based on 16S rDNA sequence of strain m6

兰氏阳性菌,是所有土壤细菌中最为常见的细菌之一,有明显的生长周期,不形成芽孢,不运动,专性好氧,化能异氧,呼吸代谢,不发酵。综上所述, m6 代表了在系统发育上明显不同的类群。

2.2 耐镉菌株对土壤镉形态的影响

供试土壤为富阳电镀厂附近被镉污染的土壤,平均总镉浓度为 $4.15 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,可见研究区内重金属镉的含量较高,既超过全国土壤背景值 ($0.097 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)^[18],也超过国家土壤环境质量二级标准 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($\text{pH} > 7.5$)。根据改进的 Tessier 连续提取法,将重金属镉形态分为水溶态、可交换态、铁锰氧化物结合态、有机物结合态及残渣态。一般认为,水溶态和可交

换态是生物可利用态;有机态和铁锰态为生物潜在可利用态;残渣态重金属为生物不可利用态。如表 3 所示,不管是菌株处理前还是处理后,土壤重金属镉各形态均表现为铁锰氧化物结合态>残渣态>可交换态>有机态>水溶态。培养处理前铁锰氧化物结合态所占比例为 67%,残渣态为 29%,可交换态、有机态和水溶态分别占总量的 5%、3.7%和 0.08%。由于供试土壤重金属镉水溶态和可交换态含量低,镉迁移性不大,不容易被生物吸收利用,但铁锰氧化物结合态和残渣态含量高,说明土壤中不但生物不可利用态含量较高,而且生物潜在可利用态最高,如果在比较强的酸性介质以及适当的环境条件下可以增加镉的利用性。经过菌株 m6 处理后,土壤中水溶态镉增加了 2 倍多,可交换态镉增加了 16%,而铁锰态和有机态镉却不同程度地下降,说明菌株 m6 可使土壤中难溶态镉向有效态镉转化,能够作为较好的试验材料应用于抗性菌株强化植物富集重金属镉的研究中。

2.3 耐镉菌株对土壤微生物群落功能和结构的影响

已有研究^[19-20]表明外源菌液施入农田土壤明显改变了土著土壤微生物区系。目前已对耐镉菌的微生态进行了一些研究,如刘爱民等^[21]应用 PCR-DGGE 技术研究表明镉铜污染尾矿物添加耐镉、铜菌剂可提高尾矿中土著微生物的活性和群落丰富度,为进一步了解耐镉菌株添加后对土壤微生物功能和群落结构的影响,本文采用 Biolog 法和 PLFA 法对培养前后的土壤微生物功能多样性和结构多样性进行了初步研究。

表 3 菌株处理前后土壤镉不同形态含量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

Table 3 Content of different Cd fractions in soil before and after strain treatment

处理		水溶态	可交换态	铁锰态	有机态	残渣态	累计全量	实测总量
菌株处理	T1	0.009 7	0.21	2.27	0.12	1.40	4.00	4.48
	T2	0.005 1	0.21	1.95	0.13	0.64	2.93	3.68
	T3	0.006 4	0.20	3.83	0.12	0.96	5.10	6.99
	T4	0.009 5	0.21	1.78	0.10	1.04	3.14	3.50
	T5	0.006 7	0.20	2.07	0.10	0.96	3.34	3.40
	Average	0.009 7a	0.21a	2.27b	0.12a	1.00a	3.70a	4.41a
对照处理	C1	0.003 1	0.18	2.35	0.13	1.03	3.69	4.42
	C2	0.004 1	0.16	2.15	0.12	1.07	3.51	4.23
	C3	0.005 2	0.18	1.91	0.09	1.42	3.61	4.59
	C4	0.004 0	0.16	2.04	0.11	1.11	3.44	3.41
	C5	0.006 3	0.18	1.03	0.09	1.89	3.20	4.09
	Average	0.003 1b	0.18b	2.35a	0.13a	1.03a	3.49a	4.15a

注:同一列中数据后的字母相同表示未达 5%差异水平。

Note: In a column, data followed by the same letters denote no difference at LSD 5%.

Biolog-ECO 法通过土壤微生物对不同碳源利用能力差异的研究,可深入了解微生物群落的结构组成,是描述土壤微生物群落特征的一个重要指标,土壤微生物群落功能多样性可反映群落总体的动态变化。图 2 为 Biolog-ECO 微平板样品的 AWCD 值随培养时间的变化情况。在 32 h 之内,AWCD 值很小,几乎没有变化,表明此时能源碳基本上未被利用,此后 AWCD 值不断增加。在相同的培养时间点,T1~T5 的 AWCD 值均高于对照,分别比 C1~C5 提高 14%~146%,说明外源添加耐镉菌株后土壤的微生物活性明显增强,代谢加快。土壤微生物多样性反映了群落总体的变化,但不能反映群落代谢的详细信息,研究土壤微生物对不同碳源的利用能力大小可反映出微生物群落的结构组成差异,有助于更全面地了解土壤微生物群落代谢功能特性^[2]。结合有机化合物化学官能团、微生物生理代谢途径和生态功能三方面,将 Biolog-ECO 微平板上的 31 种碳源划分为糖及其衍生物类、氨基酸类、羧酸类、酚酸类、多聚物类和胺类六大类型^[23]。从对碳源的综合利用情况分析,施入菌液后土壤微生物群落对碳源的利用能力增强,主要表现对糖及衍生物、胺类碳源和多聚物类利用程度显著增加(图 3)。

我们进一步运用磷脂脂肪酸法(PLFA),对接种耐镉菌株的土壤微生物群落结构多样性进行定量描述。各个处理中通过磷脂脂肪酸(PLFA)法检测出了从 C14 到 C20 共 26 种脂肪酸(数据未列出)。与不接种 m6(C)相比,接种土壤的脂肪酸的总量增加了 23.65%,i14:0、i15:0、a15:0、15:0、i16:0、i17:0、a17:0、cy17:0、17:00、i18:0、18:1 ω 9c、18:1 ω 7c 等脂肪酸含量都有不同程度的增加,增幅在 5%~20%之间。接种处理(T)土壤中 G^-/G^+ 为 0.54,比对照降低 38.6%,说明

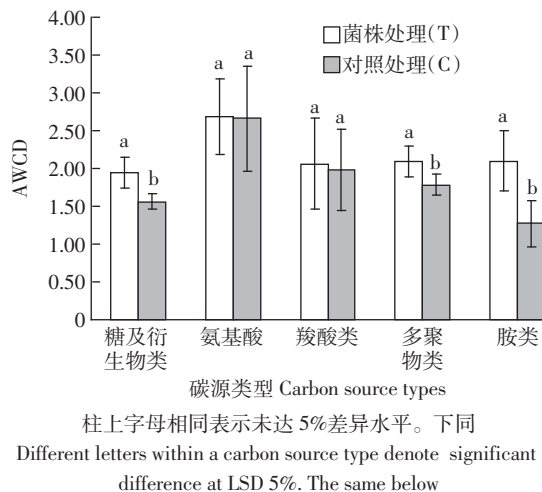


图 3 菌株处理土壤微生物群落对不同碳源的利用强度

Figure 3 Carbon metabolic intensity of soil microbial community in different treatments

经过接种处理土壤中的革兰氏阳性菌的比例增加,而革兰氏阴性菌的比例下降(图 4)。对各个磷脂脂肪酸含量进行主成分分析(PCA)可知,第一主成分(PC1)对 PLFA 数据变异的贡献率是 40.13%,第二主成分

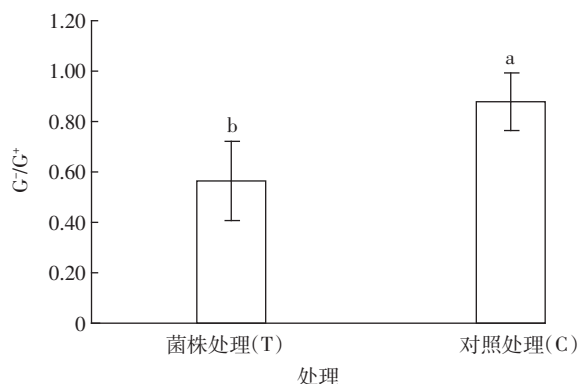


图 4 不同处理 G^-/G^+ 细菌

Figure 4 Ratio of G^- to G^+ PLFAs in different antibiotic treatments

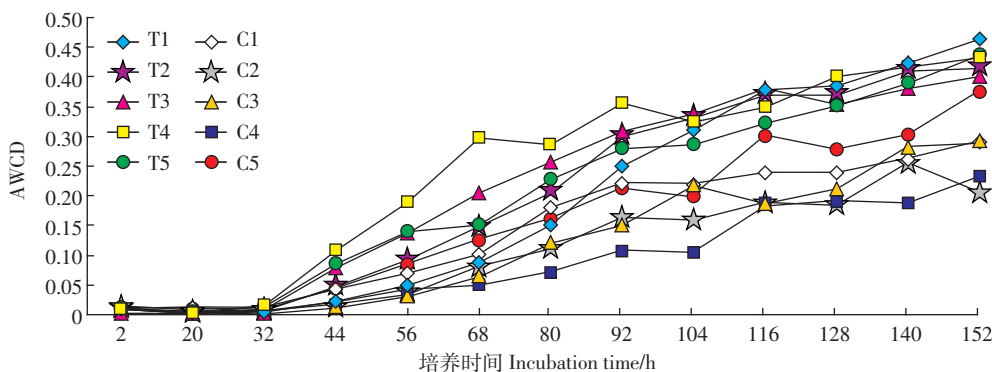


图 2 菌株处理(T)和对照处理(C)土壤在 BIOLOG 测试中 AWCD 随培养时间的变化

Figure 2 Average well color development(AWCD) in different treatments over incubation time(T:Strain inoculation; C:Control)

- phospholipid fatty acid biomarkers[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2013, 32(1):64-71.
- [12] Dong H Y, Kong C H, Wang P, et al. Temporal variation of soil frie-delin and microbial community under different land uses in a long-term agroecosystem[J]. *Soil Biol Biochem*, 2014, 69:275-281.
- [13] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 2000:470-482.
- LU Ru-kun. Analysis methods of soil and agricultural chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000:470-482.
- [14] Tessier A, Campbell P G C, Bisson M. Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals[J]. *Analytical Chemistry*, 1979, 51(7):844-851.
- [15] Frosteggt A, Tunlid A, Baath F. Phospholipid fatty acid composition, biomass and activity of microbial communities from two soil types experiment ally exposed to different heavy metals[J]. *Applied Environ Microb*, 1993, 59(11):3605-3617.
- [16] Hassan S H A, Kim S J, Jung A Y, et al. Biosorptive capacity of Cd(II) and Cu(II) by lyophilized cells of *Pseudomonas stutzeri*[J]. *J Gen Appl Microbiol*, 2009, 55:27-34.
- [17] Petanen T, Romantsehu M. Use of biohminescent bacterial sensors as an ahemative method for measuring heavy metals in soil extracts[J]. *Analytica Chemical Acta*, 2002, 456:55-61.
- [18] 赵 宾, 欧阳建平, 李方林, 等. 长江(公安段)不同地貌成因类型冲积土中 Cd 的分布特征[J]. 地质科技情报, 2008, 27(5):43-46.
- ZHAO Bin, OUYANG Jian-ping, LI Fang-lin, et al. Distribution characters of element Cd in different physiognomy type alluvial soils of Yangtze River(Gong'an Segment) [J]. *Geological Science and Technology Information*, 1979, 51(7):844-851.
- [19] 刘琼光, 杨 艳. 番茄品种抗性与青枯菌和土壤微生物的关系[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2006, 19(3):31-34.
- LIU Qiong-guang, YANG Yan. The relationship between tomato resistance and the quantity of ralstonia solanacearum and rhizosphere microbes[J]. *Journal of Zhongkai University of Agriculture and Technology*, 2006, 19(3):31-34.
- [20] 张信娣, 史永军, 陈银科. 光合细菌和有机肥对土壤主要微生物类群的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2007, 3:59-62.
- ZHANG Xin-di, SHI Yong-jun, CHEN Yin-ke. Change and availability of soil in organic phosphorus components influenced by phosphorus fertilizer application[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2007, 3:59-62.
- [21] 刘爱民, 黄为一. 镉铜污染尾矿土中添加耐镉铜菌剂 J5 后微生物区系多样性的变化[J]. 生态毒理学报, 2006, 1(3):266-271.
- LIU Ai-min, HUANG Wei-yi. Study on the change of microbial community diversity in contaminated soils of cadmium-copper mine tailings after the tolerant-cadmium and tolerant-copper strain J5 added[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 1(3):266-271.
- [22] Insam H, Mitchell C C, Dormaar J F. Relationship of soil microbial biomass and activity with fertilization practice and crop yield of three ultisols[J]. *Soil Biol Biochem*, 1991, 23(5):459-464.
- [23] Choi K H, Dobbs F C. Comparison of two kinds of Biolog micro plates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities[J]. *J Microb Methods*, 1999, 36:203-213.

欢迎订阅 2016 年《环境监控与预警》杂志

《环境监控与预警》是经中华人民共和国新闻出版总署批准,由江苏省环境保护厅主管、江苏省环境监测中心主办、南京大学环境学院和江苏省环境监测协会共同协办的期刊。期刊面向全国公开发刊,国内统一刊号 CN32-1805/X,国际标准刊号 ISSN1674-6732。

本刊致力于传播和推广先进的环保科技成果,聚焦环境前沿科技,介绍国内外环境监测、环境预警、环境信息等领域的新技术、新成果、新发展,跟踪国家及地方的环境政策、环境标准的变化。读者对象主要是从事环境管理、环境监测、环境监察、环境信息、环境治理、环境科学研究及其他领域的环境工作者。常设栏目有:前沿评述、环境预警、监测技术、解析评价、监管新论等。

本刊为双月刊,大 16 开国际标准版,60 页,每逢双月 15 日出版。国内定价(含邮费)15 元/期,全年 90 元。

订阅方法: 1. 邮局订阅:邮发代号:28-414。

2. 自行订阅:汇款后将回执单传真或 e-mail 至以下联系人(回执单下载地址: <http://www.hjjkyyj.com>)。

联系人:朱滢

电话(传真):025-86575218

邮箱:hjjkyyj@163.com

汇款方式: 1. 银行汇款:江苏省环境监测协会(收款单位名称)

开户行:中行凤凰花园城支行 账号:523558192511

2. 邮局汇款:南京市凤凰西街 241 号《环境监控与预警》编辑部

朱滢(收款人) 邮编:210036