

氯氰菊酯与铜复合污染对土壤微生物群落的影响

张 旸, 朱 菟, 孙 成, 肖 琳, 杨柳燕

(污染控制与资源化研究国家重点实验室, 南京大学环境学院, 江苏 南京 210093)

摘 要: 采用常规手段研究了土壤在受氯氰菊酯、铜及二者复合污染后土壤呼吸率及微生物量碳的变化, 采用了分离效果较好的双变性梯度凝胶电泳(DG-DGGE)技术研究微生物群落的变化。结果表明, 低浓度的铜与高浓度的氯氰菊酯复合污染更能促进微生物量碳及土壤呼吸率的增加, 微生物的群落结构也会受到明显影响。而两种污染物分别单独作用时, 铜对微生物的胁迫更大, 有铜组和无铜组在 DGGE 条带上差异较大, Shannon 指数上也有明显不同。当铜的浓度较高时, 加入高浓度的氯氰菊酯在较长的时间后(60 d)对土壤呼吸作用、微生物量碳有一定影响, 可能高浓度氯氰菊酯的加入在一定程度上减弱了高浓度铜对微生物的胁迫, 而微生物群落并无显著的变化。

关键词: 复合污染; 氯氰菊酯; 铜; 微生物群落

中图分类号: X171.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2009)04-0673-07

Structural Diversity of Soil Microbial Communities as A Result of Combined Applications of Copper and Cypermethrin

ZHANG Yang, ZHU Wei, SUN Cheng, XIAO Lin, YANG Liu-yan

(State Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, School of the Environment, Nanjing University, Nanjing 210093, China)

Abstract: The effects of copper, cypermethrin and their combined applications on soil respiration and microbial biomass carbon were studied using the traditional methods. The structural diversity of soil microbial communities was also studied using the denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE), and the double gradient-denaturing gradient gel electrophoresis was used for providing improved resolution of the bands. The results indicated that the soil respiration and the microbial biomass carbon increased when lower concentration of copper and higher concentration of cypermethrin were applied together, and microbial communities were also significantly affected. When copper and cypermethrin were applied alone, soil respiration and microbial biomass carbon were affected largely by copper, and the DGGE bands also showed significantly differences. It also showed significantly differences on Shannon indexes. When the concentration of copper was higher, the application of higher concentration of cypermethrin affected the soil respiration and microbial biomass carbon in a way but had little effect on the structural diversity of microbial communities; maybe higher concentration of cypermethrin could weaken higher concentration of copper's stress on microbial communities.

Keywords: combined pollution; cypermethrin; copper; microbial communities

近两年来, 果园土壤重金属的污染继续受到研究者的关注, Mirlean 等^[1]2007 年报道巴西葡萄园土壤最高铜含量达到 $3\ 200\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 并向更深层的土壤迁移可能造成地下水污染。在我国很多地区的果园, 波尔

多液(硫酸铜和碱石灰的混合物)依然在大量使用。拟除虫菊酯农药是使用最为广泛的一类农药, 2004 年英国作物种植区 75%(4.9 million hm^2) 都使用菊酯农药, 其中氯氰菊酯是最常使用的菊酯农药(2.0 million hm^2)(UK Government, Pesticide Usage Survey Statistics. <<http://pusstats.csl.gov.uk>>. Accessed 2006.)。文献[2-3]报道了菊酯农药的植物毒性, 另外, 菊酯农药对动物生殖系统、甲状腺及免疫功能有不利影响。拟除虫菊酯与波尔多液施用后经雨水冲刷、叶片滴落等作用进入果园土壤, 在土壤中不断累积甚至造成污染。菊酯

收稿日期: 2008-07-27

基金项目: 国家自然科学基金项目(20677025); 江苏省社会发展项目(BS2006052); 镇江市社会发展项目(SH2006076)

作者简介: 张 旸(1983—), 男, 山西阳泉人, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤微生物学。E-mail: goldwasd@126.com

通讯联系人: 孙 成 E-mail: envidean@nju.edu.cn

类农药在土壤中一般经生物和光降解作用降解较快,但由于铜元素具有较好的催化作用和络合倾向^[4],很可能对土壤中农药的环境行为产生一定的影响,二者很有可能对土壤造成复合污染。复合污染研究正逐步成为环境科学和生态学的新热点^[5-6]。国内对重金属和有机物复合污染的研究也开展了较多^[7-9]。

本研究以传统检测手段和现代分子生物学技术相结合,探索氯氰菊酯与铜离子复合污染对土壤生态系统中微生物群落的影响,旨在为建立果园土壤生态系统环境安全性的微生物学评价指标提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土壤

采自紫金山清洁土壤,采样深度 0~20 cm。新鲜土样采集后拣去植物残体,一部分土样于室内自然风干后研磨过筛,供土壤基本理化性状和重金属含量的测定;另一部分土样过 20 目筛后,准备进行试验。土壤基本理化性质见表 1。

表 1 实验土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical characteristics of soils used in the study

供试土壤	pH(H ₂ O)	有机质/ g·kg ⁻¹	CEC/ cmol·kg ⁻¹	全 Cu/ mg·kg ⁻¹	最大田间 持水量/%
紫金山林地土	6.97	9.42	11.80	5.2	65

1.1.2 供试污染物

氯氰菊酯(Cypermethrin, 92%)由高淳农药厂提供;金属 Cu(CuSO₄·5H₂O)购自上海陆都化学试剂厂。

1.2 土壤样品的处理

将新鲜采集的清洁土壤等份均匀混合,过 20 目筛,平均分成如表 2 所示 9 个处理组。

表 2 氯氰菊酯、铜及二者复合添加的处理组

Table 2 Treatment of cypermethrin, copper and their binary combinations

cyper(氯氰菊酯)/ mg·kg ⁻¹	Cu/mg·kg ⁻¹		
	100	300	0
0	2	5	1
10	3	6	8
150	4	7	9

注:表中编号为处理组的编号,下同。

其中氯氰菊酯以甲醇溶液形式加入,Cu 以 CuSO₄·5H₂O 水溶液形式加入到土壤中。各组设 3 个重复,调

节含水量达土壤最大田间持水量的 60%左右,充分混匀。各称取 1 000 g 土样置于洁净大烧杯中,为避免水分过量蒸发,定期称重补充去离子水,置于 22 ℃、空气湿度为 70%的人工气候箱中避光培养。

1.3 实验方法

1.3.1 土壤理化性质的测定

土壤理化性质按常规方法测定^[10]。

1.3.2 土壤基础呼吸率的测定

采用直接吸收法(密闭法)^[11]滴定测定。

1.3.3 土壤微生物量碳的测定

采用氯仿熏蒸法-0.5 mol·L⁻¹ K₂SO₄ 提取法^[12],其提取液中碳用 TOC 分析仪(日本岛津 Shimadzu TOC 2500)测定,校正系数 2.64。

1.3.4 土壤样品总 DNA 提取

土壤微生物总 DNA 提取参照 Martin-Laurent 等的方法^[13]。

1.3.5 PCR 扩增

以纯化后的细菌基因组总 DNA 为模板,采用细菌通用引物 27F 与 1492R 扩增以得到全 16S rDNA;再以该扩增产物为模板,采用对大多数细菌和古生菌的 16S rDNA 基因 V3 区具有特异性的引物对 GC-341F 和 534R^[20]进行扩增。

PCR 反应在 MyCycler(Bio-Rad)上进行,反应体系组成包括:50 ng 的模板、20 pmol 正反向引物、200 μmol·L⁻¹ dNTP、5 μL 的 10×PCR buffer(不含 MgCl₂)、1.5 mmol·L⁻¹ 的 MgCl₂、1 U 的 ExTaq DNA 聚合酶(Takara)和适量的双蒸水补足 50 μL。反应程序包括:94 ℃ 4 min;94 ℃ 45 s,55 ℃ 1 min,72 ℃ 45 s,30 次循环;72 ℃ 10 min;4 ℃ 保存。

1.3.6 双变性梯度凝胶电泳(DG-DGGE)和染色

在单梯度 DGGE 的基础上引入凝胶梯度,从而形成双梯度变性,可以提高泳道中 DNA 条带的分辨率和对环境中微生物的检出率,更有利于对环境中微生物种群多样性进行分析比较^[14]。采用 Bio-Rad 公司 Dcode™ 基因突变检测系统对 PCR 反应产物进行变性梯度凝胶电泳分离。采用聚丙烯酰胺凝胶,胶浓度范围为 6%~12%,变性剂范围为 35%~55%(7 mol·L⁻¹ 尿素和 40%去离子甲酰胺为 100%变性)在 1×TAE 中,60 ℃,120 V 条件下电泳 6 h,取出用 EB 染液染色,Bio-Rad 凝胶成像分析系统。分析染色后的凝胶并拍照。采用 Quantity One 4.2.3 (Bio-Rad)软件对 DGGE 图谱进行分析,对各泳道分离出的条带数目、位置及强度进行比较,根据 Shannon 指数公

式: $H = -\sum P_i \ln P_i$ 计算微生物种群结构的多样性。其中 $P_i = n_i/N$, n_i 表示单一条带的峰面积, N 表示所有峰的总面积。

1.3.7 切胶测序及系统发育分析

对图谱上的优势条带进行切胶回收,以 V3 区引物(不带 GC 夹)采用相同程序进行 PCR 扩增后送交上海 invitrogen 工程技术公司测序。将测序结果提交 NCBI 数据库, Blast 搜索出相似性高的序列。利用 Clustalx (version 1.83) 软件进行多序列比对,通过 Mega 4.0 中 BootStrap 方法构建系统发生树,输出 50% 以上的值,构建系统发育树。

1.4 数据处理

数据显著性差异用 ANOVA 多重比较检验(LSD)计算检验(SPSS 15.0),用 Origin 8.0 作图分析。

2 结果与讨论

2.1 对生物量碳及呼吸强度的影响

土壤微生物生物量作为土壤养分转化的活性库或源,其高低可部分反映土壤微生物活动的强弱和养分转化速率的快慢,是土壤微生物质量变化的灵敏指标^[15]。从图 1 可以看出,各组与空白组对比,只添加了氯氰菊酯的 8、9 组和第 4 组($\text{Cu}100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} + \text{cyper}150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)在 30 d 的时候比对照组的生物量要显著增多,说明在单纯的氯氰菊酯和低浓度铜高浓度氯氰菊酯环境中的微生物的生长可能受到了促进,可能是由于某些微生物可以把氯氰菊酯作为碳源来利用,而且当氯氰菊酯浓度较高时,较低浓度的铜可以与之复合作用于土壤微生物,促进了其中一些微生物对氯氰菊酯的降解^[16]。而当铜的浓度达到 $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,各组微生物量相对于空白组都有所下降,可能是因为高浓度的铜对微生物的活动有抑制所致^[17-18],此时两种污

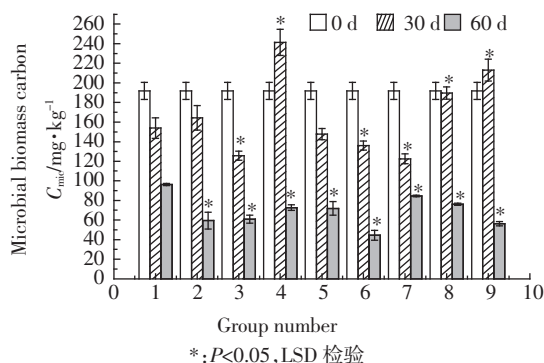


图 1 处理组的微生物量碳的变化

Figure 1 Microbial biomass carbon of the treated soil

染物间铜对微生物量碳的影响更大。到 60 d 时,各组的生物量都有显著下降,第 7 组($\text{Cu} 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} + \text{cyper}150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的下降率(30%)反而要低一些,可能两种污染物均以高浓度添加时,铜在初期会抑制微生物对氯氰菊酯的降解,随着时间的增长,有一些微生物又可以开始降解氯氰菊酯。

从图 2 中可以看出,所有添加了低浓度铜的组(2、3、4)呼吸率在 30 d 相对空白组都有所增加,而所有添加了高浓度铜的组(5、6、7)却有所下降,表明高浓度的铜对微生物的呼吸作用有抑制。而在较低的铜浓度下添加了氯氰菊酯组(3、4)的呼吸作用要强于铜单独作用的组(2),其中添加高浓度氯氰菊酯的作用更加明显(4),可说明此时二者对微生物有着较强的复合作用。只添加氯氰菊酯的组在 30 d 时与空白组差别不大,说明单纯氯氰菊酯对微生物的呼吸作用影响不大。在 60 d 时,添加高浓度铜的组的呼吸率反而有所回升,其中既添加了高浓度氯氰菊酯的组(7)甚至高于空白组,可能是由于高浓度两种污染物的复合在一段时间内对微生物的呼吸作用有抑制,而经过较长时间,某些可以适应的微生物活性有所恢复,导致了呼吸作用又有所回升。

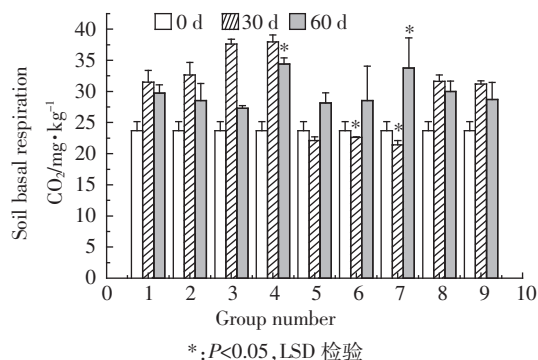


图 2 处理组的土壤基础呼吸

Figure 2 Soil basal respiration of the treated soil

代谢熵反映了土壤微生物利用碳源的效率。该值大,意味着微生物呼吸消耗的碳比例较大,建造微生物细胞的碳比例相对较小,亦即碳源的利用效率低。在 30 d 时,添加了铜的组(4、7 除外)的代谢熵要高于对照组,图 3。Insam^[19]认为高浓度重金属污染土壤中微生物能够更多地利用有机碳作为能源,以 CO_2 的形式释放;而加入了高浓度氯氰菊酯的 4 和 7 两组,可能存在着铜与氯氰菊酯的复合作用,削弱了铜对微生物的胁迫,反而使得微生物能更有效地利用有机碳转化为生物量碳,因此代谢熵相对低一些。在其

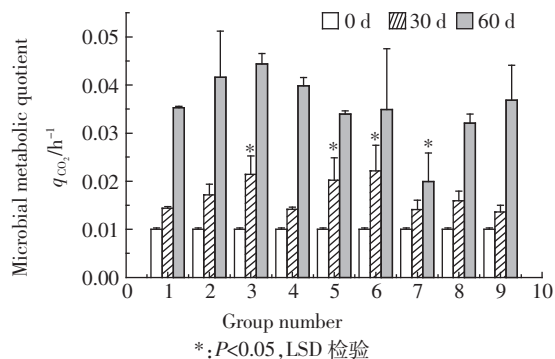


图 3 处理组的微生物代谢熵

Figure 3 Microbial metabolic quotient of the treated soil

余含铜组中,铜的胁迫使得微生物需要消耗更多的能源,更多的把有机碳转化为 CO_2 ,因此代谢熵较高。在 60 d 时,组 7 的代谢熵反而要低一些,说明在同时添加的高浓度铜和高浓度氯氰菊酯的组在较长时间后可能产生了适应的微生物类群,它们适应了二者的复合作用,能利用外界碳源来建造细胞本身,生理活动较为旺盛。

2.2 对微生物群落结构的影响

通过条带间的对比可以看出(见图 4,表 3),微生物群落受铜的影响较大,未添加铜的组在条带的数目和亮度上与添加了铜的组有较为明显的区别。另外添加了高浓度铜($300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的组在条带的数目和亮度上与添加较低浓度铜的组($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)也有较为明显的区别:在数目上要少,亮度上要暗,根据 DGGE 原理可得出微生物的种类和数量上都要少。从 Shannon 指数中(表 4)也可以看出,未添加铜的组(13~16)Shannon 指数要明显高于添加过铜的组(1~12),说明铜对土壤微生物群落的多样性有明显的

而 1~6 组和 7~12 组的条带在亮度上也有明显

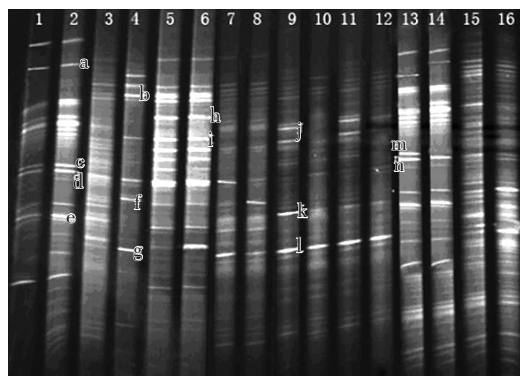


图 4 不同污染土壤 16S rDNA 片段 DGGE 分析结果

Figure 4 DGGE results of 16S rDNA fragments from the polluted soils

的区别,进一步说明铜浓度的高低对微生物的数目和优势种群可以产生不同影响。但它们之间 Shannon 指数的差别不是很大,因为 Shannon 指数不仅跟条带的数目有关,而且与条带的亮度和分布也有一定的关系。

在铜的浓度一定时,添加低浓度的氯氰菊酯后条带上出现的变化不是很显著,只是出现了极个别亮度不同的条带,说明一些菌群成为优势种群。在铜浓度较低时($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),添加了高浓度氯氰菊酯后(第 5、6 组)DGGE 条带则出现了较为明显的差异,在明亮条带的数目和分布上都有所不同,从聚类分析中(图 5)也可以明显看出 5、6 组条带与其余组差异较大,说明较高浓度的氯氰菊酯($150 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)和较低浓度($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)的铜复合作用时,二者对微生物产生的影响更大,低浓度的铜可能影响了微生物对氯氰菊酯的降解^[13],造成了一些优势种群的形成。而添加高浓度的铜后,各组(7~12)条带间的差别不大,再加入氯氰菊酯后并未对微生物群落产生明显的影响,可能微生物在受较高浓度的铜的胁迫下,对氯氰菊酯的降解受到影响。从图 5 聚类分析(UPGMA)中可以看出

表 3 数字所代表处理组的类别和时间(奇数组为 30 d,偶数组为 60 d;添加污染物单位为 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)Table 3 Time and type of the treatment(the odd numbers stand for treatment in 30 days, even numbers stand for treatment in 60 days; all the units are $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)

1 与 2	3 与 4	5 与 6	7 与 8	9 与 10	11 与 12	13 与 14	15 与 16
Cu100	Cu100+cyper10	Cu100+cyper150	Cu300	Cu300+cyper10	Cu300+cyper150	cyper10	cyper150

注:表中编号下同。

表 4 不同处理组 DGGE 条带的 Shannon 指数

Table 4 Shannon diversity index for the different treatment

泳道	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Shannon 指数	2.299	2.969	2.683	2.394	2.907	2.927	2.702	2.700	2.770	2.634	2.831	2.296	3.169	3.171	3.393	3.066

具有相同铜浓度的处理组的条带有较高的相似度,只添加氯氰菊酯的处理组的条带也有较高的相似度。

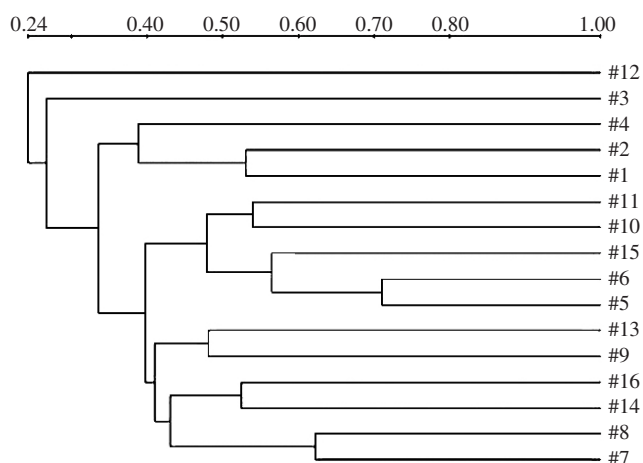


图 5 DGGE 聚类分析

Figure 5 DGGE cluster analysis(UPGMA)

进一步对 DGGE 图谱中的主要条带进行切胶测序,将所得序列与 GenBank 数据库中已登录序列进行同源性分析和检索,结果显示(表 5),发现除条带 b、i 可以找到相似度较高(>98%)的细菌序列外,其余的相似度均较低(<98%)。从 blast 的结果来看,与所切条带序列相似的有很多是不可培养的微生物序列,可以进一步证明 DGGE 在研究土壤微生物群落结构方面比传统的方法能分离到更多的菌株。用 MEGA 4.0 做系统进化树,如图 6 所示。

3 结论

(1)两种污染物对微生物量碳都有影响,当氯氰菊酯单独作用时,微生物量碳会有所增加;铜离子的加入会使微生物量碳下降,高浓度铜的作用更加明显,但当较低浓度的铜与高浓度的氯氰菊酯复合作用时,微生物量碳反而有所增加,说明高浓度的氯氰菊酯与低浓度的铜对微生物有明显的复合作用,低浓度的铜可能会促进一些微生物对氯氰菊酯的降解。

(2)两种污染物中,铜对微生物的呼吸作用影响更大,其中低浓度的铜对呼吸作用有促进作用,而高浓度的铜有抑制作用;在铜浓度较低时,添加氯氰菊酯对呼吸作用会产生促进,添加高浓度的氯氰菊酯促进作用更大;而经过较长的时间(60 d)后,铜和高浓度的氯氰菊酯复合对呼吸作用有明显影响,高浓度的铜与高浓度的氯氰菊酯复合甚至会促进呼吸作用。

(3)两种污染物中铜对微生物代谢熵影响更大,而在铜存在的条件下添加高浓度氯氰菊酯会使代谢熵降低,高浓度的氯氰菊酯可能削弱了铜对微生物的胁迫。

(4)分子生物学手段可以有效地用来分析土壤微生物群落的变化,从 DGGE 条带的数目、分布、亮度等信息可以分析受不同污染的土壤微生物群落的变化,可以看出单独氯氰菊酯作用的组条带和添加了铜的组的明显不同,铜浓度的不同会造成条带间的明显不同,而低浓度的铜和高浓度的氯氰菊酯复合也使得

表 5 土壤样品 DGGE 切胶条带与 GenBank 中最接近的序列种类

Table 5 Nucleotide sequence similarity of sequenced DGGE bands with GerBank database

编号	GenBank 数据库中最接近的细菌细菌种类 Closely identified relatives in GenBank database	登录号 Accession number	相似度 Similarity/%
a	Uncultured bacterium clone RMCL-63	EU665643	97
b	<i>Weissella cibaria</i> strain G	EU621988	98
c	Uncultured <i>gamma proteobacterium</i> clone CB01A01	EF471641	83
d	Uncultured <i>prokaryote isolate</i> DGGE band GW1b3-3(B)	AY501518	85
e	Uncultured <i>beta proteobacterium</i> gene for 16S rRNA	AB192234	85
f	Uncultured bacterium clone 1P-1-016	EU704930	95
g	<i>Serratia marcescens subsp. marcescens</i> partial	FM163466	97
h	<i>Bacillus</i> sp. T53Y partial	AM983495	97
i	Uncultured bacterium clone RMCL-107	EU665641	98
j	Uncultured <i>Verrucomicrobia</i> bacterium clone Amb_16S_1360	EF018876	89
k	Uncultured bacterium clone FCPT656	EF516525	87
l	Uncultured <i>Acidobacteria</i> bacterium gene	AB252946	84
m	Uncultured <i>Sphingobacteriales</i> bacterium clone GASP-KB1S1_E03	EU297493	90
n	<i>Bacillus</i> sp. <i>Domas</i> clone A5	AF228797	90

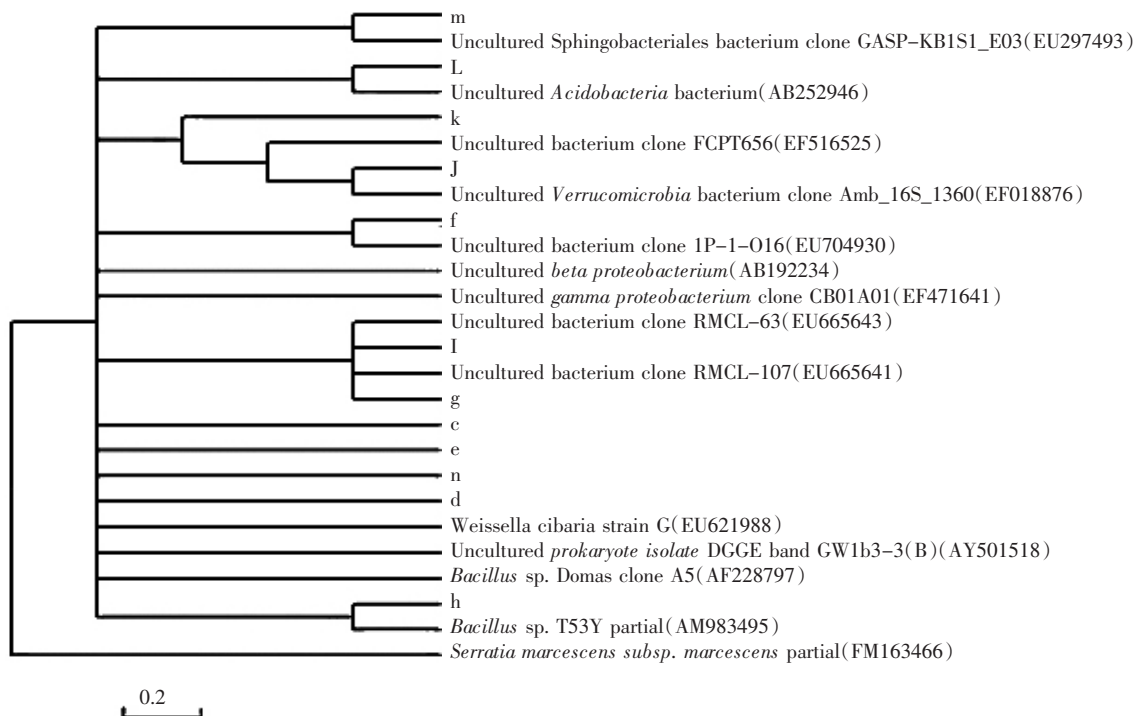


图 6 处理土壤中细菌种群的分类进化图

Figure 6 Phylogenetic tree of bacteria identified from the sequences of treated soil samples DGGE bands

条带差异增大,说明此时二者复合对微生物群落有明显影响。

由于土壤生态系统较为复杂,而且研究重金属与农药复合污染时,吸附、土壤性质、光解、农药降解产物等因素都应当考虑在其中,所以要全面分析,还需作进一步研究。

参考文献:

- [1] Mirlean N, Roisenberg A, Chies J O. Metal contamination of vineyard soils in wet subtropics(southern Brazil)[J]. *Environmental Pollution*, 2007, 149(1):10-17.
- [2] Chauhan L K S, Saxena P N, Gupta S K. Cytogenetic effects of cypermerthrin and fenvalerate on the root meristem cells of *Allium cepa*[J]. *Environ Experi Botany*, 1999, 42(3):181-189.
- [3] Chauhan L K S, Gupta S K. Combined cytogenetic and ultrastructural effects of substituted urea herbicides and synthetic pyrethroid insecticide on the root meristem cells of *Allium cepa*. [J]. *Pesticide Biochem Physiol*, 2005, 82(1):27-35.
- [4] 徐 珑, 杨 曦, 张爱茜. 水环境中铜的光化学研究进展[J]. *化学进展*, 2005, 17(3):412-416.
XU Long, YANG Xi, ZHANG Ai-qian. Progress in photochemistry of copper in aquatic systems[J]. *Progress in Chemistry*, 2005, 17(3):412-416.
- [5] Guo T R, Zhang G P, ZHANG Y H. Physiological changes in barley plants under combined toxicity of aluminum, copper and cadmium[J]. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 2007, 57(2):182-188.
- [6] Gundi V A, Viswanath, Chandra M S, et al. Activities of cellulase and amylase in soils as influenced by insecticide interactions [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, 68(2):278-285.
- [7] 张倩茹, 周启星, 张惠文, 等. 乙草胺-铜离子复合污染对黑土农田生态系统中土著细菌群落的影响[J]. *环境科学学报*, 2004, 24(2):326-332.
ZHANG Qian-ru, ZHOU Qi-xing, ZHANG Hui-wen, et al. Joint effects of acetochlor and Cu^{2+} on indigenous bacterial communities in phaeozem[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2004, 24(2):326-332.
- [8] 王玉军, 周东美, 陈怀满, 等. 镉与除草剂草甘磷的交互作用对小麦的毒性[J]. *生态环境*, 2004, 13(2):158-160.
WANG Yu-jun, ZHOU Dong-mei, CHEN Huai-man, et al. Toxicity of the interaction of glyphosate and cadmium to wheat[J]. *Ecology and Environment*, 2004, 13(2):158-160.
- [9] 梁继东, 周启星. 甲胺磷和铜对黑土中乙草胺的蚯蚓生态解毒过程的影响[J]. *应用生态学报*, 2006, 17(10):1958-1962.
LIANG Ji-dong, ZHOU Qi-xing. Effects of methamidophos and copper on ecological detoxification of acetochlor by earthworm in phaeozem[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(10):1958-1962.
- [10] 鲁如坤. 土壤农业化学分析法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999:107-240.
LU Ru-kun. Analytical methods of soil and agricultural chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999:107-240.
- [11] Salminen J, Liiri M, Haimi J. Responses of microbial activity and decomposer organisms to contamination in microcosms containing coniferous forest soil[J]. *Ecotoxicol Environ Safety*, 2002, 53(1):93-103.

- [12] 林启美, 吴玉光, 刘焕龙. 熏蒸法测定土壤微生物量碳的改进[J]. 生态学杂志, 1999, 18(2): 63–66.
- LIN Qi-mei, WU Yu-guang, LIU Huan-long. Modification of fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 1999, 18(2): 63–66.
- [13] Martin-Laurent F, Philippot L, Hallet S, et al. DNA extraction from soil: old bias for new microbial diversity analysis methods[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2001, 67(5): 2354–2359.
- [14] Haruta S, Kondo M, Nakamura K, et al. Microbial community changes during organic solid waste treatment analyzed by double gradient-denaturing gradient gel electrophoresis and fluorescence in situ hybridization[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2002, 60: 224–231.
- [15] Sotres F G, Cepeda C T, Leiros M C, et al. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37: 877–887.
- [16] LIU Ting-feng, SUN Cheng, TA Na, et al. Effect of copper on the degradation of pesticides cypermethrin and cyhalothrin[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19: 1235–1238.
- [17] Leita L M D, Enobili G, Muhlbachova C. Bioavailability and effects of heavy metals on soil microbial biomass survival during laboratory incubation[J]. *Biology Fertility of Soil*, 1996, 19(2): 103–108.
- [18] Chander K, Brooks P C. Effects of heavy metals from past application of sewage sludge on microbial biomass and organic matter accumulation in a sandy loam soil and silty loam U. K. soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1991, 23: 927–932.
- [19] Insam H, Hutchinson T C. Effects of heavy metals on the metabolic quotient of the soil microflora[J]. *Soil Biol Biochem*, 1996, 28(4–5): 691–697.
- [20] Muyzer G, De Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16s rRNA[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1993, 59: 695–700.

“第三届全国农业环境科学学术研讨会” 征文通知

第三届全国农业环境科学学术研讨会拟于 2009 年 10 月中旬在天津召开。大会将对我国近年来农业环境科学各个领域的最新研究成果进行交流, 现将有关征文等事项通知如下:

一、论文征集范围

- (1) 农业面源污染与控制: 农用化学品、畜禽养殖、水体环境等方面;
- (2) 土壤污染与修复: 重金属、有机及无机、放射性污染等土壤的修复理论与技术; 污染物在区域土壤中的空间变异规律研究; 农业环境污染监测与农田环境污染风险评价; 农业环境污染监控与预警的新技术等;
- (3) 污染生态过程及控制: 环境污染物在植物、畜禽、水产、微生物等方面的迁移转化过程的研究及其控制。
- (4) 农药残留: 农药科学使用及安全性评价、残留快速测定技术的研究及应用等;
- (5) 固废处理及资源化: 农业有机固体废物、秸秆、畜禽粪便等处理及资源化利用;
- (6) 全球气候变化与农作物适应性调整;
- (7) 其他有关农业环境科学领域(如农业环境影响评价、水土保持等等)的新理论、新技术及新方法研究。

二、论文要求

- (1) 论文应是未公开发表或未在全国性学术会议上交流的学术论文;
- (2) 论文请用 Word 格式录入, 并通过网上投稿, 投稿前须严格审查, 文责自负;
- (3) 论文格式请按《农业环境科学学报》征稿简则的要求撰写;
- (4) 截稿日期: 2009 年 9 月 10 日;
- (5) 投稿邮箱: E-mail: caep@vip.163.com (来稿请务必注明“学术会议论文”)。

审阅合格的论文编入《第三届全国农业环境科学学术研讨会论文集》, 入选 CNKI《中国重要会议论文全文数据库》。此次收录的论文均可公开发表(本着作者自愿, 版面费自理), 研讨会上评选的优秀会议论文将集中刊登在《农业环境科学学报》正刊上, 其他论文可刊登在《农业环境科学学报》增刊上。

三、会议详细事宜可在中国农业生态环境保护协会网站上、《农业环境科学学报》等相关网站上查询。拟参加会议交流者可将会议回执表在 2009 年 8 月 30 日前寄至《农业环境科学学报》编辑部, 以便寄发第二轮通知。

四、联系方式

通讯地址: 300191 天津市南开区复康路 31 号 《农业环境科学学报》编辑部

联系人: 李无双 潘淑君

电话: 022-23674336 022-23006209 13920028209(潘淑君)

传真: 022-23006209 E-mail: caep@vip.163.com <http://www.aes.org.cn>