

十溴联苯醚对土壤中微生物群落结构及土壤潜在硝化功能的影响

朱 崑, 张 旻, 俞 晟, 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:采用变性梯度凝胶电泳(DGGE)和寡聚核苷酸探针-荧光原位杂交(FISH)方法研究了十溴联苯醚(BDE209)对土壤中微生物群落的影响作用。结果表明, $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ BDE209 对土壤中微生物群落多样性以及总细菌数有明显的促进作用, 土壤中的氨氧化细菌以及亚硝酸氧化菌的数量有显著增长。BDE209 浓度达到 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 土壤微生物的总数和群落多样性则显著降低, 同时氨氧化细菌以及亚硝酸氧化菌的生长也受到明显的抑制。暗室培养 45 d 内, BDE209 虽未被降解, 但高浓度的十溴联苯醚会对土壤中的微生物群落结构及土壤潜在的硝化作用产生较大影响。

关键词: 十溴联苯醚(BDE209); 微生物群落结构; 变性梯度凝胶电泳; 荧光原位杂交

中图分类号: X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2009)08-1613-05

Effect of Decabromodiphenyl Ether (BDE-209) on Soil Bacterial Community Composition and Nitrification Potential

ZHU Wei, ZHANG Yang, YU Sheng, XIAO Lin, YANG Liu-yan

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

Abstract: PBDEs are ubiquitously used fire retardant in the world and sink in the soils and sediments because of their hydrophobia characteristics. In this study, soils were treated with 1, 10 and $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ BDE 209 for up to 45 days. The effects of BDE209 on soil bacterial community composition were studied using the denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). The effects of BDE209 on the ammonia-oxidizing bacteria (AOB) and the nitrite-oxidizing bacteria (NOB) groups were evaluated using fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis. The results indicated that microbial communities were significantly affected by BDE209. After 45 days treatment, soil microbial community diversity and the amount of AOB and NOB could be promoted obviously by BDE209 at the concentration of $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, but inhibited at $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. BDE209 was not degraded under darkness throughout the experiment. These observations demonstrated that BDE209 in soil, although at low bioavailability state, had an adverse impact on the soil microbial community structure and nitrification potential.

Keywords: decabromodiphenyl ether (BDE-209); soil microbial community; DGGE; FISH

多溴联苯醚(Poly-Brominated Diphenyl Ethers, 简称 PBDEs), 又称多溴二苯醚, 是一种重要的溴代阻燃剂(Brominated Flame Retardants, BFRs), 它对环境已产生越来越严重的影响^[1]。据统计, 1997 至 2004 年间, 每年有 $(6 \sim 12) \times 10^8 \text{ kg}$ 的 PBDEs 随着电子废弃物的产生排放到环境中^[2]。PBDEs 的化学结构与二噁英、

呋喃、多氯联苯等持久性有机污染物相似, 其化学结构稳定、半衰期长、生物毒性强^[1-3]。如今, 多溴联苯醚已成为全球最受关注的一类环境污染物, 在包括土壤、沉积物、水体、大气、生物体等在内的多种环境介质中, 人们均检测到其存在^[4]。由于 PBDEs 的广泛使用及其本身的亲脂性和持久性, 并且容易吸附在固体颗粒物的表面, 土壤及沉积物中可能富集有大量的 PBDEs^[5], 多溴联苯醚可能会影响土壤的微生态环境。当前, 研究者们较为热衷于探究 PBDEs 在生物体内及非生物环境中的持久性^[6-9]及其对人类健康的威胁^[10], 而针对 PBDEs 对土壤中微生物影响的研究并不多见。

收稿日期: 2008-12-08

基金项目: 国家自然科学基金重点项目(20637030)

作者简介: 朱 崑(1983—), 男, 安徽无为, 硕士研究生, 主要研究方向为土壤微生物学。E-mail: huyunhuse@gmail.com

通讯作者: 肖 琳 E-mail: xiaolin@nju.edu.cn

在 209 种多溴联苯醚同系物中,十溴联苯醚(BDE209)是使用最广泛的阻燃剂成分,BDE209 的产量占据了 PBDEs 总产量的约 80%。截止到 2001 年,我国十溴联苯醚(BDE209)的销售量已达 $1.35 \times 10^4 \text{ t}^{[11]}$ 。表层土壤中 BDE209 的含量为 $2.38 \sim 66.6 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 之间,其平均含量为 $13.8 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。在珠江三角洲受 PBDEs 污染的土壤中,其含量高达 $25.7 \sim 102 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1[12]}$ 。本研究旨在探究 BDE209 对土壤中微生物种群群落结构以及土壤中硝化功能细菌、氨氧化细菌(AOB)、亚硝酸氧化菌(NO)的影响。

1 材料及方法

1.1 供试土壤及培养方法

土样采自紫金山“清洁”土壤,为 5 处采样点的混合,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,测定土壤基本理化性状(结果见表 1);另一部分土样过 20 目筛后,进行毒性实验。

表 1 供试土壤的理化性质

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

供试土壤	pH(H ₂ O)	有机质/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	阳离子交换量 CEC/ $\text{cmol} \cdot \text{kg}^{-1}$	最大田间持 水量/%
紫金山林地土	6.83	9.59	11.75	65

1.2 土壤样品的处理

每 200 g 土壤为 1 份,与 BDE209 的甲苯储备液($1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)混合,使 BDE209 在土壤中的含量分别为 1、10、100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,并分别标为 A、B、C 组,同时设置不含 BDE209 的空白对照样,仅与相同量甲苯混合,标为 K,每组设 3 个平行样。所有样品置于 25 ℃暗室培养,每隔 15 d 采样分析检测。

1.3 DNA 提取及 PCR-DGGE 图谱分析

称取 0.5 g 干重土样,按 Yeates 等报道的方法提取土壤微生物的总 DNA^[13]。PCR 反应体系组成:50 ng 的模板、20 pmol 正反向引物、200 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTP、5 μL 的 10×PCR buffer(不含 MgCl_2)、1.5 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 MgCl_2 、1 U 的 ExTaq DNA 聚合酶和适量的双蒸水补足 50 μL 。反应程序:94 ℃,4 min;94 ℃,45 s;55 ℃,1 min;72 ℃,45 s;30 次循环;72 ℃延伸 10 min;4 ℃保存。

采用 Bio-Rad 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 6%~12% 的线性变性梯度聚丙烯酰胺多孔凝胶,变性剂范围为

35%~55% ($7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 尿素和 40% 去离子甲酰胺为 100% 变性剂浓度)。在 1×TAE 中,60 ℃,130 V 条件下电泳 5 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 QuantityOne 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),通过 Dice 系数计算不同样品间细菌群落相似度后生成系统进化树。

1.4 荧光原位杂交(FISH)方法

微生物细胞的染色、杂交和计数参照 Christensen 等^[14]的方法。将土样用磷酸缓冲液(PBS)清洗后悬浮于乙醇/PBS(1:3)溶液中,将上述土壤混合溶液稀释 100 倍(取 10 μL 该土壤混合溶液加入 990 μL 超纯水,超声混合均匀),取 20 μL 涂抹在经过 APES 溶液固定的玻片上,室温干燥 1 h,然后用 50%、80% 和 98% 的乙醇梯度脱水各 3 min。在 96% 乙醇、4% PBS 的溶液(pH 7.2)中进行荧光原位杂交,在此之后使用 20 μL DAPI 染色 20 min。细胞计数时,在玻片上(100 mm^2)随机选取 10 个小单位(0.01 mm^2)进行计数。表 2 所列分别为实验所用的荧光探针及寡核苷酸引物。

表 2 荧光标记探针序列

Table 2 The sequence of fluorescent probes

细菌类群	探针名	探针核苷酸序列(5'-3')	标记
氨氧化细菌	NSO190	CGATCCCCTGCTTTTCTCC	3'-HEX
亚硝酸氧化细菌	NIT3	CCTGTGCTCCATGCTCCG	3'-FAM
	CNIT3	CCTGTGCTCCAGGCTCCG	

1.5 BDE209 高效液相色谱(HPLC)检测方法

BDE209 的提取及分析参照 Chen 等^[15]的方法。将 10 g 土壤冷冻干燥,碾磨,再用 1:1(体积比)丙酮/正己烷索式抽提 48 h,同时加入铜片脱硫。将抽提液旋转蒸发浓缩,并转换试剂为正己烷。按照 She-Jun Chen 等^[15]提出的方法过层析柱净化浓缩液。使用硅胶/氧化铝层析柱,由下往上依次填充:中性氧化铝(6 cm,3%失活),中性硅胶(2 cm,3%失活),25%氢氧化钠硅胶(5 cm),中性硅胶(2 cm,3%失活),50%硫酸硅胶(5 cm),无水硫酸钠(1 cm)。先用 30 mL 正己烷洗涤层析柱,然后加入抽提浓缩液,最后用 70 mL 正己烷洗脱,收集层析液浓缩定容至 1 mL,高效液相色谱(Agilent Model 1100)检测分析 BDE209。同时,设置空

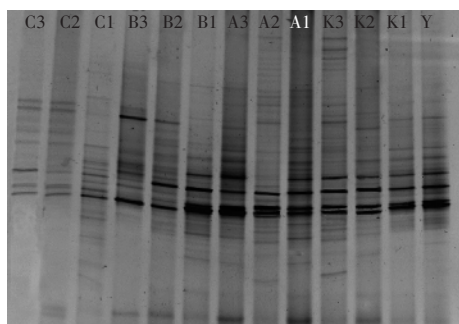
白对照以及进行加标回收。

2 结果与讨论

2.1 微生物群落结构多样性

土壤中含有大量的微生物,其中 95%以上为不可培养的微生物。传统的培养方法越来越不适应目前对于土壤微生物群落多样性的研究,而基于分子生物学的 DGGE、FISH 等方法为研究土壤微生物多样性提供了新思路^[16]。本研究尝试使用 DGGE 方法研究不同浓度下的 BDE209 对土壤微生物群落结构的影响。

DGGE 结果如图 1 和图 2 所示。经过 45 d 培养后,各处理组及对照组 DGGE 条带特征均发生了一定程度的变化,其中 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组与对照组的条带数目和亮度均发生了一定程度的增长,与此相反的是



Y:原土;K1、K2、K3:对照组 15、30、45 d 的土样;A1、A2、A3: $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组 15、30、45 d 土样;B1、B2、B3: $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组 15、30、45 d 土样;C1、C2、C3: $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组 15、30、45 d 土样。

图 1 16S rDNA 片段 DGGE 图谱

Figure 1 DGGE profile of 16S rDNA fragments

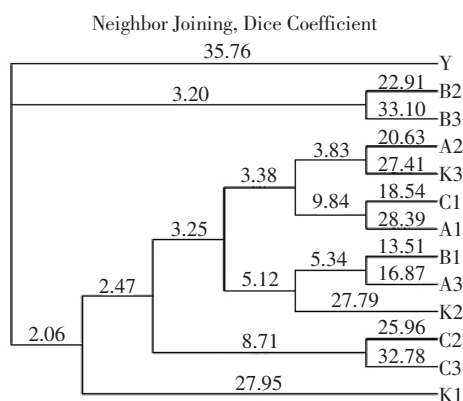


图 2 各条带间的相似度进化树

Figure 2 Phylogenetic tree of DGGE bands similarity

$100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 浓度组的条带数目和亮度明显下降。

表 3 为 DGGE 各泳道的 Shannon 指数 H' , 结果表明, $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组的 Shannon 指数增长程度比对照组要大,从 2.20 增长到 2.46,而对照组 45 d 后仅为 2.40,由此可见低浓度的 BDE209 能提高土壤中的微生物群落多样性。这与 Andreoni 等^[17]的研究相似,其研究表明经 PAHs 中期污染的比利时 B-BT 土壤中,微生物的遗传多样性最高。 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组经过 45 d 培养后 H' 为 2.38,与对照组无显著性差异。最高浓度组 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 H' 在 45 d 培养过程中则明显的降低,从最初的 2.20 降低为 1.97。条带相似性分析同样表明 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组经过 30、45 d 培养后的条带 C2、C3 与其余浓度组及对照组的条带差异性明显。

综合各条带的 Shannon 系数和条带相似性的结果来看, $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组培养 45 d 后,其生物多样性明显降低。

目前已有许多研究是关于持久性有机污染物对于土壤中微生物群落结构的影响,然而对于土壤中广泛存在的 BDE209 对土壤中微生物群落结构的影响目前却鲜有报道。我们利用 DGGE 试验发现,BDE209 在 $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时就已经能选择性地促进或抑制某些特定的微生物,从而影响整个微生物群落结构。这说明低浓度的 BDE209 能在一定程度上促进微生物的多样性,这可能是 BDE209 在此浓度时能促进一些微生物的代谢,且在此浓度对于其余大多数微生物毒性尚低。且当 BDE209 浓度达到 $100\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 时对大多数微生物能产生毒性,并且抑制其生长,因而微生物的多样性发生明显减少。Langford^[18]的研究结果也表明,污泥在与多溴联苯醚同系物接触一段时间后,污泥中微生物群落结构发生改变,且生物多样性降低。

2.2 BDE209 浓度变化

空白样中未检出 BDE209,BDE209 含量的测定结果如图 3,回收率为 69.8%~98.5%,各浓度组在 15、30、45 d 中的 BDE209 含量未发生明显降低,因此 BDE209 在 45 d 内较难被微生物所降解。

2.3 微生物总数及微生物种群丰度变化

图 4 显示,在 15 d 时检测, $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 及 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的处理组中 DAPI 染色的总细菌数分别增加了 118.00%和 70.14%,到 45 d 时, $1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的土样中总

表 3 不同处理组 DGGE 条带的 Shannon 指数

Table 3 Shannon diversity index for the different treatment

泳道	Y	K1	K2	K3	A1	A2	A3	B1	B2	B3	C1	C2	C3
H'	2.20	2.22	2.24	2.40	2.42	2.42	2.46	2.28	2.35	2.38	2.13	2.10	1.91

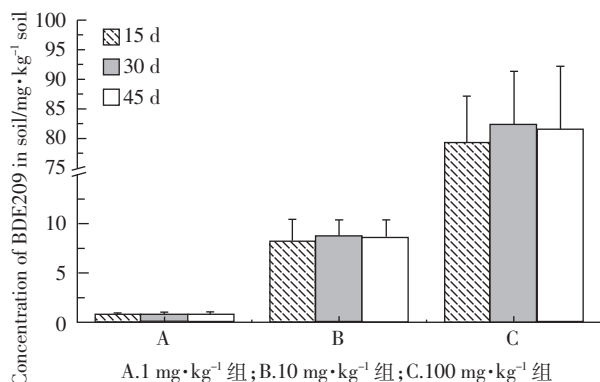


图 3 各浓度组 BDE209 含量

Figure 3 The concentration of BDE209 in each samples determined by HPLC

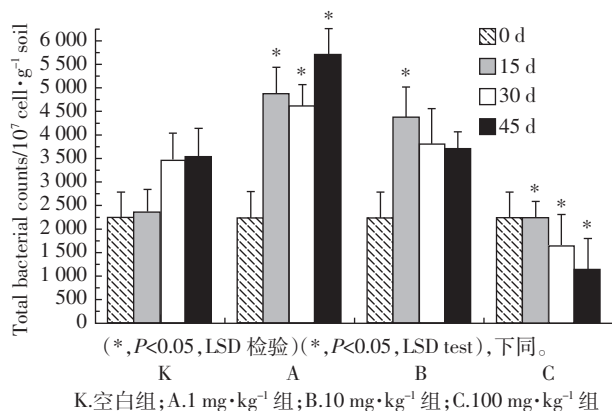


图 4 各浓度组剂对照组总细菌数变化情况

Figure 4 Results of the soil total bacterial counts

细菌数增加了 155.22%。以上数据进一步支持了 DGGE 实验结果,即 BDE209 为 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的浓度组经过 45 d 培养后,微生物数量有显著的增长。然而,在各个不同的 BDE209 浓度条件下,土样中的 BDE209 的含量均未发生明显变化。这可能由于 BDE209 能够被土壤颗粒所吸附,影响了其生物可利用性。土壤中的孔隙可能是 PBDEs 聚集并降低其与微生物接触的重要场所^[9],但是这并不意味着微生物无法和 PBDEs 接触,没有发生降解也不意味着 PBDEs 不会产生影响。已经有研究结果表明^[20],PAH 和土壤吸附的条件下能够与土壤微生物接触并产生毒性。而且土壤中可溶解态的有机物(DOM)能够与被土壤颗粒吸附的 PBDEs 接触,并增加 PBDEs 的溶解性,使其能够与土壤中的微生物发生作用,并且可能因此影响整个微生物群落结构。Ramírez-Saad 等研究氯苯对土壤中微生物群落影响时,也得到了相似的结果^[21]。

空白土样中氨氧化细菌(AOB)的绝对数量在反应初始时(0)为 $7.70 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{g}^{-1}$,至反应结束(45 d)

时升高至 $9.72 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{g}^{-1}$ 。在浓度为 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 A 组中,AOB 的绝对数量在 45 d 的实验周期内显示明显的增长,45 d 后为 $10.60 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{g}^{-1}$ 。因此在低浓度的以及 BDE209 浓度为 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的中等浓度的土样中,AOB 的数量有一定的增长,但与对照组相比无显著性差异。而当 BDE209 浓度高达 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,培养 45 d 后的 AOB 数量发生了明显的降低,仅为 $6.56 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{g}^{-1}$ (图 5)。

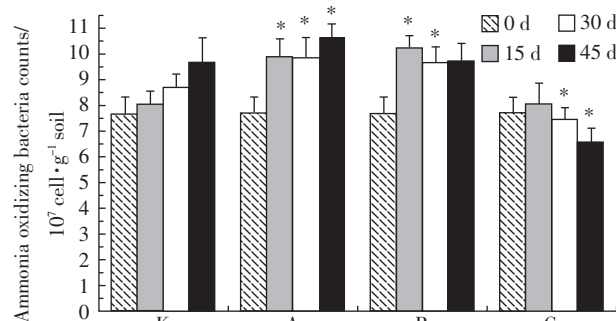


图 5 各浓度组剂对照组氨氧化细菌数量变化情况

Figure 5 Results of the ammonia-oxidizing bacteria counts

土壤中的亚硝酸氧化细菌(NOB)在整个试验周期中,在 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ BDE209 的土壤组中,NOB 的数量在实验的 45 d 后,相比对照组有明显增长,从初始的 $7.24 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{g}^{-1}$ 增长到 $10.53 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{g}^{-1}$,而同时的对照组只有 $8.01 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{g}^{-1}$ 。 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的土壤组中则发生了显著的下降,45 d 后仅有 $5.95 \times 10^7 \text{ cell} \cdot \text{g}^{-1}$,如图 6 所示。

土壤中的氨氧化细菌和亚硝酸氧化菌都是细菌群落中参与氮素转化的具有重要生理功能的特殊菌群^[2],氨氧化菌和亚硝酸氧化菌在细菌群落中所占的比例很小,尤其是亚硝酸氧化细菌,生长增殖速度缓慢,而高浓度的 BDE209 对其抑制作用明显。目前环境中检测出 BDE209 最高值为 $12\,000 \mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 干

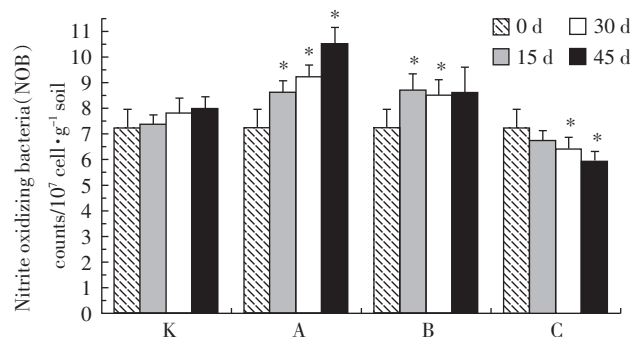


图 6 各浓度组剂对照组亚硝酸氧化细菌数量变化情况

Figure 6 Results of the nitrite-oxidizing bacteria counts

重^[23],因此土壤中多年积累的 BDE209 可能已经对土壤中的硝化作用产生了影响。

本研究结果显示,低浓度的 BDE209 对土壤中微生物群落多样性有一定的促进作用,能明显促进氨氧化细菌和亚硝酸氧化菌的生长,而高浓度的 BDE209 则明显降低土壤中微生物的群落多样性,并且抑制土壤潜在的硝化作用。

3 结 论

(1)BDE209 能对土壤中微生物群落产生明显的影响,其较低浓度能促进土壤微生物的生长并提高土壤中微生物的生物多样性,而较高浓度条件下能明显抑制土壤中微生物的生长,降低微生物群落多样性。

(2)BDE209 在整个反应的 45 d 内,在黑暗条件下未发生降解,说明在环境中较难被微生物所代谢降解,但是 BDE209 可以影响微生物的生长和群落变化。

(3)BDE209 在低浓度时在一定程度上促进氨氧化细菌和亚硝酸氧化细菌的生长,而在高浓度条件下对两种细菌有明显的抑制作用。因而环境中残留的高浓度的 BDE209 会对土壤的硝化作用产生一定的影响。

参考文献:

- [1] de Wit C A. An overview of brominated flame retardants in the environment[J]. *Chemosphere*, 2002, 46(5):583–624.
- [2] Martin M, Lam P K S, Richardson B J. An Asian quandary: where have all of the PBDEs gone?[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, 49:375–382.
- [3] Donald T A. A perspective on the potential health risks of PBDEs[J]. *Chemosphere*, 2002, 46(5):745–755.
- [4] Wang D, Cai Z, Jiang G, et al. Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil and sediment from an electronic waste recycling facility[J]. *Chemosphere*, 2005, 60:810–816.
- [5] Lacorte S, Guillaumon M, Martínez E, et al. Occurrence and specific congener profile of 40 Polybrominated Diphenyl Ethers in river and coastal sediments from Portugal[J]. *Environmental Science and Technology*, 2003, 37:892–898.
- [6] de Wit C, Alaee M, Muir D. Levels and trends of brominated flame retardants in the Arctic[J]. *Chemosphere*, 2006, 64:209–233.
- [7] Hale R, La Guardia M, Harvey E, et al. Brominated flame retardant concentrations and trends in abiotic media[J]. *Chemosphere*, 2006, 64:181–186.
- [8] Braune B, Mallory M, Gilchrist H, et al. Levels and trends of organochlorines and brominated flame retardants in Ivory Gull eggs from the Canadian Arctic, 1976 to 2004[J]. *Science of the Total Environment*, 2007, 378:403–417.
- [9] Shaw S D, Berger M L, Brenner D, et al. Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in farmed and wild salmon marketed in the northeastern United States[J]. *Chemosphere*, 2008, 71:1422–1431.
- [10] Darnerud P O. Toxic effects of brominated flame retardants in man and in wildlife[J]. *Environment International*, 2003, 29(6):841–853.
- [11] 杨永亮, 潘 静, 李 悦, 等. 青岛近岸沉积物中持久性有机污染物多氯萘和多溴联苯醚[J]. *科学通报*, 2003, 48(21):2244–2251.
- [12] Yang Yong-liang, Pan Jing, Li Yue, et al. persistent organic pollutants polychlorinated naphthalene and PBDEs in near-shore sediments of Qingdao[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48(21):2244–2251.
- [13] Mai B X, Luo X J, Chen L G, et al. Distribution of polybrominated diphenyl ethers in sediments of the Pearl River Delta and adjacent South China Sea[J]. *Environmental Science and Technology*, 2005, 39:3521–3527.
- [14] Yeates C, Gillings M R, Davison A D, et al. PCR amplification of crude microbial DNA extracted from soil[J]. *Letters in Applied Microbiology*, 1997, 25:303–307.
- [15] Christensen H, Hansen M, Sorensen J. Counting and size classification of active soil bacteria by fluorescence in situ hybridization with an rRNA oligonucleotide probe[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65:1753–1761.
- [16] Chen S J, Gao X J, Mai B X, et al. Polybrominated diphenyl ethers in surface sediments of the Yangtze River Delta: Levels, distribution and potential hydrodynamic influence[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 144:951–957.
- [17] Muyzer G, Brinkhoff T, Nübel U, et al. Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in microbial ecology[J]. *Molecular Microbial Ecology Manual*, 2004, (1–2):743–769.
- [18] Andreoni V, Cavalca L, Rao M A, et al. Bacterial communities and enzyme activities of PAHs polluted soils[J]. *Chemosphere*, 2004, 57:401–412.
- [19] Langford K, Scrimshaw M, Lester J. The impact of process variables on the removal of PBDEs and NPEOs during simulated activated sludge treatment[J]. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 2007, 53:1–7.
- [20] Stotzky G, Bollag J M. Soil biochemistry[M]. New York: Marcel Dekker, 1996.
- [21] Eggleton J, Thomas K V. A review of factors affecting the release and bioavailability of contaminants during sediment disturbance events[J]. *Environment International*, 2004, 30:973–980.
- [22] Ramírez-Saad H C, Sessitsch A, Akkermans A D L. Molecular diversity in the bacterial community and the fluorescent pseudomonads group in natural and chlorobenzoate-stressed peat-forest soil[J]. *Research in Microbiology*, 2003, 158:47–54.
- [23] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986.
- [24] XU Guang-hui, ZHENG Hong-yuan. Soil microbial analysis manual [M]. Beijing: Agriculture Press, 1986.
- [25] Darnerud P O, Eriksen G S, Jóhannesson T, et al. Polybrominated diphenyl ethers: Occurrence, dietary exposure, and toxicology[J]. *Environmental Health Perspectives*, 2001, 109:49–68.