

铀尾矿周边污染土壤微生物群落结构与功能研究

彭芳芳, 罗学刚*, 王丽超, 赵鲁雪

(西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621000)

摘要:为给铀尾矿周边污染土壤环境监测及生态修复提供科学参考依据,以我国某铀尾矿周边的污染土壤为研究对象,采用常规稀释平板法和 Biolog-Eco 微平板反应系统研究了高、中、低污染区的土壤微生物群落结构及功能多样性。结果表明,放射性污染从高到低的各级取样点的三类微生物数量大小为细菌>真菌>放线菌;与对照相比,各样点的 AWCD 下降了 37.6%~92.0%, AWCD、Shannon 指数(H')、Simpson 指数(D)与放射性核素的含量基本呈反比关系,而与有机质、全氮、碱解氮显著正相关;不同土壤微生物群落间的代谢特征随着污染程度的变化而变化,主成分分析表明这种变化主要体现在碳水化合物上。

关键词:铀尾矿;土壤;污染;微生物群落;多样性

中图分类号:X172 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2013)11-2192-07 doi:10.11654/jaes.2013.11.013

Microbial Community Structure and Function in Soils Around Uranium Tailings

PENG Fang-fang, LUO Xue-gang*, WANG Li-chao, ZHAO Lu-xue

(College of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621000, China)

Abstract: Soil microbes are sensitive to soil pollutants. Using microbiological technique could monitor soil pollution at the early stage. The structure and the functional diversity of soil microbial communities were investigated in soils around the uranium tailings in China, employing traditional dilution plate and Biolog-Eco system. The results showed that the population of soil microorganisms ranked as follows: bacteria>fungi>actinomyce. Compared with the control, the Average Well Color Development (AWCD) values decreased by (37.6%~92.0%) in soils around the uranium tailings. AWCD, Shannon index (H') and Simpson index (D) all had an inverse correlation with the concentrations of radioactive nuclides, but a significant positive correlation with organic matter, total nitrogen, alkali solution nitrogen. The principal component analysis (PCA) showed that differences in metabolic characteristics of soil microbial community resulted mainly from carbohydrates utilization. This study might provide an option for eco-environmental monitoring around the uranium tailings.

Keywords: uranium tailings; soil; pollution; microbial community; diversity

土壤是人类赖以生存的资源之一。随着原子能和国防军工产业的发展,铀矿冶产品的需求量不断增加,相应的铀尾矿量也与日俱增。铀尾矿库中储存放射性物质的数量是极大的,随之引起的周边环境土壤污染给人类的生命和健康带来巨大的威胁^[1]。某些核素的迁移和转化对生态系统的破坏性和环境毒害性可能更强^[2]。构建一种灵敏的、可以直接反映土壤受污

染程度的监测预警体系显得尤为重要^[3]。近年发展起来的微生物分子生态学方法,为检测、预警土壤放射性核素以及重金属污染建立了一个较高的技术平台。

土壤微生物是土壤生态系统中极其重要和最为活跃的部分,是土壤分解系统的主要成分,在土壤养分转化循环、系统稳定性和抗干扰能力以及土壤可持续发展中占据主导地位^[4],同时土壤微生物及其参与的生化过程对污染物相当敏感。采用土壤微生物指标能够直接地反映污染物的潜在影响和实际毒性,真实反映土壤污染对生物系统的危害程度,对污染进行评价和早期预警。但是关于铀尾矿区微生物群落多样性的研究甚少。本试验采用了稀释平板培养法以及可用

收稿日期:2013-03-22

基金项目:国家自然科学基金(11075134)

作者简介:彭芳芳(1987—),女,内蒙古人,硕士,从事土壤放射性核素污染与修复的微生物预警体系构建的基础研究。

E-mail: nuanyuzi@163.com

* 通信作者:罗学刚 E-mail: lxxg@swust.edu.cn

于分析整个微生物群落、表征微生物群落的功能潜力的方法——Biolog 分析技术^[9],研究了铀矿区周边的土壤微生物的群落结构及功能多样性,为放射性污染尾矿区的土壤质量评价提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 土壤样品

土壤样品于 2012 年采集于我国某铀尾矿库周边地区。根据相关资料提供的放射性污染强度选定 5 个区域,每个区域分别以“S”型路线采取土样,采集深度为 15 cm。其中 5 区域的采样类型为尾砂。选取远离铀尾矿土壤作为对照,设为 1 号(表 1)。将土壤样品装入无菌袋内,4℃冰箱保存。土壤理化性质见表 4。

表 1 土壤中放射性核素的含量
Table 1 Contents of radioactive nuclides in soils

样品编号	$\omega(\text{U})/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	$\omega(^{40}\text{K})/\text{Bg}\cdot\text{kg}^{-1}$	$\omega(\text{Th})/\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
1	3.82	449.6	20.6
2	3.39	461.0	19.0
3	12.2	11.7	19.9
4	12.3	65.0	22.1
5	19.5	906.9	14.0
6	26.8	416.7	16.6

1.2 研究方法

试验使用的 Biolog-Eco 板共 96 个孔,31 个孔为一组平行,将待测土壤于 25℃生化培养箱中预培养 24 h,取相当于干土重 10 g 的经预培养的湿润土壤,加入到装有 90 mL 的 0.85 mol·L⁻¹ 氯化钠无菌水的三角瓶中,250 r·min⁻¹ 振荡 30 min,静置 15 min,取上清液稀释到 10⁻³ 浓度。把 Biolog-Eco 板预热到 25℃,加入 150 μL 稀释液于每孔中,每样 3 次重复,25℃下恒温培养 8 d,分别在 24、48、72、96、120、144、168、192 h,波长为 590 nm 下读数^[6-7]。

试验中分别选用牛肉膏蛋白胨、高氏一号以及 PDA 培养基对土壤细菌、放线菌以及真菌进行培养、计数^[8]。

1.3 数据处理与分析

进行微生物群落分析,一般要记录随着培养时间的增加每孔的吸光值变化(Biolog 方法)在环境微生物群落研究中的应用。平均吸光值(AWCD)以及多样性指数按照相关文献的方法计算^[9-11]。做图和统计分析用 Origin7.5、SPSS16.0 软件。

2 结果与分析

2.1 不同放射性污染土壤中微生物的数量

不同放射性污染土壤中微生物的数量见表 3。从表中可以看出,各取样点微生物总数大小顺序为 1 号>2 号>4 号>3 号>6 号>5 号。与对照相比,各取样点的微生物总数减少了 20.6%~82.5%,其中取样点 5 的减少幅度最大达 82.5%。细菌数量相比对照下降了 23.4%~86.0%,除取样点 2 的真菌数量高于对照,其他取样点的真菌数量与对照相比下降了 50.1%~93.3%。放线菌的数量在所有样品中均表现出比较低的水平。在各取样点中,三大类微生物数量大致为细

表 3 放射性核素污染条件下微生物数量
Table 3 Microbial populations in soils contaminated by radioactive nuclides

样品编号	微生物种类及数量			
	细菌/ $\times 10^6\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$	放线菌/ $\times 10^5\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$	真菌/ $\times 10^5\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$	总数/ $\times 10^6\text{CFU}\cdot\text{g}^{-1}$
1	7.347	0.567	8.048	8.209
2	5.625	0.367	8.589	6.521
3	4.565	0.757	0.537	4.694
4	4.461	0.671	2.144	4.743
5	1.029	0.051	4.015	1.436
6	3.125	0.039	3.489	3.478

表 2 供试土壤理化性质
Table 2 Physical and chemical properties of soils

样品编号	pH (水土比 1:2.5)	有机质/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全氮/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全磷/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	全钾/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	碱解氮/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	有效磷/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	速效钾/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	阳离子交换量/ $\text{cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$
1	4.4	16.0	0.98	0.57	11.4	101	8.50	138	29.3
2	4.8	12.2	0.80	0.49	13.0	75.0	4.70	72.0	12.6
3	8.1	5.37	0.19	0.12	1.44	9.94	<0.10	24.0	13.8
4	7.5	3.86	0.15	0.08	0.767	10.8	<0.10	28.0	12.4
5	4.0	6.20	0.33	0.49	21.4	46.1	9.70	55.5	20.8
6	4.4	3.60	0.51	0.30	9.83	42.5	1.20	215	6.73

菌>真菌>放线菌。

2.2 不同放射性污染土壤中微生物群落功能多样性的变化

2.2.1 微生物群落代谢剖面 AWCD 的变化

平均孔颜色变化率是反映土壤微生物活性,即每个板上单一碳源利用能力的重要指标^[12]。由图1可以看出微生物活性的总体变化趋势:随着培养时间的增加,吸光值在一定程度上也增加。最初的48 h内,除对照外各供试土壤的AWCD变化不明显,在48 h后取样点2的AWCD出现明显升高的趋势,而其他取样点培育至96 h时出现变化。以120 h的AWCD值作为衡量微生物活性在放射性污染环境下的变化情况,各取样点的AWCD与对照相比下降了37.6%~92.0%,且AWCD的变化速度(斜率)和最终AWCD均有不同程度的下降。相关性分析(表6)表明:AWCD与放射性核素的相关性均未达到显著,与U、⁴⁰K呈负相关,但随着放射性污染的加剧,AWCD表现出逐渐变小的趋势。

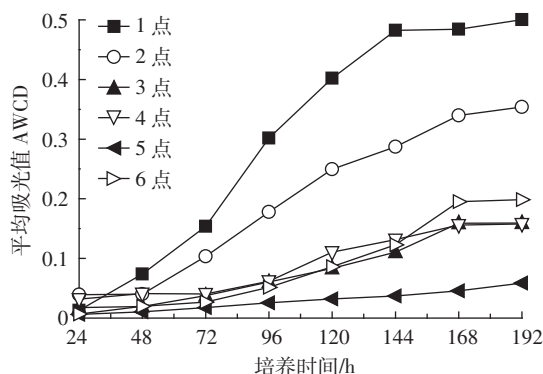


图1 土壤微生物平均吸光值变化

Figure 1 Changes in average well color development(AWCD) values of soil microbes over time

2.2.2 微生物对不同碳源的利用特征

根据化学基团的性质把ECO板的31种碳源底物分为6类,即碳水化合物类、聚合物类、羧酸类、氨基酸类、酚酸类、胺类^[13]。整体来看(图2),1号样品在所有碳源中均表现出相对比较高的代谢水平;2号样品在除胺类外的其他碳源代谢中也表现出仅次于1号的水平;3、4号样品仅对聚合物类的利用率相对较高,对其他碳源的利用率较低;而5号样品对所有碳源的利用均表现出低水平;6号样品对羧酸类的利用高于3、4、5号样品,而在对其他种类碳源利用中低于3、4、5号样品或差异不明显。以上表明:不同土壤微

生物群落间的代谢特征随着污染程度的变化而变化,并且明显降低了微生物对胺类的利用程度。

2.2.3 土壤微生物碳源利用多样性的主成分分析

为了进一步比较不同放射性污染土壤中微生物对不同碳源的利用特征,采用土壤微生物在Biolog微平板上培养至120 h的数值进行主成分分析(Principal Component Analysis)。由31种因子中提取的2个主成分因子,分别可以解释所有变量方差的44.18%和24.74%。从图3可以看出,各样品与对照点在PC轴上表现出了明显的分布差异,说明放射性核素污染的土壤微生物功能多样性发生了变化。从表4可以看出:在PC1上载荷较高的12种碳源中,有碳水化合物5种,氨基酸3种,胺类2种,羧酸类以及酚酸类各1种,PC2载荷较高的6种碳源中,有碳水化合物4种,氨基酸和羧酸类各1种,说明影响第一主成分和第二主成分的碳源以碳水化合物为主。以上表明:使得各供试土壤的微生物群落代谢多样性表现出差异的主要碳源为碳水化合物类,其次是氨基酸类以及胺类。

2.2.4 不同放射性污染土壤中微生物多样性指数分析

Shannon多样性指数表示在颜色变化率一致的情况下,整个生态系统土壤微生物群落利用碳源类型的多与少^[14]。由表5可以看出各取样点的Shannon指数(H')、Simpson指数(D)的变化趋势与微生物总量以及AWCD的变化规律基本一致,与放射性核素浓度基本呈负相关(表6)。从Pielou指数(E)来看,取样点4以及取样点5相比较其他取样点数值有较大的优势。

3 讨论

土壤微生物不仅对土壤的发生、发育、土壤肥力的形成和植物营养元素的迁移、转化起着重要作用,而且对土壤中污染物的分解、净化、迁移、转化起着极其重要的作用^[15-16]。土壤微生物区系与土壤肥力、健康密切相关。张汉波等^[17]的研究表明,铅锌矿渣堆积区的土壤微生物数量最多的是细菌,放线菌次之,真菌最少。韩桂琪等^[18]的研究发现,在矿区重金属混合污染的情况下,土壤微生物数量发生了明显的变化,并且数量上依次为细菌>放线菌>真菌。而本研究在放射性核素污染存在的条件下,土壤微生物数量大小顺序为细菌>真菌>放线菌。这一结果与很多文献的报道不同,可能是由于真菌的抗胁迫能力比较强,或者是由于选定的几个区域都是未经开垦的土壤,真菌在

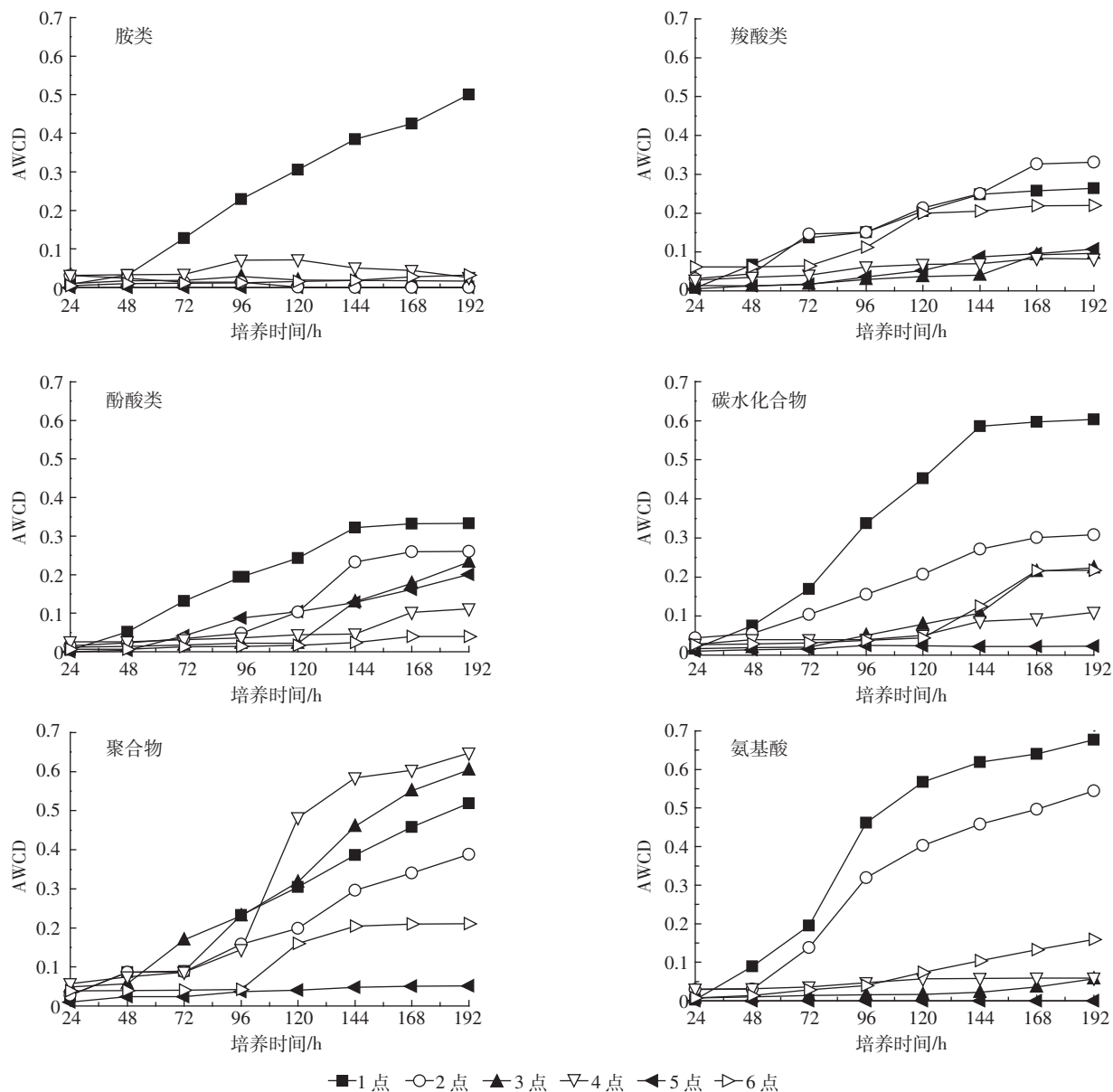


图2 土壤微生物不同碳源变化特征

Figure 2 Changes in average well color development(AWCD) values of soil microbes under different carbon sources

数量上有比较大的优势^[8]。

AWCD 反映的是土壤微生物活性,即利用孔中吸光度的变化来表示微生物对碳源的利用程度,是土壤微生物群落生理功能多样性的一个重要指标,对土壤环境胁迫的反应比较敏感。从表 6 看出,AWCD 与 U、⁴⁰K、pH 呈负相关,但均未达到显著,这要求我们在接下来的研究中需要进一步探索铀尾矿周边地区除 U、⁴⁰K、Th 外的有可能影响土壤微生物结构与功能的其他污染物质。AWCD 与其他各项均呈正相关,其中与有机质 ($P < 0.01$)、全氮 ($P < 0.05$)、碱解氮 ($P < 0.05$) 达到显著相关,说明 AWCD 能比较全面地反映土壤有机

质、全氮、碱解氮的状况。但从表 7 中可以看出 U 与这三项均呈负相关,根据相关系数也可以在一定程度上说明放射性核素的污染降低了土壤质量,影响了土壤的肥力水平,导致土壤微生物活性降低^[19]。取样点 5 的 AWCD 一直维持在比较低的水平,但是与取样点 3、4、6 相比较有机质含量还较高,所以污染物对土壤微生物的影响程度,除与有机质含量有关外,可能还与有机质的组成及微生物种群的组成有关^[20]。此外,也可能是因为尾砂的含水量低,造成微生物活性以及种类有所下降。

土壤微生物群落多样性反映了群落总体的动态

表 4 土壤微生物碳源利用主成分 1 和 2 载荷较高的碳源

Table 4 Variable loading characteristics of high principal components for carbon source utilization by soil microbes

项目	种类	碳源	R
PC1(44.18%)	胺类 Amine	苯乙胺 Phenylethylamine	0.993
		腐胺 Putrescine	0.862
	碳水化合物 Carbohydrates	D-半乳糖醛酸 D-Galacturonic Acid	0.990
		D-葡萄糖胺酸 D-Glucosaminic Acid	0.982
		α-D-乳糖 α-D-Lactose	0.647
		i-赤藓糖醇 i-Erythritol	0.983
		D,L-α-磷酸甘油 D,L-α-Glycerol Phosphate	0.989
	氨基酸 Amino acids	L-苯基丙氨酸 L-Phenylalanine	0.859
		L-精氨酸 L-Arginine	0.991
		L-丝氨酸 L-Serine	0.985
	酚酸 Phenolic acids	4-羟基苯甲酸 4-Hydroxybenzoic Acid	0.941
	羧酸类 Carboxylic acids	D-苹果酸 D-Malic Acid	0.956
		α-D-葡萄糖-1-磷酸 α-D-Glucose-1-Phosphate	0.679
PC2(24.74%)	碳水化合物 Carbohydrates	D-木糖 D-Xylose	0.803
		D-半乳糖酸-γ-内脂 D-Galactonic Acid γ-Lactone	0.717
		D-纤维二糖 D-Cellobiose	0.900
	氨基酸 Amino acids	甘氨酸-L-谷氨酸 Glycyl-L-Glutamic Acid	0.968
	羧酸类 Carboxylic acids	衣康酸 Itaconic Acid	0.946

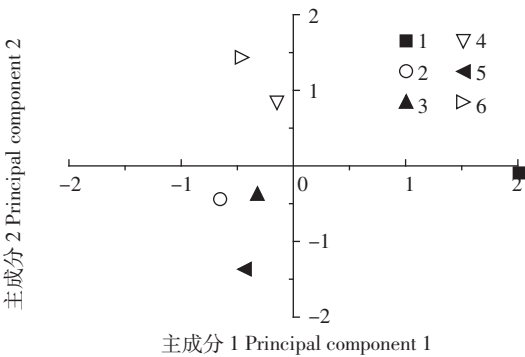


图 3 土壤微生物碳源利用类型的主成分分析

Figure 3 Principal components analysis of carbon utilization by soil microbes

表 5 土壤微生物功能多样性指数

Table 5 Functional diversity indices of soil microbial communities

土壤编号	Shannon 指数(H')	Simpson 指数(D)	Pielou 指数(E)
1	3.00	0.94	1.00
2	2.56	0.91	1.03
3	2.05	0.77	1.86
4	2.19	0.73	3.16
5	2.32	0.84	3.16
6	2.46	0.88	1.26

变化,而研究土壤微生物对不同碳源利用能力的差异,可深入了解微生物群落的结构组成^[21]。本研究

表 6 土壤理化性质、放射性核素与微生物参数的相关性

Table 6 Correlations between physical and chemical properties, radioactive nuclides and microbial parameters

项目	AWCD	微生物总数	Shannon 指数(H')	Simpson 指数(D)	Pielou 指数(E)
pH	-0.293	0.077	-0.690	-0.832*	0.054
有机质	0.927**	0.772	0.848*	0.755	-0.313
全氮	0.880*	0.677	0.949**	0.943**	0.721
全磷	0.573	0.231	0.805	0.895*	0.478
全钾	0.053	-0.321	0.419	0.624	0.614
碱解氮	0.833*	0.568	0.957**	0.940**	0.380
有效磷	0.372	-0.022	0.611	0.623	0.614
速效钾	0.272	0.109	0.585	0.659	0.786
阳离子交换量	0.593	0.401	0.606	0.393	-0.087
U	-0.760	-0.811	-0.417	-0.245	-0.506
⁴⁰ K	-0.008	-0.386	0.386	-0.056	0.372
Th	0.478	0.751	0.062	-0.276	0.054

注: **and * represent significant at $P<0.01$ and 0.05 levels, respectively.

各供试土壤利用胺类作为碳源的微生物表现出的活性与对照相比明显较低,因此胺类碳源可能是此类污染中较敏感的一类碳源。今后需进一步研究不同取样时间,胺类碳源是否仍能敏感地反映土壤微生物群落的变化以及是否还有其他碳源,甚至可以单一作为敏感指标。从氨基酸的利用情况来看,比较明显的取

表 7 土壤理化性质与放射性核素的相关性

Table 7 Correlations between physical and chemical properties and radioactive nuclides

项目	pH	有机质	全氮	全磷	全钾	碱解氮	有效磷	速效钾	阳离子交换量
U	-0.143	-0.790	-0.509	-0.295	0.124	-0.480	-0.226	0.395	-0.506
⁴⁰ K	-0.821*	0.252	0.354	0.799	0.991**	0.525	0.856*	0.267	0.372
Th	0.648	0.227	0.044	-0.422	-0.804	-0.828	-0.479	-0.279	0.054

注:**and * represent significant at $P<0.01$ and 0.05 levels, respectively.

点 5 的土壤微生物未对氨基酸进行利用,其原因可能与尾砂性质有关,有待于进一步实验验证。另外应用主成分分析得出了在主成分 1 和 2 上载荷较高的碳源(表 4),这一结果也为放射性尾矿库的修复工作提供了一定的参考。

土壤微生物群落利用碳源类型的多与少可以用各种的多样性指数表示^[2]。不同的多样性指数实际上反映了土壤微生物群落功能多样性的不同侧面。Shannon 指数受群落物种丰富度影响较大,Simpson 指数较多反映了群落中最常见的物种,在本研究中除 Pielou 指数外,Shannon 和 Simpson 指数的变化规律基本一致,并与有机质、全氮、碱解氮呈显著正相关,表明这 2 个多样性指数能较真实地反映铀尾矿周边地区土壤质量状况。但仍需对各多样性指数的适用范围和条件进行研究,并对各指数的数学方法和生物学意义进行深入研究,才能更好地了解尾矿库微生物群落的多样性。

虽然由 Biolog 试验得到的数据量很大,但从微生物代谢功能信息中得到的群落结构的详细信息还很有限,必须结合其他群落结构分析的方法。如今发展起来的宏基因组技术^[23-24]使我们能够直接以土壤总 DNA 建立基因文库,这个文库包含了土壤中可培养、难培养和不可培养的全部土壤微生物,使我们从 DNA 分子水平上了解污染物对土壤微生物遗传物质的破坏,这些技术的综合运用可以从微生物分子生态学角度对放射性核素污染程度做出更加全面、准确的评价,从而实现了对放射性核素污染的早期预警。

4 结论

(1)微生物数量、AWCD、Shannon 指数(H')、Simpson 指数(D)随着污染程度的加重表现出下降趋势,其中 AWCD、Shannon 指数(H')、Simpson 指数(D)可以较好地反映土壤中有有机质、全氮、碱解氮的状况。

(2)放射性污染环境中,胺类为一类较敏感碳源,不同土壤微生物群落间的代谢特征随着污染程度的变化而变化,这种变化主要体现在碳水化合物上,其

次是氨基酸以及胺类。

(3)各取样点的三大类微生物数量大小为:细菌>真菌>放线菌。

参考文献:

- [1] 孙赛玉,周青. 土壤放射性污染的生态效应及生物修复[J]. 中国生态农业学报, 2008, 16(2):523-528.
SUN S Y, ZHOU Q. Ecological effect and bioremediation of radioactive contaminated soils[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2008, 16(2):523-528.
- [2] 喻名德,杨春才. 核试验场及其治理[M]. 北京:国防工业出版社, 2007.
YU M D, YANG C C. Nuclear test site and its governance[M]. Beijing: National Defence Industry Press, 2007.
- [3] 孙建光,高俊莲,徐晶,等. 微生物分子生态学方法预警农田重金属污染的研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2007, 13(2):338-343.
SUN J G, GAO J L, XU J, et al. Reviews on early warning of field heavy metal pollutions with molecular microbial ecological methods[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2007, 13(2):338-343.
- [4] 张薇,魏海雷,高洪文,等. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J]. 生态学报, 2005, 24(1):48-52.
ZHANG W, WEI H L, GAO H W, et al. Advanced of studies on soil microbial diversity and environment impact factors[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2005, 24(1):48-52.
- [5] 郝晓晖,胡荣桂,吴金水,等. 长期施肥对稻田土壤有机氮、微生物生物量及功能多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(6):1477-1484.
HAO X H, HU R G, WU J S, et al. Effects of long-term different fertilization on microbial community functional diversity in paddy soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 21(6):1477-1484.
- [6] 徐华勤,肖润林,邹冬生,等. 长期施肥对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(8):3355-3361.
XU H Q, XIAO R L, ZOU D S, et al. Effects of long-term fertilization on functional diversity of soil microbial community of the tea plantation[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(8):3355-3361.
- [7] 区余端,苏志尧,彭桂香,等. 车八岭山地常绿阔叶林冰灾后土壤微生物群落功能多样性[J]. 生态学报, 2009, 29(11):6156-6163.
OU Y D, SU Z Y, PENG G X, et al. Soil microbial functional diversity in a montane evergreen broadleaved forest of Chebaling following the huge ice storm in South China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(11):6156-6163.
- [8] 李振高,骆永明,滕应. 土壤与环境微生物研究法[M]. 北京:科学

- 出版社, 2008.
- LI Z G, LUO Y M, TENG Y. The research methods of soil and environmental microorganism[M]. Beijing: Science Press, 2008.
- [9] ZHANG Hai-fang, LI Gang, SONG Xiao-long. Changes in soil microbial functional diversity under different vegetation restoration patterns for Hulunbeier Sandy Land[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(1): 38–44.
- [10] Garcia-Villaraco Velasco A, Probanza A, Gutierrez Mañero F J. Effect of fire and retardant on soil microbial activity and functional diversity in a Mediterranean pasture[J]. *Geoderma*, 2009, 153: 186–193.
- [11] WEI Yuan, YU Li-fei, ZHANG Jin-chi. Relationship between vegetation restoration and soil microbial characteristics in degraded karst regions: A case study[J]. *Soil Science Society of China*, 2011, 21(1): 132–138.
- [12] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole carbon-source utilization[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(8): 2351–2359.
- [13] 孔 滨, 杨秀娟. Biolog生态板的应用原理及碳源构成[J]. 绿色科技, 2011(7): 231–234.
- KONG B, YANG X J. The application principle and carbon source composition of biolog-eco plate[J]. *Journal of Green Science and Technology*, 2011(7): 231–234.
- [14] 孟庆杰, 许艳丽, 李春杰, 等. 不同植被覆盖对黑土微生物功能多样性的影响[J]. 生态学杂志, 2008, 27(7): 1134–1140.
- MENG Q J, XU Y L, LI C J, et al. Effects of different vegetation coverage on microbial functional diversity in black soil[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2008, 27(7): 1134–1140.
- [15] 韩兴国, 王智平. 土壤生物多样性与微量气体(CO_2 , CH_4 , N_2O)代谢[J]. 生物多样性, 2003, 11(4): 322–332.
- HAN X G, WANG Z P. Soil biodiversity and trace gases(CO_2 , CH_4 , N_2O) metabolism: A review[J]. *Biodiversity Science*, 2003, 11(4): 322–332.
- [16] Smith K A, Ball T, Conen F, et al. Exchange of greenhouse gases between soil and atmosphere: Interactions of soil physical factors and biological processes[J]. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54(4): 779–791.
- [17] 张汉波, 于春蓓, 施 雯, 等. 不同时空铅锌矿渣中耐受重金属细菌群体的变化[J]. 农村生态环境, 2004, 20(1): 44–47.
- ZHANG H B, YU C B, SHI W, et al. Spatial and temporal changes in colonization of heavy metal-tolerant bacteria in the lead-zinc tailings with different deposited history[J]. *Rural Eco-Environment*, 2004, 20(1): 44–47.
- [18] 韩桂琪, 王 彬, 徐卫红, 等. 重金属 Cd、Zn、Cu、Pb 复合污染对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 24(5): 238–242.
- HAN G Q, WANG B, XU W H, et al. Effects of heavy metal combined pollution on soil microbial indicators and soil enzymatic activity[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(5): 238–242.
- [19] Stefanowicz A M, Kapusta P, Niklińska M, et al. Soil fertility and plant diversity enhance microbial performance in metal-polluted soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2012, 439: 211–219.
- [20] 谢文军, 周健民, 王火焰. 重金属 Cu^{2+} , Cd^{2+} 及氯氰菊酯对不同施肥模式土壤微生物功能多样性的影响 [J]. 环境科学, 2008, 29(10): 2919–2924.
- XIE W J, ZHOU J M, WANG H Y. Influence of Cu^{2+} , Cd^{2+} and cypermethrin on microbial functional diversity in different fertilization soils[J]. *Environmental Science*, 2008, 29(10): 2919–2924.
- [21] 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 W D, LIU K X, LIAO Z W. Effects of different organic materials and their composting levels on soil microbial community[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15(3): 487–492.
- [22] Jussila M M, Jurgens G, Lindström K, et al. Genetic diversity of culturable bacteria in oil-contaminated rhizosphere of *Galega orientalis*[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 139(2): 244–257.
- [23] 周丹燕, 戴世鲲, 王广华, 等. 宏基因组学技术的研究与挑战[J]. 微生物学通报, 2011, 38(4): 591–600.
- ZHOU D Y, DAI S K, WANG G H, et al. The research innovation and challenges in metagenomics[J]. *Microbiology China*, 2011, 38(4): 591–600.
- [24] Christopher L H, Ye Deng, Terry J G, et al. Metagenomic insights into evolution of a heavy metal-contaminated groundwater microbial community[J]. *International Society for Microbial Ecology*, 2010, 4: 660–672.