

# 多氯联苯污染农田土壤的细菌群落结构差异及其影响因素\*

吴宇澄<sup>1,2</sup> 骆永明<sup>1,2†</sup> 滕应<sup>1</sup> 李振高<sup>1</sup>

(1 中国科学院南京土壤研究所土壤与环境生物修复研究中心, 土壤与农业可持续发展国家重点实验室, 南京 210008)

(2 中国科学院研究生院, 北京 100039)

**摘要** 应用 PCR-DGGE 技术分析多氯联苯长期污染农田土壤的细菌群落结构, 并主要运用统计学方法探讨了多氯联苯总量和土壤理化因子对细菌群落结构的影响。结果显示: 不同水平多氯联苯污染农田土壤中细菌群落结构存在差异, 较高水平多氯联苯 ( $64.0 \sim 484.5 \text{ ng g}^{-1} \text{ dw}$ ) 污染土壤的细菌群落结构较为接近; 相对于其他土壤理化因子 (如有效磷、pH、有机质等), 多氯联苯显著影响农田土壤中的细菌群落结构 ( $p < 0.05$ )。这表明在多氯联苯胁迫下土壤细菌整体群落结构发生改变, 提示多氯联苯污染对土壤微生物生态的影响, 这可能导致土壤生态环境质量发生变化, 是潜在的生态风险因素。

**关键词** 多氯联苯; 农田土壤; 微生物群落; PCR-DGGE; 典范对应分析  
中图分类号 X172 文献标识码 A

多氯联苯 (Polychlorinated biphenyls, PCBs) 是一系列不同含氯量的同系物, 曾广泛作为电器绝缘介质, 因其毒性较高, 已被《斯德哥尔摩公约》列入禁止和消除的首批清单。自 20 世纪 80 年代以来, 我国东部沿海某些地区, 由于电子拆卸业的无序发展, 一些废旧电器如变压器、电容器中的 PCBs 泄漏直接进入土壤环境<sup>[1,2]</sup>, 造成土壤污染。微生物作为土壤生态环境的重要组成部分, 是最易受到外源污染物影响的土壤生物, 也在有机污染物生物地球化学循环中起着十分关键的作用<sup>[3]</sup>。因此, 微生物既是 PCBs 污染土壤修复的重要资源, 也具有作为土壤污染指示标记的潜力, 十分必要对其进行研究。以往对土壤微生物的研究, 往往受限于实验室培养方法, 所得结果有很大的局限性。分子生物学技术的发展, 使土壤微生物的研究不再依赖于培养技术, 极大促进了土壤微生物生态学的发展。本文采用 PCR-DGGE 方法, 对长江三角洲地区某典型 PCBs 污染农田的土壤微生物群落结构进行分析, 旨在阐明 PCBs 长期暴露情况下农田土壤微生物群落的结构差异及内在机制。

PCR-DGGE 产生的分子指纹图谱上虽然能够直观地看出微生物群落间的差异, 但是要揭示微生物群落与环境因子的内在联系, 还需运用梯度分析

(Gradient analysis) 方法。这类方法包括主成分分析、主坐标分析、典范对应分析 (Canonical correspondence analysis, CCA) 等等。其中, 典范对应分析因其可以将多个环境因子和样本数据进行多元回归计算而获得样本与环境的关系, 已广泛应用于植被生态研究。近年来, 这一方法也开始被用于微生物群落结构研究<sup>[4]</sup>。本文在 PCR-DGGE 的基础上, 尝试运用典范对应分析方法探讨 PCBs 污染土壤微生物群落结构的影响因素, 从而为 PCBs 污染土壤的环境评价和微生物修复提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 供试土壤** 土壤样品采自长江三角洲某典型 PCBs 复合污染区, 主要土壤类型为水稻土 (铁聚水耕人为土)。在以前调查的基础上, 选择采集了 10 个表层土样 (0 ~ 15 cm), 记为 L1 ~ L10。样品去除植物残体, 风干, 研磨过筛后分为两部分, 一部分供土壤理化性质分析和 PCBs 成分分析, 另一部分供微生物群落结构分析。

**1.1.2 主要试剂与引物** FastDNA<sup>®</sup> SPIN Kit for

\* 国家自然科学基金重点项目 (40432005)、国家重点基础研究发展规划项目 (2002CB410809/10) 和江苏省自然科学基金 (BK2005166) 资助

† 通讯作者, E-mail: ymluo@issas.ac.cn

作者简介: 吴宇澄 (1977 ~), 男, 江苏高淳人, 博士研究生, 主要从事污染土壤生物修复与微生物生态研究。E-mail: ycwu@issas.ac.cn

收稿日期: 2006-06-08; 收到修改稿日期: 2006-08-23

Soil 试剂盒系美国 Qbiogen 公司产品, Taq DNA 聚合酶购自上海 Promega 公司, 荧光染料 Sybr green I 是瑞士 Roche 公司产品, 引物由上海博亚生物技术有限公司合成。

## 1.2 分析方法

**1.2.1 土壤理化性质分析** 参照文献[5]进行。其中, 有机质测定采用重铬酸钾-硫酸消化法, 有效氮测定采用碱解扩散法(碱解氮), 有效磷测定采用碳酸氢钠法, 速效钾测定采用醋酸铵提取法, 阳离子交换量测定采用醋酸铵法。

**1.2.2 PCBs 提取与气相色谱分析** 称取 10.0 g 土壤, 加入 40.0 ml 1:1(v/v) 正己烷丙酮混合液, 浸泡过夜后超声提取, 离心分离上清, 再用 20.0 ml 提取液提取 2 次。合并提取液, 旋转蒸发至 5 ml。转入分液漏斗, 浓硫酸酸化后静置分层, 弃去硫酸层。重复酸洗至硫酸层无色, 然后加入 2% 硫酸钠水溶液重复水洗, 保留有机相。处理过的提取液经硅胶层析洗脱后旋转蒸发浓缩, 用正己烷定容至 1.00 ml。PCBs 分析条件: 气相色谱 (Varian 3800, Varian, Inc.) 柱为 CP-sil24CB, 进样口温度 260, 检测器 (GC-ECD) 温度 300, 载气为氮气, 流速 1.0 ml min<sup>-1</sup>, 程序升温(初始 120 保留 0.5 min, 10 min<sup>-1</sup> 升至 180 并保留 1.0 min, 15 min<sup>-1</sup> 升至 250 并保留 26.0 min)。无分流进样 1 μl, 外标法定量。

## 1.3 土壤总 DNA 的提取及纯化

采用 FastDNA<sup>®</sup> SPIN Kit for Soil 试剂盒提取土壤总 DNA。具体方法参照文献[6]进行。

## 1.4 PCR-DGGE

使用引物 338f-GC 和 518r 扩增细菌 16S rRNA 基因 V3 区一段大约 180 bp 的片段 (PTC-100, MI Research)。50 μl 扩增反应体系中包含: 1.5 mmol L<sup>-1</sup> Mg<sup>2+</sup>, 200 μmol L<sup>-1</sup> dNTP, 1.5 μmol L<sup>-1</sup> 引物, 1 μl 模板, 1.5 U Taq DNA 聚合酶。反应参数: 94 预变性 5 min, 94 变性 1 min, 50 退火 1 min, 72 延伸 1 min, 30 个循环, 最后 72 延伸 10 min。

使用 DCode<sup>™</sup> Universal Mutation Detection System (Bio-Rad), 在变性梯度为 30% ~ 60% 的 8% 聚丙烯酰胺凝胶上进行变性梯度凝胶电泳。电泳前对 PCR 产物定量、校正使上样量一致。在 60、60 V 条件下电泳 16 h 后, 使用 Sybr Green I 染色, 染色结果用 Gel Doc<sup>™</sup> EQ (Bio-Rad) 凝胶成像系统成像, 使用 Quantity One 4.4 软件 (Bio-Rad) 进行图像分析。

## 1.5 统计分析

使用 CANOCO 4.53 软件 (Microcomputer Power) 对 DGGE 揭示的细菌群落结构与环境参数进行典范对应分析。以 DGGE 中条带的相对密度值作为微生物物种数据, 使用软件中的 forward 选项寻找影响最显著的环境变量, 采用蒙特卡罗排列检验 (Monte Carlo permutation test, 499 permutations, reduced model) 进行显著性检验<sup>[7]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 供试土壤的理化性质及 PCBs 含量

土壤理化性质与 PCBs 分析结果见表 1。10 个土壤样本的 PCBs 含量由高到低呈梯度分布, 其中 L1 接近加拿大环境部长委员会 (Canadian Council of Ministers of the Environment, CCME) 环境质量导则中规定的农业土壤 500 ng g<sup>-1</sup> 的指导值<sup>(1)</sup>, 与其他未遭受明显污染地区土壤中低于 1 ng g<sup>-1</sup> 的 PCBs 水平相比<sup>[8,9]</sup>, 大部分样本已被污染。

### 2.2 PCR-DGGE 分析

DGGE 结果如图 1 所示。根据 DGGE 的原理, 不同细菌的 16S rDNA 片段由于其碱基组成的差异导致电泳时泳动速率的不同, 从而在凝胶上得以分开。但是由于各种因素影响, 实际存在偏差<sup>[10,11]</sup>。本研究中, 设定每个条带代表一个操作分类单元 (OTU)。

在 10 个样本中, 共出现 46 条不同位置的条带, 代表 46 个 OTU。最多的 L2 与 L9 各有 30 条条带, 最少的 L4 有 25 个条带。使用 UPGMA 算法对样本的 DGGE 图谱进行聚类分析, 结果如图 2 所示。PCBs 污染水平较高的 L1、L2、L3、L5、L6 聚为一类, L4 与其他样本之间的相似性较低。PCBs 以及其他土壤理化因子对微生物群落组成影响的程度, 需要进一步分析。

### 2.3 典范对应分析

对受试样本 DGGE 条带的典范对应排序结果如图 3 所示。在此二维排序图 (biplot) 中, 样本与环境因子在同一个图上反映出来, 可以直观地看出群落分布、物种分布与环境变量之间的关系。环境因子用箭头表示, 箭头所处的象限表示环境因子与排序轴间的正负相关性, 箭头连线长度代表该环境因子与样本分布相关程度的大小, 而箭头连线间的夹角代表环境因子间的相关性大小<sup>[12]</sup>。

(1) CCME. Summary of Existing Canadian Environmental Quality Guidelines. Update 2002. [http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1\\_06.pdf](http://www.ccme.ca/assets/pdf/e1_06.pdf)

表1 供试土壤 PCBs 浓度与基本理化性质

Table 1 PCBs contents and physico-chemical properties of soils tested

土壤样本 Soil sample	PCBs <sup>1)</sup> (ng g <sup>-1</sup> dw)	pH	有机质 Organic matter (g kg <sup>-1</sup> )	碱解氮 Alkalyisable N (mg kg <sup>-1</sup> )	有效磷 Available P (mg kg <sup>-1</sup> )	速效钾 Available K (mg kg <sup>-1</sup> )	CEC <sup>2)</sup> (cmol kg <sup>-1</sup> )
L1	484.5	4.9	46.9	282.7	17.8	90.0	20.8
L2	319.7	5.0	44.9	278.9	17.6	75.0	20.2
L3	214.8	4.9	49.3	311.5	10.1	78.1	20.2
L4	156.6	5.1	48.1	212.7	9.8	82.4	18.0
L5	95.3	5.0	48.6	228.3	12.4	82.5	19.7
L6	64.0	5.2	50.1	221.7	12.9	94.3	20.5
L7	34.6	4.7	48.9	276.5	14.0	72.0	20.0
L8	15.3	5.0	48.4	211.4	14.2	96.2	20.3
L9	4.1	5.1	49.4	241.8	10.7	78.0	16.8
L10	2.2	5.2	46.6	240.7	12.2	79.5	17.6

1) PCBs:多氯联苯 Polychlorinated biphenyls; 2) CEC:阳离子交换量 Cation exchange capacity

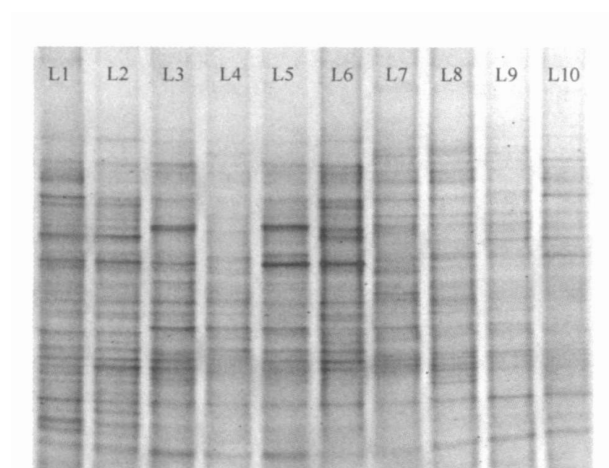


图1 PCBs 污染农田土壤样本的 DGGE 分析

Fig.1 DGGE analysis of PCBs contaminated paddy soils

根据 CANOCO 的 forward 分析,在 7 个环境因子中,仅 PCBs 水平对土壤细菌群落结构组成具有显著影响 ( $p < 0.05$ )。土壤有效磷和 pH 的影响虽然未达显著性水平,但大于其他环境因子。图 3 显示样本 L1~L6 较为集中, L7~L10 较分散,与聚类分析结果基本一致,说明样本 L1~L6 中的细菌群落结构较为接近, L7~L10 间的细菌群落结构差异较大。这可能是由于样本 L1~L6 中相对较高的 PCBs 水平对土壤细菌产生胁迫效应,所以对 PCBs 有适应性的细菌较为集中;其余 4 个样本 PCBs 的效应相对不显著,因而呈现更为多样的分布。CCA 分析的结果概括于表 2。

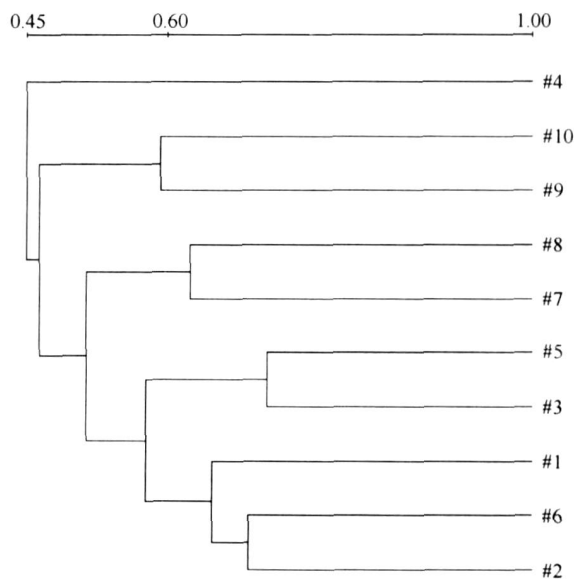


图2 受试农田土壤样本细菌群落结构的聚类分析

Fig.2 Clustering of soils tested according to DGGE data

(# 1 corresponds to L1, # 2 corresponds to L2, etc.)

表 2 显示第一排序轴 (Axis 1) 解释了样本中 19.4% 的变异,第二排序轴 (Axis 2) 解释了样本中 15.4% 的变异,两个排序轴合并解释了 34.8% 的样本总变异。虽然这一比例并不很高,但是根据 Gauch 的解释,物种数据信息中经常包含大量的噪音,排序图虽然仅能解释一小部分总变异,但其中也蕴涵丰富的信息<sup>[13]</sup>。该排序图中,第一排序轴主要由 PCBs (负相关,  $r = -0.838$ ) 和阳离子交换量 (负相关,  $r = -0.527$ ) 组成,第二排序轴主要由 pH (负相关,  $r = -0.715$ )、CEC (正相关,  $r = 0.607$ ) 和有效磷 (正相关,  $r = 0.528$ ) 组成。

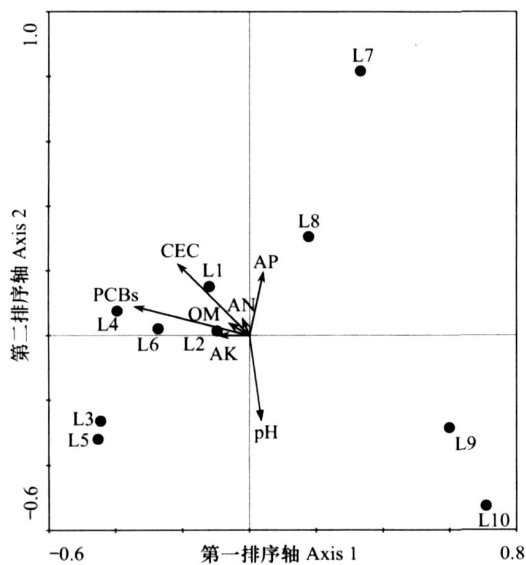
表 2 土壤细菌群落组成典范对应分析

Table 2 CCA of soil bacterial community compositions

典范对应分析指标 Index of canonical corresponding analysis	第一排序轴 Axis 1	第二排序轴 Axis 2	第三排序轴 Axis 3	第四排序轴 Axis 4
特征值 Eigenvalues	0.165	0.132	0.126	0.090
样本-环境关联度 Species-environment correlation	0.993	0.995	0.998	0.961
物种累积关联度百分数 Cumulative percentage correlation of species data	19.4	34.8	49.6	60.2
物种-环境关系累积百分数 Cumulative percentage correlation of species-environment relation	26.0	46.7	66.6	80.8

对各种物种(这里指 DGGE 图谱中各条带所代表的 OTU)与环境变量的关系亦进行 CCA 分析,结果示于图 4。如从各物种点对环境变量延长线作垂线,可发现条带 44、11、1、15 与 PCBs 的交点集中于

箭头方向,表明它们代表的细菌对 PCBs 较为适应。同样,在另一个方向,条带 17、19、25、36 所代表的细菌对 PCBs 较为敏感<sup>[14]</sup>。



OM: 有机质 Organic matter; AN: 碱解氮 Alkalysable N; AP: 有效磷 Available P; AK: 速效钾 Available K; PCBs: 多氯联苯 Polychlorinated biphenyls; CEC: 阳离子交换量 Cation exchange capacity

图 3 受试农田土壤样本细菌群落组成的典范对应分析

Fig. 3 Canonical correspondence analysis (CCA) of bacterial community compositions in soil samples

### 3 讨论

土壤微生物群落研究包括两个方面:微生物多样性即微生物种类的数目;微生物群落结构即不同微生物分类单元或生理类群的数量性质<sup>[15]</sup>。污染物可能造成土壤微生物多样性的减少。Gans 等<sup>[16]</sup>通过对土壤细菌 DNA 复性曲线的计算发现,每克清

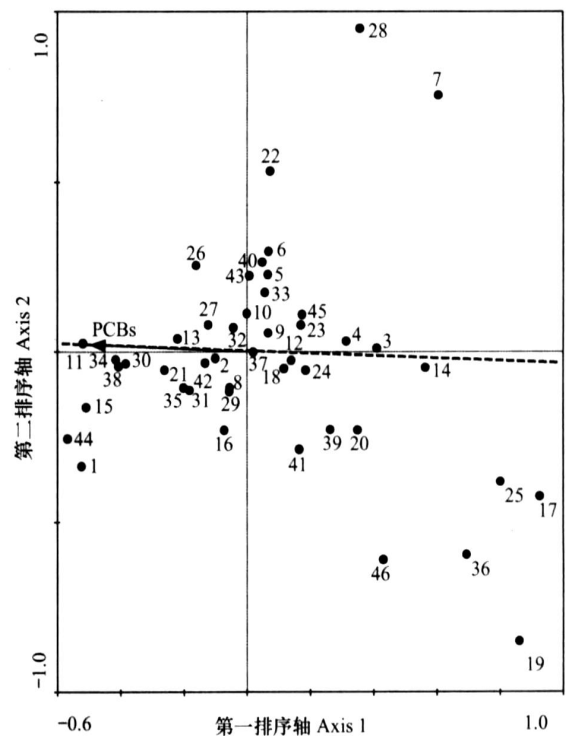


图 4 受试农田土壤样本细菌物种典范对应分析(未显示 PCBs 以外的环境变量)

Fig. 4 CCA of bacterial species data (Environmental variables except for PCBs are not included)

洁土壤中可能存在多达  $10^6$  种细菌,重金属复合污染土壤中细菌的多样性降低 99.9%,稀有物种对污染尤为敏感。一般认为 PCR-DGGE 只能分辨土壤中丰度为 1% 以上的微生物<sup>[17]</sup>,在本研究中,一个样本中只能检测到至多 30 个条带,明显少于自然土壤中的细菌种数。因此,这里的 PCR-DGGE 数据更适合用来解释土壤优势微生物的群落结构差异。

本研究没有采用一般描述性分析对 PCR-DGGE

图谱进行解读,而是主要结合多元统计方法分析环境因子对细菌群落结构的影响。聚类分析和 CCA 较为一致地显示较高 PCBs 水平的土壤(L1~L3, L5, L6)中细菌群落结构相对接近,较低 PCBs 水平的土壤(L7~L10)中群落结构较为分散。由于两个分析工具对 L4 给出的分析结果不一致,这里将 L4 作为异常值(outlier)处理。环境因子的排序分析显示,在所有 8 个环境相关的参数中,PCBs 显著改变农田土壤细菌群落结构( $p < 0.05$ )。以上结果指出在农田土壤生态环境中 PCBs 对土著微生物群落结构具有明显影响。一些学者从生理活性角度对 PCBs 污染土壤中的微生物进行了分析。Anan'eva 等<sup>[18]</sup>发现 PCBs 污染的林区土壤中微生物生物量减少,微生物相对呼吸增加;高军<sup>(1)</sup>发现 PCBs 污染的土壤中微生物生物量和基础呼吸均降低,经本文作者计算相对呼吸(基础呼吸/生物量碳)后发现随着污染物浓度增加,相对呼吸增加,与 Anan'eva 结果一致。虽然目前还缺乏 PCBs 影响土壤微生物群落结构的报道,但是从其他污染物如重金属<sup>[19]</sup>、持久性有机污染物(如 2,4-D)<sup>[20]</sup>均能改变土壤微生物群落结构的情况,结合本研究的结果,可以认为 PCBs 进入土壤后将改变土壤的微生物群落结构和生理活性,并反映在 DGGE 图谱和相关生理指标上。这提示除了通过食物链影响人体健康外,PCBs 可能通过影响土壤微生物群落进而影响土壤环境质量,造成一定的环境风险。虽然本研究中 PCBs 尚未达到严重污染程度,但从其影响来看,需要引起社会的重视,对土壤 PCBs 污染进行监控,保护土壤环境。

PCR-DGGE 分子指纹图谱可为土壤修复和污染指示微生物的筛选提供帮助<sup>[21]</sup>,如对 PCBs 较为适应的条带可能是潜在的降解性微生物,而对 PCBs 敏感条带所代表的微生物可能是潜在的污染指示微生物,对相应条带进行测序可以获得相关的物种信息,为土壤环境污染评价和污染土地修复提供有益的参考。

此外,PCR-DGGE 方法虽已广泛应用于环境微生物的研究,但目前对实验结果的解释还基本处于定性描述层次,不能揭示特定环境因子和微生物群落的内在联系。近年来,有学者尝试使用统计学方法对实验结果进行解释,如主成分分析<sup>[22]</sup>、典范变量分析(CVA)<sup>[23]</sup>、CCA<sup>[24]</sup>等。本研究采用 CCA 方法,就 7 个环境因子对土壤微生物群落结构的影响

进行探讨,发现 PCBs 对土壤微生物的干扰效应大于其他环境因子,提示 PCBs 具有潜在的生态风险。CCA 是结合了对应分析和多元回归的直接梯度分析方法,旨在研究物种分布与环境之间的关系。以 CCA 为代表的分析方法在微生物生态学研究中的应用,可从大量冗余的物种、环境数据中挖掘更多的信息,为加深对土壤微生物群落行为的理解提供了另一条思路<sup>[4]</sup>。

致谢 感谢中国科学院南京地理与湖泊研究所王建军提供 CCA 相关资料!

## 参考文献

- [1] 骆永明,滕应,李清波,等.长江三角洲地区土壤环境质量与修复研究 I. 典型污染区农田土壤中多氯代二苯并二噁英/呋喃(PCDD/Fs)组成和污染初步研究.土壤学报,2005,42(4):570~576. Luo Y M, Teng Y, Li Q B, et al. Soil environmental quality and remediation in Yangtze River Delta region I. Composition and pollution of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDD/Fs) in a typical farmland (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2005, 42(4):570~576
- [2] Xing Y, Lu Y, Dawson R W, et al. A spatial temporal assessment of pollution from PCBs in China. Chemosphere, 2005, 60:731~739
- [3] Green J L, Holmes A J, Westoby M, et al. Spatial scaling of microbial eukaryote diversity. Nature, 2004, 432(7018):747~750
- [4] Fromin N, Hamelin J, Tarnawski S, et al. Statistical analysis of denaturing gel electrophoresis (DGE) fingerprinting patterns. Environmental Microbiology, 2002, 4(11):634~643
- [5] 鲁如坤.土壤农业化学分析方法.北京:中国农业科技出版社,1999. Lu R K. The Analytical Methods for Soil and Agrochemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 1999
- [6] 滕应,骆永明,赵祥伟,等.重金属复合污染农田土壤 DNA 的快速提取及其 PCR-DGGE 分析.土壤学报,2004,41(3):343~347. Teng Y, Luo Y M, Zhao X W, et al. Rapid extraction and purification of DNA in farmland soils contaminated with mixed heavy metals for PCR-DGGE analysis (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(3):343~347
- [7] ter Braak C J F, Smilauer P. CANOCO Reference Manual and Cano Draw for Windows User's Guide: Software for Canonical Community Ordination (Version 4.5). US: Microcomputer Power, 2002
- [8] 储少岗,杨春,徐晓白,等.典型污染地区底泥和土壤中残留多氯联苯(PCBs)的情况调查.中国环境科学,1995,15(3):199~203. Chu S G, Yang C, Xu X B, et al. Polychlorinated biphenyl congener residues in sediment and soil from pollution area (In Chinese). China Environmental Science, 1995, 15(3):199~203
- [9] Nakata H, Hirakawa Y, Kawazoe M, et al. Concentrations and compositions of organochlorine contaminants in sediments, soils, crustaceans, fishes and birds collected from Lake Tai, Hangzhou Bay and

(1) 高军.长江三角洲典型污染农田土壤多氯联苯分布、微生物效应和生物修复研究.浙江大学博士学位论文,2005

- Shanghai city region, China. *Environmental Pollution*, 2005, 133: 415 ~ 429
- [10] Sekiguchi H, Tomioka N, Nakahara T, *et al.* A single band does not always represent single bacterial strains in denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Biotechnology Letters*, 2001, 23: 1 205 ~ 1 208
- [11] 张瑞福, 崔中利, 李顺鹏. 土壤微生物群落结构研究方法进展. *土壤*, 2004, 36(5): 476 ~ 480. Zhang R F, Cui Z L, Li S P. Advance in methods for research on soil microbial community structure (In Chinese). *Soils*, 2004, 36(5): 476 ~ 480
- [12] 张金屯. 数量生态学. 北京: 科学出版社, 2004. Zhang J T. Quantitative Ecology (In Chinese). Beijing: Science Press, 2004
- [13] Gauch H G. *Multivariate Analysis in Community Ecology*. UK: Cambridge University Press, 1982
- [14] Lepš J, Šmilauer P. *Multivariate Analysis of Ecological Data Using CANOCO*. Cambridge, UK: New York Cambridge University Press, 2003
- [15] Liesack W, Janssen P H, Rainey F A, *et al.* Microbial diversity in soil: The need for a combined approach using molecular and cultivation techniques. In: Elsas J D van, ed. *Modern Soil Microbiology*. New York: Marcel Dekker, Inc., 1997
- [16] Gans J, Wolinsky M, Dunbar J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil. *Science*, 2005, 309: 1 387 ~ 1 390
- [17] 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. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(3): 695 ~ 700
- [18] Anan'eva N D, Khakimov F I, Deeva N F, *et al.* The influence of polychlorinated biphenyls on the microbial biomass and respiration in gray forest soil. *Eurasian Soil Science*, 2005, 38 (7): 770 ~ 775
- [19] Renella G, Mench M, Gelsomino A, *et al.* Functional activity and microbial community structure in soils amended with bimetallic sludges. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37 (8): 1 498 ~ 1 506
- [20] Lee T H, Kurata S, Nakatsu C H, *et al.* Molecular analysis of bacterial community based on 16S rDNA and functional genes in activated sludge enriched with 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-d) under different cultural conditions. *Microbial Ecology*, 2005, 49 (1): 151 ~ 162
- [21] Liu B R, Jia G M, Chen J, *et al.* A review of methods for studying microbial diversity in soils. *Pedosphere*, 2006, 16(1): 18 ~ 24
- [22] 赵祥伟, 骆永明, 滕应, 等. 重金属复合污染农田土壤微生物群落分子遗传多样性研究. *环境科学学报*, 2005, 25 (2): 186 ~ 191. Zhao X W, Luo Y M, Teng Y, *et al.* Genetic diversity of microbial communities in farmland soils contaminated with mixed heavy metals (In Chinese). *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2005, 25 (2): 186 ~ 191
- [23] McCaig A E, Glover L A, Prosser J I. Numerical analysis of grassland bacterial community structure under different land management regimes by using 16S ribosomal DNA sequence data and denaturing gradient gel electrophoresis banding patterns. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67: 4 554 ~ 4 559
- [24] Marschner P, Yang C H, Lieberei R, *et al.* Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. *Soil Biology & Biochemistry*, 2001, 33: 1 437 ~ 1 445

## VARIATION OF MICROBIAL COMMUNITIES IN PCBs-CONTAMINATED AGRICULTURAL SOILS AND INFLUENCING FACTORS

Wu Yucheng<sup>1,2</sup> Luo Yongming<sup>1,2†</sup> Teng Ying<sup>1</sup> Li Zhengao<sup>1</sup>

(1 *Soil and Environment Bioremediation Research Centre, State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture,*

*Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)*

(2 *Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China)*

**Abstract** Microbial community composition in PCBs-contaminated paddy field soils was analyzed by PCR-DGGE. Impacts of PCBs and soil physico-chemical properties on soil microbial composition were investigated by canonical correspondence analysis. Results show that soil microbial community composition varied with soil PCBs level, and soils relatively higher in PCBs content (64.0 ~ 484.5 ng g<sup>-1</sup> dw) were quite close in community structure. Moreover, PCBs contamination affected more significantly ( $p < 0.05$ ) bacterial species composition in comparison with other soil physico-chemical factors such as available phosphorus, pH, organic matter, etc., suggesting that under the stress of PCBs, the entire soil microbial community changed. In conclusion, PCBs pose a potential ecological risk to the microbial ecosystem in contaminated paddy soils.

**Key words** PCBs; Agricultural soil; Microbial community; PCR-DGGE; Canonical correspondence analysis