

ISSN 0564-3929

Acta Pedologica Sinica 土壤学报

Turang Xuebao



中国土壤学会 主办
科学出版社 出版

2015

第52卷 第6期

Vol.52 No.6



土壤学报

(Turang Xuebao)



第 52 卷 第 6 期 2015 年 11 月

目 次

综述与评论

- 耕地地力评价指标体系构建中的问题与分析逻辑…………… 赵彦锋 程道全 陈杰等 (1197)
- 蚯蚓对土壤温室气体排放的影响及机制研究进展…………… 卢明珠 吕宪国 管强等 (1209)

研究论文

- 高寒山区地形序列土壤有机碳和无机碳垂直分布特征及其影响因素… 杨帆 黄来明 李德成等 (1226)
- 中国中、东部典型县域土壤与地表水体多样性的粒度效应及关联性…………… 任圆圆 张学雷 (1237)
- 渭北台塬区耕地土壤速效养分时空变异特征…………… 于洋 赵业婷 常庆瑞 (1251)
- 黄河三角洲土壤含水量状况的高光谱估测与遥感反演…………… 李萍 赵庚星 高明秀等 (1262)
- 干湿交替对黄土崩解速度的影响…………… 王健 马璠 张鹏辉等 (1273)
- 晋陕蒙接壤区露天矿层状土壤水分入渗特征与模拟…………… 吴奇凡 樊军 杨晓莉等 (1280)
- 旱作褐土中氧化铁的厌氧还原与光合型亚铁氧化特征…………… 孙丽蓉 王旭刚 徐晓峰等 (1291)
- 流动电位法研究高岭石胶体对包铝石英砂zeta电位的影响…………… 李忠意 徐仁扣 (1301)
- 近10年中国大陆主要粮食作物氮肥利用率分析…………… 于飞 施卫明 (1311)
- 太行山山麓平原30年间土壤养分与供肥能力变化…………… 刘建玲 贾可 廖文华等 (1325)
- 亚热带丘陵小流域土壤碳氮磷生态计量特征的空间分异性…………… 杨文 周脚根 王美慧等 (1336)
- 塔里木盆地北缘绿洲土壤化学计量特征…………… 李红林 贡璐 朱美玲等 (1345)
- 东北平原土壤硒分布特征及影响因素…………… 戴慧敏 宫传东 董北等 (1356)
- 浙江南部亚热带森林土壤植硅体碳的研究…………… 林维雷 应雨骐 姜培坤等 (1365)
- 土壤非多次叠加污染对蚯蚓的毒性效应…………… 马静静 钱新春 张伟等 (1374)
- 有机肥对黄瓜枯萎病的防治效果及防病机理研究…………… 赵丽娅 李文庆 唐龙翔等 (1383)
- 滴灌枸杞对龟裂碱土几种酶活性的改良效应…………… 张体彬 康跃虎 万书勤等 (1392)
- 石羊河流域中下游浅层地温变化及其对气温变化的响应…………… 杨晓玲 丁文魁 马中华等 (1401)
- 高放废物处置库预选场址包气带土壤渗透性研究…………… 李杰彪 苏锐 周志超等 (1412)

研究简报

- 基于TM数据的黑土有机质含量空间格局反演研究…………… 宋金红 吴景贵 赵欣宇等 (1422)
- 陕西省玉米土壤肥力与施肥效应评估…………… 单燕 李水利 李茹等 (1430)
- 宇宙射线土壤水分观测方法在黄土高原草地植被的应用…………… 赵纯 袁国富 刘晓等 (1438)

信息

- 《土壤学报》入选“2015期刊数字影响力100强”…………… (1437)

封面图片：滴灌枸杞改良龟裂碱土重度盐碱荒地（由张体彬提供）

DOI: 10.11766/trxb201501230053

土壤菲多次叠加污染对蚯蚓的毒性效应*

马静静¹ 钱新春¹ 张伟¹ 郑彬¹ 葛高飞² 郜红建^{1†}

(1 安徽农业大学资源与环境学院, 合肥 230036)

(2 安徽农业大学生物技术中心, 合肥 230036)

摘要 采用多次叠加污染的方式模拟菲 (Phenanthrene, Phe) 在土壤中逐步累积的过程, 分析在不同老化阶段 (1、7、14、28 和 56 d) 土壤 Phe 的生物有效性特征, 及其对蚯蚓体腔细胞酶活性、染色体和溶酶体膜的毒性效应。结果表明: 随着土壤培养时间的延长, 土壤中 Phe 有效含量、蚯蚓体内 Phe 富集量、蚯蚓体腔细胞超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 和过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 活性、丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 含量以及微核率均呈前期 (1~28 d) 下降较快, 后期 (29~56 d) 下降速率逐渐减小的趋势, 中性红保留时间呈逐渐升高的趋势, 表明随着培养时间的延长, Phe 对蚯蚓的毒性效应逐渐减小。土壤 Phe 有效含量与蚯蚓体内 Phe 富集量、SOD 和 POD 酶活性、MDA 含量、微核率和中性红保留时间均呈极显著相关 ($p < 0.01$), 决定系数 (R^2) 分别为 0.887 9、0.893 4、0.870 9、0.930 5、0.893 3 和 0.885 1。在 1~56 d 老化时间内, 多次叠加污染土壤中 Phe 有效含量和蚯蚓体内 Phe 富集量分别较一次污染低 23.19%~50.15% 和 12.64%~57.89%; 蚯蚓体腔细胞 SOD 和 POD 酶活性分别较一次污染低 3.40%~47.24% 和 6.49%~38.02%; MDA 含量比一次污染低 1.30%~57.82%; 微核率较一次污染低 12.48%~22.99%; 中性红保留时间较一次污染高 1.35%~13.97%, 这表明土壤 Phe 多次叠加污染对蚯蚓体腔细胞的毒性效应低于一次污染。

关键词 菲; 多次叠加污染; 蚯蚓; 酶活性; 中性红保留时间; 微核率

中图分类号 X53 **文献标识码** A

菲 (Phenanthrene, Phe) 是具有典型“三致”效应的多环芳烃类 (Polycyclic aromatic hydrocarbon, PAHs) 持久性有机污染物, 由 3 个苯环成一定角度联结而成, 兼具 K 区和湾区结构, 抗降解能力强, 易在土壤中富集。PAHs 主要通过石油开采与运输过程的泄露、化石燃料的不完全燃烧等途径产生, 有超过 90% 的 PAHs 通过大气沉降在土壤中逐步累积, 对土壤环境造成潜在威胁^[1-2]。目前, 关于 Phe 对土壤生物毒性效应的研究多关注于土壤酶^[3]、土壤微生物^[4]及土壤动物^[5]等方面。

蚯蚓约占土壤总生物量的 60%~80%, 被认为是监测土壤污染最适合的生物^[6]。有关 PAHs

对蚯蚓的毒性效应可以用以下生物标志来表征:

(1) 氧化应激标志物: 蚯蚓在代谢 PAHs 过程中可产生大量的活性氧自由基 (Reactive oxygen species, ROS), 当氧化程度超出其代偿清除能力时, 氧化系统和抗氧化系统失衡, 会出现氧化应激反应。此时, 抗氧化酶系, 如超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化物酶 (Peroxidase, POD) 等的活性会增强, 从而提高蚯蚓的抗氧化能力; 过量的 ROS 氧化脂质后产生丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 等产物, 是直观反映机体脂质过氧化水平的重要指标^[5]。(2) 亚细胞水平标志物: Eason 等^[7]报道了中性红保留时间 (Neutral red retention time, NRRT) 可以

* 国家自然科学基金项目 (41071158) 资助

† 通讯作者, E-mail: hjgao@ahau.edu.cn

作者简介: 马静静 (1989—), 女, 河南周口人, 硕士研究生, 主要从事土壤环境化学与污染毒理学的研究。E-mail: majingjing@ahau.edu.cn

收稿日期: 2015-01-23; 收到修改稿日期: 2015-03-23

判断PAHs对蚯蚓溶酶体膜的损伤程度，可用于污染物对蚯蚓毒性效应的快速检验。(3) DNA损伤标志物：染色体丢失或者断裂后形成的微核是基因组不稳定和染色体损伤的生物学标志，通常采用微核测试法 (Micronucleus test, MNT) 来检测其畸变率^[8]。Duan^[9]等提出，细胞微核率 (Micronucleus rate, MNR) 与PAHs暴露水平存在明显的剂量-效应关系。

关于PAHs毒性效应的研究多采用一次污染或急性毒性的方式^[10-11]，这与其低剂量逐步累积进入土壤的污染过程有很大差异，可能会高估其环境风险和生态毒性。有研究表明，有机污染物的生物可利用性和可提取性会随着老化时间的延长而降低，其毒性效应逐渐减小^[12]。采用低剂量多次叠加的方式模拟Phe进入土壤的污染过程，与土壤Phe逐步累积的实际情况更加吻合。Phe逐步进入土壤中，通过较深入的老化作用，Phe可能会被吸附到土壤颗粒内部、扩散“陷入”到土壤的微孔或分配进入土壤有机质中，或被更深的吸附位点吸附，导致其生物有效性降低^[13]。而高剂量一次污染的短期效应中，Phe与土壤接触时间较短，不能进行充分的老化，会在一定程度高估环境风险。Johnson等^[14]研究表明，采用传统耗竭性的化学提取方法提取土壤有机污染物总量来建立土壤环境质量指标和评价土壤生物的暴露水平，会高估有机污染物的生态风险，而使用相对温和的化学萃取来预测有机污染物的生物有效性更为合理。因此，将多次叠加污染条件下土壤Phe有效含量与生物标志物的响应结合起来，可相对真实反映土壤中Phe的毒性效应。但目前有关多次叠加污染条件下，Phe的生物有效性及其生态毒性的研究较少^[15]。

因此，本文模拟Phe在土壤中逐步累积的试验方法，以赤子爱胜蚓为供试生物，研究Phe多次叠加污染条件下土壤Phe的有效含量和蚯蚓的富集量，以及Phe胁迫下蚯蚓体腔细胞SOD、POD酶活性和MDA含量，蚯蚓溶酶体膜的中性红保留时间和细胞微核率的变化规律，剖析土壤Phe多次叠加污染对蚯蚓的毒性效应，以期为老化的多环芳烃污染土壤毒理诊断提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 药品与主要仪器

Phe标样 (纯度 > 97%) 购自美国Supelco公

司；SOD、POD和MDA试剂盒购自南京建成生物研究所；60~80目的Tenax-TA (2, 6二苯吡喃多聚物树脂) 购自北京康林科技有限责任公司；吉姆萨染剂 (Giemsa stain)、液相色谱纯乙腈购自Sigma公司；中性红染粉、硅藻土和弗罗里硅土购自阿拉丁公司；其他药品均购自国药集团化学试剂有限公司。

PAHs专用柱 (25 cm × 4.6 mm × 5 μm)、固相萃取柱 (Solid phase extraction, SPE) 购自美国Supelco公司；高效液相色谱仪 (Waters 601 controlle)、荧光检测器 (Waters 2475 multi Fluorescence Detector) 购自美国Waters公司；冷冻离心机购自德国Hermle公司；加速溶剂萃取仪 (ASE300) 购自美国戴安公司；分光光度计 (UV-1800) 购自日本岛津公司；数码显微镜 (MOTIC : B5) 购自美国Motic公司。

1.2 供试材料

供试土壤采自安徽农业大学高新技术农业园，土壤类型为黄褐土，取表层0~20 cm土壤，过2 mm尼龙筛后在4 °C下保存备用。另参照鲍士旦^[16]的方法，分析土壤理化性质如下：pH 6.76，有机质11.78 g kg⁻¹，全氮0.69 g kg⁻¹，碱解氮61.39 mg kg⁻¹，有效磷10.25 mg kg⁻¹，速效钾175.49 mg kg⁻¹，有效菲3.16 μg kg⁻¹。

供试生物赤子爱胜蚓 (*Eisenia foetida*) 购自安徽省六安市某蚯蚓养殖园，选用2~3月龄，体重0.3~0.4 g，体长一致，具有成熟环带的健康蚯蚓。将蚯蚓用纯水冲洗后放入铺有湿润灭菌纱布的玻璃皿中，恒温 (20 ± 2) °C暗室培养24 h，进行清肠处理。

1.3 土壤培养

土壤Phe多次叠加污染采用实验室建立的方法^[17]进行：取一定量的风干土样制备成高浓度 (10 mg kg⁻¹) Phe污染土壤，12 h充分风干。多次叠加污染时，取相当于880 g风干土重的新鲜土样，高温灭菌后，加入10 g新鲜制备的Phe高浓度 (10 mg kg⁻¹) 污染土壤，使Phe的初始添加量达到100 μg，充分混匀后移至无菌培养室内避光培养 (25 °C)。每两周后，采用相同的方法依次向Phe初始添加量为100 μg的土壤中再次添加10 g新鲜制备的Phe高浓度污染土壤 (10 mg kg⁻¹)，使土壤中Phe的量每次增加100 μg，充分混匀，直至22周。通过12次叠加污染后，每1 kg土壤中Phe的最终添

加总量达到1 200 μg 。

当Phe多次叠加污染添加总量到1 200 μg 时, 制备Phe一次污染的土壤: 另取相当于880 g风干土重的新鲜土样, 一次加入120 g新鲜制备的Phe高浓度(10 mg kg^{-1})污染的土壤, 使1 kg土壤中Phe的添加量一次达到1 200 μg 。2个处理的土壤分别混匀后, 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温避光培养, 保持恒定土壤含水量(田间最大持水量的50%)。同时以没有添加高污染土的土壤作为空白对照。

1.4 土壤有效Phe和蚯蚓体内富集Phe的提取、纯化及测定

土壤有效Phe的提取: 在多次叠加和一次污染结束后的第1、7、14、28和56天, 分别取污染土壤, 参照郑彬等^[17]的方法提取土壤中的有效Phe。称取2 g风干土于50 ml的离心管, 加入40 ml 0.01 mol L^{-1} 的 CaCl_2 溶液和0.2 g的Tenax-TA, 室温(20 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 下, 旋转振荡6 h。将混合液转移至250 ml的分液漏斗内, 静置后保留悬浮在上层的Tenax-TA, 并用去离子水洗去吸附在Tenax-TA上的土壤微粒。然后, 将Tenax-TA避光风干后用20 ml丙酮: 正己烷(1:1)混合液超声洗3次, 得到Phe萃取液, 40 $^{\circ}\text{C}$ 旋转蒸发浓缩至2 ml。

蚯蚓体内富集Phe的提取: 在上述每个取样时间点取60 g土壤放入100 ml的烧杯中, 每个烧杯放入5条蚯蚓, 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温避光培养1周, 保证环境湿润。蚯蚓体内Phe富集量的提取采用改进吕正勇等^[18]的方法。取1.0 g左右的蚯蚓经液氮冷冻后充分研磨, 与5 g硅藻土混匀, 转移至加速溶剂萃取池。萃取所得溶液经旋转蒸发浓缩至干, 加5 ml石油醚: 二氯甲烷(V:V, 9:1)溶解, 转移至烧杯中。

土壤有效Phe和蚯蚓体内富集Phe提取溶液均采用固相萃取法纯化以及高效液相色谱法定量分析^[17]。Phe在土壤和蚯蚓体内的含量分别以干质量和鲜质量计算($\mu\text{g kg}^{-1}$)表示。

1.5 蚯蚓生化指标的测定

蚯蚓体腔细胞酶液参考卜元卿等^[19]的方法提取。蚯蚓体腔液SOD和POD活性、MDA和蛋白质含量的测定均采用南京建成生物研究所提供的试剂盒。SOD活性测定采用氮蓝四唑法, 以50%抑制率的酶量为一个酶活力单位(U), 在550 nm下吸光值计算酶活性, 单位为 U mg^{-1} (以 mg 蛋白计); POD活性的测定采用愈创木酚法, 以420 nm下每分

钟吸光度的变化值表示酶活力大小, 单位为 U mg^{-1} (以 mg 蛋白计)。MDA含量测定采用硫代苯巴比妥酸比色法, 以532 nm下的吸光值计算酶活性, 单位为 nmol mg^{-1} (以 mg 蛋白计)。体腔液蛋白质含量的测定采用二辛可酸法, 以562 nm下吸光值计算样品蛋白质的浓度, 单位为 $\mu\text{g mg}^{-1}$ 。

中性红保留时间测定: 将收集的体腔细胞释放液在3 000 r min^{-1} 下离心10 min, 将沉淀细胞移入2 ml离心管中备用。取20 μl 备用细胞液, 加入80 μl 蚯蚓生理林格氏溶液充分混匀。取20 μl 混合液滴到载玻片上, 30 s后加入20 μl 中性红工作液(20 mg 中性红染粉溶于1 ml二甲基亚砷中, 用林格液稀释为80 $\mu\text{g ml}^{-1}$), 盖上盖玻片, 在400倍显微镜下每隔2 min观察一次存活的体腔细胞, 直到视野中超过50%的体腔细胞被染成粉红色, 记作溶酶体的中性红保留时间(NRRT)。

微核率测定: 冰浴条件下, 用0.01 mol L^{-1} PBS缓冲液调节上述沉淀体腔细胞密度。将蚯蚓体腔细胞均匀铺在干净载玻片上, 风干后用甲醇固定10 min, 尔后用吉姆萨染色15 min, 干燥1 h后于400倍光学显微镜下观察, 每张玻片随机拍摄5~10个视野, 记录每个视野内的细胞总数、含微核的细胞数, 计算微核千分率。

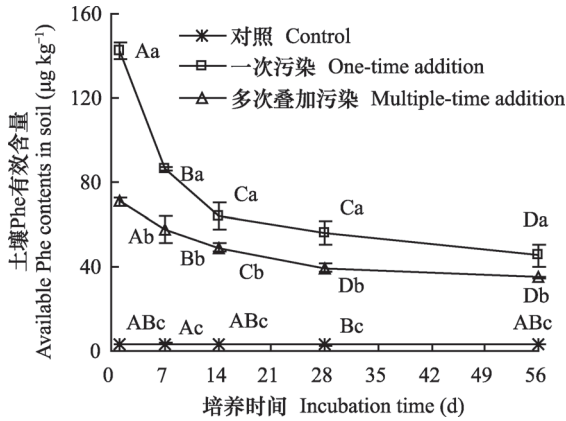
1.6 数据分析

每个处理中均设置3次重复, 取3次重复的平均值。数据和图表经Excel 2003和SPSS 17.0的进行统计分析, 单因素方差分析采用duncan在0.05水平上进行多重比较分析。

2 结果

2.1 老化对土壤Phe有效含量的影响

图1试验结果可见, 在2种污染条件下, 土壤Phe有效含量随土壤老化时间的延长呈前期(1~28 d)下降速率较快, 后期(29~56 d)下降速率逐渐减小的趋势。多次叠加污染和一次污染结束后的7、14、28和56 d, 土壤Phe的有效含量分别为第1天的49.05%~80.65%和31.83%~60.91%。在Phe多次叠加和一次污染条件下, 土壤Phe有效含量在1~28 d的下降速率分别为1.12和3.08 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$; 而29~56 d时, 其下降速率分别为0.17和0.39 $\mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, 低于前期(1~28 d)的下降速率。在多次叠加污染条件下, 老化1、7、14、28和56 d土



注：图中误差线为标准误；不同大写字母表示同一处理、不同时间之间差异显著 ($p < 0.05$)；不同小写字母表示相同时间、不同处理间的差异显著 ($p < 0.05$)。下同 Note: The error bars in the figure stand for standard errors; Different capital letters mean significant difference between treatments different in incubation time only ($p < 0.05$). Different small letters mean significant difference between different treatments the same in incubation time ($p < 0.05$). The same below

图1 土壤Phe有效含量随时间的变化

Fig. 1 Temporal variation of the available Phe content in soil

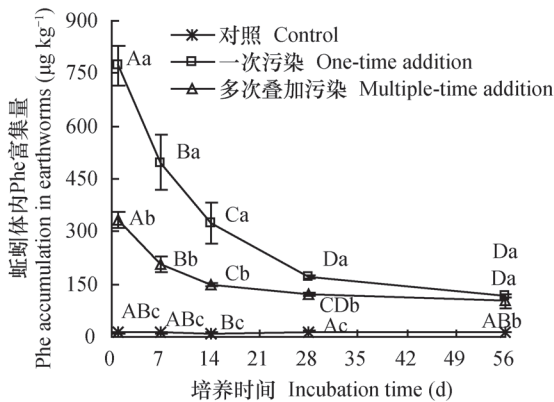


图2 蚯蚓体内Phe富集量随时间的变化及其与土壤Phe有效含量的相关性

Fig. 2 Temporal variation of Phe accumulation in earthworms relative to content of available Phe in soil

壤Phe有效含量分别较一次污染低23.19%~50.15% ($p < 0.05$)。

2.2 老化后的土壤中蚯蚓体内Phe的富集

图2表明，在多次叠加污染和一次污染条件下，蚯蚓体内Phe的富集量随老化时间的延长呈前期(1~28 d)下降速率($7.59 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ 、 $21.46 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$)较高，后期(29~56 d)下降速率($0.63 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ 、 $1.91 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$)逐渐减小的趋势。在1~56 d内，多次叠加污染条件下，蚯蚓体内Phe富集量较一次污染低12.64%~57.89% ($p < 0.05$)，这与多次叠加污染条件下土壤Phe有效含量低于一次污染的规律一致。进一步分析表明，蚯蚓体内Phe富集量与土壤Phe有效含量之间呈极显著正相关 ($p < 0.01$)，决定系数 (R^2) 为0.8879。

2.3 Phe对蚯蚓体腔细胞SOD和POD酶活性的影响

如图3所示，在2种污染条件下，蚯蚓体腔细胞SOD和POD酶活性随培养时间的延长呈下降趋势，这与土壤中Phe的有效含量和蚯蚓体内Phe的富集

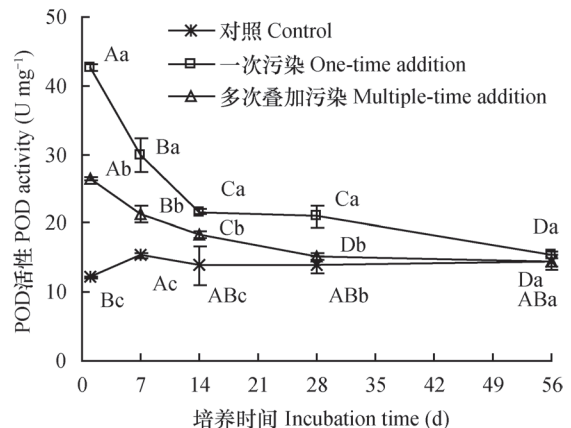
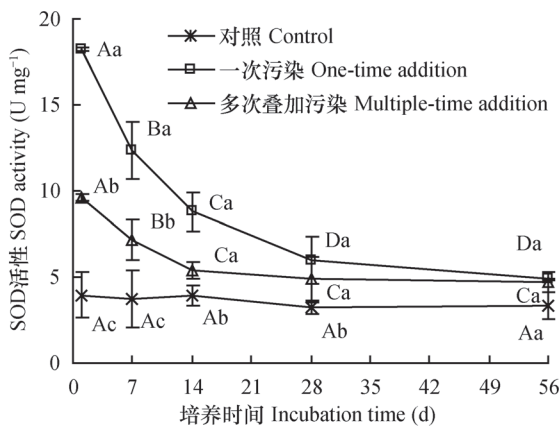
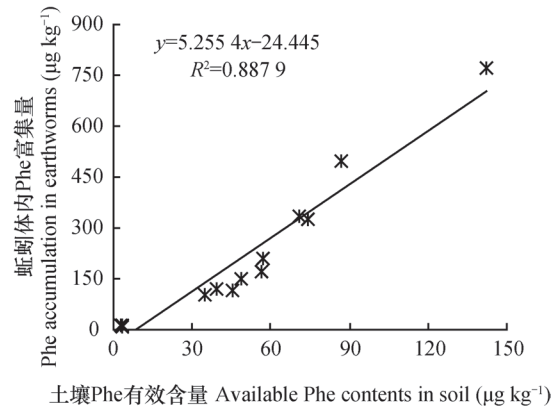


图3 蚯蚓体腔细胞SOD和POD酶活性随时间的变化

Fig. 3 Temporal variation of SOD and POD activity in earthworms

量的变化规律一致。在Phe多次叠加和一次污染条件下，蚯蚓体腔细胞SOD活性在28 d分别较培养初期（1 d）下降4.72和12.25 U mg⁻¹，下降速率分别为0.17和0.44 U mg⁻¹ d⁻¹；而后期（29~56 d），SOD酶活性下降速率（0.01和0.04 U mg⁻¹ d⁻¹）逐渐减小。同样条件下，蚯蚓体腔细胞POD酶活性在1~28 d的下降速率分别为0.40和0.78 U mg⁻¹ d⁻¹，高于29~56 d内POD酶活性的下降速率（0.03和0.20 U mg⁻¹ d⁻¹）。

在Phe多次叠加污染条件下，蚯蚓体腔细胞SOD和POD酶活性分别较一次污染条件下酶活性低3.40%~47.24%（1~7 d，*p*<0.05）和6.49%~38.02%（1~28 d，*p*<0.05）。

2.4 Phe对蚯蚓体腔细胞MDA含量的影响

图4表明，空白对照土壤中，蚯蚓体腔细胞MDA平均含量（2.24 nmol mg⁻¹）较低且保持相对稳定，低于多次叠加污染（14.92 nmol mg⁻¹）和一次污染（27.51 nmol mg⁻¹）。在Phe多次叠加和一次污染条件下，蚯蚓体腔细胞MDA含量在28 d分别较初始培养时间（1 d）降低22.75和34.00 nmol mg⁻¹，下降速率分别为0.81和1.21 nmol mg⁻¹ d⁻¹；在29~56 d，下降速率逐渐减小为0.02和0.30 nmol mg⁻¹ d⁻¹。在Phe多次叠加污染条件下，蚯蚓体腔细胞MDA含量较一次污染低21.30%~57.82%（1~28 d，*p*<0.05）。

2.5 Phe对蚯蚓体腔细胞溶酶体中性红保留时间和微核率的影响

由图5、图6可知，在2种污染方式下，蚯蚓体腔细胞溶酶体中性红保留时间随土壤老化时间的延长呈逐渐上升的趋势，并且均低于空白

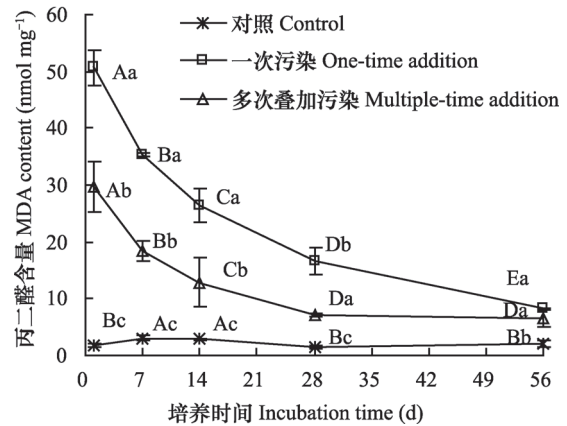


图4 蚯蚓体腔细胞MDA含量随时间的变化
Fig. 4 Temporal variation of MDA content in earthworms

对照（20.50 min~22.42 min）。多次叠加和一次污染条件下，7~56 d培养时间内，蚯蚓体腔细胞溶酶体中性红保留时间分别较第1天增加了0.91%~4.27%和2.07%~8.12%。在培养1~56 d内，Phe多次叠加污染土壤中蚯蚓体腔细胞溶酶体中性红保留时间较一次污染高1.35%~13.97%（1~28 d，*p*<0.05）。

在2种污染条件下，对照土壤中蚯蚓体腔细胞微核率保持相对稳定（2.01‰~2.50‰），且低于多次叠加污染（2.34‰~3.69‰）和一次污染（2.77‰~4.45‰），表明Phe对蚯蚓产生一定毒性，体腔细胞微核畸变千分率上升。1~56 d内，Phe多次叠加污染土壤中蚯蚓体腔细胞微核率较一次污染低12.48%~22.99%（*p*<0.05）。

2.6 土壤Phe有效含量与蚯蚓生化指标的关系

相关性分析显示（表1），土壤Phe有效含量与蚯蚓体腔细胞SOD、POD酶活性、MDA含量和微核

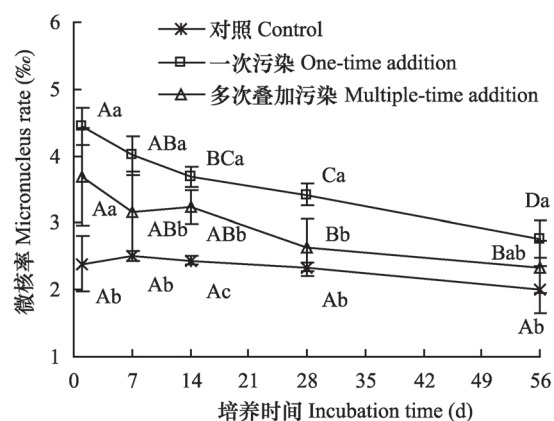
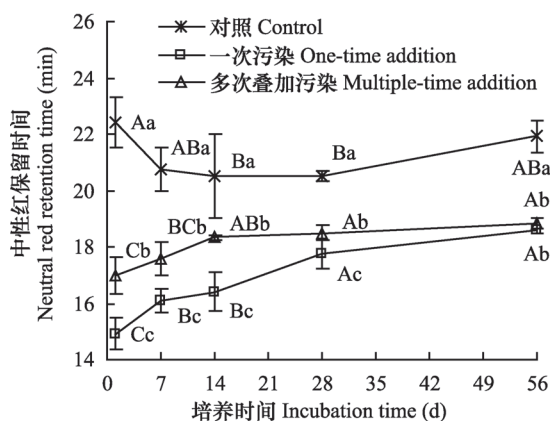


图5 蚯蚓体腔细胞溶酶体NRRT和微核率随时间的变化
Fig.5 Temporal variation of NRRT and micronucleus rate in earthworms

率成极显著性正相关 ($p < 0.01$)，与溶酶体中性红保留时间呈极显著性负相关 ($p < 0.01$)，其决定系数 R^2 分别为 0.893 4、0.870 9、0.930 5、0.893 3

和 0.885 1。随着 Phe 培养时间的延长，土壤中 Phe 有效含量逐渐下降，生物有效性降低，对蚯蚓的毒性效应减小。

表1 土壤Phe有效含量与蚯蚓生化指标的相关性

Table 1 Relationship between content of available Phe in soil and biochemical indices of earthworms

生化指标 Biochemical index	回归方程 Regression equation	决定系数 R^2 Coefficient of determination
超氧化物歧化酶 SOD	$y(\text{SOD}) = 0.0986x + 2.2594$	0.893 4 **
过氧化物酶 POD	$y(\text{POD}) = 0.1918x + 11.151$	0.870 9 **
丙二醛 MDA	$y(\text{MDA}) = 0.3598x - 1.2375$	0.930 5 **
中性红保留时间 NRRT	$y(\text{NRRT}) = -0.052x + 21.003$	0.893 3 **
微核率 MNR	$y(\text{MNR}) = 0.0172x + 2.2355$	0.885 1 **

注：表中 x 代表土壤 Phe 有效含量 Note: x in the table means content of available Phe in soil; ** $p < 0.01$

3 讨论

Phe 有效含量与其在土壤中的停留时间呈反比，且呈前期 (1 ~ 28 d) 下降速率较高，后期 (29 ~ 56 d) 逐渐减缓的趋势。这与 Phe 在土壤中的老化作用有关^[14]。可能是 Phe 最先迁移进入有机质中柔软的橡胶态组分并被其快速吸附，致使可提取态 Phe 降低速率较快，但是随着培养时间的延长，Phe 渐渐进入结构刚硬的玻璃态结构中并被其缓慢吸附，而玻璃态对 Phe 吸附速率显著低于橡胶态，造成后期下降速率减缓^[20]。张聪恺^[21]和郜红建^[22]等研究结果也表明，随着老化时间的延长，可提取态的 Phe 和 DDT 在土壤中老化速率呈先快后慢的趋势。

本试验研究结果表明，在多次叠加污染条件下，土壤 Phe 有效含量低于一次污染。这可能是因为在一次污染条件下，高浓度的 Phe 一次进入土壤，与土壤颗粒接触时间较短，土壤的吸附位点很快饱和；Phe 未来得及扩散至有机质和黏土颗粒的微孔，仍有大量 Phe 存在于土壤液相或者表面，很容易解吸或者扩散出来，从而表现出较高的生物可利用性。而在多次叠加污染条件下，Phe 以低剂量多次累积的方式进入土壤，Phe 从土壤孔隙水扩散进入土壤团聚体结构的微孔中，随着时间的推移，Phe 进入更深的吸附位点从而被束缚其中，导致其有效性下降^[13]。

在 1 ~ 56 d 的培养时间内，多次叠加污染条件下蚯蚓体内 Phe 的富集量是一次污染的 12.64% ~ 57.89%，这与多次叠加污染条件下土壤

Phe 的有效含量低于一次污染有关。Janger 等^[23]研究表明，孔隙水中的化合物是蚯蚓可利用的部分，土壤中吸附的化合物只有解吸至土壤孔隙水中才能被蚯蚓吸收利用。张静等^[24]发现，Phe 的辛醇-水分配系数 ($K_{ow} = 2.82 \times 10^4$) 较小，Phe 更容易进入土壤孔隙水中从而被蚯蚓真皮吸收。White 等^[25]对土壤中 PAHs 进行生物有效性测试后发现，生物积累量随着土壤中污染物老化时间的延长而降低。此外，Yang 等^[26]提出，温和的固相萃取如 Tenax-TA 法，提取 6 h 所获得的组分对于预测土壤中持久性有机污染物的生物有效性具有较好的相关性。本文的研究证实，土壤 Phe 有效含量与蚯蚓富集量呈极显著正相关 ($p < 0.01$)，决定系数 (R^2) 为 0.887 9，即土壤 Phe 有效含量可用来表示其对蚯蚓的生物有效性。

蚯蚓体内抗氧化酶活性、MDA 含量、中性红保留时间和微核率等指标常用来表征土壤污染物对蚯蚓的毒性效应，随着污染物在土壤中残留时间延长，呈现较好的毒性-效应关系^[27]。本试验的结果表明，在 2 种污染方式下，蚯蚓体腔细胞酶活性均呈现培养初期 (1 ~ 28 d) 下降速率较高，后期 (29 ~ 56 d) 下降速率减小的规律，这与土壤中 Phe 的有效含量随培养时间的延长而下降的规律一致，且呈显著相关水平 ($p < 0.01$)。在多次叠加污染中，蚯蚓体腔细胞酶活性和微核率较一次污染低，表征膜脂过氧化指标的 MDA 含量低于一次污染，表征溶酶体膜完整性的中性红保留时间高于一次污染，这可能与多次叠加污染条件下，土壤 Phe 的有效含量低于一次污染，蚯蚓可吸收利用

Phe的数量较少, 蚯蚓吸收富集量降低, 对蚯蚓的毒性较小有关。

4 结 论

本试验表明, Phe在土壤中的老化作用表现为初期(1~28 d)较快, 后期(29~56 d)逐渐减缓的趋势。随着Phe在土壤中老化时间的延长, 蚯蚓体内Phe富集量呈逐渐减小的趋势, 表明Phe老化后其生物有效性降低。蚯蚓体内Phe的富集量与Tenax-TA吸附提取的Phe含量呈显著正相关, 即土壤Tenax-TA可提取的Phe组分可用来表示其对蚯蚓的生物有效性。随着Phe培养时间的延长, 蚯蚓体腔细胞SOD和POD酶活性、MDA含量以及微核率与土壤培养时间呈反比, 并且多次叠加污染条件下低于一次污染; 蚯蚓体腔细胞溶酶体中性红保留时间随土壤培养时间的延长而增加, 且在多次叠加污染条件下, 高于一次污染。说明土壤Phe多次叠加污染对蚯蚓体腔细胞的毒害作用低于一次污染。

参 考 文 献

- [1] 李政剑, 石宝友, 苏宇, 等. 粉末活性炭粒径对水中菲吸附动力学的影响研究. 环境科学学报, 2013, 33 (1): 67—72. Li Z J, Shi B Y, Su Y, et al. Effect of particle size on adsorption kinetics of phenanthrene in water by powered activated carbon (In Chinese). Acta Scientiae Circumstantiae, 2013, 33 (1): 67—72
- [2] 曹云者, 柳晓娟, 谢云峰, 等. 我国主要地区表层土壤中多环芳烃组成及含量特征分析. 环境科学学报, 2012, 32 (1): 197—203. Cao Y Z, Liu X J, Xie Y F, et al. Patterns of PAHs concentrations and components in surface soils of main areas in China (In Chinese). Acta Scientiae Circumstantiae, 2012, 32 (1): 197—203
- [3] 葛高飞, 郑彬, 王景, 等. 菲不同污染方式对土壤酶活性的影响. 核农学报, 2013, 27 (10): 1560—1566. Ge G F, Zheng B, Wang J, et al. Effect of phenanthrene pollution with one-time and cumulative patterns on soil enzymatic activity (In Chinese). Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2013, 27 (10): 1560—1566
- [4] 丁克强, 骆永明, 刘世亮, 等. 多环芳烃菲对淹水土壤微生物动态变化的影响. 土壤, 2002, 34 (4): 229—232. Ding K Y, Luo Y M, Liu S L, et al. Effect of polycyclic aromatic hydrocarbons (phenanthrene) on dynamic changes of microorganisms in flooded soil (In Chinese). Soils, 2002, 34 (4): 229—232
- [5] 马丽丽, 张静, 李伟明, 等. 苊对蚯蚓的生物有效性和抗氧化酶的影响. 土壤学报, 2013, 50 (2): 357—363. Ma L L, Zhang J, Li W M, et al. Bioavailability and effect of pyrene on antioxidases in earthworms (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2013, 50 (2): 357—363
- [6] 张宁, 廖燕, 孙福来, 等. 不同土地利用方式下的蚯蚓种群特征及其与土壤生物肥力的关系. 土壤学报, 2012, 49 (2): 364—372. Zhang N, Liao Y, Sun F L, et al. Earthworm population characteristics in soils different in land use and their relationships with biological fertility of the soils (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2012, 49 (2): 364—372
- [7] Eason C T, Svendsen C, O' Halloran K, et al. An assessment of the lysosomal neutral red retention test and immune function assay in earthworms (*Eisenia andrei*) following exposure to chlorpyrifos, benzo-a-pyrene (BaP), and contaminated soil. Pedobiologia, 1999, 43 (6): 641—645
- [8] 褚金龙, 高红霞, 刘英莉, 等. 用彗星实验和微核实验反映土壤有机污染物的联合毒性. 现代预防医学, 2012, 39 (17): 4497—4499. Zhu J L, Gao H X, Liu Y L, et al. Comet assay and micronucleus test in detection of joint toxicity of organic pollutants in soil (In Chinese). Modern Preventive Medicine, 2012, 39 (17): 4497—4499
- [9] Duan H, Leng S, Pan Z, et al. Biomarkers measured by cytokinesis-block micronucleus cytome assay for evaluating genetic damages induced by polycyclic aromatic hydrocarbons. Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 2009, 677 (1): 93—99
- [10] 吴尔苗, 王军良, 赵士良, 等. 菲和苊单一及复合污染对蚯蚓抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响. 环境科学学报, 2011, 31 (5): 1077—1085. Wu E M, Wang J L, Zhao S L, et al. Effect of single and combined pollution of Phe, Pyr on SOD, CAT activities and MDA content of *Eisenia foetida* in soils (In Chinese). Acta Scientiae Circumstantiae, 2011, 31 (5): 1077—1085
- [11] 宋玉芳, 周启星, 许华夏, 等. 菲、苊、1, 2, 4-三氯苯对蚯蚓的急性毒性效应. 农村生态环境, 2003, 19 (1): 36—39. Song Y F, Zhou Q X, Xu H X, et al. Effect of acute toxicity of phenanthrene, pyrene and 1, 2, 4-trichlorobenzene on earthworms in soils (In Chinese). Rural Eco-Environment, 2003, 19 (1): 36—39
- [12] Hatzinger P B, Alexander M. Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and

- extractability. *Environmental Science & Technology*, 1995, 29 (2): 537—545
- [13] Pignatello J J, Xing B. Mechanisms of slow sorption of organic chemicals to natural particles. *Environmental Science & Technology*, 1995, 30 (1): 1—11
- [14] Johnson D L, Jones K C, Langdon C J, et al. Temporal changes in earthworm availability and extractability of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, 34 (9): 1363—1370
- [15] Yang Y, Zhang N, Xue M, et al. Impact of soil organic matter on the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils. *Environmental Pollution*, 2010, 158 (6): 2170—2174
- [16] 鲍士旦. 土壤与农化分析. 第3版. 北京: 中国农业出版社, 2010: 25—114. Bao S D. Soil and agricultural chemistry analysis (In Chinese). 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2010: 25—114
- [17] 郑彬, 马静静, 葛高飞, 等. B[a]P 累积污染对土壤呼吸强度的影响. *农业环境科学学报*, 2013, 32 (2): 259—266. Zheng B, Ma J J, Ge G F, et al. Influences of benzo (a) pyrene superimposed pollution on soil respiration intensity (In Chinese). *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32 (2): 259—266
- [18] 吕正勇, 杨兴伦, 王芳, 等. Tenax 提取预测老化土壤中多环芳烃的生物有效性. *中国环境科学*, 2011, 31 (4): 647—656. Lü Z Y, Yang X L, Wang F, et al. The tenax extraction technique to predict the bioavailability of aged PAHs in soil (In Chinese). *China Environmental Science*, 2011, 31 (4): 647—656
- [19] 卜元卿, 骆永明, 腾应, 等. 铜暴露下赤子爱胜蚓 (*Eisenia foetida*) 活体基因的损伤研究. *生态毒理学报*, 2006, 9 (1): 228—235. Bu Y Q, Luo Y M, Teng Y, et al. Detection of DNA damage in earthworm (*Eisenia foetida*) in vivo exposure to copper ion (In Chinese). *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2006, 9 (1): 228—235
- [20] Gunasekara A S, Xing B. Sorption and desorption of naphthalene by soil organic matter. *Journal of Environmental Quality*, 2003, 32 (1): 240—246
- [21] 张聪恺, 沈超峰, 唐先进, 等. 温和提取法评估老化前后土壤中菲的生物有效性. *土壤学报*, 2011, 48 (1): 78—82. Zhang C K, Shen C F, Tang X J, et al. Assessment of phenanthrene bioavailability in soils before and after aging with mild extraction method (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2011, 48 (1): 78—82
- [22] 郜红建, 蒋新, 王芳, 等. DDTs 在土壤中的老化规律及生物有效性. *土壤学报*, 2007, 44 (1): 79—83. Gao H J, Jiang X, Wang F, et al. Aging and bioavailability of DDTs in soil (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44 (1): 79—83
- [23] Janger T, Sánchez F A A, Muijs B, et al. Toxicokinetics of polycyclic aromatic hydrocarbons in *Eisenia andrei* (Oligochaeta) using spiked soil. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2000, 19 (4): 953—961
- [24] 张静, 马丽丽, 焦加国, 等. 菲、芘在单一和复合污染条件下不同老化阶段的提取率及其生物有效性. *土壤*, 2010, 42 (3): 385—389. Zhang J, Ma L L, Jiao J G, et al. Effects of aging on extractability and bioavailability of phenanthrene and pyrene under single and co-contaminant conditions (In Chinese). *Soils*, 2010, 42 (3): 385—389
- [25] White J C, Kelsey J W, Hatzinger P B, et al. Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soils. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1997, 16 (10): 2040—2045
- [26] Yang X, Lv Z, Bian Y, et al. Predicting PAHs bioavailability for earthworms by mild solvents and Tenax extraction. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2013, 1 (4): 768—776
- [27] Wu S, Wu E, Qiu L, et al. Effects of phenanthrene on the mortality, growth, and antioxidant system of earthworms (*Eisenia fetida*) under laboratory conditions. *Chemosphere*, 2011, 83 (4): 429—434

TOXIC EFFECT OF MULTIPLE-TIME OVERLYING POLLUTION OF PHE IN SOIL ON *EISENIA FETIDA*

Ma Jingjing¹ Qian Xinchun¹ Zhang Wei¹ Zheng Bin¹ Ge Gaofei² Gao Hongjian^{1†}

(1 School of Resources and Environment, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

(2 Biotechnology Center of Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract Phenanthrene (Phe), a typical persistent PAHs (polycyclic aromatic hydrocarbons)

type organic pollutant, is accumulating step by step in low dosage, posing a potential threat to the soil environment. As one-time Phe pollution of the soil differs in process from gradual accumulation of Phe pollution in low dosage, it is very likely to overestimate environmental risk of the Phe entering the soil in the first manner. Phe entering the soil does not diffuse or translocate in the soil. Therefore, most Phe stays in aqueous phase in the soil due to short soil-Phe contact time. In this paper, a multiple-time addition method was used to simulate of the process of Phe accumulation in the soil. With the multiple-time addition approach, Phe was added into the soil in low dosage 12 times, whereas with the one-time addition method, the same quantity of Phe was added into the soil all at once. Then, bioavailability and toxic effects on enzyme activity in earthworm coelomocytes, chromosome and lysosome membrane of the earthworms exposed to the pollutant at different aging phases (1, 7, 14, 28, and 56 d) were analyzed. It was found that with soil incubation going on, content of available Phe, Phe accumulation in earthworm, activity of SOD and POD in earthworm coelomocytes, content of MDA and micronucleus rates (MNR) all dropped rapidly in the early period (1 ~ 28 d) and slowed down their drops gradually in the late period (29 ~ 56 d), but neutral red retention time (NRRT) kept rising on steadily, indicating that Phe toxicity to earthworm declined with soil incubation going on. Under the condition of multiple-time overlying pollution and one-time pollution, soil available Phe decreased by $1.12 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ and $3.08 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, respectively, during the early stage (1 ~ 28 d) of incubation and by $0.17 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ and $0.39 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, respectively, during the late stage (29 ~ 56 d) and Phe accumulation in earthworms did by $7.59 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ and $21.46 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, respectively, during the early stage, and by $0.63 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$ and $1.91 \mu\text{g kg}^{-1} \text{d}^{-1}$, respectively, during the late stage. Soil available Phe (Tenax-TA extractable Phe) was in highly significant positive relationship ($R^2=0.8879$, $p<0.01$) with Phe accumulation in earthworms and in highly significant relationship, too, with SOD and POD activities, MDA content, micronucleus rate and NRRT in earthworm coelomocytes with the coefficient of determination being 0.8934, 0.8709, 0.9305, 0.8933 and 0.8851, respectively. During the 56 days of aging, soil available Phe and Phe accumulation in earthworms was 23.19% ~ 50.15% and 12.64% ~ 57.89% lower, respectively; SOD and POD activities in earthworm coelomocytes 3.40% ~ 47.24% and 6.49% ~ 38.02%, respectively; MDA content 21.30% ~ 57.82% lower; and MNR in earthworm coelomocytes 2.48% ~ 22.99% lower, while NRRT in earthworm coelomocytes was 1.35% ~ 13.97% higher in the soil subjected to multiple-time overlying pollution than in the soil subjected to one-time pollution, which indicates that Phe entering into the soil through multiple-time overlying pollution is lower than that through one-time pollution in toxicity to earthworms. This finding can be cited as theoretic basis for assessment of eco-toxicity of PAHs-type organic pollutants in soil.

Key words Phenanthrene; Multiple-time overlying pollution; Earthworms; Enzyme activities; Neutral red retention time; Micronucleus rate

(责任编辑: 卢 萍)

CONTENTS

Reviews and Comments

- Problems and analytical logic in building cultivated land productivity evaluation index system..... Zhao Yanfeng, Cheng Daoquan, Chen Jie, et al. (1207)
 Advancement in study on effect of earthworm on greenhouse gas emission in soil and its mechanism Lu Mingzhu, Lü Xianguo, Guan Qiang, et al. (1224)

Research Articles

- Vertical distributions of soil organic and inorganic carbon and their controls along toposequences in an alpine region Yang Fan, Huang Laiming, Li Decheng, et al. (1235)
 Effect of grain size on and correlation analysis of pedodiversity and surface water body diversity in counties typical of Central and East China Ren Yuanyuan, Zhang Xuelei (1249)
 Spatial-temporal variability of soil readily available nutrients in cultivated land of Weibei Tableland Area Yu Yang, Zhao Yeting, Chang Qingrui (1260)
 Hyperspectral estimation and remote sensing retrieval of soil water regime in the Yellow River Delta Li Ping, Zhao Gengxing, Gao Mingxiu, et al. (1271)
 Effect of wet-dry alternation on loess disintegration rate Wang Jian, Ma Fan, Zhang Penghui, et al. (1278)
 Experiment and simulation of infiltration from layered soils in open pit mine in Jin-Shaan-Meng adjacent region Wu Qifan, Fan Jun, Yang Xiaoli, et al. (1289)
 Anaerobic redox of iron oxides and photosynthetic oxidation of ferrous iron in upland cinnamon soils Sun Lirong, Wang Xugang, Xu Xiaofeng, et al. (1299)
 Study on effect of kaolinite colloids on zeta potential of Al oxide coated quartz with streaming potential method Li Zhongyi, Xu Renkou (1309)
 Nitrogen use efficiencies of major grain crops in China in recent 10 years Yu Fei, Shi Weiming (1324)
 Changes of soil nutrients and supply capacities in the piedmont plain of Taihang Mountain during the period of 1978–2008 Liu Jianling, Jia Ke, Liao Wenhua, et al. (1334)
 Spatial variation of ecological stoichiometry of soil C, N and P in a small hilly watershed in subtropics of China Yang Wen, Zhou Jiaogen, Wang Meihui, et al. (1343)
 Stoichiometric characteristics of soil in an oasis on northern edge of Tarim Basin, China Li Honglin, Gong Lu, Zhu Meiling, et al. (1354)
 Distribution of soil selenium in the Northeast China Plain and its influencing factors Dai Huimin, Gong Chuandong, Dong Bei, et al. (1364)
 Study on phytolith-occluded organic carbon in soil of subtropical forest of southern Zhejiang Lin Weilei, Ying Yuqi, Jiang Peikun, et al. (1372)
 Toxic effect of multiple-time overlying pollution of Phe in soil on *Eisenia fetida* Ma Jingjing, Qian Xinchun, Zhang Wei, et al. (1381)
 Effect of organic manure on cucumber Fusarium wilt control and its mechanism Zhao Liya, Li Wenqing, Tang Longxiang, et al. (1390)
 Ameliorative effect of cropping *Lycium barbarum* L. with drip irrigation on soil enzymes activities in takyric solonetz Zhang Tibin, Kang Yaohu, Wan Shuqin, et al. (1399)
 Change in shallow soil temperature and its response to change in air temperature in middle and lower reaches of Shiyang River Basin Yang Xiaoling, Ding Wenkui, Ma Zhonghua, et al. (1410)
 Soil permeability of aeration zone in Xinchang-Xiangyangshan - a preselected site for high level radioactive waste disposal Li Jiebiao, Su Rui, Zhou Zhichao, et al. (1420)

Research Notes

- Inversion of spatial pattern of organic matter contents in black soil based on TM data Song Jinhong, Wu Jinggui, Zhao Xinyu, et al. (1429)
 Analysis of soil fertility and fertilizer efficiency of maize field in Shaanxi Shan Yan, Li Shuili, Li Ru, et al. (1437)
 Application of cosmic-ray method to soil moisture measurement of grassland in the Loess Plateau Zhao Chun, Yuan Guofu, Liu Xiao, et al. (1444)

Cover Picture: Reclamation of a highly saline-sodic wasteland of takyric solonetz while cropping *Lycium barbarum* L. with drip irrigation (by Zhang Tibin)

《土壤学报》编辑委员会

主 编: 史学正

执行编委: (按姓氏笔画为序)

丁维新	巨晓棠	王敬国	王朝辉	史 舟	宇万太	朱永官
李永涛	李芳柏	李保国	李 航	吴金水	沈其荣	张玉龙
张甘霖	张福锁	陈德明	邵明安	杨劲松	杨明义	杨林章
林先贵	依艳丽	周东美	周健民	金继运	逢焕成	胡 锋
施卫明	骆永明	赵小敏	贾仲君	徐国华	徐明岗	徐建明
崔中利	常志州	黄巧云	章明奎	蒋 新	彭新华	雷 梅
窦 森	廖宗文	蔡祖聪	蔡崇法	潘根兴	魏朝富	

编辑部主任: 陈德明

责任编辑: 汪枳生 卢 萍 檀满枝

土 壤 学 报

Turang Xuebao

(双月刊, 1948年创刊)

第 52 卷 第 6 期 2015 年 11 月

ACTA PEDOLOGICA SINICA

(Bimonthly, Started in 1948)

Vol. 52 No. 6 Nov., 2015

编 辑 《土壤学报》编辑委员会
地址: 南京市北京东路 71 号 邮政编码: 210008
电话: 025 - 86881237
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

Edited by Editorial Board of Acta Pedologica Sinica
Add: 71 East Beijing Road, Nanjing 210008, China
Tel: 025 - 86881237
E-mail: actapedo@issas.ac.cn

主 编 史 学 正
主 管 中 国 科 学 院
主 办 中 国 土 壤 学 会
承 办 中国科学院南京土壤研究所

Editor-in-Chief Shi Xuezheng
Superintended by Chinese Academy of Sciences
Sponsored by Soil Science Society of China
Undertaken by Institute of Soil Science,
Chinese Academy of Sciences

出 版 科 学 出 版 社
地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717

Published by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China

印刷装订 北京中科印刷有限公司
总发行 科 学 出 版 社
地址: 北京东黄城根北街 16 号 邮政编码: 100717
电话: 010 - 64017032
E-mail: journal@mail.sciencep.com

Printed by Beijing Zhongke Printing Limited Company
Distributed by Science Press
Add: 16 Donghuangchenggen North Street,
Beijing 100717, China
Tel: 010 - 64017032
E-mail: journal@mail.sciencep.com

国外发行 中国国际图书贸易总公司
地址: 北京 399 信箱 邮政编码: 100044

Foreign China International Book Trading Corporation
Add: P. O. Box 399, Beijing 100044, China

国内统一刊号: CN 32-1119/P

国内邮发代号: 2-560

国外发行代号: BM45

定价: 60.00 元

国 内 外 公 开 发 行



ISSN 0564-3929

