

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

谢文军^{1,2}, 周健民², 王火焰²

(1. 滨州学院山东省黄河三角洲生态环境重点实验室, 滨州 256603; 2. 中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要:通过研究外源污染物在不同施肥模式土壤中的生物有效性, 可为预测、降低污染物的生态环境效应提供理论依据。以 3 种不同施肥模式的土壤为材料[连续 16 a: 不施肥(CK)、施用腐熟豆饼 + 秸秆(OM)和施用 NPK 化肥(NPK)], 利用 Biolog 方法研究了 Cu^{2+} (100 mg/kg)、 Cd^{2+} (5 mg/kg)、氯氰菊酯(10 mg/kg)单一及复合污染对微生物功能多样性的影响。结果发现, NPK 土壤微生物功能多样性最高, 培养 72 h, 其 AWCD 值(平均吸光值)约为 CK 的 1.19 倍, OM 的 1.62 倍。污染物加入后, 3 种土壤微生物功能多样性出现了不同的响应, NPK 土壤下降最大, 其次是 CK, OM 最小。氯氰菊酯与 Cd 复合污染对微生物功能多样性影响最大, 在 NPK 土壤中 AWCD 下降了 48%, 6 类碳源的利用能力、Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数均显著降低。尽管氯氰菊酯对 3 种土壤微生物的碳源利用影响不大, 但与重金属, 尤其是 Cd^{2+} 复合污染时, 对微生物碳源利用的抑制明显加剧。 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 及氯氰菊酯对土壤微生物功能多样性的影响程度, 除与土壤有机质含量有关外, 可能还取决于有机质的组成和微生物的种群结构。

关键词:施肥模式; Biolog; 碳源利用; 有机质

中图分类号: X131.3 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)10-2919-06

Influence of Cu^{2+} , Cd^{2+} and Cypermethrin on Microbial Functional Diversity in Different Fertilization Soils

XIE Wen-jun^{1,2}, ZHOU Jian-min², WANG Huo-yan²

(1. Shandong Key Laboratory of Eco-environmental Science for Yellow River Delta, Binzhou University, Binzhou 256603, China; 2. Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: Determination the bioavailability of contaminants in different fertilizer management soils can be of great theoretical significance for predicting and decreasing the effect of pollutants on eco-environment. In this study, three different fertilization soils were employed in a 16-year field experiment: no fertilization (CK), composted wheat straw and oil cakes (OM) and NPK fertilizer (NPK). The influences of Cu^{2+} (100 mg/kg), Cd^{2+} (5 mg/kg) and cypermethrin (10 mg/kg) and their combinations on microbial functional diversity were observed in different fertilization soils. The results showed that the highest microbial functional diversity was observed in the NPK treatment, followed by CK, and the lowest in the OM soil. At 72 h incubation, AWCD (average well color development) of the NPK soil was 1.19 times than that of the CK soil and 1.62 times than that of the OM soil. After addition of contaminants into soils, microbial functional diversity decreased to a different extent. The greatest decrease extent was recorded in the NPK soil, followed by CK and the least in OM. Combination of Cd and cypermethrin had the biggest influence on the microbial functional diversity. AWCD was decreased by 48%, six substrate groups and microbial diversity indices inhibited significantly in this treatment of the NPK soil. Although cypermethrin had little effect on soil microbial utilization of carbon source, utilization potential decreased greatly in combination pollution treatments, especially in combination with Cd^{2+} . The effect of Cu^{2+} , Cd^{2+} and cypermethrin and their combinations on soil microbes not only affected by the soil organic matter content, likely also by the constitution of organic matter and microbial community.

Key words: fertilization mode; Biolog; carbon source utilization; soil organic matter

重金属、农药可以通过农业化学品的施用、污水灌溉和干湿沉降等途径进入土壤^[1~3], 是农田污染的重要组成部分。已有较多研究表明重金属、农药等有机污染物进入土壤后, 能够影响土壤酶的活性、养分循环, 甚至生态稳定^[3~6]。但这种影响程度会因土壤性质的不同而有差异, 研究发现土壤有机质能够降低重金属、农药的生物有效性^[3,7], 土壤中不同的微生物种群对重金属也有不同的响应^[2,4]。施肥能够

影响土壤的理化、生物学性质, 不同施肥模式下土壤有机质及微生物的量、组成等均存在明显差异^[8,9]。因此, 近年来, 施肥与土壤中污染物有效性的关系已

收稿日期: 2007-11-19; 修订日期: 2008-01-22

基金项目: 国家重点基础研究发展规划(973)项目(2002CB410810); 滨州学院博士基金项目(2007Y06)

作者简介: 谢文军(1972~), 男, 博士, 讲师, 主要研究方向为土壤中污染物的迁移转化, E-mail: xwjeric@yahoo.com.cn

开始受到人们越来越多的关注^[10].

微生物参与了许多土壤生态过程,通过测定土壤微生物活性及功能多样性,可以用来评价污染土壤的健康及生态稳定性^[6,11]. Biolog 方法是基于微生物碳源利用来判定其功能多样性的一种土壤检测新技术.由于其灵敏、快速,已经被越来越多地应用到微生物对重金属、农药响应的研究中^[6,12]. Cu、Cd 是农田中最常见的重金属污染物.随着有机氯和部分有机磷农药的禁用,氯氰菊酯的施用量在世界范围内普遍增加,在水体、土壤乃至食品中经常被检出^[13].但是,关于氯氰菊酯对微生物功能多样性的影响,至今国内外研究很少,其与重金属复合污染的生态环境效应更鲜见报道.因此,本试验利用 Biolog 方法来研究 Cu、Cd、氯氰菊酯单一及复合污染情况下,对不同施肥模式土壤微生物的影响.在明确不同施肥模式土壤微生物生长代谢特征的基础上,进一步分析污染物对不同施肥模式土壤微生物功能多样

性影响的差异,以期评价重金属、农药污染的生态环境效应提供理论依据,同时探索通过施肥措施来降低污染风险的可行性.

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤 2006 年 5 月采自中国科学院封丘农业生态试验站,为 16 a 长期定位试验小麦-玉米轮作田内,3 种不同施肥模式的表层土壤(0~20 cm):不施任何肥料(CK)、施用无机化肥(NPK)和施用腐熟豆饼+秸秆(OM),后 2 个模式中,N、P、K 施肥量相等,OM 中 P、K 不足部分用化肥补充,试验具体布置见文献[14].样品取回后,均匀风干,过 2 mm 筛,按照文献[15]的方法测定其主要理化性质(表 1).所用试剂主要包括:氯氰菊酯(96.7%,Sigma); CuCl₂·2H₂O(分析纯); CdCl₂·2.5H₂O(分析纯); Biolog Eco-plates.

表 1 供试土壤理化性质
Table 1 Physicochemical properties of the used soils

处理	pH	有机质/g·kg ⁻¹	总氮/g·kg ⁻¹	总磷/g·kg ⁻¹	速效氮/mg·kg ⁻¹	速效磷/mg·kg ⁻¹	速效钾/mg·kg ⁻¹
OM	8.03	13.84	0.94	0.64	30.57	45.34	171.9
NPK	8.26	9.31	0.58	0.65	37.20	24.80	147.0
CK	8.51	6.83	0.44	0.52	12.75	2.05	57.1

1.2 Cu²⁺、Cd²⁺ 污染土壤的制备

CK、NPK、OM 土壤中分别加入 Cu²⁺ 100 mg/kg、Cd²⁺ 5 mg/kg,混匀后,过 2 mm 筛,模拟田间过程,干湿交替放置 30 d.本试验选择重金属浓度的主要依据在于预备试验中发现,当供试土壤中分别加入 Cu²⁺ 100 mg/kg、Cd²⁺ 5 mg/kg后,氯氰菊酯降解显著受到抑制,表明微生物的活性显著受到影响.CK、NPK、OM 这 3 种施肥模式土壤中的重金属本底值(全量):Cu 含量分别为 14.2、14.4、14.7 mg/kg,Cd 分别是 0.29、0.35、0.37 mg/kg. Cu 含量差异不显著,Cd 含量 NPK、OM 较 CK 显著偏高.

1.3 试验设计

准确称取 20 g 重金属污染和无污染土壤,分别加入 0.5 mL 氯氰菊酯的丙酮溶液,使土壤中氯氰菊酯的浓度达到 10 mg/kg,充分混匀,待丙酮完全挥发后,转入 100 mL 三角瓶中,调节土壤含水量至 60%,置 25℃条件下培养,培养期间土壤含水量保持不变.以无农药和重金属污染的土壤作对照,由此得到 18 个处理,每处理重复 3 次,见表 2.经 14 d 后,取样测定不同处理土壤微生物功能多样性.

表 2 试验处理设置表

Table 2 Treatments carried out in this study						
施肥模式	对照	铜污染	镉污染	农药污染	铜+农药	镉+农药
OM	B	Cu	Cd	C	Cu + C	Cd + C
NPK	B	Cu	Cd	C	Cu + C	Cd + C
CK	B	Cu	Cd	C	Cu + C	Cd + C

1.4 土壤微生物群落功能多样性分析

采用 Eco-plates 微平板测定^[16,17].取 10 g 处理土壤,加入到装有 100 mL 0.145 mol/L氯化钠无菌溶液的三角瓶中,高速振荡 20 min,梯度稀释法稀释到 10⁻³浓度.通过排孔加样器将稀释液接种到 Eco 微平板上,接种量 150 μL,25℃下恒温培养 7 d,每隔 24 h,用 Biolog 自动读板仪在 590 nm 下读数.

培养 72 h 不同处理间吸光值的差异达到最大,反应孔的平均吸光值(AWCD)、Shannon 指数、Simpson 指数和 McIntosh 指数按照杨永华等^[18]的方法计算.依据 Preston-Mafham 等^[19]方法对碳源进行分类,每类碳源利用潜能为所含底物 AWCD 值之和.统计分析采用 SPSS10.0 版在计算机上进行.

2 结果与讨论

2.1 不同处理间 AWCD 变化差异

培养过程中各处理的 AWCD 变化曲线如图 1 所示. AWCD(average well color development)是微平板上反应孔的平均吸光值,其随时间的变化是微生物碳源利用强度的反映,也是微生物活性的一个有效指标,最终的 AWCD 值与土壤微生物群落中能利用单一碳源的微生物种类和数目有关^[20]. 由图 1(a) 中可以看出,3 种不同施肥模式土壤利用碳源的能力存在极显著差异($p < 0.01$),其中 NPK 土壤利用能力最大,其次是 CK, OM 最低. 培养 72 h, NPK 模式的 AWCD 约为 CK 模式的 1.19 倍、OM 模式的 1.62 倍. 前 24 h 内, OM 施肥模式的 AWCD 值非常低. 已有较多研究表明,施用有机肥能够提高土壤微生物的、

活性及功能多样性^[8,9,21], 但本试验结果表明长期施用有机肥后,微生物功能多样性显著降低. 这种差异主要是由于多数研究是从土壤微生物生物量、脱氢酶活性及其 DNA 量的角度来研究有机肥的效应^[8,9], Pérez-Piqueres 等^[21]的研究包含微生物功能多样性,但是基于有机肥施入后的一个短期效果(10 d). 经过连续长期施用有机肥后,土壤有机质的量、组成均发生改变,碳水化合物含量增加^[22,23],有机质质量的变化将直接影响土壤微生物功能多样性^[24]. 因此,OM 土壤微生物功能多样性降低可能是有机质碳源变化诱导微生物种群结构演变的一种反映. 这种变化在短时间内是很难发现的,因为土壤生态系统的调整需要一个较长的过程^[9]. 但是微生物功能多样性降低可能会抑制其降解有机污染物的能力,最终导致土壤有机污染物负载容量下降.

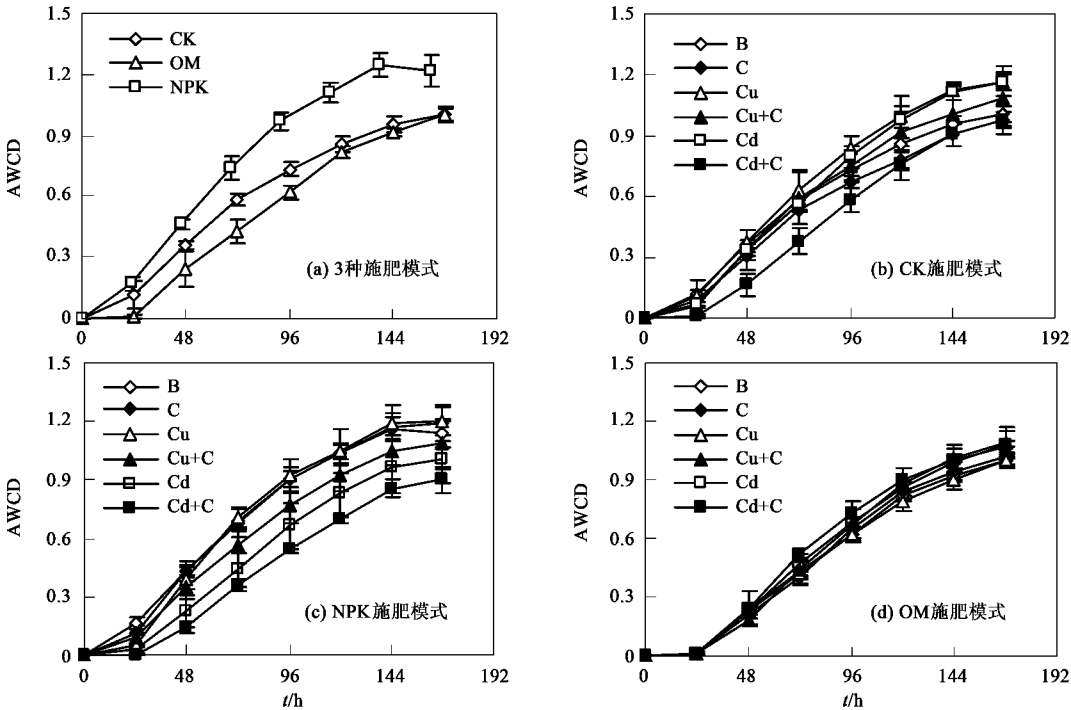


图 1 不同处理土壤微生物培养过程中 AWCD 变化
Fig.1 AWCD changes of soil microbial communities in different treatments

图 1(b)~1(d)分别反映了 CK、NPK 和 OM 施肥模式中不同处理 AWCD 的变化. CK 中不同处理的 AWCD 呈现一定程度的分离, Cd 与氯氰菊酯复合污染处理的 AWCD 与对照(B)相比,显著降低($p < 0.05$). NPK 中不同处理 AWCD 的分离程度进一步扩大, Cu + C、Cd、Cd + C 与对照相比显著降低($p < 0.05$). OM 中不同处理间 AWCD 差异最小, 整个培养期间处理间的差异不显著. 培养 72 h 与对照(B)

相比较,影响最大处理 Cd + C 在 CK、NPK、OM 中 AWCD 值的变化幅度分别为 35%、48% 和 21%. 5 mg/kg Cd^{2+} 对土壤微生物底物利用能力的影响要大于 100 mg/kg Cu^{2+} , 尽管氯氰菊酯对 3 种施肥模式土壤微生物功能多样性影响较小,但与重金属,尤其是 Cd^{2+} 复合污染情况下,影响显著加剧,表现出明显的协同效应. 总的看来,氯氰菊酯和重金属 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 对 NPK 土壤微生物功能多样性的影响最大,其次是

CK,对 OM 影响最小.这种影响程度的差异与土壤有机质含量相关,土壤有机质能够与外源重金属、农药相互作用,降低其生物有效性^[3,7].但 NPK 与 CK 模式相比,有机质含量高,影响幅度反而增大,所以污染物对土壤微生物的影响,除有机质含量外,可能还与有机质及微生物种群的组成有关.

2.2 不同处理土壤微生物利用不同种类碳源分析

根据碳源的结构与化学性质,将其分成 6 类^[19]:糖类(D-木糖, *i*-赤藻糖醇, D-甘露醇, *N*-乙酰-D-葡萄糖胺, β -甲基-D-葡萄糖苷, α -D-乳糖, D-纤维二

糖); 羧酸类(D-半乳糖酸- γ -内酯, D-半乳糖醛酸, 2-羟基-苯甲酸, 4-羟基-苯甲酸, γ -羟基丁酸, 甲叉丁二酸, α -丁酮酸, D-苹果酸, D-氨基葡萄糖酸); 胺/氨类(苯基乙胺, 腐胺); 氨基酸类(L-精氨酸, L-天冬酰胺, L-苯丙氨酸, L-丝氨酸, L-苏氨酸, 甘氨酸-L-谷氨酸); 聚合物类(吐温 40, 吐温 80, α -环式糊精, 肝糖); 其他类(丙酮酸甲酯, 1-磷酸葡萄糖, D, L- α -磷酸甘油酯).培养 72 h,比较分析不同处理的碳源利用能力,见表 3.

由表 3 可以看出,CK、NPK、OM 3 种施肥模式

表 3 不同处理土壤微生物碳源利用潜能分析¹⁾

Table 3 Substrate utilization potential (OD) of microbial communities in different treatments							
施肥模式	处理	糖类	羧酸类	胺/氨类	氨基酸类	聚合物类	其他类
CK	CK	1.55 b	4.89 a	2.37 a	4.63 ab	2.26 b	1.64 a
	NPK	3.06 a	6.04 a	2.33 a	5.66 a	2.74 a	1.65 a
	OM	2.84 a	2.98 b	0.85 b	4.35 b	1.55 c	0.68 b
	B	1.55 a	4.89 ab	2.37 a	4.63 a	2.26 ab	1.64 a
	C	1.45 a	4.69 ab	2.33 a	4.61 a	2.12 ab	1.21 bcd
	Cu	2.55 a	5.43 a	2.34 a	5.32 a	2.57 a	1.58 ab
	Cu + C	1.82 a	4.14 ab	2.33 a	4.37 a	1.83 ab	1.06 cd
	Cd	1.40 a	5.14 ab	2.47 a	5.10 a	2.04 ab	1.41 abc
	Cd + C	2.24 a	3.09 c	0.50 b	3.47 b	1.46 b	0.97 d
	B	3.06 ab	6.04 a	2.33 ab	5.66 ab	2.74 a	1.65 ab
NPK	C	3.18 ab	5.61 a	2.58 a	5.83 a	2.65 ab	1.25 abc
	Cu	3.43 a	5.90 a	2.61 a	5.71 ab	2.37 abc	1.88 a
	Cu + C	2.31 b	5.04 ab	2.21 ab	4.84 ab	1.81 bc	1.12 bc
	Cd	1.97 c	3.90 bc	1.00 c	4.22 bc	1.68 c	0.82 c
	Cd + C	1.88 c	2.70 c	1.28 bc	2.82 c	1.75 c	0.72 c
	B	2.84 a	3.16 a	0.85 a	4.35 a	1.55 ab	0.68 ab
OM	C	1.82 a	2.98 a	1.17 a	1.81 b	1.18 b	0.49 b
	Cu	2.08 a	3.33 a	0.76 a	4.40 a	1.63 a	1.06 a
	Cu + C	2.81 a	3.35 a	1.11 a	3.93 a	1.58 a	0.99 a
	Cd	2.18 a	4.13 a	1.88 a	4.35 a	1.39 ab	0.90 ab
	Cd + C	2.72 a	3.54 a	1.60 a	5.35 a	1.64 a	0.89 ab
	B	2.84 a	3.16 a	0.85 a	4.35 a	1.55 ab	0.68 ab

1)同一列同一施肥模式中不同字母表示处理间差异显著($p < 0.05$),下同

中,NPK 土壤微生物利用不同种类碳源的能力最高;除糖类外,OM 施肥模式的利用能力最低;CK 施肥模式土壤利用糖类的能力最差,与 NPK 相比,糖类、聚合物利用能力显著下降,其他碳源利用差异不显著.这表明,不同施肥模式对土壤微生物利用碳源的能力产生了显著影响.长期采用不同的施肥模式,土壤有机质含量、组成会有较大的变化^[22,23],土壤微生物利用碳源的差异可能是对这种变化的一种适应.

加入农药、重金属后,不同土壤微生物利用 6 类碳源能力的变化差异显著.污染物胁迫对 OM 土壤微生物利用不同碳源能力的影响最小,仅氯氰菊酯处理(C)与对照(B)相比,氨基酸的利用能力显著降低.NPK 施肥模式中,Cd、Cd + C 处理土壤微生物利

用 6 类碳源的能力,与对照相比显著降低,Cu + C 处理,聚合物利用能力降低也达到了显著水平.CK 施肥模式中,除糖类外,其他 5 类碳源在 Cd 与氯氰菊酯复合污染情况下,与对照相比,显著降低,尤其是胺/氨类化合物的利用能力降低了 78.9%.可见复合污染条件下,碳源利用能力受阻明显加剧.碳源利用是土壤微生物生长代谢的基础,碳源利用的变化直接影响到土壤微生物活性及生态稳定性^[17].因此,长期施用无机化肥或不施肥的土壤,在重金属、农药等外源污染物侵入时,不利于保持土壤健康和生态稳定.

2.3 农药、重金属对不同处理土壤微生物群落多样性的影响

Shannon 指数、Simpson 指数、McIntosh 指数是用来衡量微生物多样性的指标, Shannon 指数主要反映了群落中的物种丰富度, Simpson 指数较多地反映群落中最常见的物种, 而 McIntosh 指数则是群落物种均一性的衡量^[18]. 培养 72 h, 不同处理 Shannon、Simpson、McIntosh 微生物多样性指数见表 4. 从中可以看出, NPK 土壤较 OM 在物种丰富度和均一性上显著升高, 但与 CK 施肥模式的差异不显著; Simpson 指数三者间的差异都达到了显著水平, 最常见物种的多样性按照 NPK、CK、OM 次序依次降低.

表 4 土壤微生物多样性指数

Table 4 Diversity indices for soil microbial communities				
施肥模式	处理	Shannon 指数	Simpson 指数	McIntosh 指数
CK	CK	2.89 ab	14.81 b	4.46 ab
	NPK	3.03 a	18.12 a	5.05 a
	OM	2.70 b	12.43 c	3.75 b
	B	2.89 a	14.81 ab	4.46 a
	C	2.75 a	13.75 bc	4.43 a
	Cu	3.00 a	17.35 a	4.73 a
	Cu + C	2.74 a	15.83 ab	4.90 a
	Cd	2.84 a	14.98 ab	4.54 a
	Cd + C	2.72 a	12.23 c	3.36 b
	B	3.03 a	18.12 a	5.05 a
NPK	C	2.99 a	17.07 a	5.10 a
	Cu	3.00 a	17.53 a	5.23 a
	Cu + C	2.87 ab	15.02 ab	4.51 ab
	Cd	2.75 b	12.78 b	3.79 bc
	Cd + C	2.75 b	12.63 b	3.14 c
	B	2.70 a	12.43 ab	3.75 a
OM	C	2.84 a	14.36 ab	2.43 b
	Cu	2.70 a	12.19 b	3.75 a
	Cu + C	2.84 a	13.74 ab	3.65 a
	Cd	2.75 a	12.91 ab	4.03 a
	Cd + C	2.89 a	14.88 a	4.16 a
	B	2.70 a	12.43 ab	3.75 a

在重金属及氯氰菊酯胁迫下, 不同土壤微生物多样性指数表现出了不同的变化(表 4). OM 模式中, 与对照相比, 仅氯氰菊酯处理的 McIntosh 指数显著降低, 物种的均一性受到破坏. CK 中, 不同处理间 Shannon 指数差异不显著, Cd + C 与对照相比, Simpson 指数和 McIntosh 指数降低到达显著水平, 微生物群落中最常见物种受到抑制, 物种的均一性受到破坏. NPK 中, Cd、Cd + C 处理与对照相比, 3 种指数降低都达到了显著水平, 在物种的均一性受到破坏, 最常见物种受到抑制的同时, 物种丰富度显著降低.

应用 Biolog 方法来确定土壤微生物对污染物的响应, 目前还存在一些争议. 这种方法是利用微生物生长代谢来作为衡量微生物多样性的基础, 因此只

能反映土壤中能培养微生物的功能多样性, 准确性与实际情况可能存在差异^[17]. 同时, 试验所用的污染物种类及浓度与实际也有偏差. 但该方法由于其快速、灵敏等优点, 已经被广泛应用于污染物对环境影响的研究之中^[17, 19, 25]. 本试验比较了目前常见农田污染物对不同施肥模式土壤微生物功能多样性的影响, 结果表明, 长期不施肥土壤尽管土壤肥力低下, 但微生物功能多样性仍能维持较高的水平. 长期平衡施用无机化肥能够提高土壤微生物功能多样性, 提高作物产量、保持土壤肥力^[8, 26], 但土壤微生物受外源污染物的影响较大, 不利于保持土壤的生态稳定和农业可持续发展. 而长期施用腐熟豆饼 + 秸秆的土壤, 微生物数量及活性较高^[8], 受污染物的影响较小, 但其微生物功能多样性显著降低, 除糖类外, 其他碳源利用的能力很差, 长期下去可能会造成土壤降解有机污染物的潜能衰弱, 环境风险增加. 不同施肥模式土壤微生物对外源污染物的不同反应, 在于其土壤性质的差异. 土壤有机质含量、组成及微生物的种群结构等都能对污染物的生物有效性产生影响. 因此, 从功能多样性的角度来保持农田土壤的生态稳定, 混合施用化肥和有机肥应是最佳的施肥模式, 这与 Toyota 等^[27]的研究结果基本一致.

3 结论

(1) 长期不施肥土壤尽管肥力低下, 但微生物功能多样性和碳源能用能力仍能维持较高水平; 长期施用无机化肥, 土壤微生物碳源利用能力显著提高; 而长期施用腐熟豆饼 + 秸秆, 土壤微生物除利用糖类能力较强外, 其它碳源的利用能力显著降低.

(2) 重金属 Cu^{2+} 、 Cd^{2+} 及氯氰菊酯对长期施用腐熟豆饼 + 秸秆土壤微生物的碳源利用影响很小, 对不施肥和施用无机肥的土壤影响较大, 其中对施用无机肥的土壤影响最大. 尽管氯氰菊酯对土壤微生物多样性影响较小, 但与重金属, 尤其是 Cd^{2+} 复合污染时, 微生物碳源利用的抑制程度明显加剧, 表现出了明显的协同效应.

(3) 土壤微生物功能多样性受污染物的影响程度不仅与有机质含量有关, 可能还与土壤有机质及微生物种群的组成有关. 从土壤微生物功能多样性的角度来保持土壤健康和生态稳定, 混合施用化肥和有机肥应是最佳的施肥模式.

参考文献:

[1] 胡正义, 沈宏, 曹志洪. Cu 污染土壤-水稻系统中 Cu 的分布特征[J]. 环境科学, 2000, 21(2): 62-65.

- [2] Perkiömäki J, Fritze H. Cadmium in upland forests after vitality fertilization with wood ash-a summary of soil microbiological studies into the potential risk of cadmium release [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2005, **41**: 75-84.
- [3] Sannino F, Gianfreda L. Pesticides influence on enzymatic activities [J]. *Chemosphere*, 2001, **45**: 417-425.
- [4] Ellis R J, Neish B, Trett M W, *et al.* Comparison of microbial and meiofaunal community analyses for determining impact of heavy metal contamination [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2001, **45**: 171-185.
- [5] Gfler K E, Witter E, McGrath S P. Toxicity of heavy metals to microorganisms and microbial processes in agricultural soils: a review [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1998, **30**: 1389-1414.
- [6] Liao M, Xie X M. Effect of heavy metals on substrate utilization pattern, biomass, and activity of microbial communities in a reclaimed mining wasteland of red soil area [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2007, **66**: 217-223.
- [7] Covelo E F, Vega F A, Andrade M L. Competitive sorption and desorption of heavy metals by individual soil components [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2007, **140**: 308-315.
- [8] Chu H Y, Lin X G, Takeshi F, *et al.* Soil microbial biomass, dehydrogenase activity, bacterial community structure in response to long-term fertilizer management [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2007, **39**: 2971-2976.
- [9] Widmer F, Rasche F, Hartmann M, *et al.* Community structures and substrate utilization of bacteria in soils from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment [J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, **33**: 294-307.
- [10] 陈怀满. 土壤中化学物质的行为与环境质量[M]. 北京: 科学出版社, 2002. 472-504.
- [11] Swift M J. Maintaining the biological status of soil: a key to sustainable land management [A]. In: Greenland D J, Szabolcs I (eds). *Soil Resilience and Sustainable Land Use* [C]. Wallingford: CAB International, 1994. 33-39.
- [12] de Liphay J R, Johnsen K, Albrechtsen H J, *et al.* Bacterial diversity and community structure of a sub-surface aquifer exposed to realistic low herbicide concentrations [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **49**: 59-69.
- [13] Wheelock C E, Miller J L, Miller M J, *et al.* Use of carboxylesterase activity to remove pyrethroid-associated toxicity to *Ceriodaphnia dubia* and *Hyalella azteca* in toxicity identification evaluations [J]. *Environmental Toxicology & Chemistry* 2006, **25**(4): 973-984.
- [14] Meng L, Ding W X, Cai Z C. Long-term application of organic manure and nitrogen fertilizer on N₂O emission, soil quality and crop productivity in a sandy loam soil [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, **37**: 2037-2045.
- [15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. 228-233.
- [16] 郑华, 陈法霖, 欧阳志云, 等. 不同森林土壤微生物群落对 Biolog-GN 板碳源的利用 [J]. *环境科学*, 2007, **28**(5): 1126-1130.
- [17] Kong W D, Zhu Y G, Fu B J, *et al.* The veterinary antibiotic oxytetracycline and Cu influence functional diversity of the soil microbial community [J]. *Environmental Pollution*, 2006, **143**: 129-137.
- [18] 杨永华, 姚健, 华晓梅. 农药污染对土壤微生物群落功能多样性的影响 [J]. *微生物学杂志*, 2000, **20**(2): 23-25.
- [19] Preston-Mafham J, Boddy L, Randerson P F. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilization profiles - a critique [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, **42**: 1-14.
- [20] Choi K H, Dobbs F C. Comparison of two kinds of biolog microplates (GN and ECO) in their ability to distinguish among aquatic microbial communities [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1999, **36**: 203-213.
- [21] Pérez-Piqueres A, Edel-Hermann V, Alabouvette C, *et al.* Response of soil microbial communities to compost amendments [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, **38**: 460-470.
- [22] Leinweber P, Schulten H R, Korschen M. Hot water extracted organic matter: chemical composition and temporal variations in a long-term field experiment [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1995, **20**: 17-23.
- [23] Ellerbrock R, Höhn A, Gerke H. Characterization of soil organic matter from a sandy soil in relation to management practice using FT-IR spectroscopy [J]. *Plant and Soil*, 1999, **213**: 55-61.
- [24] Bending G D, Turner M K, Jones J E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, **34**: 1073-1082.
- [25] Gremion F, Chatzinotas A, Kaufmann K, *et al.* Impacts of heavy metal contamination and phytoremediation on a microbial community during a twelve-month microcosm experiment [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, **48**: 273-283.
- [26] Cai Z C, Qin S W. Dynamics of crop yields and soil organic carbon in a long-term fertilization experiment in the Huang-Huai-Hai Plain of China [J]. *Geoderma*, 2006, **136**: 708-715.
- [27] Toyota K, Kuninaga S. Comparison of soil microbial community between soils amended with or without farmyard manure [J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, **33**: 39-48.