

# 磷化铝对土壤微生物数量和酶活性的影响

仇 欢, 朱玉坤, 乔 康, 王开运\*

(山东农业大学植物保护学院, 山东 泰安 271018)

**摘 要:**为明确磷化铝对土壤微生物数量和酶活性的影响,采用室内培养的方法,研究了经 0.1、1  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  和 10  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  3 个浓度磷化铝熏蒸处理后,供试土壤中微生物数量和土壤酶活性的变化。结果表明,磷化铝处理土壤后,各个浓度的磷化铝对土壤细菌、真菌和放线菌数量具有抑制作用,浓度越高,抑制作用越强,但一段时间后低浓度(0.1  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )处理对土壤微生物数量的影响恢复至对照水平。磷化铝对土壤脲酶表现为抑制作用,并随浓度升高而增强;低浓度处理对土壤中的蔗糖酶活性抑制作用不明显,而高浓度(10  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )处理表现为强烈的抑制作用;各浓度处理初期对土壤过氧化氢酶表现为抑制或激活作用,但到第 30 d,恢复至对照水平。这说明,施入常规剂量的磷化铝对土壤微生物数量和土壤酶活性会产生一定的影响,在经过一定时间后可恢复至对照水平。

**关键词:**磷化铝;土壤微生物;微生物数量;酶活性

**中图分类号:**X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2012)01-0143-06

## Effects of Aluminum Phosphide on Soil Microbial Population and Enzyme Activities

ZHANG Huan, ZHU Yu-kun, QIAO Kang, WANG Kai-yun\*

(Department of Plant Protection, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, China)

**Abstract:** Effects of aluminum phosphide (0.1, 1  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$  and 10  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) on soil microbial population and enzyme activities were studied under laboratory control condition. The results indicated that, all concentrations of aluminum phosphide had inhibitory effect on soil bacteria, fungi and actinomyces and the inhibitory effect was more obvious with concentration increased. However, the effect caused by low concentration (0.1  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) returned to the control level after a period of treatment. Aluminum phosphide had inhibitory effect on soil urease, and the inhibitory effect increased with the increasing concentration. Low concentration of aluminum phosphide had no significant inhibitory effect on soil invertase, while the treatment with the highest concentration (10  $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ) had the greatest inhibition all the time. All concentrations of aluminum phosphide had inhibitory or stimulatory effect on soil hydrogen peroxidase in the early stage, while the effect returned to the control level on 30 days after treatment. The present data supported the conclusion that aluminum phosphide at the routine dose had certain effect on soil microbial population and enzyme activities, but the effect disappeared and recovered to the control level after a period.

**Keywords:** aluminum phosphide; soil microbes; microbial population; enzyme activities

磷化铝在我国已有 40 多年的使用历史,常用于熏杀粮食、种子、货物、空间中的多种仓储害虫,也可用于室外草原、堤坝、田间等的洞穴灭鼠,它已成为我国最主要的熏蒸杀虫剂<sup>[1-2]</sup>。笔者首次将磷化铝用于温室番茄、黄瓜防治根结线虫,并取得了显著效果<sup>[3-4]</sup>,但有关磷化铝对土壤微生物组成及土壤酶活性方面的研究尚未见报道。目前,化学农药对土壤

中微生物及其活性的影响已成为农药生态安全评价的重要指标之一<sup>[5-6]</sup>。土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,对土壤功能、生态系统的稳定和自然界元素循环等具有重要的意义,化学农药进入土壤后会对土壤中微生物群落及其活性产生一定的影响<sup>[7]</sup>。很多研究表明,化学农药进入土壤后可通过影响微生物的种群结构组成、生物量和活性,改变土壤微生物分泌、释放和修饰酶的强度,从而抑制或促进某些土壤酶的活性,破坏土壤中正常的生物化学过程,最终影响或破坏土壤生态环境<sup>[8-10]</sup>。使用熏蒸剂熏蒸土壤,一方面能够有效杀灭土壤中线虫、病原菌,提高作物产量,另一方面也会影响土壤中的生命活动和化学过

收稿日期:2011-06-19

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划项目(2011BAD12B04)

作者简介:仇 欢(1985—),女,山东新泰人,硕士研究生,研究方向为农药毒理与害虫抗药性。E-mail: wky@sdau.edu.cn

\* 通讯作者:王开运 E-mail: kywang@sdau.edu.cn

程。本研究旨在探讨磷化铝对土壤微生物数量和土壤酶活性的影响,了解其土壤微生物生态效应,以期为该药剂防治温室根结线虫病和环境安全性评价提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

56%磷化铝片剂,由山东圣鹏农药有限公司提供。

供试土壤取自山东农业大学试验田,未使用过磷化铝,也未使用过其他土壤熏蒸剂。取 5~20 cm 土层的土壤,剔除石块、植物根及其他杂物,风干,过 4 mm 筛。其理化性质见表 1。

表 1 供试土壤理化性质

Table 1 Physicochemical characteristics of tested soil

| pH   | 有机质 Organic matter/<br>g·kg <sup>-1</sup> | 泥土 Silt/% | 粘土 Clay/% | 沙土 Sand/% |
|------|-------------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| 6.82 | 19.53                                     | 71.26     | 15.02     | 13.72     |

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 实验设计及土壤处理

称取风干土壤置于广口瓶中,每份 200 g,调节土壤的含水量至田间最大持水量的 60%,于 25℃恒温培养箱中预培养 7 d,使微生物保持较高的活性。然后分别称取 0、0.02、0.2、2 g 的磷化铝片剂,施药至广口瓶土中央,使之在土壤中的浓度分别为 0、0.1、1、10 mg·g<sup>-1</sup>(其中 0.1、1、10 mg·g<sup>-1</sup>分别为模拟推荐田间使用剂量、10 倍田间使用剂量和 100 倍田间使用剂量,剂量的设定参照国家标准化学农药环境安全评价试验准则土壤微生物毒性试验设计部分),密封广口瓶,置于 25℃恒温培养箱中培养。每隔一定的时间采用测重法调节土壤含水量,使之恒定。取样前反复旋转广口瓶,在培养后第 1、2、4、7、11、15 d 和 30 d(根据田间熏蒸时间<sup>[9]</sup>,8~30 d 开启广口瓶,用棉塞密封)取土样,待测。平行设置 3 组重复。

#### 1.2.2 细菌、真菌和放线菌数量的测定

采用平板稀释法进行分离,制备一系列稀释度均匀的土壤悬液,从适当的稀释度中取一定量土壤悬液均匀涂布在平板上。分别采用马丁氏孟加拉红培养基、牛肉膏蛋白胨培养基和改良的高氏 I 号培养基对土样中的细菌、真菌和放线菌进行培养,计算每克土中各种微生物的数量<sup>[11]</sup>。

#### 1.2.3 脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性的测定

土壤脲酶活性采用靛酚蓝比色法测定。土壤蔗糖酶活性采用 3,5-二硝基水杨酸(DNS)比色法测定。

土壤过氧化氢酶活性采用高锰酸钾滴定法测定。3 种酶活性分别以 24 h 后 1 g 土壤中含 NH<sub>3</sub>-N 的毫克数、葡萄糖的毫克数和消耗 0.1 mol·L<sup>-1</sup>高锰酸钾的毫升数表示<sup>[12-13]</sup>。

#### 1.2.4 数据统计分析

磷化铝对土壤微生物数量和酶活性抑制率的计算方法:

$$\text{抑制率}(\%) = (b-a)/a \times 100$$

式中:a 为对照中土壤微生物数量或酶活性;b 为药剂处理后的土壤微生物数量或酶活性。抑制率大于零表明刺激(激活)作用,小于零表明抑制作用。所得数据利用 Excel 2003 进行处理,并用 SPSS16.0 软件进行单因素方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 磷化铝对土壤中可培养细菌、真菌和放线菌数量的影响

根据不同培养基平板上的菌落数分别对真菌、细菌和放线菌进行计数,结果见表 2。可以看出,试验初期(第 1、2 d),低浓度磷化铝(0.1 mg·g<sup>-1</sup>)对细菌数量没有显著影响,与空白对照相比没有显著性差异,到第 4 d 则表现为显著的抑制作用,但第 7 d 及以后的测定中抑制作用消除恢复至对照水平。中浓度(1 mg·g<sup>-1</sup>)和高浓度(10 mg·g<sup>-1</sup>)磷化铝处理后细菌数量明显低于对照,整个实验期间(30 d)抑制作用未消除。磷化铝对细菌的抑制作用与处理浓度相关,浓度越高抑制效应越明显。

在处理前期,各浓度的磷化铝处理真菌均表现抑制作用,磷化铝浓度越高,抑制作用越明显,但到第 30 d 时,低浓度和中浓度磷化铝对真菌的影响恢复到空白对照水平,而高浓度磷化铝始终表现为显著的抑制作用。

磷化铝熏蒸土壤后,对放线菌的影响与真菌相似,0.1、1 mg·g<sup>-1</sup>浓度处理对放线菌的抑制作用到第 30 d 时与对照相比均没有显著性差异。10 mg·g<sup>-1</sup>剂量的处理表现最强的抑制作用,且整个处理期间均表现为抑制作用。

### 2.2 磷化铝对土壤中酶活性的影响

#### 2.2.1 磷化铝对脲酶活性的影响

从图 1A 可见,磷化铝对土壤脲酶的抑制程度与处理浓度相关。低浓度(0.1 mg·g<sup>-1</sup>)磷化铝对土壤中脲酶活性没有显著影响,中浓度(1 mg·g<sup>-1</sup>)处理只在第 7 d 和第 11 d 表现为短暂的抑制作用,在第 15 d

表 2 磷化铝处理对土壤真菌、细菌和放线菌数量的影响

Table 2 Effect of aluminum phosphide on populations of bacteria, fungi and actinomycetes in soil

| 浓度 Concentration/<br>mg·g <sup>-1</sup>                | 不同浓度处理时间及土壤微生物数量 Treatment time and microbial populations |            |            |            |            |            |            |
|--------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------|------------|------------|------------|------------|------------|
|                                                        | 1 d                                                       | 2 d        | 4 d        | 7 d        | 11 d       | 15 d       | 30 d       |
| 细菌 Bacteria/×10 <sup>5</sup> cfu·g <sup>-1</sup>       |                                                           |            |            |            |            |            |            |
| 0                                                      | 4.60±0.49a                                                | 4.40±0.17a | 4.70±0.21a | 4.37±0.13a | 4.33±0.19a | 4.23±0.15a | 4.27±0.09a |
| 0.1                                                    | 4.30±0.40a                                                | 4.20±0.21a | 4.00±0.17b | 4.10±0.10a | 4.13±0.09a | 4.07±0.09a | 4.23±0.26a |
| 1                                                      | 0.43±0.19b                                                | 0.30±0.06b | 0.30±0.06c | 0.23±0.67b | 0.20±0.06b | 0.13±0.03b | 0.40±0.11b |
| 10                                                     | 0.47±0.18b                                                | 0.23±0.07b | 0.20±0.06c | 0.07±0.03b | 0.07±0.01b | 0.07±0.03b | 0.33±0.07b |
| 真菌 Fungi/×10 <sup>2</sup> cfu·g <sup>-1</sup>          |                                                           |            |            |            |            |            |            |
| 0                                                      | 4.23±0.17a                                                | 4.23±0.32a | 3.83±0.42a | 3.70±0.50a | 3.80±0.17a | 3.77±0.19a | 3.60±0.44a |
| 0.1                                                    | 3.43±0.26ab                                               | 3.23±0.19b | 2.87±0.18b | 2.57±0.12b | 2.43±0.15b | 2.10±0.15b | 3.13±0.25a |
| 1                                                      | 3.07±0.12b                                                | 2.90±0.17b | 2.37±0.15b | 2.20±0.15b | 2.13±0.38b | 1.77±0.19b | 2.97±0.38a |
| 10                                                     | 1.33±0.44c                                                | 1.27±0.07c | 0.30±0.06c | 0.27±0.12c | 0.23±0.15c | 0.16±0.03c | 0.47±0.46b |
| 放线菌 Actinomycetes/×10 <sup>4</sup> cfu·g <sup>-1</sup> |                                                           |            |            |            |            |            |            |
| 0                                                      | 4.30±0.57a                                                | 4.43±0.09a | 4.23±0.38a | 4.20±0.21a | 4.03±0.32a | 4.03±0.19a | 3.93±0.20a |
| 0.1                                                    | 3.90±0.60a                                                | 3.53±0.52a | 3.20±0.21b | 2.90±0.26b | 2.57±0.09b | 3.00±0.21b | 3.63±0.23a |
| 1                                                      | 2.27±0.38b                                                | 1.97±0.18b | 1.63±0.26c | 1.57±0.20c | 1.40±0.10c | 2.33±0.22c | 3.13±0.45a |
| 10                                                     | 1.00±0.15b                                                | 0.27±0.03c | 0.20±0.06d | 0.13±0.03d | 0.10±0.06d | 0.73±0.18d | 1.07±0.20b |

注:表中数据为 3 次重复的平均值;表中同列数据中不同字母表示不同处理间差异显著( $P<0.05$ )。

Note: Each value is the average of three replicates. Values followed by different letter in the same column are significantly different ( $P<0.05$ ) among different treatments.

恢复到空白对照水平。高浓度(10 mg·g<sup>-1</sup>)磷化铝处理组,在整个实验期间土壤脲酶的活性显著低于空白对照( $P<0.05$ )。

### 2.2.2 磷化铝对蔗糖酶活性的影响

从图 1B 可见,低浓度磷化铝在整个实验期间对蔗糖酶活性的影响与空白对照相比没有显著变化。中浓度磷化铝处理,在第 4 d 时蔗糖酶活性明显低于空白对照,而到第 7 d 时恢复到空白对照水平,到后期其活性又低于空白对照水平。高浓度磷化铝在实验处理期内对蔗糖酶活性始终有显著抑制作用。

### 2.2.3 磷化铝对过氧化氢酶活性的影响

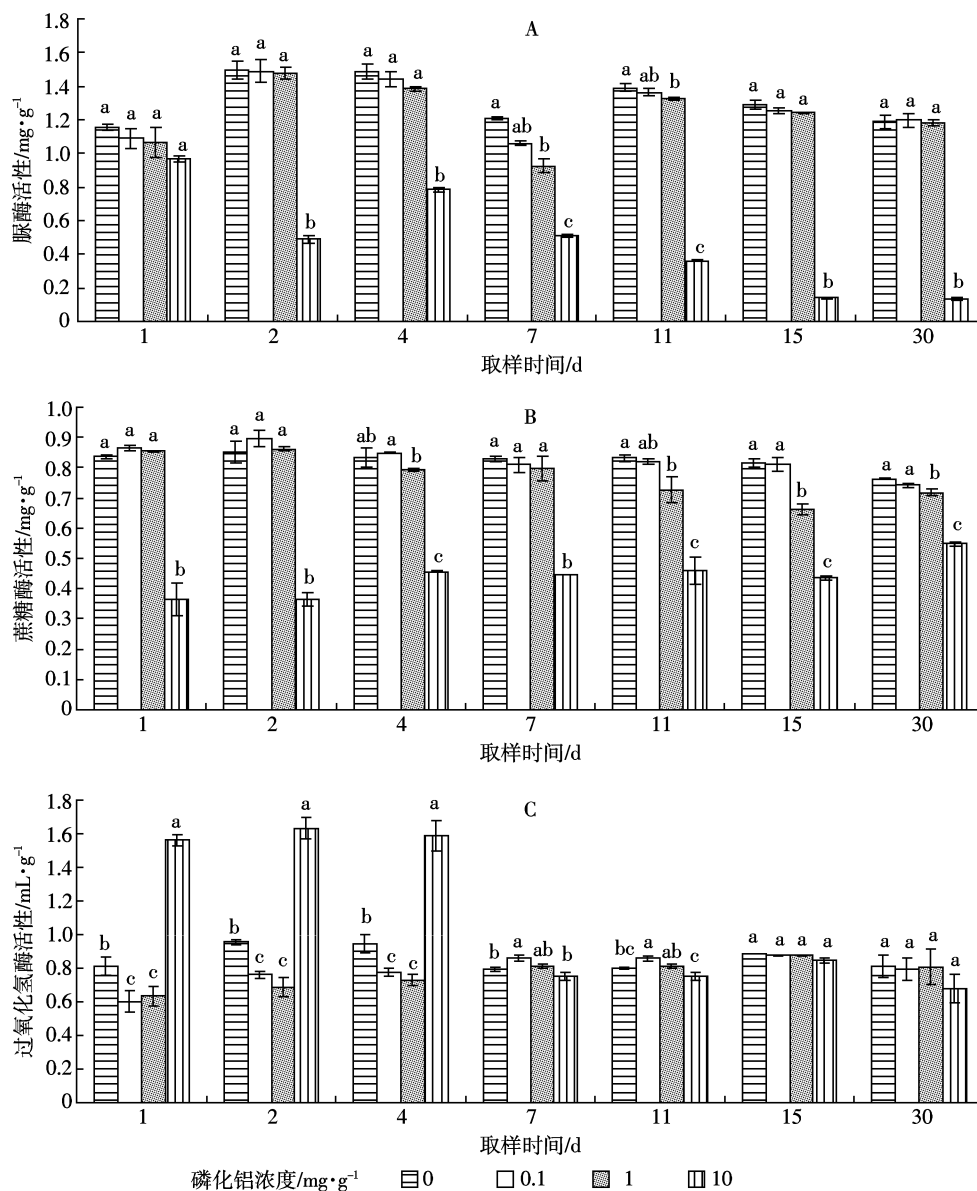
从图 1C 可见,低浓度和中浓度磷化铝对过氧化氢酶活性有显著影响,在第 7、11 d 时低浓度磷化铝对过氧化氢酶活性有显著激活作用,中浓度磷化铝表现为较轻微的激活作用,高浓度磷化铝在第 1、2、4 d 时表现为强烈的促进作用,第 7 d 时即恢复到空白对照水平。到第 15 d 时各处理对过氧化氢酶活性的影响与空白对照相比均没有显著性差异。

## 3 讨论

土壤微生物几乎参与土壤中一切生物化学反应,能够灵敏地反映土壤受污染状况及其健康质量变化<sup>[4]</sup>,因此可以用微生物学指标作为对土壤生态功能、受

污染情况及环境质量评价的生物标志物。目前国内外关于熏蒸剂施入土壤后对微生物数量影响的报道很少。Shi 等<sup>[15]</sup>研究表明,CaCN<sub>2</sub> 处理土壤后,细菌、真菌和放线菌的数量明显下降,到第 15 d 时各个菌群数量恢复到正常水平。朱南文等<sup>[16]</sup>研究发现,土壤经不同浓度甲胺磷处理后,对细菌、放线菌和固氮菌群的生长均具有不同程度的抑制作用,并且随药剂浓度的增加抑制作用趋于明显。本研究结果表明,不同浓度的磷化铝对土壤中细菌、真菌和放线菌数量的影响与上述报道结果相似。由此可以推断,在添加磷化铝初期,因磷化铝与土壤中的水分迅速发生反应释放出磷化氢气体,而对土壤中的微生物产生很强的毒性,土壤中的细菌、真菌和放线菌在初期很难适应强烈的外来干扰,其生长受到抑制导致数量减少,到后来适应了药剂的干扰并且随着土壤中磷化氢的逸散,菌群数量逐渐恢复到空白对照水平,但施用过高剂量的磷化铝时,土壤中微生物的数量很难恢复到空白水平。因此,要合理在田间施药,以免过高剂量的磷化铝杀死土壤中的有益菌群而难以恢复到空白对照水平,影响植株正常生长。

土壤酶主要来自土壤微生物代谢过程,影响土壤生物的因子同样能影响土壤中酶的活性<sup>[17]</sup>。土壤中一切生化反应都是在土壤酶的参与下完成的,土壤酶



图中数据为 3 次重复的平均值;同一取样时间的字母不同表示处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Each value is the average of three replicates. Values followed by different letter in the same time are significantly different ( $P < 0.05$ ) among different treatments

图 1 磷化铝处理对脲酶(A)、蔗糖酶(B)和过氧化氢酶(C)活性的影响

Figure 1 Effect of aluminum phosphide on the activities of the urease(A), invertase(B) and hydrogen peroxidase(C)

活性的高低能反映土壤的生物活性和生化反应强度<sup>[18]</sup>。国内外许多学者认为,土壤酶活性可以作为土壤肥力、土壤质量及土壤健康状况的重要指标<sup>[19]</sup>。

土壤脲酶能促进土壤尿素分子中酰胺碳氮键的水解,生成的氨是植物氮素营养来源之一,在氮肥利用和土壤氮素代谢方面有重要的意义<sup>[20-21]</sup>。和文祥等<sup>[22]</sup>研究了杀虫双对南方红壤和北方土壤中脲酶活性的影响,发现脲酶活性显著被抑制,且被抑制程度随杀虫双浓度的增加而增大。范昆等<sup>[23]</sup>研究发现,

1,3-二氯丙烯高浓度处理土壤后,对土壤脲酶活性表现为激活-抑制-激活作用。低浓度与高浓度磷化铝对脲酶活性的影响与和文祥、范昆等研究其他农药的结果基本一致,田间常规药剂剂量的磷化铝熏蒸处理土壤,对土壤脲酶活性的影响是一种暂时现象,经过一段时间后脲酶活性即可恢复。只有高剂量(10 mg·g<sup>-1</sup>)磷化铝,即田间剂量 100 倍的情况下才始终表现为显著的抑制作用,这与前面微生物数量部分的研究结果相吻合。有研究表明<sup>[24-25]</sup>,脲酶的活性随微生物数

量的变化而变化,说明熏蒸过程中酶活性的变化与土壤中微生物数量有密切相关性。

土壤蔗糖酶活性既能表征土壤生物学活性强度,也可以作为评价土壤熟化程度和肥力水平的指标<sup>[26]</sup>。辛承友等<sup>[27]</sup>研究表明,莠去津处理浓度为  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  时,对土壤蔗糖酶的激活作用最大,可能是因为该条件下莠去津对土壤微生物生长具有刺激作用,从而提高了土壤蔗糖酶的活性。李永红等<sup>[20]</sup>报道单噻磺隆处理组土壤蔗糖酶活性接近或超过对照组土壤。单敏等<sup>[28]</sup>研究发现,  $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  丁草胺处理对土壤中蔗糖酶活性表现出明显的抑制作用,14 d 后才基本恢复到对照水平,而  $2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  和  $4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  的丁草胺在整个实验期内对蔗糖酶活性影响很小,没有表现出显著差异。本研究表明,低浓度和中浓度磷化铝对土壤蔗糖酶的影响与前述作者的研究结果类似,但高浓度处理始终表现为强烈的抑制作用。这说明,按照常规田间用药剂量使用磷化铝一段时间后土壤中蔗糖酶活性不会受到不良影响。本研究中土壤蔗糖酶活性的变化与前面微生物数量部分的研究结果具有相关性。

过氧化氢酶是土壤中一种重要的氧化还原酶,它主要酶促生物呼吸过程和有机物的生物化学氧化还原过程所产生的过氧化氢分解为水和氧,解除土壤中过氧化氢对生物体的毒害作用。Tang 等<sup>[29]</sup>研究表明,碘甲磺隆钠盐施用后对土壤过氧化氢酶活性的影响呈现出轻微的抑制-激活-恢复的过程,在施用量未超过田间推荐用量 7 倍的浓度范围内,碘甲磺隆钠盐对土壤中过氧化氢酶活性的影响不明显。范昆等<sup>[23]</sup>研究表明,1,3-二氯丙烯熏蒸土壤后对过氧化氢酶活性的影响为先抑制后激活。本研究表明,低浓度和中浓度磷化铝熏蒸土壤后,表现为轻微的抑制-激活-恢复效应,这与 Tang、范昆等的研究结果一致,说明磷化铝施用初期对土壤过氧化氢酶活性有一定的抑制作用,这与磷化铝对土壤微生物数量影响的研究结果是一致的,但随着时间的推移(7 d 后),由磷化铝释放的磷化氢不断减少,且土壤微生物也逐渐适应外来污染物的干扰,过氧化氢酶活性恢复或增强。而高浓度磷化铝对土壤中过氧化氢酶的活性在初期先表现为强激活作用,可能是因为高浓度的药剂对土壤微生物在初期具有较强的刺激作用,导致过氧化氢酶表现为较强的活性。

值得指出的是,高浓度磷化铝对过氧化氢酶活性的影响与前面微生物数量部分的研究结果不一致,这可能是因为本实验采用平板稀释法测得的是土壤中可培养的微生物部分,而土壤中过氧化氢酶活性的变化

可能与土壤总微生物量变化相关,这表明可培养微生物只能在一定程度上反映土壤原位微生物学特性<sup>[30]</sup>,应与其他微生物技术和手段相结合才能使结果更为准确可靠。比如分子生物学技术方法变性梯度凝胶电泳(DGGE)技术应用到微生物分子生态学使得研究者能够在分子水平上对土壤微生物多样性进行研究。但也有报道<sup>[15]</sup>, $\text{CaCN}_2$  处理土壤后,采用 PCR-DGGE 方法测得的对土壤微生物的影响与传统的平板稀释法测定结果能够很好地吻合,土壤中微生物数量和微生物多样性均都在第 15 d 时恢复到空白对照水平。

## 4 结论

低浓度磷化铝,即田间推荐使用剂量下,对土壤中细菌、真菌、放线菌均表现为短期的轻微抑制作用。常规用药剂量的磷化铝对土壤酶活性的影响较小,仅表现为较轻微的抑制或激活作用,一段时间后(30 d 内)会恢复到接近对照水平,而高浓度处理对土壤酶活性影响较大。这说明,磷化铝在其推荐剂量下使用,对土壤微生物生态环境较为安全。

## 参考文献:

- [1] 孙养信,阮春来. 56%磷化铝片剂杀灭爪沙鼠的研究[J]. 中华卫生杀虫药械, 2005, 11(5):316-318.  
SUN Yang-xin, RUAN Chun-lai. Efficacy of 56% aluminum phosphide tablet against *Meriones unguiculatus* in fields[J]. *Chinese Journal of Hygienic Insecticides and Equipments*, 2005, 11(5):316-318.
- [2] 谢开春,苏梅. 仓库害虫防治手册 [M]. 上海:上海科学技术出版社, 1992.  
XIE Kai-chun, SU Mei. Manual of the prevention of stored grain insects [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1992.
- [3] 仇欢,王开运,朱玉坤. 56%磷化铝片剂对黄瓜根结线虫的防效和对黄瓜生长的影响[J]. 农药(已接受).  
ZHANG Huan, WANG Kai-yun, ZHU Yu-kun. Control effects of 56% aluminium phosphide tablet on cucumber root-knot disease and effects on cucumber growth[J]. *Agrochemicals* (in press).
- [4] Qiao K, Zhang H, Wang H Y. Efficacy of aluminium phosphide as a soil fumigant against nematode and weed in tomato crop [J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, doi:10.1016/j.scienta.2011.0807.
- [5] Marx M C, Wood M, Jarvis S C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33:1633-1640.
- [6] Trasar-cepeda C, Leiros M C. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32:1867-1875.
- [7] Min H, Chen Z Y, Zhao Y H, et al. Effects of trifluralin on soil microbial populations and the nitrogen fixation activities[J]. *Journal of Environment Science and Health*, 2001, 36(5):69-79.

- [8] 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.  
YANG Yong-hua, YAO Jian, HUA Xiao-mei. Effects of pesticide pollution against functional microbial diversity soil[J]. *Journal of Microbiology*, 2000, 20(2): 23-25.
- [9] 汪海珍, 徐建民, 谢正苗. 甲磺隆结合残留物对土壤微生物的影响[J]. 农药学学报, 2003, 5(2): 69-78.  
WANG Hai-zhen, XU Jian-min, XIE Zheng-miao. Influence of met-sulfuron-methyl bound residues on soil microorganisms[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2003, 5(2): 69-78.
- [10] Das A C, Mukherjee D. Soil application of insecticide influence microorganisms and plant nutrients[J]. *Applied Soil Ecology*, 2000, 14: 55-62.
- [11] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法 [M]. 北京: 科学出版社, 1985.  
Nanjing Institute of Geology and Palaeontology. Soil microbial research method[M]. Beijing: Science Press, 1985.
- [12] 严昶升. 土壤肥力研究方法[M]. 北京: 农业出版社, 1988.  
YAN Chang-sheng. Soil fertility research method[M]. Beijing: Agricultural Press, 1998.
- [13] 关松荫, 张德生, 张志明. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 1986.  
GUAN Song-yin, ZHANG De-sheng, ZHANG Zhi-ming. Soil enzyme and research method[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1986.
- [14] Garcia C, Hemanderz T, Roldan A, et al. Effect of plant cover decline on chemical and microbiological parameters under mediterranean climate[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34: 635-642.
- [15] Shi K, WANG L, Zhou Y H, et al. Effects of calcium cyanamide on soil microbial communities and *Fusarium oxysporum* f. sp. *Cucurbiturum* [J]. *Chemosphere*, 2009, 75: 872-877.
- [16] 朱南文, 胡茂林, 高廷耀. 甲胺磷对土壤微生物活性的影响[J]. 农业环境保护, 1999, 18(1): 4-7.  
ZHU Nan-wen, HU Mao-lin, GAO Ting-yao. Effect of methamidophos on microbial activity in soil[J]. *Agro-environment Protection*, 1999, 18(1): 4-7.
- [17] 董 艳, 董 坤, 郑 毅, 等. 种植年限和种植模式对设施土壤微生物区系和酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(3): 527-532.  
DONG Yan, DONG Kun, ZHENG Yi, et al. Soil microbial community and enzyme activities in greenhouse with different cultivation years and planting system[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(3): 527-532.
- [18] Mersi W V, Schirmer F. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodinitrotetrazolium chloride[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1991, 11: 216-220.
- [19] 吴金水, 林启美, 黄巧云, 等. 土壤微生物生物量测定方法及其应用[M]. 北京: 气象出版社, 2006.  
WU Jin-shui, LIN Qi-mei, HUANG Qiao-yun, et al. Methods of soil microbial biomass analysis and its application[M]. Beijing: Meteorological Press, 2006.
- [20] 李永红, 高玉葆. 土壤中单噻磺隆对谷子生长及土壤微生物若干生化功能的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(4): 633-637.  
LI Yong-hong, GAO Yu-bao. Effects of monosulfuron on growth of millet and soil microbial function[J]. *Journal of Agro-environment Science*, 2004, 23(4): 633-637.
- [21] 褚海燕, 朱建国, 谢祖彬. 稀土元素镧对红壤脲酶、酸性磷酸酶活性的影响[J]. 农业环境保护, 2002, 19(4): 193-196.  
CHU Hai-yan, ZHU Jian-guo, XIE Zu-bin. Effects of lanthanum on urease and acid phosphatase activities in red soil[J]. *Journal of Agro-environmental Protection*, 2002, 19(4): 193-196.
- [22] 和文祥, 蒋 新, 余贵芬. 杀虫双对土壤脲酶活性特征的影响 [J]. 土壤学报, 2003, 40(5): 750-755.  
HE Wen-xiang, JIANG Xin, YU Gui-fen. Effect of dimehypo on soil urease activity[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2003, 40(5): 750-755.
- [23] 范 昆, 王开运, 王 东, 等. 1, 3-二氯丙烯对土壤微生物数量和酶活性的影响[J]. 生态学报, 2008, 28(2): 695-700.  
FAN Kun, WANG Kai-yun, WANG Dong, et al. Effects of 1, 3-dichloropropene on soil microbial population and enzyme activities[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(2): 695-700.
- [24] 戴 芳, 曾光明, 牛承岗, 等. 堆肥化过程中生物酶活性的研究进展 [J]. 中国生物工程杂志, 2005(增刊): 148-151.  
DAI Fang, ZENG Guang-ming, NIU Cheng-gang, et al. Advance in the studies on bioenzyme activity during the composting[J]. *Progress in Biotechnology*, 2005(Supplement): 148-151.
- [25] 顾文杰, 张发宝, 徐培智, 等. 接种菌剂对堆肥微生物数量和酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(8): 1718-1722.  
GU Wen-jie, ZHANG Fa-bao, XU Pei-zhi, et al. Inoculum additions during composting: Impacts on microbial populations and enzyme activity[J]. *Journal of Agro-environment Science*, 2009, 28(8): 1718-1722.
- [26] 王健武, 冯远娇, 骆世明. Bt 玉米秸秆分解对土壤酶活性和土壤肥力的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(3): 524-528.  
WANG Jian-wu, FENG Yuan-jiao, LUO Shi-ming. Effects of Bt corn straw decomposition on soil enzyme activities and soil fertility[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(3): 524-528.
- [27] 辛承友, 朱鲁生, 王 军. 阿特拉津对不同肥力土壤蔗糖酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(3): 479-483.  
XIN Cheng-you, ZHU Lu-sheng, WANG Jun. Effect of atrazine on soil invertase under different soil fertilities[J]. *Journal of Agro-environment Science*, 2004, 23(3): 479-483.
- [28] 单 敏, 虞云龙, 方 华, 等. 丁草胺土壤微生物数量和酶活性的影响[J]. 农药学学报, 2005, 7(4): 383-386.  
SHAN Min, YU Yun-long, FANG Hua, et al. Effect of butachlor on soil microbial populations and enzyme activities[J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2005, 7(4): 383-386.
- [29] Tang M Z, Guo Z Y, Yuan M. Effects of iodosulfuron-methyl-sodium on catalase in soil and soil respiration[J]. *Soil*, 2005, 37(4): 421-425.
- [30] 徐会娟, 何红波, 武叶叶, 等. 乙草胺对玉米根际和非根际可培养微生物的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(9): 1936-1941.  
XU Hui-juan, HE Hong-bo, WU Ye-ye, et al. Effects of acetochlor on culturable microbial communities in maize rhizosphere and non-rhizosphere soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(9): 1936-1941.