

乙草胺对玉米根际和非根际可培养微生物的影响

徐会娟^{1,2}, 何红波¹, 武叶叶¹, 郭柏栋³, 张旭东^{1,4}, 李丽君⁵

(1.中国科学院沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016; 2.中国科学院研究生院, 北京 100049; 3.沈阳市规划设计研究院, 辽宁 沈阳 110016; 4.辽宁沈阳农田生态系统国家野外观测研究站, 辽宁 沈阳 110016; 5.中国地质调查局沈阳地质调查中心, 辽宁 沈阳 110033)

摘要:为探明土壤-植物系统中,田间施用量的乙草胺对玉米根际和非根际微生物数量的影响,采用田间试验及室内测试方法,在玉米苗期不同阶段测定了土壤中微生物量碳的变化,并进一步用平板稀释培养法研究了玉米根际和非根际土壤中细菌和真菌数量的变化。结果表明,乙草胺施用对玉米根际和非根际的土壤微生物群落均具有一定影响。可培养的根际细菌和真菌均呈现先抑制后刺激的变化,但与真菌不同,细菌受到的抑制作用时间较短,刺激作用时间较长;而本体土壤中可培养细菌和真菌则主要受到抑制作用,但是抑制作用的强度和持续时间差别很大。乙草胺对根际土壤微生物量碳可产生一定刺激作用,但影响并不显著;由于乙草胺施用对非根际土壤细菌和真菌的影响不同步并存在群落结构的补偿作用,从而维持了非根际土壤总体微生物生物量碳的基本稳定。

关键词:乙草胺;降解;微生物群落;可培养微生物;根际

中图分类号:S154.34 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2009)09-1936-06

Effects of Acetochlor on Culturable Microbial Communities in Maize Rhizosphere and Non-Rhizosphere Soil

XU Hui-juan^{1,2}, HE Hong-bo¹, WU Ye-ye¹, GUO Bai-dong³, ZHANG Xu-dong^{1,4}, LI Li-jun⁵

(1.Institute of Applied Ecology, CAS, Shenyang 110016, China; 2.Graduate School of CAS, Beijing 100049, China; 3.Shenyang Urban Planning Design and Research Institute, Shenyang 110016, China; 4.National Field Observation and Research Station of Shenyang Agroecosystem, Shenyang 110016, China; 5.Shenyang Center, China Geological Survey, Shenyang 110033, China)

Abstract: Acetochlor is a kind of important pre-emergence herbicide and has been widely used for the control of annual grasses and broadleaf weeds in row crops such as corn, soybean and sorghum. As being labeled as a "probable human carcinogen", the intensive use of acetochlor is considered to be serious threat to human health and environmental safety. Microorganisms can respond rapidly to changes in soil environments, regardless of nutrient or hazard material input. In this paper, the effects of agriculturally relevant application rate of acetochlor on culturable microbial communities in maize rhizosphere and non-rhizosphere soils during different stages of maize seedlings were investigated. The results showed that the response of different microbial communities in rhizosphere and non-rhizosphere soils to acetochlor was time-dependent. The culturable bacteria in both rhizosphere and non-rhizosphere soils were inhibited initially but those in rhizosphere were stimulated significantly afterward. The culturable fungi in rhizosphere soil were inhibited till 30 days after acetochlor application and then were reactivated; however, fungi in non-rhizosphere soil were kept inhibited within 24 days application. The soil microbial biomass in rhizosphere was stimulated slightly by acetochlor application while that in non-rhizosphere exhibited no significant difference between the two treatments. It could be reckoned that the asynchronous effect of acetochlor on bacteria and fungi as well as the compensatory shift of community structure was mainly contributed to the insignificant change of soil microbial biomass carbon in non-rhizosphere soil.

Keywords: acetochlor; degradation; microbial community; culturable bacteria and fungi; rhizosphere

乙草胺, 英文通用名为 acetochlor, 化学名称为

2-氯-N-(乙氧基甲基)-N-(2-乙基-6-甲基苯基)乙酰胺, 属酰胺类芽前除草剂, 被广泛地用于大豆、花生、玉米、棉花等作物防除一年生禾本科杂草和部分阔叶杂草^[1]。因其原药对大鼠、小鼠有致肿瘤作用, 美国环保局将其定为 B-2 类致癌物。研究已表明, 喷施的除草剂仅有不到 1% 作用于目标杂草, 而 99% 以上

收稿日期: 2009-01-13

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973)计划(2005CB121104);
国家科技支撑计划(2007BAD89B02)

作者简介: 徐会娟(1983—), 女, 山东菏泽人, 在读硕士, 主要从事乙草胺的生态安全性研究。E-mail: xuhuijuan1028@163.com

通讯作者: 何红波 E-mail: hehongbo@iae.ac.cn

分散在周围环境中^[2-3]。随着施用面积不断扩大,农田系统中的乙草胺可能会对作物^[4]、土壤^[5-6]和水体^[7]等造成污染,进而给人类生活健康带来威胁。因此,研究乙草胺的降解残留动态以及对土壤生态环境的影响具有重要的现实意义。

微生物是土壤生态系统的重要组成部分,土壤微生物生物量虽然仅占土壤有机质的1%~4%,但却是土壤有机质中活性最高的部分^[8-9],无论在生命元素的生物地球化学循环,还是在外来污染物转化降解过程中均具有重要地位。同时,微生物对土壤环境变化的反应十分灵敏。因而,在有效分解土壤中的有机污染物的同时,微生物的种类和数量^[10-11]、群落结构^[12-13]不可避免地会受到一定影响。在土壤-作物体系中,由于植物根系及其分泌物的存在,形成了独特的根际微环境,使根际土壤中的微生物数量和活性与非根际土壤显著不同,从而加快了环境中有机污染物降解转化^[14]。然而,有关污染物如乙草胺降解过程中根际微生物群落结构变化的研究尚未开展。

从方法学上来看,土壤微生物量、土壤诱导呼吸等指标可反映总体微生物活性,但无法检测微生物群落组成的细微变化,然而这种变化在实现污染物降解等功能上非常重要^[15-16]。近年来发展的分子生物学方法已被越来越多地应用于描述微生物群落结构,但是由于微生物过程代谢和生物化学途径的复杂性,无法找到理想的标识物作为唯一标准用以衡量微生物群落的变化^[17]。研究表明,尽管可培养微生物数量仅占土壤总微生物量的0.1%~10%^[18],但在低浓度污染物存在时,利用培养法能够更灵敏地反映不同微生物群落的响应^[19]。因而,本文利用稀释平板培养法研究了田间用量乙草胺的施用对玉米根际和非根际细菌和真菌数量的影响,为评价农田生态系统乙草胺潜在风险提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

田间试验于2007年在国家农田生态系统沈阳野外科学观测研究站进行(41°31'N,123°34'E),供试土壤为潮棕壤。种植玉米为富友一号,由三亚种子公司提供。乙草胺50%乳油购自大连瑞泽农药股份有限公司,喷施量为3000 mL·hm⁻²(1.28 mg乙草胺·kg⁻¹土)。另设不喷施乙草胺地块为对照,两个处理均为3次重复。分别在喷施乙草胺后第15、19、24、33、40 d采样。本体(非根际)土用土钻采集0~15 cm的表层土壤,7点混合;根际土采用抖根法获得。取部分新鲜土

壤样品测定微生物量,其他土壤样品风干过筛(<2 mm)测定乙草胺残留。

1.2 乙草胺在土壤中残留分析方法

乙草胺残留测定与计算采用冯慧敏等建立的内标法进行^[20]。

1.2.1 主要仪器与试剂

Agilent 6890 气相色谱仪(带电子捕获检测器ECD);N-N型旋转蒸发仪;HZQ-C空气浴振荡器;KQ-500DE型数控超声波清洗器及其他常规玻璃仪器。

丙酮(分析纯)、乙酸乙酯(分析纯)、石油醚(分析纯,重蒸后使用)、无水硫酸钠(分析纯)、氯化钠(分析纯)、中性氧化铝(100~200目,层析用,105℃干燥2 h,于干燥器中冷却至室温,加8%蒸馏水减活)、邻苯二甲酸二正戊酯(色谱纯,内标)、乙草胺标准品(含量>99.0%)、正己烷(色谱纯)。

1.2.2 预处理方法

样品前处理具体步骤如下:①提取。称取20 g风干土(同时测定土壤水分)置于250 mL具塞三角瓶中,加入2 mL一定浓度的乙草胺和内标、10 mL蒸馏水和50 mL丙酮,振荡30 min,再用超声波提取5 min,用布氏漏斗抽滤,残渣和接收瓶用30 mL丙酮分3次洗涤,将滤液转移到250 mL分液漏斗中。②萃取。在分液漏斗中加入8%NaCl水溶液50 mL,然后用石油醚萃取3次,每次用量30 mL,石油醚层通过无水硫酸钠层干燥过滤,滤液在旋转蒸发仪上45℃浓缩至少量。③净化。用石油醚预淋后将浓缩样品用30 mL石油醚:乙酸乙酯为7:3(V:V)混合液溶解(分几次洗涤)、淋洗转入层析柱中,收集淋洗液,再次浓缩蒸干后,用2 mL正己烷定容,转入色谱瓶待测。

同时按上述处理方法做土壤空白和试剂空白。

1.2.3 色谱测定

色谱测定条件:载气,高纯氮气(纯度99.99%),载气流速1.0 mL·min⁻¹,进样口温度220℃,分流比10:1,ECD检测器温度300℃,进样量1 μL。

色谱柱升温程序:120℃保留1 min,以30℃·min⁻¹升到180℃,然后以3℃·min⁻¹升到205℃(保留5 min),再以20℃·min⁻¹升到270℃(保留2 min)。

1.2.4 土壤中乙草胺残留计算

$$C_x = C_i \frac{A_x}{A_i} R_f$$

式中: C_i 为添加的已知内标物浓度; A_i 、 A_x 分别为色谱仪测定得到内标标准样品、乙草胺样品峰面积; R_f 为相对校正因子。

1.3 微生物量的测定和计算

微生物量采用氯仿熏蒸浸提^[21]-总有机碳分析仪(TOC, Multi C/N 3000, Germany)测定。计算公式:

$$\omega(C) = Ec / K_{EC} \quad (5-1)$$

式中: $\omega(C)$ 为微生物量碳质量分数, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; Ec 为熏蒸土样有机碳量与未熏蒸土样有机碳量之差, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; K_{EC} 为氯仿熏蒸杀死的微生物体中的碳被浸提出来的比例,取0.38^[21]。

1.4 微生物计数

按稀释平板培养法培养微生物。细菌用牛肉膏蛋白胨培养基培养,真菌用马丁氏培养基^[22]。

样品稀释液的制备:准确称取待测土样10g,放入装有90mL无菌水并放有小玻璃珠的250mL三角瓶中,用手或置摇床上振荡20min,使微生物细胞分散,静置20~30s,即成 10^{-1} 稀释液;连续稀释,制成 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 等一系列稀释菌液。根际土壤细菌和真菌分别选择 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 和 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 3个稀释度,非根际土壤细菌和真菌分别选择 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 和 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 3个稀释度。

接种:采用涂抹平板法,是先将培养基熔化后趁热倒入无菌平板中,待凝固后编号,然后用无菌吸管吸取0.1mL菌液对号接种在不同稀释度编号的琼脂平板上(每个编号设3个重复)。再用无菌刮铲将菌液在平板上涂抹均匀。将涂抹好的平板平放于桌上20~30min,使菌液渗透到培养基内,然后将平板倒转,细菌和真菌分别在28℃恒温培养箱培养48和72h后计数。

1.5 数据统计与分析

试验数据采用Microsoft excel和SPSS 13.0统计分析软件进行分析。

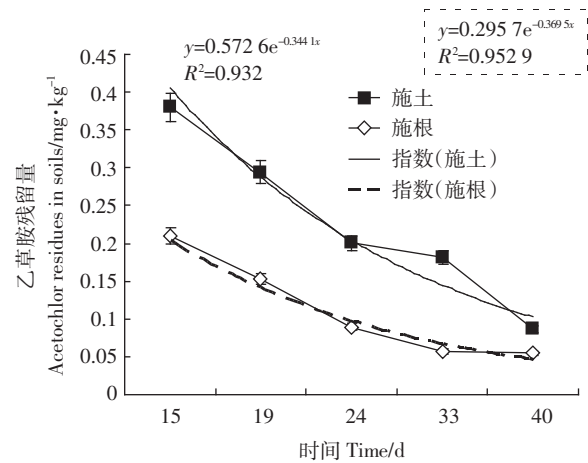
2 结果与分析

2.1 乙草胺在土壤中的残留动态以及对根际和非根际土壤微生物量碳的影响

无论是根际还是非根际土壤中,残留(可检测)乙草胺浓度均随乙草胺施入时间的增加而显著降低。乙草胺施入15d后,根际和非根际土壤中乙草胺残留占施入量的16.39%和29.70%,40d后取样时,根际和非根际土壤中乙草胺残留分别为542.7和865.3 $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,分别仅占初始施入量的4.2%和6.8%,说明乙草胺在土壤中降解快、残留量低,且在根际土壤中乙草胺的降解程度得到进一步提高(图1)。乙草胺在根际土壤中残留较低与根际的复杂环境和丰富的微

生物有关。

在此期间,根际和非根际土壤中的乙草胺在取样前期(约20d)降解速率均显著高于取样后期,残留动态符合一级动力学方程,相关系数分别为0.9654和0.9762。乙草胺在土壤中的残留具有时间短、数量低的特点,这和乙草胺的半衰期较短密切相关^[23]。



图中施土和未施土分别代表喷施乙草胺和未喷施乙草胺的本体土,施根和未施根分别代表喷施和未喷施乙草胺的根际土,下图同。

图1 根际和非根际土壤中乙草胺残留量随时间的变化

Figure 1 Residue of acetochlor in rhizosphere and non rhizosphere soil

土壤微生物量碳的动态受到玉米的生长、乙草胺的施入及环境因素的综合影响。如图2所示,乙草胺对非根际土壤微生物量的影响因取样时间而异,表现出或促进或抑制作用,但差异除第15d外均不显著($P < 0.05$)。正如毒理试验所表明的,低浓度(田间推荐量)乙草胺毒性较小,不至于导致土壤微生物量和土壤呼吸等表征土壤总体微生物活性的指标发生显著变化^[24]。

由于玉米根系分泌物能为微生物提供能源物质,加上根际土壤的物理和化学性质与非根际土壤不同^[25],根际土壤微生物量碳显著高于非根际土壤,根际效应达2.3~6.3倍。乙草胺施用使玉米根际微生物量碳数值进一步增加,增加幅度在3.14%~50.96%之间,除第24d外,处理与对照之间差异显著($P < 0.05$),表明乙草胺施用对根际微生物的活性存在一定刺激作用。根际微生物量碳受到的刺激作用随着乙草胺的降解,在第40d恢复到正常水平。

由于受到玉米生长和乙草胺在土壤中的吸附-解吸过程的影响^[26],玉米根际和非根际土壤微生物量的变化与乙草胺的残留量并没有明显的相关性,相关系

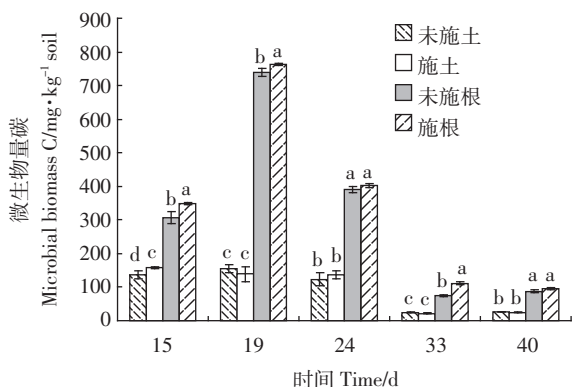


图 2 乙草胺处理后根际和非根际微生物量碳随时间的变化规律
Figure 2 Temporal pattern of microbial biomass carbon in rhizosphere and nonrhizosphere soil with or without acetochlor application

数 r 分别为 -0.138 和 0.566 。但是有关研究表明,微生物降解作用是导致土壤中残留乙草胺浓度下降的重要原因^[27]。在相同外界环境条件(40 d 除外)下,各取样时间乙草胺在根际土壤中的残留量显著低于非根际土壤,说明微生物作用是乙草胺在根际降解程度提高的重要原因,同时其自身活性也不可避免地受到了一定程度的影响。

由于土壤微生物生物量是复杂的微生物群落功能与活性的综合反映,利用选择性微生物培养可进一步表明乙草胺施用对不同微生物群落的影响。

2.2 乙草胺施用对可培养细菌的影响

土壤中可培养细菌数量受到乙草胺施用的显著影响。如图 3 所示,在喷施乙草胺后的第 15 d,由于还有相当部分乙草胺在土壤中残留,使根际和非根际土壤中细菌数量显著降低,分别仅为对照的 64.01%和 25.99%,表明细菌生长受到明显抑制。根际土壤中乙草胺残留仅略低于非根际土壤,但根际土壤中细菌受到的抑制作用显著降低。根际细菌具有的这种对污染物的“缓冲能力”应与根际丰富的能源和养分物质有关。玉米根系分泌物虽然不能增加土壤中细菌的活动强烈程度,但它能富集在土壤中占优势地位的种群,从而使根际细菌具有更强的抗性^[28]。在乙草胺施用后第 19 d 到 33 d,与对照相比,非根际土壤中可培养细菌数量无明显变化($P < 0.05$),但根际细菌数量显著增加,增幅为 13.8%~225.8%,表明根际土壤中细菌受到的刺激作用远高于非根际土壤。这可能是由于在根际的特殊环境中,乙草胺降解后可以作为碳源被抗性微生物利用,从而刺激了根际土壤中细菌的大量繁殖。随着乙草胺的降解,在第 40 d 根际和非根际细菌数

量都恢复到对照水平。

在观察期限内,土壤中可培养细菌的数量随着时间呈现一定的变化。对照处理中,非根际土壤中细菌数量随时间变化不规律,这是由于土壤中细菌数量与土壤水分和温度等环境因素有关^[29];在取样时间内,根际土壤中细菌数量总体呈下降趋势,这是因为根际土壤中细菌数量除受到土壤环境因素的影响外,其变化更多的是由于玉米自身生长过程中根系分泌物变化、根际环境发生改变的原因。有研究表明,某些细菌随玉米生长明显下降,而且苗生长初期,其根际微生物群落结构发生明显变化^[30]。

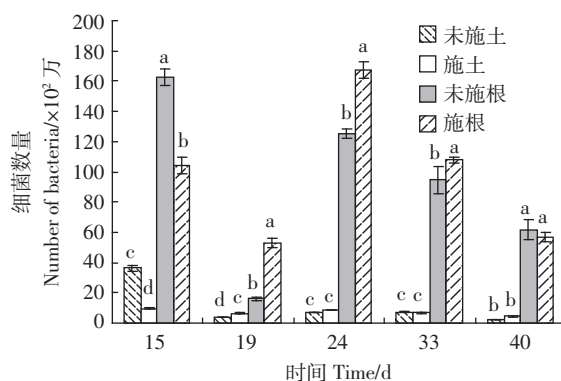


图 3 乙草胺施用对土壤中可培养细菌数量的影响

Figure 3 Effect of acetochlor application on cultivatable bacteria in rhizosphere and nonrhizosphere soil

2.3 乙草胺施用对可培养真菌的影响

与可培养细菌明显不同的是施用乙草胺后真菌受到更长时间的抑制作用。如图 4 所示,根际土壤中可培养真菌的数量在第 15~24 d 显著降低,降幅分别为 34.1%、21.8%和 41.4%。第 33 d 后,根际真菌数量得到恢复,并受到一定的刺激作用,到第 40 d 时,施用乙草胺后根际真菌比对照高 113.2%。对于非根际土壤来说,第 15 d 真菌数量并未受到乙草胺的显著影响,但第 19 d 真菌数量增加 40.0%,而后,乙草胺的施用使真菌数量不断下降。可见,玉米根际土壤中的真菌数量虽然会因乙草胺施用而减少,但是具有一定恢复潜能;非根际真菌对乙草胺的响应存在一定滞后性,但是受到的抑制作用有可能是不可逆的,这种变化特性与实验室模拟结果一致^[31]。

通过对可培养真细菌和土壤微生物量数量变化特征的比较,我们发现,虽然乙草胺施用并没有造成非根际土壤中微生物生物量碳的显著变化,但是玉米根际和非根际土壤中可培养真细菌数量均受到乙草胺施用的显著影响并呈现一定的时间特征。这表明在

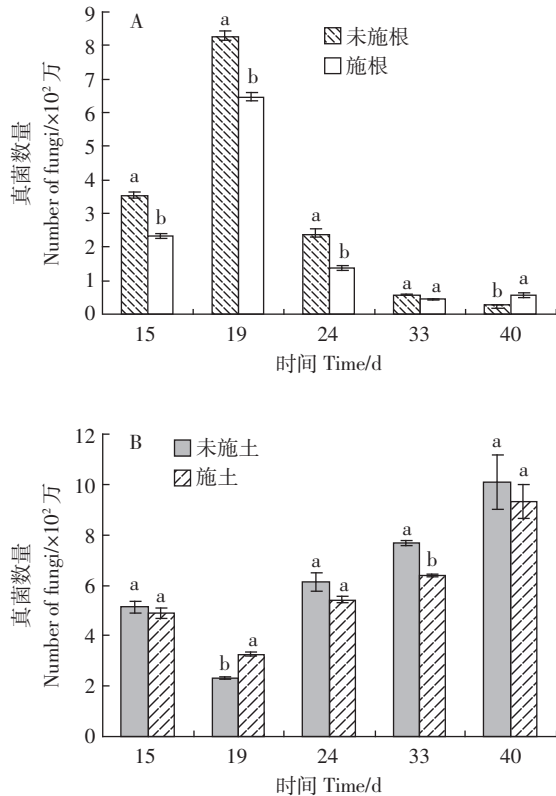


图4 乙草胺施用对土壤中可培养真菌数量的影响

Figure 4 Effect of acetochlor application on cultivatable fungi in rhizosphere and nonrhizosphere soil

外源污染物胁迫下,微生物可能通过提高抗性种群的密度或活性以维持新的环境条件下的微生物功能,从而使群落结构发生了一定变化。而且,可培养真细菌数量对乙草胺施用的响应大多呈相反变化,即细菌数量增加但真菌数量降低,反之亦然。可以认为,这种真细菌之间的补偿作用,正是造成土壤总体微生物指标维持稳定的重要原因。

值得指出的是,在第15 d根际土壤和第19 d非根际土壤中可培养真细菌数量变化和土壤总微生物量变化呈相反趋势,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,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。

3 结论

(1)乙草胺在土壤中具有降解快、残留量低的特点。由于玉米根际丰富的微生物,乙草胺在玉米根际土壤中的降解比非根际较快,且更为彻底。植物根系的存在可改善土壤中农药的降解条件。

(2)总体来看,乙草胺对根际土壤微生物量有轻微的刺激作用,但对本体土壤微生物量影响不明显。

(3)乙草胺对玉米根际土壤中可培养细菌和真菌数量都表现为先抑制后刺激的作用,但在时间上并不同步,细菌受到的刺激作用时间较长,而真菌受到的抑制作用时间较长;对非根际土壤中的细菌和真菌则主要表现为抑制作用,但非根际细菌能够短期内恢复,真菌的恢复潜势较小。根际土壤中,乙草胺对在微生物中数量占绝对优势的细菌有很强的刺激作用,所以对微生物量碳在一定时段内也表现为刺激作用;而在非根际土壤中,由于乙草胺施用对细菌和真菌的影响并不同步并存在群落结构的补偿作用,从而维持了土壤总体微生物生物量的基本稳定。

参考文献:

- [1] 农业部农药检定所主编. 新编农药手册(续集)[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
Nong Ye Bu Nong Yao Jian Ding Suo. A new pesticide manual[M]. Beijing: Agriculture Publishing House of China, 1998.
- [2] Pimentel D. Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics[J]. *Journal of Agricultural and Environmental Ethics*, 1995, 8: 17-29.
- [3] Baxter J, Cummings S P. The degradation of the herbicide bromoxynil and its impact on bacterial diversity in a top soil[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2008, 104(6): 1605-1616.
- [4] Chao L, Zhou Q X, Chen S, et al. Single and joint stress of acetochlor and Pb on three agricultural crops in northeast China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19: 719-724.
- [5] Dagnac T, Jeannot R, Mouvet C, et al. Determination of oxanilic and sulfonic acid metabolites of acetochlor in soils by liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry[J]. *Journal of Chromatography A*, 2002, 957: 69-77.
- [6] Cai X J, Sheng G Y, Liu W P. Degradation and detoxification of acetochlor in soils treated by organic and thiosulfate amendments[J]. *Chemosphere*, 2007, 66: 286-292.
- [7] Yokley R A, Mayer L C, Huang S B, et al. Analytical method for the determination of metolachlor, acetochlor, alachlor, dimethenamid and their corresponding ethanesulfonic and oxanilic acid degradates in water using SPE and LC/ESI-MS/MS[J]. *Analytical Chemistry*, 2002, 74: 3754-3759.
- [8] Vitousek P M. Mechanisms of nitrogen retention in forest ecosystems: A field experiment[J]. *Science*, 1984, 225: 51-52.
- [9] Smith K A, Ball T, Conen F, et al. Exchange of greenhouse gases between soil and atmosphere: interaction of soil physical factors and biological processes[J]. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54: 779-791.
- [10] 陈厚德, 赵卫华, 王彰明, 等. 药剂拌种对小麦苗期根际微生物的影响[J]. *安徽农业科学*, 2005, 33(1): 42-43.
CHEN Hou-de, ZHAO Wei-hua, WANG Zhang-Ming, et al. Effect of seeds treated with chemical on microbe around the root system in the period wheat seedling[J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2005,

- 33(1):42-43.
- [11] 陈波, 徐冬梅, 刘广深, 等. 异丙甲草胺对芹菜根际与非根际生物活性的影响[J]. 应用生态学报, 2006, 17(5):925-928.
CHEN Bo, XU Dong-mei, LIU Guang-shen, et al. Effects of metolachlor on biological activities in celery rhizosphere and non-rhizosphere soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17(5):925-928.
- [12] Araújo A S F, Monteiro R T R, Abarkeli. Effect of glyphosate on the microbial activity of two Brazilian soils[J]. *Chemosphere*, 2003, 52: 700-804.
- [13] Lupwayi N Z, Harker K N, Clayton G W, et al. Soil microbial response to herbicides applied to glyphosate-resistant canola[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2009, 129: 171-176.
- [14] Travis S, Walker, Harsh P B, et al. Root exudation and rhizosphere biology[J]. *Plant Physiology*, 2003, 132: 44-51.
- [15] Burton Jr G A, Lanza G R. Sediment microbial activity tests for the detection of toxicant impacts In Aquatic toxicology and hazard assessment; Seventh symposium, ASTM STP 854[M]. USA, American Society for Testing and Materials, Philadelphia, 1985: 214-228.
- [16] Widenfalk A, Bertilsson S, Sundh I, et al. Effects of pesticides on community composition and activity of sediment microbes-responses at various levels of microbial community organization[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 152: 576-584.
- [17] Schloter M, Dilly O, Munch J C. Indicators for evaluating soil quality[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2003, 98: 255-262.
- [18] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. *Microbiology Review*, 1995, 59: 143-169.
- [19] Liphthay 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(1): 59-69.
- [20] 冯慧敏, 武叶叶, 何红波, 等. 内标法测定土壤中乙草胺残留的气相色谱法研究[J]. 环境科学与技术, 2007, 12: 32-34.
FENG Hui-min, WU Ye-ye, HE Hong-bo, et al. Quantification of acetochlor in soil by internal standard method of GC-ECD[J]. *Environmental Science and Technology*, 2007, 12: 32-34.
- [21] 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.
LU Ru-kun. Soil agricultural chemical analysis methods[M]. Agricultural Technique Publishing House of China, 2000.
- [22] 赵斌, 何绍江. 微生物学实验[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
ZHAO Bin, HE Shao-jiang. Microbiology experiment[M]. Beijing: Science Publishing House, 2004.
- [23] Yu J L, Zhao D Y, Liu B H, et al. Residue analysis of acetochlor in soybean and soil[J]. *Pesticides*, 1998, 27(1): 28-30.
- [24] 朱鲁生, 王军. 乙草胺和莠去津对土壤微生物的影响及安全性评价[J]. 土壤与环境, 2000, 9(1): 71-72.
ZHU Lu-sheng, WANG Jun. Effects of Acetochlor and atrazine on respiration of soil microbe[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(1): 71-72.
- [25] 韩希英, 宋凤斌. 玉米根际环境研究进展 [J]. 农业系统科学与综合研究, 2006(2): 37-41.
HAN Xi-ying, SONG Feng-bin. Advance in maize rhizosphere research[J]. *System Sciences and Comprehensive Studies in Agriculture*, 2006(2): 37-41.
- [26] 郭华, 杨红. 乙草胺及其它酰胺类除草剂在环境中的降解与迁移[J]. 农药, 2006, 45(2): 87-91.
GUO Hua, YANG Hong. Degradation and mobility in the environment of acetochlor and other aide herbicides[J]. *Pesticide*, 2006, 45(2): 97-91.
- [27] 朱九升, 乔雄梧, 王静, 等. 乙草胺在土壤环境中的降解及影响因子的研究[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(5): 1028-1029.
ZHU Jiu-sheng, QIAO Xiong-wu, WANG Jing, et al. Degradation and the influencing factors of acetochlor in soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2004, 23(5): 1028-1029.
- [28] Benizri E, Dedourge O, Dibattista-Leboeuf C, et al. Effect of maize rhizosphere on soil microbial community structure[J]. *Applied Soil Ecology*, 2002, 21: 261-265.
- [29] Blaz S, Tjasa D, Levin P, et al. Influence of temperature and soil water content on bacterial, archaeal and denitrifying microbial communities in drained fen grassland soil microcosms[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 66: 110-122.
- [30] Chiarini L, beveno A, Dalmostri C, et al. Influence of plant development, cultivar and soil type on microbial colonization of maize roots[J]. *Applied Soil Ecology*, 1998, 8: 1-18.
- [31] 冯慧敏, 何红波, 白震, 等. 乙草胺的微生物降解及其对土壤磷脂脂肪酸特性的影响[J]. 应用生态学报, 2008, 19(7): 1585-1590.
FENG Hui-min, HE Hong-bo, BAI Zhen, et al. Microbial degradation of acetochlor in mollisol and the effects of acetochlor on the characteristics of soil phospholipid fatty acids[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(7): 1585-1590.