

低剂量外源稀土积累对黄褐土中微生物主要生理类群的生态效应

唐欣昀, 孙亦阳, 温崇庆, 张自立

(安徽农业大学生命科学学院, 安徽 合肥 230036)

摘要: 采用田间小区试验和室内低剂量模拟叠加试验相结合的方法, 研究低剂量外源混合稀土在黄褐土中积累对土壤微生物主要生理类群的生态效应。结果表明, 外源低剂量稀土的持续积累会对土壤氨化细菌、硝化细菌、纤维素分解菌和自生固氮菌产生刺激、抑制、再刺激的交替作用。4种土壤微生物生理类群对混合稀土抑制敏感性依大小排序为: 纤维素分解菌> 氨化细菌> 硝化细菌> 自生固氮菌。对田间小区低浓度稀土积累下土壤微生物学数据进行模拟计算, 稀土积累对纤维素分解菌、氨化细菌、硝化细菌和自生固氮菌的 EC_{50} (半抑制浓度) 值分别为 7.7~10.9、42.3~74.3、12.1~78.4 和 30.4~91.2 $mg \cdot kg^{-1}$ 。稀土积累对参与有机碳转化的细菌类群比对参与氮素转化的细菌类群产生更强的抑制作用, 纤维素分解菌可作为稀土积累生态效应的指示菌。由于土壤细菌对土壤生物活性的重要贡献, 外源稀土在黄褐土中积累对细菌的安全临界值可以初步确定为 10~30 $mg \cdot kg^{-1}$ 。

关键词: 混合稀土; 黄褐土; 微生物生理类群; 低剂量积累; EC_{50}

中图分类号: S131, S154.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-2043(2005)02-0279-05

Ecological Effects of Major Soil Microbial Consortia in Yellow Cinnamon Soil After Receiving Low Dose of Rare Earth Elements (REEs)

TANG Xin-yun, SUN Yi-yang, WEN Chong-qing, ZHANG Zi-li

(School of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: A combination and simulation method using plot tests in field was designed to study ecological effects of low dosage accumulation of added mixed rare earth elements (REEs) on major soil microbial consortia in yellow cinnamon soil. The continuous accumulation of REEs exhibited alternative effects of stimulation, inhibition and re-stimulation on soil ammonifying bacteria, nitrifying bacteria, nitrogen fixation bacteria and bacteria decomposing cellulose. The sensitivity of these four consortia to the inhibition of REEs was in an order: bacteria decomposing cellulose > ammonifying bacteria > nitrifying bacteria > nitrogen fixation bacteria. Soil microbial data were analyzed by computer and it was found that the median effect concentrations (EC_{50}) of REEs were 7.7~10.9, 42.3~74.3, 12.1~78.4 and 30.4~91.2 $mg \cdot kg^{-1}$ for bacteria decomposing cellulose, ammonifying bacteria, nitrifying bacteria, and nitrogen fixation bacteria, respectively. REEs had stranger inhibitory effect on bacteria involving in organic carbon decomposing than on that in nitrogen recycling. The bacteria decomposing cellulose could be taken as an indicative soil microbe for the ecological effect of REEs accumulation. As the important contribution of soil bacteria to soil biological activities, the EC_{50} value of 10~30 $mg \cdot kg^{-1}$ may be taken as critical value of mixed REEs added in yellow cinnamon soil.

Keywords: mixed rare earth elements; yellow cinnamon soil; soil microbial consortia; low dosage accumulation; EC_{50}

稀土进入土壤后很少向下迁移, 长期在田间使用稀土复合肥, 会造成稀土在耕作层的不断积累^[1,2], 可

能对农作物乃至农田生态系统造成影响。土壤微生物各生理类群的数量和活性是土壤活性和肥力的重要标志^[3]。稀土进入土壤后, 将对土壤微生物生理类群产生影响, 进而影响土壤生态系统结构和土壤活性。Babich 等提出^[4]生态系统中微生物的活性是受化学污染物影响的, 微生物活性可以间接反映出这种化学

收稿日期: 2004-07-15

基金项目: 国家自然科学基金(29890280)

作者简介: 唐欣昀(1951—), 男, 教授, 研究方向为微生物生理生态学。

E-mail: tangxinyun@21cn.com

品对该生态系统的影响。由于土壤的复杂性,只有少数学者初步研究了稀土对土壤微生物生理类群的生态效应^[5-7],但还没有联系稀土农用低剂量长期积累的特点。本文结合田间小区试验和室内低剂量模拟叠加试验,研究稀土对土壤微生物主要生理类群的生态效应,计算稀土积累对土壤微生物主要类群的半效应浓度(median effect concentration,简称 EC_{50})^[8],为稀土农用的环境安全评价提供科学参数。

1 材料和方法

1.1 供试土壤基本理化性状

供试土壤为黄褐土,采自安徽省肥东县农科所试验田,其基本理化性状如下^[8]:pH 7.02,有机质 $20.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,阳离子交换量 $15.46\text{ cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$,机械组成砂粒22.5%、砂粉粒38.8%、粘粒38.7%,质地壤质粘土,稀土总含量 $143.1\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,交换态稀土含量 $1.05\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,稀土最大吸附量 $6\,659\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Re_2O_3)。

1.2 稀土的来源

试验用稀土为包头包钢稀土三厂生产的混合型氯化稀土($\text{ReCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$),包括镧(La)、铈(Ce)、钕(Nd)、镨(Lu),含 Re_2O_3 总量46.64%(质量分数)。

1.3 田间小区的设置和稀土处理

试验小区设在肥东县撮镇农科所,每个小区面积为 $7\text{ m}\times 2.2\text{ m}$ 。根据国家自然科学基金课题指南结合稀土农用实际情况的要求,模拟稀土积累,将每处理所需稀土配置成溶液,一次性将稀土施加在小区中(第一季种植水稻)。浓度设置共为8个处理:0、0.27、35、70、210、350、490、700 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (0.27 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的处理每季均施稀土,以 Re_2O_3 计算);每个处理3个重复,小区随机排列,每年种植两季农作物,作物种植情况见表1。

表1 作物种植计划

Table 1 Schedule of crops rotation grown on the soil studied

时间	作物	时间	作物
1998.6—1998.9	水稻	1999.11—2000.5	小麦
1998.10—1999.5	油菜	2000.6—2000.10	水稻
1999.6—1999.9	大豆	2000.11—2001.5	蚕豆

1.4 盆钵土试验和稀土处理

将剔除石砾或植被残根等杂物的土壤风干磨碎,过20目筛。取5kg土装在塑料盆中,土深约12cm。试验组土样,每天加2.6mg的混合氧化稀土(约相当于 $1\,170\text{ g}\cdot\text{hm}^{-2}\cdot\text{季}^{-1}$ 的施用量),碳源葡萄糖250

mg,氮源 KNO_3 25mg和一定量的蒸馏水,使土壤含水量保持在16%~18%。对照组土样处理方法相同,只是不加稀土。土样置25℃恒温培养。

1.5 土样的采集

试验小区土样的采样方法:每个小区随机三点采土,先将表层枯叶去掉,用采土铲铲出一个剖面,用刀具切出约 $3\text{ cm}\times 3\text{ cm}\times 10\text{ cm}$ 的柱形土块,装入塑料袋中备用。将采回的土样分别倒入白瓷盘中,剔除石砾或植被残根等杂物,混匀,当日进行微生物学分析,或置4℃冰箱备用。

室内盆钵土的采样方法,按一定的时间间隔用不锈钢取样器对每个土样进行五点法取样,充分混匀备用。

1.6 土壤微生物生理类群数量的测定

采用最大概率稀释法(MPN)测定土壤氨化细菌、硝化细菌、纤维素分解菌数量,培养基配方和方法均按参考文献[7]。

1.7 数据处理

按文献[8]的方法计算混合稀土对土壤微生物各类群的半效应浓度 EC_{50} 。以微生物数量为 y 、混合稀土浓度为 x 进行数学拟合,求得相应的数学关系式($y = ax^2 + bx + c$)及相关系数值(r^2),求函数极大值 y_{max} ,令 $y' = 0.5 y_{\text{max}}$,解关于 x 的方程 $y' = ax^2 + bx + c$,方程合理的解 x_1 即为 EC_{50} 值。

2 结果与分析

2.1 稀土积累对土壤氨化细菌的影响

使用混合稀土在田间小区土壤中模拟稀土积累,连续4年5次采集土样进行土壤微生物区系分析,稀土对小区土壤氨化细菌的影响结果见图1。虽然4年中因作物、气候、温度和降雨量等各种条件差异很大,氨化细菌的总数变化也很大,但可以明显地看出,0.27 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的稀土对不同作物茬口的土壤样品中氨化细菌都产生了刺激作用,而35~210 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的稀土却明显对氨化细菌产生抑制作用。随着稀土积累量的加大,细菌数量持续减少。大多数土样中的氨化细菌的数量在350 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处才恢复到与对照(0 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)大致相等的水平(蚕豆土在490 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处)。稀土积累超过350 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 氨化细菌再次受到抑制。从室内盆钵长期低剂量稀土叠加积累试验结果可以看出,在0~150 $\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 试验范围内稀土积累大幅度抑制了土壤氨化细菌的数量(图2)。

2.2 稀土积累对土壤硝化细菌的影响

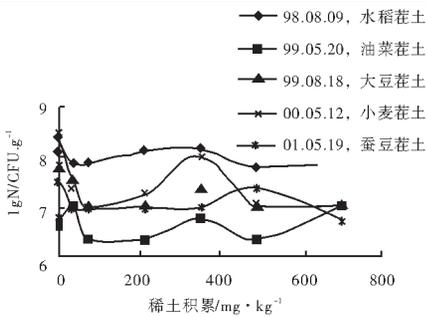


图1 小区土壤中稀土积累对氨化细菌数量的影响
Figure 1 Effects of REES accumulation on the number ammonifying bacteria in field plot

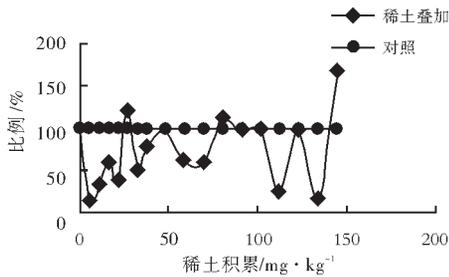


图2 稀土叠加对土壤氨化细菌的影响
Figure 2 Effects of REES accumulation on the number ammonifying bacteria in pots in room

水稻茬土、油菜茬土和蚕豆茬土中的硝化细菌受到低浓度(0.27~35 mg·kg⁻¹)稀土的刺激,细菌数量都有不同程度的增加,见图3;大豆茬土和小麦茬土中的硝化细菌则没有表现出受到刺激作用。除了小麦茬土中的情况异常外,其他4个土样中的硝化细菌数量在稀土积累35~210 mg·kg⁻¹的范围内都受到不同程度的抑制作用;在210~350 mg·kg⁻¹范围各个土样中的硝化细菌数量都有一定的恢复;稀土浓度进一步增加,硝化细菌的数量都受到抑制。稀土积累对硝化细菌的作用规律与对氨化细菌的作用规律基本相同,只是刺激硝化细菌的浓度范围要宽一些(0.27~35 mg·kg⁻¹)。长期低剂量稀土叠加试验结果

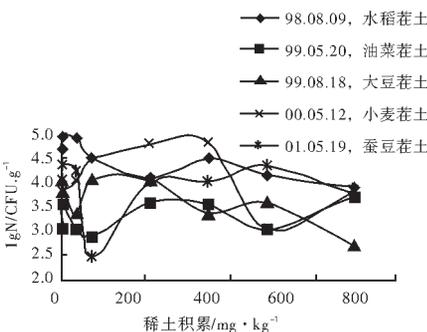


图3 小区土壤中稀土积累对硝化细菌数量的影响
Figure 3 Effects of REES accumulation on the number of nitrifying bacteria in field plot

显示:在0~48 mg·kg⁻¹浓度范围内,硝化细菌数量大幅度增加,见图4;浓度继续增加,硝化细菌数量波动,表明受到抑制。

长期低剂量稀土叠加试验中获得的数据和田间小区试验中低浓度组获得的结果近似一致。

2.3 稀土积累对土壤中纤维素分解细菌的影响

模拟稀土积累对小区土壤中纤维素分解细菌的影响见图5。只有在2个土样中(水稻茬土和蚕豆茬土)0.27 mg·kg⁻¹时的稀土对该类群产生了刺激作用,在0.27~210 mg·kg⁻¹范围内积累的稀土对纤维素分解细菌产生了显著的抑制,在350 mg·kg⁻¹浓度时细菌数量出现1个峰值,纤维素分解细菌的数量恢复到与对照相近的水平;进一步积累的稀土强烈抑制纤维素分解细菌的数量。在室内低剂量稀土叠加试验中获得的数据反映了低剂量稀土(<50 mg·kg⁻¹)对纤维素分解细菌的刺激作用,高剂量稀土对纤维素分解细菌的抑制作用,见图6。

2.4 稀土积累对土壤中自生固氮菌的影响

从2季作物田间小区土样中检测了土壤自生固氮菌的数量(其他土样未检测),见图7。可以看出稀土积累对自生固氮菌的影响规律与对其他类群的规律基本相似。0.27 mg·kg⁻¹稀土刺激了该类群的数

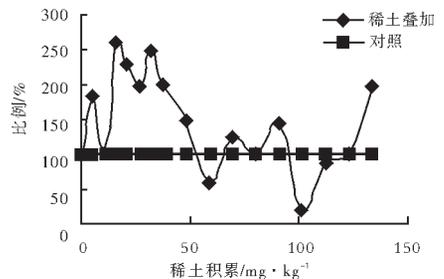


图4 稀土叠加对硝化细菌的影响
Figure 4 Effects of REES accumulation on the number of nitrifying bacteria in pots in room

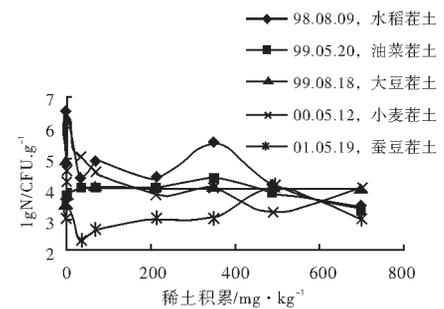


图5 小区土壤中稀土积累对纤维素分解细菌的影响
Figure 5 Effects of REES accumulation on the number of bacteria decomposing cellulose in field plot

量增加, $0.27 \sim 70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的稀土抑制了固氮菌的数量。随着稀土积累的增加, 可能由于耐稀土的菌群数量的增加, 固氮菌的数量逐渐恢复, 至 $350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 固氮菌数量与对照相仿; 但高积累稀土 ($> 490 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 强烈抑制了固氮菌的数量, 这一点在蚕豆茬土 (最后一次采样) 表现的尤其明显。可以看出, 在高积累的稀土的胁迫下, 固氮菌群已无法恢复原有的种群数量。在低剂量稀土叠加试验中获得的数据反映了在试验范围内稀土对固氮菌的持续刺激作用(图 8), 表明固氮菌对稀土具有较高的耐性。

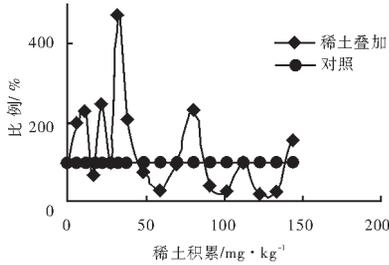


图 6 稀土叠加对土壤纤维素分解菌的影响

Figure 6 Effects of REES accumulation on the number of bacteria decomposing cellulose in pots in room

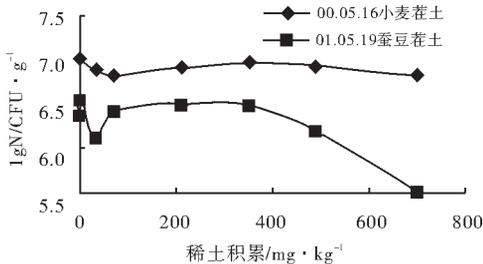


图 7 小区土壤中稀土积累对自生固氮菌的影响

Figure 7 Effects of REES accumulation on the number of nitrogen fixation bacteria in field plot

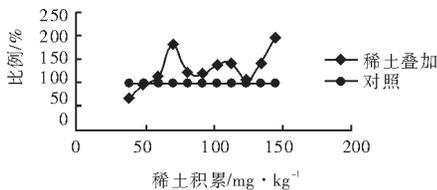


图 8 稀土叠加对自生固氮菌的影响

Figure 8 Effects of REES accumulation on the number of nitrogen fixation bacteria in pots in room

2.5 稀土积累对土壤微生物各生理类群影响的参数

由于稀土农用低剂量的特点, 对土壤微生物生态学研究具有意义的是 $0 \sim 70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围内的稀土的积累。从以上结果可以看出, 除了极低剂量 ($0.27 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 外, $0 \sim 70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的稀土对大部分微生物生理类群都产生了抑制作用。对田间小区低浓度稀

表 2 稀土积累对土壤微生物各生理类群的 EC_{50} 值

Table 2 Parameters of effects of REEs on different soil microbial groups

	氨化细菌	硝化细菌	纤维素分解细菌	自生固氮菌
水稻茬土	47.0	74.3	7.7	—
油菜茬土	78.4	48.6	—	—
大豆茬土	44.6	—	—	—
小麦茬土	12.1	—	—	91.2
蚕豆茬土	—	42.3	10.9	30.4

土积累下土壤微生物学参数进行模拟计算, 获得相关方程, 根据所得方程计算稀土积累对各类微生物类群的 EC_{50} (半抑制浓度) 值, 结果见表 2。稀土对土壤氨化细菌的 EC_{50} 值约在 $12 \sim 78 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 对土壤硝化细菌的 EC_{50} 值约在 $42 \sim 74 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 对土壤纤维素分解细菌的 EC_{50} 值约在 $7.7 \sim 10.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 对土壤自生固氮菌的 EC_{50} 值约在 $30 \sim 92 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

3 讨论

土壤微生物区系的组成极为复杂, 本文所涉及的一类群仍然是一个庞杂和模糊的概念, 由于受到条件和技术的限制, 不可能准确地追踪某一特定的种群。综合田间小区试验和室内低剂量长期叠加试验的结果可以明显看出, 虽然各生理类群(表观上的划分)之间存在差异, 外源稀土对土壤微生物各生理类群的影响过程也可分为 3 个阶段。第一阶段为低剂量刺激阶段, 微生物数量增多; 第二阶段为抑制阶段, 稀土积累量在 $0 \sim 210 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的浓度范围内, 随着稀土含量增加, 敏感微生物受到稀土毒害, 数量减少; 第三阶段稀土积累量在 $210 \sim 350 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 范围, 一些微生物对重金属产生了耐性, 耐稀土的微生物数量显著增多, 种群结构发生变化, 数量可以回复到一定的水平。随着稀土积累进一步增加, 又会出现抑制过程。这种规律反映在稀土浓度—菌数存活的曲线上, 出现双峰生长现象。这种现象类似于其他常见重金属对土壤微生物的作用规律^[9]。

稀土积累对氨化细菌、硝化细菌、纤维素分解菌和自生固氮菌的 EC_{50} 值的范围分别为: $12.1 \sim 78.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $42.3 \sim 74.3 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $7.7 \sim 10.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $30.4 \sim 91.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 因此可以看出不同土壤微生物生理类群对混合稀土的敏感性顺序大致为: 纤维素分解菌 $>$ 氨化细菌 $>$ 硝化细菌 $>$ 自生固氮菌。从图 2、4、6 和 8 也可看出这种区别。

褚海燕等根据对微生物的活性的影响程度, 推算

出在红壤中稀土的最大施用量应小于 $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ^[10]。该值要低于本文有关黄褐土中多数微生物类群的数据。Tang 等^[11]测得混合稀土在红壤、黄潮土和黄褐土中对发光酶基因 (luxAB) 标记的荧光假单胞菌 (*Pseudomonas fluorescence*) X16 菌株的 EC_{50} 值分别为 $13.47 \sim 39.12 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $6.59 \sim 56.18 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, $372 \sim 1034 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 也反映了稀土在红壤中对土壤微生物的毒性要大于对黄褐土中的微生物的毒性。

纤维素分解菌、氨化细菌、硝化细菌和自生固氮菌是与土壤中碳、氮等重要植物营养物质循环有关的主要菌群, $10 \sim 60 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的稀土就大幅度抑制了这些类群的数量, 必将影响土壤中营养元素的转化和整个土壤活性。褚海燕等^[12]认为红壤中 La 积累至 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时即对微生物碳氮及呼吸强度产生显著的抑制; $30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 La 即对红壤和黄潮土中脱氢酶产生显著的抑制^[13,14]; $100 \sim 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 La 显著抑制了土壤硝化作用, $150 \sim 300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ La 显著抑制了磷的转化作用, $6 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 La 强烈抑制了土壤中酚的分解^[15]; 但大剂量的 La 积累却刺激红壤中脲酶、酸性磷酸酶的活性^[16]。脱氢酶活性和酚的转化都与土壤中有有机碳的转化有关, 从红壤中的数据看这 2 种过程都受到低浓度稀土的强烈抑制, 本文数据也反映了黄褐土中稀土对纤维素分解菌的抑制 ($\text{EC}_{50} = 7.7 \sim 10.9 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 要大于对其他类群的抑制。类似的情况也发生在其他研究中^[9], Rother 等发现自生固氮菌对重金属具有很高的抗性^[17], 这种现象可能与自生固氮菌大多数具有荚膜有关。在其他重金属污染的土壤中也发现纤维素的降解速度降低, 而蛋白质的降解却不受影响^[18]。

安全临界值的估算是一个非常复杂的问题, 对一个生态系统中的每一种生物, 都可能存在一个安全临界值, 本试验中推算出不同类群的不同 EC_{50} 数值, 从生态安全的角度来说, 应该选取较小的数据。如果考虑到纤维素分解菌对土壤有机质转化的重要性和纤维素分解菌对稀土积累的高度敏感性, 纤维素分解菌可以选作外源稀土积累生态效应的指示菌, 稀土在黄褐土中积累的安全临界值应在 $10 \sim 30 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

参考文献:

[1] 常江, 竺伟民. 稀土在土壤中吸附和解吸研究[J]. 土壤通报,

1996, 27(2): 84 - 87.

- [2] 竺伟民, 张继榛, 章力干, 等. 稀土在土壤中运移数值模拟研究[J]. 中国稀土学报, 1996, 14(4): 341 - 346.
- [3] 许光辉, 李振高. 微生物生态学[M]. 南京: 东南大学出版社, 1991.
- [4] Babich H and Stotzy G. Environmental factors that influence the toxicity of heavy metal and gaseous pollutants to microorganisms[J]. *ORC Crit Rev Microbial*, 1980, 8: 99 - 145.
- [5] 褚海燕, 曹志洪, 谢祖彬, 等. 镧对红壤中微生物区系的影响[J]. 环境科学, 2000, 21(6): 28 - 31.
- [6] 唐欣鸣, 张自立, 程勇. 铈积累对黄褐土中土壤微生物区系的影响[J]. 应用生态学报, 1997, 8: (6)585 - 587.
- [7] Tang Xinyun, Zhang Zili, Zhou Bangbing, et al. Effect of lanthanum on quantity of major microorganism groups in yellow cinnamon soil[J]. *J of Rare Earths*, 1998, 16(3): 193 - 196.
- [8] 张自立, 常江, 汪成胜, 等. 混合稀土对作物生长量的影响[J]. 中国稀土学报, 2001, 19(1): 22 - 25.
- [9] 杨景辉. 土壤污染与防治[M]. 北京: 科学出版社, 1995, 30 - 43, 372 - 389.
- [10] 褚海燕, 曹志洪, 谢祖彬, 等. 稀土元素在红壤上最大施用量的初步估算[J]. 中国学术期刊文摘, 科技快报, 2001, 7(1): 100 - 101.
- [11] Tang Xinyun, Zhang Zili, Sun Yiyang, et al. Survival of *Pseudomonas fluorescence* X16 (luxAB) strain in soils accumulated with mixed rare earth elements[J]. *J of Rare Earths*, 2004, (accepted).
- [12] 褚海燕, 曹志洪, 谢祖彬, 等. 镧对红壤微生物碳、氮、呼吸强度的影响[J]. 中国稀土学报, 2001, 19(2): 94 - 96.
- [13] 褚海燕, 曹志洪, 谢祖彬, 等. 镧对红壤转化酶、过氧化氢酶和脱氢酶活性的影响[J]. 中国环境科学, 2001, 21(1): 77 - 80.
- [14] 褚海燕, 曹志洪, 谢祖彬, 等. 镧施用下黄潮土酶活性的动态变化[J]. 农村生态环境, 2001, 17(4): 39 - 41.
- [15] Chu Haiyan, Zhu Jianguo, Xie Zubin, et al. Effects of Lanthanum on Nitrification, Phosphorus Transformation and Phenol Decomposition in Red Soil[J]. *J of Rare Earths*, 2002, 20(1): 67 - 70.
- [16] 褚海燕, 曹志洪, 谢祖彬, 等. 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, 2000, 19(4): 193 - 195.
- [17] Rother J A, Millbank J W and Thornton J. Seasonal fluctuations in nitrogen fixation (acetylene reduction) by free-living bacteria in soils contaminated with cadmium, lead and zinc[J]. *J Soil Sci*, 1982, 33: 101 - 103.
- [18] 龚平, 孙铁銜, 李培军. 重金属对土壤微生物的生态效应[J]. 应用生态学报, 1997, 8(2): 218 - 224.