

重金属污染土壤植被恢复过程中的土壤微生物特征

王 江*, 张崇邦

(浙江省台州学院生命科学院, 临海 317000)

摘要:研究了重金属污染裸地植被恢复 4、5、6a 和 7a 后的植物凋落物积累量、土壤化学特征、重金属含量与土壤微生物特征。结果表明:与未恢复裸地相比,植被恢复显著地提高了根际土壤中的有机碳($18.6 \sim 31.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)、总氮($0.88 \sim 1.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)和总磷($0.34 \sim 0.39 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)含量($P < 0.05$);上述指标以及植物凋落物积累量没有随植被恢复年龄增加而提高。植被恢复地土壤 pH、重金属铅、锌、铜的总量和 DTPA(diethylenetriaminepentaacetic acid)可提取量均显著地高于未恢复裸地($P < 0.05$),并且随植被恢复年龄增加呈现出一致提高的趋势。土壤微生物量碳和氮在 5 个研究样地中的变化趋势基本一致,即最大值均出现在样地 RV(恢复 5a)($127.34 \text{ mg} \cdot \text{gdw}^{-1}$ 和 $2.45 \text{ mg} \cdot \text{gdw}^{-1}$),然后在样地 RVI(恢复 6a)和 RVII(恢复 7a)均有不同程度地下降。微生物量氮在 4 个恢复样地中变化显著($P < 0.05$)。土壤微生物基础呼吸和功能多样性最大值发生在样地 RVI($59.10 \text{ mg} \cdot \text{gdw}^{-1}$ 和 3.14),随后在样地 RVII 中略有下降($P > 0.05$)。未恢复裸地的土壤微生物对羧酸和胺类化合物利用率显著大于 4 个恢复样地($P < 0.05$),对碳水化合物、氨基酸、聚合物和杂化合物的利用率显著低于 4 个恢复样地($P < 0.05$)。主成分分析结果表明,未恢复裸地的 CLPP(community level physiological profiles)指纹与恢复样地存在显著差异($P < 0.05$),4 个恢复样的 CLPP 指纹相似。

关键词:退化裸地;植被恢复;土壤微生物量;土壤基础呼吸;功能多样性

文章编号:1000-0933(2009)03-1636-11 中图分类号:Q938.1 文献标识码:A

Soil-microbial properties in the re-vegetation process of the barren land contaminated with heavy metals

WANG Jiang*, ZHANG Chong-Bang

School of Life Sciences, Taizhou University, Linhai 317000, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(3): 1636 ~ 1646.

Abstract: Litter accumulation, soil-chemical parameters, heavy metal contents and soil-microbial properties after the re-vegetation of the barren land contaminated with heavy metals were investigated. The results showed that, the re-vegetation could significantly increase soil organic carbon ($18.6 - 31.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), total nitrogen ($0.88 - 1.56 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and total phosphorus ($0.34 - 0.39 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) in rhizosphere soils compared with the barren land. However, the litter accumulation and the above indicators did not consistently increase with the re-vegetation ages. Soil pH, the total amount of Pb, Zn and Cu and DTPA-extractable Pb, Zn and Cu in the re-vegetated soils were significantly ($P < 0.05$) higher than those in the barren land, and linearly increased with the re-vegetation age. The RV site had the highest levels in both soil-microbial biomass carbon and nitrogen ($127.34 \text{ mg} \cdot \text{gdw}^{-1}$ and $2.45 \text{ mg} \cdot \text{gdw}^{-1}$). There was a significantly ($P < 0.05$) different decline in microbial biomass nitrogen in the RVI and RVII sites. The RVI site had the highest levels in soil basal respiration and functional diversity ($59.10 \text{ mg} \cdot \text{gdw}^{-1}$ and 3.14) and there was a decline in the RVII site. Both the basal respiration and functional diversity had no significant difference among the four re-vegetated sites. Soil-microbial community in the barren land had a greater utilization in carboxylic acids and amines/amides, and lower utilization in carbohydrates, amino acid, polymers and miscellaneous than those in the four re-vegetated sites ($P < 0.05$). The PCA (principal components

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y507053);台州学院博士启动基金资助

收稿日期:2007-12-04; 修订日期:2008-09-16

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: Wangjiang@tzc.edu.cn

analysis) showed that CLPP (community level physiological profiles) in the barren land was significantly ($P < 0.05$) distinct from the re-vegetated sites, but had no significant difference among the four re-vegetated sites.

Key Words: degraded barren land; re-vegetation; soil microbial biomass; soil basal respiration; functional diversity

金属冶炼工业排放出大量含有重金属的粉尘,沉降于冶炼厂下风向的土壤表面,导致下风向的植被群落极度退化,最终退化裸地。由于土壤重金属毒性作用,使得这些裸地植被的自然恢复非常困难,并且由于不断的风蚀与水蚀污染周边环境^[1]。

目前判断植被恢复成功与否的标准常常根据地上植物指标,而忽视了地下微生物的反应,这对于认识植被恢复生态系统是不全面的^[2]。根际是指接近于植物根系或能被植物根系影响的那部分土壤^[3]。已有的研究表明:根际不仅由于根对水分和营养的吸收、根系分泌物的存在、根的呼吸等方面影响与根围环境截然不同^[4,5],而且也会因为植物种类、植物生长年龄和季节的不同而发生变化^[5,6]。同时根系对营养物的沉积作用也使根际能够维持高的微生物活性和多样性^[7],所以根际的变化对于反映裸地植被恢复有效性具有重要作用。

由于微生物群落在生态系统中所发挥的重要作用(物质循环和能量流动)以及其对抗动的敏感性,所以将微生物参数用做评价土壤质量的指标得到了土壤学家以及生态学家们的广泛重视^[8~11]。由于土壤微生物生物量碳和氮分别占土壤有机碳和总氮的 1%~4% 和 2%~6%^[12,13],微生物基础呼吸、酶活性以及矿化作用等均与土壤理化特性,如团聚体稳定性、营养可获得性、pH 等密切相关^[14~16],因而常被建议作为评估土壤质量的重要指标。CLPP 指纹 (community level physiological profiles) 是一种利用 BIOGLOG 板 (GN、GP 和 Ecoplate) 对单一碳源的利用情况分析微生物群落代谢活性的方法。CLPP 已被用于评价植物、酸雨沉降、污染物、森林管理等对土壤微生物群落的影响^[17~19]。

泡桐 (*Paulownia fortunei*) 是我国的土著性植物,由于其生长快速、适应性强、用途广泛被普遍称为“奇树”^[20]。中山大学与广东韶关冶炼厂合作,以泡桐为优势种,从 1990 年开始对冶炼厂下风向的重金属污染裸地进行了植被恢复,已取得了较好的生态效果。2004 年,通过收集泡桐根围土壤,测定了其中的土壤理化特性、重金属特性以及土壤微生物群落特征,评价了以泡桐为优势种的植被恢复模式的有效性^[21,22]。然而,到目前为止,泡桐根际土壤的微生物与非生物特性尚不清楚,这对于人们认识泡桐在重金属污染裸地植被恢复中的作用是不全面的。基于此,于 2006 年 9 月份对泡桐根际土壤按恢复时间顺序进行再次取样,目的在于评估根际土壤微生物生物量、呼吸作用以及微生物群落功能多样性的动态变化,认识在植被恢复条件下根际土壤微生物生物量、基础呼吸和群落功能多样性能否作为反映土壤环境因素变化的指标。

1 研究样地与研究方法

1.1 样地描述

本研究在广东省韶关市韶关 Pb/Zn 冶炼厂下风向的南山上进行 (24°47' N, 113°36' E)。该区域属于亚热带季风气候,年均降雨量为 1619.6 mm,主要集中在 3~9 月份。年均温度为 19.6℃,1 月份温度最低 (11℃),7 月份温度最高 (28℃)。这个区域从前以常绿阔叶林为主,优势种为秀丽栲 (*Castanopsis jucunda*)、圆齿木荷 (*Schima crenata*)、樟树 (*Cinnamomum camphora*) 和马尾松 (*Pinus massoniana*) 等。土壤类型以红黄壤为主。重金属矿业废弃地植被恢复工程启动于 1999 年。恢复模式为:剥离表土 (0~5 cm)、挖鱼鳞坑、一次性施用石灰、鸡粪与复合磷肥 (1:3:1)。栽培泡桐 (*Paulownia fortunei*) 幼苗后,在地表种植狗牙根 (*Cynodon dactylon*),以便防止土壤水分的过度蒸发和土壤流失。同时为了增加恢复群落的植被多样性,几种对重金属具有耐性的植物,如银合欢 (*Leucaena glauca*)、女贞 (*Ligustrum lucidum*)、夹竹桃 (*Nerium indicum*)、臭椿 (*Ailanthus altissima*)、槐树 (*Sophora japonica*) 也先后被种植。从 1999 年开始由于韶关冶炼厂每年都进行一定面积的裸地恢复,因而在冶炼厂的南山上被恢复的植物群落就形成了具有不同恢复年龄的时间梯度。截止

2006 年 9 月取样时,现有恢复时间较长的恢复序列包括:恢复 4a(RIV)→5a(RV)→6a(RVI)→7a(RVII)。基于比较目的,将未恢复裸地作为对照样地(BG)。取样点的位置及分布见图 1。由于截止到取样时,被恢复的植物群落仍然缺乏外部植物种类的侵入,所以,被恢复的植物群落组成基本上是相似的。

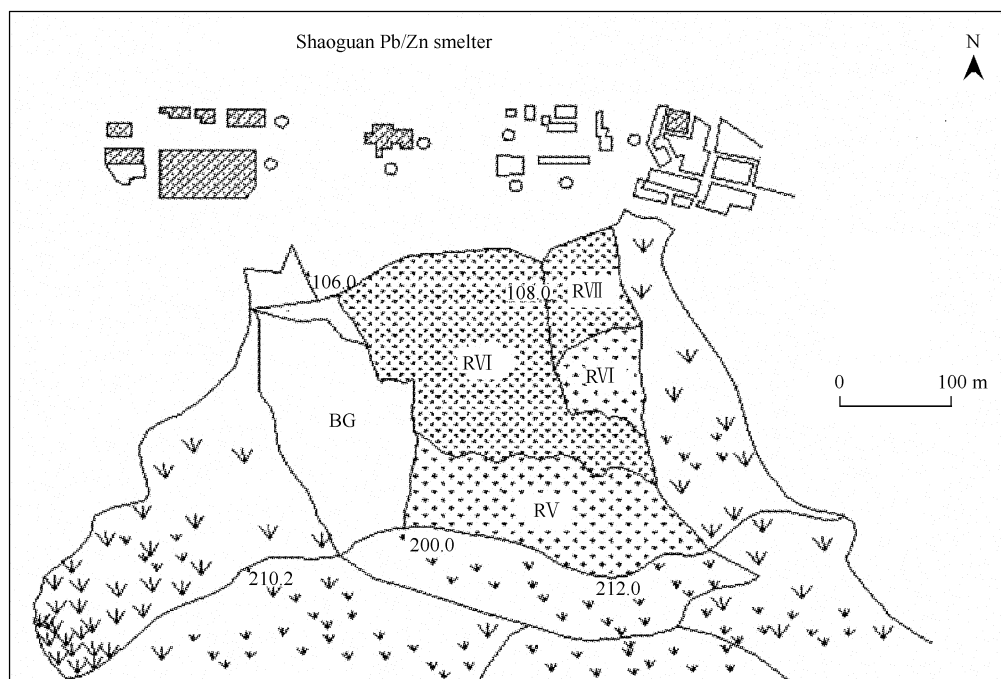


图 1 广东韶关 Pb/Zn 冶炼厂附近南山研究样地的分布

Fig. 1 Distribution of the sampling sites located at the south mountain near the Shaoguan Pb/Zn smelter in Guangdong Province

BG:裸地 barren land; RIV, RV, RVI and RVII: 分别被恢复 4、5、6a 和 7a 的样地 sites where have been re-vegetated for 4, 5, 6 and 7 years, respectively

1.2 研究方法

1.2.1 取样

每个恢复样地(包括裸地和恢复样地)随机设置 3 个样方($50 \times 50 \text{ m}^2$),先用 5 个 $50 \times 50 \text{ cm}^2$ 的样方框在每个样方中收集地表的凋落物,装于牛皮纸袋中。将凋落物在 60°C 干燥箱中烘干到恒重(24 h),称重,换算成 $\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$ 。

在不同样地上分别取 5 个混合土样,每个混合土样都是由 10 个随机采集的亚土样组成。由于植被恢复管理不允许破坏性取样,所以根际土壤取样具体做法是:在每个样地的 3 个样方中,随机选择 10 株泡桐,分别用铲刀清除表面浮土,待泡桐根显露出后,选择较粗大的根,取 5 mm 范围内的土作为根际土。然后将 10 株泡桐根际土样混合,放于塑料布上,摊平,用四分法取 1 kg 混合土样分装于塑料封口袋。同时在各样点分别用铝盒另外取土,用于测定土壤含水量。所有样品立即带回实验室,分别储存于 4°C 冰箱中,用于不同的微生物指标分析。另一部分土样分别放在室温下风干,用于土壤理化特性及重金属含量测定。

1.2.2 土壤微生物与非生物指标分析

土壤微生物量碳按 Sparling 和 West^[23] 建议的氯仿熏蒸提取法进行测定:取 10g 鲜土,于真空干燥器中进行氯仿熏蒸 24h。另设 3 个未熏蒸的等量土壤做对照,并马上用 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ K}_2\text{SO}_4$ 提取(土:液 = 1:5)和过滤,用滴定方法测定土壤有机碳,再根据测定的有机碳含量按相应公式计算生物量碳(C_{mic}): $\text{mg 生物量 } C \cdot \text{gdw}^{-1} = (S - C)/0.35$ 。

微生物生物量氮按 Joergensen 和 Brookes^[24] 建议的茚三酮比色方法进行测定:取 10g 土在真空干燥箱用氯仿熏蒸 10d,然后用 $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KCl}$ (土:液 = 1:5)进行提取 30min,过滤,对提取液进行显色处理之后,在

570nm 波长下比色。同样方法处理对照土(不熏蒸)。采用相应的公式计算微生物生物量氮: μg 生物量氮 $\cdot \text{gdw}^{-1} = (\mu\text{g}$ 茚三酮反应 $\text{N} \cdot \text{gdw}^{-1})/3.1$ 。微生物基础呼吸(BSA)按碱吸收滴定法进行分析^[25]。

微生物群落的 CLPP(community level physiological profiles)采用美国 BIOLOG 公司生产的 96 孔 Ecoplate 微平板(Biolog, Hayward, CA, USA)进行分析。Ecoplate 微平板上被划分为 3 个区,每个区 32 个孔。每个区除了 1 个孔不含碳源(空白)以外,其余 31 个孔分别含有 31 种不同的碳源。分析按照 Zhang 等^[22]的方法进行。同时,根据 Zak 等^[26]的建议,将 Ecoplate 板每个区中的 31 种碳源按化学组成划分为 6 类化合物:碳水化合物(Carbohydrates)、羧酸(Carboxylic acids)、氨基酸(Amino acids)、胺类化合物(Amines/amides)、聚合物(Polymers)和杂合物(Miscellaneous),并根据每一类化合物所包括碳源的 AWCD 值分别计算它们的总 AWCD 值。

利用常规土壤化学法分析土壤有机碳(外加热法^[27])、全氮(凯氏定氮法^[28])、全磷(钼蓝比色法^[29])、pH 值($1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl 浸提,土:液比为 1:2.5,酸度计测定)^[30]、阳离子交换量($0.005 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA- $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 醋酸铵法^[31])。土壤重金属(铅、锌、铜和镉)含量的测定包括总含量与可交换量。重金属总含量采用 McGrath 和 Cunliffe^[32]建议的方法进行:简单讲,0.1 g 风干土(研磨后,过 2 mm 筛)与 4 ml 的 HNO_3 在消煮瓶中混合,然后在红外线消煮炉里进展性加热($90^\circ\text{C} \rightarrow 140^\circ\text{C} \rightarrow 150^\circ\text{C}$),冷却后,加 2ml 的浓 HCl,在 150°C 保持 3 h,冷却过滤,最后用去离子水定容到 50ml,用于重金属总量的测定。可交换量采用 Page 等^[33]建议的方法进行,即另称取 5 g 土于三角瓶中,加 25 ml 的 $0.005 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTPA 混合溶液, 25°C 的恒温摇床中震荡 1h,然后过滤,并用去离子水定容到 50ml,用于重金属有效态的测定。两种提取液中的重金属含量分别用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES, Perkin-Elmer, USA)测定。

1.3 数据分析

采用 SPSS 10.0 统计软件对所测定的数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),并进行 LSD 检验(lowest standard deviation test, $P = 0.05$)。对微生物指标(土壤微生物生物量、基础呼吸、6 类化合物利用和功能多样性-Shannon-Weiner 多样性指数)与土壤环境因素(包括凋落物积累量)进行相关分析(bivariate correlation),相关程度用 Pearson 相关系数表示,相关显著性用双尾检验。在对样地进行 CLPP 指纹总体比较时,由于在 192 h 的培养之后,各土样的 AWCD 值不再发生显著性提高,所以将 192 h 的各孔吸光值进行标准化,即各孔吸光值除以每个区 31 孔总吸光值,以消除各土壤样品接种密度方面的差异^[35],然后进行主成分分析(principal components analysis, PCA)。

2 结果与分析

2.1 凋落物积累、根际土壤化学与重金属含量

随着恢复时间的增长,植物凋落物量从样地 RIV 到 RV 逐渐升高(表 1),在样地 RVI 达到最大值($24.86 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$),但在恢复时间最长的样地 RVII 中却显著性地降低。

与未恢复的裸地相比,除恢复样地土壤的离子交换量以外,其它化学特性均有显著升高(表 1)。4 个恢复样地之间,土壤有机碳和总氮从 RIV 到 RV 样地逐渐提高,并在样地 RV 中分别达到最大值,然后随恢复时间延长逐渐降低。土壤总磷从 RIV 到 RVI 逐渐提高,但在 RVII 样地显著下降。土壤 pH 沿着恢复梯度逐渐提高,并且在样地 RVII 中显著性地达到最大值。

在所测定的 4 种重金属(铅、锌、铜和镉)含量中,除了重金属镉在 RIV 样地中低于未恢复的裸地以外,其它三种重金属的总量均显著性地提高(表 2),并随植被恢复年龄呈逐渐提高的趋势。DTPA 提取的有效态重金属含量也展示了与重金属总量类似的变化趋势。

2.2 土壤微生物生物量与基础呼吸

与未恢复裸地相比,4 个恢复样地的根际微生物量碳和氮均显著地提高(图 2),最大值均发生在恢复样地 RV;4 个恢复地的微生物量碳没有差异,微生物量氮存在显著性差异($P < 0.05$):即从恢复样地 RIV 到 RV 显著性提高,而后在 RVI 到 RVII 样地显著性下降。相关分析表明,微生物量碳与凋落物积累量,根际土

壤中的有机碳、总氮、总磷含量、pH、总铜和 DTPA 可提取铜含量呈极显著或显著正相关;微生物量氮与凋落物积累量,根际土壤中的总氮、总磷含量和 pH 呈极显著或显著正相关。4 个恢复样地的微生物基础呼吸也显著高于未恢复裸地,最大值发生在 RVI 样地($59.10 \text{ mg} \cdot \text{CO}_2 \cdot \text{gdw}^{-1}$),随后在 RVII 恢复样地也稍有下降,但差异不显著($P > 0.05$)。微生物基础呼吸与凋落物积累量,根际土壤中的有机碳、总氮、总磷含量、pH 和 DTPA 可提取铜含量呈极显著或显著正相关。

表 1 5 个研究样地的凋落物和根际土壤化学特性

Table 1 Litter and chemical properties of rhizosphere soils across 5 sampling sites ($n = 5$)

取样点 Sampling sites	凋落物 Litter accumulation ($\text{g} \cdot \text{m}^{-2}$)	有机碳 Organic carbon ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	总氮 Total nitrogen ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	总磷 Total phosphorus ($\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)	酸碱度 pH	离子交换量 Cation exchange capacity ($\text{cmol}_c \cdot \text{kg}^{-1}$)
BG	0 ± 0	$14.2 \pm 2.89\text{d}$	$0.41 \pm 0.03\text{c}$	$0.16 \pm 0.01\text{c}$	$3.5 \pm 0.82\text{d}$	$5.54 \pm 0.71\text{b}$
RIV	$19.88 \pm 3.32\text{c}$	$18.6 \pm 3.91\text{c}$	$0.88 \pm 0.06\text{b}$	$0.34 \pm 0.01\text{b}$	$5.28 \pm 0.72\text{c}$	$5.71 \pm 0.64\text{b}$
RV	$24.16 \pm 2.81\text{a}$	$31.1 \pm 5.93\text{a}$	$1.56 \pm 0.31\text{a}$	$0.35 \pm 0.03\text{b}$	$5.29 \pm 1.01\text{c}$	$5.32 \pm 0.91\text{c}$
RVI	$24.86 \pm 4.91\text{a}$	$30.2 \pm 6.01\text{a}$	$1.18 \pm 0.27\text{a}$	$0.39 \pm 0.01\text{a}$	$5.41 \pm 0.83\text{b}$	$5.95 \pm 1.04\text{b}$
RVII	$22.62 \pm 4.06\text{b}$	$20.6 \pm 3.98\text{b}$	$1.03 \pm 0.19\text{ab}$	$0.24 \pm 0.02\text{b}$	$6.07 \pm 0.96\text{a}$	$7.05 \pm 1.24\text{a}$
ANOVA test	$F = 30.07$ $P < 0.01$	$F = 20.21$ $P < 0.01$	$F = 9.69$ $P < 0.01$	$F = 5.45$ $P < 0.01$	$F = 22.28$ $P < 0.01$	$F = 0.45$ $P > 0.05$

BG、RIV、RV、RVI 和 RVII 表示裸地和分别被植被恢复 4、5、6a 和 7a 的样地;表中数据为 5 个重复样品的平均值;在表的同一列中,标有相同字母的数据表示差异不显著($P > 0.05$),反之,则差异显著($P < 0.05$) BG, RIV, RV, RVI and RVII represented the bare site and sites revegetated for four, five, six and seven years, respectively; Data in the table were the means from five samples; The same letter in the column indicated no significant differences ($P > 0.05$), while those with different letters indicated significant difference ($P < 0.05$)

表 2 5 个研究样地的根际土壤重金属特性

Table 2 Heavy metal contents in rhizosphere soils across 5 sampling sites ($n = 5$)

取样点 Sampling site	总铜 Total Cu ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	总铅 Total Pb ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	总镉 Total Cd ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	总锌 Total Zn ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
BG	$16.71 \pm 3.34\text{d}$	$468.43 \pm 76.12\text{d}$	$11.24 \pm 2.12\text{d}$	$253.01 \pm 32.98\text{d}$
RIV	$38.12 \pm 5.41\text{c}$	$751.66 \pm 134.89\text{c}$	$5.45 \pm 1.23\text{c}$	$320.63 \pm 47.65\text{d}$
RV	$38.38 \pm 4.79\text{c}$	$945.40 \pm 180.93\text{bc}$	$17.93 \pm 3.21\text{b}$	$534.14 \pm 89.32\text{c}$
RVI	$48.16 \pm 7.12\text{b}$	$1062.98 \pm 230.78\text{b}$	$22.42 \pm 3.32\text{b}$	$651.33 \pm 78.93\text{b}$
RVII	$88.81 \pm 13.78\text{a}$	$1985.89 \pm 220.89\text{a}$	$58.73 \pm 9.43\text{a}$	$1586.20 \pm 298.65\text{a}$
ANOVA test	$F = 6.94$ $P < 0.01$	$F = 3.89$ $P < 0.05$	$F = 6.37$ $P < 0.01$	$F = 3.59$ $P < 0.05$
取样点 Sampling site	有效铜 DTPA-Cu ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	有效铅 DTPA-Pb ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	有效镉 DTPA-Cd ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	有效锌 DTPA-Zn ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)
BG	$3.62 \pm 0.98\text{e}$	$209.93 \pm 33.21\text{e}$	$2.35 \pm 0.25\text{d}$	$64.16 \pm 11.12\text{e}$
RIV	$9.72 \pm 1.87\text{d}$	$329.41 \pm 41.21\text{d}$	$1.97 \pm 0.17\text{e}$	$100.14 \pm 15.12\text{d}$
RV	$11.32 \pm 1.82\text{c}$	$433.35 \pm 71.19\text{c}$	$4.81 \pm 0.24\text{c}$	$170.22 \pm 23.17\text{c}$
RVI	$13.70 \pm 2.11\text{b}$	$483.16 \pm 59.23\text{b}$	$11.04 \pm 2.39\text{b}$	$304.59 \pm 40.45\text{b}$
RVII	$16.26 \pm 2.98\text{a}$	$590.06 \pm 70.62\text{a}$	$30.18 \pm 4.31\text{a}$	$426.90 \pm 60.13\text{a}$
ANOVA test	$F = 3.60$ $P < 0.05$	$F = 11.30$ $P < 0.01$	$F = 5.90$ $P < 0.01$	$F = 14.16$ $P < 0.01$

表 2 样地注释与表 1 相同 The notations of sampling sites in the table 2 were the same as those in the table 1

2.3 土壤微生物群落的 CLPP 指纹

从图 3 可以看出,未恢复裸地的微生物群落在 Ecoplate 板中的潜隐期显著地长于恢复样地(图 3),直到培养 72 h 后才产生一定水平的 AWCD 值,并且 AWCD 在整个培养时间内均显著低于 4 个恢复样地。4 个恢复样地的微生物群落潜隐期相似,均为 30 h。之后,随着后续培养时间的变化(30 ~ 192h),4 个恢复样地的 AWCD 均呈现出 S 曲线波动,直到 144 或 168h AWCD 才分别趋于平缓。然而,4 个恢复样地之间的 AWCD 在整个培养时间内差异不显著($P > 0.05$)。

根据对 5 个研究样地中 6 类含碳化合物在 192 h 的总 AWCD 的计算(图 4),结果表明:未恢复裸地的微生物群落对羧酸、胺类化合物有较大利用,其余 4 类化合物的利用强度均较低。在 4 个恢复样地中,微生物群落对羧酸类和胺类化合物的利用强度基本相似($P > 0.05$),且均显著低于未恢复裸地($P < 0.05$)。碳水化合物、氨基酸、聚合物和杂合物在 4 个恢复样地中的利用强度尽管没有展示出一致变化趋势,但均显著大于未恢复裸地($P < 0.05$)。Pearson 相关分析表明:5 个样地微生物群落对碳水化合物的利用强度与凋落物积累量,根际土壤中的有机碳、pH、离子交换量、DTPA 可提取铜、锌含量、总磷含量、总镉、DTPA 可提取铜含量呈极显著或显著正相关($R = 0.618, 0.679, 0.748, 0.662, 0.583, 0.559, P < 0.01; 0.456, 0.458, 0.516, P < 0.05$)。5 个样地微生物群落对氨基酸的利用强度与凋落物积累量,根际土壤中的总磷、pH、总氮含量呈极显著或显著正相关($R = 0.608, 0.558, 0.503, P < 0.01; 0.470, P < 0.05$)。5 个样地微生物群落对杂合物的利用强度与根际土壤中的总磷、总铜和总锌含量呈极显著或显著正相关($R = 0.524, P < 0.01; 0.467, 0.582, P < 0.05$)。

根据 192 h 的 AWCD 值,各样地的微生物群落功能多样性见图 5。与未恢复样地相比,4 个恢复样地的功能多样性指数均显著地提高(图 5),最大值出现在恢复样地 RVI($H = 3.14$),随后在恢复样地 RVII 有所下降。然而 4 个恢复样地之间的功能多样性指数在统计上差异不显著($P > 0.05$)。相关分析表明:微生物群落功能多样性与凋落物积累量,根际土壤中的总氮、总磷含量、pH 和 DTPA 可提取铜含量呈极显著或显著正相关($R = 0.566, 0.540, 0.505, 0.520, P < 0.01; 0.427, P < 0.05$)。

主成分分析表明:主分量 PC1 和 PC2 的累积贡献率为 37.76%,主分量 PC1 说明了 CLPP 数据在 5 个样地中总体变化的 23.26%,PC2 解释了总体变化的 14.50%(图 6)。在二元平面图上,沿着 PC1 与 PC2 轴的正方向,4 个恢复样地均显著地与未恢复裸地分开($P < 0.05$),并且彼此聚集在一起。然而与 RV 样地相比,RVI 和 RVII 样地沿着 PC1 轴的正方向却出现了滞后现象。根据主分量轴与各碳源之间的相关矩阵,5 个样地在 PC1 轴上的分布主要与根际微生物对甘氨酸-L-谷氨酸(0.864)、D-纤维二糖(0.787)、丙酮酸甲酯(-0.766)、L-苯基丙氨酸(0.754)和 D-甘露醇(0.728)的利用有关。而 5 个样地在 PC2 轴上的分布主要与 D-葡萄糖胺(0.788)、L-苏氨酸(0.712)和吐温 80(0.652)的利用有关。

3 讨论

裸地由于没有任何植被,所以无法区分根际与非根际土壤。之所以取裸地土壤,是为了将之做对比样地,

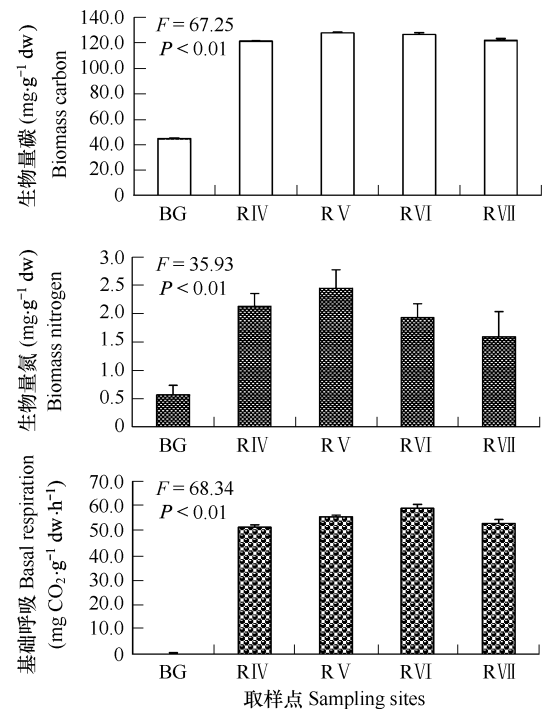


图 2 根际土壤微生物量碳、氮和基础呼吸

Fig. 2 Soil-microbial biomass carbon, nitrogen and basal respiration

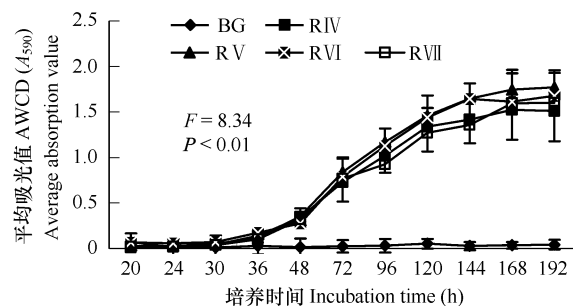


图 3 5 个研究样地土壤微生物群落在 Ecoplate 中的平均每孔颜色变化率

Fig. 3 The average well color development (AWCD) for soil-microbial communities across 5 sampling sites

来考察泡桐栽培后其根系是否有效地固定了重金属、促进了土壤营养的积累以及土壤微生物参数的提高。实验设计是在已有恢复模式基础上进行的,尽管恢复年限梯度只有 1a,但本篇论文的研究目的之一就是要探讨在利用泡桐来恢复重金属污染的工业裸地的过程中,与裸地相比较,泡桐栽培年限进程对污染土壤的生物学与非生物学特性是否具有显著影响,结果表明:尽管有些指标年际之间的变化不显著,甚至还出现了一定程度的波动,但均显著地高于裸地土壤,说明恢复年限对污染土壤的改善还是具有较大影响,因而对于认识用泡桐来恢复污染土壤条件的可行性方面仍然具有积极意义。

在 4 个恢复样地中,植物凋落物在地表面的积累随着植被恢复年龄逐渐提高,但在恢复最早的样地 RVII 中却下降了。尽管这种现象令人难以解释,但从所测定的各样地中的重金属含量来看,样地 RVII 土壤中的 4 种重金属无论是总量还是有效态含量均最高,所以尽管还不了解白花泡桐生长与重金属之间的动态关系,但重金属胁迫通过影响植物生长而导致植物凋落物在 RVII 样地中下降可能是一个重要的直接原因^[4,34],这一点可以从样地 RVII 中的泡桐生长总体表现出“压抑”状态,地上枝条枯死较多所证实。

尽管土壤有机碳含量在 RV 样地最高,但与样地 RVI 差异不显著,所以土壤有机碳、总氮、总磷含量基本上与植物凋落物的变化趋势相似,这说明植物凋落物在裸地表面的积累对土壤有机碳、总氮、总磷在土壤中的积累有较大的影响^[35~36]。土壤 pH 随着植被恢复年龄的变化呈现一致升高的趋势,这可能与目前研究中的根际微生物群落对土壤氨基酸和胺类化合物的综合利用有关,因为随着植物恢复微生物群落消耗土壤氨基酸的能力显著性高于裸地(图 4),而对土壤胺类化合物的消耗却显著下降,说明根际微生物群落在利用土壤氨基酸和胺类化合物的过程中对重金属污染裸地土壤酸度具有较强的调节作用。传统研究认为土壤的阳离子交换量的大小可以作为土壤保肥能力重要指标之一^[32],然而,在目前的研究中,随着植被的恢复,重金属污染土壤的阳离子交换量并未表现出一致的变化趋势,而是呈不规则的波动状态,这可能与植被恢复过程中土壤腐殖酸与粘土矿物的形成尚处于动态调整阶段有关。

除了总镉和 DTPA-Cd 以外,其它 3 种重金属(总量和 DTPA-可提取量)含量在 4 个恢复样地中均显著地高于未恢复裸地,一方面由于未恢复裸地没有植被生长,风蚀或水蚀作用会导致裸地表面土壤流失,从而使土壤重金属含量下降;另一方面由于植被可通过根系固着表土,从而阻止恢复地土壤流失,使土壤重金属总量高于裸地也是一个重要原因^[37~39]。

土壤微生物生物量碳、氮和基础呼吸在 4 个恢复样地中均显著性地高于未恢复裸地,表明植被恢复对土壤微生物的生长繁殖和代谢活性的促进作用^[11, 22, 40],但生物量碳和基础呼吸并未随着植被恢复年龄而显著变化,这一方面可能与该两种指标对植被恢复不敏感有关,另一方面也与土壤环境因素的调节有关,因为相关

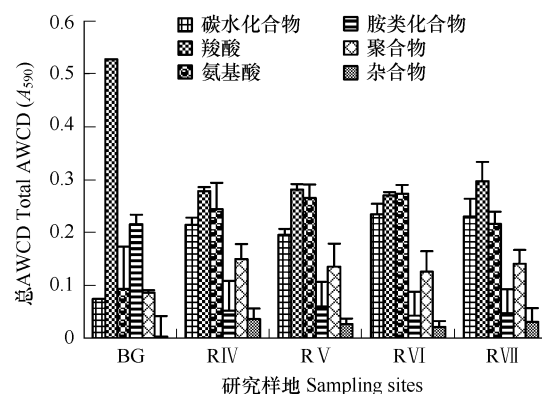


图 4 5 个研究样地中土壤微生物对 6 类碳源利用的 AWCD

Fig. 4 The AWCD utilized by soil-microbial community across 5 sampling sites

图中数据的总体方差为 total ANOVA of data in the figure are: 碳水化合物 carbohydrates - $F = 3.45$, $P = 0.034$; 羧酸 carboxylic acid - $F = 1.310$, $P = 0.305$; 氨基酸 amino acid - $F = 8.39$, $P = 0.001$; 聚合物 polymers - $F = 0.512$, $P = 0.728$; 胺类 amines - $F = 1.023$, $P = 0.424$; 杂合物 miscellaneous - $F = 1.86$, $P = 0.163$

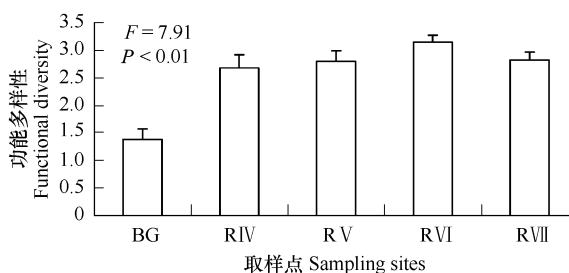


图 5 土壤微生物群落功能多样性在 5 个研究样地中的变化

Fig. 5 Changes in the functional diversity of soil-microbial community across 5 sampling sites

分析表明,导致土壤微生物生物量碳、氮和基础呼吸变化的环境因素主要包括凋落物积累量,根际土壤中的有机碳、总氮、总磷含量、pH、总铜和 DTPA 可提取铜含量。这说明尽管重金属污染裸地已被植被恢复 4~7a 的时间,但在土壤营养供应方面,土壤有机碳、总氮和总磷的积累以及土壤酸度的改善对土壤微生物生长仍然是重要的,建议在植被恢复的后期管理过程中施加一些含氮、磷量高的有机肥是必须的。已有的一些研究表明:土壤重金属对土壤微生物生长繁殖具有明显的抑制作用^[41~43]。然而,上述微生物指标在 5 个研究样地中的变化并没有与土壤重金属的变化表现出任何负相关,这与 Anand 等^[44] 和 Schipper 和 Lee^[34] 的研究结果类似,他们认为这一现象是由于土壤微生物对土壤重金属长期污染适应的结果。

目前用 CLPP 评估土壤微生物群落与环境扰动之间关系所获得的结果是互相矛盾的。如一些研究者^[9,18] 认为 CLPP 指纹对环境扰动不敏感,因而无法提供对微生物群落自然本质的基本认识。另外一些学者认为 CLPP 指纹对于了解重金属、污染土壤修复对微生物群落的影响是有价值的^[41]。在目前研究中,4 个恢复样地中的根际微生物群落在 Ecoplate 中具有相对较短的潜伏期,而未恢复裸地的微生物群落具有很长的潜伏期。这一结果与 Kelly 等^[11] 的结果是一致的。他们认为这种现象一方面与裸地中较低的微生物种类丰富度有关,另一方面也可能是由于裸地接种悬液中的重金属离子具有较大的可溶性造成的。另外,随着培养时间的变化,所有恢复样地的 AWCD 值在整个培养过程中均显著地高于未恢复裸地,这与植物根系分泌物促进微生物的生长繁殖,提高微生物活性有关。Gremion 等^[45] 和 Zhang 等^[22] 最近的研究也得出了同样的结论。

5 个研究样地中土壤微生物群落对 Ecoplate 板中的 6 类碳源的利用强度展示了较大差异。其中土壤微生物群落对羧酸类与胺类化合物的利用强度在 4 个恢复样地中均显著低于未恢复裸地,说明这两类化合物是裸地土壤中微生物可利用的最重要碳源和能源。而土壤微生物群落对碳水化合物、氨基酸、聚合物和杂合物的利用强度在 4 个恢复样地中均显著高于未恢复裸地,这不仅表明植被恢复显著性地促进了与碳水化合物、氨基酸、聚合物和杂合物利用有关的土壤微生物优势种组成的演替,而且也加快了土壤亚系统的碳素循环,尤其是难降解有机物(聚合物和杂合物)的循环。进一步的 Pearson 相关分析表明:5 个样地微生物群落对碳水化合物、氨基酸和杂合物的利用强度受凋落物积累量与土壤环境因素(有机碳、总氮、磷含量、pH、离子交换量、DTPA 可提取镉、锌含量、总镉、DTPA 可提取铜含量)的影响较大,而 5 个样地土壤微生物群落对羧酸、胺类化合物和聚合物的利用强度受环境因素的调节作用较小。这进一步证明了土壤微生物群落的组成是及其复杂的,各个组成成分不可能以相同或相似的方式对土壤扰动做出一致性反应的观点^[44, 46]。

4 个恢复样地中的根际微生物群落功能多样性分别显著地大于未恢复裸地,表明植被恢复显著地促进了微生物群落对碳源的利用^[45, 47, 48]。然而 4 个恢复样地中的根际微生物群落功能多样性却差异不显著,这可能与土壤环境因素的调节有关,因为相关分析表明:5 个样地中的微生物群落功能多样性的变化主要与凋落物积累量,根际土壤中的总氮、总磷含量、pH 和 DTPA 可提取铜含量有关。值得注意的是微生物群落功能多样性与植物凋落物积累量呈显著性正相关,这可能说明随着植被恢复年龄的变化,泡桐根系分泌物以及凋落物中的碳源在组成和数量方面发生了不同程度的变化,进而控制着微生物群落对 Ecoplate 板中不同碳源的利用能力发生了相应的改变^[19, 49]。另一方面根际土壤微生物群落功能多样性的变化没有与土壤重金属含量展示任何负相关,这与以前对泡桐根围土壤微生物群落功能多样性的研究结果类似^[22],可能与土壤微生物群落在长期重金属污染的土壤中所发展出的耐性或抗性有关^[34, 44]。

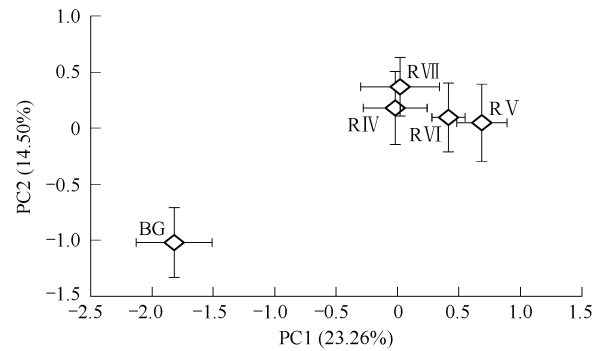


图6 基于土壤微生物群落 CLPP 指纹分析 5 个研究样地的主分量排序

Fig. 6 The PCA ordination of 5 sampling sites based on the CLPP profiles of the soil-microbial community

CLPP 指纹的主分量分析清楚地表明:沿着 PC1 轴,植被恢复与未恢复裸地土壤微生物群落存在着显著性的差异,进而表明了植被恢复对土壤微生物群落演替的推动作用。然而,4 个植被恢复样地的土壤微生物群落对 Ecoplate 中的碳源利用之间却差异不显著,这一方面表明在植被恢复初级阶段,恢复时间跨度并不是一个重要的土壤微生物群落影响因子,另一方面也可能说明 CLPP 指纹并没有较明显地区分植被恢复样地,这与 Campbell 等^[49]的研究结果相一致。在他们的研究中,选择了 9 个具有不同经纬度的研究地点,每个研究地点选择了 3 种植被类型。典范变量分析(canonical variate analysis)表明根际微生物群落的 CLPP 指纹没能显著地区分植被类型,而是显著地区分了土壤类型。另一些学者的研究中也发现了类似的现象^[19, 24, 50]。另一方面,由于 RVI 和 RVII 样地较 RIV 和 RV 样地恢复时间长,设想是 RVI 和 RVII 样地应该沿着 PC1 轴的正方向处于主分量图的最右侧,展示其应有的恢复时间顺序,但实际上这两个样地却滞后于 RIV 和 RV 样地。已发表的关于植被恢复条件下根围土壤微生物群落 CLPP 指纹的 PCA 分析也表明了类似的现象。Kelly 等^[11]利用磷脂脂肪酸技术(PLFA)对重金属污染土壤修复条件下微生物群落结构进行了研究,结果也表明恢复较早样地的微生物群落结构滞后于恢复较晚的样地,他们将这一现象归因于恢复较早样地的 pH 降低导致重金属毒性的提高。恢复较早样地(RVI 和 RVII)土壤中均有较高的 pH,所以 pH 不可能是产生上述现象的主要原因。而一些其它的土壤环境因素,如凋落物积累量、土壤有机碳、总氮、磷含量在恢复较早样地土壤中的降低和 4 种重金属含量不同程度地提高可能是产生上述现象的主要原因。

总之,以泡桐为优势种的植被恢复显著地改善了重金属污染裸地根际土壤的营养状况,提高了土壤的 pH,有效地限制了土壤重金属向周边环境的扩散。类似地,尽管恢复样地中根际土壤微生物生物量、基础呼吸和微生物群落功能多样性没有随着植被恢复年龄呈现一致性提高的趋势,但都显著高于未恢复裸地。土壤微生物生物量、基础呼吸和微生物群落功能多样性与凋落物积累量,根际土壤中的有机碳、总氮、总磷含量、pH 变化存在密切关系,进而表明这些微生物指标可以作为植被恢复对土壤质量改善的指标。同时上述微生物指标不仅没有与土壤重金属含量呈现显著负相关,相反还与一些重金属含量如铜、镉和锌呈正相关,说明土壤微生物在长期重金属污染的土壤中已演化出较强的重金属耐性或抗性。

References:

- [1] Vangronsveld J, Van Assche F, Clijsters H. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non-ferrous metals: in situ metal immobilization and revegetation. *Environmental Pollution*, 1995, 87: 51—59.
- [2] Harris J A. Measurements of the soil microbial community for estimating the success of restoration. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54: 801—808.
- [3] Waisel Y, Eshel A, Kafkafi U. *Plant Roots. The Hidden Half*. Marcel Dekker, New York, 1991. 641—649.
- [4] Marques R, Ranger J, Vilette S, *et al.* Nutrient dynamics in a chronosequence of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb.) Franco) stands on the Beaujolais Mounts (France). 2: quantitative approach. *Forest Ecology and Management*, 1997, 92: 167—197.
- [5] Baudoin E, Benizri E, Guckert A. Impact of growth stage on the bacterial community structure along maize roots, as determined by metabolic and genetic fingerprinting. *Applied Soil Ecology*, 2002, 19: 135—145.
- [6] Morse C C, Yevdokimov I V, DeLuca T H. *In situ* extraction of rhizosphere organic compounds from contrasting plant communities. *Soil Science & Plant Analysis*, 2000, 31: 725—742.
- [7] Grayston S J and Campbell C D. Functional biodiversity of microbial communities in the rhizosphere of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree Physiology*, 1996, 16: 1031—1038.
- [8] Caravaca F, Alguacil M M, Figueroa D, *et al.* Re-establishment of *Retama sphaerocarpa* as a target species for reclamation of soil physical and biological properties in a semiarid Mediterranean land. *Forest Ecology & Management*, 2003, 182: 49—58.
- [9] Waldrop M, Balser T, Firestone M. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 1837—1846.
- [10] Mummey D L, Stahl P D, Buyer J S. Microbial biomarkers as an indicator of ecosystem recovery following surface mine reclamation. *Applied Soil Ecology*, 2002, 21: 251—259.
- [11] Kelly J J, Häggblom M M, Tate R L. Effects of heavy metal contamination and remediation on soil microbial communities in the vicinity of a zinc

- smelter as indicated by analysis of microbial community phospholipid fatty acid profiles. *Biology & Fertility of Soils*, 2003, 38: 65—71.
- [12] Anderson T H, Domsch K H. Ratios of microbial biomass carbon to total carbon in arable soil. *Soil Biology & Biochemistry*, 1989, 21: 471—479.
- [13] Jenkinson D S. Determination of microbial carbon and nitrogen in soil. In: J. B. Whilson. ed. *Advances in Nitrogen Cycling*, CAB International, Wallingford, UK, 1988. 368—386.
- [14] Pascual J A, Garcia C, Hernandez T, *et al.* Soil microbial activity as a biomarker of degradation and remediation processes. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32: 1877—1883.
- [15] Margesin R, Zimmerbauer A, Schinner F. Monitoring of bioremediation by soil biological activities. *Chemosphere*, 2000, 40: 339—346.
- [16] Chew I, Obbard J P, Stanforth R R. Microbial cellulose decomposition in soils from a rifle range contaminated with heavy metals. *Environmental Pollution*, 2001, 111: 367—375.
- [17] Fritze H, Perkiömäki J, Saarela U, *et al.* Effect of Cd containing wood ash on the microflora of coniferous forest humus. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 32: 43—51.
- [18] Pennanen T, Perkiömäki J, Kiikkilä O, *et al.* Prolonged, simulated acid rain and heavy metal deposition; separated and combined effects on forest soil microbial community structure. *FEMS Microbiology Ecology*, 1998, 27: 291—300.
- [19] Chabrierie O, Laval K, Puget P, *et al.* Relationship between plant and soil microbial communities along a successional gradient in a chalk grassland in north-western France. *Applied Soil Ecology*, 2003, 24: 43—56.
- [20] Carpenter S B. This “Princess” heals disturbed land. *American Forests*, 1977, 83: 22—23.
- [21] Zhang C B, Huang L N, Wong M H, *et al.* Characterization of soil physico chemical and microbial parameters after revegetation near Shaoguan Pb/Zn Smelter, Guangdong, P. R. China. *Water, Air, and Soil Pollution*, 2006, 177, 81—101.
- [22] Zhang C B, Huang L N, Shu W S, *et al.* Structural and functional diversity of a culturable bacterial community during the early stages of revegetation near a Pb/Zn smelter in Guangdong, PR China. *Ecological Engineering*, 2007, 30: 16—26.
- [23] Sparling G P and West A W. A direct extraction method to estimate soil microbial C; Calibration in situ using microbial respiration and ^{14}C labeled cells. *Soil Biology & Biochemistry*, 1988, 20: 337—343.
- [24] Joergensen K G and Brookes P C. Nihydrin reactive nitrogen measurements of microbial biomass in 0.5 M K_2SO_4 soil extracts. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 22: 1023—1027.
- [25] Isermayer H. Eine einfache methode zur bestimmung der bodenalmung und der carbonate im boden. *Z Pflanzenernaehr. Bodenk*, 1952, 56: 26—38.
- [26] Zak J C, Willig M R, Moorhead D L, *et al.* Functional diversity of microbial communities; a quantitative approach. *Soil Biology & Biochemistry*, 1994, 26: 1101—1108.
- [27] Nelson D W and Sommers L E. Total carbon, organic carbon and organic matter. In: *Methods of Soil Analysis, Part 2, 2nd Edition, Agronomy Monograph 9*. Ed. Page A L ASA and SSSA, Madison, WI. 1982. 539—579.
- [28] Bremner J M and Mulvaney C S. Total nitrogen. In: Page A L ed. *Methods of Soil Analysis, Part 2, 2nd Edition, Agronomy Monograph 9*. ASA and SSSA, Madison, WI, 1982. 595—624.
- [29] Bray R H, Kurtz L T. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil. *Soil Science*, 1945, 59: 39—45.
- [30] Smith J L, Doran J W. Measurement and use of pH and electrical conductivity for soil quality analysis. In: Doran J W, ed. *Methods for Assessing Soil Quality*. Jones A J SSSA Special Publication 35, Madison, WI. 1996. 169—185.
- [31] Institute of Soil Science, the Chinese Academy of Science. *Soil physical and chemical analysis*. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1978.
- [32] McGrath S P and Cunliffe C H. A simplified method for the extraction of the metals Fe, Zn, Cu, Ni, Cd, Pb Cr, Co and Mn from soils and sewage sludges. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 1985, 36: 794—798.
- [33] Page A L, Miller R H, Keeney D R. *Methods of Soil Analysis Chemical and Microbiological Properties*. Madison, Wisconsin, 1982.
- [34] Schipper L A and Lee W G. Microbial biomass, respiration and diversity in ultramafic soils of WestDome, New Zealand. *Plant & Soil*, 2004, 262: 151—158.
- [35] Cerd A. The effect of patchy distribution of *Stipa tenacissima* L. on runoff and erosions. *Journal of Arid Environment*, 1997, 36: 37—51.
- [36] Singh A N, Raghubanshi A S, Singh J S. Comparative performance and restoration potential of two *Albizia* species planted on mine spoil in a dry tropical region, India. *Ecological Engineering*, 2004, 22: 123—140.
- [37] Dupuy N and Douay F. Infrared and chemometrics study of the interaction between heavy metals and organic matter in soils. *Spectrochemistry Acta A*, 2002, 57: 1037—1047.
- [38] Zimmermann S, Frey B. Soil respiration and microbial properties in an acid forest soil; effects of wood ash. *Soil Biology & Biochemistry*, 2002, 34: 1727—1732.

- [39] Smith F C, Johnson A H, Dranoff M, *et al.* Biomass and nutrient accumulation during a natural forestation of iron smelting slag. *Restoration Ecology*, 1997, 1: 56—65.
- [40] Vangronsveld J, Colpaert J V, Van Tichelen K K. Reclamation of a bare industrial area contaminated by non ferrous metals: Physico chemical and biological evaluation of the durability of soil treatment and revegetation. *Environmental Pollution*, 1996, 2: 131—140.
- [41] Knight B P, McGrath S P, Chaudri A M. Biomass carbon measurements and substrate utilization patterns of microbial populations from soil amended with cadmium, copper, or zinc. *Applied & Environmental Microbiology*, 1997, 63: 39—43.
- [42] Aceves M B, Grace C, Ansorena J, *et al.* Soil microbial biomass and organic C in a gradient of zinc concentrations in soils around a mine spoil tip. *Soil Biology & Biochemistry*, 1999, 31: 867—876.
- [43] Simona C, Floraangela R, Amalia V S. Suitability of soil microbial parameters as indicators of heavy metal pollution. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2004, 158: 21—35.
- [44] Anand M, Ma K M, Okonsk A, *et al.* Characterising biocomplexity and soil microbial dynamics along a smelter damaged landscape gradient. *Science of the Total Environment*, 2003, 311: 247—259.
- [45] 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. *Microbiology Ecology*, 2004, 48: 273—283.
- [46] Vig K, Megharaj M, Sethunathan N, *et al.* Bioavailability and toxicity of cadmium to microorganisms and their activities in soil: a review', *Advances of Environmental Research*, 2003, 8: 121—135.
- [47] Yao H Y, Xu J M, Huang C Y. Substrate utilization pattern, biomass and activity of microbial communities in a sequence of heavy metal-polluted paddy soils. *Geoderma*, 2003, 115: 139—148.
- [48] Moynahan O S, Zabinski C A, Gannon J E. Microbial community structure and carbon-utilization diversity in a mine tailings revegetation study. *Restoration Ecology*, 2002, 10: 77—87.
- [49] Campbell C D, Grayston S J, Hirst D J. Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon source tests to discriminate soil microbial communities. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30: 33—41.
- [50] Söderberg K H, Probanza A, Jumpponen A, *et al.* The microbial community in the rhizosphere determined by community-level physiological profiles (CLPP) and direct soil and PLFA techniques. *Applied Soil Ecology*, 2004, 25: 135—145.

参考文献:

- [31] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析. 上海: 上海科学技术出版社, 1978.