

大气 CO₂ 与吡虫啉对甘蓝土壤细菌与微生物生物量 C 的影响

姚艳红^{1,2}, 戈峰², 沈佐锐^{1,*}

(1. 中国农业大学农学及生物技术学院, 北京 100193; 2. 中国科学院动物研究所, 北京 100101)

摘要: 采用田间开顶式 CO₂ 控制气室 (OTC), 研究了 375 μL/L、750 μL/L 两个 CO₂ 浓度和 CK、LC₅₀、LC₉₀ 3 种吡虫啉浓度处理条件下, 甘蓝根际土壤细菌与非根际土壤微生物生物量 C 的变化。750 μL/L CO₂ 处理对甘蓝根际细菌数量显著增加 ($P < 0.01$), 而在同一 CO₂ 水平下各农药处理间并无显著差异; 根区土壤微生物生物量 C 只有在 750 μL/L CO₂ 且无吡虫啉处理的条件下显著 ($P < 0.05$) 下降, 在 LC₅₀、LC₉₀ 处理的影响下并不显著。同一 CO₂ 水平下, 根区土壤微生物生物量 C 受农药处理的影响不明显。

关键词: CO₂ 浓度升高; 吡虫啉; 甘蓝; 细菌; 微生物生物量 C

Effect of elevated CO₂ concentration and imidacloprid on culturable bacteria and microbial biomass carbon in cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *capitata*) soil

YAO Yanhong^{1,2}, GE Feng², SHEN Zuorui^{1,*}

1 College of Agriculture and Biotechnology, China Agriculture University, Beijing 100193, China

2 Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

Abstract: Responses of bacteria in the presence rhizosphere soil and soil microbial biomass carbon in non-rhizosphere cabbage to elevated CO₂ and three concentrations of imidacloprid were examined in the open-top chambers (OTC). Numbers of bacteria in rhizosphere soil increased significantly ($P < 0.01$) with elevated CO₂ but imidacloprid had no effect on bacteria. Microbial biomass carbon was lower in non-rhizosphere of cabbage under elevated CO₂ than ambient CO₂ concentrations when imidacloprid was not applied. Regardless of CO₂ levels, imidacloprid affects were not significant for the numbers of bacteria in rhizosphere soil.

Key Words: elevated CO₂ concentration; imidacloprid; cabbage; bacteria; soil microbial biomass C

已有的资料显示, 大气 CO₂ 浓度已从工业革命前的 280 μL/L 升高到现在的 380 μL/L, 且近 10a 来以每年 1.9 μL/L 的速度递增^[1]。CO₂ 是植物进行光合作用的原材料之一。已有大量研究表明, 大气 CO₂ 浓度升高不但影响植物的生长和生物量, 而且改变其化学组分和营养品质, 如降低这些组织的含氮量, 使 C/N 比增加, 甚至改变了其氨基酸含量和组成^[2-3]。在过去, 高浓度 CO₂ 对植物的研究主要涉及到的是地上生态系统的研究; 而近年来, 地下生态学研究也逐步深入, 有关大气 CO₂ 浓度升高通过改变植物的生长而间接来影响土壤微生物的群落以及土壤微生物生物量的研究报道增多。大部分研究表明, 大气 CO₂ 浓度升高对细菌数量起促进作用^[8], 对根际和非根际土壤微生物量 C、N 的影响不稳定^[4-7]。这可能是由于植物种之间特性的差异将会导致

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30770382); 国家公益性行业科研专项经费资助项目 (200803005); 国家科技支撑计划资助项目 (2006BAD08A07-3-2)

收稿日期: 2008-09-22; 修订日期: 2009-01-21

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ipmist @ 163.com

其土壤微生物生物量 C 之间会存在很大的差异,另外,在高浓度 CO₂条件下根系分泌物组分及其可能的化学结构变化也可能使根系分泌物不能为众多微生物所利用^[9-10]。

化学防治是目前害虫防治中的一个重要的手段。每年我国使用杀虫剂 30 万 t 原药。已有研究表明,化学农药对土壤微生物群落也具有很大的影响,如陆维忠等发现化学农药对土壤微生物群落的影响。但由于化学农药的长期使用,土壤微生物群落也慢慢形成了一套适应化学农药污染的机制,主要是土壤微生物能耐受或降解化学农药^[11-16]。本文要研究的吡虫啉是一种内吸性杀虫剂,主要防治作物上的刺吸式害虫。并且具有内吸、胃毒、拒食、驱避作用,持效期较长,广谱杀虫的特点。目前,在大气 CO₂浓度升高下,化学农药对土壤微生物群落影响如何,国内外都未有报道。本文以大气 CO₂和吡虫啉为双重胁迫因子,通过在大气 CO₂浓度升高下,研究不同浓度吡虫啉农药的使用对甘蓝根际土壤细菌数量和根区土壤微生物生物量 C 影响,探讨根际和根区土壤微生物对高浓度 CO₂的响应规律。

1 材料与方法

1.1 试验处理与设置

本试验在中国科学院动物研究所北京香屯全球气候变化研究基地进行。按照国际研究惯例,实验设目前大气 CO₂浓度(Ambient 约 375 μL/L)和未来加倍大气 CO₂浓度(Elevated 750 μL/L)两个大气 CO₂浓度处理。采用 8 个开顶式 CO₂控制气室(Open-top chamber, OTC),其中 4 个通加倍大气 CO₂浓度,使开顶式气室内大气 CO₂浓度维持在 750 μL/L;另外 4 个保持与周围环境 CO₂浓度一致(约 375 μL/L)。CO₂浓度控制为自动控制系统,由 7 部分组成^[17]。

于 2008 年 3 月 1 日,将甘蓝(*Brassica oleracea* L. var. *capitata*)的种子播种于的盆钵中,待出苗后带土移栽至直径为 12.5 cm,高 11 cm 的盆钵中,每盆 1 株,每 OTC 中 9 盆,即总共 72 株甘蓝种在 2 个大气 CO₂浓度处理的 8 个 OTC 中。当甘蓝在 OTC 中通气生长 30 d 后,于 5 月 7 日对甘蓝分别进行 CK、LC₅₀、LC₉₀ 的 3 个浓度的吡虫啉农药处理。毒力测定预实验采用 FAO 推荐的浸渍法^[18],将吡虫啉原药用丙酮配制成质量分数为 1% 的母液,其 CK、LC₅₀、LC₉₀ 的吡虫啉浓度分别为取 0, 0.32, 2.52 ml 母液,用 400 ml 去离子水配成。每株甘蓝喷 5 次。每种浓度在每个 OTC 中各处理 3 盆。移栽土壤均取自本基地的大田表层土壤,为保证甘蓝的正常营养需求常规施肥。培养中采用自然光照,每隔 1 d 浇水 1 次^[19]。

1.2 样品收集及保存

1.2.1 土壤取样

自对甘蓝进行 CK、LC₅₀、LC₉₀ 的 3 个浓度的吡虫啉农药处理后 30 d,对每个处理的根际土样进行采样。总共取样 1 次,根际土样(通常把围绕根 5 mm 以内的土壤称为根际土)的采集方法采用抖落法,将抖落下的土样装于自封袋中,4℃ 储存,直至测定土壤细菌;根区土的采集是将整盆土混匀,取适量土壤存于自封袋中,4℃ 储存,直至测定土壤微生物生物量 C。

1.2.2 将甘蓝的根洗净,晾干,称总生物量;然后将根剪下,分别称鲜重和根重,置于封装袋中, -20℃ 保存。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 甘蓝总碳的测定

将新鲜甘蓝置于 60℃ 恒温烘干箱中(60℃, 72 h)烘至恒重,研磨,取样品 0.12 g,采用 DNS 法测定甘蓝总糖^[20],分光光度计比色,然后换算为总 C 的含量。

1.3.2 甘蓝总 N 的测定

称取上述烘干研磨后的甘蓝粉末 0.1 g,采用凯氏定氮法测定甘蓝总 N,盐酸标准品滴定。

1.3.3 土壤细菌数量

采用 CFU 菌落计数法,即用稀释平板法,每个处理选择 3 个浓度,每个浓度做 3 个平板重复,各接 100 μL 根际土壤悬浮液,计算 CFU 菌落数量。细菌采用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基(pH 7.0—7.2),在 28—30℃ 恒温培养箱中保湿培养,36—48 h 后观察计数。

1.3.4 土壤微生物生物量 C

采用氯仿熏蒸, 0.5 mol/L 硫酸钾浸提法, 浸提液采用浓硫酸重铬酸钾氧化、硫酸亚铁滴定法测定微生物生物量 C^[21]。

(1) 氯仿熏蒸处理 称取相当于烘干土重 20 g 的湿土, 放入 100 mL 的小烧杯中, 连同盛有 60 mL 左右的去掉酒精的重蒸氯仿的小烧杯, 一起放入真空干燥器内, 真空干燥器底部加入少量水和稀碱 (1 mol/L NaOH)。用真空泵抽真空, 使氯仿沸腾, 并持续 2 min, 关闭真空干燥器的阀门, 将干燥器放入 25℃ 的生化培养箱中, 培养 24 h。24 h 后取出氯仿, 除尽干燥器底部的碱, 再用真空泵反复抽气, 直到将氯仿抽尽为止。再加入 0.5 mol/L 硫酸钾溶液 (土水比为 1:2), 于 25℃、200 r/min 振荡 30 min 后迅速用中速滤纸过滤, 滤液立即进行 C 的测定。在熏蒸开始时, 取等量土样做对照。

(2) 浸提液 C 的测定 吸取 10 mL 浸提液于 150 mL 消煮管, 加入 10 mL 的 0.018 mol/L 的 $K_2Cr_2O_7-H_2SO_4$ 溶液 (硫酸浓度为 12 mol/L), 放入一些抗暴沸物质, 摇匀后置于 (175 ± 1)℃ 的油浴中煮沸 10 min, 冷却后将溶液转移到三角瓶中, 用蒸馏水冲洗消煮管, 使最后总体积约为 80 mL 左右, 加 1 滴邻啡罗指示剂, 用 0.5 mol/L 硫酸亚铁溶液滴定至终点。

微生物生物量 C 的计算: $C(\text{mg/kg}) = 2.64 \times Ec$

式中, Ec 为熏蒸与不熏蒸土壤中有机 C 的差值, 2.64 为校正系数。

土壤有机 C 的计算: 有机 C 量 (mg/kg) = $0.012/4 \times 106 \times M(V_0 - V) \times f/w$

式中, M 为硫酸亚铁溶液的浓度 mol/L; V_0 为滴定空白所消耗的硫酸亚铁溶液的体积 (mL); V 为滴定土样所消耗的硫酸亚铁溶液的体积 (mL); f 为稀释倍数; W 为烘干土重 (g); 0.012 为 C 的毫摩尔质量 (g); 106 为换算系数。

1.4 统计分析

采用裂区设计的分析方法, 以 CO_2 浓度为主因子, 吡虫啉农药处理为次要因子, ANOVA 双因子方差分析大气 CO_2 浓度和农药处理对甘蓝土壤细菌和微生物生物量 C 的影响。处理间的差异显著性采用 LSD 检验。

2 结果与分析

2.1 高浓度 CO_2 及吡虫啉对甘蓝 C、N 含量及其生物量的影响

由表 1 可以表明, 在 CO_2 浓度升高的情况下, 甘蓝含 C 量有显著升高 ($df = 1, 36, F = 34.692, P < 0.000$), 氮含量显著降低 ($df = 1, 36, F = 5.143, P = 0.026$), 而 C/N 比也显著升高 ($df = 1, 36, F = 4.923, P = 0.029$); 地上部组织生物量及甘蓝总生物量都有显著升高 ($df = 1, 36, F = 34.692, P < 0.000$) ($df = 1, 36, F = 31.245, P < 0.000$), 地下部组织生物量也有一定程度的升高, 但是这种升高并不显著 ($df = 1, 36, F = 2.697, P = 0.104$)。在不同的化学农药处理下, 甘蓝含 C 量没有显著变化 ($df = 2, 24, F = 0.684, P = 0.564$), 氮含量随着农药浓度升高有显著降低 ($df = 2, 24, F = 7.015, P < 0.000$), 而 C/N 比有显著升高 ($df = 2, 24, F = 5.356, P = 0.002$); 上部组织生物量及甘蓝总生物量都无显著影响 ($df = 2, 24, F = 0.684, P = 0.564$) ($df = 2, 24, F = 0.665, P = 0.576$), 地下部组织生物量也有一定程度的升高, 但是这种升高并不显著 ($df = 2, 24, F = 3.050, P = 0.053$)。结果表明, 在大气 CO_2 浓度升高和吡虫啉双胁迫下, 甘蓝体内的各营养物质主要受 CO_2 浓度升高的影响, 而吡虫啉对其影响甚微。

2.2 高浓度 CO_2 和吡虫啉双胁迫对甘蓝根际土壤细菌数量的影响

CO_2 和吡虫啉对甘蓝根际土壤细菌数量的影响的 ANOVA 双因子方差分析图 1 表明, 大气 CO_2 浓度对甘蓝根际土壤细菌数量有显著的影响, 但农药浓度处理、大气 CO_2 浓度与农药浓度处理的交互作用对甘蓝根际土壤细菌数量没有显著的影响。大气 CO_2 浓度倍增下, 使 3 种农药浓度处理后的甘蓝根际土壤细菌数量极显著高于正常的大气 CO_2 浓度对照处理。但这种变化的趋势在吡虫啉浓度处理中表现不同, 当吡虫啉浓度处理为 LC_{50} 时, 甘蓝根际土壤细菌数量较其他两个浓度下增加得更快; 而同浓度 CO_2 水平下各吡虫啉处理对甘蓝根际土壤细菌数量的影响不显著。

表 1 高浓度 CO₂及吡虫啉对甘蓝体内营养物质和其生物量的影响

Table 1 Effect of elevated CO₂ and imidacloprid on nutrition and biomass of cabbage

项目 Item	清水对照 CK		致死中浓度 LC ₅₀		90%致死浓度 LC ₉₀	
	大气 CO ₂ 浓度	加倍 CO ₂ 浓度	大气 CO ₂ 浓度	加倍 CO ₂ 浓度	大气 CO ₂ 浓度	加倍 CO ₂ 浓度
	Ambient	Elevated	Ambient	Elevated	Ambient	Elevated
总 C Total C/(mg/g)	45.82 ± 3.23b, A	69.87 ± 6.18a, A	49.38 ± 3.14b, A	70.09 ± 6.30a, A	47.82 ± 3.67b, A	69.16 ± 6.79a, A
总 N Total N/(mg/g)	3.36 ± 0.82a, A	2.55 ± 0.32b, A	2.59 ± 0.314a, AB	1.93 ± 0.30a, AB	2.30 ± 0.31a, B	1.43 ± 0.30b, B
C/N The ratio of C to N	13.85 ± 1.14a, A	40.98 ± 11.72b, A	26.42 ± 6.51a, A	58.32 ± 18.81b, A	37.39 ± 12.78a, A	73.5 ± 15.20b, A
地上部组织生物量 Above-ground biomass/g	64.86 ± 1.90b, A	73.71 ± 3.02a, A	60.27 ± 3.81b, A	72.84 ± 3.57a, A	61.10 ± 2.96b, A	72.47 ± 3.89a, A
地下部组织生物量 Below-ground biomass/g	1.44 ± 0.21a, A	1.80 ± 0.20a, A	1.34 ± 0.19a, A	1.52 ± 0.19a, A	1.26 ± 0.12a, A	1.38 ± 0.08a, A
总生物量 Total biomass/g	66.30 ± 1.87b, A	75.51 ± 3.00a, A	61.61 ± 3.84b, A	74.36 ± 3.52a, A	62.35 ± 2.97b, A	73.85 ± 3.94a, A

每行中,不同小写字母代表的是同一农药水平下不同 CO₂处理间已达到显著水平,不同大写字母代表的是同一 CO₂水平下不同农药浓度处理间达到了显著水平($P < 0.05$)

2.3 高浓度 CO₂和吡虫啉双胁迫对甘蓝根区土壤微生物生物量 C 的影响

经 ANOVA 双因子方差分析(图 2)表明,大气 CO₂浓度对甘蓝根区土壤微生物生物量 C 有极显著影响,但农药浓度处理、大气 CO₂浓度与农药浓度处理的交互作用对甘蓝根区土壤微生物生物量 C 没有显著的影响。在 CO₂浓度倍增的条件下,只有在吡虫啉 CK 处理时甘蓝根区土壤微生物生物量 C 显著($P < 0.05$)降低,而其他的两个吡虫啉处理的甘蓝根区土壤微生物生物量 C 影响并不显著;当 CO₂水平一致时,但各吡虫啉处理之间根区土壤微生物生物量 C 的差异并不显著。

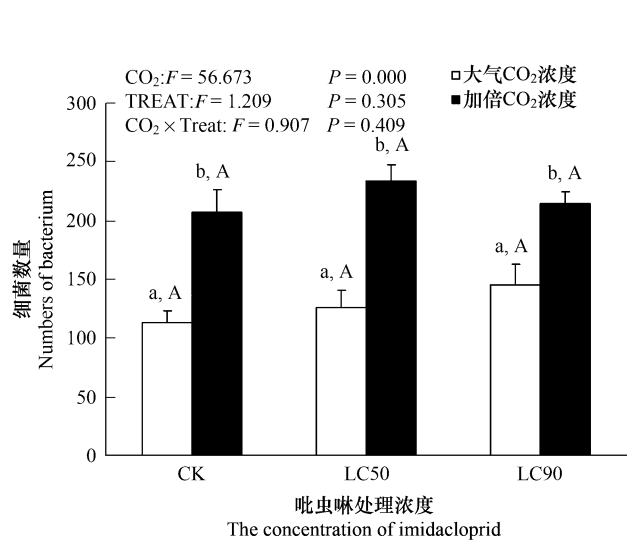


图 1 高浓度 CO₂和吡虫啉双胁迫对甘蓝土壤细菌的影响
Fig. 1 Effect of CO₂ and imidacloprid on soil bacterium associated with cabbage

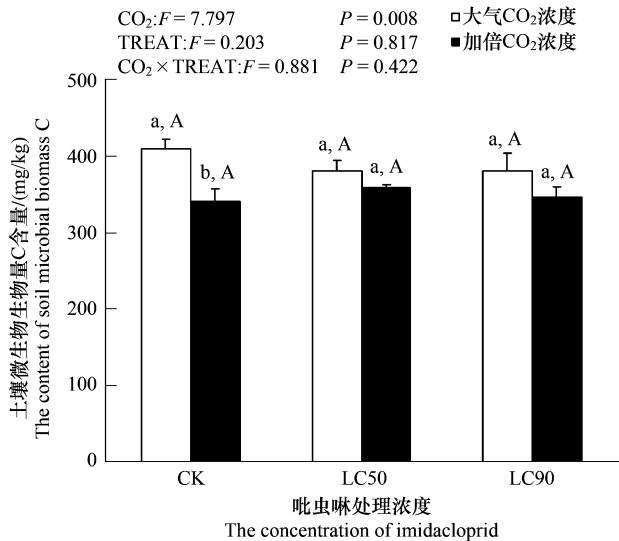


图 2 高浓度 CO₂和吡虫啉双胁迫对甘蓝土壤微生物生物量 C 的影响
Fig 2 Effect of CO₂ and imidacloprid on soil microbial biomass C associated with cabbage

3 讨论

土壤微生物在动植物残体的分解中起着非常重要的作用。土壤微生物生物量是指土壤中体积小于 5—10cm 的活的微生物总量,是土壤有机质中最为活跃及最易变化的部分^[22-23],它是土壤肥力的象征,可反映土壤养分有效性状况和土壤生物活性,是土壤质量与环境变化最为敏感的指示者^[24]。

本项研究表明,在 CO₂浓度升高的情况下,甘蓝含 C 量有显著升高,氮含量显著降低,而 C/N 比也显著升高。这主要是 CO₂作为植物进行光合作用的原材料之一,其浓度的升高有利于提高植物的光合作用和生产

力,然而,却并没有提高其品质,反而因为甘蓝体内的含 N 量下降,C/N 下降,从而导致甘蓝体内营养物质不均衡。这些变化对甘蓝土壤细菌数量有极显著增加的影响。换言之,甘蓝土壤细菌数量受高浓度 CO₂的影响较大,这可能与高浓度 CO₂条件下甘蓝根系生物量、根系分泌物、细根周转、地下碳分配量^[25]增加有关。根系分泌物的增加势必会影响根际土壤细菌 C、N 源在数量和结构等方面的改变^[26-28],从而可能会引起细菌数量发生变化。而在同一水平 CO₂浓度下,吡虫啉个浓度处理之间甘蓝土壤细菌数量的影响差异并不显著。产生这种现象的原因可能在于两个方面,一是吡虫啉农药可能转化为土壤中的营养物质,从而对甘蓝土壤细菌的影响较小;二是吡虫啉容易分解,其半衰期比较短,而且跟温度和作物种类有关,如:吡虫啉在烟叶中的消解半衰期为 3.98d,喷药后 15d,降解了 94.60%^[29];吡虫啉在麻黄上的半衰期约为 1.4d,衰减 90% 的时间约为 4.7d,10d 后未检出^[30]。

大气 CO₂浓度升高对土壤微生物生物量 C 有一定的影响,在没有农药处理时,CO₂浓度升高下的微生物生物量比正常下时要显著($P < 0.05$)下降。虽然其他两个浓度也有一定程度的下降,但没有达到显著水平。该结果与其他有关 CO₂对土壤微生物生物量的结果类似,如 Niklaus 等研究认为高浓度 CO₂对土壤微生物生物量及细菌和真菌比率几乎没有影响^[31];Lussenhop 等观察到:在 CO₂浓度升高条件下,根际微生物生物量出现无显著意义的下降(-15%—52%)^[32];而有些研究也表明,在 FACE 条件下,CO₂浓度升高对土壤微生物生物量 C 有显著的正效应^[4],所得的试验结果不同,可能与植物种类本身有很大关系,也与土壤本身的营养状况也有关。此外,在 CO₂浓度下,根系化学成分等的改变使得根系分泌物不能被微生物利用,另外,由于在高 CO₂浓度条件下,C 的输入增加,而 N 的利用率增加,导致土壤中可利用的 N 源减少,使微生物可利用的 N 源也受到限制。还有一个原因就是微生物生物量本来就存在高度的变异性(变异系数为 193%)^[33],这些因素都可能导致了土壤微生物生物量的下降。

本文第一次综合探讨了大气 CO₂和吡虫啉作为双重胁迫因子对其根际土壤细菌数量和根区土壤微生物生物量 C 进行研究,结果表明,细菌和土壤微生物生物量 C 受 CO₂浓度升高的影响比较大,而受目前农药使用浓度的影响小。

References:

- [1] IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). Climate Change 2007: The Physical Science Basis Summary for Policymakers. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Fuwa F, 1994. The handbook of the global environment. Tokyo: Asakura Publishing Co. Ltd. , 2007.
- [2] Tuchman N, Wetzel R, Rier S, Wahner K, Teeri J. Elevated atmospheric CO₂ lowers leaf litter nutritional quality for stream ecosystem food webs. *Global Change Biology*, 2002, 8 (2) : 163-170.
- [3] Poorter H, Berkel Y, Baxter R, Hertog J, Dijkstra P, Gifford R, Griffin K, Roumet C, Roy J, Wong S. The effects of elevated CO₂ on the chemical composition and construction costs of leaves of 27 C₃ species. *Plant Cell and Environment*, 1997, 20: 472-482.
- [4] Inubushi K, Hoque M M, Miura S, Kobayashi K, Kim H Y, Okada M, Yabashi. Effects of free-air CO₂ enrichment (FACE) on microbial biomass in paddy field soil. *Soil Science Plant Nutrien*, 2001, 47 (4) : 737-745.
- [5] Sowerby A, Blum H, Gray T R G, Ball A. The decomposition of *Lolium perenne* in soils exposed to elevated CO₂: Comparisons of mass loss of litter with soil respiration and soil microbial biomass. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32 (10) : 1359-1366.
- [6] Zak D R, Pregitzer K S, Curtis P S, Teeri J A, Fogel R, Randlett D L. Elevated atmospheric CO₂ and feedback between carbon and nitrogen cycles. *Plant and Soil*, 1993, 151 (1) : 105-117.
- [7] Jia X, Han S J, Zhao Y H, Zhou Y M. Response of soil microbial biomass carbon to elevated CO₂ associated with *Pinus koraiensis* and *P. sylvestris* var. *sylvestris* seedlings. *Journal of Northwest Forestry University*, 2006, 21 (5) : 43-46.
- [8] Jia X, Han S J, Zhou Y M, Zhang J H, Zou C J. Effects of CO₂ concentration on rhizosphere soil microbes under *Pinus koraiensis* and *Pinus sylvestris* seedlings. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16 (7) : 1295-1298.
- [9] Yang W Q, Wang K Y. Advances in forest soil enzymology. *Scientia Silvae Sinicae*, 2004, 40 (2) : 152-159.
- [10] Zeng C L, Wang X M, Zhang F S, Wang X R. Some views on the responses of C₃ plant and C₄ plant to the atmospheric concentration of CO₂ elevated. *Journal of Jiangnan University*, 2001, 18 (3) : 6-14.
- [11] Yan C R, Zhang X Q, Gao W, Lin X J. Ecological effects of chemical pesticides on the soil microorganisms and the adaptive mechanisms of the soil microorganisms to chemical pesticides. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2005, 2: 82-86.
- [12] Top E M, Springael D. The role of mobile genetic elements in bacterial adaptation to xenobiotic organic compounds. *Current Opinion in*

- Biotechnology, 2003, 14 (3): 262-269.
- [13] De Souza M L, Wackett L P, Sadowsky M J. The atzABC genes encoding atrazine catabolism are located on a self-transmissible plasmid in *Pseudomonas* sp. strain ADP. *Applied Environment Microbial*, 1998, 64 (6): 2323-2326.
- [14] Betsy M, Jeffrey T, Lawrence P W, Red W, Michael J S. Complete nucleotide sequence and organization of the atrazine catabolic plasmid pADP-1 from *Pseudomonas* sp. strain ADP. *J Bacteriol*, 2001, 183 (19): 5684-5697.
- [15] Dayananda S, Syed K, Baramanadam M, Suresh B P, Mike M. Transposon-like organization of the plasmid-borne organophosphate degradation (opd) gene cluster found in *Flavobacterium* sp. *Applied Environment Microbial*, 2003, 69 (5): 2533-2539.
- [16] Hofmann D, K1einstebur S, Muller RH, Babel W. Transposon encoding the complete 2,4-dichlorophenoxyacetic acid degradation pathway in the alkali-tolerant strain *Delftia acidovorans* Pa. *Microbiology*, 2003, 149: 2545-2556.
- [17] Chen F J, Ge F. A climatic for controlling CO₂ concentration CDCC-1 chamber. *Entomological Knowledge*, 2004, 41 (3): 279-281.
- [18] FAO. Recommended methods for measurement of pest resistance to pesticides. FAO Plant Production and Protection Paper 21 Rome: FAO, 1980: 103-106.
- [19] Wang X F, Li S Y, Bai K Z, Kuang T Y. Influence of double CO₂ on plant growth and soil microbial biomass C and N. *Acta Botanica Sinica*, 1998, 40 (12): 1169-1172.
- [20] Lin Q M, Wu Y G, Liu H L. Modification of fumigation extraction method for measuring soil microbial biomass carbon. *Chinese Journal of Ecology*, 1999, 18 (2): 63-66.
- [21] Hyung Joo Suh, Dong Ouk Noh, Yang Moon Choi. Solubilization of onion with polysaccharide-degrading enzymes. *International Journal of Food Science and Technology*, 2002, 37 (1): 65-71.
- [22] Chen G C, He Z L, Huang C Y. Turnover of microbial biomass C in red soil and its significance in soil fertility evaluation. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39 (2): 152-160.
- [23] Li Y, Huang G H, Shi Y. Effect of atmospheric CO₂ enrichment on soil microbes and related factors. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14 (12): 2321-2325.
- [24] Williams M A, Rice C W, Owensby C E. Carbon dynamics and microbial activity in tall grass prairie exposed to elevated CO₂ for 8 years. *Plant and Soil*, 2000, 227: 127-137.
- [25] Ogers H H, Runion G B. Plant responses to atmospheric CO₂ enrichment with emphasis on roots and the rhizosphere. *Environment Pollution*, 1994, 83: 155-189.
- [26] Kampichler C, Kandeler E, Richard D, Jones T H, Lindsey J T. Impact of elevated atmospheric CO₂ concentration on soil microbial biomass and activity in a complex weedy field model ecosystem. *Global Change Biology*, 1998, 4 (3): 335-346.
- [27] Niklaus P A. Effects of elevated atmospheric CO₂ on soil microbiota in calcareous grassland. *Global Change Biology*, 1998, 4 (4): 451-458.
- [28] Piedad M O, Robert M R, John G. The influence of plants grown under elevated CO₂ and N fertilization on soil nitrogen dynamics. *Global Change Biology*, 2002, 8 (7): 643-657.
- [29] Hua R M, Tang G L, Li X D, Tang F, Yue Y D. Degradation dynamics and combined effect of several pesticides in tobacco. *China Environmental Science*, 2003, 23 (4): 440-443.
- [30] Yu Q, Qin S, Wang X, Qiao X W. Dissipation of Acetamiprid and Imidacloprid under different temperature light and biological factors on phyllosphere of *Brassica Chinensis*. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2006, 8 (2): 147-151.
- [31] Niklaus P A, Alpehi J, Ebersberger D. Six years of in situ CO enrichment evoke changes in soil structure and soil biota of nutrient-poor grassland. *Global Change Biology*, 2003, 9 (4): 585-600.
- [32] Lussenhop J, Treonis A, Curtis P S, Teeri J A, Vogel C. Response of soil biota to elevated atmospheric CO₂ in poplar model systems. *Oecologia*, 1998, 113: 247-251.
- [33] Luo Y. Response of soil microorganism to elevated atmospheric CO₂ concentration. *Ecology and Environment*, 2003, 12 (3): 357-360.

参考文献:

- [7] 贾夏, 韩士杰, 赵永华, 周玉梅. CO₂ 干扰对红松和长白赤松幼苗土壤微生物量 C 的影响. *西北林学院学报*, 2006, 21 (5): 43-44.
- [8] 贾夏, 韩士杰, 周玉梅, 张军辉, 邹春静. 不同二氧化碳浓度条件下红松和长白赤松幼苗根际土壤微生物数量研究. *应用生态学报*, 2005, 16 (7): 1295-1298.
- [9] 杨万勤, 王开运. 森林土壤酶的研究进展. *林业研究*, 2004, 40 (2): 152-159.
- [10] 曾长立, 王晓明, 张福锁, 王兴仁. 浅析 C₃ 植物和 C₄ 植物对大气中 CO₂ 浓度升高条件下的反应. *江汉大学学报*, 2001, 18 (3): 6-14.
- [11] 颜春荣, 张晓强, 高巍, 刘贤进. 土壤微生物对化学农药的生态效应及其适应机制. *江苏农业科学*, 2005, 2: 82-86.
- [19] 汪杏芳, 李世仪, 白克智, 匡廷云. CO₂ 倍增对植物生长和土壤微生物生物量碳、氮的影响. *植物学报*, 1998, 40 (12): 1169-1172.
- [20] 林启美, 吴玉光, 刘焕龙. 熏蒸法测定土壤微生物生物量碳的改进. *生态学杂志*, 1999, 18 (2): 63-66.
- [22] 陈国潮, 何振立, 黄常勇. 红壤微生物生物量 C 周转及其研究. *土壤学报*, 2002, 39 (2): 152-160.
- [23] 李杨, 黄国宏, 史奕. 大气 CO₂ 浓度升高对农田土壤微生物及其相关因素的影响. *应用生态学报*, 2003, 14 (12): 2321-2325.
- [29] 花日茂, 汤桂兰, 李学德, 汤锋, 岳永德. 几种农药在烟草上的消解动态与复合效应. *中国环境科学*, 2003, 23 (4): 440-443.
- [30] 庾琴, 秦曙, 王霞, 乔雄梧. 温度、光照及生物因子对啉虫脒和吡虫啉在油菜叶面消解的影响. *农药学报*, 2006, 8 (2): 147-151.
- [33] 罗艳. 土壤微生物对大气 CO₂ 浓度升高的响应. *生态环境*, 2003, 12 (3): 357-360.