

DOI: 10.5846/stxb201304150707

张好, 郭爱玲, 崔烨, 冯莉, 田兴山, 吴丹丹. 培养条件下二氯喹啉酸对土壤微生物群落结构的影响. 生态学报, 2015, 35(3): 849-857.

Zhang Y, Guo A L, Cui Y, Feng L, Tian X S, Wu D D. Effect of quinclorac on soil microbial community structure under culture conditions. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(3): 849-857.

培养条件下二氯喹啉酸对土壤微生物群落结构的影响

张 好^{1,2}, 郭爱玲², 崔 烨¹, 冯 莉^{1,*}, 田兴山¹, 吴丹丹^{1,2}

1 广东省农业科学院植物保护研究所/广东省植物保护新技术重点实验室, 广州 510640

2 华中农业大学 食品科技学院, 武汉 430000

摘要:为探讨除草剂二氯喹啉酸对土壤微生物群落结构的影响,在 25℃ 黑暗培养条件下,采用磷脂脂肪酸法(Phospholipid Fatty Acid, PLFA)分析了二氯喹啉酸(0 对照、83.3 和 166.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 干土)处理对淹水和不淹水水田土壤微生物群落结构的影响。结果表明,在实验处理的 60 d 内,不淹水水田土壤在 83.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 二氯喹啉酸处理后对土壤微生物生物总量、细菌生物量及真菌生物量有抑制作用,而 166.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 二氯喹啉酸处理后各生物量指标均显著增加,但是两种浓度处理均使土壤真菌/细菌比值下降,说明二氯喹啉酸处理会使不淹水水田土壤微生物稳定性下降;淹水水田土壤在 83.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 二氯喹啉酸处理下,对土壤微生物生物总量和真菌生物量有促进作用,对细菌生物量有一定的抑制作用,166.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 二氯喹啉酸处理对土壤微生物生物总量、细菌及真菌生物量均有促进作用,从真菌/细菌比值上看,不同浓度处理与对照无显著差异,说明二氯喹啉酸对淹水生物稳定性无明显干扰。PLFA 主成分分析表明,不同浓度处理的两种土壤微生物群落均以含 14:0、15:0、16:0 和 18:2n6c 的微生物为优势种群。

关键词:二氯喹啉酸;土壤微生物群落;磷脂脂肪酸

Effect of quinclorac on soil microbial community structure under culture conditions

ZHANG Yu^{1,2}, GUO Ailing², CUI Ye¹, FENG Li^{1,*}, TIAN Xingshan¹, WU Dandan^{1,2}

1 Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Institute of Plant Protection, Guangdong Academy of Agricultural Sciences/ Guangzhou 510640, China

2 College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430000, China

Abstract: The soil microbial community controls the ecosystem functions of the soil. Changes in the soil microbial community can reflect changes in soil quality, and can be regarded as an early warning of changes in, and a sensitive indicator of the quality of, the soil ecosystem. Traditional methods for identifying soil microbes detect only 0.1%—10% of the microbes in the soil environment, and so they cannot accurately show the distribution of microorganisms in the soil. Phospholipid fatty acids (PLFAs) can be used as biomarkers to evaluate the diversity of the microbial community both qualitatively and quantitatively. The PLFA profiles differ among different groups of microbes, and PLFAs rapidly decompose after the death of microorganisms. Many researchers have found that the amount of PLFAs directly extracted from the soil can give an accurate estimate of the soil microbial biomass. Therefore, the aim of the present study was to explore the effects of the herbicide quinclorac on soil microbial community structures. Soil samples from non-flooded paddy soil and flooded paddy soil were supplemented with various concentrations of quinclorac [0 (control), 83.3, and 166.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ dry soil] and kept in the dark at 25°C for 60 days. The microbial community structures were then evaluated by PLFA analysis. Analyses of the

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项(201203098);广东省农业攻关项目(2012A020602028)

收稿日期:2013-04-15; 网络出版日期:2014-04-03

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: fenglid@126.com

PLFA profiles showed that quinclorac significantly affected the soil microbial community in both flooded and non-flooded paddy soils. In this study, the total PLFAs was considered to reflect the biomass of the microbial community; the bacterial biomass was reflected by the amount of 17-carbon ester chains, glycerol, and certain saturated and monounsaturated fatty acids (6:0, 11:0, 12:0, 13:0, 14:0, 14:1, 15:0, 15:1, 16:0, 16:1, 17:0, 17:1, 18:0, 20:0, 20:1, 22:0 and 22:1), while the fungal biomass was reflected by the amount of 18:1n9t, 18:1n9c, 18:2n6t, 18:2n6c, and 18:3n6. The non-flooded paddy soil treated with 83.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ quinclorac showed decreases in the total microbial biomass, fungal biomass, and bacterial biomass. The microbial populations were even more strongly inhibited in the non-flooded paddy soil treated with 166.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ quinclorac. Both concentrations of quinclorac resulted in decreased fungi/bacteria ratios in non-flooded paddy soil, which indicates that quinclorac treatments detrimentally affected the microbial stability of non-flooded paddy soil. For flooded paddy soil, treatment with 83.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ quinclorac enhanced the total microbial biomass and fungal biomass, but inhibited certain components of the bacterial biomass. In the 166.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ quinclorac treatment, the flooded paddy soil showed increased total microbial biomass, increased bacterial biomass, and increased fungal biomass. The fungi/bacteria ratios in flooded paddy soil in both of the quinclorac treatments did not differ from that of the control, which indicates that quinclorac did not interfere with the biological stability of flooded paddy soil. The PLFA principal component analysis indicated that the advantageous populations in both flooded paddy soil and non-flooded paddy soil were those containing 14:0, 15:0, 16:0, and 18:2n6c PLFAs. These findings could therefore be used to optimize soil microecological systems, and show that PLFA analysis is an accurate method to assess the diversity of the microbial community in soils.

Key Words: quinclorac; soil microbial community structure; phospholipid fatty acid

二氯喹啉酸属于喹啉羧酸类激素型选择性除草剂,可以有效的促进乙烯的生物合成,导致大量脱落酸的积累,使气孔缩小、水分蒸发减少、二氧化碳吸收减少、植物生长减慢^[1],是我国稻田主要除草剂品种之一。近几年水田改旱田中除草剂残留药害逐年增加,二氯喹啉酸潜在的环境风险已受到广泛的关注。

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,参与土壤中几乎一切生物和生物化学反应,对保持土壤生态方面起着重要作用^[2]。微生物在土壤中普遍存在,其对环境条件的变化反应敏捷而被认为是最有潜力的敏感性生物指标之一,也被推荐作为生态风险评估项目之一^[3]。除草剂喷施农田之后,绝大部分洒落于土壤中,从而对土壤微生物产生影响^[4]。到目前为止,已利用磷脂脂肪酸(Phospholipid Fatty Acid, PLFA)方法研究草甘膦、2,4-D 和阿特拉津等除草剂使用对土壤微生物群落的影响。然而,用 PLFA 法研究二氯喹啉酸施用对土壤微生物群落影响的报道较少。为了探索二氯喹啉酸对农田土壤的影响,本文以淹水和不淹水两种水田土壤为例,研究了不同浓度二氯喹啉酸对两种土壤微生态环境的影响,旨在为科学合理使用二氯喹啉酸提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

二氯喹啉酸,98%原药。

实验用土于 2012 年 5 月采自广东省农业科学院白云基地多年种植水稻的农田,取 0—20 cm 耕作层的土壤,混匀风干,过孔径为 2 mm 筛备用。试验前测定土壤的 pH 值为 5.8,有机质为 9.4 g/kg,水解性氮为 59.3 mg/kg,有效磷为 40.5 mg/kg,速效钾为 44.5 mg/kg。

1.2 土壤预培养

土壤预培养:定量取风干备用土壤,均匀喷洒蒸馏水,使土壤含水量约为 15%,于 25 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱中暗培养 2 周,稳定土壤微生物。

1.3 土壤处理

土壤处理参照 Petersen 等人的方法^[5]。不淹水水田土壤处理:取 2 kg 预培养土,按照二氯喹啉酸的田间推荐使用剂量,将 98% 二氯喹啉酸原药用丙酮溶解并用蒸馏水稀释,均匀喷洒到预培土中混匀,使二氯喹啉酸处理土壤的剂量分别为 83.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 干土和 166.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 干土。对照土样加入等量的丙酮和蒸馏水。分别取不同处理的土样 80 g 分装至玻璃管中,用透气性封口膜封口,避免水分蒸发。淹水水田土壤处理:按照上述不淹水水田土壤处理的方法,处理后每只玻璃管加 25 mL 水,使管中土壤水层高度在 3—5 cm,模拟淹水水田土壤,实验过程中,随时补水保持水层高度,以稳定和模拟淹水厌氧环境。

将分装土样的玻璃管置于 PGX-450PB-2 型恒温培养箱中暗培养,控制培养温度为 25 $^{\circ}\text{C}$,湿度为 60%,分别于处理后第 1、3、7、14、28、45、60 d 取样,每次取土壤 3 管作为重复,样品在 25 $^{\circ}\text{C}$ 空调风口下快速风干,并于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存待测。

1.4 磷脂脂肪酸分析(PLFA)

土壤磷脂脂肪酸的提取与纯化参考 Zaady 等人^[6]和吴愉萍^[7]的方法进行。(1)提取,称取样品 2.00 g (干重)于玻璃管中,分别加入氯仿、甲醇、磷酸盐缓冲溶液 4、8、3.6 mL,振荡 2 h,2500 r/min 离心 6 min。取上清液,沉淀再加入上述 3 种试剂一半的量,振摇 1 h,离心,取上清液,合并 2 次上清液,加入 3.6 mL 磷酸盐缓冲液和 4 mL 氯仿,剧烈振荡,暗处静置过夜。收集下层氯仿相,氮气吹干。(2)分离,使用 Supelclean Lc-Si 小柱,用 5 mL 氯仿活化,5 mL 氯仿溶解样品后注入小柱内,先后用 10 mL 氯仿、10 mL 丙酮、10 mL 甲醇洗脱,收集甲醇相,氮气吹干。(3)甲酯化,向上步样品中加入 1 mL 甲苯与甲醇的混合液(1:1)和 0.2 mol/L 氢氧化钠的甲醇溶液,于 35 $^{\circ}\text{C}$ 温育 15—20 min,冷却至室温后,加入 2 mL 己烷与氯仿的混合液(4:1)、0.3 mL 1 mol/L 乙酸和 2 mL 超纯水,加盖振摇数秒,2500 r/min 离心 5 min,收集上清液,向下层液中加入 2 mL 己烷与氯仿的混合液(4:1),离心,合并 2 次上清液,氮气吹干,-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

磷脂脂肪酸甲酯的测定采用气相色谱-串联质谱(Gas Chromatograph-Mass Spectrometer-computer, GC-MS)法测定。色谱柱 SP-2560, 100 m $\times$ 0.25 mm, ID, 0.20 μm , 进样量 1 mL, 分流比 100:1, 载气(氦气)流速 20 cm/min。程序升温:初始温度 140 $^{\circ}\text{C}$, 维持 5 min, 然后以 4 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升温至 240 $^{\circ}\text{C}$ 。以 Supelco 37 种磷脂脂肪酸甲酯混合标样作为外标物^[8]。分析定量:收集扫描(SCAN)与提取离子(SIM)2 种数据。SCAN 图谱用于定性, SIM 图用于定量。定量离子包括 55、74.1、79、87, 以响应值最高的为目标离子进行定量, 峰面积通过计算机自动积分。

以总磷脂脂肪酸的量表示微生物群落的生物量; 17 种含有酯链与甘油相连的饱和或单不饱和脂肪酸(6:0、11:0、12:0、13:0、14:0、14:1、15:0、15:1、16:0、16:1、17:0、17:1、18:0、20:0、20:1、22:0、22:1)表示细菌生物量; 18:1n9t、18:1n9c、18:2n6t、18:2n6c、18:3n6 表示真菌生物量^[8]。

1.5 数据分析

数据为 3 次重复的平均数, 以烘干土壤重计。采用 Excel 2003 和 SPSS 18.0 对数据进行方差分析和主成分分析。

2 结果与分析

2.1 二氯喹啉酸对土壤微生物 PLFA 总量的影响

二氯喹啉酸对土壤微生物总磷脂脂肪酸(PLFA)含量的影响随培养时间的变化趋势见图 1。在整个培养过程中, 166.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 二氯喹啉酸处理显著增加了不淹水和淹水水田土壤微生物总 PLFA 的含量, 在实验中期, 这种促进作用表现不明显; 而 83.3 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 二氯喹啉酸处理对土壤微生物总 PLFA 的影响呈波动状态, 在不淹水水田土壤中, 施药前期和后期会降低土壤微生物生物总量, 使用中期会有提高作用, 而淹水水田土壤中施药初期和后期对土壤微生物总生物量有促进, 而中期则表现为抑制。说明不同浓度二氯喹啉酸处理对土壤微生物总 PLFA 的影响不相同。整体上看, 高浓度农药比低浓度的对微生物生物量的促进作用更强, 一些研究

也表明除草剂增加了土壤微生物的生物量^[9-10]。

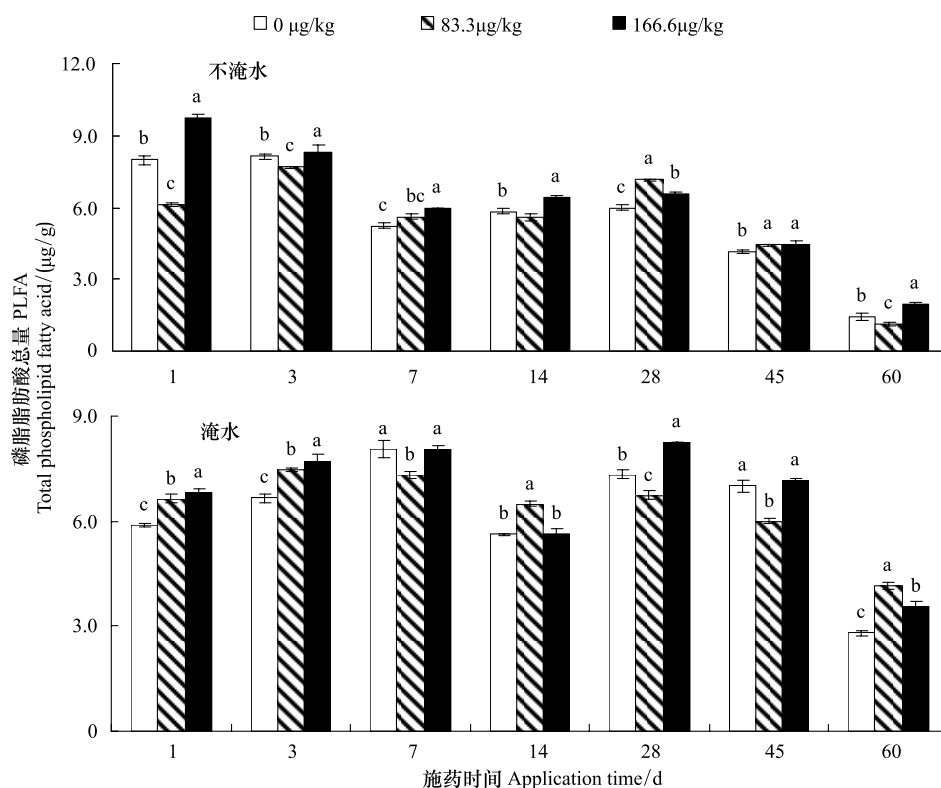


图1 60 d 培养期间土壤 PLFA 总量的变化

Fig.1 The total soil PLFA changes during the incubation period

每个处理时间内相同字母表示差异不显著 ($p < 0.05$)

2.2 二氯喹啉酸对土壤细菌生物量的影响

二氯喹啉酸对土壤细菌生物量的影响随培养时间的变化趋势见图 2。可以看出,在不淹水水田土壤中,二氯喹啉酸浓度较低时,在处理前期和后期会降低不淹水水田土壤细菌生物量,处理中期细菌生物量有增加,但这种增加并不显著;当二氯喹啉酸浓度较高时,其对土壤微生物总量的提高作用显著,这种促进作用在前期和中期较明显。在淹水培养中,二氯喹啉酸浓度较低时,降低淹水水田土壤细菌生物量;当二氯喹啉酸浓度较高时,其对淹水水田土壤细菌生物量的提高作用较明显,这种促进作用在施药后期逐渐消失。说明不同浓度二氯喹啉酸处理对淹水水田土壤细菌生物量的影响不相同,不同浓度二氯喹啉酸处理的土壤细菌生物量和微生物总量的变化一致,这也表现了土壤微生物是以细菌为主体的群落结构。

2.3 二氯喹啉酸对土壤真菌生物量的影响

二氯喹啉酸对土壤真菌生物量的影响随培养时间的变化趋势见图 3。在不淹水水田土壤中,除第 1 天外,高低 2 种浓度二氯喹啉酸处理组无显著性差异,但均比对照低,说明二氯喹啉酸会使不淹水水田土壤真菌生物量降低,这种对土壤真菌的抑制作用在中期最不明显;在淹水培养中,不同浓度二氯喹啉酸对淹水水田土壤真菌生物量有促进作用,高浓度二氯喹啉酸的这种促进作用更为明显。

2.4 二氯喹啉酸处理对土壤真菌/细菌的影响

真菌/细菌的比例反映的是真菌和细菌相对含量的变化^[10]以及 2 种种群的相对丰富程度^[11],二氯喹啉酸对土壤真菌/细菌比值的影响随培养时间的变化趋势见图 4。从图上可以看出,二氯喹啉酸改变土壤真菌/细菌比例与浓度相关,研究认为高的真菌/细菌比值表明农田土壤生态系统更为稳定^[11]。在不淹水水田土壤中,除第 60 天外,高浓度二氯喹啉酸的真菌/细菌比值均比低浓度处理要低,可以认为,除草剂二氯喹啉酸随着浓度的增加显著降低了农田土壤生态系统的稳定性;而在淹水水田土壤中,施药第 1、3、7、28、45 天,各处理

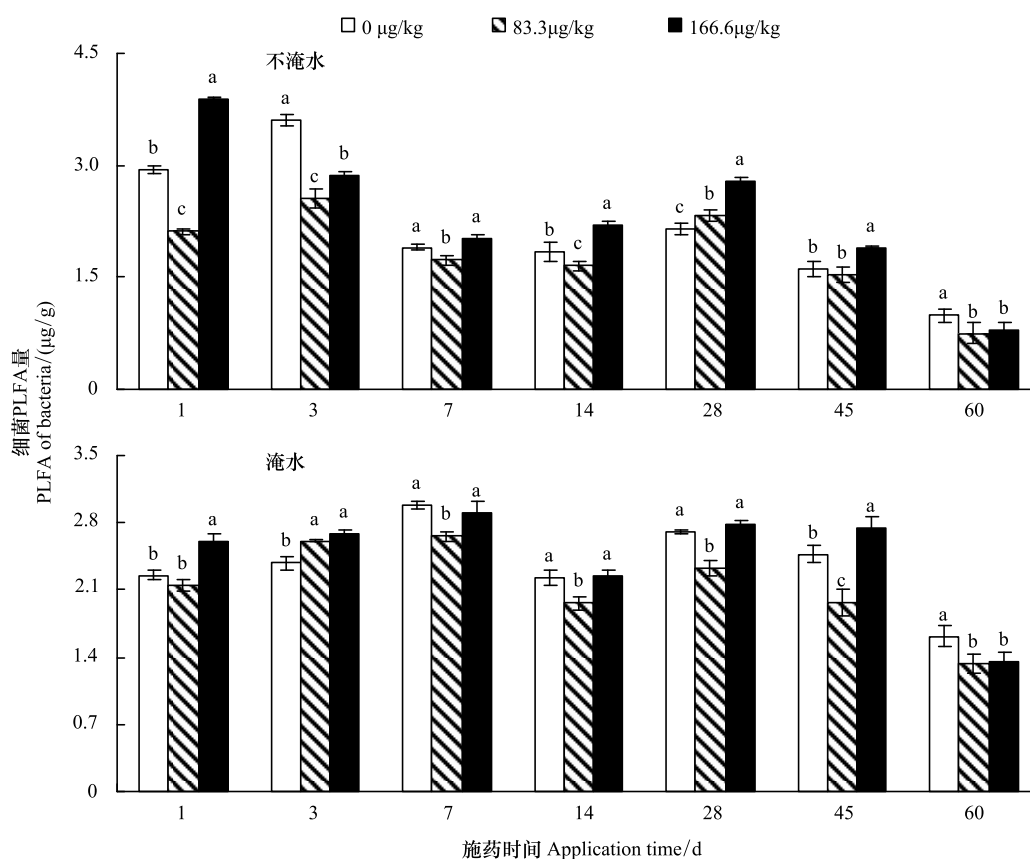


图 2 60 d 培养期间土壤细菌 PLFA 量的变化

Fig.2 The PLFA of bacteria changes during the incubation period

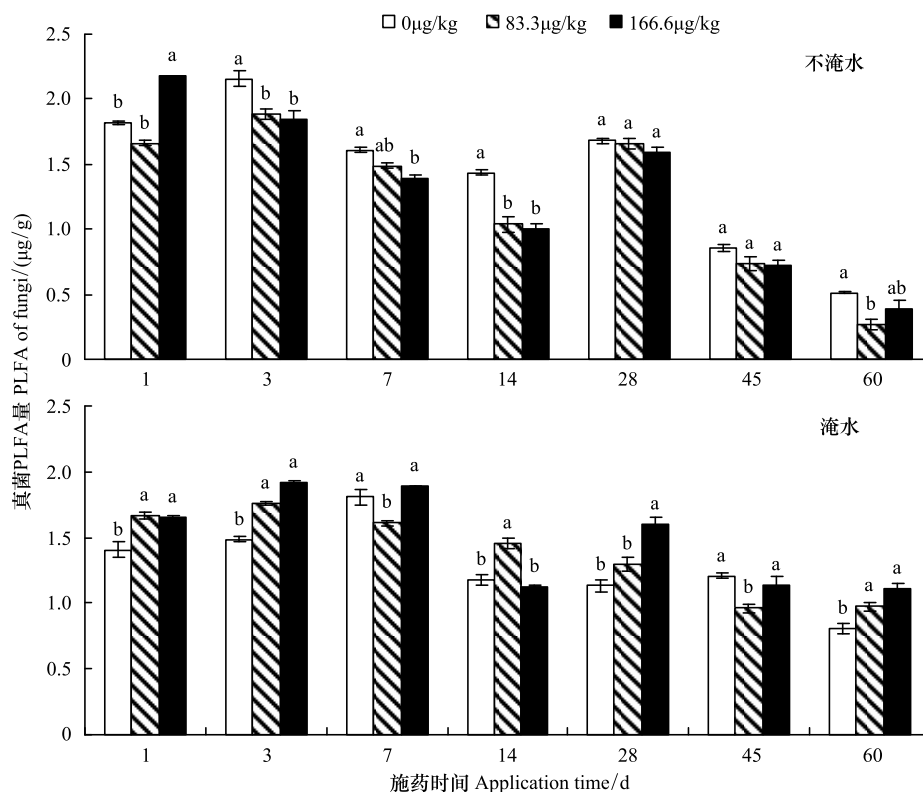


图 3 60 d 培养期间土壤真菌 PLFA 量的变化

Fig.3 The PLFA of fungi changes during the incubation period

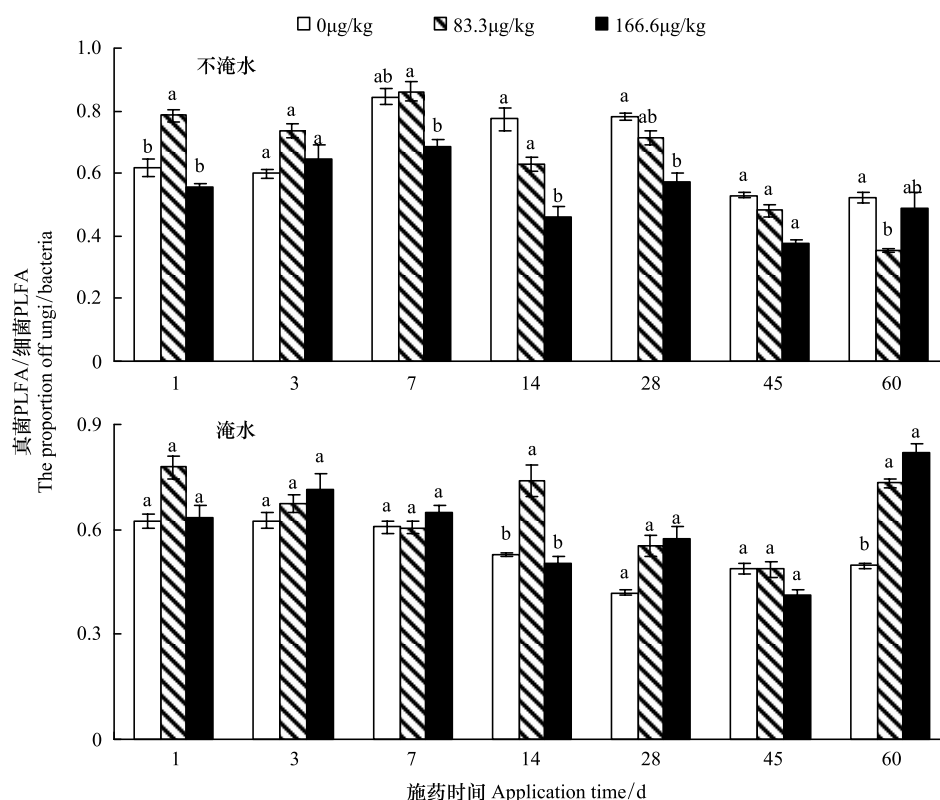


图4 60 d 培养期间土壤真菌/细菌比值的变化

Fig.4 The proportion of fungi/bacteria changes during the incubation period

之间无显著差异,表明不同浓度二氯喹啉酸对淹水水田土壤生态系统稳定性无明显干扰作用。

2.5 不淹水水田土壤微生物 PLFA 群落的主成分分析

采用主成分分析法(PCA)将提取的 PLFAs 化为少数几个综合变量(即主成分)^[12],来反映二氯喹啉酸处理后土壤微生物群落结构的变化情况。PCA 分析结果(图 5)表明,不同时间的不同处理处于主成分分析图的不同位置,尤其是对照和二氯喹啉酸处理区别明显。反映了除草剂二氯喹啉酸对土壤微生物群落结构有显著影响。主成分一和主成分二共聚集了样品总变异的 66.06%。从第一主成分看,处理 1、3、28 d 与主成分一高度正相关;而处理 60 d 表现出与主成分一负相关;处理 1、3、7 d 与主成分二正相关。高浓度处理 14 d 和各浓度处理的 28、45 d 距离较近,说明这几种处理土壤的微生物结构群落较为相似。

每种脂肪酸在主成分上的因子荷载分析结果表明(图 6), 14:0、15:0、16:0、18:0、18:1n9c、18:2n6c 等在主成分一上的荷载值较高,主成分一是它们的代表因子。14:0、15:0、16:0、18:0 代表土壤中的细菌,18:1n9c、18:2n6c 是土壤中真菌的标志性脂肪酸。说明处理 1、3 和 28 d 会使土壤中的细菌和真菌增加。12:0、14:1、16:1 在第二主成分上的荷载值较高,可以认为主成分二是 12:0、14:1、16:1 的代表因子,它们是细菌的标志性脂肪酸。说明处理前期土壤中细菌生物量增高较多。综合分析得出,不同浓度二氯喹啉酸处理的土壤微生物

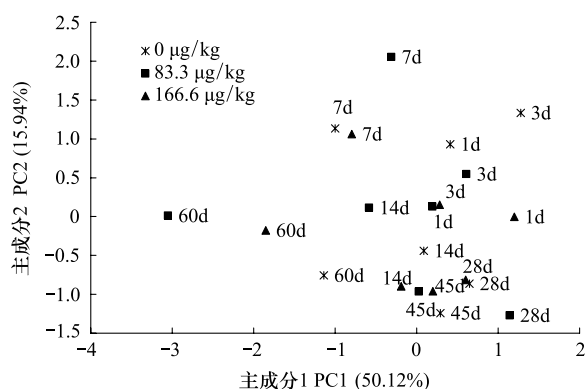


图5 不同二氯喹啉酸处理下不淹水水田土壤微生物群落 PLFA 的主成分分析

Fig.5 Principle components analysis of PLFA profiles from non-flooded paddy soil microbial communities of different quinclorac treatment

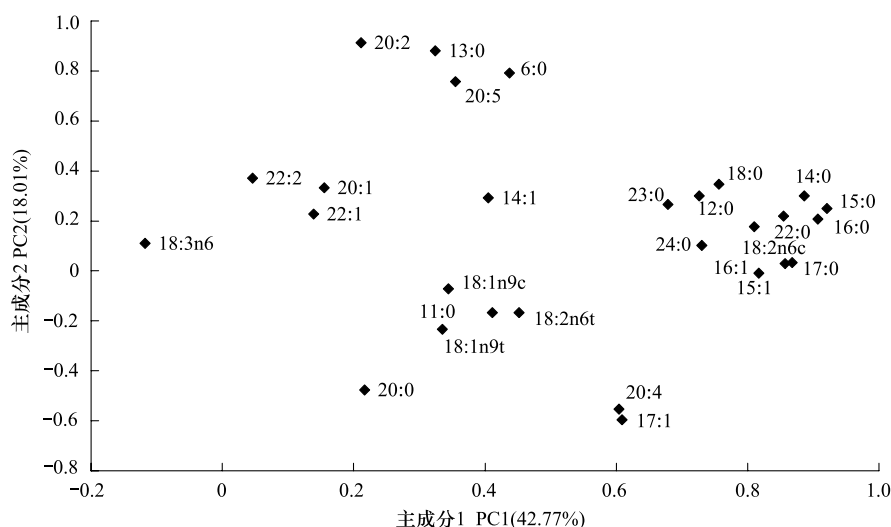


图 8 不同二氯喹啉酸处理下淹水水田土壤微生物群落 PLFA 荷载因子贡献

Fig.8 Eigenvector loading of PLFA contributing to soil microbial communities ordination pattern of different quinclorac treatment

14:0、14:1、15:0、15:1、16:0、16:1、17:0、17:1、18:0、20:0、20:1、22:0 和 22:1) 表示细菌生物量;18:1n9t、18:1n9c、18:2n6t、18:2n6c 和 18:3n6 表示真菌生物量。通过检测不同施药的淹水和不淹水水田土壤磷脂脂肪酸的变化发现,无论是从衡量菌落结构的具体指标,还是从整体的 PLFA 群落结构分析(PCA)都表明了,除草剂二氯喹啉酸对土壤微生物群落有显著的影响:

(1)不同浓度二氯喹啉酸处理对不淹水水田土壤微生物生物量有不同程度的影响。土壤微生物 PLFA 总量的改变可以体现土壤中微生物的生物总量的改变^[23-24]。张昌朋等人通过对土壤 PLFAs 的测定研究发现,咪唑乙烟酸显著增加了土壤微生物生物量碳、生物总量和压力指数^[24]。本研究表明,低浓度二氯喹啉酸会降低不淹水水田土壤微生物总生物量和细菌、真菌生物量及实验后期的真菌/细菌比值;高浓度二氯喹啉酸对不淹水水田土壤细菌和微生物总量有显著的促进作用,对真菌及真菌/细菌比有抑制作用。高浓度二氯喹啉酸的加入显著增加了土壤微生物生物总量,这可能是由于二氯喹啉酸作为土壤微生物代谢的能源,从而使微生物量增加。Cuadrado^[9]和 Wardle^[10]等人的研究也表明除草剂增加了土壤微生物的生物量。真菌/细菌比值表明了农田土壤生态系统的稳定性,本研究中对不淹水水田土壤施用不同浓度二氯喹啉酸均显著降低了真菌/细菌比,表明二氯喹啉酸使得不淹水水田土壤生态系统稳定性降低。

(2)不同浓度二氯喹啉酸处理对淹水水田土壤微生物生量的影响与不淹水水田土壤相比有一定差异。低浓度二氯喹啉酸对淹水水田土壤微生物总生物量和真菌生物量有促进作用,对土壤细菌生物量有一定的抑制;高浓度对淹水水田土壤微生物总生物量和细菌、真菌生物量均有促进作用,而从真菌/细菌比值上看,不同浓度二氯喹啉酸对淹水水田土壤生态系统稳定性无明显干扰作用。研究结果与吕镇梅等人用传统方法研究二氯喹啉酸对水稻田微生物种群的影响一致^[25]。

(3)除草剂对土壤微生物的影响与土壤类型、环境气候条件、除草剂的结构与理化性质以及用药量和施用时间、研究方法和取样时间等诸多因素相关^[26],苑学霞等人^[27]研究发现,二氯喹啉酸在水中的消解比土壤要快。从实验结果来看,二氯喹啉酸对淹水水田土壤生态系统稳定性和微生物生物量的干扰要小于不淹水水田土壤,这与其在淹水水田土壤中的消解速度比不淹水土壤中快和两种土壤的状态不同有一定关系;另外,也可能是由于同样的施药量,淹水水田土壤对农药的稀释作用使得实际分布量小于理论施药量造成的。

参考文献 (References):

- [1] 程红芳, 章文波, 陈锋. 植被覆盖度遥感估算方法研究进展. 国土资源遥感, 2006, (1): 13-17.
- [2] Wang M C, Liu Y H, Wang Q, Gong M, Hua X M, Pang Y J, Hu S J, Yang Y H. Impacts of methamidophos on the biochemical, catabolic, and

- genetic characteristics of soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(3): 778-788.
- [3] Manickam N, Pathak A, Saini H S, Mayilraj S, Shanker R. Metabolic profiles and phylogenetic diversity of microbial communities from chlorinated pesticides contaminated sites of different geographical habitats of India. *Journal of Applied Microbiology*, 2010, 109(4): 1458-1468.
- [4] 姚斌, 徐建民, 尚鹤, 张超兰. 甲磺隆污染土壤的微生物生态效应. *农业环境科学学报*, 2005, 24(3): 557-561.
- [5] Petersen S O, Debosz K, Schjonning P, Christensen B T, Elmholt S. Phospholipid fatty acid profiles and C availability in wet-stable macro-aggregates from conventionally and organically farmed soils. *Geoderma*, 1997, 78(3/4): 181-196.
- [6] Zaady E, Ben-David E A, Sher Y, Tzirkir R, Nejdat A. Inferring biological soil crust successional stage using combined PLFA, DGGE, physical and biophysiological analyses. *Soil Biology & Biochemistry*, 2010, 42(5): 842-849.
- [7] 吴愉萍. 基于磷脂脂肪酸(PLFA)分析技术的土壤微生物群落结构多样性的研究 [D]. 杭州: 浙江大学环境与资源学院, 2009.
- [8] 颜慧. 长期施肥对土壤微生物磷脂脂肪酸多样性和酶活性的影响 [D]. 南京: 南京师范大学, 2007.
- [9] Cuadrado V, Merini L J, Flocco C G, Giulietti A M. Degradation of 2, 4-DB in Argentinean agricultural soils with high humic matter content. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2008, 77(6): 1371-1378.
- [10] Wardle D A, Parkinson D. Relative importance of the effect of 2, 4-D, Glyphosate, and environmental variables on the Soil Microbial Biomass. *Plant and Soil*, 1991, 134(2): 209-219.
- [11] de Vries F T, Hoffland E, van Eekeren N, Brussaard L, Bloem J. Fungal/Bacterial Ratios in grasslands with contrasting Nitrogen management. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(8): 2092-2103.
- [12] 苏荣国, 胡序朋, 张传松, 王修林. 荧光光谱结合主成分分析对赤潮藻的识别测定. *环境科学*, 2007, 28(7): 1529-1533.
- [13] 喻曼, 肖华, 张棋, 曲云欢, 许育新. PLFA 法和 DGGE 法分析堆肥细菌群落变化. *农业环境科学学报*, 2011, 30(6): 1242-1247.
- [14] Bardgett R D, Hobbs P J, Frostegård Å. Changes in soil fungal: bacterial biomass ratios following reductions in the intensity of management of an upland grassland. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 22(3): 261-264.
- [15] Ponder F Jr, Tadros M. Phospholipid fatty acids in forest soil four years after organic matter removal and soil compaction. *Applied Soil Ecology*, 2002, 19(2): 173-182.
- [16] Wu Y P, Yu X S, Wang H Z. Does history matter? Temperature effects on soil microbial biomass and community structure based on the phospholipid fatty acid (PLFA) analysis. *Journal of Soils and Sediments*, 2010, 10(2): 223-230.
- [17] Frostegård A, Bååth E. The use of phospholipid fatty acid analysis to estimate bacterial and fungal biomass in soil. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 22(1/2): 59-65.
- [18] Rinklebe J, Langer U. Relationship between soil microbial biomass determined by SIR and PLFA analysis in floodplain soils. *Journal of Soils and Sediments*, 2010, 10(1): 4-8.
- [19] 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(3): 251-259.
- [20] Steinberger Y, Zelles L, Bai Q Y, von Lutzow M, Munch J C. Phospholipid fatty acid profiles as indicators for the microbia community structure in soils along a climatic transect in the Judean Desert. *Biology and Fertility of Soil*, 1999, 28(3): 292-300.
- [21] Murase J, Hordijk K, Tayasu I, Bodelier P L. Strain-specific incorporation of methanotrophic biomass into eukaryotic grazers in a rice field soil revealed by PLFA-SIP. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 75(2): 284-290.
- [22] Zeiles L. Identification of single cultured micro-organisms based on their whole-community fatty acid profiles, using an extended extraction procedure. *Chemosphere*, 1999, 39(4): 665-682.
- [23] 于树, 汪景宽, 李双异. 地膜覆盖对土壤微生物群落结构的影响. *土壤通报*, 2008, 39(4): 904-907.
- [24] 张昌朋, 刘新刚, 徐军, 董丰收, 盛宇, 田迎迎, 郑永权. 咪唑乙烟酸对土壤微生物生态的影响. *农药*, 2010, 49(2): 117-119.
- [25] 吕镇梅, 闵航, 叶央芳. 除草剂二氯喹啉酸对水稻田土壤中微生物种群的影响. *应用生态学报*, 2004, 15(4): 605-609.
- [26] 林晓燕, 王玮, 赵宇华, 丁海涛, 冯志红. 苄嘧磺隆对淹水稻田土壤呼吸和酶活性的影响. *浙江大学学报: 农业与生命科学版*, 2008, 34(1): 109-113.
- [27] 苑学霞, 郭栋梁, 赵善苍, 毛江胜, 郭长英, 邓立刚, 张勇. 二氯喹啉酸在水稻、土壤和田水中消解动态及残留. *生态环境学报*, 2011, 20(6/7): 1138-1142.