

DOI: 10.5846/stxb202001190150

李可, 谢厦, 孙彤, 孙约兵. 鸡粪有机肥对设施菜地土壤重金属和微生物群落结构的影响. 生态学报, 2021, 41(12): 4827-4839.

Li K, Xie S, Sun T, Sun Y B. Effects of organic fertilizers from chicken manure on soil heavy metals and microbial community structure in facility vegetable soil. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(12): 4827-4839.

# 鸡粪有机肥对设施菜地土壤重金属和微生物群落结构的影响

李 可<sup>1</sup>, 谢 厦<sup>1</sup>, 孙 彤<sup>1,2</sup>, 孙约兵<sup>1,\*</sup>

1 农业农村部环境保护科研监测所, 农业农村部产地环境污染防控重点实验室, 天津市农业环境与农产品安全重点实验室, 天津 300191

2 东北农业大学资源与环境学院, 哈尔滨 150030

**摘要:** 通过田间试验, 研究在设施菜地上施用不同剂量的鸡粪有机肥对土壤-植物系统中重金属的累积、重金属有效性和土壤微生物群落结构的影响, 进一步探讨土壤微生物群落结构与土壤重金属之间的相关关系。结果表明, 与对照相比, 施用有机肥可提高小白菜地上部生物量, 其中施肥量为 60 t/hm<sup>2</sup> 时值最大, 增幅为 59.92%; 小白菜地上部 Cd、Cr、Cu、Zn 和 As 含量均大幅增加, 但 Pb 含量无明显变化。土壤重金属 Cd、Cr、Cu、Zn 和 As 的全量均随鸡粪有机肥施加量的增加而增大, 最高增幅分别为 21.30%、21.58%、17.40%、19.40% 和 17.43%, 出现明显的累积现象; 施用有机肥均增加了土壤 Cd、Cr、Cu、Zn 和 As 的有效态含量, 而 Pb 的全量和有效态含量无显著变化; 除重金属 Pb 外, 不同重金属元素全量与有效态含量均显著正相关, 其中元素 Zn 的全量与有效态含量相关性最强。磷脂脂肪酸 (PLFA) 分析结果表明, 土壤中含量较高的 PLFA 为 16:0、18:1 $\omega$ 7c、10Me16:0 和 18:1 $\omega$ 9c, 土壤微生物总 PLFA 和各类群 PLFA 含量均呈现 M0.5>M1>CK>M2>M4; 相关性分析结果表明, 土壤 Cu、As 全量和 Cd、Cr、Cu、As 有效态含量与微生物总 PLFA 和各类群 PLFA 含量均呈现显著负相关关系, 其中有效态 Cr 和 Cu 含量对微生物群落结构的影响最为显著。

**关键词:** 土壤; 不同施肥水平; 重金属; PLFA; 微生物群落结构

## Effects of organic fertilizers from chicken manure on soil heavy metals and microbial community structure in facility vegetable soil

LI Ke<sup>1</sup>, XIE Sha<sup>1</sup>, SUN Tong<sup>1,2</sup>, SUN Yuebing<sup>1,\*</sup>

1 Tianjin Key Laboratory of Agro-Environment and Agro-Product Safety, Key Laboratory of Original Agro-Environmental Pollution Prevention and Control, Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Tianjin 300191, China

2 College of Resources and Environment, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China

**Abstract:** A field experiment was conducted to investigate the effects of different doses organic fertilizers from chicken manure on the heavy metals accumulation and availability in soil-plant system, as well as soil microbial community structure in a facility vegetable soil. In addition, the correlation between soil microbial community structure and soil heavy metals was further discussed. The results showed that addition of organic fertilizers from chicken manure increased the shoot fresh weight of the Chinese cabbage. The treatment received 60 t/hm<sup>2</sup> organic fertilizers was the most significant, where the shoot fresh weight increased by 59.92% compared with control. The application of organic fertilizers increased the shoot Cd, Cr, Cu, Zn and As concentrations of the tested cultivars except of Pb. The contents of soil heavy metals Cd, Cr, Cu, Zn, and As increased with the increase of the amount of organic fertilizers, and all reached the maximum values with the highest

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2017YFD0801402); 天津市自然科学基金重点项目 (17JCZDJC34200)

收稿日期: 2020-01-19; 网络出版日期: 2021-04-21

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sunyuebing@aepi.org.cn

increases of 21.30%, 21.58%, 17.40%, 19.40% and 17.43%, respectively. Apparent accumulation of these heavy metals was found in the soil applied organic fertilizer. And the application of organic fertilizers increased the concentrations of soil available Cd, Cr, Cu, Zn, and As. While the total and available Pb concentrations in soil had no significant changes in different treatments. There were significant correlations between the total and available concentrations of soil heavy metals except of Pb, in which the relativity of Zn was the strongest. The results of Phospholipid Fatty Acid (PLFA) analysis showed that the higher PLFA contents were 16:0, 18:1 $\omega$ 7c, 10Me16:0 and 18:1 $\omega$ 9c, and the order of total PLFA and soil microorganism groups PLFA contents showed as M0.5>M1>M2>M4. The results of correlation analysis showed that the total contents of Cu, As and the available contents of Cd, Cr, Cu, Zn, and As were negatively correlated with the total and various groups PLFA contents, and among them, the effects of soil available Cr and Cu on microbial community structure were very significant.

**Key Words:** soil; different fertilization levels; heavy metals; PLFA; microbial community structure

近年来,设施蔬菜迅猛发展,已经成为了我国农业的重要组成部分,但由于长年作物连作及化肥的不合理使用,导致了土壤肥力下降、盐碱化加重等一系列环境问题。以畜禽粪便为原料的有机肥施用于农田,对改善土壤养分状况,减少化肥的使用,实现畜禽粪污的资源化利用,促进农田生态系统的可持续发展具有重要的作用,但由于饲料中大多以重金属作为添加剂,而重金属在畜禽体内利用率低,因此多伴随畜禽粪便进入环境中<sup>[1]</sup>,造成了土壤中重金属的累积。李发等<sup>[2]</sup>调查分析了黄淮海地区 120 种鸡粪商品有机肥的重金属含量,发现与有机肥行业标准(NY525—2011)相比,Cd 和 Pb 的超标率分别为 6.7%和 14.3%。王飞等<sup>[3]</sup>分析了华北地区 46 个畜禽粪便样中的重金属,发现重金属超标主要以 Cu、Zn、Pb 和 Cr 为主,其中肉鸡粪 Cr、Cu 和 Zn 的超标率分别为 50.0%、66.7%和 50.0%。因此,将以畜禽粪便为原料的有机肥施入农田后,可能会引起土壤重金属环境风险的升高。李本银等<sup>[4]</sup>通过长期定位实验发现,与仅施用氮、磷、钾肥的土壤相比,施用猪粪有机肥的土壤 Cu、Zn 和 Cd 的全量显著增加了 33.6%、320.8%和 421.4%,重金属有效态含量的变化规律与全量相一致。王美等<sup>[5]</sup>发现施用有机肥后土壤 Cu、Zn 和 Cd 的 EDTA(Ethylene Diamine Tetraacetic Acid,乙二胺四乙酸)可提取态含量显著高于仅施化肥处理,土壤重金属的生物有效性增加。许多研究也表明,施用鸡粪有机肥使得土壤出现重金属累积现象,影响重金属的全量和有效态的含量<sup>[1,6-7]</sup>。与其他作物相比,蔬菜对重金属具有较强的富集能力,更易受到土壤重金属的毒害<sup>[8]</sup>,经食物链对人体健康造成威胁。设施菜地环境较为封闭,施肥量大,因此设施土壤和蔬菜遭受重金属污染的潜在环境风险更大。

土壤微生物是土壤生态系统的重要组成部分,可迅速响应土壤环境的变化,进而引起微生物群落结构的改变<sup>[9]</sup>。因此,土壤微生物量、群落结构等指标可用于评价土壤环境的质量<sup>[10]</sup>。许多研究表明,施用有机肥增加了土壤细菌和土壤总的生物量<sup>[11-12]</sup>,但由于土地利用和施肥方式的差异导致对于土壤真菌和放线菌生物量的变化规律还没有一致的结论<sup>[13-14]</sup>;此外,施用有机肥后土壤微生物群落结构也发生了明显的变化<sup>[15]</sup>。

近年来,大量试验研究了施用有机肥对于设施菜地土壤重金属的累积效应,以及对土壤微生物群落结构与多样性的影响,但对于施用有机肥后,重金属与微生物之间的影响机制研究较少,土壤微生物十分敏感,受多种因素的影响,因此,研究重金属与微生物的相关性很有必要。本研究通过分析作物和土壤中 Cu、Zn、Cd、Cr、Pb 和 As 的全量和有效态含量,探讨有机肥施入后作物、土壤重金属的累积特征以及土壤重金属有效性变化规律,利用磷脂脂肪酸(PLFA)技术,分析施用有机肥后土壤微生物群落结构的变化,并研究土壤重金属含量与微生物类群 PLFA 含量的相关关系,以为合理施肥,提高设施菜地土壤健康质量提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验设计与样品的采集

试验地位于天津市东丽区试验田,施用的鸡粪有机肥为充分腐熟的商品有机肥,试验前表层土壤和施用

的有机肥基本性状如表 1 所示。田间试验共设置 5 个处理,分别为不施肥(CK),施用 7.5 t/hm<sup>2</sup>(M0.5)、15 t/hm<sup>2</sup>(M1)、30 t/hm<sup>2</sup>(M2)和 60 t/hm<sup>2</sup>(M4)鸡粪有机肥,该试验仅施用有机肥,每个处理 3 次重复,共 15 个小区,单个小区面积为 10 m<sup>2</sup>。肥料施入半个月后种植小白菜,种植周期为 45 d。种植结束后,采用“S”形采样法采集小白菜地上部,每个小区采集 5 棵,用去离子水洗净后称鲜重,依次经过杀青(90℃)、烘干至恒重(70℃)、粉碎后用于小白菜重金属含量的测定;同时采集根部附近 0—20 cm 土壤样品,样品分两份保存,一份置于-80℃的冰箱中,并尽快测定土壤磷脂脂肪酸含量,另一份于室内风干后测定土壤重金属含量。

表 1 供试鸡粪有机肥和研究区土壤基本性状

Table 1 Basic properties of soil and organic fertilizer from chicken manure used

	pH	有机质 SOM/ (g/kg)	全氮 TN/ (g/kg)	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> / (g/kg)	K <sub>2</sub> O/ (g/kg)	Cd/ (g/kg)	Pb/ (g/kg)	Cr/ (g/kg)	Cu/ (g/kg)	Zn/ (g/kg)	As/ (g/kg)
鸡粪 Chicken manure	7.71	381.45	20.54	15.78	24.36	1.06	10.14	69.86	132.37	348.54	20.31
土壤 Soil	7.85	19.40	0.78	1.36	17.85	1.56	73.08	83.05	45.70	156.85	8.57

SOM: 有机质 Soil organic matter; TN: 全氮 Total nitrogen

## 1.2 重金属含量分析

植物重金属含量分析采用 HNO<sub>3</sub>-HClO<sub>4</sub>(体积比 3:1)进行消解。土壤重金属全量采用 HNO<sub>3</sub>-HF(体积比 2:1)法消解,重金属有效态采用 TCLP (Toxicity characteristic leaching procedure)浸提液浸提<sup>[16]</sup>,提取剂与土壤样品的比例为 20:1,常温下振荡(18±2) h((30±2) r/min),过滤液用 1 mol/L 的 HNO<sub>3</sub>调节,保持 pH 为 2,依次离心、过滤。TCLP 提取剂的配制:土壤 pH>5 时,吸取 5.7 mL 的冰乙酸于 1 L 容量瓶中定容,配置后保证提取剂的 pH 为 2.88±0.05(缓冲液 pH 用 1 mol/L 的 HNO<sub>3</sub>和 1 mol/L 的 NaOH 调节)。植物重金属含量,土壤全量及有效态含量均使用电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)测定。

## 1.3 PLFA 分析

土壤微生物群落分析采用磷脂脂肪酸法(PLFA),提取方法参照修正的 Bligh-Dyer 法进行<sup>[17]</sup>,首先取鲜土 3.0 g,使用体积比为 0.8:1:2 的柠檬酸缓冲液-氯仿-甲醇混合液进行 2 次浸提,然后将提取的磷脂注入硅胶柱内进行分离,最后进行甲酯化得到磷脂脂肪酸甲酯。利用气相色谱仪(Agilent 7890B)测定磷脂脂肪酸,并通过 MIDI Sherlock 鉴定系统鉴定脂肪酸成分。脂肪酸的表征依据 Frostegard 等<sup>[18]</sup>的研究结果,革兰氏阳性菌(Gram-positive bacteria, G<sup>+</sup>)的标记物为:i14:0、i15:0、i16:0、i17:0、a15:0 和 a17:0;革兰氏阴性菌(Gram-negative bacteria, G<sup>-</sup>)的标记物为:16:1ω5c、16:1ω7c、16:1ω9c、17:1ω8c、18:1ω5c、18:1ω7c、cy17:0ω7c 和 cy19:0ω7c;其他细菌(other Bacteria)的标记物为:14:0、15:0、16:0、17:0 和 18:0;真菌(Fungi)的标记物为:18:2ω6c、18:1ω9c;放线菌(Actinomycete)的标记物为:10Me16:0、10Me17:0、10Me18:0。

## 1.4 数据分析

采用 Excel 2010 进行数据的整理;采用 SPSS 20.0 软件进行单因素(one-way ANOVA)方差分析和不同处理间的差异显著性检验(Duncan 法)。采用 origin 2018 进行柱状图的绘制,SPSS 20.0 进行主成分分析(仅分析含量占比高于 0.5%的磷脂脂肪酸),R 3.6.1 软件进行 Pearson 相关性分析及热图的绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同施肥处理对小白菜生物量和重金属含量的影响

不同鸡粪有机肥施用量对小白菜地上部生物量和重金属含量的影响结果各不相同(表 2)。与对照相比,施用有机肥均显著提高了小白菜地上部鲜重( $P<0.05$ ),随施肥量的增加而增大,增幅为 33.47%—59.92%。随着有机肥用量的增加,小白菜地上部重金属含量呈增加趋势(除 Pb 外),且均高于不施肥处理。与 CK 相比,仅施肥量为 30 t/hm<sup>2</sup>(M2)和 60 t/hm<sup>2</sup>(M4)时,小白菜地上部 Cd 和 Cu 含量显著增加( $P<0.05$ ),增幅为 18.75%和 25.00%,9.97%和 12.62%。As 的含量除 M0.5 处理外,其余处理均显著高于对照( $P<0.05$ ),最大增

幅为 46.67% (M4)。而施用有机肥处理的小白菜地上部 Cr 和 Zn 的含量均显著高于对照 ( $P < 0.05$ ), 分别增加 9.68%—35.48% 和 28.31%—35.06%。各施肥量下小白菜地上部重金属含量均符合食品安全标准要求。

表 2 不同施肥处理下小白菜地上部鲜重和重金属含量

Table 2 Shoot fresh weight and shoot heavy metal concentrations (fresh weight basis) of Chinese cabbage under different fertilization treatments

处理 Treatment	地上部鲜重 Shoot fresh weight/g	地上部重金属含量 Shoot heavy metal concentrations/(mg/kg)					
		Cd	Pb	Cr	Cu	Zn	As
CK	33.91±1.55c	0.16±0.01b	1.71±0.03a	0.31±0.02c	3.01±0.15c	8.30±1.53c	0.15±0.03c
M0.5	45.26±2.80b	0.16±0.02b	1.65±0.03a	0.34±0.03b	3.10±0.16c	10.65±1.53b	0.15±0.02c
M1	46.65±1.54b	0.17±0.01b	1.83±0.20a	0.37±0.02b	3.16±0.14bc	10.77±1.15b	0.17±0.02b
M2	49.37±1.75ab	0.19±0.02a	1.76±0.02a	0.41±0.01a	3.31±0.08ab	11.64±1.53a	0.20±0.03a
M4	54.23±5.68a	0.20±0.01a	1.85±0.03a	0.42±0.01a	3.39±0.16a	11.21±0.74ab	0.22±0.02a
标准限值 Standard limit	—	0.2	0.3	0.5	—	—	0.5

CK 表示不施肥处理, M0.5、M1、M2 和 M4 分别表示施用 7.5、15、30、60 t/hm<sup>2</sup> 鸡粪有机肥处理; 表中数据为平均值±标准差, 同列数据不同字母表示不同施肥处理间差异显著 ( $P < 0.05$ ); 标准限值: 《食品安全国家标准食品中污染物限量》(GB 2762—2017)

## 2.2 不同施肥处理下土壤重金属全量与有效态含量特征

### 2.2.1 土壤重金属全量

不同施肥处理下, 土壤重金属全量呈现出一定的规律。由表 3 可知, 设施菜地重金属 Cd、Cr、Cu、Zn 和 As 的全量均随鸡粪有机肥施加量的增加而增大。各施肥处理 Cd、Cr 和 Zn 全量均显著高于对照 ( $P < 0.05$ ), As 含量仅在 M2 和 M4 处理下显著高于对照 ( $P < 0.05$ ), 而 Cu 的全量仅在 M0.5 处理下与 CK 相比无显著差异 ( $P > 0.05$ )。不同处理土壤 Pb 含量虽有波动, 但与 CK 相比均未发生显著变化。所有处理土壤 Cd 含量均超过国家农用地土壤污染风险管控标准的筛选值, 但未超过管控值, 较 CK 分别增加了 9.47%、14.20%、16.57% 和 21.30%; 而不同施肥处理土壤 Cr、Cu、Zn 和 As 含量分别比对照增加了 12.73%—21.58%、2.99%—17.40%、7.31%—19.40% 和 1.18%—17.43%, 均未超过国家农用地土壤污染风险管控标准的筛选值和管控值。

表 3 不同施肥处理下土壤重金属全量

Table 3 The total content of heavy metals in soil under different fertilization treatments

处理 Treatment	Cd/ (mg/kg)	Pb/ (mg/kg)	Cr/ (mg/kg)	Cu/ (mg/kg)	Zn/ (mg/kg)	As/ (mg/kg)	
CK	1.69±0.03d	72.22±1.11a	85.12±2.03c	45.47±0.67c	154.06±2.81e	8.49±0.43b	
M0.5	1.85±0.04c	73.84±2.54a	95.96±1.45b	46.83±1.19c	165.32±1.41d	8.59±0.15b	
M1	1.93±0.02bc	74.42±1.36a	102.88±5.31a	49.57±2.67b	175.15±1.46c	8.91±0.13b	
M2	1.97±0.07ab	75.22±1.67a	103.01±2.01a	51.98±0.80ab	179.20±1.23b	9.52±0.40a	
M4	2.05±0.03a	75.13±2.49a	103.49±2.21a	53.38±0.51a	183.94±2.69a	9.97±0.17a	
标准限值 Standard limit	筛选值 pH>7.5 管控值	0.6 4	170 1000	250 1300	100 —	300 —	25 100

标准限值: 《土壤环境质量 农用地土壤污染风险管控标准》(GB 15618—2018)

### 2.2.2 土壤重金属有效态含量

TCLP 提取态的重金属含量可用于表征土壤中重金属有效性的高低。从图 1 可以看出, 与对照相比, 不同施肥处理土壤有效态 Cd、Cu 和 Zn 的含量均显著升高 ( $P < 0.05$ ), 且均随有机肥施用量的增加而增大, 分别增加了 5.89%—35.42%、13.38%—75.33% 和 25.02%—89.56%; 有效态 Cr 和 As 含量除 M0.5 外, 其余处理均显著高于对照 ( $P < 0.05$ ), 最高增幅分别为 27.44% (M4) 和 22.84% (M2); 而不同处理土壤有效态 Pb 含量无显著变化 ( $P > 0.05$ )。

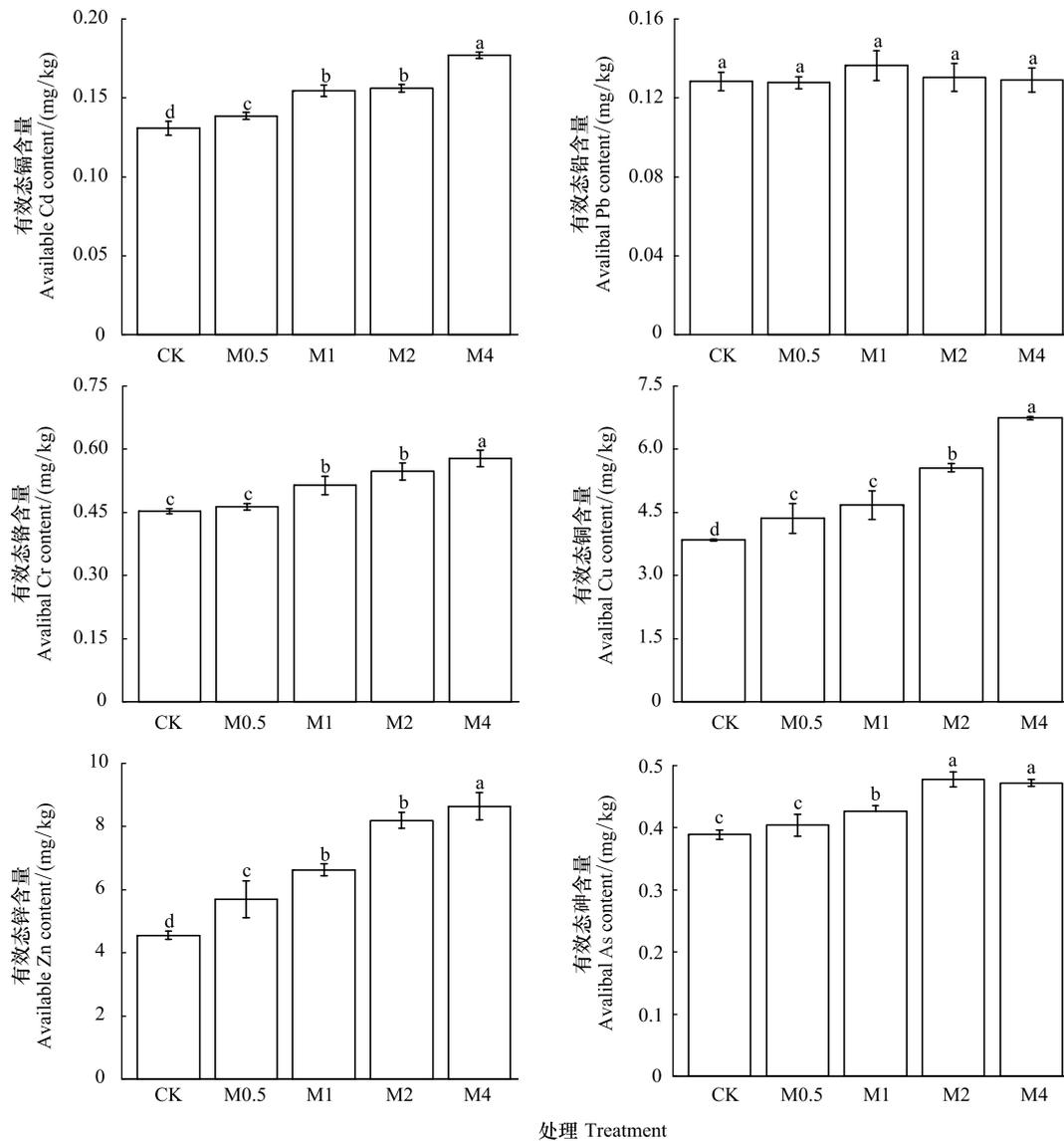


图1 各处理土壤有效态重金属含量

Fig.1 The content of soil available heavy metals in each treatment

CK表示不施肥处理,M0.5、M1、M2和M4分别表示施用7.5、15、30、60 t/hm<sup>2</sup>鸡粪有机肥处理

### 2.2.3 土壤重金属全量与有效态含量的相关性

由图2可知,重金属Pb的全量与有效态含量无明显相关性,且与其他元素的全量和有效态含量的相关性较弱。土壤Cd、Cr、Cu、Zn和As的全量间均呈现较强的正相关关系,其中Zn和Cd( $R=0.96$ )之间的相关性最强,其次为Cu和Zn、Zn和Cr,皮尔森相关性系数 $R$ 均为0.91,As和Cr全量的相关系数相对较小,为0.66。Cu、Cd、Cr、Zn、As的有效态含量间的相关性较强,其中有效态Cu与有效态Cd含量( $R=0.94$ )的相关性最强。除重金属Pb外,不同元素重金属全量与有效态均呈现较强的正相关关系,Cd、Cr、Cu、Zn和As的全量与其有效态含量的相关系数分别为0.89、0.71、0.86、0.94和0.85,其中元素Zn的全量与有效态的相关性最强( $R=0.94$ )。全量Zn与有效态Cd、Cr、Cu、Zn和As均呈现较强的正相关关系,其相关系数分别为0.93、0.89、0.86、0.94和0.89。

## 2.3 不同施肥处理对土壤磷脂脂肪酸含量及微生物群落结构的影响

### 2.3.1 土壤磷脂脂肪酸含量的变化

由图3可知,在检测的24种磷脂脂肪酸中,16:0在所有处理中的含量均为最高,占PLFA总量的13.81%—

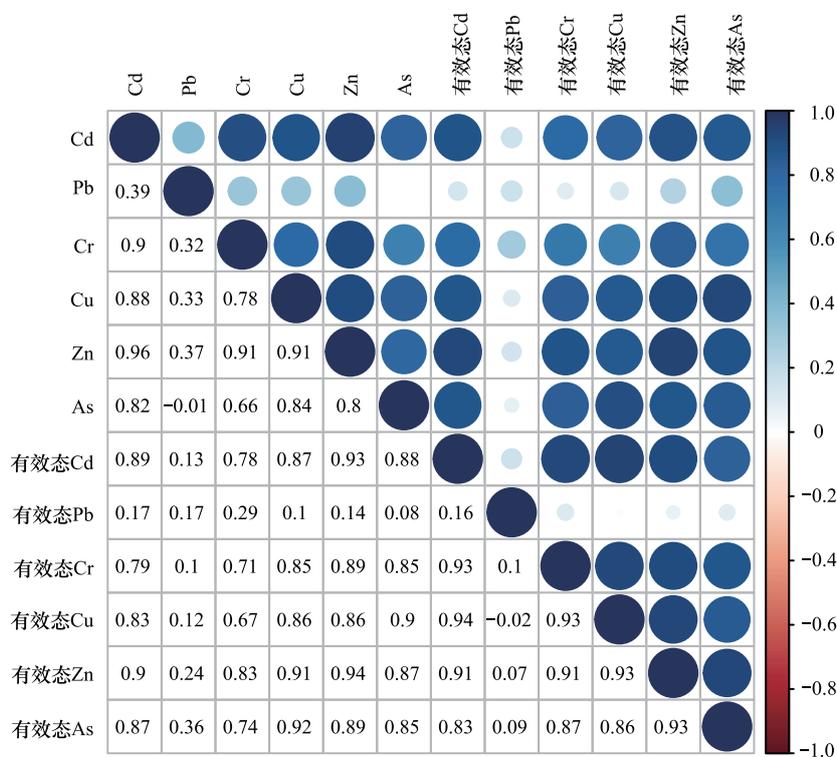


图2 土壤各重金属含量的相关性

Fig.2 Correlations of heavy metal contents in soil

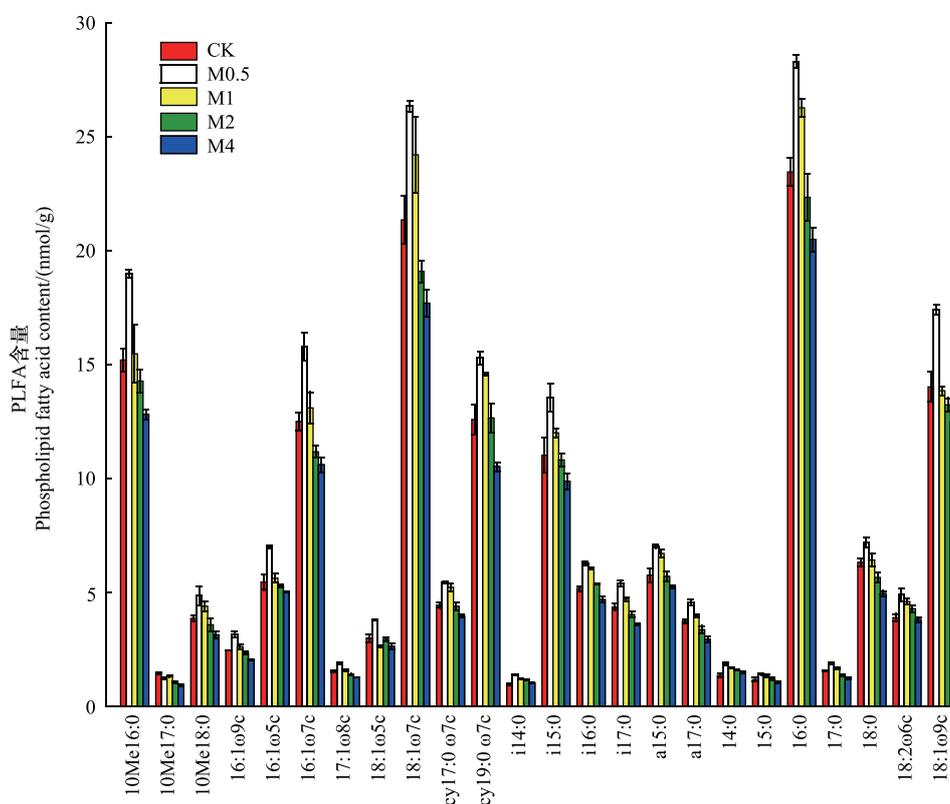


图3 不同施肥处理的 PLFAs 含量

Fig.3 PLFAs contents under different fertilization treatments

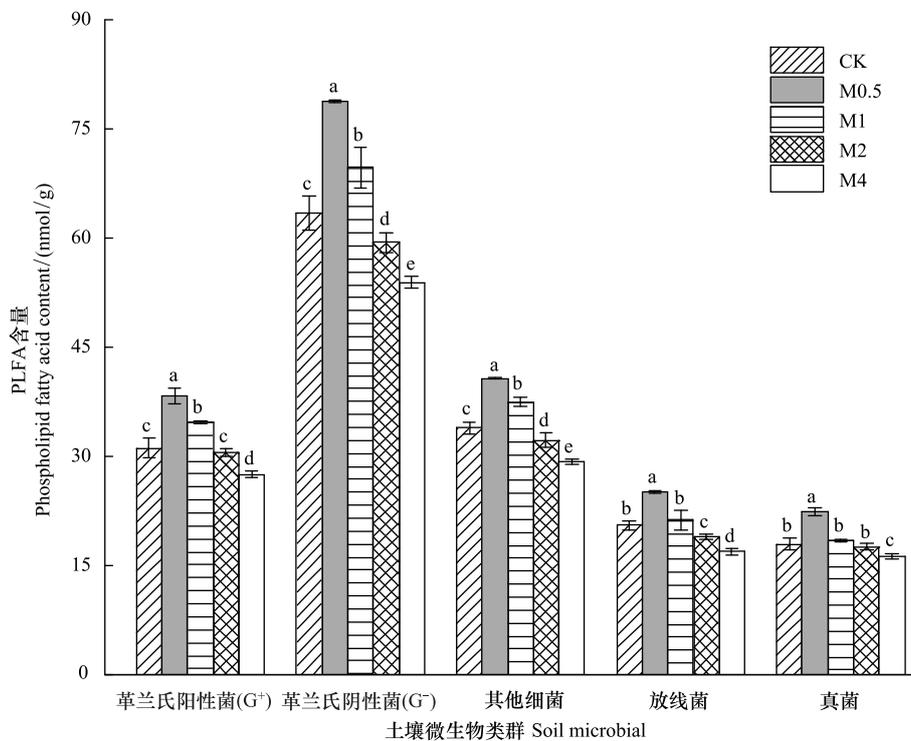


图4 不同处理土壤中主要微生物磷脂脂肪酸含量

Fig.4 The contents of main microbial PLFAs in soil under different treatment

14.48%,属于其他细菌类群的特征磷脂脂肪酸,其次为 18:1 $\omega$ 7c、10Me16:0 和 18:1 $\omega$ 9c,以上四种是土壤中主要的 PLFA 种类,其总和占 PLFA 总量的 43.52%—44.39%。10Me16:0、10Me18:0、16:1 $\omega$ 5c、16:1 $\omega$ 7c、16:1 $\omega$ 9c、17:1 $\omega$ 8c、18:1 $\omega$ 7c、cy17:0 $\omega$ 7c、i15:0、i17:0、a15:0、a17:0、16:0、17:0 和 18:0 的含量均表现为 M0.5>M1>CK>M2>M4;18:1 $\omega$ 5c 和 18:1 $\omega$ 9c 的含量表现为 M0.5>CK>M1>M2>M4;cy19:0 $\omega$ 7c、i14:0、i16:0、14:0 和 15:0 的含量表现为 M0.5>M1>M2>CK>M4,其中 i14:0 含量在 M0.5 处理时较 CK 大幅增加,增加了 42.85%;而施用有机肥处理的 10Me17:0 含量均小于对照处理,M4 处理取到最小值,较 CK 下降了 35.93%。

由 PLFA 的分析结果可知(图 4),G<sup>-</sup>的含量明显高于其他菌群,其次为其他细菌和 G<sup>+</sup>,两者含量较为接近,放线菌和真菌的含量较少,说明细菌是组成土壤微生物的主要类群。G<sup>+</sup>、G<sup>-</sup>、其他细菌、放线菌和真菌的 PLFA 含量均随施肥量的增加呈现先上升后下降的趋势,M0.5 处理值最高,其次为 M1、CK、M2、M4 处理值最低,最高增幅(M0.5)分别为 23.09%、24.18%、20.02%、22.28%和 24.56%,最高降幅(M4)分别为 11.70%、15.04%、13.77%、17.63%和 9.11%。各处理 G<sup>-</sup>和其他细菌的 PLFA 含量均差异显著( $P<0.05$ )。与 CK 相比,真菌 PLFA 含量在 M0.5 处理时显著增加了 24.56%( $P<0.05$ ),在 M4 处理显著减少了 9.11%( $P<0.05$ ),其余施肥处理与对照相比无显著差异( $P>0.05$ )。

由表 4 可知,不同处理土壤微生物总 PLFA 含量为 143.74—205.10 nmol/g,与各类群微生物 PLFA 含量规律相一致,且各处理差异显著( $P<0.05$ ),M0.5 含量最高,较 CK 增加了 22.93%,M1 比 CK 高了 8.77%,而 M2 和 M4 与 CK 相比分别降低了 4.97%和 13.85%。各处理 G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup>的比值无显著差异( $P>0.05$ ),比值范围为 0.486—0.514。在不同的施肥处理中,M4 处理真菌与细菌磷脂脂肪酸含量的比值最高,为 0.147,相比 CK 显著增加了 5.59%( $P<0.05$ ),而 M1 处理比值最低,为 0.130,均显著低于其他处理( $P<0.05$ )。

### 2.3.2 土壤微生物群落结构分析

对土壤中 24 种磷脂脂肪酸的载荷因子进行主成分分析(图 5),从中共提取出 2 个主成分,共占土壤微生物群落组成的 91.1%,其中第一和第二主成分占比分别为 84.3%和 6.8%。第一主成分中 16:1 $\omega$ 9c、i14:0、

18:2 $\omega$ 6c、i16:0、i17:0 的贡献较高,主要为革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、和真菌磷脂脂肪酸的标记物;第二主成分起主要作用的有 4 种磷脂脂肪酸,属于其他细菌和放线菌的标记物,包括 10Me17:0、18:0、17:0、14:0。不同施肥处理土壤磷脂脂肪酸的主成分分析结果表明(图 6),第一主成分解释了不同处理微生物群落结构发生变异的 84.3%,第二主成分和第三主成分分别解释了 6.8%和 4.8%,三个主成分累计贡献率达 95.9%。CK 在主成分一的零点附近,说明不施肥与主成分一无明显相关性,而与主成分二和三表现为正相关;M0.5 和 M1 均与主成分一表现为高度正相关,与主成分二和三无显著相关性,说明 M0.5 和 M1 的微生物群落结构较为相似;M2 与主成分一和二表现为正相关,与主成分三表现为负相关;M4 与主成分一和三表现为正相关,而与主成分二表现为高度负相关。以上结果说明不同施肥水平下土壤微生物群落结构差异显著。

表 4 土壤中微生物总磷脂脂肪酸含量及菌群比例

Table 4 Soil PLFA amount and the microbial flora proportions of each treatment

处理 Treatment	微生物总磷脂脂肪酸 Total PLFA/(nmol/g)	革兰氏阳性菌/革兰氏阴性菌( $\times 10$ ) G <sup>+</sup> /G <sup>-</sup>	真菌/细菌( $\times 10$ ) Fungi/Bacteria
CK	166.84 $\pm$ 4.40c	4.91 $\pm$ 0.32a	1.40 $\pm$ 0.04b
M0.5	205.10 $\pm$ 0.61a	4.86 $\pm$ 0.12a	1.42 $\pm$ 0.05ab
M1	181.47 $\pm$ 3.18b	4.99 $\pm$ 0.24a	1.30 $\pm$ 0.03c
M2	158.54 $\pm$ 2.78d	5.14 $\pm$ 0.05a	1.44 $\pm$ 0.01ab
M4	143.74 $\pm$ 1.64e	5.10 $\pm$ 0.12a	1.47 $\pm$ 0.03a

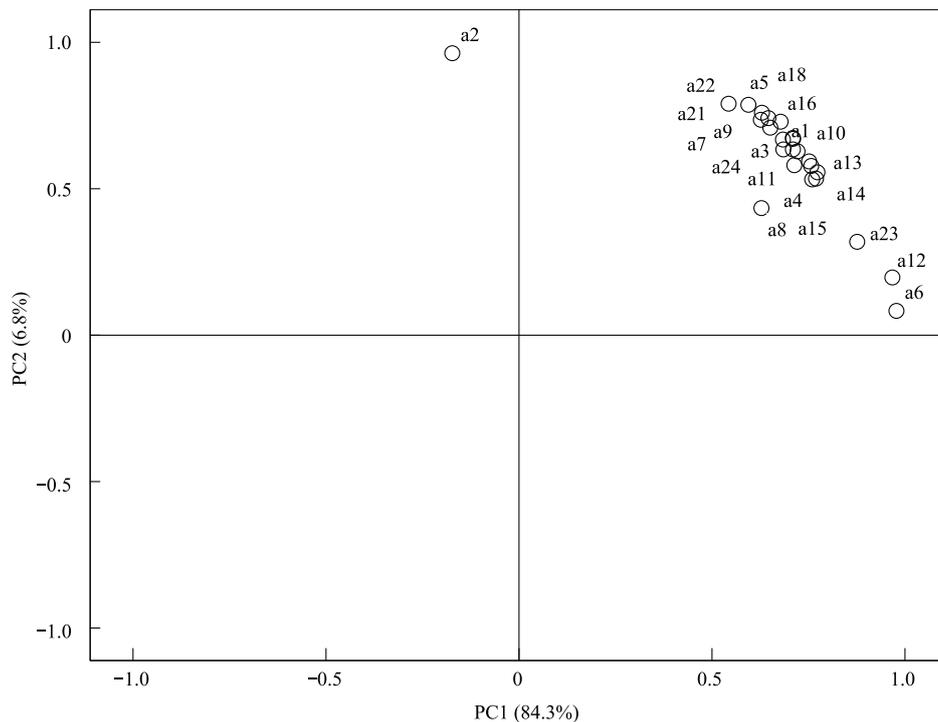


图 5 磷脂脂肪酸载荷因子主成分分析

Fig.5 Principal component analysis (PCA) of loading values for individual PLFA

a1—a24 分别代表:10Me16:0,10Me17:0,10Me18:0,16:1 $\omega$ 5c,16:1 $\omega$ 7c,16:1 $\omega$ 9c,17:1 $\omega$ 8c,18:1 $\omega$ 5c,18:1 $\omega$ 7c,cy17:0  $\omega$ 7c,cy19:0  $\omega$ 7c,i14:0,i15:0,i16:0,i17:0,a15:0,a17:0,14:0,15:0,16:0,17:0,18:0,18:2 $\omega$ 6c,18:1 $\omega$ 9c

2.4 土壤微生物磷脂脂肪酸与重金属含量的相关性分析

对不同施肥处理土壤各类群微生物 PLFA 与土壤重金属含量进行皮尔森相关性分析,结果如图 7 所示,不同的重金属元素与不同类别的土壤微生物 PLFA 之间的相关性存在明显的差异。其中 Cu 全量和有效

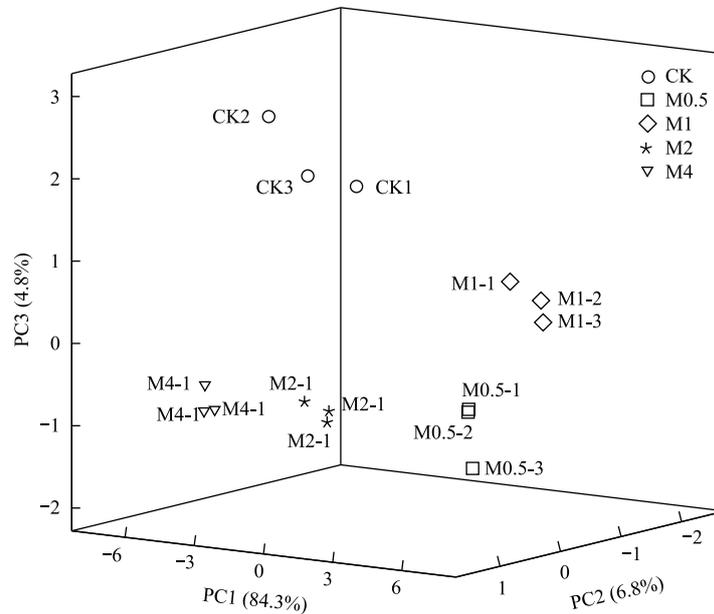


图 6 不同施肥土壤磷脂脂肪酸构成主成分分析

Fig.6 PCA of PLFAs from the microbial communities in the soil under different fertilized treatments

态 Cd 含量与真菌、 $G^+$ 、其他细菌、 $G^-$ 、微生物总 PLFA 和细菌总 PLFA 含量均呈显著负相关关系 ( $P < 0.05$ ), 与放线菌呈极显著负相关 ( $P < 0.01$ ); Zn 含量与放线菌 PLFA 含量显著负相关 ( $P < 0.05$ ); As 含量和有效态 Cu 含量均与真菌、 $G^+$  PLFA 含量显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 而与放线菌、 $G^-$ 、其他细菌、细菌总 PLFA 和微生物总 PLFA 含量极显著负相关 ( $P < 0.01$ ); 有效态 Cr 含量与  $G^+$  PLFA 含量显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 与  $G^+/G^-$  显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 而与真菌、放线菌、 $G^-$ 、其他细菌、细菌总 PLFA 和微生物总 PLFA 含量极显著负相关 ( $P < 0.01$ ), 其中与放线菌的相关系数高达  $-0.75$ ; 有效态 Zn 含量与放线菌、 $G^+$ 、 $G^-$ 、其他细菌、细菌总 PLFA 和微生物总 PLFA 含量显著负相关 ( $P < 0.05$ ); 有效态 As 含量与真菌、 $G^+$ 、其他细菌、细菌总 PLFA 和微生物总 PLFA 含量显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 与  $G^+/G^-$  显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 而与放线菌和  $G^-$  PLFA 含量极显著负相关 ( $P < 0.01$ )。有效态 Pb 含量与真菌/细菌显著负相关 ( $P < 0.05$ )。上述结果表明, 真菌、放线菌、 $G^+$ 、 $G^-$ 、其他细菌、细菌总 PLFA 和微生物总 PLFA 含量与土壤中 Cu、As 含量和有效态 Cd、Cr、Cu、As 的含量密切相关, 呈负相关关系。

### 3 讨论

有机肥中营养元素丰富, 其合理利用对实现农业的可持续发展至关重要。施用鸡粪有机肥处理的小白菜地上部生物量明显增加, 高施肥量并未抑制小白菜的生长, 这可能是由于鸡粪有机肥经过无害化处理后, 减轻了对作物的毒害作用。相关研究结果表明, 大气沉降、污水灌溉、矿业开采、化肥农药的使用等是土壤重金属的重要来源<sup>[19-20]</sup>。宋赛虎等<sup>[21]</sup>通过统计分析黄淮海六大平原的主要潜在污染源发现, 化工、畜禽养殖、金属冶炼是该区域土壤重金属主要的潜在污染源, 其中松嫩、辽河、黄泛平原的主要潜在污染源为畜禽养殖, 占比分别为 17%、17%和 16%。Luo 等<sup>[22]</sup>发现农田土壤中 69%的 Cu 和 51%的 Zn 来自于畜禽粪便。Nicholson 等<sup>[23]</sup>也发现畜禽粪便和有机肥对土壤 Cd 的贡献率分别为 11%和 30%。以上研究结果表明, 畜禽粪便和有机肥均为土壤重金属的主要来源。设施菜地处于不完全开放的状态, 与开放式农田生态系统有所不同, 土壤重金属受工业大气沉降的影响较小, 施肥是影响土壤重金属累积的主要因素。魏益华等<sup>[24]</sup>以江西省的设施菜地为研究对象, 发现有机肥的施入导致了土壤 Zn、Cu 和 Cd 元素的累积。索琳娜等<sup>[25]</sup>也发现施用有机肥后北京地区设施菜地土壤 Cr 元素出现累积。本研究表明随着鸡粪有机肥施用量的增加, 土壤 Cd、Cr、Cu、Zn 和 As 的含量均随之增大, 这与何梦媛等<sup>[1]</sup>研究的施用不同量鸡粪有机肥后土壤耕层重金属含量变化情况相一

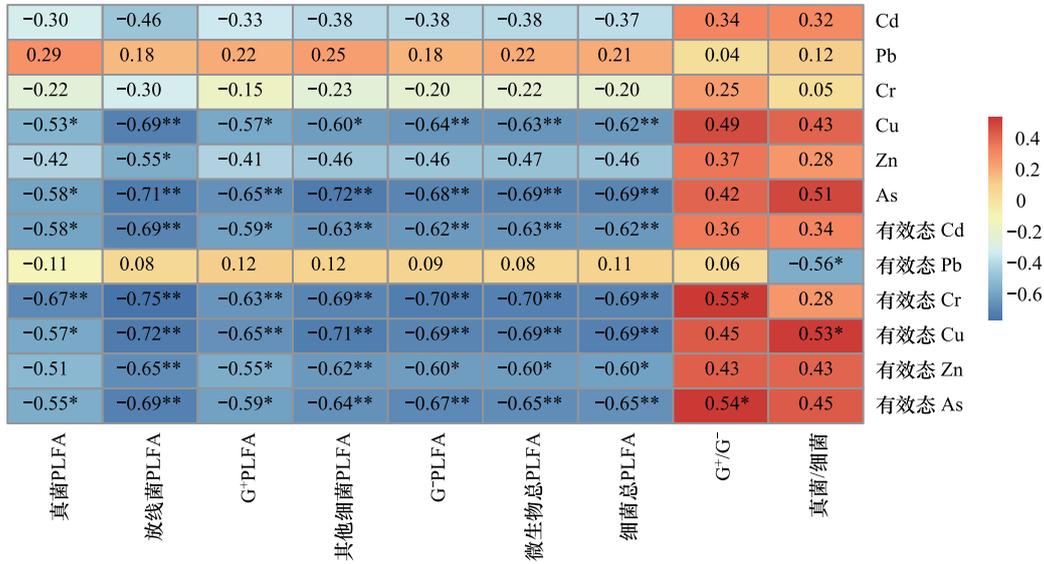


图7 土壤重金属含量与各微生物类群 PLFA 含量相关性热图

Fig.7 The Heatmap of relative abundance about soil heavy metal contents and the PLFA contents of Various microbial groups in different fertilization

\*\* 代表在 0.01 水平上显著相关, \* 代表在 0.05 水平上显著相关

致,而当有机肥的施用量为 30 t/hm<sup>2</sup>和 60 t/hm<sup>2</sup>时,Cd、Cr、Cu 和 As 的全量随肥量的增加而有所上升,但未达到统计学显著水平,这可能是由于高施肥量处理(60 t/hm<sup>2</sup>)小白菜生物量的增加对土壤重金属起到了稀释作用。不同处理小白菜地上部重金属含量的变化规律与土壤相似,施肥量为 30 t/hm<sup>2</sup>和 60 t/hm<sup>2</sup>时小白菜重金属含量显著增加,而其他施肥量与不施肥处理相比无显著差异,这与茹淑华等的研究结果相一致<sup>[6]</sup>。其原因可能是有机肥中重金属的生物有效性高,有利于植物对重金属的吸收富集<sup>[26]</sup>。土壤重金属的有效态含量可指示土壤重金属的生物有效性,是影响土壤质量的重要指标<sup>[27]</sup>,在本研究中,土壤重金属有效态含量与重金属全量表现出一致性,即随着有机肥施用量的增加而增大。研究表明,有机肥施入农田后可提高土壤重金属元素的生物有效性,其原因主要为有机肥本身重金属元素的有效态含量较高,施入农田后易转移到土壤当中,此外,有机肥中的有机物在土壤中腐解的过程对结合态重金属表现为活化作用<sup>[28]</sup>。余国营等<sup>[29]</sup>发现在土壤环境中,Pb 元素的迁移能力相对较弱,这可能是导致土壤中 Pb 全量、有效态含量和小白菜 Pb 含量未发生明显变化的原因。

由设施菜地土壤重金属全量与有效态含量的相关性统计可以看出土壤 Zn 和 Cd,Cu 和 Zn、Zn 和 Cr 的全量呈较强的正相关关系,陈芳等<sup>[30]</sup>研究不同施肥处理土壤重金属的相关性发现,不同重金属的环境行为与其来源有一定的相似性,这说明 Zn、Cd、Cu 三种重金属元素的来源相似,大部分来自于鸡粪有机肥中。土壤 Cd、Cr、Cu、Zn 和 As 的全量均与所对应元素的有效态含量呈现正相关关系,其中 Cd、Cu 和 Zn 的全量与有效态含量相关性较强,元素 Zn 的全量与其有效态含量的相关性最强(R=0.94)。土壤 Pb 的有效态含量和全量与其他元素的全量和有效态含量相关性均较弱,说明重金属 Pb 的含量受外来物质及其周围环境的影响较小,其他元素全量与有效态间均表现为协同作用。

施用有机肥改变了土壤 PLFA 的含量,但细菌在不同处理土壤中均为优势类群。很多研究发现,施用有机肥可增加土壤微生物 PLFA 的总量以及细菌、真菌、和放线菌的生物量,其原因为有机肥的施入为微生物提供了丰富的碳氮等营养物质,有利于微生物的生长繁殖<sup>[31]</sup>,有机肥本身也携带一定的活体微生物,增加了土壤中微生物的生物量<sup>[32]</sup>。此外,土壤微生物对于重金属的胁迫极其敏感,可及时地对土壤污染作出响应<sup>[33]</sup>,有研究发现,有机肥的施入导致了土壤重金属含量的变化,而土壤重金属污染对土壤微生物影响极其显

著<sup>[34]</sup>,可明显改变微生物的数量、群落结构和活性<sup>[35]</sup>。张雪晴等<sup>[36]</sup>也研究发现伴随重金属污染程度的升高,土壤中微生物的生物量随之减少。本研究中,在 M0.5 处理(施肥量为 7.5 t/hm<sup>2</sup>)处,土壤重金属含量较对照有所增加,但此时土壤中总 PLFA 及各类群微生物 PLFA 含量均取得最大值,原因可能是,低浓度的重金属对土壤微生物的生物量有刺激作用,促进了微生物的生长繁殖<sup>[37]</sup>,也可能为有机肥输入土壤中的养分对微生物所产生的正面效应大于输入土壤中的重金属对微生物产生的负面效应,张彦等<sup>[38]</sup>也发现,高营养物质可对金属污染的毒性起到明显的抵消作用,其具体原因有待进一步地研究;随着施肥量的增加,土壤重金属含量呈上升趋势(除 Pb 外),而总 PLFA 及各类群微生物 PLFA 含量有所下降,M2 和 M4 处理均低于对照,原因可能是土壤重金属含量在施肥量较高时浓度较高,此时高浓度的重金属对土壤微生物的生长和繁殖或竞争能力起到了一定抑制作用使得生物量降低,另一方面,微生物为抵御重金属胁迫消耗过多能量影响了其自身生长从而降低了微生物的生物量<sup>[39]</sup>。Hinojosa 等<sup>[40]</sup>和陈欣瑶等<sup>[41]</sup>的研究发现,随着土壤重金属污染水平的升高,真菌和细菌群落的 PLFA 含量有所降低,这与本研究的结果相一致。

G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup>可用于反映土壤细菌群落结构的变化情况以及评价生态系统的调节能力<sup>[42]</sup>。Marschner 等<sup>[43]</sup>研究发现,施用有机肥增加了土壤 G<sup>+</sup>与 G<sup>-</sup> PLFA 的比值。在本研究中,不同施肥处理下土壤 G<sup>+</sup>与 G<sup>-</sup> PLFA 的比值除 M0.5 处理外,其余处理比值均高于对照,但均未发生明显的变化,其原因可能是 G<sup>+</sup>的细胞壁较 G<sup>-</sup>更为坚韧,对环境胁迫的适应能力更强<sup>[44]</sup>,随着施肥量的增加,土壤重金属浓度随之升高,G<sup>+</sup>更能适应恶劣的环境。有研究表明,土壤中真菌与细菌 PLFA 的比值可反映土壤真菌与细菌两种群的丰度情况和微生物群落结构的变化<sup>[45-46]</sup>。当施肥量达到最高水平时,土壤真菌与细菌 PLFA 的比值明显增加,这说明施肥量较高时真菌丰度增高幅度较大,明显改变了土壤微生物群落结构的组成。大量有机肥的输入导致土壤营养物质的增加,与细菌相比,真菌对肥料的供给更为敏感<sup>[31]</sup>,并且对复杂化合物降解能力更强<sup>[47]</sup>,有机肥用量较高时,土壤重金属元素含量显著升高,有研究发现真菌对于 Cd 和 As 的耐受程度大于细菌<sup>[48]</sup>,以上两原因可能是造成高施肥量时真菌丰度升高的原因。主成分分析结果表明,M0.5 和 M1 处理微生物群落结构较为相似,区别于 CK、M2、M4,依据主成分分析结果将土壤施肥处理分为不施肥,施低量有机肥、中量有机肥和高量有机肥,以上几种施肥处理土壤微生物的群落结构有所区别。

土壤重金属含量和微生物 PLFA 含量的相关性分析结果表明,土壤 Cu、As 全量和 Cd、Cr、Cu、As 的有效态含量均与土壤各微生物类群 PLFA 含量及总 PLFA 含量显著负相关,其中有效态 Cr 和 Cu 含量对微生物类群的影响最大,而 Pb 的有效态含量和全量与微生物各类群 PLFA 含量和总 PLFA 含量相关性较弱,这可能是因为不同有机肥施用水平下 Pb 含量无明显变化,对微生物群落的影响较小。G<sup>+</sup>与 G<sup>-</sup> PLFA 的比值与土壤有效态 Cr、As 含量呈显著正相关,真菌与细菌 PLFA 的比值与土壤有效态 Cu 含量呈显著正相关,与土壤有效态 Pb 含量呈显著负相关关系,以上结果说明 G<sup>+</sup>对土壤 Cr 和 As 的耐受程度要高于 G<sup>-</sup>,真菌对 Cu 的耐受性要强于细菌,且有效态 Cd 与细菌群落的结构相关性较强,而有效态 Cu 和 Pb 含量与土壤微生物群落结构的变化关系密切。

#### 4 结论

(1)施用鸡粪有机肥后,小白菜地上部生物量显著增大,小白菜地上部及土壤 Cd、Cr、Cu、Zn 和 As 全量和有效态含量均有所增加,且随有机肥施用量的增加而增大(除土壤有效态 As 外);而 Pb 的全量和有效态含量在不同处理下无显著变化;Cd、Cu 和 Zn 的全量与有效态含量均呈现较强的正相关关系,其中元素 Zn 的全量与有效态的相关性最强( $R=0.94$ );

(2)各施肥处理中,16:0(其他细菌)、18:1 $\omega$ 7c(G<sup>-</sup>)、10Me16:0(放线菌)和 18:1 $\omega$ 9c(G<sup>-</sup>)的含量较高;土壤生物类群均以细菌为主,其次为放线菌和真菌;PLFA 总量、G<sup>-</sup>、G<sup>+</sup>、其他细菌、放线菌和真菌 PLFA 的含量随施肥量的增加呈现先上升后下降的趋势,且在 M0.5 处值最大;M0.5 和 M1 处理微生物群落结构较为相似,明显区别于 CK、M2、M4。

(3) 土壤 Cu、As 全量和 Cd、Cr、Cu、As 的有效态含量与土壤各微生物类群 PLFA 含量及总 PLFA 含量显著负相关,其中有效态 Cr 和 Cu 的含量对微生物类群的影响更为显著。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] 何梦媛,董同喜,茹淑华,苏德纯. 畜禽粪便有机肥中重金属在土壤剖面中积累迁移特征及生物有效性差异. 环境科学, 2017, 38(4): 1576-1586.
- [ 2 ] 李发,徐应明,王林,梁学峰,孙约兵,纪艺凝,栾润宇. 黄淮海地区鸡粪有机肥重金属含量特征及环境风险. 环境科学, 2018, 39(9): 4375-4384.
- [ 3 ] 王飞,邱凌,沈玉君,葛一洪,候月卿. 华北地区饲料和畜禽粪便中重金属质量分数调查分析. 农业工程学报, 2015, 31(5): 261-267.
- [ 4 ] 李本银,黄绍敏,张玉亭,周东美,吴晓晨,沈阿林,徐建明,李忠佩. 长期施用有机肥对土壤和糙米铜、锌、铁、锰和镉积累的影响. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(1): 129-135.
- [ 5 ] 王美,李书田,马义兵,黄绍敏,王伯仁,朱平. 长期不同施肥措施对土壤铜、锌、镉形态及生物有效性的影响. 农业环境科学学报, 2014, 33(8): 1500-1510.
- [ 6 ] 茹淑华,徐万强,侯利敏,孙世友,张国印,王凌,苏德纯. 连续施用有机肥后重金属在土壤-作物系统中的积累与迁移特征. 生态环境学报, 2019, 28(10): 2070-2078.
- [ 7 ] 许浩,韩丽媛,茹淑华,张云青,苏德纯. 不同有机肥中 Cu、Zn 在农田土壤中的有效性与形态归趋. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(4): 998-1009.
- [ 8 ] 黄绍文,唐继伟,李春花. 不同栽培方式菜田耕层土壤重金属状况. 植物营养与肥料学报, 2016, 22(3): 707-718.
- [ 9 ] Huang X M, Liu S R, Wang H, Hu Z D, Li Z G, You Y M. Changes of soil microbial biomass carbon and community composition through mixing nitrogen-fixing species with *Eucalyptus urophylla* in subtropical China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 73(6): 42-48.
- [ 10 ] 施翠娥,高扬,王玉龙,徐小牛,黄勃. 松材线虫对马尾松林土壤微生物生物量及酶活性的影响. 生态学杂志, 2015, 34(4): 1046-1051.
- [ 11 ] 李倩,马琨,冶秀香,杨金娟,牛红霞,马玲. 不同培肥方式对土壤有机碳与微生物群落结构的影响. 中国生态农业学报, 2018, 26(12): 1866-1875.
- [ 12 ] 杨亚东,王志敏,曾昭海. 长期施肥和灌溉对土壤细菌数量、多样性和群落结构的影响. 中国农业科学, 2018, 51(2): 290-301.
- [ 13 ] 李秀英,赵秉强,李絮花,李燕婷,孙瑞莲,朱鲁生,徐晶,王丽霞,李小平,张夫道. 不同施肥制度对土壤微生物的影响及其与土壤肥力的关系. 中国农业科学, 2005, 38(8): 1591-1599.
- [ 14 ] Dong W Y, Zhang X Y, Dai X Q, Fu X L, Yang F T, Liu X Y, Sun X M, Wen X F, Schaeffer S. Changes in soil microbial community composition in response to fertilization of paddy soils in subtropical China. *Applied Soil Ecology*, 2014, 84: 140-147.
- [ 15 ] 卜洪震,王丽宏,尤金成,肖小平,杨光立,胡跃高,曾昭海. 长期施肥管理对红壤稻田土壤微生物量碳和微生物多样性的影响. 中国农业科学, 2010, 43(16): 3340-3347.
- [ 16 ] 孙叶芳,谢正苗,徐建明,李静,赵科理. TCLP 法评价矿区土壤重金属的生态环境风险. 环境科学, 2005, 26(3): 152-156.
- [ 17 ] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(8): 911-917.
- [ 18 ] Frostegård A, Bååth E, Tunlio A. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, 1993, 25(6): 723-730.
- [ 19 ] Nicholson F A, Mciwm S R S, Alloway B J, Carlton-Smith C, Chambers B J. Quantifying heavy metal inputs to agricultural soils in England and Wales. *Water and Environment Journal*, 2006, 20(2): 87-95.
- [ 20 ] 曾希柏,李莲芳,梅旭荣. 中国蔬菜土壤重金属含量及来源分析. 中国农业科学, 2007, 40(11): 2507-2517.
- [ 21 ] 宋赛虎,孟繁华,郝艳,李鸣晓,姜玉,师荣光,李瑞. 东北及黄淮海平原农产品产地土壤污染风险及防控对策. 环境科学研究, 2018, 31(10): 1662-1668.
- [ 22 ] Luo L, Ma Y B, Zhang S Z, Wei D P, Zhu Y G. An inventory of trace element inputs to agricultural soils in China. *Journal of Environmental Management*, 2009, 90(8): 2524-2530.
- [ 23 ] Nicholson F A, Smith S R, Alloway B J, Carlton-Smith C, Chambers B J. An inventory of heavy metals inputs to agricultural soils in England and Wales. *Science of the Total Environment*, 2003, 311(1/3): 205-219.
- [ 24 ] 魏益华,邱素艳,张金艳,陈庆隆,陈柳萌,涂田华,戴廷灿. 农业废弃物中重金属含量特征及农用风险评估. 农业工程学报, 2019, 35(14): 212-220.
- [ 25 ] 索琳娜,刘宝存,赵同科,吴琼,安志装. 北京市菜地土壤重金属现状分析与评价. 农业工程学报, 2016, 32(9): 179-186.
- [ 26 ] 孙娜,商和平,茹淑华,苏德纯. 连续施用污泥堆肥土壤剖面中重金属积累迁移特征及对小麦吸收重金属的影响. 环境科学, 2017, 38

- (2): 815-824.
- [27] 商和平, 李洋, 张涛, 苏德纯. 畜禽粪便有机肥中 Cu、Zn 在不同农田土壤中的形态归趋和有效性动态变化. *环境科学*, 2015, 36(1): 314-324.
- [28] 高明, 车福才, 魏朝富, 谢德体, 杨剑虹. 长期施用有机肥对紫色水稻土铁锰铜锌形态的影响. *植物营养与肥科学报*, 2000, 6(1): 11-17.
- [29] 余国营, 吴燕玉. 土壤环境中重金属元素的相互作用及其对吸持特性的影响. *环境化学*, 1997, 16(1): 30-36.
- [30] 陈芳, 董元华, 安琼, 钦绳武. 长期肥料定位试验条件下土壤中重金属的含量变化. *土壤*, 2005, 37(3): 308-311.
- [31] 李春越, 郝亚辉, 薛英龙, 王益, 党廷辉. 长期施肥对黄土旱塬农田土壤微生物量碳、氮、磷的影响. *农业环境科学学报*, 2020, 39(8): 1783-1791.
- [32] Stark C H, Condrón L M, O'Callaghan M, Stewart A, Di H J. Differences in soil enzyme activities, microbial community structure and short-term nitrogen mineralisation resulting from farm management history and organic matter amendments. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(6): 1352-1363.
- [33] Azarbad H, Niklińska M, Laskowski R, Van Straalen N M, Van Gestel C A M, Zhou J Z, He Z L, Wen C Q, Röling W F M. Microbial community composition and functions are resilient to metal pollution along two forest soil gradients. *FEMS Microbiology Ecology*, 2015, 91(1): 1-11.
- [34] Zhang C, Nie S, Liang J, Zeng G M, Wu H P, Hua S S, Liu J Y, Yuan Y J, Xiao H B, Deng L J, Xiang H Y. Effects of heavy metals and soil physicochemical properties on wetland soil microbial biomass and bacterial community structure. *Science of the Total Environment*, 2016, 557-558: 785-790.
- [35] 韩文辉, 党晋华, 赵颖. 污灌区重金属和多环芳烃复合污染及其对农田土壤微生物数量的影响. *生态环境学报*, 2016, 25(9): 1562-1568.
- [36] 张雪晴, 张琴, 程园园, 茱荣. 铜矿重金属污染对土壤微生物群落多样性和酶活性的影响. *生态环境学报*, 2016, 25(3): 517-522.
- [37] 杨元根, Paterson E, Campbell C. 用土壤微生物方法评价重金属 Cu 的毒性及其时间效应. *自然科学进展*, 2001, 11(3): 243-249.
- [38] 张彦, 张惠文, 苏振成, 张成刚. 污水灌溉对土壤重金属含量、酶活性和微生物类群分布的影响. *安全与环境学报*, 2006, 6(6): 44-50.
- [39] 刘沙沙, 付建平, 蔡信德, 周建民, 党志, 朱润良. 重金属污染对土壤微生物生态特征的影响研究进展. *生态环境学报*, 2018, 27(6): 1173-1178.
- [40] Hinojosa M B, Carreira J A, García-Ruíz R, Dick R P. Microbial response to heavy metal-polluted soils: community analysis from phospholipid-linked fatty acids and ester-linked fatty acids extracts. *Journal of Environmental Quality*, 2005, 34(5): 1789-1800.
- [41] 陈欣瑶, 杨惠子, 陈楸健, 王丽娜, 王贵鑫, 张园. 重金属胁迫下不同区域土壤的生态功能稳定性与其微生物群落结构的相关性. *环境化学*, 2017, 36(2): 356-364.
- [42] Bardgett R D, McAlister E. The measurement of soil fungal: bacterial biomass ratios as an indicator of ecosystem self-regulation in temperate meadow grasslands. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(3): 282-290.
- [43] Marschner P, Kandeler E, Marschner B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(3): 453-461.
- [44] Kieft T L, Ringelberg D B, White D C. Changes in ester-linked phospholipid fatty acid profiles of subsurface bacteria during starvation and desiccation in a porous medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(9): 3292-3299.
- [45] 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.
- [46] Thiet R K, Frey S D, Six J. Do growth yield efficiencies differ between soil microbial communities differing in fungal: bacterial ratios? Reality check and methodological issues. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(4): 837-844.
- [47] Nair A, Ngouajio M. Soil microbial biomass, functional microbial diversity, and nematode community structure as affected by cover crops and compost in an organic vegetable production system. *Applied Soil Ecology*, 2012, 58: 45-55.
- [48] 刁展. 外源重金属对不同类型土壤养分及微生物活性的影响[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2016.