DOI:10.7524/j.issn.0254-6108.2016.02.2015092701
孔涛, 刘民, 淑敏,等.低分子量有机酸对土壤微生物数量和酶活性的影响[J].环境化学,2016,35(2):348-354
KONG Tao, LIU Min, SHU Min, et al. Effect of low molecular weight organic acids on soil microbe number and soil enzyme activities[J]. Environmental Chemistry,2016,35(2):348-354

低分子量有机酸对土壤微生物数量和酶活性的影响*

孔 涛[1**] 刘 民[2] 淑 敏[1] 王 凯[1] 吕 刚[1]

(1. 辽宁工程技术大学环境科学与工程学院, 阜新, 123000; 2. 辽宁工程技术大学理学院, 阜新, 123000)

摘 要 采用室内培养实验测定了 4 种低分子量有机酸在低浓度(4 mmol·kg^{-1}干土)、中浓度(20 mmol·kg^{-1}干土)和高浓度(100 mmol·kg^{-1}干土)梯度下,对土壤微生物数量、呼吸强度和土壤酶活性的影响规律.结果表明,随着有机酸浓度的升高,甲酸、草酸和柠檬酸处理的土壤细菌数量和呼吸强度持续升高,真菌数量持续降低,放线菌数量在低浓度被促进,中浓度和高浓度被抑制;苯甲酸则表现出了与前 3 种有机酸不同的规律,土壤真菌数量持续升高,而土壤细菌、放线菌数量和土壤呼吸强度则表现了低浓度升高而后不断降低的特点.对于土壤酶活性而言,甲酸处理的淀粉酶、脲酶和磷酸酶活性和苯甲酸处理的土壤过氧化氢酶、脱氢酶和土壤肥力生物指数(BIF)在低浓度升高,而在中浓度和高浓度降低;甲酸处理的过氧化氢酶、脱氢酶和 BIF,草酸处理和柠檬酸处理的蛋白酶、脱氢酶、土壤酶活性指数(EAN)、BIF,苯甲酸处理的蛋白酶和脲酶活性呈现随着有机酸浓度的升高而持续上升的趋势.综合土壤微生物数量、土壤呼吸和土壤酶活性,对土壤生态质量而言,在低浓度时苯甲酸处理最高,中浓度时柠檬酸处理最高,而在高浓度时草酸处理最高.

关键词 低分子量有机酸, 土壤微生物数量, 土壤呼吸强度, 土壤酶活性.

Effect of low molecular weight organic acids on soil microbe number and soil enzyme activities

KONG Tao[1**] *LIU Min*[2] *SHU Min*[1] *WANG Kai*[1] *LYU Gang*[1]

(1. College of Environmental Science and Engineering, Liaoning Technical University, Fuxin, 123000, China;
2. College of Sciences, Liaoning Technical University, Fuxin, 123000, China)

Abstract: Effects of 4 low molecular weight organic acids with low (4 mmol·kg^{-1} dry soil), medium (20 mmol·kg^{-1} dry soil) and high concentration (100 mmol·kg^{-1} dry soil) on soil microbe number, respiration intensity and enzyme activities were investigated by indoor culture experiments. The results showed that with increasing concentration, soil bacteria number and respiration intensity of formic acid, oxalic acid and citric acid treatments were continuously elevated, and soil fungi number was continuously decreased, while actinomycete number was increased at low concentrations and reduced at medium and high concentrations. Soil microbe number and respiration intensity of benzoic acid treatment showed a pattern different from that of the above three organic acid treatments. Soil fungi number was increased with increasing concentration, and soil bacteria number, actinomycete number and respiration intensity was increased at low concentrations and decreased at medium and

2015 年 9 月 27 日收稿(Received: September 27, 2015).
* 辽宁省自然科学基金(2015020805)和辽宁省科学事业公益研究基金(2015002011)资助.
Supported by the General Program of Natural Science Foundation of Liaoning Province of China (2015020805) and Scientific Research Foundation for Public Welfare of Liaoning Province of China (2015002011).
* * **通讯联系人**,Tel:13804184709, Email: kongtao2005@126.com
Corresponding author, Tel:13804184709, Email: kongtao2005@126.com

high concentrations. Soil amylase, urease, phosphatase activities of formic acid treatment as well as catalase, dehydrogenase activities and biological fertility of soil (BIF) of benzoic acid treatment were enhanced at low concentrations and reduced at medium and high concentrations. Catalase, dehydrogenase, BIF of formic acid treatment, protease, dehydrogenase, enzyme activity number (EAN), BIF of both oxalic acid and citric acid treatment, protease, urease of benzoic acid treatment showed a continuously increasing trend with increasing concentration. Soil ecological quality of benzoic acid treatment at low concentrations, citric acid treatment at medium concentrations and oxalic acid at high concentrations were the highest.

Keywords: low molecular weight organic acid, soil microbe number, soil respiratory intensition, soil enzyme activities.

低分子量有机酸在土壤中广泛存在,主要来源于植物根系的分泌、动植物残体的分解和微生物的合成,能够参与土壤的各种化学、生物学作用,进而影响植物的生理过程.目前低分子量有机酸的研究主要集中在对土壤中磷钾元素的溶解规律和机制[1-2]、对土壤中重金属元素的释放规律及污染土壤的修复[3-5]、对土壤中有机污染物的影响[6-7]等方面;低分子量有机酸对于土壤生态质量的影响方面,也已有较多的报道[8-11].评价土壤生态质量的指标包括土壤微生物数量/土壤呼吸/酶活性/微生物多样性/土壤线虫等方面.土壤微生物是土壤生化反应的推动者和参与者,是土壤有机无机复合体的重要组成部分,土壤酶活性在土壤养分循环中起着重要作用,两者被认为是表征土壤生态质量变化最敏感最有潜力的指标[12].因为土壤酶活性是底物专一性和反应专一性的,很难从单独一个酶活性评价整体土壤状态.因此研究人员将几种土壤酶活性整合起来开发出了一些土壤质量指标来表达土壤重要生态功能,其中包括土壤肥力生物指数(BIF)[13]、酶活性指数(EAN)[14],这两个指标近年来在国内外的研究中已经得到了较广泛的应用[15-18].

本研究测定不同浓度的甲酸、草酸、柠檬酸和苯甲酸对土壤微生物数量、呼吸强度和酶活性的影响,揭示其对土壤生态质量的影响程度和规律,进一步丰富低分子量有机酸在土壤生态质量方面的研究成果.

1　材料与方法(Materials and methods)

1.1　培养实验

土壤取自辽宁省盘锦市大洼县滨海地区 0—20 cm 土层的黏壤土,土壤 pH 值为 9.21,有机碳含量为 7.28 $g\cdot kg^{-1}$,全氮 0.60 $g\cdot kg^{-1}$,全磷 0.44 $g\cdot kg^{-1}$.将土样自然风干,粉碎后过 100 目筛子,每个玻璃瓶装 100 g 土.取甲酸、草酸、柠檬酸、苯甲酸溶液分别加入到玻璃瓶中,与土壤混匀,由于已有的文献报道土壤中低分子量有机酸的浓度在 0—100 $mmol\cdot kg^{-1}$ 范围内[19-22],因此本研究中将每种低分子量有机酸设置了 3 种浓度:4 $mmol\cdot kg^{-1}$ 干土(低浓度)、20 $mmol\cdot kg^{-1}$ 干土(中浓度)、100 $mmol\cdot kg^{-1}$ 干土(高浓度).对照(CK)用等量蒸馏水来代替低分子量有机酸溶液.每种有机酸的每个浓度设置 5 次重复.根据前期试验,培养 60 d 的土壤的化学性质已基本稳定,因此在室温下培养 60 d,培养期间保持土壤含水量为土壤田间持水量的 80%.培养完后,取出土样测定土壤微生物数量和土壤酶活性.

1.2　测定方法

土壤微生物数量采用平板计数法测定[23]:细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基,真菌采用马丁氏培养基,放线菌采用改良高氏一号培养基.淀粉酶(Amylase, AM)活性采用二硝基水杨酸比色法[24].磷酸酶(Phosphatase, AP)活性采用对硝基苯磷酸盐法[24].脱氢酶(Dehydrogenase, DH)采用氯化三苯基四氮唑比色法[24].蛋白酶(Protease, PR)活性采用茚三酮比色法[25].脲酶(Urease, UR)活性采用次氯酸钠比色法[26].过氧化氢酶(Catalase, CA)活性采用容量法[27].土壤肥力生物指数(Biological index of fertility, BIF)[13]和酶活性指数(Enzyme activity number, EAN)计算如下[14].

$$BIF=(1.5\times DH+CA)/2$$

$$EAN=0.2(0.15\times DH+CA+1.25\times10^{-5}\times AP+4\times10^{-2}\times PR+6\times10^{-4}\times AM)$$

1.3 数据分析

所有的数据均在土壤烘干(105 ℃)重量的基础上进行计算.所有的实验数据应用 SPSS 17.0 软件进行方差分析,显著性差异比较;用 Excel 2007 进行绘图.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 低分子量有机酸对土壤微生物数量和呼吸强度的影响

土壤外加低分子量有机酸培养结束后,测定的土壤微生物数量和呼吸强度见图 1. 由图 1 可知,在甲酸、草酸、柠檬酸等 3 种酸处理下,土壤细菌数量呈现一致的规律,低浓度与对照之间没有显著差异,而随着低分子量有机酸由中浓度到高浓度,土壤细菌数量显著提高,在高浓度时,3 种有机酸处理的土壤细菌数量分别比对照提高了 145.3%、234.4%和 181.3%,可以看出,高浓度的草酸提高土壤细菌的效果最好.甲酸、草酸和柠檬酸都属于短链有机酸,分子量小,在 200 以内,容易透过细菌较薄的细胞壁和细胞膜,作为能源物质被细菌利用[28-29],从而在本研究设定浓度范围内,酸浓度越高,细菌数量增殖越多.苯甲酸表现出了与上述 3 种酸不一致的规律,在低浓度促进土壤细菌增殖,而在高浓度时抑制其增殖,这与谭秀梅等[8]研究苯甲酸对林地中土壤细菌数量影响的规律是一致的.苯甲酸属于酚酸类物质,具有一个苯环,亲油性强,易与细菌细胞膜结合,浓度高时,苯甲酸与细胞膜结合过多,干扰细胞膜的通透性,阻碍细胞膜对氨基酸的吸收,从而起到防腐作用[30-31].

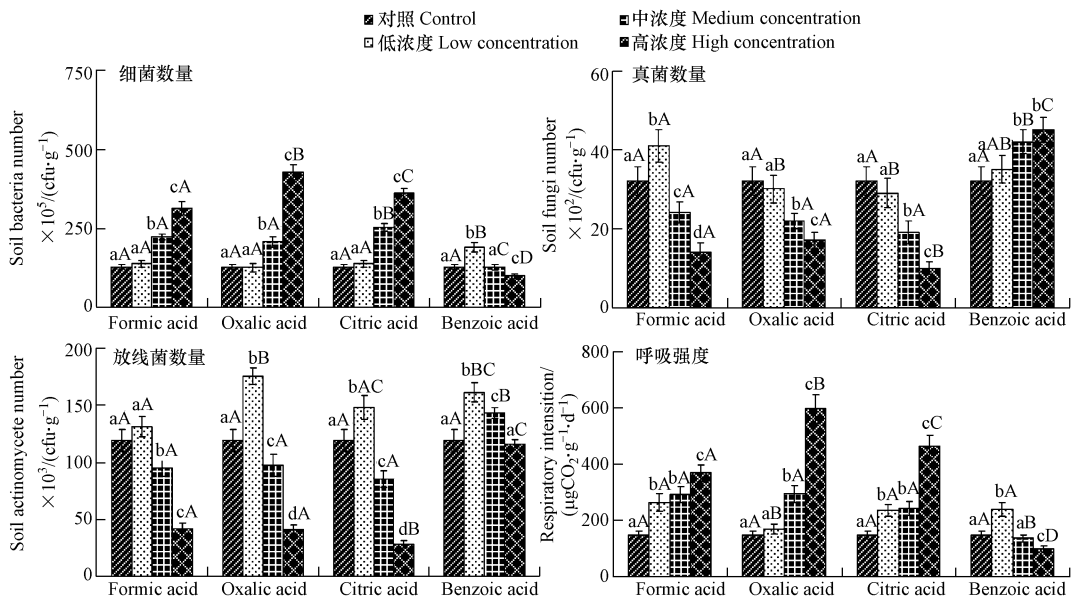

图 1 甲酸、草酸、柠檬酸、苯甲酸对土壤细菌数量、真菌数量、放线菌数量和呼吸强度的影响

(注:不同小写字母表示同一有机酸不同浓度之间存在显著差异($P<0.05$),不同大写字母表示同一浓度量下不同有机酸之间存在显著差异($P<0.05$),下同)

Fig.1 Effects of formic acid, and oxalic acid, citric acid, and benzoic acid on soil bacteria number, fungi number, actinomycete number and respiration intensity

土壤真菌数量在不同有机酸处理之间的规律并不一致.总体而言,甲酸、草酸和柠檬酸处理的土壤真菌数量随着浓度的升高而不断降低,这与刘强等[32]研究柠檬酸影响石灰性土壤真菌数量的结果是一致的.这些有机酸对土壤真菌起到了抑制作用,主要是由于真菌细胞壁较厚,这些有机酸不易穿透,因而无法作为能源物质被利用.同时鞠会艳等[33]认为, 有机酸越高,土壤 pH 值越低, 从而越不适合真菌的生长.与甲酸、草酸和柠檬酸恰好相反,苯甲酸处理的土壤真菌数量随着浓度的升高而不断增加,其高浓度苯甲酸与对照相比将真菌数量提高了 40.6%,其机制尚不清楚,有待进一步研究.

4 种有机酸处理下土壤放线菌数量都表现出了在低浓度时被促进,而在中浓度和高浓度时被抑制

的特点.低浓度的甲酸、草酸、柠檬酸和苯甲酸处理的土壤放线菌数量分别比对照提高了 10.1%、47.1%、24.4%和 35.3%,可以看出,低浓度草酸提高放线菌数量效果最好.低浓度时放线菌被促进主要是由于放线菌的细胞壁很薄,这些有机酸易穿透进细胞内从而被吸收利用,中高浓度的苯甲酸抑制放线菌的原因与细菌相同,而其他 3 种有机酸抑制土壤放线菌的原因主要在于放线菌适合于在微碱性环境中生存,而中高浓度的有机酸导致了土壤的 pH 较低,环境 pH 的抑制效应超过了放线菌对有机酸的利用效应,从而抑制了放线菌增殖.

土壤呼吸强度主要依赖于土壤微生物数量,而本研究中土壤细菌数量占据了土壤微生物总数的 99%以上,因而土壤呼吸强度在各处理之间基本表现出了与土壤细菌数量相似的规律.甲酸、草酸和柠檬酸处理的土壤呼吸强度随着酸浓度的升高而升高,在高浓度下,三者分别比对照提高了 150.0%、305.9%和 215.0%,草酸提高的幅度最大.苯甲酸则表现出在低浓度时被促进,高浓度被抑制的特点,与对照相比,低浓度苯甲酸将呼吸强度提高 62.5%.吕卫光等[11]研究表明苯甲酸在低浓度时促进,高浓度时抑制西瓜地土壤呼吸强度,与本研究的结果一致.

将各有机酸之间进行比较,在低浓度时,苯甲酸处理的土壤细菌数量、甲酸处理的土壤真菌数量和呼吸强度,草酸处理的土壤放线菌数量最高;中浓度时,柠檬酸处理的细菌数量,苯甲酸处理的真菌数量和放线菌数量,草酸处理的土壤呼吸强度最高;高浓度时,草酸处理的土壤细菌数量、呼吸强度,苯甲酸处理的土壤真菌数量、放线菌数量最高.

2.2　低分子量有机酸对土壤酶活性的影响

低分子量有机酸对 6 种土壤酶活性和 2 种土壤酶综合指数的测定结果见图 2.不同有机酸对土壤淀粉酶活性的影响各异,甲酸和柠檬酸在低浓度时促进,在高浓度时又回复到对照水平;草酸在低浓度时抑制,而随着浓度的进一步升高,淀粉酶活性不断升高,在高浓度时比对照显著高出了 73.6%;苯甲酸则只在中浓度时提高了淀粉酶活性.不同有机酸处理的蛋白酶活性基本表现出了随着浓度的升高而升高的规律,蛋白酶活性除了甲酸处理是在中浓度时最高外,在草酸、柠檬酸和苯甲酸处理下皆是在高浓度时活性最大,分别比对照显著提高了 28.9%、10.2%和 18.8%.蛋白酶活性通常被认为依赖于土壤微生物量的水平[34].本研究中各处理土壤细菌数量占据了土壤微生物总量的 99%以上,由于 4 种低分子量有机酸皆大幅度地促进了土壤细菌数量的增加,因而导致了土壤蛋白酶活性的提高.

甲酸处理的脲酶活性表现出了在低浓度时被促进,而在高浓度时被抑制的特点.草酸、柠檬酸和苯甲酸在中浓度和高浓度时都促进了土壤脲酶活性的提高,这与吕卫光等[11]和袁光林等[35]研究苯甲酸对土壤脲酶活性的影响规律是一致的.高浓度的草酸、柠檬酸和苯甲酸的脲酶活性分别比对照提高了 20.6%、56.8%和 50.5%.甲酸和草酸处理的土壤磷酸酶活性在低浓度时被促进,而在高浓度时被抑制.赵振华等[36]研究有机酸对土壤酶影响时发现,草酸在低浓度时促进,高浓度时抑制了土壤磷酸酶活性,支持了本研究结果.柠檬酸处理的土壤磷酸酶活性随着酸浓度的升高而升高,而苯甲酸在低浓度抑制了磷酸酶活性,在中浓度和高浓度时促进了酶活性.张根柱[9]在研究柠檬酸对楼土酶活性影响时发现,磷酸酶活性随着酸浓度的升高而升高,这与本研究的结果是一致的.

过氧化氢酶活性在甲酸和草酸处理之间表现出了相似的规律,随着有机酸浓度的升高而升高,在高浓度时活性最大,分别比对照提高了 16.2%和 45.3%.柠檬酸处理的过氧化氢酶活性在中浓度时最高,低浓度和高浓度与对照之间没有显著差异.苯甲酸则在低浓度时促进而在中浓度和高浓度时抑制过氧化氢酶活性,这与连作土壤中苯甲酸对过氧化氢酶活性的影响规律[10]是一致的.脱氢酶活性在甲酸、草酸和柠檬酸之间表现出来一致的规律,随着有机酸浓度的升高而升高,在高浓度时活性最高,分别比对照高出了 84.2%、154.7%和 97.8%.苯甲酸处理的脱氢酶活性则只在低浓度时高于对照.可以看出,土壤脱氢酶活性和土壤细菌数量在各处理中表现出了一致的规律,表明两者之间存在着正相关性.

从图 2 可以看出,甲酸处理的 EAN 在中浓度时最高,为 2.66,比对照高出了 15.9%,而草酸、柠檬酸和苯甲酸则在高浓度时最高,分别为 3.06、2.55 和 2.62,分别比对照高出了 33.3%、11.1%和14.3%.甲酸、草酸和柠檬酸处理的 BIF 呈现了一致的规律,随着酸浓度的升高而升高,在高浓度时最大,分别为 2.75、3.71 和 2.82,分别比对照提高了 60.9%、117.2%和 65.2%,苯甲酸处理的 BIF 则只在低浓度时显著高于对照.Beck 报道了 EAN 在耕种土壤的值是从 1 到 4[13],Stefanic 报道了 BIF 在一系列土壤中的值是从0.9

到 17.2 之间[14].从图 2 可以看出,在本研究中 EAN 值和 BIF 值皆位于两位学者提出的范围内.总体来看,甲酸、草酸和柠檬酸在高浓度时生物肥力最高,苯甲酸在低浓度时生物肥力最高.

土壤酶主要来自微生物和植物根系分泌等途径.本研究中不同有机酸对 6 种土壤酶的影响规律各不相同,主要是由以下两种因素共同作用造成的:(1) 低分子量有机酸进入土壤后,引起了微生物区系及活力的改变,从源头上影响着酶活性;(2)低分子量有机酸影响着土壤酶在土壤胶体上的吸附程度[36],效果因有机酸种类而异,且受 pH 值制约[37],从而从吸附性能上影响了土壤酶活性.

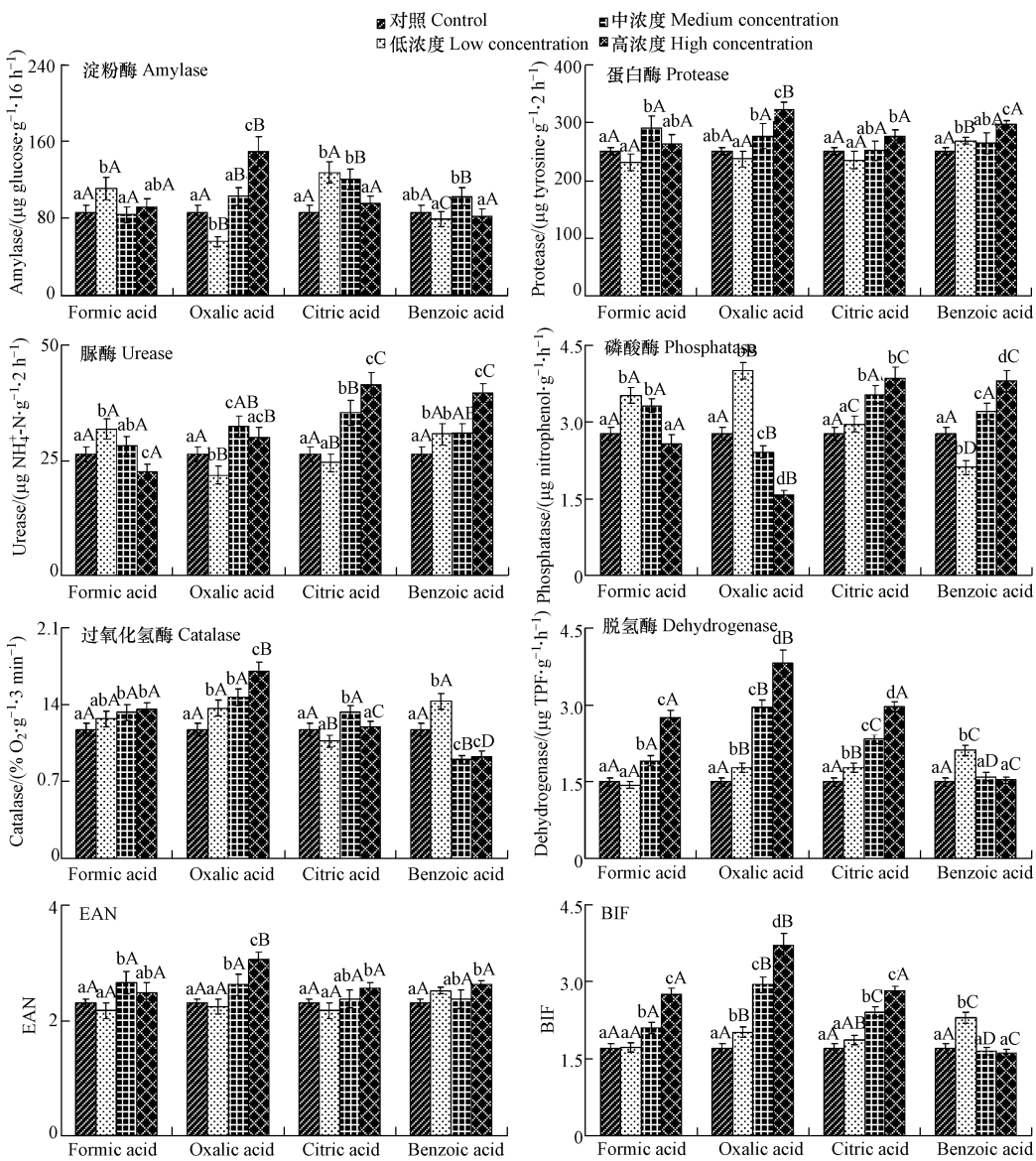

图 2 甲酸、草酸、柠檬酸、苯甲酸对土壤淀粉酶、蛋白酶、脲酶、磷酸酶、过氧化氢酶、脱氢酶活性和 BIF、EAN 的影响

Fig.2 Effects of formic acid, oxalic acid, and citric acid, benzoic acid on soil activities of amylase, protease, phosphatase, urease, catalase, dehydrogenase, EAN and BIF

不同有机酸之间进行比较,低浓度时,柠檬酸处理的土壤淀粉酶,甲酸处理的脲酶,草酸处理的磷酸酶,苯甲酸处理的蛋白酶、过氧化氢酶、脱氢酶活性、EAN 和 BIF 在所有处理中的活性是最高的.中浓度时,柠檬酸处理的淀粉酶、脲酶和磷酸酶,草酸处理的过氧化氢酶、脱氢酶和 BIF,甲酸处理的蛋白酶、EAN 活性最高.高浓度时,柠檬酸处理的脲酶、磷酸酶,草酸的淀粉酶、蛋白酶、过氧化氢酶、脱氢酶、EAN、BIF 活性最高.

3　结论(Conclusion)

(1) 在本研究设定的浓度范围内,甲酸、草酸和柠檬酸能够促进土壤细菌增殖,提高土壤呼吸强度,抑制土壤真菌生长;苯甲酸能够促进土壤真菌增殖.

(2) 6 种酶活性和 2 种酶综合指数在不同有机酸处理间的规律各有差异.总体来说,甲酸、草酸和柠檬酸能够促进土壤蛋白酶、过氧化氢酶、脱氢酶活性和 EAN、BIF 值;苯甲酸能够促进蛋白酶和脲酶活性.

(3)综合土壤微生物数量、土壤呼吸和土壤酶活性,对土壤生态质量而言,在低浓度时苯甲酸处理最高,中浓度时柠檬酸处理最高,而在高浓度时草酸处理最高.

参考文献(References)

[1] 杨杰文, 钟来源, 郭荣发, 等.有机酸对砖红壤的溶解及固定态磷素的活化[J]. 环境化学, 2010, 29(6): 1063-1067.
YANG J W, ZHONG L Y, GUO R F, et al. Dissolution of latosol and the release of immobilized phosphorus promoted by organic acids[J]. Environmental Chemistry, 2010, 29(6): 1063-1067(in Chinese).

[2] 占丽平, 丛日环, 李小坤, 等.低分子量有机酸对红壤和黄褐土 K^+吸附动力学的影响[J]. 土壤学报, 2012, 49(6): 1147-1157.
ZHAN L P, CONG R H, LI X K, et al. Effect of low molecular weight organic acids on transformation of potassium in red soil and yellow cinnamon soil in south China[J]. Acta Pedologica Sinica, 2012, 49(6): 1147-1157(in Chinese).

[3] 杨杰文, 钟来源, 郭荣发.有机酸溶解砖红壤过程中 Mn(Ⅱ)的释放规律[J]. 环境化学, 2011, 30(7): 1348-1353.
YANG J W, ZHONG L Y, GUO R F. Release of Mn(Ⅱ) during organic acid promoted dissolution of Latosol[J]. Environmental Chemistry, 2011, 30(7): 1348-1353(in Chinese).

[4] 梁金利, 蔡焕兴, 段雪梅, 等.有机酸土柱淋洗法修复重金属污染土壤[J]. 环境工程学报, 2012, 6(9): 3339-3343.
LIANG J L, CAI H X, DUAN X M, et al. Remediation of heavy metal-polluted soils using organic acid washing[J]. Chinese Journal of Environmental Engineering, 2012, 6(9): 3339-3343(in Chinese).

[5] 杨海琳, 廖柏寒.低分子有机酸去除土壤中重金属条件的研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(12): 2330-2337.
YANG H L, LIAO B H. Extraction condition for heavy metals from contaminated soil by using low molecular organic acids[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010, 29(12): 2330-2337(in Chinese).

[6] 党红交, 孙瑞, 刘娟, 等.低分子量有机酸作用下土壤中菲和芘的残留与及形态[J]. 土壤学报, 2012, 49(3): 499-506.
DANG H J, SUN R, LIU J, et al. Effect of low molecular weight organic acids on residues and forms of phenanthrene and pyrene in soil [J]. Acta Pedologica Sinica, 2012, 49(3): 499-506(in Chinese).

[7] 杨丽华, 龚道新, 袁雅洁, 等.低分子量有机酸对赤铁矿吸附二氯喹啉酸的影响及机理[J]. 农业环境科学学报, 2015, 34(7): 1301-1310.
YANG L H, GONG D X, YUAN Y J, et al. Effect of low molecular weight organic acids on adsorption of quinclorac by hematite[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2015, 34(7): 1301-1310(in Chinese).

[8] 谭秀梅, 王华田, 孔令刚.杨树人工林连作土壤中酚酸积累规律及对土壤微生物的影响[J]. 山东大学学报(理学版), 2008, 43(1): 14-19.
TAN X M, WANG H T, KONG L G. Accumulation of phenolic acids in soil of a continuous cropping poplar plantation and their effects on soil microbes[J]. Journal of Shandong University(Natural Science), 2008, 43(1): 14-19(in Chinese).

[9] 张根柱.外源柠檬酸对塿土养分、酶活性及微生物活性的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2011: 41-57.
ZHANG G Z. Effects of exogenous citric acid on soil nutrients and enzyme activities and microbial activity of old manured loessal soil[D]. Yangling: Thesis for Master Degree of Northwest A&F University, 2011: 41-57(in Chinese).

[10] 马云华, 王秀峰, 魏珉, 等.黄瓜连作土壤酚酸类物质积累对土壤微生物和酶活性的影响[J]. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2149-2153.
MA Y H, WANG X F, WEI M, et al. Accumulation of phenolic acids in continuously cropped cucumber soil and their effects on soil microbes and enzyme activities[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005,16(11): 2149-2153(in Chinese).

[11] 吕卫光, 沈其荣, 余廷园, 等.酚酸化合物对土壤酶活性和土壤养分的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2006, 12(6): 845-849.
LYU W G, SHEN Q R, YU T Y, et al. The effect of added phenolic acids on soil enzyme activities and nutrients[J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2006,12(6): 845-849(in Chinese).

[12] 刘占锋, 傅伯杰, 刘国华, 等.土壤质量与土壤质量指标[J]. 生态学报, 2006, 26(3): 901-913.
LIU Z F, FU B J, LIU G H, et al. Soil quality: Concept, indicators and its assessment[J]. Acta Ecologica Sinica, 2006, 26(3): 901-913(in Chinese).

[13] BECK T. Methods and application of soil microbiological analysis at the Landensanstalt fur Bodenkultur and Pflanzenbau(LBB) for the determination of some aspects of soil fertility[C]//Nemes M P, Kiss S, Papacostea P, et al. Proceedings of the fifith Symposium on Soil Biology. Bucharest: Rumanian National Society of Soil Science, 1984: 13-20.

[14] STEFANIC G, ELIADE G,CHIRNOGEANU I. Researches concerning a biological index of fertility[C]//Nemes M P, Kiss S, Papacostea P, et al. Proceedings of the fifith Symposium on Soil Biology. Bucharest: Rumanian National Society of Soil Science, 1984: 35-45.

[15] KANG G S, BERI V, SIDHU B S, et al. A new index to assess soil quality and sustainability of wheat-based cropping systems[J]. Biology and fertility of soils, 2005, 41(4): 389-398.

[16] SAVIOZZI A, CARDELLI R, PUCCIO R D. Impact of salinity on soil biological activities: a laboratory experiment[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2011, 42(6):358-367.

[17] LIAO Y P, MIN X B, YANG Z H, et al. Physicochemical and biological quality of soil in hexavalent chromium-contaminated soils as affected by chemical and microbial remediation[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2014, 21(1): 379-388.

[18] 贾夏, 董岁明, 周春娟.低含量 Pb 对 Cd 处理下冬小麦根际土壤氧化还原酶活性、BIF 及 C/N 的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2012, 18(6): 917-923.
JIA X, DONG S M, ZHOU C J. Effects of low doses of Pb on rhizosphere soil oxidoreductase activities, BIF, and C:N ratio of winter wheat seedlings under Cd[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2012,18(6): 917-923(in Chinese).

[19] JONES D L. Organic acids in the rhizosphere-a critical review[J]. Plant and Soil, 1998, 205(1): 25-44.

[20] WANG X X,LI Q M,DING J H,et al.An improved method for extraction of low molecular weight organic acids in variable charge soils. Analytical Sciences, 2007, 23(5): 539-543.

[21] JONES D L, DENNIS P G, OWEN A G, et al. Organic acids behavior in soils-misconceptions and knowledge gaps[J]. Plant and Soil, 2003, 248(1): 31-41.

[22] SHEN A L, LI X Y, KANAMORI T, et al. Low-molecular-weight organic acids in two soils incubated with plant residues under different moisture conditions: aliphatic acids[J]. Pedosphere, 1997, 7 (1): 79-86.

[23] 章家恩.生态学常用实验研究方法与技术[M]. 北京：化学工业出版社,2007.
ZHANG J E. Methods and techniques of experimental research in ecology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007(in Chinese).

[24] NARASIMHA G, SRIDEVI A, REDDY A V S, et al. Effect of cotton ginning mill industrial effluents on soil dehydrogenase, phosphatase, amylase and invertase enzyme activities[J]. International Journal of Agricultural and Food Science, 2012, 2(1): 1-6.

[25] SHAHRIARI F, HIGASHI T, TAMURA K. Effects of clay addition on soil protease activities in andosols in the presence of cadmium[J]. Soil Science and Plant Nutrition, 2010, 56(4): 560-569.

[26] EMAMI S, POURBABAEE A A, ALIKHANI H A. Effect of paraffin on the urease activity of soil[J]. Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, 2013, 3(15): 1526-1529.

[27] KIZILKAYA R, AKCA I, ASKIN T. Effect of soil contamination with azadirachtin on dehydrogenase and catalase activity of soil [J]. Eurasian Journal of Soil Science, 2012, 24(2): 98-103.

[28] SCHNURER J, CLARHOLM M, ROSSWALL T. Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic-matter contents [J]. Soil Biology and Biochemistry, 1985, 17(5): 611-618

[29] BOWERS J H, NAMETH S T, RIEDEL R M, et al. Infection and colonization of potato roots by Verticillium dahliae as affected by Pratylenchus penetrans and P-crenatus[J]. Phytopathology, 1996, 86(6): 614-621.

[30] 谈家金, 冯志新.苯甲酸和苯乙酸对松材线虫和细菌活性的影响[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2003, 27(6): 59-62.
TAN J J, FENG Z X. Activity determination of benzoic acid and phenelycetic acid against *Bursaphelenchus xylophilus* and bacteria[J]. Journal of Nanjing Forestry University(Natural Science Edition), 2003, 27(6): 59-62(in Chinese).

[31] 侯振建.食品添加剂及应用技术[M]. 北京：化学工业出版社, 2004.
HOU Z J. Food additives and its application technology[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004(in Chinese).

[32] 刘强, 姚拓, 马晖玲.菌肥与柠檬酸互作对石灰性土壤生物学特性及草坪质量的影响[J]. 草业学报, 2014, 23(5): 223-230.
LIU Q, YAO T, MA H L. Combined effects of bio-fertilizer and citric acid on turf quality and soil biology on a calcareous soil[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2014, 23(5): 223-230(in Chinese).

[33] 鞠会艳, 韩丽梅, 王树起, 等.连作大豆根分泌物对根腐病病原菌的化感作用[J]. 应用生态学报, 2002, 13(6): 723-727.
JU H Y, HAN L M, WANG S Q, et al. Allelopathic effect of root exudates on pathogenic fungi of root rot in continuous cropping soybean [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2002,13(6):723-727(in Chinese).

[34] GARCIA C, HERNANDEZ T, COSTA F. Microbial activity in soils under mediterranean environmental-conditions[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1994, 26(9): 1185-1191.

[35] 袁光林, 马瑞霞, 刘秀芬, 等.化感物质对土壤脲酶活性的影响[J]. 环境科学, 1998, 19(2): 55-57.
YUAN G L, MA R X, LIU X F, et al. Effects of allelochemicals on urease activity[J]. Environmental Science, 1998, 19(2): 55-57(in Chinese).

[36] 赵振华, 黄巧云, 陈雯莉, 等.几种低分子量有机酸、磷酸对土壤胶体和矿物吸附酸性磷酸酶的影响[J]. 中国农业科学, 2002, 35(11): 1375-1380.
ZHAO Z H, HUANG Q Y, CHEN W L, et al. Effect of several low-molecular-weight organic acids and phosphate on the adsorption of acid phosphatase on soil colloids and minerals[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2002, 35(11): 1375-1380(in Chinese).

[37] 马瑞霞.化感物质对硝酸还原酶活性影响的研究[J]. 环境科学, 1999, 20(1): 80-83.
MA R X. Study on influence of allelochemicals on activity of nitrate reductases[J]. Environmental Science, 1999, 20(1): 80-83(in Chinese).