

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2016.12.2016042301

孔涛, 林俊杰, 伏虹旭, 等. 低分子量有机酸对土壤微生物碳源代谢特征的影响[J]. 环境化学, 2017, 36(2): 365-372.

KONG Tao, LIN Junjie, FU Hongxu, et al. Effect of low molecular weight organic acids on metabolic characteristic of soil microbes to carbon sources[J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(2): 365-372.

低分子量有机酸对土壤微生物碳源代谢特征的影响*

孔 涛¹ 林俊杰^{2**} 伏虹旭¹ 张志玲¹ 淑 敏¹

(1. 辽宁工程技术大学环境科学与工程学院, 阜新, 123000;
2. 重庆三峡学院三峡库区水环境演变与污染防治重庆高校市级重点实验室, 万州, 404100)

摘 要 应用 MicroRespTM 方法研究了 4 种低分子量有机酸作用下土壤微生物对不同碳源的代谢特征. 结果表明, 甲酸、草酸、柠檬酸处理下土壤微生物碳源总利用率均高于对照, 苯甲酸则与对照没有差异. 各有机酸之间进行比较, 柠檬酸处理下土壤微生物对碳源总利用率最高, 苯甲酸最低; 碳源代谢的 Shannon 指数大小顺序为苯甲酸>柠檬酸≈草酸>甲酸; 综合而言, 柠檬酸处理下土壤微生物代谢能力最强. 4 种低分子量有机酸处理下, 4 大类碳源底物的利用率大小顺序表现为糖类>氨基酸类>羧酸类≈芳香族类, 其中, 海藻糖和 γ -氨基丁酸的利用率占碳源总利用率的比例最高. 主成分分析结果表明, 有机酸处理下土壤微生物群落变化的敏感碳源是糖类; 各有机酸处理的土壤微生物代谢特征都与对照显著不同, 柠檬酸处理下碳源代谢特征与其它 3 种有机酸明显不同. 综上所述, 甲酸、草酸、柠檬酸能够提高土壤微生物碳源代谢能力, 其中柠檬酸效果最好, 可将添加较高浓度的柠檬酸作为提高土壤碳周转率的一种方式.

关键词 MicroRespTM, 低分子量有机酸, 碳源, 土壤, 微生物多样性.

Effect of low molecular weight organic acids on metabolic characteristic of soil microbes to carbon sources

KONG Tao¹ LIN Junjie^{2**} FU Hongxu¹ ZHANG Zhiling¹ SHU Min¹

(1. College of Environmental Science and Engineering, Liaoning Technical University, Fuxin, 123000, China;
2. Key Laboratory of Water Environment Evolution and Pollution Control in Three Gorges Reservoir, Chongqing Three Georges University, Wanzhou, 404100, China)

Abstract: The carbon source metabolic characteristics of alkaline soil microbial community under 4 types of low molecular weight organic acid treatments was investigated by means of MicroRespTM method. The results showed that formic acid, oxalic acid and citric acid enhanced total carbon utilization rate of soil microbial community in comparison with control, and total utilization of benzoic acid treatment was the not significantly different from that of control treatment. Total carbon source utilization rate of soil microbial community under citric acid treatment was the highest, and total

2016 年 4 月 23 日收稿 (Received: April 23, 2016).

* 辽宁省自然科学基金 (2015020805), 国家自然科学基金 (41301248), 辽宁省科学事业公益研究基金 (2015002011), 中国科学院水库水环境重点实验室开放基金项目 (RAE2014BA01B), 教育部春晖计划项目 (Z2015133), 重庆市教委科学技术研究项目 (KJ1601016). 资助.

Supported by the Natural Science Foundation of Liaoning Province of China (2015020805), National Natural Science Foundation of China (41301248), Scientific Research Foundation for Public Welfare of Liaoning Province of China (2015002011) and the Key Laboratory of Reservoir Aquatic Environment, Chinese Academy of Science (RAE2014BA01B), Chunhui Project from Education Ministry of China (Z2015133); Scientific and Technological Research Program of Chongqing Municipal Education Commission (KJ1601016).

** 通讯联系人, Tel: 13804184709, E-mail: ybu_lin@126.com

Corresponding author, Tel: 13804184709, E-mail: ybu_lin@126.com

utilization rate under benzoic acid treatment was lowest. Shannon index of carbon sources metabolism followed the order of benzoic acid treatment > citric acid > oxalic acid > formic acid. Conclusively, metabolic function of soil microbe under citric acid treatment was to strongest. Utilization rate of carbon sources substrates followed the order of carbohydrates > amino acids > carboxylic acids > aromatic group. Among 15 carbon sources, the ratio of trehalose and γ -aminobutyric acid utilization rate to total carbon sources utilization rate was the highest. Principle components analysis showed that carbohydrates were the sensitive carbon source of soil microbial community changes. Metabolic characteristics of soil microbial community under 4 types of organic acid treatments were significantly different from that under control treatment. Metabolic characteristics under citric acid treatment was significantly different from that of the other organic acid treatments. In summary, formic acid, oxalic acid and citric acid could enhance carbon source metabolic ability of soil microbial community, and adding high concentration of citric acid to soil could be used as a method of improving soil carbon turnover rate.

Keywords: MicroRespTM, low molecular weight organic acid, carbon sources, soil, microbial diversity.

低分子量有机酸在土壤中广泛存在,能够参与土壤的各种化学、生物学作用,包括成土作用、矿物溶解等,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、钾和重金属元素的溶解规律和机制^[1-3]、对受重金属和有机污染物污染土壤的修复作用等方面^[4-7]。低分子量有机酸对土壤生态质量的影响方面也有一定的研究,主要包括对土壤可培养微生物数量和酶活性的影响方面^[8-11],在对土壤微生物多样性影响研究方面,已有的报道主要局限在根系分泌物(其中的一类主要成分是低分子量有机酸)^[12-14]对土壤微生物多样性的影响方面,而对纯的低分子量有机酸及其之间比较的研究还较少。

土壤微生物具有丰富的功能多样性,在生态系统中具有决定性影响,能够敏感指示土壤的生态质量。微生物功能多样性可以通过微生物对碳源的代谢能力来反映。目前在土壤微生物对碳源代谢能力的研究上有 3 种方法:Biolog 法、底物诱导呼吸法和 MicroRespTM 法。MicroRespTM 法是在结合 Biolog 法和底物诱导呼吸法优点的基础上发展起来的一种既能够测定全土又简单、快速的测定方法^[15]。MicroRespTM 法在国外已被广泛用于土壤微生物群落的功能多样性分析^[16],在国内近几年已经开始应用于红壤^[16-17]、水稻土^[18]。

本研究应用 MicroRespTM 方法,研究在 4 种低分子量有机酸作用下土壤微生物对不同碳源利用特征,明确土壤微生物群落的主要碳源利用类型,揭示低分子量有机酸作用下土壤微生物功能多样性变化规律,从土壤碳代谢的角度为低分子量有机酸改良盐碱地等贫瘠土壤和治理污染土壤提供理论依据。

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 $7.28 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全氮 $0.60 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,全磷 $0.44 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。将土样自然风干,粉碎后过 100 目筛子,每个玻璃瓶装 100 g 土。根际土壤中低分子量有机酸种类多,本研究选取典型的带不同数量羧基的直链酸(甲酸、草酸、柠檬酸)和酚酸(苯甲酸)作为研究对象,将其溶液分别加入到玻璃瓶中,与土壤混匀,使得每种低分子量有机酸形成 3 种浓度: $4 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 干土(低浓度)、 $20 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 干土(中浓度)、 $100 \text{ mmol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 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 60%。培养完后,取出土样测定土壤微生物功能多样性。

1.2 测定方法

本研究应用 MicroRespTM 方法,操作参考 Yu 等^[19]的方法,在 25 ℃ 条件下培养,通过酶标仪 570 nm

下测定 15 种碳源的吸光值,分析土壤微生物的功能多样性.碳源底物包括 15 种,分为 4 大类.第 1 类为氨基酸类,包括 *L*-Alanine (丙氨酸)、*L*-Cysteine HCl (半胱氨酸盐酸盐无水物)、Gamma amino butyric acid (γ -氨基丁酸)、*L*-Lysine (赖氨酸)和 *N*-acetyl-Glucosamine (乙酰胺基葡萄糖)等 5 种碳源.第 2 类为芳香酸类,包括 3,4-Dihydroxybenzoic acid (3,4-二羟基苯甲酸) 1 种碳源.第 3 类为糖类,包括 *L*-Arabinose (阿拉伯糖/树胶醛糖)、*D*-Fructose (果糖)、*D*-Galactose (半乳糖)、*D*-Glucose (葡萄糖)和 Trehalose (海藻糖)等 5 种碳源.第 4 类为羧酸类,包括 α -Ketoglutaric acid (α -酮戊二酸)、Citric acid (柠檬酸)、*L*-Malic acid (苹果酸)和 Oxalic acid (草酸)等 4 种碳源.碳源利用率、Shannon 指数计算方法见 Yu 等^[19]的文献.

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,显著性水平为 0.05;用 Excel 2007 进行绘图;应用 Canoco 4.5 软件对土壤生物代谢指标进行主成分分析.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 低分子量有机酸作用下土壤微生物对碳源总利用率和代谢多样性

从图 1 可以看出,甲酸处理下土壤碳源总利用率在低浓度(4 mmol·kg⁻¹)时上升,而在中浓度(20 mmol·kg⁻¹)和高浓度(100 mmol·kg⁻¹)时不断降低;随着有机酸浓度的增加,柠檬酸和草酸处理下的土壤碳源总利用率在低浓度和中浓度时不断提高,柠檬酸处理在高浓度时不再提高,而草酸处理在高浓度时则显著降低;各浓度下苯甲酸处理的土壤碳源总利用率与对照相比没有明显的变化.由于碳源底物的利用是由微生物参与的,且与土壤酶活性有关,因而其利用率高低是由土壤微生物数量和土壤酶活性综合决定的.本课题组以前的研究^[17]表明,甲酸处理的土壤细菌数量峰值出现在高浓度,而真菌、放线菌数量和主要酶活性峰值出现在低浓度,草酸和柠檬酸处理下的土壤细菌数量峰值出现在高浓度,而土壤真菌、放线菌数量峰值出现在对照或低浓度,主要酶活性峰值出现在中浓度或高浓度;苯甲酸处理下的土壤微生物数量和酶活性在各浓度差异都不大;各有机酸处理下土壤微生物数量和酶活性综合导致了本研究中甲酸处理的碳源总利用率峰值出现在低浓度,草酸和柠檬酸出现在中浓度,苯甲酸处理下的碳源总利用率在各浓度下没有显著变化.

各有机酸之间进行比较,在中浓度和高浓度时,柠檬酸处理的碳源总利用率最高,接下来是草酸,苯甲酸处理最低;低浓度时甲酸处理最高,而草酸、苯甲酸处理最低.柠檬酸、草酸、甲酸作为外加碳源易被微生物利用,促进了土壤微生物数量的繁殖,增加了土壤酶活性,而苯甲酸不易分解,抑制了土壤微生物的数量和土壤酶活性^[20],因而本研究中柠檬酸、草酸、甲酸处理的土壤碳源总利用率总体高于对照,而苯甲酸处理的碳源总利用率与对照相比没有明显变化.栗方亮等^[21]、周文杰等^[22]将易分解的外源碳加入到土壤中,发现培养一段时间后土壤碳源的总利用率显著提高,与本研究结果相似.

Shannon 指数是研究群落中物种多样性的指标,是目前应用最为广泛的群落多样性指数之一^[23].对于 Shannon 指数而言(图 1),甲酸处理在低浓度和中浓度时都显著低于对照,而在高浓度时回升到对照水平;柠檬酸和草酸处理在低浓度时都稍低于对照,在中浓度时恢复到对照水平,高浓度时则显著高于对照;苯甲酸处理的 Shannon 指数随着浓度的升高而升高,且都显著高于对照.各有机酸之间进行比较,在各浓度下香浓指数都表现出了苯甲酸>柠檬酸 $\approx$ 草酸>甲酸的顺序.同时也可以看出,苯甲酸的碳源利用率总体最低,而其 Shannon 指数却是最高. Shannon 指数越高,表明被土壤微生物可利用的碳源底物的种类越多.苯甲酸处理中土壤细菌数量相比于对照降低,而真菌和放线菌数量增加^[20],土壤微生物种类的增加表明能够利用的碳源种类增多,因而碳源底物代谢的多样性 Shannon 指数较高.结合碳源利用率和 Shannon 指数,综合来说,柠檬酸处理下土壤微生物的代谢功能是最强的.

2.2 低分子量有机酸作用下土壤微生物对不同类型碳源的利用率

本研究中 15 种碳源分为了糖类、羧酸类、芳香族类和氨基酸类等 4 种类型.土壤微生物对这 4 种类型碳源的平均利用率如图 2 所示.在对照中,糖类碳源利用率远高于其他 3 类碳源.甲酸、柠檬酸和苯甲

酸处理下,3 种浓度的碳源利用率基本都表现出了糖类最高,氨基酸类次之,羧酸类和芳香族类最低的规律.在草酸处理中,中浓度时,氨基酸类碳源的利用率远高于糖类,而后者又显著高于芳香族类和羧酸类,在低浓度和高浓度下,芳香族类和羧酸类的利用率依然是最低的.芳香族类碳源含有一个苯环,微生物难以利用^[24],因而其利用率较低.由于本研究各处理皆是将有有机酸加入到土壤中,因而各处理土壤的 pH 值较低,在 MicroResp 法测定过程中,当添加羧酸类的碳源后,测定孔中土壤的 pH 更低,导致土壤酶活性降低,从而使得羧酸类底物的利用率相对较低.

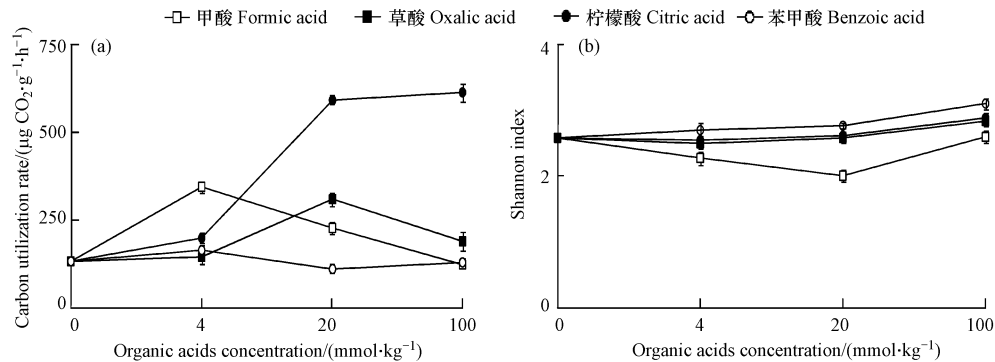


图 1 低分子量有机酸作用下土壤微生物对碳源总利用率(a)和 Shannon 指数(b)
Fig.1 Total utilization rate of soil microbe to carbon sources (a) and Shannon index (b) under low molecular weight organic acid treatments

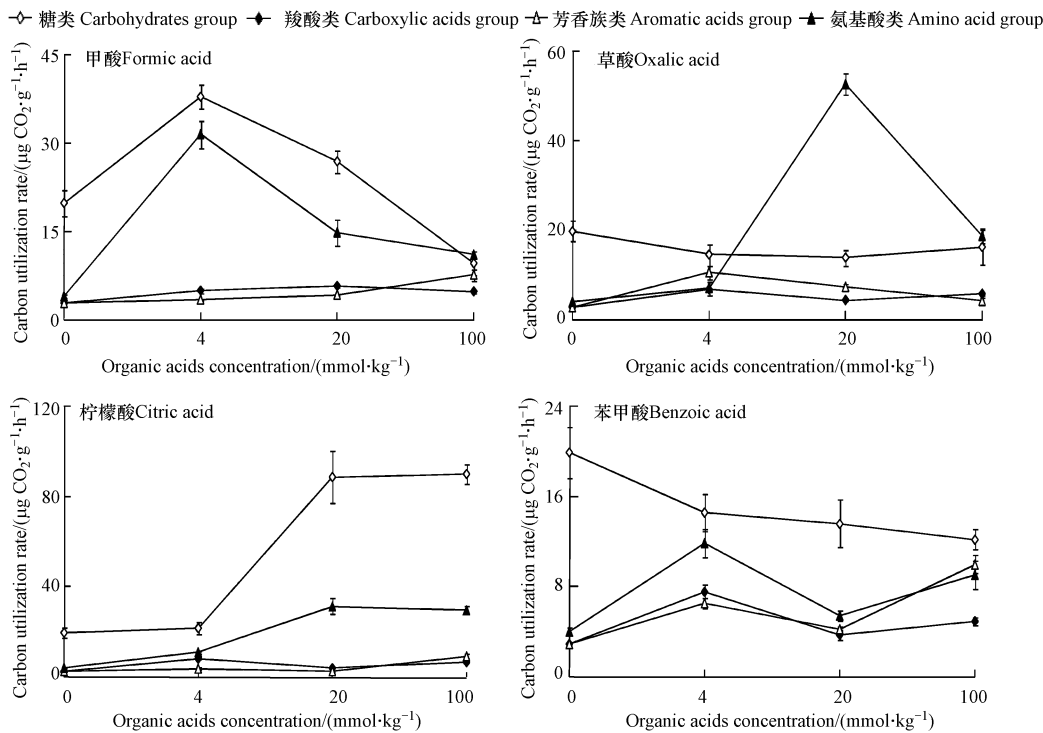


图 2 甲酸、草酸、柠檬酸、苯甲酸处理下土壤微生物对 4 大类碳源底物的利用率
Fig.2 Utilization rate of soil microbe to 4 types of carbon sources under formic acid treatment, oxalic acid treatment, citric acid treatment and benzoic acid treatment

值得指出的是,本文所使用的 15 种碳源包括甲酸、草酸和柠檬酸,在各有机酸处理中,与有机酸相同的底物碳源的利用率都随着酸浓度的增加而大幅提高:在甲酸处理中,低、中、高 3 种浓度下甲酸利用率分别达到了 $2.98 \mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、 $4.90 \mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 、 $12.43 \mu\text{g CO}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, 分别比对照处理提高了 0.19 倍、0.96 倍和 3.97 倍;草酸处理中,碳源草酸的利用率分别比对照提高了 0.36 倍、1.95 倍和 4.96 倍;

各浓度的柠檬酸处理则将碳源柠檬酸的利用率提高了 0.67 倍、2.37 倍和 6.27 倍.原因在于随着有机酸浓度的升高,土壤中消耗该类碳源底物的微生物被富集,因而其利用率也不断提高.古龙酸母液对盐碱土壤^[25]、有机物料对果园土壤^[26]碳源代谢影响的研究也表明,外加碳源与底物碳源相同时,都促进了该碳源利用率的提高,证明了本研究的观点.

由图 3 可以看出,各有机酸处理下土壤微生物对 15 种碳源的利用率占碳源总利用率的比例存在很大差异.对照处理中,海藻糖的利用比例最高,达 51.18%, γ -氨基丁酸的利用比例为 6.51%,而加入有机酸后,海藻糖的利用比例大幅下降,而 γ -氨基丁酸的利用比例却大幅提高,原因在于有机酸促进了土壤微生物类群和数量发生了很大的变化,能够利用海藻糖的微生物数量减少,而利用 γ -氨基丁酸和其它一些碳源底物的微生物数量大幅提高.甲酸和苯甲酸处理下土壤微生物对海藻糖的利用比例分别为 25.55% 和 20.50%,在 15 种碳源中的比例依然是最高的.草酸处理下 γ -氨基丁酸的利用比例为 26.91%,在各碳源中最高.柠檬酸处理下 *D*-葡萄糖的利用比例最高,为 32.98%.*L*-阿拉伯糖在 4 种有机酸处理中的利用比例均较高,其中柠檬酸处理最高,为 20.65%,最低为草酸,为 8.77%.*L*-丙氨酸、*L*-苹果酸、*D*-半乳糖在 4 种有机酸处理中利用比例基本在 5%—10% 之间.3,4-二羟基苯甲酸、甲酸、草酸、柠檬酸、*D*-果糖和 α -酮戊二酸在 4 种处理中利用比例皆在 1%—5% 之间.*N*-乙酰葡萄糖胺和 *L*-赖氨酸的利用比例在 4 种有机酸处理中皆小于 1%,利用率最低,可能与其分子结构复杂,难以被利用有关.学者们在研究生草果园土壤^[27]、森林土壤^[16]、矿区土壤^[28]、玉米地土壤^[29]碳源代谢特征时也发现了糖类等结构简单的碳源利用率高,而像 *N*-乙酰葡萄糖胺等结构复杂的碳源利用率较低,与本研究的结果是一致的.

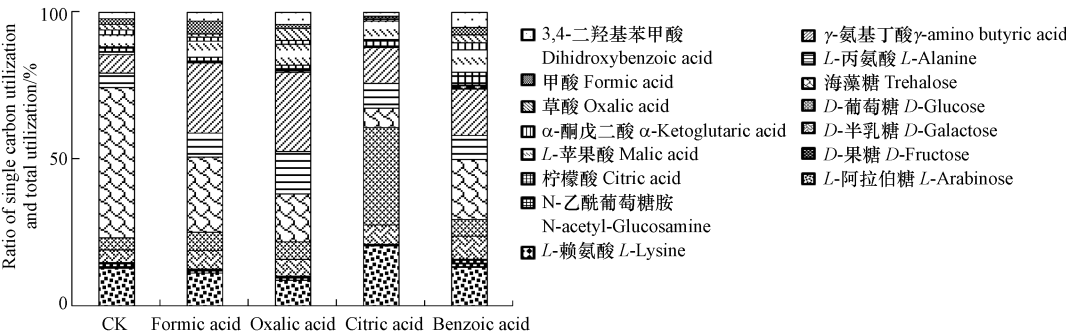


图 3 有机酸处理下 15 种单碳源利用率占碳源总利用率的比例

Fig.3 Ratio of 15 sole carbon source utilization to total utilization under organic acid treatments

2.3 土壤微生物对碳源利用能力的主成分分析

对土壤微生物群落利用碳源的情况进行主成分分析,可以了解不同有机酸处理下土壤微生物群落功能的综合差异和相似状况.结果表明,土壤微生物从15 种碳源利用数据中提取了 4 个主成分因子,累积贡献率达 91%,主成分 1 和 2 能够解释 75% 的变异(图 4).第一和第二主成分得分系数与微生物对 15 种碳源利用率相关分析结果表明,对土壤微生物群落主成分 1 起分异作用的主要碳源分别为 *D*-果糖($r=0.970$)、*L*-赖氨酸($r=0.921$)、 α -酮戊二酸($r=0.892$)、3,4-二羟基苯甲酸($r=0.823$),对主成分 2 起分异作用的主要碳源为 *D*-葡萄糖($r=-0.779$);不同碳源对土壤微生物群落的代谢特征产生了差异,对土壤微生物群落 PC1 和 PC2 起分异作用的主要碳源是糖类物质,也是有机酸处理下土壤微生物群落变化的敏感碳源.学者们对于森林土壤、矿区土壤碳源代谢特征的研究中也发现糖类物质是土壤微生物群落变化的敏感碳源^[16,28,30],这与本研究的结果是一致的.本研究结果表明可以通过添加糖类物质的方式改变土壤中微生物的群落结构,进而改变土壤的生态质量.

通过主成分分析可将复杂的数据通过二维图标表现出来,相似的样品分布位置相近,从而使研究者可以直观感受到群落差异.从图 4 可以看出,各有机酸处理与对照之间皆没有交集,说明各有机酸处理下土壤微生物群落对底物碳源的代谢特征与对照之间有显著差异,即低分子量有机酸显著提高了土壤微生物的代谢能力.甲酸、草酸和苯甲酸处理相交在一起,表明这 3 个处理之间土壤微生物对底物碳源的代谢特征没有显著差异.柠檬酸处理与其它 3 种有机酸处理之间没有交集,且柠檬酸处理的 3 个浓度之间也没有交集,意味着柠檬酸处理的碳源代谢特征与其它有机酸之间显著不同,且浓度对柠檬酸碳源

代谢特征影响很大.刘强等^[31]的研究表明,添加柠檬酸可以提高草坪土壤的生态质量.结合本研究结果,可以将添加较高浓度的柠檬酸作为提高土壤碳周转率、改善土壤质量的一种方式.

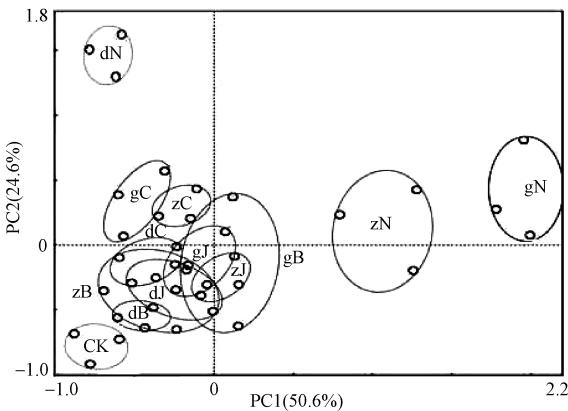


图 4 各有机酸处理下土壤微生物对碳源代谢的主成分分析
(dJ:低浓度甲酸,zJ:中浓度甲酸,gJ:高浓度甲酸,dC:低浓度草酸,zC:中浓度草酸,gC:高浓度草酸,dN:低浓度柠檬酸,
zN:中浓度柠檬酸,gN:高浓度柠檬酸,dB:低浓度苯甲酸,zB:中浓度苯甲酸,gB:高浓度苯甲酸)

Fig.4 Principal components analysis (PCA) of MicroResp metabolic profiles from different organic acid
(dJ:low concentration formic acid,zJ:medium concentration formic acid,gJ: high concentration formic acid,
dC: low concentration oxalic acid,zC: medium concentration oxalic acid,gC: high concentration oxalic acid,
dN: low concentration citric acid,zN: medium concentration citric acid, gN: high concentration citric acid,
dB: low concentration benzoic acid,zB: medium concentration benzoic acid,gB: high concentration benzoic acid)

3 结论 (Conclusion)

- (1) 甲酸、草酸、柠檬酸处理下土壤微生物碳源总利用率均高于对照,苯甲酸则与对照没有差异. 柠檬酸处理下土壤微生物对碳源总利用率最高,苯甲酸最低;同时苯甲酸处理下土壤的碳源代谢多样性最高,柠檬酸次之.综合而言,甲酸、草酸、柠檬酸能够提高盐碱土壤微生物的碳源代谢能力,其中柠檬酸处理下土壤微生物的代谢能力最强.
- (2) 低分子量有机酸作用下土壤微生物对 4 类碳源的利用能力相比较,总体而言,糖类碳源利用率最高,氨基酸类次之,羧酸类和芳香族类碳源最低.15 种碳源底物中,海藻糖和 γ -氨基丁酸的利用率占碳源总利用率的比例最高.
- (3) 主成分分析表明,糖类物质是有机酸处理下土壤微生物群落变化的敏感碳源;各有机酸处理的土壤微生物代谢特征都与对照显著不同,柠檬酸处理下碳源代谢特征与其它 3 种有机酸明显不同,可以将添加较高浓度的柠檬酸作为提高土壤碳周转率的一种方式.本研究从土壤微生物功能多样性的角度为低分子量有机酸改良盐碱地等贫瘠土壤和治理污染土壤提供理论依据.

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 K⁺ and adsorption kinetics of red soil and yellow-cinnamon soil[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. 低分子量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. 外源柠檬酸对壤土养分、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,魏琨,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] 黄玉茜,韩晓日,杨劲峰,等. 花生根系分泌物对土壤微生物学特性及群落功能多样性的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2015(1): 48-54.
HUANG Y Q, HAN X R, YANG J F, et al. Effect of peanut root exudates on soil microbial characteristics and community functional diversity[J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2015(1):48-54(in Chinese).
- [13] 刘纯,黄红娟,张朝贤,等. 假高粱根系分泌物对土壤细菌群落多样性的影响[J]. 生态环境学报, 2013(7):1124-1128.
LIU C, HUANG H J, ZHANG C X, et al. Effects of root exudates from Johnsongrass on soil bacteria community diversity[J]. Ecology and Environment Sciences, 2013(7):1124-1128(in Chinese).
- [14] SHI S, RICHARDSON A E, O'CALLAGHAN M, et al. Effects of selected root exudate components on soil bacterial communities[J]. Fems Microbiology Ecology, 2011, 77(3):600-610.
- [15] CAMPBELL C D, CHAPMAN S J, CAMERON C M, et al. A rapid microtiter plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(6): 3593-3599.
- [16] 江玉梅,谢晶,曹广洋,等. 江西退化红壤人工重建森林土壤微生物土壤碳源代谢功能研究[J]. 土壤学报,2014,51(1):158-165.
JIANG Y M, XIE J, CAO G B, et al. Metabolic function of soil microbe to carbon sources under reestablished forests on degraded red soil in Jiangxi Province[J]. Acta Pedologica Sinica, 2014,51(1):158-165 (in Chinese).
- [17] 陈晓娟,吴小红,刘守龙,等. 不同耕地利用方式下土壤微生物活性及群落结构特性分析:基于 PLFA 和 MicroRespTM方法[J]. 环境科学,2013,34(6):2375-2382.
CHEN X J, WU X H, LIU S L, et al. Microbial activity and community structure analysis under the different land use patterns in farmland soils: Based on the methods PLFA and MicroRespTM[J]. Environmental Science, 2013,34(6):2375-2382 (in Chinese).
- [18] 王娟,张丽君,姚槐应. 添加秸秆和黑炭对水稻土碳氮转化及土壤微生物代谢图谱的影响[J]. 中国水稻科学,2013,27(1): 97-104.
WANG J, ZHANG L J, YAO H Y. Effects of straw and black carbon addition on C-N transformation and microbial metabolism profile in paddy soil[J]. Chinese Journal of Rice Science,2013,27(1):97-104(in Chinese).
- [19] YU J, STEINBERGER Y. Soil microbial metabolic profiles in two geomorphological units in a semistable sand-dune ecosystem[J]. Soil Biology & Biochemistry,2012, 45(2): 71-78.
- [20] 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 T, LIU M, SHU M, et al. Effect of low molecular weight organic acid on soil microbe number and soil enzyme activities[J]. Environmental Chemistry, 2016,35(2):348-354 (in Chinese).
- [21] 栗方亮,李忠佩,刘明,等. 添加葡萄糖及硫酸铵对水稻土微生物生物量和功能多样性的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45

- (11): 2199-2208.
- LI F L, LI Z P, LIU M, et al. Effects of glucose and ammonium sulfate addition on paddy soil microbial biomass and functional diversity[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(11): 2199-2208 (in Chinese).
- [22] 周文杰, 张鹏, 秦嗣军, 等. 添加葡萄糖和淀粉对盆栽甜樱桃根区土壤碳代谢及根功能的影响[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(11): 3300-3308.
- ZHOU W J, ZHANG P, QIN S J, et al. Effects of exogenous glucose and starch on soil carbon metabolism of root zone and root function in potted sweet cherry[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(11): 3300-3308 (in Chinese).
- [23] HARCH B D, CORRELL R L, MEECH W, et al. Using the Gini coefficient with BIOLOG substrate utilization data to provide an alternative quantitative measure for comparing bacterial soil communities[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30(1): 91-101.
- [24] 孙艳, 钱世钧. 芳香族化合物生物降解的研究进展[J]. *中国生物工程杂志*, 2001, 21(1): 42-46.
- SUN Y, QIAN S J. Advance on the Studies of biodegradation of aromatic compounds[J]. *Progress in Biotechnology*, 2001, 21(1): 42-46 (in Chinese).
- [25] KONG T, XU H, WANG Z, et al. Effect of a residue after evaporation from industrial vitamin C fermentation on chemical and microbial properties of alkali-saline soil[J]. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2014, 27(4 Suppl): 1069-1074.
- [26] 程存刚, 赵德英, 吕德国, 等. 植物源有机物料对果园土壤微生物群落多样性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2014, 20(4): 913-922.
- CHENG C G, ZHAO D Y, LYU D G, et al. Effects of plant-derived organic materials and humification driving forces on soil microbial community diversity in orchards[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2014, 20(4): 913-922 (in Chinese).
- [27] 杜毅飞, 方凯凯, 王志康, 等. 生草果园土壤微生物群落的碳源利用特征[J]. *环境科学*, 2015, 36(11): 4260-4267.
- DU Y F, FANG K K, WANG Z K, et al. Carbon source utilization characteristics of soil microbial community for apple orchard with interplanting herbage[J]. *Environmental Science*, 2015, 36(11): 4260-4267 (in Chinese).
- [28] 孙玉青, 张莘, 吴照祥, 等. 雄黄矿区不同砷污染土壤中微生物群落结构及碳源利用特征[J]. *环境科学学报*, 2015, 35(11): 3669-3678.
- SUN Y Q, ZHANG S, WU Z X, et al. Soil microbial community structure and carbon source metabolic diversity in the Realgar mining area [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2015, 35(11): 3669-3678 (in Chinese).
- [29] 王文鹏, 毛如志, 陈建斌, 等. 种植方式对玉米不同生长期土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2015, 23(10): 1293-1301.
- WANG W P, MAO R Z, CHEN J B, et al. Analysis of functional diversity of soil microbial communities under different cultivation patterns at different growth stages of maize[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2015, 23(10): 1293-1301 (in Chinese).
- [30] 鲁顺保, 郭晓敏, 芮亦超, 等. 澳大利亚亚热带不同森林土壤微生物群落对碳源的利用[J]. *生态学报*, 2012, 32(9): 2819-2826.
- LU S B, GUO X M, RUI Y C, et al. Utilization of carbon sources by the soil microbial communities of different forest types in subtropical Australia[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(9): 2819-2826 (in Chinese).
- [31] 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).