

全氟辛酸铵盐对土壤呼吸强度和微生物数量的影响

田海霞,孔龙,黄琴,王卫,和文祥,王旭东

(西北农林科技大学 资源环境学院,陕西 杨凌 712100)

[摘要] 【目的】研究全氟辛酸铵盐(PFOA)对土壤呼吸强度和微生物数量的影响,探究其对土壤的生态毒性。【方法】以采自不同地区的黄褐土、风沙土、壤土、红壤为供试土样,采用室内模拟试验,在土壤中添加0,50,100,150,200,300,400 mg/kg PFOA,研究土壤呼吸强度和微生物(细菌、真菌、放线菌和芽孢杆菌)数量的变化。【结果】加入PFOA后,土壤呼吸强度有所减弱,但随PFOA含量的增加,土壤呼吸强度的变化规律并不明显;高含量PFOA会抑制土壤细菌数量;土壤芽孢杆菌和真菌受PFOA的影响不明显;PFOA对土壤放线菌数量有一定抑制作用,在供试土样中,除红壤外,PFOA含量与土壤放线菌数量间呈线性负相关,且其相关性达显著或极显著水平。【结论】放线菌可在一定程度上表征土壤PFOA污染的程度,土壤PFOA轻度和中度污染的临界质量浓度值分别为34和171 mg/kg。

[关键词] 全氟辛酸盐;微生物;土壤呼吸强度;生态剂量

[中图分类号] S154.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2011)01-0131-06

Effect of PFOA on soil respiration and microorganisms

TIAN Hai-xia, KONG Long, HUANG Qin, WANG Wei,

HE Wen-xiang, WANG Xu-dong

(College of Resources and Environment, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】Effects of perfluorooctanoic acid (PFOA) on soil respiration and microbial were studied in order to indicate its eco-toxicity. 【Method】Cinnamonl, sandy, lou soil, red soil from different regions were sampled, to study soil respiration and microorganisms amount (bacteria, fungi, actinomyces, bacillus) after adding 0,50,100,150,200,300,400 mg/kg PFOA by indoor simulating experience. 【Result】PFOA could inhibit soil respiration. However, as the concentration of PFOA increased, there were no regular changes. PFOA in high concentration could inhibit the population of bacteria and actinomyces, and PFOA had no significant influence on the population of bacillus and fungi. Except red soil, the relationship between PFOA concentrations and actinomyces amounts reached significant or remarkably significant negative correlation. 【Conclusion】The population of actinomyces could be used as an index of soil PFOA pollution. The critical PFOA concentrations were 34 mg/kg for slightly polluted soil and 171 mg/kg for moderately polluted.

Key words: PFOA; microorganism; soil respiration; ecological dose

全氟辛酸及其铵盐(PFOA)具有低表面张力、高表面活性的特性,作为重要的有机中间体可合成

含氟憎水剂、憎油剂和皮革整理剂等产品,而且在氟取代多聚物的生产中,尚未找到其合适替代品。近

* [收稿日期] 2010-06-03

[基金项目] 西北农林科技大学大学生创新实验项目;中国科学院知识创新工程重大项目(KSCX-YW-09-07);西北农林科技大学“青年学术骨干人才支持计划”项目

[作者简介] 田海霞(1984—),女,山西孝义人,硕士,中国科学院生态环境中心在读博士,主要从事土壤生态毒理研究。

E-mail:jingyi_180@163.com

[通信作者] 和文祥(1968—),男,陕西黄龙人,教授,博士,博士生导师,主要从事土壤生态毒理及土壤生物化学研究。

E-mail:wxhe1968@163.com

年来随着分析手段的不断提高,对PFOA在环境中的变化研究日益深入,现已证实其具有难降解性、生物蓄积性和可沿食物链在生物体内富集的特点。而且其进入大气之后,可远距离迁移,并随干湿沉降等到达地面而进入水体和土壤,由其造成的环境污染已遍及全球^[1-3],如南极等地已检测出PFOA的存在^[4],其已被认定为新的持久性污染物。因此,监测PFOA在土壤中的含量,并对其生态毒理效应等进行研究,是当前农业和环境科学等关注的热点课题之一^[5]。

微生物是土壤生态系统中的主要组成部分,对土壤有机物质分解和养分释放、能量转移等生物地球化学循环等具有重要的意义,其中土壤呼吸强度是衡量土壤微生物总活性的一个重要指标^[6]。国内外许多学者对不同污染物的土壤微生物学指标进行了大量研究,认为其可在一定程度上表征环境污染程度的大小^[7-9]。目前对PFOA的研究,多集中在动物(如鱼类等)毒性及其环境行为方面^[10-13],而从

土壤微生物角度探讨PFOA生态毒性的报道尚较为鲜见。为此,本研究拟采用模拟方法,探讨PFOA对土壤呼吸强度和微生物活性的影响,以期为PFOA污染的环境监测和保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 供试土样 供试土壤包括采自陕西省黄龙县的褐土(简育干润淋溶土, Hapli-Ustic Argosols)、杨凌区的壤土(土垫旱耕人为土, Earth-cumuli-Orthic Anthrosols)、榆林市的风沙土(干旱砂质新成土, Aridi-Sandic Primosols)和江西省鹰潭市的红壤(简育湿润富铁土, Hap Udic Ferrisols)。采样时,先去除0~5 cm 土层表土,采取5~20 cm 土层土样,混匀风干,过孔径1 mm 筛后备用。常规方法^[14]分析土样的理化性质,结果见表1。

1.1.2 试剂 PFOA,由上海Sigma-aldrich公司提供。

表1 供试土样的化学性质

Table 1 Chemical properties of soils tested

土样 Soil sample	编号 No.	有机质/(g·kg ⁻¹) O. M	全氮/(g·kg ⁻¹) T. N	全磷/(g·kg ⁻¹) T. P	碱解氮/(mg·kg ⁻¹) Alk-hydrolyzabe	CEC/(cmol·kg ⁻¹) N	pH
黄褐土 Cinnamon	1	26.07	0.77	1.83	101.93	8.05	8.15
	2	14.59	0.38	0.80	61.33	7.41	8.63
风沙土 Sandy soil	3	19.46	0.51	1.04	101.39	7.27	8.13
	4	17.63	0.31	0.44	60.37	4.49	8.69
	5	0.92	0.02	0.22	5.87	1.63	8.94
壤土 Lou soil	6	23.66	1.78	1.59	141.28	16.91	8.34
	7	20.02	1.43	0.66	126.70	14.48	5.48
红壤 Red soil	8	8.22	0.69	0.45	61.85	6.23	4.03
	9	9.60	0.83	0.34	57.38	13.22	5.00

1.2 试验方法

采用密闭静室碱液吸收法测定土壤呼吸强度^[6]。称取80 g风干土样于塑料瓶中,加入不同质量浓度的PFOA溶液,使土壤PFOA的最终质量浓度分别为0(对照),50,100,150,200,300和400 mg/kg,并调节土壤含水量达最大田间持水量的40%,混匀,于28℃活化培养7 d。

向500 mL广口瓶中加入20 mL 0.1 mol/L的氢氧化钠溶液;将活化后的20 g鲜土和0.1 g葡萄糖混匀,用双层纱布包好,悬于500 mL广口瓶中;塞紧瓶塞于28℃培养24 h后,取出土样,向氢氧化钠溶液中滴入1滴酚酞指示剂,用0.1 mol/L盐酸进行滴定,用二氧化碳含量(mg/g)表征土壤呼吸强度的大小。

各类微生物计数均采用平板菌落计数法^[6]进行。

1.3 数据分析

采用EXCEL进行数据的计算与分析。其中抑制率(激活率)采用下式计算:

$$\text{抑制率(激活率)} = (1 - \frac{\text{样品的微生物活性}}{\text{对照的微生物活性}}) \times 100\%$$

上式结果为正值表示抑制率,为负值表示激活率。

用生态剂量(Ecological dose)ED₁₀和ED₅₀分别表征土壤轻微和中度污染时的临界浓度^[15]。其中ED₁₀和ED₅₀分别为土壤微生物数量变化10%和50%时外源污染物的质量浓度。

2 结果与分析

2.1 PFOA对土壤呼吸强度的影响

从表2可以看出,(1)未添加PFOA时,随有机

质含量的增加同一类型土样的呼吸强度呈增大趋势。(2)除1号土样外,加入PFOA后,其他土样呼吸强度均有所减小,表明PFOA对土样的呼吸具有抑制作用。(3)随PFOA含量的增加,供试土样的

呼吸强度呈波动性变化,但并无明显的规律性。其中当PFOA含量为400 mg/kg时,其对土样呼吸作用的抑制率为22%~83%。

表2 不同质量浓度PFOA对供试土壤呼吸强度的影响

Table 2 Effect of PFOA on soil respiration of the soils tested

mg/g

土样编号 Soil No.	PFOA含量/(mg·kg ⁻¹) PFOA concentration						
	0	50	100	150	200	300	400
1	0.79±0.00	0.87±0.04	0.89±0.09	0.91±0.06	0.89±0.02	0.44±0.13	0.38±0.02
2	0.53±0.04	0.52±0.02	0.49±0.02	0.29±0.00	0.29±0.00	0.34±0.00	0.33±0.02
3	1.13±0.00	0.98±0.02	1.01±0.02	1.00±0.07	0.85±0.06	0.55±0.04	0.52±0.04
4	0.36±0.00	0.33±0.00	0.33±0.00	0.25±0.04	0.20±0.00	0.23±0.00	0.28±0.00
5	0.23±0.00	0.08±0.06	0.13±0.09	0.08±0.06	0.07±0.00	0.07±0.00	0.10±0.00
6	0.79±0.07	0.70±0.09	0.70±0.09	0.45±0.04	0.46±0.02	0.50±0.07	0.50±0.07
7	0.80±0.02	0.73±0.00	0.70±0.00	0.76±0.00	0.62±0.15	0.69±0.09	0.60±0.04
8	0.25±0.00	0.19±0.02	0.13±0.02	0.20±0.04	0.15±0.04	0.21±0.02	0.12±0.00
9	0.41±0.00	0.13±0.02	0.08±0.02	0.10±0.00	0.07±0.00	0.08±0.02	0.07±0.00

2.2 PFOA对土壤微生物数量的影响

土壤中微生物种群的数量、结构组成及其多样性是土壤最活跃的组成部分,其种群主要包括细菌、放线菌、真菌等,它们的数量随环境条件的变化而处于一个动态的过程,在一定程度上能够反映土壤质量状况的优劣,被许多学者称为土壤质量评价体系中不可缺少的部分^[16]。

2.2.1 细菌 不同含量PFOA污染土壤的细菌计数结果见表3。从表3可以看出:(1)当PFOA含

量为50 mg/kg时,与对照相比,PFOA的加入导致3个土样(2,4,7号)的细菌数量降低,5个土样(3,5,6,8,9号)的细菌数量增加,表明由于土壤来源及性质上的差异,导致其受到PFOA影响的规律性并不明显。(2)当PFOA含量为50~400 mg/kg时,随着PFOA含量的增加,供试土样细菌数量先急剧减少,之后又随着PFOA含量的继续增加,土壤细菌数量的降幅有所减缓,但其变化亦无规律性可循。

表3 不同质量浓度PFOA对土壤细菌数量的影响

Table 3 Influence of PFOA on population of bacteria in soil

×10⁸ g⁻¹

土样编号 Soil No.	PFOA含量/(mg·kg ⁻¹) PFOA concentration						
	0	50	100	150	200	300	
1	1 173 A	—	953 B	6 E	15 D	20 D	625 C
2	1 520 A	830 B	430 C	12 E	7 E	10 E	29 D
3	620 B	708 A	17 G	22 F	31 E	43 D	58 C
4	1 460 A	700 B	25 C	15 C	501 C	31 C	14 C
5	780 B	1 340 A	54 C	54 C	14 D	9 D	12 D
6	13 D	78 A	8 E	13 D	14 D	29 B	23 C
7	1 090 A	570 B	82 E	88 D	32 F	31 F	173 C
8	700 B	1 665 A	8 E	13 D	7 E	16 C	9 E
9	795 C	1 105 C	15 F	58 E	1 800 A	460 D	0 G

注:同行数据后标不同字母者表示Duncan's多重比较差异显著($P<0.01$),下表同;“—”表示不可计数。

Note: Different capital letters in the same row mean significant difference at 1% level, the same is as below. “—” means that the value does not account.

2.2.2 芽孢杆菌 细菌中的芽孢杆菌对外界有害因子的抵抗力较强。从表4可以看出:(1)当PFOA含量为50 mg/kg时,PFOA的加入使5,7,8号土样芽孢杆菌数量显著降低,主要是因为5号土样肥力较低,其对外界污染物的缓冲能力较弱,而7,8号土样属于酸性土壤,对PFOA的污染比较敏感。(2)当PFOA含量为50~400 mg/kg时,随着PFOA含

量的增加,供试土样芽孢杆菌数量的变化规律不明显。(3)当PFOA含量为400 mg/kg时,与对照相比,3,5,8号土样芽孢杆菌数量降低,抑制率为43%~90%,其他供试土样芽孢杆菌数量明显增加,激活率为43%~757%。这与细菌数量的变化规律相反,说明芽孢杆菌对PFOA有一定的抵抗力,而且这种能力受土壤性质等因素的影响。

表 4 不同质量浓度 PFOA 对土壤芽孢杆菌数量的影响

Table 4 Influence of PFOA on population of bacillus in soil

 $\times 10^7 \text{ g}^{-1}$

土样编号 Soil No.	PFOA 含量/(mg · kg ⁻¹) PFOA concentration						
	0	50	100	150	200	300	400
1	3 E	5 E	3 E	20 C	23 B	35 A	14 D
2	1 D	2 D	18 A	1 D	2 D	9 C	12 B
3	2 CD	2 CD	307 A	3 CD	4 C	187 B	1 D
4	6 E	36 C	52 B	61 A	0 F	6 E	31 D
5	2 B	0 C	0 C	7 A	0 C	0 C	0 C
6	11 D	10 D	19 B	10 D	30 A	31 A	16 C
7	69 D	8 E	2 F	9 E	490 B	1 490 A	99 C
8	86 A	4 C	71 A	59 AB	7 C	14 BC	9 C
9	7 G	32 E	65 C	172 B	46 D	1 010 A	14 F

2.2.3 真菌 土壤真菌参与动、植物残体的分解,是土壤氮、碳循环不可缺少的动力。由表5可知:(1)当PFOA含量为50 mg/kg时,与对照相比,PFOA的加入使4,7号土样的真菌数量减小,2,8,9号土样的真菌数量增加,而有机质含量较高的1,3,6号土样的真菌数量基本不变,说明有机质含量高的土壤对外界污染物具有一定缓冲能力。(2)当

PFOA含量为50~400 mg/kg时,随着PFOA含量的增加,7号土样的真菌数量亦逐步增加,8号土样则呈现出逐步减小的趋势,其他供试土样真菌数量的变化规律不明显。(3)当PFOA含量增加到400 mg/kg时,与对照相比,4,5,8号土样的真菌数量降低,抑制率达到71.43%~100%;1,2,6,7,9号土样的真菌数量增加,激活率为23.08%~6 366%。

表 5 不同质量浓度 PFOA 对土壤真菌数量的影响

Table 5 Influence of PFOA on population of fungi in soil

 $\times 10^3 \text{ g}^{-1}$

土样编号 Soil No.	PFOA 含量/(mg · kg ⁻¹) PFOA concentration						
	0	50	100	150	200	300	400
1	13 C	12 C	29 A	17 B	11 C	18 B	16 B
2	2 C	5 AB	3 BC	3 BC	3 BC	5 AB	6 A
3	7 BC	5 C	7 BC	7 BC	9 B	17 A	7 BC
4	146 A	70 B	2 D	2 D	50 C	3 D	1 D
5	1 B	1 B	4 A	4 A	4 A	1 B	0 B
6	5 B	4 B	4 B	3 B	0 C	5 B	11 A
7	15 F	6 G	55 E	106 D	129 C	860 B	970 A
8	84 D	560 A	510 B	191 C	70 E	69 E	24 F
9	25 F	102 D	162 A	104 D	116 B	48 E	109 C

2.2.4 放线菌 PFOA对土样放线菌数量的影响见表6。从表6可以看出:(1)未添加PFOA时,同一类型中土壤有机质含量高的土样,放线菌数量也较多。(2)当PFOA含量为50 mg/kg时,除2号土样外,PFOA的加入导致其余土样的放线菌数量降低,说明PFOA对土壤放线菌数量有一定的抑制作用。(3)当PFOA含量为50~400 mg/kg时,随着

PFOA含量的增加,除7号土样的放线菌数量呈先增加后减少的变化趋势外,其余土样的放线菌数量均逐渐减少,说明PFOA对土壤放线菌的抑制作用随PFOA含量的增加而增大。(4)当PFOA含量增加至400 mg/kg时,9种土样的抑制率达到71%~100%,放线菌数量完全被抑制。

表 6 不同质量浓度 PFOA 对土壤放线菌数量的影响

Table 6 Influence of PFOA on population of actinomycetes in soil

 $\times 10^4 \text{ g}^{-1}$

土样编号 Soil No.	PFOA 含量/(mg · kg ⁻¹) PFOA concentration						
	0	50	100	150	200	300	400
1	181 A	178 B	168 C	106 E	97 F	115 D	52 G
2	54 B	57 A	39 D	27 F	47 C	31 E	11 G
3	120 A	75 B	65 C	45 D	35 E	22 F	20 F
4	58 A	50 B	38 D	29 E	47 C	22 F	4 G
5	10 A	9 A	5 B	10 A	0 C	0 C	0 C
6	163 A	111 B	59 E	81 C	79 C	64 D	7 F
7	184 C	85 E	339 A	273 B	103 D	45 F	2 G
8	152 A	4 C	1 D	3 CD	1 D	24 B	1 D
9	42 A	12 B	2 C	2 C	3 C	2 C	2 C

PFOA 含量(C)与放线菌数量(N)的线性拟合结果(表 7)显示,除红壤外,其他土样的线性关系均达显著或极显著负相关,揭示放线菌数量在一定程度上可表征土壤 PFOA 污染程度的大小。计算可

得1~6号土样 PFOA 污染的生态剂量值 ED₁₀ 和 ED₅₀ 分别为 34~58 mg/kg 和 171~290 mg/kg, 表明供试土样 PFOA 轻度和中度污染时的临界质量浓度分别为 34 和 171 mg/kg。

表 7 土壤放线菌数量(N)与 PFOA 质量浓度(C)的线性拟合

Table 7 Equations between the population of actinomyces (N) and concentration of PFOA (C)

土样编号 Soil No.	拟合方程 Regression equation	相关系数 Correlation coefficient	ED ₁₀ / (mg · kg ⁻¹)	ED ₅₀ / (mg · kg ⁻¹)
1	$N = -156.77 \times C + 9.10 \times 10^4$	-0.91 **	58	290
2	$N = -49.16 \times C + 2.75 \times 10^4$	-0.85 *	56	280
3	$N = -112.75 \times C + 4.67 \times 10^4$	-0.90 **	41	207
4	$N = -59.77 \times C + 2.79 \times 10^4$	-0.91 **	47	233
5	$N = -14.16 \times C + 4.86 \times 10^3$	-0.82 *	34	171
6	$N = -148.32 \times C + 6.57 \times 10^4$	-0.87 *	44	222

注:“*”和“**”分别表示显著和极显著相关。

Note: “*”and “**” reflect significant or remarkably significant correlation.

3 结 论

本试验研究了 PFOA 对土壤微生物活性的影响,结果表明:

1) 同一类型土壤的呼吸作用强度随着有机质含量的增加而增大。PFOA 的加入导致土壤呼吸作用强度减弱,但是随着 PFOA 含量的增加,土壤呼吸作用强度的变化规律并不明显。

2) PFOA 对细菌数量的影响在不同土壤间存在差异,但高含量的 PFOA 对土壤细菌数量有明显的抑制作用。PFOA 对芽孢杆菌和真菌数量的影响无明显的规律性。

3) 同一类型土壤中,有机质含量较高的土壤,放线菌数量也较多。PFOA 的加入导致放线菌数量降低,随着 PFOA 含量的增加,其对放线菌数量的抑制作用增强。对两者关系进行的线性拟合结果表明,除红壤外,其他土样的放线菌数量与 PFOA 含量的线性关系均呈显著或极显著负相关,揭示放线菌数量在一定程度上可以表征土壤 PFOA 污染程度的大小。

4) 本研究计算表明,土壤 PFOA 轻度和中度污染的临界质量浓度值分别为 34 和 171 mg/kg。

[参考文献]

- [1] Calafat A M, Needham L L, Kuklenyik Z, et al. Perfluorinated chemicals in selected residents of the American continent [J]. Chemosphere, 2006, 63(4): 490-496.
- [2] Kaanan K, Tao L, Sinclair E, et al. Perfluorinated compounds in aquatic organisms at various trophic levels in a Great Lakes food chain [J]. Arch Environ Contam Toxicol, 2005, 48(4): 559-566.

- [3] Smithwick M, Muir D C, Mabury S A, et al. Perfluroalkyl contaminants in liver tissue from East Greenland polar bears (*Ursus maritimus*) [J]. Environ Toxicol Chem, 2005, 24(4): 981-986.
- [4] 郭睿,蔡亚岐,江桂斌.高效液相/四极杆-飞行时间串联质谱法分析活性污泥中的全氟辛烷磺酸及全氟辛酸 [J].环境化学,2006,25(6):674-677.
Guo R,Cai Y Q,Jiang G B. Determination of perfluorooctane-sulfonate and perfluorooctanoic acid in sewage sludge samples using liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry [J]. Environmental Chemistry, 2006, 25(6): 674-677. (in Chinese)
- [5] Washington J W, Matthew H M, Jackson E J, et al. Analysis of perfluorinated carboxylic acids in soils: II. Optimization of chromatography and extraction [J]. Journal of Chromatography A, 2008, 1181(1/2): 21-32.
- [6] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法 [M]. 北京:科学出版社,1985:44-46,54-57,216-220.
Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences. Method of soil microorganisms [M]. Beijing: Science Press, 1985: 44-46,54-57,216-220. (in Chinese)
- [7] Wang Y P, Shi J Y, Lin Q, et al. Heavy metal availability and impact on activity of soil microorganisms along a Cu/Zn contamination gradient [J]. Journal of Environmental Sciences, 2007, 19(7): 848-853.
- [8] Clemente R, de la Fuente C, Moral R, et al. Changes in microbial biomass parameters of a heavy metal-contaminated calcareous soil during a field remediation experiment [J]. Journal of Environmental Quality, 2007, 36(4): 1137-1144.
- [9] 赵祥伟,骆永明,滕应,等.重金属复合污染农田土壤的微生物群落遗传多样性研究 [J].环境科学学报,2005,25(2):186-191.
Zhao X W, Luo Y M, Teng Y, et al. Genetic diversity of microbial communities in farmland soils contaminated with mixed heavy metals [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2005, 25(2): 186-191. (in Chinese)

- [10] Moriwaki H, Takata Y, Arakawa R. Concentrations of perfluoroctane sulfonate (PFOS) and perfluorooctanoic acid (PFOA) in vacuum cleaner dust collected in Japanese homes [J]. Journal of Environmental Monitoring, 2003, 5(5): 753-757.
- [11] 周启星,胡献刚. PFOS/PFOA 环境污染行为与毒性效应及机理研究进展 [J]. 环境科学, 2007, 28(10): 2153-2162.
Zhou Q X, Hu X G. Researching progresses in environmental pollution behavior, toxic effects and mechanisms of PFOS/PFOA [J]. Environmental Science, 2007, 28(10): 2153-2162. (in Chinese)
- [12] 刘薇,金一和,全燮,等. 沈阳市降雪中 PFOS 和 PFOA 污染现状调查 [J]. 环境科学, 2007, 28(9): 2068-2073.
Liu W, Jin Y H, Quan X, et al. Investigation of PFOS and PFOA pollution in snow in Shenyang, China [J]. Environmental Science, 2007, 28(9): 2068-2073. (in Chinese)
- [13] Hansen K J, Johson H O, Eldridge J S. Quantitative charac-
- terization of trace levels of PFOS and PFOA in the Tennessee River [J]. Environ Sci Technol, 2002, 36(8): 1681-1685.
- [14] 鲍士旦. 土壤农化分析 [M]. 北京:中国农业出版, 2000; 33-115.
- Bao S D. Agricultural chemistry analysis for soil [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000; 33-115. (in Chinese)
- [15] Doelman P, Haanstra L. Short-and long-term effects of heavy metals on phosphatase activity in soils [J]. Biology and Fertility of Soils, 1989, 8(3): 235-241.
- [16] 申卫收,林先贵,张华勇,等. 不同施肥处理下蔬菜塑料大棚土壤微生物活性及功能多样性 [J]. 生态学报, 2008, 28(6): 2682-2689.
Shen W S, Lin X G, Zhang H Y, et al. Microbial activity and functional diversity in soils used for the commercial production of cucumbers and tomatoes in polytunnel greenhouse, under different fertilization [J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(6): 2682-2689. (in Chinese)

(上接第 130 页)

- [13] 李靖,利容千,袁文静. 黄瓜感染霜霉病菌叶片中一些酶活性的变化 [J]. 植物病理学报, 1991, 21(4): 277-283.
Li J, Li R Q, Yuan W J. On the change of enzyme activities of cucumber leaf infected by *Pseudoperonospora cunensis* (berk. et crrt) rosows [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 1991, 21(4): 277-283. (in Chinese)
- [14] 谢春艳,宾金华,陈兆平,等. 多酚氧化酶及其生理功能 [J]. 生物学通报, 1999, 34(6): 11-13.
Xie C Y, Bin J H, Chen Z P, et al. Polyphenol oxidase and its physiological function [J]. Bulletin of Biology, 1999, 34(6): 11-13. (in Chinese)
- [15] Susan E, Ledger, Richard C, et al. Cloning and characterization of five cDNAs for genes differentially expressed during fruit development of kiwifruit (*Actinidia deliciosa* var. *deliciosa*) [J]. Plant Molecular Biology, 1994, 25: 877-886.