

潮土潜在硝化速率对重金属锌镉的响应研究

何欢¹, 申天琳¹, 戴九兰², 郭微², 王强¹, 马丽³, 王仁卿^{1,2}

(1. 山东大学生命科学学院, 济南 250100; 2. 山东大学环境研究院, 济南 250100; 3. 山东农业大学资源与环境学院, 山东 泰安 271000)

摘要:通过室内模拟和流动注射技术研究了不同月份潮土中氨氧化菌群对重金属锌镉的响应,即对潮土氨氧化菌群潜在硝化速率(Potential Nitrification Rate, PNR)的影响。结果表明,重金属对8月份土壤样品中氨氧化菌群的PNR的抑制作用大于5月份($P < 0.01$)。低浓度重金属(即 Zn^{2+} 浓度为 $50 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; Cd^{2+} 浓度为 $0.5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)对潮土中PNR无影响或轻微促进作用,而在高浓度(即 Zn^{2+} 浓度大于 $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; Cd^{2+} 浓度大于 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)条件下有显著抑制作用。由于 Zn^{2+} 对PNR的抑制程度小于 Cd^{2+} (Zn^{2+} : $EC_{50} > Cd^{2+}$: EC_{50}),并且PNR对 Cd^{2+} 的响应较 Zn^{2+} 易变,PNR的测定结果表明该指标应用于重金属 Zn^{2+} 的污染毒性评价时优于重金属 Cd^{2+} 的污染毒性评价。

关键词:重金属; Zn; Cd; 潜在硝化速率; 潮土

中图分类号: X53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-2043(2010)05-0918-05

The Response of Potential Nitrification Rate in Fluvo-aquic Soil to Heavy Metals Zn^{2+} and Cd^{2+}

HE Huan¹, SHEN Tian-lin¹, DAI Jui-lan², GUO Wei², WANG Qiang¹, MA Li³, WANG Ren-qing^{1,2}

(1. College of Life Science, Shandong University, Ji'nan 250100, China; 2. Environment Research Institute, Shandong University, Ji'nan 250100, China; 3. College of Resources and Environment, Shandong Agricultural University, Tai'an 271000, China)

Abstract: To assess the effects of heavy metals Zn^{2+} and Cd^{2+} on the ammonium-oxidizing community in fluvo-aquic soil, the potential nitrification rates (PNR) with flow injection technology in May and August were studied. The results showed a significantly stronger inhibitory effect of heavy metals on PNR in soil in August than that in May ($P < 0.01$). The low concentration of heavy metals (Zn^{2+} : $50 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; Cd^{2+} : $0.5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) had no effects or a slightly positive effect on PNR, while high concentrations of Cd^{2+} or Zn^{2+} ($Zn^{2+} > 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; $Cd^{2+} > 10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) were a significant inhibitor of the potential nitrification process. Furthermore, the EC_{50} of Zn^{2+} was higher than that of Cd^{2+} , which indicated the degree of inhibition of Zn^{2+} on PNR was less than that of Cd^{2+} . The response of PNR to Zn^{2+} was earlier to change than that of Cd^{2+} . PNR has been widely used as an indicator in assessing heavy metal toxicity, but it was more suitable for Zn^{2+} than Cd^{2+} .

Keywords: heavy metals; Zn; Cd; potential nitrification rate; fluvo-aquic soil

近年来,随着污水灌溉、农药和化肥的大量使用,以及采矿、冶金业的迅速发展,造成重金属以各种形式进入大气、水、土壤中,引起环境污染。这些污染物进入土壤后对土壤生态系统特别是对土壤生物及土壤微生物产生影响。硝化作用在氮循环中具有重要作用,对重金属胁迫非常敏感^[1-2],也是对重金属最敏感

的土壤微生物过程之一^[3-4]。Broos等比较了土壤硝化速率、基质诱导呼吸、植物生长量等8种不同微生物生态毒性终点指标,认为土壤硝化速率是对毒性检测的总体敏感性最强的指标^[5],尤其是土壤潜在硝化速率(Potential Nitrification Rate, PNR)是评价重金属毒性敏感的指标^[5],并且作为终点指标有很多应用^[3-4]。

本研究以土壤潜在硝化速率(PNR)为氨氧化菌群的生态响应指标,以氨氧化菌群丰富的潮土为研究对象,研究重金属对潮土潜在硝化速率的响应。以期确定潮土中潜在硝化速率和重金属的相互关系,为环境监测生物学评价体系和土壤环境质量评估方面微生物的建立提供理论基础。

收稿日期: 2009-09-21

基金项目: 国家自然科学基金(40801088); 山东省环境保护重点科技项目(2006007); 山东省自然科学基金(Q2008B09)

作者简介: 何欢(1985—),女,山东菏泽人,在读硕士,主要从事土壤微生物生态学方面的研究。E-mail: hehuanshihaoren@163.com

通讯作者: 戴九兰 E-mail: daijiulan@sdu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 取样地自然概况及土样的处理

潮土在山东省内广泛存在,由黄河冲击母质在潜水作用下形成,是山东省三大土壤之一,也是省内分布最广、面积最大的一种土壤,占山东土地总面积的 44.1%,集中分布在鲁西北和鲁西南黄泛平原,在山丘地区的河谷平原、滨海洼地也有分布。潮土土壤质地适中,多含钙、磷、钾等矿质养分,是粮、棉重要生产区^[9]。潮土硝化作用能力强^[7-8]。鉴于潮土以上的性质,本研究选用潮土作为实验用土。供试土壤采自山东省济南市郊,黄河冲积平原(36.82N,117.86E)是典型潮土区。土壤呈中性至碱性反应,有不同程度的盐化现象。在 5 月份和 8 月份分别采集 0~20 cm 土层的潮土,其中 5 月份采样时间的平均温度为 22.8℃,8 月份采样时间的平均温度约为 31.6℃;采样时间 5 月份的降雨量小于 8 月份的降雨量。土壤样品运回实验室后,过 2 mm 筛,部分于 4℃ 下保存^[9],用于潜在硝化速率(PNR)的测定,另一部分自然风干,用于土壤基本理化性质的分析测定。

土壤基本理化性质见表 1。pH 值在水:土比为 2.5:1 条件下,用酸度计(PHS-25)测定;有机质(OM)用重铬酸钾稀释热比色法测定;硝态氮(NO_3^- -N)和氨态氮(NH_4^+ -N)采用 KCl 萃取法测定;全磷(TP)用硫酸-高氯酸消煮比色法测定;全氮(TN)用凯氏定氮法测定^[9]。CEC、有效态铁和交换性钙的测定参考鲁如坤的《土壤农业化学分析方法》^[9]。

实验处理设置 10 个重金属 Zn^{2+} 浓度梯度:0、50、100、150、200、250、300、350、500、1 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,13 个 Cd^{2+} 浓度梯度:0、0.5、1、3、5、10、20、50、100、150、200、300、450 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 分别以 ZnCl_2 和 $\text{CdCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ 形式加入充分混匀,土壤的湿度保持在 15%~18%,每个处理 3 次重复。处理后的土壤样品置于 500 mL 三角瓶内,用棉塞封口,置于恒温培养箱中。在温度(23±3)℃,湿度 60%的条件下,避光培养 7 d,每日浇水使土壤保持在 15%~18%的湿度^[10]。实验所用试剂均为分析纯。

1.2 潜在硝化速率(PNR)的测定

分别加入了 ZnCl_2 和 $\text{CdCl}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ 的潮土避光培养 7 d,PNR 的测定参照夏月^[6]的实验方法(基质诱导法)。具体方法如下:称取重金属处理后的 5 g 潮土,加入 20 mL 诱导溶液[0.1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (NH_4)₂SO₄;5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ NaClO₃;1 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液(PBS)溶液,pH7.4],25℃黑暗环境中,摇床 150 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$,分别诱导 0、6、12、18、24 h 后,加入 5 mL 2 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ KCl 溶液,充分振荡^[4,11],过滤。利用流动注射仪(AutoAnalyzer3,BRAN+LUEBBE,德国)测定提取液中 NO_2^- -N 的量,再根据 NO_2^- -N 的量随诱导时间的变化率计算潜在硝化速率。

1.3 数据分析

潜在硝化速率(PNR):在重金属处理后的潮土中加入 NH_4^+ 后,测定 24 h 内产生的 NO_2^- -N 的速率即潜在硝化速率; EC_{50} 值:使 PNR 降低至空白对照样品一半时重金属的处理浓度。用 SPSS 13.0 对数据进行分析;使用 origin 7.5 对重金属浓度胁迫下 PNR 作图。

2 结果与讨论

2.1 锌处理后潮土中潜在硝化速率(PNR)的变化

为了研究重金属锌对潮土硝化作用的影响,测定了锌对 5 月份和 8 月份潮土中氨氧化菌群的潜在硝化速率(PNR)变化(如图 1)。

在重金属 Zn^{2+} 的处理下,两个月份的 PNR 变化趋势是一致的,即都随着潮土中 Zn^{2+} 处理浓度的增加而极显著下降($P<0.01$)。对个别处理来说,5 月份潮土中 Zn^{2+} 浓度为 50、100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理组与对照组之间没有差异,但是其他处理组与对照组之间均达到了显著差异;8 月份的各个处理组与对照组均有差异($P<0.05$)。这是因为氨氧化细菌进行的氨氧化过程是硝化作用的限速步骤,此过程中氨单加氧酶(AMO)和羟氨氧化还原酶(HAO)是整个硝化过程中的关键酶^[13]。锌是电子传递链的抑制剂,可阻止 DNA 的修复过程^[12-13],当 Zn^{2+} 在潮土中的含量越来越高时,会限制氨氧化细菌进行的氨氧化过程,导致 PNR 的下降。

另外还可看出,5 月份的 PNR 都显著高于 8 月份($P<0.01$),平均可高出 1.6 倍,当 Zn^{2+} 在潮土中含量

表 1 潮土的基本理化性质

Table 1 The basic properties of fluvo-aquic soil

pH	全氮 Total nitrogen/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	全磷 Total phosphorus/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	氨态氮 Ammonia nitrogen/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	硝态氮 Nitrate nitrogen/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	CEC/ $\text{cmol}\cdot\text{kg}^{-1}$	有效态铁 Available iron/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	交换性钙 Exchangeable calcium/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	有机质 Organic matter/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$
7.16	741.22	763.91	12.40	18.07	8.73	91.36	16.33	1.36

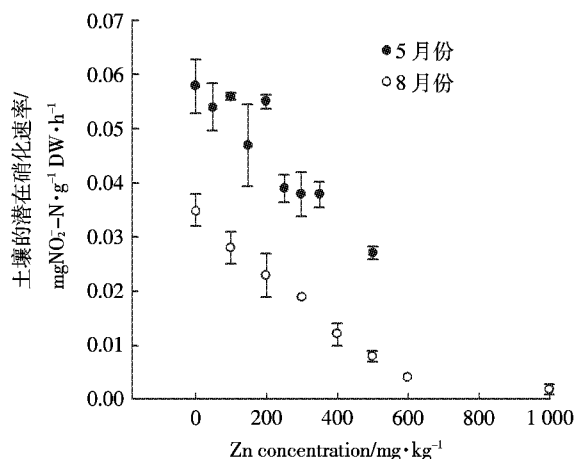


图1 不同月份、不同重金属 Zn^{2+} 浓度下潮土中潜在硝化速率的变化

Figure 1 Changes of PNR ($\pm$ standard error) in fluvo-aquic soil with different Zn^{2+} concentrations and different months

增加至 500~1 000 $mg \cdot kg^{-1}$ 时, 高出的倍数也随之增加到 2.3~3.0 倍。过量的锌对硝化细菌有很强的抑制作用^[14]。随着 Zn^{2+} 在细胞中的增加, 氨氧化菌群细胞中 AMO 和 HAO 的活性也逐渐降低。其中 Zn^{2+} 可通过

抑制电子传递链抑制 HAO 的活性, 通过抑制 amoA 的表达降低细胞中 AMO 的含量, 从而抑制氨氧化过程, 导致潮土中 $NO_2^- - N$ 含量的降低, 所以高浓度 Zn^{2+} 处理下, 潜在硝化速率(PNR)会降低^[14-15], 与本研究 PNR 随着潮土中 Zn^{2+} 处理浓度的增加而下降的结论一致。

2.2 镉处理后潮土中潜在硝化速率(PNR)的变化

为了研究重金属镉对潮土硝化作用的影响, 测定了镉对 5 月份和 8 月份潮土中氨氧化菌群的潜在硝化速率(PNR)变化(如图 2)。

在重金属 Cd^{2+} 的处理下, 两个月份的 PNR 变化趋势是一致的, 即当潮土中 Cd^{2+} 为低浓度(1~10 $mg \cdot kg^{-1}$)时, 两个月份的 PNR 都较对照组显著升高($P < 0.05$)。当 Cd^{2+} 在土壤中的浓度达到 10 $mg \cdot kg^{-1}$ 时, 可以增加土壤的生物酶活性, 同样也可促进土壤的硝化作用^[2], 表现为潮土 PNR 的升高, 但其促进机制还需进一步探讨。

当 Cd^{2+} 浓度大于 10 $mg \cdot kg^{-1}$ 时, PNR 随着潮土中 Cd^{2+} 处理浓度的增加而极显著降低($P < 0.01$)。这可能是由于过量的 Cd^{2+} 会强烈抑制氨氧化细菌(AOB)的

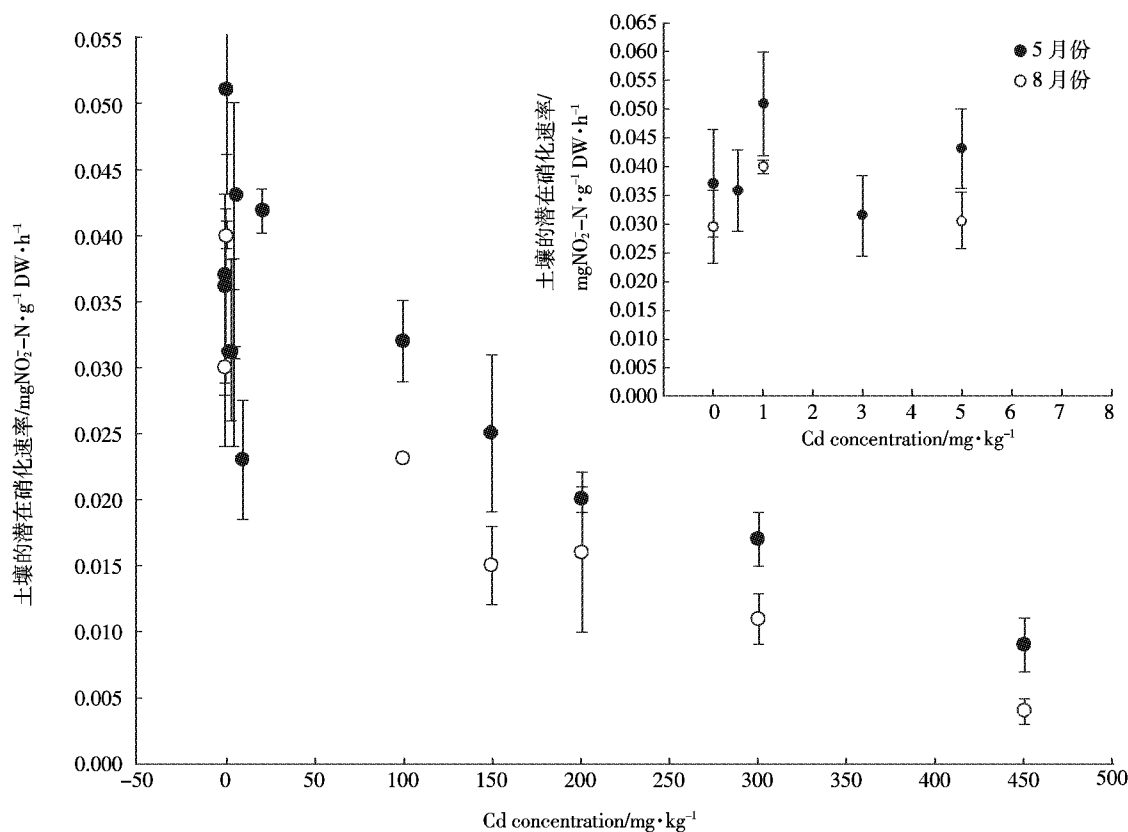


图2 不同月份、不同重金属 Cd^{2+} 浓度下潮土中潜在硝化速率的变化

Figure 2 Changes of PNR ($\pm$ standard error) in fluvo-aquic soil with different Cd^{2+} concentrations and different months

生长, AOB 的数量在 Cd^{2+} 的胁迫下急剧下降^[18], 另外还可能由于 Cd^{2+} 与细胞中的 DNA 特异结合, 导致 DNA 单链断裂, 抑制氨氧化菌群的生长繁殖^[16]。

另外还可看出, 与重金属 Zn^{2+} 处理一样, 5 月份潮土样品中 PNR 都显著高于 8 月份 ($P < 0.01$), 平均可高出 0.6 倍, 但是在高浓度时, 高出的倍数也在 0.6 左右波动, 波动程度不大。

2.3 在不同月份氨氧化菌群对重金属锌镉的敏感响应

本次实验, Zn^{2+} 的处理浓度在 $0 \sim 1\,000\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, Cd^{2+} 的处理浓度在 $0 \sim 450\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。5 月份和 8 月份潮土重金属处理后 EC_{50} 值比较如图 3。用模型 Boltzmann 对 Zn^{2+} 和土壤氨氧化速率进行拟合分析 ($R^2 = 0.98$), 5 月份的 EC_{50} 值为 $456.46\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 8 月份的 EC_{50} 值为 $292.65\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其中 5 月份的 EC_{50} 比 8 月份高出 35.9%。用模型 Allometric1 对 Cd^{2+} 和土壤氨氧化速率进行拟合分析 ($R^2 = 0.83$), 5 月份的 EC_{50} 值为 $226.64\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 8 月份 EC_{50} 值为 $176.49\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 其中 5 月份的 EC_{50} 比 8 月份高出 22.13%。

氨氧化菌群是一种对环境因子十分敏感的菌群, 影响其活性的环境因素主要有氨氮浓度、pH 值、环境温度以及降水量等^[19]。在采样点, 8 月份采样时间的平均温度约为 $31.6\text{ }^{\circ}\text{C}$, 最高温度为 $36.0\text{ }^{\circ}\text{C}$, 而 5 月份采样时间的平均温度为 $22.8\text{ }^{\circ}\text{C}$, 最高温度为 $26.3\text{ }^{\circ}\text{C}$; 8 月份的降雨量 (217.4 mm) 远远大于 5 月份的降雨量 (37.3 mm), 过多的水分会减低潮土中空气的含量, 从而不利于氨氧化菌群在土壤中存活^[16]。推测出不同月份下 EC_{50} 值的差异和潮土中氨氧化菌群有密切的联系: 5 月份空气温度、湿度等环境条件更适合氨氧化菌群的生长, 5 月份潮土中氨氧化菌群的数量高于 8 月份, 至于影响机制还有待进一步探讨。

重金属对氨氧化菌群活性的抑制能力可能与氨

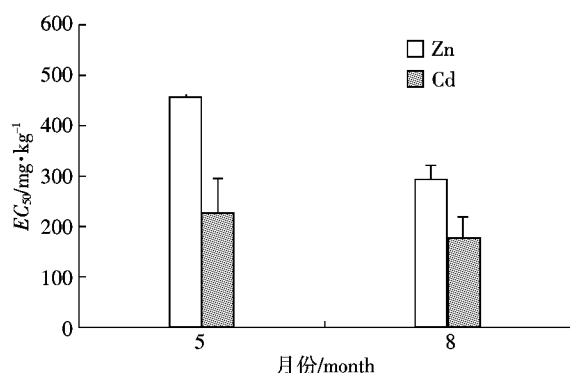


图3 5月份和8月份 Zn、Cd 处理潮土的 EC_{50}

Figure 3 EC_{50} values ($\pm$ standard error) of different treatments with Zn and Cd in different month

氧化菌群体内的 AMO 和 HAO 的含量、活性有关。一般来说, 重金属阳离子对氨氧化菌群活性的抑制能力大小为 $\text{Cu}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Cd}^{2+} > \text{Ni}^{2+}$ ^[17], 表现为 Zn^{2+} 的 EC_{50} 值大于 Cd^{2+} 的 EC_{50} 值。这与本实验研究的结果一致, 即 Zn^{2+} 对 PNR 的抑制程度小于 Cd^{2+} 。

两个月份的 PNR 都随 Zn^{2+} 浓度的增加而显著下降, 在重金属 Zn^{2+} 的处理下, 潮土的 EC_{50} 值在 $300 \sim 450\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 之间, 并且存在着明显的剂量-效应关系。而在重金属 Cd^{2+} 的处理下, 当 Cd^{2+} 的浓度在 $300 \sim 400\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, PNR 降低了 63.3%~86.7%。这表明 PNR 在潮土中对 Cd^{2+} 的反应比 Zn^{2+} 更容易。本研究的结论与 Smolders 等^[20]的研究一致。所以, PNR 测定应用于重金属 Zn^{2+} 的污染毒性评价较 Cd^{2+} 更为适合^[4-5]。

3 结论

在重金属 Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 的处理下, 氨氧化菌群的 PNR 变化趋势是一致的, 即随着潮土中重金属处理浓度的增加而显著下降。表现为: 低浓度重金属 (即 Zn^{2+} 浓度为 $50 \sim 200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; Cd^{2+} 浓度为 $0.5 \sim 10\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 对潮土中潜在硝化速率 (PNR) 无影响或轻微促进作用, 而在高浓度 (即 Zn^{2+} 浓度大于 $200\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; Cd^{2+} 浓度大于 $10\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 下有显著抑制作用。

从 EC_{50} 中可以看出 $\text{Zn}^{2+} (\text{EC}_{50}) > \text{Cd}^{2+} (\text{EC}_{50})$, 说明 Zn^{2+} 对 PNR 的抑制程度小于 Cd^{2+} , PNR 的测定应用于重金属 Zn^{2+} 的污染毒性评价较 Cd^{2+} 更为适合。

参考文献:

- [1] 夏月, 朱永官. 硝化作用作为生态毒性指标评价土壤重金属污染生态风险[J]. 生态毒理学报, 2007, 2(3): 273-279.
XIA Yue, ZHU Yong-guan. Nitrification as ecotoxicological endpoint in risk assessment of soil heavy metal pollution[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2007, 2(3): 273-279.
- [2] 马英, 钱鲁闽, 王永胜, 等. 硝化细菌分子生态学研究进展[J]. 中国水产科学, 2007, 14(5): 872-879.
MA Ying, QIAN Lu-min, WANG Yong-sheng, et al. Progress in molecular ecology of nitrifying bacteria[J]. *Journal of Fishery of China*, 2007, 14(5): 872-879.
- [3] Broos K, Mertens J, Smolders E. Toxicity of heavy metals in soil assessed with various soil microbial and plant growth assays[J]. *A Comparative Study Environment Toxicology Chemistry*, 2005, 24(3): 634-640.
- [4] Xia Yue, ZHU Yong-guan, et al. Does long-term fertilization treatment affect the response of soil ammonia-oxidizing bacterial communities to Zn contamination?[J]. *Plant Soil*, 2007, 301(1-2): 245-254.
- [5] Smolders E, Brans K, Coppens F, et al. Potential nitrification rate as a tool for screening toxicity in metal-contaminated soils[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2001, 20(11): 2469-2474.

- [6] 山东省土壤肥料工作站. 山东土壤[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994.
The Soil and Fertilizer Station of Shandong Province. The soil of Shandong Province[M]. Beijing: Agricultural Press, 1994.
- [7] 范晓晖, 朱兆良. 我国几种农田土壤硝化势的研究[J]. 土壤通报, 2002, 33(2): 124-125.
FAN Xiao-hui, ZHU Zhao-liang. Potential of nitrification in the three soil profiles of China[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2002, 33(2): 124-125.
- [8] 孙 波, 郑宪清, 胡 峰, 等. 水热条件与土壤性质对农田土壤硝化作用的影响[J]. 环境科学, 2009, 30(1): 206-213.
SUN Bo, ZHENG Xian-qing, HU Feng, et al. Effect of temperature, rainfall and soil properties on farmland soil nitrification[J]. *Environmental Science*, 2009, 30(1): 206-213.
- [9] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
LU Ru-kun. Chemical analysis of agricultural soil[M]. Beijing: Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [10] Brookes P C. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1995, 19(4): 269-279.
- [11] Fait G, Broos K, Zrna S, et al. Tolerance of nitrifying bacteria to copper and nickel [J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2006, 25(8): 2000-2005.
- [12] Beard S J, Hughes M N, Poole R K. Inhibition of the cytochrome BD-terminated NADH oxidase system in *Escherichia coli* K-12 by divalent metal cations[J]. *Fems Microbiol Lett*, 1995, 131(2): 205-210.
- [13] Chvapil M. New aspects in biological role of zinc-Stabilizer of macromolecules and biological-membranes[J]. *Life Science*, 1973, 13(8): 1041-1049.
- [14] Park S, Ely R L. Genome-wide transcriptional responses of *Nitrosomonas europaea* to[J]. *Arch Microbiol*, 2008, 189(6): 541-548.
- [15] Tyler S R, Lewis S, Mark E D. Expression of *merA*, *amoA* and *hao* in continuously cultured *Nitrosomonas europaea* cells exposed to zinc chloride additions[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2009, 102(2): 546-553.
- [16] 张甲耀, 宋碧玉, 郑连爽, 等. 环境微生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
ZHANG Jia-yao, SONG Bi-yu, ZHENG Lian-shuang, et al. Environmental microbiology[M]. Beijing: Science Press, 2004.
- [17] Nies D H. Microbial heavy-metal resistance[J]. *Applied Microbiology Biotechnology*, 1999, 51(6): 730-750.
- [18] Ganguly S, Jana B B. Cadmium induced adaptive responses of certain biogeochemical cycling bacteria in an aquatic system[J]. *Water Research*, 2002, 36(7): 1667-1676.
- [19] Okano Y, Hristova K R, Leutenegger C M, et al. Application of real-time PCR to study effects of ammonium on population size of ammonia-oxidizing bacteria in soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70: 1008-1016.
- [20] Smolders E, Brans K, Coppens F, et al. Potential nitrification rate as a tool for screening toxicity in metal-contaminated soils[J]. *Environmental Toxicology And Chemistry*, 2001, 20(11): 2469-2474.
- [21] Stuczynski T I, McCarty G W, Siebielec G. Response of soil microbiological activities to cadmium, lead, and zinc salt amendments[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2003, 32(4): 1346-1355.