

聚丙烯酸盐对长期重金属污染的矿区土壤的修复研究(Ⅱ) ——对土壤微生物数量和土壤酶活性的影响

曲贵伟¹, Amarilis de Varennes², 依艳丽¹

(1.沈阳农业大学土地与环境学院,辽宁 沈阳 110161;2. Department of Agricultural and Environmental Chemistry, Institute Superior De Agronomia, Technical University of Lisbon, Lisbon 1349–107, Portugal)

摘要:采用盆栽试验方法研究了聚丙烯酸盐对 S Domingos 金矿区重金属污染土壤的修复作用。在《聚丙烯酸盐对长期重金属污染土壤的修复研究(I)》^[30](以下简称研究 I)中聚丙烯酸盐的应用显著提高了土壤持水能力和土壤的 pH,同时土壤中水溶性重金属的含量也比对照显著降低,从而使果园草 *Dactylis glomerata* L.cv.Amba)的生物量得到显著增加。为更全面地说明聚丙烯酸盐在该重金属污染土壤修复上的作用,进一步探讨了聚丙烯酸盐对重金属污染土壤微生物属性的影响。结果表明,土壤细菌数量随聚丙烯酸盐水平的增加而增加,不同处理之间差异显著($P \leq 0.05$);与对照相比,聚丙烯酸盐处理的真菌数量显著增加($P \leq 0.05$),但随着聚丙烯酸盐水平的增加而显著降低($P \leq 0.05$),这可能是由于 0.4% 和 0.6% 的聚丙烯酸盐处理土壤 pH 显著提高所导致的。因此使用微生物数量评价土壤质量时,细菌比真菌表现更突出。使用聚丙烯酸盐修复的土壤脱氢酶、磷酸酶、蔗糖酶、蛋白酶和纤维素酶的活性均比对照显著增加($P \leq 0.05$),而脲酶活性的下降则可能是由于聚丙烯酸盐带来大量的铵态氮产生的抑制作用所致。综合研究 I 中的结果,聚丙烯酸盐不仅可以改善重金属污染土壤的理化性状而且对于土壤微生物属性也有显著的改善作用。从果园草生物量来看,0.4% 聚丙烯酸盐的用量对该污染土壤的修复具有实践应用价值。

关键词:聚丙烯酸盐;矿区土壤修复;重金属;土壤微生物数量;土壤酶活性

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672–2043(2009)04–0653–05

The Effect of Insoluble Polyacrylate Polymers on Plant Growth and Soil Quality in A Long-Term Heavy Metal Contaminated Mine Soil(Ⅱ)

——The Number of Microbial and Soil Enzymatic Activity

QU Gui-wei¹, Amarilis de Varennes², YI Yan-li¹

(1.Shenyang Agricultural University, Soil and Environment college, Shenyang 110161, China; 2. Department of Agricultural and Environmental Chemistry, Institute Superior De Agronomia ,Technical University of Lisbon, Lisbon 1349–170, Porugal)

Abstract: The effect of polyacrylate polymer on the remediation of long-term contaminated mine soil was studied under control condition in greenhouse with pot experiment. In the first part of this study(in brief by study I); we found that the water holding capacity of soil and pH were increased significantly and the concentrations of water extractable heavy metals were also reduced greatly with the level of polyacrylate polymer. As a result of that, the biomass of orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.cv.Amba) was improved remarkably. In order to further prove the effect of polyacrylate polymer on remediation of contaminated soil with heavy metals, the microbial properties of soil such as the number of microorganism and enzymatic activity were studied in this paper. The results showed that the number of bacteria increased with polymer application and significant differences were found among different treatments, whereas the number of fungi was significantly increased in the treatment with polymer as compared with the control,however decreased with the level of polymer. The possible reason might be the increased soil pH. In view of the changes of the number of microbial the bacteria could be a better indicator than fungi. The activities of dehydrogenase, phosphatase, β -glucosidase, protease and cellulase increased following polymer application. In contrast, urease activity was inhibited by polymer application, presumably due to the presence of ammonium as a counter ion. Together with study (I):polyacrylate polymer not only improved physical and chemical properties of mine soil, but also enhanced this soil microbial properties. Moreover, the intermediate application rate (0.4% of polymer) was considered the most favorable for remediation of this soil as it resulted in the greatest plant biomass.

Keywords: polyacrylate polymers; mine soil remediation; heavy metal; the number of soil microbe; soil enzyme activity

收稿日期:2008-06-26

作者简介:曲贵伟(1970—),男,讲师,在读博士,研究方向为农业生态与环境。E-mail:guiweiqu@163.com

S Domingos 矿区位于葡萄牙南部 Baixo Alentejo 地区, 曾经是葡萄牙最重要的铜铁矿区。早在前罗马和罗马时期它曾进行过金、铜和银矿的开采。近代的铜矿开采始于 19 世纪。随着矿产资源的枯竭,S Domingos 矿区于 1966 年被关闭。由于长年的采矿活动, 该地区的土壤已经受到严重的重金属(Cu、Pb、Zn 等)污染。

土壤重金属污染不仅危害环境, 而且还会随着植物的吸收进入食物链而影响人类的健康, 修复重金属污染土壤势在必行。传统的修复技术如工程改土技术、动电修复技术和淋洗技术等, 由于工程量大, 成本高, 对土壤结构和环境影响较大而不适宜应用在大面积的土壤重金属污染修复上^[1-3]。化学固定技术因其简单、快捷和有效降低重金属在土壤中的溶解度和生物有效性, 而被广泛研究^[4-5]。常见的用于化学固定技术的物质有石灰^[6]、有机质(粪肥和堆肥等)^[7]、磷酸盐^[8]、工业产品如沸石^[9]、钢渣^[6]等。

聚丙烯酸盐作为一种新的化学修复物已尝试用于土壤重金属污染修复中^[10-17]。研究表明, 聚丙烯酸盐对多种重金属具有较强的和稳定的吸附能力, 在外加重金属污染土壤上, 其可以显著改善黑麦草的生长, 降低土壤中重金属的有效性, 显示出了良好的效果。由于外加重金属污染土壤中重金属的活性明显高于长期污染的土壤, 因此, 聚丙烯酸盐对长期污染土壤上的修复作用和用量有待于进一步研究。

在本研究中采用了植物生物量、土壤持水能力、土壤 pH、土壤水溶性重金属含量以及土壤微生物含量和酶活性作为评价土壤修复效果的因子。其中前 4 个因子已经在聚丙烯酸盐对长期重金属污染的矿区土壤的修复研究(I)中阐述。本文通过进一步讨论不同水平的聚丙烯酸盐对长期重金属污染的矿区土壤的土壤微生物数量及土壤酶活性的影响, 确明其在长期重金属污染土壤质量修复上的作用并结合研究(I)初步确定可用于实践的合理用量。

1 材料与方法

1.1 供试聚丙烯酸盐的基本属性

本试验采用聚丙烯酸铵(含 N 9.8%)和聚丙烯酸钾

(含 K 21%)按 1:1 的比例混合, 分子量约为 4 000 万, 不溶于水。产品由葡萄牙 Hoechst Portuesa S A 提供。

1.2 供试土壤

来自葡萄牙南部 S Domingos 废弃金矿区(土壤的基本性质见表 1)。

1.3 供试果园草

果园草 *Dactylis glomerata* Lcv. Amba)。

1.4 试验方法

试验设置 3 个水平的聚丙烯酸盐, 共 4 个处理: 对照(Control)、0.2% polymer、0.4% polymer、0.6% polymer, 3 次重复。每钵(上沿直径 21 cm, 高度 18 cm)盛装 4 kg 土壤。各处理养分添加数量见表 2, 由于聚丙烯酸盐中含有 9.8% 的氮和 21% 的钾(这些养分通常被认为是速效养分), 因此土壤中氮和钾的添加量主要根据 0.6% 聚丙烯酸盐中氮和钾的含量计算, 最终将使土壤中 N、P、K 和 Mg 的养分水平一致。2006 年 7 月 15 日开始播种, 约 25 d 后间苗至 60 株, 分别于播种后 35、55、75 和 95 d 收取 4 苞, 每苞取地上部植株(距地表 5 cm 收割以保证下一苞的正常生长), 称重后经去离子水清洗, 然后在 65 °C 下烘干并称重。除第 4 苞外, 在每苞后分别向土壤添加 100 mg·kg⁻¹ N (NH_4NO_3)。试验结束后, 采集土壤样本(新鲜、冷冻和风干), 分别用于土壤 pH、土壤重金属含量以及微生物数量、土壤酶活性的测定。

聚丙烯酸盐吸水膨胀后, 会引起土壤体积增加, 不同聚丙烯酸盐的处理土壤水分管理有所差异。对照和 0.2% 聚丙烯酸盐的处理可一次性的将水分灌溉至土壤饱和持水量, 0.4% 和 0.6% 的聚丙烯酸盐的处理由于受到栽培钵体积的限制, 无法将水分一次性灌溉至土壤饱和持水量, 因此采用每天灌溉直至到饱和持水量, 当土壤水分降低到对照土壤的饱和持水量的 70% 时对全部处理进行灌溉, 所有处理每天称重。

1.5 测定项目及方法

1.5.1 土壤微生物数量的测定

根据 Pochon 和 Tardieu^[18]所述方法测定。其中, 细菌在 27 °C 下培养 48 h, 而真菌在相同温度下培养 7 d。

1.5.2 土壤酶活性的测定

过氧化氢酶的测定根据 Tabatabai 所述方法测定^[19];

表 1 供试土壤的基本性质

Table 1 Properties of the soil from the S Domingos mine used in this experiment

酸碱度 pH (H ₂ O)	有机质 Organic matter/%	全氮 Total N/%	全钾 Total K/%	全磷 Total P/%	全铜 Total Cu/mg·kg ⁻¹	全锌 Total Zn/mg·kg ⁻¹	全铁 Total Total Fe/%	全锰 Total Mn/mg·kg ⁻¹	全铅 Total Total Pb/%	全镉 Total Cd/mg·kg ⁻¹
4.10	0.19	0.03	0.31	0.04	91.00	47.00	6.94	17.00	0.62	<0.3

表2 不同处理的养分施用状况

Table 2 Amounts of N, P, K and Mg supplied to the soil as basal dressing

养分种类 Nutrients	不同处理养分施用数量/mg·kg ⁻¹			
	对照(Control)	0.2%polymer	0.4%polymer	0.6%polymer
N(NH ₄ NO ₃)	294	196	98	0
P(Ca(H ₂ PO ₄) ₂)	125	125	125	125
K(K ₂ SO ₄)	630	420	210	0
Mg(MgSO ₄)	25	25	25	25

纤维素酶活性根据 Hope 和 Burns 中所述方法测定^[20]; 酸性磷酸酶活性和 β-蔗糖酶活性根据 Eivazi 和 Tabatabai 所述方法测定^[21]; 蛋白酶活性根据 Ladd 和 Butler 所述方法测定^[22]; 脲酶活性根据 Kandeler 和 Gerber 所述方法测定^[23]。

1.6 数据分析

本试验所有数据均采用 Statistica 6.0 软件分析。显著性差异的比较采用 Newman-Keul's 检验($P \leq 0.05$)。

2 结果

2.1 对土壤微生物数量的影响

表3显示,在使用0.2%、0.4%和0.6%聚丙烯酸盐处理的土壤中细菌的数量分别是对照的9.6、10.1和36.1倍,各处理间差异显著($P \leq 0.05$)。尽管使用聚丙烯酸盐的各处理真菌数量比对照显著增加,但随着聚丙烯酸盐水平的增加而显著降低。

2.2 聚丙烯酸盐对土壤酶活性的影响

表4显示,聚丙烯酸盐处理的土壤脱氢酶的活性分别比对照增加了3.4、3.3和1.8倍,差异显著($P \leq 0.05$)。随着聚丙烯酸盐水平的增加脱氢酶活性有所降低,其中0.6%脱氢酶活性下降显著($P \leq 0.05$)。与对照相比,聚丙烯酸盐处理的磷酸酶活性均显著增加,且随着其水平的提高而增加,其中0.6%聚丙烯酸盐的处理增加显著。聚丙烯酸盐处理的土壤蔗糖酶和纤维素酶活性分别是对照的1.9、3.3、3.7倍和7.3、10.9、15.2倍,

表3 聚丙烯酸盐对土壤微生物数量的影响

Table 3 The effect of different treatments on microbial numbers

处理 Treatment	细菌 Bacteria/CFU·g ⁻¹	真菌 Fungi/CFU·g ⁻¹
对照(Control)	6.93E+05 ^d	2.33E+05 ^d
0.2% polymers	4.67E+06 ^c	1.23E+06 ^a
0.4% polymers	7.03E+06 ^b	8.67E+05 ^b
0.6% polymers	2.50E+07 ^a	4.20E+05 ^c

注: 表中竖排平均值后小写字母相同的表示在 Newman-Keul's test 0.05 水平下差异不显著。下同。

The means in a column followed by the same small letters and in a row followed by the same letters are not significantly different as judged by at a level of 0.05. The same as below.

并随着水平提高而显著增加($P \leq 0.05$)。与对照相比,土壤中蛋白酶的活性由于聚丙烯酸盐的使用得到显著改善($P \leq 0.05$),但聚丙烯酸盐数量的增加对蛋白酶活性的影响却不明显。土壤脲酶活性却由于聚丙烯酸盐的使用而受到明显抑制,其中0.6%聚丙烯酸盐处理的脲酶活性最低。

3 讨论

3.1 聚丙烯酸盐对土壤微生物数量的影响

由于土壤微生物数量和活性与土壤功能关系密切,因此常被用来评价土壤修复和退化^[24-25]。在本试验中,未修复的土壤中细菌和真菌数量因土壤重金属污染而显著下降,这主要是因为土壤重金属可影响微生物关键的转化过程^[26],如重金属可以显著降低微生物与底物的结合能力^[27-28],从而显著降低其数量和活性^[29]。经过聚丙烯酸盐处理的土壤,微生物数量得到明显提高,其中土壤中细菌的数量随着聚丙烯酸盐水平的增加而增加,活性得到明显改善,这主要是由于聚丙烯酸盐降低了土壤中重金属的生物有效性^[30],减少了其对细菌活动的抑制作用。另外聚丙烯酸盐显著提高了土壤 pH^[30],这一程度促进了细菌的活性。细菌数量与土壤 pH 的相关系数 $r=0.994^{**}$,呈极显著

表4 不同处理对土壤酶活性的影响

Table 4 The effect of different treatments on the soil enzyme activity

处理 Treatment	Dehydrogenase/ g TPF·g ⁻¹ · 16 h ⁻¹	Phosphatase/ μmol p-nitrophenol· g ⁻¹ ·h ⁻¹	β-glucosidase/ μmol p-nitrophenol· g ⁻¹ ·h ⁻¹	Urease/ μmol N-NH ₄ ⁺ ·g ⁻¹ dry soil·2h ⁻¹	Proteases/ μmol Trisina·g ⁻¹ dry soil·2h ⁻¹	Cellulase/ μmol glucose·g ⁻¹ dry soil·16h ⁻¹
对照(Control)	0.449 ^c	0.354 ^c	0.087 ^d	10.79 ^a	2.1E-05 ^b	0.012 ^d
0.2% polymers	1.511 ^a	0.555 ^b	0.161 ^c	2.47 ^b	0.012 ^a	0.088 ^c
0.4% polymers	1.495 ^a	0.664 ^b	0.287 ^b	1.21 ^c	0.011 ^a	0.131 ^b
0.6% polymers	0.810 ^b	1.151 ^a	0.320 ^a	0.67 ^d	0.016 ^a	0.182 ^a

线性相关($n=12, P<0.01$),见表5。真菌的数量则随着聚丙烯酸盐数量增加而降低,这可能是由于在长期重金属污染的土壤中真菌比细菌具有更强的忍耐能力^[29],从而对聚丙烯酸盐的修复反应迟钝。另外,土壤pH的提高在一定程度上也限制了真菌的活性,与土壤pH的相关系数 $r=-0.959^{**}$,呈极显著负相关($n=9, P<0.01$),见表5。从本试验的结果来看,作者认为细菌比真菌对土壤修复的反应更敏感,因此更适合作为评价重金属污染土壤修复的指标。

表5 土壤中细菌($n=12$)和真菌($n=9$)数量与土壤pH的相关系数(r)

Table 5 Correlations(r)between bacteria or fungi in the soil and soil pH in the end of experiment ($n=12$ for bacteria, $n=9$ for fungi)

参数(Parameter)	pH
细菌数量(Bacteria/CFU·g ⁻¹)	0.994**
真菌数量(Fungi/CFU·g ⁻¹)	0.959**

**: Value significant at $P<0.01$.

3.2 聚丙烯酸盐对土壤酶活性的影响

土壤酶活性对土壤重金属反应比较敏感,因此可以作为评价土壤重金属污染的一个有效指标^[31-33]。在本研究中,对照土壤中的除脲酶外的其他所有酶的活性均受到显著抑制,而聚丙烯酸盐的应用则提高了大部分土壤酶的活性。其中,磷酸酶、蔗糖酶和纤维素酶的活性随着聚丙烯酸盐水平的增加而增加,这主要应归因于两个方面的作用:一是聚丙烯酸盐对重金属的固定,降低了重金属对土壤酶的影响;二是,作物生长的改善使根系分泌物数量增加,而根系分泌物则为微生物和土壤酶提供了更多的碳水化合物,从而提高其数量和活性。这与土壤中蔗糖酶和纤维素酶活性变化的结果相符合。相反,土壤中脲酶的活性则比对照显著降低,这个结果与之前A. de Varennes^[15]在长期铜污染的果园土壤上脲酶活性提高的结果不同,这可能是由于聚丙烯酸盐(聚丙烯酸铵)的施用给土壤带入大量的铵态氮素的抑制作用所导致的,如表6所示,土壤中铵态氮的含量随着聚丙烯酸盐含量的增加而显著增加,结合表4土壤脲酶活性结果,土壤脲酶活性与土壤中NH₄-N含量呈显著负相关($r=0.766^*, n=12, P<0.05$)。另外,也有研究表明^[34],在不同性质的铅污染土壤中,脲酶活性呈现出增高或降低的不一致变化。

4 结论

应用聚丙烯酸盐修复长期重金属污染的矿区土

表6 试验结束后土壤中NH₄-N含量(0.01 mol·L⁻¹CaCl₂浸提)

Table 6 The concentration of NH₄-N in the soil in the end of experiment(0.01 mol·L⁻¹CaCl₂)

处理 Treatment	NH ₄ -N 含量/mg·kg ⁻¹ The concentration of NH ₄ -N /mg·kg ⁻¹
对照(Control)	6.74
0.2%polymer	37.82
0.4%polymer	90.20
0.6%polymer	183.66

壤使土壤中微生物数量和大多数酶的活性得到显著提高,这主要是由于聚丙烯酸盐对重金属的吸附固定作用及对土壤理化性质的改善作用^[30]降低了土壤中重金属的生物有效性,从而减轻了其对土壤酶活性的抑制作用;另外,由于聚丙烯酸盐的应用显著改善了果园草的生长^[30],其根系分泌物的增加为微生物和土壤酶的活动提供更多的碳水化合物,进一步的增强了微生物和土壤酶的活性。然而土壤中脲酶活性的下降,可能是由于聚丙烯酸盐的应用使土壤中铵态氮素过多而产生的抑制作用造成的(见表6)。结合本研究(I)的结果,0.4%聚丙烯酸盐的用量能更好地体现聚丙烯酸盐在改善植物生长、土壤持水能力、微生物和酶的活性以及降低土壤重金属的生物有效性等方面的作用,因此具有实践应用价值。

参考文献:

- [1] Boisson J, Mench M, Vangronsveld J, et al. Immobilization of trace metals and arsenic by different soil additives: evaluation by means of chemical extractions[J]. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 1999, 30(3-4): 365-387.
- [2] Virkutyte J, Sillanpaa M, Latostenmaa P. Eletrokinetic soil remediation—critical overview[J]. *The Science of the Total Environment*, 2002, 289 (1-3): 97-121.
- [3] Dong-Mei, D Chang-Fen, C Long. Electrokintetic remediation of a Cu contaminated red soil by conditionaing catholyte pH with different enhancing chemical reagents[J]. *Chemosphere*, 2004, 56(3): 265-273.
- [4] Oste L, Lexmond T M, Van Riemsdijk W H. Metal immobilization in soils using synthetic zeolites[J]. *Environmental Quality*, 2002, 31(3): 813-821.
- [5] Basta N T, Mc Gowen S L. Evaluation of chemical immobilization treatments for reducing heavy metal transport in a smelter-contaminated soil[J]. *Environmental Pollution*, 2004, 127(1): 73-82.
- [6] Geeblen W, Adriano D C, Van der Lelie D, et al. Selected bioavailability assays to test the efficacy of amendment-induced immobilization of lead in soil[J]. *Plant and Soil*, 2003, 249(1): 217-228.
- [7] Farfel M R, Orlova A O, Chaney R L, et al. Biosolids compost amendment for reducing soil lead hazards:a pilot study of Orgo(R) amend-

- ment and grass seeding in urban yards[J]. *The Science of the Total Environment*, 2005, 340(1-3):81-95.
- [8] Melamed R, Cao X, Chen M, et al. Field assessment of lead immobilization in a contaminated soil after phosphate application[J]. *The Science of the Total Environment*, 2003, 305(1-3):117-127.
- [9] Friesl W, Lombi E, Horak O, et al. Immobilization of heavy metals in soils using inorganic amendments in a greenhouse study[J]. *Plant Nutrition and Soil Science*, 2003, 166(2):191-196.
- [10] De Varennes A, Balsinhas A, Carqueja M J. Effect of two Na polyacrylate polymers on the hydrophysical and chemical properties of a sandy soil, and on plant growth and water economy[J]. *Revista de Ciências Agrárias*, 1997(10):13-27.
- [11] De Varennes A, Torres M O, Conceição E, et al. Effect of Polyacrylate polymers with different counter ions on the growth and mineral composition of perennial ryegrass[J]. *Plant Nutrition*, 1999, 22(1):33-43.
- [12] De Varennes A, Torres M O. Remediation of a long-term copper-contaminated soil using a polyacrylate polymer[J]. *Soil Use and Management*, 1999, 15(4):230-232.
- [13] De Varennes A, Torres M C. Soil remediation with insoluble polyacrylate polymers: an review[J]. *Revista de Ciências Agrárias*, 2000, 23(2):13-22.
- [14] Lindim C, De Varennes A, Torres M O, et al. Remediation of sandy soil artificially contaminated with cadmium using a polyacrylate polymer[J]. *The Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2001, 32(9-10):1567-1574.
- [15] Torres M O, De Varennes A. Remediation of a sandy soil artificially contaminated with copper using a polyacrylate polymer[J]. *Soil Use and Management*, 1998, 14(2):106-110.
- [16] De Varennes A, Queda C. Application of an insoluble polyacrylate polymer to copper-contaminated soil enhances plant growth and soil quality[J]. *Soil Use and Management*, 2005, 21(4):410-414.
- [17] De Varennes A, Michael J G, Miguel M. Remediation of a sandy soil contaminated with cadmium, nickel, and zinc using an insoluble polyacrylate polymer[J]. *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, 2006, 37(11-12):1639-1649.
- [18] Pochon J, Tardieu P. Techniques d'analyse en microbiologie du sol[J]. *La Tourelle, Saint Mandé(Seine), France*, 1962.
- [19] Tabatabai M A. Soil enzymes[C]. // S H Mickelson, J M Bigham (ed.), *Methods of Soil Analysis*, Part2, Published by SSSA, 1994;775-833.
- [20] Hope C F A, Burns R G. Activity origina and location of cellulase in a silt loam soil[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1987, 5:164-170.
- [21] Eivazi F, Tabatabai M A. Glucosidases and galactosidases in soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1988, 20:601-606.
- [22] Ladd J N, Butler J H A. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 1972, 4:19-30.
- [23] Kandeler E, Gerber H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1988(23):299-306.
- [24] Pankhurst C E, Hawke B G, Mc Donald H J, et al. Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. Aust[J]. *Experimental Agriculture*, 1995, 35:1015-1028.
- [25] Dick R P, Breakwill D, Turco R. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrating biological indicators[C]// Doran J W, Jones A J (Eds), *Handbook of methods for assessment of Soil Quality*. Soil Science Society of America Specific Applications, Madison, WI, PP, 1996;242-272.
- [26] Obbard P. Measurement of dehydrogenase activity using 2-p-iodophenyl-3-p-nitrophenyl-5-phenyltetrazolium chloride (INT) in the presence of copper[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 33:328-330.
- [27] Reber H H. Simultaneous estimates of the diversity and the degradative capability of heavy metal-affected soil bacterial communities[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1992, 13:181-186.
- [28] Burkhardt C, Insam H, Hutchinson T C, et al. Impact of heavy metals on the degradative capabilities of soil bacterial communities[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1993, 16:154-156.
- [29] Maliszewska-Kordybach B, Smreczak B. Habitat function if agricultural soils as affected by heavy metals and polycyclic aromatic hydrocarbons contamination[J]. *Environment International*, 2003, 28:719-728.
- [30] 曲贵伟, Amarilis de Varennes, 依艳丽. 聚丙烯酸盐对长期重金属污染的矿区土壤的修复研究:I 对土壤保水能力、果园草生长和土壤pH以及土壤水溶性重金属的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(4):1592-1598.
- QU Gui-wei, Amarilis de Varennes, YI Yan-li. Effect of insoluble polyacrylate polymers on plant growth and soil quality in a long-term heavy metal contaminated mine soil:I soil water retention capacity, plant growth, soil pH and water extractable heavy metal[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2008, 27(4):1592-1598.
- [31] Del Val C, Barea J M, Azcón-Aguilar C. Assessing the tolerance to heavy metlas of arbuscular mycorrhizal fungi isolated from sewage sludge contaminated soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 1999, 11:261-269.
- [32] Kandeler E, Kampichler C, Horak O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil communities[J]. *Biology and Fertility of Soil*, 1997, 23:299-306.
- [33] Belén-Hinojosa M, R Garcia Ruiz, B Vebegla, et al. Microbiological rates and enzyme activities as indicators of functionality in soils affected by the Aznalcollar toxic spill[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36:1637-1644.
- [34] 孙兆海, 郑春荣, 周东美, 等. 土壤铅污染对青菜和蕹菜生长及脲酶活性的影响[J]. 农村生态环境, 2005, 21(1):38-45.
- SUN Zhao-hai, ZHENG Chun-rong, ZHOU Dong-mei, et al. Effects of soil Pb pollution on growth of *Brassica chinensis* and *Ipomoea aquatica* and urease activities[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2005, 21(1):38-45.