赵奕乔,罗庆睿,段昌群,等. 铅镉胁迫下蚯蚓对土壤碳氮相关酶及微生物多样性的影响[J].环境科学与技术,2025,48(2):1-11. Zhao Yiqiao, Luo Qingrui, Duan Changqun, et al. Effects of earthworms on soil carbon and nitrogen-related enzymes and microbial diversity under stress of Pb and Cd [J]. Environmental Science & Technology,2025,48(2):1-11.

铅镉胁迫下蚯蚓对土壤碳氮相关酶及微生物多样性的影响

赵奕乔^{1,2,3}, 罗庆睿^{1,2,3}, 段昌群^{1,2,3}, 张悦^{1,2,3}, 蔡粤^{1,2,3}, 刘嫦娥^{1,2,3*}

(1.云南大学生态与环境学院,云南省高原山地生态与退化环境修复重点实验室,云南 昆明 650091;
 2.滇中生态敏感区生态功能修复云南省野外科学观测研究站,云南 昆明 650091;
 3.云南省高原湖泊生态修复及流域管理国际联合研究中心,云南 昆明 650091)

摘 要:调落物分解是陆地生态系统中物质循环的关键环节,而重金属污染会影响与碳氮循环有关的酶的活性和微生物群落结构,进而改变凋落物分解速率。文章为探究蚯蚓介导杨树凋落叶分解对铅镉污染土壤酶活性及微生物多样性的影响,设置无(CK)、低(L)、中(M)、高(H)4种铅镉浓度与有(E)、无(N)蚯蚓添加,共8种处理组,同时在表面施加8.0g杨树凋落叶,进行90d盆栽试验。研究表明:铅镉胁迫抑制了蚯蚓对杨树凋落叶分解,第90天CK-E处理杨树凋落叶的分解速率最大;土壤有机碳(SOC)和总氮(TN)含量则随暴露时间延长呈增加趋势,均为第90天时CK-E处理含量最高,比CK-N分别显著增加了19.61%和7.40%;且在低、中浓度铅镉胁迫下,蚯蚓的存在增加了土壤SOC、TN含量。各处理组土壤中与碳循环相关的酶(β-葡萄糖苷酶(BG)、酚氧化酶(PO)、过氧化物酶(POD)、β-木糖苷酶(XYS))及与氮循环相关的酶(脲酶(UR)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)、β-N-乙酰氨基葡糖苷酶(NAG))的活性均随铅镉污染浓度增大而降低;蚯蚓显著影响了土壤BG、POD、XYS和NAG活性,且提高了铅镉污染土壤微生物丰富度。此外,随着暴露时间延长及土壤铅镉浓度增加,土壤中绿弯菌门和担子菌门相对丰度增加。研究表明,蚯蚓介导可减轻重金属铅镉污染对土壤微生物活性的胁迫作用,会改变杨树凋落叶分解过程中BG、POD、XYS和NAG活性,改变释放的碳、氮的化学计量,进而影响土壤生态系统碳氮循环进程。该研究揭示铅镉污染条件下蚯蚓对杨树凋落叶分解状况、土壤碳氮相关酶活性及微生物多样性的影响,为正确评价蚯蚓在重金属污染土壤生态系统养分循环中的作用提供参考和理论支持。

关键词:重金属污染; 养分循环; 酶活性; 蚯蚓; 土壤微生物
 中图分类号:X53 文献标志码:A doi:10.19672/j.cnki.1003-6504.1480.24.338 文章编号:1003-6504(2025)02-0001-11

Effects of Earthworms on Soil Carbon and Nitrogen–related Enzymes and Microbial Diversity under Stress of Pb and Cd

ZHAO Yiqiao^{1,2,3}, LUO Qingrui^{1,2,3}, DUAN Changqun^{1,2,3}, ZHANG Yue^{1,2,3},

CAI Yue^{1,2,3}, LIU Chang'e^{1,2,3*}

(1. Yunnan Key Laboratory for Plateau Mountain Ecology and Restoration of Degraded Environments,

School of Ecology and Environmental Sciences Yunnan University, Kunming 650091, China;

2. Yunnan Field Scientific Station for Restoration of Ecological Function in Central Yunnan of China, Kunming 650091, China;

3. International Cooperative Center of Plateau Lake Ecological Restoration and Watershed Management of Yunnan, Kunming 650091, China)

Abstract: Litter decomposition is a key link in the material cycle of terrestrial ecosystems, and heavy metal pollution can greatly affect the activity of enzymes related to carbon and nitrogen cycling and the structure of microbial communities, thereby altering the rate of litter decomposition. To investigate the effects of earthworm-mediated decomposition of poplar leaf litter on the activity of enzymes related to carbon and nitrogen cycling and microbial diversity in lead-cadmium contaminated soil, a pot experiment was conducted with eight treatments including no (CK), low (L), medium (M), and high (H) concentrations of lead and cadmium, as well as with the addition of earthworms (E) and without earthworms (N). A total of 8.0 g of poplar leaf litter was applied topically for 90 days. The results showed that lead and cadmium stress inhibited the decomposition of poplar leaf litter by earthworms. At day 90, CK–E treatment showed the highest decomposition rate of

[《]环境科学与技术》编辑部:(网址)http://fjks.chinajournal.net.cn(电话)027-87643502(电子信箱)hjkxyjs@vip.126.com 收稿日期:2024-09-03;修回2024-10-15

基金项目:国家自然科学基金项目(32260315,32371707);云南省基础研究计划重点项目(202201AS070016,202201BF070001-002)

作者简介:赵奕乔(1999-),女,硕士研究生,主要从事污染与恢复生态学研究,(电子信箱)704717127@qq.com;*通讯作者,(电子信箱)change@ynu.edu.cn。

poplar leaves. The contents of soil organic carbon (SOC) and total nitrogen (TN) increased with exposure time, with the highest content at day 90 in treatment CK–E, respectively, which were significantly increased by 19.61% and 7.40% compared to treatment CK–N (P<0.05). Under low and medium concentrations of lead and cadmium stress, earthworms increased the SOC and TN contents of the soil. The activities of enzymes related to carbon cycle (β –glucosidase (BG), phenol oxidase (PO), peroxidase (POD), β –xylosidase (XYS)) and nitrogen cycle (urease (UR), leucine aminopeptidase (LAP), β –N–acetylglucosaminidase (NAG)) decreased with increasing lead and cadmium pollution concentrations. Earthworms significantly affected the activities of enzymes related to carbon cycle and nitrogen cycle, and increased the microbial richness of lead–cadmium contaminated soil. In addition, with the increase of exposure time and soil lead and cadmium concentrations, the relative abundance of Chloroflexi and Basidiomycota increased in the soil. The study showed that earthworm–mediated can alleviate the stress of heavy metal lead and cadmium pollution on soil microbial activity, change the activities of BG, POD, XYS, and NAG during the decomposition of poplar litter, change the stoichiometry of carbon and nitrogen released, and thus affect the carbon and nitrogen cycle process of soil ecosystem. This study reveals the effects of earthworms on the decomposition status of poplar litter, soil carbon and nitrogen–related enzyme activities, and microbial diversity under lead and cadmium pollution conditions, providing reference and theoretical support for correctly evaluating the role of earthworms in nutrient cycling in heavy metal–contaminated soil ecosystems.

Key words: heavy metal pollution; nutrient cycling; enzyme activity; earthworm; soil microorganism

土壤生态系统中重金属含量的持续上升是全世 界关注的主要问题之一,严重影响了土壤生态环境和 功能的稳定性^[1,2]。凋落物分解是生态系统中驱动养 分循环的核心过程,对土壤肥力有很大贡献^[3]。土壤 动物群在土壤碳储存能力、养分循环和水文方面起着 关键作用,进而影响土壤质量^[4]。蚯蚓作为典型土壤 动物,可以通过改善微生境、增加有机化合物的表面 积、喂养和运输微生物来影响土壤微生物的结构,在 调节凋落物分解速率方面至关重要^[5]。总体而言,蚯 蚓扰动造成的这些直接因素(改变土壤基质的数量或 质量)和间接因素(改变土壤环境条件)被认为是影响 土壤微生物结构、功能和稳定性的主要因素^[6]。因此, 研究重金属胁迫下蚯蚓对凋落叶分解和土壤理化性 质的影响是充分了解重金属污染对土壤生态系统风 险的关键部分^[7]。

土壤微生物是生态系统过程的主要驱动力,参与 土壤有机质和植物凋落物的分解,并介导陆地生态系 统中的碳(C)和氮(N)生物地球化学循环[®]。土壤酶 是土壤系统的基本因子,对维持生态系统功能和养分 循环至关重要,它们具有有效催化土壤系统中有机组 分分解的能力,有助于维持土壤微生物的生命过程和 土壤的结构稳定,是土壤微生物群落与养分循环之间 的有效联系[®]。因此,了解土壤微生物组成和多样性 变化有利于揭示土壤微生物与土壤环境之间的相互 关系,以及这些群落如何应对重金属干扰。深入评价 土壤酶对土壤肥力的影响对于有效维持土壤肥力、利 用土壤资源和提高植物生产力至关重要。

土壤中大多数金属元素存在拮抗、协同和加和等 作用,且多存在复合污染,工业、农业和城市化快速发

展相关的人为活动增加了全球土壤的铅(Pb)、镉(Cd) 污染[10]。研究发现,我国华南地区矿区土壤受多种重 金属污染,其中Pb含量范围为53.6~33 467.0 mg/kg、 Cd含量范围为0.26~885.0 mg/kg^[11]。过量的Pb和Cd 具有一定的细胞毒性,可直接影响动物、植物和微生 物的生存^[12]。Pb进入土壤会严重影响土壤的理化结 构特征和营养状态,破坏土壤动植物的牛境,降低土 壤生产力,如Pb可抑制植物的光合作用、细胞代谢, 造成植物的枯萎死亡;Cd会影响土壤酶活性,同时也 会影响土壤微生物群落,进而影响整个土壤系统13。 目前,关于铅镉复合污染条件下接种蚯蚓及添加凋落 物对土壤养分循环有关酶活性及微生物多样性影响 的研究报道还相对较少,尤其缺乏接种蚯蚓和添加凋 落物交互作用对土壤酶活性及微生物多样性影响的 室外模拟实验观测。因此,本研究以受铅镉污染的土 壤为对象,通过测定分析接种蚯蚓对铅镉污染土壤中 凋落物分解过程的酶活性及微生物多样性的影响,为 正确评价铅镉复合污染条件下蚯蚓对土壤生态系统 养分循环的影响提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 试验生物

赤子爱胜蚓(Eisenia foetida),购于云南省昆明市 一家蚯蚓养殖基地。赤子爱胜蚓易于培养和处理、生 命力旺盛。实验前将蚯蚓置于实验土壤中驯养7d; 选择质量约为400mg、生物活性良好且带环带的成年蚯 蚓,用去离子水冲洗干净后放入垫有湿润滤纸的1L 烧杯中清肠24h,烧杯用保鲜膜封口并扎孔,再次冲 洗并用滤纸吸干蚯蚓体表水分,选择清肠后仍然健康 的蚯蚓称其生物量并记录后作为正式实验用蚓。

1.1.2 试验土壤

采集了中国云南省昆明市(北纬24°49′,东经102°51′;海拔1980m)的红壤(0~20 cm表层土)。使用前剔除土壤的植物根茎、种子和石头,自然风干,过2 mm的网筛后备用。

1.1.3 受试重金属

氯化镉(CdCl₂,>99%)和硝酸铅(Pb(NO₃)₂,>99%) 从风船化学试剂科技有限公司(中国天津)购得。

1.1.4 凋落物

杨树(Populus L.)落叶,收集自然凋落、近土壤层 腐化发黑的叶片,先用自来水冲洗其表面的泥沙,后 用去离子水中冲洗,于60℃灭菌除去微生物干扰并 烘干至恒量后投入实验装置。

1.2 实验设计

实验设置铅镉污染(P)和蚯蚓(E)2个因子,其中 铅镉污染设个4水平:对照(CK,无外源添加Pb、Cd)、 低污染(LP,48 mg/kg Pb+12 mg/kg Cd)、中污染(MP, 96 mg/kg Pb+24 mg/kg Cd)、高污染(HP,144 mg/kg Pb+36 mg/kg Cd);设置有(E)、无(N)蚯蚓添加2个水 平,共8个处理,培养周期90d。试验前,称取按不同 铅镉浓度混合均匀的5.0 kg试验土壤分别置于实验装 置(圆柱状 PVC 管, d=19.2 cm, h=17 cm)中,每日喷水 保持土壤相对湿度为50%,试验条件下平衡8周后测 定供试土壤基本性质(表1),在装置中放入10条已经 清肠的健康蚯蚓(蚯蚓密度为2条/kg土),同时在土壤 表层均匀地铺上8.0g杨树凋落叶,并用细尼龙网封口 以防蚯蚓逃逸及外来干扰,设置8个重复。将装置置于 温度(20±2)℃、湿度40%~60%、光照周期为12 h/12 h (光/暗)条件下培养90d。在第90天对装置中的土壤、 凋落叶及蚯蚓进行采样并测定相关指标。将同一装置 的土壤混匀用高温灭菌钥匙收集土壤样品,置于高温 灭菌离心管中,及时带回实验室进行简单预处理,一 部分过孔径2mm筛置于-80℃冰箱内低温保存用于 土壤酶活性及微生物多样性的测定,一部分自然风干 后过孔径0.150 mm 筛置于阴凉干燥环境中保存用 于土壤理化性质的测定。

表1 供试土壤基本性质

Table 1 Basic properties of tested soil							
样品	pH	有机碳/ (g•kg ⁻¹)	全氮/ (g·kg ⁻¹)	全铅/ (mg・kg ⁻¹)	有效铅/ (mg·kg⁻¹)	全镉/ (mg·kg ⁻¹)	有效镉/ (mg·kg ⁻¹)
对照土壤(CK)	5.91 ± 0.08	7.76 ± 0.24	2.24±0.13	67.24±2.56	2.88 ± 0.37	1.20 ± 0.57	0.23 ± 0.07
低污染土壤(LP)	5.75 ± 0.09	7.62 ± 0.21	2.23 ± 0.13	108.09 ± 3.35	8.29±0.88	13.91 ± 1.78	2.85 ± 0.19
中污染土壤(MP)	5.82 ± 0.07	7.83 ± 0.52	2.31 ± 0.05	147.26 ± 5.80	17.93 ± 1.41	25.31±0.89	7.80 ± 0.48
高污染土壤(HP)	5.83 ± 0.12	7.79 ± 0.30	2.32±0.11	191.55 ± 4.37	42.39 ± 1.54	37.14 ± 2.09	14.02 ± 0.76

1.3 指标及其测定方法

 \mathbf{v}

1.3.1 杨树凋落叶的分解速率

收集同一装置的杨树凋落叶,先用自来水冲洗其 表面的泥沙,后在去离子水中浸泡20min,于60℃ 烘干至恒质量并称其干质量。本研究采用质量存留 率来表征凋落物的总质量的减少,即每次取样后每个 处理中杨树凋落叶剩余干质量与初始杨树凋落叶干 质量之比。杨树凋落叶的分解速率运用指数模型来 计算^[14]:

$$\frac{X_t}{X_c} = \exp(-kt) \tag{1}$$

式中, X_i 为杨树凋落叶在t时刻的干质量, $g;X_0$ 为 初始干质量,g;k为分解速率, $a^{-1};t$ 为分解时间, a_o 1.3.2 土壤酶活性的测定

采用96孔微孔板荧光分析法^[15]对与土壤碳、氮循 环有关的 β -葡萄糖苷酶(β -D-Glucosidase,BG)、酚 氧化酶(Phenoloxidase,PO)、过氧化物酶(Peroxidase, POD)、 β -木糖苷酶(β -Xylosidase,XYS)、脲酶(Urease, UR)、亮氨酸氨基肽酶(Leucine Aminopeptidase, LAP)及β-N-乙酰氨基葡糖苷酶(β-N-acetylglucosamine Glycosidase, NAG)进行测定。

1.3.3 土壤理化性质的测定

土壤有机碳(SOC)、全氮(TN)含量和pH分别采用 土壤有机碳的测定燃烧氧化-非分散红外法(HJ 695-2014,设备为SumParameterAnalysis-TOC/TN)、土壤 质量全氮的测定凯氏法(HJ 717-2014)、土壤pH值的 测定电位法(HJ 962-2018)进行测定。土壤总Pb和总 Cd含量采用 HNO₃-HCl(1:3,V:V)消煮,有效态Pb 和有效态Cd含量用 DTPA缓冲溶液(pH=7.3,由 0.005 mol/L DTPA,0.01 mol/L CaCl₂组成)提取,然后 均用电感耦合等离子色谱仪(ICP-MS)测定(HJ 804-2016)。

1.3.4 土壤微生物多样性的测定

土壤细菌的测序片段为16S rRNA的V3-V4区, 特异性引物序列为338F(5⁻-ACTCCTACGGGAG-GCAGCAG-3⁻)、806R(5⁻-GGACTACHVGGGT- WTCTAAT-3′);对于真菌,使用引物ITS1F(5′-CTT-GGTCATTTAGAGGAAGTAA-3′)和ITS2R(5′-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3′)通过PCR扩增16SrRNA基因中的ITS1区。基于Illumina平台对群落DNA片段进行双末端(Paired-end)测序,使用Uparse7.0.109软件对操作分类单元(operational taxonomic unit,OTU)进行聚类,对每个OTU抽平后进行物种注释及丰度分析。细菌物种注释数据库为Silva数据库,真菌物种注释数据库为UNITE数据库。整个测序过程委托上海美吉生物医药科技有限公司完成。

1.4 数据统计分析

使用软件Excel 2021统计数据并进行初步的分析 及处理;利用美吉生信云平台(https://cloud.majorbio. com/)mothur 1.30.2软件进行微生物群落物种多样性 指数计算;运用SPSS 27.0软件双因素方差分析(Twoway ANOVA)对外源添加铅镉浓度及蚯蚓对土壤理 化性质、杨树凋落叶分解速率和酶活性的影响进行分 析;采用皮尔逊(Pearson)相关分析确定土壤酶活性与 土壤环境因子、土壤酶活性与土壤微生物多样性指数 之间的相关关系;运用软件Origin 2021 对数据进行可 视化处理。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质和杨树凋落叶分解速率变化

土壤 SOC、TN含量随暴露时间延长增加,且均为 CK-E处理含量最高,分别为(14.03±0.58) mg/kg和 (3.50±0.09) mg/kg,比 CK-N处理分别显著增加了 19.61%和7.40%。双因素方差分析结果表明,铅镉污染和蚯蚓对 SOC、TN有显著影响(P<0.001),蚯蚓添加显著提高了4种土壤的 SOC、TN(P<0.001),显著降低了4种土壤的 pH(P<0.05)。铅镉污染与蚯蚓对 SOC 具有显著的互作效应,蚯蚓添加对低污染土壤中 SOC 的提高程度更显著。CK-E处理的杨树凋落叶分解速率最大,为(2.61±0.11) a⁻¹,而HP-N处理的分解速率最小,为(1.63±0.12) a⁻¹。高浓度铅镉污染显著(P<0.001)降低了杨树凋落叶分解速率(平均降低 29.40%),添加蚯蚓显著(P<0.05)提高了杨树凋落叶分解速率,铅镉污染与蚯蚓两者无显著互作效应(表2)。

表 2 蚯蚓介导杨树凋落叶分解下铅镉污染土壤理化性质和凋落叶分解速率变化	
--------------------------------------	--

 Table 2
 Changes in the physicochemical properties and decomposition rate of lead and cadmium contaminated soil under the mediation of earthworms in the decomposition of poplar leaf litter

铅镉污染	蚯蚓	有机碳/(g·kg ⁻¹)	全氮/(g・kg ⁻¹)	碳氮比	pН	杨树凋落叶分解速率/(a-1)
СК	Е	14.03 ± 0.58	3.50 ± 0.09	4.87±0.35	5.72 ± 0.05	2.61±0.11
	Ν	11.18±0.66	3.26 ± 0.18	4.22±0.26	6.01±0.22	2.31±0.38
LP	Е	12.03 ± 0.44	2.97 ± 0.14	3.61 ± 0.22	5.63 ± 0.09	2.42±0.33
	Ν	11.18±0.66	2.73 ± 0.07	3.44 ± 0.30	5.67 ± 0.16	2.33 ± 0.45
MD	Е	10.77±0.66	2.91±0.12	3.80 ± 0.31	5.38 ± 0.31	2.36 ± 0.20
MP	Ν	9.28 ± 0.76	2.68 ± 0.12	3.50 ± 0.58	5.57 ± 0.39	2.03 ± 0.20
HP	Е	9.90±0.29	2.88±0.10	3.44 ± 0.26	5.41±0.26	1.81 ± 0.27
	Ν	9.63 ± 0.56	2.57 ± 0.18	3.65 ± 0.44	5.71 ± 0.12	1.63 ± 0.12
铅镉污染*		P<0.001	P<0.001	<i>P</i> <0.001	P=0.013	<i>P</i> <0.001
蚯蚓		P<0.001	P<0.001	P=0.087	P=0.016	P=0.015
铅镉污染×蚯蚓		P=0.010	P=0.926	P=0.150	P=0.664	P=0.780

注:#表示以铅镉污染和蚯蚓为因子的双因素方差分析结果。表中数据为平均值±标准差(n=4)。下同。

2.2 土壤重金属含量变化

双因素方差分析结果表明,4种污染土壤中总 Pd、总Cd、有效态Pb和有效态Cd含量差异极显著(P< 0.001);蚯蚓显著(P<0.05)提高了土壤有效态Pb和有 效态Cd含量,与无蚯蚓相比,添加蚯蚓在4种土壤中使 有效态Pb平均增长了33.58%,使有效态Cd平均增长 了17.03%,而对总Pb、总Cd含量无显著影响(图1)。

2.3 土壤碳氮相关酶活性的变化

2.3.1 土壤碳循环相关酶活性的变化

蚯蚓介导杨树凋落叶分解对铅镉污染土壤β-葡 萄糖苷酶(BG)、酚氧化酶(PO)、过氧化物酶(POD)及 β-木糖苷酶(XYS)4种土壤碳循环相关酶活性的影 响见图 2。总体上看,土壤碳相关酶活性随铅镉污染 程度增大显著降低(P<0.001),添加蚯蚓显著提高了 土壤 BG、POD、XYS 活性(图 2)。对XYS 活性来说, 铅镉污染与蚯蚓两者具有显著的互作效应(P=0.016)。 2.3.2 土壤氮循环相关酶活性的变化

蚯蚓介导杨树凋落叶分解对铅镉污染土壤脲 酶(UR)、亮氨酸氨基肽酶(LAP)及β-N-乙酰氨基 葡糖苷酶(NAG)3种土壤氮循环相关酶活性的影响 见图3。土壤UR活性随铅镉污染程度增大显著降 低(P<0.01),铅镉污染与添加蚯蚓对土壤UR活性具 有显著的交互作用(P<0.01),CK-E处理土壤UR活性 最高,达到(1146.69±36.86) IU/L,相比CK-N显著增加



图1 蚯蚓介导杨树凋落叶分解下4种污染土壤铅镉含量变化及双因素方差分析结果 Fig.1 Changes in Pb and Cd contents in four contaminated soils under the participation of earthworms in the decomposition of poplar leaves, and results of two-way ANOVA



图2 与碳循环相关的BG、PO、POD、XYS活性及双因素方差分析结果 Fig.2 Carbon cycling-related enzyme activities of BG, PO, POD, XYS in each treatment group, and results of two-way ANOVA

了12.44%。添加蚯蚓显著(P<0.001)提高了土壤 NAG活性。而土壤铅镉及蚯蚓对土壤LAP活性均无 显著影响。

对土壤微生物群落多样性的影响

2.4

2.4.1 土壤微生物菌群 Alpha 多样性分析

不同处理组的样品覆盖率达到96%以上,说明样 本中物种被检出的概率较高,测序深度能反映样本中 微生物的真实水平,测序文库基本达到饱和(表3)。

5



林德科学与北本

图3 与氮循环相关的UR、LAP、NAG活性及双因素方差分析结果 Fig.3 UR, LAP, and NAG activities related to nitrogen cycling, and results of two-way ANOVA

Table 3 Alpha diversity index of soil microorganisms							
土壤微生物	污染	蚯蚓	Ace	Shannon	Simpson	Chao	Coverage
细菌	CIV	Е	4 230.19±608.78a	6.47±0.01a	0.01±0.000a	4 016.28±374.64a	0.968±0.008 4
	CK	Ν	4 356.08±188.46a	6.33±0.24ab	0.01±0.002a	3 900.27±251.97a	0.960±0.003 3
	ΙP	Е	3 604.38±651.24a	6.22±0.03ab	0.01±0.000a	3 575.31±605.68ab	0.978 ± 0.010 9
	LI	Ν	3 923.74±389.86a	6.02±0.31b	0.01±0.007a	3 529.35±252.87ab	0.967±0.002 9
	MP	Е	3 825.02±387.67a	6.32±0.15ab	0.01±0.001a	3 422.36±57.98ab	0.970 ± 0.001 8
		Ν	3 846.98±231.10a	6.10±0.12b	0.01±0.002a	3 806.12±213.51ab	0.967±0.000 9
	IID	Е	3 508.86±575.33a	6.02±0.22b	0.01±0.001a	3 308.06±331.14ab	0.975 ± 0.007 3
	HP	Ν	3 348.94±909.53a	6.10±0.13b	0.01±0.007a	3 117.93±577.88b	0.979±0.006 8
真菌	СК	Е	1 765.81±364.45a	4.34±0.29a	$0.05 \pm 0.02 b$	1 776.01±366.05a	0.993 ± 0.0025
	CK	Ν	1 990.92±184.50a	4.17±0.44a	0.07±0.03ab	1 945.45±217.44a	0.990±0.001 1
	LP	Е	1 345.33±154.87b	$3.55 \pm 0.22b$	0.10±0.02ab	1 325.40±131.40b	0.994±0.001 2
		Ν	1 227.71±152.92bc	3.09±0.70b	0.16±0.11a	1 109.21±131.75bc	0.995±0.000 3
	MP	Е	1 108.13±183.99bc	3.09±0.12b	0.14±0.05ab	1 011.75±106.32bc	0.996 ± 0.0005
		Ν	1 358.40±153.92b	3.01±0.16b	0.08±0.01ab	1 362.45±144.85b	0.994±0.000 8
	HP	Е	886.18±334.00c	2.89±0.37b	0.17±0.09a	864.76±314.38c	0.996±0.001 6
		Ν	346.43±72.69d	3.22±0.07b	0.13±0.00ab	359.16±81.08d	$0.999 \pm 0.000 2$

表	3 土壤微生物 Alpha 多样性指数
163	Alpha diversity index of soil microorganism

注:同列不同小写字母表示不同处理之间显著差异(P<0.05)。表中数据为平均值±标准差(n=4)。

对土壤细菌群落多样性变化进行分析,土壤细菌的 Ace指数和Chao指数表现为CK>MP>LP>HP,说明铅 镉污染降低了土壤细菌群落丰富度;处理LP-E与处理 LP-N、处理MP-E与处理MP-N相比, Shannon指数 更高,Simpson指数更低,而处理HP-E与处理HP-N 呈相反趋势,说明低、中浓度铅镉胁迫下添加蚯蚓处 理提高了土壤细菌群落的物种多样性。土壤细菌的 Simpson 指数仅在数值上有所不同,处理间差异不显 著(P>0.05)。对土壤真菌群落多样性变化进行分析, 土壤真菌的Ace指数和Chao指数与土壤细菌一致,同 样表现为CK>LP>MP>HP。随着铅镉浓度的增大,土 壤真菌群落 Shannon 指数降低, Simpson 指数升高;在 相同铅镉污染条件下,添加蚯蚓与不添加蚯蚓处理的 土壤真菌 Shannon 指数及 Simpson 指数仅在数值上有 所不同,在处理间差异不显著(P>0.05)。

土壤微生物群落物种组成 2.4.2

为了探究蚯蚓介导杨树凋落叶分解在不同程度

铅镉污染下对土壤微生物群落结构的影响规律,对聚 类后的分类单元进行物种注释。土壤中细菌和真菌 在门水平上物种种类和相对丰度如图4所示。从图4 (a)可以发现铅镉胁迫土壤样本的细菌所含物种基本 一致,但是各个处理主要菌门所占比例不同。变形菌 门(Proteobacteria)在不同处理间其相对丰度变化范 围为25.50%~35.95%,放线菌门(Actinobacteria)变化 范围则在24.88%~33.51%,厚壁菌门(Firmicutes)变化 范围在12.52%~25.09%,以上3种菌门是具有优势的 菌门,相对比例之和可达到总群落的70%以上。此 外,随着土壤铅镉浓度增加,绿弯菌门(Chloroflexi)相 对丰度增加。通过图4(b)可以发现,不同处理土壤真 菌群落中包含着相同优势的菌门,但是相对丰度随着 处理的不同而有所变化。在门水平上受铅镉污染土 壤中主要的优势菌门分别为子囊菌门(Ascomycota)、 担子菌门(Basidiomycota),此2个菌门丰度占据总群 落的85%以上。其中随着铅镉浓度的增大,CK-E和

第48卷



图4 铅镉胁迫下蚯蚓介导杨树叶分解的土壤细菌及真菌在门分类水平群落结构及相对丰度 Fig.4 Community structure and relative abundance of soil bacteria and fungi mediated by earthworms in the decomposition of poplar leaves under lead and cadmium stress at the phylum level

CK-N处理中的被孢霉门(Mortierellomycota)被担子 菌门(Basidiomycota)取代成为优势菌门,CK-E和 CK-N所含被孢霉门(Mortierellomycota)相对丰度最 高(20.30%)。担子菌门(Basidiomycota)在群落中丰 度的变化趋势则是随着铅镉浓度的不断升高,其相对 丰度呈增加趋势。

3 讨论

3.1 蚯蚓介导凋落物分解对铅镉污染土壤理化性质的影响

作为土壤食物网中的"关键物种"和"生态系统工 程师",蚯蚓在有机质破碎、碳氮循环以及土壤微生物 组成的调节中发挥着重要作用^[16]。在本研究中,蚯蚓 参与下凋落叶分解速率加快,且与无蚯蚓参与存在显 著差异(P<0.05),这与谷志伟等^[17]的研究结果一致。 在分解初期,外源有机物添加为土壤微生物的繁衍提 供了碳源,促进土壤微生物群落在凋落物表面定植与 分解,凋落叶因微生物活动而腐烂变得更加适口,使 其在分解后期以更快的速度被蚯蚓消耗^[18]。研究表 明,随着土壤铅镉浓度增大,蚯蚓参与的处理组杨树 凋落叶分解速率降低。蚯蚓能够与土壤孔隙水直接 接触,这可能会使其生理和行为等受到不同程度迫 害,进而使凋落物的分解速率降低^[7]。

在低、中浓度铅镉处理组中,蚯蚓参与使土壤 SOC、TN含量显著增加,这也说明在一定铅镉污染程 度范围内蚯蚓的活动对于凋落物的分解具有积极作 用,提高了土壤肥力。在没有外源有机质输入的情况 下,蚯蚓新陈代谢的产物能以如蚓粪、黏液及蚯蚓残 体等形式返回土壤,从而增加土壤SOC、TN含量^[19]。 此外,通过野外试验发现凋落物输入还可以引起"激发效应"从而改变土壤中碳的周转速率,促进土壤中碳的增加^[20]。TN含量是一个受较多因素影响的土壤性质。研究发现,在受铅、铬、镉等多种重金属污染的污泥中接种赤子爱胜蚓后,污泥TN含量增加^[21]。而本研究发现,无论是否添加蚯蚓,在土壤中添加杨树凋落叶会增加土壤TN含量,这与马芬等^[22]的研究结果一致。这可能是由于添加凋落物改变了土壤微生物的数量和结构,促进了凋落物分解向土壤中释放养分,进而改变了土壤TN含量^[23]。

3.2 蚯蚓介导凋落物分解对铅镉污染土壤养分循环 相关酶活性的影响

土壤碳氮循环及其对环境变化的复杂响应越来 越受到关注[24]。土壤酶活性作为微生物活性和土壤 肥力的指标,可以反映土壤元素循环和转化的强度和 方向,是土壤生态系统中重要的代谢驱动力[25]。本研 究发现,铅镉胁迫对不同酶活性影响有较大差异,单 一酶对不同浓度铅镉响应也不尽相同,这与前人有关 重金属对土壤酶活性影响的研究结果一致。例如,通 过对农业土壤中碳酸盐结合态铅的毒性研究发现,铅 可以通过抑制农业土壤的功能基因、降低土壤脲酶和 磷酸酶活性及抑制作物生长来调节养分循环[20];此 外,土壤脲酶、磷酸酶、半乳糖苷酶活性与重金属(铜、 铅和锌)之间存在显著的正相关关系,而与重金属(铬 和镍)之间呈显著的负相关关系[27]。Pearson相关性表 明,有效态铅(APb)、镉(ACd)含量与土壤BG、PO、POD、 XYS、UR活性呈显著负相关,与LAP、NAG相关性不显 著(图5)。酶活性对环境胁迫敏感,通常随着重金属 浓度的增加,土壤酶活性受到抑制,重金属含量对酶 活性的影响可通过土壤pH和有机质介导^[28]。另外,

溶解性有机碳与土壤酶活性呈正相关,而溶解性有机 碳是土壤有机质的重要生物利用组分,能够为微生物 提供能量来源^[29]。pH值升高导致土壤中Cd、Pb的生 物利用度降低,从而降低重金属对微生物的毒性,降 低对酶活性的抑制作用^[30]。根据前人的研究结果,蚯 蚓可以通过分泌氮素类及碳酸钙类物质使土壤pH升 高^[24,31],而在本研究中,蚯蚓降低了铅镉污染土壤pH, 与前人的结果存在一定的差异,这可能是与蚯蚓生态 型、凋落物类型以及暴露时间长短等因素有关。



注: *表示P≤0.05; **表示P≤0.01。下同。

图5 土壤酶活性与土壤环境因子的相关性 Fig.5 Relationships between soil enzyme activities and soil environmental factors

本研究发现,蚯蚓显著影响了土壤BG、POD、XYS 和NAG活性,而对土壤PO、UR和LAP活性无显著影 响。也有研究证实蚯蚓处理后受重金属污染的污泥 UR活性降低,且UR活性与Cu、Zn含量呈显著负相 关^[32]。蚯蚓主要通过以下方式影响土壤酶活性:蚯蚓 穴壁中富含有机质提供可用的碳氮底物。蚯蚓可以 加速分解(碳损失),而先前的研究发现蚯蚓可以富集 穴壁中的可溶性有机碳或防止分解(碳积累)33]。因 此,蚯蚓对碳循环的净效应仍然存在争议。咽部的敏 感神经使蚯蚓能够选择性地以蛋白质和可溶性碳水 化合物等特定化合物为食^[34],因此,蚯蚓粪通常富含 多糖,这为纤维素水解酶(如β-葡萄糖苷酶、纤维二水 解酶)催化产生葡萄糖和半纤维素酶(如木聚糖酶)催 化产生木糖提供了可用的底物[35]。此外,几丁质是土 壤有机氮的主要形式之一,占土壤中总氮含量的5%~ 8%,蚯蚓穴壁富含几丁质^{36]}。NAG能够催化几丁质 降解释放含氮氨基糖,而真菌菌丝体通过蚯蚓肠道可 以进一步提高蚓穴壁中几丁质的浓度,这反过来又增 加了NAG活性。除了环境中的氮源外,蚯蚓本身还 能通过分泌粘液对土壤中的有机氮做出贡献,粘液由 蛋白质和多肽组成,这些蛋白质和多肽被蛋白酶和肽 酶分解,例如LAP^[37]。

3.3 蚯蚓介导凋落物分解对铅镉污染土壤微生物多

样性的影响

以往的研究证实,土壤中重金属的过量积累可以 改变微生物群落,包括改变其多样性、结构和功能^[38]。 本研究中低、中浓度铅镉胁迫下添加蚯蚓处理提高了 土壤细菌群落的物种多样性,铅镉污染下土壤细菌的 优势菌门包括变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)等,与贾茹^[39] 研究镉污染对蚯蚓及土壤的生态毒理效应的结果一 致。许多具有重金属抗性和解毒能力的细菌属于放线 菌门(Actinobacteria)。例如,在重金属污染的土壤中 发现了耐金属的拉氏杆菌属(*Rathayibacter*)菌株^[40]; 具有镉抗性的血杆菌属(*Sanguibacter*)菌株^[41]。不同处理 下土壤真菌的优势菌门包括子囊菌门(Ascomycota)、担 子菌门(Basidiomycota),其中铅镉污染处理下担子菌 门的丰度随着铅镉浓度的不断升高呈增加趋势,说明 铅镉可对子囊菌门富集起积极作用。

蚯蚓活动形成的孔隙系统是土壤中最重要的微 生物热点之一,蚓粪和蚓穴共同为土壤微生物群落提 供了合适的庇护所和丰富的生物可利用资源。疏松 多孔、高养分的蚓粪⁽⁴²⁾以及含有较高的酶活性和溶解 性有机碳和氮含量的蚓穴壁^[43],为土壤微生物聚集做 出了巨大贡献,此外蚯蚓分泌的酶活性物质对刺激微 生物活性和土壤中植物残留物的分解具有启动作 用啊。有研究发现添加蚯蚓黏液增强了微生物活性 月显著改变了土壤细菌群落结构,具体为变形杆菌丰 度增加,厚壁菌减少450。蚯蚓提高土壤微生物活性, 能够加速碳和氮等营养物质的转化和再分配。由于 NAG 活性与土壤细菌 Alpha 多样性指数、LAP 和 NAG 活性与土壤真菌 Alpha 多样性指数之间的相关 关系均未达到显著水平(图6),推测参与土壤碳循环 的酶活性受土壤微生物的影响大于与氮循环相关的 酶。此外,通常重金属暴露会打破蚯蚓肠道细菌群落 平衡,因此,蚯蚓肠道中对重金属有较强的抗性目具 有转化解毒重金属的潜力的细菌(如类芽孢杆菌、黄 杆菌和假单胞菌属)丰度增加140。在重金属污染的土 壤中,蚯蚓能够与黄杆菌、帕尼芽孢杆菌和假单胞菌 等形成共生关系,以帮助蚯蚓抵抗肠道中重金属的负 面影响,这些微生物在蚯蚓肠道中丰度大大增加[46]。 蚯蚓肠道作为摄入微生物群落的生物过滤器,能够选 择性地抑制或富集一些土壤微生物[47],对于在蚯蚓肠 道富集的部分微生物,在排出的蚓粪中成为优势种 群,经过蚯蚓不断地吞吐土壤、排泄蚓粪,被蚯蚓摄食 的微生物又会重新回到土壤。若与重金属迁移转化 相关的微生物成为优势菌群,则它将对重金属的迁移 转化起到积极的作用。



图6 铅镉胁迫下蚯蚓介导杨树叶分解的土壤酶活性与土壤细菌和真菌Alpha多样性指数的相关性 Fig.6 The correlation between soil enzyme activity mediated by earthworms and soil bacterial and fungal Alpha diversity index in the decomposition of poplar leaves under Pd and Cd stress

4 结论

(1)蚯蚓参与下杨树凋落叶分解速率随培养时间的延长加快,同时随土壤铅镉含量增加而降低,并且与无蚯蚓参与存在显著差异(P<0.05);在低、中浓度铅镉胁迫下,蚯蚓介导杨树凋落叶使土壤SOC和TN含量显著升高,这表明蚯蚓能够适应一定程度的铅镉胁迫,并增加土壤养分。

(2)铅镉胁迫下,蚯蚓介导提高微生物活性,降低 对土壤BG、POD、XYS和NAG活性的抑制作用。因 此,铅镉胁迫下蚯蚓介导杨树凋落叶分解可能会改变 有机化合物酶分解释放的碳、氮的化学计量,影响微 生物群落的结构和活性,进而影响土壤生态系统碳氮 循环进程。

(3)铅镉污染降低了土壤细菌群落丰富度,真菌的担子菌门丰度随着铅镉浓度的升高呈增加趋势。 但是通过高通量测序技术所检测出的细菌与真菌 群落丰度的变化与铅镉污染下蚯蚓介导杨树凋落叶 分解之间的功能关系还不明确,因此仍需要进一步的 研究。

[参考文献]

- Song P P, Xu D, Yue J Y, et al. Recent advances in soil remediation technology for heavy metal contaminated sites: a critical review[J]. Science of the Total Environment, 2022, 838(Pt 3):156417.
- [2] Li M Y, Zhang J C, Yang X, et al. Responses of ammoniaoxidizing microorganisms to biochar and compost amendments of heavy metals-polluted soil[J]. Journal of Environmental Sciences (China), 2021,102:263–272.
- [3] Austin A T, Vivanco L. Plant litter decomposition in a semiarid ecosystem controlled by photodegradation[J]. Nature, 2006,442(7102):555–558.

- [4] Sofo A, Nicoletta Mininni A, Ricciuti P. Comparing the effects of soil fauna on litter decomposition and organic matter turnover in sustainably and conventionally managed olive orchards[J]. Geoderma, 2020,372:114393.
- [5] Jiang Y B, Wang J, Muhammad S, et al. How do earthworms affect decomposition of residues with different quality apart from fragmentation and incorporation[J]. Geoderma, 2018,326:68–75.
- [6] Yaghoubi Khanghahi M, Cucci G, Lacolla G, et al. Soil fertility and bacterial community composition in a semiarid Mediterranean agricultural soil under long-term tillage management[J]. Soil Use and Management, 2020,36(4):604–615.
- [7] Liu C G, Duan C Q, Meng X H, et al. Cadmium pollution alters earthworm activity and thus leaf-litter decomposition and soil properties[J]. Environmental Pollution, 2020, 267: 115410.
- [8] de Menezes A B, Richardson A E, Thrall P H. Linking fungal-bacterial co-occurrences to soil ecosystem function[J]. Current Opinion in Microbiology, 2017,37:135–141.
- [9] Rahul R, Sharma P, Singh A, et al. Soil Enzymes and Their Role in Soil Health Improvement[M]//Nayak SK, Baliyarsingh B, Mannazzu I, et al. Advances in Agricultural and Industrial Microbiology. Singapore: Springer, 2022:39–61.
- [10] Xie K T, Xie N G, Liao Z Y, et al. Bioaccessibility of arsenic, lead, and cadmium in contaminated mining/smelting soils:assessment, modeling, and application for soil environment criteria derivation[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,443(Pt B):130321.
- [11] Zhang Y X, Song B, Zhou Z Y. Pollution assessment and source apportionment of heavy metals in soil from lead-zinc mining areas of South China[J]. Journal of Environmental Chemical Engineering, 2023,11(2):109320.
- [12] Manoj S R, Karthik C, Kadirvelu K, et al. Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacte-

ria: a review[J]. Journal of Environmental Management, 2020, 254:109779.

- [13] Naeem N, Khalid N, Sarfraz W, et al. Assessment of lead and cadmium pollution in soil and wild plants at different functional areas of Sialkot[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2021,107(2):336–342.
- [14] Olson J S. Energy storage and the balance of producers and decomposers in ecological systems[J]. Ecology, 1963,44(2): 322-331.
- [15] Chen L, Zhou S L, Shi Y X, et al. Heavy metals in food crops, soil, and water in the Lihe River Watershed of the Taihu Region and their potential health risks when ingested [J]. Science of the Total Environment, 2018,615:141–149.
- [16] Pass D A, Morgan A J, Read D S, et al. The effect of anthropogenic arsenic contamination on the earthworm microbiome[J]. Environmental Microbiology, 2015, 17(6): 1884– 1896.
- [17] 谷志伟,董炜华,闫龙,等. 蚯蚓对杂木林凋落物分解及土壤 有机碳的影响[J]. 长春师范大学学报, 2023,42(12):128-133.
 Gu Zhiwei, Dong Weihua, Yan Long, et al. Effects of earthworms on litter decomposition and soil organic carbon in mixed forests[J]. Journal of Changchun Normal University, 2023,42(12):128-133.
- [18] Shipitalo M, Protz R, Tomlin A. Effect of diet on the feeding and casting activity of *Lumbricus terrestris* and *L. rubellus* in laboratory culture[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1988,20(2):233–237.
- [19] 高佳楠,肖能文. 蚯蚓多样性与生态系统服务功能[J]. 世界 环境, 2022(6):46-48.

Gao Jianan, Xiao Nengwen. Earthworm diversity and ecosystem service functions[J]. World Environment, 2022(6): 46-48.

 [20] 彭琳,王晓君,黄从德,等. 凋落物输入改变对慈竹林土壤有 机碳的影响[J]. 水土保持通报, 2014,34(1):129-132.
 Peng Lin, Wang Xiaojun, Huang Congde, et al. Effects of litter input change on soil organic carbon in *Dendrocalamus*

affinnis forest[J]. Bulletin of Soil and Water Conservation, 2014,34(1):129–132.

[21] 孙颖,桂长华,孟杰,等.利用蚯蚓活动改善污泥性状的实验研究[J].环境化学,2007,26(3):343-346.
Sun Ying, Gui Changhua, Meng Jie, et al. Experiment study on improving properties of sludge utilizing earthworms activity[J]. Environmental Chemistry, 2007,26(3):343-346.

[22] 马芬,裴广廷,马红亮,等. 凋落物中水溶性有机物和残渣对 亚热带森林土壤氮素转化的影响[J]. 应用生态学报, 2016, 27(9):2761-2770.

Ma Fen, Pei Guangting, Ma Hongliang, et al. Effects of water–soluble organic matter and residue of litter on nitrogen transformation in subtropical forest soil[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016,27(9):2761–2770. [23] 葛晓敏,陈晓东,唐罗忠,等.添加凋落物对杨树人工林土壤 氮、磷矿化的影响初探[J].水土保持学报,2013,27(3):189-193.

Ge Xiaomin, Chen Xiaodong, Tang Luozhong, et al. Preliminary study on the effects of litter addition on nitrogen and phosphorus mineralization of soil in poplar plantations[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2013, 27(3): 189– 193.

- [24] Wang G S, Gao Q, Yang Y F, et al. Soil enzymes as indicators of soil function: a step toward greater realism in microbial ecological modeling[J]. Global Change Biology, 2022, 28(5):1935–1950.
- [25] Cotrufo M F, Soong J L, Horton A J, et al. Formation of soil organic matter via biochemical and physical pathways of litter mass loss[J]. Nature Geoscience, 2015,8:776–779.
- [26] Feng L K, Gao Z L, Ma H, et al. Carbonate-bound Pb percentage distribution in agricultural soil and its toxicity: impact on plant growth, nutrient cycling, soil enzymes, and functional genes[J]. Journal of Hazardous Materials, 2023, 451:131205.
- [27] Zerrari N, Rais N, El Ghachtouli N, et al. Heavy metals effects on agricultural soil enzyme activities of fez, Morocco[J]. Journal of Ecological Engineering, 2023,24(5):144–154.
- [28] Tang J Y, Zhang L H, Zhang J C, et al. Physicochemical features, metal availability and enzyme activity in heavy metal– polluted soil remediated by biochar and compost[J]. Science of the Total Environment, 2020,701:134751.
- [29] Kouchou A, Rais N, Thoisy J C, et al. Behavior of enzyme activities exposed to contamination by heavy metals and dissolved organic carbon in calcareous agricultural soils[J]. Soil and Sediment Contamination, 2017,26(3):259–276.
- [30] Aponte H, Meli P, Butler B, et al. Meta-analysis of heavy metal effects on soil enzyme activities[J]. Science of the Total Environment, 2020,737:139744.
- [31] Brinza L, Schofield P F, Mosselmans J F W, et al. Can earthworm-secreted calcium carbonate immobilise Zn in contaminated soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 74: 1– 10.
- [32] 王振兴. 重金属在污泥蚯蚓堆肥中的变化及对土壤硝化活性的影响[D]. 扬州:扬州大学, 2017.
 Wang Zhenxing. Changs of Heavy Metals in Sludge Earthworm Canposting and Their Effects on Soil Nitrification Activity[D]. Yangzhou; Yangzhou University, 2017.
- [33] Brown G G, Barois I, Lavelle P. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactionswith other edaphic functional domains[J]. European Journal of Soil Biology, 2000, 36(3/4): 177–198.
- [34] Judas M. Gut content analysis of earthworms (*Lumbricidae*) in a beechwood[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1992,24

(12):1413-1417.

第2期

- [35] Bayer E A, Shoham Y, Lamed R. Cellulose–Decomposing Bacteria and Their Enzyme Systems[M]//The Prokaryotes. New York, NY: Springer New York, 2006:578–617.
- [36] Don A, Steinberg B, Schöning I, et al. Organic carbon sequestration in earthworm burrows[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008,40(7):1803–1812.
- [37] Matsui M, Fowler J H, Walling L L. Leucine aminopeptidases: diversity in structure and function[J]. Biological Chemistry, 2006,387(12):1535–1544.
- [38] Etesami H. Bacterial mediated alleviation of heavy metal stress and decreased accumulation of metals in plant tissues: mechanisms and future prospects[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018,147:175–191.
- [39] 贾茹.镉与辛硫磷单一及复合污染对蚯蚓及土壤的生态毒 理效应研究[D].北京:北京理工大学, 2020.
 Jia Ru. Ecotoxicological Effects of Cadmium and Phoxim Single and Combined Pollution on Earthworms and Soil[D].
 Beijing:Beijing Institute of Technology, 2020.
- [40] Sułowicz S, Płociniczak T, Piotrowska–Seget Z, et al. Significance of silver birch and bushgrass for establishment of microbial heterotrophic community in a metal–mine spoil heap[J]. Water, Air & Soil Pollution, 2011,214(1):205–218.
- [41] Mastretta C, Taghavi S, van der Lelie D, et al. Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmi-

um phytotoxicity[J]. International Journal of Phytoremediation, 2009,11(3):251-267.

- [42] Haydu-Houdeshell C A, Graham R C, Hendrix P F, et al. Soil aggregate stability under chaparral species in southern California[J]. Geoderma, 2018,310:201–208.
- [43] Hoang D T T, Razavi B S, Kuzyakov Y, et al. Earthworm burrows: kinetics and spatial distribution of enzymes of C-, N- and P- cycles[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 99:94–103.
- [44] Pati S S, Sahu S K. CO₂ evolution and enzyme activities (dehydrogenase, protease and amylase) of fly ash amended soil in the presence and absence of earthworms (*Drawida willsi* Michaelsen) under laboratory conditions[J]. Geoderma, 2004, 118(3/4):289–301.
- [45] Huang K, Xia H. Role of earthworms' mucus in vermicomposting system: biodegradation tests based on humification and microbial activity[J]. Science of the Total Environment, 2018,610/611:703-708.
- [46] Šrut M, Menke S, Höckner M, et al. Earthworms and cadmium-Heavy metal resistant gut bacteria as indicators for heavy metal pollution in soils[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2019,171:843–853.
- [47] Wüst P K, Horn M A, Drake H L. Clostridiaceae and Enterobacteriaceae as active fermenters in earthworm gut content[J]. The ISME Journal, 2011,5(1):92–106.