

盐胁迫对蔬菜地土壤微生物及土壤酶活的毒害效应

周德平, 吴淑杭*, 褚长彬, 刘芳芳, 姜震方, 范洁群

(上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海 201106)

摘要:采用外源投加盐分培养基模拟方法,研究了不同强度盐胁迫对蔬菜地土壤微生物和土壤酶的生态毒理效应。结果表明,在盐胁迫试验强度条件下,蔬菜地土壤细菌种群遭遇盐胁迫后,生长受抑、数量减少,放线菌种群抗逆性强、数量上升,土壤真菌种群数量因细菌种群数量的减少而出现暂时性增长现象,但随胁迫时间延长也呈现毒害效应,数量下降,且低于对照;盐胁迫造成土壤微生物优势种群演替和微生态失衡,细菌比例降低,真菌比例上升;盐胁迫明显抑制土壤脲酶和蛋白酶活性,抑制程度与外加盐量呈正比,即盐胁迫强度越大,土壤蛋白酶和脲酶活性越低;而土壤转化酶和过氧化氢酶的活性在低盐胁迫强度(外加盐量为 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)时略高于对照组,但随盐胁迫强度的加重,转化酶和过氧化氢酶活性相应降低,盐含量越高,酶活性越低;土壤盐胁迫强度与土壤脲酶、蛋白酶、转化酶和过氧化氢酶活性均呈高度线性负相关,其中蛋白酶和转化酶与盐胁迫程度的相关性高且稳定, $0.930 \leq |r| \leq 0.993$ 。

关键词:盐胁迫;微生物;土壤酶;毒理;蔬菜土壤

中图分类号:Q945.78 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)08-1602-06

Eco-Toxicological Effects of Salt Stress on Microorganisms and Enzymes Activities in Vegetable Soil

ZHOU De-ping, WU Shu-hang*, CHU Chang-bin, LIU Fang-fang, JIANG Zhen-fang, FAN Jie-qun

(Institute of Eco-Environmental Protection, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China)

Abstract: Influence of salt stress on microflora and enzymes activities in vegetable soil was studied through artificially adding simulated composites salt (SCS) into natural vegetable soil. The SCS was designed according to components of the saline soil in Shanghai, which comprised 14.6% Ca^{2+} , 7.9% Na^+ , 4.0% Mg^{2+} , 45.4% NO_3^- , 16.0% SO_4^{2-} , 12.1% Cl^- . Compared with the control, bacteria amount decreased, but actinomycete increased in all four different salt-enhanced soils ($1, 5, 10, 20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) at all five testing intervals. In additions, fungi rose up in all the salt-enhanced soils at 15th day, and then dropped down at 30th, 45th and 70th day. The ratio of bacteria/microorganisms-cultured in soil (MCS) decreased and that of fungi/MCS increased. There were negative correlation between the activities of four enzymes (urease, protease, invertase and catalase) and salt content except for invertase, catalase under the low salt stress ($1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$). Correlation analysis indicated that the activities of soil urease, protease, invertase and catalase were highly negative linear correlation with salt content in vegetable soil. Especially, the correlations between protease and invertase were high and stable, and the coefficients were between -0.930 and -0.997 .

Keywords: salt stress; microbe; enzyme in soil; eco-toxicology; vegetable soil

据统计,2006 年我国设施大棚面积就达 250 多万 hm^2 ,居世界第一位,比 1980 年增长约 350 倍,人均拥有设施面积达 19.4 m^2 ,并且目前增长势头仍较猛,朝规模化和工厂化方向发展。由于设施内环境相对封闭、茬口固定、过量灌溉以及肥料过量投放,造成

设施土壤理化性质不断恶化,其中以次生盐渍化、土传病害为主的土壤连作障碍最为突出,严重制约了设施蔬菜产业的发展^[1-2]。设施土壤盐渍化不仅直接影响土壤微生物的活性,还通过改变土壤的部分理化性质来间接影响土壤微生物的生存环境,可在微生物种群、数量、活性及土壤酶活性等方面产生毒害效应,导致土壤微生态区系的失衡,影响作物生产^[3]。

土壤生态系统中的微生物和土壤酶是农田土壤比较活跃的组分,共同推动着土壤代谢过程,对自然和人为因素造成的变化反应敏锐^[4-5],Rajapaksha 等^[6]进一步认为,对土壤酶活性的测定是最直接反应微生

收稿日期:2011-02-24

基金项目:国家科技部后世博专项(2010BAK69B18);上海市科委崇明专项(09DZ1906200, 10DZ1960100);上海市农业科学院科技发展基金项目(沪农科发 2008(08))

作者简介:周德平(1976—),女,硕士,助研,主要从事环境微生物学领域的研究。E-mail:zhoudeping919@163.com

* 通讯作者:吴淑杭 E-mail:wushuhang88@163.com

态状况的方法,也有研究者提出以脲酶、过氧化氢酶和磷酸酶所反映出的微生物学特性作为土壤环境质量变异的有效指标^[7]。本文针对目前大规模设施栽培中日益突出的土壤次生盐渍化问题,采用外源投加盐分培养室模拟方法,研究了不同强度盐胁迫对土壤呼吸强度、可培养微生物种群及土壤酶活性的生态毒理效应,以利土壤盐胁迫的生物预警和土壤健康保育的人为干预。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

土壤样品取自上海市农业科学院实验农场蔬菜地 0~20 cm 耕作层,其主要理化性状见表 1。土壤样品采集后放置室内自然风干后研磨,过 60 目筛备用。

表 1 供试土壤的主要理化性状

Table 1 Main physico-chemical properties of soil tested

pH	盐 分/ $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$	水解氮/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	有效磷/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	速效钾/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	有机质/%
7.9	382	126.0	27.0	200.0	2.37

1.2 模拟盐

依据上海市盐渍化土壤盐分组成设计试验用模拟盐的各组分重量比为: Ca^{2+} 14.6%, Na^{+} 7.9%, Mg^{2+} 4.0%, NO_3^- 45.4%, SO_4^{2-} 16.0%, Cl^- 12.1%。

1.3 试验方法

试验共设 5 个处理,每一处理 3 次重复。分别为: CK, 对照组; 处理 A, 每千克风干土外加模拟盐量为 1 g; 处理 B, 每千克风干土外加模拟盐量为 5 g; 处理 C, 每千克风干土外加模拟盐量为 10 g; 处理 D, 每千克风干土外加模拟盐量为 20 g。

试验在恒温培养室内进行。将试验用土壤装入统一规格塑料小桶(上口直径 200 mm, 底面直径 130 mm, 高 170 mm), $4\text{ kg 土}\cdot\text{桶}^{-1}$, 用双蒸水调节土壤含水量至田间持水量的 60% 左右, 置于 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养室预培养 2 周, 使微生物区系恢复稳定, 然后将模拟盐以水溶态分别浇入对应处理组, 每日光照 11 h, 每 3 d 以称量记录补加损失水分, 试验过程中为防其他带入性盐分离子的影响一律浇双蒸水维持土壤湿度。采用五点法定期取样, 检测土壤呼吸强度、微生物种群数量以及过氧化氢酶、脲酶、转化酶、蛋白酶的活性。

1.4 测定方法及数据分析

采用碱吸收法测土壤呼吸强度^[8]; 采用稀释平板混菌法测土壤细菌、真菌、放线菌种群数量, 培养基

组成见文献[9]; 分别用靛酚蓝比色法^[8]、铜磷酸盐比色法^[8]、高锰酸钾滴定法^[10]和 3,5-二硝基水杨酸比色法^[8]测定土壤脲酶、蛋白酶、过氧化氢酶和转化酶活性。

数据处理与分析利用 Excel 2000 和 DPS 7.05 软件进行。

2 结果与讨论

2.1 盐胁迫强度对土壤呼吸强度的影响

土壤呼吸强度以相对呼吸强度值表示, 即处理组土样与对照组土样呼吸强度的比值。从第 60 d 和第 75 d 的结果看(图 1), 在外加 $1\sim 10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 盐量胁迫下, 土壤呼吸强度有所提高: 60 d 时, 外加盐 $1, 5, 10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 处理组的呼吸强度分别为对照的 1.38、1.49、1.16, 在第 75 d 时则分别为对照的 1.21、1.32、1.34; 但盐胁迫强度超过一定范围后土壤呼吸强度则明显降低, 如外加盐含量为 $20\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 D 组, 在第 60 d 和 75 d 时分别为对照的 0.95 和 0.64。说明土壤微生物增强代谢活动以积极应对和适应环境胁迫, 当盐胁迫超出土壤自身调节能力范畴时, 生物活性受到抑制。

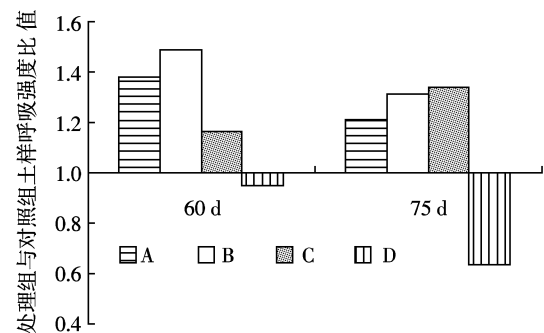


图 1 盐胁迫强度对土壤呼吸强度的影响

Figure 1 Effect of salt stress on respiration in vegetable soil

2.2 盐胁迫强度对土壤微生物种群的影响

盐胁迫对各土壤可培养微生物种群数量的影响不同。从表 2 可知, 土壤细菌种群对盐胁迫反应敏感, 除了外加盐量为 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 A 处理在第 15 d 时细菌数量略高于对照 CK 外, 其他所有处理任何时期的土壤细菌数量均低于对照。土壤放线菌种群数量于 $1\sim 10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 外加盐范围内, 在任何检测时间点上均高于对照, 其中第 15 d 时外加盐量为 $1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 A 处理最高, 为 $2.91\text{E}+06\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}\text{ 土}$; 第 30、60 d 和 75 d 时外加盐量为 $5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 B 处理最高, 分别为 $1.42\text{E}+06$ 、 $3.13\text{E}+06\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}\text{ 土}$ 和 $2.90\text{E}+06\text{ cfu}\cdot\text{g}^{-1}\text{ 土}$, 45 d 时外加盐量为 $10\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 C 处理最高, 为 $4.60\text{E}+06\text{ cfu}\cdot$

g^{-1} 土。当土壤盐胁迫超过一定程度后土壤放线菌种群数量下降,如外加盐量为 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 D 处理组,其土壤放线菌种群数量除在第 60 d 时与对照相差无几外,其余各检测时间点上均明显低于对照。土壤真菌种群对盐胁迫的反应有些类似于细菌种群,在盐胁迫最初 15 d 左右,土壤真菌数量都高于对照,其中外加盐量为 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 C 处理最高,为 $9.50\text{E}+04 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ 土,其次是外加盐量为 $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 B 处理组,为 $6.65\text{E}+04 \text{ cfu} \cdot \text{g}^{-1}$ 土;第 15 d 以后随时间延长,土壤真菌数量减少,基本都低于对照,外加盐含量为 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 D 处理真菌数量明显低于其他组。

在本试验条件下,蔬菜地土壤遭遇盐胁迫后,土壤细菌生长受抑、数量减少,放线菌种群抗逆性强、数量上升,土壤真菌种群数量在短期(最初 15 d 内)因细菌种群数量的减少、生态竞争减弱而出现暂时性增长现象,但随时间延长(15~75 d)也呈现毒害效应,数量下降,低于对照。

由细菌/土壤可培养微生物总数比、真菌/土壤可培养微生物总数比、放线菌/真菌种群数量比等 3 个与作物土传真菌病害密切相关指标的比较可知(图 2):盐胁迫后,土壤细菌种群数量占可培养微生物总数的比例下降,虽各处理间有波动,但都低于对照 CK,其中外加盐量为 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 A 处理下降最为明显,在第 15、45 d 和 75 d 时分别为 CK 的 0.51、0.82 和 0.97;真菌种群数量占可培养微生物总数的比例除 B 处理外,都高于对照 CK,其中加盐量为 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的

A 处理在第 15、45 d 和 75 d 时分别为 CK 的 4.94、4.94 和 2.10,外加盐量为 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 C 处理在第 15、45 d 和 75 d 时分别为 CK 的 3.59、3.59 和 2.29,外加盐量为 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 D 处理在第 15、45 d 和 75 d 时分别为 CK 的 1.46、1.46 和 3.83;而放线菌/真菌比在外加盐量为 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和 $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 高于对照,当外加盐含量为 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时即 C 处理则明显低于对照。

研究表明,盐胁迫下土壤细菌比例降低,真菌比例上升,易造成土壤微生态失衡,导致作物土传真菌病害的流行;尤其在外加盐量为 $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 C 处理,其放线菌/真菌比值亦明显低于对照,对土壤健康更为不利,而外加盐含量为 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 D 处理微生物 3 大类都表现显著的毒害效应,微生物数量远低于对照,这与下文中对土壤酶的毒害效应一致。

2.3 盐胁迫强度对土壤酶活性的影响

土壤酶活以处理组与对照组土样酶活性的比值表示,简称相对酶活性值。从图 3 可以看出,不同盐胁迫强度对土壤脲酶、蛋白酶、转化酶和过氧化氢酶的影响有所不同。盐胁迫时土壤脲酶和蛋白酶活性受到抑制,在任何时间点上,所有盐胁迫土壤蛋白酶和脲酶活性均低于对照,且受抑制程度与盐胁迫强度呈正比,即外加盐量越高,土壤蛋白酶和脲酶活性越低。其中土壤脲酶在第 45 d 时受抑制程度最大,外加盐量为 1、5、10、 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的 A、B、C、D 组酶活分别为对照的 0.92、0.85、0.77 和 0.67;而土壤蛋白酶活性在第 15 d 时受抑制程度最大,随时间延长呈渐进式恢复趋

表 2 盐胁迫对土壤微生物种群数量的影响

Table 2 Effects of salt stress on the number of bacteria, fungi and actinomycetes in vegetable soil

胁迫时间/d	微生物类	CK/cfu·g ⁻¹ 土	A/cfu·g ⁻¹ 土	B/cfu·g ⁻¹ 土	C/cfu·g ⁻¹ 土	D/cfu·g ⁻¹ 土
15	细 菌	5.20E+05	7.00E+05	4.95E+05	3.50E+05	2.70E+05
	放线菌	8.40E+05	2.91E+06	1.80E+06	1.30E+06	7.35E+05
	真 菌	2.30E+04	3.05E+04	6.65E+04	9.50E+04	2.70E+04
30	细 菌	5.40E+07	9.17E+06	5.25E+07	1.81E+07	2.35E+07
	放线菌	8.10E+05	1.09E+06	1.42E+06	9.97E+05	5.28E+05
	真 菌	1.17E+05	1.09E+05	4.80E+04	1.47E+05	7.47E+04
45	细 菌	4.10E+07	6.80E+06	1.23E+07	1.90E+07	1.17E+07
	放线菌	2.23E+06	1.90E+06	2.47E+06	4.60E+06	1.57E+06
	真 菌	1.02E+05	9.53E+04	9.47E+04	1.63E+04	1.00E+04
60	细 菌	2.00E+07	7.75E+06	1.80E+07	1.60E+07	1.22E+07
	放线菌	1.38E+06	2.90E+06	3.13E+06	2.43E+06	1.43E+06
	真 菌	1.01E+05	7.00E+04	9.67E+04	8.07E+04	6.27E+04
75	细 菌	1.19E+08	4.53E+07	7.87E+07	5.35E+07	2.80E+07
	放线菌	1.43E+06	2.03E+06	2.90E+06	1.29E+05	9.10E+05
	真 菌	9.20E+04	7.60E+04	8.86E+04	9.40E+04	8.46E+04

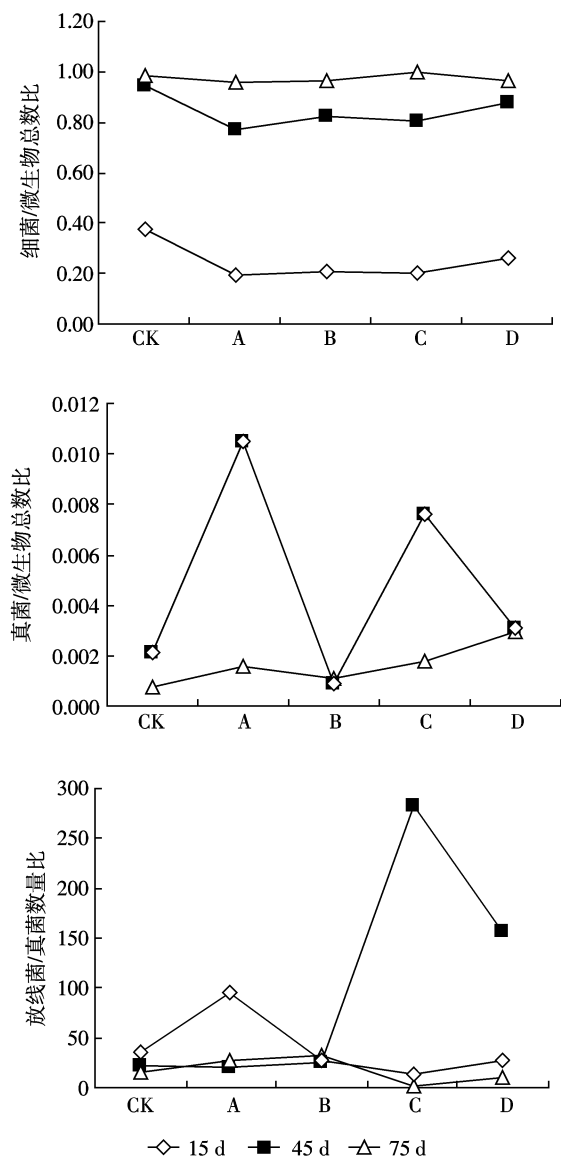


图2 土壤微生物种群数量的转换分析

Figure 2 Transition analysis of microbe number in vegetable soil

势,第15 d时外加盐量为1、5、10、20 g·kg⁻¹的A、B、C、D组酶活分别为对照的0.98、0.78、0.58和0.45。在外加盐量为1 g·kg⁻¹时,土壤转化酶和过氧化氢酶的活性略高于对照组,在第45 d时分别为对照的1.05和1.01,说明土壤遭受外界不良因素干扰时会启动自身调节功能进行修复。转化酶和过氧化氢活性的提高是其应激反应之一,但随盐胁迫程度的加重,转化酶和过氧化氢酶活性随盐胁迫浓度加重而相应降低,且盐含量越高,酶活性越低,在第75 d时外加盐量为1、5、10、20 g·kg⁻¹的A、B、C、D组转化酶活分别为对照的1.03、0.98、0.94和0.85,过氧化氢酶活分别为对照的1.00、0.97、0.84和0.83。

2.4 盐胁迫强度与土壤微生物种群数量和酶活的相关性分析

样本相关系数用 r 表示,取值范围为 $[-1, 1]$,两变量间的线性相关程度按三级划分: $|r| < 0.4$ 为低度线性相关; $0.4 \leq |r| < 0.7$ 为显著性相关; $0.7 \leq |r| < 1$ 为高度线性相关。盐胁迫强度与土壤微生物种群数量和酶活性间的相关性分析结果见表3。从表3可知,盐胁迫强度与土壤脲酶、蛋白酶、转化酶和过氧化氢酶活性在各个时间点上都呈高度线性负相关, $|r| \geq 0.849$;其中与土壤蛋白酶的相关性最高且稳定, $0.937 \leq |r| \leq 0.997$,第60 d时线性相关回归方程为

$$y = -0.0181x + 0.9201 (r = -0.997);$$

土壤转化酶次之, $0.930 \leq |r| \leq 0.993$,第75 d时线性相关回归方程为

$$y = -0.0094x + 1.0341 (r = -0.993)。$$

土壤盐胁迫程度与微生物种群数量及种群数量的转换分析值之间的相关性不稳定,在不同检测时间点上的分析值差异波动性大,如放线菌种群数量在第15、30 d和60 d时与盐胁迫强度呈负相关, $|r| > 0.83$,达高度线性相关,而在第45 d时, r 值仅为-0.096。

表3 盐胁迫强度与土壤微生物种群数量和酶活的相关分析

Table 3 Analysis of relation between salt stress and microbiology, enzymes activities in vegetable soil

胁迫时间	15 d	30 d	45 d	60 d	75 d
细菌	-0.917	-0.437	0.357	0.146	-0.608
放线菌	-0.927	-0.838	-0.096	-0.947	-0.590
真菌	-0.149	-0.090	-0.871	-0.485	0.333
细菌/微生物总数比	-0.190	0.3011	0.028	0.298	0.041
真菌/微生物总数比	-0.171	-0.171	-0.568	-0.425	0.911
放线菌/真菌比	-0.504	-0.207	0.646	-0.148	-0.507
脲酶	-0.957	-0.849	-0.990	-0.979	-0.938
蛋白酶	-0.950	-0.971	-0.994	-0.997	-0.937
转化酶	-0.930	-0.960	-0.983	-0.960	-0.993
过氧化氢酶	-0.880	-0.933	-0.921	-0.959	-0.886

注:表中数据为相关系数(r)。

3 结论

(1)蔬菜地土壤遭遇盐胁迫后,土壤细菌生长受抑、数量减少,放线菌种群数量上升,真菌种群数量在胁迫初期出现暂时性增长现象,但随时间延长呈现毒害效应,数量下降,低于对照;土壤可培养微生物种群盐胁迫后,细菌比例降低,真菌比例上升,微生态失衡容易导致作物土传真菌病害,在外加盐量为10 g·kg⁻¹时放线菌/真菌比值亦明显降低,对土壤健康更为不

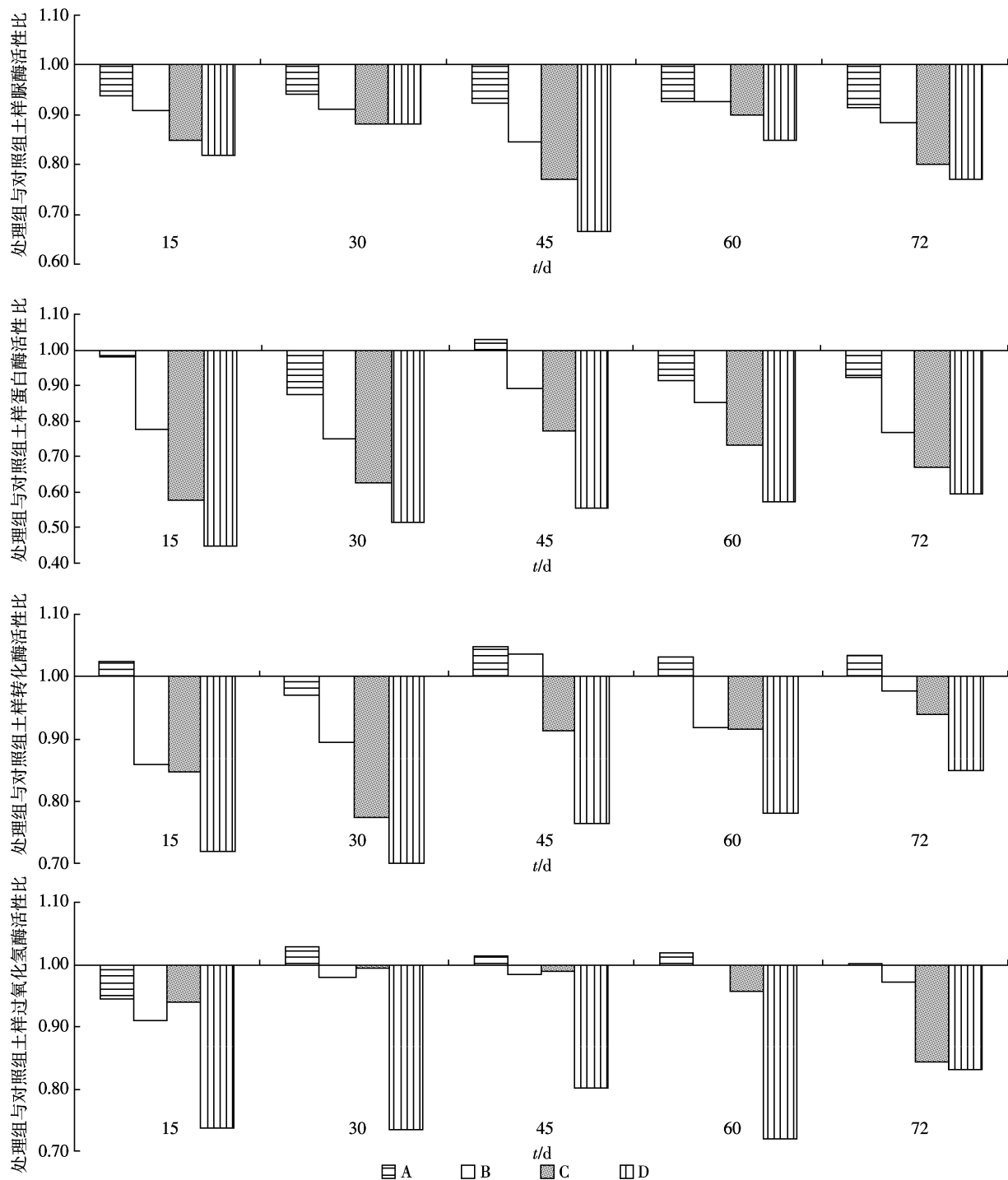


图 3 盐胁迫对土壤酶活性的影响

Figure 3 Effect of salt stress on activities of enzymes in vegetable soil

利, 而外加盐量为 $20 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时微生物 3 大类都表现出明显受毒害效应, 土壤呼吸强度和酶活降低。

(2) 盐胁迫后土壤脲酶和蛋白酶活性受到抑制, 抑制程度与外加盐量呈正比, 盐胁迫强度越大, 土壤蛋白酶和脲酶活性则越低; 在外加盐量为 $1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, 土壤转化酶和过氧化氢酶的活性略有提高, 但随

盐胁迫强度加大, 转化酶和过氧化氢酶活性降低, 即盐量越高, 酶活性越低。

(3) 土壤盐胁迫强度与土壤脲酶、蛋白酶、转化酶和过氧化氢酶活性在各个时间点上都呈高度线性负相关, $|r| \geq 0.849$; 其中与土壤蛋白酶的相关性最高且稳定, $0.937 \leq |r| \leq 0.997$; 土壤转化酶次之, $0.930 \leq$

$|r| \leq 0.997$; 与微生物种群数量及种群比例间的相关性不稳定。

参考文献:

- [1] 臧波, 向波, 张功亚, 等. 油田次生盐渍化土对几种作物的影响[J]. 湖北农业科学, 2007(2): 228–231.
ZANG Bo, XIANG Bo, ZHANG Gong-ya, et al. Effect of soil secondary salinization on the growth and development of several crops[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2007(2): 228–231.
- [2] 郭文忠, 刘声峰, 李丁仁, 等. 设施蔬菜土壤次生盐渍化发生机理的研究现状与展望[J]. 土壤, 2004, 36(1): 25–29.
GUO Wen-zhong, LIU Sheng-feng, LI Ding-ren, et al. Mechanism of soil salinization in protected cultivation[J]. *Soils*, 2004, 36(1): 25–29.
- [3] Chen G C, He Z L, Wang Y J. Impact of pH on microbial biomass carbon and microbial biomass phosphorus in red soils[J]. *Pedosphere*, 2004, 14(1): 9–15.
- [4] 谢贤传, 张少华, 王冬生, 等. 阿维菌素对蔬菜地土壤微生物及土壤酶的生态毒理效应[J]. 土壤学报, 2007, 44(4): 740–743.
XIE Xian-chuan, ZHANG Shao-hua, WANG Dong-sheng, et al. Ecotoxicological effects of abamectin on vegetable-growing soil microorganisms and enzymes activity[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2007, 44(4): 740–743.
- [5] Chen Cheng-Li, Liao Min, Huang Chang-yong. Effect of combined pollution by heavy metals on soil enzymatic activities in areas polluted by tailings from Pb–Zn–Ag mine[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2005, 17(4): 637–640.
- [6] Rajapaksha R M C P, Tobor-Kaplon M A, Mäth E. Metal toxicity affects fungal and bacterial activities in soil differently[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(5): 2966–2973.
- [7] 刘云国, 李欣, 徐敏, 等. 土壤重金属镉污染的植物修复与土壤酶活性[J]. 湖南大学学报(自然科学版), 2002, 29(4): 108–113.
LIU Yun-guo, LI Xin, XU Min, et al. Phytoremediation of cadmium pollution and enzyme activity in soil [J]. *Journal of Hunan University (Natural Sciences)*, 2002, 29(4): 108–113.
- [8] 姚槐应, 黄昌勇, 等. 土壤微生物生态学及其实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 180–190.
YAO Huai-ying, HUANG Chang-yong, et al. Ecology of soil microorganisms and the technology of research[M]. Beijing: Science Press, 2006: 180–190.
- [9] 李卓棣, 喻子牛, 何绍江. 农业微生物学实验技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 69–71.
LI F D, YU Z N, HE S J. Experimental techniques in agricultural microbiology[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1996: 69–71.
- [10] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤微生物研究法[M]. 北京: 科学出版社, 1985: 263.
Institute of Soil Science, Chinese Academy of Science. Method of soil microorganisms[M]. Beijing: Science Press, 1985: 263.