

# 北京 9 个典型板栗园土壤碳代谢微生物多样性特征

曹 均<sup>2</sup>, 吴 姬<sup>1</sup>, 赵小蓉<sup>1</sup>, 李贵桐<sup>1</sup>, 孙明德<sup>2</sup>, 曹庆昌<sup>2</sup>, 林启美<sup>1,\*</sup>

(1. 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100094; 2. 北京市农林科学院农业综合发展研究所, 北京 100097)

**摘要:**土壤微生物多样性与土壤质量存在密切联系,也是目前的研究热点。从北京板栗主产区采取 9 个典型板栗园表层(0—20 cm)土壤,采用 BIOLOG 生态微平板(BIOLOG Eco Plate<sup>TM</sup>)分析土壤微生物碳代谢群结构,旨在了解不同板栗园土壤微生物碳代谢功能群结构的特点与差异。结果表明:9 个土壤可分为 3 组:(1)1,6,9 号土壤、(2)2,5,7 号土壤、(3)3,4,8 号土壤。组内土壤微生物碳代谢功能群结构相似,而每组之间有显著性的差异。其中,1,6,9 号土壤利用 D-羟基丁二酸等 7 种基质的微生物比较多;而利用葡萄糖-1-磷酸盐等 14 种基质的微生物比较少,2,5,7 号土壤与 1,6,9 号土壤正好相反,3,4,8 号土壤与 1,6,9 号土壤的相似之处表现在代谢 D-羟基丁二酸等 7 种基质的微生物也比较多,而代谢 i-赤藻糖醇、D-木糖、2-羟基安息香酸等基质的微生物比较少。但是,目前对于土壤微生物碳代谢功能群多样性在土壤可持续利用中的作用与意义,特别是与土壤 CNP 等生物化学过程之间的关系还不清楚。

**关键词:**板栗园土壤; 碳代谢微生物多样性; BIOLOG 生态微平板

## Carbon catabolic diversity characters of 9 chestnut soils in Beijing

CAO Jun<sup>2</sup>, WU Ji<sup>1</sup>, ZHAO Xiaorong<sup>1</sup>, LI Guitong<sup>1</sup>, SUN Mingde<sup>2</sup>, CAO Qingchang<sup>2</sup>, LIN Qimei<sup>1,\*</sup>

1 College of Resource and Environment, China Agricultural University, Beijing 100094, China

2 Institute of Agricultural Integrated Development, Beijing Academy of Agricultural and Forest Science, Beijing 100097, China

**Abstract:** Soil microbial diversity is closely related to soil quality and one of research hotspots in soil science. In this study, 9 surface soils (0—20 cm) were collected from 9 typical chestnut orchard gardens in Beijing. Carbon catabolic diversity of the soils was measured by BIOLOG Eco plate containing 31 substrates. Our aim was to compare the difference in carbon catabolic diversity of the 9 soils. The results showed that the 9 soils could be classified into three groups of (1) soil No. 1, 6 and 9, (2) soil No. 2, 5 and 7, (3) soil No. 3, 4 and 8. The carbon catabolic diversity of the soils in same group was similar, but significant different among each group. Soil No. 1, 6 and 9 had more microbes metabolizing D-malic acid and another 6 substrates, but less in using glucose-1-phosphate and another 14 substrates. In contrary, soil No. 2, 5 and 7 had a reverse pattern of metabolizing the 31 substrates. Soil No. 3, 4 and 8 had similarity in using D-malic acid and another 6 substrates, but much less microbes in using i-erythritol, D-xylose, 2-hydroxy-benzoic acid. Currently, we have less knowledge on the roles and importance of carbon catabolic diversity in soil sustainable management. Further work may be particularly necessary to understand the links of this functional diversity of soil microbial community with soil microbiological processes of C, N, P transformation.

**Key Words:** chestnut orchard soil; carbon catabolic diversity of soil microbial community; BIOLOG Eco Plate

微生物是土壤中最具活力的组成部分,已有不少研究结果显示,土壤微生物数量或称之为微生物量,是土壤养分的“源”和“库”<sup>[1]</sup>。土壤的物质和能量循环转化是在不同微生物作用下完成的,因此,比起微生物量,微生物群落结构或微生物生物多样性,与土壤可持续利用的关系可能更为密切,更能敏感地反映土壤质量的

基金项目:国家自然科学基金资助项目(40771118);北京市科技计划资助项目(D070600304191)

收稿日期:2008-10-10; 修订日期:2009-01-30

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: linqm@cau.edu.cn

变化<sup>[2]</sup>。特别是土壤微生物功能多样性,与土壤C、N、P等元素循环转化的生物化学过程之间的关系非常密切<sup>[3]</sup>。

土壤微生物多样性有多种表征形式,主要有种群多样性、基因多样性、功能多样性等,其中种群多样性研究得最多,所获得的都是土壤中可培养的微生物类群。尽管土壤中可培养的微生物不超过土壤微生物总数的10%,但大量研究结果表明,可培养微生物类群在土壤C、N、P等生物转化过程中起非常重要的作用<sup>[4]</sup>。土壤微生物碳代谢功能群多样性是基于不同微生物代谢不同碳源物质的能力,从而表征土壤微生物群落结构,指示土壤质量<sup>[5]</sup>、酸碱度变化<sup>[6]</sup>、以及耕作栽培措施<sup>[7-8]</sup>、重金属<sup>[9]</sup>、PAHs<sup>[10]</sup>、chlorophenols<sup>[11]</sup>、phtalates<sup>[12]</sup>等对土壤微生物多样性的影响。

板栗是北京重要的果品之一,主要分布在密云、怀柔等县山区,是当地农民重要的经济来源之一。由于土壤瘠薄,管理粗放,产量比较低,急需要开展相关的研究,培肥土壤,提高板栗产量。本研究从北京板栗主要产区采集表层土壤,分析土壤微生物碳代谢功能群结构,以期了解北京主要板栗园土壤微生物多样性特征,为进一步研究培肥土壤,提高板栗产量打下良好的基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 土壤样品采集

根据板栗种植面积、土壤类型及板栗园栽培类型,选择9个代表性的板栗园于2006年8月底用土钻采取板栗树冠投影下的表层(0—20 cm)土壤,每个样品由10个点组成。采集的土壤样品分成两份,一份风干过筛用于测定全氮、有机质、pH值(表1);另一份迅速过2 mm筛,并去除植物残体、根系和蚯蚓等土壤动物,再调节土壤湿度至50%左右的田间(表1)持水量,25℃下密闭容器内培养1周,容器中放入20 ml水和20 ml浓度的1 mol L<sup>-1</sup> NaOH溶液,以保持湿度和吸收培养期间释放的CO<sub>2</sub>。预培养的土壤尽快测定土壤微生物群落结构,或在4℃下存放。

表1 土壤基本理化性质\*

Table 1 Physical and chemical characteristics of the soils

编号 No.	采样地点 Sample location	土属 Soil genus	微生物量碳 Microbial Biomass C /(mg kg <sup>-1</sup> )	pH	有机质 Organic matter /(g kg <sup>-1</sup> )	全氮 Total N /(g kg <sup>-1</sup> )
1	昌平县兴寿镇海子村	长石岩类母质淋溶褐土	66.63	6.33	5.14	0.33
2	昌平县兴寿镇下庄村	洪积冲积物褐土	88.89	7.55	16.37	0.82
3	怀柔县渤海镇渤海所村	长石岩类母质淋溶褐土	90.63	5.45	13.20	0.65
4	怀柔县雁栖镇长元村	长石岩类母质淋溶褐土	71.84	5.78	12.13	0.65
5	怀柔县渤海镇南冶村	洪冲积物质褐土性土	92.31	5.46	18.57	1.17
6	怀柔县九渡河镇杏树台村	铁镁岩质淋溶褐土	94.30	6.24	19.39	1.14
7	密云县巨各庄镇塘峪村	红黄土性母质褐土	71.75	5.50	10.92	0.81
8	密云县巨各庄砂厂村	长石岩类母质淋溶褐土	120.94	6.39	8.60	0.53
9	密云县大城子镇庄户峪村	耕种型淋溶褐土	46.54	4.83	13.38	0.74

\*:土壤微生物量碳用氯仿熏蒸浸提法测定<sup>[13]</sup>,土壤有机质用重铬酸钾外热源容量法测定,全氮用半微量凯氏法测定,pH用玻璃电极法测定(土水比1:2.5)<sup>[14]</sup>

### 1.2 土壤微生物碳代谢功能群落结构

采用BIOLOG生态微平板(BIOLOG Eco Plate<sup>TM</sup>)测定<sup>[15]</sup>。称取相当于10.00 g烘干质量的湿润土壤于250 ml三角瓶中,加入90 ml无菌去离子水,4℃下充分振荡1 h,静置3 min后用无菌去离子水配制成10<sup>-3</sup>土壤悬浮液。用8道加样枪吸取此土壤悬浮液150 μl至ECO板的微孔中,每24 h用Emax自动读盘机测定590 nm处光密度值,直至光密度值稳定为止,一般需要培养240 h。取指数变化时期72 h时的平均光密度值(average well colour development, AWCD)进行主成分分析(PCA)。

## 2 结果分析与讨论

从图1可以看出,在240 h 培养期间,总平均光密度(AWCD)从48 h 开始迅速提高,168 h 左右达到稳定状态,因此,本研究选择光密度指数增加时期即72 h 的光密度用于统计分析。从平均光密度值来看(表2),供试的9个土壤利用丙酮酸甲酯、D-半乳糖醛酸、聚山梨醇酯40、L-精氨酸、L-天冬酰胺酸 D-甘露醇的能力比较强,其光密度值都在1以上;而利用 $\alpha$ -丁酮酸、 $\alpha$ -环式糊精、L-苏氨酸、2-羟基安息香酸、 $\beta$ -甲基-D-配糖物等13种基质的能力比较弱,其光密度值都小于0.3,特别是碳水化合物的利用能力,10种碳水化合物中7种平均光密度值在0.3以下。简单相关分析结果显示,D-半乳糖醛酸的光密度值与土壤微生物量碳之间存在显著的负相关关系( $r = -0.675, P < 0.05$ ),2-羟基安息香酸的光密度值与土壤有机质及全氮之间有显著的正相关性( $r = 0.737, P < 0.05; r = 0.823, P < 0.01$ ),土壤全氮含量还与4-羟基安息香酸的光密度有显著的负相关关系( $r = -0.640, P < 0.05$ ),与D,L- $\alpha$ -甘油磷酸盐和D-木糖的光密度值存在显著的正相关关系( $r = 0.646, r = 0.691, P < 0.05$ )。其他碳源物质的光密度值与土壤微生物量碳、有机质及全氮之间没有显著的相关性(表1)。

主成分分析中的载荷因子可反映不同土壤碳代谢的差异,绝对值越大表明该基质的影响越大。表2显示,9个土壤微生物代谢基质可分为3个主成分,第一主成分荷载0.5以上的有17种基质,荷载在0.8以上的有6种,其中碳水化合物占5种;第二主成分荷载在0.5以上的基质有5种,第三主成分荷载在0.5以上的基质比较少,只有3种。这说明供试的大部分土壤微生物碳代谢功能群结构的差异主要体现在第一主成分荷载因子高的基质上,特别是碳水化合物,但一些土壤微生物碳代谢功能群结构的差异也反映在利用第二、第三主成分荷载因子比较高的基质上。

3个主成分分别解释土壤代谢31种基质变异的34.3%、12.2%和8.5%,3个主成分能够解释一半以上的变异(图2)。第一主成分的得分值,1号仅与9号土壤接近,而与其他土壤差异很大;2,5,7号土壤比较接近,3,4,6,8,9号土壤没有显著性差异。第二主成分上,2号和8号土壤与其他土壤差异很大;第三主成分上,1号和3号土壤与其他土壤有显著性的差异。考虑到3个主成分所反映的变异,计算得到权重得分(图3),1,6与9号、2,5与7号、3,4与8号3组土壤的得分值有显著性的差异,而每组内3个土壤得分值没有明显的差异,说明他们的碳代谢功能群结构相似。

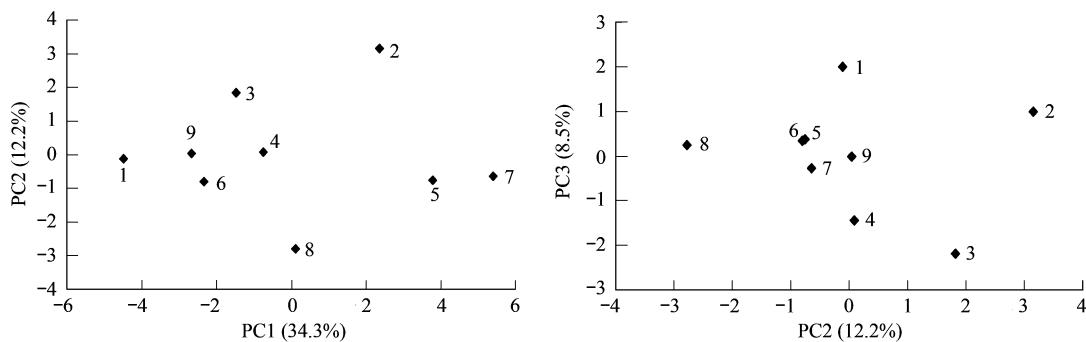


图2 9个板栗园土壤微生物代谢31种基质3个主成分得分分布

Fig. 2 Score distribution of three principle components indicating utilization of 31 substrates of 9 chestnut orchard soils

表2 9个板栗园土壤微生物代谢31种基质的主成分分析载荷因子

Table 2 Loading factors of three principle components indicating utilization of 31 substrates of 9 chestnut orchard soils

基质 Substrates		平均光密度值 Means of optical density	PC1	PC2	PC3
羧酸类 Carboxylic acids	$\alpha$ -丁酮酸	0.228	0.745	0.378	-0.167
	D-半乳糖醛酸	1.030	0.590	0.605	-0.141
	甲叉丁二酸	0.423	0.437	0.198	-0.378
	D-羟基丁二酸	0.795	-0.145	-0.685	-0.138
	D(葡(萄)糖胺酸	0.560	-0.091	0.123	-0.027
	$\gamma$ -羟基丁酸	0.410	-0.077	-0.038	0.076
多聚物 Polymers	丙酮酸甲酯	1.062	-0.011	0.418	-0.295
	肝糖	0.279	0.842	-0.220	0.022
	$\alpha$ -环式糊精	0.237	0.723	-0.312	-0.042
	聚山梨醇酯 40	1.139	0.245	0.457	0.490
氨基酸类 Amino acids	聚山梨醇酯 80	0.999	-0.109	0.638	0.548
	甘氨酰基-L-谷氨酸	0.209	0.715	-0.296	-0.113
	L-苏氨酸	0.250	0.655	-0.143	-0.138
	L-苯基丙氨酸	0.553	0.624	-0.102	-0.112
	L-精氨酸	1.075	-0.459	0.093	-0.281
碳水类 Carbohydrates	L-丝氨酸	0.910	-0.453	-0.592	0.301
	L-天冬酰胺酸	1.855	-0.443	0.589	0.070
	D,L- $\alpha$ -甘油磷酸盐	0.254	0.924	0.211	0.071
	D-木糖	0.240	0.865	0.048	0.116
	$\beta$ -甲基-D-配糖物	0.265	0.859	-0.044	0.149
芳香类 Phenolic	D-纤维二糖	0.203	0.826	-0.388	-0.057
	$\alpha$ -乳糖	0.235	0.809	-0.212	0.012
	葡萄糖-1-磷酸盐	0.218	0.777	-0.185	0.160
	i-赤藻糖醇	0.304	0.681	0.350	0.047
	D-甘露醇	1.099	-0.464	0.391	-0.612
	D-半乳糖酸 $\gamma$ -内酯	0.806	-0.312	-0.456	-0.374
	N-乙酰基-D(葡(萄)糖胺	0.666	0.022	0.042	0.847
	4-羟基安息香酸	0.885	-0.581	0.015	0.200
	2-羟基安息香酸	0.237	0.209	-0.043	0.048
胺类 Amines	腐胺	0.950	-0.706	0.066	-0.153
	苯己基胺	0.680	-0.567	-0.464	0.440

从每组土壤平均光密度值不难判断(表3),1,6,9号土壤利用D-羟基丁二酸、D-半乳糖酸  $\gamma$ -内酯、4-羟基安息香酸、苯己基胺、腐胺、L-精氨酸等7种基质的微生物比较多;而利用葡萄糖-1-磷酸盐、甘氨酰基-L-谷氨酸、i-赤藻糖醇、 $\alpha$ -乳糖、 $\beta$ -甲基-D-配糖物、D,L- $\alpha$ -甘油磷酸盐、D-木糖、D-纤维二糖、 $\alpha$ -丁酮酸、甲叉丁二酸、 $\alpha$ -环式糊精、肝糖、L-苯基丙氨酸、D(葡(萄)糖胺酸等14种基质的微生物比较少。其余土壤光密度值比较高,表明碳代谢功能群微生物更多,其中,2,5,7号土壤与1,6,9号土壤正好相反,代谢D-羟基丁二酸等7种基质的微生物比较少,而代谢葡萄糖-1-磷酸盐等14种基质的微生物比较多。3,4,8号土壤与1,6,9号土壤的相似之处表现在代谢D-羟基丁二酸等7种基质的微生物也比较多,但代谢i-赤藻糖醇、D-木糖、2-羟基安息香酸等基质的微生物比较少。

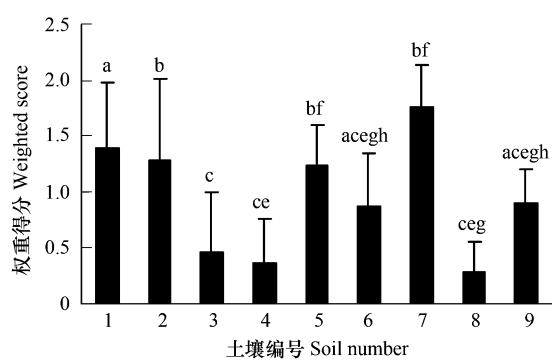


图3 9个板栗园土壤微生物代谢31种基质3个主成分权重得分分布

Fig. 3 Weighted score distribution of three principle components indicating utilization of 31 substrates of 9 chestnut orchard soils

表3 主成分分析得分值相近的土壤平均光密度值

Table 3 The average optical density of the soils with similar scores of principle analysis

基质 Substrates	1,6,9号土壤	2,5,7号土壤	3,4,8号土壤
羧酸类 Carboxylic acids	丙酮酸甲酯	1.138	0.987
	D-半乳糖醋酸	1.238	0.836
	D-羟基丁二酸	0.884	0.533
	γ-羟基丁酸	0.470	0.304
	D-葡(萄)糖胺酸	0.361	0.723
	甲叉丁二酸	0.188	0.524
多聚物类 Polymers	α-丁酮酸	0.144	0.299
	聚山梨醇酯40	1.092	1.147
	聚山梨醇酯80	1.068	0.929
	α-环式糊精	0.148	0.300
氨基酸类 Amino acids	肝糖	0.168	0.367
	L-精氨酸	1.242	0.678
	L-天冬酰胺酸	1.916	1.475
	L-苯基丙氨酸	0.312	0.675
	L-丝氨酸	1.187	0.563
	L-苏氨酸	0.205	0.309
碳水类 Carbohydrates	甘氨酰基-L-谷氨酸	0.123	0.261
	β-甲基-D-配糖物	0.161	0.377
	D-半乳糖酸 γ-内酯	0.914	0.499
	D-木糖	0.177	0.334
	i-赤藻糖醇	0.131	0.286
	D-甘露醇	1.153	0.838
	N-乙酰基-D-葡(萄)糖胺	0.807	0.647
	D-纤维二糖	0.189	0.381
	葡萄糖-1-磷酸盐	0.108	0.293
	α-乳糖	0.152	0.347
芳香类 Phenolic	D,L-α-甘油磷酸盐	0.170	0.376
	2-羟基安息香酸	0.261	0.266
	4-羟基安息香酸	1.121	0.647
胺类 Amines	苯己基胺	1.057	0.348
	腐胺	1.130	0.545
			1.176

土壤是一个巨大的微生物基因库,历来倍受人们的重视,业已开发出不少技术与方法研究了解土壤微生物生物多样性<sup>[16]</sup>。但是,由于土壤微生物的多样性和复杂性,目前还没有很好的方法全面而准确地把握土壤微生物生物多样性特征,近些年来,越来越多的人将研究重点转移到土壤微生物的功能多样性。

Garland 和 Mills<sup>[15]</sup>首先采用96孔微平板技术,从碳代谢功能群层次上,研究细菌潜在的功能多样性,目前已经开发出革兰氏阳性(GN)、革兰氏阴性(GP)、真菌(SFN2、SFP2)、生态微平板(ECO-plate)<sup>[17]</sup>,并广泛用于土壤类型鉴别<sup>[5,18]</sup>、施肥<sup>[19-20]</sup>、耕作栽培措施<sup>[8,20]</sup>、污染<sup>[9-12]</sup>对土壤微生物功能多样性的影响,显现出一定的价值。业已有一些尝试,试图将土壤微生物碳代谢功能群结构与磷脂脂肪酸指纹、基因指纹<sup>[19-20]</sup>多样性联系起来,但结果并不满意。由于土壤微生物的复杂多样性和易变性,目前对于土壤微生物碳代谢功能群多样性的作用与意义还不十分清楚,如与土壤培肥、改良、污染物分解等的关系还不十分了解,有待进一步的研究,特别是深入研究土壤微生物碳代谢功能群多样性与C、N、P等循环转化之间的关系,可能有助于了解不同功能群微生物在土壤C、N、P等循环转化的作用与机理。

**References:**

- [ 1 ] He Z L. Soil microbial biomass and its importance in evaluating nutrient cycling and environmental quality. *Chinese Journal of Soil Science*, 1997, 2: 61-69.
- [ 2 ] Young I M, Crawford J W. Interactions and self-organization in the soil-microbe complex. *Science*, 2004, 304: 1634-1637.
- [ 3 ] Giller K E, Beare M H, Lavelle P, Giller K E, Beare M H, Lavelle P, Izac A M N, Swift M J. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Applied Soil Ecology*, 1997, 6: 3-16.
- [ 4 ] Pennisi E. The secret life of fungi. *Science*, 2004, 304: 1620-1622
- [ 5 ] Hofman J, Švihálek J, Holoubek I. Evaluation of functional diversity of soil microbial communities — a case study. *Plant and Soil Environment*, 2004, 50(4): 141-148.
- [ 6 ] Müller A K, Westergaard K, Christensen S, Müller A K, Westergaard K, Christensen S, Sørensen S J. The effect of long-term mercury pollution on the soil microbial community. *FEMS Microbiology Ecology*, 36 (2001): 11-19.
- [ 7 ] Graham M H, Haynes R J. Catabolic diversity of soil microbial communities under sugarcane and other land uses estimated by BIOLOG and substrate-induced respiration methods. *Applied Soil Ecology*, 2005, 29: 155-164.
- [ 8 ] Wang G H, Jin J, Chen X L, Wang G H, Jin J, Chen X L, Liu J D, Liu X B, Herbert S J. Biomass and catabolic diversity of microbial communities with long-term restoration, bare fallow and cropping history in Chinese Mollisols. *Plant and Soil Environment*, 2007, 53 (4): 177-185.
- [ 9 ] Kandeler E, Kampichler C, Horak O. Influence of heavy metals on the functional diversity of soil microbial communities. *Biology and Fertility of Soils*, 1996, 23: 299-306.
- [ 10 ] Juck D, Charles T, Whyte L G, Juck D, Charles T, Whyte L G, Greer C W. Polyphasic microbial community analysis of petroleum hydrocarbon-contaminated soils from two northern Canadian communities. *FEMS Microbiological Ecology*, 2000, 33: 241-249.
- [ 11 ] Laine M M, Haario H, Jorgensen K S. Microbial functional activity during composting of chlorophenol-contaminated sawmill soil. *Journal of Microbiological Methods*, 1997, 30: 21-32.
- [ 12 ] Cartwright C D, Thompson I P, Burns R G. Degradation and impact of phthalate plasticizers on soil microbial communities. *Environmental and Toxicological Chemistry*, 2000, 19: 1253-1261.
- [ 13 ] Wu J S, Lin Q M, Xiao H A, Wu J S, Lin Q M, Xiao H A, Huang Q Y. *Soil Microbial Biomass Methods and Application*. Beijing: Meteorological Press, 2006.
- [ 14 ] Lu Rukun. *Analytical methods of soil and agricultural chemistry*. Beijing: Chinese Agricultural Technology Publication, 2000.
- [ 15 ] Garland J L, Mills A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*, 1991, 57(8): 2351-2359.
- [ 16 ] Kirk J L, Beaudette L A, Hart M, Kirk J L, Beaudette L A, Hart M, Moutoglis P, Klironomos J N, Lee H, Trevors J T. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods*, 2004, 58: 169-188.
- [ 17 ] Classen A T, Boyle S I, Haskins K E, Classen A T, Boyle S I, Haskins K E, Overby S T, Hart S C. Community-level physiological profiles of bacteria and fungi: plate type and incubation temperature influences on contrasting soils. *FEMS Microbiological Ecology*, 2003, 44: 319-328.
- [ 18 ] Doi R. Effects of air-drying soils on discriminating the soils with community-level physiological profiling. *Journal of General Applied Microbiology*, 2005, 51: 379-383.
- [ 19 ] Toyota K, Kuninaga S. Comparison of soil microbial community between soils amended with or without farmyard manure. *Applied Soil Ecology*, 2006, 33: 39-48.
- [ 20 ] Carrera L M, Buyer J S, Vinyard B, Carrera L M, Buyer J S, Vinyard B, Abdul-Baki A A, Sikora L J, Teasdale J R. Effects of cover crops, compost, and manure amendments on soil microbial community structure in tomato production systems. *Applied Soil Ecology*, 2007, 37: 247-255.

**参考文献:**

- [ 1 ] 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环和环境质量评价中的意义. *土壤*, 1997, 2: 61-69.
- [ 13 ] 吴金水, 林启美, 肖和艾, 吴金水, 林启美, 肖和艾, 黄巧云. 土壤微生物生物量研究方法及其应用. 北京: 气象出版社, 2006.
- [ 14 ] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.