# 岩溶地貌部位对土壤微生物丰度与酶活性的影响

李强1,靳振汀1,2,李忠义3,罗堃2,唐志琴2,黄静云2,陆文体2

(1. 国土资源部/广西岩溶动力学重点实验室 中国地质科学院 岩溶地质研究所,

广西 桂林 541004; 2. 广西环境污染控制理论与技术重点实验室 桂林理工大学环境科学与 工程学院, 广西 桂林 541004; 3, 广西农业科学院 农业资源与环境研究所, 广西 南宁 530007)

摘 要:以中国地质科学院岩溶地质研究所桂林丫吉岩溶试验场为研究区,单氨加氧酶的编码基因 amo A 的部分序列作为氨氧化细菌(AOB)指示基因,利用荧光定量 PCR 技术,结合平板菌落计数法和土壤酶活 性测定,探讨了岩溶地貌部位及土壤成因对微生物群落丰度和酶活性的影响。结果发现,受岩溶地貌部位 和土壤成因的影响,土壤酶活性、土壤微生物总数在垭口、坡地、洼地呈增加的趋势,而氨氧化细菌丰度则 呈现降低的趋势。结果表明,土壤氨氧化细菌丰度与真菌数呈极其显著的正相关,而与蔗糖酶活性呈极其 显著负相关。

关键词:岩溶地貌;酶活性;微生物群落丰度;荧光定量 PCR;氨氧化细菌

文章编号: 1000-288X(2014)03-0050-05 文献标识码: A

中图分类号: S154.36

DOI:10.13961/j.cnki.stbctb.2014.03.011

## Effect of Karst Physiognomy on Soil Microbial **Abundance and Enzyme Activities**

LI Qiang<sup>1</sup>, JIN Zhen-jiang<sup>1,2</sup>, LI Zhong-yi<sup>3</sup>, LUO Kun<sup>2</sup>, TANG Zhi-qin<sup>2</sup>, HUANG Jing-yun<sup>2</sup>, LU Wen-ti<sup>2</sup> (1. Key Laboratory of Karst Dynamics of the MLR and Guangxi Province, Institute of

Karst Geology, CAGS, Guilin, Guangxi 541004, China; 2. College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China; 3. Institute of Agricultural Resources and Environment, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China)

Abstract: The Yaji experimental site of Institute of Karst Geology, Chinese Academy of Geology Science, was selected as the study area to discuss the effects of karst physiognomy on soil microbial abundance and enzyme activity. The gene abundances of amoA, as the index of ammonia-oxidizing bacteria (AOB) communities, were determined by real-time quantitative PCR(qPCR), while microbial community population and soil enzymes were analyzed using dilute plate incubation counting and colorimetric methods, respectively. Results show that the enzyme activities and total microbial numbers of soils in saddle back, piedmont slope and karst depression increased while the soil AOB decreased. Moreover, the abundances of AOB communities had a significantly positive correlation with fungi, while it had a significantly negative correlation with sucrase ac-

Keywords: karst physiognomy; enzyme activity; microbial community abundance; real-time PCR; ammoniaoxidizing bacteria

岩溶环境被视为一种极其脆弱的极端环境[1]。 土壤微生物作为岩溶环境中的重要组成部分,对土壤 肥力、植被生产力和生态系统功能等具有重要的调节 作用。此外,微生物作为土壤的重要组成部分,在有 机物降解和多种元素的循环中还起着关键性的作

用[2]。由于土壤微生物组成对很多环境因子都十分 敏感,如土壤类型、pH值、植被和地理距离等[3-6],因 此分析土壤微生物群落变化将有利于揭示其对环境 变化的响应[5]。有关研究表明,在不同的岩溶地貌 中,微生物区系数量和以微生物为主导的土壤酶活性

收稿日期:2013-03-25

修回日期:2013-06-21 资助项目:中国地质调查局项目"百名青年地质英才培养计划";国家自然科学基金项目"岩溶干旱过程中钙对忍冬光合生理的调控机制" (41003038), 广西自然科学基金项目(2011GXNSFD018002), (2010GXNSFB013004), (2011GXNSFA018006)

作者简介:李强(1978—),男(汉族),山东省菏泽市人,博士,副研究员,主要从事岩溶生物地球化学研究。E-mail;glqiangli@163.com。 通信作者:靳振江(1974—),男(汉族),山西省长治市人,博士,副教授,从事生态学和环境微生物学研究。E-mail:zhenjiangjinjin@163.com。 有较大差异<sup>[7]</sup>,然而,关于岩溶地貌形态以及土壤成 因对土壤微生物群落和土壤酶活性的影响机理还缺 乏深入的讨论。近年来,随着分子生物学技术的发 展,尤其是基于荧光定量 PCR 方法的改进,大大提高 了微生物群落丰度检测的灵敏度,为全面分析微生 物群落结构提供了强有力的工具。因此,本文通过研 究不同岩溶地貌部位及土壤成因条件下的微生物群 落丰度与酶活之间的相互关系,为揭示岩溶极端环境 下的土壤一微生物之间的响应和适应机制提供理论 基础。

## 1 材料与方法

#### 1.1 研究区概况

研究区选择在中国地质科学院岩溶地质研究所桂林丫吉岩溶试验场。该试验场建于 1986 年<sup>[8]</sup>,是中国南方裸露岩溶区具有代表性的峰丛山区岩溶泉域系统,位于桂林市东南郊区  $8~\mathrm{km}$  的丫吉村附近,处在峰丛洼地和峰林平原的交界地带,总面积  $2~\mathrm{km}^2$ 。

桂林位于亚热带季风区,降雨在季节分配上的不 均匀性是该区基本的气候特点。据桂林市气象台 32 a的观测资料,多年平均降雨量为 1 915.2 mm,多 年平均水面蒸发量为 1 378.3 mm。该区从 9 月至翌 年3月为旱季,其降雨量仅为年降雨量的29.68%, 而 4-8 月的雨季降雨量占年降雨量的 70.32%。在 1986年之前,由于当地农民的砍伐和烧荒,试验场的 生态环境受到掠夺性破坏,整个区域基本没有植被覆 盖,生境相当严酷,为次生裸地。作为试验场后封山, 进行植物群落的自然恢复,目前群落年龄在18~ 20 a。由于试验场不同部位水分、光照、热量及土壤的 差异,故选取垭口(25°14′45″N,110°22′55″E,高程 407 m);坡地(25°14′50″N, 110°23′1″E,高程 290 m) 和 1 号洼地(25°14′55″N, 110°23′3″E,高程 272 m)3 种样地作为研究样点。垭口的土壤为残坡积土,土壤 覆盖度低、水热变化剧烈,环境相对恶劣。坡地的土 壤为洪积土,土层薄,土壤异质性强,溶沟、溶槽发 育, 地表径流易入渗。1 号洼地的土壤为冲积土(1 级)。此外,洼地还是降水的汇集区,其水热条件和土 质较好,在南方岩溶区多为耕作区[9]。

## 1.2 供试土壤与样品采集

2010 年 11 月在岩溶试验场 1 号洼地、坡地、垭口 3 种地貌处采集土壤样品。每个样地随机设置 3 个近 2  $m^2$  的采样区,在每个采样区分别选择 3 个采样点。每个采样点用土钻采集 0—10,10—20 和 20—30 cm 深度的土样,将同一采样区 3 个采样点的

土样按相同层次等比例混匀,当天带回实验室。除去植物残体和入侵体,一部分过 2 mm 筛,储放于-80 ℃低温冰箱中,以作土壤酶活性和微生物群落丰度分析。

### 1.3 土壤总 DNA 提取与荧光定量 PCR 分析

土壤微生物总 DNA 提取使用(MP Biomedicals, USA)试剂盒,操作步骤按照说明进行。DNA 样品用微量紫外分光光度计测定浓度后用作 PCR 扩增的模板 DNA。用氨氧化细菌(AOB)指示基因 amoA的特异引物对 $^{[10]}$ 对硝化细菌进行定量 PCR 扩增。PCR 反应体系为  $25~\mu$ l,其中含有  $12.5~\mu$ l 的 SYBR@PremixEX TaqTM,上、下游引物(  $20~\text{pmol}/\mu$ l)各  $1~\mu$ L,模板 DNA 15~ng,用灭菌的去离子水补足至  $25~\mu$ L。扩增条件为首先是 94~C~2~min,30~C循环为 94~C~2min,60~C退火1~min,72~C延伸1~min,最后再在 72~C延伸5~min。用从  $5.28\times10^5~\text{系列}10~\text{E稀释梯度的}5~\text{次重复值画出标准曲线。从标准曲线得到 amoA 基因的扩增效率为 <math>95.2\%$ , $R^2~\text{值为}0.94$ 。

### 1.4 可培养微生物群落数量

微生物数量采用平板菌落计数法 $^{[11]}$ 进行,其中细菌、真菌和放线菌分别使用牛肉膏蛋白胨(NA)培养基、马丁(Martin)培养基和高氏 1 号(Gause'1)培养基培养和计数。计数结果均以每克干土中的菌落数(cfu/g)表示。用以上 3 大菌群的总数代表土壤总的微生物数量。

## 1.5 土壤酶活性

酶活性的测定参考关松荫等[12]的方法,其中蔗糖酶采用3,5—二硝基水杨酸比色法,活性用24 h后每克干土中葡萄糖的毫克数表示;脲酶采用苯酚一次氯酸钠比色法,用24 h后每克干土中铵态氮的毫克数表示;碱性磷酸酶采用磷酸苯二钠比色法,活性用2 h后每克干土中苯酚的毫克数表示。

## 1.6 土壤 pH 值

土壤 pH 值的测定参考毕桂英等  $[^{13}]$  的方法,采用无  $CO_2$  蒸馏水作为浸提剂,按照土水 1:0.5 的比例混匀后用 METTLER TOLEDO S220 pH 计测定。

## 1.7 数据处理与统计检验

采用 SPSS 10 对实验结果进行相关统计分析,相 关检验为 Spearman 相关。

## 2 结果与讨论

2.1 土壤酶活性、可培养土壤微生物总数与土壤 pH 值 微生物在其生命活动过程中,向土壤分泌大量的 胞外酶。微生物死亡后,由于细胞的自溶作用把胞内

酶也释放至土壤中,推动土壤生物化学反应。因此, 土壤酶活性在一定程度上则反映了微生物的活性及 其在土壤养分循环过程中的作用[14-15]。

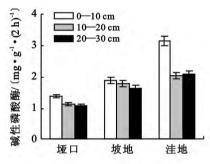
从图 1-2 可以看出,同一地貌条件下的土壤蔗糖酶、脲酶和碱性磷酸酶活性以及可培养土壤微生物总数在垂直分布上表现出 0-10 cm 土层最高,随土层深度的增加而降低;而不同地貌条件下同一层位的土壤在垭口、坡地和 1 号洼地中,其土壤蔗糖酶、脲酶和碱性磷酸酶活性以及可培养土壤微生物总数一般表现出洼地最高。此外,从表 1 可以看出,从垭口、坡地到 1 号洼地同一层位的土壤 pH 值总体呈现逐渐降低的趋势;而在同一地貌下,随着土壤深度的增加,土壤 pH 值逐渐升高,并使土壤始终保持为碱性。

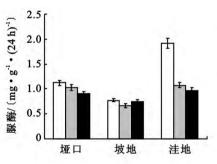
同一地貌中的土壤酶活性与可培养土壤微生物总数均随着土壤深度的增加而降低,主要是由以下两方面的因素造成的:一方面是土壤有机质含量随土层深度增加明显减少,而土壤酶主要是以物理的或化学的结合形式吸附在土壤有机和无机颗粒上,或与腐殖质络合,加之丫吉岩溶试验场表层岩溶带土层较薄导致该区的灌木丛细根主要分布在土壤表层,并在土壤中由上至下逐渐减少,细根作为根系最活跃的部分,

它的分泌物和细胞的脱落能促使酶进入土壤;另一方面,随着土层深度的增加,通气状况越来越差,微生物种类和数量递减,导致土壤酶活性减弱[16]。

此外,受降雨及表层岩溶带坡面流影响,加之垭口、坡地和1号洼地处的土壤来源不同:垭口的土壤为残坡积土,坡地的土壤为洪积土,而1号洼地的土壤为冲积土(1级)<sup>[17]</sup>,土壤有机质从垭口流失到洼地,并在1号洼地不断积累,从而造成不同地貌条件下同一层位的土壤酶活性以及可培养土壤微生物总数逐渐升高。

表层岩溶带  $CO_2$ —水一钙交换过程活跃,而岩溶土壤中的二氧化碳主要来源于:土壤微生物对动植物遗体的分解、植物根系和土壤原生动物的呼吸[18],因此同一地貌下随着土壤深度的增加土壤微生物数量减少、植物根呼吸减弱,导致  $CO_2$ —水一钙交换过程在垂直分布上减弱,并造成土壤 pH 值随着土壤深度的增加而升高。从垭口、坡地到 1 号洼地不同地貌条件下同一层位土壤微生物数量的增加能够释放更多的  $CO_2$  溶解于土壤水而具有侵蚀力,加之岩溶土壤水在非饱和状态下其侵蚀力具有积累效应,造成土壤 pH 值随着海拔高度的降低而降低。





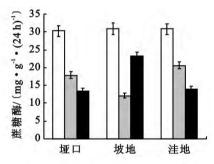


图 1 丫吉岩溶试验场不同取样点土壤酶活性

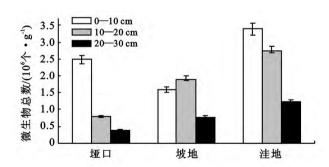


表 1 丫吉岩溶试验场不同取样点土壤 pH 值

 地貌	0—10 cm	10—20 cm	20—30 cm
垭口	7.76	7.84	8.20
坡地	7.13	7.31	7.69
洼地	6.83	7.40	7.83

## 2.2 氨氧化细菌丰度

土壤中 AOB 丰度结果从图 3 可以看出, AOB 主要集中在表层土壤中,并随着土壤深度的增加而减少;不同地貌形态下同一层位的土壤 AOB 丰度从垭口、坡地到 1 号洼地也表现出逐渐降低的趋势。

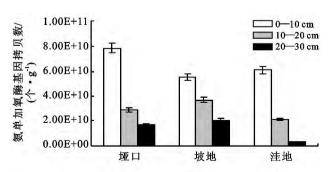


图 3 丫吉岩溶试验场不同取样点土壤微生物 AOB 丰度

在垭口、坡地和1号洼地,同一层位的土壤酶活 性、可培养土壤微生物总数尽管表现出逐渐增加的趋 势,但 AOB 丰度则表现出相反的趋势,这说明可能与 岩溶地貌类型有关。首先,目前已知 AOB 最小的  $K_s$ 值为 1.92  $\mu$ mol/L<sup>[19]</sup>,土壤 pH 值的降低可导致土壤 氨分子的减少并限制 AOB 的生长[20],从而使同一层 位的 AOB 丰度从垭口、坡地到 1 号洼地逐渐降低。 其次,真核微生物是旱地土壤微生物中的主要类群, 而真菌又是真核微生物的主要组成,对底物具有更强 的广谱性,可利用 C/N 比更为宽幅的底物生长[21]。 在桂林丫吉岩溶试验场随着生态恢复的推进,土壤腐 殖质含量得到相应的增加,该区真菌的生长得到促进 并显著提高真核微生物的数量,然而由于地貌部位和 土壤成因的差异,导致垭口的 C/N 为 24.48 $\sim$ 33.26, 坡地的 C/N 为 9.38~17.46,洼地的 C/N 为 15.23~  $17.06^{[7]}$ ,从而说明 C/N 的差异也是造成不同地貌形 态下同一层位 AOB 丰度差异的重要原因。

细菌作为德国和中国典型碱性土壤硝化过程的主要驱动者<sup>[22-23]</sup>,对环境的变化较为敏感,湿润及近于中性 pH 值的土壤环境有利于其生长与繁殖,并对有机碳质量要求较高<sup>[24]</sup>。由于桂林丫吉岩溶试验场土壤有机碳含量随土层深度增加明显减少<sup>[7,9,25]</sup>,从而影响细菌的生长以及可培养土壤微生物总数的变

化,并造成 AOB 丰度随着土壤深度的增加而减少,因而在垭口和 1 号洼地,土壤微生物总数与 AOB 丰度的相关性极显著 (r) 分别为 0.971 和 0.958,p <0.01)。由于坡地土壤主要来源于洪积土,层理不明显、性质不稳定,导致土壤微生物总数随着深度的增加而降低的趋势不明显,土壤微生物总数与 <math>AOB 丰度在坡地则没有相关性。

#### 2.3 氨氧化细菌丰度与土壤因子的关系

从表 2 可以看出,放线菌、AOB 丰度与蔗糖酶活性极显著负相关 $(r 分别为-0.818 \ n-0.503, p<0.01)$ ,而土壤微生物总数、细菌和真菌与土壤中的脲酶活性和碱性磷酸酶活性极显著正相关 $(r 分别为0.641,0.914,0.651,0.902,0.744 \ n 0.476,p<0.01)。$ 

放线菌由于其菌丝缠绕土壤颗粒或有机质,因而对土壤腐殖质的合成有重要的促进作用,并且其次生代谢产物能够改善土壤环境,有利于植物的生长。然而在岩溶环境中,高含量的钙离子使土壤腐殖质中胡敏酸的含量比例较高,且稳定性好,造成腐殖质不易分解,营养元素供给速率缓慢[26],因而岩溶土壤放线菌的存在能够促进土壤腐殖质的积累并限制蔗糖酶参与土壤有机碳循环过程,进而造成氨氧化细菌功能丰度降低[27]。因而在本研究中,土壤放线菌、AOB丰度与蔗糖酶活性呈极显著负相关。

测试项目	真菌	放线菌	细菌	AOB	蔗糖酶	脲酶	碱性磷酸酶
微生物总数	0.554**	-0.139	0.952**	0.304	0.105	0.641**	0.914**
真 菌	1.000	0.041	0.543**	0.617**	-0.050	0.774**	0.476*
放线菌		1.000	-0.147	0.272	-0.818**	0.116	-0.148
细 菌			1.000	0.266	0.143	0.651**	0.902**
AOB				1.000	-0.503**	0.364	0.226
蔗糖酶					1.000	0.049	0.072
脲 酶						1.000	0.598**
碱性磷酸酶							1.000

表 2 丫吉岩溶试验场土壤微生物丰度与酶活性间的相关系数

注:\*表示在 p<0.05 水平显著相关;\*\*表示在 p<0.01 水平极显著相关,n=27。

真菌和细菌是土壤微生物的主要组成部分。真菌对枯枝落叶的分解能力极强,是进行腐解作用的主要微生物,并在土壤的生物化学转化过程中起着相当重要的作用。而土壤中的细菌几乎参与了土壤中的所有生物化学过程,并具有快速生长的能力,能旺盛地分解各种自然物质,故在土壤的物质转化过程中具有重要的作用。因而土壤中的真菌在参与枯枝落叶的分解过程中能有效促进土壤细菌的生长,使二者呈极显著正相关关系(r) 为 0.543, p<0.01)。脲酶能够促进有机质分子中肽键的水解,催化土壤有机质中的有机态氮转化为无机态氮,碱性磷酸酶能够促进土壤中最难移动和最难被利用的磷元素的释放,因而细菌

和真菌与土壤中的脲酶活性和碱性磷酸酶活性极显著正相关。此外,细菌和真菌通过土壤中氮素循环和碳水化合物转换之间密切的协同效应造成不同岩溶地貌下土壤 AOB 丰度的差异。该研究结果与周永强<sup>[27]</sup>和黄继川等<sup>[28]</sup>的研究结果也是一致的。因此,岩溶地貌部位形态是影响土壤微生物主要类群(细菌和真菌)与重要功能群(AOB)的数量、土壤酶活性表达的重要因素。

## 3 结论

(1) 受地貌部位和土壤成因的影响,同一层位的土壤酶活性、土壤微生物总数从垭口、坡地到1号洼

地呈增加的趋势,而 AOB 丰度则呈降低的趋势。

(2) 不同岩溶地貌部位土壤成因的差异以及土壤 pH 值的变化在影响土壤微生物总数变化的同时,还造成土壤 AOB 丰度与真菌数呈极其显著的正相关,而与蔗糖酶活性呈极其显著负相关。

致谢:感谢华中科技大学生命科学与技术学院申 泰铭博士提供土壤 pH 值测试数据;感谢审稿专家提 出宝贵修改意见。

#### [参考文献]

- [1] 袁道先,蔡桂鸿. 岩溶环境学[M]. 重庆:重庆人民出版 社,1988;1-200.
- [2] Schmidt T M. The maturing of microbial ecology[J]. International Microbiology, 2006,9(3):217-223.
- [3] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006,103(3):626-631.
- [4] Yergeau E, Newsham K K, Pearce D A, et al. Patterns of bacterial diversity across a range of Antarctic terrestrial habitats[J]. Environmental Microbiology, 2007, 9 (11):2670-2682.
- [5] Lauber C L, Hamady M, Knight R, et al. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75 (15): 5111-5120.
- [6] Berg G, Smalla K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2009,68(1):1-13.
- [7] 靳振江,李强,黄静云,等.典型岩溶生态系统土壤酶活性、微生物数量、有机碳含量及其相关性:以丫吉岩溶试验场为例[J].农业环境科学学报,2013,32(2):307-313.
- [8] 周世英. 中法合作建立桂林岩溶水文地质试验场[J]. 中国岩溶,1986,2(5):78.
- [9] 李强,孙海龙,何师意,等. 桂林岩溶试验场植物多样性恢复及其水一气效应[J]. 热带地理,2005,25(1);5-9.
- [10] 王奥,吴福忠,何振华,等.亚高山/高山森林土壤有机层氨氧化细菌和氨氧化古菌丰度特征[J].生态学报,2012,32(14):4371-4378.
- [11] 李振高,骆永明,滕应. 土壤与环境微生物研究方法 [M]. 北京:科学出版社,2008:97-99.
- [12] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986:275-276.
- [13] 毕桂英,马新民. 影响石灰性土壤 pH 值测定因素的探讨[J]. 水土保持通报,1998,18(7):24-27.

- [14] 颜慧,钟文辉,李忠佩,等. 长期施肥对红壤水稻土磷脂脂肪酸特性和酶活性的影响[J]. 应用生态学报,2008,19(1):71-75.
- [15] Yao Xiaohua, Min Hang, Lü Zhenhua, et al. Influence of acetamiprid on soil enzymatic activities and respiration [J]. European Journal of Soil Biology, 2006, 42 (2):120-126.
- [16] 李志辉,李跃林,杨民胜,等. 桉树林地土壤酶分布特点 及其活性变化研究[J]. 中南林学院学报,2000,20(3): 29-33.
- [17] 袁道先,戴爱德,蔡五田,等.中国南方裸露型岩溶峰丛山区岩溶水系统及其数学模型的研究:以桂林丫吉村为例[M].桂林:广西师范大学出版社,1996:1-50.
- [18] 曹建华. 岩溶土壤系统中生物作用与有机碳转移对  $CaCO_3-CO_2-H_2O$  体系的调节 [D]. 南京: 南京农业 大学,2001.
- [19] Koops H P, Pommerening-Röser A. Distribution and ecophysiology of the nitrifying bacteria emphasizing cultured species [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2001,37(1):1-9.
- [20] Boer W D, Kowalchuk G A. Nitrification in acid soils: micro-organisms and mechanisms[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2001,33(7):853-866.
- [21] Paul E A, Clark F E. Components of the soil biota[C]//
  Paul E A, Clark F E. Soil microbiology and biochemistry. San Diego: Academic Press, 1996:71-107.
- [22] Jia Zhongjun, Conrad R. Bacteria rather than Archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil [J]. Environmental Microbiology, 2009,11(7): 1658-1671.
- [23] Zhang Limei, Offre P R, He Jizheng, et al. Autotrophic ammonia oxidation by soil thaumarchaea [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010,107(40):17240-17245.
- [24] Coleman D C, Crossley D A, Paul F H. Fundamentals of soil ecology[M]. San Diego: Academic Press, 2004: 35-36.
- [25] 魏媛,喻理飞,张金池. 退化喀斯特植被恢复过程中土壤微生物活性研究:以贵州花江地区为例[J]. 中国岩溶,2008,27(1):63-67.
- [26] **曹建华**,袁道先,潘根兴. 岩溶生态系统中的土壤[J]. 地球科学进展,2003,18(1);37-44.
- [27] 周永强,薛泉宏,杨斌,等. 生防放线菌对西瓜根域微生态的调整效应[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2008,36(4):144-150.
- [28] 黄继川,彭智平,于俊红,等. 施用玉米秸秆堆肥对盆栽芥菜土壤酶活性和微生物的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2010,16(2):348-353.