

巨麦 6 号抗叶锈病基因的推导和分子定位

王翠芬, 李 欢, 郑嫚嫚, 范林林, 李在峰*, 刘大群*

(河北农业大学 植物保护学院, 河北省农作物病虫害生物防治工程技术研究中心, 河北 保定 071001)

摘要: 巨麦 6 号在田间表现出很好的抗叶锈性, 鉴定其抗叶锈病基因对小麦抗叶锈病育种具有重要意义。在小麦苗期对 36 个含有已知抗叶锈病基因的对照品种和巨麦 6 号接种 15 个中国小麦叶锈菌小种进行抗叶锈病鉴定, 推导巨麦 6 号中可能含有的抗叶锈病基因。以巨麦 6 号为抗病亲本与感病品种郑州 5389 进行杂交、自交获得 F_1 、 F_2 代群体, 苗期利用叶锈菌小种 FHBQ 接种 F_2 代群体进行抗叶锈病遗传分析。结果表明, 巨麦 6 号中可能含有已知抗叶锈病基因 *Lr1*, 其抗叶锈性由 1 对显性的抗病基因控制。利用与 *Lr1* 共分离的 STS 标记 WR003 进一步检测 F_2 单株 DNA, 结果显示, 该标记与抗叶锈病基因共分离, 进一步证实巨麦 6 号携带已知抗叶锈病基因 *Lr1*。

关键词: 小麦; 抗叶锈基因; 基因推导; 基因定位; 分子标记

中图分类号: S435.121.4⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2013)05-0092-05

Postulation and Molecular Mapping of Leaf Rust Resistance Gene in Wheat Line Jumai 6

WANG Cui-fen, LI Huan, ZHENG Man-man, FAN Lin-lin, LI Zai-feng*, LIU Da-qun*

(Biological Control Center of Plant Diseases and Plant Pests of Hebei Province,
College of Plant Protection, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China)

Abstract: Jumai 6 shows high resistance to leaf rust in the field. Therefore, it is very important to identify leaf rust resistance gene in Jumai 6 for breeding wheat cultivars with resistance to leaf rust. Jumai 6 and 36 check lines with known leaf rust resistance genes were inoculated with 15 pathotypes of *Puccinia triticina* for postulation of leaf rust resistance genes effective at the seedling stage. F_2 plants from a cross between resistant line Jumai 6 and susceptible line Zhengzhou 5389 were inoculated with *Puccinia triticina* pathotype FHBQ for genetic analysis and molecular mapping of leaf rust resistance genes in Jumai 6. Based on the results from seedling postulation Jumai 6 might contain *Lr1*. The resistance in Jumai 6 was controlled by a dominant single gene after testing F_2 population with FHBQ. The STS marker WR003 of *Lr1* was used to test all the F_2 plants, and the result showed that the resistance gene in Jumai 6 was co-segregated with WR003, further indicating that Jumai 6 contained the resistance gene *Lr1*.

Key words: wheat; leaf rust resistance gene; gene postulation; gene mapping; molecular marker

无论从总种植面积还是从总产量来说, 小麦 (*Triticum aestivum*) 都是世界上最重要的粮食作物, 在我国, 小麦的稳产高产对粮食安全甚至经济发展都具有重要意义。小麦叶锈病由小麦叶锈菌

收稿日期: 2013-01-23

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30971772)

作者简介: 王翠芬 (1987-), 女, 河北石家庄人, 在读硕士研究生, 研究方向: 分子植物病理学。E-mail: wangqiaoling999@126.com

* 通讯作者: 李在峰 (1975-), 男, 河南卫辉人, 教授, 博士, 主要从事分子植物病理学与植物病害生物防治研究。

E-mail: lzf7551@yahoo.com.cn

刘大群 (1958-), 男, 河北石家庄人, 教授, 博士, 主要从事植物病害生物防治与分子植物病理学研究。

E-mail: ldq@hebau.edu.cn

(*Puccinia triticina*)引起,在世界范围内分布广泛,对小麦的稳产高产具有重大威胁^[1]。过去,我国小麦叶锈病主要发生在长江中下游流域及部分西南麦区,如安徽、江苏、云南和贵州等地,近年来,伴随全球气候变暖,小麦叶锈病在西北、华北及黄淮麦区的发生和流行日趋严重,对我国小麦生产影响很大,特别是2012年,小麦叶锈病在我国大部分小麦主产区严重发生,对我国小麦生产造成了巨大损失(资料未发表)。

实践表明,利用抗病基因培育抗病品种可以有效防治小麦叶锈病的发生和危害。目前,国内外对小麦抗叶锈病基因的研究已经取得了一定进展,正式命名了71个小麦抗叶锈病基因^[2],这些基因多数为小种专化抗病基因,符合基因对基因关系,也称为垂直抗病基因,此类基因随着小种的毒性变异容易丧失抗病性。目前,我国小麦中有效抗病基因缺乏,仅有少数几个抗病基因在田间具有良好抗性^[4],因此,研究我国小麦抗叶锈病遗传规律,不断发掘和定位我国小麦材料中的抗叶锈病基因,对利用基因操作持久控制小麦叶锈病具有重要的理论和实际意义。

河北农业大学植物病理实验室近年来一直在对小麦品种进行抗叶锈性遗传分析和分子定位,并发现了多个小麦抗叶锈新基因。Li等^[3]对来自我国12个小麦主产区的102个小麦品种或高代品系进行了抗叶锈性鉴定和分子标记检测,在65个品种中共发现了*Lr1*、*Lr2a*、*Lr3bg*、*Lr13ka*、*Lr14a*、*Lr16*、*Lr17a*、*Lr18*、*Lr20*、*Lr23*、*Lr24*、*Lr26*、*Lr34*和*LrZH84*共14个小麦抗叶锈基因。Zhao等^[4]在周8425B中发现了抗叶锈基因*LrZH84*,并将其定位于1BL染色体上,该基因与SSR标记gwm582和barc8紧密连锁,此外,周8425B中还携带有已知抗叶锈病基因*Lr26*,目前*Lr26*对我国多数叶锈菌生理小种已丧失抗性。Zhang等^[5]在毕麦16中定位了一个新的抗叶锈病基因,暂命名为*LrBi16*,该基因定位于7BL染色体上并与SSR标记cfa2257和wms344紧密连锁,此外,毕麦16中还含有抗叶锈病基因*LrZH84*和*Lr26*,其中*LrBi16*和*LrZH84*具有互补作用使得该品种对多数中国小麦叶锈菌种表现高抗。陈现朝等^[6]和李星等^[7]分别对贵州98-18和西农1163-4进行了抗叶锈性鉴定和抗病基因分子定位,将这2个品种中的抗叶锈基因*LrG98*和*LrXi*均定位于1BL染色体上并与*LrZH84*位置接近。Zhou等^[8]通过等位性检测,认为*LrG98*、*LrXi*和*LrZH84*很可能是等位基因或紧密连锁基因。此

外,周悦等^[9]对天95HF2进行抗叶锈鉴定和分子标记分析,认为其可能含有*Lr1*和*LrZH84*。

巨麦6号是由山东巨野农科所育成的具有优良综合农艺性状的小麦品系,在田间具有良好的抗叶锈性,明确巨麦6号中的抗叶锈病基因具有重要意义。为此,本研究鉴定了巨麦6号所携带的抗叶锈基因并进行分子定位,其在小麦抗病育种和品种的合理应用方面将具有重要价值。

1 材料和方法

1.1 供试小麦材料及菌种

抗病亲本巨麦6号、感病亲本郑州5389和36个已知抗叶锈病基因对照品种用于苗期基因推导,这些品种多数是以Thatcher为遗传背景的已知抗叶锈病基因的近等基因系,所有对照品种由国际玉米小麦改良中心(CIMMYT)提供,用于小麦抗叶锈病鉴定的15个携带不同毒性基因或基因组合的叶锈菌生理小种由河北农业大学小麦叶锈病研究室提供,小种命名参考Long等^[10]的密码命名系统(Prt-code System)。

巨麦6号与感病亲本郑州5389杂交、自交获得F₁和F₂代群体,小麦叶锈菌小种FHBQ用于接种亲本和各世代群体进行抗叶锈病鉴定,分析巨麦6号中抗小麦叶锈病基因的遗传特征。

1.2 试验方法

1.2.1 小麦苗期抗病基因推导及遗传分析 根据Flor^[11]提出的基因对基因假说,利用基因推导的方法推导供试材料是否具有与标准品种相同的抗叶锈病基因或基因组合。对巨麦6号、郑州5389和36个标准品种分别接种15个不同毒力的小麦叶锈菌生理小种进行苗期抗叶锈病基因推导,其中接种小种FHBQ用于遗传分析。

利用涂抹法将新鲜菌种接种到小麦第1片完全展开的叶片上,并将麦株放于桶中进行黑暗保湿,时间为14~16h,然后转移到生长室中。在接种15d感病对照品种充分发病后,进行苗期抗叶锈性鉴定,鉴定级别共分为0、;、1、2、X、3、4七级,其中0—X级为抗病,3—4级为感病^[12]。

1.2.2 小麦基因组DNA提取及抗感池的建立 参考Sharp等^[13]提出的CTAB法提取小麦幼苗基因组DNA,方法稍作变动,利用紫外分光光度计测定DNA质量。根据Michelmore等^[14]提出的分离群体分组分析法(bulked segregation analysis, BSA)获得可能与抗病基因存在连锁关系的标记,具体方法是在F₂代群体中分别选取10个抗病单株和

10 个感病单株等量混合组成抗病池 (Br) 和感病池 (Bs), 进行 STS 标记检测。

1.2.3 STS 标记检测 利用与 *Lr1* 共分离的 STS 标记 (WR003)^[15] 对巨麦 6 号、郑州 5389 及单株组合后的抗感池进行检测, 若亲本间与抗感池间均存在多态性则进一步用 F_2 代群体单株 DNA 进行验证。所用到的 STS 引物为 WR003 F (5'-GGGA-CAGAGACCTTGGTGA-3') 和 WR003 R (5'-GACGATGATGATTGCTGCTGG-3'), 由华大生物工程技术服务有限公司合成, 其能够扩增出与 *Lr1* 紧密连锁的 760 bp DNA 片段。

PCR 反应体系为 10 μ L, 其中包括: 引物 (4 μ mol/L) 1 μ L、10 \times PCR buffer 1 μ L、10 mmol/L dNTP 0.2 μ L、30 ng 模板 DNA 和 0.5 U *Taq* 酶。反应程序为: 94 $^{\circ}$ C 5 min; 35 个循环 (94 $^{\circ}$ C

1 min, 65 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 2 min); 72 $^{\circ}$ C 10 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。根据扩增产物分子量的差异选用琼脂糖凝胶电泳或聚丙烯酰胺凝胶电泳进行检测分析。

2 结果与分析

2.1 巨麦 6 号苗期抗病基因推导

用 15 个具有不同毒力的中国叶锈菌生理小种对待测品种巨麦 6 号和 36 个已知抗叶锈病基因的对照品种进行苗期抗叶锈病鉴定, 结果显示, 对近等基因系 RL6003 (*Lr1*) 表现为低毒力的菌株对巨麦 6 号也表现为低毒力, 表明巨麦 6 号中可能含有 *Lr1* (表 1)。此外, 通过基因推导进一步证实 *Lr9*、*Lr19*、*Lr24*、*Lr28*、*Lr39*、*Lr42*、*Lr47*、*Lr51* 和 *Lr53* 为有效的抗叶锈病基因, 对 15 个叶锈菌小种均表现出很高的抗性。

表 1 15 个供试叶锈菌菌株与巨麦 6 号及对照品种互作产生的苗期反应型

小麦品系	抗病基因	叶锈菌小种															
		PH	MH	FH	FG	FH	FH	FG	PH	FH	FG	FH	TH	TG	PH	TH	
		KS	JS	DQ	BQ	BR	BQ	BR	JL	DR	DQ	DS	JP	TT	GP	JC	
RL6003	Lr1	4	4	;	;	;	;	;	4	0	;	0	4	4	4	4	
RL6016	Lr2a	;	;	1+	;	;	1	1	3	;	;	2	3	3	;	4	
RL6047	Lr2c	4	1	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
RL6002	Lr3	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
RL6010	Lr9	;	;	;	;	0;	0	0	;	0	0	;	;	;	0	;	
RL6005	Lr16	4	4	4	4	4	4	4	3+	3+	4	4	4	4	3	4	
RL6064	Lr24	;1	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	
RL6078	Lr26	4	4	4	1	4	4	;	4	4	1	4	4	2	4	4	
RL6007	Lr3ka	X	X	;	;	;	;	1	1	;	;	;	1	4	;	X	
RL6053	Lr11	4	4	1	;	;	1+	2	3+	1	1	2	4	3+	4	4	
RL6008	Lr17	4	3+	3+	2	2	2	2+	4	3+	4	4	4	4	2+	4	
RL6049	Lr30	X	1	1	;	;	;	;	1	;	;	;	;	4	;	1	
RL6051	LrB	3+	4	4	4	3+	4	4	3+	4	4	4	4	4	4	X	
RL6004	Lr10	3	3	4	4	4	4	4	2	4	4	4	2+	4	1	X	
RL6013	Lr14a	4	4	X	X	X	X	X	X	X	2	4	4	4	3+	X	
RL6009	Lr18	1	1+	2	2	4	2	4	1+	4	2+	2	4	3+	X	3	
RL6019	Lr2b	1	0;	4	;	3	3+	2	4	3	3+	3+	2	4	X	4	
RL6042	Lr3bg	4	4	4	4	4	3+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	
RL4031	Lr13	3	4	4	3	3	4	4	3	3	2	3+	4	4	4	4	
RL6006	Lr14b	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	X	4	X	4	
RL6052	Lr15	1	;	;	;	;	;	;	4	1	;	;	4	3+	4	4	
RL6040	Lr19	0	0	;	0	0	;	0	0	0	0	;	0	0	0	;	
RL6092	Lr20	4	4	;	;	;	;	0	;	;	;	;	4	1	4	;	
RL6043	Lr21	4	2	2	;	2+	3	2	;	1	;	1+	;	3	1	1	
RL6012	Lr23	4	4	4	3+	3+	4	3+	1	4	4	4	4	4	3+	4	
RL6079	Lr28	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
RL6080	Lr29	0	0	0	0	;	0	0	;	;	0	3+	4	;	0	0	
RL6057	Lr33	3	4	3+	3+	3+	4	2+	X	3+	3	4	4	4	3+	3+	
E84018	Lr36	4	2	1+	;	2	2	1	1	2	2+	3	2+	3+	2+	3+	
KS86NGRC02	Lr39	;	;1	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	;	
KS91WGRC11	Lr42	;	;	;	0	0	;	;	;	1	;	;	0	;	0	1	
RL6147	Lr44	1	;	4	4	4	4	4	1	4	4	4	;	1+	;1	1	
RL6144	Lr45	4	4	4	4	4	4	4	;	4	4	4	4	;	;	;	
PAVON76	Lr47	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
C78.5	Lr51	;	;	;	;	1	;	0	;	;	;	;	0	;	;	;	
98M71	Lr53	;	0	0	0	0	0	0	;	0	0	0	0	0	0	0	
巨麦 6 号	Lr1	4	4	;	;	;	;	;	4	0	;	0	4	4	4	4	
郑州 5389	+	4	4	4	4	3+	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	

注: 小麦品系对各叶锈菌小种反应型中“+”表示介于两级别之间的抗感程度, 例如: 3+ 表示介于 3 级与 4 级之间的反应型。基因一栏中的“+”表示未知基因, 例如: 郑州 5389 中含有未知基因。

2.2 巨麦 6 号抗病基因的遗传分析

用叶锈菌小种 FHBQ 接种巨麦 6 号×郑州 5389 的 F₂ 群体,并进行抗叶锈病鉴定。巨麦 6 号×郑州 5389 的 F₂ 群体共有 134 株,其中抗病单株有 104 株,感病单株有 30 株,经卡方测验,该群体符合 3∶1 的抗感理论分离比例(表 2),表明巨麦 6 号的抗叶锈性由 1 对显性抗病基因控制。

2.3 STS 标记检测结果

用位于 5DL 上与 *Lr1* 共分离的 STS 标记 WR003 检测巨麦 6 号×郑州 5389 的 F₂ 群体,然后进行凝胶电泳分析,结果表明,所含抗病基因与标记 WR003 共分离(图 1),在所检测的抗病单株中均能扩增出与 *Lr1* 紧密连锁的 760 bp DNA 片段,而所检测的感病单株中均不能扩出该片段,表明巨麦 6 号含有小麦抗叶锈病基因 *Lr1*。

表 2 FHBQ 接种巨麦 6 号×郑州 5389 F₂ 群体的苗期抗性鉴定结果

材料	总株数/株	各反应型株数/株								卡方检测
		0	1	2	3	4				
巨麦 6 号	20		5	15						
郑州 5389	20					20				
F ₂ 群体	134	3	20	60	15	6	24	6		$\chi^2_{3,1}=0.488<\chi^2_{0.05}=3.84$



M, Marker; P₁, 巨麦 6 号; P₂, 郑州 5389; Br, 抗病池; Bs, 感病池; R, 抗病单株; S, 感病单株
图 1 巨麦 6 号、郑州 5389、抗感池和 F₂ 部分单株中 *Lr1* 的 PCR 扩增检测结果

3 结论与讨论

本试验中,基因推导结果表明,*Lr9*、*Lr19*、*Lr24*、*Lr28*、*Lr42* 和 *Lr39* 等基因对我国许多叶锈菌小种表现高抗,与陈万权等^[16]、Li 等^[3] 研究结果基本一致,另外,*Lr47*、*Lr51* 和 *Lr53* 对国内叶锈菌小种的抗性为首次报道,这 3 个基因对所有供试小种均表现高抗。在我国,含有效抗叶锈病基因的小麦品种非常有限,并且含有这些有效抗病基因的小麦品种随着广泛种植面临着丧失抗性的威胁,因此,应当通过抗病育种将这些有效基因转育到优良小麦品种中,同时结合基因聚合和基因布局来延长有效抗病基因的寿命。

Lr1 在我国小麦品种中分布广泛,Li 等^[3] 利用苗期基因推导在我国 102 个小麦品种(系)中发现 6 个品种可能含有 *Lr1*。袁军海等^[17] 在 48 个小麦品种中推导出 11 个品种携带 *Lr1*。CIMMYT 的小麦锈病专家 Singh 等^[18] 对来自我国的 61 个春小麦和 102 个冬小麦品种进行苗期抗叶锈性鉴定,结果显示 13 个品种中含有 *Lr1*。另外,小麦品种烟农 15、ARCIN^[19]、绵阳 351-15^[20]、天 95HF2^[9] 和 LB0288^[21] 均携带小麦抗叶锈病基因 *Lr1*。本试验表明,在小麦品种巨麦 6 号中也携带小麦抗叶锈病基因 *Lr1*。*Lr1* 虽然对我国部分流行叶锈菌小种丧失抗性,但由于其广泛存在并且与其他基因共同作用可以表现出很好的抗性,故在基因聚合及基因布局中具有一定的作用。

参考文献:

[1] Knott D R. The wheat rusts-breeding for resistance [J]. Theoretical and Applied Genetics, 1989, 12: 162-181.

[2] Singh D, Mohler V, Park R F. Discovery, characterization and mapping of wheat leaf rust resistance gene *Lr71* [J]. Euphytica, 2013, 190: 131-136.

[3] Li Z F, Xia X C, He Z H, et al. Seedling and slow rusting resistance to leaf rust in Chinese wheat cultivars [J]. Plant Disease, 2010, 94: 45-53.

[4] Zhao X L, Zheng T C, Xia X C, et al. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrZH84* in Chinese wheat line Zhou 8425B [J]. Theoretical and Applied Genetics, 2008, 117: 1069-1075.

[5] Zhang H, Xia X C, He Z H, et al. Molecular mapping of leaf rust resistance gene *LrBi16* in Chinese wheat cultivar Bimai16 [J]. Mol Breeding, 2011, 28: 527-534.

[6] 陈现朝, 李星, 李在峰, 等. 中国小麦贵州 98-18 中抗叶锈基因的分子定位 [J]. 植物病理学报, 2010, 40(5): 489-494.

[7] 李星, 李在峰, 李亚宁, 等. 小麦品系西农 1163-4 抗叶锈病基因的遗传分析和分子作图 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(12): 2397-2402.

[8] Zhou Y, Xia X C, He Z H, et al. Fine mapping of leaf rust resistance gene *LrZH84* using expressed sequence tag and sequence-tagged site markers, and allelism with other genes on wheat chromosome 1B [J]. Phytopathology, 2013, 103(12): 169-174.

- [9] 周悦,李在峰,李星,等. 小麦品系天 95HF2 抗叶锈基因定位[J]. 作物学报,2010,36(8):1265-1269.
- [10] Long D L, Kolmer J A. A north American system of nomenclature for *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*[J]. Phytopathology,1989,79(5):525-529.
- [11] Flor H H. The complementary genetics systems in flax and flax rust[J]. Advances in Genetics,1956,8:29-54.
- [12] Roelfs A P, Singh R P, Saari E E. Rust diseases of wheat: Concepts and methods of disease management [M]. Mexico, D. F.: CIMMYT, 1992.
- [13] Sharp P J, Kreis M, Shewry P R, et al. Location of β -amylase sequence in wheat and its relatives[J]. Theor Appl Genet,1988,75(2):286-290.
- [14] Michelmore R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations[J]. PNAS,1991,88(21):9828-9832.
- [15] Qiu J W, Schürch A C, Yahiaoui N, et al. Physical mapping and identification of a candidate for the leaf rust resistance gene *Lr1* of wheat[J]. Theoretical and Applied Genetics,2007,115:159-168.
- [16] 陈万权,秦庆明. 国际上已知小麦抗叶锈病基因在中国的可利用性研究[J]. 中国农业科学,2002,35(7):794-801.
- [17] 袁军海,刘太国,陈万权. 中国 47 个小麦新品种(系)苗期抗叶锈基因推导[J]. 中国农业科学,2007,40(9):1925-1935.
- [18] Singh R P, Chen W Q, He Z H, et al. Leaf rust resistance of spring, facultative, and winter wheat cultivars from China[J]. Plant Disease,1999,83:644-651.
- [19] 周会欣,郑嫚嫚,王翠芬,等. 2 个小麦品种中抗叶锈基因的基因定位[J]. 河北农业大学学报,2012,35(6):7-11.
- [20] 周悦,吴娱,李星,等. 两个中国小麦品种中抗叶锈基因的遗传分析和基因定位[J]. 中国农业科学,2012,45(16):3273-3280.
- [21] 齐爱勇,李星,赵振杰,等. 中国小麦 LB0288 中抗叶锈病基因的鉴定[J]. 中国农学通报,2011,27(12):52-55.

(上接第 91 页) 均值 324.23 mg/kg,整体上属于 1 级水平;有机质含量为 16.48~78.87 g/kg,均值 40.67 g/kg,整体上为 2 级及其以上水平;土壤综合肥力指数为 1.29,属于三等土壤,土壤肥力水平一般。

3.2 建议

针对许昌市休闲绿地土壤表现出的土壤偏碱性,速效磷、速效钾与有机质较丰富,速效氮缺乏的肥力特征,提出以下建议。

首先,在休闲绿地栽植绿肥植物,一方面绿肥植物可以吸收土壤碱性物质并在根部分泌酸性物质,具有降低土壤碱性的作用;另一方面,绿肥植物可促进土壤中难溶性养分的转化,使作物更易于吸收利用。

其次,在肥料管理上,可增加氮肥施用量,减少钾肥、磷肥施用量,均衡养分,提高土壤肥力;施用有机肥料,增强土壤的缓冲性能,调节土壤酸碱平衡,改善土壤质量,使其更能够满足植物生长的需要。

参考文献:

- [1] 车生泉,王洪轮. 城市绿地研究综述[J]. 上海交通大学

学报:农业科学版,2001,19(3):229-234.

- [2] 郑俊霞,马广礼. 许昌市新城区绿化带土壤理化特性及管理措施[J]. 广东农业科学,2009(11):71-72.
- [3] 北京林业大学. 土壤理化分析实验指导书[M]. 北京:林业大学出版社,2002.
- [4] 全国土壤普查办公室. 中国土壤[M]. 北京:中国农业出版社,1998.
- [5] 何增耀,叶兆杰,吴方正. 农业环境保护概论[M]. 上海:上海科技出版社,1991:498-501.
- [6] 阚文杰,吴启堂. 一个定量综合评价土壤肥力的方法初探[J]. 土壤通报,1994,25(6):245-247.
- [7] 卢瑛,龚子同,张甘霖. 城市土壤的特性及其管理[J]. 土壤与环境,2002,11(2):206-209.
- [8] Craul P J. The nature of urban soils: Their problems and future[J]. Arboricultural Journal, 1994, 18: 75-287.
- [9] 张甘霖,吴运金,龚子同. 城市土壤——城市环境保护的生态屏障[J]. 自然杂志,2006,28(4):205-209.