

DOI: 10.5846/stxb201405110962

刘晓利,樊剑波,蒋瑀霁.不同施肥制度甘蔗地土壤养分对微生物群落结构的影响.生态学报,2014,34(18):5242-5248.

Liu X L, Fan J B, Jiang Y J. The discussion of affecting factors on soil microbial community structure in a sugarcane land under different fertilization treatments. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(18): 5242-5248.

不同施肥制度甘蔗地土壤养分 对微生物群落结构的影响

刘晓利*, 樊剑波, 蒋瑀霁

(中国科学院南京土壤研究所, 南京 210008)

摘要:以广西红壤长期定位施肥甘蔗地为研究对象,探讨了不同施肥措施甘蔗地土壤微生物群落特征以及土壤养分对微生物群落结构的影响。结果表明,长期优化施肥可以提高土壤微生物多样性,不施肥土壤微生物生长得到显著抑制。土壤全氮、全钾、速效钾含量与微生物群落结构密切相关,可采取适当增加钾肥用量以增加微生物多样性,提高土壤肥力。土壤中磷素含量与微生物群落结构无显著相关,红壤甘蔗地中磷肥用量应适当,不宜过量施用。

关键词:微生物群落; 不同施肥制度; 甘蔗地; 土壤养分

The discussion of affecting factors on soil microbial community structure in a sugarcane land under different fertilization treatments

LIU Xiaoli*, FAN Jianbo, JIANG Yuji

Institute of Soil Science, Chinese Academy of Science, Nanjing 210008, China

Abstract: Based on the sugarcane fields of red soil in Guangxi Province, the character of microbial communities and effects of soil nutrients to microbial communities were studied under different fertilization treatments. The results showed that the optimized fertilization could improve soil microbial diversity for a long time and soil microbial growth was significantly suppressed under no fertilizer treatment. The content of total nitrogen, potassium and available potassium was closely related to the microbial community structure. We could appropriately increase the amount of potassium fertilization to stimulate soil microbial diversity and soil fertility. The content of total P was no significantly related to the microbial community structure. Therefore, the amount of phosphorus fertilizer should be applied appropriately in the sugarcane fields, should not be too much.

Key Words: microbial community structure; different fertilization treatments; sugarcane fields; soil nutrient

广西地处亚热带,适合甘蔗生长,是我国重要的蔗糖生产基地。但广西甘蔗单产较低,究其原因主要是土壤贫瘠、养分供应不足、施肥不当。土壤微生物是有机质和养分转化、循环的动力,在土壤肥力形成和发展的许多方面发挥着极其重要的作用^[1]。

而施肥又是影响土壤微生物数量及其多样性的重要农业措施^[2]。施用有机肥料或实行秸秆还田,可以显著的提高土壤微生物数量,过量的施用 NPK 肥料,会降低土壤微生物多样性^[3]。同时,土壤理化性质对微生物群落的影响在养分循环中发挥着重要的

基金项目:国家自然科学基金资助项目(U1033004)

收稿日期:2014-05-09; 修订日期:2014-08-11

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xliu@issas.ac.cn

作用。土壤微生物也能够迅速对周围环境的变化做出反应^[4]。目前,研究施肥和土壤养分对微生物的影响已经成为当前土壤科学的研究热点^[5]。但广西红壤甘蔗生产过程中土壤微生物群落结构是如何影响土地质量和甘蔗产量的还未见相关深入研究报告。本文探讨不同施肥制度对广西甘蔗地土壤微生物群落结构的影响,旨在阐明不同施肥措施对甘蔗生产和维护土壤质量的作用,进而选择合理的施肥制度,为广西红壤地甘蔗生产提供理论依据和指导。

1 材料与方法

1.1 试验点基本情况

试验地点位于广西中南部南宁市武鸣县锣圩镇,地处南宁市西北方向的武鸣盆地西部,地势平坦宽阔,距离南宁市 80km。属亚热带季风气候,夏长冬短,霜雪少见,植物四季常绿,特别有利于发展亚热带果品作物。土壤类型为广西典型的沙页岩发育

的赤红壤。

地理坐标为东经 23°14′49″,北纬 108°2′50″,坡度为 1/50,属平原旱地类型。监测点的年平均气温为 21.5℃,1 月平均气温为 14.5℃,7 月平均气温为 28.8℃,年平均日照 1660h,无霜期平均 343d。年平均降雨量 1100—1700mm,降雨量中夏季占 45%,秋季占 30%,春季占 16%,冬季占 9%。

甘蔗试验区种植前土壤养分性状如下:pH 值 5.68,速效磷 11.3mg/kg,速效钾 123mg/kg。

1.2 试验设计

试验使用的肥料为尿素、钙镁磷肥和氯化钾。氮肥和钾肥分 3 次施用,苗肥占 20%,分蘖肥占 30%,伸长肥占 50%,磷肥作苗肥一次性施用。各处理均设 3 次重复,小区规格为 3 m×8 m,随机区组排列,小区之间设置隔离田埂。甘蔗品种为新台糖 22 号。各处理的肥料施用量见表 1。甘蔗于 2008 年 2 月 24 日播种。

表 1 各处理肥料施用情况表
Table 1 The fertilization condition of different treatments

处理 Treatments	施肥情况 Fertility condition
空白 CK	不施任何肥料
常规施肥 Conventional fertilization	N、P、K 肥均采用当地平均施肥量
优化施肥 Optimizing fertilization	推荐施肥方式施用 N、P、K
增量施氮 Increment of N	较处理 3 中的氮肥用量增加 50%
增量施磷 Increment of P	较处理 3 中的磷肥用量增加 50%
蔗叶覆盖 Sugarcane leaf mulch	推荐施肥施用 N、P、K+蔗叶覆盖,50kg/小区

1.3 测试方法

试验于 2012 年 11 月甘蔗收获后田间采取土壤样品。在距离地表 0—20cm 处取样,每个小区取样 5 个点的新鲜样品混合。每个处理的 3 个取样小区各取 100g 土在 4℃ 条件下保存,一周后提取土壤 DNA,测定土壤微生物多样性。6 个样品依次标记为:1(CK)、2(常规施肥)、3(优化施肥)、4(增量施氮)、5(增量施磷)、6(蔗叶覆盖)

1.3.1 土壤 DNA 提取、聚合酶链反应(PCR)和变性梯度凝胶电泳

(1)主要仪器和试剂

DGGE 所用仪器为 The Dcode™ Universal Mutation Detection System (Bio-Rad Co.),引物扩增 16S rDNA V3 高变区,引物为带有 GC 夹子的 357F GC 和 517R,其中 V357f2GC(5′2CGCCCCGCCGCGC

GCGGCGGGCGGGGCGGGGGCACGGGGGGCCTACGGAGGCAGCAG23′),V517R(5′2ATTACCGCGGCTGCTGG23′)由上海生工生物工程技术有限公司合成。

(2)抽提土壤总 DNA

DNA 的提取参照 Miller^[18]的方法,采用基因组 DNA 纯化试剂盒(Fast DNA SPIN for Soil Kit)提取纯化土壤中总基因组 DNA,然后用 1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测。DNA 的定量测定用紫外分光光度仪(日本岛津 UV21600)测量样品在 260 nm 和 310 nm 的吸光值,然后根据公式计算 DNA 的浓度,计算公式为:

$$[DNA] = 50 \times (OD_{260} - OD_{310}) \text{ (ng/}\mu\text{L)}$$

根据公式计算 DNA 的浓度,计算公式为:

$$[DNA] = 50 \times (OD_{260} - OD_{310}) \text{ (ng/}\mu\text{L)}$$

(3) PCR 扩增

50 μ L PCR 体系: 10 $\times$ PCR buffer (含 Mg^{2+}) 5 μ L, 脱氧核苷酸(dNTP) 1 μ L, 上游引物 500nmol/L, 下游引物 500nmol/L, TaqDNA 聚合酶 2U, 模版 10ng, 最后加灭菌双蒸馏水至 50 μ L。

PCR 反应条件如下: 95 $^{\circ}$ C, 预变性 3min, 然后加入 Taq 酶, 35 个循环为 93 $^{\circ}$ C 1min, 48 $^{\circ}$ C 1min, 72 $^{\circ}$ C 1min 10s, 最后在 72 $^{\circ}$ C 下延伸 5min; 扩增后的 PCR 产物用 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测质量。

(4) 变形梯度凝胶电泳 (DGGE)

对于变性梯度从上到下是 30% 到 70%, 聚丙烯酰胺凝胶浓度是 8%; 在 200V 的电压下, 上样量为 13 μ L。其运行条件是: 0.5 $\times$ TAE 电泳缓冲液, 60 $^{\circ}$ C 电泳条件下, 220V, 12h, 电泳完毕后, 用 0.8 μ g/mL 的 SYBRGREEN I 染色 20 min, 再用去离子水漂洗。将染色后的凝胶用 Bio-RAD 的 GelDoc-2000 凝胶影像分析系统拍照; 用 QuantityOne 分析软件 (Bio-Rad) 分析样品电泳条带, 条带的密度由该软件自动算出。

1.3.2 土壤理化性质分析方法

土壤含水量采用烘干法测定; 土壤全氮采用半微量凯氏法, 全磷采用氢氟酸-高氯酸消煮-钼锑抗比色法, 全钾采用氢氟酸-高氯酸消煮-火焰光度法; 碱解氮用碱解扩散法; 速效磷用 0.5 mol/L $NaHCO_3$ 法;

速效钾用 NH_4OAc 浸提-火焰光度法; 缓效钾采用硝酸浸提-火焰光度法; 铵态氮和硝态氮分别采用氯化钾浸提-靛酚蓝比色法和酚二磺酸法测定。

2 结果与分析

2.1 不同施肥制度对甘蔗地土壤微生物群落结构的影响

2.1.1 不同施肥制度土壤微生物群落 DGGE 图谱分析

应用 DGGE 技术分离 16S rDNA V3 片段 PCR 产物, 可以看到分离为若干条带 (图 1), 但不同土壤样品的 16SrDNA V3 片段 PCR 产物出现的带型有一定差别, 从 16SrDNA V3 片段 PCR 产物的 DGGE 图谱进行初步统计发现: 在 6 种不同施肥处理下, DGGE 图谱中电泳条带数目、强度和迁移率均存在差异, 充分显示了微生物多样性在不同施肥处理间的差异。不同土壤间具有许多共同的条带, 说明这些供试土壤之间可能存在一些共有的细菌类型, 然而这些公共条带的亮度也不相同, 表明土壤微生物在丰度上有明显的改变。长期蔗叶覆盖的土壤条带数量相对其它土壤明显多, 说明微生物多样性最高, 而长期不施用化肥 (CK) 的土壤可见条带数量相对其它土壤较少, 说明其微生物多样性较低。

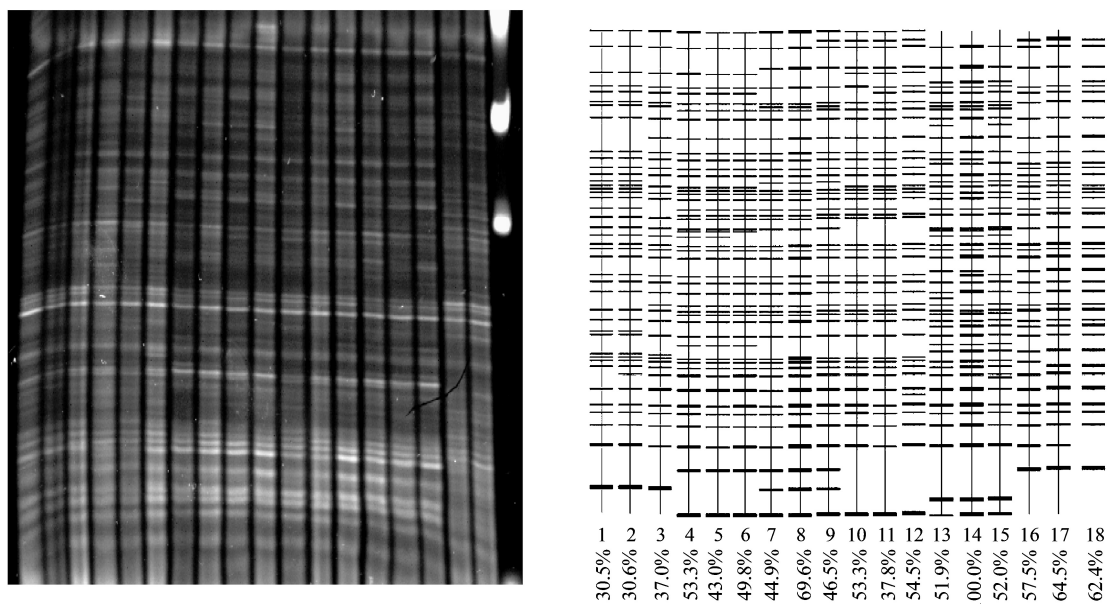


图 1 16S rDNA V3 片段 PCR 产物的 DGGE 图谱以及泳道比较图

Fig.1 DGGE profile of amplified 16S rDNA fragments from soil samples and land compare

1—3: CK; 4—6: 常规施肥; 7—9: 优化施肥; 10—12: 增量施氮; 13—15: 增量施磷; 16—18: 蔗叶覆盖

2.1.2 不同施肥制度土壤微生物群落相似性分析

聚类分析(UPGMA)表明(图2),6种土壤样品共分为两大族群,空白和普通NPK施肥处理为一种族群,增施氮肥、增施磷肥、优化施肥和蔗叶覆盖为另一种族群。说明增量施用化肥肥料可能会改变土壤的细菌群落结构,而长期普通化肥用量对土壤的细菌群落结构影响不大。从相似性来看,优化施肥和过量施入氮、磷养分处理土壤间的相似性比较大,达到了77%,各土壤之间的相似性都高于45.0%。

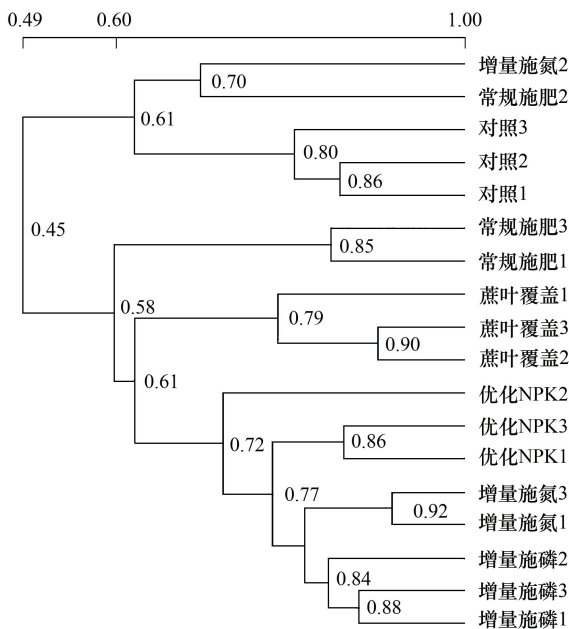


图2 不同土壤微生物群落聚类分析

Fig.2 DGGE Cluster analysis (UPGMA) of 16S rDNA profiles of bacterial communities in soil samples

2.2 不同施肥制度对甘蔗地土壤微生物多样性指数的影响

不同施肥处理对甘蔗长期试验地土壤微生物数量和种群均有一定影响,但未能发现明显规律。其中,优化施肥处理的 Simpson 指数数值最高,Shannon-Wiener 指数也显示出了较高优势。总体说明,优化施肥的养分分配比较为合理,已经足够植物吸收利用,可以增加根系分泌物,提供土壤微生物更多的能源物质,从而提高土壤微生物量^[6]。Simpson 指数与 Shannon 指数变化趋势相似,随着施肥量的增加,生物多样性指数是增加的趋势。

同时,蔗叶覆盖处理的土壤微生物多样性指数也较其他处理高,尤其是 Shannon-Wiener 指数(图3)。

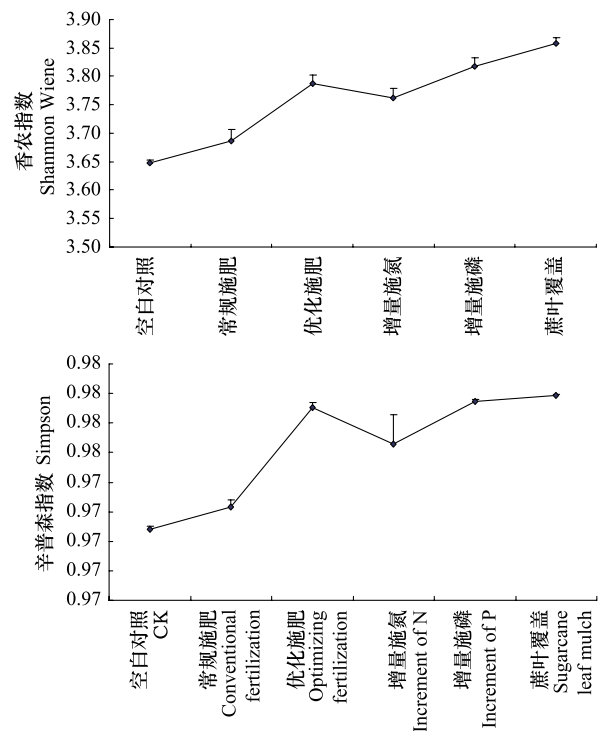


图3 不同施肥处理土壤微生物多样性指数(Shannon-Wiener, Simpson)

Fig.3 The Shannon-Wiener and Simpson indexes in long-term different fertilization systems

2.3 不同施肥制度甘蔗地土壤养分对土壤微生物群落结构的影响

2.3.1 土壤全量氮、磷、钾对微生物群落结构的影响

土壤全氮和全磷含量与微生物群落结构关系密切,全磷含量对土壤微生物群落无显著影响(图4)。说明,甘蔗地长期施用氮肥和钾肥可以促进微生物活性,优化施肥要注重氮、钾肥的稳定投入。

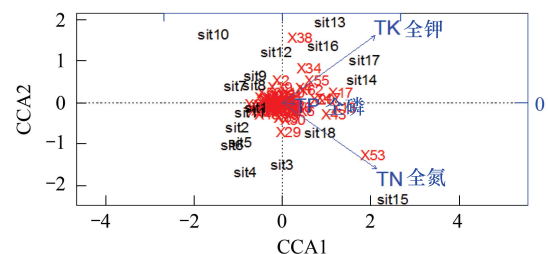


图4 土壤全量氮、磷、钾含量与微生物群落结构关系

Fig.4 The correlation between total N, P, K content and soil microbial structure

2.3.2 土壤速效养分对微生物群落结构的影响

从土壤养分与微生物群落结构相关性来看,速效钾>速效磷>碱解氮>缓效钾(图5)。有研究表明^[7],土壤中有效钾的变化与土壤中微生物群落的

变化有很大关系,造成在钾矿胁迫堆肥中含有大量的微生物,尤其是对钾矿有一定降解作用的硅酸盐细菌。微生物在土壤中的大量繁殖加速了土壤中钾素的循环,使土壤中有效钾的含量大量增加,而供钾效果最差的缓效钾与土壤微生物群落形成无显著相关。

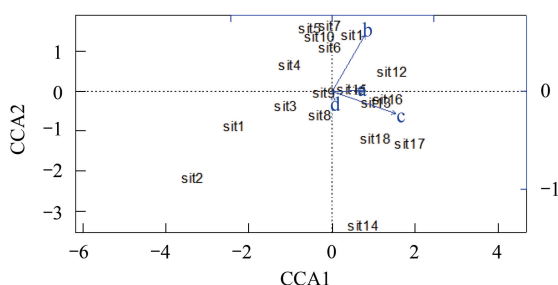


图5 土壤速效氮、磷、钾含量与微生物群落结构关系

Fig.5 The correlation between available N, P, K content and soil microbial structure

a. 速效氮; b. 速效磷; c. 速效钾; d. 缓效钾

2.3.3 土壤铵态氮、硝态氮和含水量对微生物群落结构的影响

土壤铵态氮对微生物群落结构有显著影响,可以促进微生物群落的发展。铵态氮的施入会降低土壤 pH 值,使得甘蔗根际微生物环境发生变化(图6)。

土壤有效性水分是微生物活性的重要资源,土壤水分能为细菌运动提供介质,土壤含水量降低到一定程度时,引起土壤水对微生物的生理胁迫^[8]。土壤水分的变化对活跃的微生物群落影响较大,水分含量过低会导致微生物数量会大幅度减少^[9-10]。

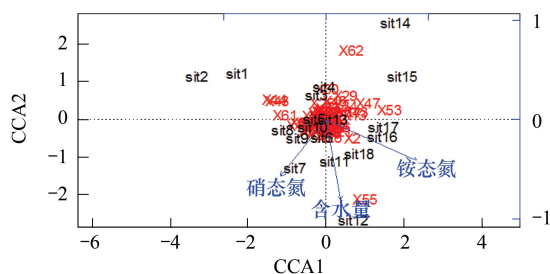


图6 土壤硝态氮、铵态氮、含水量与微生物群落结构关系

Fig.6 The correlation between the content of ammonium nitrogen, nitrate nitrogen, soil water and soil microbial structure

3 讨论

3.1 不同施肥制度对土壤微生物群落结构相似性的影响

从微生物群落相似性来看,优化施肥和过量施入 NPK 肥处理土壤间的相似性达到了 77%,不同施肥制度改变了土壤微生物群落结构,这与 Donnell^[11] 等和 Kinura^[12] 等报道相同。Gelsomino^[13] 对两种粉沙壤土和 15 种其它土壤的研究表明了相同的土壤具有更为相似的微生物结构。不同的长期施肥措施虽然没有影响土壤质地的变化,但会导致有机碳含量和其它理化性质的改变,从而改变土壤微生物群落结构。Marschner^[14] 等认为不同处理间土壤微生物群落结构的相似性或多样性变化主要是由于土壤微域生境的改变所致,这种改变影响了土壤生境对多种微生物的适宜性。

3.2 不同施肥制度对土壤微生物多样性的影响

推荐施肥处理的 Shannon-Wiener 指数数值最高,说明该施肥水平下土壤微生物种类最多。以该地块为研究对象的试验结果表明,优化施肥处理的氮、磷施用量是充足的,增加了土壤微生物肥力,甘蔗产量比常规施肥增产甘蔗 4.0%—7.78%。长期 NPK 化肥均衡施用,比非均衡施肥处理的农田增加了驱动 CNPS 养分循环的功能微生物的数量,同时增加了蔗糖酶、脲酶、酸性磷酸单酯酶等土壤酶的活性,使宿根蔗土壤酶活性趋于向高活性方向转化^[15-16]。蔗叶覆盖处理微生物多样性指数较高,这主要是由于蔗叶覆盖土壤中细菌的数量明显增加,蔗叶覆盖减少了土壤水分的蒸发,提高土壤温度,又有良好的保水性,有利于菌类的生长,刺激了细菌数量的增加^[17]。施用有机肥在不同程度上提高了微生物整体功能活性和丰富度,但降低了微生物群落的均匀度^[18]。有机肥的施用也改善了土壤微生态结构,促进了土壤有益微生物增长,提高了土壤微生物多样性和改善了土壤质量^[19]。由于蔗叶还田处理对土壤理化性状和微生物的影响仍需要较长时间才能全面深入的反映出来,因此,还需要继续长期定位试验来探讨不同施肥措施对微生物群落影响的机制^[20]。后续本试验也将继续通过高通量测序的先进方法,进一步系统阐明功能群落(如氨氧化微生物,解磷菌等)和优势种群的变化特征。

3.3 土壤养分对微生物群落结构的影响

本研究中土壤氮素和钾素对微生物群落结构影响较大,施磷使土壤磷浓度明显增加,但对土壤生物数量的影响却不明显,有研究结果表明,草地土壤中

磷素也不是影响土壤微生物的主要因素^[21]。施氮会引起土壤群落生物量的明显增加,土壤中的 N 元素被微生物吸收利用后,在体内用于合成具有重要生理作用的蛋白质、核苷酸等生物大分子^[22]。因此,土壤中 N 元素不足将严重限制土壤微生物的正常生长和活性。也有研究表明,氮肥的过量施入会影响甘蔗出苗情况,合理施用氮肥才是甘蔗高产的有效途径之一^[23]。不同氮肥形态对根际微生物具有显著影响^[15],氮肥的增加可引起根系分泌物的改变,铵态氮肥使根际微生物吸入胸腺嘧啶的量减少,根际 pH 值下降^[24]。土壤中硝态氮含量对土壤微生物群落的恢复起到了关键作用^[25],通常 N 源易利用大小顺序为:铵态氮>硝态氮>有机氮。

4 结论

4.1 不同施肥制度改变了土壤微生物群落结构

不同施肥处理对甘蔗地土壤微生物群落均有一定影响,不施肥甘蔗地土壤细菌条带数较少,微生物丰度较低,长期施肥后可提高土壤微生物多样性。常规施肥的微生物多样性低于优化施肥和增量施肥等处理。同一母质土壤存在一些共有的细菌类型,因不同施肥处理,影响土壤全氮、磷、钾和其他理化性质的改变,进而改变了微生物群落结构。

4.2 土壤氮、钾养分显著影响微生物群落结构

微生物群落结构与土壤总 N、总 K 密切相关,与全 P 无显著相关。同时,如果 N 源不足将严重限制土壤微生物的正常生长和活性,其中铵态氮是最易被利用的。因此,可在甘蔗地适当增加氮肥用量来提高微生物活性,从而提高土壤肥力和甘蔗产量。速效钾含量对土壤微生物群落形成的作用显著,微生物对钾的释放也会提供作物可吸收的有效钾养分。因此,可选择在甘蔗地适当增加钾肥用量用以提高微生物群落多样性,提供土壤生物肥力。

References:

- [1] Avidano L, Gamalero E, Cossa G P, Carraro E. Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicators. *Applied Soil Ecology*, 2005, 30(1): 21-33.
- [2] Liu E K, Zhao B Q, Li X Y, Jiang R B, So H B. Microbial C and N biomass and soil community analysis using DGGE of 16S rDNA V3 fragment PCR products under different long-term fertilization systems. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(3): 1079-1085.
- [3] Sun B J, Zhang X P, Jia S X. The effect of soil physical and chemical properties on soil microbial community in agro-ecosystem. *Soil and Crop*, 2013, 2(3): 138-144.
- [4] Fan X G, Jin K, Li Z J, Rong X N. Soil microbial diversity under different fertilization and tillage practices: A review. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 2010, 16(3): 744-751.
- [5] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterization of microbial communities in soil: a review. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(2): 111-129.
- [6] Xu Y C, Shen Q R, Ran W. Effects of zero-tillage and application of manure on soil microbial biomass C, N, and P after sixteen years of cropping. *Acta Pedologica Sinica*, 2002, 39(1): 89-96.
- [7] Wang M L, Zhang J D, Wang J H, Liu D S. Effects on soil microbial community structure and alteration of potassium by compost under potassium stress. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(addition): 121-123.
- [8] Williams M A. Response of microbial communities to water stress in irrigated and drought - prone tallgrass prairie soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(11): 2750-2757.
- [9] Killham K. *Soil Ecology*. Cambridge: Cambridge University Press, 1994.
- [10] Li N, Zhang L M, Zhang X P. The discussion of affecting factors on soil microbial community structure. *Natural Sciences Journal of Harbin Normal University*, 2012, 28(6): 70-74.
- [11] O'Donne A G, Seasman M, Macrae A, Waite I, Davies J T. Plants and fertilisers as drivers of change in microbial community structure and function in soils. *Plant and Soil*, 2001, 232(1/2): 135-145.
- [12] Kimura M, Shibagaki T, Nakajima Y, Matsuya K, Ikenaga M. Community structure of the microbiota in the floodwater of a Japanese paddy field estimated by restriction fragment length polymorphism and denaturing gradient gel electrophoresis pattern analyses. *Biology and Fertility of Soils*, 2002, 36(4): 306-312.
- [13] Gelsomino A, Keijzer-Wolters A C, Cacco G, van Elsas J D. Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis. *Journal of Microbiological Methods*, 1999, 38(1/2): 1-15.
- [14] Marschner P, Kandeler E, Marschner B. Structure and function of the soil microbial community in a long-term fertilizer experiment. *Soil Biology and Biochemistry*, 2003, 35(3): 453-461.
- [15] Xie R L, Tan H W, Zhou L Q, Huang J S, Huang M F, Huang X H, Dong W B, Wang L. Effect of n fertilizer and p fertilizer amount on fertilizer use efficiency in sugarcane yield. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 25(1): 198-202.
- [16] Zhang A J, Zhou M M, Lin W X. Effects of different cultivation patterns on microorganism of soil rhizosphere in sugarcane fields. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2013, 19(6): 1525-1532.

- [17] Chen T S, Gan L, Li S, Peng H, Yang R Z, Tan Y M. Analysis on soil microbial population in sugarcane rhizosphere soil of different areas of Guangxi. *Subtropical Agriculture Research*, 2011, 7(2): 129-131.
- [18] Xu H Q, Xiao R L, Zou D S, Song T Q, Luo W, Li S H. Effects of long-term fertilization on functional diversity of soil microbial community of the tea plantation. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, 27(8): 3355-3361.
- [19] Cai Y F, Liao Z W, Zhang J E, Kong W D, He C X. Effect of ecological organic fertilizer on tomato bacterial wilt and soil microbial diversities. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(3): 349-353.
- [20] Zhao L P. Effect of trash returning on physical and chemical properties of soil, ecological environment and yields of sugarcane. *Chinese Journal of Soil Science*, 2014, 45(2): 500-507.
- [21] Zhang Y D, Sun Z H, Shen Y X. Effect of fertilization on soil microorganism of deteriorated grassland in dry-hot valley region of Jinsha River. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2005, 19(2): 88-91.
- [22] Sarathchandra S U, Ghani A, Yeates G W, Yeates G, Cox N R. Effect of nitrogen and phosphate fertilisers on microbial and nematode diversity in pasture soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2001, 33(7/8): 953-964.
- [23] Xie J L, Wang W Z, Zhu Q Z, Liu X Y, Liang Q, Li Y J, Luo Y W, Liang T. Effects of nitrogen fertilizer application mode on sugarcane yield and soil nutrient change. *Journal of Southern Agriculture*, 2013, 44(4): 607-610.
- [24] Hu Y L, Wang S L, Yan S K. Research advances on the factors influencing the activity and community structure of soil microorganism. *Chinese Journal of Soil Science*, 2006, 37(1): 170-176.
- [25] Zhang S L, Li P. Effects of fertilization on soil microbial diversity. *Forest By-Product and Speciality in China*, 2011, (1): 95-98.
- [3] 孙冰洁, 张晓平, 贾淑霞. 农田土壤理化性质对土壤微生物群落的影响. *土壤与作物*, 2013, 2(3): 138-144.
- [4] 樊晓刚, 金轲, 李兆君, 荣向农. 不同施肥和耕作制度下土壤微生物多样性研究进展. *植物营养与肥料学报*, 2010, 16(3): 744-751.
- [6] 徐阳春, 沈其荣, 冉炜. 长期免耕与施用有机肥对土壤微生物生物量碳、氮、磷的影响. *土壤学报*, 2002, 39(1): 89-96.
- [7] 王梦亮, 张建栋, 王俊宏, 刘滇生. 钾矿胁迫堆肥对土壤中钾的降解及其微生物种群变化的影响. *农业环境科学学报*, 2006, 25(增刊): 121-123.
- [10] 李娜, 张利敏, 张雪萍. 土壤微生物群落结构影响因素的探讨. *哈尔滨师范大学自然科学学报*, 2012, 28(6): 70-74.
- [15] 谢如林, 谭宏伟, 周柳强, 黄金生, 黄美福, 黄献华, 董文斌, 王磊. 不同氮磷施用量对甘蔗产量及氮肥、磷肥利用率的影响. *西南农业学报*, 2012, 25(1): 198-202.
- [16] 张爱加, 周明明, 林文雄. 不同种植模式对甘蔗根际土壤生物学特性的影响. *植物营养与肥料学报*, 2013, 19(6): 1525-1532.
- [17] 陈廷速, 甘立, 李松, 彭虹, 杨荣仲, 谭裕模. 广西主要蔗区宿根蔗根际土壤微生物群落结构分析. *亚热带农业研究*, 2011, 7(2): 129-131.
- [18] 徐华勤, 肖润林, 邹冬生, 宋同清, 罗文, 李盛华. 长期施肥对茶园土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态学报*, 2007, 27(8): 3355-3361.
- [19] 蔡燕飞, 廖宗文, 章家恩, 孔维栋, 何成新. 生态有机肥对番茄青枯病及土壤微生物多样性的影响. *应用生态学报*, 2003, 14(3): 349-353.
- [20] 赵丽萍. 蔗叶还田对土壤理化性状、生态环境及甘蔗产量的影响. *土壤通报*, 2014, 45(2): 500-507.
- [21] 张彦东, 孙志虎, 沈有信. 施肥对金沙江干热河谷退化草地土壤微生物的影响. *水土保持学报*, 2005, 19(2): 88-91.
- [23] 谢金兰, 王维赞, 朱秋珍, 刘晓燕, 梁强, 李毅杰, 罗亚伟, 梁阔. 氮肥施用方式对甘蔗产量及土壤养分变化的影响. *南方农业学报*, 2013, 44(4): 607-610.
- [24] 胡亚林, 汪思龙, 颜绍祖. 影响土壤微生物活性与群落结构因素研究进展. *土壤通报*, 2006, 37(1): 170-176.
- [25] 张士亮, 李鹏. 施肥对土壤微生物多样性的影响. *中国林副特产*, 2011, (1): 95-98.

参考文献:

- [2] 刘恩科, 赵秉强, 李秀英, 姜瑞波, So H B. 不同施肥制度土壤微生物量碳氮变化及细菌群落 16S rDNA V3 片段产物的 DGGE 分析. *生态学报*, 2007, 27(3): 1079-1085.