

张 洋,李 青,梅丽娟,等. 施肥方式对黄瓜连作土壤微生物区系及多样性的动态影响[J]. 江苏农业科学,2017,45(14):231-235.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.14.061

施肥方式对黄瓜连作土壤微生物区系及多样性的动态影响

张 洋,李 青,梅丽娟,赵海涛,封 克,胡 建

(扬州大学环境科学与工程学院,江苏扬州 225127)

摘要:利用稀释平板计数和 PCR-变性梯度凝胶电泳(简称 PCR-DGGE)等方法,分析化肥(FT)、普通有机肥+化肥(FC)、微生物有机肥+化肥(FB)、不施肥(CK)等不同基肥处理条件下,连作 1、3、5、7 茬黄瓜土壤细菌、放线菌、真菌数量及多样性的动态变化。结果表明:(1)随着连作茬数的增加,根际土壤微生物数量呈逐渐增加趋势;(2)与对照相比,施用化肥处理总体上明显促进了连作土壤中放线菌、真菌数量的增加,而对细菌数量的增加有明显的抑制作用,施用普通有机肥+化肥对细菌、放线菌数量的增加均有不同程度的促进作用;(3)连作及不同施肥方式对土壤细菌群落结构均能产生不同程度的影响,除对照处理外,其他施肥处理土壤细菌多样性及丰富度随着连作茬数的增加呈下降趋势,相对于化肥及普通有机肥+化肥处理,微生物有机肥+化肥处理对维持连作过程细菌多样性及丰富度具有明显作用;(4)连作均促进了 FT、FB、FC 等 3 种施肥处理根际土壤真菌多样性及丰富度的上升,但与对照相比上升幅度较小,在连作 7 茬后土壤真菌多样性及丰富度表现为 FB>FC>FT。

关键词:施肥方式;黄瓜连作;细菌;真菌;多样性;PCR-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)

中图分类号: S154.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)14-0231-05

随着我国现代农业的不断发展,设施栽培面积逐年增加并呈规模化趋势。在市场经济驱动下的商品化设施蔬菜生产中,连作障碍普遍发生。黄瓜作为设施蔬菜的主要品种之一,近年来其连作障碍的发生机制及防治受到学者们的广泛关注。已有研究表明,自毒作用、土壤理化性质劣化、土壤微生物区系失衡是黄瓜连作障碍发生的主要原因^[1-2],并且认为土壤灭菌^[3]、嫁接^[4]、合理轮作^[5]、施用有机肥及微生物肥料^[6-7]等措施可有效防止黄瓜连作障碍的发生。其中施用有机肥在平衡矿质营养、提高作物品质和产量的同时,可提高土

壤微生物活性,有利于土壤健康微生物区系的形成^[8-10]。作为一种方便、低成本的农艺措施,合理施用有机肥对黄瓜连作障碍的预防与控制具有重要的实践意义。目前有关施肥方式对黄瓜连作土壤微生物区系影响的研究较少,关于不同施肥方式对黄瓜连作过程土壤微生物区系及多样性动态变化的研究更是鲜有报道^[10-12]。本研究基于无机肥(化肥)、有机肥、微生物有机肥,设置不同的施肥处理,跟踪分析不同施肥条件下大棚黄瓜连作过程中土壤微生物区系及多样性的动态变化,以期对黄瓜连作土壤微生物区系的维持及连作障碍的预防及缓解提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验于 2011 年 7 月至 2015 年 5 月在江苏省扬州市农作物品种区域试验站大棚内进行。试验所用土壤为沙质壤土,已经连续 4 年种植黄瓜,每年种植 2 茬,共连作 7 茬。试验共设 4 个处理,每个处理 3 次重复,每个处理小区面积为 27 m²,小区间隔 25 cm,并采用南北向条垄方式种植,每季收获后将

收稿日期:2016-03-30

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201103004);江苏省苏州市科技支撑计划(编号:SNG201307);江苏省常熟市科技计划(编号:CS201408)。

作者简介:张 洋(1991—),男,江苏盐城人,硕士,主要从事微生物资源农业利用研究。E-mail:1426288286@qq.com。

通信作者:胡 健,博士,教授,主要从事资源与环境方面的教学与科研工作。E-mail:huj@yzu.edu.cn。

术及效果[J]. 中国农业大学学报,1997,2(增刊1):108-111.

[18]张 静,周雪飞,钱雅洁. 过氧化钙在环境修复应用中的研究进展[J]. 环境化学,2014,33(2):321-326.

[19]葛 飞,李 权,刘海宁,等. 过氧化钙的制备与应用研究进展[J]. 无机盐工业,2010,42(3):1-4.

[20]周彦波,王英秀,周振华,等. 过氧化钙缓释氧剂的制备及其释氧特性研究[J]. 中国给水排水,2012,28(7):64-67.

[21]Wei X M,He R,Chen M,et al. Conversion of methane-derived Carbon and microbial community in enrichment cultures in response to O₂ availability[J]. Environmental Science and Pollution

Research,2016,23(8):7517-7528.

[22]Dilly O. Microbial respiratory quotient during basal metabolism and after glucose amendment in soils and litter[J]. Soil Biology and Biochemistry,2001,33(1):117-127.

[23]董稳军,徐培智,张仁陟,等. 土壤改良剂对冷浸田土壤特性和水稻群体质量的影响[J]. 中国生态农业学报,2013,21(7):810-816.

[24]郭建红,潘剑君,葛序娟,等. 不同农业利用方式对土壤有机碳矿化及其与有机碳组分的关系[J]. 水土保持学报,2015,29(6):178-183.

垄拉平、施肥后再起垄,并逐茬沿用。在盛果期每个小区追施 1 次 2.024 kg 的复合肥,具体处理和代号见表 1。

表 1 不同处理方式及编号

代号	普通有机肥 用量(kg)	化肥(复合肥) 用量(kg)	微生物有机肥 用量(kg)
CK			
FT		2.024	
FC	8.096	1.619	
FB		1.619	8.096

注:肥料用量为每个小区的。

1.2 试验材料

化肥(复合肥,即无机肥)为市售,其中 N:P₂O₅:K₂O 为 15:13:12;普通有机肥为发酵鸡粪;微生物有机肥由南京农业大学提供。供试土壤基本理化性质:总氮含量 1.81 g/kg,总磷含量 0.87 g/kg,速效磷含量 43.66 mg/kg,速效钾含量 155.81 mg/kg,有机质含量 26.96 g/kg,总盐含量 5.67 g/kg,电导率为 806.50 μS/cm,pH 值为 7.80。

1.3 土壤样品采集与处理

于每茬黄瓜成熟期对不同处理及各重复小区采用 5 点法采集黄瓜根际土壤样品,采用 4 分法混匀后置于 4、-80℃ 冰箱中保存。

1.4 土样微生物数量测定

采用稀释平板法^[13]。分别用牛肉膏蛋白胨培养基、马丁氏孟加拉红培养基、高氏 1 号培养基对土壤细菌、霉菌、放线菌数量进行测定。微生物数量以 1 g 干土中的菌落数表示。

1.5 土壤总 DNA 的提取

采用试剂盒(FastDNA® SPIN Kit,MP Biomedicals,美国)提取各土壤样品微生物总 DNA,经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后,-20℃ 保存。

1.6 土样 DNA 的 PCR 扩增

分别采用细菌 16S 通用引物 P2/P3 + GC^[14]和真菌 28S 通用引物 U1/U2 + GC^[15]对土壤微生物总 DNA 进行 PCR 扩增,引物具体信息如表 2 所示。细菌 PCR 扩增反应程序为 94℃ 2 min;94℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 1 min,共 35 个循环;72℃ 10 min。真菌 PCR 扩增反应程序为 94℃ 3 min;94℃ 1 min,55℃ 40 s,72℃ 1 min,共 35 个循环;72℃ 10 min。

细菌、真菌 PCR 扩增体系为 Taq DNA 聚合酶(大连 TaKaRa 公司)0.25 U,10× Buffer 5 μL,dNTP(2.5 mmol/反应,大连 TaKaRa 公司)4 μL,引物各 1 μL(20 μmol/L),牛血清白蛋白(BSA)5 μL(10 mg/mL),模板 DNA 2 μL,无菌水补足至 50 μL。

扩增产物均经 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检验后,于 4℃ 冰箱中保存。

表 2 PCR 扩增引物

目的序列	引物	引物序列(5'→3')	片段长度 (bp)
细菌 16S	P2	ATTACCGCGGCT GCTGG	200
	P3	CCTACGGGAGGCAGCAG	
真菌 28S	U1	GTGAAATTGTTGAAAGGAA	260
	U2	GACTCCTTGGTCCGTGTT	
GC 夹序列:CGCCCGCCGCGCGCGCGGGCGGGCGGGGCACGG-GGGG			

1.7 PCR-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)

采用 Bio-Rad 公司的 Dcode™ 基因突变检测系统对 PCR 产物进行电泳分离。细菌及真菌电泳条件均为 8% 聚丙烯酰胺凝胶,变性梯度为 20%~60%,电泳缓冲液为 1×TAE,130 V 电压,60℃ 电泳 720 min。电泳结束后用 EB 染色 30 min,无菌水褪染 10 min,最后用 Bio-Rad 凝胶成像分析系统观察结果并拍照。

1.8 数据处理

采用 Quantity One 4.6(Bio-Rad)软件对 PCR-DGGE 图谱进行分析,电泳条带的数量代表细菌和真菌的群落丰富度(S);通过 DGGE 图谱的数字化结果分别计算土壤样品中细菌和真菌群落的多样性指数(H),Shannon-Weaver 多样性指数 $H = -\sum_{i=1}^s \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$ 。式中 n_i 为每个峰的面积,N 为所有峰的面积和,s 为条带数。对样品采用不加权平均连锁聚类(UPGMA)的处理方法进行簇群归类。

2 结果与分析

2.1 不同施肥处理对黄瓜连作土壤微生物区系的影响

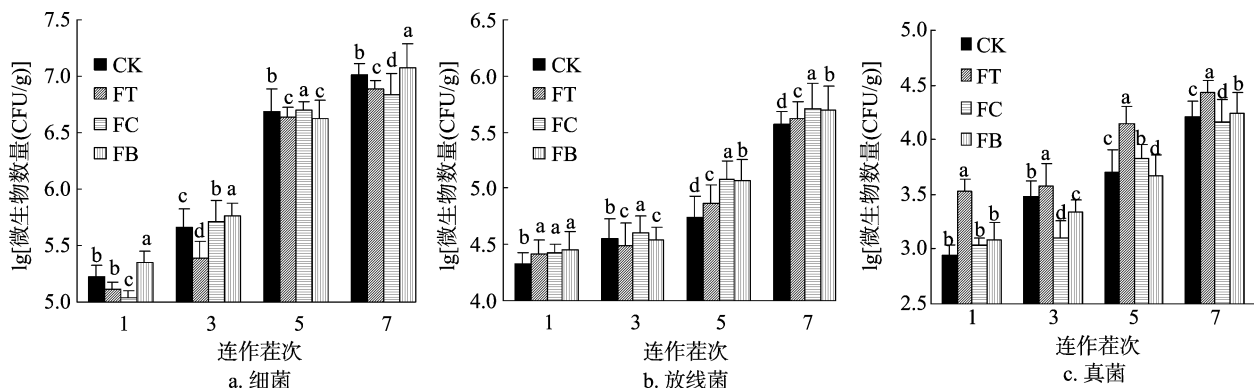
土壤细菌、放线菌、真菌是土壤微生物的主要组成部分,其数量是衡量土壤中微生物区系健康状况的 1 个重要指标。由图 1-a 可知,随着连作茬数的增加,各施肥处理根际土壤细菌数量均呈增加趋势;微生物有机肥+化肥处理(FB)根际土壤细菌数量除连作第 5 茬外其他茬均显著高于其他处理;化肥处理(FT)细菌数在黄瓜连作各阶段均低于对照,且从连作第 3 茬开始差异达显著水平。上述结果说明,随着连作茬数的增加,各肥料处理根际土壤细菌数量均持续增加,但相对于同茬对照处理,化肥处理对细菌数量有明显的抑制作用,而有机肥+化肥处理(FC、FB)尤其是微生物有机肥+化肥处理(FB)对细菌增加有明显的促进作用。

由图 1-b 可知,随着连作茬数的增加,各施肥处理根际土壤放线菌数量均呈增加趋势;与 CK 处理相比,FT 处理的放线菌数量除连作第 3 茬外其他茬均显著高于 CK 处理;FB 处理的放线菌数量除连作第 3 茬外均显著高于 CK 处理,且随连作茬数的增加,其增幅逐渐明显高于 FT 处理;FC 处理除连作第 1 茬外根际土壤放线菌数量均高于其他处理。上述结果表明,随着连作茬数的增加,各肥料处理根际土壤放线菌数量均持续增加,与对照相比,化肥、普通有机肥+化肥、微生物肥料+化肥处理对放线菌数量增加均有不同程度的促进作用,其中,普通生物有机肥+化肥的促进作用在各茬次均比较明显。

由图 1-c 可知,随着连作茬数的增加,各施肥处理根际土壤真菌数量均呈增加趋势;相对于 CK 处理,各连作茬次 FT 处理除连作第 3 茬外其他茬土壤真菌数量均明显提高,而 FC、FB 处理真菌数量在不同茬次表现为高低交替状态,其中 FC 处理根际土壤真菌数量均除连作第 1 茬外显著高于其他处理。上述结果表明,随着连作茬数的增加,各肥料处理根际土壤真菌数量均持续增加。

2.2 不同施肥处理对黄瓜连作土壤细菌群落结构及多样性的影响

依据不同施肥处理连作第 1、7 茬土壤细菌 PCR-DGGE

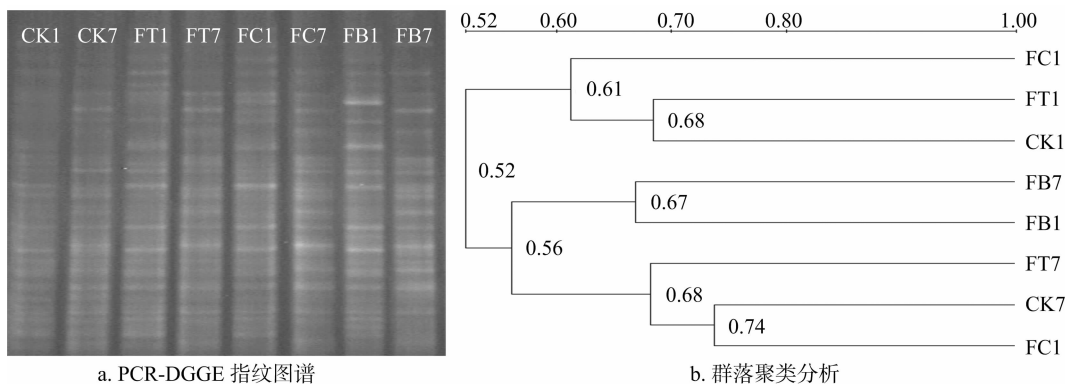


不同小写字母表示同茬下不同处理间在0.05水平上差异显著

图1 不同施肥处理根际土壤微生物数量的动态变化

指纹图谱(图2-a),进行群落结构聚类分析(图2-b)。结果显示,相对于CK,不同施肥处理对同茬土壤细菌群落结构的影响存在差异,连作前期表现为FB>FC>FT,连作7茬后

表现为FB>FT>FC;除FB处理外,连作过程各施肥处理土壤细菌群落结构均发生变化;FB处理对连作前期土壤细菌群落结构有较大影响,并且在连作7茬后未发生明显变化。



a. PCR-DGGE 指纹图谱

b. 群落聚类分析

处理代号后面字表示连作茬次。下图同

图2 不同施肥处理下连作黄瓜土壤细菌的PCR-DGGE指纹图谱及群落聚类分析

进一步对上述处理土壤细菌遗传多样性指数进行计算。表3表明,与CK相比,有机、无机肥处理均能在短期内促进根际土壤细菌多样性及丰富度的提高,并且这种作用在不同肥料处理间存在差异;连作7茬后不同肥料处理土壤细菌多样性及丰富度均有不同程度下降甚至低于同期CK处理,FB处理下降程度相对小于FT及FC处理。

表3 不同施肥处理下连作黄瓜土壤中细菌群落遗传多样性指数

处理	遗传多样性指数		丰富度		均匀度指数	
	连作第1茬	连作第7茬	连作第1茬	连作第7茬	连作第1茬	连作第7茬
CK	3.03	3.22	24.00	25.00	0.95	1.00
FT	3.10	3.06	25.00	23.00	0.96	0.98
FC	3.20	3.01	29.00	22.00	0.95	0.97
FB	3.23	3.13	28.00	25.00	0.97	0.97

上述结果说明,连作导致土壤细菌群落结构发生明显变化,各施肥处理对连作不同时期土壤细菌群落结构产生不同程度的影响;从细菌多样性及丰富度上看,连作后对照处理呈增加趋势,而其他施肥处理均呈相反趋势,且连作7茬后土壤细菌多样性及丰富度呈现FB>FT>FC。

2.3 不同施肥处理对黄瓜连作土壤中真菌群落结构及多样性的影响

依据不同施肥处理第1、7茬土壤真菌PCR-DGGE指纹

图谱(图3-a),进行群落结构聚类分析(图3-b)。结果显示,相对于CK处理,不同施肥处理对同茬土壤真菌群落结构的影响存在差异,连作前期FT、FB处理对真菌群落结构的影响比FC处理更大,连作7茬后表现为FB>FT>FC;连作导致各施肥处理土壤真菌群落结构均发生变化;FT、FB处理对连作前期土壤真菌群落结构有较大的影响,但在连作7茬后对真菌群落结构的影响变小(图3)。

进一步对上述处理土壤真菌遗传多样性指数进行计算。结果表明,与CK处理相比,FC、FB处理均能在短期内促进根际土壤真菌多样性及丰富度的提高,而FT处理降低了根际土壤真菌的多样性及丰富度;连作7茬后不同肥料处理土壤真菌多样性及丰富度均有不同程度上升,但是均不高于同茬CK处理,FC处理上升程度相对小于FT及FB处理(表4)。

上述结果说明,连作导致土壤真菌群落结构发生明显变化,各施肥处理对连作不同时期土壤真菌群落结构有不同程度的影响。总体上,连作促进了施肥处理根际土壤真菌多样性及丰富度的上升,但与对照相比上升幅度较小;在连作7茬后土壤真菌多样性及丰富度表现为FB>FC>FT。

3 结论与讨论

周宝利等认为,随着连作年限的增加,根际土壤中细菌和放线菌数量急剧下降,真菌数量显著上升^[16-17]。马云华等研

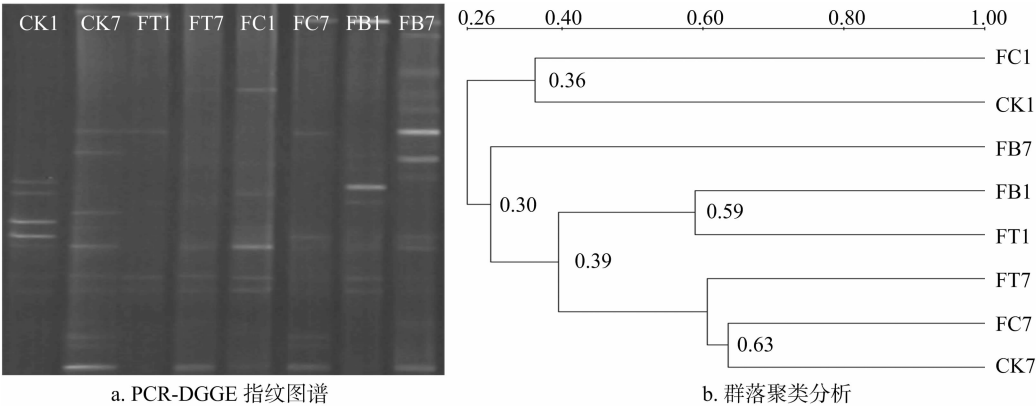


图3 不同施肥处理下连作黄瓜土壤真菌的 PCR-DGGE 指纹图谱及群落聚类分析

表 4 不同施肥处理下连作黄瓜土壤真菌群落遗传多样性指数

处理	遗传多样性指数		丰富度		均匀度指数	
	第 1 茬	第 7 茬	第 1 茬	第 7 茬	第 1 茬	第 7 茬
CK	1.71	2.41	7.00	14.00	0.88	0.91
FT	1.41	1.84	5.00	8.00	0.87	0.89
FC	2.04	2.12	8.00	9.00	0.96	0.98
FB	1.84	2.37	10.00	14.00	0.80	0.90

究发现,连作黄瓜土壤细菌和放线菌数量在 5 年前明显上升,5 年后急剧下降,呈倒马鞍形变化^[2];真菌数量随连作年限的增加而增长,赵萌等的研究也有相似结果^[18]。本试验结果表明,连作 4 年的黄瓜根际土壤中细菌、放线菌、真菌的数量均呈增加趋势。这与马云华等的研究结果^[2,18]一致,而与周宝利等的研究结果^[16-17]并不完全一致,其原因可能是由于种植作物种类不同、土壤基本性状不同^[19]。与对照相比,单施复合肥使根际土壤真菌、放线菌的数量呈增加的趋势,而细菌的数量呈下降趋势;有机-无机肥的配施使根际土壤细菌、放线菌的数量总体呈增加趋势,而真菌的数量多数呈下降趋势,与单施化肥相比下降更明显。这与其他学者的研究结果^[20]相似,说明相比化肥的单施,有机-无机肥的配施可以有效地降低黄瓜连作土壤中真菌与细菌比率,为作物提供更加良好的生长环境^[21]。

土壤微生物群落结构的研究结果表明,不施基肥条件下(CK),连作增加了细菌及真菌的多样性,马宁宁等通过 PCR-DGGE 技术对设施番茄连作土壤微生物群落结构及多样性的研究也证实了这一结果^[21];而吴凤芝等通过随机扩增多态性 DNA (RAPD) 技术研究设施黄瓜连作对微生物群落多样性的影响时发现,随着连作年限的增加,土壤细菌和真菌多样性及丰富度处于下降趋势^[22]。本试验条件下得到的结果与吴凤芝等的结果^[22]不一致,可能与以上 2 种分子生物学技术有关,当然土壤质地、肥力以及施肥等均会影响结果,有关方面还需进一步研究。

夏昕等认为,与对照相比,在红壤性水稻土壤中长期施用化肥降低了土壤细菌多样性,而长期施用无机-有机猪粪肥增加了细菌的多样性^[23]。夏昕等对长期施肥条件下菜田土壤真菌多样性研究表明,与对照相比,无机-有机马粪肥的配施增加了真菌的多样性,而无机肥单施降低了真菌的多样性^[24]。魏巍等在研究长期施肥对黑土农田土壤微生物群落的影响时发现,长期施用化肥降低了细菌和真菌的多样性,化

肥配施有机猪粪肥降低了细菌多样性,却增加了真菌的多样性^[25]。因为土壤类型是影响细菌的最主要因素,而土壤管理与施肥是影响真菌的最主要因素,上述试验的供试土壤基础养分对比显示,魏巍等试验用的土壤为典型黑土,有机质含量明显高于其他 2 种土壤,所以结果的差异可能与供试土壤的养分状况有关^[25-26]。而本试验结果显示,连作条件下各施肥处理的土壤细菌与真菌多样性均低于 CK 处理,但无机肥配施微生物有机肥条件下土壤细菌和真菌的多样性与 CK 处理并没有显著差异。本试验供试土壤基础养分状况与魏巍等的试验土壤最为接近,所以细菌多样性与魏巍等的研究结果趋于相似,而施肥种类的不同可能导致了两者在真菌变化趋势上的差异^[25]。

通过比较不同施肥处理对黄瓜连作土壤微生物区系以及细菌和真菌群落结构的影响可以看出,较其他施肥处理而言,微生物有机肥的连续施用能够使连作土壤中细菌多样性更为丰富,群落物种分布更为均匀,群落结构更为稳定;而对于真菌,无机-有机肥配施的 2 种处理都能够较好地稳定真菌的群落结构,但是化肥-微生物有机肥配施较化肥-普通有机肥配施能更好地提高土壤中真菌的多样性及丰富度。土壤微生物结构越稳定,多样性越丰富,物种分布越均匀,对病原菌拮抗能力就越强^[27]。

综上所述,微生物有机肥与化肥(复合肥)的配施更有利于根际健康土壤细菌、真菌群落结构的构建。PCR-DGGE 技术虽然具有重现性强、可靠性高、速度快等优点,但是它只能对微生物群落中数量大于 1% 的优势种群进行分析^[28],而且不同的 DGGE 试验条件也可能导致出现不同的指纹图谱,这对系统发育分析均有一定的影响。因此,仍需进一步应用高通量测序技术,更全面、详细地了解不同施肥处理对连作土壤中细菌、真菌的多样性及丰富度的影响。

参考文献:

[1] 孙多菊. 黄瓜连作障碍综合防控技术[J]. 中国园艺文摘,2013, 29(3):168-171.
[2] 马云华,魏 讯,王秀峰. 日光温室连作黄瓜根区微生物区系及酶活性的变化[J]. 应用生态学报,2004,15(6):1005-1008.
[3] 吴凤芝,王 伟,栾非时. 土壤灭菌对大棚连作黄瓜生长发育影响[J]. 北方园艺,1999(5):49.
[4] 吕卫光,张春兰,袁 飞,等. 嫁接减轻设施黄瓜连作障碍机制初

- 探[J]. 华北农学报,2000,15(增刊1):153-156.
- [5] 吴燕飞,张雪艳,李元,等. 轮作对黄瓜连作土壤环境和产量的影响[J]. 园艺学报,2008,35(3):357-362.
- [6] 吕卫光,张春兰,袁飞,等. 有机肥减轻连作黄瓜自毒作用的机制[J]. 上海农业学报,2002,18(2):52-56.
- [7] 张春兰,吕卫光,袁飞,等. 生物有机肥减轻设施栽培黄瓜连作障碍的研究[J]. 中国农学通报,1999,15(6):67-69.
- [8] 武雪萍,朱凯在,刘国顺,等. 有机无机肥配施对烟叶化学成分和品质的影响[J]. 土壤肥料,2005(1):10-13.
- [9] 李晓磊,李井会,宋述尧,等. 秸秆有机肥改善设施黄瓜连作土壤微生物区系[J]. 长春大学学报,2006,16(6):121-122.
- [10] 苏立涛,沈向,郝云红,等. 有机物料对连作平邑甜茶幼苗生长及微生态环境的影响[J]. 中国农学通报,2010,26(20):187-192.
- [11] 刘灵霞,王金成,刘建新,等. 生物发酵肥对温室黄瓜土壤微生物组成的影响[J]. 水土保持通报,2012,32(6):84-88.
- [12] 文景芝,李刚,张齐凤,等. 施肥对大棚黄瓜根际微生物群落结构和数量消长的影响[J]. 中国蔬菜,2007(12):11-14.
- [13] 赵斌,何绍江. 微生物学实验[M]. 北京:科学出版社,2003,69-75.
- [14] Muyzer G, de Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction - amplified genes coding for 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(3):695-700.
- [15] Sandhu G S, Kline B C, Stockman L, et al. Molecular probes for diagnosis of fungal infections[J]. Journal of Clinical Microbiology, 1995, 33(11):2913-2919.
- [16] 周宝利,徐妍,尹玉玲,等. 不同连作年限土壤对茄子土壤生物学活性的影响及其嫁接调节[J]. 生态学杂志,2010,29(2):290-294.
- [17] 杜茜,卢迪,马琨. 马铃薯连作对土壤微生物群落结构和功能的影响[J]. 生态环境学报,2012,21(7):1252-1256.
- [18] 赵萌,李敏,王森焱,等. 西瓜连作对土壤主要微生物类群和土壤酶活性的影响[J]. 微生物学通报,2008,35(8):1251-1254.
- [19] 赵辉,赵铭钦,程玉渊,等. 土壤微生物影响因子研究综述[J]. 江西农业学报,2009,21(12):52-56.
- [20] 朱盼盼,张显,任自力. 不同施肥处理对连作西瓜土壤微生物区系的影响[J]. 北方园艺,2013(11):171-174.
- [21] 马宁宁,李天来. 设施番茄长期连作土壤微生物群落结构及多样性分析[J]. 园艺学报,2013,40(2):255-264.
- [22] 吴凤芝,王学征. 设施黄瓜连作和轮作中土壤微生物群落多样性的变化及其与产量品质的关系[J]. 中国农业科学,2007,40(10):2274-2280.
- [23] 夏昕,石坤,黄欠如,等. 长期不同施肥条件下红壤性水稻土壤微生物群落结构的变化[J]. 土壤学报,2015,52(3):697-705.
- [24] 夏昕,石坤,黄欠如,等. 长期施肥条件下菜田土壤微生物特征变化[J]. 生态学杂志,2009,28(7):1288-1291.
- [25] 魏巍,许艳丽,朱琳,等. 长期施肥对黑土农田土壤微生物群落的影响[J]. 土壤学报,2013,50(2):372-380.
- [26] Wakelin S A, Macdonald L M, Rogers S L, et al. Habitat selective factors influencing the structural composition and functional capacity of microbial communities in agricultural soils[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2008, 40(3):803-813.
- [27] 高玉峰,贺字典. 影响土壤真菌多样性的土壤因素[J]. 中国农学通报,2010,26(10):177-181.
- [28] Muyzer G, Dewaal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction - amplified genes encoding for 16S rRNA[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1993, 59(3):695-700.
- (上接第 226 页)
- [22] 刘京,常庆瑞,李岗,等. 连续不同施肥对土壤团聚性影响的研究[J]. 水土保持通报,2000,20(4):24-26.
- [23] 陈涛,郝晓晖,杜丽君,等. 长期施肥对水稻土土壤有机碳矿化的影响[J]. 应用生态学报,2008,19(7):1494-1500.
- [24] 王朔林,杨艳菊,王改兰,等. 长期施肥对栗褐土有机碳矿化的影响[J]. 植物营养与肥料学报,2016,22(5):1278-1285.
- [25] Elliott E T, Cambardella C A. Physical separation of soil organic matter[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 1991, 34(1/2/3/4):407-419.
- [26] Puget P, Chenu C, Balesdent J. Dynamics of soil organic matter associated with particle - size fractions of water - stable aggregates[J]. European Journal of Soil Science, 2000, 51(4):595-605.
- [27] Sato A, Seto M. Relationship between rate of carbon dioxide evolution, microbial biomass carbon, and amount of dissolved organic carbon as affected by temperature and water content of a forest and an arable soil[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 1999, 2(19/20):2593-2605.