

DOI: 10.5846/stxb201906201308

王小玲, 马琨, 伏云珍, 安媛媛, 汪志琴. 冬小麦免耕覆盖与生物有机肥施用对土壤细菌群落的影响. 生态学报, 2020, 40(19): 7030-7043.

Wang X L, Ma K, Fu Y Z, An Y Y, Wang Z Q. Effects of no-tillage mulching and bioorganic fertilizer on soil bacterial community in winter wheat. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(19): 7030-7043.

# 冬小麦免耕覆盖与生物有机肥施用对土壤细菌群落的影响

王小玲<sup>1,2,3</sup>, 马 琨<sup>1,2,\*</sup>, 伏云珍<sup>1</sup>, 安媛媛<sup>2</sup>, 汪志琴<sup>1,2</sup>

1 宁夏大学西北土地退化与生态恢复国家重点实验室培育基地, 银川 750021

2 宁夏大学农学院, 银川 750021

3 中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085

**摘要:**为揭示保护性耕作措施对土壤细菌群落结构及多样性的影响规律,选取免耕覆盖+施生物有机肥(NF)、免耕覆盖+不施生物有机肥(NC)、传统耕作不覆盖+施生物有机肥(TF)和传统耕作不覆盖+不施生物有机肥(TC)4个处理,以农田土壤生态系统为研究对象,利用16S rDNA基因 Illumina MiSeq高通量测序技术,研究了冬小麦免耕覆盖与生物有机肥施用对土壤细菌群落结构及多样性的影响。结果表明:1)与TC处理相比,NF处理显著降低了土壤pH( $P=0.03^*$ ),增加了土壤全氮( $P=0.002^{**}$ )、总碳含量( $P=0.0001^{**}$ ,  $P=0.007^{**}$ ),影响了土壤碳/氮比分配( $P=0.003^{**}$ )。2)从16个土壤样本中共获得细菌27门、86纲、125目、213科和315属,其中放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和变形菌门(Proteobacteria)为优势菌门,其相对丰度约占总丰度的82.40%。3)与传统耕作施生物有机肥处理相比,免耕覆盖施生物有机肥增加了土壤细菌的多样性指数(Simpson指数和Shannon指数),降低了ACE丰富度指数。4)NMDS及多元分析结果表明:土壤细菌群落丰富度指数、多样性指数均与土壤pH、速效磷和土壤碳/氮比成正相关,与土壤微生物生物量碳(SMBC)和土壤总碳成负相关;其中,土壤pH和SMBC分别是影响酸杆菌门和放线菌门的主要驱动因子。施生物有机肥和耕作措施两种因素均对土壤细菌群落结构组成产生了影响,但以施用生物有机肥对土壤细菌群落多样性的影响较明显;此外,施用生物有机肥在传统耕作和免耕覆盖两种情况下均增加了冬小麦产量,但以传统耕作施生物有机肥处理最明显。因此,传统耕作配施生物有机肥是宁夏南部山区改善土壤理化性质、增加土壤细菌群落丰富度和多样性的重要途径。

**关键词:**免耕覆盖;生物有机肥;高通量测序;细菌群落;多样性和丰富度

## Effects of no-tillage mulching and bioorganic fertilizer on soil bacterial community in winter wheat

WANG Xiaoling<sup>1,2,3</sup>, MA Kun<sup>1,2,\*</sup>, FU Yunzhen<sup>1</sup>, AN Yuanyuan<sup>2</sup>, WANG Zhiqin<sup>1,2</sup>

1 Breeding Base for State Key Laboratory of Land Degradation and Ecological Restoration in Northwest China, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

2 College of Agronomy, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

3 Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China

**Abstract:** To examine the impact of conservation tillage on the structure and diversity of soil bacterial communities, we conducted a three year-experiment of winter wheat in mountain areas of southern Ningxia. The experiment included four treatments: no-tillage mulching and bioorganic fertilizer (NF), no-tillage, mulching and no bioorganic fertilizer (NC), conventional tillage without mulching and bioorganic fertilizer (TF), and conventional tillage without mulching and no

**基金项目:**国家自然科学基金项目(31660132, 31160104);宁夏高等学校一流学科建设项目(NXYLXK2017B06);宁夏重点研发计划项目(2018BBF03002)

收稿日期:2019-06-20; 修订日期:2020-04-21

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: makun0411@163.com

organic bioorganic fertilizer (TC). By using high-throughput sequencing based on Miseq platform, the V3 and V4 regions of 16S rRNA genes of soil bacteria were analyzed to explore the structure and the diversity of soil bacterial community. The results showed that soil pH of NF treatment significantly decreased ( $P=0.03^*$ ), total nitrogen ( $P=0.002^{**}$ ) and total carbon increased ( $P=0.0001^{**}$ ) compared to TC. NF treatment also significantly influenced ratio of total carbon to total nitrogen ( $P=0.007^{**}$ ). From 16 soil samples, 13093 bacterial operational taxonomic units (OTUs) from the total of 196423 sequences were obtained. About 27 Phylum, 86 classes, 125 orders, 213 families, and 315 genera of bacteria were identified. Actinobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi and Proteobacteria were the dominant phylum of soil bacteria, and the relative abundance of these phylum reached to the 82.40% of the total relative abundance based on the phylum level. Compared to TF, no-tillage mulching and bioorganic fertilizer (NE) increased soil bacterial diversity index (Simpson index and Shannon index), and decreased richness index (ACE index). (NMDS) and multivariate analysis (PCA) showed that the soil bacterial community richness index (ACE and Chao1) and diversity index (Simpson and Shannon) positively related to soil pH, available phosphorus and soil carbon-nitrogen ratio while negatively related to soil microbial biomass carbon (SMBC) and total soil carbon. Soil pH and SMBC were the main driving factors that affected acidobacteria and actinomycetes, respectively. Although both bioorganic fertilizer and tillage were important factors that affected the composition of the soil bacterial community, The effect of bioorganic fertilizer on diversity of the soil bacterial community was greater than tillage did. In addition, bioorganic fertilizer increased the yield of winter wheat under both traditional tillage and no-tillage mulching, and this yield effect was greater in TF treatment than in the other treatments. The study suggested that conventional tillage with bioorganic fertilizer can be an important way to improve soil physical and chemical properties and increase richness and diversity of soil bacterial community.

**Key Words:** no-tillage and mulching; bioorganic fertilizer; high-throughput sequencing; soil bacterial community; diversity and richness

免耕是指不翻耕和扰动土壤,把作物直接播种到种床上,将前茬作物残茬或草皮等覆盖地表,仅播种一次田间作业的农作制度<sup>[1]</sup>。可以减少水土流失,稳定土壤结构<sup>[2-3]</sup>,形成合理的土壤水、气、热三相比;在改善土壤微生态环境,促进土壤养分良性循环中起主要贡献<sup>[4]</sup>。

土壤微生物是生态系统的重要组成部分,能够参与土壤养分循环,分解等过程,对温室气体产生和环境污染净化起着重要作用<sup>[5]</sup>。近年来,大量研究证实,土壤微生物的数量、群落结构及多样性是维持土壤健康和质量的重要因素<sup>[6]</sup>。因此,研究不同耕作措施下土壤微生物群落结构的演替规律,对选择合理的种植措施和改善土壤生态功能具有重要意义。

目前关于不同农业管理措施下,土壤微生物群落结构及多样性变化的研究结果仍存在差异<sup>[1,3]</sup>。如长期免耕或绿肥翻压会增加土壤微生物数量,影响其多样性<sup>[7]</sup>;保护性耕作施生物有机肥也能够提高土壤细菌多样性和生物量<sup>[8]</sup>。但,传统耕作施化肥和有机肥却对土壤细菌数量和群落结构的影响较小<sup>[9]</sup>。Yang 等<sup>[10]</sup> 研究结果显示,免耕和秸秆还田能够增加土壤有机碳含量,调控土壤微生物生长及群落结构多样性,在提升土壤肥力和生产力方面有重要作用。

然而,以往研究更多关注的是耕作方式及施肥种类的差异对土壤生物生物量、酶活性和微生物呼吸作用等方面的影响,而同时采用免耕、覆盖和生物有机肥施用等栽培管理措施对土壤细菌群落结构影响的研究鲜有报道。因此,本研究采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术,对宁夏南部山区冬小麦连续 3 年免耕体系下土壤细菌群落群落结构组成和多样性分布特征进行系统分析,探讨不同处理措施下土壤细菌群落结构差异,明确耕作、覆盖与施肥方式的交互作用是如何影响土壤细菌群落结构组成及其多样性? 为制定合理的农作制度提供理论支撑。

## 1 研究区域和方法

### 1.1 研究区概况

研究区位于宁夏固原市隆德县沙塘镇(35°21' N, 105°48' E), 如图 1 所示: 地处宁夏南部边陲, 六盘山脉以西, 属于黄土高原丘陵区。气候类型为中温带季风区半湿润向半干旱过渡性气候, 年均气温 6 °C, 年均降水量 410 mm, 年均蒸发量 1370 mm。海拔 1720—2942 m, 地势东高西低, 土壤质地主要以黑垆土为主。试验前土壤基本理化性状: 有机质 10.63 g/kg, 全氮 0.52 g/kg, 碱解氮 41.0 mg/kg, 全磷 0.65 g/kg, 速效磷 45.5 mg/kg, 速效钾 170.5 mg/kg, pH 9.0。

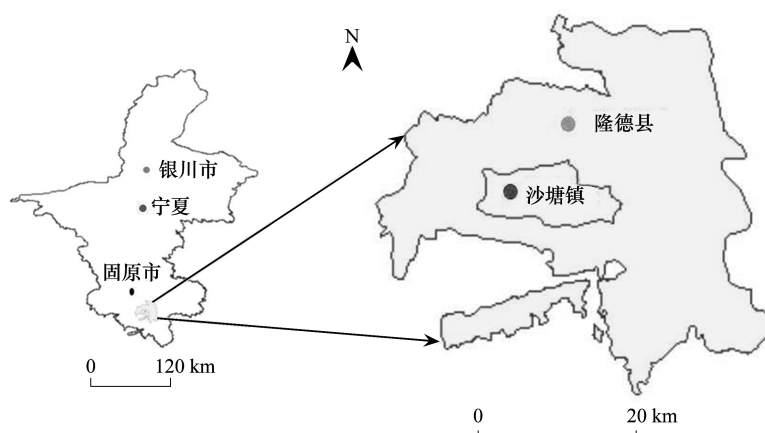


图 1 研究区地理位置

Fig.1 Location of the research area

### 1.2 试验设计

本试验于 2015 年春季开始, 采用双因素随机区组设计。A 因素为耕作方式: 分为免耕覆盖(N)、传统耕作不覆盖(T) 2 个水平; B 因素为施肥方式: 分为施生物有机肥(F) 和不施生物有机肥(C), 共 4 个处理, 即免耕覆盖+施生物有机肥(NF)、免耕覆盖+不施生物有机肥(NC)、传统耕作不覆盖+施生物有机肥(TF) 和传统耕作不覆盖+不施生物有机肥(TC), 每个处理 4 次重复, 小区面积 3 m×4 m, 共 16 个小区。于 2015 年—2018 年 9 月种植冬麦(*Triticum aestivum*) ‘蓝天 32 号’。前茬作物为蚕豆(*Vicia faba L*) ‘临蚕 6 号’。2015 年冬小麦种植前将蚕豆秸秆粉碎与 3000 kg/hm<sup>2</sup> 脱粒的小麦颖壳均匀覆盖于免耕处理土壤表面, 后续试验不再覆盖任何材料。冬小麦播种量为 375 kg/hm<sup>2</sup>, 每小区播种 12 行。施肥处理的小区仅施生物有机肥(黄腐酸 ≥12%, 有机质 ≥40%, 巨大芽孢杆菌+胶冻样类芽孢杆菌 ≥0.5 亿/g, 净含量 40 kg/袋), 施用量折合纯氮(N%) 90 kg/hm<sup>2</sup>, 纯磷(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>%) 为 19.67 kg/hm<sup>2</sup>, 纯钾(K<sub>2</sub>O%) 为 18.58 kg/hm<sup>2</sup>。NF 处理的小区, 生物有机肥随冬小麦种子条施于播种沟内, TF 处理随播前耕翻施入土壤。在返青期, 将前者的田间杂草齐地表割掉, 覆盖在冬小麦行间; 后者杂草连根拔除, 扔出田外。

### 1.3 样品采集

2018 年 7 月在试验区采样, 按照“S”形随机多点混合取样, 采集耕层 0—20 cm 土壤样品, 每个小区随机采集 5 个样点混匀为 1 份, 共获得 16 份样品。样品采集后去除新鲜土样中可见植物残体及土壤动物, 按四分法取 1 kg 土样放入采样袋中, 冰盒带回实验室。一部分自然风干后用于测定土壤养分; 另一部分保存在 -80 冰箱, 用于土壤细菌多样性测定。

### 1.4 试验方法

#### 1.4.1 土壤理化性质测定

土壤含水量采用烘干法, 土壤 pH 值采用 PHSJ-4F pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司)测定(土水

比 1:5);土壤全碳(TC)和总氮(TN)采用碳氮分析仪(Elementar Vario MAX)测定;土壤微生物生物量碳(SMBC)采用氯仿熏蒸—0.5 mol/L  $K_2SO_4$  提取;土壤全磷(TP)和速效磷(AP)采用钼锑抗比色法;碱解氮(AN)采用碱解扩散法;速效钾(AK)采用  $NH_4OAc$  浸提—火焰光度法<sup>[11]</sup>。

#### 1.4.2 DNA 提取和高通量测序

采用 Fast DNA SPIN kits 试剂盒(MP Biomedicals, USA),按照说明书进行土壤微生物总 DNA 提取,提取后使用 Nanodrop 2000 进行 DNA 浓度和纯度的测定,并用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量。最后利用细菌 16S rDNA 基因的 V3+V4 区域进行扩增,引物序列为 515F(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和 907R(5'-CCGTC AATTCMTTTRAGTTT-3')。采用 50  $\mu$ l 扩增体系,反应程序为:98  $^{\circ}C$  预变性 2 min,98  $^{\circ}C$  变性 15 s,55  $^{\circ}C$  退火 30 s,72  $^{\circ}C$  延长 30 s,72  $^{\circ}C$  终延伸 5 min,10  $^{\circ}C$  持续 25—30 个循环。PCR 结束后,引入 Illumina MiSeq 桥式 PCR 兼容引物进行第二轮扩增,使用 PicoGreen dsDNA Kit 分析试剂盒(Invitrogen, Carlsbad, CA, USA)对回收的 DNA 精确定量<sup>[12]</sup>,最后将 PCR 产物委托上海派森诺生物科技股份有限公司进行 Illumina MiSeq 测序。

#### 1.4.3 统计分析

高通量测序数据利用 QIIME(Quantitative Insights Into Microbial Ecology, v1.8.)和 R(v3.2.0)软件,调用 USEARCH 序列比对工具,对优质序列按 97%相似度水平的 OTUs(Operational Taxonomic Units)进行分类学分析。采用 Mothur 软件对全部有效序列进行 OTU 聚类统计,绘制韦恩图(Venn 图)。根据物种分类信息绘制物种丰度热图。利用 Mothur 软件<sup>[13-14]</sup>计算多样性指数(Simpson、Shannon、Chao1 和 ACE)。通过 UniFrac 软件进行 NMDS 分析,绘制样本聚类树<sup>[15]</sup>。采用 DPS(7.05)软件对土壤理化性质、作物产量等数据进行方差分析(Duncan's 法多重比较法,显著水平设为 0.05)。土壤微生物主成分分析(PCA)在多元统计分析软件 Canoco 5.0 中进行。Origin 8.0 绘制降雨量点线图。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤理化性质分析

不同处理土壤理化性质如表 1 所示。土壤含水量、速效钾、碱解氮、总碳和总氮含量整体表现为免耕覆盖处理明显高于传统耕作处理,而土壤 pH、C/N 比则表现为传统耕作处理显著高于免耕处理。方差统计分析显示,与不施用生物有机肥处理相比,施用生物有机肥影响了不同处理间的土壤理化性质,但差异不显著;而耕作措施却显著改变了不同处理间土壤 pH、C/N 比、全氮含量( $F=6.565, P=0.031^*$ ;  $F=49.391, P=0.0001^{**}$ ;  $F=19.871, P=0.002^{**}$ )。同时,不施用生物有机肥时,土壤 pH、AP、C/N 比和 SMBC 表现为  $TC>NC$ ,其余土壤理化性状在各处理间均呈现  $NC>TC$ ,其中 SMBC 和 TN 含量分别增加了 94.04%和 15.38%。施用生物有机肥时,SMBC、AP、AN、TC 和 TN 含量均呈现  $NF>TF$ ;尤以 SMBC 和 AP 含量增加幅度最大,分别为 114.74%和 21.87%;而 C/N 比和 AK 的含量与之相反,分别降低了 5.60%和 7.04%。

### 2.2 细菌群落结构多样性及测序数据分析

通过对土壤 DNA 基因组序列分析发现(表 2),4 种处理总共获得 785688 条有效序列,其中 TC、TF、NC 和 NF 处理分别获得细菌 16S rRNA 的平均序列数 48607、48101、52687、47028 条。对测序获得的序列采取随机抽样方法,并基于每个深度下抽取到的序列数及对应的 OTU 数绘制 Specaccum 物种累积曲线(图 2),结果表明,土壤样品的 Specaccum 物种累积曲线在样本数大于 10 时渐渐趋于平缓,说明不同处理土壤所测的序列库容能够较好反映土壤细菌群落的物种数量,故测序数据基本合理。

### 2.3 细菌 OTU 统计及多样性分析

Venn 图能够直观反映不同处理间土壤细菌群落 OTUs 组成的差异性及其重叠关系<sup>[16]</sup>。由图 3 可知,OTU 水平上,TC、TF、NC 和 NF 4 个处理中的 OTU 数分别为 6252、5827、5867 个和 5936 个,其中共有 OTU 数为 3166 个,特异性 OTU 数分别为 802、568、573 个和 621 个,表现为  $TC>TF>NC>$ 和  $TF$ ,且共有 OTU 数(3166)是



4 种处理中特异性细菌 OTU 数的 4—6 倍。此外,各处理特异性 OTU 数以 TC 最大,NF 次之;相比 NC 处理,NF 中的 OTU 数呈现增加趋势;相比 TC,TF 中 OTU 数呈降低趋势,这说明传统耕作不覆盖施用生物有机肥处理(TF)对土壤细菌群落 OTU 可能会产生抑制作用,而免耕覆盖施生物有机肥处理(NF)在一定程度上则起到促进作用。

表 1 不同处理土壤理化及生物学性状分析

Table 1 Analysis of physical and chemical and biological characteristics of soil under different treatments

处理 Treatment	pH (H <sub>2</sub> O)	土壤含水量 SWC/% Soil water content	全氮 TN/(g/kg) Total nitrogen	碱解氮 AN/(mg/kg) Aalkali-hydrolyzale nitrogen	全磷 TP/(g/kg) Total phosphorus
TC	8.51±0.03a	15.00±0.02a	0.13±0.01b	34.41±1.05a	0.08±0.01a
TF	8.49±0.03a	16.00±0.05a	0.13±0.00b	35.17±2.60a	0.08±0.00a
NC	8.47±0.01ab	15.00±0.01a	0.15±0.01a	37.00±0.77a	0.09±0.01a
NF	8.41±0.08b	16.00±0.01a	0.15±0.01a	37.15±2.49a	0.09±0.01a
耕作覆盖 Tillage, mulching	0.03 *	0.30	0.002 **	0.66	0.84
施肥 Fertilization	0.12	0.30	0.19	0.05	0.33
交互作用 Interaction	0.36	0.76	0.65	0.77	0.84

处理 Treatment	速效磷 AP/(mg/kg) Available phosphorus	速效钾 AK/(mg/kg) Available potassium	土壤总碳 TC/(mg/kg) Total carbon	碳氮比 C/N ration Carbon nitrogen ratio	土壤微生物 生物量碳 SMBC/(mg/kg) Soil microbial biomass carbon
TC	41.40±13.24a	278±30.78a	2.13±0.02c	17.04±0.65a	514.56±16.98ab
TF	36.86±4.84a	322±56.80a	2.17±0.02b	16.76±0.40a	319.60±190.18b
NC	40.08±10.24a	293±26.61a	2.14±0.04c	15.76±0.48b	265.19±141.33b
NF	44.92±5.28a	304±16.00a	2.31±0.05a	15.58±0.69b	686.32±172.10a
耕作覆盖 Tillage, mulching	0.50	0.10	0.0001 **	0.003 **	0.38
施肥 Fertilization	0.98	0.92	0.007 **	0.42	0.16
交互作用 Interaction	0.35	0.31	0.43	0.86	0.0007 **

表中数值为平均值±标准差;同列不同字母表示差异显著( $P<0.05$ )。NC: 免耕覆盖不施生物有机肥 No-tillage, mulching no bioorganic fertilizer;NF: 免耕覆盖施生物有机肥 No-tillage, mulching and bioorganic fertilizer;TC:传统耕作不覆盖不施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and no bioorganic fertilizer.;TF:传统耕作不覆盖施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and bioorganic fertilizer

表 2 土壤细菌测序数据及多样性指数分析

Table 2 Sequencing data and diversity index analysis of soil bacteria

处理 Treatment	细菌(V3+V4区) Bacterial(V3+V4)				
	平均序列数 Mean Sequence amount	辛普森指数 Simpson index	香浓指数 Shannon index	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index
TC	48607	0.9974±0.00b	10.44±0.06a	4209.83±155.81a	4579.71±151.90a
TF	48101	0.9975±0.00b	10.42±0.15a	3627.36±815.94b	4326.92±667.64a
NC	52687	0.9980±0.00a	10.52±0.11a	3824.38±307.66a	4092.07±373.12a
NF	47028	0.9981±0.00a	10.55±0.13a	3915.87±541.42a	4208.60±648.64a

表中数值为平均值±标准差;同列不同字母表示差异显著( $P<0.05$ );NC: 免耕覆盖不施生物有机肥 No-tillage, mulching no bioorganic fertilizer;NF: 免耕覆盖施生物有机肥 No-tillage, mulching and bioorganic fertilizer;TC:传统耕作不覆盖不施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and no bioorganic fertilizer.;TF:传统耕作不覆盖施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and bioorganic fertilizer

通过分析土壤样品,计算得到土壤细菌 Alpha 多样性指数(表 2)。结果显示,不同处理下 ACE 指数为 4092.07—4579.71,Chao1 指数为 3627.36—4209.83,香浓指数为 10.42—10.55,辛普森指数为 0.997—0.998。

当耕作覆盖和施用生物有机肥两因素交互作用时,土壤细菌丰富度指数(ACE 和 Chao 指数)表现为  $TC > NF > NC > TF$ ;而多样性指数(Simpson 和 Shannon 指数)却呈相反趋势,表现为: $NF > NC > TC > TF$ 。与 TF 处理相比,NF 处理中,shannon 指数和 Chao 指数分别增加了 12.5% 和 7.95%。而 Simpson 指数降低了 2.73%。整体上,传统耕作在一定程度上增加了土壤细菌群落的多样性指数,降低了丰富度指数。

#### 2.4 细菌门水平相对丰度

通过对高通量测序结果进行分析,从 4 个处理中获得土壤细菌菌群分属于 27 门、86 纲、125 目、213 科和 315 属。在门水平上,共获得 34 个类群(包括未鉴定类群和其他)。将相对丰度  $< 1\%$  的类群归为其他,得到 20 个类群(图 4)。其中放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和酸杆菌门(Acidobacteri)为优势菌门(相对丰度  $\geq 1\%$ ),其相对丰度分别为 26.90%、26.20%、15.80% 和 13.50%。而芽单菌门(Gemmatimonadetes)、硝化螺旋菌门(Nitrospira)、浮霉菌门(Planctomycetes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)等是非优势菌门(相对丰度  $\leq 1\%$ )。由图 4 可知,耕作和施肥两因素均对土壤细菌门水平相对丰度产生了影响,其中绿弯菌门和酸杆菌门的相对丰度在不施用生物有机肥处理中均表现为  $NC > TC$ ;而施用生物有机肥时,绿弯菌门的相对丰度呈现  $NF < TF$ ,酸杆菌门则表现为截然相反的趋势,这可能与细菌本身属性有关。此外,厚壁菌门(Firmicutes, 0.3%)的相对丰度在不施用生物有机肥时,NC 比 TC 明显增加 25%,施用生物有机肥后,TF 和 NF 也分别增加了 50% 和 32%,该结果说明,免耕覆盖与施用生物有机肥二者结合更有利于土壤细菌群落结构的变化。

通过热图的颜色变化梯度和相似性能够验证物种群落组成的差异性和相似性。从土壤细菌的前 50 个属的热图分析发现(图 5)。4 种处理中的细菌群落结构均发生了显著变化。其中 TF 处理中,绿弯菌门的玫瑰弯菌属(*Roseiflexus*)的相对丰度较高;NF 处理下放线菌门中的类诺卡氏菌属(*Nocardioides*)和土壤红杆菌属(*Solirubrobacter*)为优势菌属;TC 处理的变形菌门中(Proteobacteria)的鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、*Nordella* 属、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*),酸杆菌门中的芽孢杆菌属(*Blastocatella*)具有较其他处理更高的丰度分布特征;NC 处理中 *Haliangium* 属和拟孢囊菌属(*Kibdelosporangium*)占据较高丰度。此外,TF 和 NF、TC 和 NC 聚为一类,说明在免耕和施用生物有机肥的交互作用下,主要以是否施用生物有机肥为主导因素。

##### 2.4.1 细菌门水平相对丰度差异性分析

不同处理中土壤细菌群落在门水平上的相对丰度差异性分析结果表明(图 6)。土壤细菌中的酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、装甲菌门(Armatimonadetes)和螺旋体菌门(Saccharibacteria)的相

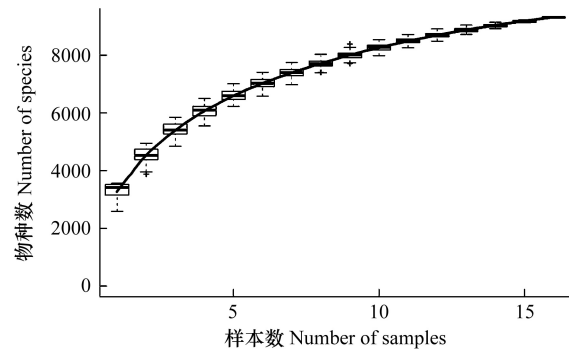


图 2 物种累积曲线图

Fig.2 Species accumulation curve of different soil samples

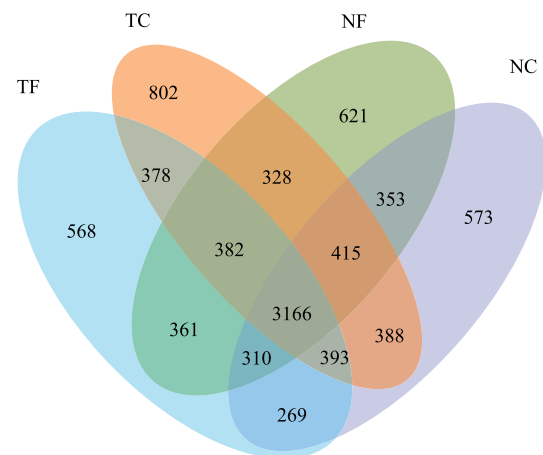


图 3 OTUs 分布的维恩图

Fig.3 OTUs Venn distribution diagram of soil bacterial communities

TF: 传统耕作不覆盖施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and bioorganic fertilizer; TC: 传统耕作不覆盖不施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and no bioorganic fertilizer; NF: 免耕覆盖施生物有机肥 No-tillage, mulching and bioorganic fertilizer; NC: 免耕覆盖不施生物有机肥 No-tillage, mulching no bioorganic fertilizer

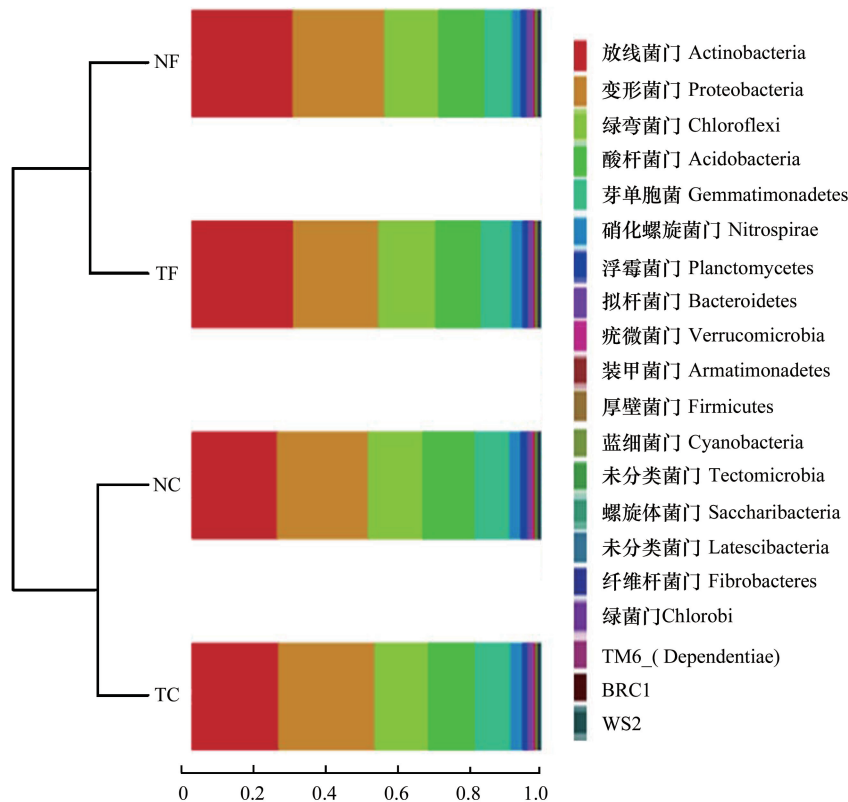


图4 门水平上土壤细菌群落结构组成

Fig.4 The composition of soil bacterial community at phylum level

对丰度在 TF 与 NC 处理间有显著差异 ( $P = 0.046$ 、 $P = 0.018$ 、 $P = 0.013$  和  $P = 0.016$ )；放线菌门 (Actinobacteria)、装甲菌门 (Armatimonadetes)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的相对丰度在 NF 与 NC 处理间也有显著差异 ( $P = 0.042$ 、 $P = 0.023$ 、 $P = 0.032$  和  $P = 0.040$ )。当耕作和施用生物有机肥两因子交互时,硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 和芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 的相对丰度在 TF 和 NF 中均达到显著水平 ( $P = 0.0212$ )；而变形菌门 (Proteobacteria) 的相对丰度在 TF 与 TC 处理间有显著差异 ( $P = 0.026$ )。此外,芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 在 NF 与 NC 之间也达到极显著水平 ( $P = 0.005$ )。由此说明,施用生物有机肥会显著影响土壤细菌群落结构在门水平上差异。

#### 2.4.2 不同处理下土壤细菌群落结构与环境因子的关系

基于 R 软件,采用非度量多维尺度分析 (NMDS, Nonmetric multidimensional scale analysis) 来反映土壤细菌群落的  $\beta$  多样性 (Stress=0.106)。如图 7 显示,不同处理对土壤细菌群落  $\beta$  多样性产生了明显影响,且形成了不同的群落空间分布结构。在不施用生物有机肥处理时,TC 和 NC 处理的细菌群落在空间分布上相对较集中;但当施入生物有机肥后,TC 和 TF、NC 和 NF 处理却出现明显分离,差异较大。

利用主成分分析发现 (图 8a),土壤细菌的丰富度指数 (ACE 和 Chao1 指数) 和多样性指数 (Simpson 和 Shannon 指数) 与土壤 pH、速效磷和 C/N 比成正相关,与土壤全氮、碱解氮、含水量、有机碳和微生物生物量碳成负相关。对细菌群落分布的共同解释为 88.57%。其中在门水平分类学组成中,放线菌门 (Actinobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 和硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 的相对丰度均与土壤含水量、碱解氮、有机碳、微生物生物量碳成正相关,与土壤 pH、速效钾呈负相关 (图 8b);拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和变形菌门 (Proteobacteria) 的相对丰度与土壤速效钾和全磷成正相关,与微生物生物量碳、C/N 比和有机碳含量均呈负相关。芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) 和酸杆菌门 (Acidobacteria) 与土壤速效钾、C/N 比呈正相关;其中非优势门浮霉菌门

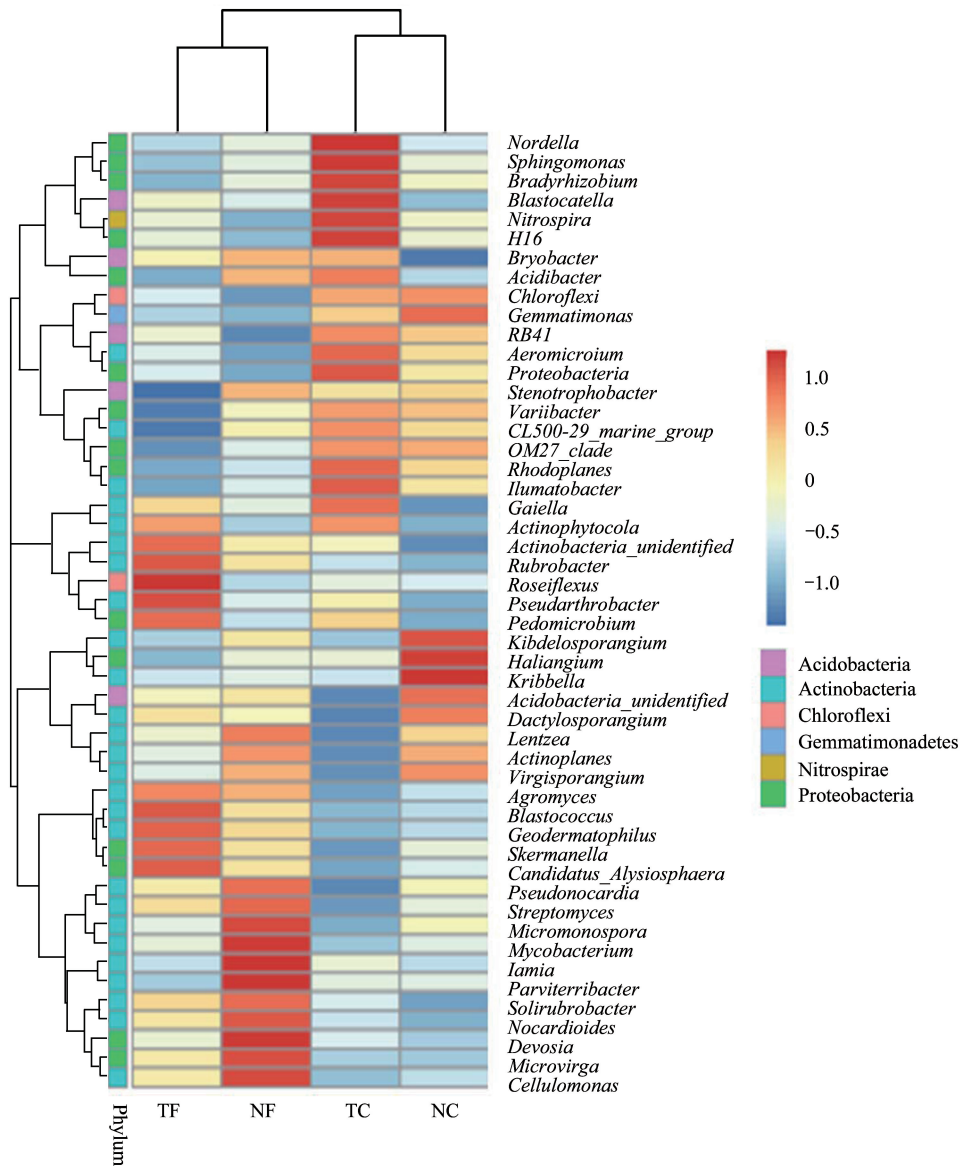


图 5 各处理土壤优势细菌在属水平的群落热图分析

Fig.5 Heat map analysis of the main bacteria at the genus level in each treatment soil

Acidobacteria: 酸杆菌门; Actinobacteria: 放线菌门; Gemmatimonadetes: 芽单胞菌门; Chloroflexi: 绿弯菌门; Proteobacteria: 变形菌门; *Nordella* 属; 鞘氨醇单胞菌: *Sphingomonas*; 慢生根瘤菌: *Bradyrhizobium*; 芽孢杆菌属: *Blastocatella*; 硝化螺菌属: *Nitrospira*; *H16*; *Bryobacter*; *Acidibacter* 属; 芽单胞菌属: *Gemmatimonas*; RB41; *Aeromicroiumshu* 属; *Stenotrophobacter*; *Variibacter*; CL500-29\_marine; OM27\_clade; 红游动菌属: *Rhodoplanes*; *Ilumatobacter* 属; *Gaiella* 属; *Actinophytocola* 属; 未鉴定的放线菌属: *Actinobacteria\_unidentified*; 红色杆菌属: *Rubrobacter*; 玫瑰弯菌属: *Roseiflexus*; 假节杆菌属: *Pseudarthrobacter*; 土微菌属: *Pedomicrobium*; *Kibdelosporangium*; *Haliangium*; 韩国生工菌属: *Kribbella*; 未鉴定的酸杆菌属: *Acidobacteria\_unidentified*; 指孢囊菌属: *Dactylosporangium*; 伦茨氏菌属: *Lentzea*; 游动放线菌属: *Actinoplanes*; *Virgisporangium*; 壤霉菌属: *Agromyces*; 芽球菌属: *Blastococcus*; 地嗜皮菌属: *Geodermatophilus*; *Skermanella*; *Candidatus\_Alysiosphaera* 属; 假诺卡氏菌属: *Pseudonocar Haliangiumdia*; 链霉菌属: *Streptomyces*; 小单胞菌属: *Micromonospora*; 分枝杆菌属: *Mycobacterium*; *Iamia* 属; *Parviterribacter*; 土壤红杆菌属: *Solirubrobacter*; 类诺卡氏菌属: *Nocardioides*; *Devosia*; *Microvirga* 属; 纤维菌属: *Cellulomonas*

(Planctomycetes) 与土壤 C/N、pH 和碱解氮成正相关, 与土壤速效钾、含水量成负相关。主成分 1 和主成分 2 分别占 85.68% 和 9.37%, 两个排序轴累计变量能在 95.05% 上解释细菌群落结构组成的差异性。另外, 细菌门水平分类学组成与第一、二排序轴之间的相关性较高, 其中 pH 和土壤微生物生物量碳 (SMBC) 分别是酸杆



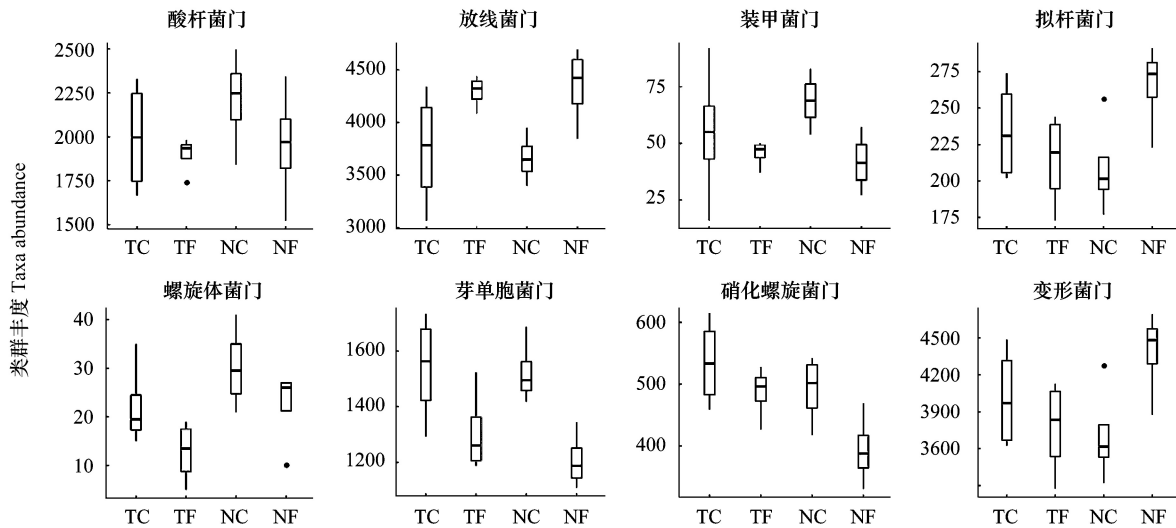


图 6 不同处理土壤细菌群落组成在门水平的差异分析

Fig.6 The differential analysis of soil bacterial community of soil samples of the different treatments based on the phylum level

菌门和放线菌门的主要驱动因子。

## 2.5 不同处理对冬小麦产量的影响

由表 3 可知,冬小麦的产量在 4 种处理中均有明显差异。2016 年表现为  $NF > TF > TC > NC$ 。在传统耕作不覆盖和免耕覆盖两种处理中,以施用生物有机肥处理最明显。其中 NF 处理冬小麦产量最高达到  $3031.25 \text{ kg/hm}^2$ 。而 2017 和 2018 年,传统耕作措施下,相比不施用生物有机肥处理,施用生物有机肥处理显著增加了冬小麦产量 ( $P < 0.05$ ),以 2018 年冬小麦产量增加最显著,达到 22.25%。在综合因素影响下,尤以传统耕作施用生物有机肥处理效果最佳。随种植时间延长,无论是否施用生物有机肥,免耕覆盖处理下冬小麦产量均呈降低趋势,而传统耕作处理却呈增加趋势。分析认为这可能与当年气候条件、耕作措施和施肥因子等综合因素有关。

为进一步分析冬小麦产量与土壤细菌优势菌群的关系,将细菌前 8 门优势菌群与冬小麦产量作相关分析,结果表明(表 4):冬小麦产量与土壤细菌群落相对丰度均无相关性;而土壤硝化螺旋菌门(Nitrospirae)和芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)与酸杆菌门(Acidobacteria)显著正相关 ( $P < 0.05$ );放线菌门(Actinobacteria)与土壤酸杆菌门(Acidobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)均呈极显著负相关;变形菌门(Proteobacteria)与绿弯菌门(Chloroflexi)也呈极显著负相关 ( $P < 0.01$ ),说明土壤微生物功能群落之间存在更多的竞争关系。

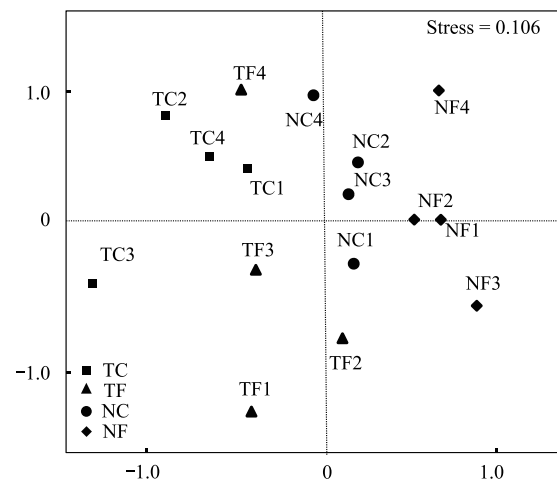


图 7 不同处理土壤细菌非度量多维尺度分析(NMDS)分布

Fig.7 The distribution of soil bacteria in different treatments was analyzed on a nonmetric multidimensional scale

TF: 传统耕作不覆盖施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and bioorganic fertilizer; TC: 传统耕作不覆盖不施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and no bioorganic fertilizer; NF: 免耕覆盖施生物有机肥 No-tillage, mulching and bioorganic fertilizer; NC: 免耕覆盖不施生物有机肥 No-tillage, mulching no bioorganic fertilizer

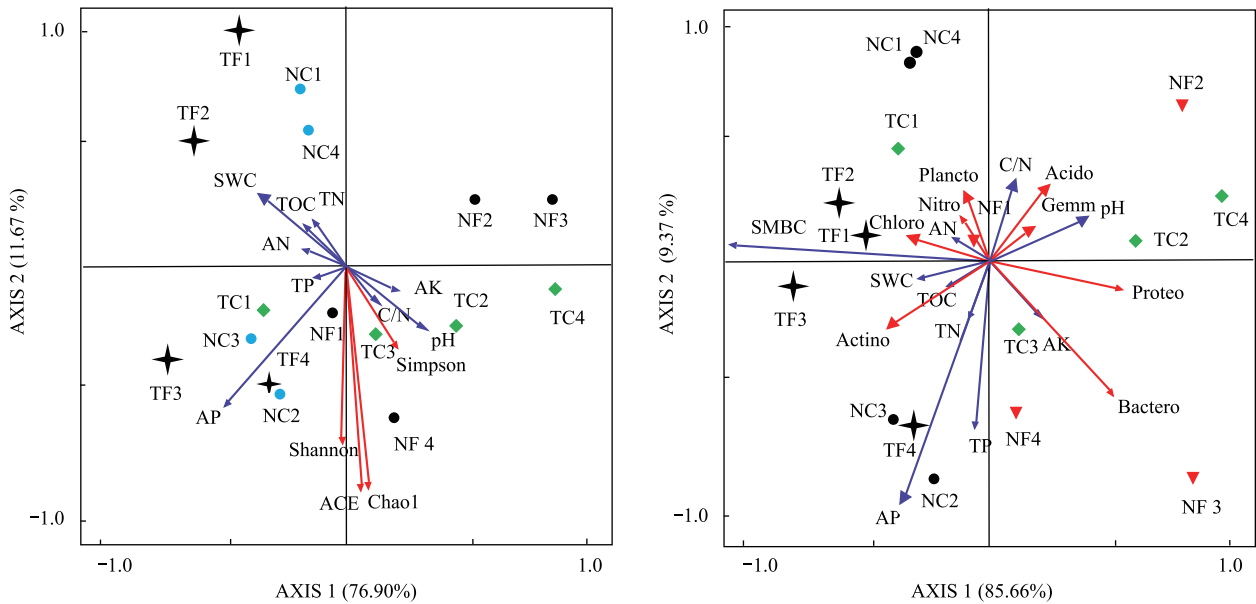


图 8 细菌多样性指数及门水平类群分布与土壤理化性状间的多元分析 (PCA)

Fig.8 Multivariate analysis of bacterial diversity index, the distribution of soil bacterial communities based on the phylum level between soil physical and chemical characteristics

Actino: Actinobacteria 放线菌门; Proteo: Proteobacteria 变形菌门; Chloro: Chloroflexi 绿弯菌门; Acido: Acidobacteria 酸杆菌门; Gemm: Gemmatimonadetes 芽单胞菌门; Nitro: Nitrospirae 硝化螺旋菌门; Plancto: Planctomycetes 浮霉菌门; Bactero: Bacteroidetes 拟杆菌门; pH、TN、TP、AP、AN、AK 和 TOC、SWC、C/N ratio、SMBC 分别指土壤 pH、全氮、全磷、速效磷、碱解氮、速效钾和有机碳、土壤含水量、碳氮比、土壤微生物生物量碳; Chao1、ACE、Shannon、Simpson 分别指 Chao1 指数、ACE 指数、香浓指数和辛普森指数; 图中各形状代表不同处理; NC (1—4) 表示免耕、覆盖和不施生物有机肥的 4 个重复; NF (1—4) 表示免耕、覆盖和施生物有机肥的 4 个重复; TC (1—4) 表示传统耕作、不覆盖和不施肥的四个重复; TF (1—4) 表示传统耕作不覆盖和施生物有机肥的四个重复

表 3 不同处理对冬小麦产量的影响

Table 3 The Effects of different treatments on yield of winter wheat

处理 Treatment	产量 Yield/(kg/hm <sup>2</sup> )		
	2016 年	2017 年	2018 年
传统耕作不覆盖不施生物有机肥 (TC)	2895.83±3657.49a	797.55±245.43ab	1937.50±299.50a
传统耕作不覆盖施生物有机肥 (TF)	3000.00±518.19a	954.37±176.24a	2291.67±308.07a
免耕覆盖不施生物有机肥 (NC)	2666.67±518.19a	707.10±84.63b	812.50±291.67c
免耕覆盖施生物有机肥 (NF)	3031.25±184.39a	713.61±151.01b	1395.83±266.80b
耕作 Tillage (T)	0.65	0.28	0.0028 **
施肥 Fertilization (F)	0.73	0.03 *	0.0001 **
交互作用 Interaction (T × F)	0.42	0.24	0.35

表中数值为平均值±标准差; 同列不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ); NC: 免耕覆盖不施生物有机肥 No-tillage, mulching no bioorganic fertilizer; NF: 免耕覆盖施生物有机肥 No-tillage, mulching and bioorganic fertilizer; TC: 传统耕作不覆盖不施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and no bioorganic fertilizer.; TF: 传统耕作不覆盖施生物有机肥 Conventional tillage without mulching, and bioorganic fertilizer

### 3 讨论

#### 3.1 不同处理对土壤理化性质及冬小麦产量的影响

有研究证实, 土地利用方式不同, 会造成土壤理化性质出现差异<sup>[17]</sup>。本研究中, 持续冬小麦免耕、覆盖和施用生物有机肥均能显著增加土壤养分含量, 降低土壤 pH, 提升土壤全氮、总碳含量, 这与 Duineveld 等<sup>[18]</sup> 研究结果一致。与 TC 和 NC 处理相比, TF 和 NF 处理均显著增加了土壤总碳和全氮含量, 分析认为生物有机肥

是一种腐熟的肥料,施入后能为土壤微生物提供大量的碳源<sup>[19]</sup>。且在不覆盖、不施生物有机肥处理的土壤中,作物根茬是有机质的主要来源,同时,施入生物有机肥后,因外源有机物的输入,也会导致土壤有机质积累<sup>[20]</sup>。另一方面,当免耕、覆盖与施用生物有机肥交互作用时,不但有小麦颖壳、田间生草覆盖分解后的有机物质,还有生物有机肥中的营养元素进入土壤,为作物提供养分需求。因此,在一定程度上,土壤微生物对根茬的降解速度发生改变,提高了作物根茬的残留量<sup>[21]</sup>,减少了土壤有机质的氧化和矿化速度,最终提高了土壤中总碳的含量<sup>[22]</sup>。

表 4 作物产量与土壤细菌丰度 Pearson 相关性

Table 4 Pearson correlation between crop yield and soil bacterial abundance

	放线菌门	变形菌门	绿弯菌门	酸杆菌门	芽单胞菌门	硝化螺旋菌门	浮霉菌门	拟杆菌门	产量
放线菌门 Actinobacteria	1								
变形菌门 Proteobacteria	-0.33	1							
绿弯菌门 Chloroflexi	0.07	-0.77**	1						
酸杆菌门 Acidobacteria	-0.83**	-0.06	0.22	1					
芽单胞菌门 Gemmatimonadetes	-0.79**	0.38	-0.25	0.53*	1				
硝化螺旋菌门 Nitrospirae	-0.63**	-0.19	0.3	0.51*	0.53*	1			
浮霉菌门 Planctomycetes	-0.04	-0.13	-0.15	-0.07	-0.04	0.05	1		
拟杆菌门 Bacteroidetes	0.13	0.2	-0.35	-0.18	-0.29	-0.51*	0.18	1	
产量 Yield	0.28	-0.12	-0.02	-0.35	-0.23	0.04	-0.15	0.17	1

表中\*和\*\*分别代表0.05和0.01水平显著相关

免耕覆盖作为保护性耕作技术的关键技术措施之一,对培肥土壤、提高土壤水分利用率,保证旱区作物高产和稳产具有重要意义。有学者<sup>[23]</sup>指出,免耕和秸秆还田等保护性措施在一定程度上会影响小麦、水稻幼苗生长,降低作物产量。本研究中,第一年,冬小麦经济产量以NF处理最高,且随种植年限的增加,相比传统耕作,免耕处理产量出现大幅减产现象,尤其是2017年,差异最显著。根据当地气象资料显示(图9),2015年—2017年,研究区8—12月的总降雨量分别为191.6、128.7、252.5 mm,可判定作物播种后,2016年低降雨量导致苗期持续干旱,可能是影响2017年冬小麦产量降低的根本原因。另外,本研究中,相比传统耕作,免耕处理土壤容重上、中、下层均增加,其中以10—15 cm耕层土壤容重增加最显著,可能是引起土壤板结,造成水肥气热条件不协调,最终影响作物产量的另一因素。这与王峻等<sup>[24]</sup>的研究结果一致。此外,研究中,相比不施生物有机肥处理,两种施肥处理(NF和TF)中,2016—2018年冬小麦的产量均高于不施生物有机肥处理,这说明,施用生物有机肥,具有增产作用,其机制主要是生物有机肥中含有的芽孢杆菌,适于生活在各种环境

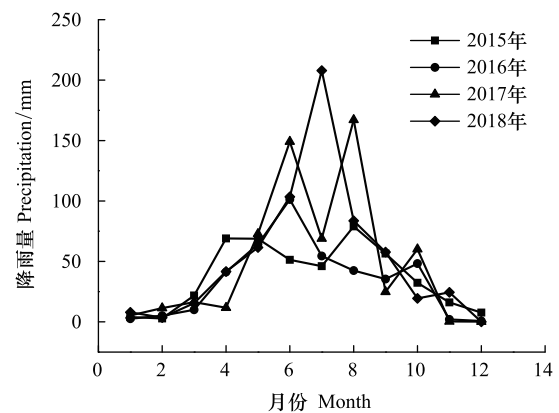


图 9 2015—2018 年研究区降雨量分布情况

Fig. 9 Preipitationl distribution in the study area from 2015 to 2018

中,耐受性和稳定性极强,能够促进土壤无效硅磷钾的转化,增加土壤硅磷钾的供给,提高作物产量的能力导致<sup>[25]</sup>,其深层原因还有待进一步探究。

### 3.2 不同处理对土壤细菌 Alpha 多样性的影响

土壤微生物作为评价土壤的重要生物学指标,因不同的农业管理措施,其群落结构发生变化,也会影响农业生态系统的物质循环和能量转换<sup>[22]</sup>。如李雨泽等<sup>[26]</sup>研究发现,地膜覆盖土壤细菌丰富度降低,秸秆还田细菌多样性增加,而施用生物有机肥土壤细菌的多样性也随之增加<sup>[27]</sup>。本研究中,4种处理方式对土壤细菌群落多样性指数(Simpson 指数)和丰富度指数(Chao1 指数)均产生了不同程度的影响。TF 处理土壤细菌丰富度指数(ACE 指数)提高,多样性降低,而 NF 处理却相反。分析认为这与传统耕作措施,土壤频繁扰动促进土壤碳源和氮源的转化有关<sup>[28]</sup>。

土壤微生物多样性往往受植被类型、作物种类、土壤质地、pH、水分和通气等因素的影响<sup>[29]</sup>。相关研究发现,土壤 pH 和有机碳是影响不同混交林中土壤细菌多样性的主要环境因子;全氮和含水量是影响沙地土壤细菌结构和多样性的主导因子<sup>[30]</sup>。大量研究指出,土壤微生物在某种程度上,对干旱的响应较大,一定强度的干旱会提高土壤细菌群落结构多样性,适宜的土壤水分条件则能为细菌生长繁殖创造良好条件,维持细菌群落结构多样性<sup>[31-32]</sup>。这与本研究中土壤含水量与细菌多样性指数和丰富度指数成负相关性的结果相似。此外,土壤 pH 的变化也是引起不同管理制度中土壤细菌群落结构变化的另一主要贡献因子<sup>[32]</sup>。

### 3.3 不同处理对土壤细菌群落结构组成的影响

Illumina MiSeq 高通量测序技术的发展为微生物的研究提供了一个强大高效的平台,能够快速有效地分析土壤微生物的群落结构组成<sup>[33]</sup>。有学者<sup>[34]</sup>认为,土壤微生物群落结构的整体组成在不同生境中的差异可能较大,但优势菌群基本相似。在本研究中,4种处理下土壤细菌优势菌门均为放线菌门、变形菌门、绿弯菌门和酸杆菌门,相对丰度之和超过 80%,但各处理中的相对丰度各有差异,这与以往的一些研究相似<sup>[35-36]</sup>。与传统耕作处理相比,免耕覆盖处理下,土壤酸杆菌门、放线菌门和变形菌门的相对丰度提高了 30.17%—35.11%,这主要是是由于残茬及生草覆盖后,为微生物提供生命活动提供了有机碳源,刺激了土壤微生物的活性,加快了自身的物质合成,使其丰度明显增加<sup>[37]</sup>。其中,酸杆菌门在 NF 处理中相对丰度最高,这可能是免耕、残茬及生草覆盖后,植物根系分泌物导致土壤 pH 值下降<sup>[38]</sup>(表 1),促进了酸杆菌门的活动。也可能是施用的生物有机肥中含有的“巨大芽孢杆菌+胶冻样类芽孢杆菌”,属于芽孢杆菌属,是一类硅酸盐阳性细菌,能为土壤补入大量的有益微生物,在作物根部形成有益菌群,抑制土壤有害及致病微生物的繁殖等,在一定程度上,可能为土壤中优势菌群的繁殖创造了有利条件<sup>[39]</sup>。

此外,本研究还发现具有降解土壤污染物功能的芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和将土壤中的亚硝酸氧化为硝酸盐的硝化螺旋菌门(Nitrospirae)的相对丰度在施入生物有机肥后分别降低了 5.5%—8.6%和 1.1%—2.6%,说明生物有机肥可能会抑制土壤污染物降解和氮肥力的提高<sup>[40]</sup>。另外,与其他 3 种处理相比,变形菌门中(Proteobacteria)能够利用苯甲酸、水杨酸等物质作为唯一碳源,降解土壤有毒物质,具有抵抗植物病原菌作用,适合生长在高度贫营养环境中的<sup>[41]</sup>鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)在传统耕作不施生物有机肥(TC)处理中相对丰度最高。

有学者研究证实,驱动土壤细菌群落结构组成发生改变的主要因子是土壤全氮含量<sup>[42]</sup>。如酸杆菌门能够降解植物残体、参与单碳因子代谢;放线菌门参与土壤碳氮循环。而在本研究中,我们发现土壤放线菌门与土壤碱解氮、全氮及土壤含水量呈正相关,且土壤含水量是影响放线菌门的主导因子。这可能与土壤细菌自身属性相关。普遍认为,变形菌门喜养分含量高的土壤;酸杆菌门喜贫瘠的土壤;而放线菌门主要存在于极度干旱的环境中<sup>[43]</sup>。综上所述,不同环境因素对微生物类群的影响不同。因此,关于免耕覆盖、施用生物有机肥等交互效应改善土壤细菌群落结构组成的内在机制尚需进一步研究。

## 4 结论

免耕覆盖、生物有机肥施用对土壤理化性质均产生了一定影响,显著增加了土壤总有机碳、总氮的含量,



降低了土壤 pH、C/N 比和冬小麦的经济产量。与传统耕作相比,免耕覆盖施用生物有机肥提高了土壤细菌 Simpson 多样性指数,降低了 Chao1 丰富度指数,且耕作和施用生物有机肥两种因素均对土壤细菌群落分布产生了影响,其中放线菌门、变形菌门、绿弯菌门和酸杆菌门为优势菌群。速效钾和 C/N 比则是影响细菌群落组成中变形菌门和酸杆菌门相对丰度的主要驱动因子。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] 高云超, 蔡作新, 朱文珊, 陈文新. 秸秆覆盖免耕对土壤氮素转化细菌区系的影响. 生态科学, 2003, 22(2): 150-152.
- [ 2 ] Treonis A M, Austin E E, Buyer J S, Maul J E, Spicer L, Zasada I A. Effects of organic amendment and tillage on soil microorganisms and Microfauna. *Applied Soil Ecology*, 2010, 46(1): 103-110.
- [ 3 ] 路怡青, 朱安宁, 张佳宝, 陈效民, 朱强根, 舒馨. 免耕和秸秆还田对潮土酶活性及微生物量碳氮的影响. 土壤, 2013, 45(5): 894-898.
- [ 4 ] Fuhrman J A. Microbial community structure and its functional implications. *Nature*, 2009, 459(7244): 193-199.
- [ 5 ] 李岩, 杨晓东, 秦璐, 吕光辉, 何学敏, 张雪妮. 两种盐生植物根际土壤细菌多样性和群落结构. 生态学报, 2018, 38(9): 3118-3131.
- [ 6 ] Dias T, Dukes A, Antunes P M. Accounting for soil biotic effects on soil health and crop productivity in the design of crop rotations. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2015, 95(3): 447-454.
- [ 7 ] Siciliano S D, Palmer A S, Winsley T, Lamb E, Bissett A, Brown M V, van Dorst J, Ji M K, Ferrari B C, Grogan P, Chu H Y, Snape I. Soil fertility is associated with fungal and bacterial richness, whereas pH is associated with community composition in polar soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 78: 10-20.
- [ 8 ] Staddon W J, Trevors J T, Duchesne L C, Colombo C A. Soil microbial diversity and community structure across a climatic gradient in western Canada. *Biodiversity and Conservation*, 1998, 7(8): 1081-1092.
- [ 9 ] 杨亚东, 王志敏, 曾昭海. 长期施肥和灌溉对土壤细菌数量、多样性和群落结构的影响. 中国农业科学, 2018, 51(2): 290-301.
- [ 10 ] Yang Y H, Yao J, Hu S, Qi Y. Effects of agricultural chemicals on DNA sequence diversity of soil microbial community: a study with RAPD marker. *Microbial Ecology*, 2000, 39(1): 72-79.
- [ 11 ] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 1-329.
- [ 12 ] 高秀宏, 李敏, 卢萍, 吕桂芬, 牛艳芳. 呼和浩特市大青山白桦根际土壤细菌群落结构研究. 生态学报, 2019, 39(10): 3586-3596.
- [ 13 ] Shannon P, Markiel A, Ozier O, Baliga N S, Wang J T, Ramage D, Amin N, Schwikowski B, Ideker T. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 2003, 13(11): 2498-2504.
- [ 14 ] Chao A N. Nonparametric estimation of the number of classes in a population. *Scandinavian Journal of Statistics*, 1984, 11(4): 265-270.
- [ 15 ] 周柳婷, 李建鹏, 刘书影, 罗扬, 白莹, 陈军, 吴则焰, 林文雄. 基于高通量测序的连栽木麻黄根际土壤细菌群落变化研究. 生态学报, 2020, 40(8): 2670-2679.
- [ 16 ] 王颖, 田应金, 蒋伟, 包丽仙, 尹自友, 李先平. 基于热图和聚类分析的马铃薯矿质元素含量评价. 分子植物育种, 2019, 17(19): 6483-6488.
- [ 17 ] 秦红, 李昌晓, 任庆水. 不同土地利用方式对三峡库区消落带土壤细菌和真菌多样性的影响. 生态学报, 2017, 37(10): 3494-3504.
- [ 18 ] Duineveld B M, Kowalchuk G A, van Elsas J D, van Veen J A. Analysis of bacterial communities in the rhizosphere of chrysanthemum via denaturing gradient gel electrophoresis of PCR-amplified 16S rRNA as well as DNA fragments coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(1): 172-178.
- [ 19 ] 胡诚, 曹志平, 叶钟年, 吴文良. 不同的土壤培肥措施对低肥力农田土壤微生物生物量碳的影响. 生态学报, 2006, 26(3): 808-814.
- [ 20 ] 陈法霖, 郑华, 阳柏苏, 欧阳志云, 张凯, 屠乃美. 外来种湿地松凋落物对土壤微生物群落结构和功能的影响. 生态学报, 2011, 31(12): 3543-3550.
- [ 21 ] Xue D, Yao H Y, Huang C Y. Microbial biomass, N mineralization and nitrification, enzyme activities, and microbial community diversity in tea orchard Soils. *Plant and Soil*, 2006, 288(1/2): 319-331.
- [ 22 ] Qiao Y J, Li Z Z, Wang X, Zhu B, Hu Y G, Zeng Z H. Effect of legume-cereal mixtures on the diversity of bacterial communities in the rhizosphere. *Plant, Soil and Environment*, 2012, 58(4): 174-180.
- [ 23 ] 王改玲, 郝明德, 许继光, 洪坚平. 保护性耕作对黄土高原南部地区小麦产量及土壤理化性质的影响. 植物营养与肥料学报, 2011, 17(3): 539-544.
- [ 24 ] 王峻, 薛永, 潘剑君, 郑宪清, 秦秦, 孙丽娟, 宋科. 耕作和秸秆还田对土壤团聚体有机碳及其作物产量的影响. 水土保持学报, 2018, 32(5): 121-127.
- [ 25 ] 韩凯会, 王非梦, 张丽, 周蕾, 刘星星, 郭晓军. 发酵饲料用具有潜在益生功能芽孢杆菌的筛选及性质研究. 饲料研究, 2020, 43(2): 56-59.

- [26] 李雨泽, 胡迎春, 宋端朴, 温晓霞, 秦晓梁, 廖允成. 地膜覆盖和秸秆还田对黄土高原土壤细菌群落结构的影响//中国农学会耕作制度分会 2018 年度学术年会论文摘要集. 哈尔滨: 中国农学会耕作制度分会, 2018.
- [27] Sun H Y, Deng S P, Raun W R. Bacterial community structure and diversity in a century-old manure-treated agroecosystem. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(10): 5868-5874.
- [28] 杨菁, 周国英, 田媛媛, 刘倩丽, 刘成锋, 杨权, 周洁尘. 降香黄檀不同混交林土壤细菌多样性差异分析. *生态学报*, 2015, 35(24): 8117-8127.
- [29] 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.
- [30] Cruz-Martínez K, Rosling A, Zhang Y, Song M Z, Andersen G L, Banfield J F. Effect of rainfall-induced soil geochemistry dynamics on grassland soil microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(21): 7587-7595.
- [31] 程亮, 王信, 郭青云. 青藏高原不同生境土壤细菌群落结构特征及其与环境的关系. *干旱地区农业研究*, 2019, 37(1): 18-26.
- [32] Zhalnina K, Dias R, de Quadros P D, Davis-Richardson A, Camargo F A O, Clark I M, McGrath S P, Hirsch P R, Triplett E W. Soil pH determines microbial diversity and composition in the park grass experiment. *Microbial Ecology*, 2015, 69(2): 395-406.
- [33] 刘方春, 邢尚军, 马海林, 陈波, 丁延芹, 杜秉海. 持续干旱对樱桃根际土壤细菌数量及结构多样性影响. *生态学报*, 2014, 34(3): 642-649.
- [34] Lin L, Zhu B, Chen C R, Zhang Z H, Wang Q B, He J S. Precipitation overrides warming in mediating soil nitrogen pools in an alpine grassland ecosystem on the Tibetan Plateau. *Scientific Reports*, 2016, 6: 31438.
- [35] 陈秀波, 朱德全, 赵晨晨, 张路路, 陈立新, 段文标. 不同林型红松林土壤真菌群落组成和多样性. *土壤学报*, 2019, 56(5): 1221-1234.
- [36] 安韶山, 李国辉, 陈利顶. 宁南山区典型植物根际与非根际土壤微生物功能多样性. *生态学报*, 2011, 31(18): 5225-5234.
- [37] 朱琳, 曾椿淋, 李雨青, 俞冰倩, 高凤, 巍巍, 许艳丽. 基于高通量测序的大豆连作土壤细菌群落多样性分析. *大豆科学*, 2017, 36(3): 419-424.
- [38] Zhang Y T, Shen H, He X H, Thomas B W, Lupwayi N Z, Hao X Y, Thomas M C, Shi X J. Fertilization shapes bacterial community structure by alteration of soil pH. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1325.
- [39] 王小敏, 刘文菊, 李博文, 杨志新. 巨大芽孢杆菌与胶冻样类芽孢杆菌对土壤镉的活化效果研究. *水土保持学报*, 2013, 27(6): 83-88.
- [40] Watson S W, Bock E, Valois F W, Waterbury J B, Schlosser U. *Nitrospira marina* gen. nov. sp. nov.: a chemolithotrophic nitrite-oxidizing bacterium. *Archives of Microbiology*, 1986, 144(1): 1-7.
- [41] 胡杰, 何晓红, 李大平, 刘强. 鞘氨醇单胞菌研究进展. *应用与环境生物学报*, 2007, 13(3): 431-437.
- [42] 刘桂要, 陈莉莉, 袁志友. 氮添加对黄土丘陵区油松人工林根际土壤微生物群落结构的影响. *应用生态学报*, 2019, 30(1): 117-126.
- [43] 路超, 李絮花, 董静, 宋震震, 王洪飞, 徐久凯. 渗灌条件下果园覆盖的保水效果及对根际土壤养分和微生物特性的影响. *水土保持学报*, 2013, 27(6): 134-139, 146.