

引用格式:

马花, 李祯, 官梅, 官春云. 油菜栽培方式对土壤细菌多样性的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(2): 132-139.

MA H, LI Z, GUAN M, GUAN C Y. Effect of rape cultivation methods on soil bacterial diversity[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2021, 47(2): 132-139.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 油菜栽培方式对土壤细菌多样性的影响

马花, 李祯, 官梅, 官春云\*

(国家油料改良中心湖南分中心, 湖南 长沙 410128)

**摘要:**采用 Illumina HiSeq 高通量测序技术, 研究油菜垄作和厢作下不同深度处的土壤细菌多样性, 分析土壤 10、20、30 cm 深处菌群的组成、丰度、 $\alpha$  多样性及菌群差异, 采用典型相关性分析(CCA)及 Spearman 相关分析研究优势菌群与土壤温度和相对湿度相关性, 探讨土壤细菌与作物耕作方式的关系。结果表明: 苗期垄作的土壤温度高于厢作 0.1~0.7 °C, 成熟期垄作的土壤温度低于厢作 0.2~1.2 °C; 厢作的土壤相对湿度均高于垄作; 油菜不同栽培方式的各深度土壤样本共有的 OTU 数为 2814 条, 其中变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、硝化螺旋菌门为优势菌群(相对丰度均大于 5%) 垄作土壤细菌的丰度指数(Shannon 指数和 Simpson 指数)显著大于厢作( $P<0.05$ ), 优势菌群在土壤样本的丰度存在显著差异; 土壤温度和相对湿度对 10 cm 的土壤细菌无显著性影响, 对 20~30 cm 的土壤细菌有影响; 酸杆菌的相对含量与土壤温度呈显著正相关。油菜垄作栽培有利于调节土壤温度和相对湿度, 改善土壤微环境, 促进土壤微生物多样性发展。

**关键词:** 油菜; 垄作; 厢作; 土壤细菌多样性; 土壤温度; 土壤相对湿度; 菌群

中图分类号: S565.404

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2021)02-0132-08

## Effect of rape cultivation methods on soil bacterial diversity

MA Hua, LI Zhen, GUAN Mei, GUAN Chunyun\*

(National Oilseed Crops Improvement Center in Hunan, Changsha, Hunan 410128, China)

**Abstract:** In order to investigate the effects of different cultivation methods on soil bacterial diversity, we analyzed the bacterial community diversity at different depths under ridge and box cultivation using the high-throughput sequencing technique of Illumina HiSeq. The composition, abundance, Alpha diversity and diversity of microflora in 10 cm, 20 cm and 30 cm depth of soil were taken into accounts. In addition, canonical correlation analysis (CCA) was used to analyze the correlation between the dominant flora and soil temperature and humidity, and to explore the relationship between soil microorganisms and crop cultivation methods. The results showed that: (1) the soil temperature of ridge planting was 0.1-0.7 °C higher than that of box planting in seedling stage, while the soil temperature of ridge planting was 0.2-1.2 °C lower than that of box planting in maturation stage; (2) the total number of OTU was 2814 in the soil samples of different depths, in which Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi and Nitrospiraceae were the dominant flora (relative abundance>5%); (3) the abundance index of soil bacteria (Shannon index and Simpson index) in ridge cropping was significantly higher than that in box cropping( $P<0.05$ ); (4) soil temperature and humidity had no significant effect on soil microbes of 10 cm, but had effect on soil microbes of 20-30 cm, and the relative content of acid bacilli had significant positive correlation with soil temperature. In conclusion, the ridge culture of rape is beneficial to regulate soil temperature and humidity and can improve soil micro-environment and promote soil microbial diversity.

收稿日期: 2020-02-19

修回日期: 2020-03-19

基金项目: 国家油菜产业技术体系专项(CARS-13)

作者简介: 马花(1993—), 女, 回族, 山东菏泽人, 硕士研究生, 主要从事作物栽培生理生态研究, 609677734@qq.com; \*通信作者, 官春云, 教授, 主要从事油菜遗传育种与栽培研究, guancy2011@aliyun.com

**Keywords:** rape; ridge cultivation; chamber cultivation; soil microbial diversity; soil temperature; soil humidity; flora

作物根系周围存有大量的根际促生微生物(PGPR),其多样性与活性是评价土壤质量的重要指标<sup>[1-2]</sup>。土壤微生物能够使土壤中的营养元素快速转化,分解土壤有机质,促进腐殖质形成,提高土壤肥力<sup>[3]</sup>。同时,微生物中的优势物种可对土传病菌的传播起到抑制作用<sup>[4-5]</sup>。人们对土壤进行的各种活动,如不同的栽培方式、浇水、除草、施肥等对土壤微生物环境具有显著影响,而土壤微生物对土壤微环境的改变具有很强的敏感性<sup>[6-8]</sup>;因此,秸秆还田、施肥、栽培方式均可对微生物多样性指数、分布规律及微生物结构产生影响<sup>[9-12]</sup>。已有研究<sup>[13-16]</sup>表明,垄作栽培能够显著促进稻田垄埂土壤中有有机碳的积累,增加氨氧化细菌(AOB)和氨氧化古菌(AOA)等硝化微生物的数量,提高土壤酶活性,提高作物产量。已有的关于土壤微生物多样性指标的研究多集中于稻田土壤,对油菜田土壤的研究较少。本研究中,采用不同的耕作方式(垄作和厢作),对油菜根际土壤的温度、相对湿度和微生物多样性进行分析,旨在研究不同栽培方式下油菜苗期和成熟期的土壤温度和相对湿度的变化及对微生物的影响,为油菜栽培技术的发展与应用提供依据。

## 1 试验地基本概况

试验地位于湖南农业大学耘园试验基地。供试土壤耕种前 pH 5.8,有机质、全氮、全磷、速效氮、速效磷含量分别为 23.6、1.5、0.8、130.1、46.2 g/kg。

## 2 材料和方法

### 2.1 材料

供试油菜品种为华油杂 62(由华中农业大学选育,湖南农业大学国家油料改良中心引进)。

### 2.2 方法

设厢作栽培(F)和垄作栽培(R)。每个处理 3 次重复。每个小区 20 m<sup>2</sup>。在油菜苗期(S)和成熟期(M)用土壤圆状环刀采集深度为 10、20、30 cm 的土壤样品,分别标记为 SR10、SF10、SR20、SF20、SR30、SF30、MR10、MF10、MR20、MF20、MR30、MF30,

装入无酶自封袋中。干冰速冻后,迅速放入 -80 °C 冰箱中保存。

土壤温度和相对湿度的测定。在土壤深度为 10、20、30 cm 处理设仁科 485 型土壤温相对湿度传感器,用 DC10-30v 环境监控主机测定苗期和成熟期土壤样本 3 个时间点(采集前 1 h、采集时、采集后 1 h)的温度和相对湿度,取平均值。

土壤微生物多样性的测序。采用土壤 DNA 提取试剂盒(北京天根生化科技有限公司),从土壤样本中提取微生物 DNA,用 Nanodrop 检测 DNA 的浓度和总量,PCR 预扩增,检测样品是否合格。样品检测合格后进行可变区域 V3-V4 的扩增,对扩增后的产物进行质检、纯化以及文库构建;构建好的文库经 Qubit 和 QPCR 定量,合格后,采用 Illumina HiSeq 上机测序,构建小片段文库,进行双末端(Paired-End)测序。

### 2.3 数据处理

土壤微生物测序数据的分析。样品经 Illumina HiSeq 测序后,对获得的原始数据进行过滤、拼接和质控。使用 FLASH 进行拼接,对拼接序列重叠区域错配率小于 10%的序列进行下游分析;参照文献[17]的方法进行质控,获得 Clean Tags。去除 Clean Tags 中的嵌合体。采用 UCHIME 算法<sup>[18]</sup>测定嵌合体,与 Gold 数据库比对后,获得作为后续数据分析的 Effective Tags。以 Silva 数据库<sup>[19]</sup>为参考,计算 OTUs 的丰度。

采用 QIIME 软件进行土壤微生物群落的  $\alpha$  多样性分析;采用 UniFrance 方法进行  $\beta$  多样性分析;采用 Vegan 进行典型相关性分析(CCA)及 Spearman 相关性分析;采用 WPS 2019 及 DPS 9.5 对土壤温度和相对湿度进行分析。

## 3 结果与分析

### 3.1 苗期和成熟期土壤温度和相对湿度差异分析

从表 1 可以看出,在苗期,垄作各深度的土壤温度高于厢作 0.1~0.7 °C;在成熟期,垄作的温度比厢作的低 0.2~1.2 °C。另外,同一时期,土壤温

度随土壤深度增加而降低。成熟期,在 10 cm 深处,2 种耕作方式下土壤温度差异显著( $P<0.05$ )。厢作各深度的土壤相对湿度均高于垄作。在成熟期,20 cm 处,厢作的土壤相对湿度与垄作的差异显著( $P<0.05$ )。说明不同耕作方式对 20 cm 深处土壤相对湿度的影响较大;垄作栽培有利于降低耕作层土壤含水量,改善土壤微环境。

表 1 2 种耕作方式不同土层的土壤温度和相对湿度  
Table 1 Analysis of soil temperature and humidity in different soil layers of tow tillage way

处理	温度/°C	相对湿度/%
SR10	12.633 3eD	22.466 7abc
SF10	11.966 7eDE	23.600 0ab
SR20	10.800 0fDEF	24.000 0ab
SF20	10.533 3fEF	24.433 3a
SR30	10.166 7fEF	24.133 3a
SF30	10.066 7fF	25.466 7a
MR10	23.233 3bAB	20.200 0bc
MF10	24.366 7aA	22.100 0abc
MR20	21.966 7cdBC	19.700 0c
MF20	22.200 0cBC	24.000 0ab
MR30	21.200 0dC	24.566 7a
MF30	21.533 3cdBC	24.666 7a

同列数据不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ );不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。

### 3.2 物种相对丰度

对土壤样本的微生物进行测序分析,发现平均每个样本产生 61 894 条 Clean Tags。使用 USEARCH 方法,对各样本的 Effective Tags 进行聚类,将序列相似性达到 97%的序列聚类成 1 个 OTU。从统计结果(图 1)可知,2 种栽培方式下的不同土壤深度的

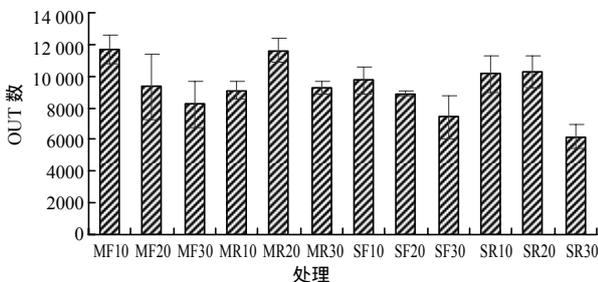


图 1 各处理样本的 OTU 数

Fig.1 OTU quantity statistics of each sample

细菌 OTU 数有明显差异。SF10 土壤细菌 OTU 数小于 SR10 的, SF20 的小于 SR20 的, MF20 的小于 MR20 的, MF30 的小于 MR30 的。说明垄作栽培的作物根系周围的 OTU 数比厢作栽培的多。

从图 2 可以看出,2 种耕作方式下,油菜苗期和成熟期各深度土壤共有的 OTU 数为 2814 条。SR10 的 OTU 数最多(3659),其次是 MF10(3533)、SR30(3478)和 SF30(3477),SF10 最少(3111)。

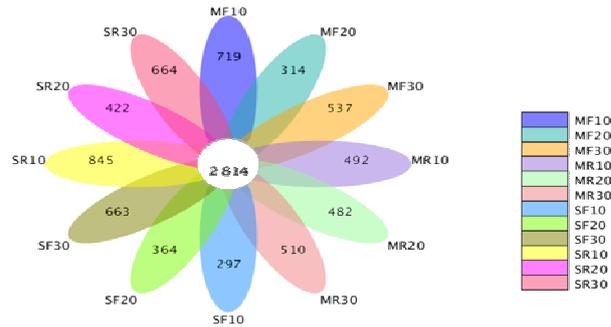


图 2 细菌 OTU 分布水平上的 venn 图

Fig.2 Venn diagram of bacterial OTU distribution

以 OTU 中出现频数最高的序列为该 OTU 代表序列,利用 OTU 代表序列进行分类注释,采用 UCLUST 算法<sup>[20]</sup>,以 Silva 数据库<sup>[19]</sup>为参考序列。根据物种注释结果,2 种耕作方式下,不同生育期、不同土壤深度的细菌群门类水平相对丰度大于 1% 的菌群有 10 个(图 3),分别为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、硝化螺旋菌门(Nitrospira)、热袍菌门(Thermotogae)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、奇古菌门(Thaumarchaeota)、螺旋体菌门(Saccharibacteria),占比分别为 32.9%、19.2%、11.6%、7.1%、1.6%、4.3%、3.8%、4.2%、2.1%、1.1%,其他门类为 12.3%。从数据分析结果可见,变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、硝化螺旋菌门为优势菌群,它们的相对丰度均大于 5%,占总序列的 70.8%。从结构来看,12 个样本含有部分相同的细菌群落,但数量存在一定的差异。

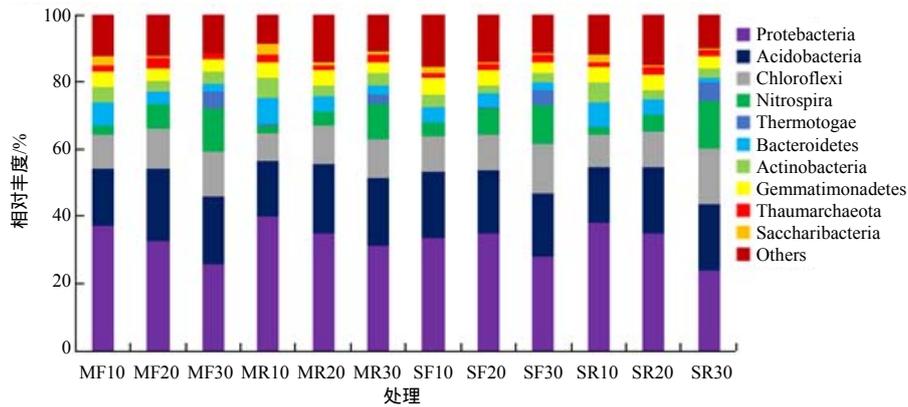


图 3 不同处理土壤细菌门水平上的相对丰度

Fig.3 Relative abundance of soil bacteria species in different treatments

3.3 2 种耕作方式下土壤细菌的群落结构及差异性分析

3.3.1 土壤细菌群落的 α 多样性指数

本试验中，计算群落丰度的指数有 Chao1、Goods Coverage 和 Observed OTU。用 Shannon 指数和 Simpson 指数计算群落多样性。群落多样性越高，物种分布越均匀，其值越大。

由表 2 可以看出，MR20、MF10、SR10、SR20、SF10、SF20、MR30、MF20、MR10、MF30、SF30、SR30 的 Shannon 指数依次降低，其中，SR30 与 SR10、SR20、MF10、MR20 的差异极显著。MR20、MF10(SR20)、SF10、SR10、SF20、MR30、MF20、

MR10、MF30、SF30(SR30)的 Simpson 指数依次降低，其中 SF30、SR30 分别与 MF10、MR20、SF10、SF20、SR10、SR20 的差异显著。SR20、SR10、SF10、MF20、MR30、MF10、MR20、SF20、MF30、MR10、SF30、SR30 的 Chao1 指数依次降低，SR30 与 SR10、SR20 的差异显著。在苗期，垄作栽培 10 cm 和 20 cm 处的 Shannon 指数大于厢作的；成熟期，垄作栽培 20 cm 和 30 cm 处的 Shannon 指数和 Simpson 指数均大于厢作的，说明垄作的生长环境更有利于细菌生存，随着植物根系不断向下生长，土壤细菌多样性增加。本试验测序的覆盖率在 92%以上，说明测序结果较好地代表了土壤样本中细菌群落组成的真实情况。

表 2 不同耕作方式下土壤细菌群落的 α 多样性指数

Table 2 The α diversity index of soil bacteria under different cultivation methods

处理	Observed OTU	Shannon 指数	Simpson 指数	Chao1 指数	Goods Coverage 指数
SF10	9010.000 0	11.412 6abAB	0.998 8a	12 838.668 9ab	0.935 3
SF20	8279.667 0	11.207 0abcAB	0.998 6a	11 263.030 3ab	0.943 8
SF30	6943.333 5	10.412 0cdAB	0.995 9b	9676.384 8ab	0.950 8
SR10	9531.333 3	11.515 5abA	0.998 7a	14 017.283 2a	0.929 7
SR20	9521.333 3	11.483 5abA	0.998 9a	14 654.006 6a	0.926 2
SR30	5457.333 3	10.096 1dB	0.995 9b	6890.658 3b	0.969 5
MF10	9167.333 0	11.569 8aA	0.998 9a	11 457.271 5ab	0.944 9
MF20	8423.667 0	11.041 2abcAB	0.998 3ab	12 445.167 0ab	0.936 3
MF30	7498.333 5	10.659 5bcdAB	0.997 0ab	11 236.999 0ab	0.942 6
MR10	7820.666 5	10.984 2abcdAB	0.997 7ab	10 186.210 0ab	0.951 0
MR20	9141.333 0	11.603 3aA	0.999 1a	11 391.826 2ab	0.945 4
MR30	8615.666 7	11.121 3abcAB	0.998 4ab	12 428.871 8ab	0.936 0

同列数据不同小写字母表示差异显著(P<0.05)；不同大写字母表示差异极显著(P<0.01)。

3.3.2 土壤细菌群落的组成及差异物种

根据 LEfSe 分析的 LDA 值，LDA 值大于 4 的物种仅存在于 MF10、MF30、MR10、SF20、SF30、

SR30 的样本中(图 4)。变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、硝化螺旋菌门分别在不同组别中起到重要作用，对于土壤微生物群落结构产生重要影响。

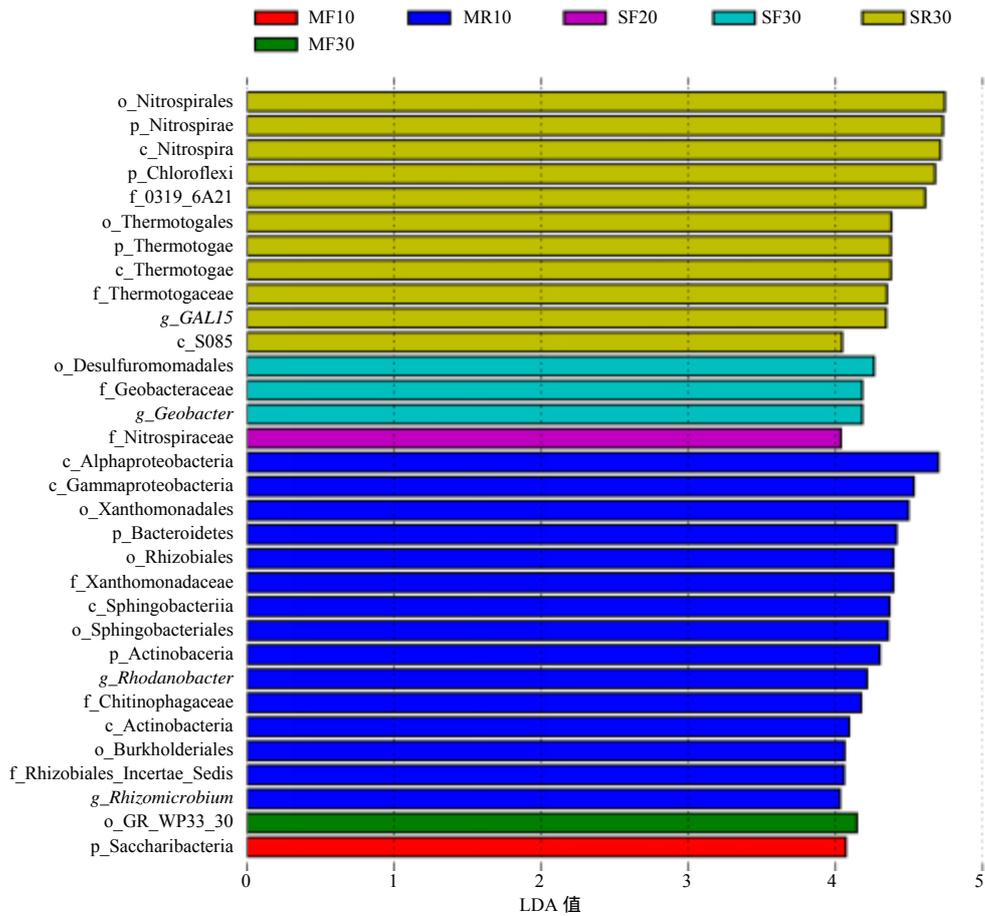


图 4 各样品中 LDA 值大于 4 的物种

Fig. 4 Species with LDA greater than 4 in each sample

3.4 土壤微生物与土壤温度和相对湿度的相关性分析

采用CCA分析探究土壤温度和相对湿度对不同耕作方式、不同深度土壤微生物的影响,结果(图5)

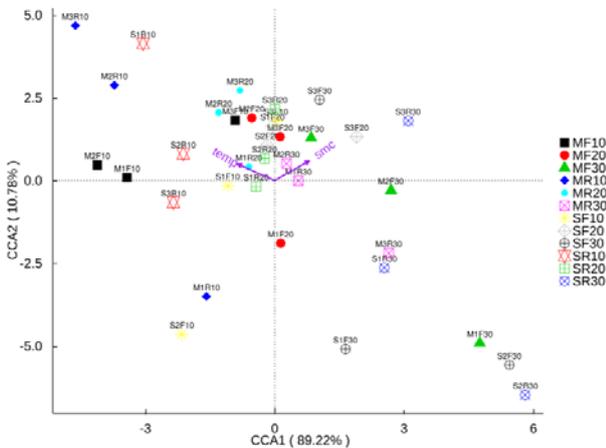
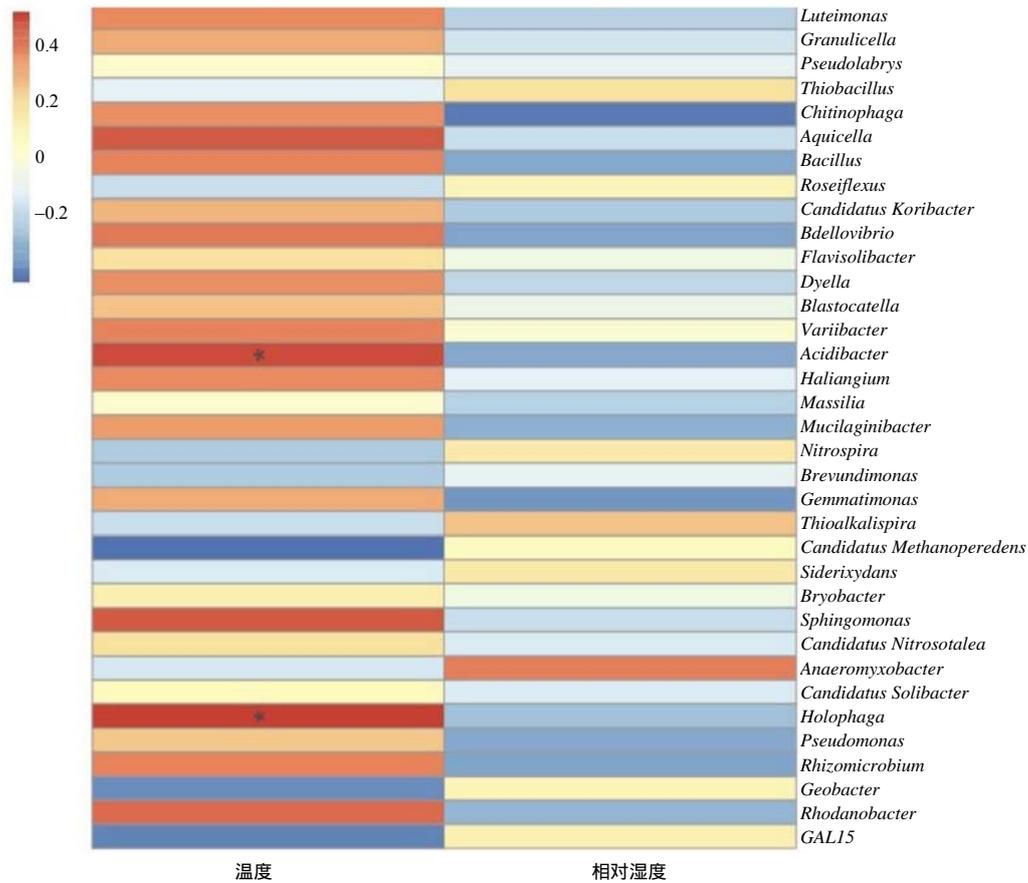


图 5 不同处理土壤样品 CCA 分析结果

Fig.5 CCA analysis results of soil samples in different treatments

发现,土壤温度对苗期和成熟期垄作的 20 cm 深度的土壤样品有影响,土壤相对湿度对成熟期垄作的 30 cm 土壤样品有影响。相较于厢作,垄作的土壤样品微生物的群落变化与土壤温度和相对湿度的相关性更大。

同时采用 Spearman 相关分析法分析土壤温度和相对湿度与丰度排名在前 35 位的土壤细菌相对含量之间的相关性。相关性热图中全噬菌和酸杆菌的相对含量与土壤温度呈显著正相关,而与相对湿度呈负相关(图 6)。在苗期同一深度的土壤,垄作的土壤温度高于厢作的,垄作的土壤相对湿度低于厢作的,此环境适于全噬菌和酸杆菌的生长。不同微生物与温度和相对湿度的相关性不同,进一步解释温度和相对湿度对土壤微生物群落结构的组成具有一定的影响力。



热图对应的值为 Spearman 相关系数  $R$ ； $R$  取值介于 -1 至 1 之间， $R < 0$  为负相关， $R > 0$  为正相关。

图 6 土壤细菌与土壤温度和相对湿度的 Spearman 相关性分析结果

Fig.6 Spearman correlation analysis of soil bacteria and soil temperature and humidity

#### 4 结论与讨论

土壤不仅提供种子萌芽和作物生长所需的水、气、热以及各种营养成分，而且提供了细菌群落生长所需的微环境。不同耕作方式不同程度地改变了土壤的理化性质。有研究<sup>[21]</sup>表明，相比厢作，垄作栽培可以改善土壤的光、热、水等条件及微生物生存环境，提高土壤微生物群落结构的多样性。土壤微生物中细菌的数量较多，细菌的代谢活动旺盛，可以有效地改善土壤的物理结构，提高土壤肥力。本研究中，不同耕作方式下，各深度土壤样本中共有的 OTU 数为 2814 条，在多个菌群丰度上具有显著性差异 ( $P < 0.05$ )，证明耕作方式只能影响细菌群落的丰度，不能改变群落种类，进一步验证了张红霞等<sup>[22]</sup>、王佩雯等<sup>[23]</sup>的研究结果。此外，变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门及硝化螺旋菌门是本研究中的优势菌群，其丰度均高于 5%。

耕作方式不同，对土壤温度和相对湿度有显著影响。有研究<sup>[14,24]</sup>表明，全生育期耕作层 0~20 cm

土层温度均表现为垄作栽培高于传统平作，且地表温差垄作高于传统平作 2.0~6.7 °C，此外，垄作栽培能显著降低耕层土壤含水量。本研究中，苗期垄作的土壤温度高于厢作 0.1~0.7 °C；成熟期同一深度的土壤，垄作的土壤温度低于厢作 0.2~1.2 °C，且土壤温度随土壤深度增加而降低，各土层的土壤相对湿度垄作栽培在苗期和成熟期均低于厢作。

王丽莉<sup>[25]</sup>研究表明，因土壤微生物对土壤水分变化比较敏感，土壤水分的增加会使土壤微生物量碳快速转化，进而导致微生物活性降低。土壤升温可明显减少土壤微生物生物量<sup>[26-27]</sup>。本研究中，从苗期到成熟期，土壤温度上升 11.4 °C，微生物数量增加 5%，大多数优势菌群与土壤温度呈正相关 ( $R > 0$ )，与土壤相对湿度呈负相关 ( $R < 0$ )。路丹等<sup>[28]</sup>的试验结果表明，垄作可显著增加稻田土壤微生物 Chao1、PD whole tree、Observed species 指数，改变土壤微生物群落，有利于土壤微生物多样性发展。本研究中，油菜各时期垄作的 Chao1 指数、

Shannon 指数、Simpson 指数均高于厢作, 证明在油菜根系土层中, 垄作更有利于土壤微生物多样性发展。此外, 不同耕作方式可能影响作物根系分泌物的释放, 从而影响微生物多样性, 需进一步进行研究。

#### 参考文献:

- [1] WILLIAMS M A , RICE C W , OWENSBY C E . Carbon dynamics and microbial activity in tallgrass prairie exposed to elevated CO<sub>2</sub> for 8 years[J]. *Plant and Soil* , 2000 , 227(1/2) : 127–137 .
- [2] 蒋永梅, 高亚敏, 姚拓, 等. 植物根际促生菌(PGPR) 对非宿主植物猫尾草和小黑麦生长的促生作用[J]. *草业科学* , 2018 , 35(8) : 1910–1918 .  
JIANG Y M , GAO Y M , YAO T , et al . Effect of plant growth-promoting rhizobacteria on the growth of *Urtica crinita* and *Triticale* Wittmack[J]. *Pratacultural Science* , 2018 , 35(8) : 1910–1918 .
- [3] 路丹, 何明菊, 区惠平, 等. 耕作方式对稻田土壤活性有机碳组分、有机碳矿化以及腐殖质特征的影响[J]. *土壤通报* , 2014 , 45(5) : 1144–1150 .  
LU D , HE M J , OU H P , et al . Effects of tillage patterns on the labile organic carbon components , organic carbon mineralization and humus characteristics in paddy soil[J]. *Chinese Journal of Soil Science* , 2014 , 45(5) : 1144–1150 .
- [4] 姚梦琴. 植物-微生物联合修复农药污染土壤的技术研究[D]. 沈阳: 沈阳工业大学, 2017 .  
YAO M Q . Study on remediation of pesticide- contaminated soil by plant-microorganism combined technology[D]. Shenyang : Shenyang University of Technology , 2017 .
- [5] 吴晓宗, 王岩. 生物有机肥防治烟草青枯病及对土壤微生物多样性的影响[J]. *中国土壤与肥料* , 2019(4) : 193–199 .  
WU X Z , WANG Y . Research of bio-organic fertilizer on prevention of tobacco bacterial wilt and its effects on soil microbial diversity[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China* , 2019(4) : 193–199 .
- [6] 曹瑞, 吴福忠, 杨万勤, 等. 海拔对高山峡谷区土壤微生物生物量和酶活性的影响[J]. *应用生态学报* , 2016 , 27(4) : 1257–1264 .  
CAO R , WU F Z , YANG W Q , et al . Effects of altitudes on soil microbial biomass and enzyme activity in alpine- gorge regions[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology* , 2016 , 27(4) : 1257–1264 .
- [7] 陈娟, 马忠明, 刘莉莉, 等. 不同耕作方式对土壤有机碳、微生物量及酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报* , 2016 , 22(3) : 667–675 .  
CHEN J , MA Z M , LIU L L , et al . Effect of tillage system on soil organic carbon , microbial biomass and enzyme activities[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer* , 2016 , 22(3) : 667–675 .
- [8] 殷全玉, 刘健豪, 方明, 等. 高碳基肥配施菌剂对植烟土壤化学性质及微生物的影响[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)* , 2019 , 45(5) : 501–506 .  
YIN Q Y , LIU J H , FANG M , et al . Effects of high carbon base fertilizer combined with microbial agent on chemical properties and microbial community of tobacco-growing paddy soil[J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)* , 2019 , 45(5) : 501–506 .
- [9] 罗红燕, 蒋先军, 谢德体, 等. 真菌和细菌生物量在土壤团聚体中的分布和耕作响应[J]. *生态学报* , 2009 , 29(8) : 4588–4594 .  
LUO H Y , JIANG X J , XIE D T , et al . Distribution patterns of and the effects of tillage type on bacterial and fungal biomass within soil water-stable aggregates[J]. *Acta Ecologica Sinica* , 2009 , 29(8) : 4588–4594 .
- [10] LIU E X , TAKAHASHI T , HITOMI T . Effect of pruning material compost on the nitrogen dynamic , soil microbial biomass , and plant biomass in different soil types[J]. *Landscape and Ecological Engineering* , 2019 , 15(4) : 413–419 .
- [11] 王霞, 陈哲, 袁红朝, 等. 应用 16S rDNA 克隆文库技术研究长期稻草还田对水稻土细菌多样性的影响[J]. *生态学报* , 2010 , 30(13) : 3865–3874 .  
WANG X , CHEN Z , YUAN H Z , et al . Effect of long-term fertilization by the application of rice straw on bacterial diversity in paddy soil[J]. *Acta Ecologica Sinica* , 2010 , 30(13) : 3865–3874 .
- [12] 袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 等. 长期施肥对稻田土壤固碳功能菌群结构和数量的影响[J]. *生态学报* , 2012 , 32(1) : 183–189 .  
YUAN H Z , QIN H L , LIU S L , et al . Abundance and composition of CO<sub>2</sub> fixating bacteria in relation to long-term fertilization of paddy soils[J]. *Acta Ecologica Sinica* , 2012 , 32(1) : 183–189 .
- [13] 谷晓博. 种植方式和施氮量对土壤环境及冬油菜产量的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018 .  
GU X B . Effect of planting patterns and nitrogen fertilization rate on soil environment and yield of winter oilseed rape[D]. Yangling , China : Northwest A & F University , 2018 .
- [14] 李祯. 油菜不同栽培方式下土壤温相对湿度差异及对产量的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2018 .  
LI Z . Different soil temperature and humidity in different cultivation and their effects on the yield of rapeseed (*Brassica napus* L.)[D]. Changsha : Hunan Agricultural University , 2018 .
- [15] 慈恩, 王莲阁, 丁长欢, 等. 垄作免耕对稻田垄埂土

- 壤有机碳累积和作物产量的影响[J]. 土壤学报, 2015, 52(3): 576–586 .
- CI E ,WANG L G ,DING C H ,et al .Effects of no-tillage ridge-cultivation on soil organic carbon accumulation in ridges and crop yields in paddy fields[J]. Acta Pedologica Sinica , 2015 , 52(3) : 576–586 .
- [16] 李仕伟, 汪小兰, 蒋先军, 等. 稻田垄作免耕对紫色水稻土硝化微生物的影响[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2015, 37(7): 1–6 .
- LI S W ,WANG X L ,JIANG X J , et al . Effect of ridge with no-tillage on nitrifying microorganisms in purple paddy soil[J]. Journal of Southwest University (Natural Science) , 2015 , 37(7) : 1–6 .
- [17] CAPORASO J G , KUCZYNSKI J , STOMBAUGH J , et al . QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods , 2010 , 7(5) : 335–336 .
- [18] EDGAR R C , HAAS B J , CLEMENTE J C , et al . UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection[J]. Bioinformatics , 2011 , 27(16) : 2194–2200 .
- [19] QUAST C , PRUESSE E , YILMAZ P , et al . The SILVA ribosomal RNA gene database project : improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic Acids Research , 2013 , 41(D1) : D590–D596 .
- [20] EDGAR R C . Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. Bioinformatics , 2010 , 26(19) : 2460–2461 .
- [21] 王思潮, 曹凑贵, 李成芳, 等. 耕作模式对冷浸田水稻产量和土壤特性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2014, 22(10): 1165–1173 .
- WANG S C , CAO C G , LI C F , et al . Effects of cultivation patterns on rice yield and soil properties in cold waterlogged paddy fields[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture , 2014 , 22(10) : 1165–1173 .
- [22] 张红霞, 张舒雅, 张玉涛, 等. 山药根际土壤微生物 16S rRNA 多样性及影响因素[J]. 土壤学报, 2019, 56(5): 1235–1246 .
- ZHANG H X ,ZHANG S Y ,ZHANG Y T ,et al .Genetic 16S rRNA diversity of soil microbes in rhizosphere of Chinese yam and its influencing factors[J]. Acta Pedologica Sinica , 2019 , 56(5) : 1235–1246 .
- [23] 王佩雯, 朱金峰, 陈征, 等. 高通量测序技术下连作植烟土壤细菌群落与土壤环境因子的耦合分析[J]. 农业生物技术学报, 2016, 24(11): 1754–1763 .
- WANG P W ,ZHU J F ,CHEN Z ,et al .Coupling analysis based on high throughput sequencing technology of soil bacterial community and soil environmental factors in continuous cropping tobacco soil[J]. Journal of Agricultural Biotechnology , 2016 , 24(11) : 1754–1763 .
- [24] 孙向辉. 垄作栽培对冬小麦根际土壤环境及产量和品质的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2006 .
- SUN X H .Effects of bed-planting on soil environment in the rhizosphere ,yield and quality characteristics of winter wheat (*Triticum aestivum* L.)[D]. Zhengzhou : Henan Agricultural University , 2006 .
- [25] 王丽莉. 温度和水分对土壤腐殖质形成与转化的影响[D]. 长春: 吉林农业大学, 2003 .
- WANG L L . Effects of temperature and moisture on the formation and transformation of soil humus[D]. Changchun : Jilin Agricultural University , 2003 .
- [26] XIONG Q L ,PAN K W ,ZHANG L ,et al .Warming and nitrogen deposition are interactive in shaping surface soil microbial communities near the alpine timberline zone on the eastern Qinghai-Tibet Plateau ,southwestern China[J]. Applied Soil Ecology , 2016 , 101 : 72–83 .
- [27] RINNAN R , STARK S , TOLVANEN A . Responses of vegetation and soil microbial communities to warming and simulated herbivory in a subarctic heath[J]. Journal of Ecology , 2009 , 97(4) : 788–800 .
- [28] 路丹, 雷静, 韦燕燕, 等. 短期免耕和垄作对稻田土壤微生物群落及多样性指数的影响[J]. 西南农业学报, 2015, 28(4): 1670–1674 .
- LU D , LEI J , WEI Y Y , et al . Effect of microbial community and diversity index of paddy soil under short no-tillage and ridge tillage[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences , 2015 , 28(4) : 1670–1674 .

责任编辑: 毛友纯

英文编辑: 柳 正