中国生态农业学报(中英文)
Chinese Journal of Eco-Agriculture
中文核心期刊
中国科技核心期刊
中国精品科技期刊
百种中国杰出学术期刊
中国科学引文数据库源刊

黄土高原旱地麦田26年免耕覆盖对土壤肥力及原核微生物群落多样性的影响

张贵云，吕贝贝，张丽萍，刘珍，范巧兰，魏明峰，姚众，袁嘉玮，柴跃进

引用本文:
张贵云, 吕贝贝, 张丽萍, 等. 黄土高原旱地麦田26年免耕覆盖对土壤肥力及原核微生物群落多样性的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2019, 27(3): 358−368.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.180604

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

冬小麦免耕覆盖与有机栽培对土壤微生物群落组成的影响

Effects of no−tillage, mulching and organic fertilization on soil microbial composition in winter wheat field

中国生态农业学报(中英文). 2019, 27(2): 267−276 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.180583

长期保护性耕作对丛枝菌根真菌多样性的影响

Effect of long−term conservation tillage on arbuscular mycorrhizal fungi diversity

中国生态农业学报. 2018, 26(7): 1048−1055 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.171119

玉米秸秆生物炭对褐土微生物功能多样性及细菌群落的影响

Effect of corn−stalk biochar on soil microbial functional diversity and bacterial community in cinnamon soils

中国生态农业学报. 2016, 24(6): 736−743 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.151212

氮肥水平对稻田细菌群落及N2O排放的影响

Effect of nitrogen fertilizer level on bacterial community and N2O emission in paddy soil

中国生态农业学报. 2017, 25(9): 1266−1275 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.170146

不同秸秆还田方式对和田风沙土土壤微生物多样性的影响*

Effectsofstrawincorporationmodesonmicrobialactivityandfunctionaldiversityinsandysoil

中国生态农业学报. 2016, 24(4): 489−498 https://doi.org/10.13930/j.cnki.cjea.150882

DOI: 10.13930/j.cnki.cjea.180604

张贵云, 吕贝贝, 张丽萍, 刘珍, 范巧兰, 魏明峰, 姚众, 袁嘉玮, 柴跃进. 黄土高原旱地麦田26年免耕覆盖对土壤肥力及原核微生物群落多样性的影响[J]. 中国生态农业学报(中英文), 2019, 27(3): 358−368

ZHANG G Y, LYU B B, ZHANG L P, LIU Z, FAN Q L, WEI M F, YAO Z, YUAN J W, CHAI Y J. Effect of long-term no-tillage with stubble on soil fertility and diversity of prokaryotic microbiome in dryland wheat soils on the Loess Plateau, China[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2019, 27(3): 358−368

黄土高原旱地麦田 26 年免耕覆盖对土壤肥力及原核微生物群落多样性的影响*

张贵云[1], 吕贝贝[1], 张丽萍[1], 刘 珍[1], 范巧兰[1], 魏明峰[1], 姚 众[1], 袁嘉玮[1], 柴跃进[2]

(1. 山西省农业科学院棉花研究所 运城 044000; 2. 山西省临汾市农机局 临汾 041000)

摘 要: 为明确黄土高原旱作麦田长期保护性耕作对土壤肥力和土壤原核微生物的效应, 以位于山西省临汾市实施保护性耕作 26 年的小麦田为试验基地, 采用 Illumina Hiseq 2500 高通量测序等手段, 开展了不同耕作措施[免耕覆盖(NTS)、深松免耕覆盖(SNTS)和传统耕作(TT1)]对土壤理化性质和土壤原核微生物多样性的影响分析。研究结果表明: 1)NTS 和 SNTS 处理比 TT1 处理显著提高了土壤全氮、碱解氮、速效磷及速效钾的含量, 降低了土壤 pH, 提高了土壤贮水能力和水分含量, 降低了 0~10 cm 土层的土壤容重, 但提高了 10~20 cm 土层的土壤容重; 同时, SNTS 处理显著增加了土壤的有机质含量。2)Illumina Hiseq 高通量 16S rRNA 基因 V4 区测序结果表明: NTS 和 SNTS 处理比 TT1 处理显著降低了绿弯菌门的相对丰度; NTS 比 SNTS 处理显著降低了土壤中疣微菌门和绿弯菌门的相对丰度; NTS 处理显著增加了土壤原核微生物群落的多样性, 但未显著改变原核微生物群落的丰度; SNTS 对原核微生物群落的多样性和丰富度均未有显著改变; NTS 处理的显著性差异物种(Biomarker)高于其他 2 个处理; 其他原核微生物门的相对丰度, 在 3 个处理间尚未有明显差异。3)聚类分析可见: NTS 和 SNTS 处理与 TT1 处理的微生物群落结构差异较大; NTS 处理与 SNTS 处理间的微生物群落结构差异较小。4)CCA 分析可知: 土壤 pH、有机质、速效氮、速效磷、速效钾含量对土壤原核微生物群落遗传多样性的变化起着重要作用; 与 TT1 处理相比, NTS 和 SNTS 处理在一定程度上改变了土壤原核微生物群落结构, 但仍存在结构的相似性。综上所述, 长期进行 NTS 和 SNTS 处理对黄土高原旱地麦田土壤微生物多样性、丰富度以及土壤肥力因子等的正效作用明显。

关键词: 保护性耕作; 免耕覆盖; 深松免耕; 高通量测序; 土壤原核微生物

中图分类号: S154.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 2096-6237(2019)03-0358-11

Effect of long-term no-tillage with stubble on soil fertility and diversity of prokaryotic microbiome in dryland wheat soils on the Loess Plateau, China*

ZHANG Guiyun[1], LYU Beibei[1], ZHANG Liping[1], LIU Zhen[1], FAN Qiaolan[1], WEI Mingfeng[1], YAO Zhong[1], YUAN Jiawei[1], CHAI Yuejin[2]

(1. Cotton Research Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Yuncheng 044000, China; 2. Agricultural Machinery Bureau of Linfen City, Linfen 041000, China)

* 山西省重点研发计划项目(201703D321009-3)、山西省自然科学基金项目(2014011029-3)和山西省农业科学院博士基金项目(YBSJJ1405)资助
张贵云, 主要从事植物营养学和菌根学研究。E-mail: guiyunzhang@126.com
收稿日期: 2018-06-28 接受日期: 2018-10-25

* This work was supported by Shanxi Key Research and Development Project (201703D321009-3), the Natural Science Foundation of Shanxi Province (2014011029-3), and the Doctor Fund Project of Shanxi Academy of Agricultural Sciences (YBSJJ1405).
Corresponding author, ZHANG Guiyun, E-mail: guiyunzhang@126.com
Received Jun. 28, 2018; accepted Oct. 25, 2018

Abstract: In dryland regions, conservation tillage has the advantages of reducing soil erosion, maintaining soil structure, improving soil physical and chemical properties, and promoting microbial reproduction, compared with traditional farming methods. Up to now, the effect of long-term conservation tillage on soil prokaryotic microbial community has not been adequately reported for the China's Loess Plateau region. To understand the effects of long-term conservation tillage on soil prokaryotic microbial community diversity and soil fertility in dryland wheat fields on the Loess Plateau, the Illumina Hiseq 2500 high-throughput sequencing and physicochemical test methods were used to analyze the effects of different tillage measures on soil physical and chemical properties and the diversity of soil prokaryotic microbial community in the wheat fields in Linfen City, Shanxi Province. Tillage measures adopted in the study area for 26 years included no-tillage with stubble (NTS), no-tillage with stubble after subsoiling (SNTS) and traditional tillage (TT1). The results showed that: 1) while soil contents of total nitrogen, available nitrogen, available phosphorus, available potassium, and soil water storage capacity and water content under NTS and SNTS treatments were significantly higher than those under TT1, soil pH under NTS and SNTS was lower than that under TT1. NTS and SNTS treatments reduced soil bulk density in the 0–10 cm soil layer, but increased it in 10–20 cm soil layer compared with TT1 treatment. Meanwhile, SNTS treatment significantly increased soil organic matter content. 2) The results of the Illumina Hiseq high-throughput 16S rRNA gene sequencing in area V4 indicated that: SNTS treatment significantly reduced the relative abundance of Chloroflexi, compared with TT1 treatment. NTS treatment significantly reduced the relative abundance of Verrucomicrobia and Chloroflexi, compared with SNTS treatment. NTS treatment significantly increased the diversity of soil prokaryote community, but not significantly changed the abundance of prokaryote community. SNTS treatment not significantly changed the diversity and richness of prokaryote community. Biomarkers under NTS treatment were higher than under other treatments. The relative abundance of other prokaryotes at the phylum division was not significantly different among three treatments. 3) UPGMA analysis showed that prokaryote community structures of NTS and SNTS were significantly different from those of TT1, and the differences between NTS and SNTS were small. 4) CCA analysis showed that soil pH, contents of organic matter, available nitrogen, available phosphorus and available potassium were important for changes in genetic diversity of soil prokaryote communities. Although NTS and SNTS treatments could change soil prokaryotic microbiome structure greatly, there was still structural similarity among the soil prokaryotic microbiomes among three treatments. To sum up, long-term conservation tillage had obvious positive effects on soil microbial diversity, richness and soil fertility in dryland wheat fields on the Loess Plateau.

Keywords: Conservation tillage; No-tillage with stubble; No-tillage with stubble after subsoiling; High-throughput sequencing; Soil prokaryotic microbiome

保护性耕作是以秸秆覆盖还田、农田免耕或少耕、施肥、播种等复式作业为主要内容的一种新型旱作机械化耕作方式[1-2]。与传统耕作方式相比, 保护性耕作不仅省工、省力、减少投入, 而且可减少水土流失, 保持土层结构, 改善土壤理化性质, 促进微生物的繁殖[3-5]。研究表明, 不同类型生境中, 微生物的群落组成存在明显差异[6], 耕作方式不同, 土壤环境也会不同, 进而引起土壤微生物的数量和结构组成发生改变[7]。Yan 等[8]对耕作和免耕变性土微生物群落功能多样性的研究显示, 免耕比传统耕作更有利于增加土壤微生物多样性。李彤等[9]研究发现西北地区旱作麦田采用保护性耕作, 可以影响土壤微生物群落丰度, 并显著影响土壤理化性质, 进而影响土壤微生物空间结构。

20 世纪 60 年代保护性耕作传入我国[10], 由于其能够增加土壤蓄水, 增强土壤抗旱能力, 提高作物产量, 降低生产成本等, 在我国北方旱地得到了广泛应用[11]。为提高我国北方干旱地区农业生产水平, 1992 年中国农业大学和山西省农机局受澳大利亚国际农业研究中心资助, 在山西省临汾市开展了旱地保护性耕作体系研究。张贵云等[12]以该试验基地为平台, 开展了长期保护性耕作对丛枝菌根真菌多样性的影响研究, 结果表明, 保护性耕作提高了丛枝菌根真菌(AMF)多样性, 且深松与免耕相结合的保护性耕作方式, 更有利于提高土壤 AMF 多样性。土壤细菌是土壤生态系统中不可或缺的部分, 参与多种土壤生理生化过程, 如土壤有机质的分解、腐殖质的形成、养分的转化和循环等, 土壤生态系统的质量和健康与土壤中细菌群落结构的变化有很大关系[13-14], 因而对土壤微生物的研究尤其是原核微生物群落结构的研究尤为重要。近年来, 人们运用高通量手段研究土壤微生物的技术日趋成熟, 这为深入分析微生物资源提供了可能[15]。

高通量测序技术是对传统测序技术的一次革命性创新[16], 其产生的 16S rRNA 基因的测序数据, 覆盖深度高, 可以用来估计微生物群落的物种组成, 能更真实地揭示环境中微生物群落的复杂度和多样性[17]。目前为止, 国内外有关保护性耕作田土壤微生物多样性的研究有了一定的报道, 但是黄土高原旱作麦田长期保护性耕作对土壤原核微生物群落的影响, 尚鲜见研

究报道。本研究以山西临汾旱地实施保护性耕作 26 年的小麦田为试验平台, 采用 Illumina Hiseq 2500 高通量测序平台测序土壤 16S rDNA, 结合土壤质量环境因子的典型相关分析(CCA), 对不同保护性耕作措施对土壤原核微生物群落和土壤环境的影响进行研究, 探寻保护性耕作技术应用的新理论和新策略, 为在微生物水平上研究黄土高原旱作地区保护性耕作技术提供重要理论支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

试验基地位于山西省临汾市尧都区城隍村(36°01′53″N, 111°37′46″E, 海拔555 m)。试验区域年平均气温12.2 ℃, 年0 ℃以上积温4 600 ℃, 无霜期195 d, 年平均地温13.8 ℃。年均降水量515.7 mm, 且均集中在7—9月份; 年均蒸发量1 933.1 mm。土壤类型为碳酸盐褐土, 试验地种植制度为长期单一种植冬小麦(*Triticum aestivum*)。

1.2 耕作处理方式

2017年5月, 借助1992年在山西省临汾市开始的保护性耕作体系长期定位试验[18], 开展了黄土高原旱作麦田长期保护性耕作对土壤原核微生物群落多样性及土壤肥力的影响研究。本试验选择26年的免耕覆盖(NTS)、连续深松覆盖4年后免耕22年的免耕覆盖(SNTS)以及26年的传统耕作(TT1)3种耕作处理方式。其中, NTS为全年不耕作, 播种时用免耕播种机一次性完成施肥和播种, 收获后将各小区秸秆粉碎全覆盖; SNTS是深松(深度约40 cm)后, 进行长期的免耕覆盖处理; TT1是小麦收获后用铧式犁耕翻(深度约25 cm), 无秸秆覆盖, 播前旋耕(深度约15 cm)整地。各处理重复3次, 每小区面积为600 m^2。试验地无灌溉条件, 作物靠自然降水生长。播种时间: 2016年9月25日, 小麦品种为‘长6359’, 播种量为120 kg·hm^{-2}。试验田化肥使用量: 尿素为225 kg·hm^{-2}, 磷酸二铵为150 kg·hm^{-2}。

1.3 土壤样品采集

于 2017 年 5 月 8 日(小麦灌浆期)采取小麦根际土样, 每小区随机选 3 点, 每个样点先去掉表土, 再从 0~20 cm 土层取小麦根际土样, 每点采集 3 份土样均匀混合成一个样品。将所采集的土样分为两部分, 一部分保存于灭菌的塑封袋中, 于低温条件下带回实验室, 保存于−80 ℃冰箱中用于提取 DNA, 供土壤原核微生物群落结构多样性分析; 另一部分保存于普通塑封袋中, 带回实验室自然风干, 根据试验需要分别过 18 目、100 目筛子用于土壤理化性质的测定。土壤水分和容重指标则分别取自同一样点 0~10 cm、10~20 cm 土层。

1.4 测定方法

土壤理化性质测定: pH 采用 1∶2.5 土水比浸提酸度计法, 土壤水分采用烘干法, 土壤容重采用环割法, 有机质采用重铬酸钾容量法—稀释热法, 全氮采用半微量开氏法, 碱解氮采用碱解扩散法, 速效磷采用 0.5 mol·L^{-1} $NaHCO_3$ 法, 速效钾采用 NH_4OAc 浸提—火焰光度法测定[19]。

土壤总 DNA 的提取及 16S rRNA 基因的 PCR 扩增: 土壤总 DNA 基因组的提取采用 DNA 提取试剂盒进行。采用引物 515F(5′-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3′) 和 806R(5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′)扩增土壤微生物 16S rRNA 基因 V4 区。30 μL PCR 反应体系: Phusion Master Mix (New England Biolabs, 2×)15 μL, Primer (2 μmol·L^{-1}) 3 μL, Genomic DNA (1 ng·μL^{-1}) 10 μL, dd H_2O 2 μL。PCR 反应条件: 98 ℃预变性 1 min; 98 ℃ 10 s, 50 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s, 30 个循环; 72 ℃, 5 min。每个样本 3 次重复, 根据 PCR 产物浓度进行等浓度混样, 充分混匀后使用 1×TAE 浓度 2%的琼脂糖胶电泳纯化 PCR 产物, 选择主带大小在 400~450 bp 之间的序列, 割胶回收目标条带。产物纯化试剂盒使用的是 Thermo Scientific 公司 GeneJET 胶回收试剂盒。

原核微生物 16S rRNA 基因 V4 区高通量测序: 经纯化检测之后的土样送至北京诺禾致源科技股份有限公司, 进行基因组 DNA 的提取和 PCR 扩增、PCR 产物的混样和纯化, 使用 New England Biolabs 公司的 NEB Next®Ultra™DNA Library Prep Kit for Illumina 建库试剂盒进行文库的构建, 构建好的文库经过 Qubit 定量和文库检测合格后, 使用 Illumina 公司的 HiSeq 2500 测序平台, 进行上机测序。

运用 Uparse 软件对序列进行聚类, 以 97%的一致性(Identity)将序列聚类成为 OTUs。采用软件 RDP classifier 进行物种分类。分别在门(phylum)和属(genus)水平上统计各样本的群落组成, 并对 OTU 进行生态学分析, 使用 Qiime 软件计算土壤物种相对丰度、Chao1、ACE、Shannon、Simpson 指数等, 使用 R 软件绘制稀释曲线。对 OTUs 进行多序列比对, 用 Qiime 软件构建系统发生树, 获得不同样品和分组的群落结构差异, 通过 UPGMA 样品聚类树进行展示。选用 LEfSe 统计分析方法对分组样品的物种组成和群落结果进行差异显著性检验。同时, 进行 CCA 分析和多样性指数与环境因子间的相关性分析,

得到显著影响组间群落变化的环境因子。

采用 SPSS 20.0 对土壤理化数据进行统计分析, 使用R 语言分析微生物多样性数据, 运用Canoco 软件进行环境因子对微生物群落结构的影响分析。

2　结果与分析

2.1　保护性耕作措施对土壤理化性质的影响

由表 1 可以看出, 在 0~20 cm 土层土壤中, NTS 和 SNTS 2 个处理的土壤全氮、碱解氮、速效磷及速效钾含量均显著高于 TT1 处理, 而其 pH 显著低于 TT1, SNTS 处理的土壤有机质含量显著高于 NTS 和 TT1 处理。TT1 处理的土壤含水量和容重与其他处理间差异均显著, NTS 和 SNTS 处理间差异不显著, 3 个处理土壤含水量依次为 NTS>SNTS>TT1; 0~10 cm 土层土壤容重依次为 TT1>NTS>SNTS, 10~20 cm 土层土壤容重为 NTS>SNTS>TT1。结果显示, 保护性耕作与传统耕作相比, 显著提高了土壤中的全氮、碱解氮、速效磷及速效钾的含量, 显著降低了土壤 pH, 且深松免耕处理显著增加了土壤有机质的含量; 同时, 保护性耕作还可以增加土壤贮水能力, 提高土壤水分含量, 降低 0~10 cm 土层的土壤容重, 但提高 10~20 cm 土层的土壤容重。

表 1　长期不同耕作方式下土壤的理化性质

Table 1　Soil physical-chemical characteristics under different long-term tillage treatments

处理 Treatment	pH	有机质 Organic matter ($g \cdot kg^{-1}$)	全氮 Total N ($g \cdot kg^{-1}$)	碱解氮 Available N ($mg \cdot kg^{-1}$)	速效磷 Available P ($mg \cdot kg^{-1}$)	速效钾 Available K ($mg \cdot kg^{-1}$)	土壤水分 Soil water content (%)		土壤容重 Soil bulk density ($g \cdot cm^{-3}$)	
							0~10 cm	10~20 cm	0~10 cm	10~20 cm
NTS	8.32±0.01a	18.12±0.45a	1.08±0.01b	91.00±7.00b	63.30±3.25b	368.54±20.15b	9.47±1.69b	15.45±2.44b	1.22±0.29a	1.46±0.47b
SNTS	8.33±0.00a	24.08±1.99b	1.14±0.03b	86.33±2.33b	75.80±1.07b	326.13±11.62b	8.56±1.20b	14.95±2.58b	1.21±0.20a	1.44±0.48b
TT1	8.46±0.02b	14.91±0.61a	0.77±0.02a	58.33±2.33a	49.87±1.48a	220.05±10.12a	7.08±1.35a	8.89±1.61a	1.30±0.35b	1.34±0.41a

同列数字后不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。NTS: 免耕覆盖; SNTS: 深松免耕覆盖; TT1: 传统耕作。Different lowercase letters in the same column indicate significant differences at 0.05 level. NTS: no-tillage with stubble; SNTS: no-tillage with stubble after subsoiling; TT1: traditional tillage.

2.2　土壤样品测序深度及合理性分析

为检测样本的数据量是否合理, 从样品中随机抽取一定测序量的数据, 统计它们所代表物种数目(即 OTUs 数目), 以抽取的测序数据量与对应的物种数来构建稀释曲线, 不同耕作方式土壤样品原核微生物稀释曲线见图 1。由图 1 可知, 随着测序量的增加, 原核微生物稀释曲线逐渐趋于平坦, 但尚未达到饱和, 更多的测序量只会产生少量新的 OTU, 表明本次试验的测序数据量合理, 能够较真实地反映这 3 组土壤样品的原核微生物群落, 说明测序结果包含了大多数原核微生物类群, 基本可以反映不同耕作下土壤生境中原核微生物群落结构与组成, 但仍有少量的原核微生物种类未被发现。

2.3　保护性耕作措施对土壤原核微生物物种丰度的影响

不同处理土壤原核微生物种类 OTU 数量关系韦恩图如图 2 所示, 3 个处理共产生 9 235 个 OTU, 共同包含的 OTU 个数为 4 466, 占总 OTU 数量的 48.36%。其中, NTS 共得到 7 257 个 OTU, SNTS 共得到 6 547 个 OTU, TT1 共得到 6 384 个 OTU。NTS 中特有的 OTU 为 1 314 个, 占总 OTU 数量的 14.23%; SNTS 中特有的 OTU 为 732 个, 占总 OTU 数量的 7.93%; TT1 中特有的 OTU 为 702 个, 占总 OTU 数量的 7.60%。表明 3 个处理原核微生物的群落结构差异较大。分别将 3 组两两比较发现, TT1 和 NTS 共有的 OTU 为 5 138 个, TT1 和 SNTS 共有的 OTU 最少, 为 5 010 个, NTS 和 SNTS 共有的 OTU 最多, 为 5 271 个。

2.4　保护性耕作措施对土壤原核微生物群落组成及相对丰度的影响

门分类水平上, 不同耕作方式下原核微生物群落组成及相对丰度见图 3。从图 3 可知, 3 个处理土壤原核微生物群落在门水平上的组成基本相同, 但平均相对丰度所占比例略有差异。各处理中原核微生物类群相对丰度排名前 10 的有变形菌门(Proteobacteria, 占 31.45%)、酸杆菌门(Acidobacteria, 占 16.51%)、放线菌门(Actinobacteria, 占 14.94%)、厚壁菌门(Firmicutes, 占 3.69%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 占 8.74%)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes, 占 6.51%)、浮霉菌门(Planctomycetes, 占 3.09%)、奇古菌门(Thaumarchaeota, 占 2.87%)、疣微菌门(Verrucomicrobia, 占 3.08%)、绿弯菌门(Chloroflexi, 占 2.65%), 它们占总类群的 92.43%~93.84%。其中, 变形菌门、酸杆菌门和放线菌门为明显优势菌群, 分别占 3 个处理平均相对丰度 10%以上, NTS 处理 3 次重复平均相对丰度分别为 34.24%、13.23%、14.06%, SNTS 处理分别为 28.02%、

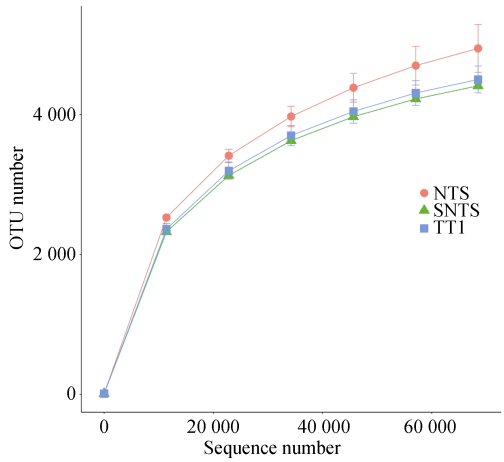

图 1 长期不同耕作方式下土壤原核微生物稀释曲线

Fig. 1 Soil bacterial rarefaction curves under different long term tillage treatments

NTS: 免耕覆盖; SNTS: 深松免耕覆盖; TT1: 传统耕作。

NTS: no-tillage with stubble; SNTS: no-tillage with stubble after subsoiling; TT1: traditional tillage.

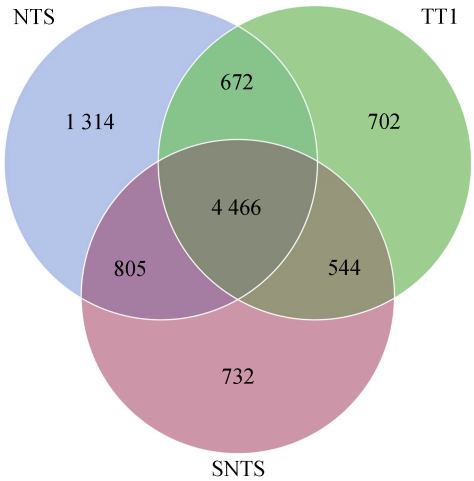

图 2 长期不同耕作方式下土壤原核微生物 Venn 图

Fig. 2 OTUs Venn of soil bacteria in the soil samples under different long term tillage treatments

NTS: 免耕覆盖; SNTS: 深松免耕覆盖; TT1: 传统耕作。

NTS: no-tillage with stubble; SNTS: no-tillage with stubble after subsoiling; TT1: traditional tillage.

18.48%、17.02%, TT1 处理分别为 32.07%、17.83%、13.73%。统计分析结果显示, 3 个处理中优势菌门平均相对丰度均未达到显著性差异水平(P>0.05)。其他 7 个菌门的平均相对丰度较低, 所占比例均小于 10.0%。统计分析结果显示, 除疣微菌门在 NTS 和 SNTS 处理中平均相对丰度达到显著差异水平(P<0.05), 绿弯菌门在 NTS 和 SNTS、NTS 和 TT1 处理中平均相对丰度达到显著差异水平(P<0.05)外, 厚壁菌门、拟杆菌门、芽单胞菌门、浮霉菌门、奇古菌门在 3 个处理中均未有明显差异。此外, 还有 6.47%的原核微生物类群未被分类。结果表明, 与传统耕作相比, 免耕显著降低了绿弯菌门的相对丰度; 与深松免耕相比, 免耕显著降低了土壤中疣微菌门和绿弯菌门的相对丰度, 其他原核微生物门的相对丰度在 3 个处理间尚未有明显差异。

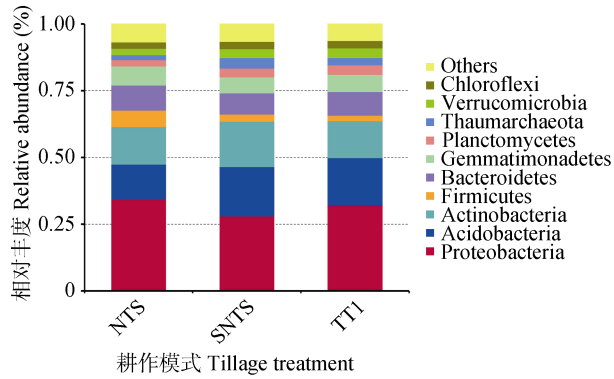

图 3 长期不同耕作方式下土壤原核微生物群落在门水平上的组成及相对丰度

Fig. 3 Soil bacterial community composition and relative abundance at phylum level under different long term tillage treatments

NTS: 免耕覆盖; SNTS: 深松免耕覆盖; TT1: 传统耕作。

NTS: no-tillage with stubble; SNTS: no-tillage with stubble after subsoiling; TT1: traditional tillage.

属水平上, 不同耕作方式下原核微生物群落的组成及相对丰度如图 4 所示。在属水平上, 3 个处理中原核微生物类群的平均相对丰度均小于 5.0%, 其中 RB41 属是 3 个处理共同的优势菌群(占 3.26%), 在 TT1 处理中的相对丰度最高, 未被分类的原核微生物类群占到 86.02%。在 3 种处理的土壤样品中, 未分类的原核微生物成了第一大类群, 说明随着分类的细化, 相关数据库中可用信息量越来越少, 同时也说明土壤中含有一定数量的潜在原核微生物类群。

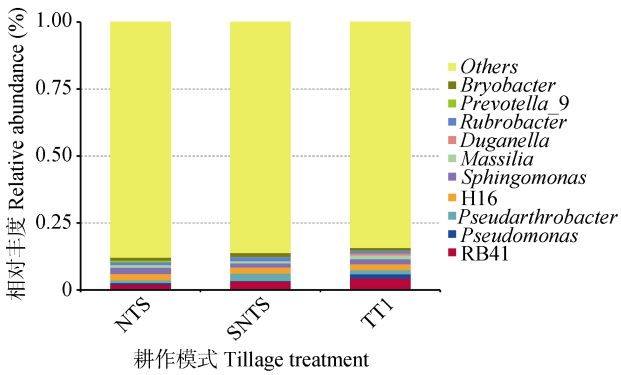

图 4 长期不同耕作方式下土壤原核微生物群落在属水平上的组成及相对丰度

Fig. 4 Soil bacterial community composition and relative abundance at genus level under different long term tillage treatments

TT1: 传统耕作; NTS: 免耕覆盖; SNTS: 深松免耕覆盖。TT1: traditional tillage; NTS: no-tillage with stubble; SNTS: no-tillage with stubble after subsoiling; TT1: traditional tillage.

使用 Qiime 软件计算 Unifrac 距离, 并基于 Weighted Unifrac 方法构建 UPGMA 样品聚类树, 对 3 个处理的土壤原核微生物群落构成的相似性进行聚类分析, 并将聚类结果与各样品在门水平上的物种相对丰度进行整合展示(图 5)。结果表明, 3 个处理可分为 2 大类, 其中 NTS 和 SNTS 处理的土壤原核微生物群落组成趋于一类, 在聚类关系上趋同性较强, TT1 处理单独为一类。表明免耕土壤原核微生物种群结构与深松免耕覆盖并没有明显差异, 亲缘关系较近, 说明深松4年之后免耕覆盖22年土壤原核微生物种群结构变化趋于免耕。

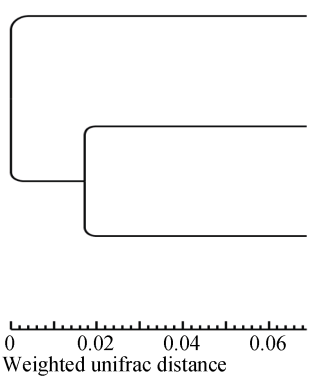

图 5　长期不同耕作方式下土壤原核微生物群落相似性聚类树
Fig. 5　Similarity tree of soil bacterial communities under different long term tillage treatments
NTS: 免耕覆盖; SNTS: 深松免耕覆盖; TT1: 传统耕作。NTS: no-tillage with stubble; SNTS: no-tillage with stubble after subsoiling; TT1: traditional tillage.

2.5　保护性耕作措施对土壤原核微生物多样性的影响

Chao1指数和ACE指数表征物种的丰富度, 其值越高表明原核微生物群落的物种丰富度越高; Shannon指数和Simpson指数表征微生物多样性程度, Shannon指数越高表明原核微生物群落的多样性越高, Simpson指数与之相反; Coverage是指各样本文库的覆盖率[20-22]。

表2是不同耕作方式下土壤原核微生物的多样性指数。从表2可以看出, 3个处理文库覆盖率均在98%以上, 能够较为全面地反映不同耕作措施下土壤原核微生物群落的种类和结构。综合丰富度指数Chao1和ACE以及多样性指数Shannon和Simpson指数, 3个处理土壤环境原核微生物群落多样性由高到低排序为: NTS>SNTS>TT1。统计分析结果, 3个处理的Chao1指数和ACE指数差异不显著。不同耕作处理对原核微生物群落的多样性影响程度均不同, 与传统耕作相比, 免耕显著增加了土壤原核微生物群落的多样性, 未显著改变原核微生物群落的丰富度; 深松免耕处理对原核微生物群落的多样性和丰富度均未有显著改变。

表 2　长期不同耕作方式下土壤原核微生物群落的多样性指数
Table 2　Diversity and richness of soil bacteria communities under different long term tillage treatments

处理 Treatment	Chao1 指数 Chao1 index	ACE 指数 ACE index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	覆盖率 Good's-coverage
NTS	5 839.393 0±592.538 8a	6 241.998 0±730.496 8a	10.286 7±0.023 4b	0.996 4±0.000 6b	0.980 8±0.004 0a
SNTS	5 033.266 0±171.921 9a	5 325.330 3±203.092 8a	9.961 1±0.099 6a	0.996 5±0.000 4a	0.985 0±0.001 0a
TT1	4 897.630 7±31.920 0a	5 159.809 3±35.957 2a	9.925 1±0.047 9a	0.997 9±0.000 0a	0.985 7±0.000 3a

同列数字后不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。NTS: 免耕覆盖; SNTS: 深松免耕覆盖; TT1: 传统耕作。Different lowercase letters in the same column indicate significant differences at 0.05 level. NTS: no-tillage with stubble; SNTS: no-tillage with stubble after subsoiling; TT1: traditional tillage.

2.6　不同耕作措施下土壤原核微生物群落组间差异性

通过LEfSe分析, 可以找出组间具有显著差异的Biomarker, 以及显著影响组间差异性的物种或群落[23]。不同耕作方式下土壤原核微生物群落组间差异LEfSe分析柱状图和进化分支图如图6所示, 不同处理对应不同的Biomarker, NTS处理的显著性差异物种(Biomarker)最多, SNTS次之, TT1最少。在门水平上, TT1样品中有1个主要门(疣微菌门)的细菌存在显著差异, SNTS样品中有1个主要门(奇古菌门)的古菌存在显著差异, TT1样品在门水平上无显著差异。在属水平上, SNTS中放线菌门的*Pseudarthrobacter*、变形菌门的*Steroidobscte*共2属的细菌存在显著差异, NTS中变形菌门的*Sphingomonas*、衣原体门的*Estrella*、拟杆菌门的*Pontibacter*共3属的细菌存在显著差异。

2.7　土壤原核微生物群落组成与土壤环境因子的相关分析

土壤理化性质的变化会直接或间接的影响土壤微生物群落结构的组成[24-25]。为分析不同耕作方式土壤生境中原核微生物群落与土壤环境因子特性间的关系, 以原核微生物群落在门水平上的相对丰度数据为物种数据, 土壤理化数据为土壤环境变量, 采用Canoco软件进行了CCA, 其结果排序如图7所示, 第1排序轴对土壤原核微生物群落变化解释

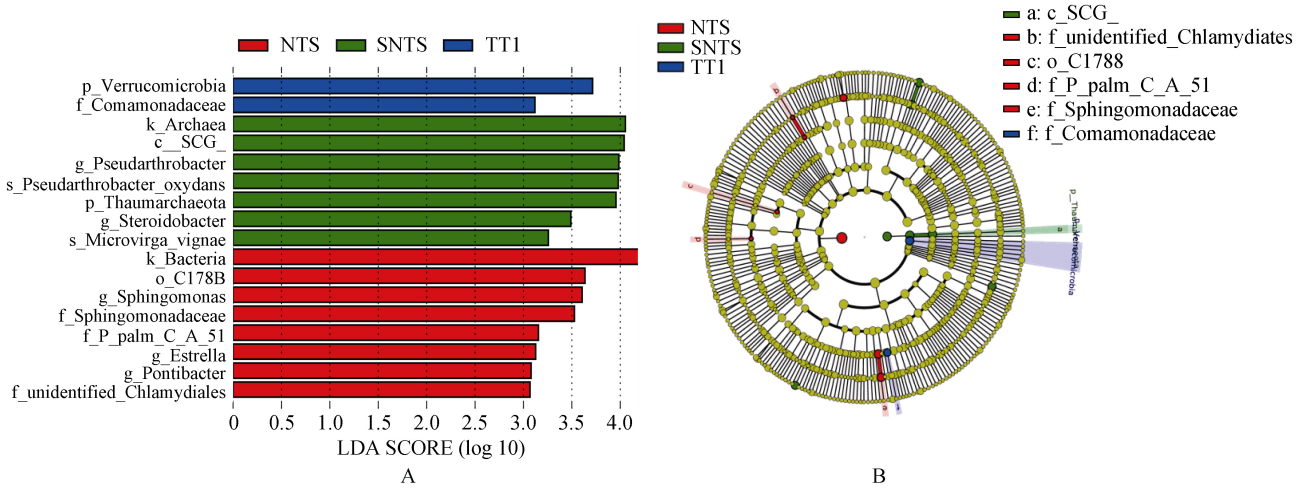

图 6　长期不同耕作方式下土壤原核微生物群落处理间差异 LEfSe 分析图(A)和进化分支图(B)

Fig. 6　Histogram (A) and cladogram (B) based on LEfSe analysis of soil bacterial communities under different long term tillage treatments

NTS: 免耕覆盖; SNTS: 深松免耕覆盖; TT1: 传统耕作。NTS: no-tillage with stubble; SNTS: no-tillage with stubble after subsoiling; TT1: traditional tillage.

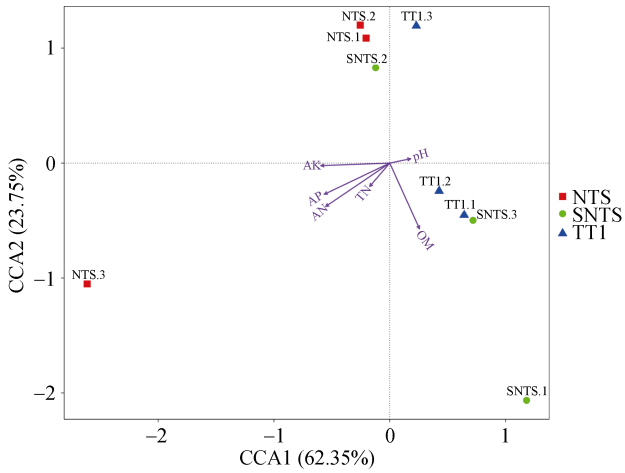

图 7　门水平下长期不同耕作处理的土壤原核微生物群落与土壤理化因子的典型对应分析

Fig. 7　Canonical correspondence analysis (CCA) ordination biplot between bacterial community structure and soil environmental factors at phylum level under different long term tillage treatments

TN、AN、AP、AK、OM 分别代表土壤全氮、碱解氮、速效磷、速效钾、有机质含量。NTS: 免耕覆盖; SNTS: 深松免耕覆盖; TT1: 传统耕作。TN, AN, AP, AK and OM represented total N, available N, available P, available K and organic matter, respectively. NTS: no-tillage with stubble; SNTS: no-tillage with stubble after subsoiling; TT1: traditional tillage.

最多，达 62.35%；第 2 排序轴仅解释了原核微生物群落变化的 23.75%，前两轴共解释了原核微生物群落总变异的 86.10%，在对原核微生物群落变异的解释中起主导作用。其中，pH(r=0.968 5)、速效氮(r=–0.836 8)、速效磷(r=–0.898 4)、速效钾(r=–0.994 1)与第 1 排序轴相关性较高，全氮(r=–0.719 6)、有机质(r=–0.917 7)与第 2 排序轴相关性较高。结果表明，土壤 pH、有机质、速效氮、速效磷、速效钾含量对土壤原核微生物群落遗传多样性的变化起着重要作用。3 个处理样本中，TT1.1、TT1.2、NTS.3 相距较近，说明这 3 个样本的群落结构相近，NTS.1、NTS.2、SNTS.2、TT1.3 相距较近，说明这 4 个样本的群落结构相近；NTS.1 及 NTS.2 与 NTS.3 相距较远，TT1.1 及 TT1.2 与 TT1.3 相距较远，SNTS.1、SNTS.2、SNTS.3 相距较远，说明取样过程中空间分布的不均匀及复杂性也会影响原核微生物的群落结构。同时，TT1 的 3 个样本与 NTS.3、SNTS.1 相距较远，说明这 3 组样本之间群落结构存在差异。结果表明，与传统耕作相比，保护性耕作在一定程度上能够改变土壤原核微生物群落结构，但仍存在结构的相似性。

3　讨论

不同耕作方式对土壤养分的影响有所不同[26]。Dolan 等[27]和 Filho 等[28]研究发现，长期免耕提高了土壤表层有机质的含量。本研究结果表明，长达 26 年的免耕和深松免耕处理，改变了 0~20 cm 土层的理化性质，其中土壤的有机质、全氮、碱解氮、速效磷、速效钾含量相对于传统耕作均有不同程度的提高，这一结论与杨培培等[29]、李友军等[30]研究结果一致，说明保护性耕作能够提高土壤肥力，促进作物生长。戴亮[31]在不同耕作方式对土壤微生物及土壤固碳能力影响的研究中指出，深松免耕同时兼具翻耕和免耕的优点，可以降低土壤有机质的矿化速率，加深土壤腐殖质化程度，减缓土壤有机碳的损失。许菁等[32]通过 5 年的定位试验，开展了长期保护性耕作对小麦-玉米(*Zea mays*)两熟农田土壤碳

储量及固碳潜力的影响研究, 结果表明, 秸秆翻入土壤后在很大程度腐解, 与无秸秆还田土壤有机碳储量之间的差距逐渐拉大, 土壤碳储量达到峰值, 说明不同耕作方式使秸秆在土壤中的腐解环境不同, 引起秸秆腐解速率的不同, 土壤中秸秆腐解程度随时间的推进而提高。本试验结果发现, 长期保护性耕作与传统耕作相比, 免耕处理和深松免耕处理的土壤有机质含量也均有不同程度的提高, 且深松免耕优于免耕, 前者显著提高了土壤有机质的含量, 较传统耕作提高了 61.50%, 可能因为深松免耕促进了腐生菌增殖, 更有利于土壤有机质的提高。

保护性耕作可以增加土壤的贮水能力, 提高土壤水分含量, 这是因为保护性耕作在土壤表面覆盖有作物残茬, 与传统耕作相比其地表裸露面积减少, 从而土壤水分蒸发减少, 提高了土壤蓄水保墒能力[33]。本研究表明, 保护性耕作显著提高了黄土高原旱作小麦田土壤含水量, 有较明显的优势。土壤容重是衡量土壤肥力的重要指标之一[34]。相关研究表明, 传统翻耕的土壤容重大于保护性耕作[35], 本研究发现 0~10 cm 土层传统耕作处理土壤容重高于免耕和深松免耕, 这与上述观点相一致, 可能是由于保护性耕作措施增加了土壤的透气性和有机质含量, 在一定年限后有利于降低土壤容重[36]。而本研究 3 个处理 10~20 cm 和 0~10 cm 土层土壤容重变化规律不一致, 10~20 cm 土层土壤容重变化表现为免耕处理高于传统耕作和深松免耕, 与上述观点不一致。赵洪利等[37]研究发现, 免耕与深松、翻耕处理相比, 土壤容重增大, 和本研究 10~20 cm 土壤容重结论一致, 可能是因为本试验进行的长期免耕处理无土壤耕作, 在长达 26 年的降水和自身重力影响下, 使得 10~20 cm 土层的土壤容重大于深松免耕和传统耕作处理。CCA 结果表明, 土壤原核微生物群落结构多样性是多个土壤环境因子共同作用的结果, 其中 pH、有机质、速效氮、速效磷、速效钾含量对于研究区土壤原核微生物群落遗传多样性的变化起着重要作用, 说明土壤碳、氮等营养元素对原核微生物的多样性有显著影响[24]。

土壤微生物类群中, 以细菌居多, 通常能占到 70%~90%, 其种类繁多、功能多样, 具有最为丰富的遗传多样性[25,38]。不同耕作方式对土壤原核微生物群落结构、种类、数量存在一定的影响, 采用高通量测序技术对土壤原核微生物 16S rRNA 基因的 V4 高变区进行扩增测序分析, 结果表明, 3 种处理在 97%的相似度水平上, 共产生 9 878 种属分类水平的原核微生物(OTUs), 此外测序还发现了许多未被分类的原核微生物, 需通过深度测序或利用其他先进手段对微生物进行更细致地分类研究。在门分类水平上, 土壤主要优势菌群为变形菌门、酸杆菌门和放线菌门, 其中变形菌门的丰度最高。这与 Roesch 等[39]对土壤微生物的研究相一致, 可能是因为变形菌门是细菌中最大的一个门, 且该试验基地土壤呈弱碱性, 而变形菌门则是碱性土壤中的主要优势菌群[40]。有研究报道曾指出, 变形菌门中的许多类群可起到固氮作用, 并能适应各种复杂环境, 环境条件的变化对其分布和相对丰度影响不大[41], 本试验中变形菌门在 3 个处理间差异并不显著, 这一结论与上述观点相符合。

Doran[42]曾认为, 免耕由于对土壤的机械扰动较小, 土体基本处于一种相对厌氧的状态, 土壤微生物的数量及活性维持在相对稳定水平, 进而可能导致了土体芽孢细菌数量上升。Liu 等[43]曾认为, 土壤扰动会降低土壤微生物的多样性和活性。Bending 等[44]曾认为, 秸秆或根茬还田能提高土壤微生物的多样性。本研究结果表明不同耕作措施对土壤原核微生物的多样性影响均不同, 总体表现出保护性耕作高于传统耕作, 且免耕覆盖显著提高了土壤原核微生物群落的丰富度和多样性, 这一结论与上述观点相符合。可能是因为秸秆还田腐解过程中的部分产物, 如糖类、氨基酸、蛋白质、维生素及有机酸、酚类等, 为微生物的生长繁殖提供了丰富营养; 另一方面, 保护性耕作能改善土壤结构, 增加土壤透气性, 土壤微生物种类随之增加, 从而引起土壤原核微生物多样性的增加[45-46]。表明长期保护性耕作对提高土壤原核微生物群落丰富度和多样性更有利, 免耕可能会更有效地为当季作物提供养分[7]。

4　结论

黄土高原旱作区长期免耕覆盖、连续深松覆盖免耕覆盖以及传统耕作下, 0~20 cm 土层土壤中主要优势菌群为变形菌门、酸杆菌门和放线菌门, 均未出现独有种群。与传统耕作相比, 保护性耕作的原核微生物差异物种(Biomarker)明显多于传统耕作。不同耕作措施虽在一定程度上不会改变土壤原核微生物的组成和种类, 但会影响其相对分布。

黄土高原旱作区长期保护性耕作措施, 提高了土壤有机质含量、全氮、碱解氮、速效磷、速效钾含量, 降低了土壤 pH, 改善了土壤性状。其中, pH、有机质、速效氮、速效磷、速效钾含量是影响土壤

原核微生物群落遗传多样性重要理化因子。

本研究试验结果表明, 黄土高原旱作区连续多年的免耕处理是相对较优的耕作处理措施, 适宜该地区积极推广。

本研究中, 3 个处理土壤样品的 16S rDNA 高通量测序获取了大量的序列, 在一定程度上为后续研究提供了一定的理论支撑, 但由于稀释曲线仍未完全饱和, 因此, 还有待进行更深一步的研究。另外, 有关保护性耕作对土壤微生物的影响还需结合多学科、多方法进行综合评价, 以便获得更有效和全面的研究结论。在后续研究中, 我们将增设不同年份的取样试材, 以便能够更完整地反映出不同耕作方式对土壤环境的动态影响。

参考文献 References

[1] 向新华, 魏巍, 张兴义, 等. 保护性耕作对大豆生长发育及土壤微生物多样性影响[J]. 大豆科学, 2013, 32(3): 321–327
XIANG X H, WEI W, ZHANG X Y, et al. Effect of conservation tillage systems on soybean growth and soil microbial diversity[J]. Soybean Science, 2013, 32(3): 321–327

[2] 高旺盛. 论保护性耕作技术的基本原理与发展趋势[J]. 中国农业科学, 2007, 40(12): 2702–2708
GAO W S. Development trends and basic principles of conservation tillage[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(12): 2702–2708

[3] KITTIWORAWAT S, YOUPENSUK S, RERKASEM B. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in *Mimosa invisa* and effect of the soil pH on the symbiosis[J]. Chiang Mai Journal of Science, 2010, 37(3): 517–527

[4] HELGASON B L, WALLEY F L, GERMIDA J J. Fungal and bacterial abundance in long-term no-till and intensive-till soils of the Northern Great Plains[J]. Soil Science Society of America Journal, 2009, 73(1): 120–127

[5] TREONIS A M, AUSTIN E E, BUYER J S, et al. Effects of organic amendment and tillage on soil microorganisms and microfauna[J]. Applied Soil Ecology, 2010, 46(1): 103–110

[6] 曹鹏. 典型生态系统土壤微生物分布特征及生态学机制[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2015
CAO P. Distribution patterns and the ecological mechanisms of soil microorganism in typical ecosystems[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2015

[7] 何玉梅, 张仁陟, 张丽华, 等. 不同耕作措施对土壤真菌群落结构与生态特征的影响[J]. 生态学报, 2007, 27(1): 113–119
HE Y M, ZHANG R Z, ZHANG L H, et al. Effects of different tillage practices on fungi community structure and ecologic characteristics in loess soils[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(1): 113–119

[8] YAN F, MCBRATNEY A B, COPELAND L. Functional substrate biodiversity of cultivated and uncultivated A horizons of vertisols in NW New South Wales[J]. Geoderma, 2000, 96(4): 321–343

[9] 李彤, 王梓廷, 刘露, 等. 保护性耕作对西北旱区土壤微生物空间分布及土壤理化性质的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(5): 859–870
LI T, WANG Z T, LIU L, et al. Effect of conservation tillage practices on soil microbial spatial distribution and soil physico-chemical properties of the northwest dryland[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2017, 50(5): 859–870

[10] 高焕文. 保护性耕作技术与机具[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004
GAO H W. Conservation Tillage Technology and Machinery Tools[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2004

[11] 王碧胜, 蔡典雄, 武雪萍, 等. 长期保护性耕作对土壤有机碳和玉米产量及水分利用的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(6): 1455–1464
WANG B S, CAI D X, WU X P, et al. Effects of long-term conservation tillage on soil organic carbon, maize yield and water utilization[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2015, 21(6): 1455–1464

[12] 张贵云, 张丽萍, 魏明峰, 等. 长期保护性耕作对丛枝菌根真菌多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(7): 1048–1055
ZHANG G Y, ZHANG L P, WEI M F, et al. Effect of long-term conservation tillage on arbuscular mycorrhizal fungi diversity[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(7): 1048–1055

[13] 迟凤琴, 刘晶鑫, 匡恩俊, 等. 黑土长期定位试验原状土搬迁对土壤细菌群落多样性的影响[J]. 土壤通报, 2015, 46(6): 1420–1427
CHI F Q, LIU J X, KUANG E J, et al. Effects of black soil long-term test undisturbed soil moved on soil bacterial community diversity[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2015, 46(6): 1420–1427

[14] 李桥. 基于高通量测序技术下土壤微生物群落结构的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2014
LI Q. Research of soil microbial community structure based on high-throughput sequencing technology[D]. Jinan: Shandong Normal University, 2014

[15] 韩亚飞, 伊文慧, 王文波, 等. 基于高通量测序技术的连作杨树人工林土壤细菌多样性研究[J]. 山东大学学报: 理学版, 2014, 49(5): 1–6
HAN Y F, YI W H, WANG W B, et al. Soil bacteria diversity in continuous cropping poplar plantation by high throughput sequencing[J]. Journal of Shandong University: Natural Science, 2014, 49(5): 1–6

[16] 岳桂东, 高强, 罗龙海, 等. 高通量测序技术在动植物研究领域中的应用[J]. 中国科学: 生命科学, 2012, 42(2): 107–124
YUE G D, GAO Q, LUO L H, et al. The application of high-throughput sequencing technology in plant and animal research[J]. Scientia Sinica Vitae, 2012, 42(2): 107–124

[17] 牛世全, 龙洋, 李海云, 等. 应用 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析河西走廊地区盐碱土壤微生物多样性[J]. 微生物学通报, 2017, 44(9): 2067–2078
NIU S Q, LONG Y, LI H Y, et al. Microbial diversity in saline alkali soil from Hexi Corridor analyzed by Illumina MiSeq

high-throughput sequencing system[J]. Microbiology China, 2017, 44(9): 2067–2078

[18] VERE D. Research into Conservation Tillage for Dryland Cropping in Australia and China[R]. Canberra: The Australian Centre for International Agricultural Research, 2005: 8–46

[19] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 第 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000
BAO S D. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000

[20] PITTA D W, PARMAR N, PATEL A K, et al. Bacterial diversity dynamics associated with different diets and different primer pairs in the rumen of Kankrej cattle[J]. PLoS One, 2014, 9(11): e111710

[21] SUN R B, ZHANG X X, GUO X S, et al. Bacterial diversity in soils subjected to long-term chemical fertilization can be more stably maintained with the addition of livestock manure than wheat straw[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 88: 9–18

[22] 曹辉, 李燕歌, 周春然, 等. 炭化苹果枝对苹果根区土壤细菌和真菌多样性的影响[J]. 中国农业科学, 2016, 49(17): 3413–3424
CAO H, LI Y G, ZHOU C R, et al. Effect of carbonized apple branches on bacterial and fungal diversities in apple root-zone soil[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2016, 49(17): 3413–3424

[23] ZHANG C H, LI S F, YANG L, et al. Structural modulation of gut microbiota in life-long calorie-restricted mice[J]. Nature Communications, 2013, 4: 2163

[24] 戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 等. 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究[J]. 土壤学报, 2017, 54(3): 735–748
DAI Y T, YAN Z J, XIE J H, et al. Soil bacteria diversity in rhizosphere under two types of vegetation restoration based on high throughput sequencing[J]. Acta Pedologica Sinica, 2017, 54(3): 735–748

[25] 厉桂香, 马克明. 土壤微生物多样性海拔格局研究进展[J]. 生态学报, 2018, 38(5): 1521–1529
LI G X, MA K M. Progress in the study of elevational patterns of soil microbial diversity[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(5): 1521–1529

[26] 李玉洁, 王慧, 赵建宁, 等. 耕作方式对农田土壤理化因子和生物学特性的影响[J]. 应用生态学报, 2015, 26(3): 939–948
LI Y J, WANG H, ZHAO J N, et al. Effects of tillage methods on soil physicochemical properties and biological characteristics in farmland: A review[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(3): 939–948

[27] DOLAN M S, CLAPP C E, ALLMARAS R R, et al. Soil organic carbon and nitrogen in a Minnesota soil as related to tillage, residue and nitrogen management[J]. Soil and Tillage Research, 2006, 89(2): 221–231

[28] FILHO C C, LOURENÇO A, DE F GUIMARÃES M, et al. Aggregate stability under different soil management systems in a red latosol in the state of Parana, Brazil[J]. Soil and Tillage Research, 2002, 65(1): 45–51

[29] 杨培培, 杨明欣, 董文旭, 等. 保护性耕作对土壤养分分布及冬小麦吸收与分配的影响[J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(4): 755–759
YANG P P, YANG M X, DONG W X, et al. Effect of conservation tillage on wheat and soil nutrient distribution and absorption[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2011, 19(4): 755–759

[30] 李友军, 黄明, 吴金芝, 等. 不同耕作方式对豫西旱区坡耕地水肥利用与流失的影响[J]. 水土保持学报, 2006, 20(2): 42–45
LI Y J, HUANG M, WU J Z, et al. Effects of Different Tillage on utilization and run-off of water and nutrient in sloping farmland of Yuxi dryland area[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2006, 20(2): 42–45

[31] 戴亮. 耕作方式对土壤微生物及土壤腐殖质影响的研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012
DAI L. Tillage practices on soil microbes and soil humus impact[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2012

[32] 许菁, 李晓莎, 许姣姣, 等. 长期保护性耕作对麦-玉两熟农田土壤碳氮储量及固碳固氮潜力的影响[J]. 水土保持学报, 2015, 29(6): 191–196
XU J, LI X S, XU J J, et al. Effects of long-term conservation tillage on soil organic carbon and nitrogen storages, soil carbon sequestration potential and nitrogen fixation potential in wheat-maize crop system[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2015, 29(6): 191–196

[33] 王克鹏, 张仁陟, 董博, 等. 长期保护性耕作对黄土高原旱地土壤水分及作物叶水势的影响[J]. 生态学报, 2014, 34(13): 3752–3761
WANG K P, ZHANG R Z, DONG B, et al. Effect of long-term conservation tillage on soil water regimes and leaf water potential of crops in rainfed areas of the Loess Plateau[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(13): 3752–3761

[34] 郁鑫, 王旭东. 黄土高原不同耕作方式对土壤理化性质及作物产量的影响[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(5): 144–146
YU X, WANG X D. Effects of different tillage methods on soil physical-chemical properties and crop yield in Loess Plateau[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(5): 144–146

[35] 严洁, 邓良基, 黄剑. 保护性耕作对土壤理化性质和作物产量的影响[J]. 中国农机化, 2005, (2): 31–34
YAN J, DENG L J, HUANG J. Effect of conservation tillage on soil physicochemical properties and crop yields[J]. Chinese Agricultural Mechanization, 2005, (2): 31–34

[36] 李娟. 渭北旱塬玉米田轮耕下土壤质量及生产性能响应研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017
LI J. Research on soil quality and production capability under rotation tillage on maize field in Weibei highland[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2017

[37] 赵洪利, 李军, 贾志宽, 等. 不同耕作方式对黄土高原旱地麦田土壤物理性状的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2009, 27(3): 17–21
ZHAO H L, LI J, JIA Z K, et al. Effect of different tillages on soil physical properties of dryland wheat field in the Loess Plateau[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2009, 27(3): 17–21

[38] DUNBAR J, BARNS S M, TICKNOR L O, et al. Empirical and theoretical bacterial diversity in four Arizona soils[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(6): 3035–3045

[39] ROESCH L F W, FULTHORPE R R, RIVA A, et al. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity[J]. The ISME Journal, 2007, 1(4): 283–290

[40] 刘洋, 曾全超, 黄懿梅. 基于454高通量测序的黄土高原不同乔木林土壤细菌群落特征[J]. 中国环境科学, 2016, 36(11): 3487–3494
LIU Y, ZENG Q C, HUANG Y M. Soil microbial communities by 454prosequencing under different arbor forests on the Loess Plateau[J]. China Environmental Science, 2016, 36(11): 3487–3494

[41] LIU J J, SUI Y Y, YU Z H, et al. High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of northeast China[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 70: 113–122

[42] DORAN J W. Soil microbial and biochemical changes associated with reduced tillage[J]. Soil Science Society of America Journal, 1980, 44(4): 765–771

[43] LIU X, LINDEMANN W C, WHITFORD W G, et al. Microbial diversity and activity of disturbed soil in the northern Chihuahuan Desert[J]. Biology and Fertility of Soils, 2000, 32(3): 243–249

[44] BENDING G D, TURNER M K, JONES J E. Interactions between crop residue and soil organic matter quality and the functional diversity of soil microbial communities[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(8): 1073–1082

[45] 王伏伟, 王晓波, 李金才, 等. 施肥及秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(10): 1302–1311
WANG F W, WANG X B, LI J C, et al. Effects of fertilization and straw incorporation on bacterial communities in lime concretion black soil[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(10): 1302–1311

[46] 罗培宇. 轮作条件下长期施肥对棕壤微生物群落的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2014
LUO P Y. Effect of long-term fertilization on microbial community in a brown soil under crop-rotation system[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2014