

不同连作年限设施农用地土壤有机碳与细菌群落功能特征

孔晨晨¹ 张世文¹ 王维瑞² 颜芳² 宋孝心¹ 郭丹丹¹

(1.安徽理工大学地球与环境学院,淮南 232001; 2.北京市耕地建设保护中心,北京 100020)

摘要:为探明不同连作年限设施农用地土壤有机碳(Soil organic carbon, SOC)与细菌群落功能变化及其动态响应关系,以北京市南郊设施农业集中地为研究区,采用时空替代法系统分析了未种植(CK)、连作年限0~5年(0~5 a)、5~10年(5~10 a)、10~20年(10~20 a)和20年以上(20 a+)SOC、细菌群落结构及其代谢功能的变化。结合冗余分析(RDA)、典型相关分析(CCA)、PICRUST2功能预测及Mantel test探究了SOC及其活性组分与细菌优势菌群的动态响应,以及与细菌代谢功能的相互关系。结果表明:连作使研究区微生物生物量碳(Microbial biomass carbon, MBC)、易氧化有机碳(Easily oxidizes organic carbon, EOC)、SOC含量及土壤有机碳密度(Soil organic carbon density, SOCD)均随种植年限先增后减,可溶性有机碳(Dissolved organic carbon, DOC)含量在20 a+时最高,微生物熵(Q)随连作年限增加而减小。连作降低了土壤细菌的多样性,但提高了细菌种群间差异,PICRUST2预测不同连作年限土壤细菌功能均以新陈代谢为主,5~20 a土壤细菌二级代谢功能丰度明显高于0~5 a、20 a+、CK。相对丰度前10的细菌群中Acidobacteriota与SOC及其活性组分含量均呈负相关,主导和参与SOC累积循环的关键菌群在连作20 a+后出现由富营养型菌群向寡营养和致病类菌群转变的趋势;Mantel分析显示,第3层级有53类与土壤有机碳含量呈显著相关的代谢功能($p < 0.05$),其中23类隶属于第1层级的新陈代谢,与EOC呈显著相关的代谢功能高达51类。本研究结果可为优化碳循环相关细菌功能群,提升小尺度设施农用地土壤碳汇功能提供参考。

关键词:连作年限;设施农用地;土壤有机碳;细菌群落特征;代谢功能

中图分类号:S154.1

文献标识码:A

文章编号:1000-1298(2024)02-0326-12

OSID:



Characteristics of Soil Organic Carbon and Bacterial Communities Functional in Agricultural Lands of Facilities with Different Continuous Cropping Periods

KONG Chenchen¹ ZHANG Shiwen¹ WANG Weirui² YAN Fang² SONG Xiaoxin¹ GUO Dandan¹

(1. School of Earth and Environment, Anhui University of Science and Technology, Huainan 232001, China

2. Beijing Cultivated Land Construction and Protection Center, Beijing 100020, China)

Abstract: To investigate the changes in soil organic carbon (SOC), bacterial communities and metabolic functions, as well as the dynamic response relationships with each other in facility agricultural land with different cropping periods, organic carbon, bacterial community structure and metabolic functions in soil were systematically characterized in unplanted (CK), 0 to 5 a (0~5 a), 5 a to 10 a (5~10 a), 10 a to 20 a (10~20 a) and more than 20 a (20 a+) of continuous cropping by using temporal-spatial substitution method in a centralized area of facility agriculture in the southern suburb of Beijing as the study area. The dynamic response of SOC and its active components to the bacterial dominant communities and their interrelationships with bacterial metabolic functions were explored with redundancy analysis (RDA), typical correlation analysis (CCA), prediction of PICRUST2 function, and Mantel test. Based on the results, continuous cropping caused the contents of microbial biomass carbon (MBC), easily oxidizes organic carbon (EOC), SOC and soil organic carbon density (SOCD) all showed an increasing and then decreasing trend with the increase of cropping period. Dissolved organic carbon (DOC) content was the highest at 20 a+. Microbial entropy (Q) was decreased with the increase of

收稿日期:2023-07-30 修回日期:2023-08-28

基金项目:第三次新疆综合考查项目(2021xikk0200601)、粮食作物创新团队土壤评价与质量提升岗位专家项目(BAIC02-2023)和国家重点研发计划项目(2020YFC1908601)

作者简介:孔晨晨(1991—),女,博士生,主要从事土壤环境与生态修复研究,E-mail: cckong0123@126.com

通信作者:张世文(1978—),男,教授,博士生导师,主要从事土地复垦与生态修复研究,E-mail: shwzhang@ aust. edu. cn

cropping period. Continuous cropping decreased the diversity of soil bacteria and increased the differences among bacterial species. PICRUST2 prediction showed that the functions of soil bacteria in different continuous cropping period were dominated by metabolism, and the abundance of secondary metabolism functions of bacteria was significantly higher in the soil from 5 ~ 20 a than that in the soil from 0 ~ 5 a, 20 a +, and CK. Among the bacterial groups in the top 10 relative abundance, the Acidobacteriota were negatively correlated with both SOC and its active components. The key bacterial groups dominating and participating in SOC accumulation and cycling showed a shift from eutrophic to oligotrophic and pathogenic taxa after 20 a + of continuous cropping. Mantel analysis showed that a total of 53 classes of functions in the third tier were significantly correlated ($p < 0.05$) with SOC and its components. Among them, totally 23 classes were affiliated to metabolic functions in the first tier, and as many as 51 classes were significantly correlated with EOC. The finding can provide scientific references for optimizing carbon cycle-related bacterial functional groups and enhancing the carbon sink function of small-scale facility agricultural soils.

Key words: continuous cropping period; agricultural land of facilities; soil organic carbon; bacterial community characterization; metabolic function

0 引言

农用地土壤碳库是唯一能够在较短时间受人类活动干扰和调控的碳库,是土壤碳库中最活跃的部分^[1],其中活性有机碳的敏感性较高,在人为干预及外界环境因子的复合作用下,会对其迁移转化产生一定的影响,因而农业生产活动实际上对温室气体的排放有重要作用,可为人类提供一个降低大气中碳排放量的潜在调控空间^[2]。当前农用地土壤碳库的研究已逐渐成为应对全球气候变化的热点领域^[3],欧美国家农业土壤碳库在实行农田保护性耕作下已呈现稳定增长趋势^[4],如何提高农用地土壤的固碳能力,促进农业土壤碳库稳定增长,将对补偿我国工业温室气体排放具有重要意义。土壤微生物作为农田生态系统的“传感器”,能维持土壤生物活性,参与土壤有机质的分解、养分转化和循环等过程,是物质循环和能量转换的关键角色^[5]。细菌作为土壤微生物中数量最丰富的菌群,其群落结构及功能变化可灵敏地反映土壤生态系统功能的现状和演变^[6]。随着种植年限的推移,细菌的多样性会受农田土壤健康状况、作物种类等因素的影响,且通常连作时间越长,微生物群落结构差异越明显^[7],进而对土壤的物质转化及碳循环产生影响。因此,探究连作对土壤有机碳库与细菌群落的影响及其调控作用,对丰富农用地土壤碳循环理论及土壤碳库稳定增长的长效机制具有现实意义。

有研究表明,长期连作可造成土壤碳库降低、细菌群落结构失衡等问题^[8],且不同连作年限对土壤有机碳库及土壤细菌的影响也存在一定差异。李昕竹等^[9]对不同连作年限棉田土壤有机碳的研究结果显示,土壤有机碳组分含量随连作年限的增加而提高;ZHOU 等^[10]的研究表明橡胶土壤微生物量、

功能多样性及碳利用能力均随着种植年限的增加而呈下降趋势,而岳思君等^[11]对不同连作年限硒砂瓜土壤细菌的研究中却发现细菌多样性和丰富度随连作时间的增加而增加。当前对不同连作年限农用地土壤有机碳(SOC)与细菌群落变化特征的研究尚未取得较统一的结果,且将土壤细菌多样性及其代谢功能作为解释变量,针对设施农用地系统开展 SOC 与细菌群落功能动态响应关系的综合性研究相对较少。本研究选取北京市南郊设施农业集中地为研究区,采用时空替代法,系统分析不同连作年限土壤有机碳库、细菌多样性及不同层级细菌代谢功能的变化,解析 SOC 与细菌优势菌群随连作年限变化的动态响应,以及与细菌代谢功能的相互关系。旨在充实土壤“源-汇”效应的基础上,为小尺度设施农用地土壤生态价值与碳汇功能提升提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于北京市南郊,北纬 39°26' ~ 39°50', 东经 116°13' ~ 116°43',属典型的暖温带半湿润大陆性季风气候,土壤类型主要为潮土及少量褐土、水稻土,母质类型以冲积物为主,土壤质地类型主要为砂土、轻壤、砂壤,易于耕作。研究区为典型设施大棚集中区,以种植西瓜为主,种植模式均为两季西瓜或西瓜-蔬菜轮作。

1.2 采样与分析

1.2.1 样品采集

野外土样采集于 2022 年 7 月进行,根据采样前调研结果,在研究区选择地理位置相近、土壤质地类型相同且田间管理条件基本一致的 4 种不同连作年限(分别为 0 ~ 5 年(0 ~ 5 a)、5 ~ 10 年(5 ~ 10 a)、10 ~ 20 年(10 ~ 20 a)、20 年以上(20 a +))设施西

瓜大棚。采集样品地块的土壤类型均为潮土,质地类型为砂土,采样大棚地块常年普遍使用复合肥与有机肥(鸡粪)配施的施肥模式,常规施肥量为复合肥 420~450 kg/hm²,配施鸡粪 45 t/hm²。选择紧靠采样大棚的棚外地块土壤作为对照(CK),采样前 10 d 无灌溉。采用五点取样法,用直径 5 cm 土钻采集表层(0~20 cm)土壤,后将 5 点混合成一个样品,剔除样品杂质(小石子、动植物残体等)后分成 3 份,一份土壤样品储存于-80℃环境中冷冻用于测定微生物多样性;一份于 4℃冰箱冷藏保存用于测定微生物生物量碳(MBC)和可溶性有机碳(DOC)含量;另一份则置于阴凉、通风、无阳光直射的房间内自然风干,过筛后装袋保存,用于测定土壤其它理化性质。

1.2.2 土壤有机碳组分与理化性质测定

SOC 含量采用重铬酸钾外加热法,MBC 含量采用氯仿熏蒸-K₂SO₄浸提法测定,DOC 含量采用 K₂SO₄浸提法测定,易氧化有机碳(EOC)含量采用紫外分光光度法测定;容重采用环刀法^[12-14]测定。

1.2.3 土壤有机碳密度与熵值计算

土壤有机碳密度(SOCD)计算公式为^[15]

$$SOCD = \frac{0.58\rho CD}{100}$$

式中 SOCD——土壤有机碳密度,kg/m²

ρ ——土壤容重,g/cm³

C——土壤有机质含量(质量比),g/kg

D——土层厚度,cm

土壤微生物熵 Q 计算公式为^[16]

$$Q = \frac{C_{MBC}}{C_{SOC}} \times 100\%$$

式中 C_{MBC}——土壤微生物生物量碳含量(质量比),g/kg

C_{SOC}——土壤有机碳含量(质量比),g/kg

1.2.4 土壤微生物 DNA 提取、高通量测序与物种注释

土壤细菌 DNA 使用 MagPure Stool DNA LQ Kit 试剂盒进行基因组 DNA 提取实验,完成提取后,用 Qubit 检测 DNA 浓度,用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测抽提基因组 DNA 完整度。按 16S V3-V4 测序区域,采用引物序列为 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3' 和 5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3',并添加样本特异性 Barcode 序列,对 rRNA 基因可变区或特定基因片段进行 PCR 扩增。PCR 扩增完成后,用磁珠对产物进行钝化,用 Qubit 检测产物浓度,并用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,将 PCR 扩增回收产物进行荧光定量后混合,采用 Illumina 公司

的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 制备测序文库,文库检测合格后,使用 Illumina Miseq 扩增子测序平台对汇集的文库完成测序,测序策略为 PE250。通过 Barcode 对混样文库进行识别,使用 Trimmomatic v0.39 软件进行低质量过滤,设置窗口大小为 50 bp,窗口内平均质量值大于 20,后通过 Cutadapt v3.5 软件进行引物剪切,得到不包含引物的 Clean 序列。使用 DADA2 分析后得到 OTU (Operational taxonomic units)后,使用 QIIME2 (V.2022.3)软件过滤低丰度 ASVs (Amplicon sequencing variants),选用 Silva 数据库(Release138)作为参考数据库,使用 QIIME2 构建 Naive Bayes 物种分类器,对每个 ASVs 的特征序列进行物种注释^[17-20]。

1.2.5 数据处理与分析

采用 IBM SPSS 27 进行数据统计,SOC 组分与细菌 α 多样性指数的单因素方差分析(ANOVA)以及多重比较分析(Duncan 检验);细菌群落结构的非度量多维尺度分析(NMDS)、细菌代谢功能的 Complete 聚类分析、SOC 与细菌群落结构及代谢功能的 CCA、Mantel test 分析在 R 4.2.2 中实现,RDA 分析由 Canoco 5 软件完成;使用 Origin 2022、R 4.2.2 绘图。

2 结果与分析

2.1 不同连作年限土壤有机碳组分变化特征

研究区不同连作年限根际 SOC 含量(质量比)特征如图 1(图中不同大写字母表示相同连作年限不同有机碳组分之间存在显著性差异($p < 0.05$),不同小写字母表示同一有机碳组分不同连作年限间存在显著性差异($p < 0.05$))所示。不同土壤有机碳组分含量变化趋势存在一定差异,MBC、EOC、SOC 含量均随种植年限呈现先增后减趋势,其中 MBC、SOC 含量在 5~10 a 时达到最高值,分别为

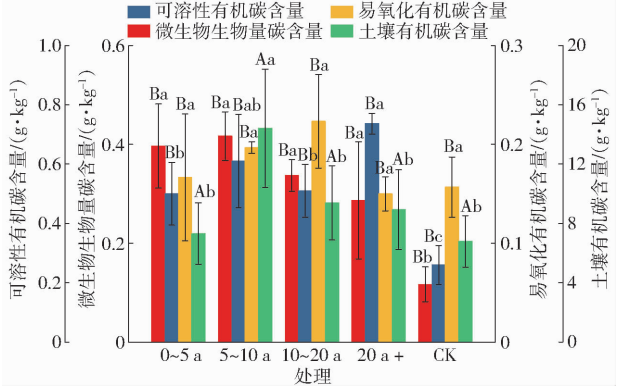


图 1 不同连作年限土壤有机碳组分特征
Fig.1 Characteristics of SOC component with different continuous cropping period

0.42、14.42 g/kg;EOC 则在 10 ~ 20 a 时出现峰值,为 0.22 g/kg;DOC 含量高于 MBC 和 EOC,且随着种植年限的升高未呈现逐渐降低趋势,并在 20 a + 时达到 0.74 g/kg;CK 未种植土壤除 EOC 外,其它土壤有机碳组分含量均低于已种植大棚土壤,而 EOC 在 CK 土壤中含量为 0.16 g/kg,低于 0 ~ 20 a 大棚土壤,略高于 20 a +。同一连作年限下,MBC、DOC、EOC 含量间差异不显著,SOC 含量与上述 3 种组分存在显著性差异($p < 0.05$)。不同连作年限对土壤中有机碳组分产生了显著影响,其中 0 ~ 20 a 大棚土壤中 MBC、DOC 含量显著高于 CK 未种植地块,5 ~ 10 a 大棚土壤中 SOC 含量则显著高于其它连作年限土壤($p < 0.05$)。

2.2 不同连作年限土壤有机碳密度与微生物熵变化特征

土壤有机碳密度是表征土壤质量和衡量土壤

中有机碳储量的重要指标^[21],而土壤微生物熵不仅能充分反映土壤中活性有机碳占比,还能表征土壤中总碳库的可利用程度^[22]。SOC_D 含量随着连作年限的增加呈先增后减趋势,其中在 5 ~ 10 a 时最大, Q 则在 0 ~ 5 a 连作年限时最高,并随种植年限的增加而降低,CK 土壤中 SOC_D 含量及 Q 均最低(图 2,图中 * 表示不同连作年限指标之间存在显著性差异($p < 0.05$)),散点表示各指标在不同处理的分布情况,箱体上下边缘线为数据的上下四分位数,箱体中横线为数据的中位数,箱体上下竖线为数据的最大和最小观测值)。因此,连作年限增加会降低土壤中可利用碳库比例。通过 Kruskal – Wallis 检验显示,不同种植年限对 SOC_D 未产生显著性影响,而 Q 在不同连作年限下存在显著性差异,其中 0 ~ 5 a 土壤 Q 显著高于 CK 土壤($p = 0.026$)。

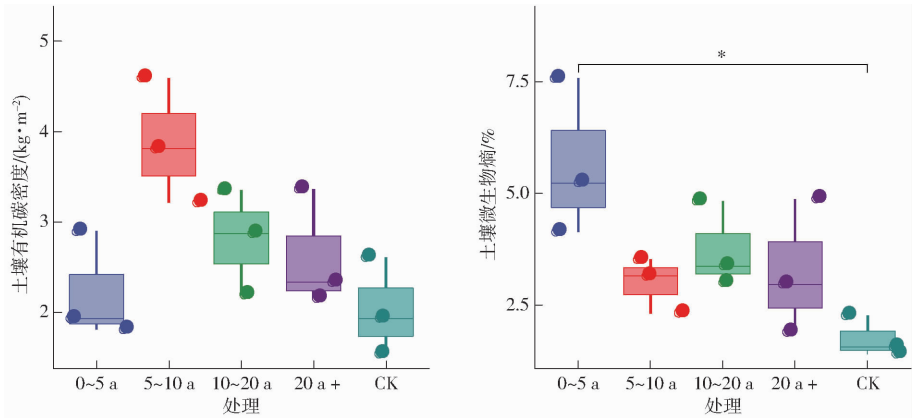


图2 不同连作年限 SOC_D 及 Q 差异检验箱线图

Fig.2 Box plot of variance test of SOC_D and Q with different continuous cropping periods

2.3 不同连作年限土壤细菌群落结构与多样性变化

对不同连作年限大棚土壤中细菌进行 α 多样性指数分析(表 1)。Feature 指数随着连作年限增加呈降低趋势,5 ~ 10 a、10 ~ 20 a、20 a + 土壤细菌 Feature 指数较 0 ~ 5 a 分别减少 15.98%、29.30%、24.18%,且均低于 CK 土壤;ACE、Chao1、faith_pd

指数在不同连作年限下的变化趋势与 Feature 指数基本相同;Shannon、Simpson 指数则为 CK 土壤最高,0 ~ 20 a 时随连作年限增加而降低,在 20 a + 时略有回升。整体上,CK 及 0 ~ 5 a 土壤中细菌丰富度及多样性较高,说明连作降低了土壤中细菌的多样性。

表 1 不同连作年限土壤细菌 α 多样性指数分析

Tab.1 Alpha diversity index of soil bacteria with different continuous cropping periods

指数	0 ~ 5 a	5 ~ 10 a	10 ~ 20 a	20 a +	CK
Feature	(2 754.000 ± 110.218) ^a	(2 314.000 ± 453.521) ^{abc}	(1 947.333 ± 111.715) ^c	(2 088.333 ± 88.274) ^{bc}	(2 544.667 ± 374.839) ^{ab}
ACE	(2 783.038 ± 111.769) ^a	(2 332.340 ± 464.022) ^{abc}	(1 957.983 ± 115.542) ^c	(2 093.285 ± 87.585) ^{bc}	(2 558.811 ± 385.383) ^{ab}
Chao1	(2 783.288 ± 113.671) ^a	(2 333.265 ± 464.523) ^{abc}	(1 955.700 ± 115.044) ^c	(2 092.535 ± 85.644) ^{bc}	(2 558.116 ± 386.313) ^{ab}
Shannon	(10.461 ± 0.197) ^a	(10.106 ± 0.471) ^{ab}	(9.740 ± 0.335) ^b	(10.159 ± 0.131) ^{ab}	(10.489 ± 0.191) ^a
Simpson	(0.998 ± 0.197) ^a	(0.997 ± 0.471) ^a	(0.997 ± 0.335) ^a	(0.998 ± 0.131) ^a	(0.999 ± 0.191) ^a
faith_pd	(243.854 ± 0.001) ^a	(225.955 ± 0.001) ^a	(186.309 ± 0.002) ^a	(202.544 ± 0.001) ^a	(221.496 ± 0.001) ^a

注:不同小写字母表示同一指标不同连作年限间存在显著性差异($p < 0.05$)。

门水平和纲水平的应力函数值(stress)分别为 0.139 和 0.134,规律相似,均小于 0.2(图 3),表明

该分析结果合理,可准确反映不同连作年限土壤细菌种群的变化特征。CK、0 ~ 5 a 土壤中组内细菌种群

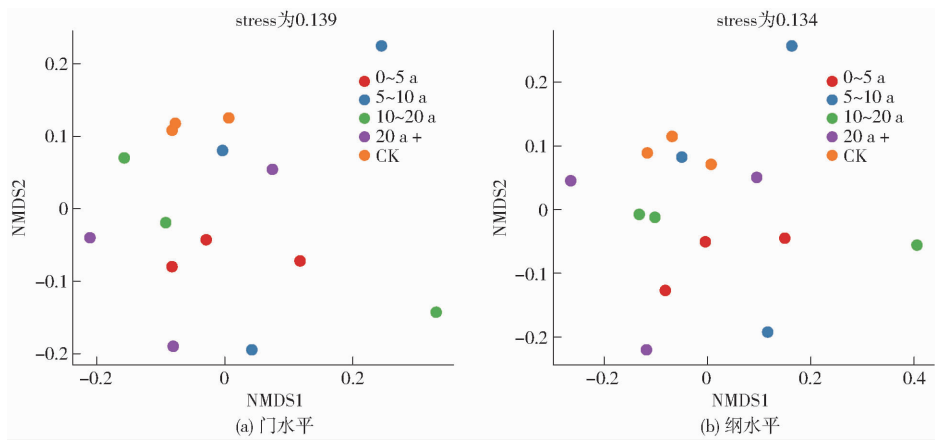


图 3 不同连作年限土壤细菌群落 NMDS 图

Fig. 3 NMDS analysis of soil bacterial communities with different continuous cropping periods

的相似程度较高,组间差异相对较小,而 5 ~ 20 a + 土壤中组内细菌群落种类差异性较大,可见连作年限增加不仅会提高不同年限土壤细菌群落的组间差异,也会使同一年限下土壤中细菌种群结构产生较大变化。

2.4 不同连作年限土壤细菌代谢功能特征

PICRUSt 软件可基于 16S rRNA 测序结果预测样品中功能基因的组成,其准确率可达 85% 以上^[23-24]。本研究采用 PICRUSt,基于 KEGG 对比注释,明确不同连作年限土壤细菌功能的差异性。研究区土壤细菌一级代谢通路相对丰度结果显示,不同连作年限土壤细菌主要代谢功能相似,其组成共 6 类,相对丰度由大到小依次为:新陈代谢 (Metabolism)、遗传信息处理 (Genetic information processing)、环境信息处理 (Environmental

information processing)、细胞过程 (Cellular processes)、人类疾病 (Human diseases)、生物体系统 (Organismal systems)(图 4a)。Metabolism 功能的相对丰度最高,占 69.49% ~ 70.35%,Human diseases 和 Organismal systems 功能的相对丰度较低,占 1.32% ~ 1.74% 和 1.03% ~ 1.10%。

二级功能预测显示不同连作年限土壤细菌含有 42 类二级代谢功能,其中有 11 类隶属于一级层级中的 Metabolism 功能。采用 Euclidean 距离算法,Complete 聚类法分析 42 类二级代谢功能在不同连作年限下的丰度及组间差异,聚类结果如图 4b 所示 (图中,M1 ~ M11 对应的二级代谢功能依次为外来生物的生物降解和代谢,核苷酸代谢,萜类化合物和聚酮类化合物代谢,其他氨基酸代谢,辅因子和维生素代谢,脂质代谢,甘氨酸生物合成和代谢,能量代

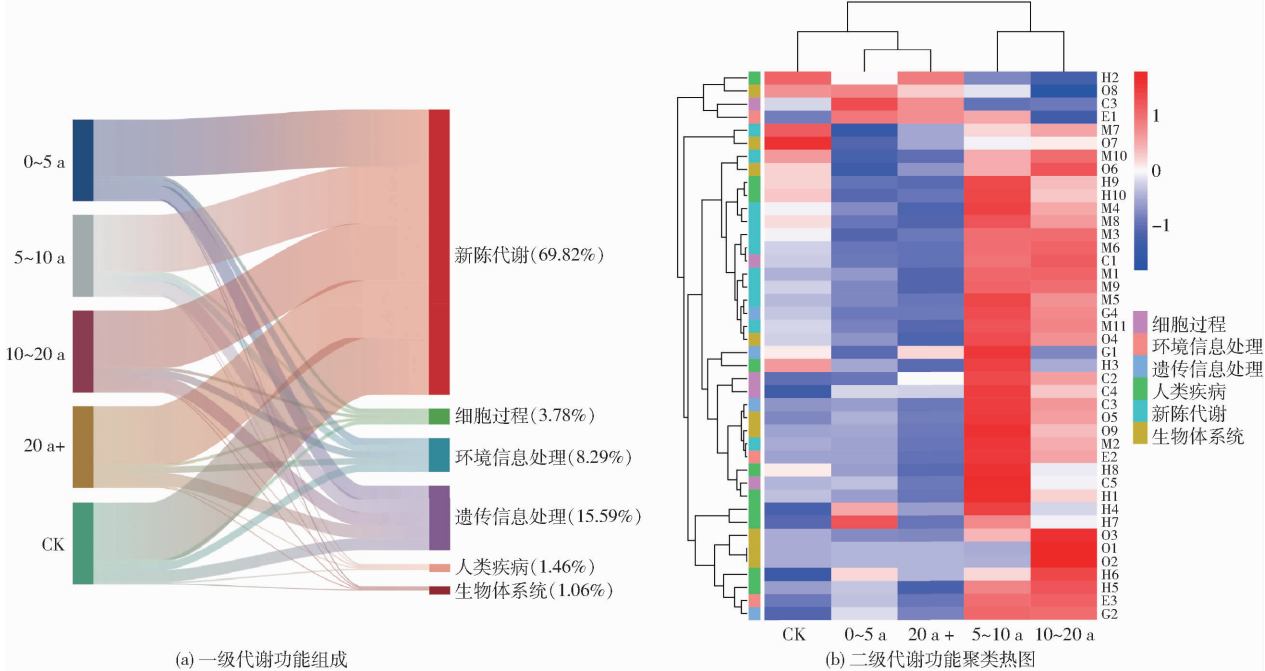
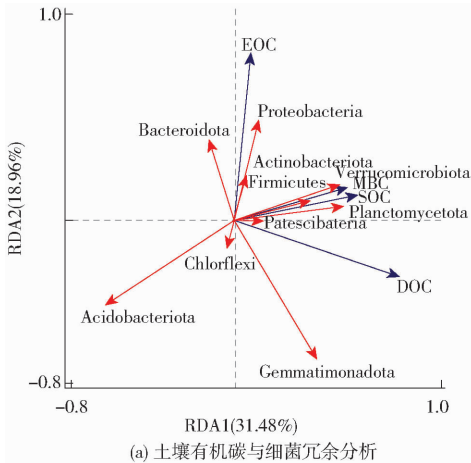


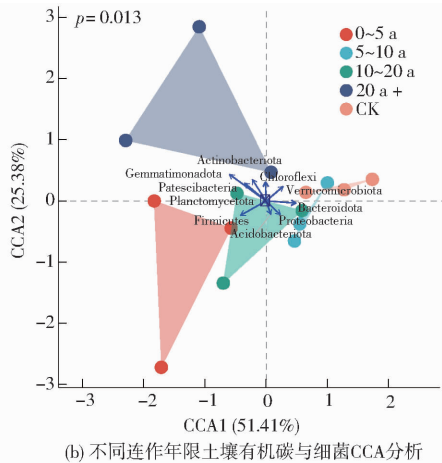
图 4 不同连作年限土壤细菌代谢功能特征

Fig. 4 Functional characteristics of soil bacterial metabolism with different continuous cropping periods

谢,碳水化合物代谢,其他次级代谢产物的生物合成,氨基酸代谢;C1 ~ C5 依次对应细胞运动性,细胞生长和死亡,细胞群落-真核生物,细胞运动性,细胞生长和死亡;E1 ~ E3 依次对应信号传导,膜传输,膜传输;G1 ~ G4 依次对应翻译,转录,复制和修复,折叠、分类和降解;H1 ~ H10 依次对应神经退行性疾病,传染病:病毒性,传染病:寄生虫,传染病:细菌性,免疫性疾病,内分泌和代谢疾病,耐药性:抗微生物,心血管疾病,癌症:特定类型,癌症:概述;O1 ~ O9 依次对应感觉系统,神经系统,免疫系统,排泄系统,环境适应,内分泌系统,消化系统,开发和再生,循环系统)。0 ~ 5 a 与 20 a + ,5 ~ 10 a 与 10 ~ 20 a 的二级功能组成相似,但两组的组间距离较远,差距较大,其中 5 ~ 20 a 土壤细菌二级功能代谢丰度明显高于 0 ~ 5 a、20 a + 和 CK 组,0 ~ 5 a、20 a + 组



(a) 土壤有机碳与细菌冗余分析



(b) 不同连作年限土壤有机碳与细菌CCA分析

图 5 细菌优势菌群对不同连作年限土壤有机碳的影响分析

CCA 分析揭示了 SOC 与关键细菌群在不同连作年限的动态响应关系(图 5b),第一排序轴(CCA1)解释 51.41%,第二排序轴(CCA2)解释 25.38%, p -test 获得的 p 值为 0.013,表明土壤细菌群对有机碳的作用较为显著。0 ~ 5 a 和 20 a + 的 SOC 组间离散程度较大,其中 Firmicutes(厚壁菌)是主要对 0 ~ 5 a 土壤有机碳产生作用的菌门;而 Gemmatimonadota、Actinobacteriota(放线杆菌)、Patescibacteria(骸骨菌)、Chloroflexi(绿弯菌)均在一定程度上影响了连作 20 a + 土壤有机碳的累积与循环。CK、5 ~ 10 a、10 ~ 20 a 各组间土壤有机碳的相似程度较高,Bacteroidota、Verrucomicrobiota 是影响 CK 土壤有机碳含量的两种主要菌门;Bacteroidota、Proteobacteria 则主要影响 5 ~ 10 a 土壤有机碳含量,而对 10 ~ 20 a 土壤有机碳发挥主要作用的为 Firmicutes。因此,对土壤有机碳及其活性组分发挥核心作用的关键细菌群会随连作时间的变化而产生变化。

可与 CK 归为一类,说明其功能组成及相对丰度与 CK 相似。

2.5 土壤有机碳与细菌群落相关性

为解释引起 SOC 变化的主要细菌群落,以 SOC 含量及其组分为响应变量,土壤细菌门水平相对丰度排名前 10 的物种为解释变量,基于 RDA 解析连作条件下不同细菌种群对 SOC 的影响(图 5 a)。第一排序轴和第二排序轴共解释 50.44% 的 SOC 及其组分的总体变化,MBC、SOC 与 Verrucomicrobiota(疣菌)、Planctomycetota(平板菌)呈较强正相关;DOC 与 Gemmatimonadota(芽单胞菌)、Verrucomicrobiota、Planctomycetota 具有较强的正相关性;EOC 与 Proteobacteria(变形菌)、Bacteroidota(拟杆菌)呈显著正相关;而 Acidobacteriota(酸杆菌)则与土壤有机碳及其组分均呈负相关关系,贡献率为 25.30%。

2.6 土壤有机碳与细菌代谢功能相关性

基于 PICRUS2 预测及 KEGG 数据库对比,研究区土壤细菌共有 274 类 3 级代谢功能,结合 Mantel test 分析,建立 SOC 与细菌第 3 层级代谢功能间的关系,探究影响土壤有机碳变化的关键功能,共筛选出 53 类与 SOC 及其组分呈显著关联的代谢功能($p < 0.05$),其中有 23 类代谢功能隶属于一级层级的新陈代谢功能(图 6,图中 m1 ~ m23 隶属于一级代谢功能层级的新陈代谢;o1 ~ o15 隶属于生物体系统;h1 ~ h7 隶属于人类疾病;c1 ~ c5 隶属于细胞过程;e1 ~ e3 隶属于环境信息处理)。

m14 (Biosynthesis of vancomycin group antibiotics, 万古霉素类抗生素的合成)、m20 (Photosynthesis - antenna proteins, 光合作用-触角蛋白)与 MBC 显著关联($r = 0.32, p = 0.04; r = 0.42, p = 0.04$);m14 与 DOC 显著关联($r = 0.32, p = 0.04$);与 EOC 呈显著相关的 3 级代谢功能有 53 类,其中呈极显著相关的有 8 类($p < 0.01$),分别为

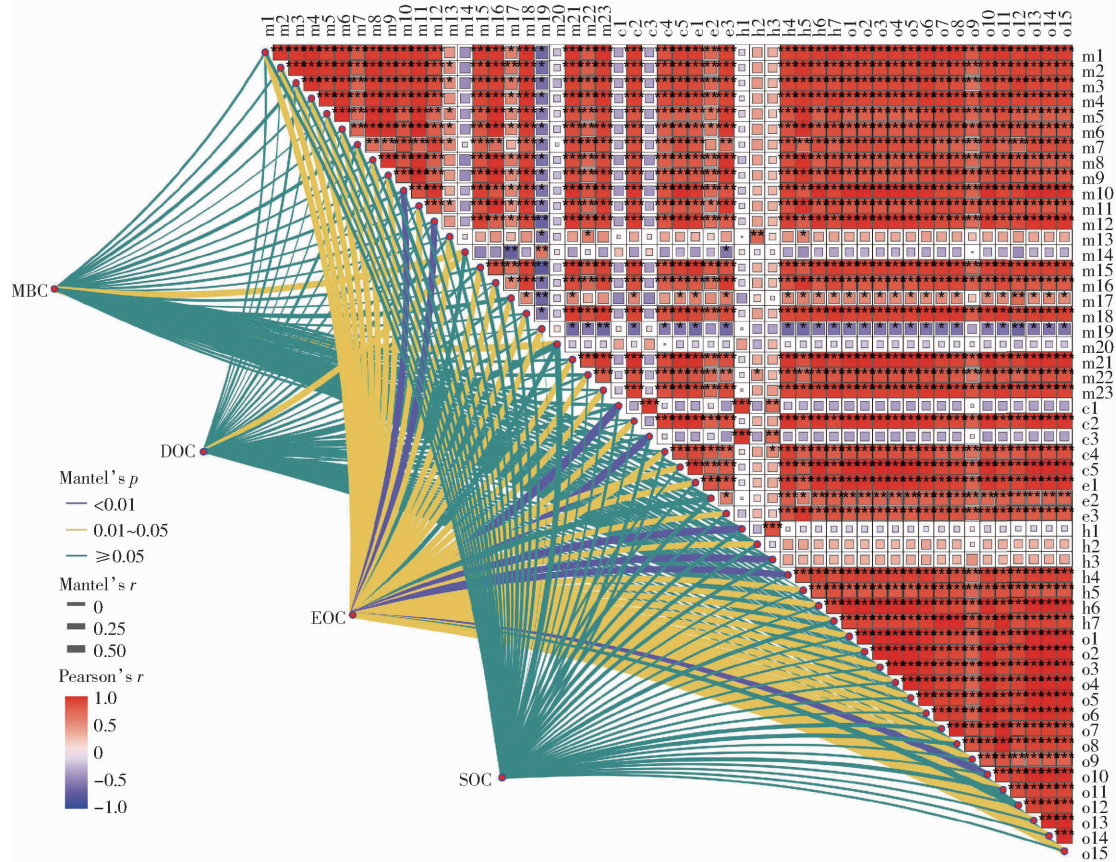


图 6 SOC 与细菌代谢功能的 Mantel test 分析

Fig. 6 Mantel test of SOC and bacterial metabolic functions

m10 (Monoterpenoid biosynthesis, 单萜类化合物生物合成; $r = 0.32, p = 0.002$)、m12 (Sesquiterpenoid and triterpenoid biosynthesis, 半萜和三萜类化合物生物合成; $r = 0.34, p = 0.007$)、c1 (Phagosome, 噬菌体; $r = 0.73, p = 0.001$)、c3 (Gap junction, 间隙接点; $r = 0.64, p = 0.002$)、h1 (Bacterial invasion of epithelial cells, 细菌入侵上皮细胞; $r = 0.52, p = 0.003$)、h3 (Pathogenic escherichia coli infection, 致病性大肠杆菌感染; $r = 0.40, p = 0.004$)、h4 (Shigellosis, 志贺氏菌病; $r = 0.33, p = 0.007$)、o10 (GnRH signaling pathway, GnRH 信号通路; $r = 0.31, p = 0.004$); 而土壤细菌各 3 级代谢功能对 SOC 均无显著影响。土壤中细菌的代谢功能对总有机碳的干预作用不显著, 主要对其活性组分的转化发挥一定调控作用, 其中对 EOC 的影响最为显著。

3 讨论

3.1 不同连作年限对土壤中有机碳的影响

SOC 的变化受多重因素的综合影响, 在不同连作年限下, 由于土壤所受干扰程度的差异, 致使土壤有机碳也存在显著性差异。本研究中不同连作年限对 SOC 及其组分含量产生了显著影响, 已种植地块 SOC 及其组分含量整体高于 CK 未种植地块, 其中

MBC、EOC、SOC 及 SOCD 含量均随着种植年限呈现先增后减的趋势。土壤有机碳含量与种植作物的归还量及分解速率息息相关, 未开垦土壤中有机碳含量初始值普遍较低^[25], 当土壤种植作物后, 随着施肥、耕作、灌溉等农田管理活动, 生物量不断提升, 动植物残体的输入和分解增加了土壤中有机物质, 进而提高土壤中部分有机碳组分含量, 当有机物质的输入与输出达到平衡时, SOC 及其组分含量则会趋于稳定^[9, 26]。有研究显示, 随着连作年限增加, 土壤板结、养分下降会直接限制作物的生长, 导致土壤中有机物质输入量减少, 有机碳含量降低, 同时长期肥料和农药的施用会使土壤中盐分不断积累, pH 值降低, 土壤盐渍化及酸化的加剧会抑制微生物的生长、活性, 进而间接影响土壤中有机碳的积累^[27-28]。DOC 是可被微生物从有机物质中直接降解的碳源^[29], 研究区在连作期间长期施用鸡粪、羊粪为主的有机肥, 有机肥的投入会增加土壤中易被微生物所降解的有机物质, 因而本研究中 DOC 暂未随着连作年限的增加而降低, 但后期 DOC 含量是否会随着连作年限的增加逐渐趋于稳定还需持续监测。Q 可反映土壤质量的演变, 值越大表明土壤中养分损失越少, 有研究表明, Q 还可表征土壤中有机碳活性, 值越大, 其活性越高^[16]。本研究中 Q 整体随种植年

限的增加呈降低趋势,这与杨阳等^[30]研究结果一致,原因可能由于开垦初期土壤有机碳含量初始值较低,但随着种植年限增加,耕层土壤中种植作物的凋落物及根系生物量增加,有机物质的输入使土壤中有机碳含量增长较快^[31],相较之下微生物活性的提高则相对缓慢,且随着连作年限增加及肥料的持续投入会导致土壤微环境发生变化(如理化性质的改变,养分失衡、有毒有害物质积累等),土壤养分缺失会逐渐抑制作物生长^[32],致使表层土壤中作物凋落物及根系生物量减少,其分解转化产生的活性有机碳量相应减少,进而导致 Q 随连作年限增加呈降低趋势。

3.2 不同连作年限对土壤细菌群落结构与代谢功能的影响

土壤细菌群落在维持作物生长和土壤健康方面具有重要作用,连作会影响土壤细菌多样性及群落结构,连作时间越长,微生物群落结构差异越明显^[7]。已有研究表明,多年连作可产生严重的土壤问题,进而引起土壤中微生物多样性的降低^[33]。本研究中,不同年限土壤细菌种群的组间及同一年限细菌群落结构存在差异,且未开垦种植地块土壤中细菌的丰富度及多样性在种植后呈先增后减的趋势,与 XU 等^[34]、顾美英等^[6]对农用地土壤的研究结果相似。影响土壤细菌群落结构的因素是多元的,在种植初期,作物对养分的需求量较少,使土壤中的养分聚集,作物持续生长后对养分的竞争强度上升,使土壤中的养分含量逐渐降低,作物凋落及根系分泌物的增加,给细菌的代谢合成提供了充分的养分供给,土壤细菌丰富度与多样性增加^[6]。随着连作年限增加,土壤中的优势微生物由细菌转变为真菌,真菌在代谢过程中会产生抑制作物生长的毒素,根系自毒物质及土壤养分的损失导致细菌生长缓慢,致使其丰度和多样性降低^[35-36]。

连作在改变土壤细菌群落结构的同时,也相应改变了细菌的代谢功能,而土壤细菌代谢功能的变化实际也反映随着连作年限的增加,土壤细菌群落组成及多样性的变化^[37-38]。本研究结果显示,不同连作年限土壤细菌主要代谢功能组成共 6 类,其中新陈代谢功能在不同连作年限的相对丰度均为最大,这与马欣等^[39]对不同种植年限苜蓿土壤细菌代谢功能的研究相一致。在二级功能预测中,不同连作年限土壤细菌包含的 42 类代谢功能中有 11 类隶属于第 1 层级中的新陈代谢功能,可见新陈代谢是土壤细菌的核心功能,受外界因素干预较小^[40-41]。碳水化合物代谢和氨基酸代谢是相对丰度较高的新陈代谢功能,是土壤细菌的主要能量来源,也是其细

胞组成和代谢产物^[42],其中碳水化合物代谢可调控生物体内碳水化合物的形成、分解及转化,氨基酸代谢则与作物的氮循环密切相关,可通过脱氨、转氨或脱羧作用分解成 CO_2 、 α -酮酸、胺类,同时对微生物活动及其生存繁衍具有促进作用^[43],辅酶维生素代谢还有助于细菌适应不良环境等^[44],因而在不同连作年限中新陈代谢均处于最主要的功能基因。本研究对不同连作年限土壤细菌二级代谢功能的丰度及组间差异分析发现,0 ~ 5 a 与 20 a + , 5 ~ 10 a 与 10 ~ 20 a 的二级功能组成相似,其中 5 ~ 20 a 土壤细菌二级功能代谢的丰度明显高于 0 ~ 5 a、20 a + 组和 CK。开垦初期随着作物生长,植物根系会向土壤分泌各类生化物质,促进细菌对养分的吸收利用,使细菌功能的多样性较未种植及种植初期有所提高,但设施作物在连作过程中不断地人为干扰和自身产生的毒性物质会使土壤质量逐渐退化,根际土壤细菌群落产生改变,导致其代谢功能失调,多样性下降^[45],故 0 ~ 5 a 与 20 a + 组和 CK 地块细菌第 2 层级代谢功能丰度较 5 ~ 20 a 低。此外,不同种类粪肥中含有的肠道菌种及营养成分也不尽相同,施用鸡粪、羊粪对土壤细菌功能多样性的影响也存在一定差异^[46-47],因此不同粪肥种类及施用量可能也是引发土壤中细菌代谢功能多样性产生的差异因素之一,需后续进一步探究。

3.3 土壤有机碳与细菌群落结构及代谢功能的关系

作物可为土壤微生物提供大量碳源,对微生物代谢活性起决定性作用^[48]。Proteobacteria、Gemmatimonadota、Planctomycetota 是富营养型细菌,且部分菌群能够通过分解有机物质产生氨气、甲烷等营养物质,供给其生长代谢活动^[49-50],因此在有机质等养分充足的代谢底物环境中,相对丰度会显著增加,Proteobacteria 还可通过分解有机质以促进作物的生长发育^[51],进而产生更多的枯落物输入到土壤中,分解后增加土壤中的有机物质,同时提高有机碳含量;而 Bacteroidota 与 Planctomycetota 也具有相似的环境属性值,同属富营养类群微生物;Verrucomicrobiota 则是新划分出来的一类菌群,在土壤中普遍存在,该菌门中存在多种链接稀疏的非核糖体肽合成酶系统^[52],与多种物质循环有关,具有利用复杂碳水化合物的功能,还可能全面参与甲烷循环,影响碳元素循环的动态平衡^[53],于方明等^[54]对 6 种土地利用类型土壤微生物群落的研究表明,Verrucomicrobiota 丰度与土壤中有机质含量呈正相关。上述菌门与土壤中有机碳变化在不同程度上有着相辅相成的关系,这与本研究结果 MBC、SOC 与 Verrucomicrobiota、Planctomycetota,

DOC 与 Gemmatimonadota、Verrucomicrobiota、Planctomycetota, EOC 与 Proteobacteria、Bacteroidota 呈正相关的结果一致。而 Acidobacteriota(酸杆菌)作为典型的寡营养型菌群,可消耗分解难降解的有机碳库^[55],研究显示,当养分及可利用碳源降低时,土壤中细菌就会出现向贫瘠型类群(如 Acidobacteriota)转变趋势^[56],本研究中 Acidobacteriota 与 SOC 及其活性组分呈明显负相关关系的结果与前人相似,今后可进一步研究将 Acidobacteriota 相对丰度作为表征和调控土壤有机碳的重要指标。

土壤细菌群对不同连作年限土壤中有有机碳含量的影响也不尽相同。本研究在种植年限小于 20 a 的土壤中,对有机碳发挥作用的主要为 Gemmatimonadota、Firmicutes、Bacteroidota、Proteobacteria 等富营养类群菌群,而当连作年限超过 20 a 后,Actinobacteriota、Chloroflexi 等菌群开始参与并主导 SOC 的循环过程,Chloroflex 是一种能通过光合作用并以 CO₂为碳源产生能量的微生物,在有机质等营养含量低的土壤中也具有较强的竞争力,而 Actinobacteriota 多为致病细菌,有研究表明 Actinobacteriota 相对丰度会随土壤有机质和养分的累积而降低^[57],说明随着连作年限增加,当土壤逐渐出现营养失衡、理化性质恶化等问题时,土壤细菌群落结构也相应发生变化,使 Actinobacteriota、Chloroflexi 等细菌群的相对丰度提高,进而对土壤中有有机碳的循环累积产生影响。对于连作年限较长或已产生连作障碍的土壤,可尝试通过调控土壤中细菌群落结构来促进 SOC 的累积与循环,进而对土壤固碳发挥特定功能作用。

本研究基于 PICRUST2 预测及 KEGG 数据库对比,将细菌的变化情况与生物代谢功能联系起来,在筛选出的 53 类与土壤中有有机碳呈显著性相关的三级代谢功能中,有 23 类隶属于第 1 层级中的新陈代谢功能,而与 EOC 存在显著相关的代谢功能高达 51 类。细菌一般通过摄取碳水化合物、氨基酸、能量、外源物质等方式来维持自身的存活,同时通过代谢活动来完成与土壤的物质循环与转化,以促进作物生长,因而新陈代谢成为土壤细菌群落最核心的功

能。土壤 EOC 是最易氧化的活性有机碳,对衡量土壤有机质的敏感程度一般优于其它农业相关指标,通常碳库容量发生变化,主要是 EOC 产生的变化^[58],ZHANG 等^[59]在对不同类型森林微生物碳代谢功能基因的研究中发现,土壤 EOC 是影响微生物碳代谢功能的主要因素,与本研究对农用地土壤的研究结果相似。此外,c1、c3、h1、h3、h4、o10 等相对丰度较小的代谢功能也对 SOC 及其组分的变化有着显著或极显著关联,因此相较于关键菌群和代谢功能,丰度较小的种群及功能在参与土壤碳循环的过程中是否也发挥了同样至关重要的作用还有待借助新的方法来进一步解析。

4 结 论

(1)连作对研究区土壤有机碳存在显著影响,MBC、EOC、SOC、SOC D 含量均随种植年限增加呈先增后减趋势,其中 MBC、SOC、SOC D 含量在 5 ~ 10 a 时最高,DOC 含量则在 20 a + 时最高;Q 随连作年限增加而减小,说明连作年限增加会降低土壤中可利用碳库比例;CK 土壤有机碳及其相关指标均处于较低水平。

(2)连作降低了土壤细菌的多样性,但提高了细菌物种的差异性;PICRUST2 功能预测显示不同连作年限土壤细菌主要代谢功能均以新陈代谢为主,5 ~ 20 a 土壤中细菌的二级代谢功能丰度明显高于 0 ~ 5 a、20 a +、CK 组。

(3) MBC、SOC 含量与 Verrucomicrobiota、Planctomycetota, DOC 与 Gemmatimonadota、Verrucomicrobiota、Planctomycetota, EOC 与 Proteobacteria、Bacteroidota 均呈正相关,Acidobacteriota 与土壤有机碳及其组分含量呈负相关。连作年限小于 20 a 土壤中,对有机碳发挥关键作用的为富营养类群菌群,超过 20 a 后,Actinobacteriota、Chloroflexi 等细菌群则成为主导和参与土壤有机碳循环的关键细菌群。三级代谢层级中有 53 类与土壤有机碳及其组分含量呈显著关联的代谢功能($p < 0.05$),其中 23 类隶属于第 1 层级的新陈代谢功能,与 EOC 呈显著相关的功能高达 51 类。

参 考 文 献

[1] BHATTACHARYA S S, KIM K H, DAS S, et al. A review on the role of organic inputs in maintaining the soil carbon pool of the terrestrial ecosystem[J]. Journal of Environmental Management, 2016, 167: 214 ~ 227.

[2] 赵晶晶, 贡璐, 安申群, 等. 塔里木盆地北缘绿洲不同连作年限棉田土壤有机碳、无机碳含量与环境因子的相关性[J]. 环境科学, 2018, 39(7): 3373 ~ 3381.

ZHAO Jingjing, GONG Lu, AN Shenqun, et al. Correlation between soil organic and inorganic carbon and environmental factors in cotton fields in different continuous cropping years in the oasis of the Northern Tarim Basin[J]. Environmental Science,

2018,39(7):3373–3381. (in Chinese)

[3] 余健, 房莉, 卞正富, 等. 土壤碳库构成研究进展[J]. 生态学报, 2014, 34(17): 4829–4838.
YU Jian, FANG Li, BIAN Zhengfu, et al. A review of the composition of soil carbon pool[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(17): 4829–4838. (in Chinese)

[4] 雷军, 张风华, 林海荣, 等. 干旱区盐渍化荒地不同开垦年限土壤碳氮储量研究[J]. 干旱地区农业研究, 2017, 35(3): 266–271.
LEI Jun, ZHANG Fenghua, LIN Hairong, et al. Soil carbon and nitrogen storage of different reclamation years in salinized wasteland in arid region[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2017, 35(3): 266–271. (in Chinese)

[5] JOERGENSEN R G, WICHERN F. Alive and kicking: why dormant soil microorganisms matter[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 116: 419–430.

[6] 顾美英, 徐万里, 马凯, 等. 不同定植年限核桃园土壤细菌群落多样性及碳代谢功能特征[J]. 生态学杂志, 2021, 40(7): 2045–2056.
GU Meiyong, XU Wanli, MA Kai, et al. Soil bacterial community diversity and carbon source metabolism function in walnut orchard with different stand ages[J]. Chinese Journal of Ecology, 2021, 40(7): 2045–2056. (in Chinese)

[7] 赵帆. 不同连作年限草莓根际土壤微生物多样性变化[D]. 合肥: 安徽大学, 2018.
ZHAO Fan. Biodiversity of microorganism in rhizosphere soil of strawberry with different continuous cropping years[D]. Hefei: Anhui University, 2018. (in Chinese)

[8] 俄胜哲, 丁宁平, 李利利, 等. 长期施肥条件下黄土高原黑垆土作物产量与土壤碳氮的关系[J]. 应用生态学报, 2018, 29(12): 4047–4055.
E Shengzhe, DING Ningping, LI Lili, et al. Relationship of crop yield and soil organic carbon and nitrogen under long-term fertilization in black loessial soil region on the Loess Plateau in China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(12): 4047–4055. (in Chinese)

[9] 李昕竹, 贡璐, 唐军虎, 等. 塔里木盆地北缘绿洲不同连作年限棉田土壤有机碳组分特征及其与理化因子的相关性[J]. 环境科学, 2022, 43(10): 4639–4647.
LI Xinzhu, GONG Lu, TANG Junhu, et al. Characteristics of soil organic carbon components and their correlation with other soil physical and chemical factors in cotton fields with different continuous cropping years in the oasis on the northern edge of Tarim Basin[J]. Environmental Science, 2022, 43(10): 4639–4647. (in Chinese)

[10] ZHOU Y J, WANG C Y, LI J H, et al. Functional diversity of soil microbial communities in different-age rubber plantations—a case study of Hainan Province, China[J]. Journal of Rubber Research, 2017, 20(3): 168–181.

[11] 岳思君, 冯翠娥, 杨彦研, 等. 不同连作年限硒砂瓜土壤细菌群落结构特征[J]. 干旱地区农业研究, 2020, 38(1): 230–236.
YUE Sijun, FENG Cuie, YANG Yanyan, et al. Analysis of microbial community structure and diversity in selenium-sand melon soil under different continuous cropping years[J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2020, 38(1): 230–236. (in Chinese)

[12] CARTER M, GREGORICH E. Soil sampling and methods of analysis[M]. Lewis Publ. Boca. Rat. FL, 2006: 481–483.

[13] PANDEY C B, SINGH G B, SINGH S K, et al. Soil nitrogen and microbial biomass carbon dynamics in native forests and derived agricultural land uses in a humid tropical climate of India[J]. Plant and Soil, 2010, 333(1–2): 453–467.

[14] VANCE E D, BROOKES P C, JENKINSON D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1987, 19(6): 703–707.

[15] 孙忠祥, 李勇, 赵云泽, 等. 旱作区土壤有机碳密度空间分布特征与其驱动力分析[J]. 农业机械学报, 2019, 50(1): 255–262.
SUN Zhongxiang, LI Yong, ZHAO Yunze, et al. Analysis on spatial distribution characteristics and driving forces of soil organic carbon density in dry farming region[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2019, 50(1): 255–262. (in Chinese)

[16] 徐悦悦, 王楹鑫, 马向成, 等. 补灌对旱作集雨下麦田微生物呼吸与熵值的影响[J]. 农业机械学报, 2023, 54(2): 321–329, 409.
XU Yueyue, WANG Yingxin, MA Xiangcheng, et al. Response of wheat field microbial respiration and its entropy to different supplementary irrigation under ridge-furrow mulching system[J]. Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery, 2023, 54(2): 321–329, 409. (in Chinese)

[17] BOLGER A M, LOHSE M, USADEL B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data[J]. Bioinformatics, 2014, 30(15): 2114–2120.

[18] MARTIN M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads[J]. EMBnet. Journal, 2011, 17(1): 10–12.

[19] CALLAHAN B J, MCMURDIE P J, ROSEN M J, et al. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. Nature Methods, 2016, 13(7): 581–583.

[20] BOLYEN E, RIDEOUT J R, DILLON M R, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37(9): 1091.

[21] 孙维侠, 史学正, 于东升, 等. 基于 1:100 万土壤空间数据库的有机碳储量估算研究——以中国东北三省为例[J].

地理科学, 2004(5):568–572.

SUN Weixia, SHI Xuezheng, YU Dongsheng, et al. Estimation of soil organic carbon storage based on 1:1M soil data base of China—a case in Northeast China[J]. Scientia Geographica Sinica, 2004(5):568–572. (in Chinese)

- [22] DONG Q, YANG Y, YU K, et al. Effects of straw mulching and plastic film mulching on improving soil organic carbon and nitrogen fractions, crop yield and water use efficiency in the Loess Plateau, China[J]. Agricultural Water Management, 2018, 201:133–143.

- [23] LANGILLE M G I, MORGAN G I, ZANEVELD J, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences[J]. Nature Biotechnology, 2013, 31(9):814–821.

- [24] DOUGLAS G M, MAFFEI V J, ZANEVELD J R, et al. PICRUST2 for prediction of metagenome functions[J]. Nature Biotechnology, 2020, 38(6):685–688.

- [25] 曹琪琪, 肖辉杰, 刘涛, 等. 乌兰布和沙漠东北部不同耕作年限农田土壤有机碳密度及其影响因素[J]. 应用生态学报, 2022,33(10):2628–2634.

CAO Qiqi, XIAO Huijie, LIU Tao, et al. Soil organic carbon density and its influencing factors in croplands with different cultivation years in the Northeastern Ulan Buh Desert, China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2022,33(10):2628–2634. (in Chinese)

- [26] HAAS H J, EVANS C E. Nitrogen and carbon changes in great plains soils as influenced by cropping and soil treatments[R]. United States Department of Agriculture, Economic Research Service, 1957.

- [27] 卢维宏, 张乃明, 包立, 等. 我国设施栽培连作障碍特征与成因及防治措施的研究进展[J]. 土壤, 2020,52(4):651–658.

LU Weihong, ZHANG Naiming, BAO Li, et al. Study advances on characteristics, causes and control measures of continuous cropping obstacles of facility cultivation in China[J]. Soils, 2020,52(4):651–658. (in Chinese)

- [28] LIANG Y, LIN X, YAMADA S, et al. Soil degradation and prevention in greenhouse production[J]. SpringerPlus, 2013, 2(Supp. 10):1–5.

- [29] 高忠霞, 周建斌, 王祥, 等. 不同培肥处理对土壤溶解性有机碳含量及特性的影响[J]. 土壤学报, 2010,47(1):115–121.

GAO Zhongxia, ZHOU Jianbin, WANG Xiang, et al. Effects of different fertilizer treatments on content and characterists of dissolved organic carbon in soil[J]. Acta Pedologica Sinica, 2010,47(1):115–121. (in Chinese)

- [30] 杨阳, 李海亮, 马凯丽, 等. 连作对参根际土壤理化性质、微生物活性及群落特征的影响[J]. 环境科学, 2023, 44(11):6387–6398.

YANG Yang, LI Hailiang, MA Kaili, et al. Effect of continuous cropping on the physicochemical properties, microbial activity, and community characteristics of the rhizosphere soil of *Codonopsis pilosula* [J]. Environmental Science, 2023, 44(11):6387–6398. (in Chinese)

- [31] 荣井荣, 李晨华, 王玉刚, 等. 长期施肥对绿洲农田土壤有机碳和无机碳的影响[J]. 干旱区研究, 2012, 29(4):592–597.

RONG Jingrong, LI Chenhua, WANG Yugang, et al. Effect of long-term fertilization on soil organic carbon and soil inorganic carbon in oasis cropland[J]. Arid Zone Research, 2012,29(4):592–597. (in Chinese)

- [32] 李锐, 刘瑜, 褚贵新, 等. 棉花连作对北疆土壤酶活性、致病菌及拮抗菌多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(4):432–440.

LI Rui, LIU Yu, CHU Guixin, et al. Response of soil enzyme activity and microbial community structure, diversity to continuous cotton cropping in northern Xinjiang [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2015, 23(4):432–440. (in Chinese)

- [33] SHEN W, HU M, QIAN D, et al. Microbial deterioration and restoration in greenhouse-based intensive vegetable production systems[J]. Plant and Soil, 2021, 463(1–2):1–18.

- [34] XU M, JIAN J, WANG J, et al. Response of root nutrient resorption strategies to rhizosphere soil microbial nutrient utilization along *Robinia pseudoacacia* plantation chronosequence[J]. Forest Ecology and Management, 2021,489:119053.

- [35] WANG Y, LIU X, CHEN F, et al. Seasonal dynamics of soil microbial biomass C and N of *Keteleeria fortunei* var. *cyclolepis* forests with different ages[J]. Journal of Forestry Research, 2020, 31(6):2377–2384.

- [36] LIU Z, LIU J, YU Z, et al. Long-term continuous cropping of soybean is comparable to crop rotation in mediating microbial abundance, diversity and community composition[J]. Soil and Tillage Research, 2020,197:104503.

- [37] 孙建平, 刘雅辉, 左永梅, 等. 盐地碱蓬根际土壤细菌群落结构及其功能[J]. 中国生态农业学报, 2020,28(10):1618–1629.

SUN Jianping, LIU Yahui, ZUO Yongmei, et al. The bacterial community structure and function of *Suaeda salsa* rhizosphere soil[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2020,28(10):1618–1629. (in Chinese)

- [38] 杜宇佳, 高广磊, 陈丽华, 等. 呼伦贝尔沙区土壤细菌群落结构与功能预测[J]. 中国环境科学, 2019, 39(11):4840–4848.

DU Yujia, GAO Guanglei, CHEN Lihua, et al. Soil bacteria community structure and function prediction in the Hulun Buir Sandy Area[J]. China Environmental Science, 2019,39(11):4840–4848. (in Chinese)

- [39] 马欣, 罗珠珠, 张耀全, 等. 黄土高原雨养区不同种植年限紫花苜蓿土壤细菌群落特征与生态功能预测[J]. 草业学报, 2021,30(3):54–67.

MA Xin, LUO Zhuzhu, ZHANG Yaoquan, et al. Distribution characteristics and ecological function predictions of soil bacterial communities in rainfed alfalfa fields on the Loess Plateau[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2021,30(3):54–67. (in

Chinese)

[40] 张拓, 徐飞, 怀宝东, 等. 松花江下游沿江湿地土地利用变化对土壤细菌群落多样性的影响[J]. 环境科学, 2020, 41(9):4273 – 4283.
ZHANG Tuo, XU Fei, HUAI Baodong, et al. Effects of land use changes on soil bacterial community diversity in the riparian wetland along the downstream of Songhua River[J]. Environmental Science, 2020,41(9):4273 – 4283. (in Chinese)

[41] XIA Q, LIU X, GAO Z, et al. Responses of rhizosphere soil bacteria to 2-year tillage rotation treatments during fallow period in semiarid southeastern Loess Plateau[J]. PeerJ, 2020,8:e8853.

[42] 李媛媛, 徐婷婷, 艾喆, 等. 不同海拔鬼箭锦鸡儿根际和非根际土壤细菌群落多样性及 PICRUSt 功能预测[J]. 环境科学, 2023,44(4):2304 – 2314.
LI Yuanyuan, XU Tingting, AI Zhe, et al. Diversity and predictive functional of *Caragana jubata* bacterial community in rhizosphere and non-rhizosphere soil at different altitudes [J]. Environmental Science, 2023, 44 (4): 2304 – 2314. (in Chinese)

[43] 杨盼, 翟亚萍, 赵祥, 等. 丛枝菌根真菌和根瘤菌互作对苜蓿根际土壤细菌群落结构的影响及 PICRUSt 功能预测分析[J]. 微生物学通报, 2020, 47(11): 3868 – 3879.
YANG Pan, ZHAI Yaping, ZHAO Xiang, et al. Effect of interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium on *Medicago sativa* rhizosphere soil bacterial community structure and PICRUSt functional prediction[J]. Microbiology China, 2020, 47(11): 3868 – 3879. (in Chinese)

[44] 厉桂香, 马克明. 北京东灵山树线处土壤细菌的 PICRUSt 基因预测分析[J]. 生态学报, 2018,38(6):2180 – 2186.
LI Guixiang, MA Keming. PICRUSt-based predicted metagenomic analysis of treeline soil bacteria on Mount Dongling, Beijing [J]. Acta Ecologica Sinica, 2018,38(6):2180 – 2186. (in Chinese)

[45] LI Y, CHI J, AO J, et al. Effects of different continuous cropping years on bacterial community and diversity of cucumber rhizosphere soil in solar-greenhouse[J]. Current Microbiology, 2021, 78(6): 2380 – 2390.

[46] YUAN X, ZHANG Y, FAN L, et al. Temporal dynamics of antibiotic resistance genes in vegetable greenhouse soils following different manure applications[J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2022, 22(4): 5144 – 5158.

[47] HAN X M, HU H W, CHEN Q L, et al. Antibiotic resistance genes and associated bacterial communities in agricultural soils amended with different sources of animal manures[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 126: 91 – 102.

[48] HE Q, WU Y, BING H, et al. Vegetation type rather than climate modulates the variation in soil enzyme activities and stoichiometry in subalpine forests in the eastern Tibetan Plateau[J]. Geoderma, 2020,374:114424.

[49] FAULWETTER J L, BURR M D, PARKER A E, et al. Influence of season and plant species on the abundance and diversity of sulfate reducing bacteria and ammonia oxidizing bacteria in constructed wetland microcosms[J]. Microbial Ecology, 2013, 65(1): 111 – 127.

[50] RODRIGUES J L M, PELLIZARI V H, MUELLER R, et al. Conversion of the Amazon rainforest to agriculture results in biotic homogenization of soil bacterial communities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2013, 110(3): 988 – 993.

[51] 刘俊, 张世文, 宋桂芳, 等. 复垦土壤细菌群落结构及其与土壤肥力的关系[J]. 农业工程学报, 2021,37(21):124 – 133.
LIU Jun, ZHANG Shiwen, SONG Guifang, et al. Bacterial community structure of reclaimed soil and its relationship with soil fertility[J]. Transactions of the CSAE, 2021,37(21):124 – 133. (in Chinese)

[52] CRITS-CHRISTOPH A, DIAMOND S, BUTTERFIELD C N, et al. Novel soil bacteria possess diverse genes for secondary metabolite biosynthesis[J]. Nature, 2018, 558(7710): 440 – 444.

[53] 冯希. 海洋疣微菌的分离、鉴定及疣微菌门分类体系整理[D]. 济南: 山东大学, 2021.
FENG Xi. Isolation, polyphasic taxonomy of marine strains of *Verrucomicrobia* and updatation the classification system of *Verrucomicrobia* [D]. Ji'nan: Shandong University, 2021. (in Chinese)

[54] 于方明, 姚亚威, 谢冬煜, 等. 泗顶矿区 6 种土地利用类型土壤微生物群落结构特征[J]. 中国环境科学, 2020, 40(5):2262 – 2269.
YU Fangming, YAO Yawei, XIE Dongyu, et al. Study on the soil microbial community structure associated with six land use in Siding mining area[J]. China Environmental Science, 2020,40(5):2262 – 2269. (in Chinese)

[55] DELGADO-BAQUERIZO M, TRIVEDI P, TRIVEDI C, et al. Microbial richness and composition independently drive soil multifunctionality[J]. A. Bennett. Functional Ecology, 2017, 31(12): 2330 – 2343.

[56] LI Z, ZENG Z, SONG Z, et al. Vital roles of soil microbes in driving terrestrial nitrogen immobilization[J]. Global Change Biology, 2021, 27(9): 1848 – 1858.

[57] ZENG Q, AN S, LIU Y. Soil bacterial community response to vegetation succession after fencing in the grassland of China[J]. Science of the Total Environment, 2017, 609: 2 – 10.

[58] 王晶, 解宏图, 朱平, 等. 土壤活性有机质(碳)的内涵和现代分析方法概述[J]. 生态学杂志, 2003,22(6):109 – 112.
WANG Jing, XIE Hongtu, ZHU Ping, et al. Cannotation and modern analysis method for active soil organic matter(carbon) [J]. Chinese Journal of Ecology, 2003, 22(6): 109 – 112. (in Chinese)

[59] ZHANG Y, CONG J, LU H, et al. An integrated study to analyze soil microbial community structure and metabolic potential in two forest types[J]. PLoS ONE, 2014, 9(4): e93773.