

研究报告

# 不同季节冬水田紫色土细菌群落的垂直分布规律

余子洁，郭大陆，李致同，亢宗静，王智慧，罗红燕\*

西南大学资源环境学院，重庆 400715

余子洁，郭大陆，李致同，亢宗静，王智慧，罗红燕. 不同季节冬水田紫色土细菌群落的垂直分布规律[J]. 微生物学通报, 2022, 49(11): 4699-4712

Yu Zijie, Guo Dalu, Li Zhitong, Kang Zongjing, Wang Zhihui, Luo Hongyan. Vertical distribution of bacterial community in purple soil of winter-flooded paddy fields in different seasons[J]. Microbiology China, 2022, 49(11): 4699-4712

**摘要：**【背景】土壤细菌对环境变化非常敏感，是土壤环境质量检测的重要指标。【目的】为研究不同季节冬水田紫色土细菌的垂直分布规律，揭示土壤细菌群落结构和物种多样性与土壤环境因子的相互关系。【方法】以冬水田紫色土为研究对象，分别于2020年8月(夏季)和2021年1月(冬季)采集不同深度土壤样品，对土壤细菌16S rRNA基因进行 Illumina MiSeq 高通量测序，分析在不同季节细菌群落组成和多样性的垂直分布规律。【结果】冬水田紫色土细菌ACE指数、Chao1指数和Shannon指数均呈现出夏季高于冬季，并且随土层深度增加呈现降低的趋势。冬水田紫色土优势菌门为变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)、放线菌门(*Actinobacteria*)和浮霉菌门(*Planctomycetes*)，优势菌属为*Desulfobacca*、*Haliangium*、*Anaeromyxobacter*、*Candidatus\_Omnitrophus*和*Defluviicoccus*。*Chloroflexi*和*Actinobacteria*在夏季相对丰度较高，*Proteobacteria*和*Nitrospirae*在冬季相对丰度较高；*Anaeromyxobacter*和*Candidatus\_Omnitrophus*在夏季相对丰度较高，*Desulfobacca*、*Haliangium*和*Defluviicoccus*在冬季相对丰度较高。冗余分析(redundancy analysis, RDA)和环境因子热图分析结果均表明，总氮(total nitrogen, TN)、土壤有机质(soil organic matter, SOM)和土壤氧化还原电位(soil redox potential, Eh)是显著影响紫色水稻土细菌群落的主要因子。【结论】本研究丰富了对冬水田紫色水稻土细菌群落组成和多样性的认识，证实了不同季节冬水田紫色土细菌群落组成和多样性存在差异。

**关键词：**冬水田紫色土；细菌群落结构；微生物多样性；Illumina MiSeq 高通量测序

基金项目：国家自然科学基金(41301315)；重庆市自然科学基金(Cstc2019jcyj-msxmX0304)；西南大学基本科研业务费专项资金(XDKJ2019B072)

**Supported by:** National Natural Science Foundation of China (41301315); Chongqing Natural Science Foundation (Cstc2019jcyj-msxmX0304); Fundamental Research Funds for the Central Universities, Southwest University (XDKJ2019B072)

\*Corresponding author: E-mail: luo1974@swu.edu.cn

Received: 2022-04-19; Accepted: 2022-06-01; Published online: 2022-07-15

# Vertical distribution of bacterial community in purple soil of winter-flooded paddy fields in different seasons

YU Zijie, GUO Dalu, LI Zhitong, KANG Zongjing, WANG Zhihui, LUO Hongyan\*

College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China

**Abstract:** [Background] Soil bacteria are very sensitive to environmental changes and thus are important index of soil environmental quality. [Objective] To study the vertical distribution of soil bacteria in purple soil of winter-flooded paddy fields in different seasons and reveal the relationship between soil bacterial community structure, species diversity and soil environmental factors. [Methods] Purple soil of winter-flooded paddy fields were taken as the research object in this study. Soil samples at different depths were collected in August 2020 (summer) and January 2021 (winter) separately. Illumina MiSeq high-throughput sequencing of 16S rRNA gene of soil bacteria was performed to analyze the vertical distribution of bacterial community composition and diversity in different seasons. [Results] The bacterial ACE index, Chao1 index and Shannon index were higher in summer than in winter, and decreased with the increase of soil layers. The dominant bacterial phylum in purple soil of winter-flooded paddy fields were *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Acidobacteria*, *Nitrospirae*, *Actinobacteria* and *Planctomycetes*, and the dominant bacterial genera were *Desulfobacca*, *Haliangium*, *Anaeromyxobacter*, *Candidatus\_Omnitrophus* and *Defluviicoccus*. The relative abundances of *Chloroflexi*, *Actinobacteria*, *Anaeromyxobacter* and *Candidatus\_Omnitrophus* were higher in summer, while those of *Proteobacteria*, *Nitrospirae*, *Desulfobacca*, *Haliangium* and *Defluviicoccus* were higher in winter. The redundancy analysis (RDA) and correlation analysis of environmental factors showed that total nitrogen (TN), soil organic matter (SOM) and soil redox potential (Eh) were the main factors that significantly affected the bacterial community structure in purple soil. [Conclusion] This study enriched the understanding of bacterial community composition and diversity in purple soil of winter-flooded paddy fields, and confirmed that there were differences in different seasons.

**Keywords:** purple soil of winter-flooded paddy fields; bacterial community structure; microbial diversity; Illumina MiSeq high-throughput sequencing

土壤细菌数量庞大且种类繁多，约占土壤微生物的 70%–90%<sup>[1]</sup>。土壤细菌对环境变化非常敏感，是土壤环境质量检测的重要指标<sup>[2]</sup>，与土壤生态系统的变化具有协同性，因此能指示生态系统功能的变化，其群落组成对维持土壤生态平衡具有重要意义<sup>[3-5]</sup>。冬水田是广泛分布于我国西南地区的一类淹水稻田，也是一种特殊的人工湿地。冬水田内有大量养分和动植物残体，为大量细菌提供了适宜的生存环境<sup>[6]</sup>。

紫色土是重庆市稻田土壤类型之一，其发育程度浅、结构疏松、氮素含量低、保氮能力弱<sup>[7]</sup>且硝酸盐淋溶强烈<sup>[8]</sup>。土壤发生和发育过程同样也离不开土壤细菌的参与<sup>[9]</sup>。由于独特的水分管理措施，冬水田紫色土细菌群落组成与其他耕作土壤的细菌群落组成相比表现出诸多差异<sup>[10]</sup>。

季节的变化会导致土壤生态环境的变化，包括土壤温度、湿度和植物的生长等，进而影响土壤微生物结构和数量的变化<sup>[11]</sup>，目前，已

有研究表明土壤微生物群落结构和丰度等受季节变化的影响显著<sup>[12]</sup>。许越等<sup>[13]</sup>研究发现, 土壤细菌数量较高的季节基本出现在夏秋季, 原因是夏秋季适宜的土壤温度和充足的水分状况为土壤微生物的生长提供了合适的土壤环境<sup>[14]</sup>。何容等<sup>[15]</sup>在研究武夷山不同海拔土壤微生物的季节动态时发现, 不同海拔梯度土壤微生物量均具有明显的季节变化, 变化趋势一致, 表现为早春最大, 夏季最小<sup>[16]</sup>。冬季的气温较低, 微生物繁殖能力较差, 微生物的数目较少, 夏季气温升高, 大量微生物开始复苏并迅速繁殖, 微生物数目增多, 夏季细菌的多样性高于冬季<sup>[17]</sup>。陈珊等<sup>[18]</sup>对东北羊草草原土壤微生物的研究也显示土壤微生物生物量随季节变化明显, 8月为最高峰。李梓正等<sup>[19]</sup>对不同时期呼伦贝尔草原的土壤细菌群落多样性指数进行对比, 结果表明, 夏季土壤细菌平均丰富度和 Shannon-Winner 指数均高于秋冬季。有学者提出不同季节可以改变土壤细菌群落结构<sup>[20]</sup>, 因此探究土壤细菌群落的季节变化具有重要意义。

在过去的研究中, 已有学者检测出 0–10 cm 表层土壤中的细菌主要由变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、浮霉菌门、绿弯菌门和拟杆菌门组成, 约占细菌群落的 68.64%, 其中浮霉菌门和拟杆菌门相对丰度随土壤深度呈递减趋势, 放线菌门呈递增趋势<sup>[21]</sup>。Liu 等<sup>[22]</sup>比较了内蒙古温带草原表层(0–10 cm)和底土(30–50 cm)土壤微生物  $\alpha$  和  $\beta$  多样性, 结果发现不同细菌菌群的多样性和影响因素在不同深度之间存在差异。王晓丹等<sup>[17]</sup>也发现, 同一位点表层和中层的微生物数目随季节变化幅度较大, 而下层微生物数目随季节变化幅度较小。由于土壤物理环境和微生物群落与表层土壤相比具有独特性<sup>[23]</sup>, 下层土壤的微生物多样性可能与表层土壤不同。因此, 比较不同深度土壤微生物多样

性和驱动因素, 对于提高土壤的认识具有重要意义。袁红朝等<sup>[24]</sup>发现红壤性水稻土细菌优势种群为变形菌和放线菌; 聂三安等<sup>[25]</sup>发现黄棕壤性水稻土细菌优势种群为酸杆菌门、变形菌门和绿弯菌门; 钟俊杰等<sup>[26]</sup>研究发现紫泥田水稻土壤细菌优势种群为变形菌门和酸杆菌门。因此, 不同母质发育的土壤内细菌群落结构也存在差异, 可进一步探究紫色水稻土内部细菌群落结构。

基于此, 本文以重庆市冬水田紫色土为研究对象, 通过提取稻田土壤总 DNA, 利用 Illumina MiSeq 高通量测序平台, 以 16S rRNA 基因为分子标靶, 探究不同季节及深度土壤细菌群落结构、组成和多样性差异, 分析影响土壤细菌群落结构差异的关键因子, 对维持冬水田紫色土的生产力具有重要的现实意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域概况

研究区土壤位于重庆市北碚区西南大学国家紫色土肥力与肥料效益监测基地( $29^{\circ}48'36''N, 106^{\circ}24'33''E$ ), 属亚热带湿润季风气候, 具有雨热同季的特点, 年平均气温 18.3 °C, 年平均降水量 1 086.6 mm, 无霜期 330 d。土壤为侏罗系沙溪庙组紫色泥岩风化发育的紫色土类、中性紫色土亚类和灰棕紫泥土属。

### 1.2 土壤样品采集

分别于 2020 年 8 月(夏季)和 2021 年 1 月(冬季)采集土壤样品, 随机选择 3 个相隔 10 m 左右的 5 m×5 m 地块, 按照梅花形布点方式选取 5 个采样点, 使用土壤采样器钻取 0–60 cm 的土壤, 以 20 cm 为间隔, 将土柱分为 3 段, 将同一深度样品混合均匀后贮存于无菌自封袋中密封, 冷藏保存至实验室。将采回的土样除去动植物残体等杂物后, 一部分土样用于测定土

壤基本理化性质；另外一部分土样放置于-20 °C冰箱保存用于后续分子实验。

### 1.3 主要试剂和仪器

FastDNA<sup>®</sup> Spin Kit for Soil , MP Biomedicals 公司。紫外分光光度计, 尤尼柯(上海)仪器有限公司; 台式离心机, Thermo Fisher 公司; 动力(汽油)土壤采样器, 浙江绍兴上虞市道墟镇音花仪器公司; 核酸定量仪 NanoDrop 2000, 赛默飞世尔科技公司; 高通量测序仪 HiSeq<sup>®</sup> 2000 System, 上海美吉生物医药科技有限公司。

### 1.4 土壤理化性质测定

土壤样品的理化指标依照参考文献[27]中的方法进行。土壤含水量采用烘干法测定；NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度分别采用 salicylate 法和 single reagent 法，利用紫外分光光度计比色测定；土壤全氮用半微量凯氏定氮法测定；土壤有机质用重铬酸钾溶液法测定；阳离子交换量采用 NH<sub>4</sub>Cl-NH<sub>4</sub>OAc 法。所有理化指标均设 3 次重复。

### 1.5 土壤 DNA 的提取和高通量测序

利用 FastDNA<sup>®</sup> Spin Kit for Soil 提取土壤总 DNA, 按照说明书操作, 提取后采用 NanoDrop 2000 测定 DNA 浓度( $OD_{260}/OD_{280}$ ), 其中每个样品浓度均保证大于 30 ng/ $\mu$ L, 大部分 DNA 样品  $OD_{260}/OD_{280}$  值在 1.8–2.0 之间以保证 DNA 质量(表 1)。同时, 利用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳分析 DNA 的完整性和相对浓度。以土壤 DNA 为模板, 采用 16S rRNA 基因引物<sup>[28]</sup>341b4F (5'-CTAYGGRRBGCWGAG-3') 和 806R (5'-GGACTACNNGGTATCTAAT-3') 进行 PCR 扩增, PCR 反应体系: 5×Fast Pfu Buffer 4  $\mu$ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 2  $\mu$ L, 正、反向引物 (5  $\mu$ mol/L) 各 0.8  $\mu$ L, Fast Pfu 聚合酶 0.4  $\mu$ L, 模板 DNA 10 ng, 用 ddH<sub>2</sub>O 补足至 20  $\mu$ L。PCR

反应条件: 94 °C 3 min; 94 °C 30 s, 45 °C 20 s, 65 °C 30 s, 5 个循环; 94 °C 20 s, 55 °C 20 s, 72 °C 30 s, 20 个循环; 72 °C 5 min。利用 Illumina MiSeq 测序平台对 PCR 扩增产物进行测序分析, 测序委托上海美吉生物医药科技有限公司完成。

### 1.6 数据处理

利用 Origin 2021、SPSS 25.0 及 R 软件(V3.1.1)对数据进行处理和统计分析。使用 UPARSE 软件对测得的所有序列进行操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)划分, 基于 97% 的相似性生成 OTU 表格, 并构建稀释曲线。使用 SPSS 25.0 进行统计分析, 使用单因素方差分析和最小显著差数法检验各测定指标在不同季节不同深度土壤样品之间的差异及其显著性。使用 Mothur 软件分析  $\alpha$  多样性指数 (Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao1 指数)。根据 16S rRNA 基因测序结果, 对土壤细菌进行 BugBase 表型预测。采用冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 探究不同季节冬水田微生物群落的垂直变化及其与环境因子间的相互作用关系。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同季节冬水田紫色土理化性质

由表 2 可知, 不同季节冬水田紫色土及不

表 1 不同季节及土层土壤 DNA 浓度

Table 1 The DNA concentration of soil in different seasons and soil layers

| Sites    | Depth (cm) | Concentration (ng/ $\mu$ L) $OD_{260}/OD_{280}$ |
|----------|------------|---|
| Summer_A | 0–20       | 67.80   |
| Summer_B | 20–40      | 68.70   |
| Summer_C | 40–60      | 41.86   |
| Winter_A | 0–20       | 46.94   |
| Winter_B | 20–40      | 47.12   |
| Winter_C | 40–60      | 33.29   |

**表 2 土壤理化性质**

Table 2 Soil physicochemical properties

| Sites    | Depth<br>(cm) | Eh<br>(mV)    | ST<br>(°C)  | SWC<br>(%)  | $\text{NH}_4^+$ -N<br>(mg/kg) | $\text{NO}_3^-$ -N<br>(mg/kg) | TN<br>(g/kg) | SOM<br>(g/kg) | CEC<br>(cmol/kg) |
|----------|---------------|---------------|-------------|-------------|-------------------------------|-------------------------------|--------------|---------------|------------------|
| Summer_A | 0~20          | 430.25±50.39a | 34.94±3.18a | 61.84±0.19a | 66.79±8.64a                   | 7.53±1.53b                    | 1.98±0.29a   | 41.20±6.67a   | 21.97±1.05a      |
| Summer_B | 20~40         | 294.45±58.51b | 33.86±1.71a | 38.22±0.13b | 43.87±7.34b                   | 5.54±1.97ab                   | 1.13±0.19b   | 23.75±5.04b   | 20.30±1.21b      |
| Summer_C | 40~60         | 286.55±74.44b | 30.04±0.64b | 28.40±0.02b | 34.51±6.61b                   | 4.62±1.86a                    | 1.01±0.20b   | 21.87±3.19b   | 20.17±1.14b      |
| Winter_A | 0~20          | 407.28±44.29a | 11.28±1.24b | 60.65±0.16a | 27.36±2.61a                   | 6.67±0.86a                    | 1.88±0.45a   | 39.67±7.91a   | 22.14±1.08a      |
| Winter_B | 20~40         | 232.92±78.45b | 13.33±1.04a | 45.33±0.06b | 26.87±2.98a                   | 5.72±1.06a                    | 1.16±0.16b   | 24.90±5.21b   | 20.98±0.47b      |
| Winter_C | 40~60         | 226.87±79.37b | 13.82±0.81a | 34.73±0.02b | 24.45±3.76a                   | 5.65±1.11a                    | 1.06±0.07b   | 23.51±4.12b   | 20.60±0.97b      |

注: 表中数据均为平均值±标准差; 不同小写字母表示处理不同土层间差异显著( $P<0.05$ )

Note: The data in the table are average ± standard deviation; Different lowercase letters indicate significantly difference among the treatments ( $P<0.05$ ).

同土层之间土壤理化性质差异显著。夏季土壤氧化还原电位(soil redox potential, Eh)高于冬季, 且随着土层深度增加而降低。不同季节冬水田土壤温度(soil temperature, ST)差异显著, 夏季随着土层深度增加而降低, 冬季则相反。土壤含水量(soil water content, SWC)在季节间差异不显著, 但随土层深度的增加而降低。夏季铵态氮和硝态氮含量显著高于冬季含量。不同季节冬水田土壤全氮(total nitrogen, TN)、土壤有机质(soil organic matter, SOM)和阳离子交换量(cation exchange capacity, CEC)差异显著, 均呈现出0~20 cm土层含量较高。

## 2.2 不同季节冬水田紫色土细菌 DNA 测序分析

基于细菌 16S rRNA 基因分析, 对土壤样品进行 Illumina MiSeq 高通量测序, 不同季节冬水田紫色土细菌高通量测序共获得 850 839 条优质序列, 平均长度为 415 bp, 以 97%相似性阈值进行 OTU 聚类分析。从图 1 稀释曲线可知, 起初随着序列数的增加样品中 OTU 数量迅速增加; 而随着序列数的进一步增加, OTU 数量增加趋于平缓即稀释曲线趋于饱和, 表明所有样品的序列数能够充分展示样品土壤中细菌的多样性, 与序列高覆盖率(>97%)反映的结果相符。

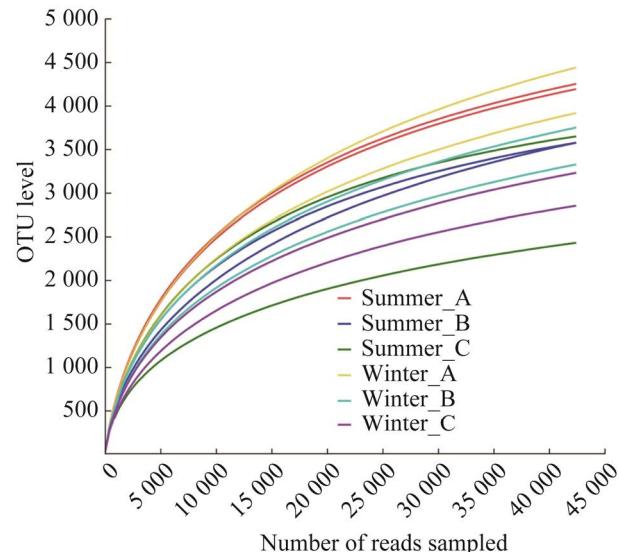
**图 1 不同季节各土层稀释曲线**

Figure 1 Rarefaction curves of soil samples in different seasons.

## 2.3 不同季节冬水田紫色土细菌 $\alpha$ 多样性

对不同季节紫色土各土层土壤细菌  $\alpha$  多样性指数统计分析, 如表 3 所示。原始序列经过质控后, 样品序列数在 52 297~61 350 之间, 样品的 OTU 数在 3 045~4 237 之间。ACE 指数和 Chao1 指数呈现出随着土层的增加逐渐减少的趋势, 表明两季的细菌物种丰富度均随着土壤深度的增加而减少, 且夏季细菌物种丰富度高于冬季。Shannon 指数也呈现随着土层深度增

表 3 冬水田紫色土细菌  $\alpha$  多样性指数

Table 3 The alpha diversity index of bacteria in purple soil of winter-flooded paddy fields

| Sites    | Depth (cm) | Coverage index | Unique sequences | OTU   | ACE index | Chao1 index | Shannon index |
|----------|------------|----------------|------------------|-------|-----------|-------------|---------------|
| Summer_A | 0~20       | 97.32%         | 60 678           | 4 237 | 5 190.63  | 5 145.34    | 7.19          |
| Summer_B | 20~40      | 97.44%         | 61 350           | 3 602 | 4 663.32  | 4 630.06    | 6.90          |
| Summer_C | 40~60      | 98.17%         | 56 857           | 3 045 | 3 702.44  | 3 680.18    | 6.63          |
| Winter_A | 0~20       | 97.13%         | 52 297           | 4 176 | 5 122.72  | 5 074.91    | 7.08          |
| Winter_B | 20~40      | 97.45%         | 57 859           | 3 531 | 4 597.17  | 4 572.13    | 6.80          |
| Winter_C | 40~60      | 97.79%         | 61 235           | 3 045 | 3 678.02  | 3 686.28    | 6.51          |

加逐渐减少的趋势，表明细菌群落多样性随土层深度增加而逐渐降低，夏季细菌群落多样性高于冬季。

由图 2 的非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析(应力值为 0.117)可知，夏季不同土层土壤样品主要集中在第二和三象限，而冬季不同土层土壤样品主要集中在第一和四象限，两个季节样品距离较远，土壤内部细菌差异性较大；夏季 0~20 cm 土层在三、四象限，与在第二象限的 20~40 cm 和 40~60 cm 土层相距较远；冬季 0~20 cm 土层在一、四象限，与在第一象限的夏季 20~40 cm 和 40~60 cm 土层距离较远，土壤内部细菌群落结构差异较大；两个季节 20~40 cm 和 40~60 cm 土层距离较近，表现出较高的相似性。

#### 2.4 冬水田紫色土细菌群落组成

对 OTU 的代表序列在细菌门划分水平上进行分类学分析，从图 3 可知，在细菌门水平上统计各样本物种丰度，冬水田紫色土优势细菌门(>1%)主要有变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、浮霉菌门(*Planctomycetes*)、脱硫菌门(*Desulfobacterota*)、Sva0485 和厚壁菌门(*Firmicutes*)，其中 *Proteobacteria* (13.77%~23.26%)、*Chloroflexi* (8.51%~21.79%)、*Acidobacteria* (7.50%~10.70%)、*Nitrospirae* (3.66%~11.28%)、*Actinobacteria* (4.26%~

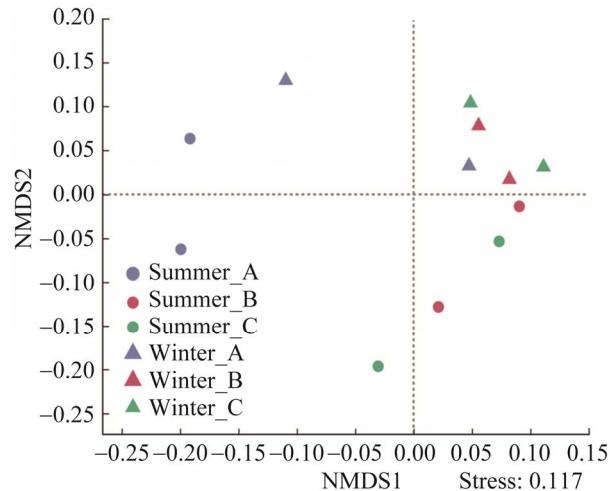


图 2 冬水田紫色土细菌群落基于 OTU 水平的 NMDS 分析

Figure 2 NMDS analysis of bacterial community in purple soil of winter-flooded paddy fields at OTU level.

13.25%) 和 *Planctomycetes* (4.86%~12.31%) 占比较大。对比 2 个季节的优势细菌门，夏季 *Chloroflexi* 和 *Actinobacteria* 相对丰度较高，而冬季 *Proteobacteria* 和 *Nitrospirae* 相对丰度较高。对比不同土层间优势细菌门，*Proteobacteria* 在 0~20 cm 土层相对丰度较高而 *Chloroflexi* 与其相反。

从图 4 可知，在属水平上统计各样本中细菌的丰度，冬水田紫色土优势菌属(>1%)主要有 *Desulfobacca* (14.28%~24.99%)、*Haliangium* (11.4%~23.93%)、*Anaeromyxobacter* (7.18%~33.62%)、*Candidatus\_Omnitrophus* (2.59%~29.27%) 和

*Defluviicoccus* (2.84%–14.58%)。对比不同季节优势菌属, *Desulfobacca*、*Haliangium* 和 *Defluviicoccus* 在冬季相对丰度较高, *Anaeromyxobacter* 和 *Candidatus\_Omnitrophus* 在夏季相对丰度较高; 对比不同土层间优势菌属, *Candidatus\_Omnitrophus* 在夏季 0–20 cm 土层中相对含量最高(29.26%), *Anaeromyxobacter* 在夏季 40–60 cm 土层中相对丰度最高(33.62%), *Desulfobacca* 在 20–40 cm 土层相对含量较高,

*Defluviicoccus* 在 0–20 cm 土层相对含量较高。

## 2.5 BugBase 表型预测

通过 BugBase 表型预测出各样本细菌 9 种类型(图 5A), 包括:革兰氏阴性(Gram negative)、革兰氏阳性(Gram positive)、生物膜形成(biofilm forming)、致病性(pathogenic)、移动元件(mobile element containing)、好氧(aerobic)、厌氧(anaerobic)、兼性厌氧(anaerobic facultatively) 和氧化胁迫耐受(oxidative stress tolerant), 其中

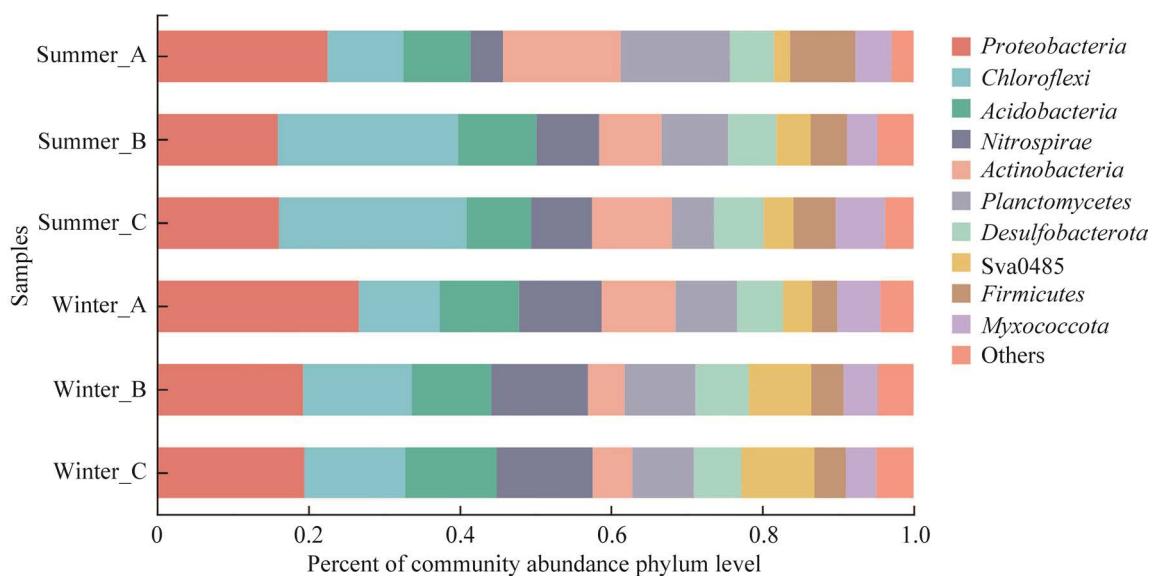


图 3 冬水田紫色土细菌门水平相对丰度

Figure 3 Relative abundance of bacterial phylum in purple soil of winter-flooded paddy fields.

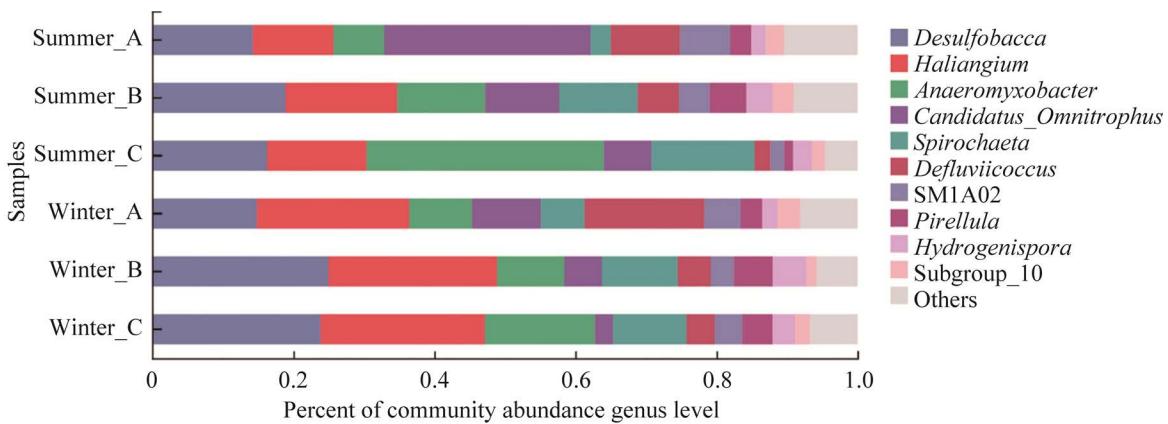


图 4 冬水田紫色土细菌属水平相对丰度

Figure 4 Relative abundance of bacterial genus in purple soil of winter-flooded paddy fields.

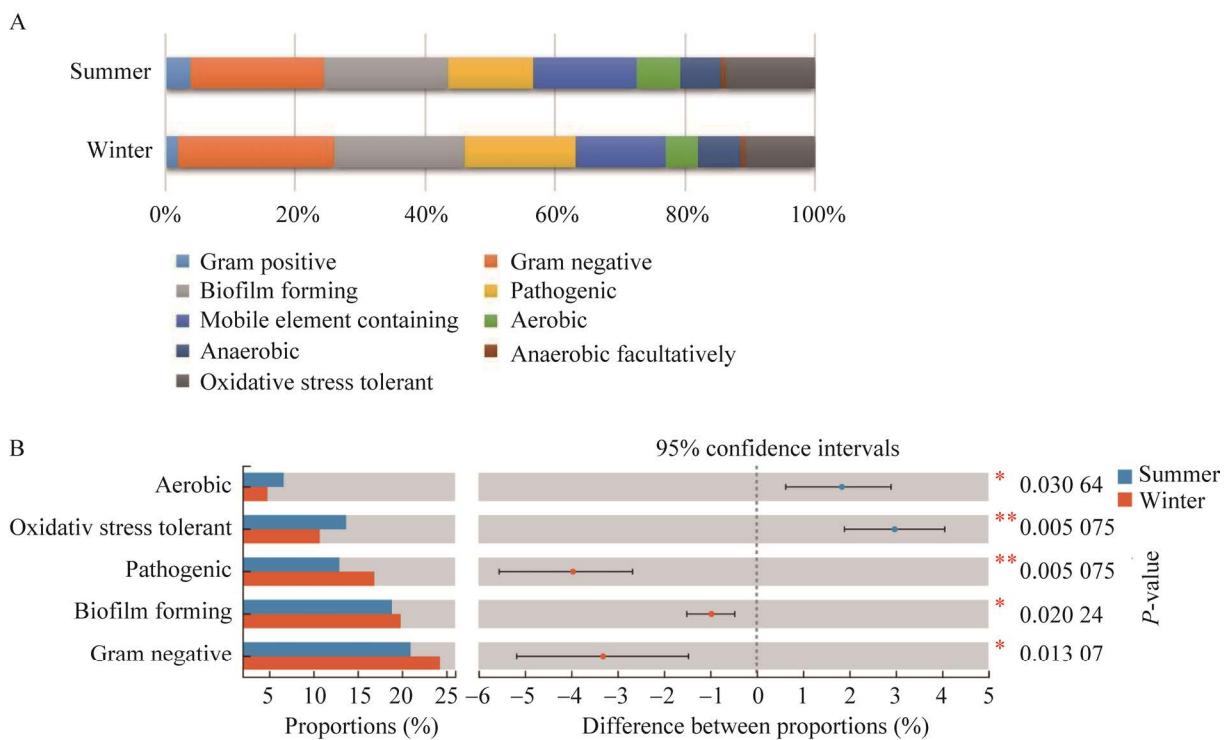


图 5 BugBase 表型预测(A)和差异性结果(B)

Figure 5 BugBase phenotype prediction (A) and difference results (B).

各样本中均以革兰氏阴性菌、生物膜形成菌、含可移动元件菌和致病性菌为主(75.06%)。从图 5B 对比两个季节, 氧化胁迫耐受菌夏季极显著高于冬季( $P<0.01$ ), 而致病性菌冬季极显著高于夏季( $P<0.01$ ); 氧化菌夏季显著高于冬季( $P<0.05$ ), 革兰氏阴性菌和可形成生物膜菌冬季显著高于夏季( $P<0.05$ )。

## 2.6 冬水田紫色土细菌冗余分析和环境因子相关性分析

从图 6 的冗余分析可知, RDA1 和 RDA2 的方差变量解释分别为 27.22% 和 17.27%, 土壤细菌群落结构累积方差变量为 44.49%, 说明此次 RDA 排序结果是可靠的。其中, 对冬水田紫色土细菌群落影响最大的环境因子有 TN、SOM 和 Eh, 其次是 pH、SWC、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 和 CEC, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 含量影响最小。

从图 7 可知, *Proteobacteria* 与 SOM 和 CEC 呈显著正相关( $P<0.05$ ); *Chloroflexi* 与 SWC、

SOM 和 CEC 呈极显著负相关( $P<0.01$ ), 与 TN 呈显著负相关( $P<0.05$ ); *Nitrospirae* 与 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 呈极显著负相关( $P<0.01$ ); *Actinobacteria* 与 Eh 呈极显著正相关( $P<0.01$ ); *Firmicutes* 与 Eh 呈极显著正相关( $P<0.01$ ), 与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 呈显著负相关( $P<0.05$ )。

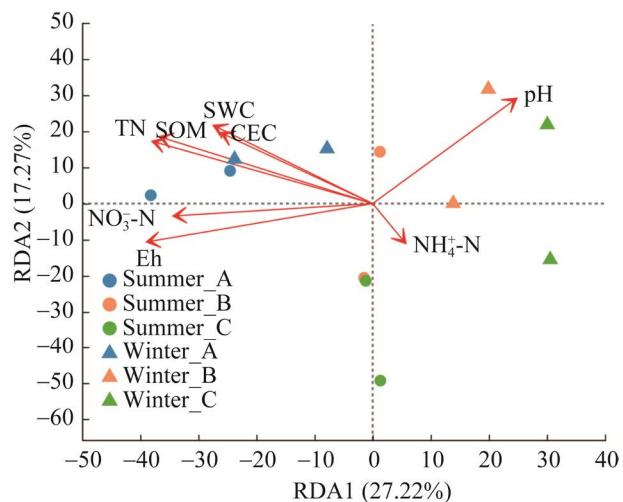


图 6 不同季节冬水田紫色土细菌冗余分析

Figure 6 RDA of purple soil in winter-flooded paddy fields bacteria in different seasons.

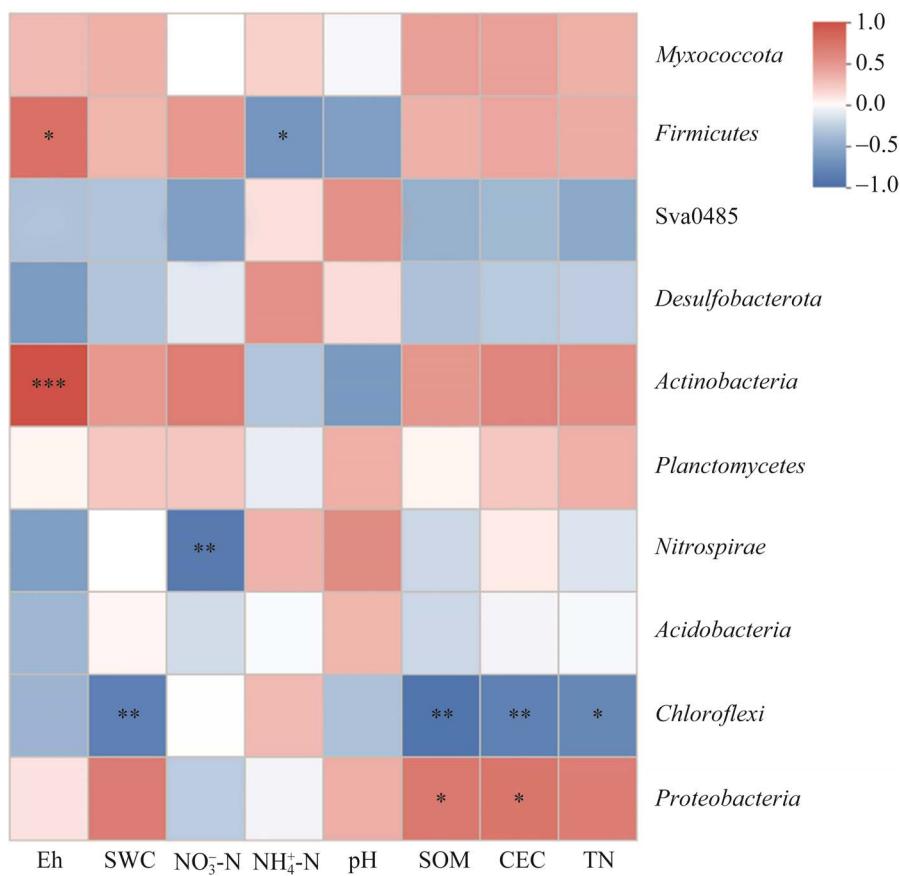


图 7 冬水田紫色土细菌环境因子相关性热图

Figure 7 Correlation thermal map of bacterial environmental factors in purple soil of winter-flooded paddy fields.

### 3 讨论

土壤内大多微生物难以被分离培养, 因此限制了人们对其群落结构功能及多样性的认识<sup>[29-31]</sup>, 但随着目前生物信息学技术飞速发展, 拓宽了人们探索土壤微生物的领域, 虽然表层土壤微生物多样性的生物地理格局已经被研究了很长时间<sup>[21]</sup>, 但其底层土壤中土壤微生物的分布特点仍未揭示, 因此, 本研究采用高通量测序技术探究了冬水田紫色土表层、中层和深层土壤内细菌群落多样性变化及其对环境因子的响应。

季节的变化导致土壤生态环境的变化, 从

而影响土壤微生物多样性和群落结构<sup>[32]</sup>, 本研究选取的夏季和冬季这 2 个气候差异较大的季节进行研究, 结果表明, 不同季节及不同土层之间土壤理化性质差异较大(表 2), 夏季土壤理化因子指标整体高于冬季。梁文贤等<sup>[32]</sup>研究认为, 季节变化导致土壤温度的改变, 进而影响微生物的繁殖代谢及土壤理化性质的差异。夏季细菌群落的物种丰富度高于冬季, 这与 Zhang 等<sup>[33]</sup>研究结果一致, 夏季物种丰富度的增加可能是由于该季节特有的有利的温度和光照条件促进了酶的高活性<sup>[34]</sup>。夏季土壤细菌群落多样性显著高于冬季, 表明土壤微生物在夏季较活跃, 原因可能是夏季是光合作用的旺季<sup>[35]</sup>, 水

稻光合产物通过根系进入土壤促进细菌的生长繁殖<sup>[36]</sup>，为细菌生长繁殖提供充足的能源。有研究表明，随着温度的升高，微生物活性和物种丰富性也会升高<sup>[37]</sup>。钟俊杰等<sup>[26]</sup>认为稻田土壤异质性在很大程度上影响了细菌  $\alpha$  多样性，原因可能是随着土壤深度的增加养分含量逐渐降低，抑制土壤微生物的生长<sup>[38-39]</sup>，即土壤细菌群落多样性和物种丰富度均会随着土壤深度的增加而降低(表 3)。

高通量测序结果显示，2 个季节冬水田紫色土细菌主要为 *Proteobacteria*、*Chloroflexi*、*Acidobacteria*、*Nitrospirae*、*Actinobacteria* 和 *Planctomycetes*，表明这些细菌在土壤养分循环过程中发挥重要的作用。本研究发现，夏季 *Chloroflexi* 和 *Actinobacteria* 相对丰度较高，多数 *Chloroflexi* 为光营养型微生物<sup>[40]</sup>，夏季光照强度较大，因此 *Chloroflexi* 丰度较高。*Actinobacteria* 具有分解土壤有机物的能力，在土壤碳矿化中发挥着重要作用<sup>[41]</sup>，*Actinobacteria* 在夏季丰度较高，尉海东等<sup>[42]</sup>和惠竹梅等<sup>[43]</sup>均发现 *Actinobacteria* 群落数量随季节变化呈现一定的规律，在 8 月达到峰值，在 4 月和 12 月较低。而艾应伟等<sup>[44]</sup>在研究铁路边坡生态修复过程中的土壤中发现，*Actinobacteria* 群落数量最大值出现在冬季坡上，最小值出现在夏季坡上，可能是因为地理环境的差异性造成结果的差异，在冬季，*Proteobacteria* 和 *Nitrospirae* 相对丰度较高。深层土壤微生物群落不是简单地稀释地表微生物群落的类似物，而是表现出与地表不同的更大的微生物过程的变化和性质<sup>[45]</sup>。从根本上说，这些变化可以归因于土壤性质随深度的变化<sup>[46]</sup>。本研究对不同土层优势菌门分析发现，*Chloroflexi* 相对丰度基本是表层高于亚表层<sup>[47]</sup>，*Proteobacteria* 相对丰度也会随土壤深度增加而减少<sup>[35]</sup>，此变化差异可能是由土壤类型

和养分含量及气候条件不同所致。本研究结果显示，*Desulfobacca* 在 20–40 cm 土层相对丰度较高，*Desulfobacca* 是一种专性厌氧菌，在水稻土中的作用主要是固氮和乙酸降解<sup>[48]</sup>，原因可能在 20–40 cm 土层中有适宜的厌氧条件和养分含量。冬水田淹水会造成较强的还原条件，为 *Anaeromyxobacter* 提供适宜的栖息环境<sup>[49]</sup>。本研究通过 BugBase 表型预测来揭示细菌功能性状对不同季节的响应，结果发现好氧细菌和氧化胁迫耐受菌夏季显著高于冬季，而革兰氏阴性菌和可形成生物膜菌冬季显著高于夏季，原因可能是这些功能类群涉及较多部分的是变形菌门一类，变形菌门大多是兼性或专性厌氧菌，大多数外膜由脂多糖组成<sup>[50]</sup>，土壤微生物群落功能多样性是反映土壤微生物群落状态与功能的指标<sup>[51-52]</sup>。

土壤的形成、发生的物质、能量的增减和转移及环境条件等往往会影响浅层到深层的土壤理化性质<sup>[32-33]</sup>。本研究发现，全氮、有机质和氧化还原电位是显著影响冬水田紫色土细菌群落结构的主要环境因子。有研究发现，全氮和有机质是影响细菌群落组成的重要因素<sup>[53]</sup>，其能满足微生物的生长繁殖，提高土壤微生物的丰度和数量，表明土壤有机质等营养元素在细菌群落形成过程中发挥着重要的作用<sup>[54]</sup>。稻田土壤不同区域及土层中氧化还原电位变化影响一些氧化和还原微生物的种群分布(如放线菌等)，从而影响土壤物质和能量转化，因此氧化还原电位也是重要的环境因子。土壤其他理化性质也会对土壤细菌群落产生一定的影响，如在农业生态系统中细菌的生长代谢(如酸杆菌等)往往受到 pH 值的影响<sup>[26,55]</sup>，袁红朝等<sup>[24]</sup>研究结果也表明，土壤 pH 值是影响细菌群落结构的主要环境因子。硝化螺旋菌与硝态氮呈极显著负相关，厚壁菌与铵态氮呈显

著负相关, 这与王伏伟等<sup>[56]</sup>利用高通量测序技术在黑土上的研究结果一致。本研究初步揭示了不同季节及深度冬水田紫色土细菌群落结构的分布规律, 在一定范围内探究了冬水田紫色土细菌群落结构多样性及其对环境因子的响应。

## 4 结论

(1) 冬水田紫色土细菌物种丰富度和群落多样性均呈现出夏季高于冬季, 且随土层深度增加呈现降低的趋势;

(2) 夏季 *Chloroflexi* 和 *Actinobacteria* 相对丰度较高, 冬季 *Proteobacteria* 和 *Nitrospirae* 相对丰度较高。夏季 *Anaeromyxobacter* 和 *Candidatus\_Omnitrophus* 相对丰度较高, 冬季 *Desulfobacca*、*Haliangium* 和 *Defluviicoccus* 相对丰度较高;

(3) TN、SOM 和 Eh 是显著影响冬水田紫色土细菌群落结构的主要环境因子。

## REFERENCES

- [1] 张薇, 魏海雷, 高洪文, 胡跃高. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J]. 生态学杂志, 2005, 24(1): 48-52  
Zhang W, Wei HL, Gao HW, Hu YG. Advances of studies on soil microbial diversity and environmental impact factors[J]. Chinese Journal of Ecology, 2005, 24(1): 48-52 (in Chinese)
- [2] 林耀奔, 叶艳妹, 杨建辉, 胡一鸣, 施昊坤. 土地整治对土壤微生物多样性的影响分析[J]. 环境科学学报, 2019, 39(8): 2644-2653  
Lin YB, Ye YM, Yang JH, Hu YM, Shi HK. The effect of land consolidation on soil microbial diversity[J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2019, 39(8): 2644-2653 (in Chinese)
- [3] 金笑, 寇文伯, 于昊天, 刘亚军, 马燕天, 吴兰. 鄱阳湖不同区域沉积物细菌群落结构、功能变化及其与环境因子的关系[J]. 环境科学研究, 2017, 30(4): 529-536  
Jin X, Kou WB, Yu HT, Liu YJ, Ma YT, Wu L. Environmental factors influencing the spatial distribution of sediment bacterial community structure and function in Poyang Lake[J]. Research of Environmental Sciences, 2017, 30(4): 529-536 (in Chinese)
- [4] Garcia JC, Ketover RDJ, Loh AN, Parsons ML, Urakawa H. Influence of freshwater discharge on the microbial degradation processes of dissolved organic nitrogen in a subtropical estuary[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2015, 107(2): 613-632
- [5] Lyu XF, Ma B, Yu JB, Chang SX, Xu JM, Li YZ, Wang GM, Han GX, Bo G, Chu XJ. Bacterial community structure and function shift along a successional series of tidal flats in the Yellow River Delta[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 36550
- [6] 张建, 申思, 万琪慧, 李宁宁, 蒋先军, 罗红燕. 西南地区冬水田剖面的微生物空间分异规律[J]. 水土保持学报, 2018, 32(6): 315-320  
Zhang J, Shen S, Wan QH, Li NN, Jiang XJ, Luo HY. Spatial differentiation of microorganisms in profiles of flooded paddy field in southwest China[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2018, 32(6): 315-320 (in Chinese)
- [7] 杨佳嘉. 紫色土氮素初级转化速率与氮去向的关系及其调控措施研究[D]. 南京: 南京师范大学硕士学位论文, 2014  
Yang JJ. Relationship between soil gross nitrogen transformation rates and nitrogen fates in purple soils and countermeasures[D]. Nanjing: Master's Thesis of Nanjing Normal University, 2014 (in Chinese)
- [8] 魏万玲. 紫色土自养微生物丰度及活性对环境因子的响应研究[D]. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 2020  
Wei WL. Investigation about the response of abundance and activity of autotrophic microorganisms in purple soil to environmental factors[D]. Chongqing: Master's Thesis of Southwest University, 2020 (in Chinese)
- [9] Wu MN, Qin HL, Chen Z, Wu JS, Wei WX. Effect of long-term fertilization on bacterial composition in rice paddy soil[J]. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47(4): 397-405
- [10] Sheng R, Meng DL, Wu MN, Di HJ, Qin HL, Wei WX. Effect of agricultural land use change on community composition of bacteria and ammonia oxidizers[J]. Journal of Soils and Sediments, 2013, 13(7): 1246-1256
- [11] 谢龙莲, 陈秋波, 王真辉, 刘小香. 环境变化对土壤微生物的影响[J]. 热带农业科学, 2004, 24(3): 39-47  
Xie LL, Chen QB, Wang ZH, Liu XX. A review of effects of soil environmental changes on soil microbe[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2004, 24(3): 39-47 (in Chinese)
- [12] Edwards KA, Jefferies RL. Inter-annual and seasonal

- dynamics of soil microbial biomass and nutrients in wet and dry low-Arctic sedge meadows[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 83-90
- [13] 许越, 杨杰, 陈闻, 侯海军, 李卫华, 陈春兰, 秦红灵. 南方红壤坡地人工林生态系统土壤细菌群落结构与丰度季节变化特征[J]. *南方农业学报*, 2018, 49(7): 1289-1296  
Xu Y, Yang J, Chen W, Hou HJ, Li WH, Chen CL, Qin HL. Bacterial community structure and abundance of plantation ecosystem soil response to seasonal change in red soil hilly region of Southern China[J]. *Journal of southern Agriculture*, 2018, 49(7): 1289-1296 (in Chinese)
- [14] Yang K, Zhu JJ, Zhang M, Yan QL, Sun OJX. Soil microbial biomass carbon and nitrogen in forest ecosystems of northeast China: a comparison between natural secondary forest and larch plantation[J]. *Journal of Plant Ecology*, 2010, 3(3): 175-182
- [15] 何容, 王国兵, 汪家社, 许波峰, 汪科继, 方燕鸿, 施政, 阮宏华. 武夷山不同海拔植被土壤微生物量的季节动态及主要影响因子[J]. *生态学杂志*, 2009, 28(3): 394-399  
He R, Wang GB, Wang JS, Xu BF, Wang KJ, Fang YH, Shi Z, Ruan HH. Seasonal variation and its main affecting factors of soil microbial biomass under different vegetations along an elevation gradient in Wuyi Mountains of China[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2009, 28(3): 394-399 (in Chinese)
- [16] 王国兵, 王丰, 金裕华, 汪家社, 阮宏华. 武夷山不同海拔植被土壤微生物量 N 时空变异[J]. *生态学杂志*, 2011, 30(4): 784-789  
Wang GB, Wang F, Jin YH, Wang JS, Ruan HH. Spatiotemporal variation of soil microbial biomass N under different vegetations along an altitude gradient in Wuyi Mountains of southeast China[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2011, 30(4): 784-789 (in Chinese)
- [17] 王晓丹, 翟振华, 赵爽, 戴育华, 王景仕, 赵守彦, 李艳红. 密云水库不同季节细菌群落多样性[J]. *生态学报*, 2009, 29(7): 3919-3927  
Wang XD, Zhai ZH, Zhao S, Dai YH, Wang JS, Zhao SY, Li YH. The bacterial diversity in different seasons of Miyun Reservoir[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, 29(7): 3919-3927 (in Chinese)
- [18] 陈珊, 张常钟, 刘东波, 张镇瑗, 杨靖春, 王志霞. 东北羊草草原土壤微生物生物量的季节变化及其与土壤生境的关系[J]. *生态学报*, 1995, 15(1): 91-94  
Chen S, Zhang CZ, Liu DB, Zhang ZY, Yang JC, Wang ZX. Seasonal variation in the biomass of soil decomposer microbes and its relationship to the soil habitat in the leymus chinensis grasslands in northeast China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 1995, 15(1): 91-94 (in Chinese)
- [19] 李梓正, 朱立博, 林叶春, 胡跃高, 曾昭海. 呼伦贝尔草原不同退化梯度土壤细菌多样性季节变化[J]. *生态学报*, 2010, 30(11): 2883-2889  
Li ZZ, Zhu LB, Lin YC, Hu YG, Zeng ZH. Seasonal variation of soil bacterial community under different degrees of degradation of Hulunbuir grassland[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(11): 2883-2889 (in Chinese)
- [20] Fu DG, Wu XN, Qiu QT, Duan CQ, Jones DL. Seasonal variations in soil microbial communities under different land restoration types in a subtropical mountains region, southwest China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 153: 103634
- [21] 韩婉雪, 王凤花, 柏兆海, 李文彦, 王新珍, 马林. 畜禽粪便堆放地土壤中抗生素抗性基因和细菌群落的垂直分布特征[J]. *中国生态农业学报*, 2022, 30(2): 268-275  
Han WX, Wang FH, Bai ZH, Li WY, Wang XZ, Ma L. Vertical distribution of antibiotic resistance genes and bacterial communities in soil of livestock manure stacking site[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2022, 30(2): 268-275 (in Chinese)
- [22] Liu NN, Hu HF, Ma WH, Deng Y, Liu YQ, Hao BH, Zhang XY, Dimitrov D, Feng XJ, Wang ZH. Contrasting biogeographic patterns of bacterial and archaeal diversity in the top- and subsoils of temperate grasslands[J]. *mSystems*, 2019, 4(5): e00566-e00519
- [23] Rumpel C, Chabbi A, Marschner B. Carbon storage and sequestration in subsoil horizons: knowledge, Gaps and Potentials Recarbonization of the Biosphere, 2012: 445-464
- [24] 袁红朝, 秦红灵, 刘守龙, 童成立, 魏文学, 吴金水. 长期施肥对红壤性水稻土细菌群落结构和数量的影响[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(22): 4610-4617  
Yuan HZ, Qin HL, Liu SL, Tong CL, Wei WX, Wu JS. Response of abundance and composition of the bacterial community to long-term fertilization in paddy soils[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(22): 4610-4617 (in Chinese)
- [25] 聂三安, 赵丽霞, 王祎, 雷秀美, 王飞, 邢世和. 长期施肥对黄泥田土壤微生物群落结构和多样性的影响[J]. *农业现代化研究*, 2018, 39(4): 689-699  
Nie SN, Zhao LX, Wang Y, Lei XM, Wang F, Xing SH. Effects of long-term fertilizations on microbial community structure and diversity in yellow clayey paddy soil[J]. *Research of Agricultural Modernization*, 2018, 39(4): 689-699 (in Chinese)

- [26] 钟俊杰, 李晓镜, 尹泽润, 盛浩, 聂三安. 紫泥田水稻土细菌群落对不同农艺调控措施的响应[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(2): 367-374  
Zhong JJ, Li XJ, Yin ZR, Sheng H, Nie SN. Response of bacterial communities to different agronomic regulation measures in purple mud paddy fields[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2022, 41(2): 367-374 (in Chinese)
- [27] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000  
Lu RK. Methods of Soil Agricultural Chemistry Analysis[M]. Beijing: China Agriculture Scitech Press, 2000 (in Chinese)
- [28] Sundberg C, Al-Soud WA, Larsson M, Alm E, Yekta SS, Svensson BH, Sørensen SJ, Karlsson A. 454 pyrosequencing analyses of bacterial and archaeal richness in 21 full-scale biogas digesters[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2013, 85(3): 612-626
- [29] Gans J, Wolinsky M, Dunbar J. Computational improvements reveal great bacterial diversity and high metal toxicity in soil[J]. Science, 2005, 309(5739): 1387-1390
- [30] Davis KER, Joseph SJ, Janssen PH. Effects of growth medium, inoculum size, and incubation time on culturability and isolation of soil bacteria[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(2): 826-834
- [31] 郑爱泉, 范学科, 杜璇. 秦岭辛家山不同林分土壤酶活性的剖面分布特征[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(1): 80-85, 93  
Zheng AQ, Fan XK, Du C. Profile distribution characteristics of soil enzymes under different vegetation types in Xinjiashan forest in Qinling mountains[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2020, 35(1): 80-85, 93 (in Chinese)
- [32] 梁文贤, 胡敏杰, 崔朋辉, 邹双全, 辛访华. 3种杉木林分不同季节细菌类群动态分析[J]. 福建林学院学报, 2014, 34(3): 198-202, 213  
Liang WX, Hu MJ, Cui PH, Zou SQ, Xin FH. Seasonal dynamics of bacteria groups in 3 Chinese fir forests[J]. Journal of Fujian College of Forestry, 2014, 34(3): 198-202, 213 (in Chinese)
- [33] Zhang KP, Delgado-Baquerizo M, Zhu YG, Chu HY. Space is more important than season when shaping soil microbial communities at a large spatial scale[J]. mSystems, 2020, 5(3): e00783-e00719
- [34] Žifčáková L, Větrovský T, Lombard V, Henrissat B, Howe A, Baldrian P. Feed in summer, rest in winter: microbial carbon utilization in forest topsoil[J]. Microbiome, 2017, 5(1): 122
- [35] 杜璇, 耿增超. 秦岭 2 种林分土壤性质的季节性变化对细菌群落多样性和组成的影响[J]. 西北林学院学报, 2021, 36(1): 54-61  
Du C, Geng ZC. Effects of seasonal changes of soil properties on soil bacterial diversity and community structure of two forest types in Qinling mountains[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2021, 36(1): 54-61 (in Chinese)
- [36] López-Mondéjar R, Voříšková J, Větrovský T, Baldrian P. The bacterial community inhabiting temperate deciduous forests is vertically stratified and undergoes seasonal dynamics[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 87: 43-50
- [37] Sierra CA, Trumbore SE, Davidson EA, Vicca S, Janssens I. Sensitivity of decomposition rates of soil organic matter with respect to simultaneous changes in temperature and moisture[J]. Journal of Advances in Modeling Earth Systems, 2015, 7(1): 335-356
- [38] Voříšková J, Brabcová V, Cajthaml T, Baldrian P. Seasonal dynamics of fungal communities in a temperate oak forest soil[J]. New Phytologist, 2014, 201(1): 269-278
- [39] 刘昌, 黄莺, 陈雪, 喻奇伟, 夏忠文, 熊晶, 谢志勇. 有机、无机肥配施比例对植烟土壤细菌组成及烟产质量的影响[J]. 河南农业科学, 2018, 47(6): 52-58  
Liu C, Huang Y, Chen X, Yu QW, Xia ZW, Xiong J, Xie ZY. Effects of proportion of organic and inorganic fertilizers on tobacco-planting soil bacteria composition, yield and quality of flue-cured tobacco[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2018, 47(6): 52-58 (in Chinese)
- [40] 鲜文东, 张潇樟, 李文均. 绿弯菌的研究现状及展望[J]. 微生物学报, 2020, 60(9): 1801-1820  
Xian WD, Zhang XT, Li WJ. Research status and prospect on bacterial phylum *Chloroflexi*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(9): 1801-1820 (in Chinese)
- [41] Fierer N, Lauber CL, Ramirez KS, Zaneveld J, Bradford MA, Knight R. Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients[J]. The ISME Journal, 2012, 6(5): 1007-1017
- [42] 尉海东, 董彬. 鲁东南杨树人工林根际微生物数量时空动态[J]. 中国农学通报, 2014, 30(10): 1-8  
Wei HD, Dong B. Spatio-temporal dynamics of rhizosphere microbes in *Populus tremula* plantations in southeast Shandong province[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2014, 30(10): 1-8 (in Chinese)
- [43] 惠竹梅, 李华, 龙妍, 张瑾, 庞学良. 葡萄园行间生

- 草体系中土壤微生物数量的变化及其与土壤养分的关系[J]. 园艺学报, 2010, 37(9): 1395-1402
- [43] Xi ZM, Li H, Long Y, Zhang J, Pang XL. Variation of soil microbial populations and relationships between microbial factors and soil nutrients in cover cropping system of vineyard[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2010, 37(9): 1395-1402 (in Chinese)
- [44] 艾应伟, 裴娟, 刘浩, 答竹君, 王倩. 铁路边坡生态修复过程中土壤微生物特性及酶活性研究[A]//第十一届全国土壤微生物学术讨论会暨第六次全国土壤生物与生物化学学术研讨会第四届全国微生物肥料生产技术研讨会论文(摘要)集[C]. 2010: 78
- Ai YW, Pei J, Liu H, Da ZJ, Wang Q. Study on soil microbial characteristics and enzyme activities during railway slope ecological restoration[A]// The 11th national symposium on soil microbiology and the 6th national symposium on soil biology and biochemistry and the 4th national symposium on microbial fertilizer production technology (abstract)[C]. 2010: 78 (in Chinese)
- [45] 刘兰英, 黄薇, 李莹, 吕新, 陈丽华, 李玥仁. 长期施用沼液对槟榔芋土壤细菌群落结构和多样性的影响[J]. 农业生物技术学报, 2022, 30(1): 125-137
- Liu LY, Huang W, Li Y, Lyu X, Chen LH, Li YR. Effects of long-term biogas slurry fertilization on bacterial community structure and diversity in soils of Areca taro(*Colocasia esculenta*)[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2022, 30(1): 125-137 (in Chinese)
- [46] Fritze H, Pietikäinen J, Pennanen T. Distribution of microbial biomass and phospholipid fatty acids in podzol profiles under coniferous forest[J]. *European Journal of Soil Science*, 2000, 51(4): 565-573
- [47] Tripathi BM, Kim M, Kim Y, Byun E, Yang JW, Ahn J, Lee YK. Variations in bacterial and archaeal communities along depth profiles of Alaskan soil cores[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 504
- [48] 李晨华, 张彩霞, 唐立松, 熊正琴, 王保战, 贾仲君, 李彦. 长期施肥土壤微生物群落的剖面变化及其与土壤性质的关系[J]. 微生物学报, 2014, 54(3): 319-329
- Li CH, Zhang CX, Tang LS, Xiong ZQ, Wang BZ, Jia ZJ, Li Y. Effect of long-term fertilizing regime on soil microbial diversity and soil property[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2014, 54(3): 319-329 (in Chinese)
- [49] George PBL, Coelho KP, Creer S, Lebron I, Robinson DA, Jones DL. Decoupled richness of generalist anaerobes and sulphate-reducing bacteria is driven by pH across land uses in temperate soils[J]. *European Journal of Soil Science*, 2021, 72(6): 2445-2456
- [50] Zhu C, Xia SH, Wang BL, Qu D. Variation of *Anaeromyxobacter* community structure and abundance in paddy soil slurry over flooding time[J]. *African Journal of Agricultural Research*, 2011, 6(28): 6107-6118
- [51] 潘永瑜, 包玲凤, 杨佩文, 沈广材, 张庆, 尹兴盛, 施竹凤, 裴卫华, 刘月静, 杨光伟, 杨明英. 生物有机肥调控的碱性植烟土壤微生物群落多样性特征[J]. 西南农业学报, 2022, 35(4): 780-789
- Pu YY, Bao LF, Yang PW, Shen GC, Zhang Q, Yin XS, Shi ZF, Pei WH, Liu YJ, Yang GW, Yang MY. Diversity characteristics of microbial communities in alkaline tobacco-growing soils regulated by bio-organic fertilizers[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35(4): 780-789 (in Chinese)
- [52] 戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 吴洪新, 徐林波, 侯向阳, 高丽, 崔艳伟. 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 YT, Yan ZJ, Xie JH, Wu HX, Xu LB, Hou XY, Gao L, Cui YW. 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 (in Chinese)
- [53] 郑海峰, 陈亚梅, 杨林, 李洪杰, 王利峰, 谌贤, 刘洋. 高山林线土壤微生物群落结构对模拟增温的响应[J]. 应用生态学报, 2017, 28(9): 2840-2848
- Zheng HF, Chen YM, Yang L, Li HJ, Wang LF, Shen X, Liu Y. Responses of soil microbial community structure to simulated warming in alpine timberline in western Sichuan, China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(9): 2840-2848 (in Chinese)
- [54] Shi Y, Li YT, Xiang XJ, Sun RB, Yang T, He D, Zhang KP, Ni YY, Zhu YG, Adams JM, Chu HY. Spatial scale affects the relative role of stochasticity versus determinism in soil bacterial communities in wheat fields across the north China Plain[J]. *Microbiome*, 2018, 6(1): 27
- [55] Davidson E, Verchot L, Cattaneo JH, Ackerman I, Carvalho J. Effects of soil water content on soil respiration in forests and cattle pastures of eastern Amazonia[J]. *Biogeochemistry*, 2000, 48: 53-69
- [56] 王伏伟, 王晓波, 李金才, 叶爱华, 王妍, 车威, 朱林. 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 FW, Wang XB, Li JC, Ye AH, Wang Y, Che W, Zhu L. 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 (in Chinese)