

周艳飞,聂江文,王幼娟,等.施氮水平对稻-稻-紫云英稻田土壤细菌数量及群落结构的影响[J].农业资源与环境学报,2018,35(6): 508-517.

ZHOU Yan-fei, NIE Jiang-wen, WANG You-juan, et al. Effect of nitrogen application level on abundance and community structure of paddy soil bacteria under rice-rice-Chinese milk vetch(*Astragalus sinicus* L.) cropping system[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2018, 35(6): 508-517.

## 施氮水平对稻-稻-紫云英稻田土壤细菌数量及群落结构的影响

周艳飞, 聂江文, 王幼娟, 刘章勇, 朱 波\*

(长江大学湿地生态与农业利用教育部工程研究中心/主要粮食作物产业化湖北省协同创新中心, 湖北 荆州 434025)

**摘要:**通过对稻-稻-紫云英稻田土壤细菌数量和群落结构多样性进行研究,揭示不同施氮水平对稻田土壤微生物的影响,以期为促进稻田土壤养分管理提供依据。以湖南省8年定位田间试验稻田土壤为对象,试验处理以冬闲水稻田不施氮肥为对照(CK),设置冬种紫云英还田条件下水稻季三个施氮肥水平分别为不施氮肥( $0 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2}$ , CN<sub>0</sub>)、施中水平氮肥( $100 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2}$ , CN<sub>100</sub>)、施高水平氮肥( $200 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2}$ , CN<sub>200</sub>)。采用荧光定量PCR和Illumina MiSeq高通量测序平台分别研究了不同处理下稻田土壤的总细菌数量和群落结构。结果表明:稻田土壤总细菌数量为 $1.25 \times 10^8$ ~ $8.47 \times 10^9$ 拷贝数·g<sup>-1</sup>干土;处理间物种多样性指数(Shannon和Simpson)和物种丰富度指数(Ace和Chao)均存在显著性差异;16S rRNA基因在门水平分类下3个主要类群是变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae),分别占总OTU比例的42.22%~54.54%、8.56%~20.73%、10.98%~15.08%;CN<sub>100</sub>土壤样品中变形菌门的相对丰度低于CN<sub>200</sub>、CN<sub>0</sub>和CK,绿弯菌门的相对丰度分别为CN<sub>200</sub>、CN<sub>0</sub>和CK的2.26、1.58倍和1.17倍。相关性分析表明,土壤细菌16S rRNA基因拷贝数与铵态氮含量呈显著正相关。影响土壤细菌菌群结构的因子分析结果表明,土壤细菌与土壤pH值、铵态氮、硝态氮存在密切相关性。研究表明,在冬种紫云英还田条件下施加氮肥可以显著改变湖南省双季稻区土壤微生物数量与结构。

**关键词:**紫云英;氮肥;双季稻;细菌群落结构;高通量测序;荧光定量

中图分类号:S182 文献标志码:A 文章编号:2095-6819(2018)06-0508-10 doi: 10.13254/j.jare.2018.0021

### Effect of nitrogen application level on abundance and community structure of paddy soil bacteria under rice-rice-Chinese milk vetch(*Astragalus sinicus* L.) cropping system

ZHOU Yan-fei, NIE Jiang-wen, WANG You-juan, LIU Zhang-yong, ZHU Bo\*

(Yangtze University, Engineering Research Center of Ecology and Agricultural Use of Wetland, Ministry of Education/Hubei Collaborative Innovation Center for Grain Industry, Jingzhou 434025, China)

**Abstract:** In order to study the effect of nitrogen rate on soil microbial ecology and provide a basis for the promotion of soil nutrient management in paddy fields, we investigated the abundance and community structure of paddy soil bacteria in a rice-rice-vetch cropping system. Soil samples were taken from an 8-year continuous field trial, with three treatments (no nitrogen application,  $0 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2}$ , CN<sub>0</sub>; middle nitrogen application level,  $100 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2}$ , CN<sub>100</sub>; high nitrogen application level,  $200 \text{ kg N} \cdot \text{hm}^{-2}$ , CN<sub>200</sub>) under milk vetch returning condition, and fallow was set as control (CK). Soil bacterial abundance and community structure were estimated by using fluorescence quantitative PCR and Illumina MiSeq high-throughput sequencing platform, respectively. The results showed that the abundance of soil bacteria ranged from  $1.25 \times 10^8$  to  $8.47 \times 10^9$  copies per gram dry soil in all soil samples. Sequencing results indicated that community diversity indexes (Shannon and Simpson) and community richness indexes (Ace and Chao) had significant variation among different treatments at

收稿日期:2018-01-17 录用日期:2018-04-16

基金项目:国家自然科学基金项目(31501274,31870424);中国科协青年人才托举工程项目(YESS20160040);湿地生态与农业利用教育部工程研究中心2015年开放基金项目(KF201504)

作者简介:周艳飞(1991—),女,湖北恩施人,硕士研究生,主要研究方向为生态农业。E-mail: yanfeizhou-vanessa@hotmail.com

\*通信作者:朱波 E-mail:1984zhuo@163.com

0.05 probability level. Proteobacteria, Chloroflexi and Nitrospirae were three mainly soil bacterial groups under Phylum classification level, accounting for total proportion of OTU 42.22%~54.54%, 8.56%~20.73% and 10.98%~15.08%, respectively. The relative abundance of Proteobacteria of soils from CN<sub>100</sub> was lower than those from the other three treatments, while Chloroflexi relative abundance was 2.26, 1.58 and 1.17 times higher than CN<sub>200</sub>, CN<sub>0</sub> and CK, respectively. Correlation analysis showed that bacterial 16S rRNA gene copy numbers was positively correlated with soil ammonium nitrogen. Factors analysis of soil bacterial community structure indicated that there was a close correlation between soil bacteria and soil chemical indicators. A forementioned results demonstrated that soil microbial quantity and community structure could be significantly altered by nitrogen application combined with vetch incorporation in double cropping soils.

**Keywords:** vetch; nitrogen fertilizer; double cropping rice; soil bacterial community structure; high-throughput sequencing; real-time PCR

土壤微生物通过驱动土壤有机质分解、养分转运以及温室气体排放等过程,在全球生态系统功能调节中发挥重要作用<sup>[1~4]</sup>。农田生态系统中土壤微生物在推动土壤有机质和养分循环的同时还加工土壤中原有的或外源加入的营养物质,使其转化为可被植物吸收利用的形态,因而对土壤肥力的提高具有重要作用<sup>[5]</sup>。土壤微生物的活性、数量、种群和群落结构受多种外界因素的影响,能够敏感且及时地反映或预测土壤质量的变化趋势,可用作土壤肥力评价的生物指标<sup>[6~8]</sup>。

农田生态系统中土壤微生物(土壤细菌约占其总量的70%~90%)的分布状况及其影响因素正成为农业生态学和土壤微生物生态学领域的研究热点<sup>[9~14]</sup>。Ortiz-Cornejo等<sup>[15]</sup>通过培养试验结果证明养分管理措施对农田土壤微生物群落结构有显著影响。万水霞等<sup>[16~17]</sup>研究表明,紫云英还田条件下长期配施化肥显著提高了双季稻区稻田土壤微生物量。袁红朝等<sup>[18~19]</sup>研究发现,长期施肥的稻田土壤细菌16S rRNA基因数量可达到每克干土5.8×10<sup>9</sup>~1.06×10<sup>10</sup>个拷贝数,施肥后,细菌和古菌的多样性和数量显著增加。Chelsea等<sup>[20]</sup>使用Meta分析发现施用氮肥能显著提高氨氧化细菌(AOB)的丰度及数量,从而增加土壤硝化潜力。

紫云英作为一种冬季绿肥,因其可以培肥土壤和固定大气中的氮素在南方稻田中广泛使用。但是,目前对紫云英还田并施加氮肥后对土壤微生物效应的研究主要侧重于土壤微生物数量和有关酶活性变化等方面<sup>[21~22]</sup>,对于紫云英还田后施不同水平氮肥将如何影响湖南双季稻区稻田土壤细菌丰度及其群落结构变化的研究鲜见报道。本研究以湖南省双季稻区不同施肥处理耕层土壤为研究对象,以16S rRNA基因为分子标靶,借助 Illumina MiSeq高通量测序平台和荧光定量PCR技术,探讨冬种紫云英还田后不同施氮水平对双季稻田土壤细菌群落结构和丰度的影

响,以期为指导农田施肥和优化种植制度提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地概况

田间试验于2008—2017年在湖南省华容县长江大学试验基地(东经112°55',北纬29°52')进行。当地气候为亚热带季风湿润气候,年均气温16~18℃,≥10℃积温5000~5800℃,无霜期260~310 d,年降雨量1200~1700 mm。试验土壤为长江沉积物发育的紫潮泥水稻土。试验前土壤肥力指标:pH 7.7,有机质含量49.2 g·kg<sup>-1</sup>,全氮含量3.11 g·kg<sup>-1</sup>,碱解氮273 mg·kg<sup>-1</sup>,有效磷16.4 mg·kg<sup>-1</sup>,速效钾69 mg·kg<sup>-1</sup>。

### 1.2 试验设计

试验采用冬种紫云英还田-早稻-晚稻的种植模式,共设4个处理:紫云英还田+施氮肥200 kg·hm<sup>-2</sup>(CN<sub>200</sub>)、紫云英还田+施氮肥100 kg·hm<sup>-2</sup>(CN<sub>100</sub>)、紫云英还田不施氮肥(CN<sub>0</sub>)、冬闲水稻不施氮肥(CK)。每个处理重复3次,小区面积30 m<sup>2</sup>。

### 1.3 样品采集

于2016年3月,紫云英盛花期采集0~10 cm耕作层土壤样品,每个小区随机取5个点,剔除石砂和植物残渣等杂物,混合均匀后储存于封口袋中,一部分迅速用锡箔纸包裹放进液氮中,带回实验室-80℃冷藏,用于土壤微生物群落分析;另一部分土壤样品装入自封袋后带回实验室,置于4℃冰箱,鲜土样测定铵态氮和硝态氮含量,剩余土壤自然风干后测定土壤pH、有机质和全氮含量。

### 1.4 土壤理化性质测定

土壤pH用酸度计法测定(土水比1:2.5);铵态氮用2 mol·L<sup>-1</sup> KCl浸提-靛酚蓝比色法测定;硝态氮用双波长紫外分光光度法测定;碱解氮采用碱解扩散法测定;有机质(SOM)用重铬酸钾容量法测定;全氮(Total N, TN)和全碳(Total C, TC)用元素分析仪(Costech ECS 4024 CHNSO, NC Technologies, 意大利)

测定。

### 1.5 土壤总DNA提取、PCR扩增及测序

使用DNA试剂盒(MOBIO Laboratories Inc., Carlsbad, CA, 美国)从0.25 g土壤中提取总DNA。总DNA用1%的琼脂糖凝胶电泳检测,提取DNA的浓度和纯度(A260/280)用NanoDrop ND-1000分光光度计检测(Thermo Scientific, Rockwood, TN, 美国)。使用Illumina MiSeq高通量测序平台进行扩增和测序,选择16S rRNA基因V4区338F(5'-ACTCCTACGGGAG-GCAGCA-3')和806R(5'-GGACTACVSGGGTATC-TAAT-3')为测序引物,两端引物都加有Barode序列标签(12mer)。PCR扩增体系条件:94 °C 2 min, 94 °C 30 s共30个循环,50 °C 30 s,延伸时间72 °C 1 min, 72 °C 6 min。

### 1.6 荧光定量PCR

使用ABI 7500(ABI, 美国)实时荧光定量PCR系统测定细菌16S rRNA基因拷贝的丰度。反应体系:FastFire qPCR PreMix 10 μL, 正向引物338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')0.6 μL, 反向引物806R(5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3')0.6 μL, ROX Reference Dye 0.4 μL, 1 μL DNA, 补加ddH<sub>2</sub>O至20 μL。程序扩增:95 °C 10 min, 95 °C 15 s共40个循环,延伸时间55 °C 1 min。

### 1.7 数据分析

数据去杂方法和参数:过滤read尾部质量值20以下的碱基,设置50 bp的窗口,如果窗口内的平均质量值低于20,从窗口开始截去后端碱基,过滤质控后50 bp以下的read;将核苷酸相似度大于97%的序列作为一个OTU(可操作分类单位),共得到7069个OTUs,并进行单样品α多样性分析。采用RDP-classifier贝叶斯算法对97%相似水平的OTU代表序列进行注释,得到每个OTU的分类学信息。统计各个样品含有OTU情况及每个OTU中含有序列的数目。

利用Mothur软件在相似水平97%上进行Chao、Ace和Shannon指数的评估。数据方差分析和相关性分析用SPSS 20.0软件完成,由Origin Pro 2017软件制图。

### 1.8 多样性指数

群落生态学中研究微生物多样性,通过单样品的多样性分析(Alpha多样性)可以反映微生物群落的丰富度和多样性,包括用一系列统计学分析指数估计环境群落的物种丰富度和多样性。Chao:是用Chao算法估计样品中所含OTU数目的指数,Chao在生态学中常用来估计物种总数,由Chao在1984年最早提出。Ace:用来估计群落中OTU数目的指数,由Chao提出,是生态学中估计物种总数的常用指数之一,与Chao的算法不同。Shannon:该指数值越大,说明群落多样性越高。Simpson:指数值越大,说明群落多样性越低。Coverage:是指各样本文库的覆盖率,其数值越高,则样本中序列被测出的概率越高,而没有被测出的概率越低。使用MiSeq测序技术对16S rRNA基因测序,4个样品共得到原始序列89 440条,样品含有序列条数18 513~27 093, OTUs数为1696~1838,样品测序覆盖度为98.26%~99.02%(表1)。由稀释性曲线可以看出此测序深度获得序列数据量可以反映土壤样品总细菌生物信息(图1)。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤基础理化性质

由表2可知,不同处理土样有机质和铵态氮均有显著差异( $P<0.05$ )。CN<sub>100</sub>处理土壤有机质含量最高,各处理有机质含量大小为CN<sub>100</sub>>CN<sub>200</sub>>CK>CN<sub>0</sub>;CN<sub>0</sub>处理土样铵态氮含量最高,次之为CN<sub>200</sub>,CN<sub>100</sub>和CK处理的铵态氮含量(13.66 mg·kg<sup>-1</sup>和10.75 mg·kg<sup>-1</sup>)小于CN<sub>0</sub>和CN<sub>200</sub>处理(44.12 mg·kg<sup>-1</sup>和41.28 mg·kg<sup>-1</sup>)。CN<sub>100</sub>与CK,CN<sub>200</sub>与CN<sub>0</sub>两两之间的pH无显著

表1 样品测序结果及多样性指数

Table 1 Sequencing results and diversity indices of different soil samples

处理 Treatments	测序结果 Sequencing results			多样性指标 Diversity estimates			
	序列数 Reads	操作分类单元 <sup>a</sup> OTUs	覆盖度 Coverage/%	Chao 指数 Chao index	Ace 指数 Ace index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
CN <sub>200</sub>	23 235	1696	98.68	1906	1883	6.46	0.004 3
CN <sub>100</sub>	20 599	1803	98.39	2040	2006	6.60	0.002 9
CN <sub>0</sub>	27 093	1838	99.02	1003	1979	6.47	0.003 7
CK	18 513	1732	98.26	1947	1930	6.55	0.003 1

注:a—将序列相似性达到97%的序列归类为一个操作分类单元。

Note:a—Species level at 97% similarity threshold is defined as one operational taxonomic unit(OTU).

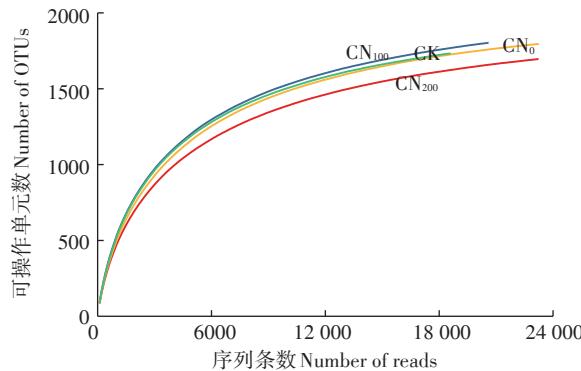


图1 不同土壤样品 OTUs 的稀释性曲线(相似度 97%)

Figure 1 Rarefaction curves of the OTUs number at 97% similarity for different soil samples

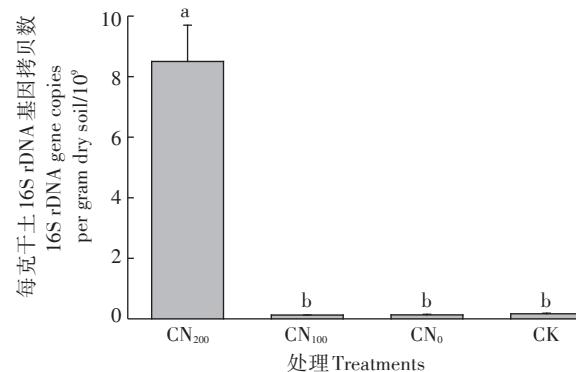
差异( $P>0.05$ )。CN<sub>200</sub>和CN<sub>100</sub>全氮及碳氮比无显著差异( $P>0.05$ )。CN<sub>200</sub>处理的硝态氮显著高于其他3个处理,CN<sub>100</sub>处理土样硝态氮含量最低且显著低于其他3个处理( $P<0.05$ ),CN<sub>0</sub>和CK之间硝态氮含量无差异( $P>0.05$ )。

## 2.2 土壤总细菌数量及测序结果

以16S rRNA基因为靶标,用荧光定量PCR测定土壤总细菌。结果显示,冬种紫云英还田后施不同水平氮肥时土壤总细菌数量在 $1.25\times10^8\sim8.47\times10^9$ 拷贝数·g<sup>-1</sup>干土(图2)。CN<sub>200</sub>处理土壤总细菌数量显著高于其他3个处理,CN<sub>100</sub>、CN<sub>0</sub>及CK土壤总细菌数量无显著差异( $P>0.05$ )。相关性分析表明,土壤总细菌数量与硝态氮和碱解氮有显著正相关关系( $r$ 分别为0.663和0.978, $n=12$ , $P<0.05$ ),与pH值呈显著负相关关系( $r=0.950$ , $n=12$ , $P<0.05$ )。

## 2.3 不同样品16S rRNA的分类学组成

采用RDP classifier贝叶斯算法对97%相似水平的OTU代表序列进行分类学分析,并分别在各个分

图中不同字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )

The different letters on the bar show the significant difference among treatments( $P<0.05$ )

## 图2 不同施肥处理细菌16S rDNA基因拷贝数

Figure 2 Abundance of bacterial 16S rDNA gene copies under different fertilizer application rate treatments

类学水平上统计各样的群落组成,把无法分类的序列定义为无法归类。样品获得的16S rRNA基因OTUs在分类学门、科和属水平上可归类比例分别为95.08%、65.73%和61.52%。样品获得的OTUs归类在42个门、87个纲、157个目、241个科和323个属中,其中所有样品共有门、科和属数分别为38、213和284。

本试验依据样品群落结构分析,生成了不同样品间细菌群落结构柱状图(图3),该柱状图反映了样品门水平上的类别和样品各细菌群落的相对丰度两个信息。在门水平上变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和硝化螺旋菌门(Nitrospirae)是3个主要类群,分别占总OTU比例的42.22%~54.54%、8.56%~20.73%、10.98%~15.08%。CN<sub>100</sub>土壤样品中变形菌门(Proteobacteria)相对丰度低于CN<sub>200</sub>、CN<sub>0</sub>和CK。

表2 不同施肥处理土壤基础化学性质(平均值±标准差,  $n=3$ )Table 2 Soil chemical properties of different N fertilizer application rate treatments (mean±SD,  $n=3$ )

处理 Treatments	pH	全氮 Total nitrogen/g·kg <sup>-1</sup>	有机质 Total organic matter/g·kg <sup>-1</sup>	铵态氮 NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N/mg·kg <sup>-1</sup>	硝态氮 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/mg·kg <sup>-1</sup>	碳氮比 C/N	碱解氮 Available N/mg·kg <sup>-1</sup>
CN <sub>200</sub>	7.31±0.04bc	3.58±0.08a	64.23±0.49b	41.28±0.15b	12.78±1.34a	10.42±0.17b	275.22±8.71a
CN <sub>100</sub>	7.63±0.07a	3.65±0.12a	65.98±0.42a	13.66±0.88c	6.84±0.94c	10.48±0.32b	240.57±9.90b
CN <sub>0</sub>	7.35±0.03b	3.26±0.04b	62.60±0.48d	44.12±0.83a	10.55±0.66b	11.14±0.06a	232.98±6.86b
CK	7.63±0.04a	3.27±0.04b	63.29±0.10c	10.75±0.45d	10.49±0.24b	11.22±0.14a	230.53±6.11b

注:同列不同字母表示处理间差异显著( $P<0.05$ )。CN<sub>200</sub>表示紫云英还田后施用200 kg·hm<sup>-2</sup>纯氮;CN<sub>100</sub>表示紫云英还田后施用100 kg·hm<sup>-2</sup>纯氮;CN<sub>0</sub>表示紫云英还田不施氮肥;CK为不施肥的冬闲田。下同。

Note: Different letters in the same column mean significant difference among soil samples at 0.05 level. CN<sub>200</sub>, CN<sub>100</sub>, CN<sub>0</sub> and CK represent high nitrogen application level (200 kg N·hm<sup>-2</sup>), middle nitrogen application level (100 kg N·hm<sup>-2</sup>), no nitrogen application (0 kg N·hm<sup>-2</sup>) under Chinese milk vetch returning, and winter fallow paddy field respectively. The same below.

处理;同时其绿弯菌门(*Chloroflexi*)相对丰度分别是CN<sub>200</sub>、CN<sub>0</sub>和CK的2.26、1.58倍和1.17倍;CN<sub>100</sub>中硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)的相对丰度低于其他处理,CK次之,CN<sub>200</sub>丰度最高。

在属水平上Anaerolineaceae-uncultured、硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)和Sva0485\_norank为3个主要类群,所有样品中平均丰度分别为12.37%、9.81%、4.42%。CN<sub>100</sub>处理的Anaerolineaceae-uncultured相对丰度低于其他三个处理,但其硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)类群丰度分别为CN<sub>200</sub>、CN<sub>0</sub>、CK处理的1.64、1.17倍和1.63倍(图3b)。

#### 2.4 土壤细菌16S rRNA基因Venn图分析

利用Venn图分析了土壤样本在不同的分类水平上的组成相似性。结果表明,在门水平上各处理没有独有的OTU(即没有特有的物种),共有的OTU数为38,CN<sub>200</sub>和CN<sub>0</sub>有2个共有的OTU,CN<sub>100</sub>分别与CN<sub>0</sub>和CK各共有1个OTU(图4a)。在属水平上CN<sub>200</sub>、CN<sub>100</sub>、CN<sub>0</sub>和CK分别有303、312、317、303个OTU。各处理共有的OTU数为284(物种),CN<sub>200</sub>和CK各特有1个OTU,CN<sub>100</sub>和CN<sub>0</sub>各特有2个OTU;CN<sub>200</sub>分别与CN<sub>100</sub>、CN<sub>0</sub>和CK共有295、301、290个OTU,CN<sub>100</sub>分别与CN<sub>0</sub>

和CK共有308、296个OTU;CK、CN<sub>100</sub>和CN<sub>200</sub>共有285个OTU,CK、CN<sub>100</sub>和CN<sub>0</sub>共有294个OTU,CN<sub>100</sub>、CN<sub>200</sub>和CN<sub>0</sub>共有294个OTU(图4b)。在种水平上CN<sub>200</sub>、CN<sub>100</sub>、CN<sub>0</sub>和CK分别有533、548、551、534个OTU。其中每个处理共有的OTU数目为491,各自特有的OTU数目分别为1、3、3、1;CN<sub>200</sub>与CN<sub>100</sub>、CN<sub>0</sub>及CK分别共有517、525、509个OTU,CN<sub>100</sub>与CN<sub>0</sub>和CK分别共有537、508个OTU(图4c)。

#### 2.5 影响土壤细菌群落数量与结构的因子分析

紫云英还田后不同施肥处理细菌16S rRNA基因拷贝数与土壤化学性质的Spearman相关性分析结果(表3)显示,土壤铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)与细菌16S rRNA基因拷贝数有显著正相关关系,相关系数为0.790(*P*=0.002),而其他6个土壤化学性质与细菌16S rRNA基因拷贝数无显著相关性。

对土壤中的优势菌群(门水平,相对丰度前12)和土壤化学性质进行Spearman相关性分析(表4),在门水平下相对丰度前12的菌群与土壤总氮、碳氮比及全氮无显著相关关系。Proteobacteria(变形菌门)、*Nitrospirae*(硝化螺旋菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌门)、*Chlorobi*(绿菌门)、*Gemmatimonadetes*(芽单胞菌

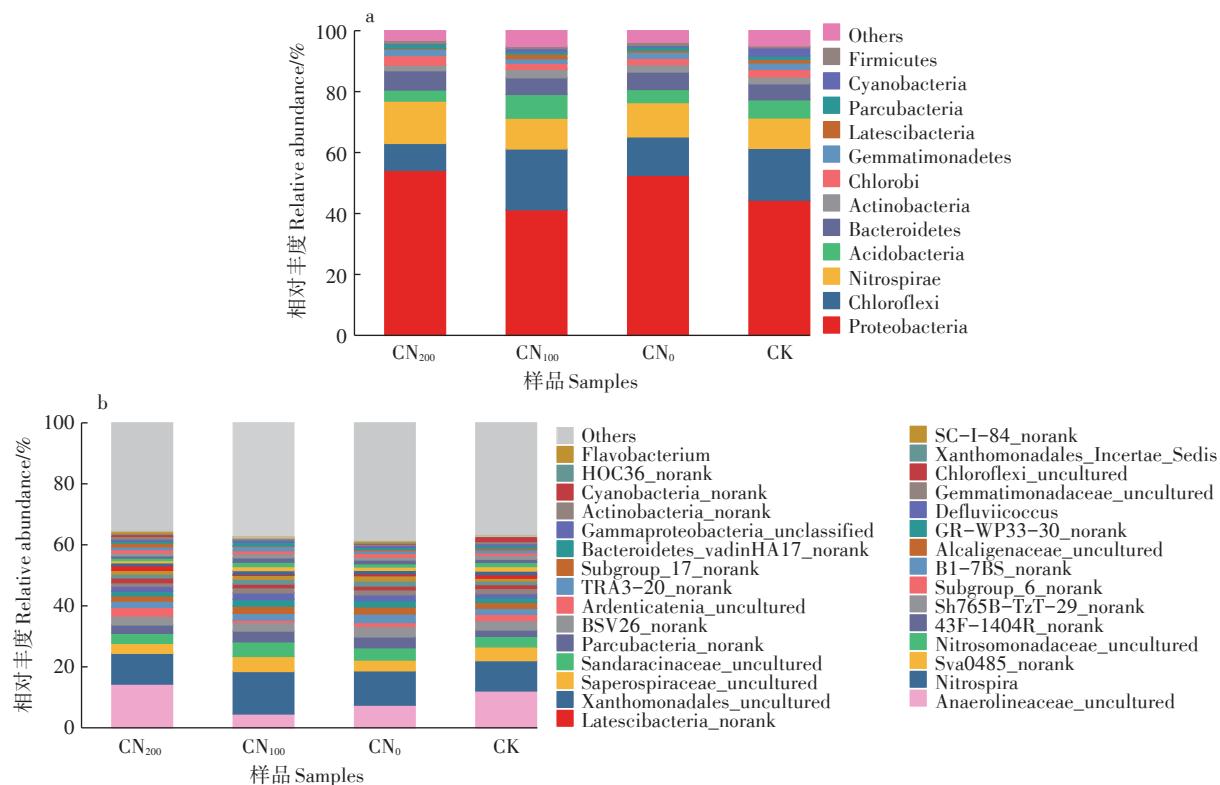


图3 不同施肥处理的土壤细菌在门(a)和属(b)分类水平下的群落结构组成

Figure 3 The bacterial community structure at the Phylum (a) and Genus (b) classification level under different fertilizer application

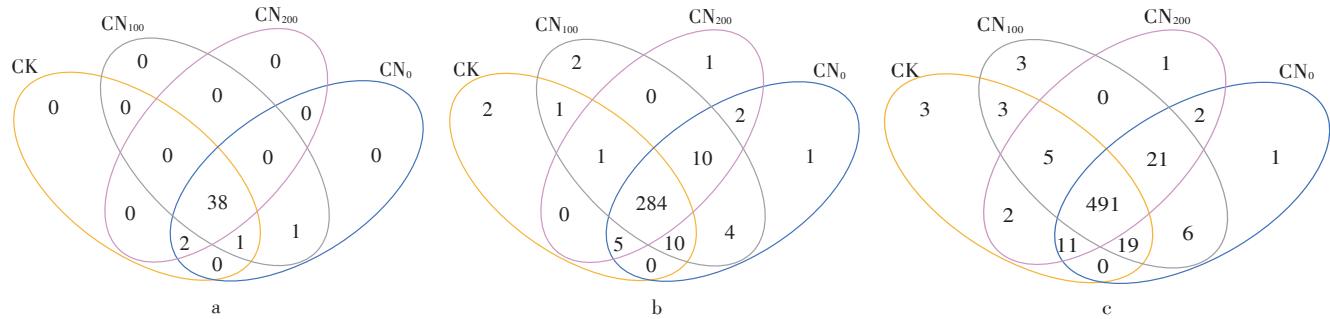


图4 不同土壤样品土壤细菌16S rRNA基因在门(a)、属(b)和种(c)水平下OTUs组成Venn图

Figure 4 Venn drawing of 16S rRNA gene OTUs at the Phylum(a), Genus(b) and Species(c) classification level in different soil samples

表3 细菌16S rRNA基因拷贝数与土壤化学性质的 Spearman 相关性分析

Table 3 Correlation analysis between bacterial 16S rRNA gene copy number and soil chemical properties by Spearman

pH	总氮 TN	碱解氮 Available N	NO <sub>3</sub> -N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	全碳 TC	碳氮比 C/N
-0.40	0.028	-0.33	-0.18	0.790**	0.028	-0.203

注:\*\*表示0.01水平(双侧)上显著相关。下同。

Note:\*\* mean correlation is significant at 0.01 level. The same below.

表4 土壤优势菌群相对丰度(门水平)与土壤化学性质的 Spearman 相关性分析

Table 4 Correlation analysis between soil dominant bacterial community (Phylum level) and soil chemical properties by Spearman

优势菌群 Dominant bacterial community	pH	总氮 TN	碱解氮 Available N	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> -N	NO <sub>3</sub> -N	碳氮比 C/N	全碳 TC
Proteobacteria	-0.78**	0.49	0.36	0.39	0.82**	-0.25	-0.13
Chloroflexi	-0.49	0.26	-0.17	0.93**	0.01	0.44	0.27
Nitrospirae	-0.84**	0.41	-0.76**	0.61*	0.75**	0.56	-0.14
Acidobacteria	-0.49	0.20	-0.18	-0.79**	0.001	0.35	0.17
Bacteroidetes	-0.76**	0.27	0.38	0.16	0.93**	-0.34	-0.15
Actinobacteria	-0.22	0.27	0.21	-0.34	0.76	-0.21	-0.15
Chlorobi	-0.82**	0.35	0.34	0.88**	0.57	-0.18	-0.35
Gemmatimonadetes	-0.68**	-0.29	0.07	0.55	0.71**	0.13	0.46
Latescibacteria	-0.75**	0.98	-0.37	-0.85**	0.58*	0.16	0.43
Parcubacteria	-0.72*	0.16	0.34	0.73**	0.58	0.11	-0.39
Cyanobacteria	0.98**	-0.49	-0.76**	-0.54	-0.75	0.65	-0.46
Firmicutes	-0.66*	0.23	0.35	0.33	0.93	-0.29	-0.29

注:\*表示0.05水平(双侧)上显著相关。

Note: \* mean correlation is significant at 0.05 level.

门)、Latescibacteria、Firmicutes(厚壁菌门)在0.01水平上与土壤pH有显著负相关关系; Nitrospirae(硝化螺旋菌门)和Cyanobacteria(蓝藻门)在0.01水平上与土壤碱解氮存在显著负相关关系; Chloroflexi(绿弯菌门)、Chlorobi(绿菌门)、Parcubacteria在0.01水平上与土壤NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N有显著正相关关系, Acidobacteria(酸杆菌门)和Latescibacteria在0.01水平与土壤NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N有显著负相关关系, Nitrospirae(硝化螺旋菌门)在0.05水平上与其有正相关关系; Proteobacteria(变形菌门)、Nitrospirae(硝化螺旋菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌

门)、Gemmatimonadetes(芽单胞菌门)和Latescibacteria分别在0.01和0.05水平上与土壤NO<sub>3</sub>-N有显著正相关关系。

### 3 讨论

#### 3.1 冬种紫云英还田后配施氮肥对稻田土壤总细菌丰度和多样性的影响

反映土壤总微生物活性的一个重要参数即土壤总细菌数量。此研究中稻田土壤总细菌16S rDNA基因在1.25×10<sup>8</sup>~8.47×10<sup>9</sup>拷贝数·g<sup>-1</sup>干土之间,与杨亚

东等<sup>[23]</sup>和Shen等<sup>[24]</sup>研究发现的细菌数量 $10^9\sim10^{10}$ 拷贝数·g<sup>-1</sup>干土的数量级大体一致,但小于候海军等<sup>[25]</sup>、袁红朝等<sup>[18]</sup>和He等<sup>[26]</sup>得出的 $10^{10}$ 拷贝数·g<sup>-1</sup>干土的结果。万水霞等<sup>[27]</sup>研究发现紫云英还田能显著提高土壤微生物数量,颜志雷等<sup>[28]</sup>研究表明紫云英翻耕配施肥能显著增加土壤细菌数量,曾希柏等<sup>[29]</sup>研究表明不同施氮量对土壤总细菌数量有显著影响,宋亚娜等<sup>[30]</sup>研究认为氮肥的施用能够使稻田土壤反硝化细菌的丰度显著提高,Tao等<sup>[31]</sup>研究发现施用紫云英绿肥可以显著提高土壤细菌数量和土壤质量。Wang等<sup>[32]</sup>研究发现长期施用无机肥会导致可操作分类单元(OTU)的丰度降低并影响土壤细菌中固氮菌的丰度和土壤细菌群落结构。Zhong等<sup>[33]</sup>研究表明长期施氮肥能使土壤理化性质改变而最终导致土壤微生物群落结构和部分微生物活性改变。

王聪等<sup>[34]</sup>研究发现在cDNA和DNA水平上,采用不同施肥方式对土壤细菌丰度的影响趋势是一致的,在平衡施肥的基础上进行秸秆还田均增加土壤细菌的数量。李卉等<sup>[35]</sup>和兰木羚等<sup>[36]</sup>研究表明,秸秆和绿肥还田可显著提高土壤微生物量碳和微生物量氮以及土壤微生物的物种丰富度指数和优势度指数。本研究CN<sub>200</sub>、CN<sub>100</sub>、CN<sub>0</sub>和CK处理的Chao指数分别为1906、2040、2003和1947。CN<sub>100</sub>和CN<sub>0</sub>高于冬闲CK,表明紫云英还田能提高土壤总细菌物种数;CN<sub>100</sub>处理高于CN<sub>0</sub>,表明紫云英还田后配施100 kg·hm<sup>-2</sup>氮肥比还田后不施氮肥更利于总细菌物种数增加;CN<sub>200</sub>处理显著低于CK,表明紫云英还田后配施200 kg·hm<sup>-2</sup>氮肥与冬闲相比虽然能提高土壤总细菌数目但是并不能增加土壤中物种总数,原因可能是大量的氮肥施入使得部分与氮素含量有关的细菌物种活性增加,而致使其他土壤细菌物种减少。冬闲处理的Shannon指数大于CN<sub>0</sub>和CN<sub>200</sub>,原因可能是冬闲土壤多年未被人工耕作和施入化肥,土壤结构未被影响,细菌多样性在这样的条件下得到维持和提高。

### 3.2 冬种紫云英还田后配施氮肥对稻田土壤总细菌群落结构的影响

通过对紫云英还田后配施氮肥不同处理的12个优势菌门分析发现,变形菌门、绿弯菌门和硝化螺旋菌门是门水平上的3个主要类群,分别占总OTU比例的42.22%~54.54%、8.56%~20.73%和10.98%~15.08%。优势菌群为变形菌门,这一结果与国内外关于土壤细菌多样性的很多研究<sup>[37~38]</sup>相一致,变形菌门也是目前世界公认的最普遍的菌门<sup>[39]</sup>。高圣超等<sup>[40]</sup>研究发现,

在大豆连作条件下不同施肥处理土壤细菌中,变形菌门、放线菌门和酸杆菌门是土壤中相对丰度最高的3个菌门。高雪峰等<sup>[41]</sup>研究发现在草原生态系统中土壤优势菌群为变形菌门、放线菌门和厚壁菌门)。袁红朝等<sup>[18]</sup>研究表明不同施肥水平下稻田土壤中,除变形菌门和放线菌门外,绿弯菌门也在农田土壤中占绝对优势。CN<sub>100</sub>处理的绿弯菌门的相对丰度高于另外两个处理和对照,说明冬种紫云英还田后配施合理量的氮肥可以改变稻田土壤细菌结构。Michie等<sup>[42]</sup>研究表明,长期施用有机肥和无机肥能提高植物根系的生理活性,促使根系分泌物增加,促进土壤微生物繁衍及生命活动,显著提高与根系分泌密切相关的变形菌门的丰度,多数研究认为变形菌门的丰度与碳的利用方式有关<sup>[43]</sup>。长期氮磷钾配施和紫云英还田显著影响土壤pH值和土壤肥力,使对生境变化较敏感的微生物种群丰度发生显著变化。本研究紫云英还田后配施100 kg·hm<sup>-2</sup>氮肥使得变形菌门丰度下降和绿弯菌门丰度上升的原因还需要进一步试验研究。

### 3.3 土壤理化性质对土壤细菌群落结构的影响

研究发现土壤中的细菌群落主要受到土壤中铵态氮含量、pH值和土壤微生物量氮含量的影响,土壤细菌数量与土壤有效氮、速效钾、速效磷含量有显著正相关关系<sup>[9,27]</sup>,袁红朝等<sup>[18]</sup>发现稻田土壤细菌群落与土壤中的铵态氮含量显著正相关。杨亚东等<sup>[23]</sup>通过研究氮肥对土壤总细菌的影响发现,小麦土壤总细菌数量只与土壤硝态氮有显著负相关关系,这与本研究稻田土壤总细菌数量与土壤铵态氮在0.01水平上有显著正相关关系的结论不一致。原因可能是不同覆盖作物的根系分泌物有差异,且取样时间和深度不同(本实验在3月份紫云英开花季取0~10 cm的土壤,杨亚东等<sup>[23]</sup>在7月和8月燕麦拔节期和成熟期取耕层0~20 cm的土壤)导致土壤理化性质差异。紫云英还田后施200 kg·hm<sup>-2</sup>氮肥(CN<sub>200</sub>)的土壤总细菌数量显著高于另外三个处理,紫云英还田后施100 kg·hm<sup>-2</sup>氮肥(CN<sub>100</sub>)的土壤总细菌数与还田不施氮(CN<sub>0</sub>)和冬闲(CK)无显著差异。CN<sub>100</sub>处理的pH值显著大于CN<sub>200</sub>和CN<sub>0</sub>处理,与CK相似;其铵态氮含量低于CN<sub>200</sub>和CN<sub>0</sub>处理,与CK处理相近;硝态氮含量显著低于其他三个处理。农田土壤细菌丰度和群落结构受多种因素影响。不同水分管理制度使稻田土壤氧化还原电位、pH值、土壤无机氮含量、土壤微生物量碳含量、土壤微生物量氮含量、可溶性有机氮含量和可溶性有机碳含量等出现差异,这些因素都可能导致土壤细菌

## 4 结论

本研究对冬种紫云英还田后配施氮肥条田下稻田土壤细菌数量和结构多样性进行研究,结果发现,在冬种紫云英还田条件下施氮肥会导致稻田土壤pH值降低,并改善其他土壤化学性质,施氮量增加显著提高土壤总细菌数量,改变稻田土壤细菌群落结构。

### 参考文献:

- [1] Huygens D, Boeckx P, Templer P, et al. Mechanisms for retention of bioavailable nitrogen in volcanic rainforest soils[J]. *Nature Geoscience*, 2008, 1(8):543-548.
- [2] Brussaard L, De Ruiter P C, Brown G G. Soil biodiversity for agricultural sustainability[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2007, 121(3):233-244.
- [3] Giles M E, Baggs E M, Daniell T J. Compound driven differences in N<sub>2</sub> and N<sub>2</sub>O emission from soil; the role of substrate use efficiency and the microbial community[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 106: 90-98.
- [4] Lammel D R, Feigl B, Cerri C C, et al. Specific microbial gene abundances and soil parameters contribute to C, N, and greenhouse gas process rates after land use change in southern Amazonian soils[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6:1057.
- [5] Smith J L, Paul E A. The significance of soil microbial biomass estimations[J]. *Soil Biochemistry*, 1992, 6:357-396.
- [6] Mei P P, Guil G, Wang P, et al. Maize/faba bean intercropping with rhizobia inoculation enhances productivity and recovery of fertilizer P in a reclaimed desert soil[J]. *Field Crops Research*, 2012, 130(11):19-27.
- [7] Suzanne L I, Stephen P J, Zach J M, et al. Impact of cropping systems, soil inoculum, and plant species identity on soil bacterial community structure[J]. *Microb Ecol*, 2017, 73(2):417-434.
- [8] Geisseler D, Scow K M. Long-term effects of mineral fertilizer on soil microorganisms: A review[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2014, 75: 54-63.
- [9] She S Y, Niu J J, Zhang C, et al. Significant relationship between soil bacterial community structure and incidence of bacterial wilt disease under continuous cropping system[J]. *Arch Microbiol*, 2017, 199: 267-275.
- [10] Zeng J, Liu X J, Song L. Nitrogen fertilization directly affects soil bacterial diversity and indirectly affects bacterial community composition [J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2016, 92:41-49.
- [11] Bastida F, Torres I F, Romero-Trigueros R, et al. Nitrogen fertilization directly affects soil bacterial diversity and indirectly affects bacterial community composition[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 240: 226-237.
- [12] 徐江兵,王艳玲,罗小三,等.纳米Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>对生菜生长及土壤细菌群落结构的影响[J].应用生态学报,2017,28(9):3003-3010.
- XU Jiang-bing, WANG Yan-ling, LUO Xiao-san, et al. Influence of Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub> nanoparticles on lettuce(*Lactuca sativa* L.) growth and soil bacterial community structure[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28(9):3003-3010.
- [13] Gumiere T, Durrer A, Bohannan B J. Biogeographical patterns in fungal communities from soils cultivated with sugarcane[J]. *Journal of Biogeography*, 2016, 43(10):2016-2026.
- [14] 杨亚东,冯晓敏,胡跃高,等.豆科作物间作燕麦对土壤固氮微生物丰度和群落结构的影响[J].应用生态学报,2017,28(3):957-965.
- YANG Ya-dong, FENG Xiao-min, HU Yue-gao, et al. Effects of legume-oat intercropping on abundance and community structure of soil N<sub>2</sub>-fixing bacteria[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2017, 28 (3):957-965.
- [15] Ortiz-Cornejo N L, Romero-Salas E A, Navarro-Noya Y E, et al. Incorporation of bean plant residue in soil with different agricultural practices and its effect on the soil bacteria[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 119:417-427.
- [16] 万水霞,朱宏斌,唐杉,等.紫云英与化肥配施对安徽沿江双季稻区土壤生物学特性的影响[J].植物营养与肥料学报,2015,21(2):387-395.
- WAN Shui-xia, ZHU Hong-bing, TANG Shan, et al. Effects of *Astragalus sinicus* manure and fertilizer combined application on biological properties of soil in Anhui double cropping rice areas along the Yangtze River[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2015, 21(2): 387-395.
- [17] 万水霞,唐杉,王允青,等.紫云英还田量对稻田土壤微生物数量及活性的影响[J].中国土壤与肥料,2013(4):39-42.
- WAN Shui-xia, TANG Shan, WANG Yun-qing, et al. Effect of returning quantity of *Astragalus sinicus* to soil on quantity and activity of microbial in paddy soil[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2013 (4):39-42.
- [18] 袁红朝,吴昊,葛体达,等.长期施肥对稻田土壤细菌、古菌多样性和群落结构的影响[J].应用生态学报,2015,26(6):1807-1813.
- YUAN Hong-chao, WU Hao, GE Ti-da, et al. Effects of long-term fertilization on bacterial and archaeal diversity and community structure within subtropical red paddy soils[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(6):1807-1813.
- [19] 袁红朝,秦红灵,刘守龙,等.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 Hong-chao, QIN Hong-ling, LIU Shou-long, et al. 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.
- [20] Chelsea J C, Nicholas C D, Michael B, et al. Meta-analysis reveals ammonia-oxidizing bacteria respond more strongly to nitrogen addition than ammonia-oxidizing archaea[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2016, 99:158-166.
- [21] Xie Z J, He Y Q, Tu S X, et al. Chinese milk vetch improves plant growth, development and <sup>15</sup>N recovery in the rice-based rotation system of south China[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7:3577.

- [22] Xie Z J, Shah F, Tu S X, et al. Chinese milk vetch as green manure mitigates nitrous oxide emission from monocropped rice system in south China[J]. *PLoS ONE*, 2016, 11(12):e0168134.
- [23] 杨亚东, 张明才, 胡君蔚, 等. 施氮肥对华北平原土壤氨氧化细菌和古菌数量及群落结构的影响[J]. 生态学报, 2017, 37(11):3636-3646.  
YANG Ya-dong, ZHANG Ming-cai, HU Jun-wei, et al. Effects of nitrogen fertilizer application on abundance and community structure of ammonia oxidizing bacteria and archaea in a north China agricultural soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(11):3636-3646.
- [24] Shen J P, Zhang L M, et al. Abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea communities of an alkaline sandy loam[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(6): 1601-1611.
- [25] 侯海军, 张文钊, 沈建林, 等. 水分管理对稻田细菌丰度与群落结构的影响[J]. 生态环境学报, 2016, 25(9):1431-1438.  
HOU Hai-jun, ZHANG Wen-zhao, SHEN Jian-lin, et al. Effect of water management on soil bacterial abundance and community in the rice paddy field[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2016, 25(9): 1431-1438.
- [26] He J Z, Shen J P, Zhang L M, et al. Quantitative analyses of the abundance and composition of ammonia-oxidizing bacteria and ammonia-oxidizing archaea of a Chinese upland red soil under long-term fertilization practices[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(9): 2364-2374.
- [27] 万水霞, 朱宏斌, 唐杉, 等. 紫云英与化肥配施对稻田土壤养分和微生物学特性的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2015, 14(3):79-83.  
WAN Shui-xia, ZHU Hong-bing, TANG Shan, et al. Effects of *Astragalus sinicus* manure and fertilizer combined application on soil nutrient and microbiological characteristics[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2015, 14(3):79-83.
- [28] 颜志雷, 方宇, 陈济琛, 等. 连年翻压紫云英对稻田土壤养分和微生物学特性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20(5): 1151-1160.  
YAN Zhi-lei, FANG Yu, CHEN Ji-chen, et al. Effect of turning over Chinese milk vetch(*Astragalus sinicus* L.) on soil nutrients and microbial properties in paddy fields[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20(5):1151-1160.
- [29] 曾希柏, 王亚男, 王玉忠, 等. 不同施肥模式对设施菜地细菌群落结构及丰度的影响[J]. 中国农业科学, 2013, 46(1):69-79.  
ZENG Xi-bai, WANG Ya-nan, WANG Yu-zhong, et al. Effects of different fertilization regimes on abundance and composition of the bacterial community in greenhouse vegetable soils[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(1):69-79.
- [30] 宋亚娜, 林艳, 陈子强. 氮肥水平对稻田细菌群落及N<sub>2</sub>O排放的影响[J]. 中国生态农业学报, 2017, 25(9):1266-1275.  
SONG Ya-na, LIN Yan, CHEN Zi-qiang. Effect of nitrogen fertilizer level on bacterial community and N<sub>2</sub>O emission in paddy soil[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2017, 25(9):1266-1275.
- [31] Tao J M, Liu X D, Liang Y L, et al. Maize growth responses to soil microbes and soil properties after fertilization with different green manures[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2017, 101:1289-1299.
- [32] Wang C, Zhang M M, Song W F. Impact of 25 years of inorganic fertilization on diazotrophic abundance and community structure in an acidic soil in southern China[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 113:240-249.
- [33] Zhong Y Q, Yan W M, Shang Z P. Impact of long-term N additions upon coupling between soil microbial community structure and activity, and nutrient-use efficiencies[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 91:151-159.
- [34] 王聪, 吴讷, 侯海军, 等. DNA和cDNA水平对比研究施肥对稻田土壤细菌多样性的影响[J]. 环境科学, 2016, 37(11):4472-4479.  
WANG Cong, WU Ne, HOU Hai-jun, et al. Effects of fertilization on soil microbial abundance and community structure at DNA and cDNA levels in paddy soils[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(11):4472-4479.
- [35] 李卉, 邹冬生. 水稻秸秆不同处理方式对亚热带农田土壤微生物量碳、氮及氮素矿化的影响[J]. 农业现代化研究, 2015, 36(2):303-308.  
LI Hui, ZOU Dong-sheng. Impacts of rice straw and its biochar product on the amounts of soil microbial biomass carbon and nitrogen and the mineralization of soil organic nitrogen in subtropical croplands[J]. *Research of Agricultural Modernization*, 2015, 36(2):303-308.
- [36] 兰木羚, 高明. 不同秸秆翻埋还田对旱地和水田土壤微生物群落结构的影响[J]. 环境科学, 2015, 36(11):4252-4259.  
LAN Mu-ling, GAO Ming. Influence of different straws returning with landfill on soil microbial community structure under dry and water farming[J]. *Environmental Science*, 2015, 36(11):4252-4259.
- [37] 寇文伯, 黄正云, 张杰, 等. 鄱阳湖湖泊细菌群落组成及结构:以松门山为例[J]. 生态学报, 2015, 35(23):7608-7614.  
KOU Wen-bo, HUANG Zheng-yun, ZHANG Jie, et al. Bacterial community structure and composition in Lake Poyang: A case study in the Songmenshan region, China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(23): 7608-7614.
- [38] Nacke H, Thurmer A, Wollherr A, et al. Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils[J]. *PLoS ONE*, 2011, 6(2):e17000.
- [39] Spain A M, Krumholz L R, Elshahed M S, et al. Abundance, composition, diversity and novelty of soil Proteobacteria[J]. *The ISME Journal*, 2009, 3(8):992-1000.
- [40] 高圣超, 关大伟, 马鸣超, 等. 大豆连作条件下施肥对东北黑土细菌群落的影响[J]. 中国农业科学, 2017, 50(7):1271-1281.  
GAO Sheng-chao, GUAN Da-wei, MA Ming-chao, et al. Effects of fertilization on bacterial community under the condition of continuous soybean monoculture in black soil in northeast China[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2017, 50(7):1271-1281.
- [41] 高雪峰, 韩国栋, 张国刚. 短花针茅荒漠草原土壤微生物群落组成及结构[J]. 生态学报, 2017, 37(15):1-8.  
GAO Xu-feng, HAN Guo-dong, ZHANG Guo-gang, et al. Soil microbial community structure and composition of *Stipa brevifl* on the desert

- steppe[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(15):1-8.
- [42] Michie K, Löwe J. Dynamic filaments of the bacterial cytoskeleton[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2006, 75:467-492.
- [43] Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria[J]. *Ecology*, 2007, 88(6):1354-1364.
- [44] 刘艳丽,张斌,胡峰,等.干湿交替对水稻土碳氮矿化的影响[J].*土壤*, 2008, 40(4):554-560.  
LIU Yan-li, ZHANG Bin, HU Feng, et al. Carbon and nitrogen mineralization of paddy soils as affected by wetting and drying[J]. *Soils*, 2008, 40(4):554-560.
- [45] 汤宏,沈健林,张杨珠,等.秸秆还田与水分管理对稻田土壤微生物量碳、氮及溶解性有机碳、氮的影响[J].*水土保持学报*, 2013, 27(1):240-246.
- [46] Karasu A, Dogan M Z. The effect of bacterial inoculation and different nitrogen doses on yield and yield components of some chickpea genotypes(*Cicer arietinum* L. )[J]. *African Journal of Biotechnology*, 2009, 8(1):59-64.
- [47] Rinklebe J, Langer U. Microbial diversity in three flood plain soils at the Elbe River(Germany)[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(8):2144-2151.



## 欢迎订阅2019年 *Journal of Integrative Agriculture(JIA)*

《农业科学学报》(Journal of Integrative Agriculture, JIA)由农业部主管、中国农业科学院与中国农学会共同主办,是综合性英文学术期刊,月刊。JIA 前身为 2002 年创刊的《中国农业科学》英文版(Agricultural Sciences in China, ASC),2012 年更名为 JIA。JIA 2006 年起与 Elsevier 合作,全文数据在 ScienceDirect 平台面向世界发行;2009 年被 SCI 收录,最新影响因子为 1.042,位于 JCR 农业综合类 Q2 区前列位次。JIA 是中国科技核心期刊;连续 5 年获得“中国最具国际影响力学术期刊”称号;2016 年入选中国科协“中国科技期刊国际影响力提升计划”及“中国科技期刊登峰行动计划”项目,是我国农业领域领衔学术期刊,并具有较高国际影响力。

JIA 大 16 开,每月 20 日出版,国内外公开发行。每期 180 页,国内订价 80.00 元,全年 960.00 元。国内统一连续出版物号:CN 10-1039/S,国际标准连续出版物号:ISSN 2095-3119,邮发代号:2-851,国外代号:1591M。

**全国各地邮局均可订阅,也可直接向编辑部订购。**

邮编:100081	地址:北京中关村南大街 12 号《中国农业科学》编辑部
电话:010-82109808	传真:010-82106247
网址:www.ChinaAgriSci.com	E-mail:zgnykx@caas.cn
联系人:林鉴非	

## 欢迎订阅2019年《中国农业科学》

《中国农业科学》是由农业部主管、中国农业科学院与中国农学会共同主办的综合性学术期刊,是中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国精品科技期刊、CSCD Q1 区期刊、中国权威学术期刊 A+ 期刊、中国最具国际影响力学术期刊,是了解中国农业相关领域科研进展的首选期刊。《中国农业科学》以研究论文、综述、简报等形式报道农牧业基础科学和应用基础科学最新成果。设有作物遗传育种·种质资源·分子遗传学;耕作栽培·生理生化·农业信息技术;植物保护;土壤肥料·节水灌溉·农业生态环境;园艺;食品科学与工程;畜牧·兽医·资源昆虫等栏目。读者对象为国内外农业科研院(所)、大专院校的科研、教学与管理人员。

《中国农业科学》大 16 开,每月 1、16 日出版,国内外公开发行。每期 200 页,定价 49.50 元,全年定价 1188.00 元。国内统一连续出版物号:CN11-1328/S,国际标准连续出版物号:ISSN 0578-1752,邮发代号:2-138,国外代号:BM43。

**《中国农业科学》全国各地邮局均可订阅,也可直接向编辑部订购。**

邮编:100081	地址:北京中关村南大街 12 号《中国农业科学》编辑部
电话:010-82109808,82106281	传真:010-82106247
网址:www.ChinaAgriSci.com	E-mail:zgnykx@caas.cn
联系人:林鉴非	