

Effects of Different Tillage Methods on Functional Diversity of Soil Microbial Community

Hongmei Liu^{1,2}, Guilong Zhang^{1,2}, Chaohe Huangfu^{1,2}, Dianlin Yang^{1,2}, Jianning Zhao^{1,2}

¹Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture, Tianjin

²Tianjin Engineering Research Center of Agricultural Ecological & Environmental Remediation, Tianjin

Email: liuhongmei@caas.cn

Received: Jan. 30th, 2016; accepted: Feb. 19th, 2016; published: Feb. 23rd, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

The aim was to study the influence of different tillage methods on functional diversity of soil microbial community in the North China farming areas. Using the method of Biolog-Eco, a comparative study was made on the utilization level of single carbon source by the soil microbes of four tillage methods (abandoned LF, conventional FT, rotary RT, no-tillage NT). The results showed that: 1) the Average Well Color Development (AWCD) value of abandoned tillage, no-tillage, rotary tillage were significantly higher than conventional tillage ($P < 0.05$); 2) the Shannon index (H) and Simpson's Dominance (D) of the soil microbial community of abandoned tillage, no-tillage, rotary tillage were significantly higher than conventional tillage ($P < 0.05$), whereas the Shannon index (H), Simpson's Dominance and Substrate evenness (E) had no significant difference among abandoned tillage, no-tillage and rotary tillage ($P > 0.05$); 3) principal component analysis indicated that the carbon source utilization of soil microbial community was similar among the rotary tillage and no-tillage treatment. In conclusion, rotary tillage with straw return and abandoned tillage were helpful to improve the soil metabolic activity of microorganism and the functional diversity of soil microbial communities.

Keywords

Tillage Methods, Soil Microbial Community, Biolog, Functional Diversity

不同耕作方式对农田土壤微生物功能多样性的影响

刘红梅^{1,2}, 张贵龙^{1,2}, 皇甫超河^{1,2}, 杨殿林^{1,2}, 赵建宁^{1,2}

¹农业部环境保护科研监测所, 天津

²天津市农田生态与环境修复技术工程中心, 天津

Email: liuhongmei@caas.cn

收稿日期: 2016年1月30日; 录用日期: 2016年2月19日; 发布日期: 2016年2月23日

摘要

为揭示耕作方式对华北农田土壤微生物群落功能多样性的影响, 采用Biolog-Eco技术, 研究了4种耕作处理(撂荒LF、翻耕FT、旋耕RT、免耕NT)土壤微生物群落功能多样性的变化。结果表明: 1) 不同耕作方式下土壤微生物群落平均颜色变化率(Average well color development) AWCD值从高到低依次为LF > NT > RT > FT, LF、NT、RT的AWCD显著高于FT ($P < 0.05$)。2) LF、NT和RT处理土壤微生物群落丰富度指数 H 、优势度指数 D 均显著高于FT处理($P < 0.05$)。LF、NT和RT的丰富度指数 H 、优势度指数 D 和均匀度指数 E 在观测期无显著差异($P > 0.05$)。3) 主成分分析表明, RT与LF土壤微生物群落碳源利用类型相似。旋耕秸秆还田和撂荒有利于提高土壤微生物活性和土壤微生物群落功能多样性。

关键词

耕作方式, 土壤微生物, Biolog, 功能多样性

1. 引言

土壤微生物是陆地生态系统的重要组成部分, 是土壤有机质及养分转化、循环的主要动力, 在推动地球生物化学元素循环过程中起着重要作用。土壤微生物组成的质与量的变化是土壤健康状况的重要敏感指示[1]-[3]。土壤微生物多样性可以定义为生命的丰富度, 代表着微生物群落的稳定性, 也反映土壤生态机制及土壤胁迫对微生物群落的影响, 因此对土壤微生物群落结构和功能的研究一直是土壤与植物营养学的研究热点[4] [5]。土壤的细微变化会引起土壤微生物多样性的变化, 并与土壤的生态稳定性密切相关。

耕作能改变土壤物理、化学、生物属性, 进而影响土壤微生物的结构及其多样性。目前关于耕作对微生物群落结构和多样性方面研究较多, 但并未形成一致结论。一些研究结果表明, 在免耕系统中, 土壤微生物的活性和数量都显著高于翻耕土壤, 表层土壤的微生物土壤质量参数与耕作频度反相关[6]-[8]。减少土壤耕作结合秸秆覆盖可提高表层土壤细菌总量, 增加土壤微生物的多样性[9]-[12]。Drijber 等(2000)利用 PIFA 方法研究小麦地在长期免耕条件下微生物群落结构变化时发现, 免耕能使土壤碳量和微生物量倾向于地表分布[13]。而另一些研究显示, 单独的耕作措施对土壤微生物的影响很小[14]。Diosma 等(2003)研究了耕作对阿根廷萨拉多河典型的粘化湿软土土壤微生物区系的影响, 发现在少耕情况下, 尽管土壤有机残余物量显著高于传统耕作, 但土壤微生物区系结构和活性没有发生改变[15]。但 Meriles 等(2009)发

现, 免耕情况下土壤中真菌和放线菌没有显著性变化[16]。为此, 本试验采用 Biolog 微平板法对不同耕作处理方式下土壤微生物群落功能多样性进行比较分析, 探讨耕作方式对土壤微生物的影响, 以期采取选择适宜的耕作方式和维持农田可持续利用提供科学依据。

2. 材料与方法

2.1. 试验区概况

试验于 2008 年 6 月开始设置, 在中国农业科学院武清农业生态环境野外科学观测试验站内进行, 该试验站位于天津市武清区(北纬 39°21', 东经 117°12'), 海拔 6.3 m, 属于暖温带半湿润大陆性气候。年平均气温在 11.4℃~12.9℃, 7 月气温最高, 平均在 26℃~27℃以上, 1 月气温最低, 平均在 3℃~5℃, 年平均无霜期为 196~246 d, 年均降水量 520~660 mm。该地区土壤类型和初期养分指标在作者已发表的文献中有详细描述, 具体见参考文献[17]。

2.2. 试验设计

轮作方式为冬小麦 - 夏玉米, 连续处理 6 年。试验采用随机区组设计, 设撂荒(LF)、翻耕(FT)、免耕(NT)、旋耕(RT) 4 个处理, 撂荒不耕不种, 翻耕耕深 25 cm, 旋耕耕深 10 cm, 免耕不耕。玉米秸秆还田量为 4000 kg/hm², 施氮量为 180 kg/hm²; 小麦秸秆全量还田, 施氮量为 150 kg/hm²; 秸秆粉碎长度为 8~10 cm。小区面积为 400 m² (40 m × 10 m), 所有处理三次重复, 小区间由 50 cm 走道间隔。田间管理同一般大田生产。

2.3. 样品采集及预处理

在 2008 年玉米播种前进行土壤本底样品采集, 在 2014 年玉米收获后采集土壤样品。在各个处理小区按“S”型取样法选取 6 点, 用土钻法取 0~20 cm 土层土样, 混合均匀带回实验室, 去除植物根系和砾石, 采取四分法, 将不少于 1 kg 土壤装入无菌封口袋, 放入冰盒冷藏, 运至实验室。将土壤样品分成两部分: 一部分放入 -20℃ 冰箱保存, 供微生物实验用; 另一部分在室内风干, 将风干土过 0.25 mm 和 1.00 mm 筛, 用于测定土壤基本理化性质。

2.4. 研究方法

土壤有机质含量采用重铬酸钾 - 氧化外加热法; 全氮采用半微量凯氏法; 全磷采用钼锑抗比色法; 硝态氮采用紫外分光光度法; 铵态氮采用靛酚蓝比色法; 速效磷采用钼锑抗比色法, 具体见参考文献[18]。

Biolog 试验: 先测定土壤含水量, 称取相当于 10 g 烘干土壤的新鲜土壤样品于已灭菌的三角瓶中, 在超净工作台在三角瓶中加入 90 ml 灭菌 NaCl 溶液(0.85%), 用封口膜将瓶口封好放入振荡器, 设置转速为 250 r/min, 震荡 30 min。取出后, 在超净工作台静置 10 min, 吸取上清液 5 ml 于新三角瓶中, 用 0.85% 的无菌 NaCl 溶液将土样稀释至 10⁻², 重复稀释至 10⁻³。将稀释液倒入已灭菌的点样槽内, 将上述稀释液加入到 Biolog-Eco 微平板孔中, 每孔加样量 150 μl。将接种好的 Biolog-Eco 微平板置于培养箱中, 于 28℃ 恒温条件下培养, 每隔 24 h 在 Biolog 微孔板读数仪(BIOLOG Inc., USA)上读数, 共进行 7 d。

2.5. 数据分析

微生物整体活性指标采用微平板每孔颜色平均变化率(Average well color development, AWCD)来表示, 单孔平均颜色变化率(AWCD)计算方法如下:

$$AWCD = \sum(C - R) / n$$

式中： C 为每个有培养基的孔在 590 nm 下光密度值， R 为每个有培养基的孔在 750 nm 下的光密度值， n 为 Biolog-Eco 微平板上供试碳源的种类数， n 值为 31。

采用 Biolog-Eco 平板孔中培养 96 h 的数据计算土壤微生物群落功能多样性指数，计算公式如下：

Shannon-Wiener 物种丰富度指数 H : $H = -\sum p_i \ln p_i$

Simpson 优势度指数 D : $D = 1 - \sum P_i^2$,

Shannon-Wiener 均匀度指数 E : $E = H/H_{\max} = H/\ln S$

式中 P_i 为第 i 孔相对吸光值与整个平板相对吸光值总和的比值。 H 是 Shannon 指数， S 是有颜色变化的孔的数目。

试验结果采用 SPSS 16.0 软件进行分析，单因素方差分析(one-way ANOVA)检验各项特征指标的差异，用 Duncan 新复极差法分析其差异显著性($\alpha = 0.05$)。

3. 结果与分析

3.1. 不同耕作方式下土壤微生物的平均颜色变化率(AWCD)

不同耕作方式下土壤微生物利用碳源能力和代谢活性用 AWCD 值表示。培养开始后，每隔 24 h 测定各处理的 AWCD 值，共培养 168 h，得到 AWCD 随时间的动态变化图见图 1。培养 24 h 之前 AWCD 值均很小，几乎为零，24 h 之后随着培养时间的延长 AWCD 值快速增长，说明在 24 h 之后碳源被迅速利用。随着培养时间的延长，4 种不同耕作方式土壤中微生物群落的 AWCD 值均呈增长趋势，其中，LF 处理土壤微生物群落 AWCD 值升高最快，NT 与 RT 处理土壤微生物群落 AWCD 值趋势相近，FT 处理 AWCD 值升高最慢。不同利用方式下土壤微生物群落利用单一碳源能力的顺序为 LF > NT > RT > FT。在培养的 168 h 之内，LF、NT、RT 土壤微生物对总体碳源利用率平均值分别比 FT 高 67.73%、45.88%、36.24%。说明 FT 处理土壤微生物群落代谢慢，活性弱，LF 处理土壤微生物群落代谢最快，活性最强。

3.2. 不同耕作方式下土壤微生物群落功能多样性指数

华北典型农田不同耕作方式下，土壤微生物群落物种丰富度指数 H 、均匀度指数 E 和优势度指数 D 如表 1 所示。不同耕作处理方式下，土壤微生物群落功能多样性指数不同，表明土壤微生物功能多样性发生了变化。LF 处理的物种丰富度指数 H 、和优势度指数 D 均最高，NT 次之，FT 最低，RT 处理均匀度 E 指数最高。方差分析结果表明，4 种不同耕作方式下土壤微生物群落丰富度指数和优势度指数差异显著，均匀度指数无显著差异。LF、RT 与 NT 处理的土壤微生物群落丰富度指数均显著高于 FT 处理；LF、NT 与 RT 3 种耕作处理的土壤微生物群落丰富度指数 H 、均匀度指数 E 和优势度指数 D 均无显著差异。

3.3. 主成分分析

3.3.1. 不同碳源在主成分上的载荷值

根据官能团将 Biolog-Eco 板上的碳源分为 4 大类：糖类及其衍生物 12 种、氨基酸及其衍生物 6 种、脂肪酸和脂类 5 种、代谢中产物和次生代谢物 8 种。Biolog-ECO 板上 31 种碳源在前 2 个主成分上的载荷值见表 2，以主成分 PC1 的载荷值降序排列。载荷值越高，表示该种碳源对主成分的影响越大。由表 2 可见，与第 1 主成分 PC1 具有较高相关性的碳源有 11 种，其中糖类 2 种，氨基酸类 4 种，脂类 2 种，代谢中产物及次生代谢物 3 种，表明影响第 1 主成分的碳源主要是氨基酸类和代谢中间产物及次生代谢物。与第 2 主成分 PC2 具有较高相关性的碳源有 9 种，其中糖类 4 种，氨基酸类 1 种，脂类 2 种，代谢中产物和次生代谢物 2 种，表明影响第 2 主成分的碳源主要是糖类。表明在不同耕作处理条件下华北农田土壤微生物利用的主要碳源是糖类、氨基酸类和代谢中间产物及次生代谢物。

3.3.2. 不同处理主成分分析

主成分个数的提取原则是相对应特征值大于 1 的前 m 个主成分，一般要求累计方差贡献率达到 85% 以上。根据此原则，共提取了 7 个主成分，累计贡献率达到 94.78%。其中第 1 主成分 PC1 的贡献率为 39.56%，权重最大；第 2 主成分 PC2 的贡献率为 24.12%，第 3-7 主成分贡献率分别为：12.33%、6.85%、4.92%、3.55% 和 3.45%。因第 3-7 主成分贡献率较小，选取前两个主成分进行分析。以 PC1 为横轴，PC2 为纵轴，以不同处理在两个主成分上的得分为坐标作图，得到不同处理土壤微生物碳源利用的主成分分析图(图 2)。

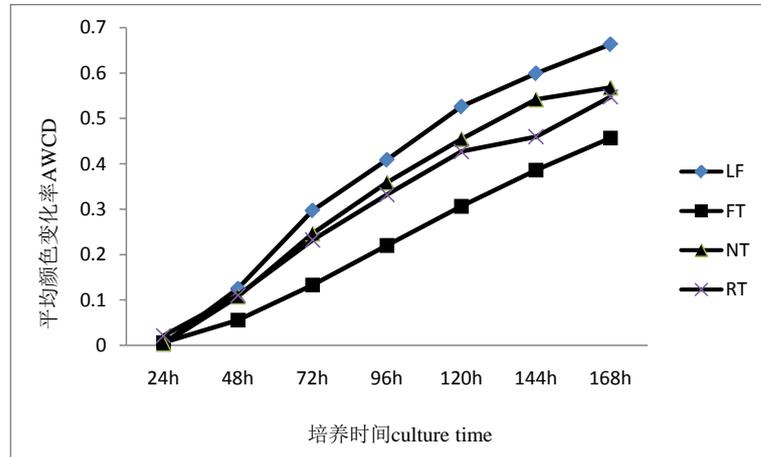


Figure 1. Dynamic changes of soil microbial community AWCD with time of different tillage treatments

图 1. 不同耕作处理土壤微生物群落 AWCD 随时间的动态变化

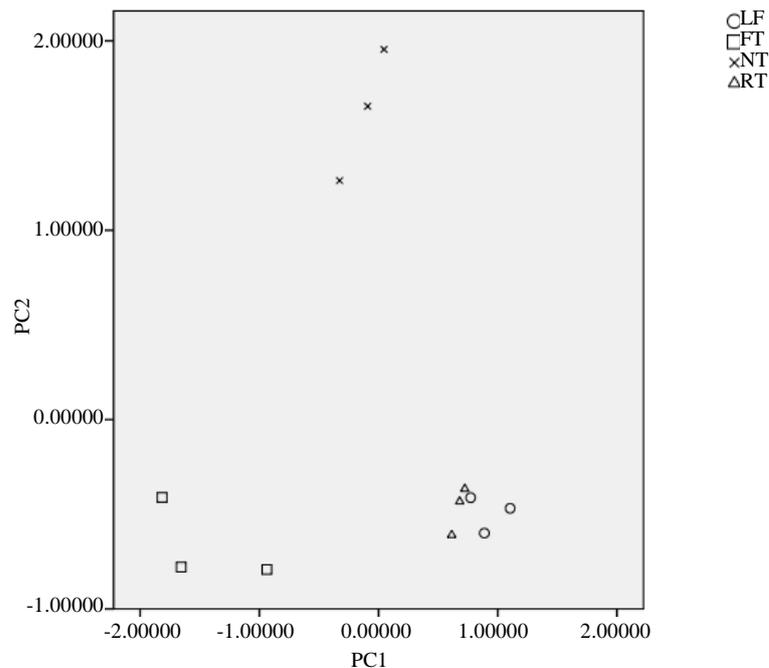


Figure 2. Principal components analysis for carbon utilization of soil microbial communities in different treatments

图 2. 不同处理土壤微生物碳源利用主成分分析

Table 1. Diversity indices for soil microbial communities in different tillage treatments
表 1. 不同耕作方式下土壤微生物群落功能多样性指数

处理 Treatments	丰富度指数 <i>H</i> Shannon index	均匀度指数 <i>E</i> Substrate evenness	优势度指数 <i>D</i> Simpson's Dominance
LF	2.830 ± 0.025b	0.713 ± 0.006a	0.953 ± 0.032b
FT	2.397 ± 0.136a	0.669 ± 0.038a	0.878 ± 0.021a
NT	2.740 ± 0.089b	0.678 ± 0.022a	0.917 ± 0.008ab
RT	2.724 ± 0.059b	0.720 ± 0.016a	0.922 ± 0.006ab

注：同一列中不同字母表示差异达到显著水平(P < 0.05)

Table 2. Loading factors of principle components of 31 sole-carbon sources
表 2. 31 种碳源的主成分载荷因子

序号 Plate number	碳源类型 Carbon source	主成分 PC1	主成分 PC2
F2	D-葡糖胺酸(糖类) D-Glucosaminic Acid	0.983	0.069
D4	L-丝氨酸(氨基酸类) L-Serine	0.96	-0.109
D3	4-羟基苯甲酸(其他) 4-Hydroxy Benzoic Acid	0.95	0.218
A4	L-精氨酸(氨基酸类) L-Arginine	0.903	0.366
H2	D, L- α -磷酸甘油(其他) D, L- α -Glycerol Phosphate	0.876	-0.158
C4	L-苯丙氨酸(氨基酸类) L-Phenylalanine	0.857	-0.27
C1	吐温 40 (脂类) Tween40	0.844	0.448
C3	2-羟基苯甲酸(其他) 2-Hydroxy Benzoic Acid	0.744	0.61
B1	丙酮酸甲酯(脂类) Pyruvic Acid Methyl Ester	0.744	0.608
H1	α -D-乳糖(糖类) α -D-Lactose	0.705	0.168
B4	L-天门冬酰胺(氨基酸类) L-Asparagine	0.665	0.175
D1	吐温 80(脂类) Tween 80	0.584	0.769
E2	N-乙酰-D 葡萄糖氨(糖类) N-Acetyl-D-Glucosamine	0.466	-0.037
E4	L-苏氨酸(氨基酸类) L-Threonine	0.413	0.517
A3	D-半乳糖酸 γ -内酯(糖类) D-Galactonic Acid γ -Lactone	0.381	-0.166
G2	1-磷酸葡萄糖(其他) Glucose-1-Phosphate	0.314	0.918
H4	腐胺(其他) Putrescine	0.23	0.065
E1	α -环式糊精(糖类) α -Cyclodextrin	0.187	0.909
F3	衣康酸(脂类) Itaconic Acid	0.1	0.508
G1	D-纤维二糖(糖类) D-Cellobiose	0.067	0.851
E3	γ -羟丁酸(脂类) γ -Hydroxybutyric Acid	0.037	0.372
B2	D-木糖(糖类) D-Xylose	-0.01	0.391
B3	D-半乳糖醛酸(糖类) D-Galacturonic Acid	-0.075	0.896
F1	肝糖(糖类) Glycogen	-0.101	0.705
H3	D-苹果酸(其他) D-Malic Acid	-0.225	-0.133
F4	甘氨酸-L-谷氨酸(氨基酸类) Glycyl-L-Glutamic Acid	-0.29	0.889
D2	D-甘露醇(糖类) D-Mannitol	-0.499	-0.187
A2	β -甲基-D-葡萄糖苷(糖类) β -Methyl-D-Glucoside	-0.711	-0.664
G3	α -丁酮酸(其他) α -Ketobutyric Acid	-0.818	0.218
G4	苯乙胺(其他) Phenylethylamine	-0.823	0.053
C2	i-赤藓糖醇(糖类) i-Erythritol	-0.948	-0.227

主成分分析解释了不同处理土壤微生物碳源利用是否存在差异。样本在主成分轴上分布和微生物对碳源底物的利用能力相关。由图 2 可见,不同处理在 PC 轴上出现了明显的分布差异。不同耕作方式的土壤微生物群落的碳利用模式分成了 3 类。RT 与 LF 分布在 PC1 轴正方向和 PC2 轴的负方向上; NT 分布在 PC2 轴正方向和 PC1 的负方向上, FT 分布在 PC1 和 PC2 的负方向上。分析表明 RT 与 LF 土壤微生物群落碳源利用类型相似。

4. 讨论

Biolog 技术,是以微孔板碳源利用为基础的定量分析方法,基于微生物群落对碳源利用度来描述微生物功能的动态变化[19] [20],已广泛应用于评价土壤微生物群落的功能多样性。土壤微生物群落平均颜色变化率(AWCD)值越高,表明土壤微生物利用碳源能力和代谢活性也就越高。本研究结果得出不同耕作处理的土壤微生物 AWCD 值不同,表明对碳源利用能力和代谢活性不同。土壤微生物 AWCD 值顺序为撂荒 > 免耕 > 旋耕 > 翻耕。翻耕处理的土壤微生物 AWCD 值最小,撂荒处理土壤 AWCD 值最高。这与时鹏等[21]和 Zabinski 等[22]研究结果一致。可能是因为耕作增加了对土壤的搅动,破坏土壤结构,不利于维持土壤团聚体结构,未受干扰和干扰较少的土壤微生物的碳源活性高于受干扰较多的土壤。传统耕作破坏了土壤土壤团聚体结构,加速了有机物的损失,土壤微生物活性降低。

对土壤微生物多样性指数分析表明,不同耕作方式下土壤微生物群落的功能多样性指数不同。翻耕处理物种丰富度指数和优势度指数最低,撂荒处理均最高;撂荒、旋耕秸秆还田和免耕秸秆还田处理 3 种不同耕作方式下土壤微生物群落功能多样性指数无显著差异。董立国等[10]研究表明,免耕秸秆覆盖土壤微生物丰富度指数和多样性指数显著高于常规耕作。这与本试验研究结果一致。姬艳艳等[23]研究表明,撂荒和免耕处理土壤微生物多样性指数显著高于翻耕和旋耕处理。与本试验研究不一致。这可能是本试验进行了秸秆还田,秸秆还田可为土壤微生物提供充足的有效养分,有利于提高土壤微生物多样性和活性[11] [24] [25]。

主成分分析表明,华北农田在不同耕作方式下对第 1 和第 2 主成分相关碳源利用模式和利用能力不同。不同耕作处理土壤微生物碳源利用能力存在显著差异,土壤微生物群落代谢特征也不同,说明耕作方式对土壤微生物产生了较大影响。第 1 主成分解释了大部分变异,撂荒与旋耕秸秆还田分布在 PC1 轴的正方向上,免耕和翻耕秸秆还田分布在 PC1 轴的负方向上。这与时鹏等[21]和吕春莎等[24]研究结果一致。姬艳艳等[23]研究表明,撂荒和免耕处理下土壤微生物利用碳源类型具有相似性。萨如拉等[26]研究表明,玉米秸秆深翻还田可以提高显著提高土壤有益微生物活性,这与本试验研究结果不一致。本研究表明撂荒和旋耕秸秆还田处理下土壤微生物功能多样性具有相似活性。

为了促进农业的可持续发展,应采取合理的耕作措施,保护土壤微生物。目前,关于耕作和秸秆还田对微生物群落结构和多样性影响较为一致的结论是免耕,少耕和秸秆还田能改善微生物群落结构,有利于维持土壤微生物多样性[9] [10] [27]。Bending 等[25]研究了作物残茬、土壤有机质质量和土壤微生物多样性之间的相互作用,秸秆或根茬还田都能够提高土壤微生物的多样性。Adl 等[28]研究发现长期免耕可以增加棉田土壤微生物多样性。董立国等[10]和李景等[9]研究发现免耕秸秆覆盖促进了土壤微生物活性,增加了土壤微生物数量。在本研究介绍的不同耕作方式中,撂荒、免耕秸秆还田与旋耕秸秆还田比翻耕秸秆还田有利于维持土壤微生物的多样性及活性。这与大多数研究结果一致。

本研究利用 Biolog 微平板法只初步阐明了不同耕作方式与秸秆还田对土壤微生物群落功能多样性的影响,对其具体影响机制尚不明确。因此要综合评价耕作方式对土壤微生物的影响,需结合磷脂脂肪酸(PLFA)和变性梯度凝胶电泳(DGGE)等方法,进一步研究耕作与秸秆还田对土壤微生物群落的影响,并通过分析微生物群落与土壤有机碳库的关系,探讨微生物群落变化的原因。

5. 结论

本研究通过对 4 种耕作处理土壤微生物碳源利用能力以及功能多样性分析, 初步得出以下结论:

1) 不同耕作处理平均颜色变化率(AWCD)呈现出以下变化规律: 撂荒(LF) > 免耕(NT) > 旋耕(RT) > 翻耕(FT)。表明翻耕处理土壤微生物群落代谢最慢, 活性最弱。

2) 撂荒、旋耕与免耕处理的土壤微生物群落丰富度指数 H 、优势度指数 D 均显著高于翻耕处理; 撂荒、免耕与旋耕 3 种耕作处理的土壤微生物群落丰富度指数 H 、均匀度指数 E 和优势度指数 D 均无显著差异。

3) 主成分分析结果表明, 不同耕作处理条件下华北农田土壤微生物利用的主要碳源是糖类、氨基酸类、代谢物类及次生代谢物类; 撂荒和旋耕秸秆还田对微生物碳源利用类型相似, 免耕和翻耕各为一组。

4) 旋耕秸秆还田和撂荒有利于提高土壤微生物代谢活性和土壤微生物群落功能多样性, 翻耕不利于提高土壤微生物功能多样性。

基金项目

中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(农业部环境保护科研监测所 2012-szjj-lhm)资助。

参考文献 (References)

- [1] Enwall, K., Nyberg, K., Bertilsson, S., *et al.* (2007) Long-Term Impact of Fertilization on Activity and Composition of Bacterial Communities and Metabolic Guilds in Agricultural Soil. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**, 106-115. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.06.015>
- [2] 周丽霞, 丁明懋. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用[J]. 生物多样性, 2007, 15(2): 162-171.
- [3] Gu, Y.F., Zhang, X.P., Tu, S.H., *et al.* (2009) Soil Microbial Biomass, Crop Yields, and Bacterial Community Structure as Affected by Long-Term Fertilizer Treatments under Wheat-Rice Cropping. *European Journal of Soil Biology*, **45**, 239-246. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejsobi.2009.02.005>
- [4] Kaschuk, G., Alberton, O. and Hungria, M. (2010) Three Decades of Soil Microbial Biomass Studies in Brazilian Ecosystems: Lessons Learned about Soil Quality and Indications for Improving Sustainability. *Soil Biology and Biochemistry*, **42**, 1-13. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.08.020>
- [5] 樊晓刚, 金轲, 李兆君, 等. 不同施肥和耕作制度下土壤微生物多样性研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2010, 16(3): 744-751.
- [6] Enwall, K., Phillippot, L. and Hallin, S. (2005) Activity and Composition of the Denitrifying Bacterial Community Respond Differently to Long-Term Fertilization. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 8335-8343. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.71.12.8335-8343.2005>
- [7] Carpenter-Boggs, L., Stahl, P.D., Lindstrom, M.J., *et al.* (2003) Soil Microbial Properties under Permanent Grass, Conventional Tillage, and No-Till Management in South Dakota. *Soil & Tillage Research*, **71**, 15-23. [http://dx.doi.org/10.1016/S0167-1987\(02\)00158-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0167-1987(02)00158-7)
- [8] 王俊华, 胡君利, 林先贵, 等. 耕作方式对潮土碳氮磷转化相关微生物学性状的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(5): 868-872.
- [9] 李景, 吴会军, 武雪萍, 等. 长期不同耕作措施对土壤团聚体特征及微生物多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2014, 25(8): 2341-2348.
- [10] 董立国, 袁汉民, 李生宝, 等. 玉米免耕秸秆覆盖对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态环境学报, 2010, 19(2): 444-446.
- [11] 郭梨锦, 曹凑贵, 张枝盛, 刘天奇, 李成芳. 耕作方式和秸秆还田对稻田表层土壤微生物群落的短期影响[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(8): 1577-1584.
- [12] 张星杰, 刘景辉, 李立军, 王智功, 王林, 苏顺和. 保护性耕作对旱作玉米土壤微生物和酶活性的影响[J]. 玉米科学, 2008, 16(1): 1-95.
- [13] Drijber, R.A., Doran, J.W., Parkhurst, A.M. and Lyon, D.J. (2000) Changes in Soil Microbial Community Structure with Tillage under Long-Term Wheat-Fallow Management. *Soil Biology and Biochemistry*, **32**, 1419-1430. [http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717\(00\)00060-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(00)00060-2)

- [14] Crechio, C., Curci, M. and Pellegrino, A. (2007) Soil Microbial Dynamics and Genetic Diversity in Soil under Monoculture Wheat Grown in Different Long-Term Management Systems. *Soil Biology and Biochemistry*, **39**, 1391-1400. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2006.12.016>
- [15] Diosma, G., Golik, S.I., Chidichimo, H.O. and Balatti, P.A. (2003) Nitrification Potential, Dehydrogenase Activity and Microbial Biomass in an Argiudol Soil Cultivated with Wheat under Two Tillering Methods. *Spanish Journal of Agricultural Research*, **1**, 111-119. <http://dx.doi.org/10.5424/sjar/2003011-14>
- [16] Meriles, J.M., Vargas, G.S., Conforto, C., Figoni, G., Lovera, E., March, G.J. and Guzmán, C.A. (2009) Soil Microbial Communities under Different Soybean Cropping Systems: Characterization of Microbial Population Dynamics, Soil Microbial Activity, Microbial Biomass, and Fatty Acid Profiles. *Soil and Tillage Research*, **103**, 271-281. <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2008.10.008>
- [17] 刘红梅, 姬艳艳, 张贵龙, 李刚, 杨殿林. 不同耕作方式对玉米田土壤有机碳含量的影响[J]. 生态环境学报, 2013, 22(3): 406-410.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版)[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
- [19] 孔维栋, 刘可星, 廖宗文, 朱永官, 王碧玲. 不同腐熟程度有机物料对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2005, 25(9): 2291-2296.
- [20] 郑华, 欧阳志云, 方治国, 赵同谦. BIOLOG 在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用[J]. 土壤学报, 2004, 41(13): 456-461.
- [21] 时鹏, 高强, 王淑平, 张妍. 玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(22): 6173-6182.
- [22] Zabinski, C.A. and Gannon, J.E. (1997) Effects of Recreational Impacts on Soil Microbial Communities. *Environmental Management*, **21**, 233-238. <http://dx.doi.org/10.1007/s002679900022>
- [23] 姬艳艳, 张贵龙, 张瑞, 刘玉升, 杨殿林, 王彩灵. 耕作方式对农田土壤微生物功能多样性的影响[J]. 中国农学通报, 2013, 29(6): 117-123.
- [24] 吕春莎, 王鸿斌, 周薇. 不同耕作处理结合施肥、秸秆还田对土壤微生物多样性的影响[J]. 安徽农学通报, 2013, 19(24): 65-68.
- [25] Bending, G.D., Turner, M.K. and Jones, J.E. (2002) Interaction between Crop Residue and Soil Organic Matter Quality and the Functional Diversity of Soil Microbial Communities. *Soil Biology and Biochemistry*, **34**, 1073-1082. [http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717\(02\)00040-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0038-0717(02)00040-8)
- [26] 萨如拉, 高聚林, 于晓芳, 胡树平. 玉米秸秆深翻还田对土壤有益微生物和土壤酶活性的影响[J]. 干旱区资源与环境, 2014, 28(7): 138-143.
- [27] 李桂喜, 董存元, 陈希元, 岳燕军. 不同耕作方式对土壤微生物数量的影响[J]. 湖北农业科学, 2012, 51(17): 3713-3715.
- [28] Adl, S.M., Coleman, D.C. and Read, F. (2006) Slow Recovery of Soil Biodiversity in Sandy Loam Soils of Georgia after 25 Years of No Tillage Management. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **114**, 323-334. <http://dx.doi.org/10.1016/j.agee.2005.11.019>