

张变华,靳东升,张 强,等. 煤矸石复垦区玉米根际与非根际土壤细菌群落对覆土厚度的响应[J]. 江苏农业科学,2023,51(4):226-231.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2023.04.033

煤矸石复垦区玉米根际与非根际土壤细菌群落 对覆土厚度的响应

张变华¹,靳东升²,张 强²,郜春花²,李建华²

(1.忻州师范学院,山西忻州 034000; 2.山西农业大学,山西太原 030031)

摘要:为了解煤矸石填埋区复垦土壤细菌群落对覆土厚度的响应机制,以山西省屯兰矿区不同覆土厚度下(40、80、120 cm)玉米根际与非根际土壤样品为试验材料,对土壤细菌 V3-V4 区进行高通量测序,分析细菌群落群落结构、多样性及其与土壤养分的相关性。研究结果表明,不同覆土厚度下玉米根际细菌扩增序列变体(ASV)数量均高于非根际土壤,80 cm 覆土厚度下根际与非根际土壤中细菌的 ASV 数量最多;放线菌门和变形菌门为该复垦区各覆土厚度下的玉米根际与非根际土壤中的优势细菌门,溶杆菌属、分枝杆菌属、类诺卡式属和 67-14 属为优势细菌属。覆土厚度可以改变玉米根际与非根际土壤中的细菌群落结构及其多样性。覆土 80 cm 为该复垦区较为适宜的覆土厚度,该覆土厚度不仅能够提高玉米根际放线菌门、类诺卡式属的相对丰度,增加非根际土壤中变形菌门 67-14 属的相对丰度,而且可以增加复垦土壤中的细菌群落的物种多样性和均一度指数,土壤速效钾、有效磷和有机质含量是驱动土壤细菌群落物种多样性变化的主要养分因子。

关键词:玉米;根际与非根际;细菌群落;多样性;覆土;煤矸石复垦区

中图分类号:S154.3;X171.4

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2023)04-0226-06

煤炭开采过程中排放的煤矸石约占原煤产量的 15%~20%^[1]。据不完全统计,目前我国煤矸石累积排放量已达 38 亿 t,并以每年 2 亿 t 的增长量逐年增加^[2]。堆积的煤矸石不仅占用了大量土地,而且对水体、土壤和大气也造成严重污染。采煤矿区通常采用煤矸石回填覆土的方式进行复垦^[3-4]。Lubos 等通过比较露天煤矿废弃地表层覆土与未覆土后的土壤特性变化,发现在采煤废弃地表层覆土后矿区土壤有机碳、腐殖质和有效磷含量显著增加,促进了复垦土壤的发育^[5]。洪坚平等通过研究不同复垦措施对山西阳泉煤矸石山土壤培肥的影响,发现矸石上覆土并种植豆科牧草可显著改善土壤有机质,快速培肥土壤^[6]。郭友红等的研究表明,覆土厚度会影响农作物的长势、外观和产量^[7]。刘会平等的研究表明,煤矸石填埋覆土厚度差异会影响土壤生产力^[8]。刘鑫尧等的研究表明,煤矿复

垦地覆土厚度与小麦产量呈正相关^[9]。黄凯的研究表明,覆土厚度会影响充填土壤表层含水量^[10]。张轩等的研究表明,60 cm 覆土厚度相较于 40 cm 有利于提高复垦土壤的保水保肥能力,可以增加大豆地下与地上生物量^[11]。张轩研究发现,80 cm 和 120 cm 覆土厚度相较于 40 cm 的复垦土壤,容重、沙粒含量明显降低,气相比比例增加,虽然覆土厚度对复垦土壤微生物数量、酶活性及土壤呼吸的影响没有明显规律,但 80 cm 和 120 cm 覆土厚度利于改善复垦土壤微生物群落功能多样性^[12]。陈孝杨等的研究表明,煤矸石充填复垦时,覆土较薄(20~40 cm)会降低土壤呼吸速率,对温度敏感性较强,不利于生物活动;覆土较厚(>100 cm)会使有利于生物活动的积极因素消失^[13],且会浪费资源从而加大复垦成本^[12]。因此,适宜的覆土厚度是矿区复垦成功的关键^[14]。

土壤微生物多样性是表征土壤肥力水平高低的敏感性指标。然而,综上所述,当前利用现代高通量测序技术对不同覆土厚度下复垦土壤细菌群落结构及其多样性的研究鲜见报道。由于根际是土壤微生物与植物相互作用的重要场所^[5]。所以本研究选择山西屯兰矿区复垦地为研究对象,分析不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤细菌群落

收稿日期:2022-03-10

基金项目:国家重点联合基金课题(编号:U1710255);山西省农业科学院农业科技创新-科企联合研发专项(编号:YGC2019KQ03)。

作者简介:张变华(1976—),女,山西偏关县人,博士,副教授,主要从事矿区土地复垦与生态重建研究。E-mail:sxdxzbh@126.com。

通信作者:靳东升,硕士,副研究员,主要从事矿区复垦与生态重建研究。E-mail:sxdxjds@126.com。

组成及其多样性,以期为矿区生态恢复和重建技术提供一定参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

试验区位于山西省古交屯兰煤矸石复垦区,年平均气温约 9.5℃,年平均降水量约 460 mm。本试验设置 3 个覆土厚度,分别为 40、80、120 cm。不同覆土厚度下的试验小区面积均为 20 m² (4 m × 5 m)。于 2020 年 5 月 28 日采用人工点播的方式种植玉米,施肥方式为人工撒施肥料,施肥种类为有机肥配施无机肥,施肥量为有机肥 7 500 kg/hm²、无机肥 600 kg/hm²,株距、行距分别为 30、55 cm。

1.2 样品采集

于 2020 年 7 月 9 日(玉米花期),在不同覆土厚度下(40、80、120 cm)的试验小区,进行根际与非根际土壤样品采集。

根际土壤:在各试验小区选择长势差不多的玉米 3 株,利用挖掘法和抖落法^[15]进行采集,先抖落掉玉米根系大块土,然后将用毛刷轻轻刷下的 0 ~ 2 mm 的根际土收集在无菌塑料袋中,密封后放入装有冰袋的保温箱内,带回实验室进行室内分析化验。

非根际土壤:利用土钻按照对角线法采集不同覆土厚度下玉米株间深度为 0 ~ 20 cm 的土壤样品,放入灭菌袋,密封后放入(4℃保温箱)带回室内进行化验。

根际与非根际土壤样品,每个处理 3 次重复。未能及时做微生物培养试验的土样放在 -80℃ 冰箱冷冻保存。

1.3 试验方法与数据处理

高通量测序由上海派森诺生物科技有限公司对玉米根际与非根际土壤进行微生物组 DNA 提取、目标片段聚合酶链式反应(PCR)扩增、产物回收纯化、荧光定量等,使用 MiSeq 型测序仪测定玉米根际与非根际土壤中细菌 V3 - V4 扩增于序列变体区(amplicon sequence variants, ASV)序列单元。

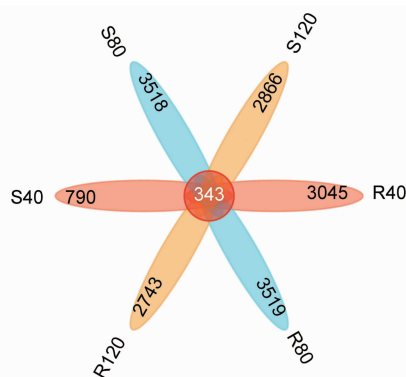
土壤全氮含量采用半微量开氏法测定,有机质含量采用重铬酸钾氧化 - 外加加热法测定;有效磷含量采用碳酸氢钠浸提 - 钼锑抗比色法测定;速效钾含量采用乙酸铵浸提 - 火焰光度法测定;碱解氮含量利用碱解扩散法进行测定;pH 值采用水土比为 2.5 mL : 1 g 的方法测定。

利用 Origin、Qiime 与 Canoco 软件对土壤中细菌数据进行整理和统计分析。

2 结果与分析

2.1 不同覆土厚度下复垦土壤细菌 ASV 分析

ASV 指扩增子测序中按照 100% 相似水平下聚类形成的序列单元。由图 1 可知,不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤中细菌 ASV 数量范围为 1 133 ~ 3 862 个。覆土厚度为 80 cm 处理的复垦地玉米根际土壤中 ASV 数量最多。对于玉米根际土壤,细菌 ASV 数量从大到小为 R80 > R40 > R120;对于非根际土壤,顺序则为 S80 > S120 > S40。



S40、S80、S120 分别表示 40、80、120 cm 覆土厚度的非根际土壤;R40、R80、R120 分别表示 40、80、120 cm 覆土厚度的玉米根际土壤。下图同

图1 复垦地玉米根际与非根际土壤细菌 ASV 分析

2.2 不同覆土厚度下复垦土壤细菌门和属特征

从图 2 可以看出,不同覆土厚度下玉米根际与非根际细菌中相对丰度较高的前十种细菌门包括放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、Acidobacteria(酸杆菌门)、Gemmatimonadetes(芽单胞菌门)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、异常球菌 - 栖热菌门(Deinococcus - Thermus)、厚壁菌门(Firmicutes)、Patescibacteria 门、蓝藻门(Cyanobacteria)。放线菌门和变形菌门的相对丰度均大于 10%,相对丰度范围分别为 34.71% ~ 63.61% 和 18.56% ~ 32.03%,为该复垦区不同覆土厚度下的优势细菌门。同一覆土厚度下,玉米根际土壤放线菌门的相对丰度均高于非根际土壤,变形菌门的相对丰度均低于非根际土壤,80 cm 厚度处理相较于 40 cm 和 120 cm 处理玉米根际放线菌门的相对丰度有所增加,根际变形菌门的相对丰度有所降低。而 40 cm 厚度处理相较于 80 cm 和

120 cm 处理非根际土壤中放线菌门的相对丰度有所降低;80 cm 厚度处理相较于 40 cm 和 120 cm 厚度处理非根际土壤中变形菌门的相对丰度有所增加。

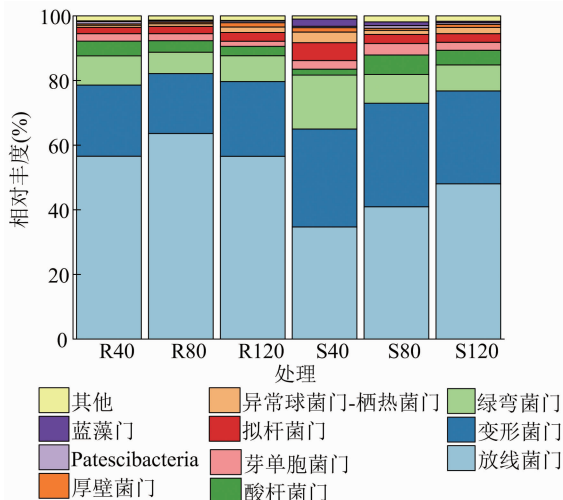


图2 不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤细菌门特征

从图 3 可以看出,不同覆土厚度下根际与非根际土壤中相对丰度较高的前 20 种细菌属中,相对丰度均大于 1% 的细菌属有溶杆菌属 (*Lysobacter*)、分枝杆菌属 (*Mycobacterium*)、类诺卡式属 (*Nocardioides*) 和 67-14 属;还发现同一覆土厚度下非根际土壤中溶杆菌属、分枝杆菌的相对丰度均高于根际土壤,类诺卡式属的相对丰度则表现为非根际土壤低于根际土壤。在根际土壤中,相较于 40、120 cm 厚度处理,80 cm 厚度处理溶杆菌属、分枝杆菌的相对丰度有所降低,类诺卡式属的相对丰度有所提高;在非根际土壤中,80 cm 厚度处理相较于 40 cm 和 120 cm 厚度处理 67-14 属的相对丰度有所增加。

总体来看,覆土厚度可以改变根际与非根际土壤中细菌门和属的相对丰度,根际与非根际土壤中的细菌群落有差异。

2.3 不同覆土厚度下复垦土壤中的细菌 α 多样性

微生物 α 多样性通常用 Chao1、Shannon、Pielou 和 Simpson 指数表征,它们分别表示微生物丰富度、物种多样性、均一度和优势度。

从图 4 可以看出,对于根际土壤而言,80 cm 厚度下玉米根际土壤 Chao1 指数显著高于 120 cm 厚度处理,但与 40 cm 厚度处理差异不显著;80 cm 厚度处理 Shannon、Pielou 和 Simpson 指数均最低,但与

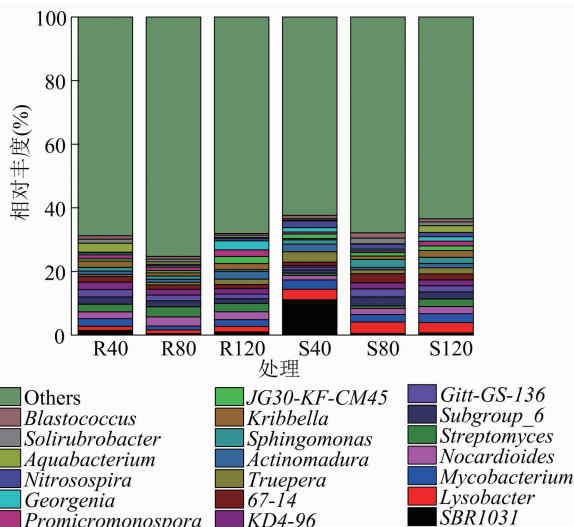


图3 不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤细菌属特征

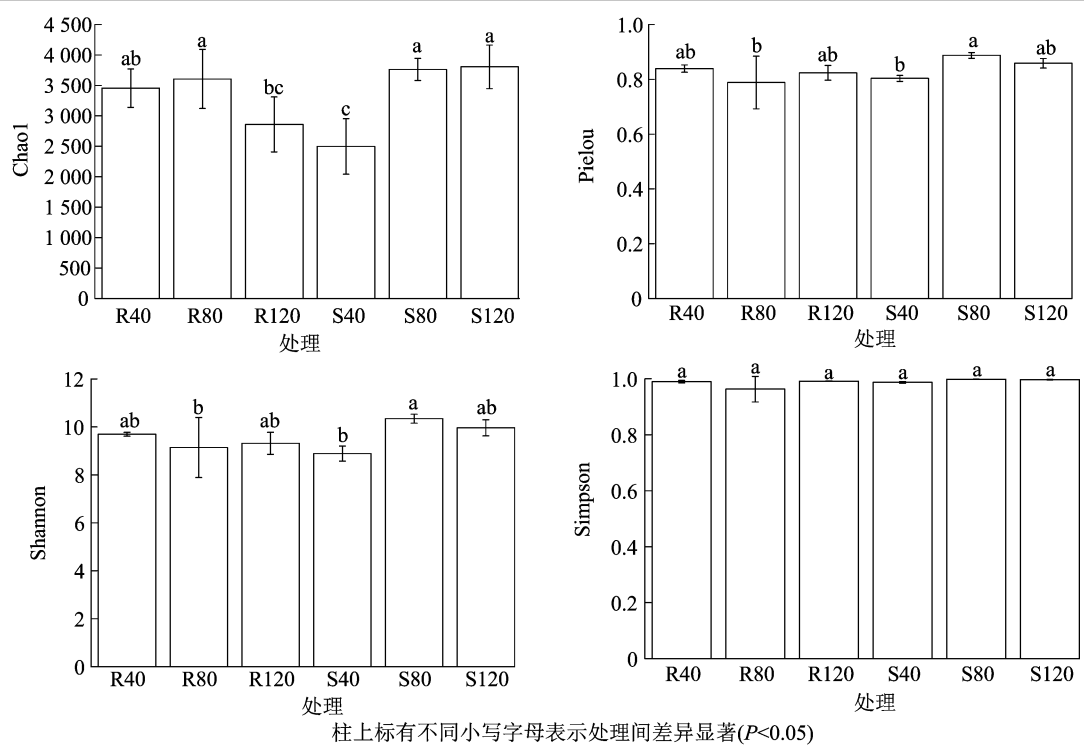
40 cm 和 120 cm 厚度处理差异不显著。对于非根际土壤而言,80 cm 厚度下 Chao1、Shannon、Pielou 均显著高于 40 cm 厚度处理,但与 120 cm 厚度处理差异不显著。各覆土厚度处理间 Simpson 指数无显著差异。

从图 4 也可以看出,同一覆土厚度下,根际与非根际土壤间 Simpson 指数无显著差异。80 cm 厚度下,非根际土壤 Shannon 和 Pielou 指数显著高于玉米根际土壤,40 cm 和 120 cm 厚度下根际与非根际土壤间差异不显著。对于 Chao1 指数,80 cm 和 120 cm 厚度下均表现为根际土壤低于非根际土壤,但 120 cm 厚度下差异显著;40 cm 厚度下则表现为根际土壤显著高于非根际土壤。

总体来看,覆土厚度可以改变复垦土壤细菌多样性,80、120 cm 的覆土厚度相较于 40 cm 有利于提高复垦区非根际土壤细菌多样性。

2.4 不同覆土厚度下复垦土壤细菌群落结构的 β 多样性

利用 Origin 软件对不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤细菌群落结构进行主坐标分析 (Principal coordinates analysis, 简称 PCoA)。由图 5 可以看出, PCo1 和 PCo2 分别解释 24.7% 和 13.4%。PCoA1 将玉米根际与非根际土壤细菌群落隔开,非根际土壤分布在第一、第四象限,根际土壤基本分布于第二、第三象限。PCoA2 将 40 cm 厚度



柱上标有不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

图4 不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤细菌多样性

与 80、120 cm 厚度分隔开,对于非根际土壤,80 cm 和 120 cm 厚度分布于第一象限,40 cm 分布于第四象限,说明 80 cm 与 120 cm 厚度下土壤细菌群落差异不大,但它们与 40 cm 厚度间差异较大。对于根际土壤而言,80 cm 覆土厚度位于第三象限,但与 40 cm 和 120 cm 厚度的间距较近,所以不同覆土厚度间根际细菌群落差异不大。

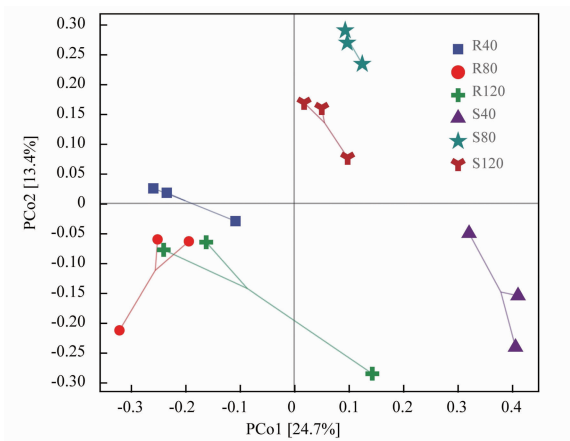


图5 不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤细菌 PCoA 分析

2.5 玉米根际与非根际土壤细菌群落结构与土壤环境因子相关性的冗余分析(RDA)

利用 Canoco 软件对不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤中前 20 种细菌属与土壤中全氮含量、有机质(OM)含量、速效钾(AK)含量、有效磷(AP)

含量、碱解氮含量和 pH 值进行了 RDA 分析。结果表明,不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤中细菌群落结构与根际与非根际土壤中速效钾含量、有机质含量显著相关,其中速效钾含量的贡献率最大,达 58.2%,其次为有机质和有效磷,贡献率分别为 13.4% 和 5.7% (表 1)。同时,从图 6 也可以看出,不同覆土厚度下根际与非根际差异较大。对于非根际土壤而言,40 cm 厚度处理与 80、120 cm 厚度处理间差异较大;而不同覆土厚度下根际土壤间差异不大。

表 1 RDA 前选择结果

| 指标 | 解释率 (%) | 贡献率 (%) | pseudo - F | P 值 |
|----|---------|---------|------------|-------|
| AK | 39.3 | 58.2 | 10.3 | 0.002 |
| OM | 13.4 | 19.9 | 4.3 | 0.006 |
| AP | 5.7 | 8.5 | 1.9 | 0.054 |

3 讨论

3.1 覆土厚度影响玉米根际与非根际土壤细菌微生物群落结构

本研究结果表明,该复垦区各覆土厚度下玉米根际与非根际土壤中放线菌门和变形菌门的相对丰度最高,是该煤矸石填埋复垦区优势细菌门。该结果与李金融等报道的结果^[16]类似。因为放线菌

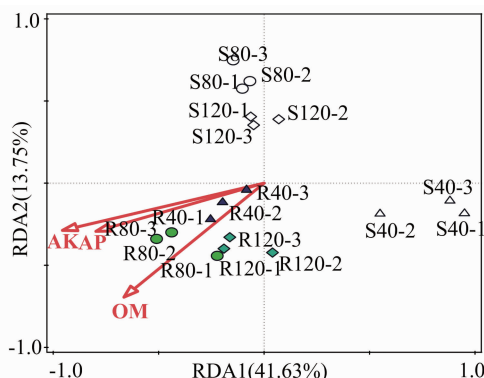


图6 不同覆土厚度下玉米根际与非根际土壤细菌 RDA 分析

门、变形菌门均为适应环境能力强的细菌。变形菌门多为异养或者兼性营养细菌;放线菌门能降解大量不同种类的有机化合物,对有机物的矿化有着重要功能^[16],能在矿区恶劣环境中生存^[17]。

许多研究表明,植物根际和非根际土壤中微生物群落有差异^[18-21]。本研究表明,同一覆土厚度下,玉米根际土壤放线菌门、类诺卡式属的相对丰度均高于非根际土壤;玉米非根际变形菌门、溶杆菌属、分枝杆菌属的相对丰度均高于根际土壤。这是因为植物 20% ~ 50% 的光合同化产物转移到地下部,大部分以有机和无机分泌物形式释放到根区^[22],能够促进或抑制某些特定类群的增殖和丰度的提高。本研究也发现,覆土厚度会改变根际与非根际细菌群落结构,如 80 cm 厚度相较于 40、120 cm 玉米根际放线菌门、类诺卡式属的相对丰度有所增加,根际变形菌门、溶杆菌属、分枝杆菌的相对丰度有所降低。原因是覆土厚度会影响复垦区作物根系的生长^[8]。本研究表明,80 cm 的覆土厚度或可促进玉米根系分泌有利于根际放线菌门、类诺卡式属生长的物质,为其提供充足的基质与能量,进而增加其相对丰度。

3.2 覆土厚度影响作物根际与非根际土壤细菌微生物多样性

覆土可以改变矿区土壤水分、结构及作物根系生长,适宜的覆土厚度在矿区植被恢复和生态重建中有重要的作用。众多研究表明,较高的微生物多样性对于增强生态系统和微生物功能的稳定性较好^[23-24],且作物根系活动会导致作物根际与非根际土壤间的微生物多样性产生明显差异^[25-26]。Berg 等研究发现,根际细菌群落的多样性普遍低于非根际土壤^[27]。本研究也发现,80 cm 厚度下非根际土壤细菌群落 Shannon 和 Pielou - Evenness 指数显著高

于玉米根际土壤;80 cm 覆土厚度下玉米根际土壤细菌丰富度指数(Chao1)均高于 40 cm 和 120 cm 厚度处理,且 80 cm 厚度下非根际土壤中物种多样性指数、均一度指数均显著高于 40 cm 厚度处理,但与 120 cm 厚度间无显著差异。 β 多样性分析表明,非根际土壤细菌群落结构在 80 cm 厚度处理与 40、120 cm 厚度处理差异显著。加之由于 80 cm 相较于 120 cm 的覆土厚度利于节约成本,所以覆土 80 cm 应是该煤矸石填埋复垦区较为适宜的覆土厚度,不仅可以增加复垦土壤细菌多样性,为玉米生长提供良好的土壤环境,而且对于维持煤矸石填埋复垦区生态系统功能有良好的作用。

3.3 各覆土厚度下作物根际与非根际土壤细菌群落与土壤养分关系

Wang 等研究发现,土壤养分在根际与非根际微生物群落多样性中作用有差异,认为土壤养分中全氮含量、有效磷含量、速效钾含量和有机质含量与根际细菌群落多样性显著相关^[28]。本研究表明,各覆土厚度下玉米根际与非根际土壤中细菌群落结构与土壤中速效钾含量、有机质含量显著相关。这是因为矿区复垦土壤由于本身具有有机质含量低、养分贫瘠的特征,土壤中细菌群落特征会因土壤性质不同而有差异^[29]。

4 结论

本研究表明,放线菌门和变形菌门为该复垦区各覆土厚度下的玉米根际与非根际土壤中的优势细菌门,溶杆菌属、分枝杆菌属、类诺卡式属和 67 - 14 属为优势细菌属。覆土厚度可以改变玉米根际与非根际土壤中的细菌群落结构及其多样性。无论玉米根际还是非根际土壤,80 cm 覆土厚度下土壤中 ASV 数量最多,且玉米根际细菌 ASV 数量均高于非根际。该覆土厚度不仅能够提高玉米根际放线菌门、类诺卡式属的相对丰度,增加非根际土壤中变形菌门、67 - 14 属的相对丰度;而且可以增加复垦土壤中的细菌群落物种多样性和均一度指数,土壤中的速效钾、有效磷和有机质驱动其变化的主要养分因子。结合经济投入,认为覆土 80 cm 为该复垦区较为适宜的覆土厚度。

参考文献:

- [1] Liu H B, Liu Z L. Recycling utilization patterns of coal mining waste in China [J]. Resources, Conservation and Recycling, 2010, 54

- (12):1331–1340.
- [2] Gao Y J, Huang H J, Tang W J, et al. Preparation and characterization of a novel porous silicate material from coal gangue [J]. *Microporous and Mesoporous Materials*, 2015, 217: 210–218.
 - [3] Stracher G B, Taylor T P. Coal fires burning out of control around the world; thermodynamic recipe for environmental catastrophe [J]. *International Journal of Coal Geology*, 2004, 59(1/2): 7–17.
 - [4] Fu T L, Wu Y G, Ou L S, et al. Effects of thin covers on the release of coal gangue contaminants [J]. *Energy Procedia*, 2012, 16: 327–333.
 - [5] Borůvka L, Lozák J, Mühlhanslová M, et al. Effect of covering with natural topsoil as a reclamation measure on mining dumpsites [J]. *Journal of Geochemical Exploration*, 2012, 113: 118–123.
 - [6] 洪坚平, 谢英荷, 林大仪, 等. 不同复垦措施对矸石山培肥熟化的研究 [J]. *土壤肥料*, 1996(4): 42–44.
 - [7] 郭友红, 李树志, 鲁叶江. 塌陷区矸石充填复垦耕地覆土厚度的研究 [J]. *矿山测量*, 2008(2): 59–61, 4.
 - [8] 刘会平, 严家平, 樊雯. 不同覆土厚度的煤矸石充填复垦区土壤生产力评价 [J]. *能源环境保护*, 2010, 24(1): 52–56.
 - [9] 刘鑫尧, 严家平. 煤矿复垦地不同覆土厚度对小麦产量影响研究: 以淮南煤矸石充填耕地复垦地为例 [J]. *能源环境保护*, 2013, 27(6): 8–11.
 - [10] 黄凯. 煤矸石充填复垦土壤水分含量与作物有效性的研究 [J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(6): 1598–1599, 1602.
 - [11] 张轩, 张强, 郗春花, 等. 覆土厚度对煤矸石山复垦土壤水分及大豆生长的影响 [J]. *山西农业科学*, 2015, 43(8): 968–971, 991.
 - [12] 张轩. 覆土厚度对矸石山复垦区土壤性质的影响研究 [D]. 太原: 山西大学, 2016.
 - [13] 陈孝杨, 王芳, 严家平, 等. 覆土厚度对矿区复垦土壤呼吸昼夜变化的影响 [J]. *中国矿业大学学报*, 2016, 45(1): 163–169.
 - [14] Zvomuya F, Larney F J, Akinremi O O, et al. Topsoil replacement depth and organic amendment effects on plant nutrient uptake from reclaimed natural gas wellsites [J]. *Canadian Journal of Soil Science*, 2006, 86(5): 859–869.
 - [15] Riley D, Barber S A. Bicarbonate accumulation and pH changes at the soybean [*Glycine max* (L.) Merr.] root–soil interface [J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1969, 33(6): 905–908.
 - [16] 李金融, 侯湖平, 王琛, 等. 基于高通量测序的复垦土壤细菌多样性研究 [J]. *环境科学与技术*, 2018, 41(12): 148–157.
 - [17] 刘志恒. 放线菌: 微生物药物的重要资源 [J]. *微生物学通报*, 2005, 32(6): 143–145.
 - [18] 马静, 卢永强, 张琦, 等. 黄土高原采煤沉陷对土壤微生物群落的影响 [J]. *土壤学报*, 2021, 58(5): 1278–1288.
 - [19] Edwards J, Johnson C, Santos–Medellín C, et al. Structure, variation, and assembly of the root–associated microbiomes of rice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(8): E911–E920.
 - [20] Fitzpatrick C R, Copeland J, Wang P W, et al. Assembly and ecological function of the root microbiome across angiosperm plant species [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(6): E1157–E1165.
 - [21] Liu F, Hewezi T, Lebeis S L, et al. Soil indigenous microbiome and plant genotypes cooperatively modify soybean rhizosphere microbiome assembly [J]. *BMC Microbiology*, 2019, 19(1): 201.
 - [22] Schippers B, Bakker A W, Bakker P A H M. Interactions of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1987, 25: 339–358.
 - [23] Lu H F, Lashari M S, Liu X Y, et al. Changes in soil microbial community structure and enzyme activity with amendment of biochar–manure compost and pyroigneous solution in a saline soil from central China [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2015, 70: 67–76.
 - [24] Deng Q, Cheng X L, Hui D F, et al. Soil microbial community and its interaction with soil carbon and nitrogen dynamics following afforestation in central China [J]. *The Science of the Total Environment*, 2016, 541: 230–237.
 - [25] Wang P, Marsh E L, Ainsworth E A, et al. Shifts in microbial communities in soil, rhizosphere and roots of two major crop systems under elevated CO₂ and O₃ [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 15019.
 - [26] Bakker M G, Chaparro J M, Manter D K, et al. Impacts of bulk soil microbial community structure on rhizosphere microbiomes of *Zea mays* [J]. *Plant and Soil*, 2015, 392(1/2): 115–126.
 - [27] Berg G, Smalla K. Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 68(1): 1–13.
 - [28] Wang Q F, Ma M C, Jiang X, et al. Impact of 36 years of nitrogen fertilization on microbial community composition and soil carbon cycling–related enzyme activities in rhizospheres and bulk soils in northeast China [J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 136: 148–157.
 - [29] Tian K, Zhao Y C, Xu X H, et al. Effects of long–term fertilization and residue management on soil organic carbon changes in paddy soils of China: a meta–analysis [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2015, 204: 40–50.