

衬膜水稻技术对荒漠化土壤微生物多样性的修复效果研究

付金晶, 安迪, 孙琳, 欧阳, 梁雷*

辽宁大学环境学院, 辽宁 沈阳
Email: syllshenyang@163.com

收稿日期: 2021年3月19日; 录用日期: 2021年4月9日; 发布日期: 2021年4月16日

摘要

本试验采用16SrDNA测序技术对修复前后的两种科尔沁沙地土壤微生物多样性进行比较分析, 对荒漠化土壤修复效果进行评价, 建立基本的数据基础, 为衬膜水稻技术的推广提供依据, 探索新的、合理的荒漠化土壤质量评价标准, 从而促进荒漠化地区土壤生态评价系统的完善。结果表明, 虽然荒漠化沙地土壤的微生物多样性高于修复后的衬膜水稻土壤, 但是原有的菌群经土壤修复后会发生变化, 修复技术会改变荒漠化沙地土壤的群落结构, 会增加荒漠化沙地土壤优势菌种群落丰度, 增加土壤菌落丰度。

关键词

荒漠化修复, 土壤评价, 16SrDNA技术, 微生物多样性, 衬膜水稻

Research on Remediation Effect of Paddy in Film-Bottomed Sandy Land Technology on Microbial Diversity in Desertification Soil

Jinjing Fu, Di An, Lin Sun, Yang Ou, Lei Liang*

College of Environment, Liaoning University, Shenyang Liaoning
Email: syllshenyang@163.com

Received: Mar. 19th, 2021; accepted: Apr. 9th, 2021; published: Apr. 16th, 2021

Abstract

The research uses 16SrDNA technology to compare and analyze the microbial diversity of deserti-

*通讯作者。

文章引用: 付金晶, 安迪, 孙琳, 欧阳, 梁雷. 衬膜水稻技术对荒漠化土壤微生物多样性的修复效果研究[J]. 地球科学前沿, 2021, 11(4): 435-448. DOI: [10.12677/ag.2021.114038](https://doi.org/10.12677/ag.2021.114038)

fication soil in Horqin sandy land before and after restoration. This research evaluates the effect of desertification soil restoration, establishes a basic data base, provides a basis for the popularization of paddy rice in film-bottomed sandy land technique, explores new and reasonable criteria for the evaluation of desertification soil quality, and promotes the perfection of soil ecological evaluation system in desertification areas. The results show that although the microbial diversity of desert sand soil is higher than that of the repaired by paddy rice in film-bottomed sandy land technique, the original bacteria group will change after soil repairing, and the technology will change the community structure of desertification sandy soil, increase the abundance of desertification sandy soil advantage bacteria population and increase the community richness of soil bacteria.

Keywords

Desertification Restoration, Soil Assessment, 16SrDNA Technology, Microbial Diversity, Paddy in Film-Bottomed Sandy Land

Copyright © 2021 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

1. 引言

2020年12月,联合国粮农组织发布了全球首篇关于全球土壤生物多样性的研究报告,报告指出土壤退化是与全球气候变暖、地表环境破坏同等重要的生态环境问题[1]。我国是世界上土地退化沙化危害最严重的国家之一[2]。全国有荒漠化土地261.16万平方公里,占国土面积的27.2%;沙化土地172.12万平方公里,占国土面积的17.9% [3]。内蒙古自治区为我国荒漠化第二大省区,包含五大沙漠、四大沙地,全区1/2的土地遭受荒漠化侵蚀,其中科尔沁沙地的面积最大[4],已成为我国北方半干旱农牧交错带荒漠化最严重的地区[5]。科尔沁沙地曾是水草丰美的大草原,然而由于近代人类对水资源环境的破坏再加上气候干旱,逐渐演变成我国面积最大的沙地[6]。60年代初期,美国学者曾使用衬膜技术进行过蔬菜的试验性种植[7]。1962年,日本学者内岛善兵卫等于日本岛根县沙地建立衬膜水稻试验田[8],研究表明对沙地进行衬膜工程改造以达到水稻种植的目的是可行的,但由于当时的技术原因,衬膜改造工程量巨大,成本过高,故该技术没有得到推广。同年松岛省三也进行了小面积的沙地衬膜水稻种植并展开相关研究,取得了一定的成果[9]。

本课题组于2014年起在科尔沁沙地试验地应用衬膜技术进行水稻种植,2016年种植面积达到5000亩。经过多年的实践与研究发现,与荒漠化沙地土壤相比,经过衬膜沙地水稻技术处理修复的沙地水稻种植田的土壤的有机质、氮、磷、钾的土壤含量大幅度提高[10],土壤肥力得到恢复,土壤的修复效果明显。土壤质量是一个综合概念,包含了多方面的内容[11]。目前,土壤质量评价方法尚未有统一的标准[12]。以往的指标多是从土壤肥力方面进行研究,本研究选取了微生物多样性这一评价指标。土壤微生物参与土壤生态系统的能量流动和养分循环[13],影响生物的地球化学循环过程,其多样性和群落组成在决定土壤生态系统的功能和可持续性中起着重要作用[14]。本试验从微生物多样性角度,对采用衬膜水稻种植技术修复的荒漠化土壤修复效果进行评价,建立基本的数据基础,为衬膜水稻技术的推广提供重要依据,从而促进荒漠化地区土壤生态评价系统的完善。

2. 材料和方法

2.1. 试验地概况

该试验地位于科尔沁沙地南部，行政区划隶属于内蒙古自治区通辽市奈曼旗，该地位于东经 120°19'40"~121°31'44"，北纬 42°14'40"~43°32'30"，海拔约 360 m，气候属大陆性温带半干旱气候，降雨主要集中在 6~8 月，年平均降水量 335.9 mm，年平均气温 6.8℃，年最大蒸发量 1104.6 mm，最小蒸发量 871.5 mm。

2.2. 样品采集

2020 年 9 月进行采样。为了保证野外采样的科学性，在地形地貌等土壤环境条件基本一致的内蒙古自治区通辽市奈曼旗科尔沁沙地内选取了进行衬膜水稻种植的样地和邻近荒漠化沙地样地。以五点法进行采样，将水稻连根拔出，取水稻根际土，土样以四分法缩分至 1 kg 装袋保存，记录采样时间和采样深度，带回实验室，剔除石子根茎等杂质，置于冷冻保存。

2.3. 研究方法

试验设计：本研究通过定期对衬膜水稻试验田进行采样，对衬膜水稻种植的样地和邻近未经修复的荒漠化沙地的微生物多样性进行比较分析。

土壤测定：高通量测序技术是探讨微生物菌群的不可或缺的技术[15][16][17]，高通量测序技术的发展，使我们能在短时间内测定大量物种的核酸序列，对某个菌种，我们可以测定上百株细菌的基因组序列，这就为我们进行基于全基因组信息的分类标准建立奠定了良好基础[18]。本试验的细菌多样性采用 16SrDNA 高通量测序技术进行测序。实验步骤如下：

1. 基因 DNA 的提取

完成基因组 DNA 抽提后，利用 1%琼脂糖凝胶电泳检测抽提的基因组 DNA。

2. PCR 扩增

按指定测序区域，合成带有 barcode 的特异引物，或合成带有错位碱基的融合引物。

为保证后续数据分析的准确性及可靠性，需满足两个条件：

1) 尽可能使用低循环数扩增；2) 保证每个样本扩增的循环数一致。随机选取具有代表性的样本进行预实验，确保在最低循环数中使绝大多数样本能够扩增出浓度合适的产物。

PCR 产物使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测扩增目的条带大小，并用 Agencourt AMPure XP 核酸纯化试剂盒纯化。

3. Miseq 文库构建

- 1) 连接“Y”字形接头；
- 2) 使用磁珠筛选去除接头自连片段；
- 3) 利用 PCR 扩增进行文库模板的富集；
- 4) 氢氧化钠变性，产生单链 DNA 片段。

4. Miseq 上机测序

- 1) DNA 片段的一端与引物碱基互补，固定在芯片上；
- 2) 另一端随机与附近的另外一个引物互补，也被固定住，形成“桥(bridge)”；
- 3) PCR 扩增，产生 DNA 簇；
- 4) DNA 扩增子线性化成为单链；
- 5) 加入改造过的 DNA 聚合酶和带有 4 种荧光标记的 dNTP，每次循环只合成一个碱基；

- 6) 用激光扫描反应板表面，读取每条模板序列第一轮反应所聚合上去的核苷酸种类；
- 7) 将“荧光基团”和“终止基团”化学切割，恢复 3'端粘性，继续聚合第二个核苷酸；
- 8) 统计每轮收集到的荧光信号结果，获知模板 DNA 片段的序列。

3. 结果与分析

对荒漠化沙地土壤和衬膜水稻土壤两种不同土壤中的 6 个土壤样品进行测定。未经修复过的荒漠化沙地土壤编号为 S1、S2、S3，经衬膜水稻种植技术修复的水稻土壤编号为 W1、W2、W3。

3.1. OTUs 聚类分析

通过对序列进行归类操作可以了解一个样品测序结果中的菌种、菌属等数目信息。将序列按照彼此的相似性分归为许多小组，一个小组就是一个 OTU。根据不同的相似度水平，对所有序列进行 OTU 划分，通常对 97%相似水平下的 OTU 进行生物信息统计分析。得到的 OTU 数目如表 1。

Table 1. Statistics of OTU number of single samplet
表 1. 单个样本的 OTU 数目统计

Sample ID	Final_tags	OTUs
W_1	28,624	2693
W_2	28,624	2748
W_3	28,624	2626
S_1	28,624	2887
S_2	28,624	2926
S_3	28,624	2837

为了比较直观的表现两组样本的 OTU 数目组及其样本或分组之间的重叠情况，绘制了可用于统计多个样本中所共有和独有的 OTU 数目的 Venn [19]图，如图 1。根据 OTU 数目韦恩图可以看出，两种土壤之间 OTU 数目差异很大，荒漠化沙地土壤的 OTU 数目远远大于衬膜水稻土壤，两种土壤相同的 OTU 数目为 1877。荒漠化沙地土壤样本间的差异性大于衬膜水稻土壤。

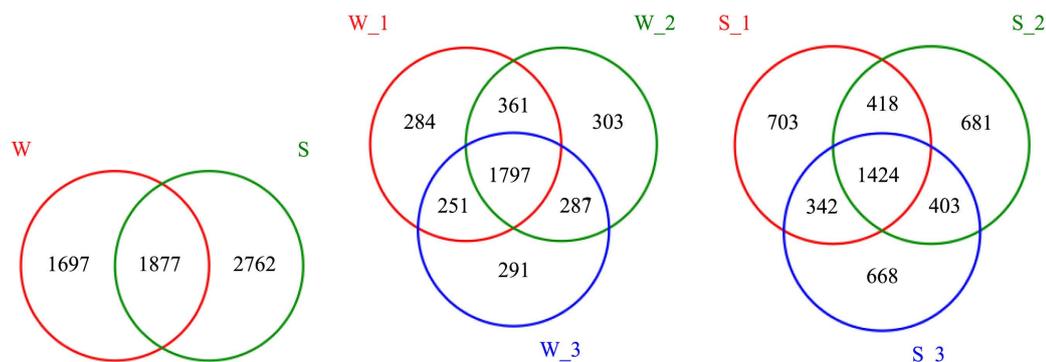


Figure 1. The number of OTU Venn diagram
图 1. OTU 数目韦恩图

3.2. Alpha 多样性分析

3.2.1. 稀释性曲线

如图 2，样品稀释曲线[20]趋近平缓。曲线趋向平坦时，说明测序数据量合理，更多的数据量只会产生少量新的 OTU。因此，稀释性曲线表明样品目前的测序量能够覆盖样本中的绝大部分物种，测序深度足够，测序数据量合理。

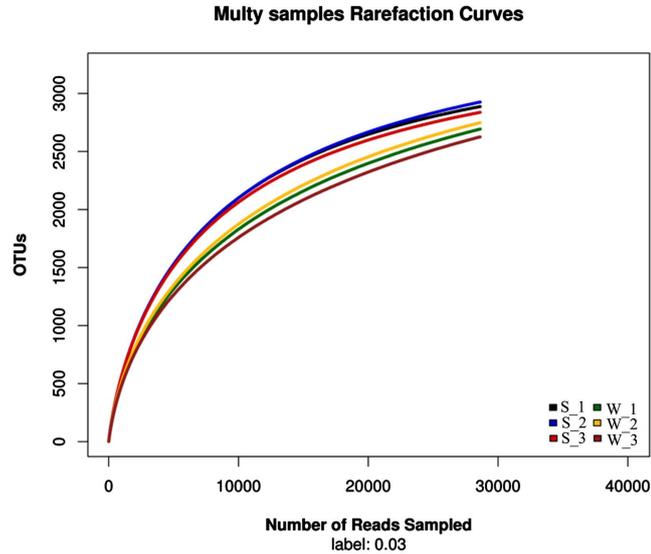


Figure 2. Rarefaction curves

图 2. 稀释曲线图

3.2.2. Shannon-Wiener 曲线

如图 3，Shannon-Wiener 曲线趋向平坦，说明测序数据量足够大，可以反映样本中绝大多数的微生物信息。此外，由 Shannon-Wiener 曲线图可看出荒漠化沙地土壤样品的 Shannon 指数大于衬膜水稻土壤。

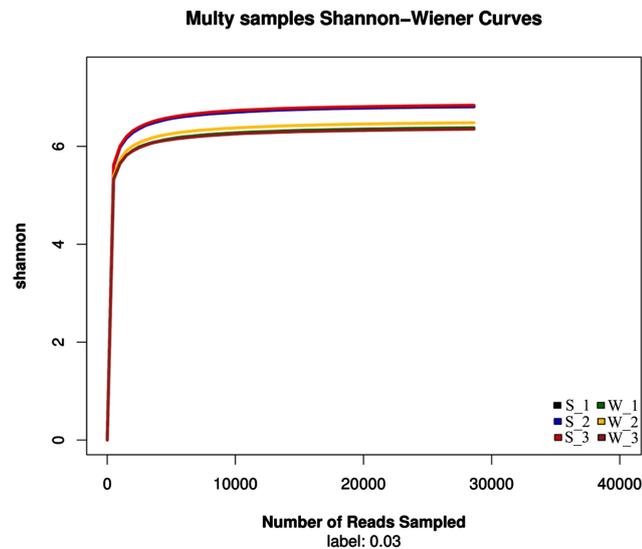


Figure 3. Shannon-Wiener graph

图 3. Shannon-Wiener 曲线图

3.2.3. Rank-Abundance 曲线

Rank-abundance [21] 曲线是分析多样性的一种方式。Rank-abundance 曲线可用来解释多样性的两个方面，即物种丰度和物种均匀度[22]。在水平方向，物种的丰度越高，曲线在横轴上的范围越大。荒漠化沙地土壤的曲线跨越宽度大于衬膜水稻土壤，表明荒漠化沙地土壤的物种的丰度大于衬膜水稻土壤。曲线的形状(平滑程度)反映了样本中物种的均度，曲线越平缓，物种分布越均匀。与衬膜水稻土壤相比，荒漠化沙地土壤的曲线更平缓，表明荒漠化沙地土壤的物种的均度大于衬膜水稻土壤(见 图 4)。

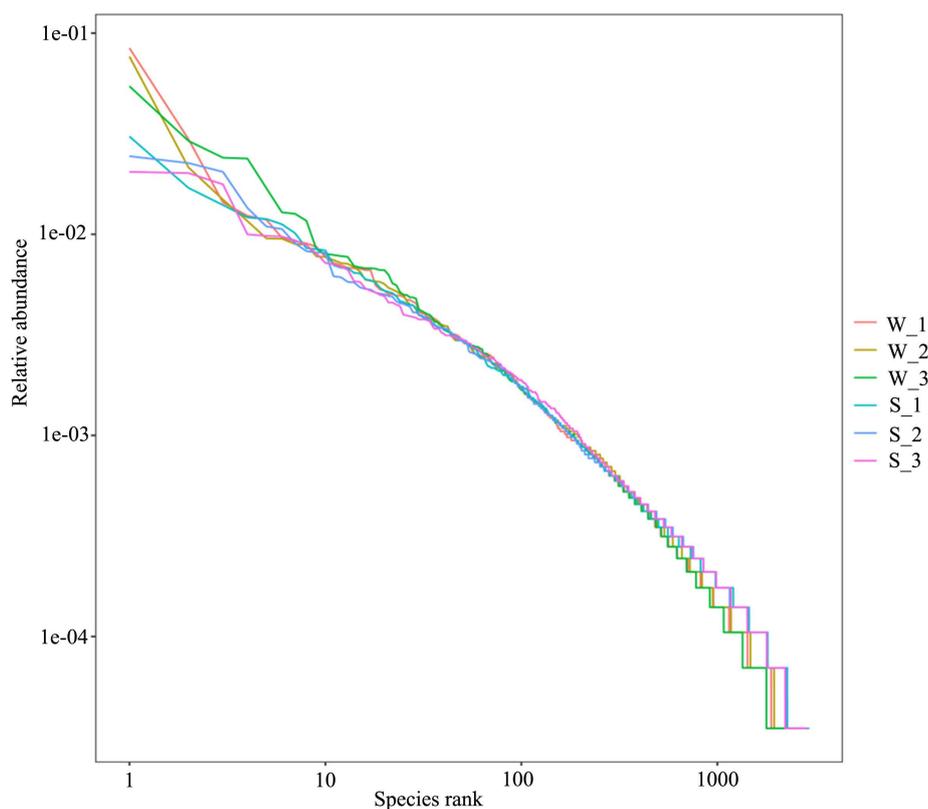


Figure 4. Rank-abundance graph

图 4. Rank-abundance 曲线图

3.2.4. Alpha 多样性指数

如图 5 alpha 多样性指数 box 图，具体数据见表 2 alpha 多样性指数统计表。

Table 2. Alpha diversity index statistical table

表 2. Alpha 多样性指数统计表

Sample ID	Chao1	goods_coverage	observed_species	PD_whole_tree	Shannon	Simpson
S_1	3285.48	0.98	2887.00	200.15	9.82	1.00
S_2	3436.55	0.98	2925.90	188.53	9.84	1.00
S_3	3285.19	0.98	2837.00	189.05	9.87	1.00
W_1	3405.50	0.97	2692.90	185.63	9.20	0.99
W_2	3420.57	0.97	2747.90	184.62	9.35	0.99
W_3	3447.08	0.97	2625.90	177.06	9.16	0.99

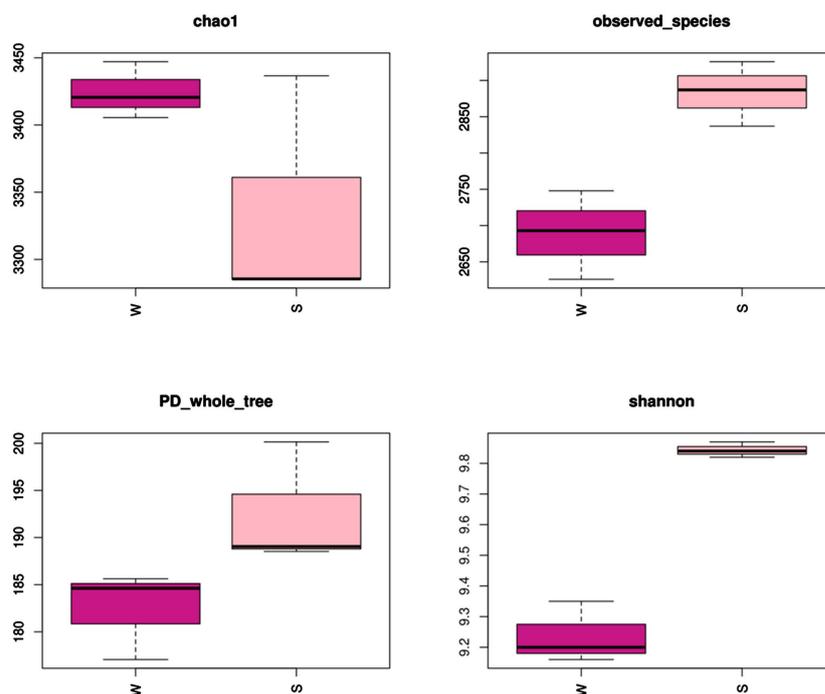


Figure 5. Alpha diversity index box map
图 5. Alpha 多样性指数 box 图

Chao 1: 即菌种丰富度指数,用以估计群落中的 OTU 数目。衬膜水稻土壤样品的 chao 1 指数大于荒漠化沙地土壤,表明衬膜水稻土壤菌种的丰富度大于荒漠化沙地土壤,衬膜水稻土壤细菌群落的丰富度高。

goods_coverage 和 **observed_species** 指数表征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。该指数反映本次测序结果代表了样本中微生物的真实情况。

PD_whole_tree [23]: 谱系多样性,是兼顾考虑了物种丰度以及进化距离的多样性指数。数值越大,群落多样性越高。荒漠化沙地土壤样品的 **PD_whole_tree** 指数大于衬膜水稻土壤样品,因此,表明荒漠化沙地土壤群落多样性高于衬膜水稻土壤。

Shannon: 用来估算样品中微生物多样性指数之一。Shannon 值越大,说明群落多样性越高。荒漠化沙地土壤样品的 Shannon 值大于衬膜水稻土壤样品,表明荒漠化沙地土壤群落多样性高于衬膜水稻土壤。

Simpson [24]: 用来估算样品中微生物多样性指数之一,结果中交付为 1-D 值。

Simpson 指数兼顾丰富度和均匀度。D 值在 0~1 之间,0 表示无限多样,1 表示没有多样性。所以 1-D 值越大,说明群落多样性越高。荒漠化沙地土壤样品的 Simpson 值大于衬膜水稻土壤样品,表明荒漠化沙地土壤群落多样性高于衬膜水稻土壤。

3.3. 物种组成分析

使用统计学的分析方法,观测两种土壤样本在不同分类水平上的群落结构。将多个样本的群落结构分析放在一起对比时,还可以观测其变化情况。本研究用柱状图可视化观察不同样本(或者分组)的物种组成情况[25]。从门、纲、目、科、属等五个水平上作柱状图。

3.3.1. 两种土壤中微生物菌门组成

图 6 展示了两种土壤中门水平细菌群落结构,图中不同颜色色块代表不同门细菌种类,高度代表某

一个门相对丰度的大小。结果表明,在门水平上各处理优势种群结构相似,但两种土壤细菌丰度存在差异。衬膜水稻土壤中变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)和放线菌门(Actinobacteria)是优势菌群,相对丰度分别为34%、13%和6.7%。荒漠化沙地土壤中变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria)是优势菌群,相对丰度分别为30%、23%和13%。采用衬膜水稻技术修复土壤和邻近荒漠化沙地土壤两种土壤所含变形菌门丰度相差不大。荒漠化土壤的放线菌门是衬膜水稻的三倍多,出现这种现象应该这是由于放线菌一般为好气性,而荒漠化土壤都是沙土,透气性强。荒漠化土壤中所出现的酸杆菌门是新近被分出的一门细菌,对其知之甚少。在衬膜水稻土壤中的另一优势菌群为绿弯菌门,为兼性厌氧生物在有氧无氧环境都能生存。

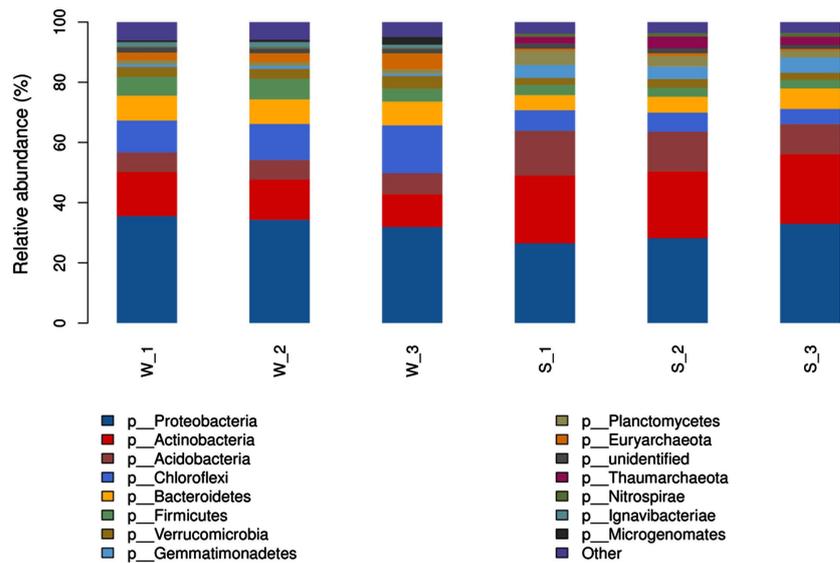


Figure 6. Abundance of soil bacterial division level
图 6. 土壤微生物菌门丰度图

3.3.2. 两种土壤中微生物菌纲组成

图 7 展示了两种土壤中纲水平细菌群落结构。结果表明,在纲水平上两种土壤优势种群结构存在很大差异,由于含量较少在图中无法显示,衬膜水稻土壤的菌纲种类略多于衬膜水稻土壤,细菌丰度也存在差异。衬膜水稻土壤中 β 变形菌纲(Betaproteobacteria)、放线菌纲(Actinobacteria)和 δ -变形菌纲(Deltaproteobacteria)是优势菌群,相对丰度分别为13%、10.7%和9.8%。荒漠化沙地土壤中 β -变形菌纲(Betaproteobacteria)、 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)和放线菌纲(Actinobacteria)是优势菌群,相对丰度分别为10.7%、10.5%和9.7%。衬膜水稻土壤和荒漠化沙地土壤中的优势菌群都集中在放线菌门和变形菌门,与对两种土壤进行的菌门分析呈现一致性。

3.3.3. 两种土壤中微生物菌目组成

图 8 展示了两种土壤中目水平细菌群落结构。结果表明,在目水平上两种土壤优势种群结构存在很大差异,由于含量较少在图中无法显示,衬膜水稻土壤的菌目种类略多于衬膜水稻土壤,细菌丰度也存在差异。衬膜水稻土壤中厌氧绳菌目(Anaerolineales)、微球菌目(Micrococcales)和伯克氏菌目(Burkholderiales)是优势菌群,相对丰度分别为8.9%、8.5%和6.7%。荒漠化沙地土壤中伯克氏菌目(Burkholderiales)、Blastocatellales 菌目和鞘脂杆菌目(Sphingobacteriales)是优势菌群,相对丰度分别为7.2%、5.2%和4.9%。

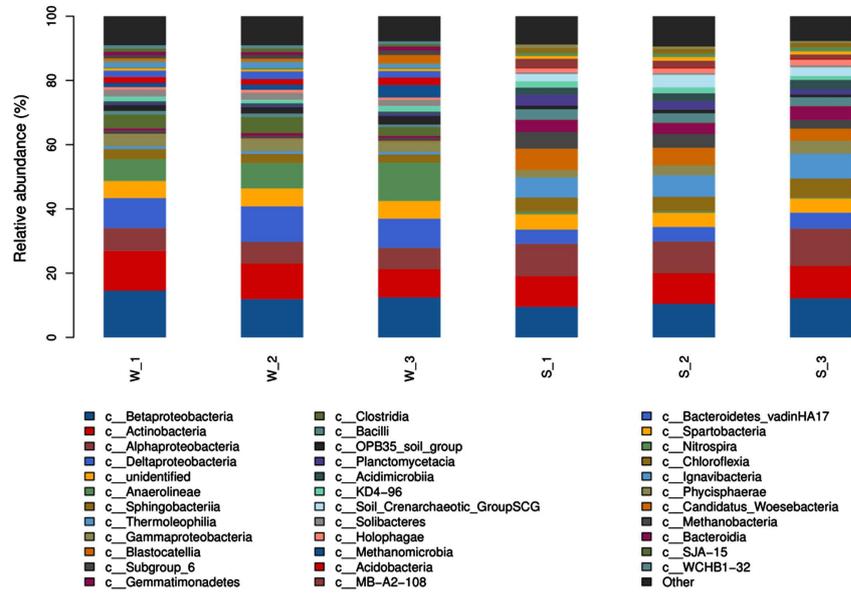


Figure 7. Abundance of soil bacterial class level
图 7. 土壤微生物菌纲丰度图

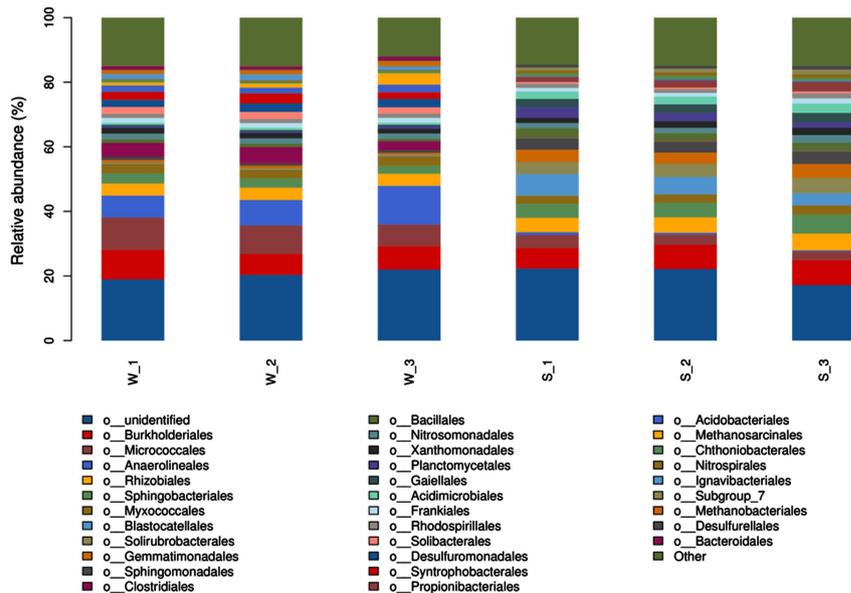


Figure 8. Abundance of soil bacterial order level
图 8. 土壤微生物菌目丰度图

3.3.4. 两种土壤中微生物菌科组成

图 9 展示了两种土壤中科水平细菌群落结构。结果表明，在科水平上两种土壤优势种群结构存在很大差异，由于含量较少在图中无法显示，衬膜水稻土壤的菌科种类略多于衬膜水稻土壤，细菌丰度也存在差异。衬膜水稻土壤中无花果科(Anaerolineaceae)、微球菌科(Micromonosporaceae)和丛毛单胞菌科(Comamonadaceae)是优势菌群，相对丰度分别为 8.9%、7.2%和 4.0%。荒漠化沙地土壤中 Blastocatellaceae_Subgroup_4、芽单胞菌科(Gemmatimonadaceae)和噬几丁质菌科(Chitinophagaceae)是优势菌群，相对丰度分别为 5.3%、3.8%和 3.8%。

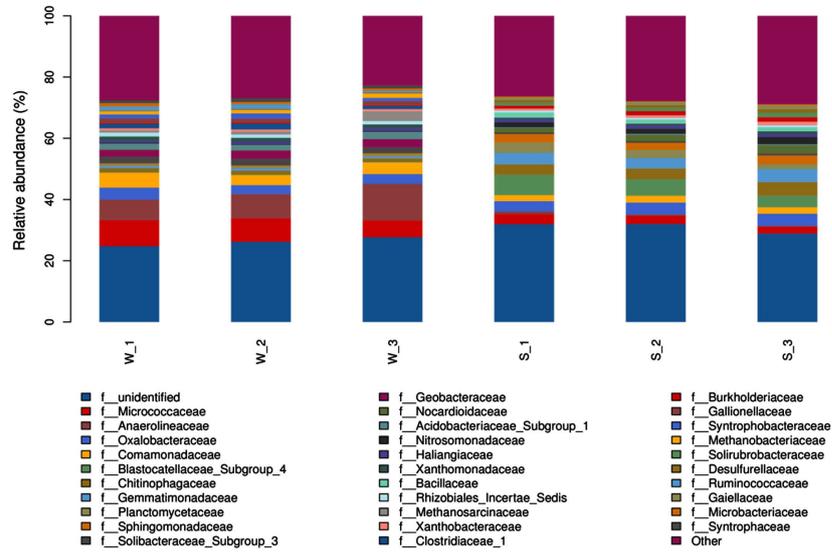


Figure 9. Abundance of soil bacterial family level
图 9. 土壤微生物菌科丰度图

3.3.5. 两种土壤中微生物菌属组成

图 10 展示了两种土壤中属水平细菌群落结构。结果表明，在属水平上两种土壤优势种群结构存在很大差异，由于含量较少在图中无法显示，衬膜水稻土壤的菌属种类略多于衬膜水稻土壤，细菌丰度也存在差异。衬膜水稻土壤中假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)、*Anaerolinea* 和马赛菌属(*Massilia*)是优势菌群，相对丰度分别为 7.2%、3.4%和 2.6%。荒漠化沙地土壤中 RB41、假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)和马赛菌属(*Massilia*)是优势菌群，相对丰度分别为 4.4%、2.5%和 2.4%。

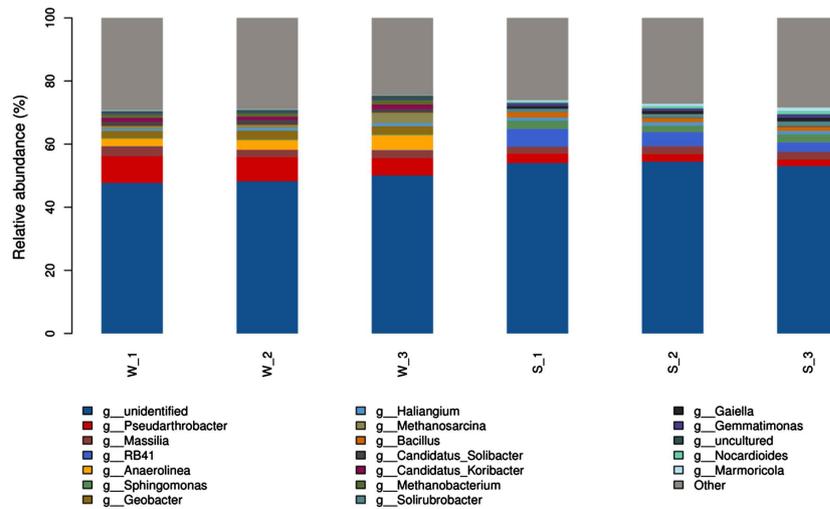


Figure 10. Abundance of soil bacterial genus level
图 10. 土壤微生物菌属丰度图

3.4. Beta 多样性分析

3.4.1. 基于 Unifrac 的 Heatmap

为了更好的显示多个样本之间的距离关系，将未加权与加权的 unifrac [26] [27] [28]样本距离矩阵用

热力图表现出来,如图 11 所示。衬膜水稻土壤样本之间距离比较小,说明衬膜水稻土壤样本之间的相似性比较大,样本具有代表性。荒漠化沙地土壤样本之间距离略大于沙漠水稻土壤样本,但仍距离比较小,样本比较具有代表性。很明显衬膜水稻土壤样品与荒漠化沙地土壤样品之间距离多远,两种土壤差异性很大。

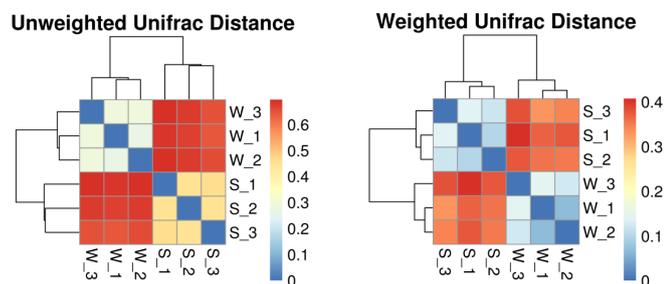


Figure 11. Heatmap of unifracs
图 11. 基于 unifracs 的 heatmap 图

3.4.2. PCA 分析与 PCoA 分析

PCA 分析(Principal Component Analysis),即主成分分析,是一种对数据进行简化分析的技术,这种方法可以有效的找出数据中最“主要”的元素和结构,去除噪音和冗余,将原有的复杂数据降维,揭示隐藏在复杂数据背后的简单结构[29]。如图 12 所示,群落结构组成相似度高的样品倾向于聚集在一起,群落结构组成差异很大的样品则会远远分开。衬膜水稻土壤样品间距离非常接近,表示群落组成结构相似。荒漠化沙地土壤样品间距离则偏大,由于沙漠沙地属于自然形成,范围比较大,衬膜水稻样地为人工生态系统,出现的这种情况较为正常。衬膜水稻土壤样品与荒漠化沙地土壤样品距离较大,群落结构组成差异性较大。

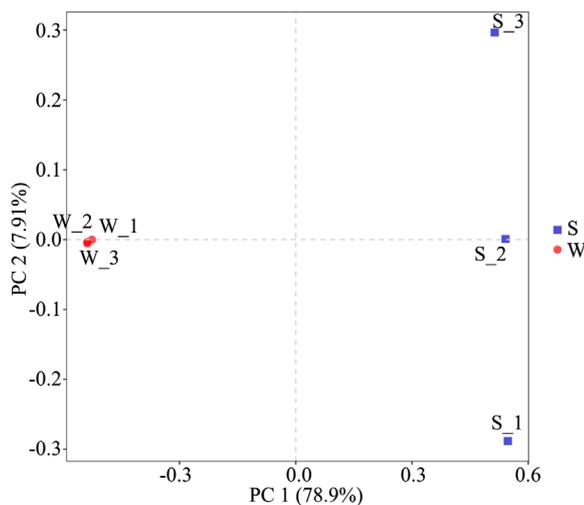


Figure 12. PCA analysis of OTU level
图 12. 基于 OTU 水平的 PCA 分析

PCoA 分析,即主坐标分析(principal co-ordinates analysis),也是一种非约束性的数据降维分析方法,与 PCA 分析类似;主要区别在于,PCA 基于欧氏距离,PCoA 基于除欧氏距离以外的其它距离。如图 13 所示。PCoA 分析结果与 PCA 分析结果一致。

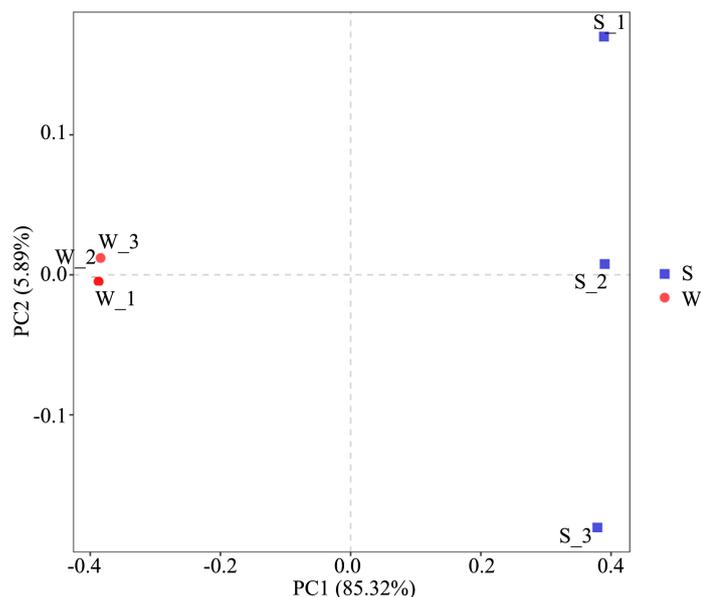


Figure 13. PCoA analysis of bray-curtis
图 13. 基于 bray-curtis 的 PCoA 分析

3.4.3. NMDS 分析

非度量多维尺度法(NMDS)是一种将多维空间的研究对象(样本或变量)简化到低维空间进行定位、分析和归类,同时又保留对象间原始关系的数据分析方法[30]。其特点是根据样本中包含的物种信息,以点的形式反映在多维空间上,通过点与点间的距离体现不同样本间的差异程度[31]。衬膜水稻土壤样品间距离非常接近,表示样本间差异性较小。荒漠化沙地土壤样品间距离则偏大,表示样本间差异性较大。由于荒漠化沙地属于自然形成,范围比较大,衬膜水稻样地为人工生态系统,出现的这种情况较为正常。衬膜水稻土壤样品与荒漠化沙地土壤样品距离较大,物种信息差异性较大(见图 14)。

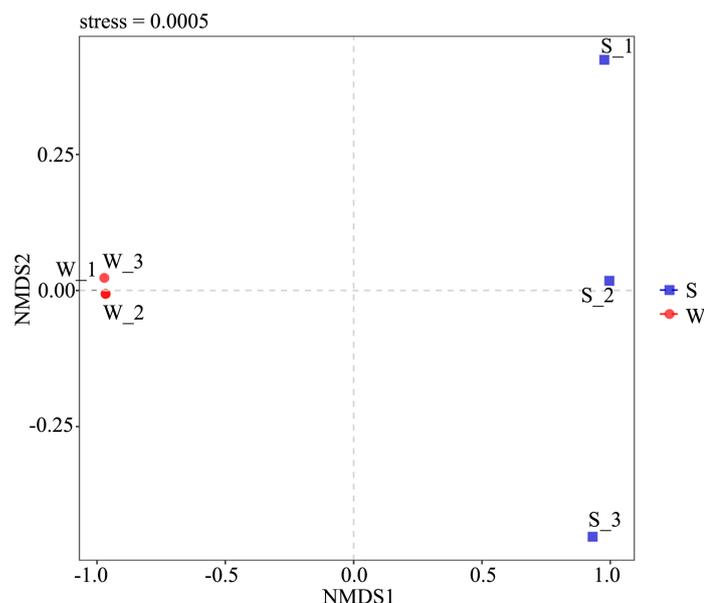


Figure 14. NMDS analysis of OTU level
图 14. OTU 水平 NMDS 分析

4. 结论

对修复前后两种土壤的细菌群落多样性分析发现, 虽然荒漠化沙地土壤的微生物多样性高于修复后的衬膜水稻土壤, 但是原有的菌群经土壤修复后会发生变化, 衬膜水稻修复技术会改变荒漠化沙地土壤的群落结构, 会增加荒漠化沙地土壤优势菌群丰度, 增加土壤菌落丰度。总的来说, 从土壤微生物多样性方面, 采用衬膜沙地水稻种植技术修复的荒漠化土壤修复效果显著, 值得推广和更加深入的研究。

土壤微生物多样性研究技术难度大、复杂度高, 包括物种多样性、遗传多样性、结构多样性及功能多样性等许多方面[32]。荒漠化沙地作为自然生态系统稳定性强于人工建立的衬膜水稻生态系统是意料当中的, 如何减少对沙地生态系统稳定性的影响, 增加修复后的土壤微生物多样性也是今后我们研究的重点。寻求合理的修复技术和方案提供数据基础和可行性支持, 建立和完善荒漠化土壤的评价体系迫在眉睫。相信在不断地探索 and 实践中, 荒漠化土壤的修复将取得更为巨大的成果, 荒漠化地区的人们将迎来更为美好的生活环境, 经济发展将迈出历史性的一大步。

参考文献

- [1] 黄慧琼. 遏止全球土壤退化刻不容缓[J]. 生态经济, 2021, 37(2): 5-8.
- [2] 刘佳, 刘远妹, 杜忠. 中国退化沙化草地治理研究进展[J]. 安徽农学通报, 2018, 24(21): 161-164.
- [3] 张建龙. 防治土地荒漠化助力脱贫攻坚——纪念第二十四个世界防治荒漠化和干旱日[J]. 国土绿化, 2018(6): 7-8.
- [4] 王康富. 内蒙科尔沁沙地奈曼地区沙漠化土地综合整治初步研究[J]. 中国沙漠, 1989, 9(1): 33-37.
- [5] 蒋德明, 刘志民, 寇振武. 科尔沁沙地荒漠化及生态恢复研究展望[J]. 应用生态学报, 2002(12): 1695-1698.
- [6] 张桂英. 气候变化对科尔沁沙地水资源影响分析——以内蒙古奈曼旗为例[J]. 畜牧与饲料科学, 2018, 39(1): 56-59+71.
- [7] 张雄, 山颖, 张继平. 沙地衬膜水稻施肥效应与技术研究[J]. 水土保持学报, 2006, 20(1): 139-142.
- [8] 内岛善兵卫, 方桑泽. 农林、水产与气象[M]. 重庆: 重庆出版社, 1998.
- [9] 松岛省三. 水稻栽培新技术[M]. 长春: 吉林人民出版社, 1987.
- [10] 张婉秋. 双膜覆盖沙漠水稻种植与沙地修复技术研究[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 辽宁大学, 2018.
- [11] Wang, X.J. and Gong, Z.T. (1998) Assessment and Analysis of Soil Quality Changes after Eleven Years of Reclamation in Subtropical China. *Geoderma*, **81**, 339-355. [https://doi.org/10.1016/S0016-7061\(97\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0016-7061(97)00109-2)
- [12] Stocking, M.A. (2003) Tropical Soils and Food Security: The Next 50 Years. *Science*, **302**, 1356-1359. <https://doi.org/10.1126/science.1088579>
- [13] Huang, Q., Wang, J.L., Wang, C., *et al.* (2019) The 19-Years Inorganic Fertilization Increased Bacterial Diversity and Altered Bacterial Community Composition and Potential Functions in a Paddy Soil. *Applied Soil Ecology*, **144**, 60-67. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.07.009>
- [14] Chen, J.H., Wu, Q.F., Li, S.H., *et al.* (2019) Diversity and Function of Soil Bacterial Communities in Response to Long-Term Intensive Management in a Subtropical Bamboo Forest. *Geoderma*, **354**, Article ID: 113894. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2019.113894>
- [15] Caporaso, J.G., *et al.* (2011) Global Patterns of 16S rRNA Diversity at a Depth of Millions of Sequences Per-Sample. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **108**, 4516-4522. <https://doi.org/10.1073/pnas.1000080107>
- [16] Youssef, N., Sheik, C.S., Krumholz, L.R., Najjar, F.Z., Roe, B.A. and Elshahed, M.S. (2009) Comparison of Species Richness Estimates Obtained Using Nearly Complete Fragments and Simulated Pyrosequencing-Generated Fragments in 16S rRNA Gene-Based Environmental Surveys. *Applied and Environmental Microbiology*, **75**, 5227-5236. <https://doi.org/10.1128/AEM.00592-09>
- [17] Hess, M., Sczyrba, A., Egan, R., Kim, T.W., Chokhwalala, H., Schroth, G., *et al.* (2011) Metagenomic Discovery of Biomass-Degrading Genes and Genomes from Cow Rumen. *Science*, **331**, 463-467. <https://doi.org/10.1126/science.1200387>
- [18] 秦楠, 栗东芳, 杨瑞馥. 高通量测序技术及其在微生物学研究中的应用[J]. 微生物学报, 2011, 51(4): 445-457.
- [19] Fouts, D.E., Szpakowski, S., Purushe, J., Torralba, M., Waterman, R.C., *et al.* (2012) Next Generation Sequencing to

- Define Prokaryotic and Fungal Diversity in the Bovine Rumen. *PLoS ONE*, **7**, e48289. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0048289>
- [20] Amato, K.R., *et al.* (2013) Habitat Degradation Impacts Black Howler Monkey (*Alouatta pigra*) Gastrointestinal Microbiomes. *The ISME Journal*, **7**, 1344-1353. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.16>
- [21] Bates, S.T., Clemente, J.C., *et al.* (2013) Global Biogeography of Highly Diverse Protistan Communities in Soil. *The ISME Journal*, **7**, 652-659. <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.147>
- [22] Lundberg, D.S., Yourstone, S., Mieczkowski, P., Jones, C.D. and Dangl, J.L. (2013) Practical Innovations for High-Throughput Amplicon Sequencing. *Nature Methods*, **10**, 999-1002. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2634>
- [23] Caporaso, J.G., *et al.* (2010) QIIME Allows Analysis of High-Throughput Community Sequencing Data. *Nature Methods*, **7**, 335-336. <https://doi.org/10.1038/nmeth.f.303>
- [24] Jost, L. (2007) Partitioning Diversity into Independent Alpha and Beta Components. *Ecology*, **88**, 2427-2439. <https://doi.org/10.1890/06-1736.1>
- [25] Oberauer, L., Zachow, C., Lackner, S., *et al.* (2013) The Ignored Diversity: Complex Bacterial Communities in Intensive Care Units Revealed by 16S Pyrosequencing. *Scientific Reports*, **3**, Article No. 1413. <https://doi.org/10.1038/srep01413>
- [26] Lozupone, C. and Knight, R. (2005) UniFrac: A New Phylogenetic Method for Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, **71**, 8228-8235. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.12.8228-8235.2005>
- [27] Lozupone, C., Lladser, M.E., Knights, D., Stombaugh, J. and Knight, R. (2011) UniFrac: An Effective Distance Metric for Microbial Community Comparison. *The ISME Journal*, **5**, 169-172. <https://doi.org/10.1038/ismej.2010.133>
- [28] Lozupone, C.A., Hamady, M., Kelley, S.T. and Knight, R. (2007) Quantitative and Qualitative Beta Diversity Measures Lead to Different Insights into Factors That Structure Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology*, **73**, 1576-1585. <https://doi.org/10.1128/AEM.01996-06>
- [29] Wang, Y., Sheng, H.-F., *et al.* (2012) Comparison of the Levels of Bacterial Diversity in Freshwater, Intertidal Wetland, and Marine Sediments by Using Millions of Illumina Tags. *Applied and Environmental Microbiology*, **78**, 8264. <https://doi.org/10.1128/AEM.01821-12>
- [30] Rivas, M.N., Burton, O.T., *et al.* (2013) A Microbita Signature Associated with Experimental Food Allergy Promotes Allergic Sensitization and Anaphylaxis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **131**, 201-212. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.10.026>
- [31] Noval Rivas, M., Burton, O.T., Wise, P., Zhang, Y.Q., Hobson, S.A., Garcia Lloret, M., *et al.* (2013) A Microbiota Signature Associated with Experimental Food Allergy Promotes Allergic Sensitization and Anaphylaxis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, **131**, 201-212. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.10.026>
- [32] 林先贵, 胡君利. 土壤微生物多样性的科学内涵及其生态服务功能[J]. 土壤学报, 2008(5): 892-900.