

陕西洛川苹果园不同覆盖措施对土壤性质、细菌群落及果实产量和品质的影响

沈鹏飞, 王威雁, 李彤, 廖允成, 李亚君*, 温晓霞*

(西北农林科技大学农学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 以渭北旱作苹果园 4 种覆盖模式 (秸秆覆盖、锯末覆盖、森林土覆盖、清耕对照) 土壤为研究对象, 在土壤基本理化指标及土壤酶活性测定的基础上, 利用荧光定量 PCR(q-PCR) 和 Illumina HiSeq 高通量测序技术对土壤细菌群落结构和多样性进行分析。研究结果表明, 各覆盖处理较对照显著提高了 0~20 cm 土层水分、有机质和全氮含量, 降低了土壤 pH; 同时显著提高土壤脲酶、蔗糖酶和过氧化氢酶活性; 各覆盖处理下土壤细菌 16S rRNA 拷贝数均显著高于清耕; 变形菌门、酸杆菌门和放线菌门为优势种群, 相对丰度之和占 57.12%~74.72%; α 变形菌纲、Subgroup_6、 β 变形菌纲和 δ 变形菌纲为优势菌纲, 相对丰度之和占 33.39%~43.15%。 α 多样性分析表明覆盖能够提高土壤细菌群落的丰度、种群丰富度和多样性指数。 β 多样性分析表明各覆盖处理较对照细菌群落系统发育组成存在显著差异; 冗余分析(RDA) 结果表明, 不同覆盖处理下土壤细菌群落相对丰度与土壤养分及酶活性存在一定相关关系。覆盖有助于提高果实百果质量及糖度, 其中秸秆覆盖效果最佳。

关键词: 苹果; 果园; 覆盖模式; 高通量测序; 荧光定量 PCR; 土壤细菌

中图分类号: S 661.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2019) 05-0817-15

Effects of Different Mulching Measures on Soil Properties, Bacterial Community, Fruit Yield and Quality of Luochuan Apple Orchard in Shaanxi Province

SHEN Pengfei, WANG Weiyan, LI Tong, LIAO Yuncheng, LI Yajun*, and WEN Xiaoxia*

(College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Four types of mulching techniques (cornstalk mulch, sawdust mulch, forest soil mulch, control) in the dryland apple orchards of Weibei were tested in this study. Based on the determination of soil basic physical and chemical indicators and enzyme activity, the quantitative analysis of soil bacterial community structure and diversity under different coverage measures were carried out by using real-time PCR (q-PCR) and Illumina HiSeq high-throughput sequencing technology. The results showed that different mulching treatments significantly increased water content, organic matter and total nitrogen of 0~20 cm soil layer and reduced soil pH value. At the same time, soil urease, sucrase and catalase

收稿日期: 2019-01-16; 修回日期: 2019-04-28

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31471451, 31671643)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: yajun3725@126.com, wenxiaoxia6811@163.com)

activities were remarkably improved. The results of real-time PCR indicated that the 16S rRNA copy number of soil bacteria under each covering treatment was observably higher than that of clear tillage. Illumina HiSeq high-throughput sequencing revealed that Proteobacteria, Acidophilus and Actinomycetes were dominant bacteria populations at phylum level whose relative abundances ranged from 57.12% to 74.72%; α -proteobacteria, subgroup_6, β -proteobacteria and δ -deformation were dominant at class level, and the relative abundances ranged from 33.39% to 43.15%. The α diversity analysis showed that different mulching treatments could increase the abundances and diversity indices of soil bacterial communities. The analysis of β diversity manifested that there were considerable differences in the phylogenetic compositions of each bacterial treatment compared to the control bacterial community. The results of RDA analysis showed that there were correlations between relative soil bacterial community abundances and soil nutrient and enzyme activities in the condition of different mulching treatments. These three mulching treatments had positive effects on 100-fruit weight and sugar content, among which cornstalk mulch was the best.

Keywords: apple; orchard; mulching practice; high-throughput sequencing; q-PCR; soil bacteria

中国苹果栽培面积和产量均居世界第一(王璇等, 2018)。而黄土高原地区因其独特的地理位置和环境条件,使其成为苹果的主要产区(Zhang, 2003; 曹裕等, 2012)。目前该地区果园广泛采用清耕方式,基础设施差,地表大面积裸露,农药化肥投入量大,遇较大降雨时易发生地表径流而造成水分养分流失,从而导致土壤有机质匮乏,果实产量和品质下降(赵佐平等, 2012; 里程辉等, 2016)。研究表明,果园地表覆盖耕作有助于保水保肥、调节土温,改善土壤结构,提高土壤酶活性及微生物活力,进而提高土壤生态系统的稳定性(Hartwig & Ammon, 2002; Mitchell et al., 2010; Song et al., 2011; 孙霞等, 2011; Rodrigues et al., 2013; 张洋等, 2013)。

大量研究表明,实施地表覆盖措施有助于改善果园土壤理化性质,进而提高土壤微生物丰富度和多样性,促进土壤有机质的分解和果树矿质养分的吸收,提升苹果产量和品质(温晓霞等, 2011; 寇建村等, 2013; 路超等, 2013; Mays et al., 2015; 张超等, 2017)。土壤细菌在参与土壤物质代谢、矿质养分转化和能量流动中发挥重要作用(王岳坤和洪葵, 2005; Zhang et al., 2013)。前人研究表明,不同覆盖方式会对果园土壤细菌群落结构及其多样性产生明显影响。刘灵芝等(2011)发现,同清耕相比,生草覆盖显著提高果园优势细菌碳代谢能力,促进土壤有机质的转化。高美英等(2000)的研究表明,秸秆覆盖下土壤氨化细菌增加,加速有机氮矿化,提高土壤供氮能力。Bonilla等(2012)发现使用粉碎枝条覆盖能够显著提高土壤细菌多样性,增加果实产量。Zheng等(2018)的研究表明,果园覆盖显著改善土壤理化性状及酶活力。

本研究立足于当地现有资源,在前人基础上选取4种果园地表覆盖模式,分析不同覆盖措施对土壤理化性质、土壤酶活力、土壤细菌群落的丰度和结构多样性的影响。结合冗余分析(RDA)的方法,探讨土壤细菌群落结构与土壤理化性状、酶活性的相互关系。对不同果园覆盖模式效益进行比较分析,以期筛选出适于该地区推广的覆盖模式或替代资源,为果园地表覆盖措施在旱地苹果栽培中的合理应用提供一定的理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验区概况

试验地为陕西省延安洛川苹果试验基地, 地处渭北黄土高原沟壑区 (36°N , 110°E), 属北温带大陆性湿润易干旱季风气候, 气候较温和, 太阳辐射能量丰富, 日照时数 2 552 h, 年均气温 9.2°C , 海拔 1 100 m, 年降水量 622 mm, 且主要集中在 6 月到 9 月, 无霜期 167 d, 昼夜温差大, 雨热同季; 土壤主要为黄土母质发育成的疏松黑垆土, 质地粘。供试苹果树为 25 年生的‘长富 2 号’, 砧木为楸子, 株行距 $4\text{ m} \times 5\text{ m}$, 长势良好。

1.2 试验处理与样品采集

2015 年 3 月开始试验。设置 4 个处理: (1) 秸秆覆盖, 打碎的玉米秸秆源于周边农田; (2) 锯末覆盖, 锯末源于果枝修剪的残枝粉碎; (3) 森林土覆盖, 由当地林业部门提供, 源于延安厢寺川林场的土壤, 林场内种植常规树木; (4) 清耕对照, 不进行任何覆盖。各处理覆盖厚度 $20\sim30\text{ cm}$, 覆盖宽度 3 m, 沿株间方向在树干两侧覆盖。同时 4 个处理果树树干两侧沿株间方向铺设黑色园艺布, 覆盖宽度 2 m, 行间无覆盖; 秸秆、锯末未腐熟, 每隔两年重新铺设, 森林土无补充; 园艺布每年重新铺设。每个处理 3 个重复, 小区面积 $15\text{ m} \times 15\text{ m}$, 各小区管理措施一致。

试验开始前在各小区内选定 3 株长势基本一致、树势良好的树, 并作标记。分别在 2017 年 4 月下旬(幼果期)、7 月下旬(膨大期)和 10 月下旬(成熟期), 在刷红漆标记树木树干约 1 m 半径处随机选点, 铲除表层土壤和覆盖物, 用土钻采取 $5\sim20\text{ cm}$ 土层土样, 多点取样, 剔除石子、杂草根等大块杂物, 过 1 mm 钢筛, 充分混匀后分装 2 份, 一份置于 -80°C 冰箱保存, 用于土壤微生物总 DNA 的提取, 一份置于 -20°C 冰箱保存, 用于土壤理化性状的测定。于 2017 年、2018 年成熟期采取果实样品, 用于测定果实产量及品质, 果实样品采集于标记树体土壤样品采集同侧。

1.3 测定项目与测定方法

1.3.1 土壤理化性质及酶活性测定

土壤水分含量 (SWC) 采用烘干法测定; 土壤 pH 用 PHS-3C 型 pH 计 (雷磁, 上海) 测定, 水土比为 5:1; 土壤有机质 (OM) 采用重铬酸钾外加热法测定; 全氮 (TN) 含量用凯氏定氮法测定 (鲍士旦, 2000)。土壤蔗糖酶活性 (SSC) 采用 3,5-二硝基水杨酸比色法测定; 土壤脲酶活性 (URE) 采用苯酚钠比色法测定; 土壤过氧化氢酶活性 (CAT) 采用高锰酸钾滴定容量法测定 (关松荫, 1986)。

1.3.2 土壤总 DNA 提取和荧光定量 PCR

每个土壤样品取 0.5 g 鲜土, 采用 FastDNA[®] Spin Kit for Soil (MP Biomedicals 生物医学公司, 美国) 土壤 DNA 提取试剂盒进行微生物全基因组提取, 1% 琼脂糖凝胶电泳测定 DNA 完整性、Nanodrop 测定 DNA 纯度和浓度, 置于 -20°C 冰箱保存、备用。

运用 QuantStudioTM 7 荧光定量 PCR 仪 (Life Technologies Inc., Carlsbad, CA, USA) 进行细菌群落总丰度测定。以提取的总 DNA 为模板, 以细菌特异引物 341F (CCTACGGGAGGCAGCAG) 和 797R (GGACTACCAGGTATCTAACCTGTT) 进行 q-PCR。扩增体系 ($20\text{ }\mu\text{L}$): 预混液 Mix $10\text{ }\mu\text{L}$, 前、后引物各 $0.5\text{ }\mu\text{L}$, BSA $1\text{ }\mu\text{L}$ 以及 10 ng 的 DNA 模板 $1\text{ }\mu\text{L}$, 用 ddH₂O 补齐。反应程序: 95°C 10 min ; 95°C 15 s , 53°C 30 s , 72°C 45 s , 40 个循环。

1.3.3 土壤细菌的 16S rRNA 测序及多样性分析

对成熟期各覆盖处理土壤，采用引物 338F/806R (Huws et al., 2007) 扩增土壤细菌 16S rRNA V3 + V4 区片段。扩增体系和反应程序参考 Huws 等 (2007) 的方法。每个样品 3 个重复。带有 barcode 的扩增产物用 Qubit2.0 荧光计进行定量分析，其产物片段长度用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。根据检测结果，将扩增产物混合为 1 个样本，然后应用 TruSeq DNA HT Sample Preparation Kit (Illumina, USA) 构建小片段文库，并基于 Illumina HiSeq 平台利用双末端测序方法 (Paired-End) 进行高通量测序。

通过比较不同序列的相似度，对原始序列进行过滤，双端拼接，剔除稀有序列得到优化序列。使用 QIIME (version 1.8.0) 软件中的 UCLUST 对优化序列在 97% 的相似度水平下进行聚类，获得分类单元 (Operational taxonomic unit, OTU)，通过比对细菌分类学数据库进一步对 OTU 进行注释得到细菌分类注释。可以通过单样本的多样性 (Alpha 多样性) 分析反映微生物群落的丰度和多样性，包括一系列统计学分析指数，估计环境群落的物种丰度和多样性。以 OUT 聚类注释结果为基础，对其进行 α 多样性分析和 β 多样性分析 (Stach et al., 2003)。

1.3.4 苹果百果质量、糖度和硬度

苹果百果质量使用电子天平 (CP512, 常州, 中国) 称量，以 kg 为单位；果实糖度通过 ATAGO 糖酸一体机 (爱拓, 上海, 中国) 测定；果实硬度通过数显果实硬度计 (GY-4, 浙江, 中国) 测定。每个处理随机采取 15 个果实样品用于上述指标测定。

1.4 数据分析

运用 Excel 2016 进行基础数据汇总整理，SPSS 23 进行方差分析；采用百迈客云平台 (BMKCloud, <http://www.biomarker.com.cn>) 进行土壤细菌群落组成、多样性和冗余 (RDA) 分析。

2 结果与分析

2.1 不同覆盖处理对各时期土壤理化性质及其酶活性的影响

由表 1 可见，幼果期的土壤含水量，秸秆和锯末覆盖处理显著高于对照，森林土覆盖处理与对

表 1 不同覆盖处理土壤理化性质比较
Table 1 Comparison of soil properties of different mulch treatments

时期 Period	覆盖处理 Treatment	含水量/% SWC	pH	有机质/(g·kg ⁻¹) OM	全氮/(g·kg ⁻¹) TN
幼果期 Young	对照 Control 秸秆覆盖 Cornstalk mulch	10.71 b 14.37 a	8.01 a 7.93 a	12.11 b 17.17 a	0.77 b 0.80 ab
fruit period	锯末覆盖 Sawdust mulch 森林土覆盖 Forest soil mulch	13.96 a 12.39 ab	7.87 a 7.88 a	17.48 a 15.40 a	1.19 a 1.14 a
膨大期 Expanding period	对照 Control 秸秆覆盖 Cornstalk mulch 锯末覆盖 Sawdust mulch	7.90 a 10.36 a 9.86 a	8.37 a 8.09 ab 7.98 b	12.68 b 17.72 a 13.85 b	0.91 a 1.06 a 0.94 a
成熟期 Mature period	森林土覆盖 Forest soil mulch 对照 Control 秸秆覆盖 Cornstalk mulch 锯末覆盖 Sawdust mulch 森林土覆盖 Forest soil mulch	9.19 a 13.72 c 17.24 a 16.71 ab 16.38 b	7.97 b 8.15 a 8.10 a 7.89 b 7.71 c	15.39 ab 8.21 d 12.65 a 9.85 c 11.00 b	1.21 a 0.79 c 0.86 ab 0.89 a 0.82 b

注：表中同列不同小写字母代表同一时期不同处理在 95% 置信水平上差异显著。下同。

Note: Different letters in the same column at the same growth stage represent significant differences the 95% confidence level. The same below.

照差异不显著。成熟期的土壤含水量, 3种覆盖处理均高于对照, 其中秸秆覆盖处理最高。膨大期与成熟期锯末覆盖和森林土覆盖的土壤pH较对照处理显著降低, 成熟期森林土覆盖处理降幅最大。各处理土壤有机质含量在成熟期均明显降低, 但显著高于对照。在幼果期和成熟期土壤全氮含量表现为锯末覆盖和森林土覆盖处理显著高于对照处理。

如表2所示, 与对照相比, 3种覆盖处理对土壤脲酶(URE)、蔗糖酶(SSC)和过氧化氢酶(CAT)活性有明显促进作用。幼果期和膨大期3种覆盖处理下URE活性均显著高于对照; 幼果期和成熟期SSC活性表现为覆盖处理下显著升高。膨大期和成熟期CAT活性表现为森林土覆盖下最高, 成熟期的秸秆和锯末覆盖处理次之。

表2 不同覆盖处理土壤酶活性
Table 2 Soil enzyme activities of different mulch treatments

时期 Period	覆盖处理 Treatment	URE/ (mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)	SSC/ (mg · g ⁻¹ · d ⁻¹)	CAT/ (mg · g ⁻¹ · h ⁻¹)
幼果期 Young fruit period	对照 Control	1.17 c	0.76 b	6.13 a
幼果期 Young fruit period	秸秆覆盖 Cornstalk mulch	1.63 a	1.90 a	7.16 a
幼果期 Young fruit period	锯末覆盖 Sawdust mulch	1.48 b	1.91 a	6.47 a
幼果期 Young fruit period	森林土覆盖 Forest soil mulch	1.65 a	2.38 a	7.17 a
膨大期 Expanding period	对照 Control	1.35 b	0.46 b	4.85 c
膨大期 Expanding period	秸秆覆盖 Cornstalk mulch	1.85 a	1.36 ab	6.42 b
膨大期 Expanding period	锯末覆盖 Sawdust mulch	1.64 a	1.15 ab	6.31 b
膨大期 Expanding period	森林土覆盖 Forest soil mulch	1.81 a	2.07 a	8.18 a
成熟期 Mature period	对照 Control	1.34 a	0.53 d	6.83 b
成熟期 Mature period	秸秆覆盖 Cornstalk mulch	1.68 a	1.87 c	7.69 ab
成熟期 Mature period	锯末覆盖 Sawdust mulch	1.39 a	2.58 b	7.60 ab
成熟期 Mature period	森林土覆盖 Forest soil mulch	1.56 a	3.28 a	8.23 a

2.2 不同覆盖处理下各时期土壤细菌丰富度变化

16S rRNA拷贝数是反映土壤细菌群落丰富度的重要指标。利用q-PCR技术对样品土壤细菌16S rRNA基因拷贝数进行定量分析, 16S rRNA基因扩增的标准曲线的斜率为-3.632, R^2 为0.977, 扩增效率为88.52%; 如图1所示, 在幼果期和成熟期, 覆盖处理下土壤细菌16S rRNA基因拷贝数显著高于对照处理, 在膨大期秸秆覆盖处理下土壤细菌16S rRNA基因拷贝数最高, 表明覆盖可以增加土壤细菌丰富度。

2.3 不同覆盖处理对土壤细菌群落结构的影响

2.3.1 不同覆盖处理细菌α多样性分析

对各覆盖处理下土壤细菌16S rRNA多样性指数进行分析。由表3可以看出, 清耕对照与各覆盖处理的细菌物种覆盖度都达到了99%以上, 说明测序样本所构建的基因库可以有效地反映其多样性, 结果可靠。各覆盖处理较对照在一定程度上提高了土壤中细菌的OTU数、Chao1指数和ACE

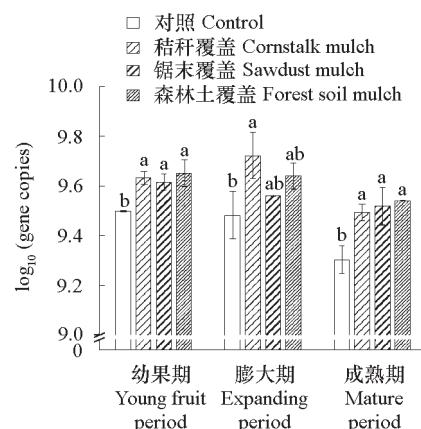


图1 不同覆盖处理细菌16S rRNA基因拷贝数
Fig. 1 16S rRNA gene copy numbers of mulch treatment

指数。同时，覆盖处理较对照提高了细菌群落结构多样性，其中香农指数以锯末覆盖处理最高，辛普森指数差异不明显但以锯末覆盖处理最低。综上，覆盖处理能有效提高土壤细菌群落 α 多样性，其中以锯末覆盖效果最好。

表 3 不同处理下土壤细菌群落多样性统计
Table 3 Statistics of soil bacterial community diversity under different mulch treatments

样本 Sample	OTU	ACE 指数 ACE	Chao1 指数 Chao1	香农指数 Shannon	辛普森指数 Simpson	覆盖率/% Coverage
对照 Control	4 317	4 904.17	4 932.37	7.0340	0.0028	99.04
秸秆覆盖 Cornstalk mulch	4 572	4 927.66	4 976.82	7.0530	0.0026	99.53
锯末覆盖 Sawdust mulch	4 780	5 183.62	5 203.97	7.1785	0.0021	99.32
森林土覆盖 Forest soil mulch	4 429	4 938.89	5 007.91	7.0601	0.0025	99.01

2.3.2 不同覆盖处理土壤细菌群落 β 多样性分析

运用非度量多维尺度 (NMDS) 并结合分类学和系统发育学基于 Weight_UniFrac、Unweight_UniFrac 和 Binary_Curtis 不同算法对各覆盖处理较对照细菌群落 β 多样性进行分析，结果 (图 2) 表明，基于 Weight_UniFrac 算法下森林土覆盖处理较对照细菌群落系统发育组成存在显著差异，基于 Unweight_UniFrac 和 Binary_Curtis 算法下秸秆覆盖处理分别较对照达极显著差异和显著差异，锯末覆盖和森林土覆盖较对照均达极显著差异；基于 Unweight_UniFrac 和 Binary_Curtis 算法距离来看，秸秆覆盖处理与对照细菌群落结构的相似性高于锯末覆盖和森林土覆盖；总体上，覆盖耕作均可使土壤细菌群落结构多样性发生变化。

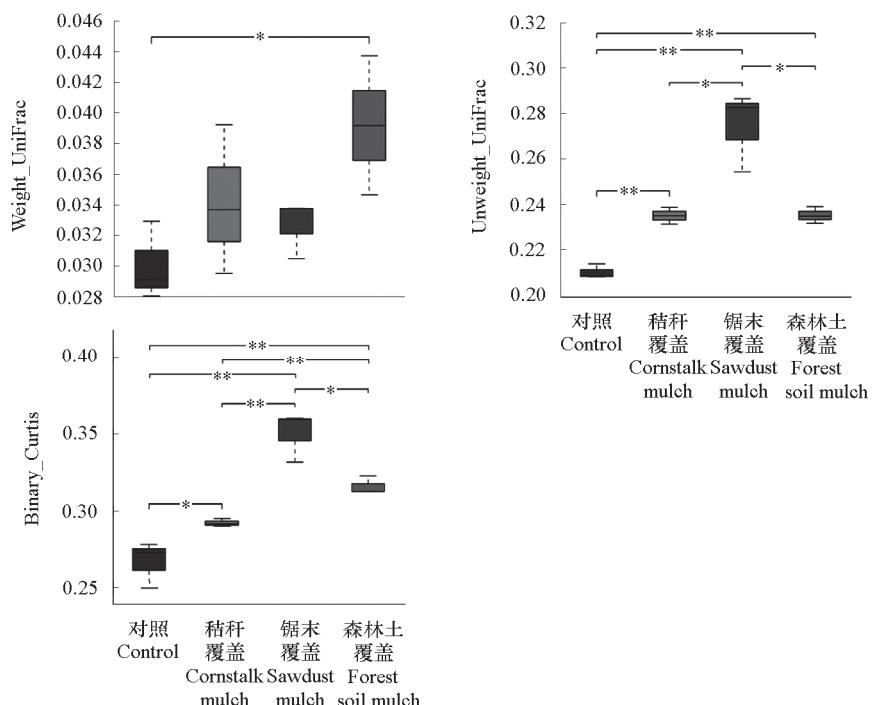


图 2 不同覆盖处理组间 β 多样性分析

*代表差异显著，**代表差异极显著。

Fig. 2 Analysis of β diversity among different mulching treatments

* represents a significant difference, ** represents a remarkable significant difference.

2.3.3 不同覆盖处理细菌群落组成及相对丰度

不同覆盖处理下土壤细菌在门分类水平下的相对丰度如图 3, A 所示。土壤中相对丰度前十的细菌类群为: 变形菌门 (Proteobacteria, 29.24% ~ 36.45%)、酸杆菌门 (Acidobacteria, 18.69% ~ 23.05%)、放线菌门 (Actinbacteria, 9.19% ~ 15.22%)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes, 8.83% ~ 10.49%)、t (Chloroflexi, 7.24% ~ 8.69%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes, 3.78% ~ 5.94%)、浮霉菌门 (Planctomycetes, 1.99% ~ 2.72%)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae, 1.93% ~ 2.74%)、疣微菌门 (Verrucomicrobia, 1.41% ~ 1.72%) 和未明确分类门 (Parcubacteria, 0.47% ~ 1.53%)。变形菌门、酸杆菌门和放线菌门为优势种群, 其相对丰度之和占 57.12% ~ 74.72%。其中变形菌门相对丰度以锯末覆盖处理 (36.45%) 最高; 酸杆菌门相对丰度以森林土覆盖处理 (23.05%) 最高; 放线菌门相对丰度以秸秆覆盖处理 (15.22%) 最高。

进一步从纲水平 (图 3, B) 分析, 土壤中主要微生物类群为 α 变形菌纲 (Alphaproteobacteria, 9.93% ~ 14.74%)、Subgroup_6 (9.04% ~ 11.14%)、 β 变形菌纲 (Betaproteobacteria, 7.71% ~ 9.13%)、 δ 变形菌纲 (Deltaproteobacteria, 6.71% ~ 8.14%)、芽单胞菌纲 (Gemmatimonadetes, 6.51% ~ 7.70%)、Blastocatellia (3.72% ~ 5.76%)、 γ 变形菌纲 (Gammaproteobacteria, 3.53% ~ 6.73%)、酸微菌纲 (Acidimicrobia, 3.24% ~ 3.97%)、放线菌纲 (Actinobacteria, 2.79% ~ 3.98%)、嗜热油菌纲 (Thermoleophilia, 2.18% ~ 4.61%); 归类于 Others 纲所占比例为 33.54% ~ 33.27%。同时, α 变形菌纲、Subgroup_6、 β 变形菌纲和 δ 变形菌纲为优势菌纲, 其相对丰度之和占 33.39% ~ 43.15%。其中, α 变形菌纲以锯末覆盖 (14.74%) 所占比例最高; Subgroup_6 以森林土覆盖处理 (11.14%) 所占比例最高; δ 变形菌纲以秸秆覆盖处理 (8.14%) 所占比例最高。其变化规律与门分类水平相似。

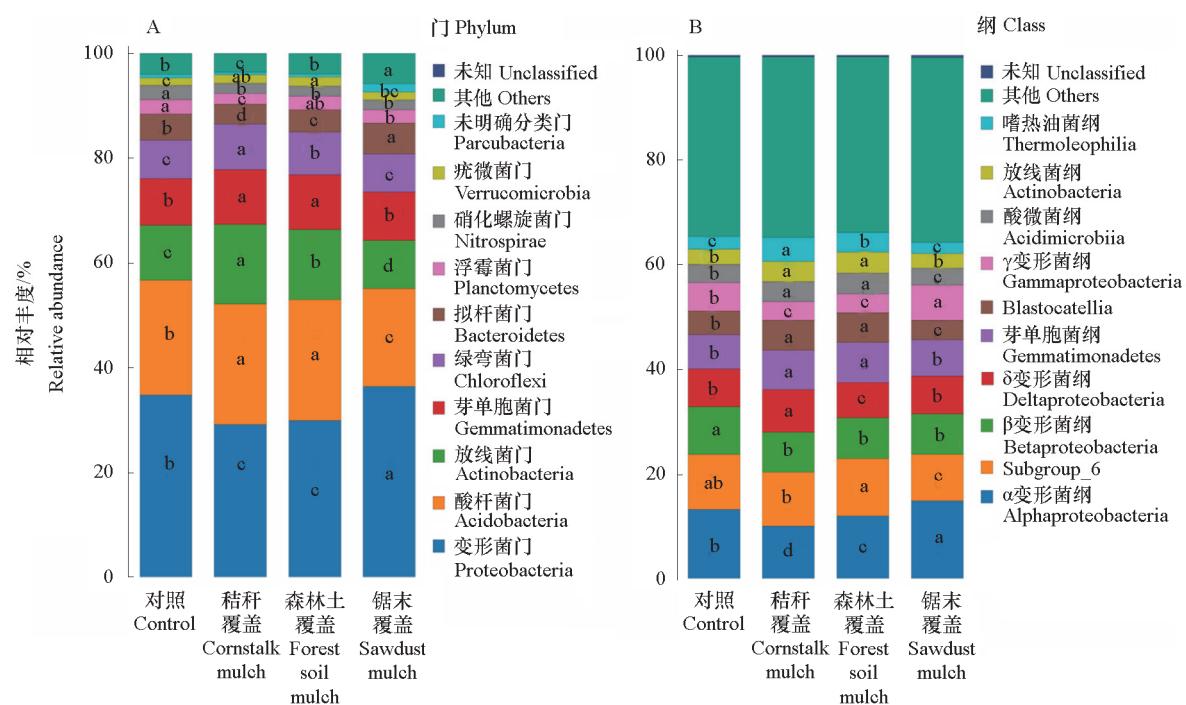


图 3 不同覆盖处理土壤细菌群落结构相对丰度
Fig. 3 Relative abundance of bacterial community of different mulching treatments

2.4 不同覆盖处理土壤细菌与土壤环境因子之间的关系

利用土壤理化性质(表1)及酶活性(表2)与相对丰度前10的细菌门进行冗余分析(RDA)。结果(图4)表明,芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和疣微菌门(Verrucomicrobia)与除pH外的土壤因子(含水量SWC、有机质OM和全氮TN)均呈一定的正相关关系,浮霉菌门(Planctomycetes)则呈负相关关系;放线菌门(Actinobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)与各土壤因子呈一定的正相关关系;酸杆菌门(Acidobacteria)与pH、TN呈正相关关系,与SWC、OM、脲酶(URE)、蔗糖酶(SSC)和过氧化氢酶(CAT)呈负相关关系;拟杆菌门(Bacteroidetes)与SSC、CAT呈正相关关系,与pH、SWC、OM、TN、URE呈负相关关系;变形菌门则与各土壤因子均呈负相关关系。

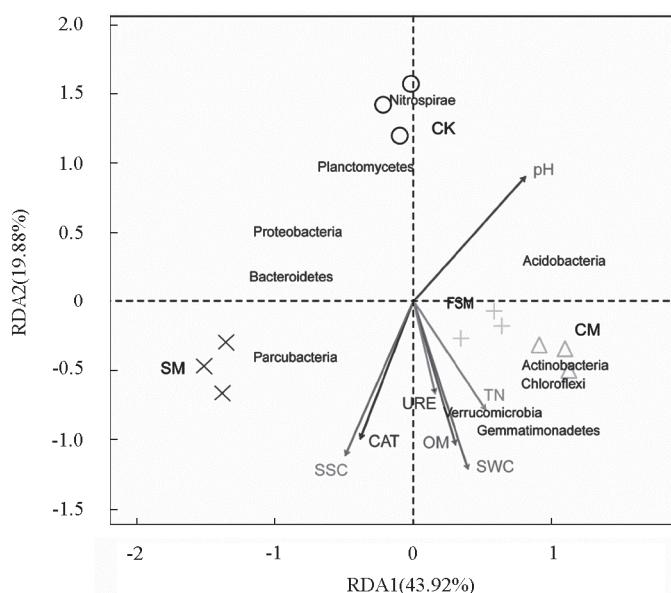


图4 不同覆盖处理土壤环境因子与细菌门水平的冗余分析

CK: 对照; CM: 稜秆覆盖; SM: 锯末覆盖; FSM: 森林土覆盖; SWC: 含水量; OM: 有机质; TN: 全氮; URE: 脲酶; SSC: 蔗糖酶; CAT: 过氧化氢酶。

Fig. 4 Redundancy analysis of abundance phyla and soil environmental factors

CK: Control; CM: Cornstalk mulch; SM: Sawdust mulch; FSM: Forest soil mulch; SWC: Soil water content; OM: Organic matter; TN: Total nitrogen; URE: Urease; SSC: Sucrase; CAT: Catalase.

同时, RDA 表明微生物群落受土壤因子影响程度不同。其中, 土壤 SWC、SSC 和 pH 是贡献率最大的3个因素, 说明各处理土壤细菌群落的分布主要受到这3个土壤因子的影响。另外, SWC 和 SSC 与 TN、OM、URE、CAT 呈正相关关系, 与土壤 pH 呈负相关关系; 土壤 pH 与土壤其余理化指标和酶活性呈负相关关系。稜秆覆盖、森林土覆盖和锯末覆盖与土壤含水量、有机质和全氮呈正相关, 与 pH 呈负相关, 与理化指标测定结果一致。

2.5 不同覆盖处理对苹果百果质量及糖度和硬度的影响

由表4可知, 2017年稜秆覆盖、锯末覆盖和森林土覆盖处理较对照处理百果质量分别增加9.6%、1.6%和13.7%; 2018年分别增加19.38%、6.15%和23.09%。2017年稜秆和锯末覆盖下可溶性糖含量显著高于对照, 2018年各覆盖处理可溶性糖含量显著高于对照。2017年各覆盖处理果实硬度与对照无显著差异, 而2018年各覆盖处理果实硬度较对照处理显著提高, 但各覆盖处理间无显著差异。

表 4 不同处理下苹果百果质量、硬度和可溶性糖含量

Table 4 Apple 100-fruit weight, hardness and sugar degree under different treatments

年份	覆盖处理	百果质量/kg 100-fruit weight	硬度/(kg·cm ⁻²) Firmness	可溶性糖含量/% Saccharinity
2017	对照 Control	22.91 b	4.06 a	12.41 b
	秸秆覆盖 Cornstalk mulch	25.10 a	4.23 a	13.12 a
	锯末覆盖 Sawdust mulch	23.28 b	4.21 a	13.67 a
	森林土覆盖 Forest soil mulch	26.05 a	4.11 a	13.05 ab
2018	对照 Control	18.06 b	4.11 b	12.43 b
	秸秆覆盖 Cornstalk mulch	21.56 a	4.67 a	13.59 a
	锯末覆盖 Sawdust mulch	19.17 b	4.62 a	14.00 a
	森林土覆盖 Forest soil mulch	22.23 a	4.66 a	13.33 a

2.6 不同覆盖处理对果树净光合速率及叶绿素 SPAD 值的影响

由图 5 可知, 各覆盖处理果树净光合速率和叶绿素 SPAD 值较对照存在一定差异。2017 年秸秆覆盖处理的净光合速率明显提升, 显著高于锯末、森林土覆盖和对照处理; 2018 年以秸秆覆、锯末覆盖处理较对照提升显著。两年内各覆盖处理叶绿素 SPAD 值均显著高于对照。

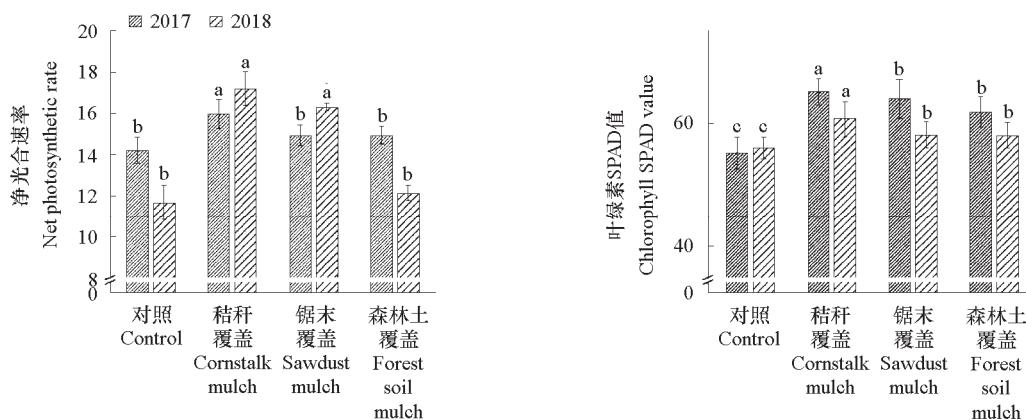


图 5 不同覆盖处理净光合速率及叶绿素 SPAD 值

Fig. 5 Net photosynthetic rate and chlorophyll SPAD value under different coverage treatments

3 讨论

3.1 覆盖对旱地苹果园土壤理化性质及酶活性的影响

覆盖在现代果业生产中作为一项高效的果树节水栽培措施已在国内外广泛应用 (Farzanian et al., 2010)。果园采取地面覆盖措施可以有效减少水分地表蒸发、径流, 同时还可以调节土壤温湿度, 改善土壤结构, 提高土壤微生物活力及土壤酶活性, 从而加快土壤物质循环, 增加土壤有机质和养分含量, 提高土壤肥力 (Lv et al., 2007; Song et al., 2011; Rodrigues et al., 2013)。前人研究的主要覆盖模式多为秸秆覆盖、生草覆盖、地膜覆盖等, 本研究在生态效益和经济效益的基础上, 以传统清耕模式为对照, 秸秆覆盖为处理的同时, 加入了锯末覆盖和森林土覆盖处理。研究表明, 采用不同有机物料对果园实施地表覆盖, 不同覆盖材料表层的土壤含水量均显著高于清耕对照 (Liu et al., 2013)。对果园进行残枝粉碎覆盖较清耕处理下土壤中总有机碳增加 16.44%、总氮增加 50%,

显著提高土壤有机质和养分含量 (Qian et al., 2015)。这样的土壤环境和养分状况有利于增加果实产量、提高果实品质。本研究结果表明, 覆盖处理在果树生长的3个时期均提高了土壤0~20 cm土层水分含量; 且随着生育期的推进, 水分含量表现为先降后升, 其原因可能为在果实膨大期, 天气干燥炎热, 地表水分蒸发严重, 到了成熟期, 雨水充足导致表层土壤水分含量升高。同时覆盖处理各时期较对照显著提高土壤有机质和全氮含量, 降低土壤pH, 以上结果与前人研究(谷艳蓉等, 2009; Guzmán et al., 2014; 周江涛等, 2014)一致。这对于改善果园土壤理化性质, 提高土壤供肥能力具有重要意义。

土壤酶活性受土壤微生物的影响, 还受环境等非生物因素的影响, 在一定程度上能表征土壤的质量状况 (Armando et al., 2012; Burns et al., 2013)。在土壤碳、氮循环过程中, 土壤蔗糖酶和脲酶发挥着重要作用; 而土壤过氧化氢酶直接影响土壤生化反应过程中的氧化还原, 参与生物呼吸过程中的物质代谢 (高秀君等, 2008)。本研究结果表明, 各覆盖处理各时期较对照均显著提高了土壤中3种酶的活性, 这与吕德国等 (2010) 的研究结果一致。秸秆覆盖下, 土壤腐殖质增加, 脲酶活性相对较高, 且通过RDA分析显示, 土壤脲酶活性、过氧化氢酶活性与土壤全氮含量以及土壤蔗糖酶活性与土壤有机质含量均呈正相关关系, 这与 Huang 等 (2008) 和杨文权等 (2014) 的研究结果一致。覆盖在一定程度上能够通过改善土壤理化状况, 使土壤微环境更适于微生物的生长繁殖, 从而促使微生物向土壤中分泌更多的酶, 加速土壤生化反应过程, 促进土壤养分的固定与释放, 提高土壤共给能力。

3.2 覆盖对旱地苹果园土壤细菌丰度变化及群落结构的影响

前人研究发现, 同不覆盖相比, 采取覆盖耕作能显著提高果园土壤细菌数量 (杨文权等, 2014), 且土壤细菌数量会随环境温度上升而增加 (张社奇等, 2004)。本研究中结果的变化规律与其一致, 各覆盖处理下土壤细菌丰富度均显著高于对照, 且随着生育期的推进, 气温先升后降, 细菌丰富度也表现为先升高后降低。果园覆盖耕作下土壤有机质含量显著增加, 这有利于促进土壤微生物的活动 (Yang et al., 2003; Tu et al., 2006), 且覆盖具有明显的保温和保水作用 (张社奇等, 2004; 伊晓宁等, 2018), 可以为土壤微生物创造相对稳定的微环境, 对提高细菌群落丰富度和多样性有积极影响 (路超等, 2013)。在本研究中, 通过细菌高通量测序发现, 不同的覆盖处理较对照清耕物种丰富度更高, 多样性也更大。3种覆盖处理的ACE指数、Chao1指数均高于对照, 意味着覆盖耕作能够提高果园土壤细菌丰度, 其中以锯末覆盖处理下土壤细菌丰度最高; 3种覆盖处理的香农指数均高于对照, 辛普森指数均低于对照, 说明覆盖耕作有效的提高了果园土壤细菌群落的物种多样性。

进一步对各覆盖处理中的细菌在门和纲分类水平上进行物种注释, 分析发现各处理下土壤优势菌门为变形菌门、酸杆菌门和放线菌门, 其相对丰度之和占到57.12%~74.72%, 这与王晓雯等 (2016) 在葡萄园土壤细菌群落结构多样性研究中的结果一致。从纲分类水平来看, α 变形菌纲、Subgroup_6、 β 变形菌纲和 δ 变形菌纲为优势菌纲, 其相对丰对之和占33.39%~43.15%。优势菌纲多为变形菌的不同种类, 可以推测变形菌主导了各分类水平下的优势菌种。翟婉璐等 (2017) 对雷竹林覆盖下土壤细菌群落结构的研究表明, 覆盖处理后土壤中变形菌门丰度明显增加, 由17.60%上升为37.77%, 尤其是该类细菌中 α 变形菌纲、 γ 变形菌纲的种群占多数, 与本研究中变化规律一致。从不同覆盖处理土壤细菌群落的 β 多样性分析结果来看, 3种覆盖处理下土壤细菌的物种组成和群落结构均异于对照, 且秸秆覆盖处理与对照的相似性更高, 森林土覆盖次之, 锯末覆盖处理对土壤细菌的物种组成和群落结构变化影响最明显。

3.3 覆盖条件下旱地苹果园土壤微生物与环境因子的关系

土壤微生物的群落组成及多样性作为土壤质量变化的敏感指标, 会受到土壤及环境等综合因素的影响 (Garcíaorenes et al., 2013)。本研究中通过对不同覆盖处理下土壤环境因子与细菌门分类水平的 RDA 显示, 果园覆盖能在一定程度上降低土壤 pH, 使土壤更偏向有利于嗜酸菌生长繁殖的酸性土壤, 且作为优势菌门的酸杆菌门与土壤 pH 呈正相关关系, 这与 Eichorst 等 (2011) 在农田土壤中的研究结果相符。放线菌作为一种腐生菌类能够分解纤维素和木质素, 因为其能够产生分解木质素的酶, 该菌还能降解秸秆、稻草等天然纤维素物质, 丰富的放线菌有利于土壤中植物有机残体的分解 (Ding et al., 2003; 宋波和邓小文, 2005)。本研究结果显示, 作为优势菌门的放线菌门与土壤有机质含量, 脲酶、蔗糖酶活性有着良好的正相关关系, 可能是由于覆盖处理下放线菌丰度增加, 有机质分解活跃, 土壤微生物活动增加进而引起相关酶活性的升高。Zhang 等 (2014) 研究表明, 土壤中碳、氮养分含量与变形菌门相对丰度存在显著正相关关系。而在本研究中, 变形菌门与各土壤环境因子并无明显相关关系, 其原因有待进一步探究。芽单胞菌属于革兰氏阳性细菌, 土壤 pH 会对其产生明显影响, 且偏好分布在近中性的土壤环境下 (Jennifer et al., 2011)。王欣 (2016) 研究表明, 芽单胞菌门丰度会受到土壤全氮增加的促进。本研究中, 3 种覆盖处理下芽单胞菌门相对丰度均高于对照, RDA 显示芽单胞菌门与土壤全氮有着极强的正相关关系, 且与土壤 pH 呈负相关关系, 与前人的研究结果相符。硝化螺旋菌门的丰度在一定程度上与土壤全氮含量呈负相关关系 (王霞, 2009), Li 等 (2011) 试验表明在烟草生长后期随着根系分泌物的增加, 土壤中硝化细菌的生长会受到一定的抑制作用。本研究中, 门分类水平下, 各覆盖处理硝化螺旋菌门相对丰度均低于对照, 且 RDA 显示, 硝化螺旋菌门与土壤全氮、有机质呈负相关关系, 这可能是由于在覆盖处理下, 土壤肥力得到提高, 且根系生境优化使得根系分泌物增加, 从而对其相对丰度产生影响。

3.4 覆盖处理对果实产量和品质的影响

苹果果实产量的高低及品质的优劣一般由品种、气候、栽培管理措施等条件决定, 合理的果园管理模式能够有效地改良土壤, 培肥地力, 改善土壤微生物生存环境, 增加其群落结构及多样性, 促进植物根系对水分和养分的吸收, 从而提高果实产量和品质, 前人研究表明, 不同覆盖模式能在不同程度上提高苹果果实的产量和品质 (Bunna et al., 2011; Teravest et al., 2011)。张义等 (2010) 研究了 5 种不同地表覆盖措施对果树生长和苹果产量的影响, 结果发现, 秸秆覆盖、砂石覆盖以及清耕无覆盖的苹果产量显著高于生草覆盖, 而地膜覆盖产量与清耕无显著差异, 其原因可能为生草覆盖下存在一定的养分竞争从而导致产量下降, 而砂石覆盖树势生长过旺, 易造成小果率高, 产量不稳定等现象。李传友等 (2016) 研究桃园残枝粉碎还田对果实产量品质的影响发现, 秸秆覆盖与残枝粉碎还田覆盖较对照清耕显著提高果实单果质量和可溶性糖含量, 且覆盖处理在着色和硬度方面均有改善。本研究中发现, 两年内实施地表覆盖措施后, 苹果产量和品质均得到不同程度的提高, 各覆盖处理较对照的百果质量、硬度及可溶性糖含量均有较大改善, 2017 年分别较对照平均提高了 8.3%、3.1% 和 7.0%; 2018 年分别较对照平均提高了 16.2%、13.1% 和 9.7%。由表 4 可以看出 2018 年较 2017 年百果质量有所下降, 其原因可能为 2018 年 4 月的冻害导致, 但 2018 年果实产量和硬度较对照增幅高于 2017 年, 说明覆盖在一定程度上可能增加果树抗逆性, 特别是果实硬度的增加, 可以有效防止落果导致的机械损伤, 减小产量损失。此外, 覆盖处理较对照提高了果树净光合速率以及叶绿素 SPAD 值, 且两年结果一致。表明覆盖措施可能促进了叶片对氮素的利用, 维持后期叶片不早衰, 有利于果实膨大期和成熟期光合能力的保持。这也与覆盖措施能够提高果实产量和改善结

果相符。

本研究结果表明,果园中采用覆盖耕作可以通过改善土壤的理化性质和酶活性,进而对土壤中的细菌群落产生影响;反过来土壤细菌群落结构及多样性的变化又会对土壤的养分状况产生积极地反馈,形成良性循环过程,这对于果树生长发育及果实产量品质的提升有积极的作用。综合表现为,秸秆覆盖和森林土覆盖对果实产量品质提升明显,锯末覆盖对土壤微生物群落结构及多样性改善显著。另一方面,由于黄土高原地区地农田退化,秸秆资源会逐渐变得匮乏,覆盖成本会逐渐增加;本研究中所用的果树修剪的残枝粉碎形成的锯末资源,资源充足、可再生且成本较低,生态效益显著;而森林土覆盖由于前期投入较大,果农自身难以负担;且微生物发挥的作用需要较长时间才能显现,因此,从长期效益来看锯末有望成为替代秸秆资源的一种新兴果园覆盖模式。

本研究中仅对果园土壤细菌群落进行分析,土壤微生物组成复杂多样,影响因素较多,对果园覆盖耕作下土壤其他微生物类群还有待进一步研究分析,以期为更科学地管理果园提供新的思路。

References

- Armando P, Cristina M M, Stefano M, Stefano G, Anna B. 2012. Assessment of soil microbial functional diversity in a coppiced forest system. *Applied Soil Ecology*, 62: 115 – 123.
- Bao Shi-dan. 2000. Soil and agricultural chemistry analysis. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 鲍士旦. 2000. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社.
- Bonilla N, CazorlaF M, Martínez A M, Hermoso J M, González-Fernández J J, Gaju N, Landa B B, de Vicente A. 2012. Organic amendments and land management affect bacterial community composition, diversity and biomass in avocado crop soils. *Plant and Soil*, 357 (1 – 2): 215 – 226.
- Bunna S, Sinath P, Makara O, Itchell J, Fukai S. 2011. Effects of straw mulch on mungbean yield in rice fields with strongly compacted soils. *Field Crop Research*, 124: 295 – 301.
- Burns R G, Deforest J L, Marxsen J, Sinsabaugh R L, Stromberger M E, Wallenstein M D, Weintraub M N, Zoppin A. 2013. Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil Biology & Biochemistry*, 58: 216 – 234.
- Cao Yu, Li Jun, Zhang She-hong, Wang Ya-li, Cheng Ke, Wang Xue-chun, Tahie M N. 2012. Characteristics of deep soil desiccation of apple orchards in different weather and landform zones on the Loess Plateau in China. *Transactions of the Chinese Society of Agriculture Engineering*, 28 (15): 72 – 79. (in Chinese)
- 曹 裕, 李 军, 张社红, 王亚莉, 程 科, 王学春, Tahir M N. 2012. 黄土高原苹果园深层土壤干燥化特征. *农业工程学报*, 28 (15): 72 – 89.
- Ding S Y, Adney W S, Vinzant T B, Decker S R, Baker J O, Thomas S R, Himmel M E. 2003. Glycoside hydrolase gene cluster of *Acidothermus cellulolyticus*. *AcS Sym Ser*, 855: 332 – 360.
- Eichorst S A, Kuske C R, Schmidt T M. 2011. Influence of plant polymers on the distribution and cultivation of bacteria in the phylum Acidobacteria. *Applied & Environmental Microbiology*, 77 (2): 586.
- Farzanian R, Ghanbari S, Pirdasht H, Niknejhad Y. 2010. Determination of different cover crop efficiency for weed control in citrus orchard. *International Conference on Chemistry and Chemical Engineering*, 2010: 315 – 317.
- Gao Xiu-jun, Zhang Ren-zhi, Yang Zhao-di. 2008. Effects of different tillage practices on the dynamics of soil enzyme activities in dryland. *Chinese Journal of Soil Science*, 39: 1012 – 1016. (in Chinese)
- 高秀君, 张仁陟, 杨招弟. 2008. 不同耕作方式对旱地土壤酶活性动态的影响. *土壤通报*, 39: 1012 – 1016.
- Gao Ying-mei, Liu He, Ji Chang-jun, Wang Zhong-ying, Qi Su-ping. 2000. Effects of coverage on the annual change of ammonia bacteria in orchard soil. *Chinese Journal of Soil Science*, 31 (6): 273 – 274. (in Chinese)
- 高英美, 刘 和, 冀长军, 王中英, 邱素萍. 2000. 覆盖对果园土壤氨化细菌数量年变化的影响. *土壤通报*, 31 (6): 273 – 274.
- Garcíaorenes F, Morugácoronado A, Zornoza R, Scow K. 2013. Changes in soil microbial community structure influenced by agricultural

- management practices in a Mediterranean Agro-Ecosystem. PLoS ONE, 8 (11): e80522.
- Gu Yan-rong, Zhang Hai-ling, Hu Yan-hong. 2009. Effect of natural grasses cover on soil properties and yield and quality of peach. Pratacultural Science, 26 (12): 103 – 107. (in Chinese)
- 谷艳蓉, 张海伶, 胡艳红. 2009. 果园自然生草覆盖对土壤理化性状及大桃产量和品质的影响. 草业科学, 26 (12): 103 – 107.
- Guan Song-yin. 1986. Soil enzymes and their research. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 关松荫. 1986. 土壤酶及其研究法. 北京: 农业出版社.
- Guzmán G, Giráldez J V, Gómez J A. 2014. Short term effect of conventional tillage and cover crops in physical and chemical properties in two olive orchards of southern Spain. Geophysical Research Abstracts, 16: 799 – 783.
- Hartwig N L, Ammon H U. 2002. Cover crops and living mulches. Weed Science, 50 (6): 688 – 699.
- Huang Z, Xu Z, Chen C. 2008. Effect of mulching on labile soil organic matter pools, microbial community functional diversity and nitrogen transformations in two hardwood plantations of subtropical Australia. Applied Soil Ecology, 40 (2): 229 – 239.
- Huws S A, Edwards J E, Kim E J, Scollan N D. 2007. Specificity and sensitivity of eubacterial primers utilized for molecular profiling of bacteria within complex microbial ecosystems. Journal of Microbiological Methods, 70 (3): 565 – 569.
- Jennifer M D, Lauren T N, Mariam N F, Amy M J, Mark R. 2011. Global biogeography and quantitative seasonal dynamics of Gemmatimonadetes in soil. Applied and Environmental Microbiology, 77 (17): 6295.
- Kou Jian-cun, Yang Wen-quan, Han Ming-yu, Guo Ning, He Lu-lu. 2013. Effects of interplanted legumes in apple orchard on soil microbial population and enzyme activities. Acta Agrestia Sinica, 21 (4): 676 – 682. (in Chinese)
- 寇建村, 杨文权, 韩明玉, 郭 宁, 贺璐璐. 2013. 行间种植豆科牧草对苹果园土壤微生物区系及土壤酶活性的影响. 草地学报, 21 (4): 676 – 682.
- Li Cheng-hui, Liu Zhi, Wang Hong, Yu Nian-wen, Zhang Xiu-mei, Sun Qi-zhen. 2016. Status analysis and key technology of high efficiency of apple industry in China. Northern Horticulture, (3): 174 – 177. (in Chinese)
- 里程辉, 刘 志, 王 宏, 于年文, 张秀美, 孙启振. 2016. 我国苹果的产业现状分析及节本增效关键技术. 北方园艺, (3): 174 – 177.
- Li Chuan-you, Xiong Bo, Zhang Li, Jiang Bin, Gao Jiao, Li Zhi-guo, Wang Qing-jie. 2016. Ploughing the stalks of Taoyuan to restore soil physical and chemical properties and improve peach quality. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 14 (32): 161 – 167. (in Chinese)
- 李传友, 熊 波, 张 莉, 蒋 彬, 高 娇, 李治国, 王庆杰. 2016. 桃园残枝粉碎还田改善土壤理化性状提高桃品质. 农业工程学报, 14 (32): 161 – 167.
- Li X L, Gu Y F, Zhang X P, Tu S H, Wu R J. 2011. Nitrobacteria community and diversity in the rhizosphere soil of mature tobacco. Scientia Agricultura Sinica, 44 (12): 2462 – 2468.
- Liu Ling-zhi, Lü De-guo, Qin Si-jun, Ma Huai-yu, Du Guo-dong, Liu Guo-cheng. 2011. Carbon catabolic characteristics about the soil dominant bacteria from ‘Hanfu’ apple orchard with herbage-mulching management. Acta Horticulturae Sinica, 38 (10): 1837 – 1846. (in Chinese)
- 刘灵芝, 吕德国, 秦嗣军, 马怀宇, 杜国栋, 刘国成. 2011. 生草覆盖‘寒富’苹果园土壤优势细菌的碳代谢特征研究. 园艺学报, 38 (10): 1837 – 1846.
- Liu Y, Gao M, Wu W, Tanveer S K, Wen X, Liao Y. 2013. The effects of conservation tillage practices on the soil water-holding capacity of a non-irrigated apple orchard in the Loess Plateau, China. Soil & Tillage Research, 130: 7 – 12.
- Lu Chao, Li Xu-hua, Dong Jing, Song Zhen-zhen, Wang Hong-fei, Xu Jiu-kai. 2013. Effect of orchard mulching treatments on water conservation, soil nutrients and microbial characteristics under subsurface irrigation. Journal of Soil and Water Conservation, 27 (6): 134 – 139. (in Chinese)
- 路 超, 李絮花, 董 静, 宋震震, 王洪飞, 徐久凯. 2013. 渗灌条件下果园覆盖的保水效果及对根际土壤养分和微生物特性的影响. 水土保持学报, 27 (6): 134 – 139.
- Lü De-guo, Zhao Xin-yang, Ma Huai-yu, Wang Wan-xin. 2010. Effects of straw mulch on soil nutrient and microbial biomass of apple orchard. Guizhou Agricultural Sciences, 38: 104 – 107. (in Chinese)
- 吕德国, 赵新阳, 马怀宇, 王万新. 2010. 覆草对苹果园土壤养分和微生物的影响. 贵州农业科学, 38: 104 – 107.
- Lv D G, Li F D, Qin S J, Cui Y, Liu G C, Wang Y X. 2007. Effect of mowing on ecological factors of near-surface grassfield in grass covered orchard.

- Northern Horticulture, (11): 37 – 39.
- Mays N, Rom C R, Brye K R, Savin M C, Garcia M E. 2015. Groundcover management system and nutrient source impacts on soil quality indicators in an organically managed apple (*Malus × domestica* Borkh.) orchard in the ozark highlands. HortScience, 50 (2): 295 – 303.
- Mitchell J P, Thomsen C D, Graves W L, Shennan C. 2010. Cover crops for saline soils. Journal of Agronomy & Crop Science, 183 (3): 167 – 178.
- Qian X, Gu J, Pan H J, Zhang K Y, Sun W, Wang X J, Gao H. 2015. Effects of living mulches on the soil nutrient contents, enzyme activities, and bacterial community diversities of apple orchard soils. European Journal of Soil Biology, 70: 23 – 30.
- Rodrigues M Â, Correia C M, Claro A M, Ferreira I Q, Barbosa J C, Moutinho-Pereira J M, Bacelar E A, Fernandes-Silva A A, Arrobas M. 2013. Soil nitrogen availability in olive orchards after mulching legume cover crop residues. Scientia Horticulturae, 158 (4): 45 – 51.
- Stach J E M, Maldonado L A, Masson D G, Ward A C, Goodfellow M, Bull A T. 2003. Statistical approaches for estimating actinobacterial diversity in marine sediments. Applied & Environmental Microbiology, 69 (10): 6189.
- Sun Xia, Chai Zhong-ping, Jiang Ping-an, Jin Jun-xiang, Jia Ma-li, Fang Lei. 2011. Effects of soil managements on soil physical and chemical properties of the apple orchard in the South of Xinjiang. Pratacultural Science, 28 (2): 189 – 193. (in Chinese)
孙 霞, 柴仲平, 蒋平安, 金俊香, 加玛丽, 方 雷. 2011. 土壤管理方式对苹果园土壤理化性状的影响. 草业科学, 28 (2): 189 – 193.
- Song B Z, Zhang J, Hu J H, Wu H Y, Kong Y, Yao Y C. 2011. Temporal dynamics of the arthropod community in pear orchards intercropped with aromatic plants. Pest Management Science, 67 (9): 1107 – 1114.
- Song Bo, Deng Xiaowen. 2005. Study on solid -phase fermentation of a actinomycetes decomposing cellulose. Biotechnology, 15 (6): 71 – 74. (in Chinese)
- 宋 波, 邓小文. 2005. 一株能分解纤维素放线菌的固态发酵研究. 生物技术, 15 (6): 71 – 74.
- Tu C, Ristaino J B, Hu S. 2006. Soil microbial biomass and activity in organic tomato farming systems: effects of organic inputs and straw mulching. Soil Biology & Biochemistry, 38 (2): 247 – 255.
- Teravest D, Smith J L, Carpenter-Boggs L, Granatstein D, Hoagland L, Reganold J P. 2011. Soil carbon pools, nitrogen supply, and tree performance under several groundcovers and compost rates in a newly planted apple orchard. Hortscience, 46 (12): 1687 – 1694.
- Wang Xia. 2009. Effect of long-term fertilization on bacterial diversity in a red paddy soil [M. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 王 霞. 2009. 长期施肥对红壤性水稻土细菌多样性的影响[硕士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Wang Xiao-wen, Hong Zhen-han, Liu An-rui, Luo Li-xin. 2016. Analysis of bacterial community structure in vineyard soil by RT-PCR and high throughput sequencing. Liquor-Making Science &Technology, 269: 28 – 33. (in Chinese)
- 王晓雯, 洪振瀚, 刘安瑞, 罗立新. 2016. 基于荧光定量 PCR 和高通量测序技术的葡萄园土壤细菌群落结构多样性分析. 酿酒科技, 269: 28 – 33.
- Wang Xin. 2016. Effects and mechanisms of simulated herbivore foraging on soil microbial community in grassland [M. D. Dissertation]. Jilin: Northeast Normal University. (in Chinese)
- 王 欣. 2016. 模拟动物采食对草地土壤微生物群落特征的作用及其机制[硕士论文]. 吉林: 东北师范大学.
- Wang Xuan, Liu Jun-di, Shao Li-qun, Yan Zhen-yu, Han Ming-yu, Huo Xue-xi. 2018. Annual development status trends and suggestions of apple industry in China. China Fruits, (3): 101 – 104, 108. (in Chinese)
- 王璇, 刘军弟, 邵砾群, 闫振宇, 韩明玉, 霍学喜. 2018. 我国苹果产业年度发展状况及其趋势与建议. 中国果树, (3): 101 – 104, 108.
- Wang Yue-kun, Hong Kui. 2005. Mangrove soil community analysis using DGGE of 16S rDNA V3 fragment polymerase chain reaction products. Acta Microbiologica Sinica, 45 (2): 201 – 204. (in Chinese)
- 王岳坤, 洪 葵. 2005. 红树林土壤细菌群落 16S rDNA V3 片段 PCR 产物的 DGGE 分析. 微生物学报, 45 (2): 201 – 204.
- Wen Xiao-xia, Yin Rui-jing, Gao Mao-sheng, Ai Sui-long. 2011. Spatiotemporal dynamics of soil enzyme activities and microbes in apple orchard soil under different mulching managements. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 20 (11): 82 – 88. (in Chinese)
- 温晓霞, 殷瑞敬, 高茂盛, 艾绥龙. 2011. 不同覆盖模式下旱作苹果园土壤酶活性和微生物数量时空动态研究. 西北农业学报, 20 (11):

- 82 – 88.
- Yang Wen-quan, Kou Jian-cun, He Lu, Han Ming-yu. 2014. Effects of different mulching patterns on the amounts of soil microorganisms and the activities of enzymes after ridging in apple orchard. *Chinese Journal of Soil Science*, 45 (6): 1377 – 1382. (in Chinese)
- 杨文权, 郭建春, 何璐, 韩明玉. 2014. 起垄后不同覆盖方式对苹果园土壤微生物和酶活性的影响. 土壤通报, 45 (6): 1377 – 1382.
- Yang Y J, Dungan R S, Ibekwe A M, Valenzuela-Solano C, Crohn D M, Crowley D E. 2003. Effect of organic mulches on soil bacterial communities one year after application. *Biology & Fertility of Soils*, 38 (5): 273 – 281.
- Yi Xiao-ning, Liu Xing-lu, Dong Tie, Niu Jun-qiang, Sun Wen-tai, Ma Ming. 2018. Effects of different mulching materials on soil and near-surface environment and of apple orchard tree growth. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 26 (1): 83 – 95. (in Chinese)
- 尹晓宁, 刘兴禄, 董铁, 牛军强, 孙文泰, 马明. 2018. 苹果园不同覆盖材料对土壤与近地微域环境及树体生长发育的影响. 中国生态农业学报, 26 (1): 83 – 95.
- Zhai Wan-lu, Zhong Zhe-ke, Gao Gui-bin, Yang Hui-min. 2017. Influence of mulching management on soil bacterial structure and diversity in *Phyllostachys praecox* Stands. *Scientia Silvae Sinicae*, 53 (9): 133 – 142. (in Chinese)
- 翟婉璐, 钟哲科, 高贵宾, 杨慧敏. 2017. 覆盖经营对雷竹林土壤细菌群落结构演变及多样性的影响. 林业科学, 53 (9): 133 – 142.
- Zhao Zuo-ping, Tong Yan-an, Liu Fen, Wang Xiao-ying, Zeng Yan-juan. 2012. Assessment of current conditions of household fertilization of apples in Weibei Plateau. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 20 (8): 1003 – 1009. (in Chinese)
- 赵佐平, 同延安, 刘芬, 王小英, 曾艳娟. 2012. 渭北旱塬苹果园施肥现状分析评估. 中国生态农业学报, 20 (8): 1003 – 1009.
- Zhang Chao, Li Ai-mei, Zhou Xu, Zhang Ling, Lin Hao-ran, Zhang Li-xin, Zhang Hai. 2017. Effect of different ground-mulching patterns on soil physicochemical properties and yield and fruit quality in non-irrigated apple orchard in Weibei Highland. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 26 (4): 609 – 616. (in Chinese)
- 张超, 李爱梅, 周旭, 张玲, 林浩然, 张立新, 张海. 2017. 地面覆盖对渭北旱地苹果园土壤理化性质与果实产量、品质的影响. 西北农业学报, 26 (4): 609 – 616.
- Zhang H F, Song X L, Wang C L, Liu H M, Zhang J N, Li Y J, Li G, Yang D L, Zhao S L. 2013. The effects of different vegetation restoration patterns on soil bacterial diversity for sandy land in Hulunbeier. *Acta Ecologica Sinica*, 33 (4): 211 – 216.
- Zhang J. 2003. Current situation of apple industry in China and the strategy for development. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 7 (3): 72 – 74.
- Zhang J F, Pang S, Qu T B. 2014. Effect of grazing intensity on carbon source utilization of soil microorganism in rhizosphere of community in Songnen Grassland. *Pratacultural Science*, 31 (8): 1430 – 1436.
- Zhang She-qi, Wang Guo-dong, Tian Peng, Guo Man-cai. 2004. Distributive feature of soil microorganism of *Robinia pseudoacacia* L. plantation forestland in Loess Plateau. *Journal of Soil and Water Conservation*, 18 (6): 128 – 131. (in Chinese)
- 张社奇, 王国栋, 田鹏, 郭满才. 2004. 黄土高原刺槐林地土壤微生物的分布特征. 水土保持学报, 18 (6): 128 – 131.
- Zhang Yang, Ni Jiu-pai, Xie De-ti. 2013. Advances on Soil ecological effects of orchards covering. *Agricultural Engineering*, 3 (6): 1 – 6. (in Chinese)
- 张洋, 倪九派, 谢德体. 2013. 果园覆盖土壤生态效应研究进展. 农业工程, 3 (6): 1 – 6.
- Zhang Yi, Xie Yong-sheng, Hao Ming-de, She Xiao-yan. 2010. Effect of different patterns surface mulch on soil properties and fruit trees growth and yield in an apple orchard. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 21 (2): 279 – 286. (in Chinese)
- 张义, 谢永生, 郝明德, 摄晓燕. 2010. 不同地表覆盖方式对苹果园土壤性状及果树生长和产量的影响. 应用生态学报, 21 (2): 279 – 286.
- Zheng W, Gong Q, Zhao Z, Liu J, Zhai B, Wang Z, Li Z. 2018. Changes in the soil bacterial community structure and enzyme activities after intercrop mulch with cover crop for eight years in an orchard. *European Journal of Soil Biology*, 86: 34 – 41.
- Zhou Jiang-tao, Lü De-guo, Qin Si-jun. 2014. Effects of different organic matter mulching on water content, temperature, and available nutrients of apple orchard soil in a cold region. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 25 (9): 2551 – 2556. (in Chinese)
- 周江涛, 吕德国, 秦嗣军. 2014. 不同有机物覆盖对冷凉地区苹果园土壤水温环境及速效养分的影响. 应用生态学报, 25 (9): 2551 – 2556.