

岩溶区植被和季节对土壤微生物遗传多样性的影响

何寻阳^{1,2}, 王克林^{1,*}, 于一尊^{1,2}, 张伟¹, 陈志辉^{1,2}

(1. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 长沙 410125; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100039)

摘要: 基于土壤微生物遗传多样性随植被和季节的变化而变化的假设, 运用变性梯度凝胶电泳技术 (DGGE) 检测岩溶区草丛 (T)、灌丛 (S)、次生林 (SF) 和原生林 (PF) 群落演替过程中土壤细菌和真菌群落的遗传多样性及其季节变化。随着地上植被的演替土壤细菌群落具有连续性但优势种群不明显, 真菌群落没有连续性但优势种群明显。植被和季节对于细菌和真菌群落的 Shannon 多样性具有不同程度的显著影响, 同时存在显著的植被和季节交互作用。草丛土壤中细菌和真菌群落的 Shannon 多样性有显著的季节变化 ($p < 0.01$); 灌丛土壤中仅细菌群落多样性有显著季节变化 ($p < 0.05$); 而森林土壤中细菌和真菌群落多样性没有显著的季节变化。土壤真菌和细菌多样性具有显著正相关关系。随着地上植被的正向演替, 土壤微生物遗传结构逐渐稳定; 植被恢复早期阶段, 土壤中存在着丰富的微生物遗传多样性, 但并不稳定。

关键词: 微生物多样性; PCR-DGGE; 季节变化; 植被效应

文章编号: 1000-0933(2009)04-1763-07 中图分类号: Q143 文献标识码: A

The responses of soil microbial taxonomic diversity on vegetation communities and seasons in karst area

HE Xun-Yang^{1,2}, WANG Ke-Lin^{1,*}, YU Yi-Zun^{1,2}, ZHANG Wei¹, CHEN Zhi-Hui^{1,2}

1 Institute of Subtropical Agriculture, Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China

2 Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(4): 1763 ~ 1769.

Abstract: The hypotheses that soil microbial taxonomic diversity responds with different vegetations and seasons, four successional communities: Tussock (T), shrub (S), secondary forest (SF) and primary forest (PF), were tested in Huanjiang county, southwest China. The total soil microbial DNA was extracted, following the amplification of bacterial 16S and fungal 18S rDNA, and get fingerprinting by denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) in order to determine for these communities. In reverse with the soil bacterial communities, the soil fungal ones presented obviously dominant phylotypes but no continuity along successional ongoing. Significant effects of vegetation on soil microbial diversity measured by Shannon index ($p < 0.05$, $p < 0.001$, respectively), but no prominent trends along successional process, were examined. Bacterial and fungal diversity also significantly affected by seasonal exchanges ($p < 0.001$, $p < 0.001$, respectively), further more, these shifts ($p < 0.01$) of diversity in T soil other than in SF and PF soils were observed. Meanwhile, there exist some interaction effects between the vegetation and the season. Significant seasonal shifts ($p < 0.01$) in microbial taxonomic diversity in T soil, but not SF and PF soils were detected. Significant positive correlations were found between bacterial and fungal taxonomic diversities. Soil microbial taxonomic diversity gets steadier along vegetation succession and, in early restoration stage of degradation ecosystem in karst area, large but unstable microbial diversity exists in soils.

基金项目: 中国科学院西部行动计划资助项目 (KZCX2-XB2-08); 国家重点基础研究发展计划资助项目 (2006CB403208)

收稿日期: 2007-11-02; **修订日期:** 2008-06-23

致谢: 感谢中国科学院生态环境研究中心土壤室提供 PCR-DGGE 分析设备; 感谢广西植物研究所苏宗明老师协助植物分类鉴定工作及广西右江医学院黄元河协助野外植被调查。

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: kelin@isa.ac.cn

Key Words: microbial diversity; PCR-DGGE; seasonal variation; vegetation effects

土壤微生物通过参与营养物质循环、有机质的降解和能量流动而对生态系统的功能具有极其重要的作用^[1],尽管土壤微生物存在生态功能冗余的现象,但其多样性对维持土壤生态系统的功能至关重要^[2~4]。近年来,土壤微生物和地上植被之间的相互作用成为生态研究的热点之一,研究显示地上植被和地下微生物间具有正负反馈的互作机制^[5];土壤微生物和宏观生命现象一样,具有非随机的“共出现”的特征^[6]。

岩溶生境是一类仅次于沙漠边缘地区的脆弱生态系统,西南岩溶区面积 55 万 km²,是世界三大连片岩溶区之一^[7]。巨大的人口和环境压力使该区生态环境受到严重的破坏,约 10.5 万 km² 受到严重石漠化威胁,

并且石漠化仍在进一步加剧^[8]。如何遏制石漠化所造成的生态环境恶化已成为各级政府和相关部门的当务之急。本实验研究试图通过对典型岩溶植被演替过程中土壤微生物遗传多样性的变化揭示其对地上植被与季节变化的响应,以期为喀斯特地区生态恢复,石漠化治理提供理论依据。

1 研究区自然概况

研究区位于广西环江毛南族自治县下南乡古周村(24°50' N, 107°55' E),属典型的喀斯特峰丛洼地景观,地形起伏较大,最低点海拔 376 m,最高点海拔 816 m。该区属亚热带季风区,年平均气温 16.5 ~ 20.5 °C,多年平均降雨量为 1389 mm,但季节分布不均,从 4 月下旬开始至 8 月底或 9 月初为雨季,常出现涝灾;9 月至翌年 3 月份为旱季,常受到干旱威胁。研究区土壤主要为碳酸盐岩发育的石灰土,土地总面积 186.7 hm²,其中耕地 17.3 hm²,主要分布在洼地,25°C 以上坡地占坡地面积的 80% 以上,坡地土层薄且不连续。研究区山地植被退化严重,以灌木、藤本以及蕨类为主,森林覆盖率仅为 13%。自 20 世纪 60 年代以来,由于人口快速增长带来的压力,引发过度陡坡开垦,造成长年水土流失,石漠化趋势明显,生态环境十分脆弱,属国家移民迁出区和西部“退耕还林还草区”。

2006 年 6 月,通过实地勘察,在研究区选取具有代表性的优势植被演替群落:草丛 3 个、灌丛和次生林各 1 个,同时在邻近研究区的广西木伦自然保护区选取 1 个原生林样地顶级群落作为对照。在各群落中央选取代表性的样地各一块(草丛(T) 5 m × 5 m,灌丛(S) 20 m × 10 m,次生林(SF)和原生林(PF) 40 m × 20 m)。每块样地(除草丛外)分成面积相等的 4 个小样方(灌丛 10 m × 5 m,森林 20 m × 10 m)并调查植被组成。样地的基本信息和优势物种如表 1。

表 1 样地基本信息及植物优势物种

Table 1 Site descriptions and dominant floral species in the experimental communities

植被类型 Vegetation types	恢复年限 Restoration Time(a)	干扰状态 Disturbance condition	利用历史 Land use history	海拔 Altitude (m)	坡度 Slope (°)	坡向 Aspect	样地优势物种 Dominant species
草丛 T	2~3	干扰严重	玉米黄豆轮作地	378	<5	-	白茅,卷柏,地瓜榕等 ¹⁾ 漫生绣竹,飞蓬,类芦等 ²⁾ 水蔗草,过路黄,飞蓬等 ³⁾
灌丛 S	18	较少干扰	材薪地,无耕种	509	30~35	东	羊蹄甲,构树,野葛,白茅等 ⁴⁾
次生林 SF	50	少干扰	材薪地,无耕种	421	40~45	西南	羊蹄甲,粉苹婆,九龙藤, 肾蕨等 ⁵⁾
原生林 PF	>100	无干扰	保护区森林	527	35~40	东南	圆果化香,小檗树,密花树,贵州 悬竹,苔草等 ⁶⁾

1) *Imperata cylindrica*, *Selaginella delicatula*, *Ficus tikoua*, etc; 2) *Microstegium vegans*, *Erigeron acer*, *Neyraudia reynaudiana*, etc; 3) *Apluda mutica*, *Lysimachia alfredii* var. *Erigeron acer*, etc; 4) *Bauhinia brachycarpa* var. *cavaleriei*, *Broussonetia papyrifera* *Pueraria lobata*, *Imperata cylindric*, etc; 5) *Bauhinia brachycarpa* var. *cavaleriei*, *Sterculia euosina*, *Bauhinia championii* var. *championii*, *Nephrolepis auriculata*, etc; 6) *Platycarya longipes*, *Boniodendron minius*, *Rapanea neriifolia*, *Ampelocalamus calcareous*, *Carex* sp., etc;

2 研究方法

2.1 土壤样品采集及分析

2006 年 6 月(雨季)和 12 月(旱季),除草丛外,在上述每块样地中随机选择 3 块小样方并在每个小样方

中沿“S”型路线采集 5~8 个点(去除表层的枯枝落叶)的 0~15 cm 表层土壤混合成一个样品,土壤采集后置于便携式冰盒中带回实验室,去掉可见植物残根和粗石粒后,过 2 mm 筛后混合均匀,利用四分法将其分成 3 份,一份置于 -70℃ 用于土壤微生物组成分析;一份自然风干用于土壤理化性质的分析,其分析方法见文献^[9];另一份置于 4℃ 备用。土壤的基本理化性质如表 2。

表 2 不同演替阶段植被下土壤基本理化性质*

Table 2 Mean values of soil parameters in the successional ecosystems*

理化性质 Physiochemical properties	pH (1:2.5 H ₂ O)	含水量 Water content	有机质 SOM (g·kg ⁻¹)	阳离子交换量 CEC (cmol·kg ⁻¹)	全磷 Total P (g·kg ⁻¹)	全氮 Total N (g·kg ⁻¹)	粘粒 Clay (<0.002 mm)	容重 Bulk density (kg·dm ⁻³)
草丛 T	6.82b	26% c	22.73c	9.88b	0.63b	1.16c	28.35% b	1.35a
灌丛 S	7.72a	30% bc	59.90b	28.05a	0.84a	3.53b	51.20% a	1.17b
次生林 SF	7.24ab	36% b	97.48a	34.62a	0.86a	5.68a	47.88% a	0.88c
原生林 PF	7.99a	48% a	90.04a	32.56a	0.41c	4.82a	45.03% a	0.86c

* 表中数据为 2006 年 6 月 3 个重复样品的平均值,同一列中不同字母表示处理间有显著性差异($p < 0.05$, Duncan 检验) * The data are the means of three replicates sampled in June 2006; the values in a column with the same letter are not significantly different at $p < 0.05$ (Duncan)

2.2 土壤 DNA 提取与 PCR-DGGE

依据试剂盒附带的操作指南,利用土壤 DNA 快速提取专用试剂盒(BIO101, Vista, CA)从 0.5 g 新鲜土壤中提取的土壤总 DNA,然后对产物用 DNA 纯化试剂盒(BIO101)纯化,经 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测并测定其核酸浓度后分装备用。PCR 反应在 PTC-100PCR 仪中进行。

细菌 16S DNA PCR 扩增引物为 F984GC(5'-AACGCGAAGAACCTTAC-3')^[11]和 R1378(5'-CGGT-GTGTA-CAAGGCCCGGGAACG-3')^[12];真菌 18SDNA PCR 引物为 GCfung(5'-GTAGTCATATGCTTGTC-TC-3')和 NS1(5'-ATTCCCCGTTACCCGTTG-3')^[13]。在 F984GC 和 GCfung 中 5' 端 GC 夹序列为 5'-CGCCCCGGGCGCGC-CCCCGGCGGGCGGGGCGACGGGGG-3'^[14]。细菌(或真菌)PCR 反应体系均为 50μL,其组成是,1.5mM MgCl₂,0.02% 牛血清,200 nmol·L⁻¹(或 400 nmol·L⁻¹)各引物,200 μmol·L⁻¹ dNTPs 混合物(10 mmol·L⁻¹)(QIAGEN, Germany),1.5U 热启动 DNA 聚合酶(QIAGEN, Germany),1(或 4)μL 稀释成 10 倍后的土壤总 DNA 模板(5~30 ngμL⁻¹),加双蒸水至总体积 50μL。细菌降落 PCR 循环参数根据 Gelsomino 的报道稍作修改^[10],即将启动温度和时间改为 95℃ 15min(与热启动酶匹配)。真菌 PCR 循环参数如下:95℃ 15 min;95℃ 1 min,57℃ 1 min,72℃ 2 min,35 个循环;68℃ 延伸保育 10 min 后冷却至 4℃。PCR 产物于 1.0% 的琼脂糖电泳检测后用于 DGGE。

DGGE 在 Bio-Rad 通用突变检测系统中进行。将 20μL 细菌(真菌)PCR 产物加在 6%(8%)含变性梯度 40%~60%(15%~35%)的聚丙烯酰胺凝胶点样孔(100% 的变性剂相当于 7 mol·L⁻¹ 尿素和体积分数 40% 的去离子甲酰胺的混合物)。在 1×TAE 中,60℃、100 V 电泳 7 h 后,取出经 EB 染色后在凝胶紫外自动成像系统中拍照(SYNGENE Inc., USA)。

利用 Quantity one 软件(条带识别容忍度 1%)对 DGGE 图谱进行处理,基于条带的有无以获得各泳道(样品)的相似性和进行数学未成对加权聚类分析(UPGMA)^[15],并计算 Shannon 多样性指数 $H' = - \sum p_i \ln p_i$, p_i 为某一条带密度在所有条带密度百分比^[16]。

以植被和季节作为处理因子,利用 SPSS11.5 软件对上述多样性指标进行双因素方差分析并进行处理间多重比较与 Duncan 检验。

3 结果

3.1 细菌和真菌群落 DGGE 指纹

不同植被演替阶段土壤细菌和真菌群落的 DGGE 指纹如图 1,利用 Quantity one 软件对其条带自动识别条带并进行数学平均未加权成对聚类分析(UPGMA)后结果如图 2。在草丛和灌丛土壤中,细菌群落组成表

现出较大的变异性,相似性分别为 42% ~66%, 42% ~86%, 同时表现出明显的季节变化;而在原生林土壤中细菌群落变异性较小,其相似性为 59% ~76%, 与其余类土壤微生物群落明显分开。可以粗略的将土壤细菌群落分为 4 组:雨季草、灌丛, 旱季草、灌丛, 次生林和原生林土壤微生物群落(图 1 左)。土壤真菌群落的 DGGE 指纹明显与细菌的不同,无论是处理之间还是各重复间都表现出更大的变异性,并且有明显的优势种(图 1 右)。UPGMA 结果表明,4 种处理间的真菌群落不能较好分开,原生林土壤真菌群落具有更大的变异性(相似性仅为 12% ~50%),无法和其余土壤真菌群落明显分开。

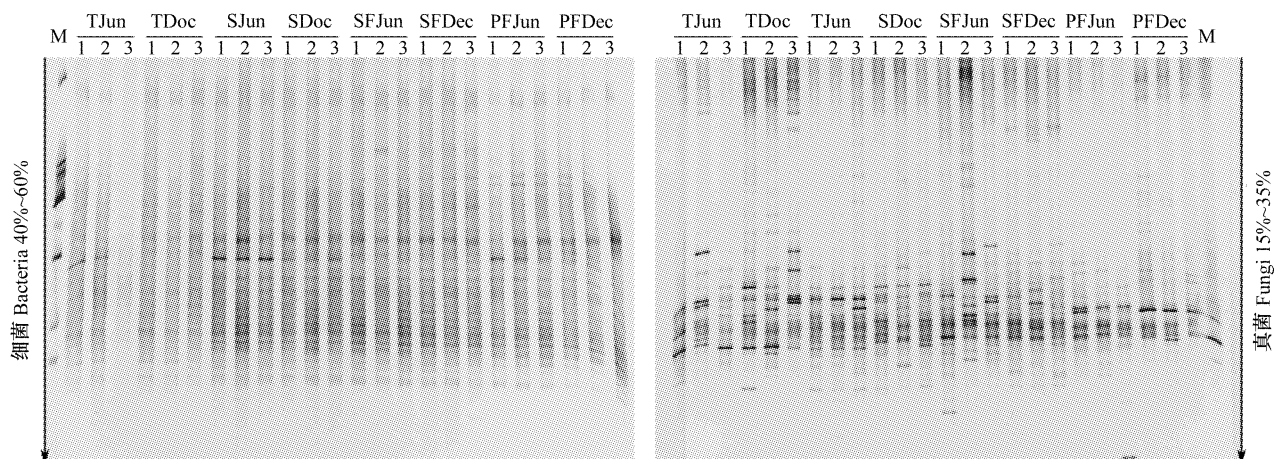


图 1 植被不同演替阶段土壤细菌(左)和真菌(右)PCR-DGGE

Fig. 1 DGGE fingerprints of PCR-amplified 16S (left) and 18S (right) rDNA sequences from directly extracted soil microbial community DNA. Capital letters denote vegetation successional stages (T: tussock, S: shrub, SF: secondary forest, PF: primary forest) and subscripts months of sampling. Numbers stand for replicate soil samples. M refers to the 100bp DNA ladder for bacteria and a collection of previously detected fungi, respectively

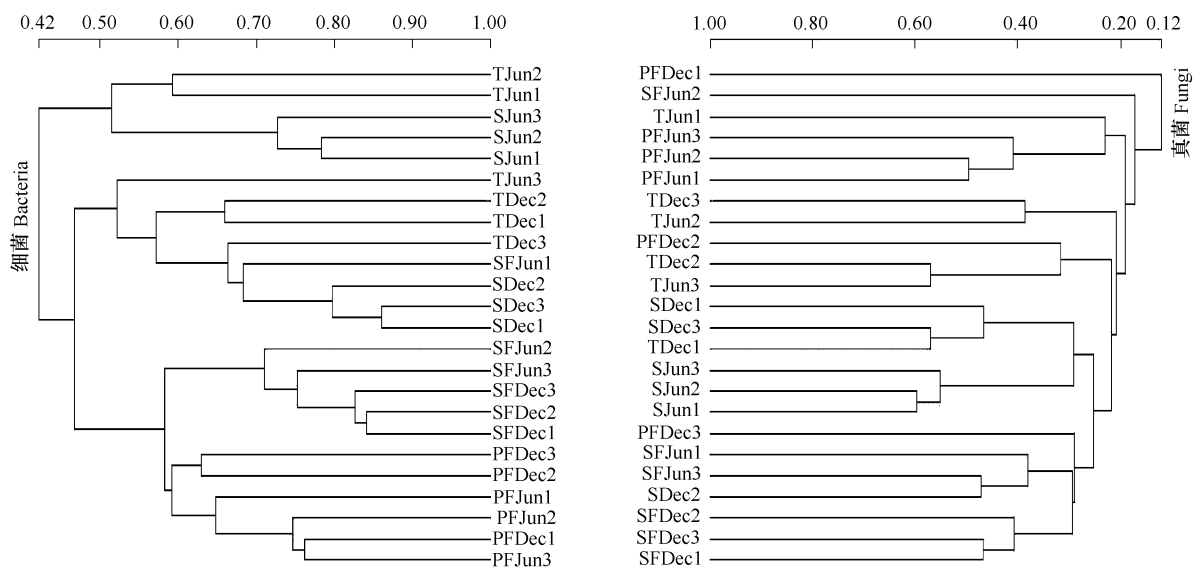


图 2 不同植被演替阶段土壤细菌(左)和真菌(右)相似性

Fig. 2 Similarity from bacterial (left) and fungal (right) community fingerprints of soils from different vegetation successional stages and seasonal sampling times

PCR-DGGE 图谱及样品缩写参见图 1 for abbreviations and PCR-DGGE profiles see Fig. 1

3.2 植被与季节对土壤细菌与真菌群落的影响

以植被和季节作为处理因子,对表征土壤细菌和真菌 Shannon 多样性进行双因素方差分析,结果如表 3。植被对细菌和真菌 Shannon 多样性有不同程度的显著性作用(分别为 $p < 0.05$ 和 $p < 0.001$);季节对细菌和真菌 Shannon 多样性有显著作用(分别为 $p < 0.001$ 和 $p < 0.001$),同时植被和季节交互效应对细菌和真菌 Shannon 多样性也存在显著作用($p < 0.05$ 和 $p < 0.01$)。

进一步的多重比较发现:在不同的采样季节,土壤细菌和真菌群落的 Shannon 多样性指数随植被的演替表现出不同的规律(图 3)。在雨季(6 月份),细菌多样性在处理间没有显著性差异,但真菌多样性表现出次生林 > 灌丛 > 原生林和草丛,且具有显著性差异;在旱季(12 月份),细菌 Shannon 多样性草丛 > 次生林 > 灌丛和原生林,而真菌多样性草丛 > 灌丛 > 原生林。同一植被条件下, t 检验发现:在草丛土壤中,细菌和真菌多样性都具有显著性的季节变化($p < 0.01$);而灌丛土壤仅细菌多样性表现出显著季节变化($p < 0.05$);原生林和次生林土壤中,细菌和真菌多样性都没有显著的季节变化。

表 3 植被和季节对土壤细菌和真菌 Shannon 多样性的影响

Table 3 Significant effects (P) and degree of freedom (df) for bacteria and fungi Shannon's diversity due to Vegetation, season of sampling and their interaction (two-way ANOVA management $\times$ season)

主效应 Main effect	细菌多样性 H'_{bac}			真菌多样性 H'_{fungi}		
	df	F	P	df	F	P
植被 Vegetation	3	3.75	*	3	15.13	***
季节 Season	1	29.0	***	1	19.5	***
交互效应 Vegetation $\times$ Season	3	4.92	*	3	8.57	**
残差 Redidual	16			16		
总和 Total	23			23		

3.3 土壤真菌和细菌多样性的关系

相关分析表明,土壤真菌和细菌多样性间存在显著的线性关系(图 4),满足 $y = 0.319x + 2.837$ ($r^2 = 0.305$, $p = 0.005$) 线性回归方程(y , x 分别表示细菌和真菌的 Shannon 多样性)。

4 讨论

4.1 土壤细菌和真菌群落

在 4 种植被演替土壤中,细菌群落表现出不同的相似性:草丛和灌丛土壤中相似性强,而次生林和原生林土壤中相似性高。在草丛和灌丛土壤中的细菌群落较森林土壤中的表现更大的变异性主要和土壤的高度异质性有关,因为在演替早期(退耕时限较短)土壤肥力较低(表 2),而贫乏的营养会增加土壤小生境维度,从而增加土壤异质性^[17];同时,与较贫瘠的土壤环境相适应,土壤微生物种群结构主要以 r -对策的微生物组成^[18]也增加了微生物群落的可变性。与细菌相比,真菌表现出更大的变异性(无论是处理间或重复间)并存在明显的优势种(图 1、图 2),这与 Costa 等的研究结果相同^[19]。其原因是通常真菌较细菌具有更有效利用碳源的能力^[20],而随地上植被演替,植物组成及其生理特性发生改变,造成进入土壤的有机碳(凋落物或根系分泌物)发生改变,从而导致真菌群落与地上植被更紧密并表现出明显的优势种。

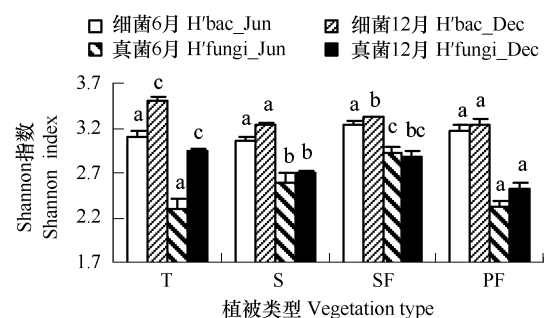


图 3 植被演替土壤中细菌和真菌 Shannon 多样性比较

Fig. 3 Shannon diversity for the four soil microbial communities in a vegetation succession

Values represent the means of three replicates with associated standard errors. Different letters indicate a significant difference at $p < 0.05$ as comparing the variance among treatments according to the Duncan test.

For vegetation type abbreviations see Fig. 1

4.2 植被对土壤微生物群落的影响

研究发现植被对土壤微生物群落(细菌或真菌)多样性具有显著性的影响,但其并不和地上植物多样性随演替进行发生的变化一致。在陆地生态系统中,土壤微生物绝大部分是异养的,主要以植物分泌物或者是植物残体为食,因此,植被对土壤微生物的组成和功能有很大影响^[21]。研究表明植物物种组成及群落结构能够明显地改变植物根际土壤微生物的群落结构和多样性^[22];同时与早期演替阶段植物相适应的土壤微生物群落可能对地上植物其后的演替过程中的优势植物模式产生附带性影响^[23]。长期协同进化导致植物可以选择那些有利于自身凋落物快速分解的分解者,即植物和分解者之间存在协同作用^[24]和互相驱动的正负反馈效应^[5]。同时,尽管不同演替阶段具有特定的植物组合,但微生物群落并不与演替阶段紧密相关,并认为微生物群落较植物群落随演替进行具有根大的可塑性^[25]。土壤微生物一方面受地上植被营养的制约,但长期的进化造就微生物本身一系列的适应性机制(如休眠、功能冗余等)使植被和微生物间关系既紧密又没有明显规律。

4.3 土壤微生物群落季节变化

季节变化对土壤细菌和真菌多样性有极其显著的作用($p < 0.001$, 表 3),这一结果和许多以往的研究结果相似^[26, 27]。Schmidt 等研究表明在阿尔卑斯高山冻土中,土壤微生物量周转时间介于数天至数月之间,导致在一年之内土壤微生物群落的演替,并认为造成这种演替的原因是土壤微生物利用的主要底物发生了季节性演替:碳聚合物或酚类(冬季)、蛋白质(春季)、根际沉积物(夏季)^[28]。同时,研究也发现森林土壤细菌和真菌群落有显著的季节演替和变化^[29]。本研究演替不同阶段土壤细菌多样性的季节差异可能是因为在植被恢复早期(草丛和灌丛),土壤中较贫瘠的营养环境孕育与其相适应的 r-对策种群,从而使细菌群落多样性具有极显著性的季节变化;恢复后期(森林)土壤中富足营养和较稳定的小生境培育与其相适应的 k-对策种群^[18],而 k-对策种群具有较强的稳定性。另外,随地上植被演替,土壤微生物遗传多样性的这种季节变化规律,从另外一个角度说明土壤细菌比真菌对土壤环境更加敏感,同时也表明,灌丛土壤环境是植被演替过程中的一个过渡阶段。

4.4 细菌和真菌多样性关系

真菌和细菌多样性的显著正相关表明,土壤中的这两类微生物之间具有密切的联系。在营养链的相互作用中,土壤真菌对细菌群落组成具有重要的影响^[30]。Artursson 等^[31]证实,在土壤中接种丛枝真菌 *Glomus mosseae* 会引起细菌群落的明显变化;在纯培养中,真菌菌丝的分泌物对细菌群落结构具有直接的作用^[32]。另外,真菌可以作为细菌迁移的载体^[33]。

总之,植被和季节对土壤细菌和真菌遗传多样性有显著的作用;细菌和真菌多样性随地上植被的演替由不稳定向较稳定过渡,预示着土壤环境稳定性的增加;土壤细菌和真菌多样性间具有显著的正相关关系。喀斯特地区严重的人为干扰造成的植被退化,影响到土壤微生物多样性和群落结构,必然会导致土壤微生物功能的改变;同时,草丛土壤中丰富的微生物遗传多样性表明土壤微生物功能恢复具有较好基础。

References:

- [1] Doran J W, Zeiss M R. Soil health and sustainability; managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*, 2000, 15, 3-11.
- [2] Brussaard L, de Ruiter P C, Brown G G. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2007, 121 (3): 233-244.
- [3] Ramsey P W, Rillig M C, Feris K P, et al. Relationship between communities and processes; new insights from a field study of a contaminated ecosystem. *Ecology Letters*, 2005, 8(10): 1201-1210.

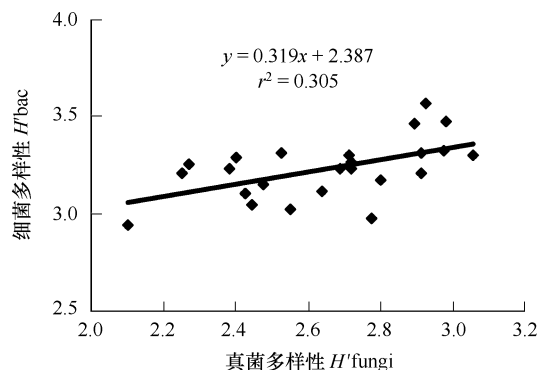


图4 土壤真菌和细菌 Shannon 多样性的关系

Fig. 4 Relationship fungal and bacterial diversity (H)

- [4] Bissett A, Burke C, Cook P L M, *et al.* Bacterial community shifts in organically perturbed sediments. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(1): 46—60.
- [5] Wardle D A, Bardgett R D, Klironomos J N, *et al.* Ecological linkages between aboveground and *Belowground biota*. *Science*, 2004, 304: 1629—1633.
- [6] Horner-devine M C, Silver J M, Leibold M A, *et al.* A comparison of taxon co-occurrence patterns for macro- and microorganisms. *Ecology*, 2007, 88(6): 1345—1353.
- [7] Yuan D X. Karst of China. Beijing: Geological Publishing House, 1991.
- [8] Academic Divisions of CAS. Some suggestions of carrying forward the comprehensive harnessing desertification in southwest China karst region. *Advance Earth Science*, 2003, 18(4): 489—492.
- [9] Liu G S. Soil physical and chemical analysis and description of soil profiles. Beijing: Chinese Standard Press, 1996.
- [10] Gelsomino A, Cacco G. Compositional shifts of bacterial groups in a solarized and amended soil as determined by denaturing gradient gel electrophoresis. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(1): 91—102.
- [11] Heuer H, Hartung K, Wieland G, *et al.* Polynucleotide probes that target a hypervariable region of 16S rRNA genes to identify bacterial isolates corresponding to bands of community fingerprints. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(3): 1045—1049.
- [12] Heuer H, Krsek M, Baker P, *et al.* Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. *Applied and Environmental Microbiology*, 1997, 63(8): 3233—3241.
- [13] May L A, Smiley B, Schmidt M G. Comparative denaturing gradient gel electrophoresis of fungal communities associated with whole plant corn silage. *Canadian Journal of Microbiology*, 2001, 47: 829—841.
- [14] Muyzer G, de Waal E C, Uitterlinden A G. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59(3): 695—700.
- [15] Crecchio C, Gelsomino A, Ambrosoli R, *et al.* Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36(11): 1873—1883.
- [16] Müller A K, Westergaard K, Christensen S. The diversity and function of soil microbial communities exposed to different disturbances. *Microbial Ecology*, 2002, 44: 49—58.
- [17] Harpolel W S, Tilman D. Grassland species loss resulting from reduced niche dimension. *Nature*, 2007, 446: 791—793.
- [18] Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 2007, 88(6): 1354—1364.
- [19] Costa R, Götz M, Mroczek N, *et al.* Effects of site and plant species on rhizosphere community structure as revealed by molecular analysis of microbial guilds. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, 56(2): 236—249.
- [20] Daniel G F, Nilsson T, Singh A P. Degradation of lignocelluloses by unique tunnel-forming bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*, 1987, 33: 943—948.
- [21] Hooper D U, Bignell D E, Brown V K, *et al.* Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: patterns, mechanisms, and feedbacks. *Bioscience*, 2000, 50(12): 1049—1061.
- [22] Kowalchuk G A, Buma D S, Boer W D, *et al.* Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, 81: 509—520.
- [23] Kardol P, Cornips N J, Van Kempen M M L, *et al.* Microbe-mediated plant soil feedback causes historical contingency effects in plant community assembly. *Ecological Monographs*, 2007, 77(2): 147—162.
- [24] Hansen R A. Red oak litter promotes a microarthropod functional group that accelerates its decomposition. *Plant and Soil*, 1999, 209: 37—45.
- [25] Chabrierie O, Laval K, Puget P, *et al.* Relationship between plant and soil microbial communities along a successional gradient in a chalk grassland in north-western France. *Applied Soil Ecology*, 2003, 24: 43—56.
- [26] Schmidt S K, Lipson D A. Microbial growth under the snow: implications for nutrient and alleochemical availability in temperate soils. *Plant and Soil*, 2004, 259: 1—7.
- [27] Wallenstein M D, McMahon S, Schimel J. Bacterial and fungal community structure in Arctic tundra tussock and shrub soils. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(2): 428—435.
- [28] Schmidt S K, Costello E K, Nemerget D R, *et al.* Biogeochemical Consequences of rapid microbial turnover and seasonal succession in soil. *Ecology*, 2007, 88(6): 1379—1385.
- [29] Monson R K, Lipson D A, Burns S P, *et al.* Winter forest soil respiration controlled by climate and microbial community composition. *Nature*, 2006, 439: 711—714.
- [30] Singh B K, Nunan N, Ridgway K P, *et al.* Relationship between assemblages of mycorrhizal fungi and bacteria on grass roots. *Environmental Microbiology*, 2008, 10: 534—541.
- [31] Artursson V, Finlay R D, Jansson J K. Combined bromodeoxyuridine immunocapture and terminalrestriction fragment length polymorphism analysis highlights differences in the active soil bacterial metagenome due to *Glomus mosseae* inoculation or plant species. *Environmental Microbiology*, 2005, 7: 1952—1966.
- [32] Toljander J F, Lindahl B D, Paul L R, *et al.* Influence of arbuscular mycorrhizal mycelial exudates on soil bacterial growth and community structure. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 61: 295—304.
- [33] Kohlmeier S, Smits T H M, Ford R M, *et al.* Taking the fungal highway: Mobilization of pollutant-degrading bacteria by fungi. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39: 4640—4646.

参考文献:

- [8] 中国科学院学部. 关于推进西南岩溶地区石漠化综合治理的若干建议. *地球科学进展*, 2003, 18(4): 489—492.
- [9] 刘光崧. 土壤理化分析与剖面描述. 北京: 中国标准出版社, 1996.