

DOI: 10.5846/stxb201805221123

高秀宏,李敏,卢萍,吕桂芬,牛艳芳.对呼和浩特市大青山白桦根际土壤细菌群落结构的研究.生态学报,2019,39(10): - .

作者.Bacterial community in the rhizosphere soil of *Betula platyphylla* in the Daqing Mountains, Hohhot.Acta Ecologica Sinica,2019,39(10): - .

对呼和浩特市大青山白桦根际土壤细菌群落结构的研究

高秀宏,李 敏,卢 萍,吕桂芬,牛艳芳

内蒙古师范大学生命科学与技术学院,呼和浩特 010018

摘要:采用高通量测序技术对天然次生林生态系统演替过程中先锋树种白桦的根际土壤细菌多样性及群落结构进行了分析。研究结果表明:白桦根际土壤细菌隶属于 28 门、90 纲、126 目、213 科、286 属,在 3 个采样地中排名前 8 的优势细菌门的相对丰度均大于 1%,分别为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、疣微菌门(Verrucomicrobia)和拟杆菌门(Bacteroidetes)。各样地中前 3 个门的相对丰度之和均在 60%以上。对白桦根际土壤细菌的 α 多样性指数、门水平的聚类热图以及 PCoA 聚类结果的分析表明,3 个采样地中,小井沟(B2)和哈达门森林公园(C2)白桦根际土壤细菌的物种组成更为接近,与井儿梁(A2)的物种组成有一定差异;且小井沟和哈达门森林公园的物种多样性及丰度(ACE 指数)显著高于井儿梁,表明细菌对不同环境的适应能力有明显差异。对细菌群落结构与土壤理化性质的 RDA 分析及相关性分析表明,环境因子对白桦根际土壤细菌的影响顺序为:全氮 TN>酸碱度 pH>含水量 WC>速效钾 AK>硝态氮 NN>铵态氮 AN>有机质 OM>有效磷 EP,其中, TN、pH 和 WC 是白桦根际土壤优势细菌的主要影响因子。本文研究结果为深入认识森林生态系统中根际土壤细菌的群落结构和影响因子提供了理论依据。

关键词:白桦;根际细菌;高通量测序;群落结构

Bacterial community in the rhizosphere soil of *Betula platyphylla* in the Daqing Mountains, Hohhot

作者

单位

Abstract: The bacterial diversity and community structure in rhizosphere soil of *Betula platyphylla*, a pioneer species in the succession of a natural secondary forest ecosystem, were studied using high-throughput sequencing technology. The results showed that bacteria from 28 phyla, 90 classes, 126 orders, 213 families, and 286 genera were detected in the rhizosphere soil samples. The relative abundances of the top 8 dominant bacterial phyla in all three sampling sites were greater than 1%; they were Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria, Gemmatimonadetes, Chloroflexi, Nitrospirae, Verrucomicrobia, and Bacteroidetes. The sum of the relative abundances of the first three phyla in each sampling site was above 60%. The analyses of the alpha diversity index, cluster heatmap at phylum level, and the PCoA of bacterial communities in rhizosphere soil of *B. platyphylla* showed that, among the three sampling sites, the species compositions of soil bacteria were similar in Xiaojinggou (B2) and Hadamen Forest Park (C2), which were different from Jingerliang (A2). The species diversity and abundance (ACE index) of Xiaojinggou and Hadamen Forest Park were significantly higher than those of

基金项目:国家自然科学基金(31760169);内蒙古自治区自然科学基金面上项目(2017MS0310);内蒙古自治区高等学校科学研究项目(NJZY16043)

收稿日期:2018-05-22; 修订日期:2019-02-28

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: limin_8123@126.com

Jingerliang, indicating there were significant differences in the ability of the bacteria to adapt to different environments. The RDA and correlation analysis of bacterial community structure with soil physical and chemical properties showed that the degree of influence of soil environmental factors was in the order of $TN > pH > WC > AK > NN > AN > OM > EP$. Of these, TN , pH , and WC were the main influencing factors for dominant bacteria in rhizosphere soil of *B. platyphylla*. The results of this study provide a theoretical basis for further understanding of the community structure and influencing factors of rhizosphere soil bacteria in forest ecosystems.

Key Words: *Betula platyphylla*; rhizosphere bacteria; high-throughput sequencing; community structure

土壤微生物是生态系统的重要组成部分,它们驱使和影响了土壤中有有机物分解、营养循环、生态系统生产力等许多生态系统过程^[1-4],它们的物种多样性及其功能多样性是生态系统稳定性的关键所在^[1,5]。土壤微生物在森林生态系统演替、干扰生态系统恢复与重建的过程中发挥着重要的生态功能。根际微生物多样性及其群落结构受其宿主植物^[6-8]和土壤理化性质^[9-10]的共同影响。探索土壤、微生物和植物之间相互影响的复杂关系,对进一步认识它们之间的协同进化机制具有重要意义^[11]。因此,通过探索土壤微生物群落结构变化来预测生态系统的结构与功能,已成为目前一个重要研究方向^[12]。土壤微生物多样性及群落结构的研究方法有传统微生物培养法、生物标记法、BIOLLOG 鉴定系统和高通量测序技术^[6-7,21],其中高通量测序技术具有快速、高通量以及高准确性等优点^[22-23],已成为解析复杂环境中微生物群落结构组成和相对丰度的最重要工具之一^[24]。如李岩等应用高通量测序技术对西北干旱区两种盐生植物黑果枸杞(*Lycium ruthenicum*)和里海盐爪爪(*Kalidium caspicum*)根际土壤细菌的多样性和群落结构进行了研究,发现黑果枸杞、里海盐爪爪根际细菌多样性丰度高于非根际土壤,黑果枸杞根际土壤细菌多样性丰度高于里海盐爪爪^[25]。秦红等应用高通量测序技术对三峡库区重庆忠县汝溪河流域典型消落带的耕地、林地、弃耕地土壤细菌和真菌群落多样性进行了研究,发现不同土地利用方式下细菌和真菌多样性均有显著性差异,耕地和林地的细菌多样性无显著性差异,均显著高于弃耕地^[26]。

与草地和农田生态系统相比,对森林生态系统的土壤微生物多样性及群落结构特征的研究相对较少^[13],包括对真菌和细菌的研究都相对薄弱^[14]。最近研究结果表明,细菌通常含有编码植物细胞壁降解酶的基因^[15],而且对有机物质的分解作用显著^[16-18]。另外,细菌是森林生态系统中固氮的主要天然因子^[19],同时也参与了许多其他生态系统过程,例如,在矿物风化过程中释放出无机营养元素以供植物利用^[20]。位于内蒙古自治区呼和浩特市的大青山是我国北方重要的生态安全屏障,在防风固沙、涵养水源、保持水土等方面发挥着重要生态功能。作为天然林和天然次生林生态系统的先锋树种,以及温带落叶阔叶林的优势树种,白桦(*Betula platyphylla*)对于维持区域生态平衡具有重要意义。目前,关于白桦根际土壤真菌(尤其菌根真菌)有相应研究报道^[27-29],但关于白桦根际土壤细菌的研究相对较少。仅周永娜分析了山西庞泉沟自然保护区桦树林根际细菌的群落结构,发现有 25 个目细菌的丰度大于 1%,包括能分解糖类、脂类、蛋白质等有机质的细菌和具有固氮和固碳功能的细菌^[30]。但上述研究结果并不能代表各种生境中白桦根际土壤细菌的群落结构。白桦分布广泛,其根际土壤细菌多样性及群落结构在不同生境中是否有差异?已有研究表明土壤微生物地理分布与所处的土壤类型、土地利用密切相关^[31-32]。为深入揭示森林生态系统中白桦根际细菌多样性规律,本研究采用高通量测序技术,对内蒙古自治区呼和浩特市大青山白桦根际土壤细菌的物种多样性和群落结构进行了分析,现将研究结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

大青山研究区位于内蒙古自治区呼和浩特市井儿梁(编号为 A2,海拔 1789—1912 m, E111°26′54″ E111°44′23″, N40°53′22″—N40°54′39″)、哈达门森林公园(编号为 B2,海拔 1794 m—1830 m, E111°39′19″—

E111°40'33",N40°57'8"—N 41°58'32")和小井沟(编号为 C2,海拔 1715 m—1854 m,E111°47'52"—E111°49'56",N41°2'32"—N 41°2'38")三个样地,白桦均为 1949 年解放前后在火烧迹地上通过封育生长起来的萌芽林。该地区属温带大陆性气候,昼夜温差大,年降雨量 400mm 左右,年蒸发量 1800mm 左右,湿润度 0.3—0.6,年平均气温 5.9℃,年日照时数 2976.5h,主风向为西北风,无霜期 90—180d。哈达门森林公园位于井儿梁东北方向 29 km;小井沟位于哈达门森林公园东 62 km。哈达门森林公园和小井沟白桦林下主要伴生灌木有小蘗(*Berberis kawakamii*)、蒙古扁桃(*Amygdalus mongolica*)、绣线菊(*Spiraea salicifolia*)、蒙古莢(*Caryopteris mongholica*)和虎榛子(*Ostryopsis davidiana*),井儿梁白桦林下为天然高山草甸草原。

1.2 采样方法

井儿梁、哈达门森林公园和小井沟 3 个样地的所有样本均采自阴坡。每个样地选取生长良好的白桦 25 株,株距为 50 m 左右。采样时,先用小铁锹除去表层枯枝落叶,沿着树的根部轻轻拽到根的末端,深度在 10—40 cm,收集根际土壤装入无菌塑料袋中并编号,然后带回实验室进行混样,每个样地的 25 个土样混在一起,过孔径 1mm 筛。混合后的土样分为两份,一份用于土壤理化性质的测定,另一份用于高通量测序。每个样地的土壤选取 4 个平行样本,井儿梁样地(A2)编号为 BP15、BP16、BP17、BP18,哈达门森林公园样地(B2)编号为 BP25、BP26、BP27、BP28,小井沟样地(C2)编号为 BP35、BP36、BP37、BP38。

1.3 白桦根际土壤样品的理化性质

对土壤样品理化性质的检测交由内蒙古绿恒生态科技有限公司完成,检测项目包括全氮(TN)、速效钾(AK)、有效磷(EP)、铵态氮(AN)、硝态氮(NN)、有机质(OM)、含水量(WC)和 pH(表 1)。

全氮采用半微量凯氏定氮法;速效钾采用乙酸铵浸提-火焰光度法;有效磷用 0.5 mol/L NaHCO₃法,分光光度计测定;铵态氮和硝态氮采用氯化钾溶液浸提-流动注射法;土壤有机质采用重铬酸钾外加热法测定;土壤含水量测定采用烘干法;土壤 pH 值采用 1:2.5 土水比,酸度计测定^[33]。

1.4 土壤总 DNA 提取、PCR 扩增及文库的构建

采用 mobio 土壤微生物 DNA 强力提取试剂盒 PowerSoil® DNA Isolation Kit 对根际土壤样品基因组 DNA 进行提取。细菌 16S rRNA (V3 + V4) 区域引物: 5'- ACTCCTACGGGAGG- CAGCA- 3', 5'- GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。PCR 反应体系:基因组 DNA40-60 ng,上下游引物(10μM)各 1.5 μL,Q5 High-Fidelity DNA Polymerase 0.2 μL,High GC Enhancer 10μL,Buffer 10μL,dNTP 1μL,补水至总体积 50μL。扩增条件:95℃ 5 min;95℃ 1 min, 50℃ 1 min,72℃ 1 min,扩增 15 个循环;72℃ 延伸 7 min。第二轮扩增反应体系:目的区域 PCR 纯化产物 10 μL,MPPI-a(10μM)1 μL,MPPI-b(10μM)1 μL,2×Phusion HF MM 20 μL,补水至总体积 40μL。扩增条件:98℃ 30 s;98℃ 10 s,65℃ 30 s,72℃ 30 s,扩增 10 个循环;72℃ 延伸 5 min。PCR 结束后,对产物进行琼脂糖凝胶电泳。PCR 产物经磁珠法回收后,纯化后的产物进行 Nanodrop 2000 定量后,按照质量比 1:1 进行混样^[34]。由北京百迈客生物科技有限公司进行后续样品建库与宏基因组测序。

1.5 数据分析

对原始数据进行拼接,将拼接得到的序列进行质量过滤,并去除嵌合体,得到高质量的 Tags 序列。在相似性 97% 的水平上对序列进行聚类,以测序所有序列数的 0.005%作为阈值过滤 OTU。

对样品 α 多样性指数的分析采用 Mothur 软件进行,计算 ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson 等物种多样性指数。Alpha 多样性(Alpha diversity)反映的是单个样品物种丰度(richness)及物种多样性(diversity),有多种衡量指标:Chao1、Ace、Shannon、Simpson。Chao1 和 Ace 指数衡量物种丰度即物种数量的多少。Shannon 和 Simpson 指数用于衡量物种多样性,受样品群落中物种丰度和物种均匀度(Community evenness)的影响。相同物种丰度的情况下,群落中各物种具有越大的均匀度,则认为群落具有越大的多样性;Shannon 指数值越大,Simpson 指数值越小,说明样品的物种多样性越高。覆盖率数值越高,则样本中序列没有被测出的概率越低,该指数反映了本次测序结果是否代表样本的真实情况。

Shannon 指数按下式计算,其中 P_i 为第 i 种细菌数量占细菌总量的比值。

$$H = - \sum_{i=1}^S P_i \times \ln P_i$$

均匀度按下式计算,其中 S 为细菌的总物种数。

$$E_H = H/\ln S$$

Chao1 指数按下式计算,其中, S_{Chao1} = 估计的 OTU 数; S_{obs} = 实际 OTU 数; n_1 = 只有一条序列的 OTU 数目; n_2 = 只有两条序列的 OTU 数目。

$$S_{\text{Chao1}} = S_{\text{obs}} + \frac{n_1(n_1 - 1)}{2(n_2 + 1)}$$

ACE 指数按下式计算:

$$S_{\text{ACE}} = S_{\text{abund}} + \frac{S_{\text{rare}}}{C_{\text{ACE}}} + \frac{n_1}{C_{\text{ACE}}} \hat{\gamma}_{\text{ACE}}^2, \text{ for } \hat{\gamma}_{\text{ACE}} < 0.80$$

$$S_{\text{abund}} + \frac{S_{\text{rare}}}{C_{\text{ACE}}} + \frac{n_1}{C_{\text{ACE}}} \bar{\gamma}_{\text{ACE}}^2, \text{ for } \hat{\gamma}_{\text{ACE}} \geq 0.80$$

$$N_{\text{rare}} = \sum_{i=1}^{\text{abund}} i n_i$$

$$C_{\text{ACE}} = 1 - \frac{n_1}{N_{\text{rare}}}$$

$$\hat{\gamma}_{\text{ACE}}^2 = \max \left[\frac{S_{\text{rare}} \sum_{i=1}^{\text{abund}} i(i-1) n_i}{C_{\text{ACE}} N_{\text{rare}} (N_{\text{rare}} - 1)} - 1, 0 \right]$$

$$\bar{\gamma}_{\text{ACE}}^2 = \max \left[\hat{\gamma}_{\text{ACE}}^2 \left\{ 1 + \frac{N_{\text{rare}} (1 - C_{\text{ACE}}) \sum_{i=1}^{\text{abund}} i(i-1) n_i}{N_{\text{rare}} (N_{\text{rare}} - C_{\text{ACE}})} \right\}, 0 \right]$$

覆盖率数值按下式计算: $C = 1 - \frac{n_1}{N}$

其中, n_1 = 只含有一条序列的 OTU 的数目; N = 抽样中出现的总序列数目。

β 多样性 (Beta diversity) 分析使用 QIIME 软件进行, 比较多组样本在物种多样性方面存在的相似程度。本研究采用主坐标分析 (Principal co-ordinates analysis, PCoA)。通过主坐标分析可以实现多个样品的分类, 进一步展示样品间物种多样性差异。坐标图上距离越近的样品, 相似性越大。

运用 R 软件进行各种分析图的绘制与结果输出。利用 Canoco (version 4.5) 软件对细菌群落结构与土壤理化因子进行冗余分析 (RDA)。用 SPSS 22.0 软件进行细菌丰度和土壤理化性质的相关性分析及显著性检验。不同处理的均值在 5% 的显著性水平下做 LSD (Least significant difference) 多重比较。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质

呼和浩特市大青山 3 个样地土壤的理化性质测定结果见表 1。井儿梁、哈达门森林公园和小井沟的土壤全氮含量、速效钾、有效磷、有机质和土壤含水量间均存在显著差异 ($p < 0.05$); 井儿梁样地的铵态氮含量显著低于哈达门森林公园和小井沟; 井儿梁和哈达门森林公园的硝态氮含量显著高于小井沟。

2.2 测序结果评估

通过对大青山 3 个采样地白桦根际土壤的 12 个样本中细菌的高通量测序, 得到原始序列共 876074 条, 经数据优化后得到有效序列 708847 条, 序列平均长度 420bp 左右。土壤细菌 OTUs 的稀释曲线如图 1 所示, 12 个样本的稀释曲线最终趋于平缓, 说明测序数据量足以反映样品中的物种多样性。

表 1 呼和浩特市大青山 3 个样地白桦根际土壤的理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of rhizosphere soil of *Betula platyphylla* in three sampling sites in the Daqing Mountains, Hohhot

样地 Sampling sites	全氮 Total N (TN)/ (g/kg)	铵态氮 Ammonium nitrogen (AN)/ (mg/kg)	硝态氮 Nitrate nitrogen (NN)/ (mg/kg)	速效钾 Available K (AK)/ (g/kg)	有效磷 Available P (AP)/ (mg/kg)	有机质 Organic matter (OM)/(g/kg)	含水量 WC(%)	pH
井儿梁 (A2)	2.92±0.05a	16.46±0.83a	3.34±0.43a	0.17±0.02a	4.75±0.15a	67.08±2.24a	29.00±1.00a	6.95±0.11a
哈达门 (B2)	2.54±0.08b	29.57±1.75b	2.92±0.26a	0.29±0.02b	9.43±0.25b	84.59±4.36b	22.67±1.53b	6.88±0.08a
小井沟 (C2)	3.87±0.05c	27.16±3.06b	2.32±0.2b	0.39±0.02c	8.51±0.34c	94.42±0.93c	14.67±1.53c	6.34±0.09b

不同字母表示同一列内各均值存在显著性差异 ($P<0.05$)

2.3 细菌群落结构分析

在 97% 的相似度水平下,分析每个样地的 OTU 个数。本研究结果表明(图 2),井儿梁(A2)、小井沟(B2)和哈达门森林公园(C2)三个样地土壤细菌 OTUs 数量分别为 1256、1281 和 1263 个,其中 3 个不同样地间共有细菌 OTUs 数量为 1207 个。而小井沟样地的特有细菌 OTUs 数量最多,为 9 个;井儿梁样地特有细菌 OTUs 为 8 个,哈达门森林公园样地特有细菌 OTUs 数量最少,为 6 个。表明不同样地间的细菌 OTU 组成存在一定的差异。

2.4 优势细菌分析

通过对高通量测序结果的分析,从 3 个样地的土壤样本中测序得到根际细菌 OTUs 共有 1308 个,分属于 28 门、90 纲、126 目、213 科、286 属。在门水平上(图 3),相对丰度大于 1% 的门分别为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、疣微菌门(Verrucomicrobia)及拟杆菌门(Bacteroidetes)。在 3 个样地中相对丰度最高的门均为变形菌门、酸杆菌门和放线菌门,其中变形菌门 OTUs 数量最多,在井儿梁(A2)、小井沟(B2)和哈达门森林公园(C2)3 个样地中所占比例分别为 26.82%、30.83% 和 28.21%;酸杆菌门在 3 个样地中的相对丰度分别为 21.67%、18.93% 和 19.09%;放线菌门在 3 个样地的相对丰度分别为 14.56%、20.78% 和 21.76%,这 3 个门的相对丰度之和在各样地中均超过 60%。在进行聚类热图分析时(图 4),发现小井沟(B2)和哈达门森林公园(C2)首先聚为一类,表明这 2 个样地在细菌门水平上的物种组成上更为接近,与井儿梁(A2)的物种组成存在一定的差异。

2.5 α 多样性指数分析

在 97% 相似度水平下,3 个样地 α 多样性指数值统计结果如表 2 所示。分析表明不同样地白桦根际土壤

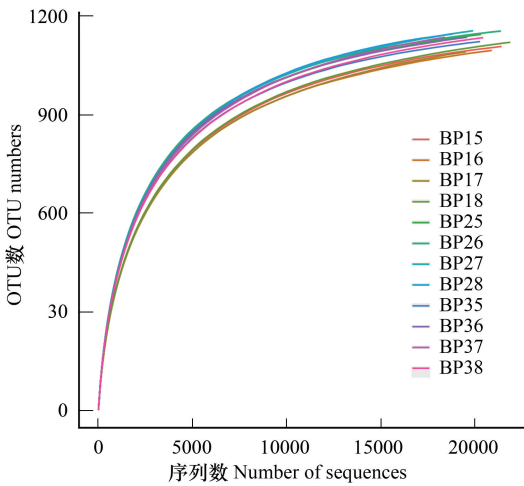


图 1 呼和浩特市大青山 3 个样地白桦根际土壤细菌 OTUs 稀释曲线

Fig.1 Rarefaction curves of rhizosphere soil bacteria OTUs of *Betula platyphylla* in three sampling sites in the Daqing Mountains, Hohhot

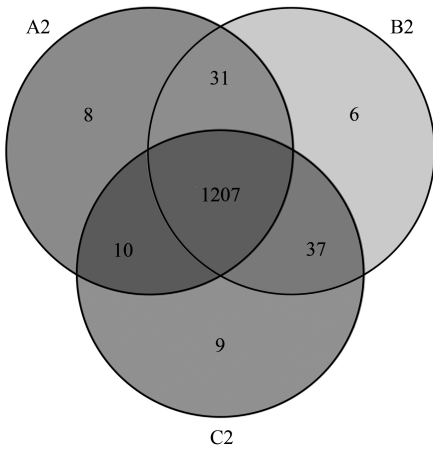


图 2 呼和浩特市大青山 3 个样地白桦根际土壤细菌 OTUs 数量 (A2:井儿梁,B2:小井沟,C2:哈达门森林公园)

Fig.2 Number of bacterial OTUs in rhizosphere soil of *Betula platyphylla* in three sampling sites in the Daqing Mountains, Hohhot (A2: Jingerliang, B2: Xiaojinggou, C2: Hadamen Forest Park)

细菌多样性、均匀度和丰富度均有一定差异。香农指数和辛普森指数分析表明,小井沟(B2)和哈达门森林公园(C2)的根际细菌多样性较高,与井儿梁(A2)有显著性差异($P<0.05$)。ACE 指数和 Chao1 指数分析表明,小井沟(B2)和哈达门森林公园(C2)白桦根际细菌丰度高于井儿梁(A2)。另外,所有样地的 OTU 覆盖率均超过 99%,同时结合土壤细菌 OTU 稀释曲线(图 1),说明本次测序能检测到环境中绝大多数的物种,研究结果能反映大青山白桦根际土壤样本中微生物的真实情况。

2.6 β 多样性指数分析

通过对 3 个样地白桦根际土壤细菌群落 PCoA 聚类结果分析(图 5),发现本研究中每个样地的 4 个重复均聚类于同一象限(除 B2 样地有一个重复与其他 3 个重复不在同一象限),说明样品的重复性较好,组内变异相对较小;而 3 个样地均聚类于不同象限,说明组间差异明显。

PC1 为造成样品差异性最大的主坐标成分,解释度为 71.18%;其次为 PC2,解释度为 15.58%,两个主坐标轴的总解释度达到 86.76%。在 PC1 维度上,能将井儿梁(A2)的样品与小井沟(B2)和哈达门森林公园(C2)的样品很好地分开,这与前面小井沟(B2)和哈达门森林公园(C2)的物种组成比井儿梁(A2)更为相似的结果一致。

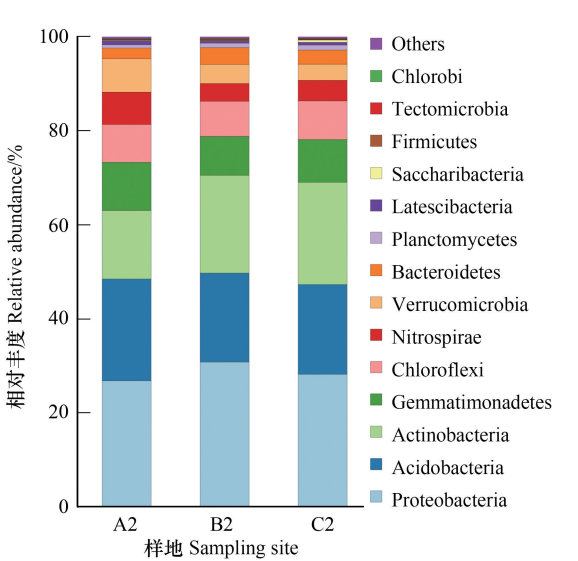


图 3 呼和浩特市大青山 3 个样地白桦根际土壤细菌门水平的群落结构(A2:井儿梁,B2:小井沟,C2:哈达门森林公园)

Fig.3 Bacterial community structure in rhizosphere soil of *Betula platyphylla* at phylum level in three sampling sites in the Daqing Mountains, Hohhot (A2: Jingerliang, B2: Xiaojinggou, C2: Hadamen Forest Park)

表 2 呼和浩特市大青山 3 个样地白桦根际土壤细菌的 α 多样性指数(A2:井儿梁,B2:小井沟,C2:哈达门森林公园)

Table 2 Diversity index of rhizosphere soil bacteria of *Betula platyphylla* in three sampling sites in the Daqing Mountains, Hohhot (A2: Jingerliang, B2: Xiaojinggou, C2: Hadamen Forest Park)

样地 Sampling site	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index	覆盖率 Coverage
A2	1188.32±12.24a	1196.46±25.87a	0.0079±0.0003a	5.83±0.01a	0.99±0.0010a
B2	1223.45±13.30b	1230.74±26.74a	0.0062±0.0005b	6.01±0.03b	0.99±0.0009a
C2	1211.13±15.65b	1221.71±16.31a	0.0061±0.0005b	5.99±0.01b	0.99±0.0010a

不同字母表示同一列内各均值存在显著性差异($P<0.05$)

2.7 环境因子对细菌群落的响应

通过对白桦根际土壤细菌群落结构与土壤理化性质的 RDA 分析与相关性分析(图 6 和表 4),发现 TN、pH 和 WC 对白桦根际主要优势细菌的影响较大,各环境因子对 3 个样地土壤细菌优势门的影响顺序为 $TN>pH>WC>AK>NN>AN>OM>EP$ 。TN 与酸杆菌门、芽单胞菌门、Latescibacteria、硝化螺旋菌门和疣微菌门呈极显著正相关,与放线菌门、拟杆菌门、变形菌门和浮霉菌门呈极显著或显著负相关;pH 与放线菌门、浮霉菌门、拟杆菌门和变形菌门呈极显著或显著正相关,与酸杆菌门、Latescibacteria、硝化螺旋菌门、疣微菌门和浮霉菌门呈极显著负相关;WC 与浮霉菌门、放线菌门呈极显著或显著正相关,与疣微菌门、硝化螺旋菌门和 Latescibacteria 呈显著负相关;AK 与浮霉菌门和放线菌门呈极显著或显著负相关,与疣微菌门呈显著正相关;NN 与疣微菌门呈显著负相关;AN 与绿弯菌门和浮霉菌门呈极显著或显著负相关;OM 与疣微菌门呈显著正相关,与浮霉菌门呈极显著负相关;EP 与绿弯菌门呈极显著负相关。

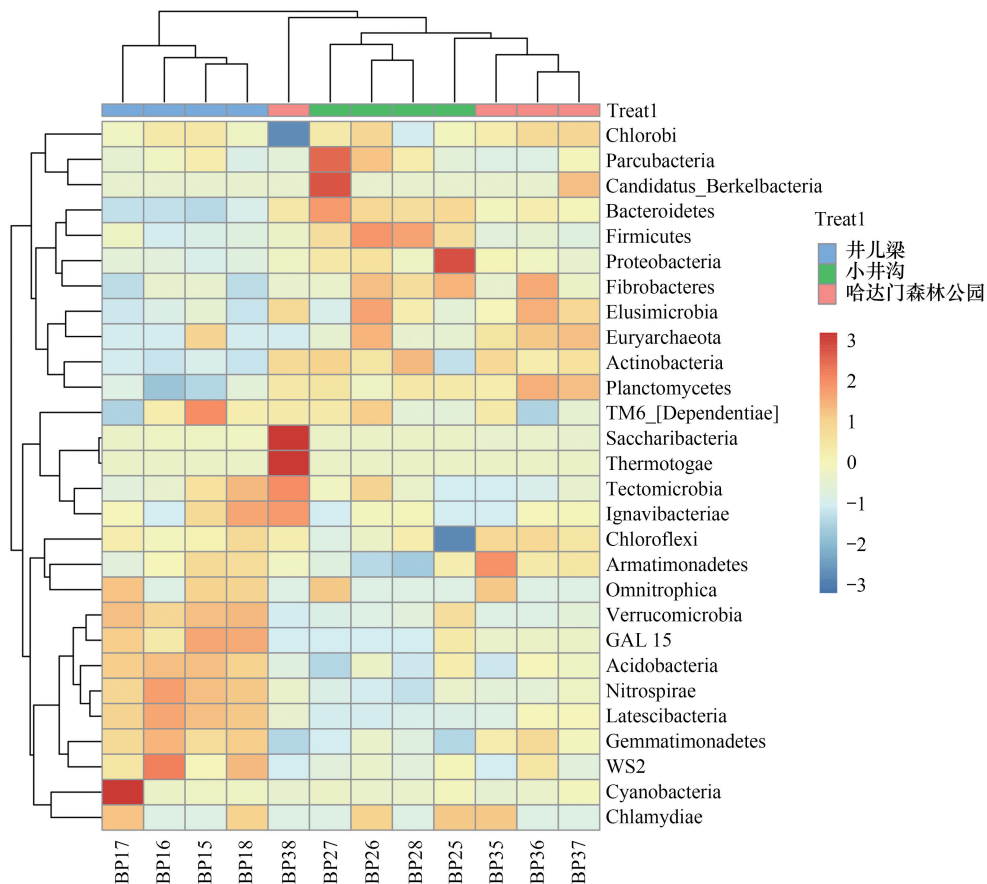


图 4 呼和浩特市大青山 3 个样地白桦根际土壤细菌门水平聚类热图 (A2:井儿梁,B2:小井沟,C2:哈达门森林公园)

Fig.4 Bacterial cluster heatmap at phylum level in rhizosphere soil of *Betula platyphylla* in three sampling sites in the Daqing Mountains, Hohhot (A2: Jingerliang, B2: Xiaojinggou, C2: Hadamen Forest Park)

表 4 呼和浩特市大青山白桦根际土壤细菌门水平群落结构与土壤理化性质相关性分析

Table 4 Correlation analysis between physical-chemical properties and bacterial community on phylum level in rhizosphere soil of *Betula platyphylla* in the Daqing Mountains, Hohhot

	TN	AK	EP	AN	NN	OM	pH	WC
酸杆菌门 Acidobacteria	0.885 **	0.647	0.127	0.215	-0.155	0.493	-0.806 **	-0.653
放线菌门 Actinobacteria	-0.934 **	-0.690 *	-0.156	-0.267	0.574	-0.562	0.861 **	0.733 *
拟杆菌门 Bacteroidetes	-0.926 **	-0.482	0.117	0.021	0.558	-0.366	0.763 *	0.544
绿弯菌门 Chloroflexi	0.109	-0.485	-0.807 **	-0.810 **	0.300	-0.586	0.247	0.468
芽单胞菌门 Gemmatimonadetes	0.822 **	0.337	-0.301	-0.122	-0.284	0.153	-0.599	-0.352
Latescibacteria	0.953 **	0.626	0.049	0.149	-0.547	0.518	-0.881 **	-0.672 *
硝化螺旋菌门 Nitrospirae	0.968 **	0.655	0.102	0.227	-0.664	0.577	-0.925 **	-0.728 *
浮霉菌门 Planctomycetes	-0.750 *	-0.876 **	-0.568	-0.688 *	0.778	-0.827 **	0.861 **	0.875 **
变形菌门 Proteobacteria	-0.837 **	-0.454	0.087	0.082	0.465	-0.391	0.740 *	0.501
疣微菌门 Verrucomicrobia	0.954 **	0.792 *	0.308	0.333	-0.748 *	0.735 *	-0.937 **	-0.862 **

* 表示显著相关 ($P<0.05$), ** ,表示极显著相关 ($P<0.01$)

3 讨论

3.1 大青山白桦根际土壤细菌群落结构

细菌多样性对于维持土壤生态平衡具有重要作用。土壤中具有非常丰富的细菌多样性,不同环境及不同

类型的土壤中既有相似的细菌组成,同时又有各自的优势类群^[35]。Xia et al 对我国从南到北不同森林类型(包括热带森林、亚热带森林、温带森林和北方森林类型)的 115 个典型森林土壤样品的研究表明,发现放线菌门的相对丰度最高(22%),其次是酸杆菌门(18%)、疣微菌门(Verrucomicrobia)(8.68%)和浮霉菌门(Planctomycetes)(6.75%),而拟杆菌门(Bacteroidetes)的相对丰度仅为 1.4%^[36]。Liu et al 对我国西北部黑土中的细菌群落结构的研究表明,丰度大于 5% 的门有酸杆菌门、放线菌门、变形菌门、拟杆菌门、绿弯菌门(Chloroflexi)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和浮霉菌门^[37]。翟婉璐等通过对浙江省杭州市雷竹林下土壤细菌的群落结构的研究,发现变形菌门(30.80%)、酸杆菌门(22.0%)和放线菌门(平均相对丰度 13.9%)为该林下的优势门^[38]。Zeng et al 通过对陕西黄土高原不同植被区(森林、森林草地、草地、沙漠和沙漠生态系统)土壤细菌的研究,发现放线菌门和变形菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、浮霉菌门是所有样品中的优势门,其中放线菌门和变形菌门的丰度最高^[10]。丁新景等对黄河三角洲 4 个不同树种(臭椿、榆树、白蜡和刺槐)人工林根际土壤细菌的分析表明,酸杆菌门、变形菌门和放线菌门的相对丰度大于 10%,是根际土壤中的优势群落^[39]。Yuan et al 研究表明,青藏高原高山草地土壤中酸杆菌门和变形菌门的丰度最高^[40]。其他针对森林生态系统的研究结果也表明,土壤细菌中酸杆菌门、放线菌门和变形菌门的相对丰度较高^[41-42],主要是由于该类细菌具有较宽的生态位,并且对不同环境的适应性较强。本文研究结果也表明,白桦根际土壤中变形菌门、酸杆菌门和放线菌门的细菌的相对丰度在 3 个采样地均最高,各样地中 3 个门的相对丰度之和均高于 60%,是该地区白桦根际土壤中的优势细菌群落。综上所述,在门水平上,虽然土壤细菌多样性及其群落结构随不同森林类型、土壤、植被等的不同而存在一定的差异,但土壤中的优势类群基本相同。

土壤细菌在生态系统的有机物分解以及营养循环中发挥了重要作用。本研究中变形菌门(Proteobacteria)在 3 个样地中的相对丰度均最高(26.8%—30.8%),在属水平上,短根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)(相对丰度 1.3%—2.1%)和硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)(相对丰度 1.1%—1.7%)的相对丰度较高。有报道指出,部分该类细菌具有固氮、解磷作用^[43],它们的存在参与了土壤氮磷循环,在改善土壤环境中发挥了重要作用。由于酸杆菌门是一类新划分出的细菌类群,目前,对其研究较少,但已有研究表明,酸杆菌门细菌能够降解复杂的木质素与纤维素,进而提高土壤养分^[44],有研究者已从这类细菌中发现了可编码纤维素酶和半纤维素酶的基因^[45]。放线菌大部分为腐生菌,其中部分种类能够分泌分解木质素的酶,表明具有

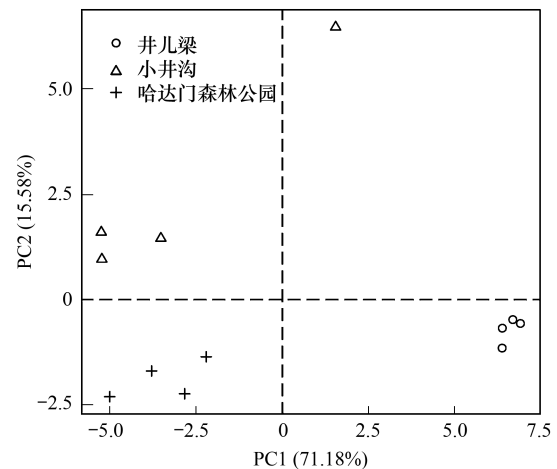


图 5 呼和浩特市大青山 3 个样地白桦根际土壤细菌群落 PCoA 聚类图 (A2: 井儿梁, B2: 小井沟, C2: 哈达门森林公园)

Fig. 5 PCoA analysis of bacterial communities in rhizosphere soil of *Betula platyphylla* in three sampling sites in the Daqing Mountains, Hohhot (A2: Jing'erliang, B2: Xiaojinggou, C2: Hadamen Forest Park)

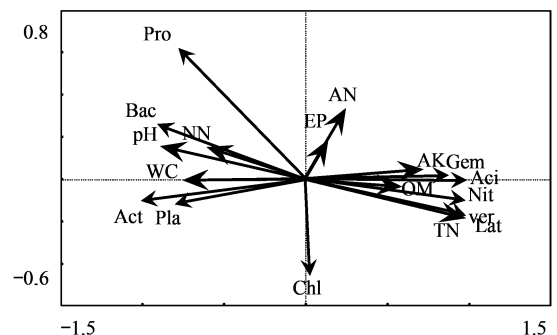


图 6 呼和浩特市大青山白桦根际土壤细菌群落与环境因子之间关系的 RDA 分析

Fig. 6 RDA analysis of bacterial community associated with environmental factors in rhizosphere soil of *Betula platyphylla* in the Daqing Mountains, Hohhot

Act: Actinobacteria; Chl: Chloroflexi; Pla: Planctomycetes; Gem: Gemmatimonadetes; Aci: Aciobacteria; Nit: Nitrospirae; Bac: Bacteroidetes; Pro: Proteobacteria; Ver: Verrucomicrobia

分解木质素和纤维素的能力^[46]。另外,有研究发现放线菌门具有共生固氮和解磷作用^[47],因此,这类细菌在森林生态系统的物质循环中可能发挥了重要作用。本研究发现芽单胞菌门的相对丰度仅次于上述 3 门,在 3 个样地的相对丰度在 8.20%—10.20%,高于其他研究者的报道,如海南降香黄檀不同混交林芽单胞菌门的相对丰度在 1.1%—2.6%^[48];三江平原小叶章湿地土壤芽单胞菌门的相对丰度在 1.0%—2.0%^[49]。这可能是由于芽单胞菌门的部分细菌具有耐盐或嗜盐的特性,适宜在含盐量较高的土壤中生存,而呼和浩特周边地区的土壤属于典型的盐土类型,有利于这类细菌的繁殖。

3.2 环境因子与白桦根际土壤细菌的关系

环境生态因子对植物根际微生物的分布存在显著影响^[10,14]。字洪标等通过对青海省云杉、白桦、落叶松和山杨组成的 7 种不同林分类型的土壤微生物的群落结构的研究,发现 pH 值和土壤含水量是影响土壤微生物群落的主要因素^[29]。丁新景等对黄河三角洲 4 个不同树种人工林根际土壤细菌群落结构的研究表明,土壤电导率、碱解氮、有效磷和速效钾含量是土壤细菌结构和多样性的主要影响因素,土壤含水量和有效磷含量与细菌丰度存在显著相关性^[39]。本文研究发现,TN、pH 和 WC 对白桦根际主要优势细菌(门水平)的影响较大。氮常常是土壤中的限制性营养成分^[14],土壤 N 有效性与根际细菌群落结构的变化密切相关^[9]。Magill et al 对森林土壤的研究结果表明,随着土壤 N 含量的增加,酸杆菌门的多样性也增加^[50]。本文研究发现,TN 与酸杆菌门、芽单胞菌门、Latescibacteria、硝化螺旋菌门、疣微菌门、放线菌门、拟杆菌门、变形菌门和浮霉菌门的相对丰度存在显著或极显著相关性,表明 TN 是影响细菌群落结构的主要因子。土壤 pH 值是细菌群落组成的最重要的驱动因素,这一观察结果在多项研究(尤其是对森林土壤的研究)中得到证实^[35,49]。有研究表明,酸杆菌门细菌在酸性土壤环境中具有较高的丰度^[51-52]。本文研究发现酸杆菌门的相对丰度与 pH 呈极显著负相关(表 4),酸杆菌门在 3 个样地的相对丰度分别为 21.67%、18.93%和 19.09%,低于柳春林等^[53]报道的 53.3%—67.8%(鼎湖山森林土壤,pH3.00—4.50)和隋心等^[54]报道的 53.0%(三江平原土壤,pH5.39—5.85),这可能是由于酸性环境更有利于酸杆菌门细菌的生长繁殖。而本研究样地大青山土壤 pH 基本接近中性,因此,酸杆菌门细菌相对丰度低于酸性土壤。综上所述,由于不同研究者考察的环境因子不同,因此,目前针对森林生态系统中土壤优势细菌受环境因子的影响程度尚无定论。

本研究利用 Illumina 高通量测序技术对呼和浩特市大青山白桦根际土壤细菌群落结构及其多样性进行了研究,发现变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)是白桦根际土壤的优势细菌门,TN、pH 和 WC 是白桦根际优势细菌门的主要影响因子,3 个样地白桦根际土壤细菌多样性、均匀度和丰富度均有一定差异。小井沟和哈达门森林公园样地白桦的伴生灌木一致,井儿梁样地白桦林下为草甸草原,本研究发现,小井沟和哈达门森林公园白桦根际土壤细菌的多样性及丰度(ACE 指数)显著高于井儿梁,那么白桦根际土壤细菌群落结构是否受伴生灌木的影响?白桦根际土壤微生物随海拔、坡向等环境因子的变化规律如何?本研究仅对呼和浩特市大青山白桦根际土壤细菌的群落结构进行了基础研究,未来应针对上述问题进一步探讨。

参考文献(References):

- [1] Tedersoo L, Bahram M, Põlme S, Kõljalg U, Yorou N S, Wijesundera R, Ruiz L V, Vasco-Palacios A M, Thu P Q, Suija A, Smith M E, Sharp C, Saluveer E, Saitta A, Rosas M, Riit T, Ratkowsky D, Pritsch K, Põldmaa K, Piepenbring M, Phosri C, Peterson M, Parts K, Pärtel K, Otsing E, Nouhra E, Njouonkou A L, Nilsson R H, Morgado L N, Mayor J, May T W, Majuakim L, Lodge D J, Lee S S, Larsson K H, Kohout P, Hosaka K, Hiiesalu I, Henkel T W, Harend H, Guo L D, Greslebin A, Grelet G, Geml J, Gates G, Dunstan W, Dunk C, Drenkhan R, Dearnaley J, de Kesel A, Dang T, Chen X, Buegger F, Brearley F Q, Bonito G, Anslan S, Abell S, Abarenkov K. Global diversity and geography of soil fungi. *Science*, 2014, 346(6213): 1256688.
- [2] Orgiazzi A, Dunbar MB, Panagos P, de Groot G A, Lemanceau P. Soil biodiversity and DNA barcodes: opportunities and challenges. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 80: 244-250.
- [3] Li H, Li RH, Rossi F, Li D H, de Philippis R, Hu C X, Liu Y D. Differentiation of microbial activity and functional diversity between various biocrust elements in a heterogeneous crustal community. *CATENA*, 2016, 147: 138-145.

- [4] Garcia K, Doidy J, Zimmermann SD, Wipf D, Courty P E. Take a trip through the plant and fungal transportome of mycorrhiza. *Trends in Plant Science*, 2016, 21(11): 937-950.
- [5] Yu C, Hu XM, Deng W, Li Y, Xiong C, Ye C H, Han G M, Li X. Changes in soil microbial community structure and functional diversity in the rhizosphere surrounding mulberry subjected to long-term fertilization. *Applied Soil Ecology*, 2015, 86: 30-40.
- [6] Donn S, Kirkegaard J A, Perera G, Richardson A E, Watt M. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(3): 610-621.
- [7] Arenz BE, Bradeen JM, Otto-Hanson LK, Kinkel LL. Two grass species fail to display differing species-specific effects on soil bacterial community structures after one season of greenhouse growth. *Plant and Soil*, 2014, 385(1/2): 241-254.
- [8] Bell C, Carrillo Y, Boot CM, Rocca J D, Pendall E, Wallenstein MD. Rhizosphere stoichiometry: are C:N:P ratios of plants, soils, and enzymes conserved at the plant species-level? *New Phytologist*, 2014, 201(2): 505-517.
- [9] Bell CW, Asao S, Calderon F, Wolk B, Wallenstein MD. Plant nitrogen uptake drives rhizosphere bacterial community assembly during plant growth. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 85: 170-182.
- [10] Zeng QC, Dong YH, An SS. Bacterial community responses to soils along a latitudinal and vegetation gradient on the Loess Plateau, China. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0152894.
- [11] Berg G, Grube M, Schlöter M, Smalla K. Unraveling the plant microbiome: looking back and future perspectives. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 148.
- [12] Lagomarsino A, Moscatelli MC, Tizio A D, Mancinelli R, Grego S, Marinari S. Soil biochemical indicators as a tool to assess the short-term impact of agricultural management on changes in organic C in a Mediterranean environment. *Ecological Indicators*, 2009, 9(3): 518-527.
- [13] Li H, Ye DD, Wang XG, Settles ML, Wang J, Hao Z Q, Zhou L S, Dong P, Jiang Y, Ma Z S. Soil bacterial communities of different natural forest types in Northeast China. *Plant and Soil*, 2014, 383(1/2): 203-216.
- [14] Lladó S, López-Mondéjar R, Baldrian P. Forest soil bacteria: diversity, involvement in ecosystem processes, and response to global change. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2017, 81(2): e00063-16.
- [15] Berlemont R, Martiny AC. Genomic potential for polysaccharide deconstruction in bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(4): 1513-1519.
- [16] López-Mondéjar R, Zühlke D, Becher D, Riedel K, Baldrian P. Cellulose and hemicellulose decomposition by forest soil bacteria proceeds by the action of structurally variable enzymatic systems. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25279.
- [17] Brown M E, Chang M C. Exploring bacterial lignin degradation. *Current Opinion in Chemical Biology*, 2014, 19: 1-7.
- [18] Tian J H, Pourcher A M, Bouchez T, Gelhaye E, Peu P. Occurrence of lignin degradation genotypes and phenotypes among prokaryotes. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2014, 98(23): 9527-9544.
- [19] Reed SC, Cleveland CC, Townsend AR. Functional ecology of free-living nitrogen fixation: a contemporary perspective. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2011, 42: 489-512.
- [20] Uroz S, Oger P, Lepleux C, Collignon C, Frey-Klett P, Turpault MP. Bacterial weathering and its contribution to nutrient cycling in temperate forest ecosystems. *Research in Microbiology*, 2011, 162(9): 820-831.
- [21] 陈梅春, 朱育菁, 刘波, 王阶平, 刘晓港, 杨文靖. 基于宏基因组茉莉花植株土壤细菌多样性研究. *农业生物技术学报*, 2018, 26(9): 1480-1493.
- [22] Beckers B, de Beeck M O, Weyens N, Boerjan W, Vangronsveld J. Structural variability and niche differentiation in the rhizosphere and endosphere bacterial microbiome of field-grown poplar trees. *Microbiome*, 2017, 5(1): 25.
- [23] Zarraonaindia I, Owens S M, Weisenborn P, West K, Hampton-Marcell J, Lax S, Bokulich N A, Mills D A, Martin G, Taghavi S, van der Lelie D, Gilbert J A. The soil microbiome influences grapevine-associated microbiota. *mBio*, 2015, 6(2): e02527-14.
- [24] Rinke C, Schwientek P, Sczyrba A, Ivanova NN, Anderson IJ, Cheng JF, Darling A, Malfatti S, Swan BK, Gies EA, Dodsworth JA, Hedlund BP, Tsiamis G, Sievert SM, Liu WT, Eisen JA, Hallam SJ, Kyrpides NC, Stepanauskas R, Rubin EM, Hugenholtz P, Woyke T. Insights into the phylogeny and coding potential of microbial dark matter. *Nature*, 2013, 499(7459): 431-437.
- [25] 李岩, 杨晓东, 秦璐, 吕光辉, 何学敏, 张雪妮. 两种盐生植物根际土壤细菌多样性和群落结构. *生态学报*, 2018, 38(9): 3118-3131.
- [26] 秦红, 李昌晓, 任庆水. 不同土地利用方式对三峡库区消落带土壤细菌和真菌多样性的影响. *生态学报*, 2017, 37(10): 3494-3504.
- [27] 杨岳, 闫伟, 魏杰. 内蒙古地区白桦根围土壤外生菌根真菌群落结构. *菌物学报*, 2018, 37(3): 294-304.
- [28] 乔沙沙, 周永娜, 柴宝峰, 贾彤, 李巍. 关帝山森林土壤真菌群落结构与遗传多样性特征. *环境科学*, 2017, 38(6): 2502-2512.
- [29] 字洪标, 向泽宇, 王根绪, 阿的鲁骥, 王长庭. 青海不同林分土壤微生物群落结构(PLFA). *林业科学*, 2017, 53(3): 21-32.
- [30] 周永娜, 乔沙沙, 刘晋仙, 贾彤, 李巍, 柴宝峰, 张乃桢, 梁昭江. 庞泉沟自然保护区华北落叶松与桦树林土壤微生物群落结构. *应用与*

环境生物学报, 2017, 23(3): 520-526.

- [31] Dequiedt S, Thioulouse J, Jolivet C, Saby N P A, Lelievre M, Maron PA, Martin M P, Prévost - BouréN C, Toutain B, Arrouays D, Lemanceau P, Ranjard L. Biogeographical patterns of soil bacterial communities. *Environmental Microbiology Reports*, 2009, 1(4): 251-255.
- [32] Ranjard L, Dequiedt S, Jolivet C, Saby N P A, Thioulouse J, Harmand J, Loisel P, Rapaport A, Fall S, Simonet P, Joffre R, BouréN CP, Maron PA, Mougel C, Martin M P, Toutain B, Arrouays D, Lemanceau P. Biogeography of soil microbial communities: a review and a description of the ongoing french national initiative. *Agronomy for Sustainable Development*, 2010, 30(2): 359-365.
- [33] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-109.
- [34] Wang X L, Wang Z K, Jiang P, He Y L, Mu Y D, Lv X H, Zhuang L. Bacterial diversity and community structure in the rhizosphere of four *Ferula* species. *Scientific Reports*, 2018, 8(1): 5345.
- [35] Nacke H, Thürmer A, Wollherr A, Will C, Hodac L, Herold N, Schöning I, Schrumpf M, Daniel R. Pyrosequencing-based assessment of bacterial community structure along different management types in German forest and grassland soils. *PLoS One*, 2011, 6(2): e17000.
- [36] Xia Z W, Bai E, Wang Q K, Gao D C, Zhou J D, Jiang P, Wu J B. Biogeographic distribution patterns of bacteria in typical Chinese forest soils. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1106.
- [37] Liu J J, Sui Y Y, Yu Z H, Shi Y, Chu H Y, Jin J, Liu X B, Wang G H. High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 113-122.
- [38] 翟婉璐, 钟哲科, 高贵宾, 杨慧敏. 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*, 2017, 53(9): 133-142.
- [39] 丁新景, 敬如岩, 黄雅丽, 陈博杰, 马风云. 基于高通量测序的 4 种不同树种人工林根际土壤细菌结构及多样性. *林业科学*, 2018, 54(1): 81-89.
- [40] Yuan Y L, Si G C, Wang J, Luo T X, Zhang G X. Bacterial community in alpine grasslands along an altitudinal gradient on the Tibetan Plateau. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 87(1): 121-132.
- [41] Uroz S, Ioannidis P, Lengelle J, Cébron A, Morin E, Buée M, Martin F. Functional assays and metagenomic analyses reveals differences between the microbial communities inhabiting the soil horizons of a Norway spruce plantation. *PLoS One*, 2013, 8(2): e55929.
- [42] Kurth F, Zeitler K, Feldhahn L, Neu TR, Weber T, Křístfek V, Wubet T, Herrmann S, Buscot F, Tarkka M T. Detection and quantification of a mycorrhization helper bacterium and a mycorrhizal fungus in plant-soil microcosms at different levels of complexity. *BMC Microbiology*, 2013, 13(1): 205.
- [43] 薛银刚, 刘菲, 周璐璐, 金珊, 姜逸, 王颖聪, 江晓栋, 王倩, 施昕澜, 薛柯. 基于高通量测序的工业园区地下水和土壤细菌群落结构比较研究. *生态毒理学报*, 2017, 12(6): 107-115.
- [44] Pankratov T A, Ivanova A O, Dedysh S N, Liesack W. Bacterial populations and environmental factors controlling cellulose degradation in an acidic *Sphagnum* peat. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(7): 1800-1814.
- [45] Kanokratana P, Uengwetwanit T, Rattanachomsri U, Bunterngsook B, Nimchua T, Tangphatsornruang S, Plengvidhya V, Champreda V, Eurwilaichitr L. Insights into the phylogeny and metabolic potential of a primary tropical peat swamp forest microbial community by metagenomic analysis. *Microbial Ecology*, 2011, 61(3): 518-528.
- [46] Crawford D L. Lignocellulose decomposition by selected *Streptomyces* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 1978, 35(6): 1041-1045.
- [47] Elliott Juhnke M, Mathre D E, Sands D C. Identification and characterization of rhizosphere-competent bacteria of wheat. *Applied and Environmental Microbiology*, 1987, 53(12): 2793-2799.
- [48] 杨菁, 周国英, 田媛媛, 刘倩丽, 刘成锋, 杨权, 周洁尘. 降香黄檀不同混交林土壤细菌多样性差异分析. *生态学报*, 2015, 35(24): 8117-8127.
- [49] Rousk J, Bååth E, Brookes PC, Lauber C L, Lozupone C, Caporaso J G, Knight R, Fierer N. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil. *The ISME Journal*, 2010, 4(10): 1340-1351.
- [50] Magill A H, Aber J D. Variation in soil net mineralization rates with dissolved organic carbon additions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32(5): 597-601.
- [51] Shen C C, Xiong J B, Zhang H Y, Feng Y Z, Lin X G, Li X Y, Liang W J, Chu H Y. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 204-211.
- [52] Jones R T, Robeson M S, Lauber C L, Hamady M, Knight R, Fierer N. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. *The ISME Journal*, 2009, 3(4): 442-453.
- [53] 柳春林, 左伟英, 赵增阳, 邱礼鸿. 鼎湖山不同演替阶段森林土壤细菌多样性. *微生物学报*, 2012, 52(12): 1489-1496.
- [54] 隋心, 张荣涛, 钟海秀, 许楠, 王继丰, 刘应竹, 袁海峰, 倪红伟. 利用高通量测序对三江平原小叶章湿地土壤细菌多样性的研究. *土壤*, 2015, 47(5): 919-925.