

DOI: 10.5846/stxb201907311624

曹鹏熙, 刘怡萱, 许国琪, 姬亚丽, 李敬科, 李小燕, 刘星. 冰川棘豆 (*Oxytropis glacialis*) 根系土壤细菌多样性特征. 生态学报, 2020, 40 (14): 4954-4965.

Cao P X, Liu Y X, Xu G Q, Ji Y L, Li J K, Li X Y, Liu X. Bacterial diversity in the root system soil of *Oxytropis glacialis*. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40 (14): 4954-4965.

## 冰川棘豆 (*Oxytropis glacialis*) 根系土壤细菌多样性特征

曹鹏熙<sup>1</sup>, 刘怡萱<sup>1</sup>, 许国琪<sup>1</sup>, 姬亚丽<sup>1</sup>, 李敬科<sup>1</sup>, 李小燕<sup>2</sup>, 刘 星<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> 西藏大学理学院, 拉萨 850000

<sup>2</sup> 武汉大学生命科学院, 武汉 430072

**摘要:** 冰川棘豆是青藏高原高寒草原和荒漠草原主要伴生毒草之一, 对青藏高原草地退化及畜牧业的发展产生严重影响。对 4 种不同生态环境中冰川棘豆根系土壤细菌的 16S rRNA 进行高通量测序及生物信息学分析, 结合土壤的理化性质, 分析了不同生态环境下冰川棘豆根系土壤细菌群落多样性及其与土壤理化因子的关系, 探讨了根系土壤细菌对冰川棘豆在高寒生态系统中形成优势种可能的影响。结果表明, 在不同生态环境下冰川棘豆根系土壤细菌多样性丰富, 且受土壤 pH 和有机物影响最大, 同时, 能够保持稳定的核心菌群网络, 对冰川棘豆在高寒生态系统中形成优势种具有促进作用。

**关键词:** 青藏高原; 冰川棘豆; 根系土壤细菌; 核心菌群; 土壤理化因子

### Bacterial diversity in the root system soil of *Oxytropis glacialis*

CAO Pengxi<sup>1</sup>, LIU Yixuan<sup>1</sup>, XU Guoqi<sup>1</sup>, JI Yali<sup>1</sup>, LI Jingke<sup>1</sup>, LI Xiaoyan<sup>2</sup>, LIU Xing<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup> College of Science, Tibet University, Lhasa 850000, China

<sup>2</sup> College of Life Science, Wuhan University, Wuhan 430072, China

**Abstract:** *Oxytropis glacialis* is one of the main poisonous weeds in the alpine grassland and desert grassland of the Qinghai-Tibet Plateau (QTP). It has a serious impact on the grassland degradation and the development of animal husbandry in the QTP. In this paper, the bacterial 16S rRNA in the root system soil of *Oxytropis glacialis* was sequenced by high-throughput sequencing and analyzed by bioinformatics methods. Combining with the physical and chemical properties of soil samples, the bacterial diversity and its relationship with soil physical and chemical factors was analyzed. The possible influence on root system soil bacteria of *Oxytropis glacialis* to form dominant species in alpine ecosystem was discussed. The results showed that the diversity of root system soil bacteria of *Oxytropis glacialis* was rich in different ecological environments, and was most affected by soil pH and organic matter. Meanwhile, the stable core microbiota network could be maintained, which could promote the formation of *Oxytropis glacialis* becoming dominant species in the alpine ecosystem.

**Key Words:** QTP; *Oxytropis glacialis*; root system soil bacteria; core microbiota; physical and chemical factors of soil

青藏高原地处地球“第三极”, 具有高寒、低氧、强辐射及昼夜温差大等特点, 使其生态类型独特, 富含特殊的生物资源<sup>[1,2]</sup>, 植物和土壤微生物长期在这种极端环境的胁迫下, 构建了一套复杂而稳定的互作系统, 反

**基金项目:** 2019 年中央支持地方高校改革发展专项资金 (藏财预指 [2019] 01 号); 西藏大学研究生高水平人才培养计划项目 (2017-GSP-115); 西藏大学培育基金项目 (ZDCZJH17-12)

**收稿日期:** 2019-07-31; **网络出版日期:** 2020-04-28

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xingliu@whu.edu.cn

映了植物和微生物的适应策略<sup>[3]</sup>。最新研究发现,青藏高原整体变暖的趋势会使土壤微生物活动增加,并引起植物纬度转移,导致整个高原面的陆地生态系统发生显著性变化<sup>[4]</sup>,同时,青藏高原土壤微生物、植物和动物多样性与高寒生态系统的功能呈正相关,土壤细菌和植物多样性共同对生态系统多功能性变异的解释度为45%<sup>[5]</sup>。青藏高原作为全球生物多样性研究的热点地区之一,有关植物根部的微生物群落多样性特征,及微生物群落如何受到土壤理化因子的调节受到关注较少,尤其针对高寒草原有毒有害植物。

冰川棘豆是棘豆属(*Oxytropis DC*)植物,为青藏高原特有种和广布种<sup>[6]</sup>,多年丛生草本,茎极缩短,生长于海拔4500–5400m的砾石山坡、山坡草地、河滩砾石地和砂质地,主要分布于西藏阿里和那曲等地<sup>[7]</sup>。冰川棘豆全株有毒,属于疯草的一种,内含一种名为苦马豆素(Swainsonine, Sw, 1,2,8-trihydroxyoctahydro indolizidine)的毒性生物碱,干枯后仍然保留毒性作用,动物摄食后会导致其中枢神经系统功能紊乱<sup>[8]</sup>,给当地的畜牧业带来严重影响。同时,冰川棘豆也是高寒草原和荒漠主要伴生种之一,可以在局部环境或者退化草地中形成优势种或亚优势种,对青藏高原草地退化以及土地荒漠化产生严重影响<sup>[9]</sup>。目前关于冰川棘豆的研究多集中于生态毒理、生物碱和内生菌等方面,赵宝玉等<sup>[10]</sup>人对西藏阿里地区的冰川棘豆分布面积、生物学特征、危害情况以及动物中毒特征进行了全面调查,李勤凡等<sup>[11]</sup>对冰川棘豆中生物碱进行了提取并鉴定为苦马豆素,余永涛等<sup>[12]</sup>已经从冰川棘豆中分离出了产苦马豆素内生真菌棘豆埃里格孢菌,张峰华等<sup>[13]</sup>对冰川棘豆产苦马豆素内生真菌相关的调控基因和酶进行了筛选,但是对青藏高原冰川棘豆根系土壤微生物的研究几乎是空白。冰川棘豆根系土壤是否存在提高植物抗寒、抗旱、抗辐射、耐盐碱和抗缺氧机制的微生物种群有待研究,冰川棘豆是否通过根系分泌物影响根系土壤微生物种群结构,使其成为局部环境中的优势群落也待验证。

本研究以青藏高原不同生态环境的冰川棘豆根系土壤细菌为研究对象,分析了不同生态环境中冰川棘豆根系土壤细菌的群落多样性及其与土壤理化因子的关系,阐述了其空间分布规律,探讨了根系土壤细菌对冰川棘豆在高寒生态系统中形成优势种可能的影响。

## 1 研究区域与材料方法

### 1.1 研究区域概括

本研究地理位置信息见表1。羊八井镇位于地热资源丰富的羊八井盆地,措勤县扎日南木措位于青藏高原北部羌塘国家级自然保护区,扎布耶措是中国最大的钾盐湖,珠峰大本营位于珠穆朗玛峰国家级自然保护区核心区,上述地区是冰川棘豆的主要分布区,属于高原寒带和亚寒带季风半干旱气候<sup>[14]</sup>,本次科学考察取样获得西藏自治区林业厅及各自然保护区主管部门批准。

表1 采样点信息

Table 1 Information of sample site

采样点 Location sites	经度 Longitude (E)	纬度 Latitude (N)	海拔 Altitude/m	生态类型 Ecotype
羊八井(YBJ)	90.48799°	30.04268°	4287	高寒退化草原
珠峰大本营(ZF)	86.84309°	28.16793°	5003	高寒荒漠
扎布耶措(ZBY)	84.02377°	31.39431°	4453	高寒盐漠
措勤县扎日南木措(CQ)	86.04237°	31.03991°	4710	高寒草原

### 1.2 样地设置与取样方法

本研究于2017年8月冰川棘豆生长旺盛期进行采样,每个样点3个重复,每个重复间隔100m以上,共采集11份样本,其中ZBY样点因样本采集困难,只采集了2个样本。采样时,将冰川棘豆整株挖起,抖动脱落土,脱落土用无菌袋封装,用于土壤理化性质测定。将根表面粘附的土壤洗脱至95%乙醇中,放入-20℃车载冰箱(美国Mobicool, CF-50)中带回实验室置于-80℃超低温冰箱(江苏盛蓝, DW86L-158)冷冻保存,用于土壤细菌总DNA提取。

### 1.3 土壤理化性质分析

按如下方法对有机物(organic matter, OM)、速效钾(available K, AK)、速效磷(available P, AP)、铵态氮(ammonium N, AN)、pH、电导率(electrical conductivity, EC)和含水量(soil moisture, SM)等土壤理化因子进行检测,含水量用烘干法测定,称取 5 g 新鲜脱落土于培养皿,置于(105±2)℃恒温干燥箱(上海精宏,DK-420S)中烘干 8 h;pH 用电位计法测定(哈纳 HANNA, HI98103),水土比为 1:1;电导率用电导仪法测定(哈纳 HANNA, HI98304),水土比为 3:1;有机物、速效钾、速效磷、铵态氮用便携式土壤成分测定仪(北京优普通用,UPA-B506)测定<sup>[15]</sup>。

### 1.4 根系土壤细菌总 DNA 提取及测序

采用 SDS 加酶法提取根系土壤细菌总 DNA<sup>[16]</sup>,用 NanoDrop One(Thermo, NanoDrop One)检测 DNA 纯度和浓度,用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性。引物 338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')与 806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对 16S rDNA V3-V4 区进行 PCR 扩增<sup>[17]</sup>。PCR 采用 20 μL 反应体系,其中 10×Buffer 2 μL,2.5 mM dNTPs 2 μL,双向引物各(5 μM)0.8 μL,rTaq 聚合酶 0.2 μL,BSA 0.2 μL,模板 DNA 10 ng,补 ddH<sub>2</sub>O 至 20 μL。PCR 反应参数为:95℃ 3 min;95℃ 30 s,56℃ 30 s,72℃ 45 s,25 个循环;72℃ 10 min,10℃ 停止试验<sup>[18]</sup>。用 NanoDrop One 检测 PCR 产物纯度和浓度,样本送至广东仁秀测序公司(Rgenome, China)通过 Illumina HiSeq 平台进行高通量测序。

### 1.5 数据分析

使用 FLASH 软件(FLASH v1.2.7)对每个样本 Illumina HiSeq 测序得到的双端序列进行拼接,得到原始的操作分类单元 OTUs(Operational Taxonomic Units)数据(Raw Tags)。用 Trimmomatic(v0.33)软件对拼接后的 Raw Tags 质量和效果进行质控过滤,得到高质量的 Tags 数据(Clean Tags)。所得 Clean Tags 数据在美吉公司 I-Sanger 云平台(www.i-sanger.com)上进行分析。利用 Usearch(vsesion7.0)软件在 Silva(Release128 <http://www.arb-silva.de>)数据库基于 97%相似度下对 OTU 聚类分析和物种分类学分析。利用 ANOSIM 相似性分析和 Adonis 置换多因素方差分析对四组样本进行分析,判断分组的可行性和可信度,然后基于最小样本序列数进行了抽平。Alpha 多样性方面,利用 mothur(version v.1.30.1)对 Ace、chao、coverage、shannon 和 simpson 五个指数进行分析,用 T 检验分析指数差异,用 R 作图。菌群结构组成方面,通过柱形图表示细菌群落组成;通过 Venn 图比较分析,在属的水平上确定四组样本共有的优势菌群;通过 One\_way ANOVA 单因素方差分析各组样本属水平的差异物种组成,P 值多重检验校正设置为 Fdr,Post-hoc 检验 scheffe 显著水平值为 0.95。菌群结构关联与模型预测方面,采用 Network 共现性网络分析和相关性网络分析进行分析。土壤理化因子与菌群的关联分析方面,检测了 OM、AK、AP、AN、pH、EC 和 SM,进行了 CCA 典型分析;基于 Spearman 等级相关系数,绘制了丰度前 50 的属与土壤理化因子的相关性 Heatmap 图。利用 AI(Adobe Illustrator CS6)和 PS(Adobe Photoshop CS6)软件对图片进行了组合处理。

所有的测序原始数据已提交到 GenBank 项目登录号 PRJNA506831 和 NCBI SRA(Sequence Read Archive)登录号 SRP170620 下。

## 2 结果与分析

### 2.1 测序结果及 Alpha 多样性统计分析

#### 2.2.1 测序结果

通过高通量测序共得到 725599 条原始序列,质控后得到 531512 条高质量序列,平均每个样本 48319 条,在 97%的相似水平下注释得到的 OTUs 数量为 8743,统计共得到 35 个门,94 个纲,195 个目,368 个科和 712 个属。平均 Coverage 覆盖率为 96.2%,Shannon 稀释曲线均趋于平缓(图 1),说明本研究的测序数据合理,更多的测序数据只会产生少量新的物种 OTU,基本能反应样本中细菌的群落结构组成。ANOSIM 相似性分析显示组间差异大于组内差异( $R=0.6444$ ),分组是可行的;Adonis 置换多因素方差分析显示分组可信度高( $P=0.001$ )。

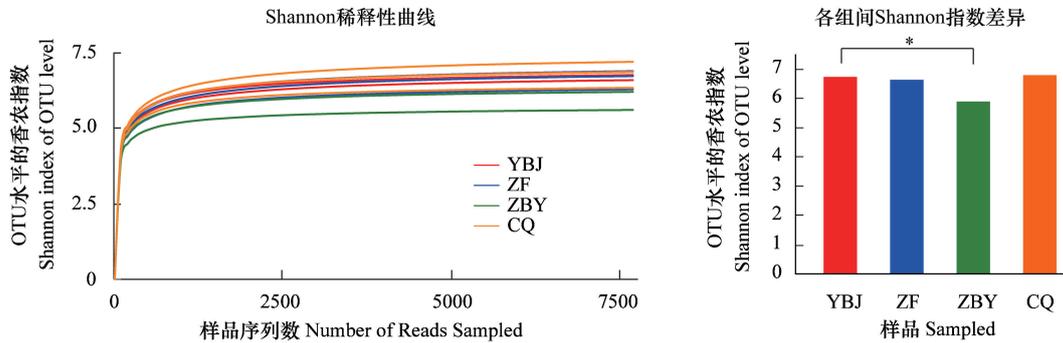


图 1 Shannon 稀释性曲线及多样性指数差异

Fig.1 Shannon dilution curve and diversity index difference

YBJ:羊八井镇;ZF:珠峰大本营;ZBY:扎布耶盐湖;CQ:措勤县; \* 0.01 < P ≤ 0.05

2.1.2 Alpha 多样性统计分析

从表 2 可以看出,Ace 和 Chao 丰富度指数以 YBJ 的最高,ZBY 的最低,菌群丰富度排序为:YBJ>CQ>ZF>ZBY;Shannon 和 Simpson 多样性指数以 CQ 最高,ZBY 最低,菌群多样性排序为:CQ > YBJ > ZF > ZBY。组间指数 T 检验结果显示(图 1),YBJ、CQ 和 ZF 样本的多样性组间差异不明显,ZBY 与其他组多样性组间差异显著。YBJ 和 ZBY 之间有显著差异(P<0.05),其他组间 Shannon 指数差异不显著(P>0.05)。

表 2 冰川棘豆根系土壤细菌的物种丰富度和多样性指数

Table 2 The species richness and diversity index of root system soil bacteria in the *Oxytropis glacialis*

样本 Samples	序列数 Sequences	OTU 数 OTUs	多样性指数 Alpha diversity				
			Ace 指数 Ace	Chao 指数 Chao	覆盖度 Coverage	香农指数 Shannon	辛普生指数 Simpson
YBJ	67229	3627	4469.00±614.53	4505.62±677.70	0.9653±0.0350	6.920±0.082	0.00303±0.00104
ZF	56524	3424	3966.99±391.93	4000.69±360.72	0.9759±0.0251	6.820±0.245	0.00472±0.00185
ZBY	19790	1873	2728.77±110.55	2641.83±113.03	0.9559±0.0189	5.980±0.250	0.00966±0.00346
CQ	40224	3328	4249.96±984.78	4258.85±108.79	0.9496±0.0462	6.937±0.377	0.00300±0.00131

表中多样性指数数据为:平均值±标准偏差;OTUs:操作分类单元(Operational Taxonomic Units);Ace: Ace 指数;Chao: Chao 指数

2.2 冰川棘豆根系土壤细菌群落物种组成分析

2.2.1 门和属水平的根系土壤细菌群落结构

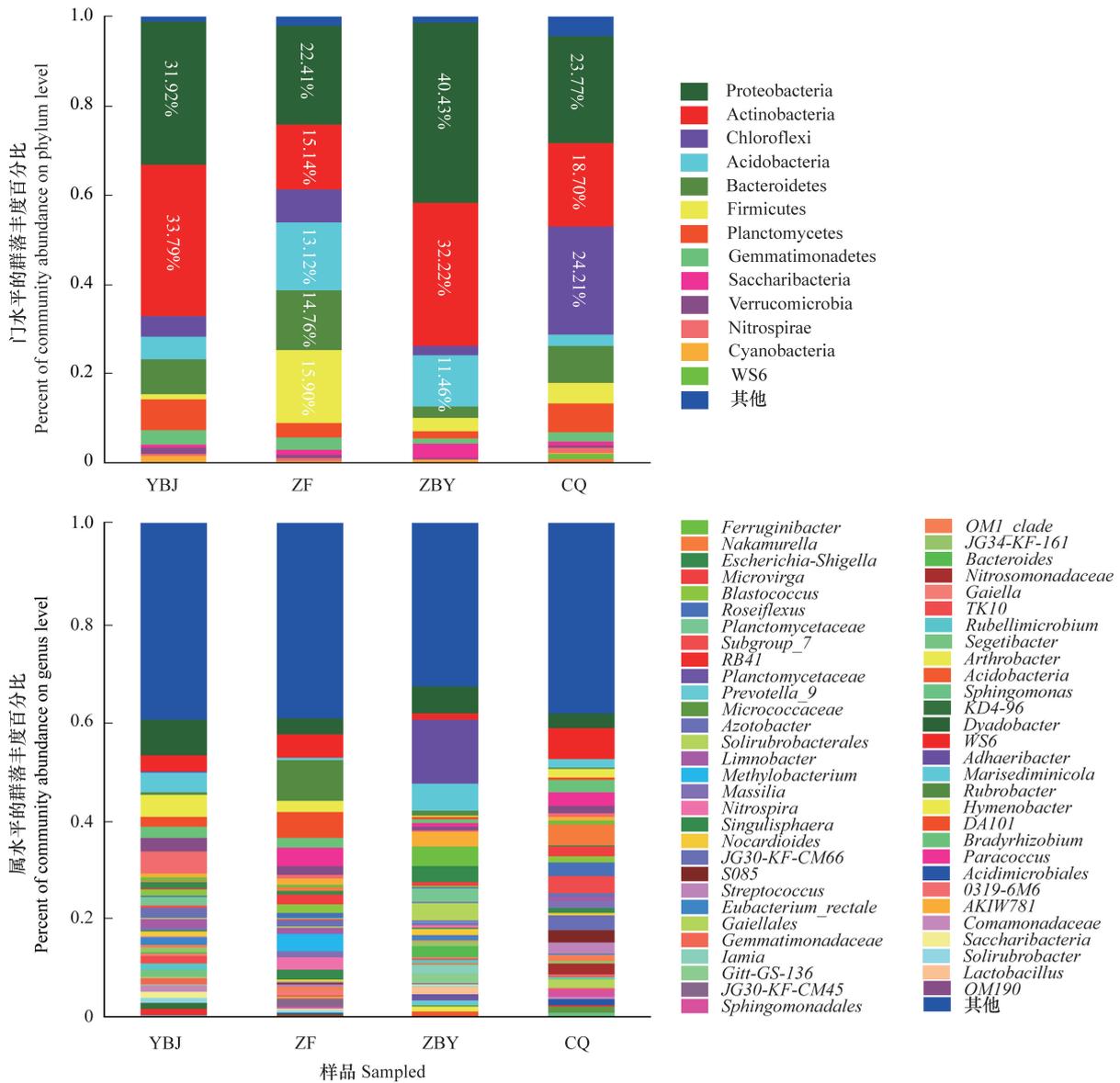
根据分类学分析结果,除 0.79%的未确定类群外,其余样本共注释到共 35 个门(图 2),平均相对丰度在前 1%的门比例为 95.14%,包括变形杆菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和螺旋体门(Saccharibacteria)。经统计,除 Hydrogenedentes 在 CQ 特有,FCPU426, Lentisphaerae, Candidatus Berkelbacteria, BJ\_169 在 ZF 特有,其他门在四组样品中均有分布。

在属的水平分析结果显示,所有样本共注释到 712 个属(图 2),平均相对丰度在前 1%的物种分布在 9 个门的 23 个属,占有所有属 42.81%的比例。YBJ 以 *Sphingomonas* (7.26%)、*Solirubrobacter* (4.78%) 和 *Planctomycetaceae* (4.47%) 为主;ZF 以 *Prevotella* 9 (7.98%)、*RB41* (5.09%) 和 *Acidobacteria* (4.92%) 为主;ZBY 以 *Arthrobacter* (12.45%)、*Micrococcaceae* (5.86%) 和 *Sphingomonas* (5.33%) 为主;CQ 以 *Acidobacteria* (6.41%) 和 *G30-KF-CM45* (4.29%) 为主。YBJ 特有属为 *Acidiphilium*, *Rhodovarius* 和 *Dokdonella* 等;ZF 特有属为 *Geobacter*,

*Ruminococcaceae* UCG\_013 和 *Bacteroidales* S24\_7 等;ZBY 特有属为 *Azotobacter*, *Nibrubacter*, *Agromyces*, *Rufibacter* 和 *Deinococcus* 等;CQ 特有属为 *Limnobacter*, CA002 和 NB1-j 等。其中 *Arthrobacter* 在 ZBY 为主要优势菌属 (12.45%), 在 YBJ (0.40%) 和 CQ (0.14%) 少量分布, 在 ZF 样本中无分布。Venn 显示四组样本共有属 257 个 (36.20%), YBJ 样本特有属 43 个 (6.06%), ZF 样本特有属 28 个 (3.94%), ZBY 样本特有属 23 个 (3.24%), CQ 样本特有属 79 个 (11.13%) (图 2)。

2.2.2 根系土壤菌群落组间差异分析

在属的水平上, 对在四组样本间相对平均丰度差异较大的 15 个物种进行的单因素方差分析 (One\_way ANOVA) 及 post\_hoc 检验结果表明 (图 2), 四种生态类型下 *Solirubrobacter*, TK10, 0319\_6M6 和 *Elev* 16S\_1332 存在极显著差异 ( $P < 0.01$ ), *Micrococcaceae*, *Saccharibacteria*, JG30 KF\_CM45, *Gaiellales*, *Acidimicrobiaceae*, *Blastococcus*, *Solirubrobacterales*, *Frankiales*, *Bradyrhizobium*, *Patulibacter* 和 *Parcubacteria* 存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。



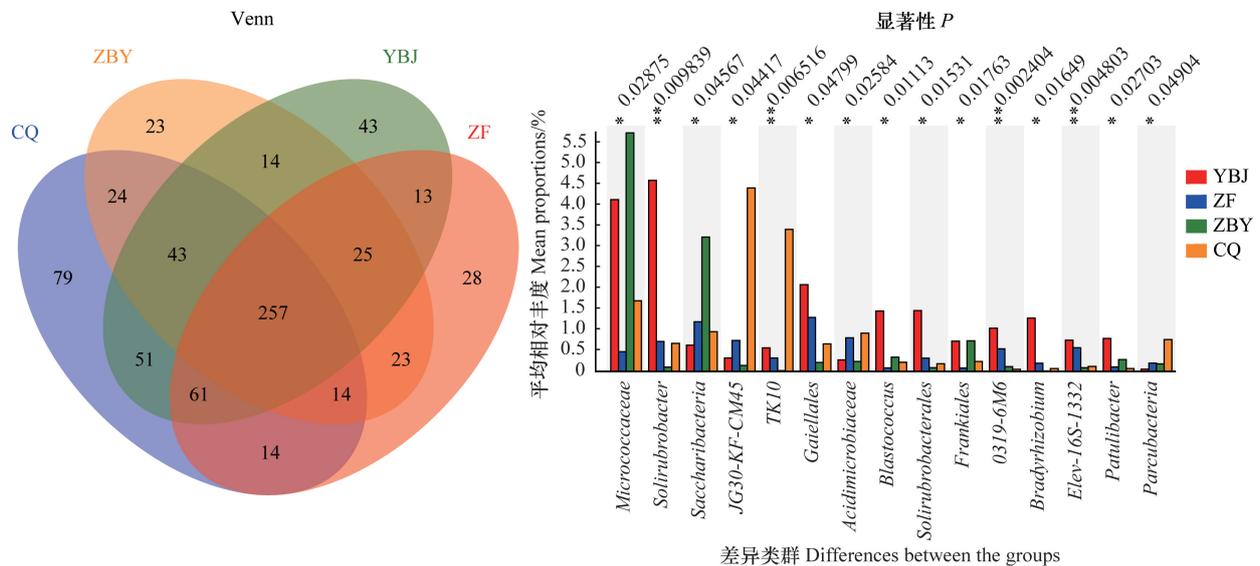


图 2 基于门和属水平的细菌群落结构及属水平的 venn 图

Fig.2 Root system soil bacterial community structure based on genus and phylum level and Venn diagram based on genus level

Acidobacteria: 酸杆菌门; Actinobacteria: 放线菌门; Bacteroidetes: 拟杆菌门; Chloroflexi: 绿弯菌门; Cyanobacteria: 蓝藻门; Firmicutes: 纤维杆菌门; Gemmatimonadetes: 芽单胞菌门; Nitrospirae: 硝化螺旋菌门; others: 其他; Planctomycetes: 浮霉菌门; Proteobacteria: 变形杆菌门; Saccharibacteria: 未命名; Verrucomicrobia: 疣微菌门; WS6: 未命名。 *Arthrobacter*: 节杆菌属; *Azotobacter*: 固氮菌属; *Adhaeribacter*: 屈挠杆菌属; AKIW781: 未命名; 0319-6M6: 未命名; Acidimicrobiales: 酸微菌目; Acidobacteria: 酸杆菌门; *Bacteroides*: 拟杆菌属; *Blastococcus*: 芽生球菌属; *Bradyrhizobium*: 慢生根瘤菌属; Comamonadaceae: 丛毛单胞菌科; DA101: 未命名; *Dyadobacter*: 双杆菌属; *Escherichia-Shigella*: 志贺氏菌属; *Eubacterium\_rectale*: 真杆菌属; *Ferruginibacter*: 费氏杆菌属; *Gaiella*: 未命名; *Gaiellales*: 未命名; *Gemmatimonadaceae*: 芽单胞菌科属; *Gitt-GS-136*: 未命名; *Hymenobacter*: 薄层菌属; *Iamia*: 未命名; *JG30-KF-CM45*: 未命名; *JG30-KF-CM66*: 未命名; *JG34-KF-161*: 未命名; *KD4-96*: 未命名; *Lactobacillus*: 乳杆菌属; *Limnobacter*: 伯克氏菌属; *Marisediminicola*: 未命名; *Massilia*: 马赛菌属; *Methylobacterium*: 甲基杆菌属; Micrococcaceae: 微球菌科; *Microvirga*: 微枝形杆菌属; *Nakamurella*: 中村氏菌属; *Nitrosomonadaceae*: 亚硝化单胞菌属; *Nitrospira*: 硝化螺旋菌属; *Nocardioides*: 类诺卡氏菌属; *OM1\_clade*: 未命名; *OM190*: 未命名; others: 其他; *Paracoccus*: 副球菌属; Planctomycetaceae: 浮霉菌科; *Prevotella\_9*: 未命名; *Roseiflexus*: 玫瑰弯菌属; *Rubellimicrobium*: 微红微菌属; *Rubrobacter*: 红色杆菌属; *Saccharibacteria*: 未命名; *Segetibacter*: 壤杆菌属; *Singulisphaera*: 单球菌属; *Solirubrobacter*: 土壤红色杆菌属; Solirubrobacteriales: 土壤红杆菌目; Sphingomonadales: 鞘脂单胞菌目; *Sphingomonas*: 鞘胺醇单胞菌属; *Streptococcus*: 链球菌属; *Subgroup\_7*: 未命名; *TK10*: 未命名; *WS6*: 未命名。 Acidimicrobiaceae: 酸微菌科; *Blastococcus*: 芽生球菌属; *Bradyrhizobium*: 慢生根瘤菌属; *Elev-16S-1332*: 未命名; Frankiales: 弗兰克氏菌目; *Gaiellales*: 未命名; *JG30-KF-CM45*: 未命名; Micrococcaceae: 微球菌科; Parcubacteria: 俭菌总门; *Patulibacter*: 沼杆菌属; *Saccharibacteria*: 未命名; *Solirubrobacter*: 土壤红色杆菌属; Solirubrobacteriales: 土壤红杆菌目; *TK10*: 未命名; 0319-6M6: 未命名

## 2.3 冰川棘豆根系土壤细菌群落结构关联与模型预测分析

### 2.3.1 共现性网络分析

对所有样本进行共现性网络分析显示,样本与物种共有 1455 个有效节点 (Degree) (图 3A), YBJ、ZF、ZBY 和 CQ 样本分别有 319、411、340 和 385 个节点,与四组样本均共线的属中约 30.70%,至少有 67.28%的属在两组以上的样本中共线。四组样本中有 7 个属共线率超过 2%,包括 *Sphingomonas* (4.79%)、*Acidobacteria* (4.02%)、*Arthrobacter* (3.28%)、*Micrococcaceae* (3.03%)、*Prevotella\_9* (2.42%)、*Planctomycetaceae* (2.22%) 和 *RB414* (2.07%); 有 17 个属共线率超过 1%,包括 *KD4\_96*、*Acidimicrobiales*、*Lactobacillus*、*Solirubrobacter*、*Saccharibacteria*、*Comamonadaceae*、*Sphingomonadales*、*JG30\_KF\_CM45*、*Gitt GS\_136*、*Iamia*、*Gemmatimonadaceae*、*Gaiellales*、*Segetibacter*、*Rubellimicrobium*、*TK10*、*Gaiella* 和 *Nitrosomonadaceae*。以上共线率大于 1%的 24 个属,确定为冰川棘豆根系土壤细菌群落的核心菌群。

### 2.3.2 相关性网络分析

相关性网络分析发现(图 3B),在网络中共显示有 37 个节点和 212 条边,说明冰川棘豆根系土壤细菌群落存在高水平的连接性。丰度大的物种在相关性网络中不完全占主导地位,整体群落的协同作用大于拮抗作

用, Latescibacteria 协同作用最明显, 而 Actinobacteria 拮抗作用最明显。Latescibacteria、Actinobacteria、Chlorobi、FBP、Candidatus\_Berkelbacteria、TM6、Parcubacteria、Acidobacteria 和 Peregrinibacteria 九个门相关性较大, 在整个菌群网络中起到了关键的作用。Latescibacteria 和 Actinobacteria 是最关键的门, Latescibacteria、Chloroflexi、TM6、Peregrinibacteria、Acidobacteria 和 Peregrinibacteria 与其他门均呈正相关; Actinobacteria、FBP、Cyanobacteria 与其他门呈负相关, Actinobacteria 是负相关最大的门。

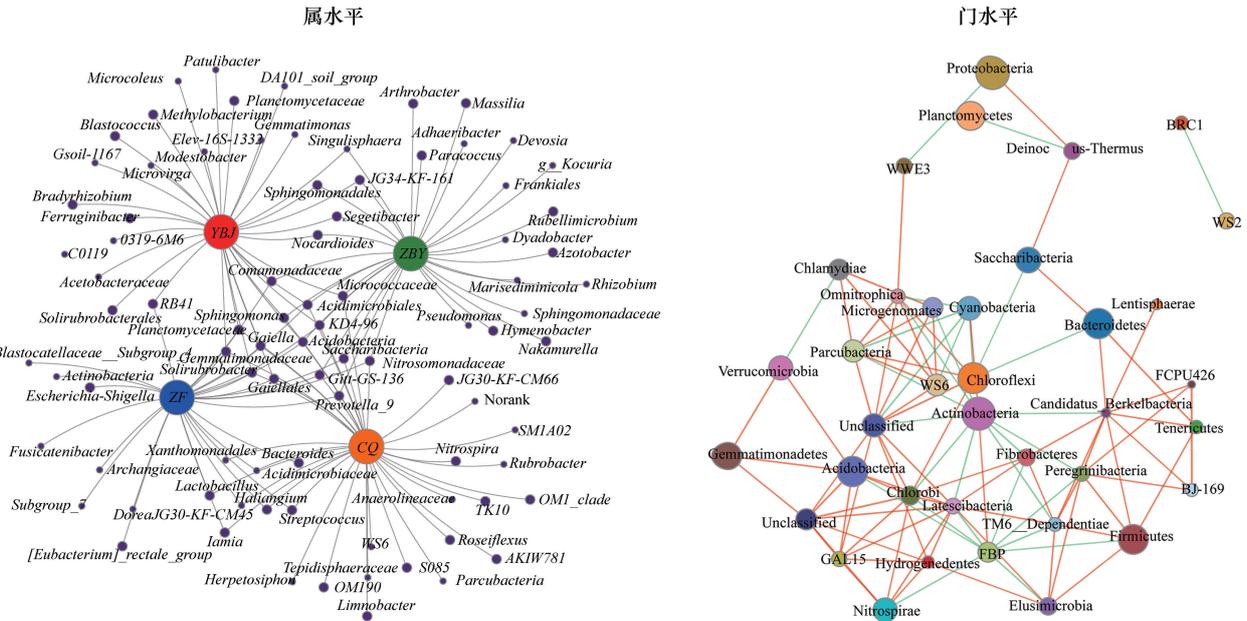


图3 共线性网络和相关性网络分析图

Fig.3 Correlation network of co-occurring and Correlation network analysis

Acetobacteraceae: 醋杆菌科; Acidimicrobiaceae: 酸微菌科; Acidimicrobiales: 酸微菌目; Acidobacteria: 酸杆菌门; Actinobacteria: 放线菌门; Adhaeribacter: 屈挠杆菌属; AKIW781: 未命名; Anaerolineaceae: 厌氧绳菌科; Archangiaceae: 原囊菌科; Arthrobacter: 节杆菌属; Azotobacter: 固氮菌属; Bacteroides: 拟杆菌属; Blastocatellaceae\_Subgroup\_4: 未命名; BlastococcusRB41: 芽生球菌属; Bradyrhizobium: 慢生根瘤菌属; Comamonadaceae: 丛毛单胞菌科; DA101\_soil\_group: 未命名; Devosia: 未命名; Dorea: 未命名; Dyadobacter: 双杆菌属; [Eubacterium]\_rectale\_group: 埃希氏菌属直肠组; Elev-16S-13320319-6M6: 未命名; Escherichia-Shigella: 志贺氏菌属; Ferruginibacter: 费氏杆菌属; Frankiales: 弗兰克氏菌目; Fusicatenibacter: 未命名; Kocuria: 考克氏菌属; Gaiellales: 未命名; Gaiella: 未命名; Gemmatimonadaceae: 芽单胞菌科属; Gemmatimonas: 芽孢杆菌属; Gitt-GS-136: 未命名; Gsoil-1167: 未命名; Haliangium: 未命名; Herpetosiphon: 滑柱菌属; Hymenobacter: 薄层菌属; JG30-KF-CM66: 未命名; JG34-KF-161: 未命名; KD4-96: 未命名; Lactobacillus: 乳杆菌属; Limnobacter: 伯克氏菌属; Sphingomonas: 鞘氨醇单胞菌属; Marisedimimicola: 未命名; Massilia: 马赛菌属; Methylobacterium: 甲基杆菌属; Micrococcaceae: 微球菌科; Microcoleus: 微藻属; Microvirga: 微枝形杆菌属; Modestobacter: 粉红贫养杆菌; Nakamurella: 中村氏菌属; Nitrosomonadaceae: 亚硝化单胞菌; Nitrospira: 硝化螺旋菌属; Nocardioideis: 类诺卡氏菌属; Norank: 未命名; OM1\_cladelamia: 未命名; OM190: 未命名; Paracoccus: 副球菌属; Parcubacteria: 俭菌总门; Patulibacter: 沼杆菌属; Planctomycetaceae: 浮霉菌科; Prevotella\_9: 未命名; Pseudomonas: 假单胞菌属; Rhizobium: 根瘤菌目; Roseiflexus: 玫瑰弯菌属; Rubellimicrobium: 微红微菌属; Rubrobacter: 红色杆菌属; S085: 未命名; Saccharibacteria: 未命名; Segetibacter: 壤杆菌属; Singulisphaera: 单球菌属; Solirubrobacter: 土壤红色杆菌属; Solirubrobacterales: 土壤红杆菌目; Sphingomonadaceae: 鞘脂单胞菌目; Sphingomonadales: 鞘氨醇单胞菌属; Streptococcus: 链球菌属; Subgroup\_7: 未命名; Tepidisphaeraceae: 未命名; TK10: 未命名; WS6: 未命名; Xanthomonadales: 未命名; C0119: 未命名; JG30-KF-CM45: 未命名; SM1A02: 未命名。图中显示 |SpearmanCoef| > 0.8 且 p < 0.01 的物种, Acidobacteria: 酸杆菌门; Actinobacteria: 放线菌门; Bacteroidetes: 拟杆菌门; BJ-169: 未命名; BRC1: 未命名; Candidatus\_Berkelbacteria: 未命名; Chlamydiae: 衣原体门; Chlorobi: 绿菌门; Chloroflexi: 绿弯菌门; Cyanobacteria: 蓝藻门; Deinococcus-Thermus: 异常球菌-栖热菌门; Elusimicrobia: 迷踪菌门; FBP: 未命名; FCPU426: 未命名; Fibrobacteres: 纤维杆菌门; Firmicutes: 厚壁菌门; GAL15: 未命名; Gemmatimonadetes: 芽单胞杆菌门; Hydrogenedentes: 食氢菌门; Latescibacteria: 匿杆菌门; Lentisphaerae: 黏胶球形菌门; Microgenomates: 小基因组菌总门; Nitrospirae: 硝化螺菌门; Omnitrophica: 杂食菌门; Parcubacteria: 俭菌总门; Peregrinibacteria: 异域菌门; Planctomycetes: 浮霉菌门; Proteobacteria: 变形杆菌门; Saccharibacteria: 单糖菌门; Tenericutes: 软壁菌门; TM6\_Dependentiae: TM6 细菌门; Unclassified: 未分类; Verrucomicrobia: 疣微菌门; WS6: 未命名; WWE3: 未命名; WS2: 未命名

### 2.4 土壤理化因子对根系土壤菌群的影响

不同样本的根系土壤理化因子见表 3。通过 VIF 方差膨胀因子分析筛选发现 OM、AK、AP、AN、pH 和 SM 6 个土壤理化因子与根系土壤菌群结构显著相关,能够最大程度体现对根系土壤菌群的影响。

表 3 冰川棘豆根系土壤基本理化因子分析

Table 3 Nutrient and chemical properties in root system soil of *Oxytropis glacialis*

样本 Sample	酸碱度 pH	土壤含水量 Soil moisture	电导率 Electrical conductivity/ (ms/cm)	有机物 Organic matter/ (mg/kg)	速效钾 Available K/ (mg/kg)	速效磷 Available P/ (mg/kg)	铵态氮 Available N/ (mg/kg)
YBJ	5.80±0.06	0.143±0.023	0.07±0.01	145.9±21.0	164.3±39.3	8.91±2.26	619.7±18.6
ZF	7.45±0.34	0.130±0.007	0.11±0.02	88.3±7.3	134.8±23.8	5.11±1.06	594.9±67.0
ZBY	8.82±0.09	0.054±0.008	0.24±0.00	11.8±0.2	503.9±17.0	4.77±2.58	320.5±4.7
CQ	7.70±0.09	0.091±0.017	0.11±0.00	102.8±11.9	156.8±10.6	4.59±0.28	703.4±96.7
VIF	26.73	5.33	36.01	10.44	18.83	2.09	7.44
VIF	7.72	5.27	—	8.55	8.33	2.09	6.33

表中土壤理化数据为:平均值±标准偏差,“—”表示相关作用不显著的环境因子,VIF:方差膨胀因子

#### 2.4.1 典范对应分析

CCA 分析结果表明(图 4),第一排序轴(CCA1)解释度为 19.61%,与有机物、pH、铵态氮、含水量、速效钾和速效磷的相关性系数分别为-0.77、0.54、-0.97、-0.84、0.97 和-0.37;第二排序轴(CCA2)解释度为 14.17%,与有机物、pH、铵态氮、含水量、速效钾和速效磷的相关性系数分别为-0.63、0.84、-0.25、-0.53、0.26 和-0.93,两轴共同解释了物种构成变化的 31.78%。根系土壤菌群丰度与有机物和 pH 极显著相关( $P<0.01$ ),与铵态氮、含水量和速效钾呈显著相关( $P<0.05$ ),与速效磷相关性不显著,有机物和 pH 是冰川棘豆根系土壤菌群丰度空间变异的最主要驱动因素。pH、有机物、速效钾、铵态氮、含水量和速效磷对群落物种分布的决定系数( $R^2$ 值)分别为 0.88、0.86、0.84、0.67、0.63 和 0.35。

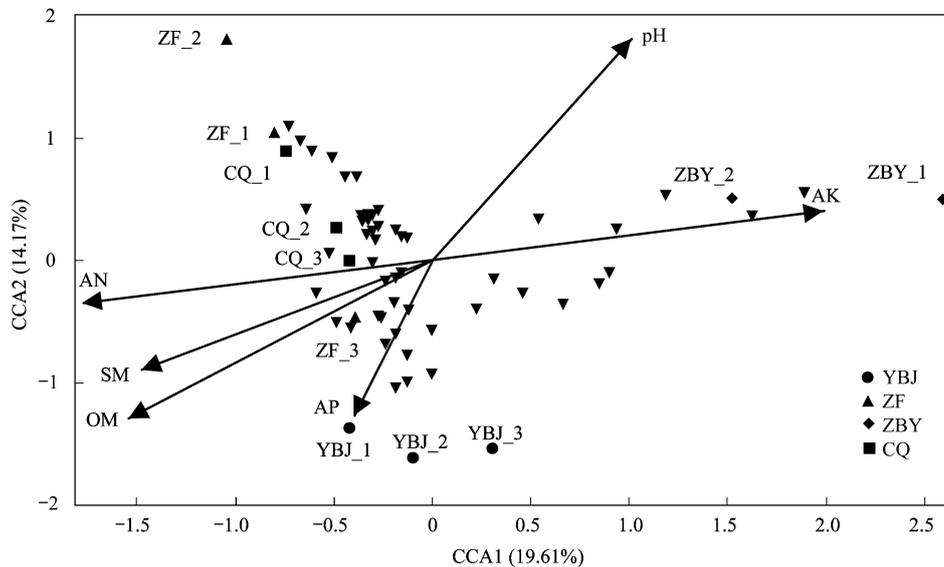


图 4 基于属水平的 CCA 分析

Fig.4 CCA on Genus level

AN: 铵态氮, AP: 速效磷, SM: 含水量, OM: 有机物, AK: 速效钾, pH: 酸碱度, EC: 电导率

## 2.4.2 土壤理化因子与菌群相关性 Heatmap 图

通过计算土壤理化因子与菌群之间的Spearman等级相关系数发现(图5),12个属丰度与土壤理化因子

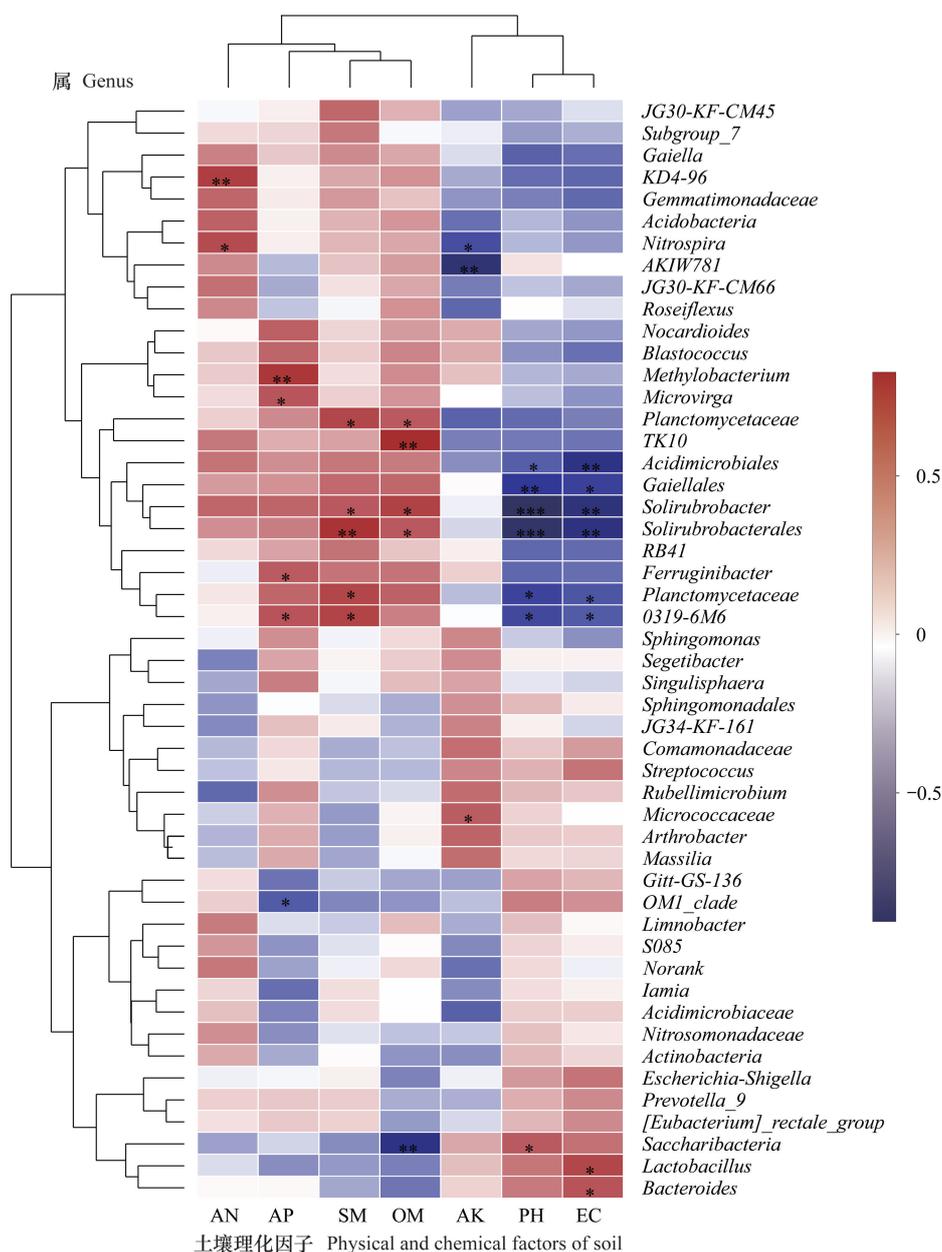


图5 土壤理化因子与菌群相关性 Heatmap 图

Fig.5 Correlation heatmap map of soil physicochemical factor and flora

AN:铵态氮,AP:速效磷,SM:含水量,OM:有机物,AK:速效钾,pH:酸碱度,EC:电导率;R值在图中以不同颜色展示,P值若小于0.05则用\*号标记(\* $0.01 < P \leq 0.05$ ,\*\* $0.001 < P \leq 0.01$ ,\*\*\* $P \leq 0.001$ ),上方为正相关和负相关的环境因子聚类,左侧为物种聚类树,右侧图例是不同R值的颜色区间;Acidimicrobiaceae:酸微菌科;Acidobacteria:酸杆菌门;Acidimicrobiales:酸微菌目;Actinobacteria:放线菌门;AKIW781:未命名;Arthrobacter:节杆菌属;Bacteroides:拟杆菌属;Blastococcus:芽生球菌属;Comamonadaceae:丛毛单胞菌科;Escherichia-Shigella:志贺氏菌属;Eubacterium\_rectale:真杆菌属;Ferruginibacter:费氏杆菌属;Gaiella:未命名;Gaiellales:未命名;Gemmatimonadaceae:芽单胞菌科;Gitt-GS-136:未命名;Iamia:未命名;JG30-KF-CM45:未命名;JG30-KF-CM66:未命名;JG34-KF-161:未命名;KD4-96:未命名;Lactobacillus:乳杆菌属;Limnobacter:伯克氏菌属;Massilia:马赛菌属;Methylobacterium:甲基杆菌属;Micrococcaceae:微球菌科;Microvirga:微枝形杆菌属;Nitrosomonadaceae:亚硝化单胞菌;Nitrospira:硝化螺旋菌属;Nocardioides:类诺卡氏菌属;OM1\_clade:未命名;RB41:未命名;S085:未命名;Planctomycetaceae:浮霉菌科;Prevotella\_9:未命名;Roseiflexus:玫瑰弯菌属;Rubellimicrobium:微红微菌属;Saccharibacteria:未命名;Segetibacter:壤杆菌属;Singulisphaera:单球菌属;Solirubrobacter:土壤红色杆菌属;Solirubrobacterales:土壤红杆菌目;Sphingomonadales:鞘脂单胞菌目;Sphingomonas:鞘脂单胞菌属;Streptococcus:链球菌属;Subgroup\_7:未命名;TK10:未命名;Norank:未注释;0319-6M6:未命名

呈显著正相关,13 个属丰度与土壤理化因子呈显著负相关,具体为:*Nitrospira* 和 *KD4\_96* 与铵态氮显著正相关,0319\_6M6、*Microvirga*、*Nocardioides* 和 *Methylobacterium* 与速效磷呈显著正相关,*Gitt\_GS\_136* 和 *OM1\_clade* 与速效磷呈显著负相关;*Planctomycetaceae*、*Solirubrobacter*、0319\_6M6、*Planctomycetaceae* 和 *Solirubrobacterales* 与含水量呈显著正相关;*Planctomycetaceae*、*Solirubrobacter* 和 *TK10* 与有机物呈显著正相关,*Saccharibacteria* 与有机物呈显著负相关;*Micrococcaceae* 与速效钾呈显著正相关,*AKIW781*、*Nitrospira*、*JG30\_KF\_CM66* 和 *Acidimicrobiaceae* 与速效钾呈显著负相关;*Planctomycetaceae*、*Solirubrobacter*、*Gaiellales*、*Solirubrobacterales*、0319-6M6 和 *Ferruginibacter* 与 pH 呈显著负相关。

### 3 讨论

#### 3.1 根系土壤细菌多样性指数

青藏高原高寒生态系统中植物根部土壤微生物菌群丰度与群落结构组成具有很大独特性<sup>[19]</sup>,同一区域不同植被类型<sup>[20]</sup>或不同区域同一植被类型<sup>[21]</sup>的土壤微生物多样性具有一定差异,对青藏高原高寒生态系统气候变化的影响具有重要意义<sup>[22,23]</sup>。本研究发现,冰川棘豆根际土壤细菌群落多样性在不同生态环境下表现出一定特征,四种生态环境中菌群结构组成稳定在 24 个类群左右,而在菌群丰度上差异较大,高寒草原、高寒退化草原、高寒荒漠的菌群丰度高、差异小,高寒盐漠的菌群丰度与其他三种生态环境差异较大。形成这种特征的原因可能是由于四个样品采集点海拔在 4287—5003 m 之间,均属于极端环境,不同生态环境的冰川棘豆在长期适应下,其根系土壤细菌群落结构组成趋同且稳定,而菌群丰度随着植物根部代谢产物补给量和土壤理化因子的变化而变化。不同地区植物根部土壤微生物群落结构组成在门水平较为相似,在纲和属等分类级别下出现较大差异<sup>[24]</sup>,本研究中,四个地区的生态环境特征及土壤理化性质有所差异,但在同一植物冰川棘豆根系土壤细菌主要类群上,体现出高度重叠,在门的层次相似度较高,物种进化方向保持相对一致,随着分类级别的提高,物种相似度降低,菌群属水平丰度有所变化,但优势菌群仍然表现出较大的相似度。

#### 3.2 根系土壤细菌群落物种组成特征

植物会主动选择根部土壤的细菌群落的结构组成<sup>[25]</sup>,抗逆性极强的多年生植物冰川棘豆根系可达到 60—100 cm<sup>[9]</sup>,发达的根系有益于在根系土壤中形成稳定的菌群结构<sup>[26]</sup>。变形杆菌门、放线菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、拟杆菌门和厚壁菌门等在冰川棘豆根系土壤中形成了优势类群。近年来,相关学者对水稻<sup>[27]</sup>、尼泊尔黄堇<sup>[28]</sup>、拟南芥<sup>[29]</sup>和玉米<sup>[30]</sup>等植物根部土壤细菌群落结构的研究发现,优势菌群分布在变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门、酸杆菌门、浮霉菌门和芽单胞菌门等类群中,我们得到的结果与以上研究类似。冰川棘豆属于豆科植物,豆科植物根部土壤的氮素含量较高,所以根系土壤微生物数量也较多<sup>[31]</sup>,包含有多种固氮菌的变形菌门在冰川棘豆根系土壤中丰度最高,可耐受干旱、低温等极端条件的厚壁菌门<sup>[32]</sup>,在冰川棘豆根系土壤中丰度也较高。Aschenbrenner 等根据微生物 Network 共现性网络分析发现,地衣、苔藓<sup>[33]</sup>和树皮<sup>[34]</sup>的最核心菌群为 *Proteobacteria*,我们利用该方法,成功构建了 24 个菌属组成的冰川棘豆根系土壤细菌核心菌群,核心菌群对保持菌群的多样性和稳定性、研究冰川棘豆在极端环境的适应性进化以及与其根系土壤微生物互作极其重要。Barberán 等<sup>[35]</sup>通过相关性网络分析发现,某些与其他菌群关系密切种属在维持菌群结构与功能中最为关键,我们的研究发现核心菌群中发挥作用关键的菌属在不同的类群之间关系复杂,在极端环境下,植物根系土壤细菌群落更趋向于紧密的协同作用,因此菌群整体表现出协同作用大于拮抗作用的趋势。在 Wang 等<sup>[36]</sup>的研究中发现 *Arthrobacter sp.* HW08 能够高效降解冰川棘豆苦马豆素,在本研究中 *Arthrobacter* 是冰川棘豆根系土壤细菌的主要核心菌群之一,并且在扎布耶盐湖地区的冰川棘豆根系土壤细菌中是丰度最高的菌属,这对揭示冰川棘豆根系微生物在极端环境下的适应性进化机制具有重要作用。

#### 3.3 土壤理化因子对根系土壤菌群多样性的影响

土壤理化因子的差异使得不同区域的植物根部土壤微生物趋于多样性和差异分布<sup>[37]</sup>,Mitter 等<sup>[38]</sup>发现,不同地区的大麦和草木樨的根部土壤细菌群落组成存在明显的差异。本研究中,每个生态环境下的菌群聚在

一起,羊八井、措勤和珠峰三地生态类型属于高寒草原退化过程中的不同阶段,故菌群相似度较高;扎布耶措属于高原盐漠,离散于其他生态类型之外,与其他生态类型的菌群差异较大。在我们研究中,不同的土壤理化因子对菌群相对丰度的正负相关影响不同,如在氮循环过程中的具有消化功能的硝化螺旋菌属 *Nitrospira*<sup>[39]</sup> 与铵态氮呈显著正相关;具有溶磷功能且与豆科植物根瘤形成相关的甲基杆菌属 *Methylobacterium*<sup>[40]</sup> 与速效磷呈显著正相关;具有厌氧氨氧化功能的浮霉菌 *Planctomycetaceae*<sup>[41]</sup> 与含水量呈显著正相关,可促进植物生根的壤红杆菌属 *Solirubrobacter*<sup>[42]</sup> 与含水量和有机物呈显著正相关;*Planctomycetaceae*、*Solirubrobacter* 和 *Gaiellales* 等对 pH 变化敏感,与 Sy 等<sup>[43]</sup> 的研究结果一致。有研究表明,植物根部土壤细菌群落结构组成与多样性主要受土壤 pH 和有机物的影响<sup>[44,45]</sup>,本研究同样表明,在极端环境中 pH 和有机物对冰川棘豆根系土壤微生物菌群相对丰度影响最大。

#### 4 结论

综上所述,不同生态环境中的冰川棘豆根系土壤细菌多样性丰富,保持了稳定的核心菌群,对冰川棘豆在高寒生态系统中形成优势种具有促进作用。菌群在适应极端环境的过程中,不同环境中的土壤理化因子会驱动菌群相对丰度发生变化,受土壤 pH 和有机物影响最大,从而使得菌群相对丰度在空间分布上产生差异。在下一步的研究中需要扩展研究尺度,检测土壤类型、粒度等更为全面的土壤理化性质和气候因子等数据,从多组学相互作用的层面分析冰川棘豆与其根系土壤微生物之间在功能上的关系,进一步了解根系土壤微生物对冰川棘豆在高寒生态系统中形成优势种的适应性进化机制,为青藏高原草地退化和荒漠化治理提供参考依据。

#### 参考文献 (References):

- [ 1 ] 郭正刚, 王根绪, 沈禹颖, 程国栋. 青藏高原北部多年冻土区草地植物多样性. 生态学报, 2004, 24(1): 149-155.
- [ 2 ] 肖玉, 谢高地, 安凯. 青藏高原生态系统土壤保持功能及其价值. 生态学报, 2003, 23(11): 2367-2378.
- [ 3 ] Hong J T, Ma X X, Yan Y, Zhang X K, Wang X D. Which root traits determine nitrogen uptake by alpine plant species on the Tibetan Plateau? *Plant and Soil*, 2018, 424(1/2): 63-72.
- [ 4 ] Liu Y Q, Priscu J C, Yao T D, Vick-Majors T J, Xu B Q, Jiao N Z, Santibáñez P, Huang S J, Wang N L, Greenwood M, Michaud A B, Kang S C, Wang J J, Gao Q, Yang Y F. Bacterial responses to environmental change on the Tibetan Plateau over the past half century. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(6): 1930-1941.
- [ 5 ] Jing X, Sanders N J, Shi Y, Chu H Y, Classen A T, Zhao K, Chen L T, Shi Y, Jiang Y X, He J S. The links between ecosystem multifunctionality and above- and belowground biodiversity are mediated by climate. *Nature Communications*, 2015, 6: 8159.
- [ 6 ] 吴征镒. 西藏植物志. 第二卷. 北京: 科学出版社, 1985.
- [ 7 ] 谭远友, 王建华, 李勤凡, 洪子鹏, 高巨星, 郭庆宏. 冰川棘豆生物碱的提取分离. 畜牧兽医学报, 2002, 33(4): 352-355.
- [ 8 ] 李泉, 李俊年, 陶双伦, 丁宇晶, 何岚, 王铮. 棘豆的毒性、危害及防治. 草业科学, 2009, 26(4): 99-105.
- [ 9 ] 李勤凡. 冰川棘豆毒素的毒性及细菌降解研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2005: 126-126.
- [ 10 ] 赵宝玉, 王保海, 莫重辉, 董强, 格罗, 扎罗, 秀花, 土登, 索多. 西藏阿里地区牲畜冰川棘豆中毒灾害状况调查. 西北农业学报, 2011, 20(4): 40-46.
- [ 11 ] 李勤凡, 王建华, 李蓉, 陈亚, 刘志滨. 冰川棘豆生物碱分析及苦马豆素的分离、鉴定. 畜牧兽医学报, 2005, 36(12): 1339-1343.
- [ 12 ] 余永涛, 王建华, 王妍, 宋毓民, 耿果霞, 李勤凡. 西藏 3 种疯草中合成苦马豆素内生真菌的鉴定. 中国农业科学, 2009, 42(10): 3662-3671.
- [ 13 ] 张峰华. 基于 RNA-Seq 技术的 *Undifilum oxytropis* 中苦马豆素含量相关基因的分析[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2017.
- [ 14 ] 马耀明, 胡泽勇, 田立德, 张凡, 段安民, 阳坤, 张德锂, 杨永平. 青藏高原气候系统变化及其对东亚区域的影响与机制研究进展. 地球科学进展, 2014, 29(2): 207-215.
- [ 15 ] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000: 12-14, 125-126, 345-346.
- [ 16 ] 刘璐, 何寻阳, 谢强, 王克林. 桂西北喀斯特常见豆科植物根瘤菌的遗传多样性. 应用生态学报, 2015, 26(12): 3663-3669.
- [ 17 ] Sun D L, Jiang X, Wu Q L, Zhou N Y. Intragenomic heterogeneity of 16S rRNA genes causes overestimation of prokaryotic diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(19): 5962-5969.
- [ 18 ] 陆晓菊, 官会林, 张正芸, 马永存, 唐蜀昆. 三七连作根际土壤微生物区系的 16S rRNA 系统遗传多样性. 微生物学报, 2015, 55(2): 205-213.
- [ 19 ] 芦光新, 陈秀蓉, 王军邦, 吴楚. 气候变化对青藏高原高寒草地生态系统草-地境界面微生物的影响研究进展. 草地学报, 2014, 22

- (2): 234-242.
- [20] Zhao S Y, Zhuang L J, Wang C, Li Y F, Wang S Y, Zhu G B. High-throughput analysis of anammox bacteria in wetland and dryland soils along the altitudinal gradient in Qinghai-Tibet Plateau. *MicrobiologyOpen*, 2018, 7(2): e00556.
- [21] Pérez-Jaramillo J E, Mendes R, Raaijmakers J M. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90(6): 635-644.
- [22] Rui J P, Li J B, Wang S P, An J X, Liu W T, Lin Q Y, Yang Y F, He Z L, Li X Z. Responses of bacterial communities to simulated climate changes in alpine meadow soil of the Qinghai-Tibet plateau. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(17): 6070-6077.
- [23] 王颖, 宗宁, 何念鹏, 张晋京, 田静, 李良涛. 青藏高原高寒草甸不同海拔梯度下土壤微生物群落碳代谢多样性. *生态学报*, 2018, 38(16): 5837-5845.
- [24] Kowalchuk G A, Buma D S, de Boer W, Klinkhamer P G L, van Veen J A. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, 81(1/4): 509-520.
- [25] 李勤凡, 王建华. 冰川棘豆生长的生态环境特点. *家畜生态*, 2004, 25(1): 41-44.
- [26] 陈伟立, 李娟, 朱红惠, 陈杰忠, 姚青. 根际微生物调控植物根系构型研究进展. *生态学报*, 2016, 36(17): 5285-5297.
- [27] Edwards J, Johnson C, Santos-Medellin C, Lurie E, Podishetty N K, Bhatnagar S, Eisen J A, Sundaresan V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(8): E911-E920.
- [28] 杨秀丽. 青藏高原尼泊尔黄堇根际微生物群落结构研究[D]. 兰州: 兰州交通大学, 2014.
- [29] Bulgarelli D, Rott M, Schlaeppi K, Ver Loren van Themaat E, Ahmadinejad N, Assenza F, Rauf P, Huettel B, Reinhardt R, Schmelzer E, Peplies J, Gloeckner F O, Amann R, Eickhorst T, Schulze-Lefert P. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*, 2012, 488(7409): 91-95.
- [30] Niu B, Paulson J N, Zheng X Q, Kolter R. Simplified and representative bacterial community of maize roots. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017, 114(12): E2450-E2459.
- [31] Guo P, Wang C Y, Jia Y, Wang Q, Han G M, Tian J X. Responses of soil microbial biomass and enzymatic activities to fertilizations of mixed inorganic and organic nitrogen at a subtropical forest in East China. *Plant and Soil*, 2011, 338(1/2): 355-366.
- [32] Yang J, Ma L A, Jiang H C, Wu G, Dong H L. Salinity shapes microbial diversity and community structure in surface sediments of the Qinghai-Tibetan Lakes. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25078.
- [33] Aschenbrenner I A, Cernava T, Erlacher A, Berg G, Grube M. Differential sharing and distinct co-occurrence networks among spatially close bacterial microbiota of bark, mosses and lichens. *Molecular Ecology*, 2017, 26(10): 2826-2838.
- [34] Cardinale M, Grube M, Erlacher A, Quehenberger J, Berg G. Bacterial networks and co-occurrence relationships in the lettuce root microbiota. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(1): 239-252.
- [35] Barber n A, Bates S T, Casamayor E O, Fierer N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 343-351.
- [36] Wang Y, Zhai A G, Zhang Y Q, Qiu K, Wang J H, Li Q F. Degradation of swainsonine by the NADP-dependent alcohol dehydrogenase A1R6C3 in *Arthrobacter* sp. HW08. *Toxins*, 2016, 8(5): 145.
- [37] 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.
- [38] Mitter E K, de Freitas J R, Germida J J. Bacterial root microbiome of plants growing in oil sands reclamation covers. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 849.
- [39] Daims H, Lebedeva E V, Pjevac P, Han P, Herbold C, Albertsen M, Jehmlich N, Palatinszky M, Vierheilig J, Bulaev A, Kirkegaard R H, von Bergen M, Rattei T, Bendinger B, Nielsen P H, Wagner M. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature*, 2015, 528(7583): 504-509.
- [40] Franke-Whittle I H, Manici L M, Insam H, Stres B. Rhizosphere bacteria and fungi associated with plant growth in soils of three replanted apple orchards. *Plant and Soil*, 2015, 395(1/2): 317-333.
- [41] Nie S A, Li H, Yang X R, Zhang Z J, Weng B S, Huang F Y, Zhu G B, Zhu Y G. Nitrogen loss by anaerobic oxidation of ammonium in rice rhizosphere. *The ISME Journal*, 2015, 9(9): 2059-2067.
- [42] Peng M, Jia H B, Wang Q Y. The effect of land use on bacterial communities in saline-alkali soil. *Current Microbiology*, 2017, 74(3): 325-333.
- [43] Sy A, Giraud E, Jourand P, Garcia N, Willems A, de Lajudie P, Prin Y, Neyra M, Gillis M, Boivin-Masson C, Dreyfus B. Methylophilic *Methylobacterium* bacteria nodulate and fix nitrogen in symbiosis with legumes. *Journal of Bacteriology*, 2001, 183(1): 214-220.
- [44] Nacke H, Th rmer A, Wollherr A, Will C, Hodac L, Herold N, Sch ning 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.
- [45] Schmidt M W I, Torn M S, Abiven S, Dittmar T, Guggenberger G, Janssens I A, Kleber M, K gel-Knabner I, Lehmann J, Manning D A C, Nannipieri P, Rasse D P, Weiner S, Trumbore S E. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. *Nature*, 2011, 478(7367): 49-56.