

DOI: 10.5846/stxb202110122877

张平究, 梁川, 陈芳, 俞珊珊, 周利, 张金花. 退耕还湿后土壤细菌群落结构和生物量变化过程. 生态学报, 2023, 43(11): 4747-4759.

Zhang P J, Liang C, Chen F, Yu S S, Zhou L, Zhang J H. Changes of soil bacterial community structures and biomass in wetlands recovered from farmland. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(11): 4747-4759.

退耕还湿后土壤细菌群落结构和生物量变化过程

张平究*, 梁川, 陈芳, 俞珊珊, 周利, 张金花

安徽师范大学地理与旅游学院, 江淮流域地表过程与区域响应安徽省重点实验室, 芜湖 241003

摘要: 土壤细菌对湿地生态系统功能和健康维持起着重要作用。以菜子湖原始湿地、不同退耕年限湿地(3a、7a、11a 和 21a) 和仍耕作油菜地土壤为研究对象, 应用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)、高通量测序和磷脂脂肪酸(PLFAs) 方法分析土壤细菌群落组成和生物量, 探讨它们在退耕还湿后的变化过程及其影响因素。结果表明, 退耕还湿后土壤变形菌门(α -变形菌纲、 β -变形菌纲和 δ -变形菌纲)、酸杆菌门(酸杆菌纲和全噬菌纲)、Nitrospinae(Nitrospina 纲) 和硝化螺旋菌门(硝化螺旋菌纲) 相对丰度先增高后降低; 这些参与氮循环的土壤细菌对退耕后湿地生态恢复过程中土壤氮素提升起着重要作用。与农业生产活动密切关联的厚壁菌门(芽孢杆菌纲和梭菌纲) 和放线菌门(放线菌纲) 相对丰度逐渐降低。湿地土壤细菌多样性在退耕初期(3—7a) 上升达到最大, 退耕中后期逐渐降低。表层土壤各类群细菌生物量逐渐升高, 亚表层土壤各类群细菌生物量则先降后升再降。水分条件和容重是与研究区土壤细菌群落结构和多样性密切相关的土壤因子, 而全氮是与土壤细菌生物量密切相关的土壤因子。研究从生态过程视角解析了土壤细菌群落较详细的演变信息及其生态意义, 有助于丰富退化湿地生态系统恢复过程的认识。

关键词: 退耕还湿; 湿地土壤; 细菌生物量; 细菌群落结构; 土壤因子

Changes of soil bacterial community structures and biomass in wetlands recovered from farmland

ZHANG Pingjiu*, LIANG Chuan, CHEN Fang, YU Shanshan, ZHOU Li, ZHANG Jinhua

Key Laboratory of Earth Surface Processes and Regional Response in the Yangtze-Huaihe River Basin, School of Geography and Tourism, Anhui Normal University, Wuhu 241003, China

Abstract: Soil bacteria play an important role in maintaining ecological function and health of wetland ecosystem. Soil samples were collected from natural wetlands, wetlands with different ages (3a, 7a, 11a, and 21a) recovered from farmland and rape fields around Caizi Lake, Anqing City, Anhui Province. Soil bacterial community structures and biomass were analyzed by PCR-DGGE, high-throughput sequencing and phospholipid fatty acid method. The changes and influencing factors of soil bacterial community structures and biomass during wetland ecology restoration were discussed. The results showed that the relative abundance of Proteobacteria (Alphaproteobacteria, Betaproteobacteria and Gammaproteobacteria), Acidobacteria (Acidobacteria and Holophagae), Nitrospinae (Nitrospina) and Nitrospirae (Nitrospira) increased at the initial restoration period and decreased subsequently. These bacteria participating in soil nitrogen cycling played an important role in improving soil nitrogen during the ecology restoration. The relative abundance of Firmicutes (Bacilli and Clostridia) and Actinobacteria (Actinobacteria) related to agricultural activities, decreased gradually during the whole restoration period, indicating the declining impact of historical agricultural activity. Soil bacterial diversity reached the maximum at the early stage of restoration (3—7a) and then decreased gradually. Bacterial biomass

基金项目: 国家自然科学基金项目(41001369); 安徽省自然科学基金项目(2108085MD126)

收稿日期: 2021-10-12; **网络出版日期:** 2022-10-17

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: changpj2006@163.com

tended to increase in the surface soil, and showed decreasing-increasing-decreasing tendency in the subsurface soil during the whole restoration period. Soil bulk density and water condition had close relationship with soil bacterial community structures and diversity index, and soil total nitrogen had close relationship with soil bacterial biomass. In this study, the successions of soil bacterial communities associated with wetland restoration over time, and their ecological function were elucidated in detail, which is helpful to improve the knowledge of restoration process of the degraded wetland ecosystem.

Key Words: returning farmland to wetland; wetland soil; bacterial biomass; bacterial community structure; soil factor

湿地是地球表层生态系统和人类生存环境的重要组成部分^[1]。土壤微生物是地球表层生态系统运行和功能维持不可或缺的关键组分^[2],在土壤发育、养分循环和污染物净化等诸多湿地生态功能中发挥着重要作用^[3]。湿地围垦和退耕还湿是人类活动影响湿地的重要方式。湿地围垦旱耕条件下土壤容重增加,土壤含水量、有机质、全氮、全磷、碱解氮和有效磷含量降低^[4-7],而水耕条件下土壤容重增加,但土壤含水量和养分含量变化未有一致结论^[8-9]。湿地围垦后土壤物理化学性质的变化促使了土壤细菌群落组成和结构的改变^[4-5,8-12]。围垦种植豆科植物的土壤 *Blastocatella*、*Coxiella* 和 *Rickettsia* 丰度较高,种植水稻的土壤 *Massilia*、*Nitrosomonas*、*Bradyrhizobium* 丰度较高,而泥炭湿地中含有较高丰度的 *Rhizomicrobium*、*Arthrobacter*、*Bacillus*^[8]。湿地围垦也可促使土壤 δ -变形菌和硝化螺旋菌的丰度降低^[13]。随着湿地围垦后土壤退化程度增强,土壤细菌多样性逐渐降低^[12]。退耕还湿后土壤容重降低,土壤含水量、有机质、全氮和碱解氮等养分含量升高^[4-7]。随着土壤物理化学性质特征逐渐向原始湿地方向演变,土壤微生物群落结构也逐渐向原始湿地方向演变^[13]。但由于历史围垦的影响深远,湿地土壤细菌群落结构难以恢复到原始状态^[4],土壤微生物功能多样性与原始湿地也有明显差异^[9]。这些研究均表明土壤容重、含水量、碳氮养分含量等土壤物理化学性质是湿地围垦和退耕还湿土壤细菌群落结构和多样性变化的重要影响因子^[3-5,8,11-12,14]。当前有关退耕还湿土壤细菌群落结构特征变化研究均是退耕前后的对比研究,而对退耕后土壤细菌群落结构详细的演变过程及其生态意义的研究甚少,也缺乏退耕后土壤细菌生物量变化的研究报道。

菜子湖是长江中下游湿地淡水湖泊群的重要组成部分之一。20 世纪 50 年代开始大规模围湖造田,80 年代后开始陆续退耕还湖,1998 年后加强了退耕还湖力度。退耕还湖后菜子湖湿地土壤粘粒含量、含水量和有机质含量逐渐增加,全氮和碱解氮在退耕中期急剧上升后逐渐降低,而全磷、无机磷和有效磷逐渐降低后增加^[6-7,15];土壤磷酸酶和脲酶活性先增加后降低^[16];土壤微生物量碳整体上有先上升后略下降趋势^[7]。土壤生物化学性质变化基本上反映了退耕后湿地土壤生态恢复过程,但对退耕后湿地生态恢复起着重要作用的土壤细菌群落结构和生物量变化过程尚不清楚。本文选取菜子湖不同退耕年限的湿地为研究样地,以原始湿地和仍耕作的油菜地为对照,应用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)和高通量测序相互佐证的方法分析土壤细菌群落组成,并采用磷脂脂肪酸(PLFAs)方法测定土壤细菌生物量,利用冗余分析和相关性分析方法解析研究区土壤细菌群落结构和生物量与土壤因子之间的联系,旨在阐明退耕还湖后湿地土壤细菌群落结构和生物量变化过程及其生态意义,并探讨这些微生物指标变化过程的影响因素,以期丰富对湿地生态恢复过程的认识,为长江中下游地区湿地资源保护和合理利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况与样品采集和处理

菜子湖(30°43'—30°58'N;117°01'—117°09'E)位于安徽省安庆市北部,南临长江。湖区地处北亚热带季风湿润气候带,年平均气温 16.6 °C,年平均降水量 1325.5 mm。4—10 月为丰水期,11 月—翌年 3 月为枯水期。选取湖区内双兴村退耕湿地(3aW)、双兴村退耕湿地(7aW)、先让村退耕湿地(11aW)、玉咀村退耕湿地(21aW)、王家湾原始湿地(NW)和先让村油菜地(RF)为样地^[7]。退耕湿地除退耕年限不同外,其他条件(土

壤母质、距离湖边水位、人类活动影响等)相同或相似,优势植被均为乳突苔草,退耕前耕作历史均为油菜种植。每个样地采 3 个混合样,每个混合样由 3 个样点土壤混合而成,共采集 36 个混合土样。土样分表层 0—5 cm(1)和亚表层 5—15 cm(2)采集。土样用保鲜袋装好,放在冷藏箱带回实验室。在室内去除肉眼可见的细根、砾石等杂物后,将采集的土样分成 2 份,一份进行自然风干后过 2 mm 筛用于土壤理化分析;另一份的各个样地 3 个混合土样过 2 mm 筛后,再混合为 1 个土壤样品,冷冻干燥后-18 ℃ 储存,用于 PLFAs、PCR-DGGE 以及高通量测序分析。研究区湿地土壤基本理化性质见表 1。

表 1 研究区样地土壤基本理化性质^[7]

Table 1 Physical and chemical properties of the studied soils

土壤层次 Soil depth/cm	样地 Sampling site	容重 Bulk density/ (g/cm ³)	含水量 Water content/%	粘粒 Clay content/%	pH (H ₂ O)	有机质 Organic matter/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)	有效磷 Available phosphorus/ (mg/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	有效氮 Available nitrogen/ (mg/kg)
0—5	RF	0.79	10.11	21.67±2.23	4.79±0.04	21.94±1.43	0.46±0.14	45.01±2.74	1.19±0.24	127.8±6.5
	3aW	1.51	18.58	19.02±0.11	4.63±0.07	21.24±3.23	0.54±0.03	43.28±2.08	1.05±0.09	91.2±4.4
	7aW	1.23	23.57	23.34±0.40	4.61±0.08	22.88±0.47	0.53±0.03	18.18±0.79	1.41±0.11	181.4±9.7
	11aW	0.86	28.35	32.78±1.83	4.54±0.06	50.69±3.31	0.43±0.04	19.61±1.58	2.52±0.21	213.2±12.1
	21aW	0.79	31.35	27.27±2.55	4.62±0.05	52.66±1.06	0.40±0.16	30.73±2.86	2.37±0.24	159.4±8.5
	NW	0.75	67.55	35.36±2.28	4.52±0.07	60.62±7.35	1.24±0.06	71.36±0.27	3.61±0.50	265.3±15.5
5—15	RF	1.08	13.43	21.33±0.41	4.74±0.06	15.50±5.14	0.55±0.07	75.28±3.01	1.00±0.17	106.8±4.9
	3aW	1.38	20.26	18.74±0.37	4.60±0.07	13.23±0.69	0.51±0.01	47.27±1.73	0.73±0.02	59.1±3.0
	7aW	1.54	20.46	23.34±0.40	4.73±0.05	12.52±0.41	0.55±0.02	13.82±2.29	0.72±0.08	72.5±3.6
	11aW	1.51	20.51	32.64±2.02	4.84±0.02	17.75±0.28	0.35±0.05	10.60±0.97	1.03±0.07	83.7±4.2
	21aW	1.50	21.88	28.96±1.93	4.91±0.01	16.18±1.07	0.19±0.07	18.63±2.23	0.88±0.07	80.2±4.1
	NW	1.01	52.52	32.89±1.22	4.71±0.05	23.44±0.72	0.82±0.08	56.36±2.30	1.37±0.07	114.1±5.7

RF: 先让村油菜地; 3aW: 双兴村退耕湿地; 7aW: 双兴村退耕湿地; 11aW: 先让村退耕湿地; 21aW: 玉咀村退耕湿地; NW: 王家湾原始湿地

1.2 分析方法

1.2.1 聚合酶链反应-变性梯度凝胶电泳(PCR-DGGE)方法分析土壤细菌群落

按照土壤 DNA 提取试剂盒 FastDNA SPIN Kit for Soil(Q-Biogen, MP Biomedicals, CA, 美国)操作说明提取土壤微生物总 DNA, 再检测 DNA 提取质量。以土壤总 DNA 为模板, 以 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' (uF, *E. coli* bases 8—27) 和 5'-ACGTTACCTTGTACGACTT-3' (uR, *E. coli* bases 1487—1507) 为引物进行细菌 16S rRNA 基因 PCR 扩增, 电泳检测 PCR 产物质量; 以 16S rRNA 的扩增产物为模板, 以带鸟嘌呤-胞嘧啶 (GC) 夹子的 341F 和 534R 为引物对, 进行细菌 16S rRNA V3 区的扩增, 扩增产物序列长度约为 230 bp。采用 Bio-Rad 公司 DcodeTM 基因突变检测系统 (BioRad Lab, LA, 美国) 对 PCR 反应产物进行电泳分离 (DGGE), 电泳结束后用硝酸银染色法染色和拍照; 对 DGGE 图谱上目标条带进行切胶回收、提取、纯化、扩增、再纯化和克隆, 最后送至上海生工生物科技有限公司, 使用 ABI3730 测序仪测定序列^[17]。将序列在美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库中用基于局部序列比对工具 (BLAST) 进行检索和同源性比较, 以确定序列的细菌类属。

1.2.2 高通量测序分析土壤细菌群落

冷冻干燥后土壤样品送至派森诺生物有限公司进行土壤细菌高通量测序。土壤微生物总 DNA 提取后分别采用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度检测 DNA 提取质量和浓度。采用新英格兰生物实验室有限公司 (NEB) 的 Q5 高保真 DNA 聚合酶进行 PCR 扩增, 再应用美国 Axygen 公司的凝胶回收试剂盒对 PCR 扩增产物回收。采用荧光试剂为 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 进行 PCR 扩增回收产物荧光定量分析。以扩增产物为模板进行 Illumina MiSeq 测序文库的制备, 对细菌 V4-V5 区进行 Illumina MiSeq 系统测序, 采用扩增的引物对为 515F: GTGCCAGCMGCCGCGTA, 907R: CCGTCAATTCMTTTRAGTTT。对测序所得采用滑动窗

口法对 FASTQ 格式的双端序列逐一作质量筛查,利用 FLASH 软件对合格的双端序列根据重叠碱基进行配对连接。应用 QIIME 软件进行疑问序列的剔除和序列数统计,并调用 UCLUST 这一序列比对工具对前述获得的序列按 97% 的序列相似度进行归并和操作分类单元(OTU)划分^[18]。

1.2.3 土壤细菌生物量(PLFAs)测定

采取修正的 Bligh&Dyer 采用的方法^[19]进行磷脂脂肪酸(PLFAs)提取。取 3g 冻干土于 50ml 三角瓶中,加入磷酸缓冲液:氯仿:甲醇体积比为 3.2:4:8 的缓冲液混合振荡,应用固相抽提柱层析获得土壤 PLFAs,再经过碱性甲基化后获磷脂脂肪酸甲脂,采用 MIDI 微生物鉴定仪(Agilent 7890A)进行检测。以十九烷酸为定量内标。将单个磷脂脂肪酸摩尔百分比低于 0.4% 的剔除,筛选得到 31 种标记物,表征革兰氏阴性细菌(G^-)有 8 种:10:0 3OH,14:0 2OH,15:1 ω 6c,16:1 ω 9c,16:0 2OH,17:1 ω 8c,18:1 ω 9c,20:1 ω 9c;表征革兰氏阳性细菌(G^+)有 10 种:13:0 iso,13:0 anteiso,14:0 iso,15:0 iso,15:0 anteiso,16:0 iso,16:0 anteiso,17:0 iso,17:0 anteiso,19:0 iso;表征一般细菌有 13 种:10:00,12:00,13:00,14:00,14:0 iso 3OH,16:00,16:0 N alcohol,16:1 ω 7c alcohol,17:00,17:1 anteiso ω 9c,18:00,19:00,20:00^[18,20-21]。

1.3 数据处理

采用 Excel 2010 进行了细菌多样性指数计算、实验数据处理和部分数据制图;应用 SPSS 20.0 对数据进行差异分析和相关性分析;应用 CANOCO5.0 对土壤微生物指标和土壤因子指标进行冗余分析(RDA)^[22]。

2 结果与分析

2.1 基于 PCR-DGGE 方法解析的土壤细菌群落结构

PCR-DGGE 图谱揭示了不同退耕年限下湿地土壤细菌群落结构的特征差异(图 1),其中图谱主要条带测序结果如表 2 所示。不同样地泳道条带的位置、数目和亮度各有不同,表明土壤细菌组成、丰度和群落结构存在差异。总体上油菜地变形菌门条带最少(25、28、18、19 和 38),且除了条带 25 丰度较高外,其他 4 个条带丰度均较低;原始湿地变形菌门条带最多,除了条带 21 外,其他 12 个条带均有分布,且条带 6 与 16 仅在原始湿地土壤有分布;不同退耕年限湿地变形菌门条带数处于二者之间;随着退耕年限增加,仅有条带 25 丰度降低,条带 21、31 和 32 的丰度先升后降,更多条带(1、4、15、18、19 和 38)的丰度逐渐增加。酸杆菌门(Acidobacteria)条带 20 和 24 仅分布在退耕湿地中,其丰度则随着退耕年限增加先增加后降低,酸杆菌门条带 35 只出现在退耕 11 年样地,而仅有条带 10 在所有样地均有分布且丰度随着退耕年限增加而增加,表明酸杆菌门退耕湿地土壤分布多于油菜地和原始湿地。放线菌门(Actinobacteria)条带 2 分布在退耕 21 年湿地和原始湿地,条带 27 分布在油菜地和退耕湿地,条带 2、27 和 34 均分布在油菜地,表明放线菌门在油菜地土壤分布多于退耕湿地和原始湿地土壤。除了厚壁菌门(Firmicutes)条带 9 在所有样地有分布外,条带 26 和 29 主要出现在油菜地,表明油菜地厚壁菌门分布多于其他样地。疣微菌门(Verrucomicrobia)、绿弯菌门(Chloroflexi)和螺旋体门(Spirochaetes)在 3 类样地均有分布。总体上,研究区亚表层土壤细菌群落结构特征与表层土壤基本相似,油菜地主要分布有变形菌门、厚壁菌门和放线菌门,退耕湿地主要分布有变形菌门、酸杆菌门和放线菌门,而原始湿地则以变形菌门为优势菌门,其他菌门均有分布。PCR-DGGE 图谱结合条带测序的结果基本上反映了退耕后湿地土壤细菌群落结构变化过程。

2.2 基于高通量测序方法解析的土壤细菌群落结构

高通量测序方法获得的各样地土壤细菌群落结构信息与 PCR-DGGE 结合条带测序方法获得的信息基本一致,但高通量测序方法提供的信息更加详细。高通量测序方法揭示的不同样地土壤细菌群落结构特征差异如图 2 所示。随着退耕年限增加,从油菜地到原始湿地表层和亚表层变形菌门相对丰度先升高后略有降低,均未达到原始湿地的最高值(图 2)。表层 α -变形菌纲相对丰度逐渐升高后下降,但亚表层升高缓慢; β -变形菌纲和 δ -变形菌纲退耕后相对丰度快速提高后逐渐降低,但退耕 21a 湿地表层和亚表层土壤 β -变形菌纲、亚表层土壤 δ -变形菌纲仍远未达到原始湿地水平; γ -变形菌纲在表层土壤相对丰度有逐渐提高趋势(图 2)。酸

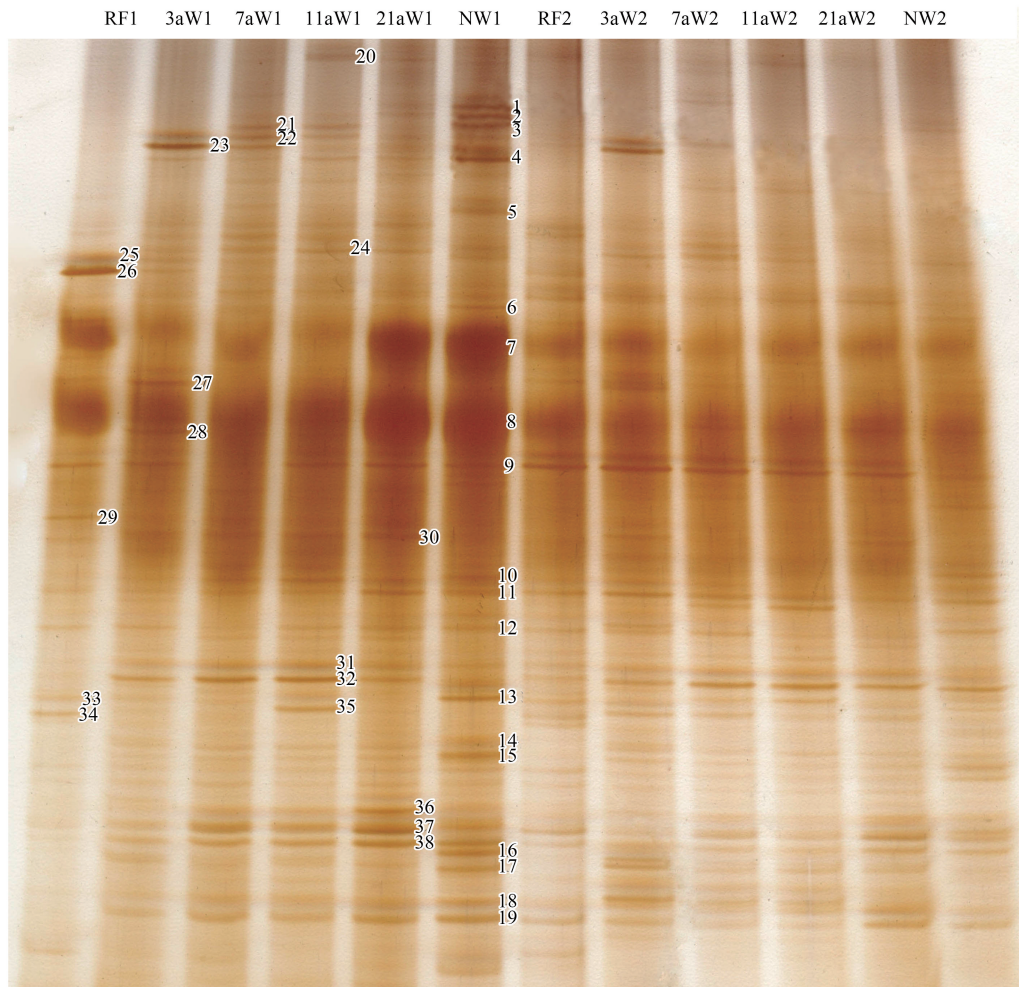


图1 研究区不同样地土壤微生物 DGGE 图谱

Fig.1 DGGE map of soil bacterial communities in the different sampling sites

RF1: 油菜地 0—5 cm; 3aW1: 退耕 3 年湿地 0—5 cm; 7aW1: 退耕 7 年湿地 0—5 cm; 11aW1: 退耕 11 年湿地 0—5 cm; 21aW1: 退耕 21 年湿地 0—5 cm; NW1: 原始湿地 0—5 cm. RF2: 油菜地 5—15 cm; 3aW2: 退耕 3 年湿地 5—15 cm; 7aW2: 退耕 7 年湿地 5—15 cm; 11aW2: 退耕 11 年湿地 5—15 cm; 21aW2: 退耕 21 年湿地 5—15 cm; NW2: 原始湿地 5—15 cm; DGGE: 变性梯度凝胶电泳

杆菌门及其酸杆菌纲和全噬菌纲 (Holophagae) 则在油菜地最低, 退耕后呈现先急剧上升, 后随着退耕年限增加而下降趋势, 亚表层土壤表现尤其明显。放线菌门及其放线菌纲、浮霉菌门 (Planctomycetes) 及其浮霉菌纲、蓝藻门 (Cyanobacteria) 及其蓝藻纲和 Candidatus saccharibacteria 门及其 Candidatus saccharibacteria 纲均具有随退耕年限增加相对丰度降低的趋势。厚壁菌门及其芽孢杆菌纲 (Bacilli) 和梭菌纲 (Clostridia) 相对丰度在油菜地最高, 随着退耕年限增加而降低, 而热石杆菌纲则快速上升。疣微菌门及其疣微菌纲、Nitrospinae 及其 Nitrospina 纲和硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) 及其硝化螺旋菌纲 (Nitrospira) 也均具有先急剧上升后缓慢下降的趋势。退耕后, 土壤绿弯菌门相对丰度总体上有上升趋势, 而拟杆菌门 (Bacteroidetes) 相对丰度则未表现出明显规律性, 但拟杆菌门的拟杆菌纲 (Bacteroidia) 先急剧上升后下降, 黄杆菌纲 (Flavobacteria) 逐渐上升。总体上, 退耕 21a 湿地土壤各个菌门和菌纲细菌相对丰度与原始湿地均存在差异。

研究区油菜地具有较高相对丰度的厚壁菌门、放线菌门和浮霉菌门和较低相对丰度的变形菌门和酸杆菌门; 原始湿地具有较高相对丰度的变形菌门和较低相对丰度的厚壁菌门、放线菌门、酸杆菌门和浮霉菌门; 不同退耕年限湿地土壤具有较高相对丰度的酸杆菌门、疣微菌门、Nitrospinae 和硝化螺旋菌门, 而变形菌门、厚壁菌门和放线菌门相对丰度处于油菜地和原始湿地之间。纲水平上, 不同退耕年限湿地具有相似的土壤细菌

群落结构,且退耕 7a 表层、退耕 11a 表层和 21a 亚表层土壤细菌群落结构更相似,而退耕 7a 亚表层与退耕 3a 土壤细菌群落结构更相似(图 3)。油菜地与原始湿地有各自独特的群落结构,但相对于原始湿地,油菜地土壤细菌与退耕湿地土壤细菌群落结构具有更高的相似度,表明湿地历史围垦对土壤细菌群落有深刻的影响。

表 2 DGGE 图谱主要条带序列比对结果

Table 2 BLSAT results of the sequences of the dominant bands in DGGE map

条带编号 Band number	NCBI 登录号 Accession number	匹配序列(登录号) Sequences with the most significant alignments (Accession number)	相似度 Percent identity/%	细菌分类名称 Bacterial taxonomy
1	MN103555	Uncultured alphaproteobacterium (JF833583.1)	100.00	变形菌门;α-变形菌纲
2	MN103556	<i>Leifsonia aquatica</i> strain (JX010948.1)	100.00	放线菌门;放线菌纲
4	MN103557	Uncultured gammaproteobacterium (EU629114.1)	99.48	变形菌门;γ-变形菌纲
5	MN103558	Uncultured bacterium gene (MG101755.1)	97.94	
6	MN103559	Uncultured deltaproteobacterium (GU236055.1)	98.98	变形菌门;δ-变形菌纲
7	MN103560	Uncultured Verrucomicrobia (JF410663.1)	99.48	疣微菌门
8	MN103561	Uncultured bacterium gene (KX823631.1)	98.22	
9	MN103562	<i>Bacillus aryabhattai</i> (LR215160.1)	99.48	厚壁菌门;芽孢杆菌纲
10	MN103563	Uncultured Acidobacteria bacterium (LC039610.1)	100.00	酸杆菌门
11	MN103564	Uncultured Chloroflexi bacterium (EF464632.1)	100.00	绿弯菌门;绿硫菌
12	MN103565	Uncultured bacterium clone FI-1M D11 1 (EF220594.1)	98.82	
13	MN103566	Uncultured bacterium gene (AB544022.1)	98.28	
14	MN103567	Agricultural soil bacterium (AJ252649.1)	98.22	
15	MN103568	Uncultured betaproteobacterium (EF613873.1)	100.00	变形菌门;β-变形菌纲
16	MN103569	Uncultured <i>Rhodanobacter</i> sp. (KJ699279.1)	99.48	变形菌门;α-变形菌纲
18	MN103570	<i>Bradyrhizobium</i> sp. strain (MH636100.1)	100.00	变形菌门;α-变形菌纲
19	MN103571	Uncultured gammaproteobacterium (JF340545.1)	98.97	变形菌门;γ-变形菌纲
20	MN103572	Uncultured Acidobacteria bacterium (KU603373.1)	99.42	酸杆菌门
21	MN103573	Uncultured <i>Reyranelia</i> sp. (LC122302.1)	100.00	变形菌门;α-变形菌纲
22	MN103574	Uncultured bacterium gene (EF197021.1)	98.97	
23	MN103575	Uncultured bacterium clone CarbonSeq08b (KC606837.1)	99.40	
24	MN103576	Uncultured Acidobacteria bacterium clone PL42 (KM851158)	100.00	酸杆菌门
25	MN103577	Uncultured betaproteobacterium clone Auq-KB417 (JQ795276.1)	99.48	变形菌门;β-变形菌纲
26	MN103578	<i>Staphylococcus</i> sp. strain (MH782120.1)	99.48	厚壁菌门;杆菌纲
27	MN103579	Uncultured Rubrobacteraceae bacterium (EF073491.1)	99.48	放线菌门;红色杆菌纲
28	MN103580	Uncultured deltaproteobacterium clone Auq-PC317 (JQ795385.1)	96.94	变形菌门;δ-变形菌纲
29	MN103581	<i>Paenisporsarcina</i> sp. strain (MK617714.1)	99.48	厚壁菌门;杆菌纲
31	MN103582	Uncultured Alphaproteobacteria bacterium gene (LC039548.1)	99.41	变形菌门;α-变形菌纲
32	MN103583	Uncultured Rhizomicrobium sp. (KY992737.1)	100.00	变形菌门;α-变形菌纲
33	MN103584	Uncultured bacterium gene (LN715755.1)	100.00	
34	MN103585	Uncultured Acitnobacteriu clone SHAR550 (GQ348649.1)	100.00	放线菌门
35	MN103586	Uncultured Acidobacteriu clone LI A10 (KT028140.1)	100.00	酸杆菌门
36	MN103587	Uncultured bacterium cone CarbonSeq07b (KC605604.1)	98.45	
37	MN103588	Uncultured Spirochaetales bacterium clone Anode2 (JN540143.1)	97.95	螺旋体门;螺旋体纲
38	MN103589	Uncultured <i>Rhodoplanes</i> sp. (KX780045.1)	100.00	变形菌门;α-变形菌纲

条带 3、条带 17 和条带 30 测序失败;DGGE: 变性梯度凝胶电泳;NCBI: 美国国家生物技术信息中心

2.3 土壤细菌多样性分析

多样性指数可反映出土壤细菌种类的丰富程度。不同退耕年限下湿地土壤 Shannon 指数和 Simpson 指数

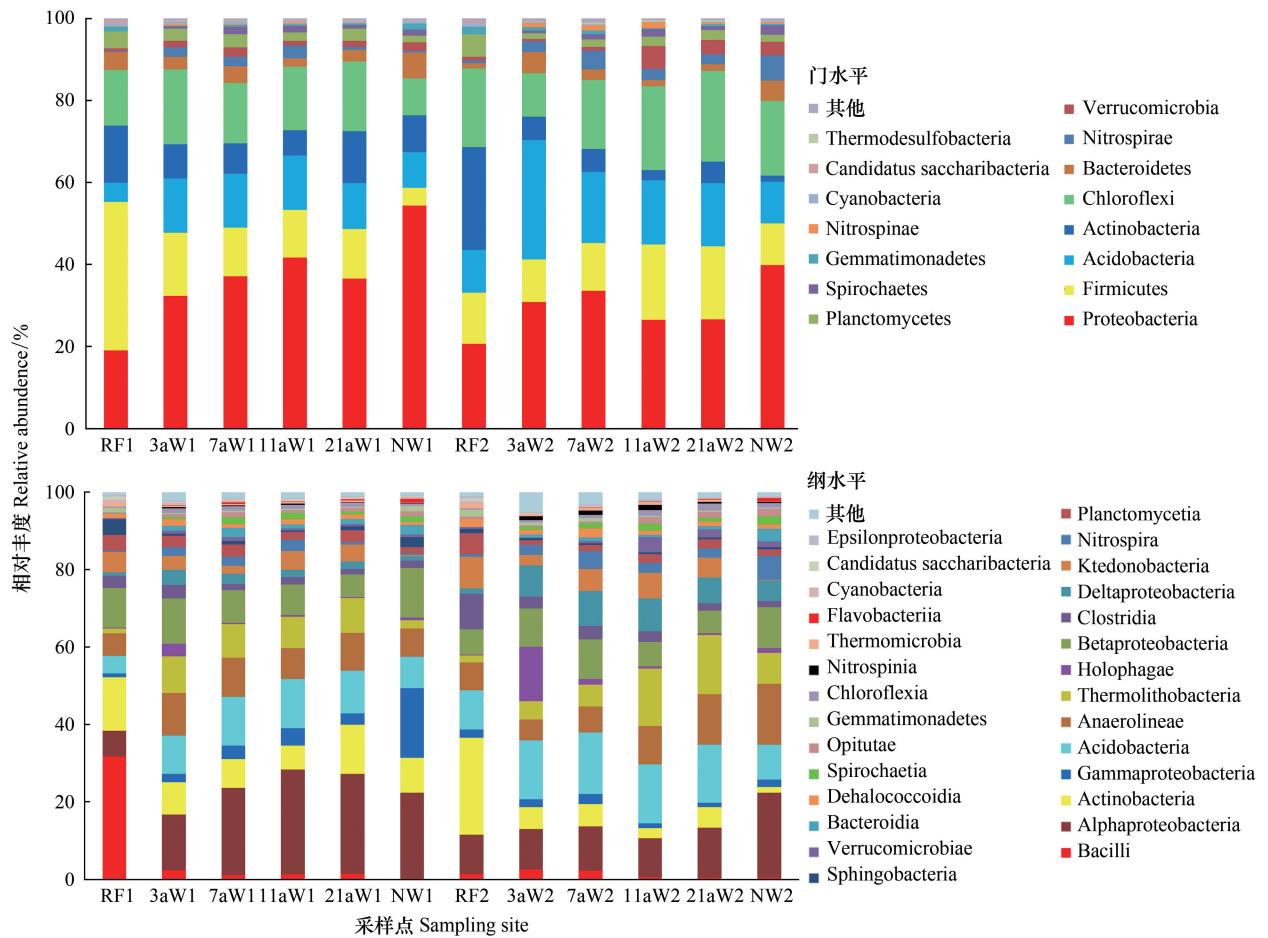


图2 研究区不同样地土壤细菌群落在门和纲水平上组成和相对丰度差异

Fig.2 Composition and relative abundance of soil bacterial communities at the phylum and class level in different sampling sites

均具有随退耕年限的延长呈先急剧上升后逐渐下降的变化趋势(表3),其中退耕3a表层土壤这两个多样性指数最高,而在亚表层土壤退耕7a这两个多样性指数最高。

表3 研究区不同样地土壤细菌多样性差异

Table 3 Soil bacterial diversity indexes in the different sampling sites

土壤层次 Soil depth/cm	样地 Sampling site	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	土壤层次 Soil depth/cm	样地 Sampling site	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
0—5	RF	3.49	0.85	5—15	RF	3.66	0.89
	3aW	4.09	0.92		3aW	4.08	0.90
	7aW	3.98	0.89		7aW	4.16	0.91
	11aW	3.77	0.88		11aW	3.84	0.91
	21aW	3.74	0.87		21aW	3.73	0.90
	NW	3.63	0.88		NW	3.52	0.90

2.4 基于 PLFAs 方法解析的土壤细菌生物量

除了油菜地,研究区其他样地表层土壤细菌生物量均大于亚表层(图4)。土壤表层细菌总生物量从退耕7a后逐渐上升,而亚表层土壤细菌总生物量有先降后升再降的趋势;表层与亚表层土壤一般细菌生物量均有随着退耕年限增加先降后升再略降的趋势;表层土壤革兰氏阳性菌生物量随退耕年限的延长逐渐上升,而亚

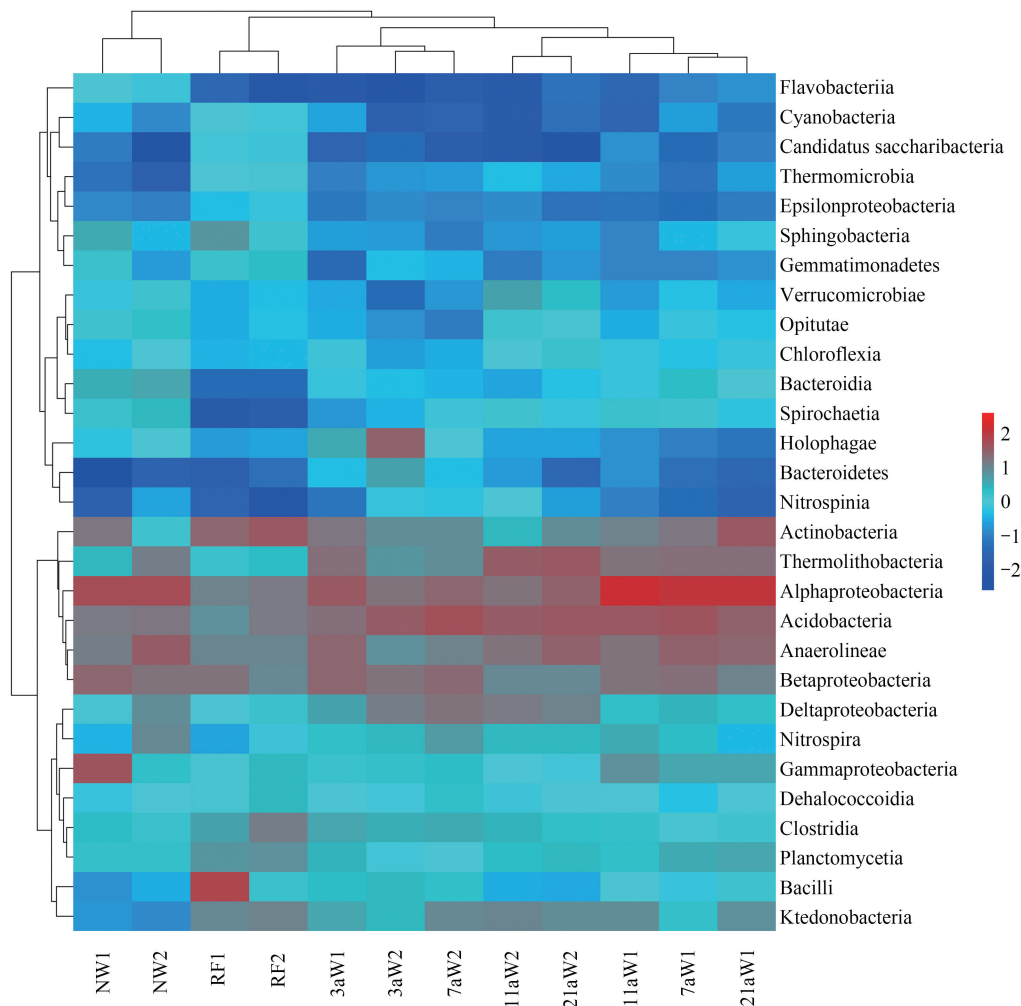


图3 研究区纲水平上土壤细菌群落组成热图

Fig.3 Heat map of bacterial communities at class level in the studied soils

红色代表在对应样本中相对丰度较高的纲,蓝色代表相对丰度较低的纲,图例数据是对颜色的赋值

表层则有先降后升再降的趋势;表层土壤革兰氏阴性菌生物量有先升后略降的趋势,亚表层则有先降后升再降趋势。退耕 21a 湿地土壤细菌生物量仍未达到原始湿地水平。

2.5 土壤细菌指标与土壤因子间的关系分析

研究区土壤细菌指标与土壤因子的 RDA 分析结果见图 5。土壤的全氮、有机质、有效氮、容重和 pH 是与细菌生物量呈显著相关的土壤因子 ($P < 0.05$),其单独对细菌生物量差异的解释量分别为 80.4%、79.9%、78.2%、52.5%和 38.7%;若按照不断加入土壤因子后所能增加的累积解释量计算,全氮解释量最大达 80.4% ($P = 0.002$),其他土壤因子解释量均小于 4.0% (图 5)。土壤的容重、有效氮、全氮与粘粒是与细菌群落结构指标显著相关的土壤因子 ($P < 0.05$),其对细菌群落结构差异单独解释量分别为 20.6%、19.8%、19.7%和 19.4%;其中粘粒、容重和全磷的累积解释量分别为 23.6% ($P = 0.012$)、20.6% ($P = 0.022$)和 11.9% ($P = 0.042$) (图 5)。相关性分析表明,研究区土壤细菌总 PLFAs 量以及各种群细菌 PLFAs 含量与容重、pH 总体上呈显著负相关,与土壤有机质、全磷、全氮以及有效氮总体上呈显著正相关 (表 4)。Shannon 指数和 Simpson 指数与土壤容重呈显著正相关,与土壤有机质、全氮和有效氮等养分指标总体呈负相关,但均未达到显著水平。

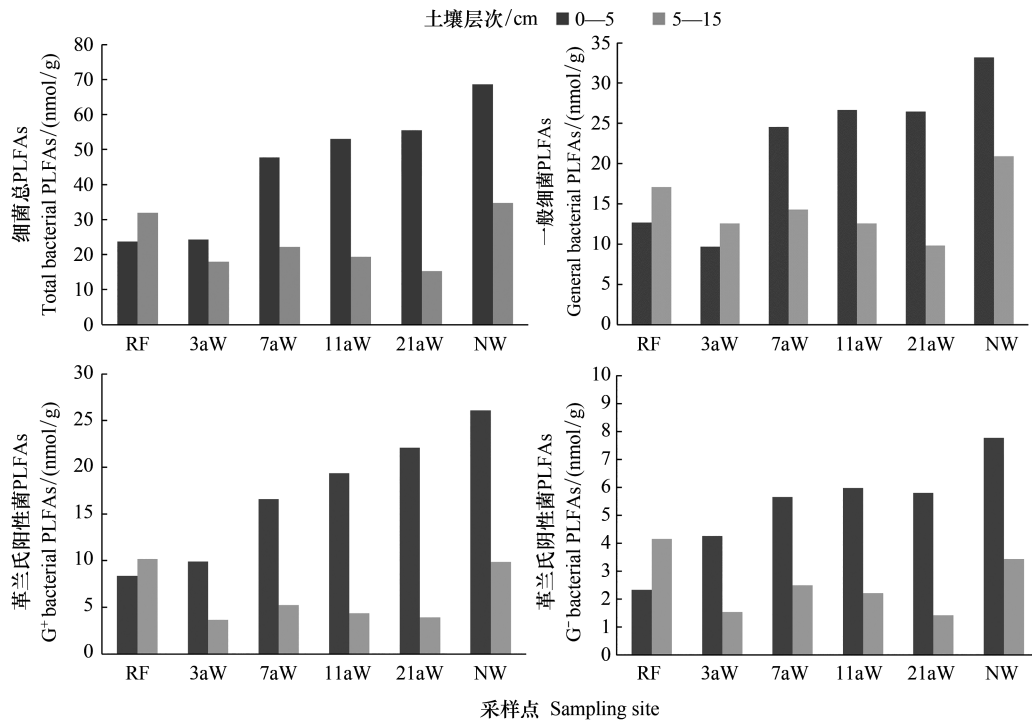


图4 研究区不同样地土壤细菌磷脂脂肪酸(PLFAs)含量差异

Fig.4 Soil bacterial PLFAs contents in the different sampling sites

表4 土壤细菌生物量和多样性指数与土壤因子间的相关性分析

Table 4 Correlation analysis of soil bacterial biomass and diversity indexes with soil factors

土壤因子 Soil factors	细菌 PLFAs 总量 Total bacterial PLFAs	一般细菌 General bacteria	革兰氏阴性菌 Gram- negative bacteria	革兰氏阳性菌 Gram- positive bacteria	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
容重 Bulk density	-0.750 **	-0.736 **	-0.638 *	-0.757 **	0.729 *	0.894 *
粘粒 Clay content	0.503	0.575	0.388	0.437	-0.479	-0.096
pH	-0.647 *	-0.587 *	-0.658 *	-0.674 *	0.167	0.313
有机质 Organic matter	0.946 **	0.909 **	0.906 **	0.953 **	-0.216	-0.465
全磷 Total phosphorus	0.586 *	0.605 *	0.583 *	0.535	-0.233	-0.190
有效磷 Available phosphorus	0.258	0.233	0.282	0.255	-0.456	-0.336
全氮 Total nitrogen	0.963 **	0.937 **	0.922 **	0.957 **	-0.303	-0.499
有效氮 Available nitrogen	0.939 **	0.911 **	0.908 **	0.935 **	-0.380	-0.560

$n = 12$; * 表示在 $P < 0.05$ 水平上显著相关; ** 表示在 $P < 0.01$ 水平上显著相关

3 讨论

3.1 退耕后湿地土壤细菌群落结构变化

植被、土地利用、气候和土壤性质(如 pH、养分、有机质、含水量等)是影响土壤细菌群落结构的重要因素^[2,5,8,14,23-24]。研究区除了围垦湿地的植被为油菜外,其他样地优势植被均为长势不同的苔草,且湿地利用、气候、水文条件导致的每年干湿交替和淹水频率均相同^[15]。养分条件影响着土壤寡营养型细菌和富营养型细菌种群分布^[25],随着土壤养分提高,富营养型细菌丰度会升高,而寡营养型细菌丰度则降低^[26]。变形菌门及其 α -变形菌纲、 β -变形菌纲和 δ -变形菌纲属于富营养型细菌,酸杆菌门及其全噬菌纲属于寡营养型细菌。

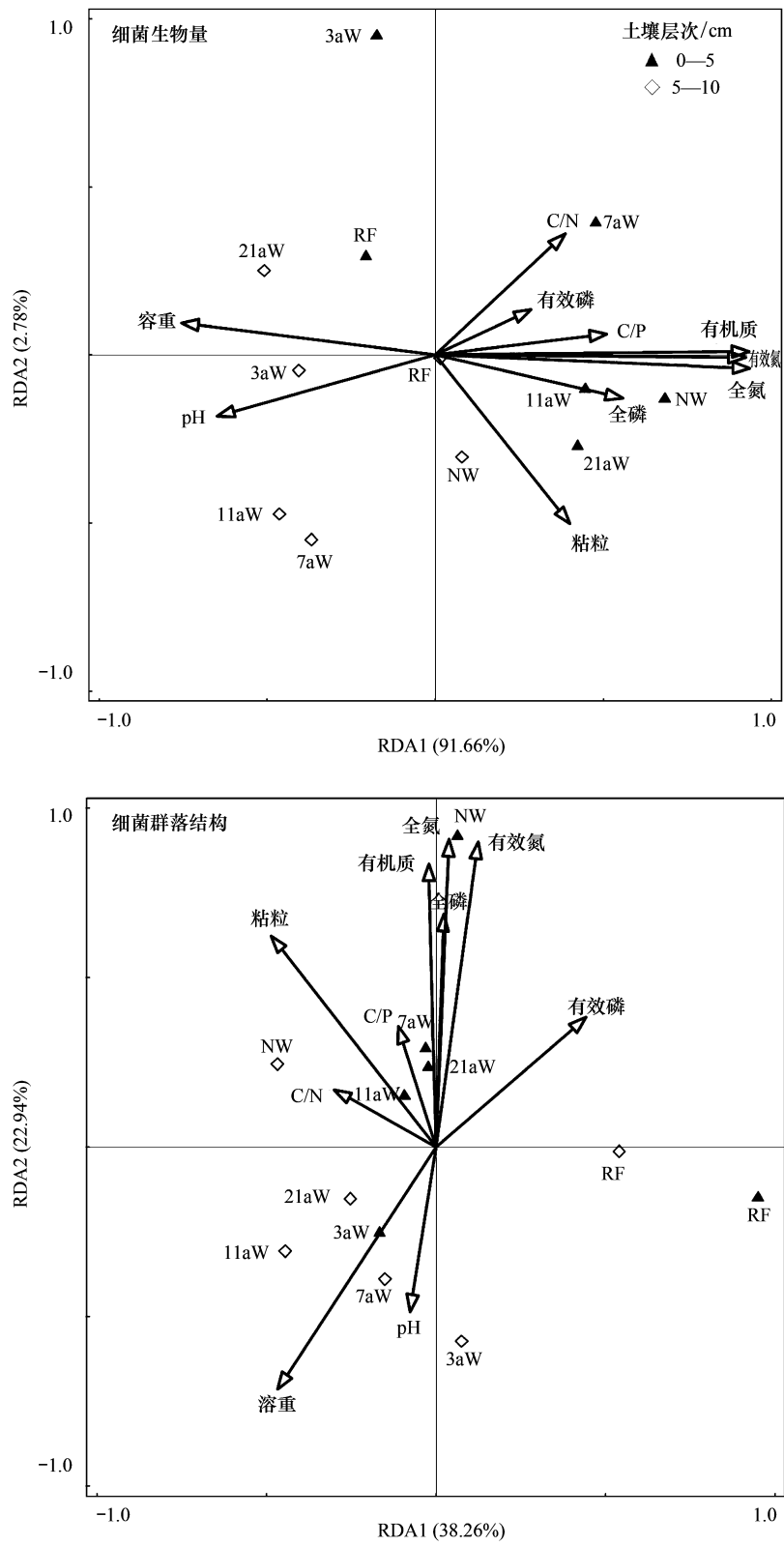


图5 研究区土壤细菌生物量和群落结构与土壤因子的 RDA 分析
Fig.5 RDA of soil bacterial biomass, and community structures indexes and soil factors
RDA: 冗余分析; C/N: 碳氮比; C/P: 碳磷比

菌^[23,26],并均包含大量能参与氮循环过程的细菌^[23,27]。退耕后湿地土壤变形菌门及其 α -变形菌纲相对丰度有先逐渐升高后略有降低趋势,而 β -变形菌纲和 δ -变形菌纲相对丰度则快速提高后逐渐降低;酸杆菌门及其酸杆菌纲和全噬菌纲有随着退耕年限增加呈现退耕 3a 激增后逐渐降低的变化趋势。土壤变形菌门和酸杆菌门细菌相对丰度基本上响应了退耕 3a 土壤有机质和氮素养分含量最低和退耕后湿地土壤养分含量升高的变化过程。同时含有参与氮循环的脲酶和氰酸盐水合酶/裂解酶基因的 Nitrospinae 及其 Nitrospina 纲和硝化螺旋菌门及其硝化螺旋菌纲^[28]也均具有退耕 3a 急剧上升后缓慢下降的趋势。以上这些参与氮循环的土壤细菌相对丰度变化趋势与退耕后湿地土壤脲酶活性^[16]、氮营养水平和微生物量氮均具有相似的变化趋势^[6-7]。RDA 分析(图 5)和相关性分析结果(表 4)也表明,研究区土壤全氮和有效氮与细菌生物量和群落结构特征具有显著的相关性。因此,退耕后湿地土壤寡营养型的酸杆菌门细菌和富营养型的变形菌门细菌指示着退耕后湿地生态恢复下土壤养分提升的状况。同时参与土壤氮循环的细菌相对丰度在退耕初期急剧提高,对于改善土壤氮营养状况进而促进湿地生态恢复起着重要的作用。

放线菌是偏好中性或微碱性的腐生好氧细菌^[29],是农业生产活动中的抗生素、生物杀虫剂和抗真菌剂的重要来源,有些放线菌还是促进农作物生长的根际细菌、共生菌和内生菌^[30]。厚壁菌门及其芽孢杆菌纲偏好略高 pH、丰富易降解有机质和粗质地的农田土壤环境^[23],大多数芽孢杆菌也是农作物致病菌的抑制菌^[23,31]。因此,放线菌和厚壁菌门细菌在农业生产活动的土壤环境中大量存在^[4,23]。退耕还湿后,研究区表层土壤 pH 略有降低,土壤有机质和粘粒含量增加。土壤放线菌门及其放线菌纲、厚壁菌门及其芽孢杆菌纲和梭菌纲相对丰度在油菜地最高,随着退耕年限增加相对丰度有明显降低的趋势。因此,随着研究区湿地围垦的农业生产活动消除,农田土壤环境向湿地土壤环境演变,与农业生产活动密切关联的土壤放线菌门和厚壁菌门相对丰度逐渐降低,指示着退耕还湿后历史围垦的影响消退过程。

研究区的油菜地、退耕湿地和原始湿地土壤细菌在纲水平上均有各自独特的群落结构,但相对于原始湿地,退耕湿地土壤细菌群落结构与油菜地的相似性更高。有研究发现退耕湿地土壤细菌群落结构与原始湿地更相似^[5,13],也有研究表明湿地历史围垦的影响难以使土壤细菌群落结构恢复到原始状态^[4]。RDA 分析发现研究区土壤粘粒、容重和全磷是与细菌群落结构显著相关的土壤因子,对细菌群落结构差异总解释量为 46.0%,其中粘粒和容重的累积解释量最大(合计为 44.1%)。前面讨论了土壤养分和历史围垦对退耕后湿地土壤细菌群落结构的影响,而土壤水分条件也是影响土壤微生物群落结构重要因素^[32]。土壤变形菌门偏好含水量高的土壤环境,而放线菌门偏好含水量相对低点的土壤环境^[33-34]。研究区土壤变形菌门相对丰度整体上确实随着退耕后湿地土壤含水量上升而提高,而放线菌相对丰度则降低。土壤容重不仅与土壤质地、有机质等养分状况密切相关^[35],也影响着土壤水分条件和空气含量,因而容重也是退耕还湿后土壤细菌群落结构密切关联的土壤因子。尽管较多研究表明土壤 pH 是影响土壤细菌群落结构主要因素^[2,8,24-25],但本文没有发现显著的影响,这与本文退耕还湖后湿地土壤 pH 变幅较小有关。因此,湿地围垦后的农业生产活动深刻影响着退耕还湿后土壤细菌群落结构特征;土壤养分、水分条件和容重是退耕还湿后土壤细菌群落结构密切关联的土壤因子。

3.2 退耕后湿地土壤细菌多样性和生物量变化

不同退耕年限下菜子湖湿地土壤 Shannon 指数和 Simpson 指数均具有随退耕年限的延长呈先急剧上升后逐渐下降的变化趋势,其中表层土壤这两个指数在退耕 3a 最高,而亚表层土壤则在退耕 7a 达到最高。这与图们江平原退耕后湿地土壤细菌多样性降低研究结果较为一致^[5],但与三江平原退耕后湿地土壤细菌群落多样性没有降低的结果有异^[4]。地球表层土壤细菌多样性主要由 pH 和养分等土壤因子决定和控制^[2],同时土壤物理化学性质的异质性也是影响土壤微生物多样性的重要因素^[36-37]。研究区湿地土壤细菌多样性指数与容重和 pH 呈正相关,与土壤有机质、总氮和有效氮养分含量呈负相关,但仅与容重相关性达到显著水平(表 4)。退耕后湿地土壤含水量升高,同时周期性淹水总时间增加,过量的水分条件增加了土壤微生物群落的环境压力^[32],降低了土壤微生物多样性^[24,37]。同时周期性饱和和水分条件也破坏了土壤空间隔离效应,增

加了细菌和养分物质在土壤环境中的移动性和分布均匀性^[32,37],降低了微生物多样性^[37]。在一定范围内,土壤容重越大,土壤孔隙度越低,缺乏以水分为媒介的通道,土壤空间隔离效果越好,土壤性质异质性更高,因而土壤细菌多样性会更高。研究区退耕 3a 表层土壤和退耕 7a 亚表层土壤在相同土层中容重最大(表 1),土壤细菌多样性也最高。退耕初期(3—7a)土壤细菌多样性最高也符合宏观生态学中的中度干扰理论。因此,退耕后湿地土壤水分条件和容重是与土壤细菌多样性密切关联的土壤因子,而退耕 3—7a 具有较高的土壤细菌多样性对于退耕初期湿地生态恢复具有重要意义。

随着退耕年限增加,湿地表层土壤各类细菌生物量均有增加的趋势,而亚表层则有先降后升再降趋势,但退耕 21a 湿地土壤细菌生物量仍未达到原始湿地水平。该结果与本研究区随着退耕年限增加土壤微生物量碳也增加的趋势基本一致^[7]。土壤养分是影响微生物量的主要因素^[7,18],随着退耕后土壤养分逐渐提高^[6-7],表层土壤细菌生物量逐渐增加;亚表层土壤退耕中前期养分具有相同变化趋势,而退耕后期亚表层土壤受周期性淹水影响总时间更长而导致土壤细菌生物量降低。RDA 分析和相关性分析结果也表明,土壤全氮、有效氮、有机质、容重和 pH 是与土壤细菌生物量显著相关的土壤因子($P < 0.05$),其中土壤全氮有土壤细菌生物量差异最大的累积解释量(图 5)。因此,退耕后随着土壤养分提高,尤其是土壤氮水平提高,促进了土壤细菌生物量增长。

4 结论

(1) 研究区油菜地土壤厚壁菌门和放线菌门及其大部分菌纲相对丰度较高,而变形菌门和酸杆菌门及其部分菌纲相对丰度较低;原始湿地土壤变形菌门及其菌纲相对丰度较高,厚壁菌门、放线菌门和酸杆菌门及其菌纲相对丰度较低;退耕湿地土壤酸杆菌门、Nitrospinae 和硝化螺旋菌门及其菌纲相对丰度较高,而变形菌门、厚壁菌门和放线菌门相对丰度在油菜地和原始湿地之间。

(2) 退耕还湿后,土壤变形菌门及其 α -变形菌纲相对丰度先逐渐升高后略有降低,而 β -变形菌纲、 δ -变形菌纲、酸杆菌门的酸杆菌纲、Nitrospinae 的 Nitrospina 纲和硝化螺旋菌门相对丰度均在退耕 3a 激增后降低。这些参与氮循环细菌对于退耕后湿地生态恢复过程中土壤氮素营养水平提升起着重要作用。土壤放线菌门及其放线菌纲和厚壁菌门及其芽孢杆菌纲和梭菌纲相对丰度随退耕年限的延长而逐渐下降,指示着湿地历史围垦影响的消退过程。退耕有利于湿地土壤细菌群落结构的恢复,但湿地历史围垦深刻影响着退耕后土壤细菌群落结构。土壤养分、水分条件和容重是与退耕后细菌群落结构密切相关的土壤因子。

(3) 退耕后湿地土壤细菌多样性指数呈先升后降的趋势,退耕初期 3—7a 湿地土壤细菌多样性最高;表层土壤细菌生物量则持续增加,亚表层则有先降后升再降趋势。土壤水分条件和容重是与退耕后湿地土壤细菌多样性变化密切相关的土壤因子,而土壤养分尤其是氮素,是与退耕后湿地土壤细菌生物量密切相关的土壤因子。

(4) 退耕初期(3—7a)湿地土壤参与氮循环细菌相对丰度最高,土壤细菌多样性也最高,是退耕后湿地生态恢复的关键期。应避免或减少该时期对湿地生态恢复的干扰,以有利于退耕后湿地生态恢复。

参考文献(References):

- [1] 姜明, 邹元春, 章光新, 佟守正, 武海涛, 刘晓辉, 张仲胜, 薛振山, 吕宪国. 中国湿地科学研究进展与展望——纪念中国科学院东北地理与农业生态研究所建所 60 周年. 湿地科学, 2018, 16(3): 279-287.
- [2] Bahram M, Hildebrand F, Forslund S K, Anderson J L, Soudzilovskaia N A, Bodegom P M, Bengtsson-Palme J, Anslan S, Coelho L P, Harend H, Huerta-Cepas J, Medema M H, Maltz M R, Munda S, Olsson P A, Pent M, Pölme S, Sunagawa S, Ryberg M, Tedersoo L, Bork P. Structure and function of the global topsoil microbiome. Nature, 2018, 560(7717): 233-237.
- [3] 解雪峰, 项琦, 吴涛, 蒋国俊, 孙晓敏, 朱明, 濮励杰. 滨海湿地生态系统土壤微生物及其影响因素研究综述. 生态学报, 2021, 41(1): 1-12.
- [4] 徐飞, 蔡体久, 杨雪, 琚存勇, 唐庆明. 三江平原沼泽湿地垦殖及自然恢复对土壤细菌群落多样性的影响. 生态学报, 2016, 36(22): 7412-7421.
- [5] Yang L, Jiang M, Zhu W H, Han L S, Qin L. Soil bacterial communities with an indicative function response to nutrients in wetlands of

- Northeastern China that have undergone natural restoration. *Ecological Indicators*, 2019, 101: 562-571.
- [6] 杨艳芳, 孟向东, 张平究. 不同退耕年限条件下菜子湖湿地土壤理化性质变化. *生态与农村环境学报*, 2013, 29(3): 322-328.
- [7] 郑真, 杨艳芳, 孔令柱, 刘爽, 刘文静, 司红君, 张平究. 退耕还湖后菜子湖湿地土壤理化性质及微生物量变化. *长江流域资源与环境*, 2014, 23(6): 821-826.
- [8] 王娜, 高婕, 魏静, 刘颖, 庄绪亮, 庄国强. 三江平原湿地开垦对土壤微生物群落结构的影响. *环境科学*, 2019, 40(5): 2375-2381.
- [9] 张杰, 胡维, 刘以珍, 葛刚, 吴兰. 鄱阳湖湿地不同土地利用方式下土壤微生物群落功能多样性. *生态学报*, 2015, 35(4): 965-971.
- [10] 李森森, 马大龙, 臧淑英, 王璐璐, 孙弘哲. 不同干扰方式下松江湿地土壤微生物群落结构和功能特征. *生态学报*, 2018, 38(22): 7979-7989.
- [11] 刘亚军, 刘欣, 牟晓真, 吴兰. 大型浅水湖泊鄱阳湖湿地微生物的研究现状. *微生物学通报*, 2019, 46(12): 3453-3460.
- [12] 邵颖, 曹四平, 刘长海, 罗梦娇. 基于高通量测序的南泥湾湿地土壤细菌多样性分析. *干旱区资源与环境*, 2019, 33(2): 158-163.
- [13] Huang L L, Kou W B, Wu L, Feinstein L, Kong Z Y, Ge G. Microbial composition and activity of natural, restored, and reclaimed wetland soils: a case study of Poyang Lake Basin, China. *Wetlands*, 2019, 39(S1): 113-123.
- [14] 李金业, 陈庆锋, 李青, 赵长盛, 冯优, 李磊. 黄河三角洲滨海湿地微生物多样性及其驱动因子. *生态学报*, 2021, 41(15): 6103-6114.
- [15] 刘文静, 张平究, 董国政, 孔令柱, 郑真, 司红君. 不同退耕年限下菜子湖湿地土壤磷素组分特征变化. *生态学报*, 2014, 34(10): 2654-2662.
- [16] 包先明, 程新锋, 纪磊, 郑真, 孔令柱, 张平究. 不同退耕年限下菜子湖湿地土壤酶活性变化. *土壤*, 2016, 48(4): 692-697.
- [17] 张玉洁, 吴婷, 赵娟, 刘书路, 于跃刚, 张浩. 生物炭添加对秸秆还田土壤细菌群落结构和多样性影响. *环境科学学报*, 2017, 37(2): 712-720.
- [18] 于小彦, 张平究, 张经纬, 陈芳, 杨艳芳. 城市河流沉积物微生物量分布和群落结构特征. *环境科学学报*, 2020, 40(2): 585-596.
- [19] Bligh E G, Dyer W J. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(8): 911-917.
- [20] 颜慧, 蔡祖聪, 钟文辉. 磷脂脂肪酸分析方法及其在土壤微生物多样性研究中的应用. *土壤学报*, 2006, 43(5): 851-859.
- [21] Zelles L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil; a review. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29(2): 111-129.
- [22] 赖江山. 生态学多元数据排序分析软件 Canoco5 介绍. *生物多样性*, 2013, 21(6): 765-768.
- [23] Karimi B, Terrat S, Dequiedt S, Saby N P A, Horrigue W, Lelièvre M, Nowak V, Jolivet C, Arrauays D, Wincker P, Cruaud C, Bispo A, Maron P A, Bouré N C P, Ranjard L. Biogeography of soil bacteria and archaea across France. *Science Advances*, 2018, 4(7): eaat1808.
- [24] 张广帅, 于秀波, 张全军, 李雅, 刘宇, 段后浪. 鄱阳湖湿地土壤微生物群落结构沿地下水梯度分异特征. *生态学报*, 2018, 38(11): 3825-3837.
- [25] Leff J W, Jones S E, Prober S M, Barberán A, Borer E T, Fim J L, Harpole W S, Hobbie S E, Hofmockel K S, Knops J M H, McCulley R L, La Pierre K, Risch A C, Seabloom E W, Schütz M, Steenbock C, Stevens C J, Fierer N. Consistent responses of soil microbial communities to elevated nutrient inputs in grasslands across the globe. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(35): 10967-10972.
- [26] Fierer N, Bradford M A, Jackson R B. Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology*, 2007, 88(6): 1354-1364.
- [27] Kielak A M, Barreto C C, Kowalchuk G A, Van Veen J A, Kuramae E E. The ecology of *Acidobacteria*: moving beyond genes and genomes. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 744.
- [28] Pachiadaki M G, Sintés E, Bergauer K, Brown J M, Record N R, Swan B K, Mathyer M E, Hallam S J, Lopez-Garcia P, Takaki Y, Nunoura T, Woyke T, Herndl G J, Stepanauskas R. Major role of nitrite-oxidizing bacteria in dark ocean carbon fixation. *Science*, 2017, 358(6366): 1046-1051.
- [29] De Menezes A B, Prendergast-Miller M T, Poonpatana P, Farrell M, Bissett A, Macdonald L M, Toscas P, Richardson A E, Thrall P H. C/N ratio drives soil actinobacterial cellobiohydrolase gene diversity. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(9): 3016-3028.
- [30] Barka E A, Vatsa P, Sanchez L, Gaveau-Vaillant N, Jacquard C, Klenk H P, Clément C, Ouhdouch Y, Van Wezel G P. Taxonomy, physiology, and natural products of *Actinobacteria*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2016, 80(1): 1-43.
- [31] Sheng R, Meng D L, Wu M N, Di H J, Qin H L, Wei W X. Effect of agricultural land use change on community composition of bacteria and ammonia oxidizers. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(7): 1246-1256.
- [32] 朱义族, 李雅颖, 韩继刚, 姚槐应. 水分条件变化对土壤微生物的影响及其响应机制研究进展. *应用生态学报*, 2019, 30(12): 4323-4332.
- [33] Barnard R, Osborne G A, Firestone M K. Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting. *The ISME Journal*, 2013, 7(11): 2229-2241.
- [34] Yao M J, Rui J P, Niu H S, Heděnc P, Li J B, He Z L, Wang J M, Cao W D, Li X Z. The differentiation of soil bacterial communities along a precipitation and temperature gradient in the eastern Inner Mongolia steppe. *CATENA*, 2017, 152: 47-56.
- [35] 周卓丽, 张卓栋, 罗建勇, 邹心雨, 肖人杰. 河北坝上地区草地坡面尺度土壤容重空间变异特征. *土壤通报*, 2020, 51(1): 9-17.
- [36] 王好才, 夏敏, 刘圣恩, 王焱, 展鹏飞, 王行. 若尔盖高原泥炭沼泽湿地土壤细菌群落空间分布及其驱动机制. *生态学报*, 2021, 41(7): 2663-2675.
- [37] Zhou J Z, Xia B C, Treves D S, Wu L Y, Marsh T L, O'Neill R V, Palumbo A V, Tiedje J M. Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(1): 326-334.