DOI: 10.20103/j.stxb.202211013107

宋达成,赵文智,李广宇,王理德,马瑞,任珩,吴昊.退耕对民勤绿洲土壤碳氮循环关键微生物及功能基因的影响.生态学报,2024,44(2): 805-818.

Song D C, Zhao W Z, Li G Y, Wang L D, Ma R, Ren H, Wu H.Effects of abandoned farmland on key microorganisms and functional genes of soil carbon and nitrogen cycles in Minqin Oasis. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(2):805-818.

退耕对民勤绿洲土壤碳氮循环关键微生物及功能基因 的影响

宋达成^{1,3},赵文智^{2,*},李广宇¹,王理德^{1,3},马 瑞³,任 珩²,吴 昊¹

1 甘肃省治沙研究所,甘肃河西走廊森林生态系统国家定位观测研究站,兰州 730070 2 中国科学院西北生态环境资源研究院,临泽内陆河流域研究站,兰州 730000

3 甘肃农业大学,林学院,兰州 730070

摘要:采用时空互代法,以巴丹吉林沙漠东南缘民勤绿洲不同退耕年限样地土壤为研究对象,利用微生物宏基因组测序技术,以 KECG 数据库碳固定、氮代谢途径为工具、研究长期退耕对参与区域土壤碳固定和氮代谢途径的主要微生物群落组成及其功能 基因变化的影响。试验共设置9个退耕年限梯度样地:未退耕耕地、退耕1年样地、退耕2年样地、退耕4年样地、退耕8年样 地、退耕13年样地、退耕20年样地、退耕30年样地和退耕40年样地。结果表明:退耕明显改变了碳固定、氮代谢土壤微生物 和功能基因丰度,细菌在碳固定和氮代谢两个过程中均起到主导作用;还原三羧酸循环途径、还原乙酰辅酶 A 途径以及 3-羟基 丙酸/4-羟基丁酸循环途径等为研究区土壤微生物主要碳固定途径,厌氧氨氧化途径、硝酸盐异化还原途径、硝酸盐同化还原途 径、反硝化途径以及硝化途径等为研究区土壤微生物主要氮代谢途径;芽单胞菌属(Gemmatimonas)、未分类绿弯菌属 (unclassified_Chloroflexi)和链霉菌属(Streptomyces)等是区域土壤微生物碳固定主要菌属,氮代谢则以腈基降解菌属 (Nitriliruptor)、芽单胞菌属(Gemmatimonas)、土壤红杆菌属(Solirubrobacter)、未分类绿弯菌属(unclassified_Chloroflexi)和链霉菌 属(Streptomyces)等为主;Gemmatirosa、未分类绿弯菌属(unclassified_Conexibacter)、未分类念珠菌门(unclassified_Candidatus Rokubacteria)、Gaiella 和 Geminicoccus 等 5 个属分类土壤微生物可作为研究区退耕地碳固定途径标记性微生物种群, coxL. cutL 和 ACO.acnA 等是研究区退耕地土壤微生物碳固定途径主要响应功能基因;腈基降解菌属(Nitriliruptor)、未分类念珠菌门 (unclassified _ Candidatus Rokubacteria)、Geminicoccus、未分类绿弯菌属(unclassified _ Conexibacter)、土壤红杆菌属 (Solirubrobacter)、未分类酸杆菌门(unclassified_Acidobacteria)和红色杆菌属(Rubrobacter)等7个属分类土壤微生物可作为研 究区退耕地氮代谢途径标记性微生物种群,GDH2 和 E1.4.7.1 是研究区退耕地土壤微生物氮代谢途径主要响应功能基因。该 结果对于明确退耕影响下民勤绿洲土壤碳氮循环过程具有重要意义。

关键词:民勤绿洲;退耕地;土壤微生物;碳固定途径;氮代谢途径

Effects of abandoned farmland on key microorganisms and functional genes of soil carbon and nitrogen cycles in Minqin Oasis

SONG Dacheng^{1,3}, ZHAO Wenzhi^{2,*}, LI Guangyu¹, WANG Lide^{1,3}, MA Rui³, REN Heng², WU Hao¹

1 Gansu Hexi Corridor Forest Ecosystem National Research Station, Gansu Desert Control Research Institute, Lanzhou 730070, China

2 Linze Inland River Basin Research Station, Northwest Institute of Eco-Environment and Resources, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China
3 College of Forestry, Gansu Agriculture University, Lanzhou 730070, China

Abstract: Utilizing the spatio-temporal intergenerational methodology, we conducted an investigation into the impacts of

基金项目:国家自然科学基金项目(42167069);甘肃省重点研发计划项目(22YF7FA078)

收稿日期:2022-11-01; 网络出版日期:2023-10-18

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: zhaowzh@lzb.ac.cn

prolonged fallowing on the composition and functional genetic alterations of the primary microbial communities engaged in the carbon fixation and nitrogen metabolism pathways within the regional soil. To accomplish this, we employed microbial metagenome sequencing technology and utilized the carbon fixation and nitrogen metabolism pathways from the KEGG database as a tool. The study was carried out in sample plots located in the Mingin Oasis, situated at the southeastern edge of the Badan Girin Desert. These plots were categorized into nine groups based on the duration of fallowing: plots with no fallowing, 1-year fallowing, 2-year fallowing, 4-year fallowing, 8-year fallowing, 13-year fallowing, 20-year fallowing, 30year fallowing, and 40-year fallowing. The findings revealed significant alterations in the abundance of soil microorganisms and functional genes related to carbon fixation and nitrogen metabolism due to fallowing. Bacteria played a predominant role in both carbon fixation and nitrogen metabolism. The primary carbon fixation pathways of soil microorganisms in the study area were the reductive tricarboxylic acid cycle pathway, reductive acetyl-CoA pathway, and the 3-Hydroxypropionate/4hydroxybutylate cycle pathway. As for nitrogen metabolism, the main pathways identified were anaerobic ammonium oxidation, dissimilatory nitrate reduction, assimilatory nitrate reduction, denitrification, and nitrification. Gemmatimonas, unclassified Chloroflexi, and Streptomyces were main bacteria for carbon fixation of regional soil microorganisms, while the nitrogen metabolism relied mainly on Nitriliruptor, Gemmatimonas, Solirubrobacter, unclassified Chloroflexi, and Streptomyces. Gemmatirosa, unclassified Conexibacter, unclassified Candidatus Rokubacteria, Gaiella, and Geminicoccus could be used as marker microbial populations of the pathways of carbon fixation in the cultivated land in the study area, and coxL.cutL and ACO.acnA were main response function genes of the pathways of carbon fixation in the cultivated land in the study area. Seven genera of classified soil microorganisms, including Nitriliruptor, unclassified Candidatus Rokubacteria, Geminicoccus, unclassified Conexibacter, Solirubrobacter, unclassified Acidobacteria, and Rubrobacter, could be used as the marker microbial population of the pathways of nitrogen metabolism in the study area, and GDH2 and E1.4.7.1 were main response function genes of the pathways of nitrogen metabolism in the study area. These results hold significant importance in elucidating the processes of carbon and nitrogen cycling in the soils of Minqin Oasis under the influence of fallowing.

Key Words: Minqin Oasis; abandoned farmland; soil microorganism; carbon fixation pathway; nitrogen metabolism pathway

在干旱和半干旱干扰下恢复自然植被被认为是控制干旱和半干旱生态系统中土壤侵蚀和改善土壤质量、 植物和生态系统健康的潜在有用策略^[1]。退耕作为干旱区生态恢复重要措施,能够有效提高区域植物生物 量和物种多样性,促进土壤的养分贮量和有效性的同时,推动土壤微生物群落演替过程,加速土壤碳、氮、磷和 硫等元素循环^[2-4]。尽管大量研究已经探讨土壤微生物群落随退耕过程所发生的变化,证实了微生物多样性 越高的土壤具备更多的生态功能与更高的抗环境胁迫能力^[5];退耕后动态自然恢复过程有利于增加土壤微 生物丰度^[6];退耕地土壤微生物群落组成和结构变化主要源于土壤理化性质的改变^[7]等,但不同研究结果间 差异性较大且尚未形成共识。此外,由于干旱区土壤的特殊性与异质性,针对干旱区长期退耕条件下土壤微 生物群落所开展的研究更为缺乏,导致人们对于干旱区退耕地演替过程中土壤微生物群落不同区系是否存在 共同的变化模式,演替至一定阶段后微生物群落是否稳定等问题仍知之甚少^[8],不利于退耕地土壤生态系统

物种多样性能够对微生物群落功能产生重要影响,而功能基因丰度可以反映微生物群落功能对环境变化的响应^[10]。近年来,随着功能基因标志物应用研究不断发展,功能微生物类群对环境的响应与反馈机制,已成为生态系统循环过程研究热点^[11]。碳、氮作为生物地球化学循环中重要元素,由土壤微生物介导的碳氮循环过程研究也受到了广泛关注,越来越多的研究也从功能基因丰度角度预测了土壤微生物碳氮循环潜力和代谢特征^[12]。已有研究表明,acsA、accA和 porA 是参与碳固定过程的重要基因;nifH 对于检测环境中参与固氮

过程的微生物至关重要; amoA 和 narG 则常作为氨化和反硝化过程微生物最重要的功能基因参与相关过 程^[13]。由于不同研究中植物群落、土壤类型、微生物多样性等具有差异性,导致有关退耕如何影响土壤微生 物碳氮循环功能仍存在争议。对废弃农田演替过程中土壤微生物碳循环功能潜力的研究发现碳循环功能基 因丰度在初期变化不大,直至演替到天然林阶段,其丰度才会随林龄的变化而大幅变化^[14]; 农田退耕后土壤 细菌功能基因丰度变化研究显示, 次生演替过程会导致土壤中氮循环关键基因 nifH 丰度的增加^[15]; 但对于 更长时间尺度演替而言, 碳循环功能基因相对丰度随演替进行不断下降, 而氮循环功能基因相对丰度则呈现 先升高后降低的趋势^[16]。因此, 针对退耕地开展长时间尺度下土壤碳氮循环关键微生物功能基因丰度变化 研究, 对于进一步探讨退耕地演替过程中土壤碳氮循环微生物机制具有重要意义^[17]。

民勤绿洲作为武威乃至河西走廊生态安全的有效屏障,在保障粮食安全的同时,发挥着重要生态屏障功能。然而,近几十年来,区域内大量农田弃耕撂荒,并且受到经费等原因影响,这部分退耕地往往只能通过缓慢的自然群落演替恢复其原有生态结构和功能,如果处理不当,将极易加剧土地风蚀荒漠化程度,严重破坏区域生态系统的稳定性^[18]。据此,本文利用微生物宏基因组测序技术,以空间代替时间的研究策略,对巴丹吉林沙漠东南缘民勤绿洲退耕地演替过程碳固定、氮代谢途径土壤微生物组成及功能基因进行了研究,以期解决如下问题:①碳固定、氮代谢途径土壤微生物组成变化特征;②碳固定、氮代谢途径关键功能基因筛选及其对退耕地演替的响应。旨在为相似干旱、半干旱地区退耕地土壤修复提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于巴丹吉林沙漠东南缘的甘肃省民勤县西渠镇,地理坐标为 103°35—103°37′E,39°01′—39°03′N, 平均海拔 1305 m(表 1)。区域风沙活动频繁,日温差年温差较大,日照时间长,干燥少雨,年均温度7.6 ℃,年 平均降水量 110 mm,月平均蒸发量达 200 mm 以上,土壤类型以灰棕漠土为主,沙化现象严重。优势植物以荒 漠植被为主,主要灌木有盐爪爪(Kalidium foliatum)、小果白刺(Nitraria sibirica)、红砂(Reaumuria songarica) 等,主要草本有白茎盐生草(Halogeton arachnoideus)、碱蓬(Suaeda glauca)、雾冰藜(Bassia dasyphylla)等^[19]。

Table 1 Geographical location of piols of research areas								
退耕年限	纬度	经度	海拔	群落优势种	土壤类型			
Abandoned years/a	Latitude	Longitude	Altitude/m	Dominant plants species	Soil environment			
0	N 39°03′52.00″	E 103°35'14.01"	1308.10	茴香				
1	N 39°03′57.53″	E 103°35′07.29″	1305.90	地肤+中亚滨藜				
2	N 39°03′51.62″	E 103°35'09.84"	1306.60	白茎盐生草+地肤+中亚滨藜				
4	N 39°03′50.80″	E 103°35'10.89"	1307.90	碱蓬+地肤+小果白刺				
8	N 39°03′25.13″	E 103°36'08.92"	1305.00	小果白刺+黑果枸杞	灰棕漠土			
13	N 39°02'30.29"	E 103°36'18.18"	1306.40	黑果枸杞				
20	N 39°01′44.11″	E 103°37'01.85"	1308.10	黑果枸杞				
30	N 39°02'39.51"	E 103°37′29.73″	1302.30	黑果枸杞+盐爪爪				
40	N 39°02′54.31″	E 103°37′55.49″	1302.80	黑果枸杞+盐爪爪				

表 1 研究区采样点地理位置信息

1.2 试验设计

试验开始于 2018 年,采用空间替代时间的方法,选择民勤县西渠镇境内海拔高度相似(1300 m)、地形平 坦、受人为影响干预较小的地段作为研究区域。区域内种植作物均为茴香,采用垄作方式,行距 40 cm,播种 量 25 kg/hm²,肥料以尿素为主(30 kg/hm²),增施磷酸二铵(20 kg/hm²),未铺设地膜。按照不同退耕年限梯 度分别选取退耕 1 年(样品编号 A2,2017 年退耕)、2 年(样品编号 A3,2016 年退耕)、4 年(样品编号 A4,2014 年退耕)、8 年(样品编号 A5,2010 年退耕)、13 年(样品编号 A6,2005 年退耕)、20 年(样品编号 A7,约2000 年

退耕)、30年(样品编号 A8,约1990年退耕)、40年(样品编号 A9,约1980年退耕)等8块面积为1 hm²的撂荒 地作为试验样地,撂荒后,未继续种植茴香,未采取任何干预措施,样地内植被全部为自然更新。同时,以区域 内未退耕茴香地作为对照样地(样品编号 A1)。

1.3 样品采集

于 2018 年 9 月进行土壤样品采集。为降低空间异质性,使用"五点混合法"对土壤进行采集,于每块样 地内采用"S"形取样法选取 5 个土样采集点,采集点之间相距约 70 m,每个采集点内取 3 个重复样品。采样 时先使用消毒土壤铲将地表杂质去除后,再对 20 cm 左右土层深度样品进行采集。之后将同一样地的土壤样 品充分混合,装入无菌袋后放入 4 ℃土样保温储存箱中带回实验室。在实验室内进行过筛(1 mm)处理后,分 2 份保存,一份自然风干,用于土壤理化性质测定,另一份保存于-80 ℃的低温冷藏冰箱内,用于 DNA 提取和 测序。

1.4 土壤理化性质测定

不同退耕年限样地土壤基本理化性质见表 2,采用电位法测定土壤 pH 值、采用烘干法测定土壤含水量(SM)、采用环刀法测定容重(BD)、采用重铬酸钾氧化-分光光度法测定有机质(OM)、采用半微量凯氏定氮法测定全氮(TN)、采用浸提-钼锑抗比色法测定速效磷(AP)、采用四苯硼钠法测定有效钾(AK)。

		Table 2 Ba	asic physical and cl	nemical propertie	s of the soil samples		
样品 Samples	рН	全氛 Total nitrogen/ (g/kg)	有机质 Organic matter/ (g/kg)	速效磷 Available phosphorus/ (mg/kg)	有效钾 Available potassium/ (mg/kg)	容重 Bulk density/ (g/cm ³)	含水量 Moisture/%
A1	8.20±0.01	0.29±0.02a	12.57±2.21a	$0.53 \pm 0.23 \mathrm{ab}$	$189.48{\pm}73.69{\rm cd}$	1.70±0.05a	0.12±0.01a
A2	8.07±0.22	$0.22{\pm}0.05{\rm bc}$	$8.97{\pm}0.87{\rm bcd}$	$0.20{\pm}0.05{\rm b}$	$132.81 {\pm} 18.04 {\rm d}$	$1.52 \pm 0.13 \mathrm{b}$	$0.09{\pm}0.01{\rm abc}$
A3	7.95 ± 0.10	$0.26 \pm 0.03 \mathrm{ab}$	$9.17{\pm}1.24{\rm bc}$	$0.26 \pm 0.16 \mathrm{ab}$	$152.75{\pm}46.98\mathrm{cd}$	$1.68 \pm 0.03 \mathrm{ab}$	$0.08{\pm}0.01{\rm bcd}$
A4	8.05±0.21	$0.21{\pm}0.01{\rm bc}$	$9.34{\pm}0.99{\rm b}$	0.50 ± 0.14 ab	$112.39{\pm}52.18\mathrm{d}$	1.62 ± 0.04 ab	$0.06{\pm}0.01{\rm bcd}$
A5	8.37±0.31	$0.21 \pm 0.03 \mathrm{c}$	8.73 ± 1.13 bed	$0.73 \pm 0.26a$	$154.07{\pm}37.82{\rm cd}$	1.61±0.01ab	$0.06{\pm}0.01{\rm cd}$
A6	8.02 ± 0.24	$0.15{\pm}0.02{\rm d}$	7.92 ± 0.25 bed	$0.33 \pm 0.07 \mathrm{ab}$	377.01±117.19a	$1.62 \pm 0.08 \mathrm{ab}$	0.12±0.02a
A7	7.85 ± 0.07	$0.18{\pm}0.03{\rm cd}$	$6.92{\pm}1.32\mathrm{d}$	$0.43 \pm 0.11 \mathrm{ab}$	$262.90{\pm}50.92{\rm bc}$	1.57±0.16ab	$0.09{\pm}0.03{\rm ab}$
A8	8.48±0.25	$0.17{\pm}0.01{\rm cd}$	$7.14{\pm}0.46{\rm cd}$	$0.57 \pm 0.19 \mathrm{ab}$	$263.12{\pm}46.75\mathrm{bc}$	1.54 ± 0.10 ab	$0.05{\pm}0.02{\rm d}$
A9	8.09±0.12	$0.21 \pm 0.02 \mathrm{c}$	$9.99{\pm}0.48{\rm b}$	$0.54 \pm 0.05 \mathrm{ab}$	314.75 ± 33.51 ab	1.64±0.11ab	$0.07{\pm}0.01{\rm bcd}$

表 2 土壤样品基本理化性质

同列不同字母表示土壤间差异显著(P<0.05);A1:对照耕地;A2:退耕1年;A3:退耕2年;A4:退耕4年;A5退耕8年;A6:退耕13年;A7:退 耕20年;A8:退耕30年;A9:退耕40年

1.5 DNA 提取和宏基因组测序

利用 Fast DNA[™] Spin Kit for Soil(MP Biomedicals,美国)DNA 提取试剂盒进行样品 DNA 抽提,然后使用 TBS-380(TurnerBioSystems,美国)荧光仪检测 DNA 浓度,并使用 NanoDrop[™] 2000 UV-Vis spectrophotometer (Thermo Scientific,美国)超微量紫外分光光度计检测 DNA 纯度,1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性,之后 于-20 ℃保存。

宏基因组测序主要通过 Illumina HiSeq 2000 平台完成。首先通过 Covaris[®] M220 聚焦超声波破碎仪[™] (Covaris,美国)将 DNA 片段化处理为约 400 bp,然后采用 NEXTFLEX[™] Rapid DNA-Seq Kit(Bioo Scientific,美国)试剂盒构建 PE 文库,最后通过 HiSeq 3000/4000 PE Cluster Kit(Illumina,美国)试剂盒进行桥式聚合酶链 式反应(PCR)反应,质量检测合格后进行测序。本研究宏基因组测序工作委托上海美吉生物医药科技有限 公司完成,宏基因组测序原始序列已经提交至美国国家生物技术信息中心 SRA 数据库(NCBI SRA)(https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/),登录号为(SRA accession)SRP131615。

1.6 数据处理

从下机原始序列开始进行数据处理,首先使用 SeqPrep 和 Sickle(Version 1.33)工具对原始序列进行拆

分、质量剪切及去除污染化等优化处理,然后使用 Megahit(Version 1.1.2)、Newbler、MetaGene 等工具分别对优化序列进行拼接、组装和基因预测,对得到的基因进行物种和功能注释以及分类,包括非冗余蛋白序列数据库(NR)、KEGG 等构建基因目录,并获得各样品中的丰度信息^[20]。从基因目录出发,使用 blastp(Version 2.3.0)将基因集序列与 NR 数据库进行比对,获得碳固定、氮代谢微生物物种注释基因的注释信息,并结合基因丰度,获得不同分类层级微生物物种丰度。基于功能丰度,进行丰度聚类分析,对代谢通路进行比较,分析处理各样品间的功能组成差异等。

1.7 数据分析

运用 Excel 2003 软件对数据进行处理与统计;使用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析;使用 R 语言 ggplot2 包对属水平上的土壤微生物群落结构、功能基因丰度、主要物种与功能基因相关分析图进行绘制。并 结合前人研究结果,对碳固定、氮代谢途径所含基因进行分析与标注。

2 结果与分析

2.1 不同退耕年限样地土壤宏基因组测序结果

不同退耕年限样地土壤宏基因组测序结果如表 3 所示,通过宏基因组测序得到的原始序列经碱基质量动态去除处理和长度筛选及双端测序(pair-end)信息修正后,各样品获得超 5.07 亿的测序序列(reads)可用于操作分类和功能分析。微生物宏基因组共获得 6740984 条组装序列(contigs)。

Table 3 Statistics of soil genomic DNA sequencing data									
样品 Samples	Clean reads 序列条数 Clean reads	Contigs 序列条数 Contigs	Contigs 总序列长度 Total length (Congtigs)/bp (Contigs 平均序 列长度 Average length Congtigs)/bp	N50/bp	N90/bp	ORFs 序列条数 ORFs	ORFs 总序列长度 Total length (ORFs)/bp	ORFs 平均序 列长度 Average length (ORFs)/bp
A1	58591373	759256	507511624	668.43	700	355	1011882	456943665	451.58
A2	56280366	694898	459976892	661.93	693	353	929261	420156309	452.14
A3	55631774	695139	449125489	646.09	684	351	915318	400166682	437.19
A4	59706452	803244	524542592	653.03	697	353	1066266	470324958	441.1
A5	59677058	760690	506059875	665.26	707	353	1030840	455494478	441.87
A6	52147730	737910	520816552	705.80	774	356	1022223	468020737	457.85
A7	53129011	747278	521754219	698.21	763	355	1033567	469310332	454.07
A8	60831119	864060	593896798	687.33	740	357	1190282	533917604	448.56
A9	50485515	678509	493961631	728.01	809	359	957331	442373131	462.09

表 3 土壤基因组 DNA 测序数据统计

2.2 不同退耕年限对碳固定途径微生物组成及功能基因的影响

2.2.1 退耕年限对碳固定途径微生物组成变化特征的影响

研究区不同退耕年限碳固定土壤微生物组成如图1所示。细菌在各样地碳固定过程中均起主导作用,占功能微生物总丰度的94.35%—97.16%,古菌占功能微生物总丰度的2.41%—4.99%。此外,通过测序发现,各样地碳固定过程土壤微生物中相对丰度>1%的菌属分别为芽单胞菌属(Gemmatimonas)、未分类绿弯菌属(unclassified_p_Chloroflexi)、链霉菌属(Streptomyces)、未分类细菌属(unclassified_d_Bacteria)和未分类放线菌属(unclassified_c_Actinobacteria),丰度低于1%的类群占81.66%—84.49%。

退耕未改变研究区碳固定土壤微生物群落主要物种组成,但对其丰度变化影响较大。土壤退耕 40 年间, 各样地主要碳固定土壤微生物丰度随退耕时间的延长较对照耕地出现大幅上涨或下降。在属分类水平上,未 分类绿弯菌属(unclassified_p_Chloroflexi)、芽单胞菌属(Gemmatimonas)、未分类细菌属(unclassified_d_ Bacteria)、未分类 β -变形菌纲(unclassified_c_Betaproteobacteria)、Gemmatirosa、unclassified_p_Candidatus Rokubacteria 分别下降了 53.77%、37.17%、38.33%、76.50%、77.02%和 49.64%。而链霉菌属(Streptomyces)、未 分类放线菌属(unclassified_c_Actinobacteria)、腈基降解菌属(Nitriliruptor)较对照耕地分别上涨了 135.78%、 206.85%和 1310.94%。





Fig.1 Relative abundance distribution of species at the genus level for different carbon fixation pathway samples A1:对照耕地;A2:退耕1年;A3:退耕2年;A4:退耕4年;A5退耕8年;A6:退耕13年;A7:退耕20年;A8:退耕30年;A9:退耕40年

2.2.2 退耕年限对碳固定途径功能基因的影响

将 KEGG 碳固定通路与功能基因信息进行比对,共检测到土壤碳固定途径功能基因 52 个,且不同退耕 年限样地土壤检测到的功能基因相同(图 2 红色框内表示不同退耕年限检测到的基因)。

对丰度排名前十的主要碳固定途径功能基因进行分析比对(图3),结果显示:退耕0—2年间主要功能基因相对丰度累加值呈逐年上升趋势,由0.054(A1)升至0.062(A3);退耕2—20年间呈波动性上升趋势,主要功能基因相对丰度最高值出现在退耕20年,达到0.074(A7);退耕20后呈大幅下降趋势,截止退耕40年时,降至0.055(A9),与对照耕地处于相似水平。退耕显著影响了研究区土壤碳固定主要功能基因丰度,且以退耕20年为时间节点,总体呈现出先上升后下降的变化趋势。

2.2.3 碳固定途径物种与功能基因相关分析

将基因目录与非冗余蛋白库(NR数据库)进行比对,分别选取10个主要微生物物种(属水平)及碳固定 途径主要功能基因,检验其相关程度(图4)。结果显示:有6个主要属物种与碳固定功能基因存在显著相关 关系(P<0.05),分别为:Gemmatirosa、unclassified_p_Acidobacteria、Conexibacter、unclassified_p_Candidatus Rokubacteria、Gaiella和Geminicoccus。除unclassified_p_Acidobacteria以外,其余5个主要属物种与9个主要 碳固定功能基因存在极显著差异(P<0.01),可作为研究区退耕地碳固定途径标记性微生物种群。此外,10个 主要碳固定功能基因中,有2个与3个以上属水平物种存在极显著差异(P<0.01),分别为:coxL.cutL和 ACO.acnA,是研究区退耕地土壤微生物碳固定途径主要响应功能基因。

2.3 不同退耕年限对氮代谢途径微生物组成及功能基因的影响

2.3.1 退耕年限对氮代谢途径微生物组成变化特征的影响

研究区不同退耕年限氮代谢功能土壤微生物组成如图 5 所示。细菌在各样地氮代谢过程中参与度最高, 占功能微生物总丰度的 95.50%—97.66%,接下来是古菌,占功能微生物总丰度的 1.73%—4.05%。此外,通过 测序发现,各样地氮代谢过程中土壤微生物相对丰度>1%的菌属分别为腈基降解菌属(Nitriliruptor)、芽单胞

811





图 2 不同退耕地碳固定途径检测到的基因







Fig.3 Comparison of major functional genes in carbon fixation pathway







* P<0.05; ** P<0.01





Fig.5 Relative abundance distribution of species at the genus level for different nitrogen metabolism pathway samples

http://www.ecologica.cn

土壤退耕40年间,各样地主要氮代谢土壤微生物丰度随退耕时间的延长较对照耕地出现大幅上涨或下降。具体表现在属分类水平上,腈基降解菌属(Nitriliruptor)、土壤红杆菌属(Solirubrobacter)、红色杆菌属(Rubrobacter)、链霉菌属(Streptomyces)、Geminicoccus分别上涨了522.93%、87.93%、84.47%、55.17%和383.64%。而芽单胞菌属(Gemmatimonas)、未分类细菌属(unclassified_d_Bacteria)、未分类绿弯菌属(unclassified_p_Chloroflexi)、unclassified_p_Acidobacteria较对照耕地分别下降了35.01%、11.58%、36.66%和79.33%。跟碳固定途径相似,退耕未改变研究区氮代谢土壤微生物群落主要物种组成,但是对其丰度变化影响较大。

2.3.2 退耕年限对氮代谢途径功能基因的影响

将 KEGG 氮代谢通路与功能基因信息进行比对,共检测到功能基因 55 个,且不同退耕年限样地土壤检测 到的功能基因相同(图 6 红色框内表示不同退耕年限检测到的基因)。

对丰度排名前十的主要氮代谢途径功能基因进行分析比对(图7),发现其变化趋势与碳固定途径保持 一致,均表现为退耕0—2年间主要功能基因相对丰度累加值呈逐年上升趋势,由0.071(A1)升至0.088 (A3);退耕2—20年间呈波动性上升趋势,主要功能基因相对丰度最高值出现在退耕20年,达到0.104(A7); 退耕20—40年呈大幅下降趋势,截止退耕40年时,降至0.076(A9),与退耕1年样地处于相似水平。均以退 耕20年为时间节点,呈现出先上升再下降的变化趋势。退耕显著改变区域内土壤碳固定主要功能基因丰度



图 6 不同退耕地氮代谢途径检测到的基因

Fig.6 Gene detected by nitrogen metabolism pathway of different abandoned land

0.10 基因名称 相对丰度 Relative abundance 0.08 cynT, can nasA gltD 0.06 narG, narZ, nxrA nirK E1.4.7.1 GDH2 0.04 GLUD1_2, gdhA gltB glnA, GLUL 0.02 0 A1 A2 A3 A4 A5 A6 Α7 A8 A9 组别 Group

的同时,也显著改变了氮代谢主要功能基因丰度。



Fig.7 Comparison of major functional genes in nitrogen metabolism pathway

2.3.3 氮代谢途径物种与功能基因相关分析

将基因目录与非冗余蛋白库(NR数据库)进行比对,分别选取 10 个主要微生物物种(属水平)及氮代谢 途径主要功能基因,检验其相关程度(见图 8)。结果显示:有7个主要属物种与6个主要氮代谢功能基因存 在极显著差异(P < 0.01),分别为:Nitriliruptor、unclassified_p_Candidatus Rokubacteria、Geminicoccus、 Conexibacter、Solirubrobacter、unclassified_p_Acidobacteria 和 Rubrobacter 可作为研究区退耕地氮代谢途径标记 性微生物种群。此外,10个主要氮代谢功能基因中,有2个与4个以上属水平物种存在极显著差异(P < 0.01),分别为:GDH2和E1.4.7.1,是研究区退耕地土壤微生物氮代谢途径主要响应功能基因。

3 讨论

3.1 碳固定和氮代谢途径微生物筛选

土地退耕后,之前的人为干扰转变为自然恢复状态,伴随退耕时间的延长,农田生态系统逐步向自然地带 植被发生演替,这种土地利用方式的转变会对土壤微生物群落产生重要影响^[21]。本研究发现退耕对区域土 壤微生物群落结构的影响并不明显,各样地间具有相似的优势菌群,但不同退耕年限对其丰度影响较大。通 过对功能微生物进行筛选,出现了碳固定和氮代谢协同微生物,如:Gemmatirosa 及链霉菌属(Streptomyces) 等,说明相关微生物能够同时对土壤碳固定和氮代谢过程产生影响,且贡献较大。随退耕年限的延长各主要 微生物属种变化趋势表现较为一致。退耕后,土地长期处于撂荒状态,缺乏管理,土壤养分含量也较耕地时有 所降低,而芽单胞菌属(Gemmatimonas)作为应对土壤养分含量变化的关键微生物属种,有研究表明其与土壤 养分转化有很强的正相关关系^[22];Chloroflexi 参与 C、N、S 等元素生物地球化学循环,是这些环境中生态学过 程的重要参与者^[23]。作为研究区土壤碳固定主要细菌种,它使用 CO₂作为碳源,通过光合作用产生能量^[24]。 近年来,已经有许多研究报告介绍了 Chloroflexi 对固定 CO₂贡献的研究报告,其独特的 3-HP 固定二氧化碳的 方法也是众所周知的。王鹏等^[25]针对鄱阳湖湿地土壤细菌群落进行高通量测序分析,结果显示,光合固碳的 特点是使 Chloroflexi 在土壤有机质含量低的土壤中享有很强的竞争优势,在贫瘠的土壤环境中更容易积累。 本研究中,截止退耕 30 年时,土壤有机质含量较对照耕地下降了 43.20%,在抑制其他菌种繁殖的同时,为 Chloroflexi 的积累创造了条件;链霉菌(Streptomyces)属于好氧型革兰氏阳性放线菌,广泛分布在盐碱土壤、深 海等极端环境条件下^[26]。作为研究区土壤碳固定和氮代谢途径的主要菌种,其丰度会随着退耕时间的延长





而大幅上升,这一结论与李婷等^[27]的研究结果一致,这可能是由于链霉菌大多具有特征性的丝状形态,菌丝体可以促进它们从周围环境中吸收水分和营养,具有很强的代谢、降解和次生代谢物合成能力,使其更适合在干旱和恶劣的环境中生存^[28]。此外,本研究还发现 Nitriliruptor、Solirubrobacter 丰度也与退耕时期呈反比,且变化幅度较大,退耕 40 年间,二者分别上涨了 916.94%、94.37%。已有研究表明,Nitriliruptor 更适合在碱性环境下的草原上生长^[29];而在不同农业生态系统中,Actinomycetales 和 Solirubrobacterales 在土壤有机碳值最低的土壤中丰度最高,并且 Solirubrobacterales 丰度会随土壤侵蚀强度的增加而降低^[30]。

退耕地恢复是一个复杂且漫长的过程,地上植被及土壤的退化都能够引起土壤中营养物质的减少、土壤 水热和通气状况变差等情况发生,均会导致微生物生存与繁殖环境变劣,使其数量和结构发生改变^[31],反之 土壤微生物的改变又引起了土壤理化性质的改变,加剧了这一过程。此外,土壤微生物还会受到植被种类、施 肥模式、环境温度等多方面的共同影响,应该综合进行考虑与分析。

3.2 碳固定和氮代谢途径功能基因筛选

土壤固碳能力受多重因素影响,土壤扰动状况、理化性能、根系分泌物、植被种类和多样性等均会通过影 响碳源分配来对土壤中参加固碳过程的特定菌群产生影响^[32]。已有研究证实,丰富的碳源可满足微生物生 长,固碳功能基因丰度作为表征土壤微生物固碳能力的敏感性指标,其信号强度越大,表明菌群在单位质量土 壤中丰度越高,固碳酶活性高,固碳潜力也越大^[33-35]。而土壤中的有机碳主要来自于微生物固碳及其残体, 所以土壤中有机碳含量往往也与固碳相关菌群的丰度呈正相关关系^[36]。还有学者发现,稻田土壤中自养微 生物的 CO₂同化能力和碳同化关键酶活性受到不同耕作和土地利用方式的显著影响^[37]。此结论与本研究结 果一致,证实了土地利用方式对研究区土壤固碳潜力的重要性。目前已发现微生物固碳途径有6条:卡尔文循环、还原三羧酸循环、还原乙酰辅酶A途径、3-羟基丙酸双循环、3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环(porA/nifJ、aclB)、 基丁酸循环^[38]。研究区样地主要涉及到3条微生物碳固定途径,分别为:还原三羧酸循环(porA/nifJ、aclB)、 还原乙酰辅酶A途径(acsA、acsB)和3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环(accA),并且以还原三羧酸循环为主。作 为重要的CO2固定途径,porCDAB/nifJ、oorDABC和aclAB是还原三羧酸循环中关键的编码基因,同样存在于 研究区样地土壤中。目前针对3-羟基丙酸循环/4-羟基丁酸循环的微生物功能基因研究开展极少,已经报道 的3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环功能基因主要包括 accA和hcd。而利用还原型三羧酸循环固定 CO2的微生物 类群通常广泛存在于恶劣环境中^[39]。此外,研究区土壤并未探测出卡尔文循环关键功能基因 cbbL和 cbbM。 虽然固碳微生物在自然界中有着较为广泛的分布,但是由于土壤生态系统较为复杂,其异质性较其他生态系 统也更为强烈,最终导致不同土壤环境中的固碳微生物群落差异性较大^[40]。如:Xiao等^[41]就利用克隆文库、 T-RFLP、qPCR等技术分析了5种水稻田土壤中 cbbLG、cbbLR、cbbM等三类基因的多样性,结果表明各样品 中 cbbLG 序列多样性较低。

土壤氮循环主要过程包括生物固氮、氨化作用、氨挥发、硝化作用、硝态氮淋溶和反硝化作用等,陆地生态 系统元素循环的重要组成部分^[42]。特定的微生物功能基因可对生物固氮、硝化作用和反硝化作用等反应过 程进行调控,这种特性决定了其可作为不同形态氮素转化的引擎[43]。研究区主要涉及到5条微生物氮代谢 途径:固氮途径(nifH)、同化途径(amoA)、氨化途径(hao、nasA、nirA、napA、nrfA)、硝化途径(nxrA、nxrB)和反 硝化途径(narG)。其中以硝化途径和反硝化途径在区域微生物中检出频率较高,而厌氧氨氧化途径相关功 能基因(hzsA、hzsB)未检测出。这一结论与 Nelson 等^[44]研究结论相似,研究区各样地间虽有一定距离,但是 仍然存在着相同的氮代谢途径特征。厌氧氨氧化过程指在厌氧环境下,厌氧氨氧化菌以 NO;为电子受体,将 NH_4^* 直接氧化为 N_2 的过程,其被认为是自然环境中氮素去除的主要途径,加快了全球氮循环的速率^[45-46]。 但厌氧氨氧化主要发生在厌氧环境中,而研究区土壤并不适合厌氧微生物生长和繁殖[47]。研究区氮代谢途 径主要微生物包括了 Betaproteobacteria、Chloroflexi、Nitrospirae 等, Daims 等^[48]发现亚硝酸盐和氨氧化微生物 在农业土壤中可以协同作用将氨基化肥转变成硝酸盐,亚硝酸盐的氧化是产生硝酸盐的主要生化途径,而这 一过程可以通过亚硝酸盐氧化还原酶(NXR)来完成,而 NXR 能够被需氧的亚硝酸盐氧化细菌(包括 Betaproteobacteria、Chloroflexi、Nitrospirae等)所编码^[49]。此外,研究区各样地还检测出了氮代谢功能基因 narG和 nifH。硝酸盐还原酶有着多种起源,如:细菌和古生菌的 NAS、周质的硝酸还原酶(NAP)、膜结合硝酸 还原酶(NAR)和亚硝酸盐氧化还原酶(NXR),其中,常以 narG 作为检测环境中反硝化微生物的标记基 因^[50]。而 nifH 是固氮微生物固氮酶重要的结构基因,常常被用来作为检测固氮菌的一个分子指标^[51]。本研 究中,与narG表现不同,研究区各样地土壤中nifH丰度较低,并且在退耕后出现大幅下降趋势。由于研究区 土壤较为贫瘠,退耕前当地农户大量施用羊粪及秸秆残留等,导致样地土壤中氮素残留量较大。退耕后,土壤 养分含量大幅下降,不利于土壤中固氮微生物繁殖,进而对 nifH 基因丰度产生不利影响^[52]。

研究区土壤碳固定和氮代谢途径主要功能基因受退耕年限的影响较大,均以退耕 20 年为节点,经历了前 期(0—20 年)波动上升,后期(20—40 年)大幅下降的变化趋势。土地退耕后,之前的人为干扰解除转为自然 恢复状态,农田生态系统逐步向自然地带植被发生演替。退耕 20 年间,植物群落经历了由草本-灌木的演替 进程,样地内大量一、二年生先锋植物逐步被多年生植物所代替。此外,耕地肥料残留、草本枯体腐烂、灌木凋 落物增加、根系分泌物累计等因素都会使土壤基本性状发生改变,进而影响微生物区系发育,增加功能基因丰 度。退耕 20 年后,区域植物种类不断减少,群落逐步衰退,加上外界风蚀作用强烈,土壤水分被不断消耗,土 壤肥力不断下降,不仅导致区域土壤碳库、氮素储量改变,还使土壤中的碳、氮浓度和形态发生变化,土壤微生 物为更好地适应环境,在对碳、氮素营养吸收利用机制及分子层面响应等方面表现出不同的生理活动和生长 状况,相关功能基因丰度也大幅下降^[53]。

4 结论

退耕明显改变了研究区碳固定、氮代谢土壤微生物组成及功能基因丰度,细菌在碳固定及氮代谢过程中均起主导作用。区域碳固定过程土壤微生物菌属以芽单胞菌属(Gemmatimonas)、未分类绿弯菌属(unclassified_Chloroflexi)和链霉菌属(Streptomyces)等为主,氮代谢过程则以腈基降解菌属(Nitriliruptor)、芽单胞菌属(Gemmatimonas)、土壤红杆菌属(Solirubrobacter)、未分类绿弯菌属(unclassified_Chloroflexi)和链霉菌属(Streptomyces)等为主。

研究区土壤微生物碳固定途径主要涉及以下3条:还原三羧酸循环、还原乙酰辅酶A途径以及3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环。Gemmatirosa、Conexibacter、unclassified_Candidatus Rokubacteria、Gaiella和 Geminicoccus 等5个属分类土壤微生物可作为研究区退耕地碳固定途径标记性微生物种群,coxL.cutL和ACO.acnA是研究 区退耕地土壤微生物碳固定途径主要响应功能基因;

氮代谢途径主要涉及以下 5 条:氨同化途径、硝酸盐异化还原途径、硝酸盐同化还原途径、反硝化途径以 及硝化途径; Nitriliruptor、unclassified_Candidatus Rokubacteria、Geminicoccus、Conexibacter、Solirubrobacter、 unclassified_Acidobacteria 和 Rubrobacter 等 7 个属分类土壤微生物可作为研究区退耕地氮代谢途径标记性微 生物种群,GDH2 和 E1.4.7.1 是研究区退耕地土壤微生物氮代谢途径主要响应功能基因。

参考文献(References):

- [1] Saffa W, An D S, Stephanie S, Michael P P, Elyn R, Jan M, Eduardo de la P, Nancy D S, Nicole V, Kris V. Linkages between aboveground and belowground community compositions in grasslands along a historical land-use intensity gradient. Plant and Soil, 2019, 434(1): 289-304.
- [2] Sharma P K, Aggarwal G C. Soil structure under different land uses. Catena, 1984, 11(2): 197-200.
- [3] 朱永官,彭静静,韦中,沈其荣,张福锁.土壤微生物组与土壤健康.中国科学:生命科学,2021,51(1):1-11.
- [4] 王礼霄, 刘晋仙, 柴宝峰. 华北亚高山土壤细菌群落及氮循环对退耕还草的响应. 生态环境学报, 2022, 31(8): 1537-1546.
- [5] Chen Q L, Cui H L, Su J Q, Penuelas J, Zhu Y G. Antibiotic resistomes in plant microbiomes. Trends in Plant Science, 2019, 24(6): 530-541.
- [6] Lily P, Alicia M C, Mary M, Fuensanta G O. Restoration of nitrogen cycling community in grapevine soil by a decade of organic fertilization. Soil and Tillage Research, 2018, 179: 11-19.
- [7] Peng S, Liu W, Xu G, Pei X, Millerick K, Duan B. A meta-analysis of soil microbial and physicochemical properties following native forest conversion. Catena, 2021, 204: 105447.
- [8] Fierer N, Nemergut D, Knight R, Craine J M. Changes through time: integrating microorganisms into the study of succession. Research in Microbiology, 2010, 161(8): 635-642.
- [9] 王小利,王淑兰.基于 KEGG 的碳固定和氮代谢通路土壤微生物组筛选.农业机械学报,2020,51(8):303-310.
- [10] Li H, Ye D D, Wang X G, Lee S M, 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): 203-216.
- [11] Pérez C S, Cleland E E, Wagner R, Sawad R A, Lipson D A. Soil microbial responses to drought and exotic plants shift carbon metabolism. The ISME Journal, 2019, 13(7): 1776-1787.
- [12] Chen J, Sinsabaugh R L. Linking microbial functional gene abundance and soil extracellular enzyme activity: implications for soil carbon dynamics. Global Change Biology, 2021, (27): 1322-1325.
- [13] 王梦娟,黄志群,张冰冰,施秀珍.不同林龄杉木人工林土壤硝化和反硝化作用.应用生态学报,2023,34(1):18-24.
- [14] Pressler Y, Zhou J Z, He Z L, Van Nostrand J D, Peyton A. Post-agricultural tropical forest regeneration shifts soil microbial functional potential for carbon and nutrient cycling. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 145: 107784.
- [15] Morales S E, Cosart T, Holben W E. Bacterial gene abundances as indicators of greenhouse gas emission in soils. The ISME Journal, 2010, 4(6): 799-808.
- [16] Zhong Y, Yan W M, Wang R W, Wang W, Shangguan Z P. Decreased occurrence of carbon cycle functions in microbial communities along with long-term secondary succession. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 123: 207-217.
- [17] 高思齐, 宋艳宇, 宋长春, 马秀艳, 蒋磊. 增温和外源碳输入对泥炭地土壤碳氮循环关键微生物功能基因丰度的影响. 生态学报, 2020, 40(13): 4617-4627.
- [18] 王赟博,孙宇,赵清格,张彬,赵萌莉. 阴山北麓农牧交错区退耕地草地生态系统碳交换及水分利用效率. 生态学报, 2022, 42(12): 4922-4932.
- [19] 宋达成,王理德,吴昊,吴春荣,赵赫然,韩生慧,胥宝一.民勤退耕区次生草地土壤特性研究.草业学报,2021,30(2):59-68.
- [20] Fu L M, Niu B F, Zhu Z W, Wu S T, Li W Z. CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data. Bioinformatics, 2012, 28 (23): 3150-3152.

- [21] 钟泽坤,杨改河,任成杰,韩新辉.黄土丘陵区撂荒农田土壤酶活性及酶化学计量变化特征.环境科学,2021,42(1):411-421.
- [22] Liu C, Zhuang J Y, Wang J, Fan G H, Feng M, Zhang S T. Soil bacterial communities of three types of plants from ecological restoration areas and plant-growth promotional benefits of Microbacterium invictum (strain X-18). Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 926037.
- [23] 鲜文东,张潇橦,李文均.绿弯菌的研究现状及展望.微生物学报,2020,60(9):1801-1820.
- [24] Klatt C G, Inskeep W P, Herrgard M J, Jay Z J, Rusch D B, Tringe S G, Niki P M, Ward D M, Boomer S M, Bryant D A, Miller S R. Community structure and function of high-temperature chlorophototrophic microbial mats inhabiting diverse geothermal environments. Frontiers in Microbiology, 2013, 4: 106.
- [25] 王鹏, 陈波, 张华. 基于高通量测序的鄱阳湖典型湿地土壤细菌群落特征分析. 生态学报, 2017, 37(5): 1650-1658.
- [26] 代芳平,李师翁. 链霉菌次级代谢物及其应用研究进展. 生物技术通报, 2014(3): 30-35.
- [27] 李婷, 王凯, 师瑞芳, 陈熙明, 李师翁. 河西走廊土壤链霉菌的分离及其抗菌活性实验. 兰州交通大学学报, 2016, 35(4): 127-133.
- [28] 代芳平. 河西走廊芦苇根际土壤耐盐链霉菌的分离、鉴定及抗菌活性研究[D]. 兰州: 兰州交通大学, 2014.
- [29] 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.
- [30] Qiu L P, Zhang Q A, Zhu H S, Reich P B, Banerjee S, van der Heijden M G A, Sadowsky M J, Ishii S, Jia X X, Shao M G, Liu B Y, Jiao H A, Li H Q, Wei X R. Erosion reduces soil microbial diversity, network complexity and multifunctionality. The ISME Journal, 2021, 15(8): 2474-2489.
- [31] 李海云,姚拓,张建贵,高亚敏,王理德,杨晓玫,李琦,冯影.不同扰动高寒草地土壤微生物数量时空变化特征.水土保持学报,2018, 32(4):177-183.
- [32] 陈浮,于昊辰,卞正富,尹登玉.碳中和愿景下煤炭行业发展的危机与应对.煤炭学报,2021,46(6):1808-1820.
- [33] Zhu Z K, Ge T D, Luo Y, Liu S L, Xu X L, Tong C L, Shibistova O, Guggenberger G, Wu J S. Microbial stoichiometric flexibility regulates rice straw mineralization and its priming effect in paddy soil. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 121: 67-76.
- [34] Chen H, Wang F, Kong W D, Jia H Z, Zhou T Q, Xu R, Wu G J, Wang J B, Wu J S. Soil microbial CO2 fixation plays a significant role in terrestrial carbon sink in a dryland ecosystem: a four-year small-scale field-plot observation on the Tibetan Plateau. The Science of the Total Environment, 2021, 761: 143282.
- [35] 刘红梅,海香,安克锐,张海芳,王慧,张艳军,王丽丽,张贵龙,杨殿林.不同施肥措施对华北潮土区玉米田土壤固碳细菌群落结构多 样性的影响.生态环境学报,2022,31(4):715-722.
- [36] Tang Z X, Fan F L, Wan Y F, Wei W, Lai L M. Abundance and diversity of RuBisCO genes responsible for CO₂ fixation in arid soils of northwest China. Pedosphere, 2015, 25(1): 150-159.
- [37] 马静, 董文雪, 朱燕峰, 于吴辰, 肖栋, 陈浮. 东部平原矿区复垦对土壤微生物固碳潜力的影响. 煤炭学报, 2022, 47(3): 1306-1317.
- [38] 袁红朝,秦红灵,刘守龙,聂三安,魏文学,吴金水.固碳微生物分子生态学研究.中国农业科学,2011,44(14):2951-2958.
- [39] Campbell B J, Cary S C. Abundance of reverse tricarboxylic acid cycle genes in free-living microorganisms at deep-sea hydrothermal vents. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70(10): 6282-6289.
- [40] 刘洋荧, 王尚, 厉舒祯, 邓晔. 基于功能基因的微生物碳循环分子生态学研究进展. 微生物学通报, 2017, 44(7): 1676-1689.
- [41] Xiao K Q, Bao P, Bao Q L, Jia Y, Huang F Y, Su J Q, Zhu Y G. Quantitative analyses of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RubisCO) large-subunit genes (cbbL) in typical paddy soils. FEMS Microbiology Ecology, 2014, 87(1): 89-101.
- [42] 吕雪丽,赵永鹏,林清火,彭显龙,尹云锋,蒋先军.我国典型森林土壤微生物驱动的氮代谢途径特征解析.环境科学,2021,42(10): 4951-4958.
- [43] 王翰琨,吴永波,刘俊萍,薛建辉.生物炭对土壤氮循环及其功能微生物的影响研究进展.生态与农村环境学报,2022,38(6):689-701.
- [44] Nelson M B, Martiny A C, Martiny J B H. Global biogeography of microbial nitrogen-cycling traits in soil. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2016, 113(29): 8033-8040.
- [45] 侯俊青,赵吉,李佳,赵子闻,赵曼平,武琳慧. 自然生境中厌氧氨氧化功能微生物生态学研究进展. 环境科学研究, 2019, 32(12): 1984-1992.
- [46] Mulder A, van de Graaf A A, Robertson L A, Kuenen J G. Anaerobic ammonium oxidation discovered in a denitrifying fluidized bed reactor. FEMS Microbiology Ecology, 1995, 16(3): 177-183.
- [47] Humbert S, Tarnawski S, Fromin N, Mallet M P, Aragno M, Zopfi J. Molecular detection of anammox bacteria in terrestrial ecosystems: distribution and diversity. The ISME Journal, 2010, 4(3): 450-454.
- [48] Daims H, Lücker S, Wagner M. A new perspective on microbes formerly known as Nitrite-Oxidizing bacteria. Trends in Microbiology, 2016, 24 (9): 699-712.
- [49] Kuypers M M M, Marchant H K, Kartal B. The microbial nitrogen-cycling network. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(5): 263-276.
- [50] John F S, Partha B. Evolution of nitrate reductase: molecular and structural variations on a common function. Chembiochem, 2002, 3(2): 198-206.
- [51] 徐正金,罗明,王卫霞,王纯利.3种典型荒漠灌木内生固氮菌及固氮酶基因 nifH 多样性分析.中国沙漠,2014,34(2):472-480.
- [52] 张苗苗,刘毅,盛荣,秦红灵,伍延正,魏文学.稻草还田对水稻土固氮基因(nifH)组成结构和多样性的影响.应用生态学报,2013,24 (8):2339-2344.
- [53] Rösch C, Mergel A, Bothe H. Biodiversity of denitrifying and dinitrogen-fixing bacteria in an acid forest soil. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(8): 3818-3829.