

DOI: 10.20103/j.stxb.202312292865

姚佳妮,代金霞,刘爽,张钧杰,胡明珠.宁夏荒漠草原典型灌丛根际土壤细菌群落结构与功能.生态学报,2024,44(20):9285-9299.

Yao J N, Dai J X, Liu S, Zhang J J, Hu M Z. Analysis of bacterial community structure and function in rhizosphere soil of typical shrub in desert steppe of Ningxia. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(20): 9285-9299.

宁夏荒漠草原典型灌丛根际土壤细菌群落结构与功能

姚佳妮,代金霞*,刘爽,张钧杰,胡明珠

宁夏大学生命科学学院,银川 750021

摘要:土壤微生物群落组成和功能特性对维持生态系统功能至关重要,明确荒漠土壤微生物群落结构、群落功能及其环境响应特征对维持生态系统稳定性及多样性保护具有重要意义。对宁夏白芨滩荒漠草原内柠条(*Caragana* spp.)、沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)、毛刺(*Caragana tibetica*)和猫头刺(*Oxytropis aciphylla*)4种典型豆科灌丛不同发育期根际土壤样品进行了16S rRNA和宏基因组高通量测序,研究了荒漠草原生境下豆科灌丛根际土壤细菌群落结构与功能和根际碳、氮循环特征,并分析了影响微生物群落的关键环境因子。结果表明:4种灌丛果实期根际土壤细菌群落的丰富度和多样性较高,而不同灌丛之间无显著差异。放线菌门、变形菌门和酸杆菌门等优势类群相对丰度在灌丛间有差异但差异不显著。其中放线菌门(32.98%—44.53%)是根际最优势门类,其次为变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门;共有322个核心细菌属,多样性较为丰富。节杆菌属、红色杆菌属和微枝杆菌属可为定义的优势属。根际土壤微生物功能途径因灌丛种类和发育期的不同而有差异。蛋白质直系同源簇数据库(COG)和京都基因与基因组百科全书(KEGG)功能注释表明,4种灌丛根际土壤中仍存在大量未知的功能类群有待挖掘,参与能量生成和转化、碳水化合物转运代谢和信号转导等功能群落在4种土壤间具有显著差异。在KEGG level 1水平下与代谢相关的功能类群丰度最高,平均占比73.05%。碳、氮循环特征分析表明,碳固定中还原性柠檬酸循环途径相关基因丰度较高,氮循环中有机氮代谢途径相关基因丰度较高。柠条根际土壤微生物参与碳、氮固定的基因丰度较其它3种土壤高。冗余分析(RDA)表明,放线菌门、厚壁菌门与土壤全氮(TN)、铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、总磷(TP)和有效磷(AP),变形菌门与pH显著正相关,酸杆菌门与AP、速效钾(AK)和pH显著负相关;碳固定途径与土壤氮、磷元素均显著正相关; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、亚硝酸盐氮($\text{NO}_2^-\text{-N}$)和TP与固氮途径,硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)与有机氮代谢和反硝化途径显著正相关。研究结果为了解荒漠草原生境中植物根际土壤微生物多样性及其基因资源、土壤微生物群落的环境响应特征及其适应机制奠定基础。

关键词:豆科灌丛;16S rRNA 测序;宏基因组测序;根际土壤细菌多样性;碳循环基因;氮循环基因

Analysis of bacterial community structure and function in rhizosphere soil of typical shrub in desert steppe of Ningxia

YAO Jiani, DAI Jinxia*, LIU Shuang, ZHANG Junjie, HU Mingzhu

College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

Abstract: The composition and functional characteristics of soil microbial community are crucial to the maintenance of ecosystem functions. It is of great significance to identify the structure, community functions and environmental response characteristics of desert soil microbial community for the maintenance of ecosystem stability and diversity protection. In this paper, 16S rRNA and Metagenomics high-throughput sequencing were performed on rhizosphere soil samples of four typical legume shrubs (*Caragana* spp., *Ammopiptanthus mongolicus*, *Caragana tibetica* and *Oxytropis aciphylla*) from the Baijitan desert steppe in Ningxia. The structure and functional characteristics of the rhizosphere soil bacterial communities and the rhizosphere carbon and nitrogen cycles of the four typical legume shrubs in desert habitats were investigated, and the key

基金项目:国家自然科学基金项目(32160023,31760027);宁夏自然科学基金项目(2023AAC03062)

收稿日期:2023-12-29; **网络出版日期:**2024-07-29

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: daijx05@163.com

environmental factors affecting the microbial communities were also analysed. The results showed that: the richness and diversity of rhizosphere soil bacterial communities were high in the fruit period of the four shrublands, and there was no significant difference among different shrublands. The relative abundances of dominant groups such as Actinobacteria, Proteobacteria and Acidobacteria were different but the differences were not significant. The most dominant bacterial phylum of rhizosphere at different development periods of the four legume shrubs was Actinobacteria (32.98%—44.53%), followed by Proteobacteria, Acidobacteria and Chloroflexi; there were 322 core bacterial genus and the diversity was relatively rich. *Arthrobacter*, *Rubrobacter* and *Microvirga* were the dominant genus that could be defined. Functional annotation of the metagenomics data showed that rhizosphere microbial functional pathways at different development periods of the four legume shrubs differed according to the shrub species and development period. Functional annotations of COG (Cluster of Orthologous Groups of Proteins) and KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) indicated that there were still a large number of unknown functional groups to be explored in the rhizosphere soil of the four shrub species. The functional communities involved in energy generation and conversion, carbohydrate transport metabolism and signal transduction mechanisms were significantly different among the four soils. The abundance of functional groups related to metabolism was the highest at KEGG level 1, accounting for 73.05% on average. Characterisation of the carbon and nitrogen cycles showed that the abundance of genes related to the reduced citrate cycle pathway was higher in carbon fixation and the organic N metabolism pathway was higher in the nitrogen cycle. The rhizosphere soil microorganisms of *Caragana* spp. had higher gene abundance involved in carbon and nitrogen fixation. Redundancy analysis (RDA) showed that Actinobacteria and Firmicutes were positively correlated with soil total nitrogen (TN), ammonium nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), total phosphorus (TP) and available phosphorus (AP), Proteobacteria were positively correlated with soil pH, and Acidobacteria were negatively correlated with AP, total potassium (AK) and pH. There was significant positive correlation between carbon fixation pathway and soil nitrogen and phosphorus. $\text{NH}_4^+\text{-N}$, nitrite nitrogen ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) and TP were positively correlated with nitrogen fixation pathway, and nitrate nitrogen ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) was positively correlated with organic nitrogen metabolism and denitrification pathway. The results lay a foundation for understanding the diversity of plant rhizosphere soil microorganisms, their genes resources, the environmental response characteristics of soil microbial communities and their adaptation mechanisms in desert steppe habitats.

Key Words: legume shrub; 16S rRNA sequencing; metagenomic sequencing; rhizosphere soil bacterial diversity; carbon cycle gene; nitrogen cycling gene

土壤微生物作为生态系统的重要组成部分,不仅可以通​​过共生、互生等作用对植物直接产生影响,而且参与土壤中营养元素的生物化学循环、促进土壤有机质的分解和养分的转化,是联系地上部分和地下部分的重要纽带^[1-2]。土壤中微生物的物种和功能基因多样性及其与微生态环境间交互作用的多样化程度,综合体现了土壤生态系统的复杂程度^[3]。其中功能基因能更好地预测微生物群落对生境变化的响应,为了解微生物群落的复杂性及其功能特征提供了许多新的见解^[4-5]。目前,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的热点,由土壤微生物介导的碳氮循环过程也受到了广泛关注,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^[6]。

荒漠草原生态系统是我国西北代表性的生态系统,蕴藏着独特的生态结构和功能^[7]。荒漠草原土壤微生物可以通过独特的防御生理机制有效减弱干旱、高温和辐射带来的损伤,并且具有较强的异养代谢能力,降解纤维素和各种碳源的能力,可以在极端环境中定殖并持续存在。已有研究表明,荒漠植物会从根际土壤中选择有益的微生物来缓解干旱胁迫,从而提高其环境的适应性^[8]。在荒漠的贫营养条件、高表面紫外线照射和高蒸散的环境中,初级生产过程和营养物质地球化学循环的微生物介导可能更具有特殊性。因此,作为荒漠化土壤生态系统中主要的生态群体,微生物被视为土壤环境的敏感指标^[9-10]。Cui 等通过分析黄土高原北

部荒漠—草原过渡带养分限制条件下的土壤微生物群落组成,对微生物群落如何应对干旱和半干旱生态系统中的养分限制进行了深入探讨^[11]。Guo 等对鄂尔多斯荒漠草原草本植物根际土壤细菌群落进行了分析,结果表明荒漠草原根际土壤微生物能形成稳定的网络结构,使其对环境条件做出充分响应^[12]。Chi 等分析了喀斯特荒漠化草地的不同草地利用方式对土壤细菌结构和多样性的影响并确定土壤细菌群落与环境因子的关系,为喀斯特荒漠化草地生态恢复与可持续利用提供理论支持^[13]。中国北方草原荒漠区榆树菌群落结构在不同季节之间差异显著,其中变形菌门(Proteobacteria)是数量最多的门^[14]。青藏高原东北部荒漠沙丘的细菌群落受环境因子和植物物种的影响,厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门和拟杆菌门(Bacteroides)为优势菌^[15]。宁夏白芨滩保护区荒漠土壤细菌群落主要以放线菌门、变形菌门和绿弯菌门(Chloroflexi)为主^[16]。高雪峰等对花针茅荒漠草原土壤中微生物的研究结果表明变形菌门和放线菌门是优势菌种^[17]。针对荒漠草原土壤微生物物种组成和功能开展的研究,不仅有助于发掘荒漠区微生物资源,也可深入探索微生物的环境响应机制奠定重要基础。因此,研究荒漠灌丛根际土壤微生物群落结构和功能的对于荒漠草原的修复和保护具有十分重要的意义。

本研究以白芨滩国家级自然保护区内典型的荒漠灌丛柠条(*Caragana* spp.)、沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)、毛刺(*Caragana tibetica*)和猫头刺(*Oxytropis aciphylla*)不同发育期的根际土壤为材料,采用 16S rRNA 和宏基因组测序技术,对根际土壤细菌的群落结构组成和功能多样性特征进行分析,比较 4 种灌丛根际微生物的共性和差异性,探究根际土壤中发挥主导作用的功能菌群和潜在的基因功能,并结合环境因子关联分析,揭示影响根际土壤微生物的关键因子。研究结果将不仅有助于深入了解宁夏荒漠草原土壤微生物的多样性及其基因资源,也为探究荒漠草原特定生境中植物根际土壤微生物群落的环境响应特征及适应机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集与处理

研究样地位于宁夏灵武白芨滩国家级自然保护区内,该保护区以荒漠草原生态系统为主要保护对象。主要包括三个核心区,即中部柠条荒漠核心区,北部猫头刺荒漠核心区以及南部猫头刺—沙冬青荒漠核心区。保护区内分布有 1.73 万 hm^2 以柠条为主的灌木林和 2 万 hm^2 以猫头刺、毛刺等为主的小灌木群落,以及国家级保护植物沙冬青等,这些荒漠豆科灌丛与其它伴生物种组合而成的多类型植物群落形成了完整的荒漠生态系统结构,在保育土壤、防风固沙、固氮改土和维护干旱荒漠区的生态平衡中发挥着十分重要的生态学作用^[18]。分别在 2022 年 3、5 月和 7 月在保护区内采集柠条(106°44′30″E、38°5′33″N)、沙冬青(106°32′25″E、37°57′06″N)、毛刺(106°33′41″E、37°54′06″N)和猫头刺(106°27′41″E、37°05′32″N)灌丛群落营养期(依次编号为 NT1、SD1、MC1 和 MT1)、盛花期(依次编号为 NT2、SD2、MC2 和 MT2)和果实期(依次编号为 NT3、SD3、MC3 和 MT3)的根际土壤样品。选择生长在阳坡的灌丛,每种灌丛分别选取 3 个 100 m×100 m 的样方,采用五点取样法在样方内选取长势较一致的灌丛,去根部周围杂草和凋落物后用铁铲和毛刷收集根际土壤(20—30 mm)样品。将每份土壤充分混匀,装入无菌样品袋,用冰盒带回实验室。一部分土壤风干过筛后用于理化性质测定,另一部分过 2 mm 筛后储存在-80℃用于 DNA 提取。

1.2 土壤理化性质测定

参考《土壤农业化学分析方法》测定土壤理化性质^[19]。采用 pH 计测定土壤 pH;烘重法测定土壤含水量。

1.3 土壤 DNA 提取、文库构建和高通量测序

使用土壤 DNA 提取试剂盒(Omega Bio-tek, USA)提取土壤基因组 DNA。使用 NanoDrop2000 光谱仪评估 DNA 的质量和浓度,2%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性。用于 16S rRNA 基因扩增子高通量测序的 DNA 样品,以 338F(5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3′)和 806R(5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′)为引物对

16S rRNA 基因 V3-V4 区进行 PCR 扩增,完成 Illumina 文库构建后进行测序。用于宏基因组测序的 DNA 样品,利用 CovarisM220 仪器将其片段化,筛选打断约 400 bp 的片段,使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq (Bio Scientific, 美国)试剂盒完成文库制备,通过桥式 PCR 扩增后进行宏基因组测序。测序委托上海美吉生物医药科技有限公司进行。

1.4 数据处理和分析

1.4.1 16S rRNA 基因扩增子高通量测序数据处理

使用 QIIME 软件 (Version 1.9.1) 对拼接后的序列进行过滤,过滤掉低质量碱基较多的序列。使用 Uparse (Version 7.0.1001) 软件按照 97% 的序列相似度对序列进行聚类,采用 RDP classifier 贝叶斯算法对聚类后的 OTU 代表序列进行分类学分析,分别在各个分类学水平上统计各样本的群落组成。

1.4.2 宏基因组测序数据处理

使用 Fastp 软件对 reads 3' 端和 5' 端的 adapter 序列进行剪切和质控,将得到的优化序列利用 Megahit 软件进行拼接组装,筛选 ≥ 300 bp contigs 作为最终的组装结果;使用 MetaGene 对 contigs 中的开放阅读框 (ORFs) 进行预测,选取核酸长度大于等于 100 bp 的基因,翻译成氨基酸序列;利用 CD-HIT 对所有样本预测出来基因序列进行聚类 (identity $\geq 95\%$ 、coverage $\geq 90\%$) 后构建非冗余基因集;利用 SOAPaligner 软件分别将每个样品的高质量 reads 与非冗余基因集进行比对 (identity $\geq 95\%$), 并进行基因的丰度计算。使用 DIAMOND 软件将非冗余基因集序列与蛋白质直系同源簇数据库 (COG) 数据库进行比对,获得基因对应的 COG 基因丰度信息;使用 BLASTP 将非冗余基因集序列与京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 基因数据库 (GENES) 进行比对,根据比对结果使用 KOBAS 2.0 (KEGG Orthology Based Annotation System) 进行功能注释。使用 Canoco5 软件进行细菌群落组成、基因丰度和土壤理化之间的冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 并利用 SPSS 23.0 软件进行 Spearman 相关性分析。

2 结果与分析

2.1 土壤细菌群落的 OTU 聚类及 Alpha 多样性

16S rRNA 基因高通量测序数据显示 (表 1), 所有土壤样品获得的有效序列数为 24455—44019 条, 测序覆盖率在 96.98%—98.69% 之间, 表明测序深度能够反映豆科灌丛根际土壤真实的细菌群落组成及多样性信息。将有效序列按照相似性阈值 97% 进行 OTU 聚类, 共获得 29608 个 OTU。比较各样品 Alpha 多样性差异,

表 1 根际土壤细菌 OTUs 数目及多样性指数

Table 1 OTUs number and diversity index of rhizosphere soil bacteria

样品 Samples	有效序列数 Number of valid sequences	操作分类单元 Operational taxonomic units (OTUs)	覆盖率 Coverage	Shannon 指数 Shannon index	Ace 指数 Ace index	Chao 1 指数 Chao 1 index
NT1	33530	2360	0.980	6.219	2994.031	2999.501
NT2	24455	2317	0.970	6.491	3058.927	3062.057
NT3	36463	2549	0.981	6.522	3160.189	3181.818
SD1	42332	2724	0.983	6.230	3351.425	3360.593
SD2	32333	2326	0.980	6.267	2888.186	2844.504
SD3	39137	2826	0.982	6.602	3391.040	3365.013
MC1	37708	2367	0.983	6.322	2948.986	2908.875
MC2	41469	2408	0.985	6.293	2940.927	2979.393
MC3	44019	2534	0.987	6.471	2973.469	3008.210
MT1	36554	2154	0.984	6.057	2648.030	2725.052
MT2	37545	2443	0.982	6.300	3054.694	3079.980
MT3	41176	2600	0.985	6.517	3110.050	3114.636

NT: 柠条 *Caragana* spp., SD: 沙冬青 *A. mongolicus*, MC: 毛刺 *C. tibetica*, MT: 猫头刺 *O. aciphylla*; 1—3 分别代表营养期、盛花期和果实期

结果表明表征群落丰富度的 Ace 和 Chao1 指数、表征群落多样性的 Shannon 指数在 4 种灌丛根际土壤中均表现为果实期高于盛花期和营养期,说明果实期土壤细菌群落的丰富度和多样性都较高。而多样性指数在 4 种灌丛土壤之间有差异但差异不显著($P>0.05$)。

2.2 土壤细菌群落组成分析

对 16S rRNA 基因测序结果进行物种注释,所有土壤样品共获得 36 门、102 纲、232 目、365 科、663 属细菌。在门水平上($\text{Others}<0.01$,图 1),根际土壤细菌的相对丰度因灌丛种类和发育期不同而有所差异。放线菌门(Actinobacteria)是各样本中明显的优势细菌类群,相对丰度占比为 32.98%—44.53%。其次为变形菌门(Proteobacteria, 17.95%—32.09%),酸杆菌门(Acidobacteria, 7.61%—20.58%)和绿弯菌门(Chloroflexi, 8.97%—15.72%),这些优势菌门的丰度之和占细菌群落的 80%以上。4 种灌丛营养期土壤中变形菌门的相对丰度高于其他两个时期;盛花期沙冬青、毛刺和猫头刺根际土壤中放线菌门的相对丰度高于其他两个时期;果实期柠条、沙冬青和猫头刺根际土壤中酸杆菌门的相对丰度高于其他两个时期。而 4 种灌丛之间这些优势菌门的相对丰度有差异但差异不显著($P>0.05$)。

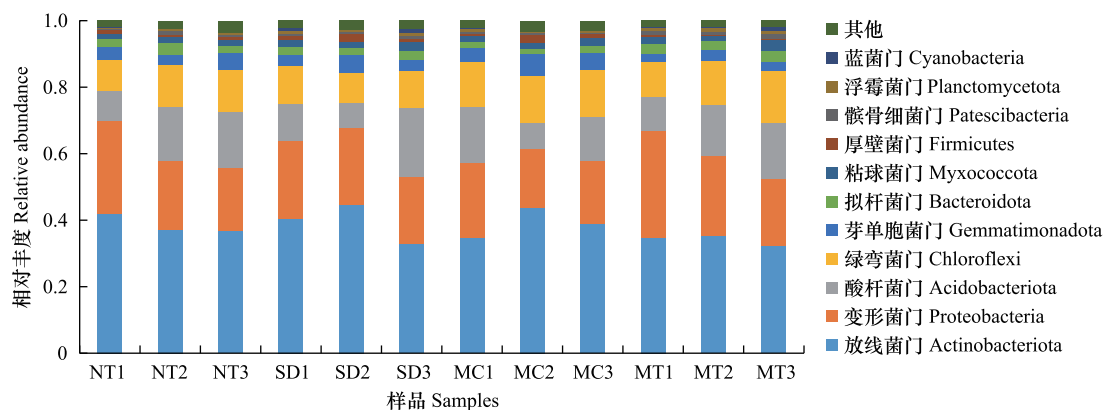


图 1 根际土壤细菌在门水平的群落组成

Fig.1 Community composition of rhizosphere soil bacteria at the phylum level

NT:柠条 *Caragana* spp.,SD:沙冬青 *A. mongolicus*,MC:毛刺 *C. tibetica*,MT:猫头刺 *O. aciphylla*

在属水平上所有土壤共有核心细菌属 322 个,多样性较为丰富。柠条、沙冬青、毛刺和猫头刺根际土壤中分别特有属为 12、13、5、26 个。属水平上的细菌群落组成表明(图 2),各土壤样品中可定义的优势属为节杆菌属(*Arthrobacter*)、红色杆菌属(*Rubrobacter*)和微枝形杆菌属(*Microvirga*)。其中,4 种灌丛根际土壤中节杆菌属的相对丰度均为果实期最低,并且沙冬青根际节杆菌属的相对丰度显著高于其它 3 种灌丛土壤($P<0.05$)。毛刺根际红色杆菌属的相对丰度显著高于沙冬青根际($P<0.05$),微枝形杆菌属的相对丰度显著低于猫头刺土壤($P<0.05$)。4 种灌丛土壤的 RB41 有差异但差异不显著($P>0.05$),盛花期、果实期柠条和猫头刺根际土壤中 RB41 的相对丰度均高于营养期。

2.3 细菌群落与土壤理化性质的相关性分析

将根际土壤细菌类群与土壤理化性质进行冗余分析(Redundancy analysis,RDA)。结果表明(图 3),第一轴、第二轴对土壤细菌群落响应变量的解释比例分别为 58.87%和 29.64%,两轴累积解释变异量达 88.51%。这两个轴围成的平面反映了土壤环境因素对土壤微生物群落结构组成产生的不同影响。放线菌门与所有土壤理化因子均呈正相关关系,与 AP、TP 极显著正相关($P<0.01$),与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、TN、AK 显著正相关($P<0.05$);变形菌门与 pH、TK、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 AK 正相关,与 pH 显著正相关($P<0.05$);厚壁菌门与 TN、AP、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 极显著正相关($P<0.01$),与 TP、SWC 显著正相关($P<0.05$);芽单胞菌门与 TP 极显著正相关($P<0.01$),与 TN、AP、AK 和 SOM 显著正相关($P<0.05$)。所有土壤理化因子与酸杆菌门、绿弯菌门和拟杆菌门等均呈负相关关

系。其中酸杆菌门与 AP 极显著负相关($P<0.01$),与 AK 和 pH 显著负相关($P<0.05$);拟杆菌门、粘球菌门均与 TP、AK 显著负相关($P<0.05$)。

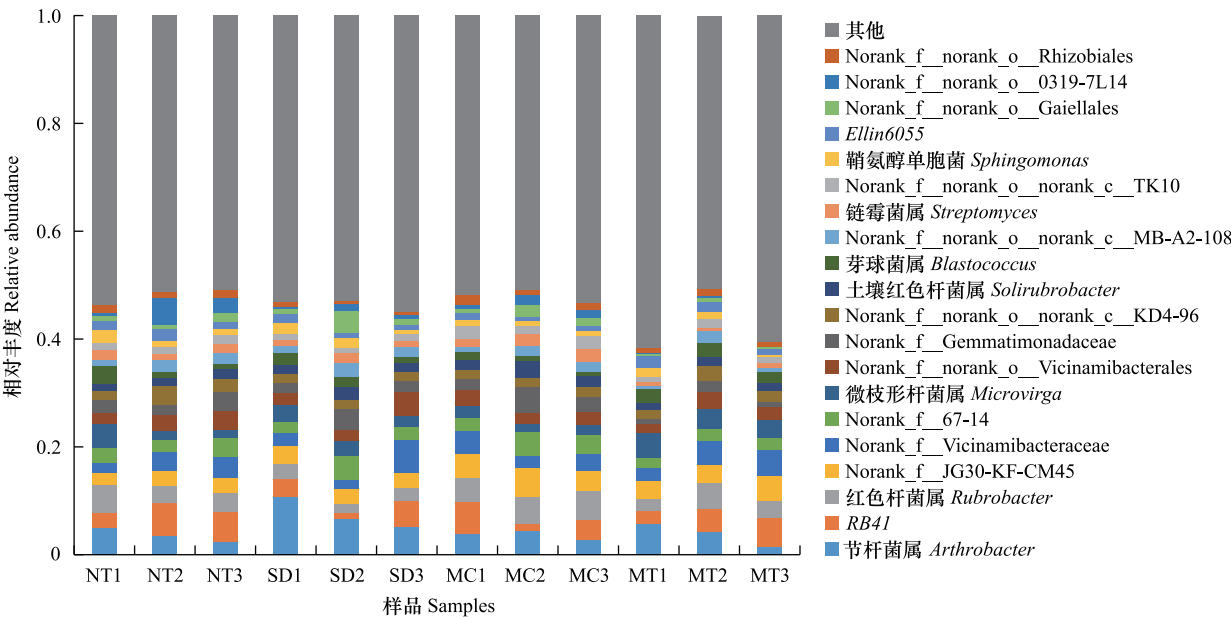


图 2 根际土壤细菌在属水平的群落组成

Fig.2 Community composition of rhizosphere soil bacteria at the genus level

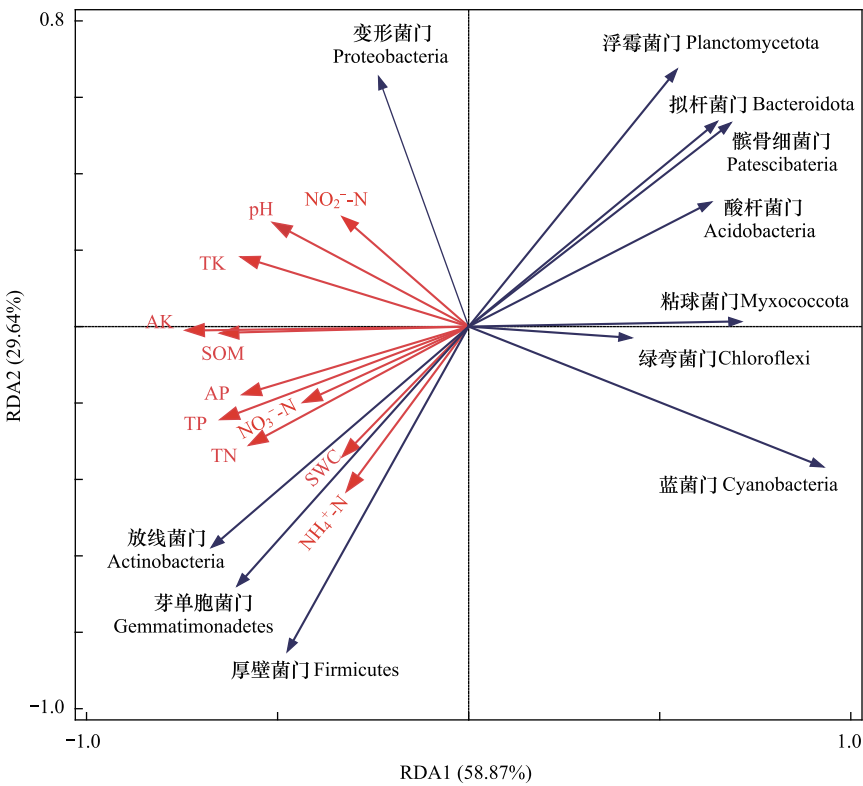


图 3 细菌群落与土壤理化性质的 RDA 分析

Fig.3 RDA analysis of bacterial communities and soil physical and chemical properties

pH: 酸碱度; SOC: 有机质 Soil organic matter; SWC: 含水量 Soil water content; TN: 全氮 Total nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; TK: 全钾 Total Potassium; NO_3^- -N: 硝态氮 Nitrate nitrogen; NH_4^+ -N: 铵态氮 Nmmonium nitrogen; NO_2^- -N: 亚硝态氮 Nitrite nitrogen; AP: 有效磷 Available phosphorus; AK: 速效钾 Available potassium

2.4 豆科灌丛根际土壤微生物的潜在功能分析

2.4.1 COG 功能注释结果分析

COG 功能注释结果表明,未知功能(S)基因丰度最高,说明 4 种灌丛根际土壤中可能存在大量的类群功能有待挖掘。其次为氨基酸转运与代谢(E),复制、重组和修复(L),能量生成和转化(C)和碳水化合物转运代谢途径(G)。猫头刺盛花期和果实期根际土壤中这些功能基因数目都高于其他灌丛,表明这两个时期猫头刺根际土壤微生物发挥作用较强。进一步对各个样本微生物群落之间的 COG 功能进行假设检验,获得组间具有显著性差异的功能途径。结果表明(图 4),各组间显著性差异的功能途径包括未知功能、能量生成和转化、碳水化合物转运代谢、信号转导机制、翻译,核糖体结构和生物合成、转录、脂肪转运代谢、次级代谢物生物合成以及核苷酸转运和代谢。其中,参与信号转导机制的功能群落在毛刺与沙冬青土壤中差异不显著,其它功能在各土壤之间均具有显著差异,尤其在柠条与猫头刺土壤间差异极显著($P \leq 0.001$)。柠条与毛刺根际土壤微生物的未知功能以及翻译,核糖体结构和生物合成途径($0.01 < P \leq 0.05$)、脂肪转运代谢功能途径差异显著($0.001 < P \leq 0.01$);柠条与猫头刺根际土壤微生物的未知功能以及核苷酸转运和代谢功能途径($0.01 < P \leq 0.05$)、翻译,核糖体结构和生物合成途径差异显著($0.001 < P \leq 0.01$)。沙冬青与猫头刺根际土壤微生物的碳水化合物转运代谢以及核苷酸转运和代谢功能途径差异显著($0.01 < P \leq 0.05$);沙冬青与毛刺根际土壤微

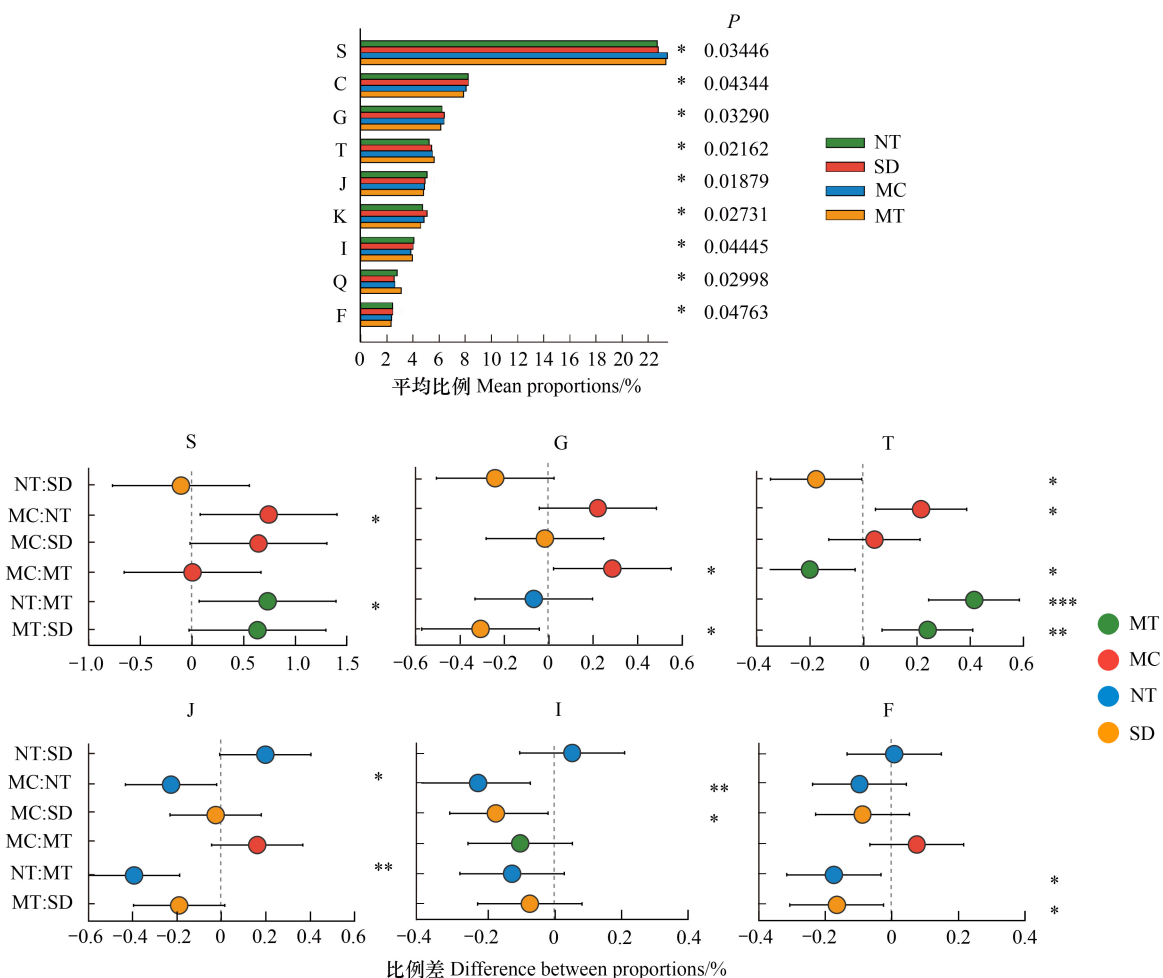


图 4 基于 eggNOG 数据库的根际土壤微生物群落功能类别显著性分析

Fig.4 Significance analysis of functional categories of rhizosphere soil microbial communities based on eggNOG database

S:未知功能;C:能量生成和转化;G:碳水化合物转运代谢途径;T:信号转导机制;J:翻译,核糖体结构和生物合成;K:转录;I:脂肪转运代谢;Q:次级代谢物生物合成,转运和代谢;F:核苷酸转运代谢; * $0.01 < P \leq 0.05$, ** $0.001 < P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$

生物的脂肪转运代谢功能途径差异显著 ($0.01 < P \leq 0.05$)。毛刺与猫头刺根际土壤微生物的碳水化合物转运代谢功能途径差异显著 ($0.01 < P \leq 0.05$)。

2.4.2 KEGG 功能注释结果分析

基于 KEGG 数据库对 4 种灌丛根际土壤中微生物群落的宏基因组数据进行了模块功能注释。结果表明, 在 KEGG level 1 水平上代谢相关基因的丰度最高 (73.05%), 占据绝对优势。其次为遗传信息处理 (8.61%)、环境信息处理 (6.52%)、细胞过程 (5.25%)、人类疾病 (3.94%) 和生物系统 (2.63%) 途径。在 KEGG level 3 水平上所有样本共注释了 411 通路, 共有通路 406 条。毛刺土壤特有通路 3 条, 猫头刺根际特有通路 2 条。对所有 3 级 KEGG 通路进行线性判别 (Linear Discriminant Analysis Effect Size, LEfSe) 分析表明 ($LDA > 2$, 图 5), 柠条根际土壤中存在显著差异的功能途径包括氧化磷酸化、双组分系统、RNA 降解、丁酸代谢、柠檬酸循环、赖氨酸降解、核苷酸切除修复、 β -氨基丙酸代谢、柄杆菌细胞周期和结核 ($P < 0.05$); 沙冬青根际土壤中存在显著差异的功能途径有戊糖磷酸途径、丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢以及原核生物碳固定 ($P < 0.05$); 毛刺根际土壤中存在显著差异的功能途径有卟啉与叶绿素代谢、苯丙氨酸、酪氨酸和色氨酸的生物合成以及果糖和甘露糖代谢 ($P < 0.05$); 猫头刺根际土壤中存在显著差异的功能途径有肽聚糖生物合成、半胱氨酸和蛋氨酸代谢、硫代谢、聚酮糖单位生物合成、阳离子抗菌肽 (CAMP) 耐药性以及生物膜的形成-大肠杆菌 ($P < 0.05$)。

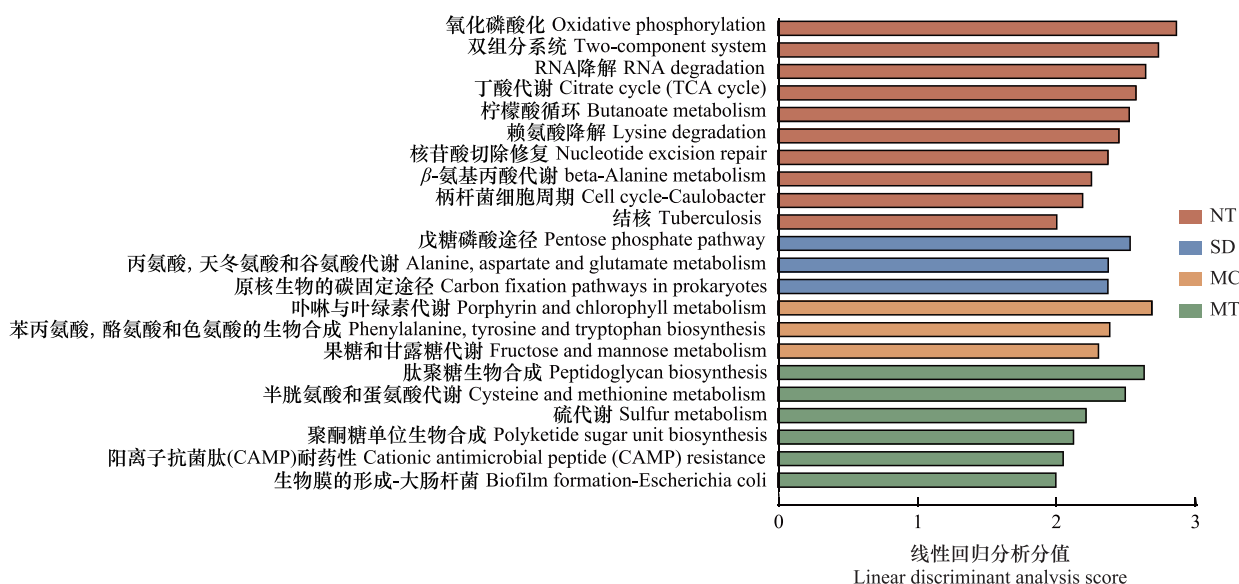


图 5 基于 KEGG 数据库的根际土壤微生物群落功能类别显著性分析

Fig.5 Significance analysis of functional categories of rhizosphere soil microbial communities based on KEGG database

2.5 豆科灌丛根际土壤微生物碳、氮循环特征

2.5.1 参与碳固定、氮循环的微生物类群

在门水平上 (图 6), 4 种灌丛不同发育期根际土壤中参与碳固定和氮循环的优势菌门均为放线菌门, 分别占比 53.36%—66.79% 和 58.09%—70.06%。其次为变形菌门, 分别占比 14.06%—22.41% 和 14.32%—22.57%。绿弯菌门 (5.09%—7.47%、4.68%—7.28%)、酸杆菌门 (3.43%—10.39%、3.00%—6.68%)、奇古菌门 (Thaumarchaeota 3.83%—6.74%、2.01%—3.92%) 的相对丰度也较高。

2.5.2 参与碳固定的途径及相关基因

通过对 4 种灌丛根际土壤微生物参与碳固定的功能基因进行非冗余基因集的构建和功能注释, 获得了碳固定过程中的主要途径和功能基因等信息。结果表明, 参与的碳固定途径主要包括还原性柠檬酸循环 (30.69%—31.68%)、二羧酸羟基丁酸酯循环 (19.56%—20.15%)、3-羟基丙酸双循环 (17.04%—17.64%)、羟

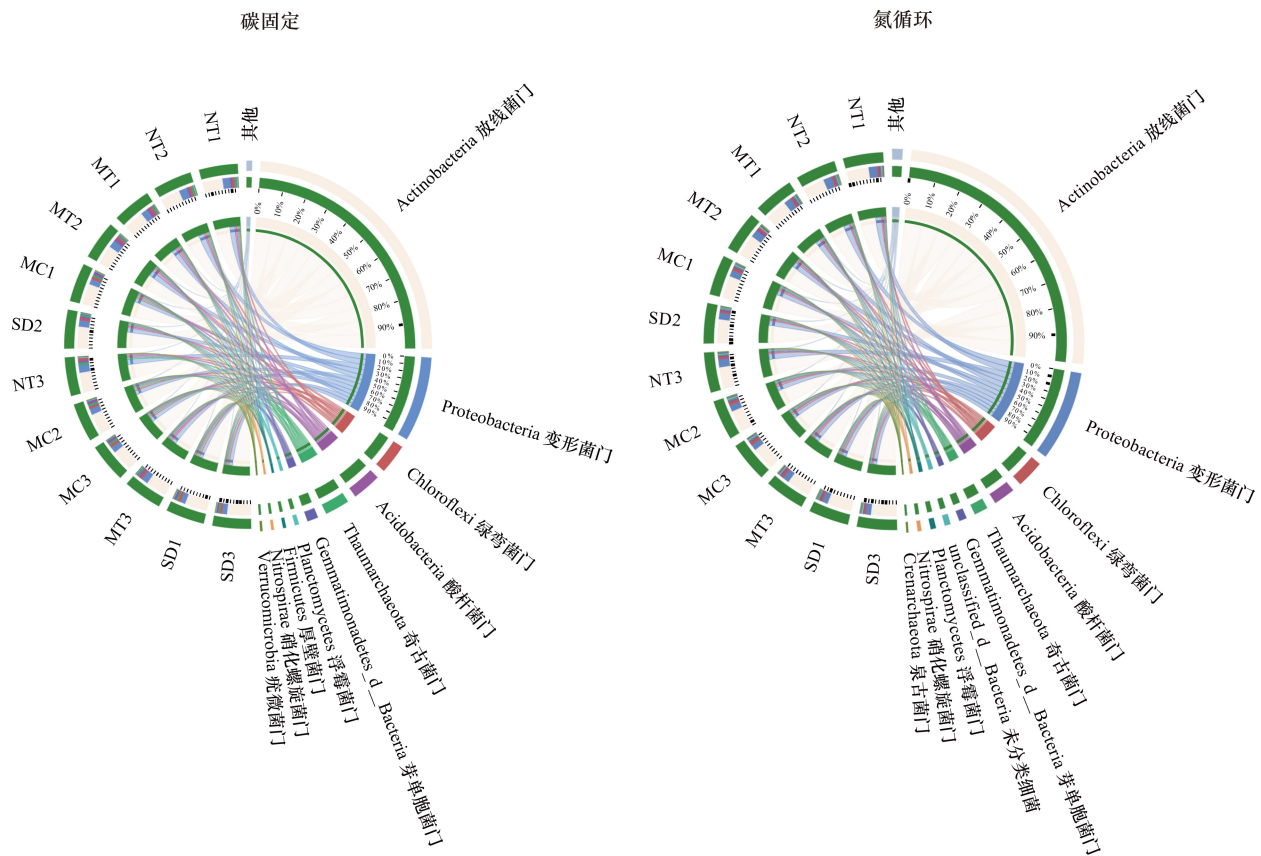


图 6 参与碳固定和氮循环的根际土壤微生物群落

Fig.6 Rhizosphere soil microorganisms involved in carbon fixation and nitrogen cycle

左半部分圆圈表示不同样本对应的微生物组成,不同颜色表示不同微生物,长度代表微生物在该样本中的丰度比例;右半部分圆圈表示不同微生物在各样本中的分布比例,不同颜色表示不同微生物,长度代表该微生物在样本中的分布比例

基丙酸酯-羟基丁酸钠循环(9.57%—10.25%)、磷酸戊糖还原循环(卡尔文循环,8.79%—9.93%)、不完全还原柠檬酸盐循环(8.05%—8.77%)和还原性乙酰辅酶 A(3.42%—4.43%)途径。其中参与还原性柠檬酸循环途径的功能基因相对丰度最高。进一步对参与还原性柠檬酸循环途径的相关基因进行分析(图 7),结果表明,还原性柠檬酸循环中关键的编码基因 *porC*、*porD*、*porA*、*porB*、*aclA* 和 *aclB* 被检测到。4 种灌丛土壤中,柠条和沙冬青根际参与碳固定途径的功能基因相对较多,二者具有较为相似的碳固定模式,毛刺和猫头刺根际土壤微生物具有更相似的碳固定模式。

2.5.3 参与氮循环的途径及相关基因

通过对 4 种灌丛根际土壤微生物参与的氮循环构建非冗余基因集和功能注释,获得了氮循环过程中的主要途径和功能基因丰度等信息。结果表明,4 种灌丛根际土壤氮循环主要包括有机氮代谢(83.95%—87.24%),占据绝对优势。其次依次为异化性硝酸盐还原(6.23%—8.75%)、同化性硝酸盐还原(3.63%—5.74%)、反硝化(1.39%—3.11%)、硝化(0.69%—1.47%)及固氮(0—0.08%)途径。对根际土壤微生物参与氮循环途径中的功能基因进行统计分析(图 8),结果表明有机氮代谢途径中检测到 10 个基因,其中 *ureC*、*ureA* 和 *gltB* 基因相对丰度较高;硝化作用相关的基因有 3 个(*pmoA-amoA*、*pmoB-amoB*、*pmoC-amoC*);反硝化相关的基因检测到 10 个,*nirS*、*nirK*、*norB* 和 *nosZ* 作为反硝化途径的关键基因均被检测到,其中 *nirS* 和 *nosZ* 只在柠条根际土壤中检测到,且相对丰度也较高,表明柠条根际土壤的反硝化作用较强;ANRA 与 DNRA 途径相关基因分别各检测到 4 个,ANRA 中基因相对丰度较高的是 *nasA*,DNRA 中相对丰度较高的是 *nirB*;在柠条根际土壤中与固氮作用相关的基因包括 *nifD* 和 *nifK*,沙冬青根际土壤中只检测到 *nifK*,而毛刺和猫头刺根际土

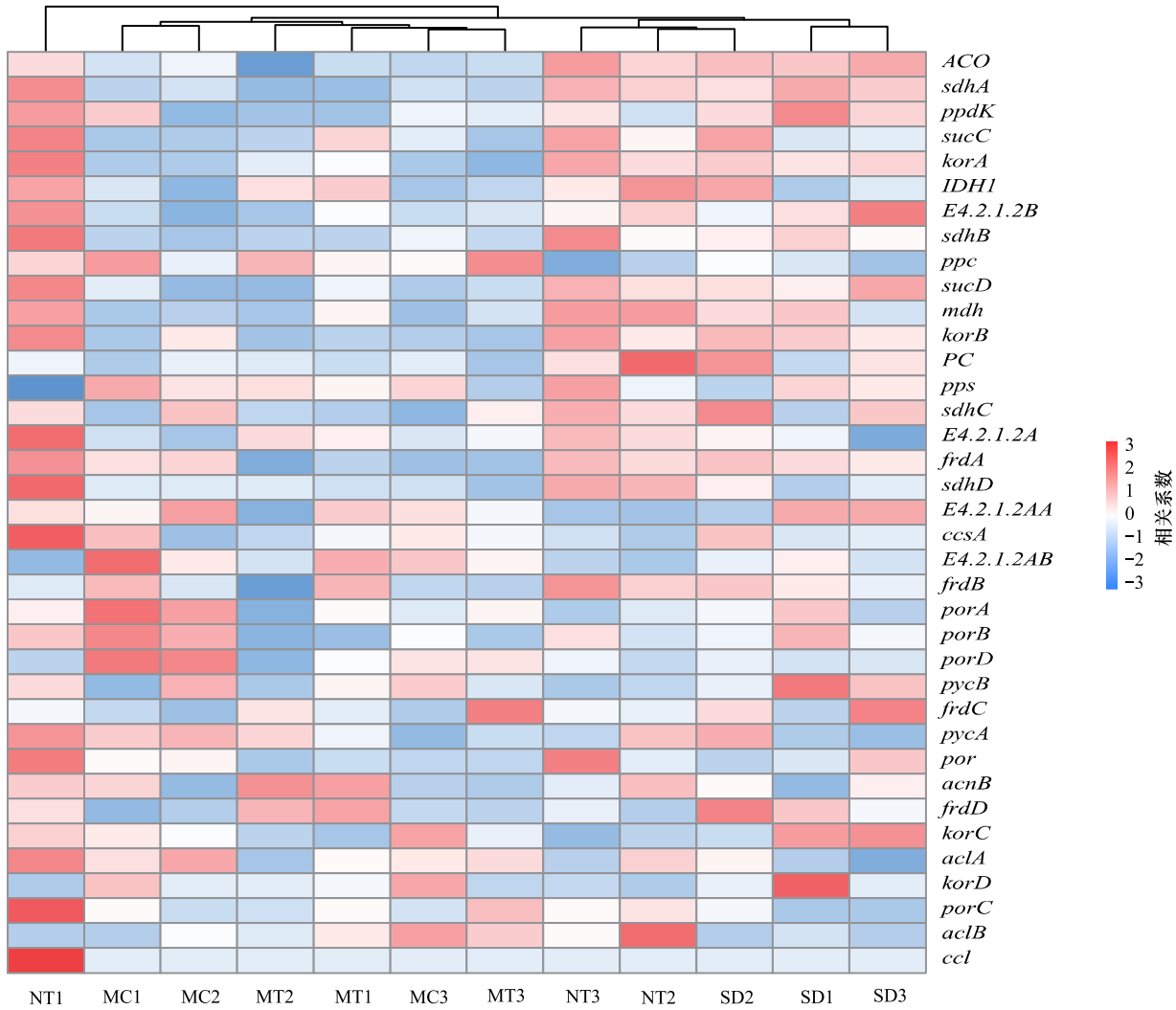


图 7 根际土壤微生物参与还原性柠檬酸循环途径的关键基因

Fig.7 Key genes of rhizosphere soil microorganisms involved in the reducing citrate cycle pathway

壤中均未检出与固氮相关的基因,说明柠条根际土壤微生物的固氮能力较强。

2.5.4 碳、氮循环物种与基因的相关性

利用相关性网络分析参与碳、氮循环的功能基因与土壤微生物群落结构之间的关系。结果表明(图 9),放线菌门与碳、氮循环功能基因的相关性最强,其次是变形菌门。与放线菌直接相关的碳循环基因有 12 个,并且都呈显著正相关关系($P<0.05$)。与放线菌直接相关的氮循环基因有 8 个,除 K15576 外均呈显著正相关关系($P<0.05$)。说明放线菌门细菌的变化对与碳、氮循环的功能基因具有较大的影响。

2.6 碳固定和氮循环功能途径与土壤理化性质的相关性

将参与碳固定途径的功能基因和土壤理化性质进行 RDA 分析。结果表明(图 10),第一轴、第二轴对土壤细菌群落响应变量的解释比例分别为 95.76%和 2.11%,两轴累积解释变异量达 97.86%。参与碳固定的功能途径与所有土壤理化因子均呈正相关关系,TN、TP、TK、AP、AK、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 与碳固定功能途径大多为显著相关($P<0.05$)。其中 NO_3^- -N 与还原性柠檬酸循环、二羧酸羟基丁酸酯循环、3-羟基丙酸双循环和不完全还原柠檬酸盐循环极显著相关($P<0.01$);TN 与二羧酸羟基丁酸酯循环、3-羟基丙酸双循环极显著相关($P<0.01$)。氮循环途径的功能基因和土壤理化性质的 RDA 分析表明(图 10),第一轴、第二轴对土壤

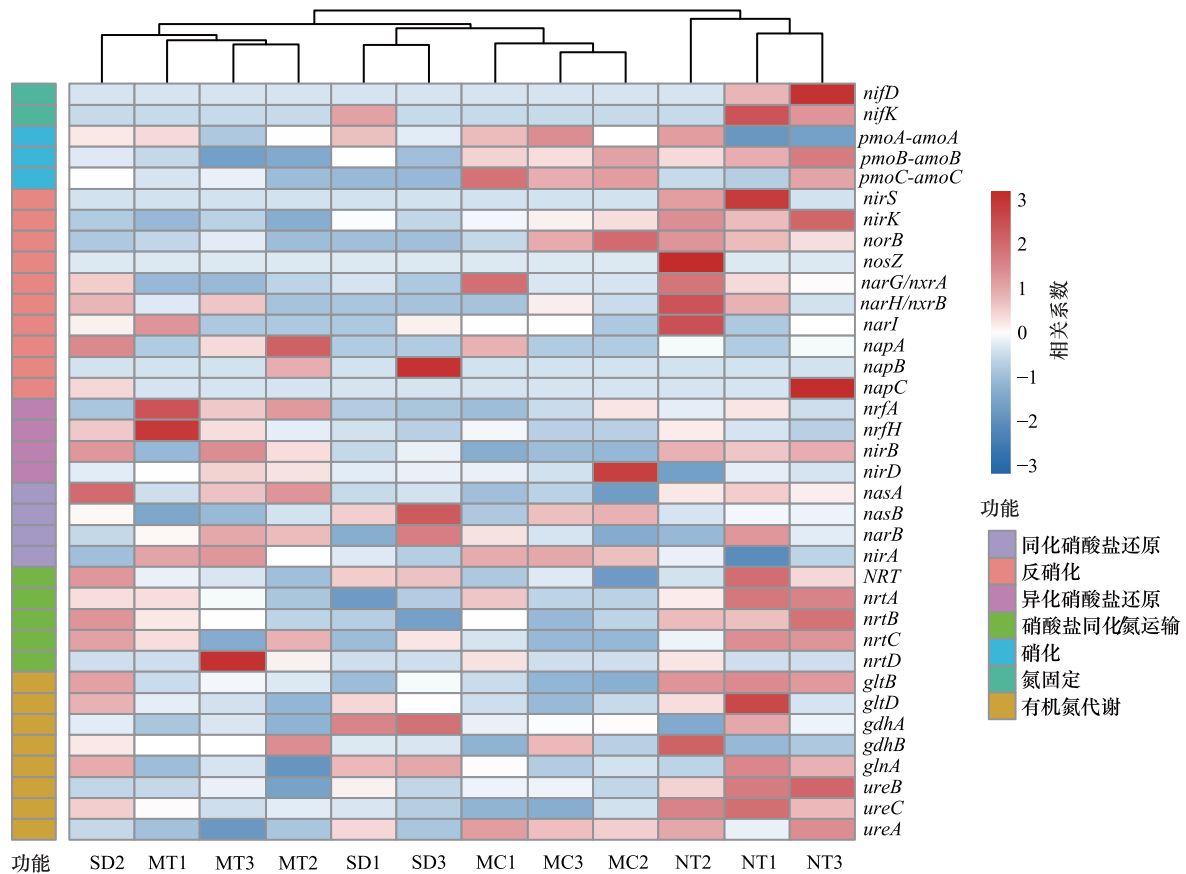


图 8 根际土壤氮循环微生物关键基因

Fig.8 Key genes of nitrogen cycle microorganisms in rhizosphere soil

细菌群落响应变量的解释比例分别为 86.73% 和 9.89%, 两轴累积解释变异量达 96.62%。有机氮代谢、反硝化、硝化和固氮功能途径与所有土壤理化因子均呈正相关关系。其中有机氮代谢与 NO_3^- -N 极显著相关 ($P < 0.01$), 与 SWC 显著相关 ($P < 0.05$); 反硝化与 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、 NO_2^- -N、TK 和 SWC 显著相关 ($P < 0.05$); 硝化与 SWC 显著相关 ($P < 0.05$); 固氮与 NO_2^- -N 极显著相关 ($P < 0.01$), 与 NH_4^+ -N 和 TP 显著相关 ($P < 0.05$)。

3 讨论

通过比较柠条、沙冬青、毛刺和猫头刺灌丛根际土壤微生物的共性和差异性, 结果表明根际土壤微生物的群落组成、功能多样性以及碳氮循环特征因灌丛种类和发育期不同而存在差异, 并且与环境因子之间具有明显相关性。

3.1 豆科灌丛根际土壤微生物群落组成及功能多样性

土壤微生物是影响荒漠土壤中最活跃的组分, 也是衡量土壤质量和生态系统稳定的关键因素, 因此明确荒漠生境下根际土壤微生物的群落结构特征对于保护和修复荒漠生态系统有着重要的意义^[20]。通过对宁夏荒漠草原 4 种豆科灌丛根际土壤微生物多样性的研究表明, 该研究区根际土壤细菌多样性较为丰富, 与目前众多荒漠区土壤细菌群落结构相一致^[12, 15-16], 以放线菌门、变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门为优势类群。这些菌群可能由于特殊的耐干旱高温代谢机制, 能够适应干旱高温环境而长期存在^[21]。其中, 放线菌门的许多属种具有耐旱、耐盐碱等特性, 是干旱、盐碱等类型土壤中的优势菌群。正如先前所证实的, 放线菌因其广泛的代谢途径和高代谢能力、完整的紫外线辐射修复机制以及促进植物生长的能力而在荒漠生态系统中占据主导地位^[22]。这也许可以解释为什么放线菌是本研究中土壤样品中的第一优势类群。变形菌门是细菌中最多

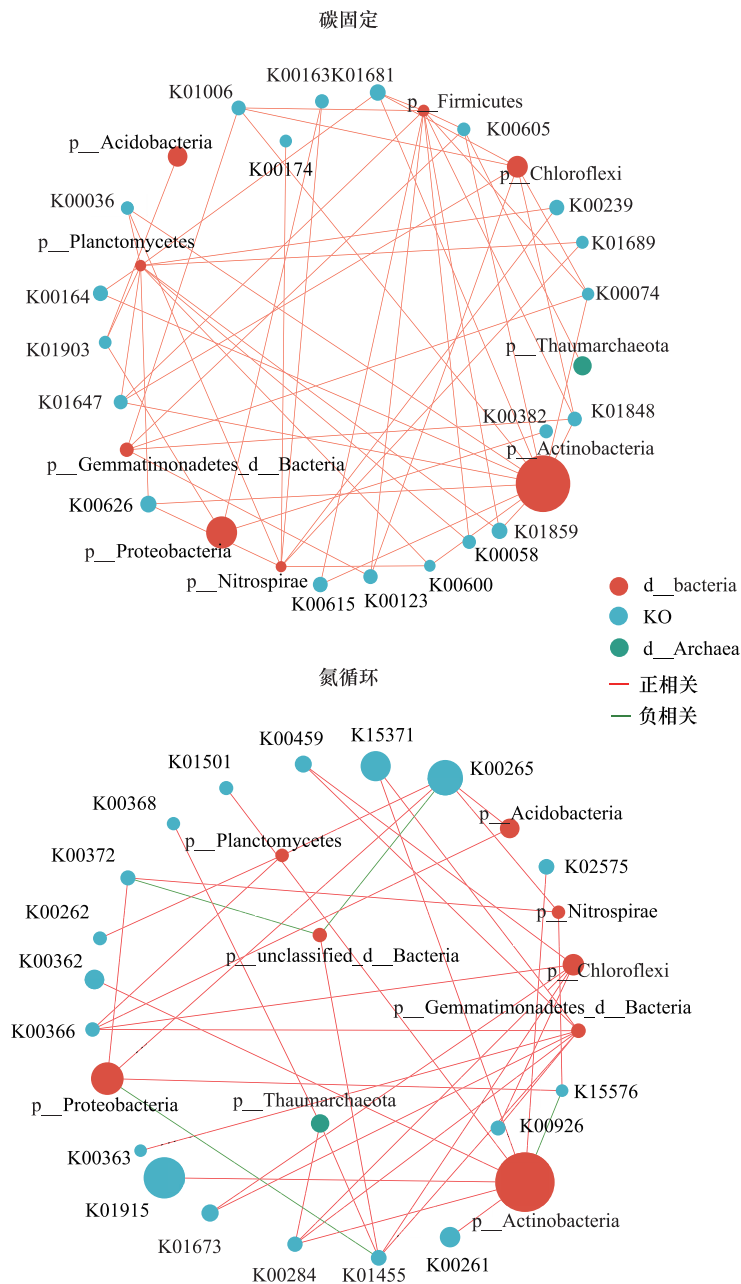


图9 根际土壤微生物参与碳、氮循环物种与基因相关性

Fig.9 Correlation between microorganisms and genes of carbon cycling, nitrogen cycling

节点越大,物种或基因的丰度越高。连线的颜色表示正负相关性,红色表示正相关,绿色表示负相关;线越多,表示相关关系越密切

样化和代谢最快的门之一,其极为丰富的物种和遗传多样性决定了该类群涵盖了极为广泛的生理代谢类型^[23];绿弯菌门可通过光合作用固定 CO₂,因此在像荒漠土壤这种有机质含量低的土壤中具有竞争力^[24];酸杆菌门细菌为嗜酸性细菌,属于寡营养类群,可进行广泛的生理代谢活动,有利于土壤养分循环而在荒漠土壤中含量较高^[3]。这些分布于干旱半干旱荒漠草原的豆科灌丛及其根际微生物在长期的逆境胁迫下,经过自然选择不断适应干旱环境,这也是物种生态系统功能正常发挥的有效保障。

近年来研究表明,仅从土壤微生物群落组成和相对丰度获得的信息不足以预测其功能潜力,通过研究土壤微生物群落的功能基因可以更好地预测其功能。这对于了解根际土壤中有机物矿化、养分循环以及植物-微生物-土壤之间的相互作用具有重要意义^[25]。宁夏荒漠草原豆科灌丛根际土壤微生物基因组中包含未知

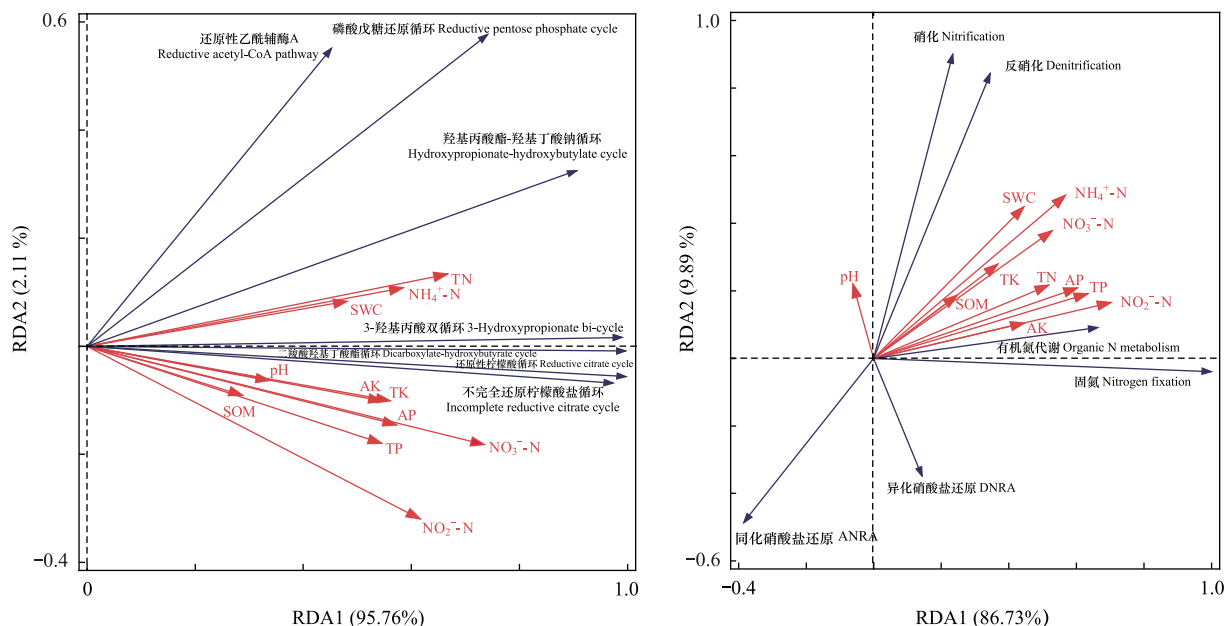


图 10 根际土壤微生物参与碳固定和氮循环功能途径与土壤理化 RDA 分析

Fig.10 RDA analysis of rhizosphere soil microorganisms involved in carbon fixation and nitrogen cycle functional pathways and soil physics and chemistry

功能、能量生成和转换、碳水化合物转运代谢、信号转导机制等各种功能基因。这些与蛋白质、氨基酸、核苷酸、碳水化合物代谢等相关的功能基因与荒漠灌丛土壤中各个生物类群的生长和存活密不可分。荒漠根际土壤有机质含量低,会加速分解其腐殖质层中的有机质,碳水化合物、氨基酸代谢和核苷酸代谢能力增强,导致荒漠土壤中相应的功能微生物的代谢基因丰度增加,以维持植物生长所需的养分有效性,这也体现了土壤微生物对逆境胁迫和干扰环境的适应性^[26]。本研究中,不同灌丛根际土壤微生物的这些功能途径均存在显著差异。其中,猫头刺盛花期和果实期根际土壤微生物的这些功能基因数目大多都高于其他灌丛,并且与柠条根际土壤微生物的未知功能、信号转导机制、翻译、核糖体结构和生物合成以及脂肪转运代谢途径,与沙冬青根际土壤微生物的碳水化合物转运代谢、信号转导机制以及核苷酸转运和代谢途径,与毛刺根际土壤微生物的碳水化合物转运代谢、信号转导机制途径差异显著。这些功能途径的差异与土壤性质、养分含量以及植被类型的差异密切相关。植被不同其根际凋落物的质与量、根系发达程度、分泌物种类以及营养吸收方式均具有差异,会影响根际土壤微生物的结构及其功能发挥。

3.2 豆科灌丛根际土壤微生物群落碳、氮循环

土壤碳循环过程中,除了植被光合作用、枯落物分解和植物根系分泌物对碳固定具有一定贡献外,土壤中具有固定 CO_2 作用的微生物也是土壤碳固定积累加快的重要原因之一。研究表明,卡尔文循环、还原性柠檬酸循环、还原乙酰辅酶 A 等是碳固定的主要途径^[27]。其中还原性柠檬酸循环主要是一些细菌(少数光合紫色细菌和绿硫细菌)利用二氧化碳和水生成碳水化合物的一系列化学反应,是固定二氧化碳的一种策略。有研究表明,毛乌素沙地荒漠土壤中还原性柠檬酸循环的基因丰度最高^[28]。有关还原性柠檬酸循环的功能基因主要集中于高温厌氧环境中,低能耗的需求可能是还原性柠檬酸循环成为干旱和半干旱土壤首选代谢途径的原因之一。研究检测到与这些途径相关的功能基因,研究区域土壤固碳途径主要是还原性柠檬酸循环,其中柠条根际土壤微生物的碳代谢能力较强。在还原性柠檬酸循环中丙酮酸:铁氧化还原蛋白氧化还原酶(Pyruvate:Ferredoxin oxidoreductase)、2-氧戊二酸:铁氧化还原蛋白氧化还原酶(2-Oxoglutarate:Ferredoxin oxidoreductase)和柠檬酸裂解酶(Citrate lyase)是 3 个最关键的酶,编码基因分别为 *porCDAB/nifJ*、*oorDABC* 和

aclAB^[29]。对土壤宏基因组分析时发现,*porCDAB*、*aclAB* 作为关键的编码基因,同样存在于本研究土壤中,同时还发现了该代谢途径的其他基因如 *ACO*、*sdhA*、*sucC*、*korA*、*IDH1* 等,但没有检测到 *oorDABC* 基因。

土壤氮循环过程中各个氮转化过程之间的关系紧密相连,众多微生物构成的功能微生物群可对固氮、反硝化、硝化、异化性硝酸盐、硝酸盐同化还原等反应过程进行调控。*nifD* 和 *nifK* 编码钼铁固氮酶中的钼铁蛋白,可以被用来作为检测固氮能力的一个分子指标^[30]。本研究中柠条与沙冬青根际土壤中根际土壤中检测到这两个基因,说明柠条与沙冬青根际土壤微生物的固氮能力较强,尤其是柠条。氨单加氧酶是一个三聚体膜结合蛋白,由 *amoA*、*amoB*、*amoC* 所编码的 α 、 β 、 γ 亚基构成,可以被作为研究硝化微生物的分子标记^[31]。本研究中与硝化作用相关的基因 *pmoA-amoA*、*pmoB-amoB*、*pmoC-amoC* 在 4 种灌丛不同发育期的根际土壤中均被检测到。*nirS*、*nirK*、*norB* 和 *nosZ* 分别编码含细胞色素 *cd1* 亚硝酸盐还原酶、含铜离子的亚硝酸盐还原酶、NO 还原酶和 N₂O 还原酶,在反硝化过程中发挥作用,因而被作为研究反硝化微生物的分子标记^[32]。柠条中这 4 个反硝化关键基因均被检测到,而在其它 3 种灌丛中只检测到 *nirK*、*norB*,表明柠条根际土壤反硝化能力也较强。Liu 等研究表明,柠条根际土壤微生物群落中可能存在一些潜在的功能类群,具备在恶劣环境中生长定殖的能力以便更好的发挥其相应功能^[33]。研究结果显示柠条根际土壤微生物的碳固定与氮代谢能力明显强于其它 3 种灌丛,这与其根际微生物功能类群的组成和植物本身的环境适应性是密切相关的。

3.3 影响灌丛根际土壤微生物群落的环境因子

土壤理化特性的变化会导致土壤 C、N、P 等养分水平的变化,从而增加参与物质循环的微生物丰度,改变根际土壤微生物的结构,而微生物的群落结构必定会引起相关功能发生一定程度上的改变。赵姣等^[34]研究表明,不同植被类型会通过影响土壤中 NH₄⁺-N 和 NO₃⁻-N 含量而间接影响酶活性,从而影响了碳固定相关功能基因的丰度^[34]。张瑞娟^[35]的研究结果显示,土壤 TN 与土壤微生物显著正相关,表明氮素对土壤微生物影响较大。NH₄⁺-N 和 NO₂⁻-N 与固氮功能途径、NO₃⁻-N 与有机氮代谢和反硝化途径显著正相关。TN、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 和 NO₂⁻-N 与碳固定途径显著正相关。因此,宁夏荒漠灌丛根际土壤微生物的群落组成和功能基因受到氮素含量影响较大,与前人的研究结果一致。此外,TP 和 AP 与碳固定功能途径显著正相关,TP 还与固氮功能途径显著正相关,表明土壤中磷素的含量对微生物多样性及其功能发挥具有一定的影响。磷素的含量对微生物群落结构和功能具有一定调控作用,即便是一些生长较慢的寡营养微生物也具有有效的磷酸盐吸收的策略,可以在荒漠营养限制下生存^[36]。SOM 含量与碳固定功能途径和氮循环中的有机氮代谢、反硝化、硝化和固氮均正相关。SOM 提供了土壤微生物生命活动所需的养分和能量,影响着土壤结构、土壤肥力和土壤微生物的特性,其含量增加细菌的相对丰度也会随之增加^[37]。综上所述,宁夏荒漠环境中根际土壤的理化性质可以影响细菌群落多样性及碳、氮循环的功能微生物活性和功能发挥。

4 结论

宁夏荒漠草原豆科灌丛根际土壤微生物多样性和群落组成因灌丛种类和发育期不同存在差异。根际土壤细菌群落丰富度和多样性在果实期较高,在不同灌丛之间无显著差异。放线菌门、变形菌门和酸杆菌门等优势类群相对丰度在灌丛间有差异但差异不显著。参与能量生成和转化、碳水化合物转运代谢和信号转导等功能群落在 4 种土壤间具有显著差异。柠条根际土壤微生物参与碳、氮循环功能途径的基因丰度较高。氮素和磷素含量是影响宁夏荒漠灌丛根际土壤微生物群落组成和功能的主要因素。

参考文献 (References):

- [1] Zhang B H, Hong J P, Zhang Q, Jin D S, Gao C H. Contrast in soil microbial metabolic functional diversity to fertilization and crop rotation under rhizosphere and non-rhizosphere in the coal gangue landfill reclamation area of Loess Hills. *PLoS One*, 2020, 15(3): e0229341.
- [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, Mundra 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] 沈聪, 刘爽, 苏建宇, 田平雅, 代金霞. 半干旱荒漠区柠条根际细菌群落结构与功能. *基因组学与应用生物学*, 2021, 40(11):

- 3508-3517.
- [4] Pérez Castro S, Cleland E E, Wagner R, Al Sawad R, Lipson D A. Soil microbial responses to drought and exotic plants shift carbon metabolism. *The ISME Journal*, 2019, 13: 1776-1787.
- [5] 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(7): 1322-1325.
- [6] 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.
- [7] 程琳. 不同荒漠草原和主要植物根际土壤细菌多样性研究[D]. 兰州: 兰州理工大学, 2017.
- [8] 高江力. 荒漠植物根际土壤细菌对不同于干旱条件和沙丘类型的响应机制[D]. 兰州: 兰州大学, 2019.
- [9] Zhou Z Y, Yu M H, Ding G D, Gao G L, He Y Y. Diversity and structural differences of bacterial microbial communities in rhizocompartments of desert leguminous plants. *PLoS One*, 2020, 15(12): e0241057.
- [10] Gu S Y, Guo X J, Cai Y T, Zhang Z H, Wu S, Li X, Zhang H H, Yang W. Residue management alters microbial diversity and activity without affecting their community composition in black soil, Northeast China. *PeerJ*, 2018, 6: e5754.
- [11] Cui Y X, Fang L C, Guo X B, Wang X, Wang Y Q, Li P F, Zhang Y J, Zhang X C. Responses of soil microbial communities to nutrient limitation in the desert-grassland ecological transition zone. *The Science of the Total Environment*, 2018, 642: 45-55.
- [12] Guo Y F, Zhang D, Qi W. Bacterial diversity of herbal rhizospheric soils in Ordos Desert steppes under different degradation gradients. *PeerJ*, 2023, 11: e16289.
- [13] Chi Y K, Song S Z, Xiong K N. Effects of different grassland use patterns on soil bacterial communities in the Karst desertification areas. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1208971.
- [14] Liang T Y, Yang G, Ma Y X, Yao Q Z, Ma Y, Ma H, Hu Y, Yang Y, Wang S X, Pan Y Y, Li G T. Seasonal dynamics of microbial diversity in the rhizosphere of *Ulmus pumila* L. var. *sabulosa* in a steppe desert area of Northern China. *PeerJ*, 2019, 7: e7526.
- [15] Bahadur A, Zhang W, Sajjad W, Nasir F, Zhang G S, Liu G X, Chen T. Bacterial diversity patterns of desert dunes in the northeastern Qinghai-Tibet Plateau, China. *Archives of Microbiology*, 2021, 203(6): 2809-2823.
- [16] 李靖宇, 杨瑞, 段晓敏, 刘建利, 刘秉儒. 白芨滩地区不同生物土壤结皮类型对微生物群落结构和组成的影响. *生态与农村环境学报*, 2023, 39(1): 97-106.
- [17] 高雪峰, 韩国栋, 张国刚. 短花针茅荒漠草原土壤微生物群落组成及结构. *生态学报*, 2017, 37(15): 5129-5136.
- [18] 田帅, 韩雯雯, 韩凯, 董方. 毛乌素沙地防沙治沙现状及对策——以宁夏灵武白芨滩国家级自然保护区为例. *现代商贸工业*, 2014, 26(14): 186-187.
- [19] 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.
- [20] 李彦林, 陈吉祥, 周永涛, 杨智, 王永刚, 张继义, 岳靓. 西北半干旱荒漠草原与耕地土壤可培养微生物多样性及分布特征比较. *农业资源与环境学报*, 2016, 33(3): 244-252.
- [21] Zhu Y L, Huang Y J, Nuerhamanti N, Bai X Y, Wang H N, Zhu X Y, Zhang W. Composition and distribution characteristics of rhizosphere bacterial community of *Ammodendron bifolium* growing in takeermohuer desert are different from those in non-rhizosphere. *Microbial Ecology*, 2023, 86(4): 2461-2476.
- [22] Islam W, Ullah A, Zeng F J. Response of total belowground soil biota in *Alhagi sparsifolia* monoculture at different soil vertical profiles in desert ecosystem. *The Science of the Total Environment*, 2023, 901: 166027.
- [23] 李婷, 张威, 刘光琇, 陈拓. 荒漠土壤微生物群落结构特征研究进展. *中国沙漠*, 2018, 38(2): 329-338.
- [24] 万盼, 胡艳波, 张弓乔, 王宏翔, 李录林, 王鹏, 惠刚盈. 甘肃小陇山油松与柴胡栽培土壤细菌群落特征. *生态学报*, 2018, 38(17): 6016-6024.
- [25] Chukwuneme C F, Ayangbenro A S, Babalola O O. Metagenomic analyses of plant growth-promoting and carbon-cycling genes in maize rhizosphere soils with distinct land-use and management histories. *Genes*, 2021, 12(9): 1431.
- [26] Zhou G Y, Zhou X H, He Y H, Shao J J, Hu Z H, Liu R Q, Zhou H M, Hosseinibai S. Grazing intensity significantly affects belowground carbon and nitrogen cycling in grassland ecosystems: a meta-analysis. *Global Change Biology*, 2017, 23(3): 1167-1179.
- [27] 李靖宇, 刘建利, 张琇, 王猛, 杨洲, 靳新影, 荀琪, 张翼飞. 腾格里沙漠东南缘结皮微生物组基因多样性及功能. *生物多样性*, 2018, 26(7): 727-737.
- [28] 刘振. 毛乌素沙地土壤固定大气二氧化碳的微生物途径[D]. 北京: 北京林业大学, 2019.
- [29] 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.
- [30] 赵辉, 周运超. 不同母岩发育马尾松土壤固氮菌群落结构和丰度特征. *生态学报*, 2020, 40(17): 6189-6201.
- [31] 杨赛, 朱琳, 魏巍. 土壤生态系统硝化微生物研究进展. *中国土壤与肥料*, 2018(6): 1-10.
- [32] 梁丽华, 左剑恶. 反硝化功能基因——检测反硝化菌种群结构的分子标记. *微生物学通报*, 2009, 36(4): 627-633.
- [33] Liu W S, Qiu K Y, Xie Y Z, Wang R X, Li H C, Meng W F, Yang Y, Huang Y Y, Li Y Y, He Y. Years of sand fixation with *Caragana korshinskii* drive the enrichment of its rhizosphere functional microbes by accumulating soil N. *PeerJ*, 2022, 10: e14271.
- [34] 赵姣, 马静, 朱燕峰, 于昊辰, 张琦, 陈浮. 植被类型对黄土高原露天复垦土壤碳循环功能基因的影响. *环境科学*, 2023, 44(6): 3386-3395.
- [35] 张瑞娟. 不同土地利用方式对土壤养分和微生物群落结构的影响研究[D]. 太原: 山西大学, 2014.
- [36] Fuentes B, Choque A, Gómez F, Alarcón J, Castro-Nallar E, Arenas F, Contreras D, Mörchen R, Amelung W, Knief C, Moradi G, Klumpp E, Saavedra C P, Prietzel J, Klysubun W, Remonsellez F, Bol R. Influence of physical-chemical soil parameters on microbiota composition and diversity in a deep hyperarid core of the Atacama desert. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 12: 794743.
- [37] 常晶晶, 徐丽, 薛晶月, 杨浩, 何念鹏, 张晋京. 放牧强度对若尔盖高寒草甸土壤有机质和微生物的影响. *草业学报*, 2018, 27(1): 22-31.