



不同品种桑树根际土壤细菌多样性的 高通量测序分析

邱洁¹, 侯怡铃¹, 徐丽丽¹, 钱叶¹, 丁祥^{2*}

¹西华师范大学生命科学学院/西南野生动植物资源保护省部共建教育部重点实验室, 四川南充 637009;

²西华师范大学环境科学与工程学院, 四川南充 637009)

摘要:【目的】探究不同品种桑树根际土壤细菌群落结构及其分布规律,为促进桑树的生长发育、提高其经济利用价值和培育更高品质的桑树品种提供参考。【方法】对3个品种桑树(粤椹大10、嘉陵30号和红果1号)根际土壤细菌的16S rDNA序列V3~V5高变区进行PCR扩增,并对PCR扩增产物进行高通量测序,分析土壤中细菌群落多样性及分布规律。【结果】3个土壤样品中共检测出细菌26门76纲88目149科370属。不同品种桑树根际土壤样品中的细菌群落组成和结构存在一定差异,丰富度方面表现为嘉陵30号>粤椹大10>红果1号;多样性方面表现为红果1号>嘉陵30号>粤椹大10。3个品种桑树的根际土壤细菌在门纲目科属水平上的优势菌群及所占比例分别为变形菌门(Proteobacteria, 37.2%)、 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria, 24.3%)、拟杆菌目(Bacteroidales, 24.3%)、拟杆菌科(Bacteroidaceae, 14.2%)、拟杆菌属(*Bacteroides*, 14.2%);随着分类的细化,不同桑树品种对土壤细菌群落组成和分布的影响越大。【结论】变形菌门在3种桑树根际土壤中均是最优势细菌类群,嘉陵30号桑树品种根际土壤细菌种类最多,红果1号桑树品种土壤细菌分布最均匀。根际土壤细菌群落种类和均匀度可作为桑树差异规模化种植的指标。

关键词: 桑树; 根际土壤; 细菌; 多样性; 高通量测序

中图分类号: S888.5

文献标志码: A

文章编号: 2095-1191(2019)03-0585-08

High throughput sequencing analysis of rhizosphere soil bacteria diversity in different mulberry varieties

QIU Jie¹, HOU Yi-ling¹, XU Li-li¹, QIAN Ye¹, DING Xiang^{2*}

¹College of Life Sciences, China West Normal University/Key Laboratory of Southwest China Wildlife Resources Conservation, Ministry of Education, Nanchong, Sichuan 637009, China; ²College of Environmental Science and Engineering, China West Normal University, Nanchong, Sichuan 637009, China)

Abstract:【Objective】The purpose of the study was to explore the structure and distribution of rhizosphere soil bacterial community of different mulberry varieties, provide scientific basis for promoting the growth and development of mulberry, improving the economic value of mulberry and cultivating mulberry varieties with high quality. 【Method】The 16S rDNA sequence V3-V5 high-variable region of rhizosphere soil bacteria in three mulberry varieties (Yueshenda 10, Jialing 30 and Hongguo 1) was amplified by PCR, and then the products of PCR amplification were sequenced with high throughput to analyze the diversity and distribution of bacterial community in soil. 【Result】A total of 370 genera, 149 families, 88 orders, 76 classes and 26 phyla of bacteria were detected in the three soil samples. There were some differences in the structure and composition of bacterial community in rhizosphere soil samples of different mulberry varieties. In terms of richness, Jialing 30>Yueshenda 10>Hongguo 1, while in terms of diversity, Hongguo 1>Jialing 30>Yueshenda 10. The dominant bacterial community of rhizosphere soil bacteria of three mulberry varieties and their proportions were Proteobacteria (37.2%), Alphaproteobacteria (24.3%), Bacteroidales (24.3%) and Bacteroidaceae (14.2%), *Bacteroides* (14.2%). However, with the refinement of classification, the influence of mulberry varieties on the composition and distribution of soil bacterial community became great. 【Conclusion】Proteobacteria is the most abundant bacterial group in three mulberry rhizosphere soils. The rhizosphere soil bacteria of Jialing 30 are the most abundant, and Hongguo 1 has the most uniform distribution of soil bacteria. The species and evenness of bacterial community in the rhizosphere soil can be used as indicators for mulberry differential large-scale planting.

Key words: mulberry; rhizosphere soil; bacteria; diversity; high throughput sequencing

收稿日期: 2018-10-24

基金项目: 四川省财政创新能力提升专项项目(2016ZYPZ-030); “十三五”四川省农作物育种项目(2016NYZ0041-01); 四川省农业科技成果转化项目(2016NZ0074); 国家级大学生创新训练项目(201610638045)

作者简介: *为通讯作者, 丁祥(1980-), 教授, 主要从事资源微生物学研究工作, E-mail: biostart8083@126.com。邱洁(1996-), 研究方向为资源微生物学, E-mail: 228566517@qq.com

0 引言

【研究意义】土壤细菌是土壤生态系统的重要组成部分,参与养分元素循环、有机质分解及能量转换,在保持生态系统的功能、稳定性及生产力等方面均发挥关键作用,是衡量土壤生产力和质量的重要指标(王卫霞等,2013;冯丹妮等,2014;张文元等,2015;尹玉玲等,2017)。在土地覆被过程中,土壤特性、气候因子和植被群落等都会影响土壤的细菌群落(Li et al., 2014; Tkacz and Poole, 2015)。土壤有机质含量与细菌群落组成和结构间一般具有很好的线性关系(王传杰等,2018)。土壤细菌不仅推动了土壤的物质循环和生化反应(刘银银等,2013),土壤细菌群落的变化还会影响土壤养分的转化和吸收,从而影响植物生长代谢(孙波等,2017)。不同植物类型根系分泌物和凋落物的质量又反作用于土壤细菌群落的生长发育,造成某些细菌群落的出现或消亡(陈心想等,2014;潘彦硕等,2018;王美溪等,2018)。桑(*Morus alba* L.)为桑科桑属植物,其叶是家蚕重要的饲料,是蚕丝产业发展的必须物质基础(Jia et al., 2014;向仲怀等,2017),因此,了解桑树根际土壤细菌组成多样性对保障桑叶生产和促进蚕丝产业发展均具有重要意义。【前人研究进展】Carvalhais等(2013)通过拟南芥在无菌土壤和非无菌土壤中生长对比试验,证明拟南芥在整个细菌群落存在条件下比细菌贫乏时表现出更强的生长力。Muehe等(2015)通过对鼠耳芥根际细菌组成与植物对镉和锌的吸收研究,证明土壤细菌可直接或间接影响植物对金属元素的吸收。崔佩佩等(2018)采用Biolog微平板法研究不同施肥条件下高粱根际土壤细菌功能多样性的变化,结果证明施肥能改善土壤细菌的功能多样性。蒋景龙等(2018)采用Illumina MiSeq高通量测序技术对西洋参根腐病病株和健株根际土壤细菌的组成及多样性变化进行研究,结果显示鞘脂菌属(*Sphingobium*)和红游动菌属(*Rhodoplanes*)可能是引起西洋参根腐病的重要菌群。对于桑树根际土壤细菌的研究,目前主要采用传统方法探究不同施肥方案、作物间作等对根际土壤细菌种类变化、重金属含量、酶活性差异的影响(杨统一等,2015;张萌萌等,2015)。邓文等(2016)采用Biolog微生态技术研究偏施氮肥桑树根际土壤细菌对碳源利用的能力变化,证明4年偏施氮肥桑树根际土壤细菌多样性及活性均高于其他方法处理的土壤。樊芳玲等(2016)利用磷脂脂肪酸(PLFA)法分析不同模式的坡耕地—桑树系统对旱坡地紫色土壤中细菌群

落的影响,证明种植桑树能显著提高土壤中PLFA含量,改善细菌群落结构。【本研究切入点】高通量测序技术能产生测序覆盖深度更高的基因数据,在细菌群落组成研究中能真实地揭示环境中细菌群落的多样性和复杂性。目前针对不同品种桑树根际土壤细菌多样性的高通量测序分析研究鲜见报道。【拟解决的关键问题】对不同品种桑树根际土壤细菌的16S rDNA序列V3~V5高变区进行PCR扩增,并对PCR扩增产物进行高通量测序,分析土壤中细菌群落多样性及分布规律,了解不同品种桑树根际土壤细菌的群落结构、物种组成和差异,探究根际土壤细菌与桑树的相互关系,为促进桑树的生长发育、提高其经济利用价值及培育出更高品质的桑树品种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

土壤样品采自四川省农业科学院蚕业研究所濠溪桑园,分别以粤椹大10(广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所选育)、嘉陵30号和红果1号(四川省农业科学院蚕业研究所选育)3种果桑根际土壤作为采样区,随机在每个采样区设4个采样点,每个采样点采集10份土壤样品(0~10 cm),使用S形采样法,剔除石块和植物根系,混合均匀并过2 mm筛,以四分法筛取所得土样为同一样品,再装入已灭菌的采样袋,分别编号为LCF20、LCF21和LCF22,于冰盒中保存。

1.2 总DNA提取、16S rDNA序列扩增及高通量测序

根据Fast DNA SPIN Kit for Soil(MP Biomedical, USA)的使用说明,加入溶菌酶(上海源叶生物科技有限公司)60 mg/mL辅助提取土壤细菌的总DNA。用1%琼脂糖凝胶对总DNA进行电泳检测,电泳条件为120 V、45 min,总DNA条带单一清晰,无严重拖尾现象,可用于后续体外扩增。用引物515F/907R扩增细菌16S rDNA序列的V3~V5区域。反应体系25.0 μ L: Dream Taq PCR Master Mix (2 \times) 12.5 μ L, DNA模板1.0 μ L, 515F/907R引物各0.5 μ L, 去离子水补足至25.0 μ L。扩增程序:94 $^{\circ}$ C预变性5 min;94 $^{\circ}$ C 30 s, 56 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min,进行10个循环,每个循环降低0.5 $^{\circ}$ C;94 $^{\circ}$ C 30 s, 56 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min,进行25个循环;72 $^{\circ}$ C延伸10 min;4 $^{\circ}$ C保存。扩增产物用1%琼脂糖凝胶进行电泳检测,将单一清晰没有拖尾现象条带对应的样本送至北京金诺锐杰基因科技有限公司测序,并采用MiSeq测序仪完成测序工作(Lu et al., 2015; Navarrete et al., 2015; Lossius et al., 2016)。

1.3 高通量测序数据处理

原始数据经过低质量过滤、去接头等后得到高质量的基因序列Reads,然后合并正反向Reads,获得16S rDNA序列V3~V5区扩增子。利用Flash 8.0合并正方向Reads,合并后序列输出,并使用FastQC进行质控分析。采用Usearch61检查嵌合体,De novo方式去除嵌合体序列,再对小片段文库进行组装,获得该物种的基因组序列图谱。对所有分离的高质量样本序列进行聚类分析,即一个OTU(同源率为97%),再划分操作分类单元(OTUs),并构建稀释曲线及进行聚类分析。

Chao1指数计算公式: $S_{\text{chao1}} = S_{\text{obs}} + n_1(n_1 - 1) / (2(n_2 + 1))$,其中, S_{chao1} 为估计的OUT数, S_{obs} 为观测到的OTU数, n_1 为只有一条序列的OUT数目, n_2 为只有两条序列的OUT数目。

Shannon指数计算公式: $H' = -\sum(P_i)(\ln P_i)$,其中, P_i 为此细菌个体数占总个体数比例。

相对丰度计算公式: $D = (S - 1) / \ln N$,其中, S 为群落中的特定细菌总数目, N 为群落中所有细菌的总数。

2 结果与分析

2.1 不同品种桑树根际土壤细菌多样性分析结果

用Chao1指数表示细菌群落的丰富度,其值越高反映细菌群落物种丰富度越高,细菌种类越多。图1显示3个样品的细菌群落丰富度均随测序深度的增加而增加,随后逐渐趋于平缓,此时嘉陵30号的细菌群落丰富度最高,粤榭大10次之,红果1号最低。用Shannon指数表示样品的细菌多样性程度,其值越高反映细菌群落的物种多样性越高,分布也越均匀。由图2可知,当3个样品的Shannon指数曲线最终趋于平缓时,红果1号的细菌多样性程度最高,粤榭大10最低。

2.2 在门水平上的细菌群落丰度分析结果

从门水平来看(图3-A),细菌种类最多的品种是嘉陵30号(26门),最少的是粤榭大10(24门)。变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)的相对丰度较高,分别为37.2%、25.4%和14.1%,在3个土壤混合样品中3种细菌门的相对丰度之和占土壤细菌总量的76.7%。将群落相对丰度水平位于前10的细菌(相对丰度>0.4%)按照样品和分类进行聚类后绘制热图(图3-B),结果显示,3个样品中的细菌大致分为两簇,梭杆菌门(Fusobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和厚壁菌门等亲缘关系较近的聚为一簇,硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、绿弯菌门(Chloroflexi)和酸

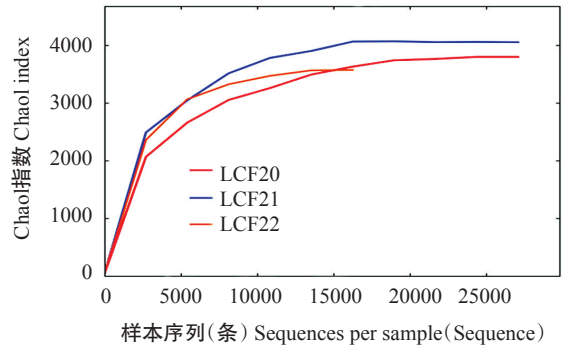


图1 不同品种桑树根际土壤细菌群落的丰富度分析
Fig.1 Bacterial community richness analysis of rhizosphere soils of different mulberry varieties

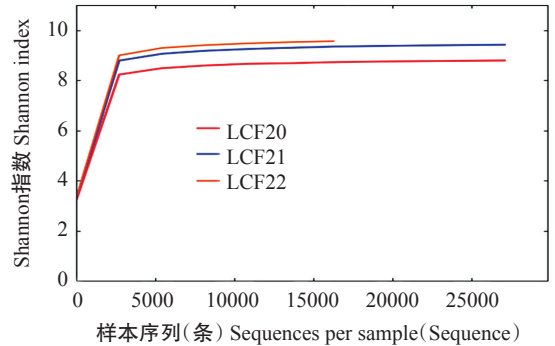


图2 不同品种桑树根际土壤细菌群落的多样性分析
Fig.2 Bacterial community diversity analysis of rhizosphere soils of different mulberry varieties

杆菌门(Acidobacteria)等聚为另一簇。不同品种桑树根际土壤中细菌的相对丰度有一定差异,其中,酸杆菌门在红果1号和嘉陵30号中的相对丰度较高,在粤榭大10中的相对丰度较低;硝化螺旋菌门和绿弯菌门在红果1号中的相对丰度较高,在嘉陵30号和粤榭大10中的相对丰度较低。

2.3 在纲水平上的细菌群落丰度分析结果

3个土壤样品中的细菌在纲水平上群落组成最多的是粤榭大10和嘉陵30号(76纲),最少的是红果1号(74纲)(图4-A)。 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、 β -变形菌纲(Betaproteobacteria)、 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)、拟杆菌纲(Bacteroidia)和梭状芽胞杆菌纲(Clostridia)等5个细菌纲的相对丰度较高,分别为24.3%、16.0%、12.3%、11.2%和7.7%,在3个土壤混合样品中5个细菌纲的相对丰度之和占土壤细菌总丰度的71.5%。将群落相对丰度水平位于前20的细菌(相对丰度>0.4%)按照样品和分类进行聚类后绘制热图(图4-B),结果显示,嘉陵30号与粤榭大10细菌种类的组成相比红果1号而言更相似;3个样品中的细菌大致分为两簇, α -变形菌纲和拟杆菌纲等7个纲亲缘关系较的近聚为一簇, γ -变形菌纲和 β -变形菌纲等13个纲聚为另一簇。

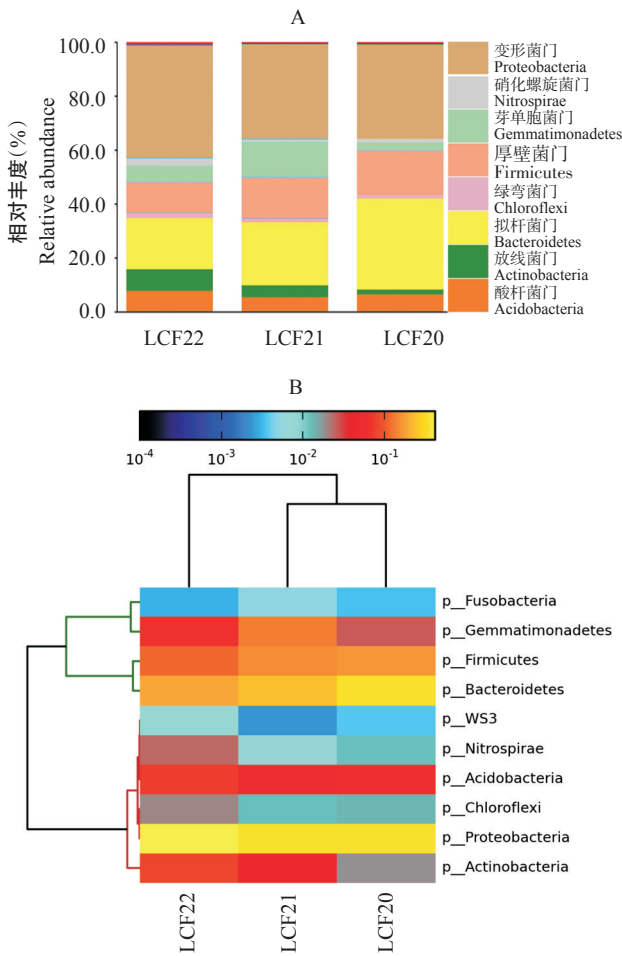


图 3 在门水平上的细菌群落相对丰度柱状图(A)和相对丰度聚类图(B)

Fig.3 The relative abundance histogram(A) and the relative abundance cluster diagram(B) of bacteria community on the phylum level

2.4 在目水平上的细菌群落丰度分析结果

3个土壤样品中的细菌在目水平上的群落组成分别是红果1号88目、嘉陵30号71目和粤椹大10 78目(图5-A)。拟杆菌目(Bacteroidales)、肠杆菌目(Enterobacteriales)、梭菌目(Clostridiales)、酸杆菌目(Acidobacteriales)和伯克氏菌目(Burkholderiales)等5个细菌目的相对丰度较高,分别为24.3%、12.3%、10.6%、4.1%和3.8%,在3个土壤混合样品中5个细菌目的相对丰度之和占土壤细菌总丰度的55.1%。将相对丰度位于前30的细菌(相对丰度>0.4%)按照样品和分类进行聚类后绘制热图(图5-B),3个样品中的细菌大致分为两簇,拟杆菌目和梭菌目等14个目亲缘关系较近的聚为一簇,酸杆菌目和伯克氏菌目等16个目聚为另一簇。在目水平上,3个样品中的细菌组成存在差异,如黄单胞杆菌目(Xanthomonadales)和红螺菌目(Rhodospirales)在红果1号中的相对丰度较高,在嘉陵30号和粤椹大10中的相对丰度较低。

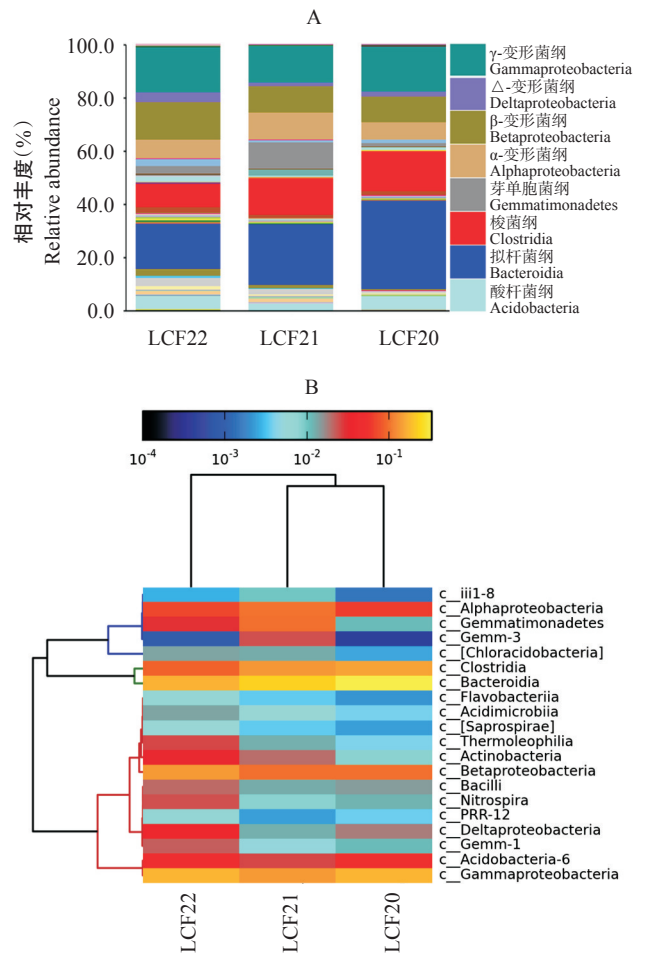


图 4 在纲水平上的细菌群落相对丰度柱状图(A)和相对丰度聚类图(B)

Fig.4 The relative abundance histogram(A) and the relative abundance cluster diagram(B) of bacteria community on the class level

2.5 在科水平上的细菌群落丰度分析结果

3个土壤样品中的细菌在科水平上的群落组成最多的是红果1号(149科),嘉陵30号(116科)和粤椹大10(118科)相对较少(图6-A)。拟杆菌科(Bacteroidaceae, 14.2%)、肠杆菌科(Enterobacteriaceae, 10.6%)、普雷沃氏菌科(Prevotellaceae, 8.3%)、瘤胃菌科(Ruminococcaceae, 5.6%)、酸杆菌科(Acidobacteriaceae, 3.2%)、毛螺菌科(Lachnospiraceae, 2.6%)和韦荣氏菌科(Veillonellaceae, 3.2%)等7个细菌的相对丰度较高,在3个土壤混合样品中7个细菌科的相对丰度之和占土壤细菌总丰度的47.7%。将相对丰度位于前40的细菌(相对丰度>0.2%)按照样品和分类进行聚类后绘制热图(图6-B),3个样品中的细菌大致分为两簇,梭杆菌科(Fusobacteriaceae)和黄单胞菌科(Xanthomonadaceae)等26个科聚为一簇,瘤胃菌科和韦荣氏菌科等14个科聚为另一簇。在科水平上,随着分类的细化,桑树品种对细菌群落组成

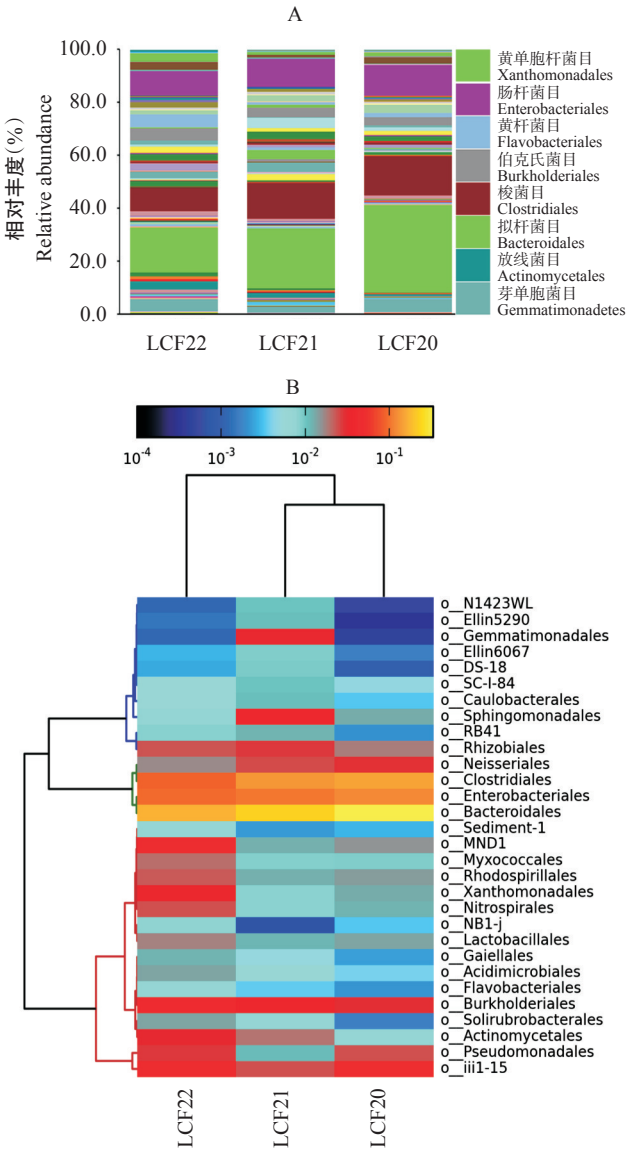


图 5 在目水平上的细菌群落相对丰度柱状图(A)和相对丰度聚类图(B)

Fig.5 The relative abundance histogram(A) and the relative abundance cluster diagram(B) of bacteria community on the order level

的影响越大。如鞘酯菌科(Sphingomonadaceae)在嘉陵30号中的相对丰度较高,在粤椹大10和红果1号中的相对丰度较低。

2.6 在属水平上的细菌群落丰度分析结果

3个土壤样品中共有细菌属370个(图7-A),其中单个样品最多的是嘉陵30号(370属),红果1号(354属)和粤椹大10(351属)相对较少。拟杆菌属(Bacteroides, 14.2%)、普氏菌属(Prevotella, 8.3%)、栖粪杆菌属(Faecalibacterium, 3.1%)、奈瑟氏球菌属(Neisseria, 2.1%)、链球菌属(Streptococcus, 1.2%)、萨特氏菌属(Sutterella, 1.2%)、考拉杆菌属(Phascolarctobacterium, 1.1%)、不动杆菌属(Acinetobacter,

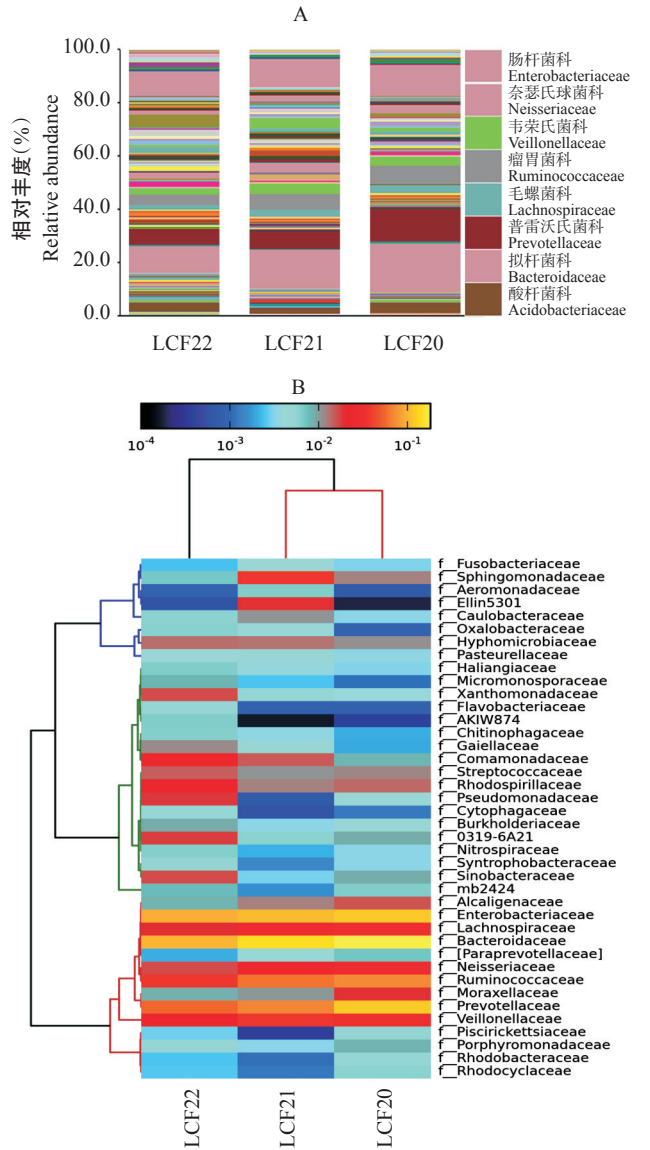


图 6 在科水平上的细菌群落相对丰度柱状图(A)和相对丰度聚类图(B)

Fig.6 The relative abundance histogram(A) and the relative abundance cluster diagram(B) of bacteria community on the family level

1.1%)和巨单胞菌属(Megamonas, 1.0%)等9个细菌属相对丰度较高,在3个土壤混合样品中9个细菌属的相对丰度之和占土壤细菌总丰度的33.3%。将相对丰度位于前50的细菌(相对丰度>0.1%)分别按照样品和分类进行聚类后绘制热图(图7-B),3个样品中的细菌大致分为两簇,罗氏菌属(Roseburla)和萨特氏菌属等37个属聚为一簇,硝化螺菌属(Nitrospira)和黄杆菌属(Flavobacterium)等13个属聚为另一簇。各样品属级分类聚类分析结果显示,在属的水平上,莫拉氏菌(Kaistobacter)在嘉陵30号中的相对丰度较高,在粤椹大10和红果1号中则相对较低;阿克曼菌属(Akkermansia)在红果1号中未检测出;分

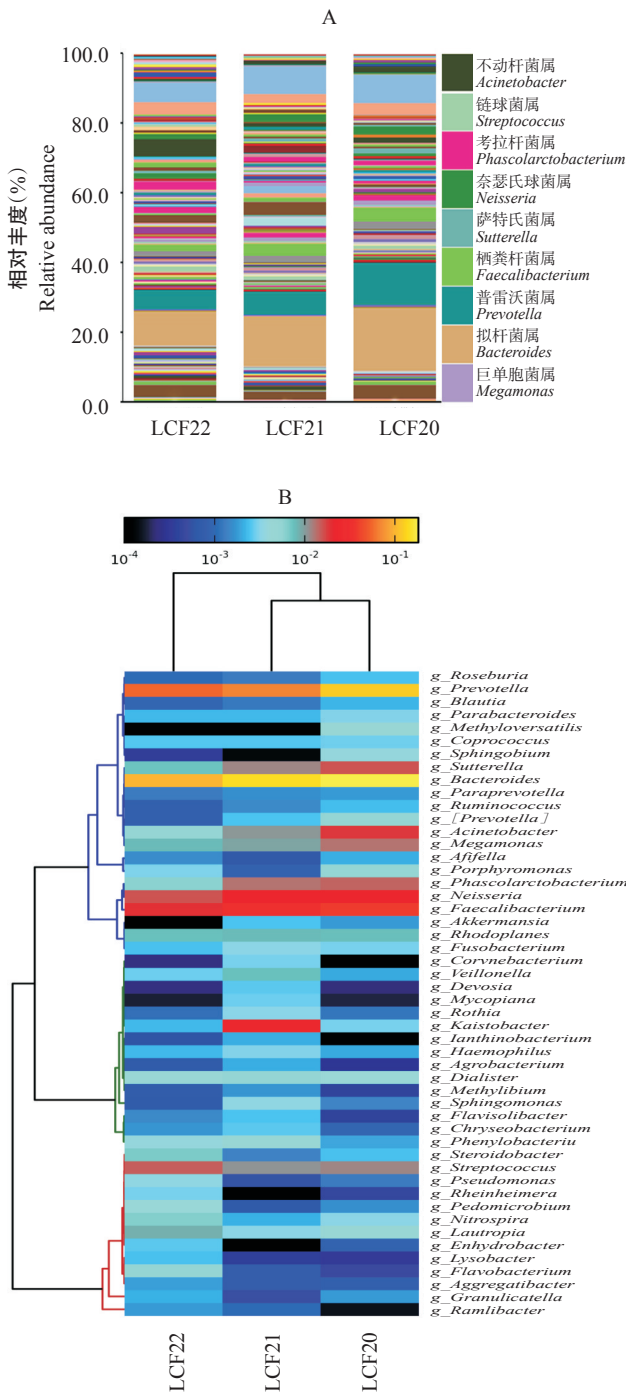


图 7 在属水平上的细菌群落相对丰度柱状图(A)和相对丰度聚类图(B)

Fig.7 The relative abundance histogram (A) and the relative abundance cluster diagram (B) of bacteria community on the genus level

枝杆菌属 (*Ramlibacter*) 在粤椴大10中未检测出。

3 讨论

土壤作为细菌的天然培养基,含有大量且丰富的细菌种类。相比于传统测序技术,使用高通量测序技术对土壤细菌多样性的研究鲜见报道,且高通量测序产生的数据量是传统测序技术无法比拟(明

磊等,2018)。本研究采用高通量测序技术对3个不同品种的桑树根际土壤细菌组成和结构进行研究,分析了3个不同品种桑树根际土壤细菌在门、纲、目、科、属不同分类水平上的优势类群,共检测出包括拟杆菌门、厚壁菌门和变形菌门等优势菌门在内的26门,其中变形菌门是最丰富的细菌类群,与Constancias等(2015)、Docherty等(2015)的研究结果一致。但Heiko等(2016)发现酸杆菌门是欧洲山毛榉和挪威云杉根际土壤中含有最丰富的细菌类群;而Kristin等(2016)在温带草原和森林土壤中发现放线菌门(*Actinobacteria*)是占主导地位细菌类群,说明不同植物根际土壤中存在不同的优势细菌类群。

本研究共测出包括 α -变形菌纲和 β -变形菌纲等优势菌纲在内的76纲;拟杆菌目和肠杆菌目等优势菌目在内的88目,拟杆菌科和肠杆菌科等优势菌科在内的149科,拟杆菌属和普氏菌属等优势菌属在内的370属。3种不同品种桑树根际间土壤细菌在门纲目科属水平上的优势菌群及所占总比例分别为变形菌门(37.2%)、 α -变形菌纲(24.3%)、拟杆菌目(24.3%)、拟杆菌科(14.2%)、拟杆菌属(14.2%)。但随着分类的细化,不同的桑树品种对细菌群落组成和分布的影响越大,在目科属水平上差异更明显。如黄单胞杆菌目和红螺菌目在红果1号中的相对丰度较高,鞘酯菌科在嘉陵30号中的相对丰度较高,而分枝杆菌属在粤椴大10中未检测出。土壤细菌群落多样性不仅与植物种类有关,还与土壤落叶层、腐殖质及理化性质有关;同时,桑树根系的生理活动能改善土壤理化性质,使之适应土壤中细菌的生长(Tkacz et al., 2015)。实际应用中可根据桑树品种的不同,选择合适的栽培土壤,改善土壤理化性质并施用高效细菌肥料,以促进桑树根际间土壤优势细菌群落的形成,从而促进桑树生长。

4 结论

变形菌门在供试3种桑树品种根际土壤中均是最优势细菌类群,嘉陵30号桑树品种根际土壤细菌种类最多,红果1号桑树品种土壤细菌分布最均匀。根际土壤细菌群落种类和均匀度可作为桑树差异规模化种植的标志。

参考文献:

陈心想,耿增超,王森,赵宏飞. 2014. 施用生物炭后壤土土壤微生物及酶活性变化特征[J]. 农业环境科学学报, 33(4): 751-758. [Chen X X, Geng Z C, Wang S, Zhao H F. 2014. Effects of biochar amendment on microbial biomass and enzyme activities in loess soil[J]. Journal of Agro-Envi-

- ronmental Science, 33(4): 751-758.]
- 崔佩佩, 武爱莲, 王劲松, 董二伟, 南江宽, 白文斌, 焦晓燕. 2018. 不同施肥处理对高粱根际土壤微生物功能多样性的影响[J]. 华北农学报, 33(5): 195-202. [Cui P P, Wu A L, Wang J S, Dong E W, Nan J K, Bai W B, Jiao X Y. 2018. Effect of different fertilization treatments on soil microbial function diversity in rhizosphere of sorghum [J]. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 33(5): 195-202.]
- 邓文, 熊双伟, 于翠, 李勇, 莫荣利, 熊超, 胡兴明. 2016. 长期偏施氮肥对桑树根际土壤微生物碳源利用能力的影响[J]. 湖北农业科学, 55(23): 6108-6112. [Deng W, Xiong S W, Yu C, Li Y, Mo R L, Xiong C, Hu X M. 2016. Effects of long-term partial application of nitrogen fertilizer on soil carbon source utilization ability in mulberry rhizosphere[J]. Hubei Agricultural Sciences, 55(23): 6108-6112.]
- 樊芳玲, 谢德体, 魏朝富, 倪九派, 唐振亚. 2016. 坡耕地—桑树系统土壤微生物群落结构的PLFA分析[J]. 生态学报, 36(12): 3812-3823. [Fan F L, Xie D T, Wei C F, Ni J P, Tang Z Y. 2016. PLFA analysis showed that the configuration modes of sloping crop-mulberry systems affect the soil microbial community structure[J]. Acta Ecologica Sinica, 36(12): 3812-3823.]
- 冯丹妮, 伍钧, 杨刚, 张磷玮, 张乙涵, 王静雯. 2014. 连续定位施用沼液对水旱轮作耕层土壤微生物区系及酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 33(8): 1644-1651. [Feng D N, Wu J, Yang G, Zhang L W, Zhang Y H, Wang J W. 2014. Influence of long-term applications of biogas slurry on microbial community composition and enzymatic activities in surface soil under rice-rape rotation[J]. Journal of Agro-Environmental Science, 33(8): 1644-1651.]
- 蒋景龙, 余妙, 李丽, 焦成瑾, 徐皓, 任绪明, 杨玲娟. 2018. 西洋参根腐病发生与根际土壤细菌群落结构变化关系研究[J]. 中草药, 49(18): 4399-4407. [Jiang J L, Yu M, Li L, Jiao C J, Xu H, Ren X M, Yang L J. 2018. Relationship between occurrence of root-rot and changes of bacterial community structure in rhizosphere soil of *Panax quinquefolius* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 49(18): 4399-4407.]
- 刘银银, 李峰, 孙庆业, 谢永宏. 2013. 湿地生态系统土壤微生物研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 19(3): 547-552. [Liu Y Y, Li F, Sun Q Y, Xie Y H. 2013. Review on the study of soil microorganisms in wetland ecosystems[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 19(3): 547-552.]
- 明磊, 戴习林, 江宗冰, 丁福江. 2018. 高通量测序在罗氏沼虾抗病力比较中的应用[J]. 河南农业科学, 47(8): 134-141. [Ming L, Dai X L, Jiang Z B, Ding F J. 2018. Application of high-throughput sequencing in the comparison of disease resistance of *Macrobrachium rosenbergii* [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 47(8): 134-141.]
- 潘彦硕, 朱清禾, 李聪, 王幽静, 吴坤, 李炬楨, 张世敏, 吴宇澄. 2018. 纤维素、秸秆和木屑对农田土壤硝化作用及微生物的影响[J]. 河南农业大学学报, 52(5): 785-792. [Pan Y S, Zhu Q H, Li C, Wang Y J, Wu K, Li X Z, Zhang S M, Wu Y C. 2018. Effects of cellulose, straw and sawdust on soil nitrification and microorganisms in farmland[J]. Journal of Henan Agricultural University, 52(5): 785-792.]
- 孙波, 王晓玥, 吕新华. 2017. 我国60年来土壤养分循环微生物机制的研究历程——基于文献计量学和大数据可视化分析[J]. 植物营养与肥料学报, 23(6): 1590-1601. [Sun B, Wang X Y, Lü X H. 2017. The historical venation in research on microbial mechanisms of soil nutrient cycling in the past 60 years—Based on bibliometric analysis and big data visualization[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 23(6): 1590-1601.]
- 王传杰, 王齐齐, 徐虎, 高洪军, 朱平, 徐明岗, 张文菊. 2018. 长期施肥下农田土壤—有机质—微生物的碳氮磷化学计量学特征[J]. 生态学报, 38(11): 3848-3858. [Wang C J, Wang Q Q, Xu H, Gao H J, Zhu P, Xu M G, Zhang W J. 2018. Carbon, nitrogen, and phosphorus stoichiometry characteristics of bulk soil, organic matter, and soil microbial biomass under longterm fertilization in cropland[J]. Acta Ecologica Sinica, 38(11): 3848-3858.]
- 王美溪, 刘珂艺, 邢亚娟. 2018. 气候变化背景下土壤微生物与植物物种多样性关联分析[J]. 中国农学通报, 34(20): 111-117. [Wang M X, Liu K Y, Xing Y J. 2018. Association analysis of soil microorganism and plant species diversity under climate change[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 34(20): 111-117.]
- 王卫霞, 史作民, 罗达, 刘世荣, 卢立华. 2013. 南亚热带3种人工土壤微生物生物量和微生物群落结构特征[J]. 应用生态学报, 24(7): 1784-1792. [Wang W X, Shi Z M, Luo D, Liu S R, Lu L H. 2013. Characteristics of soil microbial biomass and community composition in three types of plantations in southern subtropical area of China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 24(7): 1784-1792.]
- 向仲怀, 何宁佳, 黄先智. 2017. 桑与畜牧业[J]. 草业学报, 26(2): 1-9. [Xiang Z H, He N J, Huang X Z. 2017. Mulberry and animal husbandry[J]. Acta Pratacultration Sinica, 26(2): 1-9.]
- 杨统一, 曲静怡, 赵卫国, 李龙. 2015. 不同抗病性桑树品种根际土壤微生态环境特征分析[J]. 蚕业科学, 41(2): 211-217. [Yang T Y, Qu J Y, Zhao W G, Li L. 2015. Analysis on micro-ecological environmental characteristics in rhizosphere soil of different resistant mulberry varieties [J]. Science of Sericulture, 41(2): 211-217.]
- 尹玉玲, 汤泳萍, 谢启鑫, 罗绍春, 赵萍. 2017. 豆蔻酸对茄子根际土壤微生物生理类群和土壤酶活性的影响[J]. 江苏农业学报, 33(1): 181-184. [Yin Y L, Tang Y P, Xie Q X, Luo S C, Zhao P. 2017. Effect of myristic acid on soil microbial population and enzyme activities in rhizosphere of the eggplants[J]. Jiangsu Journal of Agricultural Sciences, 33(1): 181-184.]
- 张萌萌, 敖红, 李鑫, 张景云, 王宁, 鞠成梅, 王佳, 蔡敦江, 孙

- 广玉. 2015. 桑树/苜蓿间作对根际土壤酶活性和微生物群落多样性的影响[J]. 草地学报, 23(2): 302-309. [Zhang M M, Ao H, Li X, Zhang J Y, Wang N, Ju C M, Wang J, Cai D J, Sun G Y. 2015. Effects of intercropping between mulberry and alfalfa on soil enzyme activity and microbial community diversity in rhizosphere[J]. Acta Agraria Sinica, 23(2): 302-309.]
- 张文元, 盛可银, 范承芳, 刘顺, 陈森森, 钟石泉, 温卫华, 吴珍花, 涂淑萍, 郭晓敏, 胡冬南. 2015. 赣南毛竹根际土壤微生物群落结构的PLFA分析[J]. 江西农业大学学报, 37(3): 475-483. [Zhang W Y, Sheng K Y, Fan C F, Liu S, Chen M M, Zhong S Q, Wen W H, Wu Z H, Tu S P, Guo X M, Hu D N. 2015. Phospholipid fatty acid analysis of microbial community structure in rhizosphere soil of *Phyllostachys edulis* in Gannan[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 37(3): 475-483.]
- Carvalho L C, Frederico M, Tan C H, Jin H C, Schenk P M. 2013. Plant growth in *Arabidopsis* assisted by compost soil-derived microbial communities[J]. Front Plant Science, 4(1): 235-245.
- Constancias F, Saby N P, Terrat S, Dequeit S, Horrigue W, Nowak V, Guillemen J P, Luc B D, Nicolas C P, Ranjard L. 2015. Contrasting spatial patterns and ecological attributes of soil bacterial and archaeal taxa across a landscape[J]. Microbiology Open, 4(3): 518-531.
- Docherty K M, Borton H M, Espinosa N, Gebhardt M, Juliana G L, Jessica L M, Maes P W, Mott B M, Parnell J J, Purdy G, Rodrigues P A, Stanish L F, Walser O N, Gallery R E. 2015. Key edaphic properties largely explain temporal and geographic variation in soil microbial communities across four biomes[J]. PLoS One, 10(11): e0135352.
- Heiko N, Kezia G, Ingo S, Birgit P, Kristin K, Genis A C, Marion S, François B, Rolf D, Tesfaye W. 2016. Fine spatial scale variation of soil microbial communities under european beech and norway spruce[J]. Frontiers in Microbiology, 7: 2067-2081.
- Jia L, Zhang D Y, Qi X W, Ma B, Xiang Z H, He N J. 2014. Identification of the conserved and novel miRNAs in mulberry by high-throughput sequencing[J]. PLoS One, 9(8): e104409.
- Kristin K, Bernd W, Vera K, Franziska W, Heiko N, Ingo S, Marion S, Rolf D. 2016. Driving forces of soil bacterial community structure, diversity, and function in temperate grasslands and forests[J]. Scientific Reports, 6: 33696-33702.
- Li B Y, Yao Q, Zhu H H. 2014. Approach to analyze the diversity of myxobacteria in soil by semi-nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis(DGGE) based on taxon-specific gene[J]. PLoS One, 9(10): e108877.
- Lossius P A, Johansen J, Vartdal F, Trygve H. 2016. High-throughput sequencing of immune repertoires in multiple sclerosis[J]. Annals of Clinical and Translational Neurology, 3(4): 295-306.
- Lu X, Zhang X X, Wang Z, Huang K L, Wang Y, Liang W G, Tan Y F, Li B, Tan J Y. 2015. Bacterial pathogens and community composition in advanced sewage treatment systems revealed by metagenomics analysis based on high-throughput sequencing[J]. PLoS One, 10(5): e0125549.
- Muehe E M, Weigold P, Adaktylou I J, Britta P F, Kremer U, Kappler A, Behrens S. 2015. Rhizosphere microbial community composition affects cadmium and zinc uptake by the metal-hyperaccumulating plant *Arabidopsis halleri* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 81(6): 2173-2181.
- Navarrete A A, Diniz T R, Braga L P, Silva G G, Franchini J C, Rossetto R, Edwards R A, Tsai S M. 2015. Multi-analytical approach reveals potential microbial indicators in soil for sugarcane model systems[J]. PLoS One, 10(6): e0129765.
- Tkacz A, Cheema J, Chandra G, Grant A, Poole P S. 2015. Stability and succession of the rhizosphere microbiota depends upon plant type and soil composition[J]. The ISME Journal, 9(11): 2349-2359.
- Tkacz A, Poole P. 2015. Role of root microbiota in plant productivity[J]. Journal of Experimental Botany, 66(8): 2167-2175.

(责任编辑 麻小燕)