

任豆根际土壤微生物群落结构及多样性的季节变化

邓慧莲, 陈乐, 黄必乐, 林汉业, 罗美东, 覃勇荣*, 刘旭辉*

河池学院化学与生物工程学院, 广西 宜州

收稿日期: 2022年2月21日; 录用日期: 2022年3月17日; 发布日期: 2022年3月25日

摘要

为了说明不同植被对桂西北岩溶地区土壤质量变化的影响, 以中国特有植物任豆人工林为研究对象, 采集其根际土壤样品, 用Illumina MiSeq高通量测序技术, 分析其根际土壤细菌群落组成和物种多样性特征, 测定其土壤基本理化特性和蔗糖酶、脲酶、过氧化氢酶及碱性磷酸酶活性, 并对其根际土壤微生物多样性与土壤理化特性的相关性进行分析。结果表明: 1) 受不同季节大气温度、降雨量、植物生长发育及土壤理化特性等因子的影响, 桂西北岩溶地区任豆根际土壤养分具有较明显的季节差异, 土壤微生物群落结构及物种多样性也有相应的动态变化, 两者具有一定的内在联系和相关性。2) 任豆根际土壤细菌群落结构、物种丰富度及多样性有比较明显的季节差异。3) 在不同层次的细菌分类水平上, 不同季节任豆根际土壤细菌群落结构相似, 但优势种群的相对丰度有差异。在门水平上, 秋冬季与春夏季任豆根际土壤细菌的优势菌门均为放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门, 但两者丰度存在一定的差异, 后者的稀有菌门相对丰度比前者更高; 与秋冬季相比, 在门以下的各个水平, 春夏季任豆根际土壤细菌的群落结构更加复杂, 特有种数量更多, 丰富度更高。由此可见, 不同季节任豆根际土壤细菌群落结构及多样性有较明显的变化, 春夏季任豆根际土壤微生物群落结构比秋冬季复杂, 其物种多样性也高于秋冬季。

关键词

任豆人工林, 根际土壤微生物, 群落结构, 物种多样性, 季节变化

Seasonal Dynamics of Microbial Community Structure and Diversity in the Rhizosphere Soil of *Zenia insignis* Chun

Huilian Deng, Le Chen, Bile Huang, Hanye Lin, Meidong Luo, Yongrong Qin*, Xuhui Liu*

School of Chemistry and Biological Engineering, Hechi University, Yizhou Guangxi

*通讯作者。

文章引用: 邓慧莲, 陈乐, 黄必乐, 林汉业, 罗美东, 覃勇荣, 刘旭辉. 任豆根际土壤微生物群落结构及多样性的季节变化[J]. 农业科学, 2022, 12(3): 196-213. DOI: 10.12677/hjas.2022.123029

Abstract

In order to illustrate the effect of different vegetation on soil quality changes in the karst area of northwest Guangxi, the rhizosphere soil samples were collected from the endemic plant *Z. insignis* plantation in China, and the bacterial community in the rhizosphere soil was analyzed by Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology. The composition and species diversity characteristics of the soil were determined, and the basic physical and chemical properties of the soil and the activities of invertase, urease, catalase and alkaline phosphatase were determined, and the correlation between the microbial diversity of the rhizosphere soil and the soil physical and chemical properties was analyzed. The results show that: 1) Affected by factors such as atmospheric temperature, rainfall, plant growth and development, and soil physical and chemical properties in different seasons, the rhizosphere soil nutrients of *Z. insignis* in the karst area of northwest Guangxi have obvious seasonal differences, soil microbial community structure and species diversity also have corresponding dynamic changes, and the two have a certain internal connection and correlation. 2) There were obvious seasonal differences in the bacterial community structure, species richness and diversity in the rhizosphere soil of *Z. insignis*. 3) At different levels of bacterial taxonomy, the rhizosphere soil bacterial community structure of *Z. insignis* in different seasons was similar, but the relative abundance of the dominant populations was different. At the phylum level, the dominant bacterial phyla in the rhizosphere soil bacteria of *Z. insignis* in autumn and winter and spring and summer are Actinobacteria, Proteobacteria, Acidobacteria, and Chloroflexbacteria, but there are certain differences in abundance of the latter. The relative abundance of rare bacteria is higher than the former. Compared with autumn and winter, at all levels below the phylum, the community structure of rhizosphere soil bacteria in the *Z. insignis* in spring and summer was more complex, with more endemic species and higher abundance. It can be seen that there are obvious changes in the bacterial community structure and diversity in the rhizosphere soil of *Z. insignis* in different seasons. The microbial community structure of the rhizosphere soil of *Z. insignis* in spring and summer is more complex than that in autumn and winter, and its species diversity is also higher than that in autumn and winter.

Keywords

Zenia insignis Plantation, Rhizosphere Soil Microorganisms, Community Structure, Species Diversity, Seasonal Dynamics

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

土壤微生物是土壤生态系统中极其重要和活跃的生物因子，直接参与植物凋落物分解、养分循环、根系养分吸收等土壤生态系统过程，对植物生长、种内和种间竞争、植物群落演替、生态系统功能的正常发挥及其稳定性均有重要的影响[1]。土壤微生物多样性及其群落结构不仅影响植物的生长发育，而且在一定程度上可以反映土壤生态系统的基本状态[2]。目前，关于土壤微生物多样性的研究，大部分集中在农田施肥及农艺措施对土壤微生物多样性的影响[3]-[9]、不同植被土壤微生物多样性及群落结构的季节

差异[10]、森林植被土壤养分和酶活性及微生物数量的季节变化[11] [12] [13]、土壤微生物群落对凋落物分解的影响[14]、不同生境土壤微生物群落结构及多样性的差异[15]、人为干扰对土壤微生物多样性的影响[16] [17]、重金属胁迫对土壤微生物多样性的影响[18] [19]、不同植被土壤微生物多样性特征[20] [21] [22]、不同土地利用方式对土壤结构和微生物群落结构及微生物多样性的影响[23] [24] [25] [26]、植物凋落物组成及多样性对土壤微生物群落结构和功能的影响[27] [28] [29] [30]、植物根际土壤微生物多样性与土壤理化因子的相关性[31]、土壤微生物多样性分析的技术方法[32] [33]等方面,关于岩溶地区土壤微生物多样性的研究相对较少,工作也有待深入。笔者多年来一直关注桂西北喀斯特地区生态环境问题,曾发表过一些与土壤生态修复及微生物多样性变化相关的研究成果,有一定的工作基础[18] [21] [34] [35]。

土壤酶主要由土壤微生物和动植物分泌以及通过分解动植物残体形成[36],是土壤中生物化学反应的催化剂,能促进土壤中的物质循环和各种生物化学过程,并容易受到季节变化和人为干扰的等外在因素的影响[37]。土壤酶活性不仅能反映土壤生物学指标,而且能表征土壤养分转化和转移能力的强弱,是评价土壤肥力的重要参数[38]。周礼凯[39]等人的研究表明,可以将土壤脲酶、蔗糖酶、过氧化氢酶和磷酸酶活性作为表征土壤肥力的重要指标。

任豆是我国的特有植物,同时也是我国华南和西南地区常见的乡土树种,对生境要求不高,萌芽能力强,侧根粗壮,穿透力强,可在石缝中正常生长,既能固氮,又耐干旱瘠薄,是岩溶地区石漠化治理和造林绿化的优良先锋树种[40]。目前,关于任豆的研究主要集中在种子发芽、幼苗培育[41]、板材加工[42]、生理生态[43]、木本饲料开发利用及营养评价[44] [45] [46]、土壤重金属污染修复[47]等方面,但关于不同季节任豆根际土壤微生物多样性变化的研究鲜少报道。笔者以当地栽培的任豆人工林为研究对象,利用高通量测序技术,对不同季节任豆根际土壤微生物群落结构及多样性的变化特点进行探究,通过比较分析的方法,说明不同季节任豆根际土壤微生物群落结构和多样性的差异及其影响因素,了解土壤质量变化的过程和机制,该研究成果可为岩溶地区植被恢复和石漠化治理提供理论参考。

2. 材料与方 法

2.1. 样品的采集及处理

本研究的区域位于广西壮族自治区河池市宜州区境内,属于亚热带季风气候,年均气温为 20.3℃,年均降雨量 1448.6 mm,主要集中在 4~8 月,其中 5~7 月降雨最多。2019 年 3 月至 2020 年 1 月,选择宜州区庆远镇叶茂村种植年限超过 25 年的任豆人工林样地,该样地总面积超过 15 hm²,分别在春、夏、秋、冬 4 个不同季节,按“S”形采样法,每两个月的中旬采一次土壤样品,采集正常生长的任豆植株树冠垂直投影范围内 0~20 cm 的根际土,过 10 目标准筛,将 5 个采样点的土壤样品充分混合(每个采样点的距离超过 200 m),然后,按四分法取一部分土壤样品装入灭菌的塑料采样袋中,低温保存,尽快带回实验室,放入-86℃超低温冰冻箱中保存,用于土壤微生物 DNA 序列测定及微生物多样性分析;另一部分土壤样品带回实验室后自然风干、研磨过筛后,密封于聚乙烯塑料封口袋中,做好标记和记录,阴凉干燥处保存,供土壤理化性质及土壤酶活性的测定。

2.2. 实验方法

2.2.1. 土壤理化性质的测定

土壤 pH 的测定用电位法(水土的比例为 2.5:1),土壤水分含量的测定用重量法,土壤有机质含量测定用重铬酸钾氧化——分光光度法,土壤全氮含量测定用半微量凯氏定氮法,土壤碱解氮含量测定用碱解扩散法,土壤全磷含量测定用氢氧化钠熔融——钼锑抗比色法,土壤速效磷含量的测定用碳酸氢钠浸提——钼锑抗分光光度法,土壤全钾含量的测定用氢氧化钠碱熔——火焰光度法,土壤速效钾含量的测定

用乙酸铵浸取——火焰光度计法[48]。

2.2.2. 土壤酶活性的测定

脲酶活性的测定用靛酚蓝比色法[49]，碱性磷酸酶活性的测定用磷酸苯二钠比色法[50]，土壤过氧化氢酶活性的测定用高锰酸钾滴定法，蔗糖酶活性的测定用 3,5-二硝基水杨酸比色法[51]。

2.2.3. 土壤微生物 DNA 序列测定

采用 Illumina MiSeq 平台对测序样本进行双端测序，首先提取实验样品的总 DNA，进行 PCR 扩增，扩增区域为 16S-V4，用高通量测序仪 Miseq 对其进行测序。测序流程为：样品准备→DNA 提取与检测→PCR 扩增→产物纯化→文库制备及库检→Miseq 上机测序。

2.3. 数据处理

在土壤理化性质的测定中，每个样品的测定均做 3 个重复，结果取其平均值；在土壤酶活性的测定中，每个样品做 3 个重复并做 1 个无基质对照和 3 个无土对照；土壤微生物测序数据，对所有样品的全部有效序列进行聚类 and 去噪、拼接、并且去嵌合体形成 OTU，选取 OTU 的代表性序列，对 OTU 进行丰度、Alpha 多样性计算等分析，得到样本内物种丰富度和均匀度信息、不同样本或分组间的共有和特有的 OTU 信息等。将高通量测序获得的有效数据按照 97% 的一致性序列聚类为 OTU 后，与数据库进行比对获得物种注释信息，去除没有注释结果的 OTU，剩余的 OTU 用于后期分析。

用 Excel 2019 对以上数据进行分析处理，用 SPSS 22.0 软件进行相关性分析，用最小显著性差异法 (LSD) 对实验结果进行多重比较方差分析。

3. 结果与分析

3.1. 不同季节任豆根际土壤理化特性及土壤酶活性的差异

不同季节任豆人工林调查样地根际土壤基本理化特性及土壤酶活性的测定结果见表 1。由此可知，不同季节任豆调查样地土壤 pH 变化范围在 6.81~7.33 之间，属于中性[52]，其大小排序为 RD3 > RD5 > RD1 > RD7 > RD11 > RD9，表现为上半年相对较大，下半年相对较小；在所采集的土壤样品中，风干土的水分含量为 7.73%~11.17%，季节差异显著，其大小排序为 RD1 > RD3 > RD11 > RD7 > RD9 > RD5，即冬春季风干土水分含量高于夏秋季；从土壤有机质含量的测定结果来看，不同季节任豆人工林根际土壤有机质含量高低排序为 RD11 > RD7 > RD5/RD9 > RD3 > RD1，夏秋季土壤有机质的差异不太明显，但冬春季土壤有机质差异比较显著；不同季节任豆调查样地土壤全氮含量在 0.79~1.43 g/kg 之间，其大小排序为 RD1 > RD3 > RD5 > RD11 > RD7 > RD9，总体表现为冬春季较高，夏秋季较低，与土壤含水量的季节变化情况相似；不同季节任豆调查样地土壤碱解氮含量为 200.09~290.09 mg/kg，其高低排序为 RD9 > RD11 > RD1 > RD7 > RD5 > RD3，表现为秋冬季较高，春夏季较低，其大小排序疑似与土壤 pH 相反；不同季节任豆调查样地的土壤全磷含量在 1.23~1.61 g/kg 之间，其大小排序为 RD3 > RD11，RD9 > RD7，RD1 > RD5；土壤速效磷含量为 7.61~10.65 mg/kg，其大小排序为 RD1 > RD11 > RD9 > RD3 > RD7 > RD5，夏季土壤速效磷比较缺乏，其余季节土壤速效磷含量相对较高。不同季节任豆调查样地土壤全钾和速效钾含量分别为 4.04~4.85 g/kg 和 41.04~55.58 mg/kg，其高低排序分别为 RD7 > RD11 > RD9 > RD1 > RD3 > RD5 和 RD5 > RD3 > RD11 > RD9 > RD1 > RD7，两者的排序并不一致。

按照全国第二次土壤普查养分分级及相关标准[53] [54]，本研究的任豆调查样地土壤全磷和碱解氮含量很丰富，有机质含量中等，有效磷含量缺乏，全钾含量极度缺乏，速效钾处于缺乏和很缺乏水平，全氮处于中等至缺乏水平。

Table 1. Comparison of basic physical and chemical properties and soil enzyme activities in rhizosphere soil of *Zenia insig-nis* in different seasons**表 1.** 不同季节任豆根际土壤的基本理化特性及土壤酶活性比较

样品编号	pH	MC (%)	SOM (g/kg)	TN (g/kg)	AN (mg/kg)	TP (g/kg)	AP (mg/kg)
RD1	7.07 ± 0.01 ^b	11.17 ± 0.05 ^a	21.15 ± 0.27 ^c	1.43 ± 0.01 ^a	273.16 ± 3.23 ^b	1.37 ± 0.20 ^{bc}	10.65 ± 0.02 ^a
RD3	7.33 ± 0.06 ^a	10.00 ± 0.04 ^b	21.95 ± 0.10 ^{bc}	1.19 ± 0.00 ^{ab}	200.09 ± 7.82 ^e	1.61 ± 0.02 ^a	9.08 ± 1.32 ^b
RD5	7.27 ± 0.05 ^a	7.73 ± 0.02 ^f	22.24 ± 0.75 ^{bc}	1.10 ± 0.33 ^{bc}	216.04 ± 7.71 ^d	1.23 ± 0.05 ^c	7.61 ± 0.03 ^c
RD7	6.94 ± 0.05 ^c	8.64 ± 0.00 ^d	22.64 ± 0.78 ^{ab}	0.83 ± 0.03 ^c	247.02 ± 4.04 ^c	1.38 ± 0.06 ^{bc}	8.66 ± 0.53 ^{bc}
RD9	6.81 ± 0.02 ^d	7.90 ± 0.02 ^e	22.24 ± 0.79 ^{bc}	0.79 ± 0.07 ^c	290.09 ± 0.26 ^a	1.45 ± 0.04 ^{ab}	9.50 ± 0.27 ^{ab}
RD11	6.91 ± 0.01 ^c	8.88 ± 0.02 ^c	23.79 ± 0.46 ^a	0.86 ± 0.02 ^c	288.77 ± 2.03 ^a	1.52 ± 0.05 ^{ab}	9.71 ± 0.36 ^{ab}

样品编号	TK (g/kg)	AK (mg/kg)	TEMP (°C)	MTP (mm)	CUC (mg/g)	URE (mg/g)	ALP (mg/g)	CAT (mg/g)
RD1	4.17 ± 0.15 ^{bc}	42.72 ± 2.65 ^c	10.10 ^e	44.80 ^c	17.45 ± 0.22 ^a	0.36 ± 0.05 ^d	1.63 ± 0.01 ^b	0.60 ± 0.03 ^c
RD3	4.09 ± 0.07 ^c	51.74 ± 0.86 ^{ab}	15.90 ^d	63.00 ^d	16.70 ± 0.14 ^a	0.49 ± 0.02 ^{bc}	1.51 ± 0.02 ^d	0.84 ± 0.03 ^a
RD5	4.04 ± 0.03 ^c	55.58 ± 2.56 ^a	24.50 ^c	197.00 ^a	16.83 ± 0.19 ^a	0.33 ± 0.03 ^d	1.52 ± 0.03 ^{cd}	0.70 ± 0.10 ^{bc}
RD7	4.85 ± 0.01 ^a	41.04 ± 2.32 ^c	28.30 ^a	170.00 ^b	16.60 ± 0.34 ^a	0.44 ± 0.03 ^c	1.60 ± 0.03 ^{bc}	0.72 ± 0.06 ^{abc}
RD9	4.48 ± 0.06 ^{abc}	49.19 ± 3.01 ^b	26.00 ^b	87.10 ^c	16.85 ± 0.55 ^a	0.58 ± 0.01 ^{ab}	1.46 ± 0.05 ^d	0.74 ± 0.02 ^{ab}
RD11	4.70 ± 0.59 ^{ab}	50.92 ± 3.26 ^{ab}	16.50 ^d	61.20 ^d	16.76 ± 0.39 ^a	0.55 ± 0.05 ^a	1.75 ± 0.02 ^a	0.71 ± 0.04 ^{bc}

注：① 样品编号中的数字为采样的月份；② 同一列数据中的不同字母表示差异显著(0.05 水平)；③ 表中符号 MC、SOM、TN、AN、TP、AP、TK、AK、TEMP、MTP、CUC、URE、ALP、CAT 分别表示土壤含水量、有机质、全氮、碱解氮、全磷、速效磷、全钾、速效钾、月均气温、月降雨量、蔗糖酶活性、脲酶活性、碱性磷酸酶活性和过氧化氢酶活性。下表同。

由表 1 可知，不同季节任豆调查样地土壤蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶、过氧化氢酶活性分别为 16.60~17.45 mg/g、0.33~0.58 mg/g、1.46~1.75 mg/g、0.60~0.84 mg/g，其大小排序分别为 RD1 > RD9 > RD5 > RD11 > RD3 > RD7、RD9 > RD11 > RD3 > RD7 > RD1 > RD5、RD11 > RD1 > RD7 > RD5 > RD3 > RD9、RD3 > RD9 > RD7 > RD11 > RD5 > RD1，除蔗糖酶之外，其余三种土壤酶活性均有一定的季节差异。

3.2. 不同季节样地土壤细菌 OTU 差异比较

3.2.1. 细菌测序数据过滤

使用 QIIME 2 软件中的 DADA2 插件对所有样本的全部原始序列(input)进行质量控制(filtered)，去噪(纠正测序错误的序列，denoised)，拼接(merged)，并且去嵌合体(non-chimeric)，形成 OTU，表 2 显示了该过程各个步骤之后剩余序列数目。原始测序数据保留率较高，在 84.24%~87.33%之间。也就是说，该结果能比较真实地反映 6 个不同调查样地的土壤细菌群落。

3.2.2. OTU Venn 图

本项目研究的样本共 6 个，按不同季节分组，分别为春夏组(SS)、秋冬组(AW)。OUT Venn 图可以比较直观的表现样本在 OTU 水平上的组成相似性及重叠情况，包括共有的和特有的 OUT (见图 1)。由此可知，不同季节任豆调查样地的土壤细菌群落均有重复，其中，SS 组和 AW 组共有的土壤细菌 OTU 数为 944，SS 组特有的 OTU 为 1126，AW 组特有的 OTU 为 640。可见，在不同季节中，土壤细菌群落有一定差别，春夏季特有的细菌群落比秋冬季多，说明土壤细菌群落结构和多样性受季节变化的影响。

Table 2. Statistical table of DADA2 denoising process to generate OTU
表 2. DADA2 去噪生成 OTU 的过程统计表

sample-id	input	filtered	percentage of input passed filter	denoised	merged	percentage of input merged	non-chimeric	percentage of input non-chimeric
RD1	44,954	38,326	85.26	32,780	22,201	49.39	21,230	47.23
RD3	43,948	38,381	87.33	33,238	22,481	51.15	21,216	48.28
RD5	46,679	40,318	86.37	34,879	24,806	53.14	23,811	51.01
RD7	49,307	43,436	88.09	36,843	24,681	50.06	23,374	47.41
RD9	41,573	35,023	84.24	29,689	20,039	48.20	18,990	45.68
RD11	56,508	48,436	85.72	41,104	27,331	48.37	25,730	45.53

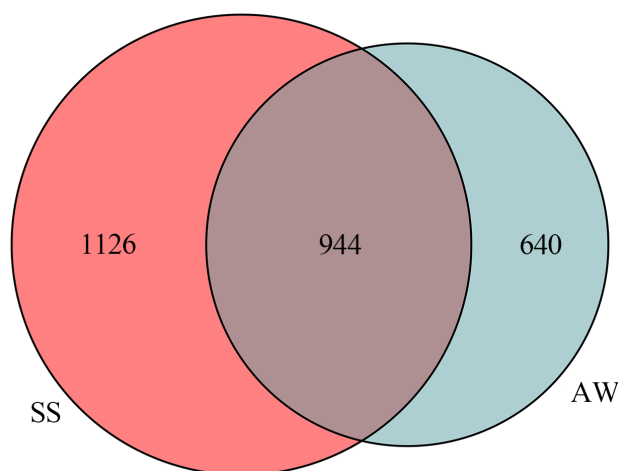


Figure 1. Venn diagram of soil bacteria in *Zenia insignis* survey plots in different seasons

图 1. 不同季节任豆调查样地土壤细菌的 Venn 图

3.3. 土壤细菌 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性指数是对某个样本中物种多样性的分析,包含样本中的物种组成的丰富度和均匀度两个因素,通常用 Chao1, Shannon 以及 Simpson 等指数来评估某个样本的物种多样性。在 Alpha 多样性指数中,Shannon 指数和 Chao1 指数的数值越大,说明被测样本物种多样性越高;Observed species 指数值越高,表明样本物种丰富度越高;而 Simpson 指数值越小,说明被测样本物种的生物多样性越高。由表 3 可知,本研究样地的土壤微生物 Alpha 多样性指数值,其 Coverage 值都在 98%以上,说明样本中序列检测的概率高。春夏季土壤微生物的 Observed species 指数、Simpson 指数、Chao1 指数和 Shannon 指数都大于秋冬季指数值;说明春夏季土壤微生物菌群多样性高于秋冬季。

Table 3. Soil bacterial diversity index
表 3. 土壤细菌多样性指数

样品编号	Chao1 指数	Observed species 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	覆盖率 Coverage
SS	1031.94	1030.00	9.41	0.998	0.98
AW	865.18	864.67	9.10	0.997	0.98

3.4. 不同水平土壤细菌群落组成

3.4.1. 门水平

图 2 为不同季节任豆调查样地的土壤细菌群落在门水平的物种丰度柱状图。图中不同的细菌门类被不同颜色标记，颜色的比例大小表示该细菌门类物种的相对丰度大小。由图 2 和表 4 可知，在 AW 组和 SS 组中，相对丰度大于 1% 的细菌菌群相对丰度总和分别为 99.10%、98.23%，其中 AW 组和 SS 组的土壤细菌优势菌门均为放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门，但丰度不同；AW 组中的放线菌门和变形菌门的相对丰度比 SS 组高，而 SS 组中的酸杆菌门、绿弯菌门相对丰度高于 AW 组。说明在门水平上，不同季节任豆调查样地的土壤细菌群落结构相似，但丰度有一定的差异。

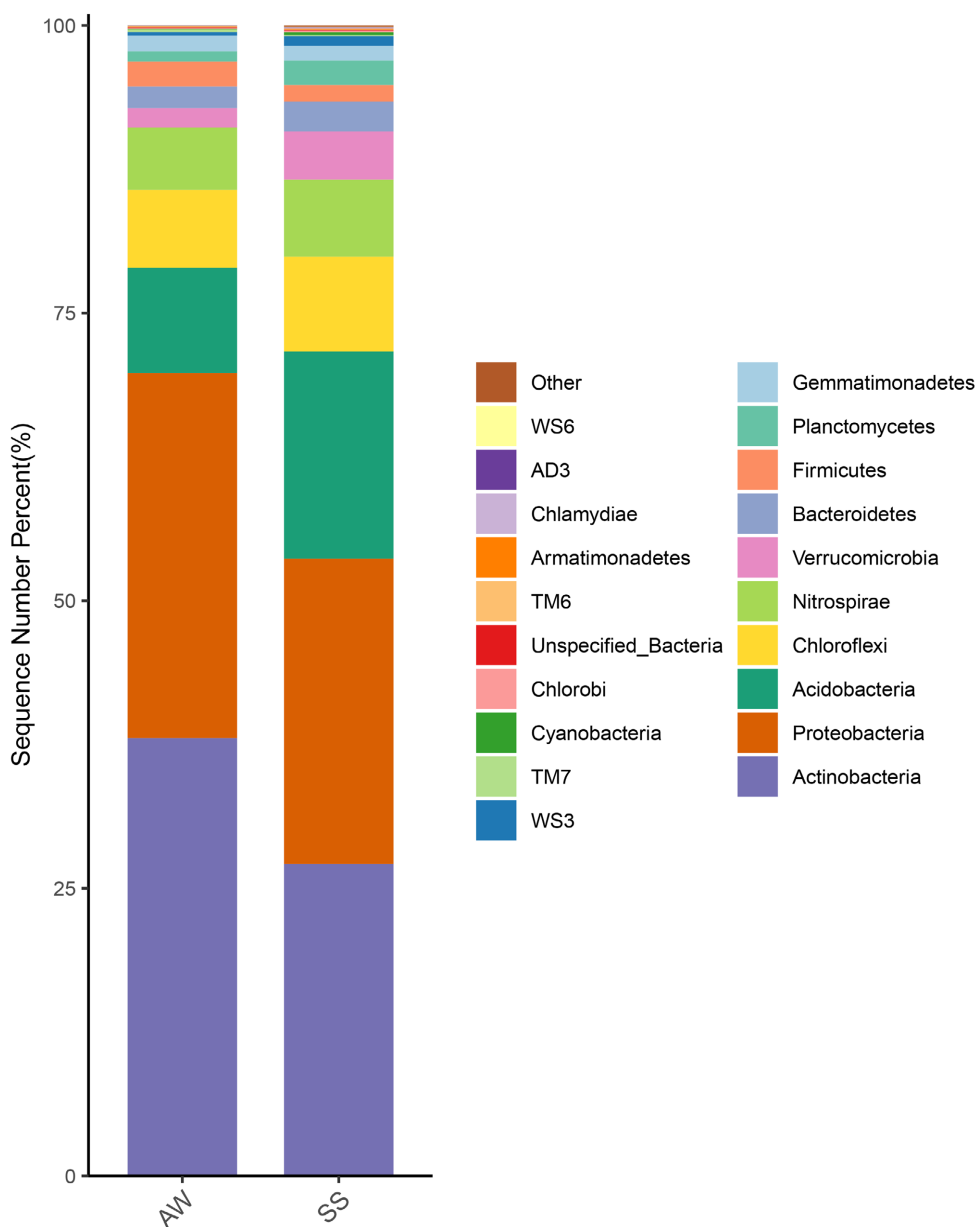


Figure 2. Histogram of species abundance at the phylum level

图 2. 门水平物种丰度柱状图

Table 4. Comparison of relative abundances at the phylum level of soil bacteria
表 4. 土壤细菌门水平的相对丰度比较

细菌种类	样本分组	
	AW	SS
放线菌门(Actinobacteria)	38.05%	27.13%
变形菌门(Proteobacteria)	31.74%	26.52%
酸杆菌门(Acidobacteria)	9.15%	18.00%
绿弯菌门(Chloroflexi)	6.77%	8.26%
硝化螺旋菌门(Nitrospirae)	5.42%	6.70%
疣微菌门(Verrucomicrobia)	1.70%	4.17%
拟杆菌门(Bacteroidetes)	1.87%	2.60%
厚壁菌门(Firmicutes)	2.15%	1.45%
浮霉菌门(Planctomycetes)	0.90%	2.13%
芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)	1.35%	1.27%
稀有门类	0.90 %	1.77 %

为了说明不同样本之间的关系，本实验选取物种相对丰度排序前 20 的物种进行聚类，通过聚类分析，考察不同样本之间的相似性或差异性，结果见图 3。图的上方和左侧的聚类树为物种在所有样本中的丰度分布相似程度聚类，如果两个样本之间距离越近，相连接的线段越短，表明两个样本之间土壤细菌的物种组成及丰度越相似。由图 3 可知，从横向聚类可以看出 RD11 和 RD9、RD5 和 RD7 聚为一类，线段最短，说明 RD11 和 RD9、RD5 和 RD7 样地土壤细菌的相对丰度和组成种类相似度最高；RD1、RD11 和 RD9 聚成的类别与 RD3、RD5 和 RD7 聚成的类别通过最长的线段相连，说明 AW 组与 SS 组的土壤细菌种类和相对丰度存在较大的差异。从纵向聚类可以看出，硝化螺旋菌门和绿弯菌门聚为一类，且线段最短，说明硝化螺旋菌门和绿弯菌门在土壤中的丰度最相似；其他细菌门类的相互关系，具体情形见图 3。

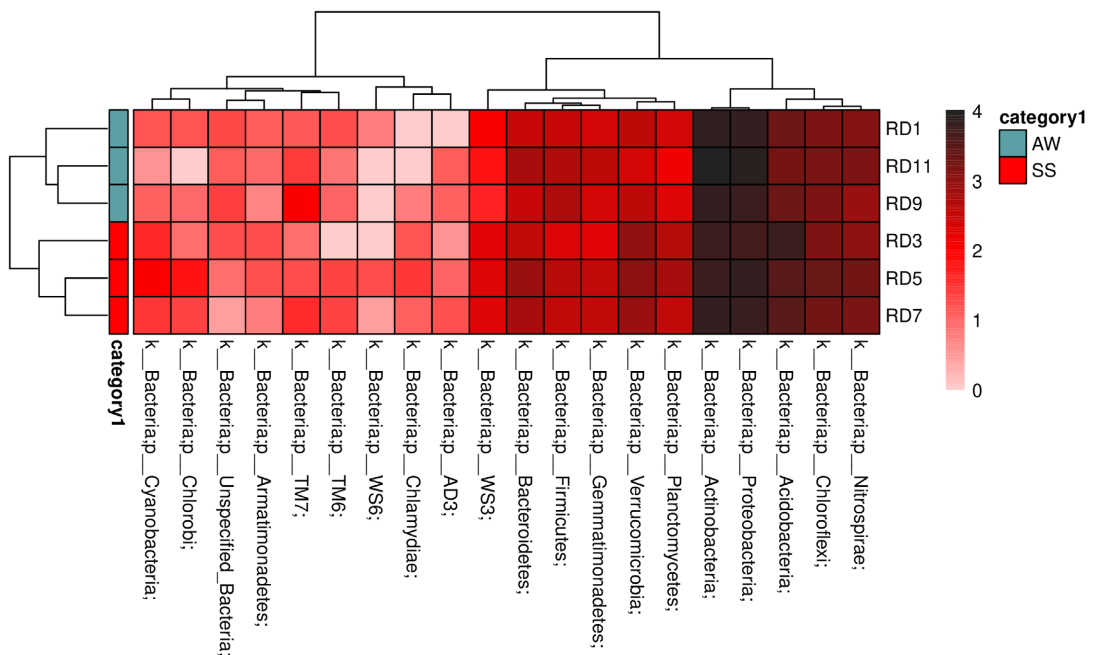


Figure 3. Heat map of species abundance of soil bacterial community at the phylum level
图 3. 门水平土壤细菌群落物种丰度热图

3.4.2. 纲水平

在纲水平上, AW 组的优势菌纲分别为 Alphaproteobacteria (20.27%)、Thermoleophilia (19.74%)、Actinobacteria (8.58%)、Acidimicrobiia (7.62%)、Acidobacteria_6 (5.73%)、Deltaproteobacteria (5.54%)、Nitrospira (5.42%), 这 7 个纲的土壤细菌相对丰度均大于 5%, 其中, Alphaproteobacteria 与 Thermoleophilia 的土壤细菌相对丰度均大于 19%; SS 组的优势菌纲分别为 Alphaproteobacteria (14.74%)、Thermoleophilia (13.69%)、Acidobacteria_6 (13.03%)、Nitrospira (6.70%)、Deltaproteobacteria (5.84%)、Actinobacteria (5.66%)、Acidimicrobiia (5.43%), 其中, Alphaproteobacteria、Thermoleophilia 与 Acidobacteria_6 的土壤细菌相对丰度均大于 13%。通过比较分析发现, 在纲水平上, AW 组和 SS 组的土壤细菌群落结构相似, 只是相对丰度有较大差异。

3.4.3. 目水平

在目水平上, AW 组与 SS 组土壤细菌相对丰度大于 1% 的细菌菌群相对丰度总和分别为 82.36% 和 78.05%。AW 组的优势菌目依次为 Rhizobiales (15.86%)、Gaiellales (15.67%)、Actinomycetales (8.21%)、Acidimicrobiales (7.62%)、Nitrospirales (5.42%)、iii1_15 (5.36%), 这 6 个优势菌目的相对丰度均大于 5%, 累计相对丰度为 58.14%; SS 组的优势菌目依次为未指明菌种 iii1_15 (11.74%)、Rhizobiales (11.40%)、Gaiellales (10.86%)、Nitrospirales (6.70%)、Acidimicrobiales (5.43%)、Actinomycetales (5.36%), 这 6 个优势菌目的相对丰度均大于 5%, 累计相对丰度为 51.49%。说明在目水平上, 不同季节任豆调查样地土壤细菌的物种组成相似, 但相对丰度差异较大。

3.4.4. 科水平

在科的水平上, AW 组土壤优势菌科为 Gaiellaceae (15.46%)、Hyphomicrobiaceae (12.10%)、0319_6A21 (4.76%)、Unspecified_iii1_15 (4.55%)、Unspecified_Solirubrobacterales (3.46%)、Syntrophobacteraceae (3.12%), 以上 6 个科的土壤细菌相对丰度均大于 3%, 累计相对丰度为 43.45%; SS 组土壤优势菌科为 Gaiellaceae (10.75%)、Unspecified_iii1_15 (9.41%)、Hyphomicrobiaceae (8.28%)、0319_6A21 (6.05%)、Chthoniobacteraceae (3.63%), 以上 5 个科的土壤细菌相对丰度均大于 3%, 累计相对丰度为 38.12%; Gaiellaceae、Hyphomicrobiaceae、Unspecified_iii1_15 和 0319_6A21 是任豆调查样地土壤细菌群落中相对丰度最高的 4 个科, 相对丰度均大于 4.50%; 在 AW 组中 Gaiellaceae 与 Hyphomicrobiaceae 的相对丰度均高于 SS 组, 在 SS 组中 Unspecified_iii1_15 与 0319_6A21 的相对丰度均高于 AW 组。

3.4.5. 属水平

在属水平上, 两个样本组之间的土壤细菌物种组成大致相同, 但其占比不同。AW 组与 SS 组的优势菌属均为 Unspecified_Gaiellaceae, 其中, AW 组的次优势菌属为红游动菌属(Rhodoplanes)、未指明菌属 Unspecified_0319_6A21 及 Unspecified_iii1_15; SS 组的次优势菌属为未指明菌属 Unspecified_iii1_15 与红游动菌属(Rhodoplanes)及未指明菌属 Unspecified_0319_6A21。AW 组相对丰度大于 3% 的属共有 6 个, 而 SS 组相对丰度大于 3% 的属仅有 4 个。

3.4.6. 种水平

不同季节任豆调查样地土壤细菌在种水平的相对丰度见图 4 和表 5。由此可知, 在种水平上, AW 组与 SS 组的土壤细菌优势种均为 Unspecified_Gaiellaceae, 其中, AW 组的次优势种为 Unspecified_Rhodoplanes; SS 组的次优势种为 Unspecified_iii1_15。

Table 5. Relative abundance comparison of soil bacterial at the species level
表 5. 土壤细菌种水平的相对丰度比较

细菌种类	样本分组	
	AW	SS
Unspecified_Gaiellaceae	15.46%	10.75%
Unspecified_Rhodoplanes	9.14%	6.30%
Unspecified_iii1_15	4.55%	9.41%
Unspecified_0319_6A21	4.76%	6.05%
Unspecified_Syntrophobacteraceae	3.12%	2.89%
Unspecified_Solirubrobacterales	3.46%	2.16%
Unspecified_EB1017	2.64%	1.94%
Unspecified_Ellin6529	1.60%	2.56%
Unspecified_0319_7L14	1.85%	2.12%
Unspecified_C111	1.86%	1.29%
Unspecified_AKIW874	1.81%	1.24%
Other	49.74%	53.29%

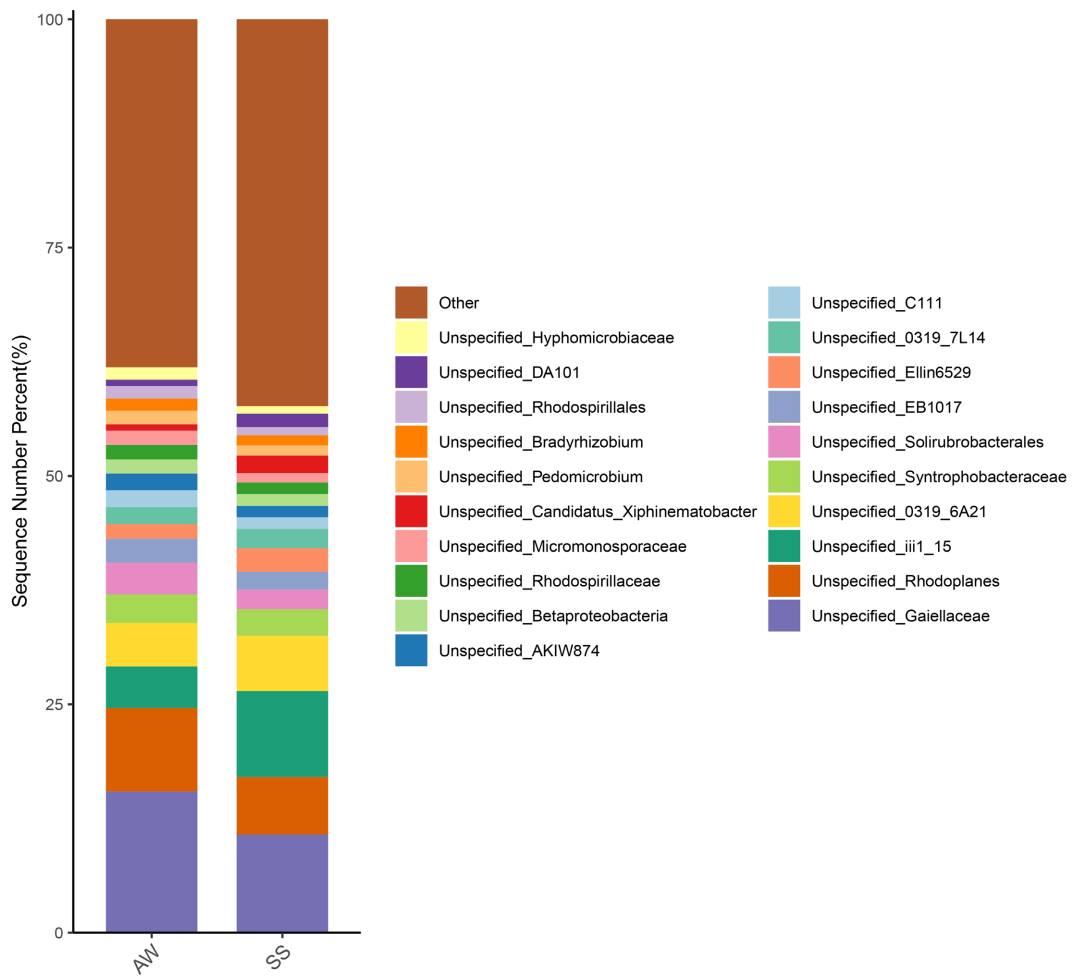


Figure 4. Histograms of species abundance at the species level
图 4. 种水平物种丰度柱状图

3.5. 相关性分析

3.5.1. 土壤细菌种类与土壤理化特性的相关性

为了说明土壤理化特性对土壤细菌群落物种多样性的影响, 对不同季节任豆调查样地土壤基本理化特性与土壤细菌相对丰度前 10 的门类进行 Spearman 相关性分析, 结果见表 6。由此可知: 疣微菌门与土壤 pH 呈显著正相关, 其余菌门与土壤 pH 呈一定程度的正相关或负相关, 但不显著; 各菌门与土壤含水量、有机质含量、全钾含量、速效钾含量、全磷含量及大气温度均有一定的相关性, 但不显著; 变形菌门、酸杆菌门、疣微菌门和浮霉菌门与土壤碱解氮含量呈显著正相关或显著负相关; 厚壁菌门与土壤全氮含量呈极显著负相关; 放线菌门、拟杆菌门和浮霉菌门分别与土壤速效磷含量呈显著正相关、显著负相关和极显著负相关; 月降雨量与绿弯菌门和拟杆菌门呈显著正相关, 与其他菌门之间虽有一定的相关性, 但不显著。

3.5.2. 土壤酶活性与土壤细菌群落种类的相关性

被测的几种土壤酶活性与不同季节任豆调查样地土壤细菌门类的相关性分析结果见表 7。由此可知, 任豆根际土壤脲酶活性与硝化螺旋菌门呈显著负相关; 蔗糖酶、碱性磷酸酶以及过氧化氢酶活性与任豆根际土壤细菌群落结构及物种多样性的相关性不显著。

Table 6. Correlations between soil physicochemical properties and soil bacterial species (phyla)

表 6. 土壤理化特性与土壤细菌种类(门)的相关性

环境因子	Act	Pro	Aci	Chl	Nit	Ver	Bac	Fir	Pla	Gem
pH	-0.657	-0.667	0.667	0.088	0.319	0.812*	0.207	-0.772	0.679	-0.393
MC	0.486	0.203	-0.203	-0.794	-0.319	-0.145	-0.621	-0.802	-0.463	0.131
SOM	0.232	0.279	-0.279	-0.045	0.265	-0.397	0.315	0.626	0.000	0.664
AK	-0.486	-0.290	0.290	0.118	0.087	0.406	0.000	-0.062	0.463	0.131
TK	0.600	0.406	0.406	-0.294	-0.087	-0.580	0.000	0.370	-0.463	0.393
AN	0.771	0.812*	-0.812*	-0.206	-0.406	-0.899*	-0.414	0.617	-0.833*	0.393
TN	-0.086	-0.087	0.087	-0.324	0.174	0.290	-0.207	-0.926**	0.123	-0.131
AP	0.886*	0.754	-0.754	-0.765	-0.522	-0.725	-0.828*	-0.247	-0.926**	0.393
TP	0.257	-0.087	0.087	-0.647	-0.696	-0.029	-0.621	-0.093	-0.309	0.393
MTP	-0.771	-0.580	0.580	0.883*	0.464	0.522	0.828*	0.525	0.772	-0.393
TEMP	-0.257	-0.203	0.203	0.618	0.203	0.029	0.621	0.802	0.278	-0.131

注: 相关性在 0.01 级别(双尾)显著用**标出, 在 0.05 级别(双尾)用*标出。用土壤细菌学名的前三个字母表示该细菌门类, 下同, 具体见表 4。

Table 7. Correlation analysis between soil enzyme activity and soil bacterial species (phylum)

表 7. 土壤酶活性与土壤细菌种类(门)的相关性

酶活性	Act	Pro	Aci	Chl	Nit	Ver	Bac	Fir	Pla	Gem
URE	0.486	0.261	-0.261	-0.412	-0.812*	-0.435	-0.621	0.463	-0.617	0.393
SUC	0.314	0.522	-0.522	0.029	-0.232	-0.406	-0.414	0.031	-0.494	-0.131
ALP	0.600	0.638	-0.638	-0.559	0.464	-0.551	0.000	-0.309	-0.278	0.655
CAT	-0.257	-0.551	0.551	-0.029	-0.609	0.377	-0.207	0.185	0.093	-0.131

注: 表中 SUC、URE、ALP、CAT 分表表示土壤蔗糖酶、脲酶、碱性磷酸酶、过氧化氢酶, 下同。

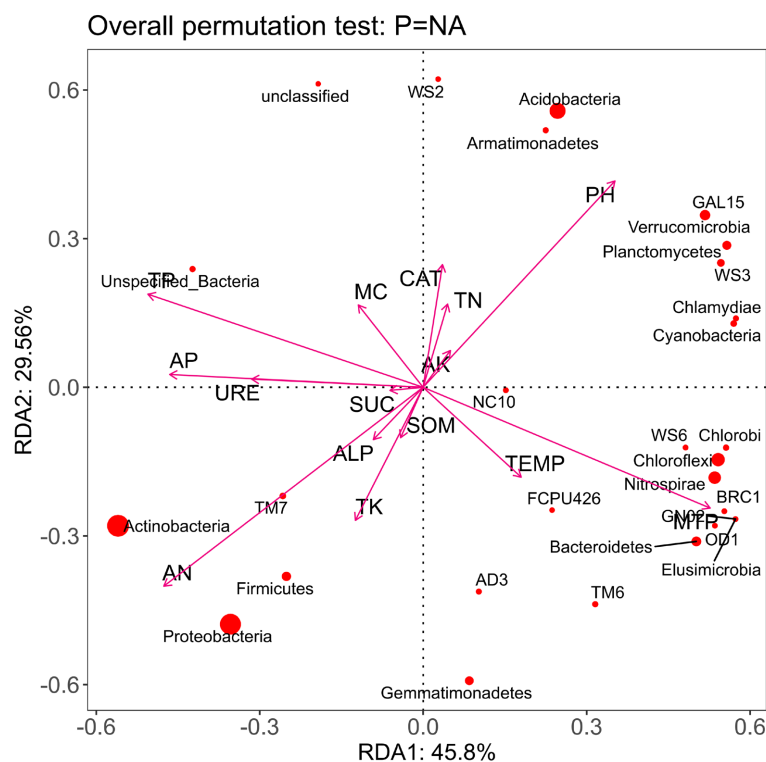
3.5.3. 土壤酶活性与土壤理化特性的相关性

不同季节任豆调查样地土壤酶活性与土壤理化因子的相关性分析结果见表 8。由此可知, 被测的 4 种土壤酶活性均与土壤 pH 呈不同程度的负相关, 与其他土壤养分及环境因子虽有一定的相关性, 但不显著。

Table 8. Correlation between soil enzyme activity and soil physicochemical properties

表 8. 土壤酶活性与土壤理化特性的相关性

酶活性	pH	MC	SOM	AK	TK	AN	TN	AP	TP	TEMP	MTP
URE	-0.657	0.029	0.348	-0.143	0.486	0.600	-0.600	0.371	0.771	0.200	-0.257
SUC	-0.200	0.086	-0.522	0.029	-0.371	0.486	0.257	0.543	-0.429	-0.429	-0.371
ALP	-0.086	0.429	0.319	-0.257	0.371	0.143	0.314	0.429	-0.143	-0.314	-0.486
CAT	-0.029	-0.086	0.116	0.086	0.143	-0.143	-0.429	-0.257	0.771	0.314	0.200



说明: 在 RDA 物种排序图内, 环境因子用箭头表示, 箭头连线的长度代表某个环境因子与土壤细菌群落分布和种类分布间相关程度的大小(解释方差的大小), 箭头越长, 说明相关性越大, 反之越小。环境因子之间的夹角为锐角时表示两个环境因子之间呈正相关关系, 钝角时呈负相关关系。每个点代表一个物种, 点越大, 对应物种丰度越高, 灰色点代表丰度较低的物种。

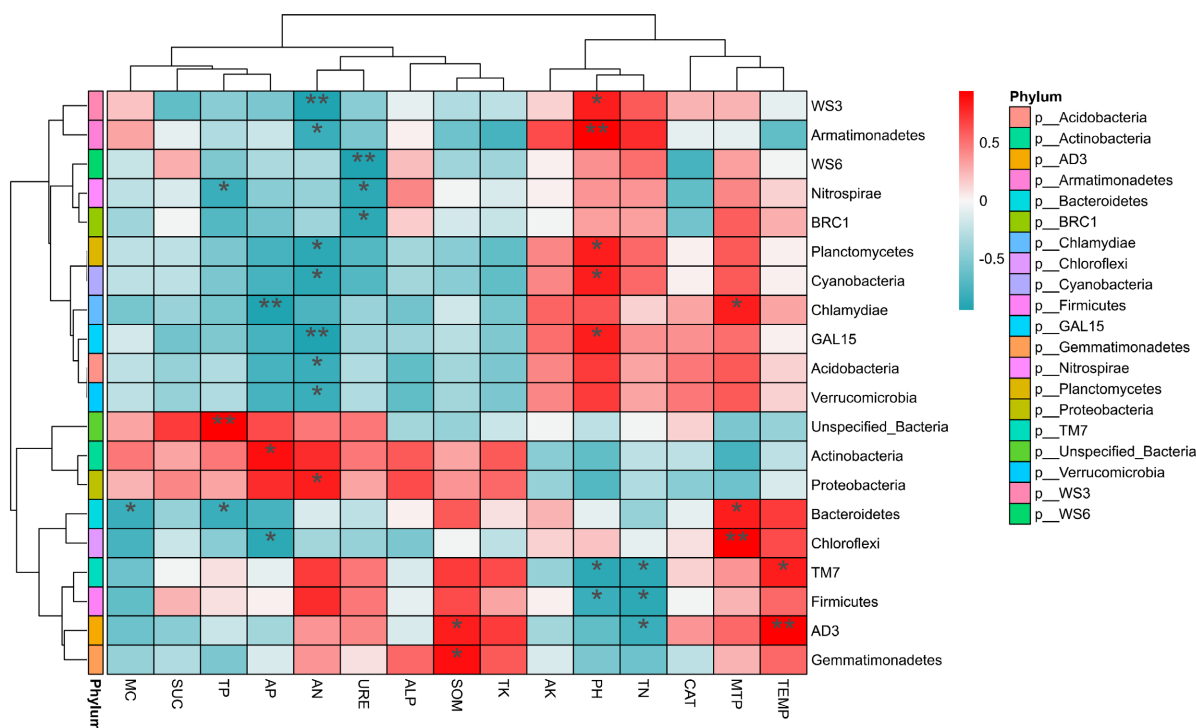
Figure 5. Correlations between different environmental factors and soil bacteria at the phylum level

图 5. 不同环境因子与土壤细菌门水平的相关性

3.5.4. 土壤微生物与环境因子的相关性分析

基于 RDA 分析的结果表明, 不同环境因子对土壤微生物有不同的影响。在不同季节任豆调查样地土

壤理化性质中, pH、TP、AP 和 AN 与土壤细菌群落结构和种群分布的相关性最大; 从气候因子来看, MTP 与土壤细菌群落和种群分布的相关性最大; 从土壤酶活性来看, URE 与土壤细菌群落结构和种群分布有比较明显的相关性。其中, 变形菌门与 TK、SOM、ALP、SUC、URE、AP 有正相关, 与 AN 有显著正相关; 放线菌门与 AN、TP、TK、ALP、URE 有正相关, 与 AP 有显著正相关; 酸杆菌门与 pH、TN、AK、CAT 有正相关, 与 AN 有显著负相关; 绿弯菌门与 MTP 有极显著正相关, 与 AP 有显著负相关; 硝化螺菌门与 pH、TN、MTP、TEMP 有正相关, 与 TP、URE 有显著负相关; 疣微菌门与 pH、TN、AK、CAT、MTP 有正相关, 与 AN 有显著负相关; 拟杆菌门与 TEMP、SOM 有正相关, 与 MTP 有显著正相关, 与 TP、MC 有显著负相关; 厚壁菌门与 AN、SOM、URE、TEMP 有正相关, 与 pH、TN 有显著负相关; 芽单胞菌门与 TK、ALP、AN、TEMP 有正相关, 与 SOM 有显著正相关。该分析结果与 3.5.1、3.5.2 和 3.5.3 的结果相似, 具体情况见图 5 和图 6。



说明: X 轴上为环境因子, Y 轴为物种。通过计算获得 R 值(秩相关)和 P 值。R 值在图中以不同颜色展示, P 值若小于 0.05 则用*号标出, 右侧图例是不同 R 值的颜色区间, 同时, 左边的色条标注了物种所属门分类。*0.01 ≤ P < 0.05, **0.001 ≤ P < 0.01, ***P < 0.001。

Figure 6. Heat map of the relationship between microbial species and phenotypes at the phylum level

图 6. 门水平微生物物种与表型之间的相互关系热图

4. 讨论

4.1. 不同季节任豆样地土壤理化特性的差异

本研究选择的任豆人工林调查样地为 20 世纪 90 年代中后期的退耕还林地, 过去主要种植玉米、甘蔗等旱地作物, 退耕还林后, 栽种任豆树已达 25 年之久, 平时既没有除草也没有施肥, 人为干扰比较少。经过植物群落的自然演替, 种植的任豆人工林已经接近自然和半自然状态, 郁闭度达到 0.8 左右, 林下植被覆盖良好, 物种丰富, 生物多样性较高, 凋落物数量比较多, 分解速度较快, 为土壤动物和土壤微

生物生长繁殖提供了良好的物质基础。土壤微生物参与土壤的形成过程,对土壤生态系统物质转化和能量传递具有重要的作用。土壤微生物群落结构及多样性与土壤营养状况密切相关[1] [2]。在影响任豆人工林土壤理化性质的诸多环境因子中,大气温度和月降雨量是一个重要的因素。从上述 RDA 分析的结果可知:月降雨量(MTP)与土壤细菌群落结构和种群的相关性最大,一般来说,大气温度适宜、水分充足的季节,土壤微生物生物量最大,微生物群落结构复杂,物种多样性最高。本研究的不同季节任豆调查样地,其根际土壤微生物不少优势菌门的相对丰度与月均气温(TEMP)呈正相关,与月降雨量(MTP)呈正相关、显著正相关或极显著正相关。该结果与余婷及李胜平等人的研究结果相似[30] [34] [55] [56]。从表 1 的实验数据可以看出:任豆人工林土壤理化特性的季节差异比较明显,上半年调查样地土壤的 pH、水分含量、全氮、速效钾、蔗糖酶活性相对较高;下半年的土壤有机质、碱解氮、全磷、有效磷、全钾、脲酶活性、碱性磷酸酶活性、过氧化氢酶活性相对较高,但部分理化指标的差异并不显著。本研究得到的实验结果,虽与该地区上下半年的月均气温及月降雨量有一定的关系,但许多问题还有待深入研究。

任豆为苏木科任豆属落叶速生阳性乔木树种[42]。在桂西北岩溶地区,上半年气温回升,降雨增加,植物生长旺盛,土壤养分消耗比较多,所以土壤有机质及其他养分含量有一定程度的降低,该结果与孙鹏跃等人对华北落叶松人工林地研究所得的结果相似[57]。由于秋季比较干旱,气温逐步下降,植物的生长速度减慢,任豆树叶逐步脱落,土壤表面枯枝落叶较多,通过凋落物分解和植物根系分泌物的作用,不断向土壤输入有机物,从而增加了土壤的养分,所以下半年任豆根际土壤有机质、速效氮、全磷、速效磷、全钾、速效钾含量有一定程度的增加,脲酶和碱性磷酸酶活性也有一定程度的提高,但土壤蔗糖酶及过氧化氢酶活性没有明显的变化,原因有待分析。被测的任豆人工林调查样地土壤样品中的全磷含量比较高,达到了全国第二次土壤普查养分分级的一级标准[53] [54],可能是由于以前人工施肥所致。但是,在钙含量较高的喀斯特地区,土壤中的磷容易与钙结合形成难溶的磷钙化合物,从而导致土壤中有效磷的匮乏[58]。地表中的磷比较缺乏,且磷属于不完全循环,所以,该样地的土壤速效磷含量较低,仅达到四级水平[53]。因为任豆具有根瘤菌,能将大气中的分子态氮还原成氨[59],增加了土壤的肥力,脲酶也具有氨化作用[60],所以任豆人工林调查样地根际土壤的速效氮含量比较高,达到很丰富的水平,与黄必乐等人的结果一致[21]。

4.2. 土壤微生物群落结构及多样性的季节差异

土壤微生物对生存环境的变化非常敏感,其群落结构及物种多样性的动态变化,可以非常及时地反映土壤养分及各种外界因子的变化。植物与根际土壤微生物之间具有非常密切的联系及良好的协同作用。根际是植物有机体与土壤生态系统进行物质交换和能量传递的重要场所,土壤是植物地上部分与地下部分联系的重要载体,土壤微生物则是两者联系的桥梁和纽带。在土壤养分缺乏的情况下,植物可以刺激根际土壤微生物的活力,诱使其分泌更多的胞外酶,提高土壤酶的活性,促使土壤养分释放和有机物分解,加速土壤生态系统能量流动和物质循环[61] [62]。在桂西北岩溶地区,四季分明,春夏和秋冬季节气候条件差异较大,季节性干旱时有发生。春天气温回升,细雨绵绵,万物复苏,随着大气降水的增多,植物开始萌动,开始了新一轮的生长,因为早春的气温比较低,所以植物生长的速度仍然比较缓慢;夏天气温逐渐回升到适合植物快速生长的范围,植物进入了迅速的生长季节,此时植物对土壤养分的需求量大增,土壤微生物也相应地变得活跃起来,加速对土壤有机质及凋落物的分解和转化,为植物提供所需的各种营养元素;秋季大气降雨逐渐减少,气温下降,任豆在落叶之前必须做好体内养分的转运和物质储备,以便减少落叶时的损耗,更好地适应冬季的低温环境;冬季气温比较低,降雨量更少,植物的生命代谢速率降低,对土壤养分的需求也相应下降。实际上,土壤微生物群落结构及多样性的变化,与其养分的季节变化是紧密相关的。在桂西北喀斯特地区,由于水热条件较好,而且任豆凋落物的含氮量

较高, 所以其分解速度比较快, 所以, 在表层的土壤中, 任豆样地土壤养分的季节变化与其土壤微生物群落结构及多样性的季节变化基本上是同步的[55]。本研究发现, 任豆根际土壤细菌群落结构及多样性存在明显的季节差异, 且春夏季高于秋冬季, 该结果与何容等人所得的结果相似[12] [63] [64]。

在门水平上, AW 组与 SS 组中的优势菌门均为放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门, 但丰度存在一定的差异, 这与李梦莎的研究结果相似[65]。在细菌各个群落中, 放线菌门和变形菌门是土壤最优势群落, 本研究发现放线菌门在两个不同分组中丰度均最高, 其中在 AW 组中有更高的相对丰度, 可能是由于放线菌门是干旱半干旱区中分布较广的类群, 其菌丝体可以降解土壤中的难溶性物质, 为自身提供养分[66]。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[67]。变形菌门包含多种代谢类种群, 其丰度越高, 土壤代谢能力越强, 且多数变形菌门细菌固氮能力较强, 有利于土壤中氮元素含量的提高[68]。在属种水平上, AW 组与 SS 组的优势菌属均为 Unspecified_Gaiellaceae, 但其占比不同。说明土壤细菌群落结构和分布与季节变化有密切的关系。

4.3. 环境因子对土壤细菌群落结构及多样性的影响

由于季节的变化, 土壤养分及各种理化因子发生了不同程度的改变, 从而使任豆根际土壤细菌群落结构及多样性发生相应的变化。生境的多样性, 导致与之相适应的土壤细菌种类的特异性和群落结构复杂性。由图 1 可知, SS 组特有的土壤细菌 OTU 明显高于 AW 组, 在各种外界因子中, 大气温度(TEMP)和月降雨量(MTP)对土壤细菌群落结构和多样性的影响最大, 该实验结果与曹升[69]及何秀峰[70]等人的研究结果相似, 但其作用机制及诸多问题还有待深入研究。

5. 结论

根据以上实验数据及分析讨论, 可以初步得到以下结论: 受不同季节大气温度、降雨量、植物生长发育及土壤理化特性等因子的影响, 桂西北岩溶地区任豆根际土壤养分具有较明显的季节差异, 土壤微生物群落结构及物种多样性也发生相应的变化, 两者具有一定的内在联系和相关性。任豆根际土壤细菌群落结构、物种丰富度及多样性有比较明显的季节差异。在不同层次的细菌分类水平上, 不同季节任豆根际土壤细菌群落结构相似, 但优势种群的相对丰度有一定的差异。在门水平上, 秋冬季与春夏季任豆根际土壤细菌的优势菌门均为放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门, 但两者丰度存在一定的差异, 后者的稀有菌门相对丰度比前者更高; 与秋冬季相比, 在门以下的各个水平, 春夏季任豆根际土壤细菌的群落结构更加复杂, 特有种数量更多, 丰富度更高。由此可见, 不同季节任豆根际土壤细菌群落结构及多样性有较明显的变化, 春夏季任豆根际土壤微生物群落结构比秋冬季复杂, 其物种多样性也高于秋冬季。

基金项目

广西自然科学基金项目(桂科自 0832273), 河池学院硕士专业学位建设基金课题(2016HJA007), 河池学院高层次人才科研启动费项目(XJ2018GKQ016), 河池学院重点实验室项目(校政发[2016] 91 号)。广西大学生创新创业计划训练项目。

参考文献

- [1] 王珍, 金轲, 丁勇, Paul C. Struik, 等. 植物-土壤微生物反馈在草地演替过程中的作用机制[J]. 中国草地学报, 2022, 44(1): 95-103.
- [2] 黄龙, 包维楷, 李芳兰, 等. 土壤结构和植被对土壤微生物群落的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27(6): 1725-1731.

- [3] 邹毅辉, 徐婧君, 陈育青, 等. 连作对百香果根际土壤微生物群落的影响[J]. 中国南方果树, 2022, 51(1): 47-53.
- [4] 钟壹鸣, 王志勇, 秦晓威, 等. 槟榔间作香露兜对土壤微生物丰度与多样性的影响[J]. 应用生态学报, 2022, 43(1): 101-109.
- [5] 刘业萍, 毛云飞, 胡艳丽, 等. 苹果园生草对土壤微生物多样性、酶活性及碳组分的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2021, 27(10): 1792-1805.
- [6] 王康婷, 伍福琳, 周忠波, 等. 高氮负荷沼液灌溉对紫色土氮素积累、淋溶和微生物多样性的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2021, 37(11): 1487-1496.
- [7] 王珏, 杜琴, 彭双, 等. 不同施肥处理对植烟土壤细菌群落的影响[J]. 土壤, 2021, 53(5): 998-1007.
- [8] 王建国, 路战远, 程玉臣, 等. 休耕对小麦和油菜田土壤生物学特性的影响[J]. 华北农学报, 2021, 36(2): 81-88.
- [9] 刘子涵, 黄方园, 黎景来, 等. 覆盖模式对旱作农田土壤微生物多样性及群落结构的影响[J]. 生态学报, 2021, 41(7): 2750-2760.
- [10] 郑文玲, 赵鸿彬, 韩冰, 等. 退化草原植物生长季土壤微生物群落结构与多样性变化[J]. 中国草地学报, 2021, 43(10): 46-54.
- [11] 王薪琪, 韩轶, 王传宽, 等. 帽儿山不同林龄落叶阔叶林土壤微生物生物量及其季节动态[J]. 植物生态学报, 2017, 41(6): 597-609.
- [12] 张德楠, 徐广平, 张中峰, 等. 十万大山地区典型此生阔叶林土壤微生物数量及酶活性的季节动态[J]. 广西植物, 2016, 36(2): 200-207.
- [13] 宋战超, 王晖, 刘世荣, 等. 南亚热带混交人工林树种丰富度与土壤微生物多样性和群落组成的关系[J]. 生态学报, 2020, 40(22): 8265-8273.
- [14] 董学德, 高鹏, 李腾, 等. 土壤微生物群落对麻栎-刺槐混交林凋落物分解的影响[J]. 生态学报, 2021, 41(6): 2315-2325.
- [15] 杨瑞娟, 王桥美, 彭文书, 等. 云南景迈山不同生境茶园根际土壤微生物群落多样性初步研究[J]. 热带作物学报, 2021, 42(4): 1182-1189.
- [16] 张磊, 贾淑娴, 李啸灵, 等. 改变凋落物和根系输入对米楮天然林土壤微生物群落的影响[J]. 水土保持学报, 2021, 35(6): 270-277.
- [17] 裴广廷, 孙建飞, 贺同鑫, 等. 长期人为干扰对桂西北喀斯特草地土壤微生物多样性及群落结构的影响[J]. 植物生态学报, 2021, 45(1): 74-84.
- [18] 解文慧, 刘旭辉, 陈霖虹, 等. 不同重金属胁迫对乡土树种根际土壤微生物多样性的影响[J]. 农业科学, 2021, 11(4): 400-411.
- [19] 王彦雨, 夏远巧, 葛高飞. 铅胁迫对黄褐土微生物区系和功能多样性的影响[J]. 土壤通报, 2021, 52(5): 1114-1120.
- [20] 王占青, 张杰雪, 杨雪莲, 等. 高寒草甸不同斑块草地土壤微生物多样性特征研究[J]. 草地学报, 2021, 29(9): 1916-1926.
- [21] 黄必乐, 邓慧莲, 解文慧, 等. 不同植被对桂西北岩溶地区土壤微生物多样性的影响[J]. 农业科学, 2021, 11(7): 658-677.
- [22] 黄龙, 包维楷, 李芳兰, 等. 土壤结构和植被对土壤微生物群落的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27(6): 1725-1731.
- [23] 张向前, 杨文飞, 徐云姬. 中国主要耕作方式对旱地土壤结构及养分和微生态环境影响的研究综述[J]. 生态环境学报, 2019, 28(12): 2464-2472.
- [24] 陈霖虹, 林汉业, 邓慧莲, 等. 不同土地利用方式对石山坡地土壤微生物多样性的影响[J]. 可持续发展, 2021, 11(5): 672-687.
- [25] 何寻阳, 苏以荣, 梁月明, 等. 喀斯特峰丛洼地不同退耕模式土壤微生物多样性[J]. 应用生态学报, 2010, 21(2): 317-324.
- [26] 时鹏, 王淑平, 贾书刚, 等. 三种种植方式对土壤微生物群落组成的影响[J]. 植物生态学报, 2011, 35(9): 965-972.
- [27] 陈法霖. 植物凋落物组成对土壤微生物群落结构和功能的影响[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 湖南农业大学, 2009.
- [28] 王利彦, 周国娜, 朱新玉, 等. 凋落物对土壤有机碳与微生物功能多样性的影响[J]. 生态学报, 2021, 41(7): 2709-2718.
- [29] 王小平, 杨雪, 杨楠, 等. 凋落物多样性及组成对凋落物分解和土壤微生物群落的影响[J]. 生态学报, 2019,

- 39(17): 6264-6272.
- [30] 余婷, 田野. 森林生态系统凋落物多样性对分解过程和土壤微生物特性影响研究进展[J]. 生态科学, 2020, 39(1): 213-223.
- [31] 高慧芳, 许佳音, 孟婷, 等. 太子参根际土壤微生物多样性及其与土壤主要理化因子的相关性[J]. 福建农业学报, 2021, 36(3): 345-357.
- [32] 卢宝慧, 高成林, 赵玥, 等. 运用高通量测序技术分析人参不同栽培模式根际土壤微生物多样性[J]. 东北林业大学学报, 2021, 49(3): 113-119.
- [33] 赵兴丽, 卢声洁, 贺圣凌, 等. 基于高通量测序技术的茶树根际土壤细菌多样性及土壤有益微生物对茶炭疽病发生的影响[J]. 茶叶通讯, 2020, 47(4): 597-603.
- [34] 覃勇荣, 白新高, 刘旭辉. 桂西北岩溶地区不同植被土壤养分及微生物生理类群数量的季节变化[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(24): 273-280.
- [35] 杨泽良, 任建行, 况园园, 等. 桂西北喀斯特不同植被演替阶段土壤微生物群落多样性[J]. 水土保持研究, 2019, 26(3): 185-191.
- [36] 鄢紫薇, 高璟赟, 张秀玲, 等. 不同水分处理对华中地区稻田土壤酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(1): 91-98.
- [37] 赵思宇. 盘锦湿地微生物多样性及土壤酶活性的研究[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 沈阳师范大学, 2019.
- [38] 李远远. 连作烟田土壤微生物多样性及微生物制剂应用研究[D]: [硕士学位论文]. 郑州: 郑州大学, 2017.
- [39] 周礼凯, 张志明, 曾承绵. 土壤酶活性的总体在评价土壤肥水平的作用[J]. 土壤学报, 1983, 20(4): 413-418.
- [40] 侯远瑞, 钟瑜, 黄小荣, 等. 喀斯特石山翅荚木人工林林下植物多样性分析[J]. 防护林科技, 2020(11): 6-8+14.
- [41] 唐文秀, 盘波, 隗红燕, 等. 广西不同种源任豆种子萌发和幼苗生长特性的对比研究[J]. 种子, 2019, 38(12): 93-98.
- [42] 侯伦灯, 李玉蕾, 李平宇, 等. 任豆树综合利用研究[J]. 林业科学, 2001, 37(3): 139-143.
- [43] 陆奇丰, 黄至欢, 唐文秀. 6个不同种源任豆树幼苗对干旱胁迫的生理响应[J]. 天津农业科学, 2019, 25(8): 1-7.
- [44] 曹艳红, 杨帆, 陈少梅, 等. 南方七种常见饲用植物营养价值分析[J]. 中国饲料, 2020(17): 117-121.
- [45] 蓝芙宁, 蒋忠诚, 谢运球, 等. 岩溶峰丛山地几种植物营养价值及饲喂效果研究[J]. 草业科学, 2008, 25(11): 84-87.
- [46] 范霭萱, 梁兆彦, 宋喜宣. 值得开发利用的木本饲料——任豆树[J]. 广西畜牧兽医, 1995, 11(2): 20-23.
- [47] 覃勇荣, 覃艳花, 严军, 等. EDTA 对桑树和任豆幼苗吸收重金属 Pb 的影响[J]. 南方农业学报, 2011, 42(2): 168-172.
- [48] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版) [M]. 北京: 中国农业出版社, 2018.
- [49] 黄娟, 李稹, 张健. 改良靛酚蓝比色法测土壤脲酶活性[J]. 土木建筑与环境工程, 2012, 34(1): 102-107.
- [50] 春芳, 王志勇, 冷小云, 等. 土壤磷酸酶活性测定方法的改进[J]. 实验技术与管理, 2016, 33(7): 48-49+54.
- [51] 许光辉, 郑洪元. 土壤微生物分析方法手册[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 261-266.
- [52] 奚旦立, 孙裕生. 环境监测(第四版) [M]. 北京: 高等教育出版社, 2018: 269.
- [53] 全国土壤普查办公室. 全国第二次土壤普查养分分级标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 1979.
- [54] 曹志鸿, 周建民. 中国土壤质量[M]. 北京: 科学出版社, 2008.
- [55] 李胜平, 王克林. 桂西北喀斯特山地草地土壤养分季节变化规律及其对植被多样性的相应[J]. 水土保持学报, 2016, 30(4): 199-205.
- [56] 潘复静, 王克林, 张伟, 等. 喀斯特不同恢复阶段植物根际土养分和酶活性的季节性变化和根际效应[J]. 桂林理工大学学报, 2020, 40(1): 209-217.
- [57] 孙鹏跃, 徐福利, 王渭玲, 等. 华北落叶松人工林地土壤养分与土壤酶的季节变化及关系[J]. 浙江农林大学学报, 2016, 33(6): 944-952.
- [58] Zhang, W., Zhao, J., Pan, F.J., et al. (2015) Changes in Nitrogen and Phosphorus Limitation during Secondary Succession in a Karst Region in Southwest China. *Plant Soil*, **391**, 77-91. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2406-8>
- [59] 王二涛. 植物-根瘤菌共生固氮[J]. 中国基础科学, 2016, 18(1): 21-27+2.
- [60] 刘晴, 徐阳, 张妍, 等. 抚育间伐对辽东山区红松人工林土壤酶活性的影响[J]. 森林工程, 2021, 37(3): 67-71.

- [61] Ström, L., Owen, A.G., Godbold, D.L., *et al.* (2005) Organic Acid Behaviour in a Calcareous Soil Implications for Rhizosphere Nutrient Cycling. *Soil Biology & Biochemistry*, **37**, 2046-2054.
<https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.03.009>
- [62] Phillips, R.P., Finzi, A.C. and Bernhardt, E.S. (2011) Enhanced Root Exudation Induces Microbial Feedbacks to N Cycling in a Pine Forest under Long-Term CO₂ Fumigation. *Ecology Letters*, **14**, 187-194.
<https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2010.01570.x>
- [63] 何容, 王国兵, 汪家社, 等. 武夷山不同海拔植被土壤微生物量的季节动态及主要影响因子[J]. 生态学杂志, 2009, 28(3): 394-399.
- [64] 王少昆, 赵学勇, 左小安, 等. 科尔沁沙质草甸土壤微生物数量的垂直分布及季节动态[J]. 干旱区地理, 2009, 32(4): 610-615.
- [65] 李梦莎. 东北地区天然紫椴种群土壤微生物多样性及空间分布格局[D]: [博士学位论文]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2020.
- [66] 张玲豫, 齐雅柯, 焦健, 等. 河西走廊沙地芦苇(*Phragmites australis*)根际土壤微生物群落多样性[J]. 中国沙漠, 2021, 41(6): 1-9.
- [67] 魏艳晨, 陈吉祥, 王永刚, 等. 荒漠植物珍珠猪毛菜根际土壤细菌多样性与土壤理化性质相关性分析[J/OL]. 中国农业科技导报: 1-9.
<https://kns.cnki.net/kcms/detail/detail.aspx?dbcode=CAPJ&dbname=CAPJLAST&filename=NKDB20210918001&uniplatform=NZKPT&v=EL7G7XC5W02jGE8buJAGEEHv6gR2bwhWYA8rePwWnILPzAw3KjmHAT8ZGUjrLBGi,2022-02-25>.
- [68] 郭婷. 短期耕作和施肥对草甸黑土酶活性和细菌多样性的影响[D]: [硕士学位论文]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.
- [69] 曹升, 潘菲, 林根根, 等. 不同林龄杉木林土壤细菌群落结构与土壤酶活性变化研究[J]. 生态学报, 2021, 41(5): 1846-1856.
- [70] 何秀峰, 赵丰云, 于坤, 等. 生物炭对葡萄幼苗根际土壤养分、酶活性及微生物多样性的影响[J]. 中国土壤与肥料, 2020(6): 19-26.