

研究报告



高通量测序分析大兴安岭典型森林土壤细菌和真菌群落特征

姜雪薇 马大龙* 臧淑英 张冬有 孙弘哲

哈尔滨师范大学地理科学学院 黑龙江 哈尔滨 150025

摘要:【背景】大兴安岭地区是我国对气候变化响应最敏感的区域,而土壤微生物在维持寒区森林生态系统结构和功能中发挥重要作用。【目的】探究大兴安岭不同森林类型土壤微生物群落结构及与环境因子的关系。【方法】采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术,分析 3 种典型森林(白桦林、落叶松林和樟子松林)土壤细菌和真菌群落组成和多样性。【结果】3 种林型中共获得 2 786 个细菌操作分类单元(Operational Taxonomic Unit, OTU),隶属于 38 门 531 属,其中优势菌门为变形菌门(*Proteobacteria*, 31.45%–40.32%)、酸杆菌门(*Acidobacteria*, 14.24%–40.16%)和放线菌门(*Actinobacteria*, 7.13%–22.15%);1 803 个真菌 OTU 隶属于 8 门 263 属,其中优势菌门为担子菌门(*Basidiomycota*, 40.43%–62.75%)和子囊菌门(*Ascomycota*, 35.81%–53.68%)。主坐标分析表明,3 种林型中细菌和真菌群落组间差异远大于组内差异。Mantel 检验结果显示:细菌群落结构与 pH、总氮(Total Nitrogen, TN)、总磷(Total Phosphorus, TP)和含水量(Soil Water Content, SWC)具有显著相关性($P < 0.05$),其中 pH 的相关性系数最大;真菌群落结构与 SWC、TN 和 TP 具有显著相关性($P < 0.05$),其中 TN 的相关性系数最大。冗余分析结果发现,TP 与变形菌门、担子菌门相对丰度呈显著正相关, TN 和 SWC 与酸杆菌门、子囊菌门呈显著正相关, pH 与放线菌门呈显著正相关($P < 0.05$)。【结论】不同林型间土壤微生物群落结构存在显著差异,明晰其分布规律及主要环境驱动因子,是把握寒区森林生态系统过程的关键。

关键词: 林型, 微生物群落, 高通量测序, 大兴安岭

Characteristics of soil bacterial and fungal community of typical forest in the Greater Khingan Mountains based on high-throughput sequencing

JIANG Xuewei MA Dalong* ZANG Shuying ZHANG Dongyou SUN Hongzhe

College of Geographical Science, Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang 150025, China

Abstract: [Background] The high latitude permafrost area in the Greater Khingan Mountains is the most

Foundation items: National Natural Science Foundation of China (41501065, 41971151, 41671064); China Postdoctoral Science Foundation (2017M611381); Postgraduate Innovation Project of Harbin Normal University (HSDSSCX2019-03)

*Corresponding author: Tel: 86-451-88060524; E-mail: madalong728@163.com

Received: 12-07-2020; **Accepted:** 29-07-2020; **Published online:** 28-09-2020

基金项目: 国家自然科学基金(41501065, 41971151, 41671064); 中国博士后科学基金(2017M611381); 哈尔滨师范大学硕士研究生创新项目(HSDSSCX2019-03)

*通信作者: Tel: 0451-88060524; E-mail: madalong728@163.com

收稿日期: 2020-07-12; **接受日期:** 2020-07-29; **网络首发日期:** 2020-09-28

sensitive region to climate change in China, and soil microorganisms play an essential role in maintaining the structure and function of forest ecosystem in the cold region. **[Objective]** In order to explore the soil microbial community structure of different forest types and its relationship with environmental factors in permafrost region of Greater Khingan Mountains. **[Methods]** Illumina MiSeq high-throughput sequencing technology was applied to analyze the composition and diversity of soil bacterial and fungal communities in three typical forests (*Larix gmelinii*, *Pinus sylvestris* var. *mongolica* and *Betula platyphlla*). **[Results]** A total of 2 786 bacterial OTUs (Operational taxonomic units, OTUs) were obtained from three forest types, belonging to 38 phyla and 531 genera, of which the dominant phyla were *Proteobacteria* (31.45%–40.32%), *Acidobacteria* (14.24%–40.16%) and *Actinobacteria* (7.13%–22.15%); 1 803 fungal OTUs belong to 8 phyla and 263 genera with dominant phyla being *Basidiomycota* (40.43%–62.75%) and *Ascomycota* (35.81%–53.68%). Principal coordinate analysis showed that the differences between groups of bacterial and fungal communities were much greater than those within groups. Mantel test showed that the bacterial community structure was significantly correlated with pH, total nitrogen (TN), total phosphorus (TP) and soil water content (SWC) ($P<0.05$), and the correlation coefficient of pH was the largest. The fungal community structure was significantly correlated with SWC, TN and TP ($P<0.05$), and TN had the highest correlation coefficient. The results of redundancy analysis showed that the relative abundance of *Proteobacteria* and *Basidiomycota* was significantly positively correlated with TP. SWC and TN had a very significant positive correlation with the relative abundance of *Acidobacteria* and *Ascomycota*, and pH was positively relative to the *Actinobacteria* ($P<0.05$). **[Conclusion]** There are significant differences in soil microbial community structure among different forest types. Clarifying their distribution and main environmental driving factors are the key to grasp the process of forest ecosystem in cold regions.

Keywords: forest type, microbial community, high-throughput sequencing, Greater Khingan Mountains

土壤微生物是陆地生态系统最重要的组成部分,参与能量流动和物质循环过程,其群落结构更被认为是预警生态系统变化的敏感生物指标^[1-2]。植物与土壤微生物之间是协同进化关系,植物作为生产者可为土壤微生物生存提供营养底物,而土壤微生物能够分解 90%以上的凋落物,将有机物转化为植物生长所需的无机养分,获取微生物群落变化信息并分析造成这些变化的主控因素,可有效揭示气候变化、自然干扰以及人类活动对森林生态系统结构功能及其稳定性的影响机制^[3-5]。已有研究显示,微生物群落结构和功能易受土壤理化性质、季节变化、海拔、地形以及植被类型等多种环境因子综合影响^[6-7]。即使在相同的气候和土壤条件下,不同森林类型中土壤微生物群落仍然存在较大差异^[8]。森林生态系统在调节全球物质平衡中扮演着重要角色,探究不同森林植被下土壤微生物群落的分异规律,是了解森林生态系统生长适应策略的重

要环节。

大兴安岭位于北半球高纬度多年冻土区,对气候变化和人类活动的响应极为敏感^[9]。大兴安岭也是我国唯一的寒温带明亮针叶林区,以兴安落叶松、樟子松和白桦为建群种,对维持东北平原生态经济安全具有不可替代的作用和地位^[10]。近年来,该区受气候变暖和多年冻土退化的影响,出现森林生产力下降、植被逆向演替加速以及建群树种林线抬升等现象,这些变化将对区域植被的生长速率和演替轨迹产生巨大影响,同时还会打破现有土壤微生物的生存模式,改变由土壤微生物调控的多个生态过程^[11-12],而有关高纬度寒区森林土壤微生物群落结构和多样性的研究鲜有报道。因此,明晰大兴安岭典型森林土壤微生物群落特征及演变规律,是把握寒区生物地球化学循环过程的关键,对于应对和减少气候变化带来的风险具有重要意义。

新一代高通量测序技术的出现加速了微生物

生态学的发展,与传统测序技术相比,高通量测序具有自动化、通量高、成本低等特点,能在整体水平上破译原位复杂环境中土壤微生物群落多样性^[13],在环境微生物研究中得到了广泛应用^[14-15]。不同森林植被下土壤所承接的凋落物和根系分泌物类型不同,必然会对微生物多样性和群落结构产生显著影响。为进一步明确植被与微生物间耦合关系及作用机理,本研究选取大兴安岭白桦林、落叶松林和樟子松林为研究对象,运用 Illumina MiSeq 高通量测序技术,系统分析 3 种森林类型中土壤细菌和真菌群落组成及多样性变异规律,探讨微生物与土壤环境因子之间的关系,以期为深入解析高纬度寒区森林生态系统对未来气候变化的反馈和响应机制提供科学支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于黑龙江省大兴安岭地区漠河市漠河林场(53°27'N, 122°15'E),年均气温-4.9 °C,平均无霜期 90 d,年平均降水量 430 mm,夏季降水量占全年降水量的 60%-70%,土壤为暗棕色森林土,赋存大片连续多年冻土,活动层厚度 0.7-3.0 m^[16]。地带性植被为寒温带针叶林,主要建群树种包括兴安落叶松(*Larix gmelinii*)、樟子松(*Pinus sylvestris* var. *mongolica*)、白桦(*Betula platyphylla*)、山杨(*Populus davidiana*)、蒙古栎(*Quercus mongolica*)、偃松(*Pinus pumila*)、红皮云杉(*Picea koraiensis*)和黑桦(*Betula davurica*)等^[17]。

在大兴安岭多年冻土区典型林型(白桦林 BHL、落叶松林 LYL 和樟子松林 ZZL)中分别设置 3 块 100 m×100 m 固定实验样地,在每块样地中设置 5 m×5 m 样方各 3 个。2016 年 5 月土壤活动层上部处于融化状态,按对角线取样法在每个样方内采集 0-20 cm 深度的土壤样品。除去石块、植物根系等杂物,混合均匀后用灭菌自封袋密封,贴好标签置于冰盒中带回实验室。将 9 份土样分为 2 份:一份自然风干过 2 mm 筛用于土壤理化性质

测定;另一份保存于-80 °C 冰箱中用于土壤微生物高通量测序。

1.2 主要试剂和仪器

PowerSoil DNA Isolation Kit, MO BIO 公司; EasyPure Quick Gel Extraction Kit, 全式金生物技术有限公司。总有机碳分析仪,耶拿分析仪器股份公司;连续流动分析仪,Skalar 分析仪器公司。

1.3 土壤理化性质测定

土壤 pH 值采用电位法测定;土壤含水量采用烘干法测定;土壤总有机碳和可溶性有机碳使用总有机碳分析仪测定;土壤硝态氮(NO_3^- -N)、铵态氮(NH_4^+ -N)、总氮和总磷使用连续流动分析仪测定。

1.4 土壤微生物高通量测序

土壤微生物总 DNA 的提取采用 PowerSoil DNA Isolation Kit,对细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 区进行 PCR 扩增,通用引物为 341F (5'-ACTCCTACGG GAGGCAGCAG-3')和 806R (5'-GGACTACHVGG GTWTCTAAT-3');对真菌 rDNA ITS1 区进行 PCR 扩增,引物序列采用 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAG AGGAAGTAA-3')和 ITS1R (5'-GCTGCGTTCTTC ATCGATGC-3'),引物添加特异 Barcode 序列标记用于区分不同样品。PCR 反应体系:5×Fast *Pfu* Buffer 4 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL, 正、反向引物(5 μmol/L)各 0.8 μL, Fast *Pfu* 聚合酶 0.4 μL, 模板 DNA 10 ng, 用 ddH₂O 补足至 20 μL。PCR 反应条件:94 °C 3 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 25 个循环(细菌); 94 °C 20 s, 55 °C 20 s, 72 °C 30 s, 30 个循环(真菌); 72 °C 5 min。PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,采用 EasyPure Quick Gel Extraction Kit 切胶回收 PCR 产物, Tris-HCl 洗脱后采用蓝色荧光定量系统进行定量检测,按照测序要求将每个样本进行相应比例混合,委托上海欧易生物公司进行 Illumina 高通量测序。

1.5 数据分析

采用 Trimmomatic 软件滤掉原始双端数据中低质量和模糊的碱基序列,使用 FLASH 进行拼接后去除嵌合体,得到每个样本的优质序列用于后续分析。利用 CD-HIT 方法按照 97%相似度进行 OTU 划分,细菌和真菌分别运用 Silva 和 UNITE 数据库进行比对,得到每个 OTU 对应的物种分类信息。运用 QIIME 软件分析微生物多样性指数,包括 Shannon-Wiener 多样性指数和 Chao1 丰富度指数,在门(Phylum)和属(Genus)分类水平上比较不同林型土壤细菌和真菌群落组成差异。运用 R 软件基于 UniFrac 距离算法进行主坐标分析(Principal Coordinate Analysis, PCoA)。不同林型间土壤理化性质差异运用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差(One-Way ANOVA)分析,微生物与土壤环境因子间关系利用 Mantel 检验和冗余分析(Redundancy Analysis, RDA)。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质分析

如表 1 所示,3 种林型间土壤理化性质差异较大。白桦林土壤 pH 值最低为 4.46,显著低于落叶松林和樟子松林($P<0.05$)。土壤含水量介于 12.58%–29.10%之间,樟子松林土壤含水量显著低

于其他 2 个林型($P<0.05$)。土壤总有机碳和总氮均表现为落叶松林(36.67 g/kg、6.75 g/kg)与白桦林(34.38 g/kg、5.62 g/kg)无显著差异($P>0.05$),但显著高于樟子松林(29.74 g/kg、3.11 g/kg, $P<0.05$)。3 种林型间土壤可溶性有机碳和总磷含量均无显著差异($P>0.05$)。土壤铵态氮和硝态氮表现为白桦林最高,分别为 21.13 mg/kg 和 25.60 mg/kg;樟子松林最低,分别为 13.47 mg/kg 和 8.15 mg/kg。樟子松林土壤碳氮比显著高于落叶松林和白桦林($P<0.05$),而落叶松林与白桦林差异不显著($P>0.05$)。

2.2 土壤微生物群落多样性

通过 Illumina 高通量测序分别获得 215 852 条细菌 16S rRNA 基因和 176 327 条真菌 rDNA ITS 1 区质控序列,按 97%相似度聚类,其中细菌 2 786 个 OTU、真菌 1 803 个 OTU,各样品文库覆盖率均在 98.35%以上,能够反映大兴安岭典型森林土壤微生物群落的真实情况(表 2)。ZZL 土壤细菌 Chao1 指数(1 979)显著高于 BHL (1 271)和 LYL (1 654, $P<0.05$),ZZL 和 LYL 的 Shannon 指数差异不明显,但二者均显著高于 BHL (5.37)。土壤真菌 Chao1 指数和 Shannon 指数表现为 LYL (880、4.97)显著高于 ZZL (620、4.01)和 BHL (706、4.18)。

表 1 不同林型土壤样品理化指标

Table 1 Physical and chemical indexes of soil samples of different forest types

理化性质 Physicochemical properties	林型 Forest type		
	白桦林 BHL	落叶松林 LYL	樟子松林 ZZL
pH	4.46±0.13c	5.22±0.29b	5.91±0.21a
含水量 SWC (%)	20.87±1.10b	29.10±3.30a	12.58±0.60c
总有机碳 TOC (g/kg)	34.38±0.68a	36.67±0.93a	29.74±1.75b
可溶性有机碳 DOC (mg/kg)	27.27±0.51a	31.20±3.59a	25.85±1.89a
总氮 TN (g/kg)	5.62±0.19a	6.75±0.46a	3.11±0.39b
总磷 TP (mg/kg)	468.53±50.99a	504.50±40.50a	448.17±43.82a
铵态氮 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ (mg/kg)	21.13±1.73a	18.93±1.78ab	13.47±2.86b
硝态氮 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ (mg/kg)	25.60±0.64a	18.20±3.62b	8.15±2.23c
碳氮比 C/N	6.13±0.47b	5.51±0.62b	9.52±0.73a

注:表中数据为平均值±标准差;不同小写字母表示不同林型土壤样品理化指标在 0.05 水平下差异显著

Note: The data in the table is the mean±standard deviation; Different lowercase letters indicate that the physical and chemical indexes of soil samples of different forest types are significantly different at 0.05 level

表 2 不同林型土壤微生物 OTU 及多样性指数

Table 2 Soil microbial OTUs and diversity index of different forest types

微生物类别 Microbial category	OTU 及多样性指数 OTU and diversity index	白桦林 BHL	落叶松林 LYL	樟子松林 ZZL
细菌 Bacterial	OTU	1 238±127b	1 465±163b	1 809±104a
	门 Phylum	25±3a	30±1a	27±1a
	纲 Class	42±4b	65±5a	59±2a
	Coverage (%)	98.96±0.25a	99.07±0.12a	99.24±0.06a
	Chao1	1 271±36c	1 654±33b	1 979±31a
真菌 Fungal	Shannon	5.37±0.31b	6.81±0.27a	6.74±0.63a
	OTU	674±31a	737±15a	543±26b
	门 Phylum	6±1a	7±1a	6±1a
	纲 Class	14±3b	23±1a	21±2a
	Coverage (%)	98.67±0.52a	99.03±0.07a	99.15±0.23a
	Chao1	706±14b	880±19a	620±21b
	Shannon	4.18±0.06b	4.97±0.12a	4.01±0.03b

注: 表中数据为平均值±标准差; 不同小写字母表示不同林型土壤微生物多样性在 0.05 水平下差异显著

Note: The data in the table is the mean±standard deviation; Different lowercase letters indicate that soil microbial diversity in different forest types is significantly different at the 0.05 level

2.3 土壤微生物群落结构分析

为解析大兴安岭 3 种森林类型土壤微生物群落结构的变异规律, 对聚类后的 OTU 代表序列进行物种注释。3 种林型土壤样品中细菌 OTU 隶属于 38 门 92 纲 191 目 355 科 531 属。将相对丰度低于 1% 以及在该水平上没有注释结果的细菌或真菌归于 Others。在门水平上各林型土壤优势细菌均为变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)和酸杆菌门(*Acidobacteria*), 总相对平均丰度达到 69.76% 以上, 但不同林型间存在较大差异(图 1A)。BHL 酸杆菌门的相对平均丰度最高为 38.44%, 其次为变形菌门(36.86%)和放线菌门(7.70%)。LYL 和 ZZL 细菌群落组成相似, 以变形菌门相对平均丰度最高, 分别为 35.93% 和 33.18%, 其次为酸杆菌门(16.25%、23.07%)、放线菌门(21.55%、13.51%)。不同林型土壤中绿弯菌门(*Chloroflexi*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)和疣微菌门(*Verrucomicrobia*)的相对丰度均超过 1%, 也是主要土壤细菌类群。除绿弯菌门在 LYL (7.81%) 中的相对平均丰度显著高于 ZZL (5.29%) 和 BHL (1.35%) 外, 其他细菌门

类间无显著差异。不同林型土壤样品中真菌 OTU 隶属于 8 门 29 纲 83 目 175 科 263 属, 其中担子菌门(*Basidiomycota*)和子囊菌门(*Ascomycota*)是优势门类, 变化范围分别为 40.43%–62.75% 和 35.81%–53.68%, 具体表现为 BHL>ZZL>LYL 和 LYL>ZZL>BHL (图 1B)。

属水平的细菌相对丰度分析结果表明, 红游动菌属(*Rhodoplanes*, 8.94%–11.03%)、DA101 (5.02%–8.78%)、酸杆菌属(*Acidobacterium*, 4.76%–8.52%)、土微菌属(*Pedomicrobium*, 2.02%–4.37%)和伯克氏菌属(*Burkholderia*, 2.58%–3.89%)是 BHL 土壤细菌群落的优势属; LYL 的优势属分别为分枝杆菌属(*Mycobacterium*, 5.01%–8.64%)、*Methylibium* (5.25%–7.38%)、*Candidatus Solibacter* (5.74%–7.15%)、伯克氏菌属(*Burkholderia*, 4.69%–6.57%)和红游动菌属(*Rhodoplanes*, 4.25%–6.07%); ZZL 则为 *Candidatus Solibacter* (6.15%–9.02%)、红游动菌属(*Rhodoplanes*, 6.12%–7.51%)、DA101 (4.19%–7.74%)、伯克氏菌属(*Burkholderia*, 2.02%–4.77%)和分枝杆菌属(*Mycobacterium*, 2.23%–4.58%) (图 2A)。属水平

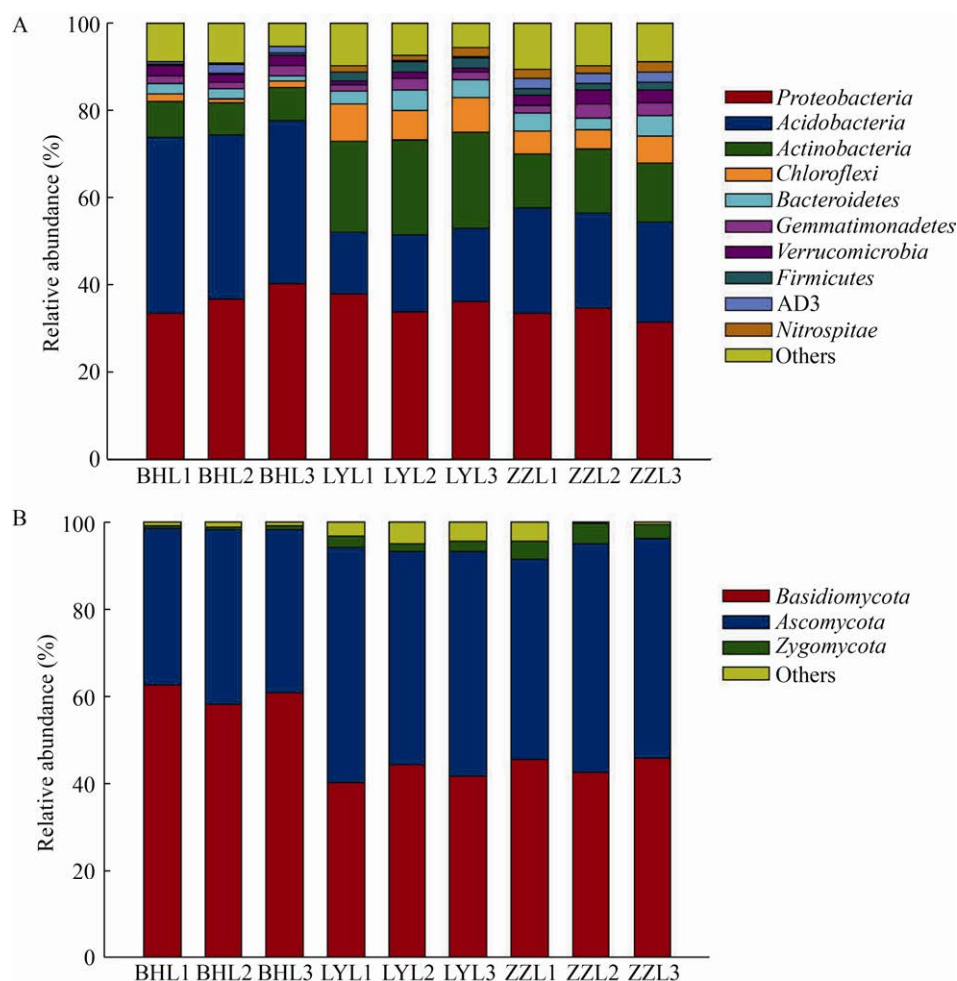


图 1 不同林型中门分类水平下细菌(A)和真菌(B)群落结构特征

Figure 1 Characteristics of bacterial (A) and fungal (B) community structure at the level of phylum in different forest types

的真菌相对丰度如图 2B 所示, BHL 土壤真菌群落优势属为 *Piloderma* (22.63%–25.17%)、空团菌属 (*Cenococcum*, 18.64%–22.61%)、乳菇属 (*Lactarius*, 8.91%–12.32%) 和红菇属 (*Russula*, 8.59%–10.87%); LYL 优势属为威氏盘菌属 (*Wilcoxina*, 16.55%–18.63%)、丝盖伞菌属 (*Inocybe*, 8.62%–11.71%)、滑锈伞属 (*Hebeloma*, 5.17%–6.97%) 和棉革菌属 (*Tomentella*, 4.52%–6.36%); ZZL 则为空团菌属 (*Cenococcum*, 9.75%–12.65%)、*Piloderma* (11.74%–12.32%)、乳菇属 (*Lactarius*, 7.02%–8.94%) 和棉革菌属 (*Tomentella*, 5.52%–7.48%)。

为进一步明晰样本间在群落物种组成上的差

异性, 采用 PCoA 分析衡量 3 种林型土壤细菌和真菌群落物种组成的相似度。结果表明, 每个林型的 3 个重复均聚类于同一象限, 说明样本的重复性较好, 组内变异相对较小。如图 3A 所示, PC1 和 PC2 分别解释变量方差的 56.06%、21.37%, 两者累计贡献率达 77.43%。PC1 可将 BHL 的细菌群落与 ZZL、LYL 明显区分开, PC2 可将 LYL 与 BHL、ZZL 明显区分开。从图 3B 可以看出, PC1 和 PC2 累积贡献率达 64.65%, PC1 可将 LYL 的真菌群落与 BHL、ZZL 明显区分开, PC2 可将 ZZL 与 BHL、LYL 明显区分开。3 种林型土壤细菌和真菌群落组间差异远大于组内差异。

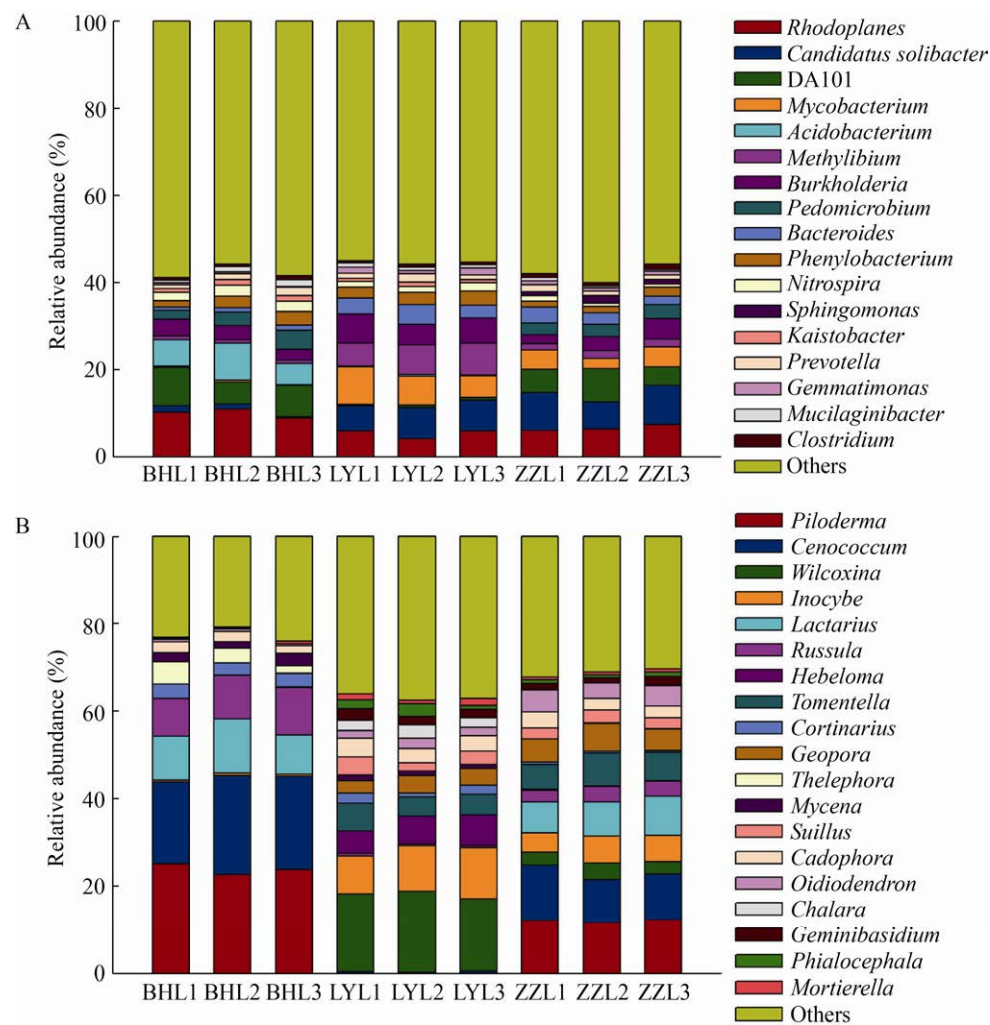


图 2 不同林型中属分类水平下细菌(A)和真菌(B)群落结构特征
Figure 2 Characteristics of bacterial (A) and fungal (B) community structure at the level of genus in different forest types

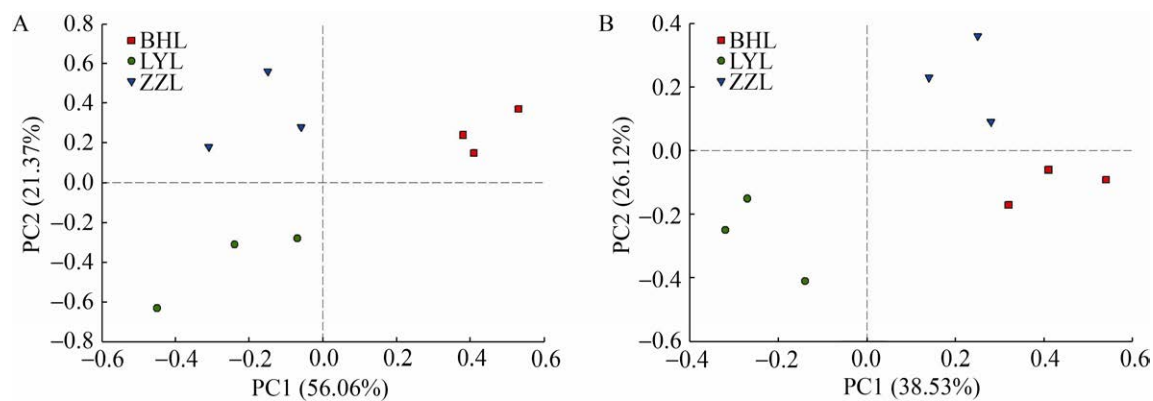


图 3 不同林型土壤细菌(A)和真菌(B)群落主坐标分析(PCoA)
Figure 3 Principal coordinate analysis (PCoA) analysis of soil bacteria (A) and fungal (B) community in different forest types

2.4 土壤环境因子与微生物的相关性

通过 Mantel 分析检验微生物群落结构与土壤环境因子间的相关关系(表 3)。结果显示, pH 对细菌群落结构的影响最大($r=0.735$, $P=0.001$)。同时, SWC、TN 和 TP 对细菌群落结构也具有显著影响($P<0.05$)。真菌群落结构与土壤 SWC、TN 和 TP 呈现显著相关($P<0.05$), 其中 TN 影响最大($r=0.677$, $P=0.001$)。进一步对优势微生物类群与土壤环境因子进行冗余分析(RDA), 主成分 1 (46.6%)和主成分 2 (10.1%)累计解释土壤细菌群落结构变异的 56.7% (图 4)。其中, TP 与变形菌门(*Proteobacteria*)呈显著正相关;TN 和 SWC 与酸杆菌门(*Acidobacteria*)呈显著正相关; pH 与放线菌门(*Actinobacteria*)呈显著正相关。图 5 为真菌与土壤环境因子的 RDA 排序图, 主成分 1 和主成分 2 的贡献率分别为 51.2%和 13.5%, 两者共解释 64.7% 的方差变异。结果表明 TP 与担子菌门(*Basidiomycota*)显著正相关; TN 和 SWC 与子囊菌门(*Ascomycota*)显著正相关。

表 3 Mantel 检验微生物群落结构与土壤环境因子的相关性

Table 3 Mantel test the correlation between microbial community structure and soil environment factors

土壤理化性质 Physicochemical properties	细菌群落结构 Bacterial community structure		真菌群落结构 Fungal community structure	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
pH	0.735	0.001	0.187	0.225
SWC	0.406	0.011	0.536	0.002
TOC	0.073	0.251	0.353	0.090
DOC	0.156	0.131	0.219	0.185
TN	0.574	0.003	0.677	0.001
TP	0.432	0.012	0.483	0.015
NH ₄ ⁺ -N	0.058	0.285	0.071	0.479
NO ₃ ⁻ -N	0.063	0.221	0.226	0.143
C/N	0.143	0.157	0.172	0.258

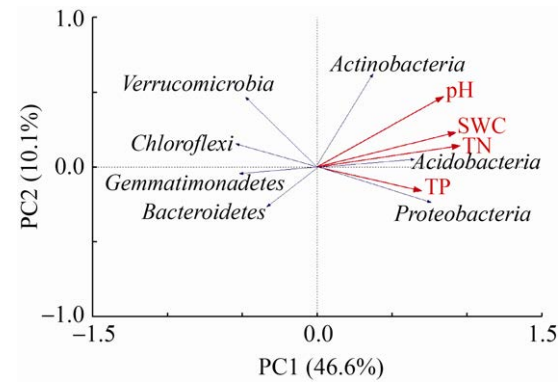


图 4 优势细菌门与土壤环境因子的冗余分析
Figure 4 Redundancy analysis of dominant bacterial phylum and soil environmental factors

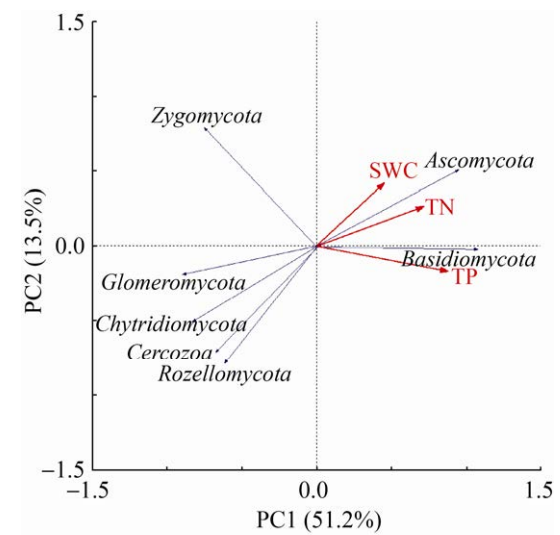


图 5 优势真菌门与土壤环境因子的冗余分析
Figure 5 Redundancy analysis of dominant fungal phylum and soil environmental factors

3 讨论

3.1 不同林型土壤微生物群落多样性差异

本研究结果表明,大兴安岭 3 种林型土壤细菌多样性和丰富度指数均表现为落叶松林和樟子松林显著高于白桦林(表 2)。凋落物是森林生态系统的重要组成部分,也是土壤元素循环的关键环节,优势植物凋落物的组成和可利用性在很大程度上影响土壤养分积累,进而改变土壤中异养微生物多样性^[18]。路颖等^[19]研究发现,不同植被类型的地

表凋落物性质、质量、数量和分解速率存在显著差异,导致输入到土壤中的有机组分不同,从而直接影响土壤微生物群落结构和多样性。通常情况下阔叶林下调落物分解速率高于针叶林,可为细菌生长和繁殖提供大量的代谢底物并具有更高的生物多样性^[20],这与本研究结果不一致。张坤等^[21]研究认为,土壤 pH 能够改变细菌对养分利用效率、生理代谢活性以及种群间竞争关系,直接或间接影响土壤细菌多样性,而适宜的土壤 pH 能促进微生物生长。本研究中白桦林土壤 pH 值最低为 4.46,这说明较高浓度的氢离子抑制了细菌的增殖。

3 种林型土壤真菌多样性和丰富度指数表现为落叶松林高于白桦林和樟子松林,而白桦林与樟子松林差异不大(表 2),这与赵文静等^[22]对额尔古纳自然保护区 6 种林型土壤真菌群落多样性的研究结果相似。落叶松和樟子松虽同属针叶树种,但落叶松林下调落物丰富且密集覆盖于土壤表层,有利于养分的积累;而樟子松林为常绿针叶林,返还地面的凋落物相对较少,土壤较贫瘠^[23]。落叶松林下土壤中多种难以分解的木质素、纤维素、单宁和树脂等物质含量高于白桦林和樟子松林^[24],而土壤中复杂高碳氮有机物分解还主要依赖于真菌的降解作用^[25]。

由于碳源和氮源的种类及含量不同导致了土壤微生物多样性的改变。另外,植物可通过根系向土壤中输入有机酸、糖类和酚类等次生代谢产物,对微生物种类、数量及生长繁殖产生消极或积极的影响^[26]。全球气候变化背景下,不同森林类型和林分结构显著改变林下调落物组成、可利用底物以及林内小气候,导致土壤微生物多样性有所差异,而这种差异是植被类型和环境因子共同作用的结果。

本研究采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对大兴安岭多年冻土区 3 种典型森林土壤细菌多样性进行 16S rRNA 基因测序分析,但 16S rRNA 基因的组内异质性会导致群落多样性测定结果偏高。Sun 等^[27]研究表明,在 3% 水平下 V6 区基因多样性被高估的程度最高(12.9%),而 V4-V5 区产

生的误差最小(3.0%),其次为 V3 区(5.2%)。因此,本实验选择 16S rRNA 基因 V3-V4 区,以尽可能地降低细菌多样性分析的高估程度。今后还应选择 V4-V5 区的基因序列进行测序分析,可将环境中微生物多样性的高估程度降至最低。

3.2 不同林型土壤微生物群落结构差异

3 种林型土壤优势细菌均为变形菌门、酸杆菌门和放线菌门(图 1A),这与杨立宾等^[28]对小兴安岭森林土壤细菌群落的研究结果一致。同时,在多种森林生态系统环境中也常检测到变形菌门、酸杆菌门和放线菌门的细菌,说明这些菌群的生态幅较宽,对森林环境有较好的适应能力^[29-30]。本研究中,3 种林型的变形菌门相对丰度最高均在 31.45% 以上且不同林型间差异不显著,说明变形菌门的细菌在高纬度寒区森林土壤生态环境构建和物质循环过程中起重要作用。酸杆菌门是仅次于变形菌门的另一优势类群,白桦林中土壤酸杆菌门的相对平均丰度(38.44%)显著高于樟子松林和落叶松林(23.07%、16.25%),这是由于酸杆菌门的菌群具有嗜酸、寡营养的特点^[31],白桦林土壤 pH 值最低,更适合嗜酸菌的生存和繁殖,与 Naether 等^[32]研究结果较相似。放线菌属于革兰氏阳性菌且具有分解纤维素和木质素的能力^[33],其相对丰度表现为落叶松林显著高于樟子松林和白桦林,说明落叶松林是放线菌较为理想的生存环境。白桦林红游动菌属细菌相对平均丰度(10.07%)最高且显著高于落叶松林(5.43%)和樟子松林(6.70%),这是由于红游动菌属具有脱氮作用,是能够分解复杂含氮化合物的功能菌,而白桦林土壤高铵态氮和硝态氮含量为红游动菌属细菌的繁殖和生长提供了良好的底物条件。

本研究中土壤真菌优势菌群均为担子菌门和子囊菌门,但在不同林型间的相对丰度存在一定差异(图 1B)。陈秀波等^[34]对小兴安岭不同林型土壤真菌群落的研究也发现,担子菌门和子囊菌门为优势类群,与本文结果相一致。担子菌和子囊菌是土壤中的重要分解者,其中子囊菌门多为腐生菌,对

降解复杂有机质起着关键作用^[35],而担子菌分解植物残体中的木质纤维素能力更强^[36]。在属分类水平上,*Piloderma*、威氏盘菌属和空团菌属相对丰度较高。*Piloderma*可与树木形成外生菌根,提高宿主对营养元素的吸收利用效率,其相对丰度在白桦林显著高于落叶松林和樟子松林。Cox等^[37]的研究认为*Piloderma*对高氮可获得性表现出了积极的响应。落叶阔叶林下具有较丰富的枯枝落叶层,且林内形成的微环境有利于*Piloderma*代谢活动,从而较为容易地将动植物残体分解,使得土壤氮源得到及时的补充,这也说明*Piloderma*真菌可能对针叶林土壤环境适应性较差^[38]。威氏盘菌属为2016年确认的中国新记录属^[39],多出现在云杉和落叶松林,其相对丰度变化所产生的生态效应仍然未知,但可能与不同的植物种类和土壤环境有关。空团菌属真菌是自然界最为常见的外生菌根真菌之一,本研究在白桦林和樟子松林相对平均丰度分别为20.88%和10.97%,而落叶松林仅为0.41%,其原因是落叶松林下覆盖于土壤表面密集的针叶凋落物分解缓慢,会促使形成空气流通不畅的微环境,从而抑制空团菌属真菌菌丝体的生长和分布。阔叶和针叶植被的生化组成、植物种间的竞争、植物多样性的改变都会引起植物凋落物量、生物量及其有机组分的变化^[40]。气候变暖可能对森林生态系统的微环境及水热动态产生显著影响,改变土壤中微生物群落的分布模式和结构组成,进而影响整个生态系统中的生物元素循环过程。

3.3 环境因子对土壤微生物的影响

通过对微生物群落结构与土壤环境因子的Mantel检验发现,土壤pH、含水量、总氮和总磷是影响大兴安岭多年冻土区3种林型土壤微生物群落结构的重要驱动因子。刘洋等^[41]的研究指出,土壤有机质、总磷和总氮是影响细菌群落结构和多样性的关键因素,其中土壤总磷与变形菌门的相对丰度存在显著正相关性。高秀宏等^[42]的研究发现,

白桦林中土壤总氮与酸杆菌门的相对丰度呈显著正相关,这与本研究结果相似。变形菌门和酸杆菌门细菌由于其生活方式不同,常被用作衡量土壤营养状况的指标,变形菌门细菌在营养较为丰富的土壤中比例更高。字洪标等^[43]对青海省7种不同林分土壤微生物群落特征的研究发现,土壤pH和含水量是影响微生物群落的主控因子。本研究中土壤pH对放线菌门影响最大,土壤含水量与子囊菌门呈显著正相关。土壤pH可通过影响碳、氮元素的利用率改变土壤环境,进而对微生物群落结构产生影响^[44],而土壤含水量则通过影响养分循环和植物生长间接改变微生物代谢活性,较低土壤含水量将限制微生物细胞膜和蛋白质的流动性,不利于微生物繁殖与生长^[45]。在高纬度寒区森林生态系统中,除土壤环境因子外,凋落物分解速率、活动层水热条件、根系生物量和分泌物等也是驱动土壤微生物群落构建的重要因素。因此,通过对植被、微生物和土壤环境间耦合关系的研究,能更好地了解森林生态系统过程,今后还将进一步开展多维度综合实验,以阐释气候变化背景下土壤微生物群落结构和功能对环境异质性的响应机制。

4 结论

(1) 高通量测序结果显示,大兴安岭不同林型土壤优势细菌门均为变形菌门、酸杆菌门和放线菌门,属水平上红游动菌属、分枝杆菌属和*Candidatus solibacter*相对丰度较高。土壤优势真菌门为担子菌门和子囊菌门,属水平上*Piloderma*、威氏盘菌属和空团菌属相对丰度较高。不同林型间土壤优势微生物丰度差异较大。

(2) PCoA分析表明,3种林型土壤细菌和真菌群落组间差异远大于组内差异。RDA分析发现,土壤总磷与变形菌门、担子菌门呈显著正相关,土壤总氮和含水量是影响酸杆菌门、子囊菌门的关键环境因子,放线菌门则与土壤pH呈显著正相关。

REFERENCES

- [1] Bell T, Newman JA, Silverman BW, Turner SL, Lilley AK. The contribution of species richness and composition to bacterial services[J]. *Nature*, 2005, 436(7054): 1157-1160
- [2] Zhang JD, Li SY, Sun XY, Zhang H, Hu N, Fu Z, Guo ZT. Analysis of soil bacterial diversity in urban parks with different ages by high throughput sequencing[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(1): 65-74 (in Chinese)
张骏达, 李素艳, 孙向阳, 张骅, 呼诺, 傅振, 郭子腾. 基于高通量测序技术的不同年代公园绿地土壤细菌多样性[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(1): 65-74
- [3] Bi JT, He DH. Research advances in effects of plant on soil microbial diversity[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2009, 25(9): 244-250 (in Chinese)
毕江涛, 贺达汉. 植物对土壤微生物多样性的影响研究进展[J]. *中国农学通报*, 2009, 25(9): 244-250
- [4] Bai XX, Shi RJ, You YM, Sheng HF, Han SQ, Zhang Y. Bacterial community structure and diversity in soils of different forest ages and types in Baotianman forest, Henan province, China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2015, 26(8): 2273-2281 (in Chinese)
白晓旭, 史荣久, 尤业明, 盛华芳, 韩斯琴, 张颖. 河南宝天曼不同林龄与林型森林土壤的细菌群落结构与多样性[J]. *应用生态学报*, 2015, 26(8): 2273-2281
- [5] Van Bruggen AHC, Semenov AM. In search of biological indicators for soil health and disease suppression[J]. *Applied Soil Ecology*, 2000, 15(1): 13-24
- [6] Wu ZY, Lin WX, Chen ZF, Fang CX, Zhang ZX, Wu LK, Zhou MM, Chen T. Variations of soil microbial community diversity along an elevational gradient in mid-subtropical forest[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2013, 37(5): 397-406 (in Chinese)
吴则焰, 林文雄, 陈志芳, 方长旬, 张志兴, 吴林坤, 周明明, 陈婷. 中亚热带森林土壤微生物群落多样性随海拔梯度的变化[J]. *植物生态学报*, 2013, 37(5): 397-406
- [7] Si GC, Yuan YL, Wang J, Xia YQ, Lei TZ, Zhang GX. Microbial community and soil enzyme activities along an altitudinal gradient in Sejila mountains[J]. *Microbiology China*, 2014, 41(10): 2001-2011 (in Chinese)
斯贵才, 袁艳丽, 王建, 夏燕青, 雷天柱, 张更新. 藏东南森林土壤微生物群落结构与土壤酶活性随海拔梯度的变化[J]. *微生物学通报*, 2014, 41(10): 2001-2011
- [8] Cao YC, Tan XP, He WX, Geng ZC, Liu S, She D, Hou L. The metabolism characteristics of microbial community in different forest soil in Qinling Mountains Area[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(10): 2978-2986 (in Chinese)
曹永昌, 谭向平, 和文祥, 耿增超, 刘帅, 余雕, 侯林. 秦岭地区不同林分土壤微生物群落代谢特征[J]. *生态学报*, 2016, 36(10): 2978-2986
- [9] Jorgenson MT, Racine CH, Walters JC, Osterkamp TE. Permafrost degradation and ecological changes associated with a warming climate in central Alaska[J]. *Climatic Change*, 2001, 48(4): 551-579
- [10] Yang XL, Yan W, Bao YY, Fan YJ. AMF diversity of different *Larix gmelinii* forest types in the Great Xinganling Mountains[J]. *Microbiology China*, 2009, 36(12): 1818-1825 (in Chinese)
杨秀丽, 闫伟, 包玉英, 樊永军. 大兴安岭兴安落叶松森林不同林型 AMF 分布特性[J]. *微生物学通报*, 2009, 36(12): 1818-1825
- [11] Jin HJ, Yu SP, Lü LZ, Guo DX, Li YW. Degradation of permafrost in the Da and Xiao Hinggan Mountains, Northeast China, and preliminary assessment of its trend[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2006, 28(4): 467-476 (in Chinese)
金会军, 于少鹏, 吕兰芝, 郭东信, 李英武. 大小兴安岭多年冻土退化及其趋势初步评估[J]. *冰川冻土*, 2006, 28(4): 467-476
- [12] Grayston SJ, Prescott CE. Microbial communities in forest floors under four tree species in coastal British Columbia[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(6): 1157-1167
- [13] Niu SQ, Long Y, Li HY, Da WY, Hu S, Li WJ, Zhu XT, Kong WB. Microbial diversity in saline alkali soil from Hexi Corridor analyzed by Illumina MiSeq high-throughput sequencing system[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(9): 2067-2078 (in Chinese)
牛世全, 龙洋, 李海云, 达文燕, 胡山, 李渭娟, 朱学泰, 孔维宝. 应用 Illumina MiSeq 高通量测序技术分析河西走廊地区盐碱土壤微生物多样性[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(9): 2067-2078
- [14] Wang P, Chen B, Zhang H. High throughput sequencing analysis of bacterial communities in soils of a typical Poyang Lake wetland[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(5): 1650-1658 (in Chinese)
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[J]. *生态学报*, 2017, 37(5): 1650-1658
- [15] Liu HY, Wang JJ, Zhao W, Li QQ, Chen Y, Yi ZB, Lyu X, Huang ZY. Structure of soil bacteria community and diversity in cotton field and *Euphrates poplar* forest in the middle and lower reaches of Tarim River Basin[J]. *Microbiology China*, 2019, 46(9): 2214-2230 (in Chinese)
刘海燕, 王敬敬, 赵维, 李晴晴, 陈云, 易正炳, 吕新, 黄志勇. 塔里木河中下游流域棉田及胡杨林土壤细菌群落结构及多样性研究[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(9): 2214-2230
- [16] Hu HQ, Luo BZ, Wei SJ, Wei SW, Wen ZM, Sun L, Luo SS, Wang LM, Ma HB. Estimating biological carbon storage of five typical forest types in the Daxing'anling Mountains,

- Heilongjiang, China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(17): 5745-5760 (in Chinese)
- 胡海清, 罗碧珍, 魏书精, 魏书威, 文正敏, 孙龙, 罗斯生, 王立明, 马洪斌. 大兴安岭 5 种典型林型森林生物碳储量[J]. *生态学报*, 2015, 35(17): 5745-5760
- [17] Wang XL, Chang Y, Chen HW, Hu YM, Jiao LL, Feng YT, Wu W, Wu HF. Spatial pattern of forest biomass and its influencing factors in the Great Xing'an Mountains, Heilongjiang province, China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(4): 974-982 (in Chinese)
- 王晓莉, 常禹, 陈宏伟, 胡远满, 焦琳琳, 冯玉婷, 吴文, 伍海峰. 黑龙江省大兴安岭森林生物量空间格局及其影响因素[J]. *应用生态学报*, 2014, 25(4): 974-982
- [18] Wan CH, Tao C, Yang XB, Long WX, Feng DD, Zhou WS, Yang Q. Impact of forest community species composition on litter species composition[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(22): 7435-7443 (in Chinese)
- 万春红, 陶楚, 杨小波, 龙文兴, 冯丹丹, 周文嵩, 杨琦. 森林群落物种组成对凋落物组成的影响[J]. *生态学报*, 2015, 35(22): 7435-7443
- [19] Lu Y, Li K, Liang Q, Li CR, Zhang CH. Effects of leaf litter decomposition on bacterial community structure in the leaf litter of four dominant tree species in Mount Tai[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(9): 3175-3186 (in Chinese)
- 路颖, 李坤, 梁强, 李传荣, 张彩虹. 泰山 4 种优势造林树种叶片凋落物分解对凋落物内细菌群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2019, 39(9): 3175-3186
- [20] Wang X, Guo YP, Zhao H, Meng FJ, Liu GP. Decomposition characteristics and its nutrient dynamics of the leaf litter mixtures of *Larix principis-rupprechtii* and *Betula platyphylla*[J]. *Forestry and Ecological Sciences*, 2018, 33(1): 29-36 (in Chinese)
- 王欣, 郭延朋, 赵辉, 孟凡军, 刘国萍. 华北落叶松与白桦叶凋落物混合分解及其养分动态[J]. *林业与生态科学*, 2018, 33(1): 29-36
- [21] Zhang K, Bao WK, Yang B, Hu B. The effects of understory vegetation on soil microbial community composition and structure[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2017, 23(6): 1178-1184 (in Chinese)
- 张坤, 包维楷, 杨兵, 胡斌. 林下植被对土壤微生物群落组成与结构的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2017, 23(6): 1178-1184
- [22] Zhao WJ, Zhao BJ, Cui DZ, Zhao M. Diversity analysis of soil fungal community structure in Erguna National Nature Reserve by PCR-DGGE[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2016, 44(7): 76-79 (in Chinese)
- 赵文静, 赵宝军, 崔岱宗, 赵敏. 额尔古纳自然保护区 6 种林型土壤真菌群落结构的多样性[J]. *东北林业大学学报*, 2016, 44(7): 76-79
- [23] Qiao SS, Zhou YN, Chai BF, Jia T, Li C. Characteristics of fungi community structure and genetic diversity of forests in Guandi Mountains[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(6): 2502-2512 (in Chinese)
- 乔沙沙, 周永娜, 柴宝峰, 贾彤, 李鑫. 关帝山森林土壤真菌群落结构与遗传多样性特征[J]. *环境科学*, 2017, 38(6): 2502-2512
- [24] Zhao PY, Li C, Chai BF. Environmental filters drive the assembly of the soil fungal community in the *Larix principis-rupprechtii* forests of the Guandi Mountains[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(8): 3876-3884 (in Chinese)
- 赵鹏宇, 李鑫, 柴宝峰. 生境过滤驱动庞泉沟华北落叶松林土壤真菌群落的构建过程[J]. *环境科学*, 2018, 39(8): 3876-3884
- [25] Blagodatskaya EV, Anderson TH. Interactive effects of pH and substrate quality on the fungal-to-bacterial ratio and qCO₂ of microbial communities in forest soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1998, 30(10/11): 1269-1274
- [26] Wu LK, Lin XM, Lin WX. Advances and perspective in research on plant-soil-microbe interactions mediated by root exudates[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2014, 38(3): 298-310 (in Chinese)
- 吴林坤, 林向民, 林文雄. 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望[J]. *植物生态学报*, 2014, 38(3): 298-310
- [27] Sun DL, Jiang X, Wu QL, Zhou NY. Intragenomic heterogeneity of 16S rRNA genes causes overestimation of prokaryotic diversity[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(19): 5962-5969
- [28] Yang LB, Sui X, Cui FX, Zhu DG, Song HL, Ni HW. Soil bacterial diversity between different forest successional stages in Tangwanghe National Park[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2019, 32(3): 458-464 (in Chinese)
- 杨立宾, 隋心, 崔福星, 朱道光, 宋翰林, 倪红伟. 汤旺河国家公园不同演替阶段森林土壤细菌多样性变化规律[J]. *环境科学研究*, 2019, 32(3): 458-464
- [29] Feng XC, Cao XG, Ju WH, Liu KM. A study on community characteristics of forest soil bacteria in Lushan National Nature Reserve[J]. *Forest Resources Management*, 2019(6): 101-107 (in Chinese)
- 冯晓川, 曹新光, 居文华, 刘凯妹. 庐山国家级自然保护区森林土壤细菌群落特征研究[J]. *林业资源管理*, 2019(6): 101-107
- [30] Deng JJ, Zhou YB, Yin Y, Wei YW, Qin SJ, Zhu WX. Soil bacterial community structure characteristics in coniferous forests of Montane Regions of eastern Liaoning province, China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(3): 997-1008 (in Chinese)
- 邓娇娇, 周永斌, 殷有, 魏亚伟, 秦胜金, 朱文旭. 辽东山区典型人工针叶林土壤细菌群落多样性特征[J]. *生态*

- 学报, 2019, 39(3): 997-1008
- [31] Lin YB, Yang JH, Ye YM. Analysis on diversity of soil bacterial community under different land use patterns in saline-alkali land[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2019, 39(4): 1266-1273 (in Chinese)
林耀奔, 杨建辉, 叶艳妹. 盐碱地不同土地利用方式下土壤细菌群落结构多样性差异分析[J]. *环境科学学报*, 2019, 39(4): 1266-1273
- [32] Naether A, Foessel BU, Naegel V, Wüst PK, Weinert J, Bonkowski M, Alt F, Oelmann Y, Polle A, Lohaus G, et al. Environmental factors affect Acidobacterial communities below the subgroup level in grassland and forest soils[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(20): 7398-7406
- [33] Taibi Z, Saoudi B, Boudelaa M, Trigui H, Belghith H, Gargouri A, Ladjama A. Purification and biochemical characterization of a highly thermostable xylanase from *Actinomadura* sp. strain Cpt20 isolated from poultry compost[J]. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2012, 166(3): 663-679
- [34] Chen XB, Zhu DQ, Zhao CC, Zhang LL, Chen LX, Duan WB. Community composition and diversity of fungi in soils under different types of *Pinus koraiensis* forests[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56(5): 1221-1234 (in Chinese)
陈秀波, 朱德全, 赵晨晨, 张路路, 陈立新, 段文标. 不同林型红松林土壤真菌群落组成和多样性[J]. *土壤学报*, 2019, 56(5): 1221-1234
- [35] Beinförde C, Feldberg K, Nylander S, Rikkinen J, Tuovila H, Dörfelt H, Gube M, Jackson DJ, Reitner J, Seyfullah LJ, et al. Estimating the Phanerozoic history of the *Ascomycota* lineages: combining fossil and molecular data[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2014, 78: 386-398
- [36] Frey SD, Knorr M, Parrent JL, Simpson RT. Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests[J]. *Forest Ecology and Management*, 2004, 196(1): 159-171
- [37] Cox F, Barsoum N, Lilleskov EA, Bidartondo MI. Nitrogen availability is a primary determinant of conifer mycorrhizas across complex environmental gradients[J]. *Ecology Letters*, 2010, 13(9): 1103-1113
- [38] Yang Y, Yan W, Wei J. Ectomycorrhizal fungal community in the root zone soil of *Larix gmelinii* var. *principis-rupprechtii* in Heilihe and Helanshan National Nature Reserve[J]. *Mycosystema*, 2019, 38(1): 48-63 (in Chinese)
- 杨岳, 闫伟, 魏杰. 黑里河和贺兰山自然保护区华北落叶松根区土壤中外生菌根真菌群落[J]. *菌物学报*, 2019, 38(1): 48-63
- [39] Shi CH, Bau T, Li Y. Newly recorded genus and species of *Pezizales* in China[J]. *Mycosystema*, 2016, 35(11): 1348-1356 (in Chinese)
时楚涵, 图力古尔, 李玉. 中国盘菌目新记录属和种[J]. *菌物学报*, 2016, 35(11): 1348-1356
- [40] Jiang J, Song MH. Review of the roles of plants and soil microorganisms in regulating ecosystem nutrient cycling[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2010, 34(8): 979-988 (in Chinese)
蒋婧, 宋明华. 植物与土壤微生物在调控生态系统养分循环中的作用[J]. *植物生态学报*, 2010, 34(8): 979-988
- [41] Liu Y, Huang YM, Zeng QC. Soil bacterial communities under different vegetation types in the Loess Plateau[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(10): 3931-3938 (in Chinese)
刘洋, 黄懿梅, 曾全超. 黄土高原不同植被类型下土壤细菌群落特征研究[J]. *环境科学*, 2016, 37(10): 3931-3938
- [42] Gao XH, Li M, Lu P, Lv GF, Niu YF. Bacterial community in the rhizosphere soil of *Betula platyphylla* in the Daqing Mountains, Hohhot[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(10): 3586-3596 (in Chinese)
高秀宏, 李敏, 卢萍, 吕桂芬, 牛艳芳. 呼和浩特市大青山白桦根际土壤细菌群落结构研究[J]. *生态学报*, 2019, 39(10): 3586-3596
- [43] Zi HB, Xiang ZY, Wang GX, Ade LJ, Wang CT. Profile of soil microbial community under different stand types in Qinghai province[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2017, 53(3): 21-32 (in Chinese)
字洪标, 向泽宇, 王根绪, 阿的鲁骥, 王长庭. 青海不同林分土壤微生物群落结构(PLFA)[J]. *林业科学*, 2017, 53(3): 21-32
- [44] Ingwersen J, Poll C, Streck T, Kandeler E. Micro-scale modelling of carbon turnover driven by microbial succession at a biogeochemical interface[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(4): 864-878
- [45] Zhang XF, Xu SJ, Li CM, Zhao L, Feng HY, Yue GY, Ren ZW, Cheng GD. The soil carbon/nitrogen ratio and moisture affect microbial community structures in alkaline permafrost-affected soils with different vegetation types on the Tibetan Plateau[J]. *Research in Microbiology*, 2014, 165(2): 128-139