

研究报告

松嫩平原盐碱土细菌群落结构及环境互馈关系

仇大成^{1,2}, 廖子亚¹, 邢庆花¹, 王海胜¹, 刘杰³, 赵百锁^{*1}

1 中国农业科学院研究生院, 北京 100081

2 山西临汾职业技术学院, 山西 临汾 041000

3 黑龙江省黑土保护利用研究院, 黑龙江 哈尔滨 150086

仇大成, 廖子亚, 邢庆花, 王海胜, 刘杰, 赵百锁. 松嫩平原盐碱土细菌群落结构及环境互馈关系[J]. 微生物学通报, 2022, 49(6): 2037-2049

Qiu Dacheng, Liao Ziya, Xing Qinghua, Wang Haisheng, Liu Jie, Zhao Baisuo. The correlation analyses between bacterial community and the crucial environmental factors in saline-alkali soil of Songnen Plain[J]. Microbiology China, 2022, 49(6): 2037-2049

摘要:【背景】松嫩平原盐碱土中孕育着能抗衡外界盐碱双重胁迫的细菌群。【目的】通过分析松嫩平原盐碱土的理化性质、细菌群落组成及其主控环境因子, 为阐明未培养细菌在盐碱土的生物地球化学循环过程中的作用和定向培养功能细菌提供数据支持。【方法】以松嫩平原西部的黑龙江省大庆和吉林省的松原、白城 3 个地区采集的 21 份盐碱土样为样本, 以细菌 16S rRNA 基因 V4 高变区为靶向序列, 应用 Illumina MiSeq 平台, 结合生物信息学手段进行深入解析。【结果】松嫩平原盐碱土属于“苏打型(Na_2CO_3 和 NaHCO_3)”, 主要含 Na^+ 和 K^+ 及 HCO_3^- , pH 范围为 8.47–10.40。黑龙江省大庆市萨尔图区 DC11 样本细菌的多样性最高, 而黑龙江省肇州县 DC2 样本的多样性最低。21 个样本中的细菌群被归为 26 个门 423 个科 845 个属。其中, 以放线菌门(47.3%)、变形菌门(30.3%)、绿弯菌门(7.5%)、芽单胞菌门(7.0%)、拟杆菌门(2.5%)、厚壁菌门(1.7%)和酸杆菌门(1.5%)为主(共计 97.8%)。在科水平上, 通过聚类热图和主成分分析(principal component analysis, PCA), 21 个样本被分为 3 组。冗余分析(redundancy analysis, RDA)发现总盐、 Na^+ 、 HCO_3^- 含量和 pH 是影响细菌群落组成的主要环境因子。【结论】松嫩平原盐碱土中栖息繁殖多种类型的细菌群, 可为微生物及其基因等资源的开发利用提供理论基础。

关键词: 松嫩平原; “苏打型”盐碱土; Illumina MiSeq 平台; 细菌群落结构

基金项目: 国家自然科学基金(31570110); 中国农业科学院研究生院基本科研业务费(1610042022004, 1610042022005)

Supported by: National Natural Science Foundation of China (31570110); Fundamental Research Funds of Graduate School of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (1610042022004, 1610042022005)

***Corresponding author:** E-mail: bszhao@163.com

Received: 2021-10-20; **Accepted:** 2022-01-05; **Published online:** 2022-03-25

The correlation analyses between bacterial community and the crucial environmental factors in saline-alkali soil of Songnen Plain

QIU Dacheng^{1,2}, LIAO Ziya¹, XING Qinghua¹, WANG Haisheng¹, LIU Jie³, ZHAO Baisuo^{*1}

¹ Graduate School, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China

² Linfen Vocational and Technical College, Linfen 041000, Shanxi, China

³ Heilongjiang Academy of Black Soil Conservation and Utilization, Harbin 150086, Heilongjiang, China

Abstract: [Background] The bacteria inhabiting the saline-alkali soil of Songnen Plain have the ability to tolerate double stresses of hyper-saline/alkali environment. [Objective] Analyzing the correlation between bacterial community and the environmental factors in saline-alkali soil of Songnen Plain will offer insights into the role of uncultured bacteria in the biogeochemical cycle and support the targeted culture of functional isolates. [Methods] A total of 21 saline-alkali soil samples were collected from Daqing (Heilongjiang), Songyuan (Jilin) and Baicheng (Jilin). Illumina MiSeq platform was employed to sequence the V4 hypervariable region of bacterial 16S rRNA gene, and the obtained data were analyzed via bioinformatics tools. [Results] The saline-alkali soils of Songnen Plain were of soda (Na_2CO_3 and NaHCO_3), which mainly contained Na^+ , K^+ and HCO_3^- and had pH 8.47–10.40. The bacterial diversity of DC11 sampled in Saertu district of Daqing was the highest, while that of DC2 collected in Zhaozhou was the lowest. The bacteria in the 21 samples were classified into 845 genera, 423 families of 26 phyla. The dominant phyla (97.8%) were *Actinobacteria* (47.3%), *Proteobacteria* (30.3%), *Chloroflexi* (7.5%), *Gemmatimonadetes* (7.0%), *Bacteroidetes* (2.5%), *Firmicutes* (1.7%) and *Acidobacteria* (1.5%). At the family level, the 21 samples were clustered into 3 groups through heatmap and principal component analysis. The redundancy analysis indicated that the content of total salt, Na^+ and HCO_3^- as well as pH significantly affected the bacterial community in saline-alkali soil. [Conclusion] This study indicates that the saline-alkali soil of Songnen Plain harbors diverse bacteria, which can guide the development and utilization of the saline/alkali-tolerant bacteria and their genes.

Keywords: Songnen Plain; soda saline-alkali soil; Illumina MiSeq platform; bacterial community structure

松嫩平原主要由松花江和嫩江冲积而成，地处大兴安岭、小兴安岭与长白山脉及松辽分水岭之间，属于中温带-寒温带及干旱-半干旱气候。该地区是世界上三大“苏打型($\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$)”盐碱土集中区域之一，其盐碱土面积达 373 万 hm^2 ，而且重度盐碱化面积以每年 1.4% 的速度扩展^[1-2]。相较于以“ NaCl ”为主的盐环境，生存于盐碱条件下的微生物需要适应双重胁迫条件^[3]。

因此，松嫩平原盐碱土必定孕育着较为独特的微生物群。此外，松嫩平原盐碱土呈碱性而易吸收大气中的 CO_2 ，因此，栖息于该土壤中的微生物对松嫩平原中无机碳和有机碳之间的平衡等生物地球化学循环起着举足轻重的作用。

近年来，对盐碱环境纯培养细菌资源的挖掘及其应用已经成为微生物领域内的研究热点之一^[3-5]。潘媛媛等^[6]从松嫩平原盐碱土中分

离获得了 40 株盐碱细菌, 其耐盐度为 5%–10%, 耐碱度为 pH 9.0–12.0, 这些菌株被归类于厚壁菌门(*Firmicutes*, 占总数 57.5%)、变形菌门(*Proteobacteria*, 25.0%) 和放线菌门(*Actinobacteria*, 17.5%)。随后从该地区又分离得到了一些盐碱细菌新种, 包括 *Kocuria dechangensis*^[7]、*Halobacillus andaensis*^[8]和 *Halomonas songnenensis*^[9]。以上可培养盐碱菌的获得及其特性的研究丰富了盐碱菌的菌种及其基因资源, 也进一步拓展了科学家对微生物盐碱适应机制的认知。然而, 由于纯培养技术的局限性, 松嫩平原盐碱土中仍存在大量亟待了解的未知盐碱微生物资源^[10]。

随着 Illumina 高通量测序技术的迅猛发展, 盐碱土中未培养细菌群落结构及其生态功能也被深度挖掘。例如, 河西走廊地区盐碱土^[11–12]、玛纳斯河流域盐碱土^[13]、渤海和滨海岸盐渍土^[14–15]中的微生物群落特征不断被报道。其中玛纳斯河流域盐碱土也属于“苏打型”, pH 值为 8.5^[13]。然而松嫩平原“苏打型”盐碱土中含有较多的 $\text{Na}_2\text{CO}_3/\text{NaHCO}_3$ 且 pH 碱性较强(多数 pH>9.0), 与其他盐碱土不同, 其土壤理化性质具有独特性, 因此, 深入解析该类型土壤中的微生物群有重要的生态意义。近年来, 杨赛等^[16]和 Peng 等^[17]对松嫩平原植被下盐碱土中的微生物群进行了一些调查, 但样品量少且类型较单薄。为了更广泛地获取松嫩平原大范围内多种类型盐碱土中细菌多样性及受控的环境因子, 本研究从松嫩平原采集了较大区域尺度和多种不同特征的盐碱土样品, 应用 Illumina MiSeq 技术对松嫩平原西部盐碱土中的细菌群落结构进行解析, 并探讨其与环境因子之间的关系, 以期获得更丰富的纯培养细菌资源提供借鉴, 并为其在生物地球化学循环中的作用提供线索。

1 材料与方法

1.1 样品

从松嫩平原西部的黑龙江省大庆和吉林省的松原、白城 3 个地区采集了 21 份盐碱土样品(表 1)。采集期间, 盐碱土表面质地较硬, 挖出的土壤有板结现象, 有些土壤表层有一些白色盐分的析出, 几乎无绿植或者生物结皮(图 1)。采集样品时, 首先记录采样点地理位置信息(表 1), 接着去除土壤表面的细碎石块及枯叶等, 然后用 T 型取样器取深度约为 20 cm 的土壤并混匀放置于无菌塑料瓶中, 最后用干冰运回实验室。将新鲜的盐碱土样品自然风干后过 2 mm 筛后, 每个样品被分为两部分, 一部分保存于–80 °C 冰箱用于细菌多样性分析, 另一部分用于土壤理化性质分析。

1.2 主要试剂和仪器

DNA 提取与分离试剂盒, Itop (北京)科技有限公司; DNA 沉淀剂(Dr. GenTLE™ Precipitation Carrier), TaKaRa (北京)有限公司; PEG-6000, Sigma-Aldrich® (上海)贸易有限公司; Q5 高保真 DNA 聚合酶, NEB (北京)有限公司; 其他试剂均为分析纯, Solarbio (北京)科技有限公司。PCR 扩增仪, Bio-Rad 公司; pH 计和便携式电导率仪, Mettler-Toledo 公司; 多管涡旋振荡仪, Benchmark 公司; 冷冻离心机, LaboGene 公司; TOC/TN 分析仪, Analytik Jena 公司。

1.3 理化性质测定

以土水比 1:2.5 (质量体积比)混合均匀, 用 pH 计测定 pH 值。以土水比 1:5 (质量体积比)混合均匀, 用便携式电导率仪测定电导率。可溶性有机碳(dissolved organic carbon, DOC)的测定参照文献[18], 总氮(total nitrogen, TN)和总有机碳(total organic carbon, TOC)参照文献[19]通过 TOC/TN 分析仪测定。无机阴离子 Cl^- 、 SO_4^{2-}

表 1 21 份盐碱土样本的地理位置信息

Table 1 Geographic location of 21 saline-alkaline soils (in China)

Sample	Longitude (E)	Latitude (N)	Country	City	Province
DC1	125°1'53"	46°28'40"	Longfeng	Daqing	Heilongjiang
DC2	125°2'48"	45°50'33"	Zhaozhou	Daqing	Heilongjiang
DC3	125°2'48"	45°50'33"	Zhaozhou	Daqing	Heilongjiang
DC4	125°27'59"	45°52'2"	Zhaozhou	Daqing	Heilongjiang
DC5	123°3'35"	44°50'38"	Tongyu	Baicheng	Jilin
DC6	123°8'14"	44°47'36"	Tongyu	Baicheng	Jilin
DC7	123°13'7"	44°46'36"	Tongyu	Baicheng	Jilin
DC8	123°49'54"	44°58'25"	Qian'an	Songyuan	Jilin
DC9	124°13'53"	45°1'38"	Qian'an	Songyuan	Jilin
DC10	124°34'29"	45°2'22"	Qian Gorlos	Songyuan	Jilin
DC11	125°5'36"	46°39'48"	Saertu	Daqing	Heilongjiang
DC12	124°39'43"	46°46'5"	Ranghu Road	Daqing	Heilongjiang
DC13	124°34'10"	46°48'19"	Durbermont	Daqing	Heilongjiang
DC14	124°30'32"	46°56'11"	Durbermont	Daqing	Heilongjiang
DC15	124°40'8"	47°13'58"	Lindian	Daqing	Heilongjiang
DC16	123°42'55"	45°27'10"	Daan	Baicheng	Jilin
DC17	123°35'59"	45°17'4"	Daan	Baicheng	Jilin
DC18	123°34'8"	45°12'23"	Daan	Baicheng	Jilin
DC19	123°54'4"	45°4'55"	Qian'an	Songyuan	Jilin
DC20	124°26'1"	45°6'6"	Qian'an	Songyuan	Jilin
DC21	123°49'44"	45°36'22"	Daan	Baicheng	Jilin



图 1 采样地盐碱土壤表面示意图

Figure 1 Schematic diagram of the sampled saline-alkaline soil surface.

和 HCO_3^- 的测定使用毛细管电泳法^[20]。其中，根据测定的 CO_3^{2-} 浓度和公式 $\text{Log}_{10} c(\text{HCO}_3^-) = \text{Log}_{10} c(\text{CO}_3^{2-}) - \text{pH} 11.60$ 计算得到 HCO_3^- 浓度。 NO_3^- 和 NH_4^+ 含量用分光光度法测定^[21]。 K^+ 和 Na^+ 含量用火焰光度法测定^[22]。

1.4 DNA 提取及 MiSeq 平台测序

采用 Itop 土壤 DNA 试剂盒提取待测盐碱

土中的总 DNA，通过 NanoDrop 2000 检测 DNA 浓度和纯度，用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测总 DNA 完整性。以总 DNA 为模板，通过引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACVSGGGTATCTAAT-3') 对细菌的 16S rRNA 基因 V4 可变区进行 PCR 扩增^[23]。其中，用于对应识别的 barcode 前端引

物由上海派森诺公司合成。PCR 条件: 95 °C 5 min; 95 °C 45 s, 50 °C 1 min, 72 °C 1 min, 30 个循环; 72 °C 5 min。PCR 扩增产物(约 250 bp)通过 1%琼脂糖凝胶电泳检测后用试剂盒纯化、回收和定量,最后送至派森诺公司进行 Illumina MiSeq 双端模式(2×300 bp)测序。

1.5 测序数据分析

首先从下机数据中拆分出各样本数据,截去 barcode 和引物序列,用 Trimmomatic V0.38 序列过滤软件去除接头和低质量片段(quality score<20);接着用 QIIME V1.9.1 中的 UCLUST 对质控后的序列按 97%序列相似性进行聚类 and OTU 单元划分^[24-26];然后选取每个 OTU 中丰度最高的序列为代表序列,通过对代表序列与数据库(<http://greengenes.secondgenome.com>. Release 13.8)中序列的比较而获得 OTU 分类学信息。

1.6 数据统计分析

研究中的数据为 3 次重复的平均值。样品采集图通过 Global Mapper 13.0 绘制,样品地理位置信息采用 Global Map 软件记录,物种累计曲线和多样性指数通过 RV3.5.3 和 Rstudio V1.1.463 软件加载 Vegan 数据包进行计算绘制。在科水平上,应用 R 软件(Pheatmap)绘制聚类热图,应用 Canoco V5.0 进行冗余分析(redundancy analysis, RDA)。

1.7 序列登录号

原始数据序列上传至 NCBI SRA 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra>), 登录号为 SRR8362967-SRR8363028。

2 结果与分析

2.1 盐碱土理化性质分析

21 份盐碱土样品中的总盐(total salt)含量为 257–6 364 mg/kg, 电导率为 0.05–0.77 ds/cm (表 2)。盐碱土中含有多种类型的盐离子,阳离子

以 Na^+ (101–4 760 mg/kg)和 K^+ (23–131 mg/kg)为主要成分;阴离子则以 HCO_3^- (830–2 515 mg/kg)、 Cl^- (22–10 911 mg/kg)、 SO_4^{2-} (32–5 491 mg/kg)和 NO_3^- (1–195 mg/kg)为主要成分。其中约 80%样品中 HCO_3^- 含量均高于 Cl^- 含量。所有样品均呈碱性, pH 值为 8.47–10.40, 有 81.0% 的样品(共 17 个) pH 值高于 9.50。因此,相较于其他盐碱土类型,松嫩平原盐碱土中 Na^+ 和 HCO_3^- 含量高且 HCO_3^- 含量显著高于 Cl^- 。由于实验室中纯 Na_2CO_3 溶液理论 pH 值约为 11.0, 但自然环境中几乎无纯的 CO_3^{2-} , 所以自然界 pH 值由 CO_3^{2-} 和 HCO_3^- 的比值决定。本研究中 21 份样品所含的盐类及其含量和 pH 8.47–10.40 的特点均符合“苏打型(Na_2CO_3 和 NaHCO_3)”盐碱土的性质^[5]。此外,采集的盐碱土中的总氮(TN)、总有机碳(TOC)和溶解性有机碳(DOC)的范围分别是 21–318 mg/kg、3.455–4.265 mg/kg 和 2852–18 420 mg/kg。

2.2 盐碱土细菌群落多样性分析

根据报道的细菌和古菌的通用引物 515F 和 806R^[23]用来靶向扩增 16S rRNA 基因 V4 区,以获得盐碱土中所有原核微生物扩增子的信息。然而分析表明,在所有扩增子序列中,细菌数量占有绝对优势地位,而古菌数量所占比例非常小,仅为 0.007%–1.064%。这说明此引物对细菌的 16S rRNA 基因序列有一定的偏好性。

通过剔除所有样本中少量的古菌序列和极少数的真核序列,从 21 个盐碱土样本中共获得 607 771 条序列,样本的平均序列数为 28 941 条。样本 DC10 (吉林省松原市前郭尔罗斯蒙古族自治县)序列数最多(29 378 条),样本 DC8 (吉林省松原市乾安县)的序列数最少(28 250 条)。当盐碱土样本量少于 10 时,随着样本量的不断增加,细菌物种数目及物种增加率均表现为急剧上升(物种累计曲线(图 2),表示细菌群落中尚

表 2 21 份盐碱土样本的物理化性质
Table 2 Physical and chemical properties of 21 saline-alkaline soils

Sample	latitude (N)	longitude (E)	Conductivity (ms/cm)	Total salt (mg/kg)	pH	NO ₃ ⁻ (mg/kg)	NH ₄ ⁺ (mg/kg)	K ⁺ (mg/kg)	Na ⁺ (mg/kg)	Cl ⁻ (mg/kg)	SO ₄ ²⁻ (mg/kg)	HCO ₃ ⁻ (mg/kg)	TOC (mg/kg)	DOC (mg/kg)	TN (mg/kg)
DC1	46°28'40"	125°1'53"	0.14	415.00	10.25	1.24	16.41	48.97	127.76	187.09	700.80	1 745.82	9 075.47	1077.11	150.81
DC2	45°50'33"	125°2'48"	0.37	3347.21	8.47	106.47	14.20	31.26	778.45	4 663.64	1 435.20	830.82	6 667.52	267.79	162.90
DC3	45°50'33"	125°2'48"	0.39	499.52	10.40	114.34	11.64	45.21	306.72	1 641.52	1 149.12	2 241.14	10 346.45	2 183.92	318.16
D C4	45°52'2"	125°27'59"	0.11	1 676.92	10.13	1.33	12.37	51.83	1 132.76	22.37	32.64	1 505.48	4 198.86	646.39	80.73
DC5	44°50'38"	123°3'35"	0.10	904.90	10.05	33.22	13.47	62.83	391.03	776.03	183.36	1 157.17	4 198.56	240.98	38.66
DC6	44°47'36"	123°8'14"	0.10	1 346.16	9.94	145.88	14.57	64.52	602.07	145.20	665.28	1 307.84	6 806.63	1 423.59	316.11
DC7	44°46'36"	123°13'7"	0.34	499.45	10.29	33.61	13.83	75.31	227.59	2 829.00	1 764.48	1 589.05	4 371.55	883.93	104.84
DC8	44°58'25"	123°49'54"	0.77	864.12	9.92	56.06	10.18	131.10	475.86	10 911.64	5 491.20	1 973.96	5 485.40	343.33	114.03
DC9	45°1'38"	124°13'53"	0.12	2 003.84	9.95	16.08	12.00	100.99	1 513.45	136.32	356.16	1 315.77	8 633.33	366.85	57.93
DC10	45°2'22"	124°34'29"	0.06	3 127.11	9.80	16.19	16.78	73.66	1 841.90	34.44	175.68	1 099.22	11 209.87	378.36	58.37
DC11	46°39'48"	125°5'36"	0.08	3 416.86	9.84	15.87	15.30	90.82	2 186.90	478.90	100.80	1 149.24	8 714.14	1 004.94	109.77
DC12	46°46'5"	124°39'43"	0.05	3 005.78	9.63	3.89	12.37	66.04	1 906.55	58.93	54.72	1 253.55	8 302.32	214.15	21.00
DC13	46°48'19"	124°34'10"	0.06	3 327.76	9.76	1.51	12.00	79.40	2 496.72	26.63	120.96	1 421.91	6 150.79	303.16	32.48
DC14	46°56'11"	124°30'32"	0.15	1 613.12	10.02	14.61	13.83	60.53	1 042.76	157.98	518.40	2 307.63	13 435.74	2 835.95	280.02
DC15	47°13'58"	124°40'8"	0.21	6 364.33	9.06	46.19	9.82	65.54	4 760.17	2 794.92	1 609.92	1 123.01	18 420.93	507.52	75.02
DC16	45°27'10"	123°42'55"	0.21	560.60	10.00	75.80	8.37	53.18	316.55	2 247.86	406.08	2 295.43	6 797.53	615.46	158.16
DC17	45°17'4"	123°35'59"	0.31	427.61	10.25	19.22	9.09	23.22	228.62	2 031.67	2 299.20	2 515.64	7 315.67	690.84	96.45
DC18	45°12'23"	123°34'8"	0.18	421.68	10.00	194.86	8.01	57.28	185.17	612.02	655.68	2 475.38	5 528.86	1 332.56	292.22
DC19	45°4'55"	123°54'4"	0.32	257.26	10.26	46.79	8.37	31.57	101.90	2 394.48	1 217.28	2 277.74	6 960.79	1 071.76	137.00
DC20	45°6'6"	124°26'1"	0.12	3 157.52	9.30	19.11	12.00	87.18	2 025.00	962.76	329.28	1 678.72	16 728.06	447.49	46.12
DC21	45°36'22"	123°49'44"	0.24	1 440.45	9.60	24.65	16.04	63.90	766.03	3 077.85	214.08	1 550.62	2 852.28	334.72	51.06

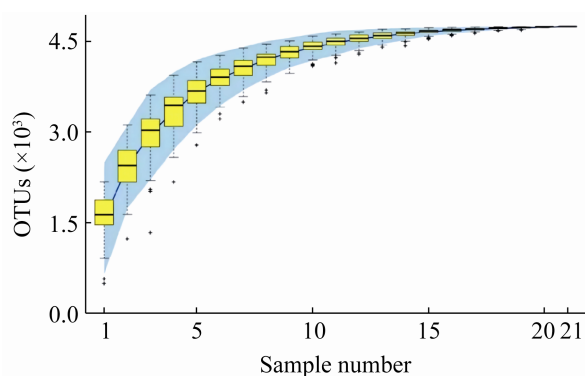


图 2 21 份盐碱土样本的物种累计曲线图

Figure 2 Species accumulation curves of 21 saline-alkaline soils.

有大量的物种未被发现; 当样本量处于 10–17 时, 细菌物种数目处于缓慢上升阶段; 当样本量达到 18 时, 细菌物种累计曲线接近平缓, 最终成为一条平滑线, 表示此环境中的物种并不会随样本量的增加而显著增多, 这些结果表明来源于松嫩平原的 21 个盐碱土样本量是充分的, 可以对松嫩平原中细菌多样性等进行后续分析。

微生物多样性通常由物种的丰富度(每个样本中 OTU 的数目)和均匀度(不同 OTU 在样本中的相对丰度)两方面来衡量。其中, 物种的丰富度用 Chao1 指数和 ACE 指数衡量, 其指数值越大, 表明样本中物种的丰富度越高。如表 3 所示, 来源于黑龙江省大庆市肇州县 DC3 样本的 Chao1 指数和 ACE 指数值最大, 而吉林省松原市前郭尔罗斯 DC10 样本的 Chao1 指数和 ACE 指数值最小。Shannon 指数或 Simpson 指数作为衡量样本中丰富度和均匀度的综合指标, 其指数值越大, 表明样本中的物种越多且个体分配越均匀, 物种多样性越高^[27]。黑龙江省大庆市萨尔图区 DC11 样本的 Shannon 指数和 Simpson 指数值最大, 而黑龙江省肇州县 DC2 样本的 Shannon 指数和 Simpson 指数值最小。因此, 样本 DC11 的细菌多样性最高, 而样本 DC2 的细菌多样性最低。

表 3 21 份盐碱土中细菌的多样性指数分析

Table 3 The bacterial diversity index of 21 saline-alkaline soils

Sample	Chao1	ACE	Shannon	Simpson
DC1	1 945.55	2 023.14	7.81	0.978
DC2	643.01	681.56	2.84	0.538
DC3	2 391.74	2 508.38	8.51	0.989
DC4	1 231.32	1 296.81	6.18	0.893
DC5	1 734.51	1 777.22	8.13	0.987
DC6	2 160.05	2 226.84	8.50	0.989
DC7	1 715.00	1 715.00	8.87	0.994
DC8	1 837.76	1 902.57	8.11	0.984
DC9	968.03	1 000.52	5.20	0.877
DC10	527.88	546.65	3.17	0.591
DC11	2 204.18	2 269.56	8.89	0.994
DC12	1 908.57	1 988.08	8.40	0.990
DC13	2 314.61	2 419.02	8.32	0.987
DC14	1 674.19	1 743.44	7.72	0.979
DC15	1 430.09	1 433.67	8.06	0.986
DC16	2 016.72	1 997.21	8.09	0.989
DC17	1 821.72	1 826.64	7.97	0.990
DC18	1 991.76	1 994.83	8.13	0.991
DC19	2 006.98	2 071.90	7.94	0.986
DC20	2 198.81	2 307.21	7.23	0.935
DC21	1 786.97	1 844.87	8.30	0.989

2.3 盐碱土细菌群落结构分析

如图 3 所示, 所有 21 个样本共包含 26 个门。在门的分类水平上有 7 个细菌门, 包括放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和酸杆菌门(*Acidobacteria*), 占总体细菌群的 97.8%, 而其余 20 个门类仅占 2.2%。在 21 个盐碱土样品中, 放线菌门位居第一(47.3%), 变形菌门位居第二位(30.3%)。放线菌门包含 8 个纲 28 个目 74 个科 168 个属。其中, 脲基降解菌纲(*Nitriliruptoria*, 28.6%)、酸微菌纲(*Acidimicrobiia*, 24.7%)、放线菌纲(*Actinobacteria*, 22.7%)和嗜热油菌纲(*Thermoleophilia*, 17.5%)占总数的 93.5%。脲基降解菌纲仅有脲基降解菌属(*Nitriliruptor*)

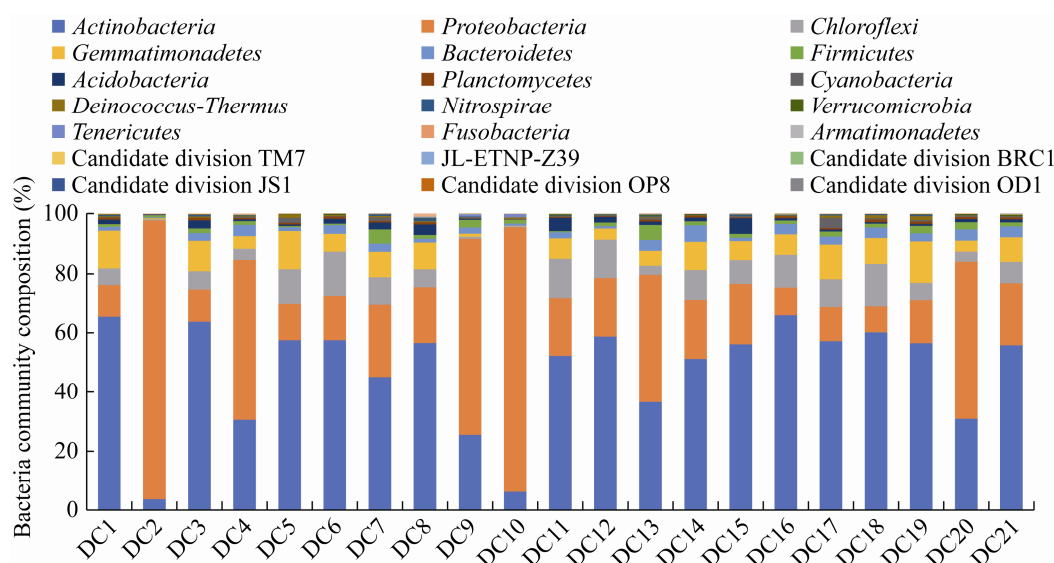


图 3 21 份盐碱土中细菌群落在门水平上的分布情况

Figure 3 The distribution profile of bacteria community at phylum level in 21 saline-alkaline soils.

和尤泽比氏菌属 (*Euzebya*)。酸微菌纲含有 24 个属, 但是纲内数量最多的 3 个未培养属类占 78.3%; 而放线菌纲包含的属最多, 可分为 104 个属, 其中红球菌属 (*Rhodococcus*) 和类诺卡氏属 (*Nocardioide*) 位居前两位。嗜热油菌纲有 29 个属, 其前 3 个属也是未培养类。变形菌门有 9 个纲 55 个目 143 个科 333 个属。其中, γ -变形菌纲所占比例最高达 57.7%, 可分为 99 个属, 优势属为假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、嗜麦芽窄食单胞菌属 (*Stenotrophomonas*) 和盐单胞菌属 (*Halomonas*), 它们所占的比例依次为 67.6%、6.8%、6.7% 和 6.4%。

2.4 盐碱土样本聚类分析

最新研究^[28-30]报道, 在相似的环境条件下, 细菌群落结构的趋同性主要表现在科水平上。本研究从 21 个盐碱土样本共 423 科中筛选出 23 个优势科 (表 4)。这些科在黑龙江省大庆市肇州县的样本 (DC2) 中最高 (87.0%), 即使在黑龙江省大庆市杜尔伯特蒙的样本 (DC13) 中最低, 但是也达到了 50.4%, 说明选择的 23 个科具有

良好的代表性。通过聚类热图分析, 可以将高丰度和低丰度的科单元进行区分, 并以颜色梯度及相似程度来反映 21 个样本在科水平上组成的相似性和差异性。本研究中的 21 个样本可聚类为 3 个群体且群体之间分离明显 (图 4)。其中, 第一群体的共同特征是假单胞菌科 (SP1, *Pseudomonadaceae*) 丰度较高, 包括 DC20 (SP1, 约占 38.94%)、DC9 (43.3%)、DC4 (51.2%)、DC10 (80.4%) 和 DC2 (80.9%)。第二群体包括样本 DC5、DC6、DC16、DC17 和 DC18, 这 5 个样本的共同特征是腈基降解菌科 (SP2, *Nitriliruptoraceae*) 和尤泽比氏菌科 (SP4, *Euzebyaceae*) 丰度较高。第三群体为其他 11 个样本。此外, 应用 Canoco 5.0 统计软件通过主成分分析 (principal component analysis, PCA), 样本也被分为相同的聚类结果。其中, 第一主成分 PC1 和第二主成分 PC2 的贡献度分别为 75.3% 和 11.9%, 而且累计达到了 87.2%。

2.5 细菌群落及其盐碱土理化性质互馈关系分析

为了反映盐碱土中细菌菌群与环境因子之间的对应关系, 首先在科水平上进行了消除趋

表 4 简称和细菌科名称对应表

Table 4 The correspondence between abbreviation and family of taxonomy

Abbreviation	Phylum	Class	Order	Family	The proportion of family taxonomy (%)
SP1	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	11.85
SP2	<i>Actinobacteria</i>	<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Nitriliruptorales</i>	<i>Nitriliruptoraceae</i>	8.25
SP3	<i>Actinobacteria</i>	<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	OCS155 marine group	6.75
SP4	<i>Actinobacteria</i>	<i>Nitriliruptoria</i>	<i>Euzebyales</i>	<i>Euzebyaceae</i>	5.27
SP5	<i>Actinobacteria</i>	<i>Thermoleophila</i>	<i>Solirubrobacterales</i>	480-2	3.60
SP6	<i>Actinobacteria</i>	<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	Uncultured	3.24
SP7	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Corynebacteriales</i>	<i>Nocardiaceae</i>	2.89
SP8	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Propionibacteriales</i>	<i>Propionibacteriaceae</i>	2.61
SP9	<i>Gemmatimonadetes</i>	<i>Gemmatimonadetes</i>	AT425-EubC11	Uncultured bacterium	2.50
			terrestrial group		
SP10	<i>Actinobacteria</i>	MB-A2-108	Uncultured bacterium	Uncultured bacterium	2.02
SP11	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Xanthomonadales</i>	<i>Xanthomonadaceae</i>	1.82
SP12	<i>Actinobacteria</i>	<i>Thermoleophila</i>	<i>Gaiellales</i>	Uncultured	1.82
SP13	<i>Chloroflexi</i>	Gitt-GS-136	Uncultured bacterium	Uncultured bacterium	1.73
SP14	<i>Chloroflexi</i>	<i>Thermomicrobia</i>	<i>Sphaerobacterales</i>	<i>Sphaerobacteraceae</i>	1.43
SP15	<i>Gemmatimonadetes</i>	<i>Gemmatimonadetes</i>	BD2-11 terrestrial group	Uncultured bacterium	1.42
SP16	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Propionibacteriales</i>	<i>Nocardiodaceae</i>	1.40
SP17	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhodospirillales</i>	MSB-1E8	1.39
SP18	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Moraxellaceae</i>	1.26
SP19	<i>Actinobacteria</i>	<i>Thermoleophila</i>	<i>Solirubrobacterales</i>	Elev-16S-1332	1.17
SP20	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Oceanospirillales</i>	<i>Halomonadaceae</i>	1.12
SP21	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhizobiales</i>	DUNssu044	1.02
SP22	<i>Gemmatimonadetes</i>	<i>Gemmatimonadetes</i>	S0134 terrestrial group	Uncultured bacterium	1.01
SP23	<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Rhodocyclales</i>	<i>Rhodocyclaceae</i>	1.00

势对应分析(decentred correspondence analysis, DCA), 得到 axis lengths 最大轴的值为 2.75。由于该值小于 3, 因此进行了冗余分析(redundancy analysis, RDA), 以获得影响细菌群落分布的环境驱动因子。如图 5 所示, 第一排序轴特征值为 80.8%, 第二排序轴特征值为 9.1%, 前两轴累计解释量占特征值的总和为 89.9%。RDA 前两轴能很好地反映土壤细菌群落与环境因子之间关系的大部分信息, 空心箭头线段在横轴上投影的长度表示环境因子对群落分布的驱动能力, 空心箭头与实心箭头夹角的余弦值代表二者之间的相关性(图 5)。经蒙特卡洛检验, HCO_3^- 、总盐、 Na^+ 含量及 pH 是盐碱土细菌群落组成的

主要影响因子($P < 0.05$)。RDA 多元回归分析发现, 在科水平上(图 5 和表 4), 假单胞菌科与总盐、 Na^+ 含量呈正相关, 而与 HCO_3^- 和 pH 呈负相关; 脲基降解菌科、尤泽比氏菌科及 SP5 与 HCO_3^- 和 pH 呈正相关, 而与总盐和 Na^+ 含量呈负相关; SP3 与 HCO_3^- 、总盐、 Na^+ 含量及 pH 呈微弱正相关。

3 讨论

自然界中分布着盐湖、海洋和人工盐池等高盐环境。同时, 一些盐环境的 pH 呈碱性, 有些 pH 值可达 11.0^[31]。这些盐碱环境在陆源环境中的分布主要集中于土耳其、西伯利亚南

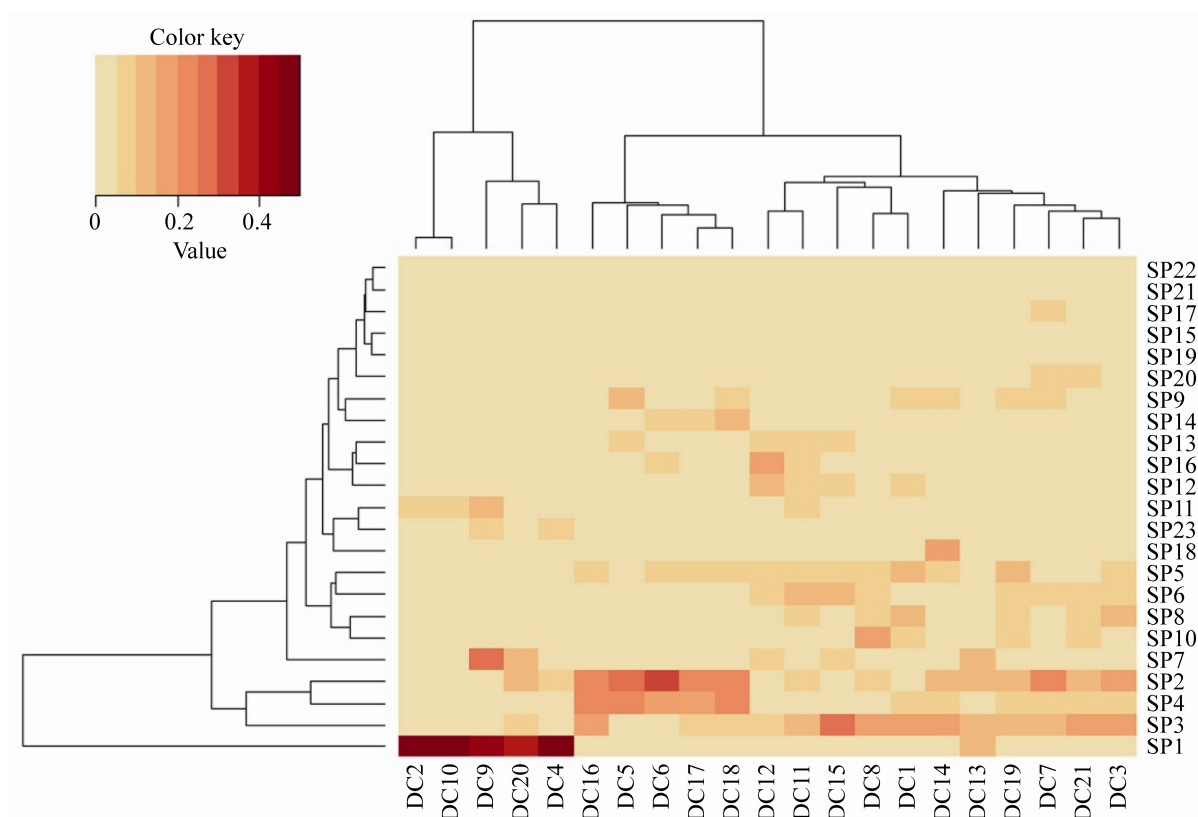


图 4 21 份盐碱土中细菌群落在科水平上的聚类热图

Figure 4 The cluster analysis heatmap of bacteria community at family level of 21 saline-alkaline soils.

部、蒙古、埃及、肯尼亚及我国东北和西部半干旱或干旱地区^[3]。松嫩平原盐碱土是世界上三大“苏打型”盐碱土集中分布的区域之一，而且重度盐碱化面积仍处于持续扩展状态^[1-3]。本课题组采集了跨区域尺度较大的盐碱土 21 份。通过对其理化性质分析，发现松嫩平原盐碱土中的盐分以小苏打(碳酸氢钠)和苏打(碳酸钠)为主，即为内陆苏打盐碱型土壤。相较于其他地区的一些盐湖和盐池，松嫩平原盐碱土的总盐含量不高。这与玛纳斯河流域“苏打型”土壤含盐量不高有类似的特征^[13]。然而松嫩平原地处干旱-半干旱区域，在干旱的秋季，相当多的盐碱地表面会有一层白色的苏打粉末，这说明盐碱土表层盐度已达到了饱和而导致盐析(图 1)。为了整体了解松嫩平原盐碱土中细菌群落组

成，本研究采集了盐碱土从表层至深度约为 20 cm 的土壤，以便了解该盐碱土壤层中蕴藏的细菌种群及其与环境因子之间的关系。

通过 Illumina MiSeq 测序平台，我们发现松嫩平原盐碱土中优势细菌门共 7 个，依次为放线菌门、变形菌门、绿弯菌门、芽单胞菌门、拟杆菌门、厚壁菌门和酸杆菌门，其中放线菌门和变形菌门处于绝对优势地位，两者共占 77.6%。Peng 等^[17]发现来源于大庆农牧场的 2 个盐碱样品(pH 值约为 9.4) JBT1 和 JBT2 中的优势细菌群为酸杆菌门、拟杆菌门和芽单胞菌门，这三者可达 80%以上。然而该报道中微生物群落结构的研究结果与本研究相差较大，这可能与牧场中的草系、动物及人类不断干扰的活动有关系。比如，降雨或人工灌溉、牧草不断地

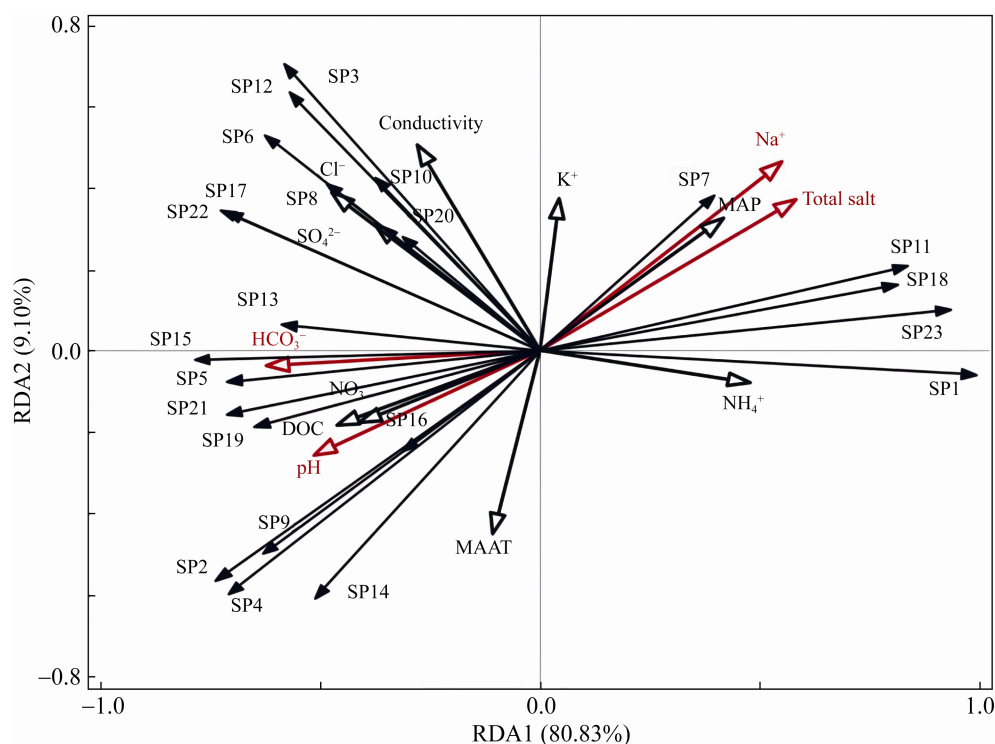


图 5 基于细菌群落在科水平上的冗余分析

Figure 5 Redundancy analysis at family level of bacteria community.

生长、动物粪便等均可影响该土壤中的微生物群落结构。杨赛等^[16]发现来源于东北林业大学盐碱试验基地的一个无植被的“苏打型”碱斑土样品中(pH 10.5)的优势细菌门共有 9 个, 其中变形菌门占比最高, 其次为放线菌门。此外, 玛纳斯河流域碳酸盐型的盐碱土壤中则以厚壁菌门(18.0%)、变形菌门和放线菌门为优势菌门^[13]。值得注意的是, 本研究中的 DC2、DC4、DC9、DC10、DC13 和 DC20 共 6 个样品中的优势菌门为变形菌门和放线菌门且前者大于后者, 而其余 15 个样品(70%)中处于首位的是放线菌门(图 3)。这表明盐碱土的理化性质和空间地理分布显著影响细菌群落结构。此外, 我们在研究初期希望通过 MiSeq 技术获取大量的盐碱菌信息, 但是从属水平分析, 腈基降解菌属、尤泽比氏菌属和盐单胞菌属为专性盐碱菌, 而盐单胞菌属、红球菌属和类诺卡氏菌属等应该

并非严格的嗜盐菌, 属于耐盐菌。这说明尽管松嫩平原盐碱土在干旱少雨时其盐碱土中的微生物受到双重胁迫, 其表层盐碱度可达到饱和, 但是其中大部分细菌依然为耐盐细菌, 也说明在松嫩平原中的生物地球化学中碳氮循环中耐盐微生物起主要作用。此外, 若要最大限度地了解获得该区域盐碱土中的一些可培养微生物资源, 建议用 5%–10%的盐度进行筛选。然而值得注意的是, 盐碱土中仍然有大量的未知细菌群不能在序列数据库中获得相关的分类信息, 也许这部分属于盐碱微生物中的难培养微生物, 仍需要运用新的培养技术来获得盐碱土中的细菌种群信息。

根据最新报道, 相似环境条件下的细菌群落结构在科水平上具有趋同性^[28-30]。因此, 本研究从 423 科中获得了有良好代表性的 23 个优势科, 它们在各自样品中的占比为 50.4%–87.0%。为了

寻找本研究中的细菌科和环境因子的互馈关系,通过 RDA 分析发现,细菌群落结构主要与盐碱土中的总盐、 Na^+ 、pH 及影响 pH 的 HCO_3^- 有显著关系。这是因为在多数无植被的盐碱土中 Na^+ 和 HCO_3^- 主要影响其理化性质。牛世全等^[11]也发现河西走廊地区盐碱土壤微生物群落结构与 pH 和电导率显著相关,但是该区不属于“苏打型”盐碱土,而本研究发现至少在科水平上细菌群落结构与电导率无显著相关性,这说明“苏打型”盐碱土与其他类型盐碱土的电导率存在差异。假单胞菌科与总盐和 Na^+ 呈极显著正相关,而与 HCO_3^- 和 pH 呈显著负相关,这说明此科中的微生物耐盐度强,但在强碱性条件下不适宜生存繁殖。相反地,腈基降解菌科和尤泽比氏菌科与 HCO_3^- 和 pH 呈显著正相关,而与总盐和 Na^+ 含量呈显著负相关,说明这些科中的微生物适宜生长在碱性较强的环境中。综上所述,本文运用高通量测序平台全面深入地探讨了松嫩平原中的细菌群落结构及其环境因子之间的互馈关系,为该区域盐碱土中能抗衡或适应双重胁迫条件微生物在生物地球化学循环中的作用提供了一些种群信息,也为可培养耐盐碱或嗜盐碱的菌种资源挖掘提供支持,同时为开发盐碱地生态修复提供线索。

4 结论

本研究验证了松嫩平原盐碱土壤中的盐类和 pH 符合“苏打型(Na_2CO_3 和 NaHCO_3)”特征。该区域盐碱土中的放线菌门、变形菌门、绿弯菌门、芽单胞菌门、拟杆菌门、厚壁菌门和酸杆菌门占主导地位。从科水平上,21 个盐碱土样品可被分为 3 个分离明显的群体。盐碱土中的环境因子总盐和 Na^+ 含量及 pH 和 HCO_3^- 对松嫩平原细菌群落结构有显著影响。

REFERENCES

- [1] 熊毅. 中国盐渍土分区[J]. 土壤学报, 1957(1): 50-60
Xiong Y. China saline soil zoning[J]. Acta Pedologica Sinica, 1957(1): 50-60 (in Chinese)
- [2] 张巍, 冯玉杰. 松嫩平原盐碱土理化性质与生态恢复[J]. 土壤学报, 2009, 46(1): 169-172
Zhang W, Feng YJ. Physico-chemical properties and ecological recovery of saline-alkaline soil in Songnen Plain[J]. Acta Pedologica Sinica, 2009, 46(1): 169-172 (in Chinese)
- [3] Zhao BS, Yan YC, Chen SL. How could haloalkaliphilic microorganisms contribute to biotechnology?[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2014, 60(11): 717-727
- [4] 鲁凯珩, 金杰人, 肖明. 微生物肥料在盐碱土壤中的应用展望[J]. 微生物学通报, 2019, 46(7): 1695-1705
Lu KH, Jin JR, Xiao M. Prospect of microbial fertilizer in saline soil[J]. Microbiology China, 2019, 46(7): 1695-1705 (in Chinese)
- [5] 赵百锁, 李俊. 可培养盐碱菌多样性的研究进展[J]. 微生物学报, 2017, 57(9): 1409-1420
Zhao BS, Li J. Biodiversity of culture-dependent haloalkaliphilic microorganisms[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2017, 57(9): 1409-1420 (in Chinese)
- [6] 潘媛媛, 黄海鹏, 孟婧, 肖鸿禹, 李成, 孟琳, 洪闪, 刘贺男, 王雪枫, 姜巨全. 松嫩平原盐碱地中耐(嗜)盐菌的生物多样性[J]. 微生物学报, 2012, 52(10): 1187-1194
Pan YY, Huang HP, Meng J, Xiao HY, Li C, Meng L, Hong S, Liu HN, Wang XF, Jiang JQ. Biodiversity of culturable halotolerant and halophilic bacteria isolated from saline-alkaline soils in Songnen Plain[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2012, 52(10): 1187-1194 (in Chinese)
- [7] Wang KB, Zhang L, Liu YS, Pan YY, Meng L, Xu T, Zhang C, Liu HN, Hong S, Huang HP, Jiang JQ. *Kocuria dechangensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from saline and alkaline soils[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(Pt_9): 3024-3030
- [8] Wang KB, Zhang L, Yang Y, Pan YY, Meng L, Liu HN, Hong S, Huang HP, Jiang JQ. *Halobacillus andaensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from saline and alkaline soil[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2015, 65(Pt_6): 1908-1914
- [9] Jiang JQ, Pan YY, Hu SX, Zhang XX, Hu BZ, Huang HP, Hong S, Meng J, Li C, Wang KB. *Halomonas songnenensis* sp. nov., a moderately halophilic bacterium isolated from saline and alkaline soils[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary

- Microbiology, 2014, 64(Pt_5): 1662-1669
- [10] 邱并生. 盐碱土壤微生物[J]. 微生物学通报, 2014, 41(1): 200
- Qiu BS. Microbes in saline-alkali soil[J]. Microbiology China, 2014, 41(1): 200 (in Chinese)
- [11] 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
- 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)
- [12] Nan LL, Guo QE, Cao SY. Archaeal community diversity in different types of saline-alkali soil in arid regions of Northwest China[J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2020, 130(4): 382-389
- [13] 王巍琦, 李变变, 张军, 杨磊, 张风华. 干旱区不同类型盐碱土壤细菌群落多样性[J]. 干旱区研究, 2019, 36(5): 1202-1211
- Wang WQ, Li BB, Zhang J, Yang L, Zhang FH. Diversity of bacterium communities in saline or alkaline soil in arid area[J]. Arid Zone Research, 2019, 36(5): 1202-1211 (in Chinese)
- [14] Yang C, Sun J. Soil salinity drives the distribution patterns and ecological functions of fungi in saline-alkali land in the Yellow River Delta, China[J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 594284
- [15] Zhang HS, Zhou MX, Zai XM, Zhao FG, Qin P. Spatio-temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi and soil organic carbon in coastal saline soil of China[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 9781
- [16] 杨赛, 俞冰倩, 胡信玉, 王凯莉, 朱琳, 柳参奎, 魏巍. 东北苏打盐碱土壤微生物群落对植被进展演替的响应[J]. 土壤通报, 2019, 50(3): 632-640
- Yang S, Yu BQ, Hu XY, Wang KL, Zhu L, Liu SK, Wei W. Response of microbial community to vegetation succession in soda saline-alkali soil in northeast China[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2019, 50(3): 632-640 (in Chinese)
- [17] Peng M, Jia HB, Wang QY. The effect of land use on bacterial communities in saline-alkali soil[J]. Current Microbiology, 2017, 74(3): 325-333
- [18] Jones DL, Willett VB. Experimental evaluation of methods to quantify dissolved organic nitrogen (DON) and dissolved organic carbon (DOC) in soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(5): 991-999
- [19] Zhang CL, Wang JX, Wei YL, Zhu C, Huang LQ, Dong HL. Production of branched tetraether lipids in the lower Pearl River and estuary: effects of extraction methods and impact on bGDGT proxies[J]. Frontiers in Microbiology, 2012, 2: 274
- [20] Westergaard B, Hansen HCB. Determination of anions in soil solutions by capillary zone electrophoresis[J]. Analyst, 1998, 123(4): 721-724
- [21] Cawse PA. The determination of nitrate in soil solutions by ultraviolet spectrophotometry[J]. Analyst, 1967, 92(1094): 311-315
- [22] Mehlich A. Determination of P, Ca, Mg, K, Na, and NH_4 [J]. North Carolina Soil Test Division, 1953: 23-89
- [23] Caporaso JG, Lauber CL, Walters WA, Berg-Lyons D, Lozupone CA, Turnbaugh PJ, Fierer N, Knight R. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(Suppl 1): 4516-4522
- [24] Caporaso JG, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman FD, Costello EK, Fierer N, Peña AG, Goodrich JK, Gordon JJ, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7(5): 335-336
- [25] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998
- [26] Abellan-Schneyder I, Matchado MS, Reitmeier S, Sommer A, Sewald Z, Baumbach J, List M, Neuhaus K. Primer, pipelines, parameters: issues in 16S rRNA gene sequencing[J]. mSphere, 2021, 6(1): e01202-e01220
- [27] Hughes JB, Hellmann JJ, Ricketts TH, Bohannan BJ. Counting the uncountable: statistical approaches to estimating microbial diversity[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(10): 4399-4406
- [28] Bittleston LS, Gralka M, Leventhal GE, Mizrahi I, Cordero OX. Context-dependent dynamics lead to the assembly of functionally distinct microbial communities[J]. Nature Communications, 2020, 11: 1440
- [29] Estrela S, Sánchez Á, Rebolledo-Gómez M. Multi-replicated enrichment communities as a model system in microbial ecology[J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 657467
- [30] Estrela S, Sanchez-Gorostiaga A, Vila JC, Sanchez A. Nutrient dominance governs the assembly of microbial communities in mixed nutrient environments[J]. ELife, 2021, 10: e65948
- [31] Sorokin DY, Kuenen JG, Muyzer G. The microbial sulfur cycle at extremely haloalkaline conditions of soda lakes[J]. Frontiers in Microbiology, 2011, 2: 44