

## 浑善达克沙地夏冬季浅色型生物土壤结皮 中古菌的系统发育多样性

杜颖<sup>1△</sup> 赵宇龙<sup>1△</sup> 赵吉睿<sup>1,2</sup> 张猛<sup>1</sup> 陈彦璋<sup>1</sup> 冯福应<sup>1\*</sup>

(1. 内蒙古农业大学 生命科学院 应用与环境微生物研究所 内蒙古 呼和浩特 010018)

(2. 天津市环境监测中心 天津 300191)

**摘要：**【目的】生物土壤结皮(Biological soil crusts, BSCs)对于遏制土壤荒漠化、恢复荒漠地区生态环境起着重要作用。BSCs 形成和发展的关键角色是微生物。但关于 BSCs 中微生物组成的认识还不够全面和系统，特别是对其中的古菌鲜有研究报道。【方法】通过构建和分析古菌 16S rRNA 基因克隆文库，揭示浑善达克沙地 BSCs 中古菌多样性和系统发育类型组成，并比较它们夏季和冬季的变化。【结果】BSCs 样品颜色为褐色，厚度较薄，所含氮和磷营养养分不高；8 月份和 11 月份的 BSCs 古菌 16S rRNA 基因文库覆盖度均达 95%以上，剪接性强；两个文库共得到可用的 142 条古菌 16S rRNA 基因序列，以 0.03 为 Cutoff 值、这些序列分入 10 个 OTUs 中，两个季节的最优势种群相同；8 月份和 11 月份的古菌均属于奇古菌门，但群落结构存在很大的不同，即各自所独有的种群分别有 1 个和 4 个；BSCs 中古菌多样性均不高，但 11 月份的明显高于 8 月份的。【结论】温带沙地浅色型 BSCs 中古菌的主要为奇古菌、多样性低，其群落结构随季节变换而有较大变化。本研究为系统认识 BSCs 古菌的多样性及其生态作用提供了基础。

**关键词：**16S rRNA，操作分类单元，奇古菌门，群落结构

## Summer and winter phylogenetic diversity of Archaea in light-color type soil crusts from Desert Hunsandake

DU Ying<sup>1△</sup> ZHAO Yu-Long<sup>1△</sup> ZHAO Ji-Rui<sup>1,2</sup> ZHANG Meng<sup>1</sup>  
CHEN Yan-Zhang<sup>1</sup> FENG Fu-Ying<sup>1\*</sup>

(1. Institute for Applied & Environmental Microbiology, College of Life Sciences, Inner Mongolia Agricultural University, Huhhot, Inner Mongolia 010018, China)

(2. Tianjin Environmental Monitoring Center, Tianjin 300191, China)

**Abstract:** [Objective] Biological soil crusts (BSCs) play an important role in restoring the ecological environment and constraining soil desertification. Microorganisms are important in the

基金项目：国家自然科学基金项目(No. 30860015)；内蒙古农业大学科技创新团队项目

\*通讯作者：Tel：86-471-4309240；✉：foyefeng@hotmail.com

并列第一作者

收稿日期：2014-01-08；接受日期：2014-02-28；优先数字出版日期(www.cnki.net)：2014-03-04

development of BSCs. However, the investigation on the microbial composition of BSCs is still limited now, especially is rare about archaea. **[Methods]** We constructed and analyzed archaeal 16S rRNA gene library to discover the diversity and phylotype composition of BSCs archaea from Desert Hunsandake, compared the variation between summer and winter. **[Results]** BSC samples were thin and brown with low levels of nitrogen and phosphate nutrients. The coverages of both libraries of August and November were over 95% and strongly representative. In total 142 archaeal 16S rRNA sequences were obtained from the two libraries and these sequences were divided into 10 operational taxonomic units (OTUs) with the cutoff value of 0.03. In both libraries the predominant OTU was the same, probably a unique group in desert. All sequences obtained from this study were originated from members of *Thaumarchaeota*, the third phylum of Archaea, but a large difference in community structure was observed between the two libraries of August and November. Only one unique OTU was found in August and four in November. Archaeal diversity in BSCs is low and yet the diversity of November was higher than that of August. **[Conclusion]** Archaea in light-colored BSCs from temperate desert is dominated by the *Thaumarchaeota* species with lower diversity and the community structure largely varies with season changing.

**Keywords:** 16S rRNA, Operational taxonomic unit (OTU), Thaumarchaeota, Community structure

生物土壤结皮(Biological soil crusts, BSCs)是荒漠地区最具特色的微自然景观,可减少风蚀和水蚀,并增加碳和氮的固定,在环境保护和生态恢复中具有重要的生态地位,对全球气候变化有重要的反馈影响作用<sup>[1]</sup>。BSCs 主要由微生物组成,已知其中的细菌、真菌以及地衣和苔藓为 BSCs 的发展和成熟做出了很大的贡献<sup>[1]</sup>。近年来,国内外应用传统分离培养手段以及现代分子生物学技术研究 BSCs 中的微生物多样性,包括光合和非光合细菌<sup>[2-5]</sup>以及真菌<sup>[6]</sup>。揭示古菌多样性及其类群之间的分化关系是研究古菌进化、代谢和生态功能的基础<sup>[7]</sup>。而目前有关 BSCs 中古菌多样性的唯一报道来自于北美沙地样品。该研究表明,在颜色较深的 BSCs 中的古菌系统发育类型少,只发现了 Crenarchaea 门类群<sup>[8]</sup>。另外,丛立双等<sup>[9]</sup>研究表明浑善达克沙地 BSCs 中的 Cyanobacteria 类群只占全部细菌的 1.8%,这与北美沙地类型相近的 BSCs 中以 Cyanobacteria 为主存在明显的不同。这种不同促使我们思考浑善达克沙地 BSCs 中的古菌是否存在其它系统发育类型、多样性如何?

浑善达克沙地是我国十大沙漠沙地之一,位于北纬 42°–45°,东经 112°–118°之间,东西长约

450 km,面积大约  $5.2 \times 10^4 \text{ km}^2$ ,平均海拔一千多米,是内蒙古中部和东部的四大沙地之一<sup>[10]</sup>。浑善达克沙地气候温和,属中温带大陆性气候,年平均气温为 1.5 °C,一月份平均气温-18.3 °C,七月份平均气温 18.7 °C,极端最高温度 35.9 °C,极端最低气温-36.6 °C。生物土壤结皮在浑善达克沙地中广泛分布。

本文构建和分析了浑善达克沙地 BSCs 中古菌的 16S rRNA 基因克隆文库,以此了解浑善达克沙地 BSCs 中古菌多样性和系统发育类型组成,并比较它们的季节性变化,为探讨 BSCs 中古菌进化、代谢及其生态功能奠定基础,也为探究发掘 BSCs 内的古菌资源提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集和处理

样品分别于 2008 年 11 月份和 2009 年 8 月份采集于浑善达克沙地(44°03'40"N, 116°01'44"E),采集生物土壤结皮厚度为 3–4 mm。每份样品采集 5 个重复,并将其混合。将样品置于 0 °C 低温保温盒中立即运往实验室,部分样品立即进行理化指标测定,其余样品-80 °C 冷冻保存至 DNA 提取。参考 Colleen 等<sup>[11]</sup>的方法测定样品的硝态氮、铵态氮、

总磷等理化指标。

## 1.2 生物土壤结皮总 DNA 的提取

取 2–5 g 样品,参考 İnceoğlu 等<sup>[12]</sup>的方法进行样品总 16S rDNA 的提取。

## 1.3 克隆文库的构建

采用古菌通用引物 Arch21F/Arch958R 对土壤生物结皮 DNA 进行 PCR 扩增<sup>[13]</sup>。扩增体系为: DNA 模板(约 50 mg/L) 1 μL, 扩增 Buffer 2 μL, dNTPs (20 mmol/L) 1.6 μL, 引物(20 μmol/L)各 0.2 μL, 补水至 20 μL。反应条件:采取热启动 PCR 法。94 °C 5 min ;80 °C 暂停,加入 rTaq 酶(TaKaRa, Japan) 0.2 μL,之后 94 °C 1 min,55 °C 1 min,72 °C 1 min,共 30 个循环;72 °C 7 min。如此各扩增 10 管并混合回收,以降低单次所产生的偏好性。扩增产物经 1%的琼脂糖凝胶电泳进行检测,使用北京中科瑞泰有限公司生产的 DNA 纯化试剂盒进行纯化,构建克隆文库时将纯化产物分别与 PMD19-T 载体进行连接反应,之后将连接产物转入大肠杆菌 DH5α 感受态细胞,并对克隆进行阳性鉴定。

## 1.4 测序及系统发育分析

从每个文库中随机挑选 100 个阳性克隆送北京华大公司(BGI)测序,对所得序列用 Mallard 1.02 软件检测并去除可能的嵌合体(Chimeria),之后对序列进行多重比对后使用软件 DOTUR 以 97%作为置信度进行操作分类单元(Operational taxonomic unit, OTU)的聚类分析。然后各 OTU 选取 1 条代表序列,运用 RDP 数据库分析各序列所归属的代表类群,同时用 BLASTn search 找出各序列在 GenBank 数据库中最相似的参比序列,以 Kimura-2 模型计算进化距离,以邻接法(Neighbor-Joining, NJ)运用 MEGA 5.0 软件构建系统发育树<sup>[14]</sup>。所得序列提交至 GenBank,登录号为 KF818477–KF818618。

## 1.5 多样性指数分析

物种多样性与均匀度指数显示群落中种数多

寡及个体分布情形。按照 Hill 等<sup>[15]</sup>的方法对所得 OTU 结果进行群落多样性相关指标的统计分析,计算 Shannon-Wiener 指数( $H'$ )、Simpson 指数( $D$ )、均匀度指数( $E_H$ )和  $S_{Chao}$ 。Shannon-Wiener 和 Simpson 指数反映物种多样性,公式为:

$$H' = -\sum_{i=1}^S P_i \ln P_i$$

$$D = 1 - \sum_{i=1}^S P_i^2$$

$P_i = n_i/N$ ,  $P_i$  为每个 OTU 所代表克隆数占所有总分析克隆数的比例, $S$  为 16S rDNA 的总 OTU 数, $n_i$  为第  $i$  种 OTU 的克隆数, $N$  为总克隆数。

均匀度指数反映了群落中不同物种多度分布的均匀程度,其计算公式为: $E_H = H/H_{\max} = H/\ln S$ 。 $H_{\max}$  为最大 Shannon 指数,大小为  $\log_2 S$ , $S$  为 16S rDNA 的总 OTU 种类数。

$S_{Chao}$  指数能够反映物种的丰富度,公式为: $S^* = S + (a^2/2b)$  计算公式中  $S^*$  代表预测的 OTU 总个数, $S$  是样本中实际所得的 OTU 数, $a$  是只含 1 个克隆子的 OTU 的个数, $b$  是含 2 个克隆子 OTU 的个数。

文库覆盖度,用于评估所构建的文库对环境微生物多样性的体现程度,其计算公式为  $C = 1 - nl/N$ ,  $nl$  为仅包含 1 个克隆的 OTU,  $N$  为总克隆数。

## 2 结果与分析

### 2.1 生物土壤结皮理化性质

本研究所采集浑善达克沙地 BSCs 样品为褐色(图 1),厚度只有 3–4 mm,肉眼未观察到地衣或苔藓。

对浑善达克两个季节 BSCs 的理化性质(表 1)分析表明,在两个季节里 BSCs 各理化指标差异较明显:8 月样品 pH 值比 11 月样品高近一个单位,硝态氮要高出 12 个单位,而溶解性磷更高出 28 个单位,但铵态氮却不足 11 月份的 1/3。

### 2.2 16S rRNA 基因文库多样性指数比较

分别对 8 月份和 11 月份季节的 BSCs 样品构



图1 浑善达克沙地生物土壤结皮样品

Figure 1 Samples of biological soil crusts from Desert Hunsandake

建了古菌 16S rRNA 基因克隆文库。经过去除嵌合体分析,从两个文库分别得到 51 和 91 条可用序列。以 0.03 为 Cutoff 值,这两个文库中的可用序列分别划为 7 和 9 个 OTUs。Shannon-Wiener 和 Simpson 指数数值都很接近,而且数值也较小,且 Chao1 值与 OTU 数的比值高于 2,说明所研究 BSCs 中古菌多样性并不丰富。

图 2 为生物土壤结皮古菌 16S rRNA 基因文库的稀释曲线。从图 2 中可以看出,两个样品的稀释曲线都趋于平缓;并且,它们的覆盖度分别达到了 96%和 97%(表 2),这表明所得文库序列具有良好的代表性,能反映样品古菌的多样性。此外,8 月份和 11 月份古菌 16S rRNA 基因文库测序数量相差近一倍,但是文库覆盖度大小和稀释度曲线变化趋势差别很小,这也反映出 BSCs 中多样性不高的特点,说明分析相关文库时测序数量达到 50 左右即可能具有了良好的代表性。

### 2.3 系统发育

本研究由两个文库共得到可用的 142 个古菌 16S rRNA 基因序列,分别归入 10 个 OTUs (OTU1–OTU10)中(表 3),分别选择每个 OTU 其中的一条序列作为代表进行同源性和系统发育分

析。BLASTn 分析相似性时发现,浑善达克沙地 BSCs 中的古菌 16S rRNA 基因与未培养的相似性最高(97%–100%,达到 99%以上的占 80%);而分析中滤除环境样品后,它们均与奇古菌门(Thaumarchaeota)中已培养的成员(*Nitrososphaera gargensis* Ga9.2、*Nitrososphaera* sp. JG1 和 *Nitrososphaera viennensis* EN76)最为相近,相似性达 95%–97%。以来自培养和未培养同源性最高的,来自北美沙地 BSCs 中代表性的,以及古菌类群的典型代表性 16S rRNA 基因序列为参比,构建系统发育树(图 3)。如图 3 所示,所有的 BSCs 中的古菌均强烈地(支持度 99%)聚类在奇古菌门一簇下,此簇也属于在自然界中分布广泛的古菌类群 Group 1.1b。有趣的是,hsdk08-a26 代表的 OTU2 与来自沙漠的序列聚在同一进化支,其中并无其它环境来源的序列,且此进化支支持度高达 83%。我们将此进化支命名为 Deseret subgroup,推测这些序列来源菌可能具有极强耐受沙漠逆境特性、为沙漠所独有。另外,与 BSCs 中古菌系统发育关系相近的多具有低温特性,如来自新疆冷泉的 SW-A398 (与 hsdk08-a9-OTU5 和 hsdk08-a24-OTU5 近缘)和芬兰冰川的 GFS4-135i (与 hsdk08-a7-OTU7 近缘)。而 OTU4 中的代表 hsdka09-a8 最近缘的古菌(OTU-G3-5)来自于中国北方的储油罐中,预示这类型菌可能具有代谢烷烃类物质的生理功能。

上述浑善达克沙地 BSCs 中古菌 OTU 组成存在明显的季节差异(图 4):11 月份(初冬)和 8 月份

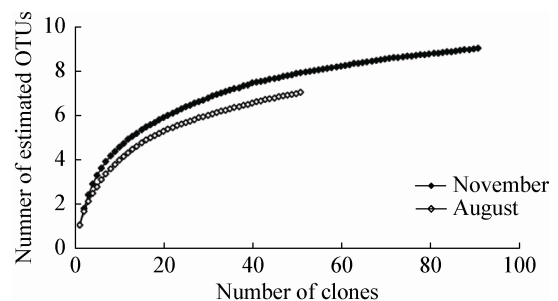


图2 浑善达克沙地古菌 16S rRNA 基因文库稀释度曲线  
Figure 2 Rarefaction curve of Archaeal 16S rRNA gene library of biological soil crusts from Desert Hunsandake

| 表 1 生物土壤结皮理化参数<br>Table 1 Soil parameters of biological soil crusts |     |                                  |                                 |                                    |
|---|-----|----------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| 样品<br>Samples   | pH  | 铵态氮<br>Ammonium nitrogen (mg/kg) | 硝态氮<br>Nitrate nitrogen (mg/kg) | 溶解性磷<br>Soluble phosphorus (mg/kg) |
| August  | 8.1 | 2.2                              | 13.6                            | 36.9                               |
| November  | 7.2 | 7.3                              | 1.4                             | 8.4                                |

| 表 2 浑善达克沙地生物土壤结皮中古菌多样性指数<br>Table 2 Archaeal diversity indexes of biological soil crusts sampled from Desert Hunsandake |                            |                         |                     |                         |                        |                        |
|---|----------------------------|-------------------------|---------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| 样品<br>Samples   | 序列数<br>Number of sequences | OTU 数<br>Number of OTUs | 覆盖度<br>Coverage (%) | 多样性指数<br>Shannon-Wiener | 辛普森指数<br>Simpson index | Chao1 值<br>Chao1 value |
| August  | 51                         | 7                       | 96                  | 1.628                   | 0.356                  | 15.261                 |
| November  | 91                         | 9                       | 97                  | 1.850                   | 0.226                  | 22.952                 |

| 表 3 浑善达克沙地生物土壤结皮中古菌 16S rRNA 基因序列同源性分析<br>Table 3 Similarity analysis of Archaeal 16S rRNA gene sequences of Desert Hunsandake |                         |                                  |   |                       |  |
|--|-------------------------|----------------------------------|---|-----------------------|--|
| OTUs   | 所含序列<br>Sequence number | 代表序列<br>Representative sequences | 序列<br>Sequences                           | 相似度<br>Similarity (%) | 环境来源<br>Environmental sources              |
| OTU1   | 9                       | h sdk08-a1                       | Uncultured archaeon clone ARC4_H12        | 99                    | Groundwater, USA                           |
| OTU2   | 60                      | h sdk08-a26                      | Uncultured archaeon clone P-1_A1          | 99                    | Desert, USA                                |
| OTU3   | 1                       | h sdk08-a35                      | Uncultured archaeon clone VA3             | 97                    | Tuff in a Tibet desert, China              |
| OTU4   | 8                       | h sdk09-a8                       | Uncultured archaeon clone OTU-G3-5        | 99                    | Oil reservoir                              |
| OTU5   | 2                       | h sdk08-a9                       | Uncultured archaeon clone sw-A398         | 99                    | Old spring, Xinjiang                       |
| OTU6   | 3                       | h sdk08-a24                      | Uncultured crenarchaeote clone JA2-E12    | 99                    | Marine snow of Northern Adriatic Sea       |
| OTU7   | 32                      | h sdk08-a7                       | Uncultured archaeon clone M2-6Ar07        | 99                    | Sediment of East Sea                       |
| OTU8   | 1                       | h sdk09-a44                      | Uncultured archaeon clone IMCUGW01A65     | 98                    | Groundwater, Inner Mongolia                |
| OTU9   | 22                      | h sdk08-a13                      | Uncultured archaeon clone TX1C03          | 99                    | Alkaline saline soil <sup>b</sup> , Mexico |
| OTU10  | 4                       | h sdk08-a10                      | Uncultured crenarchaeote cloneLAR_Cren_30 | 100                   | Sediment of freshwater lake, Demark        |

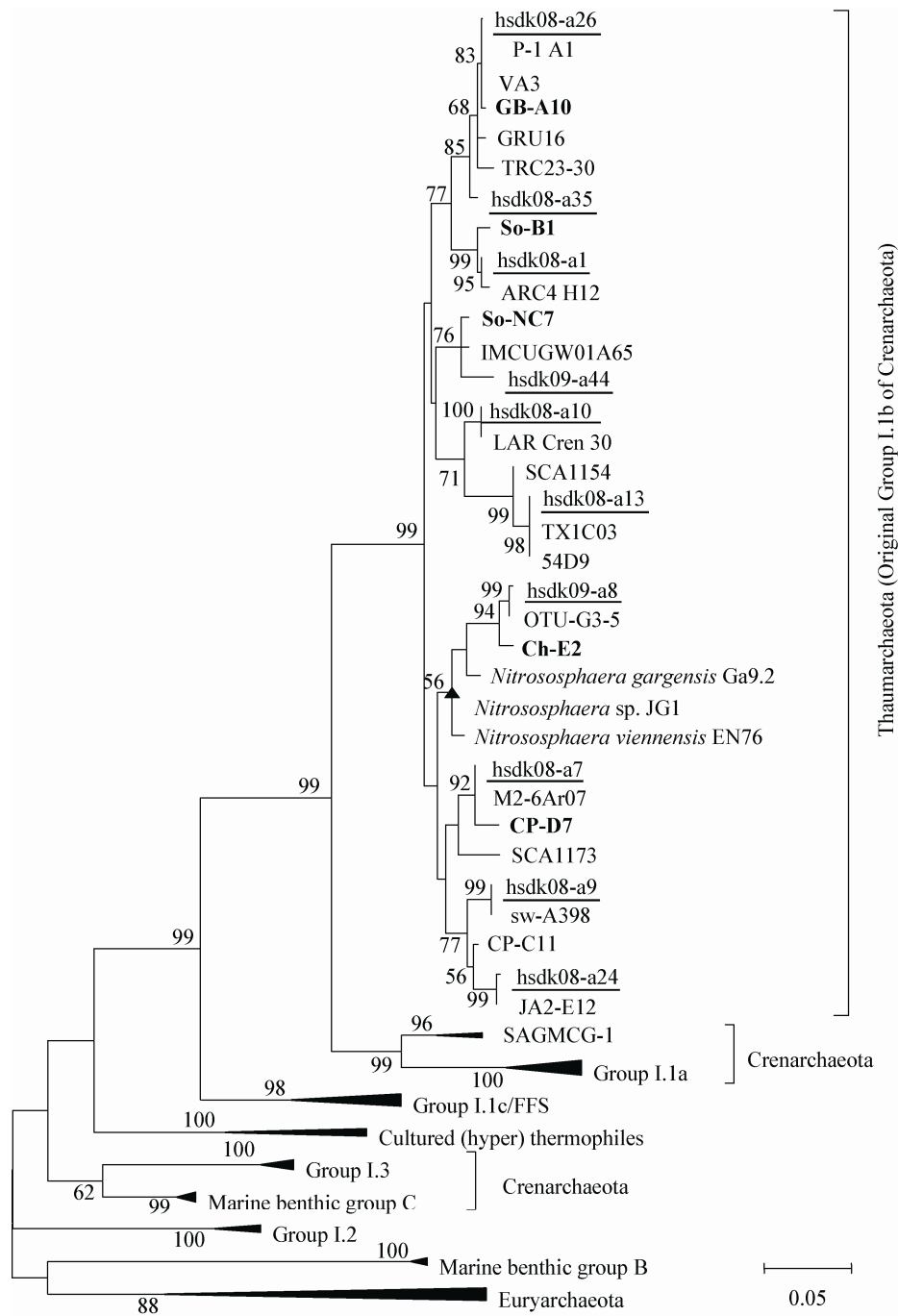


图 3 浑善达克沙地生物土壤结皮中古菌 16S rRNA 基因序列系统发育树

Figure 3 Neighbor-Joining phylogenetic tree of 16S rRNA gene sequences of archaea in biological soil crusts from Desert Hunsandake

注：图中有下划线的克隆来自本研究，字体加粗的来自北美沙地。自展值( $n=1\ 000$ )在 50%以上的标记在相应的分支节点上。  
Note: Figure in underline the cloned from this study, bold font of deserts from North America. Bootstrap values ( $n=1\ 000$ ) of greater than 50% are indicated at nodes.

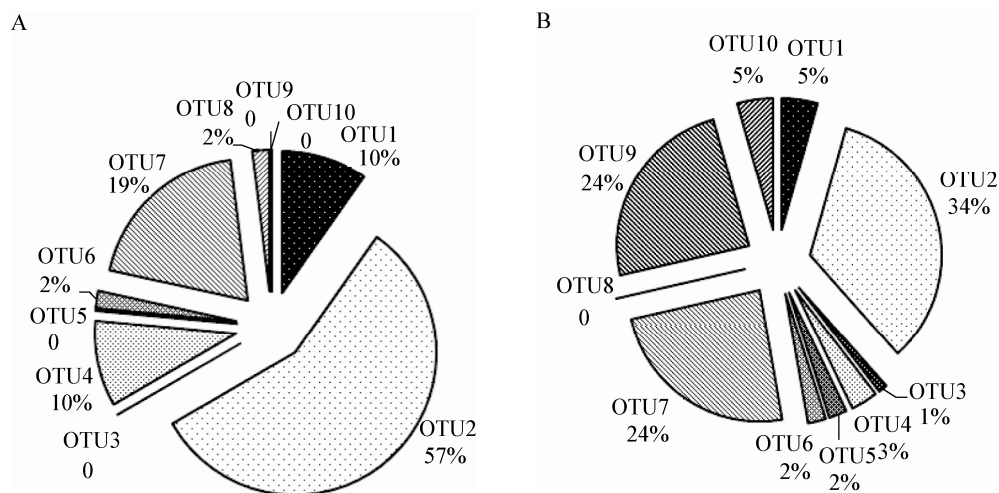


图4 浑善达克沙地8月和11月生物土壤结皮中古菌类群组成的比较

Figure 4 Comparison of archaea community structure of biological soil crusts sampled in August and November respectively

Note: A: August; B: November.

(仲夏)的古菌文库中都以 OTU2 为最优势类群(各占相应文库中总克隆数的 35%和 56%),其次为 OTU7 (20%和 24%); OTU3、OTU5、OTU9 和 OTU10 只发现于 11 月份,OTU9 的比例高达 25%,成为该季节的次优势菌群之一,而 OTU8 为 8 月份所独有。

### 3 讨论

#### 3.1 生物土壤结皮理化性质

依据 Belnap 和 Lange<sup>[1]</sup>将 BSCs 分为四类(即浅色型、深色型、地衣型和苔藓型)的标准,认为本研究中的 BSCs 样品颜色对应于浅色型,属于 BSCs 形成的中早期阶段。BSCs 层的厚度在一定程度上反映了结皮层形成时间的长短,并与养分的富集也具有相关性<sup>[16]</sup>。

本研究中的 BSCs 铵态氮、硝态氮等养分的含量都明显低于薛英等<sup>[17]</sup>研究厚度达 10 mm 以上 BSCs 中的相应含量。BSCs 中的 N 和 P 养分存在季节差异,这可能与溶 P、固氮和氨氧化等功能微生物(包括古菌在内)细胞的新陈代谢活跃程度有关。土壤中微生物的活动和生物要素的循环密切相关,例如固氮或固碳功能有助于增加土壤有机质

含量<sup>[18]</sup>。

#### 3.2 古菌 16S rRNA 基因文库多样性指数

本研究中 BSCs 的古菌多样性并不丰富,这一结果与北美数十个地理位置不同的沙地的、类型不同的 BSCs 中的古菌多样性较低<sup>[8]</sup>的结果相似。而与此相反,多数其它类型的土壤中古菌的多样性较高<sup>[19]</sup>。另外, Soule 等<sup>[8]</sup>也指出,同季节下的不同地理位置和不同类型的 BSCs 中古菌多样性指数的变化和差异较小。本研究中的 BSCs 样品来自地处纬度较高的温带,年均气温较低、冬季漫长且温度较低。浑善达克沙地的 BSCs 中 11 月份的古菌多样性高于 8 月份的,这很可能为温度的变化诱导所致。温度是影响一般土壤微生物群落结构的重要因素<sup>[20]</sup>,也可能极大地影响着 BSCs 古菌群落组成。

Sun 等<sup>[21]</sup>在对现有细菌和古生菌基因组中 16S rRNA 基因数据分析后指出,该基因存在基因组内异质性,以致基于该基因进行的微生物生态研究会高估环境中原核生物的多样性,但是针对古菌,所有区域表现出的偏差都是相似的,并且对于 Crenarchaeota 则毫无偏差。本研究中虽然所有的 BSCs 中的古菌均强烈地(支持度 99%)聚类在奇古

菌门一簇下,但按照以往的分类此簇也属于在自然界中分布广泛的古菌类群 Crenarchaeota 中的 Group 1.1b。因此,本研究应该可以反映 BSCs 古菌真实的多样性。

### 3.3 古菌系统发育和类群组成

古菌一直以来被认为主要分布于极端环境中,如温泉海底热液口等。而今,中温环境中存在高丰度古菌的证据越来越多<sup>[22]</sup>。中温环境中的古菌最初被归于 *Crenarchaea* 中,然而其在 16S rRNA 基因系统树中处于一个与嗜热古菌较远的分支,进而被分入泉古菌门和广古菌门之外的古菌的第三个门——Thaumarchaeota,即奇古菌门<sup>[7,23]</sup>。基因组学和纯培养菌株生理生化研究结果证实奇古菌的代谢功能多样<sup>[24-25]</sup>,如多数具有氨氧化作用、可能在土壤 N 循环中起主导作用<sup>[26-27]</sup>;一些具有代谢多种碳源的能力如无机碳<sup>[28-30]</sup>,可能对一些生态系统的碳代谢也具有重要贡献。浑善达克沙地 BSCs 古菌 16S rRNA 基因序列与奇古菌亲缘关系密切,在系统发育树上紧密地聚集于同一进化支。虽然 Soule 等<sup>[8]</sup>将北美 BSCs 的古菌归于泉古菌,但这些菌在本研究推演的系统树中也聚在奇古菌进化支。另外,浑善达克和相关北美研究沙地均处于温带,推测不可能有极端嗜热古菌广泛存在。因此,我们认为温带 BSCs 中的古菌主要为奇古菌门的成员。温度的降低(季节变化)会诱导森林土壤和海底沉积物中古菌丰度和多样性的明显增加<sup>[31-32]</sup>。本研究也发现 BSCs 中的古菌对季节变化有较强的响应:多样性提高、类群组成发生显著的变化。此结果表明,温度也是 BSCs 中古菌群落结构的主要控制因子。

总之,温带沙地 BSCs 中的古菌以奇古菌门成员为主,但它们在 BSCs 演替过程中的具体作用尚需进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] Belnap J, Lange OL. Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management[M]. Berlin Heidelberg: Springer Verlag, 2001: 503.
- [2] Kuske CR, Ticknor LO, Miller ME, et al. Comparison of soil bacteria communities in rhizospheres of three plant species and the interspaces in an arid grassland[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(4): 1854-1863.
- [3] Gundlapally S, Garcia-Pichel F. The community and phylogenetic diversity of biological soil crusts in the Colorado Plateau studied by molecular fingerprinting and intensive cultivation[J]. Microbial Ecology, 2006, 52(2): 345-357.
- [4] 吴楠, 张元明, 潘惠霞, 等. 古尔班通古特沙漠地衣结皮中可培养细菌多样性初探[J]. 中国沙漠, 2013, 33(3): 710-716.
- [5] 刘梅, 赵秀侠, 詹婧, 等. 铜陵铜尾矿废弃地生物土壤结皮中的蓝藻多样性[J]. 生态学报, 2011, 31(22): 6886-6895.
- [6] Bates ST, Garcia-Pichel F. A culture-independent study of free-living fungi in biological soil crusts of the Colorado Plateau: their diversity and relative contribution to microbial biomass[J]. Environmental Microbiology, 2009, 11(1): 56-67.
- [7] 张丽梅, 贺纪正. 一个新的古菌类群——奇古菌门 (Thaumarchaeota)[J]. 微生物学报, 2012, 52(4): 411-421.
- [8] Soule T, Anderson IJ, Johnson SL, et al. Archaeal populations in biological soil crusts from arid lands in North America[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2009, 41(10): 2069-2074.
- [9] 丛立双, 刘惠荣, 王瑞刚, 等. 浑善达克沙地生物土壤结皮细菌群落特征[J]. 内蒙古农业大学学报, 2010, 31(3): 168-172.
- [10] 刘振, 董智, 李红丽, 等. 浑善达克沙地榆树疏林幼苗更新空间格局[J]. 生态学报, 2013, 33(1): 294-301.
- [11] Colleen MH, Scott F, Phillip MJ, et al. Changes in bacterial and archaeal community structure and functional diversity along a geochemically variable soil profile[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2008, 74(5): 1620-1633.
- [12] İnceoğlu Ö, Hoogwout EF, Hill P, et al. Effect of DNA extraction method on the apparent microbial diversity of soil[J]. Applied and Environmental Biology, 2010, 76(10): 3378-3382.
- [13] Mendes LW, Taketani RG, Navarrete AA, et al. Shifts in phylogenetic diversity of archaeal communities in mangrove sediments at different sites and depths in southeastern Brazil[J]. Research in Microbiology, 2012, 163: 366-377.
- [14] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Molecular and Biological Evolutionary, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [15] Hill TJ, Walsh KA, Harris JA, et al. Using ecological diversity measures with bacterial communities[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 43(1): 1-11.
- [16] 张元明, 王雪芹. 荒漠地表生物土壤结皮形成与演替特



- 征概述[J]. 生态学报, 2010, 30(16): 4484-4492.
- [17] 薛英英. 鄂尔多斯沙区沙漠生物结皮特征的研究[J]. 内蒙古农业大学学报: 自然科学版, 2007, 28(2): 102-105.
- [18] Zaady E, Groffman P, Shachak M. Nitrogen fixation in macro- and microphytic patches in the Negev desert[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30(4): 449-454.
- [19] Fierer N, Breitbart M, Nulton J, et al. Metagenomic and small-subunit rRNA analyses reveal the genetic diversity of bacteria, archaea, fungi, and viruses in soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(21): 7059-7066.
- [20] Sharon A, Werner L, Ralf C. Effects of temperature and fertilizer on activity and community structure of soil ammonia oxidizers[J]. Environmental Microbiology, 2003, 5(8): 691-705.
- [21] Sun DL, Jiang X, Wu QL, et al. Intragenomic heterogeneity in 16S rRNA causes overestimation of prokaryotic diversity[J]. Applied Environmental Microbiology, 2013, 79: 5962-5969.
- [22] Pester M, Schleper C, Wagner M. The Thaumarchaeota: an emerging view of their phylogeny and ecophysiology[J]. Current Opinion in Microbiology, 2011, 14(3): 300-306.
- [23] Brochier-Armanet C, Boussau B, Gribaldo S, et al. Mesophilic crenarchaeota: proposal for a third archaeal phylum the Thaumarchaeota[J]. Nature Reviews Microbiology, 2008, 6: 245-252.
- [24] Schleper C, Jurgens G, Jonscheit M. Genomic studies of uncultivated archaea[J]. Nature Reviews Microbiology, 2005, 3: 479-488.
- [25] Spang A, Poehlein A, Offre P, et al. The genome of the ammonia-oxidizing *Candidatus Nitrososphaera gargensis*: insights into metabolic versatility and environmental adaptations[J]. Environmental Microbiology, 2012, 14(12): 3122-3145.
- [26] Leininger S, Urich T, Schloter M, et al. Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils[J]. Nature, 2006, 442: 806-809.
- [27] Offre P, Spang A, Schleper C. Archaea in biogeochemical cycles[J]. Annual Review of Microbiology, 2013, 67: 437-457.
- [28] Pearson A, McNichol AP, Benitez-Nelson BC, et al. Origins of lipid biomarkers in Santa Monica Basin surface sediment: A case study using compound-specific  $\delta^{14}\text{C}$  analysis[J]. Geochimica Et Cosmochimica Acta, 2001, 65(18): 3123-3137.
- [29] Wuchter C, Schouten S, Boschker HTS, et al. Bicarbonate uptake by marine Crenarchaeota[J]. FEMS Microbiology Letters, 2003, 219(2): 203-207.
- [30] Hallam SJ, Mincer TJ, Schleper C, et al. Pathways of carbon assimilation and ammonia oxidation suggested by environmental genomic analyses of marine Crenarchaeota[J]. PLoS Biology, 2006, 4(12): 520-536.
- [31] Tournu M, Freitag TE, Nicol GW, et al. Growth, activity and temperature responses of ammonia-oxidizing archaea and bacteria in soil microcosms[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(5): 1357-1364.
- [32] Rasche F, Knapp D, Kaiser C, et al. Seasonality and resource availability control bacterial and archaeal communities in soils of a temperate beech forest[J]. The ISME Journal, 2011, 5: 389-402.