

## 西藏青稞根际细菌群落结构及多样性

巩文峰<sup>1,2</sup>, 魏丽萍<sup>3</sup>, 杜娟<sup>2</sup>, 王泽莹<sup>3</sup>, 马占鸿<sup>1\*</sup>

1 中国农业大学植物保护学院 植物病理学系, 北京 100193

2 西藏农牧学院植物科学学院, 西藏 林芝 860000

3 西藏农牧学院资源与环境学院, 西藏 林芝 860000

巩文峰, 魏丽萍, 杜娟, 王泽莹, 马占鸿. 西藏青稞根际细菌群落结构及多样性[J]. 微生物学报, 2023, 63(10): 4034-4050.  
GONG Wenfeng, WEI Liping, DU Juan, WANG Zeying, MA Zhanhong. Structure and diversity of the bacterial community in the rhizosphere of highland barley in Xizang[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(10): 4034-4050.

**摘要:** 【目的】分析西藏不同种植区青稞根际土壤细菌群落结构及其影响因素, 揭示特定环境下根际细菌生物标志物, 为发掘研究优异根际促生菌及其作用提供参考。【方法】采用 16S rRNA 基因高通量测序技术和数据统计分析, 比较了西藏 5 个市青稞种植区根际土壤细菌群落组成和结构差异, 分析了青稞根际细菌生物标志物及群落结构变化的驱动因素。【结果】通过测序 45 个根际土壤样品获得 10 715 个操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs), 共 43 门、1 244 属、2 783 种, 其中放线菌门(*Actinobacteriota*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)、粘球菌门(*Myxococcota*)和骸骨细菌门(*Patescibacteria*)为优势菌门, 相对丰度占比 94.92%–96.56%。五个市的根际细菌群落结构存在明显的差异, 组间差异大于组内差异( $R=0.2269$ ,  $P=0.001$ ), 其中放线菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、拟杆菌门和骸骨细菌门丰度存在显著性差异( $P<0.05$ )。五个市青稞根际土壤存在潜在生物标志物, 拉萨和山南只有 3 个和 6 个特有细菌进化支, 共现网络更为复杂、OTUs 间联系更为紧密。变形菌门、绿弯菌门、放线菌门和酸杆菌门是青稞根际土壤中主要的关键细菌门, 内生菌门、*Methylomirabilota* 和蓝细菌分别是林芝市、日喀则市和山南市的特有关键类群。青稞根际细菌群落结构的变化主要与环境因子 pH、全钾(total potassium, TK)、速效钾(available potassium, AK)、碳磷比(C:P)和海拔有关, 其中 TK 是影响根际土壤细菌群落最重要的因子( $r^2=0.6214$ ,  $P=0.001$ )。【结论】西藏青稞根际细菌多样性丰富, 5 市间存在显著差异, 且不同生长区青稞根际具有特有的生物标志物, 为进一步研究特有根际细菌在青稞生长和环境适应中的作用, 发掘优异根际促生菌提供参考。

**关键词:** 青稞; 根际细菌; 群落结构; 土壤化学特性

资助项目: 国家自然科学基金(31960002)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31960002).

\*Corresponding author. Tel/Fax: +86-10-62733008, E-mail: mazh@cau.edu.cn

Received: 2023-03-10; Accepted: 2023-06-21

# Structure and diversity of the bacterial community in the rhizosphere of highland barley in Xizang

GONG Wenfeng<sup>1,2</sup>, WEI Liping<sup>3</sup>, DU Juan<sup>2</sup>, WANG Zeying<sup>3</sup>, MA Zhanhong<sup>1\*</sup>

1 Department of Plant Pathology, College of Plant Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China

2 Plant Sciences College, Tibet Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi 860000, Xizang, China

3 Resources & Environment College, Tibet Agricultural and Animal Husbandry University, Linzhi 860000, Xizang, China

**Abstract:** [Objective] This study aims to analyze the structure and influencing factors of bacterial community in the rhizosphere soil of highland barley in different planting areas in Xizang, reveal the biological markers of rhizosphere bacteria in specific environments, and provide a reference for the exploration and research of rhizosphere growth-promoting bacteria and their roles. [Methods] We carried out 16S rRNA gene high-throughput sequencing and statistical data analysis to compare the composition and structures of the bacterial communities in the rhizosphere soils of highland barley cultivated in five cities of Xizang. We then analyzed the biological markers and the driving factors of community structure changes in the rhizosphere bacteria of highland barley. [Results] The sequencing of 45 rhizosphere soil samples yielded 10 715 operational taxonomic units (OTUs), which belonged to 2 783 species, 1 244 genera of 43 phyla. *Actinobacteriota*, *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Acidobacteriota*, *Bacteroidota*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadota*, *Myxococcota*, and *Patescibacteria* were the dominant bacterial phyla, with the relative abundance of 94.92%–96.56%. The community structure of rhizosphere bacteria showed significant differences among the five cities, with greater inter-group differences than intra-group differences ( $R=0.226\ 9$ ,  $P=0.001$ ). *Actinobacteriota*, *Chloroflexi*, *Acidobacteriota*, *Bacteroidota*, and *Patescibacteria* showed different relative abundance among the five cities ( $P<0.05$ ). We identified potential biological markers in the rhizosphere soil of barley in all five cities. There were potential biological markers in the rhizosphere soil of highland barley in the five cities. Lasa and Shannan had only three and six unique bacterial clades, respectively, with more complex co-occurrence network and tighter connections between OTUs. The key phyla in the rhizosphere of highland barley were *Proteobacteria*, *Chloroflexi*, *Actinobacteriota*, and *Acidobacteriota*. Additionally, *Endobacteria*, *Methylomirabilota*, and *Cyanobacteria* were unique taxa in Linzhi, Rikaze, and Shannan, respectively. The changes in the bacterial community structure in the rhizosphere of highland barley were mainly related to environmental factors such as pH, total potassium, available potassium, carbon to phosphorus ratio, and altitude, with total potassium being the most important factor ( $r^2=0.621\ 4$ ,  $P=0.001$ ). [Conclusion] The bacteria in rhizosphere soil of highland barley in Xizang have high diversity, with significant differences among the five cities. Additionally, different growing areas of highland barley have unique biological markers of bacteria in the rhizosphere. The findings provide a reference for revealing the role of unique

rhizosphere bacteria in the growth and environmental adaptation of highland barley and for exploring excellent rhizosphere plant-promoting bacteria.

**Keywords:** *Hordeum vulgare* L. var. *nudum*; rhizosphere bacteria; community structure; soil chemical characteristics

植物根际存在大量的有益微生物。这些微生物不仅可以促进植物生长<sup>[1]</sup>,而且在植物抗逆境<sup>[2]</sup>、抗病<sup>[3]</sup>等方面也发挥着重要的作用。根际微生物来自于土壤,受寄主植物初级代谢物和次级代谢物筛选、招募,还受土壤因子影响,同时土壤也可以被根际微生物组塑造。研究证明改善土壤微生物组是维护土壤生态系统的健康和提高土壤肥力的有效途径<sup>[4]</sup>。因此,研究西藏主要农作物根际微生物组成、多样性及其影响因素对高原农业的可持续管理至关重要。

青稞 (*Hordeum vulgare* L. var. *nudum* Hook.f.), 又称裸大麦, 属禾本科大麦属。在西藏海拔 1 000–4 750 m 广泛种植<sup>[5]</sup>。西藏青稞含有独特的  $\beta$ -葡聚糖、黄酮等成分, 且其  $\beta$ -葡聚糖含量明显高于其他地方品种<sup>[6]</sup>。作为西藏主要农作物, 青稞具有生育期短、耐寒等特点<sup>[7]</sup>。随着青稞需求持续增加, 单一种植青稞过度用地而忽视养地, 造成土壤营养元素比例失调, 土壤肥力下降。此外, 在种植过程中的农药和化肥施用也会导致农药残留和土壤板结, 使得干旱和土壤贫瘠成为西藏粮食生产发展的重要障碍, 从而限制了农业增产的潜力<sup>[8]</sup>。通过微生物改良土壤是实现绿色农业发展的重要手段, 研究根际微生物群落的多样性和组成, 对于控制微生物组成实现生态系统的可持续运行至关重要<sup>[9]</sup>。随着高通量测序技术的发展和微生物组研究的深入, 水稻 (*Oryza sativa*)<sup>[10]</sup>、小麦 (*Triticum aestivum*)<sup>[11]</sup>、玉米<sup>[12]</sup>、大豆<sup>[13]</sup>、番茄 (*Solanum lycopersicum*)<sup>[14]</sup> 和谷子 (*Setaria italica*)<sup>[15]</sup> 等多种农作物根系微生物的组成、多样性得到了解析。在不同的植物中根际微生物组结构和功能存在差异, 除了受植物

基因的影响, 还受到土壤环境、经纬度、海拔和气候等的影响, 研究发现独特的地理条件、土壤类型、土壤环境以及人为干预均会对土壤微生物群落结构产生影响, 造就独特的植物根系微生物群落结构<sup>[15-17]</sup>。每种植物为了生长和适应环境都会衍生出自身独特的根际微生物群落<sup>[18]</sup>。因此, 揭示青稞根际微生物的组成和多样性是进一步发掘青稞优异促生菌资源的基础。

青稞在西藏种植广泛, 区域跨度大, 目前对青稞根际微生物的地理分布、菌群组成和影响因素缺乏详细了解。本研究采用 16S rRNA 基因序列高通量测序技术对不同市青稞根际细菌群落进行分析, 以探究其多样性、结构特征和与环境因子的关系。以期对青稞生产的地力调控提供参考, 为利用青稞根际微生物进行可持续生产奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 样本收集

本研究于 2020 年 6 月在西藏拉萨、日喀则、山南、林芝和昌都 5 个市[每市 3 个县(区), 每县 3 个乡镇]共 45 个的典型青稞种植地(经纬度)采样。在每个地点根据 Fan<sup>[19]</sup>的方法进行 5 点采样, 将每点挖取的 10–12 株青稞, 将抖掉松散土壤的细根装入无菌袋, 在实验室将细根样品转移至含 20 mL 10 mmol/L 磷酸盐缓冲液(phosphate buffered solution, PBS)溶液的无菌离心管中, 并振荡以收集与根紧密连接的根际土壤。在 10 000 r/min 下离心 30 s, 除去上清液, 将每个采样点的根际土壤混合形成一个复合样品, 将根际土壤样本储存在–80 °C 备用<sup>[20]</sup>。所有采样过

程都在无菌条件下进行, 以确保试验结果的准确性。具体的采样点信息已上传到国家微生物科学数据中心 (National Microbiology Data Center, NMDC), 期刊附件数据 NMDCX0000200, 链接为 <https://nmdc.cn/resource/genomics/attachment/detail/NMDCX0000200>。

## 1.2 土壤的养分特征分析

土壤 pH 以 2.5:1 水土比用 pH 计(Sartorius PB-10)测定<sup>[21]</sup>; 土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)使用元素分析仪(Elementar Analysensysteme GmbH)进行测定; 土壤有机质(soil organic matter, SOM)含量采用重铬酸钾测定, 全氮(total nitrogen, TN)采用半微量凯氏定氮法测定; 速效钾(available potassium, AK)采用 NH<sub>4</sub>OAc 浸提-火焰光度法测定; 硝态氮和铵态氮使用 AA3 流动分析仪(AutoAnalyzer3-AA3, Seal Analytical, Mequon, WI)测定、土壤全磷(total phosphorus, TP)、速效磷(available phosphorus, AP)、全钾(total potassium, TK)参考土壤农化分析<sup>[22]</sup>测定。

## 1.3 DNA 提取和 16S rRNA 基因扩增子高通量测序分析

根据 E.Z.N.A.<sup>®</sup> Soil DNA Kit (Omega Bio-tek) DNA 提取试剂盒说明书进行土壤总 DNA 抽提, 并进行 DNA 浓度、质量测定(NanoDrop 2000 紫外可见分光光度计); 经 2%琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 使用 NEXTflex<sup>™</sup> Rapid DNA-Seq Kit (Bioo Scientific)进行建库。利用 Illumina 公司的 MiSeq PE300 平台进行 16S rRNA 基因扩增子测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。使用 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增<sup>[23]</sup>, 扩增程序: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 27 个循环; 72 °C 10 min; 4 °C 进行保存(PCR 仪: ABI GeneAmp<sup>®</sup> 9700 型)。PCR 反应体系为: 5×TransStart FastPfu 缓冲液 4 μL, 2.5 mmol/L

dNTPs 2 μL, 上游引物(5 μmol/L) 0.8 μL, 下游引物(5 μmol/L) 0.8 μL, TransStart FastPfu DNA 聚合酶 0.4 μL, 模板 DNA 10 ng, ddH<sub>2</sub>O 补足至 20 μL。

## 1.4 测序数据处理

使用 fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version 0.20.0)和 FLASH (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash>, version 1.2.7)软件对原始测序序列进行质控、拼接<sup>[24]</sup>。利用 UPARSE 和 Usearch (<http://drive5.com/uparse/>, version 7.0), 基于 97% 的相似度对序列进行 OTU 聚类并剔除嵌合体<sup>[25]</sup>。利用核糖体数据库项目(Ribosomal Database Project, RDP)分类器 (<http://rdp.cme.msu.edu/>, version 2.2) 对每条序列进行物种分类注释, 比对 Silva 16S rRNA 数据库(version 138), 设置比对阈值为 70%<sup>[26]</sup>。原始数据(项目号: NMDC10018326)存储在微生物科学数据中心(National Microbiology Data Center, NMDC)。

## 1.5 统计学分析

根据 OTU 信息绘制每个样品的稀释曲线。使用 Mothur 软件(version 1.30.1, [http://www.mothur.org/wiki/Schloss\\_SOP#Alpha\\_diversity](http://www.mothur.org/wiki/Schloss_SOP#Alpha_diversity))计算 α 多样性指数, 群落多样性指数(Shannon 指数和 ACE 指数), 用 T-test 分析指数差异。β 多样性基于 Bray-Curtis 加权距离非度量多维尺度(non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析和相似性(analysis of similarities, ANOSIM)分析。使用 Kruskal-Wallis 检验通过线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)对效应大小(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)进行生物标志物分析, 以发现西藏 5 个农田生态系统之间有显著差异的土壤微生物物种。执行 LDA 以评估每个微生物分类群的差异, 阈值为 3.5。网络分析采用细菌相对丰度>0.01%进行分析, 使用 R 中的“igraph”包<sup>[27]</sup>, 根据 Pearson 相关系数( $P<0.01$ ,  $r\geq 0.8$ )分析共现性网络, 并使用

Gephi-0.9.2 对相对丰度>5%的子网络进行可视化<sup>[28]</sup>。用方差膨胀因子评估多重共线性,并从多变量模型中去除协变量,直到所有剩余协变量的方差膨胀因子小于 20<sup>[29]</sup>,使用 R 的 vegan 包进行冗余分析(redundancy analysis, RDA),以确定微生物群落结构与土壤理化性质之间的关系。

## 2 结果与分析

### 2.1 根际细菌群落多样性

通过测序 45 个根际土壤样品总共产生 3 838 309 条干净 16S rRNA 序列,平均序列为 43 595 条。在 97%序列相似性的阈值下所有样

本获得的 OTUs 数量为 10 715 个,共得到 43 门、144 纲、356 目、604 科、1 244 属、2 783 种。由图 1 可知,青稞根际细菌多样性(Shannon 和 ACE 指数)在不同青稞种植区明显不同,日喀则青稞根际土壤细菌 Shannon 指数与拉萨(Lasa)和山南(Shannan)的存在显著性差异( $P<0.05$ ) (图 1A),日喀则(Rikaze)的 ACE 指数与拉萨(Lasa)的存在显著差异( $P<0.05$ ) (图 1B);拉萨的青稞根际土壤细菌具有较高多样性和丰富度。

### 2.2 青稞根际细菌物种群落组成与结构

#### 2.2.1 青稞根际细菌物种群落组成

五个市青稞根际土壤共检出 43 个细菌门

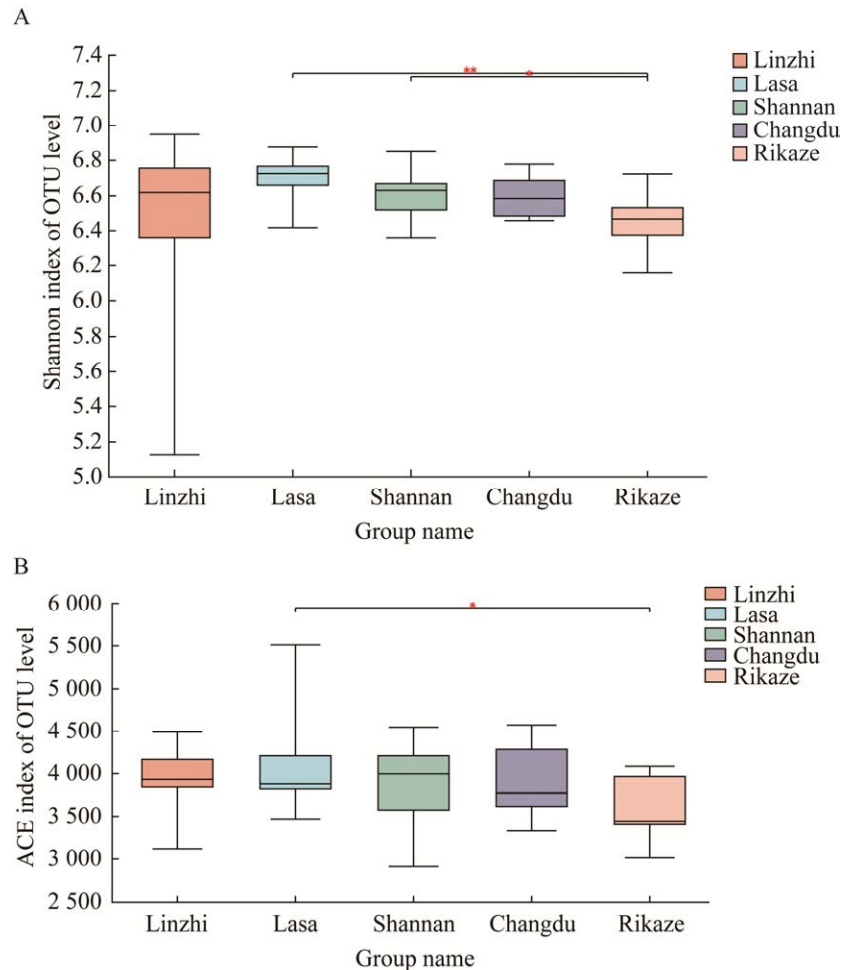


图 1 青稞根际土壤细菌群落  $\alpha$  多样性指数差异检验(A、B)

Figure 1 Boxplots of bacterial alpha diversity evaluated by Shannon diversity index (A), ACE index (B). Each boxplot represents the median, interquartile range, minimum, and maximum values. The means  $\pm$  SD of nine independent samples were shown ( $*P<0.05$ ,  $**P<0.01$ ).

类, 5 个市中相对丰度>1%的门一致, 主要有放线菌门 (*Actinobacteriota*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*)、酸杆菌门 (*Acidobacteriota*)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、芽单胞菌门 (*Gemmatimonadota*)、粘球菌门 (*Myxococcota*)和骸骨细菌门 (*Patescibacteria*), 主要细菌门相对丰度占比 94.92%–96.56% (图 2A)。其中, 放线菌门的相对丰度在 5 个市中均最高, 为 26.66%–32.16%; 其次是变形菌门、绿弯菌门。共注释到 1 244 个属, 相对丰度>1%的物种分布在前 9 个门的 27 个属, 根际细菌相对丰度前 10 的属为节杆菌属 (*Arthrobacter*)、嗜邻聚杆菌目未鉴定属 (*norank\_f\_norank\_o\_Vicinamibacterales*)、鞘

氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、*norank\_f\_JG30-KF-CM45*、嗜邻聚杆菌科未鉴定属 (*norank\_f\_Vicinamibacteraceae*)、红弯曲菌科未鉴定属 (*norank\_f\_Roseiflexaceae*)、类诺卡氏菌属 (*Nocardioides*)、芽殖球菌属 (*Blastococcus*)、未能鉴定到属的 *norank\_f\_norank\_o\_norank\_c\_KD4-96* 和 RB41, 其相对丰度分别为 4.04%–7.41%、2.42%–4.67%、2.12%–5.02%、1.51%–4.68%、2.54%–4.13%、1.39%–3.70%、1.49%–2.93%、1.42%–2.82%、1.37%–2.25%和 1.23%–2.91% (图 2B)。所有样本共有的细菌 OTU 总数为 3 606 个 (图 3), 占 OTU 总数的 33.65%, 林芝的独有 OTU 最高为 758 个 (占总数 7.07%), 其次是山南 513 个 (4.26%), 昌都特有的 OTU 数最少为 264 个 (2.46%)。

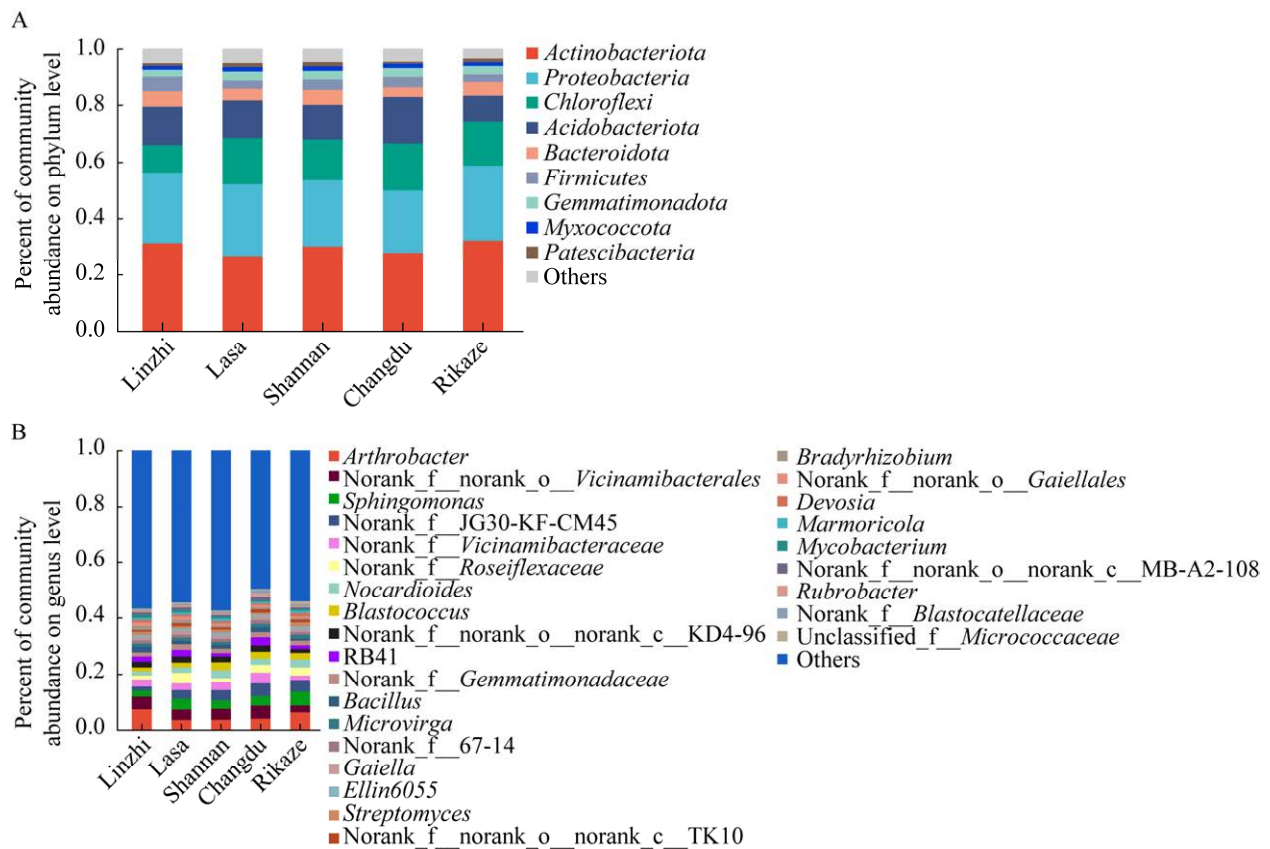


图 2 根际细菌门(A)和属(B)的组成

Figure 2 Species composition of rhizosphere bacteria (A) at phylum level and (B) at genus level.

### 2.2.2 根际土壤细菌群落组间差异分析

五个市的 NMDS 分析显示根际细菌群落结构存在明显的差异, stress 值为 0.133, ANOSIM 相似性分析表明组间差异大于组内差异( $R=0.2269$ ,

$P=0.001$ ) (图 4A)。在门水平上(相对丰度 $>1\%$ ), 放线菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、拟杆菌门和髌骨细菌门在 5 个市间存在显著性差异( $P<0.05$ ) (图 4B)。

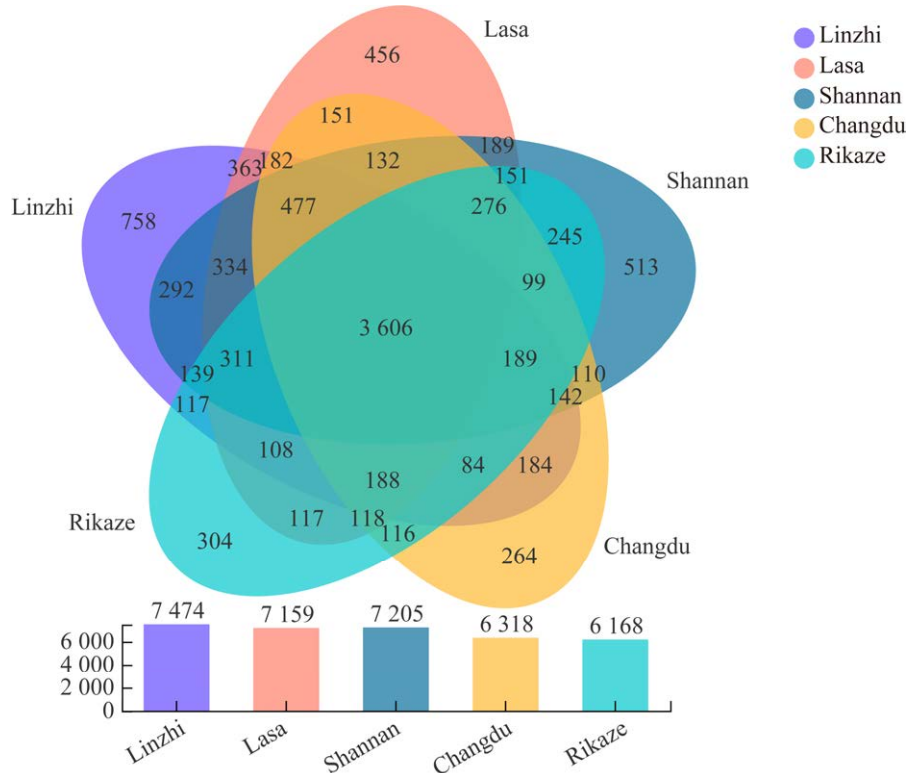
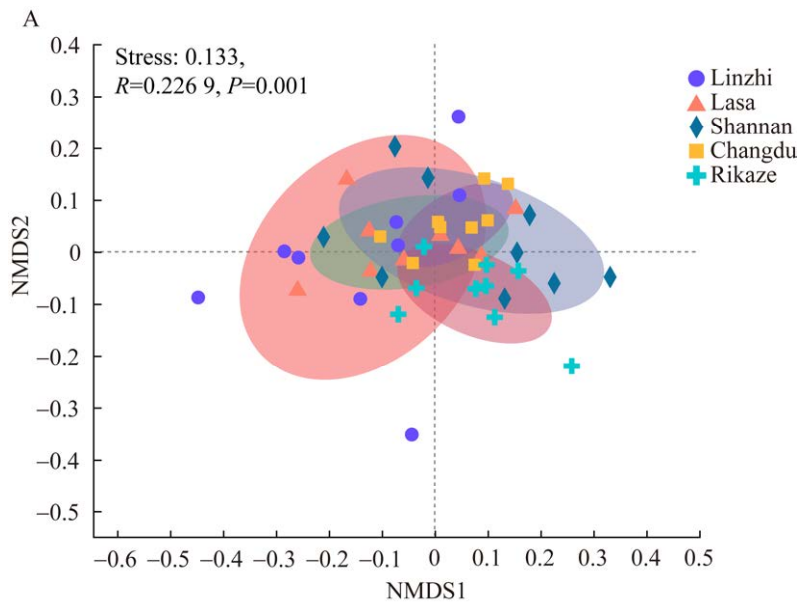
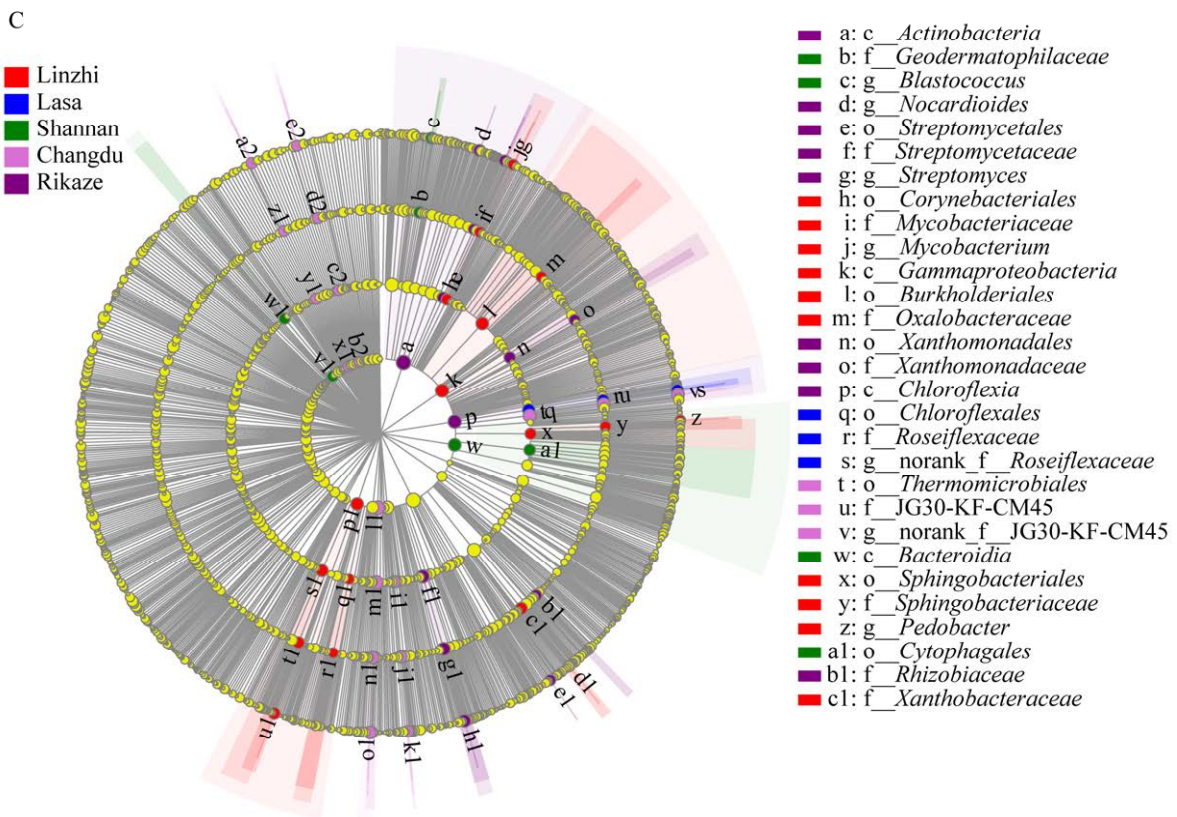
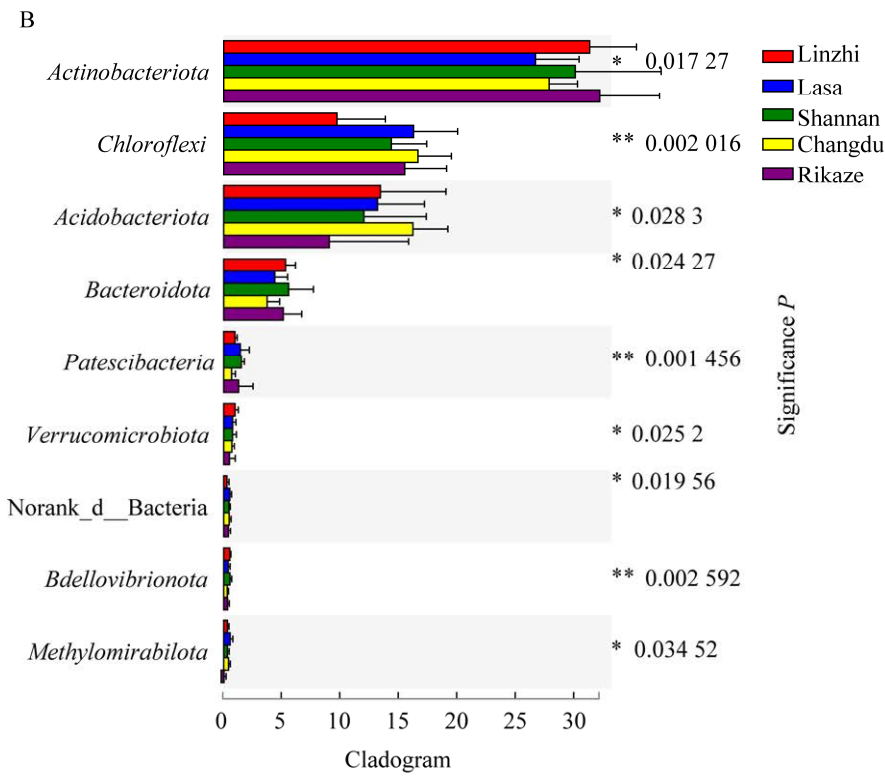


图 3 青稞根际微生物 OTU 水平 Venn 分析

Figure 3 Venn analysis of OTU level of microorganisms in barley rhizosphere.







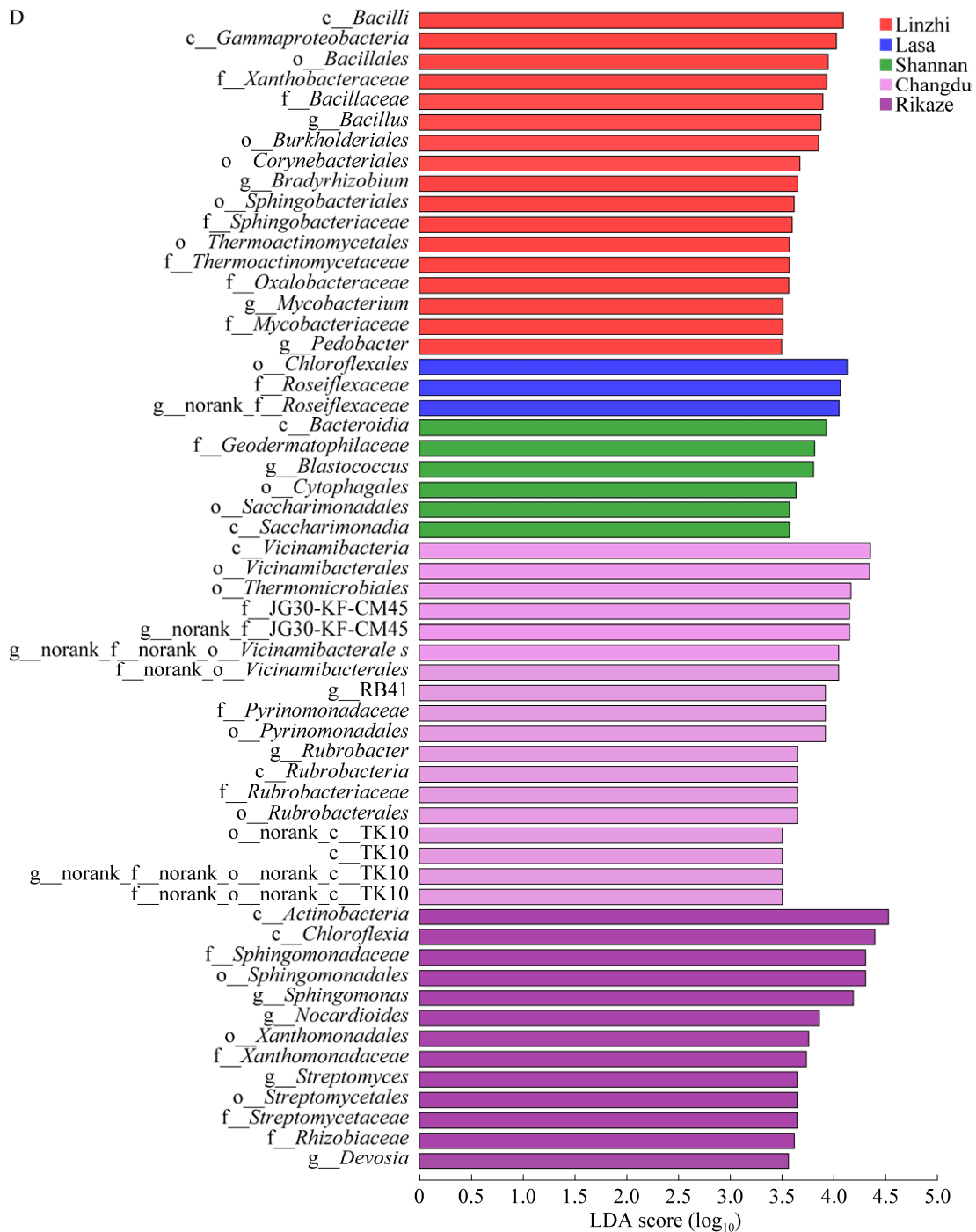


图 4 基于 Bray-Curtis 距离的非计量多维尺度(NMDS)分析(A), 门水平上组成差异分析(B), 土壤细菌 LefSe 分析(C), LDA>3.5 微生物差异直方图(D)

Figure 4 A: Non-metric multidimensional scaling (NMDS) ordination of Bray-Curtis dissimilarities of OTU relative abundances. B: Bar plot showing differences in mean relative abundance of the most abundant phylum of bacteria in 5 districts. C: LefSe analysis results of soil bacteria. D: Histogram of LDA scores calculated for the differentially abundant microbes with a threshold value of 3.5. Ellipses denote clustering at 95% confidence; NMDS stress value: 0.133; \* denote significant differences between locations, determined by ANOVA (\* $P \leq 0.05$ , \*\* $P \leq 0.01$ , \*\*\* $P \leq 0.001$ ).

通过 LEfSe 算法分析土壤细菌结构的差异, 显示 29 个细菌进化支在所有检测的土壤样品中存在显著差异, LDA 阈值为 3.5, 林芝、昌都和日喀则的根际土壤样品富集不同细菌进化支, 而拉萨(Lasa)和山南(Shannan)青稞根际土壤分别只有 3 个和 6 个细菌进化支(图 4C)。具体而言, 在林芝市青稞根际土壤富集芽孢杆菌(*Bacilli*) (从纲到属)、 $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)、伯克霍尔德氏菌目(*Burkholderiales*)、棒杆菌目(*Corynebacteriales*)、鞘氨醇杆菌(*Sphingobacteriales*) (从目到属)、高温放线菌(*Thermoactinomycetales*) (从目到科)、草酸杆菌科(*Oxalobacteraceae*)、分支杆菌(*Mycobacteriaceae*) (从科-属)和慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)。而拉萨市青稞根际富集绿屈挠菌目(*Chloroflexales*)的红弯曲菌科(*Roseiflexaceae*)。山南市富集拟杆菌纲(*Bacteroidia*)、地嗜皮菌科(*Geodermatophilaceae*)、芽殖球菌属(*Blastococcus*)、*Saccharimonadia* (从纲到目)和噬纤维菌目(*Cytophagales*)。昌都市富集嗜邻聚杆菌(*Vicinamibacteria-Vicinamibacteriales*) (从纲到目)、热微菌目(*Thermomicrobiales*)、红色杆形菌(*Rubrobacteria*) (从纲到目)、栖火山单胞菌(*Pyrinomonadales*) (从目到科)、TK10 和 RB41 等微生物。日喀则市则是放线菌纲(*Actinobacteria*)链霉菌、绿屈挠菌纲(*Chloroflexia*)、鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonadales*) (从目到属)、类诺卡氏菌属(*Nocardioideis*)、黄单胞菌(*Xanthomonadales*) (从目到科)、根瘤菌科(*Rhizobiaceae*)和德沃斯氏菌属(*Devosia*)。结果表明, 各市青稞根际土壤所富集细菌差别较大, 有可能是各市青稞根际土壤的潜在生物标志物(图 4D)。

### 2.2.3 网络结构

青稞根际土壤细菌生态网络呈现较高的复杂性, 5 个市的网络节点数均在 1 300 个以上,

边数均在 20 000 条以上。其中, 昌都网络边数最少为 21 256 条, 拉萨高达 76 358 条, 表明拉萨市细菌种类之间的生态联结最为紧密, 生态关联性最强。网络可以划分为几个较独立的功能模块, 这可能与当地土壤营养和生态环境密切相关。不同采样地点的生态网络特征差异较大, 土壤与气候条件可能起至关重要的影响作用。所有网络均呈现出较高的共现性(正相关百分比>53%), 表示青稞根际细菌群落合作关系大于竞争关系。其中, 拉萨和山南的共现网络最为复杂, 种群间联系最为密切, 具有较少的节点和更多的边, 以及更多的模块间关键点, 显示这 2 个市的子网络联系最为紧密(图 5A, 表 1)。综上所述, 青稞根际土壤细菌生态网络较复杂, 以正相关关系为主, 但也存在一定竞争作用。

为了评估青稞根际细菌网络中各类群在拓扑学上的可能作用, 根据 Deng 等<sup>[30]</sup>的方法, 基于节点内模块连通性( $Z_i$ )和模块间连通性( $P_i$ )的值将节点分类为 4 个类别: 外围节点(peripherals)、连接节点(connectors)、模块中心节点(module hubs)和网络中心节点(network hubs) (图 5B)。每个网络中的大多数节点都是外围节点, 大部分连接都在其模块内, 5 个网络中均未检测到网络中心节点(没有单个节点的  $P_i > 0.62$  且  $Z_i > 2.5$ )。青稞根际网络均有多个节点被划分为连接节点和模块中心节点, Changdu 共有 62 个(模块中心节点 16 个, 连接节点 46 个), Lasa 共有 67 个(模块中心节点 16 个, 连接节点 46 个), Linzhi 共有 74 个节点(模块中心节点 32 个, 连接节点 42 个), Shannan 共有 59 节点(模块中心节点 34 个, 连接节点 25 个)。由于模块中心节点和连接节点在网络拓扑中的重要作用, 已被定义为关键微生物类群<sup>[30]</sup>。五个市的根际土壤中的关键细菌类群存在差异, 变形菌门、绿弯菌门、放线菌门和酸杆菌门是主要的关键细菌门, 占到所有关键细菌种

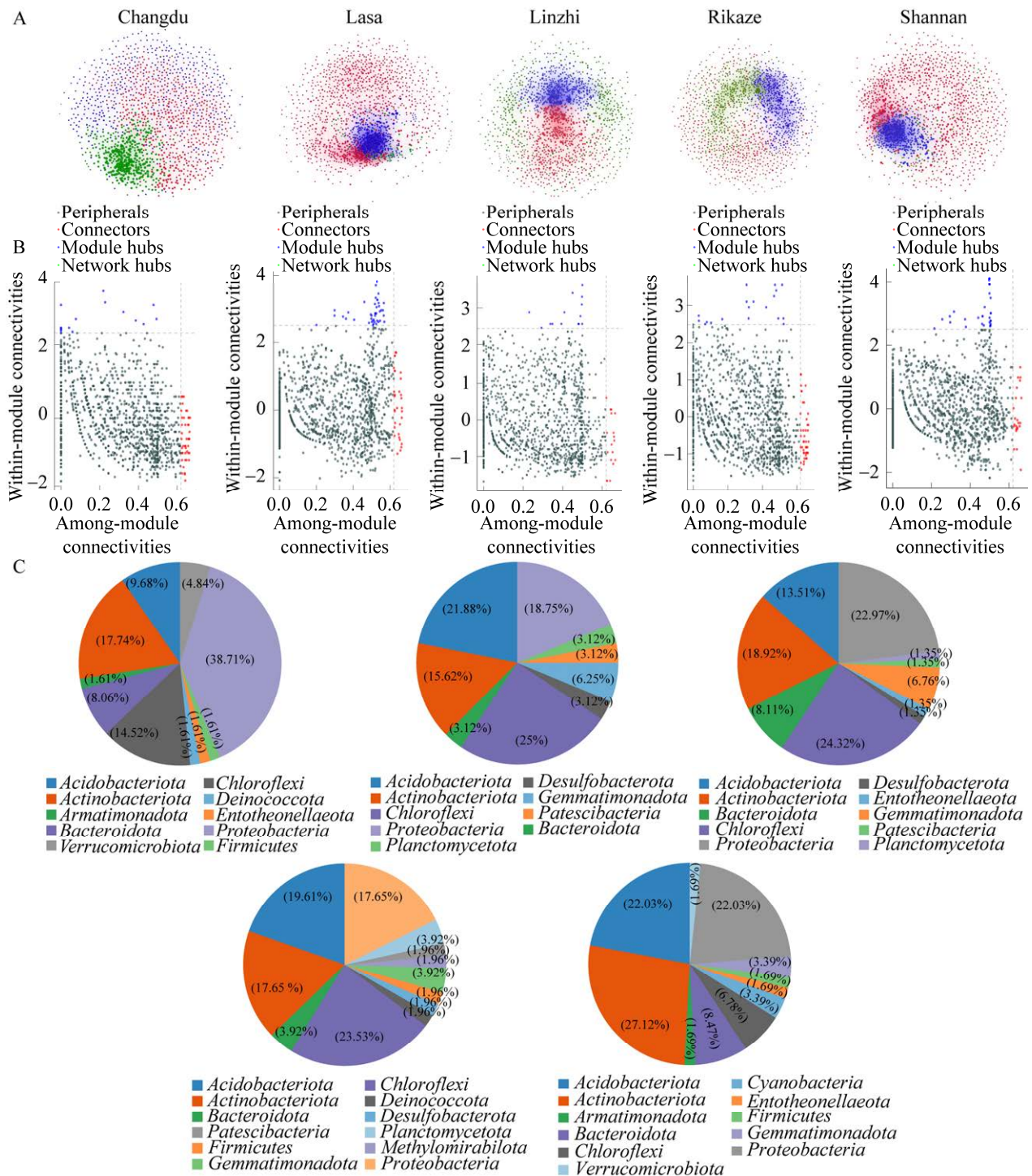


图 5 五个市青稞根际土壤细菌群落网络特征

Figure 5 Analysis of rhizosphere bacterial network of *Hordeum vulgare* in five cities. A: Gephi mapping was color-coded for subnetworks with >5% abundance in five cities. B: Network roles of analysing module feature at OTU level for bacteria. Modules hubs have  $Z_i > 2.5$ , whereas connectors have  $P_i > 0.62$ . Each dot represents an OTU from the five networks selected for detailed module analysis. C: The composition of connectors and module hubs for bacteria in rhizosphere soil as the keystone species.

表 1 青稞根际土壤细菌群落网络特征

Table 1 Characteristics of soil bacterial community network in rhizosphere of *Hordeum vulgare*

Properties	Changdu	Lasa	Linzhi	Rikaze	Shannan
Nodes	1 369	1 487	1 434	1 380	1 468
Edges	21 256	76 358	57 375	35 631	62 975
Modules	4	7	5	4	5
Modularity	0.41	0.233	0.343	0.364	0.226
Transitivity	0.105	0.576	0.528	0.446	0.563
Density	0.023	0.069	0.056	0.037	0.058
Diameter	5.20	6.63	5.83	5.88	5.83
Positive correlation (%)	59.39	53.03	61.81	63.75	55.37
Negative correlation (%)	40.61	46.97	38.19	36.25	44.63

类的 65%以上。其他的虽然占比较低，有可能起着关键的作用，如拟杆菌门(*Bacteroidota*)、*Armatimonadota*、*Deinococcota*、脱硫杆菌门(*Desulfobacterota*)、芽单胞菌门、*Patescibacteria*、浮霉菌门(*Planctomycetota*)、*Methylomirabilota*、内生菌门(*Entotheonellaeota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)和蓝细菌(*Cyanobacteria*)，其中内生菌门是林芝市的特有关键类群，*Methylomirabilota* 是日喀则市的特有关键类群，蓝细菌是山南市的特有关键类群(图 5C)。

### 2.3 环境因子对根际土壤细菌群落组成的影响

土壤有机质、有机碳、氨态氮、TK 和 AK 昌都市最高，与日喀则市存在显著性差异，与其他市无差异。TP、AP 和硝态氮在林芝市最高，AP 与其他 4 个市具有显著性差异，TP 与拉萨差异显著。TN 拉萨最高，与山南存在显著性差异[土壤理化特性详见国家微生物科学数据中心(National Microbiology Data Center, NMDC), 编号: NMDCX000020]。

采用 RDA 分析方法，在 OTU 水平上分析了环境因子对青稞根际土壤细菌群落组成的影响。由于解释变量之间存在潜在的线性相关性，基于方差膨胀因子( $VIF < 20, P < 0.05$ )从 14 个环境因子中筛选出 11 个环境因子进行 RDA 分析。结

果显示前 2 个 RDA 轴分别解释了青稞根际土壤细菌群落总变异的 15.58%和 5.77%，pH、TK、AK、C:P 和海拔与前 2 个主成分轴显著相关( $P < 0.05$ ) (图 6, 表 2)，表明环境因子 pH、TK、AK、C:P 和海拔是影响青稞根际细菌群落组成变化的重要因子，其中 TK 是影响根际土壤细菌群落最重要的因子( $R^2 = 0.6214, P = 0.001$ )。

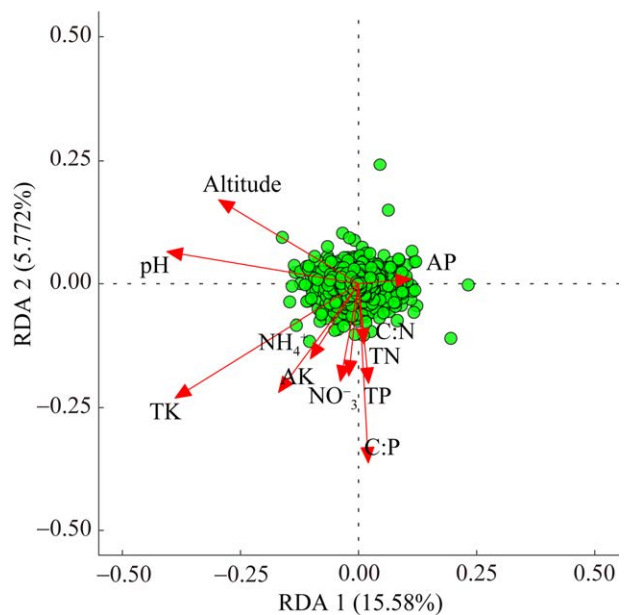


图 6 土壤化学因子与巨柏根际细菌 OTU 的冗余分析(RDA)

Figure 6 Redundancy analysis (RDA) of soil factors and rhizosphere bacteria OTU of *Hordeum vulgare*.

表 2 RDA 分析土壤化学因子相关数据

Table 2 Data related to RDA analysis of soil chemical factors

Environmental factors	RDA1	RDA2	$r^2$	$P$
pH	-0.993 5	0.113 82	0.488 5	0.001***
AK	-0.622 15	-0.782 89	0.233 9	0.002**
TK	-0.850 24	-0.526 39	0.621 4	0.001***
AP	0.991 65	0.128 95	0.037 2	0.408
TP	0.061 52	-0.998 11	0.118 0	0.061
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	-0.233 59	-0.972 34	0.119 1	0.059
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	-0.574 61	-0.818 42	0.101 1	0.104
TN	-0.155 34	-0.987 86	0.103 2	0.106
C:N	0.051 68	-0.998 66	0.043 2	0.371
C:P	0.012 05	-0.999 93	0.381 1	0.001***
Altitude	-0.880 12	0.474 75	0.328 5	0.001***

\* indicates significance at  $P<0.05$ ; \*\* indicates significance at  $P<0.01$ ; \*\*\* indicates significance at  $P<0.001$ .

### 3 讨论与结论

西藏 5 个青稞种植区根际土壤样品细菌物种组成丰富,共检测到 43 门 144 纲 356 目 604 科 1 244 属。不同种植区青稞根际土壤细菌群落多样性指数和丰富度指数存在差异,其中拉萨的青稞根际土壤细菌群落具有较高多样性和丰富度。根际微生物的组成受多种因素的影响,同种植物的根际微生物群落多样性受生长环境等因素驱动<sup>[31-32]</sup>。

本研究中青稞根际主要优势菌群为放线菌门、变形杆菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、厚壁菌门和芽单胞菌门等,与 Liu 等<sup>[33]</sup>在温室中种植青稞的根际细菌优势菌为变形菌门、其次是拟杆菌门的结果不一致,说明青稞的生长环境影响根际微生物组成。王宇姝等<sup>[34]</sup>对环青海湖的高寒农田土壤细菌进行研究发现变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、拟杆菌门以及芽单胞菌门为优势菌门,与本研究的高寒区青稞根际生物主要优势菌门基本一致,丰富度存在差异,可以看出放线菌门、变形杆菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、芽单胞菌门在农作物适应高寒环境生长中起到一定的作用。放线菌在有

机质的分解和腐殖质的形成过程中起着重要作用<sup>[35]</sup>,它能产生多种抗生素,保护土壤和植物根部免受病原微生物的侵害<sup>[36]</sup>;变形杆菌包括许多可以固定 N 的细菌和各种新陈代谢物种,此外还可以通过溶解增加磷酸盐的利用促进植物生长<sup>[37]</sup>;绿弯菌门中一些成员是兼性厌氧菌,可以降解纤维素<sup>[38]</sup>。酸杆菌门参与转运蛋白和分泌多种高分子量蛋白质,具有适应干燥、寡营养的潜在特征<sup>[39-40]</sup>;拟杆菌门可参与根际高分子量有机物的降解<sup>[41]</sup>;厚壁菌是缺氧条件下秸秆和植物残渣的主要降解者<sup>[42]</sup>;芽单胞菌门在植物根际中比较常见<sup>[43]</sup>,虽然丰度较少(1%–2%左右),但具有更好的适应恶劣环境的能力<sup>[44]</sup>。综上所述,青稞根际土壤主要菌门在青稞适应高原缺氧环境、参与养分循环和促进植物生长中起到重要作用。

所有样本共有的细菌 OTU 总数为 3 606 个,占 OTU 总数的 33.65%。植物根际细菌群落组成主要受物种基因的影响,表现为植物根系分泌物的特殊性<sup>[45]</sup>。NMDS 分析显示根际细菌群落结构存在明显的差异,且组间差异大于组内差异;相对丰度>1%的细菌门放线菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、拟杆菌门和髌骨细菌门在市间存在显著

性差异( $P < 0.05$ )。植物根际细菌群落除了受植物物种的影响外,还受植物的生长环境的影响,包括海拔、气候、土壤理化性质等。植物生长环境的改变可以诱导植物转录组和代谢组的变化,通过根部改变分泌产物选择性改变某类根际微生物丰度或多样性,形成更有利于宿主植物生长发育的微生物群落结构和功能,以此增强植物的生存率和环境适应性<sup>[46-47]</sup>。五个市青稞根际所富集微生物差别较大,存在青稞根际土壤的潜在生物标志物。而拉萨和山南作为藏西南向藏东南过度区域,兼顾性较大,相较于其他市只有 3 个和 6 个特有细菌进化支,同时也表现为结构分析中共现网络更为复杂、个体间联系更为紧密。青稞根际土壤细菌生态网络较复杂,以正相关关系为主,根际微生物组中细菌共生模式的积极特征与合作或互养作用一致,表明根际群落中细菌之间可能存在广泛的互惠作用。在植物根际土壤细菌群落中存在关键类群,在网络拓扑中起着重要作用<sup>[30]</sup>。五个市的根际土壤中关键细菌门存在差异,研究表明随着环境条件的变化关键物种也会随着变化<sup>[48-49]</sup>。变形菌门、绿弯菌门、放线菌门和酸杆菌门是主要的关键细菌门,相对丰度较高;拟杆菌门、*Armatimonadota*、*Deinococcota*、脱硫杆菌门、芽单胞菌门、*Patescibacteria*、浮霉菌门、*Methylomirabilota*、内生菌门、厚壁菌门、疣微菌门和蓝细菌是相对丰度较低的关键细菌门。相关研究表明相对丰度较低的和相对丰度较高的关键类群在维持微生物网络方面起到同样或更加重要的作用<sup>[50]</sup>。

青稞不同生长区由于地理环境、气候条件、耕作方式以及施肥习惯等因素的影响,各市的土壤化学因子存在显著差异。土壤化学性质可直接影响根际微生物的组成和丰度<sup>[51]</sup>。环境因子中海拔和土壤化学因子 TK、pH、AP、TP、 $\text{NO}_3^-$ 、C:P 和 AK 对青稞根际主要细菌门具有显著影

响。在本研究中,TK 是青稞农田根际土壤细菌群落结构的最重要驱动因子,这一结果与之前的研究的 TK 含量是影响青藏高原高寒湿地土壤细菌群落的最重要因素相吻合<sup>[52]</sup>。而 5 个市农田土壤中 TK 含量除了受耕作方式和施肥习惯影响外,还可能受农田中枯落物 N:P,土壤中的黏粒含量以及海拔等因素的影响<sup>[53]</sup>。

本研究采用 16S rRNA 基因测序方法对西藏 5 个市青稞根际土壤细菌群落特征进行了研究。青稞根际土壤细菌组成丰富,放线菌门、变形杆菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、厚壁菌门和芽单胞菌门为优势菌门。根际细菌群落结构组间差异大于组内差异,5 个市青稞根际土壤存在潜在生物标志物,拉萨和山南只有 3 个和 6 个特有细菌进化支,共现网络更为复杂、个体间联系更为紧密。五个市的根际土壤中变形菌门、绿弯菌门、放线菌门和酸杆菌门是主要的关键细菌门,内生菌门、*Methylomirabilota* 和蓝细菌分别是林芝市、日喀则市和山南市的特有关键类群。青稞根际细菌群落结构的变化主要与环境因子 pH、TK、AK、C:P 和海拔有关。本研究揭示了西藏主要青稞分布区青稞根际细菌多样性,且不同生长区青稞根际具有特有根际细菌群落,为进一步研究特有根际细菌在青稞生长和环境适应中的作用,发掘优异根际促生菌提供参考。

## 参考文献

- [1] DURÁN P, THIERGART T, GARRIDO-OTER R, AGLER M, KEMEN E, SCHULZE-LEFERT P, HACQUARD S. Microbial inter Kingdom interactions in roots promote *Arabidopsis* survival[J]. Cell, 2018, 175(4): 973-983.e14.
- [2] de VRIES FT, GRIFFITHS RI, KNIGHT CG, NICOLITCH O, WILLIAMS A. Harnessing rhizosphere microbiomes for drought-resilient crop production[J]. Science, 2020, 368(6488): 270-274.
- [3] KWAK MJ, KONG HG, CHOI K, KWON SK, SONG JY, LEE J, LEE PA, CHOI SY, SEO M, LEE HJ,

- JUNG EJ, PARK H, ROY N, KIM H, LEE MM, RUBIN EM, LEE SW, KIM JF. Rhizosphere microbiome structure alters to enable wilt resistance in tomato[J]. *Nature Biotechnology*, 2018, 36(11): 1100-1109.
- [4] CHAPARRO JM, SHEFLIN AM, MANTER DK, VIVANCO JM. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2012, 48(5): 489-499.
- [5] 马得泉. 中国西藏大麦遗传资源[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 38-60, 155-156.
- MA DQ. Genetic resources of Tibetan barley in China[M]. Beijing: China Agricultural Press, 2000: 38-60, 155-156 (in Chinese).
- [6] 吴雪莲, 曲航, 邱城, 余耀斌, 彭杨勤, 郝治华, 张唐伟, 拉琼. 产地及品种对西藏青稞营养品质的影响[J]. *麦类作物学报*, 2017, 37(9): 1246-1254.
- WU XL, QU H, QIU C, YU YB, PENG YQ, HAO ZH, ZHANG TW, LHA C. Effect of location and variety on the nutritional quality of Tibetan hulless barley[J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2017, 37(9): 1246-1254 (in Chinese).
- [7] 王建林, 栾运芳, 大次卓嘎, 胡单. 西藏栽培大麦变种组成和分布规律研究[J]. *中国农业科学*, 2006, 39(11): 2163-2169.
- WANG JL, LUAN YF, DACIZHUOGA, HU D. Distribution and composition study of Tibetan cultivated barley varieties[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2006, 39(11): 2163-2169 (in Chinese).
- [8] 刘国一, 尼玛扎西, 宋国英, 陈立勇. 西藏一江两河地区青稞生产土壤养分限制因子分析[J]. *中国农业气象*, 2014, 35(3): 276-280.
- LIU GY, LIU GY, SONG GY, CHEN L. Analysis of soil nutrients limiting factors for barley production in centre Tibet[J]. *Chinese Journal of Agrometeorology*, 2014, 35(3): 276-280 (in Chinese).
- [9] LING N, WANG TT, KUZYAKOV Y. Rhizosphere bacteriome structure and functions[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 836.
- [10] ZHANG JY, LIU YX, ZHANG N, HU B, JIN T, XU HR, QIN Y, YAN PX, ZHANG XN, GUO XX, HUI J, CAO SY, WANG X, WANG C, WANG H, QU BY, FAN GY, YUAN LX, GARRIDO-OTER R, CHU CC, et al. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice[J]. *Nature Biotechnology*, 2019, 37(6): 676-684.
- [11] DONN S, KIRKEGAARD JA, PERERA G, RICHARDSON AE, WATT M. Evolution of bacterial communities in the wheat crop rhizosphere[J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(3): 610-621.
- [12] WALTERS WA, JIN Z, YOUNGBLUT N, WALLACE JG, SUTTER J, ZHANG W, GONZALEZ-PENA A, PEIFFER J, KOREN O, SHI QJ, KNIGHT R, DEL RIO TG, TRINGE SG, BUCKLER ES, DANGL JL, LEY RE. Large-scale replicated field study of maize rhizosphere identifies heritable microbes[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(28): 7368-7373.
- [13] MENDES LW, KURAMAE EE, NAVARRETE AA, van VEEN JA, TSAI SM. Taxonomical and functional microbial community selection in soybean rhizosphere[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(8): 1577-1587.
- [14] XIONG W, SONG YQ, YANG KM, GU YA, WEI Z, KOWALCHUK GA, XU YC, JOUSSET A, SHEN QR, GEISEN S. Rhizosphere protists are key determinants of plant health[J]. *Microbiome*, 2020, 8(1): 1-9.
- [15] JIN T, WANG YY, HUANG YY, XU J, ZHANG PF, WANG N, LIU X, CHU HY, LIU G, JIANG HG, LI YZ, XU J, KRISTIANSEN K, XIAO L, ZHANG YZ, ZHANG GY, DU GH, ZHANG HB, ZOU HF, ZHANG HF, et al. Taxonomic structure and functional association of foxtail millet root microbiome[J]. *GigaScience*, 2017, 6(10): 1-12.
- [16] BULGARELLI D, SCHLAEPPI K, SPAEPEN S, VER LOREN van THEMAAT E, SCHULZE-LEFERT P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2013, 64: 807-838.
- [17] JOA JH, WEON HY, HYUN HN, JEUN YC, KOH SW. Effect of long-term different fertilization on bacterial community structures and diversity in citrus orchard soil of volcanic ash[J]. *Journal of Microbiology*, 2014, 52(12): 995-1001.
- [18] ZHOU JZ, DENG Y, SHEN LN, WEN CQ, YAN QY, NING DL, QIN YJ, XUE K, WU LY, HE ZL, VOORDECKERS JW, van NOSTRAND JD, BUZZARD V, MICHALETZ ST, ENQUIST BJ, WEISER MD, KASPARI M, WAIDE R, YANG YF, BROWN JH. Temperature mediates continental-scale diversity of microbes in forest soils[J]. *Nature Communications*, 2016, 7: 12083.
- [19] FAN KK. Wheat rhizosphere harbors a less complex and more stable microbial co-occurrence pattern than bulk soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 125: 251-260.

- [20] 何兴华, 杨预展, 袁志林. 野外树木根系取样及根际土收集操作规程[M/OL]//微生物组实验手册, 2021, Bio-101 e2003655.  
HE XH, YANG YZ, YUAN ZL. Protocol for sampling of root and rhizosphere soils from trees in natural fields[M/OL]//Microbome Protocls ebook, 2021, Bio-101e2003655 (in Chinese).
- [21] ISLAM KR, WEIL RR. Land use effects on soil quality in a tropical forest ecosystem of Bangladesh[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2000, 79(1): 9-16.
- [22] 鲍士旦, 秦怀英, 劳家桢. 土壤农化分析[M]. 第三版. 北京: 农业出版社, 2018: 25-114.  
BAO SD, QIN HY, LAO JS. Soil agrochemical analysis[M]. 3rd. Beijing: China Agriculture Press, 2018: 25-114 (in Chinese).
- [23] MORI H, MARUYAMA F, KATO H, TOYODA A, DOZONO A, OHTSUBO Y, NAGATA Y, FUJIYAMA A, TSUDA M, KUROKAWA K. Design and experimental application of a novel non-degenerate universal primer set that amplifies prokaryotic 16S rRNA genes with a low possibility to amplify eukaryotic rRNA genes[J]. *DNA Research*, 2014, 21(2): 217-227.
- [24] LI YM, WANG SP, JIANG LL, ZHANG LR, CUI SJ, MENG FD, WANG Q, LI XN, ZHOU Y. Changes of soil microbial community under different degraded gradients of alpine meadow[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 222: 213-222.
- [25] CAPORASO JG, LAUBER CL, WALTERS WA, BERG-LYONS D, HUNTLEY J, FIERER N, OWENS SM, BETLEY J, FRASER L, BAUER M, GORMLEY N, GILBERT JA, SMITH G, KNIGHT R. Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(8): 1621-1624.
- [26] ZHOU H, ZHANG DG, JIANG ZH, SUN P, XIAO HL, WU YX, CHEN JG. Changes in the soil microbial communities of alpine steppe at Qinghai-Tibetan Plateau under different degradation levels[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 651: 2281-2291.
- [27] CSÁRDI G, NEPUSZ T. The igraph software package for complex network research[J]. *InterJournal, Complex Systems*, 2006, 1695: 1-9.
- [28] BASTIAN M, HEYMANN S, JACOMY M. Gephi: an open source software for exploring and manipulating networks[J]. *Proceedings of the International AAAI Conference on Web and Social Media*, 2009, 3(1): 361-362.
- [29] BELSLEY DA, KUH E, WELSCH RE. *Regression Diagnostics: Identifying Influential Data and Sources of Collinearity*[M]. New York: Wiley, 1980.
- [30] DENG Y, JIANG YH, YANG YF, HE ZL, LUO F, ZHOU JZ. Molecular ecological network analyses[J]. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13: 113.
- [31] BULGARELLI D, ROTT M, SCHLAEPPI K, VER LOREN van THEMAAT E, AHMADINEJAD N, ASSENZA F, RAUF P, HUETTEL B, REINHARDT R, SCHMELZER E, PEPLIES J, GLOECKNER FO, AMANN R, EICKHORST T, SCHULZE-LEFERT P. Revealing structure and assembly cues for *Arabidopsis* root-inhabiting bacterial microbiota[J]. *Nature*, 2012, 488(7409): 91-95.
- [32] PEIFFER JA, SPOR A, KOREN O, JIN Z, TRINGE SG, DANGL JL, BUCKLER ES, LEY RE. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(16): 6548-6553.
- [33] LIU ZD, LI L, ZHUO G, XUE B. Characterizing structure and potential function of bacterial and fungal root microbiota in hullless barley cultivars[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2019, 19(2): 420-429.
- [34] 王宇姝, 盛海彦, 罗莎莎, 胡月明, 余玲玲. 环青海湖 4 种生境土壤中原核微生物群落结构及分子网络特征[J]. *生态环境学报*, 2021, 30(7): 1393-1403.  
WANG YS, SHENG HY, LUO SS, HU YM, YU LL. Characteristics of prokaryotic microbial community structure and molecular ecological network in four habitat soils around Lake Qinghai[J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2021, 30(7): 1393-1403 (in Chinese).
- [35] SUN J, ZHANG Q, ZHOU J, WEI QP. Pyrosequencing technology reveals the impact of different manure doses on the bacterial community in apple rhizosphere soil[J]. *Applied Soil Ecology*, 2014, 78: 28-36.
- [36] WANG QF. Long-term fertilization changes bacterial diversity and bacterial communities in the maize rhizosphere of Chinese mollisols[J]. *Applied Soil Ecology*, 2018, 125: 88-96.
- [37] ANANDHAM R, GANDHI PI, MADHAIYAN M, SA TM. Potential plant growth promoting traits and bioacidulation of rock phosphate by thiosulfate oxidizing bacteria isolated from crop plants[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2008, 48(6): 439-447.



- [38] PODOSOKORSKAYA OA, KADNIKOV VV, GAVRILOV SN, MARDANOV AV, MERKEL AY, KARNACHUK OV, RAVIN NV, BONCH-OSMOLOVSKAYA EA, KUBLANOV IV. Characterization of *Melioribacter roseus* gen. nov., sp. nov., a novel facultatively anaerobic thermophilic cellulolytic bacterium from the class *Ignavibacteria*, and a proposal of a novel bacterial phylum *Ignavibacteriae*[J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(6): 1759-1771.
- [39] WARD NL, CHALLACOMBE JF, JANSSEN PH, HENRISSAT B, COUTINHO PM, WU M, XIE G, HAFT DH, SAIT M, BADGER J, BARABOTE RD, BRADLEY B, BRETTIN TS, BRINKAC LM, BRUCE D, CREASY T, DAUGHERTY SC, DAVIDSEN TM, DEBOY RT, DODSON RJ, et al. Three genomes from the Phylum *Acidobacteria* provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(7): 2046-2056.
- [40] 杨安娜, 陆云峰, 张俊红, 吴家森, 徐金良, 童再康. 杉木人工林土壤养分及酸杆菌群落结构变化[J]. *林业科学*, 2019, 55(1): 119-127.  
YANG AN, LU YF, ZHANG JH, WU JS, XU JL, TONG ZK. Changes in soil nutrients and acidobacteria community structure in *Cunninghamia lanceolata* plantations[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2019, 55(1): 119-127 (in Chinese).
- [41] NAUMOFF DG, DEDYSH SN. Lateral gene transfer between the *Bacteroidetes* and *Acidobacteria*: the case of  $\alpha$ -L-rhamnosidases[J]. *FEBS Letters*, 2012, 586(21): 3843-3851.
- [42] SCAVINO AF, JI Y, PUMP J, KLOSE M, CLAUS P, CONRAD R. Structure and function of the methanogenic microbial communities in Uruguayan soils shifted between pasture and irrigated rice fields[J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(9): 2588-2602.
- [43] MUJAKIĆ I, PIWOSZ K, KOBLÍŽEK M. Phylum *Gemmatimonadota* and its role in the environment[J]. *Microorganisms*, 2022, 10(1): 151.
- [44] GÓMEZ-ACATA ES, VALENCIA-BECERRIL I, VALENZUELA-ENCINAS C, VELÁSQUEZ-RODRÍGUEZ AS, NAVARRO-NOYA YE, MONTOYA-CIRIACO N, SUÁREZ-ARRIAGA MC, ROJAS-VALDEZ A, REYES-REYES BG, LUNA-GUIDO M, DENDOOVEN L. Deforestation and cultivation with maize (*Zea mays* L.) has a profound effect on the bacterial community structure in soil[J]. *Land Degradation and Development*, 2016, 27(4): 1122-1130.
- [45] SASSE J, MARTINOIA E, NORTHEN T. Feed your friends: do plant exudates shape the root microbiome?[J]. *Trends in Plant Science*, 2018, 23(1): 25-41.
- [46] LIU C, LI LL, XIE JH, COULTER JA, ZHANG RZ, LUO ZZ, CAI LQ, WANG LL, GOPALAKRISHNAN S. Soil bacterial diversity and potential functions are regulated by long-term conservation tillage and straw mulching[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(6): 836.
- [47] LIU HW, BRETTELL LE, QIU ZG, SINGH BK. Microbiome-mediated stress resistance in plants[J]. *Trends in Plant Science*, 2020, 25(8): 733-743.
- [48] LU LH. Fungal networks in yield-invigorating and-debilitating soils induced by prolonged potato monoculture[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 65: 186-194.
- [49] LUPATINI M, SULEIMAN AKA, JACQUES RJS, ANTONIOLLI ZI, de SIQUEIRA FERREIRA A, KURAMAE EE, ROESCH LFW. Network topology reveals high connectance levels and few key microbial genera within soils[J]. *Frontiers in Environmental Science*, 2014, 2: 10.
- [50] SHI SJ, NUCCIO EE, SHI ZJ, HE ZL, ZHOU JZ, FIRESTONE MK. The interconnected rhizosphere: high network complexity dominates rhizosphere assemblages[J]. *Ecology letters*, 2016, 19(8): 926-936.
- [51] WANG XJ. Composition and diversity of soil microbial communities in the alpine wetland and alpine forest ecosystems on the Tibetan Plateau[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 747: 141358.
- [52] GU YF, BAI Y, XIANG QJ, YU XM, ZHAO K, ZHANG XP, LI CN, LIU SQ, CHEN Q. Degradation shaped bacterial and archaeal communities with predictable taxa and their association patterns in Zoige wetland at Tibet Plateau[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 3884.
- [53] 张伟, 刘淑娟, 叶莹莹, 陈洪松, 王克林, 韦国富. 典型喀斯特林地土壤养分空间变异的影响因素[J]. *农业工程学报*, 2013, 29(1): 93-101.  
ZHANG W, LIU SJ, YE YY, CHEN HS, WANG KL, WEI GF. Spatial variability of soil nutrients and its influencing factors in typical Karst virgin forest[J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2013, 29(1): 93-101 (in Chinese).