

东北山樱根际细菌群落结构多样性分析*

秦嗣军¹, 吕德国^{1**}, 李志霞², 刘灵芝¹, 刘国成¹, 马怀宇¹

1.沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161; 2.中国农业科学院果树研究所, 兴城 125100

摘要: 利用 PCR-DGGE 技术研究了野生与栽培两种生境下东北山樱的表层和根际土壤细菌群落结构的差异, 以及野生东北山樱根际与其周围优势植物根际细菌群落结构的区别。运用细菌的 16S rDNA 特异引物对, 对东北山樱和相邻其他优势植物根区土壤中提取的总 DNA 进行 PCR 扩增, 通过 DGGE 技术对 PCR 产物进行分析。试验结果表明: 无论在栽培条件下还是在野生条件下, 东北山樱的根际土壤细菌群落结构多样性都高于表层土, 且栽培条件下的多样性更高; 野生东北山樱的根际土壤中形成特有的细菌群落, 但其多样性低于对照和相邻的优势植物。

关键词: 东北山樱; 细菌; 群落结构; 多样性

中图分类号: S662.5

文献标识码: A

文章编号: 1000-5684(2011)

DOI: CNKI:22-1100/S.20110928.1508.004

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/22.1100.S.20110928.1508.004.html>

Analysis of the Bacterial Community Structures Diversity in Rhizosphere of *Cerasus sachalinensis* Kom.

QIN Si-jun¹, LÜ De-guo¹, LI Zhi-xia², LIU Ling-zhi¹, LIU Guo-cheng¹, MA Huai-yu¹

1. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang 11016, China; 2. Research Institute of Pomology, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Xingcheng 125100, China

Abstract: The bacterial community structures of *Cerasus sachalinensis* Kom. in topsoil and rhizospheric soil in wild and cultivated conditions were studied by means of PCR-DGGE (denaturing gradient gel electrophoresis), and their differences in the rhizosphere of *Cerasus sachalinensis* and other neighboring plant in the pristine growing conditions were also analyzed. Partial genes were amplified from soil bacterial community DNA using 16S rDNA gene primers. The diversity of PCR-amplified products was detected by DGGE. The results show that the bacterial community diversities in *Cerasus sachalinensis* rhizospheric soil were always higher than in topsoil of both cultivated and wild conditions, and higher in the cultivated soil. In pristine growing conditions, the specific bacterial community structures were formed in *Cerasus sachalinensis* rhizosphere in the courses of plant growth and development. However, the rhizosphere bacterial community diversities of *Cerasus sachalinensis* were higher than those of the other neighboring plant and the control.

Key words: *Cerasus sachalinensis*; bacteria; community structure; diversity

土壤中存在大量的微生物, 其中细菌的种类和数量最多^[1]。细菌在土壤营养元素循环、有机物质的形成和分解、土壤肥力的保持和提高、生态环境的改善、植物的生长发育等方面均起着极其重要的作用^[2-4]。传统的分离培养方法在分析细菌群落结构和多样性上存在着很大的局限性^[5]。近几十年来,

变性梯度凝胶电泳 (PCR-DGGE) 技术已被广泛地应用到微生物群落多样性分析和种群监视的动态检测中^[6-7], 已成为微生物群落遗传多样性和动态分析的强有力工具^[8]。东北山樱又称本溪山樱 (*Cerasus sachalinensis* Kom.), 是我国大连和秦皇岛等冷凉樱桃产区应用的主要砧木之一, 但生产中存在抗涝性、

* 基金项目: 国家自然科学基金项目 (30871688, 30900967), 辽宁省教育厅项目 (2008631)

作者简介: 秦嗣军, 男, 博士, 副教授, 从事果树栽培与生理生态研究。

收稿日期: 2011-03-04

网络出版时间: 2011-09-28 15:08

** 通讯作者

抗根癌病能力较差等问题。因此,对其根际微生物的群落结构的研究有助于分析其根域环境特性。目前,有关东北山樱根际微生物群落结构的研究刚刚起步^[9-10],特别是对野生和人工栽培管理体系下其根际微生物群落结构特点的研究尚属空白。本试验利用PCR-DGGE技术研究野生和栽培东北山樱表层和根际土壤细菌群落结构的特征以及野生东北山樱根际与其周围优势植物根际之间细菌多态性的差异,为揭示东北山樱根域环境特性和为其根系适应性评价提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 供试地自然概况

野生东北山樱土壤样品采集区位于辽宁省本溪市连山关镇山区(N 41°24', E 124°17'),海拔 512~546 m,坡度 20~45°。气候属于北温带湿润气候区,全年降水量 800~900 mm,年平均温度 6.1~7.8 °C,全年无霜期 156~172 d,土壤为棕壤土。野生东北山樱生长结果性状良好,随机分布。周围优势植被为柞树(*Quercus mongolica*)。

栽培东北山樱土壤样品采集区位于辽宁省沈阳农业大学果树试验基地(N 41°48', E 123°25'),海

拔 50~60 m,属于受季风影响的湿润和半湿润温带大陆性气候,全年降水量 530~680 mm,年平均气温 7.0~7.9 °C,全年无霜期约 153 d,土壤为粘壤土。栽培东北山樱为 5 年生幼树,生长良好,株距 1 m。

1.2 土壤样品的采集

于 2008 年 8 月上旬进行采样。选取实验区内生长健壮的东北山樱,采样前除去地表覆盖物,并铲除表层 1 cm 土壤,采用四点法采集。深度 1~5 cm 范围内的土壤样品为表层土,深度约 30 cm (根系集中分布区)且贴近根系直径 5 mm 范围内的土壤样品为根际土,按相同方法采集柞树根际土壤,以同一山坡上无树木生长的土样为对照土壤(ck),分别随机采集 6 株东北山樱的根际土壤混匀作为一份根际土样。编号装入无菌的自封袋中,标明采样时间、地点及土样号。样品带回实验室,过 2 mm 的土壤筛后,放在-70°C 保存备用。

用于东北山樱表层土和根际土细菌群落结构差异研究的土壤样品为 WT、WR、CT 和 CR,用于野生东北山樱与周围其他优势植被根际土细菌群落结构差异研究的土壤样品为 ck、Cs 和 Qm。土壤样品及其基本理化性质见表 1。

表 1 供试土壤样品及其基本理化性状
Table 1. Soil samples and the basic properties

供试土壤样品 Soil sample	pH	有机质含量 (g·kg ⁻¹) Organic matter	有效氮/(mg·kg ⁻¹) Available N	有效磷/(mg·kg ⁻¹) Available P	有效钾/(mg·kg ⁻¹) Available K
野生东北山樱表层土 WT Topsoil of wild <i>Cerasus sachalinensis</i>	6.48±0.06	16.65±0.33	32.67±3.28	7.43±0.87	91.76±7.29
野生东北山樱根际土 WR/ Cs Rhizospheric soil of wild <i>Cerasus sachalinensis</i>	6.61±0.03	13.96±0.13	19.83±2.02	6.74±1.26	61.62±6.54
栽培东北山樱表层土 CT Topsoil of cultivated <i>Cerasus sachalinensis</i> ,	7.25±0.07	25.68±0.37	140.00±3.50	209.22±10.33	112.42±8.58
栽培东北山樱根际土 CR Rhizospheric soil of cultivated <i>Cerasus sachalinensis</i>	7.43±0.04	27.84±0.51	159.83±10.69	227.30±9.09	172.10±8.94
对照土 ck 柞树根际土 Qm Rhizospheric soil of wild <i>Quercus mongolica</i>	6.83±0.05	19.34±0.60	28.37±4.14	6.94±0.09	65.13±4.66
	6.74±0.06	17.88±0.42	31.35±5.36	7.29±0.73	61.04±5.37

1.3 土壤细菌基因组 DNA 的提取

提取过程参照 Zhou 等^[11]的方法并略加改进。称取 0.5 g 土壤样品于 2 mL 离心管中,加入 1000 μLDNA 提取 buffer (pH 8.0 100 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0 100 mmol/L EDTA, 100 mmol/L pH 8.0 sodium phosphate, 1.5 mol/L NaCl, 1% CTAB),于 -65~65 °C 反复冻融 3 次,每次 10 min,12 000 r/min,室温离心 10 min。以下步骤分为 2 部分进行:

(1) 上清液加入 0.2 倍体积 KAc (8 mol/L),冰

浴 20 min, 14 000 r/min, 10 °C 离心 20 min。取上清,加入 0.5 倍体积 PEG(20%) 和 0.1 倍体积 NaCl (5 mol/L),混匀后室温放置 1 h, 14 000 r/min,室温离心 10 min。弃去上清,加入 500 μL 70% 乙醇浸泡,置于 4 °C 冰箱。

(2) 沉淀部分加入 800 μLDNA 提取 buffer,搅匀,加入 50 μL 溶菌酶(100 mg/mL),旋振混匀,于 37 °C 振荡温浴 1 h,加入 200 μL 20% SDS,手动旋匀后 65 °C 水浴处理 30 min,每隔 10 min 上下振荡

一次；12 000 r/min，室温离心 10 min。取上清，加入 0.2 倍体积 KAc (8 mol/L)，冰浴 20 min，14 000 r/min，10 °C 离心 20 min。取上清，加入 0.5 倍体积 PEG(20%) 和 0.1 倍体积 NaCl (5 mol/L)，混匀后室温放置 1 h，14 000 r/min，室温离心 10 min。弃去上清，加入 500 μ L 70% 乙醇浸泡 10 min。

(3) 将按“(1)”和“(2)”方法处理的乙醇浸泡后产物分别吹洗，14 000 r/min，室温离心 10 min，吸净乙醇后自然干燥 20 min，分别加入 450 μ L TE 溶解，合并。加入等体积的 V(饱和酚):V(氯仿):V(异戊醇) = 25:24:1，充分混匀，12 000 r/min，室温离心 10 min，取水相，再加入等体积的 V(氯仿):V(异戊醇) = 24:1 抽提一遍，12 000 r/min，室温离心 10 min。取水相上清，加入 0.1 倍体积的 NaAc(3 mol/L) 溶液和 0.6 倍体积的异丙醇，混匀后于室温静置沉淀 1 h，14 000 r/min，室温离心 10 min。弃上清，沉淀用 500 μ L 70% 乙醇洗涤，14 000 r/min，室温离心 10 min，吸净乙醇后自然干燥 20 min，50 μ L TE 溶解 DNA，-20 °C 下保存。利用琼脂糖凝胶电泳检测提取的 DNA 质量，粗提 DNA 样品用博大泰克 (BioDev, Beijing) 试剂盒进行纯化。

1.4 DNA 样品的 PCR 扩增

以细菌总 DNA 为模板，用细菌通用引物 341f GC 和 907r 进行扩增，上游引物 5' 端有 40 bp GC 夹。其序列分别为 (5'-CGCCCGCCGCGCCCCGCGCCCGTCCC GCGCCCCGCCCCG-3') 和 (5'-CCGTCAATT CCTTTRAGTTT-3')^[12-13]，由上海生工公司合成。

PCR 反应使用 PTC-200 PCR 仪 (Bio-Rad)，反应体系为 50 μ L，反应条件为：95 °C 预变性 5 min；95 °C 1 min，60 °C 退火 1 min，每个循环下降 1 °C，循环 10 次；95 °C 1 min，50 °C 1 min，72 °C 2 min，循环 20 次；72 °C 延伸 10 min。扩增结果用 1% 的琼脂糖凝胶进行检测。

1.5 变性梯度凝胶电泳

采用 Dcode™ (Bio-Rad Laboratories Inc, USA) 对 PCR 反应产物进行 DGGE 分析。采用 6% 聚丙烯酰胺凝胶，制备变性剂浓度范围为 30~60%。PCR 产物每孔加样 40 μ L，在 60 °C 恒温，180 V 电压，1 \times TAE 中电泳 6 h。电泳结束后，使用 GeneFinder (BIO-V) 染料将凝胶染色 30 min。利用 Bio-Rad 凝胶成像系统进行拍照。

1.6 凝胶图谱的分析

所得 DGGE 图谱采用 Quantity One (Bio-Rad Laboratories Inc, USA) 软件进行处理。利用 DGGE 图谱的数字化结果计算土壤样品中的细菌群落结构的多样性指数和均匀度指数。多样性指数用 H 表示，

$H = -\sum (P_i \ln P_i)$ ，其中 $P_i = n_i/N$ ， n_i 为某个带的峰强度， N 为该带所在泳道的所有带峰强度之和。均匀度指数用 J 表示， $J = H/\ln S$ ，其中 S 为样品的条带数。

2 结果与分析

2.1 野生与栽培东北山樱表层土和根际土的细菌群落结构

通过对野生与栽培条件下东北山樱的表层和根际土壤细菌群落分子多样性的分析，土壤细菌的 DGGE 指纹图谱及其聚类分析如图 1 和图 2 所示。

由图 1 可知，4 个泳道中条带数量和亮度均存在一定的差异，野生与栽培两种生长环境的根际土壤细菌条带数均高于表层土，多样性指数 (H) 和均匀度指数 (J) 也存在相同规律 (表 2)，且细菌多样性以栽培根际土壤最高 ($H=2.552$)，均匀度以野生根际土壤最高 ($J=0.996$)。可见，无论栽培条件还是野生条件，东北山樱根际土壤细菌群落多样性都高于表层土，栽培土壤的细菌多样性高于野生土壤，但均匀度低，说明野生的东北山樱根际细菌群落平衡，不易受外界环境影响。另外，野生和栽培条件的东北山樱根际具有各自的特有细菌类型，条带 8 为野生土壤特有，条带 7 和 11 为栽培土壤特有，其余条带为 4 个样品共有的。

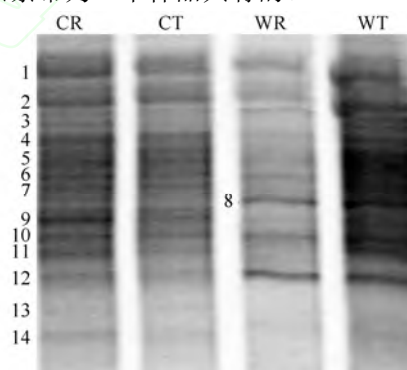


图 1 东北山樱表层和根际土壤细菌的 DGGE 指纹图谱
Fig.1. DGGE profiles of bacterial communities in topsoil and rhizospheric soil of *Cerasus sachalinensis* Kom.

野生与栽培东北山樱表层和根际土壤细菌 DGGE 指纹图谱的聚类分析 (UPGMA) 表明 (图 2)，4 个土壤样品共分为两大族群，WT 和 WR 聚为一种族群，CT 和 CR 聚为另一种族群，相似性分别为 81% 和 82%，而野生与栽培两种环境的相似性为 77%。说明生长环境对土壤细菌的群落结构影响较大，相同生长环境下细菌群落结构相似性高，不同生境下土壤细菌群落结构相似性相距较远。

表 2 野生与栽培东北山樱表层和根际土壤细菌 DGGE 图谱中可检测的条带数量、多样性指数及均匀度指数
Table 2 Detected band numbers, Shannon-Weiner index and PieLou index in DGGE profiles of wild and cultivated *Cerasus sachalinensis* Kom. rhizospheric bacteria

样品 Sample	可检测的条带数量 <i>S</i> Detected band number	多样性指数 <i>H</i> Shannon-Weiner index	均匀度指数 <i>J</i> PieLou index
WT	11	2.383	0.994
WR	12	2.475	0.996
CT	11	2.384	0.994
CR	13	2.552	0.995

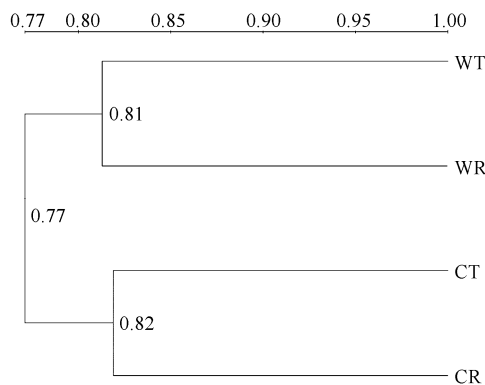


图 2 东北山樱表层和根际土壤细菌聚类分析

Fig.2. The cluster dendrogram analysis of bacteria communities in topsoil and rhizospheric soil of *Cerasus sachalinensis* Kom.

2.2 野生东北山樱与柞树根际土壤细菌群落结构比较

对原始生境中东北山樱与对照和其他相邻优势植物的根际土壤细菌群落特征分别进行分析，土壤细菌的 DGGE 指纹图谱及其聚类分析如图 3~4 所示。

由图 3 可知，3 个泳道中条带数量和亮度均存在一定的差异，对照土壤细菌条带数最多，其次为柞树根际土，东北山樱根际土细菌条带数最少。其中条带 1、2、3、6、7、8、10、11 为 3 个样品共有，条带 5、9、14、15 为对照和柞树共有，而条带 4 和 12 为东北山樱特有，条带 13 为对照特有。从表 3 也可看出，各土壤样品的多样性指数和均匀度指数也存在相似规律（表 3），其中对照的多样性指数比东北山樱高 10.45%。可见，东北山樱在野生条件下根际细菌群落多样性低于没有树木生长的对照土壤和周围相邻优势植物柞树的根际土壤，而是形成了特有的细菌群落结构。

野生东北山樱与对照土和其他相邻植物根际土壤细菌 DGGE 指纹图谱的聚类分析（UPGMA，图 4）表明，3 个土壤样品共分为两大族群，ck 和 Qm 聚为一种族群，相似性达 90%，而 Cs 属另一种族群，与对照和柞树根际土壤的细菌群落结构相似性

相距甚远，说明不同植物根际土壤的细菌群落结构组成不同，东北山樱根系在生长发育过程中形成了独特的根域环境，细菌群落组成与周围其他优势植物差异明显。

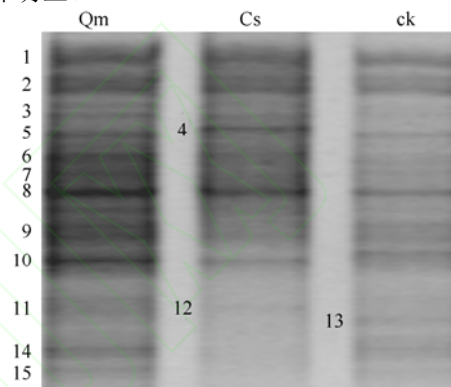


图 3 野生东北山樱与对照和其他相邻植物根际土壤细菌的 DGGE 指纹图谱

Fig.3. DGGE profiles of bacterial communities in rhizospheres of wild *Cerasus sachalinensis* Kom., the control and other adjacent plants

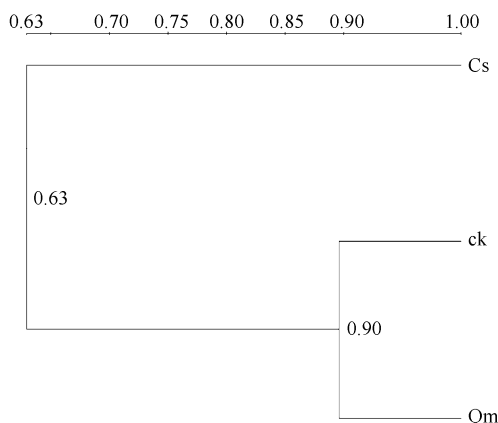


图 4 野生东北山樱与对照和其他相邻植物根际土壤细菌聚类分析

Fig.4. The cluster dendrogram analysis of bacterial communities in rhizospheres of wild *Cerasus sachalinensis* Kom., the control and other adjacent plants

表 3 野生东北山樱与其他相邻植物根际土壤细菌 DGGE 图谱中可检测条带数量、多样性指数及均匀度指数
Table 3. Detected band numbers, Shannon-Weiner index and PieLou index in DGGE profiles of rhizospheric bacteria of wild *Cerasus sachalinensis* Kom. and other adjacent plants

样品 Sample	可检测的条带数量 <i>S</i> Detected band number	多样性指数 <i>H</i> Shannon-Weiner index	均匀度指数 <i>J</i> PieLou index
ck	13	2.559	0.998
Cs	10	2.292	0.995
Qm	12	2.473	0.995

3 讨论

DGGE 是一种快速和可靠的检测微生物群落结构的分子生物学方法。本研究利用该技术对本溪山区野生东北山樱的根区土壤细菌群落结构进行了首次研究, 比较了两种环境条件下其表层土和根际土壤细菌群落结构的差异, 以及野生东北山樱与对照土和其他相邻植物根际土壤细菌群落结构的差异, 初步揭示了东北山樱根区土壤细菌群落结构组成特点。总体而言, 生长环境、土壤深度和营养状况以及植物类型均对土壤细菌群落结构有一定影响, 其中生长环境和植物类型的影响较大, 土壤深度的影响较小。

Gelsomino^[14]对两种粉沙壤土和 15 种其他土壤的研究表明, 相同类型的土壤具有同样的微生物种群。本研究也证实, 相同生长环境的东北山樱根区土壤细菌群落相似性较高。其次, 大多数研究表明, 不同土壤深度的微生物群落结构不同, 夏北成等^[15]发现在不同层次的土壤环境中细菌群落的结构发生明显的变化, Griffiths 等^[16]对 0~20 cm 深度土层的土壤细菌群落结构进行研究, 发现 0~5 cm 土层微生物的多样性最高, 随着土层深度的增加微生物多样性下降。王轶等^[17]对原始阔叶红松林的研究也表明, 根际微生物数量 > 非根际微生物数量, 根际效应明显。本试验也证实了这一点, 在东北山樱根系集中分布的深层根际土壤中, 细菌群落的数量和种类均高于表层土壤。另外, 同一生长环境下不同植物根区的土壤细菌群落结构也不同, 张历等^[18]通过对黄瓜 (*Cucumis sativus* L.)、番茄 (*Lycopersicon esculentum* Miller)、金花菜 (*Medicago hispida* Gaertn.) 等 7 个蔬菜品种根际微生物的研究发现, 不同植物有其独特的根际微生物群落, 无论在数量上还是种类上都各有其特点。这可能是由于特定植物各自的根系分泌物引起的^[19-20], 根系分泌物的种类决定了根际微生物的种类^[21-22]。所以, 即使生长环境相同, 不同的植物类型也具有不同的根际微生物群落结构。本研究结果也表明, 野生东北山樱根际细菌群落多样性低于没有树木生长的对照土和周围相邻的优势植物柞树, 且形成了特有的根际细菌群落结构。固有的细菌群落结构会影响植株

根系行为及根系分泌物种类, 进而对植株的生理代谢过程产生一定的作用。栽培条件下往往因根域环境条件的变化而引起根系适应性上的差异。因此, 在樱桃生产中, 科学地根据其根域环境特点有针对性地进行根系行为研究和地下管理具有深远的理论和实践意义。

此外根据 DGGE 图谱中条带的数目、位置和强度所做的多样性分析表明不同土壤样品的细菌区系存在差异性, 野生与栽培土壤之间、表层土与根际土之间, 以及相同环境下不同植被土壤之间的细菌区系中优势种类都不同, 这种土壤细菌群落组成的差异可能与土壤类型、土壤营养成分的组成、以及植被类型等因素有关, 这些因素可能在植被根际细菌种群的形成中扮演了重要角色^[23-24], 但它们的影响程度以及通过什么途径进行影响还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] Kennedy A C. Bacterial diversity in agroecosystems[J]. Agriculture Ecosystems and Environment, 1999, 74: 65-76.
- [2] Collins H P, Ramussen P E, Douglas C L Jr. Crop rotation and residue management effects on soil carbon and microbial dynamics[J]. Soil Science Society of America Journal, 1992, 56: 783-788.
- [3] Smith K, Goodman R M. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes[J]. Annual Review of Phytopathology, 1999, 37: 473-491.
- [4] 陈秀蓉, 南志标. 细菌多样性及其在农业生态系统中的作用[J]. 草业科学, 2002, 19(9): 34-38.
- [5] Amann R I, Ludwig W, Schleifer K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation[J]. Microbial Review, 1995, 59: 143-169.
- [6] Niemi RM, Heiskanen I, Wallenius K, et al. Extraction and purification of DNA in rhizosphere soil samples for PCR-DGGE analysis of bacterial consortia[J]. Journal of Microbiological Methods, 2001, 45(1): 155-165.
- [7] 马悦欣, Carola H, Jeremy W, et al. 变性梯度凝胶电泳(DGGE)在微生物生态学中的应用[J]. 生态学报, 2003, 23(8): 1561-1569.
- [8] Muyzer G. DGGE/TGGE a method for identifying genes from natural ecosystems[J]. Current opinion in Microbiology, 1999, 2: 317-322.
- [9] 于翠, 吕德国, 秦嗣军, 等. 本溪山樱根际微生物区系[J]. 应用生态学报, 2007, 18(10): 2277-2281.
- [10] 吕德国, 于翠, 杜国栋, 等. 樱桃属(*Cerasus*)植物根围微生物多样性[J]. 生态学报, 2008, 28(8): 3882-3890.
- [11] Zhou J, Bruns M A, Tiedje J M. DNA recovery from soils of

- diverse composition[J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62(2): 316-322.
- [12] Schabereiter-Gurtner C, Lubitz W, Rolleke S. Application of broad-range 16S rRNA PCR amplification and DGGE fingerprinting for detection of tick-infecting bacteria[J]. Journal of Microbiological Methods, 2003, 52(2): 251-260.
- [13] Winter C, Hein T, Kavka G, et al. Longitudinal changes in the bacterial community composition of the Danube River: a Whole-River approach[J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(2): 421-431.
- [14] Gelsomino A, Keijzer-Wolters A C, Cacco G, et al. Assessment of bacterial community structure in soil by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis[J]. Journal of Microbiological Methods, 1999, 38(1-2): 1-15.
- [15] 夏北成, Zhou J, Tiejie J M. 土壤细菌类克隆群落及其结构的生态学特征[J]. 生态学报, 2001, 21(4): 574-578.
- [16] Griffiths R I, Whiteley A S, O'Donnell A G, et al. Influence of depth and sampling time on bacterial community structure in an upland grassland soil[J]. FEMS Microbio Eco, 2003, 43: 35-43.
- [17] 王轶, 邹莉, 王义. 凉水自然保护区原始阔叶红松林土壤微生物的主要生理类群及分布[J]. 东北林业大学学报, 2008, 36(3): 16-17, 48.
- [18] 张历, 杨森, 魏惠军, 等. 蔬菜根际微生物分析[J]. 天津农业科学, 1996, 12: 16-19.
- [19] Marschner P, Crowley D E, Higashi R M. Root exudation and physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonad in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum* L.) [J]. Plant and Soil, 1997, 189: 11-20.
- [20] 湛方栋, 陆引盟, 关国经, 等. 烤烟根际微生物群落结构及其动态变化的研究[J]. 土壤学报, 2005, 42(3): 488-494.
- [21] Kapoor R. Root exudation and its implication on rhizosphere mycoflora[J]. Advances in Microbial Biotechnology, 1999, 351-362.
- [22] 张淑香, 高子勤. 连作障碍与根际微生态研究 II. 根系分泌物与酚酸物质[J]. 应用生态学报, 2000, 11(1): 152-156.
- [23] 黄进勇, 李春霞. 土壤微生物多样性的主要影响因素及其效应[J]. 河南科技大学学报: 农学版, 2004, 24(4): 10-13.
- [24] 张薇, 魏海雷, 高洪文, 等. 土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J]. 生态学杂志, 2005, 24 (1): 48-52.