

内蒙古草原典型植物对土壤微生物群落的影响

王纳纳^{1,2} 陈颖^{1,3} 应娇妍^{1*} 高勇生² 白永飞¹

¹中国科学院植物研究所植被与环境变化国家重点实验室, 北京 100093; ²江西农业大学国土资源与环境学院, 南昌 330045; ³内蒙古大学生命科学学院, 呼和浩特 010021

摘要 为了分析内蒙古草原不同植物物种对土壤微生物群落的影响, 采用实时荧光定量PCR (real-time PCR)以及末端限制性片段长度多态性分析(terminal restriction fragment length polymorphism, T-RFLP)等分子生物学技术, 测定了退化-恢复样地上几种典型植物的根际土壤和非根际土壤中细菌和真菌的数量及群落结构。结果表明, 不同植物物种对根际和非根际细菌及根际真菌数量均有显著影响。根际土壤中的细菌和真菌数量普遍高于非根际土壤, 尤其以真菌更为明显。对T-RFLP数据进行多响应置换过程(multi-response permutation procedures, MRPP)分析和主成分分析(principal component analysis, PCA), 结果表明, 大多数物种的根际细菌及真菌的群落结构与非根际有明显差异, 并且所有物种的真菌群落可以按根际和非根际明显分为两大类群。此外, 细菌和真菌群落结构在一定程度上存在按物种聚类现象, 以细菌较为明显。这些结果揭示了不同植物对土壤微生物群落的影响特征, 对理解内蒙古草原地区退化及恢复过程中植被演替引起的土壤性质和功能的变化有一定的帮助。

关键词 植物-微生物互作, 实时聚合酶链反应, 根际微生物, 末端限制性片段长度多态性分析

Effects of typical plant on soil microbial communities in an Inner Mongolia grassland

WANG Na-Na^{1,2}, CHEN Ying^{1,3}, YING Jiao-Yan^{1*}, GAO Yong-Sheng², and BAI Yong-Fei¹

¹State Key Laboratory of Vegetation and Environmental Change, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; ²College of Land Resources and Environment, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; and ³College of Life Science, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China

Abstract

Aims Vegetation in Inner Mongolia grassland has changed due to overgrazing and climate change. Our objective was to explore the effects of plant species on soil microbial communities in an Inner Mongolia grassland to understand the ecological consequences of vegetation changes in this region.

Methods We investigated the sizes and community structures of bacteria and fungi in the rhizosphere and non-rhizosphere soils of several typical plant species in a degradation-restoration site in Xilin Gol Grassland using real-time PCR and terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) analysis.

Important findings Different plant species have significant effects on the sizes of bacterial communities in both rhizosphere and non-rhizosphere soils and size of fungal communities in rhizosphere soil. The abundances of bacteria and fungi in the rhizosphere soil were generally higher than those in non-rhizosphere soils, particularly for fungi. Multi-response permutation procedures and principal component analysis of T-RFLP data showed significant differences of the bacterial and fungal community structure between rhizosphere and non-rhizosphere soil for most species, and the fungal community structures of all samples can be divided into the rhizosphere and non-rhizosphere soils. In addition, the community structure clustered by plant species is more evident for bacteria. These results revealed important effects of plant species on microbial community composition as well as significant differences of microbial community between rhizosphere and non-rhizosphere soils. Findings are helpful for understanding plants-soil-microbe interactions and mechanisms involved in the Inner Mongolia grassland region.

Key words plant-microbe interaction, real time-PCR, rhizosphere microorganisms, terminal restriction fragment length polymorphism analysis

内蒙古草原是欧亚草原的典型代表, 占地面积大, 在中国和世界范围内都有着重要的生态地位。近年来, 由于过度放牧及气候变化, 内蒙古草原出现了大面积的退化, 植被覆盖率和多样性大大降低。微生物与土壤功能息息相关, 与植物之间有着紧密的联系, 微生物群落的组成及其多样性是土壤性质和功能的重要指标。研究内蒙古草原典型植物与土壤微生物间的相互关系有助于理解该地区植被变化带来的生态学效应及其机制。

植物可以通过多种途径影响土壤微生物的组成, 以根际微生物的变化尤为明显。根际(rhizosphere)这个概念是德国微生物学家希尔特纳(Hiltner)于1904年在研究豆科植物时提出的, 根际即根系周围受根系生长影响的土壤。它是土壤-植物生态系统物质交换、能量流动、信息传递最活跃的部分。根际微生物作为土壤微生物的一个子系统(Jin *et al.*, 2009), 在“根际”这一特殊的生态环境中影响着植物的定植、生长、繁殖和群落的演替(Lambers *et al.*, 2009)。因此, 根际微生物是研究植物-土壤-微生物间相互作用的关键环节。根系死亡细胞及分泌物能够为根际微生物提供有利于其生长的营养物质, 从而增加根际微生物的数量(Badri *et al.*, 2009), 因此根际土壤微生物数量一般高于非根际土壤(周国英等, 2001), 但在某些情况下, 非根际土壤中的微生物数量也可能会高于根际土壤(朱丽霞等, 2003)。非根际微生物在土壤的营养和能量的流动、植物凋落物的分解方面也有着重要的作用(方昉等, 2007)。事实上, “根际”并非一个界限分明的实际区域, 对根际范围与非根际范围的划分一直颇有争议, 一些学者认为, 根际就是指根与土之间不足1 mm到几mm的土壤(熊明彪等, 2002; 张学利等, 2002), 一般的采样方式并不能很好地区分根际和非根际土壤。因此, 同时研究根际和非根际微生物的变化有助于更全面地揭示植物与微生物间的相互作用关系。

在本实验室的前期研究中, 陈颖等(2012)采集根系周围成团土壤作为根际土, 分析了几种常见禾本科植物对根际微生物的影响, 发现不同物种对根际微生物的组成存在影响, 但是重复间的误差较大, 没有发现不同物种间在主要微生物类群上存在差异。本研究采取较常用的Riley和Barber (1969)的抖落法进行采样, 以期得到与植物根系更为接近的根际土, 以更精确地分析不同植物对根际微生物组成

的影响。此外, 为了更好地理解退化及恢复过程中植被变化对土壤微生物的影响, 本研究选择退化-恢复样地采样, 除了常见的几种禾本科植物外, 增加了退化样地的典型物种冷蒿(*Fringed sagebrush*), 分析了不同植物物种根际微生物和非根际微生物的数量和群落组成, 以回答以下科学问题: (1)不同植物物种对土壤微生物的影响是否存在差异? (2)根际和非根际微生物对不同植物物种的响应各有什么特征?

1 材料和方法

1.1 样地概况与样品采集

内蒙古锡林郭勒草原生态系统国家野外科学观测研究站地处内蒙古高原锡林河流域, 该流域属于中温带亚干旱地区, 气候划分上属于温带半干旱草原气候。由于受气候、成土母质、地质地貌、地表水与地下水以及植被特征等因素的共同影响, 形成了典型的栗钙土, 质地较轻, 多为沙土和粉壤土。该地区腐殖层厚度30–45 cm, 有机质含量2.0%–4.0%。植物区系具有典型草原与山地森林草原的特征, 因此植物成分以旱生草本植物为主导, 例如分布最广泛的羊草(*Leymus chinensis*)群落和大针茅(*Stipa grandis*)群落。采样地区位于116°40'30"–116°41'10" E, 43°37'40"–43°37'50" N, 海拔1 186 m的退化-恢复样地, 该样地于1983年进行围封, 面积900 m × 300 m, 围封前退化严重。供试土壤样品采集于2011年8月, 间隔几百米随机选定3个采样区作为3个重复。在每个采样区收集6个典型物种的根际与非根际土壤, 物种包括羊草、大针茅、冰草(*Agropyron cristatum*)、西伯利亚羽茅(*Achnatherum sibiricum*)、糙隐子草(*Cleistogenes squarrosa*)和冷蒿。在采集每个物种时, 为了减少其他物种的干扰, 我们选择单一物种多株植株聚集生长的地方作为取样点, 取样面积约30 cm × 30 cm。小心地抖落根系周围和根系之间的土壤, 收集作为非根际土壤。用小毛刷将剩余的附着在根系上的微量土壤轻轻地刷下作为根际土壤。然后根际土壤和非根际土壤迅速过1 mm筛, 于–20 °C保存以备提取DNA。

1.2 DNA的提取与实时聚合酶链反应(real-time PCR)

土壤微生物总DNA采用Fast DNA® SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, USA)试剂盒提取, 具体操作步骤按照试剂盒说明书进行。

细菌采用探针法(Taqman probe)进行real-time PCR。PCR扩增时,特异性荧光探针为TM1389F (5'-CTTGTACACACCGCCCGTC-3'),该探针为一寡核苷酸,其5'端标记一个报告荧光基团FAM (6-carboxy-fluorescein),3'端标记一个淬灭荧光基团TAMRA (6-carboxy-tetra-methylrhodamine),引物为1369F (5'-CGGTGAATACGTTCCCGG-3')和1492R (5'-ACGGCTACCTTGTTACGACT-3'),PCR反应试剂采用Premix Ex-Taq™ (TaKaRa),PCR反应条件为94 °C预变性2 min;94 °C变性15 s,56 °C退火1 min,72 °C延伸1 min,40个循环。

真菌采用荧光染料掺入法(SYBR green)进行real-time PCR。在PCR反应体系中,加入适量的SYBR荧光染料,PCR试剂为SYBR® Premix Ex-Taq™ (TaKaRa),引物为NS1 (5'-GTAGTCATATGC-TTGTCC-3')和Fung (5'-CATTCCCCGTTACCCGT-TG-3')。Real-time PCR反应程序为94 °C预变性2 min;94 °C变性30 s,55 °C退火30 s,72 °C延伸1 min,40个循环,为了防止反应中的引物二聚体的产生所引起的误差,每个循环在83 °C收集荧光信号。

所用实时荧光定量扩增仪型号为iQ5 (Bio-rad, Hercules, USA),以插入相应基因的质粒为标准品获得标准曲线,质粒的DNA浓度由Nanodrop® ND-1000 UV-Vis Spectrophotometer (NanoDrop Technologies, Wilmington, USA)测定。

1.3 末端限制性片段长度多态性分析(T-RFLP)

采用通用引物27F (5'-AGAGTTTGATCMTG-GCTCAG-3')和519R (5'-ATTACCGCGGCTGCTG-G-3')扩增细菌16S rDNA片段,其中引物27F的5'端带6-FAM荧光标记。扩增采用递减PCR(touch-down PCR)进行,反应体系25 μL,包括:10 × PCR buffer (含Mg²⁺) 2.5 μL; dNTP 2 μL; BSA 0.75 μL; 引物(10 μmol·L⁻¹)各0.5 μL; Ex-Taq酶(TaKaRa) 0.2 μL; 模板2 μL; 加水补足25 μL。TD-PCR反应条件:94 °C预变性3 min;96 °C变性30 s;55 °C退火30 s;每次下降0.5 °C,直到50 °C,每个温度循环2次,72 °C延伸45 s;循环10次,然后96 °C变性30 s;50 °C退火30 s;72 °C延伸45 s;进行25个循环,72 °C延伸10 min。扩增结束后,PCR产物用限制性内切酶HhaI和HaeIII同时进行酶切。酶切体系20 μL: ddH₂O 6 μL; M-buffer 2 μL; HhaI和HaeIII各1 μL; PCR产物10 μL。37 °C温育3 h。

采用通用引物ITS1F (5'-CTTGGTCATTT-AGAGGAAGTAA-3')和ITS4 (5'-TCCTCCGCTTAT-TGATATGC-3')扩增真菌ITS区片段,其中引物ITS4的5'端带6-FAM荧光标记。扩增采用TD-PCR进行,反应体系同细菌。TD-PCR扩增结束后,PCR产物用限制性内切酶HinfI进行酶切,酶切体系20 μL: ddH₂O 7 μL; M-buffer 2 μL; HinfI 1 μL; PCR产物10 μL。37 °C温育3 h。

将上述细菌和真菌的酶切产物用Easy Pure PCR Purification Kit (Trans Gen)试剂盒进行纯化,送北京诺赛基因组研究中心进行基因扫描检测。在检测结果的基因扫描图谱上,以不同长度的末端限制性片段的峰面积占总峰面积的百分数来表征不同微生物类群的相对数量,并以此数据进行MRPP多响应置换过程分析和PCA主成分分析。

1.4 数据统计及分析方法

土壤中细菌和真菌群落结构的T-RFLP数据运用SPSS 11.5和PC-ORD 5.0软件分别进行主成分分析和多响应置换过程分析,主成分分析用SigmaPlot 10.0作图。荧光定量PCR的结果首先采用SAS Version 8.0 (SAS Institute, Cary, USA)进行双因素方差分析(two-way ANOVA),然后采用SPSS 11.5软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA, Duncan检验)检验各参数的差异显著性($p < 0.05$),用Excel 2007作图。

2 结果和讨论

2.1 根际和非根际土壤微生物数量的实时聚合酶链反应结果分析

对微生物数量的定量分析结果做双因素方差分析(表1)显示,根际和非根际之间细菌和真菌的数量都存在显著差异,根际环境是影响细菌和真菌数量的主要因素,尤其以真菌更为明显,而物种的影响及物种和根际环境之间的交互作用不显著。为了进一步分析不同植物之间的差异,我们分别对根际和非根际土中不同物种的细菌和真菌数量又进行了单因素方差分析。细菌数量的单因素方差分析结果见图1。从根际与非根际群落数量的比较看出,对大多数植物种来说,根际土壤细菌数量大于非根际土壤,这与他人的一些研究结果相似(周国英等,2001; Badri *et al.*, 2009)。不同植物种间不仅在根际土壤而且在非根际土壤的细菌数量上存在显著差异。这反

表1 植物种及根际环境对细菌和真菌数量的影响

Table 1 Effects of plant species and rhizosphere environment on numbers of bacteria and fungi

微生物类群 Microbial group	变异来源 Source of variation	df	F	p
细菌 Bacteria	物种 Species	5	2.16	0.095 7
	根际环境 Rhizosphere environment	1	11.89	0.002 3
	物种×根际环境 Species × rhizosphere environment	5	2.55	0.057 4
真菌 Fungi	物种 Species	5	2.46	0.064 7
	根际环境 Rhizosphere environment	1	136.02	<0.000 1
	物种×根际环境 Species × rhizosphere environment	5	0.50	0.771 3

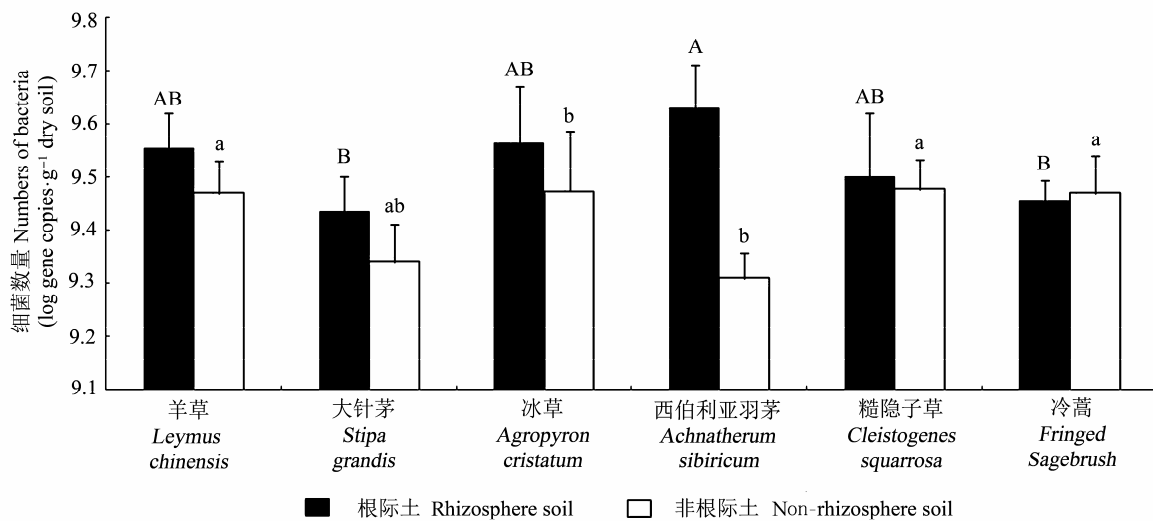


图1 不同植物种根际土壤和非根际土壤中细菌的数量(平均值±标准误差)。A、B表示不同物种根际土壤间差异显著($p < 0.05$); a、b表示不同物种非根际土壤间差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 1 Numbers of bacteria in rhizosphere and non-rhizosphere soils of different plant species (mean ± SE). A and B indicate significant difference among rhizosphere soils of different species ($p < 0.05$); a and b indicate significant difference among non-rhizosphere soils of different species ($p < 0.05$).

映出不同植物种对细菌数量的影响并不局限在狭义概念上微小的根际环境中,但由于根际和非根际土壤的严格区分非常困难,不能排除非根际土壤的变化仍可能与根系的作用有关。这与双因素方差分析中物种对细菌数量的影响不显著的结果不同,体现出不同统计方法得出的结果可能存在一定的差异,因此,同时采用多种方法研究有助于更全面、更精确地对结果做出分析。

各个植物种中以大针茅的根际细菌数量最低,这与之前的研究结果较为一致(陈颖等, 2012)。虽然大多数研究认为,根系可以分泌微生物赖以生存的碳源,从而刺激微生物的生长;但是也有研究表明,有的根系分泌物可能对细菌有抑制作用(Muarry *et al.*, 1996; 陶波等, 2010)。大针茅根际土壤中细菌含量较低是否与根系分泌物的影响有关,有待于进一

步验证。此外,冷蒿和糙隐子草的根际土细菌数量也较少,并且与非根际土之间差异较小。冷蒿为多年生轴根小半灌木,相比须根系的禾本科植物,细根生物量少;而糙隐子草个体小,根的生物量也相对较少;因此,这两种植物根际细菌的数量较低可能与细根数量少导致的根系分泌物和细胞脱落物等含量较低有关。

真菌数量的单因素方差分析结果见图2。与细菌相似,各个植物种根际土壤中的真菌数量显著高于非根际土壤,甚至高达100倍。这一方面可能是由于根系分泌物含有大量的有机酸,导致根际土壤的pH比非根际土壤低(徐秋芳和钱新标, 1998),从而使适应于酸性环境的真菌数量增多(刘涛等, 2008)。另外,真菌是大分子物质的主要分解者,因此它们容易在根系细胞的凋亡物比较丰富的根际土

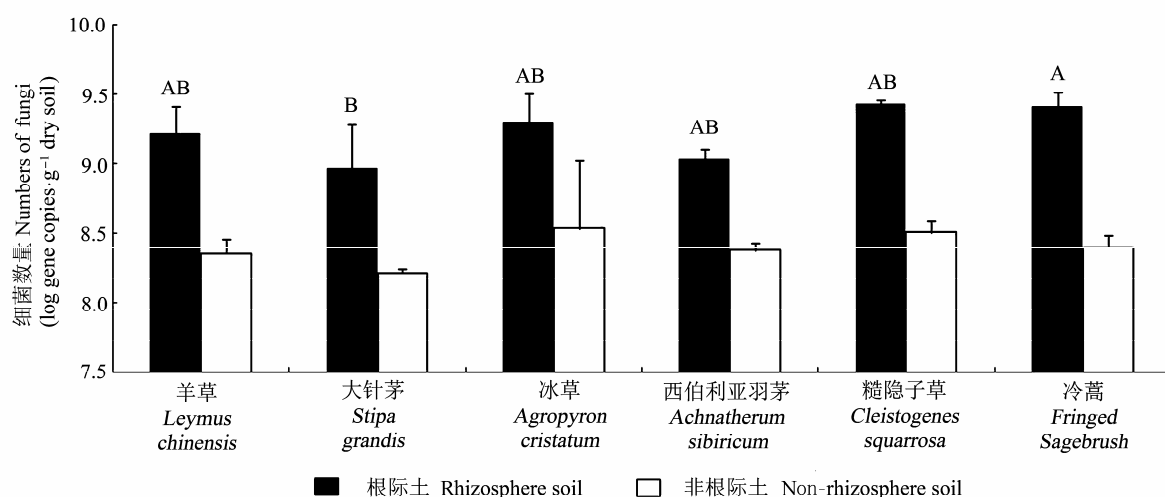


图2 不同植物种根际土壤和非根际土壤中真菌的数量(平均值±标准误差)。A、B表示不同物种根际土壤间差异显著($p < 0.05$)。
Fig. 2 Numbers of fungi in rhizosphere and non-rhizosphere soils of different plant species (mean ± SE). A and B indicate significant difference among rhizosphere soils of different species ($p < 0.05$).

表2 不同物种根际和非根际土壤中细菌和真菌群落结构的多响应置换过程分析

Table 2 Multi-response permutation procedures analysis of bacteria and fungi community structure in rhizosphere and non-rhizosphere soils of different species

微生物类群	分组	观测值	预期值	T	A	p
Microbial group	Group	Observed value	Expected value			
细菌	根际与非根际	0.457	0.500	-5.014	0.086	< 0.001
	Rhizosphere and non-rhizosphere					
	不同物种根际土壤	0.233	0.500	-5.518	0.533	< 0.001
	Rhizosphere soils of different species					
真菌	不同物种非根际土壤	0.284	0.500	-4.250	0.430	< 0.001
	Non-rhizosphere soils of different species					
	根际与非根际	0.405	0.500	-10.832	0.190	< 0.001
	Rhizosphere and non-rhizosphere					
真菌	不同物种根际土壤	0.307	0.500	-4.341	0.385	< 0.001
	Rhizosphere soils of different species					
	不同物种非根际土壤	0.268	0.500	-4.969	0.462	< 0.001
	Non-rhizosphere soils of different species					

A, 一致性统计量; T, 检验性统计量。

A, agreement statistic; T, test statistic.

壤中大量繁殖。与图1比较, 真菌的数量普遍远低于细菌数量, 这与其他研究中报道的细菌是土壤微生物中最大的类群, 占土壤微生物总量的70%–90%具有一致性(韦红群等, 2009)。不同植物种对根际真菌的数量有显著影响, 而对非根际真菌数量的影响不显著。这可能是与真菌相比, 细菌容易利用易扩散的小分子物质如根系分泌物, 并且细菌本身个体较小, 易扩散, 从而导致不同植物种对它的影响可以扩展到比真菌更广的区域, 如非根际土壤。

2.2 根际微生物和非根际微生物群落结构的T-RFLP

T-RFLP是近些年来被广泛应用于土壤微生物

研究中的一种分子生物学技术, 具有重复性好、灵敏度高、准确快速等优点(Kent *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2007)。T-RFLP结果产生的数据量比较大, 通常可结合统计软件对数据进行综合分析。其中的主成分分析(PCA)是较常用的一种方法(Dollhopf *et al.*, 2001)。而多响应置换过程分析方法(MRPP)近些年来也被广泛应用于生态学研究(Zimmerman *et al.*, 1985; Brosofske *et al.*, 2001; Stallins, 2002)。本文把这两种方法结合起来, 对根际土壤和非根际土壤中细菌和真菌的T-RFLP数据进行分析。本研究中少量样品由于PCR产物浓度过低没有得到有效数据, 由于不同批次的PCR产物间存在一定差异, 本文没有补充缺失数据。

将样品按根际和非根际或者按物种分组后进行MRPP分析(表2), 结果表明, 细菌和真菌的群落结构在根际和非根际之间都差异显著, 而且根际土和非根际土中细菌和真菌的群落结构在不同物种之间差异也显著。尤其以真菌群落结构在根际和非根际间的差异最为突出, 其表征组间分离程度的 t 值最小。在不同物种间的差异上, 则以细菌的根际土中较为明显, t 值较小。

PCA分析表明, 细菌的第1主成分PC1和第2主成分PC2的方差贡献率分别是26.95%和19.72%, 累计方差贡献率为46.67% (图3A)。除少量样品存在交叉现象外, 第1主成分PC1将所有的样品大致分成了两大部分, 即以白色为代表的不同物种的根际土壤细菌和以黑色为代表的非根际土壤细菌。对绝大多数植物种而言, 其根际和非根际细菌的组成在PCA图中形成不同的聚集区。这些结果显示了根际和非根际环境对细菌群落结构的重要影响。此外, 各样品在一定程度上存在按物种聚类的现象, 但是每个植物种的3个重复中一般只有两个重复间距离很近, 这可能是因为不同植物种对细菌群落结构的影响往往体现在含量较低的微生物类群的变化上, 而且根系对土壤微生物的影响还存在微环境格局(Marschner *et al.*, 2012), 因此, 在比较粗放的采样方式下, 细菌群落结构容易受到一些随机因素(如土壤异质性)的影响而检测不到不同物种间的微小变化。

真菌的PC1和PC2的方差贡献率分别是20.63%和17.49%, 累计方差贡献率为38.12%。图3B显示, 真菌的群落结构在PC1轴上可以明显地分为以白色为代表的根际真菌和以黑色为代表的非根际真菌两大类群, 表明根际和非根际之间的差异超过了植物物种对真菌群落组成的影响。真菌在大分子物质如植物残体以及凋亡细胞的分解中起着重要的作用, 因此根际和非根际环境中真菌群落组成不同的最主要原因可能是死亡根系为真菌提供了特殊的营养物质来源。与此相符, Anderson等(2004)发现根际土壤和非根际土壤中参与植物残体分解的纤维素酶和几丁质酶的活性不同。禾本科植物不同物种对真菌群落结构的影响不明显, 但是冷蒿的根际真菌与其他物种间都存在明显的差异, 在图3B中位于各个样品的最上方。推测主要原因是禾本科植物不同物种间分类地位比较接近, 而冷蒿与禾本科植物在分类上

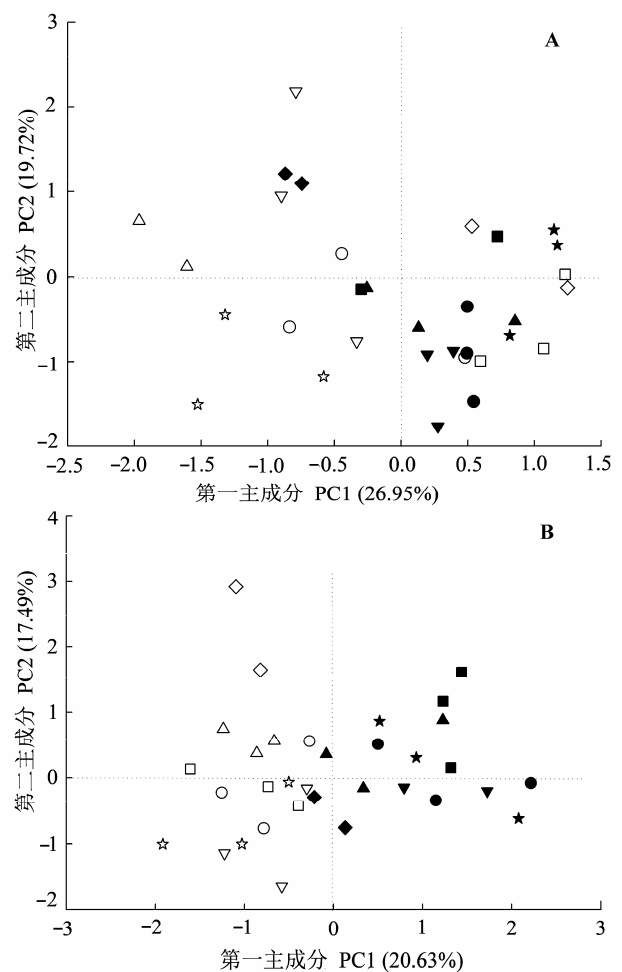


图3 不同物种根际土壤和非根际土壤中细菌(A)和真菌(B)群落结构。○, 冰草根际土壤; ●, 冰草非根际土壤; ◇, 冷蒿根际土壤; ◆, 冷蒿非根际土壤; ▽, 羊草根际土壤; ▽, 羊草非根际土壤; △, 糙隐子草根际土壤; ▲, 糙隐子草非根际土壤; □, 西伯利亚羽茅根际土壤; ■, 西伯利亚羽茅非根际土壤; ☆, 大针茅根际土壤; ★, 大针茅非根际土壤。

Fig. 3 Community structures of bacteria (A) and fungi (B) in rhizosphere and non-rhizosphere soils of different species. ○, *Agropyron cristatum* rhizosphere soil; ●, *Agropyron cristatum* non-rhizosphere soil; ◇, *Fringed sagebrush* rhizosphere soil; ◆, *Fringed sagebrush* non-rhizosphere soil; ▽, *Leymus chinensis* rhizosphere soil; ▽, *Leymus chinensis* non-rhizosphere soil; △, *Cleistogenes squarrosa* rhizosphere soil; ▲, *Cleistogenes squarrosa* non-rhizosphere soil; □, *Achnatherum sibiricum* rhizosphere soil; ■, *Achnatherum sibiricum* non-rhizosphere soil; ☆, *Stipa grandis* rhizosphere soil; ★, *Stipa grandis* non-rhizosphere soil.

距离较远, 因此在作为真菌营养物质来源的根系残体及分泌物等组分上, 冷蒿也与其他禾本科植物间有着明显的区别, 体现了植物种间的进化距离对其相关的土壤微生物组成的重要影响。

3 结论

本研究采用分子生物学技术分析了内蒙古草原退化-恢复样地的几种典型植物种对根际和非根际微生物群落的影响。结果表明, 根际土壤中的细菌及真菌在数量和群落结构上与非根际土壤间存在显著的差异, 尤其对于真菌更为明显, 根际和非根际间的差异往往超越了不同物种间的差异, 体现出植物根际与非根际环境间的土壤性质和功能的巨大差异。总体而言, 不同植物种对细菌数量和群落结构的影响比真菌明显。鉴于根际分泌物在调控植物物种特异性的微生物群落组成中的重要作用, 以及植物可溶性组分的分解主要与细菌相关的特点 (Paterson *et al.*, 2008; Badri & Vivanco, 2009), 我们推测: 不同植物种对土壤微生物的特异性影响主要体现在细菌容易利用的根系分泌物的差异上。但作为退化草原的典型物种并与其他禾本科植物分类地位较远的冷蒿, 其对应的真菌群落结构与其他植物明显不同, 揭示了草原退化带来的植被变化对土壤微生物及潜在土壤功能的重要影响。在分析不同植物种对根际土壤微生物群落的影响上, 本研究未能获得理想的效果, 如清晰地区分不同物种并找到具有物种特异性的微生物类群。为了提高分析的精确性, 在以后的工作中可以尝试采用微环境尺度的取样方式 (Dennis *et al.*, 2008), 同时改进分析方法 (如采用高通量测序技术), 在更为细化的分类水平上对特定的微生物类群进行分析。

基金项目 中国科学院战略性先导科技专项(XDA-05050400)、国家自然科学基金(31170404)和国家重点基础研究发展计划项目(2009CB421102)。

参考文献

- Anderson M, Kjoller A, Struwe S (2004). Microbial enzyme activities in leaf litter, humus and mineral soil layers of European forests. *Soil Biology & Biochemistry*, 36, 1527–1537.
- Badri DV, Vivanco JM (2009). Regulation and function of root exudates. *Plant, Cell & Environment*, 32, 666–681.
- Badri DV, Weir TL, van der Lelie D, Vivanco JM (2009). Rhizosphere chemical dialogues: plant-microbe interactions. *Current Opinion in Biotechnology*, 20, 642–650.
- Brosfokske KD, Chen J, Crow TR (2001). Understory vegetation and site factors: implications for a managed Wisconsin landscape. *Forest Ecology and Management*, 146, 75–87.
- Chen Y, Li XX, Ying JY, Liang CZ, Bai YF (2012). Effects of plant functional groups and plant species on soil microbial

composition in an Inner Mongolian grassland. *Biodiversity Science*, 20, 59–65. (in Chinese with English abstract) [陈颖, 李肖肖, 应娇妍, 梁存柱, 白永飞 (2012). 典型草原植物功能群及物种对土壤微生物多样性的影响. 生物多样性, 20, 59–65.]

- Dennis PG, Miller AJ, Clark IM, Taylor RG, Valsami-Jones E, Hirsch PR (2008). A novel method for sampling bacteria on plant root and soil surfaces at the microhabitat scale. *Journal of Microbiological Methods*, 75, 12–18.
- Dollhopf SL, Hashsham SA, Tiedje JM (2001). Interpreting 16S rDNA T-RFLP data: application of self organizing maps and principal component analysis to describe community dynamics and convergence. *Microbial Ecology*, 42, 495–505.
- Fang F, Wu CZ, Hong W (2007). Study on the relationship between rhizospheric or non-rhizospheric soil enzyme and microbe in different plants. *Subtropical Agriculture Research*, 3, 209–215. (in Chinese with English abstract) [方昉, 吴承祯, 洪伟 (2007). 植物根际、非根际土壤酶与微生物相关性研究进展. 亚热带农业研究, 3, 209–215.]
- Jin J, Wang GH, Liu XB, Liu JD, Chen XL, Herbert SJ (2009). Temporal and spatial dynamics of bacterial community in the rhizosphere of soybean genotypes grown in a black soil. *Pedosphere*, 19, 808–816.
- Kent AD, Smith DJ, Benson BJ, Triplett EW (2003). Web-based phylogenetic assignment tool for analysis of terminal restriction fragment length polymorphism profiles of microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 6768–6776.
- Lambers H, Mougel C, Jaillard B (2009). Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. *Plant and Soil*, 321, 83–115.
- Li F, Hullar MAJ, Lampe JW, Hinsinger P (2007). Optimization of terminal restriction fragment polymorphism (TRFLP) analysis of human gut microbiota. *Journal of Microbiological Methods*, 68, 303–311.
- Liu T, Diao ZM, Qi YQ (2008). The primary advances rhizosphere microbiology. *Qinghai Prataculture*, 17(1), 41–47. (in Chinese with English abstract) [刘涛, 刁治民, 祁永青 (2008). 根际微生物及对植物生长效应的初步研究. 青海草业, 17(1), 41–47.]
- Marschner P, Marhan S, Kandeler E (2012). Microscale distribution and function of soil microorganisms in the interface between rhizosphere and detritosphere. *Soil Biology & Biochemistry*, 49, 174–183.
- Murray AH, Loson GR, Stewart C (1996). Effect of simple phenolic compounds of heather (*Calluna vulgaris*) on rumen microbial activity *in vitro*. *Journal of Chemical Ecology*, 22, 1493–1504.
- Paterson E, Osler G, Dawson LA, Gebbing T, Sim A, Ord B (2008). Labile and recalcitrant plant fractions are utilised by distinct microbial communities in soil: independent of

- the presence of roots and mycorrhizal fungi. *Soil Biology & Biochemistry*, 40, 1103–1113.
- Riley D, Barber SA (1969). Bicarbonate accumulation and pH changes at the soybean root-soil interface. *Soil Science Society of America Journal*, 33, 905–908.
- Stallins JA (2002). Dune plant species diversity and function in two barrier island biogeomorphic systems. *Plant Ecology*, 165, 183–196.
- Tao B, Zhao W, Han YJ, Gao SJ (2010). Effect of *Iva xanthifolia* root secretion on soil microorganisms amount. *Journal of Northeast Agricultural University*, 41, 15–19. (in Chinese with English abstract) [陶波, 赵微, 韩玉军, 高世杰 (2010). 假苍耳根系分泌物对土壤中微生物的影响. *东北农业大学学报*, 41, 15–19.]
- Wei HQ, Deng JZ, Cao JH, Xie LL, Liang JS, Jiang JB (2009). Study on microbe group of *Stylosanthes guianensis* root and rhizosphere in Mao Village of Guilin. *Pratacultural Science*, 26, 69–73. (in Chinese with English abstract) [韦红群, 邓建珍, 曹建华, 谢磊林, 梁钧淞, 蒋健波 (2009). 柱花草根系与根际微生物类群的研究. *草业科学*, 26, 69–73.]
- Xiong MB, He JP, Song GY (2002). Effect of root exudations on ecological distribution of rhizospheric microorganisms. *Chinese Journal of Soil Science*, 33, 145–148. (in Chinese with English abstract) [熊明彪, 何建平, 宋光煜 (2002). 根分泌物对根际微生物生态分布的影响. *土壤通报*, 33, 145–148.]
- Xu QF, Qian XB (1998). Chemical properties of rhizosphere soil under *Phyllostachys pubescens* forest. *Journal of Zhejiang Forestry College*, 15, 240–243. (in Chinese with English abstract) [徐秋芳, 钱新标 (1998). 毛竹根际土壤的化学性质. *浙江林学院学报*, 15, 240–243.]
- Zhang XL, Yang SJ, Zhang BX (2002). A summary of studies on rhizosphere soil of trees in China. *Journal of Shenyang Agricultural University*, 33, 461–465. (in Chinese with English abstract) [张学利, 杨树军, 张百习 (2002). 我国林木根际土壤研究进展. *沈阳农业大学学报*, 33, 461–465.]
- Zhou GY, Chen XY, Li QR, Lan GH (2001). Ecological distribution of soil microorganisms and activity of soil enzymes in *Oiltea camellia* stands. *Economic Forest Researches*, 19(1), 9–12. (in Chinese with English abstract) [周国英, 陈小艳, 李倩茹, 兰贵洪 (2001). 油茶林土壤微生物生态分布及土壤酶活性的研究. *经济林研究*, 19(1), 9–12.]
- Zhu LX, Zhang JE, Liu WG (2003). Review of studies on interactions between root exudates and rhizospheric microorganisms. *Ecology and Environment*, 12, 102–105. (in Chinese with English abstract) [朱丽霞, 章家恩, 刘文高 (2003). 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述. *生态环境*, 12, 102–105.]
- Zimmerman GM, Goetz H, Mielke PW Jr (1985). Use of an improved statistical method for group comparisons to study effects of prairie fire. *Ecology*, 66, 606–611.

责任编辑: 黄建辉 责任编辑: 王 葳