

周 恒,孙洪娟,缪 莉. 滩涂土壤和种植土壤中细菌多样性的比较[J]. 江苏农业科学,2020,48(2):271-276.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.02.047

滩涂土壤和种植土壤中细菌多样性的比较

周 恒¹, 孙洪娟¹, 缪 莉^{1,2}

(1. 扬州大学环境科学与工程学院, 江苏扬州 225127; 2. 中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室, 广东广州 510301)

摘要:以沿海滩涂土壤和种植土壤中的细菌为研究对象,采用传统分离培养和现代分子生物学技术对滩涂土壤和种植土壤中细菌的种类和丰度进行初步研究和比较。隶属于疣微菌门的 *Subdivision3 genera incertae sedis*, 地杆菌属, 隶属于酸杆菌门的 *Gp2*、*Gp4*、*Gp6*, 芽单胞菌属, *Lacibacterium*, 硝化螺旋菌属, *Poalibacter* 以及丰祐菌属在种植土样本中较为丰富,但在滩涂土样本中却比较匮乏;硫深海菌属, 脱硫单胞菌属, *Loktanella*, 泞杆菌属, 硫代盐单胞菌属在滩涂土样本中较为丰富,但在种植土样本中却很少见。研究表明,滩涂土壤与种植土壤的微生物群落结构差异显著。研究结果为滩涂土壤改良中微生物群落结构变化的监测提供了一定的理论与实践基础。

关键词:滩涂土壤;种植土壤;细菌;微生物群落多样性;PCR;高通量测序

中图分类号: S182 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)02-0271-05

我国海岸线漫长,有辽阔的土壤面积,其中滩涂土壤面积约为 200 万 hm^2 。沿海地区由于气候适宜,有充足的降水,雨热同季,因此沿海滩涂土壤毫无疑问是一块非常宝贵的后备土地资源^[1]。在人口不断增加、耕地日趋减少、淡水资源不足的压力下,如何高效合理地改良利用大面积的盐渍土壤,是我国面临的一个迫在眉睫的问题^[2]。近几年,微生物群落结构以及多样性分析逐渐成为研究的热点,李新等研究了不同盐碱程度的土壤细菌多样性以及其优势种群^[3-4]。刘菲菲的研究表明,对目标环境微生物群落结构和多样性进行研究和分析,可以为优化群落结构、调节群落功能和发现新的重要的微生物功能类群提供可靠的依据^[5]。微生物群落结构和多样性的分析能够较为准确地掌握各个菌群之间的关系,从而指导微生物群落功能的定向调控^[5]。本试验通过研究滩涂土壤和种植土壤中细菌群落的差异,讨论滩涂土壤和种植土壤中的优势菌群,探讨如何把农利用率低的沿海滩涂土壤人工改良为适合种植的土壤,寻找改良滩涂土壤一些关

键菌群,以期为提高滩涂土壤的农业利用率,促进农业经济发展提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究所用的种植土壤采自扬州大学绿色种植试验田,选取农田土层表面以下 5~10 cm 土层新鲜度较高的湿润土壤,不含土壤生物,不含植物根际等杂质,较纯,以避免提取土壤细菌微生物的 DNA 时混有大量土壤生物的 DNA,影响试验结果。土壤 pH 值为 7~8,中性偏碱。研究所用的滩涂土壤为上海市沿海未开垦的位于涂层表面 10 cm 以下的新鲜土壤,选取不同湿润梯度的滩涂土壤,为了便于进行土壤细菌 DNA 的提取,采用较为干实的滩涂土壤,pH 值为 7.0~8.5,中性偏碱。

LB 培养基:酵母粉 5 g,胰蛋白胨 10 g, NaCl 10 g, pH 值为 7.0~7.2,水 1 000 mL。PDA 培养基:马铃薯 200 g(切片水煮 30 min,过滤取汁),葡萄糖 20 g,琼脂 15 g, pH 值为 7.0。高氏一号培养基:可溶性淀粉 20 g,硝酸钾 1 g,磷酸氢二钾 0.5 g,七水硫酸镁 0.5 g,氯化钠 0.5 g,七水硫酸亚铁 0.01 g, pH 值为 7.4~7.6。土壤 DNA 提取试剂盒,购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 土壤微生物分离培养及计数 试验采用传统分离培养技术对种植土壤和滩涂土壤中的微生物分别进行培养、计数,比较其丰度。制作固体培养基,

收稿日期:2018-10-17

基金项目:广东省海洋药物重点实验室开放课题基金;中国科学院热带海洋生物资源与生态重点实验室开放课题基金(编号:2018011008)。

作者简介:周 恒(1995—),男,江苏连云港人,硕士研究生,主要从事海洋微生物生物活性及天然活性物质研究。E-mail: 970069241@qq.com。

通信作者:缪 莉,博士,副教授,主要从事海洋微生物资源和海洋微生物活性及天然活性物质研究。E-mail: miaoli@yzu.edu.cn。

将土壤样品用无菌水稀释至一定的浓度梯度并进行涂布,每个浓度梯度做 5 个平行对照,置于恒温培养箱中培养。3 d 后,对培养细菌的 LB 平板进行计数;5~7 d 后,对培养真菌的 PDA 平板进行计数;10~14 d 后,对培养放线菌的高氏一号平板进行计数。

1.2.2 土壤样品 DNA 的提取及验证 用土壤 DNA 提取试剂盒并按照试剂盒所述的步骤提取土壤样品 DNA。制作 1% 琼脂糖凝胶,取 5 μL 待验证样品 DNA,加入 1 μL 6 × loading buffer,简单混匀后上样,90 V,电泳 1 h;电泳结束后,将凝胶放置于紫外凝胶成像仪下观察是否有 DNA 条带,并使用 Nano Drop 测土壤样品 DNA 的浓度。

1.2.3 PCR 扩增 以土壤样品中细菌的 DNA 为模板和 1 对 V3、V4 正反向通用引物 341F(5′-CCTACGGGNGGCWGC-3′)和 805R(5′-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3′)^[7],利用 DNA 聚合酶对模板 DNA 进行 PCR 扩增。PCR 为 50 μL 反应体系:各 0.2 μmol/L 正反向引物,1.5 U Pfu DNA 聚合酶,4 μL 10 × Pfu DNA 聚合酶缓冲液,10 μmol/L dNTPs,100 ng 样品 DNA,用 ddH₂O 补足至 50 μL。PCR 反应条件:95 ℃,3 min;95 ℃,30 s,55 ℃,30 s,72 ℃,1 min,35 个循环;72 ℃,10 min;12 ℃冷却。PCR 反应结束后,用质量分数为 1% 的琼脂糖凝胶在 90 V,电泳 1 h,进行验证。

1.2.4 高通量测序 提取出的 DNA 样品由生工生物工程(上海)股份有限公司进行高通量测序。高通量测序的主要流程包括样品 DNA 进行 PCR 扩增后的样本准备,然后进行文库构建,以便于能够在目的 DNA 片段两端都连接上想要的接头。接下来进行测序,得到 DNA 片段的碱基序列,最后进行数据分析,与基因库的数据进行对比分析。

2 结果与分析

2.1 分离培养的计数结果

用传统的分离培养技术分别对种植土壤、滩涂土壤中的细菌、真菌、放线菌进行分离培养并进行计数。由表 1 可知,种植土壤和滩涂土壤中都是细菌数量最多,分别为 1.6 × 10⁶、4.3 × 10⁵ CFU/g,放线菌次之,分别为 7.3 × 10⁵、2.4 × 10⁴ CFU/g,真菌数量最少,分别为 1.5 × 10⁴、1.3 × 10² CFU/g。由于滩涂土壤中生存条件较为苛刻,滩涂土壤中细菌、放线菌、真菌数量明显小于种植土壤,尤其是真菌的数量,与种植土壤相比,少 2 个数量级。

表 1 土壤样品细菌、真菌、放线菌计数结果

土壤样品	各菌种含量(CFU/g)		
	细菌	真菌	放线菌
种植土壤	1.6 × 10 ⁶	1.5 × 10 ⁴	7.3 × 10 ⁵
滩涂土壤	4.3 × 10 ⁵	1.3 × 10 ²	2.4 × 10 ⁴

2.2 土壤样品 DNA 提取及检测

对土壤样品分别进行 DNA 提取,琼脂糖凝胶电泳验证,对提取得到的 DNA 质量进行观察,结果(图 1)表明,滩涂土壤、种植土壤 DNA 跑胶样品均只有 1 条明显的亮带,没有其他的杂带,且位置在 5 kb 之上。说明从样品中提取的 DNA 较为完整,并无其他杂质;种植土壤 DNA 跑胶条带明显亮于滩涂土壤条带,说明种植土壤样品中 DNA 浓度远高于滩涂土壤样品,种植土壤中细菌含量明显大于滩涂土样品。

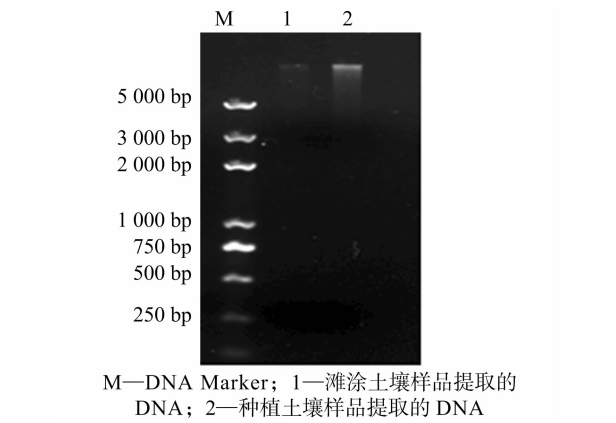


图1 土壤样品的 DNA 提取的琼脂糖凝胶电泳结果

使用 NanoDrop 测定滩涂土壤样品、种植土壤样品中 DNA 浓度,结果显示滩涂土壤样品 DNA 浓度为 4.8 ng/μL,种植土壤样品 DNA 浓度为 8.9 ng/μL。由所测得的数据可知,种植土壤中的细菌含量大于滩涂土壤样品。对提取得到的 DNA 样品的 D_{260 nm}/D_{280 nm}进行测定。结果显示,滩涂土壤样品和种植土壤样品的 D_{260 nm}/D_{280 nm}分别为 1.89、1.93,均在 1.8~2.0 之间,说明提取的滩涂土壤样品、种植土壤样品中的 DNA 都较纯,质量很好。

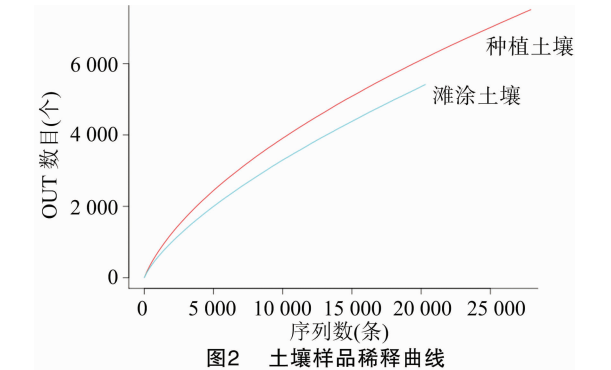
2.3 测序结果分析

2.3.1 测序结果 对 2 个土壤样品进行高通量测序,根据结果对序列进行统计,由表 2 可知,共得到原始序列 50 111 条,经过处理后得到优质序列 48 247 条。在 97% 的相似水平下对序列进行操作单元(OTU)的聚类,统计得到所有样品在不同 OTUs 中的丰度信息,共产生 12 930 个 OTU,其中相似的 OUT 分布数目为 204,约占 1.58%。

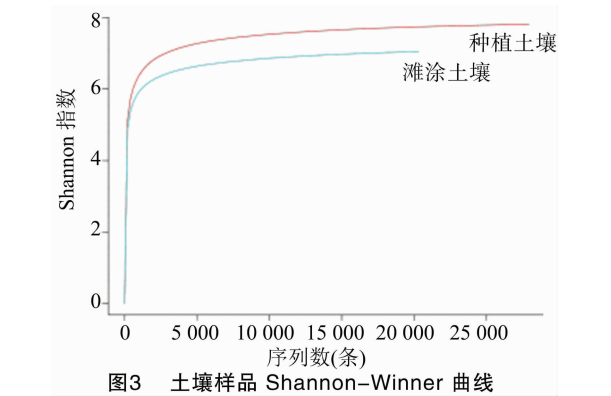
表 2 土壤样品序列数统计结果

样品名称	原始样本序列数 (条)	有效样本序列数 (条)	OTU 数目 (个)	覆盖率	Shannon 指数	Chao1 指数	Simpson 指数
滩涂土壤	21 786	20 316	5 416	0.82	7.05	16 242.33	5.2×10^{-3}
种植土壤	28 325	27 931	7 514	0.83	7.81	19 598.00	1.6×10^{-3}

2.3.2 土壤样品取样深度验证 稀释曲线反映了样品的取样深度,可以用来评价测序量是否足以覆盖所有类群。由图 2 可知,2 个土壤样品的稀释曲线未趋于平缓,说明测序数据量偏小,不足以较为完整地反映土壤样品的细菌群落,继续测序还可能产生较多新的 OTU。



2.3.3 Alpha 多样性分析 Shannon 指数可以用来表示细菌群落的多样性程度,Shannon 指数越大,说明群落多样性越高。由图 3 可以看出,2 个土壤样本的曲线都趋向平坦,说明测序数据量足够大,可以反映土壤样品中绝大多数的细菌物种信息;种植土壤样本的 Shannon 曲线的最高点高于滩涂土壤样本的 Shannon 曲线,说明种植土壤样品中细菌多样性大于滩涂土壤样品,种植土壤中细菌物种较为丰富。



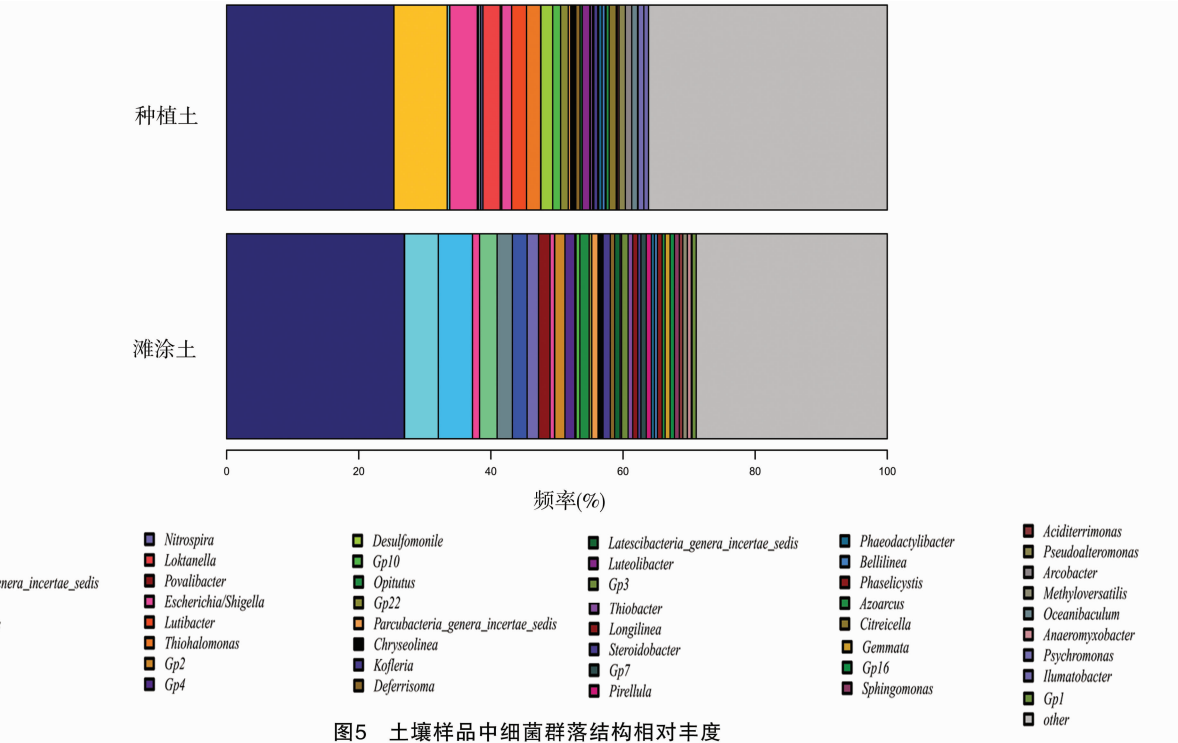
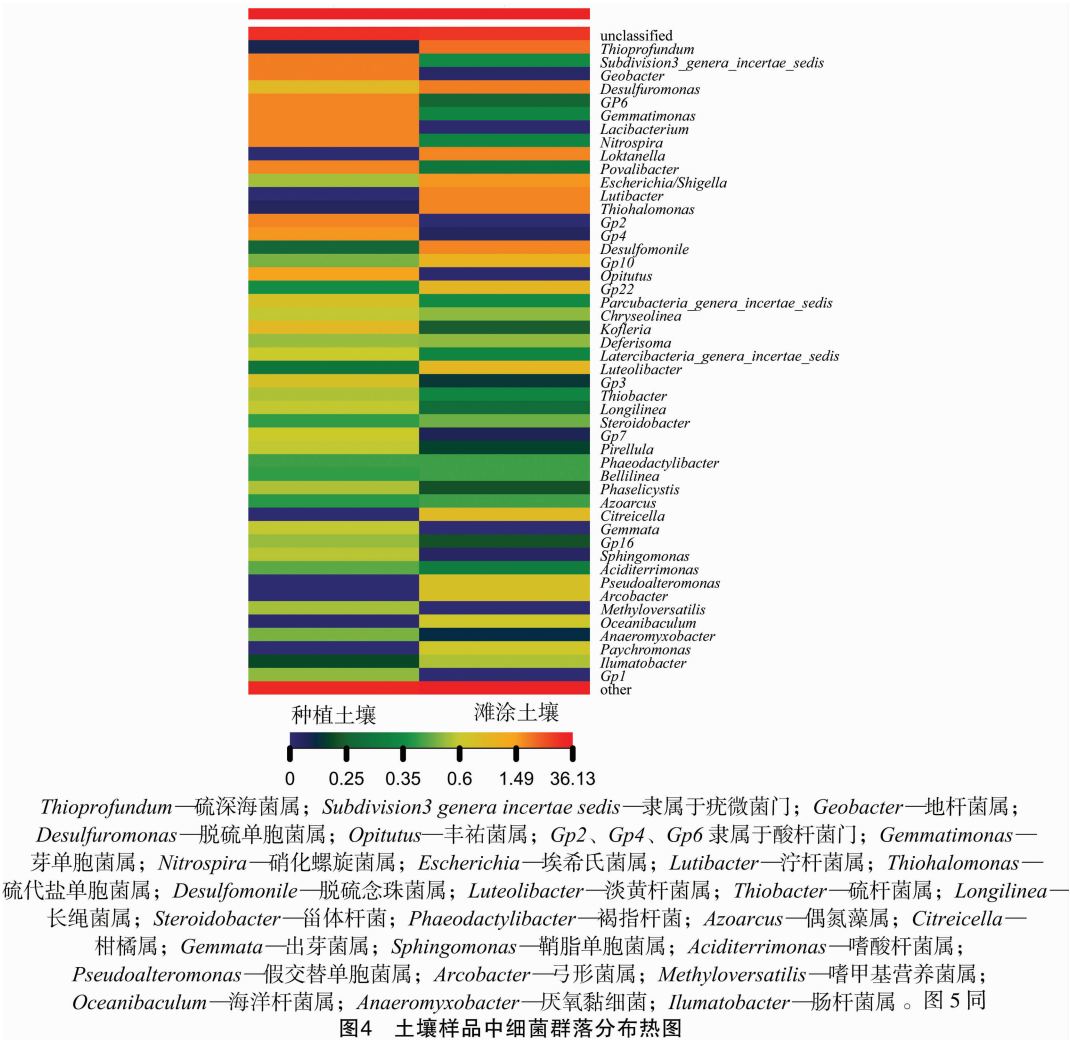
2.3.4 聚类分析 在属的水平上,对土壤样品中的细菌进行聚类,依据聚类后的各土壤样品中不同 OTU 所含序列数目做出热图(图 4),该图能够反映出在菌属水平上各样品细菌群落结构的差异性。

其中,图中 1 列表示 1 个样本,1 行代表 1 个群落结构。颜色块代表相对物种丰度值,颜色越红代表相对丰度越高,颜色越蓝则相对丰度越低。

由图 4 可知,种植土壤样本中主要的菌属有隶属于疣微菌门的 *Subdivision3 genera incertae sedis*,地杆菌属 (*Geobacter*), 脱硫单胞菌属 (*Desulfuromonas*), 隶属于酸杆菌门的 *Gp2*、*Gp4*、*Gp6*,芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*),*Lacibacterium*,硝化螺旋菌属 (*Nitrospira*), *Poalibacter*, 丰祐菌属 (*Opitutus*),埃希氏菌属 (*Escherichia*),还有一些未知分类地位的菌属;滩涂土壤样品中主要的菌属有硫深海菌属 (*Thiopfundum*), 脱硫单胞菌属 (*Desulfuromonas*), *Loktanella*, 埃希氏菌属 (*Escherichia*), 泞杆菌属 (*Lutibacter*), 硫代盐单胞菌属 (*Thiohalomonas*), 隶属于酸杆菌门的 *Gp10*、*Gp22*, 淡黄杆菌属 (*Luteolibacter*), 脱硫念珠菌属 (*Desulfomonile*) 以及一些未知分类地位的菌属。

在种植土壤样品中隶属于疣微菌门的 *Subdivision3 genera incertae sedis*, 地杆菌属 (*Geobacter*), 隶属于酸杆菌门的 *Gp2*、*Gp4*、*Gp6*,芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*),*Lacibacterium*,硝化螺旋菌属 (*Nitrospira*), *Poalibacter*, 丰祐菌属 (*Opitutus*) 较为丰富,但是相对的在滩涂土壤样品中这些菌属却比较匮乏。在滩涂土样品中硫深海菌属 (*Thiopfundum*), 脱硫单胞菌属 (*Desulfuromonas*), *Loktanella*, 泞杆菌属 (*Lutibacter*), 硫代盐单胞菌属 (*Thiohalomonas*) 较为丰富,但是相对的,在种植土壤样品中这些菌属却较为匮乏。

2.3.5 土壤细菌群落组成及丰度 从图 5 中可以看出,种植土壤中的优势菌属为地杆菌属 (*Geobacter*),所占比例为 5.17%,其次是隶属于疣微菌门的 *Subdivision3 genera incertae sedis*,所占比例为 5.10%,其他的优势菌属为隶属于酸杆菌门的 *Gp6*,所占比例为 2.65%;芽单胞菌属 (*Gemmatimonas*) 所占比例为 2.31%;*Lacibacterium* 所占比例为 2.23%;硝化螺旋菌属 (*Nitrospira*) 所占比例为 1.74%;*Poalibacter* 所占比例为 1.72%;隶属于酸杆菌门的 *Gp2*,所占比例为 1.54%;隶属于酸



杆菌门的 *Gp4*, 所占比例为 1.49%; 丰祐菌属 (*Opitutus*) 所占比例为 1.40%。滩涂土壤中的优势菌属为硫深海菌属 (*Thiopfundum*), 所占比例为 8.07%, 其次是脱硫单胞菌属 (*Desulfuromonas*) 所占比例为 4.16%; *Loktanella* 所占比例为 2.62%; 泞杆菌属 (*Lutibacter*) 所占比例为 2.25%; 硫代盐单胞菌属 (*Thiohalomonas*) 所占比例为 2.14%; 脱硫念珠菌属 (*Desulfomonile*) 所占比例为 1.79%; 埃希氏菌属 (*Escherichia*) 所占比例为 1.49%; 隶属于酸杆菌门的 *Gp10*, 所占比例为 1.19%; 隶属于酸杆菌门的 *Gp22* 所占比例为 1.15%; 淡黄杆菌属 (*Luteolibacter*) 所占比例为 1.14%。

3 结论与讨论

通过研究发现, 种植土壤和滩涂土壤中细菌的含量最高, 放线菌次之, 真菌最低; 滩涂土壤中细菌、真菌、放线菌多样性均小于种植土壤。本研究选取的种植土壤样本中细菌的优势菌属为隶属于疣微菌门的 *Subdivision3 genera incertae sedis*, 地杆菌属 (*Geobacter*) 等。这与已报道的宝天曼落叶阔叶林土壤中的细菌优势群落存在较大的差异, 赵爱花等揭示种植土壤中变形菌属为绝对优势菌属^[8]。李鹏等研究发现, 小蓬竹根际土壤芽孢杆菌属占绝对优势^[9]。谭渊等利用 PCR-DGGE 技术对黄连根际土壤细菌多样性分析发现, 优势菌属为嗜酸菌属^[10]。本研究中还检测到芽孢杆菌属、嗜酸菌属, 但不作为优势菌属。这与 Roesch 等采用高通量测序方法研究的结果^[11-12]不一致, 他们发现在一些土壤中, β -变形菌是丰度最高的亚门。不同种植土壤中的微生物种类及丰度差异明显, 这可能与检测方法(传统分离培养、PGR-DGGE 和高通量测序技术)、土壤的种类、营养物质、光照、温度、湿度、pH 值等的不同有关, 也许还与土壤中所种植植物的分泌代谢产物有一定的关系。

本研究所选取的滩涂土壤为上海市沿海未开垦的滩涂土壤。发现本滩涂土壤样品中的优势菌属为硫深海菌属 (*Thiopfundum*)、脱硫单胞菌属 (*Desulfuromonas*) 等。隋心等在利用高通量测序对三江平原小叶章湿地土壤细菌多样性的研究中发现, 湿地的主要优势菌群为酸杆菌、变形菌, 还包括一些浮霉菌、绿弯菌和硝化螺旋菌, 还有一些少量的疣微菌和芽单胞菌属^[13]。本研究所分析得到的结果与之有一些相似性也有一些差异性。硝化螺

旋菌、疣微菌和芽单胞菌在本次研究所选取的滩涂土壤中也检测到, 同样数量也比较少。但是优势菌属却有较大差异性。三江平原小叶章湿地的优势菌群含有酸杆菌而本研究结果中却没有, 这可能与滩涂土壤的 pH 值有关; 造成滩涂土壤中微生物差异性的原因也可能包括滩涂土壤的含水量、含氧量^[14]等。

本研究采用 Illumina MiSeq 高通量测序平台对种植土壤、滩涂土壤细菌群落多样性进行研究, 初步获得其在门、纲、目、科、属等不同分类水平上的优势类群和相对丰度。研究表明, 细菌群落在属水平上尚未明确分类信息的类群所占比例较大, 使得物种注释时的分辨率降低, 基本上只能将细菌注释到属的分类水平。可能是本研究只选用了 16S rDNA 的 V3~V4 可变区进行高通量测序, 如果想要注释到种水平, 可尝试多选用几个可变区。高通量测序一般可以保证每个样品测定几万个序列数, 提高了测序深度和覆盖度, 但测序片段较短, 约为 435 bp, 在一定程度上降低了物种注释的分辨率^[15]。

参考文献:

- [1] 张振华. 沿海滩涂土地资源开发利用研究进展[J]. 垦殖与稻作, 2000(4): 37-38.
- [2] 丁宁宁, 王保松, 梁珍海, 等. 江苏大丰麋鹿保护区不同改良措施对滩涂土壤的改良效应研究[J]. 土壤, 2011, 43(3): 487-492.
- [3] 李新, 焦燕, 代钢, 等. 内蒙古河套灌区不同盐碱程度的土壤细菌群落多样性[J]. 中国环境科学, 2016, 36(1): 249-260.
- [4] 牛世全, 景彩虹, 廖世齐, 等. 河西走廊盐碱土细菌种群结构多样性的研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2013, 49(2): 90-95.
- [5] 刘菲菲. 湛江红树林滩涂海洋细菌多样性的研究[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2012.
- [6] 车玉伶, 王慧, 胡洪营, 等. 微生物群落结构和多样性解析技术研究进展[J]. 生态环境, 2005, 14(1): 127-133.
- [7] Marcel M P, Enrique V C, Francisco V A. Significant loss of sensitivity and specificity in the taxonomic classification occurs when short 16S rRNA gene sequences are used[J]. Heliyon, 2016, 2(9): e00170.
- [8] 赵爱花, 杜晓军, 臧婧, 等. 宝天曼落叶阔叶林土壤细菌多样性[J]. 生物多样性, 2015, 23(5): 649-657.
- [9] 李鹏, 刘济明, 文爱华, 等. 小蓬竹根际土壤可培养细菌多样性[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(7): 223-227.
- [10] 谭渊, 陈强, 刘汉军, 等. 不同种植年限黄连根系土壤细菌 PCR-DGGE 分析[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(16): 3147-3151.
- [11] Roesch L W, Fulthorpe R R, Riva A, et al. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity[J]. The ISME Journal, 2007, 1(4): 283-290.

胡春丽,林 蓉,焦 敏,等. 辽宁省初霜特征及其预报模型研究[J]. 江苏农业科学,2020,48(2):276–281.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2020.02.048

辽宁省初霜特征及其预报模型研究

胡春丽¹,林 蓉²,焦 敏²,李 菲¹

(1. 沈阳区域气候中心,辽宁沈阳 110016; 2. 辽宁省气象科学研究所,辽宁沈阳 110016)

摘要:选用 1961—2015 年 9—10 月辽宁省 53 个气象站 0 cm 逐日最低地温资料、国家气候中心 74 项环流特征量指数、NCEP/NCAR 再分析资料,分析辽宁省初霜日期时间变化特征,利用相关系数选取影响初霜日期的主要因子,应用多元回归方法建立初霜日期与前期环流因子的预报模型。结果表明,辽宁省初霜日期呈推迟趋势,未发生气象意义的气候突变;初霜日期预报模型通过了 $\alpha=0.05$ 的显著性水平检验,具有统计学意义,用该模型预测 2014 年、2015 年的初霜日期,均接近实际值。

关键词:初霜日期;气候特征;变化趋势;预报模型;辽宁省

中图分类号:S425 **文献标志码:**A **文章编号:**1002–1302(2020)02–0276–06

全球气候变暖导致农作物热胁迫增加,进而影响作物产量。初、终霜日作为衡量温度变化的重要指标成为气候变化下农业适应性研究关注的重点之一,分析其时空变化特征有利于减少极端低温事件对农业生产带来的危害,提前做好预测可以因地制宜地选择作物品种、调整种植制度等。目前,已有较多研究在初、终霜日出现早晚和无霜期长短等方面取得重要进展^[1–9]。辽宁省位于我国东北地区南部,介于 $118^{\circ}53' \sim 125^{\circ}46'E$, $38^{\circ}43' \sim 43^{\circ}26'N$ 之间,全省耕地面积为 3 411.2 万 hm^2 , 占全省土地总面积的 23.4%,属于温带季风型大陆气候,种植业基本上是一年一熟,主要粮食作物为水

稻、玉米、大豆、高粱、小麦。初霜日期受气候变化的影响,呈显著推迟趋势,人们对初霜的关注度降低,但随着气候异常现象的增加,东北低温冷害出现新的特点和规律,因此研究和预测新形式下的初霜日期气候变化规律对农业生产决策、气象防灾减灾具有重要意义。有研究利用辽宁省逐日气温、大气环流特征量资料,采用统计学方法,选取相关显著的早期环流特征量作为预测因子,建立基于大气环流特征量的初霜日期量化年景预报模型,进行初霜日期的长期预报,以期开展气象为农业生产服务和防灾减灾提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 试验资料

利用沈阳区域气候中心提供的 1961—2015 年辽宁省 53 个气象站秋季(9—11 月)地面 0 cm 日最低地温资料,选取台站参照文献[10];国家气候中心提供的 1951—2015 年 74 项逐月环流指数资料;美国国家环境预报中心(National Centers for Environmental Prediction,简称 NCEP)和美国国家大气科学研究中心(National Center for Atmospheric Research,简称 NCAR)提供的 1951—2015 年月平均 500 hPa 位势高度再分析资料,水平分辨率为

收稿日期:2018–10–19

基金项目:国家自然科学基金(编号:41605087);辽宁省农业领域青年科技创新人才培养计划(编号:2015030);中国气象局 2017 年省级气象科研所科技创新发展项目(编号:201708);辽宁省气象局项目(编号:201604);山洪地质灾害防治气象保障工程 2018 年建设项目和中国气象局沈阳大气环境研究所开放基金课题(编号:2017SYIAE05)。

作者简介:胡春丽(1981—),女,吉林德惠人,硕士,高级工程师,主要从事气候变化、农业气象等研究。E-mail: huchunli0829@163.com。

通信作者:林 蓉,高级工程师,主要从事气候变化、农业、气象等研究。E-mail: heavengirl@sina.com。

[12] Zhang T, Shao M F, Ye L. 454 Pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants[J]. ISME Journal, 2012, 6(6): 1137–1147.

[13] 隋 心,张荣涛,钟海秀,等. 利用高通量测序对三江平原小叶章湿地土壤细菌多样性的研究[J]. 土壤, 2015, 47(5): 919–925.

[14] Sheik C S, Mitchell T W, Rizvi F Z, et al. Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure[J]. PLoS One, 2012, 7(6): e40059.

[15] 张 剑,侯晓强,付亚娟. 基于高通量测序分析大花杓兰根际土壤细菌多样性[J]. 西南农业学报, 2017, 30(4): 811–816.