



基于高通量测序技术的盐地碱蓬根际 细菌群落多样性分析

沈琦¹, 郝雅芳^{1,2}, 徐潇航³, 徐煜东¹, 杨佳瑶¹, 褚婉莹¹, 王升厚², 赵洪新¹

(1. 浙江理工大学生命科学与医药学院, 杭州 310018; 2. 沈阳师范大学生命科学学院, 沈阳 110034;
3. 东南大学材料科学与工程学院, 南京 211189)

摘要: 碱蓬(*Suaeda glauca* Bunge)是盐碱性土壤的先锋植物,了解碱蓬根际的微生物,对理解碱蓬适应碱性土壤的生活习性,进一步开发盐地碱蓬具有一定意义。利用 Miseq 测序平台对采自辽宁红海滩的 4 个碱蓬样品进行细菌 DNA V3+V4 序列测定,并分析该植株根际土壤的细菌群落结构及多样性。结果显示,在这 4 个样品中共检测到 143041 条有效序列,1346 个 OTU,涉及 27 个门类、60 个纲类、104 个目类、193 个科类、355 个属类和 408 个种类;基于 OTU 数量进行样品间和样品内的多样性分析的结果显示:陆地的盐地碱蓬的根际土壤与水洼附近盐地碱蓬的根际土壤的细菌组成相似,其中陆地样品细菌群落多样性最高;门水平中占比最多的三个门类分别为变形菌门(Proteobacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes);属水平上,20 个优势菌属中变形菌门的细菌属占比接近 50%。该结果对了解盐地碱蓬根系微生物组成,探寻碱蓬的生长特性提供了线索,也为寻找和筛选资源微生物提供研究思路。

关键词: 盐地碱蓬(*Suaeda glauca* Bunge);高通量测序;群落结构;多样性

中图分类号: S154.3

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2020)05-0671-07

Analysis of rhizosphere bacterial diversity in *Suaeda glauca* Bunge based on high-throughput sequencing

SHEN Qi¹, HAO Yaqiao^{1,2}, XU Xiaohang³, XU Yudong¹, YANG Jiayao¹,
CHU Wanying¹, WANG Shenghou², ZHAO Hongxin¹

(1. College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China;
2. College of Life Science Shenyang Normal University, Shenyang 110034, China;
3. College of Materials Science and Engineering, Southeast University, Nanjing 211189, China)

Abstract: *Suaeda glauca* Bunge is a pioneer plant in saline-alkali soil. Understanding the rhizosphere microorganisms of *S. glauca* Bunge is of great significance for understanding the living habits of *S. glauca* Bunge adapting to alkaline soil and further developing *Suaeda glauca* Bunge in saline land. In this study, four samples of *S. glauca* Bunge from Red Beach, Liaoning were used to determine DNA V3+V4 sequence of the bacteria by Miseq sequencing platform, and the bacterial community structure and diversity of the rhizosphere soil of the plant were analyzed. The results show that a total of 143041 effective sequences, 1346 OTUs, 27 phyla, 60 classes, 104 orders, 193 families, 355 genera, and 408 species were detected in the four samples. The results of inter-sample and intra-sample diversity analysis based on OUT quantity show that, rhizosphere soil of *Suaeda glauca* Bunge in terrestrial saline land had

收稿日期: 2020-04-03 网络出版日期: 2020-06-03

基金项目: 浙江省科技厅公益技术应用研究计划(2017C32050)

作者简介: 沈琦(1994-),女,浙江杭州人,硕士研究生,主要从事微生物学方面的研究。

通信作者: 赵洪新, E-mail: hxzhao2014@zstu.edu.cn

similar bacterium composition with that near the puddles of water, and the diversity of bacterial community in terrestrial samples was highest. Among them, Proteobacteria, Cyanobacteria, and Bacteroidetes were the first three dominant phyla. In terms of genus level, among 20 dominant bacteria genera, the proportion of bacteria genera of Proteobacteria accounted for nearly 50%. These results provide clues to understand the rhizosphere microorganism composition of *S. glauca* Bunge, explore the growth characteristics of *S. glauca* Bunge and help to find and screen resource microorganisms.

Key words: *Suaeda glauca* Bunge; high-throughput sequencing; community structure; diversity

0 引言

盐地碱蓬(*Suaeda glauca* Bunge)是藜科(Chenopodiaceae)碱蓬属(*Suaeda*)一年生草本植物,喜盐碱性土壤;盐地碱蓬四月破土而出,至九月由红色渐转变为紫红色,在海滩及湖边碱性土壤地区常形成单种主导种群^[1-2]。碱蓬植株含有蛋白质、膳食纤维、多糖、色素和黄酮类等化合物,种子含有丰富共轭亚油酸,具有较高的食用价值和药用价值^[3-4]。碱蓬具有很强的耐盐性,通常作为盐碱地指示植物,是改良盐碱土壤的优选植物品种^[5-6]。种植碱蓬能有效降低土壤表层含盐量,增加土壤有机质含量,提高土壤中氮磷钾的含量,对盐渍土具有显著的改良作用,具有良好的经济效益、生态效益和社会效益^[7-10]。目前有关碱蓬(*S. glauca* Bunge)的研究多集中在植物种植资源和对根际土壤改良作用等方面,而对与其生长密切相关的根际微生态的微生物种群结构分析较少^[11-14]。

近年来,关于某一环境中微生物菌群结构的研究方法主要集中在分子生物学上^[15]。在分子生物技术众多方法中,高通量测序(High-throughput sequencing)技术,又被称为“下一代”测序(Next generation sequencing, NGS)技术,可大范围精准读取样品菌群结构及功能、样品间菌群差异,可以快速分析样品微生物多样性,是研究不同样本中微生物菌落结构的首选方法,已被广泛应用于病原微生物、食品发酵微生物和环境微生物等领域^[16-18]。唐贤华^[19]采用高通量测序技术初步分析了浓香型白酒不同窖池中窖泥的细菌群落组成,在9个样品中共检测到39个属,通过主成分分析发现相同生产环境的窖泥微生物群落组成基本一致;叶文雨等^[20]对两种菌草根际土壤进行高通量测序分析,检测出包含葡萄球菌属(*Staphylococcus*)在内8个优势菌属,细菌群落多样性大小依次为:绿洲一号根际土壤、菌草根际土土壤和非根际土土壤;谢丹等^[21]利用高通量测序技术对刺梨果渣发酵过程中的细菌群落结构

变化进行分析,发现在不同发酵时期中变形菌门均为优势菌门,且发酵过程中微生物群落结构变化稳定。

本文采用高通量测序技术对碱蓬根际土壤微生态环境的宏基因组进行测序分析,确定盐地碱蓬根际土壤细菌多样性组成,以期对理解碱蓬适应碱性土壤生长特性,及微生物与碱蓬的依存关系提供了线索,也为进一步筛选具有对环境的营养固定、吸收、促进植物生长、拮抗功能的资源微生物提供研究思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

样品地理位置情况:盘锦红海滩(北纬 $40^{\circ}39'$ ~ $41^{\circ}27'$,东经 $121^{\circ}25'$ ~ $122^{\circ}31'$),位于渤海湾东北部辽河三角洲湿地,总面积约20万亩,该地区为温带大陆性季风性气候,年度平均气温低于 10°C ,盐碱性较大。此地是丹顶鹤、黑嘴鸥等珍贵鸟类的主要繁殖区,且栖息着大量其他常见品种鸟类。

样品:样品A、B、C、D是红滩上4株不同盐地碱蓬的根际土壤。样品A取样点为陆地,样品B为水洼附近,样品C为流动水道边缘,样品D为近海附近。

试剂:EZNA土壤DNA试剂盒(美国Madison公司),SanPrep柱式DNA胶回收试剂盒(上海生物工程公司),快速高保真DNA聚合酶(南京诺唯赞生物科技公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 样品收集与处理

2019年9月中旬,在红海滩4个地点(每个点相距约为1 km)各选取一株盐地碱蓬,该4株植株的生长情况相同(颜色皆为紫红色,长度约为0.8 m)。利用无菌手术刀、铲子截取含土壤的盐地碱蓬根部,装入无菌可密封塑料袋中,置于冰盒中,快速运输至实验室后在 -20°C 条件下冷冻保藏待用。

1.2.2 总 DNA 提取

按 EZNA 土壤 DNA 试剂盒说明书,从 4 个根际土壤样品中提取微生物组总 DNA,通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测提取 DNA 的情况,并利用 NanoDrop 超微量分光光度计 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 测量 DNA 浓度和质量, -20°C 条件下保藏待用。

1.2.3 高通量测序

以样品土壤总 DNA 为模板,用细菌 16S rDNA V3+V4 区域通用引物 338F (ACTCCTACGGGAG GCAGCAG)、806R (GGACTACHVGGGTWTCTA AT) 进行目的片段扩增。PCR 反应体系组成: Pusion Hot start flex $2\times$ Master Mix $12.5\ \mu\text{L}$, 引物 338F 和 806R 各 $2.5\ \mu\text{L}$, DNA 模板 $50\ \text{ng}$, ddH₂O 补齐至 $25\ \mu\text{L}$ 。PCR 反应参数: 98°C 预变性 $30\ \text{s}$; 35 个循环 (98°C 变性 $10\ \text{s}$; 54°C 退火 $30\ \text{s}$; 72°C 延伸 $45\ \text{s}$); 72°C 延伸 $10\ \text{min}$ 。产物通过 2% 琼脂糖凝胶电泳检测,并利用 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒对目的片段回收纯化以获得消除引物二聚体的目的产物,纯化后的产物委托杭州联川生物技术股份有限公司进行高通量建库与微生物多样性分析。

1.2.4 对测序结果进行生物信息分析

对测序获得的图像文件,经 base calling 方法处理后的 FASTQ 格式结果文件称为原始数据 (Raw data); 利用 FLASH (Fast length adjustment of

short reads, v1.2.8)、Vsearch (v2.3.4) 软件对其进行拼接、过滤后得到有效数据 (Valid data), 并以此为基础进行后续的生物信息分析。采用 Vsearch 算法将类似性序列 (相似性大于 97%) 归为一个 OTU (Operational taxonomic units), R 软件计算各样本有共 OTU 数量,并利用简洁的统计方式 Venn 图直观呈现各样品共有、特有 OTU 个数与占比; 通过 Observed species、Chao1、Simpson 和 Shannon 的 4 个指数结合等级丰度图进行 Alpha 分析了解样品中微生物的多样性; 进行 Beta 多样性分析 (使用 R 软件进行主成分分析), 以了解不同样品间群落的物种差异性; 对各样品 OTU 进行物种分类统计可得到不同水平 (门、属) 物种丰度柱状图,使用 Krona 软件对各个样品在不同水平的注释结果进行动态可视化展示,可在样品中快速定位到目的物种及其含量。

2 结果与讨论

2.1 OTU 聚类分析

测序数据预处理后统计如表 1 所示。由表 1 可知,在所有样品中,原始数据与预处理后所得有效数据相同,因此有效率为 1; 有效数据中质量大于 Q30 的数据占比皆高于 90%, GC 含量在 53.56% ~ 56.14% 之间。合并来自同一环境的所有样品序列,并将相同物种 (序列相似性大于 97%) 归为一个 OTU,一个 OTU 对应于一个物种^[19]。

表 1 样品有效数据统计

样品	原始数据	原始序列个数 $\times 10^6$ / 个	预处理数据	预处理序列个数 / M	有效率 / %	Q20 / %	Q30 / %	GC / %
A	27944	10.12	27944	10.12	100.00	98.92	94.13	55.04
B	34117	12.33	34117	12.33	100.00	98.90	94.01	55.93
C	49954	18.11	49954	18.11	100.00	98.95	94.30	56.14
D	31026	12.78	31026	12.78	100.00	99.54	97.13	53.56

4 个样品共检测到 1346 个 OTU, 结果如图 1 所示。由图 1 可知, 其中 339 个 OTU 为 4 个样品共有, A、B、C、D 每个样品特有的 OTU 个数分别为 5、22、50、143, 依次占各自样品中总 OTU 的 0.50%、2.24%、6.11%、18.79%。

2.2 4 个样品细菌群落多样性

2.2.1 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性指一个生态系统或特定环境中的多样性, 主要用于反映物种丰度、均匀度、测试深度^[20]。表 2 为 4 个样品的细菌群落多样性指数, 由表 2 可知: 样品 A、B 的观察到的物种数、物种丰度指数相近且远高于样品 C、D, 其中样品 A 略高于样

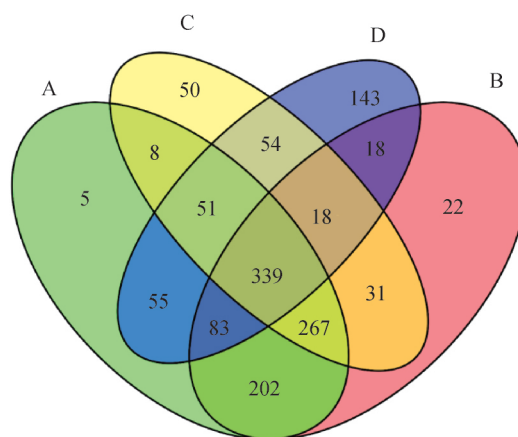


图 1 4 株盐地碱蓬根际土壤细菌 OTUs venn 图

品 B;样品 B 的香浓指数和辛普森指数略高于 A,大于样品 D,远高于 C。以上结果表明样品 A、B 的细菌群落多样性高于样品 D,而样品 C 的多样性最低。

表 2 样品细菌群落 Alpha 多样性指数

样品	观察到的物种数	香浓指数	辛普森指数	物种丰度指数
A	1010.00	8.63	0.99	1052.08
B	970.00	8.87	1.00	1025.62
C	730.00	4.73	0.76	819.90
D	756.00	8.22	0.99	861.47

注:观察到的物种数、物种丰度指数、香浓指数、辛普森指数 4 种常用的 alpha 多样性指数,观察到的物种数和物种丰度指数用于描述物种的数目,香浓指数和辛普森指数用于描述物种的多样性(包括物种的数目和物种的丰度)。

由于样品 A、B 的多样性无法通过表 2 比较,本文制作等级丰度曲线反映样品的物种丰度及均匀度,结果如图 2 所示。图 2 表明,样品 A 曲线在横轴的范围最大,说明物种的被排序的 OTU 数量最多,物种丰度最高;图中样品 A、B 曲线较为平缓,样品 C 最为陡峭,表明样品 A、B 物种组成较均匀,样品 C 的 OTU 丰度间差异大。借助等级丰度曲线图,集合 Alpha 多样性指数,确定在 4 个样本中样品 A 群落多样性最高。

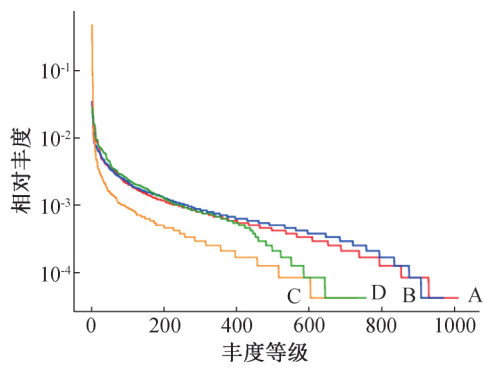


图 2 4 株盐地碱蓬根际土壤样品等级丰度曲线

2.2.2 Beta 多样性分析

为了确定 4 个样品之间细菌群落结构的差异,基于 OTU 丰度表对 vegan 包进行主成分分析(Principal component analysis, PCA)的结果如图 3 所示。由图 3 可知,样品 A、D 的 PC1(一种主成分,对样品中菌群结构的影响为总影响的 98.74%)大致相同,样品 B 的 PC1 大小与样品 A、D 相近,样品 C 远高于其他三者,除样品 C 外,其他三个样品数据大部分的方差相近;样品 A、B 的 PC2(一种主成分,对样品中菌群结构的影响为总影响的 1.05%)数值大致相同,样品 C 的 PC2 约为 0.0,样品 D 大于 0.5;两种主要成分相结合后,样品 A、B 在图中的直线十分接近,基于 PC1 影响(98.74%)

远高于 PC2(1.05%),表明样品 A、B 的细菌组成非常相似,C 与 A、B 相似度稍差,D 与其他三者差异明显。4 个样品仅 A、B 相似度高,而 C、D 与 A、B 存在较大差异,其原因可能是辽河三角洲湿地盘锦红海滩的存在许多水道、积水洼地且栖息着大量鸟类,使得自然条件如土壤 pH 值、湿度、有机物含量和重要无机盐含量等因素存在差异,造成不同取样点的碱蓬根系菌组成不同。

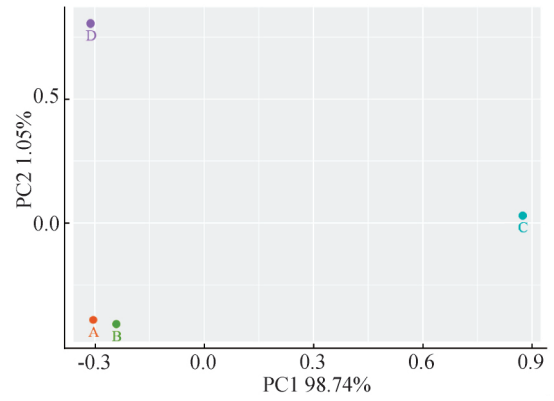


图 3 4 个样品 PCA 分析图

2.3 盐地碱蓬根际土壤微生物群落结构分析

2.3.1 门水平细菌群落结构分析

4 个根际土壤样品共检测出 27 个门类细菌,图 4 为门水平前 20 优势细菌及其相对丰度。由图 4 可知,在 4 个样品中变形菌门(Proteobacteria)为最主要的优势菌门,占比 25.79% ~ 49.65%。此外,蓝细菌门(Cyanobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、糖化细菌门(Candidatus)、厚壁菌门(Firmicutes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)都是主要类群。

变形菌门作为细菌中最大的一门包含许多有利于增加土壤氮含量从而促进植物氮吸收的固氮菌,部分植物内生菌可直接提高植物氮吸收^[22];宋红丽等^[23]在研究黄河三角洲滨岸潮滩湿地碱蓬对氮输入的适应性时发现,在一定范围内氮素含量越高越利于碱蓬的生长,说明变形菌门中的固氮菌对碱蓬的生长具有促进作用。除变形菌门外,拟杆菌门在 4 个样品中平均含量为 17.16%(图 4),拟杆菌门的大多数细菌属于动物肠道寄生菌,且部分为病原菌,其原因可能由于取样地盘锦红海滩是丹顶鹤和黑嘴鸥等二百多种(数十万只)鸟类的繁殖区、栖息地,寄生于鸟类肠道中的拟杆菌门类菌随鸟类粪便排泄出体外,从而造成此门类细菌在样品中被大量检出。蓝细菌门中部分菌类具有叶绿素可进行光合作用释

放氧气,有固氮功能^[22],在样品 C 中占比 57.52%,为样品 C 中占比最高的门类,且远高于该门类在其他三个样品中的占比(图 4),由于蓝细菌常分布于水体中,说明样品 C 所处位置更靠近水域。其他门类在样品 C 中的占比往往低于在样品 A、B、D 中的比例,具有细胞壁结构且大多数可产生内生孢子以适应极端环境的厚壁菌门在样品 C 中占比仅为 0.30% 低于其他

样品的 0.73% ~ 3.71%(图 4)。A、B 样品间仅拟杆菌门占比差超过 7.00%(占比分别为 22.70%、15.75%),其他各类群及占比都较为相近,消化螺旋菌门(Nitrospirae)在两个样品中占比分别为 0.17% 与 0.18%;衣原体门(Chlamydiae)、Ignavibacteriae 在 A、B 中占比皆为 0.00%(图 4),表明两个样品门水平细菌群落结构组分及丰度重复性较好。

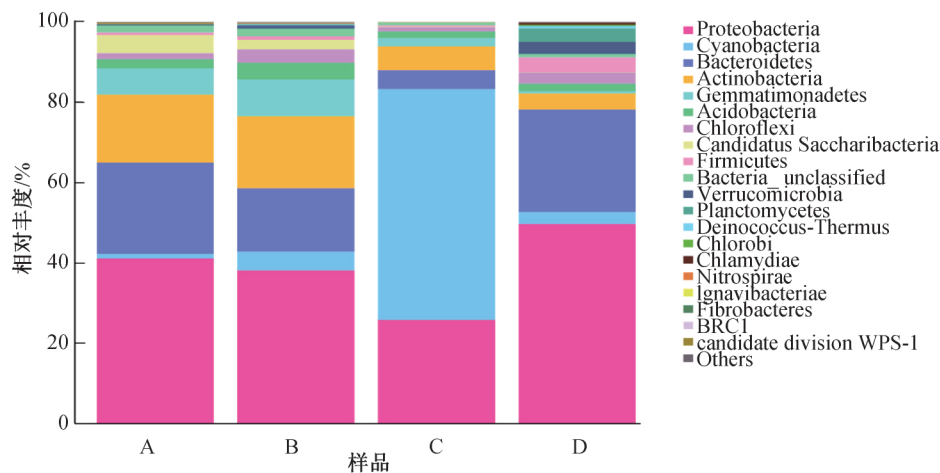


图 4 门水平 TOP20 优势细菌相对丰度

2.3.2 属水平细菌群落结构分析

基于 4 个样品门水平菌群落结构分析结果,对盐地碱蓬根部土壤样品的细菌属水平进行分析,共获得 355 个属,图 5 所示为前 20 个优势菌属名称及相对丰度,包括 8 类未确定属,以及 *Streptophyta*、晒田盐菌属(*Salinicola*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、杆状杆菌属(*Pontibacter*)等。

晒田盐菌属在样品 A、B 中占比皆小于 1%,在样品 D 中占比 1.14%,样品 C 中占比 6.70%(图 5),晒田盐菌属中细菌对重金属有一定耐受能力,在盐浓度较大的环境中生存,可生成生物表面活性剂可增加有机养分在水中的溶解度,提高宿主植物对极端环境的适应性的同时减少化学肥料的使用,且该菌属的部分菌种为植物内生菌与盐地碱蓬存在共生关系^[24]。鞘氨醇单胞菌属在样品 A、B、C、D 中占比分别为 3.24%、4.79%、1.26%、0.39%(图 5),该属中细菌的细胞膜中含有鞘糖脂,为好氧菌属,其多种细菌能很好地降解环境中的芳香烃化合物、除草剂及杀虫剂等多种有机污染物,在生物环境修复领域有重要价值^[25]。赤细菌属在样品 A、D 中占比相近约为 2.40%,在 C、D 中约为 0.95%(图 5),赤细菌属中细菌菌落为橙红色,含有细菌叶绿素但不具有光合自养的能力,常被发源于水体环境中,赤细菌属来自于鞘脂单胞菌目(*Sphingomonadales*),因

此与鞘氨醇单胞菌属相似,对烃类、芳香族化合物及卤化物等大量有机污染物具有良好的降解能力,在有机物环境污染修复方面具有应用价值^[26]。

蓝细菌门的 *Streptophyta* 在样品 C 中占比 55.77%,在样品 A、B、D 中仅占比个位数(图 5),与图 4 所示蓝细菌门在样品 C 中占比远大于 A、B、D 相一致。杆状杆菌属在 4 个样品的 D 中占比最小,仅为 0.13%,在样品 A、B、C 分别占比 4.38%、2.90%、1.49%,该菌属归于拟杆菌门(图 5)。放线菌未分类(*Actinobacteria unclassified*)与红杆菌科未分类(*Rhodobacteraceae unclassified*)在 4 个样本中占比皆大于 1%,但不相同。综上所述,每个属类在不同样品中占比不同,该现象同时出现在其他水平上,除取样点不同造成的土壤 pH 值、氮磷钾含量存在差异外,碱蓬根系分泌物差异与动物活动轨迹不定也是主要原因。

利用 Krona 软件,对多样性最高的样品 A 在门至属类水平进行分析,已知变形菌门在该样品 A 门类水平占主要地位,在该样品前 20 个优势属类中,有晒田盐菌属(*Salinicola*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、赤细菌属(*Erythrobacter*)、盐单胞菌属(*Halomonas*)、赤杆菌属(*Altererythrobacter*)等 10 个属来自变形菌门(*Proteobacteria*),表明该门类的细菌对土壤微生态环境、盐地碱蓬生长具有重要的影响。

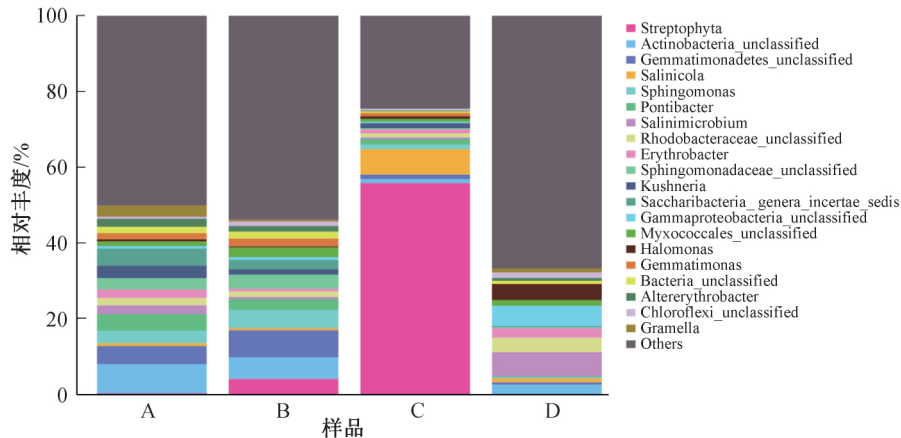


图5 属水平 TOP20 优势细菌相对丰度

3 结 论

本文对来自渤海湾、辽河三角洲湿地和红海滩盐地碱蓬根际土壤微生物生态环境的宏基因组进行测序,并分析了盐地碱蓬根际细菌群落多样性,主要结论如下:

a) 4 个样品检测到 143041 条有效序列,共 1346 个 OTU,其中 339 个 OTU 为 4 个样品共有,A、B、C、D 每个样品特有的 OTU 个数分别为 5、22、50、143;

b) Alpha、Beta 多样性分析可知 4 个样品中,样品 A、B 菌落组成相近,样品 A 群落多样性最高;

c) 4 个样品的微生物群落构成包括 27 个门类、60 个纲类、104 个目类、193 个科类、355 个属类和 408 个种类,不同样品细菌群落组成不同。

参考文献:

- [1] 步营, 栾宏伟, 沈艳奇, 等. 真空包装即食酸甜碱蓬菜的研制[J]. 保鲜与加工, 2020, 20(1): 170-174.
- [2] 候婧, 赵瑞华, 合展, 等. 两种生境中盐地碱蓬二型性种子比例和萌发对策的差异[J]. 种子, 2020, 2(39): 99-106.
- [3] 孙佳佳, 王瑞华, 戴华磊, 等. 盐地碱蓬现状研究进展[J]. 山东化工, 2018 (5): 71-72.
- [4] 张衍亮, 杨红军, 夏江宝, 等. 滨海湿地盐地碱蓬对铯污染的响应及富集规律[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(3): 627-632.
- [5] 牛瞻光, 张淑静, 马一茗, 等. 碱蓬内生真菌 GMF19 次级代谢产物的研究[J]. 天然产物研究与开发, 2019, 31(3): 2082-2086.
- [6] 张立宾, 徐化凌, 赵庚星. 碱蓬的耐盐能力及其对滨海盐渍土的改良效果[J]. 土壤, 2007, 39(2): 310-313.
- [7] 谢远国, 王雅楠, 刘畅, 王宏飞. 盐生植物碱蓬二型果实表生细菌的群落组成及促生属性[J]. 微生物学通报, 2018, 45(7): 1426-1437.

- [8] 康贻军, 胡健, 董必慧. 滩涂盐碱土壤微生物生态特征的研究[J]. 农业环境科学学报, 2007, 26(S1): 181-183.
- [9] 林学政, 陈靠山, 何培青, 等. 种植盐地碱蓬改良滨海盐渍土对土壤微生物区系的影[J]. 生态学报, 2006, 26(3): 801-807.
- [10] 赵可夫, 范海, 江行玉, 等. 盐生植物在盐渍土壤改良中的作用[J]. 应用环境与生物报, 2002, 8(1): 31-35.
- [11] 孙佳杰, 尹建道, 解玉红, 等. 天津滨海盐碱土壤微生物生态特性研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2010, 34(3): 57-61.
- [12] Nagai K, Suzuki K, Okada G. Studies on the distribution of alkalophilic and alkali-tolerant soil fungi II: Fungal flora in two limestone caves in Japan[J]. Mycoscience, 1998, 39(3): 293-298.
- [13] Vargas V A, Delgado O D, Hatti-Kaul R, et al. Lipase-producing microorganisms from a Kenyan alkaline soda lake[J]. Biotechnology Letters, 2004, 26(2): 81-86.
- [14] Matsuda Y, Sugiyama F, Nakanishi K, et al. Effects of sodium chloride on growth of ectomycorrhizal fungal isolates in culture[J]. Mycoscience, 2006, 47(4): 212-217.
- [15] Wang W, Wang A Z, Yang Y S, et al. Composition, diversity and function of gastrointestinal microbiota in wild red-billed choughs (*Pyrrhocorax pyrrhocorax*) [J]. International Microbiology, 2019, 22(4): 491-500.
- [16] Adenike E A, Ben J E, Olubukola O. High-throughput sequencing data of soil bacterial communities from Tweefontein indigenous and commercial forests, South Africa[J]. Data in brief, 2020, (28): 104916.
- [17] Li W Y, Tan Q W, Zhou W, et al. Impact of substrate material and chlorine/chloramine on the composition

- and function of a young biofilm microbial community as revealed by high-throughput 16S rRNA sequencing[J]. Chemosphere, 2020, (242): 125310.
- [18] 暴家兵, 齐果萍, 刘晋仙, 等. 华北落叶松树皮表面细菌群落多样性及其分布格局[J]. 微生物学报, 2020, 60(1): 135-147.
- [19] 唐贤华. 高通量测序技术初步解析浓香型白酒窖泥细菌群落结构[J]. 中国酿造, 2020, 39(1): 160-164.
- [20] 叶文雨, 廖海萍, 许钰滢, 等. 基于高通量测序技术分析2种菌草根际土壤细菌群落多样性[J]. 热带作物学报, 2019, 40(9): 1783-1788.
- [21] 谢丹, 刘晓燕, 毕远林, 等. 基遇高通量测序分析刺梨果渣自然发酵过程中细菌群落结构及多样性[J]. 食品工业科技, 2019 (22): 110-114.
- [22] 任敏. 塔里木盆地微生物群落结构及其在碳氮元素循环中的作用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2018, 8-14.
- [23] 宋红丽, 韩洪军, 郁万妮, 等. 黄河三角洲滨岸潮滩湿地碱蓬对水沙条件及氮输入的适应性[J/OL]. 应用生态学报, (2020-02-21)[2020-03-20]. <https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.202004.039>.
- [24] 朱巧巧. 植物内生菌 *Salinicola tamaricis* F01 对盐地碱蓬生理生化影响[D]. 济南: 山东师范大学, 2015, 3-5.
- [25] 台喜生, 冯佳丽, 李梅, 等. 鞘氨醇单胞菌在生物降解方面的研究进展[J]. 湖南农业科学, 2011(7): 21-25.
- [26] 吴月红, 许学伟. 赤杆菌科微生物分类研究进展[J]. 微生物学通报, 2016, 43(5): 1082-1094.

(责任编辑: 唐志荣)