

赤子爱胜蚓对两种土壤中细菌群落结构组成及多样性的影响

龙建亮^{①②③} 张池^{①②③} 杨远秀^① 伍捷鹏^① 陈旭飞^{①②③} 戴军^{①②③*}

① 华南农业大学资源环境学院 广州 510642; ② 农业部华南耕地保育重点实验室 广州 510642; ③ 广东省土地利用与整治重点实验室/国土资源部建设用地再开发重点实验室 广州 510642

摘要: 本研究探讨赤子爱胜蚓 (*Eisenia fetida*) 对不同土壤细菌群落结构的影响, 以便利用蚯蚓改善土壤生物学质量。选取华南地区赤红壤和水稻土, 分别接种赤子爱胜蚓进行 10 d 室内盆钵培养, 运用 16S rDNA Illumina Miseq 高通量测序技术对培养前后土壤的细菌群落结构进行分析。结果显示: (1) 经赤子爱胜蚓取食后, 两种土壤的细菌群落结构均发生了改变。赤红壤中增加了 5 个非优势细菌门, 分别为 FBP、纤维杆菌门 (Fibrobacteres)、OP11、柔膜菌门 (Tenericutes) 和 Thermi; Cytophagia、Spartobacteria 和疣微菌纲 (Verrucomicrobiae) 从非优势细菌纲变为优势细菌纲; Solibacteres 从优势细菌纲变为非优势细菌纲。水稻土中海绵菌门 (Poribacteria) 为新增加的 1 个非优势细菌门; 螺旋体门 (Spirochaetes) 从非优势细菌门变为优势细菌门; 4 个非优势细菌门消失, 分别为 SBR1093、SC4、WS4 和 WS5; 螺旋体纲 (Spirochaetes) 和疣微菌纲从非优势细菌纲变为优势细菌纲; 浮霉菌纲 (Planctomycetia) 从优势细菌纲变为非优势细菌纲; 酸杆菌门 (Acidobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、厚壁菌门 (Firmicutes)、浮霉菌门 (Planctomycetes)、变形菌门 (Proteobacteria) 和疣微菌门 (Verrucomicrobia) 依然是两种土壤中的优势类群; (2) 赤红壤中酸杆菌门的相对丰度显著下降 44.90%, 拟杆菌门的相对丰度显著上升 14.88%; 水稻土中酸杆菌门、绿弯菌门、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae)、浮霉菌门和疣微菌门等 6 种细菌类群的相对丰度分别显著下降 49.05%、20.44%、64.01%、35.00%、33.56% 和 24.38%, 而拟杆菌门和螺旋体门的相对丰度分别显著上升 28.85% 和 154.17%; (3) 两种土壤细菌丰度的变化情况存在差异: 赤红壤细菌丰度呈上升趋势, 水稻土细菌丰度呈下降趋势, 而两种土壤的细菌多样性变化则均呈下降趋势。本研究说明, 经赤子爱胜蚓取食后赤红壤和水稻土的细菌群落结构组成和多样性均发生变化, 为深入理解蚯蚓与土壤微生物群落的相互作用机制提供参考依据。

关键词: 赤子爱胜蚓; 土壤; 高通量测序技术; 细菌群落结构; 多样性

中图分类号: S154 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2018) 06-963-15

Effects of *Eisenia fetida* on the Bacterial Community Structure Compositions and Diversities in Two Types of Soils

基金项目 国家重点研发计划子课题 (No. 2016YFD0201301, 2016YFD0201200), 国家自然科学基金青年科学基金项目 (No. 41201305);

* 通讯作者, E-mail: jundai@scau.edu.cn;

第一作者简介 龙建亮, 男, 硕士研究生; 研究方向: 土壤肥力、土壤生态; E-mail: 851211359@qq.com。

收稿日期: 2018-02-10, 修回日期: 2018-08-25 DOI: 10.13859/j.cjz.201806014

LONG Jian-Liang^{①②③} ZHANG Chi^{①②③} YANG Yuan-Xiu^① WU Jie-Peng^①
CHEN Xu-Fei^{①②③} DAI Jun^{①②③*}

① *College of Resources and Environment, South China Agricultural University, Guangzhou 510642*; ② *Key Laboratory of Arable and Conservation in South China of Ministry of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642*; ③ *Key Laboratory of Land Use and Consolidation/Key Laboratory of the Ministry of Land and Resources for Construction Land Transformation, Guangzhou 510642, China*

Abstract: This study explored the effect of *Eisenia fetida* on the soil bacterial community structure, to facilitate selecting earthworms to improve soil quality. After 10 days of incubation by *E. fetida* in both lateritic red and paddy soil, 16S rDNA Illumina Miseq high-throughput sequencing technique was employed to analyze the bacterial community structure compositions and diversities of the soils with or without earthworms. Sequence splicing and statistical analysis of OTU abundance were calculated by FLASH and UCHIME, and OTU species classification and Alpha community abundance index were analyzed using R and mothur. The results showed that the bacterial community structure of the soils with earthworms varied, compared to that of the soils without earthworms, indicating that *E. fetida* changed the soil bacterial community structure. In lateritic red soil, 5 non-dominant phyla were newly added at the presence of the earthworms, which were FBP, Fibrobacteres, OP11, Tenericutes and Thermi. In addition, it could be observed that Cytophagia, Spartobacteria and Verrucomicrobiae in lateritic red soil incubated by *E. fetida* turned into dominant classes, while Solibacteres became a non-dominant class (Fig. 2 & Fig. 3). In paddy soil that incubated with *E. fetida*, it was noted that Poribacteria was newly added as a non-dominant phylum, that Spirochaetes became a dominant phylum, as well as that the non-dominant phyla involving SBR1093, SC4, WS4 and WS5 died out (Fig. 4). Besides, Spirochaetes and Verrucomicrobiae became dominant classes while Planctomycetia declined to be a non-dominant class (Fig. 5). In general, the dominant bacteria in both lateritic red and paddy soil with the incubation of *E. fetida* included Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes, Chloroflexi, Firmicutes, Planctomycetes, Proteobacteria and Verrucomicrobia (Fig. 2 & Fig. 4). The relative abundance of Acidobacteria significantly decreased by 44.90% but the relative abundance of Bacteroidetes significantly increased by 14.88% in the lateritic red soil with the incubation of *E. fetida* (Table 3). In contrast, the relative abundances of Acidobacteria, Chloroflexi, Gemmatimonadetes, Nitrospirae, Planctomycetes and Verrucomicrobia significantly decreased by 49.05%, 20.44%, 64.01%, 35.00%, 33.56% and 24.38% respectively while Bacteroidetes and Spirochaetes significantly increased by 28.85% and 154.17% in the paddy soil incubated by earthworms (Table 4). The variations on the abundances of the bacteria in the two types of soils were different. In detail, it was increased in lateritic red soil but decreased in paddy soil at the presence of the earthworms. Moreover the bacterial diversities in both lateritic red and paddy soils decreased (Table 5). It revealed that *E. fetida* changed the community structure compositions and diversities of bacteria in the two types of soils and thus this study offered a theoretical foundation for further understanding of earthworm digestion and its interactions with microorganisms.

Key words: *Eisenia fetida*; Soil; High throughput sequencing technique; Bacterial community structure; Diversity

土壤微生物在农业系统的运作和生产中扮演着重要角色 (Bainard et al. 2016)。而细菌是土壤微生物中的主导者 (Nannipieri et al. 2003, Dominati et al. 2010, Aislabie et al. 2013), 它可以影响土壤的养分循环、有机质分解、土壤团聚体形成 (Six et al. 2004), 与土壤质量的好坏密切相关。土壤动物, 如蚯蚓, 则通过摄食和分解土壤中的新鲜有机质 (Edwards 2004, Dominguez et al. 2009), 影响土壤的微生物群落结构和土壤呼吸强度 (Chang et al. 2016)。蚯蚓和微生物互惠共生 (Lavelle et al. 2001), 蚯蚓喜欢吞食富含真菌、细菌等多种微生物的土壤颗粒, 其活动产生的蚓粪、孔道等生物结构富含有机物、水分, 肠道内分泌的黏液也可以提供微生物各种营养和适宜的生长环境, 刺激一些微生物数量的增长和土壤酶活性的增高 (Brown et al. 2000)。不同土壤因其酸碱度、水分含量、有机质含量及成土母质的不同, 其微生物种类和数量也不尽相同 (Paul et al. 1989), 微生物种群结构和多样性受蚯蚓影响程度也不相同。前人关于蚯蚓对土壤微生物群落影响的研究多以单一土壤为研究对象, 如陶军 (2009) 研究了潮土中威廉腔环蚓 (*Metaphire guillelmi*) 对土壤微生物群落结构的影响。关于华南地区典型耕地土壤在蚯蚓活动下微生物群落结构变化的研究也较少。

另外, 关于土壤细菌群落结构的研究, 磷脂脂肪酸 (phospholipid fatty acids, PLFAs)、变性梯度凝胶电泳 (denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE) 或者序列分析等技术由于它们固有的局限性, 不能对土壤细菌群落结构作出全面真实的评估 (Aira et al. 2016)。随着分子生物学快速发展, 宏基因组学作为分子生态学发展的典型技术策略能够从环境样本直接获得总 DNA 进行文库构建、测序, 在整体水平解析微生物群落结构 (秦楠等 2011), 尽可能真实地揭示原位环境中微生物群落的复杂性和多样性 (李庆岗等 2012)。

夏围围等 (2014) 运用高通量测序和 DGGE 技术分析两种土壤的微生物菌落差异, 结果发现通过 DGGE 仅检测到 6 门 9 纲 8 目 10 科 10 属, 表明 DGGE 仅能分析有限的微生物类群, 而高通量测序则全面准确地在草地土壤中检测到 22 门 54 纲 60 目 131 科 350 属。

本研究选取华南地区赤红壤和水稻土分别接种赤子爱胜蚓 (*Eisenia fetida*), 运用 Illumina Miseq 高通量测序平台测序土壤 16S rDNA, 对蚯蚓取食前后土壤细菌群落作出全面解析, 研究蚯蚓对不同土壤细菌群落组成及多样性的影响机制, 为改善土壤生物学质量提供科学参考。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

供试蚯蚓为赤子爱胜蚓, 为本实验室人工养殖品种。实验时选取健壮、大小一致、具有成熟环的赤子爱胜蚓进行实验, 其鲜重为 (0.34 ± 0.06) g/条。

供试有机物料为蘑菇渣, pH 为 6.10, 有机碳含量为 378.32 g/kg, 全氮含量为 14.95 g/kg, 碳氮比为 25.31。根据赤子爱胜蚓的取食习惯, 与土壤充分混合的蘑菇渣有利于其吞食消化有机物料含量较高的土壤。

选取华南地区两种土壤, 花岗岩发育而成的赤红壤 (简育湿润铁铝土, Hapli-Udic Ferralists) 和河流冲积物发育而成的水稻土 (铁聚水耕人为土, Fe-accumuli-Stagnic Anthrosols)。土壤分别采自华南某高校内的树木园和农场, 采集深度为 0~20 cm, 样品风干混匀后过 2 mm 和 0.15 mm 筛备用, 其基本理化性状见表 1。

1.2 实验设计

设置 2 组单因素实验组, 分别为赤红壤组和水稻土组; 各组为 2 个处理, 分别为对照组和蚯蚓组, 各处理设置 3 个重复。具体实验设计方案为: 称取 1 000 g 过 2 mm 筛的土壤和 50 g 过 2 mm 筛的蘑菇渣, 混匀, 装于底部有微孔

表 1 供试土壤的基本理化性状

Table 1 Main characteristics of the soils used for the pot experiment

指标 Index	赤红壤 Lateritic red soil	水稻土 Paddy soil
pH	4.50	6.09
黏粒含量 Clay content (%)	20.60	39.00
有机碳含量 Organic carbon content (g/kg)	48.40	14.70
全氮含量 Total nitrogen content (g/kg)	2.94	1.15
碳氮比 C/N ratio	16.50	12.80

并放有纱网的塑料盆 (15 cm × 11 cm × 13.5 cm), 调节水分至 60% 饱和含水量, 稳定 2 d。根据实验要求, 分别向蚯蚓组的塑料盆接种约 15.09 g 蚯蚓, 即每盆约 60 条赤子爱胜蚓, 进行 10 d 盆钵培养, 以期通过接种较高密度的蚯蚓加快其对土壤和蘑菇渣的作用过程从而在一定程度上减少短期培养带来的影响 (Aira et al. 2008)。为避免蚯蚓逃逸, 在盆面上绑上纱网, 每隔 1 d 用称重法调节土壤含水量。培养结束后手工分离出蚯蚓, 然后把盆钵中的土壤混匀, 取一部分土壤鲜样 - 80 °C 保存, 用于 DNA 提取, 测试土壤微生物种群结构和多样性特征。

1.3 实验方法

按照试剂盒 PowerSoil DNA Isolation KIT (MOBIO Laboratories, Inc.) 的方法进行土壤样品的总 DNA 提取, 基因组 DNA 保存于 - 80 °C 冰箱中。提取的基因组 DNA 委托深圳华大基因公司先进行基因组 DNA 浓度、纯度及完整性检测, 结果显示样品质量符合扩增要求。然后构建文库: 回收目的扩增子片段, 用 T4 DNA Polymerase、Klenow DNA Polymerase 和 T4 PNK 将打断形成的粘性末端修复成平末端, 再通过 3'端加碱基 “A”, 使得 DNA 片段能与 3'端带有 “T” 碱基的特殊接头连接; 最后用合格的文库进行 cluster 制备和采用 Illumina Miseq 平台测序。

1.4 数据处理

首先对数据处理过滤, 采取按窗口去低质量的方法获得 clean data。序列拼接使用软件

FLASH (Magoc et al. 2011), 利用重叠关系将双末端测序得到的成对 reads 组装成一条序列, 得到高变区的 Tags。利用 UPARSE 在 97% 相似度下进行聚类, 得到操作分类单元 (operational taxonomic units, OTU) 代表序列, 利用 UCHIME (Edgar et al. 2011) 将 PCR 扩增产生的嵌合体从 OTU 代表序列中去除, 使用 usearch_global (Edgar 2010) 方法将所有 Tags 比对回 OTU 代表序列, 得到各样品在每个 OTU 的丰度统计表。然后根据 OTU 在每个样品的丰度文件, 计算每个组别具有的 OTU, 通过 R (v3.1.1) 语言做出 Venn 图。通过 mothur 软件对 OTU 进行物种注释, 若一个 OTU 中包含的 51% 以上的 clean tags 都注释为同一物种, 则该 OTU 即注释为该物种, 达不到 51% 标准的则在上一个物种分类等级再进行 OTU 对应物种分析, 将所有 OTU 的物种注释信息统计好后即可得到该样品的物种组成信息, 结合每个 OTU 内所含的 clean tags 数进行统计, 即可得到每个物种在该样品的相对丰度, 然后分别在门和纲水平上对对照组和蚯蚓组的物种相对丰度作柱状图。同时用独立样本 T 检验的方法, 分别在门和纲水平上进行对照组和蚯蚓组间各细菌类群相对丰度的显著性差异分析。最后用 mothur 软件进行 Alpha 多样性分析 (Schloss et al. 2009), 包括 Chao 指数、ACE 指数、Shannon 指数以及 Simpson 指数, 前面 3 个指数越大最后 1 个指数越小, 说明样品中的物种越丰富。

2 结果

2.1 土壤样品测序结果及丰度

通过高通量测序，在 97% 的相似度下得到用于物种分类的操作分类单元 (OTU)，赤红壤中共产生 1 069 个 OTU，水稻土中共产生 2 415 个 OTU。赤红壤中蚯蚓组得到的有效序列数量比对照组多，其差异达到显著水平 ($P < 0.05$)，而 OTU 数量的差异未达到显著水平；水稻土中对照组和蚯蚓组的有效序列数量和 OTU 数量差异均未达到显著水平 (表 2)。

用 Venn 图展示不同处理间各自独有和共同拥有的 OTU 数目。两种土壤对照组和蚯蚓组间既有各自独有的也有共同拥有的细菌类群 (图 1)。赤红壤中，蚯蚓组独有的细菌类群数量比对照组独有的细菌类群数量多；水稻土中，对照组独有的细菌类群数量则比蚯蚓组独有的细菌类群数量多。上述结果说明，经过赤子爱胜蚓取食后，两种土壤的细菌群落结构均发生了改变。

2.2 不同处理间细菌群落结构组成

在门水平上，把相对丰度大于 0.5% 的细菌门选为优势细菌门，其余的为非优势细菌门。赤红壤中蚯蚓组比对照组多 5 个细菌门 (图 2)：FBP、纤维杆菌门 (Fibrobacteres)、OP11、柔膜菌门 (Tenericutes)、Thermi，它们的相对丰度均小于 0.5%，为非优势细菌门。对照组和蚯蚓组间有 8 个相同的优势细菌门：酸杆菌门 (Acidobacteria，分别占 5.99% 和 3.30%)、放线菌门 (Actinobacteria，分别占 3.24% 和 4.14%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes，分别占 16.00% 和 18.38%)、绿弯菌门 (Chloroflexi，分别占 0.63% 和 0.51%)、厚壁菌门 (Firmicutes，分别占 1.05% 和 1.36%)、浮霉菌门 (Planctomycetes，分别占 0.96% 和 1.10%)、变形菌门 (Proteobacteria，分别占 68.54% 和 67.56%)、疣微菌门 (Verrucomicrobia，分别占 2.39% 和 2.80%)。

在纲水平上，把相对丰度大于 0.5% 的细菌纲选为优势细菌纲，剩余的归为其他 (Others)。

表 2 土壤样品测序数据统计 (平均值 \pm 标准误, $n = 3$)

Table 2 Sequencing data statistics of the soil samples (Mean \pm SE, $n = 3$)

土壤类型 Soil	处理 Treatment	有效序列数量 Tag number	OTU 数量 OTU number
赤红壤 Lateritic red soil	对照组 Control group	24 231 \pm 258	626 \pm 7
	蚯蚓组 Earthworm group	27 390 \pm 650*	669 \pm 21 ^{NS}
水稻土 Paddy soil	对照组 Control group	26 372 \pm 76	1 504 \pm 2
	蚯蚓组 Earthworm group	26 179 \pm 150 ^{NS}	1 435 \pm 48 ^{NS}

* 表示同一实验组不同处理间在 $P < 0.05$ 水平下有显著差异，NS 则表示差异未达到显著水平。

* meant significant difference at 0.05 level between the different treatments in the same test group, NS meant no significant difference.

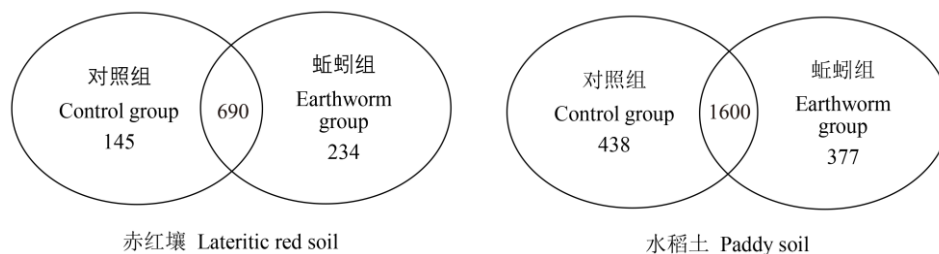


图 1 赤红壤和水稻土样品不同处理间 OTUs Venn 图

Fig. 1 OTUs Venn of different treatments in two groups

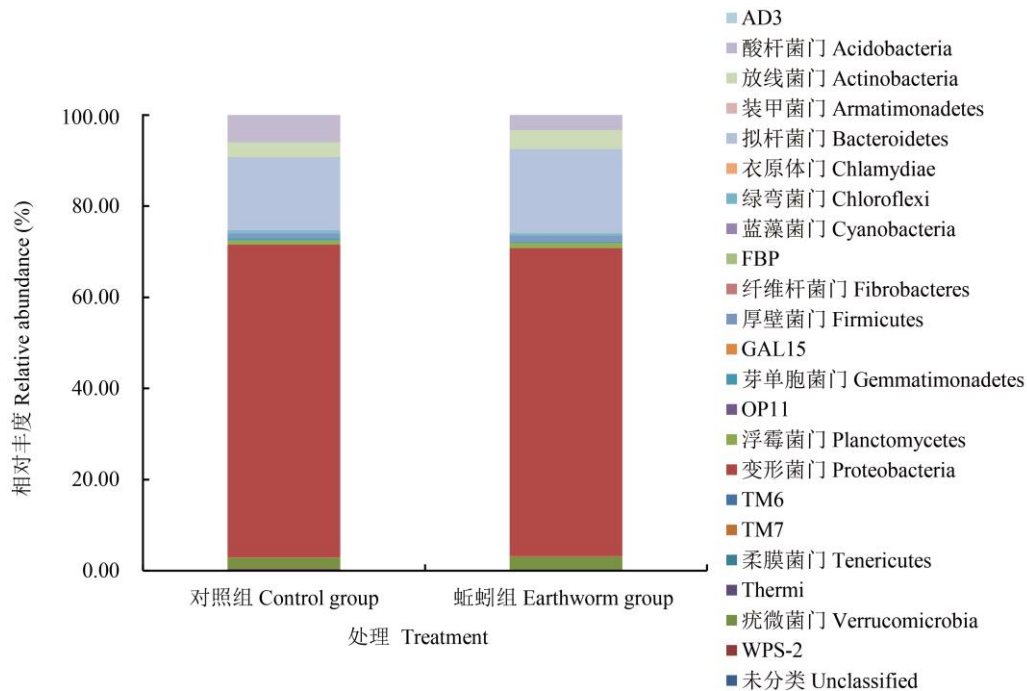


图 2 赤红壤不同处理各细菌类群在微生物分类门水平上的相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of each phylum of different treatments in lateritic red soil

赤红壤中对照组有 1 个独有的优势细菌纲 (图 3), 为 Solibacteres (0.80%); 蚯蚓组有 3 个独有的优势细菌纲: Cytophagia (0.63%)、Spartobacteria (0.67%)、疣微菌纲 (Verrucomicrobiae, 1.31%)。对照组和蚯蚓组间在纲水平上有 12 个相同的优势细菌纲: 酸杆菌纲 (Acidobacteriia, 分别占 4.98% 和 2.70%)、放线菌纲 (Actinobacteria, 分别占 2.72% 和 3.58%)、 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria, 分别占 18.51% 和 21.20%)、芽胞杆菌纲 (Bacilli, 分别占 1.02% 和 0.95%)、 β -变形菌纲 (Betaproteobacteria, 分别占 31.91% 和 33.00%)、 δ -变形菌纲 (Deltaproteobacteria, 分别占 0.94% 和 0.62%)、 γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria, 分别占 16.92% 和 12.64%)、纤线杆菌纲 (Ktedonobacteria, 分别占 0.62% 和 0.51%)、Pedosphaerae (分别占 2.19% 和 0.77%)、Phycisphaerae (分别占 0.66% 和 0.68%)、Saprosphaerae (分别占 12.13% 和 14.35%)、鞘脂

杆菌纲 (Sphingobacteriia, 分别占 3.40% 和 3.12%)。

水稻土中蚯蚓组有 1 个独有的优势细菌门 (图 4), 为螺旋体门 (Spirochaetes, 1.22%)。此外, 对照组比蚯蚓组多 4 个细菌门: SBR1093、SC4、WS4、WS5; 同时比蚯蚓组少 1 个细菌门, 为海绵杆菌门 (Poribacteria), 其相对丰度均小于 0.5%, 为非优势细菌门。对照组和蚯蚓组间在门水平有 10 个相同的优势细菌门: 酸杆菌门 (分别占 6.81% 和 3.47%)、放线菌门 (分别占 3.46% 和 2.94%)、拟杆菌门 (分别占 23.50% 和 30.28%)、绿弯菌门 (分别占 1.37% 和 1.09%)、厚壁菌门 (分别占 2.73% 和 4.52%)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes, 分别占 3.39% 和 1.22%)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae, 分别占 0.80% 和 0.52%)、浮霉菌门 (分别占 1.49% 和 0.99%)、变形菌门 (分别占 45.11% 和 45.55%)、疣微菌门 (分别占 9.64% 和 7.29%)。

水稻土中对照组有 1 个独有的优势细菌纲

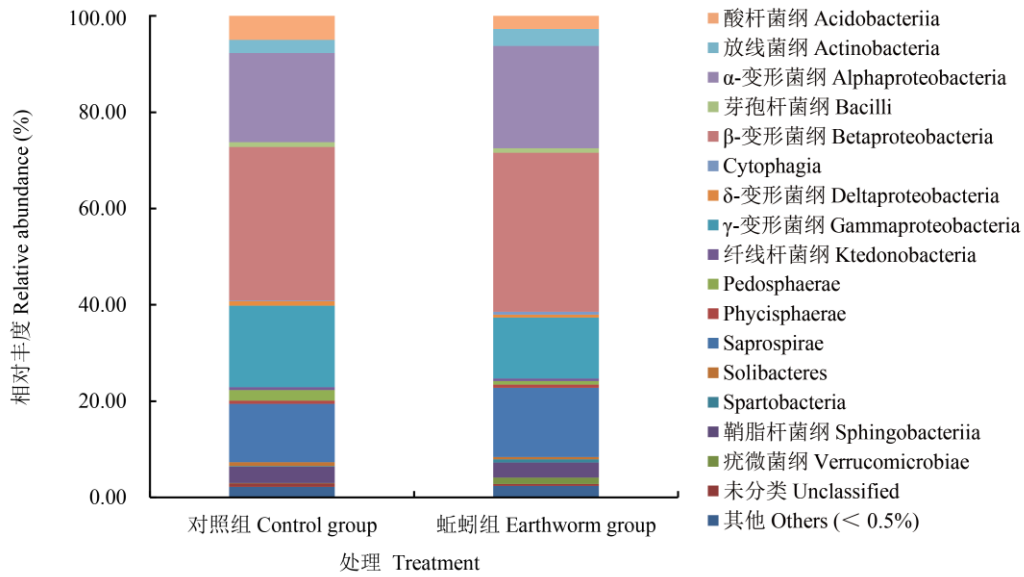


图 3 赤红壤不同处理各细菌类群在微生物分类纲水平上的相对丰度

Fig. 3 Relative abundance of each class of different treatments in lateritic red soil

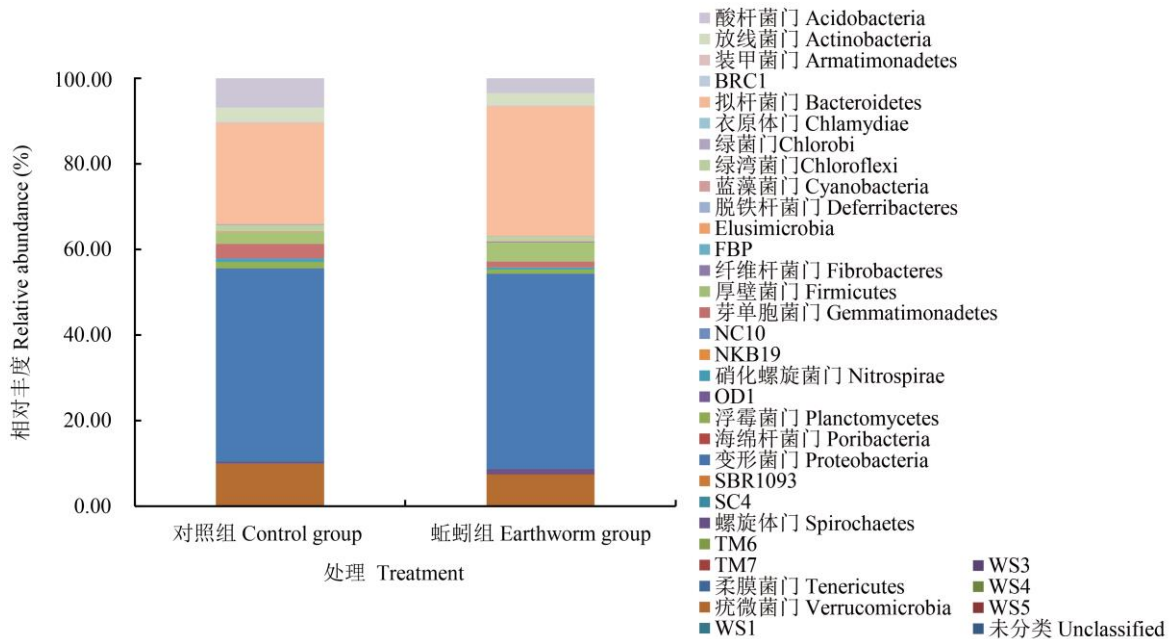


图 4 水稻土不同处理各细菌类群在微生物分类门水平上的相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of each phylum of different treatments in paddy soil

(图 5), 为浮霉菌纲 (Planctomycetia, 0.52%); 蚯蚓组有 2 个独有的优势细菌纲: 螺旋体纲 (Spirochaetes, 1.22%) 和疣微菌纲 (0.57%)。对照组和蚯蚓组间在纲水平有 23 个相同的优

势细菌纲: Acidobacteria-6 (分别占 2.12%和 0.95%)、酸杆菌纲 (分别占 1.08%和 0.67%)、放线菌纲 (分别占 2.83%和 2.41%)、 α -变形菌纲 (分别占 12.22%和 10.48%)、厌氧绳菌

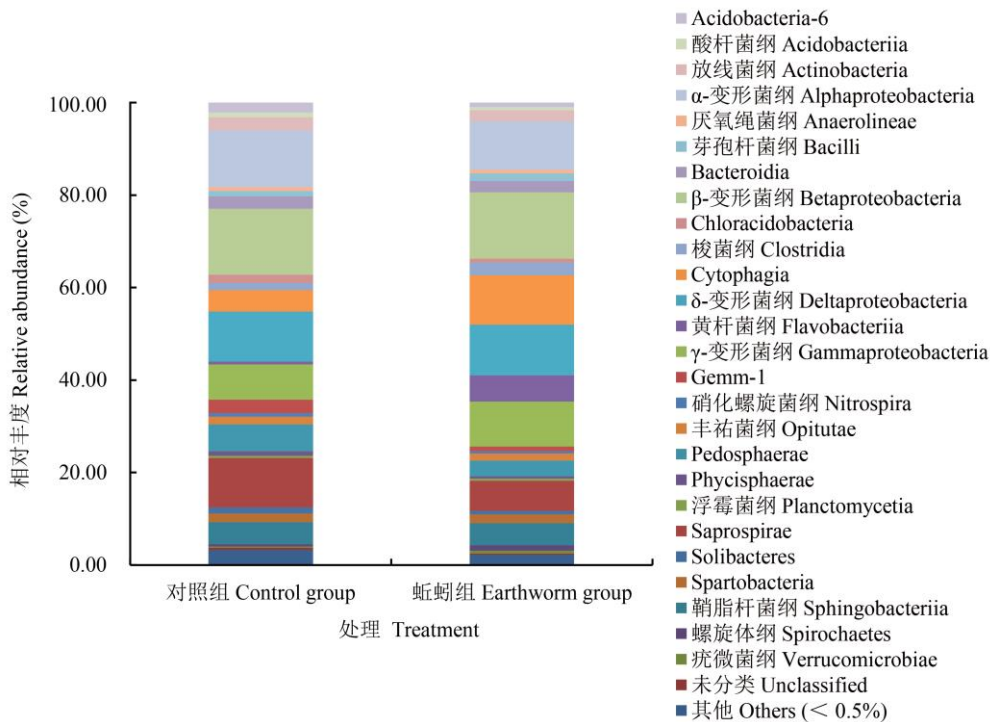


图 5 水稻土不同处理各细菌类群在微生物分类纲水平上的相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of each class of different treatments in paddy soil

纲 (Anaerolineae, 分别占 0.84% 和 0.76%)、芽胞杆菌纲 (分别占 1.18% 和 1.67%)、Bacteroidia (分别占 2.66% 和 2.47%)、β-变形菌纲 (分别占 14.28% 和 14.35%)、Chloracidobacteria (分别占 1.81% 和 0.79%)、梭菌纲 (Clostridia, 分别占 1.54% 和 2.82%)、Cytophagia (分别占 4.66% 和 10.67%)、δ-变形菌纲 (Deltaproteobacteria, 分别占 10.77% 和 10.91%)、黄杆菌纲 (Flavobacteriia, 分别占 0.62% 和 5.71%)、γ-变形菌纲 (分别占 7.64% 和 9.72%)、Gemm-1 (分别占 2.91% 和 1.00%)、硝化螺旋菌纲 (Nitrospira, 分别占 0.80% 和 0.52%)、丰祐菌纲 (Opitutae, 分别占 1.64% 和 1.47%)、Pedosphaerae (分别占 5.85% 和 3.40%)、Phycisphaerae (分别占 0.92% 和 0.50%)、Saprospirae (分别占 10.63% 和 6.56%)、Solibacteres (分别占 1.32% 和 0.75%)、Spartobacteria (分别占 1.87% 和 1.85%)、鞘脂杆菌纲 (分别占 4.84% 和 4.79%)。

2.3 赤子爱胜蚓对土壤优势细菌类群相对丰度的影响及相关优势细菌门的生态功能

经过 10 d 培养, 赤红壤中细菌在门水平上酸杆菌门的相对丰度平均减少 44.90%, 拟杆菌门的相对丰度平均增加 14.88% (表 3)。在纲水平上, 相对丰度增加的优势细菌纲有: 属于拟杆菌门的 Cytophagia 和 Saprospirae、属于疣微菌门的疣微菌纲, 分别平均增加 600.00%、18.30% 和 1 771.43%; 相对丰度减少的有: 属于酸杆菌门的酸杆菌纲和 Solibacteres、属于变形菌门的 δ-变形菌纲、属于疣微菌门的 Pedosphaerae, 分别平均减少 45.78%、38.75%、34.04% 和 64.84%。上述优势细菌类群的相对丰度变化均达到显著水平 ($P < 0.05$)。

经过 10 d 培养, 水稻土中细菌在门水平上相对丰度上升的优势细菌门有: 拟杆菌门、螺旋体门, 分别平均增加 28.85% 和 154.17% (表 4); 相对丰度下降的有: 酸杆菌门、绿弯菌门、芽单胞菌门、硝化螺旋菌门、浮霉菌门和疣微

表 3 赤红壤中相对丰度变化显著的优势细菌类群 (平均值 ± 标准误, $n = 3$)Table 3 The dominant bacteria changing significantly in the relative abundance in lateritic red soil (Mean ± SE, $n = 3$)

门 Phylum	纲 Class	相对丰度 Relative abundance (%)		P 值 P-value
		对照组 Control group	蚯蚓组 Earthworm group	
酸杆菌门 Acidobacteria	—	5.99 ± 0.40	3.30 ± 0.34	0.00
拟杆菌门 Bacteroidetes	—	16.00 ± 0.76	18.38 ± 0.42	0.04
酸杆菌门 Acidobacteria	酸杆菌纲 Acidobacteriia	4.98 ± 0.38	2.70 ± 0.23	0.01
酸杆菌门 Acidobacteria	Solibacteres	0.80 ± 0.02	0.49 ± 0.10	0.04
拟杆菌门 Bacteroidetes	Cytophagia	0.09 ± 0.02	0.63 ± 0.04	0.00
拟杆菌门 Bacteroidetes	Saprosirae	12.13 ± 0.50	14.35 ± 0.49	0.04
变形菌门 Proteobacteria	δ-变形菌纲 Deltaproteobacteria	0.94 ± 0.02	0.62 ± 0.10	0.04
疣微菌门 Verrucomicrobia	Pedosphaerae	2.19 ± 0.28	0.77 ± 0.31	0.04
疣微菌门 Verrucomicrobia	疣微菌纲 Verrucomicrobiae	0.07 ± 0.02	1.31 ± 0.05	0.00

表中的 — 表示对照组和蚯蚓组的优势细菌类群在门水平上作相对丰度的显著性差异分析, 而不涉及纲水平。

— meant the dominant bacteria group in the control group and the earthworm group were analyzed the significant difference in relative abundance at the phylum level, but not at the class level.

菌门, 分别平均减少 49.05%、20.44%、64.01%、35.00%、33.56% 和 24.38%。在纲水平上, 相对丰度增加的优势细菌纲有: 属于拟杆菌门的 Cytophagia 和黄杆菌纲、属于厚壁菌门的梭菌纲、属于变形菌门的 γ -变形菌纲、属于螺旋体门的螺旋体纲, 分别平均增加 128.97%、820.97%、83.12%、27.23% 和 154.17%; 相对丰度下降的有: 属于酸杆菌门的 Acidobacteria-6、酸杆菌纲、Chloracidobacteria 和 Solibacteres、属于拟杆菌门的 Saprosirae、属于芽单胞菌门的 Gemm-1、属于硝化螺旋菌门的硝化螺旋菌纲, 属于浮霉菌门的 Phycisphaerae 和浮霉菌纲、属于变形菌门的 α -变形菌纲、属于疣微菌门的 Pedosphaerae, 分别平均减少 55.19%、37.96%、56.35%、43.18%、38.29%、65.64%、35.00%、45.65%、11.54%、14.24% 和 41.88%。上述优势细菌类群的相对丰度变化均达到显著水平 ($P < 0.05$)。

2.4 不同处理间土壤样品细菌多样性指数

经过 10 d 的培养实验后, 赤红壤的细菌丰度呈上升趋势, 而水稻土的细菌丰度呈下降趋

势 (表 5), 说明赤子爱胜蚓对两种土壤细菌丰度的影响存在差异; 而赤子爱胜蚓对两种土壤细菌多样性的影响则一致: 两种土壤细菌多样性均呈下降趋势。对比两种土壤, 水稻土的细菌丰度和多样性均比赤红壤高, 说明水稻土物种比赤红壤丰富、细菌群落结构比赤红壤复杂。

3 讨论

3.1 赤子爱胜蚓对土壤细菌群落结构的影响

赤红壤和 水稻土接种赤子爱胜蚓后其细菌群落结构均发生了改变 (图 1)。当蚯蚓摄取土壤后, 土壤在蚯蚓肠道内的运输过程是使土壤细菌群落结构发生改变的关键 (Aira et al. 2016)。土壤在蚯蚓肠道内迁移过程中, 某些细菌类群可能会被蚯蚓消化, 而某些细菌类群仍然存活下来甚至不断繁殖 (Drake et al. 2007)。一方面, 蚯蚓肠道丰富的可利用有机碳、适宜的湿度和 pH 等为微生物生存提供良好的环境, 同时其肠道内分泌的大量消化酶 (蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶、纤维素酶、几丁质酶) 促进

表 4 水稻土中相对丰度变化显著的优势细菌门和优势细菌纲 (平均值 ± 标准误, $n = 3$)

Table 4 The dominant bacteria changing significantly in the relative abundance in paddy soil (Mean ± SE, $n = 3$)

门 Phylum	纲 Class	相对丰度 Relative abundance (%)		P 值 P-value
		对照组 Control group	蚯蚓组 Earthworm group	
酸杆菌门 Acidobacteria	—	6.81 ± 0.07	3.47 ± 0.30	0.00
拟杆菌门 Bacteroidetes	—	23.50 ± 0.13	30.28 ± 1.94	0.04
绿弯菌门 Chloroflexi	—	1.37 ± 0.08	1.09 ± 0.04	0.04
芽单胞菌门 Gemmatimonadetes	—	3.39 ± 0.11	1.22 ± 0.20	0.00
硝化螺旋菌门 Nitrospirae	—	0.80 ± 0.03	0.52 ± 0.05	0.02
浮霉菌门 Planctomycetes	—	1.49 ± 0.07	0.99 ± 0.07	0.01
螺旋体门 Spirochaetes	—	0.48 ± 0.07	1.22 ± 0.16	0.04
疣微菌门 Verrucomicrobia	—	9.64 ± 0.23	7.29 ± 0.42	0.02
酸杆菌门 Acidobacteria	Acidobacteria-6	2.12 ± 0.07	0.95 ± 0.11	0.01
酸杆菌门 Acidobacteria	酸杆菌纲 Acidobacteriia	1.08 ± 0.01	0.67 ± 0.05	0.01
酸杆菌门 Acidobacteria	Chloracidobacteria	1.81 ± 0.02	0.79 ± 0.06	0.00
酸杆菌门 Acidobacteria	Solibacteres	1.32 ± 0.05	0.75 ± 0.09	0.01
拟杆菌门 Bacteroidetes	Cytophagia	4.66 ± 0.16	10.67 ± 0.58	0.00
拟杆菌门 Bacteroidetes	黄杆菌纲 Flavobacteriia	0.62 ± 0.09	5.71 ± 1.03	0.02
拟杆菌门 Bacteroidetes	Saprospirae	10.63 ± 0.39	6.56 ± 0.21	0.00
厚壁菌门 Firmicutes	梭菌纲 Clostridia	1.54 ± 0.06	2.82 ± 0.39	0.04
芽单胞菌门 Gemmatimonadetes	Gemm-1	2.91 ± 0.10	1.00 ± 0.16	0.00
硝化螺旋菌门 Nitrospirae	硝化螺旋菌纲 Nitrospira	0.80 ± 0.03	0.52 ± 0.05	0.02
浮霉菌门 Planctomycetes	Phycisphaerae	0.92 ± 0.06	0.50 ± 0.05	0.02
浮霉菌门 Planctomycetes	浮霉菌纲 Planctomycetia	0.52 ± 0.01	0.46 ± 0.02	0.04
变形菌门 Proteobacteria	α -变形菌纲 Alphaproteobacteria	12.22 ± 0.07	10.48 ± 0.30	0.02
变形菌门 Proteobacteria	γ -变形菌纲 Gammaproteobacteria	7.64 ± 0.41	9.72 ± 0.47	0.04
螺旋体门 Spirochaetes	螺旋体纲 Spirochaetes	0.48 ± 0.07	1.22 ± 0.16	0.03
疣微菌门 Verrucomicrobia	Pedosphaerae	5.85 ± 0.04	3.40 ± 0.10	0.00

表中的 — 表示对照组和蚯蚓组的优势细菌类群在门水平上作相对丰度的显著性差异分析, 而不涉及纲水平。

— meant the dominant bacteria group in the control group and the earthworm group were analyzed the significant difference in relative abundance at the phylum level, but not at the class level.

表 5 不同处理间土壤样品细菌群落多样性指数分析 (平均值 ± 标准误, $n = 3$)

Table 5 Diversity index of bacterial community structures of different treatments (Mean ± SE, $n = 3$)

土壤类型 Soil	处理 Treatment	Chao 指数 Chao index	ACE 指数 Ace index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index
赤红壤 Lateritic red soil	对照组 Control group	674.60 ± 3.96	693.75 ± 4.07	4.16 ± 0.01	0.040 ± 0.000
	蚯蚓组 Earthworm group	710.73 ± 20.15	729.17 ± 21.32	4.16 ± 0.04	0.044 ± 0.000
水稻土 Paddy soil	空白组 Control group	1 600.42 ± 13.19	1 654.26 ± 14.77	6.01 ± 0.01	0.006 ± 0.000
	蚯蚓组 Earthworm group	1 553.16 ± 46.57	1 605.54 ± 48.11	5.86 ± 0.09	0.009 ± 0.001

一部分微生物数量增长,但另一方面这些消化酶会分解一部分微生物(Thakuria et al. 2010)。然而,摄取食物的不同,细菌类群在蚯蚓肠道内的变化情况也会不同。相关报道指出,赤子爱胜蚓肠道内的细菌类群主要由放线菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、厚壁菌门、浮霉菌门、变形菌门和疣微菌门组成,不过摄食不同基质会导致这些细菌类群在赤子爱胜蚓肠道内所占的比例不同(Vivas et al. 2009)。此外,对于表栖型蚯蚓来说,土壤被摄食前后细菌群落的变化也可能取决于蚯蚓食物来源(Knapp et al. 2009)和土壤投放的蚯蚓密度(Aira et al. 2008)。

3.2 赤子爱胜蚓对土壤优势细菌类群的影响

本研究发现赤红壤和水稻土中对照组和蚯蚓组共有的优势细菌类群均包括酸杆菌门、放线菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、厚壁菌门、浮霉菌门、变形菌门、疣微菌门。其中,变形菌门的相对丰度所占比例均为最大,在两种土壤的对照组和蚯蚓组中分别占 68.54%、67.56% 和 45.11%、45.55% (图 2 和图 4),这与前人的研究结果相似,如 Knapp 等(2009)和 Wust 等(2011)分别以粉正蚓(*Lumbricus rubellus*)和陆正蚓(*Lumbricus terrestris*)为研究对象,虽然两种蚯蚓粪的细菌群落结构不一致,但变形菌门所占的比例均为最大(> 30%)。上述优势细菌类群除了厚壁菌门以外均属于革兰氏阴性菌。前人研究结果显示,革兰氏阴性菌在表栖型蚯蚓肠道内生存下来的能力比革兰氏阳性菌强(Hendriksen 1995, Daane et al. 1997, Williams et al. 2006),所以经蚯蚓取食后土壤中的优势革兰氏阴性菌相对丰度虽然会有变化,但它们依然是土壤中的优势细菌类群。部分优势细菌类群的相对丰度经蚯蚓作用后显著下降(表 3 和表 4),造成这种现象的原因可能是某些微生物菌群需要土壤中的大量有机物质作为碳源去抵抗环境压力(Chávez-Romero et al. 2016),而以富含有机残体的表土为食的赤子爱胜蚓进入土壤后,这些

细菌的数量随着可摄取有机质减少而减少,被其他更有能力去争夺新鲜有机质的微生物取代。同时,这种现象的产生也可能与细菌的生活习性有关,蚯蚓的添加会使土壤中各营养元素的可供性得到改善(Basker et al. 1992),然而土壤中营养元素可供性的提升反而会抑制酸杆菌门、芽单胞菌门和绿弯菌门等类群的生长(Sun et al. 2016)。另外,土壤中部分细菌类群经蚯蚓作用后相对丰度反而显著上升,如赤红壤和水稻土中的拟杆菌门及水稻土中属于厚壁菌门的梭菌纲(Clostridia),这与 Chávez-Romero 等(2016)的研究结果一致。原因可能是这些细菌类群可以分解一些其他细菌难以利用的物质以获得能量,如 Pascualt 等(2013)发现厚壁菌门可以通过分解黏土中的钙质淤泥获取能量,Haichar 等(2007)发现拟杆菌门可以通过分解纤维素获取能量。与此同时,Yousuf 等(2012)发现厚壁菌门和拟杆菌门可以通过固定 CO₂ (其固定量分别为 34.4%和 16.1%)获得能量,这也可能是导致这些细菌类群丰度上升的原因。表 6 为两种土壤中经赤子爱胜蚓取食后相对丰度发生显著变化的优势细菌门的相关生态功能,每一种相对丰度发生显著变化的优势细菌类群均可能与培养实验前后土壤理化性质的变化有关,这是今后进一步研究的方向。

3.3 赤子爱胜蚓对不同类型土壤细菌多样性的影响

研究表明,赤子爱胜蚓对两种土壤细菌多样性的影响存在差异(表 5):赤子爱胜蚓使赤红壤细菌丰度增加而使水稻土细菌丰度下降,同时使两种土壤细菌多样性呈下降趋势。Tiunov 等(2000)的研究指出,蚯蚓的加入会使一部分土壤的微生物活性降低,原因可能是蚯蚓和土壤微生物形成一种竞争关系去争夺土壤中的有效食物,使土壤微生物在土壤可摄取的食物减少从而导致土壤微生物丰度下降。从表 1 可以看出,赤红壤的有机碳和全氮含量比水稻土的高,因此赤红壤中的细菌在赤

表 6 两种土壤中相对丰度变化显著的优势细菌门的生态功能

Table 6 The ecological functions of the dominant bacteria changing significantly in the relative abundance in the two soils

门 Phylum	细菌功能 Bacterial function
酸杆菌门 Acidobacteria	降解植物残体多聚物, 参与铁循环, 具有光合能力, 参与单碳化合物代谢 (王光华等 2016) Acidobacteria has the ability of degrading the plant residues polymer, taking part in iron cycling, photosynthetic and contributing to the metabolism of mono carbon compounds
拟杆菌门 Bacteroidetes	参与降解高分子量的溶解有机物 (Cottrell et al. 2000)、颗粒有机物 (Davey et al. 2001) Bacteroidetes has the ability of degrading dissolved organic matter and particulate organic matter in high molecular weight
绿弯菌门 Chloroflexi	在光合作用过程中提供能量, 所产生的初级生产力对异养菌具有重要作用 (蒋绍妍等 2015) Chloroflexi has the ability of providing energy in the photosynthetic process and producing the primary productivity which is important for heterotrophic bacteria
芽单胞菌 Gemmatimonadetes	降解硅酸盐 (蒋绍妍等 2015) Gemmatimonadetes has the ability of degrading silicate
硝化螺旋菌门 Nitrospirae	减轻 NO_2^- -N 积累对脱氮微生物的毒害作用, 有利于反硝化作用进行 (林燕等 2016) Nitrospirae has the ability of alleviating the toxic effect of NO_2^- -N accumulation on the denitrifying microorganisms, which is beneficial to the denitrification
浮霉菌门 Planctomycetes	在厌氧条件下促进厌氧氨氧化反应过程 (Schmid et al. 2005) Planctomycetes has the ability of promoting the anammox reaction under the anaerobic conditions
螺旋体门 Spirochaetes	提高厌氧消化过程的效率和稳定性 (Lee et al. 2013) Spirochaetes has the ability of improving the efficiency and stability of anaerobic digestion process
疣微菌门 Verrucomicrobia	参与酸性土壤 (Morris et al. 2002) 和碱性沉积物 (Lin et al. 2004) 中的 CH_4 循环 Verrucomicrobia has the ability of taking part in the CH_4 cycling in the acidic soils and the alkaline sediments

子爱胜蚓存在时可能依然有足够的有效食物供其生存甚至繁殖, 丰度呈上升趋势, 而水稻土中可能由于有效食物相对较少使细菌丰度呈下降趋势。另一方面, Mummey 等 (2006) 指出, 由于土壤中大团聚体内部的微团聚体能把有机物质迅速固定而不能被吸收, 所以土壤大团聚体表面更有利于细菌类群繁殖; 杨宁等 (2016) 指出, 有机质在土壤微生物的作用下分解形成许多有机、无机胶结物质, 可将土壤颗粒和小团聚体胶结成大团聚体。本研究中的赤红壤有机碳含量比水稻土高, 有利于大团聚体的形成, 为细菌类群的繁殖提供更有利的环境。最后, 可能由于蚯蚓肠内几种特有的酶对土壤中敏感的细菌类群有抑制作用, 所以蚯蚓的加入导致土壤细菌种类减少 (Tiunov et al. 2000, Scheu et al. 2002)。前人关于蚯蚓对土壤微生物丰度影响的研究曾得出过不同结论, 有的认为蚯蚓会减少土壤微生物数量

(Butenschoen et al. 2007, Pawlett et al. 2009), 有的认为蚯蚓会增加土壤微生物数量 (Enami et al. 2001), 得出不同结论可能与培养时间长短有关 (Gomez-Brandon et al. 2010)。今后的研究可增加更多时间点进行分析, 观察蚯蚓对土壤细菌群落结构的影响随着培养时间的推进会如何发生变化。

参 考 文 献

- Aira M, Olcina J, Perez-Losada M, et al. 2016. Characterization of the bacterial communities of casts from *Eisenia andrei* fed with different substrates. *Applied Soil Ecology*, 98: 103–111.
- Aira M, Sampedro L, Monroy F, et al. 2008. Detritivorous earthworms directly modify the structure, thus altering the functioning of a microdecomposer food web. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(10): 2511–2516.
- Aislabie J, Deslippe J R. 2013. Soil microbes and their contribution to soil services // Dymond J R. *Ecosystem services in New Zealand*

- conditions and trends. Lincoln: Manaaki Whenua Press, 143–161.
- Bainard L D, Hamel C, Gan Y T. 2016. Edaphic properties override the influence of crops on the composition of the soil bacterial community in a semiarid agro-ecosystem. *Applied Soil Ecology*, 105: 160–168.
- Basker A, Macerregor A N, Kirkman J A. 1992. Influence of soil ingestion by earthworms and the availability in soil: An incubation experiment. *Biology and Fertility of Soils*, 14(4): 300–303.
- Brown G G, Barois I, Lavelle P. 2000. Regulation of soil organic matter dynamics and microbial activity in the drilosphere and the role of interactions with other edaphic functional domains. *European Journal of Soil Biology*, 36(3/4): 177–198.
- Butenschoen O, Poll C, Langel R, et al. 2007. Endogeic earthworms alter carbon translocation by fungi at the soil-litter interface. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(11): 2854–2864.
- Chang C H, Szlavecz K, Buyer J S. 2016. Species-specific effects of earthworms on microbial communities and the fate of litter-derived carbon. *Soil Biology and Biochemistry*, 100: 129–139.
- Chávez-Romero Y, Navarro-Noya Y E, Reynoso-Martínez S C, et al. 2016. 16S metagenomics reveals changes in the soil bacterial community driven by soil organic C, N-fertilizer and tillage-crop residue management. *Soil and Tillage Research*, 159: 1–8.
- Cottrell M T, Kirchman D L. 2000. Natural assemblages of marine *Proteobacteria* and members of *Cytophaga-Flavobacter* cluster consuming low- and high-molecular-weight dissolved organic matter. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(4): 1692–1697.
- Daane L L, Molina J A E, Sadowsky M J. 1997. Plasmid transfer between spatially separated donor and recipient bacteria in earthworm-containing soil microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(2): 679–686.
- Davey K E, Kirby R R, Turley C M, et al. 2001. Depth variation of bacterial extracellular enzyme activity and population diversity in the northeastern North Atlantic Ocean. *Deep-Sea Research Part II*, 48(4): 1003–1017.
- Dominati E, Patterson M, Mackay A. 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics*, 69(9): 1858–1868.
- Dominguez J, Aira M, Gomez-Brandon M. 2009. Vermicomposting: earthworms enhance the work of microbes // Insam H, Franke-Whittle I, Goberna M. *Microbes at Work: from Wastes to Resources*. Berlin Heidelberg: Springer, 93–114.
- Drake H L, Horn M A. 2007. As the worm turns: the earthworm gut as a transient habitat for soil microbial biomes. *Annual Review of Microbiology*, 61(61): 169–189.
- Edgar R C. 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST. *Bioinformatics*, 26(19): 2460–2461.
- Edgar R C, Haas B J, Clemente J C, et al. 2011. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 27(16): 2194–2200.
- Edwards C A. 2004. *Earthworm Ecology*. 2nd ed. London: CRC Press, 312–312.
- Enami Y, Okano S, Yada H, et al. 2001. Influence of earthworm activity and rice straw application on the soil microbial community structure analyzed by PLFA pattern. *European Journal of Soil Biology*, 37(4): 269–272.
- Gomez-Brandon M, Lazcano C, Lores M, et al. 2010. Detritivorous earthworms modify microbial community structure and accelerate plant residue decomposition. *Applied Soil Ecology*, 44(3): 237–244.
- Haichar F Z, Achouak W, Christen R, et al. 2007. Identification of cellulolytic bacteria in soil by stable isotope probing. *Environmental Microbiology*, 9(3): 625–634.
- Hendriksen N B. 1995. Effects of detritivore earthworms on dispersal and survival of the bacterium *Aeromonashydrophilo*. *Acta Zoologica Fennica*, 196: 115–119.
- Knapp B A, Podmirseg S M, Seeber J, et al. 2009. Diet-related composition of the gut microbiota of *Lumbricus rubellus* as revealed by a molecular fingerprinting technique and cloning. *Soil Biology and Biochemistry*, 41(41): 2299–2307.
- Lavelle P, Spain A V. 2001. *Soil Ecology*. London: Kluwer Academic Publishers.
- Lee S H, Park J H, Kang H J, et al. 2013. Distribution and abundance of *Spirochaetes* in full-scale anaerobic digesters. *Bioresource Technology*, 145(4): 25–32.

- Lin J L, Radajewski S, Eshinimaev B T, et al. 2004. Molecular diversity of methanotrophs in Transbaikalian soda lake sediments and identification of potentially active populations by stable isotope probing. *Environmental Microbiology*, 6(10): 1049–1060.
- Magoc T, Salzberg S. 2011. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 27(21): 2957–2963.
- Morris S A, Radajewski S, Willson T W, et al. 2002. Identification of the functionally active methanotroph population in a peat soil microcosm by stable isotope probing. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(3): 1446–1453.
- Mummey D L, Rillig M C, Six J. 2006. Endogeic earthworms differentially influence bacterial communities associated with different soil aggregate size fractions. *Soil Biology and Biochemistry*, 38(7): 1608–1614.
- Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini M T, et al. 2003. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*, 54(4): 655–670.
- Pascual N, Ranjard L, Kaisermann A, et al. 2013. Stimulation of different functional groups of bacteria by various plant residues as a driver of soil priming effect. *Ecosystems*, 16(5): 810–822.
- Paul E A, Clark F E. 1989. *Soil Microbiology and Biochemistry*. San Diego: Academic Press, 11–32.
- Pawlett M, Hopkins D W, Moffett B F, et al. 2009. The effect of earthworms and liming on soil microbial communities. *Biology and Fertility of Soils*, 45(4): 361–369.
- Scheu S, Schlitt N, Tiunov A V, et al. 2002. Effects of the presence and community composition of earthworms on microbial community functioning. *Oecologia*, 133(2): 254–260.
- Schloss P D, Westcott S L, Ryabin T, et al. 2009. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology*, 75(23): 7537–7541.
- Schmid M C, Maas B, Dapena A, et al. 2005. Biomarkers for the in situ detection of anaerobic ammonium-oxidizing (anammox) bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(4): 1677–1684.
- Six J, Bossuyt H, Degryze S, et al. 2004. A history of research on the link between microaggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. *Soil and Tillage Research*, 79(1): 7–31.
- Sun L, Xun W B, Huang T, et al. 2016. Alteration of the soil bacterial community during parent material maturation driven by different fertilization treatments. *Soil Biology and Biochemistry*, 96: 207–215.
- Thakuria D, Schmidt O, Finan D, et al. 2010. Gut wall bacteria of earthworms: A natural selection process. *The ISME Journal*, 4(3): 357–366.
- Tiunov A V, Scheu S. 2000. Microfungal communities in soil, litter and casts of *Lumbricus terrestris* L. (*Lumbricidae*): A laboratory experiment. *Applied Soil Ecology*, 14(1): 17–26.
- Vivas A, Moreno B, García-Rodríguez S, et al. 2009. Assessing the impact of composting and vermicomposting on bacterial community size and structure, and microbial functional diversity of an olive-mill waste. *Bioresource Technology*, 100(3): 1319–1326.
- Williams A P, Roberts P, Avery L M, et al. 2006. Earthworms as vectors of *Escherichia coli* O157: H7 in soil and vermicomposts. *FEMS Microbiology Ecology*, 58(1): 54–64.
- Wust P K, Horn M A, Drake H L. 2011. Clostridiaceae and Enterobacteriaceae as active fermenters in earthworm gut content. *The ISME Journal*, 5(1): 92–106.
- Yousuf B, Keshri J, Mishra A, et al. 2012. Application of targeted metagenomics to explore abundance and diversity of CO₂-fixing bacterial community using *cbbL* gene from the rhizosphere of *Arachis hypogaea*. *Gene*, 506(1): 18–24.
- 蒋绍妍, 王文星, 薛向欣, 等. 2015. 利用 PCR-DGGE 分析茂名油页岩矿区土壤细菌群落组成. *中南大学学报: 自然科学版*, 46(12): 4119–4724.
- 李庆岗, 陶立. 2012. 高通量测序技术及其在生命科学中的应用. *畜牧与饲料科学*, 33(2): 25–28.
- 林燕, 张焕杰, 刘曦, 等. 2016. 固定反硝化菌强化人工湿地处理低污染水研究. *农业环境科学学报*, 35(11): 2154–2162.
- 秦楠, 栗东芳, 杨瑞馥. 2011. 高通量测序技术及其在微生物学研究中的应用. *微生物学报*, 51(4): 445–457.
- 陶军. 2009. 蚯蚓活动对农田土壤生物种群数量和群落结构的影

- 响. 南京: 南京农业大学博士学位论文.
- 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 2016. 土壤酸杆菌门生态学研究进展. 生物技术通报, 32(2): 14-20.
- 夏围围, 贾仲君. 2014. 高通量测序和DGGE分析土壤微生物群落的技术评价. 微生物学报, 54(12): 1489-1499.
- 杨宁, 邹冬生, 付美云, 等. 2016. 紫色土丘陵坡地恢复中土壤团聚体特征及其与土壤性质的关系. 生态学杂志, 35(9): 2361-2368.