

引用格式:

李晓冰, 方来杉, 陈洪博, 吴琼, 尹会方, 林秀娇, 李焰. DNA 条形码技术在蛇类鉴别中的应用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2024, 50(3): 35–40.

LI X B, FANG L S, CHEN H B, WU Q, YIN H F, LIN X J, LI Y. Application of DNA barcoding in the identification of snake[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2024, 50(3): 35–40.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## DNA 条形码技术在蛇类鉴别中的应用

李晓冰<sup>1,3</sup>, 方来杉<sup>2</sup>, 陈洪博<sup>1,3</sup>, 吴琼<sup>1,3</sup>, 尹会方<sup>1,3</sup>, 林秀娇<sup>1,3</sup>, 李焰<sup>1,3\*</sup>

(1.龙岩学院生命科学学院, 福建 龙岩 364012; 2.福建省南平市延平区农业农村局, 福建 南平 353099; 3.福建省预防兽医学与兽医生物技术重点实验室, 福建 龙岩 364012)

**摘要:** 从 NCBI 中 GenBank 数据库下载蛇类细胞色素 b 基因(*Cytb*)序列 7 329 条, 以 MT765098.1 序列为标准进行对比和修剪, 获得蛇类 *Cytb* 序列 4 665 条。对蛇类 *Cytb* 序列进行核苷酸饱和度、遗传多样性、种内和种间遗传距离计算, 构建系统发育树。结果表明, 基于 Kimura-2-Parameter 模型, 蛇类平均种内遗传距离为 3.3%, 普遍小于 6.7%, 而平均种间遗传距离为 19.96%, 普遍高于 9.3%, 说明蛇类物种间遗传距离存在较大差异。根据蛇类物种间遗传距离, 识别出蛇类 23 个物种的亚种, *Pareas* 和 *Hydrophis* 属物种含有复合体, *Atractus dunni*、*A. iridescen* 和 *A. occidentali* 互为姐妹物种。

**关键词:** 蛇; 细胞色素 b 基因; DNA 条形码; 遗传距离

中图分类号: Q789

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2024)03-0035-06

## Application of DNA barcoding in the identification of snake

LI Xiaobing<sup>1,3</sup>, FANG Laishan<sup>2</sup>, CHEN Hongbo<sup>1,3</sup>, WU Qiong<sup>1,3</sup>, YIN Huifang<sup>1,3</sup>, LIN Xiujiiao<sup>1,3</sup>, LI Yan<sup>1,3\*</sup>

(1.College of Life Science, Longyan University, Longyan, Fujian 364012, China; 2.Agricultural and Rural Bureau of Yanping District, Nanping, Fujian 353099, China; 3.Fujian Provincial Key Laboratory for the Prevention and Control of Animal Infectious Diseases and Biotechnology, Longyan, Fujian 364012, China)

**Abstract:** 7 329 sequences of snake cytochrome b gene(*Cytb*) were downloaded from GenBank database of NCBI and compared and pruned according to MT765098.1 sequence. We obtained 4 665 snake *Cytb* sequences, and calculated the nucleotide saturation, genetic diversity, and intraspecific and interspecific genetic distance of *Cytb* sequences to construct phylogenetic trees. The results showed that, based on Kimura 2-Parameter model, the average intraspecific genetic distance of snakes was 3.3% and generally less than 6.7%. The average interspecific genetic distance is 19.96%, which is generally higher than 9.3%, indicating that there are great differences in genetic distance between species of snakes. According to the genetic distance between species, 23 subspecies of snakes were identified. *Pareas* and *Hydrophis* contain composites, and *Atractus dunni*, *A. iridescen* and *A. occidentali* are sister species.

**Keywords:** snake; cytochrome gene(*Cytb*); DNA barcoding; genetic distance

蛇类种类多、分布广, 是生物多样性的重要组成部分, 蛇类的分类和物种鉴定是其多样性保护的基础<sup>[1]</sup>。

蛇类的物种鉴定主要依赖形态学鉴定, 但根据形态学对蛇类的分类和鉴定面临一些难题: 蛇类的物种多, 有些物种体型较小, 不同物种之间形态差

异小; 个体标本保存不善, 某些蛇类的药品加工制品已失去蛇类原有形状; 此外, 生活环境的变化也影响物种的体型和肤色等外部形态<sup>[2-4]</sup>; 因此, 蛇类物种很难完全通过形态学进行鉴定。

2003年, 加拿大科学家HEBERT等首次提出了利用DNA片段对物种进行快速、准确的识别和鉴

收稿日期: 2023-06-12

修回日期: 2024-03-05

基金项目: 龙岩学院博士启动项目(LB2022009)

作者简介: 李晓冰(1993—), 男, 福建漳州人, 博士, 讲师, 主要从事生物信息学、物种遗传进化和动物病原学研究, 924464270@qq.com; \*通信作者, 李焰, 硕士, 教授, 主要从事动物营养与饲料添加剂研究, 529783204@qq.com

定, 该方法被称为 DNA 条形码技术 (DNA barcode)<sup>[5]</sup>。研究<sup>[5-6]</sup>表明, 物种之间细胞色素C氧化酶I(COI)基因和细胞色素b(Cytb)基因的差异较大。种内和种间Cytb遗传距离的较大差距是稳定的。COI基因和Cytb基因已被广泛证明其在啮齿动物和鱼类种内遗传距离小于种间遗传距离<sup>[6]</sup>。根据Cytb种内遗传距离小于种间遗传距离原则, 发现1 303个潜在有问题鱼类Cytb序列<sup>[6-8]</sup>。DNA条形码技术已经运用于已知药用蛇类的鉴定<sup>[9-11]</sup>。

笔者下载NCBI数据库中的蛇类Cytb基因序列, 计算其种内和种间的遗传距离, 验证蛇类种间遗传距离超过种内遗传距离, 证明DNA条形码技术可以用于蛇类物种鉴定和分类。

## 1 材料与方法

从 NCBI(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide>)数据库下载蛇的细胞色素b基因(Cytb)序列。由于蛇类Cytb序列并不完整, 长度不一, 因而在计算序列遗传距离之前, 采用以下修剪步骤对这些序列进行标准化<sup>[6]</sup>: ①删除下载数据集中较短的Cytb序列;

②使用 MAFFT 对序列进行比对<sup>[12]</sup>, 平衡Cytb基因长度与蛇类物种数量, 来获得最大数量蛇Cytb的同源序列, 用于下游分析。

DAMBE<sup>[13]</sup>用于检测修剪后数据集的核苷酸碱基替换饱和度。利用 MEGA 6.0<sup>[14]</sup>的Kimura-2-Parameter(K2P)模型计算蛇类Cytb序列遗传距离, 以邻接法(NJ)构建系统发育树, 设置bootstrap 分析1 000次重复, 以检测分支的可靠性。

## 2 结果与分析

### 2.1 蛇类 Cytb 的序列

从 NCBI 中 GenBank 数据库下载蛇类 Cytb 序列 7 329 条。以 MT765098.1 序列为标准进行对比和修剪, 最终获得蛇类 Cytb 序列 4 665 条, 序列位置为 70~780 bp, 长度为 711 bp。运用 DAMBE 软件对修剪后 Cytb 序列的核苷酸替换饱和性进行分析, 结果(表 1)显示 Iss 值显著低于 Iss.c 值( $P=0$ ), 表明碱基替换不饱和, 所用序列可用于后续物种间遗传距离分析。

表 1 蛇类 Cytb 序列的替换饱和度

Table 1 Substitution saturation of Cytb sequences of snakes

NumOTU	Iss	Iss.cSym	$T_s$	$DF_s$	$P_s$	Iss.cAsym	$T_A$	$DF_A$	$P_A$
4	0.283	0.808	28.318	710	0.000 0	0.777	26.642	710	0.000 0
8	0.291	0.770	23.464	710	0.000 0	0.661	18.120	710	0.000 0
16	0.287	0.750	22.148	710	0.000 0	0.542	12.184	710	0.000 0
32	0.290	0.724	20.519	710	0.000 0	0.400	5.213	710	0.000 0

### 2.2 蛇类物种间的遗传距离

采用 MEGA6 中 K2P 距离模型, 计算蛇类种内和种间的遗传距离, 结果显示, 蛇类种内平均遗传

距离为 3.3%, 普遍低于 6.7%(图 1-A)。相比之下, 种间平均遗传距离为 19.96%, 普遍高于 9.3%(图 1-B)。

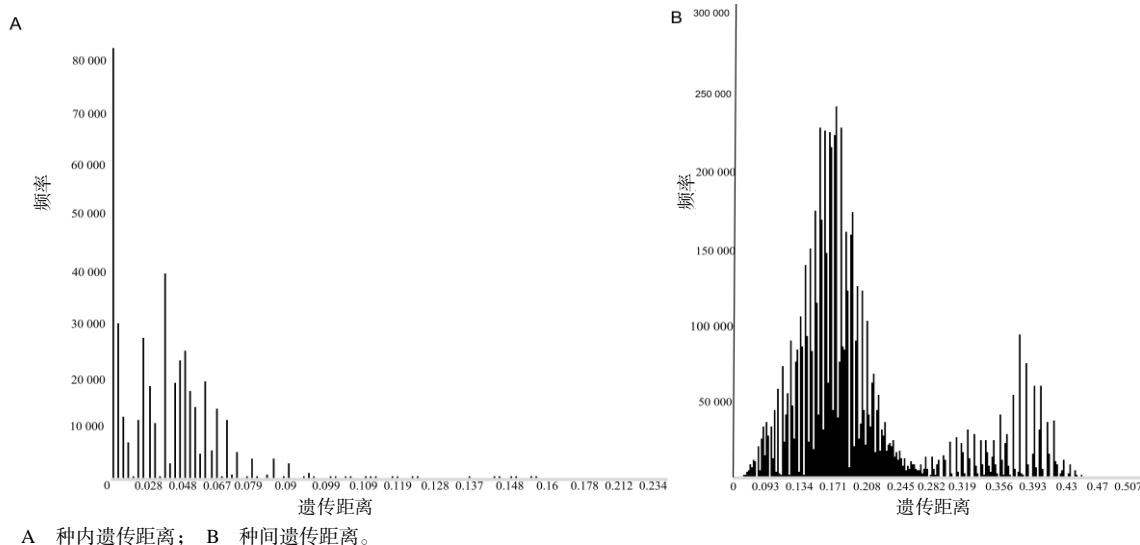


图 1 基于 Cytb 序列的蛇类种内和种间的遗传距离

Fig. 1 Intraspecific and interspecific genetic distance of Cytb gene in snakes

2.3 蛇类异常种内的遗传距离

对蛇类种内的遗传距离进行统计,发现含有亚种的物种种内的遗传距离范围高于 3.3%(表 2),例如,丽纹亚利桑那蛇(*Arizona elegans*)、食蜈蚣蛇(*Aparallactus capensis*)、静食蜈蚣蛇(*Aparallactus modestus*)和 *Eirenis persicus* 亚种之间的遗传距离分别为 0~10.0%、0~23.8%、0~13.8%、0~12.7%。其中,食蜈蚣蛇(*Aparallactus capensis*)亚种之间遗传距离高于平均种间遗传距离(19.96%)。

蛇类物种分类学处于不断变化的状态,进而使分布广泛的物种复合体和分类学地位不明的物种的种内遗传距离存在较大的差异。钝头蛇属(*Pareas*)和海蛇属(*Hydrophis*)存在复合体,台湾钝头蛇(*Pareas formosensis*)和平颏海蛇(*Hydrophis curtus*)种内的遗传距离分别 0~18.5%、0~10.0%,高于 3.3%,甚至高于 6.7%。进一步说明了复合体加大了物种内的遗传距离。

表 2 存在亚种的蛇类种内的遗传距离

Table 2 Intraspecific genetic distance of snakes with subspecies		
物种	亚种	种内遗传距离/%
丽纹亚利桑那蛇( <i>Arizona elegans</i> )	<i>Arizona elegans arenicola</i>	0~10.0
	<i>Arizona elegans candida</i>	
	<i>Arizona elegans eburnata</i>	
	<i>Arizona elegans elegans</i>	
	<i>Arizona elegans expolita</i>	
	<i>Arizona elegans noctivaga</i>	
	<i>Arizona elegans occidentalis</i>	
	<i>Arizona elegans philipi</i>	
食蜈蚣蛇( <i>Aparallactus capensis</i> )	<i>Aparallactus capensis capensis</i>	0~23.8
	<i>Aparallactus capensis punctatolineatus</i>	
静食蜈蚣蛇( <i>Aparallactus modestus</i> )	<i>Aparallactus modestus modestus</i>	0~13.8
	<i>Aparallactus modestus ubangensis</i>	
拟盾蛇( <i>Aspidomorphus muelleri</i> )	<i>Aspidomorphus muelleri interruptus</i>	0~12.2
	<i>Aspidomorphus muelleri lineatus</i>	
	<i>Aspidomorphus muelleri muelleri</i>	
非洲屋蛇( <i>Boaedon fuliginosus</i> )	<i>Boaedon fuliginosus mentalis</i>	0~7.8
<i>Diadophis punctatus</i>	<i>Diadophis punctatus amabilis</i>	0~13.4
	<i>Diadophis punctatus modestus</i>	
	<i>Diadophis punctatus occidentalis</i>	
	<i>Diadophis punctatus pulchellus</i>	
	<i>Diadophis punctatus punctatus</i>	
	<i>Diadophis punctatus regalis</i>	
	<i>Diadophis punctatus similis</i>	
	<i>Diadophis punctatus vandenburgii</i>	
杜贝利亚蛇( <i>Duberria lutrix</i> )	<i>Duberria lutrix lutrix</i>	0~9.0
<i>Eirenis persicus</i>	<i>Eirenis persicus nigrofasciatus</i>	0~12.7
淡灰海蛇( <i>Hydrophis ornatus</i> )	<i>Hydrophis ornatus godeffroyi</i>	0~4.3
	<i>Hydrophis ornatus maresinensis</i>	
	<i>Hydrophis ornatus ornatus</i>	
钝头树蛇( <i>Imantodes cenchoa</i> )	<i>Imantodes cenchoa cenchoa</i>	0~13.7
	<i>Imantodes cenchoa leucomelas</i>	
	<i>Imantodes cenchoa leucomeles</i>	
	<i>Imantodes cenchoa semifasciatus</i>	
非洲家蛇( <i>Lamprophis fuliginosus</i> )	<i>Lamprophis fuliginosus fuliginosus</i>	0~9.0
	<i>Lamprophis fuliginosus lineatus</i>	
	<i>Lamprophis fuliginosus virgatus</i>	
蒙彼利埃蛇 ( <i>Malpolon monspessulanus</i> )	<i>Malpolon monspessulanus insignitus</i>	3.8~12.5
水游蛇( <i>Natrix natrix</i> )	<i>Natrix natrix astreptophora</i>	0~6.3
	<i>Natrix natrix cetti</i>	
	<i>Natrix natrix helvetica</i>	
	<i>Natrix natrix natrix</i>	
	<i>Natrix natrix persa</i>	
	<i>Natrix natrix schweizeri</i>	
	<i>Natrix natrix sicala</i>	

表 2(续)

物种	亚种	种内遗传距离/%
棋斑水游蛇( <i>Natrix tessellata</i> )	<i>Natrix tessellata hydrus</i> <i>Natrix tessellata tessellata</i>	0~9.4
<i>Ophisops elegans</i>	<i>Ophisops elegans basoglui</i> <i>Ophisops elegans blanfordi</i> <i>Ophisops elegans budakibarani</i> <i>Ophisops elegans centralanatoliae</i> <i>Ophisops elegans ehrenbergerii</i> <i>Ophisops elegans elegans</i> <i>Ophisops elegans macrodactylus</i> <i>Ophisops elegans persicus</i> <i>Ophisops elegans schlueteri</i>	4.2~12.6
大平原鼠蛇( <i>Pantherophis emoryi</i> )	<i>Pantherophis emoryi emoryi</i> <i>Pantherophis emoryi meahllmorum</i> <i>Pantherophis emoryi slowinskii</i>	0~6.8
棱鳞钝头蛇( <i>Pareas carinatus</i> )	<i>Pareas carinatus carinatus</i> <i>Pareas carinatus tenasserimicus</i>	0~12.2
领草地蛇( <i>Polemon collaris</i> )	<i>Polemon collaris brevior</i> <i>Polemon collaris collaris</i> <i>Polemon collaris longior</i>	0.5~12.5
<i>Pseustes poecilonotus</i>	<i>Pseustes poecilonotus chrysobranchus</i> <i>Pseustes poecilonotus chrysobronchus</i> <i>Pseustes poecilonotus lyoni</i> <i>Pseustes poecilonotus poecilonotus</i> <i>Pseustes poecilonotus polylepis</i> <i>Pseustes poecilonotus shropshirei</i>	0~11.1
<i>Rhinichthys osculus</i>	<i>Rhinichthys osculus thermalis</i>	0~11.0
北美绿锦蛇( <i>Senticolis triaspis</i> )	<i>Senticolis triaspis mutabilis</i> <i>Senticolis triaspis triaspis</i>	4.7~12.0
黑领剑蛇( <i>Sibynophis collaris</i> )	<i>Sibynophis collaris chinensis</i> <i>Sibynophis collaris collaris</i>	0~12.8
中华珊瑚蛇( <i>Sinomicrurus maclellandi</i> )	<i>Sinomicrurus maclellandi maclellandi</i> <i>Sinomicrurus maclellandi nigriventer</i> <i>Sinomicrurus maclellandi univirgatus</i>	0~11.6

进一步分析蛇类物种的遗传距离, 结果显示, 除了已知含有亚种和复合体的物种种内遗传距离差异较大外, 还发现其他物种种内遗传距离范围大于 6.7%(表 3), 例如, *Atractus trilineatus* 种内的遗传距离为 0~14.3%; *Lamprophis guttatus* 种内遗传距离为 0~11.5%; *Lamprophis inornatus* 种内遗传距离为 0~11.6%; 鸚鵡蛇(*Leptophis depressirostris*)种

内遗传距离为 0.5%~21.9%; *Toxicocalamus holopelturus* 种内遗传距离为 0~12.8%, 说明这些物种可能存在未被发现的亚种或者复合体, 也有可能序列命名有误等。

2.4 蛇类异常种间的遗传距离

蛇类种间的遗传距离在种内遗传距离范围内, 如纳米比亚沙蛇(*Psammophis namibensis*)是雷氏花條蛇(*P. leightoni*)的变种, 它们之间的遗传距离为 0; 魯瓦花條蛇(*Psammophis rukwae*)、非洲花條蛇(*Psammophis Sibilans*)和 *P. afroccidentalis* 的种间遗传距离为 0~6.7%; 菲律賓花条蛇(*P. phillipsii*)与橄欖草蛇(*P. mossambicus*)的种间遗传距离为 0.9%~3.3%。除此之外, 分析蛇类物种间的遗传距离, 发现姐妹群物种之间聚集在一起(图 2)。例如, *Atractus dunni*、*A. iridescen* 和西方箭蛇(*A. occidentali*)互为姐妹群, 其种间遗传距离为 0~6.8%, 在种内遗传距离范围内。

表 3 较大蛇类种内遗传距离

Table 3 Larger intraspecific genetic distance of snakes	
物种	种内遗传距离/%
<i>Atractus trilineatus</i>	0~14.3
<i>Lamprophis guttatus</i>	0~11.5
<i>Lamprophis inornatus</i>	0~11.6
鸚鵡蛇( <i>Leptophis depressirostris</i> )	0.5~21.9
黄斑后棱蛇	12.0
<i>Toxicocalamus holopelturus</i>	0~12.8
<i>Letheobia feae</i>	5.0~10.5
<i>Pseudoferania polylepiss</i>	6.2~11.5
毒伊蛇( <i>Toxicocalamus loriae</i> )	0~20.2
欧洲盲蛇( <i>Xerotyphlops vermicularis</i> )	0~12.5

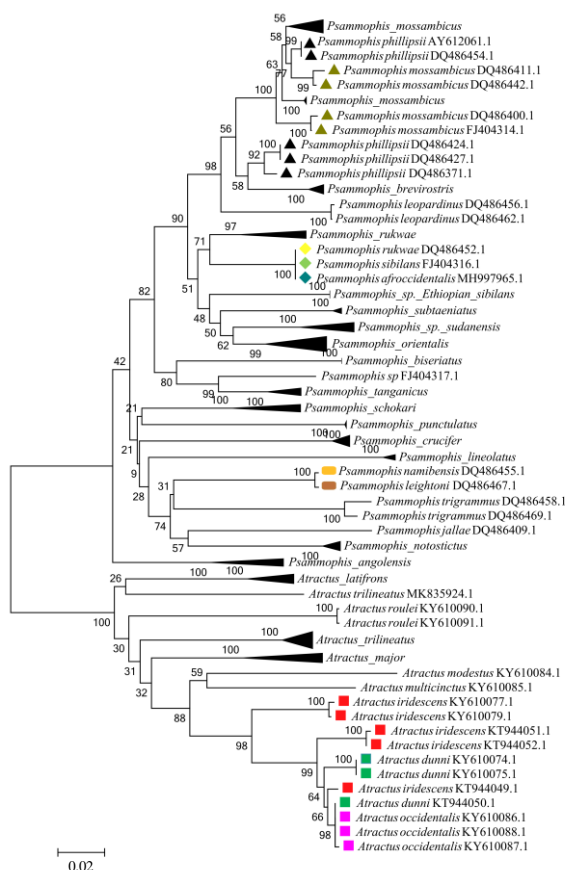


图 2 *Atractus* 和 *Psammophis* 属基于 *Cytb* 序列的系统进化树

Fig.2 Molecular phylogenetic tree of *Atractus* and *Psammophis* based on *Cytb* gene sequences using NJ methods

### 3 结论与讨论

对 NCBI 数据库中蛇类 *Cytb* 基因进行物种鉴定, 结果表明, 蛇类物种种间遗传距离存在差异, 且种内遗传距离远小于种间遗传距离。说明 DNA 条形码可以有效运用于蛇类物种的鉴定。

DNA 条形码可以识别出潜在亚种和复合体。例如含有复合体和亚种的鱼类种内遗传距离为 0~14.5%, 高于种内遗传距离 1%<sup>[6]</sup>。本研究显示, 含有亚种的蛇类的种内遗传距离存在较大的差异, 表明亚种的存在使得物种种内遗传距离增大。*Pareas* 和 *Hydrophis* 属物种包含复合体<sup>[15-16]</sup>, 其物种种内遗传距离增大。说明 DNA 条形码可以有效鉴定出蛇类中的亚种和复合体, 进而有助于发现新的物种, 但是, DNA 条形码技术严重依赖于数据库的物种覆盖度和准确性, 若蛇类数据库不全, 会导致蛇类样本与数据库的标准样本比对存在差异, 有被错误鉴定的风险。另外, 蛇类物种及其近缘种往往呈世界性分布, 较难做到大多数物种及其近缘种

取样完全, 这成为 DNA 条形码技术在蛇类物种鉴定中的限制因素, 因而对于那些种内遗传距离较大的蛇类物种, 有必要进行更细致的分类学研究。

在一些相近同属的蛇类物种中, 其种间的遗传距离差异较小, 如 *Atractus dunni*、*Atractus iridescens* 和 *Atractus occidentalis* 互为姐妹群<sup>[17]</sup>, 其种间遗传距离较近, 为 0~6.8%, 这与 TAVARES 等<sup>[18]</sup>研究相一致, 即姐妹物种种间遗传距离较近; 因此, DNA 条形码对一些亲缘较近的蛇类的鉴定, 其物种间遗传距离阈值的设定<sup>[19]</sup>需要采集更多数据。

### 参考文献:

- [1] 李丕鹏, 王维胜, 吕晓平. 中国蛇类保护和利用概述: 历史, 现状和未来[J]. 沈阳师范大学学报(自然科学版), 2013, 31(2): 129-135.
- [2] BLAXTER J H S. I pattern and variety in development[J]. Fish Physiology, 1988, 11: 1-58.
- [3] WILKENS H, STRECKER U. Convergent evolution of the cavefish *Astyanax*(Characidae, Teleostei): genetic evidence from reduced eye-size and pigmentation[J]. Biological Journal of the Linnean Society, 2003, 80(4): 545-554.
- [4] 黄勇, 张月云, 赵成坚, 等. DNA 条形码技术在常见中药材蛇类鉴别中的应用[J]. 中国中药杂志, 2015, 40(5): 868-874.
- [5] HEBERT P D N, CYWINSKA A, BALL S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes. Proc R Soc Lond Ser B Biol Sci[J]. Proceedings Biological Sciences, 2003, 270: 313-321.
- [6] LI X B, SHEN X J, CHEN X, et al. Detection of Potential Problematic *Cytb* gene sequences of fishes in GenBank[J]. Frontiers in Genetics, 2018, 9: 30.
- [7] KARTAVTSEV Y P. Divergence at Cyt-b and Co-1 mtDNA genes on different taxonomic levels and genetics of speciation in animals[J]. Mitochondrial DNA, 2011, 22(3): 55-65.
- [8] NICOLAS V, SCHAEFFER B, MISSOUP A D, et al. Assessment of three mitochondrial genes(16S, Cytb, CO1) for Identifying Species in the Praomysini Tribe(Rodentia: Muridae)[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e36586.
- [9] 荆礼, 苏航, 睢博文, 等. DNA 条形码分子鉴定在动物药中的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2018, 43(23): 4587-4591.
- [10] 洗乐尧, 罗宇琴, 宋叶, 等. 药用蛇及其水提物的 DNA 微型条形码鉴别研究[J]. 中药材, 2024, 47(1): 51-56.
- [11] 崔丽娜, 杜鹤, 张辉, 等. 基于 COI 条形码序列的金钱白花蛇及其混伪品的 DNA 分子鉴定[J]. 世界科学技术(中医药现代化), 2011, 13(2): 424-428.

- [12] KATOH K, TOH H. Parallelization of the MAFFT multiple sequence alignment program[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(15): 1899–1900.
- [13] XIA X, XIE Z. DAMBE: software package for data analysis in molecular biology and evolution[J]. *The Journal of Heredity*, 2001, 92(4): 371–373.
- [14] TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2013, 30(12): 2725–2729.
- [15] LIU S, RAO D Q. A new species of the genus *Pareas* (Squamata, Pareidae) from Yunnan, China[J]. *ZooKeys*, 2021, 1011: 121–138.
- [16] TAN C H, TAN K Y, NG T S, et al. Venom proteome of spine-bellied sea snake(*Hydrophis curtus*) from Penang, Malaysia: toxicity correlation, immunoprofiling and cross-neutralization by sea snake antivenom[J]. *Toxins*, 2018, 11(1): 3.
- [17] ARTEAGA A, MEBERT K, VALENCIA J H, et al. Molecular phylogeny of *Atractus*(Serpentes, Dipsadidae), with emphasis on Ecuadorian species and the description of three new taxa[J]. *ZooKeys*, 2017(661): 91–123.
- [18] TAVARES E S, BAKER A J. Single mitochondrial gene barcodes reliably identify sister-species in diverse clades of birds[J]. *Bmc Evolutionary Biology*, 2008, 8: 1–81.
- [19] 邓立彬, 汤晓丽, 邵建明, 等. 江西 7 种蛇类基于 16S rRNA 基因的 DNA 条形码构建[J]. *南昌大学学报(理科版)*, 2011, 35(1): 95–102.
- 责任编辑: 罗慧敏  
英文编辑: 罗 维

(上接第 26 页)

- [28] 崔月贞, 吴玉红, 郝兴顺, 等. 汉中盆地水稻产量和土壤微生物对新型肥料的响应[J]. *西南农业学报*, 2019, 32(11): 2592–2599.
- [29] 赵轻舟, 王艳芬, 崔晓勇, 等. 草地土壤微生物多样性影响因素研究进展[J]. *生态科学*, 2018, 37(3): 204–212.
- [30] ANDREOTE F D, DE CÁSSIA PEREIRA E SILVA M. Microbial communities associated with plants: learning from nature to apply it in agriculture[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 37: 29–34.
- [31] GHOSH A, BHATTACHARYYA R, DWIVEDI B S, et al. Temperature sensitivity of soil organic carbon decomposition as affected by long-term fertilization under a soybean based cropping system in a sub-tropical Alfisol[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2016, 233: 202–213.
- [32] ZHENG J F, CHEN J H, PAN G X, et al. A long-term hybrid poplar plantation on cropland reduces soil organic carbon mineralization and shifts microbial community abundance and composition[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 111: 94–104.
- [33] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. *生物技术通报*, 2016, 32(2): 14–20.
- [34] DELGADO-BAQUERIZO M, TRIVEDI P, TRIVEDI C, et al. Microbial richness and composition independently drive soil multifunctionality[J]. *Functional Ecology*, 2017, 31: 2330–2343.
- [35] DINCĂ L C, GRENNI P, ONET C, et al. Fertilization and soil microbial community: a review[J]. *Applied Sciences*, 2022, 12(3): 1198.
- 责任编辑: 毛友纯  
英文编辑: 柳 正