

DOI: 10.5846/stxb201710251914

万盼, 胡艳波, 张弓乔, 王宏翔, 李录林, 王鹏, 惠刚盈. 甘肃小陇山油松与柴胡栽培土壤细菌群落特征. 生态学报, 2018, 38(17): - .
Wan P, Hu Y B, Zhang G Q, Wang H X, Li L L, Wang P, Hui G Y. Soil bacterial communities under *Pinus tabulaeformis* Carr. and *Bupleurum chinense* plantations at Xiaolongshan Mountain of Gansu Province. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(17): - .

甘肃小陇山油松与柴胡栽培土壤细菌群落特征

万 盼¹, 胡艳波¹, 张弓乔¹, 王宏翔¹, 李录林², 王 鹏², 惠刚盈^{1,*}

1. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091

2. 甘肃省小陇山林业实验局林业科学研究所, 天水 741020

摘要: 土壤细菌能够有效促进土壤中物质循环和能量流动, 其群落组成、数量及多样性能够反映土壤质量状况。研究不同植被对土壤细菌群落结构和多样性的影响, 有助于深入了解土壤健康状况, 对实现植被管理和土地可持续利用具有重要意义。以甘肃小陇山移栽至耕地(耕地前期种植柴胡)后生长 4 年的人工油松苗(*Pinus tabulaeformis* Carr) 土地和长期种植柴胡(*Bupleurum chinense*) 土地的表层土壤(0—30 cm) 为对象, 采用 Illumina Miseq 高通量测序技术对 2 种人工植被下土壤细菌群落进行测定, 分析了土壤细菌的 Alpha 多样性、群落组成和丰富度, 并研究土壤化学性质对细菌群落结构的影响。结果表明: 1) 两种不同植被的土壤细菌群落丰度和多样性无明显差异, 但油松地土壤细菌群落均匀度明显小于柴胡地土壤。2) 所测土壤样品中共检测到细菌的 37 个门, 84 个纲, 168 个目; 其中, 主要的优势菌门为变形菌门(Proteobacteria), 酸杆菌门(Acidobacteria), 绿弯菌门(Chloroflexi), 浮霉菌门(Planctomycetes), 放线菌门(Actinobacteria), 且油松地土壤中的变形菌门(Proteobacteria) 的丰富度显著低于柴胡地土壤($P < 0.05$), 绿弯菌门(Chloroflexi) 丰富度却显著高于柴胡地($P < 0.05$); 主要的优势菌纲为酸杆菌纲(Acidobacteria), β -变形菌纲(Betaproteobacteria), 放线菌纲(Actinobacteria), 变形菌纲(Alphaproteobacteria) 和芽单胞菌纲(Gemmatimonadetes), 但各优势菌纲的丰度在两个植被土壤之间差异不显著($P > 0.05$)。3) 变形菌门(Proteobacteria) 丰富度与土壤的碱解氮含量呈显著负相关($P < 0.05$), 酸杆菌门(Acidobacteria) 丰富度与全氮含量显著负相关($P < 0.01$); 通过 RDA 分析发现, 碱解氮和全氮是影响细菌群落结构的最主要因子。可见, 油松和柴胡植被土壤细菌群落结构及多样性差异不大, 但油松地土壤细菌群落的物种分配较柴胡地集中, 且优势细菌门中的变形菌门和绿弯菌门在两者之间的差异显著, 同时, 碱解氮和全氮含量是影响 2 种植被土壤细菌群落的主要因子。这些结论为了解小陇山不同植被土壤微生物群落组成及多样性提供理论, 也为当地进行人工油松苗的种植、经营及土壤管理提供参考。

关键词: 土壤细菌; 群落结构; 高通量测序; 土壤化学性质; 小陇山

Soil bacterial communities under *Pinus tabulaeformis* Carr. and *Bupleurum chinense* plantations at Xiaolongshan Mountain of Gansu Province

WAN Pan¹, HU Yanbo¹, ZHANG Gongqiao¹, WANG Hongxiang¹, LI Lulin², WANG Peng², HUI Gangying^{1,*}

1 Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China

2 Xiaolongshan Research Institute of Forestry in Gansu province, Tianshui 741020, China

Abstract: Soil bacteria can effectively promote energy flow and material circulation in soil, and the soil quality condition can be reflected by the composition, quantity, and diversity of bacterial communities. This study aimed to investigate the effects of different vegetation types on soil bacterial community structure and diversity, assisting us to completely understand soil quality condition and facilitate effective management and sustainable utilization of vegetation in the Xiaolongshan

基金项目: “十三五”国家重点研发计划(2016YFD0600203)

收稿日期: 2017-10-25; 网络出版日期: 2018-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: hui@caf.ac.cn

Mountain region. Soil was collected from *Pinus tabulaeformis* and *Bupleurum chinense* plantations at Xiaolongshan Mountain of Gansu Province. High-throughput sequencing technology was used to analyze the community structure and diversity of soil bacteria under the two different types of vegetation, and to analyze the effects of soil nutrient indices on soil bacterial community structure. The results showed that (1) The abundance and diversity of bacterial communities were not different between the two vegetation-type soils; however, the bacterial communities in *P. tabulaeformis* plantation soil had lower uniform degree than those in the *B. chinense* soil. (2) The ribosomal database project classifier revealed 37 phyla, 84 classes, and 168 orders of bacteria in the soil samples under the two types of vegetation. The dominant phyla were Proteobacteria, Acidobacteria, Chloroflexi, Planctomycetes, and Actinobacteria; Proteobacteria had lower abundance in the *P. tabulaeformis* soil than in the *B. chinense* soil ($P < 0.05$). Chloroflexi had higher relatively abundance in the *P. tabulaeformis* soil than in the *B. chinense* soil ($P < 0.05$), whereas the relative abundance of other dominant bacteria showed no difference between the two vegetation-type soils. At the class level, Acidobacteria, β -proteobacteria, Actinobacteria, and Gemmatimonadetes were the predominant bacterial communities, and their relative abundance showed no difference between the two vegetation-type soils. (3) The relative abundance of Proteobacteria was significantly negatively correlated with available nitrogen ($P < 0.05$), and the relative abundance of Acidobacteria was significantly negatively correlated with total nitrogen ($P < 0.01$). The results of redundancy analysis showed that available nitrogen and total nitrogen had the greatest impact on the soil bacterial community structure. These results suggest that the community composition and diversity of bacteria were similar in the two soils under different vegetations, but the species of bacterial communities in the *P. tabulaeformis* soil showed more centralized distribution than those in the *B. chinense* soil. In conclusion, Proteobacteria and Chloroflexi were the dominant phyla and showed significantly different distribution in the two vegetations, and available nitrogen and total nitrogen were the main factors affecting the soil bacterial community structure.

Key Words: soil bacteria; community structure; high-throughput sequencing; soil chemical properties; Xiaolongshan Mountain

土壤微生物是土壤与植物的纽带,在土壤生态系统养分循环和能量流动过程中起重要作用。土壤中细菌群落在微生物中所占比例很高,是土壤物质循环的最主要参与者,其群落结构和多样性能够反映土壤环境质量的变化过程^[1]。已有研究表明,土地利用方式的改变以及不同的管理措施,可以导致土壤微生物群落的改变,进而影响土壤性质和微环境^[2-3]。比如,Dong 等^[4]表明,与传统耕作方式相比,连作可以改变土壤微生物群落结构;Zhang 等^[5]发现不同植物下的土壤微生物群落多样性均高于沙地土壤,说明土地利用方式可以改变土壤微生物群落结构;Annamaria 等^[6]研究表明,经营方式的不同也可以改变土壤细菌群落组成及其丰富度。

小陇山自然保护区是我国暖温带-亚热带过渡地带,由于自然因素和人为因素的影响,导致该地区生态系统的退化。近年来,退耕还林政策的实施,大面积人工林在当地推广,以期改善区域生态环境脆弱的现状。我国特有树种油松(*Pinus tabulaeformis* Carr.)是该区域退耕还林的主要树种,近年来在小陇山发展迅速^[7-8]。柴胡(*Bupleurum chinense*)属药用植物,在小陇山自然保护区,耕地被农民用来长期耕种柴胡,作为一种经济作物;而现在大面积的柴胡地普遍被改为培育油松苗。耕地变林地,土地利用方式的改变,相应的土壤微生物群落结构和多样性也将发生变化^[9]。Fierer^[10]对北美到南美土壤微生物群落空间变异进行研究,表明土壤细菌群落的多样性和物种丰富度随地上生态系统类型的变化而变化;Huang 等^[11]研究表明,黄土高原农耕地植被的恢复能够使得微生物群落结构改变,改善了土壤生态。当地有关油松苗的研究仅集中在育苗栽培与造林技术^[12]、林分生长模型^[13]和更新^[14]等方面,因此,我们应及时深入探究耕地上栽植油松苗后土壤微生物群落的变化情况,进而了解土壤质量的变化情况,这对当地实现合理的植被管理和土地可持续利用具有重要意义。

新一代测序技术-高通量测序具有产生数据量大、测序周期短、准确率高以及成本低等优点,在微生物生

态学的研究中凸显出明显的优越性^[15-18]。对此,本研究以小陇山典型的油松人工苗和柴胡作为对象,采用高通量测序方法,对常见的 2 种人工植被类型下土壤细菌群落结构和多样性进行了分析,以期为当地进行人工油松苗的种植、经营及土壤管理提供科学依据。

1 研究区域概况

小陇山林区位于甘肃省东南部,地处秦岭西段,属暖温带向北亚热带过渡地带,兼有我国南北气候特点,大多数地域属暖温湿润—中温半湿润大陆性季风气候^[19]。年平均气温,极端最高气温 39.2℃,极端最低气温 -23.2℃,年降水 600—900 mm,主要集中于 7、8、9 月,年蒸发 989—1658 mm,相对湿度 68%—78%,年日照时 1520—2313 h,无霜期 130—220 d,区内秦岭以北的地带性土壤为灰褐土,以南为黄褐土,土壤垂直分布较明显^[20]。

2 研究方法

2.1 样地设置与样品采集

土壤采集于 2017 年 5 月进行;选择具有代表性的油松人工苗地和柴胡种植地各 3 块面积为 20 m×20 m 的样地,且各样地之间环境条件相似、相距较近;样地海拔基本相等(约为 1365—1379 m),每个植被类型 3 个样地分布在不同坡位,分别在上、中和下,坡度大约为 12°—4°,坡向为西南。柴胡作为一种药用植物,在当地被作为经济作物长期种植;油松是移栽至种植柴胡的耕地上,生长期为 4a,其地径、苗高和冠幅分别约为 4.12、152.50、109.10 cm。柴胡和油松苗的管理方式相似:柴胡于每年 6 月人工施肥一次,7—8 月人工除草一次;油松苗移栽至耕地,于每年开春、土壤解冻后施肥一次,分别在 6、8 月和 10 月进行 3 次人工除草。

在每个样地采用五点法取样,先除去表层凋落物,采集表层(0—30 cm)土壤,多点均匀混合,混合土样时剔除杂质,取一部分土壤样品放入消毒无菌的自封袋,放在 4℃ 冷藏箱保存并尽快带回实验室,放在 -80℃ 冰箱中保存,用于土壤微生物多样性分析;另外,再取一部分土壤样品装入自封袋,带回实验室自然风干后过筛用于土壤理化性质分析。

2.2 土壤理化性质测定

有机质含量采用重铬酸钾氧化-外加热法;全氮含量采用凯氏定氮法测定;全磷含量采用酸熔-钼锑抗比色法测定;全钾采用 NaOH 熔融、火焰光度法测定;碱解氮含量采用碱解扩散法测定;有效磷含量采用盐酸-氟化铵提取-钼锑抗比色法测定;速效钾含量采用乙酸铵浸提-火焰光度法测定。以上测定方法参见《土壤农业化学分析方法》^[21]。

2.3 土壤 DNA 抽提和 PCR 扩增

根据 MP-FastDNATMSpin kit for soil 试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 说明书进行总 DNA 抽提,DNA 浓度和纯度利用 NanoDrop2000 进行检测,利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量;用 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3') 和 907R (5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3') 引物对 V3-V5 可变区进行 PCR 扩增,扩增程序为:95℃ 预变性 3 min,27 个循环(95℃ 变性 30s,55℃ 退火 30s,72℃ 延伸 45s),最后 72℃ 延伸 10min (PCR 仪:ABI GeneAmp® 9700 型)。扩增体系为 20μL,4μL 5 * FastPfu 缓冲液,2μL 2.5mmol/L dNTPs,0.8μL 引物(5μmol/L),0.4μL FastPfu 聚合酶;10ng DNA 模板。

2.4 Illumina Miseq 测序

使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化,Tris-HCl 洗脱,2% 琼脂糖电泳检测。利用 QuantiFluor™-ST (Promega, USA) 进行检测定量。根据 Illumina MiSeq 平台 (Illumina, San Diego, USA) 标准操作规程将纯化后的扩增片段构建 PE250 的文库。

构建文库步骤:(1)连接“Y”字形接头;(2)使用磁珠筛选去除接头自连片段;(3)利用 PCR 扩增进行

文库模板的富集;(4)氢氧化钠变性,产生单链 DNA 片段。利用 Illumina 公司的 Miseq PE250 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

2.5 数据处理

原始测序序列使用 Trimmomatic 软件质控,使用 FLASH 软件进行拼接:

(1)设置 50bp 的窗口,如果窗口内的平均质量值低于 20,从窗口开始截去后端碱基,去除质控后长度低于 50bp 的序列;

(2)barcode 需精确匹配,引物允许 2 个碱基的错配,去除模糊碱基;

(3)根据重叠碱基 overlap 将两端序列进行拼接,overlap 需大于 10bp。去除无法拼接的序列。

使用 UCHIME 软件剔除嵌合体,得到优化序列;根据 97%的相似度对序列进行 OTU 聚类。利用 mothur 软件对所有序列进行随机抽样,以抽取到的序列数与它们所能代表 OTU 的数目构建稀疏曲线(Rarefaction curve);基于 OTU 进行稀释性曲线分析,并计算 Chao1 丰度指数,覆盖度(Coverage)和 Shannon 多样性指数,Shannoneven 均匀度指数;比对 Silva 数据库(SSU123)(设置比对阈值为 70%),利用 RDP-classifier(<http://rdp.cme.msu.edu/>)对每条序列进行物种分类注释,并在各个分类水平上统计每个样品的群落组成;利用冗余分析研究土壤化学指标与细菌群落关系。

3 结果与分析

3.1 土壤化学性质

可知,油松苗地的土壤有机质、全磷、有效磷含量和 pH 值均低于柴胡地;其中,两者之间的有机质和全磷含量差异均达到显著水平($P<0.05$);然而,油松地土壤的全氮、碱解氮、全钾和有效钾含量均大于柴胡地土壤,但之间差异均未达到显著水平($P>0.05$)(表 1)。

表 1 2 种植被下土壤化学性质

Table 1 Soil chemical properties for soil sample with two plant type								
植被类型 Plant type	有机质 Organic matter/ (g/kg)	全氮 Total nitrogen/ (g/kg)	全磷 Total phosphorus/ (g/kg)	全钾 Total potassium/ (g/kg)	碱解氮 Nitrogen hydrolysis/ (mg/kg)	有效磷 Available phosphorus/ (mg/kg)	有效钾 Available potassium/ (mg/kg)	pH
油松 <i>P. tabulaeformis</i>	15.52±1.28a	1.05±0.06a	1.20±0.09a	33.37±1.39a	88.08±2.97a	2.25±0.12a	193.83±21.23a	8.52±0.04a
柴胡 <i>B. chinense</i>	17.47±0.73b	1.03±0.08a	1.28±0.08a	32.98±2.49a	87.73±5.25a	4.65±0.40b	162.33±15.23a	8.59±0.05a

不同小写字母表示在 0.05 水平下具有差异

3.2 细菌高通量测序数据特性

稀释曲线(Rarefaction curve)是用来描述随着样品量的加大,可能检测到的物种种类随之增加的状况,是调查样品的物种组成和预测样品中物种丰度的有效工具,在生物多样性调查中,被广泛用于判断样品量是否充分以及估计物种丰度。可以看出,土壤的 6 个样品对应的稀释曲线均基本趋于平缓,说明取样比较合理,实际环境中细菌群落结构的置信度较高,能够比较真实的反映出样品的细菌群落(图 1)。

3.3 土壤细菌群落 Alpha 多样性

各处理组的细菌的 Coverage 指数都大于 90%,说明在 OTU 水平上的测序结构能够反映所测样本中细菌的真实情况。OTUs 表示丰土壤微生物丰富度实际观测

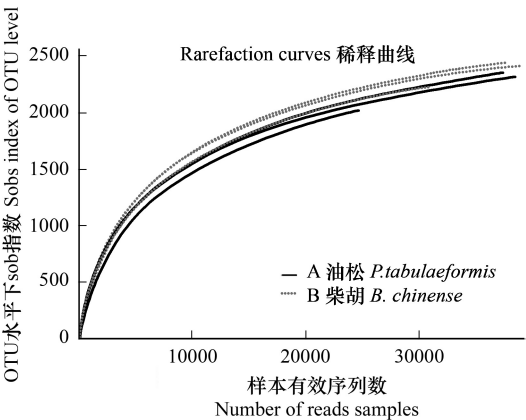


图 1 不同土壤样品细菌稀释曲线

Fig.1 Rarefaction curves of soil bacteria in different sampled

值,可以看出,油松土壤细菌的 OTUs 小于 B,但差异均不显著($P>0.05$)。油松土壤细菌的 Chao1 指数小于柴胡,但差异也均不显著($P>0.05$);油松土壤细菌的 Shannon 指数小于柴胡,但差异也不明显($P>0.05$)。油松土壤细菌的 Shannoneven 指数小于柴胡,差异均达到显著水平($P<0.001$)(表 2)。

表 2 2 种植被下土壤细菌多样性指数
Table 2 Diversity indices for soil bacteria communities in two vegetation zone

植被类型 Plant type	OTUs	Coverage 指数 Coverage index	Chao1 指数 Chao 1 index	Shannon H 指数 Shannon H index	Shannoneven 指数 Shannoneven index
油松 <i>P. tabulaeformis</i>	2218±182a	0.98±0.0059a	2663±123a	6.40±0.075a	0.831±0.0011a
柴胡 <i>B. chinense</i>	2354±115a	0.98±0.0028a	2702±58a	6.53±0.047a	0.842±0.00075b

3.4 群落组成分析

两种植被下土壤共检测出 37 个细菌门和 84 个细菌纲;其中,34 个门为共有细菌门,占 91.9%;79 个纲为共有细菌纲,占 94.0%(图 2)。对每个有效序列进行门(Phylum)水平上的注释分类,两种植被的土壤检测出 10 个以上细菌门(相对丰度大于 1%)主要有:变形菌门(Proteobacteria),酸杆菌门(Acidobacteria),绿弯菌门(Chloroflexi),浮霉菌门(Planctomycetes),放线菌门(Actinobacteria),芽单胞菌门(Gemmatimonadetes),拟杆菌门(Bacteroidetes),硝化螺旋菌门(Nitrospirae)(图 3)。这些鉴定出来的细菌门,按照丰富度由高到低排列均为(优势菌在两个植被土壤中丰富度高低顺序一致):变形菌门(Proteobacteria)>酸杆菌门(Acidobacteria)>绿弯菌门(Chloroflexi)>浮霉菌门(Planctomycetes)>放线菌门(Actinobacteria)>芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)>拟杆菌门(Bacteroidetes)>硝化螺旋菌门(Nitrospirae)。通过物种差异分析得出,油松地土壤中的变形菌门(Proteobacteria)丰度显著低于柴胡土壤($P<0.05$),绿弯菌门(Chloroflexi)的丰度却显著高于柴胡土壤($P<0.05$);而其它细菌门在两者之间差异不明显,未达到显著水平($P>0.05$)(图 3)。

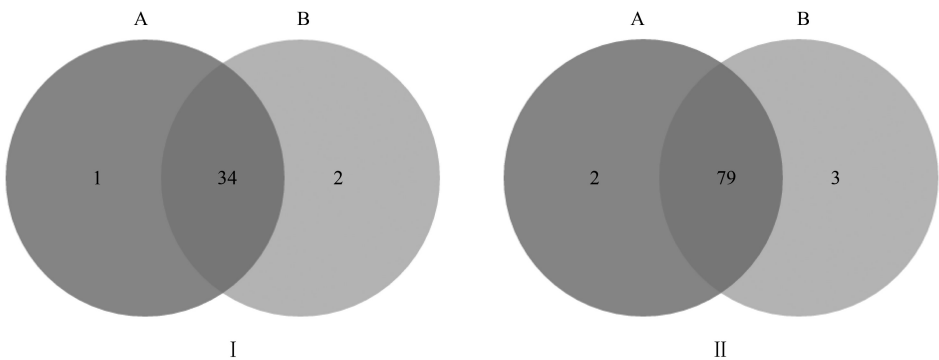


图 2 门和纲水平下的细菌物种 Venn 图
Fig.2 The Venn map of bacterial community at phylum level(I) and class leve(II)

图注:(门水平下)Proteobacteria 变形菌门,Acidobacteria 酸杆菌门,Chloroflexi 绿弯菌门,Planctomycetes 浮霉菌门,Actinobacteria 放线菌门,Gemmatimonadetes 芽单胞菌门,Bacteroidetes 拟杆菌门,Nitrospirae 硝化螺旋菌门;(纲水平下)Acidobacteria 酸杆菌纲,Betaproteobacteriaβ-变形菌纲,Actinobacteria 放线菌纲,Alphaproteobacteriaα-变形菌纲,Gemmatimonadetes 芽单胞菌纲,DellaproteobacteriaΔ-变形菌纲,Planctomycetocia 浮霉菌纲,Anaerolineae 厌氧绳菌纲

在纲分类水平上,两种植被的土壤优势菌为:酸杆菌纲(Acidobacteria),β-变形菌纲(β-proteobacteria),放线菌纲(Actinobacteria),α-变形菌纲(α-proteobacteria),芽单胞菌纲(Gemmatimonadetes),Δ-变形菌纲(Δ-proteobacteria),浮霉菌纲(Planctomycetocia),厌氧绳菌纲(Anaerolineae)。纲水平上的优势菌丰富度高低顺序在两个植被土壤不太一致,但均是酸杆菌纲(Acidobacteria)丰富度最高,而β-变形菌纲(β-proteobacteria)丰富度次之。同样,通过物种差异分析得出,各优势菌的丰度在两个植被土壤之间差异不显著($P>0.05$)(图 3)。

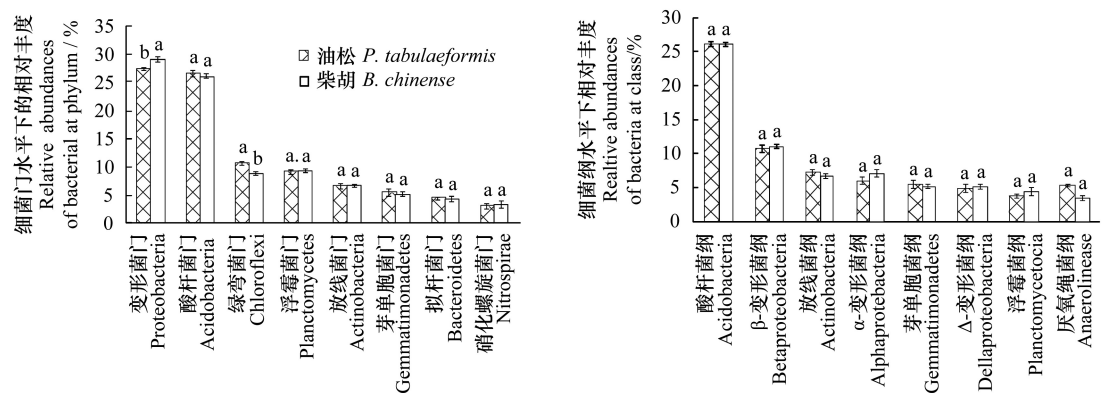


图3 门和纲水平下的细菌群落组成

Fig.3 Composition of bacterial community at phylum level and class level

3.5 环境因子对细菌群落的影响

相关性分析表明,变形菌门(Proteobacteria)相对丰富度与碱解氮呈显著负相关($P<0.05$),酸杆菌门(Acidobacteria)相对丰富度与全氮呈显著负相关($P<0.05$),放线菌门(Actinobacteria)相对丰富度与全氮和碱解氮均呈显著负相关($P<0.05$),芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)相对丰富度与碱解氮呈显著负相关($P<0.05$),拟杆菌门(Bacteroidetes)相对丰富度与有效磷呈显著正相关($P<0.05$)(表3)。

表3 土壤细菌优势菌(门水平下)相对丰富度与土壤化学性质的相关性

优势菌门 Dominant phyla	全氮 Total nitrogen	碱解氮 Nitrogen hydrolysis	pH	全钾 Total potassium	有效钾 Available potassium	有效磷 Available phosphorus	有机质 Organic matter	全磷 Total phosphorus
变形菌门 Proteobacteria	-0.657	-0.886 *	-0.029	0.086	-0.257	0.771	0.486	0.371
酸杆菌门 Acidobacteria	-0.943 **	-0.886	-0.029	-0.257	-0.2	0.429	0.086	0.371
绿弯菌门 Chloroflexi	-0.657	-0.714	-0.543	-0.029	0.314	0.086	-0.486	-0.086
浮霉菌门 Planctomycetes	-0.543	-0.771	-0.6	-0.029	-0.143	0.429	-0.086	-0.2
放线菌门 Actinobacteria	-0.943 **	-0.886 *	-0.029	-0.257	-0.2	0.429	0.086	0.371
芽单胞菌门 Gemmatimonadetes	-0.771	-0.886 *	-0.371	-0.2	-0.257	0.371	-0.029	-0.029
拟杆菌门 Bacteroidetes	-0.319	-0.58	-0.232	0.406	0.143	0.928 **	0.377	0.406
硝化螺旋菌门 Nitrospirae	-0.143	-0.314	-0.486	-0.086	-0.429	0.486	0.143	-0.257

** $P<0.01$ * $P<0.05$

可知,有机质,全氮,全钾,碱解氮和全磷含量均对土壤细菌具有显著影响;其中,碱解氮和全氮因子对细菌的影响最大。RAD 分析显示,第一排序轴解释了样本中 94.72%的变异,第二排序轴解释了样本中 3.00%的变异,两者结合解释率达 97.72%(图4)。

4 讨论

通过高通量测序技术分析 2 种人工植被类型下土壤细菌群落结构及其多样性。由稀释曲线可知,本研究采集的土壤样品合理,其鉴定结果能够准确的反映实际土壤样品中细菌群落;同样,对土壤样品中细菌测序得到的文库覆盖率(Coverage)均达到 95%以上,表明样品适合分析细菌多样性。虽然本次调查采集的植被土壤面积有限,但样品采集仍具有一定代表性,能够反映该研究区域 2 种植被类型的土壤细菌群落结构。

4.1 2 种植被类型下土壤微生物群落组成

通过新一代高通量测序技术分析土壤微生物群落结构,具有快速获取大量信息的优势,并且将这些信息按照需要进行相关解析。本研究在 2 个植被土壤样品中,细菌鉴定出变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门

(Acidobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)等 37 个门,其中,变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi)均是 2 种植被土壤中丰富度极高的细菌群落,变形菌门为丰富度最高优势菌门,而该区域土壤呈碱性,这也就证实了变形菌门(Proteobacteria)为碱性土壤中的主要优势群落,这与很多^[22-24]研究结果相似;也有一些研究得出的结论与之不同^[25],可能是由于土壤间的异质性造成的。同样,两种植被的土壤共检测到 84 个细菌纲;其中,丰富度较高的优势菌主要为酸杆菌纲(Acidobacteria)和 β -变形菌纲(β -proteobacteria),这与刘洋等^[26]研究结果相似,即这两种优势菌均普遍存在土壤中且丰富度最高。这些研究结果也说明了,尽管植被类型不同,但处于相同生境中的土壤微生物类群具有相似性。

变形菌门(Proteobacteria)是一大类细菌门类,在很多土壤细菌群落研究中具有很高的相对丰度^[27-28],其包含有能与植物共生的固氮细菌,可以增强土壤的固氮能力,属于异养型细菌。有研究表明,土壤变形菌门丰富度的高低可以在一定程度上反映土壤有机质等养分含量的高低。绿弯菌门(Chloroflexi)是一类通过光合作用,以 CO_2 为碳源产生能量的细菌,因此在有机质含量低的土壤中具有竞争力^[29]。对比油松地和柴胡地土壤微生物群落发现,油松地土壤中变形菌门(Proteobacteria)的丰度显著低于柴胡地土壤,绿弯菌门(Chloroflexi)的丰度显著高于柴胡地土壤,但酸杆菌门(Acidobacteria)的丰度在两者间却无明显差异。植物生长过程中产生的有机物质(包括植物根系分泌物)进入土壤,直接影响土壤微生物的群落组成;由于不同植被生理特性存在差异,产生的有机物质种类和数量不同,导致不同植被下土壤微生物物种出现差异^[30]。与柴胡相比,油松苗虽然会产生较多的枯落物输入土壤,但其属于深根树种,根系发达且穿透能力强,对土壤理化性质影响比较大,能汲取大量的养分物质,导致土壤有机质含量较柴胡地低;变形菌门(Proteobacteria)在有机质含量较高的柴胡地更适合生存,但绿弯菌门(Chloroflexi)更适合在有机质含量较低的油松林地生存。这可能是优势细菌门中的变形菌门和绿弯菌门在两者之间的存在显著差异的原因。

酸杆菌纲(Acidobacteria)属于酸杆菌门类,是一种研究相对较少的细菌门类,但普遍以较高丰富度存在土壤中^[24];有研究表明^[31],酸杆菌门(Acidobacteria)多出现在陆地且酸性较强的环境中,而柴胡和油松的土壤均发现该细菌的存在,说明土壤环境有可能存在酸化的倾向。变形菌门主要包括 α -变形菌纲和 β -变形菌纲,其包含很多能够与植物共生的固氮细菌,可为土壤提供更强的固氮能力。 β -变形菌纲能够利用土壤中有有机物质分解产生的氨气和甲烷^[24];一般变形菌门中, α -变形菌纲丰富度高于 β -变形菌纲^[26];也有一些研究表明, β -变形菌纲(β -proteobacteria)的丰富度却大于 α -变形菌纲(α -proteobacteria)^[32-33],这与本研究结果一致。然而,在纲分类水平下的优势菌的丰度在两种植被土壤中均无明显差异。

4.2 2 种植被类型下土壤微生物多样性

采集的土壤中共检测到的细菌有 37 个门,84 个纲,168 个目,296 个科和 485 个属,将序列相似性 >97% 的序列归为同一 OTU_s,两种植被的 OTU_s 分别为 2218(油松)和 2354(柴胡)。微生物群落多样性是描述土壤生态特征的关键指标,可以通过一系列多样性指数来反映,最常用的指标有 Chao1 指数、Shannon 指数和 Shannoneven 指数。Chao1 指数是用来估计土壤样本中物种总数,值越大表示样品中微生物丰富度越高;Shannon 指数反映土壤微生物多样性,值越高,群落多样性越高;Shannoneven 指数表示土壤微生物物种分配的均匀度程度,值越大则说明物种分配均匀程度越高。微生物群落结构和组成多样性增大有助于增加土壤生态环境的稳定性^[34]。细菌广泛存在土壤中,也是土壤中个体数量最多的有机体,存在土壤中或者与植物根系共

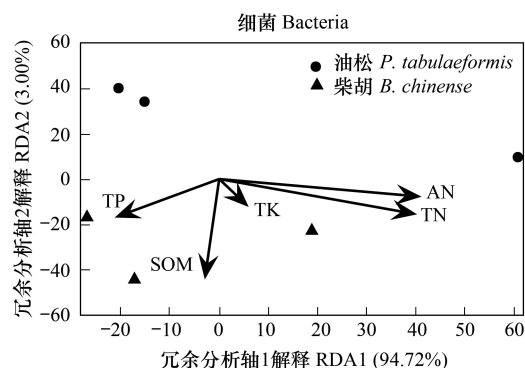


图 4 土壤细菌与土壤化学因子的冗余分析

Fig.4 Representative difference analysis (RDA) of the relationships between soil physiochemical properties and bacterial communities under two vegetations

生,能够参与土壤生态系统的物质转化和循环,利于植物生长发育。本研究发现,2种植被类型的土壤细菌的 Chao1 指数和 Shannon 指数差异均不显著,只是细菌的 Shannoneven 指数表现为油松地土壤小于柴胡地土壤。这说明,土壤细菌群落的丰富度和多样性在 2 种植被下无明显差异,但油松地土壤细菌群落的物种分配较柴胡地集中。不同植被对土壤营养物质的代谢及呼吸等生命活动会影响环境因子,进而造成微生物群落多样性发生变化^[35]。油松较柴胡根系庞大且较深,对土壤的物理性质(结构、孔隙度等)或者养分影响较大,进而使得细菌群落物种分配不均匀。

土壤微生物多样性可以反映土壤肥力高低。有研究表明,细菌多样性高,土壤表现出较高的肥力,而真菌多样性高,则表现出较低的土壤肥力^[36]。从土壤细菌多样性的研究结果来看,两种植被下土壤细菌多样性无明显区别,根据前人研究结果,可以初步认定两种植被土壤肥力无差异;然而,本研究同时表明,油松苗地土壤有机质含量和全磷含量却明显低于柴胡地土壤,这可能跟两种土壤真菌群落多样性差异有关,这需进一步分析两种植被土壤真菌群落多样性来证实。

4.3 土壤养分对细菌群落结构的影响

研究表明,土壤养分含量能够影响土壤微生物种群数量及分布,而不同植被的营养物质代谢等生命活动不同,导致土壤养分具有差异^[37]。在细菌群落的优势门中,变形菌门(Proteobacteria)与碱解氮显著负相关,酸杆菌门(Acidobacteria)与全氮显著负相关;通过 RAD 综合分析得出,有机质、全氮、全钾、碱解氮和全磷均对土壤细菌群落结构具有显著影响,其中,群落受碱解氮和全氮影响较大,且环境因子对细菌的解释率为 97.72%。本研究也表明,油松地土壤的有机质含量和有效磷含量均显著低于柴胡地,其他养分含量无显著差异,这就说明了 2 种植被下土壤由于碱解氮和全氮含量无明显差异,因而未导致细菌群落多样性出现差异。然而,长期种植油松苗将会导致土壤养分处在较低水平,因此在大苗培育期要因土施肥,提高土壤肥力,尤其需要及时补充土壤有机质,这样既可以增加土壤养分又可提高细菌丰度和多样性。

5 结论

综上所述,通过高通量测序技术分析 2 种不同土地利用方式下山麓耕地土壤细菌群落结构及其多样性,得出以下结论:(1)油松地和柴胡地的土壤细菌丰度和多样性无明显差异,但油松地土壤细菌群落的物种分配较柴胡地集中。(2)两种植被土壤的优势细菌门均为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和绿弯菌门(Chloroflexi);主要的优势菌纲为酸杆菌纲(Acidobacteria), β -变形菌纲(β -proteobacteria),放线菌纲(Actinobacteria);且仅有优势细菌门中的变形菌门和绿弯菌门在两者之间的差异显著,即油松地土壤中的变形菌门(Proteobacteria)的丰富度显著低于柴胡地土壤,绿弯菌门(Chloroflexi)丰富度却显著高于柴胡地。(3)变形菌门(Proteobacteria)与土壤的碱解氮含量呈显著负相关,酸杆菌门(Acidobacteria)与全氮显著负相关;总体来看,碱解氮和全氮对土壤细菌群落影响较大,被环境因子解释率均达到 97%以上,是影响细菌群落的最主要的土壤因子。长期种植油松苗将会导致土壤养分处在较低水平,因此,在大苗培育期中要因土施肥,提高土壤肥力,尤其需要及时补充土壤有机质,这样既可以增加土壤养分又可提高细菌丰度和多样性。本研究结果可为认识小陇山不同植被土壤微生物群落组成及多样性提供理论,同时,也为当地进行人工油松苗的种植、经营及土壤管理提供科学参考。

参考文献(References):

- [1] 翟婉璐, 钟哲科, 高贵斌, 杨慧敏. 覆盖经营对雷竹林土壤细菌群落结构演变及多样性的影响. 林业科学, 2017, 53(9): 133-142.
- [2] Maricel A, Roberto G, Wolfgang H, Hartel S. Anatomical-physiological determination of surface bound phosphatase activity in ectomycorrhizae of *Nothofagus oblique*. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(1): 125-132.
- [3] 雷明, 李昌晓, 陈伟, 魏虹. 三峡水库岸坡系统不同用地类型对土壤酶活性和土壤化学性质的影响. 林业科学, 2012, 48(11): 15-22.
- [4] Dong L L, Xu J, Zhang L J, Yang J, Liao B S, Li X W, Chen S L. High-throughput sequencing technology reveals that continuous cropping of American ginseng results in changes in the microbial community in arable soil. Chinese Medicine, 2017, 12: 18-18.
- [5] Zhang H F, Li G, Song X L, Yang D L, Li Y J, Qiao J, Zhang J N, Zhao S L. Changes in soil microbial functional diversity under different

- vegetation restoration patterns for Hulunbeier Sandy Land. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(1): 38-44.
- [6] Annamaria B, Patrizia P, Giovanni B, Florio A, Pellicer M S, Papaleo M C, Mengoni A, Ledda L, Fani P, Benedetti A, Dalmastri C. Soil bacterial community response to differences in agricultural management along with seasonal changes in a mediterranean region. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105515.
- [7] 焦建春. 小陇山油松育苗技术探讨. *农业与技术*, 2017, 37(4): 195-195.
- [8] 武朋辉, 白高平, 党坤良, 常伟, 李明雨. 抚育间伐对秦岭南坡油松中龄林生长的影响. *中南林业科技大学学报*, 2017, 37(1): 20-26.
- [9] Sheng R, Meng D L, Wu M N, Di H J, Qin H L, Wei W X. Effect of agricultural land use change on community composition of bacteria and ammonia oxidizers. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, 13(7): 1246-1256.
- [10] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(3): 626-631.
- [11] Huang Y M, Michel K, An S S, Zechmeister - Boltenstern S. Changes in microbial-community structure with depth and time in a chronosequence of restored grassland soils on the Loess Plateau in northwest China. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 2011, 174(5): 765-774.
- [12] 戴小芬, 刘剑丛. 小陇山林区油松播种育苗技术. *现代园艺*, 2016, (22): 23-23.
- [13] 石小龙, 李安明, 张岗岗, 郭小龙, 刘文桢. 小陇山林区油松人工林全林整体模型的研究. *林业科技通讯*, 2016, (11): 3-6.
- [14] 刘建科, 冯小芹, 胡劭鸿, 李小卫. 不同间伐强度对小陇山林区油松人工林结构和天然更新的影响. *林业科技通讯*, 2017, (5): 3-9.
- [15] Kennedy N, Brodie E, Connolly J, Clipson N. Impact of lime, nitrogen and plant species on bacterial community structure in grassland microcosms. *Environmental Microbiology*, 2004, 6(10): 1070-1080.
- [16] Zak D R, Holmes W E, White D C, Peacock A D, Tilman D. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? *Ecology*, 2003, 84(8): 2042-2050.
- [17] Johnson D, Booth R E, Whiteley A S, Bailey M J, Read D J, Grime J P, Leake J R. Plant community composition affects the biomass, activity and diversity of microorganisms in limestone grassland soil. *European Journal of Soil Science*, 2003, 54(4): 671-678.
- [18] 李洁, 李睿玉, 杨红, 马丹炜, 全津莹, 雷波. 土壤微生物多样性的研究方法. *山西农业科学*, 2016, 44(11): 1738-1742, 1746-1746.
- [19] 赵中华, 白登忠, 惠刚盈, 袁士云. 小陇山不同经营措施下次生锐齿栎天然林物种多样性研究. *林业科学研究*, 2013, 26(3): 326-331.
- [20] 侯浩, 张宋智, 关晋宏, 杜盛. 小陇山不同林龄锐齿栎林土壤有机碳和全氮积累特征. *生态学报*, 2016, 36(24): 8025-8033.
- [21] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- [22] Singh D, Shi J L, Adams J M. Bacterial diversity in the mountains of south-west China: climate dominates over soil parameters. *Journal of Microbiology*, 2013, 51(4): 439-447.
- [23] Zhang Y G, Cong J, Lu H, Yang C Y, Yang Y F, Zhou J Z, Li D Q. An integrated study to analyze soil microbial community structure and metabolic potential in two forest types. *PLoS One*, 2014, 9(4): e93773.
- [24] 王鹏, 陈波, 张华. 基于高通量测序的鄱阳湖典型湿地土壤细菌群落特征分析. *生态学报*, 2017, 37(5): 1650-1658.
- [25] 杨官品, 男兰, 刘英杰. 土壤细菌遗传多样性及其与植被类型相关性研究. *遗传学报*, 2000, 27(3): 278-282.
- [26] 刘洋, 黄懿梅, 曾全超. 黄土高原不同植被类型下土壤细菌群落特征研究. *环境科学*, 2016, 37(10): 3931-3938.
- [27] Ligi T, Oopkaup K, Truu M, Preem J K, Nlvak H, Mitsch W J, Mander, Truu J. Characterization of bacterial communities in soil and sediment of a created riverine wetland complex using high-throughput 16S rRNA amplicon sequencing. *Ecological Engineering*, 2014, 72: 56-66.
- [28] Jiang X T, Peng X, Deng G H, Sheng H F, Wang Y, Zhou H W, Tam N F Y. Illumina sequencing of 16S rRNA tag revealed spatial variations of bacterial communities in a mangrove wetland. *Microbial Ecology*, 2013, 66(1): 96-104.
- [29] Klatt C G, Liu Z F, Ludwig M, Kühl M, Jensen S I, Bryant D A, Ward D M. Temporal metatranscriptomic patterning in phototrophic *Chloroflexi* inhabiting a microbial mat in a geothermal spring. *The ISME Journal*, 2013, 7(9): 1775-1789.
- [30] 张超, 刘国彬, 薛莲, 王国梁. 黄土丘陵区不同植被类型根际微生物群落功能多样性研究. *草地学报*, 2015, 23(4): 710-717.
- [31] Barns S M, Cain E C, Sommerville, Kuske C R. *Acidobacteria* phylum sequences in uranium-contaminated subsurface sediments greatly expand the known diversity within the phylum. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(9): 3113-3116.
- [32] Roesch L F W, Fulthorpe R R, Riva A, Casella G, Hadwin A K M, Kent A D, Daroub S H, Camargo F A O, Farmerie W G, Triplett E W. Pyrosequencing enumerates and contrasts soil microbial diversity. *The ISME Journal*, 2007, 1(4): 283-290.
- [33] Zhang T, Shao M F, Ye L. 454 Pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants. *The ISME Journal*, 2012, 6(6): 1137-1147.
- [34] 刘秉儒, 张秀珍, 胡天华, 李文金. 贺兰山不同海拔典型植被带土壤微生物多样性. *生态学报*, 2013, 33(22): 7211-7220.
- [35] 赵欣艳, 王海燕, 侯泽英, 储昭升, 杨永哲. 洱海沙坪湾湖滨带不同植被带中细菌分布特征. *环境科学研究*, 2017, 30(5): 705-711.
- [36] 蒋婧, 宋明华. 植物与土壤微生物在调控生态系统养分循环中的作用. *植物生态学报* 2010, 34(8): 979-988.
- [37] Ter Braak C J F. CANOCO: an extension of DECORANA to analyze species-environment relationships. *Hydrobiologia*, 1988, 184(3): 169-170.