

DOI: 10.5846/stxb201809041886

安然, 马风云, 崔浩然, 秦光华, 黄雅丽, 田琪. 黄河三角洲刺槐臭椿混交林与纯林土壤细菌群落结构和多样性特征分析. 生态学报, 2019, 39(21):

An R, Ma F Y, Cui H R, Qin G H, Huang Y L, Tian Q. Analysis of bacterial community structure and diversity characteristics of mixed forest of *Robinia pseudoacacia* and *Ailanthus altissima* and there pure forest in the Yellow River Delta. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(21):

黄河三角洲刺槐臭椿混交林与纯林土壤细菌群落结构和多样性特征分析

安 然^{1,2,3}, 马风云^{1,*}, 崔浩然^{1,2,3}, 秦光华⁴, 黄雅丽^{1,2,3}, 田 琪^{1,2,3}

1 山东农业大学林学院, 山东农业大学生态与环境实验室, 泰安 271018

2 黄河下游森林培育国家林业局重点实验室, 泰安 271018

3 山东省泰山森林生态系统国家定位观测研究站, 泰安 271018

4 山东省林业科学研究院, 济南 250014

摘要:为研究黄河三角洲地区混交人工林土壤细菌群落特征,应用高通量测序技术,比较分析了刺槐臭椿混交林以及臭椿和刺槐纯林土壤细菌结构及多样性,并结合土壤理化性质进行分析。试验结果表明:在细菌门分类水平上,臭椿纯林、刺槐纯林、刺槐臭椿混交林土壤中分别检测出 27、25、31 门细菌,3 种不同林分土壤中酸杆菌门、变形菌门、放线菌门、硝化螺旋菌门、绿弯菌门、浮霉菌门、芽单胞菌门、疣微菌门 8 种细菌是土壤中的主要细菌群落,其中酸杆菌门、变形菌门和放线菌门为优势细菌群落。不同类型人工林土壤中各门细菌相对丰度差异显著。混交林土壤细菌物种数和 Shannon 指数值分别为 1910 和 9.1 高于两种纯林。通过对土壤主要细菌群落与土壤理化性质进行主成分分析发现,3 种不同林分之间在土壤细菌群落结构上有较高分离,差异显著($P<0.05$),有效磷含量与混交林土壤细菌群落有较强的正相关关系。因此可以得出结论,不同林分类型、土壤理化性质和细菌群落结构三者相互影响,刺槐臭椿混交增加了土壤细菌群落多样性,土壤理化性质在一定程度上影响土壤细菌结构和多样性。

关键词:高通量测序;混交林;土壤细菌;黄河三角洲

Analysis of bacterial community structure and diversity characteristics of mixed forest of *Robinia pseudoacacia* and *Ailanthus altissima* and there pure forest in the Yellow River Delta

AN Ran^{1,2,3}, MA Fengyun^{1,*}, CUI Haoran^{1,2,3}, QIN Guanghua⁴, HUANG Yali^{1,2,3}, TIAN Qi^{1,2,3}

1 Forestry college of Shandong Agricultural University, Taian 271018, China

2 Key Laboratory of State Forestry Administration for Silviculture of the lower Yellow River, Taian 271018, China

3 Mountain Forest Ecosystem Research Station of Shandong Province, Taian 271018, China

4 Shandong Academy of Forestry, Jinan 250014, China

Abstract: The aim of the present study was to investigate the characteristics of soil bacterial community in different forests in the Yellow River Delta. High-throughput sequencing technology was used to compare the soil microbial communities from different forests, that is pure *Robinia pseudoacacia* forest, pure *Ailanthus altissima* forest, and their mixed forest. The soil physicochemical properties were measured to determine the correlations between them. Results showed that the composition

基金项目:盐碱地林业生态功能提升关键技术(2017CXGC0316);世界银行贷款项目(SEAP-KY-2);国家自然科学基金项目(30970499)

收稿日期:2018-09-04; **网络出版日期:**2019-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sdmfy@sdau.edu.cn

and structure of soil bacterial communities were different among these forests. At the level of bacterial phylum classification, 27, 25, 31 bacteria were detected in the soil of *A. altissima*, *R. pseudoacacia*, and the mixed forest, respectively. For all these three stands, there were eight main bacterial communities, that was acidobacteria, proteobacteria, actinobacteria, nitrospirae, chloroflex, planctomycetes, gemmatimonadetes and verrucomicrobia, among which the acidobacteria, proteobacteria and actinobacteria were the dominant bacterial communities. The relative abundance of bacteria in the mixed plantations were significantly different from that in the pure plantations. Besides, the observed species (1910) and Shannon index (9.1) were highest in the mixed forests. Through principal component analysis (PCA) we found that there were significant separation for soil bacterial community structure among the three different stands ($P < 0.05$). And for mixed forest, there was a strong positive correlation between the available phosphorus and soil bacterial community. Therefore, different stand types, soil characteristics and community structures interact with each other. The mixed plantations could increase the diversity of soil bacterial community. And the soil bacterial structure and diversity could be affected by the soil physical and chemical properties.

Key Words: High-throughput sequencing; mixing forests; soil bacteria; Yellow River Delta

在森林生态系统中,土壤细菌是土壤的重要组成部分,参与土壤中发生的多个生态过程,在推动和确保生态系统物质循环、能量流动以及信息传递^[1-2]等生态过程中发挥着极为重要的作用。良好的土壤细菌结构能够改善土壤理化性质,提高土壤肥力,从而促进林分的生长^[3]。土壤细菌群落多样性是评价土壤质量的一项重要指标。土壤中细菌多样性越高,越有利于土壤恢复力和抗压力的提高^[4]。土壤细菌的种类和分布不仅受土壤理化性质的影响,也受植物种类的影响^[5-6]。很多研究表明,土壤细菌群落多样性与植物群落多样性呈正相关,植物群落物种多样性能够显著影响土壤细菌多样性及其群落结构和功能^[7]。

黄河三角洲地区是我国典型的盐碱地区域,土壤盐分含量高,导致适合在这里栽培的乔木树种较少,其中刺槐(*Robinia pseudoacacia*)和臭椿(*Ailanthus altissima*)是较为耐盐碱的树种,以往该地区主要大面积栽培单一树种的纯林,尤其是刺槐纯林,由各种耐盐树种组成的混交林则很少。而单一树种构成的纯林有很多缺陷,很多地方营造的纯林极早的出现了退化,因此营造混交林并对其进行研究将是该地区今后造林的发展方向。据不完全统计,在黄河三角洲河口区垦利县(试验所在地)刺槐臭椿混交林栽培总面积在 300 亩左右。很多学者已经对该地区建立的混交林进行了研究,对黄河三角洲人工刺槐混交林细根分布进行研究时发现刺槐臭椿混交林可提高人工林细根生物量(白世红等^[8])。侯本栋等^[9]研究表明在黄河三角洲盐碱区混交林有机质、速效氮含量均高于刺槐纯林,同时显著改善了土壤中主要土壤酶活性。由于传统研究方法技术的限制^[10],很难完整的对土壤细菌群落的结构和多样性进行分析。近几年发展的第二代高通量测序技术可更全面更准确地描述各种土壤细菌群落信息^[11]。但目前利用该技术对刺槐和臭椿混交林土壤细菌的研究还较少。鉴于此,本文选取刺槐臭椿混交林作为研究对象,以相应的 2 种纯林为对照,比较两种纯林及混交林中土壤细菌群落结构及多样性的差异,这对于该地土壤及植被的恢复具有重要的指导意义,同时可为黄河三角洲盐碱地混交林的营造及管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究地概况

研究地点位于山东省东营市河口区(118°53'27"—118°55'41"E, 37°59'14"—37°88'23"N),该地区属暖温带半湿润区大陆性季风气候,年均气温 12.94 °C,无霜期 201 d,年均降水量 500—600 mm,7—8 月降水量约占全年降水量的 50%,且多暴雨,易形成旱涝灾害;年均蒸发量为 1962.1 mm。土壤为冲积性黄土母质在海浸母质上沉淀而成,层次变化复杂(刘云^[12])。天然植被以盐生、湿生的禾本科植物为主,主要造林树种有刺槐(*Robinia pseudoacacia*)、国槐(*Sophora japonica*)、苦楝(*Melia azedarach*)、杨树(*Populus euramericana*)、白蜡

(*Fraxinus chinensis*)、怪柳(*Tamarix chinensis*)等。

1.2 林型选择及采集方法

2016 年 11 月在刺槐纯林、臭椿纯林、刺槐臭椿混交林 3 种林型中分别设置面积为 20 m × 20 m 标准样地各 3 块,在每个样地按 S 型设置 5 个样点,在每个采样点采集 0—20 cm 土层的原状土,将相同标准地各个样点土样混合均匀,每个土样采集大约 500 g 左右。所得样品分为 2 份,装入无菌自封袋,于冰盒中带回实验室。其中 1 份自然风干后过 2 mm 筛后用于土壤理化性质的测定;另一份鲜样保存在 -80 °C 冰箱中,用于土壤微生物特性的测定^[13]。

1.3 土壤理化性质测定

土壤理化性质的测定采用常规分析法:含水量使用便携式土壤水分测定仪测定(TZS-IW);土壤 pH 采用电位法(Starter 2C);有机质(soil organic matter, SOM)采用容量法(外加热法)重铬酸钾氧化—油浴加热法测定;碱解氮(available nitrogen, AN)采用碱解扩散法;有效磷(available phosphorous, AP)采用氟化铵-盐酸法测定;速效钾(available K, AK)采用火焰光度计法,全氮(total nitrogen, TN)采用凯氏定氮法;全磷(total phosphorus, TP)采用 NaOH 熔融-钼锑抗比色法^[14-15]。

1.4 土壤细菌 DNA 提取、处理及上机流程

采用 CTAB 方法对样本的总 DNA 进行提取^[16]。用 Qubit2.0 检测 DNA 浓度,琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性。每个样品 3 个重复,将同一样品的土壤 DNA 混合,作为每份土壤样品的总 DNA。使用带 Barcode 的特异引物 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer(New England Biolabs, USA)以及高效和高保真的酶进行细菌 PCR 扩增,以确保扩增效率和准确性。引物对应区域为:16S V4 区引物为 515F-806R。PCR 产物使用 2%浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测;根据 PCR 产物浓度进行等浓度混样,充分混匀后使用 2 %的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,采用胶回收试剂盒 GeneJET(Thermo Scientific, USA)对 DNA 进行回收。回收产物用 Qubit2.0 定量,根据测得的 DNA 浓度,将所有样品按照 1:1 的比例进行混合,该混合样品可用于后续的测序,从而省去建库过程。

试验上机流程主要包括:PCR 扩增、等量混样以及产物纯化。以上流程由北京诺禾致源生物信息科技有限公司提供,测序仪器为 Illumina 公司 Miseq,测序所得结果截掉质量低的数据,以提高后续序列融合比率。通过 Flash 软件融合双末端序列,使其形成一条序列。采用 prinseq 软件对各个样品进行去引物序列、短片段、低复杂度序列、低质量序列。

1.5 物种注释与丰度计算

利用 Uparse^[17]软件对所有样品的全部有效序列(Effective tags)进行聚类,默认以 97%的一致性(Identity)将序列聚类成为 OTUs(Operational taxonomic units),同时选取 OTUs 的代表性序列,依据其算法原则,筛选 OTUs 中出现频率数最高的序列作为 OTUs 的代表序列。将这些代表性序列集合用 RDP Classifier^[18]与 GreenGene 数据库^[19]进行物种注释分析(设定阈值为 0.8—1),研究 OTUs 之间的系统发生关系,获得分类学信息用 Mothur 软件包以 97%为划定阈值对 16S rRNA 基因序列划分操作分类单元(OTU),并构建稀释曲线。利用 QIIME 软件计算样品包括 Chao 1 指数和 Shannon 指数的 Alpha 多样性值^[20]。

1.6 数据分析

利用 QIIME(Version 1.50)软件对样品的 Alpha 多样性进行计算,包括 Observed species 指数、Chao1 指数和 Shannon 指数,利用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析(Duncan)及相关性分析(Pearson)。采用 R 语言进行统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质分析

由表 1 可知,刺槐臭椿混交林土壤含水量显著高于纯林,且两纯林土壤之间差异显著($P < 0.05$)。混交

林土壤含水量分别是臭椿纯林、刺槐纯林的 137%、252%。臭椿刺槐混交林土壤 pH 值、全磷含量、碱解氮含量与两纯林相比无显著差异。混交林有机质、全氮含量和速效钾含量显著高于刺槐纯林 ($P < 0.05$) 但与臭椿纯林相比无显著差异。混交林土壤有效磷含量是臭椿纯林的 3.05 倍,其差异达 5% 显著水平,但与刺槐纯林之间无显著性差异。混交林土壤有效磷速效钾含量显著高于刺槐纯林 ($P < 0.05$),但与臭椿纯林之间无显著性差异。

表 1 不同林分土壤理化性质

Table 1 Physical and chemical properties of the soils under different forests

林分 Forest	含水量 Moisture Content/%	有机质 OM/ (g/kg)	pH 值 pH	有效磷 AP/ (mg/kg)	速效钾 AK/ (mg/kg)	全氮 TN/ (g/kg)	全磷 TP/ (mg/kg)	碱解氮 AN/ (mg/kg)
CC	13.10±0.66b	74.83±5.73a	8.52±0.51a	1.51±0.57b	330.00±56.00a	0.20±0.04ab	658.83±51.52a	48.63±4.23a
CH	7.10±0.35c	34.08±4.37b	8.44±0.45a	3.47±0.69a	211.33±26.57b	0.12±0.03b	600.53±35.73a	45.10±5.01a
FCC	17.88±2.41a	79.87±7.65a	8.74±0.62a	4.60±1.06a	383.00±27.87a	0.26±0.06a	624.32±24.54a	52.4±5.31a

同列不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$); CC 为臭椿纯林; CH 为刺槐纯林; FCC 为刺槐臭椿混交林

2.2 测序数据分析

通过高通量测序,从臭椿纯林、刺槐纯林、刺槐臭椿混交林 3 种土壤样品中分别获得 26316、31281、38657 条原始序列 (Raw Tags), 过滤掉低质量的序列后,有效序列 (Effective Tags) 条数分别为 25949、30964、37911。采用随机抽样法,将这些序列在 97% 相似度上进行聚类,形成用于物种分类的 OTU。由图 1 可知,OTU 数随序列的增加而增加,不同林分之间的 OTU 数按下列顺序递减:刺槐臭椿混交林>刺槐纯林>臭椿纯林,且其差异均达 5% 显著水平。3 种林分细菌稀释曲线随 OTU 数增大基本趋于平缓,但未达到饱和。更多的测序数据对发现新的 OTU 贡献率较小,表明测序数据合理。

2.3 门水平上土壤细菌群落结构相对丰度分析

在门水平上,3 种林分土壤共检测出 31 门细菌,其中臭椿纯林、刺槐纯林、刺槐臭椿混交林土壤分别检测出 27、25、31 门细菌。酸杆菌门 (Acidobacteria)、变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、浮霉菌门 (Planctomycetes)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)、疣微菌门 (Verrucomicrobia) 8 种细菌在 3 种林分土壤中相对丰度均超过 1%。除这 8 种细菌以外,在刺槐臭椿混交林土壤中拟杆菌门 (Bacteroidetes) 的相对丰度也超过 1%。其中臭椿纯林土壤中变形菌门细菌相对丰度最高,比例为 35.3%,其细菌相对丰度显著高于其他两种林分土壤中的丰度。臭椿纯林、刺槐纯林和混交林土壤中酸杆菌门细菌的丰度分别为 20.4%、25.2%、27.6%,其中混交林土壤中酸杆菌门细菌相对丰度显著高于臭椿纯林 ($P < 0.05$)。研究发现拟杆菌门相对丰度仅在臭椿刺槐混交林中超过 1%,其丰度为 1.02%,在其他两种林分土壤丰度中分别为 0.61%、0.81%。由图 2 可知,臭椿纯林、刺槐纯林土壤有酸杆菌门、变形菌门、放线菌门、硝化螺旋菌门 4 种优势细菌群落 (群落丰度 > 10% 为优势菌落),而臭椿刺槐混交林土壤则只有 3 种优势细菌 (酸杆菌门、变形菌门、放线菌门);硝化螺旋菌门不是混交林土壤中的优势种,丰度仅为 6.45%,其在刺槐纯林和臭椿纯林 2 种纯林土壤中丰度分别为 11.6%、11.9%。此外,刺槐臭椿混交林中还有两个特有的门 SBR1093 和 PAUC34f。

2.4 细菌多样性指数

刺槐臭椿混交林的物种数、Chao1 指数、Shannon 指数分别为 1910.0、2419.0、9.1 (表 2),其中刺槐臭椿混

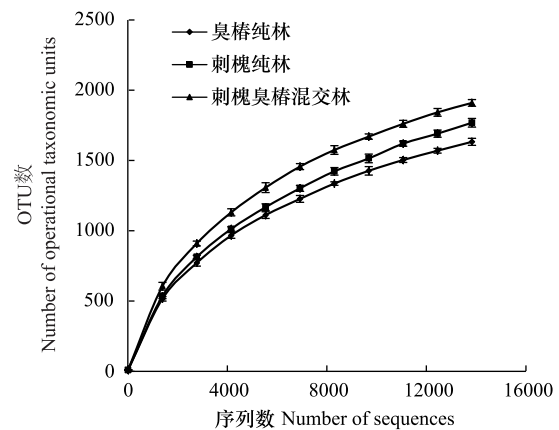


图 1 细菌稀释曲线分析

Fig.1 Rarefaction curve analysis of OTUs

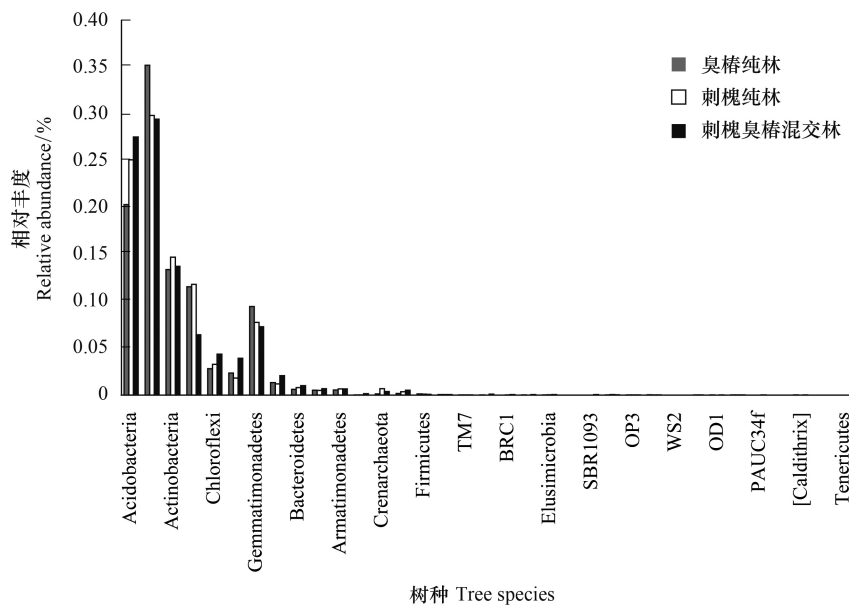


图 2 门水平土壤细菌群落结构

Fig.2 Soil bacterial community on the phylum level

Acidobacteria: 酸杆菌门, Proteobacteria: 变形菌门, Actinobacteria: 放线菌门, Nitrospirae: 硝化螺旋菌门, Chloroflexi: 绿弯菌门, Planctomycetes: 浮霉菌门, Gemmatimonadetes: 芽单胞菌门, Verrucomicrobia: 疣微菌门, Bacteroidetes: 拟杆菌门, Armatimonadetes: 装甲菌门, Cyanobacteria: 蓝细菌门, Crenarchaeota: 泉古菌门, Euryarchaeota: 古生菌门, Firmicutes: 厚壁菌门, Chlorobi: 绿菌门, Elusimicrobia: 迷踪菌门, Fibrobacteres: 纤维杆菌门, Fusobacteria: 梭杆菌门, Caldithrix: 蓝藻门, Tenericutes: 柔膜菌门, (WS3, TM7, WYO, BRC1, NKB19, Thermi, SBR1093, GAL15, OP3, WS2, OD1, TM6, PAUC34f, NC10, WPS-2) 未定菌, Others: 其他

交林的物种数显著高于刺槐纯林和臭椿纯林,且物种数在 2 种纯林种也表现出显著差异($P < 0.05$)。刺槐纯林的 Chao1 指数为 2526.6,显著高于臭椿纯林和刺槐臭椿混交林($P < 0.05$),但 Chao1 指数在臭椿纯林和混交林中无显著差异。3 种不同林分土壤的 Shannon 指数无显著差异。

2.5 细菌群落与土壤理化性质主成分分析

以土壤理化性质数据作为土壤环境变量,3 种不同林分细菌群落在门水平上相对丰度大于 1% 的 8 种细菌门类相对丰度数据作为物种数据进行主成分分析,结果如图 3A 所示,第 1 主成分(PC1)解释了细菌群落变化的 75.79%,第 2 主成分(PC2)解释了 24.21%,在第 1 主成分轴上含水量、全氮含量贡献较大,在第 2 主成分轴上有效磷含量、pH 与混交林土壤细菌高度相关。图 3B 表示,3 种不同林分之间土壤细菌群落结构差异显著,有较高分度的分离,与臭椿纯林相关性较强的是变形菌门、芽单胞菌门;与刺槐纯林相关性较强的是放线菌门、硝化螺旋菌门;与混交林相关性较强的是酸杆菌门、绿弯菌门、浮霉菌门、疣微菌门。

表 2 不同林分土壤中细菌群落多样性分析

Table 2 Analysis of bacterial community diversity in the soils under different forests

指数 Index	林分 Forests		
	CH	CC	FCC
物种数 Observed species	1769.00±34.22b	1633.00±38.51c	1910.00±41.94a
Chao1 指数 Chao1 index	2526.61±39.45a	2342.72±51.62b	2418.96±46.19b
Shannon 指数 Shannon's index	8.75±0.24a	8.70±0.19a	9.11±0.21a

同一行标注不同小写字母的数据表示处理间存在显著差异($P < 0.05$)

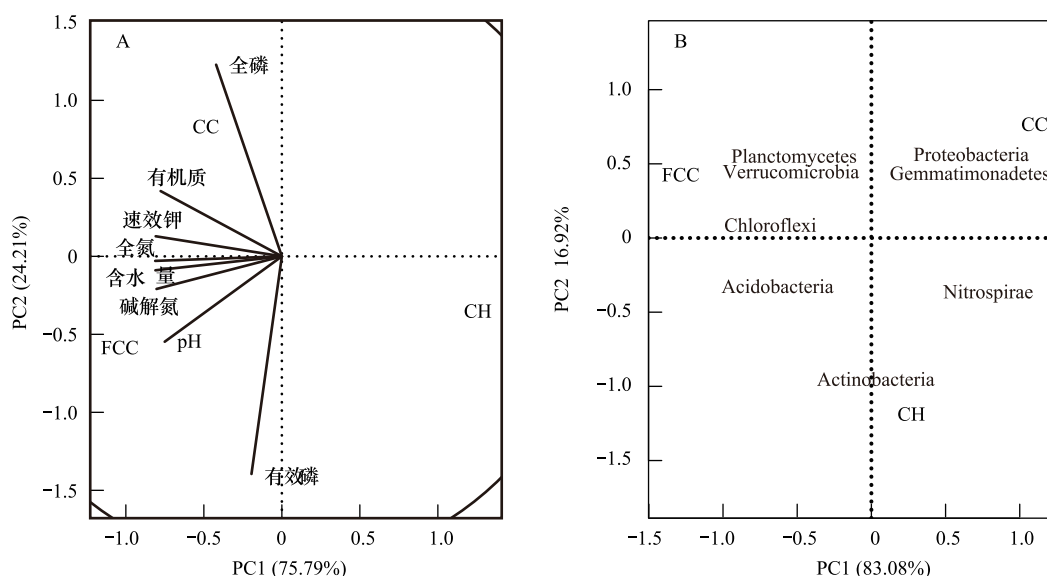


图3 主要细菌群落与土壤理化性质主成分分析

Fig.3 Principal component analysis of main bacterial communities and soil physical and chemical properties

3 讨论

3.1 不同林分类型对土壤细菌结构及多样性的影响

一般来说陆地生态系统可分为地上和地下两部分。地下的土壤生态系统中的土壤细菌在驱动物质循环和能量交换过程而作用于地上生态系统的同时,自身也受到地上生态系统的影响,其中植物对土壤细菌群落多样性的影响显得尤为突出^[21]。植被是土壤细菌赖以生存的有机营养物质和能量的重要来源,植被通过影响土壤有机碳和氮的水平、土壤含水量、及 pH 值等来影响土壤细菌多样性^[22]。植物地下部分的根系会产生各种分泌物,能形成特殊的根际环境。Kourtev^[23]研究表明,通常外来植物取代土著植物后会改变根系对土壤的营养物质输入,从而影响土壤细菌的结构与功能。因此,不同树种的混交实际上是改变了植物的类型,许多研究^[24-25]表明,混交林可较好地促进土壤细菌的生长并丰富其多样性。本试验研究发现,刺槐臭椿混交林及其纯林因林分类型不同,土壤细菌群落的组成和结构也不同。其中刺槐臭椿混交林土壤中检测出 31 门细菌,而臭椿纯林、刺槐纯林土壤中分别只有 27、25 门细菌,刺槐臭椿混交林土壤中拟杆菌门(*Bacteroidetes*)细菌是相对丰度超过 1% 的主要细菌群落,而在两种纯林土壤中拟杆菌门则不是主要细菌群落,说明刺槐臭椿混交后不仅使土壤细菌组成更丰富,土壤中细菌丰度也有提高。很多研究表明森林土壤细菌群落组成是由主要树种决定的^[26-27],对针阔混交林的研究发现针阔混交林的土壤微生物结构与针叶林和阔叶林均有明显区别。罗达等^[28]的研究也表明:与纯林相比,南亚热带乡土树种营造的人工混交林可提高土壤生态系统的稳定性,增加土壤细菌种类。王凌云等^[29]在研究马尾松纯林与枫香木荷混交林土壤微生态环境差异时发现,香枫木荷混交林在改善土壤细菌生存环境方面有更明显效果。造成这种现象的原因可能是在门水平上,土壤细菌群落结构的变化受到自身细菌生长速率等因素的驱动^[30],另外混交林相比纯林有更为丰富和多样的植物凋落物,提高了土壤保水能力,使得土壤环境和营养条件得以改善,加快细菌生长为土壤细菌数量的增加和群落结构的丰富创造了条件^[31]。不同林分类型,在凋落物数量和质量、土壤有机质含量以及土壤含水量等方面会有较大差异,这些差异会影响到土壤细菌的生存环境,从而影响到土壤细菌种类、数量、组成和分布等^[32]。从前人的研究成果和本文的研究结果来看,与相应的纯林比较,混交林能改变土壤细菌的结构,提高土壤细菌的多样性,为土壤功能的恢复奠定基础。植物与土壤细菌群落的关系是复杂的,是各种影响因素综合作用的结果,植物与土壤细菌之间的相互作用推动着由它们共同组成的生态系统功能的变化^[33]。因此应加强土壤微生物功

能多样性与植被之间的关系研究,使其发挥更大的生产和生态作用。

3.2 土壤理化性质对土壤细菌多样性的影响

土壤细菌的生存和繁衍需要一定的环境条件。土壤水分是土壤细菌所需的最基本条件,参与土壤细菌的各种的代谢活动^[34],较好的土壤水分条件可为细菌的生长繁殖提供更为优越的条件。吴俐莎等^[35]研究表明,土壤含水量减少,不利于细菌生长,细菌数量会减少。本研究中,刺槐臭椿混交林土壤含水量显著高于纯林,3种林分土壤含水量呈刺槐臭椿混交林>臭椿纯林和>刺槐纯林,表明树种混交增加了土壤含水量,这可能也是混交林土壤中细菌物种数高于纯林的原因之一。本研究相关性分析也表明土壤含水量与物种数和 Shannon 指数呈正相关,说明土壤含水量对土壤细菌群落多样性有一定影响,与安韶山^[36]和区余端^[37]的研究结果相似。

刺槐臭椿混交林有机质含量显著高于刺槐纯林,土壤中细菌多样性和丰富度也高于相应的纯林。邓娇娇等^[38]研究也发现混交林土壤有机质含量比纯林高,同时混交林土壤细菌的多样性和丰富度也较纯林高。这可能是土壤中的有机质可直接为土壤细菌提供生长所需的营养。Tóth 等^[39]研究证实,有机质含量的高低能对土壤细菌群落的结构和组成产生影响。

土壤中磷也是土壤细菌的重要营养来源,磷元素的多少也影响土壤细菌在土壤中生存和繁殖。唐宏亮等^[40]研究磷供应对玉米根际微生物的影响时发现当土壤含磷量较高时,可增加土壤微生物的代谢,提高土壤微生物的多样性。本试验中,刺槐臭椿混交林有效磷含量显著高于臭椿纯林,与土壤细菌物种数呈正相关,表明土壤有效磷含量变化会引起土壤细菌群落变化。李亚娟等^[41]研究发现当土壤中的磷元素大部分以迟效性状态存在时,并不能很好地为土壤生物所利用,因此土壤全磷含量有时不能作为土壤磷素供应的指标。所以在研究磷素对土壤细菌的影响时,应综合考虑土壤中全磷和有效磷两种形式(杨菁等^[42])。

细菌的多样性高低不仅和物种数量有关,还与物种分布的均匀程度有关。在计算刺槐纯林、臭椿纯林和刺槐臭椿混交林细菌多样性时,刺槐林的 Chao 1 指数高于其他两种林分,物种数又低于其他两种林分,这可能与刺槐林分中土壤细菌分布较为均匀有关,因而多样性也稍高于另外两种林分。

本文以黄河三角洲刺槐臭椿混交林及其纯林作为研究对象,探究混交对土壤细菌群落的影响,通过运用高通量测序技术,更准确地分析刺槐和臭椿混交对土壤细菌群落影响。本研究发现刺槐臭椿混交改善了土壤理化性质,提高了土壤细菌多样性,说明混交栽培较相应的纯林有一定的优势,因此在黄河三角洲地区应提倡栽培具有耐盐性树种组成的混交林,以提高林分的稳定,使其发挥更好的生态效益和经济效益。

4 结论

酸杆菌门、变形菌门、放线菌门细菌丰度占到了细菌总量的 69%—71%,是 3 种林地的共同优势细菌群落,尤其是在刺槐臭椿混交林中所占比例最高。刺槐臭椿混交林土壤细菌多样性显著高于刺槐纯林和臭椿纯林,混交林丰富了土壤细菌群落。同时,混交增加了物种数量,混交林土壤细菌多样性优于单一树种纯林,土壤理化性质也在一定程度上有所改善尤其是土壤含水量、有效磷含量。

参考文献(References):

- [1] 宋长青,吴金水,陆雅海,沈其荣,贺纪正,黄巧云,贾仲君,冷疏影,朱永官.中国土壤微生物学研究 10 年回顾.地球科学进展,2013,10(10):1087-1105.
- [2] 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(08):979-988.
- [3] 梁秀棠,雷玉宝.纯松林、纯杉林、混交林的土壤微生物区系分析.广西林业科技,1991(01):23-28.
- [4] Zhou J, Xia B, Treves D S, Wu LY, Marsh T L, O'Neill RV, Anthony V, Tiedje JM. Spatial and resource factors influencing high microbial diversity in soil. Appl Environ Microbiol, 2002, 68(1):326-334.
- [5] Guo W, Wang R, Zhou S, Zhang S, Zhang Z. Genetic diversity and clonal structure of australis in the Yellow River delta of China. Biochemical Systematics & Ecology, 2003, 31(10):1093-1109.
- [6] Zhang G S. Quantitative classification of plant communities in the modern Yellow River Delta. Journal of Beijing Forestry University, 2008, 30(3):31-36.
- [7] Kennedy N, Brodie E, Connolly J, Clipson N. Impact of lime, nitrogen and plant species on bacterial community structure in grassland

- microcosms.. *Environmental Microbiology*, 2010, 6(10):1070-1080.
- [8] 白世红, 丁新景, 马风云, 李树生, 敬如岩, 黄雅丽. 黄河三角洲盐碱地人工刺槐混交林细根分布研究. *中国生态农业学报*, 2018, 26(1).
- [9] 侯本栋, 马风云, 宋玉民, 侯龙鱼, 崔晓东. 不同树种对土壤养分、酶活性与微生物影响的研究. *江西农业大学学报*, 2006, 28(5): 734-738.
- [10] 张燕灵, 李靖宇, 刘建利, 刘雅琴, 张翼飞, 赵吉, 邓蔚. 基于高通量测序技术对沙湖水体细菌多样性的分析. *生物学杂志*, 2017, 34(06): 56-59.
- [11] Zhou Y J, Li J H, Ross Friedman C, Wang H F. Variation of Soil Bacterial Communities in a Chronosequence of Rubber Tree (*Hevea brasiliensis*) Plantations. *Frontiers in Plant Science*, 2017, 8:849.
- [12] 刘云, 李传荣, 许景伟, 邴贝贝, 吕蒙蒙, 程玲. 黄河三角洲盐碱地刺槐混交林对土壤脲酶活性的影响. *中国水土保持科学*, 2013, 11(05): 107-113.
- [13] Schloss P D, Westcott S L, Ryabin T, Hall J R, Hartmann M, Hollister E B, Lesniewski R A, Oakley B B, Parks D H, Robinson C J, Sahl J W, Stres B, Thallinger G G, Van Horn D J, Weber C F. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities.. *Applied & Environmental Microbiology*, 2009, 75(23):7537.
- [14] Kemp P F, Aller J Y. Bacterial diversity in aquatic and other environments: what 16S rDNA libraries can tell us. *Fems Microbiology Ecology*, 2004, 47(2):161-177.
- [15] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [16] 刘璐, 何寻阳, 谢强, 王克林. 桂西北喀斯特常见豆科植物根瘤菌的遗传多样性. *应用生态学报*, 2015, 26(12):3663-3669.
- [17] 戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 吴洪新, 徐林波, 侯向阳, 高丽, 崔艳伟. 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究. *土壤学报*, 2017, 54(03):735-748.
- [18] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, Cole J R. Naïve Bayesian Classifier for Rapid Assignment of rRNA Sequences into the New Bacterial Taxonomy. *Applied & Environmental Microbiology*, 2007, 73(16):5261.
- [19] Desantis T Z, Hugenholtz P, Larsen N, Rojas M, Brodie E L, Keller K, Huber T, Dalevi D, Andersen G L. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Applied & Environmental Microbiology*, 2006, 72(7):5069-72.
- [20] 邸雪颖, 耿莹莹, 孙龙, 胡海清. 兴安落叶松林土壤微生物生物量季节动态及影响因素. *东北林业大学学报*, 2012, 40(05):1-4.
- [21] 贺纪正, 李晶, 郑袁明. 土壤生态系统微生物多样性-稳定性关系的思考. *生物多样性*, 2013, 4(4):411-420.
- [22] 周桔, 雷霆. 土壤微生物多样性影响因素及研究方法的现状与展望. *生物多样性*, 2007, 15(3):306-311.
- [23] Kourtev P S, Ehrenfeld J G, Haggblom M. Exotic plant species alter the microbial community structure and function in the soil. *Ecology*, 2002, 83: 3152-3166.
- [24] Soares C T. Land use intensification in the humid tropics increased both alpha and beta diversity of soil bacteria. *Ecology*, 2016, 97(10): 2760-2771.
- [25] Klimek B, Aukasz Musielok, Tarasek A. Covariation of soil bacteria functional diversity and vegetation diversity along an altitudinal climatic gradient in the Western Carpathians. *Pedobiologia*, 2015, 58(2-3):105-112.
- [26] Šnajdr J., Dobířšová P, Urbanová M. Dominant trees affect microbial community composition and activity in post-mining afforested soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 56: 105-115.
- [27] Urbanová, Michaela, Šnajdr, Jaroslav, Baldrian P. Composition of fungal and bacterial communities in forest litter and soil is largely determined by dominant trees. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 84: 53-64.
- [28] 罗达, 史作民, 唐敬超, 刘世荣, 卢立华. 南亚热带乡土树种人工纯林及混交林土壤微生物群落结构. *应用生态学报*, 2014, 25(09): 2543-2550.
- [29] 王凌云, 喻荣岗, 万佳蕾, 徐爱珍, 杨洁. 马尾松纯林与枫香木荷混交林土壤微生态环境差异分析. *中南林业科技大学学报*, 2015, 35(12): 82-86.
- [30] Cottrell M T, Mannino A, Kirchman D L. Aerobic oxygenic phototrophic bacteria in the Mid-Atlantic Bight and the North Pacific Gyre. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 72: 557-564.
- [31] 林先贵. 土壤微生物研究原理与方法[M]. 高等教育出版社, 2010.
- [32] Nioh I, Momi A. Comparison of microflora of Yezo spruce "Picea jazoensis 'Sieb. et Zucc.' Carr." roots in the healthy and deleterious forests. *Japanese Journal of Forest Environment*, 1994, 36(1):51-56.
- [33] Klironomos, John N. Feedback with soil biota contributes to plant rarity and invasiveness in communities. *Nature (London)*, 2002, 417(6884): 67-70.
- [34] 杨成德, 龙瑞军, 陈秀蓉, 满元荣, 徐长林, 惠婧婧. 东祁连山高寒草甸土壤微生物量及其与土壤物理因子相关性特征. *草业学报*, 2007(04):62-68.
- [35] 吴俐莎, 唐杰, 罗强, 汤博, 聂远洋, 王晓彤, 杨志荣, 孙群, 冯甦, 张杰. 若尔盖湿地土壤酶活性和理化性质与微生物关系的研究. *土壤通报*, 2012, 43(01):52-59.
- [36] 安韶山, 李国辉, 陈利顶. 宁南山区典型植物根际与非根际土壤微生物功能多样性. *生态学报*, 2011, 31(18):5225-5234.
- [37] 区余端, 苏志尧, 彭桂香, 刘刚. 车八岭山地常绿阔叶林火灾后土壤微生物群落功能多样性. *生态学报* 2009, 29(11):6156-6164.
- [38] 邓娇娇, 周永斌, 殷有, 张淞著, 朱文旭. 油松和蒙古栎混交对土壤微生物群落功能多样性的影响. *生态学杂志*, 2017, 36(11):3028-3035.
- [39] Tóth, Zsolt, Tóncics, András, Kriszt, Balázs. Extreme effects of drought on composition of the soil bacterial community and decomposition of plant tissue. *European Journal of Soil Science*, 2017, 68(4): 504-513.
- [40] 唐宏亮, 郭秋换, 张春潮, 段霄霄. 磷供应对玉米根际微生物碳源利用和功能多样性的影响. *中国生态农业学报*, 2015, 23(10):1312-1319.
- [41] 李亚娟, 曹广民, 龙瑞军. 不同草地利用方式对土壤有机碳、全氮和全磷的影响. *草原与草坪*, 2012, 32(5):26-29.
- [42] 杨菁, 周国英, 田媛媛, 刘倩丽, 刘成峰, 杨权, 周洁尘. 降香黄檀不同混交林土壤细菌多样性差异分析. *生态学报*, 2015, 35(24):8117-8127.