

DOI: 10.5846/stxb202003190599

王文晓, 李小伟, 黄文广, 杨君珑. 蒙古沙冬青根际土壤细菌群落组成及多样性与生态因子相关性研究. 生态学报, 2020, 40(23): 8660-8671.

Wang W X, Li X W, Huang W G, Yang J L. Correlations between the composition and diversity of bacterial communities and ecological factors in the rhizosphere of *Ammopiptanthus mongolicus*. Acta Ecologica Sinica, 2020, 40(23): 8660-8671.

蒙古沙冬青根际土壤细菌群落组成及多样性与生态因子相关性研究

王文晓¹, 李小伟^{1,*}, 黄文广², 杨君珑¹

¹ 宁夏大学农学院, 银川 750021

² 宁夏草原工作站, 银川 750021

摘要: 蒙古沙冬青 (*Ammopiptanthus mongolicus*) 是中国西北荒漠唯一的常绿阔叶灌木, 耐干旱、抗逆性强, 在水土和荒漠化防治方面发挥着重要作用。为了探究蒙古沙冬青根际微生物多样性与生态因子互作机制, 采用高通量测序技术测定了 26 个自然种群根际土壤细菌多样性; 利用冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 探讨了根际细菌群落组成和多样性与生态因子之间的关系。结果表明: 蒙古沙冬青根际土壤细菌隶属于 15 门、43 纲、68 目、123 科、185 属; 主要优势细菌群为蓝菌门 (*Cyanobacteria*) 65.74%、变形菌门 (*Proteobacteria*) 21.72%、放线菌门 (*Actinobacteria*) 6.28% (相对丰度 > 2%); 优势菌纲为 α -变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*) 17.48%、放线菌纲 (*Actinobacteria*) 4.76%、 γ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*) 3.28%。RDA 分析显示: 生态因子能够解释蒙古沙冬青根际土壤细菌群落多样性 52.69% 的方差, 其中年均降雨量 ($F = 12.8, P = 0.002$)、纬度 ($F = 5.1, P = 0.016$)、太阳辐射 ($F = 5, P = 0.02$) 是影响土壤细菌多样性的主要因素。研究结果可为深入认识荒漠生态系统中根际土壤细菌的群落结构和影响因素提供理论依据。

关键词: 蒙古沙冬青; 根际土壤; 高通量测序; 细菌群落; 生态因子

Correlations between the composition and diversity of bacterial communities and ecological factors in the rhizosphere of *Ammopiptanthus mongolicus*

WANG Wenxiao¹, LI Xiaowei^{1,*}, HUANG Wenguang², YANG Junlong¹

¹ Agricultural College, Ningxia University, Yinchuan 750021, China

² Ningxia Autonomous Region Grassland Station, Yinchuan 750021, China

Abstract: *Ammopiptanthus mongolicus* is the unique evergreen broad-leaved shrub in the desert of northwest China. It is drought tolerant, strong resistance and plays an important role in soil and water conservation and desertification control. In order to investigate the rhizospheric microbial diversity of *A. mongolicus* and interaction mechanism with ecological factors, the bacterial diversity of rhizosphere soil of 26 populations was determined by high-throughput sequencing technology. Redundancy analysis (RDA) was applied to analyze the correlation between rhizosphere bacterial community diversity and ecological factors. The results showed that 15 phylum, 43 classes, 68 orders, 123 families and 185 genera were detected in the 78 rhizosphere soil samples. The main dominant bacteria phylum in all sample sites were *Cyanobacteria* (65.74%), *Proteobacteria* (21.72%), *Actinobacteria* (6.28%) (relative abundance > 2%). The dominant bacteria class were *Alphaproteobacteria* (17.48%), *Actinobacteria* (4.76%) and *Gammaproteobacteria* (3.28%). RDA indicated that 52.69%

基金项目: 国家自然科学基金资助 (31560154); 宁夏高等学校一流学科建设 (草学学科) 资助项目 (NXYLXK2017A01); 农业部草地资源监测项目 (2016)

收稿日期: 2020-03-19; 修订日期: 2020-08-13

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lxwbq@126.com

rhizosphere bacterial community diversity variation of *A. mongolicus* could be explained by environmental variables. Among factors, annual rainfall ($F=12.8$, $P=0.002$), latitude ($F=5.1$, $P=0.016$), and solar radiation ($F=5$, $P=0.02$) were the main influencing factors for dominant bacteria in rhizosphere soil of in *A. mongolicus*. The results of this study provided a theoretica basis for further understanding the community structure and affecting factors of rhizospheric soil bacteria in desert ecosystems.

Key Words: *Ammopiptanthus mongolicus*; rhizosphere soil; high-throughput sequencing; bacterial community; ecological factors

荒漠的生存条件极端恶劣,却拥有丰富的微生物资源^[1]。由于荒漠生态系统特殊的环境,土壤微生物学特性方面的研究备受研究方法的限制^[2]。有关土壤微生物群落多样性的研究主要集中在草地^[3]、森林^[4]、湿地^[5]等生态系统,对荒漠生境土壤微生物群落多样性的研究相对较少。近年来,随着测序技术的不断发展,荒漠土壤微生物生态学研究逐渐开展起来,研究区域涵盖中国西北地区^[6],其中根际微生物的生物多样性、植物-土壤-根际微生物间的互作、根际微生物的群落结构和功能调控等成为研究的热点^[7-8]。根际土壤细菌是土壤微生物主要的组成部分,参与多种生化反应,在土壤有机物分解、腐殖质形成、养分转化与吸收等过程中扮演着重要角色,其特性是表征土壤基质变化的敏感指标。因此,根际土壤细菌群落组成和变化成为土壤生态学的热点研究方向之一^[9]。

沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)隶属豆科沙冬青属,为亚洲中部荒漠特有种^[10],为古地中海第三纪孑遗植物,是国家三级濒危保护植物,主要分布在宁夏中北部、内蒙古西部及甘肃中东部等荒漠地区^[11],多生长在沙丘、河滩沙地、砂砾土生境,是荒漠优势种之一,也是西北荒漠生境中唯一常绿阔叶灌木,具有地上部冠幅大、分枝多、抗逆性强等生物学特性,在水土保持和防治荒漠化方面作用显著,是西北荒漠优良的防风固沙树种之一^[12]。近年来,对沙冬青的研究主要集中在生理生态^[13]、抗逆生理^[14]、群落区系组成与结构特征^[15]、迁地保护及濒危原因^[16]等方面,但有关沙冬青根际土壤微生物群落方面的报道很少,现有的研究是基于传统的计数法和生物化学方法^[17],研究的尺度仅限于一个或少数几个样地^[18]。新一代高通量测序技术被广泛应用于微生物群落结构和物种组成分析,为大尺度和深层次的土壤微生物群落结构分析提供了保障^[19]。因此,探明沙冬青根际细菌群落多样性以及影响因素,对揭示沙冬青适应极端干旱环境的机理,稳定和改善荒漠生态系统有重要意义。本研究采用高通量测序技术,拟对荒漠生境中沙冬青根际土壤细菌群落多样性与生态因子的关系进行分析。

2 材料与方法

2.1 研究区概况

本研究区域为 104°47'42.72"—107°9'2.52"E, 36°16'35.76"—41°46'36.84"N,海拔范围在 1023—1883 m 之间。主要包括宁夏中北部地区,内蒙古西部的戈壁荒漠及甘肃中条山附近,该区属温带大陆性气候,年平均气温在 6.76—11.21℃之间,年均降雨量在 105—389 mm 之间,年均蒸发量大于 2000 mm,该区土壤基质主要为沙质、砾质和黏土质土壤,此类土壤保水保肥能力弱,土壤贫瘠。本研究依据沙冬青自然分布情况选择了 26 个典型群落作为样地,基本涵盖了沙冬青的分布范围(图 1),沙冬青样地的植物群落特征详见表 1。

2.2 研究方法

2.2.1 土壤取样

2018 年 8 月,在沙冬青分布区内选择了 26 个具有代表性的样地,每个样地使用手持全球定位系统(Global position system, GPS)测定经度、纬度和海拔,随机设置 3 个 10 m×10 m 的样方,样方相隔 200 m 左右,在每个样方中选择三株长势相近的沙冬青,采集其根际土壤,混合,共取得 78 份土壤样品。取样步骤:用铁锹去除沙冬青根部周围枯落物和土壤,在距离地表 0—30 cm 的地方,待根部露出后收集附着在根表面 5 mm 以

内的土壤置于无菌的 50 mL 离心管中,将同一样方中的 3 株沙冬青根际土壤混匀,编号后置于液氮罐中立即带回实验室,部分用于高通量测序,部分自然风干、过筛,用于土壤理化性质的测定。

2.2.2 土壤理化性质

土壤理化性质的测定均按照《土壤农化分析》^[20]进行测定:土壤 pH 的测定采用电位测定法(水土比为 5:1);土壤全氮用全自动凯氏定氮仪测定;土壤全磷和速效磷用流速分析仪测定;有机质用重铬酸钾氧化—外加热法测定;碱解氮用碱解扩散法测定。

2.2.3 气候数据

气候数据来自世界气候数据网站(<http://www.worldclim.org/>),该库提供了全球 1 km×1 km 分辨率近 50 年的月平均气温和降水数据^[21]。气候数据包括年均降雨量、年均温、太阳辐射。

2.2.4 土壤微生物总 DNA 的提取、PCR 扩增及测序

将采集的土壤样品送到北京百迈客生物科技有限公司进行 Illumina MiSeq 高通量测序。使用 Mobio 土壤强力提取试剂盒(PowerSoil® DNA Isolation Kit)操作步骤提取样品细菌

16S rRNA 基因。对细菌 16S rRNA 基因(V3+V4)区域引物^[22]:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'和 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'进行 PCR 扩增。PCR

反应体系:基因组 DNA40—60 ng/50 μL, * Vn F (10 μmol/L) 1.5 μL, * Vn R (10 μmol/L) 1.5 μL, KOD FX Neo (TOYOBO) 1 μL, KOD FX Neo Buf (2X) 25 μL, 2dNTP 10 μL, ddH₂O 补至总体积 50 μL。PCR 反应条件:95℃ 5 min;95℃ 15 min,50℃ 1 min,72℃ 1 min,15 个循环;72℃ 7 min。扩增结果进行 1.8% 的琼脂糖凝胶,120 V 40 min 电泳后,切目的片段,并回收。PCR 扩增后并对其产物进行纯化、定量和均一化形成测序文库,建好的文库先进行文库质检,质检合格的文库用 Illumina HiSeq 2500 进行双向测序。对原始数据使用 FLASH 软件进行拼接,将拼接得到的序列使用 Trimmomatic 软件进行质量过滤,并使用 UCHIME 软件去除嵌合体,得到高质量的 Tags 序列(有效序列数)^[23];在相似性 97% 的水平上使用 USEARCH 软件对序列进行聚类,以测序所有序列数的 0.005% 作为阈值过滤操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTUs),对 OTUs 代表序列进行物种注释,细菌 OTUs 的序列用 RDP Classifier 的方法与 Silva 的数据库(<http://www.arb-silva.de>)进行物种注释分析(设定置信度阈值为 0.8)^[24],最后对各样品的全部数据进行均一化处理。

2.2.5 数据处理

使用 SPSS18.0 软件对均值、标准误进行计算,采用 Pearson 相关系数对各个指标进行了相关性分析。采用 CANOCO 5.0 进行蒙特卡罗检验和冗余分析(Redundancy analysis, RDA)分析了生态因子对细菌多样性的影响。

3 结果与分析

3.1 蒙古沙冬青根际土壤细菌群落组成分析

通过对沙冬青 26 个样地 78 个样本高通量测序共检测到细菌 15 门、43 纲、68 目、123 科和 185 属。图 2

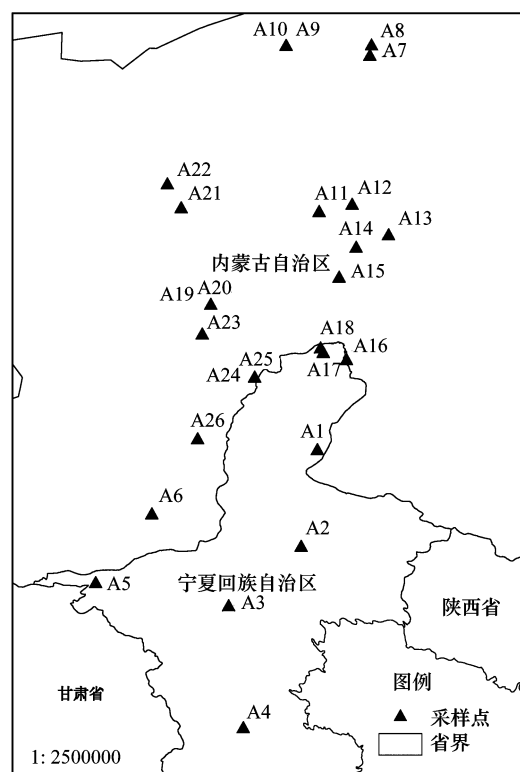


图 1 蒙古沙冬青采样点分布图

Fig.1 Distribution of sampling plots for *A. mongolicus*
A1—A26: 蒙古沙冬青群落样地 Community plots for *A. mongolicus*

和图 3 分别展示了沙冬青各样地门(Phylum)和纲(Class)分类水平的细菌群落结构。从图 2 可知,沙冬青根际土壤中检测到的主要门有:蓝菌门(*Cyanobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、软壁菌门(*Tenericutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、螺旋体菌门(*Saccharibacteria*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)和放线菌门(*Actinobacteria*)。蓝菌门、变形杆菌门、放线菌门(相对丰度>2%)是土壤中占主导地位的微生物,约占到了所有微生物总数的 70%—80%以上。蓝菌门的变化范围为 28.90%—74.62%,均值为 65.74%;变形杆菌门的变化范围为 28.90%—40.26%,均值为 21.72%;放线菌门的变化范围为 2.38%—14.95%,均值为 6.28%。各优势菌门在不同样地的分布均有明显差异,大多数物种已分类明确,样地中仅有少量未分类命名物种。

表 1 蒙古沙冬青采样点群落特征
Table 1 Community characteristics of *A. mongolicus* sampling sites

样地 Plot	取样地点 Sampling location	群落类型 Community type	群落盖度 Coverage/%	群落高度 Height/cm	主要伴生物种 Major companion species
A1、A2	宁夏黄泥岗、须弥山	蒙古沙冬青	32.84—95.37	12—240	九顶草 (<i>Enneapogon desvauxii</i>)、红砂 (<i>Reaumuria soongarica</i>)、猪毛蒿 (<i>Artemisia scoparia</i>)、刺沙蓬 (<i>Salsola tragus</i>)、短花针茅 (<i>Stipa breviflora</i>)
A3、A16、A24	宁夏吴忠市、内蒙古乌海市、阿拉善盟左旗	蒙古沙冬青	27.07—80.84	3—105	毛刺锦鸡儿 (<i>Caragana tibetica</i>)、九顶草、刺沙蓬、猪毛蒿、
A4、A21	宁夏中卫、海原、内蒙古阿拉善盟左旗	蒙古沙冬青	21.02—41.27	12—140	沙鞭 (<i>Psammochloa villosa</i>)、白沙蒿 (<i>Artemisia blepharolepis</i>)、虎榛子 (<i>Ostryopsis davidiana</i>)、草原石头花 (<i>Gypsophila davurica</i>)
A5、A17、A18、A25	宁夏红寺堡、惠农区、内蒙古乌海市、阿拉善盟左旗	蒙古沙冬青	21.04—88.51	3—410	蓍状亚菊 (<i>Ajania achilloides</i>)、猪毛蒿、旱榆 (<i>Ulmus glaucescens</i>)、中亚细柄茅 (<i>Ptilagrostis pelliotii</i>)
A6、A13、A23	内蒙古阿拉善左旗、巴彦淖尔	蒙古沙冬青	34.86—66.03	8—160	狗尾草 (<i>Setaria viridis</i>)、新巴黄耆 (<i>Astragalus grubovii</i>)、霸王 (<i>Zygophyllum xanthoxylon</i>)、蒺藜 (<i>Tribulus terrestris</i>)
A7、A9	内蒙古阿拉善盟左旗、巴彦淖尔乌拉特后旗	蒙古沙冬青	26.06—51.46	5—139	矮脚锦鸡儿 (<i>Caragana brachypoda</i>)、蒙古韭 (<i>Allium mongolicum</i>)、霸王、驼绒藜 (<i>Krascheninnikovia ceratoides</i>)、绵刺 (<i>Potania mongolica</i>)
A8、A10、A14、A20	内蒙古巴彦淖尔、乌拉特后旗、阿拉善盟左旗	蒙古沙冬青	21.03—80.04	7—170	狗尾草、沙蓬 (<i>Agriophyllum squarrosum</i>)、蒺藜 (<i>Tribulus terrestris</i>)、雾冰藜 (<i>Bassia dasyphylla</i>)
A11、A12、A19、A22	内蒙古磴口县、阿拉善盟左旗	蒙古沙冬青	20.24—97.05	18—180	白刺 (<i>Nitraria tangutorum</i>)、叉枝鸦葱 (<i>Scorzonera muriculata</i>)、白沙蒿、梭梭 (<i>Haloxylon ammodendron</i>)、刺沙蓬
A15、A26	内蒙古鄂尔多斯、阿拉善盟左旗	蒙古沙冬青	33.52—70.83	7—140	蒺藜、无芒隐子草 (<i>Cleistogenes songorica</i>)、白刺、蒺藜、矮脚锦鸡儿

通过纲分类层次(图 3)的统计表明:样品中优势菌纲(相对丰度>2%)主要有 α-变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)、放线菌纲(*Actinobacteria*)、γ-变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)。A-变形菌纲的变化范围为 10.96%—28.36%,均值为 17.48%;放线菌纲的变化范围为 1.65%—10.21%,均值为 4.76%;γ-变形菌纲的

变化范围为 0.70%—7.18%, 均值为 3.28%。样品中分类层次不明确和未分类命名的物种较少, 说明大多数已分类明确。在菌纲水平上, 已分类清晰和准确命名的细菌群落在不同样地的分布差异不明显。

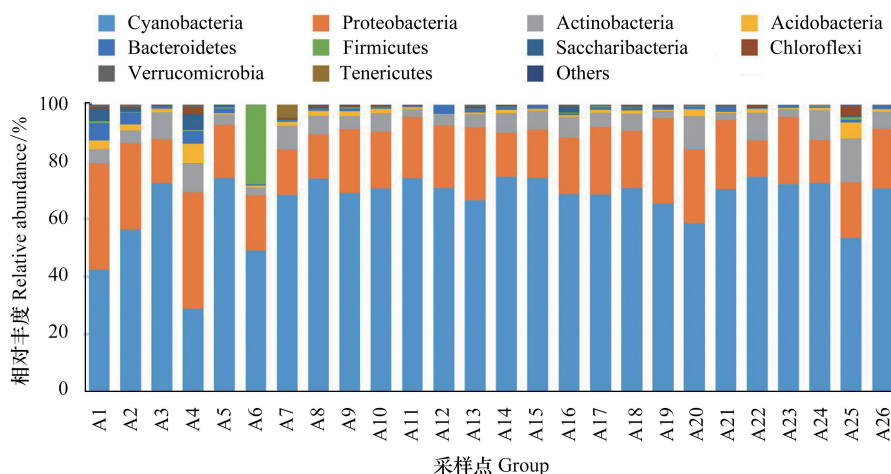


图2 蒙古沙冬青土壤样品主要细菌种类在门水平上的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of major bacterial species in the soil samples of *A. mongolicus*

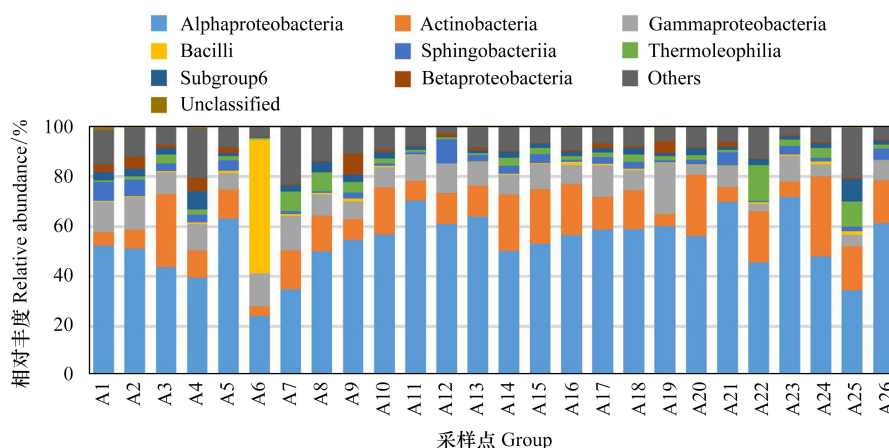


图3 蒙古沙冬青土壤样品主要细菌种类在纲水平上的相对丰度

Fig.3 Relative abundance of major bacterial species in the soil samples of *A. mongolicus*

3.2 蒙古沙冬青根际土壤细菌多样性分析

对 78 个样品在 97% 的相似水平下进行高通量测序, 共得到有效序列条数为 5539824, 对有效序列条数进行聚类共获得 OTU 样品数为 30671, 各样本 OTU 覆盖率 (Coverage) 均高于 99.89%, 该指数反映本次测序结果代表了样本中微生物的真实情况 (表 2)。从稀释曲线的结果 (图 4) 可以看出, 细菌的稀释曲线随着测序条数的加大均基本趋于平缓, 则表明样品序列充分, 能够代表物种的多样性, 可以进行多样性数据分析。

表 2 所示为蒙古沙冬青根际细菌多样性指数。Alpha 多样性反映的是单个样品物种多样性, 有多种衡量指标: Chao1 指数、Ace 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数。Chao1 指数和 Ace 指数衡量土壤真菌群落物种数量的多少, 指数越高说明样品细菌物种数量就越高, Shannon 和 Simpson 指数反映土壤细菌群落物种多样性, Shannon 指数值越大, Simpson 指数值越小, 说明样品的物种多样性越高。由表 2 可知, 15 个采样点的土壤样品 Ace 和 Chao1 指数的变化范围分别为 311.92—511.55、333.87—513.31; Shannon 多样性指数变化范围在 1.53—4.31 之间, 其数值相对较低, 说明 26 个采样点的细菌多样性相对较低。

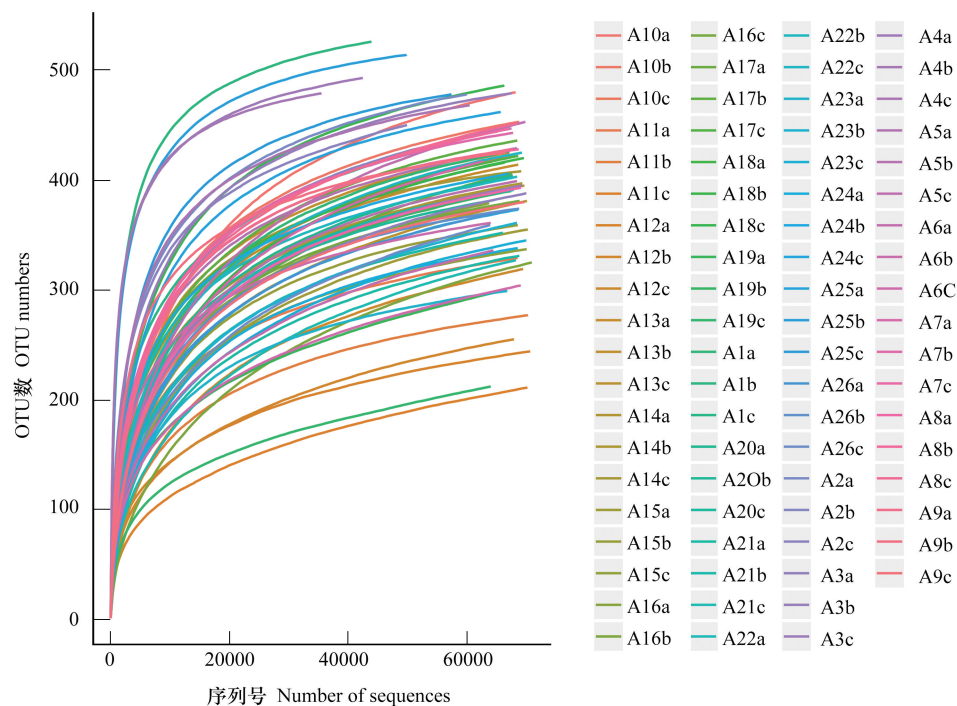


图 4 蒙古沙冬青根际土壤样本细菌多样性稀释曲线

Fig.4 Rarefaction curve of bacterial diversity in rhizosphere soil of *A. mongolicus*

表 2 蒙古沙冬青根际土壤细菌多样性一览表

Table 2 The index of bacterial diversity in rhizosphere soil of *A. mongolicus*

样地编号 Sample ID	分类单元 OTU	有效序列数 Effective tags	覆盖率 Coverag	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index
A1	459	62295	99.88%	503.39±23.19	509.35±26.39	0.22±0.12	3.38±0.83
A2	458	64058	99.89%	499.77±7.24	506.18±3.45	0.29±0.08	2.83±0.39
A3	421	71986	99.90%	470.11±21.39	474.45±20.98	0.49±0.01	1.81±0.14
A4	480	61763	99.91%	503.34±5.55	508.07±7.66	0.13±0.12	4.31±0.89
A5	427	72167	99.89%	478.59±24.20	487.86±31.78	0.52±0.04	1.76±0.21
A6	334	71190	99.89%	399.9±9.02	406.31±2.09	0.31±0.11	2.36±0.34
A7	429	70660	99.90%	473.51±8.45	481.98±15.93	0.45±0.06	2.00±0.08
A8	431	71863	99.89%	485.68±23.59	484.74±22.48	0.52±0.04	1.79±0.19
A9	411	72207	99.92%	446.23±12.48	454.15±16.32	0.47±0.05	2.01±0.25
A10	452	71541	99.89%	506.13±11.76	511.76±11.05	0.48±0.04	1.90±0.15
A11	272	72539	99.92%	349.12±16.20	333.87±23.24	0.53±0.01	1.53±0.05
A12	273	71385	99.90%	331.92±27.20	337.05±29.01	0.49±0.08	1.68±0.28
A13	407	72008	99.89%	461.24±6.70	469.71±3.93	0.43±0.09	2.05±0.37
A14	400	72143	99.92%	438.15±3.16	437.1±3.94	0.53±0.03	1.74±0.14
A15	350	71863	99.91%	395.53±9.30	392.78±9.45	0.53±0.03	1.67±0.13
A16	362	71594	99.89%	426.54±8.34	427.21±5.80	0.46±0.08	1.85±0.44
A17	421	71687	99.89%	477.59±3.30	482.58±1.85	0.45±0.03	1.93±0.14
A18	441	71289	99.89%	488.82±18.41	502.31±18.23	0.48±0.04	1.95±0.19
A19	301	70668	99.89%	414.6±13.55	407.99±13.66	0.42±0.01	1.92±0.09
A20	392	70674	99.90%	440.32±11.23	451.54±16.93	0.35±0.03	2.24±0.09

续表

样地编号 Sample ID	分类单元 OTU	有效序列数 Effective tags	覆盖率 Coverag	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index
A21	337	71674	99.89%	397.41±4.99	403.61±8.46	0.48±0.05	1.70±0.18
A22	406	71629	99.90%	453.47±12.59	455.13±15.10	0.54±0.04	1.70±0.14
A23	335	70800	99.90%	386.03±29.85	388.66±30.42	0.51±0.01	1.62±0.02
A24	372	71286	99.91%	417.84±22.54	418.97±20.36	0.5±0.05	1.66±0.22
A25	485	68050	99.91%	511.55±11.41	513.31±11.77	0.31±0.14	3.02±0.92
A26	368	69541	99.89%	429.11±13.79	445.89±19.49	0.48±0.01	1.78±0.04

数据均以平均值±标准误差表示

3.3 蒙古沙冬青根际土壤细菌在门水平上与生态因子相关性分析

土壤细菌在门平上与水热及土壤理化因子 Pearson 相关分析发现(表 3),大多数细菌在门水平上的丰度与纬度、海拔、年均降雨量、太阳辐射有显著相关性,如蓝细菌门与纬度极显著正相关,与年均降雨量极显著负相关,与太阳辐射显著正相关;变形杆菌门与纬度和年均降雨量显著负相关;放线菌门与海拔显著正相关;酸杆菌门与海拔显著正相关,与年均降雨量极显著正相关,与太阳辐射极显著负相关;拟杆菌门与纬度显著负相关,与年均降雨量极显著正相关;螺旋体菌门与纬度极显著负相关,与年均降雨量极显著正相关,与太阳辐射显著负相关;绿弯菌门与海拔极显著正相关,与年均降雨量显著正相关;疣微菌门与年均降雨量显著正相关。其中部分菌门与土壤理化性质有显著相关性。如放线菌门与降解氮显著正相关;拟杆菌门与含水率显著相关;厚壁菌门与全氮极显著正相关;绿弯菌门与降解氮显著正相关。

3.4 生态因子对沙冬青根际土壤细菌多样性指数的影响

通过蒙特卡罗检验对沙冬青细菌多样性指数与环境因子进行分析,结果显示沙冬青根际细菌多样性指数与年均降雨量($F=12.8, P=0.002$)、纬度($F=5.1, P=0.016$)、太阳辐射($F=5, P=0.02$)呈显著相关性,为主要的环境影响因子。而海拔($F=2.9, P=0.066$)、碱解氮($F=2.7, P=0.066$)、全氮($F=2.4, P=0.1$)、年均温($F=0.7, P=0.432$)、有机碳($F=0.4, P=0.614$)、pH($F=0.3, P=0.646$)、速磷($F=0.3, P=0.714$)、全磷($F=0.3, P=0.672$)、经度($F=0.1, P=0.982$)对沙冬青根际细菌多样性的影响不显著。

沙冬青根际土壤细菌多样性指数与主要生态因子 RDA 排序表明(表 4 和图 5):第一至第四主轴累计解释了沙冬青根际土壤细菌多样性指数 52.69%的方差,其中第一主轴和第二主轴解释了沙冬青根际土壤细菌多样性指数 45.41%和 7.16%的方差。因此,沙冬青根际土壤细菌多样性指数在排序轴上的分布能够反映了细菌空间分布特征随生态因子的变化趋势。

RDA 排序图反映了沙冬青根际细菌群落组成及多样性与生态因子之间的关系(图 5)。箭头越长表示对沙冬青根际细菌群落多样性的解释量越大。箭头的之间的角度代表了变量之间的相关性。角度越小,相关性越大,反之则越小。其结果与相关性分析一致。

RDA 分析表明,沙冬青根际细菌群落多样性与年均温、海拔、碱解氮存在正相关关系,与太阳辐射、纬度存在负相关关系,年均温、太阳辐射和纬度对沙冬青根际细菌群落多样性的影响较大。纬度和太阳辐射是影响蓝细菌门分布的主要因子;碱解氮是影响放线菌门分布的主要因子,年均温是影响酸杆菌门、拟杆菌门、螺旋体菌门、绿弯菌门、疣微菌门分布的主要因子,全氮是影响厚壁菌门分布的主要因子。生态因子的相关性,如有机质与碱解氮和全氮正相关,能够反映出不同样地土壤中的碳氮耦合对细菌多样性的影响。

4 讨论

4.1 蒙古沙冬青根际土壤细菌群落组成

大多数根际细菌对植物的生长是有利的,可以给植物提供营养,增强植物对营养元素的吸收,还可以保护植物免受病原菌的侵害^[25-26]。随着高通量测序技术在荒漠生态系统领域的广泛应用,对荒漠植物土壤细菌

表 3 蒙古沙冬青根际土壤细菌在门水平上与环境因子 Pearson 相关性分析

	蓝细菌门 <i>Cyanobacteria</i>	变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	放线菌门 <i>Actinobacteria</i>	酸杆菌门 <i>Acidobacteria</i>	拟杆菌门 <i>Bacteroidetes</i>	厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	螺旋体菌门 <i>Saccharibacteria</i>	绿弯菌门 <i>Chloroflexi</i>	疣微菌门 <i>Verrucomicrobia</i>	软壁菌门 <i>Tenericutes</i>
纬度 LON	0.548**	-0.420*	-0.11	-0.341	-0.489*	-0.225	-0.500**	-0.207	-0.269	0.283
经度 LAT	0.105	-0.012	0.031	-0.003	0.062	-0.312	0.067	-0.055	0.209	0.254
海拔 ALT	-0.221	-0.092	0.469*	0.428*	0.02	0.033	0.162	0.571**	-0.045	0.11
全磷 TP	0.145	-0.08	-0.019	-0.119	-0.043	-0.087	-0.19	-0.054	-0.137	-0.024
全氮 TN	-0.374	-0.011	0.16	0.193	0.151	0.579**	0.078	0.175	0.022	-0.05
有机 SOC	-0.014	-0.232	0.345	0.163	-0.103	0.081	-0.107	0.302	-0.207	0.025
速磷 AP	0.145	-0.08	-0.019	-0.119	-0.043	-0.087	-0.19	-0.054	-0.137	-0.024
碱解氮 AN	-0.228	-0.001	0.469*	0.378	0.071	0.024	0.014	0.478*	-0.033	-0.17
pH 值	0.121	-0.02	-0.154	-0.072	-0.13	0.014	-0.349	-0.048	-0.241	0.087
年均温 MAT	-0.121	0.305	-0.337	-0.2	0.217	0.184	0.051	-0.36	0.134	-0.418*
年均降雨量 MAP	-0.672**	-0.473*	0.3	0.632**	0.563**	0.071	0.712**	0.478*	0.407*	-0.094
太阳辐射 SRAD	0.465*	-0.251	-0.129	-0.503**	-0.277	-0.189	-0.487*	-0.377	-0.205	-0.057

LON: 纬度 Latitude; LAT: 经度 Longitude; ALT: 海拔 Altitude; TP: 全磷 Total phosphorus; TN: 全氮 Total nitrogen; SOC: 土壤有机质 Soil organic matter; AP: 速效磷 Available phosphorus; AN: 碱解氮 Alkalihydrolyzable nitrogen; pH: 土壤 pH 值 Soil pH; MAP: 年均降雨量 Average annual rainfall; MAT: 年均温 Annual average temperature; SRAD: 太阳辐射 Sum radiation; * ** 表示极显著相关 ($P<0.01$), * 表示显著相关 ($P<0.05$)

表 4 蒙古沙冬青根际土壤细菌多样性指数与生态因子 RDA 排序

Table 4 Bacterial diversity index and ecological factors RDA ranking in rhizosphere soil of <i>A. mongolicus</i>				
RDA 排序轴 RDA sort axis	第一轴 AX1	第二轴 AX2	第三轴 AX3	第四轴 AX4
特征值 Eigenvalues	0.4541	0.0716	0.001	0.0002
累积解释变量 Explained variation (cumulative)	45.41	52.57	52.68	52.69
非典型相关 Pseudo-canonical correlation	0.7717	0.5552	0.5206	0.3316
累计解释拟合变量 Explained fitted variation (cumulative)	86.18	99.78	99.97	100

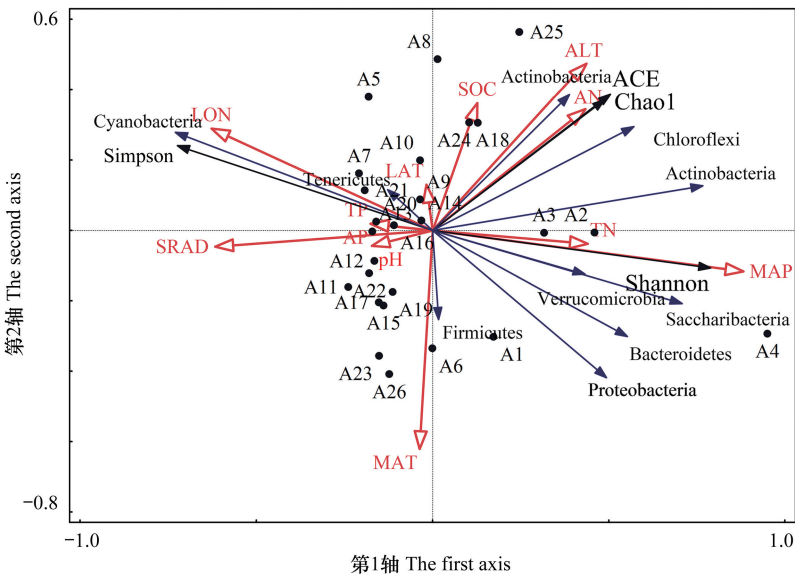


图 5 蒙古沙冬青根际土壤细菌多样性与生态因子的 RDA 排序图

Fig.5 RDA ranking of bacterial diversity and ecological factors in rhizosphere soil of *A. mongolicus*

LON: 纬度 Latitude; LAT: 经度 Longitude; ALT: 海拔 Altitude; TP: 全磷 Total phosphorus; TN: 全氮 Total nitrogen; SOC: 土壤有机质 Soil organic matter; AP: 速效磷 Available phosphorus; AN: 碱解氮 Alkali-hydrolyzable nitrogen; pH: 土壤 pH 值 Soil pH; MAP: 年均降雨量 Average annual rainfall; MAT: 年均温 Annual average temperature; SRAD: 太阳辐射 Sun radiation

群落结构的分布特点已有了基本的认识:荒漠植物根系土壤中主要的细菌群落组成基本相似,主要以变形菌门、放线菌门、厚壁菌门、酸杆菌门等为优势菌类^[27-29],这与本研究结果基本一致。沙冬青主要优势菌类为蓝细菌门、变形杆菌门、放线菌门,相对丰度和占总丰度的 93.73%。蓝细菌门相对丰度与年均降雨量呈极显著负相关($P<0.01$),有研究表明,蓝细菌是一种古老的自养型细菌,分布很广泛,种类繁多,有些种类在暗环境下也能生长,有些种类却可以利用光能固定碳,氮能力,营养要求极低,而且表现出一定的抗旱抗盐特性^[32],对极端环境的适应性很强^[30-31]。在荒漠贫瘠的土壤中,蓝细菌门作为沙冬青根际土壤细菌的第一大菌群,能够为沙冬青富集生长必需元素提供更适宜生长的微环境,促进沙冬青的生长。变形菌门是一大类细菌群落,能够降解许多复杂的纤维素^[33]与木质素^[34],在很多细菌群落研究都具有最高的相对丰度^[35,30]。本研究中变形菌门相对丰度与年均降雨量呈极显著负相关($P<0.01$),有研究发现放线菌门在土壤含水量较低的土壤中相对含量高^[29],与本研究结果一致。在变形菌门中, α -变形菌和 γ -变形菌是最重要的亚门,相对丰度范围分别为 10.96%—28.36%、1.32%—7.18%。李新等^[36]研究发现变形菌门是盐碱土壤的主要类群。本研究中,变形菌门是主要的次优势菌门,而该地区土壤呈弱碱性与李新等研究结果一致。放线菌门喜欢微碱性土壤,是干旱半干旱土壤中分布比较广泛的细菌类群,其相对丰度为 6.28%。放线菌分枝状的菌丝体能够产生各种胞外水解酶,降解土壤中各种不溶性有机物质以供细胞代谢所需的各种营养,在自然界物质循环、土

壤改良等方面都具有重要作用^[17]。放线菌门是好气性微生物,土样含氧量较高的环境更适合放线菌门的生长^[37]。其他菌门虽然在沙冬青根际土壤中都有分布,但相对丰度都比较低。许多研究发现 pH 是影响微生物群落的主要影响因素^[38],这与本研究的结果不一致,可能是沙冬青分布区的 pH 变化范围比较小,所以对微生物群落的影响比较小。

4.2 蒙古沙冬青根际土壤细菌群落多样性与生态因子关系

在野外调查时发现,蒙古沙冬青多生长在沙丘、河滩沙地、砂砾土上,蒙古沙冬青分布地区根系表层累积了大量的凋落物,土壤微生物通过分解植物根系分泌物及凋落物对土壤理化性质与其自身多样性产生影响^[39]。

一般认为,荒漠地区土壤微生物群落的组成和功能直接取决于生态因子^[6],例如水分、土壤养分、太阳辐射、植被类型等。沙冬青群落生长于沙地生境,在长期干旱、风蚀条件下,不利于碳和氮积累,导致表层土壤养分贫瘠化,灌木的“肥岛”效应不明显,为其他荒漠植物种的入侵设置了障碍,沙冬青成了该生长区的灌木优势种^[40]。pH、有机质含量、全氮、碱解氮、全磷、速磷^[41]等土壤理化因子和经纬度、海拔、年均温、年均降雨量、太阳辐射等生态因子可能都影响沙冬青根际土壤细菌的空间分布格局。RDA 分析表明:土壤理化因子和 pH 等对土壤细菌群落结构和多样性的影响并不显著,而纬度、年均降雨量、辐射对土壤细菌群落结构和多样性有显著性影响,这与贺学礼^[18]有关沙冬青根际土壤微生物分布和土壤因子之间有显著相关性的结果有所不同。究其原因可能是选择的沙冬青都是野生的,不是人工种植的,人为的扰动很少,没有土壤营养元素的人为输入;另外,采样地纬度和海拔差异较大,具有明显的尺度效应,这些因素的共同作用,导致土壤营养元素对土壤细菌群落结构和多样性的影响不如气候因子影响显著。许多研究表明,水分对荒漠植物根际微生物多样性和生长影响较大。本研究中,年均降雨量即水分是影响沙冬青根际土壤细菌群落结构和多样性的最重要因子,这与前人研究的结果一致^[42-43]。沙冬青根际土壤细菌多样性与太阳辐射呈负相关,是因为荒漠生境中植物稀疏,地表裸露较多,太阳辐射量对光合微生物来说已远远超过其光合有效辐射^[44],高强度太阳辐射降低了土壤微生物的存活率和多样性。

高通量测序技术作为二代测序方法,被大多数学者用来研究土壤微生物的生物地理学分布^[38,45],探究土壤微生物是否像动物、植物那样随着纬度的差异而变化。Liu 对东北黑土细菌群落的研究认为纬度是影响土壤微生物分布的重要因素^[46],Zhang 等对不同植被类型下北麓河多年冻土微生物的研究认为纬度不是影响土壤微生物的主要因素^[47]。本研究中研究区域南北跨度比较大,纬度变化明显,因此纬度变化是影响沙冬青根际土壤细菌分布的主要因素。本研究探明了沙冬青土壤细菌的地理分布,为评估沙冬青在荒漠生态系统维持中的作用提供理论依据。

5 结论

(1) 在 97% 的相似度水平下将有效序列进行聚类,获得的 OTU 进行分类学物种注释,26 个样品获得细菌 30671 个 OTU,蒙古沙冬青检测到细菌 15 门,43 纲,68 目,123 科,185 属。

(2) 蒙古沙冬青根际土壤中的优势菌门为蓝菌门(*Cyanobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)。主要的优势菌纲为主要有 α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)、放线菌纲(*Actinobacteria*)、 γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)。

(3) 78 个样本测序覆盖率均高于 99%,Alpha 多样性指数的测序结果代表了沙冬青根际土壤细菌的真实情况,但细菌多样性相对较低。

(4) RDA 分析显示:年均降雨量、纬度和太阳辐射是影响沙冬青根际细菌多样性的主要因子。

参考文献(References):

- [1] Bull A T, Asenjo J A. Microbiology of hyper-arid environments: recent insights from the Atacama Desert, Chile. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2013, 103(6): 1173-1179.

- [2] Fletcher J E, Martin W P. Some Effects of Algae and Molds in the Rain-Crust of Desert Soils. *Ecology*, 1948, 29(1): 95-100.
- [3] Bossio D A, Fleck J A, Scow K M, Fujii R. Alteration of soil microbial communities and water quality in restored wetlands. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(6): 1223-1233.
- [4] Ushio M, Wagai R, Balser T C, Kitayama K. Variations in the soil microbial community composition of a tropical montane forest ecosystem; does tree species matter. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(10): 2699-2702.
- [5] Breulmann M, Schulz E, Weißhuhn K, Buscot F. Impact of the plant community composition on labile soil organic carbon, soil microbial activity and community structure in semi-natural grassland ecosystems of different productivity. *Plant and Soil*, 2012, 352(1/2): 253-265.
- [6] 李婷, 张威, 刘光琇, 陈拓. 荒漠土壤微生物群落结构特征研究进展. *中国沙漠*, 2018, 38(2): 329-338.
- [7] 陆雅海, 张福锁. 根际微生物研究进展. *土壤*, 2006, 38(2): 113-121.
- [8] Hinsinger P, Plassard C, Jaillard B. Rhizosphere; a new frontier for soil biogeochemistry. *Journal of Geochemical Exploration*, 2006, 88(1/3): 210-213.
- [9] 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.
- [10] 张强, 潘伯荣, 张永智, 段士民. 沙冬青属(*Ammopiptanthus* (Maxim.) Chen f.) 植物群落特征分析. *干旱区研究*, 2007, 24(4): 487-494.
- [11] 刘媛心. 中国沙漠植物志-第二卷. 北京: 科学出版社, 1987.
- [12] 傅立国. 中国植物红皮书-稀有濒危植物: 第1册. 北京: 科学出版社, 1992.
- [13] 刘美芹, 卢存福, 尹伟伦. 珍稀濒危植物沙冬青生物学特性及抗逆性研究进展. *应用与环境生物学报*, 2004, 10(3): 384-388.
- [14] 马彦军, 段慧荣, 曹致中, 李毅. 沙冬青种子萌发期抗逆性研究. *中国沙漠*, 2011, 31(4): 963-967.
- [15] 段义忠, 杜忠毓, 亢福仁. 西北干旱区孑遗濒危植物蒙古沙冬青群落特征及与环境因子的关系. *植物研究*, 2018, 38(6): 834-842.
- [16] 刘果厚. 阿拉善荒漠特有植物沙冬青濒危原因的研究. *植物研究*, 1998, 18(3): 341-345.
- [17] 李明, 毕江涛, 王静. 宁夏不同地区盐碱化土壤细菌群落多样性分布特征及其影响因子. *生态学报*, 2020, 40(4): 1316-1330.
- [18] 贺学礼, 李宝库, 陈严严, 吴伟家. 蒙古沙冬青根围土壤微生物分布及与土壤因子相关性研究. *干旱区资源与环境*, 2016, 30(4): 51-55.
- [19] 胡从从, 成斌, 王坤, 赵丽莉, 贺学礼. 蒙古沙冬青及其伴生植物 AM 真菌物种多样性. *生态学报*, 2017, 37(23): 7972-7982.
- [20] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京: 中国农业出版社, 2005.
- [21] 王文晓, 黄文广, 杨君珑, 马红彬, 李小伟. 宁夏草原物种丰富度分布格局及其水热解释. *干旱区资源与环境*, 2019, 33(5): 158-163.
- [22] Ni J J, Li X J, He Z L, Xu M Y. A novel method to determine the minimum number of sequences required for reliable microbial community analysis. *Journal of Microbiological Methods*, 2017, 139: 196-201.
- [23] Grice E A, Kong H H, Conlan S, Deming C B, Davis J, Young A C, Program N C S, Bouffard G G, Blakesley R W, Murray P R, Green E D, Turner M L, Segre J A. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome. *Science*, 2009, 324(5931): 1190-1192.
- [24] Bokulich N A, Subramanian S, Faith J J, Gevers D, Gordon J I, Knight R, Mills D A, Caporaso J G. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing. *Nature Methods*, 2013, 10(1): 57-59.
- [25] Cocking E C. Endophytic colonization of plant roots by nitrogen-fixing bacteria. *Plant and Soil*, 2003, 252(1): 169-175.
- [26] Berg G, Zachow C, Lottmann J, Götz M, Costa R, Smalla K. Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonistic to *Verticillium dahliae* kleb. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(8): 4203-4213.
- [27] 张仰. 典型荒漠盐生植物根际土壤微生物多样性[D]. 乌鲁木齐: 新疆大学, 2019.
- [28] 程琳, 陈吉祥, 李彦林, 王永刚, 周永涛, 张彦. 荒漠草原植物骆驼蓬根际土壤细菌群落分析. *干旱区研究*, 2018, 35(4): 977-983.
- [29] 王安宁, 黄秋娴, 李晓刚, 徐学华, 李玉灵. 冀北山区不同植被恢复类型根际土壤细菌群落结构及多样性. *林业科学*, 2019, 55(9): 130-141.
- [30] 高明华, 乌仁其其格, 温旭, 于春艳, 田荣华, 赵慧茹. 不同利用方式下呼伦贝尔草甸草原土壤细菌群落特征与理化性质的关系分析. *黑龙江畜牧兽医*, 2020, 11(6): 120-124+171.
- [31] 张明明. 陕西沙棘林地土壤和根瘤的细菌多样性及与土壤养分的关系[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2019.
- [32] Patzelt D J, Hodač L, Friedl T, Pietrasiak N, Johansen J R. Biodiversity of soil cyanobacteria in the hyper-arid Atacama desert, Chile. *Journal of Phycology*, 2014, 50(4): 698-710.
- [33] Pankratov T A, Ivanova A O, Dedysh S N, Liesack W. Bacterial populations and environmental factors controlling cellulose degradation in an acidic Sphagnum peat. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(7): 1800-1814.
- [34] Lynd L R, Weimer P J, Van Zyl W H, Pretorius I S. Microbial cellulose utilization: fundamentals and biotechnology. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2002, 66(3): 506-577.
- [35] 代金霞, 田平雅, 张莹, 苏建宇. 银北盐渍化土壤中 6 种耐盐植物根际细菌群落结构及其多样性. *生态学报*, 2019, 39(8): 2705-2714.
- [36] 李新, 焦燕, 代钢, 杨铭德, 温慧洋. 内蒙古河套灌区不同盐碱程度的土壤细菌群落多样性. *中国环境科学*, 2016, 36(1): 249-260.
- [37] 马文文, 姚拓, 靳鹏, 王国基, 张玉霞. 荒漠草原 2 种植物群落土壤微生物及土壤酶特征. *中国沙漠*, 2014, 34(1): 176-183.

- [38] 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.
- [39] 井赵斌, 程积民, 张宝泉, 李红红. 基于 454 焦磷酸测序法的典型草原土壤真核生物多样性. *草业科学*, 2013, 30(11): 1690-1697.
- [40] 贾晓红, 李新荣, 张志山. 沙冬青群落土壤有机碳和全氮含量的空间异质性. *应用生态学报*, 2006, 17(12): 2266-2270.
- [41] Li M, Li Y, Chen W F, Sui X F, Li Jr Y, Li Y, Wang E T, Chen W X. Genetic diversity, community structure and distribution of rhizobia in the root nodules of *Caragana* spp. from arid and semi-arid alkaline deserts, in the north of China. *Systematic and Applied Microbiology*, 2012, 35(4): 239-245.
- [42] Takeshi T, Usuki H, Kikuchi J, Hirobe M, Miki N, Fukuda K, Zhang G S, Wang L H, Yoshikawa K, Yamanaka N. Colonization and community structure of root-associated microorganisms of *Sabina vulgaris* with soil depth in a semiarid desert ecosystem with shallow groundwater. *Mycorrhiza*, 2012, 22(6): 419-428.
- [43] Griffiths R I, Whiteley A S, O'Donnell A G, Bailey M J. Physiological and community responses of established grassland bacterial populations to water stress. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(12): 6961-6968.
- [44] Davila A F, Gómez-Silva B, De Los Rios A, Ascaso C, Olivares H, McKay C P, Wierchos J. Facilitation of endolithic microbial survival in the hyperarid core of the Atacama Desert by mineral deliquescence. *Journal of Geophysical Research: Biogeosciences*, 2008, 113(G1): G01028.
- [45] Liu W H, Zhu J J, Jia Q Q, Zheng X, Li J S, Lou X D, Hu L L. Carbon sequestration effects of shrublands in three-north shelterbelt forest region, China. *Chinese Geographical Science*, 2014, 24(4): 444-453.
- [46] Liu J J, Sui Y Y, Yu Z H, Shi Y, Chu H Y, Jin J, Liu X B, Wang G H. High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of Northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 70: 113-122.
- [47] Jenkinson D S, Brookes P C, Powlson D S. Measuring soil microbial biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(1): 5-7.