

DOI: 10.5846/stxb202003210634

刘建利, 王英娜, 未丽, 王静, 吕燕, 孙钦飞, 苟琪, 李靖宇. 荒漠孑遗植物四合木对土壤古菌群落的影响. 生态学报, 2021, 41(9): 3548-3563.

Liu J L, Wang Y N, Wei L, Wang J, Lü Y, Sun Q F, Gou Q, Li J Y. Effect of relict plant *Tetraena mongolica* on archaeal community in desert soil. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(9): 3548-3563.

荒漠孑遗植物四合木对土壤古菌群落的影响

刘建利^{1,*}, 王英娜¹, 未丽², 王静¹, 吕燕¹, 孙钦飞¹, 苟琪¹, 李靖宇¹

1 北方民族大学生物科学与工程学院, 国家民委生态系统建模和应用重点实验室, 银川 750021

2 兰州大学草地农业科技学院, 草地农业生态系统国家重点实验室, 农业农村部草牧业创新重点实验室, 兰州 730020

摘要: 土壤是植物定居的场所, 也是植物-微生物互作的重要界面。古菌是土壤微生物重要组份, 在碳、氮、硫、铁等元素的生物地球化学循环和植物的生长发育、适应生境中发挥重要作用。植物定居对土壤古菌群落的影响研究鲜有开展, 孑遗植物在研究植物-微生物-环境互作中具有独特的优势。采用扩增子高通量测序技术, 研究以荒漠孑遗植物四合木为建群种或优势种的四合木-红砂-珍珠-针茅群落、四合木-针茅群落和四合木群落等三种荒漠植物群落类型中, 四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落特征, 揭示四合木定居对土壤古菌物种数量、多样性、群落组成及功能的影响。结果表明, 荒漠孑遗植物四合木定居不仅增加了根区土壤古菌的物种数量, 提高了根区土壤古菌群落多样性, 而且改变了土壤古菌群落组成, 减少了奇古菌门 Nitrososphaeraceae 科未分类的属氨氧化古菌 (unclassified_f_Nitrososphaeraceae) 和暂定 *Nitrososphaera* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrososphaera*) 相对丰度, 增加了 Nitrososphaeraceae 科暂定 *Nitrocosmicus* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrocosmicus*) 和广古菌门海洋古菌类群 II 中未分类的属 (norank_o_Marine_Group_II) 相对丰度, 广古菌门热原体纲未分类的属 (unclassified_c_Thermoplasmata) 相对丰度变化显著。植物群落演替对四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落均无显著影响。Nitrososphaeraceae 科氨氧化古菌是三种不同荒漠植物群落类型中土壤古菌的核心微生物组。四合木定居也显著改变土壤古菌群落的功能, 减弱了高丰度功能, 增强了低丰度功能, 对有氧呼吸、核苷酸合成、氨基酸合成等途径影响显著。荒漠孑遗植物四合木定居改变了土壤古菌群落物种数量、多样性、组成、功能等特征。

关键词: 四合木; 古菌群落; 荒漠土壤; 根区

Effect of relict plant *Tetraena mongolica* on archaeal community in desert soil

LIU Jianli^{1,*}, WANG Yingna¹, WEI Li², WANG Jing¹, LÜ Yan¹, SUN Qinfei¹, GOU Qi¹, LI Jingyu¹

1 College of Biological Sciences and Engineering, North Minzu University, Key Laboratory of Ecosystem Modelling and Application, State Ethnic Affairs Commission, Yinchuan 750021, China

2 College of Pastoral Agriculture Science and Technology, State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystems, Key Laboratory of Grassland Livestock Industry Innovation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Lanzhou University, Lanzhou 730020, China

Abstract: Soil is the place where plants colonize and an important interface between plant and microorganism interaction. Archaea is an important component of soil microorganism and plays an important role in the biogeochemical cycle of carbon, nitrogen, sulfur and iron, and in the growth, the development and adaptation to the environment of plants. It is rarely reported the influence of plant colonization on the archaeal community in soil. The relict plants have special advantages in the study of interaction among plant, microbe and environment. In this paper, the archaea in rhizosphere soil in relict plant *Tetraena mongolica* and barren soil obtained from three different communities of desert plants including the community of *Tetraena mongolica*, *Reaumuria songarica*, *Salsola passerine* and *Stipa capillata*, the community of *Tetraena mongolica* and

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31960346)

收稿日期: 2020-03-21; 网络出版日期: 2021-03-08

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: LJL7523@126.com

Stipa capillata and the community of *Tetraena mongolica* where *Tetraena mongolica* is the dominant species or constructive species were studied to explore the effect of relict plant *Tetraena mongolica* colonization on the number, the diversity, the composition and the function of archaeal community using the high-throughput sequencing method. The results showed that the diversity and the number of species in archaeal community of rhizosphere soil increased with relict plant *Tetraena mongolica* colonization. Meanwhile, the composition of archaeal community in soil were changed with relict plant *Tetraena mongolica* colonization. The relative abundance of ammonia oxidizing archaea of genera unclassified_f_Nitrososphaeraceae of phylum Thaumarchaeota and ammonia oxidizing archaea of *Candidatus Nitrososphaera* of phylum Thaumarchaeota in rhizosphere soil decreased, while the relative abundance of ammonia oxidizing archaea of genera *Candidatus Nitrocosmicu* of phylum Thaumarchaeota and norank_o_Marine_Group_II of phylum Euryarchaeota in rhizosphere soil increased. There was no obvious change on the relative abundance of unclassified_c_Thermoplasmata of phylum Euryarchaeota. However, the succession of plant communities had no significant effect on the archaea communities in the rhizosphere soil of relict plant *Tetraena mongolica* and barren soil. Ammonia oxidizing archaea of family Nitrososphaeraceae is the core microbiome of archaeal communities in soil obtained from three different communities of desert plants. Furthermore, the relict plant *Tetraena mongolica* colonization greatly changed the function of archaeal community in soil. The high abundant function of archaeal community in soil was weakened and the low abundant function of was enhanced. There was significant effect on aerobic respiration, the pathway of nucleotide biosynthesis and the pathway of amino acid biosynthesis. The relict plant *Tetraena mongolica* colonization has changed characteristics of archaeal community in desert soil including the number of species, the diversity and the species composition, the function, etc.

Key Words: *Tetraena mongolica*; archaeal community; desert soil; rhizosphere

土壤微生物是陆地生态系统中重要的分解者,驱动着各种生态过程^[1]。由于植物的定居,土壤微生物被分为光板地土体土壤(barren soil,非植株生长区域)微生物、植物根区或根围土(root-zone soil,植株生长区域)微生物、植物根际土(rhizosphere soil,紧附根表层 5 mm 以内)微生物、植物根面土(rhizoplane soil,紧根表层)微生物和植物根内生(endosphere)微生物^[2-3]。根区和根际土是土壤微生物与植物相互作用的重要场所^[4],一方面,植物通过根系活动和根系分泌物,改变根区和根际土壤的养分含量及其他土壤理化性质,从而改变根区和根际微生物群落的组成,使得根区和根际与光板地土体土壤微生物群落组成和多样性上具有明显的差异^[5-6];同时,根区和根际微生物通过自身代谢活动将土壤营养物质分解、转化为植物可吸收利用的形态,促进植物生长,提高植物干旱、盐碱等胁迫条件的适应性^[7-9]。目前,植物对土壤微生物影响的研究主要集中于细菌和真菌^[4,10-11],提出根际微生物群落“两步选择”组装模型,即根际微生物群落是通过植物对分布于根外土壤的微生物两步筛选过程形成的^[12-14]。

古菌过去一直被认为仅存在于极端条件下。随着在沼泽、稻田、农田等陆地生态系统中发现大量古菌的存在,其在陆地生态系统中的地位引发了重视。土壤古菌与细菌一样,在碳、氮、硫、铁等元素的生物地球化学循环中发挥重要作用^[15-17]。有研究表明,植物的根和根际可以提供无氧或缺氧的微生态位,是产甲烷菌和氨氧化古菌的特殊栖息地,贡献产生温室气体甲烷以及参与基于互生的氮循环。而自然生态系统中植物定居对土壤古菌群落影响鲜有报道^[17]。

西鄂尔多斯地处亚非荒漠东部边缘,自然地理景观以草原化荒漠和荒漠化草原为主。由于边缘效应和古地理等原因,植被中的建群种和优势种大部分是古地中海孑遗种,被誉为古地中海孑遗植物“避难所”。四合木(*Tetraena mongolica* Maxim.),蒺藜科,强旱生落叶小灌木,起源于 1.4 亿年前的古地中海植物区系,是中国特有的古老孑遗单种属种植物,被誉为植物的“活化石”和植物中的“大熊猫”,国家一级濒危珍稀保护植物,也是蒙古高原、亚洲中部的特征属之一,全世界只在内蒙古鄂托克旗西部-乌海-宁夏石嘴山地区作为建群种和优势种形成群落,是研究古生物与古土壤微生物相互作用的极好素材^[18-19]。四合木相关微生物的研究已

有开展,赵世超^[20]以四合木、霸王(*Sarcozygium xanthoxylon*)、长叶红砂(*Reaumuria trigyna*)、珍珠(*Salsola passerina*) 4 种荒漠珍稀濒危植物群落根际土壤为研究对象,筛选到固氮、溶磷、对植物具有促生作用的功能菌种。甘霖^[21]从四合木组织内和根际土壤分离到解磷、产生吡啶乙酸、产尿酶、产铁载体、产氨、产几丁质酶、抑菌、耐碱、耐盐、耐重金属活性的放线菌;白明生等^[22]研究了一株四合木内生真菌链格孢发酵产物抑制植物病原菌的活性;李骁^[23]有用 PCR-DGGE 发现四合木分布区有煤样地和无煤样地土壤细菌遗传多样性有差异;孙芬^[24]发现四合木、沙冬青(*Ammopiptanthus mongolicus*)、绵刺(*Potania mongolica*)、半日花(*Helianthemum songaricum*)等植物菌根侵染率高低不等。但对以四合木为建群种或优势种的生态系统中土壤古菌的研究未有涉及,因此,本实验采用高通量测序技术研究 3 种植物群落类型中四合木根际土壤和光板地土体土壤古菌群落特征,揭示四合木定居对土壤古菌群落的影响,为四合木保护提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概括

研究区域设在内蒙古乌海市海南区甘德尔山四合木核心保护区,土壤贫瘠,大陆性气候,风大沙多、干旱少雨、冬寒夏热,热量丰富。本区属草原化荒漠地带,土壤以灰漠土和棕钙土为主,地表沙化严重^[18-19]。

1.2 方法

1.2.1 样品采集

2019 年 8 月,选择了四合木核心保护区内面积 100 m×100 m、相距约 1.2 km,以四合木为建群种或优势种的 3 种荒漠植物群落类型为研究样地,记录经度、纬度、海拔、植物群落和土壤类型(表 1)。在每个样地梅花型设 5 个 10 m×10 m 的样方,取每个样方所有的四合木植株,围绕植株 3 个方向,去掉 3 cm 表层土(腐殖质层),分别取距离根部 5 cm 以内,深度 0—20 cm 土壤(矿物质层),每个样方内植株土壤混合作为一个根区土壤样品(Rz_soil),同时取距离四合木植株最近的无植物根系土壤作为光板地土体土壤样品,共 30 个土壤样品。将每份样品分成 2 份,-80℃ 条件下保存一份供分子生物学研究,一部分土样风干过筛后用于不同理化指标的测定。

表 1 样地及其特征一览表

Table 1 Characters in research region

植物群落类型 Types of plants community	方位 Orientation	海拔/m Altitude	地貌土壤特征 Features of soil and topography	植物群落组成 Structure of plant community
四合木群落(Tm)	106.869E, 39.524N	1423	冲积平原,砾石质	四合木为主
四合木-红砂-珍珠-针茅群落 (Tm_Rs_Sp_S)	106.873E, 39.537N	1408	丘陵,砂砾质,地表粉煤	四合木为主,伴生种为红砂、珍珠和针茅为主
四合木-针茅群落(Tm_S)	106.886E, 39.546N	1304	丘陵,砂质	四合木为主,伴生种为针茅

Tm:四合木群落 The community of *Tetraena mongolica*; Tm_Rs_Sp_S:四合木-红砂-珍珠-针茅群落 The community of *Tetraena mongolica*, *Reaumuria songarica*, *Salsola passerina* and *Stipa capillata*; Tm_S:四合木-针茅群落 The community of *Tetraena mongolica* and *Stipa capillata*

1.2.2 土壤古菌的检测

由上海美吉生物医药科技有限公司在 Miseq PE300 平台完成,PCR 扩增细菌古菌 16S rDNA 基因 V3+V4 区,扩增引物为 515FmodF: GTGYCAGCMGCCGCGGTAA, 806RmodR: GGACTACNVGGGTWTCTAAT^[25-26];数据分析在交互式微生物多样性云分析平台完成(www.majorbio.com,上海美吉生物科技有限公司):OTU 划分相似度为 97%,选择比对数据库 Silva132/16S,分类置信度为 0.7;挑取 domain Archaea 的 OTU,按最小样品序列数抽平;物种、样本层级聚类方式用 average,相对丰度计算用均值;多重检验校正 *fdr*,后检验 Tukey;多组比较策略 one-against-all。

2 结果与分析

2.1 3 种荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落 α 多样性

3 种荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌 Sobs 指数(观测到的 OTU 数目)如图 1A,除四合木-针茅群落光板地土体土壤外,其余二种植物群落类型中的四合木根区土壤古菌 Sobs 指数均显著高于处于相同植物群落类型中光板地土体土壤古菌 Sobs 指数。不同植物类群中光板地土体土壤古菌

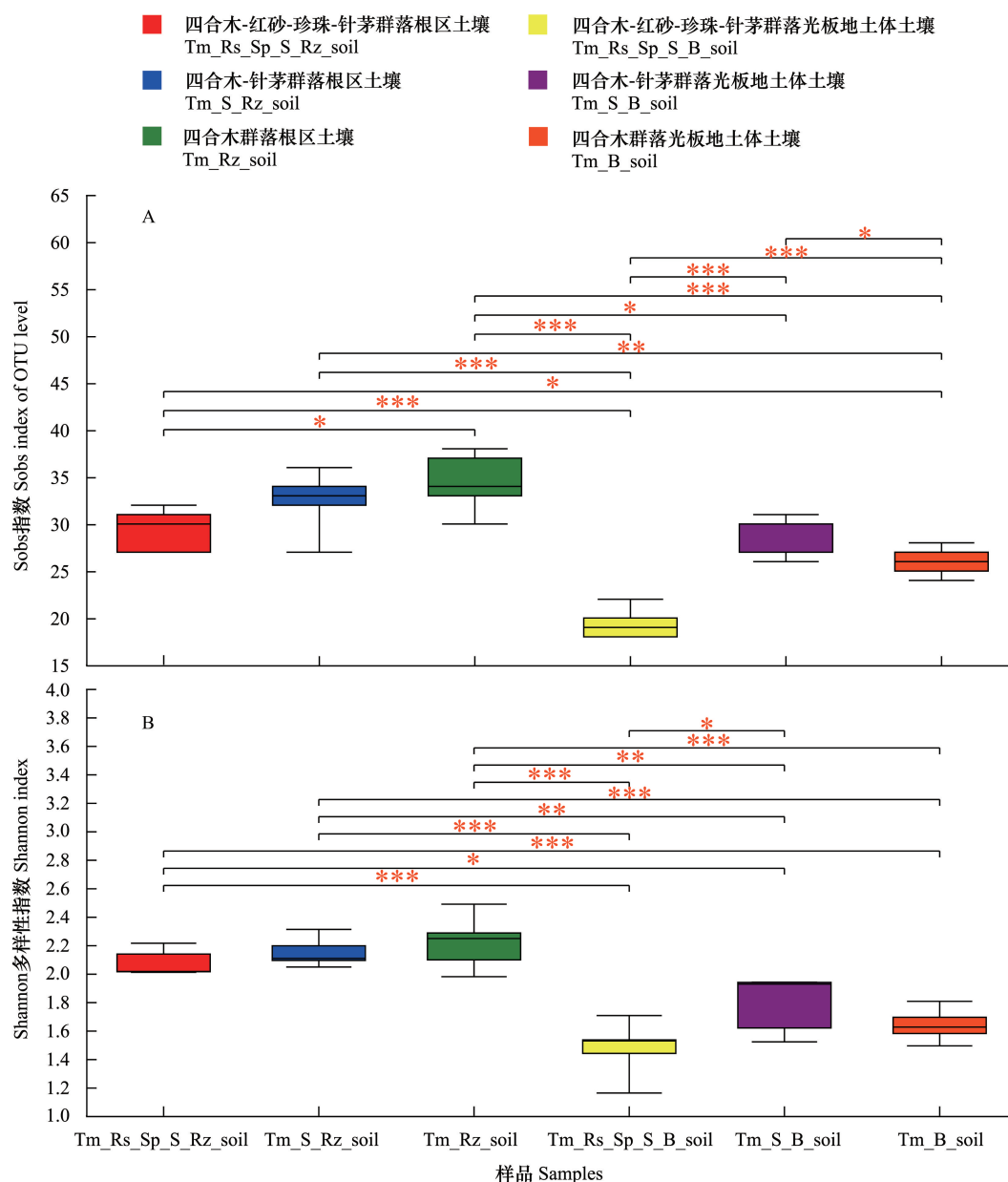


图 1 不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌 Sobs 指数和 Shannon 多样性指数

Fig.1 The Sobs index and Shannon index of archaea in rhizosphere soil and barren soil in different communities of desert plants

* 表示在 5% 水平显著; ** 表示在 1% 水平显著; *** 表示在 0.1% 水平显著; Tm_Rs_Sp_S_Rz_soil: 四合木-红砂-珍珠-针茅群落根区土壤 The rhizosphere soil in the community of *Tetraena mongolica*, *Reaumuria songarica*, *Salsola passerine* and *Stipa capillata*; Tm_S_Rz_soil: 四合木-针茅群落根区土壤 The rhizosphere soil in the community of *Tetraena mongolica* and *Stipa capillata*; Tm_Rz_soil: 四合木群落根区土壤 The rhizosphere soil in the community of *Tetraena mongolica*; Tm_Rs_Sp_S_B_soil: 四合木-红砂-珍珠-针茅群落光板地土体土壤 The barren soil in the community of *Tetraena mongolica*, *Reaumuria songarica*, *Salsola passerine* and *Stipa capillata*; Tm_S_B_soil: 四合木-针茅群落光板地土体土壤 The barren soil in the community of *Tetraena mongolica* and *Stipa capillata*; Tm_B_soil: 四合木群落光板地土体土壤 The barren soil in the community of *Tetraena mongolica*

Sobs 指数两两之间均有显著差异,而不同植物类群中根区土壤 Sobs 指数只有最高的四合木群落中四合木根区土壤和最低的四合木-红砂-珍珠-针茅群落四合木根区土壤古菌有显著差异。Sobs 指数显示,荒漠孑遗植物四合木定居增加了根区土壤古菌的物种数量。

3 种荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落 Shannon 多样性指数如图 1B,3 种植物群落类型中的四合木根区土壤古菌群落 Shannon 多样性指数均显著高于所有光板地土体土壤古菌群落 Shannon 多样性指数。不同植物群落类型中根区土壤古菌群落 Shannon 多样性指数之间无显著差异,但不同植物群落类型中光板地土体土壤古菌 Shannon 多样性指数在最高的四合木-针茅群落光板地土体土壤和最低的四合木-红砂-珍珠-针茅群落光板地土体土壤之间差异显著。因此,荒漠孑遗植物四合木定居提高了根区土壤古菌群落多样性,植物群落类型变化对土壤古菌群落多样性影响不显著。

2.2 3 种荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落的物种组成比较

在 3 种不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤及光板地土体土壤样品中发现共 3 个门 3 个纲古菌,奇古菌门(Thaumarchaeota)和广古菌门(Euryarchaeota)是所有植物群落类型中四合木根区土壤及光板地土体土壤样品古菌的优势类群和次优势类群,其相对丰度在不同植物群落类型中四合木根区土壤古菌群落之间差异非常小,但在不同植物群落类型中光板地土体土壤古菌群落之间略有差异;在所有四合木根区土壤古菌群落中,奇古菌门相对丰度比处于同一植物群落类型中的光板地土体土壤古菌群落降低,相反,而广古菌门在所有四合木根区土壤古菌群落中比处于同一群落类型中的光板地土体土壤古菌群落却增高,纳古菌门(Nanoarchaeota)只在四合木群落根区土壤古菌群落中出现(图 2A)。物种差异分析也显示奇古菌门和广古菌门相对丰度在所有样品间有显著差异(图 2B);而不同植物群落类型中四合木根区土壤之间和光板地土体土壤之间均无显著差异(图 2C,图 2D)。因此,四合木的定居使根区土壤中奇古菌门古菌减少,广古菌门古菌增多,植物群落类型间无差异。

在 3 种不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤及光板地土体土壤样品中共发现 5 个科古菌,Nitrososphaeraceae 科是所有样品古菌群落优势类群,海洋古菌类群 II 中未分类的科(norank_o__Marine_Group_II)和热原体纲未分类的科(unclassified_c__Thermoplasmata)分别是所有四合木根区土壤古菌群落的次优势类群和相对丰度第三类群,但二者相对丰度在所有光板地土体土壤古菌群落中顺序刚好相反。不同植物群落类型中的四合木根区土壤优势类群、次优势类群和相对丰度第三的类群之间差异非常小,但不同群落类型中的光板地土体土壤之间优势类群、次优势类群和相对丰度第三的类群略有差异。在所有四合木根区土壤古菌群落中 Nitrososphaeraceae 科相对丰度比处于同一群落类型中的光板地土体土壤相对丰度降低,但海洋古菌类群 II 中未分类的科(norank_o__Marine_Group_II)相对丰度却增高,热原体纲未分类的科(unclassified_c__Thermoplasmata)相对丰度变化不大(图 3A)。物种差异分析显示 Nitrososphaeraceae 科和海洋古菌类群 II 中未分类的科(norank_o__Marine_Group_II)相对丰度在所有样品间有极显著差异(图 3B);除过海洋古菌类群 II 中未分类的科(norank_o__Marine_Group_II)在不同植物群落类型中光板地土体土壤之间有极显著差异外,其余目和科类群在不同植物群落类型四合木根区土壤之间和光板地土体土壤之间均无显著差异(图 3C,图 3D)。

因此,四合木的定居使根区土壤中 Nitrososphaeraceae 科古菌减少,海洋古菌类群 II 中未分类的科(norank_o__Marine_Group_II)古菌增多,热原体纲未分类的科(unclassified_c__Thermoplasmata)相对丰度影响不大,植物群落类型间无差异。

在 3 种不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤及光板地土体土壤样品古菌中共发现共 8 个属,其中相对丰度高于 1% 的有 6 个,各样品中优势属不同, Nitrososphaeraceae 科未分类的属(norank_f__Nitrososphaeraceae)是四合木-红砂-珍珠-针茅群落四合木根区土壤、四合木群落光板地土体土壤(Tm_B_soil)、四合木-针茅群落四合木根区土壤和光板地土体土壤的优势属,暂定 *Nitrososphaera* 属氨氧化古菌(*Candidatus Nitrososphaera*)是四合木-红砂-珍珠-针茅群落光板地土体土壤的优势属,暂定 *Nitrocosmicus* 属氨

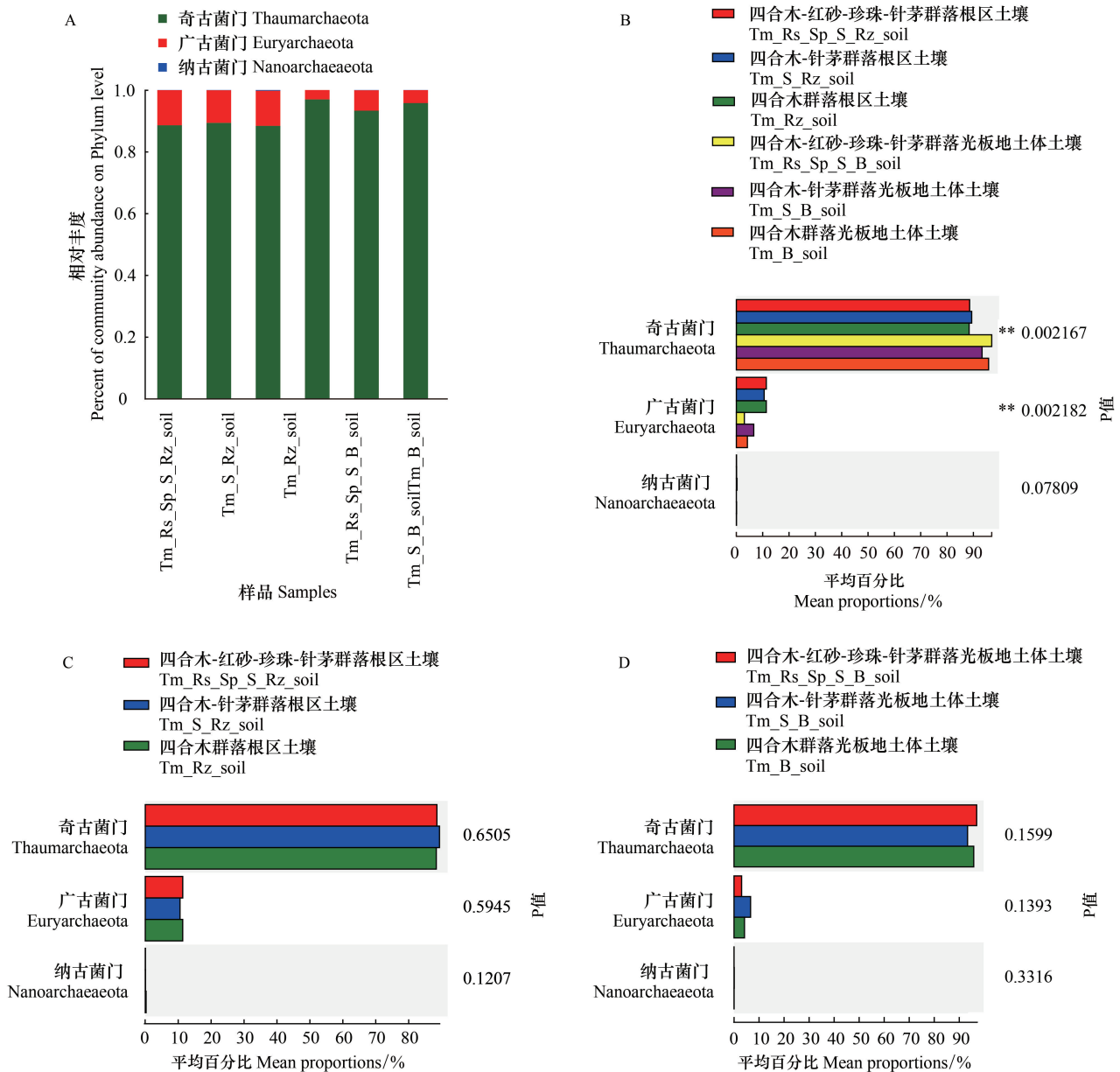


图2 门水平不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落的物种组成

Fig.2 The relative abundance of archaea at phylum level in rhizosphere soil and barren soil in different communities of desert plants

氧化古菌 (*Candidatus Nitrocosmicus*) 是四合木群落四合木根区土壤的优势属 (表 2)。

四合木-红砂-珍珠-针茅群落四合木根区土壤和处于同一群落类型中的光板地土体土壤古菌群落相比较, 暂定 *Nitrososphaera* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrososphaera*) 和 *Nitrososphaeraceae* 科未分类的属 (*unclassified_f_Nitrososphaeraceae*) 相对丰度显著降低, 暂定 *Nitrocosmicus* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrocosmicus*) 和海洋古菌类群 II 中未分类的属 (*norank_o_Marine_Group_II*) 相对丰度显著增加, 其余的属无显著差异 (图 4A)。四合木-针茅群落四合木根区土壤和处于同一群落类型中的光板地土体土壤古菌群落相比较, *Nitrososphaeraceae* 科未分类的属 (*unclassified_f_Nitrososphaeraceae*) 相对丰度显著降低, 暂定 *Nitrocosmicus* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrocosmicus*) 相对丰度显著增高 (图 4B)。四合木群落中四合木根区土壤和处于同一群落类型中的光板地土体土壤 (*Tm_B_soil*) 古菌群落相比较, *Nitrososphaeraceae* 科未分类的属 (*norank_f_Nitrososphaeraceae*)、暂定 *Nitrososphaera* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrososphaera*) 和 *Nitrososphaeraceae* 科未分

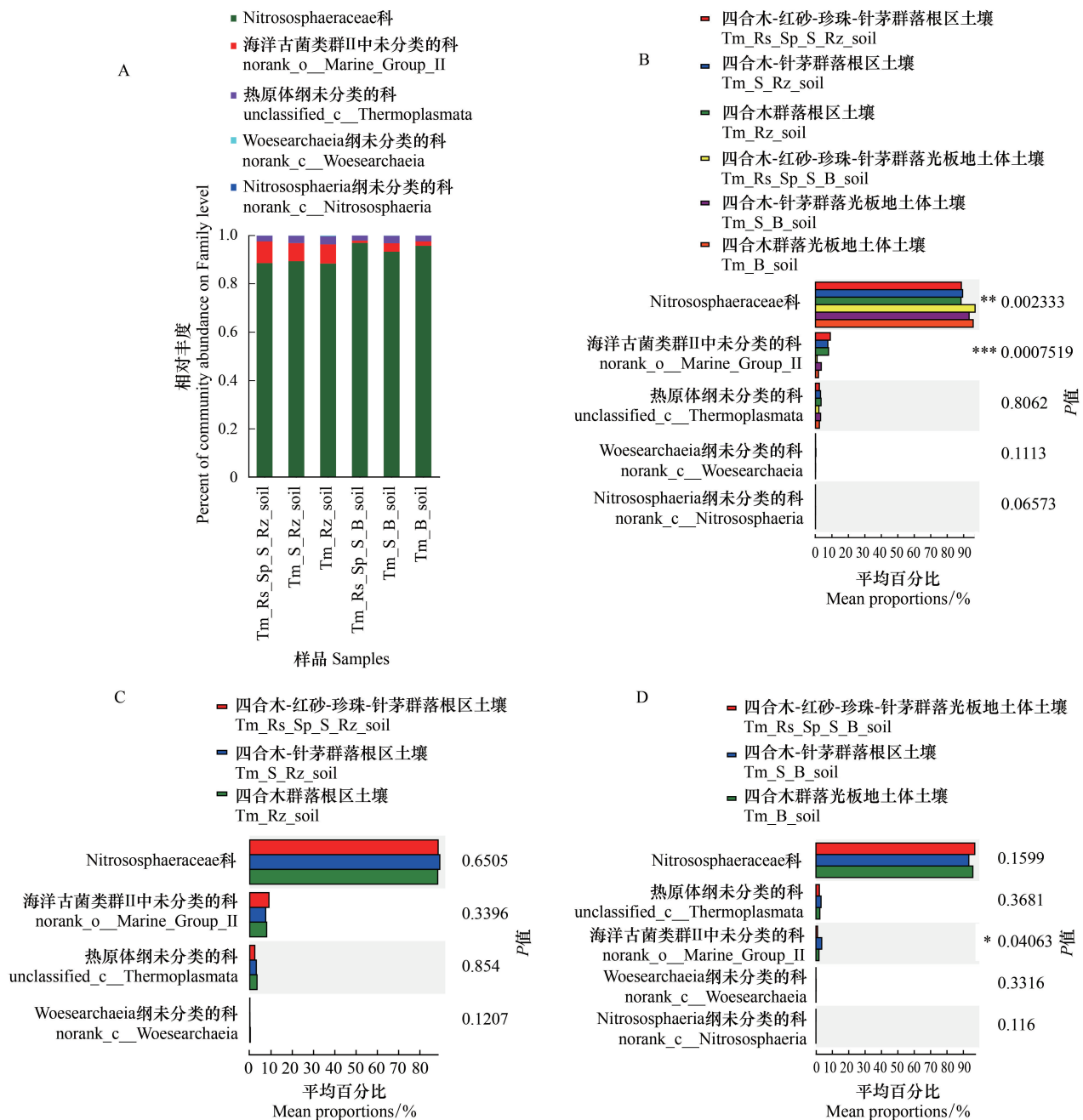


图3 科水平不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落的物种组成

Fig.3 The relative abundance of archaea at family level in rhizosphere soil and barren soil in different communities of desert plants

类的属 (unclassified_f__Nitrososphaeraceae) 相对丰度显著降低, 暂定 *Nitrocosmicus* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrocosmicus*) 和海洋古菌类群 II 中未分类的属 (norank_o__Marine_Group_II) 显著增高 (图 4C)。物种差异分析显示, 除 Nitrososphaeraceae 科未分类的属 (norank_f__Nitrososphaeraceae) 在不同植物群落类型中的四合木根区土壤间有显著差异 (图 4D), 暂定 *Nitrososphaera* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrososphaera*)、Nitrososphaeraceae 科未分类的属 (unclassified_f__Nitrososphaeraceae) 和海洋古菌类群 II 中未分类的属 (norank_o__Marine_Group_II) 在不同植物群落类型中的光板地之间有显著差异外 (图 4E), 其余属在不同植物群落类型四合木根区土壤之间和光板地土体土壤之间均无显著差异。

因此, 四合木的定居使根区土壤中 Nitrososphaeraceae 科未分类的属 (unclassified_f__Nitrososphaeraceae)

和暂定 *Nitrososphaera* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrososphaera*) 减少, 暂定 *Nitrocosmicus* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrocosmicus*) 和海洋古菌类群 II 中未分类的属 (norank_o_Marine_Group_II) 古菌增加, 热原体纲未分类的属 (unclassified_c_Thermoplasmata) 相对丰度变化不大, 不同植物群落类型不同对各个属变化的影响不同。

表 2 属水平不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落的物种组成

Table 2 The relative abundance of archaea at genus level in rhizosphere soil and barren soil in different communities of desert plants

样品 Samples	Nitrososphaeraceae 科未分类的属 norank_f_ Nitrososphaeraceae/%	暂定 <i>Nitrososphaera</i> 属 氨氧化古菌 <i>Candidatus</i> <i>Nitrososphaera</i> /%	暂定 <i>Nitrocosmicus</i> 属 氨氧化古菌 <i>Candidatus</i> <i>Nitrocosmicus</i> /%	Nitrososphaeraceae 科 未分类的属 unclassified_f_ Nitrososphaeraceae/%	洋古菌类群 II 中未分类的属 norank_o_Marine_ Group_II/%	热原体纲未分类的 属 unclassified_c_ Thermoplasmata/%
四合木-红砂-珍珠-针茅 群落根区土壤 Tm_Rs_ Sp_S_Rz_soil	34.48	25.99	18.98	9.13	9.02	2.35
四合木-针茅群落根区土 壤 Tm_S_Rz_soil	30.15	21.30	26.37	11.54	7.50	3.06
四合木群落根区土壤 Tm _Rz_soil	22.94	26.13	31.71	7.61	7.94	3.41
四合木-红砂-珍珠-针茅 群落光板地土体土壤 m_ Rs_Sp_S_B_soil	32.90	45.85	1.97	16.22	0.97	2.6
四合木-针茅群落光板地 土体土壤 Tm_S_B_soil	38.01	29.92	4.42	20.96	3.50	3.10
四合木群落光板地土体 土壤 Tm_B_soil	40.00	35.74	4.32	15.70	1.83	2.36

Lefse 物种差异判别分析显示四合木-红砂-珍珠-针茅群落四合木根区土壤古菌群落中海洋古菌类群 II 中未分类的属 (norank_o_Marine_Group_II) 相对丰度较高, 四合木-红砂-珍珠-针茅群落光板地土体土壤古菌群落中暂定 *Nitrososphaera* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrososphaera*) 相对丰度较高, 四合木-针茅群落四合木根区土壤古菌群落中无相对丰度较高的属, 四合木-针茅群落光板地土体土壤古菌群落中 Nitrososphaeraceae 科未分类的属 (unclassified_f_Nitrososphaeraceae) 相对丰度较高, 四合木群落四合木根区土壤古菌群落中暂定 *Nitrocosmicus* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrocosmicus*) 相对丰度较高, 四合木群落光板地土体土壤 (Tm_B_soil) 古菌群落中 Nitrososphaeraceae 科未分类的属 (norank_f_Nitrososphaeraceae) 相对丰度较高 (图 5A)。平均所有不同植物群落类型中四合木根区土壤古菌群落, 发现暂定 *Nitrocosmicus* 属氨氧化古菌 (*Candidatus Nitrocosmicus*) 相对丰度较高, 而平均所有不同植物群落类型中光板地土体土壤古菌群落, 发现 Nitrososphaeraceae 科未分类的属 (unclassified_f_Nitrososphaeraceae) 相对丰度较高 (图 5B)。

在 3 种不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤及光板地土体土壤样品中共出现 70 个古菌 OTUs, 所有植物群落类型中共有 OTU 数目均远高于四合木根区土壤和光板地土体土壤各自特有的 OTU; 除四合木-针茅群落 (Tm_S) 外, 其余两种植物群落类型中四合木根区土壤 OTU 总数和特有 OTU 远比处于同一植物群落类型中的光板地土体土壤 OTU 总数和特有 OTU 要多 (图 6A—图 6C); 在不同植物群落类型中的四合木根区土壤之间和不同群落类型中的光板地土体土壤之间特有 OTU 都很少, 共有 OTU 占比都较高, 且不同植物群落类型中光板地土体土壤特有 OTU 之间差异要高于不同植物群落类型中四合木根区土壤 特有 OTU 之间 (图 6D, 图 6E)。因此, 四合木定居使土壤古菌物种数目增多, 植物群落类型不同对四合木根区土壤古菌群落影响小于对光板地土体土壤古菌群落影响, 与 Sobs 指数分析结果一致。

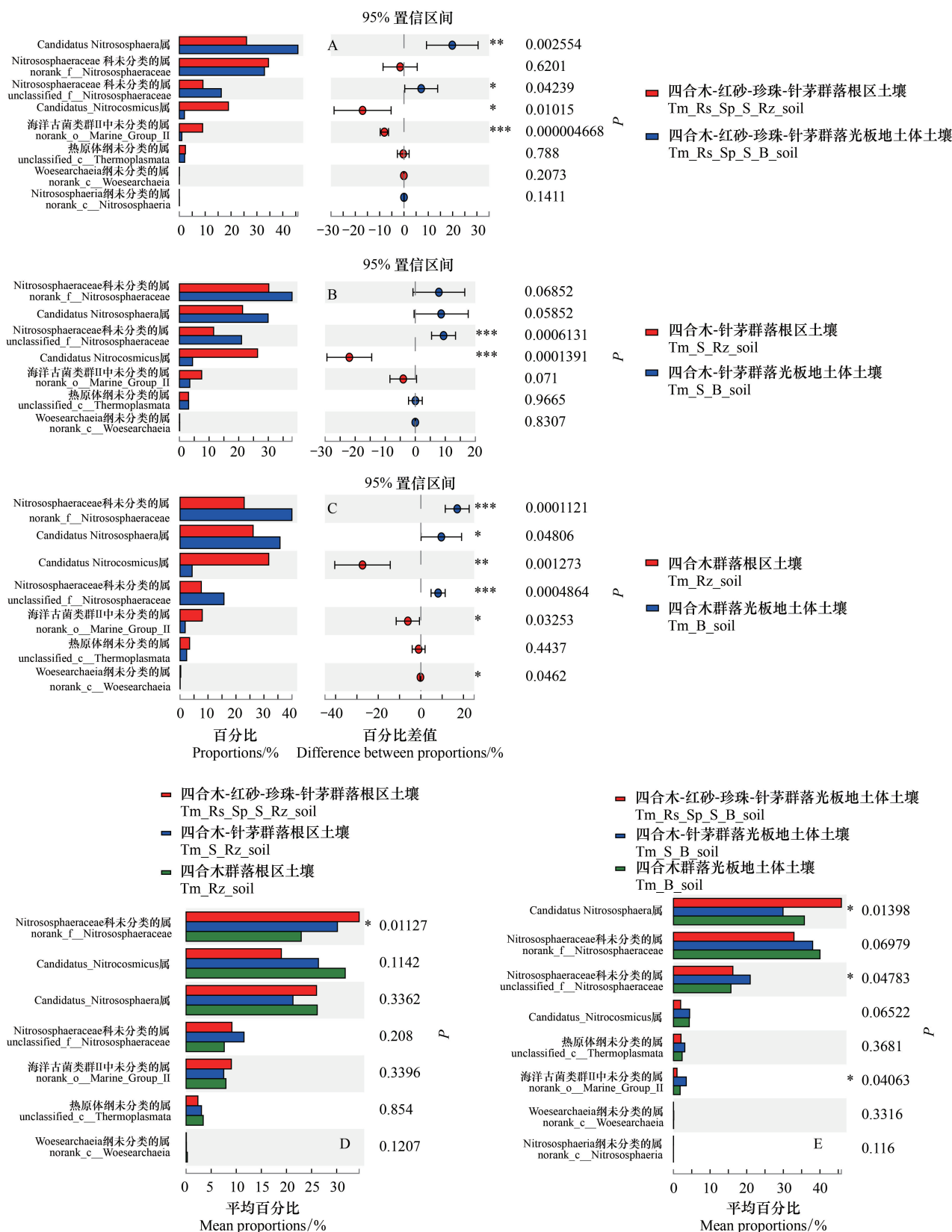


图4 属水平不同植物群落类型中根区土壤和光板地土体间物种差异

Fig.4 The different genus of archaea in rhizosphere soil and barren soil obtained from different communities of plants

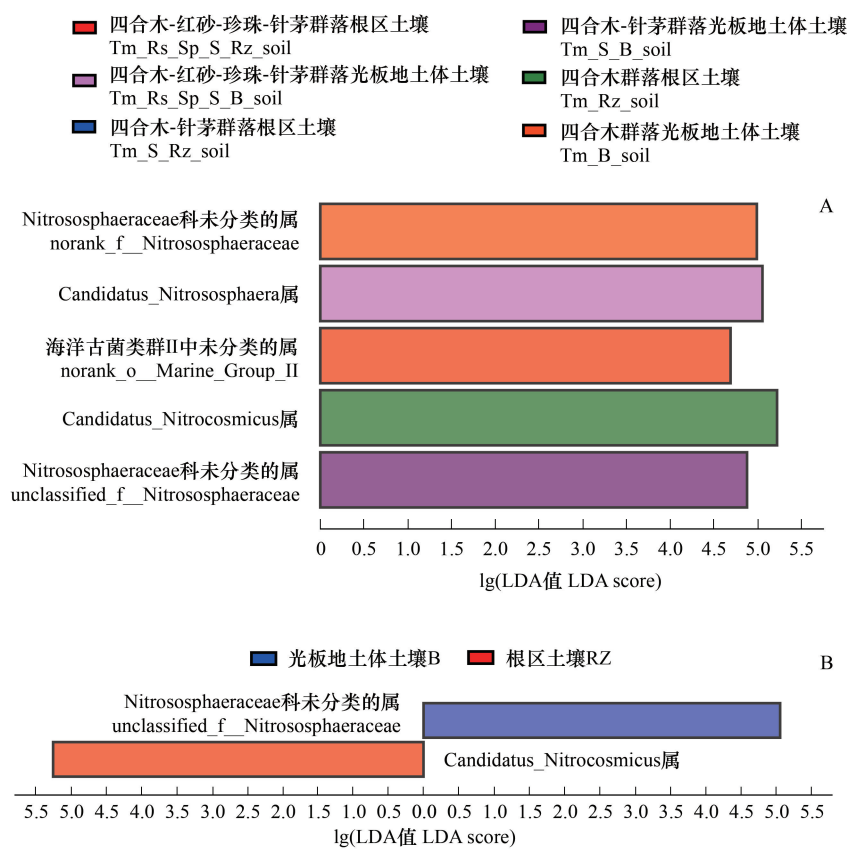


图5 不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落 Lefse 物种差异判别分析

Fig.5 The Lefse analysis of archaea in rhizosphere soil and barren soil in different communities of desert plants at genus level

物种共现性网络表明, OTU1557、OTU8000、OTU3920、OTU7089、OTU2987、OTU2539 是网络中最重要节点(图7), 与3种植物群落类型中所有样品密切相关, OTU1557和OTU3920是Nitrososphaeraceae科未分类的属(norank_f_Nitrososphaeraceae)和(unclassified_f_Nitrososphaeraceae), OTU8000、OTU7089是Nitrososphaeraceae科暂定Nitrososphaera属氢氧化古菌(Candidatus Nitrososphaera), OTU2987和OTU2539是Nitrososphaeraceae科暂定Nitrocosmicus属氢氧化古菌(Candidatus Nitrocosmicus), 它们构成3种不同荒漠植物群落类型中土壤古菌的核心微生物组。

2.3 3种荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌功能预测

利用PICRUS2软件预测不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌功能, 在相对丰度100以上的64个MetaCyc代谢通路功能中, 四合木的定居对土壤古菌的功能影响显著, 前38个功能(相对丰度值1000以上)均减弱, 后26个功能(相对丰度值1000以下)均增强, 差异功能大多集中于有氧呼吸、核苷酸合成、氨基酸合成等途径(如图8)。因此, 四合木的定居并显著影响土壤古菌的功能, 减弱了高丰度功能, 增强了低丰度功能, 对有氧呼吸、核苷酸合成、氨基酸合成等途径影响显著。

2.4 3种荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌β-多样性分析

将不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落采用bray-curtis距离聚类, 结果如图9A, 所有四合木根区土壤和所有光板地土体土壤各自聚为明显分开的分支, 分支内无论是不同植物群落类型的根区土壤还是空白区土壤样本, 都区分不明显。主坐标分析(PCoA)图也显示与聚类结果类似结果(图9B)。ANOSIM分析表明组间差异较显著($R^2 = 0.594$, $P = 0.001$), PERMANOVA也显示组间差异较显著($R^2 = 0.65$, $P = 0.001$)。因此, 四合木的定居对土壤古菌群落影响较大, 影响力不随植物群落类型不同而显著变化。

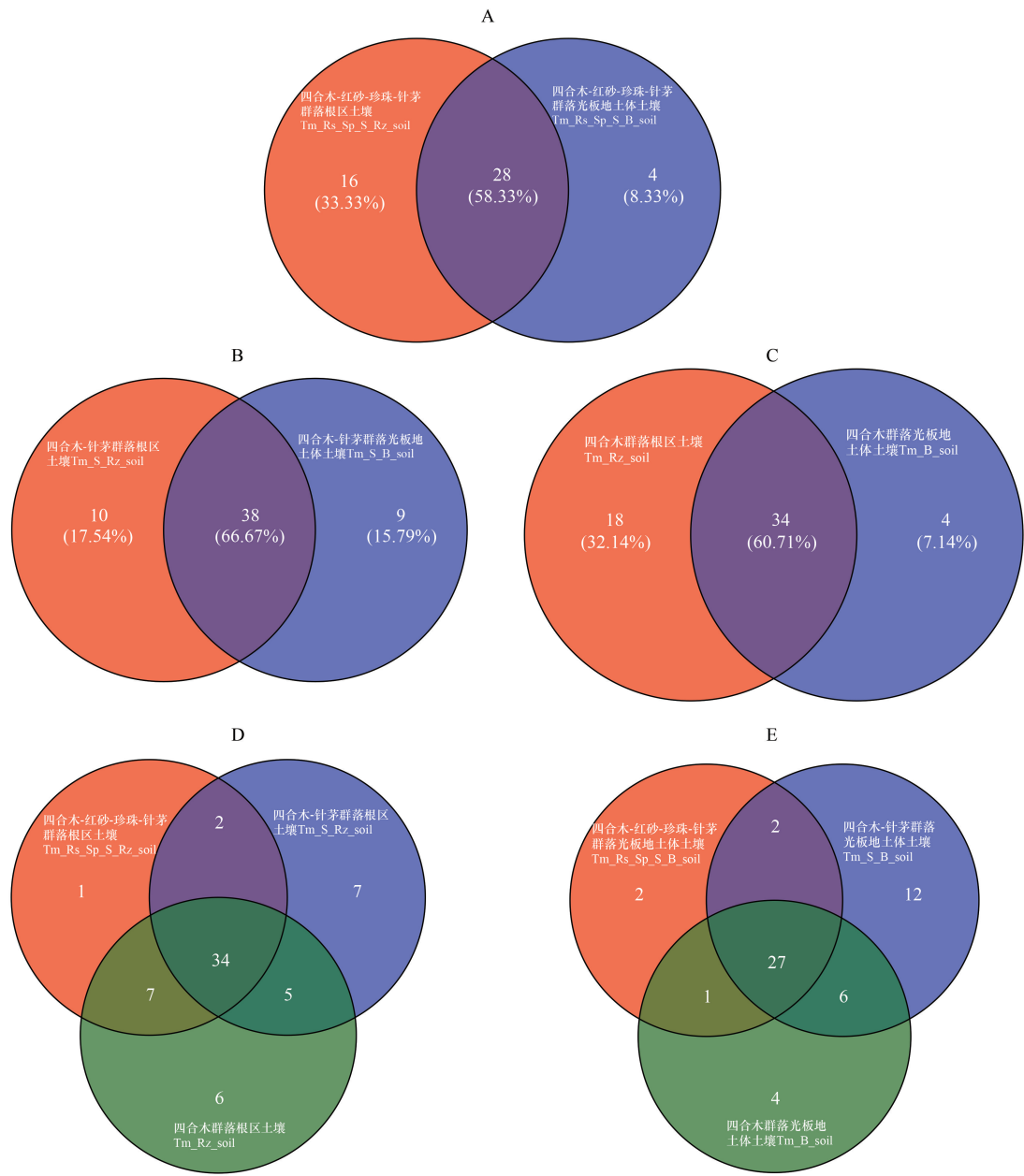


图 6 不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌群落 OTU 水平韦恩图

Fig.6 The Venn of archaea inrhizosphere soil and barren soil in different communities of desert plants at OTU level

3 讨论

本实验采用高通量测序技术研究了 3 种植物群落类型中四合木根际土壤和光板地土体土壤古菌群落,共发现 3 个门 3 个纲 5 个目 5 个科 9 个属 70 个 OTUs,shannon 指数在 1.5—2.2 之间。俞冰倩等^[27]研究表明黑龙江苏打盐碱地、新疆荒漠盐碱地、山西平原盐碱地、江苏滨海盐碱地和天津滨海盐碱地 5 个地区的无植被覆盖的裸露盐碱土 0—20 cm 土壤古细菌 OTU 数目在 489—604,shannon 指数在 3.7—6.1 之间,其中与本实验研究样地气候环境较相近的新疆荒漠盐碱地的古细菌 OTU 数目反而最多,达到 604 个 OTUs,Shannon 指数在 5.4 之间,远大于本实验获得的 OTU 数和多样性。推测可能与土壤取样深度有关,本实验取样时先摒弃了表层 3 cm 腐殖质层,再取深度为 0—20 cm 的矿物质层土壤,而被摒弃的表层土往往富含有机质,微生物数量

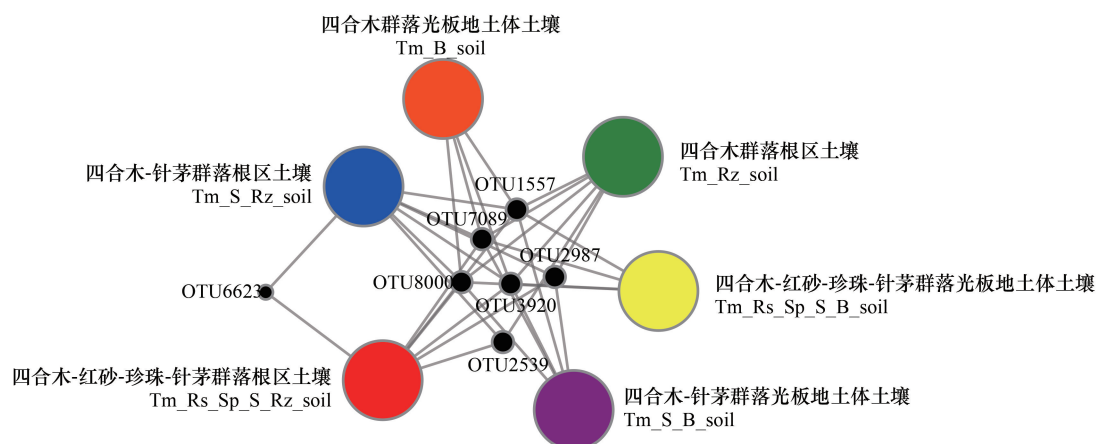


图 7 不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌 OTU 和样品共现性网络

Fig.7 The co-occurrence patterns of archaea in rhizosphere soil and barren soil in different communities of plants at OTU level

(包括古菌)最为丰富^[28-29]。

优势物种是微生物群落的一个重要特征。土壤类型不同,与植物根系空间距离,可能是影响土壤古菌优势类群的重要因素。俞冰倩等^[27]研究中新疆荒漠盐碱地的优势类群是广古菌门盐陆生菌属(*Haloterrigena*),部分盐碱地土壤优势类群为奇古菌门;张玥^[28]研究发现黄河三角洲光板地、翅碱蓬、獐茅、白茅、罗布麻五种覆被类型下土壤古菌优势类群为广古菌门;朱启良等^[29]研究发现杨树根际土壤古菌中优势属为奇古菌门 Nitrososphaeria 纲 Nitrososphaerales 目 Nitrososphaeraceae 科暂定 *Nitrososphaera* 属氨氧化古菌(*Candidatus Nitrososphaera*)。Nicol 等^[30]对草地生态系统根际土壤古菌优势类群为泉古菌门(Crenarchaeota)。本实验结果发现 3 种植物群落类型中四合木根际土壤和光板地土体土壤奇古菌门 Nitrososphaeraceae 科是所有群落类型中四合木根区土壤及光板地土体土壤样品古菌的优势类群,与朱启良等^[29]研究结果一致。Nitrososphaeraceae 科是厌氧铁氨氧化(Feammox)过程中重要的潜在功能微生物,参与将 Fe(III)还原的同时将 NH₄⁺氧化,生成氮气或亚硝酸盐或硝酸盐的过程。

研究表明,土壤微生物会响应植物的侵入、定居、繁殖、演替等变化^[4],土壤古菌对植物的响应这方面的研究也有零星开展。张伟等^[31]研究新疆干旱半干旱土壤环境下,棉花连作对土壤古菌群落结构造成的影响,棉花第一年种植就引起了土壤古菌群落 Shannon 等多多样性指数和 OTUs 快速提高,在棉花长期连作过程中,从门到属的不同分类水平上,都有部分类群在相对丰度上持续发生着调整,但改变的幅度逐年趋小,当连作 10 年后,新的古菌群落结构逐渐形成。冯利利^[32]用实时荧光定量 PCR 发现大同盆地的柠条林种植使土壤古氨氧化古菌相对丰度和数目都增多。Wei 等^[33]的研究却表明在光板土壤中古菌多样性最高,其次是碱蓬(*Suaeda glauca*)、水稻(*Oryza sativa*)、棉花(*Gossypium hirsutum*)和小麦(*Triticum aestivum*)地土壤古菌多样性降低。本研究表明四合木定居不仅增加了土壤古菌的物种数量,而且提高了土壤古菌群落多样性,与张伟等^[31]和冯利利^[32]研究结果一致,但不符合“两步选择”组装模型,却符合基于微生物绝对丰度提出的“扩增-选择”组装的新模型^[17]。

植物对根部微生物的选择,主要依赖根系分泌物、脱落物和挥发性有机化合物(VOC),在细菌上有研究表明根系分泌物和微生物底物偏好驱动根际和根区微生物群落组装,促使根际微生物群落物种多样性和丰富度增高^[9],有关古菌与植物根系分泌物之间的关系的工作有待进一步深入,这也是本论文后续工作的主要目标。

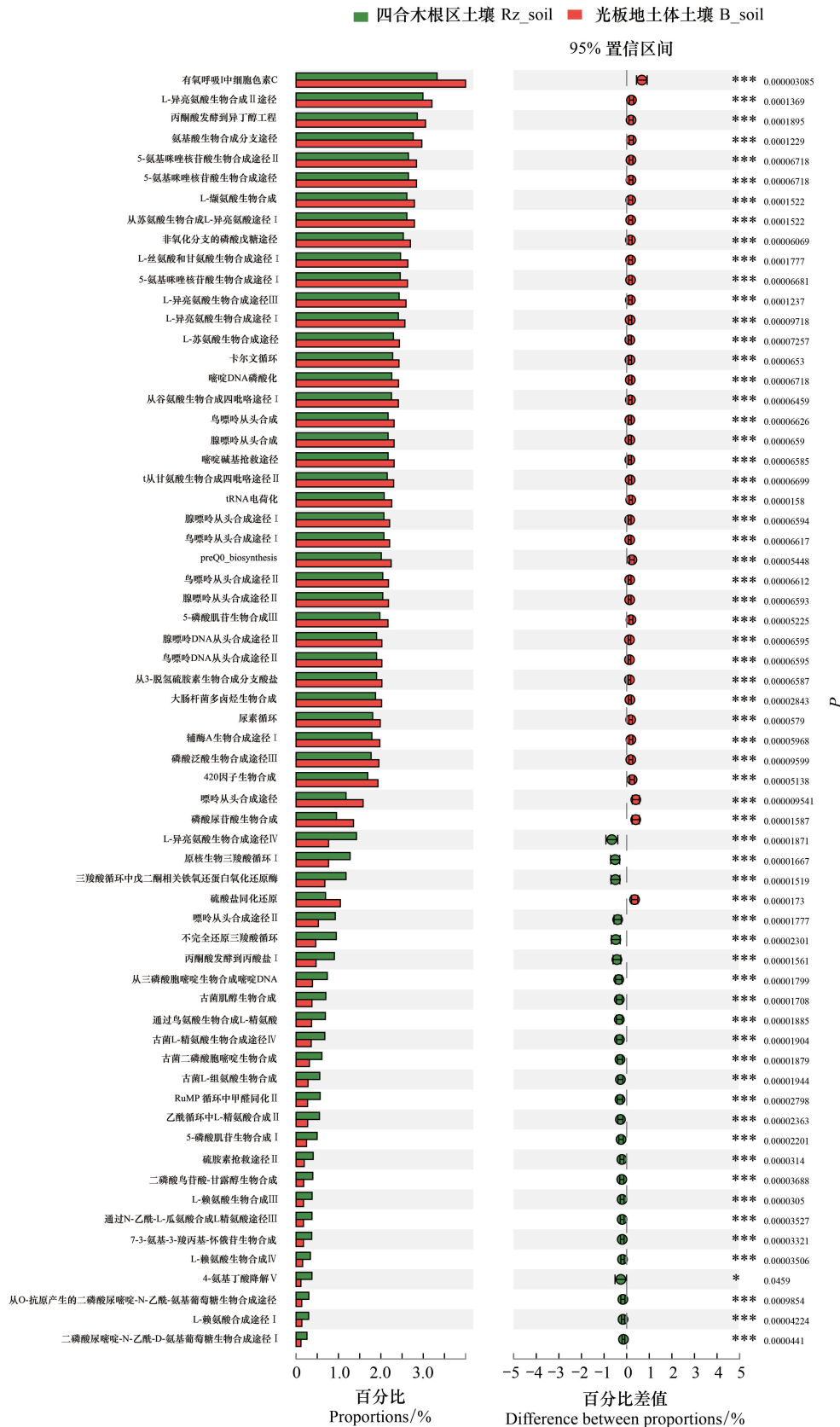


图 8 不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌功能预测

Fig.8 Predictions function of archaea inrhizosphere soil and barren soil in different communities of desert plants

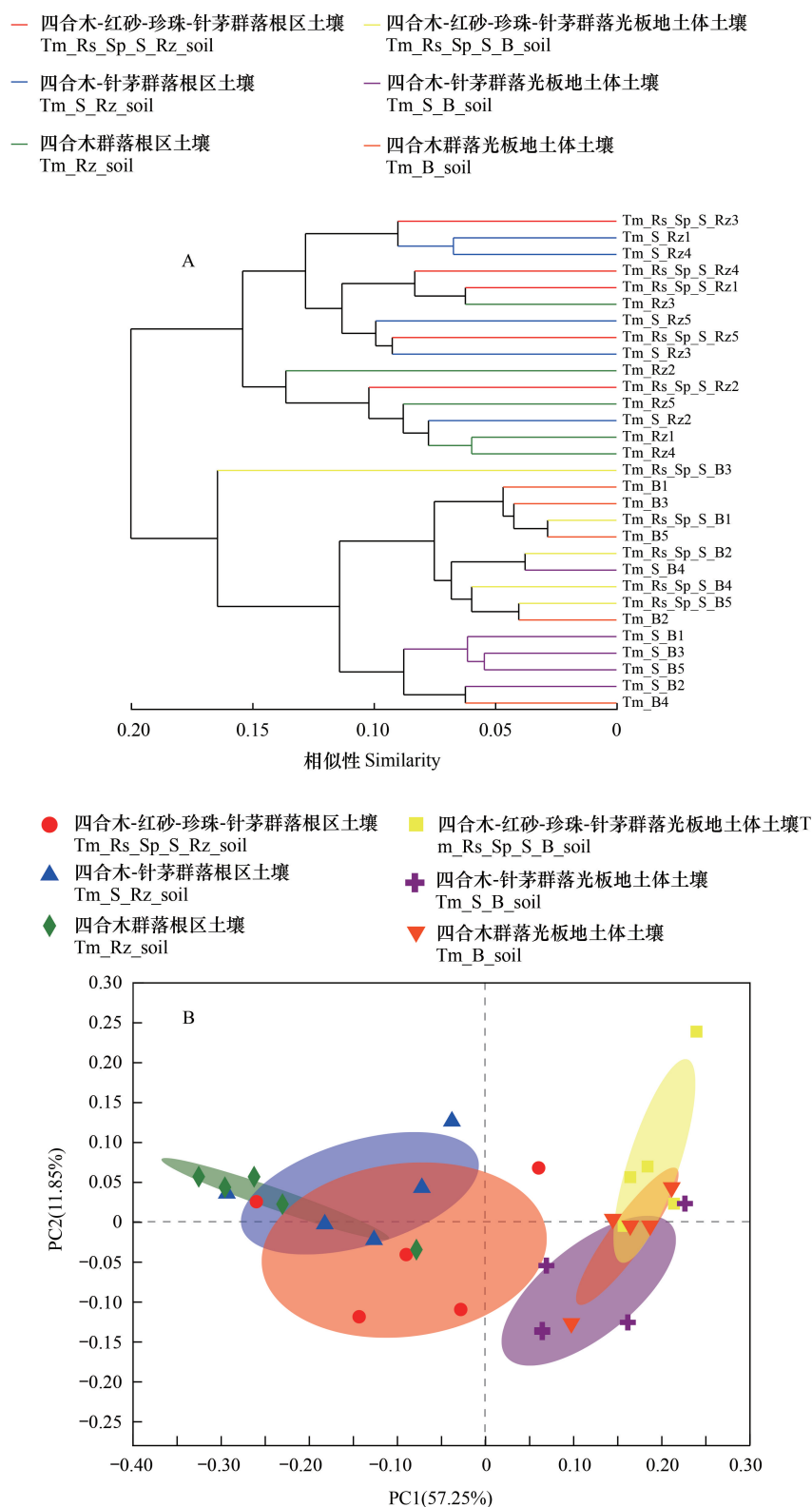


图9 Bray-curtis 距离不同荒漠植物群落类型中四合木根区土壤和光板地土体土壤古菌样本聚类图和 PCoA 图

Fig.9 The Hcluster and PCoA of archaea in rhizosphere soil and barren soil in different communities of desert plants at OTU level based on bray-curtis method

4 结论

荒漠孑遗植物四合木定居改变了土壤古菌群落物种数量、多样性、组成、功能等特征,在 3 种不同的群落中不仅增加了根区土壤古菌的物种数量,提高了根区土壤古菌群落多样性,而且也显著改变土壤古菌群落组成和功能。

参考文献 (References):

- [1] Fierer N. Embracing the unknown: disentangling the complexities of the soil microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 2017, 15(10): 579-590.
- [2] Gittel N R, Castro H F, Kerley M, Yang Z M, Pelletier D A, Podar M, Karpins T, Uberbacher E, Tuskan G A, Vilgalys R, Doktycz M J, Schadt C W. Distinct microbial communities within the endosphere and rhizosphere of *Populus deltoides* roots across contrasting soil types. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(17): 5934-5944.
- [3] Shi W C, Li M C, Wei G S, Tian R M, Li C P, Wang B, Lin R S, Shi C Y, Chi X L, Zhou B, Gao Z. The occurrence of potato common scab correlates with the community composition and function of the geocaulosphere soil microbiome. *Microbiome*, 2019, 7(1): 14.
- [4] Philippot L, Raaijmakers J M, Lemanceau P, van der Putten W H. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(11): 789-799.
- [5] Edwards J, Santos-Medellín C, Nguyen B, Kilmer J, Liechty Z, Veliz E, Ni J D, Phillips G, Sundaresan V. Soil domestication by rice cultivation results in plant-soil feedback through shifts in soil microbiota. *Genome Biology*, 2019, 20(1): 221.
- [6] Zhalnina K, Louie K B, Hao Z, Mansoori N, da Rocha U N, Shi S J, Cho H, Karaoz U, Loqué D, Bowen B P, Firestone M K, Northen T R, Brodie E L. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly. *Nature Microbiology*, 2018, 3(4): 470-480.
- [7] Qin Y, Druzhinina I S, Pan X Y, Yuan Z L. Microbially mediated plant salt tolerance and microbiome-based solutions for saline agriculture. *Biotechnology Advances*, 2016, 34(7): 1245-1259.
- [8] 刘丹丹, 李敏, 刘润进. 我国植物根围促生细菌研究进展. *生态学杂志*, 2016, 35(3): 815-824.
- [9] Hacquard S, Garrido-Oter R, González A, Spaepen S, Ackermann G, Lebeis S, McHardy A C, Dangl J L, Knight R, Ley R, Schulze-Lefert P. Microbiota and host nutrition across plant and animal kingdoms. *Cell Host & Microbe*, 2015, 17(5): 603-616.
- [10] 李岩, 何学敏, 杨晓东, 张雪妮, 吕光辉. 不同生境黑果枸杞根际与非根际土壤微生物群落多样性. *生态学报*, 2018, 38(17): 5983-5995.
- [11] 李岩, 杨晓东, 秦璐, 吕光辉, 何学敏, 张雪妮. 两种盐生植物根际土壤细菌多样性和群落结构. *生态学报*, 2018, 38(9): 3118-3131.
- [12] Bulgarelli D, Schlaeppi K, Spaepen S, van Themaat E V L, Schulze-Lefert P. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. *Annual Review of Plant Biology*, 2013, 64(1): 807-838.
- [13] Edwards J, Johnson C, Santos-Medellín C, Lurie E, Podishetty N K, Bhatnagar S, Eisen J A, Sundaresan V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(8): E911-E920.
- [14] Wang X L, Wang M X, Xie X G, Guo S Y, Zhou Y, Zhang X B, Yu N, Wang E T. An amplification-selection model for quantified rhizosphere microbiota assembly. *Science Bulletin*, 2020, 65(12): 983-986.
- [15] Baker B J, de Anda V, Seitz K W, Dombrowski N, Santoro A E, Lloyd K G. Diversity, ecology and evolution of Archaea. *Nature Microbiology*, 2020, 5(7): 887-900.
- [16] 徐建宇, 毛艳萍. 从典型硝化细菌到全程氨氧化微生物: 发现及研究进展. *微生物学通报*, 2019, 46(4): 879-890.
- [17] Moissl-Eichinger C, Pausan M, Taffner J, Berg G, Bang C, Schmitz R A. Archaea are interactive components of complex microbiomes. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(1): 70-85.
- [18] 甄江红, 刘果厚. 不同生境条件下四合木(*Tetraena mongolica* Maxim.)种群结构特征. *生态学报*, 2008, 28(4): 1829-1841.
- [19] 王乐, 赵利清, 陈育, 裴志丽. 西鄂尔多斯草原荒漠植物群落多样性. *干旱区研究*, 2015, 32(2): 258-265.
- [20] 赵世超. 四种荒漠珍稀植物根际土壤功能菌株的分离筛选及其促生作用研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2019.
- [21] 甘霖. 荒漠化植物四合木内生及根际土壤放线菌分离及促生特性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2017.
- [22] 白明生, 石新卫, 张艳新. 一株四合木内生菌发酵产物抑制植物病原菌的活性. *江苏农业科学*, 2016, 44(8): 192-194.

- [23] 李骁. 珍稀植物四合木分布区特有土壤微生物区系研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2007.
- [24] 孙芬. 鄂尔多斯地区丛枝菌根植物与菌根真菌多样性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2006.
- [25] Walters W, Hyde E R, Berg-Lyons D, Ackermann G, Humphrey G, Parada A, Gilbert J A, Jansson J K, Caporaso J G, Fuhrman J A, Apprill A, Knight R. Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys. *mSystems*, 2016, 1(1): e00009-15.
- [26] Sampson T R, Debelius J W, Thron T, Janssen S, Shastri G G, Ilhan Z E, Challis C, Schretter C E, Rocha S, Gradinaru V, Chesselet M F, Keshavarzian A, Shannon K M, Krajmalnik-Brown R, Wittung-Stafshede P, Knight R, Mazmanian S K. Gut microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of parkinson's disease. *Cell*, 2016, 167(6): 1469-1480.
- [27] 俞冰倩, 杨赛, 朱琳, 高凤, 曾椿淋, 柳参奎, 崔恒林, 魏巍. 响应土壤阴离子类型的盐碱土古细菌群落多样性研究. *中国环境科学*, 2018, 38(7): 2731-2739.
- [28] 张玥. 黄河三角洲自然演化过程中土壤古菌群落结构多样性的响应研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2016.
- [29] 朱启良, 刘洪凯, 陈旭, 董玉峰, 王延平. 杨树人工林根际古菌群落随细根生长的演变. *应用生态学报*, 2019, 30(3): 849-856.
- [30] Nicol G W, Glover L A, Prosser J I. Spatial analysis of archaeal community structure in grassland soil. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(12): 7420-7429.
- [31] 张伟, 杜钰. 棉花长期连作对新疆农田土壤古菌群落演替的影响. *生态环境学报*, 2019, 28(4): 769-775.
- [32] 冯利利. 柠条根系内生解磷菌研究及根围土壤古细菌分析[D]. 太原: 山西大学, 2013.
- [33] Wei G S, Li M C, Shi W C, Tian R M, Chang C Y, Wang Z R, Wang N X, Zhao G X, Gao Z. Similar drivers but different effects lead to distinct ecological patterns of soil bacterial and archaeal communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 144: 107759.