

DOI: 10.5846/stxb202108022098

王倩倩, 陆嘉惠, 张洁, 徐影, 徐可, 张迦得, 刘登奎. 不同分布区胀果甘草原生境土壤微生物群落结构特征及其影响因素. 生态学报, 2022, 42(23): 9780-9795.

Wang Q Q, Lu J H, Zhang J, Xu Y, Xu K, Zhang J D, Liu D K. Soil microbial community structure and its influencing factors in original habitat of *Glycyrrhiza inflata* in different distribution areas. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(23): 9780-9795.

不同分布区胀果甘草原生境土壤微生物群落结构特征及其影响因素

王倩倩^{1,2,3}, 陆嘉惠^{1,2,3,4,*}, 张洁^{1,2,3}, 徐影^{1,2,3}, 徐可^{1,2,3}, 张迦得^{1,2,3}, 刘登奎^{1,2,3}

1 石河子大学生命科学学院, 石河子 832003

2 绿洲城镇与山盆系统生态兵团重点实验室, 石河子 832003

3 新疆植物药资源利用教育部重点实验室, 石河子 832003

4 石河子大学甘草研究所, 石河子 832003

摘要: 胀果甘草 (*Glycyrrhiza inflata*) 主要分布于新疆、甘肃的荒漠区, 是耐盐性最强的药用甘草, 在改良盐碱地土壤中发挥着重要作用, 其原生境土壤微生物群落结构特征是揭示种群分布影响因素及盐碱地修复机制的重要依据。从胀果甘草 5 个主产区采集原生境土壤, 测定土壤理化指标, 并采用高通量测序技术, 结合 Spearman、dbRDA 等方法开展微生物群落组成及多样性特征研究, 揭示不同分布区的优势微生物群落特征和影响因素。结果表明: 真菌群落中曲霉属 (*Aspergillus*)、地丝霉属 (*Geomyces*)、镰刀菌属 (*Fusarium*) 和细菌群落中的寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)、*Marinimicrobium*、*Idiomarina* 是野生胀果甘草原生境土壤中的优势微生物类群。不同分布区的土壤真菌多样性和丰富度具有显著差异, 但土壤细菌多样性和丰富度差异不显著; 部分分布区土壤中的真菌和细菌种类差异较大。土壤理化因子中, 土壤含水量和总含盐量对真菌和细菌的群落分布、丰富度有显著影响。原生境含水量与曲霉属 (*Aspergillus*)、镰刀菌属 (*Fusarium*)、链格孢属 (*Alternaria*)、青霉属 (*Penicillium*) 真菌呈显著负相关; 与 *Marinimicrobium*、*Idiomarina*、*Aliifodinibius* 和需盐杆菌属 (*Salegentibacter*) 细菌呈显著正相关, 与链霉菌属 (*Streptomyces*) 细菌呈显著负相关。原生境土壤总含盐量, 与曲霉属 (*Aspergillus*)、裸子囊菌属 (*Gymnoascus*)、*Aporospora* 真菌呈显著正相关, 与镰刀菌属 (*Fusarium*)、丝盖伞属 (*Inocybe*)、硬皮马勃属 (*Scleroderma*) 真菌呈显著负相关; 总盐含量与 *Marinimicrobium*、*Idiomarina*、嗜盐单胞菌属 (*Halomonas*)、*Aliifodinibius*、*Salinimicrobium*、需盐杆菌属 (*Salegentibacter*) 这 6 种细菌的丰富度存在显著正相关关系, 与链霉菌属 (*Streptomyces*) 和鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*) 细菌呈显著负相关。另外, 土壤真菌和细菌的空间分布的异质性与野生胀果甘草的生境类型和地理环境有关。原生境中丰富度高的嗜盐细菌可能与胀果甘草的盐适应和耐盐机制有密切关系。研究结果为野生胀果甘草的种群恢复、盐碱弃耕地的土壤功能修复研究提供理论依据。

关键词: 胀果甘草; 原生境; 高通量测序; 土壤; 微生物群落结构; 影响因素

Soil microbial community structure and its influencing factors in original habitat of *Glycyrrhiza inflata* in different distribution areas

WANG Qianqian^{1,2,3}, LU Jiahui^{1,2,3,4,*}, ZHANG Jie^{1,2,3}, XU Ying^{1,2,3}, XU Ke^{1,2,3}, ZHANG Jiade^{1,2,3}, LIU Dengkui^{1,2,3}

1 College of life Sciences, Shihezi University, Shihezi 832003, China

2 Xinjiang Production and Construction Crops Key Laboratory of Oasis Town and Mountain-basin System Ecology, Shihezi 832003, China

3 Key Laboratory of Xinjiang Phytomedicine Resource Utilization, Ministry of Education, Shihezi 832003, China

4 Institute of Licorice, Shihezi University, Shihezi 832003, China

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31760046)

收稿日期: 2021-08-02; 网络出版日期: 2022-07-27

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jiahui@shzu.edu.cn

Abstract: *Glycyrrhiza inflata* is mainly distributed in the desert areas of Xinjiang and Gansu. It is the most salt tolerant medicinal *Glycyrrhiza*, and plays an important role in improving saline alkali soil. The soil microbial community structure of original habitat is an important basis to reveal the influencing factors of population distribution and the restoration mechanism of saline alkali soil of *Glycyrrhiza inflata*. In this study, the original habitat soil was collected from five main production areas of *Glycyrrhiza inflata*, the soil physical and chemical indexes were measured, and the microbial community composition and diversity characteristics were studied by high-throughput sequencing technology combined with Spearman, dbRDA and other methods, so as to reveal the characteristics and influencing factors of dominant microbial communities in different distribution areas. The results showed that *Aspergillus*, *Geomyces*, *Fusarium* in the fungal community, and *Stenotrophomonas*, *Marinimicrobium*, and *Idiomarina* in the bacterial community were the dominant soil microbial groups of the wild *Glycyrrhiza inflata* habitat. There were significant differences in soil fungal diversity and richness in different distribution areas, but there was no significant difference in soil bacterial diversity and richness. The species of fungi and bacteria in some distribution areas were quite different. Among the soil physical and chemical factors, soil water content and total salinity had significant effects on the community distribution and richness of fungi and bacteria. In original habitat water content was significantly negatively correlated with *Aspergillus*, *Fusarium*, *Alternaria*, *Penicillium*; significantly positively correlated with *Marinimicrobium*, *Idiomarina*, *Aliifodinibius* and *Salegentibacter*, and significantly negatively correlated with *Streptomyces*. In original habitat soil total salt content was significantly positively correlated with *Aspergillus*, *Gymnoascus*, *Aporospora*, and significantly negatively correlated with *Fusarium*, *Inocybe*, *Scleroderma*; total salt content was significantly correlated with six species of *Marinimicrobium*, *Idiomarina*, *Halomonas*, *Aliifodinibius*, *Salinimicrobium*, and *Salegentibacter*. There was a significant positive correlation between bacterial abundance and a significant negative correlation with *Streptomyces* and *Sphingomonas*. In addition, the heterogeneity of the spatial distribution of soil fungi and bacteria was also related to the habitat type and geographical environment of wild *Glycyrrhiza inflata*. *Halomonas*, *Aliifodinibius* and *Salegentibacter* in this study are all halophilic bacteria in the habitat of *Glycyrrhiza inflata*. The high abundance of halophilic bacteria in the original habitat may be closely related to the salt adaptation and salt tolerance mechanism of *Glycyrrhiza inflata*. The results provide a theoretical basis for the population restoration of wild *Glycyrrhiza inflata* and the soil function restoration of saline alkali abandoned farmland.

Key Words: *Glycyrrhiza inflata*; original habitat; high-throughput sequencing; soil; microbial community; influencing factors

土壤微生物主要由土壤细菌、古生菌和真菌组成,广泛分布在根际和非根际土壤中,与植物体互惠共生,其多样性和丰富度对植物的多样性,调节土壤微环境和养分循环等生态系统功能起着关键作用^[1-6]。研究表明,植被可能会影响土壤的物理和化学性质,进而影响土壤的细菌群落和组成^[7],同时微生物的种群结构和代谢产物也可以调控药用植物的生长,提高植物的抗性,影响植物的分布^[8-9]。

胀果甘草(*Glycyrrhiza inflata*)是《中国药典》中记载的三种药用甘草基原植物之一,野生胀果甘草主要分布于新疆塔里木盆地和东疆吐哈盆地,在甘肃也有少量分布^[10-12],其原生境土壤盐渍化程度较重,表层土壤总体含盐量较高,在三种药用甘草中,胀果甘草耐盐能力最强,具有抗寒、抗旱、抗盐碱等优良特性,能有效改良盐碱地土壤^[13],从中提取出的多种化学成分在制药和加工材料等方面也有着很高的利用潜力,兼具重要生态价值和经济价值^[14-16]。

药用植物原生境土壤微生物群落结构和多样性特征,是揭示药用植物、土壤、微生物相互关系,挖掘土壤中优势菌群,探寻药用植物种群分布及道地性形成影响因素的重要依据。有研究表明,不同生境的黑果枸杞根际与非根际土壤的细菌、真菌优势类群(门、属)的组成以及丰富度存在地区间差异^[17]。孙晓等对于干旱区沙生药用植物锁阳的土壤微生物群落研究发现了不同产区土壤微生物群落多样性的差异,并发掘了5个共有

核心微生物组^[18]。目前,已有五味子、细辛、百合等 20 种药用植物研究明确了影响土壤微生物多样性的因素和土壤微生物与药用植物的关系,并筛选了生防菌株^[19]。重楼根际土壤研究发现了重楼根际土壤真菌、根内生菌、根茎内生菌中的优势菌群^[20]。目前对药用甘草土壤微生物的研究主要在乌拉尔甘草内生菌的分离和应用、根际微生物、丛枝菌根的研究等方面^[21–24],缺乏野生胀果甘草原生境土壤微生物群落结构及多样性的研究,因此在揭示胀果甘草种群分布与土壤微生物关系、优势土壤菌群和盐碱弃耕地修复机制、药材道地性的影响因素方面缺少依据。

本研究系统、全面地进行了野生胀果甘草分布区的原生境土壤调查,从胀果甘草 5 个主产区采集原生境土壤,测定土壤理化指标,并采用高通量测序技术,结合 Spearman、dbRDA 方法开展以下研究:揭示不同分布区的微生物群落结构和多样性特征;发掘胀果甘草原生境土壤的优势或特殊真菌、细菌群落;微生物群落、土壤理化性质、物种地理分布相关性分析。为弃耕盐碱地的修复机制、野生胀果甘草种群恢复和药材道地性研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究区概况

按照新疆植物志^[25]记载的胀果甘草分布区,在新疆阿拉尔、库尔勒、哈密、鄯善,甘肃瓜州 5 个主产区(标记为 Z1—Z5)采集土壤样本。5 个分布区均为干旱半干旱荒漠地区,温带大陆性气候,夏季炎热,冬季寒冷,昼夜温差大;全年晴天多,光照充足,降水稀少;年降水量仅为 35—60 mm,年平均气温为 8.98—11.67℃。野生胀果甘草伴生植物主要有芦苇(*Phragmites australis*)、拂子茅(*Calamagrostis epigeios*)、骆驼刺(*Alhagi sparsifolia*)、苦豆子(*Sophora alopecuroides*)、白刺(*Nitraria tangutorum*)、怪柳(*Tamarix chinensis*)、猪毛菜(*Salsola collina*)等。

1.2 样地设置和样品采集

土壤采样点信息见表 1,5 个分布区,每个分布区设 3 个样地,共 15 个采样地。每个采样地根据研究区域胀果甘草生长状况、分布特点等差异,按 W 型每隔 50 m 选取 1 个有胀果甘草均匀分布的样点,共 5 个样点(面积为 2 m×2 m),在每样点按 V 型选取 3 个重复土样^[26],采集 0—30 cm 的土壤,将取到的土样混合置于平铺的牛皮纸上捏碎混合均匀,按四分法(取对角线)制成混合土样后,分装 3 份。一份置于铝盒中用于测定土壤含水量(Soil Water Content, SWC)和 pH 值;一份置于密封袋中带回实验室自然风干后剔除植物根系及石砾等杂物,磨碎,过 100 目筛,用于测定土壤有机碳(Total Organic Carbon, TOC)、总氮(Total Nitrogen, TN)和总含盐量(Total Dissolved Salts, TDS)。最后一份置于 PV 离心管中迅速液氮冷冻后保存于-80℃冰箱,用于土壤微生物测序。

1.3 研究方法

1.3.1 土壤理化性质

土壤理化指标的测定采用常规分析法^[27]。土壤含水量(SWC)测定采用干燥法。土壤 pH 值用 pH 计测定。土壤有机碳(TOC)测定采用重铬酸钾容量法。土壤总氮(TN)测定采用半微量开氏法。土壤总含盐量(TDS)测定采用残渣烘干法。

1.3.2 测序方法

土壤 DNA 提取、PCR 扩增和单端测序均由北京康普森生物技术有限公司完成。采用 SDS-CTAB 方法对来自 5 个地区共计 15 个土壤样本的基因组 DNA 进行提取。利用 16S rRNA 的保守区设计通用引物扩增 16S/18S/ITS 的区域。以稀释后的基因组 DNA 为模板,根据测序区域的选择,使用带 Barcode 的特异引物(表 2)进行扩增,得到相应的产物。

PCR 反应体系为 Phusion Master Mix (2×) 15 μL, Primer (2 μM) 3 μL, gDNA (1 ng/μL) 10 μL, H₂O 2 μL。反应程序为 98℃ 预变性 1 min; 30 个循环(98℃, 10 s; 50℃, 30 s; 72℃, 30 s); 72℃, 5 min。PCR 产物

使用 2%浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测,剪切回收目标条带。

表 1 野生胀果甘草原生境土壤样品采集点
Table 1 Collection site of soil samples from wild *Glycyrrhiza inflata* habitat

采集地 Sampling location	经度/E Longitude	纬度/N Latitude	样品编号 Sample ID	生境类型 Habitat type
新疆阿拉尔	80°51'51.62"	40°25'41.6"	Z1.1	林缘
	80°51'22.51"	40°26'0.33"	Z1.2	林下
	80°54'23.5"	40°25'12.15"	Z1.3	盐碱荒漠
新疆库尔勒	85°56'56.35"	41°45'13.15"	Z2.1	林缘
	85°56'56.35"	41°45'13.15"	Z2.2	林缘
	85°56'56.35"	41°45'13.15"	Z2.3	林缘
新疆哈密	93°50'59.63"	42°41'31.81"	Z3.1	盐碱弃耕
	93°56'53.8"	42°41'17.53"	Z3.2	林下
	93°57'1.05"	42°39'58.29"	Z3.3	林下
新疆鄯善	89°58'15.46"	42°52'29.96"	Z4.1	林缘
	90°33'5.24"	43°0'10.79"	Z4.2	林缘
	90°33'5.24"	43°0'10.79"	Z4.3	林缘
甘肃瓜州	95°45'53.34"	40°30'9.41"	Z5.1	林缘
	95°39'10.41"	40°28'11.27"	Z5.2	林下
	95°38'27.79"	40°23'0.94"	Z5.3	林下

表 2 野生胀果甘草原生境土壤样品 PCR 扩增引物
Table 2 PCR primers for soil samples of wild *Glycyrrhiza inflata* habitat

类型 Type	区域 Area	引物名称 Primer name	类型 Type	区域 Area	引物名称 Primer name
细菌 16S	V4	515F-806R	真核生物 18S	V4	528F-706R
Bacteria 16S	V3+V4	341F-806R	Eukaryote 18S	V9	1380F-1510R
	V4+V5	515F-907R	真菌 ITS	ITS1-5F	ITS5-1737F ITS2-2043R
	V5+V7	799F-1193R	Fungus I	ITS1-1F	ITS1-1F-F ITS1-1F-R
新古菌 16S	V4+V5	Arch519F-Arch915R		ITS2	ITS3-2024F ITS4-2409R
Neoarchaea 16S					
古菌 1106F	1106F	1106F-1378R			
Archaea 1106F					

PCR:聚合酶链式反应 Polymerase Chain Reaction;S:沉降系数 Sedimentation coefficient;V:可变区 Variable region;F:正向引物 Forward primer;R:反向引物 Reverse primer

新古菌 16S; 古菌 1106F;真核生物 18S; 真菌 ITS;文库构建和上机测序:根据所扩增区域的特点,基于 IonS5TMXL 测序平台,利用单端测序(Single-End)的方法,构建小片段文库进行单端测序。使用 Thermofisher 公司的 Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 建库试剂盒进行文库的构建,构建好的文库经过 Qubit 定量和文库检测合格后,使用 Thermofisher 的 Ion S5™XL 上机测序。

1.4 数据处理

1.4.1 测序数据处理

使用 Cutadapt^[28](V1.9.1, <http://cutadapt.readthedocs.io/en/stable/>)先对 reads 进行低质量部分剪切,再根据 Barcode 从得到的 reads 中拆分出各样品数据,截去 Barcode 和引物序列初步质控得到原始数据(Raw reads)。经过以上处理后得到的 Reads 需要进行去除嵌合体序列的处理,Reads 序列通过^[29](<https://github.com/torognes/vsearch/>)与物种注释数据库进行比对检测嵌合体序列,并最终去除其中的嵌合体序列^[30],得到最终的有效数据(Clean Reads)。

1.4.2 OTU 聚类 and 物种注释

利用 Uparse 软件^[31](Uparse v7.0.1001, <http://www.drive5.com/uparse/>)对所有样品的全部 Clean Reads

进行聚类,默认以 97%的一致性 (Identity) 将序列聚类成为 OTUs (Operational Taxonomic Units), 选取 OTUs 的代表性序列。对 OTUs 序列进行物种注释,用 Qiime 软件 (Version 1.9.1) 中的 blast 方法 (http://qiime.org/scripts/assign_taxonomy.html)^[32] 与 Unit (v7.2) 数据库^[33] (<https://unite.ut.ee/>) 进行物种注释分析。使用 MUSCLE^[34] (Version 3.8.31, <http://www.drive5.com/muscle/>) 软件进行快速多序列比对,得到所有 OTUs 序列的系统发生关系。最后对各样品的数据进行均一化处理,以样品中数据量最少的为标准进行均一化处理,后续的 Alpha 多样性分析和 Beta 多样性分析都是基于均一化处理后的数据。使用 R 软件绘制 venn 图,Origin、Visio 软件绘制物种相对丰度柱形图,并用 vcd 包 ternaryplot 命令进行 Ternaryplot 三元相图分析。使用 ArcMap 软件导入采样点,Visio 软件绘制丰度前三的优势真菌和细菌种类图。

1.4.3 多样性指数分析

多样性指数显著差异柱形图使用 Origin、Visio 软件绘制。 β 多样性:用 Qiime 软件 (Version 1.9.1) 计算 Unifrac 距离,使用 R 软件 (Version 2.15.3) 绘制 PCoA 图,PCoA 可以通过样品之间的聚集和分开情况来判断群落结构差异度。使用 R 软件进行 Beta 多样性指数组间差异分析。LEfSe 分析使用 LEfSe 软件,默认设置 LDA Score 的筛选值为 4。组间差异显著的物种分析利用 R 软件做组间 T_test 检验并作图。

1.4.4 理化性质特征和环境因子关联分析

SPSS 软件对数据进行单因素方差分析,Origin 软件、Visio 软件绘制理化性质的方差分析柱形图。在进行 Spearman 相关性分析时,首先用 R 中 psych 包的 corr.test 函数计算物种和环境因子的 Spearman 相关系数值并检验其显著性,然后用 Origin 软件绘制热图。使用 vegan 包中的 rda 函数进行的排序分析,然后使用非冗余的环境因子进行 dbRDA 分析。

2 结果

2.1 土壤真菌和细菌 OTU 水平分析

过滤出低质量和短序列 reads 后,ITS 测序共得到 1129760 条 cleanreads,有效序列的平均长度为 244bp。16S 测序共得到 1201313 条 reads,有效序列的平均长度为 253bp。得到有效数据后进行 OTUs 聚类。图 1 中显示,Z1—Z5 通用的真菌 OTUs 为 524 个,特有的真菌 OTUs 数分别为 248、199、154、177 和 201 个。Z1—Z5 共有的细菌 OTUs 为 1813 个,特有的细菌 OTUs 数分别为 1295、1058、567、785 和 802 个。

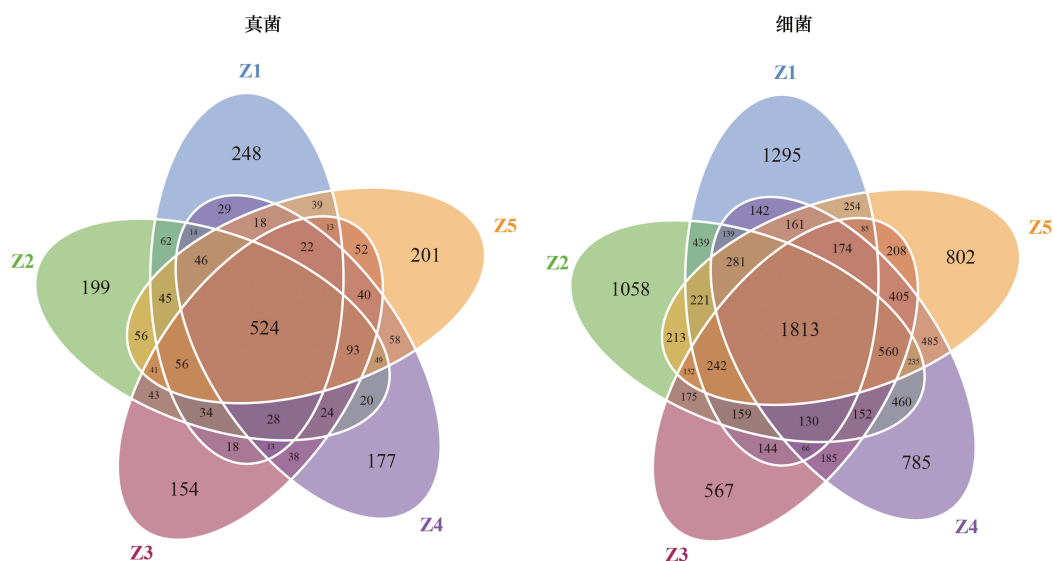


图 1 胀果甘草土壤真菌和细菌基于 OTUs 的维恩图

Fig.1 Soil fungi and bacteria of *Glycyrrhiza inflata* are based on the Venn diagram of OTUs

OTUs: Operational taxonomic units 可操作分类单元; Z1: 采集地新疆阿拉尔; Z2: 采集地新疆库尔勒; Z3: 采集地新疆哈密; Z4: 采集地新疆鄯善; Z5: 采集地甘肃瓜州

2.2 微生物群落组成

根据物种注释结果,胀果甘草分布区土壤样品中真菌和细菌群落属水平上的组成结构和相对丰度排名前十的物种如图 2 所示。真菌中,优势物种为曲霉菌属 (*Aspergillus*)、地丝霉属 (*Geomyces*)、镰刀菌属 (*Fusarium*)。其中,相对丰度值最高的为曲霉菌属(*Aspergillus*),在各分布区均有分布,但丰度不同,在 Z3.2、Z3.3、Z4.1 地区的相对丰度明显高于其他地区。细菌中,优势物种为寡氧单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)、*Marinimicrobium*、*Idiomarina*。其中,*Marinimicrobium* 在 Z1.1 地区的相对丰度明显高于其他地区。*Idiomarina* 在 Z1.3 地区的相对丰度明显高于其他地区。

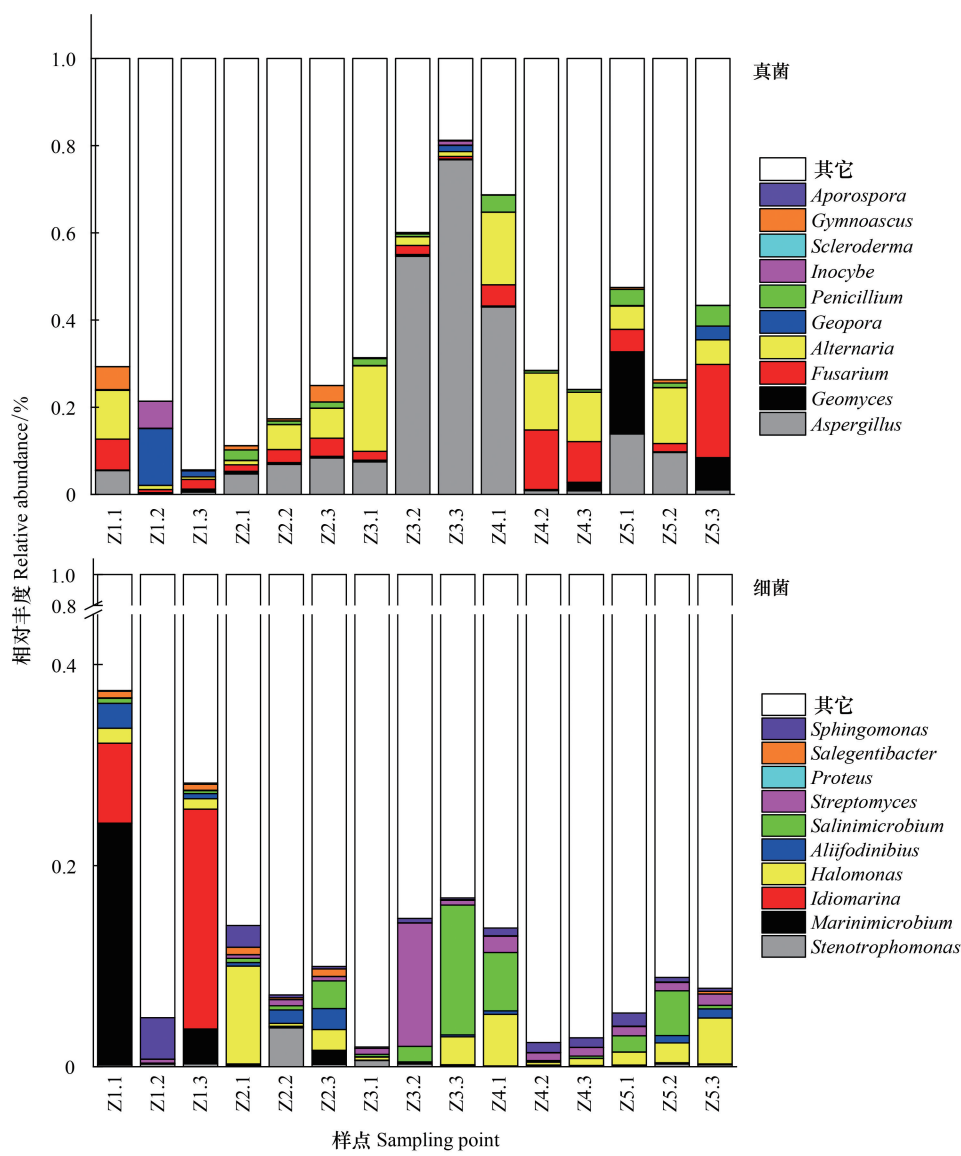


图 2 胀果甘草土壤中属水平的真菌和细菌的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of fungi and bacteria at the genus level in the soil of *Glycyrrhiza inflata*

Others:所有其他属的相对丰度之和; *Aporospora*: *Aporospora* 属; *Gymnoascus*: 裸子囊菌属; *Scleroderma*: 硬皮马勃属; *Inocybe*: 丝盖伞属; *Penicillium*: 青霉属; *Geopora*: 地孔菌属; *Alternaria*: 链格孢属; *Fusarium*: 镰刀菌属; *Geomyces*: 地丝霉属; *Aspergillus*: 曲霉菌属; *Sphingomonas*: 鞘氨醇单胞菌属; *Salgentibacter*: 需盐杆菌属; *Proteus*: 变形杆菌属; *Streptomyces*: 链霉菌属; *Salinimicrobium*: *Salinimicrobium* 属; *Aliifodinibius*: *Aliifodinibius* 属; *Halomonas*: 嗜盐单胞菌属; *Idiomarina*: *Idiomarina* 属; *Marinimicrobium*: *Marinimicrobium* 属; *Stenotrophomonas*: 寡氧单胞菌属

通过对调查数据汇总及分析,将 5 个地区采样地微生物丰度为前三的优势属的类群进行了统计,如图 3

所示。5 个地区采样地丰度前三的真菌属均有镰刀菌属 (*Fusarium*)。库尔勒地区、哈密地区和鄯善地区的丰度前三的真菌属种类相同,为曲霉菌属 (*Aspergillus*)、镰刀菌属 (*Fusarium*)、链格孢属 (*Alternaria*)。哈密地区、鄯善地区和瓜州地区的丰度前三的细菌属种类相同,为嗜盐单胞菌属 (*Halomonas*)、*Salinimicrobium*、链霉菌属 (*Streptomyces*)。

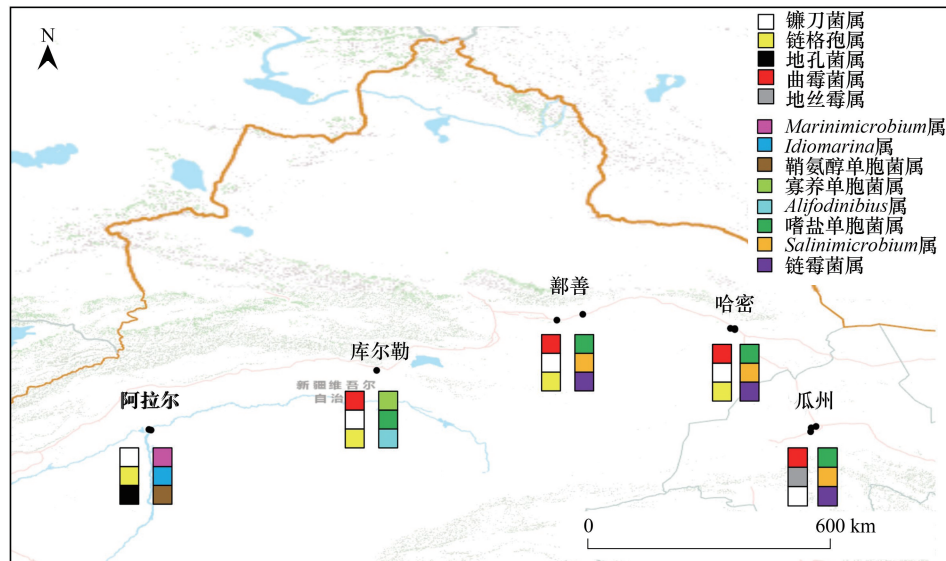


图 3 胀果甘草采样点及丰度前三大属的优势真菌和细菌种类

Fig.3 Dominant fungi and bacteria species of *Glycyrrhiza inflata* sampling sites and the first three genera in abundance

LEfSe 统计结果分析显示,大部分真菌种类相似,个别菌种有差异,Z1、Z3 组中真菌物种无差异显著,故此组缺失。Z2 地区的小子囊菌科支顶孢属的烟曲霉菌 (*Aspergillus fumigatus*),Z4 地区的链格孢属 (*Alternaria atra*),Z5 地区的帚霉属布朗氏帚霉 (*Scopulariopsis brumptii*)是具有显著差异的真菌。部分细菌种类有差异,其中,Z2、Z4 组中细菌物种无差异显著,故此组缺失。Z1 地区的 *Idiomarins*,Z3 地区的链霉菌属 (*Streptomyces*)、考克氏菌属 (*Kocuria*),Z5 地区的芽孢杆菌科 (*Bacillaceae*)是具有显著差异的物种。

2.3 生物多样性分析

2.3.1 α 多样性

胀果甘草原生境真菌和细菌的丰富度和多样性指数的显著性检验(图 5)显示,细菌的香农、Chao1、ACE 指数均无显著差异。细菌 Chao1 指数平均值均大于真菌,表明细菌的 OTU 数均多于真菌。在真菌中,Z2 库尔勒地区的香农指数平均值最高,Z1 阿拉尔地区最低,表明库尔勒地区真菌群落的多样性最高,阿拉尔地区最低。Z5 瓜州地区 ACE 指数平均值最高,Z1 阿拉尔地区最低,表明瓜州地区真菌群落的丰富度最高,阿拉尔地区最低。阿拉尔地区的真菌、细菌香农指数均低,表明本地区微生物多样性最低。

2.3.2 β 多样性

基于 Unweighted unifracc 距离的主坐标分析(图 6)和 Adonis 分析(表 3)显示,真菌的组成结构在 Z1 与 Z4;Z1 与 Z5;Z2 与 Z4;Z4 与 Z5 组间差异显著,在 Z1 与 Z2;Z1 与 Z3;Z2 与 Z3;Z2 与 Z5;Z3 与 Z4 组间差异不显著。细菌的组成结构在 Z1 与 Z2;Z1 与 Z3;Z1 与 Z4;Z1 与 Z5;Z2 与 Z3;Z2 与 Z5 组间差异显著,在 Z2 与 Z4;Z3 与 Z4;Z3 与 Z5;Z4 与 Z5 组间差异不显著。

2.4 土壤理化性质特征

土壤理化性质方差分析如图 7 所示。不同分布区除土壤 pH 无显著差异外,土壤含水量 SWC、总盐量 TDS、有机碳 TOC、总氮 TN 均有显著差异。Z1 地区含水量最高,Z2 地区含水量次之,Z3、Z4、Z5 最低,说明由新疆阿拉尔地区至甘肃瓜州地区,随着经度升高,土壤含水量呈现下降趋势。土壤总含盐量随着经度的升高

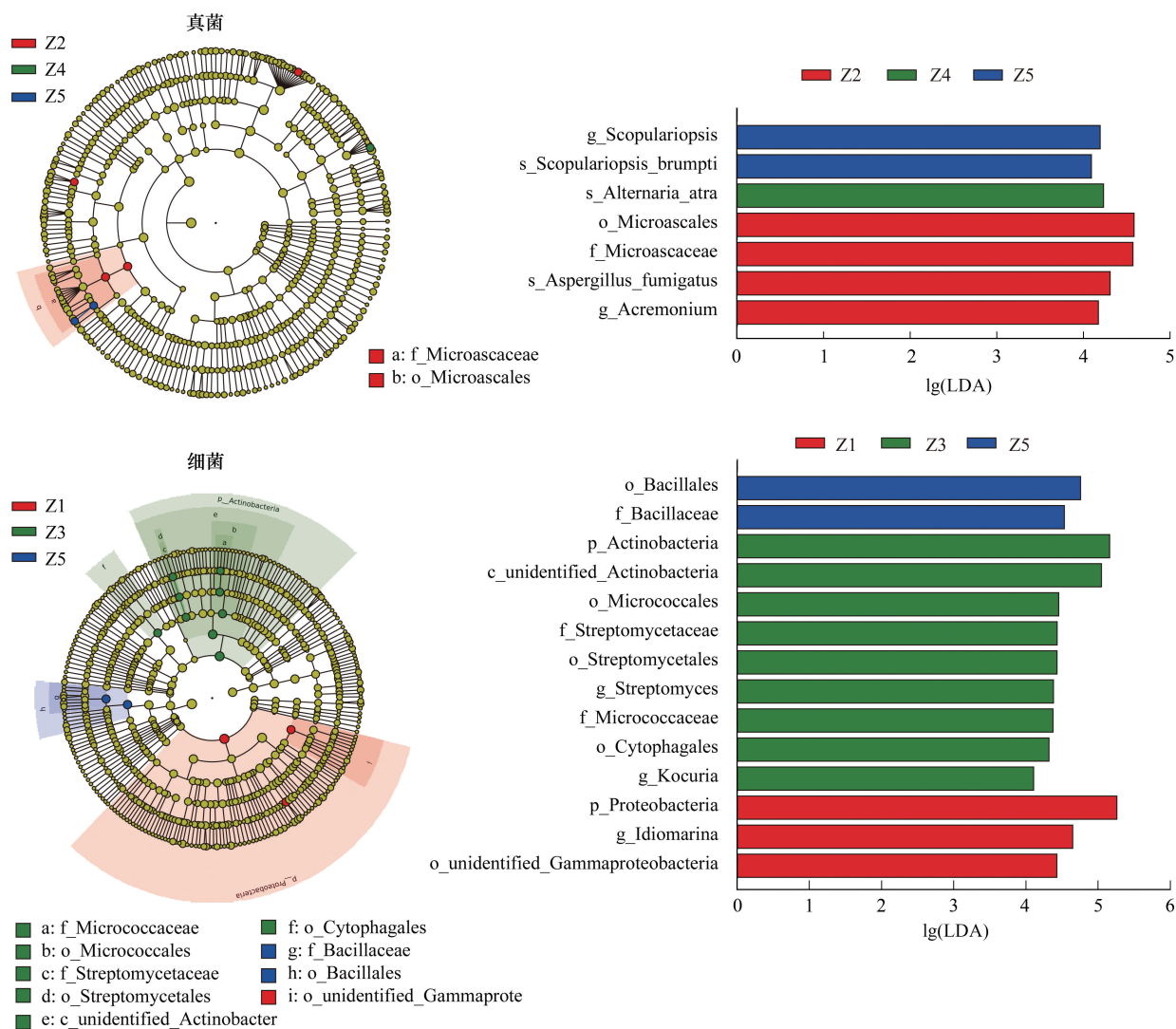


图 4 胀果甘草土壤真菌和细菌的 LDA 值进化分支图和分布柱状图

Fig.4 Evolutionary clade and distribution histogram of LDA values of soil fungi and bacteria of *Glycyrrhiza inflata*

LDA:线性判别分析 Linear discriminant analysis; p: 门; c: 纲; o: 目; f: 科; g: 属; s: 种; *Scopulariopsis*: 帚霉属; *brumptii*: 布朗氏; *atra*: *atra* 种; *Microascales*: 小囊菌目; *Microasceae*: 小囊菌科; *fumigatus*: 烟曲霉; *Acremonium*: 枝顶孢属; *Bacillales*: 芽孢杆菌目; *Bacillaceae*: 芽孢杆菌科; *Actinobacteria*: 放线菌门; *unidentified*: 未确定的; *Micrococcales*: 微球菌目; *Streptomyetaceae*: 链霉菌科; *Streptomyetales*: 链霉菌目; *Micrococceae*: 微球菌科; *Cytophagales*: 噬纤维菌目; *Kocuria*: 考克氏菌属; *Poteobacteria*: 变形菌门; *Gammaproteobacteria*: 伽马变形菌纲; 在进化分支图中, 由内向外辐射的圆圈代表了从门到属 (或种) 的分类等级, 小圆圈的直径与相对丰度大小成正比; LDA 值分布柱状图显示 LDA 得分大于设定值 (默认设置为 4) 的物种, 即组间具有统计差异的生物标记物; 无显著差异的物种统一着色为黄色, 差异物种 Biomarker 跟随组进行着色, 若图中某一组缺失, 则表明此组中并无差异显著的物种, 故此组缺失

呈现出先升高再降低的趋势, 其中 Z2 库勒地区土壤总含盐量最高, 与 Z1、Z4、Z5 地区差异显著。Z2、Z4 地区的土壤有机碳含量最高, Z1 地区最低, 地区差异显著。全氮的含量与土壤有机碳趋势相同。Z1 地区的土壤有机碳和土壤全氮量均为最低, 说明 Z1 地区的土壤肥力最低。

2.5 微生物组成与环境因子关联分析

属水平的 Spearman 相关分析 (图 8) 结果表明, 不同种类的微生物与环境因子之间存在正相关或负相关关系。在真菌中, 含盐量与裸子囊菌属 (*Gymnoascus*)、*Aporospora* 呈极显著正相关。含水量与镰刀菌属 (*Fusarium*)、青霉属 (*Penicillium*) 呈极显著负相关。有机碳与丝盖伞属 (*Inocybe*)、硬皮马勃属 (*Scleroderma*) 呈极显著负相关。全氮与硬皮马勃属 (*Scleroderma*) 呈极显著负相关。在细菌前 10 属中, pH 与

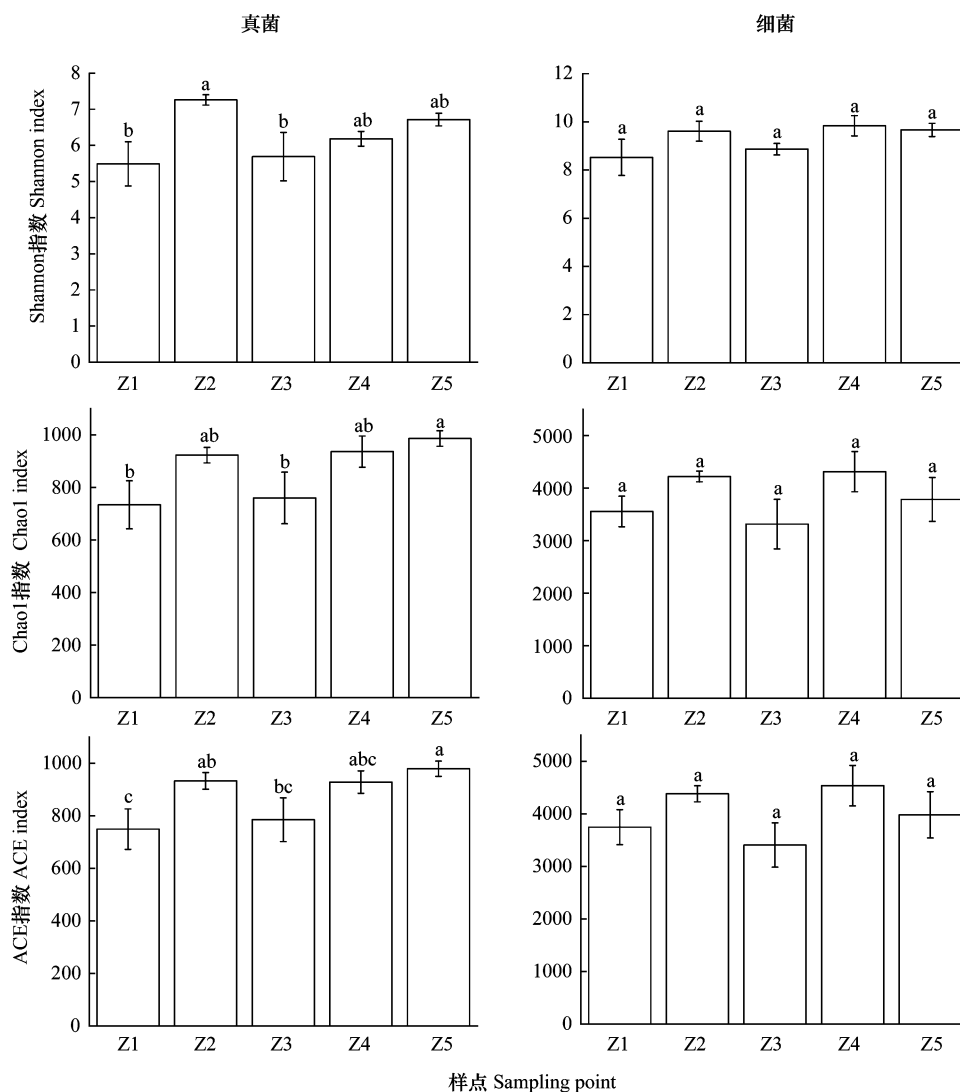


图5 野生胀果甘草原生境土壤样品微生物丰富度和多样性指数的显著性检验 ($P < 0.05$)

Fig.5 Microbial richness and diversity index of soil samples in wild *Glycyrrhiza inflata* habitat ($P < 0.05$)

Marinimicrobium 呈极显著正相关,与链霉菌属 (*Streptomyces*) 显著负相关。含盐量与 6 个属的细菌呈极显著正相关,分别为 *Marinimicrobium*、*Idiomarina*、嗜盐单胞菌属 (*Halomonas*)、*Aliifodiniibius*、*Salinimicrobium*、需盐杆菌属 (*Salegentibacter*);与 2 个属的细菌呈极显著负相关,分别为链霉菌属 (*Streptomyces*) 和鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)。含水量与 *Marinimicrobium*、*Idiomarina* 和需盐杆菌属 (*Salegentibacter*) 呈极显著正相关,与链霉菌属 (*Streptomyces*) 呈极显著负相关。

冗余分析(图 9)表明,在真菌中,含水量是与群落分布相关程度最大的因子,含盐量是第二重要的环境因子;在细菌中,含水量是与群落分布相关程度最大的因子,而有机碳是第二重要的环境因子。土壤含水量均对真菌和细菌群落分布影响大,而总含盐量只对土壤中真菌群落分布影响大,对细菌群落分布影响小。

2.6 分布区内生物群落结构和多样性的差异

本研究中,阿拉尔、哈密地区的采样点包括盐碱荒漠、盐碱弃耕地和林下不同生境,通过三元相图可直观查看采样点内三组样本在属水平上优势物种的差异,揭示盐碱地土壤微生物结构多样性特征,挖掘盐碱地特殊菌群。如图 10 所示,阿拉尔地区和哈密地区的土壤真菌在盐碱荒漠生境 (Z1.3、Z3.1) 丰度最低,而在林下农田边 (Z1.1 和 Z1.2; Z3.2, Z3.3) 丰度高;哈密地区的真菌仅有曲霉属 (*Aspergillus*) 丰度较高。Z1.2、Z3.1 的土

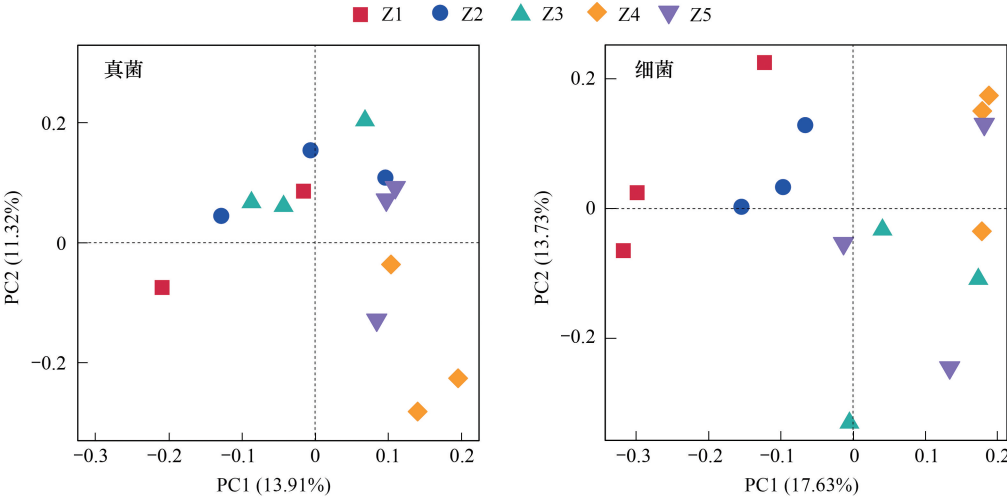


图 6 基于 Unweighted unifrac 距离的胀果甘草土壤真菌和细菌群落的主坐标分析

Fig.6 PCoA of soil fungus and bacteria communities in *Glycyrrhiza inflata* based on Unweighted unifrac distance

PCoA:主坐标分析 Principal co-ordinates analysis;PC:主成分 Principal component

壤细菌丰度低,但 *Idiomarina* 在 Z1.3 丰度较高;*Marinimicrobium* 在 Z1.1 丰度较高,呈现出盐碱地和非盐碱地土壤优势细菌种类不同。

表 3 组间 Adonis 分析

Table 3 Adonis analysis between groups

组 Group	真菌 Fungus		细菌 Bacteria	
	R^2	$Pr(>F)$	R^2	$Pr(>F)$
Z1—Z2	0.287 (0.713)	0.101	0.285 (0.715)	0.001
Z1—Z3	0.251 (0.749)	0.300	0.325 (0.675)	0.001
Z1—Z4	0.315 (0.685)	0.001	0.418 (0.582)	0.001
Z1—Z5	0.267 (0.733)	0.001	0.331 (0.669)	0.001
Z2—Z3	0.342 (0.658)	0.101	0.268 (0.732)	0.001
Z2—Z4	0.429 (0.571)	0.001	0.372 (0.628)	0.100
Z2—Z5	0.336 (0.664)	0.100	0.292 (0.708)	0.001
Z3—Z4	0.271 (0.729)	0.200	0.225 (0.775)	0.400
Z3—Z5	0.245 (0.755)	0.301	0.181 (0.819)	0.901
Z4—Z5	0.315 (0.685)	0.001	0.218 (0.782)	0.201

R^2 :不同分组对样本差异的解释度 R square; Pr : P 值 P value; F :检验值 Test value;Z1:采集地新疆阿拉尔;Z2:采集地新疆库尔勒;Z3:采集地新疆哈密;Z4:采集地新疆鄯善;Z5:采集地甘肃瓜州

3 讨论

3.1 土壤优势微生物

本研究中,物种注释结果表明,曲霉属 (*Aspergillus*)、地丝霉属 (*Geomyces*)、镰刀菌属 (*Fusarium*) 为属水平上胀果甘草原生境土壤的优势真菌。乌拉尔甘草的内生真菌研究中发现,曲霉属 (*Aspergillus*) 和镰刀菌属 (*Fusarium*) 为优势真菌^[35—36],本研究胀果甘草原生境中也存在这两个优势菌群,说明同属药用甘草原生境土壤中优势菌群和内生菌有相似性。辽宁药用植物研究^[19]从 14 种药用植物土壤中分离真菌,发现镰刀菌属 (*Fusarium*) 在 14 种药用植物土壤中均可分离得到,说明 *Fusarium* 属真菌在一些药用植物的土壤中具有普遍性。本研究在野生胀果甘草原生境土壤中分离出曲霉属,潘争艳等在五味子土壤中也分离出曲霉属,说明曲

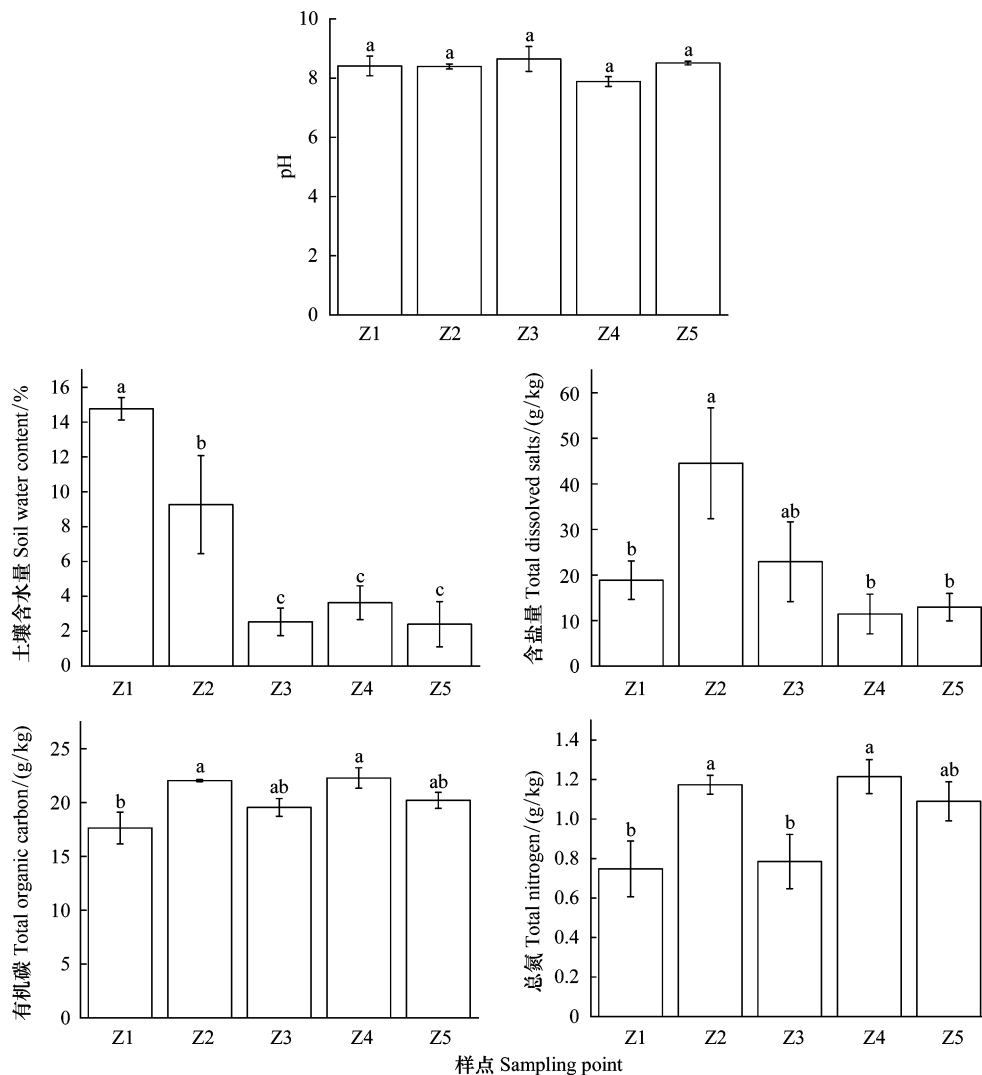


图7 胀果甘草分布区土壤理化性质方差分析

Fig.7 Analysis of variance histogram of soil physical and chemical properties in distribution area of *Glycyrrhiza inflata*

不同小写字母表示不同处理之间差异显著 ($P < 0.05$)

霉菌真菌的来源广泛。不止如此,曲霉属真菌次生代谢产物多样,近年来也有新类型的发现,具有进一步研究的价值^[37—38]。

寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*)、*Marinimicrobium*、*Idiomarina* 为胀果甘草原生境土壤的属水平上的优势细菌。黄芪、人参等药用植物的土壤中优势细菌为土壤杆菌 (*Agrobacterium*)、芽孢杆菌 (*Bacillus*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*),本研究结果与之不同^[19]。其中,寡养单胞菌属 (*Stenotrophomonas*) 细菌中能够提取出 paritriside A 等多种次生代谢产物,此属资源丰富,其次生代谢产物的利用具有重要的价值^[39]。

通过比较土壤中优势真菌群落,我们发现,真菌和细菌丰度低的地区生境为盐碱荒漠或弃耕盐碱地;真菌和细菌丰度均较高的地区,生境类型为林下和农田边。结合土壤理化性质及 dbRDA 分析,认为这可能与盐碱弃耕地的低含水量有关。另外,含有链格孢属 (*Alternaria*) 真菌和链霉菌属 (*Streptomyces*) 细菌的地区,生境均为林下。其中,链霉菌属 (*Streptomyces*) 是具有应用前景的生防菌株。在优势细菌中, *Idiomarina* 属在盐碱生境中含量丰富,有研究表明,所有的 *Idiomarina* 属物种都是从盐碱地环境中分离出来的,本属细菌的部分种可能具有在生物技术和工业应用中生产蛋白酶的潜力^[40]。

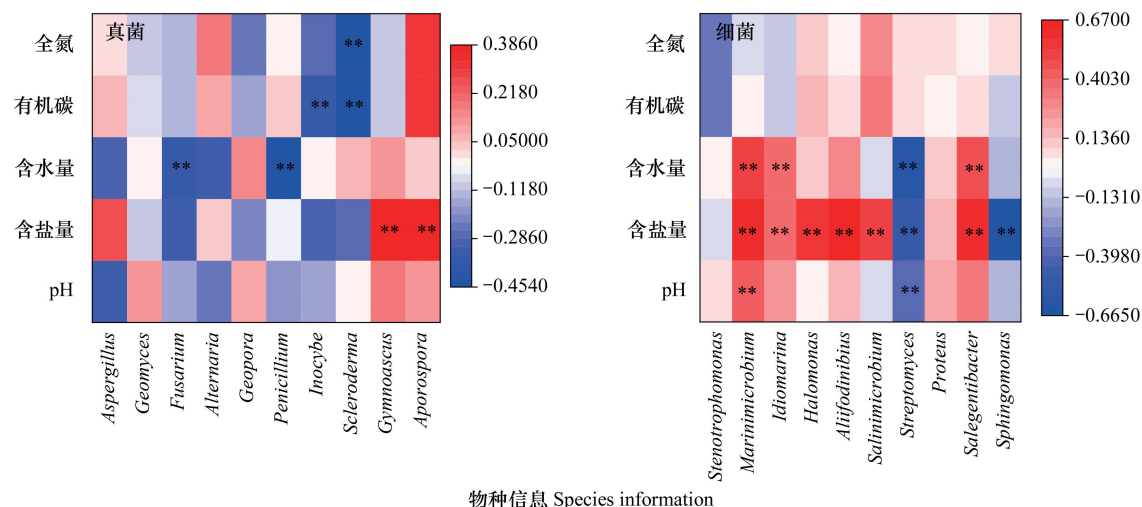


图8 胀果甘草土壤中丰度前十的属真菌、细菌的 Spearman 相关性分析热图

Fig.8 Spearman correlation analysis heat map of the top ten abundance soil fungi and bacteria in the soil of *Glycyrrhiza inflata*

垂直方向是环境因子信息,水平方向是物种信息,热图对应的是斯皮尔曼相关系数 r 的值,介于-1,1 之间; $r < 0$ 为负相关, $r > 0$ 为正相关

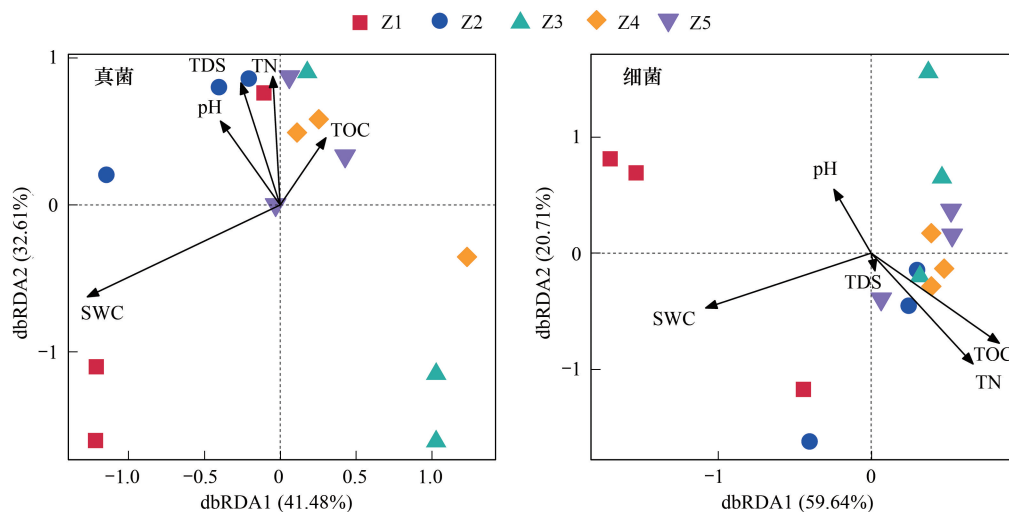


图9 环境因子与土壤真菌、细菌在属水平的冗余分析

Fig.9 Redundant analysis of environmental factors and soil fungi and bacteria at the genus level

dbRDA:基于距离的冗余分析 Distance-based redundancy analysis;土壤理化性质用箭头表示,连接箭头的长度表示一个理化因子与微生物群落分布的相关程度

众多研究表明,微生物肥料的利用,对土壤荒漠化、盐渍化的治理有重要的价值。因此,对原生境特殊和优势土壤微生物的利用有望对野生甘草种群恢复提供帮助,同时,也有助于胀果甘草野生驯化和栽培种植。

3.2 影响微生物群落结构和多样性的土壤理化因子

本研究调查涉及的样点,由新疆天山南麓阿拉尔地区至甘肃省河西走廊西部的瓜州县,纬度跨越不大,但经度相差 15 度,海拔梯度较大,落差接近 800m。因此,经度和纬度梯度上,土壤微生物结构多样性特征具有较大的空间分布异质性。相关研究均表明,土壤微生物的丰度、菌群组成与土壤的 pH 值、含水量、有机质含量等物理化学性质密切相关,其中,土壤含水量和盐度是关键因素^[41—46]。本研究结果也表明野生胀果甘草分布区土壤微生物结构多样性特征的空间分布异质性,主要与分布区土壤的理化性质有关,尤其是水、盐因子。

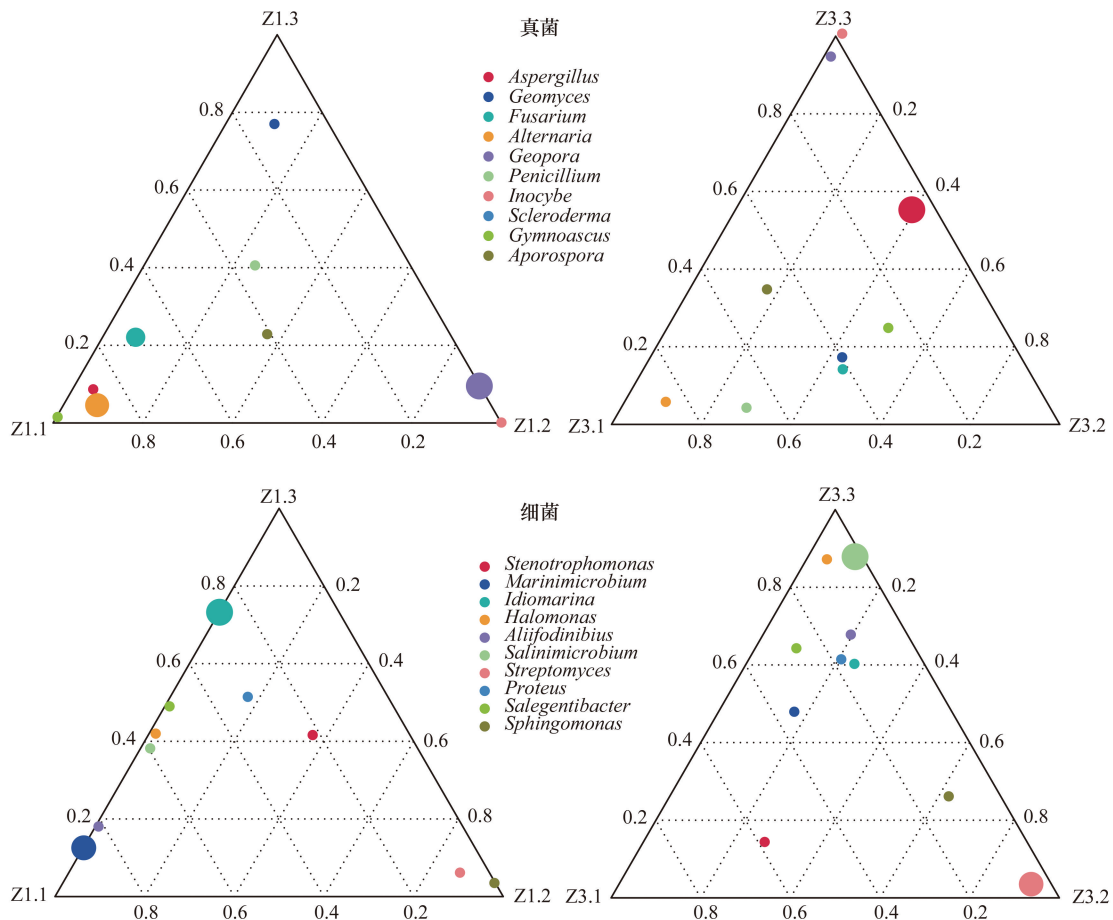


图 10 真菌、细菌属水平上丰度排名前 10 的三元相图

Fig.10 Ternaryplot of fungi and bacteria at genus level

图中 3 个顶点代表 3 个样本分组,圆圈代表物种,圆圈大小和相对丰度成正比,圆圈离哪一顶点越接近,表示此物种在这个分组中含量越高

有研究表明,土壤含水量在 0—15% 范围内时,干旱半干旱区土壤细菌、真菌群落的多样性与土壤含水量呈显著正相关关系^[47]。本研究结果显示胀果甘草原生境含水量与曲霉属 (*Aspergillus*)、镰刀菌属 (*Fusarium*)、链格孢属 (*Alternaria*)、青霉属 (*Penicillium*) 真菌呈显著负相关;与 *Marinimicrobium*, *Idiomarina*, *Aliifodinibius* 和需盐杆菌属 (*Salegentibacter*) 细菌呈显著正相关,与链霉菌属 (*Streptomyces*) 细菌呈显著负相关。其中,青霉属和曲霉属真菌,能够产生多种次生代谢产物,具有抗菌、抗肿瘤、抗氧化等作用^[48—49]。

胀果甘草原生境土壤总含盐量,与曲霉属 (*Aspergillus*)、裸子囊菌属 (*Gymnoascus*)、*Aporospora* 真菌呈显著正相关,与镰刀菌属 (*Fusarium*)、丝盖伞属 (*Inocybe*)、硬皮马勃属 (*Scleroderma*) 真菌呈显著负相关;总盐含量与 *Marinimicrobium*、*Idiomarina*、嗜盐单胞菌属 (*Halomonas*)、*Aliifodinibius*、*Salinimicrobium*、需盐杆菌属 (*Salegentibacter*) 这 6 种细菌的丰富度存在显著正相关关系,与链霉菌属 (*Streptomyces*) 和鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*) 细菌呈显著负相关。细菌 *Marinimicrobium*、*Idiomarina*、*Salinimicrobium* 为 20 年内发现的新属,现有研究较少;而嗜盐单胞菌属 (*Halomonas*)、*Aliifodinibius*、需盐杆菌属 (*Salegentibacter*) 均为嗜盐细菌,原生境中丰富度高的嗜盐细菌可能与胀果甘草的盐适应和耐盐机制有密切关系。嗜盐细菌能够产生活性物质、胞外多糖和各种酶可以在高盐、高 pH 值情况下发挥作用^[50],对盐碱地的治理有重要的作用。因此,以上高丰度的嗜盐单胞菌属 (*Halomonas*)、*Aliifodinibius*、需盐杆菌属 (*Salegentibacter*) 嗜盐细菌的发现,有助于利用耐盐碱微生物改良土壤盐碱环境,修复土壤功能,对野生胀果甘草种群恢复和盐碱弃耕地修复具有重要价值,值得后续研究。

另外,野生胀果甘草土壤真菌和细菌空间分布的异质性与生境类型有关。本研究中 Z1.3 地区真菌丰度低,Z3.1 地区真菌和细菌丰度均低,可能与其盐碱生境有关。通常认为,碳源充足的地区中,土壤微生物的种类较丰富^[51]。本研究中,林下、农田边生境中的植物根系及凋落物较盐碱地、弃耕地多,土壤中碳源更加丰富,因此土壤微生物种类丰富;但有机碳对胀果甘草原生境土壤的真菌群落和细菌群落的影响并不相同,对真菌影响小,对细菌影响大,其影响机制值得进一步研究。

3.3 地理环境影响微生物分布

图 4 显示,哈密地区和鄯善地区的丰度前三属真菌种类相同,哈密、鄯善、瓜州地区丰度前 3 属的细菌种类相同,3 个地区均为温带大陆性干旱气候,光照丰富,日照充沛,昼夜温差大,适宜胀果甘草生长,且都是胀果甘草单独分布区,说明优势微生物的种类与地理环境密切相关。

野生胀果甘草主要分布于新疆,另有少量分布于甘肃。在新疆分布在塔里木盆地和东疆吐哈盆地的盐碱荒漠草甸,在甘肃分布在河西走廊的干旱半干旱地带^[14,52]。本研究样点由新疆天山南麓塔克拉玛干沙漠北沿至甘肃河西走廊西端,覆盖了野生胀果甘草的分布区域,新疆阿拉尔、库尔勒位于南疆,哈密、鄯善位于东疆,瓜州地区位于甘肃西北部,沿甘肃向东南,根据我们野外调查和采集,发现原植物志记载的胀果甘草分布区,已采集不到野生胀果甘草。这可能与近几十年来新疆和甘肃河西地区气温升高,降水量增加的变化^[53—54]有关。土壤盐分的动态变化受气温和降水的变化的影响,而盐分是对细菌群落结构影响很大的因素,能够通过改变土壤肥力影响微生物群落的生长环境^[55],因此,地理环境也是影响土壤微生物结构和多样性的重要因素。

4 结论

本研究挖掘出野生胀果甘草原生境土壤中优势真菌和细菌,并发现不同分布区真菌和细菌的多样性和丰富度的差异。野生胀果甘草原生境土壤真菌和细菌的空间分布异质性与土壤的含水量、总含盐量密切相关,也与野生胀果甘草的生境类型、地理环境相关。

另外,本研究中发现嗜盐细菌嗜盐单胞菌属(*Halomonas*)、*Aliifodinibius*、需盐杆菌属(*Salegentibacter*),有研究表明这些细菌能够产生活性物质、胞外多糖和各种酶,因此我们推测其在改良土壤盐碱环境,修复土壤功能的方面可能具有作用,该发现对野生胀果甘草种群恢复和盐碱弃耕地修复具有重要价值,为土壤微生物的利用方面提供了新的视角。

参考文献(References):

- [1] Singh B K, Bardgett R D, Smith P, Reay D S. Microorganisms and climate change: terrestrial feedbacks and mitigation options. *Nature Reviews Microbiology*, 2010, 8(11): 779-790.
- [2] Mishra P K, Bisht S C, Mishra S, Selvakumar G, Bisht J K, Gupta H S. Coinoculation of rhizobium leguminosarum-Pr1 with a cold tolerant pseudomonas sp. improves iron acquisition, nutrient uptake and growth of field pea (pisum sativum L.). *Journal of Plant Nutrition*, 2012, 35(2): 243-256.
- [3] 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: 807-838.
- [4] Bardgett R D, van der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 2014, 515(7528): 505-511.
- [5] Wagg C, Bender S F, Widmer F, van der Heijden M G A. Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(14): 5266-5270.
- [6] Laforest-Lapointe I, Paquette A, Messier C, Kembel S W. Leaf bacterial diversity mediates plant diversity and ecosystem function relationships. *Nature*, 2017, 546(7656): 145-147.
- [7] Ma Y, Wang N F, Wang S, W Han, Liu J, Yong Y, Guo L, Yang G. Effects of vegetation on the structure and diversity of soil bacterial communities in the Arctic tundra. *极地科学进展(英文版)*, 2019, 30(2): 139-148.
- [8] 乔卿梅, 程茂高, 王新民. 根际微生物在克服药用植物连作障碍中的潜力. *土壤通报*, 2009, 40(4): 957-961.
- [9] 彭政, 郭秀芝, 徐扬, 刘大会, 王红阳, 郭兰萍, 张燕. 药用植物与根际微生物互作研究进展与展望. *中国中药杂志*, 2020, 45(9):

2023-2030.

- [10] 李学禹. 甘草属分类系统与新分类群的研究. 植物研究, 1993, 13(1): 14-43.
- [11] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 1998, 42(2): 172.
- [12] 郝金标, 张福锁, 田长彦. 新疆盐生植物. 北京: 科学出版社, 2006.
- [13] 秦忠立. 种植胀果甘草对盐碱弃耕地土壤理化性质及微生物群落结构的影响[D]. 石河子大学, 2013.
- [14] 李学禹. 新疆甘草属(*Glycyrrhiza*)的生态分布及其经济利用. 植物生态学与地植物学丛刊, 1986, 10(4): 264-271.
- [15] Li L, Sinkko H, Montonen L, Wei G H, Lindström K, Räsänen L A. Biogeography of symbiotic and other endophytic bacteria isolated from medicinal *Glycyrrhiza* species in China. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 79(1): 46-68.
- [16] 陆嘉惠, 吕新, 吴玲, 李学禹. 三种药用甘草种子对盐渍环境的萌发响应及其适宜生态种植区. 草业学报, 2013, 22(2): 195-202.
- [17] 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.
- [18] 孙晓, 林余霖, 李葆莉, 黄林芳. 干旱区沙生药用植物锁阳土壤微生物群落分析与功能预测. 药学报, 2020, 55(6): 1334-1344.
- [19] 潘争艳. 辽宁药用植物土壤微生物多样性及生防菌株研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2008.
- [20] 王艳, 常帆, 程虎印, 贾凤安, 程江雪, 王汉屏. 重楼根际及药用部位内生真菌多样性与群落结构差异分析. 中草药, 2019, 50(5): 1232-1237.
- [21] 李震宇. 甘草根际丛枝菌根真菌分布特征及 AMF 对三种豆科植物抗旱性的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2010.
- [22] 高晓娟, 吴秀丽, 吴玉玲, 陈靖. 宁夏野生甘草中产甘草黄酮耐盐内生真菌分离及其 DPPH 自由基清除作用. 天然产物研究与开发, 2016, 28(10): 1549-1556.
- [23] 邹原东, 高琼, 毕红艳, 范继红. 不同丛枝菌根真菌对甘草生长和保护酶活性的影响. 北方园艺, 2017(12): 162-166.
- [24] 杨志军, 邓毅, 曼琼, 杨秀娟, 杨延泽, 刘靛. 甘草内生菌的鉴定及抗炎作用研究. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(7): 852-856.
- [25] 新疆植物志编辑委员会. 新疆植物志. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1993.
- [26] 张际昭, 陆嘉惠, 田中平, 廖云海, 李学禹. 胀果甘草原生境土壤盐分特征分析. 中国水土保持科学, 2011, 9(1): 82-86.
- [27] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [28] Jiao S, Liu Z S, Lin Y B, Yang J, Chen W M, Wei G H. Bacterial communities in oil contaminated soils: Biogeography and co-occurrence patterns. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 98: 64-73.
- [29] Qin J, Li Y, Cai Z, Li S, Zhu J, Zhang F, Liang S, Zhang W, Guan Y, Shen D, Peng Y, Zhang D, Jie Z, Wu W, Qin Y, Xue W, Li J, Han L, Lu D, Wu P, Dai Y, Sun X, Li Z, Tang A, Zhong S, Li X, Chen W, Xu R, Wang M, Feng Q, Gong M, Yu J, Zhang Y, Zhang M, Hansen T, Sanchez G, Raes J, Falony G, Okuda S, Almeida M, LeChatelier E, Renault P, Pons N, Batto J M, Zhang Z, Chen H, Yang R, Zheng W, Li S, Yang H, Wang J, Ehrlich S D, Nielsen R, Pedersen O, Kristiansen K, Wang J. A metagenome-wide association study of gut microbiota in type 2 diabetes. Nature, 2012, 490(7418): 55-60.
- [30] Nguyen N H, Song Z, Bates S T, Branco S, Tedersoo L, Menke J, Schilling J S, Kennedy P G. FUNGuild: An open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild. Fungal Ecology, 2016, 20(1): 241-248.
- [31] Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. EMBnet Journal, 2011, 17(1): 10.
- [32] Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahé F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. PeerJ, 2016, 4: e2584.
- [33] Haas B J, Gevers D, Earl A M, Feldgarden M, Ward D V, Giannoukos G, Ciulla D, Tabbaa D, Highlander S K, Sodergren E, Methé B, DeSantis T Z, Consortium H M, Petrosino J F, Knight R, Birren B W. Chimeric 16S rRNA sequence formation and detection in Sanger and 454-pyrosequenced PCR amplicons. Genome Research, 2011, 21(3): 494-504.
- [34] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.
- [35] 李文军. 新疆甘草内生菌的分离及次生代谢产物的研究[D]. 新疆: 石河子大学, 2008.
- [36] 陈静, 许贞, 张雪, 李妍芃, 刘春生. 不同产地甘草内生真菌多样性及分离条件研究. 药学报, 2019, 54(2): 373-379.
- [37] 李慧敏. 木麻黄林地微生物次生代谢产物及真菌群落结构多样性分析[D]. 海口: 海南师范大学, 2016.
- [38] 李冬艳, 王晶, 陈科良, 朱虎成, 陈春梅, 张锦文. 来源于印度洋深海区的烟曲霉次生代谢产物的研究. 海洋科学, 2019, 43(8): 43-49.
- [39] 汪玉梅, 胡金娜, 吴爱芝, 卢静容, 范倩, 张译心, 荣莉, 张翠仙. GNPS 指导下濒危药材重楼微生物次生代谢产物的研究. 广东药科大学学报, 2019, 35(5): 605-613.
- [40] 吴求生, 龙健, 李娟, 廖洪凯, 刘灵飞, 吴劲楠, 肖雄. 茂兰喀斯特森林小生境类型对土壤微生物群落组成的影响. 生态学报, 2019, 39(3): 1009-1018.
- [41] Lauber C L, Hamady M, Knight R, Fierer N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(15): 5111-5120.
- [42] Griffiths R I, Thomson B C, James P, Bell T, Bailey M, Whiteley A S. The bacterial biogeography of British soils. Environmental Microbiology,

2011, 13(6): 1642-1654.

- [43] Kuramae E E, Yergeau E, Wong L C, Pijl A S, van Veen J A, Kowalchuk G A. Soil characteristics more strongly influence soil bacterial communities than land-use type. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 79(1): 12-24.
- [44] Yan N, Marschner P. Response of microbial activity and biomass to increasing salinity depends on the final salinity, not the original salinity. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 53: 50-55.
- [45] Morrissey E M, Franklin R B. Evolutionary history influences the salinity preference of bacterial taxa in wetland soils. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 1013.
- [46] 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.
- [47] Taniguchi 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.
- [48] 张琪, 王嘉琦, 吕梦霞, 江北, 蒋冬花. 青霉属真菌次级代谢产物的结构类型及其药用活性的研究进展. *工业微生物*, 2019, 49(2): 56-65.
- [49] 江北, 吕梦霞, 蒋冬花. 曲霉属真菌活性代谢产物及在农业生产中的应用研究进展. *微生物学杂志*, 2019, 39(2): 103-110.
- [50] 张宁. 内蒙荒漠盐碱土壤中放线菌和嗜盐细菌的选择性分离及杀虫抑菌活性筛选[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- [51] Flores-Fernández C N, Chávez-Hidalgo E, Santos M, Zavaleta A I, Arahal D R. Molecular characterization of protease producing *Idiomarina* species isolated from Peruvian saline environments. *Microbiology and Biotechnology Letters*, 2019, 47(3): 4001-411.
- [52] 陆嘉惠. 三种药用甘草耐盐性及耐盐机制研究[D]. 石河子: 石河子大学, 2014.
- [53] 陈佩璇, 卢国阳, 白虎志, 方锋. 干旱气候主要特征及变化趋势分析——以甘肃为例. *安徽农业科学*, 2020, 48(18): 210-219.
- [54] 吴秀兰, 张太西, 王慧, 余行杰, 郑先念, 李海燕. 1961—2017 年新疆区域气候变化特征分析. *沙漠与绿洲气象*, 2020, 14(4): 27-34.
- [55] Canfora L, Bacci G, Pinzari F, Lo Papa G, Dazzi C, Benedetti A. Salinity and bacterial diversity: to what extent does the concentration of salt affect the bacterial community in a saline soil? *PLoS One*, 2014, 9(9): e106662.