

DOI: 10.5846/stxb202112313720

刘乐汉, 吕杰, 马媛, 吕光辉, 李二阳, 柳沛. 古尔班通古特沙漠藻类结皮中微生物群落空间分异特征. 生态学报, 2023, 43(5): 1923-1935.

Liu Y H, Lü J, Ma Y, Lü G H, Li E Y, Liu P. Spatial differentiation of microbial communities in Gurbantunggut Desert algae crust, Xinjiang, China. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(5): 1923-1935.

# 古尔班通古特沙漠藻类结皮中微生物群落空间分异特征

刘乐汉<sup>1,2</sup>, 吕杰<sup>3</sup>, 马媛<sup>1,2,\*</sup>, 吕光辉<sup>1,2</sup>, 李二阳<sup>1,2</sup>, 柳沛<sup>1,2</sup>

1 新疆大学生态与环境学院, 绿洲生态教育部重点实验室, 乌鲁木齐 830017

2 新疆精河温带荒漠生态系统教育部野外科学观测研究站, 精河 833300

3 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆生物资源基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830017

**摘要:** 古尔班通古特沙漠短命和旱生植物在沙漠东西走向上形成明显的种群变化梯度, 那么沙漠藻类结皮土壤中微生物是否也具有类似地空间分布特征? 为研究该科学问题, 采用高通量测序技术, 探究沙漠东西走向上藻类结皮土壤中细菌和真菌群落结构分布规律。在古尔班通古特沙漠西部、中部和东部区域分别采集藻类结皮土样, 进行土壤理化因子分析及细菌和真菌扩增子测序, 对比不同区域土壤理化性质和微生物群落空间分异特征, 分析微生物多样性与环境因子相关性, 最后根据微生物物种种类对其功能进行预测分析。结果表明: 藻类结皮土壤氮素、全磷、全钾、pH 以及土壤化学计量比碳磷比(C:P)和氮磷比(N:P)在沙漠不同区域存在显著性差异, 其余指标空间尺度上变化梯度较小。微生物  $\alpha$  多样性结果显示 3 个区域藻类结皮土壤中细菌群落丰富度和多样性存在显著性差异, 东部与西部区域产生明显分化; 而真菌  $\alpha$  多样性指数无显著性差异, 群落结构较为均匀, 未产生分化。 $\beta$  多样性结果显示细菌群落在西部与东部藻类结皮间存在显著性差异, 沙漠中部为沙漠西部和东部的过渡带。门水平细菌优势菌群为蓝藻门、变形菌门和拟杆菌门; 真菌为子囊菌门和担子菌门。属水平上, 丰度前 30 个属在沙漠不同区域表现出不同的菌群结构。Spearman 相关性分析结果表明, 多个理化因子与藻类结皮微生物群落呈正相关关系。此外, 功能预测结果显示沙漠中、西部细菌功能基因聚类关系较近, 并与东部部分功能基因具有显著性差异, 但真菌群落功能在沙漠不同区域无显著性差异。研究结果表明, 古尔班通古特沙漠藻类结皮土壤理化性质的改变驱动沙漠东部藻类结皮土壤中细菌群落与中、西部已产生显著适应性分化, 且部分功能基因也逐步产生分化, 但这些理化指标差异未能驱动真菌群落结构及功能产生显著分化。

**关键词:** 古尔班通古特沙漠; 藻类结皮; 高通量测序; 微生物群落; 功能预测

## Spatial differentiation of microbial communities in Gurbantunggut Desert algae crust, Xinjiang, China

LIU Yuehan<sup>1,2</sup>, LÜ Jie<sup>3</sup>, MA Yuan<sup>1,2,\*</sup>, LÜ Guanghui<sup>1,2</sup>, LI Eryang<sup>1,2</sup>, LIU Pei<sup>1,2</sup>

1 Key Laboratory of Oasis Ecology of Education Ministry, Xinjiang University, College of Ecology and Environment, Urumqi 830017, China

2 Xinjiang Jinghe Observation and Research Station of Temperate Desert Ecosystem, Ministry of Education, Jinghe 833300, China

3 Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830017, China

**Abstract:** Ephemeral plants and xerophyte develop an obvious gradient change of population in the east-west direction of Gurbantunggut Desert. Whether the microorganism of the algae crust soil has the similar distribution characteristics like that? This paper discusses the bacterial and fungal community structures distribution characteristics of algal crust soil in the

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(31860149); 新疆自然科学基金项目(2018D01C069)

**收稿日期:** 2021-12-31; **网络出版日期:** 2022-10-21

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 270943143@qq.com

east-west direction of the desert by using high-throughput sequencing technology. We tested physical and chemical factors of the algae crust soil samples which were collected separately in the western, middle, and eastern regions of desert and compared the spatial differentiation of soil properties. Then, we conducted the bacterial and fungal amplicon sequencing, so as to analyze the microbial communities differentiation in different regions of the desert and the correlation between microbial diversity and environmental factors. At last the function was predicted according to the types of microorganism. The results indicate that there are significant differences in soil total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), total potassium (TK), pH and C:P and N:P in algae crust soil, with fewer gradient changes of other indicators regarding spatial scale of the desert. According to the alpha diversity of microorganism, there are significant differences in the bacterial communities' richness and diversity in three regions, among which the diversity of east and west regions are obviously differentiated. However, there is no significant difference in  $\alpha$ -diversity indexes of the fungi, whose community structure is relatively uniform without differentiation. The  $\beta$ -diversity results present that the bacterial communities are significantly different between the western and eastern areas, while the middle of the desert is the transition zone. At the phylum level, the dominant bacterial populations are Cyanobacteria, Proteobacteria and Bacteroidetes, and fungi are mainly Ascomycota and Basidiomycota. From the perspective of the genus of bacteria, top 30 in genus abundance appear different microbial community structure. From the Spearman analysis result, several physical and chemical factors are positively correlated with algal crusts microbial community. In addition, the clustering relationship of bacterial functional genes in the middle and west of the desert is closer, and having significant difference with some functional genes in the east. However, fungal community functions don't have significant difference in different regions of the desert. This paper finds that the change of soil properties have caused divergence of bacterial communities in the eastern Gurbantunggut Desert, adaptive differentiation significantly occurring in the central and western regions and some gradually differentiated functional genes. However, these changes can't lead to significant differentiation of fungal community structure and function.

**Key Words:** Gurbantunggut Desert; algal crusts; high throughput sequencing; microbial community; function prediction

生物土壤结皮又称生物结皮,是由细菌、真菌、藻类、地衣、苔藓及其分泌物、菌丝体、假根等与土壤砂砾粘结形成的复杂生态系统<sup>[1-2]</sup>。生物结皮的覆盖度约占全球陆地总面积的 12%<sup>[1]</sup>,尤其在干旱、半干旱脆弱生态系统中广泛分布,某些人迹罕至区域覆盖度可达 70%以上<sup>[2]</sup>。20 世纪 30 年代,国外开始有关生物结皮的研究,到 20 世纪 90 年代我国才开始对其重视并开展研究<sup>[3-6]</sup>。前期的研究多是通过培养、分离纯化并结合显微观察等研究手段,研究认识生物结皮分类和组成、形成机理及其生态学功能<sup>[7-8]</sup>。近 10 年来,随着高通量测序技术的迅速发展,国内外对生物结皮的深入研究成果大量涌出。生物结皮分布涉及到各种陆地生态系统和区域,并享有“荒漠生态系统工程师”和“地球活皮肤”之称<sup>[9]</sup>。目前研究学者一致认为生物结皮生态功能多样,能够极大减小风和水对沙漠表层的侵蚀<sup>[10]</sup>,改变沙漠土壤的理化性质<sup>[11]</sup>和水文循环过程<sup>[12]</sup>,并且能够影响全球碳氮循环<sup>[13-14]</sup>和生态系统的热能平衡<sup>[15]</sup>。

古尔班通古特沙漠位于北疆准噶尔盆地中央,固定、半固定沙丘面积占整个沙漠的 97%,是中国最大的固定、半固定沙漠,面积约  $4.88 \times 10^4 \text{ km}^2$ 。有研究表明古尔班通古特沙漠生物土壤结皮是从微生物结皮、藻类结皮、地衣结皮到苔藓结皮逐渐演替过渡的<sup>[16]</sup>。生物结皮也是沙漠植被演替的先锋种,对促进沙漠植被演化具有重要作用。一般认为藻沙粒结皮是荒漠藻类结皮的早期形式,标志着沙粒流动性减小以至固定的开始。但沙粒重新获得流动性,最先被破坏的是藻类结皮。因此研究藻类结皮中微生物菌群结构,对于评价藻类结皮健康状态和荒漠生态系统的稳定性及发展趋势具有重大意义。

准噶尔盆地是介于天山山脉、准噶尔界山和阿尔泰山之间的大型山间盆地,在构造上,盆地地势东高西低,由东向西、向西北缓倾<sup>[17]</sup>。盆地周围山地封闭不严,西部和西北部山口可以使湿润的西风气流长驱而入,由于受西风环流的湿润作用,沙漠内固定、半固定沙丘占绝对比例<sup>[18-19]</sup>。在这种气候和地形特征影响下,古尔班通古特沙漠短命植物<sup>[20]</sup>和旱生植物<sup>[21]</sup>多样性及盖度均表现出中东部高于西部的分布特征,形成了种群-

生境梯度。那么藻类结皮在古尔班通古特沙漠东西走向是否也存在类似空间分布特征有待深入研究。基于上述研究现状, 本文拟回答以下两个主要科学问题, 一是古尔班通古特沙漠东西走向藻类结皮中微生物多样性及菌群结构变化是否也存在种群-生境梯度? 二是何种环境因子为藻类结皮中微生物菌群结构变化的主要驱动因素?

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集与处理

古尔班通古特沙漠(44°15′—46°50′N, 84°50′—91°20′E)位于准噶尔盆地中央, 地势总体呈现东高西低的特点; 属于典型的干旱内陆气候, 年均降水量约为 70—150 mm, 由东向西, 由南向北逐渐减少; 年均蒸发量累积在 2000 mm 以上。古尔班通古特沙漠分布的植物主要为藜科、菊科、十字花科和豆科植物等, 其中藜科植物分布最广。另外古尔班通古特沙漠是我国最大的固定半固定沙漠, 从沙丘顶部到丘间低地依次分布着微生物结皮、藻类结皮、地衣和苔藓结皮。2018 年 7 月于古尔班通古特沙漠进行样品采集, 在古尔班通古特沙漠东西走向将沙漠分为三个区域, 西部区域用 W 表示、中部用 M 表示、东部用 E 表示, 每个区域在丘间低地布设 4 个采样点, 如图 1 所示, 每个样点距离超过 30 km。藻类结皮样本在沙陇背风坡丘间洼地进行采集, 采集具有明显藻类结皮结构土壤样本。采样时清理表层沙漠植物凋落物等杂质, 采集厚度约为 2 cm 的藻类结皮结构土层, 混匀后分为两份, 低温冰箱带回实验室, -80 °C 长期保存。其中一份进行理化性质测试, 另一份进行总 DNA 提取及扩增子测序分析。

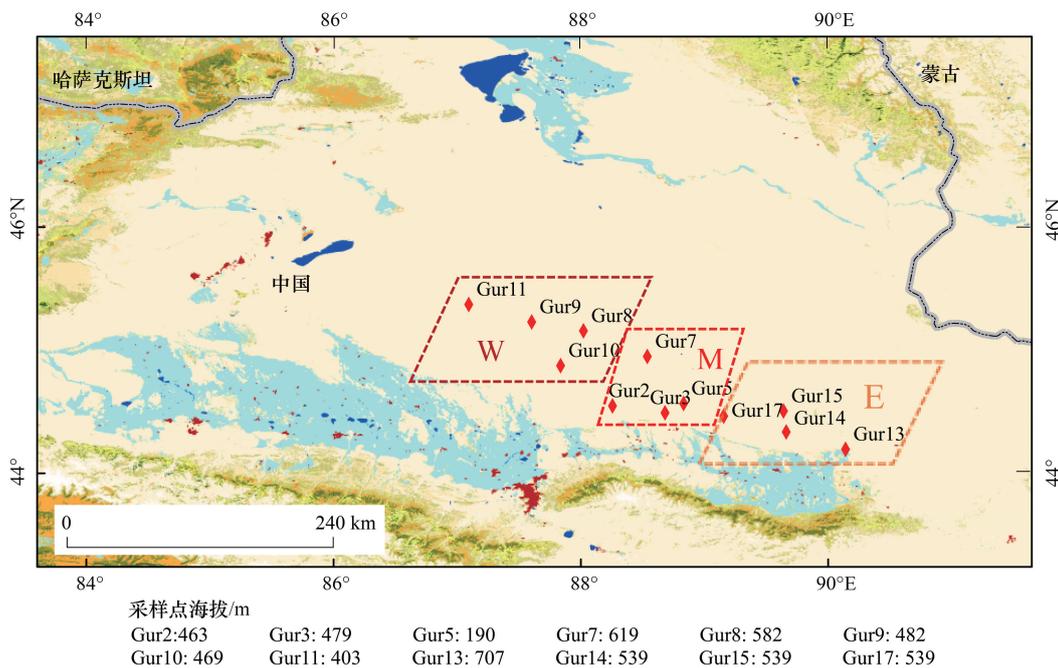


图 1 采样点分布图

Fig.1 Distribution of sampling sites

W: 西部区域 Western area; M: 中部区域 Middle area; E: 东部区域 Eastern area; Gur: 古尔班通古特沙漠 Gurbantunggut Desert

### 1.2 研究方法

#### 1.2.1 藻类结皮土壤理化因子测定

土壤有机质采用高温外热重铬酸钾氧化-容量法测定; 土壤全氮采用开氏消煮法测定; 土壤全磷采用酸溶-钼锑抗比色法测定; 土壤全钾采用 NaOH 碱熔-火焰光度法测定; 土壤铵态氮和硝态氮采用氯化钾浸提-分光光度法测定; 土壤微生物生物量碳和生物量氮采用氯仿熏蒸浸提法 (FE) 测定; pH 值采用 pH 计测定。气象

数据来源于中国气象局陆面数据同化系统 (CLDAS V2.0) 降水量和气温小时资料, 数据空间分辨率  $0.0625^\circ$ , 时间范围 2016 年 1 月 1 日—2018 年 12 月 31 日, 气温数据根据采样点位置对格点数据双线性插值获得, 降水数据根据采样点位置与周围距离最近格点值确定, 以此分别统计获得 12 个采样点 2016 年、2017 年和 2018 年的年平均降水量和年平均气温。

### 1.2.2 藻结皮土壤总 DNA 提取

每份样本称取 0.4 g 土样, 采用 FastDNA<sup>®</sup> SPIN Kit for Soil 土壤基因组 DNA 提取试剂盒对样本中基因组 DNA 进行提取, 操作步骤按照试剂盒说明进行。提取所获基因组 DNA 利用琼脂糖凝胶电泳检测总 DNA 的长度和完整性, 利用 NanoDrop2000 检测 DNA 的浓度和纯度, 符合要求后委托北京诺禾致源科技股份有限公司进行扩增子测序分析。

### 1.2.3 聚合酶链式反应 (PCR) 及扩增子测序

基于 Ion S5<sup>™</sup> XL 测序平台, 利用单端测序的方法, 构建小片段文库进行单端测序。细菌对 16S V4-V5 区进行测序, 测序引物为 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 926R (5'-CCGYCAATY MTTTRAGTTT-3')<sup>[22]</sup>; 真菌对 ITS1 区进行测序, 测序引物为 ITS5-1737F (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') 和 ITS2-2043R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')<sup>[23]</sup>, 不同组测序引物其中一条带有 10 bp 标签序列 (Barcode) 序列用于序列提取。根据 PCR 产物浓度进行等量混样, 混匀后样本进行琼脂糖凝胶电泳, 使用 Thermo Fisher 公司 GeneJET 胶回收试剂盒对产物进行回收纯化。纯化样本使用 Thermo Fisher 公司的 Ion Plus Fragment Library Kit 试剂盒进行文库构建, 构建好的文库经过 Qubit 定量和文库检测合格后进行测序, 最后上传测序数据至 NCBI 的 SRA 数据库, 细菌登录号为 PRJNA784086, 真菌登录号为 PRJNA784040。

### 1.2.4 古尔班通古特沙漠不同区域微生物菌群结构分析

测序原始数据使用 Cutadapt 软件<sup>[24]</sup>对低质量序列进行剪切, 根据 Barcode 序列拆分不同样本。使用 vsearch<sup>[25]</sup>软件将测序数据与物种注释数据库进行比对去除嵌合体序列获得最终的有效数据用于后续分析。利用 Uparse 软件<sup>[26]</sup>对有效数据按照 97% 进行聚类, 聚类生成可操作分类单元 (OTUs) 数据集, 筛选数据集中出现频数最高的序列作为代表序列。细菌代表序列采用 Mothur 软件与 SILVA<sup>[27]</sup>数据库进行物种注释; 真菌代表序列采用 Qiime 软件中的 blast 方法与 UNITE 数据库<sup>[28]</sup>进行物种注释分析。对细菌和真菌分别在门和属水平上进行分析。

### 1.2.5 数据分析

用 R 绘制环境因子和 Alpha 多样性箱线图, 门水平百分比堆积图, 图基 (Tukey) 的真实显著差异 (HSD) 法检验 (multcomp 包) 进行多重比较, 添加显著性 ( $P < 0.05$ ) 标记; pheatmap 函数 (pheatmap 包) 绘制属水平热图; 基于布雷柯蒂斯距离 (Bary\_curtis) 距离进行主坐标分析 (PCoA); 使用环境因子和门水平丰度数据进行斯皮尔曼分析 (Spearman analysis) 分析; 利用 PICRUSt 和 FunGuild 数据库分别对细菌和真菌进行功能预测分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮土壤理化性质差异分析

沙漠不同区域藻类结皮土壤理化性质测试与分析结果如图 2 所示。土壤有机质 (SOM)、微生物量碳 (MBC) 和微生物量氮 (MBN) 含量在沙漠不同区域无显著性差异。全氮 (TN) 含量东部显著高于西部和中部 ( $P < 0.05$ ), 全磷 (TP) 含量自西向东逐渐升高, 含量  $E > M > W$ , 且彼此之间均存在显著性差异 ( $P < 0.05$ )。全钾 (TK) 含量  $E > W > M$ , 东部和中部具有显著差异, 西部与东部和中部均无显著性差异。铵态氮含量中部显著高于东、西部 ( $P < 0.05$ ), 而东、西部无显著性差异。硝态氮含量中部最高, 而西部显著低于中部和东部 ( $P < 0.05$ )。沙漠不同区域土壤 pH 值均呈碱性,  $E > W > M$ , 东部和中部具有显著差异 ( $P < 0.05$ ), 西部与东部和中部均无显著性差异。此外, 藻类结皮土壤化学计量比结果也如图 2 所示, 其中碳氮比 (C:N)、碳钾比 (C:K) 和

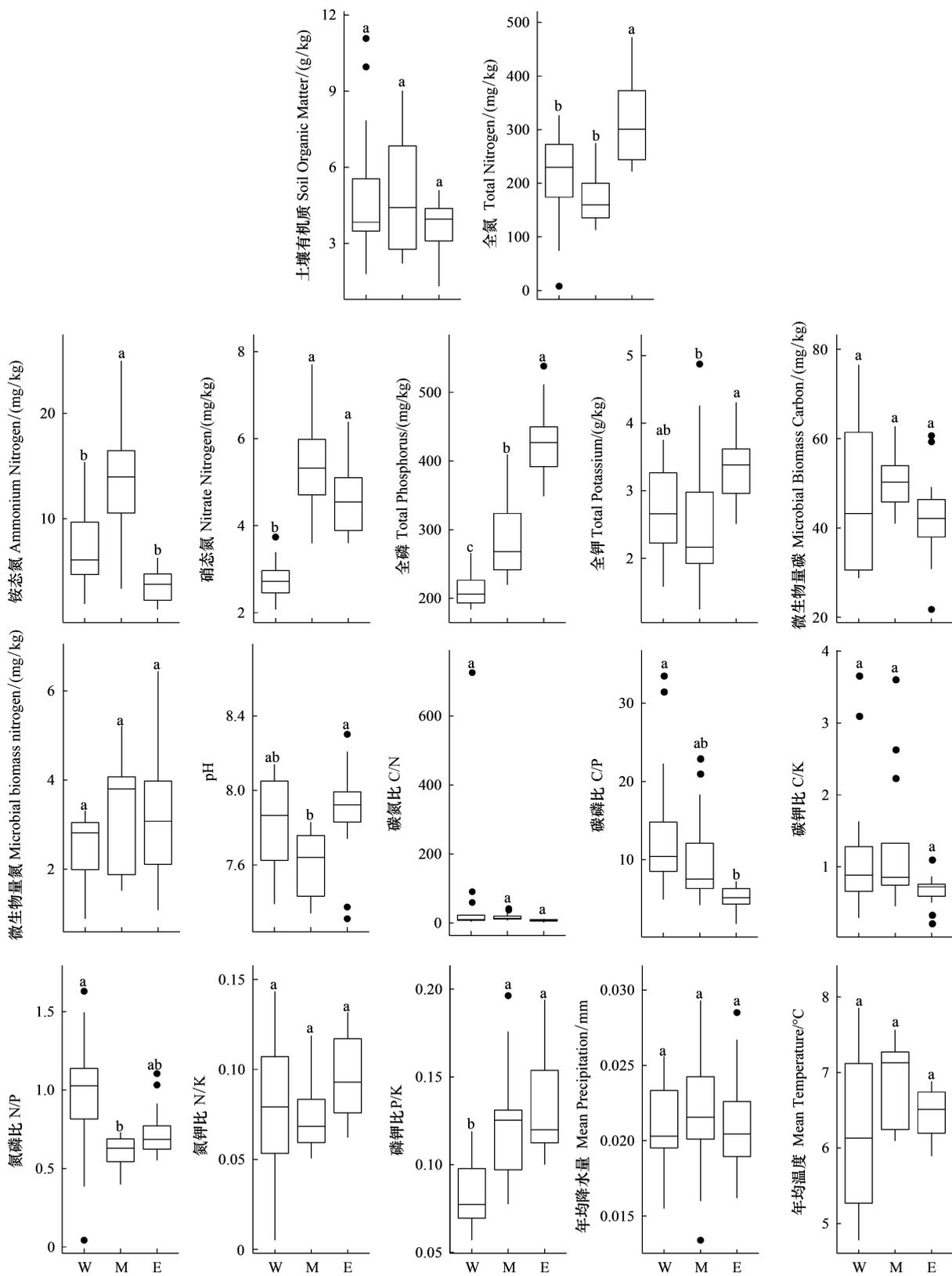


图 2 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮土壤理化性质

Fig.2 Soil physical and chemical properties in algal crusts from different areas of Gurbantunggut Desert

同一理化性质的不同字母表示三个区域差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同字母表示三个区域无显著差异

氮磷比(N:K)在沙漠不同区域无显著性差异。碳磷比(C:P)西部显著高于东部,中部与东、西部均无显著性差异;氮磷比(N:P)西、中部显著高于东部;磷钾比(P:K)中部和东部显著高于西部( $P<0.05$ )。另外,各区域2016年、2017年和2018年的年均降水量和年均气温结果如图2所示,不同区域之间表现为无显著性差异。从藻类结皮土壤理化性质分析结果看,全氮、铵态氮、硝态氮、全磷、全钾、pH以及土壤化学计量比C:P和N:P在沙漠不同区域存在显著性差异,空间尺度上变化梯度较小。

## 2.2 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮土壤微生物多样性及群落结构

### 2.2.1 测序数据处理及分析

细菌16S rDNA和真菌ITS1测序有效数据以97%一致性将其聚类为OTU,与测序数量结合绘制稀释曲线如图3所示,所有样本在测序范围内均趋于饱和,能够真实地反映沙漠藻类结皮土壤中微生物群落结构特征。

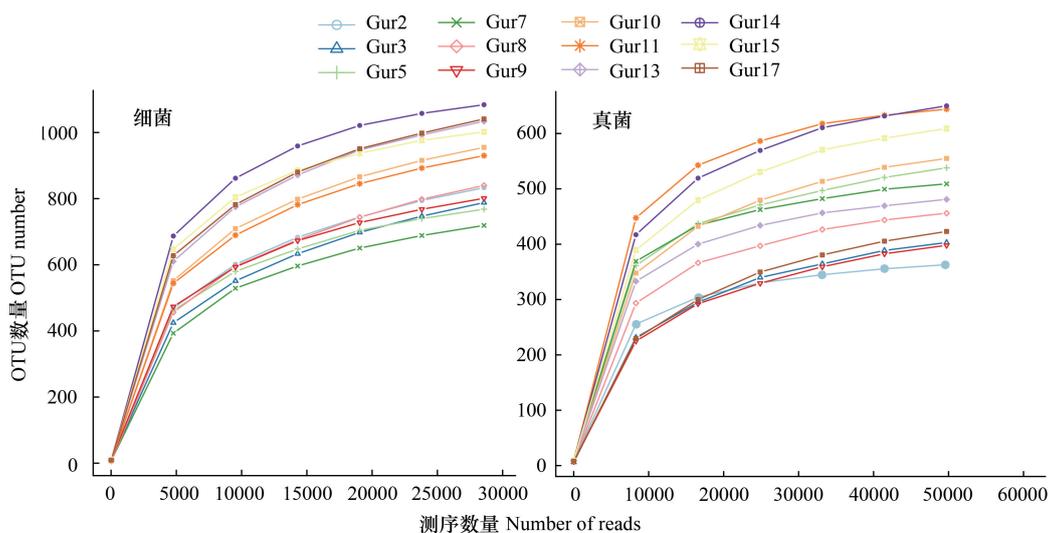


图3 古尔班通古特沙漠藻类结皮土壤细菌和真菌稀释曲线

Fig.3 Rarefaction curve of bacteria and fungi in algal crusts of Gurbantungut Desert

### 2.2.2 藻类结皮土壤中微生物群落 $\alpha$ 多样性

古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮土壤中细菌和真菌 $\alpha$ 多样性指数统计结果如图4所示,其中丰富度指数、Chao1指数和基于丰度的覆盖估计值(ACE)指数均可表示物种数量的多少,值越大说明物种越丰富;Shannon指数和Simpson指数可描述种类的多少和群落的异质性;系统发育多样(PD)指数表示微生物群落进化差异大小。结果显示藻类结皮土壤中细菌群落丰富度指数和5个多样性指数上均表现为东部>西部>中部,除Simpson指数外,其他细菌群落多样性指数和丰富度指数在东部与中部皆存在显著性差异( $P<0.05$ ),而在中部与西部差异不明显,说明古尔班通古特沙漠东部藻类结皮中细菌最为丰富,多样性最高,其次是西部和中部。对于真菌群落,三个区域藻类结皮之间丰富度指数和所有多样性指数均无显著差异。总的来看,古尔班通古特沙漠西部、中部和东部藻类结皮土壤中细菌群落丰富度和多样性存在显著性差异,沙漠东部藻类结皮中细菌群落与沙漠中、西部产生明显的分化,而藻类结皮中真菌群落结构分布均一。

### 2.2.3 藻类结皮土壤中微生物群落门水平构成比较

藻类结皮土壤中细菌和真菌前10门组成如图5所示。沙漠藻类结皮土壤中细菌相对丰度前10门分别是蓝藻门(Cyanobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、放线菌门(Actinobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、未鉴定细菌(unidentified - Bacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)和厚壁菌门(Firmicutes)。蓝藻门、变形菌门和拟杆菌门为优势菌群,其中蓝藻门在沙漠西部和中部藻类结皮中相对丰度(42.06%和42.62%)明显大于东部(24.34%),拟杆菌门和酸杆菌门相对丰度表现为东部>西部>中部,且东部与中部存在显著性差异( $P<0.05$ )。藻类结皮

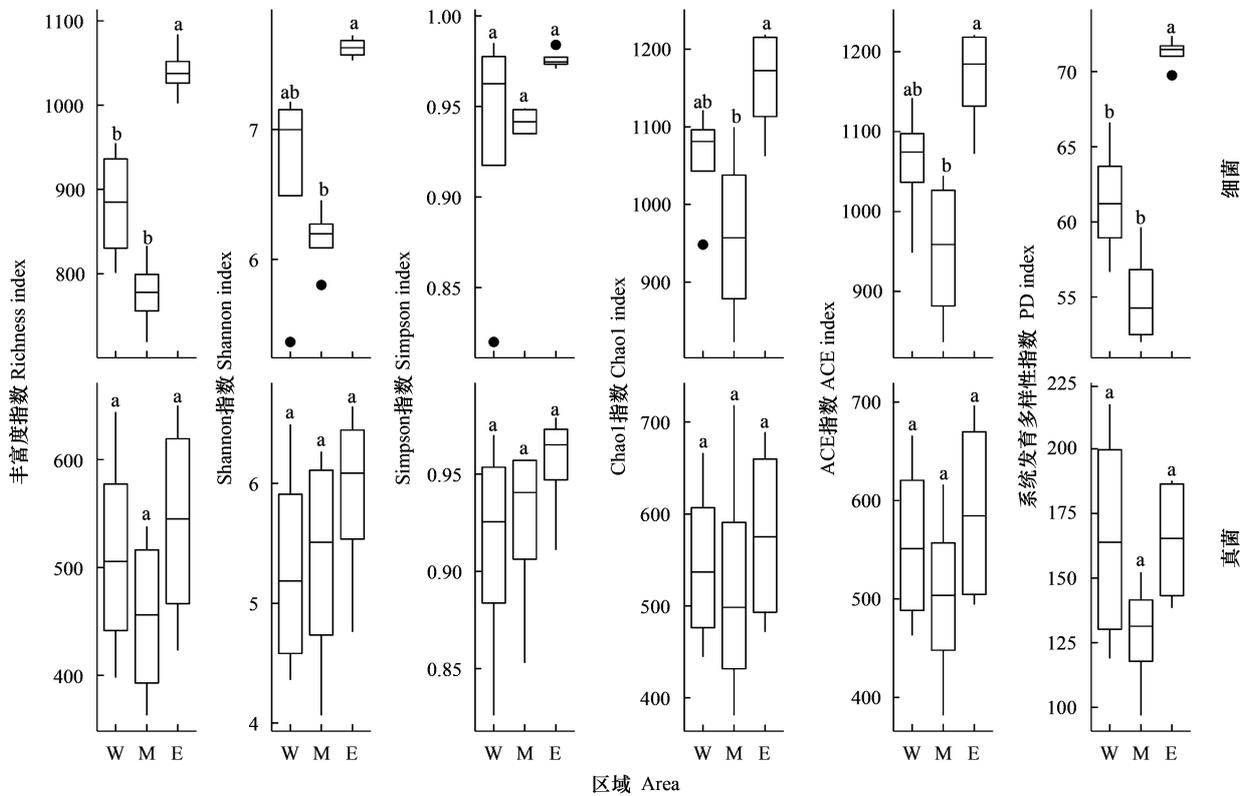


图 4 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮中细菌和真菌 α 多样性指数

Fig.4 The Alpha diversity index of bacterial and fungi in algal crusts from different areas of Gurbantunggut Desert

同一多样性指数的不同字母表示三个区域差异显著 ( $P < 0.05$ ), 相同字母表示三个区域无显著差异; ACE: 基于丰度的覆盖估计值 Abundance-based coverage estimator; PD: 系统发育多样 Phylogenetic diversity

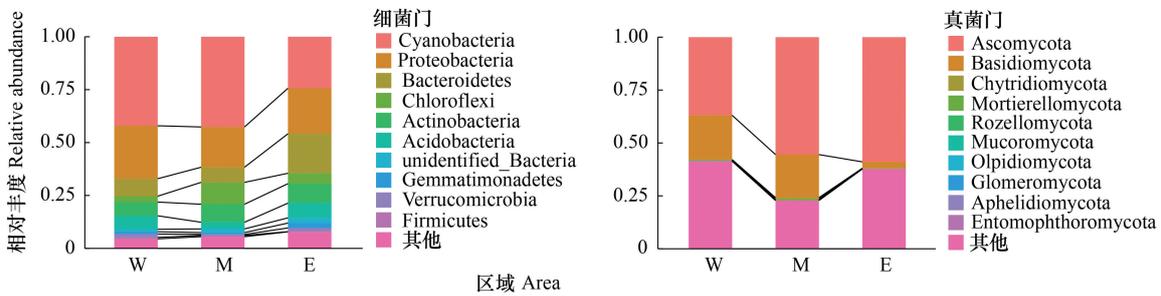


图 5 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮中细菌门和真菌门相对丰度

Fig.5 Relative abundance of bacterial phylum and fungal phylum in algal crusts from different areas of Gurbantunggut Desert

其他表示图中除图例显示类群之外的其他所有类群相对丰度之和

土壤中真菌子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota)为主要类群。其中子囊菌门相对丰度在西部、中部和东部藻类结皮土壤中分别为 36.92%、55.48%和 58.92%。担子菌门相对丰度在西部和中部达到 20%以上,而东部相对丰度仅为 3.01%。

2.2.4 藻类结皮土壤中微生物群落属水平构成比较分析

根据藻类结皮中细菌和真菌物种注释及丰度信息选取前 30 属绘制聚类热图(图 6)。对于细菌群落,排名前 30 的属共隶属于 9 个有明确分类地位的细菌门和一个未分类细菌门,三个区域相对丰度较高的细菌属有所不同,表现出不同的菌群结构。其中西部藻类结皮中主要是隶属于蓝藻门的 *unidentified\_Nostocales*、

*unidentified\_Nostocaceae* 和 *unidentified\_Coleofasciculaceae*, 与隶属于变形菌门的 *Psychroglaciecola*、微枝形杆菌属 (*Microvirga*)、*Rubritepida* 和 *unidentified\_Caulobacteraceae* 相对丰度高于中部和东部; 中部藻类结皮中优势细菌属较少, 仅隶属于放线菌门的链霉菌属 (*Streptomyces*) 和 *Kribbella*、隶属于变形菌门的戴沃斯菌属 (*Devosia*) 和 *Rubellimicrobium*、隶属于拟杆菌门的螺状菌属 (*Spirosoma*) 和隶属于异常球菌-栖热菌门 (*Deinococcus-Thermus*) 的异常球菌属 (*Deinococcus*) 相对丰度高于西部和东部, 其余细菌属均低于西部和东部; 东部主要是隶属于拟杆菌门的黄杆菌属 (*Flavisolibacter*)、*Segetibacter*、*Rhodocytophaga*、*Rufibacter*、*Adhaeribacter* 和 *Hymenobacter*, 隶属于变形菌门的小囊菌属 (*Nannocystis*) 和 *Massilia* 相对丰度高于西部和中部。

对于真菌群落 (图 6), 丰度前 30 的属中共有 24 个隶属于子囊菌门, 5 个属隶属于担子菌门, 1 个属隶属于被孢霉门 (*Mortierellomycota*), 并且不同区域藻类结皮中的真菌属不尽相同。其中东部区域藻类结皮中相对丰度较高的真菌属最少, 且全部隶属于子囊菌门; 西部藻类结皮中隶属于担子菌门的孢堆黑粉菌属 (*Sporisorium*) 和亡革菌属 (*Thanatephorus*) 与隶属于子囊菌门的荚孢腔属 (*Sporormiella*)、*Coniosporium*、短梗霉属 (*Aureobasidium*)、伊萨酵母属 (*Issatchenkia*)、光黑壳属 (*Preussia*) 和肉座菌属 (*Hypocreopsis*) 相对丰度高于中部和东部; 中部藻类结皮中隶属于子囊菌门的地霉属 (*Geotrichum*)、细基格孢属 (*Ulocladium*)、*Albifimbria*、赤霉菌属 (*Gibberella*)、青霉菌属 (*Penicillium*) 和链格孢属 (*Alternaria*) 与隶属于被孢霉门的被孢霉属 (*Mortierella*) 相对丰度高于西部和东部。

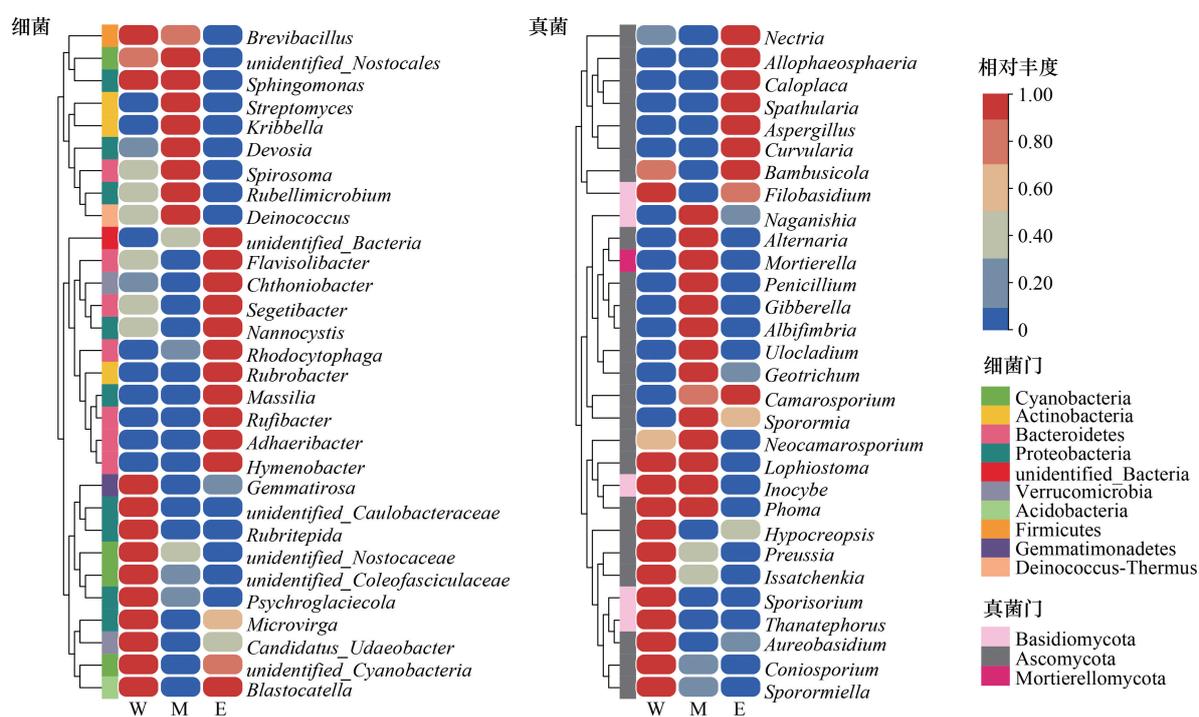


图 6 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮中细菌和真菌在属水平相对丰度聚类热图

Fig. 6 Heatmap of relative abundance of bacteria and fungi at genus level in algal crusts from different areas in Gurbantungut Desert

### 2.2.5 藻类结皮土壤中微生物群落 $\beta$ 多样性分析

利用古尔班通古特沙漠不同样点藻类结皮中细菌和真菌 OTUs 丰度信息, 通过 Bray\_curtis 距离进行主坐标分析 (PCoA) 如图 7。结果显示, 古尔班通古特沙漠不同区域的藻类结皮中, 细菌群落结构表现为中部和东部相似, 西部与东部存在显著性差异 ( $P < 0.05$ ), 沙漠中部为沙漠西部和东部的过渡带。真菌群落结构则在沙漠腹地分布较为均匀, 未产生较大分化。

### 2.3 藻类结皮土壤中微生物多样性与环境因子相关性分析

细菌在门水平上, 三个区域前 10 个门所占比例分别为: 95.50%、94.46% 和 92.18%; 对于真菌, 共注释到

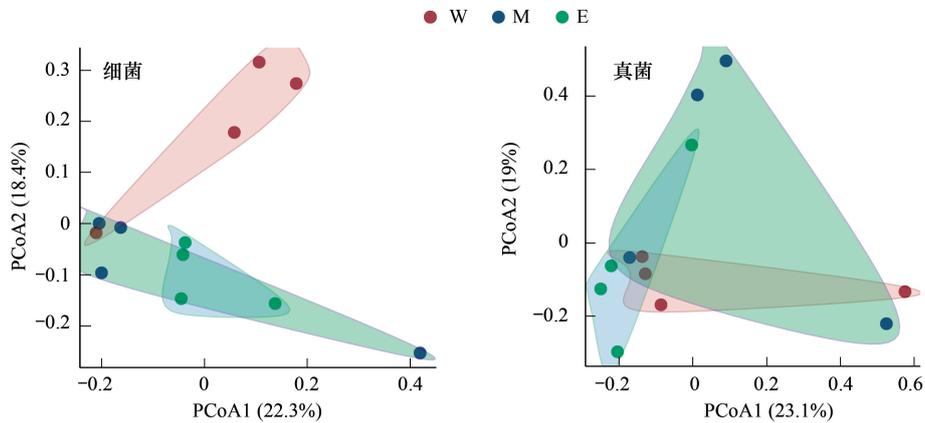


图 7 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮中细菌和真菌群落结构主坐标分析 (PCoA)

Fig.7 Principal co-ordinates analysis (PCoA) of bacteria and fungi community structure in algal crusts from different areas of Gurbantunggut Desert

13 个门, 排名前 10 之外的真菌门在部分样本中相对丰度为 0, 因此本研究选择细菌和真菌前 10 个门代表藻类结皮微生物群落结构, 与土壤理化因子进行 Spearman 相关性分析, 结果如图 8 所示。藻类结皮土壤全氮、全磷和全钾含量与拟杆菌门和芽单胞菌门呈显著或极显著正相关关系 ( $P < 0.05/0.01$ ); pH 值与芽单胞菌门、年平均降水量与绿湾菌门呈极显著的正相关关系 ( $P < 0.01$ ); 土壤有机质和铵态氮含量与厚壁菌门呈显著负相关关系 ( $P < 0.05$ ); 生物量氮与变形菌门、硝态氮含量与酸杆菌门呈显著负相关关系 ( $P < 0.05$ )。对于真菌, 硝态氮含量与毛霉门 (Mucoromycota)、球囊菌门 (Glomeromycota) 和 Aphelidiomycota 门、全磷含量与 Olpidiomycota 门呈显著负相关关系 ( $P < 0.05$ ); 年平均降水量与鞭毛菌门 (Mortierellomycota) 呈显著负相关关系 ( $P < 0.05$ ), 而年平均气温与其呈显著正相关关系 ( $P < 0.05$ )。总体而言, 结皮土壤理化性质对细菌群落结构具有重要影响, 而对真菌群落结构的影响较小。

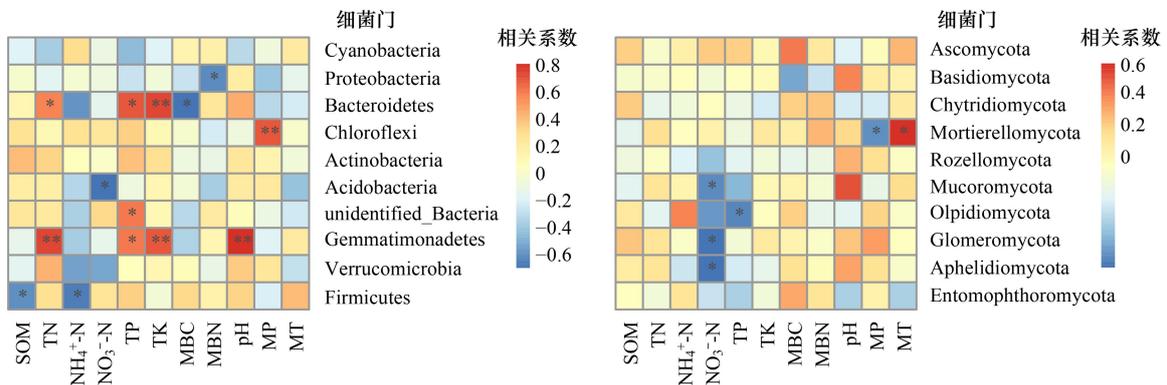


图 8 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮中细菌和真菌与环境因子相关性分析

Fig.8 Correlation analysis between bacteria and fungi and environmental factors in algal crusts from different areas of Gurbantunggut Desert

SOM: 土壤有机质 Soil organic matter; TN: 全氮 Total nitrogen;  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ : 铵态氮 Ammonium nitrogen;  $\text{NO}_3^-\text{-N}$ : 硝态氮 Nitrate nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; TK: 全钾 Total potassium; MBC: 微生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物量氮 Microbial biomass nitrogen; pH: pH 值; MP: 年均降水量 Mean precipitation; MT: 年均温度 Mean temperature

### 2.4 藻类结皮土壤中微生物功能预测分析

采用 PICRUSt 软件根据细菌 16S 测序数据进行基于京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 数据库的功能预测, 并选择相对丰度前 30 的 ko 绘制聚类热图, 并在三个层级进行分类, 结果如图 9 所示。结果显示丰度前

30 的 ko 分别属于 4 个第一层级和 13 个第二层级,并且不同区域表现出各自的功能类群,其中西部和中部聚类关系较近,二者与东部存在差异,说明藻类结皮中细菌群落功能已逐步产生分化,可能与沙漠西部和东部藻类结皮中细菌分布存在差异有关。沙漠西部和中部区域藻类结皮土壤中光合作用的蛋白质,卟啉和叶绿素的代谢和光合作用丰度高于东部;而原核生物碳固定途径,丙酮酸代谢,氧化磷酸化,丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢,甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸的代谢和氨基酸相关酶代谢通路丰度低于东部。推测这与沙漠东部蓝藻相对丰度较低有关,沙漠中、西部藻类结皮土壤中固碳作用主要由藻类完成,而沙漠东部固碳作用主要由除蓝藻以外的其他微生物或绿藻完成。

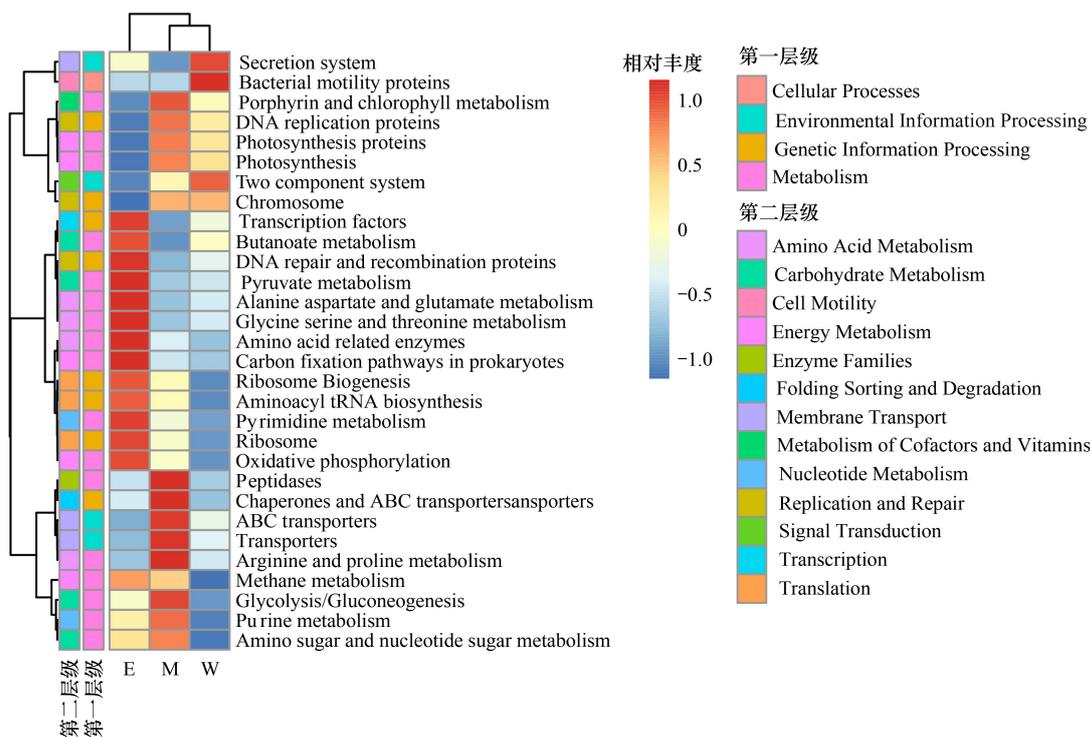


图9 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮中细菌群落功能预测注释聚类热图(三级功能层)

Fig.9 Clustering heatmap of bacterial community function prediction in algal crusts in different areas of Gurbantunggut Desert (level 3)

基于真菌物种分类,通过 FunGuild 数据库比对预测沙漠不同区域藻类结皮土壤中真菌的生态功能,选取注释所得功能及丰度信息排名前 26 的功能信息绘制聚类热图,结果如图 10 所示。可以看出沙漠不同区域藻类结皮中表现出真菌群落功能的差异性。其中沙漠中部真菌寄生-植物病原体(Fungal\_Parasite-Plant\_Pathogen)丰度明显高于西部和东部;东部的真菌寄生(Fungal\_Parasite)丰度高于西部和中部。

### 3 讨论

研究表明生物结皮的形成与发育主要受降水、温度和土地管理的共同驱动<sup>[1]</sup>,其对气候响应敏感性远大于维管植物,受全球气候变化影响,约占地球陆地表面积 12% 的生物结皮预计将在 65 年内减少 25—40%。土壤微生物是陆地生态系统的重要组成成分,其中细菌和真菌发挥着非常重要的作用。一般土壤中细菌数量较真菌丰富,真菌主要负责有机物的分解,尤其是对土壤动植物残体进行降解,而细菌群落多样性常作为衡量土壤质量的重要指标<sup>[29]</sup>。古尔班通古特沙漠内维管植物受益地内部局部气候影响,在东西走向形成了种群-生境梯度<sup>[20-21]</sup>。基于细菌和真菌在土壤中的重要性,本文通过高通量测序技术分析古尔班通古特沙漠自西向东不同区域藻类结皮土壤中微生物群落多样性及其种群-生境梯度变化驱动因子。

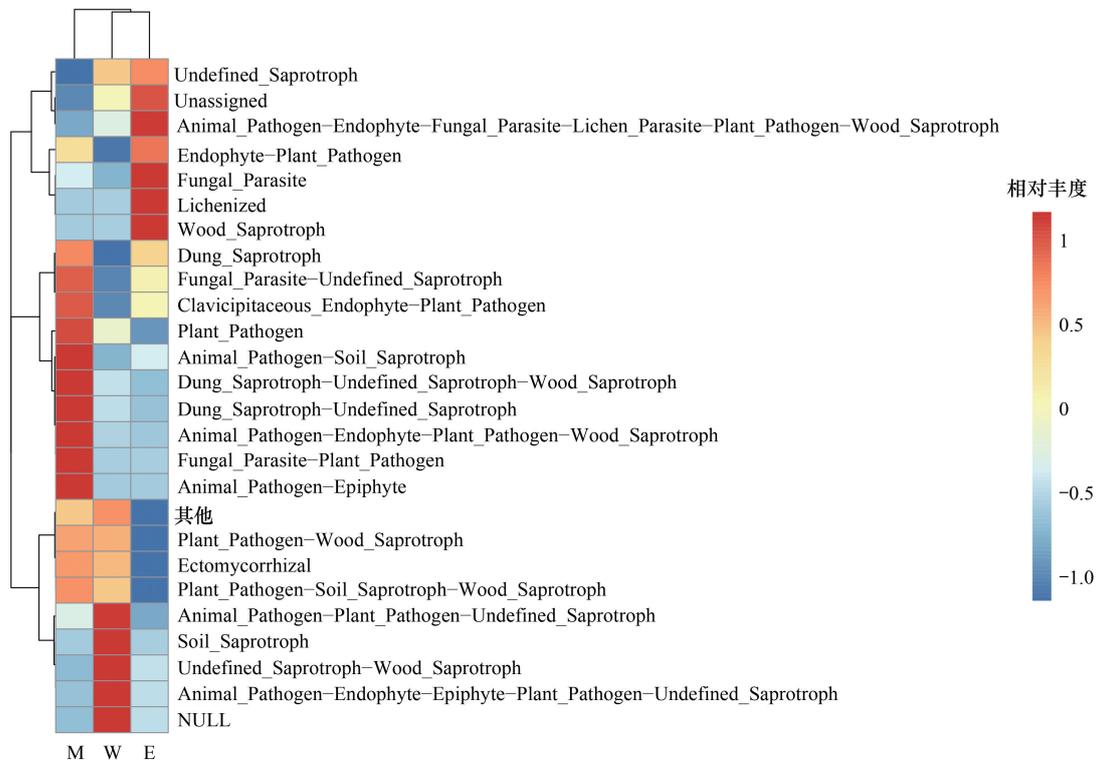


图 10 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮中真菌群落功能预测注释聚类热图 (Guild)

Fig.10 Clustering heatmap of fungal community function prediction in algal crusts in different regions of Gurbantunggut Desert (Guild)

### 3.1 古尔班通古特沙漠藻类结皮土壤微生物多样性及种群梯度

本研究所获古尔班通古特沙漠藻类结皮中细菌丰度排名前 10 的门在三个区域占比均达到 90% 以上,其中蓝藻门、变形菌门和拟杆菌门是优势菌群,且蓝藻门在三个区域相对丰度均最高。研究表明蓝藻是仅存在于生物结皮而非普通土壤类型中的微生物,李靖宇等<sup>[30]</sup>对腾格里沙漠不同生物结皮微生物多样性研究结果表明,藻类生物结皮中蓝藻门、变形菌门、酸杆菌门和放线菌门为主要细菌类群。Gundlapally 等<sup>[31]</sup>对科罗拉多高原生物结皮研究表明细菌主要以蓝藻门和变形菌门为主。刘玉冰等<sup>[32]</sup>在总结温带荒漠生物结皮微生物群落组成结构中表明,蓝藻门在藻类结皮中相对丰度最高。本文结果与上述研究成果均显示出荒漠生物结皮细菌类群多以蓝藻门、变形菌门、放线菌门和拟杆菌门为主。真菌在门水平上的优势物种为子囊菌门和担子菌门,与其他温带沙漠<sup>[33-35]</sup>生物结皮中检测到的真菌结果类似,仅在相应物种的相对丰度数值上有差异,可能是研究区域不同所致。

在细菌属水平上分析时发现,古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮拥有不同的细菌类群,其西部以隶属于蓝藻门和变形菌门的细菌属为主,中部以隶属于放线菌门和变形菌门的细菌属为主,东部则以隶属于拟杆菌门的细菌属为主,这与细菌在门水平上分析结果一致。对于真菌,虽然排名前 30 的属几乎全部隶属于子囊菌门和担子菌门,但三个区域藻类结皮仍表现出属水平的差异性。其中东部藻类结皮中存在的主要真菌属全部隶属于子囊菌门,而中西部隶属于两个优势门的属均存在。

研究结果还显示沙漠不同区域细菌多样性远高于真菌,与吴楠等<sup>[36]</sup>和吴永胜等<sup>[37]</sup>分别对古尔班通古特沙漠和毛乌素沙漠研究结果一致。细菌和真菌  $\alpha$  多样性指数结果显示,古尔班通古特沙漠藻类结皮中细菌群落结构已在沙漠从西到东走向的不同区域产生种群-生境梯度,并达到显著性差异;而真菌虽形成群落梯度,但并未达到显著性差异。沙漠藻类结皮土壤中微生物优势门从西到东走向上,蓝藻门相对丰度逐渐降低,拟杆菌门和酸杆菌门相对丰度从中部向东西两个方向上均增加,子囊菌门占比越来越大,担子菌门占比越来

越小。PCoA 分析结果也显示西部与东部细菌群落存在显著差异,表明古尔班通古特沙漠藻类结皮中的细菌群落结构在东西走向上发生了分化,这可能与研究区土壤理化性质、环境因子、生物结皮所形成的微环境不同有关<sup>[33,38]</sup>。

### 3.2 古尔班通古特沙漠藻类结皮土壤中微生物结构主要驱动因子

Spearman 相关性分析结果表明,所测理化因子与藻类结皮中的细菌和真菌群落呈现的正相关关系居多,说明藻类结皮土壤丰富的营养物质为微生物提供了良好的生存环境,特别是有机质、全磷、全钾和全氮含量可有效地促进细菌群落的生存。吴楠等<sup>[36]</sup>研究发现生物结皮中的营养物质显著高于无结皮层土壤,决定了生物结皮可孕育更多的微生物。另外,生物结皮有机质含量的不同可导致微生物群落发生改变。有研究表明,蓝藻更倾向于聚集富营养菌群<sup>[39]</sup>,会在其生存的微环境中产生更多的微生物量碳。而本研究结果显示土壤理化因子中 MBC 含量与蓝藻门呈正相关关系,说明在古尔班通古特沙漠贫瘠土壤中,蓝藻门为主要的营养物质初级生产者。

陈丽萍等<sup>[40]</sup>研究贺兰山东麓荒漠藻结皮微生物群落结构时表明原核微生物多样性远高于真核微生物,本研究有着相同的研究结果。此外真菌群落分布受硝态氮含量、年平均气温和年平均降水量影响较大。Zhang 等<sup>[41]</sup>对古尔班通古特沙漠生物结皮内真菌群落研究时发现生物结皮不同演替阶段真菌多样性变化不明显,与本文研究结果一致,并表明生物结皮的发育促进土壤环境时空生态位分配,而生态位选择的变化又驱动着真菌群落的演替。本研究中古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮土壤中真菌群落未产生显著性分化,暗示在现有气候及土壤营养条件下藻类结皮土壤中真菌群落难产生分化,古尔班通古特沙漠中生态位决定了真菌群落分化。

### 3.3 古尔班通古特沙漠藻类结皮土壤中微生物群落功能特征

近些年随着分子生物学技术的快速发展和实践运用,土壤微生物相关研究由多样性和群落结构转向功能研究<sup>[42]</sup>,以此能够更深入、全面和准确土壤微生物在生态系统中的意义和价值。本研究分别预测古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮土壤中细菌和真菌群落的功能。结果显示细菌群落功能方面,中部和西部功能相似,二者与东部存在差异,可以看出细菌群落功能与细菌  $\alpha$  多样性结果保持一致。此外光合作用相关功能丰度西部和中部高于东部,与藻类结皮中蓝藻门在东西走向上的相对丰度变化保持一致。功能预测分析结果表明微生物群落结构多样性和功能二者存在密切联系,这与 Wagg 等<sup>[43]</sup>研究结果,土壤生物多样性与生态系统多功能性之间存在正相关关系一致。有研究还认为细菌群落的功能特征影响其群落结构与多样性,并认为与代谢、遗传信息处理和有机系统相关的子功能会促使细菌代谢旺盛,生长良好,从而提高细菌群落结构多样性<sup>[44]</sup>,与本研究结果相吻合。

## 4 结论

古尔班通古特沙漠藻类结皮土壤中细菌群落多样性高于真菌,细菌在自西向东方向上存在显著的种群-生境梯度变化,而真菌分布较为均匀。本文所分析的部分理化指标和环境因子与藻类结皮中微生物群落呈正相关关系,说明沙漠生态位分化会导致藻类结皮中微生物群落及功能发生适应性分化。

### 参考文献 (References):

- [1] Rodriguez-Caballero E, Belnap J, Büdel B, Crutzen P J, Andreae M O, Pöschl U, Weber B. Dryland photoautotrophic soil surface communities endangered by global change. *Nature Geoscience*, 2018, 11(3): 185-189.
- [2] Belnap J, Lange O L. *Biological Soil Crusts: Structure, Function, and Management*[M]. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2003.
- [3] Eldridge D J, Greene R. Microbiotic soil crusts: a review of their roles in soil and ecological processes in the rangelands of Australia. *Soil Research*, 1994, 32(3): 389.
- [4] Li X R, Chen Y W, Yang L W. Cryptogam diversity and formation of soil crusts in temperate desert. *Annals of Arid Zone*, 2004, 43(3): 335-353.
- [5] 李新荣, 贾玉奎, 龙利群, 王新平, 张景光. 干旱半干旱地区土壤微生物结皮的生态学意义及若干研究进展. *中国沙漠*, 2001, 21(1): 4-11.
- [6] Bowker M A. Biological soil crust rehabilitation in theory and practice: an underexploited opportunity. *Restoration Ecology*, 2007, 15(1): 13-23.

- [ 7 ] 周志刚, 程子俊, 刘志礼. 沙漠结皮中藻类生态的研究. 生态学报, 1995, 15(4): 385-391.
- [ 8 ] 段争虎, 刘新民, 屈建军. 沙坡头地区土壤结皮形成机理的研究. 干旱区研究, 1996, 13(2): 31-36.
- [ 9 ] Weber B, Büdel B, Belnap J. *Biological Soil Crusts: An Organizing Principle in Drylands*[M]. Cham: Springer, 2016.
- [ 10 ] Park C H, Li X R, Zhao Y, Jia R L, Hur J S. Rapid development of cyanobacterial crust in the field for combating desertification. *PLoS One*, 2017, 12(6): e0179903.
- [ 11 ] 肖波, 赵允格, 邵明安. 陕北水蚀风蚀交错区两种生物结皮对土壤理化性质的影响. 生态学报, 2007, 27(11): 4662-4670.
- [ 12 ] 张冠华, 胡甲均. 生物结皮土壤-水文-侵蚀效应研究进展. 水土保持学报, 2019, 33(1): 1-8.
- [ 13 ] Morillas L, Gallardo A. Biological soil crusts and wetting events; effects on soil N and C cycles. *Applied Soil Ecology*, 2015, 94: 1-6.
- [ 14 ] Zhao L N, Liu Y B, Wang Z R, Yuan S W, Qi J H, Zhang W L, Wang Y S, Li X R. Bacteria and fungi differentially contribute to carbon and nitrogen cycles during biological soil crust succession in arid ecosystems. *Plant and Soil*, 2020, 447(1/2): 379-392.
- [ 15 ] Rutherford W A, Painter T H, Ferrenberg S, Belnap J, Okin G S, Flagg C, Reed S C. Albedo feedbacks to future climate via climate change impacts on dryland biocrusts. *Scientific Reports*, 2017, 7: 44188.
- [ 16 ] 张元明, 王雪芹. 荒漠地表生物土壤结皮形成与演替特征概述. 生态学报, 2010, 30(16): 4484-4492.
- [ 17 ] 马丽芳主编. 中国地质图集. 北京: 地质出版社, 2002.
- [ 18 ] 朱震达. 中国沙漠概论 I 2 版. 北京: 科学出版社, 1980.
- [ 19 ] 贾丽娟, 唐凯, 兰慧青, 徐黄纬, 国倩文, 丁悦, 谭芳, 邢丽华, 郭雨晴, 冯福应. 中央戈壁石下生物土壤结皮中细菌群落结构和多样性. 微生物学通报, 2018, 45(12): 2603-2613.
- [ 20 ] 钱亦兵, 吴兆宇, 张立运, 赵锐锋, 王小燕, 李有民. 古尔班通古特沙漠短命植物的空间分布特征. 科学通报, 2007, 52(19): 2299-2306.
- [ 21 ] 蒋超亮, 吴玲, 安静, 刘丹, 王绍明. 古尔班通古特沙漠旱生植物时空分布特征. 生态学报, 2019, 39(3): 936-944.
- [ 22 ] Parada A E, Needham D M, Fuhrman J A. Every base matters; assessing small subunit rRNA primers for marine microbiomes with mock communities, time series and global field samples. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(5): 1403-1414.
- [ 23 ] White T J, Bruns T, Lee S, Taylor J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols*. Amsterdam: Elsevier, 1990: 315-322.
- [ 24 ] Martin M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet Journal*, 2011, 17(1): 10.
- [ 25 ] Rognes T, Flouri T, Nichols B, Quince C, Mahé F. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics. *PeerJ*, 2016, 4: e2584.
- [ 26 ] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [ 27 ] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner F O. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*, 2012, 41(D1): D590-D596.
- [ 28 ] Nilsson R H, Larsson K H, Taylor A F S, Bengtsson-Palme J, Jeppesen T S, Schigel D, Kennedy P, Picard K, Glöckner F O, Tedersoo L, Saar I, Kõljalg U, Abarenkov K. The UNITE database for molecular identification of fungi; handling dark taxa and parallel taxonomic classifications. *Nucleic Acids Research*, 2018, 47(D1): D259-D264.
- [ 29 ] Barberán A, Ramirez K S, Leff J W, Bradford M A, Wall D H, Fierer N. Why are some microbes more ubiquitous than others? Predicting the habitat breadth of soil bacteria. *Ecology Letters*, 2014, 17(7): 794-802.
- [ 30 ] 李靖宇, 张琇. 腾格里沙漠不同生物土壤结皮微生物多样性分析. 生态科学, 2017, 36(3): 36-42.
- [ 31 ] Gundlapally S R, Garcia-Pichel F. The community and phylogenetic diversity of biological soil crusts in the Colorado Plateau studied by molecular fingerprinting and intensive cultivation. *Microbial Ecology*, 2006, 52(2): 345-357.
- [ 32 ] 刘玉冰, 王增如, 高天鹏. 温带荒漠生物土壤结皮微生物群落结构与功能演替研究综述. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2974-2983.
- [ 33 ] 赵宇龙, 张晓军, 金一荻, 冯福应. 毛乌素沙漠生物土壤结皮真菌群落多样性分析. 内蒙古农业大学学报: 自然科学版, 2011, 32(2): 170-174.
- [ 34 ] Zhang T, Jia R L, Yu L Y. Diversity and distribution of soil fungal communities associated with biological soil crusts in the southeastern Tengger Desert (China) as revealed by 454 pyrosequencing. *Fungal Ecology*, 2016, 23: 156-163.
- [ 35 ] Abed R M M, Al-Sadi A M, Al-Shehi M, Al-Hinai S, Robinson M D. Diversity of free-living and lichenized fungal communities in biological soil crusts of the Sultanate of Oman and their role in improving soil properties. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 695-705.
- [ 36 ] 吴楠, 王红玲, 张静, 梁少民, 聂华丽, 张元明. 古尔班通古特沙漠生物结皮中微生物分布的时空差异. 科学通报, 2006, 51(S1): 100-107.
- [ 37 ] 吴永胜, 哈斯, 李双权, 刘怀泉. 毛乌素沙地南缘沙丘生物结皮中微生物分布特征. 生态学杂志, 2010, 29(8): 1624-1628.
- [ 38 ] Steven B, Gallegos-Graves L V, Yeager C, Belnap J, Kuske C R. Common and distinguishing features of the bacterial and fungal communities in biological soil crusts and shrub root zone soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 69: 302-312.
- [ 39 ] Couradeau E, Giraldo-Silva A, de Martini F, Garcia-Pichel F. Spatial segregation of the biological soil crust microbiome around its foundational cyanobacterium, *Microcoleus vaginatus*, and the formation of a nitrogen-fixing cyanosphere. *Microbiome*, 2019, 7(1): 55.
- [ 40 ] 陈丽萍, 陈青, 赵辉, 苏建宇. 贺兰山东麓荒漠藻类结皮微生物群落结构及其演替研究. 生态学报, 2020, 40(9): 3105-3114.
- [ 41 ] Zhang B C, Zhang Y Q, Li X Z, Zhang Y M. Successional changes of fungal communities along the biocrust development stages. *Biology and Fertility of Soils*, 2018, 54(2): 285-294.
- [ 42 ] Bahram M, Hildebrand F, Forslund S K, Anderson J L, Soudzilovskaia N A, Bodegom P M, Bengtsson-Palme J, Anslan S, Coelho L P, Harend H, Huerta-Cepas J, Medema M H, Maltz M R, Mundra S, Olsson P A, Pent M, Pöhlme S, Sunagawa S, Ryberg M, Tedersoo L, Bork P. Structure and function of the global topsoil microbiome. *Nature*, 2018, 560(7717): 233-237.
- [ 43 ] 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.
- [ 44 ] Kanokratana P, Uengwetwanit T, Rattanachomsri U, Bunternsook B, Nimchua T, Tangphatsornruang S, Plengvidhya V, Champreda V, Eurwilaichitr L. Insights into the phylogeny and metabolic potential of a primary tropical peat swamp forest microbial community by metagenomic analysis. *Microbial Ecology*, 2011, 61(3): 518-528.