DOI: 10.20103/j.stxb.202210243024
安芳娇,牛子儒,刘婷娜,苏永中.西北荒漠绿洲过渡带土壤细菌结构和氮代谢对梭梭恢复的响应.生态学报,2023,43(20):8454-8464.
An F J, Niu Z R, Liu T N, Su Y Z.Responses of soil bacterial structure and nitrogen metabolism to *Haloxylon ammodendron* restoration in an oasis-desert ecotone of northwestern China.Acta Ecologica Sinica,2023,43(20):8454-8464.

西北荒漠绿洲过渡带土壤细菌结构和氮代谢对梭梭恢复的响应

安芳娇[1],牛子儒[3],刘婷娜[2],苏永中[2,*]
1 兰州理工大学土木工程学院,兰州 730050
2 中国科学院西北生态环境资源研究院,兰州 730000
3 陕西省土地工程建设集团有限责任公司,西安 710075

摘要:探究植被恢复过程中土壤微生物群落结构和氮代谢变化,是认识陆地生态系统生物地球化学过程的重要环节。然而,关于干旱区荒漠人工植被种植后土壤微生物功能的研究鲜有报道。选择西北荒漠绿洲过渡带建植时间序列(3、6、11、19、28a 和 46a)梭梭(*Haloxylon ammodendron*)林为研究对象,取冠层下表层土样(0—10 cm),流动沙地(Ms)作为对照,采用高通量测序技术,探究土壤细菌群落多样性、结构、氮代谢及功能基因对梭梭恢复的响应,考察土壤细菌群落结构变化的关键驱动因子。结果表明,放线菌门(Actinobacteriota)和变形菌门(Proteobacteria)是所有样地的优势细菌类群。Shannon 指数随梭梭种植年限增加显著增加,表明梭梭建立显著提高了土壤细菌群落多样性。样本层级聚类分析显示不同年限梭梭林土壤细菌群落被分为 3 个小组,非度量多维尺度(NMDS)分析表明梭梭的建立显著改变了土壤细菌群落结构。Spearman 相关性分析显示土壤含水量(SM)、有机碳(SOC)、速效磷(AP)和速效钾(AK)显著影响土壤细菌群落结构,且呈显著正相关。土壤细菌氮代谢主要以同化和异化硝酸盐还原为主,硝酸盐还原基因(NRG)丰度是氨氧化基因(AOG)的 17.5—126.9 倍,表明反硝化速度快于硝化速度。NRG/AOG 随梭梭种植年限增加而下降,表明梭梭生长有助于土壤氮的积累。研究结果有助于对干旱荒漠生态系统恢复过程中植物-土壤相互作用方面的理解。

关键词:梭梭林;建植时间序列;细菌群落;氮代谢;功能基因;荒漠生态系统

Responses of soil bacterial structure and nitrogen metabolism to *Haloxylon ammodendron* restoration in an oasis-desert ecotone of northwestern China

AN Fangjiao[1], NIU Ziru[3], LIU Tingna[2], SU Yongzhong[2,*]
1 *School of Civil Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou* 730050, *China*
2 *Northwest Institute of Eco-Environment and Resources, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou* 730000, *China*
3 *Shaanxi Provincial Land Engineering Construction Group, Xi'an* 710075, *China*

Abstract: Studying the changes in soil microbial community structure and nitrogen metabolism in the process of vegetation restoration is an important part for better understanding the biogeochemical processes in terrestrial ecosystems. However, there are very few reports on the functional potential of soil microorganisms after planting artificial vegetation in arid deserts. We selected *Haloxylon ammodendron* plantations along an age sequence (3-, 6-, 11-, 19-, 28-, and 46-years) for research, sampled surface soil (0—10 cm) under the canopy, and took the moving sandy land (Ms) as the control in an oasis-desert ecotone in northwestern China. We used high-throughput sequencing to explore the responses of soil bacterial

基金项目:国家自然科学基金项目(31971730)
收稿日期:2022-10-24; **采用日期**:2023-07-21
* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: suyzh@lzb.ac.cn

diversity, structure, nitrogen metabolism, and functional genes to the restoration of *H. ammodendron*, and to investigate the key driving factors of soil bacterial community structure change. The results showed that Actinobacteriota and Proteobacteria were the main dominant phyla in all plots. Shannon diversity index increased significantly with plantation ages ($P<0.05$), indicating that the establishment of *H. ammodendron* plantations improved the soil bacterial diversity. The Chao richness indices tended to increase with the restoration of vegetation. Hierarchical clustering analysis showed that soil bacterial communities in different plantation ages were divided into three groups, and bacterial communities from the same revegetation site were grouped together. Non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis indicated that the establishment of *H. ammodendron* plantations on moving sandy land significantly changed the structure of soil bacterial communities ($P<0.01$). Spearman correlation analysis showed that soil organic carbon (SOC), moisture content (SM), available phosphorus (AP), and available potassium (AK) significantly affected the structure of bacterial communities and showed a significant positive correlation ($P<0.05$). Other environmental factors like electrical conductivity, total carbon, and available nitrogen had no significant effect on soil bacterial community structure. Assimilatory and dissimilatory nitrate reductions were the main parts of nitrogen metabolism. The predicted proportions of hydroxylamine oxidase (*hao*), reductase (*hcp*), and ammonia monooxygenase (*amo*) associated with nitrification were low, especially in the moving sandy land, with an average abundance of 8.9×10^{-5}%. The abundance of nitrate-reduction genes (NRG) was 17.5—126.9 times that of ammonia-oxidization genes (AOG), indicating that the reaction rate of denitrification was faster than that of nitrification. NRG/AOG decreased with plantation ages, indicating that the growth of *H. ammodendron* contributed to the accumulation of soil nitrogen. Our study provides an overview of soil bacterial community during the restoration of *H. ammodendron* and insights into the critical roles of functional genes in the nitrogen cycle. The findings might improve better understanding of plant-soil interactions in arid desert ecosystem restoration.

Key Words: *Haloxylon ammodendron*; plantation chronosequence; bacterial community; nitrogen metabolism; functional gene; desert ecosystem

梭梭(*Haloxylon ammodendron*)是一种 C_4荒漠灌木,是干旱区荒漠化土地固沙造林的主要树种[1—3]。半个多世纪以来,中国西北实施沙漠化防治和生态建设,大面积种植防风固沙林,成为重要的生态屏障[4]。植被恢复过程加强了生物地球化学循环过程、改善了土壤环境,流动沙地向地带性土壤方向演变,固沙植被梭梭建立后植被-土壤系统的演替得到广泛研究。过去的研究主要集中在梭梭水分利用和光合生理等特征[5—6],固沙梭梭建立后土壤环境研究取得一定的进展,研究表明土壤养分、盐分和土壤黏粉粒含量得到显著改善[1,7];土壤线虫群落组成和结构[8]以及其它生物学特征(如微生物生物量碳和氮,酶活性)发生显著变化[9]。然而,针对人工固沙植被恢复过程中土壤微生物群落功能特性还需深入研究。

土壤微生物在成土过程、土壤养分循环、有机质分解及调节生态系统功能中发挥着重要作用[10—11]。土壤微生物群落丰度和多样性可以作为植被-土壤生态系统恢复的评判指标。植物土壤反馈对土壤微生物群落有重要影响,植被可以通过根系分泌物及凋落物差异改变土壤理化性质,进而调控土壤微生物群落组成和结构,同时土壤微生物能够通过调控土壤养分有效性间接影响植物群落的生长和演替[12]。对固沙植被建立后土壤微生物群落功能结构的研究是深入理解植被-土壤相互作用的重要方面,也是评价植被-土壤系统恢复的重要内容。

近些年来,固沙植被种植后土壤微生物群落的研究受到越来越多的关注[13—14]。相关研究表明植被恢复显著影响土壤微生物量碳、氮、群落组成和多样性[15—17],也有研究发现植被恢复并不会增加土壤微生物群落多样性,但会影响微生物群落结构和功能[18]。然而,人工固沙植被恢复过程中土壤微生物群落结构和功能的演替仍不清楚。植被恢复对土壤微生物群落的影响受植被种类[19—20]和土壤性质[21]等的影响。土壤环境的变化会直接或间接影响土壤微生物群落多样性和结构,从而对生态系统产生影响,因此,环境因子是影响土壤

微生物群落功能的关键因素[22—24]。然而在干旱地区土壤微生物群落对环境因子的变化更加敏感,土壤盐分和养分积累可能对微生物群落结构产生相反的影响,这种影响是微生物群落分类所依赖的,驱动微生物群落变化的关键因素尚不清楚,需要进一步明确。氮元素被认为是干旱陆地生态系统生产力的主要限制因素[25],而干旱区荒漠土壤氮的储存主要通过生物固氮的方式[26]。已有的研究主要针对固沙植被恢复过程中土壤微生物群落整体变化情况[27—28]。然而,针对干旱区荒漠人工固沙植被恢复过程中土壤细菌群落氮代谢及相关功能基因的研究甚少。揭示干旱区荒漠土壤中微生物群落的功能作用对于理解极端环境下的化学循环具有重要意义,同时对土壤微生物氮代谢及功能基因的研究也是揭示土壤固氮的关键。因此急需探究人工固沙植被恢复过程中土壤细菌群落氮代谢及相关功能基因。

基于此,本文以河西走廊中段临泽荒漠绿洲过渡带不同种植年限梭梭林为研究对象,取表层土样(0—10 cm)探究土壤细菌群落结构、多样性、氮代谢途径和功能基因对梭梭恢复的响应,分析影响细菌群落结构的关键环境因子。本研究旨在揭示干旱区荒漠人工固沙植被恢复过程中土壤细菌群落结构及其生态功能,为干旱区荒漠植被-土壤系统恢复评估提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于河西走廊中段临泽平川绿洲外围人工固沙植被区(39°09′—39°19′N,100°02′—100°21′E,海拔 1375—1393 m)(图 1)。本区域为典型的温带荒漠气候:年均气温约 7.6℃,年均降水量约 117 mm,年均蒸发量约 2390 mm。年均风速约 3.2 m/s,大风日数(>17 m/s)超过 15 d,风沙活动主要发生在 3—5 月,地下水位埋深 3—8 m[29—30]。土壤为风沙土,有机质含量低,结构松散,易受风蚀[7]。沙拐枣(*Calligonum mongolicum*)和泡泡刺(*Nitraria tangutorum*)是绿洲边缘主要的天然植被。白茎盐生草(*Halogeton arachnoideus*)、碱蓬(*Suaeda przewalskii*)、沙蓬(*Agriophyllum squarrosum*)和雾冰藜(*Bassia dasyphylla*)是主要的一年生草本植物。该区域荒漠化在 20 世纪下半叶迅速发展,并在 1970 年代中期达到顶峰,开始大面积种植以梭梭为主的固沙灌木。2000 年以来,本区域实施了以固沙造林为重点的生态修复和建设项目,在绿洲边缘流动沙地营造了不同时间序列的梭梭人工林景观[30]。

1.2 调查取样

过去研究发现,该区域流动沙丘土壤质地(砂、粉砂、黏粒含量)和有机质含量随时间变化无显著差异,表明在种植植被前土壤特征相似[7]。2020 年 9 月,选择流动沙地(对照,Ms)及不同建植年限(3、6、11、19、28a 和 46a)的梭梭林样地(图 1),共 7 个处理。每个处理建立 3 个重复样方(20 m × 20 m),共 21 个样方,样方间距大于 100 m。在每个样方中选择长势相近的 5 棵梭梭,对其生长状况基茎、株高、冠幅、枯枝率进行调查取样,如表 1。土壤取样方法:在每棵梭梭冠层下随机选择两个取样点,去除表层凋落物,采取 0—10 cm 土样,然后,将每个样方中的 10 个(5 × 2)样品混合,得到每个样方的复合样。期间,为防止样品污染,采用 75% 酒精对铁铲灭菌消毒,以保证土壤微生物样品采集在无菌条件进行。同时用铝盒采集土壤样品,用于测定土壤含水量。所有土壤样品置于 4℃ 便携式保温箱保存,运

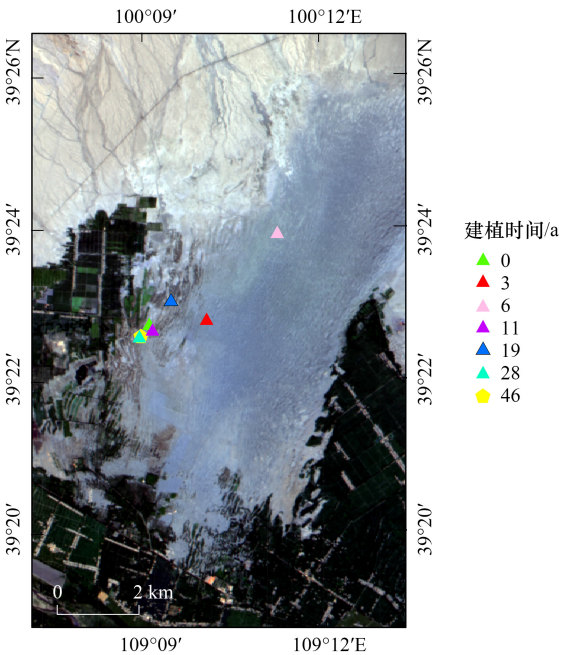

图 1 临泽县荒漠-绿洲过渡带采样点分布

Fig.1 Distribution of sampling sites in a desert-oasis ecotone of Linze county

会实验室后,一部分鲜土立刻转入-80℃冰箱中保存,另一部分土样风干后用于土壤 pH、电导率(EC)和土壤养分分析。

表 1　不同种植年限梭梭生长特征

Table 1　Growth characteristics of *H. ammodendron* at different plantation ages

样地 Sites	密度 Density	基茎 Stem diameter/cm	株高 Height/m	冠幅 Canopy area/m^2	枯枝率 Deadwood proportion/%
Y3	2m × 2m	1.42	0.95	0.39	0.00
Y6	1m × 2m	4.69	1.75	1.78	0.00
Y11	1m × 2m	5.28	2.15	1.66	20.11
Y19	1m × 2m	7.44	2.99	2.30	26.22
Y28	1m × 2m	11.16	3.93	3.89	40.89
Y46	1m × 2m	13.89	4.19	7.49	43.00

Y3:3 年样地 3-year plot;Y6:6 年样地 6-year plot;Y11:11 年样地 11-year plot;Y19:19 年样地 19-year plot;Y28:28 年样地 28-year plot;Y46:46 年样地 46-year plot

1.3　土样理化性质分析

烘干称重法(105℃下烘 24 h)测定土壤含水量(SM),采用 Multiline F/SET-3(WTW,德国)在土水比分别为 1∶1 和 1∶5 下测定土壤 pH 和 EC。采用外加热-重铬酸钾法测定土壤有机碳(SOC),碱扩散法测定碱解氮(AN),碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定速效磷(AP),乙酸铵浸提-火焰光度法测定速效钾(AK)。H_2SO_4-H_2O_2消煮-钼锑抗比色法测定总磷(TP),总氮(TN)和总碳(TC)采用元素分析仪测定(Vario Macro Cube elementar, 德国)[31]。

1.4　扩增子测序

取 0.5 g 鲜重土样,使用 Fast DNA® SPIN 试剂盒提取土样总 DNA,使用 NanoDrop2000 紫外可见分光光度计检测 DNA 浓度和纯度。通过 ABI GeneAmp® 9700 PCR 热循环仪,使用引物 338F(5′-ACTCCTACG GGAGGCAGCAG-3′)和 806R(5′-GGACTACHVGGGTWTCT AAT-3′)对 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区进行聚合酶链式反应(PCR)扩增。采用 Illumina 公司的 NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq Kit 进行建库,采用 MiSeq PE300 平台进行高通量测序。使用 FASTP 软件对原始 16S rRNA 基因测序数据进行质控,使用 FLASH 软件进行拼接。使用 UPARSE 软件在 97%的相似度水平下进行操作分类单元(OTU)聚类。具有相同条形码的序列分类到同一样本中,使用 USEARCH 程序中的 UCHIME 算法识别并剔除嵌合体。利用 RDP 分类器对每条序列进行物种分类注释,比对 SILVA 16S rRNA 数据库(https://www. arb-silva.de/),设置比对阈值为 70%。细菌高通量测序原始序列上传至美国生物技术信息中心(NCBI)数据库,项目编号为 PRJNA778042。

1.5　数据分析

OTUs 的分类水平按照所有样本中最少的序列数进行均一化。采用 SPSS 软件进行单因素方差分析(ANOVA)和最小显著性差异(LSD)多重比较,对不同生长年限梭梭林的土壤理化性质和细菌群落 α 多样性进行检测,在 $P<0.05$ 水平上判断显著差异。采用基于布雷柯蒂斯距离 (Bray-Curtis distance)的分层聚类和非度量多维尺度(NMDS)分析,在细菌属水平检测不同种植年限梭梭林间土壤细菌群落结构差异。使用韦恩图(Venn)分析不同生长年限梭梭林土壤中共有和特有的 OTUs,使用 R 语言工具统计和作图。基于细菌门水平丰度,采用 SPSS 软件进行 Spearman 分析土壤细菌群落组成与土壤环境因子的关系。

2　结果

2.1　土壤理化性质

梭梭生长显著提高了土壤养分、盐分和含水率($P<0.05$)。随梭梭种植年限增加,土壤 TC、TN、TP、SOC、AP、AK、EC 和 SM 显著增加,在个别样地间差异不显著。然而 AN 随梭梭生长呈先降低后增加的趋势。梭梭

种植后土壤 pH 显著高于无植被沙地,但不同种植年限梭梭林间无显著差异(表 2)。

表 2 梭梭生长对土壤理化性质的影响

Table 2 Effects of *H. ammodendron* growth on soil physicochemical properties

土壤参数 Soil parameters	MS	Y3	Y6	Y11	Y19	Y28	Y46
土壤含水率 SM/% Soil moisture	0.40±0.08de	0.35±0.08e	0.33±0.03e	0.56±0.08cd	0.89±0.08b	1.58±0.11a	1.62±0.19a
酸碱度 pH pH value	9.28±0.16c	10.05±0.13ab	10.08±0.02ab	10.03±0.05ab	10.09±0.01a	9.87±0.20b	9.98±0.12ab
电导率 EC/(μs/cm) Electrical conductivity	130.27±3.93e	306.00±10.39de	438.00±91.39cd	522.00±100.64c	713.67±96.26bc	721.00±71.34b	987.00±227.66a
有机碳 SOC/(g/kg) Organic carbon	0.35±0.03d	0.42±0.04d	1.22±0.09c	1.63±0.13b	1.89±0.07b	2.80±0.54a	2.76±0.13a
总碳 TC/(g/kg) Total carbon	4.98±0.11d	5.32±0.03d	6.96±0.53c	7.40±0.16bc	8.43±0.88ab	8.72±1.65a	9.64±0.23a
总氮 TN/(g/kg) Total nitrogen	0.28±0.04c	0.22±0.00d	0.30±0.01c	0.38±0.03b	0.38±0.01b	0.52±0.01a	0.52±0.03a
总磷 TP/(g/kg) Total phosphorus	0.46±0.02d	0.49±0.01cd	0.56±0.02cd	0.57±0.00c	0.68±0.07ab	0.67±0.08abc	0.70±0.10a
碱解氮 AN/(mg/kg) Available nitrogen	25.38±2.13b	20.96±0.52cd	19.63±0.65d	19.86±1.15d	23.04±0.91bcd	24.33±0.73bc	29.39±1.09a
速效磷 AP/(mg/kg) Available phosphorus	2.33±0.29c	2.52±0.50c	3.40±0.81c	13.37±0.46b	13.94±4.70b	26.85±3.47a	23.45±3.29a
速效钾 AK/(mg/kg) Available potassium	103.33±5.77d	120.00±0.00d	210.00±65.57c	353.33±41.63b	380.00±0.00b	510.00±60.83a	546.67±25.17a

MS:流动沙地 Moving sandy land;同一行不同小写字母表示各参数在 $P<0.05$ 水平上差异显著

2.2 土壤细菌群落组成

本研究共获得 856,876 个细菌序列,每个样地平均有 40,804 个序列,根据 97%的相似度对序列进行 OTU 聚类得到 4165 个 OTUs。鉴定出 38 个细菌门,108 个纲、265 个目、458 个科、824 个属、1492 个种(表 3)。在 OTU 水平上,不同样点共有 554 个物种,无植被沙地、梭梭生长 3、6、11、19、28 年和 46 年时土壤中分别有 31、44、668、100、102、129 和 100 个特有的物种(图 2)。不同样点的共有物种中丰度>1%的 OTUs 占 38.6%(图 2)。

表 3 不同种植年限土壤细菌测序信息统计

Table 3 Statistics of soil bacteria sequencing information in different sand-fixing years

样地 Sites	有效序列 Number of effective sequences	操作分类单元(OTUs) Operational taxonomic units	分类水平 Classification levels					
			门 Phylum	纲 Class	目 Order	科 Family	属 Genus	种 Species
MS	32391	1512	24	62	152	246	445	756
Y3	38640	1639	27	68	160	258	450	783
Y6	38479	2453	34	92	220	362	625	1088
Y11	45819	1991	29	74	177	300	510	877
Y19	36358	2147	27	75	181	297	507	901
Y28	45593	2180	30	80	193	317	536	931
Y46	48346	2065	28	76	180	296	525	933

图 3 表示土壤优势细菌门聚类热图,根据物种丰度和相似度将样本分为 4 个分支,即梭梭种植 3a 和 6a 相近,11a、19a、28a 和 46a 相近,无植被沙地与其它样地存在差异。根据物种相对丰度将细菌门分为两个主要分支:粘球菌门(Myxococcota)-浮霉菌门(Planctomycetota)和放线菌门(Actinobacteriota)-芽单胞菌门

(Gemmatimonadota)。放线菌门(Actinobacteriota)和变形菌门(Proteobacteria)在不同种植年限梭梭林土壤中占绝对优势。

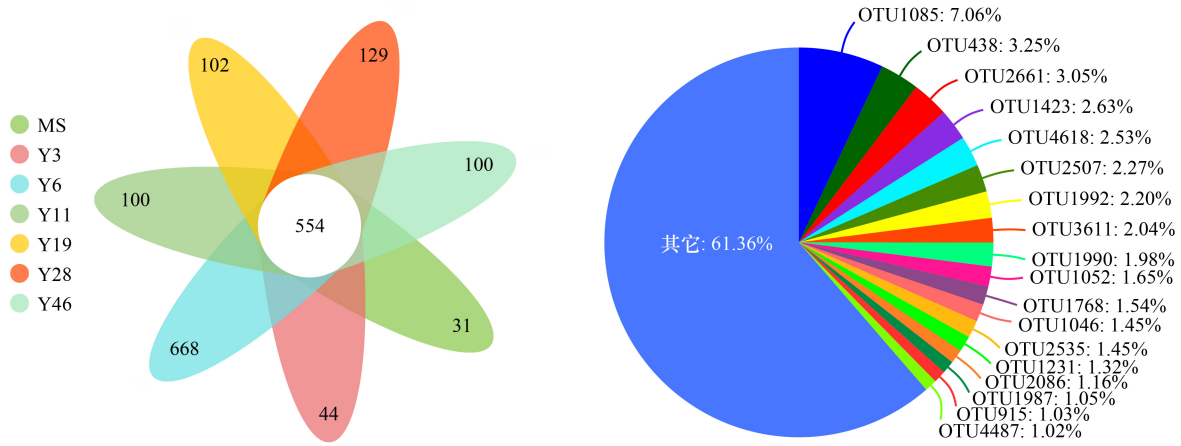

图 2　OTU 水平细菌群落特有物种和共有物种以及共有物种(丰度>1%)占比

Fig.2　The number of unique and common species and the proportion of common species (abundance >1%) **in bacterial community at OTU level**

MS:流动沙地 Moving sandy land; Y3:3 年样地 3-year plot;Y6:6 年样地 6-year plot;Y11:11 年样地 11-year plot;Y19:19 年样地 19-year plot;Y28:28 年样地 28-year plot;Y46:46 年样地 46-year plot; OTU:操作分类单元 Operational taxonomic unit

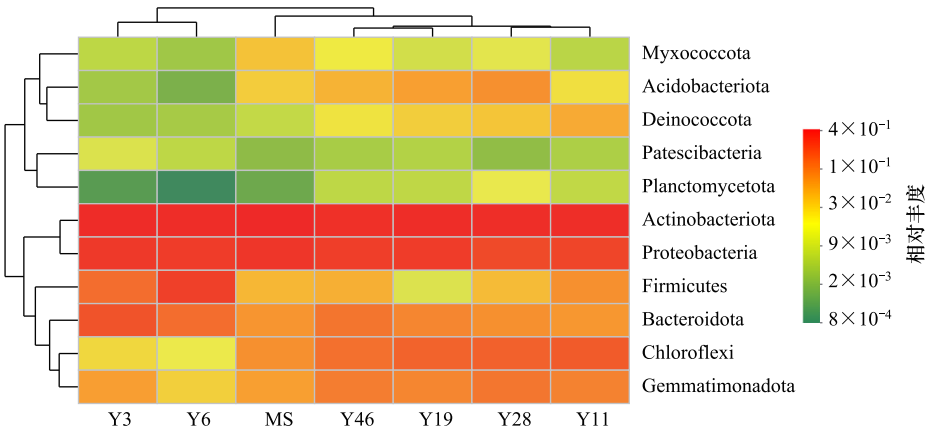

图 3　土壤优势(相对丰度>1%)细菌门热图

Fig.3　Heat map of soil dominant bacterial phyla (relative abundance>1%)

Myxococcota:粘球菌门; Acidobacteriota:酸杆菌门; Deinococcota:栖热菌门; Patescibacteria:髌骨细菌门; Planctomycetota:浮霉菌门; Actinobacteriota:放线菌门;Proteobacteria:变形菌门;Firmicutes:厚壁菌门;Bacteroidota:拟杆菌门;Chloroflexi:绿弯菌门;Gemmatimonadota:芽单胞菌门

2.3　土壤细菌群落多样性和结构

梭梭生长对土壤细菌群落多样性有显著影响($P<0.05$)(图 4)。随梭梭种植年限增加,土壤细菌群落 Shannon 多样性指数呈增加趋势,显著性差异发生在种植 6a 以上的梭梭林,在梭梭生长 28a 时达到最大值 5.83。土壤细菌 Chao 指数随梭梭种植年限的增加出现波动,可能是由于有机质的可用性降低所导致的,但整体呈现增加的趋势。

样本层级聚类分析距离 Heatmap 图显示,不同年限梭梭林土壤细菌群落主要分为 3 个类群,同一种植年限梭梭林土壤细菌群落间的距离最近,无植被沙地土壤细菌群落与其它样地间的距离较远。种植 3a 和 6a 的

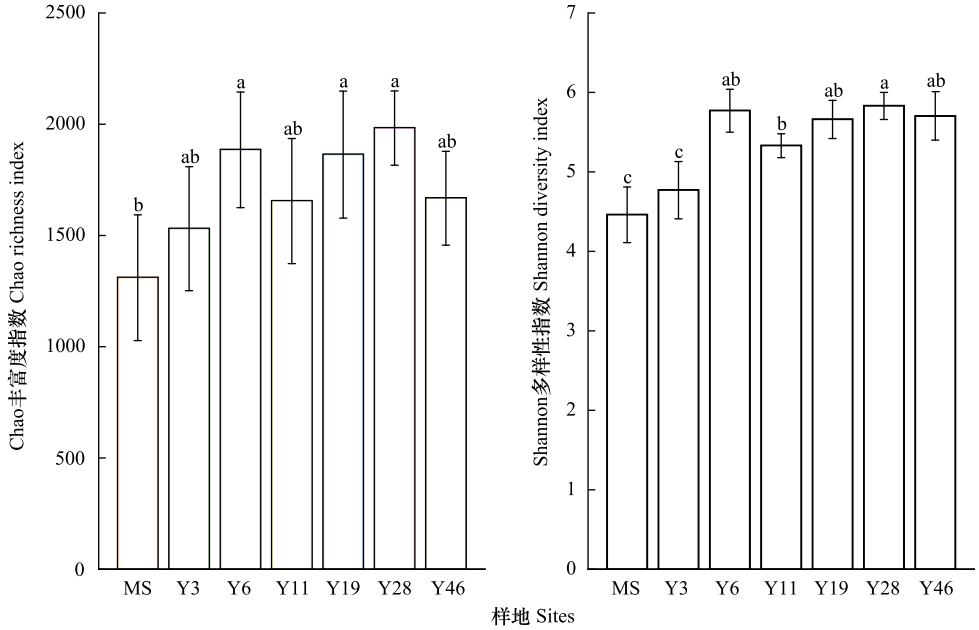

图 4 梭梭生长对土壤细菌群落 α 多样性的影响

Fig.4 Effects of *H. ammodendron* growth on alpha diversity of soil bacterial communities

不同字母表示多样性指数在不同年限间的差异显著($P<0.05$)

梭梭林土壤细菌群落距离较近,表明梭梭生长 3a 和 6a 时土壤细菌群落结构相似,其余四个年限梭梭林土壤细菌群落间距离也较近(图 5)。NMDS 分析表明梭梭的建立及生长显著影响土壤细菌群落结构($P<0.01$)(图 5)。土壤细菌群落与环境因子的 Spearman 相关性分析显示,土壤 SM、SOC、AP 和 AK 显著影响土壤细菌群落组成($P<0.05$)(表 4),且呈显著正相关。

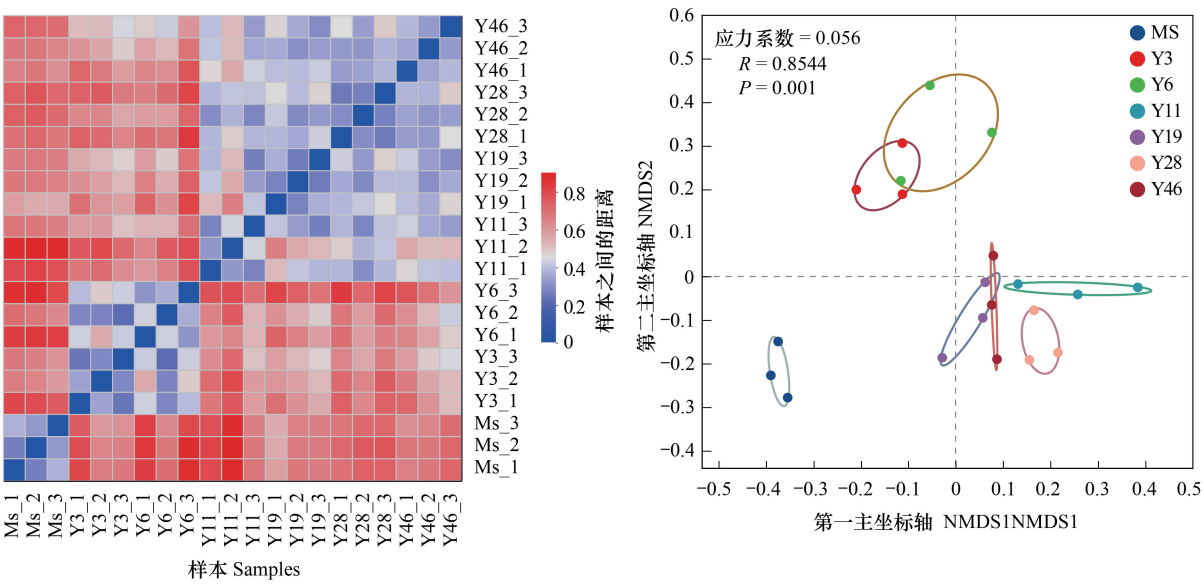

图 5 属水平上的样本距离 Heatmap 图和 NMDS 分析

Fig.5 Samples distance heatmap and NMDS analysis on genus level

NMDS:非度量多维尺度分析 Non-metric multidimensional scaling

表 4　土壤细菌群落与环境因子的 Spearman 相关性

Table 4　Spearman's correlations of soil bacterial communities with environmental factors

环境因子 Environmental factors	总细菌 Total bacteria		环境因子 Environmental factors	总细菌 Total bacteria	
	R	*P*		*R*	*P*
土壤含水率 SM Soil moisture	0.3106	0.004*	总氮 TN Total nitrogen	0.0937	0.211
酸碱度 pH pH value	−0.1734	0.953	总磷 TP Total phosphorus	−0.1558	0.942
电导率 EC Electrical conductivity	−0.1424	0.894	速效磷 AP Available phosphorus	0.4754	0.001*
有机碳 SOC Organic carbon	0.2315	0.012*	速效钾 AK Available potassium	0.4317	0.001*
总碳 TC Total carbon	−0.0686	0.756	碱解氮 AN Available nitrogen	−0.0344	0.576

R 值表示 Spearman 相关系数;数字上角标 * 表示在 $P<0.05$ 水平上相关性显著

2.4　土壤细菌群落氮代谢和功能基因

根据基因测序结果对应的 KO 值映射到京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库得到氮代谢通路图及氮代谢相关的酶。土壤细菌群落氮代谢途径包括硝化、同化硝酸盐还原、异化硝酸盐还原、反硝化和固氮反应(图 6)。氮代谢相关功能基因结果显示同化和异化硝酸盐还原相关基因丰度较高,而硝化过程相关的 *Amo*、*hao* 和 *hcp* 基因丰度的预测比例很低,尤其在无植被沙地中,平均丰度为 8.9×10^{-5}%。同化硝酸盐还原相关基因以 *nirA* 和 *nasA* 为主,异化硝酸盐还原相关基因以 *nirBD* 为主,并在无植被沙地、种植 3a 和 6a 的梭梭林土壤中高于其它样地。反硝化相关的基因丰度随梭梭生长呈现降低趋势,固氮相关基因 *nifDHK* 和 *anfG* 在 0a、3a 和 6a 的梭梭林中高于其它样地(图 6)。不同年限梭梭林土壤硝酸盐还原基因(NRG)丰度是氨氧化基因(AOG)的 17.5—126.9 倍(图 6),随梭梭种植年限增加,NRG/AOG 呈现降低趋势。

3　讨论

梭梭属荒漠盐生植物,生长发育过程中吸收大量盐分,盐分积累可以降低组织渗透势和水势,增强水分吸收动力,通过积累盐分增强抗旱能力[32],梭梭吸收的盐分通过凋落物进入土壤,引起土壤盐分的积累。梭梭建立后通过其根系分泌物、凋落物或木质碎屑向土壤中输入有机物质,提高土壤养分含量,同时固沙梭梭的建立减少了太阳辐射,土壤含水率随梭梭生长增加[30—32]。流动沙地种植梭梭后显著改变了土壤细菌群落结构,这是由于梭梭建立引起土壤有机质等的变化,进而引起土壤微生物群落结构的改变。随梭梭种植年限增加,土壤放线菌门(Actinobacteriota)和变形菌门(Proteobacteria)占绝对优势,说明梭梭恢复过程中放线菌和变形菌属于关键的细菌类群,这与孙沛沛等[33]在科尔沁沙地和毛乌素沙地的研究相似,表明放线菌和变形菌对干旱环境的普遍适应。放线菌属于革兰氏阳性菌,有助于分解复杂的有机化合物和有机质,并对土壤碳储量有很大贡献[34]。梭梭生长发育过程中酸杆菌门(Acidobacteriota)、绿弯菌门(Chloroflexi)和浮霉菌门(Planctomycetota)丰度的显著增加可能与作为细菌群落生长基质的土壤养分含量增加有关。土壤 pH 被广泛认为是影响微生物群落结构的重要因素[24],然而本研究发现梭梭生长引起的土壤养分(SOC、AP 和 AK)和水分增加是显著影响细菌群落结构的关键非生物因子,此前在库布齐沙地和呼伦贝尔沙地的研究中也发现类似的结果[35—36],这是由于相比土壤养分含量的显著增加,土壤 pH 增加较小所导致,同时表明土壤细菌群落结构与碳、磷和钾等营养元素密切相关。

土壤细菌群落多样性对增强胁迫环境下土壤生态系统稳定性和功能至关重要。流动沙地种植梭梭后显著提高了土壤细菌群落多样性,并随着梭梭种植年限增加显著增加,表明植被恢复对细菌群落多样性产生正效应,说明植被恢复后,地上部凋落物和根系代谢产物等不断积累,土壤环境得到改善,适合微生物的繁殖生长。库布齐沙地的研究表明人工锦鸡儿恢复过程中土壤细菌多样性也显著增加[35],这主要是由于流动沙地土壤资源贫瘠、环境恶劣,不利于细菌群落生长,而在人工固沙植被种植并随着其生长,植被生物量、根系分泌物以及草本植物物种的增加为土壤细菌群落生长提供了更加多样化的资源和生态位,为细菌群落生长创造了良好的生存环境[28,37]。土壤细菌群落多样性的增加表明植被-土壤生态系统稳定性得到一定改善,并且对土

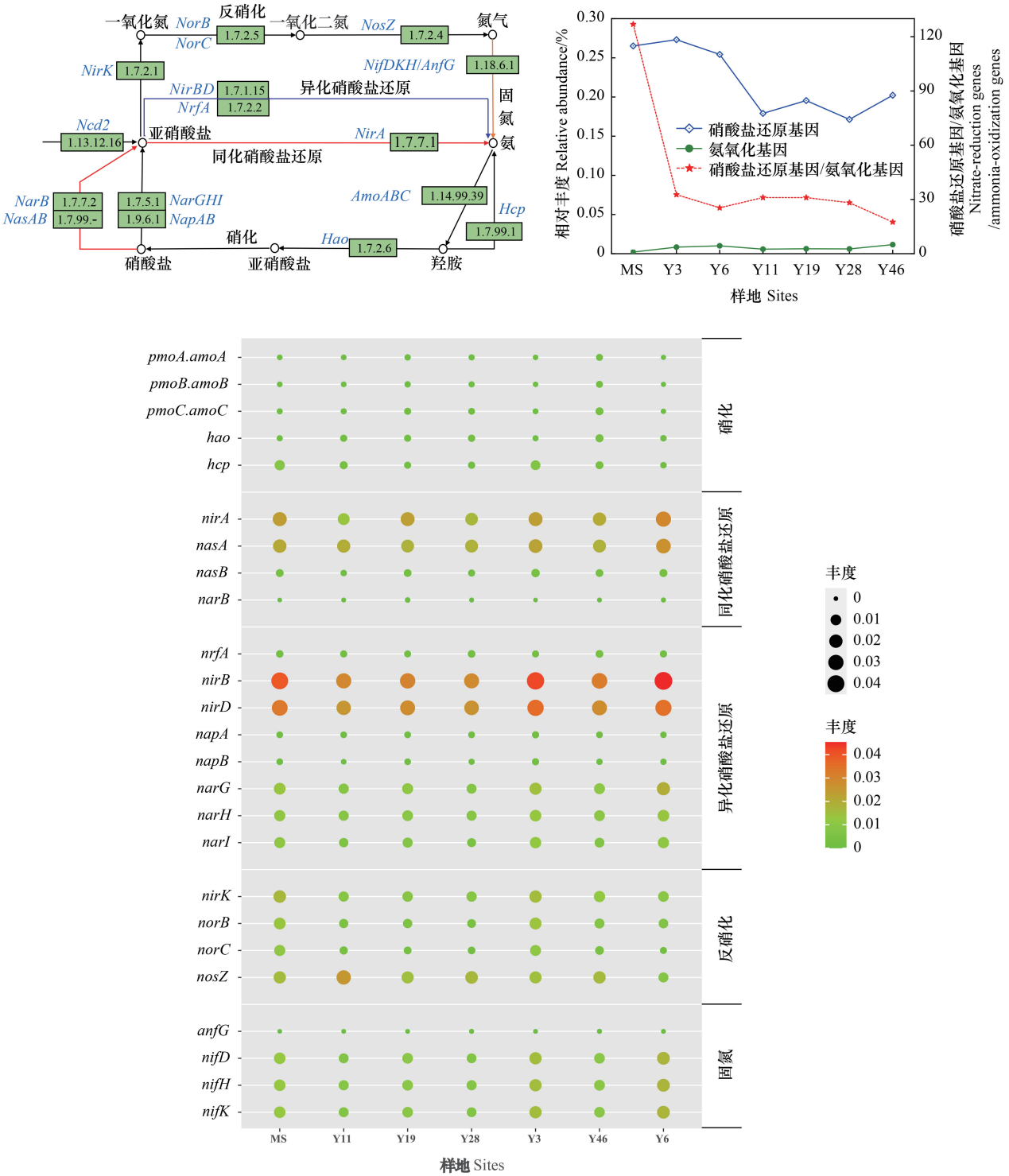

图 6 不同种植年限梭梭林土壤细菌群落氮代谢相关功能基因

Fig.6 Functional genes related to nitrogen metabolism in soil bacterial community of *H. ammodendron* with different planting years

壤养分循环产生积极影响[38]。然而,在干旱和半干旱区土壤细菌群落多样性并没有随撂荒耕地的演替、蒿类植被和樟子松人工林的建立发生显著变化[33,36,39],这与植被的覆盖率等有关。有关草地生态系统的研究表明,土壤微生物群落多样性和丰富度均随恢复时间显著提高[17]。而本研究发现土壤细菌群落丰富度指数并未随梭梭种植年限增加显著提高,这主要是由于干旱荒漠生态系统相比草地生态系统,土壤微生物可利用的

资源有限。

植被恢复对土壤细菌群落结构和多样性的影响会进一步影响细菌群落代谢功能。氮元素被认为是干旱陆地生态系统生产力的主要限制因素[25],荒漠土壤氮的积累主要通过生物固氮的方式储存[26]。研究表明不同种植年限梭梭林土壤中参与氮代谢的基因丰度不同,这一结果有助于解释细菌群落介导的功能基因的变化。氮代谢和固氮基因预测比例相对较低,说明干旱区荒漠生态系统中细菌氮代谢功能较弱,固氮相关基因转录不活跃,这是荒漠土壤固氮水平较低的主要原因。因此,只有少量的新固定氮可用于土壤微生物和植物生长,随着梭梭恢复,其生长所需的氮素无法得到补充,导致植物生长缓慢。有关沙特沙漠的研究表明,与氮代谢相关的功能基因的丰度也很低[40],这是由于干旱区土壤环境不利于固氮菌的生长繁殖,进而导致固氮基因丰度较低。氮代谢相关功能基因主要以同化和异化硝酸盐还原为主,说明在荒漠土壤细菌氮代谢过程中硝酸盐同化和异化还原活跃,在土壤氮循环中起关键作用。本研究未检测到功能性厌氧氨氧化酶(*Hdh* 和 *Hzs*),Ren 等[41]在塔里木盆地土壤样品中也未检测到厌氧氨氧化途径,说明厌氧氨氧化途径在荒漠生态系统中无重要的生态意义。固沙梭梭人工林建立后,土壤硝酸盐还原基因(NRG)丰度显著高于氨氧化基因(AOG),表明在氮代谢过程中反硝化速率大于硝化速率。Liu 等[42]在腾格里沙漠的研究表明,异养菌在厌氧条件下通过反硝化途径刺激土壤氮损失,导致土壤氮含量较低。而本研究中反硝化相关的基因丰度随梭梭种植年限增加而下降,表明反硝化过程逐渐减弱;NRG/AOG 也呈现降低趋势,表明梭梭人工林建立有助于土壤氮的积累,并在一定程度上提高土壤细菌的氮代谢,从而促进细菌对氮素的吸收和利用。

4　结论

荒漠绿洲过渡带种植人工固沙梭梭林后,梭梭生长发育显著改变了土壤细菌群落组成和结构,并显著提高了土壤细菌群落多样性。土壤 SM、SOC、AP 和 AK 是显著影响土壤细菌群落结构的关键因子。梭梭恢复过程中土壤细菌群落氮代谢途径主要以同化和异化硝酸盐还原为主,随梭梭种植年限的增加,土壤硝酸盐还原基因/氨氧化基因(NRG/AOG)呈下降趋势,说明沙地种植梭梭人工林有助于促进土壤细菌氮代谢,进而在一定程度上助于土壤氮的积累。本研究有助于深入认识干旱区荒漠人工植被恢复过程中土壤-微生物相互作用及成土的生物学过程。

参考文献(References):

[1] 苏永中, 刘婷娜. 流动沙地建植人工固沙梭梭林的土壤演变过程. 土壤学报, 2020, 57(1): 84-91.

[2] Liu J L, Wang Y G, Yang X H, Wang B F. Genetic variation in seed and seedling traits of six *Haloxylon ammodendron* shrub provenances in desert areas of China. Agroforestry Systems, 2011, 81(2): 135-146.

[3] Zhang K, Su Y Z, Liu T N, Wang T. Leaf C: N: P stoichiometrical and morphological traits of *Haloxylon ammodendron* over plantation age sequences in an oasis-desert ecotone in North China. Ecological Research, 2016, 31(3): 449-457.

[4] Cao S X, Chen L, Shankman D, Wang C M, Wang X B, Zhang H. Excessive reliance on afforestation in China's arid and semi-arid regions: lessons in ecological restoration. Earth-Science Reviews, 2011, 104(4): 240-245.

[5] 吉小敏, 宁虎森, 梁继业, 高明月, 李磊. 不同水分条件下梭梭和多花柽柳苗期光合特性及抗旱性比较. 中国沙漠, 2012, 32(2): 399-406.

[6] Zhu Y J, Jia Z Q. Soil water utilization characteristics of *Haloxylon ammodendron* plantation with different age during summer. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(6): 341-346.

[7] Zhang K, Su Y Z, Wang T, Liu T N. Soil properties and herbaceous characteristics in an age sequence of *Haloxylon ammodendron* plantations in an oasis-desert ecotone of northwestern China. Journal of Arid Land, 2016, 8(6): 960-972.

[8] An F J, Su Y Z, Niu Z R, Liu T N, Wang X F. Soil nematode community composition, diversity, and soil properties in an age sequence of *Haloxylon ammodendron* plantations in an oasis-desert ecotone of northwestern China. Arid Land Research and Management, 2021, 35(4): 463-482.

[9] Cao Y F, Li Y, Li C H, Huang G, Lü G H. Relationship between presence of the desert shrub *Haloxylon ammodendron* and microbial communities in two soils with contrasting textures. Applied Soil Ecology, 2016, 103: 93-100.

[10] Bardgett R D, van der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. Nature, 2014, 515(7528): 505-511.

[11] Bonfante P, Anca I A. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. Annual Review of Microbiology, 2009, 63: 363-383.

[12] 胡凯, 陶建平, 黄科, 胡靖, 王微. 模拟根系分泌物碳输入对凋落叶分解中微生物群落动态的影响. 应用与环境生物学报, 2020, 26(2): 417-424.

[13] Chen L F, He Z B, Zhao W Z, Liu J L, Zhou H, Li J, Meng Y Y, Wang L S. Soil structure and nutrient supply drive changes in soil microbial communities during conversion of virgin desert soil to irrigated cropland. European Journal of Soil Science, 2020, 71(4): 768-781.

[14] Zeng Q C, An S S, Liu Y. Soil bacterial community response to vegetation succession after fencing in the grassland of China. Science of the Total Environment, 2017, 609: 2-10.

[15] 石万里, 王辉, 马维伟. 沙区植被恢复对土壤微生物量及活性的影响. 中国沙漠, 2017, 37(3): 507-513.

[16] 周虹, 刘雲祥. 青海共和盆地人工固沙植被恢复对土壤微生物数量的影响. 干旱区资源与环境, 2022, 36(1): 178-185.

[17] Guo Y Q, Hou L J, Zhang Z Y, Zhang J L, Cheng J M, Wei G H, Lin Y B. Soil microbial diversity during 30 years of grassland restoration on the Loess Plateau, China: tight linkages with plant diversity. Land Degradation & Development, 2019, 30(10): 1172-1182.

[18] Bastida F, Hernández T, Albaladejo J, García C. Phylogenetic and functional changes in the microbial community of long-term restored soils under semiarid climate. Soil Biology and Biochemistry, 2013, 65: 12-21.

[19] Sun Y F, Zhang Y Q, Feng W, Qin S G, Liu Z, Bai Y X, Yan R, Fa K Y. Effects of xeric shrubs on soil microbial communities in a desert in northern China. Plant and Soil, 2017, 414(1): 281-294.

[20] 王静娅, 王明亮, 张凤华. 干旱区典型盐生植物群落下土壤微生物群落特征. 生态学报, 2016, 36(8): 2363-2372.

[21] 黄龙, 包维楷, 李芳兰, 胡慧. 土壤结构和植被对土壤微生物群落的影响. 应用与环境生物学报, 2021, 27(6): 1725-1731.

[22] 丁玲玲, 祁彪, 尚占环, 龙瑞军, 陈秀蓉, 徐长林, 周启星. 东祁连山亚高山草地土壤微生物功能群数量动态及其与土壤环境关系. 草业学报, 2007, 16(2): 9-18.

[23] 吴文超, 岳平, 崔晓庆, 李凯辉, 刘学军. 古尔班通古特沙漠土壤微生物碳氮对环境因子的响应. 干旱区研究, 2018, 35(3): 515-523.

[24] Kang B T, Bowatte S, Hou F J. Soil microbial communities and their relationships to soil properties at different depths in an alpine meadow and desert grassland in the Qilian Mountain range of China. Journal of Arid Environments, 2021, 184: 104316.

[25] Hooper D U, Johnson L. Nitrogen limitation in dryland ecosystems: responses to geographical and temporal variation in precipitation. Biogeochemistry, 1999, 46(1): 247-293.

[26] Belnap J. Nitrogen fixation in biological soil crusts from southeast *Utah*, USA. Biology and Fertility of Soils, 2002, 35(2): 128-135.

[27] 吕星宇, 张志山. 固沙植被区土壤质地与土壤微生物数量的关系. 中国沙漠, 2019, 39(5): 71-79.

[28] Li J, Tong X G, Awasthi M K, Wu F Y, Ha S E, Ma J Y, Sun X H, He C. Dynamics of soil microbial biomass and enzyme activities along a chronosequence of desertified land revegetation. Ecological Engineering, 2018, 111: 22-30.

[29] 安芳娇, 苏永中, 牛子儒, 刘婷娜. 干旱区流动沙地建植梭梭(*Haloxylon ammodendron*)林后细粒物质输入对土壤碳氮积累的影响. 中国沙漠, 2021, 41(5): 147-156.

[30] Su Y Z, Zhao W Z, Su P X, Zhang Z H, Wang T, Ram R. Ecological effects of desertification control and desertified land reclamation in an oasis-desert ecotone in an arid region: a case study in Hexi Corridor, northwest China. Ecological Engineering, 2007, 29(2): 117-124.

[31] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 25-55.

[32] 郗金标, 张福锁, 陈阳, 毛达如, 尹传华, 田长彦. 盐生植物根冠区土壤盐分变化的初步研究. 应用生态学报, 2004, 15(1): 53-58.

[33] 孙沛沛, 钱朝菊, 尹晓月, 范兴科, 王进, 燕霞, 马小飞, 王涛. 半干旱区沙地蒿类植被建成对土壤细菌的影响. 生态学报, 2020, 40(16): 5783-5792.

[34] Arcand M M, Helgason B L, Lemke R L. Microbial crop residue decomposition dynamics in organic and conventionally managed soils. Applied Soil Ecology, 2016, 107: 347-359.

[35] 戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 吴洪新, 徐林波, 侯向阳, 高丽, 崔艳伟. 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究. 土壤学报, 2017, 54(3): 735-748.

[36] 丁钰珮, 杜宇佳, 高广磊, 张英, 曹红雨, 朱宾宾, 杨思远, 张儆醒, 邱业, 刘惠林. 呼伦贝尔沙地樟子松人工林土壤细菌群落结构与功能预测. 生态学报, 2021, 41(10): 4131-4139.

[37] 王彦武, 罗玲, 张峰, 陈天林. 河西绿洲荒漠过渡带梭梭林土壤保育效应. 土壤学报, 2019, 56(3): 749-762.

[38] Torsvik V, Øvreås L. Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. Current Opinion in Microbiology, 2002, 5(3): 240-245.

[39] Lozano Y M, Hortal S, Armas C, Pugnaire F I. Interactions among soil, plants, and microorganisms drive secondary succession in a dry environment. Soil Biology and Biochemistry, 2014, 78: 298-306.

[40] Khan M A, Khan S T. Microbial communities and their predictive functional profiles in the arid soil of Saudi Arabia. SOIL, 2020, 6(2): 513-521.

[41] Ren M, Zhang Z F, Wang X L, Zhou Z W, Chen D, Zeng H, Zhao S M, Chen L L, Hu Y L, Zhang C Y, Liang Y X, She Q X, Zhang Y, Peng N. Diversity and contributions to nitrogen cycling and carbon fixation of soil salinity shaped microbial communities in Tarim Basin. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 431.

[42] Liu Y B, Zhao L N, Wang Z R, Liu L C, Zhang P, Sun J Y, Wang B Y, Song G, Li X R. Changes in functional gene structure and metabolic potential of the microbial community in biological soil crusts along a revegetation chronosequence in the Tengger Desert. Soil Biology and Biochemistry, 2018, 126: 40-48.