

DOI: 10.20103/j.stxb.202311222558

张清杭, 吕杰, 马媛, 李二阳, 沈畅, 陈静. 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮微生物结构和潜在功能. 生态学报, 2024, 44(14): 6317-6330.

Zhang Q H, Lü J, Ma Y, Li E Y, Shen C, Chen J. Microbial community structure and potential function of algal crusts in different regions of Gurbantunggut Desert, Xinjiang, China. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(14): 6317-6330.

古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮微生物结构和潜在功能

张清杭^{1,2}, 吕杰³, 马媛^{1,2,*}, 李二阳^{1,2}, 沈畅^{1,2}, 陈静^{1,2}

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:藻类结皮形成和发育,能够提高土壤稳定性并增加土壤有机质含量,为微生物生长、繁殖和草本植物拓殖创造条件。因此,藻类结皮潜在功能对后续生物结皮及生态系统演替具有重要意义。然而,古尔班通古特沙漠藻类结皮营养循环相关微生物及潜在功能机制尚不清楚。以古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮为研究对象,采用宏基因组测序技术,研究藻类结皮微生物群落及碳氮循环功能基因特征。研究结果表明蓝藻菌门、变形菌门、放线菌门是藻类结皮中主要微生物类群,在沙漠固碳和氮循环中起到重要作用。微生物 α 多样性结果显示仅物种丰富度指数在三个区域内存在显著差异。 β 多样性结果显示藻类结皮未因沙漠局部气候及理化因子差异产生微生物群落分化。而微生物群落功能基因对环境变化响应要比微生物群落更为敏感,沙漠东部和西部藻类结皮功能基因产生显著分化。三个区域微生物功能基因中还原型三羧酸循环是自养生物固碳主要途径,而卡尔文循环是光合生物固碳的主要途径,其中 *rpiA* 和 *rbcS* 基因更易受到降水影响。鞘脂单胞菌属、念珠藻属和伪枝藻属在参与固碳过程中表现出的差异,可能是导致固碳功能基因产生分化的原因之一。氮循环主要途径以硝酸盐还原为主,大部分氮素通过硝酸盐同化作用被土壤微生物转化为铵盐,少量氮素被反硝化为一氧化二氮和一氧化氮流失。沙漠藻类结皮固氮作用较弱,仅有念珠藻属和伪枝藻属参与,且存在 *nifH*、*nifD*、*nifK* 三个功能基因。这些固氮功能基因更易受到土壤中硝态氮含量的影响。硝化过程仅注释到氨单加氧酶或甲烷单加氧酶编码 *pmoABC*-*amoABC* 基因,而 *hao* 和 *nxrA*、*nxrB* 基因均未注释获得。

关键词: 古尔班通古特沙漠;藻类结皮;微生物群落;碳氮循环;功能基因

Microbial community structure and potential function of algal crusts in different regions of Gurbantunggut Desert, Xinjiang, China

ZHANG Qinghang^{1,2}, LÜ Jie³, MA Yuan^{1,2,*}, LI Eryang^{1,2}, SHEN Chang^{1,2}, CHEN Jing^{1,2}

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

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

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

Abstract: The formation and development of algal crust improve soil stability and promote the retention of soil organic matter, which create favorable foundational conditions for soil microbial growth, reproduction and herbaceous plant topology. Hence algal crust potential function is of great significance for the subsequent succession of biological crusts. However, the microorganisms and its potential functions of algal crusts nutrient cycling in Gurbantunggut Desert are still unclear. In this paper, the microbial community, the carbon and nitrogen cycling functional gene characteristics of algal crust in different

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(2022D01C398)

收稿日期:2023-11-22; 网络出版日期:2024-05-11

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

regions of Gurbantunggut Desert were investigated using metagenome sequencing technology. The results showed that Cyanobacteria, Proteobacteria and Actinobacteria were the dominant microbial communities in algal crusts and play an important role in desert carbon fixation and nitrogen cycling. The microbial α -diversity results showed that only the richness indices has significantly different among the three regions. β -diversity results showed that microbial communities of algal crusts did not changed due to local climatic and physico-chemical differences in the desert. Microbial community functional genes were more sensitive to environmental changes than microbial community structure. The functional genes of algal crusts in the eastern and western deserts show significant differentiation. The Reductive citrate cycle was the primary pathway of autotrophs for carbon fixation in algal crusts. The Calvin cycle served as the primary pathway of photosynthetic organisms for carbon fixation, where *rpiA* and *rbcS* genes were more susceptible to precipitation. Variances in the contributions of *Sphingomonas*, *Nostoc*, and *Scytonema* to the carbon fixation process may potentially underlie the divergence of genes associated with carbon fixation functions. The primary nitrogen cycling pathway in algal crusts were nitrate reduction, and the most nitrogen were assimilated into ammonium by soil microorganisms through nitrate assimilation, and the small amount of nitrogen emit in the form of nitrous oxide and nitric oxide through denitrification. Nitrogen fixation were relatively weak, which only included *Nostoc* and *Scytonema* and three functional genes: *nifH*, *nifD*, *nifK*. Moreover, the expression of functional nitrogen fixation genes appears to be particularly influenced by variations in soil nitrate nitrogen content. The nitrification process only annotated to the ammonia monooxygenase or methane monooxygenase encoding by *pmoABC-amoABC* genes, whereas the *hao*, *nxrA* and *nxrB* genes were not be annotated.

Key Words: Gurbantunggut Desert; algal crusts; microbial community; carbon nitrogen cycle; function gene

古尔班通古特沙漠位于新疆准噶尔盆地中央,玛纳斯河以东及乌伦古河以南,是中国面积最大的固定、半固定沙漠。受西风环流影响,沙漠内形成线形沙垄、树枝状沙丘等沙丘类型,其中以南北走向线形沙垄为主。在沙垄两侧坡面及垅间低地会形成大面积生物土壤结皮,对沙丘起到良好的固定作用^[1]。生物土壤结皮也称生物结皮(Biological soil crusts, BSCs)主要分布于干旱和半干旱生态系统,由土壤颗粒、隐花植物以及土壤微生物等形成的复杂有机复合体^[2-7]。生物结皮作为沙漠地区典型生命存在形式,自身不断发育演替,根据结皮中优势物种不同,划分为藻类结皮、地衣结皮和苔藓结皮三种主要演替类型^[8]。研究表明,现有气候条件下,生物结皮是由沙漠裸地逐渐向藻类结皮、地衣结皮和苔藓结皮进行演替。结皮中固碳和固氮微生物能固定 CO_2 和 N_2 ,合成大分子有机化合物,后经分解代谢转变为生物可利用碳氮源,增加沙漠土壤营养物质含量,对维管植物定殖起到积极促进作用。

藻类作为先锋拓殖生物对极端环境具有良好的适应性,能分泌多糖等高分子聚合物团聚沙粒,丝状藻类藻丝还可束缚沙粒,最终在土壤表层形成藻类结皮或称藻壳^[2,9-11]。藻类结皮形成是沙漠土壤从流动向固定转变的重要标志^[8,10]。藻类结皮形成和发育过程中,沙漠土壤理化性质、营养条件和生态特征不断改善,为微生物和植物生长繁殖创造了良好的基础条件,促进荒漠生态系统良性循环^[12]。藻类结皮主要包括蓝藻、绿藻和硅藻,其中蓝藻对结皮形成和演替起到关键作用^[11,13]。蓝藻中部分种类可固定空气中 N_2 ,是沙漠土壤氮素最主要来源,可为结皮中其他微生物提供必要的氮素,进而促进土壤有机质固定,提高结皮土壤稳定性^[14]。

目前古尔班通古特沙漠藻类结皮研究主要围绕其理化性质、微生物种类及多样性进行研究,缺少对藻类结皮中参与营养循环相关微生物及潜在功能的研究,特别是关于古尔班通古特沙漠生物结皮中碳氮循环代谢途径相关基因多态性及丰度还未见报道。藻类结皮作为先锋拓殖生物其潜在功能对后续生物结皮演替具有重要影响,因此研究藻类结皮碳氮循环途径对于揭示沙漠土壤受气候影响变化机制具有重大意义。目前蒋超亮等^[15]研究结果显示短命及早生植物已在沙漠东西走向形成种群变化梯度。刘乐汉等^[16]通过扩增子技术证实古尔班通古特沙漠微生物也存在群落东西空间分异。基于以上研究现状,本文采用宏基因组测序技术,

研究古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物潜在功能,并进一步探究功能基因空间尺度差异,揭示藻类结皮潜在功能驱动因子。

1 材料与方法

1.1 研究区概况与样本采集

古尔班通古特沙漠($44^{\circ}15'—46^{\circ}50'N$, $84^{\circ}50'—91^{\circ}20'E$),面积约 $4.88 \times 10^4 \text{ km}^2$ 。沙漠平均海拔 677 m,地势呈东高西低的特点。沙漠属典型温带干旱荒漠气候^[17]。沙漠中沙垅形态上西坡缓长,东坡陡短,沙丘顶部有宽约 1 m 的平缓流动沙带。垅间低地主要由地衣和苔藓结皮覆盖,两侧坡面主要由藻类和地衣结皮覆盖^[18]。2018 年 7 月在古尔班通古特沙漠不同区域沙垅背风坡垅间低地,选取发育较为一致藻类结皮设样点采集样品,共计 12 个样点,相邻两样点距离超过 30 km。在沙漠东西走向将 12 个样点分为西部、中部和东部 3 个区域,分别用 W、M 和 E 表示(图 1)。采集藻类结皮形成的自然厚度约 1—6 mm,采集时清理结皮表层沙漠植物凋落物等杂质,每个样点按照五点取样法进行取样,样品带回实验室过 80 目筛后将其分为两份,一份样品自然风干用于理化性质测定,另一份样品 -80°C 保存用于宏基因组测序。

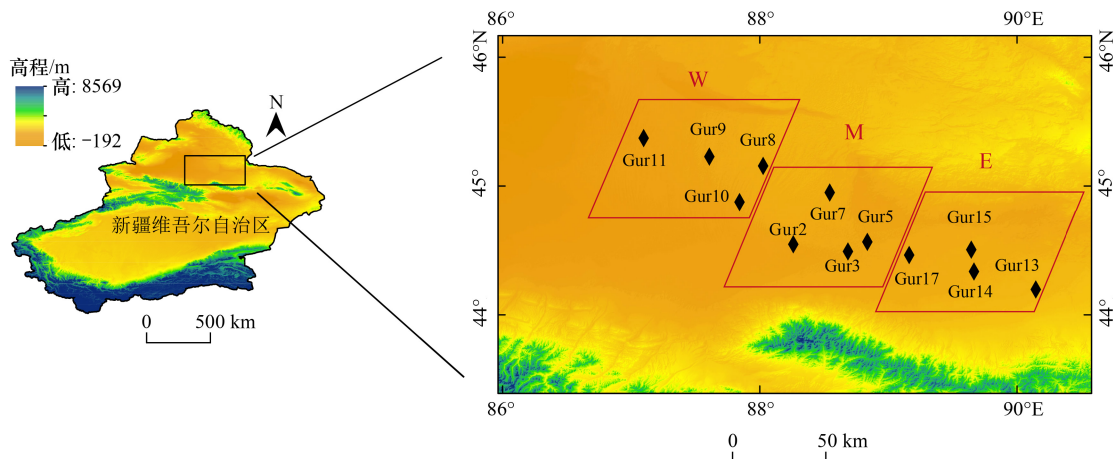


图 1 古尔班通古特沙漠藻类结皮采样点分布图

Fig.1 Distribution map of algal crust sampling sites in Gurbantunggut Desert

W: 西部区域; M: 中部区域; E: 东部区域; Gur: 古尔班通古特沙漠

1.2 土壤理化因子测定及气候数据收集

土壤有机碳采用高温外热重铬酸钾氧化-容量法测定;土壤全氮采用凯式定氮法测定;土壤全磷采用酸溶-钼锑抗比色法测定;土壤全钾采用碱熔-火焰光度法测定;土壤硝态氮和土壤铵态氮采用氯化钾浸提-分光光度法测定;土壤微生物量碳和土壤微生物量氮采用氯仿熏蒸浸提法测定;pH 值采用电位法测定。气候因子包括年均温(MAT)和年均降雨(MAP)来源于全球生物气候数据库(<http://www.worldclim.org>,空间分辨率30 s)。

1.3 宏基因组测序分析

使用 FastDNA[®] SPIN Kit for Soil 试剂盒对藻类结皮样本基因组 DNA 进行提取,检测符合要求后委托北京诺禾致源科技股份有限公司进行宏基因组建库测序。测序原始数据通过 Trimmomatic v0.39.2 进行质控,过滤双端接头后获有效数据,通过 FastQC v0.11.9 和 Multiqc v1.13 进行质量检验,得到高质量短读序列 reads 用于后续宏基因组分析。使用 Megahit v1.2.9 对短读序列进行组装得到 Contig 序列,使用 quast v5.2.0 软件对 Contig 进行评估,低于 1000 bp 序列被舍弃,并使用 kraken2 v2.1.2 对 Contig 序列进行物种注释。使用 transeq v6.6.0 预测开放阅读框(Open reading frames, ORFs),使用 Prokka v1.14.6 进行基因预测,利用 CD-HIT v4.8.1 对所有序列同源性为 95%进行聚类,并从每个聚类中选择最长的序列作为代表序列,构建非冗余基因集。使

用 Salmon v1.9.0 将 reads 映射到非冗余基因集中,确定不同基因相对丰度;使用 kofam v1.3.0 对代表性基因序列进行 KEGG 注释,获得功能注释信息。

1.4 数据分析

数据分析用 R 4.3.0 软件,使用 ggplot2 软件包绘图。基于 vegan 包和 agricolae 包对理化因子、物种数据和功能基因,采用 LSD 法,进行多重比较。基于 Bray_curtis 距离进行 PCoA (Principal Co-ordinates Analysis) 分析,通过 Adonis 多元方差分析差异性;基于 circlize 包绘制物种前 10 门和弦图,phemap 包绘制属水平 heatmap, networkD3 包绘制微生物群落桑基图。基于 raster 包从 worldclim 上获取样点气候数据。

2 结果与分析

2.1 古尔班通古特沙漠藻类结皮理化性质及气候因子差异

古尔班通古特沙漠三个区域气候因子和藻类结皮理化性质分析结果如图 2 所示,有机碳 (Soil organic carbon, SOC)、全氮 (Total nitrogen, TN)、微生物量碳 (Microbial biomass carbon, MBC)、微生物量氮 (Microbial biomass nitrogen, MBN)、pH 在沙漠不同区域无显著性差异 ($P>0.05$)。全磷 (Total phosphorus, TP) 含量自西向东逐步升高,东部与中部和西部存在显著性差异 ($P<0.05$)。全钾 (Total potassium, TK) 东部和中部存在显著性差异 ($P<0.05$),含量东部>西部>中部。硝态氮 (Nitrate nitrogen, NO_3^- -N) 西部与中部和东部存在显著性差异 ($P<0.05$),含量东部>中部>西部。铵态氮 (Ammonium nitrogen, NH_4^+ -N) 中部与东部存在显著性差异 ($P<0.05$),含量中部>西部>东部。年平均温度 (Mean annual temperature, MAT) 自西向东温度逐渐升高,三个区域间均存在显著差异 ($P<0.05$)。年平均降水量 (Mean annual Precipitation, MAP) 自西向东逐渐减少,东部与西部和中部存在显著性差异 ($P<0.05$)。

2.2 古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物群落特征及多样性分析

古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物物种注释结果显示 (表 1),古菌相对丰度为 0.31%,真菌为 0.14%,细菌相对丰度为 99.55%,细菌为藻类结皮中主要微生物类群。

表 1 古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物群落特征

Table 1 Microbial community characteristic of algal crust soils in Gurbantunggut Desert

物种 Taxonomy	西部 Western area (W)	中部 Middle area (M)	东部 Eastern area (E)	总和 All	相对丰度/% Relative abundance
古菌 Archaea	640.45	794.25	777.75	2212.76	0.31
细菌 Bacteria	234346	234169.75	234107.25	702623	99.55
真菌 Fungi	285.25	308	387	980.25	0.14

古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮中微生物 α 多样性结果如图 3 所示。物种丰富度指数东部>西部>中部,且东部和中部具有显著性差异 ($P<0.05$)。其余多样性指数均为东部>西部>中部,但没有显著性差异。基于 Bray_curtis 距离进行主坐标分析 (Principal C-ordinates Aalysis, PCoA),并进行 Adonis 检验 (图 3)。PCoA 前 2 轴解释率为 74.9%,可以解释绝大部分微生物群落结构变化,Adonis 检验结果显示沙漠三个不同区域微生物群落结构无显著性差异 ($P>0.05$),并未因沙漠局部气候及理化因子差异产生微生物群落分化。

2.3 古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物群落特征

古尔班通古特沙漠藻类结皮物种注释结果共获微生物 48 门 1569 属。细菌界中变形菌门 (Proteobacteria, 33.47%—42.70%)、放线菌门 (Actinobacteria, 28.43%—40.83%)、蓝藻菌门 (Cyanobacteria, 12.00%—27.45%) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes, 3.09%—7.95%) 4 个门占微生物相对丰度 95% 以上,是藻类结皮中优势菌门。从西部向东部,变形菌门和拟杆菌门呈先减少再增加趋势,放线菌门呈先增加再减少趋势,蓝藻菌门呈逐渐减少趋势,四个细菌门中只有拟杆菌门在东部和中部之间存在显著性差异 ($P<0.05$) (图 4)。微生物属水平相对丰度大于 1% 的属有 16 个,分别隶属于蓝藻菌门、变形菌门、放线菌门和拟杆菌门四个门,其

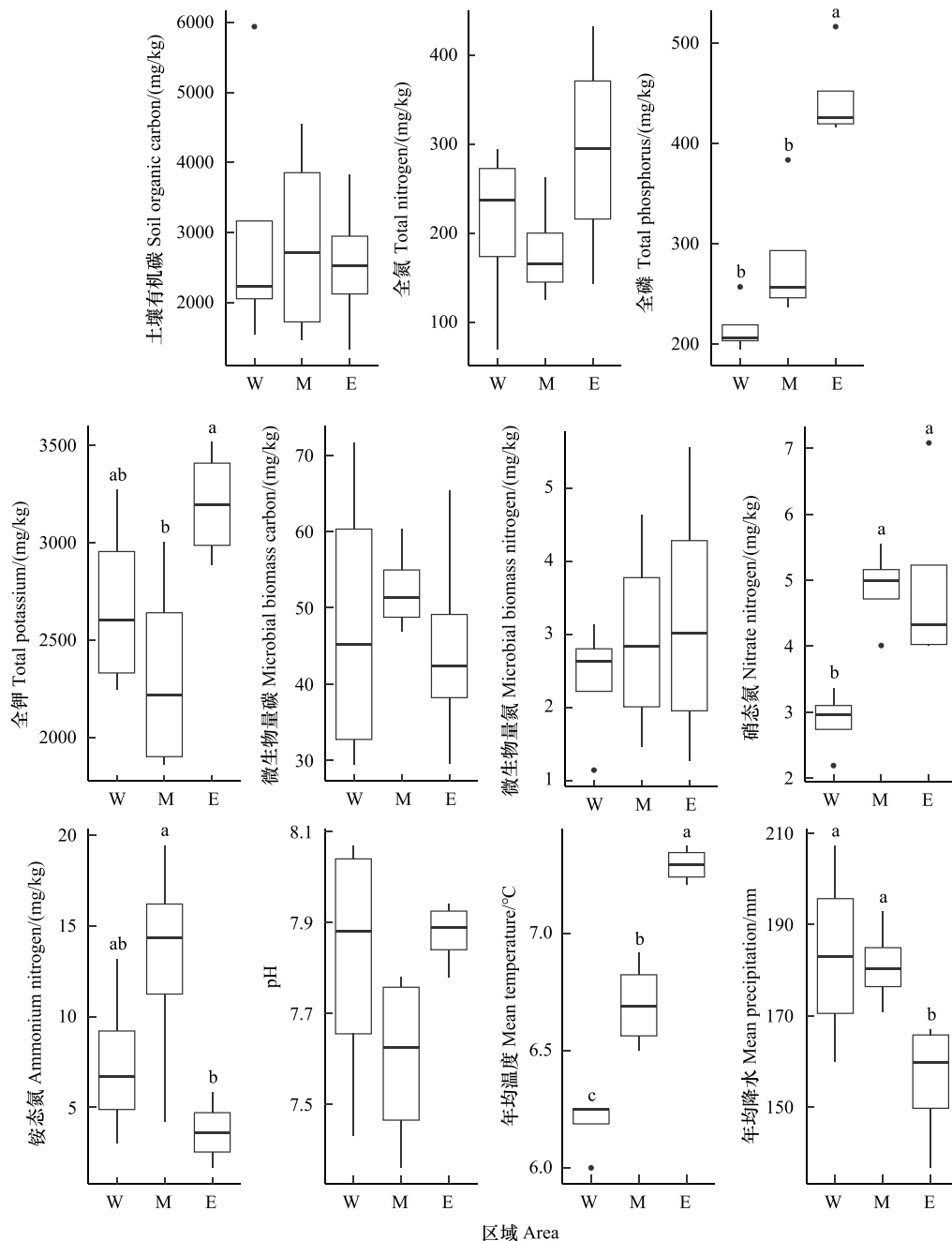


图2 古尔班通古特沙漠不同区域气候因子及藻类结皮土壤理化性质

Fig.2 Climatic factors and physicochemical properties of algal crust in different regions of Gurbantungut Desert

不同字母表示三个区域差异显著 ($P < 0.05$)

中属于变形菌门的鞘脂单胞菌属 (*Sphingomonas*, 5.83%—12.29%) 相对丰度最高, 其余 15 个属分别属于变形菌门的微枝形杆菌属 (*Microvirga*, 1.43%—2.65%), 甲基杆菌属 (*Methylobacterium*, 1.34%—2.10%), 属于蓝藻菌门的颤藻属 (*Oscillatoria*, 5.83%—12.29%), 念珠藻属 (*Nostoc*, 0.81%—5.27%), 微鞘藻属 (*Microcoleus*, 1.74%—2.13%), 发毛针藻属 (*Crinalium*, 0.31%—2.33%), 伪枝藻属 (*Scytonema*, 0.56%—2.08%); 属于放线菌门的链霉菌属 (*Streptomyces*, 4.70%—6.64%), 红色杆菌属 (*Rubrobacter*, 2.29%—4.04%), 地嗜皮菌属 (*Geodermatophilus*, 2.38%—4.30%), 诺卡氏菌属 (*Nocardioides*, 2.89%—4.08%), 原囊黏菌属 (*Archangium*, 0.29%—1.65%), 湖弗莱德门氏菌 (*Friedmanniella*, 0.90%—1.34%), 小单孢菌属 (*Micromonospora*, 0.78%—1.15%); 仅薄层菌属 (*Hymenobacter*,

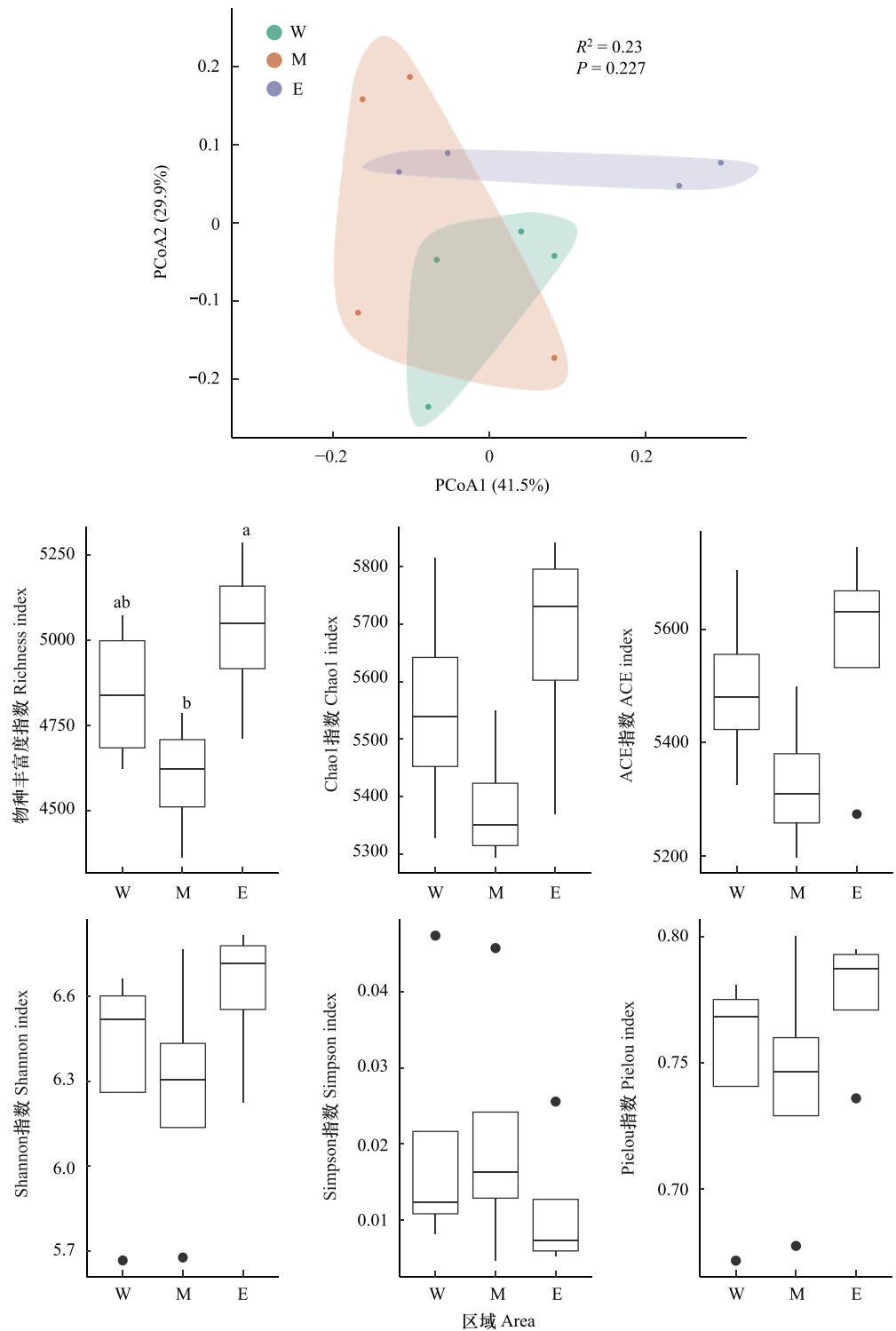


图3 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮微生物多样性分析

Fig.3 Alpha and beta diversity of microbial communities in algae crusts from different regions of Gurbantunggut Desert

0.83%—2.83%)属于放线菌门(图4)。自西向东微枝形杆菌属和颤藻属相对丰度逐渐减小,西部显著高于东部,念珠藻属和伪枝藻属相对丰度则是中部>西部>东部,中部显著高于东部($P<0.05$)(图4)。

2.4 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮微生物功能差异

采用藻类结皮微生物 KEGG 注释功能基因丰度信息,同时提取碳固定和氮循环功能基因进行主坐标分

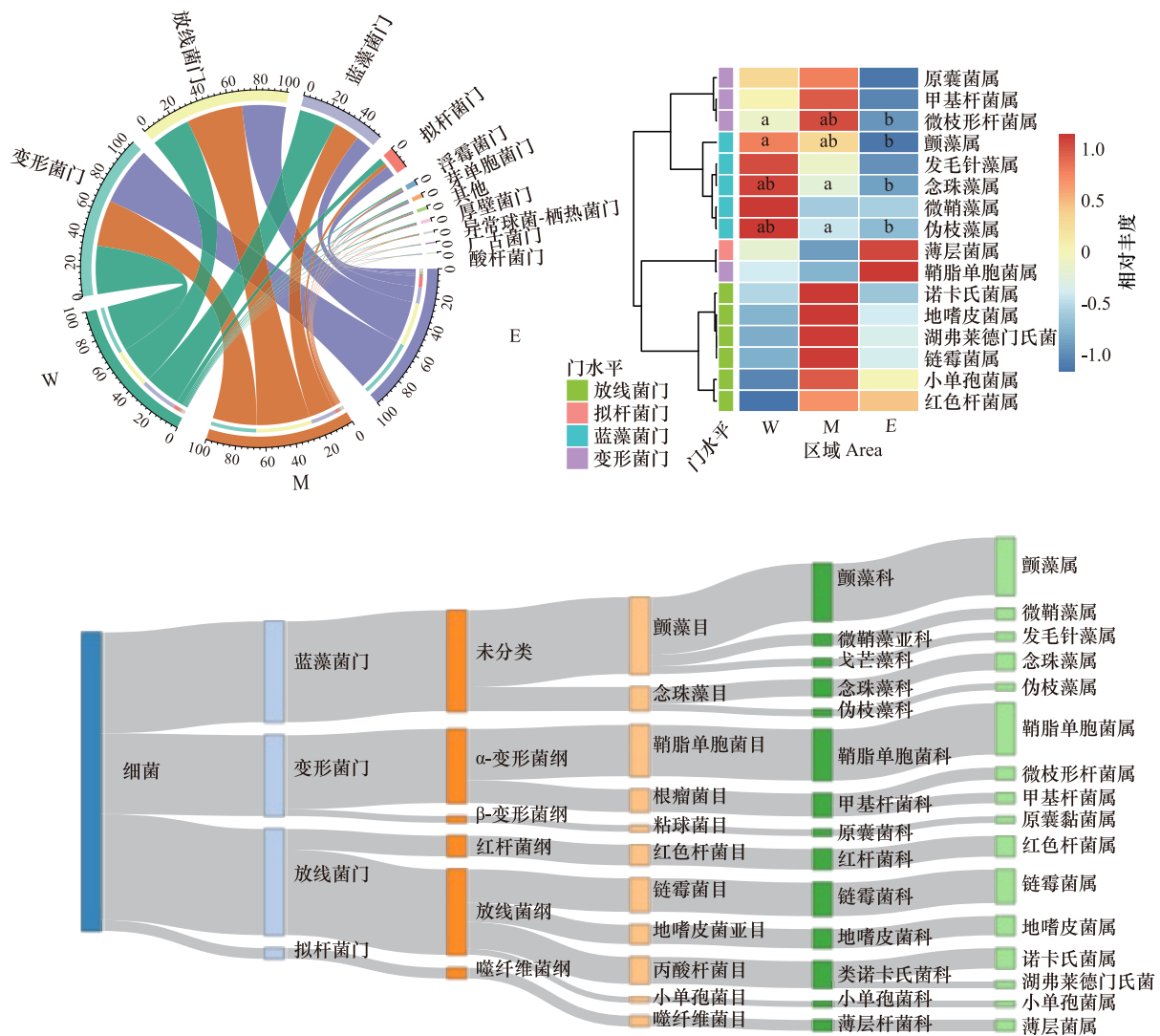


图4 古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物群落丰度特征

Fig.4 Abundance characteristics of microbial community in algae crust of Gurbantunggut Desert

析,通过置换多元方差分析不同区域藻类结皮功能差异。功能基因 PCoA 分析结果如图 5 所示,结果显示沙漠不同区域藻类结皮微生物功能基因、固碳和氮循环基因东部与西部存在显著差异 ($P<0.05$),沙漠中部区域功能基因、固碳和氮循环基因与东、西部均无显著性差异,为二者过渡区域。结果显示藻类结皮中微生物功能随沙漠局部气候及理化因子变化已开始产生分化。

2.5 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮微生物碳固定途径特征

在 KEGG 注释结果中筛选 6 条自然界中碳固定途径基因丰度信息,将固碳代谢途径与藻类结皮中微生物进行对应,筛选具有相关固碳代谢途径相对丰度前 10 微生物属,结果如图 6 所示。6 个固碳途径中仅卡尔文循环 (Reductive pentose phosphate cycle (Calvin cycle, CBB)) 相对丰度呈现出西部>中部>东部,而其他 5 个固碳途径相对丰度均表现为东部>中部>西部,其中二羧酸-羟基丁酸酯循环 (Dicarboxylate-hydroxybutyrate cycle, DC-4HB)、3-羟基丙酸双循环 (3-Hydroxypropionate bi-cycle, 3-HP) 和还原乙酰辅酶 A 途径 (reductive acetyl-CoA pathway, Wood-Ljungdahl pathway) 相对丰度为东部显著高于西部。参与碳固定途径微生物前 10 属多重比较结果显示,鞘脂单胞菌属参与 3-羟基丙酸双循环和二羧酸-羟基丁酸酯循环,其相对丰度东部显著高于西部和中部;在 3-羟基丙酸酯/4-羟基丁酸酯循环 (Hydroxypropionate-hydroxybutyrate cycle, 3-HP/4-HB) 和还原型

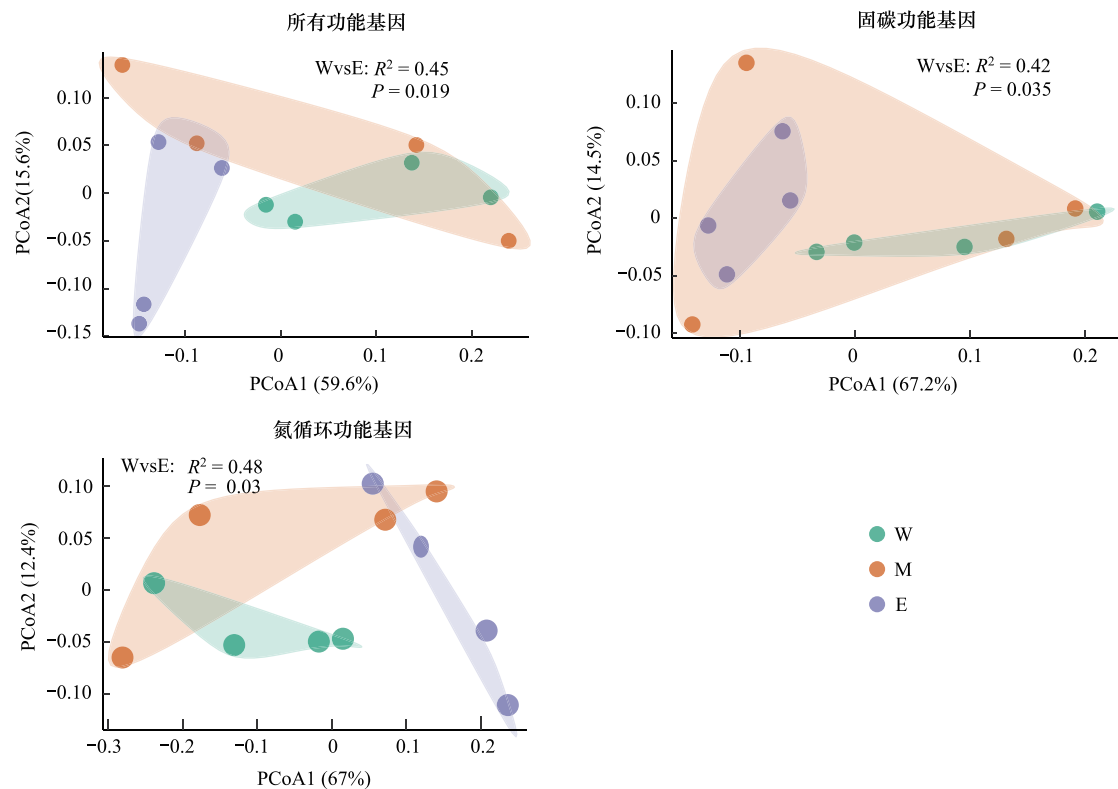


图 5 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮功能基因主坐标分析

Fig.5 Principal co-ordinates analysis (PCoA) of function gene in algal crusts from different areas of Gurbantunggut Desert
WvsE: 西部与东部 Adonis 检验

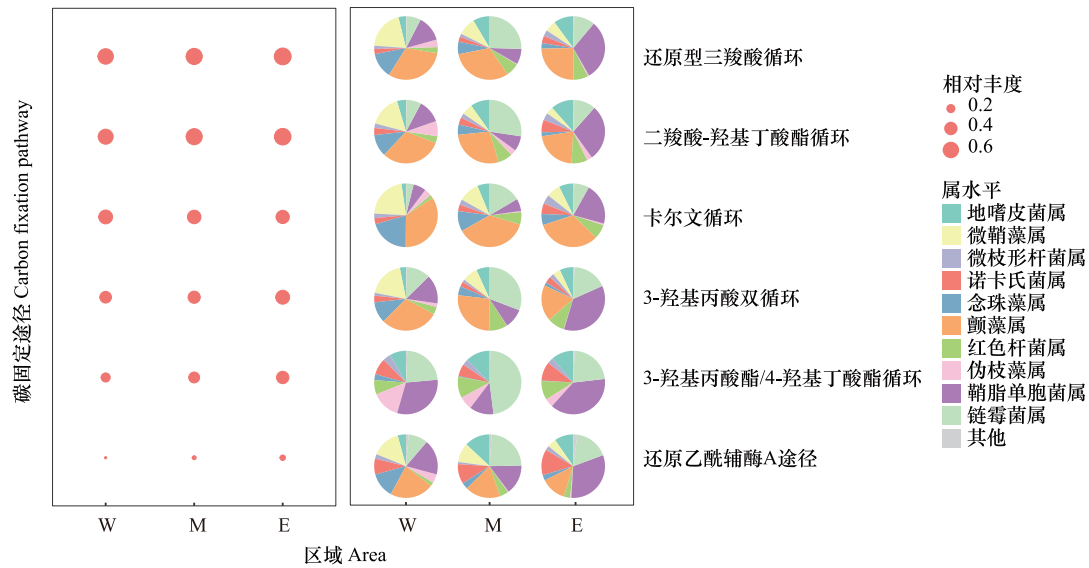


图 6 古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物固碳途径

Fig.6 Carbon fixation pathways of algal crusts microorganisms in Gurbantunggut Desert

三羧酸循环中(Reductive citrate cycle, rTCA),东部显著高于中部。念珠藻属参与卡尔文循环和还原型三羧酸循环,其相对丰度西部显著高于东部;参与 3-羟基丙酸酯/4-羟基丁酸酯循环,其相对丰度西部显著高于中部和东部。伪枝藻属参与二羧酸-羟基丁酸循环,西部显著高于东部($P<0.05$)。

根据 KEGG 注释结果,筛选藻类结皮中 6 条固碳途径功能基因(部分丰度极低基因作图时未显示)

(图 7),其中还原型三羧酸循环、3-羟基丙酸双循环、卡尔文循环和还原乙酰辅酶 A 循环 4 条固碳途径部分功能基因在沙漠不同区域具有显著性差异。还原型三羧酸循环中编码富马酸还原酶功能基因 *frdC* 和 *frdD*, 编码琥珀酰辅酶 A 合成酶基因 *sucC* 相对丰度沙漠东部显著高于西部 ($P<0.05$)。编码富马酸水合酶基因 *fumC* 相对丰度东部显著高于西部和中部 ($P<0.05$)。3-羟基丙酸双循环关键酶是乙酰辅酶 A 羧化酶,由 *accA*、*accB*、*accC* 和 *accD* 四个基因编码,其中 *accA* 相对丰度东部显著高于中部,*accB* 相对丰度东部显著高于西部和中部 ($P<0.05$)。卡尔文循环中关键酶核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶 (Ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, RuBisCO) 由 *rcbL* (*cbbL*) 和 *rcbS* (*cbbS*) 基因编码,其中注释获得 *rcbS* 基因西部显著高于东部 ($P<0.05$)。此外核糖-5-磷酸异构酶编码基因 *rpiA* 相对丰度西部显著高于东部,而 *rpiB* 相对丰度则东部要显著高于西部 ($P<0.05$),呈相反趋势。还原乙酰辅酶 A 循环中编码亚甲基四氢叶酸脱氢酶 *folD* 基因相对丰度东部显著高于西部和中部 ($P<0.05$)。沙漠不同区域藻类结皮微生物碳固定途径特征分析结果显示,参与固碳途径相关属微生物以及功能基因丰度随沙漠局部气候及理化因子变化产生显著性分异。

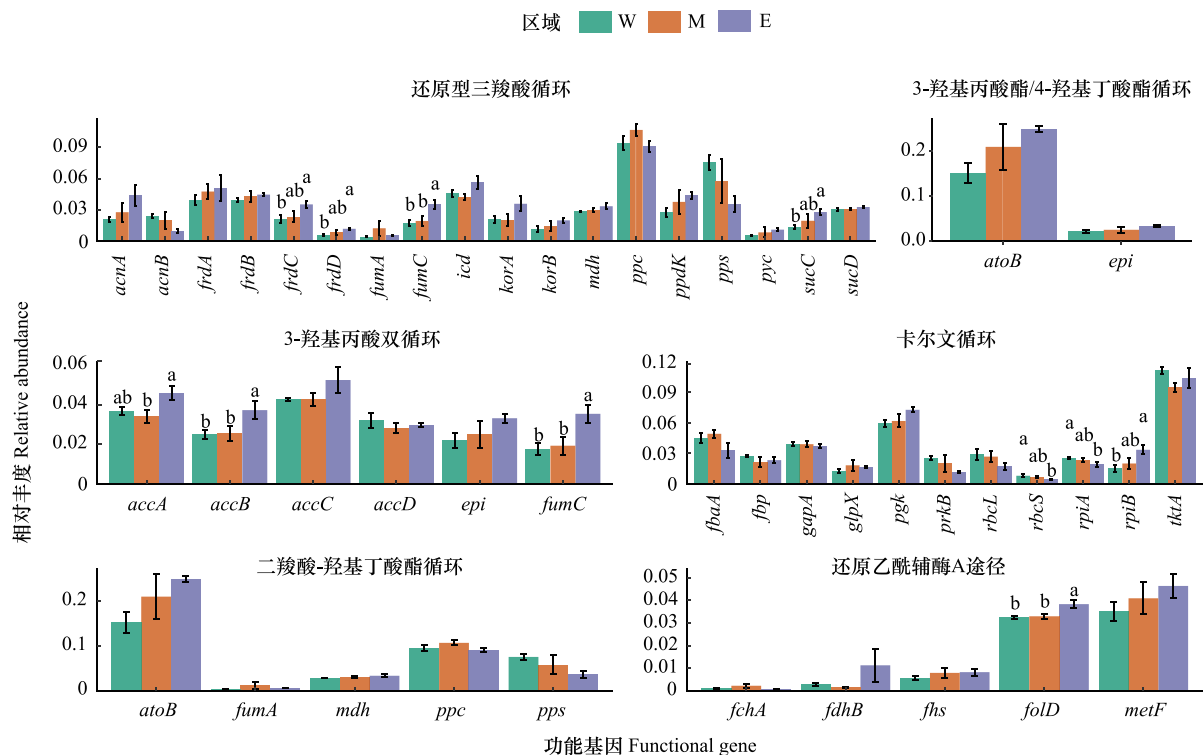
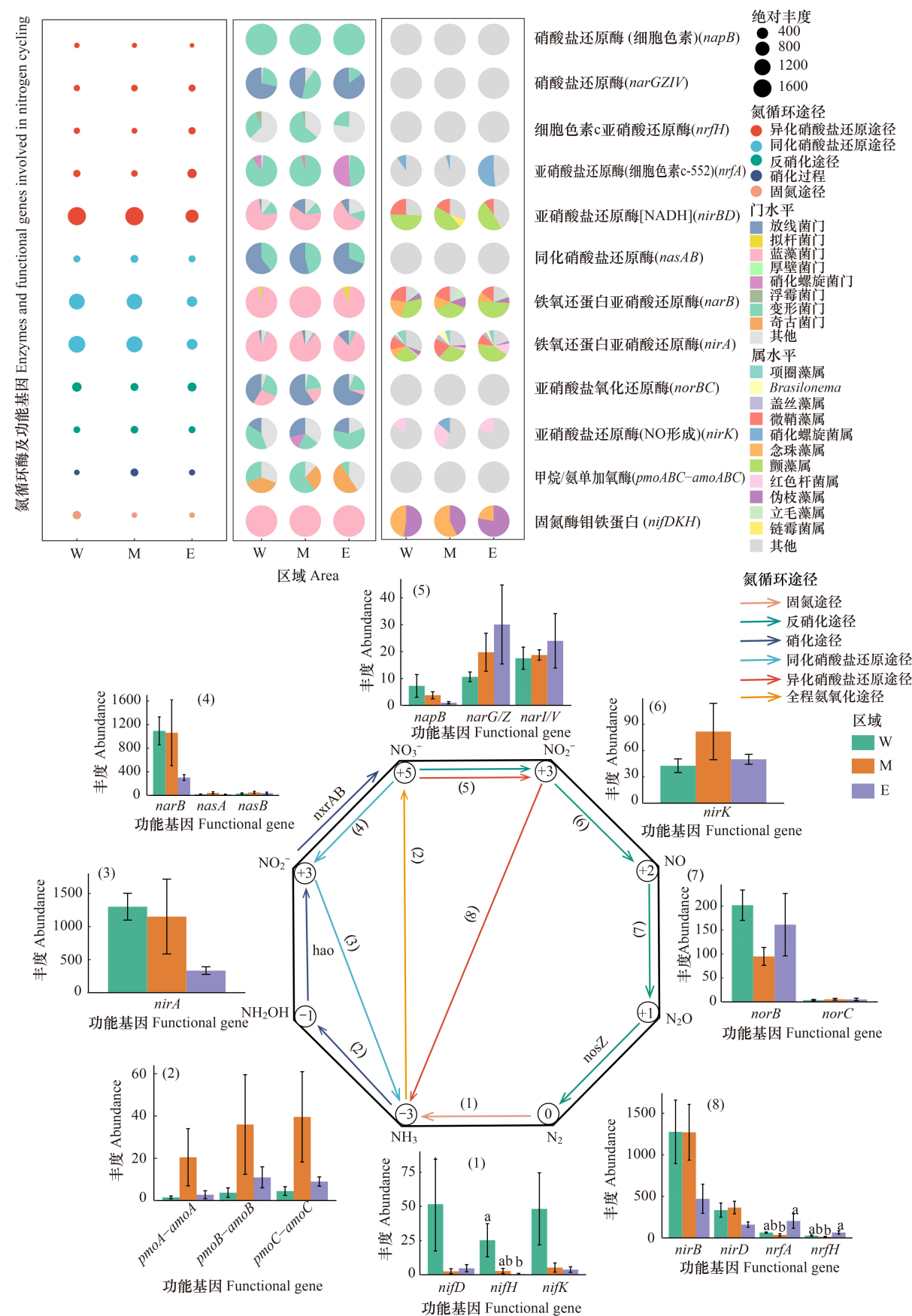


图 7 古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物固碳功能基因

Fig.7 Carbon fixation functional genes of algae crusts in Gurbantungut Desert

2.6 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮微生物氮循环特征

在古尔班通古特沙漠藻类结皮 KEGG 基因功能注释结果中,筛选获得 5 条氮循环代谢途径,其中同化硝酸盐还原途径基因丰度最高,其次分别为异化硝酸盐还原途径、反硝化途径、硝化途径、固氮途径,5 个氮循环途径在沙漠不同区域藻类结皮中均无显著性差异。将 KEGG 注释结果中氮循环相关基因与微生物物种进行关联,筛选相对丰度前 10 门和前 10 属微生物,结果如图 8 所示。本研究注释获得钼固氮酶 3 个编码功能基因 *nifD*、*nifH* 和 *nifK*,其中 *nifH* 基因相对丰度西部要显著高于东部 ($P<0.05$),参与固氮微生物主要为蓝藻门的念珠藻属和伪枝藻属。编码铁氧还蛋白硝酸还原酶基因 *nirA* 和编码铁氧还蛋白亚硝酸还原酶 *narB* 是藻类结皮同化硝酸盐过程 (Assimilatory nitrate reduction) 主要功能基因,*nirA* 和 *narB* 相对丰度为西部>中部>东部,且 *nirA* 基因在西部和东部具有显著性差异 ($P<0.05$),参与该循环微生物主要为蓝藻菌门,同时也有少量放线菌门、变形菌门和拟杆菌门微生物参与。异化硝酸盐还原 (Dissimilatory nitrate reduction) 中编码亚硝酸盐还原



酶 *nirB* 和 *nirD* 基因是该过程主要功能基因, *nirD* 相对丰度中部显著高于东部 ($P < 0.05$), 参与该过程微生物主要为蓝藻菌门、变形菌门、放线菌门和硝化螺旋菌门。沙漠不同区域藻类结皮微生物氮循环途径特征分析结果同样显示, 参与氮途径相关属微生物以及功能基因丰度随沙漠局部气候及理化因子变化也产生显著性分异。

2.7 古尔班通古特沙漠藻类结皮碳氮循环潜在功能驱动因子

对沙漠不同区域具有显著性差异功能基因和气候因子与藻类结皮理化因子进行相关性分析, 结果如图 9 所示。固碳作用中仅有 *rpiA* 与年降水呈显著极负相关, 其他差异基因与理化因子和气候因子无显著相关性。在氮循环中, *nifH* 基因与硝态氮呈显著正相关; *nirD* 与土壤有机碳呈显著正相关; 亚硝酸盐还原酶编码的 *nrfA* 与 *nrfH* 均与 TK 呈显著负相关。

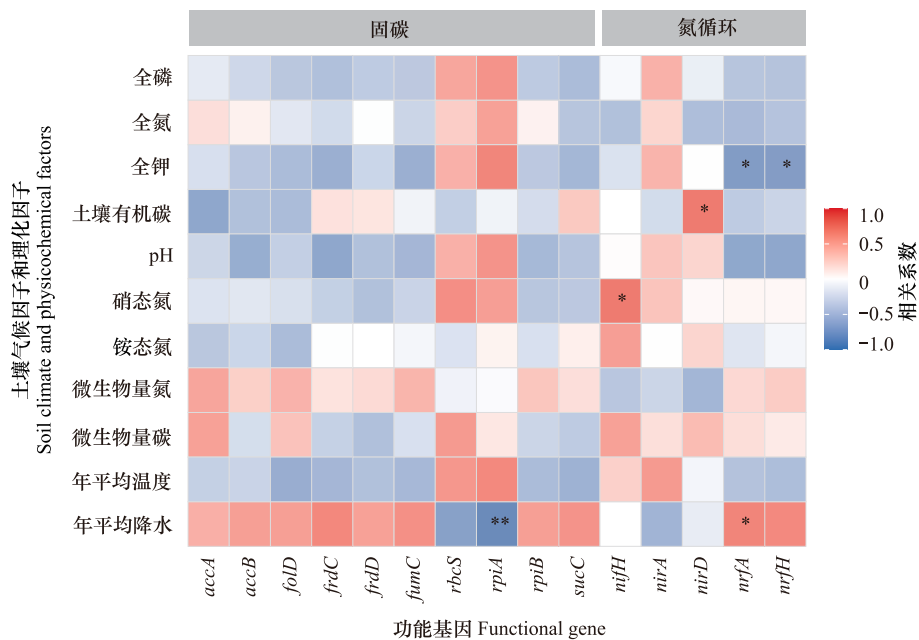


图 9 古尔班通古特沙漠藻类结皮差异基因与气候因子和理化因子相关性

Fig.9 Differential genes for carbon fixation and nitrogen cycling of algal crusts correlated with climatic and physicochemical properties in Gurbantungut Desert

3 讨论

3.1 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮微生物群落特征

古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物优势菌门为变形菌门、放线菌门、蓝藻菌门和拟杆菌门, 这与其他荒漠生态系统中藻类结皮微生物组成一致^[19-20]。变形菌可分泌粘性蛋白, 促进土壤颗粒粘结, 维持土壤结皮稳定性^[21]。同时变形菌可在生物结皮形成初期提供必要营养元素, 促进生物地球化学循环^[22]。放线菌在干旱区土壤生态系统中通常占主导地位^[23], 放线菌产生多种水解酶降解土壤中有有机化合物^[24], 在寡营养环境氮循环过程中起到重要作用^[25-26]。Zhang 等^[26]研究结果显示, 黑河流域放线菌主要参与固氮途径, 而本研究放线菌主要参与氮还原过程, 推测不同土壤类型中放线菌在氮循环过程中功能不同。藻类结皮出现是沙漠土壤由流动趋于固定关键标志^[27], 本研究基因和物种关联分析结果显示, 藻类结皮中多个蓝藻参与固碳, 其中念珠藻属和伪枝藻属具有固氮作用, 此外大量研究也都证实蓝藻具有极强的固氮和固碳作用^[28]。物种多样性分析结果显示, 三个区域微生物群落结构未产生明显分化, 仅沙漠东部拟杆菌门微生物相对丰度显著高于其余两个区域。研究结果显示拟杆菌能分泌大量胞外多糖, 有助生物结皮形成^[21], 表明沙漠东部可能更有利于藻

类结皮演化。从物种分析结果可知沙漠不同区域降水和年均温差异并未显著影响藻类结皮中微生物群落。

3.2 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮碳循环特征

微生物固碳是土壤碳素积累重要来源^[29]。古尔班通古特沙漠藻类结皮中 6 条微生物固碳均被注释,除还原乙酰辅酶 A 循环相对丰度较低外,其他 5 个固碳途径基因相对丰度较为相似,起到主要固碳作用。藻类结皮作为生物结皮初级演替阶段,原核和光合生物固碳途径共同完成藻类结皮固碳作用^[29-31]。本研究中卡尔文循环是光合自养生物主要固碳途径,还原性三羧酸循环是原核自养生物主要固碳途径。沙漠藻类结皮中注释获得卡尔文循环中编码 Rubisco 基因 *rbcS* 和 *rbcL*,且 *rbcS* 基因在沙漠不同区域具有显著性差异。米超^[32]和 Zhang 等^[33]研究结果表明在严重水胁迫下,Rubisco 活性和数量受到影响^[32-33],导致其表达量下调。相关性分析结果显示,*rpiA* 和 *rbcS* 基因与降水呈负相关,证实沙漠不同区域年均降水差异,造成藻类结皮光合速率差异。初级群落建立期间的有限条件促使微生物走向更高效的微氧和厌氧途径^[29],因此在藻类结皮中还原型三羧酸循环等自养生物固碳仍占有较大比重,表明在藻类结皮中厌氧反应可能频繁发生。研究表明贫瘠土壤环境中微生物会优先使用 ATP 消耗最低的途径,即乙酰辅酶 A 循环和还原性三羧酸循环。然而乙酰辅酶 A 循环需要严格的厌氧环境,特别是乙酰辅酶 A 合酶,对氧高度敏感^[34-35]。而在沙漠表层土壤并不是严格厌氧环境,本研究也未注释获得乙酰辅酶 A 合酶,因此推测古尔班通古特沙漠还原性三羧酸循环是原核自养生物主要固碳途径。孙永琦^[36]通过对毛乌素沙地地衣结皮固碳微生物进行研究,也得到相似结论,认为是不同生态系统所含还原性物质及能量供给差异所造成。

参与碳固定微生物注释关联结果表明,古尔班通古特沙漠藻类结皮固碳基因主要来自于细菌界的变形菌门、放线菌门和蓝藻菌门。张青—^[37]和周虹等^[38]研究结果显示,细菌是荒漠生态系统结皮土壤中碳代谢主要类群,与本研究相同。本研究鞘脂单胞菌属微生物东部占比显著高于西部和中部,鞘脂单胞菌属微生物具有极强的环境适应性,能在干旱等极端条件下生存^[36, 38-40]。而沙漠东部年均温较高,年均降水较少,鞘脂单胞菌属微生物在碳固定中起到重要作用。

3.3 古尔班通古特沙漠不同区域藻类结皮微生物氮循环特征

在干旱和半干旱地区除水分外,氮是初级生产关键驱动因素^[41-42],而生物结皮是荒漠生态系统中重要氮素来源^[43]。本研究中硝酸盐还原过程(同化硝酸盐还原、异化硝酸盐还原)相对丰度在氮循环中占比最高,与 Geng 等^[30]和 Li 等^[31]对藻类结皮氮循环研究结果一致。藻类结皮该过程为土壤微生物生长提供关键营养元素^[44]。结果显示同化硝酸盐功能基因相对丰度要高于异化硝酸盐和反硝化过程,表明藻类结皮中微生物利用大部分硝酸盐和铵盐用于自身代谢,只有少部分作为呼吸链最终氢受体,还原成亚硝酸盐。反硝化过程最终将亚硝酸盐还原为氮气,但本研究中未注释获得 *nosZ* 基因,表明沙漠氮素以 N_2O 形式流失。

古尔班通古特沙漠藻类结皮中,固氮微生物主要为蓝藻门念珠藻属和伪枝藻属,与 Wang 等^[45]对腾格里沙漠生物结皮固氮菌研究结果一致。但周虹^[38]对多个沙区生物结皮研究表明,除蓝藻门外还有变形菌门也参与固氮作用,然而古尔班通古特沙漠藻类结皮无此结果。相比于其他途径,固氮途径功能基因在氮循环中相对丰度占比最低,Li 等^[31]对腾格里沙漠生物结皮的研究也有相同结果,可能是荒漠能量和极端环境所限制^[30],多数研究结果也认为此现象可能是生物结皮的一个显著特征。

自然界中硝化过程主要由氨氧化细菌和氨氧化古菌催化,在本研究中参与硝化过程的微生物主要由变形菌门和奇古菌门构成。多数研究发现奇古菌门能够编码氨单加氧酶结构基因 *amoA*、*amoB* 和 *amoC*,在硝化过程中起着重要作用^[46-47]。本研究硝化过程仅注释到氨单加氧酶或甲烷单加氧酶编码 *pmoABC-amoABC* 基因,而 *hao* 和 *nxrAB* 均未注释获得。与之矛盾的是 NO_3^- 还原成 NH_4^+ 和 N_2 的还原反应仍在进行,而硝酸盐还原相关的酶及功能基因丰度较高。Daims^[48]和 van Kessel^[49]等在 2015 证实了全程硝化菌(Comammox)的存在,其被认为更能适应极端寡营养环境,能够直接将铵盐转化为硝酸盐的形式。因此推测在古尔班通古特沙漠藻类结皮硝化过程中,全程硝化菌可能起到重要作用,但目前 KEGG 数据库中尚未加入全程硝化的特异性基因信息,因此本研究未注释到全程硝化过程。

4 结论

古尔班通古特沙漠藻类结皮微生物功能基因较微生物群落结构更易受到温度和降水影响以及营养元素限制,导致碳氮循环功能基因在沙漠不同区域产生分化。蓝藻菌门、放线菌门和变形菌门为藻类结皮营养循环主要微生物菌群。鞘脂单胞菌属对于干旱环境具有极强适应性,在氮循环和碳固定中发挥着重要作用。藻类结皮中还还原型三羧酸循环等自养生物固碳相对丰度较大。藻类结皮中氮循环以硝酸盐还原为主,对铵态氮的需求较为强烈。固氮作用较弱,但在藻类结皮发育和演替起到重要作用。

参考文献 (References):

- [1] Wang Y, Li X Y, Wu X C, Hong Y, Wang T J, Zuo F L, Zhang J H, Yang X F. Divergent effects of biological soil crusts on soil respiration between bare patches and shrub patches under simulated rainfall in a desert ecosystem in Northwest China. *Soil and Tillage Research*, 2021, 214: 105185.
- [2] 李新荣, 张景光, 王新平, 刘立超, 肖洪浪. 干旱沙漠区土壤微生物结皮及其对固沙植被影响的研究(英文). *植物学报*, 2000, 42(9): 965-970.
- [3] 李彬, 武志芳, 陶冶, 周晓兵, 张丙昌. 古尔班通古特沙漠不同类型生物结皮对草本植物多样性影响. *干旱区研究*, 2021, 38(2): 438-449.
- [4] 王凯, 厉萌萌, 刘德权, 张凌基, 刘可欣, 许华, 唐亮, 何明珠, 张珂. 腾格里沙漠不同组成生物结皮特征及其对土壤酶活性的影响. *生态学报*, 2022, 42(14): 5859-5868.
- [5] 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.
- [6] Ferrenberg S, Tucker C L, Reed S C. Biological soil crusts: diminutive communities of potential global importance. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2017, 15(3): 160-167.
- [7] Eldridge D, Greene R. Microbiotic soil crusts: a review of their roles in soil and ecological processes in the rangelands of Australia. *Australian Journal of Soil Research*, 1994, 32(3): 389-415.
- [8] Wu L, Lan S B, Zhang D L, Hu C X. Small-scale vertical distribution of algae and structure of lichen soil crusts. *Microbial Ecology*, 2011, 62(3): 715-724.
- [9] 胡春香, 刘永定, 宋立荣, 黄泽波. 半荒漠藻结皮中藻类的种类组成和分布. *应用生态学报*, 2000, 11(1): 61-65.
- [10] 张丙昌, 张元明, 赵建成. 古尔班通古特沙漠生物结皮藻类的组成和生态分布研究. *西北植物学报*, 2005, 25(10): 2048-2055.
- [11] 陈兰周, 刘永定, 李敦海, 沈银武, 谢作明. 荒漠藻类及其结皮的研究. *中国科学基金*, 2003, 17(2): 90-93.
- [12] 饶本强, 刘永定. 荒漠生态系统中的先行者——荒漠藻类. *生物学通报*, 2011, 46(5): 7-10.
- [13] Rossi F, Li H, Liu Y D, De Philippis R. Cyanobacterial inoculation (cyanobacterisation): perspectives for the development of a standardized multifunctional technology for soil fertilization and desertification reversal. *Earth-Science Reviews*, 2017, 171: 28-43.
- [14] Lázaro R, Mora J L. Sediment content and chemical properties of water runoff on biocrusts in drylands. *Biologia*, 2014, 69(11): 1539-1554.
- [15] 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.
- [16] 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.
- [17] 金可, 卢阳, 周火明, 张乾柱, 胡月, 万丹, 闫建梅. 古尔班通古特沙漠水文研究进展. *水文*, 2022, 42(1): 1-10.
- [18] Zhao K, Zhang B C, Li J N, Li B, Wu Z F. The autotrophic community across developmental stages of biocrusts in the Gurbantunggut Desert. *Geoderma*, 2021, 388: 114927.
- [19] 李靖宇, 刘建利, 张琇, 王猛, 杨洲, 靳新影, 荀琪, 张翼飞. 腾格里沙漠东南缘结皮微生物组基因多样性及功能. *生物多样性*, 2018, 26(7): 727-737.
- [20] Maier S, Tamm A, Wu D M, Caesar J, Grube M, Weber B. Photoautotrophic organisms control microbial abundance, diversity, and physiology in different types of biological soil crusts. *The ISME Journal*, 2018, 12: 1032-1046.
- [21] Zhang Q Y, Wang Q, Ouyang H L, Lan S B, Hu C X. Pyrosequencing reveals significant changes in microbial communities along the ecological succession of biological soil crusts in the tengger desert of China. *Pedosphere*, 2018, 28(2): 350-362.
- [22] Maier S, Schmidt T S B, Zheng L J, Peer T, Wagner V, Grube M. Analyses of dryland biological soil crusts highlight lichens as an important regulator of microbial communities. *Biodiversity and Conservation*, 2014, 23(7): 1735-1755.
- [23] Hill P, Křišťálek V, Dijkhuizen L, Boddy C, Kroetsch D, van Elsas J D. Land use intensity controls actinobacterial community structure. *Microbial*

- Ecology, 2011, 61(2): 286-302.
- [24] Eisenlord S D, Zak D R. Simulated atmospheric nitrogen deposition alters actinobacterial community composition in forest soils. *Soil Science Society of America Journal*, 2010, 74(4): 1157-1166.
- [25] Navarrete A A, Tsai S M, Mendes L W, Faust K, de Hollander M, Cassman N A, Raes J, van Veen J A, Kuramae E E. Soil microbiome responses to the short-term effects of Amazonian deforestation. *Molecular Ecology*, 2015, 24(10): 2433-2448.
- [26] Zhang B L, Wu X K, Tai X S, Sun L K, Wu M H, Zhang W, Chen X M, Zhang G S, Chen T, Liu G X, Dyson P. Variation in actinobacterial community composition and potential function in different soil ecosystems belonging to the arid Heihe River Basin of Northwest China. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 2209.
- [27] Perera I, Subashchandrabose S R, Venkateswarlu K, Naidu R, Megharaj M. Consortia of cyanobacteria/microalgae and bacteria in desert soils; an underexplored microbiota. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(17): 7351-7363.
- [28] Lan S B, Thomas A D, Rakes J B, Garcia-Pichel F, Wu L, Hu C X. Cyanobacterial community composition and their functional shifts associated with biocrust succession in the Gurbantunggut Desert. *Environmental Microbiology Reports*, 2021, 13(6): 884-898.
- [29] Wang Q, Zhang Q Y, Han Y C, Zhang D L, Zhang C C, Hu C X. Carbon cycle in the microbial ecosystems of biological soil crusts. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 171: 108729.
- [30] Geng Y C, Ding Y A, Zhou P P, Wang Z C, Peng C R, Li D H. Soil microbe-mediated carbon and nitrogen cycling during primary succession of biological soil crusts in tailings ponds. *The Science of the Total Environment*, 2023, 894: 164969.
- [31] Li J Y, Jin X Y, Zhang X C, Chen L, Liu J L, Zhang H M, Zhang X, Zhang Y F, Zhao J H, Ma Z S, Jin D. Comparative metagenomics of two distinct biological soil crusts in the Tengger Desert, China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 140: 107637.
- [32] 米超, 赵艳宁, 刘自刚, 陈其鲜, 孙万仓, 方彦, 李学才, 武军艳. 白菜型冬油菜 RuBisCo 蛋白亚基基因 *rbcL* 和 *rbcS* 的克隆及其在干旱胁迫下的表达. *作物学报*, 2018, 44(12): 1882-1890.
- [33] Zhang L D, Zhang L X, Sun J L, Zhang Z X, Ren H Z, Sui X L. Rubisco gene expression and photosynthetic characteristics of cucumber seedlings in response to water deficit. *Scientia Horticulturae*, 2013, 161: 81-87.
- [34] Berg I A. Ecological aspects of the distribution of different autotrophic CO₂ fixation pathways. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(6): 1925-1936.
- [35] Momper L, Jungbluth S P, Lee M D, Amend J P. Energy and carbon metabolisms in a deep terrestrial subsurface fluid microbial community. *The ISME Journal*, 2017, 11(10): 2319-2333.
- [36] 孙永琦. 毛乌素沙地地衣结皮层微生物的群落结构及其固碳功能[D]. 北京:北京林业大学, 2019.
- [37] 张青一. 生物结皮中微生物群落结构与功能[D]. 北京:中国科学院大学, 2017.
- [38] 周虹. 典型沙区生物土壤结皮微生物群落结构与功能研究[D]. 北京:中国林业科学研究院, 2020.
- [39] 黄倩. 黄土高原土壤固碳微生物及其固定 CO₂ 的机理[D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2021.
- [40] Geng H H, Wang F, Yan C C, Ma S, Zhang Y Y, Qin Q Z, Tian Z J, Liu R P, Chen H L, Zhou B H, Yuan R F. Rhizosphere microbial community composition and survival strategies in oligotrophic and metal(loid) contaminated iron tailings areas. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 436: 129045.
- [41] Wang C, Wang X B, Liu D W, Wu H H, Lü X T, Fang Y T, Cheng W X, Luo W T, Jiang P, Shi J, Yin H Q, Zhou J Z, Han X G, Bai E. Aridity threshold in controlling ecosystem nitrogen cycling in arid and semi-arid grasslands. *Nature Communications*, 2014, 5: 4799.
- [42] Yahdjian L, Gherardi L, Sala O. Nitrogen limitation in arid-subhumid ecosystems: a meta-analysis of fertilization studies. *Journal of Arid Environments*, 2011, 75(8): 675-680.
- [43] Pietrasiak N, Regus J U, Johansen J R, Lam D, Sachs J L, Santiago L S. Biological soil crust community types differ in key ecological functions. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 65: 168-171.
- [44] Solomonson L P, Spehar A M. Model for the regulation of nitrate assimilation. *Nature*, 1977, 265: 373-375.
- [45] Wang J, Bao J T, Li X R, Liu Y B. Molecular ecology of *nifH* genes and transcripts along a chronosequence in revegetated areas of the tengger desert. *Microbial Ecology*, 2016, 71(1): 150-163.
- [46] 张丽梅, 贺纪正. 一个新的古菌类群——奇古菌门(Thaumarchaeota). *微生物学报*, 2012, 52(4): 411-421.
- [47] 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: 887-900.
- [48] Daims H, Lebedeva E V, Pjevac P, Han P, Herbold C, Albertsen M, Jehmlich N, Palatinszky M, Vierheilig J, Bulaev A, Kirkegaard R H, von Bergen M, Rattei T, Bendinger B, Nielsen P H, Wagner M. Complete nitrification by *Nitrospira* bacteria. *Nature*, 2015, 528: 504-509.
- [49] van Kessel M A H J, Speth D R, Albertsen M, Nielsen P H, Op den Camp H J M, Kartal B, Jetten M S M, Lückner S. Complete nitrification by a single microorganism. *Nature*, 2015, 528: 555-559.