

榆林沙区典型林地不同植被类型对土壤微生物群落结构的影响

王岳^{1,2}, 丁国栋^{3*}, 刘梦婕⁴, 高广磊³, 于明含³, 李旭³

(1. 内蒙古财经大学资源与环境经济学院, 内蒙古呼和浩特 010070; 2. 祖国北疆资源利用与环境保护协调发展院士专家工作站, 内蒙古呼和浩特 010070; 3. 北京林业大学水土保持学院, 北京 100083; 4. 北京林业大学经济管理学院, 北京 100083)

摘要:【目的】掌握榆林沙区典型林地土壤微生物特征, 明确地上植被对土壤微生物群落结构的影响。【方法】采集榆林沙区四种林分类型土壤, 分析其土壤微生物群落结构。【结果】测序共产生有效操作分类单元 (OTU) 15,509 个, 各林分间 OTU 及各类多样性指数没有显著性差异。优势菌种及其丰度土层间变化较大, 但林分间优势细菌种一致, 丰度排名前五的分别是变形菌门 (*Proteobacteria*)、放线菌门 (*Actinobacteria*)、酸杆菌门 (*Acidobacteria*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和绿弯菌门 (*Chloroflexi*); 樟子松、油松林下土壤中, 酸杆菌门所占比例最大、分别达到 22.32% 和 29.02%, 而在沙柳和小叶锦鸡儿林下土壤中, 变形菌门又成为优势菌, 比例占到 27.64% 和 28.51%。变形菌门和放线菌门在灌木林土壤中所占比例要高于乔木。【结论】虽然各优势种丰度在林分间略有差别, 但差异不显著 ($P < 0.05$)。说明在一定区域内微生物群落结构复杂程度是受土壤本底的影响, 不同季节或者土壤温度、湿度的变化对微生物群落结构的影响在一段时间后消除, 群落结构归于稳定。

关键词: 榆林沙区; 土壤微生物; 群落结构

中图分类号: S182 文献标识码: A 文章编号: 0564-3945(2022)04-0907-12

DOI: 10.19336/j.cnki.trtb.2021120502

王岳, 丁国栋, 刘梦婕, 高广磊, 于明含, 李旭. 榆林沙区典型林地不同植被类型对土壤微生物群落结构的影响 [J]. 土壤通报, 2022, 53(4): 907-918

WANG Yue, DING Guo-dong, LIU Meng-jie, GAO Guang-lei, YU Ming-han, LI Xu. Influence of Different Vegetation Types on Soil Microbial Characteristics of Typical Forest Land in Yulin Sandy Area[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2022, 53(4): 907-918

【研究意义】土壤微生物, 作为土壤生态系统的重要组成部分, 不仅可以集中反映土壤肥力与相关土壤因子以及植物营养状况的关系^[1], 还可以快速反映植物、大气、温度等因素对土壤的影响, 是养分在土壤中转化和转移的动力^[2-3]。更为关键的是其能够通过不同的方式反映这些问题, 包括微生物群落结构, 微生物数量、酶活性等, 这些为我们选择不同的指标表征土壤肥力质量提供了可能^[4-5]。【前人研究进展】基于沙地土壤水分条件差, 温度变化快的特点, 目前针对沙区土壤微生物的研究主要集中在微生物生物量变化规律和基于三大菌种比例的研究上, 例如细菌的比例占据绝对的优势地位, 并且水分条件是影响微生物群落结构的主要生态因子^[6-8]。部分涉及不同植被类型下土壤微生物群落结构变化的研究也多集中于水热条件发生变化时微生物

群落结构对其的响应, 此类研究主要集中在我国东南水热条件变化幅度较大的区域, 基本可以确定是双因素共同作用的结果。总结起来就是单一植被条件下的夏季“单峰型”、或者春秋季节“双峰型”变化^[9-10]。而同类型气候条件下沙区植被类型影响下的土壤微生物群落结构研究较少。【本研究切入点】沙区土壤状况相对稳定, 多数研究认为其短期内发生明显变化的可能性不大, 因此忽略了不同植被类型长时间生长对地下土壤微生物群落的影响。总体来看关于微生物群落结构的研究多集中在湿润区, 而涉及地处干旱半干旱地区的沙地土壤的研究较少, 这也限制了利用土壤微生物群落结构进行沙地土壤质量评价、微生物促进代谢等相关方面的研究。【拟解决的问题】本文以榆林沙区典型林地四种植被覆盖下的土壤为研究对象, 通过 16S rDNA 高通量

收稿日期: 2021-12-22; 修订日期: 2022-03-15

基金项目: 祖国北疆资源利用与环境保护协调发展院士专家工作站开放课题 (2021NCDYSZJGZZ-019), 内蒙古自然科学基金项目 (NO.2020BS03001) 和国家自然科学基金项目 (No. 42061069) 资助

作者简介: 王岳 (1989-), 男, 内蒙古呼和浩特人, 博士, 讲师, 主要从事沙地土壤特征研究。E-mail: wyue@imufe.edu.cn

*通讯作者: E-mail: dingguodong@bjfu.edu.cn

测序方法对其土壤微生物群落结构进行分析,以期找到不同植被长期生长过程对土壤微生物的影响。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

榆林风沙区位于陕西北部、毛乌素沙地的东南缘(图1),位于 $37.33^{\circ} \sim 39.37^{\circ}N$, $107.33^{\circ} \sim 110.18^{\circ}E$,由南向北分别与盐池县、鄂托克前旗、乌

审旗、伊金霍洛旗相连;境内包括定边、靖边、横山、榆阳、神木、府谷六县(区)以及佳县、米脂部分地区,共计59个乡镇、30个农林场,土地总面积近1.8万 km^2 ,约占毛乌素沙地面积的50%。

研究区选在陕西省榆林市红石峡沙生植物保护园内。园内有85科300多种植物,植被盖度85%以上。

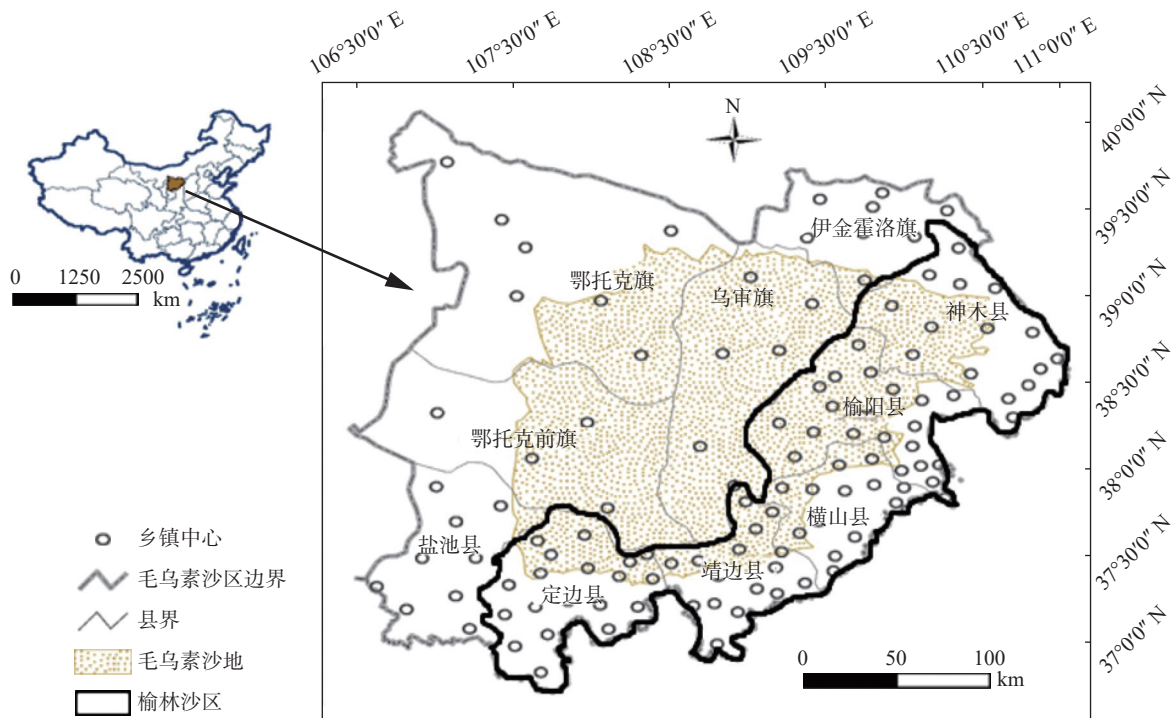


图1 毛乌素沙地及榆林沙区相对位置(赵媛媛等,2017)

Fig.1 Location of Yulin and Mu Us sandland

1.2 样地设置与基本调查

选取园内四种林分类型沙地土壤作为研究对象,分别是樟子松(*Pinus sylvestris* var. *mongholica*),油松(*Pinus tabulaeformis*),沙柳(*Salix psammophila*)和小叶锦鸡儿(*Caragana microphylla*)。每种样地设置3个重复,并分别调查样方内植株的高度,冠幅,郁闭度等指标。为了尽可能排除其他因素的差异,样地选择时保证立地条件基本一致且均设置在上世纪80年代集中造林区域。具体参数见表1。

1.3 土壤样品采集

在样地内采用“S”形取5点,分0~10 cm,10~20 cm和20~40 cm采样,并进行四分法取样。同时为避免不同采样时间造成的系统误差,在降雨后5日取样,并于当日8~9时,12~13时,18~19时

分三个时段采样混合。排除水热变化对群落结构的影响。采样后进行混合冷冻,混合后共计得到36份供试样品。

1.4 土壤为生物群落16S rDNA高通量测序

细菌的V3-V4区域适用引物是338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R(5'-GGACTAC HVGGGTWTCTAAT-3'),反应体系是:10×buffer 5 μL; Mg^{2+} (25 mmol/L) 4 μL; 碱基(5 mmol/L) 2 μL; 引物(10 pmol/L) 3 μL; 提取的DNA 10 ng; *Taq* 酶 1 μL和ddH₂O 35 μL。聚合酶链式反应(Polymerase Chain Reaction PCR)过程为:95℃下3 min;55℃下30 s,72℃下45 s;最后在72℃下10 min。此过程中需要注意:1)尽可能在低循环数条件下进行扩增;2)确保同一样本在同一循环数下进行扩增。

表 1 实验样地植株参数调查
Table 1 Parameters of experimental plots

| 林分类型 Vegetation type | 样地编号 Plot No | 面积 Area | 坡向 Aspect | 坡度(°) Slope | 林分密度(N hm ⁻²) Density | 郁闭度(%) Coverage | 平均株高(m) Height | 平均胸径(cm) Diameter |
|-------------------------|-----------------|------------|--------------|----------------|--------------------------------------|--------------------|-------------------|----------------------|
| 樟子松 | ZZS1 | 20 × 20 m | 西北 | 6 | 975 | 71 | 14.40 ± 3.36 | 16.33 ± 5.05 |
| | ZZS2 | 20 × 20 m | 北 | 9 | 1050 | 70 | 13.94 ± 1.71 | 10.80 ± 2.86 |
| | ZZS2 | 20 × 20 m | 北 | 7 | 1025 | 76 | 14.28 ± 1.33 | 12.51 ± 2.37 |
| 油松 | YS1 | 20 × 20 m | 北 | 3 | 850 | 82 | 6.60 ± 0.81 | 12.32 ± 3.11 |
| | YS2 | 20 × 20 m | 东北 | 4 | 950 | 69 | 6.20 ± 0.57 | 13.91 ± 1.52 |
| | YS3 | 20 × 20 m | 北 | 3 | 1025 | 73 | 5.94 ± 0.63 | 11.74 ± 2.20 |
| 小叶锦鸡儿 | XJ1 | 10 × 10 m | 北 | 2 | | 61 | 1.77 ± 0.21 | |
| | XJ2 | 10 × 10 m | 北 | 1 | | 50 | 1.49 ± 0.18 | |
| | XJ3 | 10 × 10 m | 北 | 2 | | 55 | 1.91 ± 0.27 | |
| 沙柳 | SL1 | 10 × 10 m | 北 | 1 | | 88 | 2.55 ± 0.45 | |
| | SL2 | 10 × 10 m | 北 | 1 | | 73 | 2.71 ± 0.39 | |
| | SL3 | 10 × 10 m | 北 | 3 | | 75 | 2.26 ± 0.31 | |

通过对少量样本进行的前期预实验, 确保能够产生适宜浓度的产物, 同时循环次数最低(北京奥维森基因公司)。

1.5 数据分析

微生物群落结构主要是通过 Illumina 平台 (MiSeq) 进行双端测序 (Paired-end), 每次测序得到一个序列 (read), 利用 Trimmomatic 软件将数据末端碱基做修剪, 通过滑动窗口策略去除末端低质量碱基 (滑动窗口选用 50 个碱基, 最小质量值为 20 个碱基), 然后用 Readfq (version 6.0) 软件以碱基 Q20 ≥ 90% 为标准将低质量的成对 reads 过滤掉。利用 Flash (version 1.2.10) 软件将双端测序数据成对的 reads 通过其交叠拼接到一条序列, 拼接的错误匹配率为 0.1。为得到高质量的 reads, 需要去除 DNA 聚合酶两端的条码序列、引物序列和嵌合体及其短序列。分别要使用利用 Mothur 软件去除长度小于 200 个碱基的 reads; 利用 Usearch (version

8.0.1623) 软件去除嵌合体。

2 结果与分析

2.1 土壤微生物测序结果分析

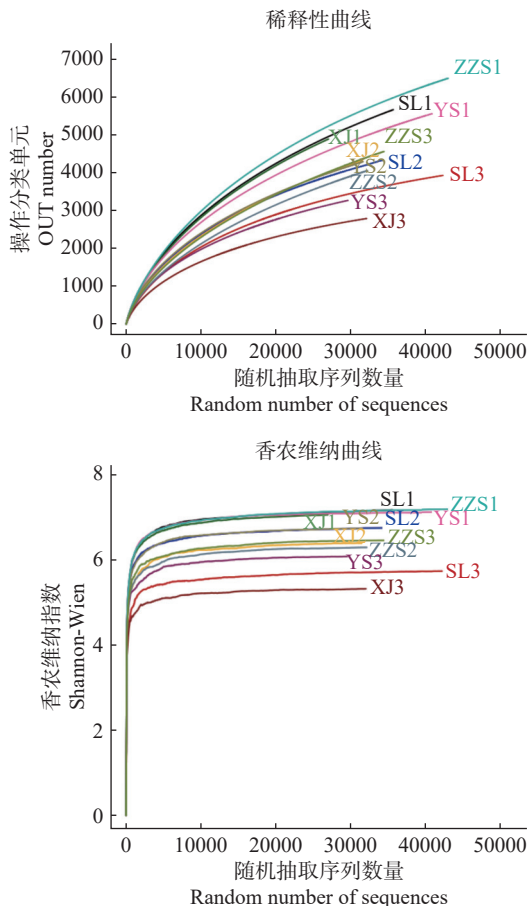
四种林分类型土壤中微生物的物种丰富程度和物种数量是通过操作分类单元 (Operational Taxonomic Units, OTU) 体现的。处理过的标记聚类为 OTU 的标准是相似度 ≥ 0.97。实验共产生 60,091 个 OTU, 其中丰度为 1 的 OTU 个数为 44,582, 此类 OTU 可能由于测序错误造成, 故将这部分 OTU 去除, 不加入后期分析, 有效 OTU 个数为 15509, 统计结果见表 2。由实验结果可以看出, 除樟子松外, 其他树种的 OTU 数量随土壤深度的加深而减少, 且四种林分的土壤均呈现出表聚作用, 10~20 cm 比 0~10 cm 土壤的 OTU 数量分别减少了: 樟子松 37%, 油松 22.8%, 沙柳 23.8%, 小叶锦鸡儿 11.4%。即使同种林分类型, 其林下土壤 OTU 数

表 2 样品操作分类单元(OTU)统计
Table 2 OTU statistics of sample

| 样品号 Samples No | 最终标记 Sequence | 操作分类单元 OTUs |
|-------------------|------------------|----------------|
| 沙柳 0~10 cm | 35,638 | 5,663 |
| 沙柳 10~20 cm | 34,153 | 4,315 |
| 沙柳 20~40 cm | 42,241 | 3,928 |
| 小叶锦鸡儿 0~10 cm | 26,986 | 4,888 |
| 小叶锦鸡儿 10~20 cm | 31,517 | 4,332 |
| 小叶锦鸡儿 20~40 cm | 32,073 | 2,791 |
| 油松 0~10 cm | 40,802 | 5,557 |
| 油松 10~20 cm | 31,606 | 4,290 |
| 油松 20~40 cm | 29,581 | 3,269 |
| 樟子松 0~10 cm | 42,957 | 6,491 |
| 樟子松 10~20 cm | 32,182 | 4,056 |
| 樟子松 20~40 cm | 34,398 | 4,561 |

量在土层间变化规律不一致，油松林下土壤 OTU 数量土层间变化比较平稳；而小叶锦鸡儿林下土壤 OTU 数量较高的土层范围扩展到了 0~20 cm。

样本的测序量能否基本体现样本内实际细菌种类的数量可以用两种曲线来反映，一是随机抽取的序列数与相同序列数下所聚类的 OTU 数构建的稀释性曲线。当曲线趋于平坦时，说明即使继续测序也很难发现新的 OTU。二是随机抽取的序列数与相同序列数下香农维纳指数构建的香农维纳曲线，当曲线趋向平坦时，说明微生物多样性指数不会随测序量加大而升高。两种曲线的结果均显示所有样本在现有测序量条件下已经可以得到绝大多数微生物菌群，如图 2 所示。其中香农维纳曲线更加明显，当随机抽取的序列数达到 10,000 时，曲线已经接近水平，说明所测序列基本能够覆盖土壤中的细菌种类。



注:SL: 沙柳, XJ: 小叶锦鸡儿, ZZS: 樟子松, YS: 油松; 1: 0~10 cm, 2: 10~20 cm, 3: 20~40 cm;

图 2 稀释曲线和香农-维纳曲线

Fig.2 Rarefaction and Shannon-Wiener curves of samples

实验结果是否具有代表性除了测序量是否合理，还需要考虑样品是否能够基本涵盖所要表征的样地

的微生物多样性，该结果可以通过物种累计曲线进行判断（图 3）。随着检测的进行，新增 OTU 逐渐减少，图中矩形逐渐变窄，且曲线趋于水平。直至最后一个样本，OTU 累积量几乎为零，说明通过新增实验样本发现新物种的可能性很低。即当前测试结果可以代表样地内微生物的群落结构特征。

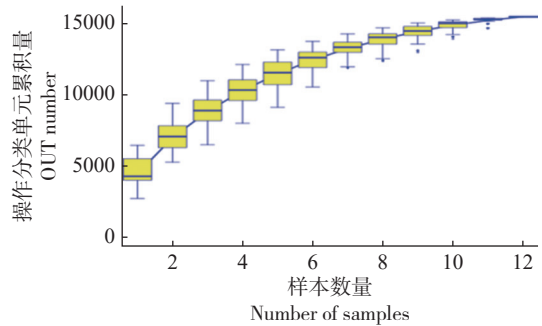


图 3 物种累计曲线

Fig.3 Species cumulative curve

2.2 土壤微生物生物多样性分析

Alpha 多样性是对单个样品中物种多样性的分析，基于 OTU 的结果，计算香农维纳指数（Shannon index），Chao1 指数，观察物种数（observed number of species）和覆盖率（goods coverage）共四个指数来进行单个样品中生物多样性分析。Chao1 多样性估算指数是根据所测得的标记和 OTU 的数量以及相对比例来预测样品中微生物的种类，是基于已知结果所得相对值，在生态学中常用来估计物种总数。香农维纳指数是一个综合 OTU 丰度和 OTU 均匀度两方面因素的多样性指数，香农维纳指数和观察物种数越大，则表示该样品中的物种越丰富。覆盖率越大样品中有未测出物种概率越低。根据 Chao1 多样性估算指数降序排列的 Alpha 多样性见表 3。

虽然个别样品的 Chao1 多样性估算指数与香农维纳指数在大小排序上不统一，但总体 0~10 cm 土壤的微生物多样性最高。樟子松 0~10 cm 土壤中观察到的微生物种类最多，但是其香农维纳指数却低于沙柳 0~10 cm 土壤，说明沙柳该层土壤内各微生物物种数量分布更加均匀。

即使枯落物生物量的差异有可能造成林分间各土层微生物多样性指数有所差别，但通过以土壤深度加权计算后的结果进行比较（表 4）。可以看出林分间的 OTU 数量和各多样性指数并没有显著差异。说明土壤内整体微生物多样性在四种林分间没有显

表 3 样品 Alpha 多样性
Table 3 Alpha-diversity of sample

| 土样 Sample | Chao1 多样性指数 Chao1 diversity | 覆盖率 Good's coverage | 观察物种 Species | 香农-维纳指数 Shannon-Wiener |
|----------------|--------------------------------|------------------------|-----------------|---------------------------|
| 沙柳 0~10 cm | 8493.142 | 0.907 | 4971 | 10.297 |
| 樟子松 0~10 cm | 8265.922 | 0.905 | 5186 | 10.282 |
| 小叶锦鸡儿 0~10 cm | 7896.818 | 0.910 | 4888 | 10.190 |
| 油松 0~10 cm | 7643.797 | 0.916 | 4596 | 10.215 |
| 樟子松 20~40 cm | 7401.609 | 0.921 | 4008 | 9.294 |
| 小叶锦鸡儿 10~20 cm | 6912.480 | 0.925 | 4008 | 9.213 |
| 樟子松 10~20 cm | 6841.950 | 0.928 | 3704 | 9.067 |
| 油松 10~20 cm | 6486.636 | 0.931 | 3979 | 9.696 |
| 沙柳 10~20 cm | 5960.680 | 0.936 | 3902 | 9.718 |
| 沙柳 20~40 cm | 4616.289 | 0.951 | 3263 | 8.228 |
| 油松 20~40 cm | 4562.760 | 0.952 | 3142 | 8.763 |
| 小叶锦鸡儿 20~40 cm | 3582.637 | 0.963 | 2612 | 7.666 |

著差异。虽然已有研究表明物种丰富度能有效地替代谱系多样性^[11-13],但也有研究证实两种多样性所示结果具有明显差异^[14-15]。为进一步验证不同林分微生物

Alpha 多样性,计算各样本的谱系多样性指数 (phylogenetic diversity, PD)。结果显示林分间谱系多样性指数与 Chao1 指数结果一致 (图 4)。

表 4 不同林分微生物 Alpha 多样性指数
Table 4 Sample Alpha-diversity of different vegetations

| 林分 Vegetation type | Chao1 多样性指数 Chao1 diversity | 覆盖率 Good's coverage | 香农维纳指数 Shannon-Wiener | 操作分类单元 OTUs |
|-----------------------------|--------------------------------|------------------------|--------------------------|----------------|
| 樟子松 <i>P. sylvestris</i> | 7503.160 ± 414.189 a | 0.918 ± 0.007 a | 9.48 ± 0.37 a | 5036 ± 742 a |
| 小叶锦鸡儿 <i>C. microphylla</i> | 6130.645 ± 1305.308 a | 0.933 ± 0.016 a | 8.68 ± 0.73 a | 4004 ± 627 a |
| 沙柳 <i>S. cheilophila</i> | 6356.704 ± 1136.533 a | 0.931 ± 0.013 a | 9.12 ± 0.61 a | 4635 ± 526 a |
| 油松 <i>P. tabulaeformis</i> | 6231.064 ± 898.552 a | 0.933 ± 0.010 a | 9.25 ± 0.42 a | 4372 ± 662 a |

注: 同列不同字母间差异显著

根据实验结果,所有样品覆盖率均达到 90% 以上,说明测试样品基本能够覆盖实验样地内土壤中的细菌种类。四种林分的表层土壤的物种丰富度和均匀程度均最高,0~10 cm OTU 数量分别占到 3 层土壤总量的 40.20% (樟子松),39.22% (油松),42.47% (小叶锦鸡儿)和 40.95% (沙柳)。虽然测试出的 OTU 总量为樟子松 > 沙柳 > 油松 > 小叶锦鸡儿,但由于油松各土层间细菌种类分布相对其他林分较为均匀,因此其林下土壤微生物多样性指数最高。

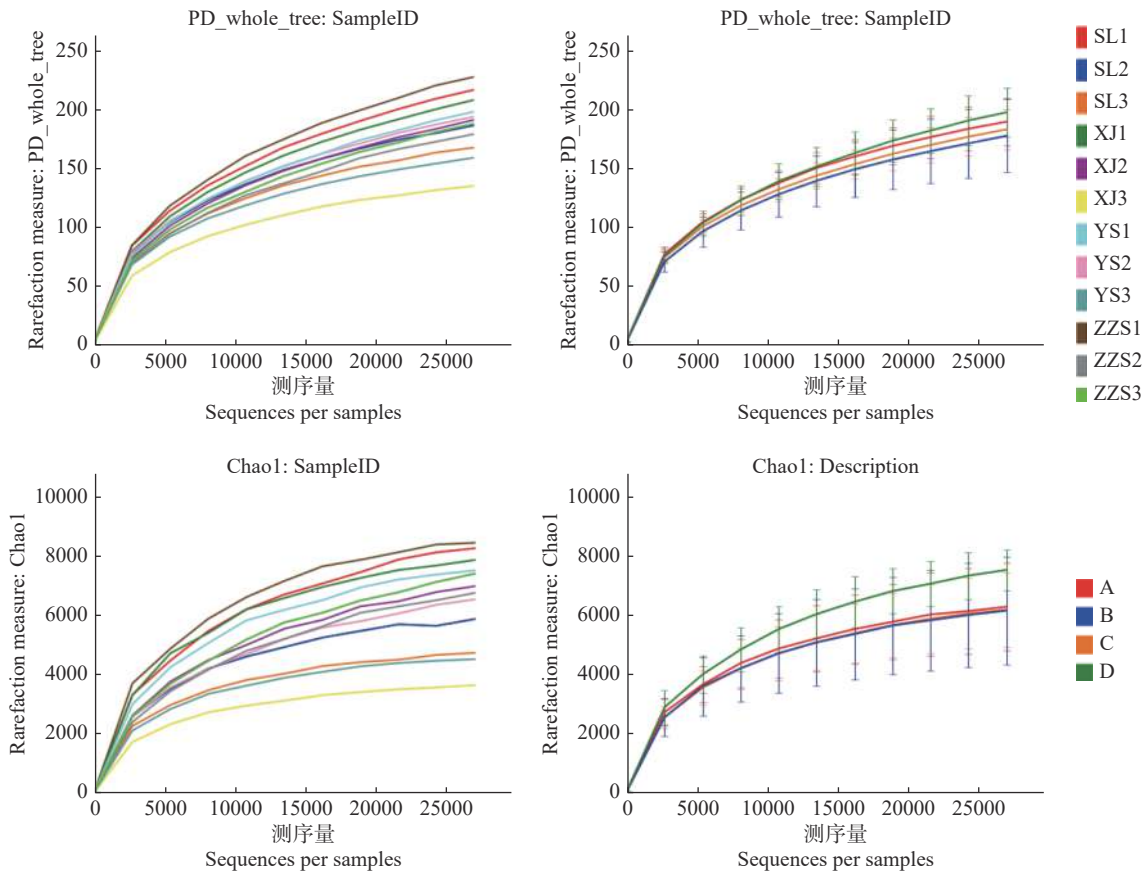
Beta 多样性 (Beta diversity) 分析是分别比较样品间在物种多样性方面存在的差异。可以通过 UniFrac 距离进行衡量。通过对样品两两之间进行比较分析,得到样品间的 UniFrac 距离矩阵。其计算方法为:首先利用来自不同分组的样品 OTU 代表序列构建进化树状图,UniFrac 度量标准根据构建的进化树树枝的长度计量两个来自不同组之间样本的差异,差异通过 0~1 距离值表示,进化树上最早分化的树枝之间的距离为 1,即差异最大,来自相同环境的样品在进

化树中会较大概率集中在相同的节点下,即它们之间的树枝长度较短,相似性高。也就是在 [0,1] 区间内,该指数越大表示样品间的差异越大。不同样品间的 UniFrac 距离见表 5

通过 UniFrac 距离矩阵可以看出,樟子松林地的 0~10 cm 土壤与其他多个样本,尤其是其他林分的深层土壤差异稍大,与同种林分类型的深层土壤差异性较小。总体看来样本间差异均不大,且随土层深度增加,样本间的差异性更小。

为了更好观察样本间的差异性,根据 UniFrac 距离结果的聚类分析,可以将具有相似 beta 多样性的样品聚类在一起,得到样本间的聚类热图 (图 5),该图可以更加直观反应样品间的相似性。从图上可以看出,虽然给出了聚类分析结果,但是类别比较分散,且相对于样本数量,分类过多,说明并未达到实际的聚类效果,无法通过此图对样本进行明确的分类。

不同林分的郁闭度、枯落物生物量、根系分布特征以及蒸腾耗水规律的差异都会对土壤环境造成



注:SL: 沙柳, XJ: 小叶锦鸡儿, ZZS: 樟子松, YS: 油松; 1:0~10 cm, 2:10~20 cm, 3:20~40 cm;

图 4 Chao1 指数和谱系多样性指数

Fig.4 Chao1 index and phylogenetic diversity of samples and different vegetations

表 5 加权后样本间 UniFrac 距离矩阵
Table 5 Weighted unifracs distance matrix

| | XJ1 | ZZS1 | YS2 | YS3 | SL3 | XJ3 | YS1 | SL1 | ZZS2 | ZZS3 | SL2 | XJ2 |
|------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| XJ1 | 0.000 | | | | | | | | | | | |
| ZZS1 | 0.381 | 0.000 | | | | | | | | | | |
| YS2 | 0.272 | 0.282 | 0.000 | | | | | | | | | |
| YS3 | 0.317 | 0.339 | 0.140 | 0.000 | | | | | | | | |
| SL3 | 0.349 | 0.368 | 0.195 | 0.126 | 0.000 | | | | | | | |
| XJ3 | 0.352 | 0.404 | 0.229 | 0.153 | 0.086 | 0.000 | | | | | | |
| YS1 | 0.139 | 0.412 | 0.281 | 0.333 | 0.371 | 0.370 | 0.000 | | | | | |
| SL1 | 0.239 | 0.233 | 0.205 | 0.273 | 0.297 | 0.339 | 0.283 | 0.000 | | | | |
| ZZS2 | 0.380 | 0.282 | 0.248 | 0.275 | 0.319 | 0.354 | 0.408 | 0.233 | 0.000 | | | |
| ZZS3 | 0.272 | 0.313 | 0.133 | 0.142 | 0.206 | 0.230 | 0.298 | 0.236 | 0.224 | 0.000 | | |
| SL2 | 0.366 | 0.238 | 0.221 | 0.257 | 0.279 | 0.325 | 0.403 | 0.186 | 0.166 | 0.238 | 0.000 | |
| XJ2 | 0.284 | 0.293 | 0.122 | 0.123 | 0.164 | 0.193 | 0.316 | 0.209 | 0.251 | 0.115 | 0.221 | 0.000 |

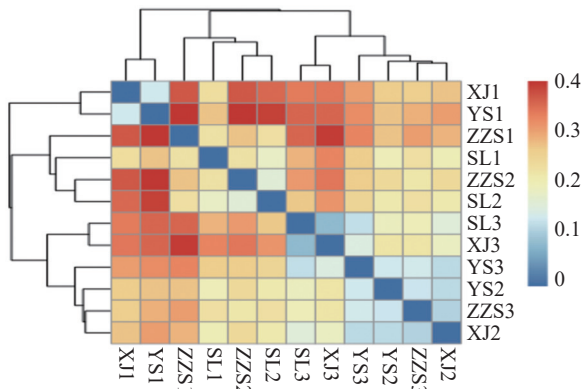
注: SL: 沙柳, XJ: 小叶锦鸡儿, ZZS: 樟子松, YS: 油松; 1: 0~10 cm, 2: 10~20 cm, 3: 20~40 cm;

影响, 进而影响土壤微生物多样性。实验结果表明这种影响极有可能分布在不同的土壤深度。但林分间微生物多样性差异不显著, 说明整体土壤内微生物多样性更多时候是由土壤类型决定的, 林分类型的差异不会使其发生根本变化。

2.3 土壤微生物物种组成分析

虽然微生物多样性能够在一定程度上反映样地

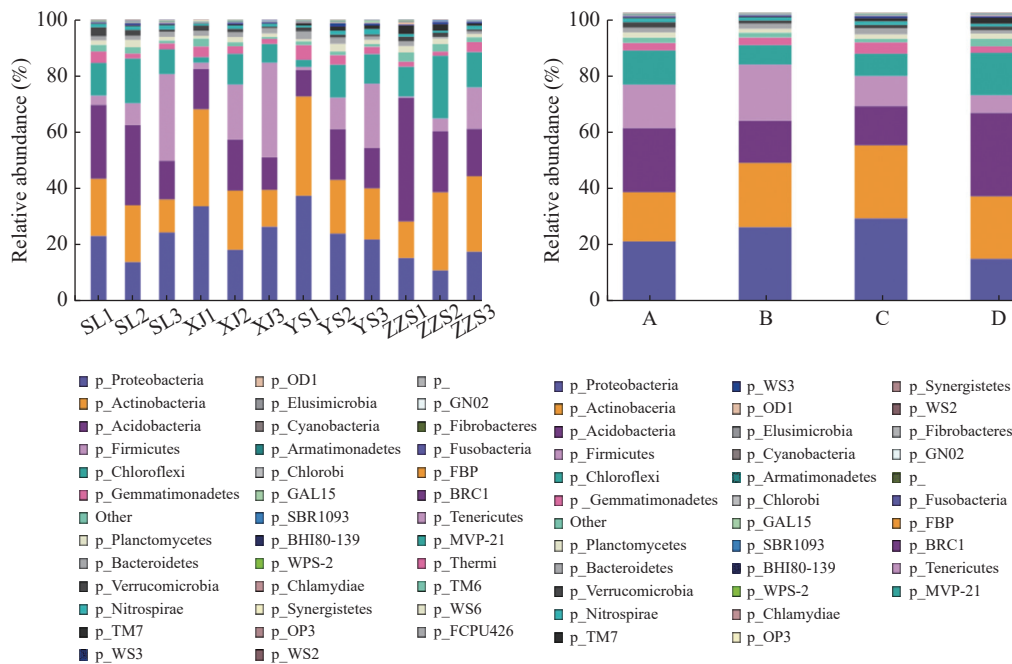
内物种的丰富程度, 但是对于荒漠化研究, 尤其是荒漠植被生长和沙地土壤肥力研究, 了解研究区内土壤微生物的物种组成对于后期分析土壤供给养分的能力还有植物生理的研究具有更加重大的价值。根据物种组成分析结果, 可以得到土壤微生物在各分类水平上的物种组成比例情况, 反映样品在不同分类学水平上的群落结构。



注:SL: 沙柳 XJ: 小叶锦鸡儿 ZZS: 樟子松 YS: 油松; 1: 0 ~ 10 cm, 2: 10 ~ 20 cm, 3: 20 ~ 40 cm

图 5 加权 UniFrac 距离的聚类热图
Fig.5 Weighted UniFrac distance heatmap

各样品及不同林分土壤在门水平上的分类比较柱形图 (图 6) 可以直观展现不同细菌种类丰度的大



注:SL: 沙柳 XJ: 小叶锦鸡儿 ZZS: 樟子松 YS: 油松; A: 樟子松 B: 小叶锦鸡儿 C: 沙柳 D: 油松

图 6 门水平下细菌分布
Fig.6 Bacterial distribution based on phylum-level taxonomy

即使各菌种丰度所占比例上有所不同, 也不能说明其不同林分之间差异显著, 还需要进行进一步分析。通过组间显著性差异分析 (Metastats 分析, 表 6), 可以实现对比不同分组条件下的多个样品, 找出两组中具有显著差异的微生物类型。实际效果相当于方差分析后的多重比较。通过对不同林分间丰度值排名前 5 的细菌门进行显著性差异分析可以看出, 仅变形菌门, 在油松和沙柳、油松和小叶锦

小, 便于比较不同土壤深度及不同林分类型下土壤细菌种类的差异。根据柱形图可以看出, 不同林分土壤中, 所占比例排名前五的菌门均是变形菌门 (*Proteobacteria*), 放线菌门 (*Actinobacteria*), 酸杆菌门 (*Acidobacteria*), 厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和绿弯菌门 (*Chloroflexi*)。但是其中处在优势地位的细菌在林分间有所区别, 例如: 樟子松、油松林下土壤中, 酸杆菌门所占比例最大分别达到 22.32% 和 29.02%, 而在沙柳和小叶锦鸡儿林下土壤中, 变形菌门又成为优势菌, 比例占到 27.64% 和 28.51%。变形菌门和放线菌门在灌木林土壤中的丰度比例要高于乔木林。不同深度土壤间的优势种丰度有所变化, 例如油松林土壤 0 ~ 10 cm 的芽单胞菌门 (*Gemmatimonadetes*) 丰度进入该样品前五, 这种差别并未对林分间优势菌门的种类造成影响。

鸡儿间差异达到或接近显著性水平 ($P < 0.05$)。相比林分间细菌种类的差异, 各林分内随土层深度变化而产生的细菌种类变化更为明显, 从门水平各样品的细菌种类丰度饼状图上可以很明显的观察到 (图 7)。优势菌种在林分间随土壤深度变化复杂, 如各林分土壤厚壁菌门均随土层加深大量增加; 而变形菌门和放线菌门随土壤深度的变化在林分间不一致, 甚至同种林分类型间也不相同。

表 6 基于门水平不同林分土壤微生物之间的 Metastats 分析
Table 6 Metastats analysis of soil bacterial abundance based on Phylum-level

| 林分 Vegetation type | 菌种 Bacterial | 平均相对丰度 abundance | | P值 P value |
|-----------------------|-----------------|---------------------|---------------|---------------|
| | | 组1 Group 1 | 组2 Group 2 | |
| 小叶锦鸡儿 (组1) — 樟子松 (组2) | 变形菌门 | 0.259 ± 0.045 | 0.202 ± 0.033 | 0.346 |
| | 放线菌门 | 0.229 ± 0.063 | 0.174 ± 0.028 | 0.459 |
| | 酸杆菌门 | 0.147 ± 0.019 | 0.229 ± 0.046 | 0.141 |
| | 厚壁菌门 | 0.185 ± 0.091 | 0.140 ± 0.086 | 0.760 |
| | 绿弯菌门 | 0.065 ± 0.026 | 0.121 ± 0.021 | 0.132 |
| 沙柳 (组1) — 樟子松 (组2) | 变形菌门 | 0.275 ± 0.049 | 0.202 ± 0.033 | 0.259 |
| | 放线菌门 | 0.242 ± 0.056 | 0.174 ± 0.028 | 0.331 |
| | 酸杆菌门 | 0.140 ± 0.025 | 0.229 ± 0.046 | 0.121 |
| | 厚壁菌门 | 0.117 ± 0.063 | 0.140 ± 0.086 | 0.848 |
| | 绿弯菌门 | 0.083 ± 0.029 | 0.121 ± 0.021 | 0.335 |
| 沙柳 (组1) — 小叶锦鸡儿 (组2) | 变形菌门 | 0.275 ± 0.049 | 0.259 ± 0.045 | 0.779 |
| | 放线菌门 | 0.242 ± 0.056 | 0.229 ± 0.063 | 0.849 |
| | 酸杆菌门 | 0.140 ± 0.025 | 0.147 ± 0.019 | 0.796 |
| | 厚壁菌门 | 0.117 ± 0.063 | 0.185 ± 0.091 | 0.550 |
| | 绿弯菌门 | 0.083 ± 0.029 | 0.065 ± 0.026 | 0.673 |
| 油松 (组1) — 樟子松 (组2) | 变形菌门 | 0.143 ± 0.020 | 0.202 ± 0.033 | 0.209 |
| | 放线菌门 | 0.225 ± 0.048 | 0.174 ± 0.028 | 0.398 |
| | 酸杆菌门 | 0.276 ± 0.084 | 0.229 ± 0.046 | 0.657 |
| | 厚壁菌门 | 0.066 ± 0.043 | 0.140 ± 0.086 | 0.502 |
| | 绿弯菌门 | 0.152 ± 0.036 | 0.121 ± 0.021 | 0.517 |
| 油松 (组1) — 小叶锦鸡儿 (组2) | 变形菌门 | 0.143 ± 0.020 | 0.259 ± 0.045 | 0.059 |
| | 放线菌门 | 0.225 ± 0.048 | 0.229 ± 0.063 | 0.952 |
| | 酸杆菌门 | 0.276 ± 0.084 | 0.147 ± 0.019 | 0.186 |
| | 厚壁菌门 | 0.066 ± 0.043 | 0.185 ± 0.091 | 0.267 |
| | 绿弯菌门 | 0.152 ± 0.036 | 0.065 ± 0.026 | 0.100 |
| 油松 (组1) — 沙柳 (组2) | 变形菌门 | 0.143 ± 0.020 | 0.275 ± 0.049 | 0.050 |
| | 放线菌门 | 0.225 ± 0.048 | 0.242 ± 0.056 | 0.853 |
| | 酸杆菌门 | 0.276 ± 0.084 | 0.140 ± 0.025 | 0.187 |
| | 厚壁菌门 | 0.066 ± 0.043 | 0.117 ± 0.063 | 0.563 |
| | 绿弯菌门 | 0.152 ± 0.036 | 0.083 ± 0.029 | 0.204 |

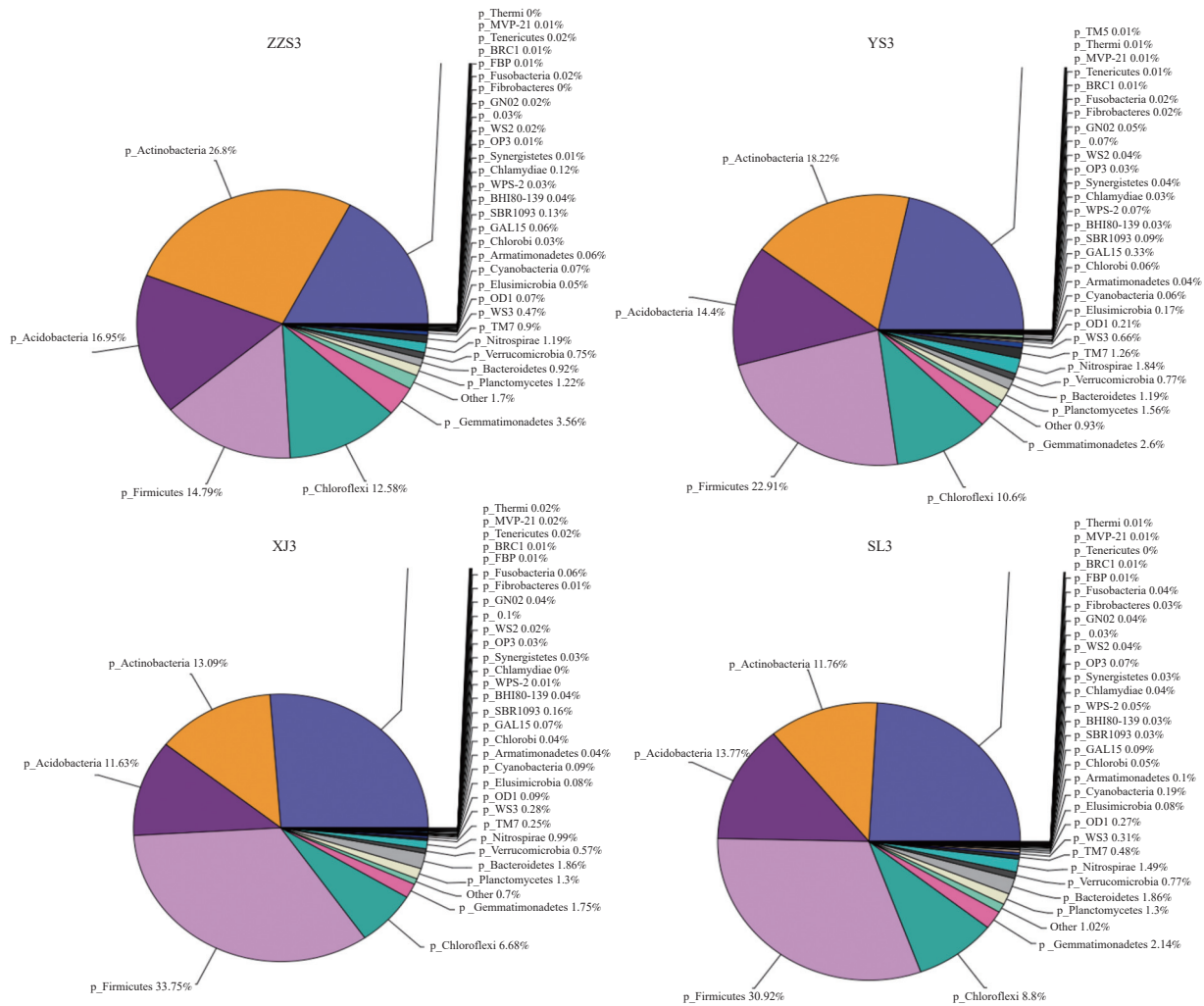
综合分析可以看出, 虽然土层间变化复杂, 但土壤中的各细菌门在四种林分类型下并未发生显著变化, 即使存在不同林分类型对于土壤细菌种类和数量的影响, 导致不同菌门丰度发生变化, 这种变化也主要发生在土层之间, 不会影响林分间土壤中的细菌群落结构。

四种林分类型土壤放线菌门和酸杆菌门随土层深度加深丰度降低比较明显, 而厚壁菌门则呈现相反规律, 此外, 随土层深度的增加, 乔木、灌木的细菌群落结构分别趋于一致, 即变形菌门、放线菌门: 灌木 > 乔木; 酸杆菌门、绿弯菌门: 乔木 > 灌木。原因主要是厚壁菌兼性较好且可以产生芽孢抵抗脱水和极端环境, 因此, 随土壤深度加深, 厚壁菌门细菌所占比例上升, 原因是厚壁菌门为化能营养, 无光照需求; 放线菌门多数好氧, 需要在通气

状况较好的环境中才能大量繁殖。灌木林枯落物生物量较乔木林少, 且浅层位置土壤中细根分布较多, 有利于提升土壤通气性, 所以放线菌门在灌木林下土壤中较多。多数固氮菌属变形菌门, 因此小叶锦鸡儿林下土壤中变形菌门丰度较高。酸杆菌门参与降解植物残体, 有可能灌木枯落物分解速率快, 消耗酸杆菌门细菌较多。

3 讨论

根据测序样本的稀释性曲线和香农-维纳曲线的斜率可以判断, 目前测序量能够表征样本内绝大多数微生物特征。测序量达到 10000 时, 即可体现样本的微生物遗传信息。根据物种累计曲线可以发现, 当检测到第 11 个样本时, 已经基本没有新序列出现, 曲线近于水平。测序共得到有效 OTU 个数为 15509。



注:注: SL: 沙柳, XJ: 小叶锦鸡儿, ZZS: 樟子松, YS: 油松; 1: 0~10 cm, 2: 10~20 cm, 3: 20~40 cm;

图 7 门水平细菌丰度饼图

Fig. 7 Pie of soil bacterial abundance based on Phylum-level

均匀程度造成的, 可能的原因是油松林枯落物层相对较薄, 水分向下流动阻力较小, 底层细菌生长所受胁迫相对较轻, 因此分布较为均匀^[5,19]。

四种林分类型土壤放线菌门和酸杆菌门随土层深度加深丰度降低比较明显, 而厚壁菌门则呈现相反规律, 此外, 随土层深度的增加, 乔木、灌木的细菌群落结构分别趋于一致, 即变形菌门、放线菌门: 灌木 > 乔木; 酸杆菌门、绿弯菌门: 乔木 > 灌木。由于绿弯菌门所含绿色色素较多且兼性厌氧, 因此在呼吸强度更大的乔木林下土壤中更易存活, 此点也反应出土壤微生物群落结构能够反应地上植被状况。优势菌种类和丰度随土壤深度的变化很大, 但在林分水平上相对一致, 而土层间的变化很可能是由于不同菌种自身生理特征和生命活动特性引起的。丰度靠前的菌种在不同植被覆盖下发生明显变

化, 尤其是植被类型差异较大时, 这种变化更加明显^[20-21]。

不论是林分间还是不同土层间的微生物优势种的种类固定, 只是不同种的丰度发生变化, 且这种差异并未达到显著水平。林分间的差异不显著说明在一定区域内微生物群落结构更多是受土壤本底的影响, 不同季节或者土壤温、湿度的变化对微生物群落结构的影响在一段时间后消除, 群落结构归于稳定^[22-23]。土壤微生物群落结构的差异更多体现在随土壤深度的变化方面。这种差异的来源比较复杂, 包括不同林分腐殖质层厚度、土壤结构、通气程度、输水能力等等。

4 结论

(1) 从微生物多样性上分析, 虽然各指数之间

存在细微差别,但总体上研究区四种林分是随土层加深逐渐降低,微生物数量的表聚作用相对明显。但 UniFrac 距离分析结果却没有展现出各样本间的显著差异,甚至是同一林分类型土壤不同深度也没有表现出规律性。

(2) 丰度排名前五的分别是变形菌门 (*Proteobacteria*), 放线菌门 (*Actinobacteria*), 酸杆菌门 (*Acidobacteria*), 厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和绿弯菌门 (*Chloroflexi*)。虽然各菌种在林分间比例顺序有所区别,但总体差异不显著,通过和各沙区相同土壤类型不同植被覆盖下土壤微生物群落结构比较,除短期内水热条件对其的影响,由于本文所选植被类型包括豆科灌木,因此固氮菌所属变形菌门在不同林分类型间差异较大。所以在不同植被类型长期覆盖下,尤其是根系分泌物有较大的区别的植被类型间,土壤微生物群落结构也会出现明显差异,尤其是优势菌种的种类。

参考文献:

- [1] 杨凯,朱教君,张金鑫,等.不同林龄落叶松人工林土壤微生物生物量碳氮的季节变化[J].生态学报,2009,(10):5500-5507.
- [2] 靳乐乐,乔匀周,董宝娣,等.起垄覆膜栽培技术的增产增效作用与发展[J].中国生态农业学报,2019,27(9):1364-1374.
- [3] 杨文权,寇建村,贺璐,等.起垄后不同覆盖方式对苹果园土壤微生物和酶活性的影响[J].土壤通报,2014,(6):1377-1382.
- [4] Wallenstein M D, Hall E K. A trait-based framework for predicting when and where microbial adaptation to climate change will affect ecosystem functioning[J]. *Biogeochemistry*, 2012, 109(1-3): 35-47.
- [5] 张剑,高宇,任永峰,等.垄膜集雨种植对土壤微生物及酶活性的影响[J].土壤通报,2018,49(5):101-106.
- [6] 王少昆,赵学勇,曲浩,等.科尔沁沙地和浑善达克沙地流动沙丘中土壤微生物学特征比较[J].环境科学研究,2010,23(12):1516-1522.
- [7] 王素娟,苏和,高丽.库布齐沙地土壤微生物数量初步研究[J].中国草地学报,2008,30(6):89-93.
- [8] 周智彬,李培军,徐新文,等.塔里木沙漠公路防护林土壤微生物的生态分布特征[J].水土保持学报,2002,16(3):47-50.
- [9] 曹艳峰,李彦,李晨华,等.荒漠灌木梭梭(*Haloxylon ammodendron*)周围土壤微生物的空间分布[J].生态学报,2016,63(6):1628-1635.
- [10] 江莎莎,孙宗玖,杨静,等.封育年限对伊犁绢蒿荒漠草地群落种间关系及稳定性的影响[J].中国草地学报,2018,40(3):68-75.
- [11] Brooks T M, Mittermeier R A, Fonseca G A, et al. Global biodiversity conservation priorities[J]. *Science*, 2006, 313(5783): 58-61.
- [12] Rodrigues A S L, Gaston K J. Maximising phylogenetic diversity in the selection of networks of conservation areas[J]. *Biological Conservation*, 2002, 105(1): 103-111.
- [13] Torres N M. Phylogenetic autocorrelation and evolutionary diversity of Carnivora (Mammalia) in conservation units of the New World[J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2004, 27(4): 511-516.
- [14] Faith D P. Conservation evaluation and phylogenetic diversity[J]. *Biological Conservation*, 1992, 61(1): 1-10.
- [15] Forest F, Grenyer R, Rouget M, et al. Preserving the evolutionary potential of floras in biodiversity hot spots[J]. *Nature*, 2007, 445(7129): 757-60.
- [16] 王晓波.我国北方草地土壤微生物群落的空间格局及其驱动机制[D].北京:中国科学院大学,2015.
- [17] Xie X H, Liu N, Yang B, et al. Comparison of microbial community in hydrolysis acidification reactor depending on different structure dyes by illumine Miseq sequencing. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2016, 111: 14-21.
- [18] 魏鹏,安沙舟,董乙强,等.基于高通量测序的准噶尔盆地荒漠土壤细菌多样性及群落结构特征[J].草业学报,2020,29(5):182-190.
- [19] 徐先英,严平,郭树江.干旱荒漠区绿洲边缘典型固沙灌木的降水截留特征[J].中国沙漠,2013,33(1):141-145.
- [20] Bachar A, AL-Ashhab A, Soares M I, et al. Soil microbial abundance and diversity along a low precipitation gradient[J]. *Microbial Ecology*, 2010, 60(2): 453-461.
- [21] 刘菊红,王忠武,郝敦元,等.重牧对荒漠草原主要植物种和功能群组织力的影响[J].中国草地学报,2018,40(5):85-92.
- [22] Rasche F, Knapp D, Kaiser C, et al. Seasonality and resource availability control bacterial and archaeal communities in soils of a temperate beech forest[J]. *ISME Journal*, 2011, 5(3): 389-402.
- [23] Lauber C L, Ramirez K S, Aanderud Z, et al. Temporal variability in soil microbial communities across landuse types[J]. *ISME Journal Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2013, 7(8): 1641-1650.

Influence of Different Vegetation Types on Soil Microbial Characteristics of Typical Forest Land in Yulin Sandy Area

WANG Yue^{1,2}, DING Guo-dong^{3*}, LIU Meng-jie⁴, GAO Guang-lei³, YU Ming-han³, LI Xu³

(1. School of Resources and Environmental Economics, Inner Mongolia University of Finance and Economics, Hohhot 010070, China;

2. Resource utilization and environmental protection coordinated development academician expert workstation in the north of China, Inner Mongolia University of Finance and Economics, Inner Mongolia, Hohhot 010070, China; 3. School of Economics and

Management, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 4. School of Soil and Water Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] Soil microorganisms play a very important role in reflecting the influence of above-ground vegetation on soil, so the community structure of microorganism is needed to be clarified in soil. [Method] the microbial community structures were analyzed in soils of 4 stands in Yulin Sand Area. [Result] The results showed that Sequencing yielded a total of 15,509 effective operational taxonomic units (OTU) and apparent differences were not observed from the OTUs among stands or the diversity indicators of each unit. Dominant strain species presented large fluctuations in different soil layers, while converged among different stands. Their abundances varied considerably in different soil layers and the top-five dominant species included *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicutes*, and *Chloroflexi*. In the forest soils of *P.sylvestris* and *P.tabulaeformis*, *Acidobacteria*'s proportion maximized at 22.32% and 29.02% separately. In the forest soils of *S.psamphila* and *C.microphylla*, *Proteobacteria* became dominant and accounted for 27.64% and 28.51%, respectively. *Proteobacteria* and *Actinobacteria* owned higher proportions in shrub forest soils than that in arboreal forest soils. [Conclusion] Despite of the slight abundance differences of dominant species among different stands, the differences were not significant ($P < 0.05$). The insignificant difference between forest stands showed that the microbial community structure in a certain area was more affected by the soil background. The influence of different seasons or changes in soil temperature and humidity on the microbial community structure will be eliminated after a period of time, and the community structure will be stable.

Key words: Yulin Sand Area; Soil microorganisms; Community structure

[责任编辑: 刘轶飞]