

# 川西北不同沙化程度草地土壤细菌群落特征

杨秉珣, 刘 泉, 董廷旭

(四川绵阳师范学院 资源环境工程学院, 四川 绵阳 621000)

**摘 要:**研究川西北不同沙化程度草地(未沙化草地、轻度沙化草地、中度沙化草地、重度沙化草地)土壤细菌多样性和群落结构特征,利用 Illumina 二代高通量测序技术 MiSeq 对土壤细菌的 16 SrRNA  $V_3-V_4$  可变区进行测序,研究土壤细菌多样性、物种组成和丰富度,并结合土壤养分探讨影响细菌群落结构的环境因素,对发挥土壤潜在肥力,了解土壤健康状况,实现该区植被的管理与可持续利用有着重要的意义。结果表明:(1) 不同沙化草地土壤养分具有明显差异,依次表现为:随着沙化程度的增加,土壤 pH 值逐渐增加,而土壤有机碳、全氮、全钾、碱解氮和速效磷逐渐降低;(2) 不同沙化程度草地土壤样品中共检测到细菌的 32 个门,65 个纲,169 个目,优势菌门为变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、绿弯菌(*Chloroflexi*)、浮霉菌门(*Planctomycetes*),主要的优势菌纲为放线杆菌纲(*Actinobacteria*)、 $\alpha$ -变形菌纲( $\alpha$ -*Proteobacteria*)、酸杆菌纲(*Acidobacteria*)、 $\beta$ -变形菌纲( $\beta$ -*Proteobacteria*)、浮霉菌纲(*Planctomycetacia*),与沙化草地相比,未沙化草地优势菌主要是变形菌门(*Proteobacteria*)和放线菌门(*Actinobacteria*);(3) 随着沙化程度的增加,OUT 数目、Chao 指数、Ace 指数、Shannon 指数逐渐减小,其中不同沙化草地土壤细菌覆盖率和 Simpson 指数差异不显著( $p>0.05$ );(4) 冗余分析和 Pearson 相关性分析表明,土壤 pH 值、土壤有机碳(SOC)和全氮(TN)是土壤细菌群落结构和多样性的主要影响因子。

**关键词:**川西北; 沙化; 草地; 土壤细菌群落

中图分类号:Q948;S151

文献标识码:A

文章编号:1005-3409(2018)06-0045-08

## Soil Bacterial Communities of Grasslands with Different Desertification Degrees in Northwest Sichuan

YANG Bingxun, LIU Quan, DONG Tingxu

(School of Resource and Environmental Engineering, Mianyang Normal University, Mianyang, Sichuan 621000, China)

**Abstract:** To elucidate soil bacterial communities, especially in desertification grasslands, we explored soil bacterial communities by the method of high throughput sequencing technique (MiSeq). The sequence region was 16 SrRNA  $V_3-V_4$  variable region.  $\alpha$  diversity, community composition and the relative abundance of soil bacterial groups were analyzed in order to explore the effects of soil nutrients on bacterial community structure in different desertification grasslands including non-desertification grassland, light-desertification grassland, middle-desertification grassland and heavy-desertification grassland in northwest Sichuan. The results showed that: (1) there was a large difference in soil nutrients in different desertification grasslands, with the desertification in grassland, soil pH increased, while soil organic carbon, total nitrogen, total potassium, alkali-nitrogen and available phosphorus gradually decreased; (2) the structure and diversity of the microbial communities differed from different desertification grasslands; at the phylum level, the dominant phyla were *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes* and *Firmicutes*, at the class level,  $\alpha$ -*Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*,  $\beta$ -*Proteobacteria*, *Thermoleophilum*, *Gemmatimonadetes*, *Bacilli*,  $\delta$ -*Proteobacteria* were predominant; compared with desertification grasslands, the dominant phyla in non-desertification grassland was *Proteobacteria* and *Actinobacteria*; (3) with the increase of the desertification degree of grassland, OUTs, Chao, Ace and Shannon gradually decreased, while there were no significant difference in coverage and Simpson index; (4) the results from the canonical

correspondence and Pearson correlation analysis showed that soil organic carbon and total nitrogen were the main factors that significantly affected the soil bacterial community composition and alpha diversity in desertification grasslands in northwest Sichuan.

**Keywords:** northwest Sichuan; desertification; grassland; soil bacterial communities

微生物是土壤生态系统的重要组成部分,微生物参与碳、氮循环,有机化合物分解以及能量传输、运送等多种过程的维护和调节,是土壤生态系统中最具有生命活力的重要组成部分<sup>[1-2]</sup>。微生物群落多样性与土壤生态系统的结构、功能密切相关,在维持土壤肥力和土壤生态平衡中发挥着重要作用,其结构和功能对于周围环境条件特别敏感,是土壤变化的重要指示之一<sup>[3]</sup>。细菌作为微生物中含量最多、丰富度最高的类群,通常占土壤微生物的 70%~90%,具有最为丰富的遗传多样性,能有效促进有机质分解、营养物质的释放,参与碳、氮等物质循环过程,维持了生态系统能量流动和物质循环<sup>[4-6]</sup>。在陆生系统中,细菌利用生产者提供的有机物质和代谢物作为营养来源,分解为简单的无机物,同时这些无机物又是生产者的营养来源。土壤中细菌多样性变化会影响土壤生态过程,例如养分循环等<sup>[7-8]</sup>。此外,土壤中细菌多样性变化还会受自然和人为因素的影响,例如植被、土壤养分、土地利用方式等。高通量测序作为第二代测序方法,由于无需构建克隆,耗时少,通量高,能够准确全面地反映土壤微生物群落分布特征等优势,已经逐渐取代传统的测序方法<sup>[9]</sup>。

自 20 世纪 90 年代以来,随着我国实施的大规模生态恢复工程,西北地区土地沙化和荒漠化得到遏制,然而从目前的研究成果来看,我国土地沙化的重点工作仍集中在北方干旱、半干旱区域,忽略了对西北地区草地沙化的研究<sup>[10]</sup>。川西北高寒草原是全国五大牧区之一,地处青藏高原东缘,生态地理位置极其重要,是四川省沙化最严重的区域,过去 20 (1994—2013 年)年间沙化总面积增加了 28.1%,目前草地面积剩余 820 万  $\text{hm}^2$ 。随着全球气候变化和人类掠夺式发展(滥垦和乱挖),导致该区草原植被数量级覆盖度急剧下降,生态环境也极度恶化,退化沙化草地面积也逐年扩大,形成了不同沙化程度的草地类型,这已经严重影响了该区经济的可持续发展和生态安全问题,因此对该区不同沙化程度草地的治理和研究已经迫在眉睫<sup>[11-12]</sup>。截止目前,该区沙化草地的研究大部分集中在如何治理及治理措施的选取等方面,在沙化草地退化过程中土壤养分急剧降低,导致微生物功能降低。大量的研究也表明,草地沙化降低了土壤微生物数量和活性,不同沙化程度对土壤微生物

群落的影响不同,微生物种类及多寡是土壤质量的重要指标,它们对环境极为敏感,又是恢复环境的先锋,提高了生态系统的缓冲能力,微生物指标已经用来评价退化生态系统中生物群落与恢复功能之间的联系并能为退化土壤恢复提供有用信息<sup>[11-12]</sup>。目前针对不同程度沙化草地土壤微生物群落特征多样性的具体变化情况尚不明确。鉴于此,本文以典型川西北不同沙化程度草地为研究对象,运用高通量测序技术,研究土壤细菌多样性、物种组成和丰富度,并结合土壤养分探讨影响细菌群落结构的环境因素,对发挥土壤潜在肥力、了解土壤健康状况,实现该区植被的管理与可持续利用有着重要的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

研究区域位于红原县(四川省西北部),地处阿坝藏族羌族自治州中部( $31^{\circ}51'—33^{\circ}19' \text{N}$ ,  $101^{\circ}51'—103^{\circ}23' \text{E}$ ),属于川西北高原灌丛和若尔盖高原植被地区中的植被小区。该区属高原寒冷地区,沙漠化土地总面积为 6 915.4  $\text{hm}^2$ ,海拔 3 210~4 857 m,冬季长春秋季节短,无夏季,日照充足,寒冷干燥,无霜期 40~60 d,昼夜温差大,年平均气温 1.1 $^{\circ}\text{C}$ ,年均降水量 753.0 mm,近十年极端最高气温为 26 $^{\circ}\text{C}$ ,极端最低气温为 -36 $^{\circ}\text{C}$ ,日照达 2 417.9 h,日照率为 55%。植被以亚高山草甸为主,沼泽植被占有优势,受高寒气候的影响,该区域以高山草甸土、亚高山草甸土和沼泽土为主,伴有寒漠土和风沙土,近年来风沙土的范围不断扩大。本研究的取样点分布于红原至若尔盖公路旁,该区域不同沙化草地均有所表现。

### 1.2 试验设计

2017 年 8—10 月,对研究区进行初步的资料收集和调查,了解研究区沙化土地分布格局,采样时间为植被生长最旺盛期,根据研究区现状选择不同沙化程度的草地(未沙化草地、轻度沙化草地、中度沙化草地、严重沙化草地)。GPS 采集样地经纬度和高程信息,详细记录样地基础环境和物种等指标(表 1)。每种沙化草地分别选取 3 个 500 m $\times$ 500 m 的样地,每个样地随机选取 1 m $\times$ 1 m 样方 15 个,进行植物群落样方调查。在每个样方按照五点取样法收取 500 g 左右鲜土,鲜土过 2 mm 筛除去大的砾石和根系,取

样深度为 0—10 cm 混合土样(除去表层的枯落物和较多的根系),充分混匀后液氮保存(−80℃),带回实验室用于测定微生物多样性;另一部分自然风干 15 d 后过 80 目筛后测定土壤养分含量。

表 1 不同程度沙化样地特征

样地	海拔/m	坡向	坡度/(°)	坡位	群落特征	环境条件
未沙化草地 (ND)	3498	2	10	2	平均盖度 95% 以上,物种丰富, 平均高度在 32 cm	土层较厚,较为干燥,人为干 扰小
	3472	6	9	2		
	3468	5	6	1		
轻度沙化草地 (LD)	3456	3	8	3	平均盖度 65% 以上,物种相对丰 富,平均高度在 25 cm	土层较厚,较为干燥,存在放牧
	3467	6	6	2		
	3408	7	9	2		
中度沙化草地 (MD)	3421	2	13	1	平均盖度 30% 以上,物种相对丰 富,平均高度在 20 cm	砂粒为主,干燥,有鼠害,重度 放牧
	3426	5	11	1		
	3450	4	5	3		
重度沙化草地 (HD)	3406	3	8	2	平均盖度 10%,物种丰富度低, 平均高度在 12 cm	裸斑较多,干燥,砂粒,人为干扰 严重,过度放牧
	3427	3	7	3		
	3431	6	9	1		

注:表中用 1 代表上坡位,2 代表中坡位,3 代表下坡位。坡向是顺时针旋转的角度来表示(以朝东为起点,为 0°),每 45°为一个等级,其变化范围在 0~8 之间,数字越大,表示越干热<sup>[19-20]</sup>。

1.3 土壤样品的测定

1.3.1 土壤养分的测定 一部分土壤样品经自然风干 20 d 后,去除植物根系等杂物过 2 mm 筛。土壤 pH 值采用电极电位法(2.5 : 1 水土比浸提液);有机碳和全氮含量采用元素分析仪;速效磷采用 NaHCO<sub>3</sub> 浸提—钼锑抗比色法;碱解氮采用 NaOH-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> 法;全钾采用乙酸铵浸提—火焰光度计法<sup>[13]</sup>。

1.3.2 土壤细菌测序

(1) 土壤 DNA 提取和测序。土壤 DNA 的提取使用上海美吉公司提供的 DNA 试剂盒(Omega Bio-tek, Inc, Doravilla, GA, USA)利用 1% 琼脂糖凝胶电泳进行基因组 DNA 的检测抽提。参照电泳初步定量的结果,使用 Promega 公司的 QuantiFluor™-ST 蓝色荧光系统对 PCR 产物进行定量检测,之后根据每个样本的测序量要求进行相应比例的混合。利用磁珠纯化后的 PCR 产物对目的片段(16 SrRNA V<sub>3</sub>—V<sub>4</sub>)进行检测。采用上海美吉生物公司提供的 MiSeq 测序平台,利用细菌的特异性引物(338 F\_806 R)进行 16 SrRNA 基因扩增,使用 AXYGEN 公司的 AxyPrepDNA 凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 产物, Tris-HCl 洗脱;2% 琼脂糖电泳检测。下机的原始数据去接头、去污染、去低质量,筛选得到可信数据,根据索引号对比至各个样品。

(2) 序列的优化及去杂。高通量测序过程中通常会出现一些点突变和高分子均聚物等测序错误,随着测序长度的增加造成序列末端的质量降低,为了得到更高质量及更精准的生物信息分析结果,则应对有效序列进行去杂和修剪得到优化数据。使用软件

Trimmomatic, FLSAH 对数据进行去杂。

(3) 生物信息分析及数据处理。根据 Barcode 序列拆分各样品数据,然后截取 Barcode 和引物的序列使用 FLASH 对进行拼接;高通量序列数据使用 Q II ME 进行数据处理;利用 UPARSE 软件对全部有效序列进行聚类,默认以 99% 序列相似度对序列聚类获得 OTUs(operational taxonomic units,操作分类单元);从每个 OTUs 选取一个代表性序列,以 Greengenes 数据库为参考,使用 RDP Classifier 对 OUT 进行物种注释,置信水平为 80%;最后对样品数据均一化处理,以样品中数量最少的为标准,统一抽取有效序列来研究细菌群落结构。通过计算物种丰富度(OTUs)和土壤细菌群落多样性。

计算细菌丰度(Community richness)的指数如下<sup>[14]</sup>:Chao 指数是用 Chao1 算法估计群落中含 OTU 数目的指数,Chao1 在生态学中常用来估计物种总数,由 Chao 最早提出。Ace 指数用来估计群落中含有 OTU 数目的指数,由 Chao 提出,是生态学中估计物种总数的常用指数之一,与 Chao1 的算法不同。

细菌多样性(community diversity)的指数如下<sup>[15]</sup>:Simpson 指数用来估算样品中微生物的多样性指数之一,由 Simpson 提出,在生态学中常用来定量描述一个区域的生物多样性,Simpson 指数值越大,说明群落多样性越低。Shannon 用来估算样品中微生物的多样性指数之一。它与 Simpson 多样性指数均为常用来反映 α 多样性的指数,Shannon 值越大,说明群落多样性越高。

测序深度指数如下<sup>[16]</sup>:Coverage 是指各样品文库的

覆盖率,其数值越高,则样本中序列没有被测出的概率越低。该指数反映了本次测序结果是否代表样本的真实情况。对 OTU 列表表中获得的分类信息与丰度进行整理,在门和纲分类水平下对各样品进行物种丰度统计及冗余分析(RDA),可得到样品中群落组成结构、相似性以及群落结构与环境因子的关系。

2 结果与分析

2.1 不同沙化草地土壤养分特征

由表 2 可知,川西北不同沙化草地土壤养分具有明显差异,依次表现为:随着沙化程度的增加,土壤 pH 值逐渐增加,而土壤有机碳、全氮、全钾、碱解氮和速效磷逐渐降低;其中土壤 pH 值变化范围 7.56~8.63,均值为

8.03,沙化草地 pH 值显著高于未沙化草地( $p<0.05$ );土壤有机碳变化范围为 9.04~13.2 g/kg,均值为 11.25 g/kg,ND 和 LD 差异不显著( $p>0.05$ ),MD 和 HD 差异不显著( $p>0.05$ );土壤全氮变化范围为 1.01~1.23 g/kg,均值为 1.11 g/kg,其中沙化草地土壤全氮显著高于未沙化草地( $p<0.05$ ),MD 和 HD 差异不显著( $p>0.05$ );土壤全钾变化范围为 9.87~13.56 g/kg,均值为 11.76 g/kg,ND 和 LD 差异不显著( $p>0.05$ ),HD 显著高于其他草地( $p<0.05$ );土壤碱解氮变化范围 18.74~29.85 mg/kg,均值为 24.24 mg/kg,不同草地土壤碱解氮差异均显著( $p<0.05$ );土壤速效磷变化范围 18.74~29.85 mg/kg,均值为 29.19 mg/kg,不同草地土壤速效磷差异均显著( $p<0.05$ )。

表 2 不同沙化草地土壤养分特征

项目	pH 值	有机碳 SOC/ (g · kg <sup>-1</sup> )	全氮 TN/ (g · kg <sup>-1</sup> )	全钾 TK/ (g · kg <sup>-1</sup> )	碱解氮 AN/ (mg · kg <sup>-1</sup> )	速效磷 AP/ (mg · kg <sup>-1</sup> )
未沙化草地(ND)	7.56±0.12c	13.25±1.69a	1.23±0.06a	13.56±1.25a	29.85±3.02a	38.03±2.16a
轻度沙化草地(LD)	7.69±0.16c	12.47±1.23a	1.16±0.15b	12.01±0.98ab	25.18±2.15b	32.15±3.02b
中度沙化草地 MD)	8.25±0.08b	10.23±0.98b	1.05±0.08c	11.59±1.65b	23.17±2.02c	26.47±2.18c
重度沙化草地(HD)	8.63±0.15a	9.04±1.14b	1.01±0.23c	9.87±1.24c	18.74±3.78d	20.12±1.97d
均值	8.03	11.25	1.11	11.76	24.24	29.19
F	96.17	165.23	106.58	132.64	115.97	187.23
p	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:不同小写字母表示差异显著( $p<0.05$ ),下同。

2.2 不同沙化草地土壤细菌多样性

如表 3 所示,所有样品的平均覆盖率为 98%,表明该测序效果理想。在 3%分类水平下,不同沙化草地土壤细菌 Chao、Ace、Simpson 指数、Shannon 指数、OTU 数量有所差异。OUT 数目、Chao 指数、

Ace 指数、Shannon 指数均表现为:ND>LD>MD>HD,其中不同沙化草地土壤细菌覆盖率和 Simpson 指数差异不显著( $p>0.05$ );不同沙化草地土壤 Chao、Ace、Simpson 指数、Shannon 指数、OTU 均显著高于未沙化草地。

表 3 不同沙化草地土壤细菌序列统计及多样性指数

项目	读数	0.97 分类水平					
		OTU	Ace 指数	Chao 指数	盖度	Shannon 指数	Simpson 指数
未沙化草地(ND)	10569	2895	4159	3956	0.9906	7.56	0.0016
轻度沙化草地(LD)	9853	2786	3856	3721	0.9901	7.32	0.0015
中度沙化草地 MD)	8692	2531	3625	3614	0.9865	7.15	0.0015
重度沙化草地(HD)	7698	2304	3302	3289	0.9813	7.01	0.0014
均值	9203	2629	3736	3645	0.9871	7.26	0.0015
F	123.36	98.56	165.42	136.97	56.14	99.23	34.12
p	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	>0.05

2.3 不同沙化草地土壤细菌的群落组成特征

高通量测序结果显示不同沙化程度草地土壤样品中共检测到细菌的 32 个门,65 个纲,169 个目。所有样品一共获得 756 234 条有效序列,其中最少序列为 65 231 条,最多序列为 70 218 条。这些序列的 99.1%可以分类到不同的细菌门类,0.9%与数据库比对分类到古菌门类。如图 1A 所示,通过 MiSeq 高

通量测序发现不同沙化草地土壤中检测到的主要门有:变形菌门(*Proteobacteria*)(29.8%~35.2%)、放线菌门(*Actinobacteria*)(11.3%~19.8%)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)(11.3%~19.8%)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)(8.3%~12.6%)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)(3.2%~7.5%)、厚壁菌门(*Firmicutes*)(3.2%~7.2%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)

(1.6%~4.1%)、硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*) (1.2%~3.9%)共 8 个门。其中,前 6 个门在土壤中占主导地位,约占到所有细菌的 89%~95%。此外还发现了相对丰度小于 1%的其他 41 个稀有门类,它们占总序列 5.4%。

如图 1B 所示,通过 MiSeq 高通量测序发现不同沙化草地下土壤中检测到的主要纲有:α-变形菌纲(*α-Proteobacteria*) (21.9%~26.9%)、放线菌纲(*Acti-*

*nobacteria*) (18.3%~29.3%)、酸杆菌纲(*Acidobacteria*) (15.3%~20.5%)、β-变形菌纲(*β-Proteobacteria*) (12.1%~13.5%)、嗜热油菌纲(*Thermoleophilia*) (6.3%~9.8%)、芽单胞菌纲(*Gemmatimonadetes*) (5.4%~8.3%)、杆菌纲(*Bacilli*) (2.3%~7.2%)和 δ-变形菌纲(*δ-Proteobacteria*) (1.7%~4.5%)共 8 个。其中,前 6 个纲在土壤中占主导地位,约占到所有所有纲的 89%~95%。

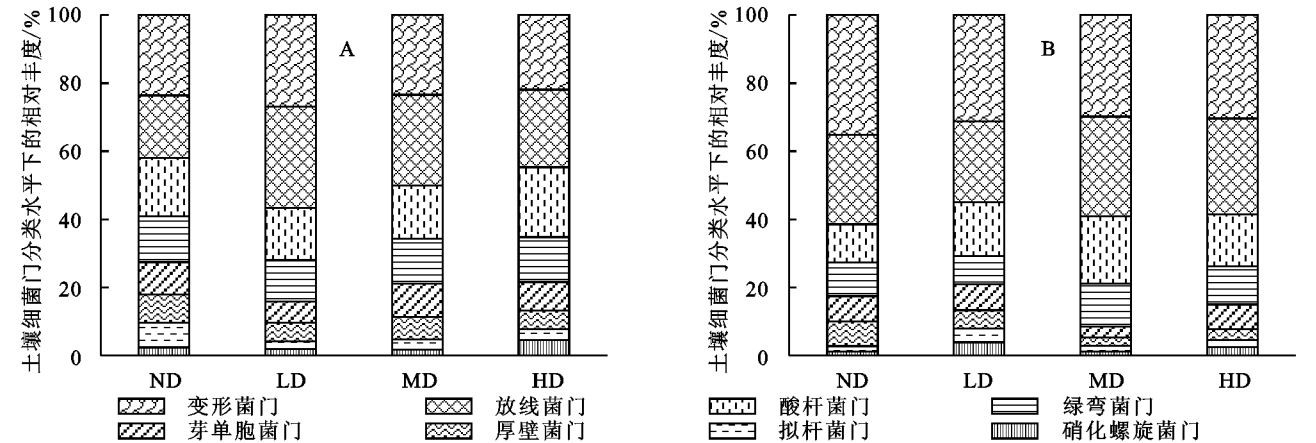


图 1 不同沙化草地土壤细菌门和纲分类水平下的相对丰度

2.4 土壤养分与细菌群落结构的相关性

土壤可以提供细菌群落生长繁殖的微环境,而不同的植被类型通过改变土壤的微环境间接影响了土壤细菌群落结构的组成。土壤理化性质和细菌群落结构的相关性采用 Mantel 检验方法(Mantel tests)分析,从表 4 可以看出土壤细菌群落结构与土壤 pH 值、土壤含水量、土壤有机碳和总氮呈现显著相关( $p<0.05$ )。相关性分析表明,*Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Firmicutes*, *Nitrospirae* 的相对丰富度与土壤 pH 值呈显著负相关, *Actinobacteria* 的相对丰富度与土壤 pH

值呈显著正相关; *Actinobacteria* 的相对丰富度与 SOC 呈显著负相关, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Firmicutes* 的相对丰富度与 SOC 呈显著正相关; *Actinobacteria* 的相对丰富度与 TN 呈显著负相关, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Firmicutes* 的相对丰富度与 TN 呈显著正相关; *Chloroflexi* 的相对丰富度与 TK 呈显著正相关; *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes* 的相对丰富度与 AN 呈显著正相关; *Acidobacteria* 的相对丰富度与 AP 呈显著正相关。

表 4 土壤养分与土壤优势细菌相对丰度相关性

项目	pH 值	有机碳 SOC	全氮 TN	全钾 TK	碱解氮 AN	速效磷 AP
<i>Proteobacteria</i>	-0.513*	0.527*	0.639**	0.265	0.069	0.362
<i>Actinobacteria</i>	0.789**	-0.689**	-0.501*	-0.316	0.365	-0.245
<i>Acidobacteria</i>	-0.710**	0.723**	0.715**	0.405	-0.214	0.623**
<i>Chloroflexi</i>	0.325	0.556*	0.638**	0.536*	0.698**	0.327
<i>Gemmatimonadetes</i>	-0.056	0.316	0.320	0.382	0.523*	-0.421
<i>Firmicutes</i>	-0.423*	0.589*	0.651**	-0.156	-0.231	0.265
<i>Bacteroidetes</i>	-0.231	0.106	0.036	0.233	0.310	0.325
<i>Nitrospirae</i>	-0.528*	-0.382	-0.541	-0.358	-0.169	-0.189

注:\*, \*\* 分别表示在 0.05, 0.01 水平上差异显著。

2.5 环境因素对微生物群落的影响

为了探讨土壤环境对微生物群落组成的影响,本文通过将土壤理化性质分别与纲和属分类水平下细菌的群落组成关系进行冗余分析,利用 R 语言

bioENV 筛选出最能体现土壤细菌群落结构变化的 6 个土壤因子,研究结果与 Mantel tests 方法一致,将经过筛选的土壤理化因子与细菌群落结构进行冗余分析(RDA), RDA 二维排序图可以直观地给出研

研究对象与环境变量之间的关系,排序轴与箭头连线夹角表示环境因子与排序轴的相关性,夹角越小表明关系越密切,而箭头连线表示环境因子与研究对象相关程度的大小,连线越短,相关性越小,反之越大。所有样品因环境因素的不同而聚类或分离的情况,蒙特卡罗检验(Monte Carlo test)发现,特征根的  $F=2.76$ ,轴 1,轴 2,轴 3 和轴 4 的特征根的相关系数分别为 0.953,0.967,0.853,0.981,到轴 4 的累计合理解释变量为 87.36%,故 RDA 分析排序结果可信。环境变量间夹角的余弦值表示二者的相关关系,ND 和 HD 土壤细菌组成差异较大,MD 和 HD

位于二、三象限,ND 和 LD 位于一、四象限。SOC 和 pH 值的射线较长,表明其对细菌群落组成影响较大,而 AP 值的射线较短,说明其对细菌群落组成影响较小;在土壤 pH 值,SOC,TN 对土壤细菌群落结构具有较大影响,同时不同沙化草地土壤细菌群落发生明显分异,ND 土壤细菌群落主要处于土壤 pH 值较高区域,而 HD 土壤细菌群落主要聚类于土壤含水量较高的区域,不同沙化草地土壤细菌群落结构较为分散,其中 *Actinobacteria*,*Acidobacteria* 群落与 pH 值显著负相关,*Proteobacteria* 群落与 SOC,TN 呈显著正相关。

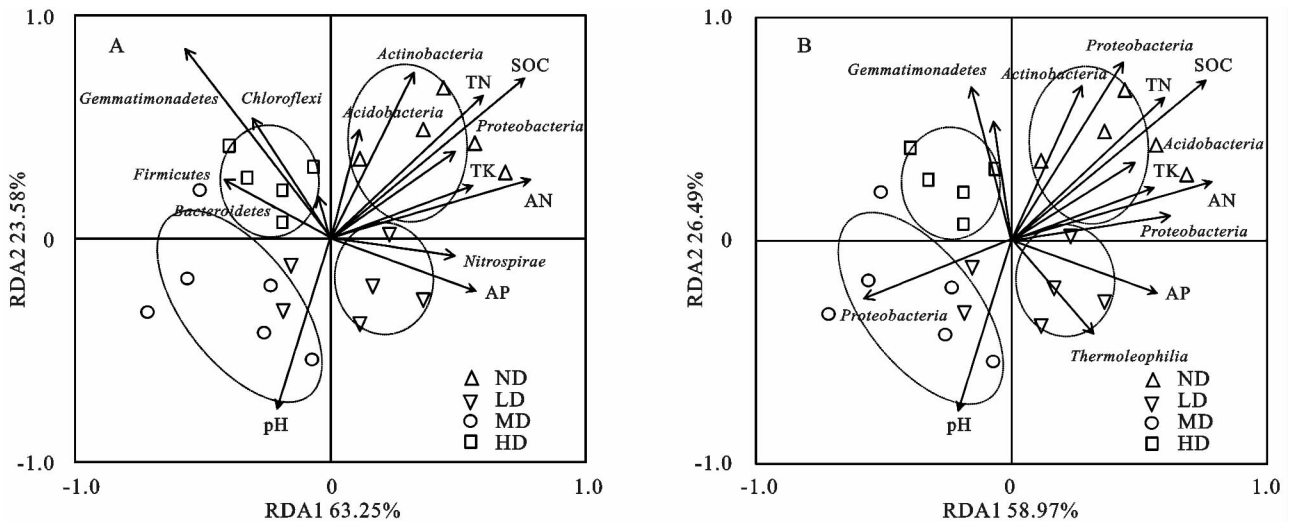


图 2 基于门(A)和纲(B)水平下的土壤细菌分布与环境因子的关系

### 3 讨论与结论

#### 3.1 不同沙化草地土壤细菌多样性及群落组成

川西北草地生态系统是全球变化的敏感区域,其微生物组成和功能影响生态系统转化的方向和进程<sup>[8]</sup>。本研究,未沙化草地土壤养分含量高于沙化草地,这可能与土壤含水量较高有关,而土壤水分是调节生态系统土壤微生物物质转化的关键因子,沙化草地土壤含水量较低,破坏较为严重,受干扰程度较高,因此,其土壤养分含量较低,其中重度沙化草地土壤含水量最低。土壤细菌是土壤微生物的重要组成部分,绝大多数土壤优势细菌种类基本相同,主要包括 10 个左右的细菌类群。Chu 等<sup>[17]</sup>在青藏高原西北部研究表层土壤细菌群落结构发现放线菌门、 $\alpha$ -变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门和芽单胞菌门 5 大门类为研究区的优势类群。厚壁菌门、 $\gamma$ -变形菌门、 $\beta$ -变形菌门、 $\delta$ -变形菌门、拟杆菌门、浮霉菌门 6 大门类为平均相对丰度小于 5% 大于 1% 的细菌门类,与本研究基本一致。而 Yuan 等<sup>[18]</sup>在念青唐古拉南面沿海拔梯度取样研究高山草原土壤细菌群落发现酸杆菌

门、变形菌门、芽单胞菌门为研究范围内最主要的 3 个细菌门类。Zhang 等<sup>[19]</sup>在青藏高原北麓河流域分析草甸、草原和荒漠草原土壤细菌群落结构差异发现主要优势菌群为变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、拟杆菌门 4 个门类,这可能与当地的气候、水文、土壤、植被条件不同有关,似乎没有两种土壤包含完全一致的微生物群落结构。本研究中土壤细菌优势菌群,与其他研究相比厚壁菌门相对丰度较高,这可能与厚壁菌门更能适应川西北沙化草地土壤环境和利用有限的土壤养分有关,草地沙化引起了放线菌门相对丰度的增加,放线菌最适生长环境土壤 pH 值偏碱性,因此重度沙化草地土壤环境更适宜放线菌的生长。

大量研究表明,草地沙化、破坏和干扰会改变土壤细菌的群落多样性,通过植被恢复促进土壤形成团聚体,从而提高土壤的稳定性,在植被恢复的生态环境效应方面起着重要作用<sup>[20-21]</sup>。而土壤细菌的生长主要受土壤的理化性质与环境因子的影响。不同土地利用方式因其管理措施的不同,对土壤理化性质的影响存在很大差别,对土壤细菌群落结构的影响也不同。土壤微生物多样性指数表示生物群落中的物种

多寡,数值愈大表示物种越丰富;优势度指数越大,生物群落内的优势种越突出,生物种群丰富和多样性指数高是生态环境健康稳定的重要表现<sup>[22-23]</sup>。根据表3可知,未沙化草地土壤细菌多样性指数均高于沙化草地,与前人的研究结果一致,说明草地沙化降低了土壤微生物多样性。草地沙化过程中,降低了植被凋落物,从而降低了细菌对养分的吸收、利用和转化,进而影响了土壤细菌群落生长。

### 3.2 不同沙化草地土壤细菌群落组成与土壤养分的关系

研究区土壤细菌群落结构和 $\alpha$ 多样性与土壤pH值、土壤有机碳和全氮显著相关。土壤pH值是影响土壤细菌群落分布的最主要影响因子。Rousk等<sup>[24]</sup>对具有pH值梯度的农田土壤180 m距离(小尺度)内土壤微生物群落结构和多样性采用高通量测序分析,结果表明土壤细菌群落结构组成和多样性与土壤pH值密切相关。Fierer等<sup>[25]</sup>利用末端限制性片段长度多态性分析了美洲大陆从北到南土壤细菌群落多样性和生物地理分布模式,发现土壤细菌群落丰富度和多样性与土壤pH值相关。Shen等<sup>[26]</sup>在长白山研究6种典型植被类型,采用高通量技术研究土壤细菌群落组成和多样性随海拔的分布规律,发现土壤pH值是驱动土壤细菌分布的影响因子,与本研究结论一致。同时SOC和TN也是土壤细菌群落结构和多样性的主要影响因子。而Chu等<sup>[17]</sup>在对青藏高原西北部大尺度研究表层和亚表层土壤细菌群落分布时发现总碳和碳氮比是青藏高原微生物生物地理分布的主要影响因子。植被类型可能通过凋落物和根际分泌物影响土壤微环境并间接地改变了土壤细菌的群落结构和多样性。对于未沙化草地,具有密实的根系,土壤有机碳含量较高;而重度沙化草地草本覆盖度低,土壤有机碳和总氮含量低,土壤微环境的营养差异可能改变土壤细菌群落结构和多样性。当土壤微生物有适宜的营养物质、土壤pH值和良好的水热条件,有利于土壤微生物的生长和繁殖<sup>[27-29]</sup>。总体来看,土壤细菌群落组成与土壤pH值和含水量密切相关,而当土壤pH值相似时,土壤养分可能是细菌结构的重要影响因子。

随土壤肥力及环境状况的不同,土壤微生物种群数量也会存在不同程度的差别。本研究中,不同沙化草地之间土壤养分含量不同,土壤优势细菌门、纲的相对丰富度也不同,说明土壤营养元素含量的变化导致了土壤细菌的组成及群落结构的变化。细菌的优

势菌门有 *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Acidobacteria*, *Chloroflexi*, *Gemmatimonadetes*, *Firmicutes*, 虽然不同沙化草地之间土壤细菌群落物种组成相似,但土壤细菌门、纲、种的相对丰度不同,可能是因为植物类型不同以及其向土壤提供的营养物质的形式与含量存在差异。*Actinobacteria* 能够降解复杂的木质素与纤维素,为土壤提供养分,图1可知,*Proteobacteria* 是最主要的优势菌门,其结果表示 *Proteobacteria* 为碱性土壤中主要优势菌群,在本研究优势菌 *Proteobacteria* 门中, $\alpha$ -*Proteobacteria* 是最主要的亚门,其次是  $\beta$ -*Proteobacteria*, 然后是  $\delta$ -*Proteobacteria*, 与 Zhang 等<sup>[19]</sup> 研究结果不一致,在其研究结果中, $\beta$ -*Proteobacteria* 是 *Proteobacteria* 门中丰富度最高的亚门,这可能是因为所选取的研究区域不一样,其土壤结构、含水率等环境因素差异较大,土壤细菌的群落组成也就不一样,优势菌主要亚门也就不相同。RDA 分析发现, $\alpha$ -*Proteobacteria* 主要受 pH 值 SOC 的影响, *Acidobacteria* 与 SOC 显著相关,说明草地沙化明显改善了土壤的理化性质,改变了土壤细菌的群落组成。本研究表明 SOC 和 TN 是该研究区域影响土壤细菌群落组成与多样性特征的主要理化性质因素,草地沙化明显改变了土壤细菌群落组成。

### 参考文献:

- [1] Simon J, Dannenmann M, Pena R, et al. Nitrogen nutrition of beech forests in a changing climate: importance of plant-soil-microbe water, carbon, and nitrogen interactions [J]. *Plant and Soil*, 2017, 418(1/2): 89-114.
- [2] Chen Z, Wei K, Chen L, et al. Effects of the consecutive cultivation and periodic residue incorporation of *Bacillus thuringiensis* (Bt) cotton on soil microbe-mediated enzymatic properties [J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2017, 239: 154-160.
- [3] Hartmann M, Frey B, Mayer J, et al. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming [J]. *Isme Journal*, 2015, 9(5): 1177-1194.
- [4] Carini P, Marsden P J, Leff J W, et al. Relic DNA is abundant in soil and obscures estimates of soil microbial diversity [J]. *Nature Microbiology*, 2017, 2(3): 16242.
- [5] Maestre F T, Delgado-Baquerizo M, Jeffries T C, et al. Increasing aridity reduces soil microbial diversity and abundance in global drylands [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(51): 15684-15689.
- [6] Tedersoo L. Correspondence: Analytical flaws in a continental-scale forest soil microbial diversity study [J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 15572.

- [7] Zhalnina K, Dias R, de Quadros P D, et al. Soil pH determines microbial diversity and composition in the park grass experiment[J]. *Microbial Ecology*, 2015, 69(2): 395-406.
- [8] Lange M, Eisenhauer N, Sierra C A, et al. Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage[J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 6707.
- [9] Leff J W, Jones S E, Prober S M, et al. Consistent responses of soil microbial communities to elevated nutrient inputs in grasslands across the globe[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(35): 10967-10972.
- [10] 王岩春, 干友民, 费道平, 等. 川西北退牧还草工程区围栏草地植被恢复效果的研究[J]. *草业科学*, 2008, 25(10): 15-19.
- [11] 石福孙, 吴宁, 罗鹏. 川西北亚高山草甸植物群落结构及生物量对温度升高的响应[J]. *生态学报*, 2008, 28(11): 5286-5293.
- [12] 刘长秀, 张宏, 泽柏. 灌丛对川西北高寒草甸土壤资源的影响[J]. *山地学报*, 2006, 24(3): 357-365.
- [13] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [14] Steinauer K, Tilman D, Wragg P D, et al. Plant diversity effects on soil microbial functions and enzymes are stronger than warming in a grassland experiment[J]. *Ecology*, 2015, 96(1): 99-112.
- [15] Tardy V, Spor A, Mathieu O, et al. Shifts in microbial diversity through land use intensity as drivers of carbon mineralization in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90: 204-213.
- [16] McDaniel M D, Tiemann L K, Grandy A S. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis[J]. *Ecological Applications*, 2014, 24(3): 560-570.
- [17] Chu H, Sun H, Tripathi B M, et al. Bacterial community dissimilarity between the surface and subsurface soils equals horizontal differences over several kilometers in the western Tibetan Plateau[J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(5): 1523-1533.
- [18] Yuan Y, Si G, Wang J, et al. Bacterial community in alpine grasslands along an altitudinal gradient on the Tibetan Plateau[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 87(1): 121-132.
- [19] Zhang X F, Zhao L, Xu S J, et al. Soil moisture effect on bacterial and fungal community in Beilu River (Tibetan Plateau) permafrost soils with different vegetation types[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2013, 114(4): 1054-1065.
- [20] Yergeau E, Hogues H, Whyte L G, et al. The functional potential of high Arctic permafrost revealed by metagenomic sequencing, qPCR and microarray analyses[J]. *ISME Journal*, 2010, 4(9): 1206.
- [21] Zhalnina K, Dias R, de Quadros P D, et al. Soil pH determines microbial diversity and composition in the park grass experiment[J]. *Microbial Ecology*, 2015, 69(2): 395-406.
- [22] Wang J T, Cao P, Hu H W, et al. Altitudinal distribution patterns of soil bacterial and archaeal communities along Mt. Shigyla on the Tibetan Plateau[J]. *Microbial Ecology*, 2015, 69(1): 135-145.
- [23] Jeanbille M, Buée M, Bach C, et al. Soil parameters drive the structure, diversity and metabolic potentials of the bacterial communities across temperate beech forest soil sequences[J]. *Microbial Ecology*, 2016, 71(2): 482-493.
- [24] Rousk J, B, Brookes P C, et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil[J]. *ISME Journal*, 2010, 4(10): 1340.
- [25] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(3): 626-631.
- [26] Shen C, Xiong J, Zhang H, et al. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 204-211.
- [27] Leff J W, Jones S E, Prober S M, et al. Consistent responses of soil microbial communities to elevated nutrient inputs in grasslands across the globe[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015, 112(35): 10967-10972.
- [28] Ansola G, Arroyo P, de Miera L E S. Characterisation of the soil bacterial community structure and composition of natural and constructed wetlands[J]. *Science of the Total Environment*, 2014, 473: 63-71.
- [29] Gao Y, Wang J, Guo S, et al. Effects of salinization and crude oil contamination on soil bacterial community structure in the Yellow River Delta region, China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 86: 165-173.