

## 2 种立地条件下沙棘林地土壤中细菌多样性比较

张明明,张 情,樊梦颖,刘西平\*

(西北农林科技大学 生命科学学院,陕西 杨陵 712100)

**摘 要:**利用高通量测序技术对陕西省中部和北部 2 个中国沙棘林地(永寿县马坊镇马坊林场和榆林市榆阳区转龙湾乡)表层(5~20 cm)土壤中细菌的特征区域进行检测,对比分析了 2 个林地土壤细菌群落结构和组成,并分析弗兰克氏菌科各细菌属的相对丰度与年平均降雨量和主要土壤营养因子之间的关系,以阐明环境条件对沙棘林地表层土壤中弗兰克氏菌群落的影响。结果表明,转龙湾林地土壤中细菌菌群丰富度指数(Ace 指数和 Chao1 指数)高于马坊林地,而 2 个地区的细菌群落多样性指数(Shannon 指数和 Simpson 指数)差异不大。从马坊和转龙湾林地土壤中分别获得 89 467 条和 85 279 条测序序列,可归类为 2 658 条和 2 887 个操作分类单元(operational taxonomic unit,OTU),其对应的细菌分属于 26 个门 66 个纲 144 个目 275 个科 474 个属和 30 个门 75 个纲 164 个目 322 个科 584 个属;2 个林地在门和纲组成上的一致性分别达到 83%和 78%;在细菌目和科的分类水平上,2 个林地土壤细菌群落中相对丰度较高的细菌目的组成、以及这些目所含的主要细菌科的组成高度相似,但各菌目以及同一菌目中各菌科的相对丰度在不同林地之间存在明显差异。弗兰克氏菌目(Frankiales)细菌在马坊和转龙湾 2 个林地中的相对丰度均比较低,分别只有 0.44%和 0.76%;从 2 个林地土壤中共获得弗兰克氏菌目下的 20 条 OTU 代表序列(其中共有序列 19 条),分属于 7 个科 12 个属;弗兰克氏菌科(Frankiaceae)弗兰克氏菌属(*Frankia*)在土壤营养条件较好、降雨量较多的马坊林地土壤中的相对丰度占该目细菌的 5.57%,显著高于土壤营养条件较差、降雨量较少的转龙湾林地(相对丰度在该目中为 0.77%)。据此,可计算出弗兰克氏菌属在 2 个沙棘林地土壤整个细菌群落中的相对丰度分别仅为 0.011%和 0.002%。弗兰克氏菌属的相对丰度与土壤全 N 和碱解 N 含量以及年平均降雨量呈显著正相关。综上所述,不同立地条件下沙棘林地表层土壤中细菌群落组成差别不大,但各类细菌的相对丰度差别较大;具有固 N 能力的弗兰克氏菌属细菌的相对丰度很低,而在降雨较为充沛、以及土壤有机质和矿质营养条件较为丰富的立地条件下,其相对丰度显著高于降雨较为稀少和土壤较为贫瘠的立地条件。

**关键词:**沙棘;土壤细菌;弗兰克氏菌;细菌群落结构;高通量测序

**中图分类号:**S781.521.3      **文献标志码:**A      **文章编号:**1001-7461(2020)02-0032-08

### Comparison of Bacterial Diversity in Forest Soils of *Hippophae rhamnoides* Growing in Two Different Sites

ZHANG Ming-ming, ZHANG Qing, FAN Meng-ying, LIU Xi-ping\*

(College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China)

**Abstract:** Bacterial diversity in forest soils (in depth of 5—20 cm) of *Hippophae rhamnoides* growing in central and northern Shaanxi Province (Mafang Forestry Station in Yongshou county and Zhuanlongwan in Yuyang District in Yulin city) was determined and analyzed by high-throughput sequencing technology, and the relationships between the relative abundance of *Frankia* with mean annual rainfall and main soil nutri-

收稿日期:2019-04-19 修回日期:2019-08-05

基金项目:国家“863”科技计划项目(2013AA102902)。

作者简介:张明明,女,硕士在读,研究方向:沙棘根际微生物。E-mail:zhangming2407@126.com

\* 通信作者:刘西平,男,教授,博士生导师,研究方向:植物逆境生理。E-mail:xpliuderen@163.com

tion factors were evaluated to explain the influences of environmental conditions on the bacterial community structure, and to provide a theoretical reference for the forestry production practice. The results showed that the community richness indexes (Ace index and Chao1 index) of Zhuanlongwan site were higher than Mafang site, but there was no significant difference in the community diversity indexes (Shannon index and Simpson index) between the two sites. A total of 89 467 and 85 279 sequences, belonging to 2 660 operational taxonomic units (OTUs) representative sequences and 2 893 OTUs representative sequences, were obtained from the soils of the two sites respectively, which belonged to 26 phyla, 66 classes, 144 orders, 275 families, 474 genera; and 30 phyla, 75 classes, 164 orders, 322 families, 584 genera, respectively. At the level of order and family, the components of the soil bacteria at the level of order and family with higher relative abundance in the two sites were highly similar, but their relative abundances of the orders and families obviously differed from the two sites. The relative abundances of Frankiales in the two sites were relatively low, accounting for 0.44% and 0.76%, respectively. A total of 20 OTU representative sequences of Frankiales were obtained from the two sites, belonging to 12 genera of 7 families. Among that, the dominant family in the two sites was Geodermatophilaceae, and the dominant genus was *Blastococcus*. The relative abundance of *Frankia* in Frankiales was 5.57% in Mafang and 0.77% in Zhuanlongwan, so in the whole bacterial community of the both forest soils, the relative abundances were only 0.011% and 0.002%, respectively. The relative abundance of *Frankia* was significantly correlated with the contents of the total nitrogen and the alkali-hydrolyzable nitrogen and the mean annual rainfall. In conclusion, the components of the bacterial community in the two forest soils did not differ significantly. However, the relative abundances of various bacteria were significantly different. The relative abundances of nitrogen-fixing bacteria Frankiales were rather low. However they were relatively richer in the good site conditions (such as plentiful rainfall, high contents of soil organic and inorganic nutrients) rather than poor site conditions (such as little rainfall, poor soil).

**Key words:** *Hippophae rhamnoides*; soil bacteria; Frankiales; bacterial community structure; high-throughput sequencing

N 素是高等植物体生长发育过程中需要数量最多的矿质营养元素。然而,在全球范围内,处于温带地区的森林土壤中 N 素的有效性是极其低的, N 素常常成为限制林木生长和发育主要营养因子<sup>[1-4]</sup>。在干旱地区,这种情况尤为严重。而且,在干旱的土壤中人工施用氮肥,常常会由于土壤水分的缺乏而使得肥效降低或难以发挥。那么,如何增加干旱地区森林土壤的 N 素有效性,以提高造林成活率和林分生长量,是我国西北干旱地区造林和森林培育实践中一个亟待解决的问题。

土壤微生物是森林生态系统的重要组成部分,参与着土壤动植物残体的腐烂和腐殖质的形成、腐殖质(有机质)的分解、土壤养分转化和养分循环、植物对土壤养分的吸收等过程,进而影响着林木的生长发育、森林群落的生产力以及森林生态系统的稳定性。特别是其中的一些真菌(如菌根菌)<sup>[5-6]</sup>和具有固氮能力的细菌(如根瘤菌和弗兰克氏菌)可以与寄主树木形成共生关系,借助这些共生关系,在提高宿主植物从环境中获得更多的营养物质(尤其是 N 素)的同时,也带动提升了整个生态系统的 N 素有

效性和 N 储量,有利于改善整体的生境条件以及对不良环境胁迫的能力<sup>[7]</sup>。因此,林地土壤微生物群落的结构组成和活性已成为衡量林地土壤质量、土壤肥力和作物生产力、以及森林生态系统稳定性的重要指标<sup>[8]</sup>。

沙棘(*Hippophae rhamnoides*)属胡颓子科沙棘属多年生落叶灌木,其生长迅速,根系发达,且能与弗兰克氏菌共生结瘤固定大气中游离的氮(N<sub>2</sub>),因而具有耐旱、抗风沙和抗盐碱的特性,表现出极强的环境适应性;而且沙棘果实含有丰富的营养物质和重要的生物活性物质,因此是兼具生态作用和经济价值的放线结瘤植物,在我国西北地区有着广泛的栽植<sup>[9]</sup>。随着现代生物学技术的发展和进步,人们对土壤中微生物群落结构特征的认识也在不断深化。在沙棘上,李玉新等<sup>[10]</sup>采用 BIOLOG-ECO 微平板法,根据不同林龄沙棘人工林表层土壤(0~10 cm)中微生物对碳源的利用能力,对土壤微生物多样性进行了研究;罗蓉等<sup>[11]</sup>采用磷脂脂肪酸生物标记法,根据磷脂脂肪酸总量和多种土壤酶活性,对不同林龄和季节沙棘人工林土壤的微生物群落结构进

行了分析。然而,受研究方法所限,这些结果并不能全面地反映土壤微生物群落的组成和数量。新近,高通量测序技术的应用和拓展为进一步深入探讨微生物群落结构提供了一个更好的方法。

本试验利用高通量测序技术对陕西省中部和北部 4 个中国沙棘(*H. rhamnoides* subsp. *sinensis*)林地土壤中细菌的多样性进行了测定和分析,并探讨了年平均降雨量和土壤主要营养因子与弗兰克氏菌目的各个细菌属(包括具有共生固氮能力的弗兰克氏菌属)相对丰度之间的关系,以期阐明环境条件对沙棘表层土壤细菌群落结构的影响,为林业生产实践提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

2017 年 8 月中旬,分别在陕西省咸阳市永寿县马坊镇马坊林场(108. 142°E, 34. 820°N)和榆林市榆阳区转龙湾村(109. 651°E, 38. 457°N)沙棘林地选取林龄相近、且郁闭的 3 块纯林样地,面积约 15 m×20 m。2 个采样地的具体信息见表 1。在每块样地随机选取 3 株健康、高度和胸径均接近样地

表 1 2 个取样林地的基本信息

Table 1 Basic information of two sampling sites

取样地	年降雨量/mm	土壤质地	林龄/a	平均高度/m	平均胸径/cm	郁闭度/cm
马坊	610. 66	黄土	34~37	3. 92±0. 93	0. 87±0. 35	>0. 97
转龙湾	365. 70	黄沙土	32~35	3. 56±0. 78	0. 72±0. 43	>0. 95

### 1.4 土壤细菌多样性分析

用带有 barcode 的细菌通用引物:515F/907R (5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3'/5'-CCGTCAAT-TCMTTTRAGTTT-3')对提取到的土壤总 DNA 的 16S rDNA V4-V5 区进行 PCR 扩增<sup>[13]</sup>,用 2% 琼脂糖电泳检测 PCR 的扩增效果。然后将 PCR 产物用 QuantiFluor™-ST E6150 蓝色荧光定量系统(Promega, WI, USA)进行检测定量,按照每个样本 30000 的测序量要求进行相应比例的混合。使用 TruSeq™ DNA Sample Prep Kit (Illumina, CA, USA) 构建 PE 文库,使用 Miseq (Illumina, CA, USA) 进行上机测序,测序长度为 300 bp。测序工作由上海美吉生物医药科技有限公司完成。

对 MiSeq 测序得到的双端序列数据进行过滤处理,以得到优化的序列数据。然后,按照 97% 的相似性对非重复序列(不含单序列、并去除嵌合体)进行操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类,得到 OTU 的代表序列;使用软件平台 Usearch 7. 0 ([http://drive5. com/uparse/](http://drive5.com/uparse/))将所有优化序列按照 97% 的相似性归类到 OTU 代表序

列,生成 OTU 表格。为了得到每个 OTU 对应的物种分类信息,采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行物种分类分析,通过比对数据库(Release128 [http://www. arb-silva. de](http://www.arb-silva.de)),分别在门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)等分类水平上统计各样本的群落组成。在此基础上,利用 mothur ([http://www. mothur. org/wiki/Schloss\\_SOP#Alpha\\_diversity](http://www.mothur.org/wiki/Schloss_SOP#Alpha_diversity))进行 α 多样性指数分析,R 语言工具对各样本的群落组成等进行多元分析。

### 1.2 土壤主要营养因子的测定

将 40 g 自然风干的土壤样品过 100 目筛子,使用重铬酸钾外加热法测定土壤有机质含量,浓 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-催化剂加热消煮法测定全 N 含量,氢氧化钠熔融法测定全 P 含量,钼锑抗比色法测定全 K 含量。另取 10 g 风干的土样过 20 目筛子,采用 HClO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 酸溶-钼锑抗比色法测定碱解 N 含量,碱解扩散法测定速效 P 含量,火焰光度法测定速效 K 含量,酸度计测定 pH 值<sup>[12]</sup>。

### 1.3 土壤总 DNA 的提取

提取土壤总 DNA 使用的试剂盒为 FastDNA SPIN Kit for Soil(MP Biomedicals, CA, USA),具体试验步骤参照说明书进行。DNA 的纯度和浓度用 NanoDrop 2000(Thermo Fisher Scientific, MA, USA)检测,用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的完整性。

列,生成 OTU 表格。为了得到每个 OTU 对应的物种分类信息,采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行物种分类分析,通过比对数据库(Release128 [http://www. arb-silva. de](http://www.arb-silva.de)),分别在门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)等分类水平上统计各样本的群落组成。在此基础上,利用 mothur ([http://www. mothur. org/wiki/Schloss\\_SOP#Alpha\\_diversity](http://www.mothur.org/wiki/Schloss_SOP#Alpha_diversity))进行 α 多样性指数分析,R 语言工具对各样本的群落组成等进行多元分析。

### 1.5 主要环境因子与弗兰克氏菌目各菌属相对丰度的相关性分析

2 个林地各个参数之间的显著性差异采用 SPSS 21. 0 统计分析软件(Ducan)进行分析( $P < 0. 05$ );主要环境因子与弗兰克氏菌科各菌属相对丰度之间的相关性采用 Spearman 软件进行分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 2 个沙棘林地土壤的主要营养因子

从沙棘根系分布主要区域内土壤 pH 值和主要营

养分含量来看,2 个林地土壤均表现为弱碱性,pH 值之间差异不显著,但马坊林地的有机质、全 N 和碱解 N、速效 P 和速效 K 的含量均显著高于转龙湾林地,而全 P 和全 K 含量则明显低于转龙湾林地(表 2)。

2.2 细菌群落特征分析

2.2.1 细菌群落的 α 多样性分析 从群落丰富度指数来看,马坊林地土壤细菌群落的 Ace 指数和 Chao1 指数值均低于转龙湾林地(表 3);从衡量群

落多样性指标的 Shannon 指数和 Simpson 指数来看,马坊林地的 Shannon 指数值略低于转龙湾林地、但差异并不显著,而 Simpson 指数值则显著高于转龙湾林地,因而马坊林地的细菌群落多样性也低于转龙湾林地(Shannon 指数值越大,群落多样性越高;Simpson 指数值越小,群落多样性越高)。本试验中,样本测序深度值均在 98% 以上,表明测序覆盖率比较高,测序深度良好,测序结果合理可靠。

表 2 不同沙棘林地土壤 pH 值和主要营养指标

Table 2 The pH and main nutrition factors in different forest soils of <i>H. rhamnoides</i>								
采样地	pH	有机质 /(g · kg <sup>-1</sup> )	全 N /(g · kg <sup>-1</sup> )	碱解 N /(mg · kg <sup>-1</sup> )	全 P /(g · kg <sup>-1</sup> )	速效 P /(mg · kg <sup>-1</sup> )	全 K /(g · kg <sup>-1</sup> )	速效 K /(mg · kg <sup>-1</sup> )
马坊	8.01±0.04	41.49±0.55a	2.00±0.01a	102.91±0.17a	0.24±0.01	4.36±0.03a	15.62±0.01	140.57±0.25a
转龙湾	7.69±0.01	8.21±0.01b	0.21±0.01b	32.33±0.03b	0.30±0.01	2.81±0.01b	19.38±0.01	72.74±0.01b

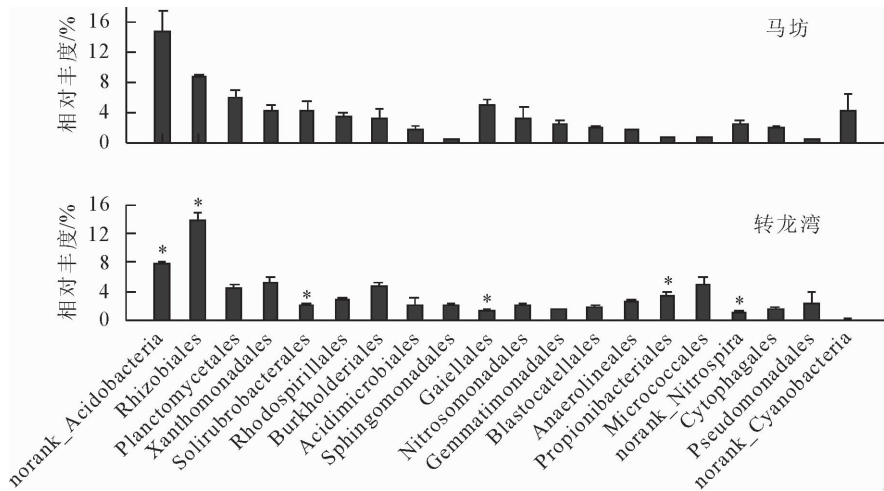
表 3 不同沙棘林地土壤细菌群落 α 多样性分析指数

Table 3 Alpha-diversity analysis of bacterial community in soils of <i>H. rhamnoides</i> growing in different sites					
采样地	多样性分析指数				
	Ace 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	测序深度
马坊	2 492±131	2 525±103	6.22±0.21	0.006 8±0.005 1	98%
转龙湾	2 722±37	2 708±43 *	6.56±0.07	0.003 4±0.000 5	98%

注: \* 表示同一指标在 2 组数据之间存在差异显著性。

2.2.2 细菌群落的组成分析 依据测序数据和分析结果,马坊林地共获得 89 467 条测序序列,可归类为 2 658 条 OTU 代表序列,分属于 26 个门 66 个纲 144 个目 275 个科 474 个属;而转龙湾林地共获得 85 279 条序列,可归类为 2 887 条 OTU 代表序列,30 个门 75 个纲 164 个目 322 个科 584 个属,且二者在门和纲水平的相似度高达 83% 和 78%。在目水平上,不同沙棘林地土壤细菌群落中,相对丰度较高的细菌目的组成具有较高的相似性,但同一细

菌目在不同林地土壤的相对丰度存在明显差异(图 1)。马坊林地中,酸杆菌门未命名目(norank\_Acidobacteria)和根瘤菌目(Rhizobiales)细菌占优势地位(相对丰度分别为 14.79% 和 8.73%),转龙湾林地中占优势地位的菌目为 norank\_Acidobacteria 和根瘤菌目细菌(相对丰度分别为 13.78% 和 7.88%)。弗兰克氏菌目(Frankiales)在马坊和转龙湾 2 个林地土壤细菌群落中的相对丰度均较低,分别为 0.44% 和 0.76%。



注: \* 表示同一细菌目的相对丰度在不同林地之间存在差异显著性。

图 1 不同沙棘林地土壤中相对丰度高的前 20 个共有菌目

Fig. 1 The top 20 bacterial orders with higher relative abundance in forest soils of *H. rhamnoides* growing in different sites

对图 1 中细菌目在科水平上的组成进一步分析表明,不同沙棘林地在科水平上(在所属目中相对丰

度>1%)的组成几乎是完全一致的,只是在优势科以及各科的相对丰度上存在差异(表 4)。

表 4 不同沙棘林地土壤中相对丰度较高的细菌目在科水平上的主要组成及其相对丰度

Table 4 Main components and relative abundance of bacterial orders with higher relative abundance at the level of family in soils of

*H. rhamnoides* growing in different sites

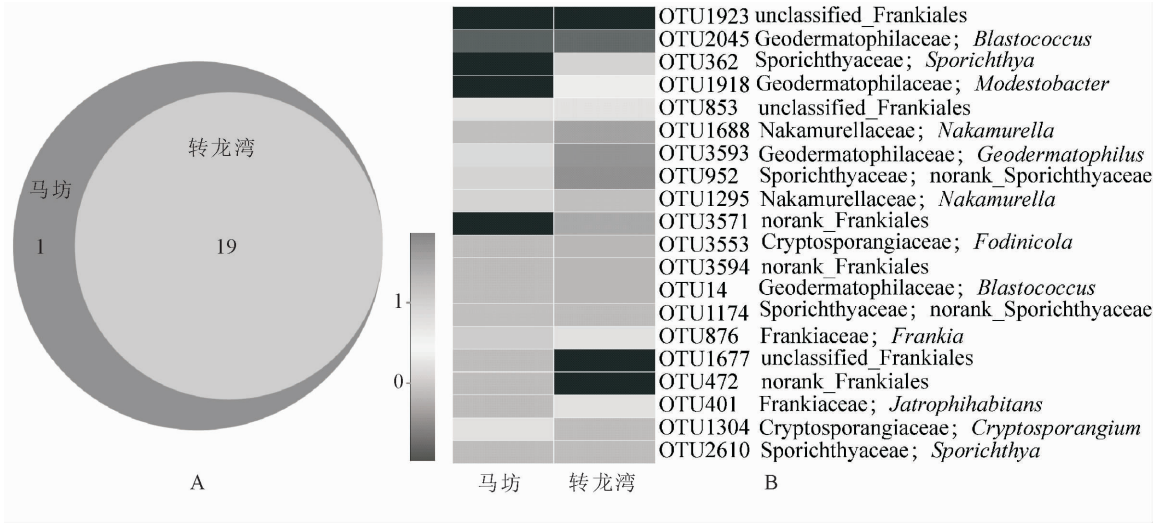
菌目	菌科	相对丰度/%		菌目	菌科	相对丰度/%	
		马坊	转龙湾			马坊	转龙湾
未命名目	未命名科	100	100	红螺菌目	醋酸杆菌科	2.92	9.64
根瘤菌目	甲基杆菌科	13.84	11.75	伯克氏菌目	未定名科 I-10	7.45	9.94
	生丝微菌科	13.35	21.50		未定名科 MSB-1E8	9.28	0.51
	黄色杆菌科	20.16	8.98		未定名科 DA111	4.21	3.75
	慢生根瘤菌科	12.50	12.81		未定名科 MNC12	1.10	1.66
	根瘤菌科	3.14	14.19		丛毛单胞菌科	82.40	69.26
	叶杆菌科	7.02	8.32		草酸杆菌科	7.34	17.45
	Rhizobiales_Incertae_Sedis	6.69	6.75		产碱杆菌科	7.93	5.55
	未定名科 JG34-KF-361	4.51	2.18		伯克氏菌科	7.72	2.31
	未分类科	5.58	3.61		酸微菌目	46.48	40.49
	红细菌科	2.62	3.71		未命名科	38.49	37.46
	未定名科 KF-JG30-B3	3.66	0.37		Iamiaceae	9.23	10.85
	未定名科 DUNssu044	2.26	0.47		OM1_clade	4.68	7.71
	未定名科 A0839	0.29	1.99		Acidimicrobiales_Incertae_Sedis	0.46	3.04
	未定名科 AKYG1088	1.13	0.09		鞘脂单胞菌目	61.21	92.01
	浮霉状菌科	100	100		肠球菌科	31.52	8.22
黄单胞菌目	Xanthomonadales_Incertae_Sedis	50.42	27.76	Gaiellales	未定名科 7B-8	12.42	0.14
	黄单胞菌科	29.65	43.99		Gaiellaceae	62.01	56.75
	未命名科	19.01	21.54		未命名科	35.55	40.84
	Solimonadaceae	0.49	4.46		未分类科	2.42	2.40
	未分类科	0.41	1.91	亚硝化单胞菌目	亚硝化单胞菌科	100	99
土壤红杆菌目	土壤红杆菌科	22.85	41.89	芽单胞菌目	芽单胞菌科	100	100
	未定名科 0319-6M6	15.55	11.46	Blastocatellales	Blastocatellaceae _ _ Sub-group_4_	100	100
	未定名科 288-2	25.08	4.86	厌氧绳菌目	厌氧绳菌科	100	100
	未定名科 Elev-16S-1332	25.35	25.21	丙酸杆菌目	类诺卡氏菌科	59.27	16.84
	未定名科 Gsoil-1167	2.71	4.08	微球菌目	丙酸杆菌科	40.73	83.16
	未定名科 FFCH13075	3.85	0.24		微球菌科	34.62	62.49
	未定名科 FFCH11085	0.67	3.66		微杆菌科	55.60	25.27
	Parviterribacteraceae	1.14	4.14		原小单胞菌科	6.72	8.52
	未分类科	0.92	1.02		间孢囊菌科	30.54	3.63
	未命名科	1.43	1.02	未命名菌目	未命名菌科	100	100
	Patulibacteraceae	0.10	1.86	噬纤维菌目	噬纤维菌科	99.81	98.67
红螺菌目	红螺菌科	34.0	31.85	假单胞菌目	假单胞菌科	96.11	98.56
	Rhodospirillales_Incertae_Sedis	28.51	29.97	莫拉菌科		3.89	1.44
	未分类科	9.41	9.90	蓝细菌门未命名目	未命名科	100	100

2.2.3 弗兰克氏菌目细菌的群落特征分析 隶属于放线菌门放线菌纲的弗兰克氏菌是一种革兰氏阳性细菌。本试验从分类信息中共筛选得到弗兰克氏菌目下的 20 条 OTUs 代表序列,其中,转龙湾的 19 条 OTUs 完全与马坊林地所共有,马坊地区有 1 条特有的 OTU 序列(图 2A)。

从 2 个林地的 OTU 代表序列相对丰度热图(图 2B)来看,归属于地嗜皮菌科(Geodermatophilaceae)芽生球菌属(*Blastococcus*)的 OTU2045 在 2 个林地中的相对丰度均是最高,而归属于弗兰克氏菌科(Frankiaceae)*Jatrophihabitans* 属的 OTU2011 和弗兰克氏菌目未分类属的 OUT1923

在两个林地的相对丰度均很低;其余 OTUs 在 2 个林地的相对丰度存在明显差异,表明马坊和转龙湾

林地土壤中弗兰克氏菌目下细菌组成的相似度不高。



注:图 2B 中按相对丰度的对数值大小显示颜色,右侧色卡是不同对数值的颜色分区。

图 2 不同沙棘林地土壤中弗兰克氏菌目细菌的 OTU 维恩图及其相对丰度热图

Fig. 2 The Venn diagram of OTUs and the relative abundance of different OTUs of Frankiales in soils of *H. rhamnoides* growing in different sites

对弗兰克氏菌目细菌在科水平的分析表明,2 个林地均存在弗兰克氏菌目下的 7 个科,即地嗜皮菌科(Geodermatophilaceae)、弗兰克氏菌目未命名科(norank\_Frankiales)、鱼孢菌科(Sporichthyaceae)、中村氏菌科(Nakamurellaceae)、隐孢囊菌科(Cryptosporangiaceae)、弗兰克氏菌科(Frankiaceae)和弗兰克氏菌目未分类科(unclassified\_Frankiales);而且地嗜皮菌科均占绝对主导地位,但各菌科在不同地区弗兰克氏菌目细菌群落中的相对丰度存在显著差异(图 3)。弗兰克氏菌科在该菌目中的相对丰度均较低,马坊林地为 6.07%,而转龙湾林地仅为 1.5%。

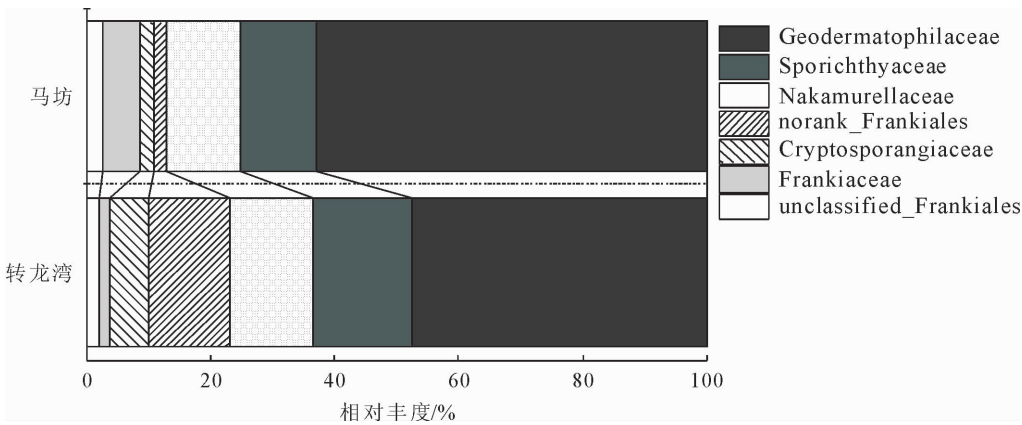


图 3 不同沙棘林地土壤中弗兰克氏菌目细菌在科水平上的相对丰度

Fig. 3 Relative abundances of different families of Frankiales in soils of *H. rhamnoides* growing in different sites

进一步分析结果表明,这 7 个科中共含有 12 个属的细菌,且 2 个林地的绝对优势菌属均为地嗜皮菌科芽生球菌属(*Blastococcus*);这 12 个属的细菌在 2 个林地均有分布,但不同林地的各菌属在弗兰克氏菌目中的相对丰度存在明显差异(图 4)。2 个林地弗兰克氏菌科均有 2 个菌属,分别为 *Frankia* 和 *Jatrophihabitans*。具有共生固氮能力的弗兰克氏菌科弗兰克氏菌属(*Frankia*)细菌在 2 个林地都

只有 1 条 OUT 序列,均为 OTU876;其在弗兰克氏菌目中的相对丰度在马坊林地为 5.57%,而在转龙湾林地中的相对丰度仅为 0.77%。根据以上结果,可计算出弗兰克氏菌属在 2 个林地整个土壤细菌群落中的相对丰度分别仅为 0.011%和 0.002%。

根据表 1 中年平均降雨量和表 2 中土壤营养因子的数据(有机质、全 N、碱解 N、速效 P 和速效 K)与弗兰克氏菌科 2 个菌属相对丰度所进行的相关性



分析(表 5)表明,沙棘林地表层土壤中弗兰克氏菌属(*Frankia*)的相对丰度与全 N、碱解 N、速效 P、速效 K 和有机质含量以及年平均降雨量之间呈正相

关关系,且与其中的全 N 和碱解 N 含量以及年平均降雨量呈显著正相关。



图 4 不同沙棘林地土壤中弗兰克氏菌目各科细菌在属水平上的相对丰度

Fig. 4 Relative abundance of different genera of Frankiales in soils of *H. rhamnoides* growing in different sites

表 5 弗兰克氏菌科下各菌属相对丰度与环境因子之间的 Spearman 相关性

Table 5 The Spearman correlation between the distribution of genera of Frankiaceae and soil characteristics

	有机质	全 N	碱解 N	速效 P	速效 K	年平均降雨量
<i>Frankia</i>	0.71	0.94 *	0.89 *	0.58	0.75	0.88 *
<i>Jatrophihabitans</i>	−0.53	−0.18	−0.44	−0.85 *	−0.72	−0.60

注: \* 表示 Spearman 相关性的显著性。

3 结论与讨论

尽管人们对于土壤微生物在土壤养分循环和生态系统中重要作用的认识越来越清晰,但由于其组成种类非常庞大,且在当前条件下绝大部分土壤微生物种类的可培养率较低,对其群落特征的认识必须要借助新的技术手段才能实现,而免培养的高通量测序技术提供了一个很好的技术途径<sup>[14-15]</sup>。本试验利用这一技术,对生长于陕西中部和北部地区 2 个不同立地条件下的沙棘林地土壤细菌的特征区域进行测序和分析,并对其细菌群落组成和结果进行比较,以期阐明沙棘林地土壤细菌群落的多样性以及环境因子对其的影响。

本研究结果表明,无论是生长于降雨量较为充沛、土壤有机质和矿质营养较为丰富的永寿县马坊林场,还是生长于降雨较为稀少、土壤养分较为贫瘠的榆林转龙湾,沙棘林地表层土壤中细菌群落在种类组成上均是极其丰富和多样的,涵盖了细菌的 31 个门,79 个纲,170 个目,329 个科,603 个属,这种调查结果与前期他人采用不同方法得到的研究结果也是相近的<sup>[10-11,16]</sup>。已有的研究结果普遍认为,在地理大尺度上,土壤类型对土壤微生物群落组成的影响要大于植物种类的作用,但在相同土壤条件下,土壤微生物群落更多地受植物种类的影响<sup>[17-18]</sup>。本研究中,2 个沙棘林地的土壤均以黄土为主要基质、且所选样地均为郁闭的成年纯林,因而二者表层土壤细菌的优势类群在目、科、属水平的组成上均表现出

较高的相似性,这与已有的研究结果是一致的。2 个林地环境因子(特别是降雨量以及土壤有机质和矿质养分条件)上的差异影响着林地土壤细菌群落中优势类群的组成及其相对丰度。就可与沙棘等放线菌植物共生结瘤的弗兰克氏菌而言,2 个沙棘林地表层土壤中弗兰克氏菌目细菌在科水平、以及其中弗兰克氏菌科细菌在属水平的组成上是完全一致的;同时,马坊和转龙湾林地土壤中弗兰克氏菌目细菌的相对丰度均较低。在该菌目中,能与沙棘真正形成共生结瘤的弗兰克氏菌科弗兰克氏菌属细菌的相对丰度也很低,在整个土壤细菌群落中的相对丰度分别仅有 0.011% 和 0.002%。但是,在降雨较为充足、土壤有机质和矿质养分较为丰富的马坊林地表层土壤中,弗兰克氏菌属细菌的相对丰度显著高于降雨较为稀少、土壤养分较为贫瘠的转龙湾林地。鉴于弗兰克氏菌在沙棘林地表层土壤中的相对丰度与土壤氮含量和降雨量呈显著正相关关系,因此,在林业生产中,创造良好的土壤营养条件和水分供应,有利于增加沙棘林地土壤中弗兰克氏菌属细菌的相对丰度,进而可提高弗兰克氏菌对沙棘根系的侵染、促进共生固氮关系的形成,从而提高沙棘根系的固氮能力。

综上所述,无论是马坊还是转龙湾沙棘林地,表层土壤中细菌群落在种类组成上均是极其丰富和多样的,且表现出较高的相似性;2 个林地表层土壤中弗兰克氏菌目细菌在科水平,以及其中弗兰克氏菌科细菌在属水平的组成上是完全一致的,但能与沙

棘共生结瘤的弗兰克氏菌科弗兰克氏菌属细菌的相对丰度均很低;在降雨较为充沛、土壤有机质和矿质养分较为丰富的马坊林地土壤中,弗兰克氏菌属细菌的相对丰度显著高于降雨较为稀少、土壤养分较为贫瘠的转龙湾林地。因而,良好的土壤营养(包括有机质和矿质营养)和水分条件,有利于沙棘林地表层土壤中弗兰克氏菌属细菌的相对丰度的提高。

参考文献:

[1] TAMM C O. Towards an understanding of the relations between tree nutrition, nutrient cycling and environment[J]. Plant and Soil, 1995, 168-169(1): 21-27.

[2] LOVETT G M, WEATHERS K C, ARTHUR M A, *et al.* Nitrogen cycling in a northern hardwood forest: do species matter? [J]. Biogeochemistry (Dordrecht), 2004, 67(3): 289-308.

[3] CHAPMAN S K, LANGLEY J A, HART S C, *et al.* Plants actively control nitrogen cycling: uncorking the microbial bottleneck[J]. New Phytologist, 2006, 169(1): 27-34.

[4] RENNENBERG H, SCHMIDT S. Perennial lifestyle——an adaptation to nutrient limitation[J]. Tree Physiology, 2010, 30(9): 1047-1049.

[5] 盛江梅, 吴小芹. 菌根真菌与植物根际微生物互作关系研究[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(5): 104-108.

SHENG J M, WU X Q. Interaction between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(5): 104-108. (in Chinese)

[6] 赵忠, 王真辉. 菌根真菌与根际微生物间的关系及其对宿主植物的影响[J]. 西北林学院学报, 2001, 16(1): 70-75.

ZHAO Z, WANG Z H. The relationships between mycorrhizal fungi and microbe of rhizosphere and their influences on host plant[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2001, 16(1): 70-75. (in Chinese)

[7] 刘发茂, 黄家彬, 张秉刚, 等. 小坪林场几种固氮树种混交林初步研究[J]. 福建林业科技, 1991, 18(4): 14-19.

LIU F M, HUANG J B, ZHANG B G, *et al.* Preliminary study on nitrogen-fixing of mixed forest in Xiaoping Forest Farm[J]. Journal of Fujian Forestry Science & Technology, 1991, 18(4): 14-19. (in Chinese)

[8] ZELLES L. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopo-

lysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review[J]. Biology and Fertility of Soils, 1999, 29(2): 111-129.

[9] 熊丙全, 余东, 袁军, 等. 中国沙棘属植物资源及其开发利用现状[J]. 中国野生植物资源, 2004, 23(2): 25-26.

XIONG B Q, YU D, YUAN J, *et al.* The wild plant resources and utilization of *Hippophae* in China[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2004, 23(2): 25-26. (in Chinese)

[10] 李玉新, 赵忠, 陈金泉, 等. 沙棘林土壤微生物多样性研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2010, 38(8): 67-74.

LI Y X, ZHAO Z, CHEN J Q, *et al.* Study on soil microbial diversity of seabuckthorn forest [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2010, 38(8): 67-74. (in Chinese)

[11] 罗蓉, 杨苗, 余旋, 等. 沙棘人工林土壤微生物群落结构及酶活性的季节变化[J]. 应用生态学报, 2018, 29(4): 1163-1169.

LUO R, YANG M, YU X, *et al.* Seasonal dynamics of soil microbial community and enzyme activities in *Hippophae rhamnoides* plantation[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2018, 29(4): 1163-1169. (in Chinese)

[12] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.

[13] YUSOFF M Z M, HU A, FENG C, *et al.* Influence of pretreated activated sludge for electricity generation in microbial fuel cell application[J]. Bioresource Technology, 2013, 145: 90-96.

[14] PACE N R. A molecular view of microbial diversity and the biosphere. [J]. Science, 1997, 276(5313): 734-740.

[15] KITA-TSUKAMOTO K, YAO K, KAMIYA A, *et al.* Rapid identification of marine bioluminescent bacteria by amplified 16S ribosomal RNA gene restriction analysis[J]. FEMs Microbiology Letters, 2010, 256(2): 298-303.

[16] 曹桂林. 陕西黄土高原固氮植物沙棘根际微生物多样性研究[D]. 西安: 西北大学, 2010.

[17] FITZPATRICK C R, COPELAND J, WANG P W, *et al.* Assembly and ecological function of the root microbiome across angiosperm plant species[J]. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A., 2018, 115: 1157-1165.

[18] PENG Y, FRANK H. The role of host genetic signatures on root-microbe interactions in the rhizosphere and endosphere [J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1896.