

基于高通量测序技术研究土壤细菌 对盐生植被演替的响应

苗菁¹, 宗万松¹, 吕敏², 丁晶³, 王晓凤¹, 郭笃发^{1*}

(1. 山东师范大学 地理与环境学院, 山东 济南 250014; 2. 中国科学院 烟台海岸带研究所, 山东 烟台 264003;

3. 中国科学院 生态环境研究中心, 北京 100085)

摘要:采用高通量测序技术探究黄河三角洲光板地和 4 种盐生植被 (翅碱蓬、獐茅、白茅和罗布麻) 下土壤细菌群落结构及分布特征, 以期揭示其与盐生植被演替的关系。5 个土壤样本共获得 31976 条有效序列, 分类得到 27 门、62 纲、78 目、196 科、569 属的细菌。变形菌门是盐生植被样地的优势门, 相对丰度为 36.4 ~ 53.2%; 而拟杆菌门是光板地的优势门, 相对丰度为 46.2%。随盐生植被正向演替, 土壤质量和细菌群落多样性和丰富度有不断升高的趋势, 且 OTU 数、ACE 指数和 Shannon 指数与土壤有机碳呈显著正相关。RDA 分析显示, 獐茅和白茅土壤细菌组成相近, 其余样地细菌组成差异较大。随着盐生植被正向演替, 影响土壤细菌群落的主导理化因素由电导率逐渐转为有机碳、活性有机碳和碱解氮。

关键词:黄河三角洲; 细菌群落结构; 高通量测序; 盐生植被演替

中图分类号: S154.38 文献标识码: A 文章编号: 0564-3945(2018)03-0602-07

DOI: 10.19336/j.cnki.trtb.2018.03.15

苗菁, 宗万松, 吕敏, 丁晶, 王晓凤, 郭笃发. 基于高通量测序技术研究土壤细菌对盐生植被演替的响应[J]. 土壤通报, 2018, 49(3): 602-608

MIAO Jing, ZONG Wan-song, LV Min, DING Jing, WANG Xiao-feng, GUO Du-fa. Response of Soil Bacterial Community Structure to Halophytic Vegetation Succession Based on Pyrosequencing[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2018, 49(3): 602-608

土壤微生物在生态系统中扮演着关键角色, 其多样性以及群落结构决定着生态系统的功能状态, 且群落结构变化可以标示环境变化, 因此, 土壤微生物与植物之间的相互作用一直是生态学和土壤学的研究热点。已有研究显示植被类型的改变^[1]、不同植被覆盖下土壤的各种理化参数如 pH^[2]、盐度^[3-5]和温度^[6]的改变、不同耕作模式^[7]等因素均会导致微生物群落结构的变化。已有研究主要集中于水体^[3]、农田^[4,5], 对盐渍土这种特殊环境关注较少。细菌作为土壤微生物的重要组成部分, 在物质循环、土壤结构形成、促进植物生长发育以及生态环境改善等方面发挥着重要的作用^[8-10]。另外, 随着微生物研究方法的发展, 发现传统研究方法如微生物平板培养法、生物标记法、Biolog 鉴定等难以准确反映环境中细菌的实际存在状况、细菌群落及其多样性^[11]。因此, 采用高通量测序等基因组学手段^[12,13], 研究盐渍土环境下土壤细菌的多样性及其与盐生植被的关系具有重要的意义。

黄河三角洲为陆进海退之地, 根据离海距离、成陆时间的不同, 以光板地为起点, 形成了强、中、轻不同耐盐程度的植被演替系列, 是探究土壤微生物群落与盐生植被演替关系的天然实验室。因此, 本研究采用高通量测序技术, 以黄河三角洲为基地, 研究盐生植被演替过程中土壤细菌群落的变化, 以揭示其对盐生植被演替的响应。研究结果可为黄河三角洲地区的生态恢复、盐渍土壤治理及其保护提供科学依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 土样采集

依据多次对黄河三角洲的考察了解, 依照盐生植被演替的顺序, 选择光板地、两种强耐盐植物群落 (翅碱蓬、獐茅) 和两种轻耐盐植物群落 (白茅、罗布麻) 进行采样。其中, 每个植物群落内分散设置 5 个采样区, 每个采样区划出 2 m × 2 m 的样方。在植株附近 10 cm 内, 通过对角线五点采样法采集土壤样品, 混合均匀,

收稿日期: 2017-09-15; 修订日期: 2018-03-09

基金项目: 山东省自然科学基金项目 ZR2012DM013、ZR2016DB07、ZR2015DM012、国家自然科学基金项目 (41601525) 和山东省高等学校科技计划项目 J14LD02 资助

作者简介: 苗菁 (1992-), 女, 山东省济南市人, 主要从事环境微生物研究。E-mail: sdmj666@126.com

* 通讯作者: E-mail: guodufa@163.com

再将每个样地的 5 个采样区土样混匀,放入灭菌袋后,迅速置于冷藏盒带回实验室。土壤样品分为两份分别风干和 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻,前者用于土壤理化性质测定,后者用于分子生物学研究。

1.2 土壤理化性质的测定

应用元素分析仪测定土壤有机碳(土壤中碳酸盐已经盐酸脱去)和全氮含量,采用碱解扩散法测定碱解氮,采取 Olsen 法测定土壤速效磷。通过低温外加热重铬酸钾氧化法-比色法(不乘以氧化校正系数)测定土壤活性有机质^[14]。结合 Kettler 等方法^[15]对土壤粒径进行分析。采用轻便插入式地温计测定每一个采样点土壤 10 cm 处的地温。采用 TDR100 土壤水分探测器测定各个采样点土壤在 0 ~ 20 cm 的水分含量。

1.3 土壤 DNA 提取

采用 Soil DNA Kit(#D5625-01,美国 OMEGA 公司)提取土壤样品中的总 DNA,具体操作按照说明书进行。

1.4 PCR 扩增

通过琼脂糖电泳对提取到的基因组 DNA 进行检测,查看基因组 DNA 的浓度及其完整性。利用 QubitR 2.0DNA 检测试剂盒对基因组 DNA 精确定量,以确定 PCR 反应应加入的 DNA 量。PCR 所用的引物已经融合了 Roche454FLX 测序平台的通用引物(融合细菌 16sF 引物:CGTATCGCCTCCCTCGCGCCATCAG + bar+AGAGTTTGATCMITGGCTCAG;融合细菌 16sR 引物:CTATGCGCCTTGCCAGCC CGCTCAGGTATTACC GCGGCTGCTGGCAC)。

PCR 反应体系主要有以下六部分组成,分别为:

- ① $10\times$ PCR buffer 5.0 μL 、② dNTP 10 mmol L^{-1} 0.5 μL 、③ 模版 DNA 10.0 ng、④ 上、下游引物 50 $\mu\text{mol L}^{-1}$

各 1.0 μL 、⑤ Plantium TaqDNA ($U\ \mu\text{L}^{-1}$) 聚合酶 0.5 μL 、⑥ 加 H_2O 补至 50.0 μL 。配置好的 PCR 体系按照如下反应条件进行 PCR 扩增:94 $^{\circ}\text{C}$,预变性 30 s(1 个循环);94 $^{\circ}\text{C}$,变性 20 s、45 $^{\circ}\text{C}$,复性 20 s、65 $^{\circ}\text{C}$,延伸 1 min(5 个循环);94 $^{\circ}\text{C}$,变性 20 s、60 $^{\circ}\text{C}$,复性 20 s、72 $^{\circ}\text{C}$,延伸 20 s(20 个循环);72 $^{\circ}\text{C}$,延伸 5 min(1 个循环),10 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.5 高通量测序及数据分析

使用琼脂糖电泳对 PCR 产物进行测定后,采用上海生工琼脂糖回收试剂盒(cat:SK8131)DNA 进行纯化回收。回收产物使用 Qubit[®] 2.0 荧光剂进行定量处理。根据实验所得到的 DNA 浓度,将样品进行等比例混合,并振荡均匀。最后,使用罗氏公司 454 测序仪(Roch GS FLX sequencer)对混合产物进行测序。

对去除非靶区域的序列,利用 mothur 软件进行前处理。对于序列中的嵌合体,可用 uchime 进行有效去除(质量控制)。通过 blast 比对数据库对处理后序列进行物种分类。把相似性大于 97%的序列通过 uclust 软件归为同一种可操作分类单元(OTU),之后分析细菌群落结构与多样性。本研究中采用 Sigmaplot 12.5 对 Beta 多样性主坐标分析(PCoA)结果进行制图,采用 SPSS 16.0 进行相关性分析和单因素方差分析,使用 Canoco 4.5 进行 RDA 分析。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质

光板地、翅碱蓬地以及獐茅地属于海积潮湿正常盐土,其中光板地盐化程度比翅碱蓬地高很多;白茅地以及罗布麻地属于弱盐淡色潮湿锥形土。土壤盐分含量与土壤电导率呈正相关关系^[16],本文采用土壤电导

表 1 不同覆被类型土壤理化性质

Table 1 Soil properties under different types of vegetation

覆被类型 Vegetation type	光板地 <i>Bare land</i>	翅碱蓬 <i>Saline Seepweed</i>	獐茅 <i>Angiospermae</i>	白茅 <i>Imperata cylindrica</i>	罗布麻 <i>A. venetum L.</i>
砂粒 % (0.05 ~ 2 mm)	42.5 a	40.8 a	9.92 b	3.73 bc	8.69 b
粉砂粒 % (0.002 ~ 0.05 mm)	49.2 bc	50.5 b	81.6 a	76.9 a	81.5 a
黏粒 % (< 0.002 mm)	8.34 b	8.74 b	14.4 a	15.7 a	8.63 b
电导率 (ds m^{-1})	19.5 a	9.72 b	3.70 c	1.34 d	4.00 c
活性有机质 (g kg^{-1})	0.410 d	0.580 d	4.24 a	2.44 b	1.87 c
全氮 (g kg^{-1})	0.180 d	0.357 c	0.465 b	0.854 a	0.196 d
碱解氮 (mg kg^{-1})	8.46 c	13.0 c	56.4 a	59.0 a	36.4 b
有机碳 (mg g^{-1})	1.54 d	2.45 d	8.29 a	5.48 b	3.95 c
碳氮比	34.5 a	18.4 b	16.5 c	11.9 d	18.0 b
速效磷 (mg kg^{-1})	4.56 a	5.72 a	1.51 c	2.35 b	2.43 b
温度 ($^{\circ}\text{C}$)	32.3 ab	33.5 a	27.0 b	24.0 c	26.0 b
含水率 (%)	19.1 ab	3.94 d	16.3 b	21.2 a	14.0 c

注:表中同行不同字母之间表示不同覆被类型有显著差异($P < 0.05$)。

率表征土壤盐渍化程度。由表 1 可知,土壤的理化性质在不同植被类型下存在一定差别。在所有样地中,含盐量整体排序为:轻度耐盐群落 < 重度耐盐群落 < 光板地;光板地活性有机质、碱解氮、全氮的含量要远低于有植被覆盖的土壤。相关分析发现,活性有机质与有机碳、碱解氮、速效磷呈显著正相关 ($P < 0.05$),而电导率与碳氮比呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。根据上述分析可以看出,黄河三角洲的土壤质量随着盐生植被的正向演替有逐步提高的趋势。

2.2 群落结构多样性分析

454 高通量测序结果经过低质量的序列过滤,所得序列长度大部分都在 400 ~ 600 bp 区间内,平均序列长度为 440 bp,达到进一步分析的要求。5 种土壤样品共获得有效序列 31976 条,其中,光板地、翅碱蓬地、獐茅地、白茅地以及罗布麻地的有效序列条数分别为 6931、5185、10453、5184 和 4222。

采用 Mothur 深入分析群落结构的多样性 (图 1),按高于 97% 相似性共得到 16536 个 OTUs,其中獐茅覆盖土壤中 OTUs 数最高,其次是白茅。Shannon、Chao1 和 ACE 3 个指数呈现相似的变化趋势,光板地土壤细菌多样性指数最低,而獐茅地细菌多样性指数最高,其次是白茅和罗布麻。相关分析发现 OTUs 数、细菌多样性指数 ACE、Shannon、Chao1 与土壤活性有机质和有机碳均呈显著正相关 ($P < 0.05$),与活性有机质相关系数分别为:0.906、0.947、0.969、0.967,与有机碳相关系数分别为:0.912、0.990、0.973、0.980。由于盐生植物是盐渍土壤中有机碳的主要来源,因此盐生植被的演替必然影响盐渍土壤细菌群落结构多样性与丰富度。

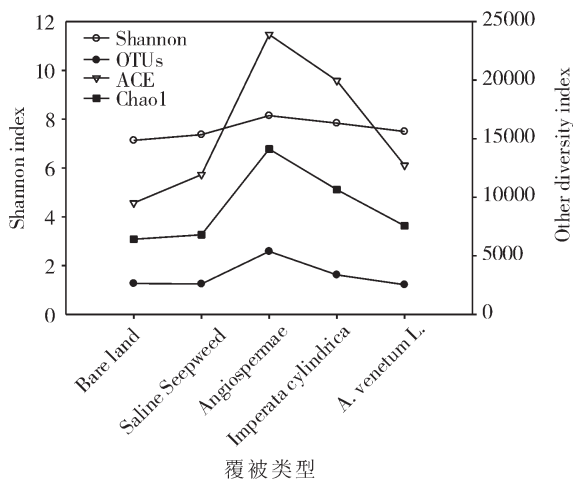


图 1 5 种覆被类型下土壤细菌多样性指数
Fig.1 Diversity index of bacterial in soils under five types of vegetation

2.3 群落间比较

为进一步度量样本间物种组成的差异,本研究基于 Beta 多样性指标 Unifrac metric 值对各样本进行 PCoA 分析。如图 2 所示,PC1、PC2 和 PC3 的解释量分别为 29.9%、13.2%和 11.0%。獐茅地与白茅地聚在一起,说明其细菌群落相似程度最高;其次,同属轻盐土壤的白茅地与罗布麻地的相似度较獐茅地与罗布麻地的相似度高;翅碱蓬地与白茅和獐茅地相似度也较高,而翅碱蓬与罗布麻的相似度相对较低。以上四种盐生植被与光板地的距离较远,说明它们与光板地的群落结构之间有着较低的相似度。

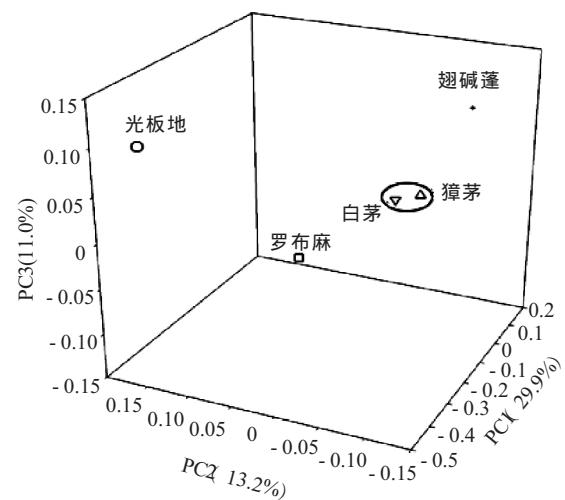


图 2 基于 weighted unifrac metric 的细菌样本 PCoA 分析
Fig.2 Weighted unifrac metric based on PCoA analysis of bacterial groups

2.4 不同覆被类型土壤细菌类群的组成

通过 RDP classifier 对所得序列进行分类,分别有 86.8%、82.7%、64.4%、54.8%和 53.2%的序列分到 27 门、62 纲、78 目、196 科、569 属中。如图 3 所示,已分类的门中,变形菌门 (Proteobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、放线菌门 (Actinobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、厚壁菌门 (Firmicutes)、异常球菌—栖热菌门 (Deinococcus-Thermus)、疣微菌门 (Verrucomicrobia) 的丰度较高。其中,拟杆菌门是光板地最主要的门,相对丰度为 46.2%,而其在翅碱蓬、白茅、罗布麻和獐茅的相对丰度为 3.6 ~ 8.0%,显著降低。不同的是,变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、厚壁菌门、疣微菌门在光板地的相对丰度均显著低于盐生植被覆盖的样地,分别从 30.0%、3.2%、0.2%、0.4%、0.5%、0.32%提升到 36.4 ~ 53.2%、5.1 ~ 29.3%、4.2 ~ 19.2%、3.1 ~ 5.5%、1.6 ~ 5.4%、0.53 ~ 1.82%,其中变形菌门成为各覆被类型下

最优势的菌群。值得注意的是,有些菌门仅在特定样本中有检出,如耐热耐辐射的异常球菌-栖热菌门(*Deinococcus-Thermus*)在光板地中有检出,丰度为1.6%,其在重盐样地中也有0.04%的微量检出,而在其余三个样地中均无检出。含有硝化螺旋菌属的硝化螺旋菌门(*Nitrospira*)在光板地中无检出,而在重盐植被和轻盐植被样地中的丰度呈增加趋势。

对纲水平的丰度分析发现,鞘脂杆菌纲(*Sphingobacteria*)、 γ -变形菌纲、 α -变形菌纲和黄杆菌纲(*Flavobacteria*)是光板地的优势纲,丰度分别为36.2%、11.85%、11.41%和8.9%;翅碱蓬地的优势纲为放线菌纲(29.3%)、 α -变形菌纲(20.8%)和 γ -变形菌纲(9.7%);獐茅和白茅地的优势纲为 α -变形菌纲

(22.5~33.7%)、 γ -变形菌纲(12.0~16.7%)和放线菌纲(8.8~9.2%);罗布麻地的优势纲为 α -变形菌纲(14.4%)、 β -变形菌纲(10.6%)和 δ -变形菌纲(8.3%),其它菌纲如*Acidobacteria_Gp6*、放线菌纲、芽孢杆菌纲、*Acidobacteria_Gp4*、*Anaerolineae*、 β -变形菌纲等也有较高的丰度,在4.1~6.6%之间。在属水平上,光板地中*Gracilimonas*属相对丰度最高为30.41%,翅碱蓬、獐茅、白茅地中*Pelagibius*属相对丰度最高,分别为4.90%、10.77%、4.07%;罗布麻地中*Gp6*属相对丰度最高为6.61%。以上结果显示,在细菌不同分类等级水平上,光板地与其余四个样地均呈现较大的差异。

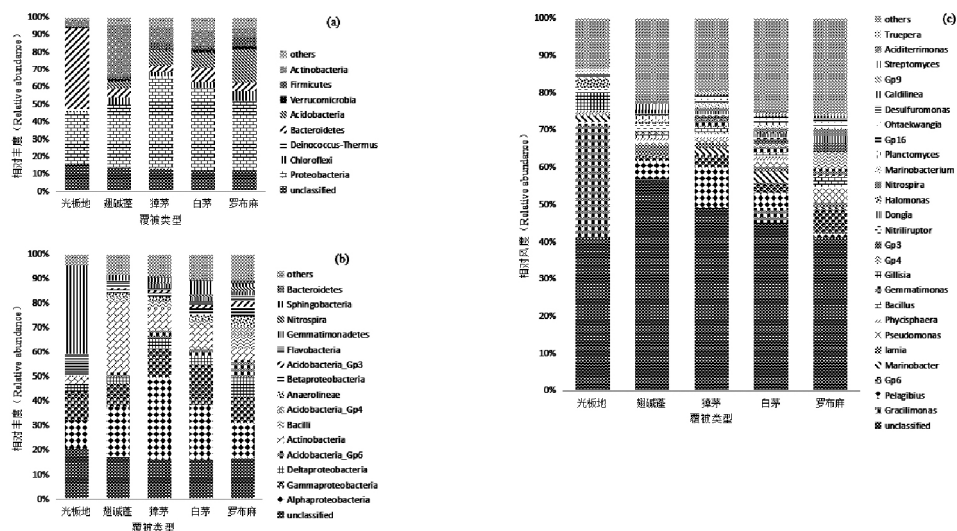


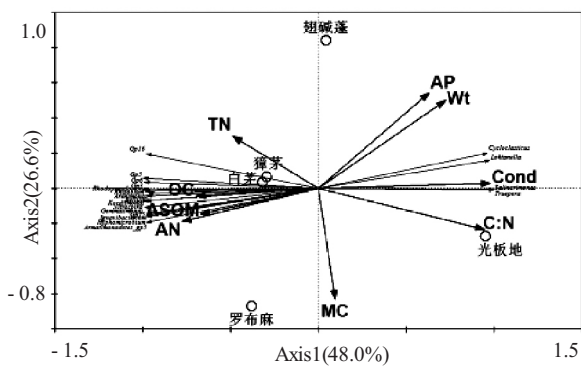
图3 5种覆被类型下土壤细菌在门、纲、属水平上的分布 a)门; b)纲; c)属
Fig.3 Distribution of soil bacterial in five types of vegetation at a) phylum, b) class and c) genus level

2.5 土壤细菌类群与理化性质的相关性

为探究环境因子对土壤细菌群落的影响,本研究对不同土壤细菌属及其理化参数做RDA分析。如图4所示,第1轴和第2轴的解释量分别为48.0%和26.6%;图上样点之间的距离代表物种组成的差异程度;图上蓝色箭头代表对第1轴适合度在92%以上的19个菌属,红色箭头表示环境因子,箭头夹角的余弦值代表其两两相关性;样点投影到代表环境因子的射线上,沿着箭头方向环境变量值增大。分析可见,獐茅和白茅聚在一起,代表其菌属组成比较相近;其它样点距离较远,代表样点间菌属组成差异较大。土壤有机碳、活性有机质、碱解氮对白茅地、獐茅地和罗布麻地地下土壤细菌群落影响较大,而电导率、碳氮比对光板地地下土壤细菌群落影响较大。值得注意的是,5个样点对应的电导率值大小排序为:光板地 > 翅碱蓬 > 獐茅 >

白茅 > 罗布麻,其中从光板地到翅碱蓬,电导率值显著降低,獐茅、白茅和罗布麻的电导率值比较接近;而有机碳、活性有机质、碱解氮与电导率的排序正好相反。以上结果说明随着植被的覆盖以及植物源有机物的输入,电导率对土壤细菌属的作用逐渐减弱,而有机碳等的作用逐步增强。在对第1轴适合度在92%以上的19个菌属中,*Truepera*、*Salinarimonas*、*Loktanella*和*Cycloclasticus*4个菌属与电导率关联较大,且各样点中这四个菌属多度值排序为:光板地 > 翅碱蓬 > 獐茅 > 白茅 > 罗布麻;*Gp5*、*Arenimonas*、*Gemmatimonas*、*Gp16*、*Rhizobium*等另外15个菌属则与有机碳、活性有机质关联较大,各样点中此15个菌属多度值排序为罗布麻 > 白茅 > 獐茅 > 翅碱蓬 > 光板地。相关性分析也进一步证实,*Truepera*、*Salinarimonas*、*Loktanella*和*Cycloclasticus*4个菌属与电导率呈现显著正相关

($P < 0.05$), *Gp16*, *Gp5*, *Rhodopseudomonas*, *Arenimonas*, *Gemmatimonas*, *Gp15*, *Ignavibacterium*, *Armatimonadetes* _gp 5 8 个菌属与活性有机质、有机碳呈现显著正相关 ($P < 0.05$); 另外, *Kordiimonas*, *Hyphomicrobium* 2 个菌属与活性有机质呈现显著正相关 ($P < 0.05$); *Rhizobium* 属与有机碳呈现显著正相关 ($P < 0.05$); *Gp5*, *Rhizobium*, *Armatimonadetes* _gp5 3 个菌属与碱解氮呈现显著正相关 ($P < 0.05$)。说明土壤中的营养物质会促进大部分细菌的生长, 盐分对大部分细菌生长起抑制作用。



注: 土壤理化性质: 电导率 (Cond), 活性有机质 (ASOM), 全氮 (TN), 碱解氮 (AN), 有机碳 (OC), 碳氮比 (C:N), 速效磷 (AP), 温度 (Wt), 含水率 (MC)。

图 4 土壤细菌属与环境解释变量的 RDA 排序图

Fig.4 The ordination diagram of RDA with soil bacterial communities in genus and explanatory variables

3 讨论

通常来讲, 土壤的氮、磷含量是土壤肥力状况的重要指标^[17]。植物的生长能活化土壤养分, 植物的凋落物也是土壤有机碳氮的主要来源^[18], 因此, 本研究中有植被覆盖的土壤中碳氮特别是活性有机质、碱解氮、有机碳含量均比光板地有显著提升。重度耐盐植被翅碱蓬地土壤中碳氮的含量明显低于轻度耐盐植被。虽然同属于重度耐盐植被, 獐茅地土壤中碳氮含量明显高于翅碱蓬, 特别是碱解氮、活性有机质和有机碳, 前者是后者的 3~8 倍, 其含量的变化可能受到植物源有机物种类及性质的影响^[19]。这说明植物源有机物是土壤有机碳的主要来源^[18], 而且受植被类型的影响, 土壤的碳氮积累速度在不同的演替阶段也是有着较大区别, 该研究结果与程瑞梅和龚霞等人^[20,21]的结果类似。以上结果表明, 土壤质量随着正向演替逐渐改善。

已有研究显示, 植物通过有机物输入为微生物提供能量和营养, 同时土壤微生物通过促进土壤有机质

矿化提高土壤肥力, 促进植物生长, 从而提高植物对极端条件的适应^[22,23]。因此, 研究土壤微生物群落结构有助于了解植物生存策略。本研究通过高通量测序发现盐生植被土壤中细菌多样性指数明显高于光板地, 且多样性指数大小与土壤活性有机质和有机碳具有显著正相关 ($P < 0.05$)。Beta 多样性分析同样显示四种盐生植被土壤与光板地的相似度最低, 而四种植被中獐茅与白茅相似度最高, 这可能是因为其属于同一科, 对土壤和土壤微生物的影响相似所致。分类结果也显示獐茅和白茅土壤细菌组成最相近, 而光板地与四种盐生植被在门水平上已呈现很大差异。拟杆菌门是光板样地最主要的门, 而变形菌门是盐生植被覆盖样地最主要的门。拟杆菌门与土壤的电导率 (含盐量) 呈显著正相关。这或许说明拟杆菌门也有较强的耐盐性, 有待进一步证实。变形菌门包括很多参与氮循环的细菌^[24,25], 如固氮的根瘤菌属 (*Rhizobium*), 其在光板地中未检出, 在盐生植被土壤中均有检出, 且轻盐植被土壤中相对丰度高于重盐植被。因此可推断变形菌门中的氮功能菌在盐生植被土壤中氮的固定和氮循环中发挥了重要作用, 从而导致盐生植被土壤中氮的含量显著提高。同样, 硝化螺旋菌门含有参与硝化反应的硝化螺旋菌属, 其在光板地中无检出, 而在重盐植被和轻盐植被土壤中的相对丰度呈增加趋势。

在自然界中, 气候、植被类型、土壤结构、土壤理化性质都能够影响土壤细菌群落数量和组成^[26,27]。本研究对不同土壤细菌属及其理化参数做 RDA 分析发现, 电导率、碳氮比对光板地菌属组成影响较大; 土壤有机碳、活性有机质、碱解氮对白茅、獐茅和罗布麻地的菌属的影响逐步增强; 其中, 獐茅和白茅样地菌属组成相似, 其他样点间菌属组成差异较大。大多数菌属在盐生植被土壤中的丰度明显高于光板地, 但也有一些耐盐菌属在光板地中相对丰度较高, 如 *Truepera*, *Salinarimonas*, *Loktanella* 和 *Cycloclasticus* 属, 它们与电导率呈现显著正相关 ($P < 0.05$)。特别地, *Gracilimonas* 属在光板地中的相对丰度最高为 30.4%, 在重度耐盐植物群落 (翅碱蓬和獐茅) 和轻度耐盐植被群落 (白茅和罗布麻) 的相对丰度仅为 0.210%~3.88%。以上结果显示土壤理化性质、盐生植被以及细菌三者之间协同作用、相互影响。

4 结论

(1) 检测 5 种覆被类型土壤样品共获得有效序列 31976 条, 其中, 拟杆菌门是光板地最主要的门, 而变形菌门是盐生植被土壤中最主要的门。

(2) 有植被覆盖的轻度耐盐群落(白茅群落、罗布麻群落)、重度耐盐群落(翅碱蓬群落、獐茅群落)细菌的丰富度和多样性较光板地高。且细菌多样性指数 ACE、Shannon、Chao1 与土壤有机碳呈显著正相关 ($P < 0.05$)。

(3) 獐茅和白茅土壤细菌群落组成最相近,四种盐生植被与光板地的群落结构之间有着较低的相似度。

(4) 随着盐生植被正向演替,影响土壤细菌群落组成的主导理化因素由电导率逐渐转为有机碳、活性有机碳和碱解氮。

参考文献:

- [1] 孟庆杰,许艳丽,李春杰,等.不同植被覆盖对黑土微生物功能多样性的影响[J].生态学杂志,2008,07:1134 - 1140.
- [2] NIICOL GW, LEININGER S, SCHLEPER C, et al. The influence of soil pH on the diversity, abundance and transcriptional activity of ammonia oxidizing archaea and bacteria[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(11):2966 - 2978.
- [3] CAMPBELL BJ, KIRCHMAN DL. Bacterial diversity, community structure and potential growth rates along an estuarine salinity gradient[J]. Isme Journal, 2013, 7(1):210 - 220.
- [4] CHEN LJ, LI CS, FENG Q, et al. Shifts in soil microbial metabolic activities and community structures along a salinity gradient of irrigation water in a typical arid region of China [J]. Science of the Total Environment, 2017, 598:64 - 70.
- [5] ZHENG W, XUE DM, LI XZ, et al. The responses and adaptations of microbial communities to salinity in farmland soils: A molecular ecological network analysis[J]. Applied Soil Ecology, 2017, 120:239 - 246.
- [6] JUNG J, YEOM J, KIM J, et al Change in gene abundance in the nitrogen biogeochemical cycle with temperature and nitrogen addition in Antarctic soils[J]. Research in Microbiology, 2011, 162(10):1018 - 1026.
- [7] 高明,周保同,魏朝富,等.不同耕作方式对稻田土壤动物、微生物及酶活性的影响研究 [J]. 应用生态学报, 2004,07:1177 - 1181.
- [8] TIMONEN S, FINLAY R D, OLSSON S, et al. Dynamics of phosphorus translocation in intact ectomycorrhizal systems: non- destructive monitoring using a β - scanner [J]. Fems Microbiology Ecology, 1996, 19(3): 171 - 180.
- [9] KEVIN P SMITH, ROBERT M GOODMAN. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes [J]. Ann Rev Phytopathol, 1999, 37(1): 473 - 491.
- [10] MUKERJI K G. Concepts in mycorrhizal research [J]. Springer Netherlands, 1996, 163(5): 420 - 42.
- [11] SCHIRMER M, IJAZ U Z, D'AMORE R, et al. Insight into biases and sequencing errors for amplicon sequencing with the Illumina MiSeq platform[J]. Nucleic Acids Research, 2015, 43(6): e37 - e42.
- [12] 蔡言安,李冬,毕学军,等.基于不同测序技术的生物群落结构及功能菌分析[J].中国环境科学,2016,36(6):1830 - 1834.
- [13] 夏围围,贾仲君,等.高通量测序和 DGGE 分析土壤微生物群落的技术评价[J].微生物学报,2014,54(12):1489 - 1499.
- [14] 鲍士旦.土壤农化分析[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [15] KETTLER T A, DORAN J W, GILBERT T L. Simplified Method for Soil Particle- Size Determination to Accompany Soil- Quality Analyses [J]. Soil Science Society of America Journal, 2001, 65 (3): 849 - 852.
- [16] 翁永玲,官鹏,黄河三角洲盐渍土盐分特征研究[J].南京大学学报(自然科学),2006,42(6):602 - 610.
- [17] GIL- SOTRES F, TRASAR- CEPEDA C, LEIRÓS M C, et al. Different approaches to evaluating soil quality using biochemical properties[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2005, 37(5): 877 - 887.
- [18] MORRISON I K, FOSTER N W. Fifteen- year change in forest floor organic and element content and cycling at the Turkey Lakes Watershed[J]. Ecosystems, 2001, 4(6): 545 - 554.
- [19] 孟京辉,陆元昌,刘刚,等.不同演替阶段的热带天然林土壤化学性质对比[J].林业科学研究,2010,23(5):791 - 795.
- [20] 程瑞梅,肖文发,王晓荣,等.三峡库区植被不同演替阶段的土壤养分特征[J].林业科学,2010,46(9):1 - 6.
- [21] 龚霞,牛德奎,赵晓蕊,等.植被恢复对亚热带退化红壤区土壤化学性质与微生物群落的影响 [J]. 应用生态学报, 2013, 24(4): 1094 - 1100.
- [22] ZOLLA G, BADRI DV, BAKKER MG, et al. Soil microbiomes vary in their ability to confer drought tolerance to Arabidopsis [J]. Applied Soil Ecology, 2013, 68:1 - 9.
- [23] BADRI DV, ZOLLA G, BAKKER MG, et al. Potential impact of soil microbiomes on the leaf metabolome and on herbivore feeding behavior[J]. New Phytologist, 2013, 198(1): 264 - 273.
- [24] 车荣晓,邓永翠,吴伊波,等.生物固氮与有效氮的关系:从分子到群落[J].生态学杂志,2017,36(1):224 - 232.
- [25] 张明锦,张健,纪托未,等.林窗对凋落物分解过程中细菌群落结构和多样性的影响[J].生态环境学报,2015,24(8):1287 - 1294.
- [26] NOAH F, 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.
- [27] ROUSK J, BÅÅTH E, BROOKES P C, et al. Bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil [J]. Isme Journal Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology, 2010, 4 (10): 1340 - 1351.

Response of Soil Bacterial Community Structure to Halophytic Vegetation Succession Based on Pyrosequencing

MIAO Jing¹, ZONG Wan-song¹, LV Min², DING Jing³, WANG Xiao-feng¹, GUO Du-fa^{1*}

(1. College of Geography and Environment, Shandong Normal University, Jinan 250014, China; 2. Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China; 3. Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: In order to reveal the relationship between bacterial community structure and halophytic vegetation succession, high-throughput sequencing technology was used to investigate the composition and distribution of soil bacterial community structure under bare land and four halophytic vegetation types (*Saline Seepweed*, *Angiospermae*, *Imperata cylindrica* and *A. venetum* L) over the Yellow River Delta. About 31976 valid sequences were obtained from 5 vegetation types, and the bacteria were classified into 27 phyla, 62 classes, 78 orders, 196 families and 569 genera. Proteobacteria was the dominant phyla in four types of halophytic vegetation, with the relative abundance of 36.4 ~ 53.2%, while Bacteroidetes was the dominant community in the bare land, with the relative abundance of 46.2%. The soil quality and bacterial community diversity and richness showed an increase trend with the positive succession of halophytic vegetation, and the content of soil organic carbon was significantly positively correlated with OTU numbers, ACE index and Shannon index of bacteria. RDA analysis showed that the community structure of soil bacteria had a great similarity between *Angiospermae* and the *Imperata cylindrica*, while the variations were huge among the rest samples. With the positive succession of halophytic vegetation, the electrical conductivity declined, and the contents of organic carbon, active organic matter and alkali nitrogen increased.

Key words: The Yellow River Delta; Bacterial community structure; High-throughput sequencing; Halophytic vegetation succession

[责任编辑:孙福军]