

松嫩草原盐碱土细菌多样性分析

向君亮²,刘 权²,申永瑞²,王佳琦²,张兴梅¹,王 鹏¹,殷奎德¹

(1.黑龙江八一农垦大学农学院,黑龙江 大庆 163319;2.黑龙江八一农垦大学生命科学技术学院,黑龙江 大庆 163319)

摘 要:以松嫩盐碱草原 3 种不同盐碱程度的盐碱土为材料,应用高通量测序技术,研究了 3 种不同程度盐碱土壤的细菌群落结构。结果表明:3 种盐碱土的理化性质差异显著($P<0.05$),pH 值、碱化度随着盐碱化程度增加而增大,而碱解氮、速效钾和有机质含量随着盐碱化程度增加而降低;3 种盐碱土共获得 2841 个 OTU,分属于 39 个细菌门,其中酸杆菌门、变形菌门等 10 个菌门是盐碱土中最主要的细菌门类;轻度盐碱土中酸杆菌门占主导地位,相对丰度为 32.28%,中度盐碱土中变形菌门占主导地位,相对丰度为 19.87%,重度盐碱土中放线菌门占主导地位,相对丰度为 22.57%;RDA 分析表明,酸杆菌门、硝化螺旋菌门、广古菌门、TM7 等的相对丰度与碱解氮、有机质以及速效钾含量呈正相关,疣微菌门的相对丰度与有效磷含量呈正相关,放线菌门、浮霉菌门、拟杆菌门、芽单胞菌门、厚壁菌门的相对丰度与 pH 值、碱化度呈正相关。

关键词:土壤盐碱化程度;细菌群落结构;土壤理化性质;植被覆盖;松嫩草原

中图分类号:S182 **文献标志码:**A

Variation of bacterial communities in the saline-alkaline soil of meadow on Songnen Plain

XIANG Junliang², LIU Quan², SHEN Yongrui², WANG Jiaqi²,
ZHANG Xingmei¹, WANG Peng¹, YIN Kuide¹

(1.College of Agriculture, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China;
2. College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing, Heilongjiang 163319, China)

Abstract: The high-throughput sequencing technology was used to analyze the bacteria community structure, which was obtained at three different degrees of saline-alkali soils on Songnen saline-alkali steppe. The results showed that the physical and chemical properties of the three saline-alkali soils were significantly different. The pH and alkalinity increased with the increase of salinization, while the content of alkali nitrogen, available potassium, and organic matter decreased. A total of 2841 OTUs were obtained from the three saline-alkali soils, belonging to 39 bacterial phyla, and the dominant phyla at the different saline-alkali steppes, including Acidobacteria, Proteobacteria, Crenarchaeota, Actinobacteria, Chloroflexi, Planctomycetes, Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, Verrucomicrobia, Nitrospirae. Acidobacteria (32.28%), Proteobacteria (19.87%), and Actinobacteria (22.57%) were the main bacteria in SS, MS, and HS groups, respectively. The results of RDA indicated that Acidobacteria, Crenarchaeota, Nitrospirae, Euryarchaeota, and TM7 positively correlated to the alkaline nitrogen, organic matter and available potassium. Verrucomicrobia was positively correlated to the available phosphorus. Actinobacteria, Planctomycetes, Bacteroidetes, Gemmatimonadetes, and Firmicutes had the positive relationship with the pH and ESP.

Keywords: salinization degree of soil; bacterial community structure; soil physical and chemical propeties; vegetation cover density; Songen Plain

土壤盐碱化是全球面临的主要环境问题之一。 据统计,世界上有约 1/3 的土地受到盐碱化影响,中

国有 367 万 hm^2 盐碱地^[1],其主要分布于东北平原、华北平原、西北沙漠及沿海地区^[2]。松嫩平原地处干旱-半干旱地区,是世界三大苏打型盐渍区之一,其受盐害土壤超过 30 万 hm^2 。松嫩盐碱地不同于其他地方的特点是,其土壤中含大量的碳酸钠和碳酸氢钠,同时伴随着高 pH 值、高钠吸收率及表层土高度碱化^[3]。由于受到化学性质的影响,土壤的物理性质变得很差,例如土壤粘度大,透气、透水性差等^[4]。随着世界人口的日益增加和城市化进程的推进,耕地面积逐年减少,在这样的双重压力下,有效开发利用盐碱地资源,是维持农业的可持续发展,进一步挖掘盐碱化地区农业发展潜力的一条重要出路。

由于土壤中积累大量的 Na^+ 、 CO_3^{2-} 和 HCO_3^- ,生存在这里的微生物需要面临高盐和高 pH 值的双重影响。目前研究主要集中在盐土或者碱土中的微生物多样性分析。如 Lozupone 等^[5]研究了陆地和水生环境中细菌群落的多样性,发现盐度是影响细菌群落组成的主要因素;Canfora 等^[6]研究地中海半干旱地区极端高盐度土壤微生物群落结构和生物多样性发现,古菌群落的丰度和多样性与土壤盐度呈正相关,而细菌群落的多样性和丰度随盐度梯度的增加而呈下降趋势;Rath 等^[7]研究了不同盐渍程度下的细菌多样性发现,微生物群落耐盐性与土壤盐度密切相关,盐分对细菌群落有很强的过滤作用,高盐环境对 *Salinisphaeraceae*、*Xanthomonadaceae* 以及 *Alteromonadaceae* 等细菌科的物种具有较强的富集作用。然而对于松嫩苏打盐碱地这种高盐、高 pH 值同时作用的土壤微生物群落结构及功能的研究还鲜有报道。

相比于磷脂脂肪酸法和 PCR-DGGE 法,高通量测序技术具有更多的优点,其测序深度高,可以检测到那些不可培养的微生物群落,能更加真实地揭示原位环境中微生物群落组成,因此,在研究环境微生物多样性中应用越来越广泛。Zhou 等^[8]利用高通量测序法研究了不同退化程度下青藏高原高寒草原土壤微生物群落的变化,结果发现青藏高原退化草原土壤中细菌群落以放线菌门为主,其次是变形菌门;牛世全等^[9]发现,河西走廊盐碱土壤中变形菌门占主导地位,其余主要的细菌群落依次是放线菌门、拟杆菌门、酸杆菌门等 9 个菌门。本研究采用高通量测序技术对 3 种不同程度盐碱草原土壤细菌群落结构进行分析,旨在揭示不同盐度和碱度协同作用下的草原土壤微生物群落结构,对了解松嫩草原苏打盐碱土壤细菌群落结构的多样性及开

发利用极端环境微生物资源具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 样品采集

采样点位于黑龙江省大庆市一处未经人为破坏的盐碱草原($46^{\circ}36'23''\text{N}$, $125^{\circ}10'44''\text{E}$)。根据植被密度和地面白色碱斑的程度,将其划分为 3 种类型:地表无白色碱斑,且植被生长茂盛的地块为轻度盐碱化土(SS);地表有少量白色碱斑,且有稀疏植被生长的地块为中度盐碱化土(MS);地表有大量白色碱斑,且无植被覆盖的地块为重度盐碱化土(HS)。2017 年 9 月 12 日采样,每个类型土壤随机选取 5 个点,用铁锹采取地面 0~20 cm 土层深处土样,挑出枯草、草根及石块,混匀,装 in 无菌塑料袋中,置于干冰中运回实验室。将土壤分为两份,一份风干后用于土壤理化性质的测定,另一份于 -80°C 储存用于土壤微生物多样性测定。

1.2 植被覆盖密度统计

在草原上分别选取地表无白色碱斑,且植被覆盖度良好的地块以及地表有少量白色碱斑,且有稀疏植被覆盖的地块各 5 块,每块面积取 $0.5\text{ m}\times 0.5\text{ m}$,统计样方内植被植株数量,求得平均值后换算为每平方米内植株数量。

1.3 土壤性质测定

土壤 pH 值、碱解氮、有效磷、速效钾、有机质、碱化度、可溶性盐含量测定参照吕贻忠等^[10]、姜海燕^[11]方法进行,并稍加改进。

1.4 DNA 提取与 PCR 扩增

采回的土样按照土壤基因组 DNA 提取试剂盒操作说明提取土壤细菌基因组总 DNA,用 NanoDrop 2000 紫外微量分光光度计及 1%琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 的质量与完整性;利用引物 515F(GT-GCCAGCMGCCGCGG)和 907R(CCGTCAATTC-MTTTTRAGTTT)扩增土壤细菌的 16S rDNA 的 V4-V5 区,扩增完成后以 2%琼脂糖凝胶电泳检测扩增结果,利用 DNA 纯化试剂盒对 PCR 产物进行纯化。

1.5 测序与分析

纯化后的 PCR 产物由深圳华大基因股份有限公司进行高通量测序。测序完成后,在生物信息学分析之前对原始数据进行处理,通过去除被适配器、模糊碱基污染的序列以便获得更准确和可靠的结果。使用 FLASH 和 Trimmomatic 软件对序列进行优化,方法和参数如下:(1)过滤 reads 尾部质量值 20 以下的碱基,设置 25 bp 的窗口,如果窗口内的平均质量值低于 20,从窗口开始截去后端碱基,过滤

质控后 25 bp 以下的 reads,去除含 N 碱基的 reads;(2)根据 PE reads 之间的 overlap 关系,将成对 reads 拼接成一条序列,最小 overlap 长度为 10 bp;(3)拼接序列的 overlap 区允许的最大错配比率为 0.2,筛选不符合序列;(4)根据序列首尾两端的 barcode 和引物区分样品,并调整序列方向,barcode 允许的错配数为 0,最大引物错配数为 2;经过优化后的数据利用 QIIME 进行质控过滤以及 OTU 聚类,聚类相似度为 0.97,聚类完成后在 Silva 数据库中进行比对,对各个样本的 OTU 在各分类等级上的群落组成进行注释。

2 结果与分析

2.1 植被覆盖密度调查

盐碱地面植物的覆盖与生长状况可以直接反映出土壤环境的好坏。通过对 0.5 m×0.5 m 样方内的植株数量进行统计,经换算后结果如图 1 所示。3 种盐碱地的植被覆盖密度明显不同,轻度盐碱土地块(SS)植株数量最多,覆盖密度最大,为 2 985 株·m⁻²,中度盐碱土地块(MS)覆盖密度为 880 株·m⁻²,重度盐碱土块(HS)无植被生长。植被覆盖度的差异可能是由于土壤的 pH 值、含盐量及养分等因素造成的。

2.2 土壤理化性质分析

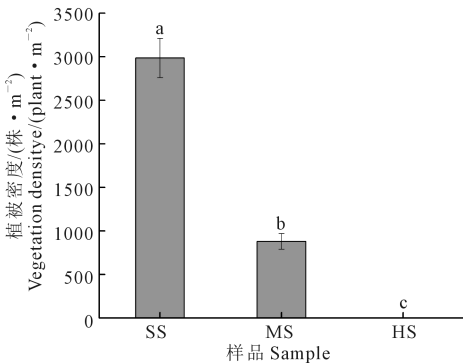
对土壤的理化性质及肥力指标进行了测定,结果如表 1 所示。土样 SS 的 pH 值为 8.24,MS 的 pH 值为 9.52,HS 的 pH 值为 10.20,3 种土样的 pH 值均大于 8,是典型的碱土。随土壤盐碱化加重 pH 值逐渐增大,这可能与其含盐种类、含盐量及碱化度有关,也有可能是轻度盐碱土和中度盐碱土上有植物长期生长,植物根系分泌的有机酸及植物残体的分解降低了土壤的 pH 值。3 个类型的土壤中,中度盐碱土的盐含量最高,达到 1.43%,轻度盐碱土含盐量最低为 0.30%。在碱化度上,随着盐碱程度的加重,碱化度也随之增加,重度盐碱土的碱化度最大,为

84.59%,轻度盐碱土的碱化度为 23.28%,碱化度均大于 20%,为碱土。3 种土样无论是在可溶性盐总量还是碱化度指标上均具有显著差异。在肥力指标方面,随着盐碱程度的提高,碱解氮、速效钾、有效磷和有机质的含量降低,轻度盐碱土的碱解氮、速效钾、有效磷和有机质含量最高,分别为 303 mg·kg⁻¹、402 mg·kg⁻¹、20.3 mg·kg⁻¹、32.70 g·kg⁻¹,重度盐碱土各项肥力指标均为最低。

2.3 土壤微生物群落高通量测序分析

经过测序分析,3 组土壤样品的稀释曲线如图 2(a)所示,稀释曲线趋于平缓,说明测序趋于饱和,所取序列数能较为真实地反映出样本中的细菌群落。同时物种覆盖指数表明,测序数据能包含样品中 99%以上的物种,能较好地反映出样品中的细菌群落组成,但仍然有少量细菌可能未被发现。

如图 2(b)所示,3 组样本共得到 2841 个 OTU,其中 SS、MS 和 HS 组各有 1462、1423、1030 个 OTU;SS 组中特有的 OTU 为 914 个,MS 组中特有的 OTU 为 565 个,HS 组中特有的 OTU 为 476 个。通过对各样本中的 OTU 数目进行分析后发现,3 种不同盐碱程度的盐碱土 OTU 数目 SS>MS>HS,说明轻度盐碱土的细菌类群最为丰富,重度盐碱土中细菌类群最少;SS 组与 HS 组共有 OTU 仅为 216 个,说明这两



注:图中不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05)。下同。
Note: Different lowercase letters meant significant different among soil samples (P<0.05). The same below.

图 1 不同盐碱地植被密度统计

Fig.1 Vegetation coverage density in different saline-alkali land

表 1 松嫩平原不同盐碱化土壤理化性质

Table 1 Statistics of soil physical and chemical properties of Songnen Plain

土壤样品 Soil sample	pH	可溶性盐 含量/% Soluble salt	碱化度/% Exchange sodium percentage	碱解氮/(mg·kg ⁻¹) Alkali-hydrolyzable nitrogen	速效钾/(mg·kg ⁻¹) Available potassium	有效磷/(mg·kg ⁻¹) Available phosphorus	有机质/(g·kg ⁻¹) Organic matter
SS	8.24±0.04c	0.30±0.04c	23.28±0.97c	303±3a	402±4a	20.3±0.6a	32.70±1.61a
MS	9.52±0.07b	1.43±0.05a	77.29±0.75b	56±2b	320±6b	18.6±0.3b	6.47±0.60b
HS	10.20±0.03a	0.85±0.06b	84.59±0.59a	50±2b	268±6c	2.9±1.0c	1.56±0.26c

注:不同小写字母表示处理间差异显著(P<0.05),下同。
Note: Different lowercase letters meant significant different among soil samples (P<0.05). The same below.

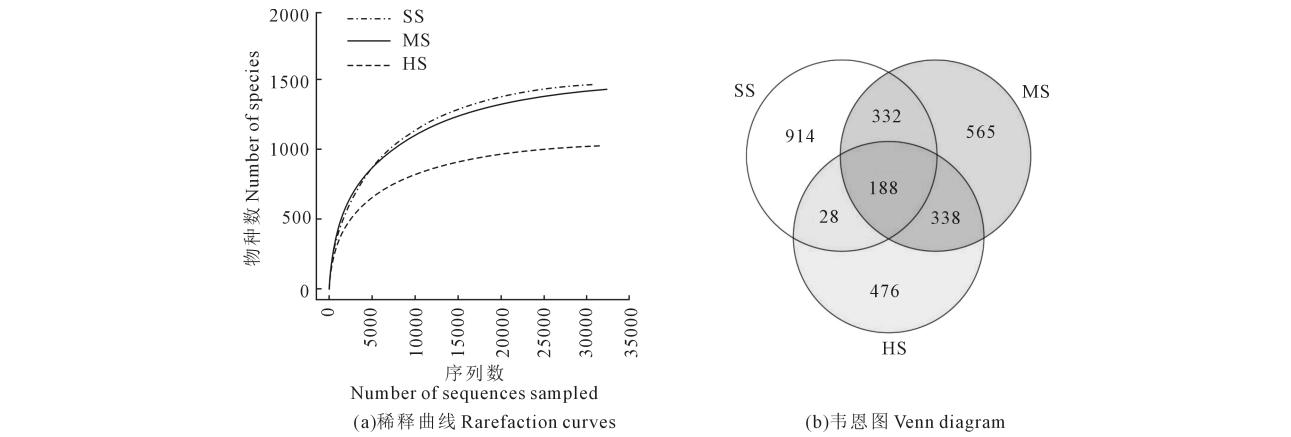


图 2 盐碱土壤样品稀释曲线与 OTU 数量韦恩图

Fig.2 Rarefaction curve and Venn diagram of OTU number in saline-alkali soil samples

组土壤的细菌类群一致性最低,差异较为明显。从整体来看,3 种盐碱土各自特有的 OTU 数目占总 OTU 数的比例较大,虽然有一部分一致的细菌群落,但是三者之间的细菌群落差异还是较为明显,PCA 分析也得到了一致的结果(图 3)。

2.4 细菌群落结构分析

通过对 3 组盐碱土样细菌 16S rDNA V4-V5 区进行测序、比对后发现,共有 39 个菌门被检测出来(图 4a),其中 SS 组中检测到 32 个菌门,MS 组检测到 34 个菌门,HS 组中检测到 31 个菌门。酸杆菌门(Acidobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、泉古菌门(Crenarchaeota)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门(Planctomycetes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)以及硝化螺旋菌门(Nitrospirae)为 3 种盐碱土壤中最主要的菌门。WS3、GAL15、GN04、LD1、NC10 为 SS 组特有菌门,Kazan-3B-28、WPS-2 为 MS 组特有菌门。随着盐碱化程度的增加,泉古菌门的相对丰度从 10.48%减少到 1.25%,酸杆菌门的相对丰度也急剧下降,从 SS 组中的 32.28%下降到 MS 组中的 9.64%,但在 MS 与 HS 组中相对丰度差异不大。然而放线菌门和浮霉菌门的相对丰度却从 7.74%、4.63%增加到 22.57%、8.28%。拟杆菌门和芽单胞菌门的相对丰度也有增加的趋势,分别从 4.11%、4.10%增加到 10.64%、18.80%,但是二者在 MS 和 HS 中的相对丰度差异不大。另外,变形菌门和绿弯菌门的相对丰度在 MS 组中最高,在 HS 和 SS 组中差异不大。

在属分类水平上,除去未命名的菌属,共有 12 个菌属被鉴定出来,其中 SS 组 7 个,MS 组 11 个,HS 组 11 个,KSA1 为 HS 组中特有菌属。热图分析表明(图 4b),SS 和 MS 的微生物类群相似度较高,

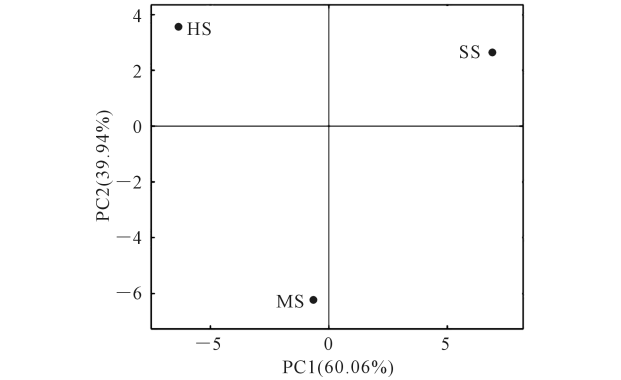


图 3 样本主成分分析

Fig.3 PCA of soil samples

聚为一类。盐单胞菌属(*Halomonas*)、浮霉菌属(*Planctomyces*)、*Rubricoccus* 的相对丰度与盐碱土的盐碱程度呈正相关,*Candidatus_Entheonella*、*Candidatus_Nitrososphaera* 的相对丰度与盐碱土的盐碱程度呈负相关,而土壤杆菌属(*Agrobacterium*)、纤维弧菌属(*Cellvibrio*)、*Euzebya*、*Pontibacter*、*Rubrobacter* 主要在 MS 组中聚集。SS 组与 MS 组中相对丰度最大的菌属均为 *Candidatus_Nitrososphaera* (10.43%、2.18%),此外,*Rubrobacter* (1.29%)、*Euzebya* (1.51%) 均为 MS 组中优势菌属;在 HS 组中相对丰度最大的菌属为 KSA1 (3.18%),其他优势菌属还有 *Candidatus_Nitrososphaera* (1.25%)、浮霉菌属(*Planctomyces*) (1.08%) 以及盐单胞菌属(*Halomonas*) (1.37%)。

2.5 环境因子与菌群关联分析

RDA 分析可以得到环境因子与样本分布和菌群结构之间的关系。本研究通过 Canoco 4.5 For Windows 软件对土壤理化因子对菌群结构的影响进行分析,理化因子包括可溶性盐(Soluble salt)、pH 值、碱化度(ESP)、碱解氮(AN)、有效磷(AP)、速效钾(AK)和有机质(OM)含量,这些环境因子与细菌

群落结构有着密不可分的关系。如图 5 所示,碱化度、可溶性盐含量、pH 值与土壤的肥力因子(碱解氮、有效磷、速效钾和有机质含量)呈负相关,从环境因子与样本之间的关系来看,轻度盐碱土与土壤肥力因子呈正相关,与 pH 值、碱化度和可溶性盐含量呈负相关,而中度和重度盐碱土则与轻度盐碱土相反。环境因子与菌群结构的关系如图 5(a)所示,这些细菌门类几乎被分成了 4 组,第 I 组包括放线菌门、浮霉菌门、拟杆菌门、芽单胞菌门、厚壁菌门在内的 5 个菌门占整个群落相对丰度的 44.31%,它们的相对丰度与土壤 pH 值、碱化度呈正相关;第 II 组包括酸杆菌门、泉古菌门、硝化螺旋菌门、广古菌门、TM7 在内的 5 个菌门的相对丰度占总丰度的

25.19%,它们的相对丰度与碱解氮、有机质以及速效钾含量呈正相关;而第 III 组仅有疣微菌门和绿弯菌门,它们的相对丰度分别与有效磷含量和可溶性盐含量呈正相关。

环境因子与菌属的关系如图 5(b)所示,这些细菌属被分成了 3 组,第 I 组包括 4 个菌属,即盐单胞菌属、KSA1、浮霉菌属、*Rubricoccus*,其丰度与土壤的碱化度和 pH 值呈正相关;第 II 组包括 6 个菌属,分别为土壤杆菌属、纤维弧菌属、尤泽比氏菌属、*Gemmata*、*Pontibacter*、红色杆菌属,其丰度与土壤的可溶性盐含量呈正相关;第 III 组仅有 2 个菌属,*Candidatus Entotheonella* 和氨氧化菌属,其丰度与土壤有机质、碱解氮、速效钾等肥力指标呈正相关。

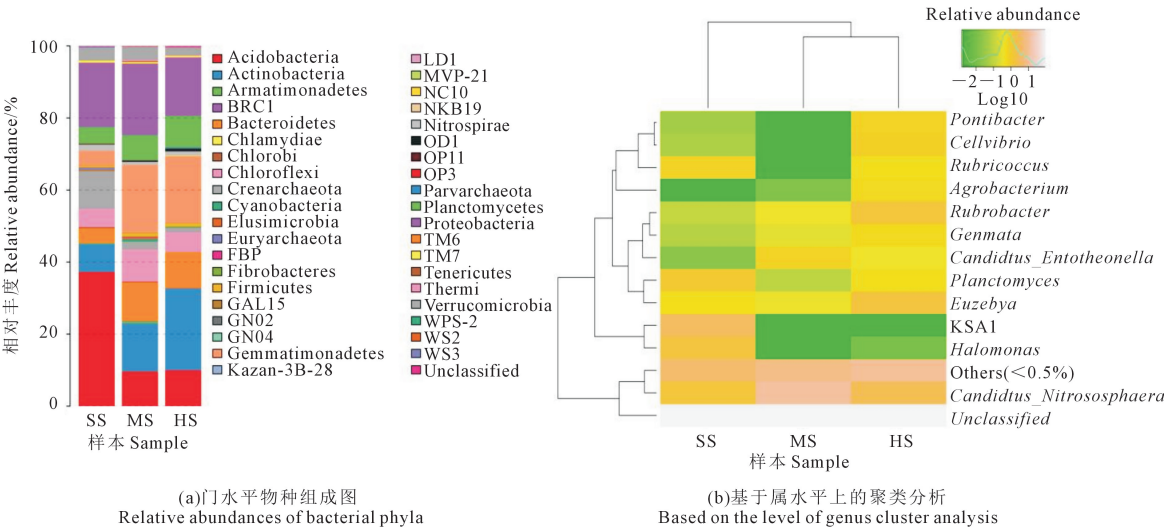
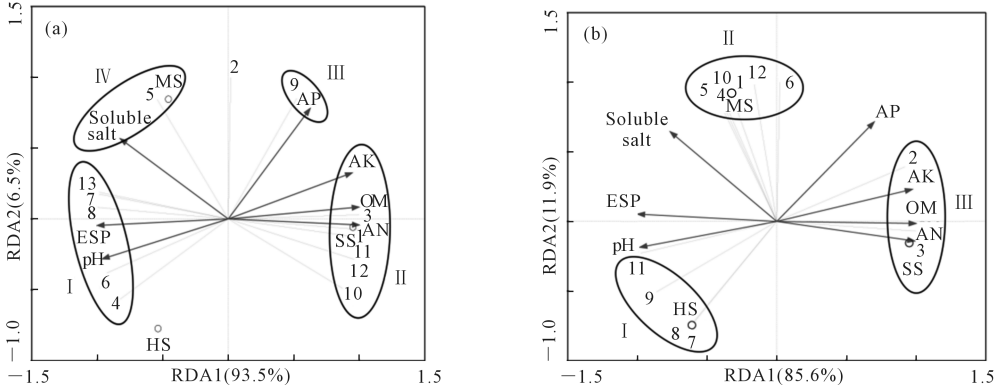


图 4 不同盐碱土壤样品中细菌组成

Fig.4 Relative abundances of bacteria in different saline-alkali soil samples



注: (a) 中 1:酸杆菌门;2:变形菌门;3:泉古菌门;4:放线菌门;5:绿弯菌门;6:浮霉菌门;7:拟杆菌门;8:芽单胞菌门;9:疣微菌门;10:硝化螺旋菌门;11:广古菌门;12:TM7;13:厚壁菌门; (b) 中 1:土壤杆菌属;2:*Candidatus Entotheonella*;3:氨氧化菌属;4:纤维弧菌属;5:尤泽比氏菌属;6:*Gemmata*;7:盐单胞菌属;8:KSA1;9:浮霉菌属;10:*Pontibacter*;11:*Rubricoccus*;12:红色杆菌属。Soluble salt: 可溶性盐;ESP:碱化度;AP:有效磷;AK:速效钾;OM:有机质;AN:碱解氮。

Note: In (a), 1: Acidobacteria; 2: Proteobacteria; 3: Crenarchaeota; 4: Actinobacteria; 5: Chloroflexi; 6: Planctomycetes; 7: Bacteroidetes; 8: Gemmatimonadetes; 9: Verrucomicrobia; 10: Nitrospirae; 11: Euryarchaeota; 12: TM7; 13: Firmicutes. In (b), 1: *Agrobacterium*; 2: *Candidatus Entotheonella*; 3: *Candidatus Nitrososphaera*; 4: *Cellvibrio*; 5: *Euzebya*; 6: *Gemmata*; 7: *Halomonas*; 8: KSA1; 9: *Planctomyces*; 10: *Pontibacter*; 11: *Rubricoccus*; 12: *Rubrobacter*. ESP: Exchange sodium percentage; AP: Available phosphorus; AK: Available potassium; OM: Organic matter; AN: Alkali-hydrolyzable nitrogen.

图 5 土壤样品细菌群落与土壤理化因子相关性冗余分析

Fig.5 Redundancy analysis biplot between the microbial communities and soil properties

3 讨论

盐碱土在我国分布较为广泛,但盐碱类型有所不同。东部沿海地区为氯化物盐土,华北和河套平原主要以氯化物与硫酸盐混合类型的盐碱土为主,然而东北松嫩平原、山西大同盆地的盐碱土主要以碳酸盐、重碳酸盐为主,因此也称苏打盐土^[12]。本研究所采集的3种盐碱土pH值分别为8.24、9.52、10.20。王爽^[13]在研究大庆地区重度盐碱土土壤性质时发现,土壤的pH值为10.52,含盐量为1.14%,碱化度为75.76%,与本研究所得结果相似。由于苏打型盐碱地有大量碳酸根和重碳酸根作用,即使土壤含盐量较低,其pH值也普遍较高。植物要在这样的环境下生存,不仅要避免因吸收过多 Na^+ 造成的钠离子毒害,还要耐受较高pH值所带来的碱胁迫作用。这种环境会导致植物根系腐烂,大部分植物难以生存。因此,3种盐碱地上植被密度也随着盐碱程度的加重而减少。

有机质、碱解氮、有效磷、速效钾是土壤肥力的重要指标。土壤酸碱性则是影响土壤肥力的一个重要因素。它不仅直接影响植物的生长发育,还影响着土壤对有机质的分解,营养元素的释放与转化,土壤离子的交换、运动、迁移和转化等^[11]。盐碱土中由于含有大量盐分且pH值较高,所以土壤肥力较低。松嫩草原是我国典型的盐碱草甸草原,其土壤类型为黑土。黑土的有机质含量高,肥力较好,但随着盐碱程度的增加,动植物越来越难以存活,腐殖质的补给量急剧减少,由此造成土壤退化。本研究所采集的3种盐碱土中,SS组的盐碱土由于植被生长旺盛,植物残体补充了土壤中的腐殖质,然而随着盐碱化程度的增加,植被覆盖度越来越小,土壤中腐殖质的来源也急剧减少,因而有机质含量随之降低。

前人研究发现,土壤盐渍化程度越低,土壤细菌群落的多样性和丰富度越高^[14],本研究得出结果与其一致。随着盐碱浓度的增加,细菌群落结构差异显著,细菌丰度降低。导致土壤中细菌群落结构不同的因素有很多,例如土壤的理化性质对细菌和植物具有一定的筛选作用,其主要表现为高盐度对细胞的损害^[15]。因此,随着土壤盐分的增加,只有耐盐性强的细菌或植物才能存活。动植物的残体以及植物的根分泌物等可以为土壤中细菌生存提供所需的营养物质。以往的研究表明,植物根系分泌物会引起根际土壤微生物群落的变化^[16]。在本研究中,随着盐碱化程度的加重,土壤理化性质(养

分、可溶性盐含量、pH、碱化度、酶活性等)与地上植被特征存在显著差异。没有植物可以在HS组的土壤中生存,土壤中缺乏植物残留物,可供细菌利用的营养物质较SS和MS组少,因此其丰度较低。由于营养物质的匮乏,一些需要丰富营养的细菌丰度低于SS组,如 β -变形菌纲的细菌,这些差异导致了微生物群落结构和组成上的差异。本研究结果表明,随着土壤盐渍化程度的加重,土壤性质对微生物种群的影响越来越大,而在这种极端环境下能够存活的植物越来越少,可供微生物利用的有机物和根系分泌物等营养成分越来越少,因而细菌群落的结构发生了改变。

松嫩盐碱草地细菌群落以放线菌和变形细菌为主,这一结果与前人类似研究中的发现是一致的。放线菌由于其特殊的形态和细胞结构,能产生菌丝和孢子,抵抗外界的恶劣环境,因此广泛分布于各种生态环境中,特别是在极端环境中。MS组与HS组中放线菌的相对丰度明显高于SS组,说明放线菌能更好地适应极端环境。Tian等^[17]研究发现,滨海盐碱土中最主要的细菌群落为放线菌门和变形菌门;Goordial等^[18]应用宏基因组测序和活性测定研究大河流域多年冻土和新石器时代群落的功能容量,结果发现,这种极端环境下放线菌是最主要的菌门。Yergeau等^[19]通过亚基因组测序、qPCR和微阵列分析发现,活性层土壤和永久冻土微生物群落结构非常相似,其中以放线菌为主。Zhou等^[8]研究发现青藏高原退化草原土壤中细菌群落以放线菌门为主,其次是变形菌门。在本研究中,其他较为丰富的菌门还有酸杆菌门,绿弯菌门、芽单胞菌门、浮霉菌门和厚壁菌门等,这些细菌在草地生态系统中具有重要的作用,例如降解动植物尸体,参与碳循环、能量循环过程。随着盐碱程度的增加,土壤中可供微生物利用的营养物质越来越少。Kuzenstol等^[20]发现,多数 γ 变形菌纲的细菌为贫养菌,寡营养细菌有从大气中摄取营养物质的能力,可利用大气中的微量碳、氮源来维持正常的生长^[21]。我们发现,芽单胞菌门、浮霉菌门及 γ 变形菌纲的相对丰度与土壤盐碱化程度成正比,然而一些富养菌的相对丰度(如 β -变形菌纲)却随着土壤盐碱程度的降低而减少,这与Wang等^[22]描述的一致。

本研究发现,盐单胞菌属、KSA1、浮霉菌属、*Rubricoccus*的丰度与土壤的pH值和碱化度呈正相关。前人研究发现,盐单胞菌属细菌可以在细胞内积累高浓度阳离子以维持细胞内部的渗透平衡,还可以

通过反向转运钠离子/钾离子,将细胞内过多的钠离子排至细胞外,同时增加钾离子和其他营养物的吸收维持细胞渗透压。孟琳^[23]研究发现,肇东盐单胞菌(*Halomonas zhaodongensis*) NEAU-ST 10-25 中存在的 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因可以明显增加大肠杆菌的耐盐能力。有研究表明,盐单胞菌属、*Rubricoccus* 均为耐盐碱细菌^[24],而大多数耐盐碱细菌需要一定的盐浓度来维持细胞形态;因此,盐单胞菌属、*Rubricoccus* 的丰度与土壤盐碱化程度呈正相关。

土壤微生物群落结构受到诸多因素的影响,除土壤理化因子外,温度、降水量、植被种类等均会影响其结构组成。由于黑龙江省冬季气候严寒,夏季炎热,年温差可达 60℃,因此,在时间维度上与土壤细菌群落结构多样性的关系还有待于进一步研究。

参 考 文 献:

[1] Liu L P, Long X H, Shao H B, et al. Ameliorants improve saline - alkaline soils on a large scale in northern Jiangsu Province, China [J]. Ecological Engineering, 2015, 81:328-334.

[2] 王凯标. 松嫩平原盐碱地中两株可培养耐(嗜)盐菌的多相分类研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2015.

[3] 殷厚民, 胡建, 王青青, 等. 松嫩平原西部盐碱土旱作改良研究进展与展望[J]. 土壤通报, 2017,48(1): 236-242.

[4] Zhao Y, Wang S, Li Y, et al. Extensive reclamation of saline-sodic soils with flue gas desulfurization gypsum on the Songnen Plain, Northeast China [J]. Geoderma, 2018, 321:52-60.

[5] Lozupone C A, Knight R. Global patterns in bacterial diversity [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2007, 104(27): 11436-11440.

[6] Canfora L, Papa G L, Antisari L V, et al. Spatial microbial community structure and biodiversity analysis in “extreme” hypersaline soils of a semiarid Mediterranean area [J]. Applied Soil Ecology, 2015, 93:120-129.

[7] Rath K M, Fierer N, Murphy D V, et al. Linking bacterial community composition to soil salinity along environmental gradients [J]. The ISME journal, 2019, 13(3):836.

[8] Zhou H, Zhang D, Jiang Z, et al. Changes in the soil microbial communities of alpine steppe at Qinghai-Tibetan Plateau under different degradation levels[J]. Science of the Total Environment, 2019, 651:

2281-2291.

[9] 牛世全, 龙洋, 李海云, 等. 应用 IlluminaMiSeq 高通量测序技术分析河西走廊地区盐碱土壤微生物多样性[J]. 微生物学通报, 2017, 44(9): 2067-2078.

[10] 吕贻忠, 李保国. 土壤学实验[M]. 北京: 中国农业出版社, 2010: 119-204.

[11] 姜海燕. 大兴安岭兴安落叶松林土壤微生物与土壤酶活性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2010.

[12] 李彬, 王志春, 孙志高, 等. 中国盐碱地资源与可持续利用研究[J]. 干旱地区农业研究, 2005,23(2): 154-158.

[13] 王爽. 大庆盐碱土可培养嗜盐细菌与古菌多样性及多相分类研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2011.

[14] 李新. 不同盐碱程度盐碱土壤微生物多样性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古师范大学, 2015.

[15] Yuan Q, Druzhinina I S, Pan X, et al. Microbially mediated plant salt tolerance and microbiome-based solutions for saline agriculture [J]. Biotechnology Advances, 2016, 34(7): 1245-1259.

[16] Zhalnina K, Louie K B, Hao Z, et al. Dynamic root exudate chemistry and microbial substrate preferences drive patterns in rhizosphere microbial community assembly [J]. Nat Microbiol, 2018, 3(4): 470-480.

[17] Tian X, Zhang C. Illumina-based analysis of endophytic and rhizosphere bacterial diversity of the coastal halophyte *messerschmidia siberia*[J]. Frontiers in Microbiology, 2017,8: article 2288.

[18] Goordial J, Davila A, Greer C W, et al. Comparative activity and functional ecology of permafrost soils and lithic niches in a hyper-arid polar desert [J]. Environmental Microbiology, 2016, 19(2):443-458.

[19] 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):1206-1214.

[20] Kuznetsov S I, Dubinina G A, Lapteva N A. Biology of oligotrophic bacteria [J]. Annual Review of Microbiology, 1979, 33(3):377-387.

[21] 王颖群, 严共华. 寡营养细菌[J]. 微生物学通报, 1995, (5): 302-304.

[22] Wang G, Liu J, Qi X, et al. Effects of fertilization on bacterial community structure and function in a black soil of Dehui region estimated by Biolog and PCR-DGGE methods [J]. Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(1):220-226.

[23] 孟琳. 肇东盐单胞菌(*Halomonas zhaodongensis*) NEAU-ST 10-25 中新型 Na^+/H^+ 逆向转运蛋白基因的克隆与功能分析[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.

[24] Park S, Akira Y, Kogure K. The Family Rhodothermaceae. The Prokaryotes, 4th ed[M]. Berlin, Heidelberg: Springer, 2014:849-856.