

文章编号:1001—7380(2021)01—0007—04

扬州茱萸湾风景区森林土壤细菌多样性研究

万 欣^{1,2}, 王 磊^{1,2*}, 李文斌³, 江 浩^{1,2}

(1. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153; 2. 江苏扬州城市森林生态系统国家定位观测研究站, 江苏 扬州 225000;
3. 扬州市茱萸湾风景区管理处, 江苏 扬州 225000)

摘要:森林土壤微生物群落作为分解者、共生体或病原体,在调节生物地球化学循环方面起到关键作用。土壤细菌能够释放土壤无机物、矿石或有机质中的营养元素,在森林生态系统的养分循环中起着重要作用。该研究以扬州市茱萸湾风景区内6种不同植被类型的城市森林作为研究对象,对不同植被类型下土壤细菌群落结构及多样性指数进行比较研究。结果表明,水杉林土壤细菌的物种总数、菌群丰度和复杂度最高,其次是竹林和山茱萸林。水杉林的土壤细菌群落的均匀度最高,其次是竹林和杂阔林。山茱萸林独有的土壤细菌的 OTUs 数目最多,与其他森林群落土壤细菌的 OTUs 分布差异较大;在门分类水平上,该地区相对丰度平均值大于1%的优势菌门有11个。

关键词:城市森林;土壤细菌;多样性指数;茱萸湾风景区;扬州

中图分类号:S154.38⁺1;S718.51⁺6

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2021.01.002

Study on bacterial diversity of forest soil in Zhuyuwan Scenic Area, Yangzhou

Wan Xin^{1,2}, Wang Lei^{1,2*}, Li Wenbin³, Jiang Hao^{1,2}

(1. Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China; 2. Yangzhou Long-term Observation Station of Urban Ecosystem, Yangzhou 225000, China; 3. Yangzhou Zhuyuwan Scenic Area Management Office, Yangzhou 225000, China)

Abstract: Forest soil microbial communities, as decomposers, symbionts or pathogens, play a key role in regulating biogeochemical cycles. Soil bacteria can release nutrients in soil inorganic matter, ore or organic matter, and play an important role in nutrient cycling of forest ecosystem. In this study, six urban forests in Zhuyuwan Scenic Area of Yangzhou City were taken as the research objects to compare the soil bacterial community structure and diversity index under different vegetation types. The results showed that the total number, abundance and complexity of soil bacteria in *Metasequoia glyptostroboides* forest were the highest, followed by *Phyllostachys pubescens* forest and *Cornus officinalis* Sieb forest. The soil bacterial community uniformity of *Metasequoia glyptostroboides* forest was the highest, followed by *Phyllostachys pubescens* forest and mixed broadleaf forest. The number of OTUs of soil bacteria unique to *Cornus officinarum* was the highest, and the distribution of OTUs was different from that of soil bacteria in the other forest communities. At the taxonomic level of phyla, there were 11 dominant phyla with average relative abundance greater than 1% in this region.

Key words: Urban forest; Soil bacteria; Diversity Index; Zhuyuwan Scenic Area; Yangzhou

随着人们对城市森林生态环境的关注,对城市森林的生物多样性研究工作日益重视。土壤中的微生物以其丰富的生物多样性使它们成为生态系统中最

活跃和具有决定性影响的组分之一^[1-2]。已有研究表明,森林土壤微生物群落作为分解者、共生体或病原体,在调节生物地球化学循环方面起到关键作用^[3-4]。

收稿日期:2020-11-07;修回日期:2020-11-28

基金项目:江苏省林业科技创新与推广项目“江苏省森林、湿地定位监测长期科研基地”(LYKJ[2020]21);江苏省林业科技创新与推广项目“江苏长江湿地滨岸带修复技术与示范”(LYKJ[2019]41);江苏省林业科学研究院青年科技基金项目“城市森林土壤微生物群落结构及遗传多样性研究”(JAF-2016-03)

作者简介:万 欣(1983-),女,山东济宁人,高级工程师,博士。主要从事森林生态学的研究工作。

* **通信作者:**王 磊(1980-),男,江苏宜兴人,研究员,博士。主要从事森林生态学的研究工作。

土壤细菌的群落结构特征是表征森林土壤环境质量变化的最敏感、最有潜力的指标,其种群、数量、分布及多样性等群落结构特征可直接或间接地影响森林土壤的基本理化性质,进而影响森林树木的生长发育^[5-8]。因此,研究土壤细菌的群落结构和物种多样性在评价各种因素(包括自然因素和人为因素)干扰导致的森林土壤质量变化方面起着重要的指示作用。

本研究选取扬州市茱萸湾风景区内 6 种不同植被类型的城市森林作为研究对象,对不同植被类型下土壤细菌群落结构及多样性指数进行比较研究,以期为该地区城市森林生态系统服务功能的保护、合理利用土壤、营造最佳生态效益的林分、防止地力衰退提供一定的科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究样地概况

本研究地点设在扬州市广陵区茱萸湾风景区内,是江苏扬州市城市生态系统国家定位观测研究站的主站点。该区域属于亚热带季风性湿润气候向温带季风气候的过渡区,平均海拔 2 m,年均气温 15.8 ℃,年均降水量 864 mm。该区域的植被为地带性次生林植被,林分生长良好,在长江下游平原水网地区具有典型性和代表性。经实地调查取点,确定 6 个不同植被种类的城市森林样地作为本研究的研究样点,每个样点各设置样地 1 个。样地的具体位置和概况见表 1。

表 1 样地概况

样地号	样地大小/(m×m)	植被	林龄/a
1 号	8×10	毛竹(<i>Phyllostachys pubescens</i>)等竹类植物	5
2 号	15×15	水杉(<i>Metasequoia glyptostroboides</i>)	5
3 号	10×5	山茱萸(<i>Cornus officinalis</i> Sieb)	10
4 号	8×8	构树(<i>Broussonetia papyrifera</i>)、榉树(<i>Zelkova serrata</i>)等杂阔叶类树种	8
5 号	10×8	雪松(<i>Cedrus deodara</i>)、水杉(<i>Metasequoia glyptostroboides</i>)等松柏类树种	8
6 号	8×8	朴树(<i>Celtis sinensis</i> Pers.)、榉树(<i>Zelkova serrata</i>)等阔叶乔木	5

1.2 土壤样品采集和处理

在每个样地内的四角与中心选取 5 个采样点,将表面的腐殖质层移除后,用土钻采集土壤深度 0—20 cm 的土层,挑出凋落物、细根和小石块等杂物后充分混合,以减少异质性带来的影响。土壤样品过 2 mm 尼龙筛放入自封袋密封,以备测定土壤细菌群落多样性^[9]。

1.3 土壤细菌群落结构及多样性测定^[10]

称取 0.5 g 新鲜土样,按照美国强力土壤试剂盒的说明书来提取土壤细菌 DNA。设计 16Sv3-v4 区特定引物扩增特异区域,得到 420 bp 左右扩增片段。加接头,采用 Hiseq 2500 平台,测序得到 2×300 bp 的 paired-end 数据,通过拼接,可以得到较长序列,从而进行 16 S 分析^[11]。

1.4 数据处理与统计分析

测序得到的原始数据(Raw Data),存在一定比例的干扰数据(Dirty Data),为了使信息分析的结果更加准确、可靠,首先对原始数据进行拼接、过滤,得到有效数据(Clean Data)。然后基于有效数据进行 OTU 聚类 and 物种分类分析。根据 OTUs 聚类结果,对每个 OTU 的序列做物种注释,得到对应的物种信息和基于物种的丰度分布情况。同时,对 OTUs

进行丰度、Alpha 多样性计算、花瓣图分析,以得到样本内物种丰富度和均匀度信息。然后使用 SPSS17.0 软件采用 Pearson 法进行相关性分析(0.05 水平)^[12-13]。

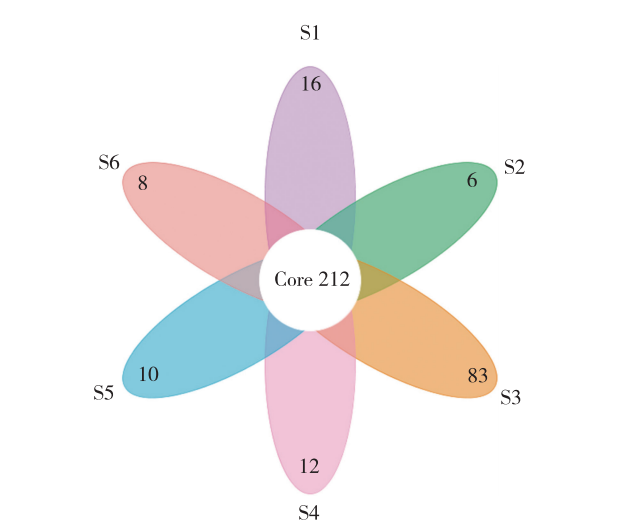
2 结果与分析

2.1 土壤样品测序结果

土壤样品通过优化过滤低质量序列后得到有效序列总数为 36 913 条,土壤样品序列经拆分、去冗余后在 97% 相似度下进行 OTUs 聚类共得到 1 946 个 OTUs。为了考察指定样品间的基因数目分布情况,分析不同样品之间的基因共有和特有信息,绘制了花瓣图。由图 1 所见,在 97% 的相似水平上统计得到样地土壤细菌 212 个,约占 OTU 总数的 10.89%,3 号茱萸林独有的土壤细菌的 OTU 数目最多有 83 个,约占总数的 4.27%。由此可见,3 号山茱萸林与其他森林群落土壤细菌的 OTUs 分布差异较大。

2.2 土壤细菌多样性指数

物种多样性的分析包含样品中的物种组成的丰富度和均匀度 2 个因素,通常用 Observed Species 指数、Chao 指数、Shannon 指数以及 Simpson 指数等



注:花瓣图中每个花瓣代表一个样地的样本(分别用 S1—S6 表示),不同的颜色代表不同的样地的样本,中间的 core 数字代表的是所有样地的样本中共有的 OTU 数目,花瓣上的数字代表该样地样本特有的 OTU 数目。

图 1 不同植被类型下土壤细菌 OTU 花瓣图

指数来评估样本的物种多样性,指数越高,表明样本的多样性越复杂^[14]。Observed Species 指数和 Chao1 指数反映样品中群落的丰富度,即群落中物种的数量。Shannon 指数和 Simpson 指数反映群落的多样性,受样品群落中物种丰富度和物种均匀度的影响。相同物种丰富度的情况下,群落中各物种具有越大的均匀度,则认为群落具有越大的多样

性^[15-16]。通过测序,6 种植被类型森林土壤测序的几种多样性指数由表 2 所示。

表 2 97%条件下各林型土样多样性指数

林型	Coverage 指数	Chao1 指数	Observed Species 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
1 号竹林	0.995	1 390.855	1 281.667	8.548	0.993
2 号水杉林	0.995	1 477.273	1 358.667	8.896	0.995
3 号茱萸林	0.995	1 305.320	1 166.667	7.795	0.980
4 号杂阔林	0.996	1 279.033	1 158.667	8.338	0.992
5 号松柏林	0.996	1 002.571	904.333	7.286	0.979
6 号杂阔林	0.995	1 360.363	1 221.667	8.551	0.993

由表 2 可知,6 个林型的土壤测序的 Coverage 指数均在 0.995 以上,说明该试验的测序结果能够准确反映供试土壤样品的真实情况。6 个林型土壤样本中,Chao1 指数和 Observed Species 指数以 2 号水杉林最高,说明该林型的土壤细菌的物种总数、菌群丰度和复杂度最高,其次是 1 号竹林和 3 号茱萸林。Shannon 指数和 Simpson 指数也是以 2 号水杉林最高,说明该林型的土壤细菌群落的均匀度最高,其次是 1 号竹林和 6 号杂阔林。

2.3 土壤细菌相对丰度

在门分类水平上,相对丰度前 20 的物种聚类分析图如图 2 所示。其中,相对丰度平均值大于 1% 的优势菌门有 11 个,其相对丰度值见表 3。

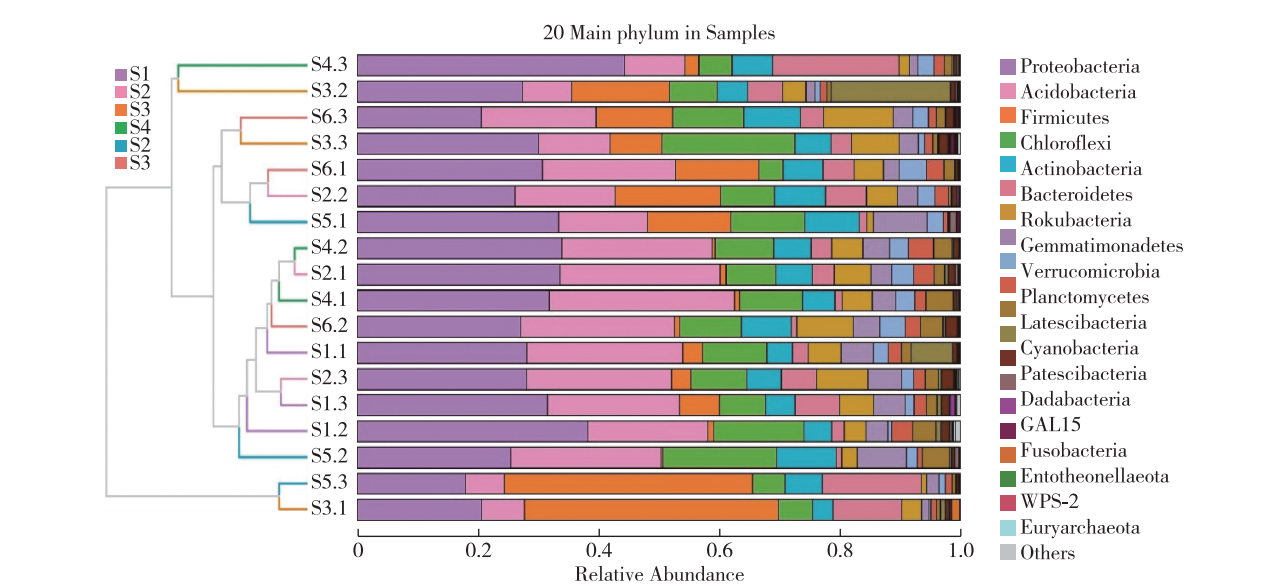


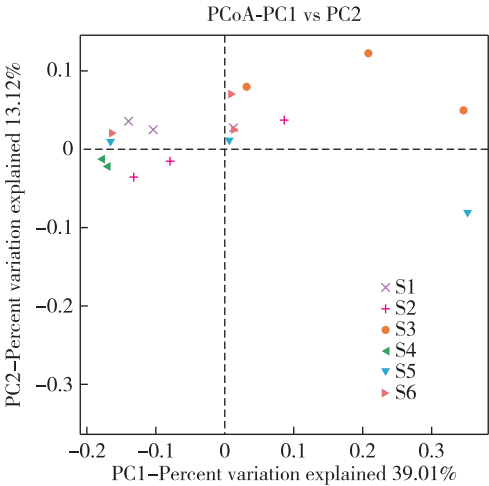
图 2 门分类水平 Top20 物种相对丰度聚类图

表 3 11 种优势菌门在不同林分土壤中的相对丰度值 %

菌门	1 号竹林	2 号水杉林	3 号茱萸林	4 号杂阔林	5 号松柏林	6 号杂阔林
酸杆菌 (Acidobacteria)	25.80	26.54	11.86	30.70	24.87	25.45
放线菌 (Actinobacteria)	4.94	8.48	5.97	6.68	9.90	9.34
拟杆菌 (Bacteroidetes)	7.35	6.76	11.38	20.96	16.37	5.11
绿弯菌 (Chloroflexi)	14.93	9.23	22.05	10.45	18.85	11.81
厚壁菌 (Firmicutes)	6.65	17.45	42.09	2.28	41.14	13.79
芽单胞菌 (Gemmatimonadetes)	5.41	5.60	3.16	4.36	8.87	4.39
匿杆菌 (Latescibacteria)	3.87	2.14	0.81	4.53	4.44	3.72
浮霉菌 (Planctomycetes)	3.46	3.38	1.35	4.19	1.11	2.91
变形菌 (Proteobacteria)	38.15	33.54	30.00	44.25	33.34	30.66
己科河菌 (Rokubacteria)	5.66	8.55	7.94	5.22	2.57	11.58
疣微菌 (Verrucomicrobia)	2.43	3.65	1.05	3.15	2.68	4.48

由表 3 可知,1 号竹林(S1)、2 号水杉林(S2)、4 号杂阔林(S4)、6 号杂阔林(S6)的土壤中变形菌(Proteobacteria)相对丰度最高,分别为 38.15%,33.54%,44.25%,30.66%,其次是酸杆菌(Acidobacteria)、绿弯菌(Chloroflexi)、厚壁菌(Firmicutes);3 号茱萸林(S3)和 5 号松柏林(S5)土壤中厚壁菌相对丰度最高,分别是 42.09%和 41.14%,其次是变形菌、酸杆菌、绿弯菌。

为了进一步分析各林型土壤细菌群落多样性差异,本研究基于 Weighted Unifrac 距离来进行 PCoA 分析。图 3 为 PCoA 对 6 种林型土壤样本的土壤细菌群落多样性的分析结果,如果 2 个样本距离较近,则表示这 2 个样本的物种组成较相近。



注:横坐标表示第 1 主坐标,百分比则表示第一主坐标对样本差异的贡献率;纵坐标表示第 2 主坐标,百分比表示第 2 主坐标对样本差异的贡献率。图中点分别表示各个样本。S1-S6 表示 6 种不同林型的样本。

图 3 PCoA 分析图

由图 3 可见,3 号山茱萸林(S3)和 1 号竹林(S1)

与其他林型的土壤样本距离较远,说明这 2 种林型的物种组成与其他 4 种林型的土壤细菌的物种组成有明显差异。其他 4 个林型的土壤样本距离较近,说明这 4 种林型的土壤细菌的物种组成无明显差异。

3 结论与展望

由此可见,扬州茱萸湾风景区内水杉林土壤细菌的物种总数、菌群丰度和复杂度最高,其次是竹林和茱萸林。水杉林的土壤细菌群落的均匀度最高,其次是竹林和杂阔林。山茱萸林独有的土壤细菌的 OTU 数目最多,与其他森林群落土壤细菌的 OTUs 分布差异较大;在门分类水平上,该地区相对丰度平均值大于 1%的优势菌门有 11 个。

为深入研究城市森林土壤微生物群落在生态系统过程中的作用,希望在进一步研究中针对土壤微生物多样性、土壤理化指标和大气环境因子进行同步监测,研究大气环境-土壤-微生物之间的相关性,对于预测城市森林对未来环境条件的响应至关重要。

参考文献:

[1] ALKAMA R, CESCATTI A. Biophysical climate impacts of recent changes in global forest cover[J]. Science 2016, 351:600-604.

[2] DEANGELIS KM, POLD G, TOPCUOGLU BD, et al. Long-term forest soil warming alters microbial communities in temperate forest soils [J]. Front Microbiology, 2015, 6:104.

[3] SHANMUGAM SG, MAGBANUA ZV, WILLIAMS MA, et al. Erratum to: Bacterial diversity patterns differ in soils developing in sub-tropical and cool-temperate ecosystems [J].Microbial Ecology, 2017, 73(3): 570.

[4] 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.

(下转第 15 页)

者从起算日到实际开花日的累积温度的日平均值恒定,来作为始花期的临界值。本文参考文献发现,积温在不同地点、不同年份间存在一定的差异,这与植物在冬季经受的低温刺激不同有关,樱花等作物冬季存在休眠期,该时段内的气温对萌动至始花期的活动积温存在影响,且不同花期的樱花对气温的响应是不一致的。因此研究了樱花对低温的响应情况,故对积温和冬季休眠期气温作了相关分析,根据冬季气温情况确定了萌动至始花期的活动积温。

(1)根据模型计算,2020 年中樱花花期预报较实际观测值偏差 3 d,预报准确率有待进一步提高;晚樱花期预报较实际观测值偏差 1 d,可用于花期预报和服务。

(2)受限于观测数据样本容量,模型计算中 GDD 与休眠期气温 T 关系的准确性还不太高,需在今后通过继续观测和计算来提升,以及考虑随着观测数据样本容量的增加使用非线性动态方程替换线性模型。

(3)高温、干旱、大风等灾害性天气可能对始花期有一定影响,后续还可以考虑在模型中加入多气象要素的综合影响。

(4)确定参数基本温和起算日时,积温标准差极小值出现在 8, 10.6 °C,可能表明这 2 个温度值一方面与樱花生理特征有关,另一方面也代表了其自身品种的特性。

(5)本文未对花期持续时间和落花期建立预报模型,有待进一步研究。

参考文献:

[1] 竺可桢,宛敏渭.物候学[M].北京:科学出版社,1984.

- [2] 张福春.北京春季的树木物候与气象因子的统计学分析[J].地理研究,1983,2(2):57-64.
- [3] 徐雨晴,陆佩玲,于强.气候变化对我国刺槐、紫丁香始花期的影响[J].北京林业大学学报,2004,26(6):94-97.
- [4] RING D R, HARRIS M K. Predicting pecan nut casebearer (*Lepidoptera*: *Pyrilidae*) activity at College Station, Texas[J]. *Environmental Entomology*, 1983, 12:482-486.
- [5] HO C H, LEE J I, JEONG S J. Earlier spring in Seoul, Korea [J]. *International Journal of Climatology*, 2006, 26:2117-2127.
- [6] OHASHI Y, KAWAKAMI H, SHIGETA Y, et al. The phenology of cherry blossom (*Prunus yedoensis* "Somei-yoshino") and the geographic features contributing to its flowering[J]. *International Journal of Biometeorology*, 2012, 56:903-914.
- [7] AONO Y. Climatological studies on blooming of cherry tree (*Prunus yedoensis*) by means of DTS method[J]. *Bulletin of the University of Osaka Prefecture, Series B*, 1992, 45:155-192.
- [8] Hunter A F, Lechowicz M J. Predicting the timing of budburst in temperate trees[J]. *Journal of Applied Ecology*, 1992, 29(3):597-604.
- [9] CANNELL M G, SMITH R I. Thermal time, chilling days and prediction of budburst in *Picea sitchensis*[J]. *Journal of Applied Ecology*, 1983, 20(3):951-963.
- [10] BENNIE J, KUBIN E, WILTSHIRE A, et al. Predicting spatial and temporal patterns of bud-burst and spring frost risk in north west Europe: the implications of local adaptation to climate[J]. *Global Change Biology*, 2010, 16(5):1503-1514.
- [11] 仲舒颖,葛全胜,戴君虎,等.中国典型观赏植物花期模型建立及过去花期变化模拟[J].资源科学,2017,39(11):2116-2129.
- [12] 张艳红.低温对丹东杜鹃花花期的影响[J].安徽农业科学,2007,35(26):8213,8228.
- [13] 储吴越,范俊俊,张往祥.观赏海棠花期物候稳定性及其对温度变化的响应[J].南京林业大学学报(自然科学版),2020,44(5):49-54.

(上接第 10 页)

- [5] 邹莉,于洋,孙婷婷,等.原始红松林土壤微生物量动态及其与土壤理化性质的关系[J].草业科学,2014,31(1):15-21.
- [6] 丁新景,敬如岩,黄雅丽,等.基于高通量测序的 4 种不同树种人工林根际土壤细菌结构及多样性[J].林业科学,2018,54(1):81-89.
- [7] 李博.生态学[M].北京:科学出版社,2000.
- [8] 李振高,骆永明,滕应.土壤与环境微生物研究法[M].北京:科学出版社,2008.
- [9] 国春菲.土壤盐分和 pH 对滨海盐土土壤微生物多样性的影响[D].临安:浙江农林大学,2013.
- [10] 池振明.现代微生物生态学[M].北京:科学出版社,2020.
- [11] 侯海军,张文钊,沈建林,等.水分管理对稻田细菌丰度与群

落结构的影响[J].生态环境学报,2016,25(9):1431-1438.

- [12] 黄雅丽,田琪,秦光华,等.黄河三角洲刺槐白蜡混交对土壤细菌群落结构及多样性的影响[J].生态学报,2018,38(11):3859-3867.
- [13] 李聪.不同林型对林下土壤理化性质与土壤细菌多样性的影响[D].哈尔滨:东北林业大学,2013.
- [14] 隋心,张荣涛,杨立宾,等.三江平原不同类型小叶章湿地土壤细菌群落功能多样性[J].环境科学研究,2016,29(10):1479-1486.
- [15] 杨亚东,王志敏,曾昭海.长期施肥和灌溉对土壤细菌数量、多样性和群落结构的影响[J].中国农业科学,2018,51(2):290-301.
- [16] 徐飞,蔡体久,杨雪,等.三江平原沼泽湿地垦殖及自然恢复对土壤细菌群落多样性的影响[J].生态学报,2016,36(22):7412-7421.