

文章编号:1001-7380(2024)04-0020-06

盐城滨海湿地土壤微生物群落组成的数量特征

王 淼,王 哲,石子菊,张晴晴,刘茂松*

(南京大学生命科学学院,江苏 南京 210023)

摘要:土壤微生物是生态系统的重要组成部分,对维持湿地土壤生态系统稳定发挥着重要作用。该文采用16SrRNA高通量测序的OTU数据,对盐城滨海湿地不同季节间淤泥质光滩、互花米草群落、藇草群落、碱蓬群落和芦苇群落5种典型生境的3个不同土壤层次中土壤微生物群落OTU序列相对多度的数量特征和相对多度分布特征进行了比较研究。结果发现:(1)无植被的淤泥质光滩与4个植物群落生境土壤微生物群落OTU序列相对多度的数量特征存在一定差异,表现在淤泥质光滩的季节变化幅度大于植物群落生境;植物群落生境之间也存在一定差异,互花米草群落不同土层间保持相同的季节变化趋势,与本土植物群落生境存在较大差异;(2)土壤微生物群落OTU序列相对多度分布特征与季节温度变化不一致,其中5月峰值最低,而月均温最高的8月与温度较低的3月和11月差异较小。总体上,在环境变化下,土壤微生物群落OTU序列相对多度的数量特征差异较小,相对组成比较稳定。

关键词:滨海湿地;土壤微生物;操作分类单元;数量特征;盐城

中图分类号:S154.36

文献标志码:A

doi:10.3969/j.issn.1001-7380.2024.04.004

Quantitative characteristics of soil microbial community composition in Yancheng coastal wetland

Wang Miao, Wang Zhe, Shi Ziju, Zhang Qingqing, Liu Maosong*

(School of Life Science, Nanjing University, Nanjing 210023, China)

Abstract: Soil microorganisms are a significant part of the ecosystem and play an important role in maintaining the stability of the wetland soil ecosystem. We compared the quantitative characteristics and relative abundance distribution of soil microbial community composition in muddy mudflat, *Spartina alterniflora*, *Scirpus triquetra*, *Suaeda salsa* and *Phragmites australis* community in Yancheng coastal wetland, using operational taxonomic unit (OTU) data of 16S rRNA high-throughput sequencing. The results showed that: (1) Differences existed in the quantitative characteristics of the relative abundance of soil microbial community OTU sequences between the mud flat and the four plant community habitats, which was manifested in the fact that the seasonal variation of the mud flat was greater than that of the plant community habitat. There were also some differences between the habitats of plant communities. That of *Spartina alterniflora* community maintained the same seasonal variation trend at different soil levels, which was quite different from that of the habitat of native plant communities. (2) The relative abundance distribution characteristics of soil microbial community OTU were not consistent with seasonal temperature changes. The relative abundance peak value in May was the lowest, while the relative abundance difference between August with the highest monthly average temperature and March, November with lower temperature was small. In general, there was a little difference in the quantitative characteristics of the relative abundance of OTU sequences in the soil microbial community under environmental change, and the relative composition was relatively stable.

Key words: Coastal wetland; Soil microbe; Operational taxonomic unit(OTU); Quantitative characteristics; Yancheng

土壤微生物是生态系统的重要组成部分,在土壤有机质分解、污染物净化、生态系统稳定性的维

持等方面发挥重要作用^[1]。土壤微生物群落受植物群落^[2-6]以及土壤和气候等非生物因子影响^[7-12],

收稿日期:2024-04-29;修回日期:2024-05-27

基金项目:国家重点研发计划“东部重要河口湿地生态恢复与调控关键技术”(2022YFF1301001)

作者简介:王 淼(1998-),女,山东潍坊人,硕士。研究方向为湿地生态学研究。E-mail: cinderella_wang@outlook.com

在物种组成、不同类群的相对多度等方面,往往存在较大差异。在不同土壤层次中微生物群落结构也存在一定差异^[13-14]。基于 PCR 扩增的 16S rRNA 高通量测序技术是目前土壤微生物研究中常用的技术手段^[15],虽然因其扩增过程导致不能完全反映土壤微生物的实际组成状况,但通过该方法获取的操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)能够在一定程度上反映土壤微生物的群落结构特征,成为土壤微生物研究中常用的技术手段^[16]。

江苏省盐城滨海滩涂湿地是我国优先保护的 17 个生物多样性关键地区之一^[17],在盐城滨海湿地利用 OTU 丰度数据进行土壤微生物群落研究中,李秋霞等^[18]发现盐城大丰地区光滩特有细菌 OTU 种类数和多样性指数均低于植物群落生境,而任玉蓉等^[19]发现条子泥围堰区光滩中土壤微生物群落多样性高于互花米草群落、碱蓬群落和芦苇群落等植物群落生境,显示土壤微生物群落的组成结构特征具有复杂性,且环境条件对其有重要影响。OTU 相对多度能够表征不同 OTU 序列的占比,其平均值、偏度和变异系数等数量特征能够在一定程度上反映土壤微生物群落的相对组成特征,但目前从数量特征层面研究土壤微生物群落组成的研究较少。为探究土壤微生物群落随环境变化在数量特征层面的规律性,本文基于 16S rRNA 高通量测序的 OTU 数据,对盐城滨海湿地几种典型生境土壤微生物群落 OTU 序列相对多度随季节、土壤层次和群落类型的变化进行比较研究,为进一步开展滨海湿地生态系统多样性及其保护研究提供一定参考。

1 材料与方法

1.1 研究地概况及样本采集

研究地位于江苏省盐城市的江苏盐城湿地珍禽国家级自然保护区(119°54'E—121°18'E, 32°49'N—34°29'N)的核心区。研究地受海洋性和大陆性气候影响,年均气温为 13.7—14.6℃,年最低和最高气温分别在 1 月和 8 月。盐城滩涂湿地植被主要为芦苇(*Phragmites australis*)群落、盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)群落、藨草(*Scirpus triqueter*)群落和互花米草(*Spartina alterniflora*)群落,从陆地向海洋总体上呈带状分布。

分别于 2020 年 8 月 20 日、11 月 14 日和 2021 年 3 月 18 日、5 月 13 日在研究地的淤泥质光滩(MF, Mudflat)、互花米草群落(SA)、藨草群落

(ST)、盐地碱蓬群落(SS)和芦苇群落(PA)5 个典型生境分别设置采样点,每个样点设置 1 m × 1 m 样方 4 个。采用混合采样法在每个样方内采集表层(0—10 cm)、中层(10—30 cm)和深层(30—60 cm)的土样,保存于装有干冰的保温箱中,用于土壤微生物测序。

1.2 研究方法

1.2.1 土壤微生物测序 采用 16S rRNA 高通量测序技术对采集的土壤样本进行分析。提取土壤样本基因组 DNA,对其 16S rRNA 基因 V3—V4 区进行 PCR 扩增,并进行文库构建。文库定量合格后,使用 NovaSeq 6000 进行上机测序。对测序得到的样本 Reads 进行拼接得到原始数据,并对其进行 Tags 过滤、去除嵌合体序列等操作,得到有效数据。测序工作委托诺禾致源生物科技有限公司完成。

1.2.2 土壤微生物群落数量特征指标 本文以 OTU 序列为单位研究土壤微生物群落相对组成特征,分别计算了 OTU 序列的相对多度及其平均值(平均相对多度, μ)、偏度(Skewness, SK)、变异系数(Coefficient of Variation, CV)等指标。其计算表达式为

$$p_i = \frac{N_i}{N} \times 100\%$$

$$\mu = \frac{\sum_{i=1}^n p_i}{n}$$

$$SK = \frac{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (p_i - \mu)^3}{\left[\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (p_i - \mu)^2 \right]^{\frac{3}{2}}}$$

$$CV = \frac{\sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (p_i - \mu)^2}{n}}}{\mu}$$

其中, p_i 为第 i 种 OTU 序列的相对多度; N_i 为第 i 种 OTU 序列的数量; N 为该样本土壤微生物群落中的 OTU 总数; n 为样本中所有序列数。

相对多度表征土壤微生物群落中某一 OTU 序列所占的比例,平均相对多度值越大,群落中总的 OTU 序列越少。偏度可表征土壤微生物群落中优势种和非优势种的相对优势度情况,偏度数值上升,群落中优势群的相对优势度下降,非优势群相对优势度增加。变异系数越大,OTU 序列相对多度

的绝对差异越大。

1.2.3 相对多度密度分布曲线 生物多样性指数和数量特征指标等在一定程度上减少了物种相对多度分布中的复杂细节,提供数值即可进行群落比较,但其中缺乏详细信息,容易导致群落的重要特征被忽视^[20]。虽然 Curtis 等^[21]首先采用了对数正态分布的物种—多度曲线对微生物多样性进行理论评估,获得与实测数据相似的结果。对于微生物群落来说,样本中包含的个体数与实际群落相比非常少,多样性指数和物种—多度分布等描述与实际群落可能存在显著差异^[22-23]。本文采用相对多度及其相应的概率密度分别代替传统物种—多度曲线中的物种丰度及物种数,绘制相对多度的对数密度分布曲线,相对多度密度分布曲线中的概率密度表示某一相对多度的 OTU 序列所占有的概率,能够在采集样本中个体数较少的情况下反映土壤中微生物群落的整体特征。

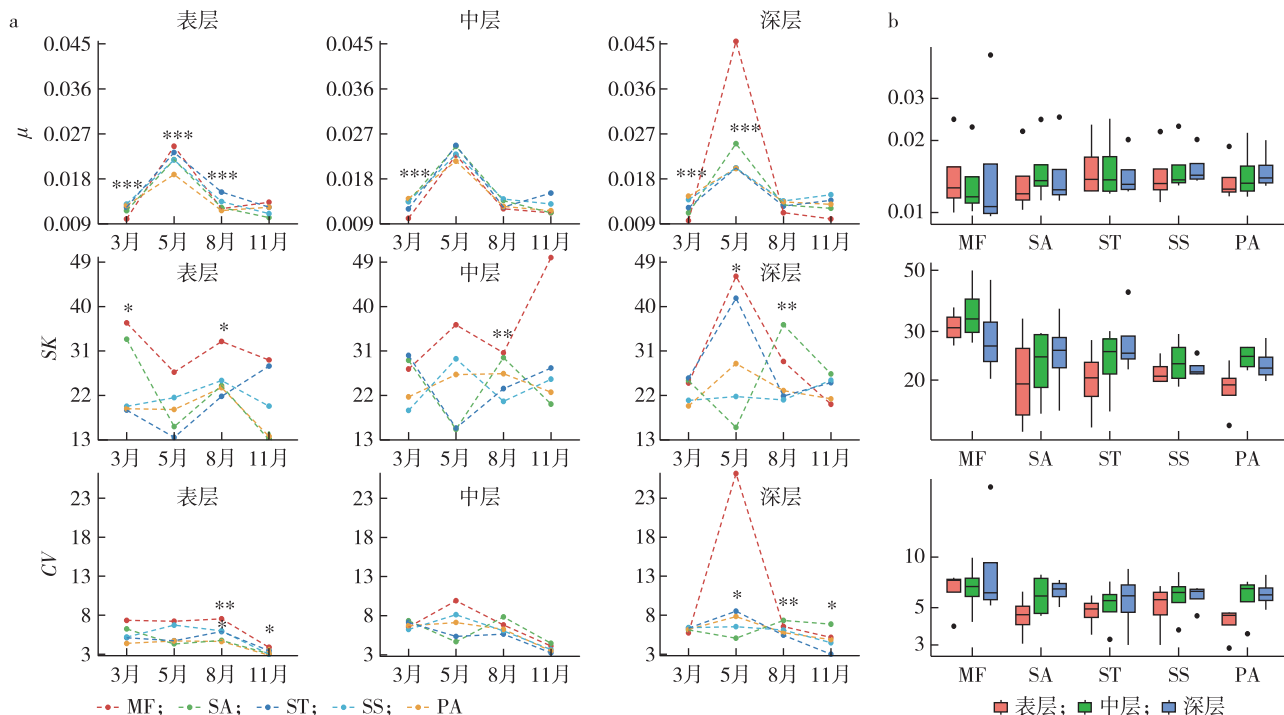
1.2.4 数据分析方法 采用 R(4.3.0 版本)计算土壤微生物群落 OTU 序列相对多度的数量特征指标,使用 IBM SPSS Statistics 26 软件进行单因素方差分析,用 R(4.3.0 版本)进行绘图。

2 结果与分析

2.1 土壤微生物群落 OTU 序列相对组成特征的变化

研究地土壤微生物群落 OTU 序列相对多度的数量特征在不同生境和层次间季节变化趋势有所不同(见图 1)。比较 4 个采样时期土壤微生物群落数量特征,土壤微生物群落 OTU 序列平均相对多度 5 月最高,此时群落中 OTU 序列数最少,且光滩平均相对多度的季节变化幅度最大,其次为互花米草群落。OTU 序列相对多度的偏度值,光滩整体上高于与 4 个植物群落,即其相对多度较高的优势群的相对优势度较低,季节变幅在表层中互花米草群落最大、在中深层中光滩最大。11 月土壤微生物群落 OTU 序列相对多度的变异系数最低,此时不同 OTU 序列相对多度的差异最小,季节变幅在表层中碱蓬群落最大、在中深层中光滩最大。总体上光滩中土壤微生物群落数量特征的季节变幅大于植物群落生境,显示植物群落的存在降低了土壤微生物群落季节间的变化幅度。

比较不同层次间土壤微生物群落 OTU 序列相对多度的数量特征,平均相对多度在光滩和藨草群



注:图 a 显示同一季节、同一土层的不同生境间的差异性。***: $P < 0.001$, **: $P < 0.01$, *: $P < 0.05$; 图 b 中纵坐标采用对数坐标轴放大层次间差异

图 1 土壤微生物群落 OTU 序列相对组成特征

落中随土壤深度增加而下降,而互花米草、碱蓬和芦苇群落相反;偏度和变异系数在光滩中总体随土壤深度增加而下降,而4个植物群落相反;但数量特征在不同层次间未表现出显著性差异,显示植物群落与没有植物生长的光滩总体上差异较大,而不同层次间差异相对较小。土壤微生物群落平均相对多度、偏度和变异系数在互花米草群落的3个土壤层次中具有相同的季节变化趋势,而光滩和其他植物群落在3个土壤层次上各不相同,显示互花米草群落中土壤微生物群落 OTU 序列相对多度的数量

特征在不同层次间的差异小于其他群落。

2.3 土壤微生物群落相对多度密度分布曲线

比较土壤微生物群落相对多度密度分布曲线发现,不同季节、生境和土壤层次的相对多度密度分布曲线均呈现相似的“双峰”形态和较高相对多度的长“尾”(见图2)。不同生境和土壤层次的分布曲线相似性较高,在不同采样时期,5月右偏形态更突出、峰值最低,即5月土壤微生物优势群的相对优势度下降,不同 OTU 序列相对多度差异变小,而3,8,11月的分布曲线形态比较相似。

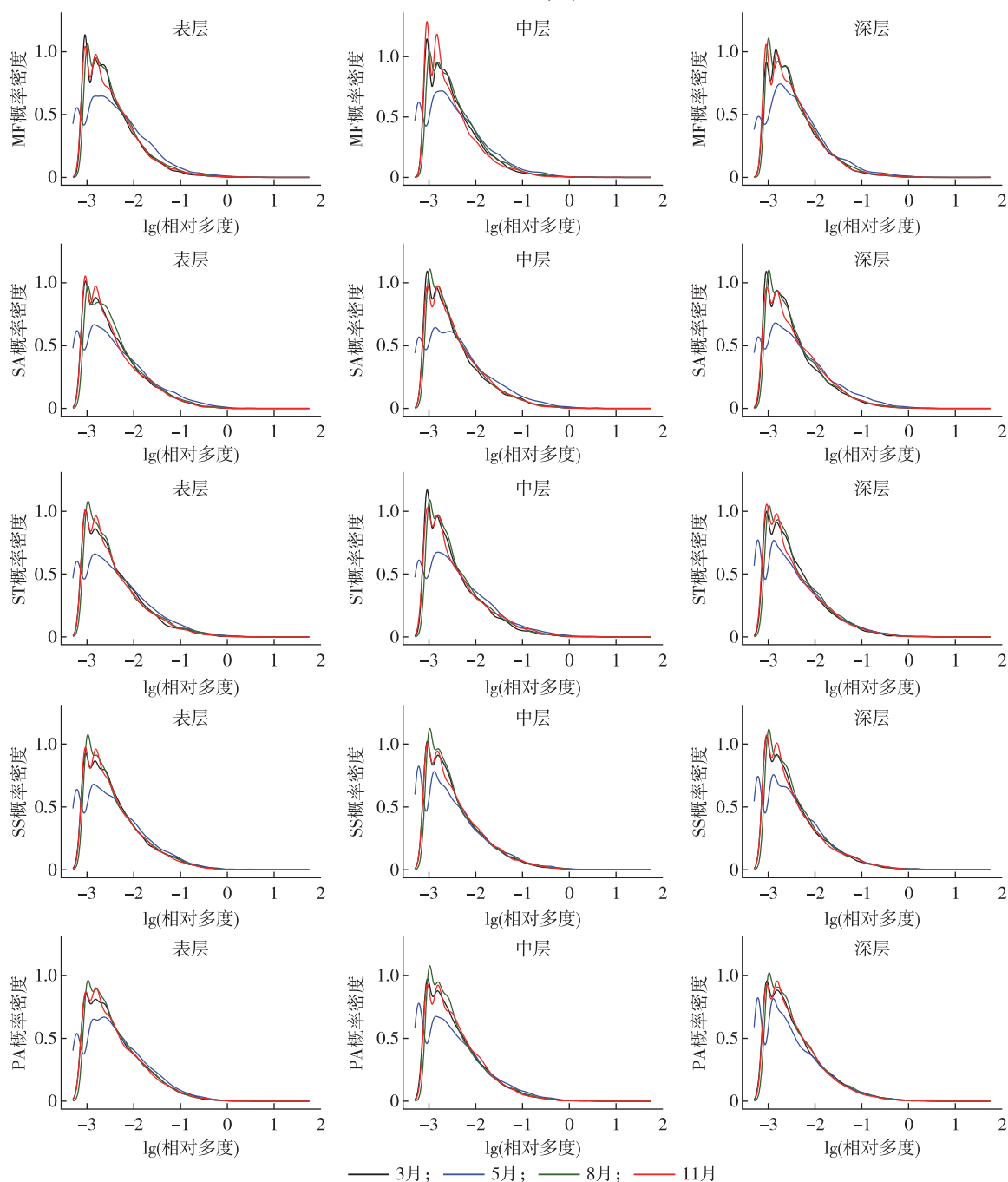


图2 土壤微生物群落相对多度密度分布曲线

总体上,研究地土壤微生物群落相对多度分布曲线均呈现右偏形态,具有较高的相似性,表明相对多度较高的 OTU 序列相对优势度较低,而相对多度较少和中等的 OTU 序列占比高,导致分布曲线并不呈现严格的对数正态分布。土壤微生物群落相对多度密度分布曲线 5 月与其他季节存在相对明显的差异,而 3,8,11 月相似性均较高,显示土壤微生物群落中不同 OTU 序列相对多度分布的变化与季节温度变化不一致。

3 讨论

3.1 土壤微生物群落相对多度的分布特征

An 等^[24]研究发现,全国 42 个各类湿地的土壤微生物群落组成相似且相对稳定。湿地土壤拥有较深厚的有机质层,被水饱和,且温度和氧含量等环境因子比其他类型土壤更加稳定,导致各种类型湿地土壤中共享 OTU 的比例较高。在一定时空尺度下,植物群落的存在和植物群落类型不同影响土壤微生物群落的组成结构^[3-6]。Li 等^[2]研究发现,黄河三角洲滨海湿地滩涂与有植被覆盖的土壤微生物多样性存在较大差异,植物的存在增加了土壤微生物的多样性。而刘志君等^[25]认为互花米草入侵改变了盐城滨海湿地土壤理化性质,导致土壤中微生物群落多样性的下降。

研究地土壤微生物群落相对多度分布曲线均具有“双峰”形态和右偏分布的长“尾”,相似度较高,表明研究地土壤微生物群落相对组成具有相似性;在不同生境中,光滩土壤微生物群落平均相对多度、偏度和变异系数的季节变幅均最大,且随土壤层次的变化与 4 个植物群落生境相反,说明植物群落影响土壤微生物群落 OTU 相对多度的数量特征,且植物群落的影响大于土壤层次的影响;在植物群落生境中,互花米草群落土壤微生物群落 OTU 序列相对多度的数量特征在 3 个层次中均具有相同的季节变化,而其他生境季节变化在不同层次中明显不同,显示互花米草入侵可能影响土壤微生物群落 OTU 序列相对多度数量特征的季节变化。

在研究地前期土壤微生物多样性的研究中发现,土壤微生物多样性在不同层次间的差异性及其随土壤深度变化趋势的差异较小,而光滩与植物群落之间,以及互花米草群落与本土植物群落之间土壤微生物群落物种多度差异显著^[26-27]。与土壤微生物的多度和多样性特征相比,OTU 相对多度的数

量特征在不同季节、生境和层次中的差异较小,说明土壤微生物群落 OTU 相对多度特征随环境变化差异较小,因此,开展相关研究有必要从多度和相对多度 2 个层面去揭示土壤微生物群落的特征。

3.2 土壤微生物群落 OTU 序列相对多度数量特征和相对多度分布的季节动态

环境温度的变化可以改变土壤微生物群落组成结构。已有研究表明,温度升高可以促进土壤中营养物质的循环以及土壤微生物的活性,从而有利于土壤微生物的繁殖^[9, 11, 28]。李艳等^[9]研究发现长期模拟增温显著增加了滨海湿地芦苇群落土壤表层微生物的数量。黄金锐等^[10]研究也发现土壤环境中夏季土壤微生物群落组成最丰富,秋季物种丰度最高,而冬季土壤微生物群落多样性与物种丰度均最低。然而李娜等^[29]研究发现,增温幅度过大会抑制微生物的代谢活动。

本研究结果发现,土壤微生物群落 OTU 相对多度的数量特征和相对多度分布特征存在较为明显的季节动态,主要体现在 5 月土壤微生物相对多度密度分布曲线的峰值低于其他采样时期,平均相对多度高于其他采样时期,而 3,8,11 月间的差异很小。这表明 5 月的土壤微生物群落 OTU 序列数低于其他采样时期,但其优势群和非优势群之间的差异相对较小。

在全年不同时期中,5 月数量特征和相对多度分布特征最突出,而月均温最高的 8 月、月均温较低的 3 月与 11 月具有较高的相似度,显示土壤微生物群落的相对多度分布特征与季节温度变化节律不一致。研究地 5 月正处于湿地植物旺盛生长时期,根际代谢活跃影响土壤微生物群落 OTU 序列相对多度的分布特征和数量特征,而 8 月温度过高抑制土壤微生物活性,可能是导致 5 月与其他采样时期差异的原因。

4 结论

本研究分析了盐城滨海湿地核心区不同季节、生境和土壤层次间土壤微生物群落 OTU 序列相对多度分布和数量特征,发现植物群落的存在影响土壤微生物群落 OTU 序列相对多度的数量特征存在生境间差异,表现为无植被的淤泥质光滩的季节变化幅度大于植物群落生境,互花米草群落不同层次的季节变化一致,而其他生境在不同层次中的季节变化各不相同。土壤微生物群落相对多度分布

特征存在季节动态,表现为5月优势群和非优势群之间的差异小于其他3个采样时期,月均温最高的8月与温度较低的3月和11月相似度较高。

总体上,盐城滨海湿地土壤微生物群落相对多度分布存在相似性,但土壤微生物群落 OTU 序列的数量特征及其季节动态在植物群落和淤泥质光滩中存在差异。在环境变化下土壤微生物群落 OTU 序列相对多度的数量特征差异总体上较小,相对组成比较稳定。

参考文献:

- [1] XIE X F, XIANG Q, WU T, et al. Progress and prospect of soil microorganisms and their influencing factors in coastal wetland ecosystem[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(1): 1-12.
- [2] LI J Y, CHEN Q F, LI Q, et al. Influence of plants and environmental variables on the diversity of soil microbial communities in the Yellow River Delta Wetland, China[J]. *Chemosphere*, 2021, 274: 129967.
- [3] 毕江涛, 贺达汉. 植物对土壤微生物多样性的影响研究进展[J]. *中国农学通报*, 2009, 25(9): 244-250.
- [4] 夏北成, ZHOU J Z, JAMES M T. 植被对土壤微生物群落结构的影响[J]. *应用生态学报*, 1998, 9(3): 296-300.
- [5] LIU F D, MO X, KONG W J, et al. Soil bacterial diversity, structure, and function of *Suaeda salsa* rhizosphere and non-rhizosphere soils in various habitats in the Yellow River Delta, China[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 740: 140114.
- [6] CHAUDHARY DR, KIM J, KANG H. Influences of different halophyte vegetation on soil microbial community at temperate salt marsh[J]. *Microbial Ecology*, 2018, 75(3): 729-38.
- [7] HONG F Y, CHANG Y G, FAN Z Y, et al. Study on soil microbial community structure of river wetland in Tumen River Basin[J]. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 2019, 330(3): 032084.
- [8] FREEDMAN Z B, ROMANOWICZ K J, UPCHURCH R A, et al. Differential responses of total and active soil microbial communities to long-term experimental N deposition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 90: 275-282.
- [9] 李 艳, 高艳娜, 戚志伟, 等. 滨海芦苇湿地土壤微生物数量对长期模拟增温的响应[J]. *长江流域资源与环境*, 2016, 25(11): 1738-1747.
- [10] 黄金锐, 王继华, 程 玉. 覆土修复下土壤细菌微生物群落季节变化[J]. *环境科学与技术*, 2023, 46(7): 31-39.
- [11] 霍玉珠, 郭宏宇, 王佳宁, 等. 增温和增氮对天津滨海湿地土壤可培养细菌群落组成及多样性的影响[J]. *南开大学学报(自然科学版)*, 2023, 56(6): 51-57.
- [12] 谭 雪, 董 智, 张丽苗, 等. 三峡库区消落带草本植物根际细菌群落季节变化特征及功能预测[J]. *生态学报*, 2023, 43(23): 9699-9709.
- [13] 邵鹏帅, 解宏图, 鲍雪莲, 等. 森林次生演替和土壤层对微生物群落结构的影响[J]. *生态学杂志*, 2020, 39(5): 1455-1463.
- [14] HELGASON B L, KONSCHUH H J, BEDARD-HAUGHN A, et al. Microbial distribution in an eroded landscape: Buried A horizons support abundant and unique communities[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2014, 196: 94-102.
- [15] 李甜甜, 胡 泓, 王金爽, 等. 湿地土壤微生物群落结构与多样性分析方法研究进展[J]. *土壤通报*, 2016, 47(3): 758-762.
- [16] JANDA J M, ABBOTT S L. 16S rRNA gene sequencing for bacterial identification in the diagnostic laboratory: Pluses, perils, and pitfalls[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2007, 45: 2761-2764.
- [17] 国家环保总局. 优先保护 17 个生物多样性关键地区[J]. *生态经济*, 2003(2): 78.
- [18] 李秋霞, 郭加汛, 周晓辉, 等. 江苏盐城大丰滨海滩涂典型湿地土壤细菌群落结构分析[J]. *南京农业大学学报*, 2019, 42(6): 1108-1117.
- [19] 任玉蓉, 王钰祺, 张晴晴, 等. 条子泥围垦区土壤微生物多样性特征[J]. *浙江农业科学*, 2023, 64(5): 1283-1291.
- [20] SÆTHER B E, ENGEN S, GRØTAN V. Species diversity and community similarity in fluctuating environments: parametric approaches using species abundance distributions[J]. *Journal of Animal Ecology*, 2013, 82(4): 721-738.
- [21] CURTIS T P, SLOAN W T, SCANNELL J W. Estimating prokaryotic diversity and its limits[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2002, 99(16): 10494-10499.
- [22] 贺纪正, 葛 源. 土壤微生物生物地理学研究进展[J]. *生态学报*, 2008(11): 5571-5582.
- [23] SLOAN W T, WOODCOCK S, LUNN M, et al. Modeling taxonomic abundance distributions in microbial communities using environmental sequence data[J]. *Microbial Ecology*, 2007, 53: 443-455.
- [24] AN J X, LIU C, WANG Q, et al. Soil bacterial community structure in Chinese wetlands[J]. *Geoderma*, 2019, 337: 290-299.
- [25] 刘志君, 崔丽娟, 李 伟, 等. 互花米草入侵对盐城滨海湿地 nirS 型反硝化细菌多样性及群落结构的影响[J]. *生态环境学报*, 2022, 31(4): 704-714.
- [26] 王钰祺, 任玉蓉, 廖安邦, 等. 盐城滨海滩涂湿地典型植物群落土壤微生物组成与结构特征[J]. *生态学报*, 2023, 43(6): 2336-2347.
- [27] 王钰祺, 任玉蓉, 杨雪姣, 等. 盐城滨海湿地土壤微生物群落季节变化特征[J]. *浙江农业科学*, 2023, 64(4): 974-980.
- [28] AMANI M, GRAÇA M A S, FERREIRA V. Effects of elevated atmospheric CO₂ concentration and temperature on litter decomposition in streams: A meta-analysis[J]. *International Review of Hydrobiology*, 2019, 104(1-2): 14-25.
- [29] 李 娜, 王根绪, 高永恒, 等. 模拟增温对长江源区高寒草甸土壤养分状况和生物学特性的影响研究[J]. *土壤学报*, 2010, 47(6): 1214-1224.