

张双双,靳振江,贾远航,等. 岩溶区与非岩溶区 3 种土地利用方式下土壤细菌群落结构比较[J]. 中国岩溶, 2019, 38(2): 164-172.
DOI:10. 11932/karst20190203

岩溶区与非岩溶区 3 种土地利用方式下 土壤细菌群落结构比较

张双双^{1,2}, 靳振江^{1,2,3,4}, 贾远航^{1,2}, 李 强⁵

(1. 桂林理工大学环境科学与工程学院, 广西 桂林 541004;

2. 桂林理工大学岩溶地区水污染控制与用水安全保障协同创新中心, 广西 桂林 541004;

3. 桂林理工大学广西矿冶与环境科学实验中心, 广西 桂林 541004;

4. 桂林理工大学广西环境污染控制理论与技术重点实验室, 广西 桂林 541004;

5. 中国地质科学院岩溶地质研究所/自然资源部、广西岩溶动力学重点实验室, 广西 桂林 541004)

摘 要:为研究岩溶区土壤微生物的特性,揭示其在岩溶土壤碳循环的作用,选取桂林毛村岩溶试验场为研究点,采集岩溶区、混合区与非岩溶区中的稻田、玉米和柑橘园表层土壤,采用高通量测序方法,对比细菌群落丰度、组成及多样性特征的异同。结果显示,在得到的 48 159 条序列中,共有 2 602 个 OTUs。土壤细菌优势门(相对丰度>10%)为变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和放线菌门(Actinobacteria);优势纲(相对丰度>10%)为酸杆菌纲(Acidobacteria)和 β -变形菌纲(β -proteobacteria)。岩溶区土壤细菌门水平上的变形菌门和 Latescibacteria 的细菌和目水平上的酸杆菌亚群 GP6 的丰度均高于混合区和非岩溶区,而科水平上酸杆菌亚群 GP1 和目水平上的酸杆菌亚群 GP2 的相对丰度低于混合区和非岩溶区。冗余分析结果表明,土壤有机碳、pH 和总氮等是引起细菌群落结构变化的关键因子。

关键词:岩溶区;土地利用方式;细菌;高通量测序;多样性

中图分类号:S154.3

文献标识码:A

文章编号:1001-4810(2019)02-0164-09

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引 言

岩溶生态系统受到岩溶环境制约^[1]。土壤是岩溶生态系统中最活跃、最富生命力的组成部分,它对各种物质循环和能量交换起着调节、维持和控制的作用^[2]。土壤中有大量的微生物,它们与环境的关系密切相关。一方面,土壤微生物活动影响着土壤肥力和土壤的生态系统服务功能;另一方面,它们也受土壤类型、土壤养分和植被等因子的影响^[3]。岩溶区的土壤有机碳的含量普遍高于非岩溶区^[4],因此岩溶区的土壤是十分重要的陆地碳库^[5]。微生物群落结构和

多样性的变化对土壤固碳增汇有显著影响^[6-7],反过来,土壤有机碳的积累会促进微生物群落结构和功能改变^[8],因此,分析岩溶区与非岩溶区土壤微生物群落结构的异同将有利于揭示其在岩溶区土壤碳循环中的作用,促进人们对岩溶区土壤固碳过程和机制的深入理解。

目前,对岩溶与非岩溶土壤微生物的对比研究主要集中在碳源代谢多样性^[9]、可培养微生物的数量^[10]和酶活性^[11]等方面,也有人对比了岩溶区与非岩溶区森林生态系统的微生物过程特点^[12]。但是,对岩溶区与非岩溶区农业利用土壤的微生物在不同

基金项目:国家自然科学基金项目(41867008,41361054);广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA281247);桂林理工大学博士启动基金项目(GUTQDJJ2004041);广西高等学校高水平创新团队及卓越学者计划项目(002401013001)

第一作者简介:张双双(1992-),女,硕士研究生,环境科学与工程专业。E-mail:2318041835@qq.com。

通信作者:靳振江(1974-),男,博士,教授,主要研究方向为生态学和环境微生物学。E-mail:zhenjiangjin@163.com。

收稿日期:2018-08-08

分类水平上的差异的研究还未见报道。本研究以桂林毛村岩溶试验场为研究样点,以岩溶区、混合区与非岩溶区中的稻田、玉米和柑橘园表层土壤为研究对象,采用高通量测序方法,在微生物的多个分类水平上进行细菌群落结构对比,明晰不同土地利用方式下岩溶区与非岩溶区土壤微生物群落结构和多样性之间的差异,为阐明它们在岩溶区土壤碳循环中的作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

毛村岩溶试验场位于广西壮族自治区桂林市东南的灵川县潮田乡,距离桂林市中心 30 km,属中国地质科学院岩溶地质研究所。试验场存在岩溶区、非岩溶和混合区 3 类区域。该试验场地层岩性主要为泥盆系融县组碳酸盐岩和东岗岭组铁砂岩^[13]。该区属亚热带湿润季风气候区,雨量充沛,据桂林市气象台多年观测资料显示,年平均降雨量为 1 915.2 mm,年平均气温为 18.6 °C^[12]。岩溶区土壤为棕色石灰土,母岩为石灰岩和白云岩,主要植被由以青冈(*Cyclobalanopsis glauca* (Thunb.) Oerst.) 为主的林地和以黄荆(*Vitex negundo* Linn.)、檵木(*Loropetalum chinensis* (R. Br.) Oliv.) 为主的灌木林组成。非岩溶区土壤是母岩为砂页岩风化形成的地带性红壤,植被是以栲树为主的林地^[14]。岩溶区和非岩溶区之间有一些过渡地带,生境同时受到岩溶和非岩溶区地质背景的影响,地形较为开阔,以农业用地为主。经过前期走访调查发现,稻田、柑橘园和玉米地是

该试验场 3 种常见的农用地类型,农户种植管理较为分散,施肥以无机复合肥为主,受人为因素干扰较重。

1.2 样品的采集与处理

2016 年 10 月 9 日,我们在岩溶区、混合区和非岩溶区分别选取稻田、柑橘园和玉米地等 3 种土地利用类型为样地。岩溶区土壤样地分别标记为 YD(稻田)、YY(玉米)和 YG(柑橘园);混合区样地分别标记为 HD(稻田)、HY(玉米)和 HG(柑橘园);非岩溶区样地分别为 FD(稻田)、FY(玉米)和 FG(柑橘园)。每个样地均大于 20 m×30 m,在样地中随机选取 3 个采样点,采样深度为 0~20 cm。将同一样地采集的 3 个采样点的土壤等比例混匀,当天带回实验室进行分析。将新鲜土壤去除植物根系和碎片等杂质,一半研磨过 2 mm 筛,放入冰箱,在-80 °C 条件下储存,以备提取土壤微生物 DNA;另一半自然风干后研磨,分别过 0.85 mm、0.25 mm 和 0.15 mm 筛,用于测定土壤理化性质和养分含量。

1.3 样品测试与分析

1.3.1 土壤理化指标和养分含量测定与分析

土壤的主要理化指标和养分含量的分析参照《土壤农化分析方法》^[15]。土壤含水量采用烘干法;pH 值采用无 CO₂ 蒸馏水作为浸提剂,用笔式 pH 计(PHB-3,上海)直接测定;土壤有机碳(SOC)采用浓硫酸-重铬酸钾外加热法;土壤可溶性有机碳(DOC)采用水土振荡提取法,再用 TOC 总有机碳分析仪测定;土壤总氮(TN)采用浓硫酸消煮-凯氏定氮法;碱解氮(AN)采用碱解扩散法;阳离子交换量(CEC)采用乙酸铵法。土壤理化性质指标见表 1。

表 1 岩溶区、混合区和非岩溶区的不同土地利用方式下土壤理化性质

Table 1 Soil physical and chemical properties under different land uses in karst area, mixed area and non-karst area

采样区域	采样区域	pH/H ₂ O	AN/ mg·kg ⁻¹	TN/ g·kg ⁻¹	SOC/ g·kg ⁻¹	C/N/ %	CEC/ cmol·kg ⁻¹	DOC/ mg·kg ⁻¹
YD	岩溶区	7.98	26.26	1.82	32.40	17.77	8.17	223.75
HD	混合区	6.06	151.70	1.34	30.58	22.78	9.73	191.63
FD	非岩溶区	5.76	156.28	1.21	24.89	20.60	9.54	189.49
YY	岩溶区	8.15	36.20	1.67	32.75	19.57	15.32	225.25
HY	混合区	5.90	147.49	1.16	22.11	19.08	8.55	202.80
FY	非岩溶区	5.14	150.33	1.07	20.04	18.69	9.53	201.61
YG	岩溶区	7.73	38.85	1.70	40.13	23.56	19.58	264.97
HG	混合区	6.23	118.46	0.98	21.12	21.47	8.36	186.23
FG	非岩溶区	4.85	131.26	0.96	27.24	28.24	12.47	181.69

注: YD、YY 和 YG 分别为岩溶区的稻田、玉米和柑橘园; HD、HY 和 HG 分别为混合区的玉米、稻田和柑橘园; FD、FY 和 FG 分别为非岩溶区的稻田、玉米和柑橘园。下同。

用 Microsoft Office Excel 2010 软件对所测定的数据进行初步统计、计算和整理,使用 SPSS 19.0 统计分析软件对所测数据进行描述性统计分析,用 Canoco 5 软件绘制样品的稀释曲线图和细菌不同分类水平上的比例图,采用冗余分析(Redundancy analysis, RDA)方法来探究土壤理化性质与微生物丰度(目水平)之间的相关性。用 ORIGIN 9.5 软件绘制主成分分析(Principal Component Analysis, PCA)图和 RDA 图。

1.3.2 细菌 DNA 提取、PCR 扩增和高通量测序

土壤微生物总 DNA 使用 DNA 快速提取试剂盒(Power Soil, Mo Bio 公司)提取。用微量紫外分光光度计(Quawell 5000, 美国)测定 DNA 的浓度和纯度。对样本的 16S rDNA V4+V5 区域进行 PCR 扩增,获得目标 DNA 片段。高通量测序工作交由成都罗宁生物科技有限公司进行,测序和分析在 Illumina 平台上进行。选用 Silva 数据库对下机数据进行对比和分类鉴定。

1.3.3 生物信息分析及统计分析流程

使用 FLASH 将双端测序得到的 PE reads 拼接成 Tags,同时完成数据过滤,通过对序列质量进行质控,得到可供后续分析的高质量目标序列。挑选出代表性 OTU 序列,使用 Silva 数据库^[16]进行物种分类信息的划分。使用 PyNAST 算法^[17]对代表性序列

进行比对并过滤,重抽样 OTU 表示每个样品具有相同的序列数。基于上述结果在群落组成(compositional)水平和系统发育(phylogenetic)水平上对样本进行 α 多样性分析和群落结构的差异性分析等。

通过 Chao1 指数和 ACE 指数(Chao1 和 ACE 均是在生态学中常用来估算物种总数的指数)来表征样品中细菌群落的丰富度,Shannon 指数(Shannon 指数既考虑了物种的丰度,也考虑了均匀性,在生态学中常用来定量描述一个区域的生物多样性)和 Simpson 指数(Simpson 指数是一种基于信息理论的测量指数,结果包含物种数及均匀性两种成分,值越大说明群落多样性越高)表征样品中细菌群落的多样性。

2 结果与分析

2.1 微生物多样性

在本研究中,共得到 48 159 条序列,重抽样后每个样本得到 5 351 条序列,总共有 2 602 个 OTUs,平均读长 411 bp。

图 1 是分别用观测到的物种数(Observed)和 Shannon 指数多样性指标来进行稀释曲线的制作。结果显示,每个样品的稀释曲线都趋于平缓,表明所测序列已经基本覆盖到样本中的所有物种。

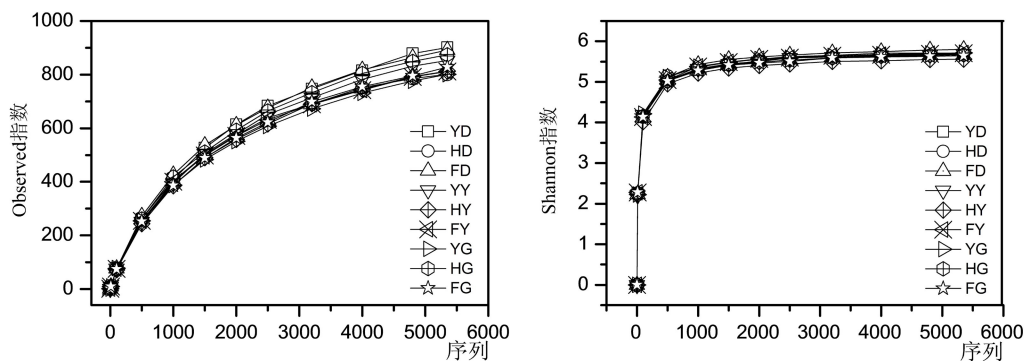


图 1 各样品的稀释曲线

Fig. 1 Dilution curves of samples

根据表 2 可知,在稻田和玉米土壤中,岩溶区细菌的 Observed、Chao1 指数、ACE 指数和 OTUs 数量均大于混合区和非岩溶区;而在柑橘土壤中,岩溶区细菌的多样性指数和 OTUs 数量与稻田和玉米土壤正好相反。

2.2 微生物群落结构

从图 2 可以看出,在门水平上,相对丰度比较高

的有 3 个,分别是变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和放线菌门(Actinobacteria),丰度分别占有所有细菌群落的 27.34%~49.41%,19.34%~47.92%和 4.54%~30.82%;其次,芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、绿屈挠菌门(Chloroflexi)、(Latescibacteria)、异常球菌-栖热菌门(Deinococcus-Thermus)和浮游霉菌

表 2 岩溶区、混合区和非岩溶区不同土地利用方式下的丰度和多样性指数

Table 2 Abundances and diversity indexes under different land uses in karst area, mixed area and non-karst area

采样区域	Observed	Chao1	ACE	Shannon	Simpson	OTUs
YD	1 123	64.60	23.74	5.808	0.982	1 108
HD	951	40.07	17.46	5.811	0.986	928
FD	1 097	57.50	21.56	5.906	0.986	1 083
YY	1 074	66.23	25.36	5.792	0.986	1 048
HY	1 000	62.06	21.16	5.667	0.984	980
FY	998	64.06	20.86	5.812	0.988	988
YG	975	54.60	20.99	5.810	0.990	962
HG	1 081	77.54	23.24	5.778	0.986	1 065
FG	1023	67.93	22.52	5.748	0.989	1 007

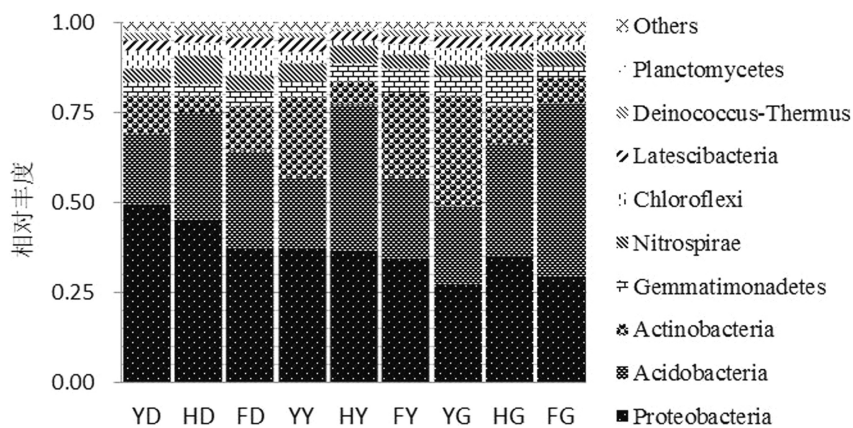


图 2 门水平细菌群落结构

Fig. 2 Bacterial community structure at the phylum level

门(Planctomycetes)的丰度也比较高,以上群落占有所有细菌群落的 95%以上。岩溶区稻田和玉米地土壤中的变形菌门相对丰度分别为 49.41%和 37.32%,高于混合区(45.51%和 36.82%)和非岩溶区(37.39%和 34.63%),Latescibacteria 相对丰度分别为 2.99%和 4.11%,高于混合区(2.09%和 2.49%)和非岩溶区(2.56%和 2.24%),而酸杆菌门相对丰度分别为 20.00%和 19.33%,低于混合区(29.58%和 40.18%)和非岩溶区(26.80%和 21.94%);混合区柑橘园土壤中的变形菌门相对丰度为 34.95%,高于岩溶区 27.34%和非岩溶区 29.40%。综上所述,岩溶区土壤酸杆菌门细菌群落相对丰度较低,变形菌门细菌和 Latescibacteria 相对丰度较高。

从图 3 可以看出,在纲水平上,相对丰度比较高的有酸杆菌纲(Acidobacteria)、 β -变形菌纲(β -proteobacteria)、 γ -变形菌纲(γ -proteobacteria)、Thermoleophilia、 δ -变形菌纲(δ -proteobacteria)、 α -变形菌纲

(α -proteobacteria)、放线菌纲(Actinobacteria)、芽单胞菌纲(Gemmatimonadetes)、硝化螺旋菌纲(Nitrospira)、Holophagae 和 Deinococci 等,这些纲的细菌占有所有细菌群落的 90%以上。在稻田、玉米和柑橘园的土壤中,岩溶区酸杆菌纲相对丰度为分别 17.55%、17.36%和 19.44%,低于混合区(25.00%、36.72%和 28.42%)和非岩溶区(23.85%、19.66%和 45.80%)。

鉴于岩溶区土壤酸杆菌门和酸杆菌纲的丰度显著低于混合区和非岩溶区,对酸杆菌分别在目和科水平上展开分析。图 4 中出现的 Subgroup 1、Subgroup 2 和 Subgroup 6 均是酸杆菌门的亚群。酸杆菌门细菌被划分为 26 个亚群^[18],分别是 GP1(Subgroup1)到 GP26(Subgroup 26)。由于 SILVA 数据库更新很快,最新数据库分类致使不同亚群出现在不同分类水平上。由图 4 可知,在稻田、玉米和柑橘园土壤中,岩溶区土壤的酸杆菌目水平上的 GP6 细菌丰度占酸杆菌纲的比例均高于混合区和非岩溶区,而

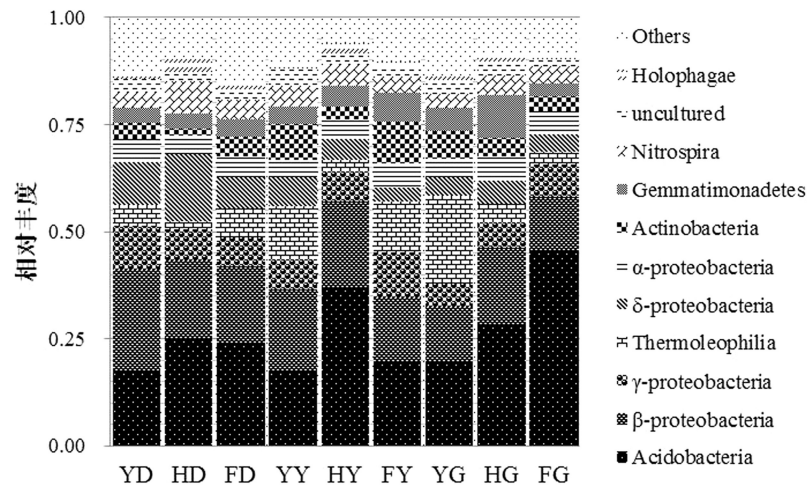


图3 纲水平细菌群落结构

Fig. 3 Bacterial community structure at class level

岩溶区 GP2 细菌丰度所占比例均很低。由图 5 可知,在稻田、玉米和柑橘园土壤中,岩溶区的酸杆菌科水平上的 GP1 细菌相对丰度分别为 2.26%、1.96% 和 2.22%,均低于混合区和非岩溶区。而酸杆菌的不同亚群均为未培养微生物(在属和种水平上的分类不明),无法进行进一步的分析比较。

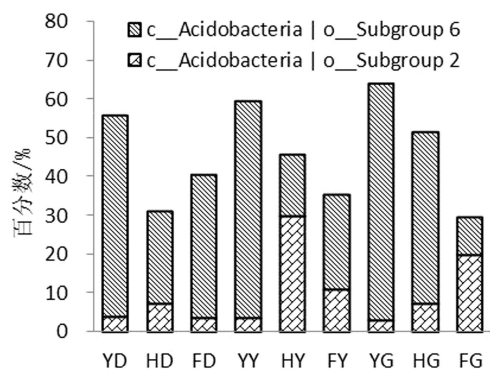


图4 GP2 和 GP6 占酸杆菌纲的比例

Fig. 4 Proportions of GP2 and GP6 in Acidobacteria

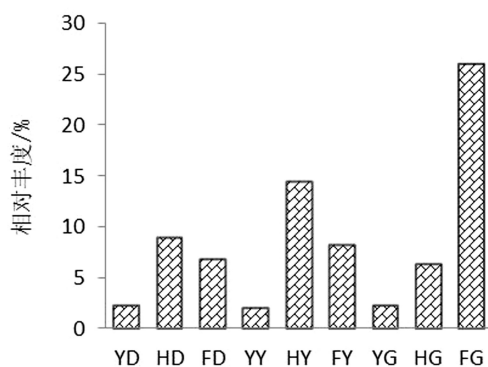


图5 GP1 在科水平上的相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of GP1 at family level

2.3 土壤理化性质与微生物群落丰度冗余分析

采用 RDA 方法来探究土壤理化性质与微生物丰度(目水平)之间的相关性。根据图 6,实心箭头代表目水平上相对丰度较高的 10 个 OTUs,两个箭头夹角的余弦值代表两个微生物类群间的相关性,Acidobacteriales 与 Subgroup 2 之间呈显著正相关,又分别于 Subgroup 6 呈显著负相关;空心箭头代表环境因子,用实心箭头和空心箭头夹角的余弦值代表该微生物类群与环境因子间的关系。由图 6 可知,Acidobacteriales 和 Subgroup 2 群落丰度与 AN 和 C/N 呈显著的正相关关系,与 pH、土壤有机碳和总氮均呈显著的负相关关系,Subgroup 6 群落丰度与 pH、土壤有机碳和总氮均呈显著的正相关关系,Gaiellales 群落丰度与 CEC 呈显著的正相关关系。综上所述,岩溶区高的 pH、土壤有机碳和总氮等环境因子显著影响了土壤细菌群落结构。

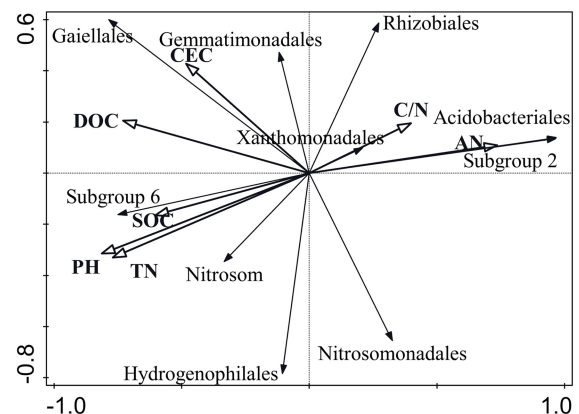


图6 土壤微生物群落与土壤环境因子关系的冗余分析

Fig. 6 Redundancy analysis of relationship between microbial community and soil environmental factors

2.4 细菌群落结构的相似性分析

在不同分类水平上进行主成分分析,其结果相似。目水平上细菌群落的主成分分析与冗余性分析结果相同,在本文中我们仅列出目水平上的分析结果图。如图 7 所示,PC1 和 PC2 分别占变异系数的 22.45% 和 17.85%。样本在图中的位置也会越靠近,表明它们的微生物群落结构越相似。图 7(a)是从岩溶区、混合区和非岩溶区 3 类区域角度进行的主成分分析。由图可知,岩溶区 3 个样本能很好的聚在一起,而混合区和非岩溶区样本不能明显的分离开,表明岩溶环境对土壤细菌群落组成造成较大影响,它

的微生物与混合区和非岩溶区差异显著。图 7(b)是从稻田、玉米和柑橘 3 种土地利用类型角度进行的主成分分析。由图可知,稻田的土壤样本能与旱地作物玉米和柑橘土壤样本分开,并且后两种土地利用方式混合在一起,表明土地利用方式对土壤细菌群落结构有显著影响。通过比较可以发现,图 7(a)中岩溶区土壤的 3 种土地利用方式位于同一个象限内,而图 7(b)中 3 类区域的稻田位于两个不同的象限内,表明岩溶区土壤的地质背景对土壤微生物的影响要大于土地利用方式。

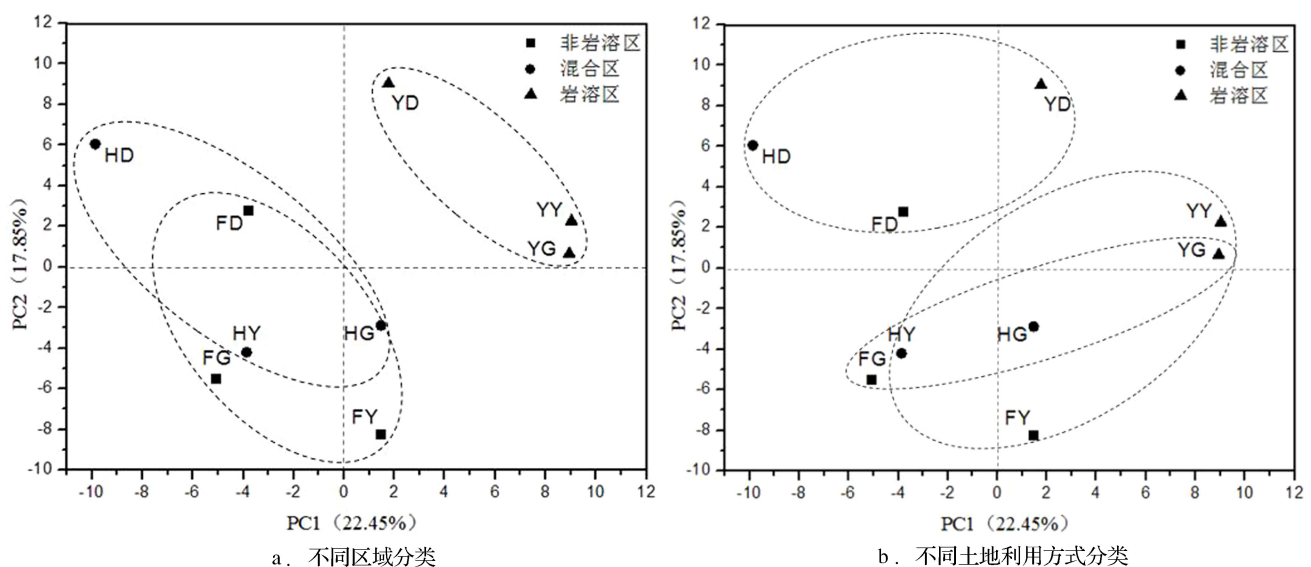


图 7 目水平上主成分分析

Fig. 7 Principal component analysis at order level

3 讨论

3.1 岩溶区土壤生物多样性与环境因子的关系

岩溶区土壤 pH、土壤有机碳、总氮、交换性 Ca^{2+} 和交换性 Mg^{2+} 显著高于混合区和非岩溶区^[14]。土壤有机碳的积累能够促进土壤中微生物数量和酶活性的提高^[8]。研究表明,采用 BIOLOG ECO 微平板检测土壤微生物对碳源的利用,发现岩溶区土壤微生物对氨基酸类、脂类、糖类、醇类、胺类和酸类等六类碳源的利用能力均显著高于非岩溶区^[9]。利用平板稀释法对土壤中微生物类群进行计数,结果显示,岩溶区土壤细菌、放线菌和微生物总数均高于非岩溶区^[19]。并且有研究发现,秸秆还田显著提高了土壤细菌多样性^[20],原因是秸秆分解过程中会增加土壤有机质含量,并为微生物提供丰富的碳源。

变形菌门是本研究相对丰度最大的一个门,为 27.34%~49.41%,其优势细菌纲为 β -proteobacteria、 γ -proteobacteria、 δ -proteobacteria 和 α -proteobacteria,其中 β -proteobacteria 相对丰度最大。有研究报道变形菌门的许多类群在利用有机碳的同时可以进行固氮作用; β -proteobacteria 和 γ -proteobacteria 的许多类群为硝化细菌^[21],是在氮循环过程中起到重要作用的微生物。在人工湿地系统中,变形菌门的细菌是降解吸收氮化物和有机物的主要微生物类群,它能起到净化水质的效果^[22-23]。在本研究中,岩溶区稻田土壤和玉米地土壤的变形菌门的微生物均高于非岩溶区,但是,变形菌门在较高土壤有机碳和总氮的岩溶区土壤碳氮耦合循环中发挥的作用需要进一步的研究。

Latescibacteria 细菌有显著的降解蛋白质、脂类和多糖的能力^[24]。本研究中,岩溶区土壤 Latesci-

bacteria 细菌丰度显著高于非岩溶区,而岩溶区土壤微生物对不同种类碳源代谢速率以及功能多样性指数显著高于非岩溶区^[9],因此,Latescibacteria 细菌在岩溶区土壤碳循环中的作用值得关注。研究表明,Latescibacteria 细菌的一些类群能够形成硫复铁矿磁小体,在铁和硫循环过程中扮演着重要的角色^[25];而且,有机质与络合铁呈显著正相关,但是,岩溶区不同土地利用类型土壤中鉄的含量差异较大^[26],因此微生物在铁-硫-有机质之间的耦合作用需要进一步研究。在研究垃圾渗透液对土壤微生物影响过程中发现,Latescibacteria 在靠近垃圾池采集的土壤样品中是特有的^[27],这是因为垃圾渗滤液含有高浓度难降解有机物和重金属,且氨氮含量较高。而在岩溶区的土壤中,有机质与钙镁离子相结合,部分细菌难于利用,而隶属 Latescibacteria 的细菌可能较好地适应了高有机质、高钙镁离子和高总氮含量的这种环境,从而在土壤碳循环可能发挥重要作用。

3.2 酸杆菌门的细菌与环境因子的关系

酸杆菌门是土壤细菌群落的重要类群,其比例仅次于变形菌^[28]。对土壤酸杆菌门细菌的生态学研究进展的综合分析表明,酸杆菌大多是未培养细菌,仅有少数得到纯培养,其某些亚群参与了有机物的代谢过程^[29]。在我国西北黄土高原柠条种植区,采用克隆文库随机测序的方法研究发现,酸杆菌是黄土状淡栗褐土壤(pH=8.4~8.7)中的第二类常见类群,占微生物总数的 19.2%,并且是柠条根际土壤中的主要细菌类群(32.6%)^[30],它们与根际中的柠条根系之间不停地发生着营养交换,促进植物营养吸收和土壤碳循环进行。植物能够通过根际碳沉积影响根际土壤微生物群落结构和功能^[31],表明酸杆菌门的细菌是参与土壤元素循环重要的微生物类群。在本研究中,岩溶区 3 种土地利用方式下,土壤中酸杆菌门相对丰度均低于非岩溶区,这可能与岩溶区土壤偏碱性的特点有关。因为酸杆菌细菌一般具有嗜酸、寡营养和难培养的特点,其相对丰度与土壤 pH 呈显著负相关^[29],这与本研究中酸杆菌门和酸杆菌纲细菌的相对丰度与土壤 pH 呈负相关的结论是一致的。因此,岩溶区土壤 pH 可能是驱动土壤酸杆菌细菌群落变化的主要因子。

土壤中酸杆菌门的亚群主要是 GP1、GP2、GP3、GP4 和 GP6,但针对不同区域土壤,不同亚群的相对丰度不同^[28,32]。在偏酸性的西双版纳地区热带雨林土壤中,采用特异引物扩增一基因克隆技术,发现酸杆菌门的 5 个主要亚群,分别是 GP1、GP2、GP3、

GP5 和 1 个未知分类的酸杆菌 BN6-11,且 GP1 对土壤 pH 极为敏感,是土壤中优势群落,其次是 GP2^[28];GP2 和 GP3 均与蔗糖酶活性呈显著正相关^[33],因此对它们对酸性土壤碳循环具有重要的促进作用^[34]。在本研究中,岩溶区土壤中 GP1 和 GP2 丰度均低于混合区和非岩溶区土壤,且 GP1 在岩溶区、混合区和非岩溶区土壤中丰度差异更显著,这可能是由于 GP1 对土壤 pH 更敏感。有研究显示,酸杆菌门细菌对 CO₂ 升高响应较为敏感^[28],CO₂ 升高处理降低了 GP1 和 GP2 的相对丰度^[35-37]。这与本研究中岩溶区土壤偏碱和 CO₂ 浓度较高的条件是一致的。

采集我国中部神农架山不同典型植被常绿阔叶林、落叶阔叶林、针叶林和亚高山灌丛覆盖下的山地黄棕壤表层土壤(pH=5.0~6.0),采用 16S rRNA 基因测序技术研究发现,GP6 是优势群落,且与淀粉酶活性呈显著正相关^[33]。而且,CO₂ 升高处理提高了酸杆菌门细菌 GP4 和 GP6 的相对丰度^[35-37]。在本研究中,岩溶区土壤中的 CO₂ 浓度相对较高^[38],而 GP6 群落丰度也较高。而且岩溶区较高的土壤有机碳含量和 pH 与 GP6 群落丰度呈显著正相关。因此,较高的有机碳含量、CO₂ 浓度和 pH 提高了 GP6 群落丰度,表明 GP6 在岩溶区土壤中具有较好的适应性。

4 结 论

岩溶区稻田土壤和玉米地土壤的变形菌门和 Latescibacteria 的细菌丰度较高。

岩溶区土壤酸杆菌门的 GP6 亚群的丰度显著高于混合区和非岩溶区。

土壤有机碳、pH 和总氮等多项指标是引起岩溶区土壤微生物群落变化的主要因子。

参考文献

- [1] Daoxian Y. On the Karst Ecosystem[J]. Acta Geologica Sinica (English Edition), 2001, 75(3): 336-338.
- [2] 赵其国. 土壤圈在全球变化中的意义与研究内容[J]. 地学前沿, 1997, 4(Z1): 157-166.
- [3] Yergeau E, Newsham K K, Pearce D A, et al. Patterns of bacterial diversity across a range of Antarctic terrestrial habitats [J]. Environmental Microbiology, 2007, 9(11): 2670-2682.
- [4] 曹建华, 袁道先, 潘根兴. 岩溶生态系统中的土壤[J]. 地球科学进展, 2003, 18(1): 37-44.
- [5] 潘根兴, 曹建华, 何师意, 等. 岩溶土壤系统对空气 CO₂ 的吸收

- 及其对陆地系统碳汇的意义:以桂林丫吉村岩溶试验场的野外观测和模拟实验为例[J]. 地学前缘, 2000, 7(4): 580-587.
- [6] 潘根兴, 李恋卿, 郑聚锋, 等. 土壤碳循环研究及中国稻田土壤固碳研究的进展与问题[J]. 土壤学报, 2008, 45(5): 901-914.
- [7] 肖伟, 苏以荣, 梁士楚, 等. 广西典型喀斯特地区深层土壤有机碳矿化及其影响因素[J]. 生态学杂志, 2012, 31(4): 981-986.
- [8] 靳振江, 李强, 黄静云, 等. 典型岩溶生态系统土壤酶活性、微生物数量、有机碳含量及其相关性:以丫吉岩溶试验场为例[J]. 农业环境科学学报, 2013, 32(2): 307-313.
- [9] 方芳. 岩溶与非岩溶土壤微生物数量、酶活性与碳源代谢功能比较[D]. 桂林: 桂林理工大学, 2015.
- [10] 高喜, 万珊, 曹建华, 等. 岩溶区与非岩溶区土壤微生物活性的对比研究[J]. 地球与环境, 2012, 40(4): 499-504.
- [11] 靳振江, 邵继承, 潘根兴, 等. 荆江地区湿地与稻田有机碳、微生物多样性及土壤酶活性的比较[J]. 中国农业科学, 2012, 45(18): 3773-3781.
- [12] Chen H, Li D, Xiao K, et al. Soil microbial processes and resource limitation in karst and non-karst forests[J]. Functional Ecology, 2018, 32(5): 1400-1409.
- [13] 申宏岗, 曹建华, 潘根兴. 桂林毛村岩溶区与非岩溶区果园土壤养分性质比较研究[J]. 南京农业大学学报, 2008, 31(4): 82-85.
- [14] 方芳, 靳振江, 李强, 等. 岩溶区与非岩溶区土壤有机碳、养分及特征元素对比[J]. 桂林理工大学学报, 2016, 36(3): 550-556.
- [15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析[M]. 北京: 中国农业科学出版社, 1999: 13-14, 24-26, 106-108, 147-152.
- [16] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic acids research, 2013, 41(1): 590-596.
- [17] Caporaso J G, Bittinger K, Bushman F D, et al. PyNAST: a flexible tool for aligning sequences to a template alignment[J]. Bioinformatics, 2010, 26(2): 266-267.
- [18] Barns S M, Cain E C, Sommerville L, et al. Acidobacteria phylum sequences in uranium-contaminated subsurface sediments greatly expand the known diversity within the phylum [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(9): 3113-3116.
- [19] 陈家瑞, 曹建华, 李涛, 等. 西南典型岩溶区土壤微生物数量研究[J]. 广西师范大学学报(自然科学版), 2010, 28(4): 96-100.
- [20] 王伏伟, 王晓波, 李金才, 等. 施肥及秸秆还田对砂姜黑土细菌群落的影响[J]. 中国生态农业学报, 2015, 23(10): 1302-1311.
- [21] 梁沪莲, 郭小雅, 刘洋, 等. 基于高通量测序的4种硝化细菌富集培养物微生物群落结构分析[J]. 微生物学通报, 2017, 10.13344/j.microbiol.china.160961
- [22] 王林, 李冰, 余家辉, 等. 不同湿地模型中根系微生物的多样性[J]. 环境科学, 2017, 42(8): 1-12.
- [23] 雷旭, 李冰, 李晓, 等. 复合垂直流人工湿地系统中不同植物根际微生物群落结构[J]. 生态学杂志, 2015, 34(5): 1373-1381.
- [24] Farag I F, Youssef N H, Elshahed M S. Global distribution patterns and pangenomic diversity of the candidate phylum "Latescibacteria" (WS3)[J]. Applied & Environmental Microbiology, 2017, 83(10). DOI:10.1128/AEM.00521-17.
- [25] Lin W, Pan Y. A putative greigite-type magnetosome gene cluster from the candidate phylum Latescibacteria[J]. Environmental Microbiology Reports, 2015, 7(2): 237-242.
- [26] 张治伟, 朱章雄, 傅瓦利, 等. 岩溶山地土壤氧化铁形态及其与成土环境的关系[J]. 环境科学, 2012, 33(6): 2013-2020.
- [27] 贺晓凌, 宋超, 张蕾萍, 等. 垃圾渗滤液对土壤微生物多样性的影响[J]. 天津工业大学学报, 2017, 36(1): 36-40.
- [28] 王春香, 田宝玉, 吕睿瑞, 等. 西双版纳地区热带雨林土壤酸杆菌(Acidobacteria)群体结构和多样性分析[J]. 微生物学通报, 2010, 37(1): 24-29.
- [29] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. 生物技术通报, 2016, 32(2): 14-20.
- [30] 张薇, 胡跃高, 黄国和, 等. 西北黄土高原柠条种植区土壤微生物多样性分析[J]. 微生物学报, 2007, 47(5): 751-756.
- [31] 艾超, 孙静文, 王秀斌, 等. 植物根际沉积与土壤微生物关系研究进展[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(5): 1343-1351.
- [32] Naether A, Foesel B U, Naegele V, et al. Environmental factors affect Acidobacterial communities below the subgroup level in grassland and forest soils[J]. Appl Environ Microbiol, 2012, 78(20): 7398-7406.
- [33] Zhang Y, Cong J, Lu H, et al. Community structure and elevational diversity patterns of soil Acidobacteria[J]. Journal of Environmental Sciences, 2014, 26(8): 1717-1724.
- [34] Ward N L, Challacombe J F, Janssen P H, et al. Three genomes from the phylum acidobacteria provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils[J]. Appl Environ Microbiol, 2009, 75(7): 2046-2056.
- [35] Gschwendtner S, Leberecht M, Engel M, et al. Effects of Elevated Atmospheric CO₂ on Microbial Community Structure at the Plant-Soil Interface of Young Beech Trees (*Fagus sylvatica* L.) Grown at Two Sites with Contrasting Climatic Conditions[J]. Microbial Ecology, 2015, 69(4): 867-878.
- [36] Dunbar J, Gallegos-Graves L V, Steven B, et al. Surface soil fungal and bacterial communities in aspen stands are resilient to eleven years of elevated CO₂ and O₃[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 76(1): 227-234.
- [37] J D, Sa E, Lv G-G. Common bacterial responses in six ecosystems exposed to 10 years of elevated atmospheric carbon dioxide[J]. Environmental Microbiology, 2012, 5(14): 1145-1158.
- [38] 陶于祥, 潘根兴, 刘德辉, 等. 岩溶系统土壤吸释 CO₂ 作用及其环境意义:以桂林丫吉村岩溶试验场为例[J]. 火山地质与矿产, 1998, 19(3): 236-241.

Comparison of soil bacterial community structures from three soil land-use between karst and non-karst areas under three kinds of land use

ZHANG Shuangshuang^{1,2}, JIN Zhenjiang^{1,2,3,4}, JIA Yuanhang^{1,2}, LI Qiang⁵

(1. *Environmental Science and Engineering College, Guilin University of Technology, Guilin Guangxi 541004, China;*

2. *Collaborative Innovation Center for Water Pollution Control and Water Safety in Karst Area, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China;*

3. *Guangxi Scientific Experiment Center of Mining, Metallurgy and Environment, Guilin, Guangxi 541004, China;*

4. *Guangxi Key Laboratory of Environmental Pollution Control Theory and Technology, Guilin University of Technology, Guilin, Guangxi 541004, China;*

5. *Institute of Karst Geology, GAGS/Key Laboratory of Karst Dynamics, MNR & GZAR, Guilin, Guangxi 541004, China)*

Abstract The purpose of this study is to reveal the effect of microbe on the cycle of soil organic carbon (SOC) in karst areas. Soil samples of paddy fields, maize fields and citrus orchards were collected from a karst area, mixed area and non-karst area at the Maocun karst experimental site in Guilin. The abundance, composition and diversity of microbe were compared based the results from high-throughput sequencing technology. The results show that there are 48,159 sequences with 2,602 OTUs. The dominant phylum of soil bacteria (relative abundance $>10\%$) are Proteobacteria, Acidobacteria and Actinobacteria. The dominant classes (relative abundance $>10\%$) are Acidobacteria and β -proteobacteria. The OTUs abundances of both Proteobacteria and Latescibacteria subgroup 6 in the karst area are higher than those in the other two areas. The relative abundances of both subgroup1 and subgroup 2 in the karst area are lower than those in the other areas. Redundancy analysis indicates that SOC, pH and total nitrogen are the key factors to cause microbial changes.

Key words karst area, land-use, bacteria, high-throughput sequencing, diversity

(编辑 吴华英)