

胡杨根际土壤真菌群落代谢特征 及其土壤影响因子研究

王文娟^{1,2}, 李景文¹, 王中斌^{2,3}, 曲来叶^{2,3*}

(1 北京林业大学 省部共建森林培育与保护教育部重点实验室, 北京 100083; 2 中国科学院 生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085; 3 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 胡杨是中国西北干旱区绿洲重要的乔木树种, 研究胡杨根际土壤真菌群落特征及其主要土壤影响因子, 对胡杨林的保护和以胡杨为建群种的生态系统的恢复具有重要意义。该研究在额济纳胡杨林自然保护区设置 3 个样点, 每个样地按照 S 形随机布点选 25~30 株胡杨取根际土, 采用 Biolog-FF 微平板方法对 89 份土壤样本进行了真菌群落代谢特征及其影响因子分析。结果表明: (1) 通过聚类将 95 种碳源划分为 3 个类群, 其中 53.8% 的氨基酸类碳源分布在类群 I (OD 值为 0.106 1~0.316 4), 83.3% 的胍类碳源和 70% 的其他类碳源分布在类群 II (OD 值为 0.016 6~0.224 2), 47.1% 的羧酸类碳源分布在类群 III (OD 值为 0.232 1~1.115 5)。(2) 通过冗余分析, 发现所有土壤因子对真菌群落代谢特征总的解释率为 30.02%, 而 RDA1 轴占该解释率的 84.6%, 电导率和速效钾与 RDA1 轴显著正相关且解释率最高。(3) 沿着电导率降低的方向, 样本在 RDA2 轴上的分布逐渐分散, 表明随着电导率的降低, 土壤肥力和质地条件对真菌群落代谢活性的影响增强。研究发现, 胡杨根际土壤真菌群落的主要碳源利用类型为羧酸类、氨基酸类和部分碳水类, 而对胍类和其他类碳源的利用程度较弱; 土壤可溶性盐, 特别是可溶性钾盐是影响真菌群落代谢特征的主要土壤因子, 而土壤肥力和土壤质地因子只有在盐分含量较低的情况下才具有明显作用。

关键词: 胡杨; 根际土壤; 真菌群落; 代谢特征; 土壤因子

中图分类号: Q939.96

文献标志码: A

The Soil Fungi Community Metabolic Characteristics and Influence Factors in Rhizosphere Soils of *Populus euphratica*

WANG Wenjuan^{1,2}, LI Jingwen¹, WANG Zhongbin^{2,3}, QU Laiye^{2,3*}

(1 The Key Laboratory for Silviculture and Conservation of Ministry of Education, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2 Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; 3 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: Soil fungi community play a significant role in many key ecosystem processes, such as litter decomposition and nutrient cycling. The biodiversity and activities of soil fungi are also very important for evaluating the ecosystem health. It is significant to study metabolic characteristics of fungi community and underlying environmental correlates in rhizosphere soils of *Populus euphratica* for the protection of arid ecosystem, considering the important status of the species in that harsh environment areas. In our study,

收稿日期: 2017-01-20; 修改稿收到日期: 2017-05-08

基金项目: 国家自然科学基金(31570610)

作者简介: 王文娟(1991—), 女, 在读硕士研究生, 主要从事生物多样性和恢复生态学的研究。E-mail: 15652962319@163.com

* 通信作者: 曲来叶, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事扰动环境对植物的影响以及植物对环境响应机制的研究。E-mail: lyqu@rcees.ac.cn

we collected 89 soil samples from typical *P. euphratica* forest to explore the metabolic characteristics of fungi community and underlying environmental factors. The results showed that (1) Carbon sources used by fungi could be grouped into 3 clusters based on OD value. About 53.8% of amino acids could be included into cluster I (OD:0.106 1–0.316 4), 83.3% amines and 70% miscellaneous into cluster II (OD:0.016 6–0.224 2), 47.1% of carboxylic acids into cluster III (OD:0.232 1–1.115 5). (2) Redundancy analysis (RDA) indicated that the total variances explained by soil factors was 30.02%, and RDA1 which was markedly correlated with electric conductivity and available potassium could explain 84.6% of its variances. (3) Samples at RDA2 axis were gradually dispersed with the decrease of salt, which may suggest soil fertility and soil texture may be the secondary important factor in determining the metabolic characteristics of fungi community. In conclusion, the dominant carbon sources used by fungi community in *P. euphratica* rhizosphere were amino acids, carboxylic acids, and some of carbohydrates, while weaker utilization intensities of amines and miscellaneous. Soil soluble salt, especially for the available potassium, was the most significant soil factor influencing the metabolic characteristics of fungi community. Soil fertility and soil texture were the secondary factors, only significantly correlated with metabolic characteristics of soil fungi community when the soil soluble salt content was low

Key words: *Populus euphratica*; rhizosphere soil; fungi community; metabolic characteristics; soil factors

土壤微生物是生态系统中物质循环和利用的基础,也是生态系统维持稳定和正常运转的保障^[1]。土壤作为土壤微生物活动的场所,对微生物的组成和活性具有重要的影响^[2-3]。土壤真菌是土壤微生物的重要组成部分,调控关键的生态系统过程,如凋落叶的分解与营养循环等。与细菌相比,真菌的菌丝结构特征使其在适应干旱环境方面具有一定的优势^[4-5],在生态系统中具有重要的功能。

胡杨(*Populus euphratica*)是中国西北干旱区绿洲重要的乔木树种,也是中国的珍稀濒危树种^[6]。以胡杨为建群种的额济纳绿洲是中国西北地区的重要生态防线,在维护阿拉善和河西走廊及宁夏平原的生态安全中具有重要的作用^[7]。目前,关于胡杨的研究集中在胡杨的群落结构和动态变化^[8],干旱胁迫和盐分胁迫对胡杨的影响^[9-10],胡杨的更新和种群的维持^[11-12],胡杨根系分布特征^[13]等方面,但对胡杨林下微生物的研究还处于起步阶段,已有的研究主要集中在胡杨微生物的多样性及其垂直分布方面^[14]。

土壤真菌碳代谢特征是反映土壤真菌功能的重要指标,其不仅与土壤养分元素的循环密切相关,而且对植被的生长和维持具有重要作用,同时也是评价生态系统健康状况和土壤质量状况的有效指标之一^[15]。Biolog-FF板采用碘硝基四氮唑紫染料使真菌代谢过程能够通过颜色变化来反映其代谢情况,且每个微孔中均存在抑菌剂抑制细菌的生长,是研究土壤真菌代谢特征与功能多样性的一种简单、快捷的方法与良好的工具^[16-18]。

土壤真菌群落作为生态系统中的分解者之一,

其碳代谢活性和多样性在胡杨生态系统的碳循环中具有重要的作用。土壤微生物活性及其多样性的影响因素众多,如管理措施^[19]、土壤养分条件^[3]、地上植被造成的土壤环境异质性^[20]以及降雨等气候条件的变化差异均会对微生物造成影响^[21]。但关于胡杨根际真菌群落碳代谢特征及其影响因素的研究目前还未见报道。而探讨胡杨林真菌群落代谢特征及其与环境之间的关系对于胡杨林的保护具有重要意义,对于干旱区植被恢复具有一定的借鉴意义。因此,本研究拟通过 Biolog-FF 微平板技术^[22],以胡杨根际土壤为研究对象,探讨胡杨根际真菌群落碳代谢特征及其主要土壤影响因子,为阐明荒漠绿洲区胡杨林土壤碳动态和循环特征提供理论基础,也为胡杨林的保护与恢复提供基础数据。

1 研究区域和研究方法

1.1 研究区概况

本研究区位于内蒙古阿拉善盟额济纳旗达来呼布镇以东的胡杨林自然保护区(101°05′~101°13′E, 41°57′~42°00′N),为黑河下游形成的荒漠绿洲中心区^[23]。该区属于极端干旱区大陆性气候,冬季严寒,夏季酷热;年均降雨量 40 mm,蒸发量约为降雨量的 70 倍;年平均气温 8.3 °C,最高气温 43.1 °C,最低气温达-37.6 °C;风大沙多,易起沙尘暴,这是该区又一典型特征;土壤类型以林灌草甸土为主,伴有固定、半固定风沙土等相间分布;植被以胡杨(*Populus euphratica*)为建群种,林下伴有怪柳(*Tamarix ramosissima*)、骆驼刺(*Alhagi sparsifolia*)、芦苇(*Phragmites australis*)和苦豆子(*Sophora*

ra alopecuroides)等植被分布。

1.2 样品采集

于2016年生长季(6~8月),在内蒙古阿拉善额济纳旗胡杨林自然保护区,沿着绿洲中心向外围设置的3块林分集中、生境异质性较高的100 m×100 m长期监测的样地内,按照S形随机布点法,在每个样地距离河道20~100 m范围内各选取25~30株胡杨,在每株胡杨树距离树干中心0.5 m的东南西北四个方向挖取根际土(从细根开始出现的位置算起,取0~20 cm土层),混合作为一个样本,共获得89份土壤样本。将每份土壤样本过2 mm筛,然后分成两部分,一部分风干用于土壤理化性质的测定,另一部分装入无菌袋,放入冰盒中带回,用于真菌群落生理代谢图谱的分析。

1.3 指标测定

土壤真菌群落生理代谢图谱(community level physiological profiling, CLPP)使用Biolog-FF微平板结合酶标仪测定^[24-25]。称取相当于10 g烘干土质量的新鲜土样置于无菌三角瓶中,加入含0.85% NaCl的无菌水90 mL,封口,200 r/min振荡30 min后于冰浴中静止2 min,取上清液5 mL置于100 mL灭菌三角瓶中,加入45 mL无菌水,重复稀释3次,制得1:1 000的提取液,然后用微量移液器取150 μL提取液于各孔中,在(25±1)℃下恒温培养,连续培养240 h,每隔24 h在490 nm处读取光密度值1次。

土壤含水量(WC)采用烘干称重法测定;pH采用电位法测定;利用电导法测定土壤电导率(EC);土壤机械组成利用激光粒度分析仪进行测定(砂粒粒径>50 μm;粉粒粒径为2~50 μm;粘粒粒径<2 μm);全碳(TC)和全氮(TN)含量使用元素分析仪测定;总磷(P)、总钾(K)、总钠(Na)、总钙(Ca)含量使用微波消解-OES测定;碱解氮(AN)含量利用碱解扩散法测定,有效磷(AP)含量用紫外分光光度计测定;速效钾(AK)含量使用醋酸铵浸提法测定,利用重铬酸钾加热法测定土壤有机碳(SOC)含量。

1.4 数据分析

土壤真菌群落整体代谢能力用平均颜色变化率(AWCD)表示^[24],计算公式如下:

$$AWCD = \sum (C_i - R) / N$$

式中, C_i 为每孔碳源的吸光值; R 为对照孔吸光值; N 为碳源种数(95)。

每孔相对光密度值 $OD = C_i - R$ 。

土壤真菌代谢多样性指数如下:

- (1)Shannon 指数: $H' = -\sum p_i \ln p_i$;
- (2)Simpson 指数: $D = 1 - \sum p_i^2$;
- (3)Pielou 均匀度指数: $E = H' / \ln S$;
- (4)Richness 丰富度指数 R 为 OD 值大于 0.25 的碳源总数^[26]

式中, p_i 为第*i*孔的相对光密度值 OD 与整个平板相对光密度值总和 $\sum (C_i - R)$ 的比值; S 为碳源利用的总数目,即颜色发生变化的微孔数目。

利用 R 语言软件,根据 95 孔碳源相对光密度值对不同碳源和不同样本进行系统聚类分析;利用 SPSS 软件对不同群组下的土壤真菌群落代谢多样性指数和土壤因子进行单因素方差分析(one-way ANOVA),并根据 LSD 方法进行多重比较;利用 R 语言中 vegan 程序包进行冗余分析(RDA),分析土壤因子对胡杨根际真菌群落代谢特征的影响;利用 Sigmaplot 12.0 进行作图展示。

2 结果与分析

2.1 胡杨根际土壤真菌群落代谢动力学分析

在 Biolog-FF 分析方法中,平均颜色变化率(AWCD)是反映样品中真菌群落碳源利用率,表征真菌群落代谢活性的重要指标之一。对 Biolog-FF 板连续培养240 h,每隔24 h观测记录数据1次,得到真菌群落代谢活性时间变化曲线图(图1)。其中,AWCD值随培养时间逐渐增加,且培养前2 d增加较为缓慢,说明此时真菌群落对碳源的利用程度较弱;随后 AWCD 值急剧增加,在培养 168 h 时出现拐点,增加值变缓,说明培养 168 h 的时候真菌群落的代谢活性逐渐降低。因此,后续真菌群落代谢特征及其与土壤环境关系的分析均基于培养 168 h 时间点数据,因为该点数据能够更加真实地反映实际情况^[27]。

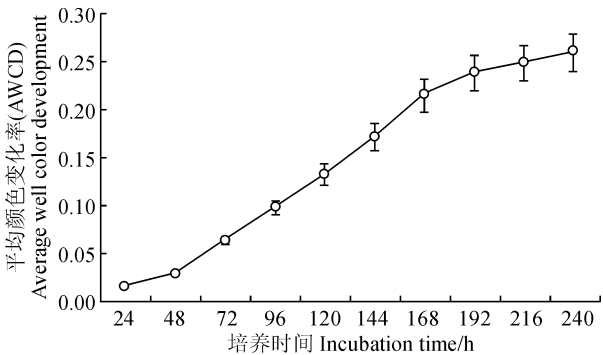


图1 AWCD值随培养时间的变化

Fig.1 Change of average well color development (AWCD) over incubation time

2.2 胡杨根际土壤真菌群落碳源利用情况

依据每孔相对光密度值(OD)对 95 种碳源进行系统聚类分析,共划分为 3 个类群(表 1)。其中,类群Ⅰ包含 18 种碳源,其 OD 值取值范围为 0.106 1~0.316 4;类群Ⅱ包括 51 种碳源,其 OD 值取值范围为 0.016 6~0.224 2;类群Ⅲ包括 26 种碳源,其 OD 值取值范围为 0.232 1~1.115 5。

另外根据碳源类型,可以将 95 种碳源进一步划分为 6 大类(表 2)。其中,碳水类(Carbohydrates, car)44 种,羧酸类(Carboxylic, cara)17 种,氨基酸类(Amino acids, amia)13 种,胺类(Amines, ami)6 种,聚合物类(Polymers, pol)5 种,其他类(Miscellaneous, mis)10 种^[16]。根据表 2 来看,53.8%的氨基酸类碳源分布在类群Ⅰ中;63.6%的碳水类碳源,83.3%的胺类碳源和 70%的其他类碳源分布在类群Ⅱ中;47.1%的羧酸类碳源分布在类群Ⅲ中。结

分为 6 大类(表 2)。其中,碳水类(Carbohydrates, car)44 种,羧酸类(Carboxylic, cara)17 种,氨基酸类(Amino acids, amia)13 种,胺类(Amines, ami)6 种,聚合物类(Polymers, pol)5 种,其他类(Miscellaneous, mis)10 种^[16]。根据表 2 来看,53.8%的氨基酸类碳源分布在类群Ⅰ中;63.6%的碳水类碳源,83.3%的胺类碳源和 70%的其他类碳源分布在类群Ⅱ中;47.1%的羧酸类碳源分布在类群Ⅲ中。结

表 1 89 个样本培养 168 h 时相对光密度值(OD)的碳源聚类

Table 1 Clustering of carbon source based OD value of 89 samples after incubated for 168 hours

类群Ⅰ Cluster I	类群Ⅱ Cluster II		类群Ⅲ Cluster III
D-海藻糖 D-Trehalose	D-阿拉伯糖 D-Arabinose	L-乳酸 L-Lactic Acid	L-丝氨酸 L-Serine
L-丙氨酰甘氨酸 L-Alanyl-Glycine	p-羟苯基乙酸 p-Hydroxyphenyl-acetic Acid	β 甲基-D-葡萄糖苷 β-Methyl-D-Glucoside	D-糖酸(葡萄糖酸)D-Saccharic Acid
L-天(门)冬氨酸 L-Aspartic Acid	L-海藻糖 L-Fucose	琥珀酰胺酸 Succinamic Acid	L-天冬酰胺 L-Asparagine
甘氨酸谷氨酸 Gcyl-L-Glutamic Acid	麦芽糖醇 Maltitol	苦杏仁苷 Amygdalin	尿(嘧啶核)苷 Uridine
L-丙氨酸 L-Alanine	L-鼠李糖 L-Rhamnose	i-赤藻糖醇 i-Erythritol	糊精 Dextrin
琥珀酸 Succinic Acid	D-阿洛酮糖 D-Psicose	D-苹果酸 D-Malic Acid	D-核糖 D-Ribose
腐胺 Putrescine	α 环式糊精 α-Cyclodextrin	α-D-乳糖 α-D-Lactose	D-木糖 D-Xylose
L-脯氨酸 L-Proline	2-氨基乙醇 2-Amino Ethanol	α 甲基-D-葡萄糖苷 α-Methyl-D-Glucoside	N-乙酰-D-葡萄糖胺 N-Acetyl-D-Glucosamine
金鸡纳酸 Quinic Acid	N-乙酰-D-半乳糖胺 N-Acetyl-D-Galactosamine	龙胆二糖 Gentiobiose	松二糖 Turanose
L-谷氨酸 L-Glutamic Acid	景天庚酮糖 Sedoheptulosan	L-焦谷氨酸 L-Pyrogutamic Acid	L-苹果酸 L-Malic Acid
D-纤维二糖 D-Cellobiose	β 环式糊精 β-Cyclodextrin	熊果苷 Arbutin	Tween 80
糖原 Glycogen	L-苏氨酸 L-Threonine	水苏糖 Stachyose	α 葡萄糖 α-D-Glucose
D-棉子糖 D-Raffinose	α 甲基-D-半乳糖苷 α-Methyl-D-Galactoside	丙酰胺 Alaninamide	D-半乳糖 D-Galactose
D-松三糖 D-Melezitose	溴代丁二酸 Bromosuccinic Acid	D-葡(萄)糖胺 D-Glucosamine	L-苯基丙氨酸 L-Phenylalanine
γ 氨基-丁酸 γ-Amino-butyric Acid	腺苷 Adenosine	水杨苷 Salicin	D-山梨醇 D-Sorbitol
反丁烯二酸 Fumaric Acid	腺苷磷酸盐 Adenosine-5'-Monophosphate	L-山梨糖 L-Sorbose	β 羟基丁酸 β-Hydroxy-butyric Acid
葡萄糖磷酸盐 Glucose-1-Phosphate	β 甲基-D-半乳糖苷 β-Methyl-D-Galactoside	帕拉金糖 Palatinose	L-阿拉伯糖 L-Arabinose
麦芽糖 Maltose	琥珀酸单甲酯 Succinic Acid Mono-Methyl Ester	D-阿拉伯醇 D-Arabitol	D-甘露糖 D-Mannose
	N-乙酰-D-甘露糖胺 N-Acetyl-D-Mannosamine	D-蜜二糖 D-Melibiose	D-果糖 D-Fructose
	乳果糖 Lactulose	木糖醇 Xylitol	蔗糖 Sucrose
	D-乳酸甲酯 D-Lactic Acid Methyl Ester	L-鸟氨酸 L-Ornithine	癸二酸 Sebacic Acid
	N-乙酰左旋谷氨酸 N-Acetly-L-Glutamic Acid	m-纤维醇 m-Inositol	丙三醇 Glycerol
	葡糖醛酰胺 Glucuronamide	D-塔格糖 D-Tagatose	α 酮戊二酸 α-Keto-glutaric Acid
	γ 羟基丁酸 γ-Hydroxy-butyric Acid	麦芽三糖 Maltotriose	葡(萄)糖醛酸 D-Glucuronic Acid
	半乳糖醛酸 D-Galacturonic Acid	D-甘露醇 D-Mannitol	葡(萄)糖酸 D-Gluconic Acid
	核糖醇 Adonitol		2-酮-葡(萄)糖酸 2-Keto-D-Gluconic Acid

注:类群Ⅰ包括 18 种碳源,光密度值范围(0.106 1<OD<0.316 4);类群Ⅱ包括 51 种碳源,光密度值范围(0.016 6<OD<0.224 2);类群Ⅲ包括 26 种碳源,光密度值范围(0.232 1<OD<1.115 5)

Note: Cluster I include 18 carbon sources, whose optical density values range from 0.106 1 to 0.316 4; Cluster II include 51 carbon sources, whose optical density values range from 0.016 6 to 0.224 2; Cluster III include 26 carbon sources, whose optical density values range from 0.232 1 to 1.115 5

表 2 各类群碳源数量分布情况

Table 2 The distribution of carbon source number in six classes

类群 Cluster	碳水类 Carbohydrates (Car,)		羧酸类 Carboxylic (Cara,)		氨基酸类 Amino acids (Amia,)		胺类 Amines (Ami,)		聚合物类 Polymers (Pol,)		其他类 Miscellaneous (Mis,)	
	数目 Count	百分比 Percent/%	数目 Count	百分比 Percent/%	数目 Count	百分比 Percent/%	数目 Count	百分比 Percent/%	数目 Count	百分比 Percent/%	数目 Count	百分比 Percent/%
I	5	11.4	3	17.6	7	53.8	1	16.7	1	20	1	10
II	28	63.6	6	35.3	3	23.1	5	83.3	2	40	7	70
III	11	25.0	8	47.1	3	23.1	0	0	2	40	2	20
合计 Total	44	100	17	100	13	100	6	100	5	100	10	100

合表 1 分析可知,胡杨根际土壤真菌群落对羧酸类、氨基酸类碳源的利用程度较高,而对胺类和其他类碳源的利用程度较低。尽管碳水类碳源在类群Ⅱ中分布较多,但由于该类碳源整体基数大,在真菌代谢程度较高的类群Ⅲ和类群Ⅰ中同样存在多种碳水类碳源(表 2)。

进一步根据每孔碳源相对光密度值(OD)对 89 个样本进行系统聚类,将样本主要聚类为 3 个群组(图 2)。其中,样本群组 1(Group1)代表碳源总体代谢水平较高的样本,其 AWCD 平均值为 0.436 0;样本群组 3(Group3)碳源总体代谢水平次之,其 AWCD 平均值为 0.220 8;样本群组 2(Group2)的碳代谢水平最低,其 AWCD 平均值为 0.072 4。此外,对不同类型碳源的利用情况也表现为 Group1>Group3>Group2。

根据培养 168 h 时每孔相对光密度值(OD),计算 Shannon 指数、Simpson 指数、Pielou 均匀度指数和 Richness 丰富度指数,这些多样性指数可以反映土壤真菌群落组成和个体数量间的关系^[28]。根据表 3 可知,不同群组的胡杨根际土壤真菌群落代谢多样性指数具有显著性差异,且各多样性指数大小均表现为:Group1>Group3>Group2;尤其在 Richness 丰富度指数指标上,Group2 与其他两组表现出数量级上的差别。说明胡杨根际土壤真菌群落代谢活性不仅与真菌数量相关,真菌种类对其代谢活性和强度也具有显著影响(表 3)。

2.3 胡杨根际土壤理化性质在不同样本群组之间的比较

根据表 4 可知,不同样本群组在含水量(WC)、pH、电导率(EC)、速效钾(AK)、总钾(K)、总钠(Na)、碱解氮(AN)、全碳(TC)、全氮(TN)、有机碳(SOC)、砂粒(sand)、粉粒(silt)和粘粒(clay)等土壤理化性质指标上均存在显著性差异,而它们在指标总磷(P)、速效磷(AP)和总钙(Ca)上没有显著性差异。其中,在真菌群落代谢活性较高的 Group1 中,

土壤 WC、EC 和 AK 含量均最低,其 AN、AP、TC、TN 和 SOC 含量居中,而其 sand 含量最高,说明与 Group1 相对应的土壤具有透气性较好、肥力适中、含盐量较低的特点;而在 Group2 中,土壤 EC、AK 和 AP 含量最高,而其 AN、TC、TN 和 SOC 含量最低,

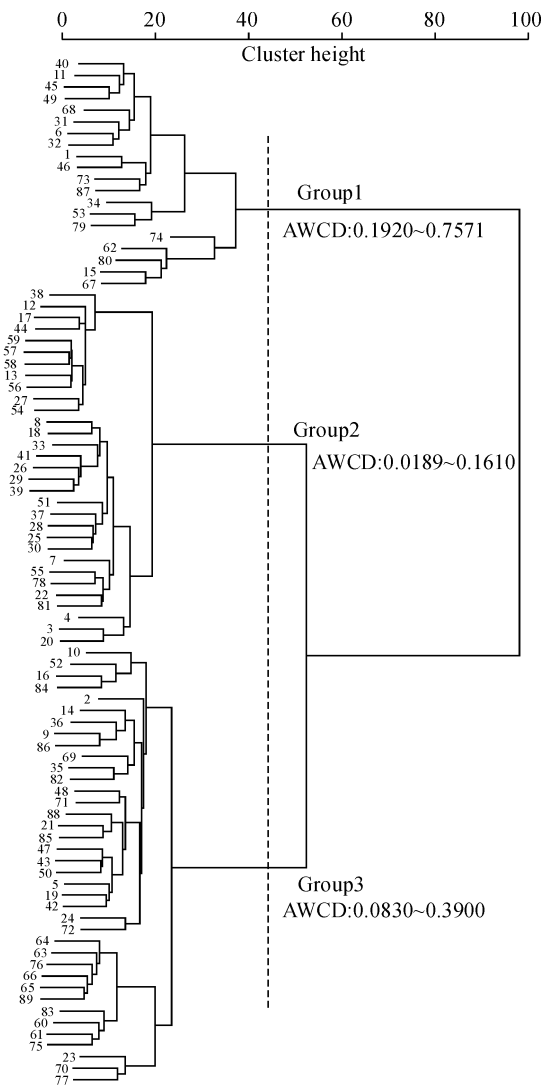


图 2 根据碳源利用情况对 89 个样本进行 ward, D 聚类结果

Fig. 2 The clustering of 89 samples using ward, D method based on OD value

表 3 不同样本群组真菌代谢多样性指数

Table 3 The metabolic diversity index in different sample groups

样方群组 Sample group	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	Pielou 指数 Pielou index	Richness 指数 Richness index
Group 1	3.81±0.04a	0.97±0.00a	0.88±0.01a	41.85±2.23a
Group 2	2.74±0.07c	0.90±0.01c	0.74±0.01c	8.03±0.89c
Group 3	3.30±0.04b	0.95±0.00b	0.79±0.01b	21.95±1.17b

注:同列不同小写字母表示群组之间差异显著(P<0.05)
Note: Different letters in the same column meant significant difference among groups at 0.05 level

表 4 不同样本群组土壤理化性质

Table 4 Soil physico-chemical properties in different sample groups

项目 Item	样本群组 Sample group		
	Group1	Group2	Group3
含水量 WC/%	10.36±1.56b	14.59±1.00a	17.20±1.02a
pH	8.26±0.06ab	8.09±0.08b	8.28±0.04a
电导率 EC/(ms·cm ⁻¹)	0.22±0.02c	1.57±0.29a	0.34±0.04b
速效钾 AK/(mg·kg ⁻¹)	255.58±35.27b	781.38±158.08a	381.78±25.37b
总钾 K/(g·kg ⁻¹)	39.25±1.22b	39.38±0.89b	43.01±1.09a
总钠 Na/(g·kg ⁻¹)	10.78±0.39a	11.07±0.25a	9.36±0.33b
碱解氮 AN/(mg·kg ⁻¹)	12.22±1.53ab	10.21±1.34b	14.05±1.23a
速效磷 AP/(mg·kg ⁻¹)	1.743±0.195a	1.942±0.192a	1.498±0.155a
全碳 TC/%	2.01±0.14b	1.83±0.08b	2.37±0.12a
全氮 TN/%	0.073±0.009ab	0.056±0.0058b	0.095±0.008a
有机碳 SOC/(g·kg ⁻¹)	8.87±1.26ab	6.80±0.72b	12.14±1.19a
砂粒 Sand/%	52.51±5.30a	47.61±3.77a	34.22±3.12b
粉粒 Silt/%	45.42±4.99b	50.60±3.61b	62.56±2.88a
粘粒 Clay/%	2.07±0.36b	1.79±0.19b	3.22±0.29a
总磷 P/(g·kg ⁻¹)	0.508±0.016a	0.503±0.008a	0.477±0.009a
总钙 Ca/(g·kg ⁻¹)	37.87±0.91a	37.97±0.88a	39.04±0.65a

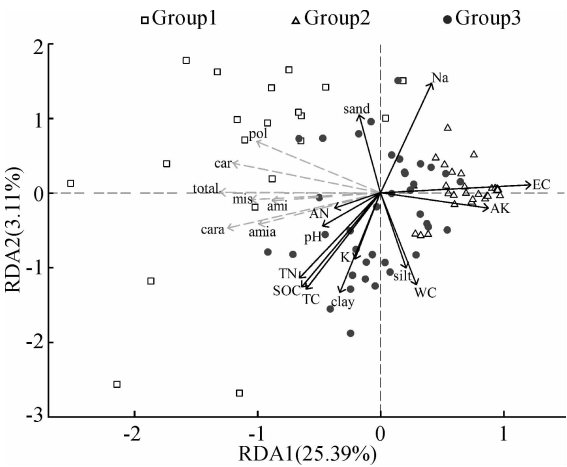
注：同行不同小写字母表示不同群组之间差异显著 ($P<0.05$)
Note: Different letters in the same row meant significant difference among groups at 0.05 level

说明与 Group2 相应的土壤具有肥力较差、含盐量较高的性质(表 4)。

2.4 胡杨根际土壤真菌群落代谢特征与土壤因子之间的关系

通过冗余分析,可以确定土壤环境因子对真菌群落代谢特征的影响^[29]。根据方差分析结果(表 4),选择具有显著性差异的土壤因子进行冗余分析。结果表明(图 3),土壤因子能够解释真菌群落代谢特征总变异的 30.02% ($F=3.90, P=0.001$), RDA1 和 RDA2 分别解释总变异的 25.39% ($F=46.36, P=0.001$)和 3.11% ($F=5.67, P=0.004$), RDA1 的解释率达到整个模型解释率的 84.6%,因此该轴基本能代表所有土壤因子的解释度。

进一步分析发现 RDA1 与土壤 EC ($F=26.161, P<0.001$)、AK ($F=11.665, P=0.001$)呈显著正相关,且 EC 对 RDA1 的解释率最高;RDA2 与土壤 WC ($F=20.884, P<0.001$)、TC ($F=23.527, P<0.001$)、TN ($F=17.324, P<0.001$)、SOC ($F=22.240, P<0.001$)、K ($F=9.622, P=0.003$)、clay ($F=25.674, P<0.001$)和 silt ($F=$



黑色实线箭头代表土壤性质;灰色虚线箭头代表真菌代谢特征指数

图 3 根际土壤真菌代谢特征冗余分析
Black solid arrows represent soil properties; Gray dashed arrows represent fungal metabolic characteristics indexes
Fig. 3 RDA analysis between metabolic characteristics of fungi in rhizosphere soils and soil properties

12.829, $P=0.001$)均呈显著负相关,而与土壤 Na ($F=33.037, P<0.001$)和 sand ($F=13.933, P<0.001$)均呈显著正相关,其中 Na、TC、clay 和 SOC 对 RDA2 的解释率较高。

从 RDA1 轴来看,从左到右依次为 Group1、Group3 和 Group2,说明根际土壤真菌群落代谢活性逐渐降低;从 RDA2 轴看,Group1 分布最为分散,其次为 Group3 和 Group2,说明在高盐土壤环境下土壤肥力等因子的影响十分微弱,只有在盐分含量较低时土壤肥力等其他因子对真菌代谢活性的影响才能表现出来。根据变量夹角看,土壤 EC、AK、Na、WC 和 silt 均与根际土壤真菌群落代谢特征指标呈钝角,说明这 5 个土壤因子对真菌代谢活性呈负相关,而其他土壤因子与根际土壤真菌群落代谢特征指标呈锐角,因此为正相关关系。

3 讨论

3.1 胡杨根际土壤真菌群落代谢特征

土壤真菌对不同类型的碳源利用程度不同。本研究结果显示,极端干旱区绿洲胡杨根际土壤真菌对羧酸类和氨基酸类碳源利用程度较高,对部分碳水类碳源也有较高的利用活性,而对胺类和其他类碳源的利用程度较弱,这是因为植被根系分泌物与微生物的组成和活性具有相互影响的作用^[30],可以推测胡杨根际土壤中上述碳源含量较为丰富,但具体情况还有待进一步的研究。另一方面,可能这几

类碳源在干旱区广泛分布且能被微生物很好地利用,王静娅的研究表明,虽然干旱区不同植物群落微生物对碳源利用具有显著差异,但是碳水类和氨基酸类碳源均是各植被类型下的敏感碳源,而对胺类碳源的利用率较低^[31],这也说明,环境背景是决定微生物碳源利用种类的重要因素,而地上植被对微生物的影响是基于环境背景下的微调。此外,胡杨为中国荒漠绿洲区唯一能自然成林的乔木树种,研究表明天然林微生物碳源的利用类型主要是糖类和羧酸类,对胺类碳源的利用率较低^[32],这可能也是造成本研究中糖类和羧酸类碳源被利用程度较高,而对胺类碳源不敏感的原因之一,然而具体原因还有待进一步分析确定。

3.2 土壤因子对真菌群落代谢活性的影响

干旱区植被的生长主要受水分和盐分的影响,水分补充和蒸发造成土壤表层盐分分布的异质性,形成了干旱区小范围内基于水盐因子的环境异质性^[33],影响微生物的生长繁殖和群落组成^[34]。真菌是土壤微生物群落的重要组成部分,高盐抑制微生物的生长,而良好的土壤通透性有利于真菌的生长^[35]。本研究中,在电导率和速效钾含量较低,土壤透气性和养分条件较好的胡杨根际土壤中,真菌群落代谢活性和多样性指数最高,而盐分含量较高的胡杨根际土壤中真菌群落代谢活性最差,多样性指数最低。因此,影响胡杨根际土壤真菌代谢活性的土壤因子为盐分和养分。干旱区盐碱地的相关研究表明,盐分与真菌数量呈显著负相关^[36],本研究的结果在一定程度上与前人研究具有一致性。本研究通过冗余分析发现,所有土壤因子对真菌群落代谢特征总的解释率为 30.02%,RDA1 的解释率达到了 25.39%,说明第一轴基本能代表这些土壤因子的解释度。与 RDA1 显著相关的土壤因子为电导率和速效钾,且电导率的解释度更高,由此可见,影响额济纳胡杨林根际真菌群落代谢特征的主要土壤因子为电导率。

虽然在干旱区水分是一切生物生长和繁殖的重要限制因子,然而在本研究中含水量的影响主要表现在第二轴,从整体上来看其解释度并不高。并且含水量(WC)与各类真菌代谢活性呈负相关(图 3)。我们认为可能的原因包括两方面。一方面,这可能与采样时间有关。本研究取样时间主要在 6 月初,该时间段人工补水刚刚结束,土壤含水量受到人工补水的显著影响,可能无法解释当前的土壤真菌的代谢活性。同时,集中性的补水也会暂时降低土壤

透气性,限制土壤真菌的生长。在以后的研究中需要增加不同时间点的取样,分析不同时间或季节下的土壤真菌群落代谢特征。另一方面,土壤水分和可溶性盐含量相辅相成,在本研究区主要是钾盐,“盐随水来,盐随水去”是干旱区水盐关系特征的形象描述^[33]。水分增加带来高盐土壤环境,如上所述,盐分限制真菌代谢活性,因此水分增加限制真菌代谢,含水量和真菌代谢活性呈负相关,说明干旱区微生物的活性受水分和盐分的综合影响,但两者各自的影响程度和相互协同作用还有待进一步研究。

盐分是影响黑河下游土壤特征的第一因子,而土壤综合养分水平为第二因子^[37]。只有在盐分含量较低时,土壤肥力对真菌代谢特征的影响才能凸显。冗余分析中,对 RDA2 贡献最大的土壤因子为土壤肥力和土壤质地,样本群组 Group1 含盐量较低,在第二轴上分布较为分散,说明土壤肥力和质地因子对该组真菌代谢活性具有显著影响;随着盐分含量的增加,样本群组 Group3 和 Group2 在第二轴上的分布逐渐聚集,说明较高的盐分含量减弱甚至消除了肥力对真菌代谢活性的影响。有研究表明,土壤真菌数量与其有效磷、有机碳和有效氮之间显著相关^[38],而本研究中具有不同真菌群落代谢活性的样本群组之间有机碳和有效氮含量具有显著性差异,但是有效磷含量不具有显著性差异,这可能与研究方法不同有关,同时也说明将真菌数量特征和代谢特征相结合进行研究能使我们更加充分认识土壤真菌特性。

综上所述,通过对绿洲胡杨林根际土壤真菌群落碳源利用情况及其与土壤因子之间关系的分析,发现胡杨根际土壤真菌群落倾向于对小分子碳源物质(羧酸和氨基酸类碳源)的利用,而对大分子碳源物质(胺类和其他杂类碳源)利用较弱。影响胡杨根际土壤真菌群落碳源利用活性的主要土壤因子为电导率和速效钾。可溶性盐含量对根际土壤真菌活性具有一定的抑制性,在后续通过人工补水保护胡杨林的过程中要注意水源中可溶性盐的含量。此外,土壤肥力也是影响胡杨林根际土壤真菌群落代谢活性的重要因子之一,然而其只有在盐分含量较低的生境下才能对真菌代谢活性起作用,因此,虽然该研究区养分贫瘠,但是在进行胡杨林保护过程中首要考虑的还是水分中可溶性盐含量。通过本研究从胡杨根际土壤真菌群落活性的角度出发,为胡杨林的保护和恢复提供了理论基础。但是,Biolog 方法也具有一定的局限性,只能代表整个真菌群落的一部

分,95 种碳源难以覆盖整个土壤中的碳源类型^[39],因此,后续研究应配合其他微生物研究方法,如基因测序或磷脂脂肪酸方法,将有助于更深入认识胡杨

根际土壤真菌群落多样性,为胡杨林的恢复提供更全面的理论支撑。

参考文献:

[1] CHAPIN F S, WALKER B H, *et al.* Biotic control over the functioning of ecosystems[J]. *Science*, 1997, 277: 500-503.

[2] JEANBILLE M, BUEE M, BACH C, *et al.* Soil parameters drive the structure, diversity and metabolic potentials of the bacterial communities across temperate beech forest soil sequences[J]. *Microbial Ecology*, 2016, **71**(2): 482-493.

[3] KURAMAE E, GAMPER H, *et al.* Soil and plant factors driving the community of soil-borne microorganisms across chronosequences of secondary succession of chalk grasslands with a neutral pH[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, **77**(2): 285-294.

[4] 张卫建, 许 泉, 等. 气温上升对草地土壤微生物群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2004, **24**(8): 1 746-1 751.

ZHANG W J, XU Q, *et al.* Impacts of experimental atmospheric warming on soil microbial community structure in a tall-grass prairie[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, **24**(8): 1 746-1 751.

[5] 李晨华, 李 彦, 谢静霞, 等. 荒漠-绿洲土壤微生物群落组成与其活性对比[J]. *生态学报*, 2007, **27**(8): 3 391-3 399.

LI C H, LI Y, XIE J X, *et al.* Comparative on microbial community composition and microbial activities in desert and oasis soils[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2007, **27**(8): 3 391-3 399.

[6] 李景文. 大漠胡杨[J]. *大自然*, 2014, (6): 38-41.

LI J W. *Populus euphratica* in desert[J]. *China Nature*, 2014, (6): 38-41.

[7] 刘钟龄, 朱宗元, 郝敦元. 黑河流域地域系统的下游绿洲带资源-环境安全[J]. *自然资源学报*, 2002, **17**(3): 286-293.

LIU Z L, ZHU Z Y, HAO D Y. The mountain-basin complex of Heihe River and resource-environment safety of oasis zone in the lower reaches[J]. *Journal of Natural Resources*, 2002, **17**(3): 286-293.

[8] 韩 路, 王家强, 王海珍, 等. 塔里木河上游胡杨种群结构与动态[J]. *生态学报*, 2014, **34**(16): 4 640-4 651.

HAN L, WANG J Q, WANG H Z, *et al.* The population structure and dynamics of at the upper reaches of the Tarim River[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, **34**(16): 4 640-4 651.

[9] 徐海量, 宋郁东, 王 强. 胡杨生理指标对塔里木河下游生态输水的响应[J]. *环境科学研究*, 2003, **16**(4): 24-27.

XU H L, SONG Y D, WANG Q. Response of physiological indexes of *Populus euphratica* to ecological water transport in the lower reaches of the Tarim River[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2003, **16**(4): 24-27.

[10] 何新林, 陈书飞, 王振华, 等. 咸水灌溉对沙土土壤盐分和胡杨生理生长的影响[J]. *生态学报*, 2012, **32**(11): 3 449-3 459.

HE X L, CHEN S F, WANG Z H, *et al.* Effect of saline water irrigation on sand soil salt and the physiology and growth of *Populus euphratica* Oliv[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, **32**(11): 3 449-3 459.

[11] 张玉波, 李景文, 张 昊, 等. 胡杨种子散布的时空分布格局

[J]. *生态学报*, 2005, **25**(8): 1 994-2 000.

ZHANG Y B, LI J W, ZHANG H, *et al.* Spatiotemporal patterns of seed dispersal in *Populus euphratica* [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2005, **25**(8): 1 994-2 000.

[12] 曹德昌, 李景文, 等. 额济纳绿洲不同林隙胡杨根蘖的发生特征[J]. *生态学报*, 2009, **29**(4): 1 954-1 961.

CAO D C, LI J W, *et al.* Development and growth of root suckers of *Populus euphratica* in different forest gaps in Ejina Oasis[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, **29**(4): 1 954-1 961.

[13] 黄晶晶, 井家林, 曹德昌, 等. 不同林龄胡杨克隆繁殖根系分布特征及其构型[J]. *生态学报*, 2013, **33**(14): 4 331-4 342.

HUANG J J, JING J L, CAO D C, *et al.* Cloning root system distribution and architecture of different forest age *Populus euphratica* in Ejina Oasis[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, **33**(14): 4 331-4 342.

[14] 韩艳洁, 张秋良. 胡杨根际土壤微生物区系研究[J]. *干旱区资源与环境*, 2008, **22**(11): 185-190.

HAN Y J, ZHANG Q L. Study on soil microbial population of different depth *Populus euphratica* Oliv. rhizosphere soil [J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2008, **22**(11): 185-190.

[15] 王 芳, 图力古尔. 土壤真菌多样性研究进展[J]. *菌物研究*, 2014, **12**(3): 178-186.

WANG F, TU L G E. Research advances in the diversity of soil fungi[J]. *Journal of Fungal Research*, 2014, **12**(3): 178-186.

[16] PRESTON-MAFHAM J, BODDY L, RANDERSON P F. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilization profiles - a critique[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2002, **42**(1): 1-14.

[17] 胡国彬, 董 坤, 董 艳, 等. 间作缓解蚕豆连作障碍的根际微生态效应[J]. *生态学报*, 2016, **36**(4): 1 010-1 020.

HU G B, DONG K, DONG Y, *et al.* Effects of cultivars and intercropping on the rhizosphere microenvironment for alleviating the impact of continuous cropping of faba bean[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, **36**(4): 1 010-1 020.

[18] PAWLIK A, JANUSZ G, DEBSKA I, *et al.* Genetic and metabolic intraspecific biodiversity of ganoderma lucidum[J]. *BioMed Research International*, 2015: 1-13.

[19] GRAYSTON S J, CAMPBELL C D, BARDGETT R D, *et al.* Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands of differing management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques[J]. *Applied Soil Ecology*, 2004, **25**(1): 63-84.

[20] GONZALEZ-POLO M, AUSTIN A T. Spatial heterogeneity provides organic matter refuges for soil microbial activity in the Patagonian steppe, Argentina[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2009, 41: 1 348-1 351.

[21] NIELSEN U N, BALL B A. Impacts of altered precipitation regimes on soil communities and biogeochemistry in arid and

- semi-arid ecosystems[J]. *Global Change Biology*, 2015, **21**: 1 407-1 421.
- [22] 韩 蕙, 翟振华, 张燕燕, 等. 环境微生物样品真菌群落 BIOLOG 分析方法[J]. 生态学报, 2009, **29**(5): 2 368-2 373.
HAN H, ZHAI Z H, ZHANG Y Y, *et al.* BIOLOG analysis for fungal communities in environmental samples[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2009, **29**(5): 2 368-2 373.
- [23] 王志功, 朱长青, 刘国玲. 额济纳绿洲生态系统恢复初探[J]. 内蒙古林业调查设计, 2003, **26**(1): 12-14.
WANG Z G, ZHU C C, LIU G L. Preliminary study on ecosystem restoration of Ejina oasis region[J]. *Inner Mongolia Forestry Investigation and Design*, 2003, **26**(1): 12-14.
- [24] 胡国彬, 董 坤, 董 艳, 等. 小麦与蚕豆间作对根际真菌代谢功能多样性的影响[J]. 土壤学报, 2015, **52**(4): 926-933.
HU G B, DONG K, DONG Y, *et al.* Effects of intercropping of wheat and faba bean on diversity of metabolic function of rhizosphere fungal community[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2015, **52**(4): 926-933.
- [25] 王 森, 曲来叶, 马克明, 等. 罕山不同林型下土壤微生物群落特性[J]. 中国科学·生命科学, 2013, **43**(6): 499-508.
WANG M, QU L Y, MA K M, *et al.* Soil microbial properties under different vegetation types on Mountain Han[J]. *Sci. China·Life Sci.*, 2013, **43**(6): 499-508.
- [26] 董立国, 蒋 齐, 蔡进军, 等. 基于 Biolog-ECO 技术不同退耕年限苜蓿地土壤微生物功能多样性分析[J]. 干旱区研究, 2011, **28**(4): 630-637.
DONG L G, JIANG Q, CAI J J, *et al.* Analysis on functional diversity of edaphon communities in *Medicago sativa* fields of different growth years based on Biolog-ECO plates[J]. *Arid Zone Research*, 2011, **28**(4): 630-637.
- [27] 贾 夏, 董岁明, 周春娟. 微生物生态研究中 Biolog-Eco 微平板培养时间对分析结果的影响[J]. 应用基础与工程科学学报, 2013, **21**(1): 10-19.
JIA X, DONG S M, ZHOU C J. Effects of Biolog-Eco plates incubation time on analysis results in microbial ecology researches[J]. *Journal of Basic Science and Engineering*, 2013, **21**(1): 10-19.
- [28] 鲁顺保, 张艳杰, 陈成榕, 等. 基于 BIOLOG 指纹解析三种不同森林类型土壤细菌群落功能差异[J]. 土壤学报, 2013, **50**(3): 618-623.
LU S B, ZHANG Y J, CHEN C R, *et al.* Analysis of functional differences between soil bacterial communities in three different types of forest soils based on Biolog fingerprint[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2013, **50**(3): 618-623.
- [29] 曹永昌, 谭向平, 和文祥, 等. 秦岭地区不同林分土壤微生物群落代谢特征[J]. 生态学报, 2016, **36**(10): 1-9.
CAO Y C, TAN X P, HE W X, *et al.* The metabolism characteristics of microbial community in different forest soil in Qinling Mountains Area[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, **36**(10): 1-9.
- [30] 吴林坤, 林向民, 林文雄. 根系分泌物介导下植物-土壤-微生物互作关系研究进展与展望[J]. 植物生态学报, 2014, **38**(3): 298-310.
WU L K, LIN X M, LIN W X. Advances and perspective in research on plant-soil-microbe interactions mediated by root exudates[J]. *Chinese Journal of Plant and Ecology*, 2014, **38**(3): 298-310.
- [31] 王静娅, 王明亮, 张风华. 干旱区典型盐生植物群落下土壤微生物群落特征[J]. 生态学报, 2016, **36**(8): 2 363-2 372.
WANG J Y, WANG M L, ZHANG F H. Soil microbial properties under typical halophytic vegetation communities in arid regions[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, **36**(8): 2 363-2 372.
- [32] 吴则焰, 林文雄, 等. 武夷山自然保护区不同植被类型土壤微生物群落特征[J]. 应用生态学报, 2013, **24**(8): 2 301-2 309.
WU Z Y, LIN W X, *et al.* Characteristics of soil microbial community under different vegetation types in Wu-yishan National Nature Reserve, East China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, **24**(8): 2 301-2 309.
- [33] 贾艳红, 赵传燕, 南忠仁. 西北干旱区黑河下游植被覆盖变化研究综述[J]. 地理科学进展, 2007, **26**(4): 64-74.
JIA Y H, ZHAO C Y, NAN Z R. Review of study on vegetation cover change in the lower reaches of Heihe River in northwest arid area[J]. *Progress in Geography*, 2007, **26**(4): 64-74.
- [34] PAJARES S, ESCALANTE A E, NOGUEZ A M, *et al.* Spatial heterogeneity of physicochemical properties explains differences in microbial composition in arid soils from Cuatro Ciénegas, Mexico[J]. *Peer J*, 2016, **4**: e2 459.
- [35] 王银山, 张 燕, 等. 艾比湖湿地不同盐碱环境土壤微生物群落特征分析[J]. 干旱区资源与环境, 2009, **23**(5): 133-137.
WANG Y S, ZHANG Y, *et al.* The analysis of characteristics of the soil microorganisms in different saline and alkali environment in Aibil Lake Wetland[J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2009, **23**(5): 133-137.
- [36] 贾倩民, 陈彦云, 等. 干旱区盐碱地不同栽培草地土壤理化性质及微生物数量[J]. 草业科学, 2014, **31**(7): 1 218-1 225.
JIA Q M, CHEN Y Y, *et al.* Soil physico-chemical properties and microbial quantities in different pastures in arid area of saline-alkali soil[J]. *Pratacultural Science*, 2014, **31**(7): 1 218-1 225.
- [37] 高进长, 苏永红, 席海洋, 等. 黑河下游河流沿岸土壤养分和盐分的研究[J]. 水土保持学报, 2012, **26**(5): 94-98.
GAO J C, SU Y H, XI H Y, *et al.* Studies on soil nutrient and salinity along the lower reaches area of Heihe River in arid regions, northwest of China[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2012, **26**(5): 94-98.
- [38] 杨玉海, 陈亚宁, 李卫红, 等. 干旱区胡杨根际微生物数量及其影响因子[J]. 干旱区研究, 2010, **27**(5): 719-725.
YANG Y H, CHEN Y N, LI W H, *et al.* Study on populations of microorganisms in *Populus euphratica* rhizosphere and their affecting factors in arid area[J]. *Arid Zone Research*, 2010, **27**(5): 719-725.
- [39] 郑 华, 欧阳志云, 方治国, 等. BIOLOG 在土壤微生物群落功能多样性研究中的应用[J]. 土壤学报, 2004, **41**(3): 456-461.
ZHENG H, OUYANG Z Y, FANG Z G, *et al.* Application of BIOLOG to study on soil microbial community functional diversity[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, **41**(3): 456-461.

(编辑:裴阿卫)