

## 研究报告



## 大兴安岭典型永久冻土土壤细菌群落组成和多样性

余炎炎<sup>1,2</sup> 李梦莎<sup>\*3,4</sup> 刘啸林<sup>1</sup> 尹伟平<sup>5</sup> 李国富<sup>5</sup> 穆立蓄<sup>3</sup> 崔晓阳<sup>3</sup> 程智超<sup>6</sup>

1 河南大学生命科学学院 河南 开封 475004

2 信阳学院理工学院 河南 信阳 464000

3 东北林业大学林学院 黑龙江 哈尔滨 150040

4 黑龙江省科学院自然与生态研究所 黑龙江 哈尔滨 150040

5 黑龙江中央站黑嘴松鸡国家级自然保护区服务中心 黑龙江 嫩江 161400

6 黑龙江大学生命科学学院 黑龙江 哈尔滨 150080

**摘要:**【背景】土壤微生物是土壤生物中的重要成分,参与了土壤生态系统中关键的生物化学循环过程。但是关于寒温带多年冻土土壤微生物的研究还比较薄弱。【目的】探究大兴安岭多年冻土土壤中微生物的多样性和种群结构。【方法】利用 MiSeq 高通量测序技术对黑龙江大兴安岭地区呼中保护区落叶松冻土和樟子松林冻土土壤样品进行测序。【结果】在落叶松冻土和樟子松林冻土土壤中,相对丰度最高的优势菌群的组成基本一致,在门水平有疣微菌门(*Verrucomicrobia*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、浮霉菌门(*Planctomycetes*)、绿菌门(*Chlorobi*)、*Parcubacteria*、放线菌门(*Actinobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*) 10 个细菌门类,其中,疣微菌门(*Verrucomicrobia*)在樟子松林土壤中的相对丰度较多,变形菌门(*Proteobacteria*)在落叶松林土壤中的相对丰度较多。通过  $\alpha$  多样性分析可知,落叶松冻土土壤微生物的群落多样性高于樟子松林冻土,而且两者的细菌群落组成与结构差异性较大。【结论】为深入认识大兴安岭多年冻土区的土壤微生物群落结构组成以及影响因素提供数据支撑。

**关键词:** 冻土, 土壤微生物, 高通量测序

**Foundation item:** Wild Plant Protection and Management Project of State Forestry and Grass Administration of China (20190730)

**\*Corresponding author:** Tel: 86-10-86050152; E-mail: lms19861004@163.com

**Received:** 12-03-2020; **Accepted:** 31-07-2020; **Published online:** 07-08-2020

**基金项目:** 国家林草局野生植物保护管理项目(20190730)

**\*通信作者:** Tel: 010-86050152; E-mail: lms19861004@163.com

**收稿日期:** 2020-03-12; **接受日期:** 2020-07-31; **网络首发日期:** 2020-08-07

## Soil bacterial community composition and diversity of typical permafrost in Greater Khingan Mountains

YU Yan-Yan<sup>1,2</sup> LI Meng-Sha<sup>\*3,4</sup> LIU Xiao-Lin<sup>1</sup> YIN Wei-Ping<sup>5</sup> LI Guo-Fu<sup>5</sup>  
MU Li-Qiang<sup>3</sup> CUI Xiao-Yang<sup>3</sup> CHENG Zhi-Chao<sup>6</sup>

1 School of Life Sciences, Henan University, Kaifeng, Henan 475004, China

2 School of Science and Technology, Xinyang University, Xinyang, Henan 464000, China

3 College of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin, Heilongjiang 150040, China

4 Institute of Nature and Ecology, Heilongjiang Academy of Sciences, Harbin, Heilongjiang 150040, China

5 Heilongjiang Central Station *Tetrao Parvirostris* National Nature Reserve Administration, Nenjiang, Heilongjiang 161400, China

6 College of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin, Heilongjiang 150080, China

**Abstract: [Background]** Soil microorganism is an important component of soil organisms and participates in key biochemical cycles in soil ecosystem. However, we still poorly understand on soil microorganisms in permafrost soils in cold temperate regions. **[Objective]** To study the microbial diversity and community structure of the permafrost in the Greater Khingan Mountains. **[Methods]** High-throughput sequencing technology was employed to analyze the soil bacterial diversity and community structure which were taken from Huzhong National Nature Reserve in the Greater Khingan Mountains of northern Heilongjiang. **[Results]** The composition of the soil bacterial dominant phyla were basically the same in the *Larix gmelinii* and *Pinus sylvestris* forest. At the level of the phylum, the dominant phyla were *Verrucomicrobia*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Planctomycetes*, *Chlorobi*, *Parcubacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Gemmatimonadetes*, of which *Verrucomicrobia* in *Pinus sylvestris* forest permafrost has relatively high abundance compared with *Larix gmelinii* forest permafrost. Alpha diversity analysis revealed that the species diversity of the *Larix gmelinii* permafrost in the frozen soil is higher than that in the *Pinus sylvestris* permafrost. Moreover, the compositions and structures of soil microorganisms of the two forest types were quite different. **[Conclusion]** These findings are intended to provide data support for an in-depth understanding of the soil microbial community structure and influencing factors in the permafrost area of the Greater Khingan Mountains.

**Keywords:** Frozen soil, Soil microbes, High-throughput sequencing

微生物是多年冻土生态系统中最活跃的部分,是土壤物质形成与转化的关键动力<sup>[1]</sup>。伴随着土壤的形成与发育,土壤微生物在土壤碳氮循环、养分转化、调节植物生产力、维系土壤结构和影响土壤植被等方面起到了不可替代的作用,是评价土壤质量不可或缺的指标之一<sup>[2-4]</sup>。土壤微生物的多样性指的是在土壤生态系统中包含的所有微生物种类和它们的所有基因以及这些微生物与周围环境之间相互作用的多元化程度<sup>[5]</sup>。土壤微生物群落功能的多样性是反映微生物群落状态的指标,能够反映土壤中微生物群落的生态特征与其土壤肥力特征<sup>[6]</sup>。土壤微生物群落的多样性主要有微生物的物种多样性、遗传多样性、结构多样

性和功能多样性,丰富的微生物群落多样性不仅可以缓解连作障碍,而且是维持土壤健康稳定的保障<sup>[7]</sup>。

多年冻土生态系统是高纬度生态系统的重要组成部分,对高纬度生态系统的结构和功能具有重要作用<sup>[8-10]</sup>。我国多年冻土区主要集中在青藏高原地区和大兴安岭地区,面积约  $2.15 \times 10^6 \text{ km}^2$ ,大约占国土总面积的 22%<sup>[11]</sup>。全球气候变化对多年冻土区的影响非常明显,有研究表明,全球变暖减少了冻土土壤水分和有机碳含量,导致植物多样性和生产力发生改变<sup>[12]</sup>。还有研究表明,全球变暖导致土壤微生物活性增加,使得土壤温室气体排放增加<sup>[13]</sup>。土壤微生物在多年冻土区生物地

球化学循环中起着非常重要的作用,也是生态系统中连结地下土壤养分系统与地表植被的关键纽带<sup>[14]</sup>。全球气温升高会显著影响土壤微生物的结构和功能,在高寒生态系统下土壤微生物更容易受到全球气温升高的影响<sup>[14]</sup>。目前全球变化对冻土生态系统影响十分显著,探究全球变化对土壤微生物群落结构和多样性的影响受到广泛关注<sup>[15-16]</sup>。李红琴等<sup>[6]</sup>对马街山冻土区土壤的研究表明,永久冻土发生融化以后会导致土壤微生物量发生显著改变,导致土壤有机碳含量降低,生态系统发生退化。张宝贵等<sup>[7]</sup>研究发现,全球变化会导致冻土景观发生改变,不同景观的土壤微生物多样性会发生显著变化。Chen 等<sup>[8]</sup>的研究发现,青藏高原冻土的活跃层和永冻层土壤微生物群落组成并不相同,活跃层的季节性冻融过程会对土壤微生物结构和组成产生显著影响,进而对冻土有机碳周转产生显著影响<sup>[9-11]</sup>。因此,探究全球变化背景下冻土土壤微生物的群落结构和多样性特征,对于了解和预测全球变化下冻土生态系统结构和功能具有十分重要的意义。

大兴安岭冻土区是我国主要的永久冻土区之一,位于欧亚大陆冻土区的南缘,该地区冻土生态系统脆弱,易受到全球气候变化的影响,目前是全球最为敏感的冻土区之一<sup>[17]</sup>。大兴安岭多年冻土区林型以针叶林为主,兴安落叶松(*Larix gmelinii*)和樟子松(*Pinus sylvestris*)是当地主要的两种针叶树种。大兴安岭冻土多分布于兴安落叶松(*Larix gmelinii*)和樟子松(*Pinus sylvestris*)林下。受到全球气候变化的影响,大兴安岭冻土发生了显著退化,导致永久冻土层减少、活动层增加、永久冻土面积减少、冻土呈现岛状分布<sup>[18-19]</sup>。由于永久冻土发生融化,导致土壤微生物活性增加,土壤微生物的活动会影响土壤温室气体(CO<sub>2</sub>、CH<sub>4</sub>和 N<sub>2</sub>O)的排放,最终对全球温室气体排放产生正反馈效应。本研究选择大兴安岭兴安落叶松(*Larix gmelinii*)和樟子松(*Pinus sylvestris*)林下永久冻土微

生物为研究对象,采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术对土壤样品中细菌群落结构组成和多样性分析,以期为进一步认识大兴安岭多年冻土区的生物地球化学循环提供微生物生态学的视角。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区域概况

大兴安岭位于我国东北,是我国主要的冻土分布区之一,该地区属于大陆寒温带气候,冬季漫长且寒冷,夏季多雨短暂,平均气温为-2~-5.5℃,最低气温可达-52.3℃。该地区冻土面积大约在70%左右,主要分布在北纬47°00'-53°30'之间,平均海拔600-800m。冻土在北部地区最厚,厚度大约在130m左右,随着纬度降低,冻土厚度逐渐减少,最少的地方大概约为5-10m左右。此区域主要林型以兴安落叶松林、樟子松林和白桦林为主<sup>[12]</sup>。

本研究区位于黑龙江北部大兴安岭地区呼中国家级自然保护区(122°12'16.3"-122°21'7.8"E, 53°26'30.6"-53°28'6.3"N)。研究样地选择地势平坦、未受到人为活动干扰和植被保持完整的沟谷地带,地下冻土层成为天然的隔水板,地上发育成湿地<sup>[4,9]</sup>。

### 1.2 样品采集

2018年6月进行样地选择和样品采集,在保护区内选取樟子松和兴安落叶松2种典型的植被类型,选择乔木层为兴安落叶松纯林和樟子松纯林,选择标准为海拔一致、坡向一致,其中兴安落叶松纯林的海拔为300m,樟子松纯林的海拔为290m。选择地点时,分别选择附近都是兴安落叶松和樟子松的纯林下进行,兴安落叶松和樟子松样地间隔距离为500m。该地区土壤为棕色针叶林土,兴安落叶松和樟子松林龄分别为30年和35年,兴安落叶松平均胸径(diameter breast height, DNH)为14.2cm,樟子松DNH为28.5cm,兴安落叶松平均树高为18.5m,樟子松平均树高为22.4m。在每个林型样地设置3个10×10m的小样方。于

2018年6月进行取样,活动层大约为1–1.5 m。在采集过程中,使用冰镐和铁锹去除地上凋落物层和苔藓层,挖一个大约10×10 m的土坑,然后采用对活跃层部分的土壤进行去除,直到挖到含有冰晶出现,该部分即为冻土层,采用冰镐进行取样。采用五点法采集永冻层土壤0–10 cm 5个,每个林型采集3个土壤样品。将每个样品土样混合均匀后称取1 kg过2 mm筛,装入密封无菌袋中,放入冰袋盒中带回实验室,保存于–80 °C,用于DNA提取。

### 1.3 主要试剂和仪器

MOBIO Power Soil Extraction Kit, Qiagen公司; 2×*Taq* PCR MasterMix, Solarbio公司; PCR产物纯化试剂盒, Invitrogen公司。碳氮元素分析仪, Elementar公司; NanoDrop 2000分光光度计, Thermo Scientific公司。

### 1.4 土壤理化性质测定

土壤pH值采用电位法,土壤含水率采用烘干法测定,土壤有机碳、总氮采用CN元素分析仪测定,土壤全磷采用钼锑抗比色法,土壤全钾采用火焰光度计法<sup>[20]</sup>。

### 1.5 土壤DNA提取

使用MOBIO Power Soil Extraction Kit根据说明从0.5 g新鲜土壤样品(保存在–80 °C冰箱中)中提取土壤微生物DNA。将提取的DNA稀释于DES缓冲液(DNA Elution Solution-Ultra Pure Water)中。用NanoDrop 2000分光光度计测量DNA浓度及质量,并将提取的DNA保存在–80 °C冰箱,用于高通量测序分析。

### 1.6 Illumina MiSeq 测序

从每个样品中提取的DNA用作模板,用于扩增MiSeq测序中使用的细菌16S rRNA基因片段,选择16S rRNA基因的V3–V4高变区并用引物CS1-34Fh (5'-ACACTGACGACATGGTTCATCACC TAYGGGDBGCWSCAG-3')和CS2-806RV2 (5'-TACGGTAGCAGAGACTTGGTCTGGACTACNVGGGT HTCT-3')进行PCR扩增<sup>[21]</sup>。将每个样品独特的

Barcode序列添加到引物中,以区分样品来源。

PCR反应体系(25 µL): 2×*Taq* Plus Master Mix 12.5 µL, 正、反向引物(5 µmol/L)各1 µL, BSA 3 µL, 模板DNA 30 ng, 双蒸水补足25 µL。PCR条件: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 60 s, 30个循环; 72 °C 7 min。采用PCR产物纯化试剂盒对PCR产物进行纯化,以等摩尔浓度混合,采用Illumina MiSeq平台进行末端测序分析(2×300 bp)。

### 1.7 测序数据分析和统计分析

采用QIIME (V1.7.0, [http://qiime.org/scripts/split\\_libraries\\_fastq.htm](http://qiime.org/scripts/split_libraries_fastq.htm))对原始数据(raw data)进行处理<sup>[18]</sup>。采用Trimmomatic软件进一步去掉低质量序列,其设置具体要求为:序列长度小于200 bp, *Q*值小于30,含有模糊碱基,引物碱基中有大于一个的错配,以及无法被Barcode识别的序列。采用Fast Length Adjustment of Short Reads (FLASH) (V1.2.10)软件把成对的Reads通过其Overlap拼接成一条序列,拼接的错误匹配率为0.1。用UCHIME软件基于“RDP Gold”数据库检测和去除嵌合体序列。采用USEARCH软件,基于97%相似性水平进行非重复序列的操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类,得到OTU的代表序列。对得到的OTU代表序列进行分类学分析,并采用SILVA数据库(<http://www.arb-silva.de>)对得到的OTU进行注释形成各样本OTU聚类信息统计结果<sup>[19]</sup>。数据抽平采用最小序列数的方法进行,每个序列3万条。

微生物群落 $\alpha$ 多样性采用Chao1丰富度估计量(Chao1 richness estimator)、香农-威纳指数(Shannon-wiener index)来表征<sup>[21]</sup>。Chao1可反映样本内丰富度,香农-威纳指数是综合了物种丰度及物种分布均匀性两方面的多样性指数,通常Chao1及香农-威纳指数越高,代表样本内物种多样性越高<sup>[22]</sup>。土壤微生物 $\alpha$ 多样性数据采用Excel 2003整理,采用Student-*t*检验进行差异分析,分析水平选

择在 0.05 水平, 使用软件 SPSS 17.0 完成。使用双样本  $t$  检验对不同冻土细菌门水平和属水平丰度进行差异检验<sup>[23-24]</sup>, 显著性分析选择 0.05 和 0.01。主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)基于 Bray-Curitis 矩阵, 并且采用 Adonis 方法对不同林型下冻土土壤细菌群落结构相似性进行分析, 使用 R 软件中 Vegan 数据包实现。采用 Bioenv 方法对土壤环境因子进行检验, 选择与细菌群落显著相关的环境因子进行 RDA 分析。采用双样本  $t$  检验分析不同林型对土壤理化性质和微生物  $\alpha$  多样性的影响。

土壤理化数据采用 Excel 2003 整理, 采用 Student- $t$  检验进行差异分析, 分析水平选择在 0.05 水平, 使用软件 SPSS 17.0 完成。

2 结果与分析

2.1 不同林型冻土土壤理化性质

不同林型冻土土壤理化性质如表 1 所示。土壤 pH、有机碳、全氮、全磷、全钾没有显著影响 ( $P>0.05$ ), 但土壤含水量在落叶松中显著升高, 比樟子松高 41.46%。说明不同林型冻土其理化性质变化并不显著, 但是其保水能力存在一定差异。

表 1 不同林型冻土土壤理化性质  
Table 1 Soil physicochemical properties of different forest types permafrost

Item	LG	PS
pH	5.17±0.07a	5.29±0.04a
土壤含水量	88.09±1.36a	62.23±0.23b
Moisture content (%)		
土壤有机碳	36.69±1.79a	34.87±0.82a
Soil organic carbon (g/kg)		
土壤全氮	3.08±0.42a	4.82±0.08a
Total nitrogen (g/kg)		
土壤全磷	2.58±0.48a	2.79±0.38a
Total phosphorus (g/kg)		
土壤全钾	0.12±0.05a	0.16±0.02a
Total potassium (mg/kg)		

注: LG: 落叶松; PS: 樟子松. 小写字母代表  $t$  检验, 检测水平为  $P<0.05$ .

Note: LG: *Larix gmelinii*; PS: *Pinus sylvestris*. Lowercase letters represent  $t$ -test, and the level is  $P<0.05$ .

2.2 微生物群落  $\alpha$  多样性分析

由表 2 可知, 不同林型土壤冻土细菌所有样品的覆盖度都达到了 99%以上, 落叶松林与樟子松林冻土土壤细菌 Chao1 指数和 ACE 指数差异并不显著, 但是落叶松林香农威纳指数显著高于樟子松, 而且落叶松林冻土土壤细菌 OTU 数量显著高于樟子松。

2.3 冻土细菌群落  $\beta$  多样性分析

冻土细菌群落  $\beta$  多样性选用 Bray-Curitis 距离来表示。结果如图 1 所示, 不同林型的冻土细菌群落结构之间差异显著, 基于 ADONIS 检测样品内部的差异不显著, 差异主要来自不同样本间(图 1,  $R^2=0.3257$ ,  $P=0.01$ )。

2.4 微生物群落结构组成分析

从落叶松门水平的相对丰度来看, 丰度从大到小依次为 *Proteobacteria* (22.92%)、*Verrucomicrobia* (20.08%)、*Acidobacteria* (15.19%)、*Planctomycetes* (14.84%)、*Chloroflexi* (7.14%)、*Actinobacteria* (5.00%)、*Parcubacteria* (4.80%)、*Bacteroidetes* (3.21%)、*Gemmatimonadetes* (2.00%)、Unclassified (1.90%)、Others (1.74%)、*Firmicutes* (1.18%) (图 2A)。

表 2 不同冻土的微生物多样性分析  
Table 2 Analysis of microbial diversity in different permafrost soils

Item	LG	PS
覆盖率	99.5±0.1a	99.6±0.1a
Coverage (%)		
Chao1 指数	1 072.2±178.0a	1 042.2±19.3a
Chao1 index		
ACE 指数	1 078.5±27.5a	1 055.3±13.8a
ACE index		
香农威纳指数	5.9±0.1a	5.4±0.2b
Shannon index		
辛普森指数	0.006±0.001b	0.010±0.000a
Simpson index		
OTUs	1 018.3±16.5a	972.0±18.0b

注: LG: 落叶松; PS: 樟子松. 小写字母代表  $t$  检验, 检测水平为  $P<0.05$ .

Note: LG: *Larix gmelinii*; PS: *Pinus sylvestris*. Lowercase letters represent  $t$ -test, and the level is  $P<0.05$ .

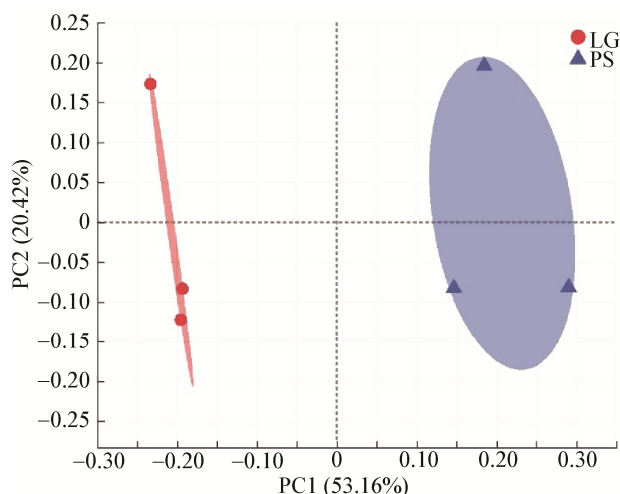


图 1 不同森林类型冻土土壤细菌群落 PCoA 图  
Figure 1 PCoA map of bacterial communities in different forest type frozen soils

注: LG: 落叶松; PS: 樟子松; MC: 土壤含水量; SOC: 土壤有机碳; TN: 土壤全氮; TK: 土壤全钾。

Note: LG: *Larix gmelinii*; PS: *Pinus sylvestris*; MC: Moisture content; SOC: Soil organic carbon; TN: Total nitrogen; TK: Total potassium.

从樟子松林门水平的相对丰度来看, 丰度从大到小依次为 *Verrucomicrobia* (18.41%)、*Acidobacteria* (18.22%)、*Proteobacteria* (14.88%)、*Chloroflexi* (11.52%)、*Planctomycetes* (7.31%)、*Parcubacteria* (6.91%)、*Actinobacteria* (5.18%)、*Bacteroidetes* (4.75%)、*Unclassified* (4.39%)、*Firmicutes* (3.69%)、*Gemmatimonadetes* (3.03%)、*Others* (1.72%) (图 2B)。利用韦恩图在 OTU 水平对不同林型冻土细菌群落结构进行分析(图 3), 从图 3 中可以看出, 2 个森林类型冻土土壤细菌共有 1 097 个 OTU, 分别占 94.81%和 96.73%; 樟子松林单独含有 60 个 OTU, 占 5.19%; 兴安落叶松林冻土单独含有 37 个 OTU, 占 3.27%。

采用双样本 *t* 检验方法, 对大兴安岭不同植被类型冻土细菌群落门和属水平相对丰度差异进行分析(图 4)。从门水平来看, *Proteobacteria*、*Planctomycetes*、*Firmicutes* 的丰度在不同森林类型冻土中差异显著, 其中落叶松中土壤 *Proteobacteria* 和 *Planctomycetes* 丰度显著高于樟子松, 而樟子松林土壤 *Firmicutes* 丰度显著高于落叶松(图 4A)。在属水平上看(图 4B),

*Gemmatimonadaceae*、*Acidimicrobiales*、*Xanthomonadales*、*Xanthobacteraceae*、*Anaerolineaceae* 在不同森林类型冻土中有显著差异, 其中落叶松林土壤 *Acidimicrobiales*、*Xanthomonadales*、*Anaerolineaceae* 丰度显著高于樟子松林, 而樟子松林土壤 *Gemmatimonadaceae* 和 *Xanthobacteraceae* 丰度显著高于落叶松林。

## 2.5 不同林型冻土土壤细菌群落与土壤理化性质的冗余分析

将土壤理化性质分别与 OTU 水平下细菌的群落组成关系进行冗余分析(redundancy analysis, RDA), 结果如图 5 所示。RDA 一轴和二轴, 分别解释了细菌群落变异的 76.25%和 14.25%。樟子松林冻土土壤细菌群落结构主要与土壤 pH ( $R^2=0.935\ 2$ )、总氮含量( $R^2=0.941\ 2$ )极显著正相关。落叶松林冻土土壤细菌群落结构与土壤有机碳( $R^2=0.991\ 9$ )和土壤含水量( $R^2=0.841\ 7$ )显著正相关。

## 3 讨论与结论

随着全球气候变化的影响, 冻土生态系统越来越受到全世界科学家的关注。然而, 土壤微生物作为土壤生态系统中最为重要的组成部分, 对维持土壤元素循环、植物多样性和维持生态系统生产力等方面起着十分重要的作用<sup>[25]</sup>。土壤微生物种类繁多, 结构和组成复杂, 容易受到植物组成、土壤物理结构、土壤化学性质等方面的影响, 进而导致土壤微生物种类、数量及群落结构发生变化<sup>[26-27]</sup>。

多年冻土中的生命受到许多因素制约, 包括低温、氧气限制、渗透压和静水压力等因素。在这些极端条件下, 土壤微生物群落结构组成和多样性会受到特殊生境的影响, 因此这些极端生境微生物具有结构和功能适应性, 能够在极端情况下生存、发育和繁殖。为探讨大兴安岭地区多年冻土土壤微生物的多样性, 本研究采用高通量测序结合生物信息学技术对土壤微生物物种组成、群落结构及多样性等进行了分析, 从微生物生态

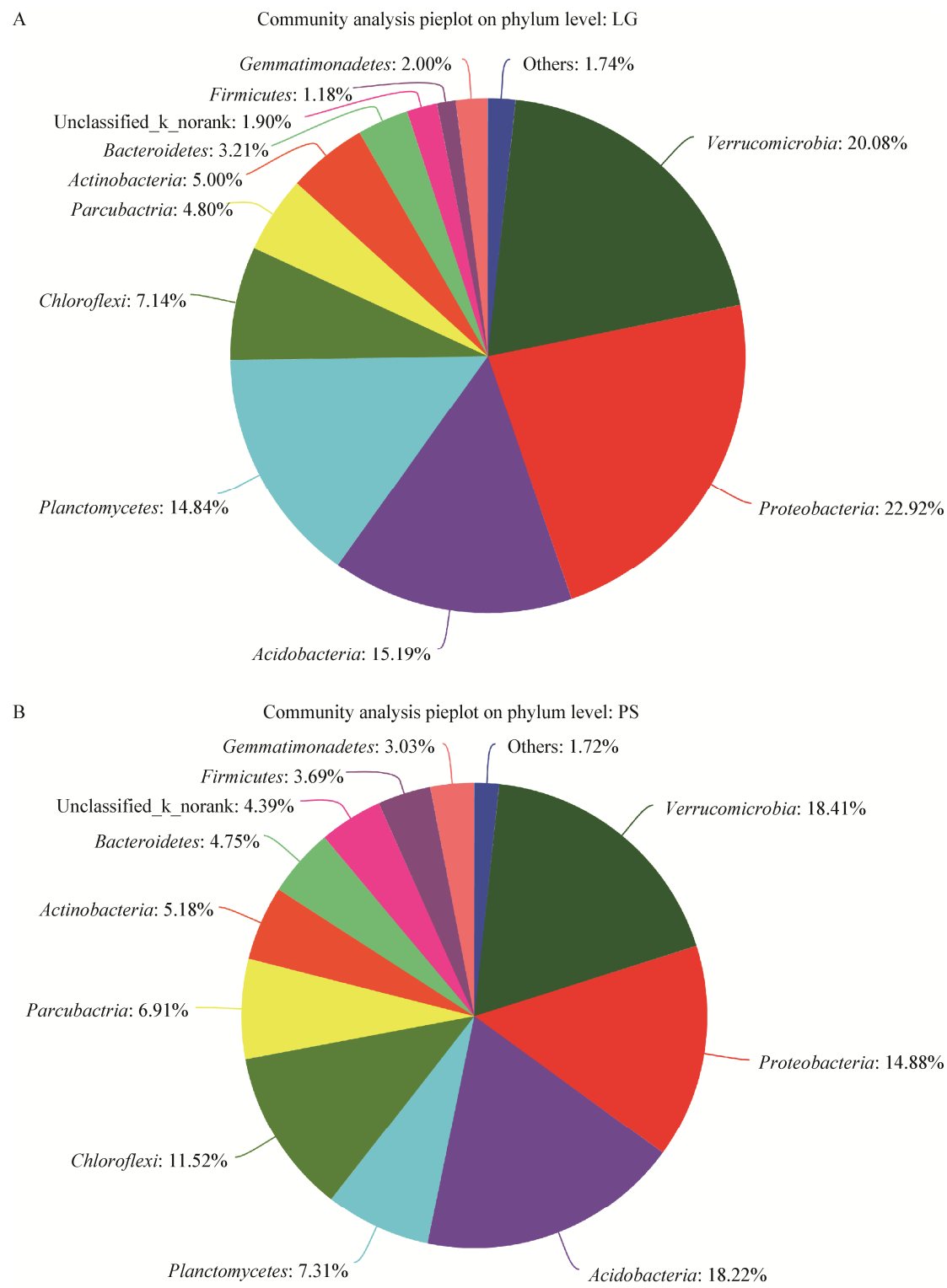


图 2 细菌门水平的群落结构组成  
Figure 2 Composition of bacterial community at phylum level

注: A: 落叶松林; B: 樟子松林.  
Note: A: *Larix gmelinii*; B: *Pinus sylvestris*.



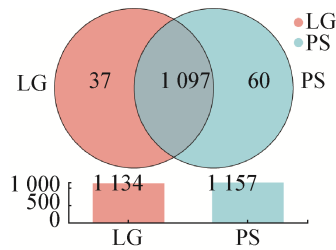


图3 不同林型冻土土壤细菌 OTU 水平韦恩图

Figure 3 Venn diagram of bacterial OTU levels in different frozen soils

注: LG: 落叶松林; PS: 樟子松林.

Note: LG: *Larix gmelinii*; PS: *Pinus sylvestris*.

学的视角深入认识大兴安岭多年冻土区的生物地球化学循环。在 6 个不同冻土土壤样本中, 我们共检测到土壤微生物 33 门 81 纲 135 目 228 科 316 属 532 种。其中, 主要的微生物门类有: *Verrucomicrobia*、*Acidobacteria*、*Proteobacteria*、*Chloroflexi*、*Planctomycetes*、*Parcubacteria*、*Actinobacteria*、*Bacteroidetes*、*Firmicutes*、*Gemmatimonadetes*。目前有一些研究也报道了永久冻土带土壤具有类似的细菌群落组成, 如三江平原<sup>[28]</sup>、漠河<sup>[29]</sup>以及中俄

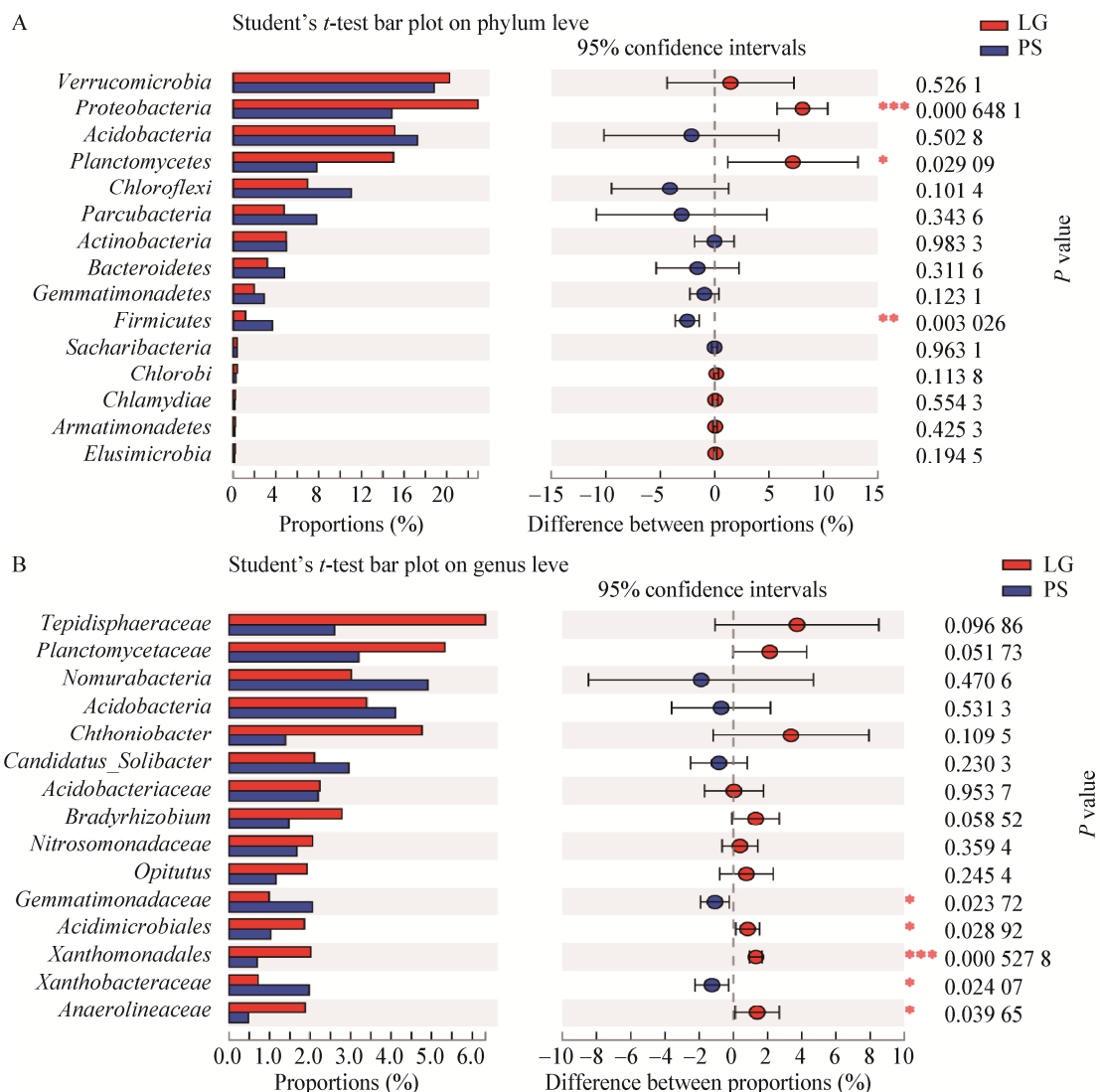


图4 不同林型冻土细菌门和属水平丰度差异

Figure 4 The horizontal abundance of bacteria in different frozen soils

注: A: 门水平; B: 属水平. LG: 落叶松林; PS: 樟子松林. \*:  $P \leq 0.05$ ; \*\*:  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*:  $P \leq 0.001$ .

Note: A: Phylum level; B: Genus level. LG: *Larix gmelinii*; PS: *Pinus sylvestris*. \*:  $P \leq 0.05$ ; \*\*:  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*:  $P \leq 0.001$ .



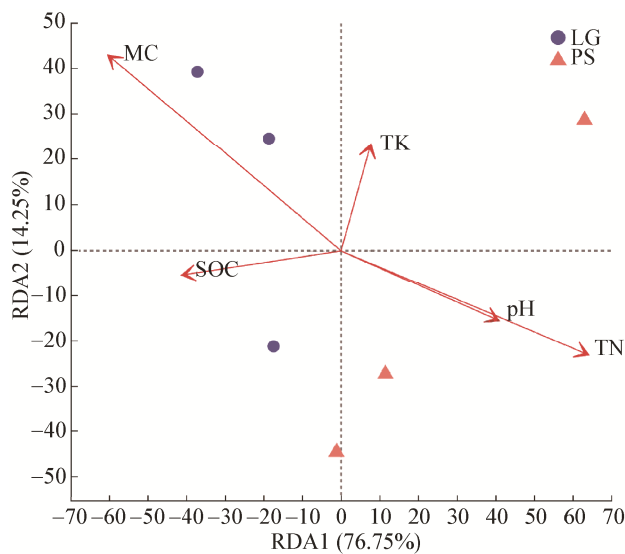


图5 土壤细菌群落结构与土壤理化性质的 RDA 分析  
Figure 5 RDA analysis of soil bacterial community structure and soil physical and chemical properties

注: SOC: 土壤有机碳; MC: 土壤含水量; TN: 土壤全氮; TK: 土壤全钾. LG: 落叶松; PS: 樟子松.

Note: SOC: Soil organic carbon; MC: Moisture content; TN: Total nitrogen; TK: Total potassium. LG: *Larix gmelinii*; PS: *Pinus sylvestris*.

原油管道<sup>[30]</sup>。这些结果也与之前在中国西藏<sup>[31]</sup>和北极<sup>[32]</sup>进行的研究大致相符,表明这些细菌群体已经很好地适应了永久冻土栖息地的极端条件。

疣微菌门是土壤中常见的一类细菌门。该细菌门的微生物与土壤中多糖降解有关,因此是土壤生态系统中碳循环的重要参与者<sup>[33]</sup>。变形菌门是细菌中丰度最大的细菌门之一,其在土壤中广泛分布<sup>[34]</sup>。变形菌门细菌包含多种代谢种类,大多数细菌营兼性或者专性厌氧及异养生活,参与多种土壤生物地球化学循环过程<sup>[34]</sup>。酸杆菌门是土壤中重要的细菌门之一,其参与了土壤中大量关键的物质循环过程<sup>[35]</sup>。酸杆菌门受到土壤理化性质的影响,有研究发现,土壤酸杆菌门与土壤 pH 呈现负相关<sup>[36]</sup>,但是也有研究发现,土壤酸杆菌门与土壤 pH 关系不显著<sup>[37]</sup>,其主要受到土壤有机碳、总氮等其他理化性质的影响<sup>[38]</sup>。本研究落叶松和樟子松林的理化性质除土壤含水量以

外,其他养分含量并未出现显著差异,因此推测由于冻土环境比较稳定,常年处于零下冷冻状态,因此其养分含量差异不大,仅仅由于地上季节原因造成的土壤含水量不同所引起冻土含水量有显著变化,这可能是造成冻土中土壤疣微菌门、变形菌门和酸杆菌门差异的原因。

本研究中,浮霉菌门是相对丰度仅低于疣微菌门、变形菌门和酸杆菌门的一类优势类群。在门水平上,兴安落叶松冻土土壤中的浮霉菌门丰度均显著高于樟子松林冻土。浮霉菌门是一类水生细菌,其中浮霉菌属和小梨形菌属等都是专性好氧菌,这能够说明兴安落叶松冻土由于存在大量的苔藓类植物,土壤氧气含量显著高于樟子松林土壤。以往研究表明,酸杆菌有利于在酸性条件下繁殖,而变形菌在较高的 pH 土壤中占主导地位<sup>[32]</sup>。

本文仅对大兴安岭不同林型永久冻土微生物多样性和群落结构组成进行了比较分析,发现大兴安岭永久冻土中栖息着不同的微生物群落。在全球变暖背景下,多年冻土层转化成为活跃层会导致土壤细菌结构和功能发生复杂的变化,其中细菌会由于土壤融化所导致的生态位变化而发生定向演替,从而改变土壤中碳、氮等关键元素生物地球化学循环。

在冻土微生物组成的研究方面,韩睿等<sup>[39]</sup>对青藏高原冻土细菌群落进行的研究表明,果洛地区冻土土壤细菌群落结构丰富,在极端的环境中依然保持着很高的细菌多样性。王启兰等<sup>[40]</sup>对高寒草甸冻土土壤微生物生物量进行的研究发现,土壤含水量是决定土壤微生物生物量的关键生态因子。本研究发现,兴安落叶松冻土的 Shannon 多样性指数明显高于樟子松林(表 1,图 1)。可能的原因是:(1)兴安落叶松存在苔藓类植物面,积雪融化后更容易进入冻土表层,导致活跃层的土壤含水量上升,因此增加了土壤细菌多样性。(2)由于全球气温升高的影响,多年冻土发生退化,土壤活跃层深度、土壤含水量、土壤温度、植物根系等都发生了变化,导

致了土壤细菌多样性的增加。(3) 由于樟子松缺乏苔藓类植物, 土壤一直处于永冻层阶段, 使得永久冻土一直保持冷冻状态, 细菌多样性不发生变化或者降低。因此, 未来需要进一步揭示大兴安岭地区冻土土壤微生物的群落演替规律以及群落构建机制, 以期预测多年冻土生态系统对未来气候变化的响应提供科学依据。

## REFERENCES

- [1] Liu YY, Li F, Sun QY, et al. Review on the study of soil microorganisms in wetland ecosystems[J]. Chinese Journal of Applied and Environmental Biology, 2013, 19(3): 547-552 (in Chinese)  
刘银银, 李峰, 孙庆业, 等. 湿地生态系统土壤微生物研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(3): 547-552
- [2] Yang JL, Liu XL, Li F, et al. Effects of different vegetation restoration models on soil microbial functional diversity in eco-emigration area of Liupan Mountains[J]. Ecology and Environment Sciences, 2018, 27(12): 2193-2199 (in Chinese)  
杨君珑, 刘小龙, 李帆, 等. 六盘山生态移民迁出区不同植被恢复模式土壤微生物功能多样性研究[J]. 生态环境学报, 2018, 27(12): 2193-2199
- [3] Wu WX, Zhang L, Huang XQ, et al. Difference in soil microbial diversity in artificial grasslands of the Northwest Plateau of Sichuan Province[J]. Acta Prataculturae Sinica, 2019, 28(3): 29-41 (in Chinese)  
伍文宪, 张蕾, 黄小琴, 等. 川西北高寒牧区不同人工草地土壤微生物多样性影响[J]. 草业学报, 2019, 28(3): 29-41
- [4] Han BX, Zhao GY, Zang SY, et al. Soil carbon and nitrogen contents and enzyme activities in forest wetlands in permafrost regions of Daxing'an Mountains[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2018, 46(13): 136-140 (in Chinese)  
韩冰雪, 赵光影, 臧淑英, 等. 大兴安岭多年冻土区森林湿地土壤碳氮含量及酶活性研究[J]. 安徽农业科学, 2018, 46(13): 136-140
- [5] Ren JS. Effects of warming on soil microorganisms in the permafrost Peatland of the Great Hing'an Mountains[D]. Changchun: Doctoral Dissertation of Northeast Institute of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, 2018 (in Chinese)  
任久生. 增温对大兴安岭多年冻土区泥炭地土壤微生物的影响研究[D]. 长春: 中国科学院大学(中国科学院东北地理与农业生态研究所)博士学位论文, 2018
- [6] Li HQ, Xu HY, Ma XL, et al. The seasonal dynamics of soil microbial biomass and enzyme activities in permafrost area and seasonally frozen ground area of the Maxian Mountain[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2017, 39(2): 421-428 (in Chinese)  
李红琴, 徐海燕, 马小亮, 等. 马衔山多年冻土与季节冻土区土壤微生物量及酶活性的季节动态[J]. 冰川冻土, 2017, 39(2): 421-428
- [7] Zhang BG, Liu XJ, Liu M, et al. Characteristics of culturable bacteria diversity among different permafrost types in the upstream regions of the Shule River basin, Qinghai-Tibet Plateau[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2018, 40(1): 156-165 (in Chinese)  
张宝贵, 刘晓娇, 刘敏, 等. 青藏高原疏勒河上游不同类型冻土可培养细菌多样性特征研究[J]. 冰川冻土, 2018, 40(1): 156-165
- [8] Chen YL, Deng Y, Ding JZ, et al. Distinct microbial communities in the active and permafrost layers on the Tibetan Plateau[J]. Molecular Ecology, 2017, 26(23): 6608-6620
- [9] Li M, Feng HY, Yang ZF, et al. Diversity of culturable bacteria in the typical frozen soil areas in China[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2011, 51(12): 1595-1604 (in Chinese)  
李森, 冯海燕, 杨忠芳, 等. 中国典型冻土区土壤可培养细菌多样性[J]. 微生物学报, 2011, 51(12): 1595-1604
- [10] Jiang PK, Zhou GM. Changes in soil microbial biomass carbon and nitrogen under eroded red soil by vegetation recovery[J]. Journal of Soil and Water Conservation, 2003, 17(1): 112-114, 127 (in Chinese)  
姜培坤, 周国模. 侵蚀型红壤植被恢复后土壤微生物量碳、氮的演变[J]. 水土保持学报, 2003, 17(1): 112-114, 127
- [11] Wang L, Dong XP, Zhang W, et al. Quantitative characters of microorganisms in permafrost at different depths and their relation to soil physicochemical properties[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2011, 33(2): 436-441 (in Chinese)  
王鹭, 董小培, 张威, 等. 不同深度冻土微生物数量特征及其与土壤理化性质的关系[J]. 冰川冻土, 2011, 33(2): 436-441
- [12] Sun HZ, Ma DL, Zang SY, et al. Characteristics of soil microbial community structure under different forest types of permafrost regions in the Greater Khingan Mountains[J]. Journal of Glaciology and Geocryology, 2018, 40(5):

- 1028-1036 (in Chinese)
- 孙弘哲, 马大龙, 臧淑英, 等. 大兴安岭多年冻土区不同林型土壤微生物群落特征[J]. 冰川冻土, 2018, 40(5): 1028-1036
- [13] Kong Y, Wang CH. Responses and changes in the permafrost and snow water equivalent in the northern hemisphere under a scenario of 1.5 °C warming[J]. *Climate Change Research*, 2017, 13(4): 316-326 (in Chinese)
- 孔莹, 王澄海. 全球升温 1.5 °C 时北半球多年冻土及雪水当量的响应及其变化[J]. 气候变化研究进展, 2017, 13(4): 316-326
- [14] Rafiq M, Mishra A. Investigating changes in Himalayan glacier in warming environment: a case study of Kolahoi glacier[J]. *Environmental Earth Sciences*, 2016, 75(23): 1469
- [15] Song CQ, Wu JS, Lu YH, et al. Advances of soil microbiology in the last decade in China[J]. *Advances in Earth Science*, 2013, 28(10): 1087-1105 (in Chinese)
- 宋长青, 吴金水, 陆雅海, 等. 中国土壤微生物学研究 10 年回顾[J]. 地球科学进展, 2013, 28(10): 1087-1105
- [16] Zhou M, Yu XX, Feng L. Analysis on the driving force of the permafrost degeneration in Daxinganling[J]. *Journal of Arid Land Resources & Environment*, 2002, 16(4): 44-47 (in Chinese)
- 周梅, 余新晓, 冯林. 大兴安岭林区多年冻土退化的驱动力分析[J]. 干旱区资源与环境, 2002, 16(4): 44-47
- [17] Feng HY, Ma XJ, Zhang GS, et al. Culturing and counting the microbial cells in permafrost on the Tibetan Plateau[J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2004, 26(2): 182-187 (in Chinese)
- 冯虎元, 马晓军, 章高森, 等. 青藏高原多年冻土微生物的培养和计数[J]. 冰川冻土, 2004, 26(2): 182-187
- [18] Cao YS, Fu SL, Zou XM, et al. Soil microbial community composition under Eucalyptus plantations of different age in subtropical China[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2010, 46(2): 128-135
- [19] Chu HY, Fierer N, Fierer CL, et al. Soil bacterial diversity in the Arctic is not fundamentally different from that found in other biomes[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(11): 2998-3006
- [20] Wear EK, Wilbanks EG, Nelson CE, et al. Primer selection impacts specific population abundances but not community dynamics in a monthly time-series 16S rRNA gene amplicon analysis of coastal marine bacterioplankton[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(8): 2709-2726
- [21] Hu WG, Zhang Q, Li DY, et al. Diversity and community structure of fungi through a permafrost core profile from the Qinghai-Tibet Plateau of China[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2014, 54(12): 1331-1341
- [22] Kim HM, Jung JY, Yergeau E, et al. Bacterial community structure and soil properties of a subarctic tundra soil in Council, Alaska[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 89(2): 465-475
- [23] Lauber CL, Hamady M, Knight R, et al. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(15): 5111-5120
- [24] Gibson J, Shokralla S, Porter TM, et al. Simultaneous assessment of the macrobiome and microbiome in a bulk sample of tropical arthropods through DNA metasytematics[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(22): 8007-8012
- [25] Cutler NA, Chaput DL, van der Gast CJ. Long-term changes in soil microbial communities during primary succession[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 69: 359-370
- [26] Wang QK, Wang YP, Wang SL, et al. Fresh carbon and nitrogen inputs alter organic carbon mineralization and microbial community in forest deep soil layers[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 72: 145-151
- [27] Muhammad N, Dai ZM, Xiao KC, et al. Changes in microbial community structure due to biochars generated from different feedstocks and their relationships with soil chemical[J]. *Geoderma*, 2014, 226-227: 270-278
- [28] Zhou X, Zhang ZQ, Tian L, et al. Microbial communities in peatlands along a chronosequence on the Sanjiang Plain, China[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 9567
- [29] Dan D, Zhang DP, Liu WC, et al. Diversity analysis of bacterial community from permafrost soil of Mo-he in China[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2014, 54: 111-113
- [30] Yang SZ, Wen X, Jin HJ, et al. Pyrosequencing investigation into the bacterial community in permafrost soils along the China-Russia Crude Oil Pipeline (CRCOP)[J]. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52730
- [31] Guan XY, Wang JF, Zhao H, et al. Soil bacterial communities shaped by geochemical factors and land use in a less-explored area, Tibetan Plateau[J]. *BMC Genomics*, 2013, 14: 820
- [32] Wallenstein MD, McMahon S, Schimel J. Bacterial and fungal community structure in Arctic tundra tussock and shrub soils[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(2): 428-435
- [33] Nixon SL, Daly RA, Borton MA, et al. Genome-resolved metagenomics extends the environmental distribution of the verrucomicrobia phylum to the deep terrestrial subsurface[J]. *mSphere*, 2019, 4(6): e00613-19
- [34] Barns SM, Takala SL, Kuske CR. Wide distribution and

- diversity of members of the bacterial kingdom *Acidobacterium* in the environment[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(4): 1731-1737
- [35] Hugenholtz P, Goebel BM, Pace NR. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity[J]. *Journal of Bacteriology*, 1998, 180(18): 4765-4774
- [36] Jones RT, Robeson MS, Lauber CL, et al. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses[J]. *The ISME Journal*, 2009, 3(4): 442-453
- [37] Männistö MK, Tiirola M, Häggblom MM, et al. Bacterial communities in Arctic fields of Finnish Lapland are stable but highly pH-dependent[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(2): 452-465
- [38] Navarrete AA, Kuramae EE, de Hollander M, et al. Acidobacterial community responses to agricultural management of soybean in Amazon forest soils[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 83(3): 607-621
- [39] Han R, Zhu DR, Chen LS, et al. Diversity of bacterial community in permafrost at Guoluo area[J]. *Journal of Qinghai University*, 2016, 34(4): 93-97 (in Chinese)  
韩睿, 朱德锐, 陈来生, 等. 果洛地区冻土细菌群落的多  
样性分析[J]. *青海大学学报*, 2016, 34(4): 93-97
- [40] Wang QL, Cao GM, Wang CT. Quantitative characters of soil microbes and microbial biomass under different vegetations in alpine meadow[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2007, 26(7): 1002-1008 (in Chinese)  
王启兰, 曹广民, 王长庭. 高寒草甸不同植被土壤微生物  
数量及微生物生物量的特征[J]. *生态学杂志*, 2007, 26(7):  
1002-1008

## 征 稿 简 则

### 1 刊物简介与刊登内容

《微生物学通报》是由中国科学院微生物研究所和中国微生物学会主办, 以微生物学应用基础研究及技术创新与应用为主的综合性学术期刊。本刊为月刊, 中文核心期刊, 中国科技核心期刊, CSCD 核心期刊, 曾获国家优秀科技期刊三等奖, 中国科学院优秀科技期刊三等奖, 并在新闻出版署设立的“中国期刊方阵”中被列为“双效”期刊。从 2012 年至今, 本刊以国内“微生物、病毒学类期刊”综合评价总分第一而蝉联“百种中国杰出学术期刊奖”, 并入选 300 种“中国精品科技期刊”, 成为“中国精品科技期刊顶尖学术论文(F5000)”项目来源期刊。

本刊刊登内容包括: 工业、海洋、环境、基础、农业、食品、兽医、水生、药物、医学微生物学和微生物蛋白质组学、功能基因组、工程与药物等领域的最新研究成果、产业化新技术和新进展, 以及微生物学教学研究改革等。设置的栏目有: 研究报告、专论与综述、生物实验室、高校教改纵横、专栏等。

### 2 投稿方式

投稿时请登录我刊主页 <http://journals.im.ac.cn/WSWXTBCN>, 点击作者投稿区, 第一次投稿请先注册, 获得用户名和密码, 然后依照提示提交稿件, 详见主页“投稿须知”。

### 3 写作要求

3.1 来稿要求论点明确, 数据可靠, 简明通顺, 重点突出。

3.2 英文摘要写作注意事项: (1) 建议使用第一人称, 以此可区分研究结果是引用文献还是作者所得; (2) 建议用主动语态, 被动语态表达拖拉模糊, 尽量不用, 这样可以避免长句, 以求简单清晰; (3) 建议使用过去时态, 要求语法正确, 句子通顺; (4) 英文摘要的内容应与中文摘要一致, 但可比中文摘要更详尽, 写完后务必请英文较好且专业知识强的专家审阅定稿后再投稿; (5) 摘要中不要使用缩写语, 除非是人人皆知的, 如: DNA、ATP 等; (6) 在英文摘要中不要使用中文字体标点符号。

3.3 关键词: 应明确、具体, 一些模糊、笼统的词语最好不用, 如“基因”“表达”等。

3.4 脚注(正文首页下方):

Foundation items:

\*Corresponding author: Tel: 86-; E-mail:

Received: 01-01-20xx; Accepted: 01-03-20xx; Published online: 31-03-20xx

基金项目: 基金项目(编号)

\*通信作者: Tel: ; E-mail:

收稿日期: 20xx-01-01; 接受日期: 20xx-03-01; 网络首发日期: 20xx-03-31

(下转 p.3074)