



山西运城盐湖土壤沉积物细菌多样性及影响因素分析

郭浩然¹, 王帆¹, 田连祥², 王传旭², 李文均^{3,4}, 房保柱⁴, 李新^{2*}, 王卓^{2*}

1 山西农业大学食品科学与工程学院, 山西 太谷 030801

2 运城学院 运城盐湖生态保护与资源利用厅市共建山西省重点实验室, 山西 运城 044000

3 中山大学生命科学学院 有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 广东 广州 510275

4 中国科学院新疆生态与地理研究所 荒漠与绿洲生态国家重点实验室, 新疆 乌鲁木齐 830011

郭浩然, 王帆, 田连祥, 王传旭, 李文均, 房保柱, 李新, 王卓. 山西运城盐湖土壤沉积物细菌多样性及影响因素分析[J]. 微生物学报, 2024, 64(6): 1891-1905.

GUO Haoran, WANG Fan, TIAN Lianxiang, WANG Chuanxu, LI Wenjun, FANG Baozhu, LI Xin, WANG Zhuo. Bacterial diversity and influencing factors in soil sediments of Yuncheng Salt Lake, Shanxi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(6): 1891-1905.

摘要: 地处山西省西南部的运城盐湖历史悠久, 气候特征与地理环境独特, 蕴藏着丰富的微生物资源, 研究其土壤沉积物生态系统对了解盐碱地土壤细菌多样性及其功能具有重要意义。【目的】探究运城盐湖土壤与沉积物中细菌的多样性, 分析其影响因素, 为盐碱地土壤生态系统的可持续管理和纯培养物挖掘提供科学依据与参考。【方法】对运城盐湖 6 个采样点的 18 个样品进行土壤理化分析, 结合 16S rRNA 基因的扩增子高通量测序, 分析环境因素对细菌多样性的影响。

【结果】假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)和芽孢杆菌门(*Bacillota*)为运城盐湖土壤微生物的优势类群, 多样性和群落组成分析显示不同采样点间的微生物存在明显差异。典型相关分析(canonical correlation analysis, CCA)表明, 总溶解固体(total dissolved solids, TDS)、总氮(total nitrogen, TN)、总碳(total carbon, TC)和 SO_4^{2-} 对土壤微生物多样性的影响最大, 其次为 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、土壤有效磷(available phosphorous, A-P)和 pH, HCO_3^- 、硝态氮(nitrate nitrogen, NO_3^- -N)、氨态氮(ammonia nitrogen, NH_4^+ -N)、 K^+ 和 Mg^{2+} 的影响较小。【结论】运城盐湖土壤微生物拥有较

资助项目: 国家自然科学基金(32300111); 山西省科技创新人才团队(202204051001035); 山西省基础研究计划(202303021211114); 山西省运城盐湖保护利用研究院“揭榜挂帅”项目(YHYJ-2023001)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32300111), the Special Fund for Science and Technology Innovation Teams of Shanxi Province (202204051001035), the Fundamental Research Program of Shanxi Province (202303021211114), and the “Listed and Commanded” Project from Yuncheng Salt Lake Protection and Utilization Research Institute of Shanxi Province (YHYJ-2023001).

*Corresponding authors. E-mail: LI Xin, lixin-eva@163.com; WANG Zhuo, wangzhuojs@ycu.edu.cn

Received: 2023-12-11; Accepted: 2024-02-02; Published online: 2024-02-08

高的多样性，与环境因子关系密切。本研究完善了运城盐湖土壤细菌资源的生物信息，为盐湖细菌资源的挖掘和研究提供了理论依据。

关键词：运城盐湖；土壤沉积物；高通量测序；细菌多样性；土壤理化

Bacterial diversity and influencing factors in soil sediments of Yuncheng Salt Lake, Shanxi

GUO Haoran¹, WANG Fan¹, TIAN Lianxiang², WANG Chuanxu², LI Wenjun^{3,4}, FANG Baozhu⁴, LI Xin^{2*}, WANG Zhuo^{2*}

1 College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi, China

2 Shanxi Key Laboratory of Yuncheng Salt Lake Ecological Protection and Resource Utilization, Yuncheng University, Yuncheng 044000, Shanxi, China

3 State Key Laboratory of Biocontrol, School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, Guangdong, China

4 State Key Laboratory of Desert and Oasis Ecology, Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, Xinjiang, China

Abstract: Yuncheng Salt Lake, located in the southwest of Shanxi Province, has a long history and unique climatic and geographical features, harboring rich microbial resources. The soil ecosystem is of great significance for understanding the diversity and functions of bacteria in the saline-alkali soil. **[Objective]** To explore the diversity of bacteria in the soil and sediment of Yuncheng Salt Lake, analyze its influencing factors, and provide a scientific basis and reference for the sustainable management of saline-alkali soil ecosystems and the mining of pure cultures. **[Methods]** Eighteen soil samples were collected from six sampling sites of Yuncheng Salt Lake. We measured the soil physicochemical properties and carried out high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene to analyze the impact of environmental factors on bacterial diversity. **[Results]** *Pseudomonadota*, *Bacteroidota*, and *Bacillota* were the dominant bacteria in the soil of Yuncheng Salt Lake. The bacterial diversity and community composition showed significant differences among different sampling sites. The results of canonical correlation analysis indicated that total dissolved solids (TDS), total nitrogen (TN), total carbon (TC), and SO_4^{2-} had the greatest impacts on soil microbial diversity, followed by Na^+ , Ca^{2+} , Cl^- , available phosphorous (A-P), and pH. HCO_3^- , nitrate nitrogen (NO_3^- -N), ammonia nitrogen (NH_4^+ -N), K^+ , and Mg^{2+} had mild impacts on the diversity. **[Conclusion]** The soil microorganisms of Yuncheng Salt Lake had high diversity which was closely related to environmental factors. This study provides comprehensive biological information on the bacterial resources in the soil of Yuncheng Salt Lake, offering a theoretical basis for the exploration and research of bacterial resources in this lake.

Keywords: Yuncheng Salt Lake; soil sediment; high-throughput sequencing; bacterial diversity; soil physicochemical properties

土壤微生物的群落结构与土壤环境紧密相关,是生态平衡系统重要的评价指标之一。不同的土壤环境会形成结构不同的微生物群落。同一地区内,不同类型的土壤中分布的微生物数量和种类也会有所不同。地处山西省西南部、总面积约为 132 hm² 的运城盐湖,是由中条山怀抱、黄河环绕的内陆湖泊,位于 34°35′–35°49′N,属暖温带大陆性季风气候,与美国犹他州大盐湖、俄罗斯西伯利亚库楚克盐湖并称为世界三大硫酸钠型内陆湖泊^[1]。运城盐湖中矿物质含量非常丰富,蕴含 7 种常量元素和 16 种微量元素,其周围土壤盐碱化严重,周围植被稀疏,附近植物多为藻类、芦苇等多年生草本植物^[2],是当地化工和产盐基地^[3]。特殊的地理气候特征和盐湖演化机制使运城盐湖形成了独特的生态体系,其中可能孕育与传统生境迥异的功能微生物类群。

作为一种典型的极端环境,学者们对盐湖的探索从未停止。赵婉雨等^[4]对柴达木盆地达布逊盐湖微生物的多样性进行了报道,结果表明放线菌门(*Actinomycetota*)为达布逊盐湖的主要优势类群。李璐等^[5]研究发现假单胞菌门(*Pseudomonadota*)为巴丹吉林沙漠盐湖的优势类群。Li 等^[6]研究了青藏高原盐湖微生物的组成,并对其空间格局和共存网络进行了研究。国内盐湖的研究多集中于新疆、青海、内蒙古等西部地区,对于我国中部地区的研究还未形成体系^[7-9]。运城盐湖作为一个典型的盐碱地生态系统,其土壤微生物资源尚未得到深入和系统的

研究,与其相关的研究主要集中在人类环境、耐盐植物和食盐生产等方面,但关于该盐湖沉积物的微生物多样性的研究仅有少量报道,如刘德容等^[10]于 1998 年对运城盐湖放线菌资源进行了勘探,共分离到中、高温嗜碱或耐碱放线菌 120 株。李新等^[11-12]分离并鉴定了两株中度嗜盐菌,并对其酶学特性进行了研究。Zeng 等^[13]对运城盐湖微生物多样性进行了报道,结果表明耐盐微生物的优势种和丰度随着距离盐湖的距离而逐渐变化。目前,基于土壤理化因子对山西运城盐湖土壤沉积物微生物多样性及群落结构影响鲜有报道。

微生物作为土壤生态系统的重要组成部分,其多样性和群落结构直接影响着整个生态系统的功能和稳定性。人们对微生物群落结构多样性的研究多运用传统培养的方法,相对于传统培养的研究方法而言,生物信息学分析能更好地揭示微生物群落之间的关系^[14]。本研究通过对运城盐湖不同地点土壤样品进行 16S rRNA 基因高通量测序,结合土壤理化因子数据,综合分析运城盐湖土壤细菌的群落结构和影响因素。研究结果将为未来开展运城盐湖土壤微生物资源开发、分离培养以及生态环境管理提供一定的理论基础与参考依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究于 2023 年 5 月在山西省运城市运城盐湖使用抓斗取样器采集样品(表 1),每个采样点各采

表 1 运城盐湖样品采集信息

Table 1 Information on sample collections from Yuncheng Salt Lake

Sample	Sample description	pH	GPS coordinates
YCT1	Black sediment mix mat	7.15	35°07′29.30″N, 111°55′46.39″E
YCT2	Black sediment mix mat	7.80	35°07′30.95″N, 111°55′47.57″E
YCT3	Alkaline sediment	8.30	35°07′30.95″N, 111°55′47.57″E
YCT4	Black sediment mix mat	8.15	35°01′48.84″N, 111°03′00.14″E
YCT5	Alkaline sediment	8.10	34°59′54.95″N, 111°00′04.26″E
YCT6	Black sediment mix mat	8.15	35°07′30.95″N, 111°55′47.57″E

集 3 个生物学重复。将每份土样分为 2 个部分, 一部分样品风干, 过 0.25 mm 孔径网筛后用于分析土壤理化性质; 另一部分保存于 -80°C 冰箱用于土壤基因组的提取。

1.2 土壤理化分析

土壤 pH 采用酸度计测定, 以去除 CO_2 的纯水为浸提剂, 水土比 2.5:1^[15]; 矿化度总溶解固体 (total dissolved solids, TDS)、 HCO_3^- 、 Cl^- 、 CO_3^{2-} 与 SO_4^{2-} 参考 Peng 等^[16]的方法测定; 总氮 (total nitrogen, TN) 采用半微量凯氏定氮法测定; 总碳 (total carbon, TC) 使用元素分析仪 (Elementar 公司) 进行测定; Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 Na^+ 采用火焰光度计法测定; 硝态氮 (nitrate nitrogen, NO_3^- -N) 和铵态氮 (ammonium nitrogen, NH_4^+ -N) 使用全自动连续流动分析仪 (SEAL Analytical 公司) 测定。全钾 (total potassium, TK)、有效磷 (available phosphorus, A-P) 参考土壤农化分析^[17]测定。

1.3 土壤 DNA 提取、PCR 扩增和高通量 16S rRNA 基因测序

使用 TGuide S96 磁珠法土壤 DNA 试剂盒 [天根生化科技 (北京) 有限公司], 从运城盐湖土壤样品中提取基因组 DNA。用琼脂糖凝胶电泳检测提取 DNA 的质量, 并用分光光度法测定 DNA 的浓度和纯度。用引物对 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGTWTCTAAT-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因的 V4 高变区^[18]。PCR 的反应体系 (20 μL): DNA 模板 10–100 ng, 正、反向引物 (10 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.6 μL , KOD FX Neo 缓冲液 10 μL , dNTPs (2 mmol/L) 4 μL , KOD FX Neo 0.4 μL , ddH₂O 补足 20 μL 。PCR 反应条件: 95°C 10 min; 95°C 30 s, 52°C 30 s, 72°C 60 s, 32 次循环; 72°C 10 min。扩增产物用 Omega DNA 纯化试剂盒 (Omega Bio-Tek 公司) 进行纯化。在 Illumina NovaSeq 6000 上对扩增子文库进行测序 (2 \times 250)。

1.4 生物信息学分析

测序平台下机的数据经拼接、质控和嵌合体过滤, 得到有效数据用于后续分析。通过 DADA2^[19] 输出扩增子序列变体 (amplicon sequence variants, ASV), 以 0.005% 作为阈值过滤 ASVs。基于 QIIME 2^[20] 中的朴素贝叶斯分类器, 使用 SILVA 数据库^[21] (release 138.1) 对 ASVs 进行分类标注, 置信阈值为 70%。本研究所获得的物种分类学门水平信息全部按照最新修订的规则进行命名^[22]。 α 多样性和 β 多样性分别通过 QIIME 2 和 R 软件计算和显示。线性判别分析效应大小 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 分析使用 BMKCloud (<https://www.biocloud.net>) 进行, 线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 的对数分数为 3.5 作为判别特征的阈值。将测得的土壤理化数据与样品细菌多样性进行典型相关分析 (canonical correlation analysis, CCA) 分析。测序原始数据已上传 NCBI SRA 数据库 (登录号为 SRX22844076–SRX22844093)。

2 结果与分析

2.1 样品理化分析

盐湖沉积物离子成分检测结果如表 2 所示。YCT1–YCT6 的 pH 在 7.15–8.30 范围内, YCT1 最低, YCT3 最高; YCT2 的 TDS 最高, 为 104.72 g/kg, YCT6 最低, 为 20.61 g/kg, 其余样品在 46.33–76.75 g/kg 之间。YCT6 的 TN 含量最高, 达 1.40 g/kg, 显著高于 YCT3 (0.65 g/kg), 其余样品在 1.00 g/kg 左右。YCT1–4 的 TC 含量无显著差异 (17.68–20.29 g/kg), YCT5 为 26.04 g/kg, 显著低于 YCT6, 37.26 g/kg。YCT2 的 NH_4^+ -N 含量最高, NO_3^- -N 最低, 分别为 0.019 26 g/kg 和 0.000 67 g/kg。YCT5 的 NO_3^- -N 最高, YCT4 的 NH_4^+ -N 最低, 分别为 0.001 46 g/kg 和 0.014 67 g/kg。

表 2 运城盐湖土壤样品理化因子组成

Table 2 Physical and chemical properties of soil samples from Yuncheng Salt Lake

Sample	TK	NO ₃ ⁻ -N	NH ₄ ⁺ -N	SO ₄ ²⁻	CO ₃ ²⁻	HCO ₃ ⁻	Cl ⁻	A-P	Ca ²⁺	Mg ²⁺	TN	TC	Na ⁺	TDS
YCT1	13.99	0.000 89	0.016 56	11.20	ND	0.03	4.41	0.008 5	19.34	39.05	0.94	17.68	9.88	55.47
YCT2	19.36	0.000 67	0.019 26	10.63	ND	0.04	4.51	0.006 1	28.72	39.53	1.00	18.42	22.57	104.72
YCT3	12.33	0.000 69	0.018 96	11.35	ND	0.03	4.43	0.007 4	35.46	24.29	0.65	18.15	14.03	57.24
YCT4	9.52	0.001 30	0.014 67	10.88	ND	0.02	4.41	0.007 4	52.19	31.45	1.09	20.29	9.95	76.75
YCT5	15.58	0.001 46	0.017 00	11.99	ND	0.02	4.32	0.012 0	46.22	43.46	0.96	26.04	15.45	46.33
YCT6	13.09	0.001 30	0.016 32	12.20	ND	0.03	4.48	0.007 7	19.58	37.62	1.40	37.26	7.17	20.61

各指标单位均为 g/kg (干重); ND 为未检测出

All the units are in g/(kg-dry weight). ND: Not detected.

在 4 种阳离子中, YCT4 的 Ca²⁺最高, YCT5 的 Mg²⁺最高, YCT2 的 Na⁺与 TK 最高。总体而言, 6 组样品的 4 种阴离子及有效磷含量无显著差异, 但 CO₃²⁻未检测出。

2.2 多样性分析

通过 16S rRNA 基因的扩增子高通量测序, 对运城盐湖 6 组土壤样品(YCT1–YCT6)细菌群落结构进行分析, 基于 Illumina NovaSeq 6000 测序平台, 利用双末端测序(paired-end)的方法, 构建小片段文库。18 个样品测序共获得 1 362 827 对 reads, 双端 reads 质控、拼接后共产生 1 273 622 条高质量 reads, 每个样品至少产生 4 885 条 reads, 平均产生 70 757 条 reads。

运城盐湖土壤微生物 α 多样性指数如图 1 所示。6 组样品的 Simpson 指数无显著性差异, 但 ACE 与 Chao1 指数各有差异, 其中 YCT6 的 ACE 指数最高且显著高于 YCT3、YCT4 和 YCT5。YCT5 的 ACE 指数与 Chao1 指数均为最低。就 ACE 和 Chao1 指数而言, YCT6 的微生物种类最多, 丰富度最高。Shannon 指数显示出 YCT6 和 YCT4 的丰富度存在显著性差异($P < 0.05$), 表明 YCT6 的群落更加丰富且均匀。为了解各样品之间细菌群落组成的相似性和差异性, 本研究进一步对 6 组样品土壤细菌群落进行了 β 多

样性分析。主成分分析(principal component analysis, PCA)显示(图 2), YCT1、YCT3 和 YCT5 有部分交叉, YCT2、YCT4 和 YCT6 土壤细菌群落之间相互独立, 各样品细菌菌群存在显著差异。

2.3 样品间细菌群落组成

本研究对前期获得的 3 363 个 ASVs 所对应的序列进行分类学统计得出, 6 组样品的微生物主要分布在 51 门 102 纲 247 目 484 科 933 属。YCT1–6 与门水平丰度 Top 10 的物种组成关系如图 3 所示, 假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)和芽孢杆菌门(*Bacillota*)为 6 组样品在门水平上的优势类群, 其相对占比分别为 33.24%、15.40% 和 12.65%。脱硫杆状菌门(*Desulfobacterota*)、未分类的细菌、放线菌门(*Actinomycetota*)和盐杆菌门(*Halobacterota*)的占比依次为 7.95%、5.36%、3.45%和 3.42%。

图 4A 展示了各样品门水平群落相对丰度组成, YCT3 中假单胞菌门(*Pseudomonadota*)相对丰度最高(43.64%), 而 YCT4 中占比最低(22.33%)。拟杆菌门(*Bacteroidota*)在 6 组样品中占比相似, 介于 12.17%–17.39%之间。YCT5 中芽孢杆菌门(*Bacillota*)占比最高(21.63%), 而 YCT4 仅占 5.81%。此外, YCT4、YCT6 除了以上 3 门外,

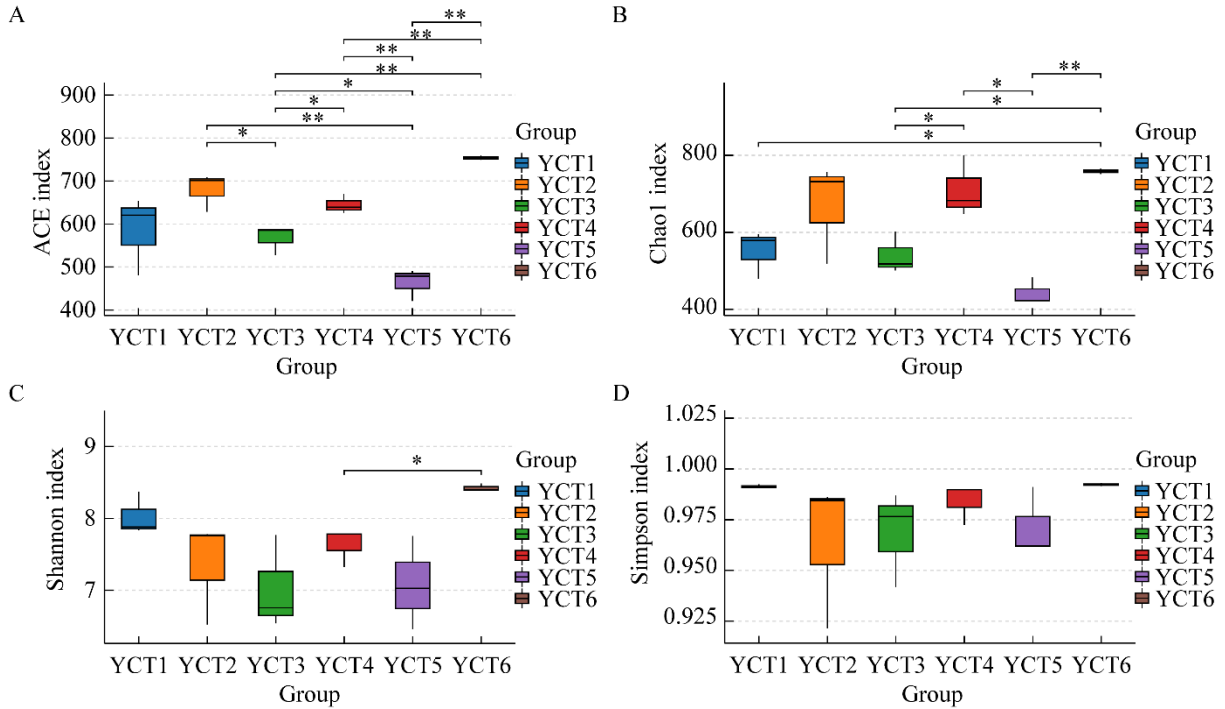


图 1 运城盐湖土壤样品群落 α 多样性指数

Figure 1 Alpha diversity index of soil bacterial in habitats of the Yuncheng Salt Lake. A: ACE index. B: Chao1 index. C: Shannon index. D: Simpson index. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$.

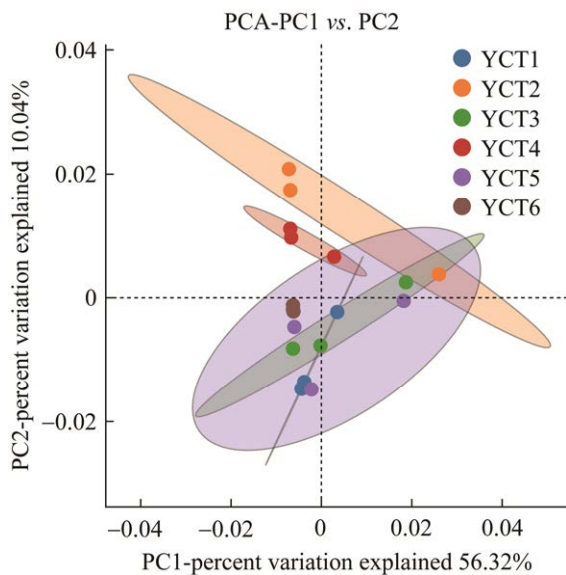


图 2 运城盐湖土壤样品群落 β 多样性分析

Figure 2 Analysis of soil bacterial beta diversity on the Yuncheng Salt Lake. PCA was based on OTU level, ellipses represent 95% confidence intervals ($n=3$).

脱硫杆菌门(*Desulfobacterota*)的占比也分别达到了 15.42%和 25.58%。盐杆菌门(*Halobacterota*)和放线菌门(*Actinomycetota*)的整体占比较低,但 YCT3 中的盐杆菌门(*Halobacterota*)显著高于其他 5 组样品,达到 11.09%, YCT1 与 YCT5 放线菌门(*Actinomycetota*)的丰度相似,分别为 5.48%和 5.65%,其他 4 组样品放线菌门(*Actinomycetota*)相对丰富占比均低于 3.00%。盐厌氧菌门(*Halanaerobiaeota*)在 YCT4 中的相对丰度达到了 13.14%,但在其他样品中相对占比均小于 1.00%。

在属水平的微生物组成分析中(图 4B), 6 组样品展现出明显的差异。无色杆菌属(*Achromobacter*)为 YCT1-5 中的主导类群,在 YCT3 中达到相对占比的最高点(10.29%),而在 YCT1 中最低(2.58%),然而在 YCT6 中几乎无法检测到(0.02%)。嗜盐厌氧菌属(*Halanaerobium*)在 YCT4 中表现为优势类群,其余样品中的相对

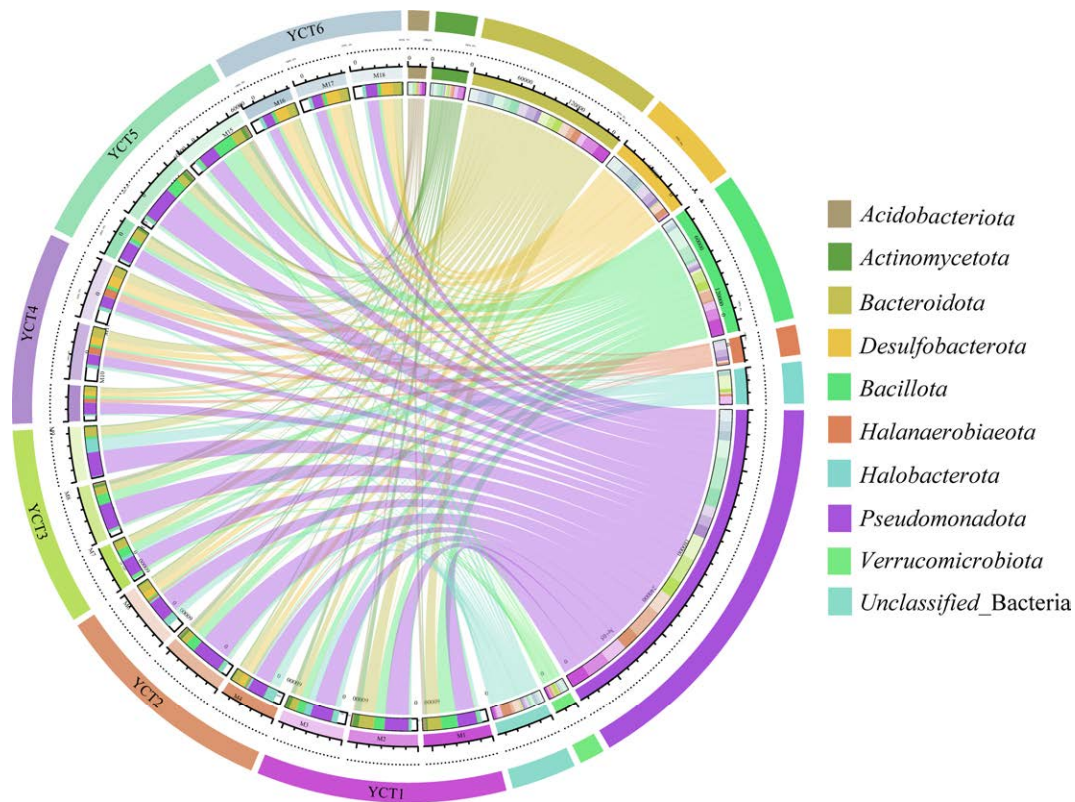


图3 运城盐湖土壤样品与门水平丰度 Top 10 细菌的 Circos 样品-物种关系图

Figure 3 The Circos plot illustrates the relationship between the top 10 bacterial taxa at the phylum level and the samples within each group.

丰富度均低于 2.00%。海源菌属(*Idiomarina*)和盐红菌属(*Halorubrum*)在 YCT3 中相对丰度分别达到了 7.15%和 6.65%，为优势类群。脱硫棒状菌属(*Desulfotignum*)在 YCT6 中的相对丰度达到 8.15%。这些结果表明，不同样品之间存在显著的微生物组成差异。

2.4 样品间细菌分布特征

本研究对不同生境的微生物群落进行了 LefSe 分析，由分支图(图 5)可知，6 组土壤微生物共有 106 个不同分类水平上的细菌群落存在显著差异，其中 YCT1 有 7 个生物标记物，如门水平的芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)和浮霉菌门(*Planctomycetota*)，目水平的鞘氨醇单胞菌目(*Sphingomonadales*)和微球菌目(*Micrococcales*)，

以及科水平的一些类群。YCT2 中共有 12 个生物标记物，主要集中在属水平，如玫瑰变色菌属(*Roseovarius*)、脱硫盐单胞菌属(*Desulfosalsimonas*)、地热杆菌属(*Geothermobacter*)和解脲杆菌属(*Nitriliruptor*)等，科水平上的地杆菌科(*Geobacteraceae*)以及一些未分类的物种。YCT3 只有属水平的副球菌属(*Paracoccus*)一个类群显著富集。YCT4 中生物标记物最多，共有 43 个类群，如门水平的盐厌氧菌门(*Halanaerobiaeota*)、螺旋体门(*Spirochaetota*)、热袍菌门(*Thermotogota*)和增效菌门(*Synergistota*)，纲水平的热袍菌纲(*Thermotogae*)、螺旋体纲(*Spirochaetia*)、脱硫弧菌纲(*Desulfovibrionia*)和互养菌纲(*Synergistia*)，目水平和科水平分别由 7 个

和 11 个类群显著富集，以及属水平和一些未分类的物种；YCT5 中有 6 个类群显著富集，如门水平的放线菌门(*Actinomycetota*)，纲水平的芽孢杆菌纲(*Bacilli*)，目水平的着色菌目(*Chromatiales*)和芽孢杆菌目(*Bacillales*)，以及 2 个科和 2 个属；YCT6 中有 37 个差异微生物类群，其主要集中在

12 科 14 属水平上，共计 12 个科和 14 个属水平的类群显著富集，门水平上仅有脱硫杆状菌门(*Desulfobacterota*)显著富集，纲水平上有脱硫杆状菌纲(*Desulfobacteria*)、脱硫球菌纲(*Desulfobulbia*)和脱硫单胞菌纲(*Desulfuromonadia*)显著富集。

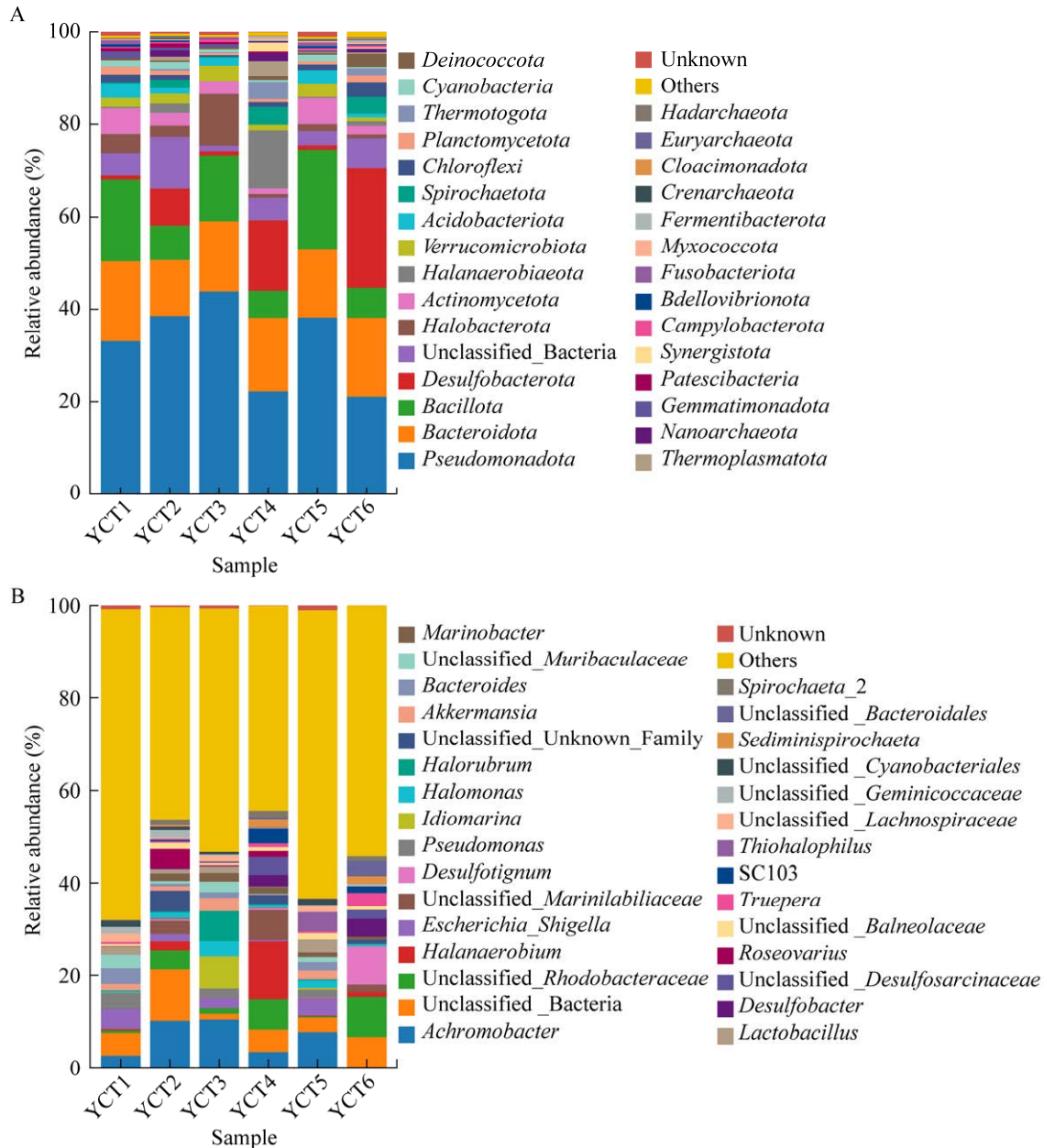
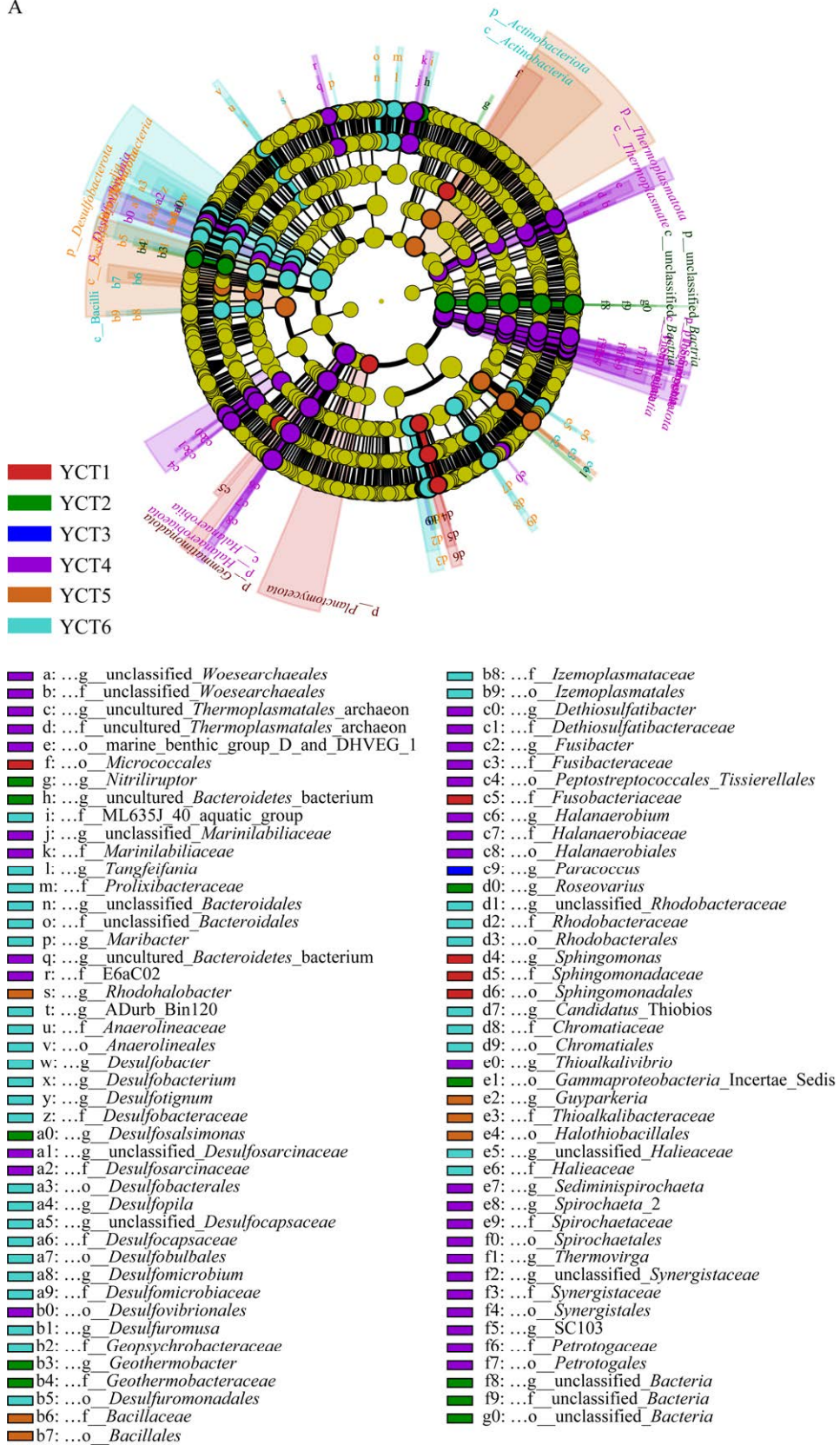


图 4 各土壤样品细菌优势菌门(A)和优势菌属(B)相对丰度

Figure 4 Relative abundance of dominant bacterial in the phylum level (A) and genus level (B) in each soil sample..

A



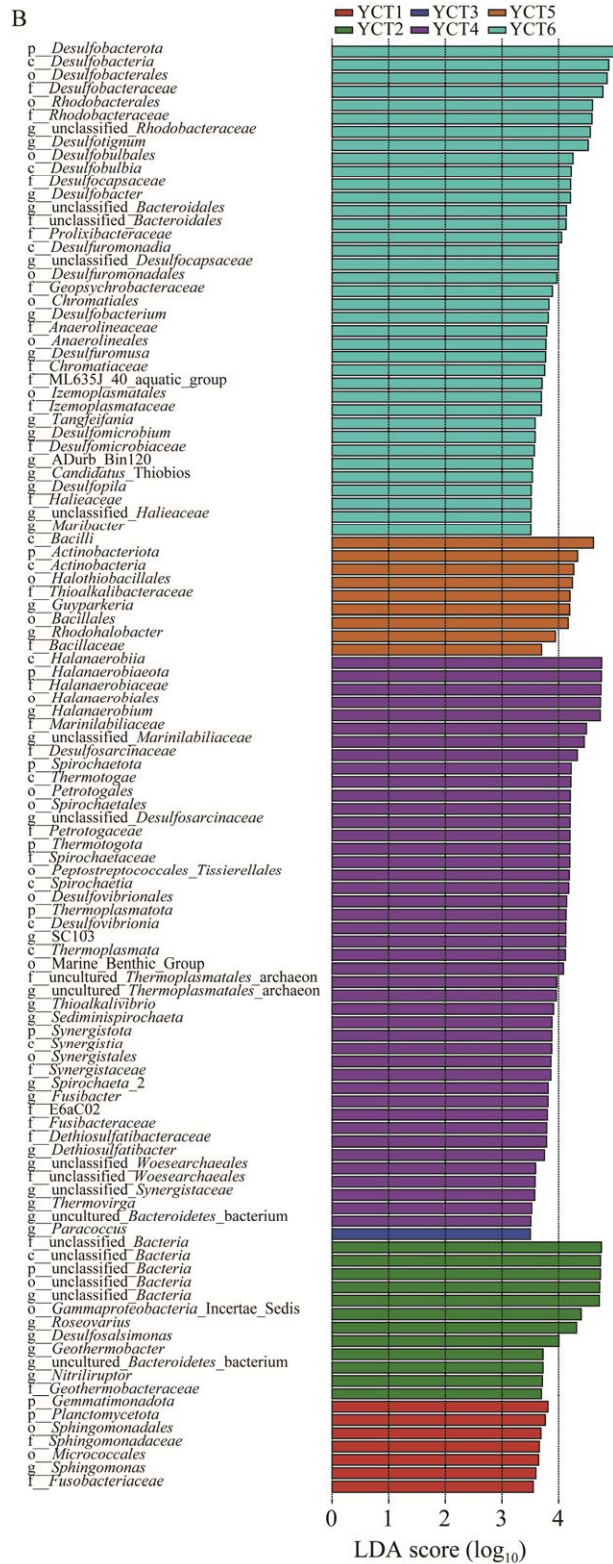


图 5 不同样品间细菌的 LEfSe 差异分析

Figure 5 The bacterial taxa with differential abundance among six different sample groups based on LEfSe software analysis. A: Cladogram. B: Histogram of LDA scores calculated for the differentially abundant microbes with a threshold value of 3.5.

2.5 土壤理化因子对不同样品微生物多样性的影响

图 6A 展示了门水平丰度 Top 30 的类群与各

理化因子的相关性，假单胞菌门 (*Pseudomonadota*) 作为在 6 组样品中丰度最大的类群，其与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 Na^+ 呈显著正相关，与 TN

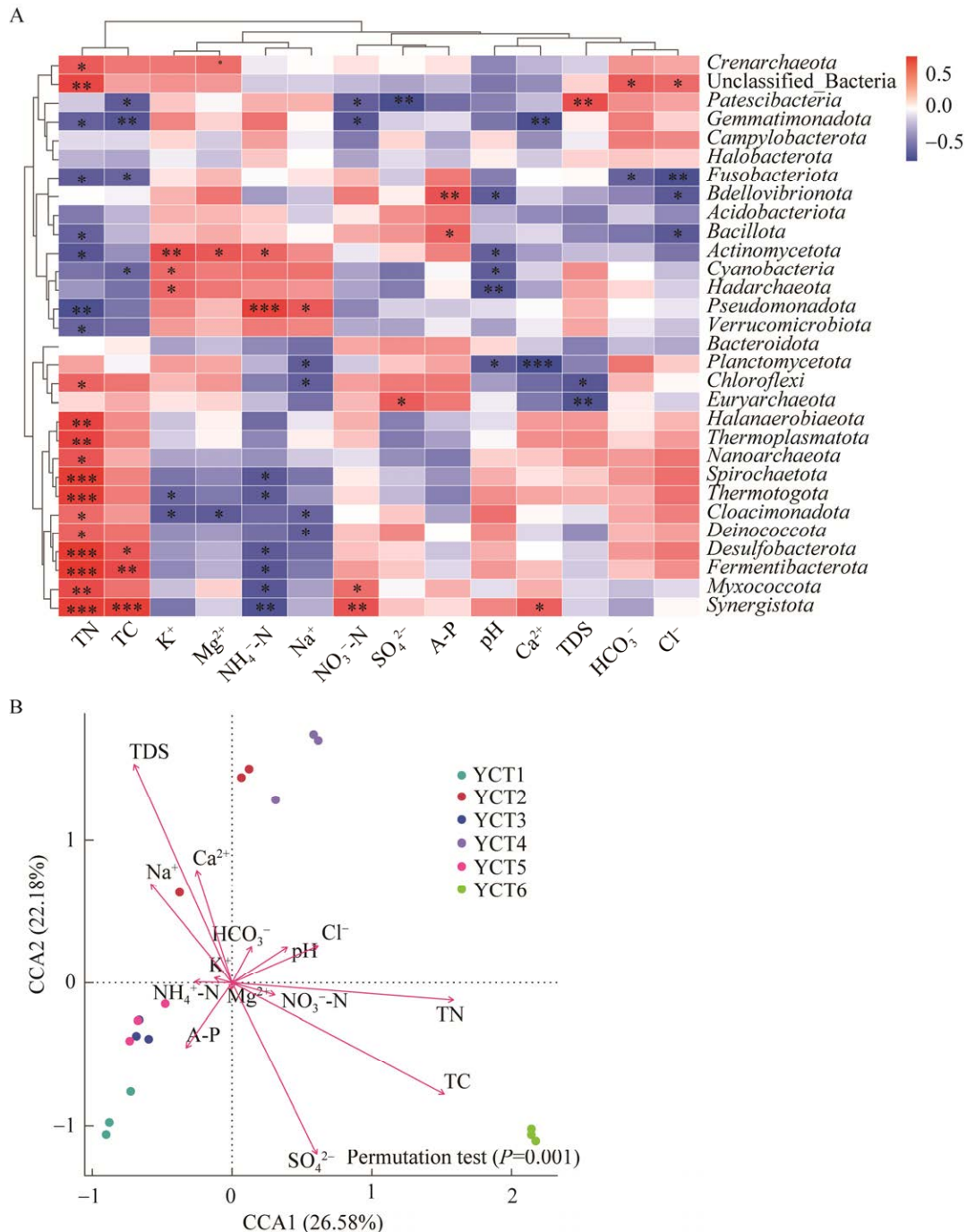


图 6 土壤细菌群落与理化因子的相关性热图(A)和各组样品与理化因子的 CCA 分析(B)

Figure 6 Analysis of the correlation between samples and physicochemical factors. A: Heatmap of correlations between dominant phyla and soil physicochemical factors. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$. B: CCA analysis between samples and soil physicochemical factors.

显著负相关。芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)在 YCT1 中的富集度最高, 其与 Ca^{2+} 、 NO_3^- -N、TN 和 TC 呈显著负相关。蓝藻菌门(*Cyanobacteria*)在 YCT2 中的富集度最高, 其与 pH 呈显著负相关, 与 K^+ 呈显著正相关。放线菌门(*Actinomycetota*)受多种理化因素的影响, 与 pH 和 TN 显著负相关, 与 K^+ 、 Mg^{2+} 和 NH_4^+ -N 呈显著正相关。除此之外, TN 与盐厌氧菌门(*Halanaerobiaeota*)、螺旋体门(*Spirochaetota*)、热袍菌门(*Thermotogota*)、脱硫杆菌门(*Desulfobacterota*)、粘细菌门(*Myxococcota*)和增效菌门(*Synergistota*)呈极显著正相关 ($P < 0.001$), 但 NH_4^+ -N 对以上类群均呈负相关。

为了揭示土壤细菌群落结构对不同理化因子的响应关系, 本研究根据 6 组土壤群落组成与土壤理化因子进行 CCA 分析。结果显示(图 6B), 第一和第二排序轴分别解释了 26.58% 和 22.18% 的细菌群落结构变异, 说明本研究所选取的环境因子具有一定的代表性。总体来看 TDS、TN、TC 和 SO_4^{2-} 对土壤微生物多样性的影响最大, 其次为 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、A-P 和 pH, HCO_3^- 、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、 K^+ 和 Mg^{2+} 的影响较小。YCT1、YCT3、YCT5 分布在第三象限, 受 A-P 的约束作用最强。YCT2 和 YCT4 主要分布在第一象限, 与 Cl^- 的垂线投影点相近, 表明制约作用最强。YCT6 分布在第四象限与 TC、TN 和 SO_4^{2-} 的垂线投影点相近, 表明制约作用影响显著。

3 讨论与结论

3.1 土壤细菌的多样性

本研究利用 Illumina 高通量测序技术, 研究了来源于运城盐湖的 6 组土壤样品的细菌多样性, 经过对获得的 3 363 个 ASVs 统计得出, 6 组样品的微生物主要分布在 51 门 102 纲 247 目 484 科 933 属。 α 多样性分析表明, YCT6 样品的微生物丰富度明显高于其他样品, 而 Shannon 指数进一

步显示 YCT6 和 YCT4 的群落结构更加丰富和均匀。这可能与 YCT6 的土壤理化条件相对适宜, TDS 相对较低, 为更多微生物提供了生存空间。6 个样品的细菌在门水平上相对丰度依次为假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)、脱硫杆菌门(*Desulfobacterota*)、盐杆菌门(*Halobacterota*)、放线菌门(*Actinomycetota*)、盐厌氧菌门(*Halanaerobiaeota*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)和螺旋体门(*Spirochaetes*), 其中假单胞菌门(*Pseudomonadota*)为主要类群, 这与同为硫酸钠型内陆湖泊的犹他州大盐湖微生物群落结构基本吻合^[23]。Liu 等^[24]研究了苟池盐湖、庐阳盐湖和运城盐湖的细菌多样性组成, 发现 3 种盐湖沉积物中假单胞菌门(*Pseudomonadota*)为绝对优势类群。李坤珺等^[25]采用克隆文库法对运城盐湖样品中细菌群落进行多样性分析, 结果表明主要类群为假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)。黄建蓉^[26]利用高通量测序技术, 对运城盐湖的未培养细菌进行多样性分析, 其门水平丰度依次为芽孢杆菌门(*Bacillota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*), 同时也说明了放线菌门(*Actinomycetota*)在运城盐湖中的丰度占比较少, 约为 3.6%, 这与本研究的结果相吻合。多个研究发现, 盐湖细菌类群中多以假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)为主^[27-30], 但因各个盐湖理化成分差异, 造成优势类群比例方面有所不同。

各样品门水平间的类群差异较小, 但在属水平差异较大。无色杆菌属(*Achromobacter*)为 YCT1、2、3、5 的优势类群, 嗜盐厌氧菌属(*Halanaerobium*)和脱硫棒状菌属(*Desulfotignum*)为 YCT4 和 YCT6 的优势类群。沈国平等^[31]对青

藏高原不同特征湖泊的细菌多样性进行了分析, 表明青藏高原内 Na_2SO_4 型湖泊在属水平上的优势类群为水弯曲菌属 (*Aquiflexum*)、海仙菌属 (*Haliea*) 和苍黄杆菌属 (*Luteolibacter*)。杨珊珊等^[32]对巴里坤湖、阿勒泰阿尔达乡、吐鲁番亚尔乃孜沟 3 个地区土壤沉积物中细菌多样性进行了分析, 属水平上的优势类群分别为气单胞菌属 (*Aeromonas*, 24.67%)、气单菌属 (*Aeromonas*, 50.00%) 和鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*, 29.00%)。这些结果均表明不同地区盐环境间细菌群落组成差异较大。

3.2 土壤理化因子对细菌群落多样性的影响

土壤的理化因子对细菌群落的多样性具有显著影响^[33], 因此, 结合理化指标分析不同样品间细菌群落多样性, 对于深入了解开发运城盐湖具有重要意义。本研究结合 pH、TK、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、 SO_4^{2-} 、 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 、 Cl^- 、A-P、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、TN、TC、 Na^+ 和 TDS 共 14 种土壤理化参数对各样品以及门水平主要类群进行了相关性分析。结果表明, TDS、TN、TC 和 SO_4^{2-} 对土壤微生物多样性的影响最大, 其次为 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、A-P 和 pH, HCO_3^- 、 NO_3^- -N、 NH_4^+ -N、 K^+ 和 Mg^{2+} 的影响较小。张欣等^[34]在对茶卡盐湖微生物多样性的研究中也表明, 环境中 TN 和总有机碳 (total organic carbon, TOC) 是中盐度样本细菌群落差异的制约因素, 尤以假单胞菌门 (*Pseudomonadota*) 和芽孢杆菌门 (*Bacillota*) 中一些属水平的类群分布差异明显。李二阳等^[35]分析了新疆天山北坡不同盐湖微生物菌群结构, 研究表明 Na^+ 和 TDS 对假单胞菌门 (*Pseudomonadota*) 影响较为明显, 而且对细菌菌群结构影响较大。Zhong 等^[36]研究青藏高原 7 个中低度盐湖细菌的多样性时发现, K^+ 、 Cl^- 、 Na^+ 、 SO_4^{2-} 和 Ca^{2+} 直接或间接地制约细菌的群落结构组成、多样性分布以及个体的进化分支。由此可见, Ca^{2+} 和

Na^+ 对青藏高原盐湖、茶卡盐湖等氯化物型盐湖的细菌群落构成有着关键性影响。马雪莉等^[37]的研究表明 Na^+ 、 Cl^- 、 SO_4^{2-} 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 和 TDS 对同为硫酸钠型盐湖的艾比湖细菌群落结构起到决定性的作用, 这与我们的研究有所出入, 但同时也佐证了 SO_4^{2-} 为硫酸钠型盐湖微生物群落结构的重要影响因素。相较于艾比湖, K^+ 和 Mg^{2+} 对运城盐湖细菌群落结构的影响较小, 推测是由于盐湖沉积物离子组成成分差异较大以及近年来运城盐湖受人为影响较为严重而引起的。

本研究通过对运城盐湖 6 种土壤或沉积物样本的 16S rRNA 基因高通量测序, 结合多种土壤理化指标, 综合分析了运城盐湖土壤细菌的多样性及影响因素, 发现细菌群落组成以假单胞菌门 (*Pseudomonadota*)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*) 和芽孢杆菌门 (*Bacillota*) 为主, 但由于各样品间理化因素的不同, 其在各水平上的组成各有差异。相较于西藏、青海和新疆等地的盐湖, 本研究发现 TDS、TN、TC 和 SO_4^{2-} 对运城盐湖土壤微生物多样性的影响更为显著。本研究结果将为运城盐湖土壤细菌群落组成及影响因素提供新的认识, 以期对运城盐湖的纯培养物挖掘能够起到一定的参考。

参考文献

- [1] LI CC, LIU T, XU S, GAO XB, WANG YX. Groundwater salinization in shallow aquifers adjacent to a low-altitude inland salt lake: a case study at Yuncheng Basin, northern China[J]. Environmental Earth Sciences, 2016, 75(5): 370.
- [2] WANG FP, FENG J, WANG J, LI B, XIE SL. Phylogenetic and morphological investigation of a *Dunaliella* strain isolated from Yuncheng Salt Lake, China[J]. Acta Geologica Sinica-English Edition, 2014, 88(s1): 106-107.
- [3] 周霁, 乔红进, 王曰鑫. 运城盐湖区土壤重金属元素含量及分布[J]. 山西农业大学学报(自然科学版), 2009, 29(1): 73-76, 93. ZHOU J, QIAO HJ, WANG YX. Research on the content and distribution of heavy metal in soil in salt

- lake district of Yuncheng[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2009, 29(1): 73-76, 93 (in Chinese).
- [4] 赵婉雨, 杨渐, 董海良, 吴耿, 王尚, 孙永娟, 赖忠平, 蒋宏忱. 柴达木盆地达布逊盐湖微生物多样性研究[J]. 地球与环境, 2013, 41(4): 398-405.
- ZHAO WY, YANG J, DONG HL, WU G, WANG S, SUN YJ, LAI ZP, JIANG HC. Microbial diversity in the hypersaline dabuxun lake in Qaidam Basin, China[J]. Earth and Environment, 2013, 41(4): 398-405 (in Chinese).
- [5] 李璐, 郝春博, 王丽华, 裴理鑫. 巴丹吉林沙漠盐湖微生物多样性[J]. 微生物学报, 2015, 55(4): 412-424.
- LI L, HAO CB, WANG LH, PEI LX. Microbial diversity of salt lakes in Badain Jaran Desert[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2015, 55(4): 412-424 (in Chinese).
- [6] LI XR, LIU Q, YU XW, ZHANG CR, LIU MJ, ZHOU XH, GU CX, WANG M, SHAO HB, LI JS, JIANG Y. Spatial pattern and co-occurrence network of microbial community in response to extreme environment of salt lakes on the Qinghai-Xizang Plateau[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(8): 20615-20630.
- [7] JIANG HC, DONG HL, ZHANG GX, YU BS, CHAPMAN LR, FIELDS MW. Microbial diversity in water and sediment of lake Chaka, an athalassohaline lake in northwestern China[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(6): 3832-3845.
- [8] YANG J, MA LA, JIANG HC, WU G, DONG HL. Salinity shapes microbial diversity and community structure in surface sediments of the Qinghai-Tibetan Lakes[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 25078.
- [9] WANG YQ, LU SY, LIU XH, CHEN J, HAN MZ, WANG Z, GUO W. Profiles of antibiotic resistance genes in an inland salt-lake Ebinur Lake, Xinjiang, China: the relationship with antibiotics, environmental factors, and microbial communities[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 221: 112427.
- [10] 刘德容, 李晓虹. 山西运城盐湖放线菌区系研究[J]. 微生物学报, 1998, 38(2): 137-141.
- LIU DR, LI XH. Studies on actinomycetes population from saltlake of Yuncheng in Shanxi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 1998, 38(2): 137-141 (in Chinese).
- [11] 李新, 孙晓, 李悦佳, 高霞, 杜崇旭. 中度嗜盐菌 LY9 的分离鉴定及其淀粉酶特性研究[J]. 生物技术, 2011, 21(3): 60-63.
- LI X, SUN X, LI YJ, GAO X, DU CX. Characterization of a moderate halophile LY9 and studies on the properties of its extracellular amylase[J]. Biotechnology, 2011, 21(3): 60-63 (in Chinese).
- [12] 李新, 史建伟, 李悦佳, 于慧瑛, 杜崇旭. 中度嗜盐菌 *Halobacillus* sp. LY5 的分离、鉴定及其胞外脂肪酶特性研究[J]. 生物学杂志, 2011, 28(6): 49-52.
- LI X, SHI JW, LI YJ, YU HY, DU CX. A moderately halophilic bacterium *Halobacillus* sp. LY5 isolation and identification of and its lipase properties[J]. Journal of Biology, 2011, 28(6): 49-52 (in Chinese).
- [13] ZENG FF, ZHU YH, ZHANG DL, ZHAO ZQ, LI QS, MA PP, ZHANG GL, WANG Y, WU SJ, GUO SD, SUN GQ. Metagenomic analysis of the soil microbial composition and salt tolerance mechanism in Yuncheng Salt Lake, Shanxi Province[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 1004556.
- [14] KUCHINA A, BRETTNER LM, PALEOLOGU L, ROCO CM, ROSENBERG AB, CARIGNANO A, KIBLER R, HIRANO M, DePAOLO RW, SEELIG G. Microbial single-cell RNA sequencing by split-pool barcoding[J]. Science, 2021, 371(6531): eaba5257.
- [15] YANG X, LIU JJ, McGROUTHER K, HUANG HG, LU KP, GUO X, HE LZ, LIN XM, CHE L, YE ZQ, WANG HL. Effect of biochar on the extractability of heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and enzyme activity in soil[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2016, 23(2): 974-984.
- [16] PENG XH, TAMURA K, ASANO M, TAKANO A, KAWAGOE M, KAMIJO T. Changes in soil physical and chemical properties during vegetation succession on miyake-jima island[J]. Forests, 2021, 12(11): 1435.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- BAO SD. Soil and Agricultural Chemistry Analysis[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000 (in Chinese).
- [18] APPRILL A, McNALLY S, PARSONS R, WEBER L. Minor revision to V4 region SSU rRNA 806R gene primer greatly increases detection of SAR11 bacterioplankton[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2015, 75(2): 129-137.
- [19] CALLAHAN BJ, McMURDIE PJ, ROSEN MJ, HAN AW, JOHNSON AJA, HOLMES SP. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data[J]. Nature Methods, 2016, 13: 581-583.
- [20] ELDRED LE, THORN RG, SMITH DR. Simple matching using QIIME 2 and RDP reveals misidentified sequences and an underrepresentation of fungi in reference datasets[J]. Frontiers in Genetics, 2021, 12: 768473.
- [21] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, GERKEN J, SCHWEER T, YARZA P, PEPLIES J, GLÖCKNER FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J].

- Nucleic Acids Research, 2013, 41(D1): D590-D596.
- [22] OREN A, GARRITY GM. Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2021, 71(10): 10.1099/ijsem.0.005056.
- [23] INGALLS M, FRANTZ CM, SNELL KE, TROWER EJ. Carbonate facies-specific stable isotope data record climate, hydrology, and microbial communities in Great Salt Lake, UT[J]. Geobiology, 2020, 18(5): 566-593.
- [24] LIU KH, DING XW, TANG XF, WANG JJ, LI WJ, YAN QY, LIU ZH. Macro and microelements drive diversity and composition of prokaryotic and fungal communities in hypersaline sediments and saline-alkaline soils[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 352.
- [25] 李坤珺, 龙健. 山西运城盐湖嗜盐细菌的系统发育与种群多样性[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(11): 95-101.
LI KJ, LONG J. Biodiversity of halophilic bacteria in Yuncheng salt lake of Shanxi Province[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2015, 43(11): 95-101 (in Chinese).
- [26] 黄建蓉. 运城盐湖嗜盐细菌多样性研究及产酶菌株筛选[D]. 新乡: 河南师范大学硕士学位论文, 2017.
HUANG JR. Halophilic bacteria diversity in Yuncheng salt lake and their ability to produce enzymes[D]. Xinxiang: Master's Thesis of Henan Normal University, 2017 (in Chinese)
- [27] PAUL S, AGGARWAL C, MANJUNATHA BS, THAKUR J, BANDEPPA, RATHI M, SAXENA A. Isolation and characterization of salt tolerant bacteria from Sambhar Lake for plant growth promoting activities[J]. Environment and Ecology, 2016, 34: 365-371.
- [28] 黄媛, 方序, 褚文珂, 陈敏. 杭州西溪湿地沉积物细菌的群落结构和多样性[J]. 海洋与湖沼, 2015, 46(5): 1202-1209.
HUANG Y, FANG X, CHU WK, CHEN M. Bacterial diversity and community structure in sediments of Xixi wetland, Hangzhou[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2015, 46(5): 1202-1209 (in Chinese).
- [29] 朱德锐, 刘建, 韩睿, 沈国平, 杨芳, 龙启福, 刘德立. 青海湖嗜盐微生物系统发育与种群多样性[J]. 生物多样性, 2012, 20(4): 495-504.
ZHU DR, LIU J, HAN R, SHEN GP, YANG F, LONG QF, LIU DL. Population diversity and phylogeny of halophiles in the Qinghai Lake[J]. Biodiversity Science, 2012, 20(4): 495-504 (in Chinese).
- [30] 周延, 王芳, 王琳. 盐湖开发对柴达木盆地盐湖湖水细菌的多样性影响[J]. 化工进展, 2013, 32(S1): 234-239.
ZHOU Y, WANG F, WANG L. Influence of salt lake development on bacterial diversity of salt lake water in Qaidam Basin[J]. Chemical Industry and Engineering Progress, 2013, 32(S1): 234-239 (in Chinese).
- [31] 沈国平, 韩睿, 缪增强, 邢江娃, 李永臻, 王嵘, 朱德锐. 青藏高原 4 类典型水化学特征湖泊的细菌多样性差异及影响因素[J]. 生物多样性, 2022, 30(4): 88-102.
SHEN GP, HAN R, MIAO ZQ, XIANG JW, LI YZ, WANG R, ZHU DR. Bacterial diversity differences and influence factors of four types of hydrochemical characteristic lakes in the Qinghai-Xizang Plateau[J]. Biodiversity Science, 2022, 30(4): 88-102 (in Chinese).
- [32] 杨珊珊, 张晓波, 陈邬锦, 马燕, 熊文娟, 孙玉萍. 新疆三个不同盐碱地区土壤沉积物中细菌多样性分析[J]. 生物资源, 2021, 43(5): 453-460.
YANG SS, ZHANG XB, CHEN WJ, MA Y, XIONG WJ, SUN YP. Analysis of bacterial diversity in soil sediments of three saline alkali areas in Xinjiang[J]. Biotic Resources, 2021, 43(5): 453-460 (in Chinese).
- [33] ZHANG MM, WANG N, HU YB, SUN GY. Changes in soil physicochemical properties and soil bacterial community in mulberry (*Morus alba* L.)/alfalfa (*Medicago sativa* L.) intercropping system[J]. Microbiology Open, 2018, 7(2): e00555.
- [34] 张欣, 刘静, 沈国平, 龙启福, 韩睿, 朱德锐. 基于高通量测序研究青藏高原茶卡盐湖微生物多样性[J]. 微生物学通报, 2017, 44(8): 1834-1846.
ZHANG X, LIU J, SHEN GP, LONG QF, HAN R, ZHU DR. Illumina-based sequencing analysis of microbial community composition in Chaka Salt Lake in Qinghai-Xizang Plateau[J]. Microbiology China, 2017, 44(8): 1834-1846 (in Chinese).
- [35] 李二阳, 马雪莉, 吕杰, 马媛, 吕光辉. 新疆天山北坡不同盐湖微生物菌群结构及其影响因子[J]. 生态学报, 2021, 41(18): 7212-7225.
LI EY, MA XL, LÜ J, MA Y, LÜ GH. Microbial community structure and its influencing factors of different salt lakes on the northern slope of Tianshan Mountains, Xinjiang[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(18): 7212-7225 (in Chinese).
- [36] ZHONG ZP, LIU Y, MIAO LL, WANG F, CHU LM, WANG JL, LIU ZP. Prokaryotic community structure driven by salinity and ionic concentrations in plateau lakes of the Tibetan Plateau[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2016, 82(6): 1846-1858.
- [37] 马雪莉, 吕杰, 马媛, 吕光辉. 艾比湖原核微生物菌群结构演变与环境因子关系分析[J]. 盐湖研究, 2020, 28(4): 79-90.
MA XL, LÜ J, MA Y, LÜ GH. A study on the relationship between the prokaryote community structure evolution and environmental factors of Ebinur Lake[J]. Journal of Salt Lake Research, 2020, 28(4): 79-90 (in Chinese).