

【黄河三角洲研究】

黄河岛滨海湿地盐地碱蓬根际真菌多样性

李文娟¹, 陈海岩², 王寿军³, 辛鑫⁴, 尚帅⁴, 许卉⁴

(1. 滨州市国土空间生态修复中心, 山东 滨州 256603;

2. 滨州市土地整理储备中心, 山东 滨州 256603;

3. 滨州贝壳堤岛与湿地国家级自然保护区管理服务中心, 山东 滨州 251900;

4. 山东航空学院 生物与环境工程学院, 山东 滨州 256603)

摘要:盐地碱蓬是中国北方盐沼湿地恢复的典型先锋物种,研究其根际微生物组成有利于更好地理解盐地碱蓬修复区域的演变特征。为探究滨州市黄河岛国家级湿地公园盐地碱蓬修复区真菌多样性,利用高通量测序平台对盐地碱蓬根际土壤和裸地土壤的真菌群落结构组成和多样性进行分析比较。韦恩图、LEfSe和置换多元方差分析表明,盐地碱蓬根际土壤真菌组成与裸地土壤真菌组成存在显著差异,相较于裸地区域,盐地碱蓬修复区具有更多的扩增子序列变体,耐干霉菌属和曲霉属在盐地碱蓬根际发挥重要作用。 α 多样性分析表明,盐地碱蓬根际土壤的真菌丰富度和多样性均高于裸地土壤。本研究阐明了盐地碱蓬修复对根际真菌群落结构组成的影响,可为滨海湿地的修复提供一定的理论依据。

关键词:盐地碱蓬;根际真菌;群落结构;滨海湿地;多样性

中图分类号: Q 938 **文献标识码:** A **DOI:**10.13486/j.issn.2097-4973.2024.03.013

土壤盐碱化是我国面临的重要环境问题之一,其不仅阻碍了农作物的生产,而且影响其他植被的正常生长,进而导致沙尘暴和贫瘠地貌的发生。海岸带盐沼植物广泛分布于潮间带区域,能够保护海岸带免受侵蚀,从而维持海岸湿地的生态功能与结构稳定^[1]。由于自然因素和人类活动的双重作用,滨海湿地盐沼生境破碎化现象严重,大量的盐沼植物遭到破坏,限制了植被群落的生存和发展^[2-4]。当前,滨海湿地的修复受到广泛关注,各国致力于选择合适的修复物种,从而能够更好地维持滨海生态系统的稳定性和完整性,但由于生态恢复理论与实践存在较大差距,恢复措施效率低下。例如,由于沿海地区的发展,黄河三角洲地区的水产养殖、盐田和油井占据了55%的天然湿地^[5],虽然湿地生态安全受到严重威胁,但并非所有区域都适合进行修复。因此,各种约束条件的适应性和可行性评估必须作为生态修复的前期过程引起重视^[6],生态修复植物物种的选择变得尤为重要。

盐地碱蓬(*Suaeda salsa*)受气候限制较少,分布范围较广,并且在热带和亚热带区域它还同红树林一起生长^[7]。作为中国北方盐沼湿地修复的典型先锋物种^[8],盐地碱蓬在碳封存和海岸线保护方面发挥着重要作用^[9-10]。此外,盐地碱蓬也是耐盐基因的潜在来源,能够帮助分子生物学家进一步解析提高传统作物耐盐性的分子调控机制^[11]。随着研究的不断深入,盐地碱蓬根际微生物的群落结构组成特征及其对滨海湿地的影响受到越来越多的关注^[12]。根际微生物在生态系统中具有非常重要的功能,不仅能够反应环

收稿日期:2023-09-11

第一作者简介:李文娟(1980—),女,山东滨州人,高级工程师,主要从事动植物资源开发利用研究。

E-mail: bzljw1980@126.com

境的变化,而且已经成为衡量生态系统稳定性的一个重要指标^[13]。目前,围绕盐地碱蓬耐盐机制以及可培养微生物的研究较多^[14],而针对盐地碱蓬修复后根际真菌群落结构组成的研究报道较少。因此,本研究选择黄河岛盐地碱蓬修复区为研究区域,开展盐地碱蓬根际真菌多样性的研究,旨在分析盐地碱蓬根际微生物的群落结构组成与功能特征,为滨海盐碱地修复研究提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域与样品采集

黄河岛国家级湿地公园位于山东省滨州市,地处渤海之滨,其土壤类型为盐碱化土壤,是黄河三角洲滨海生态系统的重要组成部分。该区域位于渤海潮间带的泥沙沉积地段,潮滩由低潮滩到高潮滩依次被盐地碱蓬、柽柳、芦苇等植被覆盖。本研究选择黄河岛盐地碱蓬修复区和周边裸地进行样品采集,采集盐地碱蓬根际土壤(样品编号分别为 SS1、SS2、SS3、SS4)与周边裸地土壤(样品编号分别为 BKS1、BKS2、BKS3、BKS4)。为保证采样结果的代表性与准确性,每个分组设置 4 个 1 m×1 m 的样方,样方之间距离 50 m,每个样方选择 5 株盐地碱蓬根际土壤;盐地碱蓬周边裸地地区采取五点采样法,先确定中心点,然后在对角线上 4 个端点分别采样。将采集的样品置于无菌采样袋中,放入液氮罐带回实验室。利用超净工作台将盐地碱蓬根系上的土壤抖落,保留根部约 1 mm 的土壤,利用摇床将根际土壤抖落至无菌离心管中,并将 5 株盐地碱蓬根际样品进行混样作为 1 个样本重复,样品收集完成后,储存于-80 °C 冰箱。

1.2 土壤 DNA 提取,PCR 扩增和测序

采用土壤 DNA 提取试剂盒对所采集样品中的总 DNA 进行提取。样品提取完成后,对各样品总 DNA 提取浓度进行检测,8 个样品 DNA 浓度均符合要求后,方可进行后续测序分析。使用引物 ITS 1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3')和 ITS 2R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 扩增转录间隔区 ITS1^[15],利用 Illumina NovaSeq 测序平台对盐地碱蓬根际和周边裸地土壤微生物样品进行高通量测序。

1.3 数据分析

为了探究不同样本在物种多样性方面的相似性,采用 QIIME2 软件(Version 2.10)进行 α 多样性指数和 β 多样性分析^[16]。图片由 R 语言软件(Version 3.4.4)绘制^[17]。扩增子序列变异体(Amplicon sequence variant, ASVs)用于表征样品中所包含物种的差异,使用 QIIME2 软件中的 DADA2 对高通量测序的下机数据进行减噪处理,进而获取较为准确的 ASVs 数据。本研究选择 α 多样性表征不同样品间的真菌组成多样性和丰富度,包括 ACE 指数、Chao1 指数、辛普森(Simpson)指数、香农(Shannon)指数及覆盖度(Coverage)。

2 结果与分析

2.1 土壤真菌群落多样性特征

盐地碱蓬根际真菌 ACE 指数平均值为 1 107.29,裸地土壤真菌 ACE 指数平均值为 742.79;盐地碱蓬根际土壤真菌 Chao1 指数平均值为 1 107.25,裸地土壤真菌 Chao1 指数平均值为 742.75(表 1)。

表 1 黄河岛盐地碱蓬根际与裸地真菌 α 多样性指数

样本	ACE 指数	Chao1 指数	Simpson 指数	Shannon 指数	覆盖度
BSK	742.79±197.97*	742.75±197.92*	0.942 5±0.04*	6.712 5±1.28*	1.00±0.00
SS	1 107.29±173.29	1 107.25±173.28	0.957 5±0.02	7.072 5±0.56	1.00±0.00

注:* 代表在 5% 水平差异显著。

盐地碱蓬根际土壤真菌 ACE 和 Chao1 指数平均值高于裸地土壤,表明盐地碱蓬根际土壤真菌丰富

度要高于裸地土壤。盐地碱蓬根际土壤真菌 Simpson 指数平均值为 0.957 5,裸地土壤真菌 Simpson 指数平均值为0.942 5;盐地碱蓬根际土壤真菌 Shannon 指数平均值为 7.072 5,裸地土壤真菌 Shannon 指数平均值为 6.712 5(表 1)。盐地碱蓬根际土壤真菌 Simpson 和 Shannon 指数平均值与裸地土壤存在差异,表明盐地碱蓬根际真菌的多样性高于裸地土壤。本研究还统计了各样品的覆盖度水平,结果表明,各个样品覆盖度均为 1.00,测序结果说明样品中的物种被检出率较高,能够较好地反映样品的真实情况。

2.2 黄河岛盐地碱蓬根际与裸地土壤真菌群落结构组成

在门分类水平下,根据丰度对菌门绘制百分比柱状图(图 1),便于直观地比较盐地碱蓬根际土壤与裸地土壤真菌群落的丰富度。由图 1 可知,盐地碱蓬根际真菌群落结构组成的优势菌门为子囊菌门(Ascomycota,68.72%)、油壶菌门(Olpidiomycota,2.79%)和壶菌门(Chytridiomycota,2.40%)。在裸地土壤中,子囊菌门(Ascomycota,60.46%)、油壶菌门(Olpidiomycota,18.20%)和担子菌门(Basidiomycota,12.64%)为相对丰度排名前三的优势菌门。子囊菌门和油壶菌门在盐地碱蓬根际土壤与裸地土壤中均为优势真菌,但相对丰度不同。担子菌门在裸地土壤为优势真菌,而在盐地碱蓬根际土壤并非优势真菌。

在属分类水平下,根据丰度对菌属绘制百分比柱状图(图 2)。由图 2 可知,盐地碱蓬根际土壤的优势菌属为耐干霉菌属(*Xeromyces*,17.66%)、镰刀菌属(*Fusarium*,8.19%)和曲霉属(*Aspergillus*,5.82%)。在裸地土壤的样本中,油壶菌属(*Olpidium*,18.20%)、嗜热子囊菌属(*Thermoascus*,10.20%)和枝孢菌属(*Cladosporium*,5.81%)为相对丰度排名前三的优势菌属。

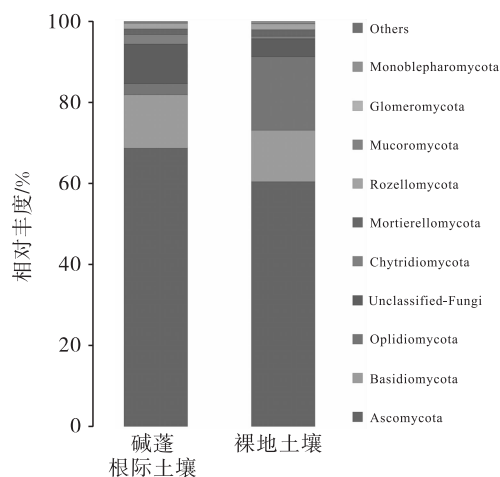


图 1 土壤真菌门水平群落结构组成

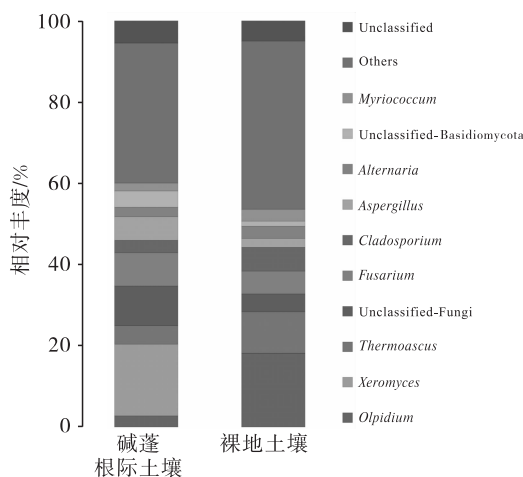


图 2 土壤真菌属水平群落结构组成

2.3 黄河岛盐地碱蓬根际与裸地土壤真菌群落的共性与差异

本研究进一步分析了不同样品间的 ASVs 共有与特有数目。盐地碱蓬根际土壤包括 3 741 个 ASVs,其中 3 176 个为特有的 ASVs;裸地土壤包括 2 506 个 ASVs,其中 1 941 个为特有的 ASVs;盐地碱蓬根际土壤与裸地土壤有 565 个共有 ASVs。

主成分(PCA)分析可以根据不同样品的特征值,来反映不同分组间样品的差异程度,样品间的距离越近,表明样本越相似。图 3 显示,PC1 能够解释 62.54%的组间差异程度,PC2 能够解释 18.72%的组间差异程度。综合分析,PC1 和 PC2 能够反映 81.26%的组间差异程度,盐地碱蓬根际土壤与裸地土壤样本之间存在显著差异。

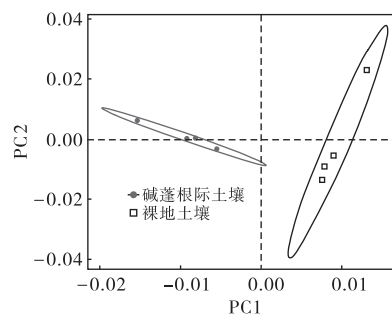


图 3 真菌 PCA 分析

置换多元方差分析一方面可以显示不同分组间是否存在差异,另一方面对于差异是否显著可以进行

统计检验,通常用 R^2 反映分组样品的解释程度。由图4可知, $R^2=0.336$, $P<0.05$,表明盐地碱蓬根际土壤真菌组成与裸地土壤真菌组成存在显著差异,样本间存在显著差异。

本研究使用 LEfSe 分析研究不同分组间的差异。真菌群落的组间差异分析如图5所示,纵坐标为组间具有显著差异的分类单元,分类单元按照得分值大小进行排序,长度越长则表明该分类单元的差异越显著。在盐地碱蓬根际区域样本中,优势真菌类群(LDA 值大于4)在属水平上为耐干霉菌属(*Xeromyces*)和曲霉属(*Aspergillus*)。

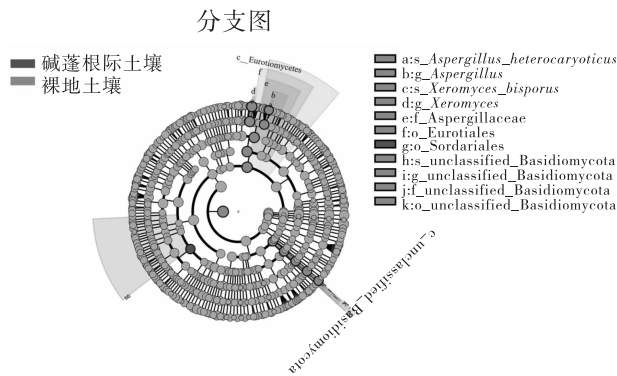


图5 盐地碱蓬根际与裸地土壤真菌组间 LEfSe 差异分析

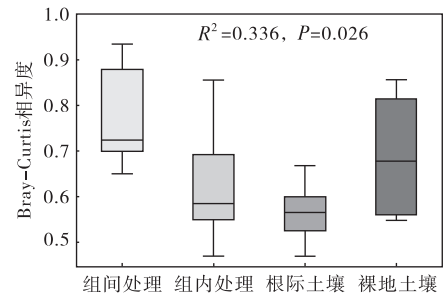
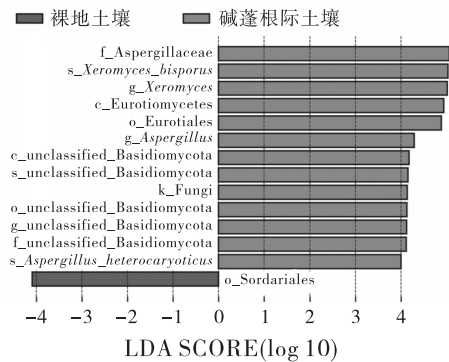


图4 真菌置换多元方差分析



3 讨论与结论

3.1 讨论

土壤真菌是滨海生态系统中的重要组成部分,与滨海湿地生态系统功能息息相关,不仅参与物质循环和能量流动,也承担着土壤生产力的维持和修复功能。本研究采用高通量测序技术,对黄河岛滨海湿地盐地碱蓬根际土壤和裸地土壤进行了真菌多样性研究分析。研究发现,盐地碱蓬根际土壤真菌优势群落主要为子囊菌门、油壶菌门和壶菌门等;裸地土壤样本优势群落为子囊菌门、油壶菌门和担子菌门。前人研究表明,子囊菌门广泛存在于自然界中,具有丰富多样的功能^[18];壶菌门为大豆、油菜等植物根际的优势菌门^[19]。本研究发现,子囊菌门和壶菌门为盐地碱蓬根际土壤主要真菌门类,推测其在滨海湿地生态系统中具有重要的生态功能。地表植物会对土壤真菌在门水平上的群落组成结构产生影响^[20],本研究发现,担子菌门在裸地土壤为优势真菌,而在盐地碱蓬根际土壤并非优势真菌。此外,盐地碱蓬根际土壤与裸地土壤共有 565 个 ASVs,说明盐地碱蓬对所分布区域的土壤微生物群落具有明显的塑造作用。

前人通过比较盐地碱蓬根际和裸地土壤细菌群落结构,发现盐地碱蓬能够改变土壤细菌群落的结构组成,对盐地碱蓬根际土壤细菌多样性具有显著的提高作用^[13]。本研究发现,盐地碱蓬根际土壤与裸地土壤真菌组成存在显著差异,盐地碱蓬根际土壤的真菌丰富度和多样性均高于裸地土壤,表明盐地碱蓬显著提高了修复区域真菌群落多样性,推测盐地碱蓬不仅有助于提高根际土壤细菌多样性,而且显著提高了根际土壤真菌多样性。在属水平上,盐地碱蓬根际土壤与裸地土壤真菌存在显著差异,盐地碱蓬根际优势菌属为耐干霉菌属、镰刀菌属和曲霉属;裸地土壤优势菌属为油壶菌属、嗜热子囊菌属和枝孢菌属。LEfSe 差异分析发现耐干霉菌属和曲霉属在盐地碱蓬根际发挥重要的作用。镰刀菌属虽可能产生毒素,但镰刀菌能够刺激植物,对于植物具有一定的增产效果^[21]。因此,推测盐地碱蓬根际真菌类群可能对盐地碱蓬的生长和发育至关重要。由于本研究所采集样品本为单一季度样品,只能反映本季度盐地碱蓬对裸地土壤的塑造作用,后期需要收集不同季节、不同区域的样品,从而获取更全面的数据。

3.2 结论

本研究基于高通量测序平台,选取滨州黄河岛国家级湿地公园盐地碱蓬修复区为研究区域,对盐地碱蓬根际土壤和裸地土壤的真菌群落结构组成和多样性进行分析发现相较于裸地土壤,盐地碱蓬根际土壤真菌结构更为复杂和多样,盐地碱蓬对修复区土壤具有显著的影响作用,推测盐地碱蓬能够在一定程度上对修复区土壤进行改善,从而更适于植物生长。本研究可为滨海湿地生态系统的修复、保护和管理提供微生物层面的依据与数据支持。

参考文献:

- [1] ISACCH J P, COSTA C S B, RODRÍGUEZ-GALLEGO L, et al. Distribution of saltmarsh plant communities associated with environmental factors along a latitudinal gradient on the south-west Atlantic coast[J]. *Journal of biogeography*, 2006, 33: 888-900.
- [2] DEBANSHI S, PAL S. Modelling water richness and habitat suitability of the wetlands and measuring their spatial linkages in mature Ganges Delta of India[J]. *Journal of environmental management*, 2020, 271: 110956.
- [3] LI H, WANG H, WEN W J, et al. The antioxidant system in *Suaeda salsa* under salt stress[J]. *Plant signaling & behavior*, 2020, 15: 1771939.
- [4] HU W J, WANG Y Y, ZHANG D, et al. Mapping the potential of mangrove forest restoration based on species distribution models: a case study in China[J]. *Science of the total environment*, 2020, 748: 142321.
- [5] YU D X, HAN G X, WANG X J, et al. The impact of runoff flux and reclamation on the spatiotemporal evolution of the Yellow River estuarine wetlands[J]. *Ocean & coastal management*, 2021, 212: 105804.
- [6] SHAYGAN M, BAUMGARTL T, ARNOLD S, et al. Germination of *Atriplex halimus* seeds under salinity and water stress[J]. *Ecological engineering*, 2017, 102: 636-640.
- [7] GEEDICKE I, OLDELAND J, LEISHMAN M R. Urban stormwater run-off promotes compression of saltmarshes by freshwater plants and mangrove forests[J]. *Science of the total environment*, 2018, 637: 137-144.
- [8] YAN, C Y, ZHUANG T, BAI J H. Assessment of As, Cd, Zn, Cu and Pb pollution and toxicity in river wetland sediments and artificial wetland soils affected by urbanization in a Chinese delta[J]. *Wetlands*, 2020, 40: 2799-2809.
- [9] 麻莹, 张洪嘉, 库都斯·阿布都沙拉木, 等. 盐碱胁迫对盐地碱蓬生长、有机酸等溶质积累及其生理功能的影响[J]. *草地学报*, 2021, 29(9): 1934-1940.
- [10] 贺文君, 韩广轩, 颜坤, 等. 微地形对滨海盐碱地土壤水盐分布和植物生物量的影响[J]. *生态学杂志*, 2021, 40(11): 3585-3597.
- [11] 陈国强. 盐地碱蓬耐盐相关基因克隆研究进展[J]. *生物技术通报*, 2008(5): 18-21.
- [12] ZHANG J, ZHANG Y, LLOYD H. Rapid reclamation and degradation of *Suaeda salsa* saltmarsh along coastal China's northern Yellow Sea[J]. *Land*, 2021, 10: 835.
- [13] 孙建平, 刘雅辉, 左永梅, 等. 盐地碱蓬根际土壤细菌群落结构及其功能[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 2020, 28(10): 1618-1629.
- [14] 贾林, 刘璐瑶, 王鹏山, 等. 盐地碱蓬的耐盐机理及改良土壤机理研究进展[J]. *中国农学通报*, 2021, 37(3): 73-80.

- [15] XI H, SHEN J L, QU Z, et al. Effects of long-term cotton continuous cropping on soil microbiome [J]. Scientific reports, 2019, 9:18297.
- [16] BOYEN E, RIDEOUT J R, DILLON M R, et al. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using QIIME 2[J]. Nature biotechnology, 2019, 37:852-857.
- [17] MCMURDIE P J, HOLMES S. Phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data[J]. Plos one, 2013, 8:e61217.
- [18] OSINSKA-JAROSZUK M, JAROSZ-WILKOLAZKA A, JAROSZUK-SCISEL J, et al. Extracellular polysaccharides from *Ascomycota* and *Basidiomycota*: production conditions, biochemical characteristics, and biological properties[J]. World journal of microbiology & biotechnology, 2015, 31: 1823-1844.
- [19] 杨潇湘, 张蕾, 黄小琴, 等. 基于高通量测序分析大豆和油菜根际微生物群落结构的差异[J]. 应用生态学报, 2019, 30(7):2345-2351.
- [20] LIN H C, HEWAGE R T, LU Y C. Biosynthesis of bioactive natural products from *Basidiomycota* [J]. Organic & biomolecular chemistry, 2019, 17:1027-1036.
- [21] 周家喜. 霉变烟叶微生物群落特征及其致霉机制[D]. 贵阳: 贵州大学, 2021.

Community Structure and Diversity of Rhizosphere Fungi in the Yellow River Island Coastal Wetland

LI Wenjuan¹, CHEN Haiyan², WANG Shoujun³, XIN Xin⁴, SHANG Shuai⁴, XU Hui⁴

(1. Binzhou National Space Ecological Restoration Center, Binzhou 256603, China;

2. Binzhou Land Consolidation and Reserve Center, Binzhou 256603, China;

3. Binzhou Shell Dike Island and Wetland National Nature Reserve Management and Service Center, Binzhou 251900, China;

4. College of Biological and Environmental Engineering, Shandong University of Aeronautics, Binzhou 256603, China)

Abstract: *Suaeda salsa* is a typical pioneer species for salt marsh wetland restoration in northern China. Understanding the composition of rhizosphere microbes of *Suaeda salsa* is better for understanding the restoration area's evolution characteristics. This study analyzed the composition and diversity of fungal communities in the rhizosphere and bare ground of *S. salsa* in the Yellow River Island National Wetland Park, Binzhou restoration area. Venn diagram, LEfSe and displacement multivariate analysis of variance showed that fungal composition in the rhizosphere soil of *S. salsa* was significantly different from that in the bare soil. Compared with the bare soil, there were more ASVs in the restored soil of *S. salsa*. The α -diversity analysis showed that fungal richness and diversity in the rhizosphere soil were higher than those in the bare soil. This study elucidated the effects of *S. salsa* restoration on rhizosphere fungal composition, which would provide the theoretical basis for restoring coastal wetlands.

Keywords: *Suaeda salsa*; rhizosphere fungi; community structure; coastal wetland; diversity

(责任编辑:王新亮)

引用格式 李文娟,陈海岩,王寿军,等. 黄河岛滨海湿地盐地碱蓬根际真菌多样性[J]. 山东航空学院学报, 2024, 41(3): 98-103. LI W J, CHEN H Y, WANG S J, et al. Community structure and diversity of rhizosphere fungi in the Yellow River Island coastal wetland[J]. Journal of Shandong University of Aeronautics, 2024, 41(3): 98-103.