

土壤微生物响应环境变化的系统发育保守性和环境阈值

Phylogenetic conservation and environmental threshold of soil microbes in response to environmental changes

陈贝贝，焦硕^{*}，韦革宏

西北农林科技大学生命科学院，旱区作物逆境生物学国家重点实验室，陕西省农业与环境微生物重点实验室，陕西杨凌

*通讯作者邮箱: shuojiao@nwafu.edu.cn

摘要：土壤微生物在促进土壤养分循环和调节植物矿质营养等方面起着重要的生态作用。但由于其对环境变化的敏感性，外界环境变化通常会导致其多样性和群落结构的变化。对于土壤微生物响应外界环境变化的系统发育保守性和环境阈值知之甚少。本文以中国东部农田土壤微生物群落数据为示例，基于微生物群落对环境梯度的响应，计算Blomberg's K 值和环境阈值，以评估系统发育信号强度和環境适应性宽度，给出了计算微生物系统发育保守性和环境阈值的标准化流程，为土壤微生物响应外界环境变化的研究提供了新思路。

关键词：土壤微生物，系统发育保守性，环境阈值

仪器设备

1. 普通 **Windows** 系统个人电脑，内存 **8G**，需求内存空间约 **500M**

软件

1. **R (v3.6.3)**

注：本教程是基于已经在个人电脑上安装好的相关软件和依赖包进行的。

实验步骤

1. 数据准备

本分析用到两个数据，即土壤微生物群落数据，环境因子数据(与采样点一一对应)。

2. 数据准备

2.1 导入已抽平的微生物群落数据及环境因子数据（图 1 和图 2）

```
Micro<-read.csv("otu_data.csv", header = T,row.names=1)
```

```
Env<-read.csv("env.csv",header=T,row.names=1)
```

#OTU ID	M1a	M2	M3	M4	M5	M6	M7a	M8	M10
OTU11	623	112	1000	563	303	355	2087	2481	542
OTU1	231	3535	1300	162	1566	438	409	64	722
OTU8	49	88	104	11	22	306	122	11	1597
OTU38	528	151	304	39	87	111	303	30	148
OTU92	22	75	26	60	145	159	85	14	70
OTU35	102	209	107	22	282	36	97	40	54
OTU63	106	25	146	16	56	97	111	22	17
OTU67	61	118	73	12	115	83	62	20	91
OTU24	47	55	34	102	108	25	44	72	22
OTU31258	31	298	510	25	125	19	71	2	96
OTU47	683	76	213	16	30	27	60	199	72
OTU21313	22	70	17	116	191	98	22	52	30
OTU34	38	3	52	0	0	0	18	1	14
OTU98	96	81	38	97	41	10	282	10	19
OTU97	73	125	51	13	26	7	73	6	25
OTU19	348	62	94	6	19	192	211	8	851

图 1. 微生物群落数据集

	MAT	pH	CEC	DOC	TN	NO3	NH4	TP
M1a	17.9	8.20	24.42	61.36	0.96	10.92	2.71	0.25
M2	18.1	7.51	28.48	65.17	1.86	92.62	3.57	0.12
M3	16.9	6.88	14.21	72.16	1.93	12.72	4.00	0.37
M4	16.5	5.07	13.89	70.70	1.51	42.35	6.02	0.34
M5	17.5	6.04	11.54	41.61	1.73	20.28	5.34	0.61
M6	16.7	4.81	11.89	64.60	2.43	63.51	9.50	0.42
M7a	16.7	6.99	9.84	30.95	0.70	46.20	1.79	0.14
M8	17.8	7.23	12.89	23.44	1.09	62.53	4.95	0.80
M10	16.6	7.35	16.90	24.89	1.23	100.25	17.27	0.46
M11b	14.2	8.07	6.87	26.85	0.76	23.01	10.24	0.14
M113a	17.7	6.68	10.04	34.90	2.48	102.99	6.15	0.44
M13	8.9	8.37	16.40	36.78	0.82	20.40	1.81	0.39
M14	12.4	8.46	21.48	32.71	1.13	21.49	2.50	0.31
M15	9.6	8.06	10.34	28.61	0.88	65.87	2.15	0.32
M16	12.1	8.41	18.34	24.97	1.13	2.40	1.92	0.59
M17	16.3	7.66	27.93	20.14	0.48	6.19	2.10	0.21

图 2. 环境因子数据集

3. 系统发育信号的计算

3.1 微生物群落特征数据集的获取

为了获得潜在性状信息，通过微生物类群与环境变量之间 Spearman 相关来定义每个 OTU 的生态偏好。例如，OTU 与 pH 的正负相关被定义为 acid-preferred 或 alkaline-preferred，相应的在性状数据集中：正相关为 1，负相关为-1，没有显著相关的为 0。

相应的计算过程如下：

```
library(Hmisc) #所需依赖包：lattice、survival、ggplot2 和 Formula
```

```
Micro<-Micro/11730 #11730 为每个样本的最小抽平序列数
```

```
Micro<-t(Micro)
```

```
cor<-rcorr(as.matrix(cbind(Micro,Env)),type="spear")
```

```
r<-cor$r
```

```
q<-cor$P
```

```
q[q<0.05]<-1
```

```
q[q>0.05&q<1]<-0
```

```
g<-r*q
```

```
heat<-g[1:ncol(Micro),-(1:ncol(Micro))]
```

```
traits<-replace(heat, heat<0,-1)
```

```
traits<-replace(traits, traits>0,1)
```

write.csv(traits,"traits.csv") #写出相应的性状数据集

	MAT	pH	CEC	DOC	TN	NO3	NH4	TP
OTU11	0	0	0	0	0	1	-1	0
OTU1	1	-1	-1	0	0	-1	1	0
OTU8	-1	0	1	0	0	0	0	0
OTU38	1	0	-1	0	0	0	0	0
OTU92	0	0	0	0	0	0	0	0
OTU35	0	0	0	0	0	1	-1	0
OTU63	-1	0	0	0	0	0	-1	0
OTU67	1	0	-1	0	0	0	1	0
OTU24	0	1	0	-1	0	1	-1	0
OTU31258	1	0	-1	0	0	0	1	0
OTU47	-1	0	0	0	0	1	-1	0
OTU21313	1	-1	-1	0	0	0	0	0
OTU34	-1	1	1	0	0	0	0	0
OTU98	0	0	0	0	0	0	0	0
OTU97	-1	1	1	0	0	0	0	0
OTU19	0	0	0	0	0	0	-1	1

图 3. 微生物群落性状数据集

3.2 Blomberg's K 的计算

```
library(picante) #所需依赖包: vegan、permute 和 nlme
phy<-read.tree("Micro.tre") #读取微生物类群对应的系统发育树
phy<-multi2di(phy) #无根树转为有根树
traits <- traits[phy$tip.label, ]
traits<-as.matrix(traits)
Micro_Blombergk<-multiPhylosignal(traits,phy) #计算 Blomberg's K
write.csv(Micro_Blombergk," Micro_Blombergk.csv")
写出计算结果 (图 4)
```

	K	PIC. variance.	PIC. variance.	PIC. variance.	PIC. variance. Z
MAT	0.194343395	1.094226048	2.877105929	0.001	-6.306934096
pH	0.148796418	2.221862029	2.568532747	0.092	-1.420009458
CEC	0.280939652	1.223739867	2.743694149	0.001	-5.242124344
DOC	0.331555474	0.664647394	1.099324131	0.021	-2.018100019
TN	0.217698253	0.551412185	1.135420003	0.005	-2.585648436
NO3	0.355643707	0.647702284	2.543552476	0.001	-7.383939206
NH4	0.245073183	0.861886901	2.867454575	0.001	-8.244850087
TP	0.235446947	0.317615496	1.252652065	0.005	-2.473097666

图 4. 布朗 K 值数据集

K 值描述了一个分类单元与系统发育的关系，正如布朗运动的系统发育信号强度度量所期望的那样。K 值接近于 0 表示进化是随机的或收敛的，而 K 值大于 1 则表示强烈的系统发育信号和性状保守性。

3.3 绘制系统发育信号柱状图

```
data<-read.csv("Micro_Blombergk.csv",header=T,row.names=1)
data<-t(data)
data<-data[1,]
data<-as.matrix(data)
barplot(data,axes=T,width=2,axis.lty=1,ylab="Blomberg's K ",
legend=rownames(data),beside=TRUE,col=c("#366CA8"))
```

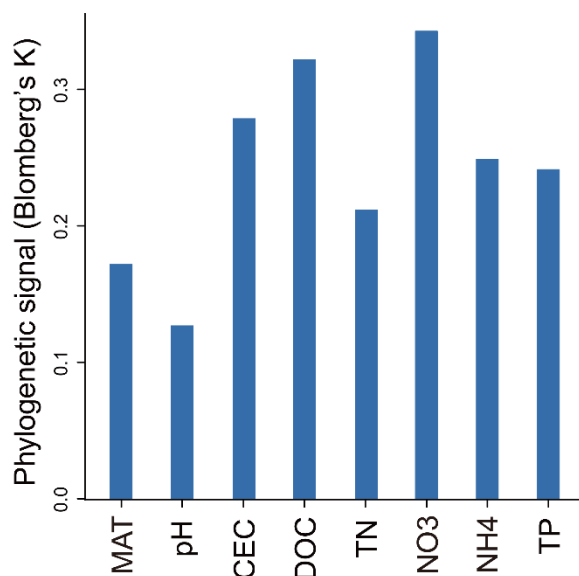


图 5. 系统发育信号柱状图

4. 环境阈值的计算

4.1 对输入的微生物群落数据集 Micro 进行筛选，标准为：每个 OTU 至少在 3 个样本中存在，获得的数据集为 Micro1

```
Micro1<- Micro[rowSums(Micro >= 1)>= 3,]
Micro1<- Micro1/11730 #11730 为每个样本的最小抽平序列数
Micro1<-t(Micro1)
library(TITAN2)
pH_titan<-titan(Env[,2], Micro1,numPerm=250,
```

```
boot=TRUE,nBoot=500,imax=FALSE,ivTot=FALSE,
pur.cut=0.95,rel.cut=0.95,memory=TRUE)
plot_sumz(pH_titan,filter=TRUE,xlab=expression("pH"),pch1=20,pch2=20,
col1="#fdbb2d",col2="#1E9600")
```

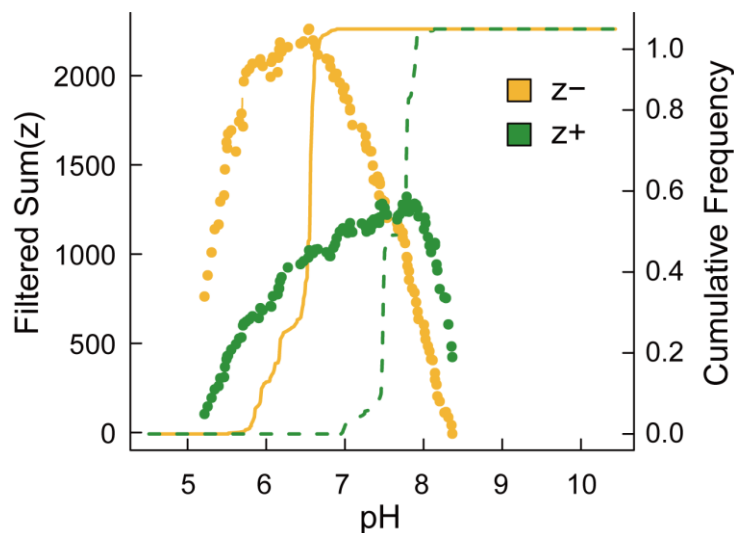


图 6. 微生物群落负响应种 (Z^-) 和正响应种 (Z^+) 指示总分沿 pH 梯度突变点的响应曲线

```
plot_taxa(pH_titan, z.med=F,leg.x=.8, leg.y=5, xlab=expression("pH"),
cex.taxa=.9,cex.axis=1.35,cex=1,fil1="white",fil2="white",pch1=20, pch2=20,
col1="#fdbb2d",col2="#1E9600",pur.cut=0.95, pval.cut=0.05, rel.cut=0.95)
```

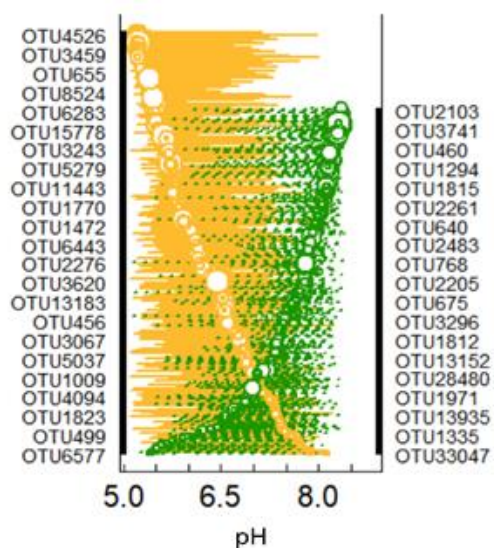


图 7. 微生物群落沿 pH 梯度负响应种和正响应种分布图

4.2 重复第 4.1 条步骤，分别探究微生物群落沿其他环境梯度的环境阈值。

致谢

本方案主要来源于课题组先前发表的相关文章(Jiao *et al.*,2020; Zhang *et al.*,2020)。相关研究得到了国家自然科学基金(41807030)、国家重点研发计划项目(2016YFD0200306)和中国博士后科学基金(2018M630041) 等项目的资助。

参考文献

1. Baker, M. E. and R. S. King (2010). [A new method for detecting and interpreting biodiversity and ecological community thresholds](#). *Methods Ecol Evol* 1: 25-37
2. Isobe, K., S. D. Allison, B. Khalili, A. C. Martiny and J. B. H. Martiny (2019). [Phylogenetic conservation of bacterial responses to soil nitrogen addition across continents](#). *Nat Commun* 10(1): 2499.
3. Jiao, S. and Y. Lu (2020). [Abundant fungi adapt to broader environmental gradients than rare fungi in agricultural fields](#). *Glob Chang Biol* 26(8).
4. Oliverio, A. M., M. A. Bradford and N. Fierer (2016). [Identifying the microbial taxa that consistently respond to soil warming across time and space](#). *Glob Chang Biol*. 23(5)
5. Zhang, Z., J. Zhang and S. Jiao (2020). [Fungi show broader environmental thresholds in wet than dry agricultural soils with distinct biogeographic patterns](#). *Sci Total Environ* 750: 141761.