

北热带喀斯特季节性雨林土壤细菌多样性分布格局及其影响因子

杨美雪^{1,2,3}, 罗婷^{1,2,3}, 钟艺倩^{1,2,3}, 吴淼锐^{2,3}, 陶旺兰^{2,3}, 陆芳^{2,3}, 王斌^{2,3}, 向悟生^{2,3}, 唐年武^{2,3*}, 李先琨^{2,3*}

1 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林

2 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室, 广西 桂林

3 弄岗喀斯特生态系统广西野外科学观测研究站, 广西 崇左

杨美雪, 罗婷, 钟艺倩, 吴淼锐, 陶旺兰, 陆芳, 王斌, 向悟生, 唐年武, 李先琨. 北热带喀斯特季节性雨林土壤细菌多样性分布格局及其影响因子[J]. 微生物学报, 2025, 65(4): 1358-1376.

YANG Meixue, LUO Ting, ZHONG Yiqian, WU Miaorui, TAO Wanglan, LU Fang, WANG Bin, XIANG Wusheng, TANG Nianwu, LI Xiankun. Distribution pattern and influencing factors of soil bacterial diversity in the karst seasonal rainforest of northern tropics[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(4): 1358-1376.

摘要: 广西北热带喀斯特季节性雨林是我国特有的森林生态系统, 然而其土壤微生物多样性及其维持机制尚不清楚。【目的】探究北热带喀斯特季节性雨林土壤细菌多样性分布特征及影响因子, 为该地区土壤微生物多样性及其维持机制的解析提供参考依据。【方法】以弄岗北热带喀斯特季节性雨林 15 hm² 长期动态监测样地(以下简称弄岗样地)为例, 基于 16S rRNA 基因高通量测序技术对其土壤细菌群落组成、多样性分布格局及其潜在影响因子进行分析。【结果】弄岗样地 3 种生境(洼地、中坡、山顶)的土壤共包含细菌操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU) 5 841 个, 隶属于 35 门 104 纲 242 目 373 科 677 属 1 501 种, 主要优势细菌门为变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)和酸杆菌门(*Acidobacteriota*)等。洼地与中坡生境的优势细菌门均为变形菌门, 而山顶生境则为放线菌门。在生境水平上, 土壤细菌总 OTU 数与特异 OTU 数呈洼地>中坡>山顶的规律; 但在群丛水平上, 尽管山顶群丛(HH)的 OTU 总数显著少于其他群丛, 其特异 OTU 数量却是最多的。土壤细菌 α 多样性 (Chao1、Sobs、Shannon、Simpson) 指数在洼地与中坡生境间差异不显著, 但山顶显著低于洼地与中坡生境, 群丛 HH 也显著低于其他群丛。 β 多样性主坐标分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)表明, 土壤细菌群落结构在不同生境及群丛中存在明显差异。线性判别分析(linear discriminant analysis effect size, LEfSe)表明, 洼地

资助项目: 国家自然科学基金(32271599); 广西壮族自治区科技基地和人才专项(桂科23-026-273)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32271599) and the Guangxi Science and Technology Base and Talent Special Program (Guike 23-026-273).

*Corresponding authors. E-mail: TANG Nianwu, tangnianwu@163.com; LI Xiankun, xiankunli@163.com

Received: 2024-07-10; Accepted: 2024-10-18; Published online: 2024-10-21

与山顶生境的标志类群较多, 而中坡的差异指示种最少。相关性分析(Spearman correlation 与 Mantel test)及冗余分析(redundancy analysis, RDA)表明, 平均海拔(average elevation, AvELE)是影响不同生境土壤细菌分布的主要因子, 土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)、碱解氮(alkali-hydrolyzable nitrogen, AN)及速效磷(available phosphorus, AP)的影响次之。基于 Tax4Fun 的功能预测显示, 土壤细菌群落功能在不同生境及群丛间存在显著差异, 其中山顶最为特殊。【结论】本研究揭示了弄岗样地土壤细菌的群落组成及其多样性分布格局, 明确了海拔是影响其分布的首要因子。研究结果为解析广西北热带喀斯特季节性雨林土壤细菌多样性的维持机制提供了基础和依据。

关键词: 喀斯特季节性雨林; 土壤细菌; 群落多样性; 生境; 海拔; 理化因子

Distribution pattern and influencing factors of soil bacterial diversity in the karst seasonal rainforest of northern tropics

YANG Meixue^{1,2,3}, LUO Ting^{1,2,3}, ZHONG Yiqian^{1,2,3}, WU Miaorui^{2,3}, TAO Wanglan^{2,3}, LU Fang^{2,3}, WANG Bin^{2,3}, XIANG Wusheng^{2,3}, TANG Nianwu^{2,3*}, LI Xiankun^{2,3*}

1 College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi, China

2 Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, China

3 Nonggang Karst Ecosystem Observation and Research Station of Guangxi, Chongzuo, Guangxi, China

Abstract: The karst seasonal rainforest of northern tropics in Guangxi is a unique forest ecosystem in China. However, the soil microbial diversity and its maintenance mechanism remain unclear. **[Objective]** This study explored the distribution characteristics and influencing factors of soil bacterial diversity in a karst seasonal rainforest of northern tropics, aiming to provide a reference for analyzing soil microbial diversity and its maintenance mechanisms in this region. **[Methods]** Soil samples were collected from a long-term dynamic monitoring plot in the karst rainforest of northern tropics (referred to as the Nonggang plot). The composition and distribution pattern of soil bacterial community were analyzed by 16S rRNA gene amplicon sequencing, and the potential influencing factors were identified by the correlation analysis. **[Results]** The soil in Nonggang plot harbored a total of 5 841 bacterial operational taxonomic units (OTUs), which were annotated to 1 501 species belonging to 677 genera, 373 families, 242 orders, 104 classes of 35 phyla. The dominant bacterial phyla were *Proteobacteria*, *Actinobacteriota*, and *Acidobacteriota*. The dominant bacterial phylum was *Proteobacteria* in both the depression and the slope habitats, and *Actinobacteriota* in the hilltop habitat. The number of total and specific bacterial OTUs displayed a pattern of depression>slope>hilltop habitats. The hilltop habitat association had the fewest total OTUs but the most specific OTUs. The soil bacterial alpha diversity indexes (Chao1, Sobs, Shannon, and Simpson) were not significantly different between the depression and slope habitats, while they were significantly lower in the hilltop habitat. Similarly, the hilltop habitat association

had the lowest bacterial alpha diversity indexes than the other associations. The principal coordinate analysis (PCoA) of beta diversity showed differences in the bacterial communities among different habitats and associations. The linear discriminant analysis effect size (LEfSe) identified more differential groups in the depression and hilltop habitats than in the slope habitat. The Spearman correlation analysis, Mantel test and redundancy analysis (RDA) indicated that elevation was the primary factor influencing the distribution of soil bacteria in Nonggang plot, followed by soil organic carbon, available nitrogen, and available phosphorus. Tax4Fun predicted that there were significant differences in the function of soil bacterial communities among different habitats and associations, especially in the hilltop habitat. **[Conclusion]** This study revealed the community composition and diversity distribution pattern of soil bacteria in Nonggang plot and identified elevation as the primary factor affecting the distribution. These results contribute to the understanding of soil bacterial diversity and its maintaining mechanism in the karst seasonal rainforest of the northern tropics in Guangxi.

Keywords: karst seasonal rainforest; soil bacteria; community diversity; habitat; elevation; physicochemical factors

喀斯特是由碳酸盐岩溶蚀而形成的一种特殊地貌。由于成土过程缓慢,喀斯特地区土壤具有土层浅薄且不连续、岩石裸露多以及养分含量低等特征,因此喀斯特地区也是世界上主要的生态脆弱地区之一^[1-2]。我国是世界上喀斯特面积分布最广的国家,喀斯特地貌主要分布于广西、贵州与云南等地^[3]。近年来,强烈的人为活动与喀斯特地区特殊的地质条件相互作用,导致了石漠化等一系列生态问题^[4]。为遏制石漠化等生态问题、提高生态系统健康水平,喀斯特生态系统的恢复已经成为生态研究的热点之一^[5]。土壤微生物是陆地生态系统的重要组成部分,对生态系统的物质循环和能量流动具有重要的驱动作用^[6]。喀斯特地区土壤条件特殊,应对气候环境变化的缓冲能力较非喀斯特地区弱,因此其土壤微生物群落可能在响应环境变化、提高土壤功能稳定性方面发挥了更为重要的作用^[7-8]。因此,土壤微生物群落结构与多样性研究对解析喀斯特地区土壤微生物功能多样性及其维持机制具有重要意义。

土壤细菌是土壤微生物的重要组成部分,

其种类多、数量大,在促进养分矿化、循环以及维持土壤功能等方面发挥着重要作用,其群落组成与多样性也是评价生态系统健康稳定的重要指标^[9-10]。研究表明,亚热带喀斯特地区土壤细菌组成因小生境而异,受总氮(total nitrogen, TN)、土壤酸碱度(pH)、总磷(total phosphorus, TP)的显著影响^[11-12];土壤细菌对亚热带喀斯特地区土壤有机碳(soil organic carbon, SOC)储量有重要贡献^[13];中亚热带喀斯特土壤细菌组成与变化与土壤碳氮比(carbon-to-nitrogen ratio, C/N)、速效磷(available phosphorus, AP)、速效钾(available potassium, AK)紧密相关^[14-15]。尽管这些研究为了解喀斯特森林细菌多样性及其影响因素提供了基础,但它们大多关注于亚热带喀斯特地区,而对其他气候类型关注较少,尤其是对生物多样性丰富的热带喀斯特季节性雨林地区的相关研究还近乎空白^[16]。

广西弄岗国家级自然保护区是世界上保存较为完整的北热带喀斯特季节性雨林,具有典型的喀斯特地质地貌,其生境也呈现出高度异质性,是研究热带喀斯特地区土壤细菌群落结

构与多样性的理想场所^[17]。因此,本研究以弄岗北热带喀斯特季节性雨林中的一个 15 hm² 动态监测样地为对象,基于 16S rRNA 基因高通量测序技术对样地内不同生境的土壤细菌群落组成及多样性进行分析,并采用相关性分析(Spearman correlation 与 Mantel test)及冗余分析(redundancy analysis, RDA)评估了海拔与土壤理化性质对细菌群落结构及多样性的影响。研究揭示了广西北热带喀斯特季节性雨林土壤细菌的分布特征及其主要影响因子,为该地区土壤微生物多样性及其维持机制的解析提供了基础数据,也为北热带喀斯特季节性雨林土壤微生物多样性的保护提供了科学参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

弄岗国家级自然保护区(106°42′–107°04′E, 22°13′–22°33′N)位于广西壮族自治区龙州县以东、宁明县以北,由弄岗、陇呼、陇瑞 3 个片区组成,总面积 10 080 hm²。保护区呈东南-西北走向,森林结构复杂,生物资源丰富,是我国热带北缘岩溶森林生态系统的典型代表^[18]。保护区为热带季风气候,旱、雨季分明,降雨集中在 5–9 月,年降水量为 1 150–1 550 mm,年

均温 22 °C,最高温 39 °C,最低温 13 °C,年无霜期 351 d 以上^[19]。土壤类型主要为黑色石灰土和棕色石灰土,土层浅薄且不连续^[20]。2011 年,中国科学院广西植物研究所按照热带森林科学中心(Center for Tropical Forest Science, CTFS)样地建设标准在保护区内建立了一个森林动态监测样地,以下简称弄岗样地,如图 1A 所示^[19]。样地位于保护区内(22°27′N, 106°56′E),海拔 180–370 m,东西长 500 m,南北宽 300 m,面积为 15 hm²。样地包含一个小型山峰和一个完整的洼地,可以划分为 3 种典型生境(洼地、中坡、山顶)和 8 个群丛(图 1B),群丛的划分依照黄甫昭等的多元回归树方法进行^[19]。其中,群丛 A、B、C、D 为洼地生境,群丛 E、F、G 为中坡生境,群丛 H 为山顶生境,样地内不同生境间水热条件差异明显^[21]。

1.2 土壤样品采集与处理

本研究所用土壤样品采集于 2023 年 7 月,采集方案为每个群丛内选取 6–8 个样方(20 m×20 m)进行土样采集,各生境、群丛及其取样样方数量如表 1 所示。按照五点取样法,清理表层杂质后用内径 3.5 cm 的土钻采集 0–15 cm 的土壤,五点混合成 1 份样品。若土层厚度不足(如土层稀薄的山顶生境),则依据实际厚度采集,本研

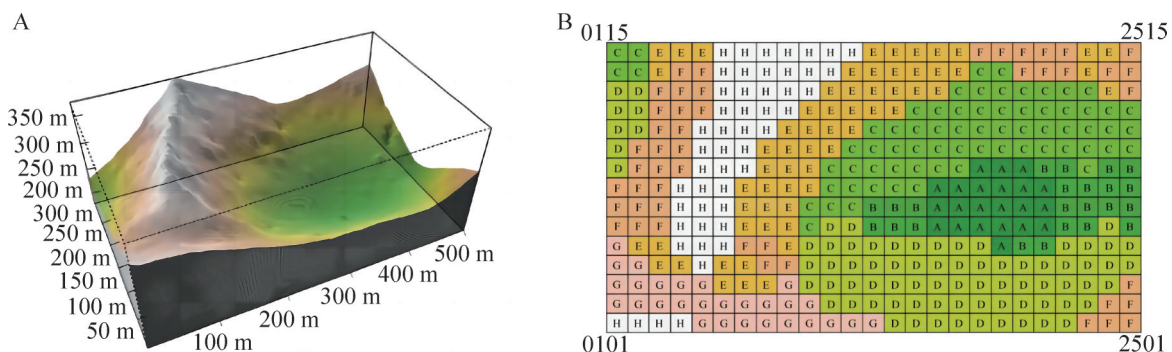


图1 弄岗样地的地形图。A: 三维地形; B: 群丛分布。

Figure 1 Topographic map of Nonggang sample plot. A: Three-dimensional topographical map; B: Association distribution.

表1 不同生境、群丛及其取样样方数

Table 1 Number of soil samples of different habitat types

典型生境 Typical habitats	群丛 Association	群丛小生境 Association microhabitat	取样样方数 Number of quadrats sampled
洼地 Depression (29)	DA	谷底 Valley	7
	DB	谷底边缘 Valley edge	6
	DC	中下坡阳坡地带 Sunny lower-middle slope	8
	DD	中下坡阴坡地带 Shady lower-middle slope	8
中坡 Slop (23)	SE	中上坡半阴坡地带 Semi-shady middle-upper slope	8
	SF	半阳坡地带 Semi-sunny slope	7
	SG	垭口 Pass	8
山顶 Hilltop (8)	HH	山顶 Top	8

括号内数字表示典型生境内总取样样方数。

The number in brackets indicates the total number of quadrats sampled in typical habitats.

究共采集 60 份土壤样品。采集的土样经 2 mm 筛后一分为二，分别装入干净自封袋。采样时置于保温箱(内置冰袋)保存，待回到实验室后，一份立即置于-80 °C冰箱保存，用于土壤微生物 DNA 提取；另一份室温自然风干，用于土壤理化指标测定。

1.3 土壤理化性质测定

土壤含水量(soil water content, SWC)采用烘干称量法；土壤 pH 采用电极测定；有机碳(SOC)测定采用酚二磺酸比色法；碱解氮(AN)采用碱解扩散法；速效磷(AP)采用钼锑抗比色法；速效钾(AK)采用乙酸铵提取-原子吸收法测定^[22]。

1.4 土壤微生物 DNA 提取和高通量测序

土壤总 DNA 提取采用 E.Z.N.A.[®] Soil DNA 试剂盒(Omega Bio-Tek 公司)。以提取的 DNA 为模板，对土壤细菌 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增，引物为 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGA CTACHVGGGTWTCTAAT-3')^[23]。PCR 反应体系：5×*FastPfu* Buffer 缓冲液 4 μL，dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL，上、下游引物(5 μmol/L)各

0.8 μL，*FastPfu* 聚合酶(2.5 U/μL) 0.4 μL，模板 DNA 10 ng，补足超纯水至 20 μL。PCR 反应条件：95 °C预变性 3 min；95 °C变性 30 s，55 °C退火 30 s，72 °C延伸 30 s，共 27 个循环；72 °C终延伸 10 min。PCR 产物经回收与定量后，使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq 试剂盒 (Bioo Scientific 公司)进行建库，建库及高通量测序(Illumina MiSeq, PE300)由上海美吉生物医药科技有限公司完成。本研究测序获得的原始数据储存在国家微生物科学数据中心(National Microbiology Data Center, NMDC)，编号为 NMDC10019009。

1.5 数据分析

高通量测序下机数据使用 Illumina 官方 bcl2fastq 软件(v2.20.0.422)去除接头序列，使用 Fastp 软件(v0.19.6)对双端序列进行质控，使用 Flash 软件(v1.2.11)进行拼接^[24-25]；使用 uParse 软件(v11)以 97% 一致性(identity)对质控拼接后的序列进行操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)划分^[26]；为避免稀有 OTU 的存在造成多样性指数膨胀，本研究仅保留至少在 3 个样本中序列数均不小于 3 且序列数总和不小于 20 的 OTU^[27]；基于 Silva 16S rRNA 基因数据库

(v138)进行比对, 得到过滤后 OTU 对应的物种分类信息^[28]。采用 mothur 软件(v1.30.2)计算各生境或群丛内土壤细菌群落 α 多样性指数, 包括 Chao1 指数、Sobs 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数, 并采用克鲁斯卡尔-沃利斯检验 (Kruskal-Wallis H test) 进行 α 多样性指数的组间差异分析^[29]。采用线性判别分析效应大小 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 方法分析不同组间从门到属水平丰度显著差异的细菌类群 (biomarker), 阈值设定为 $LDA > 4.0$ 。不同生境或群丛间土壤理化指标的比较与差异采用 Kruskal-Wallis 检验进行。组间细菌群落差异 (β 多样性) 分析使用基于 Bray-Curtis 距离算法的主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA)、并使用相似性分析 (analysis of similarities, ANOSIM) 检验组间差异的显著性。通过方差膨胀因子 (variance inflation factor, VIF) 分析评估多种环境因子的自相关性, 保留 VIF 值 < 10 的环境因子用于关联分析^[30-31]; 使用基于线性模型的冗余分析 (RDA) 评估土壤理化指标对土壤细菌群落结构的影响。土壤细菌与环境因子的相关性分析使用 Spearman 相关性分析与曼特尔检验 (Mantel test) 方法。微生物功能预测采用 Tax4Fun 软件 (v0.3.1) 进行分析^[32]。统计分析通过 SPSS 23.0 和 R 4.2.2 程序下的多个函数 (如 ape、vegan、ggplot2 等) 完成。

2 结果与分析

2.1 弄岗样地不同生境下的土壤细菌群落组成及差异

本研究采集的 60 个土壤样品经高通量测序、OTU 划分与过滤, 共得到 5 841 个 OTUs。物种注释和分类结果显示, 弄岗样地土壤细菌共包含 35 门 104 纲 242 目 373 科 677 属 1 501 种。OTU 组成韦恩图显示: 洼地共有 5 601 个

OTUs, 中坡共有 5 634 个 OTUs, 山顶共有 4 203 个 OTUs; 其中洼地特有 OTUs 为 152 个, 中坡特有 OTUs 为 35 个 (图 2A), 山顶特有 OTUs 为 19 个; 群丛 DA 至 HH 特有 OTUs 分别为 2、1、1、0、4、2、0、19 个 (图 2B)。在属分类水平上, 相对丰度 $> 5\%$ 的特有细菌属共有 10 个, 洼地生境有 8 个特有类群, 山顶生境有 2 个特有类群, 分别为藤黄色单胞菌属 (*Luteimonas*) 和克拉西里尼柯夫氏菌属 (*Krasilnikovia*), 中坡生境无特有类群 (图 2C)。弄岗样地土壤细菌的特异性表现为: 生境水平上, 洼地 $>$ 中坡 $>$ 山顶; 群丛水平上, HH 大于其他群丛 (DA、DB、DC、DD、SE、SF、SG)。

在注释得到的 35 个细菌门中, 相对丰度 $> 1\%$ 的优势细菌门有 12 个, 依次为变形菌门 (*Proteobacteria*, 24.41%)、放线菌门 (*Actinobacteriota*, 18.72%)、酸杆菌门 (*Acidobacteriota*, 18.62%)、粘球菌门 (*Myxococcota*, 8.74%)、甲基单胞菌门 (*Methylomirabilota*, 4.67%)、绿弯菌门 (*Chloroflexi*, 4.54%)、厚壁菌门 (*Firmicutes*, 4.33%)、疣微菌门 (*Verrucomicrobiota*, 3.89%)、拟杆菌门 (*Bacteroidota*, 3.28%)、芽单胞菌门 (*Gemmatimonadota*, 1.89%)、硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*, 1.34%) 以及浮霉菌门 (*Planctomycetota*, 1.33%) (图 3A)。其中, 洼地生境和中坡生境的优势细菌门 (相对丰度最高) 均为变形菌门 (*Proteobacteria*), 而山顶生境的优势菌门则是放线菌门 (*Actinobacteriota*) (图 3B)。在群丛水平上, 放线菌门比例随海拔升高而增加, 而疣微菌门 (*Verrucomicrobiota*) 则随海拔升高呈降低趋势 (图 3C)。

对样地土壤细菌从门至属水平进行 LEfSe 分析, 结果如图 4 所示 ($LDA > 4.0$)。分析共鉴定出 30 个差异指示类群 (biomarker), 其中中坡生境仅有 1 个差异指示类群盖亚女神菌目

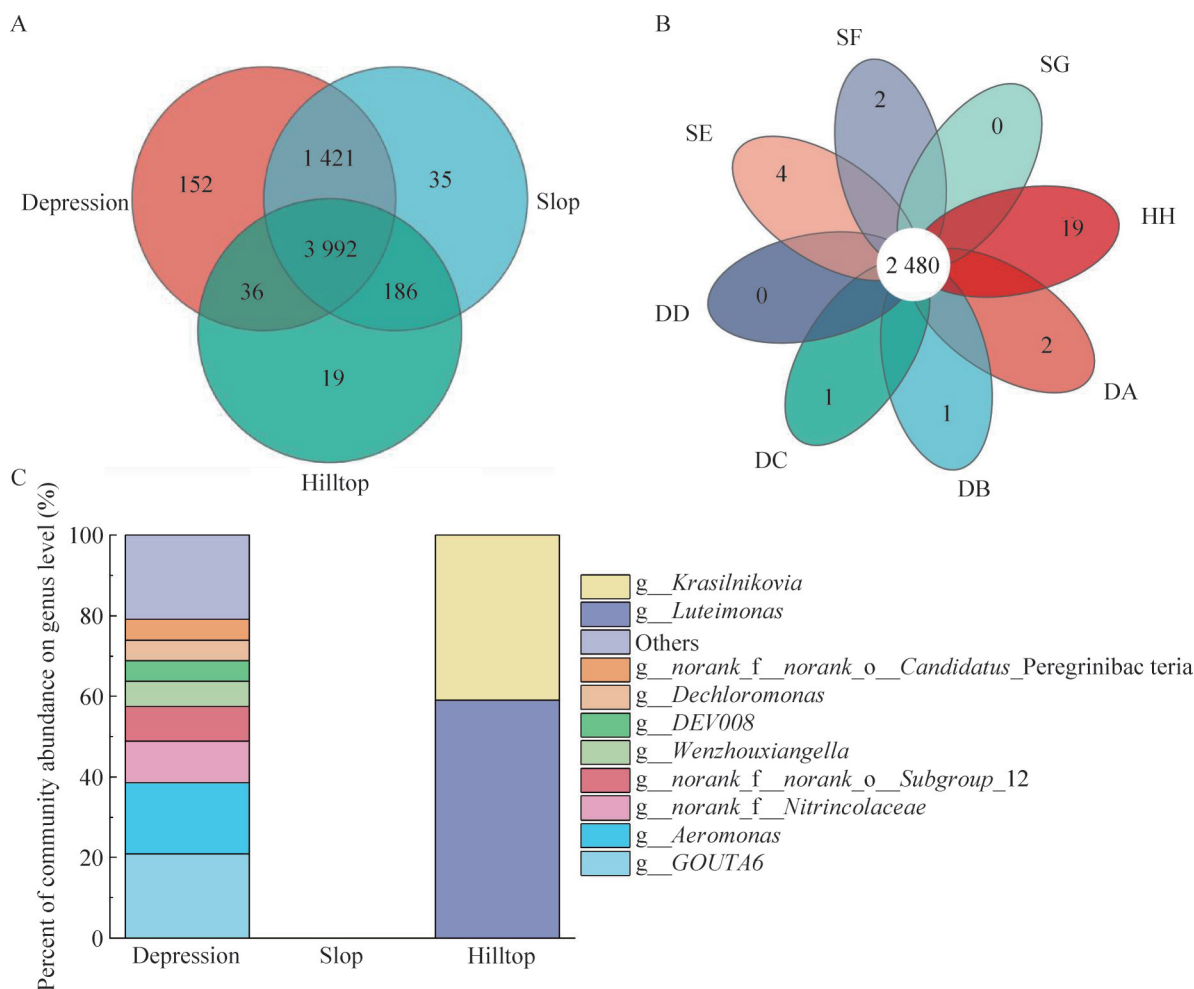


图2 弄岗样地土壤细菌群落组成与生境特有类群。A: 不同生境OTU组成韦恩图; B: 不同群丛OTU组成韦恩图; C: 不同生境特有的细菌属及其占比(相对丰度<5%的类群计为others)。

Figure 2 Soil bacterial community composition and habitat-specific genera in Nonggang plot. A: Venn diagram of soil bacterial community composition at OTU level in different habitats; B: Venn diagram of soil bacterial community composition at OTU level in different associations; C: Endemic genera in different habitats (taxa with a relative abundance less than 5% are classified as others).

(Gaiellales)。在门分类水平上,洼地生境的差异指示类群包括拟杆菌门、厚壁菌门和甲基单胞菌门,山顶生境的指示类群仅为放线菌门。在纲分类水平上,洼地生境的差异指示纲为 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)、芽孢杆菌纲(Bacilli)、拟杆菌纲(Bacteroidia)和甲基单胞菌纲(Methylomirabilia),而山顶生境的差异指示类群为嗜热油菌纲(Thermoleophila)、酸杆菌纲

(Blastocatellia)、疣微菌纲(Verrucomicrobiae)和红色杆菌纲(Rubrobacteria)。在目分类水平上,洼地生境有3个差异指示类群,山顶生境有5个。在科分类水平上,洼地生境有2个差异指示类群,山顶生境有3个。在属分类水平上,洼地和山顶生境均各有2个差异指示类群。与生境分组不同,当前阈值下各群丛的LEfSe分析未鉴定到任何差异指示类群。

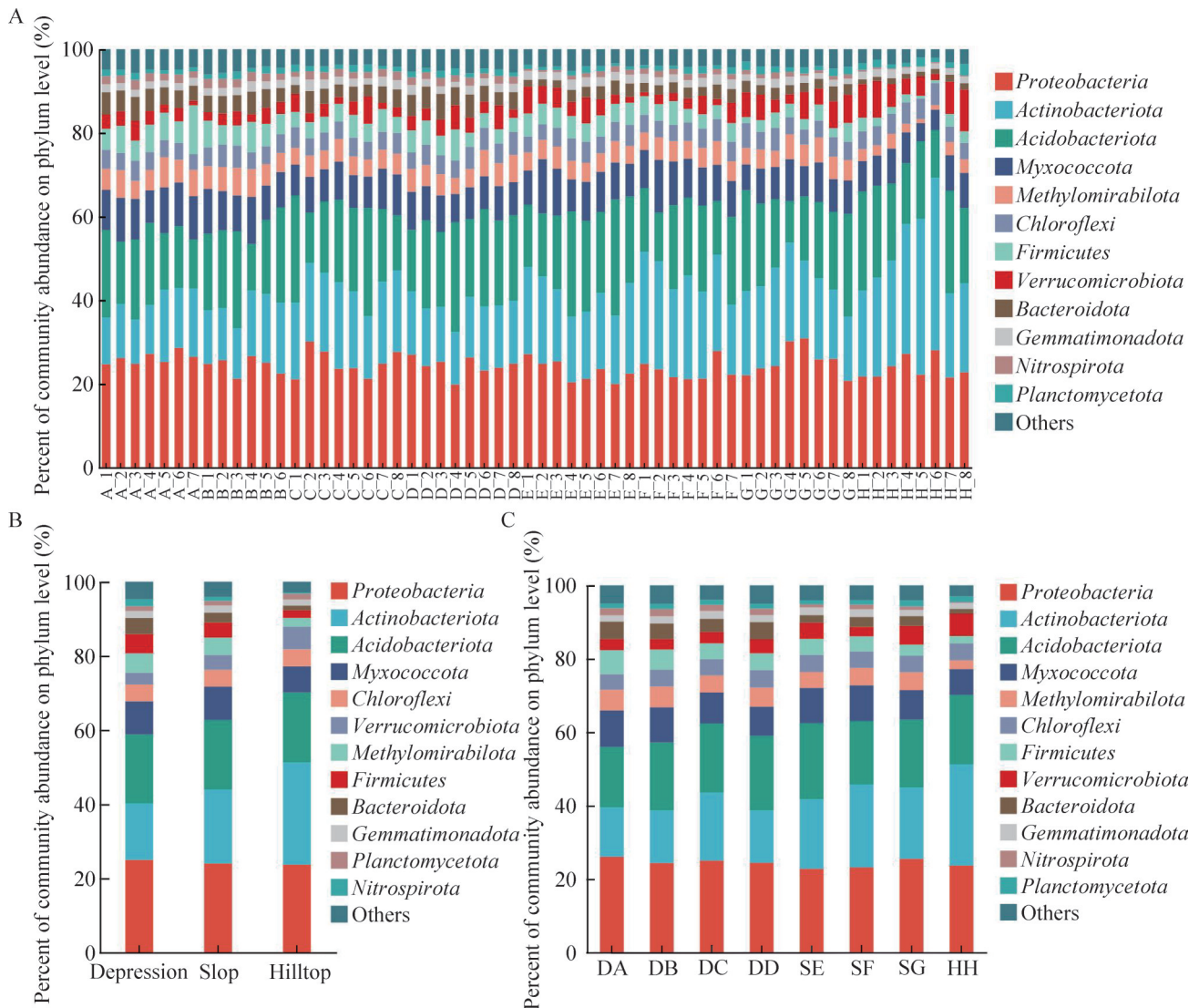


图3 弄岗样地(门水平)土壤细菌相对丰度。A: 样方水平; B: 不同生境; C: 不同群丛。A_1-A_7: 群丛DA; B_1-B_6: 群丛DB; C_1-C_8: 群丛DC; D_1-D_8: 群丛DD; E_1-E_8: 群丛SE; F_1-F_7: 群丛SF; G_1-G_8: 群丛SG; H_1-H_8: 群丛HH。相对丰度<1%的物种计为others。

Figure 3 Relative abundance of soil bacteria (phylum) in Nonggang plot. A: Quadrat-level; B: Habitat-level; C: Association-level. A_1-A_7: Association DA; B_1-B_6: Association DB; C_1-C_8: Association DC; D_1-D_8: Association DD; E_1-E_8: Association SE; F_1-F_7: Association SF; G_1-G_8: Association SG; H_1-H_8: Association HH. Taxa with a relative abundance less than 1% are classified as others.

2.2 弄岗样地不同生境下土壤细菌群落多样性

基于 OTU 水平, 不同生境的土壤细菌群落多样性如表 2 所示。其中, Chao1、Sobs 和 Shannon 指数在洼地与中坡间未见显著差异, 但

均与山顶有显著差异。Simpson 指数在洼地、中坡和山顶间未见显著差异。山顶除 Simpson 指数略高于中坡外, 其他多样性指数均低于洼地与中坡。

在群丛水平上, Chao1 指数在群丛 HH 最

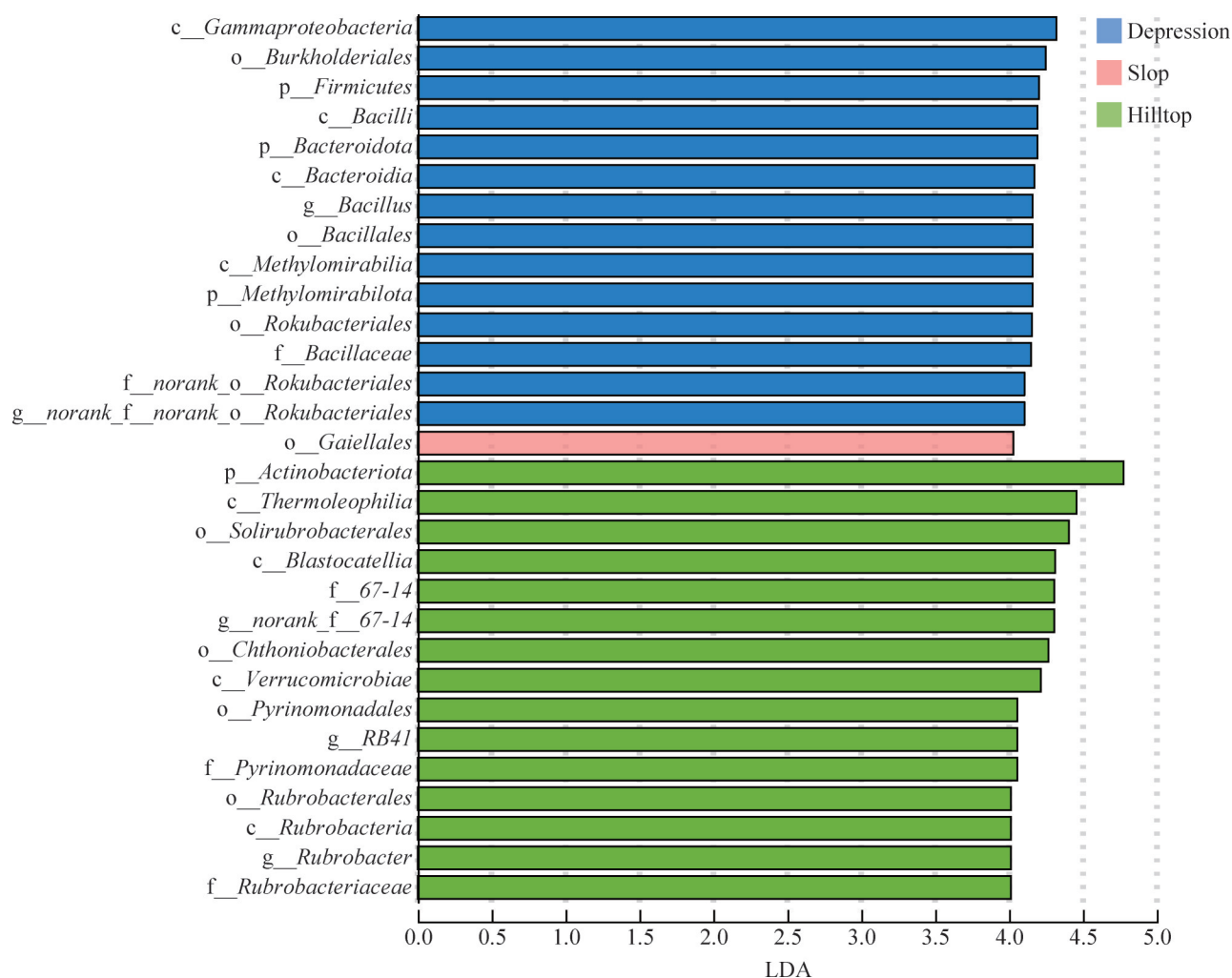


图4 不同生境下土壤细菌类群的LEfSe分析。分析涵盖从门到属水平，差异指示类群的首字母代表分类学水平。

Figure 4 Linear discriminant analysis effect size (LEfSe) of soil bacteria in different habitats. Taxa from phylum- to genus-level were analyzed, and the initials of biomarker taxa stand for the taxonomical level.

低，与群丛 DA-SG 有显著差异，而在群丛 DA-SG 间未见显著差异。群丛 HH 的 Sobs 指数最低，其次为群丛 SE，群丛 SE 与 DC、DD、HH 间具有显著差异，且群丛 HH 与群丛 DA-SG 均有显著差异。群丛 HH 的 Shannon 指数低于其他群丛，与群丛 DB、DC、DD、SE、SG 有显著差异，但与群丛 DA、SF 未见显著差异。群丛 DA 的 Simpson 指数最高，与群丛 DC、SF 有显著差异，而其他群丛(DB、DD、

SE、SG、HH)未见显著差异。山顶群丛 HH 除 Simpson 指数外，其他多样性指数均为最低值。总体而言，弄岗样地土壤细菌多样性表现为洼地和中坡间差异不显著，山顶低于洼地和中坡生境，群丛 HH 低于其他群丛。

主坐标分析(PCoA)与 ANOSIM 差异检验结果显示，弄岗样地土壤细菌群落构成在不同生境和群丛中存在显著差异(图 5)。各土壤样本在 PCoA 第一排序轴上大致分为 3 个区域，基本对

表2 弄岗样地土壤细菌多样性指数(基于OTU水平)

Table 2 Soil bacterial diversity index in Nonggang plot (based on OTU level)

Habitat and association		Chao1 index	Sobs index	Shannon index	Simpson index
生境 Habitat	洼地 Depression	3 372±147A	2 587±102A	6.314 5±0.137 1A	0.008 6±0.002 5A
	中坡 Slop	3 330±243A	2 513±177A	6.283 6±0.190 0A	0.008 3±0.003 5A
	山顶 Hilltop	2 739±175B	2 091±122B	6.032 8±0.067 2B	0.008 4±0.001 0A
群丛 Association	DA	3 270±194a	2 510±134ab	6.174 3±0.153 5ab	0.011 6±0.002 8a
	DB	3 402±59a	2 576±40ab	6.288 0±0.089 7a	0.008 5±0.001 9ab
	DC	3 440±97a	2 635±78a	6.393 5±0.040 1a	0.006 9±0.000 5b
	DD	3 372±162a	2 616±95a	6.378 1±0.125 0a	0.007 6±0.001 4ab
	SE	3 186±326a	2 403±205b	6.201 3±0.265 0a	0.009 8±0.005 1ab
	SF	3 416±157a	2 549±130ab	6.343 1±0.096 3ab	0.006 4±0.000 9b
	SG	3 398±147a	2 593±141ab	6.313 7±0.145 0a	0.008 5±0.002 3ab
	HH	2 739±175b	2 091±122c	6.032 8±0.067 2b	0.008 4±0.001 0ab

同一列数据不同大写字母表示生境间差异, 不同小写字母表示群丛间差异(Kruskal-Wallis检验, $P<0.05$)。

Different capital letters in the same column indicate significant differences among habitats, while different lowercase letters indicate significant differences among associations (Kruskal-Wallis test, $P<0.05$).

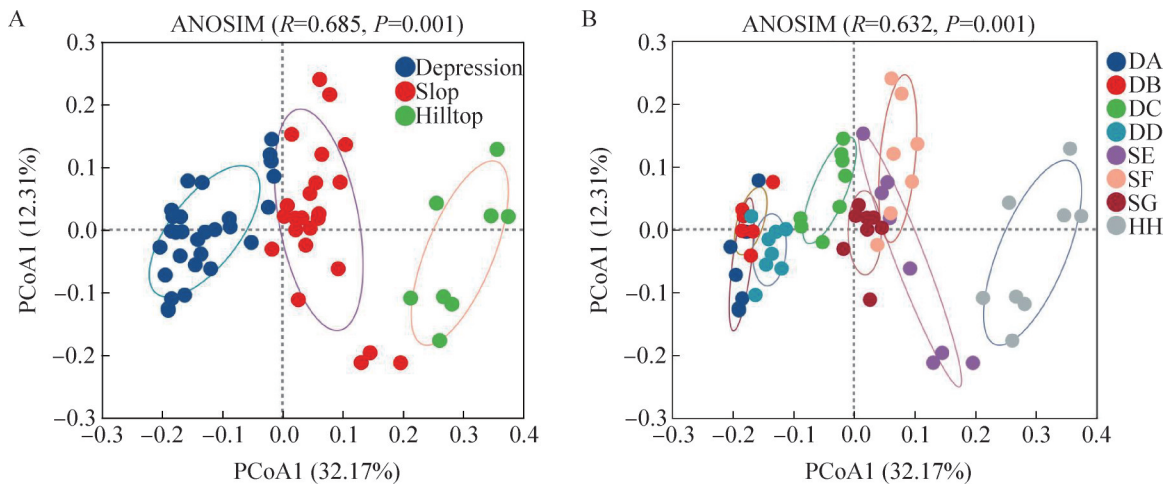


图5 基于OTU水平的弄岗样地土壤细菌主坐标分析(PCoA)。A: 不同生境; B: 不同群丛。分析采用Bray-Curtis距离算法, 组间差异采用ANOSIM检验, 样本点颜色与椭圆代表分组(生境或群丛)。

Figure 5 Principal co-ordinates analysis (PCoA) of soil bacteria (OTU level) at Nonggang plot. A: Different habitats; B: Different associations. The analysis is based on the Bray-Curtis distances, and the difference among groups was analyzed by analysis of similarities (ANOSIM). The colors and ellipses of sample points represent grouping (habitat or community).

应洼地、中坡和山顶 3 种不同生境, 表明土壤细菌群落构成在生境水平上具有较为明显的差异(图 5A); 相对而言, 土壤细菌群落构成在群

丛水平上差异较小, 部分群丛之间甚至高度相似, 例如群丛 DA 与 DB(图 5B)。在变异解释方面, 第一轴(PCoA1)解释了 32.17% 的变异量,

第二轴(PCoA2)解释了 12.31% 的变异量。

2.3 弄岗样地不同生境的土壤理化性质差异

弄岗样地海拔范围为 180–370 m, 所有群丛的平均海拔(average elevation, AvELE)如表 3 所示。土壤 pH 的范围为 6.90–7.32, 最高值和最低值均出现在中坡生境的群丛内, 分别是群丛 SF 和群丛 SE。土壤含水量(SWC)为 30.50%–55.57%, 其中洼地群丛 DA 的含水量最高, 山顶群丛 HH 的含水量最低。土壤速效钾(AK)含量为 87.00–369.71 mg/kg、速效磷(AP)含量为 1.52–87.25 mg/kg; AK 和 AP 含量在洼地生境的群丛(DA、DB、DC、DD)中均高于中坡与山顶群丛。土壤有机碳(SOC)含量为 68.62–117.88 g/kg, 山顶群丛 HH 的 SOC 含量高于中坡与洼地的群丛。土壤碱解氮(AN, 速效氮)含量为 274.07–356.52 mg/kg, SOC 和 AN 含量最高的均为山顶群丛 HH, 最低的均为洼地群丛 DA。

2.4 环境因子对弄岗样地细菌群落的影响

基于 OTU 水平的冗余分析(RDA)结果显示,

海拔、pH、含水量、速效钾、速效磷、有机碳和碱解氮对土壤细菌群落结构有显著影响。RDA 第一轴和第二轴分别解释了 28.73% 和 11.54% 的变异量(图 6)。其中, 海拔、土壤 pH、有机碳和碱解氮与 RDA 轴 1 呈正相关; 土壤含水量、速效钾和速效磷与 RDA 轴 1 呈负相关; 海拔与土壤有机碳、碱解氮呈正相关, 与土壤含水量、速效钾和速效磷呈负相关; 海拔是影响弄岗样地土壤细菌群落结构的最重要因子。

与 RDA 结果类似, 土壤细菌群落构成与环境因子的曼特尔检验结果也表明: 海拔是与弄岗样地土壤细菌群落相关性最强的环境因子($r=0.503$, $P=0.001$, 表 4), 其次是土壤有机碳($r=0.356$, $P=0.001$)、碱解氮($r=0.157$, $P=0.018$)和速效磷($r=0.149$, $P=0.011$)。

此外, 土壤细菌门类与环境因子的 Spearman 相关性分析结果也表明, 海拔、含水量、速效钾、速效磷、有机碳和碱解氮对土壤细菌组成具有显著影响(图 7)。其中, 海拔与放线菌门(*Actinobacteriota*)呈显著正相关关系, 与硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、

表3 弄岗样地不同群丛海拔与土壤理化性质

Table 3 Elevation and soil physicochemical properties of different associations in Nonggang plot

Association	AvELE (m)	pH	SWC (%)	AK (mg/kg)	AP (mg/kg)	SOC (g/kg)	AN (mg/kg)
DA	188.75±2.86	6.90±0.09b	55.57±1.63a	369.71±60.33a	87.25±8.99a	68.62±4.87b	274.07±19.75c
DB	200.68±6.96	7.06±0.09ab	48.67±9.11ab	214.83±23.59ab	44.57±11.96ab	84.37±5.49ab	317.22±21.55abc
DC	231.14±16.75	7.09±0.10ab	39.88±1.58ab	186.38±11.27abc	4.90±0.39abc	92.34±5.80ab	319.43±15.82abc
DD	214.20±12.31	6.86±0.10b	41.75±4.93ab	114.00±7.09abcd	5.54±1.36abcc	70.77±4.05b	283.04±13.66bc
SE	282.79±23.53	6.82±0.14b	33.00±1.20bc	87.00±7.16d	1.86±0.44c	85.11±5.48ab	293.76±12.93bc
SF	274.54±7.63	7.32±0.18a	34.29±1.73bc	102.14±9.72bcd	2.04±0.23b	93.92±5.49ab	329.50±13.41ab
SG	297.24±12.51	6.93±0.06b	38.00±1.40abc	99.75±3.73bcd	1.60±0.12c	74.54±3.86b	275.52±12.97c
HH	342.47±12.61	6.90±0.14b	30.50±1.05c	87.38±5.56d	1.52±0.16c	117.88±9.47a	356.52±18.83a

同一列数据中不同小写字母表示差异显著(Kruskal-Wallis检验, $P<0.05$); AvELE: 平均海拔; pH: 土壤酸碱度; SWC: 土壤含水量; AK: 速效钾; AP: 速效磷; SOC: 有机碳; AN: 碱解氮。

Different lowercase letters in the same column indicate significant differences based on Kruskal-Wallis test ($P<0.05$). AvELE: Average elevation; pH: Soil pH; SWC: Soil water content; AK: Available potassium; AP: Available phosphorus; SOC: Soil organic carbon; AN: Alkali hydrolyzable nitrogen.

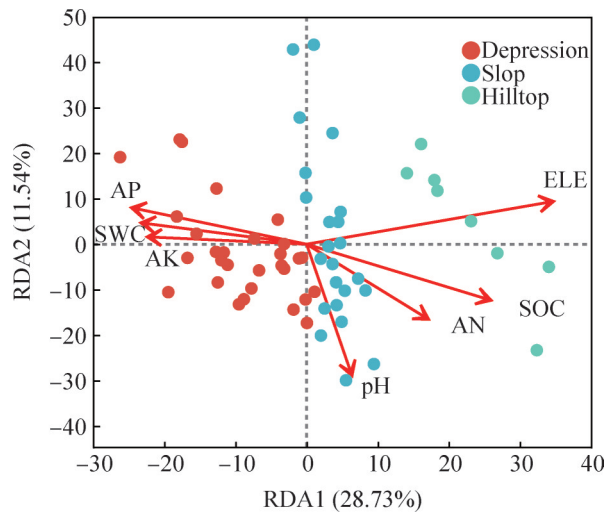


图6 基于OTU水平细菌群落与土壤环境因子的冗余分析(RDA)。ELE: 海拔; pH: 土壤酸碱度; SWC: 土壤含水量; AK: 速效钾; AP: 速效磷; SOC: 有机碳; AN: 碱解氮。

Figure 6 Redundancy analysis (RDA) of bacterial communities (OTU-level) and soil environmental factors. ELE: Elevation; pH: Soil pH; SWC: Soil water content; AK: Available potassium; AP: Available phosphorus; SOC: Soil organic carbon; AN: Alkali hydrolyzable nitrogen.

厚壁菌门 (*Firmicutes*)、甲基单胞菌门 (*Methylobacteriota*)呈显著负相关。土壤含水量、速效钾、速效磷与硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)呈显著正相关, 土壤含水量和速效磷与放线菌门 (*Actinobacteriota*)呈显著负相关; 土壤速效钾与疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)呈显著负相关关系。

表4 土壤细菌群落(OTU水平)受环境因子影响的曼特尔检验

Table 4 Mantel test of soil bacterial communities (OTU-level) affected by environmental factors

Environmental factors	ELE	pH	SWC	AK	AP	SOC	AN
Correlation coefficient (<i>r</i>)	0.503	0.063	0.143	0.072	0.149	0.356	0.157
Significance (<i>P</i>)	0.001	0.344	0.075	0.272	0.011	0.001	0.018

ELE: 海拔; pH: 土壤酸碱度; SWC: 土壤含水量; AK: 速效钾; AP: 速效磷; SOC: 有机碳; AN: 碱解氮。

ELE: Elevation; pH: Soil pH; SWC: Soil water content; AK: Available potassium; AP: Available phosphorus; SOC: Soil organic carbon; AN: Alkali hydrolyzable nitrogen.

土壤有机碳和碱解氮与放线菌门 (*Actinobacteriota*)呈显著正相关, 与拟杆菌门 (*Bacteroidota*)呈显著负相关。土壤 pH 仅与疣微菌门(*Verrucomicrobiota*)呈显著负相关。

2.5 弄岗样地不同生境下土壤细菌群落功能预测及差异

Tax4Fun 功能预测共鉴定出 264 个 KEGG 三级通路(level 3), 隶属于 6 个一级通路(level 1)和 40 个二级通路(level 2)。在注释的 6 个一级通路中, 占比最高的是代谢途径(metabolism), 在 8 个群丛中分别为 60.64%、60.64%、60.55%、60.59%、60.63%、60.52%、60.57%、60.63% (图 8A)。在二级通路中, 占比前 3 的通路为膜转运(membrane transport)、氨基酸代谢(amino acid metabolism)和信号转导(signal transduction) (图 8B)。在三级通路中, 占比前 3 的为转运蛋白 (ABC transporters)、双组分系统 (two-component system)和嘌呤代谢(purine metabolism) (图 8C)。

对 KEGG 三级通路占比前 10 的通路进行差异分析, 结果显示群丛 HH 的氮代谢(nitrogen metabolism)和细胞周期 (cell cycle-caulobacter)功能均显著高于其他群丛; 此外, 群丛 HH 在转运蛋白 (ABC transporters)、双组分系统 (two-component system)、嘌呤代谢 (purine metabolism)、氨基酰-tRNA 生物合成(aminoacyl-tRNA biosynthesis)和卟啉及叶绿素代谢 (porphyrin and chlorophyll metabolism)方面与其

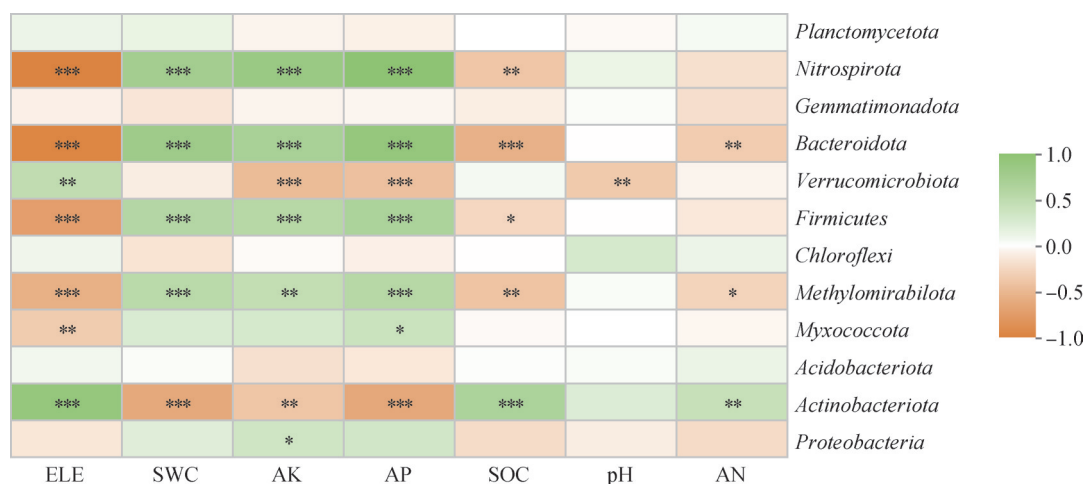


图7 土壤环境因子与细菌群落构成(门水平) Spearman相关性。ELE: 海拔; pH: 土壤酸碱度; SWC: 土壤含水量; AK: 速效钾; AP: 速效磷; SOC: 有机碳; AN: 碱解氮。

Figure 7 Spearman correlations of soil environmental factors and bacterial phyla. ELE: Elevation; pH: Soil pH; SWC: Soil water content; AK: Available potassium; AP: Available phosphorus; SOC: Soil organic carbon; AN: Alkali hydrolyzable nitrogen. *: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

他群丛也存在显著性差异(图 8D)。

3 讨论

3.1 不同生境类型土壤细菌群落结构特征

土壤细菌优势物种在土壤的形成与发展中发挥着重要作用^[33]。本研究中, 弄岗样地土壤检测出变形菌门、酸杆菌门、放线菌门等优势细菌类群, 其中变形菌门为相对丰度最大的细菌类群, 这与吴求生等在贵州茂兰喀斯特森林研究的结果一致^[34]。在这些优势菌群中, 变形菌门是洼地和中坡的优势菌门, 而放线菌门是山顶的优势菌门。同时, LEfSe 分析也表明在门分类学水平上, 放线菌门是山顶的差异指示类群。此外, 本研究还发现放线菌门与土壤碱解氮含量显著正相关(图 7)。这可能与放线菌门下部分类群, 如弗兰克氏菌属(*Frankia*)具有共生固氮功能有关, 固氮细菌类群的富集可能是山顶氮富集的原因之一^[35-38]。山顶土壤含水量低、

土层干燥且稀薄, 这种条件通常不利于植物凋落物与有机质的快速分解, 从而可能导致土壤有机碳含量显著高于其他生境。山顶特殊的养分与气候条件造就了其独特的微生物群落构成。在差异指示类群数量上, 中坡的差异指示类群数量明显少于洼地和山顶(图 4), 这可能是由于中坡的土壤 pH、含水量、营养成分介于洼地与山顶之间, 生长条件相对适宜, 使得大部分细菌能够在中坡生存, 从而导致中坡的差异指示类群较洼地和山顶少。

弄岗样地土壤细菌多样性指数在不同生境中存在差异, 山顶多样性指数明显低于洼地与中坡(表 2)。Shannon 多样性指数越高, 物种多样性越高。在本研究中, 山顶的 Shannon 指数相较于洼地和中坡偏小, 这可能是由于山顶独特的养分与气候条件对土壤微生物群落产生了较强的筛选作用所致^[39-41]。此外, 这也可能与山顶的群丛和样方数量低于洼地和中坡生境有关。Simpson 多样性指数是反映群落优势度的一个指标, 在微生物群落中 Simpson 指数越高,

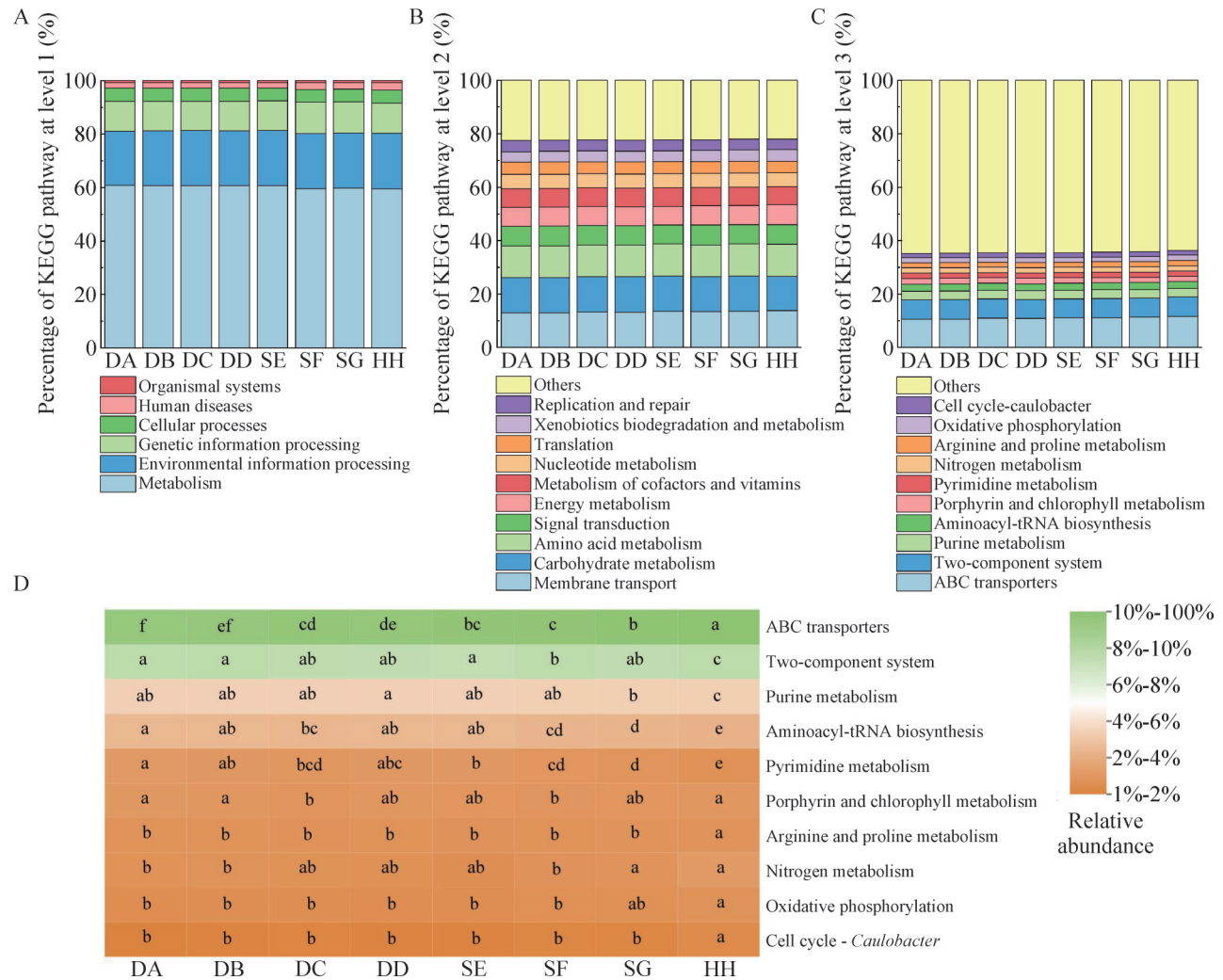


图8 弄岗样地不同群丛土壤细菌群落功能预测及差异。A: KEGG一级通路(level 1); B: KEGG二级通路(level 2); C: KEGG三级通路(level 3); D: 三级通路功能差异[同一行数据不同小写字母表示显著差异(Kruskal-Wallis检验, $P<0.05$)]。

Figure 8 KEGG pathway prediction and differences among different associations of Nonggang plot. A: KEGG pathways at level 1; B: KEGG pathways at level 2; C: KEGG pathways at level 3; D: differences in KEGG level 3 pathways (Different lowercase letters in the same row indicate significant differences (Kruskal-Wallis test, $P<0.05$)).

意味着优势类群越突出, 但相应的物种多样性越低。洼地的 Simpson 指数相较于中坡和山顶偏大, 尤其是群丛 DA 的 Simpson 指数最大, 这可能是由于群丛 DA 地带的土壤异质性较低, 使得某些适应了洼地环境的细菌类群长期占据该生境, 进而形成了优势类群, 然而这种优势的

形成却导致了整体物种多样性的降低^[42]。

3.2 不同生境土壤环境因子对细菌群落的影响

海拔是影响生物群落分布的重要因子, 生物群落结构和分布格局通常受到因海拔变化而导致的生境水、热条件变化的影响^[43-44]。在本

研究中, 弄岗样地土壤细菌群落构成在不同生境与群丛中存在差异(图 5), 这很可能与生境海拔变化引起的土壤水、热条件变化有直接关系^[45]。本研究发现, 土壤含水量与土壤细菌群落组成显著相关(图 7)。此外, 随海拔升高而变化的土壤温度也同样影响着土壤细菌群落的组成与分布^[46-47]。弄岗样地通常表现为低海拔光照时间短且温度较低, 高海拔光照时间长且温度较高的生境特征^[19]。尽管本研究尚未测量土壤温度指标, 但基于前人研究结果, 我们推测土壤温度对弄岗样地细菌群落的构成也具有显著影响。

除海拔外, 土壤理化因子也是引起土壤微生物群落变化的重要因素^[48]。本研究发现弄岗样地土壤细菌群落(门水平)与土壤养分间具有显著相关性(图 7), 说明土壤中的营养元素显著影响着各土壤细菌群落的组成及相对丰度。其中, 放线菌门与土壤有机碳和碱解氮含量呈显著正相关, 拟杆菌门与速效磷含量呈显著正相关(图 7)。这很可能与放线菌门具有固氮功能, 而拟杆菌门具有溶磷作用密切相关^[49-51]。值得注意的是, 与以往其他喀斯特地区研究结果不同, 土壤 pH 并不是影响弄岗土壤细菌分布的主要因子, 仅对疣微菌门有影响, 且为显著负相关关系^[52-54]。这可能与研究样地内 pH 波动范围小有关, 在某些条件下, pH 对土壤细菌分布的主导作用不明显, 而是由多因子综合影响所取代^[33]。

综上所述, 本研究发现海拔是影响弄岗样地土壤细菌群落组成与多样性的关键因子, 土壤有机碳、碱解氮、速效磷以及含水量等对弄岗样地土壤细菌群落组成与多样性也有重要影响(图 6、图 7)。海拔变化常伴随着环境因子与植被的变化、而植被的变化又会进一步影响土壤的理化性质与养分含量, 因此海拔对土壤细菌群落组成及多样性的影响很可能是多种受海

拔影响的因子直接与间接作用的综合表现^[37]。未来随着弄岗样地其他相关环境因子数据的收集与完善, 以及相应分析方法(如变差分解、结构方程模型等)的运用, 各因子对土壤微生物组成及多样性的影响将会得到更为准确的量化与评估。

3.3 不同生境细菌群落的功能特征

土壤微生物群落的组成和结构是决定其功能的关键因素^[55-56]。弄岗土壤细菌在 KEGG 一级、二级、三级通路上起主导作用的功能分别是代谢 (metabolism)、膜转运 (membrane transport) 以及 ABC 转运蛋白或 ATP 结合盒转运蛋白 (ABC transporters)。在 KEGG 三级通路上, 山顶群丛 HH 的氮代谢功能显著高于洼地与中坡的群丛, 这与山顶的优势菌门(放线菌门)以及高氮含量特征一致。除氮代谢外, 在其他大部分功能差异上, 山顶群丛 HH 与洼地、中坡的群丛 (DA-SG) 均有显著性差异, 这与前面土壤细菌群落多样性(表 2)和理化因子差异(表 3)的趋势一致, 这些差异很可能是由山顶较为特殊的环境条件所致^[37,57]。

尽管基于 Tax4Fun 的功能预测为我们了解弄岗样地土壤细菌群落的功能多样性及其分布格局提供了线索, 但本研究基于 16S rRNA 基因序列的方法本身还存在一定的局限性, 未来重要功能基因分析以及覆盖全基因组的宏基因组学 (metagenomics) 研究将会为微生物群落功能多样性提供更准确、全面的解析。

4 结论

本研究以弄岗 15 hm² 样地为例, 通过高通量测序及相关分析, 初步阐明了广西北热带喀斯特季节性雨林不同生境土壤细菌群落的组成及多样性分布格局, 揭示了海拔是影响土壤细菌分布的关键因子, 土壤养分(如碳、氮、磷与钾)也具有重要影响。研究结果为深入研究北热

带喀斯特季节性雨林土壤细菌的多样性维持机制及环境响应提供了重要基础。

作者贡献声明

杨美雪：数据分析、文章撰写及修改；罗婷：实验设计、样品采集及处理；钟艺倩：样品采集及处理；吴森锐：样品采集及处理；陶旺兰：样品采集及处理；陆芳：样品采集及处理；王斌：样品采集及处理；向悟生：样品采集及处理；唐年武：实验设计、研究指导及文章审阅；李先琨：研究指导及文章审阅。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] 龙健, 江新荣, 邓启琼, 刘方. 贵州喀斯特地区土壤石漠化的本质特征研究[J]. 土壤学报, 2005(3): 419-427.
LONG J, JIANG XR, DENG QQ, LIU F. Characteristics of soil rocky desertification in the Karst region of Guizhou province[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2005(3): 419-427 (in Chinese).
- [2] 魏源, 王世杰, 刘秀明, 黄天志. 不同喀斯特小生境中土壤丛枝菌根真菌的遗传多样性[J]. 植物生态学报, 2011, 35(10): 1083-1090.
WEI Y, WANG SJ, LIU XM, HUANG TZ. Genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Karst microhabitats of Guizhou Province, China[J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2011, 35(10): 1083-1090 (in Chinese).
- [3] 熊康宁, 池永宽. 中国南方喀斯特生态系统面临的问题及对策[J]. 生态经济, 2015, 31(1): 23-30.
XIONG KN, CHI YK. The problems in southern China Karst ecosystem in southern of China and its countermeasures[J]. *Ecological Economy*, 2015, 31(1): 23-30 (in Chinese).
- [4] 赵元, 张伟, 胡培雷, 肖峻, 王克林. 桂西北喀斯特峰丛洼地不同植被恢复方式下土壤有机碳组分变化特征[J]. 生态学报, 2021, 41(21): 8535-8544.
ZHAO Y, ZHANG W, HU PL, XIAO J, WANG KL. Responses of soil organic carbon fractions to different vegetation restoration in a typical Karst depression[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(21): 8535-8544 (in Chinese).
- [5] 王克林, 岳跃民, 陈洪松, 吴协保, 肖峻, 祁向坤, 张伟, 杜虎. 喀斯特石漠化综合治理及其区域恢复效应[J]. 生态学报, 2019, 39(20): 7432-7440.
WANG KL, YUE YM, CHEN HS, WU XB, XIAO J, QI XK, ZHANG W, DU H. The comprehensive treatment of Karst rocky desertification and its regional restoration effects[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(20): 7432-7440 (in Chinese).
- [6] 张国, 郑春燕, 李钰飞, 韩雪梅, 杨广斌, 逯非, 王效科. 喀斯特地区石漠化生态修复对土壤生物多样性的影响[J]. 生态学报, 2023, 43(1): 432-440.
ZHANG G, ZHENG CY, LI YF, HAN XM, YANG GB, LU F, WANG XK. Impact of ecological restoration of rocky desertification on soil biodiversity in Karst area: a review[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2023, 43(1): 432-440 (in Chinese).
- [7] 黄宗胜, 符裕红, 喻理飞. 喀斯特森林自然恢复中土壤微生物量碳与水溶性有机碳特征[J]. 应用生态学报, 2012, 23(10): 2715-2720.
HUANG ZS, FU YH, YU LF. Characteristics of soil microbial biomass carbon and soil water soluble organic carbon in the process of natural restoration of Karst forest[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(10): 2715-2720 (in Chinese).
- [8] 黄娟, 邓羽松, 韦慧, 林立文, 黄海梅, 付智勇. 喀斯特峰丛洼地不同植被类型土壤微生物量碳氮磷和养分特征[J]. 土壤通报, 2022, 53(3): 605-612.
HUANG J, DENG YS, WEI H, LIN LW, HUANG HM, FU ZY. Characteristics of soil microbial biomass carbon, nitrogen and phosphorus, and nutrients in different vegetation types in Karst peak-cluster depression[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2022, 53(3): 605-612 (in Chinese).
- [9] SENGUPTA A, DICK WA. Bacterial community diversity in soil under two tillage practices as determined by pyrosequencing[J]. *Microbial Ecology*, 2015, 70(3): 853-859.
- [10] 戴雅婷, 闫志坚, 解继红, 吴洪新, 徐林波, 侯向阳, 高丽, 崔艳伟. 基于高通量测序的两种植被恢复类型根际土壤细菌多样性研究[J]. 土壤学报, 2017, 54(3): 735-748.
DAI YT, YAN ZJ, XIE JH, WU HX, XU LB, HOU XY, GAO L, CUI YW. Soil bacteria diversity in rhizosphere under two types of vegetation restoration based on high throughput sequencing[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2017, 54(3): 735-748 (in Chinese).
- [11] 刘兴, 王世杰, 刘秀明, 黄天志, 李勇. 贵州喀斯特地区土壤细菌群落结构特征及变化[J]. 地球与环境, 2015, 43(5): 490-497.
LIU X, WANG SJ, LIU XM, HUANG TZ, LI Y. Compositional characteristics and variations of soil microbial community in Karst area of Puding County, Guizhou Province, China[J]. *Earth and Environment*, 2015, 43(5): 490-497 (in Chinese).
- [12] 吴求生, 龙健, 李娟, 廖洪凯, 刘灵飞, 吴劲楠, 肖雄. 茂兰喀斯特森林小生境类型对土壤微生物群落组成的影响[J]. 生态学报, 2019, 39(3): 1009-1018.
WU QS, LONG J, LI J, LIAO HK, LIU LF, WU JN, XIAO X. Effects of different microhabitat types on soil microbial community composition in the Maolan Karst Forest in southwest China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(3): 1009-1018 (in Chinese).
- [13] GUO ZM, ZHANG XY, DUNGAIT JAJ, GREEN SM,

- QUINE TA. Contribution of soil microbial necromass to SOC stocks during vegetation recovery in a subtropical Karst ecosystem[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 761.
- [14] HU PL, XIAO J, ZHANG W, XIAO LM, YANG R, XIAO D, ZHAO J, WANG KL. Response of soil microbial communities to natural and managed vegetation restoration in a subtropical Karst region[J]. *CATENA*, 2020, 195.
- [15] 李聪, 吕晶花, 陆梅, 杨志东, 刘攀, 任玉连, 杜凡. 滇东南亚热带土壤细菌群落对植被垂直带变化的响应[J]. *生态环境学报*, 2022, 31(10): 1971-1983.
- LI C, LÜ JH, LU M, YANG ZD, LIU P, REN YL, DU F. Responses of soil bacterial communities to vertical vegetation zone changes in the subtropical forests, southeastern Yunnan[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2022, 31(10): 1971-1983 (in Chinese).
- [16] XIAO D, HE XY, ZHANG W, HU PL, SUN MM, WANG KL. Comparison of bacterial and fungal diversity and network connectivity in Karst and non-Karst forests in southwest China[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 822: 153179.
- [17] 李佳奇, 郭屹立, 李冬兴, 王斌, 向悟生, 黄甫昭, 陆芳, 文淑均, 李建星, 陆树华, 李先琨. 桂西南热带喀斯特季节性雨林土壤钾、钙、镁空间分布特征及其影响因素[J]. *生物多样性*, 2023, 31(2): 178-189.
- LI JQ, GUO YL, LI DX, WANG B, XIANG WS, HUANG FZ, LU F, WEN SJ, LI JX, LU SH, LI XK. Spatial distribution characteristics of soil potassium, calcium, and magnesium and their influencing factors in a northern tropical Karst seasonal rainforest in southwestern Guangxi[J]. *Biodiversity Science*, 2023, 31(2): 178-189 (in Chinese).
- [18] 郭屹立, 王斌, 向悟生, 丁涛, 陆树华, 黄俞淞, 黄甫昭, 李冬兴, 李先琨. 广西弄岗北热带喀斯特季节性雨林监测样地种群空间点格局分析[J]. *生物多样性*, 2015, 23(2): 183-191.
- GUO YL, WANG B, XIANG WS, DING T, LU SH, HUANG YS, HUANG FZ, LI DX, LI XK. Spatial distribution of tree species in a tropical Karst seasonal rainforest in Nonggang, Guangxi, Southern China[J]. *Biodiversity Science*, 2015, 23(2): 183-191 (in Chinese).
- [19] 黄甫昭, 丁涛, 李先琨, 郭屹立, 王斌, 向悟生, 文淑均, 李冬兴, 何运林. 弄岗喀斯特季节性雨林不同群落物种多样性随海拔的变化[J]. *生态学报*, 2016, 36(14): 4509-4517.
- HUANG FZ, DING T, LI XK, GUO YL, WANG B, XIANG WS, WEN SJ, LI DX, HE YL. Species diversity for various associations along an altitudinal gradient in the Karst seasonal rainforest in Nonggang[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2016, 36(14): 4509-4517 (in Chinese).
- [20] 郭屹立, 李冬兴, 王斌, 白坤栋, 向悟生, 李先琨. 北热带喀斯特季节性雨林土壤和6个常见树种凋落物的C、N、P化学计量学特征[J]. *生物多样性*, 2017, 25(10): 1085-1094.
- GUO YL, LI DX, WANG B, BAI KD, XIANG WS, LI XK. C, N and P stoichiometric characteristics of soil and litter fall for six common tree species in a northern tropical Karst seasonal rainforest in Nonggang, Guangxi, Southern China[J]. *Biodiversity Science*, 2017, 25(10): 1085-1094 (in Chinese).
- [21] 王斌, 黄俞淞, 李先琨, 向悟生, 丁涛, 黄甫昭, 陆树华, 韩文衡, 文淑均. 弄岗北热带喀斯特季节性雨林15 ha监测样地的树种组成与空间分布[J]. *生物多样性*, 2014, 22(2): 141-156.
- WANG B, HUANG YS, LI XK, XIANG WS, DING T, HUANG FZ, LU SH, HAN WH, WEN SJ. Species composition and spatial distribution of a 15 ha northern tropical Karst seasonal rain forest dynamics study plot in Nonggang, Guangxi, Southern China[J]. *Biodiversity Science*, 2014, 22(2): 141-156 (in Chinese).
- [22] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-107.
- BAO SD. *Soil and Agricultural Chemistry Analysis*[M]. 3rd ed. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 30-107 (in Chinese).
- [23] XU N, TAN GC, WANG HY, GAI XP. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 74: 1-8.
- [24] CHEN SF. Ultrafast one-pass FASTQ data preprocessing, quality control, and deduplication using fastp[J]. *iMeta*, 2023, 2(2): e107.
- [25] TANJA M, SALZBERG SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [26] EDGAR RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [27] WANG XL, YANG YB, NAN Q, GUO JW, TAN ZY, SHAO XM, TIAN CF. Barley farmland harbors a highly homogeneous soil bacterial community compared to wild ecosystems in the Qinghai-Xizang Plateau[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024. DOI: 10.3389/fmicb.2024.1418161.
- [28] 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(Database issue): D590-D596.
- [29] SCHLOSS PD, WESTCOTT SL, RYABIN T, HALL JR, HARTMANN M, HOLLISTER EB, LESNIEWSKI RA, OAKLEY BB, PARKS DH, ROBINSON CJ, SAHL JW, STRES B, THALLINGER GG, van HORN DJ, WEBER CF. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75: 7537-7541.
- [30] FAN X, XING P. The vertical distribution of sediment archaeal community in the "black bloom" disturbing Zhushan Bay of Lake Taihu[J]. *Archaea*, 2016. <https://doi.org/10.115572016/8232135>.
- [31] KIM JH. Multicollinearity and misleading statistical results[J]. *Korean Journal of Anesthesiology*, 2019, 72(6): 558-569.
- [32] ABHAUER KP, WEMHEUER B, DANIEL R, MEINICKE P. Tax4Fun: predicting functional profiles from metagenomic 16S rRNA data[J]. *Bioinformatics*, 2015, 31(17): 2882-2884.

- [33] 刘丽, 徐明恺, 汪思龙, 张倩茹, 王楠, 潘华奇, 胡江春. 杉木人工林土壤质量演变过程中土壤微生物群落结构变化[J]. 生态学报, 2013, 33(15): 4692-4706.
LIU L, XU MK, WANG SL, ZHANG QR, WANG N, PAN HQ, HU JC. Effect of different *Cunninghamia lanceolata* plantation soil qualities on soil microbial community structure[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(15): 4692-4706 (in Chinese).
- [34] 吴求生, 龙健, 廖洪凯, 刘灵飞, 李娟, 吴劲楠, 肖雄. 贵州茂兰喀斯特森林不同小生境下土壤细菌群落特征[J]. 应用生态学报, 2019, 30(1): 108-116.
WU QS, LONG J, LIAO HK, LIU LF, LI J, WU JN, XIAO X. Soil bacterial community characteristics under different microhabitat types on Maolan Karst forest, Guizhou, Southwest China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(1): 108-116 (in Chinese).
- [35] 田国杰, 王哈, 陈立红. 内蒙古赤峰地区主要树种根际固氮菌的分离和鉴定[J]. 内蒙古林业科技, 2016, 42(1): 21-26.
TIAN GJ, WANG H, CHEN LH. Isolation and determination of nitrogen-fixing bacteria in rhizosphere of main tree species in Chifeng, Inner Mongolia[J]. Journal of Inner Mongolia Forestry Science and Technology, 2016, 42(1): 21-26 (in Chinese).
- [36] 熊智, 张忠泽, 姜成林. 固氮放线菌 *Frankia* 与放线菌根植物共生进化的研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2003(2): 213-217.
XIONG Z, ZHANG ZZ, JIANG CL. A review on the evolution of frankia-actinorhizal plant symbiosis[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2003(2): 213-217 (in Chinese).
- [37] 吴晋元, 职晓阳, 李岩, 关统伟, 唐蜀昆, 徐丽华, 李文均. 云南江城和黑井盐矿沉积物未培养放线菌多样性比较[J]. 微生物学通报, 2008, 35(10): 1550-1555.
WU JY, ZHI XY, LI Y, GUAN TW, TANG SK, XU LH, LI WJ. Comparison of actinobacterial diversity in Jiangcheng and heijing saline mines in Yunnan by using culture-independent approach[J]. Microbiology China, 2008, 35(10): 1550-1555 (in Chinese).
- [38] 向前胜, 张登山, 孙奎, 王宁. 高寒地区不同海拔梯度西北小檗生境土壤微生物群落结构及多样性分析[J]. 西北植物学报, 2021, 41(6): 1036-1050.
XIANG QS, ZHANG DS, SUN K, WANG N. Analysis of soil microbial community structure and diversity in berberis verna habitat at different altitudes in alpine region[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2021, 41(6): 1036-1050 (in Chinese).
- [39] 黄甫昭, 王斌, 丁涛, 向悟生, 李先琨, 周爱萍. 弄岗北热带喀斯特季节性雨林群落数量分类及与环境的关系[J]. 生物多样性, 2014, 22(2): 157-166.
HUANG FZ, WANG B, DING T, XIANG WS, LI XK, ZHOU AP. Numerical classification of associations in a northern tropical Karst seasonal rain forest and the relationships of these associations with environmental factors[J]. Biodiversity Science, 2014, 22(2): 157-166 (in Chinese).
- [40] 龙健, 赵畅, 张明江, 吴劲楠, 吴求生, 黄博聪, 张菊梅. 不同坡向凋落物分解对土壤微生物群落的影响[J]. 生态学报, 2019, 39(8): 2696-2704.
LONG J, ZHAO C, ZHANG MJ, WU JN, WU QS, HUANG BC, ZHANG JM. Effect of litter decomposition on soil microbes on different slopes[J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(8): 2696-2704 (in Chinese).
- [41] 安然, 马风云, 崔浩然, 秦光华, 黄雅丽, 田琪. 黄河三角洲刺槐臭椿混交林与纯林土壤细菌群落结构和多样性特征分析[J]. 生态学报, 2019, 39(21): 7960-7967.
AN R, MA FY, CUI HR, QIN GH, HUANG YL, TIAN Q. Analysis of bacterial community structure and diversity characteristics of mixed forest of *Robinia pseudoacacia* and *Ailanthus altissima* and there pure forest in the Yellow River Delta[J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(21): 7960-7967 (in Chinese).
- [42] LUO LF, ZHANG JX, YE C, LI S, DUAN SS, WANG ZP, HUANG HC, LIU YX, DENG WP, MEI XY, HE XH, YANG M, ZHU SS. Foliar pathogen infection manipulates soil health through root exudate-modified rhizosphere microbiome[J]. Microbiology Spectrum, 2022, 10(6): e0241822.
- [43] 厉桂香, 马克明. 土壤微生物多样性海拔格局研究进展[J]. 生态学报, 2018, 38(5): 1521-1529.
LI GX, MA KM. Progress in the study of elevational patterns of soil microbial diversity[J]. Acta Ecologica Sinica, 2018, 38(5): 1521-1529 (in Chinese).
- [44] CABRERA HERNANDEZ JA, RIBEIRO HM, BAYNE E, MACKENZIE MD, LANOIL BD. Impact of stockpile depth and storage time on soil microbial communities[J]. Applied Soil Ecology, 2024, 105275.
- [45] REN CJ, ZHANG W, ZHONG ZK, HAN XH, YANG GH, FENG YZ, REN GX. Differential responses of soil microbial biomass, diversity, and compositions to altitudinal gradients depend on plant and soil characteristics[J]. Science of the Total Environment, 2018, 610: 750-758.
- [46] 张地, 张育新, 曲来叶, 张霜, 马克明. 海拔对辽东栎林地土壤微生物群落的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(8): 2041-2048.
ZHANG D, ZHANG YX, QU LY, ZHANG S, MA KM. Effects of altitude on soil microbial community in *Quercus liaotungensis* forest[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(8): 2041-2048 (in Chinese).
- [47] 林惠琰, 周嘉聪, 曾泉鑫, 孙俊, 李锦隆, 刘苑苑, 谢欢, 吴玥, 张秋芳, 崔琚琰, 程栋梁, 陈岳民. 武夷山黄山松林土壤细菌群落特征沿海拔梯度的分布模式[J]. 生态学报, 2022, 41(8): 1482-1492.
LIN HY, ZHOU JC, ZENG QX, SUN J, LI JL, LIU YY, XIE H, WU Y, ZHANG QF, CUI JY, CHENG DL, CHEN YM. Distribution pattern of soil bacterial community characteristics in a *Pinus taiwanensis* forest along an elevational gradient of Wuyi Mountains[J]. Chinese Journal of Ecology, 2022, 41(8): 1482-1492 (in Chinese).
- [48] 杨菁, 周国英, 田媛媛, 刘倩丽, 刘成峰, 杨权, 周洁尘. 降香黄檀不同混交林土壤细菌多样性差异分析[J]. 生态学报, 2015, 35(24): 8117-8127.
YANG J, ZHOU GY, TIAN YY, LIU QL, LIU CF, YANG Q, ZHOU JC. Differential analysis of soil bacteria diversity in different mixed forests of *Dalbergia odorifera*[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(24): 8117-8127 (in Chinese).
- [49] 李伊凡, 王俊伟, 陈永豪, 何柄枚, 拉琼. 西藏岗巴拉山土壤细菌多样性海拔分布格局及其驱动因子[J]. 生态

- 学报, 2024, 44(2): 712-722.
LI YF, WANG JW, CHEN YH, HE BM, LA Q. Elevation distribution pattern and driving factors of soil bacterial diversity on mount Gangbala, Xizang, China[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2024, 44(2): 712-722 (in Chinese).
- [50] 马垒, 赵文慧, 郭志彬, 王道中, 赵炳梓. 长期不同磷肥施用量对砂姜黑土真菌多样性、群落组成和种间关系的影响[J]. *生态学报*, 2019, 39(11): 4158-4167.
MA L, ZHAO WH, GUO ZB, WANG DZ, ZHAO BZ. Effects of long-term application of phosphorus fertilizer on fungal community diversity, composition, and intraspecific interactions and variation with application rate in a lime concretion black soil[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, 39(11): 4158-4167 (in Chinese).
- [51] 王丹, 赵亚光, 马蕊, 杨鹏, 张成, 周东姣, 孙福新, 张凤华. 微生物菌肥对盐碱地枸杞土壤改良及细菌群落的影响[J]. *农业生物技术学报*, 2020, 28(8): 1499-1510.
WANG D, ZHAO YG, MA R, YANG P, ZHANG C, ZHOU DJ, SUN FX, ZHANG FH. Effects of microbial fertilizers on soil improvement and bacterial communities in saline-alkali soils of *Lycium barbarum*[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2020, 28(8): 1499-1510 (in Chinese).
- [52] 冯汉华, 吴斌, 伍国清, 谭文雄, 叶飞, 郑全胜. 喀斯特不同植被类型土壤细菌群落与功能特征[J]. *森林与环境学报*, 2024, 44(2): 148-156.
FENG HH, WU B, WU GQ, TAN WX, YE F, ZHENG QS. Characteristics and functions of soil microbial communities under different vegetation types in Karst areas[J]. *Journal of Forest and Environment*, 2024, 44(2): 148-156 (in Chinese).
- [53] 王莎莎, 蓝家程, 祁雪, 王俊贤, 龙启霞, 黄明芝, 刘磊, 岳坤前. 喀斯特峡谷石漠化区造林对土壤细菌群落结构的影响[J/OL]. *生态学杂志*, 2024. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20240510.1436.018.html>.
WANG SS, LAN JC, QI X, WANG JX, LONG QX, HUANG MZ, LIU L, YUE KQ. Influence of afforestation on soil bacterial community structure in Karst canyon rocky desertification area[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2024. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1148.Q.20240510.1436.018.html>.
- [54] ISLAM T, JENSEN S, REIGSTAD LJ, LARSEN O, BIRKELAND NK. Methane oxidation at 55 degrees C and pH 2 by a thermoacidophilic bacterium belonging to the *Verrucomicrobia* phylum[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(1): 300-304.
- [55] 刘开朗, 王加启, 卜登攀, 李旦, 于萍, 赵圣国. 环境微生物群落结构与功能多样性研究方法[J]. *生态学报*, 2010, 30(4): 1074-1080.
LIU KL, WANG JQ, BU DP, LI D, YU P, ZHAO SG. Current progress in approaches to the study of structure and function diversities of environmental microbial communities[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(4): 1074-1080 (in Chinese).
- [56] GAO CG, BEZEMER TM, VRIES FT, BODEGOM PM. Trade-offs in soil microbial functions and soil health in agroecosystems[J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2024.
- [57] HOBLEY E, WILSON B, WILKIE A, GRAY J, KOEN T. Drivers of soil organic carbon storage and vertical distribution in Eastern Australia[J]. *Plant and Soil*, 2015, 390(1): 111-127.