

洮河上游不同海拔紫果云杉根际与非根际土壤细菌多样性及影响因子

高本强¹, 齐瑞², 赵阳², 刘婷², 李波², 陈学龙², 赵艳丽², 曹家豪^{*1}

1 甘肃省白龙江林业科学研究所, 甘肃 兰州 730046

2 甘肃白龙江森林生态系统国家定位观测研究站, 甘肃 舟曲 746300

高本强, 齐瑞, 赵阳, 刘婷, 李波, 陈学龙, 赵艳丽, 曹家豪. 洮河上游不同海拔紫果云杉根际与非根际土壤细菌多样性及影响因子[J]. 微生物学通报, 2022, 49(9): 3604-3616

Gao Benqiang, Qi Rui, Zhao Yang, Liu Ting, Li Bo, Chen Xuelong, Zhao Yanli, Cao Jiahao. Diversity and influencing factors of bacteria in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *Picea purpurea* at different altitudes in the upstream of Taohe river[J]. Microbiology China, 2022, 49(9): 3604-3616

摘要: 【背景】紫果云杉天然林在维护洮河上游生态环境安全方面发挥着重要作用, 不同海拔梯度如何影响紫果云杉根际与非根际细菌多样性、土壤养分因子及三者之间的相关性尚不清楚。

【目的】深入探索紫果云杉根际与非根际土壤细菌群落结构组成及受控因子。【方法】采用 Illumina MiSeq 平台对洮河上游不同海拔紫果云杉天然林根际与非根际土壤细菌进行测序分析, 分析土壤理化因子与细菌多样性随海拔的变化趋势, 并通过相关性与冗余分析探究环境因子对细菌群落的影响。

【结果】土壤养分因子随海拔升高呈先增加后降低趋势; 根际土养分因子组间差异显著($P < 0.05$), 非根际组间差异不显著($P > 0.05$)。随海拔升高根际微生物物种多样性指数(H)、均匀度指数(E)、丰富度指数($Chao1/ACE$)和 OTU 数目呈单峰型变化趋势; 非根际多样性指数随海拔升高呈双峰型变化趋势。土壤细菌多样性与养分因子密切相关, 其中有机质、全氮和碱解氮呈显著正相关($P < 0.05$), 而土壤 pH 和有效磷与细菌多样性呈负相关但不显著($P > 0.05$)。不同海拔梯度下紫果云杉天然林细菌群落结构一致性较高, 从 30 个样本中获得 7 159 个细菌 OTU, 注释到 37 个门; 细菌优势类群为放线菌门、变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门。不同细菌门对土壤养分因子的响应各不相同, 有机质、全氮和碱解氮与变形菌门呈显著正相关($P < 0.05$)。【结论】土壤理化因子能够显著影响紫果云杉根际与非根际细菌多样性和组成, 海拔和水热条件等环境因子对植物和土壤的驱动影响是细菌群落结构稳定组成的重要原因。本研究有助于深入理解紫果云杉天然林土壤细菌多样性的变化和驱动机制,

基金项目: 甘肃省林业和草原局科技创新项目(KJCX202001, KJCX202202)

Supported by: Science and Technology Innovation Program of Gansu Forestry and Grassland Administration (KJCX202001, KJCX202202)

*Corresponding author: E-mail: caojh19@lzu.edu.cn

Received: 2022-01-20; Accepted: 2022-03-13; Published online: 2022-04-12

为洮河上游天然林恢复与生态恢复提供借鉴。

关键词: 洮河上游; 紫果云杉; 土壤养分; 根际与非根际; 细菌多样性

Diversity and influencing factors of bacteria in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *Picea purpurea* at different altitudes in the upstream of Taohe river

GAO Benqiang¹, QI Rui², ZHAO Yang², LIU Ting², LI Bo², CHEN Xuelong², ZHAO Yanli², CAO Jiahao^{*1}

1 Institute of Forestry Science of Bailongjiang in Gansu Province, Lanzhou 730046, Gansu, China

2 Gansu Bailongjiang National Forest Ecosystem Research Station, Zhouqu 746300, Gansu, China

Abstract: [Background] The natural forest dominated by *Picea purpurea* plays an important role in maintaining ecological security in the upstream of Taohe river. It is still unclear how altitude influences the bacterial diversity and nutrients in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *P. purpurea*, and how the altitude, soil nutrients, and bacterial diversity interact with each other. [Objective] To explore the community structures of bacteria in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *P. purpurea* and the influencing factors. [Methods] Illumina MiSeq was employed for sequence analysis of the rhizosphere and non-rhizosphere bacteria in the natural *P. purpurea* forest at different elevations in the upper reaches of Taohe river. The changes of soil physical and chemical factors and bacterial diversity with altitude were analyzed. Correlation and redundancy analysis was performed to elucidate the effect of some environmental factors on bacterial community. [Results] The nutrients of rhizosphere and non-rhizosphere soil samples of *P. purpurea* increased first and then decreased with the rise of altitude. The intergroup difference was significant for rhizosphere soil nutrients ($P < 0.05$) but insignificant for non-rhizosphere soil nutrients ($P > 0.05$). The rhizosphere species diversity index (H), evenness index (E), richness index (Chao1/ACE), and number of operational taxonomic units (OTU) demonstrated a unimodal trend with the increase in altitude. The non-rhizosphere bacteria diversity showed a bimodal variation trend with the rise of elevation. Bacteria diversity was in close correlation with soil nutrients, particularly in positive correlation with organic matter, total nitrogen, and available nitrogen ($P < 0.05$) but in negative correlation with pH and available phosphorus ($P > 0.05$). The community structures of bacteria in the forest at different elevations were highly consistent. A total of 7 159 bacterial OTUs were identified from 30 samples, which belonged to 37 phyla. The dominant bacteria phyla were *Actinobacteria*, *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, and *Chloroflexi*, respectively. The response of different bacteria phyla to soil nutrients was different, and organic matter, total nitrogen, and available nitrogen were in positive correlation with *Proteobacteria* ($P < 0.05$). [Conclusion] Composition and diversity of rhizosphere and non-rhizosphere soil bacteria of *P. purpurea* are significantly influenced by soil physical and chemical factors. The driving effects of environmental factors such as altitude and hydrothermal conditions on plants and soil are important reasons for the stable bacterial community structure. This study is expected to help gain a clearer insight

into the variation of soil bacteria diversity of *P. purpurea* and the driving mechanism, which is expected to provide a reference for natural forest restoration in the upstream of Taohe river.

Keywords: upstream of Taohe river; *Picea purpurea*; soil nutrients; rhizosphere and non-rhizosphere; bacteria diversity

微生物作为土壤的重要组成部分,在生态系统物质循环和能量流动中发挥着重要作用,对土壤肥力演变、植物生长发育及土壤生态系统结构和功能均具有重要影响^[1-2]。根际土壤细菌是连接植物根系和土壤的重要纽带,植物通过根系活动和分泌物的影响使根际土壤养分和 pH 等发生改变,促使土壤细菌组成发生变化^[3],非根际与根际土壤细菌群落结构和多样性也表现出很大差异^[4-5]。一些研究表明,土壤理化因子是土壤微生物多样性形成和维持的驱动因子,微生物、植物根系和土壤理化因子三者相互影响^[6]。如土壤养分含量高的生境下土壤细菌总量和多样性也随之增加^[4]。另一些研究显示,海拔作为山地气候和降水影响因子之一,对森林土壤性质、凋落物厚度、温度和光照强度等有很大影响,成为构成土壤微生物群落结构和功能的重要环境因子^[7-8]。因此,探讨环境因子与土壤理化因子共同影响下对土壤根际与非根际细菌多样性的异质化影响,成为当前微生物多样性研究的热点之一。

洮河是黄河上游的一级支流,是甘肃省中部干旱地区最重要的水源区。洮河林区在 2009 年成为国家自然保护区,该林区在维系黄河上游区域生态环境质量和国家生态安全具有重要作用^[9]。紫果云杉(*Picea purpurea*)是我国特有的亚高山暗针叶乔木,喜阴湿、耐寒。主要分布于青藏高原东北缘的四川西北部、甘肃南部和青海东南部,在洮河林区主要分布于海拔 2 600–3 800 m 的阴坡、半阴坡和河谷地带。紫果云杉作为高原区域重要的建群树种,在洮河乃至黄河上游地区的水源涵养、水土保持和稳定区域生态系统平衡

等方面发挥重要作用。目前,紫果云杉的研究主要集中在生态位分化^[10]、种群结构特征^[11]、种实性状表型多样性^[12]、育苗技术及土壤酶活性等方面^[13],而有关不同海拔对微生物多样性影响的研究较少。刘艳娇等^[14]对人工林和天然林粗枝云杉土壤真菌群落多样性进行了研究,而作为微生物研究重点的细菌,其多样性研究在亚高山暗针叶林中并不多见。

本研究以洮河上游紫果云杉天然林为研究对象,通过分析不同海拔梯度下土壤养分的差异变化和根际与非根际土壤细菌的结构和多样性差异,明确紫果云杉天然林根际与非根际土壤细菌多样性变化特征,并探讨根际与非根际土壤细菌群落影响因子之间的关系,以期对深入理解紫果云杉天然林土壤微生物结构和功能及其对气候变化的响应提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 研究地区概况

本研究地区分别为洮河上游碌曲县尕海-则岔国家级自然保护区(GZ)、洮河自然保护区卡车林区(KC)、卓尼县大峪沟国家森林公园(DY)、夏河县隆瓦林场(LW)和夏河县完格尔村(WG)。研究区地处青藏高原东部边缘,黄土高原与甘肃南部山区交汇地带(34.35°–35.32°N, 102.68°–103.58°E)。根据紫果云杉分布特点,按照 100 m 左右海拔梯度,选择了 5 个洮河上游紫果云杉天然林分布区。海拔为 2 800–3 300 m,年平均气温为 1.66–2.70 °C,年平均降水量为 539–637 mm,土壤类型为棕、褐色针叶林土。乔木物种主要有紫果云杉(*Picea purpurea*)、冷杉(*Abies fabri*)、云

杉(*Picea asperata*)等, 灌木物种主要有冰川茶藨子(*Ribes glaciale*)、银露梅(*Potentilla glabra*)和葱皮忍冬(*Lonicera ferdinandii*)等。

1.2 样方设置和土壤样本采集

2021年7–9月, 在5个研究地点各设置20 m×30 m的样方(表1)。每个样方记录植物群落乔木分种的数目, 并记录海拔、坡度和坐标等指标。年平均温度(mean temperature, MT)和年平均降水(mean precipitation, MP)均下载自WorldClim全球气候数据库(<http://www.worldclim.org>), 空间分辨率为30 arc-seconds (≈1 km)。

采用对角线布点法采集非根际土(S), 每块样方设置3个取样点, 用土钻采集0–20 cm土壤样本。根际土(R): 在样方内随机选取3棵生长大小一致的紫果云杉, 按土层深度10–20 cm的侧根寻找须根, 将附着在须根上的土抖落, 与根系紧密相连的土壤即为根际土壤。共采集15份根系土壤样品和15份非根际土壤样品。土壤样本立即分为两部分: 一半土壤样本装进提前写好标签的2 mL冻存管, 保存于小型液氮罐并带回实验室液氮保存, 用于微生物群落功能多样性测定; 另一半土壤样本带回实验室自然风干后研磨过筛, 用于土壤理化性质的测定。其中, 有机质(soil organic matter, SOM)采用重铬酸钾容量法-外加热法测定, 全氮(total nitrogen, TN)采用凯氏蒸馏法测定, 全磷(total phosphorus, TP)采用硫酸-高氯酸消煮-钼锑抗比色法测定, 碱解氮

(available nitrogen, AN)采用碱解扩散法测定, 有效磷(available phosphorus, AP)采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定^[15]。

1.3 主要试剂和仪器

E.Z.N.A.[®] Soil DNA Kit, Omega Bio-Tek公司; AxyPrep DNA Gel Extraction Kit, Axygen Biosciences公司。Quantus™ Fluorometer 荧光计, Promega公司。

1.4 土壤样品DNA提取及扩增测序

从每个混合土壤样本中称取0.5 g, 使用E.Z.N.A.[®] Soil DNA Kit提取总DNA, 并采用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量, NanoDrop2000检测DNA浓度和纯度。采用338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')和806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')引物对细菌16S rRNA基因V3–V4可变区进行PCR扩增。PCR反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 27个循环; 72 °C 10 min; 10 °C 保存。PCR反应体系: 5×TransStart *FastPfu* 缓冲液4 μL, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μL, 上、下游引物(5 μmol/L)各0.8 μL, TransStart *FastPfu* DNA聚合酶0.4 μL, 模板DNA 10 ng, 补足ddH₂O至20 μL。使用2%琼脂糖凝胶电泳和AxyPrep DNA Gel Extraction Kit回收并纯化PCR产物, 并用Quantus™ Fluorometer 荧光计进行检测定量后构建MiSeq文库。在Illumina MiSeq PE300平台进行高通量测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。

表1 样地基本信息

Table 1 Basic information of the sample plot

样地编号 Sample plot No.	海拔 Altitude (m)	地理位置 Location	年平均温度 Mean temperature (°C)	年平均降水 Mean precipitation (mm)	林分密度 Stand density (stem/hm ²)	坡度 Slope (°)
WG	2 846	35°31'67"N, 102°71'25"E	2.70	539	3 050	40.5
DY	2 955	34°35'80"N, 103°53'45"E	2.46	633	2 000	30.0
KC	3 041	34°41'13"N, 103°29'08"E	2.24	625	1 483	36.0
LW	3 164	35°24'63"N, 102°71'25"E	1.81	576	2 200	28.0
GZ	3 255	34°34'73"N, 102°68'76"E	1.66	637	2 067	34.5

1.5 数据处理

原始测序序列使用 fastp^[16]软件质控, FLASH^[17]软件拼接, UPARSE 软件^[18]根据 97% 的相似度对序列进行分类操作单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类; 利用 RDP classifier 对每条序列进行物种分类注释。采用 Silva 数据库进行数据比对。各指数算法如下:

群落丰富度指数 Chao1: $S_{\text{chao1}} = \text{Sobs} + n_1(n_1 - 1) / 2(n_2 + 1)$;

多样性指数 Shannon-Wiener (H): $H = -\sum P_i \ln P_i$;

群落均匀度指数 Shannon even (E): $E = H / H_{\text{max}}$;

Coverage 各样本文库的覆盖率: $C = 1 - n_1 / N$ 。

式中: S_{chao} 为估计的 OTU 数; Sobs 为观测到的 OTU 数; n_1 为只有一条序列的 OTU 数目; n_2 为只有两条序列的 OTU 数目。S 为实际观测到的 OTU 数目, $P_i = n_i / N$ (P_i 为第 i 种的序列数占所有种序列总数的比例, n_i 为第 i 个 OTU 所含的序列数, N 为总序列数), H_{max} 为最大的物种多样性指数, $H_{\text{max}} = \ln S$ 。

数据分析使用软件 SPSS 24.0 进行数据统计, 均以平均值±标准差表示; 采用单因素方差

分析(one-way ANOVA)检验不同海拔处理下根际与非根际土壤养分的多重比较; Pearson 相关系数法双尾检验微生物多样性指数与土壤理化因子之间的相关性。应用最小显著差异法(Least significant difference, LSD)对 Shannon、Chao1、ACE、Shannon even 和 Coverage 等 α 多样性指数进行组间差异检验, 检验和评估在各样地细菌群落丰富度、多样性、均匀度及物种覆盖度, 并采用 Origin 2019b 软件绘图。采用 CANOCO 5.0 进行冗余分析(redundancy analysis, RDA), 分析环境和土壤变量对微生物群落结构的影响。使用 R 语言(V3.3.1) pheatmap 包制作 heatmap 图, Pearson 相关系数法计算细菌群落物种与土壤理化因子间相关性。

2 结果与分析

2.1 不同海拔紫果云杉根际与非根际土壤理化性质

从表 2 可知, 不同海拔洮河上游紫果云杉根际土壤有机质、全氮和有效磷均值显著高于非根际($P < 0.05$), 根际土壤 pH 和全磷平均值显

表 2 不同海拔紫果云杉根际与非根际土壤养分

Table 2 Soil nutrients in rhizosphere and non-rhizosphere of *Picea purpurea* of different altitude

样地 Sample plot	pH	有机质 SOM (g/kg)	全氮 TN (g/kg)	全磷 TP (g/kg)	碱解氮 AN (mg/kg)	有效磷 AP (mg/kg)	
根际 Rhizosphere	WG	6.7±0.2a	168.57±5.42d	6.26±0.23d	0.77±0.04b	454.63±19.00d	27.39±1.36b
	DY	6.1±0.1bc	325.43±11.69a	9.50±0.28ab	0.43±0.01d	628.01±36.11a	17.37±1.68d
	KC	5.8±0.3c	207.27±9.41c	9.18±0.34b	0.70±0.04c	616.45±50.06ab	18.44±3.24cd
	LW	6.4±0.2ab	259.37±13.39b	10.05±0.42a	0.86±0.03a	554.80±32.34bc	33.19±1.62a
	GZ	5.8±0.2c	262.82±9.52b	7.46±0.49c	0.26±0.04e	524.33±24.49c	22.12±1.80c
	Mean	6.1±0.4	244.69±55.94	8.48±1.49	0.60±0.23	555.64±71.7	23.70±6.34
非根际 Non-rhizosphere	WG	7.0±0.2a	101.34±4.46c	4.06±0.21c	0.79±0.01c	321.52±20.16b	18.74±1.29a
	DY	6.6±0.2ab	234.30±7.55a	8.21±0.69a	0.95±0.17b	573.53±41.52a	14.91±1.43ab
	KC	6.7±0.3ab	151.79±8.64b	6.24±0.86b	1.20±0.04a	547.65±54.98a	17.97±4.06a
	LW	6.9±0.2a	162.48±7.69b	8.06±0.34a	0.61±0.01d	535.86±23.10a	11.47±1.41b
	GZ	6.4±0.1b	228.32±7.83a	6.49±0.42b	0.92±0.04b	574.14±32.03a	15.30±1.35ab
	Mean	6.7±0.3*	175.64±52.08*	6.61±1.63*	0.89±0.20*	510.54±103.75	15.68±3.24*

注: 同列不同小写字母表示样地间差异显著($P < 0.05$, $n=3$); *: 根际与非根际均值差异显著($P < 0.05$, $n=15$)

Note: Different lowercase letters in the same column meant significant difference between plot ($P < 0.05$, $n=3$); *: Significant difference between rhizosphere and non-rhizosphere ($P < 0.05$, $n=15$).

著低于非根际($P<0.05$), 而碱解氮平均值差异不显著($P>0.05$)。pH 值随着海拔增加呈先降低后增加再降低的趋势, 在卡车林场(KC)和尕海-则岔林区(GZ)达到最小, 根际土组间 pH 差异显著($P<0.05$), 非根际土组间 pH 差异不显著($P>0.05$)。随着海拔增加, 不同样地间有机质、全氮、全磷、碱解氮及有效磷呈现先增加后降低的单峰型分布趋势, 根际土壤样地间差异显著($P<0.05$), 非根际土壤差异小于根际土。其中, 大峪沟国家森林公园(DY)根际土的有机质和碱解氮含量最高且显著高于其他样地($P<0.05$), 隆瓦林场(LW)根际土的全氮、全磷和有效磷含量最高, 完格尔村(WG)根际与非根际土壤的有机质、全氮和碱解氮显著低于其他样地($P<0.05$)。不同生境下紫果云杉根际土壤理化性质的差异一定程度上与紫果云杉生态幅相关。

2.2 根际土壤细菌群落 α 多样性

洮河上游紫果云杉根际和非根际土壤细菌多样性在不同海拔生境下存在差异。随着测序深度的增加, 物种覆盖度(Coverage)达到 97.01%–98.14%。由图 1 可知, 紫果云杉根际土样地间 α 多样性指数呈现随海拔增加而先增加后降低的单峰型趋势, 但未达到显著水平($P>0.05$); 其中 OTU 数目、均匀度指数和多样性指数在 KC (3 041 m) 达到最高, 丰富度 Chao1 和 ACE 指数在 DY (2 955 m) 达到最高, WG 丰富度指数显著低于其他 4 个样地($P<0.05$)。非根际土壤中, OTU 数目、多样性指数和丰富度指数呈现双峰型趋势, 在 DY 达到最高并显著高于其他样地($P<0.05$); 均匀度指数差异不显著($P>0.05$)。不同海拔根际与非根际间 α 多样性指数差异不显著($P>0.05$), 但在 KC 样地表现出较大差异。

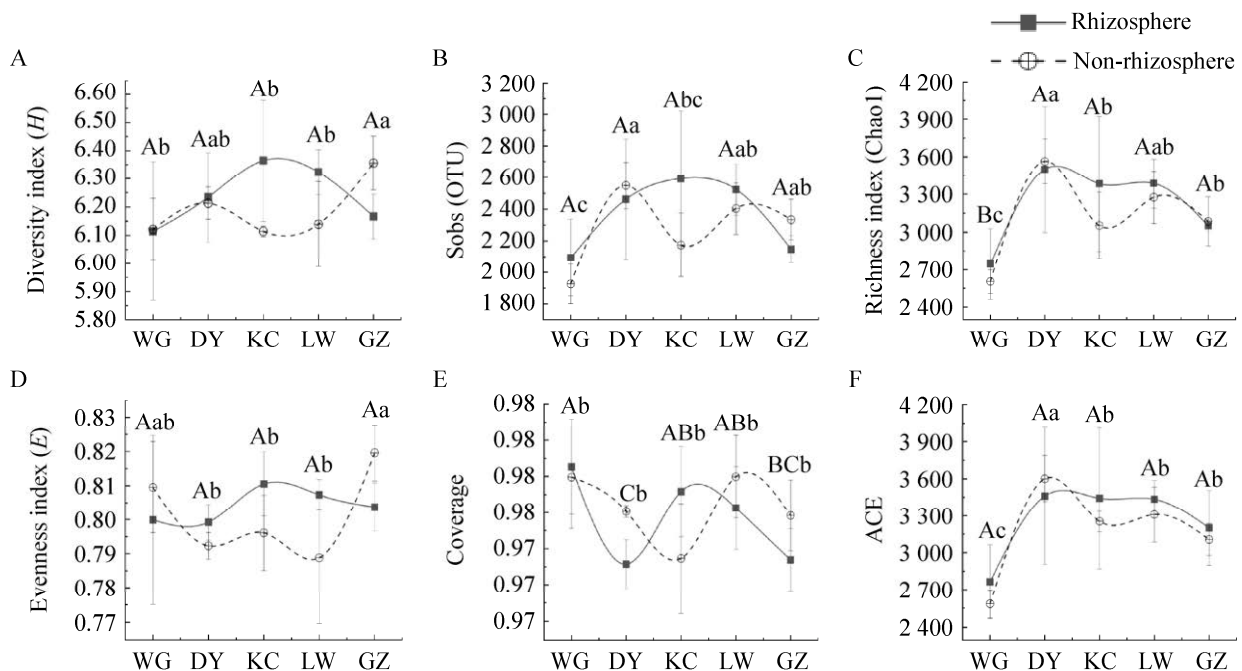


图 1 不同海拔紫果云杉根际与非根际土壤细菌群落多样性指数 不同字母表示样地间差异显著 ($P<0.05$, $n=3$), 大写字母表示根际土样地间差异, 小写字母表示非根际土样地间差异

Figure 1 Bacteria diversity index in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *Picea purpurea* at different altitude. Different letters meant significant difference between plot ($P<0.05$, $n=3$), uppercase letters stand for rhizosphere, lowercase letters stand for non-rhizosphere.

稀释曲线表明(图 2),不同海拔紫果云杉样本随测序深度的加深, Sobs 指数和 Shannon 指数均趋于平缓,土壤中包括的所有微生物物种均已得到分析,真实地反映了洮河上游紫果云杉天然林的微生物群落组成。

2.3 土壤养分因子与细菌多样性之间的相关性

相关性分析结果表明(表 3),土壤细菌群落多样性与 pH 呈负相关,与土壤养分(除 AP 外)均呈正相关,与有效磷相关性不显著($P>0.05$)。其中,多样性指数(H)与 TN、AN 呈显著正相关($P<0.05$);丰富度指数(Chao1 和 ACE)、OTU 数目与 SOM、TN、AN 呈极显著正相关($P<0.01$);

均匀度指数(E)与土壤养分因子关系均不显著($P>0.05$)。土壤养分影响因子中,土壤全氮相关系数最高。

2.4 紫果云杉根际与非根际土壤细菌门水平群落结构组成

在各分类水平上对样品进行物种统计,测序获得共计 7 159 个细菌 OTU,归类为 37 门 128 纲 308 目 486 科 862 属 1 915 种。在门水平上显示(图 3),主要由放线菌门(*Actinobacteria*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)等 12 个相对丰度高于 1% 的优势菌门构成,这些菌门累计占到细菌群

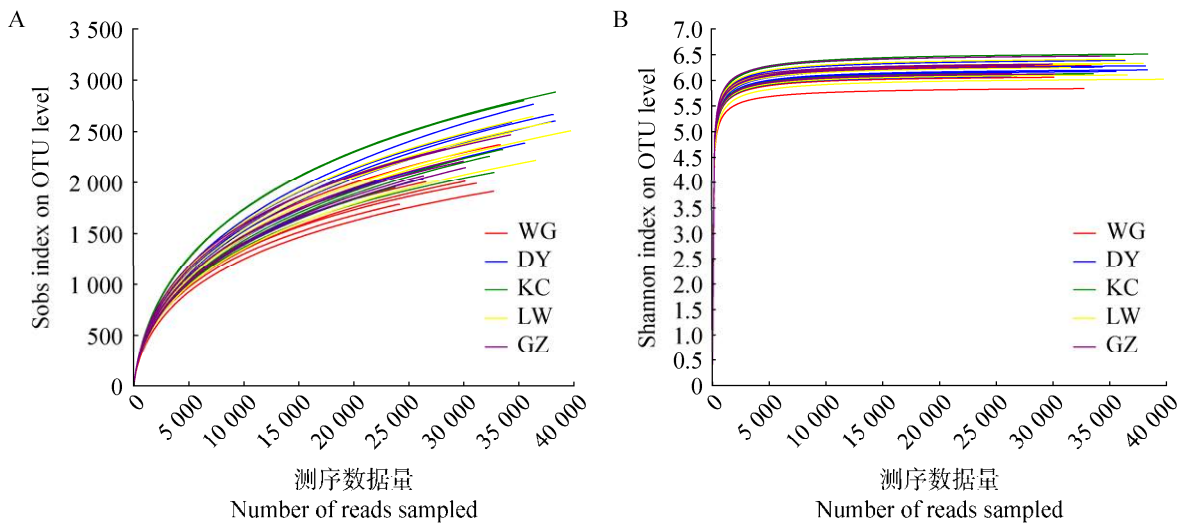


图 2 不同海拔紫果云杉土壤细菌的稀释曲线

Figure 2 Rarefaction curves of bacteria in each sample soil of *Picea purpurea* at different altitude.

表 3 土壤养分因子与细菌多样性之间的相关性

Table 3 Correlation between soil nutrients and microbial diversity

Item	pH	SOM	TN	TP	AN	AP
多样性指数 Diversity index (H)	-0.312	0.348	0.391*	0.010	0.429*	0.095
Chao1 index	-0.267	0.556**	0.718**	-0.058	0.707**	-0.084
ACE index	-0.327	0.506**	0.655**	-0.028	0.681**	-0.097
均匀度指数 Evenness index (E)	-0.199	0.051	-0.108	0.009	-0.029	0.163
Sobs	-0.250	0.453*	0.689**	0.004	0.658**	-0.027

Note: *: $P<0.05$; **: $P<0.01$, $n=30$.

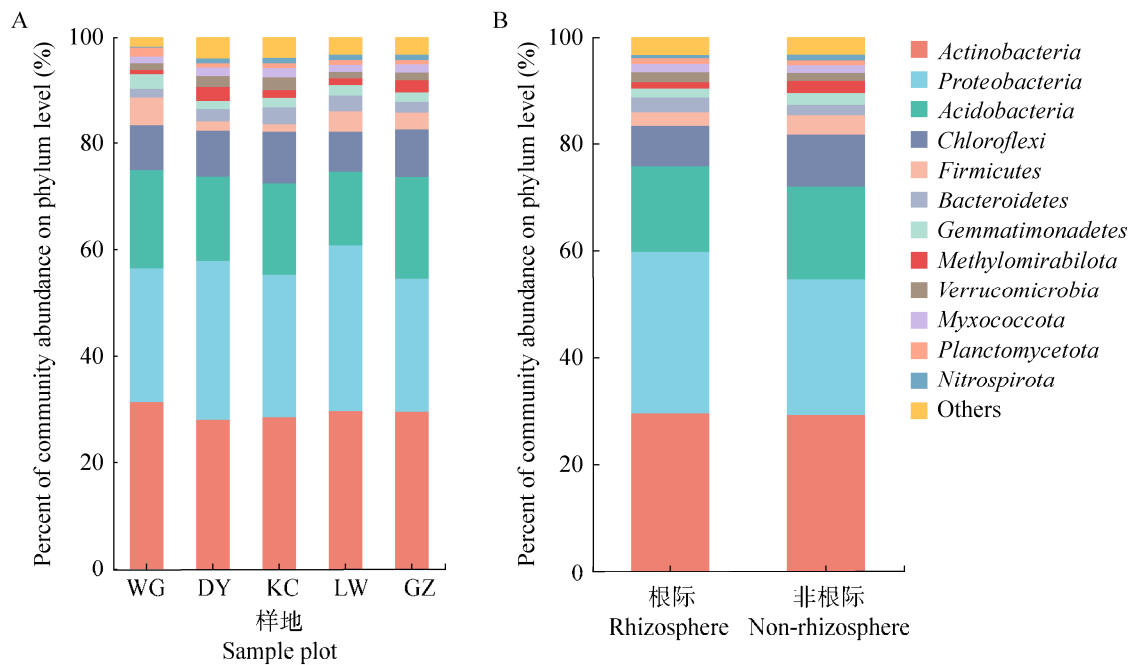


图 3 不同生境下紫果云杉根际与非根际土壤细菌群落优势细菌门组成

Figure 3 Dominant bacterial phyla detected from rhizosphere and non-rhizosphere soil bacterial community in different biotope of *Picea purpurea*.

落总量的 96.74% 以上。

在 WG、DY、KC、LW 和 GZ 这 5 个不同海拔紫果云杉天然林中, 放线菌门占比依次为 31.3%、27.9%、28.4%、29.6% 和 29.5%; 变形菌门占比依次为 25.3%、29.9%、26.9%、31.2% 和 25%。其中, WG、KC 和 GZ 中相对丰度占比最高的是放线菌门, 而在 DY 和 LW 细菌群落门水平相对丰度占比最高的是变形菌门。

在紫果云杉根际土壤细菌群落中, 相对丰度高于 5% 的优势菌门主要是放线菌门(29.4%)、变形菌门(30.3%)、酸杆菌门(16.1%)和绿弯菌门(7.5%)。非根际土壤细菌群落中, 优势菌门主要是放线菌门(29.1%)、变形菌门(25.5%)、酸杆菌门(17.4%)和绿弯菌门(9.6%)。其中根际土中放线菌门和变形菌门均高于非根际, 根际土优势菌群比非根际更加集中。

2.5 土壤细菌多样性与环境因子冗余分析

冗余分析(redundancy analysis, RDA)表明,

土壤细菌群落多样性与土壤理化因子和水热条件等密切相关, 蒙特卡罗置换检验结果显示解释变量与响应变量间关系显著。紫果云杉根际土壤细菌与环境因子冗余分析显示, 前两轴 RDA1 和 RDA2 分别解释了 66.25% 和 2.28% 的细菌多样性变化, 土壤环境因子共解释了 64.53% 的根际细菌多样性变化(图 4A)。对根际细菌群落结构影响显著正相关的土壤养分因子有 TN ($F=7.7$, $P<0.05$) 和 AN ($F=6.5$, $P<0.05$), 而 AP 和 pH 的影响呈负相关; 环境因子中 MT 和 MP 呈正相关, 海拔呈负相关。非根际的二者关系显示, 前两轴 RDA1 和 RDA2 分别解释了 88.99% 和 3.83% 的细菌多样性变化, 土壤环境因子共解释了 92.82% 的非根际细菌多样性变化(图 4B)。对非根际细菌群落结构影响极显著正相关的土壤养分因子有 TN ($F=49.7$, $P<0.005$)、AN ($F=25.5$, $P<0.005$) 和 SOM ($F=15.0$, $P<0.005$), 而 AP 和 pH 的影响呈负相关; 环境因子中 MP

呈显著正相关($F=8.4$, $P<0.05$), 海拔呈负相关。

2.6 土壤细菌优势菌门与土壤理化因子相关性分析

选择门水平上相对丰度高于 1% 的细菌优势菌门, 分析其与土壤养分的聚类分析发现(图 5):

10 个优势菌门丰度与土壤理化因子呈显著正相关($P<0.05$), 5 个优势菌门丰度与土壤理化因子呈显著负相关($P<0.05$)。其中, 变形菌门(*Proteobacteria*)与有机质、全氮和碱解氮呈显著正相关($P<0.05$); 绿弯菌门(*Chloroflexi*)与全磷呈

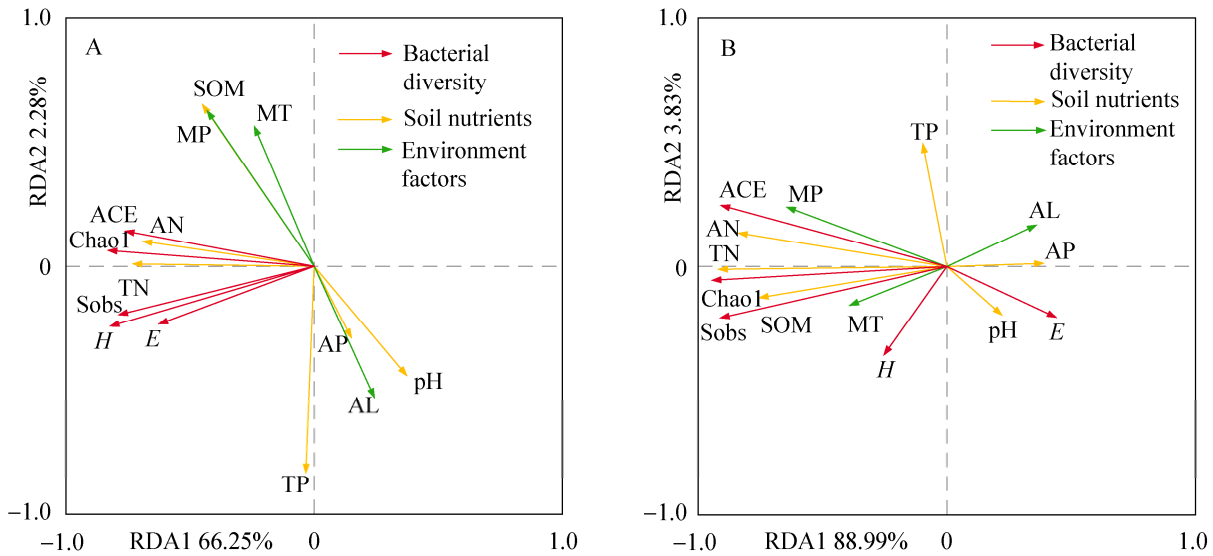


图 4 根际(A)与非根际(B)土壤细菌多样性与环境因子的冗余分析

Figure 4 RDA of the bacterial diversity with environment factors in rhizosphere soil (A) and non-rhizosphere soil (B).

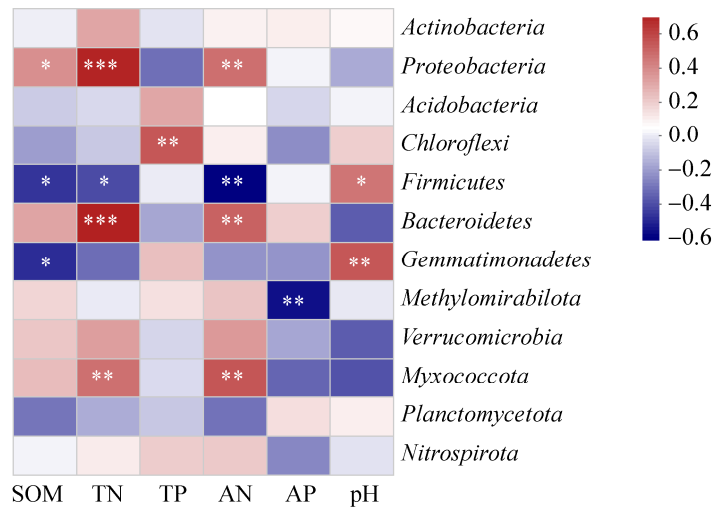


图 5 细菌菌群与土壤养分的聚类分析热图(门级水平) * : 细菌菌群与土壤养分相关性显著 ($P<0.05$, $n=30$), *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$

Figure 5 Heatmap between dominant bacterial phylum and soil nutrients (phylum level). *: Significant difference between dominant bacterial phylum and soil nutrients ($P<0.05$, $n=30$). *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$.

显著正相关($P < 0.05$); 厚壁菌门(*Firmicutes*)与有机质、全氮和碱解氮呈显著负相关, 与 pH 呈显著正相关($P < 0.05$); 拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和粘球菌门(*Myxococcota*)与全氮和碱解氮呈极显著正相关($P < 0.01$); 芽单胞菌门(*Gemmatimonadetes*)与有机质呈显著负相关, 与 pH 呈显著正相关($P < 0.05$); *Methylomirabilota* 与有效磷呈极显著负相关($P < 0.01$)。不同细菌菌门对土壤理化因子的响应不同, 这为细菌群落结构变化提供了可能性。

3 讨论

细菌作为土壤生态系统的重要组成部分, 推动了植物根系跟土壤的物质交换^[19]。土壤中凋落物和根系分泌物的不同导致了土壤理化因子的变化, 成为影响土壤细菌群落多样性变化的重要驱动因素^[20]。本研究通过综合分析紫果云杉天然林根际与非根际细菌群落与土壤理化、水热条件等环境因子之间的关系, 为紫果云杉土壤组成和天然林恢复提供借鉴。

海拔梯度和水热条件的差异是土壤理化因子和细菌群落结构发生变化的影响因素之一。研究发现, 随着海拔梯度的增加, 紫果云杉根际与非根际土壤养分因子均呈单峰型分布趋势。这与董廷发^[21]在云南松林(1 740–2 660 m)研究的结果一致, 土壤养分在中海拔处偏高, 与中海拔地段云南松较好的生长表现相符。不同海拔梯度下根际土壤养分均值显著高于非根际($P < 0.05$), 主要原因是植物通过根系微域对特定优势菌群有明显的筛选富集作用, 加快腐殖质的分解转化, 促使土壤养分含量增加^[22]。此外, 土壤 pH 随着海拔变化表现出波动的趋势, 这与紫果云杉属于浅根系植物, 表层土受地上凋落物、土壤颗粒组成和根系养分富集作用等影响较大有关^[23]。紫果云杉根际土壤细菌

群落 α 多样性指数随海拔升高呈现单峰型的变化趋势。主要原因是紫果云杉最适生态位区间根系生长旺盛, 根系分泌物增加导致土壤养分富集, 形成了更高水平的根际土壤细菌多样性^[3,24]。RDA 结果表明, 根际与非根际土壤中海拔与细菌多样性呈负相关, 年均温与年降水与根际细菌多样性呈正相关。这与以往研究一致: 温度和降水通过改变土壤酶活性、pH 和植物代谢速度, 间接影响细菌群落结构、生物量和土壤有机质等^[25-26]。随着海拔的升高, 山地温度降低, 地上植被密度降低凋落物减少, 土壤有机碳、全氮和磷降低, 从而造成了土壤细菌多样性和群落组成发生改变^[6]。因此, 海拔梯度、年均温和年降水通过影响改变植物和土壤理化性质的变化, 进而引起土壤细菌多样性发生改变。

细菌与土壤之间的相互作用决定着细菌群落构成, 同时植物对细菌的影响由土壤养分变化介导^[27]。微生物作为食物链中的分解者, 能够分解和转化腐殖质改良土壤养分; 相对地, 土壤养分因子通过影响细菌新陈代谢和土壤酶活性, 也是导致细菌群落多样性变化的重要因素^[28]。相关性结果表明, 根际与非根际土壤养分因子中 SOM、TN 和 AN 与多样性指数呈正相关; pH 和 AP 与多样性指数呈负相关; TP 与多样性指数相关性较差。这与许多基于土壤理化因子与微生物多样性之间关系的研究结果一致。如 Zheng 等^[29]在土壤多功能研究中报道, 土壤碳循环受土壤环境因素的直接影响, 而土壤氮循环主要受微生物群落的控制, 进一步强调了土壤驱动因子和微生物群落(即组成和多样性)对重要土壤碳和氮过程的重要性。Li 等^[30]与 Stewart 等^[31]研究显示, 植物凋落物使根际土壤 pH 酸化, pH 与土壤微生物多样性呈负相关关系; 赵兴鸽等^[1]的研究显示, 土壤细菌多样

性与土壤氮及磷资源显著相关,可能是由于土壤养分与初级生产力联系紧密造成的。因此,土壤理化因子与细菌多样性变化密切相关,其中土壤养分和 pH 对不同细菌菌门的异质化贡献,是造成不同海拔梯度下紫果云杉天然林土壤细菌群落多样性差异的重要原因。

洮河上游紫果云杉根际与非根际土壤细菌优势类群是放线菌门、变形菌门、酸杆菌门和绿弯菌门等,其中根际土中放线菌门和变形菌门均高于非根际,有机质、全氮和碱解氮与变形菌门呈显著正相关,促使根际土中优势菌群更加集中。这与细菌以生长速度快的富营养型细菌为主的研究结果^[32]一致,根际细菌可以释放帮助根系吸收植物可利用的钾、磷和其他微量元素。例如:变形菌门可通过影响细菌和细胞外磷酸活性,促使根系吸收有机磷^[33];酸杆菌门具有降解植物残体、参与铁循环和单碳化合物代谢的作用^[34]。相对地,植物根系通过根系分泌物和化感作用,增加土壤资源量以对微生物种群具有选择性和促进作用,从而促进土壤微生物多样性的变化^[21,35]。因此,土壤养分因子是驱动细菌优势类群相对丰度变化的直接影响因素。

4 结论

在洮河上游紫果云杉天然林中,随着海拔梯度的增加,根际土壤养分因子和细菌多样性呈现单峰型的一致性变化趋势;非根际土壤养分因子呈现单峰型变化趋势,而细菌多样性呈双峰型变化趋势。土壤细菌群落多样性与土壤养分因子(有机质、全氮和碱解氮)相关性最高。因此,土壤细菌群落多样性和组成既受到土壤理化性质的直接影响,也受到海拔、降水和温度的间接影响。在土壤细菌、土壤养分与环境因子三者的交互作用下,不同海拔梯度下的紫果云杉天然林细

菌群落构成类似。本研究为认识自然生态系统中影响洮河上游紫果云杉天然林土壤细菌多样性的形成和驱动机制提供了理论依据。

REFERENCES

- [1] 赵兴鸽,张世挺,牛克昌.高寒草甸植物群落功能属性与土壤细菌多样性关系[J].中国科学:生命科学,2020,50(1):70-80
Zhao XG, Zhang ST, Niu KC. Association of soil bacterial diversity with plant community functional attributes in alpine meadows[J]. *Scientia Sinica: Vitae*, 2020, 50(1): 70-80 (in Chinese)
- [2] 张丹丹,张丽梅,沈菊培,旺姆.珠穆朗玛峰不同海拔梯度上土壤细菌和真菌群落变化特征[J].生态学报,2018,38(7):2247-2261
Zhang DD, Zhang LM, Shen JP, Wangmu. Soil bacterial and fungal community succession along an altitude gradient on Mount Everest[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(7): 2247-2261 (in Chinese)
- [3] Tian T, Reverdy A, She QX, Sun BB, Chai YR. The role of rhizodeposits in shaping rhizomicrobiome[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2020, 12(2): 160-172
- [4] 刘京伟,李香真,姚敏杰.植物根际微生物群落构建的研究进展[J].微生物学报,2021,61(2):231-248
Liu JW, Li XZ, Yao MJ. Research progress on assembly of plant rhizosphere microbial community[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(2): 231-248 (in Chinese)
- [5] 熊惘梓,钞亚鹏,赵盼,宋双伟,石莹莹,莫乘宝,仲乃琴.不同生境马铃薯根际土壤细菌多样性分析[J].微生物学报,2020,60(11):2434-2449
Xiong MZ, Chao YP, Zhao P, Song SW, Shi YY, Mo CB, Zhong NQ. Comparison of bacterial diversity in rhizosphere soil of potato in different habitats[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(11): 2434-2449 (in Chinese)
- [6] Guo YX, Ren CJ, Yi JJ, Doughty R, Zhao FZ. Contrasting responses of rhizosphere bacteria, fungi and arbuscular mycorrhizal fungi along an elevational gradient in a temperate montane forest of China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 2042
- [7] 张荣,李婷婷,金锁,鱼舜尧,王宇,李禹江,齐锦秋,郝建锋.不同海拔高度对周公山柳杉人工林植物多样性及土壤养分的影响[J].中南林业科技大学学报,2020,40(5):38-46

- Zhang R, Li TT, Jin S, Yu SY, Wang Y, Li YJ, Qi JQ, Hao JF. Effects of different altitude on plant diversity and soil nutrients of *Cryptomeria fortunei* plantation in Zhougong Mountain[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2020, 40(5): 38-46 (in Chinese)
- [8] Adam S, Azatyan A, Soares MIM, Gillor O. The impact of hydration and temperature on bacterial diversity in arid soil mesocosms[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1078
- [9] 邱书志, 王伟, 丁骞, 杨永林, 汪淑筠, 王少明, 闫毓斌, 赵亮生. 洮河林区森林生态系统服务功能及价值评估[J]. 中南林业科技大学学报, 2018, 38(2): 97-102
- Qiu SZ, Wang W, Ding Q, Yang YL, Wang SJ, Wang SM, Yan YB, Zhao LS. Forest ecosystem service function and value evaluation in Taohe forest area[J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology, 2018, 38(2): 97-102 (in Chinese)
- [10] 王婧如, 王明浩, 张晓玮, 孙杉, 赵长明. 同倍体杂交物种紫果云杉的生态位分化及其未来潜在分布区预测[J]. 林业科学, 2018, 54(6): 63-72
- Wang JR, Wang MH, Zhang XW, Sun S, Zhao CM. The ecological divergence and projection of future potential distribution of homoploid hybrid species *Picea purpurea*[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2018, 54(6): 63-72 (in Chinese)
- [11] 赵阳, 刘锦乾, 陈学龙, 杨萌萌, 曹家豪, 齐瑞, 曹秀文. 洮河上游紫果云杉种群结构特征[J]. 植物生态学报, 2020, 44(3): 266-276
- Zhao Y, Liu JQ, Chen XL, Yang MM, Cao JH, Qi R, Cao XW. Population structure characteristics of *Picea purpurea* in the upstream of Taohe River[J]. Chinese Journal of Plant Ecology, 2020, 44(3): 266-276 (in Chinese)
- [12] 罗建勋, 赵福培, 刘邵谋, 辜云杰, 孙志鹏, 贾晨. 紫果云杉天然种群种实性状表型多样性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2021, 49(9): 77-84
- Luo JX, Zhao FP, Liu SM, Gu YJ, Sun ZP, Jia C. Phenotypic diversity of seeds and fruits characteristics in natural population of *Picea purpurea*[J]. Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition, 2021, 49(9): 77-84 (in Chinese)
- [13] 罗明霞, 胡宗达, 刘兴良, 李亚非, 胡璟, 欧定华, 吴德勇. 川西亚高山不同林龄粗枝云杉人工林土壤微生物生物量及酶活性[J]. 生态学报, 2021, 41(14): 5632-5642
- Luo MX, Hu ZD, Liu XL, Li YF, Hu J, Ou DH, Wu DY. Characteristics of soil microbial biomass carbon, nitrogen and enzyme activities in *Picea asperata* plantations with different ages in subalpine of western Sichuan, China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(14): 5632-5642 (in Chinese)
- [14] 刘艳娇, 樊丹丹, 李香真, 赵文强, 寇涌苹. 人工与天然云杉林土壤真菌群落多样性及菌群网络关系特征[J]. 应用生态学报, 2021, 32(4): 1441-1451
- Liu YJ, Fan DD, Li XZ, Zhao WQ, Kou YP. Diversity and network features of fungal community in the soils of planted and natural *Picea asperata* forests[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2021, 32(4): 1441-1451 (in Chinese)
- [15] 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: Chinese Agriculture Press, 2000 (in Chinese)
- [16] Chen SF, Zhou YQ, Chen YR, Gu J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. Bioinformatics: Oxford, England, 2018, 34(17): i884-i890
- [17] Magoč T, Salzberg SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics: Oxford, England, 2011, 27(21): 2957-2963
- [18] Edgar RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998
- [19] Zhang C, Liu GB, Xue S, Wang GL. Soil bacterial community dynamics reflect changes in plant community and soil properties during the secondary succession of abandoned farmland in the Loess Plateau[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 97: 40-49
- [20] Hahl T, Van Moorsel SJ, Schmid MW, Zuppinger-Dingley D, Schmid B, Wagg C. Plant responses to diversity-driven selection and associated rhizosphere microbial communities[J]. Functional Ecology, 2020, 34(3): 707-722
- [21] 董廷发. 不同海拔云南松林土壤养分及其生态化学计量特征[J]. 生态学杂志, 2021, 40(3): 672-679
- Dong TF. Soil nutrients and their ecological stoichiometry of *Pinus yunnanensis* forest along an elevation gradient[J]. Chinese Journal of Ecology, 2021, 40(3): 672-679 (in Chinese)
- [22] 周子渊, 于明含, 丁国栋, 高广磊, 何莹莹. 毛乌素沙地锦鸡儿(*Caragana*)根系微域细菌群落多样性特征[J]. 中国沙漠, 2020, 40(4): 128-137
- Zhou ZY, Yu MH, Ding GD, Gao GL, He YY. Diversity of bacterial communities in the rhizocompartments of

- Caragana* in the Mu Us Desert[J]. Journal of Desert Research, 2020, 40(4): 128-137 (in Chinese)
- [23] 胡宗达, 刘世荣, 史作民, 刘兴良, 何飞. 不同海拔梯度川滇高山栎林土壤颗粒组成及养分含量[J]. 林业科学, 2012, 48(3): 1-6
Hu ZD, Liu SR, Shi ZM, Liu XL, He F. Soil particle composition and its relationship with nutrient contents in a *Quercus aquifolioides* forest at different altitudinal gradient[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2012, 48(3): 1-6 (in Chinese)
- [24] Yuan J, Zhao J, Wen T, Zhao ML, Li R, Goossens P, Huang QW, Bai Y, Vivanco JM, Kowalchuk GA, et al. Root exudates drive the soil-borne legacy of aboveground pathogen infection[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 156
- [25] 杨林, 陈亚梅, 和润莲, 邓长春, 刘军伟, 刘洋. 高山森林土壤微生物群落结构和功能对模拟增温的响应[J]. 应用生态学报, 2016, 27(9): 2855-2863
Yang L, Chen YM, He RL, Deng CC, Liu JW, Liu Y. Responses of soil microbial community structure and function to simulated warming in alpine forest[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2016, 27(9): 2855-2863 (in Chinese)
- [26] 杨山, 李小彬, 王汝振, 蔡江平, 徐柱文, 张玉革, 李慧, 姜勇. 氨水添加对中国北方草原土壤细菌多样性和群落结构的影响[J]. 应用生态学报, 2015, 26(3): 739-746
Yang S, Li XB, Wang RZ, Cai JP, Xu ZW, Zhang YG, Li H, Jiang Y. Effects of nitrogen and water addition on soil bacterial diversity and community structure in temperate grasslands in northern China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26(3): 739-746 (in Chinese)
- [27] 杨睿, 李娟, 龙健, 廖洪凯, 王显, 李宜蓉. 贵州喀斯特山区不同种植年限花椒根际土壤细菌群落结构特征研究[J]. 生态环境学报, 2021, 30(1): 81-91
Yang R, Li J, Long J, Liao HK, Wang X, Li YR. Structural characteristics of bacterial community in rhizosphere soil of *Zanthoxylum bungeamun* in different planting years in karst areas of Guizhou[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2021, 30(1): 81-91 (in Chinese)
- [28] 郭辉, 唐卫平. 不同林龄华北落叶松根际与非根际土壤酶和土壤微生物研究[J]. 生态环境学报, 2020, 29(11): 2163-2170
Guo H, Tang WP. Enzyme activity and microbial community diversity in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *Larix principis-rupprechtii*[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2020, 29(11): 2163-2170 (in Chinese)
- [29] Zheng Q, Hu YT, Zhang SS, Noll L, Böckle T, Dietrich M, Herbold CW, Eichorst SA, Woebken D, Richter A, et al. Soil multifunctionality is affected by the soil environment and by microbial community composition and diversity[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2019, 136: 107521
- [30] Li Z, Zu C, Wang C, Yang J, Yu H, Wu H. Different responses of rhizosphere and non-rhizosphere soil microbial communities to consecutive *Piper nigrum* L. monoculture[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 35825
- [31] Stewart CE, Roosendaal D, Deneff K, Pruessner E, Comas LH, Sarath G, Jin VL, Schmer MR, Soundararajan M. Seasonal switchgrass ecotype contributions to soil organic carbon, deep soil microbial community composition and rhizodeposit uptake during an extreme drought[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 112: 191-203
- [32] Zhang RF, Vivanco JM, Shen QR. The unseen rhizosphere root-soil-microbe interactions for crop production[J]. Current Opinion in Microbiology, 2017, 37: 8-14
- [33] Menezes-Blackburn D, Giles C, Darch T, George TS, Blackwell M, Stutter M, Shand C, Lumsdon D, Cooper P, Wendler R, et al. Opportunities for mobilizing recalcitrant phosphorus from agricultural soils: a review[J]. Plant and Soil, 2018, 427(1/2): 5-16
- [34] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 王新珍, 金剑, 刘晓冰. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. 生物技术通报, 2016, 32(2): 14-20
Wang GH, Liu JJ, Yu ZH, Wang XZ, Jin J, Liu XB. Research progress of *Acidobacteria* ecology in soils[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(2): 14-20 (in Chinese)
- [35] Hartmann A, Schmid M, Van Tuinen D, Berg G. Plant-driven selection of microbes[J]. Plant and Soil, 2009, 321(1/2): 235-257