

夏热克亚木·伊提尼牙孜, 董发勤, 李琼芳, 等. 高寒岩溶土壤微生物群落组成及其多样性[J]. 中国岩溶, 2024, 43(2): 364-378.

DOI: 10.11932/karst2024y015

高寒岩溶土壤微生物群落组成及其多样性

夏热克亚木·伊提尼牙孜^{1,2}, 董发勤^{2,3}, 李琼芳¹, 安德军⁴, 代群威^{3,5},
张强⁶, 饶瀚云¹, 任亚珍¹, 刘凤起¹, 刘明学¹

(1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010; 2. 西南科技大学固体废物处理与资源化教育部重点实验室, 四川 绵阳 621010; 3. 西南科技大学环境与资源学院, 四川 绵阳 621010; 4. 黄龙国家级风景名胜管理局, 四川 松潘 624000; 5. 西南科技大学核废物与环境安全国防重点学科实验室, 四川 绵阳 621010; 6. 中国地质科学院岩溶地质研究所/自然资源部、广西岩溶动力学重点实验室/联合国教科文组织国际岩溶研究中心, 广西 桂林 541004)

摘要: 高寒岩溶是四川黄龙风景区独特的地质特征。为分析高寒岩溶区土壤微生物群落组成特征与土壤理化性质间的相关性, 以黄龙风景区土壤为研究对象, 对土壤细菌的¹⁶SrRNA基因序列和真菌ITS序列进行高通量测序。结果表明: 不同岩溶区的土壤细菌多样性和丰富度具有显著差异, 但土壤真菌差异不显著, 且土壤细菌群落占主导地位; 细菌群落以变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)为主; 真菌群落以子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)为主, 真菌在门和属水平的差异较大。冗余分析发现总磷和温度是黄龙风景区土壤微生物群落结构变化的重要环境因子, pH是第二重要的环境因子。

关键词: 高寒岩溶; 黄龙风景区; 岩溶土壤; 高通量测序; 微生物群落结构; 环境因子

创新点: 首次深入探究高寒岩溶土壤微生物群落的特征, 与非高寒岩溶区对比, 揭示出高寒岩溶区与非高寒岩溶区在不同海拔下土壤微生物的群落结构和多样性差异。分析岩溶土壤微生物群落结构特征及其与环境影响因子的关联, 填补黄龙风景区土壤微生物研究的空白, 为深入了解高寒岩溶土壤微生物生态学特征提供新依据。

中图分类号: S154.3 文献标识码: A

文章编号: 1001-4810(2024)02-0364-15

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



0 引言

岩溶地貌占世界陆地总面积的12%^[1], 中国有约340万km²岩溶地区, 包括埋藏、覆盖和裸露碳酸盐岩地区, 占世界所有岩溶地区面积的15.6%^[2], 集中分布于中国西南地区^[3]。中国西南山地是重要的生态安全屏障和重点生态功能区^[4]。由于受碳酸盐岩

坚硬、可剪性强、洞穴缝发育等特性和雨热同季的季风气候等的影响, 岩溶地区形成了地表、地下双层水文地质结构, 难以蓄水、保水^[5]。此外, 岩溶区土壤受特殊的地质环境与岩溶作用影响, 呈现出土层浅薄、高钙偏碱等特点, 从而限制岩溶山地植被的生产力, 具有明显的生态脆弱性^[6-7]。岩溶作用本质上是以土壤有机碳为媒介的生物地球化学过程^[8]。土

基金项目: 国家自然科学基金—区域创新发展联合基金(U21A2016); 国家自然科学基金项目(41572035, 41877288, 41831285)

第一作者简介: 夏热克亚木·伊提尼牙孜(1993—), 女, 硕士研究生, 主要从事环境微生物学研究。E-mail: 2674924247@qq.com。

通信作者: 董发勤(1963—), 男, 教授, 博士研究生导师, 主要研究方向为环境矿物学、固体废弃物处理及资源化利用。E-mail: fqdong@swust.edu.cn。

收稿日期: 2023-09-27

壤是一个最具有生物多样性的复杂基质^[9],在岩溶生态系统中扮演着重要角色。而土壤微生物是土壤元素生物地球化学循环的主要参与者,在维持生态系统功能中发挥着不可替代的作用。

岩溶土壤受岩溶作用和植被退化的影响,土壤理化性质变差,营养元素的有效态低,植物难以吸收利用^[10-12],但微生物的存在能够促进很多营养元素的活化^[13]。土壤微生物群落结构对土壤含水率、有机质含量、pH 等土壤理化因子变化及人类活动极其敏感,能及时反映土壤环境的变化^[14]。因此,土壤微生物群落组成与多样性是判断土壤质量的重要依据,逐渐成为监测土壤变化的预警指标之一^[15-16],其对脆弱岩溶环境的生态恢复和农业的可持续发展具有重要意义。

目前有关岩溶区或岩溶湿地土壤微生物群落研究的报道对象主要是针对不同土地利用方式的土壤。例如,在会仙岩溶湿地,贾远航等^[17]以不同土地利用方式(天然湿地、稻田以及旱地)的土壤作为研究对象,通过¹⁶S rRNA 扩增子测序技术分析了三种土壤中的细菌群落结构,结果显示:细菌优势物种的种类在不同利用方式的土壤中相似但丰度有所差异;张双双等^[18]选取桂林毛村岩溶试验场为研究区,采用¹⁶S rRNA 扩增子测序技术,比较分析岩溶区、混合区与非岩溶区的土壤微生物群落组成及多样性特征,结果显示:变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)和放线菌门(Actinobacteria)为土壤细菌的优势菌门(相对丰度>10%),酸杆菌纲(Acidobacteriales)和 β -变形菌纲(β -proteobacteria)为优势菌纲(相对丰度>10%),且冗余分析结果表明引起细菌群落结构变化的关键因子是土壤有机碳(SOC)、pH 和总氮等。国内外对岩溶区湿地土壤微生物群落的研究开展较多,且大多数研究主要集中在不同植被覆盖或不同土地利用方式的湿地土壤细菌和真菌的多样性及群落结构以及其与环境因子之间的关系,例如,Kang 等^[19]在西藏拉鲁湿地对不同植被类型及不同深度的土壤细菌和真菌群落开展研究,Xia 等^[20]对桂林岩溶湿地土壤生态系统固碳细菌群落的丰度和多样性进行研究,Wang 等^[21]对典型岩溶高原湖泊湿地泥沙细菌群落与呼吸沿梯度的迁移开展研究。结果表明:影响岩溶湿地土壤固碳细菌群落结构的主要土壤理化因子是土壤有机碳(SOC)、可溶性有机碳(DOC)、微生物量碳(MBC)和易氧化有机碳(ROC)以及土壤温度等。而对高寒岩溶地区和

非高寒原生岩溶区微生物群落结构特征差异的研究鲜有报道。

黄龙风景区黄龙沟地处高寒岩溶区,以规模宏大、结构奇巧、色彩丰艳的岩溶地貌蜚声中外,堪称人间仙境。在这一类气候独特的岩溶高寒生境中,土壤微生物结构和功能的研究还是个空白。因此,本文通过研究高寒岩溶地貌土壤成因条件下的微生物群落结构与环境因子的相互关系,揭示高寒岩溶极端环境下的土壤—微生物之间的响应机制,以期加深理解脆弱生态系统可持续恢复策略,为理解气候变化下高寒岩溶的生物多样性价值和生物地球化学循环,为更全面了解高寒岩溶土壤微生物生态学提供依据。

1 研究区概况

黄龙沟景区位于四川省阿坝藏族羌族自治州松潘县境内、岷山主峰雪宝顶东北侧,地处青藏高原东部(图 1)。黄龙沟长 3.50 km,宽约 250 m,海拔 3 145~3 578 m,黄龙风景区年平均气温为 5~7℃,最低气温 3℃、年降雨量 760 mm 左右,植被覆盖率达 67.80%,主要植被类型为针阔混交林及针叶林,属典型的高原温带—亚寒带季风气候^[22]。丫吉岩溶试验场位于广西壮族自治区桂林市朝阳乡丫吉村,为亚热带湿润地区,场区不同地貌部位(洼地、坡地和堰口)土壤分布不均匀,坡地厚度一般在 30~150 cm 之间,母岩为上泥盆统融县组(D_3r)灰岩,土壤基本上属棕色石灰土^[23],坡地植物主要有黄荆、欆木、金樱子、九龙藤等。

2 研究方法

2.1 土壤样品的采集

土壤样品的采样时间为 2022 年 10 月,选择黄龙自然保护区主景区黄龙沟的 HJ.1、HJ.2、HJ.3、HJ.4、HY.1、HY.2、HY.3、HY.4 8 个样点进行采集(图 1),并与桂林典型原生岩溶区(丫吉岩溶试验场)坡地采集的土样(YS)进行对比,各采样点的详细信息见表 1。采样时避开树干和样地边缘,去除表层凋落物,在每个样方内随机设置 3 个 20 m×20 m 的样点,每个样方之间相隔至少 10 m。按照梅花 5 点法在每个小方内采集土样 500 g 左右(深度 0~20 cm)进行混合,共

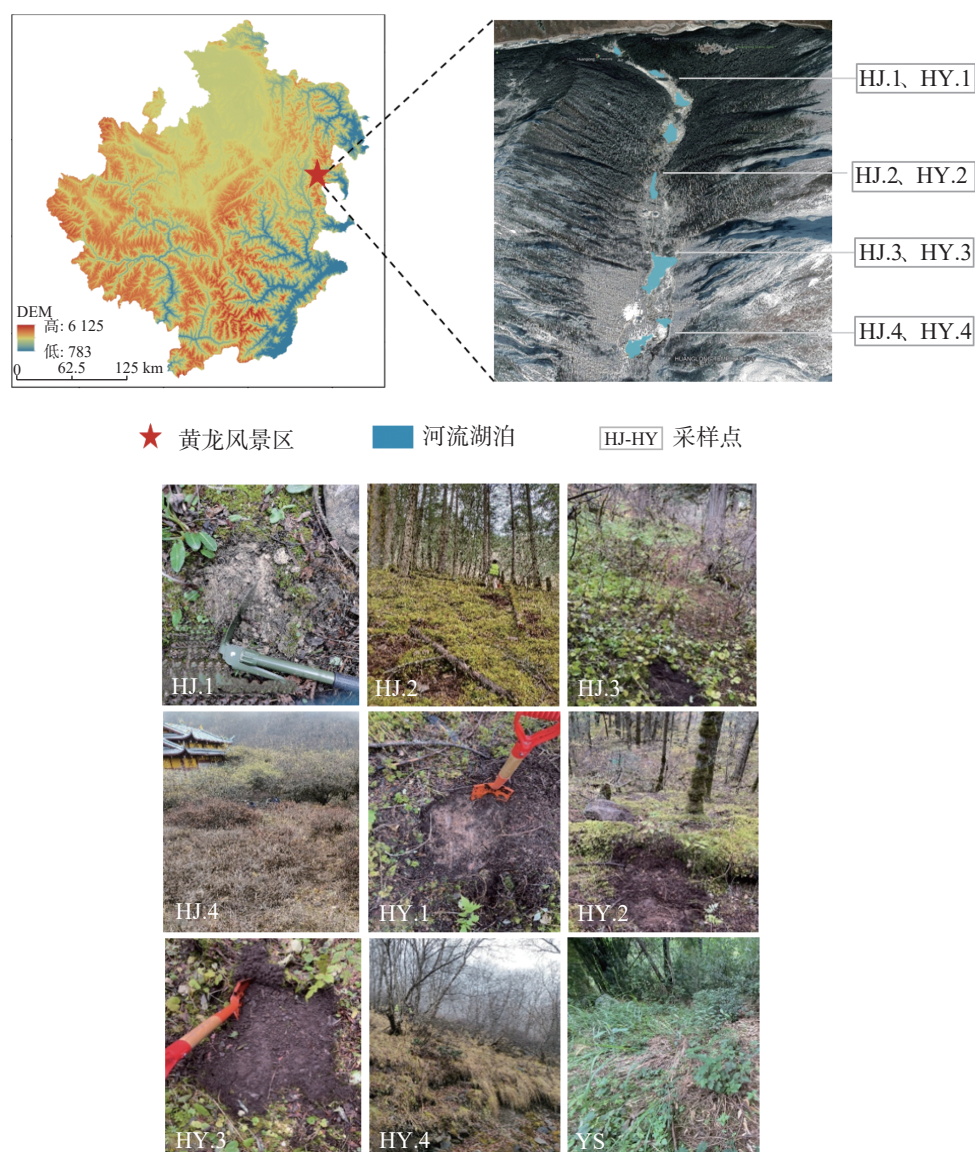


图 1 采样区位置图

注: HJ.1.迎宾池左; HJ.2.盆景池右; HJ.3.接仙桥左; HJ.4.黄龙古寺右; HY.1.迎宾池右; HY.2.盆景池左; HY.3.接仙桥右; HY.4.黄龙古寺左; YS.桂林原生岩溶(丫吉岩溶试验场)

Fig. 1 Location of sampling points in Huanglong Scenic Area

Note: HJ.1. the left of Yingbin pool; HJ.2. the right of Penjing pool; HJ.3. the left of Jiexianqiao pool; HJ.4. the right of Huanglong ancient temple; HY.1. the right of Yingbin pool; HY.2. the left of Penjing pool; HY.3. the right of Jiexianqiao pool; HY.4. the left of Huanglong ancient temple; YS. primary karst (Yaji karst experimental site in Guilin, China).

采集 27 份土壤样品。将采集土样放入提前标记好的无菌密封袋密封,置于冰盒立即带回实验室,一部分土样置于庇荫处风干后剔出植物根系及石砾等杂物,用于后续测定土壤理化性质;另一部分置于 Ep 管中迅速液氮冷冻后保存于 -80°C 冰箱,用于土壤微生物测序。

2.2 土壤理化性质的测定

土壤理化性质测定方法参考《土壤农化分析》

(第三版)^[24],测定土壤有机碳(Soil Organic Carbon, SOC)、有机质(Soil Organic Matter, SOM)、总氮(Total Nitrogen, TN)、总磷(Total Product, TP)、温度(Temperature, T)、电导率(Electrical Conductivity, Ec)、含水量(Soil Water Content, SWC)和 pH。土壤样品风干后研磨过筛,土壤 pH 和电导率采用电极电位法测定(水土比 2.5 : 1);土壤含水量采用重量法测定;土壤有机碳采用重铬酸钾容量法—外加热法测定;土壤有机质采用重铬酸钾容量法测定;土壤总

表 1 采样信息
Table 1 Information of sample points

采样区	样品	纬度	经度	海拔
迎宾池左	HJ.1	32°74'96"N	103°82'58"E	3 200.00 m
盆景池右	HJ.2	32°74'63"N	103°82'84"E	3 300.00 m
接仙桥左	HJ.3	32°73'42"N	103°83'39"E	3 400.00 m
黄龙古寺右	HJ.4	32°72'68"N	103°83'20"E	3 500.00 m
迎宾池右	HY.1	32°74'96"N	103°82'35"E	3 200.00 m
盆景池左	HY.2	32°74'64"N	103°82'95"E	3 300.00 m
接仙桥右	HY.3	32°73'71"N	103°83'04"E	3 400.00 m
黄龙古寺左	HY.4	32°72'77"N	103°83'40"E	3 500.00 m
桂林原生岩溶	YS	25°10'60"N	110°45'21"E	150 m

磷和总氮采用流动分析仪测定。

2.3 数据处理

测定土壤微生物采用 CTAB 或 SDS 方法提取样品的基因组 DNA, 使用琼脂糖凝胶电泳法检测提取出的 DNA 纯度和浓度, 随后取适量 DNA 放置于离心管中, 并用无菌水稀释至 $1\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ 。以稀释后的基因组 DNA 为模板, 根据扩增区域选择使用带 barcode 的特异性引物、New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer 和高效高保真酶进行 PCR 实验, 确保扩增效率和准确性。PCR 扩增引物为细菌¹⁶S V4 区域通用引物(515F 和 806R)、真菌 ITS1 区引物(ITS5-1737F 和 ITS2-2043R), 利用北京诺禾致源科技股份有限公司所提供的云服务(<https://magic.novogene.com/>)进行高通量测序工作。土壤理化性质数据在 Excel 2019 中汇总, 采用 SPSS 22.0 进行显著性分析, 采用 QIIME2 进行土壤细菌群落相关指标分析, 采用 Canoco 5.0 对土壤群落组成与土壤理化性状进行冗

余分析(RDA); 为分析不同样本之间共有、特有 OTU, 绘制出韦恩图(Venngraph); 根据物种注释结果, 选取每个样本在门和属水平上丰度排名前 10 的物种, 利用 Origin2021 绘制堆积柱状图; 使用 α 多样性 (Alphadiversity) 指标分析样本内的微生物群落多样性^[25-26]; 使用无度量多维标定法(Non-metricmultidimensional scaling, NMDS)统计反映样本组间差异^[27]。

3 结果与分析

3.1 土壤理化性质

表 2 为采样点的土壤理化性质。不同采样点的 T 、TN、SWC 差异显著 ($P<0.05$), 且与非高寒岩溶区桂林丫吉试验场坡地相比, 黄龙风景区各样点 SOC、SOM 和 TN 含量相对较高。其中 HJ.2、HJ.3 样点的 Ec 远高于其他样点。每个样点的土壤 pH 差异不显著, 呈中性偏碱; 各样点 T 差异较大, 这可能与该区域土壤性质及相应微环境因素变化相关; TP 在 HY.3

表 2 土壤环境因子分析
Table 2 Analysis of soil environmental factors

理化指标	HJ.1	HJ.2	HJ.3	HJ.4	HY.1	HY.2	HY.3	HY.4	YS
$T/^{\circ}\text{C}$	13.07±1.01b	5.5±0.76ef	5.4±0.15f	10±0.15c	6.2±0.10ef	7.9±0.21d	6.8±0.25e	9.47±0.50c	26.55±0.66a
pH	7.64±0.15ab	7.31±0.19bc	7.59±0.34ab	7.39±0.34bc	7.38±0.23bc	7.77±0.17ab	7.14±0.04bc	7.16±0.12bc	8.58±0.24a
TP/mg·L ⁻¹	2.24±1.43d	4.18±0.73ab	2.94±0.56bcd	3.55±1.07abc	4.87±0.11a	2.78±1.06cd	5.47±0.26abc	2.55±0.27cd	2.65±0.13b
TN/mg·L ⁻¹	0.96±0.14d	3.28±0.24b	1.65±0.06c	1.05±0.12d	0.13±0.19e	1.93±0.33c	0.33±0.16e	1.35±0.68cd	7.77±0.18a
Ec/us	172.87±39.43abc	225.17±35.37a	223.60±27.58ab	160.57±19.86bc	168.70±49.62abc	180.27±18.07abc	126.50±36.00cd	86.40±10.92d	193.30±3.46b
SOC/g·kg ⁻¹	26.48±5.84b	51.36±5.96a	17.21±1.99bc	28.21±11.47b	18.31±6.25bc	18.37±1.96bc	27.43±2.38b	20.83±1.88bc	10.23±5.24c
SOM/g·kg ⁻¹	45.66±10.06ab	29.79±3.46bc	29.66±3.43bc	64.46±28.11a	31.57±10.77bc	31.68±3.38bc	47.31±4.10ab	35.91±3.24bc	17.77±62c
SWC/%	21.77±0.40f	50±7.21bc	44.67±2.52cd	38.77±0.68de	54.67±3.06b	32.73±0.64e	48.33±2.08bc	63.37±4.15a	14.92±1.32b

注: 表中数据为平均值±标准差, 不同小写字母代表差异显著($P<0.05$)。
Note: Data in the Table 2 indicate mean ± standard deviation. Lowercase letters represent significant differences ($P<0.05$).

的含量最高; TN 在 YS 的含量最高, 显著高于其他样点, HY.1 样点的 TN 含量最低, 且显著低于其他样点; Ec 的最小值出现在 HJ.4 与 HY.4 海拔最高点。

3.2 土壤微生物群落组成

根据黄龙沟和桂林原生岩溶土壤的细菌和真菌的 OTU 数量绘制花瓣图。由图 2 可知, 各样点通用

细菌 OTU 为 92 个, 特有的细菌 OTU 数分别为 1 859、1 292、1 592、1 704、1 381、1 438、1 256、608 和 1 980 个。通用的真菌 OTU 为 46 个, 特有的真菌 OTU 数分别为 1 182、881、825、819、682、627、590、393 和 356 个, 其中 HY.4 和 HJ.4 的细菌和真菌 OTU 数目最大。

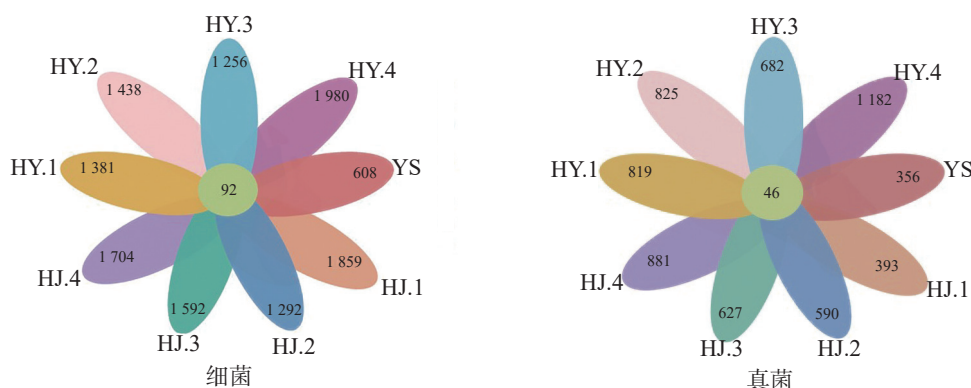


图 2 土壤细菌和真菌基于 OTUs 的花瓣图

Fig. 2 OTUs-based petaline diagram of soil fungi and bacteria

根据物种注释结果, 将黄龙沟和桂林原生岩溶土壤样品细菌、真菌门和属水平上相对丰度排名前 10 的物种绘制成堆积柱状图 (图 3)。由图 3 可知, 细菌中变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteriota) 为优势门, 变形菌门在各分布区均有分布, 但丰度不同, 其中在 HJ.1 (71%)、HY.2 (65%) 相对丰度较高, 在 YS (22%) 的相对丰度较低; 属水平的主要优势菌为假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、*RB41*、*Candidatus_Udaeobacter*, 平均丰度分别达到 14.57%、3.11% 和 2.29%; 假单胞菌属、*RB41* 是黄龙高寒岩溶丰度排名前 2 的优势类群, 假单胞菌属在 HJ.1 (40%)、HY.2 (42%)、HY.4 (15%) 中的相对丰度最多; 而桂林原生岩溶区最具优势的类群为 *Candidatus_Udaeobacter*, 丰度达 6%。

黄龙沟真菌在门分类水平上的主要优势门为子囊菌门 (Ascomycota)、担子菌门 (Basidiomycota)、被孢霉门 (Mortierellomycota) (图 4)。其中子囊菌门丰度最高 (64%), 在各区均有分布, 在 HJ.1、HJ.2、HJ.3、HJ.4、HY.1、HY.2、HY.3、HY.4 和 YS 地区的相对丰度分别为 12%、49%、64%、63%、49%、46%、47%、18%、57%。担子菌门在 HJ.1 和 HY.1 中的占比最高, 其中油壶菌门 (Olpidiomyces)、球囊菌门

(Glomeromycota)、蛙粪菌门 (Basidiobolomycota)、壶菌门 (Chytridiomycota)、GS01 菌门、Aphelidiomycota 等菌门在黄龙沟土壤真菌门中的占比相对较少。在属水平上黄龙沟优势菌为腐质霉属 (*Humicola*, 22%)、被孢霉属 (*Mortierella*, 22%)。桂林原生岩溶优势的类群为圆孢霉属 (*Staphylotrichum*, 5%)、犁头霉属 (*Absidia*, 5%)、镰刀菌素 (*Fusarium*, 4%), 且真菌在门和属水平的差异相比细菌较大。综上所述, 原生岩溶区优势微生物占比相对较低, 群落种类相比黄龙沟差异显著。

3.3 土壤微生物多样性

桂林原生岩溶地区的细菌 Chao1 指数和 Observed_OTUs 指数与黄龙沟地区相比存在显著差异 ($P < 0.05$), 而细菌和真菌的 ACE 指数在桂林原生岩溶地区也呈现出差异 ($P < 0.05$) (表 3)。这可能由于土壤微生物的分布情况会受到植被种类、土壤类型和地形地貌因素的影响^[28-29], 从而导致不同海拔物种组成和分布出现差异。黄龙沟 HJ.4 样点 Shannon、Chao1 多样性指数均高于其他样点, 表明该样点生物多样性最高。不同岩溶区的土壤细菌多样性和丰富度具有显著差异, 但土壤真菌差异不显著。

此外, 土壤微生物群落 Observed OTUs 指数、

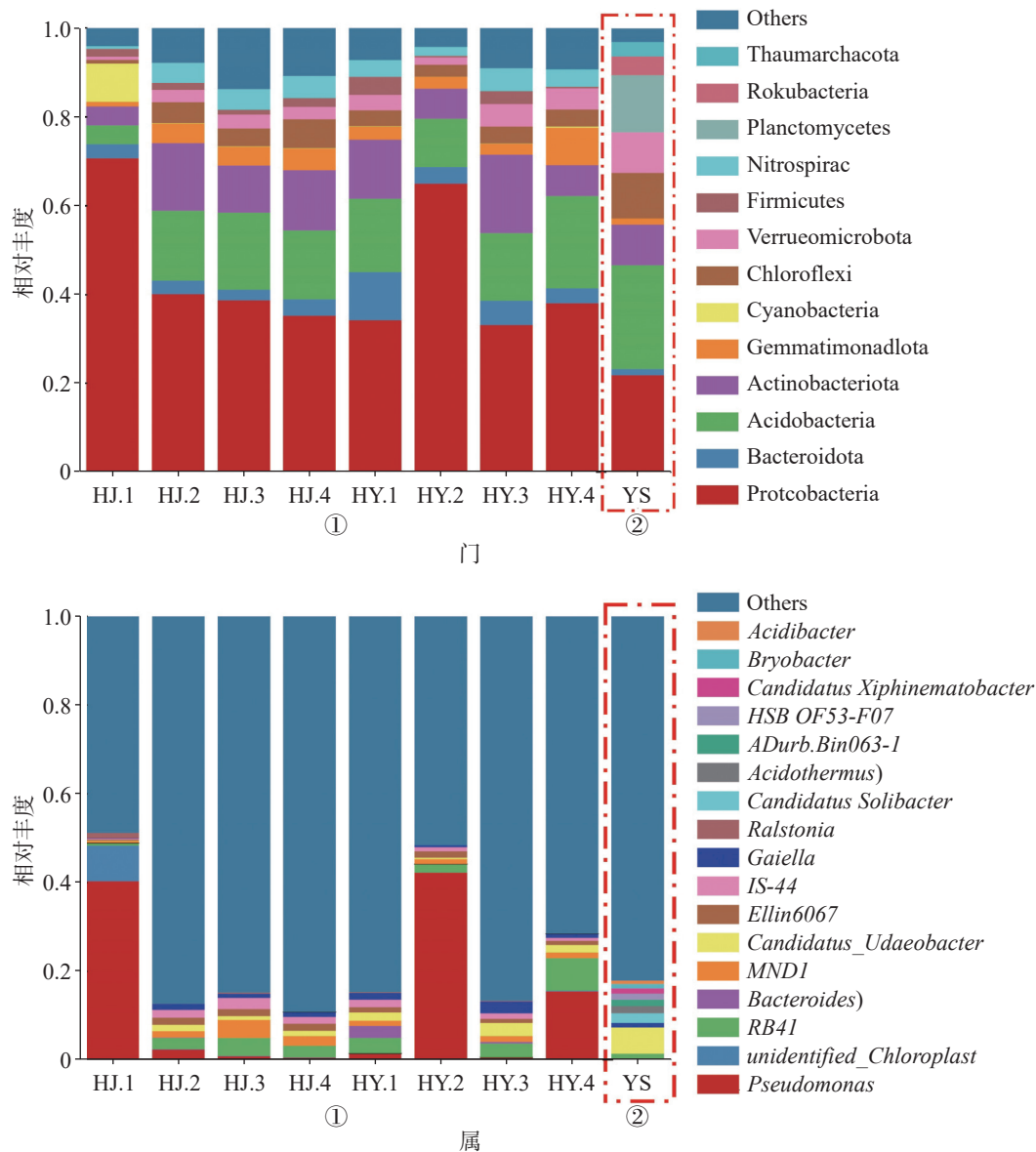


图 3 细菌门和属水平的物种丰度

注: ①表示黄龙沟的物种丰度, ②表示桂林原生岩溶物种丰度, 并用红色虚框圈出。

Fig. 3 Species abundance of bacteria at the phylum and genus levels

Note: ① indicates the species abundance of Huanglong valley; ② in a red dotted circle indicates abundance of native karst species in Guilin.

Chao 指数、Shannon 指数、Simpson 指数均呈现出细菌群落大于真菌群落的变化规律, 表明土壤细菌群落物种丰富度和多样性最高, 真菌群落居其次。利用 PCoA 对 9 个样品数据进行降维分析, 在所采集的样品中细菌的第一轴解释率为 63.2%, 第二轴解释率为 13.14%, 第 1、第 2 主成分累积解释率为 76.34%; 样品中真菌的第一轴解释率为 57.56%, 第二轴解释率为 10.54% (图 5)。第 1、第 2 主成分累积解释率为 68.1%, 它们在 9 个点都出现不同程度的离散趋势, 其中 HJ.1、HY.2、HY.4、YS 的物种离散较大, 而 HJ.2、HJ.3、HJ.4、HY.3 所采集的每个样品间 (3 个重

复) 都表现出一定聚集性。

土壤细菌和真菌的非度量多维分析 (NMDS) 结果表明: 细菌的微生物群落分别聚集在 NMDS 轴一侧, 真菌群落的分布与细菌不相似, 真菌聚集在 NMDS 的两侧, 表明不同海拔点的土壤物种组成和结构发生了差异性变化 (图 6)。为进一步确定土壤微生物群落之间的相似性, 以 Weighted UniFrac 距离矩阵对样本做 UPGMA 聚类分析, 并将聚类结果与各样本在门水平上的物种相对丰度整合展示 (图 7)。黄龙沟各样点土壤真菌具有高度的相似性, 而土壤细菌样品被分成 2 簇, HJ.1 和 HY.2 自成一簇, 其他

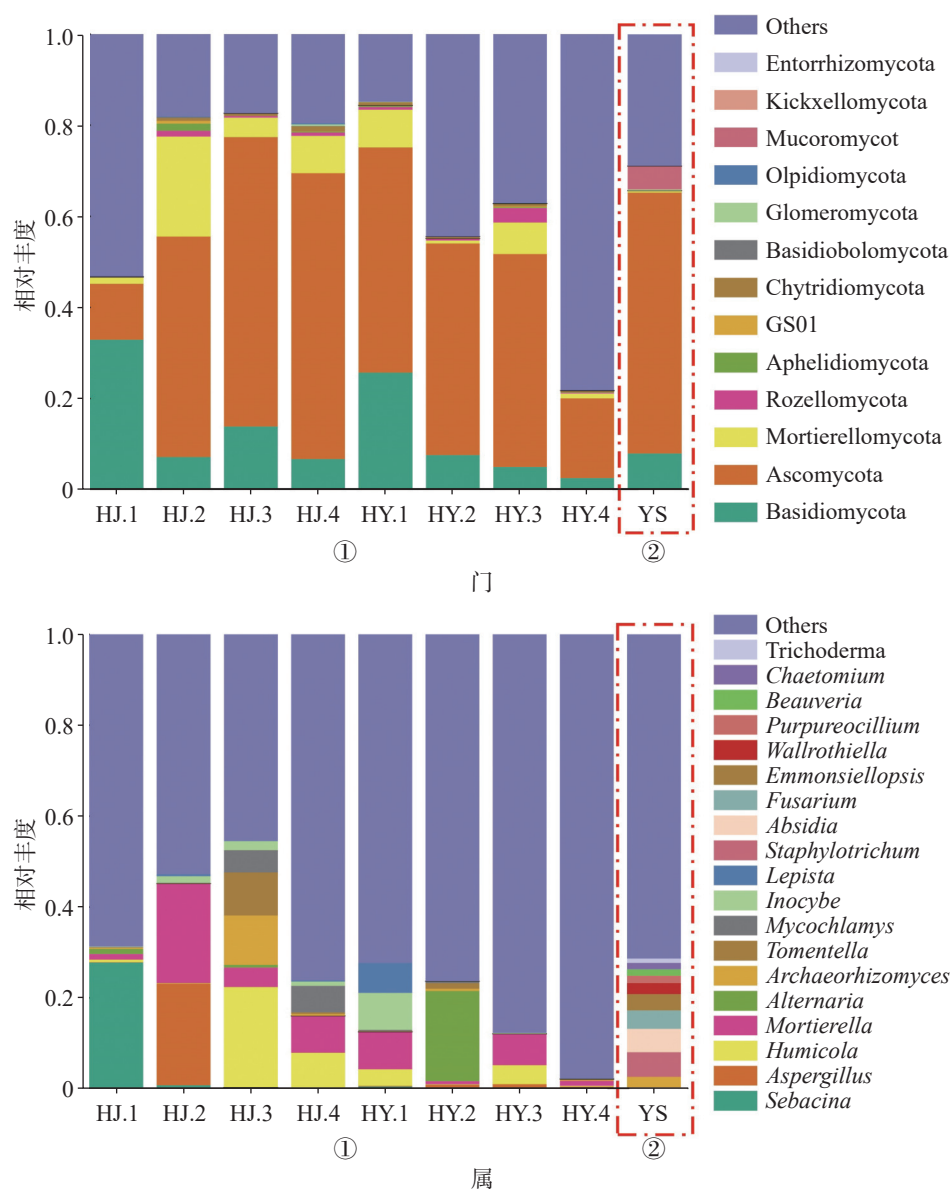


图 4 真菌门和属水平的物种丰度

(图注同图 3)

Fig. 4 Species abundance of fungi at the phylum and genus levels

(Note: referring to Fig.3)

6 组共同组成一簇, 表明 HJ.1 和 HY.2 的土壤细菌群落组成明显区别于其他样点。

3.4 土壤微生物组成与环境因子关联性

冗余分析分别解释了细菌和真菌群落 89.95% 和 81.78% 的总方差(图 8)。在细菌中, TP 是与群落分布相关程度最大的因子, T 是第二重要的环境因子, T 和 pH 与群落分布呈正相关关系; 在真菌中, TP 是与群落分布相关程度最大的因子, 而 T 和 pH 是第二重要的环境因子, 土壤 TP 和 T 均对真菌和细菌群落分布的影响较大。

门水平的相关性分析结果表明, 在细菌前 10 门中, TP 与变形菌门(Proteobacteria)呈显著负相关、与蓝菌门(Cyanobacteria)呈极显著负相关, pH 与变形菌门(Proteobacteria)呈显著正相关, Ec 与变形菌门(Proteobacteria)呈显著正相关, TN 与厚壁菌门(Firmicutes)呈显著负相关(图 9)。在真菌前 10 门中, T 与子囊菌门(Ascomycota)呈极显著负相关, TP 与罗兹菌门(Rozellomycota)呈极显著正相关, 与被孢霉门(Mortierellomycota)、Aphelidiomycota、GS01、蛙粪霉门(Basidiobolomycota)、油壶菌门

表 3 土壤微生物 α 多样性

Table 3 Alpha diversity of soil microorganism

样品	Chao1 指数		Shannon 指数		Simpson 指数		Observed_OTUs 指数		ACE 指数	
	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌
HJ.1	1 199.54±326.40c	326.04±143.87b	6.66±0.91b	2.67±1.42c	0.90±0.04bc	0.51±0.22b	1 195.33±326.76c	324.33±142.62c	2 648.93±500.73e	787.50±305.84de
HJ.2	1 737.44±21.77ab	678.86±230.88ab	9.85±0.05a	4.93±1.02abc	1.00±0.00a	0.78±0.19a	1 734.00±22.11ab	675.00±233.22abc	3 961.61±155.55ab	1 723.36±673.85abcd
HJ.3	1 839.00±63.00a	627.37±213.97ab	9.97±0.04a	4.65±1.14bc	1.00±0.00a	0.81±0.16a	1 837.33±63.22a	624.67±214.15abc	3 876.56±267.65ab	1 535.09±638.65bcde
HJ.4	2 019.37±52.47a	975.64±153.96a	10.21±0.03a	7.3±0.61a	1.00±0.00a	0.98±0.01a	2 017.33±52.00a	974.33±152.72a	4 269.48±273.22a	2 751.19±870.78a
HY.1	1 770.97±130.19a	971.38±160.10a	9.86±0.03a	7.39±0.50a	1.00±0.00a	0.98±0.01a	1 769.33±129.33a	968.67±159.48a	3 755.03±77.57bc	2 490.57±633.04ab
HY.2	1 301.99±504.66bc	569.99±170.57ab	6.66±2.79b	5.15±1.47abc	0.84±0.14c	0.87±0.09a	1 301.00±505.35bc	569.00±170.84abc	3 059.07±134.61de	1 319.98±479.86cde
HY.3	1 788.48±38.07a	769.33±97.95a	9.97±0.05a	6.17±0.77ab	1.00±0.00a	0.93±0.06a	1 786.00±40.04a	766.33±95.97ab	4 065.98±52.40ab	2 062.51±219.78abc
HY.4	1 631.30±189.07abc	699.15±327.77ab	8.95±0.75a	5.35±2.24ab	0.98±0.03ab	0.87±0.09a	1 630.00±188.75abc	694.67±331.24abc	3 383.84±184.75cd	1 409.53±405.28bcde
YS	760.42±59.05d	545.08±297.01ab	5.94±0.03b	3.7±0.81bc	1.00±0.00a	0.89±0.07a	748.00±52.83d	522.67±280.45bc	761.43±304.62f	547.22±304.62e

注：表中数据为平均值±标准差，不同小写字母代表差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Data in table indicate mean ± standard deviation. Lowercase letters represent significant differences ($P<0.05$).

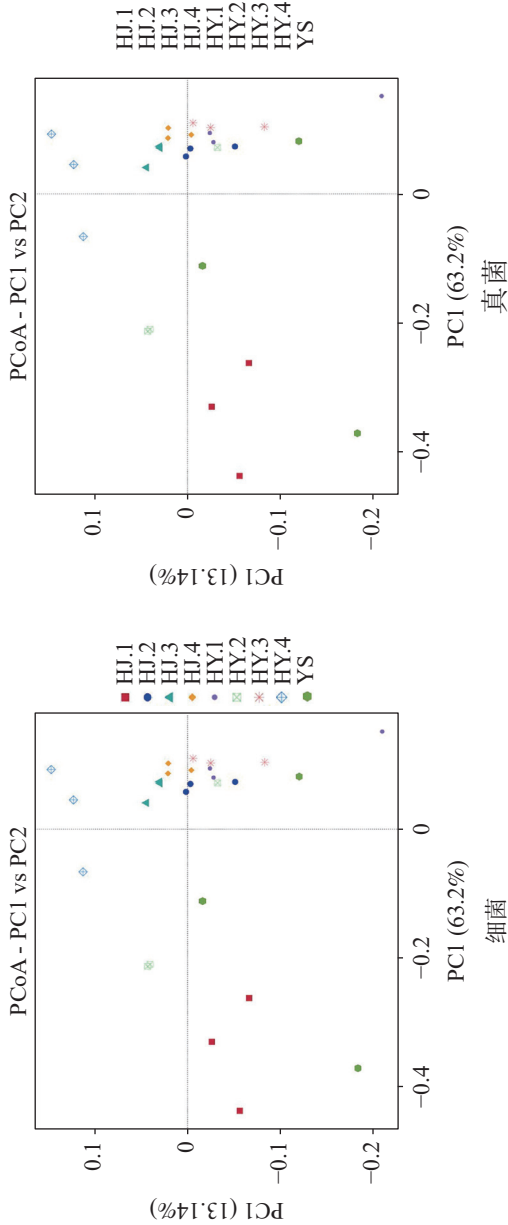


图 5 土壤微生物群落主坐标(PCoA)分析

Fig. 5 Analysis of principal coordinate of soil microbial community (PCoA)

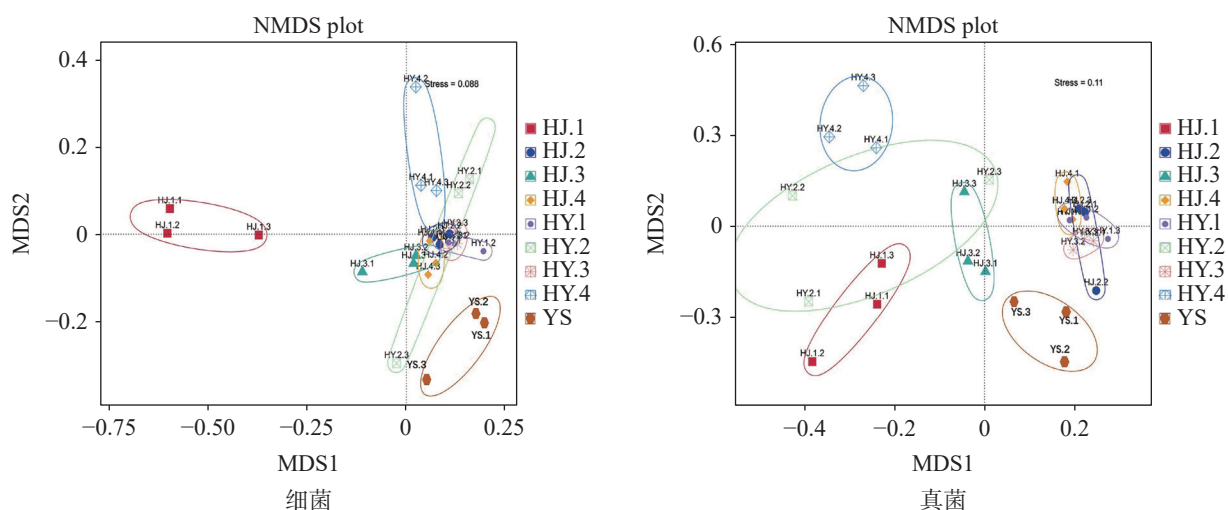


图 6 土壤微生物群落结构组成的非度量多维排序(NMDS)

Fig. 6 Non-metric multidimensional scaling(NMDS) of soil microbial community structure

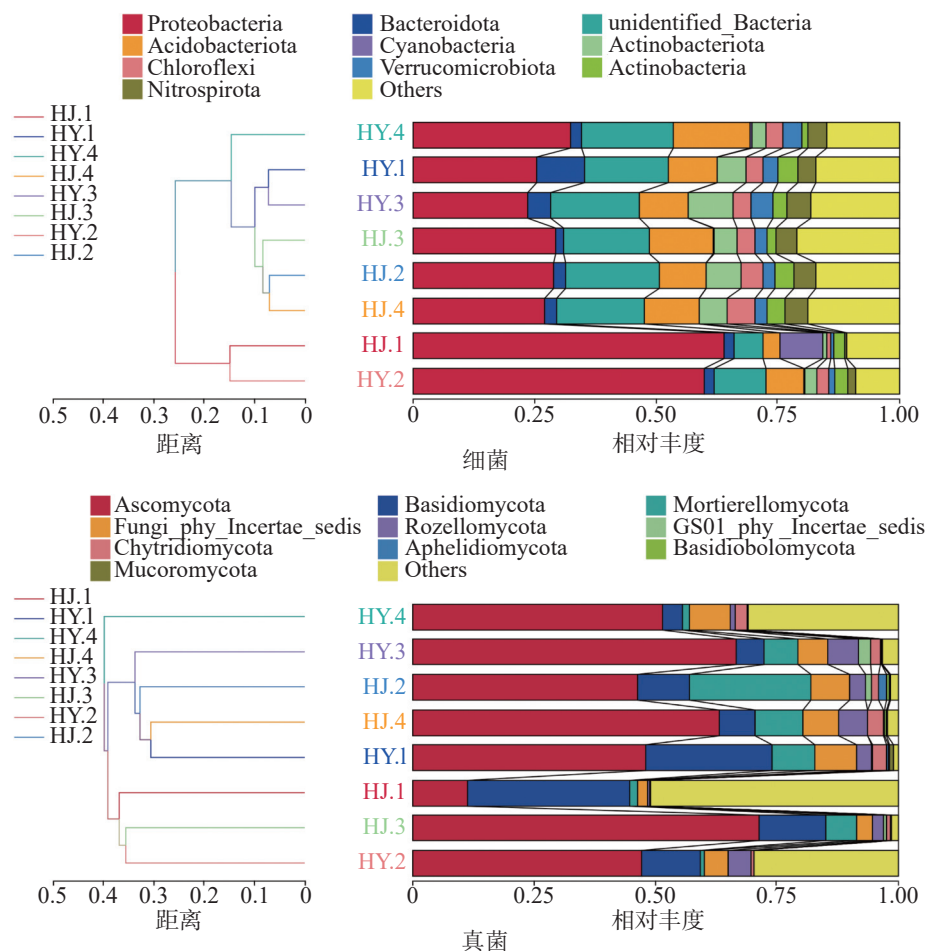


图 7 UPGMA 聚类树与门水平优势细菌和真菌

Fig. 7 UPGMA clustering tree and phylum level of dominant bacteria and fungi

(Olpidiomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)呈显著正相关, pH 与担子菌门(Basidiomycota)呈显著正相关, TN 与球囊菌门(Glomeromycota)呈显著负相关。

4 讨论

世界自然遗产黄龙风景名胜区位于四川盆地

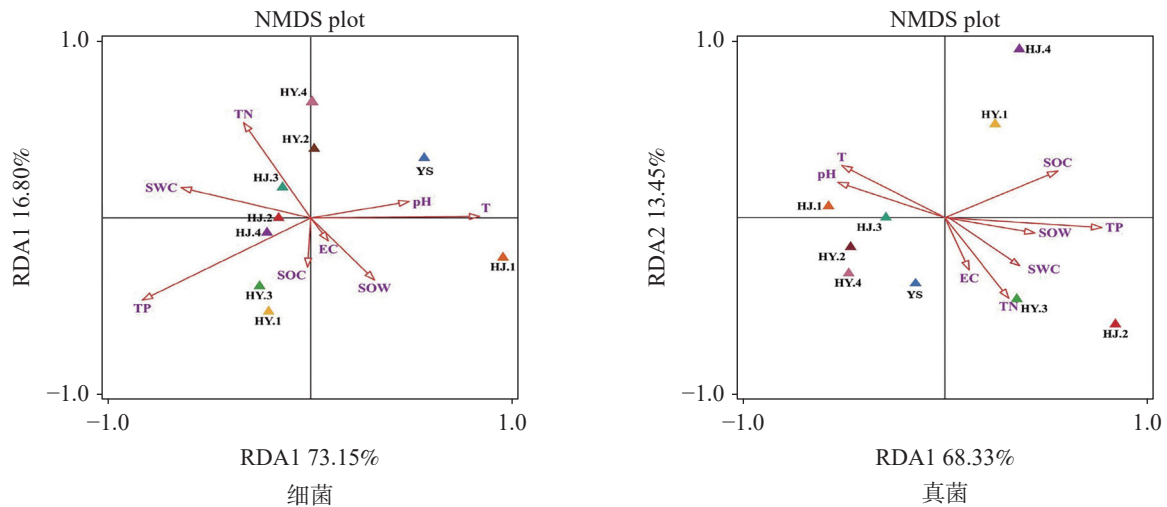


图 8 环境因子与土壤细菌、真菌在门水平的冗余分析

Fig. 8 Redundancy analysis of environmental factors and soil fungi and bacteria at the phylum level

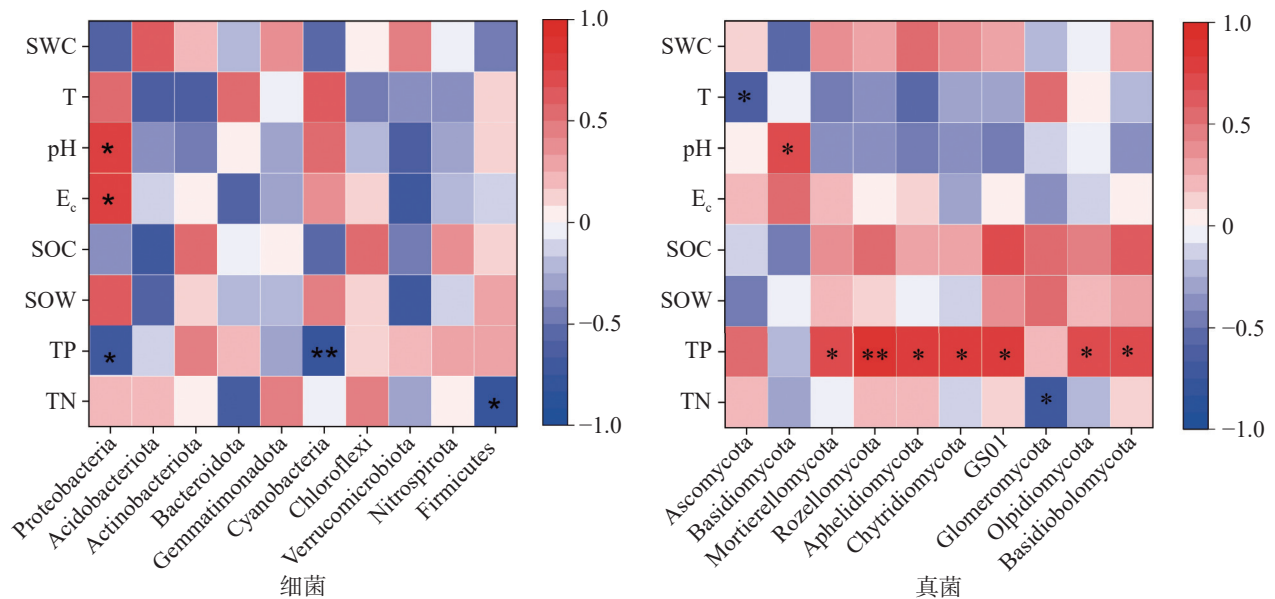


图 9 环境因子与土壤细菌、真菌门水平组成的 Spearman 分析

Fig. 9 Spearman analysis of environmental factors and the composition of soil bacteria and fungi at the phylum level

青藏高原的过渡带,独特的高寒岩溶地理特征造就了丰富的生物多样性和岩溶景观。黄龙沟主景区的土壤与桂林原生岩溶土壤的 pH 范围都在 7.1 以上,呈中性偏碱,这是受土壤富含钙和盐基饱和度较高的影响^[29-30]。每个样点的含水量由于地理位置及微环境的影响出现不同的规律,由于岩溶地区岩溶和碳酸盐岩基质随地形变化,导致土壤养分和水分的高度异质性^[31]。与非高寒岩溶区桂林丫吉试验场坡地相比,黄龙风景区各样点 SOC、SOM 和 TN 含量相对较高。这是由于高海拔的低温限制了微生物对 SOC 的利用与分解活动,导致 SOC 较高^[32],此外,低

温还导致 SOC 大量固持^[33],因此高寒岩溶区具有较高的生产力;SOM 和 TN 含量在高寒地区较高,可能是因为随海拔升高,温度下降,枯落物分解矿化速度变慢,导致土壤 SOM 和 TN 等养分随海拔的升高而增加^[34];而低温土壤湿度过大,水分会充塞大部分土壤空隙、使通气受阻,而有机质矿化率低,有利于有机质的积累^[35]。

对黄龙沟主景区土壤微生物群落的研究表明(图 3),门水平上,变形菌门 (Proteobacteria) 是高寒岩溶地区土壤优势菌门,其次是酸杆菌门 (Acidobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteriota)。变形杆菌被

认为具有很强的有机和无机化合物氧化能力,并能从光中获取能量^[36]。酸杆菌门是土壤细菌群落的重要类群,其比例仅次于变形菌^[18]。真菌中子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢霉门(Mortierellomycota)、罗兹菌门(Rozellomycota)为高寒岩溶地区土壤门水平上的优势菌,子囊菌和担子菌在几种土壤类型中占主导地位。在担子菌门中,担子菌类是最丰富的,包括在亚热带森林^[37]和岩溶土壤中^[38]。子囊菌和担子菌对降解岩溶土壤中大量有机物非常有效^[39]。

其他学者调查中国多处高寒湿地土壤微生物群落发现:变形菌门、放线菌门、酸杆菌门、拟杆菌门等是高寒湿地细菌的主要群类,子囊菌门、担子菌门是真菌的主要群类。本研究主要微生物类群与上述研究基本一致^[40-43],说明高寒岩溶湿地生态系统微生物类群的构成也具有一定相似性,且这些优势类群能在强烈变化的环境中稳定并迅速占据优势地位。而真菌在门和属水平的差异相比细菌较大,桂林原生岩溶的微生物种类相比黄龙沟差异显著。

以非高寒岩溶区桂林典型原生岩溶为参照,细菌的 Chao1 指数、Observed_OTUs 和 ACE 指数较黄龙沟差异显著,这与庞丹波等^[44-45]和 Kumar 等^[46]研究发现土壤细菌群落生物多样性随海拔呈现增加趋势的结果相似,这可能是高海拔地区的土壤微生物具有更高的适应性和抗逆能力^[47]。不同海拔的细菌和真菌群落结构存在差异,细菌的微生物群落分别聚集在 NMDS 轴一侧,而真菌聚集 NMDS 的两侧,这是因为海拔会影响太阳辐射和降水等环境因子,进而导致微生物群落结构的差异^[48]。真菌群落组成随海拔梯度具有显著差异^[49],这可能是由于不同真菌类群对土壤生境的选择不同,具有明显的环境异质性^[48]。通过聚类分析发现黄龙沟各样点土壤真菌具有高度的相似性,而 HJ.1 和 HY.2 的土壤细菌群落组成明显区别于其他样点,这是由于 HJ.1 和 HY.2 样点土壤偏钙质土,导致细菌群落组成间存在差异^[3,50]。

冗余分析结果表明:TP 和 T 是黄龙风景区土壤微生物群落结构变化的重要环境因子,pH 是第二重要的环境因子。森林土壤中的微生物群落与 pH、有机碳、总氮、总磷等养分以及黏土相关特征(如土壤阳离子交换量和含水量)相关^[51]。Pearson 相关分析表明,土壤细菌和真菌群落与 TP 呈极显著相关

($P<0.05$),这表明土壤 TP 对土壤细菌和真菌群落具有不同的积极影响,可能与土壤酸碱平衡和微生物生存环境不同有关。

5 结 论

(1)黄龙沟土壤微生物群落结构及功能丰富,高寒岩溶土壤细菌多样性指数差异显著,细菌的微生物群落结构受岩溶高寒影响显著。以非高寒岩溶区桂林典型原生岩溶为参照,发现不同岩溶区的土壤细菌多样性和丰富度具有显著差异,但土壤真菌差异不显著;土壤微生物中细菌占优势。

(2)研究区细菌群落以变形菌门(Proteobacteria)及酸杆菌门(Acidobacteria)为主;真菌群落以子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)为主,且真菌在门和属水平的差异相比细菌较大,原生岩溶的微生物种类相比黄龙沟差异较显著。

(3)TP 和 T 是影响黄龙风景区土壤微生物群落结构变化的重要环境因子,pH 是第二重要的环境因子。

参考文献

- [1] Wei X C, Deng X W, Xiang W H, Lei P F, Ouyang S, Wen H F. Calcium content and high calcium adaptation of plants in karst areas of southwestern Hunan, China[J]. *Biogeosciences*, 2018, 15(9): 2991-3002.
- [2] Jiang Z C, Lian Y Q, Qin X Q. Rocky desertification in Southwest China: Impacts, causes, and restoration[J]. *Earth-Science Reviews*, 2014, 132: 1-12.
- [3] Xiang Y Z, Chang S X, Shen Y Y, Chen G, Liu Y, Yao B, Xue J M, Li Y. Grass cover increases soil microbial abundance and diversity and extracellular enzyme activities in orchards: A synthesis across China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2023, 182: 104720.
- [4] 李阳兵. 中国西南岩溶山地石漠化转型演变解析[J]. 中国岩溶, 2021, 40(4): 698-706.
LI Yangbing. Analysis on transformation and evolution of rocky desertification in karst mountainous areas of Southwest China[J]. *Carsologica Sinica*, 2021, 40(4): 698-706.
- [5] 张浪, 李俊, 潘晓东, 黄晓荣, 彭聪. 西南某岩溶区地下水系统示踪试验与解析[J]. 中国岩溶, 2020, 39(1): 42-47.
ZHANG Lang, LI Jun, PAN Xiaodong, HUANG Xiaorong, PENG Cong. Tracer test and analysis of groundwater system in a karst area of Southwest China[J]. *Carsologica Sinica*, 2020, 39(1): 42-47.
- [6] Pan L D, Li R, Shu D C, Zhao L N, Chen M, Jing J. Effects of rainfall and rocky desertification on soil erosion in karst area of

- Southwest China[J]. *Journal of Mountain Science*, 2022(19): 3118-3130.
- [7] 李成芳, 王忠诚, 李振炜, 徐宪立. 西南喀斯特区土壤侵蚀研究进展[J]. *中国岩溶*, 2022, 41(6): 962-974.
- LI Chengfang, WANG Zhongcheng, LI Zhenwei, XU Xianli. Research progress of soil erosion in karst areas of Southwest China[J]. *Carsologica Sinica*, 2022, 41(6): 962-974.
- [8] 张薰元, 周运超, 黄梅, 白云星, 张春来. 两种地质背景条件下群落物种组成及多样性与土壤因子的相关性研究: 以桂林毛村为例[J]. *中国岩溶*, 2022, 41(6): 940-951.
- ZHANG Xunyuan, ZHOU Yunchao, HUANG Mei, BAI Yunxing, ZHANG Chunlai. Correlation between the composition and diversity of community species and soil factors under two geological conditions: A case study of Mao village in Guilin[J]. *Carsologica Sinica*, 2022, 41(6): 940-951.
- [9] Torsvik V, Sorheim R, Goksoyr J. Total bacterial diversity in soil and sediment communities-a review[J]. *Journal of Industrial Microbiology*, 1996, 17(3): 170-178.
- [10] 张春来, 陆来谋, 杨慧, 黄芬. 岩溶区土壤有机质空间变异性分析[J]. *中国岩溶*, 2022, 41(2): 228-239.
- ZHANG Chunlai, LU Laimou, YANG Hui, HUANG Fen. Spatial variation analysis of soil organic matter in karst area[J]. *Carsologica Sinica*, 2022, 41(2): 228-239.
- [11] 蒋忠诚. 广西弄拉白云岩环境元素的岩溶地球化学迁移[J]. *中国岩溶*, 1997, 16(4): 304-312.
- JIANG Zhongcheng. Element migration in karst geochemical processes of the dolomite in Nongla, Guangxi[J]. *Carsologica Sinica*, 1997, 16(4): 304-312.
- [12] 邓艳, 蒋忠诚, 罗为群, 曾玉和, 黄红慧. 不同岩溶生态系统中元素的地球化学迁移特征比较: 以广西弄拉和弄岗自然保护区为例[J]. *中国岩溶*, 2006, 25(2): 168-171.
- DENG Yan, JIANG Zhongcheng, LUO Weiqun, ZENG Yuhe, HUANG Honghui. Comparison of geochemical leaching characteristics of elements between different karst ecosystems: A case study in Guangxi Nongla and Nonggang natural forest reserve areas[J]. *Carsologica Sinica*, 2006, 25(2): 168-171.
- [13] 李先琨, 何成新, 蒋忠诚. 岩溶脆弱生态区生态恢复、重建的原理与方法[J]. *中国岩溶*, 2003, 22(1): 12-17.
- LI Xiankun, HE Chengxin, JIANG Zhongcheng. Method and principles of ecological rehabilitation and reconstruction in fragile karst ecosystem[J]. *Carsologica Sinica*, 2003, 22(1): 12-17.
- [14] Zhang Q, Wu J J, Yang F, Lei Y, Zhang Q F, Cheng X L. Alterations in soil microbial community composition and biomass following agricultural land use change[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 36587.
- [15] Li D J, Wen L, Jiang S, Song T Q, Wang K L. Responses of soil nutrients and microbial communities to three restoration strategies in a karst area, Southwest China[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 207(1): 456-464.
- [16] 杜雄峰, 于皓, 王尚, 邓晔. 宏基因组方法揭示草地土壤微生物群落响应全球变化[J]. *生态学杂志*, 2019, 38(11): 3516-3526.
- DU Xiongfeng, YU Hao, WANG Shang, DENG Ye. Metagenomics reveal responses of soil microbial community in grassland to global changes[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2019, 38(11): 3516-3526.
- [17] 贾远航, 靳振江, 袁武, 程跃扬, 邱江梅, 梁锦桃, 潘复静, 刘德深. 会仙岩溶湿地、稻田与旱地土壤细菌群落结构特征比较[J]. *环境科学*, 2019, 40(7): 3313-3323.
- JIA Yuanhang, JIN Zhenjiang, YUAN Wu, CHENG Yueyang, QIU Jiangmei, LIANG Jintao, PAN Fuming, LIU Desen. Comparison of soil bacterial community structure between paddy fields and dry land in the Huixian karst wetland, China[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(7): 3313-3323.
- [18] 张双双, 靳振江, 贾远航, 李强. 岩溶区与非岩溶区3种土地利用方式下土壤细菌群落结构比较[J]. *中国岩溶*, 2019, 38(2): 164-172.
- ZHANG Shuangshuang, JIN Zhenjiang, JIA Yuanhang, LI Qiang. Comparison of soil bacterial community structures from three soil land-use between karst and non-karst areas under three kinds of land use[J]. *Carsologica Sinica*, 2019, 38(2): 164-172.
- [19] Kang Enze, Li Yong, Zhang Xiaodong, Yan Zhongqing, Wu Haidong, Li Meng, Yan Liang, Zhang Kerou, Wang Jinzhi, Kang Xiaoming. Soil pH and nutrients shape the vertical distribution of microbial communities in an alpine wetland[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 774: 145780.
- [20] Xia Pinhua, Zhang Jian, Liu Jinbo, Yu Lifei. Shifts of sediment bacterial community and respiration along a successional gradient in a typical karst plateau lake wetland (China)[J]. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2021, 39(3): 880-891.
- [21] Wang Xiayu, Li Wei, Xiao Yutian, Cheng Aoqi, Shen Taiming, Zhu Min, Yu Longjiang. Abundance and diversity of carbon-fixing bacterial communities in karst wetland soil ecosystems[J]. *Catena*, 2021, 204: 105418.
- [22] 侯天文, 金辉, 刘红霞, 安德军, 罗毅波. 四川黄龙沟优势兰科植物菌根真菌多样性及其季节变化[J]. *生态学报*, 2010, 30(13): 3424-3432.
- HOU Tianwen, JIN Hui, LIU Hongxia, AN Dejun, LUO Yibo. The variations of mycorrhizal fungi diversity among different growing periods of the dominant orchids from two habitats in the Huanglong valley, Sichuan[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30(13): 3424-3432.
- [23] 邓艳, 蒋忠诚, 徐烨, 岳祥飞, 李旭尧, 梁锦桃. 典型表层岩溶泉域植被对降雨的再分配研究[J]. *中国岩溶*, 2018, 37(5): 714-721.
- DENG Yan, JIANG Zhongcheng, XU Ye, YUE Xiangfei, LI Xuyao, LIANG Jintao. Redistribution of precipitation by vegetation and its ecohydrological effects in a typical epikarst spring catchment[J]. *Carsologica Sinica*, 2018, 37(5): 714-721.
- [24] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [25] Li B, Zhang X X, Guo F, Wu W M, Zhang T. Characterization of tetracycline resistant bacterial community in saline activated sludge using batch stress incubation with high-throughput

- sequencing analysis[J]. *Water Research*, 2013, 47(13): 4207-4216.
- [26] C E Shannon. The mathematical theory of communication. 1963[J]. *Computers in Medical Practice*, 1997, 14(4): 306-317.
- [27] Kruskal J B. Nonmetric multidimensional scaling: A numerical method[J]. *Psychometrika*, 1964, 29(2): 115-129.
- [28] Bastida F, Eldridge D J, García C. Soil microbial diversity-biomass relationships are driven by soil carbon content across global biomes[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(7): 2081-2091.
- [29] Cai Z Q, Zhang Y H, Yang C, Wang S. Land-use type strongly shapes community composition, but not always diversity of soil microbes in tropical China[J]. *Catena*, 2018, 165: 369-380.
- [30] 李阳兵, 王世杰, 李瑞玲. 岩溶生态系统的土壤[J]. *生态环境*, 2004, 13(3): 434-438.
- LI Yangbing, WANG Shijie, LI Ruiling. Some soil features of karst ecosystem[J]. *Ecology and Environment*, 2004, 13(3): 434-438.
- [31] 梁建宏, 崔旭东, 文来艳, 刘鼎, 伊晨旭, 黄可尊, 王俊. 桂林典型岩溶区和非岩溶区土壤剖面钙镁形态迁移对比[J]. *中国岩溶*, 2022, 41(2): 220-227.
- LIANG Jianhong, CUI Xudong, WEN Laiyan, LIU Ding, YI Chenxu, HUANG Kezun, WANG Jun. Comparison of soil calcium and magnesium fractions transport in classic karst and non-karst region, Guilin[J]. *Carsologica Sinica*, 2022, 41(2): 220-227.
- [32] 侯卓男, 张新军, 王瑞红, 李傲, 李欣彤, 魏雨泉. 不同海拔高寒森林凋落物分解过程中土壤微生物群落的变化[J]. *中国农业大学学报*, 2024, 29(2): 36-46.
- HOU Zhuonan, ZHANG Xinjun, WANG Ruihong, LI Ao, LI Xintong, WEI Yuquan. Changes of soil microbial communities during litter decomposition in alpine forests at different elevations[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(2): 36-46.
- [33] 马婵华, 徐争强. 若尔盖高寒泥炭湿地土壤有机碳研究进展[J]. *黑龙江环境通报*, 2024, 37(3): 1-3.
- MA Chanhua, XU Zhengqiang. Research progress on soil organic carbon in Zoige Alpine peat wetland[J]. *Heilongjiang Environmental Journal*, 2024, 37(3): 1-3.
- [34] Eyles A, Coghlan G, Hardie M, Hovenden M, Bridle K. Soil carbon sequestration in cool-temperate dryland pastures: Mechanisms and management options[J]. *Soil Research*, 2015, 53(4): 349-365.
- [35] 聂秀青, 王冬, 周国英, 任立宁, 陈永哲, 杜岩功, 平才吉. 三江源地区高寒湿地土壤微生物群落特征[J]. *土壤通报*, 2023, 54(6): 1401-1408.
- NIE Xiuqing, WANG Dong, ZHOU Guoying, REN Lining, CHEN Yongzhe, DU Yangong, PING Caiji. Characteristics of soil microbial community structure in three rivers source regions alpine wetlands[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2023, 54(6): 1401-1408.
- [36] Mukhopadhyaya I D, Hansen R, Elor E M, Hold G L. IBD-what role do Proteobacteria play?[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2012, 9(4): 219-230.
- [37] Weissbecker C, Wubet T, Lentendu G, Kuhn P, Scholten T, Brulheide H, Buscot F. Experimental evidence of functional group-dependent effects of tree diversity on soil fungi in subtropical forests[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2312.
- [38] Zhou J, Jiang X, Zhou B K, Zhao B S, Ma M C, Guan D W, Li J, Chen S F, Cao F M, Shen D L. Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in Northeast China[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2016, 95: 135-143.
- [39] Lynd L R, Weimer P J, van Z W H, Pretorius I S. Microbial cellulose utilization: Fundamentals and biotechnology[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2002, 66(3): 506-577.
- [40] 徐润宏, 谭梅, 刘泽华, 朱锦福. 高寒湿地土壤微生物区系组成对氮添加的响应[J]. *生态科学*, 2022, 41(1): 120-128.
- XU Runhong, TAN Mei, LIU Zehua, ZHU Jinfu. Response of microbial flora to nitrogen addition in alpine wetlands[J]. *Ecological Science*, 2022, 41(1): 120-128.
- [41] 邵颖, 曹四平, 刘长海, 罗梦娇. 基于高通量测序的南泥湾湿地土壤细菌多样性分析[J]. *干旱区资源与环境*, 2019, 33(2): 158-163.
- SHAO Ying, CAO Siping, LIU Changhai, LUO Mengjiao. Bacterial diversity in soils of Nanniwan wetland based on high-throughput sequencing[J]. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2019, 33(2): 158-163.
- [42] 赵萌, 印春生, 厉成伟, 钟胜财, 于克锋, 方淑波. Miseq 测序分析围垦后海三棱藨草湿地土壤微生物群落多样性的季节变化[J]. *上海海洋大学学报*, 2018, 27(5): 718-727.
- ZHAO Meng, YIN Chunsheng, LI Chengwei, ZHONG Shengcai, YU Kefeng, FANG Shubo. Using Miseq sequencing to analyze seasonal soil microbial community dynamics in reclaimed *Scirpus mariqueter* coastal wetlands[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2018, 27(5): 718-727.
- [43] 王鹏, 陈波, 张华. 基于高通量测序的鄱阳湖典型湿地土壤细菌群落特征分析[J]. *生态学报*, 2017, 37(5): 1650-1658.
- WANG Peng, CHEN Bo, ZHANG Hua. High throughput sequencing analysis of bacterial communities in soils of a typical Poyang lake wetland[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(5): 1650-1658.
- [44] 庞丹波, 吴梦瑶, 赵娅茹, 杨娟, 董立国, 吴旭东, 陈林, 李学斌, 倪细炉, 李静尧, 梁咏亮. 贺兰山东坡不同海拔土壤微生物群落特征及其影响因素[J]. *应用生态学报*, 2023, 34(7): 1957-1967.
- PANG Danbo, WU Mengyao, ZHAO Yaru, YANG Juan, DONG Liguang, WU Xudong, CHEN Lin, LI Xuebin, NI Xilu, LI Jingyao, LIANG Yongliang. Soil microbial community characteristics and the influencing factors at different elevations on the eastern slope of Helan mountain, Northwest China[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2023, 34(7): 1957-1967.
- [45] Wang X J, Ren Y X, Yu Z Q, Shen G F, Cheng H F, Tao S.

- Effects of environmental factors on the distribution of microbial communities across soils and lake sediments in the Hoh Xil Nature Reserve of the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 838: 156148.
- [46] Kumar S, Suyal D C, Yadav A, Shouche Y, Goel R. Microbial diversity and soil physiochemical characteristic of higher altitude[J]. *PLoS One*, 2019, 14(3): 0213844.
- [47] 曹丽花, 刘台满, 杨红, 连玉珍. 色季拉山不同海拔土壤微生物及真菌群落组成特征[J]. *水土保持学报*, 2022, 36(6): 371-78. CAO Lihua, LIU Taiman, YANG Hong, LIAN Yuzhen. Soil microbial distribution and fungal community composition at different altitudes on Sejila mountain, southeastern Tibet[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2023, 36(6): 371-378.
- [48] Perez M C, Frey B, Frossard A. Functional and structural responses of Arctic and alpine soil prokaryotic and fungal communities under freeze-thaw cycles of different frequencies[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 982.
- [49] Chu H, Gao G F, Ma Y, Fan K, Delgado Baquerizo M. Soil microbial biogeography in a changing world: Recent advances and future perspectives[J]. *mSystems*, 2020, 5(2): e00803-19.
- [50] An F J, Niu Z R, Liu T N, Su Y Z. Succession of soil bacterial community along a 46-year chronosequence artificial revegetation in an arid oasis-desert ecotone[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 814: 152496.
- [51] 陆志成, 温远光, 周晓果, 王磊, 孙冬婧, 朱宏光, 李景文. 岩溶地区森林自然恢复过程中植物和土壤微生物多样性的关联分析[J]. *广西科学*, 2022, 29(1): 108-119. LU Zhicheng, WEN Yuanguang, ZHOU Xiaoguo, WANG Lei, SUN Dongjing, ZHU Hongguang, LI Jingwen. Correlation analysis of plant and soil microbial diversity during forest natural restoration in karst region, Southwest China[J]. *Guangxi Sciences*, 2022, 29(1): 108-119.

Composition and diversity of microbial communities in high-altitude karst soil

XIAREKEYAMU·Yitiniyazi^{1,2}, DONG Faqin^{2,3}, LI Qiongfang¹, AN Dejun⁴, DAI Qunwei^{3,5}, ZHANG Qiang⁶, RAO Hanyun¹, REN Yazhen¹, LIU Fengqi¹, LIU Mingxue¹

(1. School of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China; 2. Key Laboratory of Solid Waste Treatment and Resource Recycle, Ministry of Education, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China; 3. School of Environment and Resources, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China; 4. Huanglong National Scenic Area Administration, Songpan, Sichuan 624000, China; 5. Fundamental Science on Nuclear Wastes and Environmental Safety Laboratory, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621010, China; 6. Institute of Karst Geology, CAGS/Key Laboratory of Karst Dynamics, MNR & GZAR/International Research Center on Karst under the Auspices of UNESCO, Guilin, Guangxi 541004, China)

Abstract As a World Natural Heritage Site, Huanglong Scenic Area, is located in the eastern part of the Qinghai-Tibet Plateau in Songpan county, Aba Tibetan and Qiang Autonomous Prefecture, Sichuan Province. Huanglong valley is 3.50 km long, with an altitude of 3,145–3,578 m. In the Huanglong Scenic Area, there is a six-month freezing period, with a minimum temperature of 3 °C. The main vegetation types are coniferous and broad-leaved mixed forests and coniferous forests, belonging to a typical plateau temperate to subfrigid monsoon climate. This scenic area is renowned at home and abroad for its rare and colorful karst landscape. At present, there is still a research gap in the structure and function of soil microorganisms of high-altitude karst habitats. Therefore, in order to explore the characteristics of soil microbial communities in Huanglong Scenic Area—a high-altitude karst area, we compared the differences in soil microbial community structure and diversity between high-altitude karst and non-high-altitude karst areas, with typical primary karst in Guilin—a non-high-altitude karst area. By analyzing the structural characteristics of soil microbial communities and their correlation with environmental impact factors, we laid a theoretical foundation for the relationship between soil microbial communities and ecological environment in high-altitude karst areas.

In this study, we collected and analyzed soil samples from Huanglong valley, the main scenic area of the Huanglong Scenic Area. A total of 27 (three replicates) samples were collected and compared with the samples from the typical primary karst area in Guilin. We collected data on environmental factor, such as Total Organic Carbon (TOC), Soil Organic Matter (SOM), Total Nitrogen (TN), Total Product (TP), Temperature (T), Soil Water Content (SWC), and pH. Meanwhile, we employed high-throughput sequencing techniques such as ¹⁶SrRNA and ITS gene sequencing to perform bioinformatics analysis on sequencing data, including species diversity and β diversity. Then,

we identified the main driving factors affecting soil in the Huanglong Scenic Area through principal component analysis (PCA), and explored the relationship between environmental factors and soil microbial communities by Spearman correlation analysis and redundancy analysis (RDA).

The results show that the soil pH at each sampling point in Huanglong valley indicates a neutral to alkaline property, with no significant difference. But there are significant temperature differences at various sampling points. Compared to the soil from slopes of the Yaji test site in the non-high-altitude karst area of Guilin, the SOC, SOM, and TN contents in soil at various points in the Huanglong Scenic Area are relatively higher. There are differences in the bacterial chao1 index and observed OTUs index between Guilin's primary karst area and Huanglong valley. Similarly, the ACE index of bacteria and fungi also shows differences. These results may be attributed to the influence of vegetation types, soil types, and topographical factors on the distribution of soil microorganisms. The diversity indices of Shannon and Chao1 at HJ.4 sampling point in Huanglong valley are higher than those of other sampling points, indicating the richest biodiversity in this sampling point. At a phylum level, the bacterial community is mainly composed of Proteobacteria and Acidobacteria. Ascomycota and Basidiomycota are the dominant microbial groups in the high-altitude karst habitat of the Huanglong area. At a subordinate level, the main dominant bacteria in Huanglong valley are *Pseudomonas*, *RB41*, and *Candidatus_Udaeobacter*, with an average abundance of 14.57%, 3.11%, and 2.29%, respectively. The most dominant group in the primary karst area of Guilin is *Candidatus_Udaeobacter*, with an abundance of 6%. At a genus level, the dominant fungi in Huanglong valley are *Humicola* (22%) and *Mortierella* (22%). The dominant groups of the primary karst area in Guilin are *Staphylococcus* (5%), *Absidia* (5%), and *Fusarium* (4%). The differences in fungi at the phylum and genus levels are greater than those in bacteria.

In summary, the proportion of dominant microorganisms in the primary karst area is relatively low, and the community types differ significantly compared to those in Huanglong valley. Samples collected from nine sampling points (three replicates) in Huanglong valley and in the primary karst area of Guilin show varying degrees of dispersion. UPGMA clustering analysis shows a high degree of similarity in various eukaryotic communities in Huanglong valley, while there are certain differences in the composition of prokaryotes among them. Redundancy analysis indicates that in bacteria, TP is the most correlated factor with community distribution, while *T* is the second most important environmental factor. In fungi, TP is also the most correlated factor, while *T* and pH are the second most important environmental factors. Both soil TP and *T* have a significant impact on the distribution of fungal and bacterial communities.

Key words high-altitude karst, Huanglong Scenic Area, karst soil, high-throughput sequencing, microbial community structure, environmental factor

(编辑 黄晨晖)