

DOI: 10.5846/stxb202006021425

罗正明, 刘晋仙, 周妍英, 杜京旗, 吴强, 柴宝峰. 亚高山草地土壤原生生物群落结构和多样性海拔分布格局. 生态学报, 2021, 41(7): 2783-2793.

Luo Z M, Liu J X, Zhou Y Y, Du J Q, Wu Q, Chai B F. Community structures and diversity patterns of the soil protist communities along an altitudinal gradient in a subalpine grassland. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(7): 2783-2793.

亚高山草地土壤原生生物群落结构和多样性海拔分布格局

罗正明^{1,2}, 刘晋仙², 周妍英³, 杜京旗², 吴强⁴, 柴宝峰^{2,*}

1 忻州师范学院地理系, 忻州 034003

2 山西大学黄土高原研究所, 黄土高原生态恢复山西省重点实验室, 太原 030006

3 忻州师范学院生物系, 忻州 034003

4 山西省五台山国有林管理局, 繁峙 034300

摘要:生物多样性分布格局与维持机制即群落构建机制, 是群落生态学研究热点领域。微生物生态学中的一个关键问题是量化确定性过程和随机过程对微生物群落构建的相对贡献。尽管原生生物是土壤微生物群落中重要的组成部分, 在微生物食物链中扮演着关键角色, 但与细菌和真菌相比, 目前对原生生物群落构建机制知之甚少。运用 Illumina Miseq 高通量测序技术, 分析了五台山亚高山草地生态系统(海拔 2000—3061 m 范围内)土壤原生生物群落组成和多样性维持机制。结果表明, 四个海拔梯度的土壤共获得有效序列 520673 条, 分属于 8 个超群、24 个门、65 个纲、125 个目、222 个科和 350 个属。门水平上, 丝足虫门(Cercozoa)、褐藻门(Ochrophyta)、纤毛门(Ciliophora)和顶复门(Apicomplexa)为主要优势类群。LEfSe 分析显示, 17 个生物标志物对海拔梯度非常敏感, 不同海拔梯度富集了不同的原生生物种群。尽管海拔对土壤原生生物群落的 α 多样性没有显著影响, 但非度量多维尺度分析(NMDS)和相似性分析(ANOSIM)结果表明, 原生生物群落组成和结构在海拔梯度上存在显著的差异($P < 0.05$)。冗余分析(RDA)显示海拔、土壤含水量、总氮和植物丰富度指数与原生生物群落结构存在显著相关性($P < 0.05$)。方差分解分析(VPA)和偏 Mantel 分析表明环境因子和空间变量对原生生物群落海拔分布格局均有显著影响, 但是环境因子的相对作用(7.9%)明显大于空间变量(1.8%)。土壤原生生物群落之间的 Bray-Curtis 距离与海拔距离呈显著正相关关系($P < 0.05$), 说明选择过程可能是亚高山草地土壤原生生物群落分布格局的主要驱动因素。零模型分析进一步证实了确定性过程在原生生物群落构建中的相对作用大于随机过程。总之, 五台山亚高山草地土壤原生生物群落组成和结构沿海拔梯度具有显著的变化格局, 群落构建主要由确定性过程和随机过程驱动, 但确定性过程占主导地位。

关键词:原生生物群落; 亚高山草地; 多样性; 海拔分布格局; 群落构建

Community structures and diversity patterns of the soil protist communities along an altitudinal gradient in a subalpine grassland

LUO Zhengming^{1,2}, LIU Jinxian², ZHOU Yanying³, DU Jingqi², WU Qiang⁴, CHAI Baofeng^{2,*}

1 Department of Geography, Xinzhou Teachers University, Xinzhou 034003, China

2 Institute of Loess Plateau, Shanxi University, Shanxi Key Laboratory of Ecological Restoration for Loess Plateau, Taiyuan 030006, China

3 Department of Biology, Xinzhou Teachers University, Xinzhou 034003, China

4 Shanxi Wutaishan State-owned Forest Administration Bureau, Fanshi 034300, China

Abstract: The distribution pattern and maintenance mechanism of biodiversity, namely community assembly are critical

基金项目:国家自然科学基金项目(31772450, 31801962); 山西省应用基础研究计划项目(201901D211457); 忻州师范学院五台山文化协同创新中心项目(WTSXTCX-05)

收稿日期: 2020-06-02; 网络出版日期: 2021-01-28

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: bfcchai@sxu.edu.cn

issues for the community ecology. A key issue in microbial ecology is quantifying the relative contributions of deterministic processes and stochastic processes to microbial community assembly. Although protists are an important part of the soil microbial communities and play a key role in the microbial loop, compared with bacteria and fungi, we know very little about the elevational distribution patterns and assembly mechanisms of soil protist community. In this paper, we used Illumina Miseq high-throughput sequencing technology to comprehensively analyze the community composition and diversity maintenance mechanism of soil protist community in the subalpine grassland ecosystem of Mount Wutai (altitude of 2000—3061 m above sea level). In total, 520673 valid sequences, which belong to 8 supergroups, 24 phyla, 65 classes, 125 orders, 222 families and 350 genera, were obtained from the soil of the four altitudinal gradients. Cercozoa, Ochrophyta, Ciliophora and Apicomplexa were the dominant soil protist phyla in the study area. LEfSe analysis showed that 17 biomarkers were very sensitive to elevation gradients, and different elevation gradients enriched different protist populations. The altitude had no significant effect on the α -diversity of soil protist community, but non-metric multidimensional scaling (NMDS) and similarity analysis (ANOSIM) indicated that the compositions and structures of protist communities were significantly different among the elevation gradients ($P < 0.05$). Redundancy analysis (RDA) showed that elevation, soil water content, total nitrogen and plant richness were significantly correlated with protists community structure ($P < 0.05$). Variance partitioning analysis (VPA) and partial Mantel analysis showed that both environmental factors and spatial variables had significant effects on the altitudinal gradient distribution pattern of protist communities, and the relative effect of environmental factors (7.9%) was significantly greater than that of spatial variables (1.8%). The Bray-Curtis distance between soil protist communities was significantly and positively correlated with the elevation distance ($P < 0.05$), indicating that the selection process may be the main driving factor for the distribution pattern of soil protist communities in subalpine grassland. The Null-model analysis further confirmed that the relative role of deterministic processes in the assembly of soil protist communities was greater than that of stochastic processes. In conclusion, there were significant differences in the structure and composition of soil protist communities in Mount Wutai subalpine grassland along the elevation gradient, and the assembly mechanism was mainly determined by deterministic processes.

Key Words: protist community; subalpine grassland; diversity; elevational distribution patterns; assembly mechanisms

亚高山生态系统是陆地系统重要的组成部分,具有涵养水源、调节气候、维持生物多样性等重要的生态服务功能^[1]。海拔梯度变化综合了多种环境因子的梯度效应。随着亚高山海拔梯度的上升,土壤、温度和湿度等环境因子均发生改变,从而引起土壤微生物群落多样性的变化^[2]。例如,土壤 pH、碳氮比和植被类型通常被认为是土壤微生物多样性海拔分布模式的关键驱动因素^[3-4]。目前,土壤微生物海拔分布模式和群落构建机制并不明确,已有研究都集中在一个完整的或较大范围的海拔梯度上,具有较大的海拔间隔和不同的植被类型^[3, 5-6]。生物多样性采样的尺度会强烈地影响所观察到的生物分布模式^[7],因此,在小尺度海拔梯度范围内单一的生态系统中,能够更好地反映环境因素和地理距离对微生物群落结构和多样性分布格局的影响。

微生物群落构建的理论基础主要包括生态位理论和中性理论。传统的生态位理论假设环境条件、物种特征、物种间相互作用等因素控制着群落结构,这通常被称为确定性过程^[2, 8]。相反,中性理论假设群落结构独立于物种特征,受随机过程(如物种形成、灭绝、定殖和扩散限制)控制^[8]。越来越多的研究表明,确定性过程和随机性过程在微生物群落构建过程中不是独立存在的,而是共同起作用的^[2, 9-10]。如今更多的研究趋向于生态位理论和中性理论的整合,探究群落构建过程中随机作用和确定性作用的相对贡献^[11]。目前关于微生物群落多样性维持机制的研究主要集中于细菌和真菌^[4-6],原生生物作为土壤微生物的第三大生物区系,其多样性分布模式与群落构建机制目前还没有系统的研究。

原生生物是土壤微生物群落的重要组成部分,在土壤微生物组中起到枢纽作用^[12],直接参与细菌、真菌和其他微小真核生物的群落调节过程,在微生物食物链、土壤营养转化和生态系统稳定性等方面发挥重要作用。

用^[13-14]。尽管原生生物对土壤功能具有普遍性和生态重要性,但对原生生物群落的认知远远落后于其他微生物群体(细菌和真菌等)。之前针对异养类群(原生动物),包括土壤纤毛虫(ciliate)和变形虫(amoebae)等原生动物的群落结构、时空分布、食性与功能营养类群,以及人类干预土壤环境(如土地利用方式、放牧和氮沉降)对纤毛虫的影响开展了一些研究^[15-17]。但这些研究大多针对单类群原生生物^[17],目前在群落水平对原生生物多样性维持机制的研究还不够全面和深入。近年来,原生生物数据库以及基于 18S rDNA 高通量测序技术方法的进一步优化,为探索原生生物群落多样性和生态重要性提供了新的机会^[14]。在有限的研究中,已经证实土壤条件(如 pH、营养素和水分),以及农药用量和其他扰动显著影响了整个土壤原生生物群落组成和结构^[13, 17-18]。尽管原生生物群落对生物和非生物因素及其复杂的组合做出了不同程度的反应,但它们之间的相互作用机制仍远未被理解。

五台山位于山西省东北部,主峰叶斗峰为华北最高峰,高达 3061 m,山顶属高寒气候,土壤和植被垂直带谱明显,各种植被类型保护完整,是中国华北境内生物多样性最丰富的地区之一^[19]。五台海拔 2000 m 以上广泛分布的亚高山草地是华北地区保存较为完好、相对稳定的典型亚高山草地生态系统,对全球气候变化敏感^[2]。这为群落生物多样性海拔分布格局及构建机制的研究提供了一个天然平台。本研究我们选择五台山亚高山草地生态系统中不同海拔梯度土壤原生生物群落为研究对象,旨在探讨:(1)沿海拔梯度,草地土壤原生生物群落结构组成和多样性分布模式;(2)确定土壤原生生物群落构建的主要驱动因子;(3)确定性过程和随机过程在土壤原生生物群落构建过程中的相对作用。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2017 年 8 月,在五台山北台(叶斗峰)沿海拔高度 2000—3061 m 范围分布的亚高山草地,设置了 4 个不同海拔梯度样带:E1(2000—2100 m)、E2(2300—2400 m)、E3(2600—2700 m)和 E4(2900—3000 m),每个海拔梯度包含五个不同的样地。在每个样地,设置 3 个 1 m×1 m 的样方,样方之间间隔约 20 m。用土钻采集表层土壤样品(0—10 cm),每个样方内采集 5 个子样(每个角 1 个,中心 1 个),在聚乙烯袋中混合成一个样品。经 2 mm 网筛,将大部分根、动物和石头去除,然后将样本分成两部分。其中一部分风干后进行理化分析,另一部分保存在-80℃冰箱中,用于 DNA 的提取。在每个样方中调查植被参数,记录每种植物的名称、高度、盖度及多度等指标。植物的丰富度指数(richness)采用单位面积内的物种数目来测度物种的丰富程度。

1.2 土壤理化性质测定

烘干法测定土壤含水量(SWC);便携式土壤参数检测仪(HA-TR-III,中国)测定土壤电导率(EC)和土壤温度(ST);土壤 pH 值用电位法(HANNA,意大利)测定(土水比为 1:2.5);总碳(TC)和总氮(TN)通过元素分析仪(Elementar Vario MACRO,德国)测定;采用 K₂Cr₂O₇氧化法测定土壤有机碳(SOC);铵态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)、亚硝态氮(NO₂⁻-N)采用间断元素分析仪(CleverChem 380,德国)测定。

1.3 DNA 提取、高通量测序及生物信息学分析

称取 0.25 g 土壤样品,使用 E.Z.N.A.® 土壤 DNA 试剂盒(Omega Bio-tek, USA)按照说明书提取和纯化微生物 DNA。将每个采样点的 3 个土壤样品等体积混合,一共 20 个 DNA 样品,送往上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序。采用 TAREuk454FWD1(正向引物 5'-CCAGCASCYGC GGTAATTCC-3')和 TAREukREV3(反向引物 5'-ACTTTCGTCTTGATYRA-3')对原生生物 18S rRNA 基因的 V4 高变区进行 PCR 扩增,并通过 Illumina Miseq 测序平台对扩增产物进行测序。

原始序列经过质控后,剩下的序列使用 UPARSE 以 97% 的相似性作为阈值划分分类操作单元(operational taxonomic units, OTUs)。然后根据原生生物核糖体参考数据库(Protist Ribosomal Reference database, PR2)对原生生物 OTUs 进行分类学比对。得到原生生物 OTUs 分类水平数据表,根据 Zhao 等人^[20]的方法将门水平中的红藻门(Rhodophyta),链形植物(Streptophyta),真菌(Fungi),后鞭毛生物

(Opisthokonta), 后生动物 (Metazoan) 和模糊分类群剔除, 然后进行后续的分析。

1.4 数据分析

基于 R studio (v.3.4.3) vegan 包, 计算原生生物和植物的 α 多样性 (Shannon 指数和 Richness 指数) 和 β 多样性, 采用非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 和相似性分析 (analysis of similarity, ANOSIM) 对不同海拔梯度间原生生物群落结构进行比较。LEfSe 分析 (linear discriminant analysis effect size) 检测组间原生生物群落 (从超群到科共 5 个分类学水平) 具有显著丰度差异类群 ($P < 0.05$ 和 LDA 评分 > 3.0), 采用线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 来估算每个物种丰度对差异效果影响的大小, 识别潜在的生物标记物 (biomarker)。根据各采样点地理坐标数据, 采用邻体矩阵主坐标 (principal coordinates of neighbor matrices, PCNM) 分析空间变量 (R studio (v.3.4.3) vegan 包中的 PCNM 函数)。采用冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 评价原生生物群落结构与环境变量之间的相关性。在 RDA 之前, 使用逐步回归和蒙特卡罗置换测试对所有环境变量进行前选择, 选择具有统计学意义 ($P < 0.05$) 的环境变量进行下一步分析。采用方差分解分析 (variance partitioning analysis, VPA) 分析环境变量和地理距离对原生生物群落结构变化的相对贡献 (CANOCO 5.0)。采用 Mantel 和偏 Mantel 检验评价原生生物群落与环境变量和地理距离的相关性。零模型分析方法使用 R studio (v.3.4.3) reldist、vegan 和 bipartite 程序包, 参照 Tucker 等^[21] 和 Chase^[22] 构建的 β -零偏差值来分析确定性过程和随机过程在群落构建中的相对重要性, $[(\beta_{\text{obs}} - \beta_{\text{null}}) / \beta_{\text{null}}]$ 偏离零表示群落的构建是确定性过程决定的 (β_{obs} : 观测值 (observed β -diversity), β_{null} : 期望值 (null-model β -diversity)), 正值表示种间竞争, 负值表示环境选择, 接近零表示随机过程在群落构建中起决定作用。利用 IBM SPSS statistics 20 进行皮尔逊相关性分析 (pearson correlation test) 以及采用单因素方差分析 (one-way analysis of variance) 和 Duncan 多重比较分析进行显著性差异分析。所有统计分析的显著性水平均为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质和植被参数与海拔梯度的关系

不同海拔梯度的土壤理化参数和植物多样性数据可见表 1。

表 1 不同海拔梯度下土壤理化性质与植物多样性参数

Table 1 Soil physical and chemical properties and plant diversity parameters under different along elevational gradients

参数 Parameters	E1	E2	E3	E4	<i>r</i>
土壤酸碱度 Soil pH	6.16±0.11a	6.07±0.15a	5.76±0.06b	5.71±0.07b	-0.652 **
土壤温度 Soil temperature/°C	18.59±0.79a	15.52±0.26b	14.06±0.16c	12.39±0.41d	-0.887 **
土壤含水量 Soil water content/%	37.32±2.03a	29.17±0.60b	40.21±1.47a	31.13±0.59b	-0.180
电导率 electrical conductivity/($\mu\text{S}/\text{cm}$)	95.16±14.55a	92.66±2.72a	127.80±6.77a	130.27±18.00a	0.522 *
总氮 Total nitrogen/%	0.48±0.07ab	0.47±0.01a	0.63±0.03ab	0.65±0.09bc	0.522 *
总碳 Total carbon/%	5.93±0.24b	8.12±0.24a	6.54±0.21b	5.68±0.27b	-0.220
有机碳 Soil organic carbon/(g/kg)	36.83±2.09b	40.35±1.01ab	43.06±0.82a	40.92±0.89ab	0.455 *
铵态氮 $\text{NH}_4^+-\text{N}/(\text{g}/\text{kg})$	50.01±4.41b	62.96±1.29a	54.95±2.95ab	48.30±2.95b	-0.156
硝态氮 $\text{NO}_3^--\text{N}/(\text{g}/\text{kg})$	6.54±0.41a	5.48±0.61ab	4.40±0.28b	4.40±0.12b	-0.721 **
亚硝态氮 $\text{NO}_2^--\text{N}/(\text{g}/\text{kg})$	1.50±0.11a	1.43±0.06a	1.53±0.14a	1.46±0.04a	0.054
植物丰富度指数 Plant richness index	24.80±2.13b	35.60±0.81a	27.40±1.81b	24.20±1.36b	-0.181
植物香农指数 Plant Shannon index	2.02±0.08a	1.74±0.170ab	1.58±0.10b	1.01±0.09c	-0.831 **

数据的表示形式为平均值±标准误, 同一行中不同的字母表示两组数据之间具有 $P < 0.05$ 水平上的差异, * * $P < 0.01$; * $P < 0.05$; *r*: 环境参数与海拔的相关系数 correlation coefficient between environmental parameters and elevation; E1: 海拔范围 2000—2100 m Elevation range of 2000—2100 m; E2: 海拔范围 2000—2100 m Elevation range of 2300—2400 m; E3: 海拔范围 2600—2700 m Elevation range of 2600—2700 m; E4: 海拔范围 2900—3000 m Elevation range of 2300—2400 m

海拔梯度与土壤总氮含量 ($r = 0.522$, $P < 0.05$)、有机碳含量 ($r = 0.455$, $P < 0.05$) 和电导率 ($r = 0.522$, $P <$

0.05)之间具有显著的正相关关系,但与土壤 pH($r=-0.652$, $P<0.001$)、土壤温度($r=-0.887$, $P<0.001$)、硝态氮($r=-0.721$, $P<0.001$)和植物 Shannon 指数($r=-0.831$, $P<0.001$)之间具有显著的负相关关系。土壤含水量($r=-0.180$, $P>0.05$)、总碳($r=-0.220$, $P>0.05$)、铵态氮($r=-0.156$, $P>0.05$)、亚硝态氮($r=0.054$, $P>0.05$)、植物 richness 指数($r=-0.181$, $P>0.05$)与海拔梯度没有显著相关关系。以上结果表明,五台山亚高山草地土壤理化因子和植被参数沿海拔梯度发生了明显的变化。

2.2 原生生物群落组成和多样性沿海拔的分布格局

在对非原生真核生物进行筛选和去除后,剩余的 520673 条优质序列聚类成 1980 个原生生物 OTU,然后按最小样本序列数抽平,共鉴定出 1734 个 OTU。20 个样地共鉴定出 8 个超群,包括有孔虫界(Rhizaria)、变形虫界(Amoebozoa)、后鞭毛生物(Opisthokonta)、不等鞭毛类(Stramepopila)、囊泡虫类(Alveolata)、Hacrobia、泛植物界(Archaeplastida)、古虫界(Excavata)。24 个门、65 个纲、125 个目、222 个科、350 个属。其中丝足虫门(Cercozoa)、褐藻门(Ochrophyta)、纤毛门(Ciliophora)、顶复门(Apicomplexa)、锥足亚门(Conosa)、绿藻门(Chlorophyta)和叶足亚门(Lobosa)被定义为优势门(相对丰度>1%)(图 1)。图 1 中可知,四种海拔梯度下原生生物群落优势门种类基本一致,但它们相对丰度存在差异。

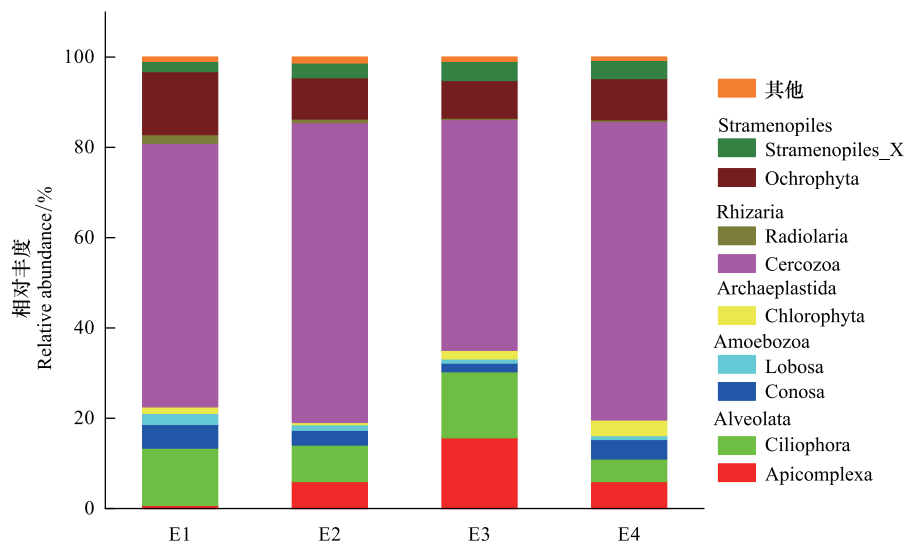


图 1 不同海拔梯度土壤原生生物群落优势门(平均相对丰度>1%)的相对丰度

Fig.1 Relative abundances of dominant phyla (with average relative abundance > 1%) of soil protist communities in different elevational gradients

Alveolata:囊泡虫类; Amoebozoa:变形虫界; Archaeplastida:泛植物界; Rhizaria:有孔虫界; Stramepopila:不等鞭毛类; Apicomplexa:顶复门; Ciliophora:纤毛门; Conosa:锥足亚门; Lobosa:叶足亚门; Chlorophyta:绿藻门; Cercozoa:丝足虫门; Radiolaria:放射虫门; Ochrophyta:褐藻门; Stramenopiles_X:不等鞭毛类中未定义的类; Others:其他相对丰度小于1%的门 Other phyla whose relative abundance is less than 1%. E1:海拔范围 2000—2100 m Elevation range of 2000—2100 m; E2:海拔范围 2000—2100 m Elevation range of 2300—2400 m; E3:海拔范围 2600—2700 m Elevation range of 2600—2700 m; E4:海拔范围 2900—3000 m Elevation range of 2300—2400 m

LEfSe 分析显示(图 2),17 个生物标志物对海拔梯度非常敏感($P<0.05$, $LDA>3.0$)。在海拔梯度 E1 中富集了 4 种显著生物标志物,分别为放射虫门(Radiolaria)、等幅骨虫纲(Acantharea)、节棘目-粘合棘目(Arthracanthida-Symphyacanthida)、Arthracanthida-Symphyacanthida_X; E2 中显著富集了 3 种生物标志物,包括有孔虫界(Rhizaria)、丝足虫门(Cercozoa)和 Glissomonadida; E3 中显著富集了 2 种生物标志物,篮管纲(Nassophorea)和篮管纲中未定义的目(Nassophorea_X); E4 中显著富集了泛植物界(Archaeplastida)、绿藻门(Chlorophyta)、共球藻纲(Trebouxioophyceae)、溪菜目(Prasiolales)、溪菜目中未定义的科(Prasiolales_X、

Sandonidae)、*Filosa-Sarcomonadea* 和袋形目中未定义的科(*Bursariomorphida_X*)共 8 种生物标志物。这些结果表明,亚高山草地土壤原生生物群落组成和相对丰度具有明显的海拔分异。

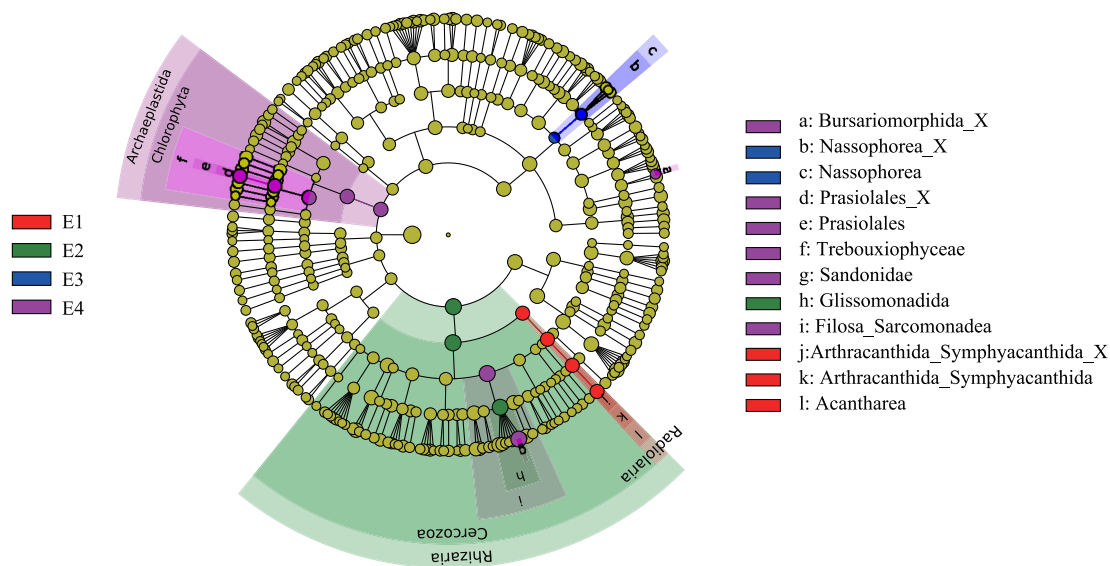


图 2 不同海拔梯度土壤原生生物群落组成差异的 LEfSe 分析结果

Fig.2 LEfSe analysis showing soil protist community differences in different elevational gradients

进化分枝图共有 5 个圆环,每个圆环代表一个分类学层次上的所有分类单元,从内到外的圆环表示从超群、门、纲、目、科的系统发育水平;圆环上的节点表示分类学层次上的一个分类单元,每个圆的直径与丰度成正比;不同海拔梯度中相对丰度显著较高的分类单元(生物标志物)在进化分枝图中进行了颜色编码(红色, E1; 绿色, E2; 蓝色, E3; 紫色, E4); Radiolaria: 放射虫门; Acantharea: 等幅骨虫纲; Arthrakanthida-Symphyacanthida: 节棘目-粘合棘目; Arthrakanthida-Symphyacanthida_X: 节棘目-粘合棘目中未定义的科; Rhizaria: 孔虫界; Cercozoa: 丝足虫门; Nassophorea: 篮管纲; Nassophorea_X: 篮管纲中未定义的目; Archaeplastida: 泛植物界; Chlorophyta: 绿藻门; Trebouxiophyceae: 共球藻纲; Prasiolales: 溪菜目; Prasiolales_X: 溪菜目中未定义的科; Bursariomorphida_X: 袋形目中未定义的科; Glissomonadida、Sandonidae 和 Filosa-Sarcomonadea 为未进行中文命名的物种

四个海拔梯度间的土壤原生生物群落 Shannon 指数和丰富度指数均没有显著差异(图 3)。基于 Bray-Curtis 距离的非度量多维尺度分析(NMDS)和 ANOSIM 结果表明,沿海拔梯度土壤原生生物群落结构发生了显著的变化,4 个海拔梯度间的土壤原生生物群落结构存在显著差异($r=0.496$, $P<0.01$)(图 4)。土壤原生生物群落 β 多样性(Bray-Curtis 距离)与海拔距离(欧式距离)呈显著正相关关系($r=0.375$, $P<0.001$),土壤

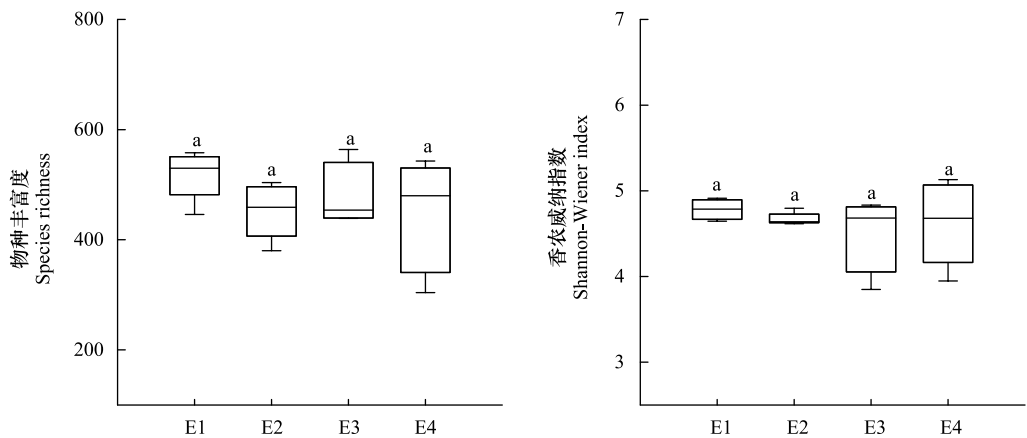


图 3 不同海拔梯度土壤原生生物群落 α 多样性

Fig.3 α -diversity indices of soil protist communities in different elevational gradients

原生生物群落之间的相异性随着海拔距离的增加而显著升高 ($P<0.01$) (图 5), 表明选择过程可能是亚高山草地土壤原生生物群落分布格局的主要驱动因素。

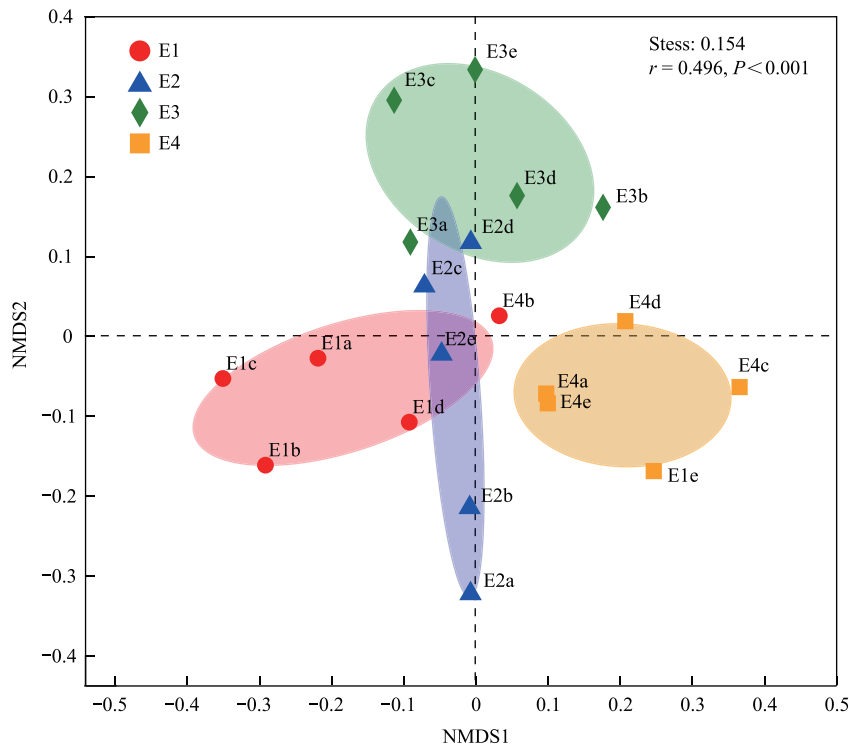


图 4 基于 Bray-Curtis 距离的不同海拔梯度土壤原生生物群落非度量多维尺度分析 (NMDS)

Fig. 4 Non-metric multidimensional scaling (NMDS) of soil protist communities along the elevational gradient based on Bray-Curtis distance
图中 $r = 0.496$, $P < 0.001$ 为不同海拔梯度之间相似性的 ANOSIM 检验结果

2.3 环境因子和空间变量对原生生物群落的影响

RDA 和蒙特卡罗置换测试 (Monte Carlo permutation test) 表明, 海拔、土壤含水量、总氮和植物丰富度指数对原生生物群落结构有显著的影响 ($P < 0.05$), RDA 轴 1 和轴 2 分别解释变异量的 25.93% 和 10.94% (图 6)。偏 Mantel 检验发现环境因子 ($P < 0.01$) 和空间变量 ($P < 0.05$) 与原生生物群落的相异性均显著相关 (表 2), 表明原生生物群落相似性具有显著的距离衰减关系。VPA 分析发现环境因子和空间变量共同解释了原生生物群落变异的 28.7%, 其中环境因子单独解释了 7.9%, 空间变量单独解释了 1.8%, 环境因子对群落结构变异的贡献远大于空间变量 (图 7)。说明土壤原生生物群落构建过程中, 现代环境比空间变量 (地理距离) 起着更重要的作用。根据以上结果推断, 在土壤原生生物群落构建过程中, 确定性和随机性过程都起作用, 而且确定性过程占绝对的优势。

表 2 通过偏 Mantel 分析原生生物群落相异性、环境因子和空间变量之间的关系

Table 2 Relationships among dissimilarities of the protist community, environmental factors and spatial variables identified by partial Mantel tests			
变量 Variables	控制变量 Control variables	r	P
环境因子 Environmental factors	空间变量	0.297	0.005 **
空间变量 Spatial variables	环境因子	0.115	0.045 *

** $P < 0.01$; * $P < 0.05$

2.4 零模型推断群落构建过程

通过基于 β 多样性的零模型方法分析了沿海拔梯度确定性过程和随机性过程在原生生物群落构建过程

中的相对重要性(图8)。4个海拔梯度间的零偏差值没有显著的差异,且均小于零(−0.352—−0.404),推断4个海拔梯度下土壤原生生物群落构建过程中环境选择均比随机过程在起的作用要大。说明确定性过程驱动了研究区域土壤原生生物群落的构建过程。

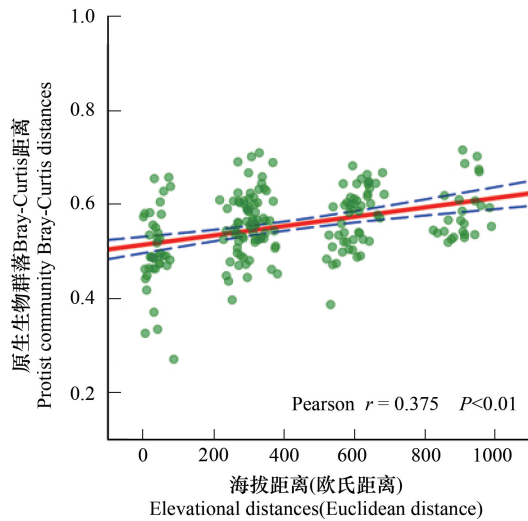


图5 土壤原生生物 β 多样性与海拔距离(欧氏距离)的关系
Fig.5 Relationship between soil protist β -diversity and elevational distance (Euclidean distance)

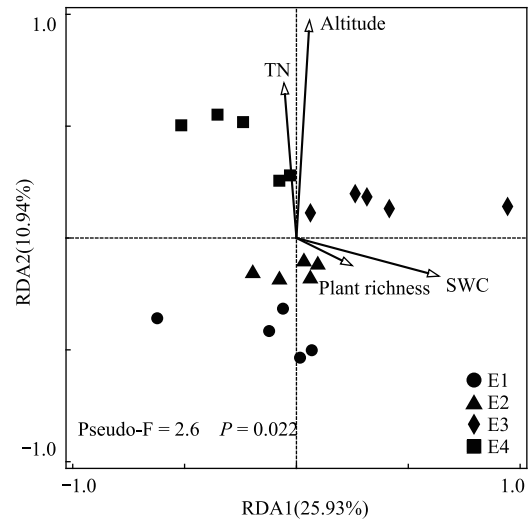


图6 土壤原生生物群落结构与环境因子的冗余分析(RDA)
Fig.6 Redundancy analysis (RDA) of soil protist community structure with environmental factors
TN:总碳含量 Total carbon; Plant richness:植物丰富度指数 Plant richness index;SWC:土壤含水量 Soil water content;Altitude:海拔

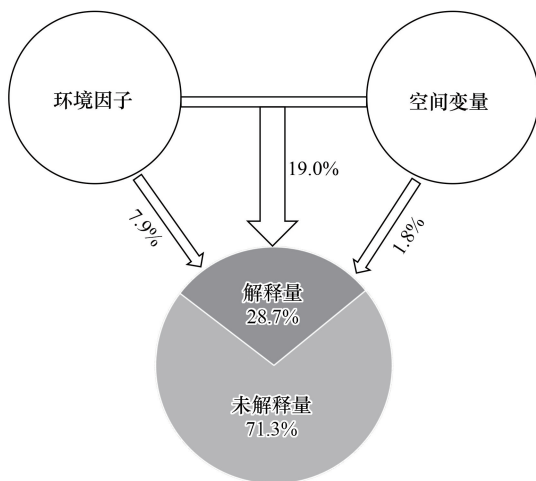


图7 环境因子和空间变量解释原生生物群落变异百分比的方差分解分析(VPA)
Fig.7 Variation partitioning analysis (VPA) showing the percentages of the variance in the protist communities explained by the environmental factors and spatial variables

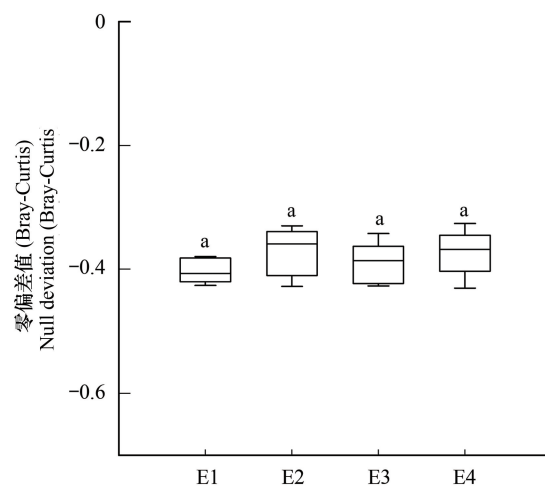


图8 不同海拔梯度土壤原生生物群落的零偏差
Fig.8 Plots showing the null deviation of soil protist communities in different elevational gradients

3 讨论

原生真核生物形体微小,结构简单,分布广泛,生命周期短,种类多样,对扰动反应迅速,是维持微生态平衡的主要参与者。对原生生物群落结构和多样性维持机制的了解,有助于深入研究全球变化对生态系统结构

和功能的影响。本研究结果显示,五台山亚高山草地土壤原生生物群落的优势类群在四个海拔梯度下基本一致(图 1),但在相对丰度上存在差异,而且每种海拔梯度都有其独特的微生物种群(图 2),说明土壤原生生物群落组成和相对丰度具有明显的海拔分异。本研究区的优势门包括,丝足虫门(Cercozoa)、褐藻门(Ochrophyta)、纤毛门(Ciliophora)和顶复门(Apicomplexa),这与以往对德国温带草原土壤、中国东北黑土的调查一致,但与绿藻门(Chlorophyta)、丝足虫门和褐藻门占主导地位的湖南丘陵红色土壤不同^[20,23]。

亚高山草地生态系统中微生物群落结构对海拔梯度的响应敏感。我们的结果表明,海拔对土壤原生生物群落的 α 多样性没有显著影响(图 3),这与之前本课题组在该研究区对土壤细菌和真菌的研究结果不一样,细菌群落 α 多样性随海拔高度的增加而增加^[2],而真菌群落 α 多样性随海拔高度的增加呈线性减少^[24],表明不同类型微生物群落 α 多样性对海拔梯度的响应模式不同。原生生物 α 多样性在不同海拔之间并没有显著差异,这可能是由于已知因子(包括大风和动物活动)造成的出人意料的高效扩散。此外,许多原生生物物种可以形成休眠的原生生物包囊(cyst)种子库^[13],即使在严酷的环境条件下,也可以形成大量的繁殖体,可能导致各海拔梯度土壤原生生物群落组成发生了明显的变化,但是 α 多样性变化不显著。亚高山草地土壤原生生物群落结构(β 多样性)随海拔梯度变化显著(图 4),并且土壤原生生物群落之间的距离(相异性)随海拔距离增加而显著增加(图 5),与五台山亚高山生态系统土壤细菌和真菌的 β 多样性海拔分布模式相同^[2,24]。这表明环境选择过程可能是不同海拔梯度土壤原生生物群落分布模式的主要驱动机制。同时,VPA分析和偏 Mantel 分析结果表明(表 2 和图 7),环境因子和空间变量对原生生物群落海拔分布格局均有显著影响,但是环境因子的相对作用(7.9%)明显大于空间变量(1.8%),这表明在五台山亚高山草地生态系统中土壤原生生物群落沿海拔梯度的构建过程中,确定性过程(中性理论)起主导作用。这与本研究区细菌和真菌的研究结果一致^[2,24],说明微生物群落结构主要受到确定性过程(环境选择)的影响,而空间变量对群落构建的相对作用较弱。通过零模型分析进一步证实了确定性过程在原生生物群落构建中的相对作用大于随机过程(图 8)。因此,确定性过程主导了五台山亚高山草地海拔尺度下土壤原生生物群落分布模式的很大程度的变异。由于同一草地生态系统不同海拔区域之间的环境条件显著不同,在不同海拔上的原生生物群落在适应环境变化的能力也不同,对土壤微生物产生了环境过滤的作用,从而导致土壤原生生物群落的结构和组成在不同海拔存在明显的差异。

海拔、土壤含水量、总氮和植物丰富度指数是原生生物群落组成和结构变化的主要驱动因子(图 6)。海拔是最重要的环境因子,它不仅可以通过调节小气候和养分的有效性,还可以通过地理距离来影响微生物群落^[4]。海拔梯度范围内由于具有不同土壤性质的环境梯度,不同的气候带可能在很短的地理距离内出现^[25]。海拔气候带可能是导致研究区土壤原生生物群落变化的主要原因。另外,沿海拔梯度的地理距离也会对原生生物的分布格局产生较大的影响(图 4、图 5 和表 2)。

土壤含水量是调节原生生物群落结构的另一个重要因素。土壤原生生物需要水来维持生命,它们的所有功能都受到土壤孔隙空间水分有效性的严格限制^[18]。从北极到热带地区,土壤水分是调节土壤原生生物多样性、密度和群落组成的关键因素^[26-28]。异养原生生物多样性通常在持续湿润的土壤中达到峰值^[18],但某些类群(如网柄细胞状黏菌)随着干湿季节交替而变得更加多样化^[29]。一项全球尺度范围的研究也证实,与气候条件有关的土壤水分有效性控制着原生生物群落^[30]。

总氮含量也与原生生物群落结构显著相关,一些研究也报道了这一点^[13,22,31]。氮等营养物质的形态也决定了土壤原生生物的多样性,纤毛虫、有壳变形虫和藻类的多样性和密度沿土壤氮梯度变化很大^[31-32]。氮的添加增加了有壳变形虫的多样性和密度,与之相反,碳和磷降低了多样性和密度^[33]。Zhao 等^[20]发现施肥可以塑造土壤微生物食物网的结构,原生生物是对施氮肥最敏感的微生物类群,可作为土壤变化的生物指标。

研究结果证实植物丰富度对原生生物群落结构产生的重要影响。原生生物与植物关系非常密切,植物和植被类型可以通过不同的方式影响土壤原生生物群落^[32],包括凋落物或根系分泌物的质量差异、小气候的变化以及对细菌或真菌群落的影响。有研究表明,两种不同热带植物的根际差异显著影响其纤毛虫群落^[34]。

植物多样性越高,变形虫原生生物的丰度越高^[35],在植被演替过程中,随着时间的推移,寄主变形虫物种丰富度同步增加^[36]。

本研究中环境因子和空间变量的解释度都相对较低,还有约 73.1%的变异无法解释(图 7),这些无法解释的变异可能是由其他未测量但重要的环境因子、时间因素^[2]或方法的局限^[11]所造成的。另一个合理的解释是生物因素,如土壤原生生物与其他分类类群(细菌和真菌)之间的生物相互作用(竞争、捕食和被捕食等)^[13,37],会影响群落的构建。在资源可获得性高的条件下,微生物间相互作用比非生物过滤更重要,而在高环境胁迫时期,非生物过滤的作用更显著^[38]。因此,未来对原生生物群落的构建机制进行更系统的研究,微生物间相互作用的相对贡献是不可忽视的。

4 结论

亚高山草地生态系统中微生物群落结构对海拔梯度的响应敏感,群落间的相异性随着海拔距离的增加而显著升高。环境因子和空间变量都在原生生物群落构建过程中起作用,环境因子占绝对的优势。海拔、土壤含水量、总氮和植物丰富度指数是原生生物群落组成和结构变化的主要驱动因子。总之,确定性过程(环境选择)是五台山亚高山草原原生生物群落结构和多样性的主要驱动力。

参考文献(References):

- [1] 庞晓瑜,雷静品,王奥,邓云鹏. 亚高山草甸植物群落对气候变化的响应. 西北植物学报, 2016, 36(8): 1678-1686.
- [2] Luo Z M, Liu J X, Zhao P Y, Jia T, Li C, Chai B F. Biogeographic patterns and assembly mechanisms of bacterial communities differ between habitat generalists and specialists across elevational gradients. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 169.
- [3] Liu D, Liu G H, Chen L, Wang J T, Zhang L M. Soil pH determines fungal diversity along an elevation gradient in Southwestern China. *Science China Life Sciences*, 2018, 61(6): 718-726.
- [4] Yong X C, Bing H J, Fang L C, Wu Y H, Yu J L, Shen G T, Jiang M, Wang X, Zhang X C. Diversity patterns of the rhizosphere and bulk soil microbial communities along an altitudinal gradient in an alpine ecosystem of the eastern Tibetan Plateau. *Geoderma*, 2019, 338: 118-127.
- [5] Ren C J, Zhang W, Zhong Z K, Han X H, Yang G H, Feng Y Z, Ren G X. Differential responses of soil microbial biomass, diversity, and compositions to altitudinal gradients depend on plant and soil characteristics. *Science of The Total Environment*, 2018, 610-611: 750-758.
- [6] Li J B, Shen Z H, Li C N, Kou Y P, Wang Y S, Tu B, Zhang S H, Li X Z. Stair-step pattern of soil bacterial diversity mainly driven by pH and vegetation types along the elevational gradients of Gongga Mountain, China. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 5: 569.
- [7] Green J, Bohannan B J M. Spatial scaling of microbial biodiversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 2006, 21(9): 501-507.
- [8] 贺纪正,王军涛. 土壤微生物群落构建理论与时空演变特征. 生态学报, 2015, 35(20): 6575-6583.
- [9] Wu W X, Lu H P, Sastri A, Yeh Y C, Gong G C, Chou W C, Hsieh C H. Contrasting the relative importance of species sorting and dispersal limitation in shaping marine bacterial versus protist communities. *The ISME Journal*, 2018, 12(2): 485-494.
- [10] Zhou J Z, Ning D L. Stochastic community assembly: does it matter in microbial ecology? *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2017, 81(4): e00002-17.
- [11] Dini-Andreote F, Stegen J C, Van Elsland J D, Salles J F. Disentangling mechanisms that mediate the balance between stochastic and deterministic processes in microbial succession. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(11): E1326-E1332.
- [12] Xiong W, Jousset A, Guo S, Karlsson I, Zhao Q Y, Wu H S, Kowalchuk G A, Shen Q R, Li R, Geisen S. Soil protist communities form a dynamic hub in the soil microbiome. *The ISME Journal*, 2018, 12(2): 634-638.
- [13] Geisen S, Mitchell E A D, Adl S, Bonkowski M, Dunthorn M, Ekelund F, Fernández L D, Jousset A, Krashevska V, Singer D, Spiegel F W, Walochnik J, Lara E. Soil protists: a fertile frontier in soil biology research. *FEMS Microbiology Reviews*, 2018, 42(3): 293-323.
- [14] Geisen S, Bonkowski M. Methodological advances to study the diversity of soil protists and their functioning in soil food webs. *Applied Soil Ecology*, 2018, 123: 328-333.
- [15] 宁应之,杨元罡,苏荃,陈凌云,杜国祯. 放牧对沼泽化草甸土壤纤毛虫群落的影响. 生态学杂志, 2017, 36(6): 1614-1621.
- [16] 宁应之,杨永强,董玫含,张惠茹,马继阳. 土壤纤毛虫群落对不同退还模式生态恢复的响应. 生态学报, 2018, 38(10): 3628-3638.
- [17] 熊杰,陈建平,陈晓光,陈瑛,冯耀宇,高凤,高珊,顾福康,黄兵,梁爱华,龙红岸,赖德华,伦照荣,缪炜,倪兵,邱子健,邵晨,汪建国,文建凡,徐奎栋,余育和,张龙现,张西臣,赵元君,宋微波. 进展中的原生动物学研究: 热点领域与新格局. 中国科学: 生命科学,

- 2019, 49(10): 1301-1322.
- [18] Stefan G, Cornelia B, Jörg R, Michael B. Soil water availability strongly alters the community composition of soil protists. *Pedobiologia*, 2014, 57(4/6): 205-213.
- [19] 黄晓霞, 江源, 刘全儒, 和克俭, 陶岩. 五台山高山、亚高山草甸植物种分布的环境梯度分析和种组划分. *草业科学*, 2009, 26(11): 12-18.
- [20] Zhao Z B, He J Z, Geisen S, Han L L, Wang J T, Shen J P, Wei W X, Fang Y T, Li P P, Zhang L M. Protist communities are more sensitive to nitrogen fertilization than other microorganisms in diverse agricultural soils. *Microbiome*, 2019, 7(1): 33.
- [21] Tucker C M, Shoemaker L G, Davies K F, Nemergut D R, Melbourne B A. Differentiating between niche and neutral assembly in metacommunities using null models of β -diversity. *Oikos*, 2016, 125(6): 778-789.
- [22] Chase J M. Stochastic community assembly causes higher biodiversity in more productive environments. *Science*, 2010, 328(5984): 1388-1391.
- [23] Venter P C, Nitsche F, Domonell A, Heger P, Arndt H. The protistan microbiome of grassland soil: diversity in the mesoscale. *Protist*, 2017, 168(5): 546-564.
- [24] 罗正明, 刘晋仙, 暴家兵, 王雪, 吴强, 柴宝峰. 五台山亚高山土壤真菌海拔分布格局与构建机制. *生态学报*, 2020, 40(19): 7009-7017.
- [25] 厉桂香, 马克明. 土壤微生物多样性海拔格局研究进展. *生态学报*, 2018, 38(5): 1521-1529.
- [26] Kennedy A D. Water as a limiting factor in the antarctic terrestrial environment: a biogeographical synthesis. *Arctic and Alpine Research*, 1993, 25(4): 308-315.
- [27] Krashevska V, Sandmann D, Maraun M, Scheu S. Consequences of exclusion of precipitation on microorganisms and microbial consumers in montane tropical rainforests. *Oecologia*, 2012, 170(4): 1067-1076.
- [28] Tsyganov A N, Keuper F, Aerts R, Beyens L. Flourish or flush: effects of simulated extreme rainfall events on *sphagnum*-dwelling testate amoebae in a subarctic bog (Abisko, Sweden). *Microbial Ecology*, 2013, 65(1): 101-110.
- [29] Cavender J C, Landolt J C, Romeralo M, Perrigo A, Vadell E M, Stephenson S L. New species of *Polysphondylium* from Madagascar. *Mycologia*, 2016, 108(1): 80-109.
- [30] Bates S T, Clemente J C, Flores G E, Walters W A, Parfrey L W, Knight R, Fierer N. Global biogeography of highly diverse protistan communities in soil. *The ISME Journal*, 2013, 7(3): 652-659.
- [31] Clarholm M. Bacteria and protozoa as integral components of the forest ecosystem-their role in creating a naturally varied soil fertility. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2002, 81(1): 309-318.
- [32] Acosta-Mercado D, Lynn D H. Soil ciliate species richness and abundance associated with the rhizosphere of different subtropical plant species. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 2004, 51(5): 582-588.
- [33] Krashevska V, Sandmann D, Maraun M, Scheu S. Moderate changes in nutrient input alter tropical microbial and protist communities and belowground linkages. *The ISME Journal*, 2014, 8(5): 1126-1134.
- [34] Acosta-Mercado D, Lynn D H. Contrasting soil ciliate species richness and abundance between two tropical plant species: a test of the plant effect. *Microbial Ecology*, 2006, 51(4): 453-459.
- [35] Ledeganck P, Nijs I, Beyens L. Plant functional group diversity promotes soil protist diversity. *Protist*, 2003, 154(2): 239-249.
- [36] Bernasconi S M, Bauder A, Bourdon B, Brunner I, Bünnemann E, Chris I, Derungs N, Edwards P, Farinotti D, Frey B, Frossard E, Furrer G, Gierga M, Göransson H, Gülland K, Hagedorn F, Hajdas I, Hindshaw R, Ivy-Ochs S, Jansa J, Jonas T, Kiczka M, Kretzschmar R, Lemarchand E, Luster J, Magnusson J, Mitchell E A D, Venterink H O, Plötze M, Reynolds B, Smittenberg R H, Stähli M, Tamburini F, Tipper E T, Wacker L, Welc M, Wiederhold J G, Zeyer J, Zimmermann S, Zumsteg A. Chemical and biological gradients along the damma glacier soil chronosequence, Switzerland. *Vadose Zone Journal*, 2011, 10(3): 867-883.
- [37] Gao Z L, Karlsson I, Geisen S, Kowalchuk G, Jousset A. Protists: puppet masters of the rhizosphere microbiome. *Trends in Plant Science*, 2019, 24(2): 165-176.
- [38] Goberna M, Navarro-Cano J A, Valiente-Banuet A, García C, Verdú M. Abiotic stress tolerance and competition-related traits underlie phylogenetic clustering in soil bacterial communities. *Ecology Letters*, 2014, 17(10): 1191-1201.