

DOI: 10.20103/j.stxb.202306191312

陈玉蓝, 王勇, 梁锦鹏, 秦磊涛, 魏朝顺, 陈强, 辜运富. 四川凉山会东县不同海拔农田土壤 *phoD* 基因群落组成及多样性特征. 生态学报, 2024, 44 (19): 8488-8497.

Chen Y L, Wang Y, Liang J P, Qin L T, Wei C S, Chen Q, Gu Y F. Composition and diversity of *phoD* gene communities in farmland soils at different altitudes in Huidong County, Liangshan Mountain, Sichuan Province, China. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(19): 8488-8497.

## 四川凉山会东县不同海拔农田土壤 *phoD* 基因群落组成及多样性特征

陈玉蓝<sup>1</sup>, 王勇<sup>2</sup>, 梁锦鹏<sup>1</sup>, 秦磊涛<sup>1</sup>, 魏朝顺<sup>2</sup>, 陈强<sup>1</sup>, 辜运富<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> 四川农业大学资源学院, 成都 611100

<sup>2</sup> 四川省烟草公司凉山州公司, 西昌 615000

**摘要:** 通过分析四川省凉山会东县农田土壤 *phoD* 基因群落组成及多样性对不同海拔高度的响应, 以期深入认识凉山高原地区不同海拔农田土壤磷素及涉磷微生物群落的分布特点, 为建立合理的施肥制度提供科学依据。以凉山州会东县不同海拔高度 (1700 m、1900 m、2100 m) 土壤为研究对象, 通过化学分析和高通量测序技术对土壤理化性质、有机磷组分和含量以及 *phoD* 基因群落进行分析。结果表明, pH 与海拔高度呈正相关。海拔 2100 m 的土壤全磷和有效磷含量最高, 1900 m 的有机磷 (OP)、活性有机磷 (LOP)、中等活性有机磷 (MLOP) 和中稳性有机磷 (MROP) 含量最高, 而 1700 m 海拔的无机磷含量最高。对于不同海拔下的 *phoD* 基因群落变化, Shannon 指数在高海拔地区最高。同时, 3 个海拔高度下 *phoD* 群落结构差异明显, 变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 和酸杆菌门 (Acidobacteria) 是 3 个海拔高度的主要门类, 而慢生根瘤菌 (*Bradyrhizobium*) 是低海拔 1700 m 的主要优势属。土壤 pH 和总磷 (TP) 是驱动不同海拔土壤 *phoD* 基因群落组成的关键因子。综上, 凉山会东高原地区不同海拔高度农田土壤中的 *phoD* 基因群落变异明显 ( $P < 0.05$ ), 且受到土壤 pH 和总磷的显著影响 ( $P < 0.05$ )。农业生产上应采取因地制宜的施肥措施。

**关键词:** 凉山高原; 海拔梯度; 磷组分; *phoD* 基因群落; 多样性

## Composition and diversity of *phoD* gene communities in farmland soils at different altitudes in Huidong County, Liangshan Mountain, Sichuan Province, China

CHEN Yulan<sup>1</sup>, WANG Yong<sup>2</sup>, LIANG Jinpeng<sup>1</sup>, QIN Leitao<sup>1</sup>, WEI Chaoshun<sup>2</sup>, CHEN Qiang<sup>1</sup>, GU Yunfu<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup> School of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611100, China

<sup>2</sup> Sichuan Tobacco Company Liangshan Prefecture Company, Xichang 615000, China

**Abstract:** By analyzing the response of *phoD* gene community composition and diversity of farmland soils to different altitudes in Huidong County, Liangshan Mountain, Sichuan Province, we aim to gain an in-depth understanding of the distribution characteristics of phosphorus and the microbial communities involved in phosphorus cycling in farmland soils at different altitudes in the Liangshan Mountain Plateau region. This knowledge will provide a scientific basis for establishing a rational fertilizer application system. Soils at different altitudes (1700 m, 1900 m, and 2100 m) in Huidong County, Liangshan Mountain, were analyzed for their physicochemical properties, organic phosphorus fractions and contents, and *phoD* gene communities by chemical analysis and high-throughput sequencing technology. The results showed that pH was positively correlated with altitude. Soil total and effective phosphorus contents were the highest at 2100 m altitude, organic

基金项目: 四川省重点研发项目 (2019ZHFP0265); 四川省烟草公司科技项目 (SCYC202409)

收稿日期: 2023-06-19; 网络出版日期: 2024-07-20

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: guyf@sicau.edu.cn

phosphorus (OP), reactive organic phosphorus (LOP), moderately reactive organic phosphorus (MLOP), and moderately stabilized organic phosphorus (MROP) at 1900 m, and inorganic phosphorus content was the highest at 1700 m altitude. For variation of the *phoD* gene community at different altitudes, Shannon index was the highest at high altitude. Meanwhile, the structure of *phoD* communities at the three altitudes differed significantly, with Proteobacteria, Actinobacteria and Acidobacteria being the dominant phyla at the three altitudes, while *Bradyrhizobium* was the main dominant genus at the low altitude 1700 m. Soil pH and total phosphorus (TP) were the key factors driving the composition of soil *phoD* gene communities at different altitudes. In conclusion, the *phoD* gene community in farmland soils at different altitudes in the Huidong Plateau region of Liangshan Mountain varied significantly ( $P < 0.05$ ) and was significantly affected by soil pH and total phosphorus ( $P < 0.05$ ). Fertilization measures should be adopted in agricultural production according to local conditions.

**Key Words:** Liangshan Mountain Plateau; altitudes gradient; phosphorus fractions; *phoD* gene community; diversity

海拔高度影响生物多样性和土壤的物理化学性质,山地生态系统中植被和土壤微生物代谢功能随海拔高度发生剧烈变化<sup>[1]</sup>。在一定海拔范围内,沿着海拔梯度变化的土壤因子往往是形成微生物多样性与群落组成的关键所在<sup>[2]</sup>,不同海拔的驱动因子存在差异。其次,海拔梯度也会影响植被覆盖状况及凋落物,其根系分泌物以及凋落物将选择性地招募微生物类群,在相同地区山地系统中会出现不同的土壤微生物标志性物种,这在一定程度上也决定了土壤中的微生物种类和数量<sup>[3]</sup>。因此,研究不同海拔高度下土壤微生物群落功能多样性和群落结构变化,对揭示山地生态系统的健康和稳定性具有重要价值。

磷(P)是植物生长所需的重要元素之一,土壤磷素以不同形态存在,包括有机磷(OP)、活性有机磷(LOP)、中等活性有机磷(MLOP)和中稳性有机磷(MROP)等组分<sup>[4]</sup>。磷的有效性和动态性随着海拔高度差异而不同<sup>[5]</sup>。如 Zhou<sup>[6]</sup>等研究发现,贡嘎山不同海拔植被类型的差异导致土壤 pH 的改变,从而影响土壤磷组分的海拔分布模式。土壤解磷微生物在生长过程中产生磷酸酶,将土壤中的有机磷化合物(如卵磷脂和核酸等)分解或降解为有效磷素<sup>[7]</sup>。磷酸酶分为酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)<sup>[8]</sup>,ALP 活性在不良环境下更加稳定,*phoD* 基因是编码细菌 ALP 的 3 个同源基因(*phoA*、*phoD*、*phoX*)之一<sup>[9]</sup>,在陆地生态系统中普遍存在。*phoD* 能通过 ALP 分解土壤中的有机磷,调控有效磷丰缺<sup>[10]</sup>。De 等<sup>[11]</sup>认为不同海拔土壤磷组分差异主要受磷酸酶活性和微生物群落特征的影响,与磷循环相关的磷酸酶活性和微生物群落数量的增加,能够促进有机磷的矿化从而增加土壤磷的有效性。然而,上述研究主要集中于山地自然生态系统,关于高原地区农田生态系统土壤 *phoD* 基因群落及多样性对不同海拔梯度的响应特征尚鲜有研究报道。

凉山州位于中国四川南部,大渡河与雅安、甘孜州交汇处,属亚热带季风气候,干湿分明,光热资源充足<sup>[12]</sup>。然而,该区域地质、地形条件复杂,垂直气候分异显著,水土和养分流失现象较严重,农田土壤面临不同的缺磷症状,严重制约当地农业的可持续发展<sup>[13]</sup>。因此,本研究以四川凉山州会东县 3 个不同海拔高度的土壤为研究对象,分析不同海拔下的土壤磷素含量及磷组分差异,并通过高通量测序技术分析 *phoD* 基因多样性与群落组成,以期深入认识高原不同海拔农田土壤的磷素含量、磷组份和 *phoD* 基因群落组成及多样性的变异规律,为在该区域建立合理的施肥制度提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

四川省凉山州彝族自治州会东县(102°57'E, 26°63'N)属中亚热带西部湿润季风气候区(图 1)。年降水量约为 1096 mm。最高海拔为 3331 m,最低海拔 640 m。年平均气温为 16.2 °C,累计年平均日照 2306 h,日照时数多,蒸发旺盛,雨量集中,干湿季分明。辖区地势呈中部高,西部缓展,北部绵延,东、南部陡峭,金沙江谷地低的趋势。地貌主要以山地地貌为主,其次为山原、平坝、台地和少量丘陵。

## 1.2 样品采集

2020年7月28日,以会东县的姜州镇湾德乡(海拔1700 m,J)、嘎吉乡狮子山村(1900 m,G)和铅锌镇竹色村(2100 m,Q)3处为研究区(图1),选取坡度、坡向、地上植被特征基本一致的玉米-烤烟轮作地。研究区均为旱地,灌溉方式为天然雨水,施肥条件如下:烟草专用复合肥45 kg,基肥25 kg,追肥20 kg(云烟基肥11:20:20,追肥9:0:35)、油枯有机肥20 kg、硝酸钾15 kg,农家肥500 kg(每0.067 hm<sup>2</sup>发放1 kg菌剂)。土壤为酸性紫色土。每个区布设8个采样点(50×50 m),采样点之间间隔200 m以上,按“梅花”型进行5点取样,清除土表凋落物后,用直径5 cm的土壤取样器进行样品采集,采样深度5—20 cm,样品充分混匀,重约1 kg。之后将采集土样分成两份,一份用无菌塑料管带回实验室于-80℃保存,用于后续土壤总DNA提取;另一份则带回实验室风干磨细,用于理化性质和磷组分分析。采样点部分信息见表1。

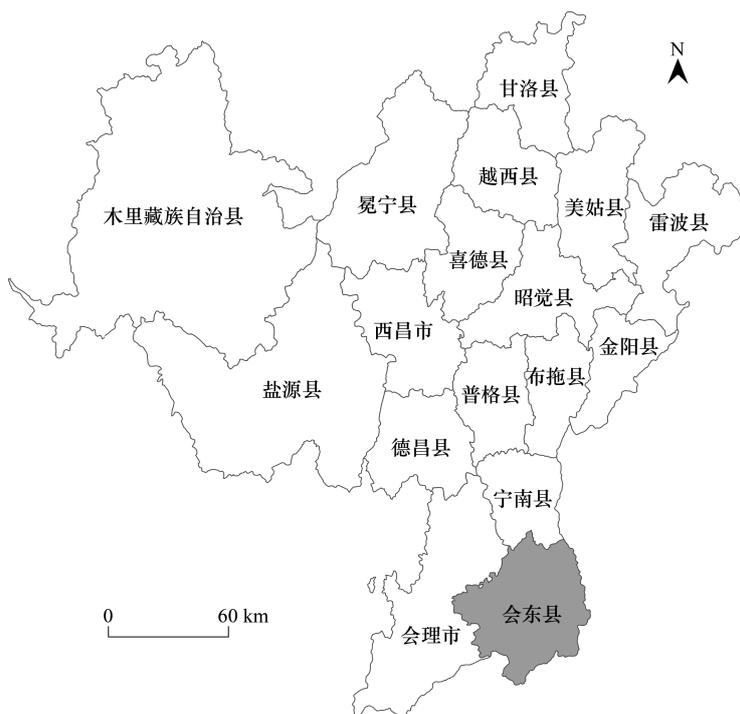


图1 凉山会东县位置及海拔图

Fig.1 Location and elevation map of Huidong County, Liangshan Mountain

表1 凉山会东县不同海拔采样点信息

Table 1 Information of sampling sites at different altitudes in Huidong County, Liangshan Mountain

采样编号 Sampling numbers	采样地 Sampling sites	北纬 Latitude	东经 Longitude	海拔高度 Altitude/m	土壤质地 Soil category	轮作种植年限 Cropping rotation years/a
J	会东县姜州镇湾德村	26°56'N	102°45'E	1700	砂壤	5年以上
G	会东县嘎吉狮子山村	26°28'N	102°38'E	1900	轻壤	10年以上
Q	会东县铅锌竹色村	26°70'N	102°69'E	2100	中壤	10年以上

J、G、Q 为采样地姜州、嘎吉和铅锌镇竹色村拼音首字母

## 1.3 指标测定

土壤 pH 值测定用电极法(水土比为 2.5:1),土壤有机碳(SOC)和总氮(TN)采用杜马斯燃烧法测定<sup>[14]</sup>。土壤碱解氮(AN)通过碱解扩散法测定,土壤速效钾(AK)通过醋酸铵法测定,土壤全磷(TP)含量采用 HClO<sub>4</sub>-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>消煮,钼锑抗比色法测定;土壤有效磷(AP)含量采用 0.5 M NaHCO<sub>3</sub>提取,钼锑抗比色法测定<sup>[15-16]</sup>。

无机磷形态采用 Chang 等<sup>[17]</sup>和 Buehler 等<sup>[18]</sup>提出的无机磷分级方法,1.0 mol/L NH<sub>4</sub>Cl(pH 值为 8.0)提

取交换态磷(Ex-P);0.5 mol/L  $\text{NH}_4\text{F}$ (pH 值为 8.2)提取铝结合态磷(Al-P);0.1 mol/L NaOH 提取铁结合态磷(Fe-P);0.3 mol/L 柠檬酸钠和连二亚硫酸钠混合溶液提取闭蓄态磷(Oc-P);0.5 mol/L  $\text{H}_2\text{SO}_4$ 提取钙结合态磷(Ca-P)。

OP 形态采用 Ivanoff 等<sup>[19]</sup>提出的有机磷分级方法,0.5 mol/L  $\text{NaHCO}_3$ (pH 值为 8.5)提取活性有机磷(LOP),1 mol/L HCl 提取中等活性有机磷(MLOP),0.5 mol/L NaOH 提取中稳性有机磷(MROP)。

#### 1.4 土壤总 DNA 提取及碱性磷酸酶基因(*phoD*)高通量测序

称取 0.5 g 土壤样品,参照 FastDNA<sup>®</sup> SPIN kit 试剂盒(MP Biomedicals, Santa Ana, CA, 美国)操作说明提取土壤总 DNA,1% 琼脂糖凝胶电泳检测,-20 °C 保存。使用引物 ALPS-F730(5'-CAGTGGGACGACCACGAGGT-3')与 ALPS-R1101(5'-GAGCCGATCGGCATGTCG-3')对 *phoD* 基因片段进行扩增<sup>[20]</sup>。

扩增体积 20  $\mu\text{L}$ ,体系为:PCR Mix 10  $\mu\text{L}$ ,引物 0.5  $\mu\text{L}$ ,DNA 模板 1  $\mu\text{L}$ (10 ng/ $\mu\text{L}$ ),ddH<sub>2</sub>O 8  $\mu\text{L}$ 。反应程序为:94 °C 预变性 3 min,94 °C 变性 1 min,57 °C 退火 1 min,72 °C 延伸 2 min,35 个循环。

以 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,样品送至上海派森诺生物科技股份有限公司,运用 Illumina-MiSeq 测序平台进行测序。

#### 1.5 数据分析

通过利用 Excel 2019 和 SPSS 22 进行数据的预处理和统计分析。单因素方差分析(one-way ANOVA)用于检验不同海拔的土壤理化性质、土壤磷组分和微生物群落组成的差异显著性( $P < 0.05$ )。通过 Illumina-MiSeq 平台进行 Paired-end 测序,测序原始序列已上传至 NCBI 的 SRA 数据库(PRJNA1098434)。下机数据经 QIIME(v1.8.0)软件过滤、拼接、去除嵌合体,去除打分低于 20、碱基模糊、引物错配或测序长度小于 150 bp 的序列。*phoD* 基因群落多样性通过利用 QIIME 1.9.0 软件计算 Chao1、Good\_coverage、Shannon、Simpson、Pielou 以及 Observed\_species 指数。利用 CANOCO 5.0 软件进行冗余分析(RDA)以确定土壤微生物群落组成与土壤性质之间的相关性。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤理化性质测定结果

凉山会东县不同海拔土壤理化性质分析结果见表 2。

表 2 不同海拔土壤的理化性质

Table 2 Soil physical and chemical properties of soil under different altitude

采样编号 Sampling codes	pH	有机碳 SOC/(g/kg)	全氮 TN/(g/kg)	碱解氮 AN/(mg/kg)	全磷 TP/(g/kg)	有效磷 AP/(mg/kg)	速效钾 AK/(mg/kg)
J	6.27±0.32c	18.3±1.21b	2.35±0.004a	75.3±9.47b	0.425±0.043b	9.66±0.39b	93.3±2.78c
G	8.13±0.96b	21.1±7.47a	1.80±0.031b	103.4±10.4a	0.647±0.094ab	5.54±0.08c	243.6±10.4b
Q	8.43±0.77a	15.2±0.95c	1.24±0.001c	75.8±4.55b	0.661±0.049a	10.70±0.83a	258.0±5.84a

表中数据为平均值±标准误( $n=8$ );数字后的不同小写字母表示在 5% 的数字上差异显著;SOC:有机碳 Soil organic carbon;TN:全氮 Total nitrogen;AN:碱解氮 Alkali-hydrolyzable nitrogen;TP:全磷 Total phosphorous;AP:有效磷 Available phosphorous;AK:速效钾 Available potassium;J:姜州镇湾德村 Wande village, Jiangzhou town;G:嘎吉狮子山村 Shizishan village, Gaji town;Q:铅锌竹色村 Zhuse village, Qianxin town

从表 2 可以看出,会东县不同海拔地区紫色土理化性质间存在显著差异。与另外两个海拔地区相比,海拔地区 J(1700 m)土壤 pH 值最低,全氮含量最高( $P < 0.05$ )。海拔 G(1900 m)土壤有机碳和有效氮含量最高( $P < 0.05$ ),分别为 21.1 g/kg 和 103.4 mg/kg。海拔地区 Q(2100 m)土壤 pH 值最高,全磷、有效磷和速效钾含量最高( $P < 0.05$ )。全氮含量随海拔上升而升高( $P < 0.05$ )。

### 2.2 土壤磷形态分析

本研究所用土壤为会东县不同海拔土壤样品。磷的形态分析包括无机磷(IOP)、有机磷(OP)、活性有机磷(LOP)、中等活性有机磷(MLOP)和中稳性有机磷(MROP),具体测试结果见表 3。

表 3 不同海拔土壤磷形态分析

Table 3 Phosphorus fractions of soil samples at different altitudes

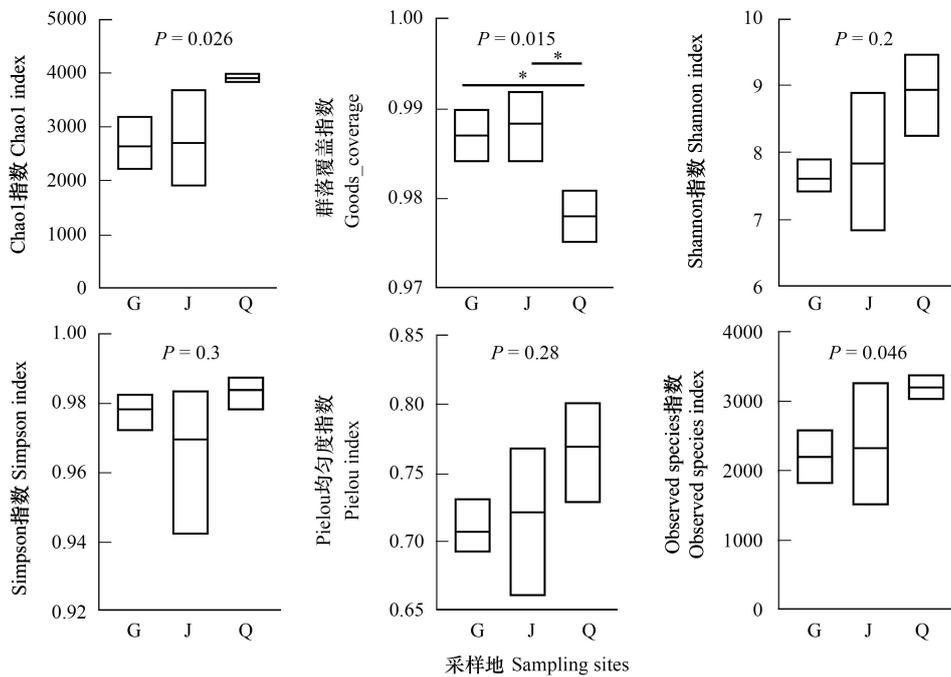
样品编号 Sampling codes	无机磷 IOP/(g/kg)	有机磷 OP/(g/kg)	活性有机磷 LOP/(mg/kg)	中等活性有机磷 MLOP/(mg/kg)	中稳性有机磷 MROP/(mg/kg)
J	0.165±0.044c	0.194±0.045c	2.69±0.297c	42.0±3.66b	42.4±8.17b
G	0.439±0.014b	0.271±0.022a	4.15±0.323a	51.7±4.18a	50.7±2.48a
Q	0.487±0.085a	0.210±0.037b	3.23±0.391b	37.3±4.26c	31.5±5.11c

表中数据为平均值±标准误( $n=8$ ),数字后的不同小写字母表示在5%的数字上差异显著;IOP:无机磷 inorganic phosphorus;LOP:活性有机磷 labile organic;MLOP:中等活性有机磷 medium labile organic phosphorus;MROP:中稳性有机磷 moderately resistant organic phosphorus

由表3可知,不同海拔间土壤磷形态差异显著,无机磷含量随海拔高度上升而显著增加( $P<0.05$ ),而G海拔(1900 m)地区的有机磷、活性有机磷、中等活性有机磷和中稳性有机磷含量均显著高于J海拔(1700 m)以及Q海拔(2100 m)地区。

### 2.3 *phoD* 基因测序结果及 $\alpha$ 多样性分析

从图2可见,所有样品的 Goods coverage 指数均高于 0.99,显示本次测序所得结果具有一定的代表性,能真实反映土壤 *phoD* 基因群落的多样性特征。结果表明,3个海拔土壤 *phoD* 基因多样性与丰富度不一致。主体 alpha 多样性指数(包括 Shannon、Simpson 及 Chao1 指数)均是 Q 海拔 2100 m 较高,其次是 J 海拔 1700 m 地区。总体而言,结果显示 Q 海拔 2100 m 的土壤 *phoD* 基因群落多样性较高。

图 2 不同海拔土壤 *phoD* 基因群落的  $\alpha$  多样性Fig.2 Alpha diversity of *phoD* gene community of soils at different altitude

J:姜州镇湾德村 Wande village, Jiangzhou town;G:嘎吉狮子山村 Shizishan village, Gaji town;Q:铅锌竹色村 Zhuse village, Qianxin town

### 2.4 土壤 *phoD* 基因群落组成与结构

会东县不同海拔土壤的 *phoD* 基因群落组成见图3。3个海拔土壤 *phoD* 基因群落组成不同,在门水平上(图3),3个海拔土壤的含 *phoD* 基因主要属于变形菌门(Proteobacteria,相对丰度介于10.3%—80.5%)、放线菌门(Actinobacteria,相对丰度介于3.58%—20.1%)和酸杆菌门(Acidobacteria,0.01%—1.09%)。变形菌门(Proteobacteria)平均相对丰度59.8%最低在中海拔1900 m的,最高61.4%在高海拔2100 m。放线菌门

(Actinobacteria) 平均相对丰度 5.24% 最低在高海拔 2100 m 地区,最高 9.53% 在低海拔 1700 m 地区。酸杆菌门 (Acidobacteria) 在高海拔 2100 m 地区最高,其相对丰度为 0.6%。在属水平上(图 3),3 个海拔土壤组中含 *phoD* 基因主要属于慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)、中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium*)、链霉菌属 (*Streptomyces*)、支原体病 (*Amycolatiopsis*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*)、多形单胞菌属 (*Pleomorphomonas*)、斯特拉菌属 (*Stella*)、变异杆菌属 (*Variibacter*)、糖多孢菌属 (*Saccharopolyspora*) 和暗棕色杆菌属 (*Phaeobacter*) 等。慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*) 相对丰度介于 0.07%—1.14% 之间,相对丰度在 G 海拔地区 1900 m 最高,而在 Q 海拔地区 2100 m 最低;中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium*) 相对丰度介于 0.06%—0.47% 之间,以 Q 海拔 2100 m 土壤相对丰度最高,J 海拔 1700 m 最低;链霉菌属 (*Streptomyces*) 相对丰度介于 0.12%—0.41% 之间,以 J 海拔 1700 m 土壤相对丰度最高,Q 海拔 2100 m 最低。

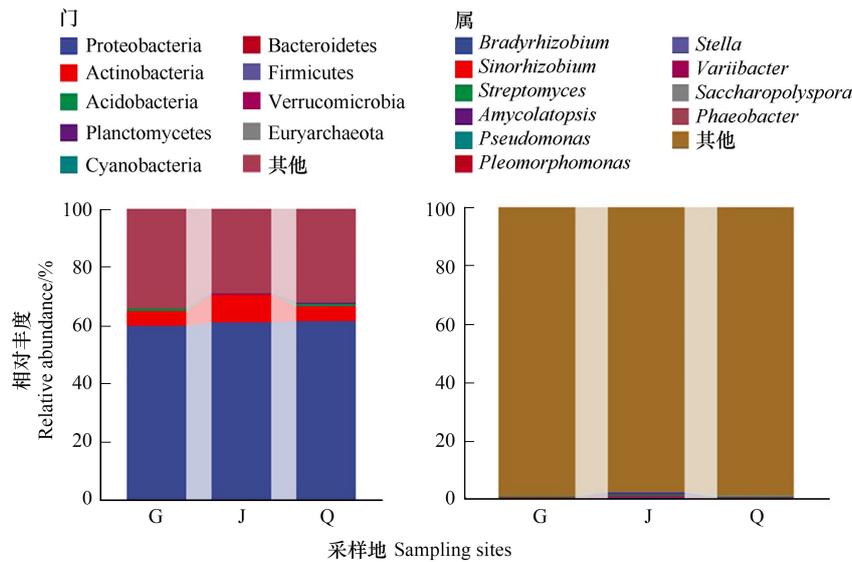


图 3 不同海拔土壤 *phoD* 基因在门水平和属水平上的群落组成

Fig.3 Community composition of *phoD* gene in soil at different altitudes at phylum level and genus level

### 2.5 土壤 *phoD* 基因群落结构变异分析

对凉山州会东县不同海拔农田土壤的 *phoD* 基因群落结构变异情况进行主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA), 结果见图 4。

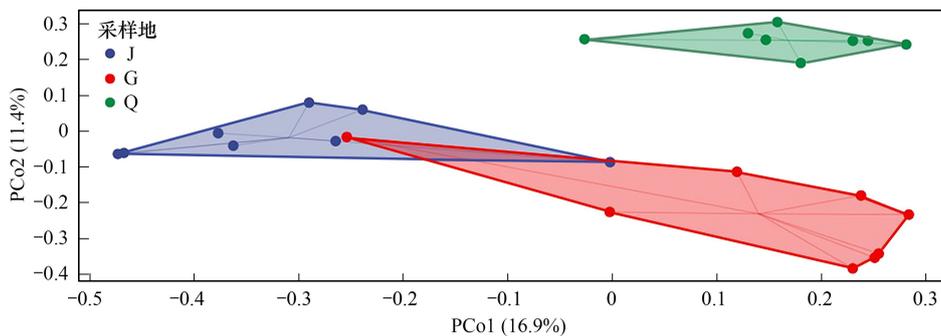


图 4 不同海拔土壤 *phoD* 基因群落 PCoA 聚类图

Fig.4 PCoA analysis of *phoD* gene community in soils at different altitudes

PCoA: 主坐标分析 Principal co-ordinates analysis

从图 4 可以看出, J 海拔 1700 m 和 G 海拔 1900 m 农田土壤 *phoD* 基因群落结构较为相似, 而 Q 海拔 2100 m 农田土壤的 *phoD* 基因群落单独成群, 表明高海拔与低中海拔的差异较大, 显示会东县不同海拔土壤 *phoD* 基因群落变异显著。

## 2.6 土壤 *phoD* 基因关键物种分析

土壤微生物种类丰富, 为了解析海拔梯度对会东土壤 *phoD* 基因群落关键物种的影响, 对不同海拔 *phoD* 基因群落进行了线性判别分析 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 分析, 结果见图 5。

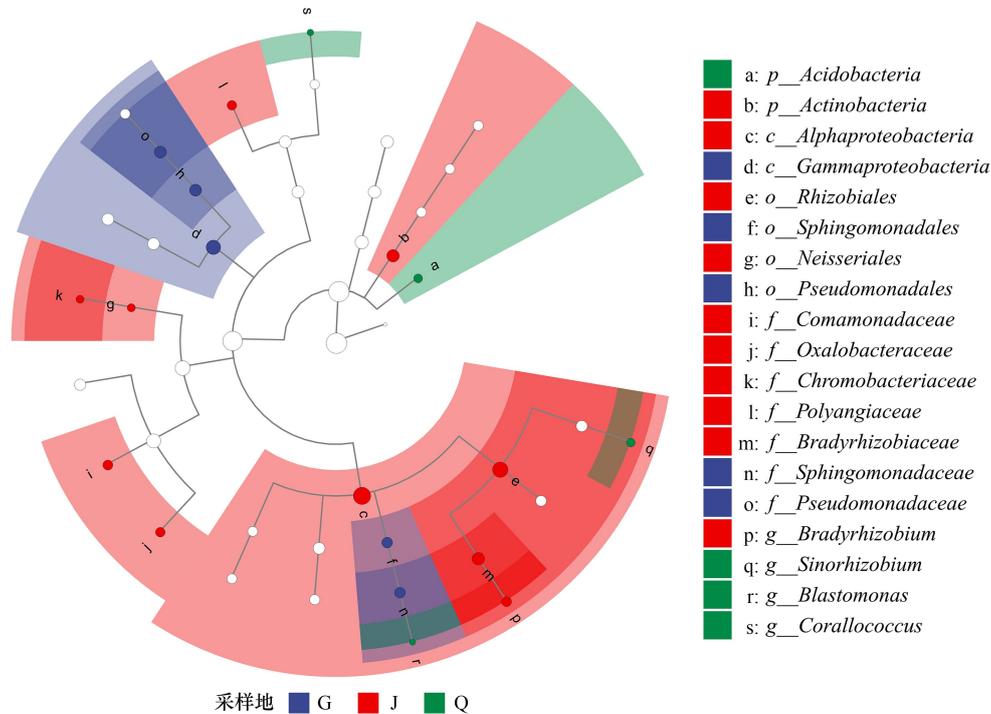


图 5 不同海拔土壤 *phoD* 基因物种 LEfSe 分析

Fig.5 LEfSe analysis of *phoD* gene containing species at different altitudes

从上图可知, 在门水平上, J 海拔 1700 m 土壤的优势菌门为放线菌门 (Actinobacteria), Q 海拔 2100 m 的为酸杆菌门 (Acidobacteria)。在属水平上, J 海拔 1700 m 的 *phoD* 基因群落关键物种仅有慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*), 而在 Q 海拔 2100 m 研究区, *phoD* 群落关键菌属包括中华根瘤菌属 (*Sinorhizobium*)、芽单胞菌属 (*Blastomonas*) 和珊瑚球菌属 (*Coralloccoccus*)。

## 2.7 *phoD* 基因群落与环境因子相关性分析

为了解影响不同海拔下土壤 *phoD* 基因群落变化的关键环境因子, 将土壤 *phoD* 基因群落结构与 pH 值、SOC、TN、AN、AK、TP、AP 等环境因子进行冗余分析 (redundancy analysis, RDA) (图 6)。

结果显示, J 海拔 1700 m 与 pH、TP、AN、TN、SOC 呈负相关, 而 G 海拔 1900 m 与 pH 呈正相关, 和 TP 呈负相关, Q 海拔 2100 m 与 pH 呈正相关关系。从箭头的连线长度可以看出环境因子与土壤 *phoD* 基因群落间的相关程度, 其相关性由大至小依次为  $pH > TP > TN > AK > AN > SOC > AP$ 。

## 3 讨论

### 3.1 海拔梯度变化对农田土壤理化性质的影响

在不同的海拔高度, 气候变量驱动土壤理化性质发生变化, 从而导致微生物群落的多样性和丰富度随之改变<sup>[21]</sup>。在本研究中, J 海拔 1700 m 和 Q 海拔 2100 m 的土壤理化性质间存在显著差异。随着海拔的升高,

pH 值和速效钾含量显著增加,高海拔地区土壤速效钾含量比低海拔地区高 2 倍以上。而土壤有机碳含量则在中海拔地区最高,这与田自强<sup>[22]</sup>等研究一致。其原因主要是温度随海拔梯度上升而降低,土壤微生物代谢活动受到抑制,最终导致微生物对土壤碳的“体外修饰”及“体内周转”功能受限,故 Q 海拔 2100 m 地区中土壤中的有机碳含量低。而在海拔较低的区域(G 海拔 1900 m 地区)内,浇灌、翻耕等人为措施使土壤中有机碳含量增加<sup>[23]</sup>。对于土壤中的磷含量,全磷和有效磷含量在高海拔地区最高,这与刘超<sup>[24]</sup>等研究结果相似。土壤全磷和有效磷含量通常随温度的增加而降低,这是由于温度的增加提高了土壤风化程度以及原生矿物磷、有机磷和有机碳的矿化作用<sup>[6]</sup>。

### 3.2 海拔梯度变化对土壤磷组分的影响

本研究发现,有机磷(OP)、活性有机磷(LOP)、中等活性有机磷(MLOP)和中稳性有机磷(MROP)含量均在中海拔地区最高,呈现出 1900 m>2100m>1700 m 的特征,这与任常琦<sup>[25]</sup>等研究相似。在 Q 高海拔(2100 m)地区,温度降低,有机磷的分解速率随之减小<sup>[6]</sup>。同时,从低海拔到高海拔地区,土壤中逐渐下降的微生物数量会减弱有机磷(OP)、中等活性有机磷和中稳性有机磷等的矿化作用<sup>[26,27]</sup>,导致土壤无法对磷组分进行有效保留。而低海拔的区域由于人为措施影响<sup>[28]</sup>,其保留磷素能力也比较弱,因此 1900 m 中海拔 G 地区土壤具有较高的土壤磷供应能力。

### 3.3 海拔梯度变化对土壤 *phoD* 基因群落多样性及组成结构的影响

土壤中的微生物受到多种因素影响,并随海拔的分布存在一定的复杂性与异质性<sup>[29]</sup>。本研究的结果表明,随着海拔上升,*phoD* 基因群落中的  $\alpha$ -多样性升高,其原因可能是不同海拔地区的气候与降水等条件存在差异,导致特定的 *phoD* 细菌的生长和繁殖。变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria)在三个海拔研究区内相对丰度均较高,与早期研究<sup>[30]</sup>相似。不同海拔的微生物群落组成不同。研究表明,变形菌门是参与磷循环的主要细菌门,并且与植物生长密切相关<sup>[31]</sup>。而在属水平上,慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)是不同研究区土壤中的主要 *phoD* 菌属。研究表明,慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)可以通过增加碱性磷酸酶活性和磷转运速率响应磷胁迫<sup>[32]</sup>,其在耦合土壤氮和磷循环中可能发挥重要作用<sup>[33]</sup>。

不同海拔地区的 *phoD* 群落表现出明显差异。PcoA 分析显示高海拔 Q 地区(2100 m)*phoD* 群落与中海拔 G 以及低海拔 J 地区存在明显区分。对不同海拔土壤中的 *phoD* 关键物种的分析表明,低海拔 J 地区 1700 m 的优势菌门是放线菌门(Actinobacteria),而高海拔 Q 地区 2100 m 则是酸杆菌门(Acidobacteria)。此外在高海拔 Q 地区,中华根瘤菌属(*Sinorhizobium*)、芽单胞菌属(*Blastomonas*)和珊瑚球菌属(*Coralloccoccus*)3 个优势属,与其余 2 个海拔有显著差异,这与王智慧<sup>[34]</sup>等研究相似。酸杆菌门(Acidobacteria)广泛分布于各种土壤环境中,其丰度和组成受 pH 值影响较大<sup>[35-36]</sup>。类似的,Shen 等在 6 个海拔梯度中发现酸杆菌门相对丰度与 pH 值呈显著负相关<sup>[37]</sup>。Liu 等<sup>[38]</sup>发现芽单胞菌属是携带溶磷基因的主要细菌类群,其在土壤磷循环中发挥着重要作用。而 Aszalós<sup>[39]</sup>等在高海拔冰缘环境中筛选分离出大量芽单胞菌属,其相对丰度与海拔呈显著正相关。本研究结果表明,在门分类水平以及属分类水平上,3 种不同海拔研究区土壤中的 *phoD* 基因群落结构与组成存在着明显差异。

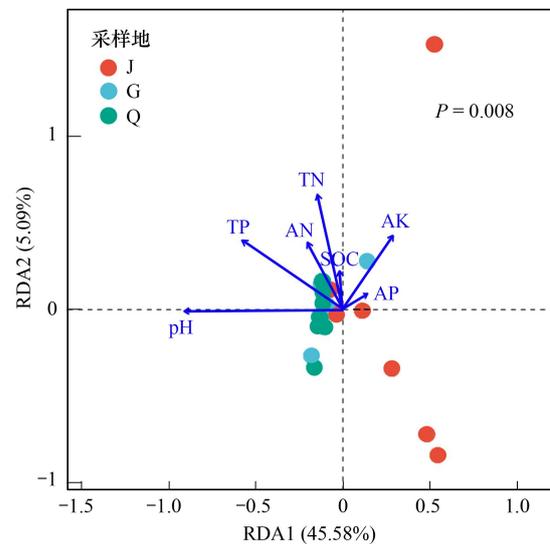


图 6 不同海拔土壤 *phoD* 基因群落与环境因子的 RDA 分析

Fig.6 RDA analysis between *phoD* gene community and environmental factors at different altitude

SOC:有机碳;TN:全氮;AN:碱解氮;TP:全磷;AP:有效磷;AK:速效钾;

### 3.4 环境因子对土壤 *phoD* 基因群落影响特征

在气候和植被差异较小的区域农田尺度上,土壤理化性质对微生物多样性及群落结构分布的影响尤为明显。本研究发现,pH 值以及 TP 含量是影响不同海拔土壤 *phoD* 基因群落组成的主要环境因子。众多研究指出土壤 pH 是影响土壤微生物时空分布的重要因素<sup>[40-41]</sup>。Wang<sup>[42]</sup>等认为 pH 是影响青藏高原土壤微生物群落多样性最显著的环境因子,其原因是由于随着海拔高度的增加,土层变薄,岩石露头出入,土壤直接受母岩风化液的影响,从而引起碳酸钙和 pH 值逐渐增加。本研究进一步证明了 pH 对 *phoD* 细菌群落组成的重要影响。不同海拔研究区内的 *phoD* 细菌群落同样受到 TP 含量的显著影响。李梦佳<sup>[43]</sup>等发现,戴云山南坡不同海拔梯度影响土壤微生物多样性变化的主要驱动因子是全磷,这与本研究结果一致。类似的, Samaddar 等<sup>[44]</sup>发现土壤中磷的含量变化显著影响了细菌群落的系统发育组成及其功能特征。本研究结果显示了 pH 和 TP 在调控不同海拔地区 *phoD* 细菌群落组成方面的重要作用,而这两个重要环境因子在之后对研究区的农艺管理中也可考虑纳入管理因素。

## 4 结论

本文对凉山会东三个不同海拔高度农田土壤的理化性质、磷组分和 *phoD* 基因群落结构和多样性进行了分析。研究结果土壤有机磷组分含量均以海拔 1900 m 处最高。农田土壤 *phoD* 基因群落多样性在海拔 2100 m 处最高,且优势物种最丰富。三个海拔土壤中,含 *phoD* 基因的优势门均为变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria),优势菌属则包括慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)、中华根瘤菌属(*Sinorhizobium*)和链霉菌属(*Streptomyces*)。土壤 pH 和 TP 是影响该区域不同海拔农田土壤 *phoD* 基因群落组成的关键因子。

### 参考文献(References):

- [1] 赵盼盼,周嘉聪,林开森,张秋芳,袁萍,曾晓敏,苏莹,徐建国,陈岳民,杨玉盛.海拔梯度变化对中亚热带黄山松土壤微生物生物量和群落结构的影响.生态学报,2019,39(6):2215-2225.
- [2] Shen C C, Liang W J, Shi Y, Lin X G, Zhang H Y, Wu X, Xie G, Chain P, Grogan P, Chu H Y. Contrasting elevational diversity patterns between eukaryotic soil microbes and plants. Ecology, 2014, 95(11): 3190-3202.
- [3] Sasse J, Martinoia E, Northen T. Feed your friends; do plant exudates shape the root microbiome? Trends in Plant Science, 2018, 23(1): 25-41.
- [4] Hou E Q, Chen C R, Kuang Y W, Zhang Y G, Heenan M, Wen D Z. A structural equation model analysis of phosphorus transformations in global unfertilized and uncultivated soils. Global Biogeochemical Cycles, 2016, 30(9): 1300-1309.
- [5] 林惠瑛,元晓春,周嘉聪,曾泉鑫,孙俊,程蕾,林开森,徐建国,程栋梁,陈岳民.海拔梯度变化对武夷山黄山松林土壤磷组分和有效性的影响.生态学报,2021,41(14):5611-5621.
- [6] Zhou J, Wu Y H, Bing H J, Yang Z J, Wang J P, Sun H Y, Sun S Q, Luo J. Variations in soil phosphorus biogeochemistry across six vegetation types along an altitudinal gradient in SW China. CATENA, 2016, 142: 102-111.
- [7] 钟传青,黄为一.不同种类解磷微生物的溶磷效果及其磷酸酶活性的变化.土壤学报,2005,42(2):286-294.
- [8] Wei X M, Ge T D, Zhu Z K, Hu Y J, Liu S L, Li Y, Wu J S, Razavi B S. Expansion of rice enzymatic rhizosphere: temporal dynamics in response to phosphorus and cellulose application. Plant and Soil, 2019, 445(1): 169-181.
- [9] Tan H, Barret M, Mooij M J, Rice O, Morrissey J P, Dobson A, Griffiths J B, O'Gara F. Long-term phosphorus fertilisation increased the diversity of the total bacterial community and the *phoD* phosphorus mineraliser group in pasture soils. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(6): 661-672.
- [10] Vershinina O A, Znamenskaya L V. The *pho* regulons of bacteria. Microbiology, 2002, 71(5): 497-511.
- [11] De Feudis M, Cardelli V, Massaccesi L, Bol R, Willbold S, Cocco S, Corti G, Agnelli A. Effect of beech (*Fagus sylvatica* L.) rhizosphere on phosphorous availability in soils at different altitudes (Central Italy). Geoderma, 2016, 276: 53-63.
- [12] 黄茜,鲍文.凉山州乡村旅游发展的气候因素影响分析.农业技术与装备,2018,(6):78-80.
- [13] 吴彦,吴宁,和献锋,蒋祺,李恒,卢涛.攀枝花地区麻疯树人工林群落土壤特性.长江流域资源与环境,2008,17(S1):54-59.
- [14] 刘丹,游郭虹,宋小艳,胡雷,柳杨,王长庭.施磷对川西北高寒草地土壤磷形态及有效性的影响.生态学报,2023,43(6):2378-2387.
- [15] 高亚君,李亚娟,姜智英,达朝玲,胡蕊梅.不同退化程度高寒草甸土壤磷素含量与碱性磷酸酶活性研究.草原与草坪,2022,42(5):81-87.
- [16] 鲍士旦.土壤农化分析.3版.北京:中国农业出版社,2000.
- [17] Chang A C, Page A L, Sutherland F H, Grgurevic E. Fractionation of phosphorus in sludge-affected soils. Journal of Environmental Quality, 1983,

- 12(2): 286-290.
- [18] Buehler S, Oberson A, Rao I M, Friesen D K, Frossard E. Sequential phosphorus extraction of a P-labeled oxisol under contrasting agricultural systems. *Soil Science Society of America Journal*, 2002, 66(3): 868.
- [19] Ivanoff D B, Reddy K R, Robinson S. Chemical fractionation of organic phosphorus in selected histosols. *Soil Science*, 1998, 163(1): 36-45.
- [20] Sakurai M, Wasaki J, Tomizawa Y, Shinano T, Osaki M. Analysis of bacterial communities on alkaline phosphatase genes in soil supplied with organic matter. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2008, 54(1): 62-71.
- [21] 朱秋莲, 邢肖毅, 张宏, 安韶山. 黄土丘陵沟壑区不同植被区土壤生态化学计量特征. *生态学报*, 2013, 33(15): 4674-4682.
- [22] 田自强, 陈玥, 赵常明, 谢宗强, 陈伟烈. 中国神农架地区的植被制图及植物群落物种多样性. *生态学报*, 2004, 24(8): 1611-1621.
- [23] Xiao K Q, Zhao Y, Liang C, Zhao M Y, Moore O W, Otero-Fariña A, Zhu Y G, Johnson K, Peacock C L. Introducing the soil mineral carbon pump. *Nature Reviews Earth & Environment*, 2023, 4: 135-136.
- [24] 刘超, 王洋, 王楠, 王根轩. 陆地生态系统植被氮磷化学计量研究进展. *植物生态学报*, 2012, 36(11): 1205-1216.
- [25] 任常琦, 王进闯, 程汉亭, 邹雨坤, 李勤奋. 不同林龄橡胶 (*Hevea brasiliensis*) 林土壤微生物群落和磷组分的变化. *生态学报*, 2017, 37(23): 7983-7993.
- [26] Hedley M J, Stewart J W B, Chauhan B S. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Science Society of America Journal*, 1982, 46(5): 970-976.
- [27] 刘雪. 不同海拔梯度对黄山松林土壤磷组分的影响. *中国林副特产*, 2024(1): 21-23.
- [28] 庞凤, 陶晓秋, 黄玫, 叶利华, 张海燕, 杨雪, 韶济明. 四川省植烟区土壤肥力评价. *中国烟草科学*, 2013, 34(1): 40-44.
- [29] Chu H Y, Gao G F, Ma Y Y, Fan K K, Delgado-Baquerizo M. Soil microbial biogeography in a changing world: recent advances and future perspectives. *mSystems*, 2020, 5(2): e00803-19.
- [30] Bayranvand M, Akbarinia M, Salehi Jouzani G, Gharechahi J, Kooch Y, Baldrian P. Composition of soil bacterial and fungal communities in relation to vegetation composition and soil characteristics along an altitudinal gradient. *FEMS Microbiology Ecology*, 2021, 97(1): fiae201.
- [31] Rfaki A, Zennouhi O, Aliyat F Z, Nassiri L, Ibhijjen J. Isolation, selection and characterization of root-associated rock phosphate solubilizing bacteria in Moroccan wheat (*Triticum aestivum* L.). *Geomicrobiology Journal*, 2020, 37(3): 230-241.
- [32] Sakurai M, Wasaki J, Tomizawa Y, Shinano T, Osaki M. Analysis of bacterial communities on alkaline phosphatase genes in soil supplied with organic matter. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2008, 54(1): 62-71.
- [33] Zhang T, Li Y F, Chang S X, Jiang P K, Zhou G M, Liu J, Lin L. Converting paddy fields to Lei bamboo (*Phyllostachys praecox*) stands affected soil nutrient concentrations, labile organic carbon pools, and organic carbon chemical compositions. *Plant and Soil*, 2013, 367(1): 249-261.
- [34] 王智慧, 蒋先军. 紫色土中微生物群落结构及功能特征对土壤 pH 的差异响应. *环境科学*, 2022, 43(7): 3876-3883.
- [35] Janssen P H. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(3): 1719-1728.
- [36] Jones R T, Robeson M S, Lauber C L, Hamady M, Knight R, Fierer N. A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analyses. *The ISME Journal*, 2009, 3(4): 442-453.
- [37] Shen C C, Xiong J, Zhang H Y, Feng Y Z, Lin X G, Li X Y, Liang W, Chu H. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 57: 204-211.
- [38] Liu S W, Zeng J X, Yu H, Wang C, Yang Y F, Wang J J, He Z L, Yan Q Y. Antimony efflux underpins phosphorus cycling and resistance of phosphate-solubilizing bacteria in mining soils. *The ISME Journal*, 2023, 17(8): 1278-1289.
- [39] Aszalós J M, Szabó A, Megyes M, Anda D, Nagy B, Borsodi A K. Bacterial diversity of a high-altitude permafrost thaw pond located on Ojos del Salado (dry *Andes*, altiplano-*Atacama* region). *Astrobiology*, 2020, 20(6): 754-765.
- [40] Zabel F, Delzeit R, Schneider J M, Seppelt R, Mauser W, Václavík T. Global impacts of future cropland expansion and intensification on agricultural markets and biodiversity. *Nature Communications*, 2019, 10: 2844.
- [41] Xiao L, Huang Y M, Zhao J F, Zhou J Y, Abbas F. Effects of planting structure on soil water-stable aggregates, microbial biomass and enzyme activity in a catchment of Loess Plateau Terraces, China. *Applied Soil Ecology*, 2021, 159: 103819.
- [42] Wang J T, Zheng Y M, Hu H W, Zhang L M, Li J, He J Z. Soil pH determines the alpha diversity but not beta diversity of soil fungal community along altitude in a typical Tibetan forest ecosystem. *Journal of Soils and Sediments*, 2015, 15(5): 1224-1232.
- [43] 李梦佳, 何中声, 江蓝, 谷新光, 晋梦然, 陈博, 刘金福. 戴云山物种多样性与系统发育多样性海拔梯度分布格局及驱动因子. *生态学报*, 2021, 41(3): 1148-1157.
- [44] Samaddar S, Chatterjee P, Truu J, Anandham R, Kim S, Sa T M. Long-term phosphorus limitation changes the bacterial community structure and functioning in paddy soils. *Applied Soil Ecology*, 2019, 134: 111-115.