

DOI: 10.20103/j.stxb.202312202767

李佳佳, 段晓敏, 代路丹, 史忠冉, 回新蕊, 杨晓东, 刘建利, 李靖宇. 腾格里沙漠藓结皮微生物组介导的碳氮代谢偶联. 生态学报, 2024, 44(16): 7334-7346.

Li J J, Duan X M, Dai L D, Shi Z R, Hui X R, Yang X D, Liu J L, Li J Y. The mossy crusts microbiome mediates coupling of carbon and nitrogen metabolism in the Tengger Desert. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(16): 7334-7346.

腾格里沙漠藓结皮微生物组介导的碳氮代谢偶联

李佳佳^{1,2}, 段晓敏^{1,2}, 代路丹¹, 史忠冉¹, 回新蕊¹, 杨晓东¹, 刘建利^{1,2,3}, 李靖宇^{1,2,3,*}

1 北方民族大学生物科学与工程学院, 银川 750021

2 宁夏特殊生境微生物资源开发与利用重点实验室, 银川 750021

3 国家民委黄河流域农牧交错区生态保护重点实验室, 银川 750021

摘要:生物土壤结皮是生态系统工程师,推动沙漠生态系统碳氮循环。为了进一步了解生物土壤结皮中微生物在碳氮循环中的功能以及偶联机制,采用宏基因组测序的方法分析了腾格里藓结皮附着土(BRS)和藓结皮抖落土(BBS)中与碳氮代谢相关的基因多样性。研究表明丰度较高的优势菌门均参与到了碳代谢过程中,绿弯菌门对BBS中丰度较高的碳代谢路径的贡献显著高于BRS($P<0.001$)。腾格里沙漠藓结皮微生物组中碳氮代谢存在偶联作用,异化性硝酸盐还原与碳代谢途径呈显著正相关($P<0.05$),在藓结皮微生物组中反硝化作用和磷酸戊糖途径、从头嘌呤生物合成、赖氨酸生物合成显著相关($P<0.05$),BRS微生物组中与碳氮代谢相关的基因间的网络连通度更高,基因间相互作用比BBS更复杂。且全磷(TP)和全氮(TN)是影响藓结皮中碳氮相关基因的重要因子。研究结果可为认识土壤微生物对养分积累的作用和碳氮代谢的偶联提供宏基因组视角。

关键词:宏基因组测序;土壤微生物;土壤养分;碳氮偶联

The mossy crusts microbiome mediates coupling of carbon and nitrogen metabolism in the Tengger Desert

LI Jiajia^{1,2}, DUAN Xiaomin^{1,2}, DAI Ludan¹, SHI Zhongran¹, HUI Xinrui¹, YANG Xiaodong¹, LIU Jianli^{1,2,3}, LI Jingyu^{1,2,3,*}

1 College of Biological Science & Engineering, North Minzu University, Yinchuan 750021, China

2 Ningxia Key Laboratory of Microbial Resources Development and Applications in Special Environment, Yinchuan 750021, China

3 Key Laboratory of Ecological Protection of Agro-pastoral Ecotones in the Yellow River Basin, National Ethnic Affairs Commission of the People's Republic of China, Yinchuan 750021, China

Abstract: Biological soil crust (BSC) is recognized as the ecosystem engineer, crucial in hastening the ecological restoration of degraded dryland environments and facilitating the carbon and nitrogen cycles. Mossy crusts, as a stable developmental stage in the succession of BSCs in arid and semi-arid regions, actively participate in the material cycle and energy flow of desert ecosystems. They also provide microhabitats supporting microbial diversity maintenance. Bacteria residing in these environments are integral to nearly all biogeochemical processes, potentially reshaping soil and ecosystem functionality and expediting ecosystem recovery. However, the intricate nature of microbial carbon and nitrogen metabolism poses challenges in understanding how the mossy crust microbiome influences biogeochemical cycling and the interconnected dynamics of the carbon and nitrogen cycles. In this study, we conducted metagenomic sequencing analysis about gene

基金项目:国家自然科学基金(32160306);宁夏自然科学基金(2022AAC03226)

收稿日期:2023-12-20; **网络出版日期:**2024-06-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lijingyu1986@126.com

diversity related to carbon and nitrogen metabolism of microorganisms in soil which was attached to bryophyte (BRS) and soil which was dropped from bryophyte (BBS) in the Tengger Desert. Our aim was to gain a deeper insight into the contribution of microorganisms to the carbon and nitrogen cycle and the mechanism of carbon and nitrogen coupling in biological soil crusts. The results revealed that the dominant bacterial phyla with higher abundance were actively involved in carbon metabolism processes. Notably, the contribution of *Chloroflexi* to the carbon metabolic pathway in BBS was significantly greater than that in BRS ($P < 0.001$). Furthermore, we found a coupling effect between carbon and nitrogen metabolism in the microbiome of mossy crusts in the Tengger Desert. For instance, dissimilatory nitrate reduction showed a positive correlation with carbon metabolic pathways ($P < 0.05$). Denitrification was closely linked to the pentose phosphate pathway, 3-Hydroxypropionate bi-cycle, and lysine biosynthesis in the microbiome of mossy crusts ($P < 0.05$). BSCs influence the intricacy and resilience of bacterial networks within both the biocrust and subsoil layers of the Tengger Desert. Moreover, we found that the network connectivity of genes associated with carbon and nitrogen metabolism in the BRS microbiome exceeded that of the BBS, showcasing a more intricate web of gene interactions in BRS. Total phosphorus (TP) and total nitrogen (TN) were significant factors influencing the genes related to carbon and nitrogen processes in mossy crusts. The findings offer a metagenomic perspective on the role of soil microorganisms in nutrient accumulation and the coupling of carbon and nitrogen metabolism. This study also unveiled the intricate processes of carbon and nitrogen nutrient cycling as well as energy metabolism in mossy crusts in the Tengger Desert. It offers a foundational understanding of the molecular mechanisms through which microbes engage in carbon and nitrogen cycling.

Key Words: Metagenomic sequencing; soil microorganism; soil nutrients; carbon and nitrogen metabolism coupling

生物土壤结皮(以下简称为生物结皮)由土壤颗粒与不同比例的光合自养生物(例如蓝细菌、藻类、地衣、苔藓植物)和异养生物(例如细菌、真菌、古细菌)组成,生活在土壤最上面的几毫米处^[1]。生物结皮是全世界干旱和半干旱地区的主要土地覆盖类型,覆盖度约 70%,可以分为藻结皮、地衣结皮、藓结皮^[2-3]。生物结皮在加速元素循环、积累土壤养分中发挥了重要作用^[4],主要生态作用之一是它们对碳和氮循环的贡献,约占全球陆地碳固定的 15%和全球氮固定的 40%—85%^[5]。生物结皮维持生态系统的多功能性很大程度上依赖于土壤中的微生物多样性,微生物的组成和功能驱动着土壤生物地球化学循环,也是评估土壤质量和生态系统稳定性的标志^[6-7]。生物结皮土壤中的微生物在转化碳、氮等元素的过程中构成了复杂的微生物功能途径和代谢网络,但是对于这些代谢过程以及代谢之间复杂的耦合机制仍缺乏了解。

生物结皮对碳和氮循环的贡献是由光合作用和氮固定以及异养呼吸对碳和氮的矿化之间的平衡造成的^[8]。藓结皮可以显著提高土壤微生物群落多样性和丰富度,促进土壤养分的循环过程,提高土壤氮、磷和钾养分含量及有效性^[9]。生物结皮土壤中的微生物在碳氮循环过程中发挥着重要作用,其中的微生物群落决定碳代谢和氮代谢功能基因的相对丰度,微生物功能基因丰度的增加促进生态系统的碳和氮代谢^[10]。铁氧化基因 *iro*, 编码 c 型细胞色素的 *OmcS* 基因与参与不稳定有机碳降解、反硝化和氮还原的基因显著相关^[11]。微生物的相互作用,无论是正的还是负的,直接的还是间接的,都可以塑造化学成分和有机质流,导致资源配置的变化,最终影响碳的分布。通常,物种之间的紧密的相互作用导致种群之间的强反馈,从而放大了整个系统对碳循环的影响^[12]。组学方法使得研究微生物群落的潜在功能多样性成为可能,高通量测序技术对于探索群落的代谢潜力有明显优势。利用高通量测序技术能够发现生物结皮中微生物世界内部相互作用以及微生物世界与环境之间的相关性^[11-13]。但是由于微生物碳氮代谢过程本身的复杂性,对藓结皮微生物组调控生物地球化学循环的机制以及碳氮循环的偶联作用尚不清楚。我们需要继续在分子水平探究结皮微生物在碳氮循环中发挥的作用。

本研究对腾格里沙漠藓结皮中附着在植物体上的土壤(BRS)和抖落下来的土壤(BBS)进行了高通量测序,研究土壤中微生物碳氮循环的代谢路径及其耦合机制。我们假设藓结皮 BRS 和 BBS 中的微生物组的碳

氮代谢路径和相关基因之间相互偶联。本文主要回答以下科学问题:(1)BRS 和 BBS 微生物组对碳氮代谢过程的贡献;(2)BRS 和 BBS 微生物组碳氮代谢过程中代谢路径和基因之间的相关关系;(3)影响藓结皮中碳氮相关基因的土壤化学因子。本研究旨在提高对藓结皮土壤微生物组对碳氮循环的贡献以及相关代谢活动的内在分子机制的理解,为陆地生态系统藓结皮碳循环和氮循环的研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 样地概述

研究样地设置在宁夏回族自治区中卫市腾格里沙漠东南缘沙坡头地区(37°32' N, 105°02' E, 海拔 1339 m)。该地区属于大陆性季风气候。年平均气温 9.6 °C, 年平均降水量 180 mm, 年平均风速 2.9 m/s, 土壤为盐碱土^[5,14], 在世界土壤资源参考库(FAO1998)中可被归类为砂土。为防止包兰铁路腾格里沙漠路段被沙埋, 中国在 1956 年开始通过建立麦草方格, 种植固沙灌木(*Caraganakorshinskii*, *Artemisia ordosica* 和 *Hedysarum scoparium*)等方式固定流动沙丘, 在沙漠生态系统恢复中发挥着至关重要的作用。恢复区现在形成了大面积的生物结皮, 覆盖度约 31%^[15], 这被认为是荒漠化逆转的重要指标, 是理想的实验场地^[5]。生物结皮的主要类型有藻类、地衣和苔藓为主的结皮。生物结皮中普遍存在丝状微生物(蓝藻和细菌), 提供了生物结皮大部分内聚力; 地衣和苔藓通过散布在土壤中的生物量和锚定结构保护土壤。生物结皮密集的地上和地下网络能够消除土壤侵蚀, 减缓荒漠化进程^[16]。苔藓植物还可以通过影响土壤有机质和氮可用性促进养分循环^[17]。

1.2 样品的采集与处理

2023 年 3 月 21 日在沙坡头地区选取 5 个 5 m×5 m 藓结皮长势良好的样方。采用 5 点取样法在每个样方中采集 5 个藓结皮层子样(每个子样约 10 cm×10 cm 大小), 共 25 个样品。用无菌铲将藓结皮装入无菌袋中并用记号笔标注。将样品装入冰盒, 立即运回实验室。处理收集藓结皮具体细节描述如下: 先将藓结皮层放入规格为 20×30 cm 的搪瓷托盘中使用精细解剖针破碎, 并用尖嘴镊子将藓类植物逐一剥离分开, 然后将搪瓷托盘中预处理的结皮层样品转移到擦好的 1 mm、0.5 mm、0.2 mm 筛子上过筛。在操作过程中, 藓结皮假根不仅微小且容易断, 故将每个子样滞留在 1 mm、0.5 mm、0.2 mm 筛子的藓类植物收集在一起, 将每个样地 5 个子样按照上述步骤处理后取等量合并为一个样品, 将其放入含有 PBS(phosphate buffer solution)缓冲液的 100 mL 锥形瓶中, 置于涡旋振荡仪上震荡至土壤颗粒掉落, 收集悬液, 离心(6000 g, 4 °C, 20 min), 弃上清液, 得到附着在苔藓植物上的土壤, 标记为 BRS。将每个样方过 1 mm 筛的 5 个子土样混合, 即为苔藓植物上抖落的土壤, 标记为 BBS。一部分样品立即放入液氮速冻并置于 -80 °C 超低温冰箱保存^[18], 另外一部分样品风干用于土壤化学性质的测定。

1.3 土壤化学性质测定

土壤有机碳(TOC)测定采用外热源法的重铬酸钾氧化还原滴定法, 氧化还原指示剂用邻啡罗啉。土壤全氮(TN)、土壤铵态氮(NH₄⁺-N)采用凯氏定氮法。土壤全磷(TP)采用 NaOH 熔融—钼锑抗比色法。土壤硝态氮(NO₃⁻-N)采用紫外分光光度法测定。

1.4 土壤样品 DNA 提取

利用 E.Z.N.A.® Soil DNA Kit 试剂盒进行样品 DNA 抽提。完成 DNA 抽提后, 检测 DNA 浓度和纯度, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性。通过 Covaris M220(基因公司, 中国)将 DNA 片段化, 筛选约 400 bp 的片段, 使用 NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq(Bioo Scientific, 美国)构建 PE 文库。使用 Illumina NovaSeq(Illumina, 美国)测序平台进行。原始数据已提交至 NCBI(序列号: PRJNA974860)。

1.5 土壤样品 DNA Illumina 测序

宏基因组测序原始数据通过免费在线 Majorbio I-Sanger 云平台进行数据质控、拼接组装与基因预测、非冗余基因集构建、基因丰度计算、物种与功能注释(<https://www.i-sanger.com>)。简言之, 为了获得高质量的成

对末端读数,使用 fastp (<https://github.com/OpenGene/fastp>, version 0.20.0) 对 reads 3'端和 5'端的 adapter 序列进行质量剪切,去除剪切后长度小于 50 bp、平均碱基质量值低于 20 以及含 N 碱基的 reads^[19]。使用软件 MEGAHIT (<https://github.com/voutcn/megahit>, version 1.1.2) 对优化序列进行拼接组装。在拼接结果中筛选 ≥ 300 bp 的 contigs 作为最终的组装结果^[20]。使用 Prodigal 和 MetaGene (<http://metagene.cb.k.u-tokyo.ac.jp/>) 对拼接结果中的 contigs 进行 ORFs 预测。选择核酸长度大于等于 100bp 的基因,并将其翻译为氨基酸序列^[21–22]。用 CD-HIT (<http://www.bioinformatics.org/cd-hit/>, version 4.6.1) 对所有样品预测出来的基因序列进行聚类(参数为:90% identity, 90% coverage),每类取最长的基因作为代表序列,构建非冗余基因集^[23]。使用 SOAPaligner 软件 (<http://soap.genomics.org.cn/>, version 2.21),分别将每个样品的高质量 reads 与非冗余基因集进行比对 (95% identity),统计基因在对应样品中的丰度信息^[24]。使用 Diamond (<http://www.diamondsearch.org/index.php>, version 0.8.35) 将非冗余基因集的氨基酸序列与 NR 数据库进行比对 (BLASTP 比对参数设置期望值 e-value 为 $1e-5$),并通过 NR 库对应的分类学信息数据库获得物种注释,然后使用物种对应的基因丰度总和计算该物种的丰度^[25]。使用 Diamond 将非冗余基因集的氨基酸序列与 KEGG 数据库 KEGG PATHWAY Database (genome.jp) 进行比对 (BLASTP 比对参数设置期望值 e-value 为 $1e-5$)。获得基因对应的 KEGG 功能^[25]。

藓结皮 BBS 和 BRS 微生物组参与碳、氮的功能代谢基因集基于 KEGG 注释结果进行筛选。碳循环功能基因集合并了碳水化合物代谢 (Carbohydrate metabolism)、碳固定 (Carbon fixation)、脂质代谢 (Lipid metabolism)、核酸代谢 (Nucleotide metabolism)、氨基酸代谢 (Amino acid metabolism)。氮循环功能基因集依据 KEGG 数据库中三级水平氮代谢进行筛选。

1.6 数据分析与可视化

KEGG 代谢路径差异分析丰度计算方法为 Reads Number,检验方法为 Wilcoxon 秩和检验,双尾检验,显著性水平为 0.05,多重检验校正为 *fdr*,多重检验校正显著性水平为 1,CI 计算方法为 bootstrap0.95。微生物物种对碳氮代谢路径的贡献度为参与该代谢路径的物种丰度的平均数,差异显著性采用单因素方差分析。碳氮代谢和基因丰度计算方法为 RPKM。微生物碳循环和氮循环代谢路径相关关系的热图采用 R 语言 *corrplot* 包计算并可视化。网络图采用 *igraph*, *Hmisc*, *psych* 包计算,用 Gephi 构建网络,点代表基因,边代表相关性(相关性计算方法为 *spearman*),计算特征向量中心性分析基因点的重要性,数据分析均采用 R4.2.1。

2 结果与分析

2.1 藓结皮中微生物组对碳氮代谢途径的贡献

结果表明,丰度较高的碳代谢途径有柠檬酸循环、还原柠檬酸循环、柠檬酸循环(二次碳氧化)、糖酵解、二羧酸-羟基丁酸循环、亮氨酸降解、从头嘌呤生物合成、3-羟基丙酸脂双循环、磷酸戊糖途径、赖氨酸生物合成,丰度较高的氮代谢途径有异化性硝酸盐还原、同化性硝酸盐还原、反硝化作用。在藓结皮中,丰度较高的优势菌门有放线菌门、变形菌门、酸杆菌门、绿弯菌门、浮霉菌门。分析藓结皮中的优势菌门对丰度较高的碳氮代谢的贡献发现,藓结皮优势菌门均参与到较高丰度的碳代谢过程中。绿弯菌门对 BRS 碳代谢的贡献显著低于 BBS(图 1)。放线菌门对 BRS 中反硝化作用、完全硝化作用的贡献显著高于 BBS(图 1)。绿弯菌门对 BRS 中异化性硝酸盐还原的贡献显著低于 BBS(图 1)。变形菌门对 BRS 中异化性硝酸盐还原、同化性硝酸盐还原、反硝化作用、完全硝化作用、氮固定的贡献显著高于 BBS(图 1)。藓结皮微生物碳代谢中柠檬酸循环、还原柠檬酸循环在 BBS 中的丰度显著高于 BRS(图 2)。

2.2 藓结皮中微生物碳氮循环代谢路径相关关系

对丰度前 10 的碳代谢路径和氮代谢路径进行相关性分析(图 3)。苔藓植物上抖落的土壤(BBS)和附着在苔藓上的土壤(BRS)微生物组的碳代谢路径呈极显著正相关($P < 0.001$)。BBS 和 BRS 微生物组的氮代谢路径过程中,反硝化作用和完全硝化作用、异化性硝酸盐还原呈显著正相关($P < 0.05$)。

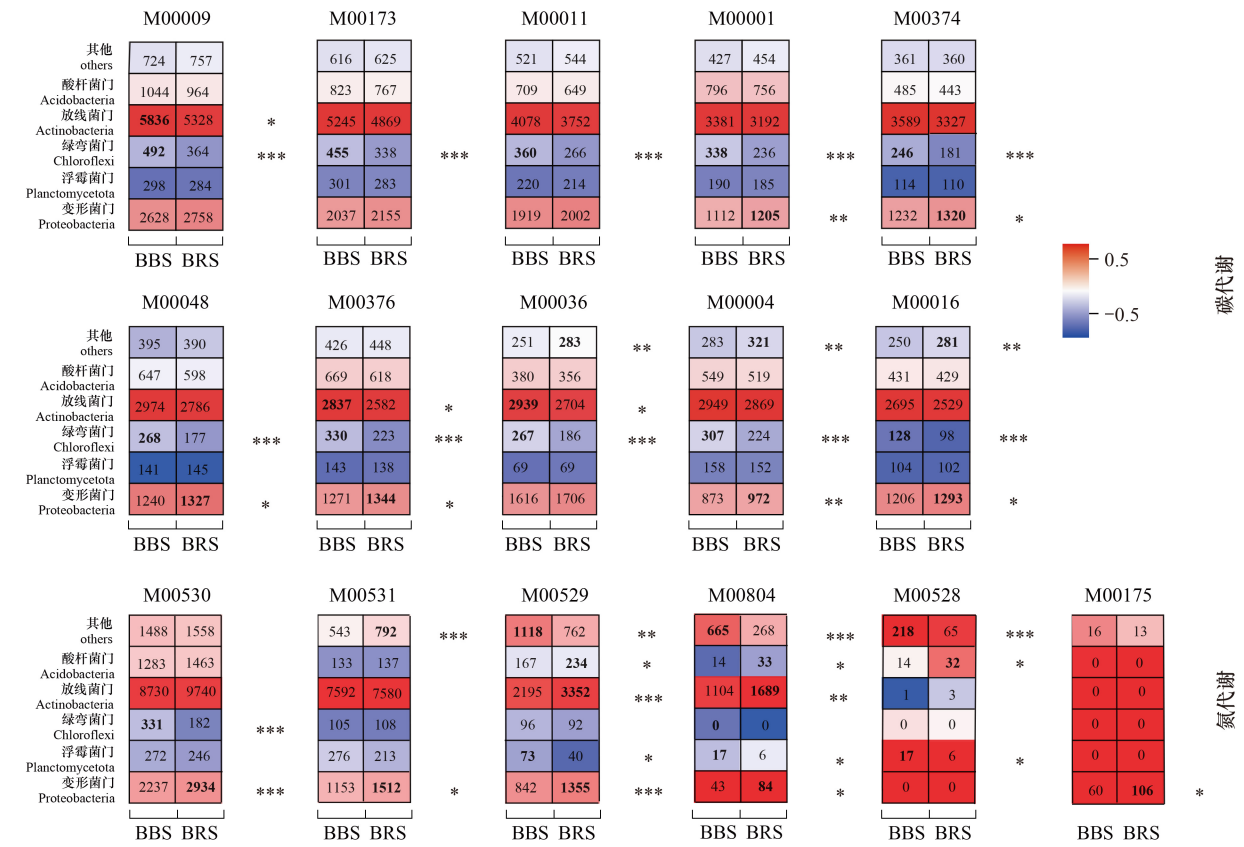


图 1 BRS 和 BBS 中的优势细菌门(丰度前五)对碳代谢(丰度前十)和氮代谢的贡献

Fig.1 Contribution of dominant bacterial phylum (top five abundance) to carbon metabolism (top ten abundance) and nitrogen metabolism in BRS and BBS

图中的数字代表参与代谢途径的微生物门的平均丰度。BRS:附着在植物体上的土壤 soil which was attached to bryophyte;BBS:植物体上抖落下来的土壤 soil which was dropped from bryophyte;M000009:柠檬酸盐循环 Citrate cycle (TCA cycle, Krebs cycle);M00173:还原柠檬酸盐循环 Reductive citrate cycle (Arnon-Buchanan cycle); M00011:Citrate cycle, second carbon oxidation, 2-oxoglutarate => oxaloacetate;柠檬酸循环,二次碳氧化 M00001:糖酵解 Glycolysis (Embden-Meyerhof pathway), glucose => pyruvate;; M00374:二羧酸-羟基丁酸循环 Dicarboxylate-hydroxybutyrate cycle; M00048:亮氨酸降解 De novo purine biosynthesis, PRPP + glutamine => IMP; M00376:从头嘌呤生物合成 3-Hydroxypropionate bi-cycle; M00036:3-羟基丙酸双循环 Leucine degradation, leucine => acetoacetate + acetyl-CoA; M00004:磷酸戊糖途径 Pentose phosphate pathway (Pentose phosphate cycle); M00016:赖氨酸生物合成 Lysine biosynthesis, succinyl-DAP pathway, aspartate=>lysine;; M00530:异化硝酸盐还原 Dissimilatory nitrate reduction; M00531:同化硝酸盐还原 Assimilatory nitrate reduction; M00529:反硝化 Denitrification; M00804:完全硝化 Complete nitrification, comammox; M00528:硝化作用 Nitrification; M00175:固氮 Nitrogen fixation

BBS 和 BRS 微生物组中异化性硝酸盐还原和碳代谢呈显著正相关,反硝化作用和二羧酸-羟基丁酸循环、亮氨酸降解、还原柠檬酸循环、柠檬酸循环、柠檬酸循环二次碳氧化呈显著正相关(图 3)。在 BBS 微生物组中反硝化作用和磷酸戊糖途径、从头嘌呤生物合成、赖氨酸生物合成呈显著正相关(图 3)。在 BRS 微生物组中反硝化作用和磷酸戊糖途径、从头嘌呤生物合成、赖氨酸生物合成呈显著负相关(图 3)。

2.3 藓结皮微生物与碳氮循环相关基因之间的网络分析

本研究分析了丰度前 10 的碳代谢路径和氮代谢中微生物功能基因之间的网络关系(图 4)。BBS 和 BRS 碳氮代谢基因网络中正相关关系远多于负相关关系。且 BRS 功能基因的网络连通度和复杂度高于 BBS(BBS 有 197 个节点,2113 条边。BRS 有 197 个节点,2838 条边)。

特征向量中心性可以确定基因的重要程度,特征向量中心性值越接近 1,表示该基因越重要(表 1,表 2),表 1、表 2 展示了特征向量中心性值>0.6 的值。表中可以看出 BBS 和 BRS 都重要的基因有 ACAT/atoB、

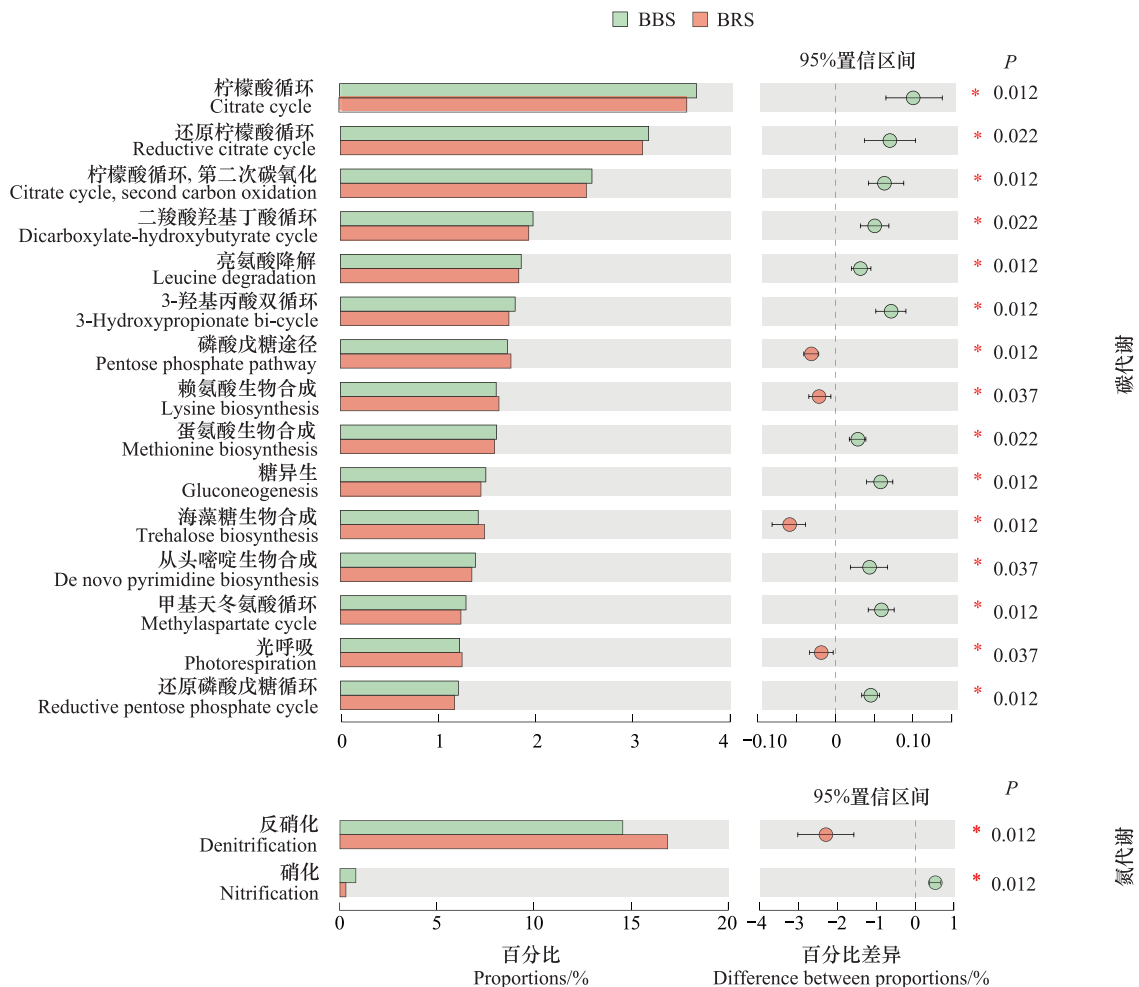


图2 BRS 和 BBS 中微生物组的碳代谢和氮代谢路径差异

Fig.2 Differences in carbon metabolism pathways and nitrogen metabolism pathways of the microbiome in BRS and BBS

E2.2.1.1/*tktA/iktB*、*CS/gltA*、*PurL*、*sdhB/frdB*、*gltB*、*GDH2*。BBS 中重要的基因有 *ACO/acnA*、*PK/pyk*、*glk*、*purB*、*ADSL*、*MUT*、*argD*、*TPI/tpiA*、*BCKDHA/bkdA1*、*PGAM/gpmA*、*mgo*、*ccsA*。BRS 重要的基因有 *ppdK*、*DLD/lpd*、*pdhD*、*purF*、*PPAT*、*kgd*、*IDH1/IDH2/icd*、*korA*、*oorA*、*oforA*、*TALDO1/talB/talA*、*PC/pyc*、*dapF*、*E4.2.1.2A/fumA*、*fumB*、*glnA/GLUL*、*ncd2/npd*、*nirK/nirS*、*narG/narZ/nxrA*、*gudB/rocG*。

2.4 影响藓结皮微生物碳氮循环基因的土壤化学因子

RDA 可以展示环境因子对碳氮代谢相关功能基因的相对影响大小。与碳代谢相关的基因和土壤化学性质的冗余分析 (RDA) 表明 RDA1 和 RDA2 分别可以解释提取排序轴的 61.12% 和 7.95%，氮代谢相关的基因和土壤化学性质的冗余分析 (RDA) 表明 RDA1 和 RDA2 分别可以解释提取排序轴的 71.76% 和 5.12%，TP 和 TN 是影响藓结皮中碳氮相关基因丰度的重要因子 (图 5)。

3 讨论

土壤微生物是有机碳和养分循环的关键驱动因素^[16]。其多样性与各种生态系统功能 (养分循环、分解作用和植物生产力等) 呈正相关^[12]。本研究发现腾格里沙漠藓结皮中的优势菌门影响着土壤的碳循环, 表明这些微生物积极的参与到了藓结皮土壤碳库的动态变化过程中。碳元素是微生物自身物质能量代谢的基础, 碳链是核酸、蛋白质等生物大分子的基本骨架, 各种含碳化合物构成了结构复杂、代谢多样的有机体, 这些微生物的存在通过代谢过程提高土壤养分。本研究证实了微生物物种会对代谢路径产生影响, 且不同的微生物对

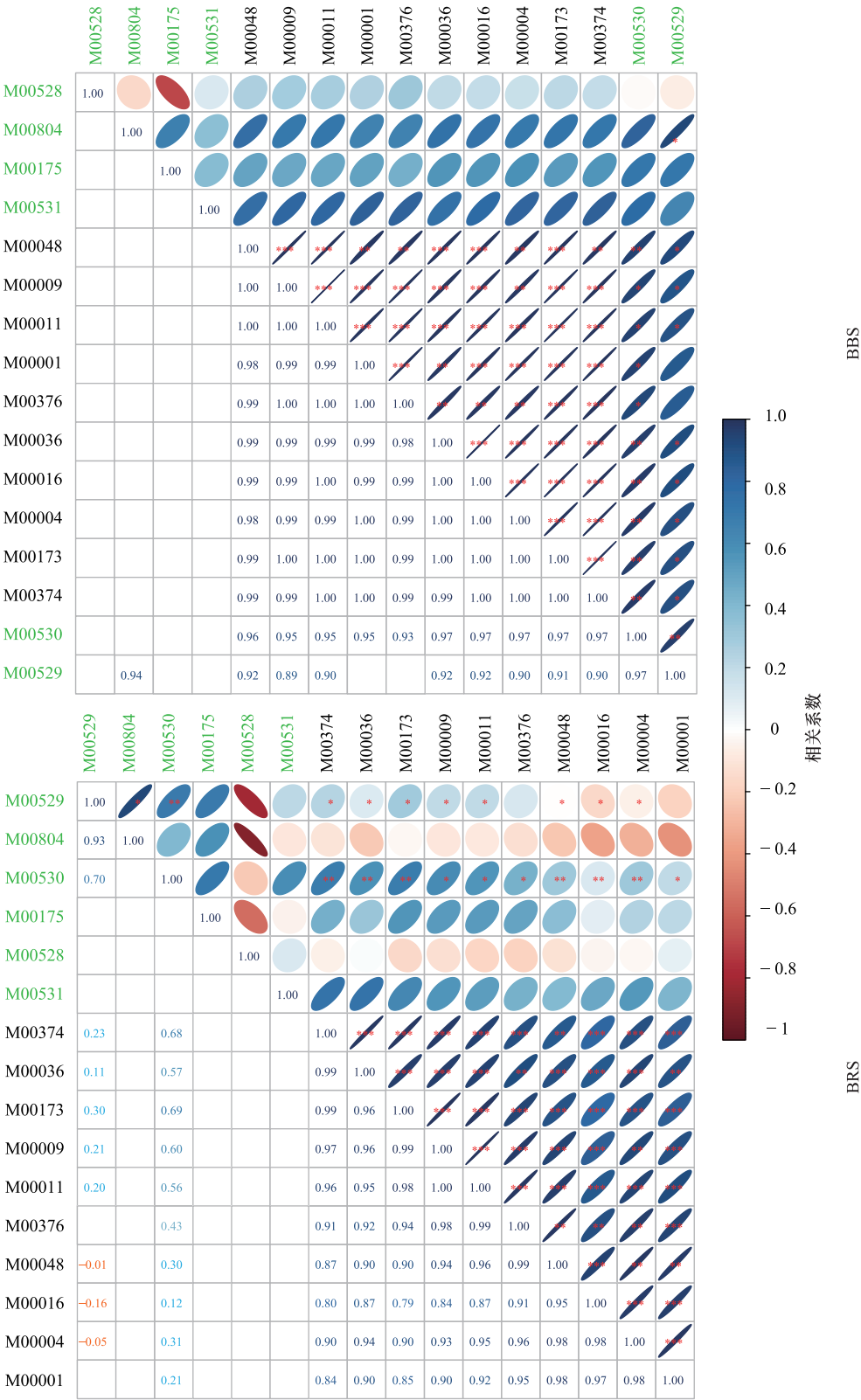


图 3 BBS 和 BRS 微生物组碳氮代谢途径相关性分析

Fig.3 Correlation analysis of carbon and nitrogen metabolism pathways in BBS and BRS of microbiomes

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$

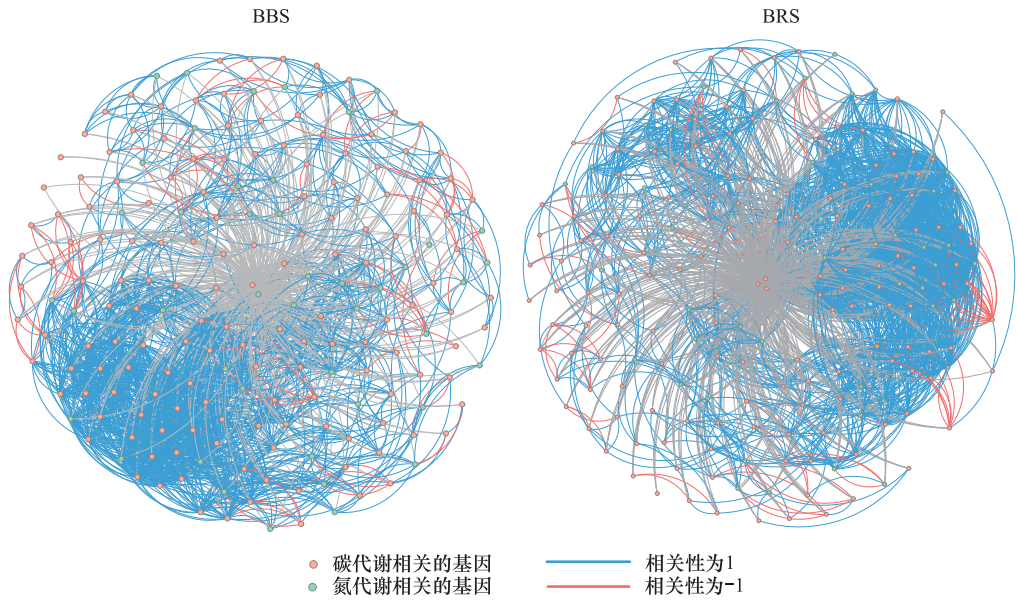


图 4 BBS 和 BRS 碳代谢和氮代谢基因相关关系网络图

Fig.4 Network diagram illustrating the correlation between carbon metabolism and nitrogen metabolism genes in BBS and BRS
BBS 有 197 个节点,2113 条边。BRS 有 197 个节点,2838 条边

表 1 BBS 微生物组中与碳氮代谢基因的特征向量中心性

Table 1 Eigencentality of genes associated with carbon and nitrogen metabolism in the BBS microbiome

基因 Gene	基因编码的酶 Enzyme	代谢 Metabolism	特征向量中心性 Eigencentality
<i>ACAT, atoB</i>	乙酰辅酶 A 乙酰转移酶	碳代谢	0.610
<i>ACO, acnA</i>	乌头酸水合酶	碳代谢	0.610
<i>E2.2.1.1, tktA, tktB</i>	转酮醇酶	碳代谢	0.610
<i>CS, gltA</i>	柠檬酸合酶	碳代谢	0.610
<i>purL</i>	磷酸核糖甲酰甘氨酸合酶亚基 PurL	碳代谢	0.610
<i>PK, pyk</i>	丙酮酸激酶	碳代谢	0.610
<i>glk</i>	葡萄糖激酶	碳代谢	0.610
<i>purB, ADSL</i>	腺苷琥珀酸裂解酶	碳代谢	0.610
<i>sdhB, frdB</i>	琥珀酸脱氢酶铁硫亚基	碳代谢	0.610
<i>MUT</i>	甲基丙二酰辅酶 A 变位酶	碳代谢	0.610
<i>argD</i>	乙酰鸟氨酸/N-琥珀酰二氨基庚二酸氨基转氨酶	碳代谢	0.610
<i>TPI, tpiA</i>	磷酸丙糖异构酶 (TIM)	碳代谢	0.610
<i>BCKDHA, bkdA1</i>	2-氧代异戊酸脱氢酶 E1 组分亚基 α	碳代谢	0.610
<i>PGAM, gpmA</i>	2,3-二磷酸甘油酸依赖性磷酸甘油酸变位酶	碳代谢	0.610
<i>mgo</i>	苹果酸脱氢酶(酮)	碳代谢	0.610
<i>ccsA</i>	柠檬酰辅酶 A 合成酶大亚基	碳代谢	0.610
<i>gltB</i>	谷氨酸合酶(NADPH)大链	氮代谢	0.610
<i>GDH2</i>	谷氨酸脱氢酶	氮代谢	0.610

不同的代谢途径贡献度不同^[26]。放线菌门与降解土壤有机碳有关,并且能够在低营养环境中繁衍生息^[27],本研究发现,丰度最高的放线菌门对碳氮代谢过程的贡献度较高,这表明放线菌门在沙漠环境中的生存能力极强,与以往的研究一致^[28]。绿弯菌门代谢过程多样、成员丰富、分布广泛、部分属通过 3-羟基丙酸循环(3-HP)固定 CO₂^[29],本研究表明绿弯菌门对 BBS 和 BRS 中丰度较高的碳代谢路径的贡献有显著差异,说明它的

基因参与了含碳物质的循环,而且能量代谢和物质代谢途径显著富集于 BBS,也表明绿弯菌门在 BBS 中代谢更活跃,对加速 BBS 的养分循环贡献更高。本研究还发现绿弯菌门参与了氮循环的异化性硝酸盐还原、同化硝酸盐还原以及反硝化过程,且绿弯菌门对 BBS 中异化性硝酸盐还原的贡献显著高于 BRS,表明绿弯菌门在 BBS 中产生 NH_4^+ 的潜力更高。

表 2 BRS 微生物组中与碳氮代谢基因的特征向量中心性

Table 2 Eigencentality of genes associated with carbon and nitrogen metabolism in the BRS microbiome

基因 Gene	基因编码的酶 Enzyme	代谢 Metabolism	特征向量中心性 Eigencentality
<i>ACAT, atoB</i>	乙酰辅酶 A 乙酰转移酶	碳代谢	0.642
<i>E2.2.1.1, tktA, tktB</i>	转酮醇酶	碳代谢	0.642
<i>ppdK</i>	丙酮酸、正磷酸二激酶	碳代谢	0.642
<i>CS, gltA</i>	柠檬酸合酶	碳代谢	0.642
<i>DLD, lpd, pdhD</i>	二氢硫辛酰脱氢酶	碳代谢	0.642
<i>purL</i>	磷酸核糖甲酰甘氨酸合酶亚基 PurL	碳代谢	0.642
<i>purF, PPAT</i>	酰胺磷酸核糖转移酶	碳代谢	0.642
<i>kgd</i>	多功能 2-氧代戊二酸代谢酶	碳代谢	0.642
<i>IDH1, IDH2, icd</i>	异柠檬酸脱氢酶	碳代谢	0.642
<i>sdhB, frdB</i>	琥珀酸脱氢酶铁硫亚基	碳代谢	0.642
<i>korA, oorA, oforA</i>	2-氧代戊二酸/2-氧代酸铁氧还蛋白氧化还原酶亚基 α	碳代谢	0.642
<i>TALDO1, talB, talA</i>	转醛缩酶	碳代谢	0.642
<i>PC, pyc</i>	丙酮酸羧化酶	碳代谢	0.642
<i>dapF</i>	二氨基庚二酸差向异构酶	碳代谢	0.642
<i>E4.2.1.2A, fumA, fumB</i>	富马酸水合酶, I 类	碳代谢	0.642
<i>glnA, GLUL</i>	谷氨酰胺合成酶	氮代谢	0.642
<i>gltB</i>	谷氨酸合酶(NADPH)大链	氮代谢	0.642
<i>GDH2</i>	谷氨酸脱氢酶	氮代谢	0.642
<i>ncd2, npd</i>	硝酸单加氧酶	氮代谢	0.642
<i>nirK</i>	亚硝酸盐还原酶(NO-forming)	氮代谢	0.642
<i>narG, narZ, nxrA</i>	硝酸盐还原酶/亚硝酸盐氧化还原酶, α 亚基	氮代谢	0.642
<i>gudB, rocG</i>	谷氨酸脱氢酶	氮代谢	0.642
<i>nirS</i>	亚硝酸盐还原酶(NO-forming)/羟胺还原酶	氮代谢	0.642

土壤中微生物(包括光能自养、化能异养微生物等)的合成和分解代谢推动着元素循环和能量代谢^[30–32]。柠檬酸循环(TCA 循环,Krebs 循环)是联系有机体物质代谢和能量代谢的枢纽,也是获得能量的最有效方式,本研究表明柠檬酸循环是腾格里沙漠藓结皮土壤中丰度最高的碳代谢路径。还原性柠檬酸循环(rTCA 循环)是柠檬酸循环的逆循环,此途径包含氧敏感酶,厌氧和微需氧微生物通过 rTCA 循环固定碳^[12],它是旱地农田土壤中的自养微生物代谢时丰度较高的碳固定途径之一^[33]。柠檬酸循环、还原性柠檬酸循环在 BBS 中的丰度显著高于 BRS,表明 BBS 中的碳代谢潜力显著高于 BRS。这可能与土壤温度、湿度、土壤颗粒异质性导致的微生物群落结构的差异有关。藓结皮土壤中的微生物组的碳代谢途径之间是紧密联系的。柠檬酸循环、还原性柠檬酸循环等重要的碳代谢路径与亮氨酸降解、从头嘌呤生物合成呈极显著正相关,这与微生物体内的代谢反应有关,如:亮氨酸降解的生成物乙酰辅酶 A 可作为其他重要碳代谢路径(如柠檬酸循环)的反应物。

在许多沙漠(纳米布沙漠、莫哈韦沙漠等)的宏基因组中检测到了 *nrfA* 基因,*nrfA* 编码亚硝酸还原酶,催化异化性硝酸盐过程^[34]。本研究也发现腾格里沙漠藓结皮土壤的氮代谢过程中异化性硝酸盐还原丰度较高,表明异化性硝酸盐还原可能在沙漠中普遍存在。另外,本研究藓结皮中参与反硝化作用的基因丰度较高,

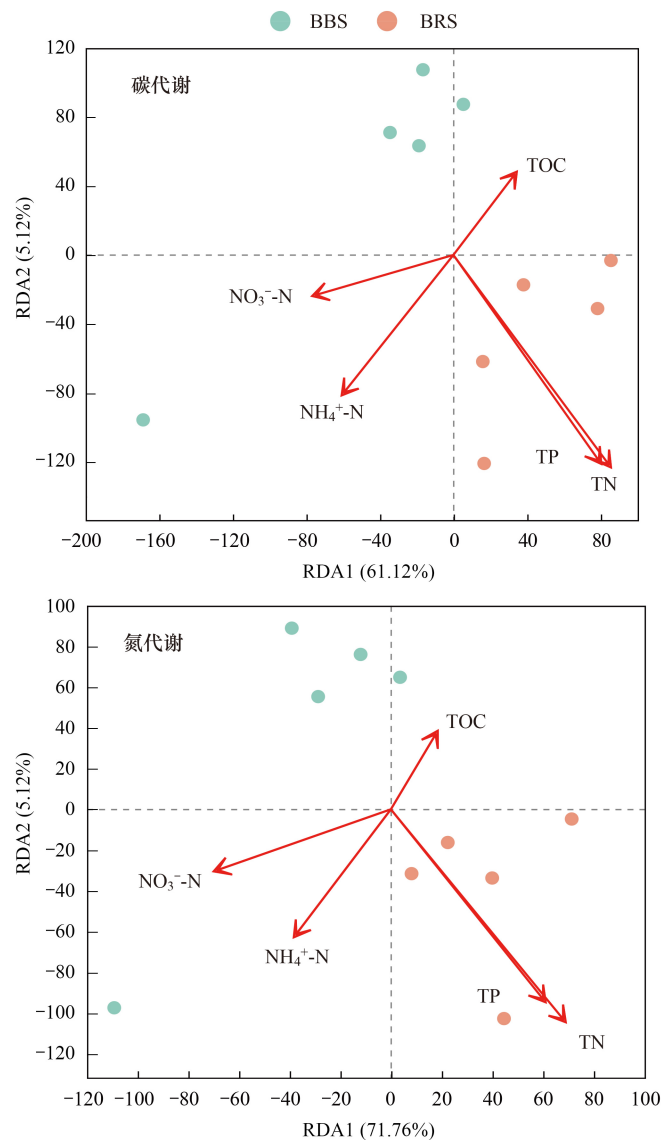


图5 BBS 和 BRS 微生物组中碳代谢基因和氮代谢基因与土壤化学性质的冗余分析

Fig.5 Redundancy analysis of carbon metabolism genes and nitrogen metabolism genes in relation to soil chemical properties in the BBS and BRS microbiomes.

点代表样本,点的不同颜色代表来自不同的分组,点之间的距离代表样本间功能组成的相似性和差异性,环境因子用箭头表示,箭头连线的长度代表某个环境因子与功能基因相关程度的大小,连线越长,说明相关性越大;TOC:土壤有机碳;TN:土壤全氮;TP:土壤全磷;NH₄⁺-N:土壤铵态氮;NO₃⁻-N:土壤硝态氮

表明藓结皮微生物组的反硝化过程有较高的代谢潜力^[10]。反硝化细菌通过反硝化作用,消耗 H⁺ 并产生 CO₂,提高微环境的 pH 值,有利于碳酸盐沉淀^[12],本研究发现腾格里藓结皮在 BRS 中的反硝化作用显著高于 BBS,表明 BRS 微生物积累碳酸盐的潜力更高。但是反硝化作用会造成陆地生态系统 30% 以上的氮损失,且中间产物会导致温室气体的产生^[34]。氮固定过程是一个耗能过程,固定 1 分子氮需要消耗 16 分子 ATP,本研究发现腾格里藓结皮中丰度较高的变形菌门参与了氮固定过程,变形菌门也是内蒙古高原生物结皮的主要固氮微生物群落之一^[35],这表明变形菌门在生物结皮氮固定过程中发挥重要作用。本研究结果表明硝酸盐还原和反硝化在腾格里沙漠藓结皮中丰度较高,与本研究不同,Liu 等^[36]的研究结果表明腾格里沙漠藓结皮中反硝化和氮固定的基因丰度较高,基因丰度的不同可能与降水的差异性有关^[10]。

地球上很大比例的活性碳存在于土壤有机质中,其循环速率与氮有效性密切相关^[37]。碳氮耦合广泛存在于人工湿地、泥炭地、温带草地、喀斯特植被恢复区等生态系统中^[38-41]。生态系统中的碳氮循环是互相关联、互相影响的两个过程。许多实验也证明氮元素会通过改变微生物群落结构影响碳循环,限制净初级生产力^[42-43]。微生物在碳氮循环和元素耦合中扮演了重要角色,微生物相互作用可能引起表型反应,导致碳分配模式和利用效率的变化。然而,由于空间分辨率太大,无法区分土壤质地、深度、地形、微生物群落结构的异质性,土壤中碳氮元素之间许多精细尺度的相互作用没有被明确表示,或者被粗略地认知^[37]。微生物直接通过营养代谢耦合元素循环,并通过氧化态和还原态反应物质的产生间接耦合元素循环^[44]。本研究发现腾格里沙漠藓结皮微生物组中异化性硝酸盐还原和反硝化作用与碳代谢紧密联系,且碳氮基因相互作用网络中,正相关远多于负相关,表明土壤微生物代谢基因间的合作超过了竞争。其他研究表明古尔班通古特沙漠中藓结皮细菌群落中的物种间的合作超过了竞争^[27]。微生物基因的相互作用是否与物种的相互作用有必然联系,需要进一步通过一系列数学统计进行研究。而且,BRS 微生物组中与碳氮代谢相关的基因间相互作用比 BBS 更复杂,基因间的网络连通度更高,表明 BRS 支持着更丰富的群落网络结构,从而提高生态系统的稳定性。土壤 pH 可以通过改变土壤微生物群落结构和代谢特征来调节土壤养分,pH 值是一个重要的土壤属性,它显著影响大部分化学和生化过程,所以 BBS 和 BRS 基因网络连通度的不同可能与 pH 有关^[12]。

土壤微生物是土壤系统养分循环的主要驱动力,是土壤质量的主要决定因素^[45]。生物结皮通过增强土壤微生物多样性和酶活性,实现生物固氮和光合固碳,加速干旱半干旱地区生态系统碳氮循环,从而影响土壤理化性质、改善土壤结构并促进土壤养分积累^[46]。微生物与土壤养分相互作用,土壤特性(如淤泥和粘土含量,养分有效性等)也会影响生物结皮微生物的结构和组成^[10],本研究表明 TN 和 TP 是影响藓结皮微生物中碳氮功能基因的重要因子。Zhao 等^[26]的研究也表明 TN 对腾格里藓结皮微生物中碳氮循环相关的功能基因有显著影响,与本研究一致。除了氮元素,磷元素也影响着腾格里藓结皮碳氮相关的功能基因,磷存在于 DNA、细胞膜等结构中,与氮一起充当必需元素,变形菌、放线菌、酸杆菌等微生物可以将土壤中难以吸收利用的磷转化成可吸收利用的磷。Li 等^[47]对古尔班通古特沙漠藓结皮的研究表明土壤有效养分显著改变了苔藓地下部分的 N、P、K 含量,而苔藓地上部分的养分供给来自于苔藓地下部分,因此,土壤养分对苔藓生长发育起着至关重要的作用。植物-微生物-土壤相互作用深刻影响陆地生态系统中的元素循环^[5]。总之,土壤为植物生长提供栖息地,碳氮等土壤养分影响植物发育,微生物促进元素循环^[9]。藓结皮中微生物的协同作用构建了精密的元素循环过程,但由于土壤环境的异质性、微生物物种的多样性、代谢过程的复杂性,我们对于其分子机制的了解还不充分。研究土壤微生物碳氮循环及其相互作用的过程、机制和驱动因素对于了解陆地碳汇的功能和有效应对气候变化至关重要。组学技术的发展加快了我们对于这一课题的研究,未来可通过多组学结合的方法进一步研究沙漠结皮微生物代谢对生物地球化学循环产生作用的分子机理。

4 结论

微生物代谢耦合了生物地球化学循环,本研究利用宏基因组学技术发现丰度较高的优势菌门均参与到了碳代谢过程中,绿弯菌门对 BBS 中丰度较高的碳代谢路径的贡献显著高于 BRS。本研究表明腾格里藓结皮微生物组中异化性硝酸盐还原与碳代谢途径呈显著正相关,在藓结皮微生物组中反硝化作用和磷酸戊糖途径、从头嘌呤生物合成、赖氨酸生物合成显著相关,BRS 微生物组中与碳氮代谢相关的基因间相互作用比 BBS 更复杂,基因间的网络连通度更高。本研究将有助于进一步从本质上揭示藓结皮在荒漠生态环境中参与碳循环的基本过程及其内在驱动机制,为荒漠生态系统的植被恢复重建与可持续发展和准确预测未来的全球生物地球化学循环提供科学依据。

参考文献 (References):

- [1] Weber B, Belnap J, Büdel B, Antoninka A J, Barger N N, Chaudhary V B, Darrouzet-Nardi A, Eldridge D J, Faist A M, Ferrenberg S, Havrilla C A, Huber-Sannwald E, Issa O M, Maestre F T, Reed S C, Rodriguez-Caballero E, Tucker C, Young K E, Zhang Y M, Zhao Y G, Zhou X B,

- Bowker M A. What is a biocrust? A refined, contemporary definition for a broadening research community. *Biological Reviews*, 2022, 97(5): 1768-1785.
- [2] Li X R, Hui R, Tan H J, Zhao Y, Liu R T, Song N P. Biocrust research in China: recent progress and application in land degradation control. *Frontiers in Plant Science*, 2021, 12: 751521.
- [3] Deng S Q, Zhang D Y, Wang G H, Zhou X J, Ye C R, Fu T R, Ke T, Zhang Y R, Liu Y D, Chen L Z. Biological soil crust succession in deserts through a 59-year-long case study in China: how induced biological soil crust strategy accelerates desertification reversal from decades to years. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 141: 107665.
- [4] Oliveira M F, Maciel-Silva A S. Biological soil crusts and how they might colonize other worlds: insights from these Brazilian ecosystem engineers. *Journal of Experimental Botany*, 2022, 73(13): 4362-4379.
- [5] Song G, Zheng Y, Yang H T, Li X R. Biocrust mediates the complexity and stability of bacterial networks in both biocrust and subsoil layers in the Tengger Desert. *Plant and Soil*, 2023, 490(1-2): 217-237.
- [6] Broadbent A A D, Snell H S K, Michas A, Pritchard W J, Newbold L, Cordero I, Goodall T, Schallhart N, Kaufmann R, Griffiths R I, Schlöter M, Bahn M, Bardgett R D. Climate change alters temporal dynamics of alpine soil microbial functioning and biogeochemical cycling via earlier snowmelt. *The ISME Journal*, 2021, 15(8): 2264-2275.
- [7] Li H, Chen Y X, Yu G L, Rossi F, Huo D, Roberto D P, Cheng X L, Wang W B, Li R H, Stephanie K. Multiple diversity facets of crucial microbial groups in biological soil crusts promote soil multifunctionality. *Global Ecology and Biogeography*, 2021, 30(6): 1204-1217.
- [8] Bertrand I, Ehrhardt F, Alavoine G, Joulain C, Issa O M, Valentin C. Regulation of carbon and nitrogen exchange rates in biological soil crusts by intrinsic and land use factors in the Sahel area. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 72: 133-144.
- [9] 韩志立, 张署军, 曾嘉伟, 徐然亮, 程军回, 陶冶, 张元明, 尹本丰. 温带荒漠灌丛和藓类结皮对土壤养分的贡献研究. *生态学报*, 2024, 44(5): 1951-1961.
- [10] Liu Y B, Zhao L N, Wang Z R, Liu L C, Zhang P, Sun J Y, Wang B Y, Song G, Li X R. Changes in functional gene structure and metabolic potential of the microbial community in biological soil crusts along a revegetation chronosequence in the Tengger Desert. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 126: 40-48.
- [11] Liu Y B, Wang Y S, Wang Z R, Gao T P. Characteristics of iron cycle and its driving mechanism during the development of biological soil crusts associated with desert revegetation. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 164: 108487.
- [12] Wu H W, Cui H L, Fu C X, Li R, Qi F Y, Liu Z L, Yang G, Xiao K Q, Qiao M. Unveiling the crucial role of soil microorganisms in carbon cycling: a review. *The Science of the Total Environment*, 2024, 909: 168627.
- [13] Bodrossy L. The full metagenomics cycle. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(12): 4819-4821.
- [14] Zhao L N, Liu Y B, Yuan S W, Li Z H, Sun J Y, Li X R. Development of archaeal communities in biological soil crusts along a revegetation chronosequence in the Tengger Desert, north central China. *Soil and Tillage Research*, 2020, 196: 104443.
- [15] 王凯厉, 厉萌萌, 刘德权, 张凌基, 刘可欣, 许华, 唐亮, 何明珠, 张珂. 腾格里沙漠不同组成生物结皮特征及其对土壤酶活性的影响. 腾格里沙漠不同组成生物结皮特征及其对土壤酶活性的影响. *生态学报*, 2022, 42(14): 5859-5868.
- [16] Pointing S B, Belnap J. Microbial colonization and controls in dryland systems. *Nature Reviews Microbiology*, 2012, 10: 551-562.
- [17] Wang Z R, Wang Y S, Zhang W L, Liu Y B, Gao T P. Potential complementary functions among bacteria, fungi, and archaea involved in carbon cycle during reversal of desertification. *Land Degradation and Development*, 2020, 32(3): 1581-1587.
- [18] Edwards J, Johnson C, Santos-Medellín C, Lurie E, Podishetty N K, Bhatnagar S, Eisen J A, Sundareshan V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(8): E911-E920.
- [19] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, Gu J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.
- [20] Li D H, Liu C M, Luo R B, Sadakane K, Lam T W. MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, 2015, 31(10): 1674-1676.
- [21] Noguchi H, Park J, Takagi T. MetaGene: prokaryotic gene finding from environmental genome shotgun sequences. *Nucleic Acids Research*, 2006, 34(19): 5623-5630.
- [22] Hyatt D, Chen G L, Locascio P F, Land M L, Larimer F W, Hauser L J. Prodigal: prokaryotic gene recognition and translation initiation site identification. *BMC Bioinformatics*, 2010, 11: 119.
- [23] Fu L M, Niu B F, Zhu Z W, Wu S T, Li W Z. CD-HIT: accelerated for clustering the next-generation sequencing data. *Bioinformatics*, 2012, 28(23): 3150-3152.
- [24] Li R Q, Li Y R, Kristiansen K, Wang J. SOAP: short oligonucleotide alignment program. *Bioinformatics*, 2008, 24(5): 713-714.
- [25] Buchfink B, Xie C, Huson D H. Fast and sensitive protein alignment using DIAMOND. *Nature Methods*, 2015, 12(1): 59-60.
- [26] Zhao L N, Liu Y B, Wang Z R, Yuan S W, Qi J H, Zhang W L, Wang Y S, Li X R. Bacteria and fungi differentially contribute to carbon and nitrogen cycles during biological soil crust succession in arid ecosystems. *Plant and Soil*, 2020, 447(1): 379-392.
- [27] Wang J P, Xiao J S, Zhang Z L, Yang L, Liu Z, Cheng Y T, Wu L. Changes of bacterial community structure, monosaccharide composition and CO₂ exchange along the successional stages of biological soil crusts. *Environmental Geochemistry and Health*, 2023, 45(7): 5387-5400.
- [28] Li J Y, Jin X Y, Zhang X C, Chen L, Liu J L, Zhang H M, Zhang X, Zhang Y F, Zhao J H, Ma Z S, Jin D. Comparative metagenomics of two

- distinct biological soil crusts in the Tengger Desert, China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 140: 107637.
- [29] Rao M P N, Luo Z H, Dong Z Y, Li Q, Liu B B, Guo S X, Nie G X, Li W J. Metagenomic analysis further extends the role of Chloroflexi in fundamental biogeochemical cycles. *Environmental Research*, 2022, 209: 112888.
- [30] Tao F, Huang Y Y, Hungate B A, Manzoni S, Frey S D, Schmidt M W I, Reichstein M, Carvalhais N, Ciais P, Jiang L F, Lehmann J, Wang Y P, Houlton B Z, Ahrens B, Mishra U, Hugelius G, Hocking T D, Lu X J, Shi Z, Viatkin K, Vargas R, Yigini Y, Omuto C, Malik A A, Peralta G, Cuevas-Corona R, Di Paolo L E, Luotto I, Liao C J, Liang Y S, Saynes V S, Huang X M, Luo Y Q. Microbial carbon use efficiency promotes global soil carbon storage. *Nature*, 2023, 618(7967): 981-985.
- [31] Kästner M, Miltner A, Thiele Bruhn S, Liang C. Microbial necromass in soils—linking microbes to soil processes and carbon turnover. *Frontiers in Environmental Science*, 2021, 9: 756378.
- [32] Malik A A, Puissant J, Buckeridge K M, Goodall T, Jehmlich N, Chowdhury S, Gweon H S, Peyton J M, Mason K E, van Agtmaal M, Bland A, Clark I M, Whitaker J, Pywell R F, Ostle N, Gleixner G, Griffiths R I. Land use driven change in soil pH affects microbial carbon cycling processes. *Nature Communications*, 2018, 9: 3591.
- [33] Zheng Z C, Liu B Y, Fang X, Fa K Y, Liu Z. Dryland farm soil may fix atmospheric carbon through autotrophic microbial pathways. *CATENA*, 2022, 214: 106299.
- [34] Ramond J B, Jordaán K, Díez B, Heinzelmán S M, Cowan D A. Microbial biogeochemical cycling of nitrogen in arid ecosystems. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2022, 86(2): e0010921.
- [35] Tang K, Liang Y G, Yuan B, Meng J Y, Feng F Y. Spatial distribution and core community of diazotrophs in Biological soil crusts and subsoils in temperate semi-arid and arid deserts of China. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1074855.
- [36] Wang Q, Han Y C, Lan S B, Hu C X. Metagenomic insight into patterns and mechanism of nitrogen cycle during biocrust succession. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 633428.
- [37] Gärdenäs A I, Ågren G I, Bird J A, Clarholm M, Hallin S, Ineson P, Kätterer T, Knicker H, Nilsson S I, Näsholm T, Ogle S, Paustian K, Persson T, Stendahl J. Knowledge gaps in soil carbon and nitrogen interactions - From molecular to global scale. *Soil Biology and Biochemistry*, 2011, 43(4): 702-717.
- [38] Li J W, Wang K B, Shangguan Z P, Deng L. Coupling and decoupling of soil carbon, nitrogen and phosphorus stocks following grazing exclusion in temperate grasslands. *CATENA*, 2022, 211: 106003.
- [39] Lan J C, Hu N, Fu W L. Soil carbon-nitrogen coupled accumulation following the natural vegetation restoration of abandoned farmlands in a Karst rocky desertification region. *Ecological Engineering*, 2020, 158: 106033.
- [40] Wang Y, Wu F, Li X, Li C C, Zhao Y K, Gao Y X, Liu J. Effects of plants and soil microorganisms on organic carbon and the relationship between carbon and nitrogen in constructed wetlands. *Environmental Science and Pollution Research*, 2023, 30(22): 62249-62261.
- [41] Amils R, Escudero C, Oggerin M, Sánchez F P, Rodríguez A A, Remolar D F, Rodríguez N, Villadangos M G, Sanz J L, Briones C, Sánchez-Román M, Gómez F, Leandro T, Moreno-Paz M, Prieto-Ballesteros O, Molina A, Tornos F, Sánchez-Andrea I, Timmis K, Pieper D H, Parro V. Coupled C, H, N, S and Fe biogeochemical cycles operating in the continental deep subsurface of the Iberian Pyrite Belt. *Environmental Microbiology*, 2023, 25(2): 428-453.
- [42] Niu S L, Song L, Wang J S, Luo Y Q, Yu G R. Dynamic carbon-nitrogen coupling under global change. *Science China Life Sciences*, 2023, 66(4): 771-782.
- [43] Dou W Q, Xiao B, Delgado B M, Daniel R, Kidron G J. Dryland nitrogen deposition induces microbiome - driven increases in biocrust respiration and losses of soil carbon. *Land Degradation and Development*, 2023, 34: 1-12.
- [44] Burgin A J, Yang W H, Hamilton S K, Silver W L. Beyond carbon and nitrogen: how the microbial energy economy couples elemental cycles in diverse ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2011, 9(1): 44-52.
- [45] Guhra T, Stolze K, Totsche K U. Pathways of biogenically excreted organic matter into soil aggregates. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 164: 108483.
- [46] 韩梦梦, 罗旻武, 栗春青, 宫彦章. 生物结皮对土壤养分及碳循环影响的研究进展. *北方园艺*, 2023(24): 132-137.
- [47] Li Y G, Zhou X B, Lu Y X, Zhang Y M. Moss C, N, P and K stoichiometry and their relationships are related to soil nutrients and environment in a temperate desert of central Asia. *Journal of Plant Ecology*, 2023, 16(3): 487-504.