

不同土壤水分下元素化学计量对微生物多样性的塑造特征

陈俊芳^{1,2}, 吴宪^{1,2}, 刘啸林^{1,2}, 刘娟³, 杨佳绒^{1,2}, 刘宇^{1,2*}

1. 华东师范大学-阿尔伯特大学生物多样性联合实验室/华东师范大学生态与环境科学学院, 上海 200241;

2. 浙江天童森林生态系统国家野外科学观测研究站, 浙江 宁波 315114; 3. 白浮图镇农林中心, 山东 成武 274200

摘要: 土壤元素化学计量特征在塑造微生物多样性方面起着至关重要的作用, 而元素化学计量受到土壤含水量的影响。为探究不同土壤水分条件下, 有机碳(OC)、全氮(TN)、全磷(TP)及其元素化学计量特征(C:N、C:P和N:P)如何影响土壤微生物多样性, 在浙江省20 hm²亚热带森林动态监测样地内共采集1287份土壤样品。利用Illumina高通量测序技术测定了土壤细菌和真菌的群落组成, 并结合土壤理化性质, 分析了不同土壤水分下元素和元素化学计量与微生物群落的关系。结果表明, 土壤水分能改变元素化学计量特征, 进而塑造细菌和真菌群落的多样性。其中, (1) 土壤水分显著影响微生物群落的 α 多样性。相较于高土壤水分, 在低土壤水分下, 细菌和真菌群落的 α 多样性分别显著提高了0.830%和2.62%。(2) 细菌和真菌的主要门类对土壤水分表现出差异化响应。相较于低土壤水分, 高土壤水分显著提高了细菌5个门类和真菌2个门类的相对丰度; 并且显著降低了细菌7个门类和真菌2个门类的相对丰度。(3) 土壤元素含量和元素化学计量特征与土壤水分呈显著正相关关系。(4) 元素化学计量C:N、C:P和N:P与微生物多样性呈显著负相关关系, 其相关性不受土壤含水量的影响。综上所述, 土壤元素化学计量塑造微生物多样性, 且土壤水分的高低并不改变其整体变化趋势。该研究验证了土壤水分对元素化学计量的影响, 有助于提高微生物多样性如何响应全球气候变暖引起的土壤水分变化的理解。

关键词: 气候变化; 土壤水分; 元素化学计量; 微生物多样性

DOI: 10.16258/j.cnki.1674-5906.2023.05.008

中图分类号: S154.36; X172

文献标志码: A

文章编号: 1674-5906(2023)05-0898-12

引用格式: 陈俊芳, 吴宪, 刘啸林, 刘娟, 杨佳绒, 刘宇, 2023. 不同土壤水分下元素化学计量对微生物多样性的塑造特征[J]. 生态环境学报, 32(5): 898-909.

CHEN Junfang, WU Xian, LIU Xiaolin, LIU Juan, YANG Jiarong, LIU Yu, 2023. Shaping characteristics of elemental stoichiometry on microbial diversity under different soil water contents [J]. Ecology and Environmental Sciences, 32(5): 898-909.

以碳(Carbon, C)、氮(Nitrogen, N)和磷(Phosphorus, P)为代表的化学元素是构成生物体的主要组成部分。生物生长实质上是对这些元素的积聚和相对比例的调节过程(Elser et al., 2010)。在高度异质化的土壤生态系统中, C、N和P为土壤微生物提供了基本能量和养分需求(Elser et al., 2007), 元素化学计量可以影响微生物的多样性和群落组成(Jiao et al., 2021), 进而维持植物-土壤系统中元素吸收和释放间的平衡(Makino et al., 2003)。元素的生态化学计量(ecological stoichiometry, EST)旨在解释生物的生活方式和生态系统的结构及功能与非生物介质(水分和土壤)和生物体的C、N和P化学计量的关系(Sardans et al., 2012)。元素化学计量构成生物地球化学循环和食物网结构及过程的内在联系, 可谓是生态系统功能的核心(Zechmeister-Boltenstern et al., 2015)。

元素化学计量的最早研究开展于水生生态系统, 后来逐渐过渡到陆地生态系统(Austin et al., 2012)。尽管目前关于生态系统中的植物、凋落物及土壤的化学计量已涌现许多相关的研究, 但有关驱动元素循环的土壤微生物方面的认知还相对有限。有研究发现土壤元素(C、N和P)及其化学计量(C:N、C:P和N:P)是陆地生态系统有机质分解和养分循环的主要驱动力, 而这些过程主要由微生物群落所介导(Finzi et al., 2011; Zechmeister-Boltenstern et al., 2015)。

土壤微生物群落是地球上数量最多样、种类最丰富的群落, 在生态系统中发挥着重要的作用, 包括养分循环、初级生产和凋落物分解等(Delgado-Baquerizo et al., 2016; Van Der Heijden et al., 2008)。尽管这一庞大群体对生态系统的功能和服务十分重要, 但目前关于陆地生态系统土壤微生物多样性模

基金项目: 钱江源-百山祖国家公园百山祖管理局科研项目基金; 国家自然科学基金项目(31670531; 32071645)

作者简介: 陈俊芳(1999年生), 女, 硕士研究生, 研究方向为土壤微生物生态。E-mail: junfangchen163@163.com

*通讯作者, 刘宇, E-mail: yuliu@des.ecnu.edu.cn

收稿日期: 2022-09-30

式解释的理论框架和实证数据仍有所欠缺 (Bardgett et al., 2014; Delgado-baquerizo et al., 2017)。近年来, 研究发现土壤元素 C、N 和 P 含量及其比率可以作为微生物多样性的驱动因素 (Delgado-Baquerizo et al., 2016; Jiao et al., 2021)。例如, 有研究发现高 P、低 C 含量能促进微生物多样性, 而元素化学计量 (C:N、C:P 和 N:P) 与微生物多样性却呈现负相关关系 (Delgado-Baquerizo et al., 2017)。但总体而言目前有关气候变化下土壤化学计量对土壤微生物多样性塑造的重要性仍不清楚 (Delgado-baquerizo et al., 2017; 王誉陶等, 2020)。

鉴于生物体通常具有保守的元素化学计量, 从环境中获取 C、N 和 P 的能力极大地限制了生物体和群落对气候变化的响应 (Finzi et al., 2011)。当环境发生变化时, 土壤微生物可以通过改变自身的代谢途径来维持细胞膜的功能性 (Hall et al., 2010), 在生态系统层面上此过程要求充足的 C、N 和 P 供应 (Schimel et al., 2007)。随着全球气候变暖和降水格局的改变, 土壤的水热条件发生变化, 正在影响陆地生态系统土壤的元素化学计量特征 (Delgado-Baquerizo et al., 2013; Li et al., 2018)。在全球气候变化的大背景下, 评估土壤元素和元素化学计量如何影响土壤微生物的多样性和群落组成, 对我们深入探索不断变化的环境下生态系统的功能并制定可持续的管理政策至关重要 (图 1)。因此, 本研究利用在天童 20 hm² 森林动态监测样地内采集到的 1 287 个土壤样品, 评估不同土壤水分下, C、N 和 P 含量和化学计量在确定土壤微生物多样性在局域尺度格局中的作用, 以期理解陆地生态系统如何响应气候变化的机制提供理论基础。

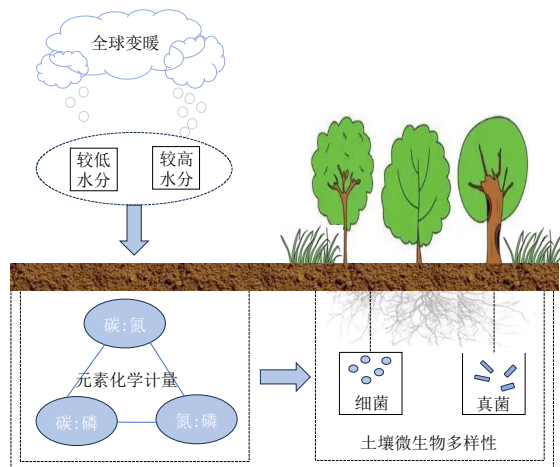


图 1 气候变化背景下土壤元素和化学计量与微生物多样性关系的框架图

Figure 1 An illustrative framework of the linkages between elemental stoichiometry and soil microbial diversity under climate change

1 材料与方法

1.1 研究区概况

本研究区位于中国浙江省宁波市天童国家自然保护区 (华东师范大学) 20 hm² 亚热带森林动态监测样地 (29°48'N, 121°47'E), 属于东部浙闽山地丘陵, 是典型的常绿阔叶林区。气候类型为亚热带季风气候, 夏季炎热潮湿, 冬季寒冷干燥, 年平均气温为 16.2 °C, 年平均降水量为 1 374 mm, 降雨主要集中在 6—8 月 (Hu et al., 2020)。该森林样地设立于 2008 年, 东西长 500 m, 南北宽 400 m, 平均海拔为 447.2 m, 是全球森林观测站 (ForestGEO, <https://forestgeo.si.edu/>) 网络的组成部分之一 (Qiao et al., 2020)。植被以米槠 (*Castanopsis carlesii*)、栲树 (*Castanopsis fargesii*) 和木荷 (*Schima superba*) 等为主 (Hu et al., 2020)。土壤质地为红黄壤, 土层厚度不一。

1.2 土壤取样和处理

于 2018 年 9 月采集土壤样品, 用于理化性质测定和微生物分析。将 20 hm² (500 m×400 m) 的样地以 20 m 为间隔划分为 500 个 20 m×20 m 的小样方, 共计 546 个顶点, 均为取样点。然后随机选择 70% 的顶点进行延伸取样, 即从 8 个方向 (正向和正向各偏 45°) 中随机选择一个方向设置为取样方向, 从该方向上 2、5、8 m 等 3 个距离中任选两个设置为取样点 (John et al., 2007)。去除土壤表面凋落物后, 在每个采样点周围 0.5 m 范围内使用直径为 10 cm 的土壤采样器随机采集 4 个表层土芯 (0—10 cm) 并混合为一个土壤样品。将所有采集到的 1 287 个土壤样品放入灭菌自封袋并保存于保温箱中, 迅速带回实验室进行样品前处理。将所有土壤样品过 2 mm 筛后分为 2 份子样品, 一份储存在 -80 °C 下, 用于提取土壤 DNA 并进行微生物分析; 另一份经风干或烘干后用于土壤理化性质的测定。在这项研究中, 依据鲍士旦《土壤农化分析》(鲍士旦, 2000) 中的方法测定了土壤含水量 (Water content, WC)、有机碳 (Organic carbon, OC)、全氮 (Total nitrogen, TN)、全磷 (Total phosphorus, TP) 含量。其中, 半微量开氏法测定土壤 TN 含量, 重铬酸钾容量法测定土壤 OC 含量, HClO₄-H₂SO₄ 消煮-钼锑抗比色法测定 TP 含量, 105 °C 烘干法测定土壤 WC。将所有土壤样品按水分高低含量等分为相对较高 (High_WC) 和较低 (Low_WC) 两个水平, 其中相对较高的土壤水分范围为 75.5%—34.8%, 相对较低的土壤水分范围为 34.8%—4.83%。

1.3 土壤 DNA 提取和 PCR 扩增

根据说明书, 使用 MagPure Soil DNA KF Kit 试剂盒从每个样品中取 0.5 g 进行土壤 DNA 抽提,

其 DNA 质量在质量分数为 1% 的琼脂糖凝胶电泳上进行检测, 浓度和纯度使用 NanoDrop One (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 进行测定。使用引物 515F (5'-GTGCCAGCMGCCG CGGTAA-3') 和 907R (5'-CCGTCAATTCMTT RAGTTT-3') 扩增细菌 16S rRNA 基因的 V4-V5 高变区序列, 引物 ITS3 (5'-GCATCGATGAAGAAC GCAGC-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATA TGC-3') 扩增真菌的第一个内部转录间隔序列 (ITS1)。在由 25 μ L 2 \times Premix Taq (Takara Biotechnology (Dalian) Co. Ltd., China) 组成的反应系统中, 使用 BioRad S1000 (Bio-Rad Laboratory, Hercules, CA, USA) 一式三份进行 PCR 扩增, 上下游引物各 1 μ L (10 μ mol \cdot L⁻¹) DNA 模板为 3 μ L (20 ng \cdot μ L⁻¹)。使用 PCR 扩增 DNA 样品, 程序如下: 95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 然后 30 个循环 (94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 52 $^{\circ}$ C 退火 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 30 s), 然后 72 $^{\circ}$ C 稳定延伸 10 min。

1.4 Illumina 高通量测序与生物信息学分析

PCR 产物的长度和浓度用质量分数为 1% 琼脂糖凝胶电泳检测, 选择具有明亮主带 (长度在正常范围内) 的样品用于下步实验。根据 GeneTools Analysis Software (版本 4.03.05.0, SynGene) 以等密度比混合 PCR 产物。然后, PCR 产物用 E.Z.N.A.[®] Gel Extraction Kit 凝胶提取试剂盒 (Omega Bio Tek, Norcross, GA, USA) 合并和纯化。建库操作按照 NEBNext[®] Ultra[™] DNA Library Prep Kit for Illumina[®] 标准流程进行。将纯化的扩增子以等浓度汇集, 并在广东 Magigene 生物技术有限公司在 Illumina HiSeq2500 平台上对扩增子文库进行末端配对 (PE250) 测序。

使用 Trimmomatic (Bolger et al., 2014) 软件对原始的 16S rRNA 和内部转录间隔 (ITS) 基因测序序列进行质控, 过滤含 N 的 reads、质量值低于 20 及质控后序列长度低于 100 bp 的 reads, 获得 paired-end clean reads。使用 FLASH (Magoč et al., 2011) (<https://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>) 软件拼接, 具有以下标准: (1) 根据 PE 序列间的重叠关系, 将成对序列拼接成一条序列, 最小重叠长度设置为 10 bp; (2) 拼接序列的重叠区域的最大错配率为 0.1, 过滤掉不符合的序列, 获得原始的拼接序列 (Raw Tags); (3) 使用 Mothur (Schloss et al., 2009) 软件 (<http://www.mothur.org>) 进行归类操作。根据标签 (barcode) 和引物 (primer) 信息等将序列分配到对应的样品中, 并调整序列方向。barcode 允许的错配数为 2, 最大引物错配数为 3。然后, 去除 barcode 和 primer, 得到有效的拼接

片段 (Clean Tags)。使用 USEARCH 软件 (Edgar, 2010), 根据 97% 的相似度对高质量的核酸序列聚类到操作分类单位 (Operational taxonomic units, OTUs) 水平, 并剔除嵌合体和单条序列。每个细菌 (<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.21692744.v1>) 和真菌 (<https://doi.org/10.6084/m9.figshare.21687824.v1>) OTU 的代表序列分别与 Silva (版本 128, <https://www.arb-silva.de/>) 和 Unite 数据库 (版本 7.2, <http://unite.ut.ee/index.php>) 比对获取物种的注释信息, 比对设定置信度阈值默认为 0.5 以上。删除在所有样本中序列总和小于 20 的 OTUs 后, 共获得 8373 个细菌 OTUs 和 11961 个真菌 OTUs。此外, 所有样本的序列信息均根据最小序列数进行抽平, 以校正测序深度的差异。

1.5 统计分析

本研究所涉及的数据分析和相关图表均在 R 软件 (<https://www.r-project.org/>) 4.1.2 版本中完成。利用曼特尔检验 (Mantel test), 分析微生物群落组成与土壤水分的相关性。使用 Vegan 包 (Dixon, 2003) 中的 'diversity' 和 'ggplot2' 函数计算土壤微生物的 α 多样性并绘制箱线图。基于 Bray-Curtis 相异度矩阵生成不同土壤水分下的主坐标分析 (Principal Co-ordinates Analysis, PCoA), 并采用 Anosim 检验进行显著性分析, 评估细菌和真菌的群落组成在不同土壤水分下是否存在显著差异。利用线性回归模型评估不同水分下土壤元素和化学计量的变化情况。利用 Spearman 相关分析解析不同土壤水分下元素和化学计量分别与微生物多样性的关系。使用 Pheatmap 包绘制热图, 分析不同水分下土壤元素和化学计量对微生物主要门类的影

2 结果与分析

2.1 不同土壤水分下微生物群落多样性和组成差异

曼特尔检验 (Mantel test) 显示, 土壤水分与微生物 (细菌和真菌) 群落组成存在显著的相关关系 (表 1)。通过对微生物群落 α 多样性 (图 2) 的分析发现, 土壤水分对细菌和真菌多样性均产生了显著影响, 相较于高土壤水分, 在低土壤水分下, 细菌和真菌群落的 α 多样性分别显著提高了 0.830% 和 2.62%。此外, 通过 PCoA 分析并结合 Anosim 检

表 1 土壤水分与细菌和真菌群落组成的关系 (曼特尔检验)

Table 1 Relationship of soil moisture and community composition of bacteria and fungi (Mantel test)

类别	<i>r</i>	<i>P</i>
细菌	0.34	0.001
真菌	0.16	0.001

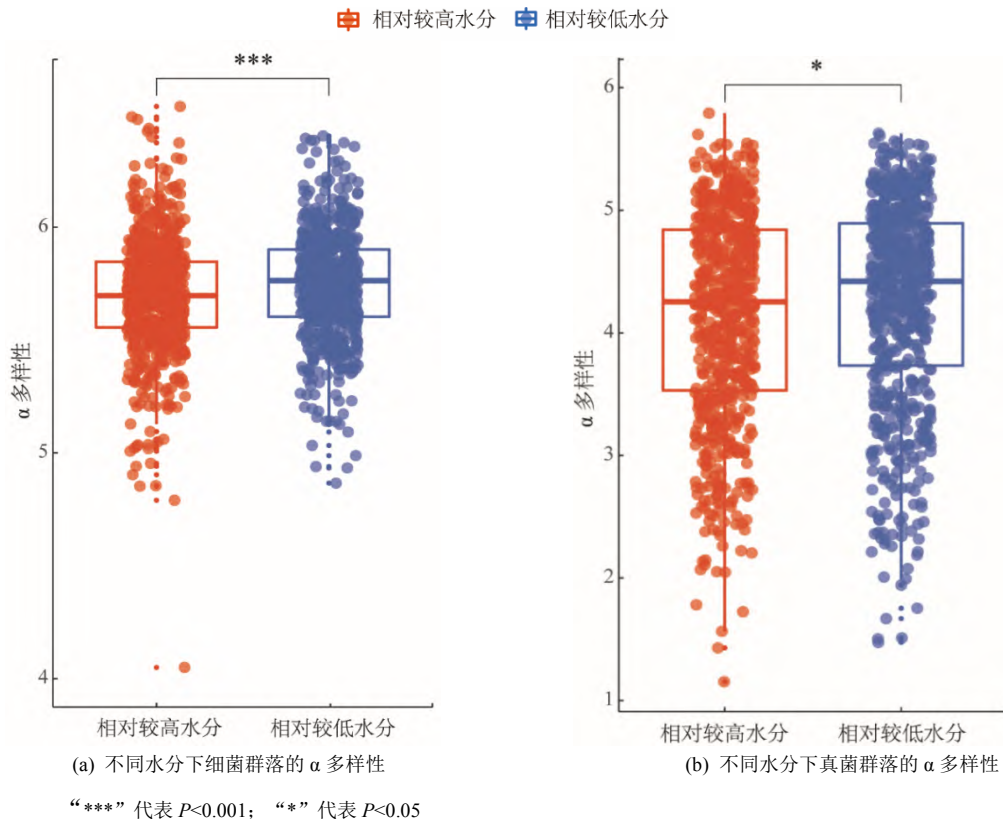


图2 不同土壤水分下细菌和真菌群落的 α 多样性

Figure 2 The α diversities of bacterial and fungal community under relatively high vs. low water contents

验可以发现，不同土壤水分下细菌和真菌群落出现分离，细菌和真菌前两轴的总解释率分别为 31%和 10%，且细菌和真菌的群落结构在不同土壤水分下均存在显著差异（图 3）。

绘制不同土壤水分下细菌和真菌物种组成图，细菌主要划分为 12 个门，其中酸杆菌门（Acidobacteria; 38%）、变形菌门（Proteobacteria; 33%）和放线菌门（Actinobacteria; 5%）的相对丰度较高。

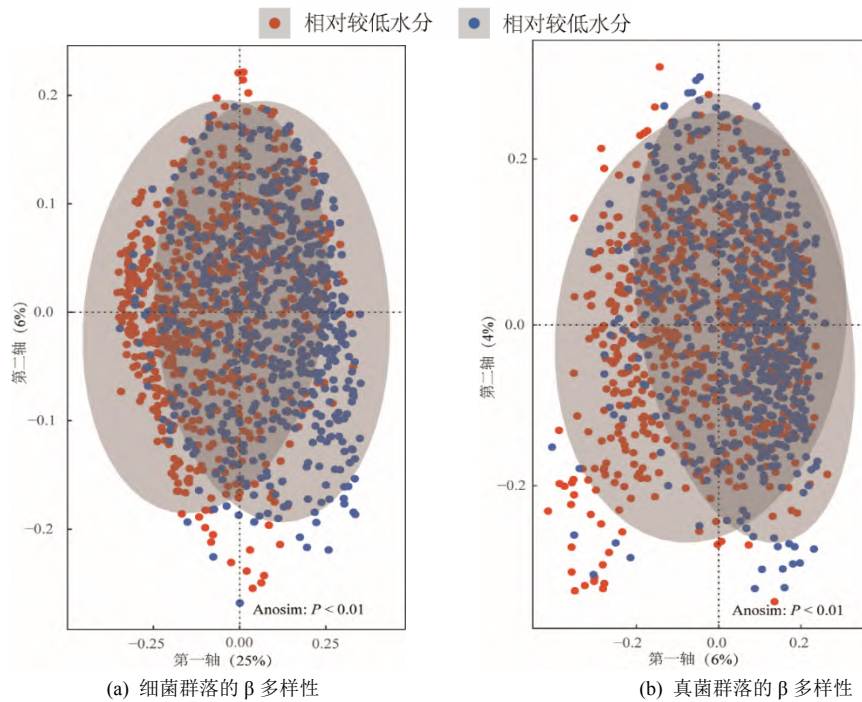


图3 细菌和真菌群落的 β 多样性

Figure 3 The β diversities of bacterial and fungal community

真菌主要划分为 5 个门, 其中子囊菌门 (Ascomycota; 32%)、担子菌门 (Basidiomycota; 31%) 和隐菌门 (Rozellomycota; 12%) 的相对丰度较高 (图 4)。此外, 通过对比微生物在门水平上相对丰度的变化可以发现, 无论是细菌还是真菌, 门水平下的微生物类群在不同土壤水分下均表现出不同的响应模式。具体而言, 相较于低土壤水分, 高土壤水分显著提高了细菌 5 个门类 (图 5), 即变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、浮霉菌门 (Planctomycetes)、WPS 菌门 (WPS-2) 和蓝藻菌门 (Cyanobacteria) 和真菌 2 个门类, 即隐菌门 (Rozellomycota) 和结合菌门 (Zygomycota) 的相对丰度, 增幅分别为 6.50%—97.4% 和 0.530%—39.7%; 显著降低了细菌 7 个门类, 即酸杆菌门 (Acidobacteria)、疣微菌门 (Verrucomicrobia)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)、骸骨菌门 (Patescibacteria) 和迷踪菌门 (Elusimicrobia) 和真菌 2 个门类, 即子囊菌门 (Ascomycota) 和球囊菌门 (Glomeromycota) 的相对丰度, 降幅分别为 6.90%—39.7% 和 7.09%—7.33%。

2.2 不同土壤水分下的土壤元素和化学计量

基于线性回归分析可以发现 (图 6), 土壤元素和化学计量 (C:N、C:P 和 N:P) 与土壤水分间的模型拟合均达到了显著水平, 即土壤水分对土壤元素和化学计量均产生了显著影响 ($P < 0.001$)。无论

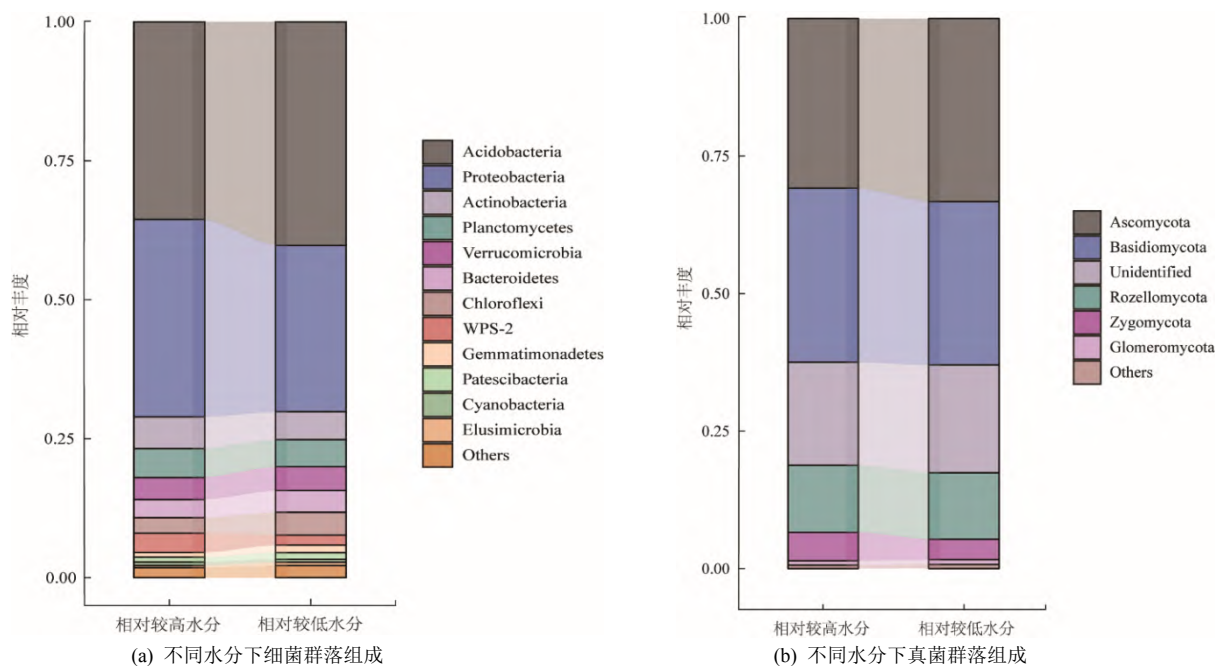
在 High_WC 还是 Low_WC 下, 土壤元素和化学计量均随着土壤含水量的增加而显著增加。此外, 结合秩和检验发现, High_WC 下 OC、C:N 和 C:P 均显著高于 Low_WC (表 2)。

表 2 土壤元素和化学计量在不同土壤水分下的差异比较
Table 2 Comparisons of soil elements and stoichiometry under relatively high vs. low water contents

因子	相对较高水分	相对较低水分	<i>P</i>
全氮	6.30±2.60	3.90±1.10	<0.001
全磷	0.40±0.10	0.31±0.10	<0.001
有机质	109.3±67.4	56.4±21.8	<0.001
碳氮比率	16.8±6.20	14.2±2.50	<0.001
碳磷比率	283.7±152.0	182.6±75.6	<0.001
氮磷比率	16.4±5.70	12.6±4.10	<0.001

2.3 不同水分下元素和化学计量与微生物多样性的关系

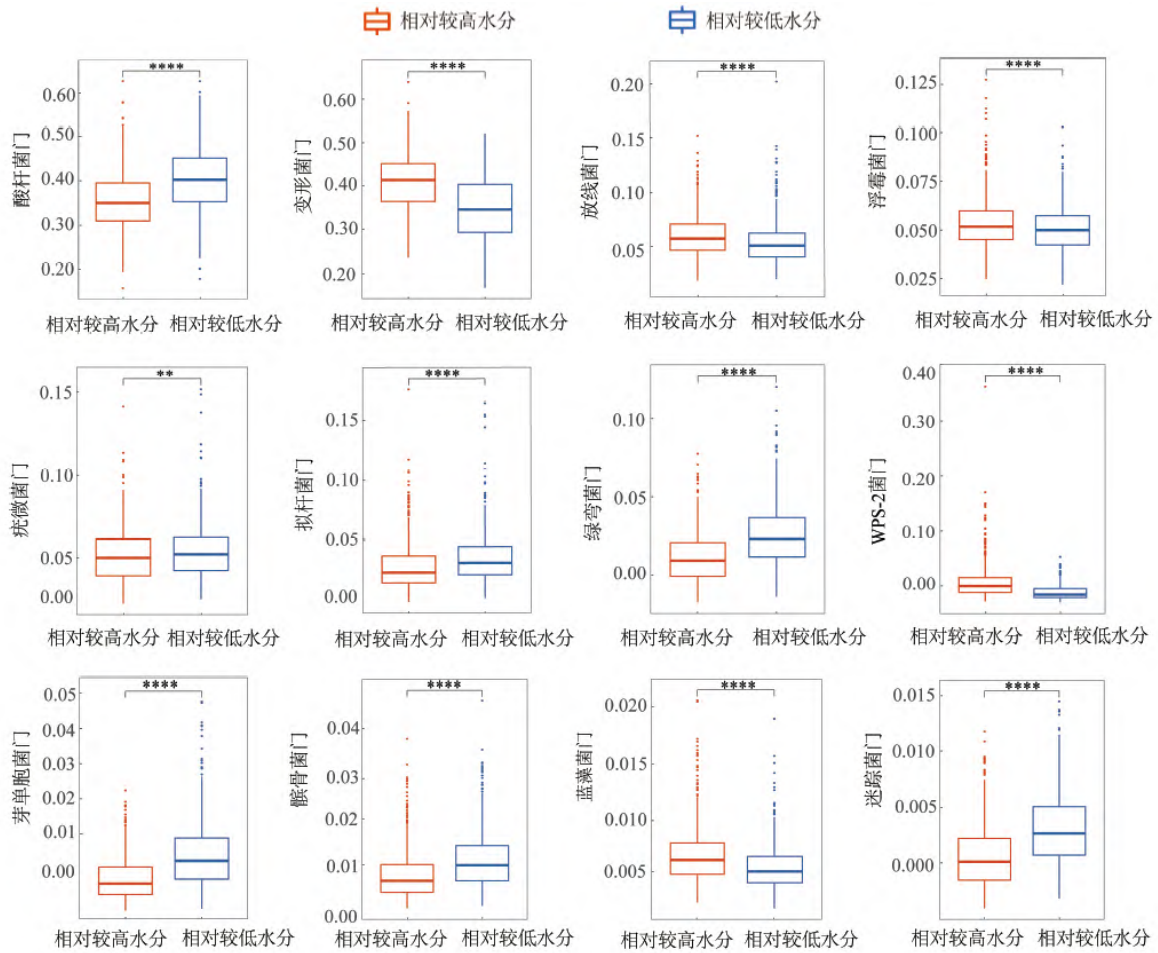
基于 Spearman 相关分析可以发现, 细菌群落的 α 多样性随着 C:N、C:P 和 N:P 的增加而显著降低 (图 7), 而 TP 与之相反, 且较高和较低的土壤水分并没有改变其变化趋势 (图 7)。TN 和 OC 与多样性的关系受到土壤水分的影响, 即 High_WC 下呈现显著的负相关关系 ($P < 0.001$), 而在 Low_WC 下两者间未呈现显著的相关关系 ($P > 0.05$)。真菌群落的 α 多样性与土壤元素和化学计量的关系基本与细菌保持一致关系 (图 7)。



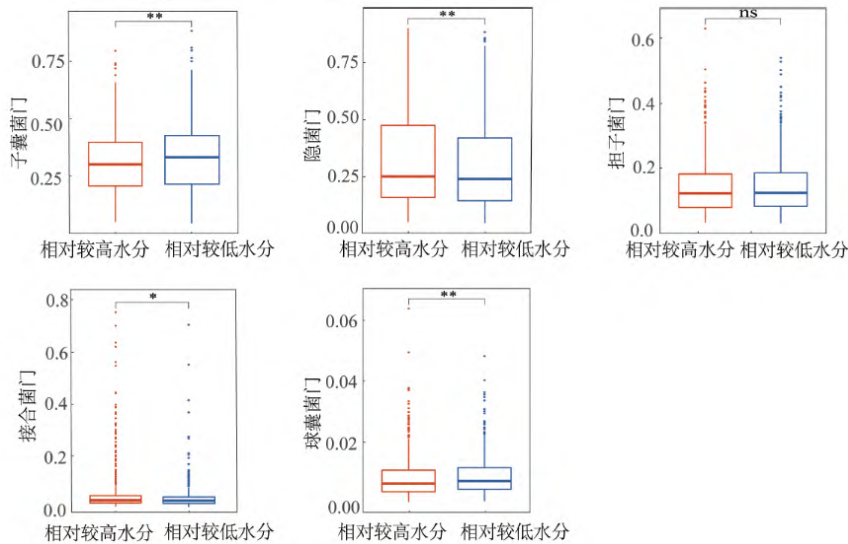
Others 指相对丰度<0.5%的类群

图 4 不同土壤水分下细菌和真菌群落组成

Figure 4 Bacterial and fungal community compositions at phylum-level under relatively high vs. low water contents



(a) 细菌主要类群的相对丰度在不同水分条件下的对比



(b) 真菌主要类群的相对丰度在不同水分条件下的对比

“****”代表 $P < 0.0001$, “***”代表 $P < 0.001$, “**”代表 $P < 0.01$, “*”代表 $P < 0.05$, ns 代表无显著性

图 5 细菌和真菌主要类群的相对丰度在不同水分条件下的差异对比

Figure 5 Comparisons of the relative abundance of bacterial and fungal major groups under relatively high vs. low water contents

通过热图（图 8）可以发现，细菌和真菌主要类群的相对丰度在不同的土壤水分下与土壤元素和化学计量之间存在一定的相关性。其中，酸杆菌

门（Acidobacteria）、绿弯菌门（Chloroflexi）和拟杆菌门（Bacteroidetes）与 OC、TN、C:N、C:P 和 N:P 呈现显著的负相关关系（ $P < 0.01$ ）；而放线菌

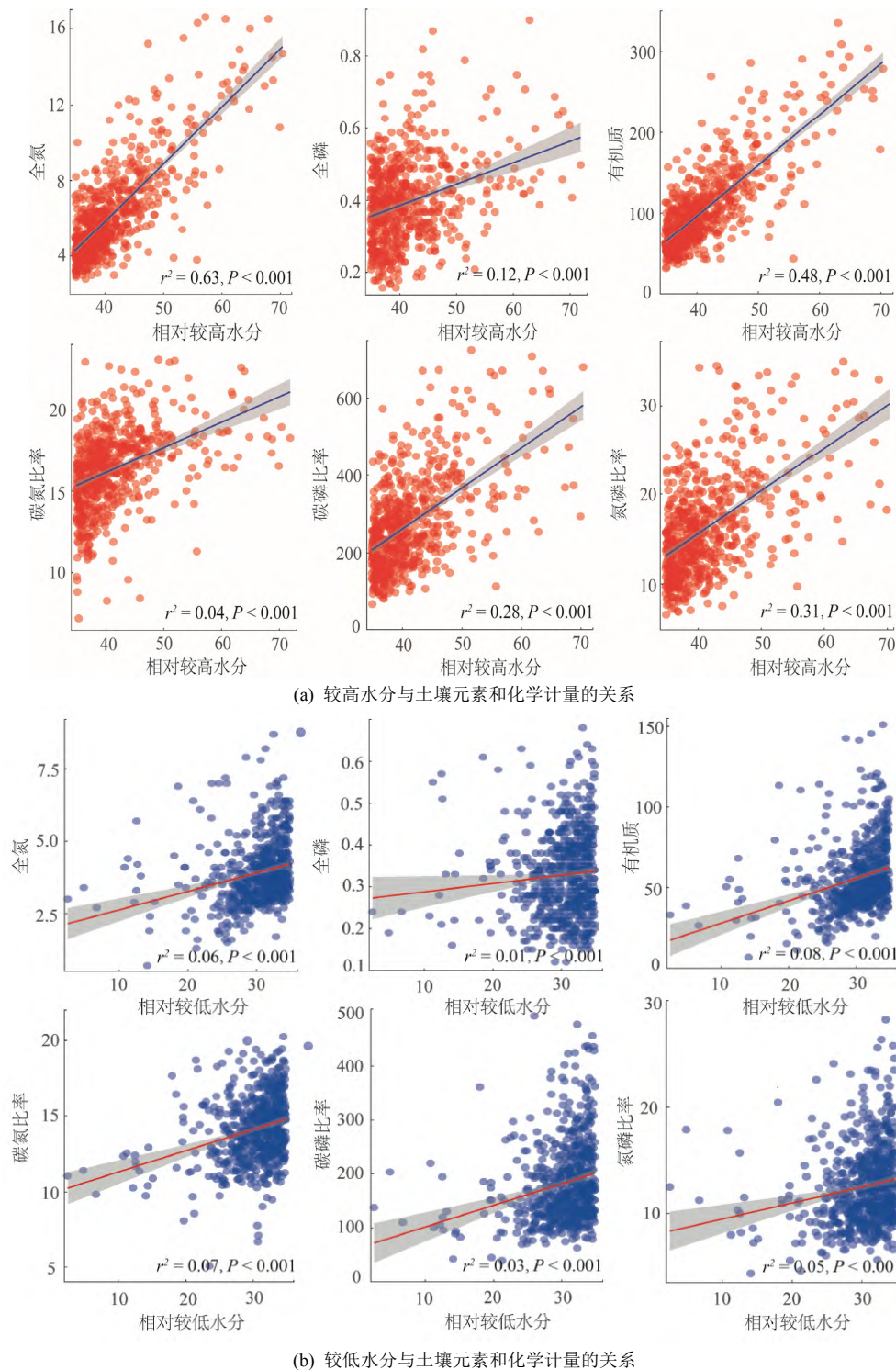


图6 土壤水分与土壤元素和化学计量的关系

Figure 6 Relationships of relatively high vs. low water contents and soil elements and stoichiometry

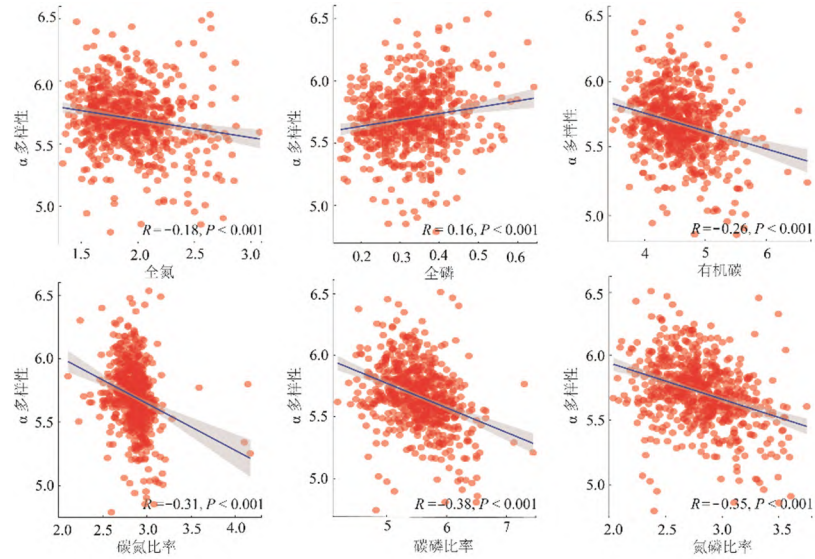
门 (Actinobacteria) 和变形菌门 (Proteobacteria) 与土壤元素和化学计量呈现显著的正相关关系 ($P < 0.01$)。此外, 在 High_WC 下, 隐菌门 (Rozellomycota) 与土壤元素和化学计量均呈现显著的负相关关系 ($P < 0.01$), 而在 Low_WC 下, 其相对丰度仅仅与土壤元素 TP 呈现显著的正相关关系 ($P < 0.01$)。同时, 担子菌门 (Basidiomycota) 的相

对丰度在 Low_WC 下仅与土壤 C:N 存在显著的正相关关系 ($P < 0.01$)。

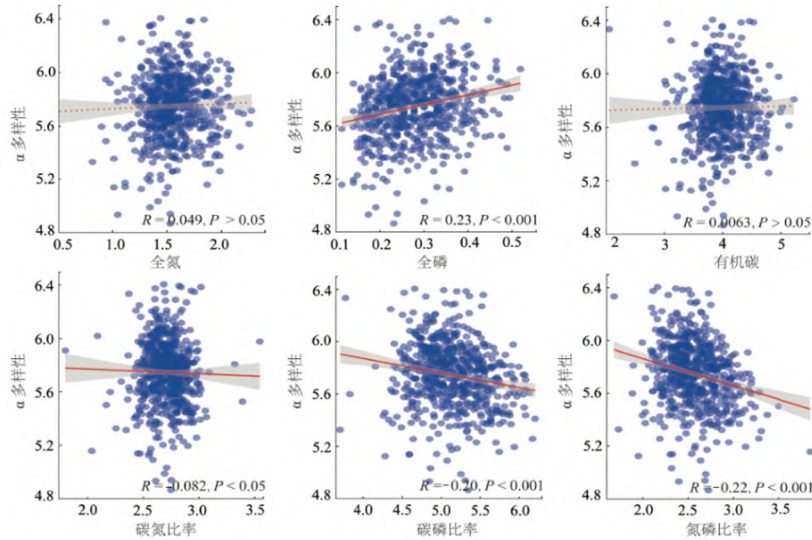
3 讨论

3.1 土壤水分对微生物多样性和群落组成的影响

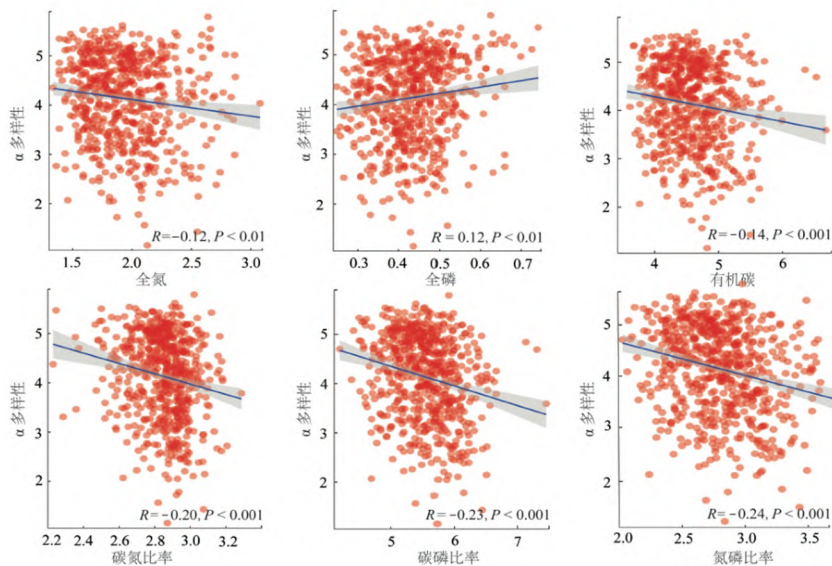
在全球气候变化和降水格局不断改变的背景下 (New et al., 2001), 世界范围内干旱事件发



(a) 较高水分下细菌 α 多样性与土壤元素和化学计量的关系



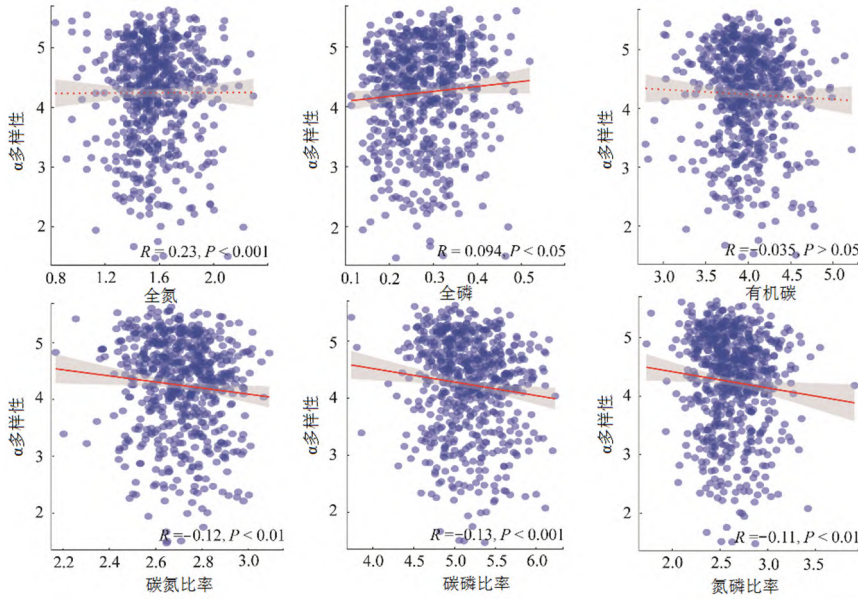
(b) 较低水分下细菌 α 多样性与土壤元素和化学计量的关系



(c) 较高水分下真菌 α 多样性与土壤元素和化学计量的关系

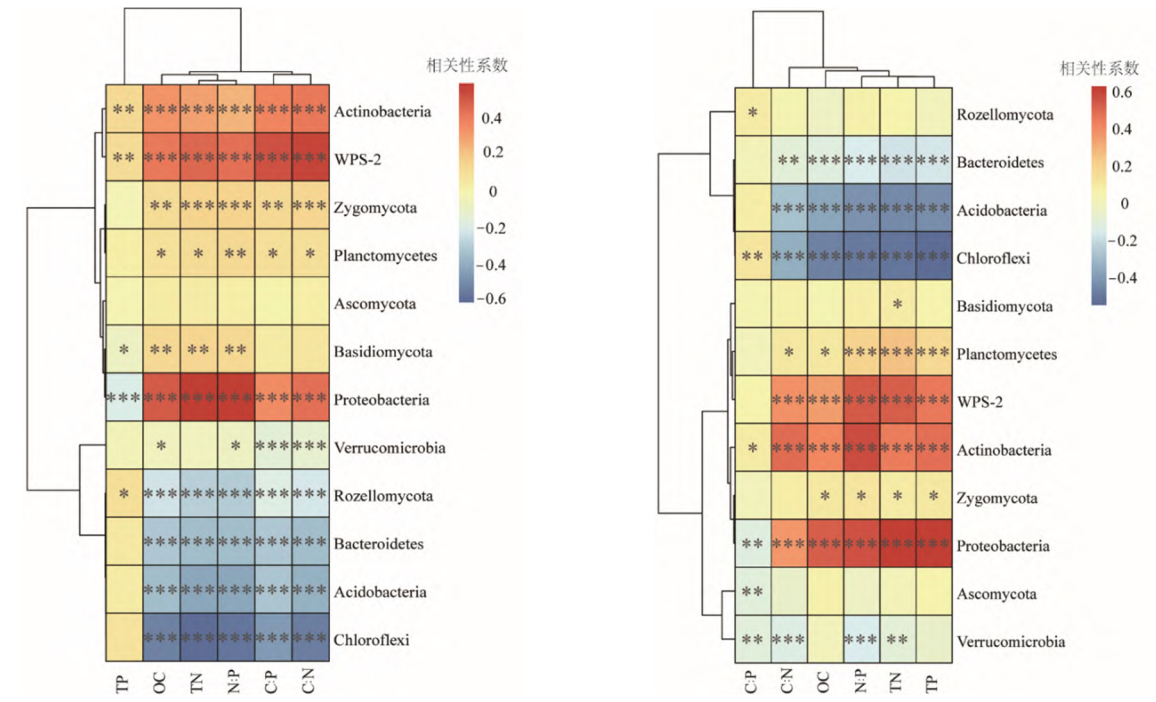
图 7 不同水分下土壤元素和化学计量与微生物 α 多样性的关系

Figure 7 Relationships between soil elements and stoichiometry and microbial α diversity under relatively high vs. low water contents



续图 7 不同水分下土壤元素和化学计量与微生物 α 多样性的关系

Continued figure 7 Relationships between soil elements and stoichiometry and microbial α diversity under relatively high vs. low water contents



(a) 较高水分下土壤元素和化学计量与微生物主要门类的关系 (b) 较低水分下土壤元素和化学计量与微生物主要门类的关系

“***”代表 $P < 0.001$, “**”代表 $P < 0.01$, “*”代表 $P < 0.05$

图 8 不同水分下土壤元素和化学计量与微生物主要门类的关系

Figure 8 Relationships between soil elements and stoichiometry and the primary microbial phyla under relatively high vs. low water contents

生的频度和强度显著增加 (Huang et al., 2016), 对陆地生态系统的结构、功能及生物多样性产生严重的影响。作为土壤的重要组成部分之一, 土壤水分是植物和微生物生存的重要物质基础。同时, 土壤水分也是干旱胁迫对全球生态系统生产力产生

压力的主导因素 (Liu et al., 2020)。本研究表明土壤水分对细菌和真菌的多样性及其群落组成均存在显著影响, 这与以往的研究结果相一致 (Ochoa-Hueso et al., 2018)。在微生物多样性方面, 本研究发现 High_WC 下微生物多样性反而相对较低, 这可

能是由于土壤中的水分含量较高时, 微生物偏爱性的营养资源处于相对易于被利用状态, 引起微生物出现趋同性, 进而导致群落多样性降低。在微生物群落组成方面, 不同微生物类群对土壤水分呈现出截然相异的响应模式, 这可能是由于不同的微生物群落存在适宜其生长的水分生态位 (Lennon et al., 2012)。以往基于草地生态系统的研究发现, 细菌类群中的放线菌门 (*Actinobacteria*) 的相对丰度随着干旱程度的增加而增加 (Barnard et al., 2013; Ochoa-Hueso et al., 2018), 这些门类对于干旱通常具有较强的抵抗力, 属于“准备型”策略, 即在低土壤水分条件下, 放线菌门 (*Actinobacteria*) 可以增加自身核糖体的合成, 以便在土壤条件变得有利于养分获取时处于优势地位, 这使得它们在较低的水分条件下比其它微生物类群更能幸存 (Battistuzzi et al., 2009)。而酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 和疣微菌门 (*Verrucomicrobia*) 遵循“快速响应”的生命策略, 即在较低的土壤水分下, 并非投资自身核糖体的合成, 而依赖于水分充足后快速合成核糖体 (Barnard et al., 2013)。然而, 在本研究中, 放线菌门 (*Actinobacteria*) 在 High_WC 下的相对丰度较高, 这可能是由于不同生态系统具有复杂性和异质性, 土壤微生物菌群对水分的变化存在差异化的响应 (Maestre et al., 2015; Xu et al., 2018), 微生物会本能地选择适应自身生长的策略生存。这些与土壤水分相关的细菌生命策略表明, 降雨格局的改变可能通过影响微生物群落的活性来影响土壤养分循环 (Barnard et al., 2013)。这也为我们以后研究不同生态系统中同种微生物类群的不同响应模式提供了新的见解

3.2 不同土壤水分下的元素和化学计量的变化

随着全球气候的不断变化, 受到生物化学过程介导的土壤 C、N 和 P 循环可能会逐渐解耦 (Finzi et al., 2011), 这与土壤元素的可利用性受到水分的驱动有关 (Austin et al., 2004; Schwinning et al., 2004)。土壤水分的降低能够打破元素循环间的平衡, 进而影响元素的可利用性。我们的研究表明, 土壤元素和化学计量与土壤水分存在显著正相关关系, 这与以往的研究结果相似 (Schlesinger et al., 1990; Delgado-Baquerizo et al., 2013)。总体而言, 土壤水分的降低能够引起土壤元素的 C、N 和 P 失衡, 进而对生态系统的功能 (生产力、分解等) 和服务 (粮食生产和碳储存等) 产生严重后果。此外, 本研究结果显示, 在 High_WC 下 OC、C:N 和 C:P 较高, 这可能是水分提高了微生物的活性, 促进微生物的生长和代谢, 进而释放有机物质, 增加土壤中的有机 C 含量 (Qi et al., 2022)。同时,

较高的土壤水分可能减缓有机物的分解速率, 使得土壤中的有机物质保持相对较高的含量。此外, 较高的土壤水分可以减缓养分的流失和淋溶, 并缓解养分限制, 促进植物的生长和代谢, 进而增加土壤中的养分含量。

3.3 元素和化学计量与土壤微生物多样性的关系

元素化学计量影响陆地生态系统中微生物的生长和养分循环 (Sterner et al., 2003)。例如, 土壤 C:N 可以重塑生态系统的微生物过程 (养分的矿化和固化等) (Zechmeister-Boltenstern et al., 2015)。本研究结果显示, 微生物群落的多样性随着 C:N、C:P 和 N:P 的增加而降低, 这与以往的研究结果相一致 (Delgado-baquerizo et al., 2017), 且土壤水分的高低并不会改变其趋势 (王誉陶等, 2020), 这可能归咎于微生物对土壤养分环境存在较高的依赖性 (黄菊莹等, 2018)。微生物多样性与土壤元素化学计量间存在显著负相关关系, 其可能的原因是在较低的元素化学计量 (高养分利用效率) 生境下, 微生物会通过促进生态位的分化来增加其多样性 (Hooper et al., 2000)。此外, 根据生长速率假说 (growth-rate hypothesis, GRH), 生长速率较快的类群 (比如细菌) 由于合成核糖体、RNA 和 ATP 等需要更高水平的 P 含量, 通常以低 C:P 化学计量为特征 (Peñuelas et al., 2009)。另一方面, C 和 N 元素会随着土壤的发育在生态系统中不断积累, P 元素来自岩石风化后母质的供应, 但这些元素会逐渐被耗竭或者固化在植物和动物体内, 因此能够提供给微生物的可利用性养分的浓度减少, 进而限制快速生长的微生物的多样性 (Mcgill et al., 1981)。同时, 在 High_WC 下, OC 含量与细菌的多样性呈现显著的负相关关系, 即低 C 水平能够提高细菌的多样性。

酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 和绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 等门类与土壤元素和化学计量间呈现显著的负相关关系, 说明这些微生物类群适合生长在养分相对贫瘠的土壤; 而放线菌门 (*Actinobacteria*) 和变形菌门 (*Proteobacteria*) 与土壤元素和化学计量呈现显著的正相关关系, 说明这些类群更宜生长在养分相对充足的土壤。此外, 担子菌门 (*Basidiomycota*) 的相对丰度随土壤水分的降低而减少, 在气候变暖且土壤干旱频发的大背景下, 其相对丰度是否会逐渐降低有待进一步探究。此外, 隐菌门 (*Rozellomycota*) 的相对丰度在不同的土壤水分下与元素和化学计量间的关系发生明显变化, 在 Low_WC 下, 其相对丰度仅仅与土壤元素 TP 呈现显著的正相关, 而在 High_WC 下, 其相对丰度基本上与土壤元素和化学计量呈现显著的负相关

关系。这说明,水分可以通过影响土壤元素和化学计量,改变其含量和比率(李一春等,2020),微生物则调整自身的多样性来响应环境的变化(王誉陶等,2020)。

4 结论

本研究通过对采自天童 20 hm² 亚热带森林动态监测样地的 1 287 份土壤样品的理化性质和微生物测序分析发现,高 P、低 C:N、C:P 和 N:P 水平可以促进局域尺度格局中土壤微生物的多样性,且相对较高或较低的土壤水分不改变其趋势。因此,土壤元素化学计量可以作为土壤养分的重要指标,指示土壤对微生物生长发育所需要的养分情况。在全球气候变化的大背景下,未来的森林管理可以通过人为施入肥料的方式调节土壤养分,进而动态调控土壤微生物群落以抵抗环境变化。评估森林土壤元素和元素化学计量的变化如何影响土壤微生物,对我们了解在全球气候变化下生态系统的功能以及制定可持续的管理政策至关重要。

参考文献:

- AUSTIN A T, VITOUSEK P M, 2012. Introduction to a virtual special issue on ecological stoichiometry and global change [J]. *New Phytologist*, 196(3): 649-651.
- AUSTIN A T, YAHDJIAN L, STARK J M, et al., 2004. Water pulses and biogeochemical cycles in arid and semiarid ecosystems [J]. *Oecologia*, 141(2): 221-235.
- BARDGETT R D, VAN DER PUTTEN W H, 2014. Belowground biodiversity and ecosystem functioning [J]. *Nature*, 515(7528): 505-511.
- BARNARD R L, OSBORNE C A, FIRESTINE M K, 2013. Responses of soil bacterial and fungal communities to extreme desiccation and rewetting [J]. *The ISME Journal*, 7(11): 2229-2241.
- BATTISTUZZI F U, HEDGES S B, 2009. A major clade of prokaryotes with ancient adaptations to life on land [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 26(2): 335-343.
- BOLGER A M, LOHSE M, USADEL B, 2014. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data [J]. *Bioinformatics*, 30(15): 2114-2120.
- DELGADO-BAQUERIZO M, MAESTRE F T, GALLARDO A, et al., 2013. Decoupling of soil nutrient cycles as a function of aridity in global drylands [J]. *Nature*, 502(7473): 672-676.
- DELGADO-BAQUERIZO M, MAESTRE F T, REICH P B, et al., 2016. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems [J]. *Nature Communications*, 7(1): 10541.
- DELGADO-BAQUERIZO M, REICH P B, KHACHANE A N, et al., 2017. It is elemental: soil nutrient stoichiometry drives bacterial diversity [J]. *Environmental Microbiology*, 19(3): 1176-1188.
- DIXON P, 2003. VEGAN, a package of R functions for community ecology [J]. *Journal of Vegetation Science*, 14(6): 927-930.
- EDGAR R C, 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. *Bioinformatics*, 26(19): 2460-2461.
- ELSER J J, FAGAN W F, KERKHOFF A J, et al., 2010. Biological stoichiometry of plant production: metabolism, scaling and ecological response to global change [J]. *New Phytologist*, 186(3): 593-608.
- ELSER J J, HAMILTON A, 2007. Stoichiometry and the new biology: the future is now [J]. *PLoS Biology*, 5(7): e181.
- FINZI A C, AUSTIN A T, CLELAND E E, et al., 2011. Responses and feedbacks of coupled biogeochemical cycles to climate change: Examples from terrestrial ecosystems [J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 9(1): 61-67.
- HALL E K, SINGER G A, KAINZ M J, et al., 2010. Evidence for a temperature acclimation mechanism in bacteria: an empirical test of a membrane-mediated trade-off [J]. *Functional Ecology*, 24(4): 898-908.
- HUANG J P, YU H P, GUAN X D, et al., 2016. Accelerated dryland expansion under climate change [J]. *Nature Climate Change*, 6(2): 166-171.
- HOOPER D, BIGNELL D, BROWN V, et al., 2000. Interactions between aboveground and belowground biodiversity in terrestrial ecosystems: Patterns, mechanisms, and feedbacks [J]. *BioScience*, 50(12): 1049-1061.
- HU Z H, CHEN H Y H, YUE C, et al., 2020. Traits mediate drought effects on wood carbon fluxes [J]. *Global Change Biology*, 26(6): 3429-3442.
- JIAO S, PENG Z, QI J, et al., 2021. Linking bacterial-fungal relationships to microbial diversity and soil nutrient cycling [J]. *mSystems*, 6(2): e01052-20.
- JOHN R, DALLING J W, HARMS K E, et al., 2007. Soil nutrients influence spatial distributions of tropical tree species [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(3): 864-869.
- LI C H, FULTZ L M, MOORE-KUCERA J, et al., 2018. Soil microbial community restoration in conservation reserve program semi-arid grasslands [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 118: 166-177.
- LIU L B, GUDMUNDSSON L, HAUSER M, et al., 2020. Soil moisture dominates dryness stress on ecosystem production globally [J]. *Nature Communications*, 11(1): 4892.
- LENNON J T, AANDERUD Z T, LEHMKUHL B K, et al., 2012. Mapping the niche space of soil microorganisms using taxonomy and traits [J]. *Ecology*, 93(8): 1867-1879.
- MAESTRE FT, DELGADO-BAQUERIZO M, JEFFRIES TC, et al., 2015. Increasing aridity reduces soil microbial diversity and abundance in global drylands [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(51): 15684-15689.
- MAGOČ T, SALZBERG S L, 2011. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 27(21): 2957-2963.
- MAKINO W, COTNER J B, STERNER R W, et al., 2003. Are bacteria more like plants or animals? Growth rate and resource dependence of bacterial C:N:P stoichiometry [J]. *Functional Ecology*, 17(1): 121-130.
- MCGILL W B, COLE C V, 1981. Comparative aspects of cycling of organic C, N, S and P through soil organic matter [J]. *Geoderma*, 26(4): 267-286.
- NEW M, TODD M, HULME M, et al., 2001. Precipitation measurements and trends in the twentieth century [J]. *International Journal of Climatology*, 21(15): 1889-1922.
- OCHOA-HUESO R, COLLINS S L, DELGADO-BAQUERIZO M, et al., 2018. Drought consistently alters the composition of soil fungal and bacterial communities in grasslands from two continents [J]. *Global Change Biology*, 24(7): 2818-2827.
- PEÑUELAS J, SARDANS J, 2009. Elementary factors [J]. *Nature*, 460(7257): 803-804.
- QIAO Y, WANG J, LIU H M, et al., 2020. Depth-dependent soil C-N-P stoichiometry in a mature subtropical broadleaf forest [J]. *Geoderma*, 370: 114357.
- QI J J, CHEN B B, GAO J M, et al., 2022. Responses of soil bacterial community structure and function to dry-wet cycles more stable in paddy than in dryland agricultural ecosystems [J]. *Global Ecology and Biogeography*, 31(2): 362-377.
- SARDANS J, RIVAS-UBACH A, PEÑUELAS J, 2012. The elemental stoichiometry of aquatic and terrestrial ecosystems and its relationships with organismic lifestyle and ecosystem structure and function: a review and perspectives [J]. *Biogeochemistry*, 111(1): 1-39.
- SCHIMEL J, BALSER T C, WALLENSTEIN M, 2007. Microbial stress-response physiology and its implications for ecosystem function [J]. *Ecology*, 88(6): 1386-1394.
- SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, et al., 2009. Introducing mothur: Open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities [J]. *Applied*

- and Environmental Microbiology, 75(23): 7537-7541.
- SCHLESINGER W H, REYNOLDS J F, CUNNINGHAM G L, et al., 1990. Biological feedbacks in global desertification [J]. Science, 247(4946): 1043-1048.
- SCHWINNING S, SALA O E, 2004. Hierarchy of responses to resource pulses in arid and semi-arid ecosystems [J]. Oecologia, 141(2): 211-220.
- STERNER R W, ELSER J J, 2003. Ecological stoichiometry: The biology of elements from molecules to the biosphere [J]. Journal of Plankton Research, 25(9): 1183.
- VAN DER HEIJDEN M G A, BARDGETT R D, VAN STRAALLEN N M, 2008. The unseen majority: Soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems [J]. Ecology Letters, 11(3): 296-310.
- XU L, NAYLOR D, DONG Z, et al., 2018. Drought delays development of the sorghum root microbiome and enriches for monoderm bacteria [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 115(18): E4284-E4293.
- ZECHMEISTER-BOLTENSTERN S, KEIBLINGER K M, MOOSHAMMER M, et al., 2015. The application of ecological stoichiometry to plant-microbial-soil organic matter transformations [J]. Ecological Monographs, 85(2): 133-155.
- 鲍士旦, 2000. 土壤农化分析 [M]. 北京: 中国农业出版社.
- BAO S D, 2000. Soil agrochemical analysis [M]. Beijing: China Agriculture Press.
- 黄菊莹, 余海龙, 刘吉利, 等, 2018. 控雨对荒漠草原植物、微生物和土壤 C、N、P 化学计量特征的影响 [J]. 生态学报, 38(15): 5362-5373.
- HUANG J Y, YU H L, LIU J L, et al., 2018. Effects of precipitation levels on the C:N:P stoichiometry in plants, microbes, and soils in a desert steppe in China [J]. Acta Ecologica Sinica, 38(15): 5362-5373.
- 李一春, 余海龙, 王攀, 等, 2020. 降水量对荒漠草原植物群落多样性和 C:N:P 生态化学计量特征的影响 [J]. 中国草地学报, 42(1): 117-126.
- LI Y C, YU H L, WANG P, et al., 2020. Effects of precipitation on plant community diversity and C:N:P ecological stoichiometry diversity in a desert steppe of Ningxia, Northwestern China [J]. Chinese Journal of Grassland, 42(1): 117-126.
- 王誉陶, 李建平, 井乐, 等, 2020. 模拟降雨对黄土高原典型草原土壤化学计量及微生物多样性的影响 [J]. 生态学报, 40(5): 1517-1531.
- WANG Y T, LI J P, JING L, et al., 2020. Effects of different precipitation treatments on soil ecological chemistry and microbial diversity in the Loess Plateau [J]. Acta Ecologica Sinica, 40(5): 1517-1531.

Shaping Characteristics of Elemental Stoichiometry on Microbial Diversity under Different Soil Water Contents

CHEN Junfang^{1,2}, WU Xian^{1,2}, LIU Xiaolin^{1,2}, LIU Juan³, YANG Jiarong^{1,2}, LIU Yu^{1,2*}

1. ECNU-UAlberta Joint Lab for Biodiversity Study/School of Ecology and Environmental Sciences, East China Normal University, Shanghai 200241, P. R. China;

2. Tiantong National Station for Forest Ecosystem Research, Ningbo 315114, P. R. China;

3. Agroforestry Center of Baifu Town, Chengwu 274200, P. R. China

Abstract: It is well known that soil elemental stoichiometry, strongly dependent on soil water contents, plays an important role in shaping soil microbial diversity, which in turn is important for promoting aboveground biodiversity. However, it is not yet clear how soil water contents-mediated changes in elemental stoichiometry may affect microbial diversity. In this study, we sampled 1 287 soil cores from a 20 hm² subtropical forest dynamic plot in Zhejiang Province to elucidate how resource quantity (OC, TN and TP) and elemental stoichiometry (C:N, C:P and N:P ratios) affected soil microbial community under different soil water contents that were the relatively “high” (75.5%–34.8%) level vs. the relatively “low” (34.8%–4.83%) level. Illumina high-throughput sequencing technology was used to analyze soil microbes. Results showed that soil water contents altered soil elemental stoichiometry, thereby microbial diversity. Our specific results included that (1) soil water contents significantly affected the α diversity of soil microbes. Compared with that under high water contents, the α diversity of bacterial and fungal communities under low water contents was significantly increased by 0.830% and 2.62%, respectively. (2) The dominant microbial phyla responded differently to high vs. low water contents. Compared with low water contents, high water contents significantly increased the relative abundance of five bacterial phyla (Proteobacteria, Actinobacteria, Planctomycetes, WPS and Cyanobacteria) and two fungal phyla (Rozellomycota and Zygomycota) by 6.50%–97.4% and 0.530%–39.7%, respectively. Conversely, the relative abundances of seven bacterial phyla (Acidobacteria, Verrucomicrobia, Bacteroidetes, Chloroflexi, Gemmatimonadetes, Patescibacteria and Elusimicrobia) and two fungal phyla (Ascomycota and Glomeromycota) were significantly decreased under high water contents, with decreases of 6.90%–39.7% and 7.09%–7.33%, respectively. (3) The resource quantity (OC, TN and TP) and elemental stoichiometry (C:N, C:P and N:P) were significantly and positively correlated with soil water contents. (4) The C:N, C:P and N:P were significantly and negatively correlated with microbial diversities, regardless of soil water contents. These findings combined indicate that soil elemental stoichiometry is critical for shaping soil microbial diversity and soil water contents do not alter the trend. Our study that tested the effect of soil water contents on soil elemental stoichiometry may contribute to improving our understanding of how the microbial diversity would respond to the change in soil water contents caused by global warming.

Keywords: climate change; soil water content; elemental stoichiometry; microbial diversity