海拔高度对西藏高原核桃园土壤氮含量及氮循环微生物功能基因分布的影响

王习铖[1,2], 李绪勋[1], 向风云[1,2], 朱建强[1,2], 何文燕[1], 李继福[1,2]
(1.长江大学 农学院, 湖北 荆州 434025; 2.西藏加查核桃科技小院, 西藏 山南 856400)

摘　要: [目的]探究西藏高原核桃园土壤氮素供应特征、氮循环微生物功能基因分布规律及环境驱动机制,为高原核桃园地力培肥与土壤保育工作提供科学依据。[方法]在山南市加查县沿雅鲁藏布江选取4个海拔梯度(海拔3 000~3 600 m)的典型核桃园为对象,采集土壤样品,结合Illumina宏基因组测序与常规土壤分析方法,分析土壤氮含量、氮循环微生物功能基因丰度与多样性及其与土壤化学性质的关联性,并通过主成分分析、LDA效应分析和冗余分析揭示环境因子的调控作用。[结果]4个海拔高度处核桃园土壤均呈中性,全氮和有效氮平均含量分别为0.11 g/kg和2.03 mg/kg,氮素水平显著偏低。参与土壤氮循环的优势微生物门为放线菌门、变形菌门和酸杆菌门,平均相对丰度分别为32.45%,24.64%和17.43%。氮循环功能基因总数随海拔升高呈递增趋势,3 550 m处基因数量最丰富。不同海拔高度主导氮转化过程存在差异:3 112 m处以氮矿化与反硝化基因为主,3 248 m处富集异化及同化硝酸盐还原与硝化基因,3 364 m处以生物固氮和氮同化基因为核心,而3 550 m处以氮吸收基因占优。相比低海拔区,高海拔(3 364和3 550 m)区核桃园土壤拥有更多特有基因。土壤pH值、有机质、全氮及有效氮对metE,nirK和nasA等关键氮循环基因分布具有显著调控作用。[结论]西藏高原核桃园土壤氮素严重缺乏,海拔梯度导致氮循环微生物功能基因分布明显分异,且受土壤pH值,SOM,TN和AN调控。高海拔区土壤微生物通过增强固氮能力和氮存留策略以应对氮限制。高原核桃园生产管理中需针对性施用有机肥与适量化肥,以提升土壤肥力,改善土壤氮素供应与微生物氮循环功能。

关键词: 海拔高度; 土壤氮循环; 高原核桃; 分布特征; 宏基因组; 西藏高原
文献标识码: A　　**文章编号:** 1000-288X(2026)03-0117-09　　**中图分类号:** S664.1, S154.1

文献参数: 王习铖, 李绪勋, 向风云, 等.海拔高度对西藏高原核桃园土壤氮含量及氮循环微生物功能基因分布的影响[J].水土保持通报,2026,46(3):117-125. Wang Xicheng, Li Xuxun, Xiang Fengyun, et al. Effects of altitude on soil nitrogen content and distribution of nitrogen-cycling microbial functional genes in walnut orchards on Xizang Plateau [J]. Bulletin of Soil and Water Conservation,2026,46(3):117-125.
DOI:10.13961/j.cnki.stbctb.2026.03.001　　**CSTR:32312.14.stbctb.2026.03.001**

Effects of altitude on soil nitrogen content and distribution of nitrogen-cycling microbial functional genes in walnut orchards on Xizang Plateau

Wang Xicheng[1,2], Li Xuxun[1], Xiang Fengyun[1,2], Zhu Jianqiang[1,2], He Wenyan[1], Li Jifu[1,2]
(1.*College of Agriculture*, *Yangtze University*, *Jingzhou*, *Hubei* 434025, *China*;
2.*Xizang Gyaca Walnut Science and Technology Courtyard*, *Lhoka*, *Xizang* 856400, *China*)

Abstract: [Objective] The characteristics of soil nitrogen supply, the distribution patterns of microbial nitrogen-cycling functional genes, and the environmental driving mechanisms in walnut orchards on the Xizang Plateau were investigated in order to provide a scientific basis for soil fertility improvement and soil conservation in plateau walnut orchards. [Methods] Typical walnut orchards along the Yarlung Zangbo River in Gyaca County, Lhoka City, were selected across four altitude gradients (3 000—3 600 m above sea level). Soil samples were collected,

收稿日期:2025-09-03　　**修回日期:**2025-11-25　　**采用日期:**2025-11-26
资助项目:湖北省"十四五"科技援藏重大项目"西藏高原核桃产业技术研究"(SCXX-XZCG-22016)
第一作者:王习铖(2003—),男(土家族),湖北省宜昌市人,硕士研究生,研究方向为养分管理与土壤健康。Email:2025710890@yangtzeu.edu.cn。
通信作者:李继福(1987—),男(汉族),河南省新乡市人,博士,副教授,主要从事作物养分管理、土壤环境与健康等方面的研究。Email:jifuli@yangtzeu.edu.cn。

and Illumina metagenomic sequencing combined with conventional soil analysis methods was used to determine soil nitrogen content, the abundance and diversity of microbial nitrogen-cycling functional genes, and their relationships with soil chemical properties. Principal component analysis, linear discriminant analysis effect size, and redundancy analysis were performed to reveal the regulatory effects of environmental factors. [Results] The soils of walnut orchards at the four altitudes were neutral, with mean total nitrogen (TN) and available nitrogen (AN) contents of 0.11 g/kg and 2.03 mg/kg, respectively, indicating a significantly low nitrogen level. The dominant microbial phyla involved in the soil nitrogen cycle were Actinobacteria (32.45%), Proteobacteria (24.64%), and Acidobacteria (17.43%). The total number of nitrogen-cycling functional genes showed an increasing trend with altitude, and the highest abundance was observed at 3 550 m. The dominant nitrogen transformation processes differed among altitudes: nitrogen mineralization and denitrification genes were dominant at 3 112 m; genes related to dissimilatory and assimilatory nitrate reduction and nitrification were enriched at 3 248 m; biological nitrogen fixation and nitrogen assimilation genes were dominant at 3 364 m; and nitrogen uptake genes were predominant at 3 550 m. Compared with lower altitudes, the soils of walnut orchards at higher altitudes (3 364 m and 3 550 m) harbored more unique genes. Soil pH value, soil organic matter (SOM), TN, and AN significantly regulated the distribution of key nitrogen-cycling functional genes such as metE, nirK, and nasA. [Conclusion] The soils of walnut orchards on the Xizang Plateau are severely deficient in nitrogen. Altitude gradients result in marked differentiation in the distribution of microbial nitrogen-cycling functional genes, which are regulated by soil pH value, SOM, TN, and AN. Soil microbial communities at higher altitudes respond to nitrogen limitation by enhancing nitrogen fixation capacity and adopting nitrogen retention strategies. In the production management of plateau walnut orchards, targeted application of organic manure and appropriate chemical fertilizers is required to improve soil fertility, nitrogen supply, and microbial nitrogen-cycling function.

Keywords: altitude; soil nitrogen cycle; plateau walnut; distribution characteristics; metagenomics; Xizang Plateau

氮素作为陆地生态系统生产力提升与功能维持的核心元素,其循环过程直接调控土壤肥力、植物生长和温室气体排放等过程[1]。在氮素生物地球化学循环中,微生物通过编码特定功能基因(如nifH,amoA和nosZ等)调控固氮、硝化和反硝化等关键过程[2]。近年来,土壤氮循环基因已成为微生物生态学领域的研究热点[3]。借助宏基因组学技术,可快速、准确地解析土壤微生物的功能基因特征[4]。张玮玮等[5]对水库氮循环功能基因研究表明,海拔会影响氮循环功能基因的构成与数量,涉及glTBA和glnA等多种基因。郭俊杰等[6]研究发现,有机肥与秸秆配施可显著提高氮循环功能基因相对丰度,且该基因相对丰度与土壤pH值、有机碳(SOC)呈显著相关。此外,amoA, ureC和glsA等氮循环功能基因相对丰度的变化,能精准反映土壤硝化、矿化过程的强度差异[7],例如反硝化基因(nirK, nosZ)主要富集于厌氧环境,而氨氧化基因(amoA)则多集中在以硝化作用为主土壤[8]。然而,现有研究结论多基于低海拔或温带环境,部分聚焦于氮循环微生物功能基因对施肥措施的响应,针对高海拔生态环境,尤其高原核桃园土壤氮循环功能基因分布及调控机制的研究相对薄弱,难以满足高原特色农业生产需求,而海拔可能导致氮循环功能微生物的多样性和基因丰度呈现特异性分布。

西藏自治区是中国六大核桃分布区之一,核桃种植历史悠久,主要分布在雅鲁藏布江两岸山坡上,是当地重要经济来源[9]。高原核桃以生态、优质著称,但当地核桃园生产管理普遍较为粗放,基本没有施肥、培肥等农艺措施,严重制约了核桃产量形成。核桃的生长发育与土壤氮素供给紧密相关,氮素是核桃生长的核心营养元素,对枝叶生长、果实发育及品质提升起决定性作用,且在整个生长周期内对氮素的吸收量高于磷、钾等元素[10-11]。本研究以西藏加查县海拔3 000~3 600 m的核桃园为对象,探究高海拔梯度下土壤氮循环微生物功能基因的分布规律及影响因素。通过宏基因组技术结合土壤参数分析,揭示氮循环功能基因丰度及多样性对海拔变化的响应,丰富微生物地理学海拔梯度研究内容;同时,为核桃园土壤精准施肥与保育提供数据支撑。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区域位于西藏自治区山南市加查县,地处雅鲁藏布江中游,城区和耕地主要分布于雅鲁藏布

江两岸谷地、坡地和台地区。该区域日照时间长约7.5 h/d,年均气温8.9 ℃,年均降水量493 mm。加查县跨越冈底斯山脉、喜马拉雅山脉凹陷带和雅鲁藏布江板块结合带,地质和成土环境复杂,土壤母质以板岩、片麻岩、千枚岩风化物和第四纪松散堆积物为主[12-14]。

1.2　试验方法

2022年7月中旬,在西藏山南市加查县主要核桃产区的安绕镇和加查镇4个核桃园进行土壤样品采集,样点位置和信息详见表1。所选核桃园均未受化学肥料、农药喷洒等人为干扰且海拔梯度差异显著。为减少采样误差,选取各核桃园树龄相近的核桃树,采用多点采样方法,在每株核桃树冠层滴水线附近的4个方向采集0—40 cm土层样品并混合。将混合后的土壤样品按"四分法"保留1 kg,除去其中的植物残体、碎石等杂物,每个园区3次重复,共计12份土壤样品。采集的核桃园土壤样品一部分装入自封袋带回风干,磨细后分别过0.85和0.15 mm筛,保存于自封袋用于土样测定;另一部分置于干冰泡沫箱内带回实验室,放入−80 ℃超低温冰箱保存测定土壤氮循环功能基因。

1.3　样品测定

土壤样品测定:土壤pH值、有机质(SOM)和全氮(TN)分别用pH电位计、重铬酸钾外加热法和半微量凯氏定氮法测定;有效氮(AN)、速效磷(AP)、速效钾(AK)和缓效钾(SAK)分别采用碱解扩散法、钼锑抗比色法和火焰光度法测定[15-17]。

宏基因组测序基于Illumina高通量测序平台,采用双末端测序(paired-end)技术构建小片段文库进行测序。通过生物信息分析获得环境微生物的基因功能和物种组成信息。试验流程按照Illumina公司提供的标准protocol执行,包括样品质量检测、文库构建、文库质量检测和文库测序等流程。样品基因组DNA检测合格后,将DNA片段化处理,然后对片段化的DNA进行末端修复,3′端加A,连接测序接头,连接产物纯化片筛,文库扩增,产物纯化形成测序文库,文库质检合格后用Illumina测序仪进行测序。对测序得到的原始reads进行质量控制并过滤得到Clean reads,用于后续生物信息学的分析。对Clean reads进行拼接组装、预测编码基因、构建非冗余基因集,并对非冗余基因集进行通用数据库和专用数据库的功能注释、分类学分析,统计样品物种组成和丰度信息[18]。

1.4　数据处理与分析

采用MS Excel 2021进行试验数据整理和图表制作,SPSS 18.0用于统计分析。土壤宏基因组测序由北京百迈客生物科技有限公司完成,借助百迈客云平台完成氮循环微生物功能基因和物种的数据分析。土壤性质与氮循环功能基因RDA分析采用Canoco 5软件完成。通过R语言工具绘制主成分分析(PCA)图;采用Adobe Illustrator软件进行图片编辑与修饰。

2　结果与分析

2.1　核桃园土壤化学性质

由表1可知,4个海拔梯度的核桃园土壤均呈中性,pH值平均7.45,介于7.36～7.52。不同海拔土壤SOM和TN的平均含量分别为18.9和0.11 g/kg,且随海拔升高呈先降后稳趋势,其中海拔3 112 m处SOM和TN含量最高,分别为29.0和0.17 g/kg。核桃园土壤AN, AP, AK和SAK的平均含量分别为2.03,9.0,94.2和1 256.6 mg/kg,且各指标随海拔变化趋势存在差异。土壤AN含量随海拔升高而逐渐降低,3 112 m处AN含量达到3.99 mg/kg,显著高于其他海拔;土壤AP含量随海拔升高呈先降后升趋势,3 112 m处最高(21.7 mg/kg),3 364 m处最低,为3.6 mg/kg;土壤AK含量在海拔3 112 m处明显富集,其余海拔AK含量相对较低且差异较小;随着海拔上升,土壤SAK含量变化规律不明显,并在海拔3 364 m处达到峰值,为2 539.7 mg/kg。结果表明西藏高原核桃园土壤氮素供应能力严重不足,而土壤钾供应能力相对较强,显著高于氮和磷养分供给。

表1　不同海拔高度核桃园土壤化学性质

Table 1　Soil chemical properties of walnut orchards at different altitudes

采样地点	海拔高度/m	pH值	SOM/(g·kg^{-1})	TN/(g·kg^{-1})	AN/(mg·kg^{-1})	AP/(mg·kg^{-1})	AK/(mg·kg^{-1})	SAK/(mg·kg^{-1})
次仁村	3 112	7.42±0.45^{ab}	29.0±2.8^{a}	0.17±0.10^{a}	3.99±0.32^{a}	21.7±3.25^{a}	194.8±15.87^{a}	1 126.2±72.1^{b}
龙巴村	3 248	7.36±0.33^{b}	19.6±1.9^{b}	0.12±0.05^{a}	2.13±0.15^{b}	6.7±0.52^{b}	50.9±3.27^{c}	781.0±54.4^{c}
拉岗村	3 364	7.51±0.27^{a}	14.3±1.4^{c}	0.09±0.07^{b}	0.86±0.09^{d}	3.6±0.44^{c}	57.4±2.87^{c}	2 539.7±124.4^{a}
桑珠村	3 550	7.52±0.34^{a}	12.7±1.6^{c}	0.07±0.06^{c}	1.12±0.18^{c}	4.0±0.72^{c}	73.5±5.96^{b}	579.6±55.0^{d}

注:①数值为平均值±标准误;②不同小写字母表示各处理之间差异显著(p<0.05)。下同。

2.2 核桃园土壤氮循环功能基因

2.2.1 氮循环功能基因数量

通过箱线图(图 1a)与 Venn 图(图 1b)分析不同海拔土壤氮循环功能基因数的差异,结果显示,从低海拔(3 112 m)到高海拔(3 550 m),土壤氮循环功能基因数目总体呈递增趋势,且海拔 3 550 m 处的土壤氮循环功能基因数量最丰富;其中 3 248 和 3 364 m 海拔处的箱线分布范围较宽,表明这两个区域内不同样本的基因数量差异较大;同时,3 112 和 3 248 m 海拔之间的基因数量存在极显著差异(p=0.000 34)。Venn 图进一步显示,各海拔独特基因比例差异明显,海拔 3 550 m 处的独特基因数量最多,达 5 597 个,占总基因数的 29.7%;3 112 m 海拔处的独特基因为 4 203 个,比例 22.3%;而 4 个海拔处土壤微生物共同拥有的基因仅 528 个,占总基因数的 2.8%。这表明高海拔地区氮循环基因数量更丰富,且环境特异性塑造了大量独特基因,而中海拔区域样本则表现出较强的基因数量异质性。

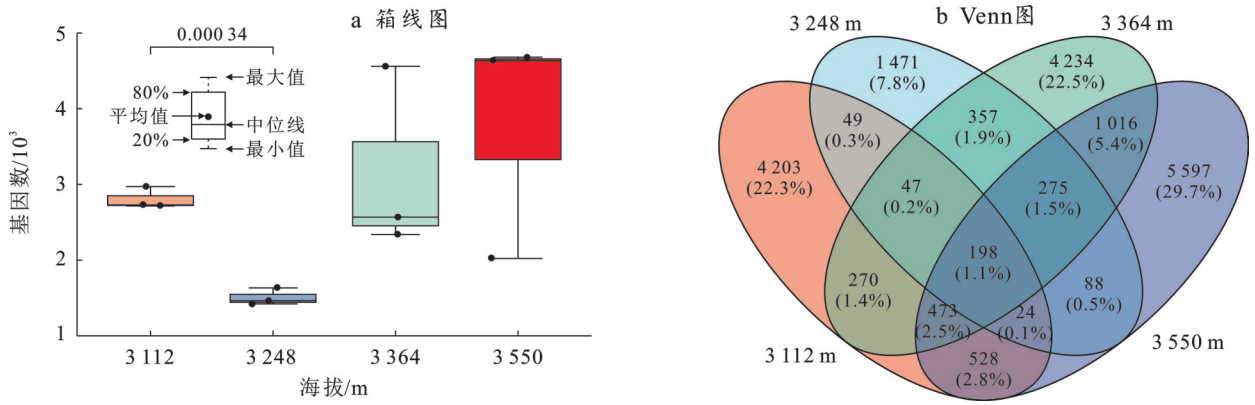


图 1 不同海拔高度核桃园土壤氮循环功能基因数量

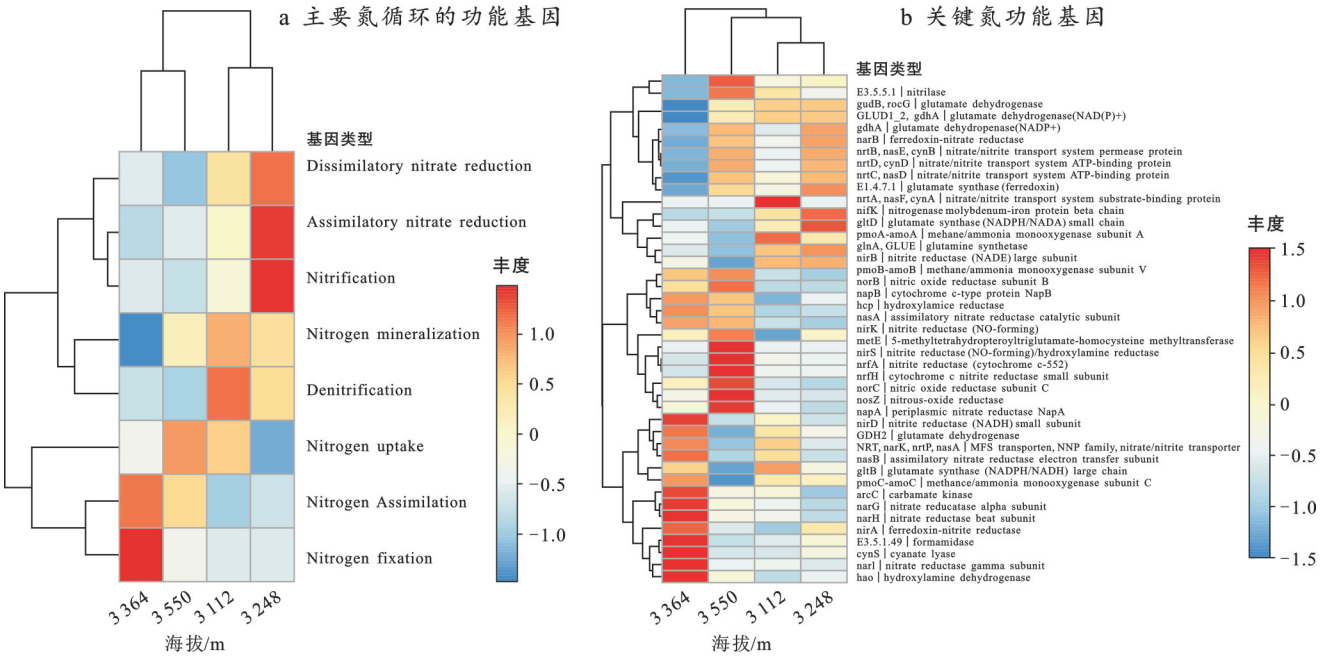
Fig. 1 Number of soil nitrogen-cycling functional genes in walnut orchards at different altitudes

2.2.2 氮循环功能基因相对丰度

由图 2a 可以看出,核桃园土壤共参与 8 个氮循环过程,包括异化硝酸盐还原(dissimilatory nitrate reduction)、同化硝酸盐还原(assimilatory nitrate reduction)、硝化作用(nitrification)、氮同化(nitrogen assimilation)、反硝化作用(denitrification)、氮吸收(nitrogen uptake)、氮矿化(nitrogen mineralization)和固氮作用(nitrogen fixation),且不同海拔主导的氮循环过程存在显著差异。海拔 3 112 m 处以氮矿化(nitrogen mineralization)作用和反硝化作用(denitrification)为主,且有关基因的相对丰度较高。异化硝酸盐还原(dissimilatory nitrate reduction)、同化硝酸盐还原(assimilatory nitrate reduction)和硝化作用(nitrification)功能基因在海拔 3 248 m 处的相对丰度较高。固氮作用(nitrogen fixation)和氮同化(nitrogen assimilation)功能基因在海拔 3 364 m 处的相对丰度较高。海拔 3 550 m 处则主要以氮吸收相关基因(nitrogen uptake)为主导。图 2b 结果显示,不同海拔关键氮循环功能基因的相对丰度差异显著。在海拔 3 112 m 处,反硝化(denitrification)与氮矿化(nitrogen mineralization)功能基因相对丰度较高,反硝化核心基因(nirS, norC, nosZ)及异化硝酸盐还原基因(nrfA, nrfH, napA)相对丰度表现突出。在海拔 3 248 m 处,参与同化硝酸盐还原(nirD)、氮同化(arcC)、异化硝酸盐还原(narG, narH, narl)、氮矿化(E3.5.1.49,cynS)和硝化作用(hao)的基因相对丰度较高。海拔 3 364 m 处土壤微生物以固氮作用和氮同化过程为主导,氨化基因(glnA, GLUL)相对丰度较高,且固氮关键基因 nifK 为该海拔处土壤微生物独有。在 3 550 m 海拔处,参与硝化作用的 pmoA 和氨化作用的 gltD 基因相对丰度高于其他检测到的基因。

2.2.3 氮循环功能基因 Beta 多样性分析

图 3 为基于 KEGG-KO 数据库的氮循环功能基因相对丰度主成分(PCA)分析结果,呈现不同海拔土壤氮循环功能基因多样性差异。第一主成分(PCA_1)解释贡献率为 54.04%,第二主成分(PCA_2)解释贡献率 43.67%,合计达 97.71%,可有效解释样品间的基因组差异。从 PCA 图中基因点的分布来看,4 个海拔梯度可明显分为两组,高海拔组(3 550 m 和 3 364 m)的基因点聚集区域与低海拔组(3 248 m 和 3 112 m)的基因点区域相隔较远,表明高海拔与低海拔的土壤微生物氮循环功能基因组成差异较大。同时,海拔 3 248 m 和 3 112 m 的基因点相互靠近,海拔 3 550 m 和 3 364 m 的基因点也相对集中,反映出相同海拔梯度内,土壤氮循环功能基因组成具有更高相似性,低海拔组内、高海拔组内基因组成分别趋于一致,组间差异明显。



注:红色(1.5)表示该功能通路在样本中的相对丰度最高或表达水平最高;白色(0)表示丰度处于平均水平;深蓝色(−1.5)表示该功能通路在样本中的相对丰度最低或表达水平最低。

图 2　不同海拔高度土壤氮循环主要功能基因相对丰度热图

Fig.2　Heatmap of relative abundances of major soil nitrogen-cycling functional genes at different altitudes

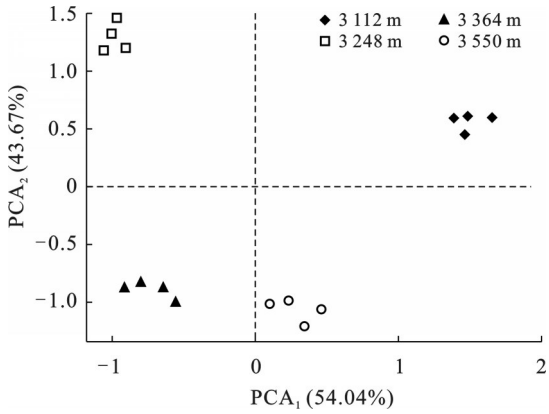


图 3　不同海拔高度核桃园土壤氮循环 KO 水平功能基因主成分分析(PCA)

Fig.3　Principal component analysis (PCA) of soil nitrogen-cycling KO-level functional genes in walnut orchards at different altitudes

2.3　核桃园土壤氮循环功能微生物物种变化特征

2.3.1　氮循环微生物物种 Alpha 多样性

由表 2 可知,不同海拔高度处土壤氮循环功能微生物物种的序列覆盖度均为 0.99,无显著差异,表明海拔对微生物群落测序深度的影响可忽略不计,测序数据能较好地反映微生物群落组成与结构分布特征。在丰富度指数中,海拔 3 550 m 处的 Chao1 和 Species 最高,分别为 518.05,518.81。海拔 3 112 m,3 364 m 处的丰富度指数与 3 550 m 处无显著差异,而海拔 3 248 m 的丰富度指数与其他海拔差异显著。在多样性指数中,Simpson 指数和 Shannon 指数均在海拔 3 364 m 处达到最高值,分别为 0.98,5.05。不同海拔的 Simpson 指数间存在显著差异。在 Shannon 指数中,海拔 3 550 m 和 3 364 m 处之间无显著差异;海拔 3 112,3 364 m 和 3 248 m 处之间差异显著。

表 2　不同海拔高度核桃园土壤氮循环微生物 Alpha 多样性

Table 2　Alpha-diversity of soil nitrogen-cycling microbial species in walnut orchards at different altitudes

海拔/m	丰富度指数		多样性指数		覆盖度
	Chao1	Species	Simpson	Shannon	
3 112	465.15±55.34^{ab}	464.36±46.97^{ab}	0.96±0.046^{b}	4.78±0.34^{b}	0.99±0.01^{a}
3 248	342.23±42.58^{b}	341.43±37.21^{b}	0.95±0.032^{c}	4.36±0.29^{c}	0.99±0.01^{a}
3 364	495.67±48.62^{ab}	494.79±54.56^{ab}	0.98±0.039^{a}	5.05±0.30^{a}	0.99±0.01^{a}
3 550	518.05±62.87^{a}	518.81±57.54^{a}	0.97±0.042^{b}	4.82±0.23^{ab}	0.99±0.01^{a}

2.3.2　氮循环微生物物种组成

图 4 展示了在门水平下相对丰度前 12 的氮循环微生物物种组成,其他物种合并为 Others。不同海拔的门水平微生物物种组成存在一定的差异,海拔

3 112 m 处的变形菌门(Proteobacteria)相对丰度最高,比例 32.0%,其次是酸杆菌门(Acidobacteria),比例 24.6%。海拔 3 248,3 364 和 3 550 m 处均以放线菌门(Actinobacteria)相对丰度最高,分别占 45.17%,46.95% 和 29.95%。从整体来看,4 个海拔的优势微生物物种的门组成一致,均为放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria),平均相对丰度分别为 32.45%,24.64% 和 17.43%;而硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、浮霉菌门(Planctomycetes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)等的相对丰度较低,平均仅占约 1%。

采用 LEfSe 分析(线性判别分析效果大小)挖掘不同海拔梯度间门水平微生物物种的显著差异,以揭示海拔变化对氮循环微生物物种组成的影响[19]。LEfSe 分析结果(图 5)显示,在不同海拔梯度下,氮循环微生物物种在门-属分类层级上存在显著差异,共筛选出 39 个生物标记物,其中海拔 3 112,3 248,3 364 和 3 550 m 分别有 13,14,5,7 个。海拔 3 112 m 处显著富集的微生物群落包括 Betaproteobacteria,Proteobacteria,Acidobacteria,Deltaproteobacteria,Gammaproteobacteria,Myxococcales,Steroidobacter 和 Burkholderiales 等。海拔 3 248 m 处显著富集的类群主要包括 Pseudonocardia,Pseudonocardiaceae,Acidobacteriia,Pseudonocardiales,Streptomyces 和 Streptomycetaceae 等。在海拔 3 364 m 处发生显著变化的物种主要有 Actinomycetia,Actinobacteria 和 Nocardioidaceae 等。在海拔 3 550 m 处发生显著富集的物种主要有 Bradyrhizobiaceae,Bradyrhizobium,Solirubrobacterales 和 Thermoleophilia 等。

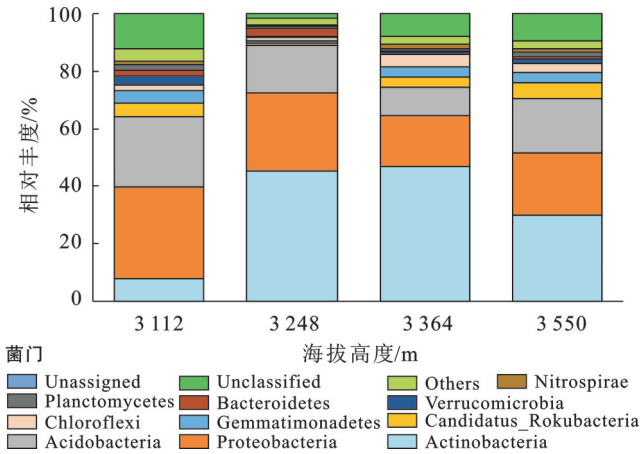
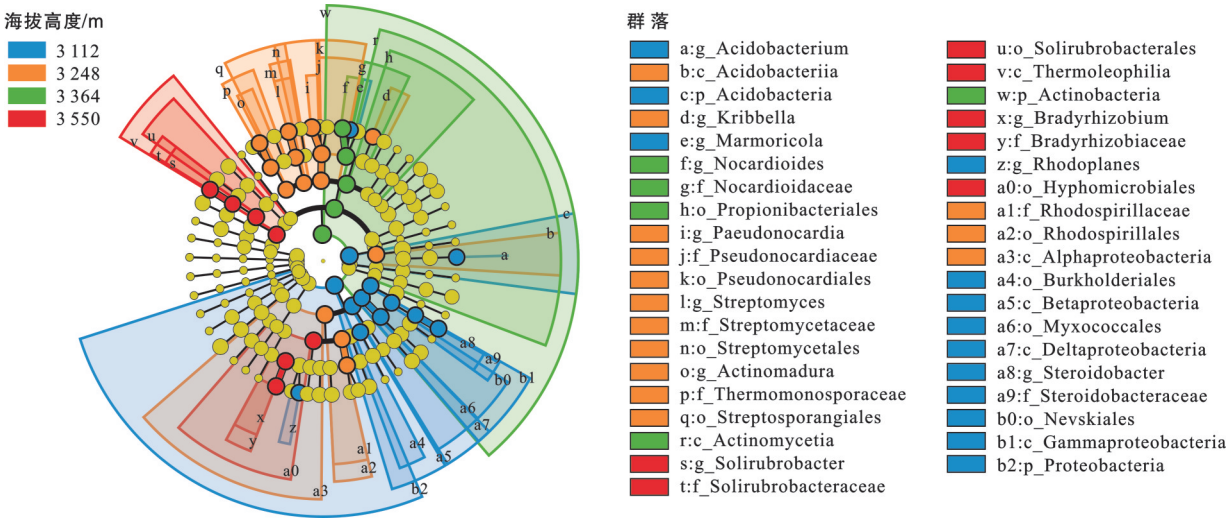


图 4 不同海拔核桃园土壤氮循环门水平微生物组成相对丰度

Fig.4 Relative abundance of soil N-cycling microorganisms at phylum level in walnut orchards at different altitudes



注:进化分支图由内至外辐射的圆圈代表由门至属的分类级别;在不同分类级别上的每一个小圆圈代表该水平下的一个分类,小圆圈直径大小与相对丰度大小成正比;着色原则是将无显著差异的物种统一着色为黄色,其他差异物种按该物种所在丰度最高的分组进行着色。

图 5 不同海拔核桃园土壤氮循环微生物群落分类进化图(LDA 值>4.5)

Fig.5 Cladogram analysis of soil nitrogen-cycling microbial community in walnut orchards at different altitudes (LDA score > 4.5)

2.4 土壤化学性质与氮循环功能基因相关分析

图 6 为基于 RDA 模型的土壤化学性质与氮循环微生物功能基因冗余分析,选取相对丰度前 20 的土壤氮循环功能基因,用于揭示土壤化学性质指标对氮循环功能基因的影响程度。结果显示,土壤 SOM,TN,AN,AP,AK 和 pH 值对土壤氮循环功能基因的影响贡献率合计达 97.11%,其中,排序轴 RDA_1 和 RDA_2 的解释率分别为 65.5% 和 31.6%,表明这 6 个环境因子能很好地解释氮循环功能基因的分布差异。从性质因子与土壤氮循环功能基因的相

关性来看,pH 值, SOM, TN 和 AN 对氮循环功能基因的影响最强,而 SAK 对功能基因的影响最小。AN, TN, SOM 与氮同化功能基因 metE 的相关性最高,对 metE 的调控作用最强;其次,这 3 个因子与反硝化基因 nirK 和同化硝酸盐还原基因 nasA 的相关性也较高,对其分布具有显著影响。

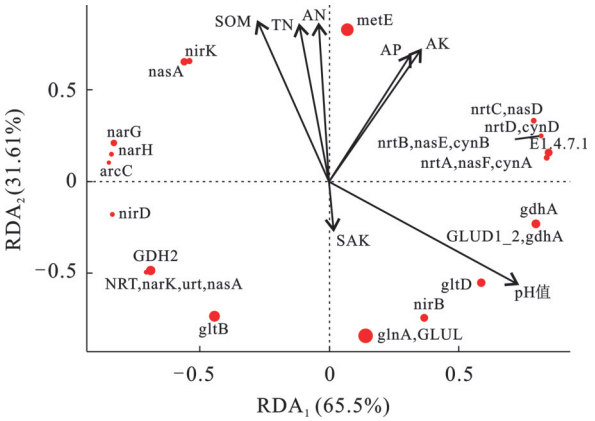


图 6　土壤化学性质与氮循环微生物功能基因冗余分析

Fig.6　Redundancy analysis of soil chemical properties and nitrogen-cycling functional genes

3　讨　论

土壤氮素是调控地上植被生长发育的关键养分,已有研究[20]表明,土壤全氮及氮素循环组分与核桃产量、品质呈显著正相关。高海拔地区,低温环境会抑制土壤微生物活性,导致氮循环功能速率减缓,微生物对土壤矿质氮组分分解能力下降,进而造成氮素释放不足[21]。同时,海拔高度也是影响反硝化细菌群落组成的重要因素,低海拔与高海拔地区在温度、湿度和土壤理化性质等环境条件存在显著差异。低海拔地区更适宜异养型反硝化细菌生长和活动,从而促进异化硝酸盐还原和反硝化作用[22-23]。此外,环境因素(如温度、氧气水平、土壤特性等)不仅会显著影响微生物氮循环基因相对丰度,还会调控氮循环过程效率与生态系统稳定性[24-25]。本研究中,固氮(nifK)基因在海拔 3 364 m 处富集,表明该海拔土壤微生物倾向于通过增强固氮作用补充氮源,维持氮素留存,这一现象反映高寒生态系统微生物应对氮限制的适应性机制[26]。例如,在内蒙古樟子松林中,固氮菌在贫瘠生境中的比例优势更为突出,表明微生物可通过氮素内循环维持生态系统稳定性[27]。相比低海拔地区,高海拔(3 364～3 550 m)核桃园土壤中不同氮循环功能基因相对丰度显著增加,可能归因于环境压力对微生物群落的筛选作用,如低温,缺氧,强紫外线辐射等[28],这与王竹等[29]提出的“海拔通过改变水热条件引起微生物垂直分层”的观点相一致。同时,图 1b 显示各海拔氮循环功能基因共享率仅为 2.8%,表明沿海拔梯度形成高度特异化的微生物功能群,这种生态位多样化可能会增强系统对气候变化的适应能力[27]。高海拔(3 550 m)核桃园土壤中放线菌门(Actinobacteria)所占比例达 29.95%,这与该类微生物低温适应性密切相关,放线菌门可通过产生嗜冷酶(如淀粉酶、蛋白酶等)维持代谢活性[30]。例如祁连山高海拔根际土中链霉菌属菌株在 4 200 m 仍能高效分解有机物[31];此外,部分放线菌门还可通过表达基因组中冷休克蛋白基因增强低温耐受性[32]。低海拔(3 112 m)核桃园土壤中变形菌门(Proteobacteria)比例为 32%,这类微生物通常依赖于高有机质或充足氮源环境[33]。黄正谊等[34]对尖峰岭海拔梯度土壤研究发现,0—20 cm 土层中变形菌门(Proteobacteria)比例随海拔降低逐渐增加,且与全氮含量呈强正相关,这与本研究中低海拔土壤 TN 含量相对较高结果表现一致。因此,土壤氮循环功能基因的分布不仅受环境因子驱动,还反映出特定微生物类群的功能分化。然而,本研究开展的周期相对较短,研究过程中着重关注土壤理化指标与微生物多样性关系,对当地温度、湿度、UV-B 等直接驱动微生物群落的气候因子未进行连续观察。未来可开展长期定位监测,扩大样本覆盖区域,并结合转录组学探究基因表达活性,为深入解析高原核桃园土壤氮循环微生物生活史机制提供更全面的数据支撑,助力高原核桃园高效、绿色生产。

4　结　论

西藏高原 4 个海拔高度核桃园土壤全氮含量普遍较低,氮素供应严重不足,且土壤养分(如有机质、全氮、有效氮)含量呈现低海拔(3 112 m)高于中高海拔的特征。海拔显著驱动土壤氮循环微生物功能基因分布分异,3 112 m 处以氮矿化和反硝化基因为主;3 248 m 处以同化硝酸盐还原和硝化作用基因为主;3 364 m 处以固氮作用和氮同化基因为核心;3 550 m 处主要富集氮吸收功能基因。物种组成上,高海拔(3 364 m,3 550 m)区域以放线菌门为主导,低海拔(3 112 m)则以变形菌门比例最高。土壤 pH 值, SOM, TN 和 AN 是影响土壤氮循环功能基因(如 metE, nirK 和 nasA)的关键因子,其中 AN 和 TN 对 metE 调控作用最强。总之,后续核桃园种植生产中需针对性开展地力培肥,通过增施有机肥与适量化学肥料,提升土壤肥力、改善氮素供应,增强微生物氮循环功能。

参考文献(References)

[1] 汪洋,杨殿林,王丽丽,等.农田管理措施对土壤有机碳周转及微生物的影响[J].农业资源与环境学报,2020,37(3):340-352.
Wang Yang, Yang Dianlin, Wang Lili, et al. Effects of farmland management measures on soil organic carbon turnover and microorganisms [J]. Journal of Agricultural Resources and Environment, 2020,37(3):340-352.

[2] Wang Wei, Hu Youyou, Qi Xin, et al. Endogenous mechanism of microbial functional gene and exogenous nitrogen removal factors driven by sustainable iron-nitrogen cycling [J]. Journal of Cleaner Production, 2023,391:136043.

[3] 王翰琨,吴永波,刘俊萍,等.生物炭对土壤氮循环及其功能微生物的影响研究进展[J].生态与农村环境学报,2022,38(6):689-701.
Wang Hankun, Wu Yongbo, Liu Junping, et al. A review of research advances in the effects of biochar on soil nitrogen cycling and its functional microorganisms [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2022,38(6):689-701.

[4] 栗卢瑞,文俊明,林波,等.宏基因组学检测技术在土壤微生物群落物种及功能多样性研究中的应用[J].植物医学,2024,3(5):1-7.
Li Lurui, Wen Junming, Lin Bo, et al. Application of metagenomic technique in the study of species and functional diversity of soil microbial communities [J]. Plant Health and Medicine, 2024,3(5):1-7.

[5] 张玮玮,高姗姗,李梦璐,等.丹江口水库浮游细菌和氮磷循环基因垂直分布特征及其驱动因素[J].环境科学,2024,45(7):3995-4005.
Zhang Weiwei, Gao Shanshan, Li Menglu, et al. Vertical distribution characteristics and driving factors of bacterioplankton and nitrogen phosphorus cycle genes in Danjiangkou reservoir [J]. Environmental Science, 2024,45(7):3995-4005.

[6] 郭俊杰,朱晨,刘文波,等.不同施肥模式对土壤氮循环功能微生物的影响[J].植物营养与肥料学报,2021,27(5):751-759.
Guo Junjie, Zhu Chen, Liu Wenbo, et al. Effects of different fertilization managements on functional microorganisms involved in nitrogen cycle [J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2021,27(5):751-759.

[7] Du Lei, Zhong Haohui, Guo Xinnian, et al. Nitrogen fertilization and soil nitrogen cycling: Unraveling the links among multiple environmental factors, functional genes, and transformation rates [J]. Science of the Total Environment, 2024,951:175561.

[8] Zhou Zhidong, Hua Jianfeng, Xue Jianhui. Polyethylene microplastic and soil nitrogen dynamics: Unraveling the links between functional genes, microbial communities, and transformation processes [J]. Journal of Hazardous Materials, 2023,458:131857.

[9] 杨建勇,岳鹏,刘朔,等.西藏核桃产业发展现状与对策[J].西藏农业科技,2012,34(2):42-45.
Yang Jianyong, Yue Peng, Liu Shuo, et al. The current situation and countermeasures of the walnut industrial development in Tibet [J]. Tibet Journal of Agricultural Sciences, 2012,34(2):42-45.

[10] 王平生,王晶,祁维红,等.高海拔区核桃树体器官养分累积、分配及生长发育特征[J].海峡科技与产业,2021,34(1):66-68.
Wang Pingsheng, Wang Jing, Qi Weihong, et al. Nutrient accumulation, distribution and growth and development characteristics of walnut trees in high altitude area [J]. Technology and Industry Across the Straits, 2021,34(1):66-68.

[11] 陈林,程滨,赵瑞芬,等.核桃养分需求规律研究[J].山西农业科学,2012,40(5):555-558.
Chen Lin, Cheng Bin, Zhao Ruifen, et al. Research of nutrient requirement regularity in walnut [J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2012,40(5):555-558.

[12] 陈定梅,赤桑单吉,唐明兴.西藏加查县气候与经济农产品产量相关性分析[J].西藏农业科技,2021,43(3):9-13.
Chen Dingmei, Chisangdanji, Tang Mingxing. Analysis of correlation between climate and cash crops production in gyaca county [J]. Tibet Journal of Agricultural Sciences, 2021,43(3):9-13.

[13] Jiang Yunxiao, Li Rong, Shi Yu, et al. Natural and political determinants of ecological vulnerability in the Qinghai-Tibet Plateau: A case study of Shannan, China [J]. ISPRS International Journal of Geo-Information, 2021,10(5):327.

[14] Yan Ruyu, Zhao Ximei, Li Penghui, et al. Composition and diversity of soil microbial communities in walnut orchards at different altitudes in southeastern Tibet [J]. Land, 2023,12(7):1419.

[15] 赵瑞芬,程滨,滑小赞,等.基于主成分分析的山西省核桃主产区土壤肥力评价[J].山西农业大学学报(自然科学版),2020,40(6):61-68.
Zhao Ruifen, Cheng Bin, Hua Xiaozan, et al. Evaluation of soil fertility status in main walnut production areas in Shanxi based on principal component analysis [J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2020,40(6):61-68.

[16] Luan Haoan, Liu Yingru, Huang Shaohui, et al. Successive walnut plantations alter soil carbon quantity and

quality by modifying microbial communities and enzyme activities [J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 953552.

[17] 张春苗,张有珍,姚芳,等.临安山核桃主产区土壤pH值和有效养分的时空变化[J].浙江农林大学学报,2011,28(6):845-849.
Zhang Chunmiao, Zhang Youzhen, Yao Fang, et al. Temporal and spatial variation of soil pH and nutrient availability for *Carya cathayensis* orchards in Lin'an [J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2011,28(6): 845-849.

[18] Navgire G S, Goel N, Sawhney G, et al. Analysis and Interpretation of metagenomics data: An approach [J]. Biological Procedures Online, 2022,24(1):18.

[19] 何柳,曹敏敏,鲁建兵,等.浙江凤阳山不同海拔常绿阔叶林土壤微生物特征[J].浙江农林大学学报,2022,39(6):1267-1277.
He Liu, Cao Minmin, Lu Jianbing, et al. Soil microbial characteristics of evergreen broad-leaved forest at different altitudes in Fengyang Mountain, Zhejiang Province [J]. Journal of Zhejiang A&F University, 2022,39(6): 1267-1277.

[20] 杜天宇.长期施肥对核桃产量品质影响的土壤微生物学机制[D].陕西 杨凌:西北农林科技大学,2024.
Du Tianyu. Soil microbiological mechanism of the effect of long-term fertilization on walnut yield and quality [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2024.

[21] 何芳,张丽梅,申聪聪,等.青藏高原林地土壤的氮转化特征及其影响因素分析:以祁连山和藏东南地区为例[J].环境科学,2021,42(5):2449-2456.
He Fang, Zhang Limei, Shen Congcong, et al. Analysis of nitrogen transformation characteristics and influencing factors of forestland soil in the Qinghai-Tibet Plateau: A case study of the Qilian Mountains and Southeast Tibet [J]. Environmental Science, 2021, 42(5): 2449-2456.

[22] 张于光,李迪强,王慧敏,等.青藏高原三江源地区高寒草甸土反硝化细菌多样性的初步研究[J].科学通报,2006,51(6):715-723.
Zhang Yuguang, Li Diqiang, Wang Huimin, et al. Preliminary study on the diversity of denitrifying bacteria in alpine meadow soil in Sanjiangyuan area of Qinghai-Tibet Plateau [J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(6):715-723.

[23] 王莹燕,卢圣鄂,陈小敏,等.若尔盖高原湿地泥炭沼泽土亚硝酸盐还原酶(nirK)反硝化细菌群落结构分析[J].生态学报,2017,37(19):6607-6615.
Wang Yingyan, Lu Sheng'e, Chen Xiaomin, et al. Analyzing the nitrate reductase gene (nirK) community in the peat soil of the Zoige Wetland of the Tibetan Plateau [J]. Acta Ecologica Sinica, 2017, 37(19): 6607-6615.

[24] 张宇,杨军钱.次生天然林不同恢复阶段土壤硝化、反硝化功能微生物特征及影响因素分析[J].福建农业科技,2022,53(2):63-70.
Zhang Yu, Yang Junqian. Microbial characteristics and influencing factors of soil nitrification and denitrification microorganisms in the secondary natural forests at different restoration stages [J]. Fujian Agricultural Science and Technology, 2022,53(2):63-70.

[25] 潘晓悦,王晓,郭光霞,等.增温与降水变化对青藏高原高寒草甸土壤nirS反硝化菌群落丰度和群落结构的影响[J].生态学报,2017,37(23):7938-7946.
Pan Xiaoyue, Wang Xiao, Guo Guangxia, et al. Effects of increased temperature and precipitation change on nirS gene abundance and community structure in alpine meadow soils on the Qinghai-Tibet Plateau [J]. Acta Ecologica Sinica, 2017,37(23):7938-7946.

[26] 吕雪丽,赵永鹏,林清火,等.我国典型森林土壤微生物驱动的氮代谢途径特征解析[J].环境科学,2021,42(10):4951-4958.
Lü Xueli, Zhao Yongpeng, Lin Qinghuo, et al. Analysis of the traits of nitrogen metabolism pathways for several forest soils in eastern China [J]. Environmental Science, 2021,42(10):4951-4958.

[27] 乌有汗.内蒙古樟子松和落叶松林土壤微生物在碳、氮、磷循环中的功能基因研究[D].内蒙古 呼和浩特:内蒙古农业大学,2024.
Wu Youhan. The Carbon, Nitrogen and Phosphorus Cycling of Soil Microbes in *Pinus sylvestris* var. *mongolica* and *Larix* Forests in Inner Mongolia [D]. Hohhot, Inner Mongolia: Inner Mongolia Agricultural University,2 024.

[28] Kumar V, Kumar S, Singh D. Metagenomic insights into Himalayan glacial and kettle lake sediments revealed microbial community structure, function, and stress adaptation strategies [J]. Extremophiles, 2021, 26(1):3.

[29] 王竹,刘扬,王芳.大通河流域土壤细菌及氮循环功能菌群沿海拔的空间分布[J].环境科学,2024,45(6):3614-3626.
Wang Zhu, Liu Yang, Wang Fang. Spatial patterns of soil bacterial communities and N-cycling functional groups along an altitude gradient in Datong River basin [J]. Environmental Science, 2024,45(6):3614-3626.

(下转第 234 页)