



青藏高原极端生境细菌多样性差异及影响因素

向信¹, 殷恒霞², 朱肇宇¹, 邱庆辉¹, 柳宇睿¹, 樊嘉凯¹, 邓佳文¹,
张得钧¹, 张本印^{1,2*}

1 青海大学生态环境工程学院, 青海 西宁 810016

2 青海大学省部共建三江源生态与高原农业国家重点实验室, 青海 西宁 810016

向信, 殷恒霞, 朱肇宇, 邱庆辉, 柳宇睿, 樊嘉凯, 邓佳文, 张得钧, 张本印. 青藏高原极端生境细菌多样性差异及影响因素[J]. 微生物学报, 2023, 63(8): 3235-3251.

XIANG Xin, YIN Hengxia, ZHU Zhaoyu, QIU Qinghui, LIU Yurui, FAN Jiakai, DENG Jiawen, ZHANG Dejun, ZHANG Benyin. Differences and influencing factors of bacterial composition and diversity in seven typical extreme habitats on the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(8): 3235-3251.

摘要: 土壤微生物组对于生态系统的可持续性至关重要, 青藏高原独特的地理环境孕育了多样的极端环境, 其土壤细菌组成差异及其驱动因素尚不清楚。【目的】探究不同极端生境土壤细菌多样性及其影响因素。【方法】对7种典型的青藏高原极端生境土壤DNA进行16S rRNA基因高通量测序, 通过生物信息分析, 找出不同生境细菌群落组成、功能差异; 结合土壤理化因子, 进一步分析细菌组成差异的潜在影响因素。【结果】通过高通量测序, 从7个不同生境的36个土壤样品中共获得16 323 712高质量reads, 26 504个可操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)。在门分类水平上, 各生境中注释到的放线菌门(*Actinomycetota*)与假单胞菌门(*Pseudomonadota*)相对丰度均最高; 在属分类水平上, 芽孢杆菌属(*Bacillus*)、Ambiguous_taxa、土壤红杆菌属(*Solirubrobacter*)、假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)等为优势属。另外, 不同生境中的细菌 α 多样性无显著差异, 但是 β 多样性差异显著, 并且通过LEfSe分析进一步说明了不同生境细菌群落结构的差异性。通过冗余分析(redundancy analysis, RDA)发现, Mg^{2+} 、 Na^+ 和 K^+ 等常量元素是影响细菌群落结构的主要因子, 而且其他土壤理化因子对不同生境中优势菌群的分布具有一定的特异性。最后, 利用FAPROTAX工具对细菌群落功能预测, 发现不同生境的细菌类群参与的氮、硫元素生物地球化学循环过程差

资助项目: 国家自然科学基金(81760633); 生态学世界一流学科科技创新项目(2021-stxy-Y2); 生物技术一流专业科技创新项目(2022-stxy-B8, 2022-stxy-B9, 2022-stxy-B22)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81760633), the Scientific and Technological Innovation Project of World First-class Discipline in Ecology (2021-stxy-Y2), and the Scientific and Technological Innovation Project of First-class Major in Biotechnology (2022-stxy-B8, 2022-stxy-B9, 2022-stxy-B22).

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-971-5310086, E-mail: benyinzhang@qhu.edu.cn

Received: 2022-12-07; Accepted: 2023-05-06; Published online: 2023-05-10

异较大。【结论】青藏高原不同极端生境细菌群落结构差异较大，这一成因受到不同土壤理化因子的驱动，并且各生境下大量未注释菌属表明青藏高原具有极为丰富的潜在细菌新物种资源。

关键词：青藏高原；极端生境；细菌多样性；细菌群落结构差异；生态功能

Differences and influencing factors of bacterial composition and diversity in seven typical extreme habitats on the Qinghai-Tibetan Plateau

XIANG Xin¹, YIN Hengxia², ZHU Zhaoyu¹, QIU Qinghui¹, LIU Yurui¹, FAN Jiakai¹, DENG Jiawen¹, ZHANG Dejun¹, ZHANG Benyin^{1,2*}

¹ College of Eco-environmental Engineering, Qinghai University, Xining 810016, Qinghai, China

² State Key Laboratory of Plateau Ecology and Agriculture, Qinghai University, Xining 810016, Qinghai, China

Abstract: Soil microorganisms play a key role in the sustainability of ecosystems. There are diverse extreme habitats on the Qinghai-Tibetan Plateau (QTP), where the differences of soil bacterial composition and the driving factors remain to be studied. **[Objective]** To explore the differences and influencing factors of soil bacterial diversity in different extreme habitats on the QTP. **[Methods]** High-throughput sequencing of 16S rRNA genes was performed for the soil samples from seven typical extreme habitats on the QTP. The bioinformatics tools were employed to analyze the differences in bacterial composition and functions among different habitats. The potential soil factors influencing bacterial composition were further analyzed. **[Results]** A total of 16 323 712 high-quality reads and 26 504 operational taxonomic units (OTUs) were obtained for the 36 soil samples collected from seven different habitats. At the phylum level, the relative abundance of *Actinomycetota* and *Proteobacteria* were the highest in all the habitats. *Bacillus*, *Ambiguous_taxa*, *Solirubacter*, and *Pseudoarthrobacter* were the dominant genera. In addition, there was no significant difference in bacterial alpha diversity among different habitats, while the bacterial beta diversity showed significant differences, which was further confirmed by Linear discriminant analysis Effect Size (LEfSe). Redundancy analysis (RDA) identified Mg^{2+} , Na^+ , and K^+ as the main factors affecting the bacterial community structure, and the effects of other soil physicochemical factors on the distribution of dominant flora varied in different habitats. Finally, FAPROTAX tool was used to predict the bacterial function, which suggested that the roles of bacteria in the biogeochemical cycling processes of nitrogen and sulfur varied in different habitats. **[Conclusion]** The bacterial community structure varies greatly in different extreme habitats of the QTP, which is driven by different soil physicochemical factors. The presence of rich unannotated genera in each habitat indicates that the QTP has rich potential new bacterial resources.

Keywords: Qinghai-Tibetan Plateau; extreme habitats; bacterial diversity; difference of bacterial community structure; ecological functions

青藏高原被誉为“世界第三极”，平均海拔 4 500 m 以上，以寒冷、干旱、低氧、低压、紫外辐射强等环境为典型特征，其独特的极端生境孕育了丰富的生物资源，是全球生物多样性研究热点地区之一^[1]。极端环境往往导致生物的基因类型、生理适应机制及代谢产物等更加独特。近年来，从青藏高原上极端生境中如冰川、盐湖、酸性砂质土等发现了大量微生物新种^[2-7]，并且其基因组中存在大量编码次级代谢产物的生物合成基因簇。因此，青藏高原极端生境是发现微生物新资源以及微生物药物的重要来源。开展青藏高原不同生境的细菌群落组成及其差异研究，对于青藏高原极端生境细菌资源的开发利用具有重要意义。

微生物是土壤生态系统中最为活跃的组分，对土壤性质变化极为敏感，在维持生态系统功能和提高土壤生产力方面发挥着重要作用^[8]。土壤环境拥有地球上最多样化的细菌种群，并且土壤理化因子随时间与空间的变化，进一步提高了微生物生态位的多样性。环境因子是驱动土壤环境微生物组成与多样性差异的重要因素，不同环境因子对土壤微生物的选择不同，如土壤 pH 降低时，嗜酸性细菌丰度会增加^[9]；冻土融化后，随着土壤中的有机质的消耗，异养微生物竞争优势逐步下降^[10]。Ren 等^[11]指出，多年冻土生境中总碳(TC)、总氮(TN)和总磷(TP)的养分含量对土壤微生物群落组成与多样性影响最大；Yi 等对湿地土壤细菌群落的研究指出，pH、TP 在细菌群落变化上发挥重要作用^[12]。土壤养分变化也会影响细菌群落结构^[13]，Zeng 等对温带草原生态系统土壤微生物菌群结构研究发现，氮素添加不仅直接影响土壤细菌丰富度，同时也会通过土壤酸化间接影响细菌群落多样性^[14]。此外，土壤中重金属离子的改变也会促使土壤微生物群落组成改变^[15]，如砷与镉污染的土壤

中，变形菌相对增多，而放线菌与厚壁菌受其影响降低^[16]。也有研究表明，可交换的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 会影响土壤微生物群落构成^[17-18]。

目前，青藏高原地域环境的独特性引起了国内外学者对青藏高原极端生境土壤微生物多样性研究的大量关注^[19-21]，但往往针对青藏高原上某种极端生境，而不同极端生境土壤细菌组成差异及其驱动因素尚不清楚。本研究通过对青藏高原 7 种典型极端生境土壤的 16S rRNA 基因高通量测序，比较分析了不同生境中细菌的组成与多样性，并与土壤理化性质进行关联分析，进一步探讨了不同极端生境细菌结构和多样性变化的驱动机制。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究以青藏高原戈壁(GB: 37°3.79'N, 97°46.351 3'E; 37°19.85'N, 96°41.45'E)、高寒草甸(GHCD: 35°13.47'N, 101°28.77'E; 34°49.14'N, 99°36.59'E)、高山森林(GSSL: 35°16.29'N, 101°55.90'E)、湿地(SD: 37°18.96'N, 96°54.19'E; 34°53.34'N, 98°07.89'E)、沙漠(SM: 36°42.28'N, 100°47.57'E)、退化草甸(THCD: 36°42.52'N, 104°29.09'E; 35°41.80'N, 101°05.59'E)和盐湖(YH: 36°38.89'N, 100°42.15'E; 36°47.64'N, 99°05.49'E)这 7 种极端生境的土壤或沉积物为研究材料，使用正方形 5 点取样法采集 20 cm 左右深度的土壤或盐湖沉积物，每组 3 个平行，样品置于 4 °C 车载冰箱，运抵实验室后 -80 °C 冰箱保存。将每份土样分为 2 个部分，一部分样品风干，过 0.25 mm 孔径网筛后用于分析土壤理化性质；另一部分保存于 -80 °C 冰箱用于土壤基因组的提取。

1.2 土壤理化性质分析

风干过筛后的土壤，以水为浸提剂，水土

比 2.5:1 (质量体积比), 使用电位法(土壤 pH 值的测定电位法, HJ 962—2018)测定土壤 pH; 土壤经氢氧化钠熔融后, 在 700 nm 波长处测定吸光度, 采用碱熔-钼锑抗分光光度法(土壤总磷的测定碱熔-钼锑抗分光光度法, HJ 632—2011)测定土壤总磷(TP); 参照阴红彬等^[22]的方法, 使用元素分析仪测定土壤总碳(TC)与总氮(TN); 参照陆嘉玮等^[23]的方法, 利用 Agilent 7500a 电感耦合等离子体质谱仪测定土壤 K^+ 、 Na^+ 、 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 含量。

1.3 主要试剂和仪器

主要试剂: 邻苯二甲酸氢钾; 磷酸二氢钾; 无水磷酸氢二钠; 四硼酸钠; 磷酸二氢钾; 氢氧化钠; 抗坏血酸; 钼酸铵等, 以上试剂均购于生工生物工程(上海)股份有限公司。

主要仪器: Vario Micro cube 元素分析仪(埃利蒙塔); Agilent 7500a 电感耦合等离子体质谱仪(安捷); Fast DNA[®] SPIN 试剂盒(MP 生物医疗公司); NanoPhotometer[®] N60 超微量分光光度计(因普恩(北京)国际贸易有限公司)等。

1.4 土壤样品环境总 DNA 提取及高通量测序

取 0.5 g 土壤样品, 按照试剂盒使用说明书, 利用 FastDNA[®] SPIN 试剂盒(MP 生物医疗公司)提取土壤环境基因组。使用 NanoPhotometer[®] N60 超微量分光光度计(IMPLEN)检测提取 DNA 的浓度与纯度, 利用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取液的质量。将提取合格的 DNA 样品, 利用细菌特异性引物 338F (5'-ACTCCTACGGG AGGCAGCA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGG GTWTCTAAT-3'), 对 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增, 反应体系(25 μ L): 模板 DNA 20 ng, TransStart[®] buffer (10 \times) 2.5 μ L, dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μ L, 上/下游引物(10 μ mol/L)各 1 μ L, TransStart[®] Tap DNA polymerase (2.5 U/ μ L)

0.5 μ L, ddH₂O 补足至 25 μ L。反应条件: 94 $^{\circ}$ C 预变性 3 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 5 s, 57 $^{\circ}$ C 退火 90 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 s, 共 24 个循环; 最后在 72 $^{\circ}$ C 下延伸 5 min。使用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 再进行 Solexa PCR 扩增纯化, 纯化产物进行 NanoDrop 定量及混样(质量比为 1:1), 经 1.8% 的琼脂糖凝胶电泳切胶回收目的片段, 构建好的文库经过质量控制, 在 Illumina MiSeq 平台完成测序。测序原始数据已上传 NCBI SRA 数据库(登录号: SRR21898123-SRR21898158)。

1.5 数据分析

使用 USEARCH v10^[24]对原始序列进行质控, 得到最终的有效序列; 采用 RDPclassifier 算法对 97.0% 相似水平的操作分类单元代表序列进行分类分析^[25]。使用 Excel 2016 整理数据, R v4.2.1 及其相关 R 包绘图。具体利用 phyloseq、microbiome 包绘制样本稀疏曲线, 利用 tidyverse、ggprism、vegan 和 ggpolt2 包绘制菌群堆叠柱状图; 使用 GraphPad Prism 8 进一步分析各生境中优势菌群门分类水平上的差异; 利用 plotrix 包绘制韦恩图; 利用 vegan、amplicon 包计算不同生境下菌群 α 多样性, 使用 ggpolt2 包绘制箱线图, 通过 Shannon、Simpson、Ace 和 Richness 指数反映细菌群落的物种丰度和多样性; 为比较不同生境下群落组成及结构差异, 利用 amplicon、BiocManager、phyloseq 和 ape 包等进行主成分分析(principle component analysis, PCoA)、非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS); 利用 R 包 tidyverse、ggprism、vegan 和 pacman 进行冗余分析(redundancy analysis, RDA)以揭示土壤细菌群落结构对不同环境因子的响应关系。LEfSe 分析和 FAPROTAX 功能注释均使用 Biozoon Cloud Platform (<http://www.cloud.biomiclass.com/CloudPlatform>)完成。

2 结果与分析

2.1 16S rRNA 基因高通量测序数据评估及极端生境土壤细菌多样性分析

通过对 7 种生境土壤 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区的高通量测序, 从 36 个样本中总共获得 16 323 712 clean reads 和 4.08 Gb 数据, Q20 和 Q30 值分别为 97.04% 和 92.27%, 平均 GC 含量为 56.8%, 使用 VSEARCH v1.9.6 软件对有效序列在 97.0% 的一致性下进行聚类, 得到 26 504 个 OTUs。物种稀疏曲线(图 1A)表明, 随着测序深度的增加, OTU 数值稀释曲线逐渐趋于平缓, 测序数据深度足以反映每个样本中的细菌群落信息。

根据 OTU 聚类分析结果, 分析了不同生境下共有和特有的 OTUs (图 1B), 发现 SD 生境中的 OTUs 数量最多(10 663 个), SM 生境最少(7 839 个), 值得注意的是, 各生境共有 OTUs 仅 669 个, 推测不同生境下的微生物群落组成和结构差异较大。

通过 Ace、Simpson、Richness 和 Shannon 等指数分析, 揭示了不同生境中细菌群落的物种丰度和多样性差异(图 2)。虽然 Simpson 和

Shannon 指数分析显示, 青藏高原 7 种典型极端生境 α 多样性无显著差异, 但 Ace 和 Richness 指数显示, GSSL 生境显著高于 YH 生境($P < 0.05$), 表明 GSSL 生境细菌丰富度显著高于 YH 生境, 而其他生境的物种丰富度无差异。

为了解各生境之间细菌群落组成的相似性和差异性, 本研究进一步对青藏高原各极端生境土壤细菌群落进行了 β 多样性分析。基于 Unweighted-Unifrac 距离的 PCoA 分析(图 3A)显示, 除 GHCD、GSSL 和 SM 生境外, 其他生境土壤细菌群落之间相互独立, 并且两两比较发现各生境下细菌菌群存在极显著差异($R^2 = 0.522$, $P = 0.001$)。此外, 根据 Bray-Curtis 距离算法, 对物种进行 NMDS 分析(图 3B), 结果显示各生境菌群在维度 NMDS1 和维度 NMDS2 上均能很好区分开, 进一步说明青藏高原各极端生境细菌组成有较明显的差异。其中 Stress=0.09 (< 0.2), 证明数据的可靠性。

2.2 不同生境土壤细菌组成及差异分析

所有供试土壤样品共检测到细菌 57 门、165 纲、417 目、720 科和 1 465 属。在门分类水平上(图 4A), 土壤细菌主要来自放线菌门

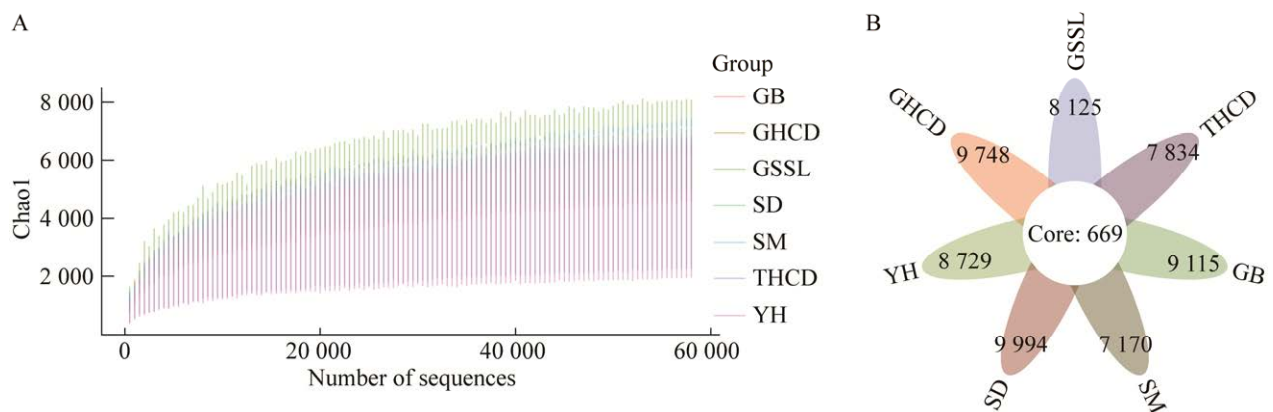


图 1 青藏高原极端生境土壤样品的物种稀疏曲线(A)和 OTU 韦恩图(B)

Figure 1 Species sparse curves (A) and Venn diagram (B) of OTUs of soil samples from extreme habitats on the QTP.

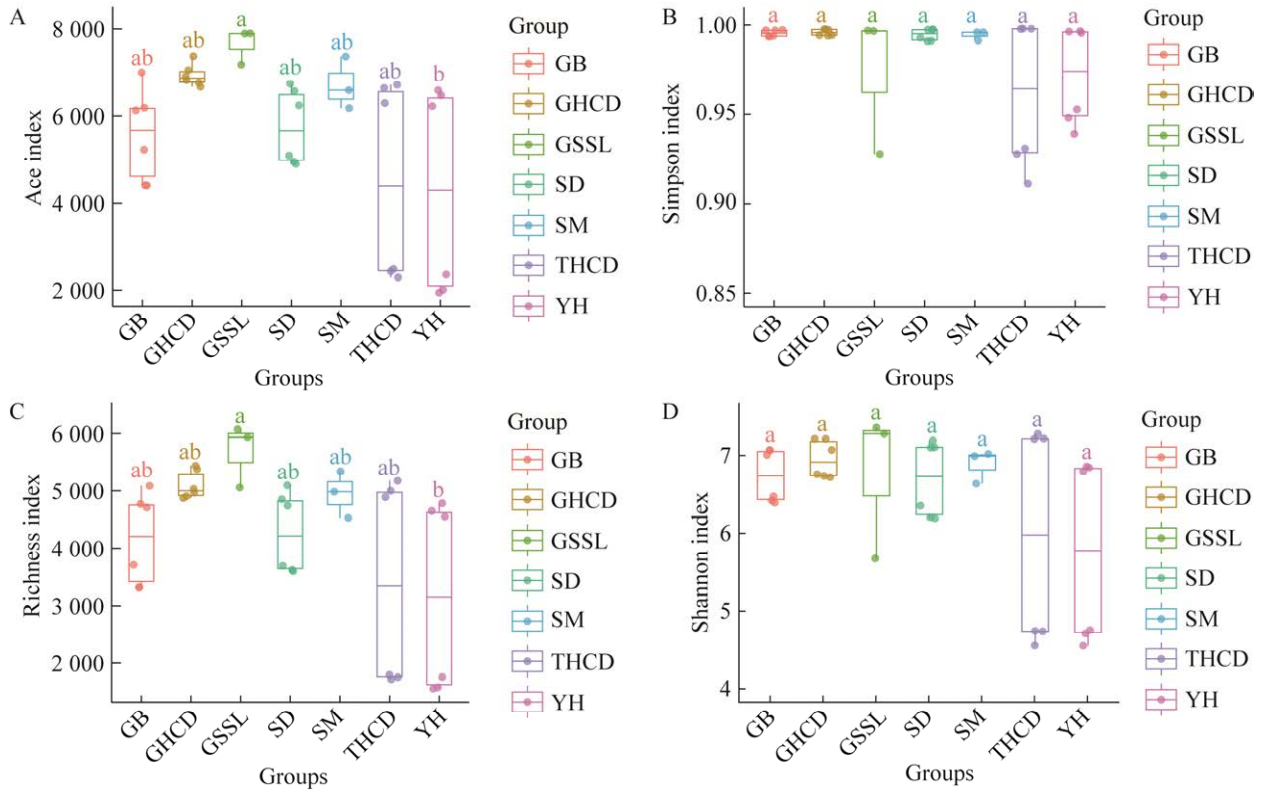


图 2 青藏高原极端生境土壤细菌 α 多样性指数

Figure 2 Alpha diversity index of soil bacterial in extreme habitats of the Qinghai-Tibetan Plateau. A: Ace index. B: Simpson index. C: Richness index. D: Shannon index.

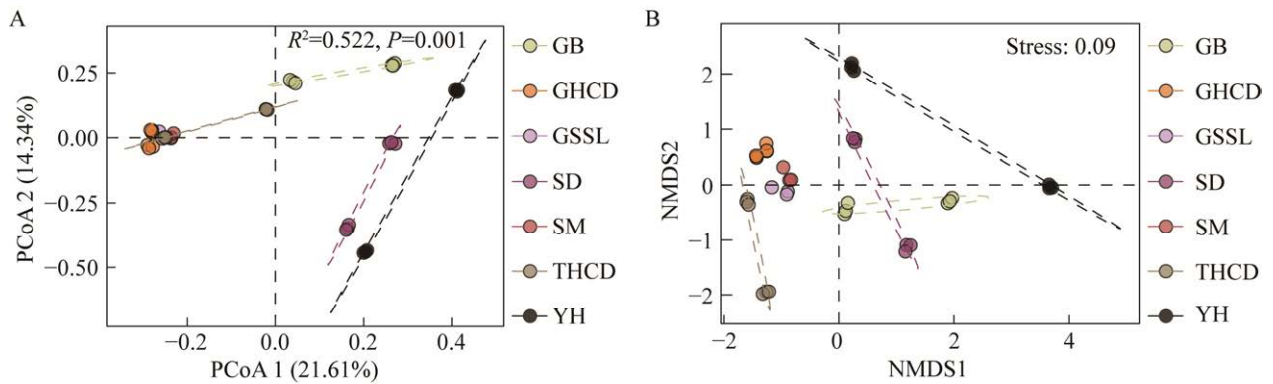


图 3 青藏高原极端生境土壤细菌 β 多样性分析

Figure 3 Analysis of soil bacterial beta diversity in extreme habitats on the Qinghai-Tibetan Plateau. A: PCoA analysis based on Unweighted-Unifrac distance. B: NMDS analysis based on the Bray-Curtis distance algorithm.

(*Actinomycetota*)和假单胞菌门(*Pseudomonadota*), 这 2 种菌群在各生境中的丰度占比总和均大于 50%, 是土壤中的优势菌群。其中 GB 生境中

放线菌门(*Actinomycetota*)丰度最高, 其次为 THCD 生境。而假单胞菌门(*Pseudomonadota*) 丰度最高的是 SD 生境, 其次是 GSSL 生境。对

不同生境中相对丰度排名前五的细菌门分析发现, 拟杆菌门(*Bacteroidota*)只出现在 THCD 生境, 而芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)未出现在 SD 和 SM 生境丰度前五菌门。

通过对各生境中优势菌群在门分类水平上的差异分析(图 4B), 发现放线菌门(*Actinomycetota*)在不同生境中的相对丰度存在差异性, GB、GHCD 和 THCD 生境中放线菌门(*Actinomycetota*)的相对丰度相似, 但显著高于其他生境($P<0.05$)。SD 生境中的放线菌门(*Actinomycetota*)相对丰度远低于其他生境, 但是假单胞菌门(*Pseudomonadota*)的相对丰度却是在所有生境中最高的($P<0.05$)。对于绿弯菌门(*Chloroflexota*), 在 YH 生境中的相对丰度显著高于其他生境($P<0.05$), 其他生境中的相对丰度差异不大。酸杆菌门(*Acidobacteriota*)在 GHCD 生境中的相对丰度显著高于其他生境($P<0.05$), 而在 GB 和 SD 生境中的相对丰度最低($P<0.05$)。芽孢菌门(*Bacillota*)在 SD 和 SM 生境中的相对丰度显

著高于其他生境($P<0.05$), 尤其是 GHCD、GSSL 和 THCD 生境。

从属分类水平(图 5A)来看, 对不同生境中相对丰度排名前五的细菌属组成分析发现, 各生境下丰度前五的菌属一致, 分别为芽孢杆菌属(*Bacillus*)、Ambiguous_taxa、土壤红杆菌属(*Solirubrobacter*)、假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)以及 *Gaiella*。从属分类水平上的差异分析发现(图 5B), 注释到的相对丰度最高的 5 个菌属中, SM 生境中芽孢杆菌属(*Bacillus*)的丰度显著高于其他生境($P<0.05$), 并且 GHCD、GSSL、THCD 和 YH 生境中的芽孢杆菌属(*Bacillus*)丰度最低。对于 Ambiguous_taxa, GHCD 生境中的相对丰度最高($P<0.05$), 在 GB 生境中的相对丰度最低。土壤红杆菌属(*Solirubrobacter*)在 GHCD、THCD 和 SM 生境中的相对丰度显著高于 SD 和 YH 生境($P<0.05$)。GSSL 生境中假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)相对丰度显著高于其他生境($P<0.05$), 其次为 THCD、

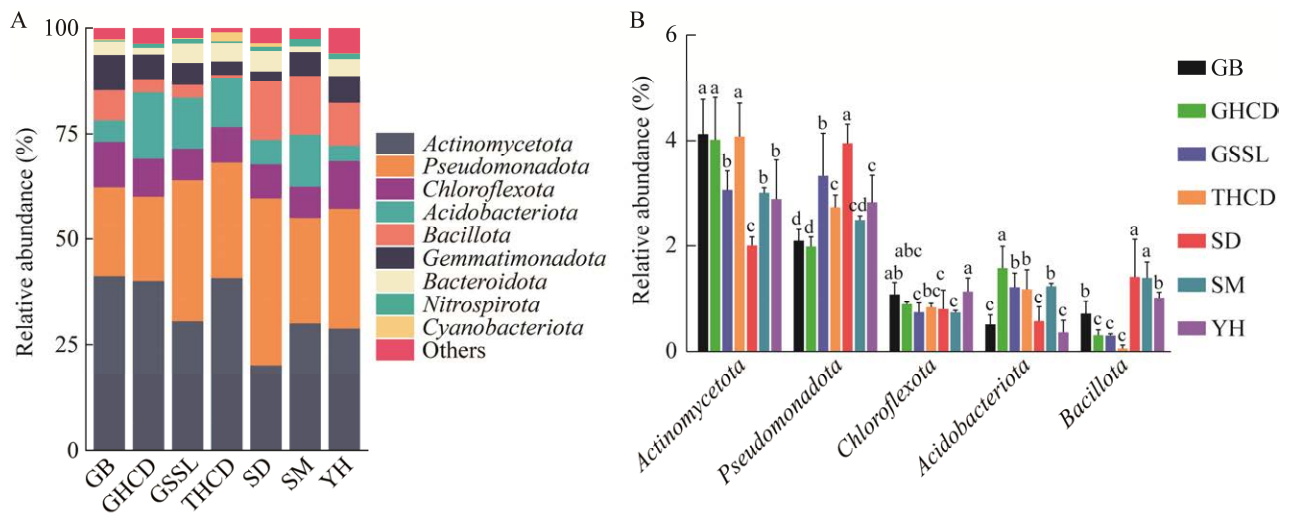


图 4 青藏高原极端生境土壤细菌群落组成(门分类水平)

Figure 4 Composition of soil bacterial communities in extreme habitats of the Qinghai-Tibetan Plateau (phylum classification level). A: Bacterial composition. B: Differential analysis of dominant phylum. Lowercase letters indicate significant differences between different sampling points and the same species ($P<0.05$).

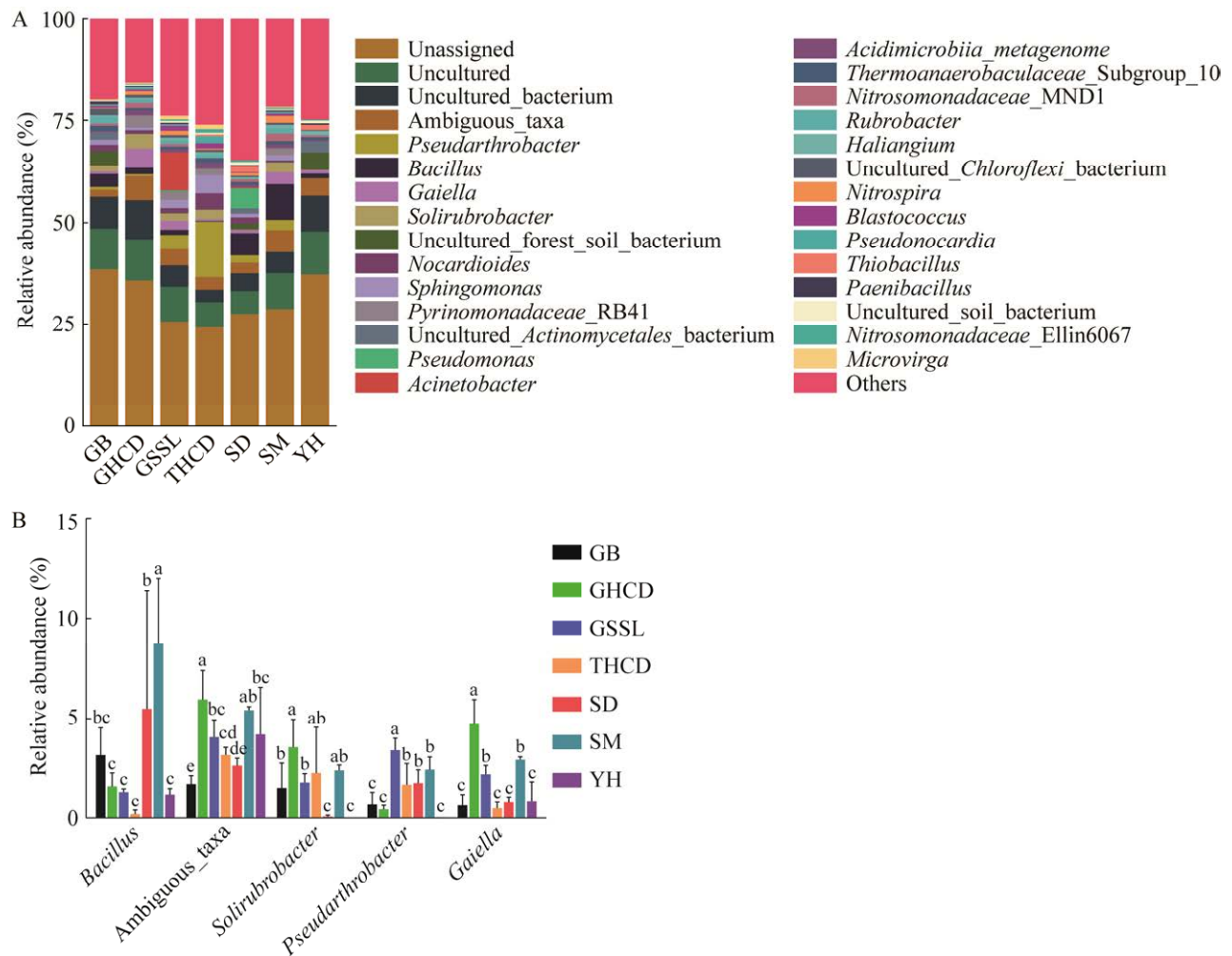


图 5 青藏高原极端生境土壤细菌群落组成(属分类水平)

Figure 5 Composition of soil bacterial communities in extreme habitats of the Qinghai-Tibetan Plateau (taxonomic level). A: Bacterial composition. B: Differential analysis of dominant bacteria. Lowercase letters indicate significant differences between different sampling points and the same species ($P < 0.05$).

SD、SM 生境，而 GB 和 GHCD 生境中的相对丰度最低。GHCD 生境中 *Gaiella* 的相对丰度显著高于其他生境 ($P < 0.05$)，GSSL、SM 生境次之，GB、THCD、SD 和 YH 生境中的相对丰度最低。

此外，本研究对不同生境的微生物群落进行了 LEfSe 分析，由分支图(图 6)可知，青藏高原不同极端生境共有 92 个不同分类水平上的细菌群落存在显著差异，其中 GB 生境有

11 个生物标记物，如放线菌门(*Actinomycetota*)、芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)、脲基降解菌纲(*Nitriliruptoria*)、绿弯菌纲(*Chloroflexia*)等；GHCD 生境有 24 个，如嗜热油菌纲(*Thermoleophila*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、土壤红杆菌科(*Solirubrobacteraceae*)、*Gaiellales*等；GSSL 生境有 5 个，包括假单胞菌目(*Pseudomonadales*)、莫拉菌科(*Moraxellaceae*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、根瘤菌目(*Rhizobiales*)等；

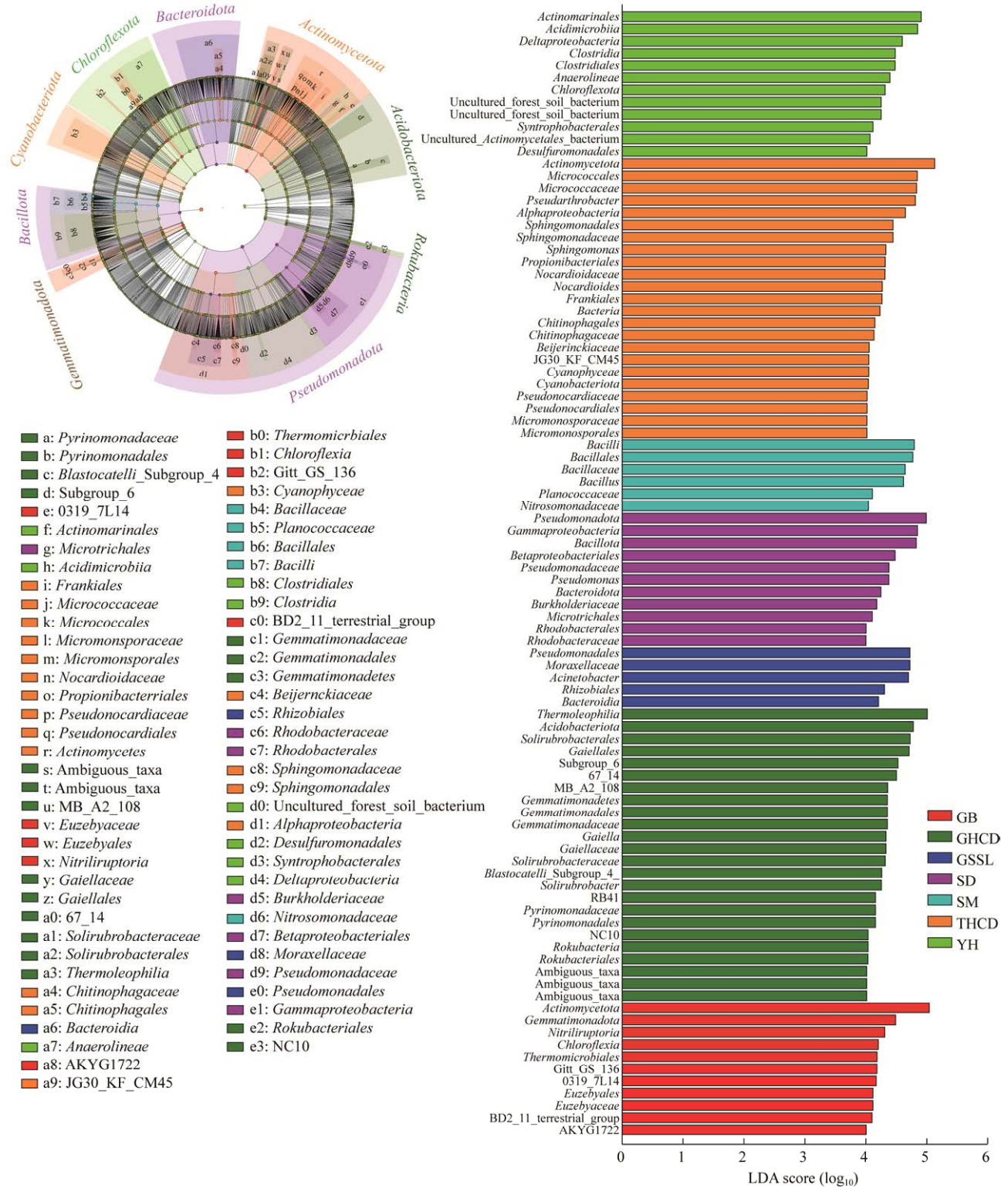


图 6 各生境土壤细菌群落结构 LefSe 分析

Figure 6 LefSe analysis of soil bacterial community structure from various habitats (phylum-genus level, LDA=4.0).

SD生境有11个,如假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、 γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)、芽孢菌门(*Bacillota*)、 β -变形菌杆菌目(*Betaproteobacteriales*)等; SM生境中存在6个,包括芽孢杆菌纲(*Bacilli*)、芽孢杆菌目(*Bacillales*)、芽孢杆菌科(*Bacillaceae*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)等; THCD生境中有23个,如放线菌门(*Actinomycetota*)、微球菌目(*Micrococcales*)、微球菌科(*Micrococcaceae*)、假节杆菌属(*Pseudarthrobacter*)等; YH生境中有12个,包括放线菌目(*Actinomarinales*)、酸微菌纲(*Acidimicrobiia*)、 δ -变形菌纲(*Deltaproteobacteria*)、梭菌纲(*Clostridia*)等。

2.3 土壤理化因子对不同生境微生物多样性的影响

本研究首先对各生境土壤样品的理化常数进行了测定,包括pH、总碳(TC)、总氮(TN),以及大量金属元素 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Na^+ 和 Mg^{2+} (表1)。结果显示,各生境土壤呈弱碱性,并且YH生境的碱性最高,与GHCD、GSSL、SD生境具有差异显著性($P<0.05$); GSSL生境土壤中TC、TN和TP的含量显著高于其他生境($P<0.05$),并且GB生境土壤中TC和TN含量最低,THCD生境中TP含量最低。对于大量金属元素,YH生境中 Na^+ 含量显著高于其他生境($P<0.05$); GB、GHCD生境中 Mg^{2+} 含量显著高于GSSL、SD、SM和THCD生境($P<0.05$),而SD、SM生境中 Mg^{2+} 含量最低; GHCD生境中 K^+ 含量显著高于SD、SM、THCD和YH生境($P<0.05$),同时SM生境中 K^+ 含量显著低于其他生境($P<0.05$); YH生境中 Ca^{2+} 含量显著高于GHCD、GSSL和SD生境($P<0.05$)。

为了揭示土壤细菌群落结构对不同理化因子的响应关系,本研究根据不同生境土壤群落

组成分析,选取各生境中相对丰度排在前九的菌门与上述土壤理化因子进行冗余分析(RDA)。结果显示(图7),第一和第二排序轴分别解释了43.00%和25.09%的细菌群落结构变异,说明本研究选取的环境因子具有一定的代表性。

从图7中可以看出,土壤中 Mg^{2+} 、 Na^+ 和 K^+ 等常量元素影响最大,其次为TP、TC,影响最小的是pH、 Ca^{2+} 和TN。同时,放线菌门(*Actinomycetota*)、绿弯菌门(*Chloroflexota*)与 Mg^{2+} 、 K^+ 、TP和 Na^+ 呈正相关,而与pH、 Ca^{2+} 、TC和TN呈负相关。芽单胞菌门(*Gemmatimonadota*)与TP、 Mg^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 和pH呈正相关,而与 Ca^{2+} 、TN和TC呈负相关。酸杆菌门(*Acidobacteriota*)、蓝细菌门(*Cyanobacteriota*)与TN、TC和 Ca^{2+} 呈正相关,而与 K^+ 、 Mg^{2+} 、TP、 Na^+ 和pH呈负相关。拟杆菌门(*Bacteroidota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、硝化螺旋菌门(*Nitrospirota*)、芽孢菌门(*Bacillota*)与TN、TC、 Ca^{2+} 和pH呈正相关,而与 K^+ 、 Mg^{2+} 、TP和 Na^+ 呈负相关。

2.4 不同生境下土壤细菌群落功能分析

根据OTU分类注释结果,采用FAPROTAX工具对细菌群落功能进行分析,共注释到80种生物功能,并且73种在不同生境下表现出显著差异($P<0.05$),其中需氧化能异养(aerobic chemoheterotrophy, 7.81%–34.21%)和化学异养(chemoheterotrophy, 20.97%–35.11%)的相对丰度最高,而且YH生境中需氧化能异养功能显著低于其他生境($P<0.05$),而化能异养在各生境中无显著差异。选取差异显著的50种功能进行展示(图8),其中硝化作用(nitrification)在SM、GHCD生境显著高于其他生境($P<0.05$)。

固氮作用(nitrogen fixation)中,GB、YH、GHCD生境显著高于SD、SM生境($P<0.05$)。

表 1 青藏高原不同生境土壤理化因子比较
 Table 1 Comparison of soil physical and chemical factors in different habitats on the QTP

Habitat	pH	TC (g/kg)	TN (g/kg)	TP (g/kg)	Na ⁺ (mg/kg)	Mg ²⁺ (mg/kg)	K ⁺ (mg/kg)	Ca ²⁺ (mg/kg)
GB	8.63±0.49abc	19.68±0.91cd	0.80±0.33d	13.92±1.43bc	355.08±48.20b	5 966±968.62a	3 360.71±624.77ab	4 416.24±128.22ab
GHCD	8.22±0.19cd	42.32±2.06b	3.46±1.08b	15.80±3.92b	336.03±70.19b	5 484.13±556.23a	4 894.98±578.18a	2 891.42±2 323.02b
GSSL	7.80±0.92d	180.98±32.70a	10.44±1.07a	22.74±2.03a	614.72±33.91b	3 814.13±199.55bc	4 710.26±572.44ab	1 279.65±108.41b
SD	8.38±0.21bcd	15.27±7.26cd	2.08±0.51c	9.36±2.82cd	300.29±65.13b	3 493.64±1 430.73c	2 971.98±1 774.84b	3 022.20±244.65b
SM	8.89±0.09ab	14.79±2.81cd	1.55±0.02cd	11.77±6.51bc	333.92±107.58b	2 994.83±36.84c	1 338.43±262.75c	4 211.59±102.56ab
THCD	8.59±0.28abc	8.74±2.10d	1.34±0.22cd	6.04±3.20d	417.73±233.33b	4 020.74±1 073.74bc	3 130.04±537.73b	4 056.77±3 064.04ab
YH	9.01±0.56a	26.78±15.25c	1.38±0.21cd	9.40±3.00cd	2 852.00±883.89a	4 997.33±656.39ab	3 033.78±1 948.37b	6 623.67±3 572.59a
<i>F</i>	3.856	98.279	80.073	11.468	35.012	7.057	4.008	2.720
<i>P</i>	0.006	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.005	0.032

Different lowercase letters indicate the difference at the significance level of 0.05.

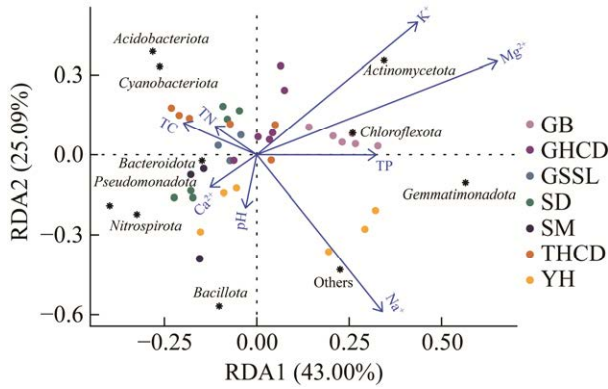


图 7 土壤细菌群落与环境因子间的冗余分析
Figure 7 Redundancy analysis (RDA) between soil bacterial community and environmental factors.

在木质素降解作用(ligninolysis)中, GSSL生境显著高于GB、THCD、YH和SD生境($P<0.05$)。硫化化合物的呼吸(respiration of sulfur compounds)中, YH 生境显著高于其他生境($P<0.05$), 同时SD 生境也显著高于 THCD、SM、GSSL、GHCD和GB生境($P<0.05$)。值得注意的是, 与甲烷相关的功能中, SD 生境显著高于其他生境($P<0.05$)。从相关性分析可以看出(图 8), 土壤 Na^+ 含量与大多数微生物群落功能显著相关, 其次为 Ca^{2+} 、pH、TC、TN、TP 和 K^+ ($P<0.05$)。

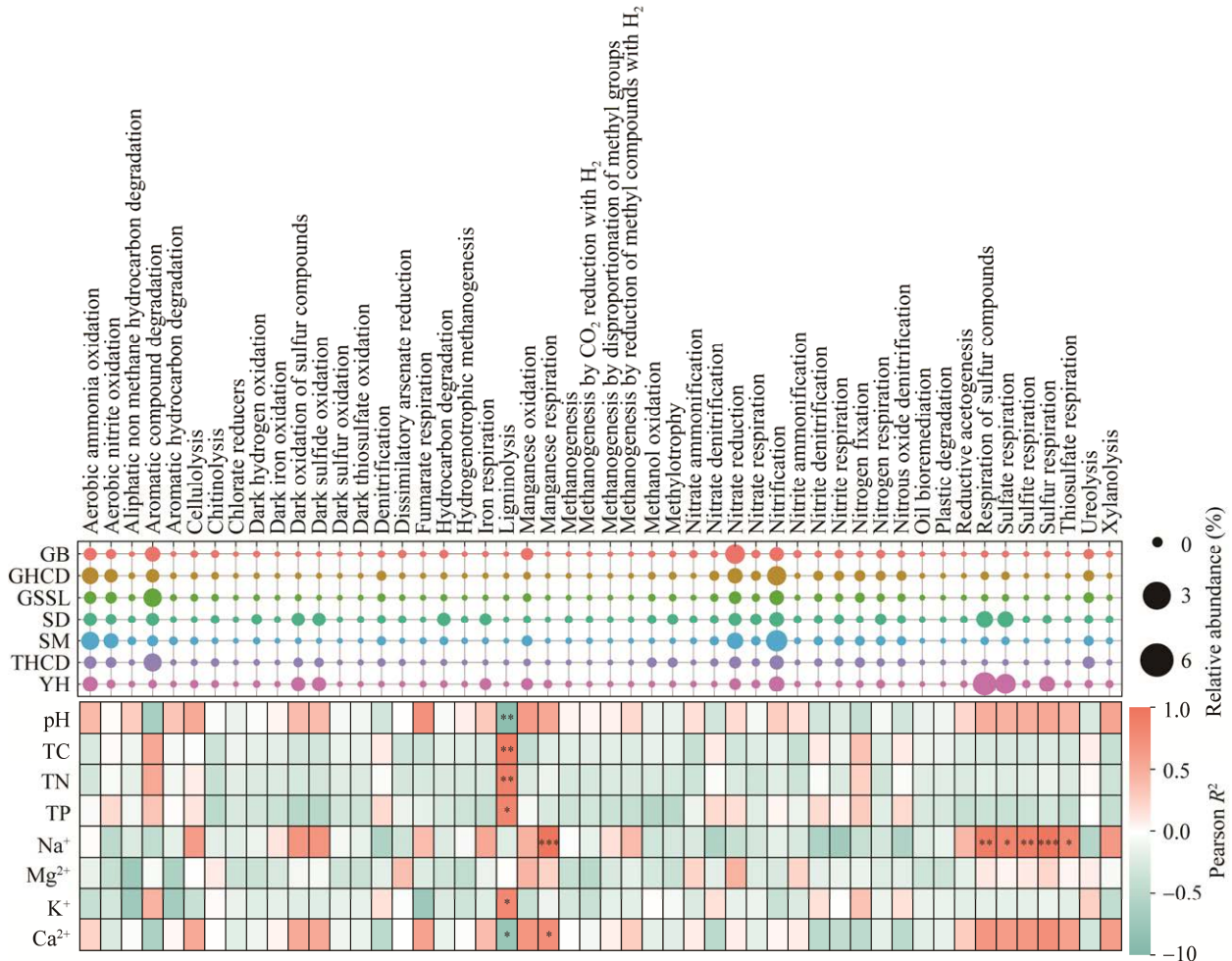


图 8 青藏高原极端生境土壤细菌功能预测及其与土壤因子的相关性
Figure 8 Prediction of soil bacterial functions in extreme habitats on the QTP and its correlation with soil factors. *: $P<0.05$; **: $P<0.01$; ***: $P<0.001$.

3 讨论与结论

土壤细菌群落多样性对维持青藏高原生态系统功能与持续性发展密切相关^[26], 虽然国内外对于青藏高原各种典型生境的微生物多样性开展了大量研究, 但是大多集中于单个生境, 而对于不同典型生境中的细菌多样性、差异及其成因方面的研究尚比较缺乏。本研究通过对青藏高原 7 种不同极端生境土壤样品的 16S rRNA 基因高通量测序及生物信息分析, 揭示了不同生境土壤细菌群落的组成及其差异。结果显示, GB 生境中放线菌门(*Actinomycetota*)和假单胞菌门(*Pseudomonadota*)丰度最高, 占 60%以上, 这与在河西走廊黑戈壁^[27]、青藏高原北部戈壁^[28]的菌群组成较为一致; GHCD 生境与 THCD 生境中的优势菌群以放线菌门(*Actinomycetota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)和绿弯菌门(*Chloroflexota*)为主, 并且放线菌门(*Actinomycetota*)的相对丰度最高, 这与青藏高原果洛高寒草甸生境^[29]、青藏高原中心区域高寒草甸生境^[30]报道的菌群结构类似。而在 GSSL 和 SD 生境中变形菌和放线菌同样是优势菌群, 但是相比之下, 假单胞菌门(*Pseudomonadota*)的相对丰度较高, 这也与其他学者报道的结果基本一致^[31-32]。变形菌参与土壤能量代谢。例如, 有机和无机化合物的氧化以及从光中获取能量^[33], 并且在有机质分解中具有重要作用, 而高山森林和湿地中的有机质含量较高, 这可能是导致其在 2 种生态系统中富集的原因。SM 生境中细菌组成以放线菌门(*Actinomycetota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、芽孢菌门(*Bacillota*)为主, 这与青藏高原东缘沙漠^[34]、柴达木盆地沙丘^[35-36]中菌群结构相似。近年来, 对盐湖微生物多样性研究较多, 如 Yang 等^[37]对青海湖菌群结

构的研究, 发现优势菌群为假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、放线菌门(*Actinomycetota*)、酸杆菌门(*Acidobacteriota*)和芽孢菌门(*Bacillota*); Wang 等^[38]等发现察尔汗盐湖中假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、芽孢菌门(*Bacillota*)为其优势菌门; 而 Liu 等^[39]揭示纳木错盐湖中的优势菌门有假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、放线菌门(*Actinomycetota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)和芽孢菌门(*Bacillota*)。在本研究中, YH 生境中放线菌门(*Actinomycetota*)、假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、绿弯菌门(*Chloroflexota*)、芽孢菌门(*Bacillota*)丰度最高, 其中绿弯菌门(*Chloroflexota*)作为优势菌门之一, 在其他盐湖环境中所没发现的, 可能由于不同盐湖环境导致优势菌群具有一定的差异。整体上, 青藏高原 7 种典型极端生境各生境中放线菌门(*Actinomycetota*)与假单胞菌门(*Pseudomonadota*)相对丰度均为最高, 但是在不同生境中其丰度具有较大差异(图 5A), β 多样性($R^2=0.522, P=0.001$)和 LEfSe 分析进一步证实了不同生境细菌群落结构的差异。此外, 从属水平上来看(图 5A), 发现相对丰度前 30 的菌属有近 1/3 是目前未注释与未培养的菌属, 表明青藏高原具有极为丰富的潜在新物种资源。

土壤理化因子对土壤细菌群落的多样性和组成具有显著影响^[40-41], 因此, 比较不同生境细菌群落结构和驱动土壤微生物群落结构变化的关键因子, 对于深入了解青藏高原土壤细菌多样性和生态系统功能具有重要意义。一般而言, 土壤 pH 值在控制细菌群落分布方面起着关键作用^[42-43]。在本研究中, 虽然 pH 对细菌群落结构有显著影响, 但影响细菌群落结构的主要因素是 Mg^{2+} 、 Na^+ 和 K^+ 等金属元素, 尤其是对 GB 和 GHCD 生境中的放线菌和绿弯菌的分布影响最大。此外, GSSL、SD 和 THCD 这

3种生境细菌群落的结构主要受到TC和TN的驱动,同时SD生境的细菌群落还受到pH的影响,并且主要影响了酸杆菌和蓝细菌的分布,可能与其降解有机物和参与营养循环有关。Wang等^[32]对高山森林对高山森林和湿地环境微生物群落驱动因子的研究,发现除了pH是影响细菌群落结构的主要因素之外,TN也是主要驱动因子之一,这与本研究较为一致。pH、Ca²⁺和Na⁺主要影响了假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、硝化菌门和芽孢菌门(*Bacillota*)在YH和SM生境中的分布,并且Na⁺是影响YH生境中细菌群落分布的主要因子,这与新疆天山不同盐湖细菌菌群结构的影响因子研究结果一致^[44],使得这些生态适应性较强的细菌在高盐和高渗透压环境中富集。此外,土壤中的解磷菌,例如放线菌、假单胞菌、拟杆菌、芽孢菌等,可以通过酸化和生成螯合物的方式将不溶性的磷转化为可用的磷形式^[45-46]。这也在一定程度上解释了放线菌、假单胞菌、芽孢菌等为代表的解磷菌,是青藏高原上不同极端生境优势菌群的原因。

通过FAPROTAX对不同生境下的细菌功能进行预测,发现细菌类群主要参与了碳元素、氮元素以及硫元素等的生物地球化学循环过程,尤其是氮、硫循环不同生境差异较大,进一步证实了不同生境细菌群落的差异。微生物参与的氮循环过程主要包括硝化、反硝化、氨化作用等^[47]。本研究中,所有生境中均存在固氮(nitrogen fixation)、需氧氨氧化(aerobic ammonia oxidation)、硝化(nitrification)、反硝化(denitrification)、硝酸盐还原(nitrate reduction)等氮循环中的关键代谢过程,只是不同生境的氮代谢能力不同,如GB生境中具有硝酸盐还原作用(nitrate reduction)的细菌类群丰度显著

高于其他生境,可能与GB生境中生物标记物热微菌目(*Thermomicrobiales*)有关,热微菌目种类有助于NO³⁻还原与N₂O^[48];而SM生境中需氧氨氧化、需氧硝酸盐氧化(aerobic nitrate oxidation)以及硝化作用的微生物富集程度最高,这可能其生物标记物亚硝化单胞菌科(*Nitrosomonadaceae*),其通常通过氨氧化控制硝化作用^[49];而THCD生境中的氮循环能力相对较弱。值得一提的是,YH生境中硫代谢过程非常丰富,比如硫化物呼吸(respiration of sulfur compounds)、硫酸盐呼吸(sulfate respiration)、硫化物氧化(dark sulfide oxidation)等,可能与YH生境中含有大量的硫酸盐有关,在巴里坤盐湖区域也同样发现了类似的功能,结合LEfSe分析,酸微菌纲(*Acidimicrobiia*)菌株具有S⁰和Fe²⁺氧化能力,其中的*Acidimicrobiaceae*种类能够分解利用对亚铁氧化菌和硫氧化菌生存不利的有机物质,以维持微生物群落的平和与稳定^[50]。有意思的是,SD生境也存在大量参与硫代谢过程的微生物类群。此外,各生境中还存在芳香化合物降解(aromatic compound degradation)作用的微生物类群,GSSL和THCD生境中尤为丰富。通过土壤细菌功能与土壤因子的关联性分析,发现木质素降解(ligninolysis)主要与生境中的TC和TN呈强正相关,而与pH呈负相关。结合RDA分析结果,酸杆菌可通过降解复合木质素和纤维素实现异养生长^[51-52],进一步说明了土壤理化因子对细菌群落组成及其功能的影响。此外,Na⁺与多种硫代谢过程相关,而Na⁺同样是影响YH生境细菌群落结构的主要驱动力,并且YH生境硫代谢活跃,从而也揭示了Na⁺通过影响YH生境细菌组成而介导了硫元素的生物地球化学过程。

本研究通过对青藏高原7种典型极端生境土壤或沉积物的16S rRNA基因高通量测序,发

现各生境细菌群落组成以放线菌门(*Actinomycetota*)和假单胞菌门(*Pseudomonadota*)为主,但是在相对丰度上存在显著差异。虽然对细菌群落结构影响最大的理化因子是 Mg^{2+} 、 Na^+ 和 K^+ 等金属元素,但是驱动细菌群落构成的环境因子随着生境的不同而不同。此外,通过细菌功能预测,揭示了不同生境中细菌在生物地球化学过程中的重要作用。本研究结果将为青藏高原极端生境土壤细菌群落形成及其生态功能提供新的认识。

参考文献

- [1] MYERS N, MITTERMEIER RA, MITTERMEIER CG, Da FONSECA GAB, KENT J. Biodiversity hotspots for conservation priorities[J]. *Nature*, 2000, 403(6772): 853-858.
- [2] ZHANG G, HUANG YY, YANG J, LAI XH, JIN D, LU S, CHENG YP, YANG CX, PU J, LIANG JR, HUANG Y, XU JG. *Gordonia jinghuaiqii* sp. nov. and *Gordonia zhaorongruii* sp. nov., isolated from Tibetan Plateau wildlife[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2021, 71(7): 004897.
- [3] YANG LL, PANG Y, LIU HC, XIN YH, LIU Q. *Mucilaginibacter glaciei* sp. nov. and *Mucilaginibacter pankratovii* sp. nov., isolated from a glacier on the Tibetan Plateau[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2021, 71(1): 004585.
- [4] LU HB, GAO PX, PHURBU D, WU QL, XING P. *Salegentibacter lacus* sp. nov. and *Salegentibacter tibetensis* sp. nov., isolated from hypersaline lakes on the Tibetan Plateau[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2022, 72(1): 005202.
- [5] ZHANG BL, TANG SK, YANG RQ, CHEN XM, ZHANG DM, ZHANG W, LI SW, CHEN T, LIU GX, DYSON P. *Streptomyces dangxiongensis* sp. nov., isolated from soil of Qinghai-Tibet Plateau[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2019, 69(9): 2729-2734.
- [6] ZHANG BL, TANG SK, CHEN XM, ZHANG L, ZHANG GS, ZHANG W, LIU GX, CHEN T, LI SW, DYSON P. *Streptomyces lacrimifluminis* sp. nov., a novel actinobacterium that produces antibacterial compounds, isolated from soil[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2016, 66(12): 4981-4986.
- [7] LI JY, WANG LW, YE ZM, LU LC, LI YM. *Streptomyces tibetensis* sp. nov., an actinomycete isolated from the Tibetan Plateau[J]. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 2020, 113(1): 33-41.
- [8] YIN YL, WANG YQ, LI SX, LIU Y, ZHAO W, MA YS, BAO GS. Soil microbial character response to plant community variation after grazing prohibition for 10 years in a Qinghai-Tibetan alpine meadow[J]. *Plant and Soil*, 2021, 458(1/2): 175-189.
- [9] WANG YP, LI QB, HUI W, SHI JY, LIN Q, CHEN XC, CHEN YX. Effect of sulphur on soil Cu/Zn availability and microbial community composition[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 159(2/3): 385-389.
- [10] SATTIN SR, CLEVELAND CC, HOOD E, REED SC, KING AJ, SCHMIDT SK, ROBESON MS, ASCARRUNZ N, NEMERGUT DR. Functional shifts in unvegetated, perhumid, recently-deglaciated soils do not correlate with shifts in soil bacterial community composition[J]. *The Journal of Microbiology*, 2009, 47(6): 673-681.
- [11] REN BH, HU YM, BU RC. Vertical distribution patterns and drivers of soil bacterial communities across the continuous permafrost region of northeastern China[J]. *Ecological Processes*, 2022, 11(1): 1-13.
- [12] YI XY, NING C, FENG SL, GAO HQ, ZHAO JL, LIAO JY, PENG YH, ZHAO SQ, LIU SG. Urbanization-induced environmental changes strongly affect wetland soil bacterial community composition and diversity[J]. *Environmental Research Letters*, 2022, 17(1): 014027.
- [13] KOYAMA A, WALLENSTEIN MD, SIMPSON RT, MOORE JC. Soil bacterial community composition altered by increased nutrient availability in Arctic tundra soils[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 516.
- [14] ZENG J, LIU XJ, SONG L, LIN XG, ZHANG HY, SHEN CC, CHU HY. Nitrogen fertilization directly affects soil bacterial diversity and indirectly affects bacterial community composition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 92: 41-49.
- [15] 谢学辉, 范凤霞, 袁学武, 朱文祥, 刘娜, 平婧, 柳建设. 德兴铜矿尾矿重金属污染对土壤中微生物多样性的影响[J]. *微生物学通报*, 2012, 39(5): 624-637.
- XIE XH, FAN FX, YUAN XW, ZHU WX, LIU N, PING J, LIU JS. Impact on microbial diversity of heavy metal pollution in soils near Dexing copper mine tailings[J]. *Microbiology China*, 2012, 39(5): 624-637 (in Chinese).

- [16] LORENZ N, HINTEMANN T, KRAMAREWA T, KATAYAMA A, YASUTA T, MARSCHNER P, KANDELER E. Response of microbial activity and microbial community composition in soils to long-term arsenic and cadmium exposure[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(6): 1430-1437.
- [17] YANG WH, ZHANG XT, WU LQ, RENSING C, XING SH. Short-term application of magnesium fertilizer affected soil microbial biomass, activity, and community structure[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2021, 21(1): 675-689.
- [18] ALLISON VJ, YERMAKOV Z, MILLER RM, JASTROW JD, MATAMALA R. Using landscape and depth gradients to decouple the impact of correlated environmental variables on soil microbial community composition[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2007, 39(2): 505-516.
- [19] 王小英, 刘国红, 刘波, 阮传清, 陈峥. 青海可可西里嗜碱芽胞杆菌资源调查[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(8): 1847-1857.
WANG XY, LIU GH, LIU B, RUAN CQ, CHEN Z. Survey of alkaliphilic *Bacillus*-like resources in kekexili, Qinghai[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(8): 1847-1857 (in Chinese).
- [20] WANG XJ, ZHANG ZC, YU ZQ, SHEN GF, CHENG HF, TAO S. Composition and diversity of soil microbial communities in the alpine wetland and alpine forest ecosystems on the Tibetan Plateau[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 747: 141358.
- [21] LIU L, LIU HY, ZHANG WS, CHEN Y, SHEN JX, LI YL, PAN YX, LIN W. Microbial diversity and adaptive strategies in the Mars-like Qaidam Basin, North Tibetan Plateau, China[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2022, 14(6): 873-885.
- [22] 阴红彬, 谢立红, 黄庆阳, 徐明怡, 罗春雨, 沙刚, 曹宏杰. 五大连池火山群土壤微生物群落代谢多样性及影响因素研究[J]. *土壤与作物*, 2022, 11(4): 458-469.
YIN HB, XIE LH, HUANG QY, XU MY, LUO CY, SHA G, CAO HJ. Soil microbial metabolic diversity and its influencing factors in Wudalianchi volcanoic groups[J]. *Soil and Crop*, 2022, 11(4): 458-469 (in Chinese).
- [23] 陆嘉玮, 徐晨烨, 胡纯, 刘树仁, 李方. 微塑料及金属在黄浦江地表水环境的赋存特征及与金属抗性基因的相关性分析[J]. *环境科学*, 2023, 44(5): 2551-2561.
LU JW, XU CY, HU C, LIU SR, LI F. Occurrence characteristics of microplastics and metal elements in the surface water of Huangpu River and their associations with metal resistance genes[J]. *Environmental Science*, 2023, 44(5): 2551-2561 (in Chinese).
- [24] EDGAR RC. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19): 2460-2461.
- [25] BOKULICH NA, SUBRAMANIAN S, FAITH JJ, GEVERS D, GORDON JI, KNIGHT R, MILLS DA, CAPORASO JG. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(1): 57-59.
- [26] BYRNES JEK, GAMFELDT L, ISBELL F, LEFCHECK JS, GRIFFIN JN, HECTOR A, CARDINALE BJ, HOOPER DU, DEE LE, EMMETT DUFFY J. Investigating the relationship between biodiversity and ecosystem multifunctionality: challenges and solutions[J]. *Methods in Ecology and Evolution*, 2014, 5(2): 111-124.
- [27] BAHADUR A, ZHANG ZQ, SAJJAD W, NASIR F, ZIA MA, LIU GX, CHEN T, ZHANG W. Bacterial community structure and functions in microhabitats associated with black stones in Black Gobi Desert, China[J]. *Ecological Indicators*, 2022, 142: 109168.
- [28] WU MH, LI T, ZHANG GS, WU FS, CHEN T, ZHANG BL, WU XK, LIU GX, ZHANG KC, ZHANG W. Seasonal variation of hypolithic microbiomes in the Gobi Desert[J]. *Microbial Ecology*, 2023, 85: 1382-1395.
- [29] ZHOU H, ZHANG DG, JIANG ZH, SUN P, XIAO HL, WU YX, CHEN JG. Changes in the soil microbial communities of alpine steppe at Qinghai-Tibetan Plateau under different degradation levels[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 651: 2281-2291.
- [30] ZHANG Y, DONG SK, GAO QZ, LIU SL, ZHOU HK, GANJURJAV H, WANG XX. Climate change and human activities altered the diversity and composition of soil microbial community in alpine grasslands of the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 562: 353-363.
- [31] YANG YY, LIU GH, YE C, LIU WZ. Bacterial community and climate change implication affected the diversity and abundance of antibiotic resistance genes in wetlands on the Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2019, 361: 283-293.
- [32] DENG YC, CUI XY, HERNÁNDEZ M, DUMONT MG. Microbial diversity in hummock and hollow soils of three wetlands on the Qinghai-Tibetan Plateau revealed by 16S rRNA pyrosequencing[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e103115.

- [33] MUKHOPADHYA I, HANSEN R, EL-OMAR EM, HOLD GL. IBD—what role do Proteobacteria play?[J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2012, 9(4): 219-230.
- [34] ZHANG W, BAHADUR A, SAJJAD W, ZHANG GS, NASIR F, ZHANG BL, WU XK, LIU GX, CHEN T. Bacterial diversity and community composition distribution in cold-desert habitats of Qinghai-Tibet Plateau, China[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(2): 262.
- [35] BAHADUR A, ZHANG W, SAJJAD W, NASIR F, ZHANG GS, LIU GX, CHEN T. Bacterial diversity patterns of desert dunes in the northeastern Qinghai-Tibet Plateau, China[J]. *Archives of Microbiology*, 2021, 203(6): 2809-2823.
- [36] ZHANG W, BAHADUR A, ZHANG GS, ZHANG BL, WU XK, CHEN T, LIU GX. Diverse bacterial communities from Qaidam Basin of the Qinghai-Tibet Plateau: insights into variations in bacterial diversity across different regions[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 554105.
- [37] YANG J, MA LA, JIANG HC, WU G, DONG HL. Salinity shapes microbial diversity and community structure in surface sediments of the Qinghai-Tibetan Lakes[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 25078.
- [38] WANG YQ, BAO GY. Diversity of prokaryotic microorganisms in alkaline saline soil of the Qarhan Salt Lake area in the Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12: 3365.
- [39] LIU XB, YAO TD, KANG SC, JIAO NZ, ZENG YH, LIU YQ. Bacterial community of the largest oligosaline lake, namco on the Tibetan Plateau[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2010, 27(8): 669-682.
- [40] KIM HM, JUNG JY, YERGEAU E, HWANG CY, HINZMAN L, NAM S, HONG SG, KIM OS, CHUN J, LEE YK. Bacterial community structure and soil properties of a subarctic tundra soil in Council, Alaska[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 89(2): 465-475.
- [41] STARK S, ESKELINEN A, MÄNNISTÖ MK. Regulation of microbial community composition and activity by soil nutrient availability, soil pH, and herbivory in the tundra[J]. *Ecosystems*, 2012, 15(1): 18-33.
- [42] LAUBER CL, HAMADY M, KNIGHT R, FIERER N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(15): 5111-5120.
- [43] ROUSK J, BÄÄTH E, BROOKES PC, LAUBER CL, LOZUPONE C, CAPORASO JG, KNIGHT R, FIERER N. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil[J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(10): 1340-1351.
- [44] 李二阳, 马雪莉, 吕杰, 马媛, 吕光辉. 新疆天山北坡不同盐湖微生物菌群结构及其影响因子[J]. *生态学报*, 2021, 41(18): 7212-7225
- LI EY, MA XL, LYU J, MA Y, LYU GH. Microbial community structure and its influencing factors of different salt lakes on the northern slope of Tianshan Mountains, Xinjiang[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2021, 41(18): 7212-7225 (in Chinese).
- [45] GOLDSTEIN AH. Recent progress in understanding the molecular genetics and biochemistry of calcium phosphate solubilization by gram negative bacteria[J]. *Biological Agriculture & Horticulture*, 1995, 12(2): 185-193.
- [46] PASTORE G, WEIG AR, VAZQUEZ E, SPOHN M. Weathering of calcareous bedrocks is strongly affected by the activity of soil microorganisms[J]. *Geoderma*, 2022, 405: 115408.
- [47] 汪文强, 赵长明, 张新芳, 陈玉莹, 刘勇勤. 三极冰川冰尘微生物及其介导的碳氮生物地球化学循环研究进展[J]. *微生物学报*, 2022, 62(6): 2136-2149.
- WANG WQ, ZHAO CM, ZHANG XF, CHEN YY, LIU YQ. Research progress of cryoconite microorganisms and biogeochemical cycling of carbon and nitrogen driven by cryoconite in tripolar glaciers[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2136-2149 (in Chinese).
- [48] WANG SK, HENG Y, SU QX, ZUO J. Exploring the role of heterotrophs in partial nitrification-anammox process treating thermal hydrolysis process—anaerobic digestion reject water[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 341: 125762.
- [49] Prosser J I, Head I M, Stein L Y. The family *Nitrosomonadaceae*[M]//Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F. *The prokaryotes: Alphaproteobacteria and Betaproteobacteria*. Berlin/Heidelberg: Springer, 2014: 901-918.
- [50] DAVIS-BELMAR CS, NORRIS PR. Ferrous iron and pyrite oxidation by “*Acidithiobaculum*” species[J]. *Advanced Materials Research*, 2009, 71/72/73: 271-274.
- [51] LEWIS WH, TAHON G, GEESINK P, SOUSA DZ, ETTEMA TJG. Innovations to culturing the uncultured microbial majority[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(4): 225-240.
- [52] JIA T, GUO TY, YAO YS, WANG RH, CHAI BF. Seasonal microbial community characteristic and its driving factors in a copper tailings dam in the Chinese Loess Plateau[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 1574.