

# 花垣铅锌尾矿废弃地地枇杷根际土壤细菌群落演替及功能预测

吕定红<sup>1</sup>, 田向荣<sup>1</sup>, 张丽<sup>2</sup>, 李朝阳<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>植物资源保护与利用湖南省高校重点实验室, 湖南 吉首

<sup>2</sup>吉首大学生物资源与环境科学学院, 湖南 吉首

收稿日期: 2023年10月16日; 录用日期: 2023年11月17日; 发布日期: 2023年11月29日

## 摘要

看护植物介导的微斑块变化是尾矿废弃地等退化生态系统恢复过程中的活跃成分。以铅锌尾矿废弃地裸地为对照(CK), 不同演替阶段的地枇杷斑块(初期Y、中期M和后期O)为研究对象, 采用16S rRNA高通量测序技术对不同演替过程中地枇杷根际土壤细菌数据进行数据挖掘和分析, 运用PICRUST2功能预测分析探讨了铅锌尾矿废弃地上不同演替过程中地枇杷根际细菌群落变化及碳、氮和磷代谢特征。结果表明: 1) 根际细菌优势门主要为变形菌门、蓝细菌门、绿弯菌门和放线菌门等, 随着演替正向进行, 蓝细菌门和绿弯菌门相对丰度逐渐降低, 变形菌门和放线菌门相对丰度增加。优势属类群中鞘脂单胞菌属、*Gaiella*属、硫杆菌属和短波单胞菌属等的相对丰度逐渐降低, 与之相反, 红杆菌属、假单胞菌属、木洞菌属、慢生根瘤菌属和玫瑰单胞菌属的相对丰度则逐渐增加, 典型对应分析(CCA)结果显示, 有效磷(AP)和总磷(TP)与根际细菌物种分布的决定系数 $R^2$ 分别为0.8507 ( $P = 0.001$ )和0.9373 ( $P = 0.001$ ); 2) 参与碳固定的6条途径中, 以3-羟基丙酸双循环的总关键基因丰度最高, 其次为卡尔文循环, 随演替正向进行, 根际细菌固碳潜力逐渐增加; 3) 参与固氮反应的功能酶基因丰度以Y阶段最高, 硝化反应的功能酶基因丰度随演替正向进行而逐渐增加, 参与N代谢的所有功能基因中异化性硝酸盐还原反应(DNRA)的基因丰度最高, 并在O阶段达到最大; 4) 有机磷矿化与无机磷溶解的基因丰度均随演替正向进行而逐渐增加, 有机磷运输基因丰度随演替正向进行而增加, 但无机磷酸盐运输的基因总丰度却显著高于前者。综上所述, 随着地枇杷斑块演替的正向进行, 地枇杷根际土壤细菌的群落结构与组成发生了显著变化, TP和AP是这种变化的关键环境因子, 根际土壤细菌群落以3-羟基丙酸双循环途径为主要的固碳方式, 硝态氮还原以DNRA为主, 使尾矿废弃地的土壤质量得到明显改善, 然而以无机磷酸盐同化为主要方式的P代谢特征表明尾矿废弃地以地枇杷为主的斑块演替仍处于生态演替的初级阶段。

## 关键词

花垣县, 铅锌尾矿废弃地, 地枇杷, 根际土壤细菌群落, PICRUST2, 功能预测, 元素循环

\*通讯作者。

# Bacterial Community Succession and Function Prediction in Rhizosphere Soil of *Ficus tikoua* in Lead and Zinc Tailings Wasteland

Dinghong Lv<sup>1</sup>, Xiangrong Tian<sup>1</sup>, Li Zhang<sup>2</sup>, Zhaoyang Li<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Utilization (Jishou University), College of Hunan Province, Jishou Hunan

<sup>2</sup>College of Biology and Environmental Science, Jishou University, Jishou Hunan

Received: Oct. 16<sup>th</sup>, 2023; accepted: Nov. 17<sup>th</sup>, 2023; published: Nov. 29<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

Micropatch changes which mediated by nurse plants are the active factor in the restoration process of damaged ecosystems, such as tailings and other wasted land. We took the bare land of lead and zinc tailings wasteland as the control (CK), *Ficus tikoua* patches at different succession stages (early Y, middle M and late O) as the research objects, We compared 16S rRNA sequences to explore and analyze the bacteria and its community variation in rhizosphere soil of *F. tikoua* in different succession stages, also detected carbon, nitrogen and phosphorus changes in rhizosphere bacterial of *F. tikoua* in different succession processes based on these, we tried to predict function of bacterial community by using PISCRUST2. Results showed that 1) the dominant phyla of rhizosphere bacterial communities were Proteobacteria, Cyanobacteria, Chloroflexi and Actinobacteria, etc. With the progressive succession, the relative abundance of Cyanobacteria and Chloroflexi gradually decreased, while the relative abundance of Proteobacteria and Actinobacteria increased. The relative abundances of *Sphingomonas*, *Gaiella*, *Thiobacillus* and *Brevundimonas* in the dominant genera decreased gradually, whereas the relative abundances of *Rhodobacter*, *Pseudomonas*, *Woodsholea*, *Bradyrhizobium* and *Roseomonas* increased gradually, and the canonical correspondence analysis (CCA) showed that the determining coefficients  $R^2$  of available phosphorus (AP) and total phosphorus (TP) and rhizosphere bacterial species distribution were 0.8507 ( $P = 0.001$ ) and 0.9373 ( $P = 0.001$ ) respectively; 2) Among the 6 pathways involved in carbon fixation, the abundance of total key genes in the 3-hydroxypropionic acid double cycle was the highest, followed by the Calvin cycle. With progressive succession, the carbon sequestration potential of rhizosphere bacteria gradually increased; 3) The abundance of functional enzyme genes involved in nitrogen fixation reaction was the highest at the Y stage, and the abundance of functional enzyme genes in nitrification reaction gradually increased with the progression of succession. Among all functional genes involved in N metabolism, the abundance of genes involved in DNRA was the highest, and reached the maximum at the O stage; 4) The gene abundance of both organic phosphate mineralization and inorganic phosphorus dissolution gradually increased with the progressive succession. Although the gene abundance of organic phosphorus transport increased with the progressive succession, the total gene abundance of inorganic phosphate transport was significantly higher than that of the former. In summary, with the forward progression of *F. tikoua* patch succession, the bacterial community structure and composition in rhizosphere soil changed significantly, and total and available phosphorus were the key environmental factors for such changes. The bacterial community in rhizosphere soil used 3-hydroxypropionic acid double cycle as the main carbon sequestration method, and the nitrate nitrogen reduction in rhizosphere soil

was mainly DNRA, which significantly improves the soil quality of tailings wasteland. However, the characteristics of P metabolism based on inorganic phosphate assimilation showed that the patch succession dominated by *F. tikoua* in tailings wasteland was still in the primary stage of ecological succession.

## Keywords

Huayuan County, Lead and Zinc Tailings Wasteland, *Ficus tikoua*, Bacterial Community of Rhizosphere Soil, PICRUSt2, Function Prediction, Elemental Cycle

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

促进效应是非生物条件恶劣的环境下占主导地位的一种植物—植物相互作用方式，是一种植物对其它植物物种的发芽、生存和生长或适应性产生积极影响的过程[1]，在植物群落动态和生物多样性的维持中起着至关重要的作用[2] [3] [4]，已在干旱和高山生态系统等恶劣环境条件下的地区进行了广泛研究[5] [6]，最近，在尾矿生态环境中也发现了这种现象存在，并被认为是尾矿生态恢复的有效工具[7] [8]。由于金属矿山尾矿因其高重金属含量和盐度以及高侵蚀风险而成为极具压力的栖息地，其土壤属性与微荒漠类似[8]，因此，在这类恶劣的环境中，促进通常涉及增加水或养分的可用性[6]，通常看护植物冠层下的土壤比周围开阔地带具有更高的养分含量[9]，而看护植物的遮荫在减少了热幅值的同时也减少了土壤水分蒸发[10]，这些变化都有利于受益物种的种子发芽和幼苗生长[2]，从而影响其自然更新、生长和空间关联，进而形成斑块植被，构成典型的促进驱动型生态系统[11]，在这过程中，与微生物的关联对植物的生存和生长至关重要，尤其是土壤微生物[6]。

土壤微生物是生态系统过程和服务的原驱动力，如养分循环、碳固存和土壤肥力[7]，它们也强烈影响植物个体适应性以及植物群落的结构和多样性[5]。看护植物在树冠下通常形成“资源沃岛”，这被认为是促进的主要机制之一[12]，这是由于看护植物冠层下的植物凋落物输入量更大，而将植物来源的有机物转化为植物可利用的营养形式取决于土壤微生物的活动，因而看护灌木下的土壤可被认为是微生物活动的热点[6]，研究表明，与看护植物相关的土壤微生物群落促进了受益物种的建立和生长[13]，而看护植物则可以改变土壤细菌群落的组成，选择更有效的养分矿化和参与植物生长促进机制的微生物群[13] [14]。一些研究开始将土壤微生物纳入促进框架，通常为土壤细菌和菌根真菌[13]，但大多数只是比较了看护植物冠层下和开阔地中微生物群落的组成和/或活性，如 Garcia 等研究发现，与裸地植物群落相比，由看护植物形成的“资源沃岛”细菌群落结构表现出更高的丰富度和多样性，细菌群落的代谢活性也更强[15]，但看护植物根际土壤微生物群落在演替过程中的变化尚未见有报道。

根际土壤微生物是连接植物和土壤的纽带，是植物吸收土壤养分的门户[16]，因而了解根际土壤微生物初级演替的生态过程可能在尾矿废弃地修复中有特殊作用。Tscherko 等[17]研究表明在冰川消融的高山地形初级演替阶段的根际土壤微生物群落与土壤中的相似，但演替后期则主要随植被覆盖、植物种类和土壤有机质的变化而变化。而金属尾矿废弃地中由看护植物介导的斑块群落演替中是否也存在类似变化，这些可能的变化在尾矿废弃地修复中发挥着什么样的作用值得深入探讨。

地枇杷(*Ficus tikoua* Bur.)是湘西花垣县铅锌尾矿废弃地的优势本土植物，前期研究表明，地枇杷对尾

矿废弃地上的植物群落和土壤微生物群落均有促进作用,是铅锌尾矿废弃地的看护植物[18],随地枇杷斑块演替,尾矿废弃地的土壤微生物群落结构发生显著改变,变形菌门显著增加,在演替后期甚至产生了新的真菌类群[19],表明地枇杷介导的植物群落对尾矿土壤微生物群落产生了显著影响,然而这种变化主要是地枇杷这种看护植物所至还是整个群落所至尚不明确。基于此,本研究继续以花垣县洞里村铅锌尾矿废弃地不同演替阶段地枇杷斑块为研究对象,分析不同演替阶段地枇杷根际微生物群落的组成与功能的变化,以期促进我们对植物和土壤如何决定发展中的尾矿废弃地生态系统中地下微生物种群的理解。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 研究区域

试验样地位于湘西地区花垣县(109°15'~109°38'E, 28°10'~28°38'N)猫儿乡洞里村铅锌尾矿库。气候属于亚热带季风山地湿润气候,年平均气温 16.0℃,年平均降雨量 1363.8 毫米,年平均蒸发量为 1031.9 毫米。试验区尾矿库处于在用状态,但早前堆积的尾矿表面已经自然生长了一些植被,以地枇杷斑块为主,并呈现出演替特征。

### 2.2. 样地选择与样品采集

本试验在研究区内选择三种类型的地枇杷斑块(表 1): 演替初期: 只有地枇杷无其他植被(Y)、演替中期: 地枇杷斑块内着生有一年生草本植物(M)、演替后期: 地枇杷斑块内除了有一年生草本植物外还有多年生草本植物和木本植物(O),以裸尾矿废弃地为对照(CK)。各斑块土壤的基本理化性质见表 2。

Table 1. The condition of plot

表 1. 样地基本情况

样地 Plot	优势物种 Dominant species
CK	尾矿废弃裸地
Y	地枇杷 <i>Ficus tikoua</i>
M	地枇杷 <i>Ficus tikoua</i> 、狗尾巴草 <i>Setaria viridis</i> 、风轮菜 <i>Clinopodium chinense</i>
O	地枇杷 <i>Ficus tikoua</i> 、千里光 <i>Senecio scandens</i> 、魁蒿 <i>Artemisia princeps</i> 、插田泡 <i>Rubus coreanus</i> 、马棘 <i>Indigofera pseudotinctoria</i>

Table 2. Physico-chemical properties of the different soils

表 2. 不同样地土壤的基本理化性质

样地 Plot	有效磷 AP (mg/kg)	全磷 TP (mg/kg)	全氮 TN (g/kg)	氨态氮 AN (g/kg)	有机质 OM (g/kg)	含水量 SM%	容重 BD (g·cm <sup>-1</sup> )
CK	0.14 ± 0.001	0.88 ± 0.121	0.15 ± 0.009	0.14 ± 0.014	1.91 ± 0.059	0.11 ± 0.014	3.56 ± 0.040
Y	0.35 ± 0.001	3.94 ± 0.116	0.21 ± 0.006	0.21 ± 0.006	6.43 ± 0.098	0.12 ± 0.008	3.26 ± 0.039
M	0.37 ± 0.002	5.41 ± 0.146	0.46 ± 0.006	0.45 ± 0.003	7.06 ± 0.064	0.19 ± 0.002	3.53 ± 0.070
O	0.45 ± 0.017	6.12 ± 0.089	0.64 ± 0.012	0.67 ± 0.002	15.4 ± 0.134	0.27 ± 0.007	2.35 ± 0.043

采样于 2021 年 9 月进行,每个演替阶段各随机选择 3 个斑块,按梅花点采样法采集斑块内地枇杷根际土壤。每个样点采集地枇杷不定根约 15 g,然后将 5 个小样混合成一个复合样品,将地枇杷不定根上多余的土壤抖落,剪取约 15 g 带土根系,放入装有灭菌过的 0.86% NaCl 溶液的 25 mL 离心管中,冰盒



保存, 运回实验室处理。将样品管置于冰浴 30 min, 其间不时摇匀, 将根系去除, 溶液于 4000 g、4℃ 离心 30 min, 弃上清, 沉淀保存于新的无菌 EP 管中, 于-20℃ 保存备用。

### 2.3. 土壤细菌群落分析

采用 FastDNA 试剂盒提取土壤总 DNA, 按照试剂盒说明书步骤过程进行, 共得到约 100 μL DNA 溶液。DNA 浓度用 Nanodrop 2000 分光光度计(Thermo Scientific, USA)测定。采用通用引物 338F/806R 扩增细菌 16S rDNA 的 V3 和 V4(a)区。PCR 反应采用 20 μL 体系, 包括 4 μL 的 5 × TransStart® FastPfu Buffer, 2 μL dNTPs (2.5 m mol·L<sup>-1</sup>), 0.5 μL TransStart® FastPfu DNA 聚合酶(2.5 U·μL<sup>-1</sup>), 0.5 μL 正反向引物 (10 μmol·L<sup>-1</sup>), 模板 DNA 2 μL, ddH<sub>2</sub>O 10.5 μL。扩增程序为: 94℃ 预变性 4 min; 94℃ 变性 30 s, 50℃ 退火 30 s, 72℃ 延伸 30 s, 30 个循环; 72℃ 终延伸 5 min。测序由上海派森诺生物科技有限公司完成, 用 GenBank 数据库对测序结果进行比对分析, 鉴定到属水平。

### 2.4. PICRUST2 功能预测分析

所得高通量测序数据采用 PICRUST2 软件进行功能预测, 通过比对 KEGG 数据库, 得到 KO 功能丰度预测, 并由 KEGG 数据库中找到 CNP 代谢的关键功能酶基因的 KO 号。我们评估了碳固定 6 条途径(主要包括 K01601: cbbL、K01602: cbbS 等 23 个基因)、氮代谢(氮固定中 K02588: nifH 等 3 个基因; 硝化反应中 K10535: hao 和 K05601: hcp 等 7 个基因; 反硝化反应中 K00376: nosZ 和 K04561: norB 等 5 个基因; DNRA 中 K02567: napA 和 K02568: napB 等 7 个基因以及 ANRA 中 K00372: nasA 和 K00360: nasB 等 3 个基因, 总共 25 个基因)以及磷代谢(磷养分活化中 K01126: ugpQ、K07048: php 等 37 个基因以及磷吸收中 K02041: phnC、K02042: phnE 和 K02044: phnD 等 17 个基因)关键功能基因的丰度。

### 2.5. 数据处理和图表绘制

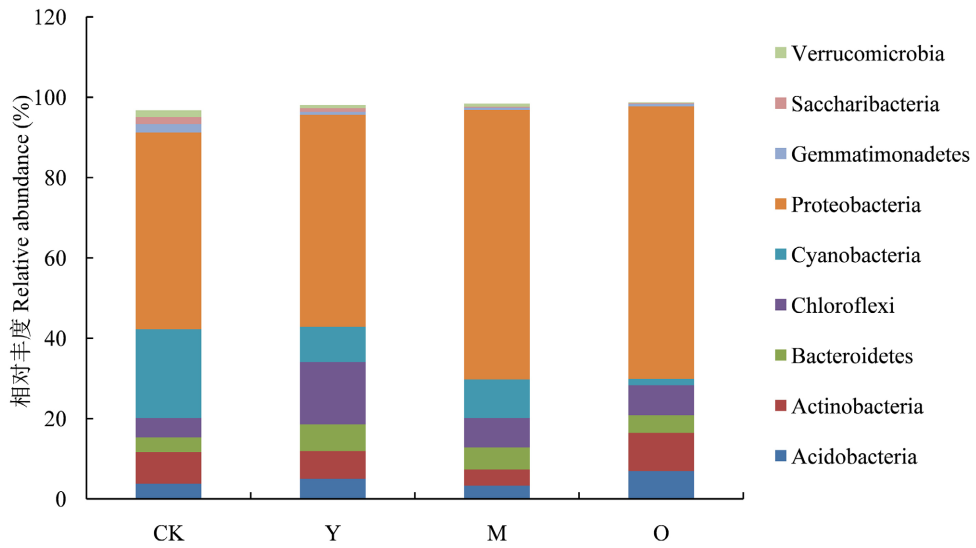
采用 SPSS 19.0 对数据进行统计分析, 数据均以平均值 ± 标准误表示。在  $p = 0.05$  置信水平, 采用单因素方差(One-Way ANOVA)分析法对不同演替阶段之间进行差异显著性分析(Duncan 法), Levene 检验分析方差的同质性, 必要时将数据转化和归一化。利用 R 语言(4.1.0)的 vegan 包进行根际土壤细菌群落的非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS)以及 CCA 分析探讨土壤理化性质与地枇杷根际细菌物种分布的相关性, 细菌优势属热图是利用 R 语言 pheatmap 包绘制。采用 WPS 表格制表和常规作图。

## 3. 结果与分析

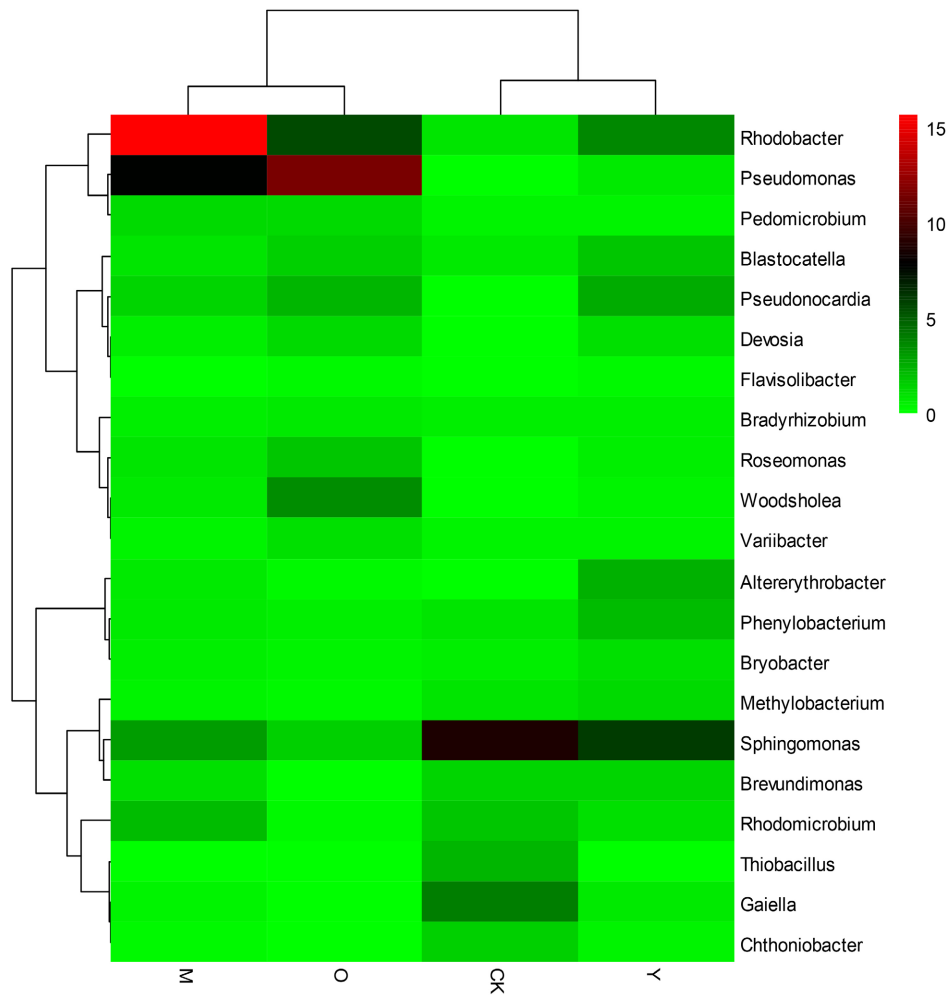
### 3.1. 演替过程中地枇杷根际土壤细菌群落结构

由图 1 可看出, 地枇杷根际主要优势门类群为变形菌门(Proteobacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、酸杆菌门(Acidobacteria)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、Saccharibacteria。随演替的正向进行, 蓝细菌门、芽单胞菌门、疣微菌门以及 Saccharibacteria 门相对丰度有逐渐减少趋势, 酸杆菌门、放线菌门和变形菌门的相对丰度均以 O 阶段为最高, 绿弯菌门和拟杆菌门的相对丰度则以 Y 阶段为最高, 随后逐渐降低。

随着地枇杷斑块正向演替的进行, 地枇杷根际土壤细菌优势属中鞘脂单胞菌属(*Sphingomonas*)、*Gaiella* 属、硫杆菌属(*Thiobacillus*)、短波单胞菌属(*Brevundimonas*)和 *Chthoniobacter* 属的相对丰度逐渐降低, 与之相反, 红杆菌属(*Rhodobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、木洞菌属(*Woodsholea*)、*Variibacter* 属、慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)和玫瑰单胞菌属(*Roseomonas*)的相对丰度逐渐增加, 热图聚类结果显示, CK 与 Y、M 和 O 聚在一起, 表明地枇杷根际土壤细菌群落组成在演替中期后发生了明显的变化(图 2)。

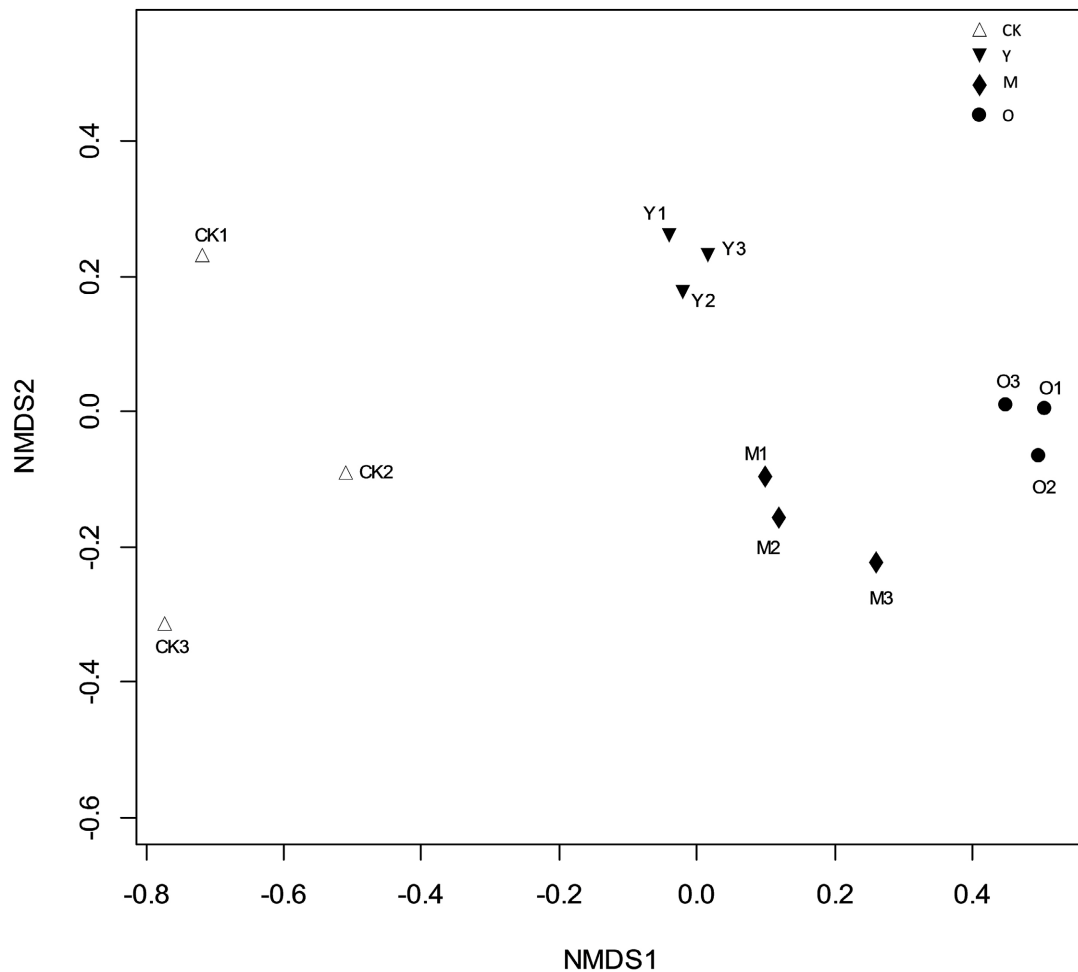


**Figure 1.** Rhizosphere soil bacterial dominant phyla of *Ficus tikoua* at different successional stages  
**图 1.** 不同演替阶段地枇杷根际土壤细菌优势门



**Figure 2.** Rhizosphere soil bacterial 20 dominant genera of *Ficus tikoua* at different successional stages  
**图 2.** 不同演替阶段地枇杷根际土壤细菌 20 个优势属的变化

采用非度量多维尺度分析(nonmetric multidimensional scaling, NMDS)对这 20 属细菌进行分析, 二维 NMDS 图比较符合样品聚类的真实情况(stress = 0.091), 可以很清晰的划分为 4 个聚集区: CK、Y、M 和 O, 说明微生物群落的组间差异远大于组内差异(图 3)。进一步采用 CCA 分析土壤理化性质与地枇杷根际细菌物种分布的相关性, 结果表明, 表面 7 个环境因子(AP、TP、AN、TN、OM、含水量和土壤容重)对物种分布的解释量为 85.51%, 与根际细菌物种分布的决定系数  $R^2$  分别为 0.8507 ( $P = 0.001$ )、0.9373 ( $P = 0.001$ )、0.6899 ( $P = 0.005$ )、0.7043 ( $P = 0.002$ )、0.6679 ( $P = 0.009$ )、0.6233 ( $P = 0.008$ )和 0.4056 ( $P = 0.104$ ), 以 TP 的  $R^2$  最大, 且与物种分布极其显著相关( $P = 0.001$ )。

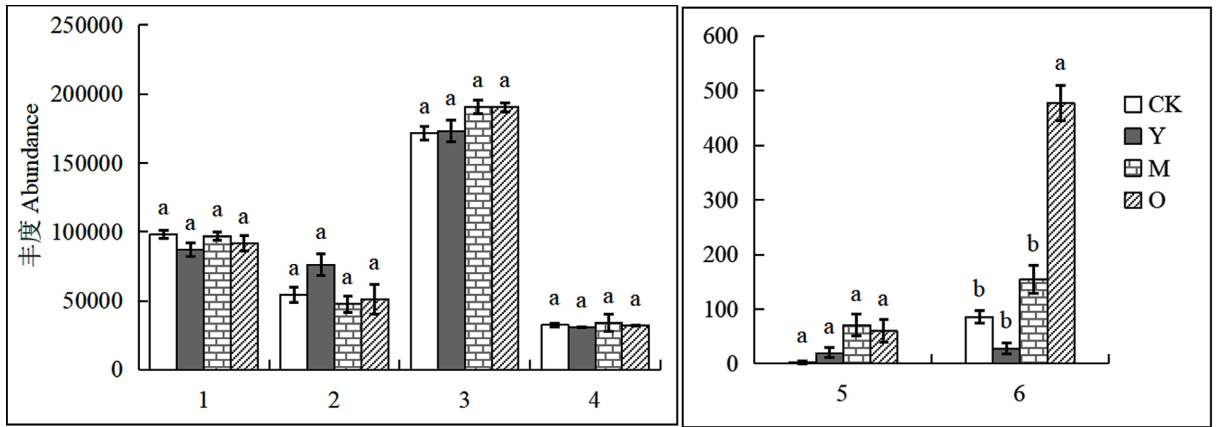


**Figure 3.** Difference of rhizosphere soil bacteria communities in *Ficus tikoua* between different successional stages  
**图 3.** 不同演替阶段地枇杷根际土壤细菌群落结构差异

## 3.2. PICRUS2 功能预测分析

### 3.2.1. 碳代谢相关的功能基因预测

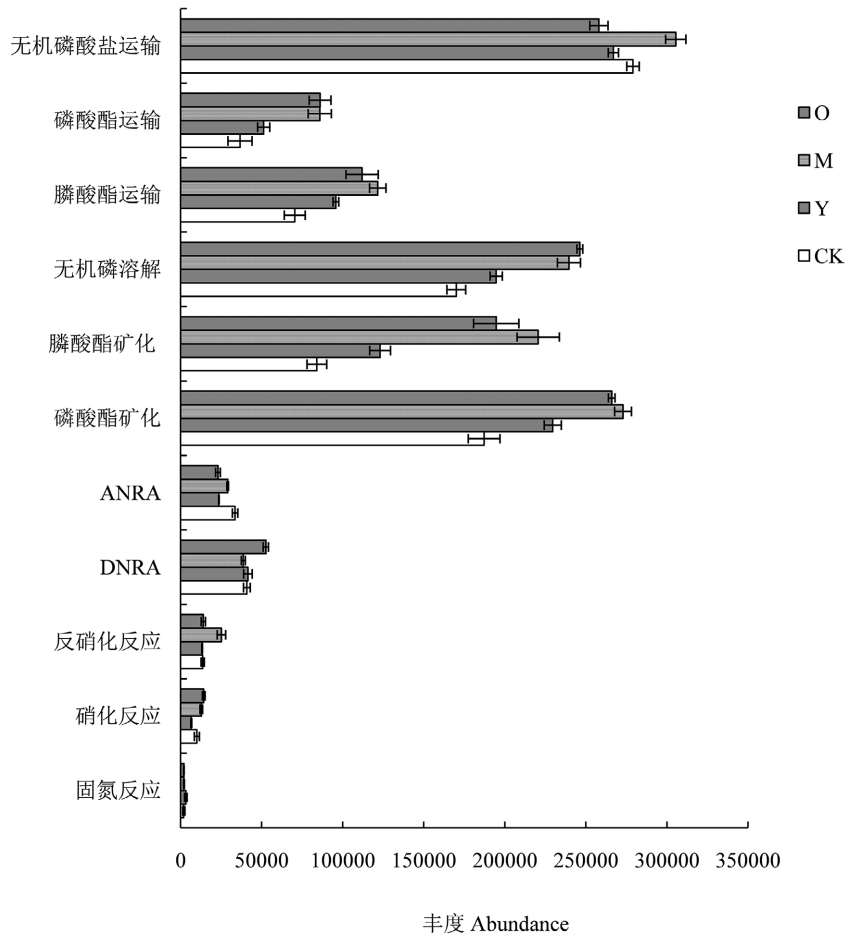
碳固定总共有 6 条途径, 其关键基因的总丰度顺序分别为 3-羟基丙酸双循环 > 卡尔文循环 > 还原三羧酸循环 > 二羧酸/4-羟基丁酸循环 > 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环 > 厌氧乙酰辅酶 A 途径(图 4(1)~(6)), 3-羟基丙酸双循环途径、厌氧乙酰辅酶 A 途径和 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环途径的丰度均随地枇杷斑块正向演替进行而增加, 以 M 和 O 阶段为高, 表明这两个阶段地枇杷根际土壤细菌具有较高的固碳潜力。



1: 卡尔文循环; 2: 还原三羧酸循环; 3: 3-羟基丙酸双循环; 4: 二羧酸/4-羟基丁酸循环; 5: 厌氧乙酰辅酶 A 途径; 6: 3-羟基丙酸/4-羟基丁酸循环

**Figure 4.** Differences in total abundance of KO genes associated with carbon fixation  
**图 4.** 碳固定相关 KO 基因总丰度差异

### 3.2.2. 氮磷代谢相关的功能基因预测



**Figure 5.** Abundance of KO genes related to nitrogen metabolism  
**图 5.** 氮磷代谢相关 KO 基因丰度



由图 5 可见,参与固氮反应的基因总丰度最低,不同演替阶段之间差异不显著,但以 Y 阶段最高。硝化反应的基因总丰度呈现随演替正向进行而逐渐增加趋势,但不同阶段之间差异同样不显著。反硝化反应、DNRA 和 ANRA 都参与了硝态氮( $\text{NO}_3^--\text{N}$ )还原过程,在此还原过程中, DNRA 反应的基因总丰度最高,又以 O 阶段最大,参与 DNRA 反应的 7 个基因中, napAB 的丰度随着演替的正向进行呈现显著增加。

总共找到了 56 个与磷养分活化与吸收相关的基因,其中磷养分活化基因主要包括 16 个磷酸酯矿化基因、13 个磷酸酯矿化基因和 9 个无机磷溶解基因。磷酸酯矿化和磷酸酯矿化基因总丰度变化趋势一致,均为  $M > O > Y > CK$ , M 和 O 阶段之间无显著差异,但与 CK 和 Y 阶段存在显著差异,无机磷溶解基因的总丰度则随演替正向进行显著增加(图 5)。

参与磷吸收的基因总共有 18 个,磷酸酯运输和磷酸酯运输的基因总丰度均随演替正向进行而显著增加,但 M 和 O 阶段基因丰度无显著差异,参与无机磷酸盐运输的基因总丰度要显著高于前两者,仍以 M 阶段最高,CK 次之,但不同阶段之间无显著差异(图 5)。

#### 4. 讨论

随着地枇杷斑块演替的进行,一年生植物减少,多年生植物增加(表 1),植被盖度增加有效降低了尾矿表面热胁迫和干燥,这有利于微生物的生长和活动,具体表现在酸杆菌门、变形菌门和放线菌门的相对丰度随着演替的正向进行而逐渐增加,绿弯菌门、蓝细菌门以及疣微菌门逐渐降低(图 1),呈现出以寡营养类群为主向富营养类群为主转变的特征。有研究表明,酸杆菌门中某些细菌如 *Acidobacterium*、*Granulicella* 可高效降解纤维素等植物碳,随着演替的正向进行,土壤有机质显著增加(表 2),这可能是由于新鲜凋落物的增加进一步改善了土壤有机质质量,最终有利于细菌的快速生长[17]。Hortal 等人采用高通量测序技术评估看护灌木对土壤微生物群落的影响时发现,与开阔地相比,变形菌在看护灌木下优势明显,推测是由于看护灌木下积累了更多的凋落物,为异养土壤微生物的生长提供了重要的不稳定碳来源[14]。变形菌门多为硝化和碳化微生物,如 Burkholderiales 和假单胞菌被描述为潜在的植物生长促进微生物,其中 Burkholderiales 是高效的矿物风化细菌,而假单胞菌除了可以保护植物免受真菌感染外,还合成植物激素,促进植物对营养的吸收,同时它们还参与了植物固氮和抵抗水分胁迫[14]。本研究发现,随着演替正向进行,地枇杷根际的假单胞菌属丰度呈现逐渐增加趋势,并在 O 阶段达到最大,但 Burkholderiales 丰度在不同演替阶段间无显著差异(图 2),表明在尾矿生态系统这类极端环境植被恢复过程中假单胞菌属充当了特别重要的角色。

对 20 个优势属的 NMDS 分析结果可将 4 个演替阶段明显区分开,这可能是由于地枇杷驱动了尾矿的成土变化,并由此驱动了土壤细菌群落的选择[20]。而 CCA 分析表明 TP 是根际细菌物种分布的关键影响因子,其次是 AP,该结果与 Ortiz-Álvarez 等人[21]的结果相一致,这可能归因于在这种低营养生态系统中,不稳定形式的有机磷较少[22]。

土壤微生物强烈调控着土壤碳(C)储存、植物养分有效性和生物多样性维持等陆地生态系统服务[23],参与了碳固定、甲烷代谢和碳降解等三个基本过程[24]。在所分析的 6 条碳固定途径中,3-羟基丙酸双循环途径的基因总丰度最高,说明该途径是尾矿废弃地主要的碳固定方式,该结果与 Diaz 等人[25]的研究结果相类似。与淀粉、木质素和几丁质降解相关的功能酶基因丰度随演替进行持续增加,张国等人[26]认为土壤酶活性逐渐增加有利于土壤固碳和生态恢复,本研究结果与之一致,这表明地枇杷斑块演替有利于尾矿废弃地土壤固碳和生态恢复。

随着演替进行,细菌参与的一些氮代谢过程,如硝化反应和 DNRA 的基因总丰度逐渐增加,且在硝态氮还原过程中, DNRA 的基因总丰度最高,表明尾矿废弃地硝态 N 还原主要以异化硝酸盐还原方式进

行,而在参与 DNRA 反应的关键功能酶基因中,硝酸盐还原酶基因 *napAB* 的丰度随演替进行显著增加,表明这两个基因在演替后期的异化硝酸盐还原作用中起主要作用。研究表明 DNRA 活性增加不仅会减少  $N_2O$  的产生,还会减少硝酸盐转化为铵的硝酸盐浸出损失,使土壤富含氨氮,并作为氮肥提供给初级生产者,促进了土壤健康[27][28],说明地枇杷斑块演替使尾矿土壤质量得到了明显改善。

通常微生物参与的磷循环主要包括有机磷矿化、无机磷溶解及磷吸收等过程[29],而在初级演替过程中,微生物群落变化中磷酸盐吸收能力的变化并未得到充分研究[21]。随着演替的正向进行,磷养分活性和运输相关功能基因的总丰度均显著增加,尤其是无机磷溶解和无机磷酸盐运输相关基因总丰度均显著高于有机磷矿化和运输相关基因,由此可见,在尾矿废弃地中对磷的吸收以无机磷酸盐为主,M 阶段具有较强的磷吸收能力,表明无机磷同化是微生物群落在初级演替的一个重要特征[21]。

## 5. 结论

1) 随着地枇杷斑块的演替进行,地枇杷根际土壤中细菌类群呈现出由寡营养类群为主向富营养类群为主转变,这种变化主要受环境因子 TP 影响,其次是 AP。假单胞菌属在尾矿生态系统这类极端环境植被恢复过程中充当了特别重要的角色。

2) 随着地枇杷斑块的演替进行,地枇杷根际的固碳潜力逐渐增强,以 3-羟基丙酸双循环途径为主要碳固定方式;氮代谢过程中,以异化硝酸盐还原作用(DNRA)为主要的硝态氮( $NO_3^- - N$ )还原方式;而以无机磷酸盐同化为主是花垣铅锌尾矿废弃地中磷代谢的重要特征。

## 基金项目

湖南省自然科学基金(2021JJ30553)。

## 参考文献

- [1] Bertness, M.D. and Callaway, R.M. (1994) Positive Interactions in Communities. *Trends in Ecology and Evolution*, **5**, 191-193. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(94\)90088-4](https://doi.org/10.1016/0169-5347(94)90088-4)
- [2] Pugnaire, F.I., Haase, P. and Puigdefabregas, J. (1996) Facilitation between Higher Plants in a Semiarid Environment. *Ecology*, **77**, 1420-1426. <https://doi.org/10.2307/2265539>
- [3] Larrea-Alcázar, D.M., López, R.P. and Barrientos, D. (2005) The Nurse-Plant Effect of *Prosopis flexuosa* D.C. (Leg-Mim) in a Dry Valley of the Bolivian Andes. *Ecotropicos*, **18**, 89-95.
- [4] McIntire, E.J.B. and Fajardo, A. (2014) Facilitation as a Ubiquitous Driver of Biodiversity. *New Phytologist*, **201**, 403-416. <https://doi.org/10.1111/nph.12478>
- [5] Rodríguez-Echeverría, S., Lozano, Y.M. and Bardgett, R.D. (2016) Influence of Soil Microbiota in Nurse Plant Systems. *Functional Ecology*, **30**, 30-40. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.12594>
- [6] Molina-Montenegro, M.A., Oses, R., Atala, C., et al. (2016) Nurse Effect and Soil Microorganisms Are Key to Improve the Establishment of Native Plants in a Semiarid Community. *Journal of Arid Environments*, **126**, 54-61. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2015.10.016>
- [7] Navarro-Cano, J.A., Goberna, M. and Verdú, M. (2019) Using Plant Functional Distances to Select Species for Restoration of Mining Sites. *Journal of Applied Ecology*, **56**, 2353-2362. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13453>
- [8] Navarro-Cano, J.A., Miguel, V. and Goberna, M. (2018) Trait-Based Selection of Nurse Plants to Restore Ecosystem Functions in Mine Tailings. *Journal of Applied Ecology*, **55**, 1195-1206. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13094>
- [9] Navarro-Cano, J.A., Miguel, V., García, C., et al. (2015) What Nurse Shrubs Can Do for Barren Soils: Rapid Productivity Shifts Associated with a 40 Years Ontogenetic Gradient. *Plant and Soil*, **388**, 197-209. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2323-2>
- [10] Domingo, F., Villagarcía, L., Brenner, A., et al. (1999) Evapotranspiration Model for Semi-Arid Shrub-Lands Tested against Data from SE Spain. *Agricultural & Forest Meteorology*, **95**, 67-84. [https://doi.org/10.1016/S0168-1923\(99\)00031-3](https://doi.org/10.1016/S0168-1923(99)00031-3)
- [11] Navarro-Cano, J.A., Horner, B., Goberna, M., et al. (2019) Additive Effects of Nurse and Facilitated Plants on Ecosystem Functions. *Journal of Ecology*, **107**, 2587-2597. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.13224>

- [12] Filazzola, A. and Lortie, C.J. (2014) A Systematic Review and Conceptual Framework for the Mechanistic Pathways of Nurse Plants. *Global Ecology and Biogeography*, **23**, 1335-1345. <https://doi.org/10.1111/geb.12202>
- [13] Rodríguez-Echeverría, S., Armas, C., Piston, N., *et al.* (2013) A Role of Below-Ground Biota on Plant-Plant Facilitation. *Journal of Ecology*, **101**, 1420-1428. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12159>
- [14] Hortal, S., Bastida, F., Armas, C., *et al.* (2013) Soil Microbial Community under a Nurse-Plant Species Changes in Composition, Biomass and Activity as the Nurse Grows. *Soil Biology & Biochemistry*, **64**, 139-146. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.04.018>
- [15] Garcia, D.E., Lopez, B.R., de-Bashan, L.E., *et al.* (2018) Functional Metabolic Diversity of the Bacterial Community in Undisturbed Resource Island Soils in the Southern Sonoran Desert. *Land Degradation and Development*, **29**, 1467-1477. <https://doi.org/10.1002/ldr.2905>
- [16] 曹曼曼, 王飞, 周北海, 等. 铁尾矿芦苇根际微生物和根内生菌群落分布及其限制性因子解析[J]. 环境科学, 2021, 42(10): 4998-5009.
- [17] Tschirko, D., Hammesfahr, U., Zeltner, G., *et al.* (2005) Plant Succession and Rhizosphere Microbial Communities in a Recently Deglaciated Alpine Terrain. *Basic & Applied Ecology*, **6**, 367-383. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2005.02.004>
- [18] 吕定红, 李朝阳, 周影茹, 等. 地枇杷灌丛对铅锌尾矿废弃地植物群落和土壤微生物群落的促进效应[J]. 世界生态学, 2022, 11(3): 341-350.
- [19] 吕定红, 李朝阳. 花垣铅锌尾矿废弃地地枇杷斑块不同演替阶段土壤微生物群落变化[J]. 世界生态学, 2023, 12(1): 101-110.
- [20] Zhong, Y., Yan, W., Wang, R., *et al.* (2018) Decreased Occurrence of Carbon Cycle Functions in Microbial Communities along with Long-Term Secondary Succession. *Soil Biology and Biochemistry*, **123**, 207-217. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.05.017>
- [21] Ortiz-álvarez, R., Fierer, N., *et al.* (2018) Consistent Changes in the Taxonomic Structure and Functional Attributes of Bacterial Communities during Primary Succession. *Isme Journal*, **12**, 1658-1667. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0076-2>
- [22] Richardson, A.E. and Simpson, R.J. (2011) Soil Microorganisms Mediating Phosphorus Availability Update on Microbial Phosphorus. *Plant Physiology*, **156**, 989-996. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175448>
- [23] Dai, Z.M., Zang, H.D., Chen, J., *et al.* (2021) Metagenomic Insights into Soil Microbial Communities Involved in Carbon Cycling along an Elevation Climosequences. *Environmental Microbiology*, **23**, 4631-4645. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15655>
- [24] 刘洋荧, 王尚, 厉舒祯, 邓晔. 基于功能基因的微生物碳循环分子生态学研究进展[J]. 微生物学通报, 2017, 44(7): 1676-1689.
- [25] Diaz, M.R., Van Norstrand, J.D., Eberli, G.P., *et al.* (2014) Functional Gene Diversity of Oolitic Sands from Great Bahama Bank. *Geobiology*, **12**, 231-249. <https://doi.org/10.1111/gbi.12079>
- [26] 张国, 郑春燕, 李钰飞, 等. 喀斯特地区石漠化生态修复对土壤生物多样性的影响[J]. 生态学报, 2023, 43(1): 432-440.
- [27] Pandey, C.B., Kumar, U., Kaviraj, M., *et al.* (2020) DNRA: A Short-Circuit in Biological N-Cycling to Conserve Nitrogen in Terrestrial Ecosystems. *Science of the Total Environment*, **738**, Article ID: 139710. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139710>
- [28] Wu, X., Peng, J., Liu, P., *et al.* (2021) Metagenomic Insights into Nitrogen and Phosphorus Cycling at the Soil Aggregate Scale Driven by Organic Material Amendments. *Science of the Total Environment*, **785**, Article ID: 147329. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.147329>
- [29] 唐治喜, 高菊生, 宋阿琳, 等. 用宏基因组学方法研究绿肥对水稻根际微生物磷循环功能基因的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2020, 26(9): 1578-1590.