

iMeta | 西工大钟杨权威等——土壤与根系微生物群落组装过程与共发生网络沿环境梯度的差异性响应机制

短标题：根系微生物群落沿环境梯度的响应机制

原文链接：<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/imt2.18>

第一作者：钟杨权威¹

通讯作者：闫伟明⁴

合作作者：Patrick O. Sorensen², 朱广宇³, 贾小玉⁴, 刘瑾⁴, 上官周平⁴, 王瑞武¹

主要单位：

¹ 西北工业大学，生态环境学院 School of Ecology and Environment, Northwestern Polytechnical University, Xi'an, 710072, P. R. China

² 美国劳伦斯伯克利国家实验室 Earth and Environmental Sciences, Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA, USA

³ 重庆大学，生态环境学院 College of Environment and Ecology, Chongqing University, Chongqing, 400044, P. R. China

⁴ 西北农林科技大学，黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室 State Key Laboratory of Soil Erosion and Dryland Farming on the Loess Plateau, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, P. R. China

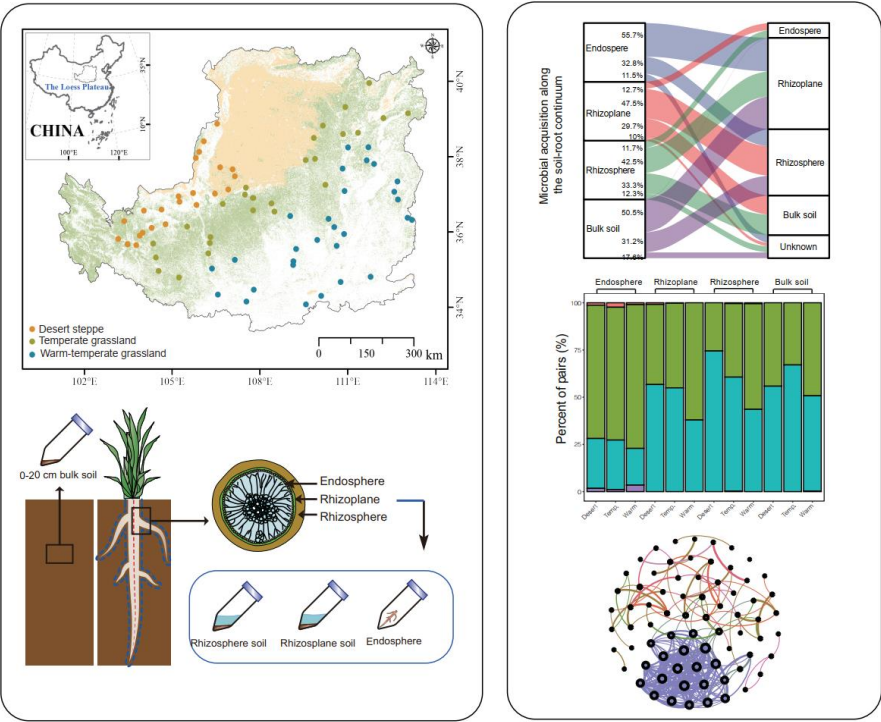
摘要

土壤-根系连续体微生物组在生态系统功能中发挥着关键作用。黄土高原区域年降水量和土壤养分沿着东南到西北方向呈现出逐渐降低的趋势，但区域自然环境梯度下土壤-根系连续体中四个生态位（土壤、根际、根表和根内）的微生物群落的响应机制仍不清楚。我们基于黄土高原 82 个草地样点的调查，利用细菌 16S rDNA 扩增子测序评估了土壤-根系连续体中的细菌多样性、组成、群落组装和共发生网络。研究发现微生物生态位依然是区域尺度上影响细菌多样性和

群落组成的最重要因素。环境因子（年降水、土壤有机碳和 pH 值）影响着土壤、根际、根表的细菌群落，但它们对细菌群落的影响从土壤到根表逐渐减弱，且随着年降水量降低，根际和根表与土壤微生物群落的差异逐渐增大。此外，根内微生物群落主要受随机组装过程驱动，而土壤、根际和根表微生物群落主要受确定性过程中的变量选择支配，且从暖温带到荒漠草地，确定性过程的重要性逐渐增加。研究还发现根表微生物群落网络特征表明荒漠草地的微生物网络更加稳定，这可能会提高微生物群落对不利环境的抵抗力。我们的研究结果表明土壤-根系连续体中的细菌群落沿着环境梯度表现出不同的敏感性和组装机制，这受到了根系生态位与环境因子的共同影响。

关键词：土壤微生物、根系相关微生物组、环境梯度、群落异质性、网络、组装过程

亮点：



- 研究了沿环境梯度下土壤-根系连续体中微生物的变化
- 土壤、根际和根表群落主要受到确定性过程的驱动
- 不利环境增加了土壤-根系连续体中微生物群落的差异性

- 在环境压力较高的地方，根系微生物群落仍具有稳定性

引言

土壤蕴藏着高度多样化与多重功能的微生物群落，并为根系微生物群落提供了种子库，可以促进植物生长、养分吸收，提高抗病性和抗逆性，同时植物也可以通过根系分泌物与沉积物等选择性地募集潜在的有益微生物。土壤-根系连续体（非根际土壤、根际、根表和根内）中的微生物群落直接/间接的受到了生物和非生物因素影响，如气候条件、土壤理化性质以及宿主植物等，然而**区域尺度上土壤-根系连续体四个生态位的微生物群落的系统研究仍存在较大不足。**

从区域尺度到全球范围，目前研究已证实降水和土壤 pH 值是土壤微生物多样性和群落结构的关键驱动因子。气候和土壤因素可能会直接影响土壤中微生物群的组装过程，继而对植物根际微生物的募集产生影响。土壤-根系连续体中微生物群落不同的生态位和生活史都可能导致其对环境因素的不同响应。有研究表明干旱会对根际和根内微生物群落产生不同程度地影响；也有研究表明海拔变化对根际微生物群落组成的影响比对土壤的微生物群落组成的影响更大，**土壤-根系连续体中微生物群落对环境的差异性响应研究有待加强。**

微生物群落组装模式受到确定性和随机性生态过程的影响。确定性过程涉及非随机的基于生态位的机制，包括环境过滤和种间相互作用（如竞争、促进、互利共生和捕食），而随机过程主要反映物种相对丰度的随机变化——如随机出生、死亡和扩散事件。由于受到根系分泌物的影响，土壤-根系连续体中的微生物群落组装模式很复杂，目前仍存在较大争议。此外，微生物群落组装过程对环境较为敏感，其相对比例可以反映微生物群落对环境变化的敏感性。**区域尺度环境梯度下土壤-根系连续体的微生物群落组装模式尚不明确，这限制了我们对于未来气候变化下微生物群落组装模式的理解。**

微生物类群间关系对宿主-微生物的相互作用具有重要影响，如促进植物生长、提高抗病性，以及提高生态系统对环境干扰的抵抗力和恢复力等，这些复杂的生态关系可以用共发生网络来表示。微生物网络的变化可能代表了共存生物之间相互作用的变化，这种变化可以改变土壤功能或对环境干扰的敏感性。研究表明具有弱或负的相互作用的网络可以提高应对环境干扰的稳定性和抵抗力。已有

研究表明干旱降低了土壤细菌网络的稳定性,这与干旱下植被组成的变化和土壤水分下降有关。Shi 等(2016)在温室实验中研究了土壤和根际微生物的网络,发现根际微生物网络比土壤微生物网络更加复杂,自然环境梯度下土壤和根系微生物组物种及不同生态位间微生物群落共发生网络变化模式仍不清楚。

为了回答以上问题,我们分析了黄土高原 82 个草地群落的土壤-根系连续体中的细菌群落。评估该区域自然环境梯度下的土壤-根系连续体中的细菌多样性、群落组装和网络特征,可以加强我们关于微生物组对未来气候变化的响应机制的理解。我们假设:1) 土壤-根系连续体微生物多样性和群落组成差异主要取决于生态位的分化,但不同生态位微生物对环境梯度的响应不同;2) 随着环境压力的增加,土壤-根系连续体细菌群落的确定性装配过程会增加;3) 且环境压力的提升会增加土壤-根系连续体微生物群落结构的差异性,从而导致共发生网络的不稳定。

结果

区域环境梯度下土壤-根系连续体中微生物的多样性和群落组成

为了研究自然环境梯度下土壤-根系连续体中的微生物,根据气候和植被特征我们在黄土高原选择了 82 个具有代表性的草地样地(图 1),研究样点的环境梯度主要由 MAP、土壤养分和 pH 值所驱动(图 S1,表 S1)。我们研究发现微生物生态位、草地类型和宿主植物对细菌多样性均有显著影响(表 S2);根内微生物 α -多样性(香农指数)最低(图 2A 和 S2A),根际、根表和土壤中多样性没有显著差异。荒漠草地香农指数多样性明显低于温带和暖温带草地(图 2B 和 S2B)。此外,不同的宿主植物中香农指数多样性也有差异(图 2C),主要表现为根内和根际微生物多样性的差异(图 S2C)。

生态位、草地类型和宿主植物也影响着细菌群落结构(ADONIS $P < 0.01$; 图 2D、E、F 和 S3)。基于非权重 UniFrac 距离的 PCoA 结果表明不同生态位、草地类型和宿主植物之间的差异比基于权重 UniFrac 距离更明显(图 2D、E、F、S3 和 S4)。CAP 结果表明生态位显著影响微生物群的组成(非权重 UniFrac 距离为 88.35%,权重 UniFrac 距离为 79.40%;图 2D 和 S3A);草地类型分别解释了 68.36%和 47.46%的细菌群落组成差异(图 2E 和 S3B),宿主植物分别解释了

51.64%和 46.50%的细菌群落组成差异（图 2F 和 S3C）。

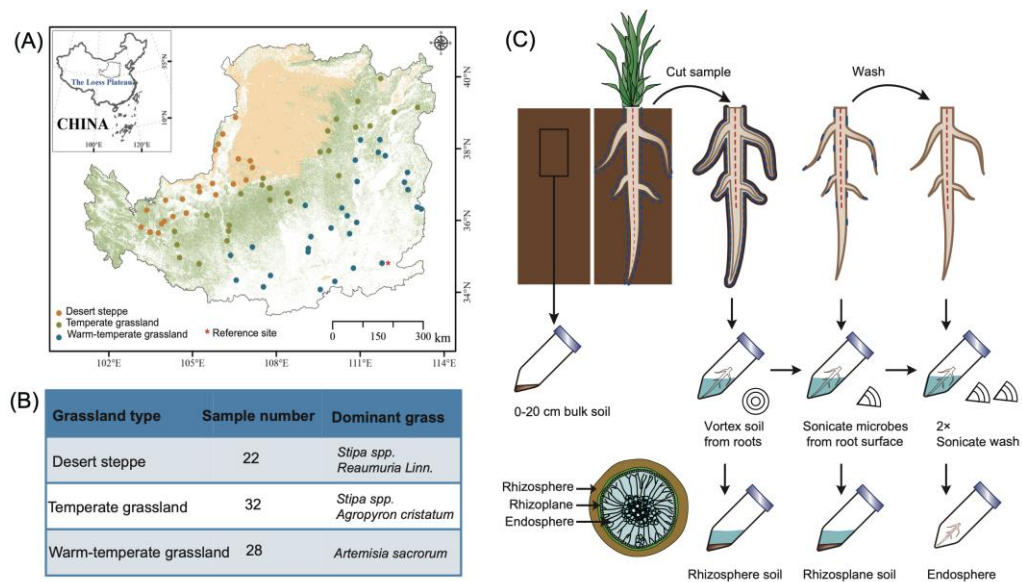


图 1 采样点分布和样品收集方法 (A) 研究样地分布。经度范围为 103°E 到 112°E，纬度为 34°N 到 40°N。(B) 各草地类型样地数目和主要植被优势物种。(C) 微生物样品采集与收集方法。

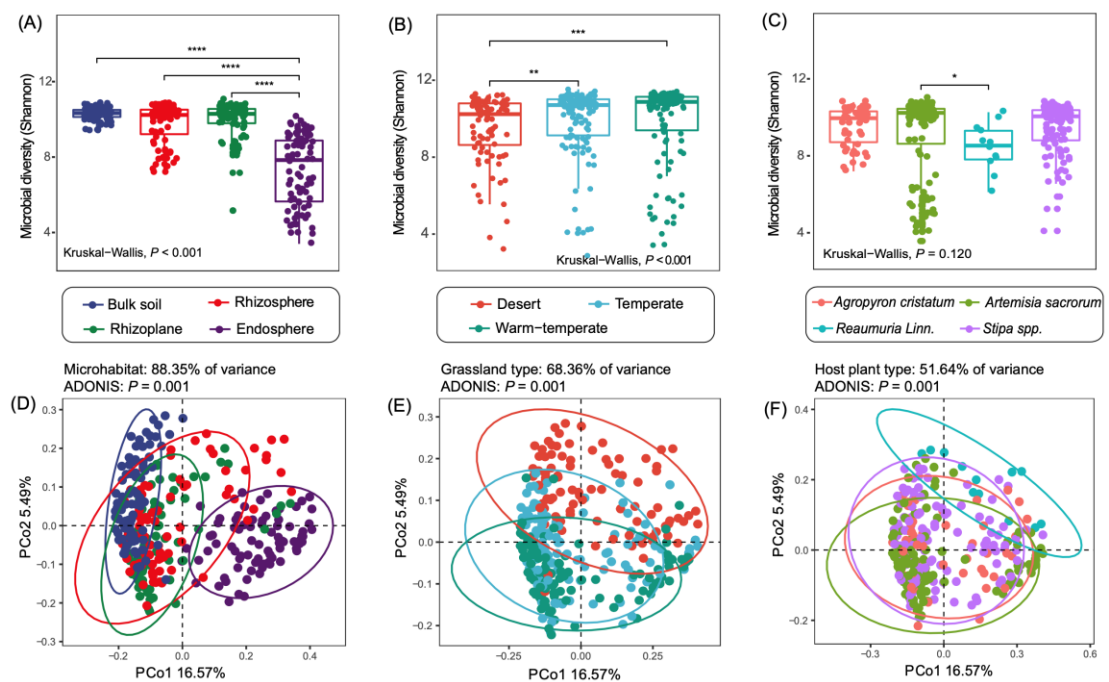


图 2 不同生态位和草地类型中土壤和根系细菌群落多样性和群落结构差异不同

生态位 (A)，不同草地类型 (B) 和不同宿主植物类型 (C) 微生物群落香农指数。方框内的横线代表中位数，框内顶部和底部分别代表 75% 和 25% 分位数；横线上方星号代表组间差异性，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ，和*** $P < 0.001$ 。

不同生态位 (D)、草地类型 (E) 和宿主植物类型 (F) 的无约束 PCoA 与未加权 UniFrac 距离 ($P < 0.001$ ，Adonis 的多元方差分析 (PERMANOVA))。荒漠草地主要物种是 *Stipa spp.* 和 *Reaumuria Linn.*；温带草地主要为 *Stipa spp.* 和 *Agropyron cristatum*，暖温带草地以 *Artemisia sacrorum* 为主。图形上方百分比表示主坐标的典范分析 (CAP) 的结果，为更好地量化这些因素对 β 多样性的影响，椭圆覆盖了每组数据的 95%。图中样本数如下，A 和 D：土壤 ($n = 82$)、根际 ($n = 82$)、根表 ($n = 82$) 和根内 ($n = 82$)；B 和 E：荒漠 ($n = 88$)、温带 ($n = 128$) 和暖温带 ($n = 112$)。

土壤-根系连续体中的微生物群落与环境因子之间的关系

环境因子和土壤-根系连续体不同生态位微生物群落之间关系不同 (图 3)，环境因素对微生物群落的贡献从土壤 (22.93%) 和根际 (17.14%) 到根内 (8.20%；表 S3) 逐渐下降。土壤-根系连续体中不同生态位细菌群落都与 MAP 显著相关 (图 3A，表 S3)。随机森林分析结果显示，MAP 是影响土壤-根系连续体中细菌群落最重要的环境因子，其次是地上生物量 (AGB) 和 SOC (图 3C，图 S5)。此外，我们还发现在土壤、根际和根表中，MAP 与细菌群落距离 (地图中每个样本点与参考点之间的非权重 UniFrac 距离) 之间存在显著负相关关系，且降水对其解释率从土壤到根表逐渐降低 (图 3D)。

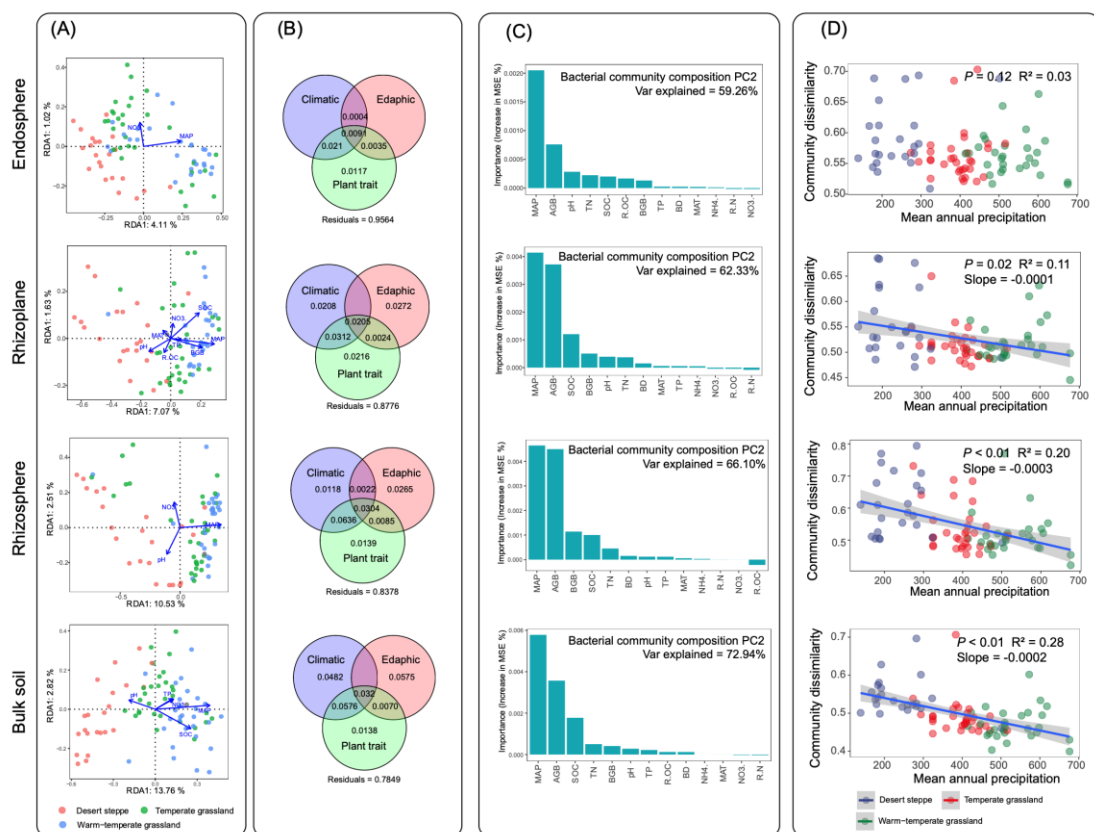


图 3 土壤-根系连续体中的微生物群落与环境因子的关系

(A) 微生物群落、土壤理化性质和气候因素间的关系 (RDA)。图中只显示了重要的因子，图中的箭头方向表示正/负相关性，解释变量和响应变量之间的角度反映了相关性系数。

(B) VPA 结果显示了土壤理化性质、气候因素和植物性状对细菌群落变异的相对解释率。气候因素年包括均温度 (MAT) 和年均降水量 (MAP)；土壤理化性质包括土壤有机碳 (SOC)、总氮 (TN)、硝态氮 (NO₃⁻)、pH 和容重 (BD)；植物性状包括地上生物量 (AGB) 和地下生物量 (BGB)。

(C) 环境因子对细菌群落组成的重要性 (Y 轴 (PC2) 来自 PCoA 中细菌群落组成的信息)；根据 PCoA 的结果，生态位主要影响 PC1 轴，环境因素主要影响 PC2 轴，图 S5 展示了环境因素在 PC1 中的重要性。

(D) 样本距离与年均降水量的相关性。

环境梯度下的土壤-根系连续体中的微生物募集

为了确定不同生态位 ASV 沿环境梯度的变化，我们使用负二项分布对四

个生态位的 ASV 数量变化进行了丰度分析，以土壤作为对照，调整后的 P 值分界线设定为 0.01。结果表明与土壤相比，根内 ASV 丰度显著降低的物种数量更多（图 4A）；每个物种 ASV 数量的变化与环境因子具有不同相关关系（图 4B），如根际富集的 ASV 数量与 MAP、TN 和根部 C 含量显著负相关。

我们通过 Source Tracker 分析研究了环境梯度下土壤-根系连续体的潜在的微生物群落招募过程，研究发现根内大多数细菌 ASVs 来自于根表（55.7%），而根表中只有一小部分细菌群落（12.7%）来自于根内（图 4C）；根际与土壤细菌群落的相似性为 33.3%，与根表细菌群落的相似性为 42.5%，而根表群落与土壤有 29.7%的相似性，与根际有 47.5%的相似性（图 4C，表 S4）。此外，根际和土壤、根表和土壤以及根表和根际之细菌群落的差异性与 MAP 呈负相关关系（图 4E），而根内和根表之间细菌群落差异性与 MAP 呈正相关关系。

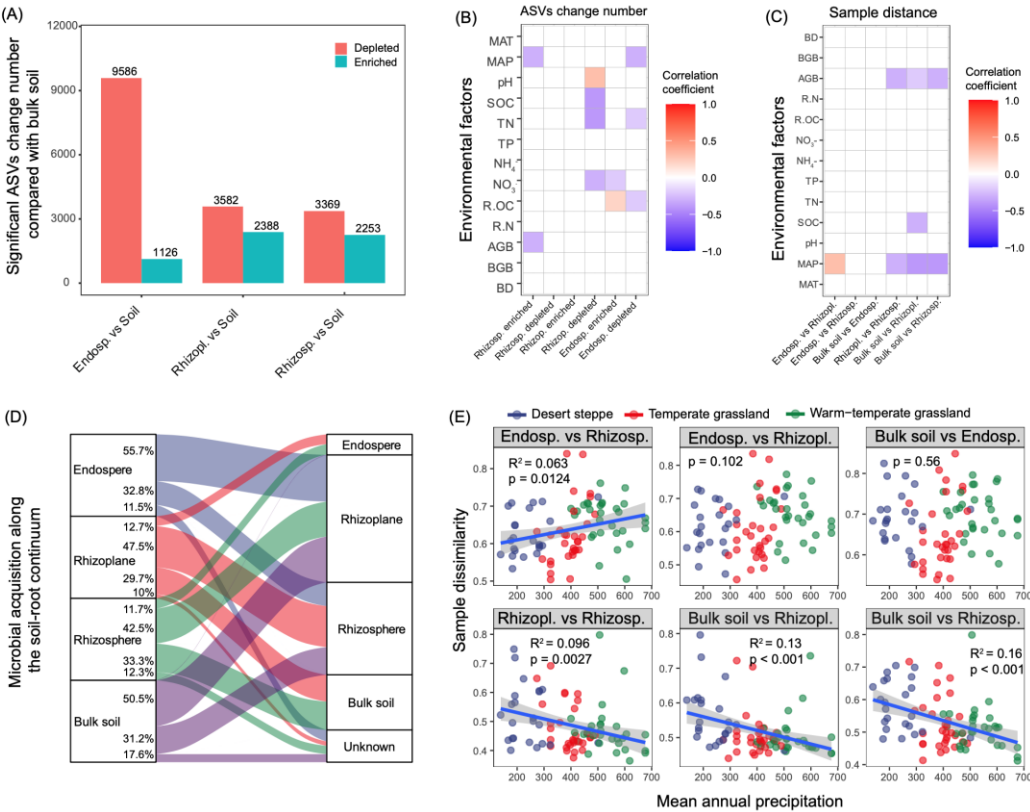


图 4 环境梯度下土壤-根系连续体中的微生物类群募集

- (A) 与土壤细菌相比，根内、根表和根际中显著富集和减少的细菌 ASVs 数目。
- (B) 显著富集和减少的细菌 ASV 数量与环境因子的相关性，n = 82。
- (C) 不同生态位样品平均 UniFrac 距离和环境因子之间的相关性。颜色深浅代表

Spearman 相关系数大小，红色表示正相关，蓝色表示负相关，空白为不相关（ $P>0.05$ ）。RN，根系氮含量；ROC，根系有机碳；Rhizopl.，根表；Rhizoph.，根际；Endosp.，根内。

(D) 基于 Source Tracker 的细菌群落相似性，用以评估细菌群落来源，来源分别为根际、根表、根内和土壤。

(E) 不同生态位间的群落差异性与年均降水量的相关性。

环境梯度下土壤-根系连续体中微生物群落的组装机制

本研究中，零模型和 Sloan 中性模型被用来研究环境梯度下土壤-根系连续体微生物群落的组装过程。基于零模型的结果表明，随机过程（ $|\beta NTI| < 2$ ）主导了根内细菌群落的组装，而确定性过程（ $|\beta NTI| > 2$ ）对根表、根际和土壤微生物群落组装贡献更大（图 5A，B）。在根表和根际群落组装过程中，从暖温带到荒漠草地变量选择过程的贡献逐渐增加（图 5B）。此外，中性模型也可以很好的解释群落组装过程（例如， $R^2=0.61$ 至 0.77 ；图 5C），估计的迁移率（ m ）在土壤中最

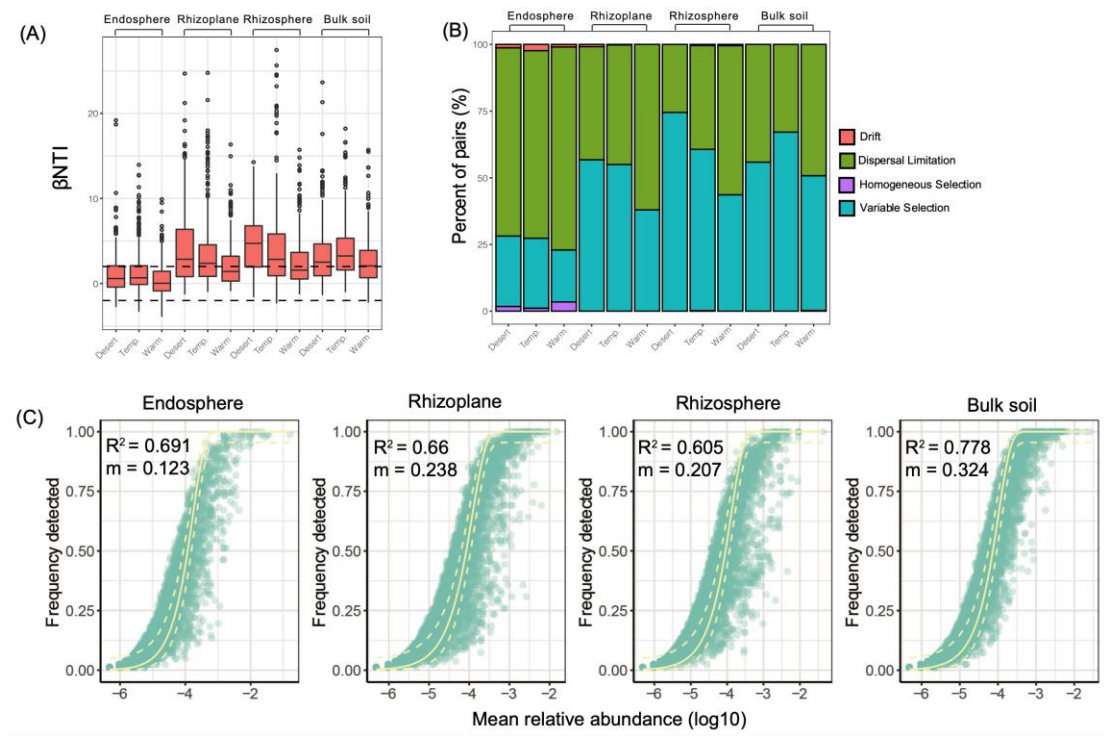


图 5 环境梯度下土壤-根系连续体中细菌群落组装过程

- (A) 环境梯度下土壤-根系连续体微生物 β NTI。
- (B) 群落组装过程的零模型分析。
- (C) 群落组装过程的 Sloan 中性模型分析。黄实线代表最佳的中性模型，虚线代表最佳中性模型的 95%置信区间。 m 表示估算的迁移率， R^2 表示中性模型的拟合度。

环境梯度下土壤-根系连续体中微生物类群的共发生网络

不同类型草地土壤-根系连续体微生物类群的共现网络有所不同（图 6A）。从暖温带草地到荒漠化草地，微生物类群间的网络节点数和总边缘数都有所减少，表明随着环境压力的增加群落网络复杂性降低（图 6A，表 S6）。此外，我们还发现土壤-根系连续体微生物类群模块化的差异；例如，荒漠草地根内和根际微生物网络模块化最低，而根表和土壤微生物网络模块化最高。从荒漠草地到暖温带草地，土壤-根系连续体微生物群落负相关性与正相关性的比例逐渐下降，荒漠草地微生物群落表现出更高的负相关性。不同草地类型土壤-根系连续体不同生态位细菌群落中 ASVs 外部关系也表现出明显差异，荒漠草地中的连接较少且较弱（图 6B，表 S6）。

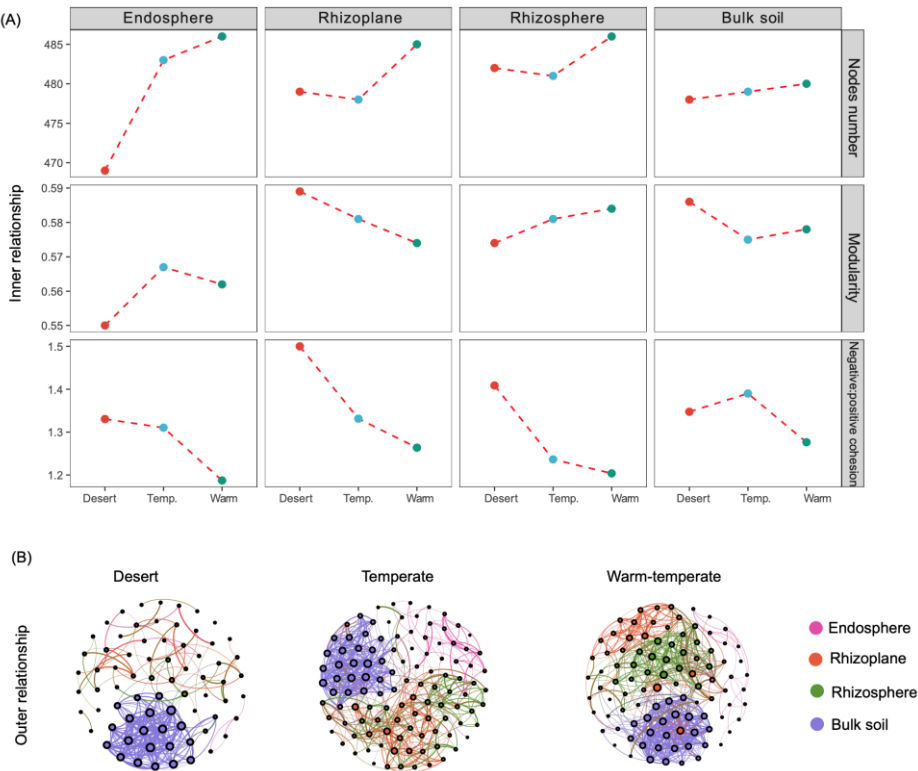


图 6 不同草地类型中不同生态位微生物的内部和外部网络

(A)内部关系表示每个草地类型中相同生态位微生物类群间的共发生网络。图中显示了微生物组网络的节点数、模块化和负相关与正相关的比率 ($\text{SparCC} > 0.6$, $P < 0.05$)。网络的拓扑学特性显示在表 S6 中, 不同的草地类型中, 每个生态位只计算一个值。

(B)外部关系代表了不同草地类型四种不同生态位间的共发生网络。每个点代表一个样本, 线代表 Spearman 的相关系数 > 0.6 的显著相关的样本 ($P < 0.01$)。

讨论

本研究中, 我们在黄土高原沿着从暖温带草地到荒漠草地的自然环境梯度, 研究了土壤-根系连续体中细菌群落多样性、组成、组装和共发生网络模式。研究发现: 1) 由与植物根系距离远近定义的生态位对微生物群落组装的影响比草地类型更为重要, 环境因素对微生物群落的影响从土壤到根内逐渐降低; 2) 环境压力增加了微生物群落从根际到根表到土壤的微生物群落的差异性; 3) 确定性过程的变量选择对根际和根表微生物群落装配过程更为重要, 且从暖温带草地到荒漠草地其重要性逐渐增加; 4) 荒漠草地中土壤-根系连续体微生物群落共发生网络具有更高的负正相关比。

环境梯度下生态位和环境因素对土壤-根系连续体中微生物群落的影响

土壤-根系连续体微生物群落多样性及其组成受到生态位的影响 (图 2, 表 S2)。根内微生物群落多样性低于根际和土壤, 主要是因为根系对微生物从根外到根内的选择性过滤作用导致的, 这与水稻、拟南芥和红树林的研究结果一致。荒漠草地的细菌多样性最低, 表明环境因素也影响着根系对微生物的选择性过滤, 并且这种作用随着降水、土壤养分和 SOC 的下降而增强 (表 S1, 图 S6), 与前人研究结果一致。

生态位最大程度上解释了细菌群落结构的变化 (图 2D), 突出了生态位在驱动土壤-根系连续体中细菌群落组成与功能中的重要性。但是我们的研究结果与之前水稻细菌微生物组研究结果有所不同, 其结果表明地理分布是微生物群落变化的最大来源 (30%) 而不是生态位 (21%)。这些差异可能是由于该研究中有限的研究样点数量和地理距离 (最大间隔为 125 公里, 8 个样点), 及草地和水

稻的内在差异所导致。有研究称表明在温室条件下，植物物种会显著影响土壤-根系连续体中微生物群落组成，但我们发现区域环境梯度上宿主植物只影响着根内微生物群落组成（图 2F，图 S4）。

从暖温带草地到荒漠草地，MAP 和土壤养分逐渐降低，表明了荒漠草地面临更高的环境压力（表 S1）。土壤微生物群落组成和功能通常与 SOC 有关，在旱地土壤中主要受到土壤碳的限制，但是我们研究发现 MAP 是该地区土壤-根系连续体中群落组装最重要的环境约束因子。我们还发现环境因素对土壤到根内微生物群落的约束逐渐下降（图 3、图 S5 和表 S3）。这些结果表明土壤和根际群落对土壤环境变化更加敏感，而根内群落对环境变化的反应较小，这可能是因为根细为微生物提供了一个更加稳定的环境。

环境因素影响土壤-根系连续体中微生物类群募集和群落组装过程

一般来说植物根系微生物募集分为两个过程：第一步是先募集到根部附近，第二步是特定的微生物物种侵入根部。我们研究发现根内来源于根表或根际的微生物类群有所下降，表明最初被招募到根际一部分微生物束缚在根表上并被根系选择性过滤，显著影响着根内微生物群落组装；环境因素也影响着土壤到根内微生物的募集（图 4A, B）。此外，研究还发现 MAP 与根内和根际间微生物群落差异性呈正相关关系，与土壤、根际和根表之间的群落差异性呈负相关关系（图 4D、E，和表 S4）。荒漠草地中较低的来源于根外部的根内微生物类群数量和较高的土壤-根系连续体微生物群落差异性可能与干燥土壤中的低连通性和离散度有关，以及较低的 MAP 地区土壤水分、pH 和养分介导的从根系到土壤较强的微环境梯度。这些结果表明在降水较少的地方，根表和根内群落的紧密耦合反映了植物和根部内生生物之间的共同进化，可以促进养分吸收或最大限度地减少宿主植物的环境胁迫。

环境变化可能导致确定性和随机性组装过程的变化，驱动微生物群落的空间分布。以前研究主要对环境梯度下土壤微生物组装过程进行了分析，但对环境梯度下土壤-根系连续体组装过程研究仍较为缺乏。本研究中随机组装过程在根内微生物群落组装中占据主导地位（图 5A, B），这与 Zhuang 等（2020）研究结果不同，他们发现确定性过程在红树林根内微生物组中占据主导地位。土壤、根际和根表群落主要受到确定性过程的变量选择支配，并且随着环境压力的增加

（暖温带至沙漠草地），根际和根表的确定性过程逐渐增加。这与中性模型的结果一致，中性模型结果表明从土壤到根内，微生物迁移率（ m 值）逐渐下降（图 5B, D），较高的 m 值意味着较小的微生物群落扩散限制。处于较强环境选择下的群落通常表现出较低的扩散限制，因为选择作用会导致微生物群落由少数高丰度的物种组成，并且群落内稀有微生物类群的出生率和死亡率会表现出较大的变异。我们的研究证实了环境因素对根际和根表微生物组装过程的强烈影响。

不同草地类型土壤-根系连续体中微生物群落的共发生网络

越来越多的研究表明类群间具有较高的负相关与正相关比例的生态网络对环境变化更为稳定，因为负相互作用会减少受干扰群落的共振荡。此外，在一个特定的网络中，较高的模块化代表着较为稳定的群落，它可以通过限制生物类群减少对自身模块的影响，防止生物类群的消失影响到网络中的其它部分。有研究表明环境胁迫破坏了微生物群落网络的稳定性，因为在较高的环境胁迫下正相关关系群落出现的频率更高。de Vries 等（2018）人在培养实验中发现干旱的长期遗留效应促进了土壤细菌群落网络的不稳定性，但我们发现从荒漠草地到暖温带草地，根内、根表和根际微生物群落负相关与正相关关系比例有所下降，同时根表和土壤微生物群落网络模块化程度也表现出下降趋势（图 6A，表 S6）。我们的研究并没有发现荒漠草地的土壤-根系连续体中微生物群落网络稳定性的降低（图 6）。

我们与前人研究结果的差异也受到了植被类型或实验类型的影响。自然条件下荒漠草地作为一个确定性因素来选择某些可以适应长期低降水和土壤养分的微生物，因此微生物网络表现为较弱的连接和较多的负相关关系。Yuan 等（2021）研究发现土壤微生物对长期变暖的热适应会增强网络的稳定性。土壤-根系连续体中微生物群落较弱的关系表明与温带或暖温带草地相比，荒漠草地微生物群落对环境变化的敏感性更低。这一机制可能有利于荒漠草地的植物和微生物来抵御环境干扰。

结论

本研究中我们分析了黄土高原自然环境梯度下 82 个草地的土壤-根系连续体中微生物群落多样性、群落组装特征及其共发生网络。我们发现生态位是细菌多

样性和群落组成变化的最大来源，环境因素影响土壤、根际和根表中微生物群落，但环境因素对土壤到根内的微生物群落的影响逐渐减弱。另外，环境压力的增加可能会导致根外到根内微生物更高的选择性过滤作用，这主要表现为在降水较少的地方，土壤、根际和根表微生物群落之间关系表现为解耦连，但加强了根内和根际群落之间的关系。此外，我们还发现从暖温带草地到荒漠草地，具有变量选择的确定性过程逐渐增加，特别是在根际和根表微生物群落组装中，并且长期的低降水和土壤养分历史并没有破坏土壤-根系连续体微生物的共发生网络稳定性。本研究为理解黄土高原区域自然环境梯度下土壤-根系连续体中微生物多样性和组装机制提供了新的见解，并加强我们关于区域尺度上土壤-植物-微生物相互作用关系的理解。

材料和方法

研究区域

黄土高原位于中国北方黄河流域的中上游，面积为 64 万平方公里（图 1），属于干旱和半干旱气候区，MAT 为 4.3°C 至 14.3°C，MAP 为 160 mm~750 mm。本研究主要针对黄土高原草地，草地面积占该区域总面积的 42.86%。

野外调查和土壤样品采集

根据黄土高原草地清查数据，我们在 2011 年至 2013 年对 233 个草地进行了调查；根据气候和植被特征选择了其中 82 个草地并于 2018 年夏季对其进行了重新调查（22 个荒漠草地、32 个温带草地和 28 个暖温带草地）（图 1），这些样地经度范围从 103°E 到 112°E，纬度范围从 34°N 到 40°N。过去 30 年的 MAT 和 MAP 由黄土高原 64 个气象站收集并从中国气象局国家气候中心（www.nmic.gov.cn）获取。在每个采样点，我们选择一个 100 米的样带，并以 20 米间隔设置了 4 个 1×1 米样方。然后收集植物地上部分（AGB）和地下生物量（BGB），65°C 下烘干称重。在每个样地从四个样方（每个样方 5 个样品）（0~20 cm 深）收集一个复合土壤样品，土壤样品过 2 mm 筛以去除植物等碎片。每个土壤样品被分成两部分，一部分被立即冷冻并储存在液氮中用于扩增子测序分析，另一部分土壤样品风干用于化学分析。

根际、根表和根内样品采集

在每个样地收集最主要物种根系。荒漠草地主要物种是 *Stipa spp.* 和 *Reaumuria Linn.*，温带草地以 *Stipa spp.* 和 *Agropyron cristatum* 为主，暖温带草地则以 *Artemisia sacrorum* 为主。根系周围多余的土壤通过人工抖动从根部抖落，留下大约 1 mm 的土壤(图 1C)，随后使用无菌手套和无菌剪刀将根系切成约 5cm 的小段，装入 50 ml 试管中并转移储存到液氮中。随后，这些根系样品被转运至实验室，按照 Edwards 等（2015）和 Durán 等（2018）的描述，将其分为根际与根表土壤及根系。简而言之，当根系样品被转运到实验室时，我们直接将根系装入 50 ml 无菌磷酸盐缓冲液（PBS）的无菌瓶中，然后用无菌镊子使劲搅拌根部，并将根部剥离的土壤悬浮液倒入 50 ml 的离心管中；随后将根系放入装有 15 ml PBS 的无菌离心管中收集根表微生物，采用超声波处理去除根部表面紧密附着的微生物，无菌离心管中的根细先在 50-60 赫兹的范围内超声处理 30 秒，然后取出根系，重复上述步骤两次，以确保所有根表微生物被收集；随后 10000 转离心后去除上清液收集根际和根表土壤，并将其与超声处理过的根系-80°C 储存，直至提取 DNA。总共在 82 个样地收集了土壤和根系微生物组样品，产生了 328 个 DNA 样本。

土壤和植物的物理化学性质的测量

土壤理化性质，包括土壤 pH 值、土壤有机碳（SOC）、总氮（TN）、 NH_4^+ 和 NO_3^- 以及总磷（TP）均按以前方法进行测定。植物碳含量是用重铬酸盐氧化法测定，N 含量是用凯氏定氮法测量的。所有的土壤和植物样品测试都是一式两份。各草地类型的气候、土壤理化和植物性状见表 S1。

DNA 提取、ion S5 XL 测序和数据处理

微生物 DNA 提取采用 E.Z.N.A. 土壤 DNA 试剂盒（Omega Biotek, Norcross, GA, USA）从 0.5 克的土壤样品（或 1 克的根部样品）中提取。使用 515F（5'-barcode-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3'）和 806R（5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3'）引物对细菌 16S rRNA 基因 V4 区进行 PCR 扩增，建库后用 Ion S5™ XL 平台进行测序。利用 QIIME 2 (v2018.4) 进行 16S-V4 序列读长分析。

计算和统计分析

所有的统计分析都是用 R 软件包（3.5 版）进行的。部分数据通过使用

ImageGP 和 EVenn 进行可视化分析。使用 QIIME 2 计算的 ASV 系统发育关系的未加权和加权 UniFrac 距离确定样品间细菌类群 ASV 的相似性。主坐标分析 (PCoA) 进行微生物类群和基因比较。基于互换的方差分析 (PERMANOVA) 被用来检验组间显著性 ('vegan' 软件包中的 `adonis` 函数)。利用 R 中 'BiodiversityR' 软件包中的 'CAPdiscrim' 函数, 采用主坐标典型分析 (CAP) 来更好地量化生态位和草地类型对 β -多样性的影响。进行基于距离的冗余分析 (dbRDA) 来阐明微生物群落和环境因子之间的关系, 并用 `vif.cca()` 来检验环境因子间的共线性关系。用 `vegan` 软件包中局部方差分析 (VPA) 来量化每个环境因子的解释度。为了确定最重要的环境因子, 我们使用 R 程序的默认参数对细菌和古细菌的 ASVs 与环境因子进行回归分析 (R 程序包 "randomForest", `ntree` = 1,000, 使用默认的 `mtry` 为 $p/3$, 其中 p 为该类群数量)。此外, 我们对土壤、根际、根表和根内群落距离 (每个样本点与参考点之间的非权重 UniFrac 距离 (地图中带有*号)) 与 MAP 进行了回归分析。

系统发育多样性变异通过通过基零空模型的系统发育 β -多样性来量化, 以检验群落组装过程。我们用 β NTI 结合基于 Bray-Curtis 的 Raup-Crick (RCbray) 来量化主要生态过程对微生物群落组装的贡献。百分比值是生态过程结果的统计平均值。采用 Sloan 中性群落模型, 通过预测类群在一组群落中出现的频率 (检测到每个分类群的局部群落比例) 与它们在集合群落中的丰度 (由生物群落或集群内所有局部群落的平均相对丰度估计) 之间的关系来确定随机过程对微生物群落组装的贡献。我们使用中性模型的拟合度 (R^2) 来推断随机过程, m 值为估算的迁移率, 较高的 m 值表明微生物群落较小的扩散限制。

使用 Source Tracker 对每个生态位的内部群落相似性 (常见类群) 进行了分析, 这是一种基于贝叶斯来评估特定群落中来自其它环境来源比例的方法。我们分别分析了不同草地类型中不同生态位的细菌网络, 以及它们之间的网络关联。内部关系 (每个草地类型相同生态位微生物类群之间的网络) 是基于相对丰度 >0.001 的 ASVs 的网络共发生分析。每个点代表一个细菌或古菌种型 (一个 ASV 聚类 97%), 链接代表统计学上显著的 SparCC 相关性 ($P < 0.01$), 其相关系数在各生态位中 >0.6 。外部关系是基于对每个草地类型的不同生态位之间关系的网络共现性分析, 每个点代表一个独立的样本, 连接代表相关系数 >0.6 的统计学

意义 ($P < 0.01$) 的 Spearman 相关系数。此外, 根据以前的研究, 使用 R 包 "ggClusterNet" 中的 "network()" 函数计算节点和边的数量、平均路径长度、网络直径、累积度分布、聚类系数和模块化。使用 Gephi 对网络进行可视化。

引文格式: Zhong, Yangquanwei, Patrick O. Sorensen, Guangyu Zhu, Xiaoyu Jia, Jin Liu, Zhouping Shangguan, Ruiwu Wang et al., 2022. Differential microbial assembly processes and co-occurrence networks in the soil-root continuum along an environmental gradient. *iMeta* 1: e9. <https://doi.org/10.1002/imt2.18>

作者简介:

本研究由西北工业大学王瑞武教授团队和西北农林科技大学上官周平研究员团队合作完成:



钟杨权威

西北工业大学生态环境学院副教授; 入选 2017 年全国博士后创新人才支持计划, 2019 年-2021 年在美国劳伦斯伯克利国家实验室从事博士后研究工作。主要从事旱地土壤碳氮循环过程及其微生物驱动机制研究, 以第一/通讯作者在 Soil Biology & Biochemistry、Global Ecology and Biogeography 等期刊发表论文 20 余篇, 出版《氮添加与农田土壤碳》学术专著 1 部。



王瑞武 (团队负责人)

西北工业大学生态环境学院首席教授; 国家杰出青年基金获得者, 《英国皇家学会会刊 B》副主编, 科技部重大基础专项的评审与项目跟踪专家。主要从事互惠合作行为的演化与生态系统生态学研究在 Science Advances, Ecology, Journal of Animal Ecology 等期刊上发表论文多篇。



上官周平（团队负责人）

西北农林科技大学二级研究员，“新世纪百千万人才工程”人选者，获国家科技进步二等奖、国家自然科学基金二等奖、陕西省科学技术一等奖等 15 项，结合国家生态文明建设撰写 30 余份咨询建议，并获得中办、国办和陕西省委的采纳。主要从事黄土高原地区植被恢复与生态系统碳氮循环方面的研究工作，在 *Global Change Biology*、*Global Ecology and Biogeography*、*Earth-Science Reviews*、*Soil Biology and Biochemistry* 等期刊发表论文多篇。



闫伟明（通讯作者）

西北农林科技大学青年研究员，从事全球变化背景下生态系统碳循环关键过程及其微生物驱动机制等方面研究。在 *Global Change Biology* 等期刊发表论文 20 余篇，主持博士后创新人才支持计划等项目多项。