

DOI:10.11931/guihaia.gxzw202208043

皖北淮河平原幼龄‘中山杉 118’根际与非根际细菌特征分析

成彦丽¹, 陈鸿¹, 杨溪², 韩永友², 徐晨¹, 张远兵^{1*}

(1 安徽科技学院 建筑学院, 安徽 蚌埠 233100; 2 宿州市园林管理服务中心, 安徽 宿州 450002)

摘要: 为探究生态景观绿化树种‘中山杉 118’对皖北淮河平原土壤生态系统的影响, 该研究分析了其根际与非根际土壤养分差异、微生物类群及其影响因子。结果表明: (1) 4 a 生‘中山杉 118’根际对大量元素的富集能力较弱, 水解性氮和有效磷出现亏欠现象, 全氮与非根际持平, 对全磷、全钾和速效钾有低程度的富集; ‘中山杉 118’根际对微量元素铁、铜、锰的富集能力较强, 其中根际有效锰含量显著高于非根际; ‘中山杉 118’根际与非根际土壤均为碱性, 根际 pH 略小于非根际, 且根际的电导率大于非根际, 根际对速效钠、速效镁、速效钙有一定程度的富集, 对有机碳和有机质也有一定的富集性。(2) Anosim 组间群落结构差异显著性检验 R 值为 0.224 ($P=0.022$), R 值显著大于 0, 表明‘中山杉 118’根际与非根际细菌群落差异显著。‘中山杉 118’根际与非根际共有 OTUs 5 283 个, 根际特有 1 307 个, 非根际特有 1 265 个。根际细菌多样性略小于非根际, 两者的优势菌种为厚壁菌门、变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、粘球菌门、放线菌门、泉古菌门, 其中仅酸杆菌门与有效磷显著正相关, 丰度较高的菌种中厚壁菌门、拟杆菌门在根际的含量 17.94%、5.21% 高于非根际 1.84%、3.90%, 且两者与环境因子相关性不显著。梭菌纲、拟杆菌纲和芽孢杆菌纲在根际的丰度比非根际分别高出 14.05%、1.32%、2.06%。(3) UPGMA 聚类树表明, ‘中山杉 118’根际 R4 样品独聚一枝, 非根际样品 NR4 和 NR5 聚为一枝, NR1、NR2 和 NR3 与根际 R1、R2、R3、R5 聚为一枝, R4 的物种多样性及物种丰度明显低于其他样品且分布不均匀。综上认为, 尽管幼龄‘中山杉 118’根际效应较弱, 但其是根际厚壁菌门、拟杆菌门的富集的主要因素, 栽培过程中应多补充微量元素, 适量补充大量元素。

关键词: ‘中山杉 118’, 根际, 非根际, 细菌, 土壤养分, 高通量测序

中图分类号 : S718.83

文献标识码 : A

文章编号 :

Rhizosphere and non-rhizosphere bacterial characteristics analysis of young *Taxodium ‘Zhongshanshan 118’* in Huaihe Plain of North Anhui

CHENG Yanli¹, CHEN Hong¹, YANG Xi², HAN Yongyou², XU Chen¹, ZHANG Yuanbing^{1*}

(1. College of Architecture, Anhui Science and Technology University, Bengbu 233100, Anhui, China; 2. Suzhou Garden Management Service Center, Suzhou 450002, Anhui, China)

Abstract: In order to explore the effects of ecological landscaping tree species *Taxodium ‘Zhongshanshan 118’* on soil microbial ecosystem in Huaihe Plain of north Anhui Province, the differences in soil nutrients levels, microbial communities structures and their influencing factors between the rhizosphere (R) and non-rhizosphere (NR) were analyzed. The results were as follows: (1) The 4-year-old *T. ‘Zhongshanshan 118’* rhizosphere had a low enrichment capacity for macronutrients, resulting in a deficiency of hydrolyzable nitrogen and available phosphorus. The R had similar levels of total nitrogen, and lower levels of total phosphorus, total potassium and available potassium than the NR soil. The R had a strong enrichment ability for microelements (iron, copper, manganese). And the available manganese content in the R was significantly higher than that in the NR. Both the R and the NR soils of *T. ‘Zhongshanshan 118’* were alkaline. The R had a slightly lower pH and a higher

基金项目: 安徽省高校自然科学研究项目 (KJ2021A0861); 宿州市国家生态园林城市创建及既有公共绿地养护管理提升研究 (880456); 安徽科技学院校级人才引进自然科学项目 (JZYJ202001)。

第一作者: 成彦丽 (1990-), 博士, 讲师, 研究方向为园林植物与应用, (E-mail) 122489527@qq.com。

*通信作者: 张远兵, 教授, 研究方向园林植物与应用, (E-mail) 1264307813@qq.com。

electrical conductivity than the NR. The R had a certain degree of enrichment for available sodium, available magnesium and available calcium, as well as for organic carbon and organic matter. (2) Based on the Anosim analysis of community structure between groups, the R value was 0.224 ($P=0.022$), which was significantly greater than 0, indicating a significant difference between the bacterial communities of the R and the NR of *T. ‘Zhongshanshan 118’*. The total number of OTUs in the R and the NR was 5 283. There were 1 307 unique OTUs in R and 1 265 OTUs in NR. The R had a slightly lower bacterial diversity than the NR. The dominant phylum in both the R and the NR were Firmicutes, Proteobacteria, Acidobacteriota, Bacteroidetes, Chloroflexi, Myxococcota, Actinobacteria, and Crenarchaeota. Among them, only Acidobacteriota showed a significant positive correlation with available phosphorus. The R had higher abundances of Firmicutes (17.94%) and Bacteroidetes (5.21%) than the NR (1.84% and 3.90%), respectively. Neither of them had a significant correlation with environmental factors. The R had higher abundances of Clostridia, Bacteroidia and Bacilli than the NR by 14.05%, 1.32% and 2.06%, respectively. (3) The UPGMA clustering analysis showed that R4 was isolated from the other samples. NR4 and NR5 formed a cluster that was also isolated from the rest of the samples. R4 had lower species diversity and abundance than the other samples, and had an uneven distribution of taxa. In conclusion, despite the weak rhizosphere effect of young *T. ‘Zhongshanshan 118’*, it was the main factor for the enrichment of Firmicutes and Bacteroidetes in the rhizosphere. And more microelements and a moderate amount of macroelements should be applied in the cultivation process.

Key words: *Taxodium ‘Zhongshanshan 118’*, rhizosphere, non-rhizosphere, bacterial, soil nutrients, high throughput sequencing

皖北淮河平原地处亚热带北缘和以北地区，地势平坦，耕地较多。园林绿化植物和农作物在气候不稳定的年份易遭受极端天气如冻害、寒害的破坏，造成巨大的经济损失，因此需种植高大乔木和农田防护林来维护生态系统的稳定。应用于该地区城乡绿化、农林林网等的速生乔木主要有杨树、法国梧桐、枫香等，种类十分有限，不利于形成稳定、完整的造林结构。中山杉（*Taxodium ‘Zhongshanshan 118’*）是落羽杉（*T. distichum*）、池杉（*T. ascendens*）、墨西哥落羽杉（*T. mucronatum*）杂交获得的优良无性系后代的总称。该类林木品种生长迅速，年胸径、高生长量分别可达1.5~2 cm, 1.5~2 m，最终可形成30~50 m高、形如宝塔的通直大树（殷云龙等，2014；Cheng et al., 2015）。同时其叶色在生长季为深绿，秋冬为橘黄色，病虫害较少，抗12 级台风、无病虫害，寿命长可达3 000 a，是一种优良的生态绿化景观树种（王紫阳等，2015；WANG et al. 2016）。中山杉速生的林学性状与其对生长土壤中水分和养分的利用效率关系密切，其中植物根际和非根际微生物对土壤养分的分解和转化有着显著的促进作用（刘子雄等，2005）。

根际是指植物根系周围14 mm的微域，超过这个范围被视作非根际土壤。根际是植物根系与土壤的一个特殊界面。在这个特殊的微域，植物、土壤、微生物三者之间的物质与能量交换最为活跃，对于生态系统中的养分循环具有重要作用。土壤细菌是土壤生态系统的重要组成部分，占土壤微生物总量的70~90%（李新等，2016；徐丽霞和何永吉，2019；伍文宪等，2020）。有研究表明，根际促植物生长细菌（PGPR）可通过自身代谢活动将土壤营养物质分解、转化为植物可吸收利用的形态，促进植物生长（Bhattacharyya & JHA, 2012；李岩等，2018）。部分细菌分泌的酶、激素等物质可提高植物的适应性，如抗干旱、盐碱以及病原体侵害等，为植物健康生长提供保障，因此根际微生物与植物生长和健康密切联系（洁邱等，2019）。同时植物又可通过根系活动改变根际土壤的养分含量及其他理化性质，进而改变根际微生物群落的组成，使得根际与非根际土壤微生物群落组成和多样性具有差异（葛应兰和孙廷，2020；郭辉和唐卫平，2020）。

‘中山杉118’ [((*T. distichum* × *T. mucronatum*) × *T. mucronatum*] 是‘中山杉302’与其父本墨西哥落羽杉回交得到的优良品种，是国家林业和草原局林木良种审定委员会认定的良种（编号：国 R-SC-TD-001-2006）（殷云龙等，2019）。「中山杉118」具有速生、观赏价值高、耐盐碱、耐水湿等诸多优点，已经广泛应用于园林绿化、农田林网和河湖滩涂等生态系统（马林等，2021）。目前关于‘中山杉118’的研究主要集中在优良品种的引种应用、繁育栽培、杂交育种、杂交优势利用与机理分析、耐水淹胁迫机理、材质等方面，而对其与土壤生态系统的互作鲜有研究。本研究以4 a生‘中山杉118’根际和非根际土壤为试验材料，基于16S

rRNA高通量测序技术揭示两者土壤细菌的群落结构、物种组成和差异及其与土壤理化因子的关系，明确‘中山杉118’对土壤质量和土壤微生物的影响，为探究‘中山杉118’速生林学性状与土壤理化性质和微生物的关系提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

采样地位于安徽省宿州市埇桥区宿州植物园（ $116^{\circ}09' - 118^{\circ}10'E$ 、 $33^{\circ}18' - 34^{\circ}38'N$ ），地处安徽北部，淮河平原腹地。‘中山杉118’种植基地大小为 $100\text{ m} \times 200\text{ m}$ ，地势平坦，立地条件一致，土壤类型为黄壤土。供试‘中山杉118’（1 a 生扦插苗）购于江苏靖江，现为 4 a 生幼苗。‘中山杉118’在大田种植过程中采用人工除草，适时浇水、施肥，所施肥料为尿素。2020年6月下旬，避开园路，随机选取一块大小为 $50\text{ m} \times 50\text{ m}$ 的样地，基于对角线选取中心样点，再在对角线上选取 4 个与中心样点距离相等的点作为样点，即采用五点法选取‘中山杉118’土壤样品。分别在 5 个采样点上挖取‘中山杉118’的完整根系，去除根部大块土壤，晃动根部落下来的松散土壤作为非根际土壤样品，分别为 NR1、NR2、NR3、NR4 和 NR5，使用无菌刷收集相对应的根部残留的土壤作为根际土壤样品，分别为 R1、R2、R3、R4 和 R5。

1.2 方法

1.2.1 土壤理化性质测定

分别采用玻璃电极法、电极法、重铬酸钾氧化-外加热法、硫酸-加速剂消解，凯氏法、NaOH 碱熔，钼锑抗分光光度法、原子吸收分光光度法、碱解扩散法、碳酸氢钠浸提，钼锑抗比色法、乙酸铵浸提-原子吸收法、DTPA-TEA 浸提法、ICP-AES 和乙酸铵浸提-ICP-AES 测定土壤 pH 值、电导率及土壤有机质、有机碳、全氮、全磷、全钾、水解性氮、速效磷、速效钾、有效铜锌铁锰、速效钠镁钙的含量，每个指标均重复测定 3 次（薛会英等，2021；张金波等，2022）。

1.2.2 基因组 DNA 提取、PCR 扩增及序列分析

采用 CTAB 法提取样本基因组 DNA，并检测其纯度和浓度。使用高效高保真酶 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer，基于引物 515F：5'-GTGCCAGCMGCCGCG-3'，806R：5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3' 扩增细菌 16S V4 区。回收目标产物后构建文库，检测合格后上机测序。使用 FLASH version 1.2.7 (<http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>) 和 Qiime version 1.9.1 (http://qiime.org/scripts/split_libraries_fastq.html) 对 Illumina NovaSeq 测序的下机数据 (Raw PE) 进行拼接和质控得到 Clean Tags，利用 vsearch version 1.3.0 (<https://github.com/torognes/vsearch/>) 进行嵌合体过滤，得到用于后续分析的有效数据 (Effective Tags)。再利用 Uparse version 7.0.1001 (<http://www.drive5.com/uparse/>) 软件将 97% 一致的有效数据进行聚类，然后用 Mothur 方法 (Edgar, 2013) 与 SILVA138 的 SSUrRNA (<http://www.arb-silva.de/>) 数据库对 OTUs 的序列进行物种注释。

1.2.3 数据分析

基于 R 软件对‘中山杉118’根际与非根际的土壤理化因子进行独立样本 *t* 检验，计量数据以 $\bar{x} \pm S.E.M.$ 表示， $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。通过根际富集率 E (enrichment ratio) 反映养分的富集程度，计算公式如下： $E = [(\text{根际含量} - \text{非根际含量}) / \text{非根际含量}] \times 100\%$ (杨阳和刘秉儒，2015；马源等，2019)。

使用 Qiime Version 1.9.1 统计各样的多样性指数，通过 R 软件中的函数对根际与非根际的多样性差异进行秩和检验。基于 R vegan 包的 Anosim 函数完成根际与非根际组间差异显著性检测，组间差异程度用 R 值表示， $R > 0$ ，表示组间差异大于组内差异， $R < 0$ ，表示组间差异小于组内差异， P 值则表示差异是否显著。Qiime 软件计算 Unifrac 距离，构建 UPGMA 样本聚类树。用 R 中 psych 包分析环境因子与微生物

丰富度之间 Spearman 相关系数，系数介于 -1~1 之间，其大于 0 为正相关，其小于 0 为负相关，再用 pheatmap 包对结果进行可视化。

2 结果与分析

2.1 根际与非根际土壤理化性质分析

由表 1 可知，宿州市植物园‘中山杉 118’种植土壤为碱性土壤，样品根际土壤（R）pH 值均略低于非根际土壤（NR），土壤电导率均大于非根际土壤。基于 R 语言的独立样本 *t* 检验表明，根际与非根际的土壤除有效锰显著大于非根际之外 ($P < 0.05$)，其他理化因子差异均不显著 ($P > 0.05$)。通过平均值和根际富集率分析发现‘中山杉 118’根际对有效铁（44.21%）、有效铜（27.38%）、有效锰（26.59%）、速效钠（23.92%）、有机碳（8.22%）、有机质（8.15%）、速效镁（7.73%）、全磷（6.52%）、速效钙（4.20%）、速效钾（3.73%）、全钾（3.09%）均有一定的富集性，其中有效铁、有效锰和有效铜的富集程度较高。全氮在根际与非根际土壤之间持平。水解性氮、有效锌、有效磷出现赤贫现象，分别亏欠 2.14%、14.95% 和 34.43%。

表1 ‘中山杉 118’根际/非根际土壤的理化性质

Table1 Physic-chemical properties of R and NR soil of *T. ‘Zhongshanshan 118’*

土壤类型和编号 Soil type and code	根际 R					非根际 NR					富集率 <i>E</i> (%)	
	R1	R2	R3	R4	R5	Mean	NR1	NR2	NR3	NR4	NR5	
酸碱值 pH	8.68	8.42	8.53	8.48	8.23	8.47±0.07	8.71	8.51	8.72	8.56	8.32	8.56±0.07 -
						a						a
电导率 Electrical conductivity ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	159.9	175.9	162.3	185.2	203	177.3±7.9	158.5	162.6	146.7	169.3	183.1	164.0±6.0 -
						1a						2a
干湿比 Dry/wet	99.16%	97.55%	98.69%	98.12%	96.34%	97.97%±0.	98.67%	97.93%	98.96%	98.19%	95.80%	97.91%±0. -
						49%a						56%a
有机碳 Soil organic carbon ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	1.92	4.05	3.08	3.06	8.27	4.08±1.10	2.46	3.21	1.48	3.53	8.17	3.77±1.16 8.22
						a						a
有机质 Soil organic matter ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	3.31	6.98	5.31	5.27	14.25	7.03±1.90	4.25	5.53	2.56	5.09	14.08	6.50±2.01 8.15
						a						a
全氮 Total nitrogen ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	0.26	0.48	0.33	0.19	0.97	0.44±0.14	0.28	0.44	0.14	0.46	0.86	0.44±0.12 0.0
						a						a
全磷 Total phosphorus ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	0.46	0.46	0.44	0.48	0.60	0.49±0.03	0.40	0.48	0.43	0.45	0.54	0.46±0.02 6.52
						a						a
全钾 Total potassium ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	18.98	19.79	20.10	20.44	20.74	20.01±0.3	19.28	18.70	18.46	19.55	21.07	19.41±0.4 3.09
						0a						6a
水解性氮 Available nitrogen ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	25.15	39.66	18.86	43.65	71.46	39.76±9.1	26.86	40.74	26.91	27.01	81.65	40.63±10. -2.14
						4a						60a
有效磷 Available phosphorus ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	2.41	1.98	1.81	1.14	3.59	2.19±0.41	5.87	3.60	1.40	1.95	3.89	3.34±0.79 -34.43
						a						a
速效钾 Available potassium ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	48.65	85.05	55.71	100.44	117.36	81.44±13.	56.32	87.84	50.56	76.58	121.27	78.51±12. 3.73
						04a						63a

有效铁 Available iron	11.10	19.42	17.51	17.26	34.38	19.93±3.8	10.53	13.30	11.46	12.39	21.41	13.82±1.9	44.21
(mg·kg ⁻¹)						7a						5a	
有效锰 Available manganese	10.98	8.44	8.47	10.42	11.46	9.95±0.63	7.97	7.28	5.99	8.61	9.47	7.86±0.59	26.59
(mg·kg ⁻¹)						a						b	
有效铜 Available copper	0.53	1.04	0.67	0.84	2.28	1.07±0.31	0.53	0.83	0.61	0.75	1.47	0.84±0.17	27.38
(mg·kg ⁻¹)						a						a	
有效锌 Available zinc	0.79	1.06	0.48	1.22	1.02	0.91±0.13	2.82	0.54	0.80	0.52	0.66	1.07±0.44	-14.95
(mg·kg ⁻¹)						a						a	
速效钠 Available sodium	29.86	39.28	23.86	44.65	47.78	37.09±4.4	24.22	25.78	22.80	37.26	39.60	29.93±3.5	23.92
(mg·kg ⁻¹)						9a						2a	
速效钙 Available calcium	3.92	4.87	4.17	4.58	6.04	4.71±0.37	3.87	4.61	3.81	4.38	5.94	4.52±0.39	4.20
(g·kg ⁻¹)						a						a	
速效镁 Available magnesium	230.17	341.17	232.49	391.12	437.54	326.61±41	231.85	289.81	119.40	348.75	446.12	303.18±54	7.73
(mg·kg ⁻¹)						.74a						.90a	

注：同行数据后没有相同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference in the same row($P<0.05$). The same below.

2.2 根际与非根际土壤微生物多样性分析

本研究测序深度指数变化范围为 0.980~0.997, Q20 的变化范围为 98.79%~99.44%, GC 含量的变化范围为 52.77%~57.43%, Effective Tags 的数目与 Raw PE 数目的百分比 (Effective%) 的变化范围为 70.44%~81.23%, 表明测序深度大、质量高。整体分析表明‘中山杉 118’根际土壤微生物物种数目、Chao1、ACE, Simpson、Shannon 和 PD whole tree 指数的平均值分别为 240、3 828.033、3 733.681、0.984、9.157、186.018, 均略低于非根际 3 743、4 096.895、4 151.882、0.997、10.019、213.703, 根际与非根际之间的多样性指数差异不显著 (表 2)。就单个样品而言, 根际样品 R4 的物种多样性及物种丰度明显低于其他样品且分布十分不均匀 (表 2, 图 1)。

表 2 Alpha 多样性指数
Table2 The indices of Alpha diversity

样品名称	物种数目	Chao1 指数	ACE 指数	辛普森指数	香农指数	PD whole tree 指数
Sample name	Observed species	Chao1	ACE	Simpson	Shannon	PD whole tree
R1	4 042	4 475.417	4 502.899	0.998	10.264	220.855
R2	3 603	3 999.709	4 069.242	0.995	9.596	199.184
R3	3 869	4 204.005	4 270.841	0.997	10.066	221.739
R4	832	894.962	921.858	0.931	5.839	71.929
R5	3 856	5 566.073	4 903.564	0.998	10.022	216.382
R	3 240±606.157a	3 828.033±781.461a	3 733.681±716.513a	0.984±0.013a	9.157±0.837a	186.018±28.811a
NR1	3 847	4 267.635	4 282.559	0.998	10.149	211.211
NR2	4 145	4 550.628	4 613.376	0.998	10.270	226.754
NR3	3 874	4 172.541	4 229.885	0.998	10.138	231.122
NR4	3 494	3 843.646	3 913.216	0.997	9.806	211.532
NR5	3 357	3 650.026	3 720.376	0.996	9.731	187.894
NR	3 743±3.521a	4 096.895±158.836a	4 151.882±154.806a	0.997±0.000a	10.019±0.105a	213.703±7.585a

2.3 土壤微生物群落结构分析

基于 Anosim 组间群落结构差异显著性检验结果可知, 组间差异 R 值为 0.224($P=0.022$), R 值显著大于 0, 说明‘中山杉 118’根际与非根际微生物群落之间差异显著。‘中山杉 118’根际与非根际共有 OTUs 5 283 个。根际特有 OTUs 1 307 个, 占根际总 OTUs 总数的 19.97%, 非根际特有 OTUs 1 265 个, 占非根际总 OTUs 总数的 19.45%, 根际特有 OTUs 大于非根际。对 OTUs 注释后发现‘中山杉 118’根际和非根际所涉及微生物来自细菌界和古细菌界, 可归属为 89 门, 182 纲, 371 目, 489 科, 735 属, 能具体鉴定到种级别的微生物有 313 种。UPGMA 聚类树表明‘中山杉 118’根际 R4 样品独聚一枝, 非根际样品 NR4 和 NR5 聚为一枝, NR1、NR2 和 NR3 与其他根际样品聚为一枝 (图 1)。

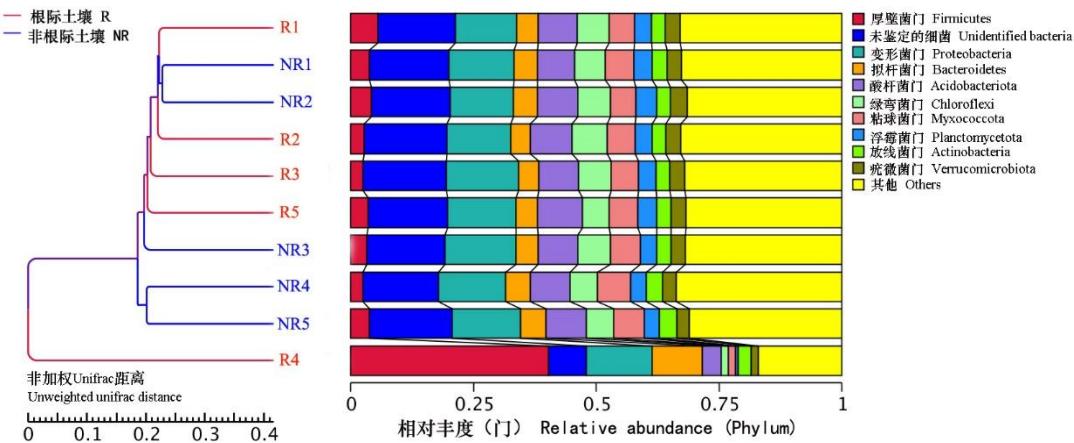


图 1 ‘中山杉 118’根际与非根际样品聚类图

Fig. 1 Cluster tree of R and NR samples of *Taxodium ‘Zhongshanshan 118’*

2.4 土壤微生物群落组成

由图 2: A 可知, ‘中山杉 118’根际与非根际土壤细菌群落中的优势类群一致, 但所占比例不同。‘中山杉 118’优势细菌有厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、酸杆菌门 (Acidobacteriota)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、粘球菌门 (Myxococcota)、放线菌门 (Actinobacteria)、泉古菌门 (Crenarchaeota), 在根际与非根际土壤中占其总细菌门类的比例分别是 17.94%、25.61%、7.29%、5.21%、3.03%、3.14%、3.63%、1.19% 和 1.84%、30.98%、9.81%、3.90%、3.12%、3.71%、5.55%、2.08%。其中厚壁菌门、拟杆菌门在根际的丰度比非根际分别高出 16.19% 和 1.31%。R4 样品中厚壁菌门作为主要细菌类群, 占其总细菌门类的比例为 76.77% (图 1)。

梭菌纲 (Clostridia)、 γ -变形杆菌纲的细菌纲 (Gammaproteobacteria)、 α -变形菌纲 (Alphaproteobacteria)、拟杆菌纲 (Bacteroidia)、芽孢杆菌纲 (Bacilli)、衣原体纲 (Chlamydiae)、Vicinamibacteria、全噬菌纲 (Holophagae) 在‘中山杉 118’根际与非根际土壤中占其总细菌纲类的比例分别是 15.08%、17.14%、8.47%、5.19%、2.82%、4.46%、2.44%、0.83% 和 1.03%、19.88%、11.09%、3.87%、0.76%、6.79%、2.98%、2.18% (图 2: B)。梭菌纲、拟杆菌纲和芽孢杆菌纲在根际的丰度比非根际分别高出 14.05%、1.32%、2.06%。R4 样品中梭菌纲占其总细菌纲类的比例为 66.73%。

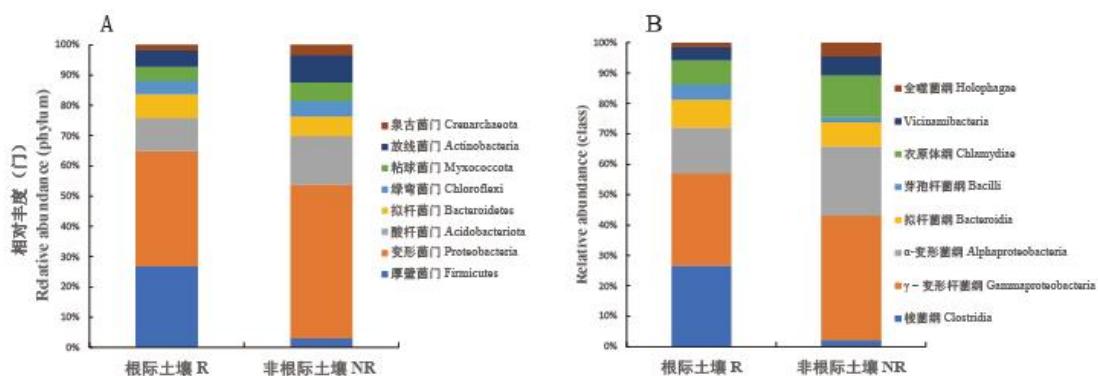
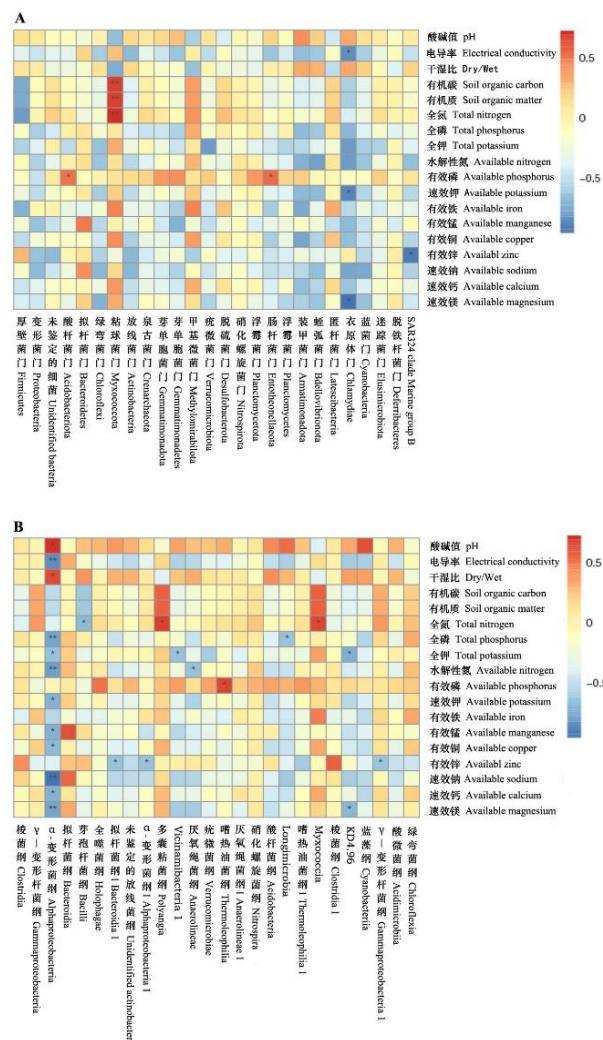


Fig. 2 Composition of R and NR bacteria community of *Taxodium ‘Zhongshanshan 118’*

2.5 微生物与环境因子的相关分析

Spearman 分析表明，有机碳、有机质、全氮和 Myxococcota 门（粘球菌门）极显著正相关，有效磷与 Acidobacteriota（酸杆菌门）和 Entotheonellaeota（肠杆菌门）呈显著正相关，Chlamydiae 门（衣原体门）与电导率、速效钾和速效镁显著负相关，有效锌与 SAR324 clade 门显著负相关（图 3: A）。Alphaproteobacteria 纲（ α -变形菌纲）与 pH、干湿比呈显著正相关，与电导率、全磷、全钾、水解性氮、速效钾、有效锰、有效铜、速效钠、速效钙和速效镁呈显著负相关，全氮与 Bacilli 纲（芽孢杆菌纲）显著负相关，有效锌与 Bacteroidia 1（拟杆菌纲 1）、Alphaproteobacteria 1（ α -变形菌纲 1）和 Gammaproteobacteria 1（ γ -变形杆菌纲 1）显著负相关，全氮与 Polyangia 纲（多囊粘菌纲）和 Myxococcia 纲显著正相关，全钾与 Vicinamibacteria 1 纲显著负相关，水解性氮与 Anaerolineae 纲（厌氧绳菌纲）显著负相关，有效磷与 Thermoleophilia（嗜热油菌纲）显著正相关，全磷与 Longimicrobia 纲显著负相关，全钾与速效镁与 KD4.96 纲显著负相关（图 3: B）。



A. 门； B. 纲； *表示显著相关($P<0.05$)； **表示极显著相关($P<0.01$)。

A. Phylum; **B. Class.** * indicates significant correlations ($P<0.05$); ** indicates highly significant correlations ($P<0.01$).

图 3 ‘中山杉 118’土壤理化因子与微生物关系图

Fig. 3. Relationship between soil Physic-chemical factors and microorganisms of *Taxodium* ‘Zhongshanshan 118’

3 讨论与结论

3.1 根际与非根际土壤理化性质差异分析

土壤理化性质可以反映土壤质量，土壤质量对于植物的生长、发育至关重要，长期种植特定植物会反作用于土壤质量和土壤生态系统（葛艺等，2019，全利红等，2019）。幼龄‘中山杉118’根际的水解性氮和有效磷出现亏欠现象，全氮与非根际土壤持平，对全磷、全钾和速效钾有一定程度的富集，但富集程度较低，这表明幼龄‘中山杉118’在生长旺季对土壤中大量元素的富集能力较弱。‘中山杉118’根际土壤中的有效锰含量显著高于非根际，有效锰是指土壤中植物可以直接利用的锰，锰元素与植物的光合作用、酶的代谢和植物糖类物质的积累等生理生化过程有着密切联系。同时‘中山杉118’对有效铁、有效铜也有着高水平的富集，铁在植物光合作用与养分积累过程中起着重要作用，铜可以稳定叶绿素的功能，参与植物的呼吸代谢，这表明在常规栽培条件下幼龄‘中山杉118’对微量元素铁、锰、铜表现出较强的根际正效应以满足自身的生长需求。‘中山杉118’对速效钠、速效镁、速效钙的富集程度较低，且根际的电导率略高于非根际，研究表明‘中山杉118’体内可以积累少量的 Na^+ ，还可以选择性的吸收和运输 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^+ ，以保持与 Na^+ 间的平衡，进而提高其耐盐性（马海燕等，2008；於朝广等，2016）。有机碳和有机质可表示土壤的肥沃程度，‘中山杉118’根际对其有一定的富集性，表明‘中山杉118’根际潜在的肥力高于非根际。

幼龄‘中山杉118’根际与非根际土壤间的理化性质，仅有效锰差异显著。这表明‘中山杉118’幼树根系对土壤理化性质的影响力不大，根际效应不强。童琪等（2019）对不同龄组南酸枣根际与非根际土壤养分特征分析表明：3 a生的南酸枣仅对全氮有富集作用，且只有全氮含量在根际与非根际土壤间存在显著性差异，15 a和30 a生的南酸枣对土壤全氮、全磷、水解性氮、有效磷、全钾、速效钾均存在富集作用，即幼龄南酸枣的根际效应较弱。宋鑫等（2014）对青藏高原1、2、3龄紫穗槐根际与非根际土壤养分变化分析发现，幼龄植物根际与非根际的土壤理化因子差异较小，随着种植年限的增加，紫穗槐培肥土壤效果明显。处于生长旺季的幼龄‘中山杉118’根际对大量元素氮、磷、钾的富集程度较低，对微量元素有铁、锰、铜的富集程度较高，对 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 Na^+ 有一定程度的富集，可为‘中山杉118’栽培施肥提供参考。

3.2 根际与非根际土壤细菌差异分析

‘中山杉118’根际与非根际土壤细菌群落差异显著，根际细菌多样性略低于非根际，根际特有OTUs 1 307个。该趋势与毛竹林等植物的研究结果一致，推测是植物根系主动过滤与抑制部分微生物，导致根际微生物低于非根际（李怡等，2019）。另有研究表明干旱、低温、高温、高湿等环境因子引发了刺槐林、鬼箭锦鸡儿、梧桐山毛棉杜鹃等植物根系分泌物增加，根际细菌选择性增强，最终导致根际微生物多样性低于非根际（丁新景等，2017；李媛媛等，2022；彭金根等，2022）。2020年6月宿州地区的平均降雨量为45.6 mm，多云12 d，降雨10 d，晴4 d，阴4 d，白天平均温度为30.2 °C，夜间平均温度为20.5 °C，高温高湿促进了土壤细菌的增殖，而植物根系的分泌物使根际选择与抑制部分微生物的增长，最终导致细菌在根际形成负效应。

‘中山杉118’根际菌类丰度较高的细菌类别中厚壁菌门、拟杆菌门的含量高于非根际，且两者与环境因子不相关，植物类别是其富集的主要因素。厚壁菌门主要包括芽孢杆菌纲和梭菌纲（WOLF，2004；曹护群等，2019；陈蒙恩等，2021）。芽孢杆菌纲可用于降解土壤中难溶化合物、降解原油、固定空气中的氮素、防治植物病虫害、处理工业废水等（宋兆齐

等, 2015; 张成明等, 2021; 吕睿等, 2022)。梭菌纲一般为专性厌氧菌, 主要分布在动物肠道、高温堆肥以及沼气发酵系统等无氧环境中, 往往具有很强的降解能力和代谢活性, 已成为各种工业酶及重要代谢产物的优良生产菌株(彭柯等, 2021)。拟杆菌门具有更多的植物促生菌, 是玉米秸秆固态厌氧消化过程中的主要菌类(吕燕红等, 2020; 董浩等, 2021)。‘中山杉118’根际土壤富集的厚壁菌门、拟杆菌门的细菌类群可能促进了土壤养分的快速积累, 并转化为植物可吸收的营养成分。Spearman分析表明根际与非根际丰度均较高的酸杆菌门仅与有效磷显著正相关, 土壤理化性质分析表明有效磷在根际含量较低, 这与酸杆菌门在根际丰度较低一致。在丹麦全尺寸活性污泥废水处理厂(WWTP)中, 酸杆菌门类群丰富, 潜在参与了氮和磷的去除和铁的还原(Kristensen et al., 2021)。有机碳、有机质、全氮和Myxococota门极显著正相关。可进一步研究相关环境因子对微生物丰度调节方式, 应用于‘中山杉118’栽培实践。

‘中山杉118’作为速生树种, 一般5~6 a即可进入速生期, 本研究选择4 a生‘中山杉118’幼龄林的根际和非根际土壤作为研究对象, 仅可为幼龄‘中山杉118’根际与非根际细菌的结构、类型、分布特征和影响因素提供基础数据和参考。进一步研究应考虑‘中山杉118’不同林龄根际与非根际土壤微生物的特征和影响因素, 为其营造可持续经营的人工林提供理论基础; 同时应展开‘中山杉118’水淹与正常条件下根际与非根际的土壤微生物特征研究, 进一步综合探讨其耐水淹机制。

参考文献:

- BHATTACHARYYA P, JHA D, 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (pgpr): emergence in agriculture[J]. World J Microb Biot, 28(4): 1327-1350.
- CAO HQ, HE MC, SHU YS, et al., 2019. Effects of canine-derived compound probiotics on cecal microflora in splenic qi asthenia canines[J]. Chin J Anim Nutr, 31(8): 3810-3820. [曹护群, 贺濛初, 舒迎霜, 等, 2019. 犬源复合益生菌对脾气虚犬盲肠菌群的影响[J]. 动物营养学报, 31(8): 3810-3820.]
- CHEN ME, ZHAO C, HAN SN, et al., 2021. High-throughput sequencing reveals the microbial community structure in Taorong-type Daqu[J]. Food Sci, 42(8): 106-113. [陈蒙恩, 赵聪, 韩素娜, 等. 2021. 基于高通量测序的陶融型大曲微生物群落结构分析[J]. 食品科学, 42(8): 106-113.]
- CHENG YL, YANG Y, WANG ZY, et al., 2015. Development and characterization of EST-SSR Markers in *Taxodium 'zhongshansa'*[J]. Plant Mol Biol Rep, 33(6): 1804-1814.
- DING XJ, JING RY, HUANG YL, et al., 2017. Bacterial structure and diversity of rhizosphere and bulk soil of *Robinia pseudoacacia* forests in Yellow River Delta[J]. Acta Pedol Sin, 54(5): 1293-1302. [丁新景, 敬如岩, 黄雅丽, 等, 2017. 黄河三角洲刺槐根际与非根际细菌结构及多样性[J]. 土壤学报, 54(5): 1293-1302.]
- DONG H, LV YC, REN LW, et al., 2021. Microbial community structure of activated sludge in neomycin sulfate waste water[J]. Chem Bioeng, 38(8): 25-31. [董浩, 吕育财, 任立伟, 等, 2021. 硫酸新霉素废水活性污泥的微生物群落结构解析[J]. 化学与生物工程, 38(8): 5-31.]
- Edgar RC, 2013. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nat Methods, 10(102): 996-998.
- GE E, XU SH, XU Y, 2019. Review on influencing factors of rhizosphere microbiome assemblage[J]. Acta Agric Zhejiangensis, 31(12): 2120-2130. [葛艺, 徐绍辉, 徐艳, 2019.

- 根际微生物组构建的影响因素研究进展[J]. 浙江农业学报, 31(12): 2120-2130.]
- GE YL, SUN T, 2020. Soil microbial community structure and diversity of potato in rhizosphere and non-rhizosphere soil[J]. Ecol Environ, 29(1): 141-148. [葛应兰, 孙廷, 2020. 马铃薯根际与非根际土壤微生物群落结构及多样性特征[J]. 生态环境学报, 29(1): 141-148.]
- GUO H, TANG WP, 2020. Enzyme Activity and microbial community diversity in rhizosphere and non-rhizosphere soil of *Larix principis-rupprechtii*[J]. Ecol Environ, 29(11): 2163-2170. [郭辉, 唐卫平, 2020. 不同林龄华北落叶松根际与非根际土壤酶和土壤微生物研究[J]. 生态环境学报, 29(11): 2163-2170.]
- KRISTENSEN JM, SINGLETON C, CLEGG L A, et al., 2021. High diversity and functional potential of undescribed “Acidobacteriota” in Danish wastewater treatment plants[J]. Front Microbiol, (12): 643950.
- LI X, JIAO Y, DAI G, et al., 2016. Soil bacterial community diversity under different degrees of saline alkaline in the Hetao Area of Inner Mongolia[J]. China Environ Sci, 36(1): 249-260. [李新, 焦燕, 代钢, 等, 2016. 内蒙古河套灌区不同盐碱程度的土壤细菌群落多样性[J]. 中国环境科学, 36(1): 249-260.]
- LI Y, HE XM, YANG XD, et al., 2018. The microbial community diversity of the rhizosphere and bulk soils of *Lycium ruthenicum* in different habitats[J]. Acta Ecol Sin, 38(17): 5983-5995. [李岩, 何学敏, 杨晓东, 等, 2018. 不同生境黑果枸杞根际与非根际土壤微生物群落多样性[J]. 生态学报, 38(17): 5983-5995.]
- Li Y, Zeng C, Xiao FP, et al., 2019. Bacterial structure and diversity of rhizosphere and bulk soil of *Phyllostachys edulis* forest[J]. South For Sci, 47(5): 20-23. [李怡, 曾春, 肖福平, 等, 2019. 毛竹林地根际与非根际土壤细菌结构及多样性[J]. 南方林业科学, 47(5): 20-23.]
- LI YY, XU TT, AI Z, et al., 2023. Diversity and predictive functional of *Caragana jubata* bacterial community in rhizosphere and non-rhizosphere soil at different elevations[J]. Environ Sci, 1-12. [李媛媛, 徐婷婷, 艾喆, 等, 2023. 不同海拔鬼箭锦鸡儿根际和非根际土壤细菌群落多样性及PICRUSt功能预测[J]. 环境科学, 44(4): 2304-2314.]
- LIU ZX, ZHU TH, ZHANG J, 2005. Research advances in root exudates and rhizosphere microorganisms of forest trees[J]. World For Res, 18(6): 25-31. [刘子雄, 朱天辉, 张建, 2005. 林木根系分泌物与根际微生物研究进展[J]. 世界林业研究, 18(6): 25-31.]
- LV R, CHANG F, ZHANG XC, et al., 2022. Responses of soil bacterial and fungal community structure and diversity to microbial bran organic manure in the Loess Plateau[J]. Environ Ecol, 4(2): 40-49. [吕睿, 常帆, 张兴昌, 等, 2022. 黄土高原土壤细菌和真菌群落结构及其多样性对菌糠有机肥响应机制研究[J]. 环境生态学, 4(2): 40-49.]
- LV YH, ZHAO Y, ZHANG YP, 2020. Research on the distribution characteristics of soil bacteria communities under the influence of two main sand-fixing plants in Minqin desert area of Gansu province[J]. Ecol Environ, 29(4): 717-724. [吕燕红, 赵瑛, 张艳萍, 2020. 甘肃民勤荒漠区两种主要固沙植物影响下的土壤细菌群落分布特征研究[J]. 生态环境学报, 29(4): 717-724.]
- MA HY, LIN SM, XU YC, et al., 2008. Salt (NaCl) stress on growth, ion uptake and transport of (*Taxodium distichum* × *T. mucronatum*) × *T. mucronatum* 'Zhongshansha' breeding clones[J]. J Zhejiang For Coll, 25(3): 319-323. [马海燕, 林松明, 徐迎春, 等, 2008. 氯化钠胁迫对2个中山杉无性系生长及离子吸收运输的影响[J]. 浙江林学院学报, 25(3): 319-323.]
- MA L, YANG HM, ZHONG H, et al., 2011. Introduction research progress of *Ascendens Mucronatum* and its application in Kunming[J]. Forest Inv Plan, 36(1): 19-25. [马林, 杨红

- 明, 钟华, 等, 2011. 中山杉引种研究进展及其在昆明地区的应用现状[J]. 林业调查规划, 36(1): 19-25.]
- MA Y, LI LZ, ZHANG DG, et al., 2019. Distribution characteristics of nutrients and microbial biomass in rhizosphere and non-rhizosphere soils of dominant plants in degraded alpine meadow[J]. *Acta agrestia sin*, 27(4): 797-804. [马源, 李林芝, 张德罡, 等, 2019. 退化高寒草甸优势植物根际与非根际土壤养分及微生物量的分布特征[J]. 草地学报, 27(4): 797-804.]
- PENG JG, GONG JY, FANG YH, 2022. Diversity of soil microbial communities in rhizosphere and non-rhizosphere of *Rhododendron moulmainense*[J]. *Sci silvae sin*, 58(2): 89-99. [彭金根, 龚金玉, 范玉海, 等, 2022. 毛棉杜鹃根际与非根际土壤微生物群落多样性[J]. 林业科学, 58(2): 89-99.]
- PENG K, DONG Z, DI YM, et al., 2021. Contrasting analysis of microbial community composition in the water and sediments of the north canal based on 16S rRNA high-throughput sequencing[J]. *Environ Sci*, 42(11): 5424-5432. [彭柯, 董志, 邸琰茗, 等. 2021. 基于16S rRNA高通量测序的北运河水体及沉积物微生物群落组成对比分析[J]. 环境科学, 42(11): 5424-5432.]
- QIU J, HOU YL, XU LL, et al., 2019. High throughput sequencing analysis of rhizosphere soil bacteria diversity in different mulberry varieties[J]. *J South Agric*, 50(3): 585-592. [洁邱, 侯怡铃, 徐丽丽, 等, 2019. 不同品种桑树根际土壤细菌多样性的高通量测序分析[J]. 南方农业学报, 50(3): 585-592.]
- SONG X, ZHANG LJ, Dai WA, et al., 2014. Effects of *Amorpha fruticosa* planting on soil nutrient characteristics at rhizosphere and non-rhizosphere in Tibetan Plateau[J]. *Pratac Sci*, 31(7): 1226-1232. [宋鑫, 张丽静, 代万安, 等, 2014. 青藏高原不同株龄紫穗槐根际与非根际土壤养分变化特征[J]. 草业科学, 31(7): 1226-1232.]
- SONG ZQ, WANG L, LIU XH, et al., 2015. Diversities of firmicutes in four hot springs in yunnan and tibet[J]. *Biotechnol*, 25(5): 481-486, 436. [宋兆齐, 王莉, 刘秀花, 等. 2015. 云南和西藏四处热泉中的厚壁菌门多样性[J]. 生物技术, 25(5): 481-486, 436.]
- TONG LH, GAO J, JIN YS, 2019. Dynamic changes of microorganisms in the rhizosphere of strawberry during different growth stages[J]. *J Beijing Agric Coll*, 34(4): 10-15. [全利红, 高洁, 靳永胜, 2019. 草莓不同生育期根际微生物的动态变化[J]. 北京农学院学报, 34(4): 10-15.]
- TONG Q, CHEN MT, LONG JQ, et al., 2019. Research on soil nutrient characteristics at rhizosphere and nonrhizosphere for different age groups of *Choerospondias axillaris*[J]. *J Cent South Univ For Technol*, 39(12): 108-113. [童琪, 陈致婷, 龙菁琦, 等, 2019. 不同龄组南酸枣根际与非根际土壤养分特征研究[J]. 中南林业科技大学学报, 39(12): 108-113.]
- WANG ZY, CHENG YL, YIN YL, et al., 2016. Genetic linkage map construction and QTL mapping of seedling height, basal diameter and crown width of *Taxodium 'Zhongshanshan 302'×T. mucronatum*[J]. *Springerplus*, 5(1): 936.
- WANG ZY, XU JH, LI HG, et al., 2015. Rooting capabilities for *Taxodium 'Zhongshanshan' 302, 118, and 405*[J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 32(4): 648-654. [王紫阳, 徐建华, 李火根, 等, 2015. 中山杉优良无性系 302, 118, 405 扦插生根能力比较[J]. 浙江农林大学学报, 32(4): 648-654.]
- WOLF M, 2004. Phylogeny of Firmicutes with special reference to mycoplasma (*Mollicutes*) as inferred from phosphoglycerate kinase amino acid sequence data[J]. *Int J Syst Evol*

- Microbiol, 54(3): 871-875.
- WU WX, HUANG XQ, ZHANG L, et al., 2020. Crucifer clubroot disease changes the microbial community structure of rhizosphere soil[J]. Acta Ecol Sin, 40(5): 1532-1541. [伍文宪, 黄小琴, 张蕾, 等, 2020. 十字花科作物根肿病对根际土壤微生物群落的影响[J]. 生态学报, 40(5): 1532-1541.]
- XU LX, HE YJ, 2019. Comparison of Bacterial diversity between rhizosphere and non-rhizosphere soil of Maize based on 16S rDNA high-throughput sequencing[J]. J Shanxi Agric Sci, 47(7): 1212-1216. [徐丽霞, 何永吉, 2019. 基于16S rDNA高通量测序的玉米根际与非根际土壤细菌多样性比较[J]. 山西农业科学, 47(7): 1212-1216.]
- XUE HY, GUO WW, QU XL, et al., 2021. Structure and diversity of soil nematode community in soil under *Tsuga dumosa* forest in galongla mountain[J]. Acta Pedol Sin, 2021, 58(1): 246-258. [薛会英, 郭文文, 屈兴乐, 等. 2021. 嘎隆拉山铁杉林土壤线虫群落结构与多样性研究[J]. 土壤学报, 58(1): 246-258.]
- YANG Y, LIU BR, 2015. Distribution of soil nutrient and microbial biomass in rhizosphere versus non-rhizosphere area of different plant species in desertified steppe[J]. Acta Ecol Sin, 35(22): 7562-7570. [杨阳, 刘秉儒, 2015. 荒漠草原不同植物根际与非根际土壤养分及微生物量分布特征[J]. 生态学报, 35(22): 7562-7570.]
- YIN YL, YU CG, HUA JF, 2019. Breeding utilization and related research progress of *Taxodium* ‘Zhongshanshan’[J]. J Plant Resour Environ, 28(4): 99-106. [殷云龙, 於朝广, 华建峰, 2019. ‘中山杉’的选育和利用及相关研究进展[J], 植物资源与环境学报, 28(4): 99-106.]
- YIN YL, YU CG, HUA JF, et al., 2014. A trial on the silviculture of *Taxodium* hybrid ‘Zhongshanshan118’ planted in the hydro-fluctuation belt of the Three Gorges Reservoir within the Wanzhou district area of Chongqing City[J]. J For Eng, 28(2): 110-114. [殷云龙, 於朝广, 华建峰, 等, 2014. 重庆万州三峡库区消落带中山杉造林试验[J]. 林业科技开发, 28(2): 110-114.]
- YU CG, LI Y, XIE YF, et al., 2016. Effects of NaCl stress on growth and absorption, transportation and distribution of ions in zhongshanshan seedlings[J]. Plant Physiol J, 52(9): 1379-1388. [於朝广, 李颖, 谢寅峰, 等. 2016. NaCl 胁迫对中山杉幼苗生长及离子吸收、运输和分配的影响[J]. 植物生理学报, 52(9): 1379-1388.]
- ZHANG CM, LI YF, DONG BC, et al., 2021. Effect of alkali treatment on microbial community structure in solid-state anaerobic digestion of corn straw[J]. Food Ferment Ind, 48(4): 1-8. [张成明, 李砚飞, 董保成, 等, 2021. 碱处理对玉米秸秆固态厌氧消化过程中菌群结构的影响[J]. 食品与发酵工业, 48(4): 1-8.]
- ZHANG JP, HUANG T, HUANG XQ, et al., 2022. Experimental basis of soil science[M]. Beijing: Science Press: 17-128. [张金波, 黄涛, 黄新琦, 等, 2022. 土壤学实验基础[M]. 北京: 科学出版社: 17-128.]