# 濒危植物资源冷杉根际细菌群落特征及其 重要土壤影响因子分析

吴佳昊 $^{1,2}$ , 王玉凤 $^{2}$ , 胡兴华 $^{2,0}$ , 邓 涛 $^{2}$ , 叶家桐 $^{2}$ 

(1. 广西师范大学生命科学学院, 广西 桂林 541006; 2. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西 桂林 541006)

摘要:为揭示濒危植物资源冷杉(Abies ziyuanensis L. K. Fu et S. L. Mo)的根际细菌群落特征,运用高通量测序技术探讨广西银竹老山资源冷杉国家级自然保护区中神宝塘、三角湖塘和文溪村种群的资源冷杉根际细菌群落的组成和多样性,并结合土壤理化指标分析资源冷杉根际细菌的重要土壤影响因子。结果显示:从3个种群土壤样品中共获得26 053个细菌分类操作单元(OTU),隶属于1592属;3个种群共有OTU数为4746,共有属数为656。资源冷杉根际细菌群落的优势菌门为酸杆菌门(Acidobacteriota)、变形菌门(Proteobacteria)和放线菌门(Actinobacteriota),优势菌属为norank\_Subgroup\_2、norank\_Acidobacteriales和norank\_Xanthobacteraceae。多样性分析结果显示:不同种群间根际细菌群落存在明显差异,文溪村种群与另2个种群明显分离。文溪村种群资源冷杉根际土壤的pH值、总氮含量、有机碳含量、有效磷含量和有效钾含量显著(P<0.05)高于神宝塘和三角湖塘种群,而速效氮含量和铵态氮含量则显著低于另2个种群。冗余分析结果显示:资源冷杉根际土壤的铵态氮含量、有机碳含量和有效磷含量是影响其根际细菌群落结构的重要土壤因子。相关性分析结果显示:资源冷杉根际土壤的pH值、总氮含量、速效氮含量、铵态氮含量、硝态氮含量、有机碳含量和有效磷含量对部分根际细菌门的相对丰度影响显著或极显著(P<0.01)。综合分析结果表明:不同资源冷杉种群具有独特的根际细菌群落;文溪村种群资源冷杉的生长可能受到根际土壤氮素形态不平衡的影响,因此,在未来的保护和管理中可适当施用铵态氮肥以改善资源冷杉的生长条件。

关键词:资源冷杉;根际细菌;土壤理化性质

中图分类号: Q948.12<sup>+</sup>2.3; S718.52<sup>+</sup>1.3 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2024)06-0034-10 DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2024.06.04

Analyses on characteristics of rhizosphere bacterial communities of endangered plant *Abies ziyuanensis* and their important soil influencing facters WU Jiahao<sup>1,2</sup>, WANG Yufeng<sup>2</sup>, HU Xinghua<sup>2,①</sup>, DENG Tao<sup>2</sup>, YE Jiatong<sup>2</sup> (1. College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541006, China; 2. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2024, 33(6): 34–43

**Abstract:** To reveal the characteristics of rhizosphere bacterial communities of endangered plant *Abies ziyuanensis* L. K. Fu et S. L. Mo, the composition and diversity of rhizosphere bacterial communities of *A. ziyuanensis* of Shenbaotang, Sanjiaohutang, and Wenxicun populations in Guangxi Yinzhu Laoshan National Nature Reserve for *Abies ziyuanensis* were investigated by using high-throughput sequencing technology, and their important soil influencing factors were analyzed by combining with soil physicochemical indexes. The results show that a total of 26 053 bacterial operational taxonomic units

收稿日期: 2024-06-02

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060255; 32260061); 广西科学院基本业务费项目(CQZ-E-1916); 广西林业科技项目(2024LYKJ02); 广西植物功能物质与资源持续利用重点实验室主任基金项目(ZRJJ2022-4)

作者简介:吴佳昊(1998—),男,浙江金华人,硕士研究生,主要从事珍稀濒危植物保育研究。

①通信作者 E-mail: huxh773@ 163.com

引用格式:吴佳昊,王玉凤,胡兴华,等. 濒危植物资源冷杉根际细菌群落特征及其重要土壤影响因子分析[J]. 植物资源与环境学报,2024,33 (6):34-43.

(OTUs) are obtained from the soil samples of the three populations, belonging to 1 592 genera; the common OTU number is 4 746, and the common genus number is 656 of the three populations. The dominant bacterial phyla of the rhizosphere bacterial communities of A. zivuanensis are Acidobacteriota, Proteobacteria, and Actinobacteriota, and the dominant bacterial genera are norank\_Subgroup\_2, norank\_ Acidobacteriales, and norank Xanthobacteraceae. The diversity analysis result shows that there are evident differences in rhizosphere bacterial community among different populations, and Wenxicun population shows a clear separation from the other two populations. The pH value, total nitrogen content, organic carbon content, available phosphorus content, and available potassium content in rhizosphere soil of Wenxicun population are significantly (P < 0.05) higher than those of Shenbaotang and Sanjiaohutang populations, while the available nitrogen content and ammonium nitrogen content are significantly lower than those of the other two populations. The redundancy analysis result shows that the ammonium nitrogen content, organic carbon content, and available phosphorus content in rhizosphere soil are dominant soil factors influencing the rhizosphere bacterial community structure of A. ziyuanensis. The correlation analysis result shows that the pH value, total nitrogen content, available nitrogen content, ammonium nitrogen content, nitrate nitrogen content, organic carbon content and available phosphorus content in rhizophere soil of A. ziyuanensis have significant or extremely significant (P<0.01) influences on relative abundance of some rhizosphere bacterial phyla. The comprehensive analysis results show that different A. ziyuanensis populations possess unique rhizosphere bacterial communities; the growth of A. ziyuanensis of Wenxicun population may be affected by the imbalance of nitrogen forms in rhizosphere soil, therefore, ammonium nitrogen fertilizer can be appropriately applied to improve the growth conditions of A. ziyuanensis in future conservation and management.

Key words: Abies ziyuanensis L. K. Fu et S. L. Mo; rhizosphere bacterium; soil physicochemical property

资源冷杉(Abies ziyuanensis L. K. Fu et S. L. Mo) 系松科(Pinaceae)冷杉属(Abies Mill.)常绿乔木,国 家一级重点保护野生植物,是中国特有的古老孑遗植 物。1977年,资源冷杉首次在广西资源县的银竹老 山被发现,之后的调查表明该植物仅在广西、湖南、江 西少数高大山脉的上部山体有零星的残存种群分 布[1]。受全球气候变化、人类活动和生境变化影响, 资源冷杉野生种群已呈现明显的衰退趋势,主要表现 为植株数量大幅减少、种群分布面积严重萎缩[2-3]。 在银竹老山,绝大多数资源冷杉成年植株在有性生殖 上存在3~7 a 的间隔期,且大孢子叶球与小孢子叶球 在数量上严重失衡,通常是小孢子叶球发育数量严重 少于大孢子叶球,以致有性繁殖出现严重的花粉源限 制(数据未发表)。此外,资源冷杉幼苗生长缓慢,死 亡率高,导致种群幼苗建立十分困难。银竹老山地区 资源冷杉存在的上述问题,十分不利于该种群的更新 与延续,因此,亟需探明影响资源冷杉生长与发育的 具体原因。

土壤微生物是土壤生态系统中最活跃的部分,与 植物发育密切相关。土壤微生物参与各种生化反应, 对土壤养分循环至关重要;还可通过促进植物营养、 土壤结构和肥力来影响地上生态系统<sup>[4]</sup>。因此,土 壤微生物的组成及多样性是衡量土壤功能的重要生物学指标<sup>[5]</sup>。根际微生物存在于植物根系土壤微生态系统中,对植物作用显著,在数量和功能上均优于非根际微生物<sup>[6-7]</sup>。越来越多的研究证明根际微生物在植物生长发育过程中发挥着重要作用<sup>[8-9]</sup>。植物可以通过调节根系分泌物来招募有益微生物以抵抗病原体、保水和合成促进生长的激素<sup>[10]</sup>; Lu 等<sup>[11]</sup>报道根际微生物可将色氨酸转化为吲哚乙酸(IAA),进而影响拟南芥 [Arabidopsis thaliana (Linn.) Heynh.]的开花时间。此外,有研究证明厚壁菌门(Firmicutes)的芽孢杆菌属(Bacillus Cohn)微生物能参与生物固氮、溶解磷酸盐和铁载体形成等,对植物生长有促进作用<sup>[12]</sup>。

广西银竹老山资源冷杉国家级自然保护区(以下简称银竹老山保护区)的资源冷杉种群中,以成年植株为主,幼树罕见,呈现倒三角形的年龄结构,表现出明显的种群衰退趋势。这是由于资源冷杉幼苗在建立过程中成活率非常低,而幼苗存活率低可能与土壤养分条件或土壤中微生物(尤其是细菌)的作用有关[13-14]。鉴于此,本研究采用高通量测序技术对银竹老山保护区3个资源冷杉种群的根际细菌进行比较,并结合土壤理化性质,探讨根际细菌群落结构与

土壤因子间的关系,深入研究根际细菌的多样性、群落结构及其影响因子,以期揭示资源冷杉根际细菌群落特征,为进一步提升资源冷杉的保护效果提供理论基础。

# 1 研究区概况和研究方法

#### 1.1 研究区概况

以广西资源县银竹老山保护区内神宝塘、三角湖 塘和文溪村分布的3个资源冷杉主要种群为研究对 象。银竹老山保护区(东经 110°32′42″~110°35′06″、 北纬 26°15′05″~26°19′15″) 位于资源县北部,是资源 冷杉的发现地和模式标本产地,地处亚热带季风气候 区内,年平均气温 13.1 ℃,最低气温-11.9 ℃,最高气 温 34.0 ℃, 年降水量 2 065 mm, 年平均空气相对湿度 85%<sup>[15]</sup>。其中,神宝塘种群位于海拔 1 754~1 822 m 之间,植株胸径为5~37 cm,主要生境为箭竹 (Fargesia spathacea Franch.)、半齿柃(Eurya semiserrulata Hung T. Chang)和青冈(Quercus glauca Thunb.)组成的密林地; 三角湖塘种群位于海拔 1731~1940 m之间,植株胸径为3~26 cm,主要生境 为箭竹、鹿角杜鹃(Rhododendron latoucheae Franch.) 和木荷(Schima superba Gardner et Champ.)组成的密 林地;文溪村种群仅有5株资源冷杉,且海拔相对较 低,为1244~1249 m,植株胸径为3~30 cm,主要生 境为箭竹、格药柃(Eurya muricata Dunn)、厚朴 (Houpoea officinalis (Rehd. et E. H. Wils.) N. H. Xia et C. Y. Wu]组成的疏林地。

# 1.2 研究方法

1.2.1 根际土壤采集 于 2023 年 7 月,在神宝塘和 三角湖塘种群各随机选取 15 株涵盖老树(胸径大于 20 cm)、中树(胸径 10~20 cm)、幼树(胸径小于 10 cm)的健康资源冷杉植株,文溪村种群选择仅有 的 5 株资源冷杉植株。在每株资源冷杉的东、南、西、北 4 个方向采用抖根法采集根际土壤,即沿着主根找 到细根(直径小于或等于 2 mm)后轻轻抖落细根表面的土壤,并用无菌刷轻轻地刷下黏附在根须上的土壤,装入无菌自封袋,将每株收集的 4 份土壤混合为 1 个样品,并记录取样时间、地点和编号后迅速放入 冰盒中保存。将每个样品分成 2 份,分别用于根际细菌分析和土壤理化性质测定。用于根际细菌分析的土壤样品过 2 mm 细筛后进行 DNA 提取、文库构建

和高通量测序。

1.2.2 根际土壤细菌测序分析 将土壤样品交由生 工生物工程(上海)股份有限公司进行 DNA 提取、文 库构建和高通量测序。使用 E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA Kit(美国 OMEGA 公司)对土壤样品进行 DNA 提取,通过质量体积分数 2% 琼脂糖凝胶电泳检 测 DNA 完整性,使用 Qubit 3.0 荧光定量仪(美国 Thermo Fisher 公司)进行 DNA 浓度测定。使用 Illumina Miseq-PE 300 高通量测序平台[生工生物工 程(上海)股份有限公司]进行聚合酶链式反应 (PCR),资源冷杉根际细菌的扩增片段为 16S rRNA 的 V3~V4 可变区,引物为 341F(5'-CCTACGGGNGG CWGCAG-3') 和 805R(5'-GACTACHVGGGTATCTA ATCC-3')。PCR 反应体系总体积 30 μL,包含 2× Hieff® Robust PCR Master Mix 15 µL,341F 和 805R 各 1 μL, DNA 模板 10~20 ng, 无菌水补足体积。PCR 反 应条件如下:95 ℃预变性 3 min:94 ℃变性20 s、20 ℃ 退火 20 s、72 ℃延伸 30 s,5 个循环;72 ℃延伸 5 min; 10 ℃保存。将 PCR 产物分离纯化后进行 DNA 文库 构建并完成高通量测序。

1.2.3 土壤理化性质测定 土壤理化性质测定参考 《中华人民共和国国家环境保护标准》和《中华人民 共和国林业行业标准》中的方法。其中,pH 值采用 HJ 962-2018 中的电位法测定,总氮含量采用 HJ 962-2018 中的凯氏定氮法测定,速效氮含量采 用 HJ 962-2018 中的碱解扩散法测定, 铵态氮含量 采用 HJ 962—2018 中的靛酚蓝比色法测定,硝态氮 含量采用 HJ 962—2018 中的酚二磺酸比色法测定, 有机碳含量采用 LY/T 1237—1999 中的重铬酸钾氧 化-外加热法测定,总磷含量采用 LY/T 1232-2015 中的氢氧化钠熔融法测定,有效磷含量采用 LY/T 1232-2015 中的盐酸-硫酸浸提法测定,总钾含 量采用 LY/T 1234—2015 中的碱熔-火焰光度法测定, 有效钾含量采用 LY/T 1234—2015 中的乙酸铵浸提-火焰光度法测定,土壤含水量采用 HJ 613—2011 中的 重量法测定。每个指标重复测定3次,结果取平均值。

#### 1.3 数据处理与分析

使用 Cutadapt 软件对测序数据进行预处理,去除引物接头后,用 PEAR 软件将成对的测序片段 (reads)根据重叠关系合并成单条序列;然后,按照barcode 标签序列识别并区分样品得到各样本数据,并校正序列的方向;使用 PRINSEQ 软件对数据进行

质控,去除尾部质量较低的碱基,并根据设定的窗口 (10 bp)对低质量区域进行截断;过滤掉含有未确定 碱基(N)和过短的 reads,并对低复杂度的序列进行 过滤;将所有样本去冗余序列后合并,去除没有重复 的单序列,使用 Usearch 软件按照 97%相似性对非重 复序列进行分类操作单元(operational taxonomic unit, OTU)聚类,在聚类过程中去除嵌合体,得到 OTU 代 表序列;最后,将所有优化序列比对至 OTU 代表序 列,选出与代表序列相似性在97%以上的序列,生成 OTU 表格。

利用 EXCEL 2010 和 R 3.6.0 软件进行数据处理 及制图,利用 Qiime 软件计算相对丰度。利用 Mothur 1.43.0 软件计算 Shannon 指数、Chao 指数、ACE 指数 和 Simpson 指数等 α 多样性指数,利用 R 3.6.0 软件 的 vengan 包绘制基于 Bray-Curtis 距离的非度量多维 尺度(nonmetric multidimensional scaling, NMDS)β多 样性的可视化图形,并采用 Adonis 函数进行基于差 异性的多元方差分析,基于 OTU 水平,采用冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 法分析土壤理化性质对 资源冷杉根际土壤细菌群落结构的影响。利用 SPSS 19.0 软件对不同种群细菌组成进行单因素方差分析 (one-way ANOVA)和多重比较(最小显著差数法), 并采用 Pearson 相关系数法检验资源冷杉根际土壤 理化性质与细菌门(相对丰度前10)相对丰度的相 关性。

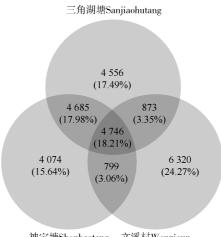
#### 结果和分析 2

# 2.1 资源冷杉根际细菌组成分析

2.1.1 测序结果分析 从35个土壤样品中共获得细 菌的有效序列数为 2 204 789(平均每个样品有效序 列数为62994),神宝塘、三角湖塘和文溪村种群的平 均有效序列数分别为 58 756、53 474、104 264。文溪 村种群的平均有效序列数显著(P<0.05)多于神宝塘 和三角湖塘种群。各种群样品文库覆盖率均在99% 以上,表明供试35个土壤样品能够涵盖土壤中的大 部分细菌,真实反映资源冷杉根际土壤中的细菌群落 信息。

2.1.2 OTU 数量分析 结果(图1)显示:通过质控 并依据97%序列相似性水平,从3个资源冷杉种群根 际土壤中共获得 26 053 个细菌 OTU, 隶属于 67 门 194 纲 459 目 781 科 1 592 属。神宝塘、三角湖塘和 文溪村种群的 OTU 数分别为 14 304、14 860 和 12 738,其中,3 个种群特有 OTU 数分别为 4 074、 4 556和6 320,分别占总 OTU 数的 15.64%、17.49%和 24.27%。3 个种群共有 OTU 数为 4 746, 占总 OTU 数 的 18.21%。

2.1.3 属数量分析 结果(图2)显示:神宝塘、三角 湖塘和文溪村种群资源冷杉根际细菌属数量分别为 1 410、1 417 和 738。3 个种群共有属数量为 656,占

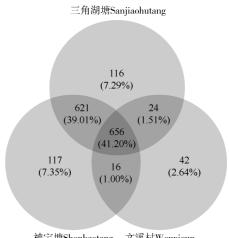


文溪村Wenxicun 神宝塘Shenbaotang

括号中百分数为占总 OTU 数的比例 The percentages in parentheses are the proportions of the total OTU number.

#### 图 1 不同种群资源冷杉根际细菌 OTU 数量分析

Fig. 1 Analysis on OTU numbers of rhizosphere bacteria of Abies ziyuanensis L. K. Fu et S. L. Mo in different populations



神宝塘Shenbaotang 文溪村Wenxicun

括号中百分数为占总属数的比例 The percentages in parentheses are the proportions of the total genus number.

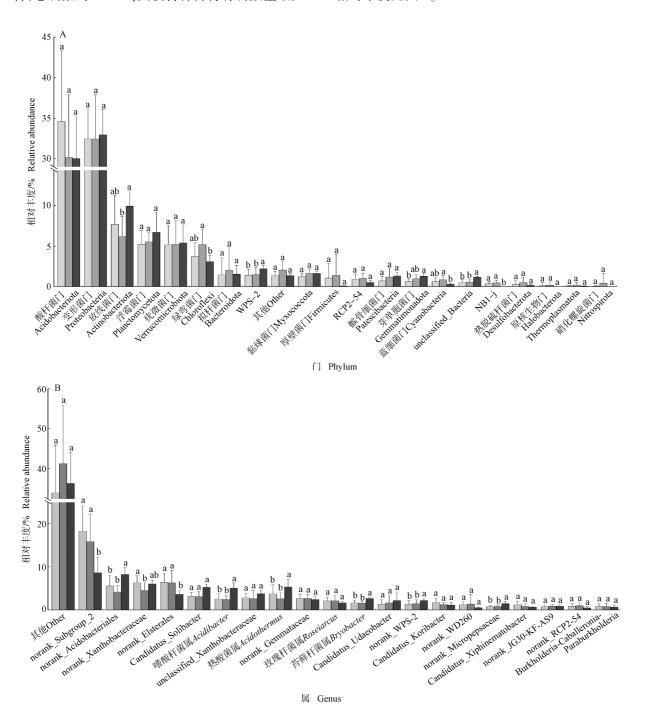
#### 图 2 不同种群资源冷杉根际细菌属数量分析

Fig. 2 Analysis on genera numbers of rhizosphere bacteria of Abies ziyuanensis L. K. Fu et S. L. Mo in different populations

总属数的 41.21%, 其中, 神宝塘种群特有属数量为 117, 占总属数的 7.35%; 三角湖塘种群特有属数量为 116, 占总属数的 7.29%; 文溪村种群特有属数量最少

(42),占总属数的 2.64%。

2.1.4 相对丰度分析 资源冷杉根际细菌门和属的 相对丰度见图 3。



■: 神宝塘 Shenbaotang; ■: 三角湖塘 Sanjiaohutang; ■: 文溪村 Wenxicun. 同组柱子上的不同小写字母表示同一菌门(属)在不同种群间差异显著 (P<0.05) Different lowercases above columns of the same group indicate the significant differences (P<0.05) between different populations of the same bacterial phylum (genus).

图 3 不同种群资源冷杉根际细菌门(A)和属(B)水平的相对丰度分析

Fig. 3 Analysis on relative abundance at phylum (A) and genus (B) levels of rhizosphere bacteria of *Abies ziyuanensis* L. K. Fu et S. L. Mo in different populations

在门水平(图 3-A)上,资源冷杉根际细菌的优势菌门(相对丰度排名前3)为酸杆菌门(Acidobacteriota)(相对丰度30.06%~34.60%)、变形菌门(Proteobacteria)(相对丰度32.45%~32.97%)和放线菌门(Actinobacteriota)(相对丰度6.19%~9.94%);主要菌门(相对丰度大于1%)为浮霉菌门(Planctomycetota)(相对丰度5.24%~6.72%)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)(相对丰度5.16%~5.40%)、绿弯菌门(Chloroflexi)(相对丰度3.09%~5.21%)、拟杆菌门(Bacteroidota)(相对丰度1.45%~2.04%)、WPS-2(相对丰度1.40%~2.23%)、黏球菌门(Myxococcota)(相对丰度1.27%~1.66%)。

在属水平(图 3-B)上,资源冷杉根际细菌的优 势菌属(相对丰度排名前3)为 norank\_Subgroup\_2(相 对丰度 8.69% ~ 18.31%) \norank\_Acidobacteriales(相 对丰度 4.21% ~ 8.30%) 和 norank Xanthobacteraceae (相对丰度 4.59%~6.35%);主要菌属(相对丰度大 于 1%) 为 norank \_ Elsterales (相对丰度 3.66% ~ 6.49%)、Candidatus\_Solibacter (相对丰度3.12%~ 5.32%)、嗜酸杆菌属(Acidibacter)(相对丰度2.45%~ 5.11%), unclassified\_Xanthobacteraceae (相对丰度 2.64%~3.82%)、热酸菌属(Acidothermus)(相对丰度 2.65% ~ 5.40%) norank Gemmataceae (相对丰度 2.46%~2.72%)、玫瑰杆菌属(Roseiarcus)(相对丰度 1.70%~2.17%)、苔藓杆菌属(Bryobacter)(相对丰度 1.59%~2.69%)、Candidatus Udaeobacter(相对丰度 1.33%~2.22%) \norank\_WPS-2(相对丰度 1.41%~ 2.23%)

由图 3 还可见:不同种群资源冷杉根际土壤细菌相对丰度存在差异。在门水平上, 芽单胞菌门在神宝塘种群的相对丰度显著低于文溪村种群; 放线菌门在文溪村种群的相对丰度显著高于三角湖塘种群, 蓝菌门和绿弯菌门在三角湖塘种群的相对丰度显著高于文溪村种群; WPS-2 在文溪村种群的相对丰度显著高于神宝塘种群和三角湖塘种群。在属水平上, 溶杆菌属、norank\_WPS-2、norank\_Acidobacteriales、酸杆菌属和 norank\_Micropepsaceae 在文溪村种群的相对丰度显著高于神宝塘和三角湖塘种群, 而 norank\_Elsterales 和 norank\_Subgroup\_2 则在文溪村种群的相对丰度显著高于自湖塘种群。在 不种 群; norank Xanthobacteraceae 在神宝塘种群的相对丰度显著高于三角湖塘种群。

#### 2.2 资源冷杉根际细菌群落多样性分析

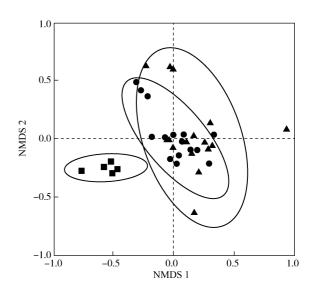
对资源冷杉根际细菌群落进行 $\alpha$ 多样性分析,结果(表 1)显示: 3 个种群资源冷杉根际细菌群落的 Shannon 指数和 Simpson 指数差异不显著,文溪村种群的 Chao 指数和 ACE 指数显著高于神宝塘和三角湖塘种群。

 $\beta$  多样性分析结果(图 4)显示:文溪村种群资源 冷杉根际细菌群落与神宝塘和三角湖塘种群根际细菌群落明显分离(应力值为 0.144 8, $R^2$ =0.156 0,P<0.05)。

表 1 不同种群资源冷杉根际细菌群落的  $\alpha$  多样性分析 <sup>1)</sup> Table 1  $\alpha$  diversity analysis of rhizosphere bacterial communities of Abies ziyuanensis L. K. Fu et S. L. Mo in different populations <sup>1)</sup>

种群 Population	Shannon 指数 Shannon index	Chao 指数 Chao index
神宝塘 Shenbaotang	5.88±0.44a	3 499.43±1 360.55b
三角湖塘 Sanjiaohutang	$6.09 \pm 0.53 a$	$3\ 476.66{\pm}1\ 496.82b$
文溪村 Wenxicun	6.27±0.21a	4 796.19±378.08a
种群	ACE 指数	Simpson 指数
Population	ACE index	Simpson index
神宝塘 Shenbaotang	3 632.72±1 408.79b	0.011±0.003a
三角湖塘 Sanjiaohutang	3 576.57±1 527.72b	$0.009 \pm 0.004$ a
文溪村 Wenxicun	4 971.67±380.56a	$0.008 \pm 0.001 a$

<sup>1)</sup> 同列中不同小写字母表示在不同种群间差异显著(P<0.05) Different lowercases in the same column indicate the significant differences (P<0.05) between different populations.



●: 神宝塘 Shenbaotang; ▲: 三角湖塘 Sanjiaohutang; ■: 文溪村 Wenxicun. NMDS: 非度量多维尺度 Nonmetric multidimensional scaling. 椭圆为 95%置信区间 The ellipses are 95% confidence intervals.

### 图 4 不同种群资源冷杉根际细菌群落的 $oldsymbol{eta}$ 多样性分析

Fig. 4  $\beta$  diversity analysis of rhizosphere bacterial community of *Abies ziyuanensis* L. K. Fu et S. L. Mo in different populations

### 2.3 不同种群资源冷杉根际土壤理化性质分析

结果(表 2)显示:文溪村种群根际土壤的 pH 值、总氮含量、有机碳含量、有效磷含量和有效钾含量 显著(P<0.05)高于神宝塘和三角湖塘种群,而速效 氮含量和铵态氮含量则显著低于另外 2 个种群; 三角 湖塘种群根际土壤的总钾含量显著低于另外 2 个种 群; 神宝塘种群根际土壤的总磷含量最低并显著低于 文溪村种群。

表 2 不同种群资源冷杉根际土壤理化性质 $(\overline{X}\pm SD)^{1}$ 

Table 2 Physicochemical properties of rhizosphere soil of Abies ziyuanensis L. K. Fu et S. L. Mo in different populations  $(\overline{X}\pm SD)^{1}$ 

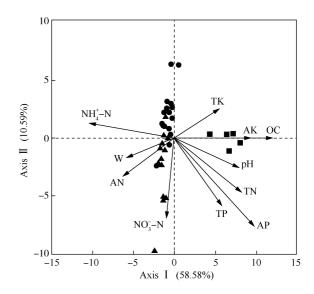
种群 Population	рН	TN/(g • kg <sup>-1</sup> )	AN/( mg • kg <sup>-1</sup> )	NH <sub>4</sub> +-N/( mg • kg <sup>-1</sup> )	$NO_3^N/(mg \cdot kg^{-1})$	OC/(g • kg <sup>-1</sup> )
神宝塘 Shenbaotang	4.30±0.20b	5.57±1.10b	285.60±66.64a	31.07±13.14a	5.01±6.22a	72.71±17.91b
三角湖塘 Sanjiaohutang	$4.38 \pm 0.18 b$	$5.38\!\pm\!1.91\mathrm{b}$	279.88±114.84a	$30.90 \pm 12.61a$	8.74±11.31a	$64.15\!\pm\!15.34\mathrm{b}$
文溪村 Wenxicun	4.77±0.18a	$8.34 \pm 0.90a$	$189.20\!\pm\!29.27\mathrm{b}$	$0.15 \pm 0.00 \mathrm{b}$	6.82±1.93a	133.40±17.74a
种群 Population	TP/(g • kg <sup>-1</sup> )	AP/( mg	g • kg <sup>-1</sup> ) T	K/(g · kg <sup>-1</sup> )	AK/(mg • kg <sup>-1</sup> )	W/%
神宝塘 Shenbaotang	0.44±0.29b	3.44±	-1.99b	22.27±4.14a	95.73±15.88b	40.54±9.51ab
三角湖塘 Sanjiaohutang	$0.71 \pm 0.57 \mathrm{ab}$	4.66±	-6.15b	17.55±3.95b	$80.80 \pm 19.90 \mathrm{b}$	$48.83 \pm 15.91a$
文溪村 Wenxicun	$1.08 \pm 0.40 a$	15.74±	2.60a	24.64±2.07a	164.58±57.56a	$32.60 \pm 7.70 \mathrm{b}$

<sup>1)</sup> pH: pH 值 pH value; TN: 总氮含量 Total nitrogen content; AN: 速效氮含量 Available nitrogen content; NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N: 铵态氮含量 Ammonium nitrogen content; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N: 硝态氮含量 Nitrate nitrogen content; OC: 有机碳含量 Organic carbon content; TP: 总磷含量 Total phosphorus content; AP: 有效磷含量 Available phosphorus content; TK: 总钾含量 Total potassium content; AK: 有效钾含量 Available potassium content; W: 含水量 Water content. 同列中不同小写字母表示在不同种群间差异显著(P<0.05) Different lowercases in the same column indicate the significant differences (P<0.05) between different populations.

## 2.4 土壤理化性质对资源冷杉根际细菌群落的影响

2.4.1 冗余分析(RDA) 结果(图 5 和表 3)显示:前 2 轴共解释了根际土壤细菌群落变异的 69.17%,其中,第 Ⅰ 轴贡献率为58.58%,第 Ⅱ 轴贡献率为10.59%。文溪村种群与神宝塘和三角湖塘种群的土壤样本明显分离,表明文溪村种群资源冷杉的根际细菌群落结构与另外 2 个种群存在明显差异。根据 R²可判断各土壤理化指标对细菌群落的影响程度由大到小依次为有效磷含量、有机碳含量、铵态氮含量、有效钾含量、总氮含量、pH值、总磷含量、速效氮含量、硝态氮含量、含水量、总钾含量,其中,铵态氮含量、有机碳含量和有效磷含量与前 2 轴极显著相关(R²>0.40,P<0.01),表明这 3 个土壤理化指标是影响资源冷杉根际细菌群落结构的重要因子。

2.4.2 相关性分析 土壤理化性质与细菌门相对丰度的 Pearson 相关性分析结果(图 6)显示:拟杆菌门相对丰度与硝态氮含量呈显著正相关;WPS-2 相对丰度与有机碳含量和有效磷含量呈显著正相关,与总氮含量呈极显著正相关;变形菌门相对丰度与速效氮含量呈显著负相关;放线菌门相对丰度与速效氮含量和铵态氮含量呈显著负相关;浮霉菌门相对丰度与pH 值呈显著正相关;酸杆菌门相对丰度与硝态氮含量呈显著负相关。以上结果表明不同细菌群落对土壤中的营养成分有不同偏好。



●: 神宝塘 Shenbaotang; ▲: 三角湖塘 Sanjiaohutang; ■: 文溪村 Wenxicun. 括号中百分数为贡献率 The percentages in parentheses are the contribution rates.

pH: pH 值 pH value; TN: 总氮含量 Total nitrogen content; AN: 速效氮含量 Available nitrogen content; NH<sub>4</sub><sup>+</sup> - N: 铵态氮含量 Ammonium nitrogen content; NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N: 硝态氮含量 Nitrate nitrogen content; OC: 有机碳含量 Organic carbon content; TP: 总磷含量 Total phosphorus content; AP: 有效磷含量 Available phosphorus content; TK: 总钾含量 Total potassium content; AK: 有效钾含量 Available potassium content; W: 含水量 Water content.

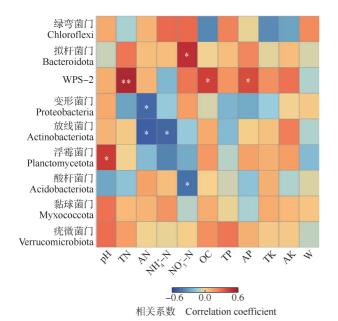
# 图 5 不同种群资源冷杉根际细菌群落结构与根际土壤理化性质的冗余分析(RDA)

Fig. 5 Redundancy analysis (RDA) of rhizosphere bacterial community structure and rhizosphere soil physicochemical properties of *Abies ziyuanensis* L. K. Fu et S. L. Mo in different populations

表 3 根际土壤理化指标在冗余分析(RDA)前 2 轴的负荷 Table 3 Loadings of rhizosphere soil physicochemical indexes in the first two axis of redundancy analysis (RDA)

土壤理化指标 <sup>1)</sup> Soil physicochemical index <sup>1)</sup>	在各轴 Loading in		$R^2$	P
	Axis I	Axis II	_	
pH	0.939 4	-0.342 8	0.263 9	0.005
TN	0.884 2	-0.467 0	0.348 1	0.002
AN	-0.957 9	-0.287 2	0.167 4	0.040
$NH_4^+ - N$	-0.977 7	0.209 9	0.427 0	0.001
$NO_3^N$	-0.031 3	-0.999 5	0.136 6	0.105
OC	0.992 9	-0.119 0	0.541 6	0.001
TP	0.776 9	-0.629 6	0.249 4	0.015
AP	0.833 1	-0.553 1	0.592 6	0.001
TK	0.969 8	0.244 0	0.121 8	0.123
AK	0.992 5	-0.122 6	0.353 4	0.004
W	-0.994 6	-0.103 4	0.131 9	0.087

1) pH: pH 值 pH value; TN: 总氮含量 Total nitrogen content; AN: 速效氮含量 Available nitrogen content; NH<sub>4</sub>\* - N: 铵态氮含量 Ammonium nitrogen content; NO<sub>3</sub>-N: 硝态氮含量 Nitrate nitrogen content; OC: 有机碳含量 Organic carbon content; TP: 总磷含量 Total phosphorus content; AP: 有效磷含量 Available phosphorus content; TK: 总钾含量 Total potassium content; AK: 有效钾含量 Available potassium content; W: 含水量 Water content.



pH: pH 值 pH value; TN: 总氮含量 Total nitrogen content; AN: 速效氮含量 Available nitrogen content; NH<sub>4</sub>\* - N: 铵态氮含量 Ammonium nitrogen content; NO<sub>3</sub>\*-N: 硝态氮含量 Nitrate nitrogen content; OC: 有机碳含量 Organic carbon content; TP: 总磷含量 Total phosphorus content; AP: 有效磷含量 Available phosphorus content; TK: 总钾含量 Total potassium content; AK: 有效钾含量 Available potassium content; W: 含水量 Water content. \*: P<0.05; \*\*\*: P<0.01.

# 图 6 资源冷杉根际土壤理化指标与根际细菌门相对丰度的 Pearson 相关性分析

Fig. 6 Pearson correlation analysis of rhizosphere soil physicochemical indexes and relative abundance of rhizosphere bacterial phyla of  $Abies\ ziyuanensis\ L.\ K.\ Fu\ et\ S.\ L.\ Mo$ 

# 3 讨论和结论

### 3.1 资源冷杉根际细菌群落组成与特征

3个资源冷杉种群的优势细菌门均为酸杆菌门、 变形菌门和放线菌门,这与酸杆菌门、变形菌门和放 线菌门是百山祖冷杉(Abies beshanzuensis M. H. Wu) 优势菌门[16]的结果一致,另外,石水琴等[17]对濒危 植物大别山五针松(Pinus dabeshanensis C. Y. Cheng et Y. W. Law) 根际微生物的研究也发现变形菌门、放 线菌门、酸杆菌门、疣微菌门、绿弯菌门是主要细菌 门。尽管各种植物根际土壤的微生物群落可能存在 不同之处,但资源冷杉以及上述植物根际土壤中普遍 存在变形菌门、酸杆菌门和放线菌门,并且这3个菌 门都是优势菌门,表明这些菌门可能在多数植物根际 微生物群落中起着重要作用。变形菌门含有大量能 分解有机物和氮的功能好氧菌,对土壤生态系统中的 碳氮循环发挥重要作用[18]。变形菌繁殖速度快.对 不稳定碳源具有较好的适应性,并且广泛分布于全球 土壤环境中[19]。通常情况下,土壤中变形菌门或酸 杆菌门的丰度都较高,酸杆菌门作为普遍存在于植物 根际细菌群落的优势菌门,具备降解复杂根系分泌物 的能力(如纤维素和木质素),这在植物根际碳循环 中起到重要作用[20]。因此,这些菌门可能在促进土 壤养分循环和资源冷杉生长中发挥重要作用。从门 水平看,不同种群资源冷杉根际细菌种类相似,但丰 度明显不同。值得注意的是,三角湖塘种群中绿弯菌 门的相对丰度高于另外 2 个种群。有研究认为绿弯 菌门比例高可能是不良群落的特征[21];张瑛等[22]的 研究表明杨树(Populus spp.)人工林连作后,绿弯菌 门比例显著升高;龚治翔等[23]的研究结果也表明绿 弯菌门的菌群活动与连作土壤的营养代谢有较强的 负相关性,表明该菌群不利于烟草(Nicotiana tabacum Linn.)生长发育。因此,绿弯菌门相对丰度升高可能 会对资源冷杉的生长产生不利影响。

对资源冷杉根际细菌属水平的分析发现,神宝塘、三角湖塘和文溪村种群共有属数量为 656,特有属数量分别为 117、116、和 42,不同种群的资源冷杉根际细菌属在相对丰度上也存在显著差异,表明不同生境下资源冷杉根际主要细菌类群的生态策略是不同的。基于 Bray-Curtis 距离的 NMDS β 多样性分析也得到相似的结果,不同种群的根际细菌结构差异明

显。植物能通过根系分泌物来调控根际微生物群落的组成和结构多样性,使其形成有利于自身生长发育的微生物群落结构<sup>[24]</sup>。植物根系分泌物与根际微生物的相互作用,不仅增加了宿主植物的存活率,而且提高了宿主植物对外界胁迫的耐受性,使其能够更好地适应环境<sup>[25-26]</sup>。3个种群资源冷杉的生长环境不同,每个生境或多或少都有自身独特的生态条件和环境特征。为适应这些不同的生长环境,每个种群的资源冷杉都形成了各自独特的根际细菌群落。

#### 3.2 资源冷杉根际土壤理化性质特点

本研究中,不同种群资源冷杉的根际土壤理化性 质存在显著差异,文溪村种群根际土壤的 pH 值、总 氮含量、有机碳含量、有效磷含量和有效钾含量显著 高于神宝塘和三角湖塘种群,而铵态氮含量和速效氮 含量则显著低于后两者。这可能与种群间的海拔差 异较大有关,相较于神宝塘和三角湖塘种群,文溪村 种群的海拔更低,其植被类型和土壤中的养分含量均 会受到影响[27-28]。此外,文溪村种群根际土壤中铵 态氮含量远低于神宝塘和三角湖塘种群,但总氮含量 却高于后两者,表明尽管文溪村种群土壤的氮总量丰 富,但植物对氮的直接吸收可能受到了限制。铵态氮 是植物可直接吸收利用的主要无机氮形态之一,尤其 是在酸性土壤环境中,硝化作用受到抑制,铵态氮是 植物氮素营养的主要来源[29]。在硝态氮与铵态氮浓 度相同的情况下,植物会优先吸收铵态氮[30]。这种 土壤氮素形态的不平衡可能限制了资源冷杉对氮素 的有效获取,在未来对文溪村种群资源冷杉的抚育和 管理工作中,可采取一些人工干预措施,以优化土壤 养分状况。

## 3.3 资源冷杉根际细菌群落的土壤驱动因子

作为微生物的栖息地,土壤环境是影响土壤微生物结构的重要因子。本研究中土壤铵态氮含量、有效磷含量和有机碳含量是影响资源冷杉根际微细菌群落结构的重要因子,这与土壤 pH 值、总磷含量和总钾含量是影响红锥(Castanopsis hystrix Hook. f. et Thomson ex A. DC.) - 马尾松(Pinus massoniana Lamb.)混交林根际土壤细菌群落结构的主要土壤理化性质<sup>[31]</sup>及土壤有机质含量、总氮含量和 pH 值是影响花椒(Zanthoxylum bungeanum Maxim.)根际细菌群落结构的重要土壤理化性质<sup>[32]</sup>不同。可见,不同植物根际微生物群落结构的主要影响因子存在较大差异,这可能与分析方法、植物特性、地理位置等相关。

土壤理化性质和细菌门水平相对丰度的相关性 分析显示:土壤有效磷含量、总氮含量、有机碳含量、 硝态氮含量、铵态氮含量、速效氮含量和 pH 值可显 著影响资源冷杉根际细菌相对丰度。土壤 pH 值上 升可以显著提高浮霉菌门的相对丰度,浮霉菌门中包 含大量的厌氧氨氧化菌,在土壤的碳氮循环中发挥重 要作用[33],土壤中有效磷含量、总氮含量和有机碳含 量的增加可以显著增加 WPS-2 的相对丰度,速效氮 含量与变形菌门和放线菌门的相对丰度显著负相关。 此外,铵态氮含量也与放线菌门的相对丰度显著负相 关。表明不同菌门对土壤中的养分偏好和适应能力 不同,土壤中各类养分因子的变化是导致资源冷杉根 际细菌群落结构变化的重要因子。这可能是因为土 壤中的养分因子变化影响了根际细菌的竞争关系,进 而导致根际细菌群落结构发生变化[34]。因此,在未 来资源冷杉保护和管理中应重点加强土壤营养管理, 根据不同种群资源冷杉的根际细菌群落特征采取不 同的施肥措施,提高土壤微生物活性,促进土壤养分 循环和有效利用。

#### 参考文献:

- [1] 李晓笑. 中国 5 种冷杉属植物生态濒危机制研究[D]. 北京: 北京 京林业大学, 2013: 10-11.
- [2] 张玉荣. 资源冷杉的濒危机制与种群保育研究[D]. 北京: 北京 林业大学, 2009: 95-97.
- [3] TANG S Q, DAI W J, LI M S, et al. Genetic diversity of relictual and endangered plant *Abies ziyuanensis* (Pinaceae) revealed by AFLP and SSR markers[J]. Genetica, 2008, 133; 21–30.
- [4] SMITH K P, GOODMAN R M. Host variation for interactions with beneficial plant-associated microbes [ J ]. Annual Review of Phytopathology, 1999, 37: 473-491.
- [5] YAO H, HE Z, WILSON M J, et al. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use [J]. Microbial Ecology, 2000, 40: 223-237.
- [6] DONG L L, XU J, FENG G Q, et al. Soil bacterial and fungal community dynamics in relation to *Panax notoginseng* death rate in a continuous cropping system [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 31802.
- [7] 张 静,肖国生,周 浓,等.三峡库区栽培重楼属药用植物根际土壤微生物数量和酶活性的变化[J].中国中医药信息杂志,2016,23(10):95-99.
- [8] 黄小龙, 唐子燕, 刘济明, 等. 米稿根际微生物群落结构及其与 土壤养分相关性[J]. 东北林业大学学报, 2023, 51(10): 92-97, 105.
- [9] ZUPPINGER-DINGLEY D, SCHMID B, PETERMANN J S, et al. Selection for niche differentiation in plant communities increases

- biodiversity effects[J]. Nature, 2014, 515(7525): 108-111.
- [10] BERENDSEN R L, PIETERSE C M J, BAKKER P A H M. The rhizosphere microbiome and plant health [J]. Trends in Plant Science, 2012, 17(8): 478-486.
- [11] LUT, KE M J, LAVOIE M, et al. Rhizosphere microorganisms can influence the timing of plant flowering[J]. Microbiome, 2018, 6; 231.
- [12] 王湘莹, 王晓明, 徐少东, 等. 芽孢杆菌促进植物生长的研究 进展[J]. 湖南生态科学学报, 2023, 10(4): 120-128.
- [13] 肖 翠, 刘 帅, 黄 珍, 等. 长白山阔叶红松林中影响乔木 幼苗存活的关键因素 [J]. 生态学报, 2015, 35 (19): 6557-6565.
- [14] ALMEIDA L C O, SANTOS H L, NOGUEIRA C H D C, et al. Plant growth-promoting bacteria enhance survival, growth, and nutritional content of sugarcane propagated through pre-sprouted seedlings under water deficit[J]. Agriculture, 2024, 14: 189.
- [15] 林 林. 银竹老山冷杉保护区[J]. 广西林业, 2001(3): 34.
- [16] 胡 瑞. 基于植物-微生物相互作用探究极小种群百山祖冷杉 潜在濒危原因[D]. 上海: 华东师范大学, 2022: 25-27.
- [17] 石水琴,秦华光,张静静,等.濒危植物大别山五针松根际细菌群落特征与功能分析[J].植物学报,2022,57(4):457-467.
- [18] TANG H M, XIAO X P, LI C, et al. Microbial carbon source utilization in rice rhizosphere and nonrhizosphere soils with shortterm manure N input rate in paddy field [J]. Scientific Reports, 2020, 10: 6487.
- [19] XU J, ZHANG Y Z, ZHANG P F, et al. The structure and function of the global citrus rhizosphere microbiome [J]. Nature Communications, 2018, 9: 4894.
- [20] WARD N L, CHALLACOMBE J F, JANSSEN P H, et al. Three genomes from the phylum *Acidobacteria* provide insight into the lifestyles of these microorganisms in soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(7): 2046-2056.
- [21] 严淑娴,刘 茗,刘彩霞,等. 毛竹纯林土壤微生物多样性高于杉木纯林[J]. 土壤学报, 2022, 59(6): 1704-1717.
- [22] 张 瑛, 马雪松, 敬如岩, 等. 基于宏基因组测序技术分析连 作对杨树人工林土壤微生物群落的影响[J]. 山东大学学报

- (理学版), 2019, 54(1): 36-46.
- [23] 龚治翔, 马晓寒, 任志广, 等. 连作烤烟根际土壤细菌群落 16S rDNA-PCR-DGGE 分析[J]. 中国农业科技导报, 2018, 20(2): 39-47.
- [24] LIU L L, HUANG X Q, ZHANG J B, et al. Deciphering the relative importance of soil and plant traits on the development of rhizosphere microbial communities [ J ]. Soil Biology and Biochemistry, 2020, 148: 107909.
- [25] SINGH R P, JHA P N. The PGPR Stenotrophomonas maltophilia SBP-9 augments resistance against biotic and abiotic stress in wheat plants[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1945.
- [26] LIU H W, BRETTELL L E, QIU Z G, et al. Microbiome-mediated stress resistance in plants[J]. Trends in Plant Science, 2020, 25 (8): 733-743.
- [27] 李转桃,徐先英,赵 鹏,等.海拔对祁连山东段青海云杉林 林下灌草多样性的影响[J]. 植物资源与环境学报,2023,32 (6):59-66.
- [28] 魏 强,凌 雷,王多锋,等.不同海拔甘肃兴隆山主要森林群落的土壤理化性质[J].西北林学院学报,2019,34(4):26-35.
- [29] 胡 璐, 李心清, 黄代宽, 等. 中国北方-蒙古干旱半干旱区土 壤铵态氮的分布及其环境控制因素[J]. 地球化学, 2008, 37 (6): 572-580.
- [30] 刘 婷,尚忠林. 植物对铵态氮的吸收转运调控机制研究进展 [J]. 植物生理学报, 2016, 52(6): 799-809.
- [31] 王 倩, 李振双, 杨富成, 等. 广西凭祥红锥-马尾松混交林菌根际微生物群落结构[J]. 菌物学报, 2021, 40(6): 1343-1356.
- [32] 焦嘉卉,符 晓,张 硕,等. 不同林龄花椒根际土壤理化性质与微生物群落结构的分析[J]. 西北林学院学报, 2023, 38 (4): 156-165.
- [33] WIEGAND S, JOGLER M, JOGLER C. On the maverick Planctomycetes [J]. FEMS Microbiology Reviews, 2018, 42: 739-760.
- [34] BAY S K, DONG X Y, BRADLEY J A, et al. Trace gas oxidizers are widespread and active members of soil microbial communities [J]. Nature Microbiology, 2021, 6: 246-256.

(责任编辑: 吴芯夷)