

DOI: 10.20103/j.stxb.202111233297

谭雪,董智,张丽苗,袁中勋,李昌晓.三峡库区消落带草本植物根际细菌群落季节变化特征及功能预测.生态学报,2023,43(23):9699-9709.

Tan X, Dong Z, Zhang L M, Yuan Z X, Li C X. Seasonal dynamics and functional prediction of bacterial community in the rhizosphere of two suitable herbaceous species in the riparian zone of the Three Gorges Reservoir Area. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(23): 9699-9709.

三峡库区消落带草本植物根际细菌群落季节变化特征及功能预测

谭雪^{1,2},董智^{1,2},张丽苗^{1,2},袁中勋^{1,2},李昌晓^{1,2,*}

1 西南大学生命科学学院,三峡库区生态环境教育部重点实验室,三峡库区植物生态与资源重点实验室,重庆 400715

2 西南山地生态循环农业国家级培育基地,重庆 400715

摘要:为了研究三峡库区消落带人工修复植被下不同季节根际细菌群落特征,选取位于三峡库区核心地带的忠县石宝镇汝溪河流域消落带生态修复示范基地内两种适生草本狗牙根(*Cynodon dactylon*)、牛鞭草(*Hemarthria altissima*)根际土壤进行16S rDNA高通量测序。研究结果显示:在消落带退水后的春季、夏季、秋季3个季节共检测到细菌60门、151纲、403属,主要优势门为变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门;放线菌门和芽单胞菌门的相对丰度在季节水平上存在差异,夏季芽单胞菌门丰度较高,秋季放线菌门相对丰度显著减少。适生草本的根际土壤细菌 α 多样性表现出一定的季节变化规律,即秋季>夏季>春季;通过冗余分析发现,影响细菌群落结构的环境因子主要有土壤全磷(TP)、速效钾(AK)、含水量(SWC)、有机质(OM)。基于未观测状态重建的群落系统发育研究(PICRUST2)功能预测共发现6个一级功能层和45个二级功能层;代谢功能在一级功能层中占比最高,其有利于提高消落带适生草本植物抑制病原菌的能力,促进植物的生长;一级功能层中有两个功能基因表现出季节差异,二级功能层中有14个子功能的相对丰度在不同季节存在显著差异。由此可见,根际细菌群落对狗牙根、牛鞭草两种草本植物能够广泛分布且适生于三峡库区消落带的土壤环境起到了重要的促进作用。

关键词:细菌群落多样性;高通量测序;三峡库区;消落带;基于未观测状态重建的群落系统发育研究(PICRUST2)功能预测

Seasonal dynamics and functional prediction of bacterial community in the rhizosphere of two suitable herbaceous species in the riparian zone of the Three Gorges Reservoir Area

TAN Xue^{1,2}, DONG Zhi^{1,2}, ZHANG Limiao^{1,2}, YUAN Zhongxun^{1,2}, LI Changxiao^{1,2,*}

1 Southwest University, Key Laboratory of Eco-environment in Three Gorges Reservoir Region (Ministry of Education), Key Laboratory of Plant Ecology and Resources Research in Three Gorges Reservoir Region, School of Life Sciences, Chongqing 400715, China

2 State Cultivation Base of Eco-agriculture for Southwest Mountainous Land, Chongqing 400715, China

Abstract: The seasonal dynamics of bacterial diversity within the rhizosphere of suitable herbaceous in the riparian zone of the Three Gorges Reservoir Area were investigated using high-throughput sequencing of bacterial 16S rRNA genes. The results indicated that: 60 phyla, 151 class, and 403 genera were detected in the rhizosphere soil. The dominant phyla were Proteobacteria, Actinobacteria, and Bacteroidetes. The relative abundance of Actinobacteria and Gemmatimonadetes was different across seasons in the phyla level. The abundance of Gemmatimonadetes was higher in summer, while the relative abundance of Actinobacteria decreased significantly in autumn. The α diversity of rhizosphere soil bacteria of suitable herbs showed a certain change pattern, the bacterial diversity index was the highest in autumn and the lowest in spring. The soil

基金项目:重庆市住房和城乡建设委员会项目(城科字2022-6-3);重庆市科技兴林项目(2021-9);中央林业改革发展资金科技推广项目(渝林科推2023-8);外国青年人才计划项目(QN2022168001L)

收稿日期:2021-11-23; **网络出版日期:**2023-08-18

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: lichangx@swu.edu.cn

total phosphorus (TP), available potassium (AK), soil water content (SWC), and soil organic matter (OM) were important factors that affected the microbial community structures of suitable herbaceous rhizospheres across seasons. PICRUSt2 function prediction analysis of rhizosphere bacterial community revealed 6 biological metabolic pathways and 45 sub-functions. The metabolic function accounted for the highest proportion in the primary functional layer, which was beneficial to improve the ability of suitable herbs to inhibit pathogenic bacteria and promote plant growth. The relative abundance of 2 functions in the level 1 and 14 sub-functions in the level 2 was significantly different across seasons.

Key Words: diversity of soil bacterial community; high-throughput sequencing; the Three Gorges Reservoir Area; riparian zone; PICRUSt2 analysis

三峡大坝正式竣工后,采用了冬蓄夏排的水位调度方式,形成了水位落差达 30 m,面积近 400 km²的消落带^[1]。在此特殊的水文条件下,消落带原有的陆生植被大量减少,环境污染、土地退化等问题日益严重,生物多样性明显降低^[2]。为了改变这一现状,研究者们筛选出了一些物种用于消落带的植被重构,其中两种 C4 植物狗牙根(*Cynodon dactylon*)^[3]和牛鞭草(*Hemarthria altissima*)^[4]被确定为消落区植被修复的优良适生草本植物种类。狗牙根属禾本科多年生草本植物,在消落区广泛分布,其根系发达、繁殖能力强,对水淹和干旱有较强的适应能力^[5];牛鞭草是一种在湿润和干旱环境都能生长的植物^[6-7],在河岸带植被修复中得到广泛的应用^[8]。目前有关狗牙根、牛鞭草的研究主要集中在水淹胁迫下植物土壤养分变化、根系酶活^[9]、光合特性^[10]等方面,但对两种适生草本的土壤微生物,特别是三峡库区消落带水文变化条件下根际微生物的季节动态及功能特征方面报道较少,这使得难以准确深入地理解和认识两种适生草本植物在三峡消落带特定环境下的根际微生态特性。

“根际”这一概念系 1901 年德国微生物学家 Hiltner 首次提出,根际为根系周围、受根系生长影响的土体^[11]。根际微生物是受植物影响最大的土壤微生物群体^[12],一方面植物根系分泌物提供能源供微生物所需,另一方面根际微生物还能够推动土壤物质和能量的流动,促进植株生长^[13]。因此,为了从根际微生态的视角探究适生草本如何适应三峡库区消落带这一特殊生境,本研究选取位于三峡库区的重庆忠县汝溪河流域消落带修复示范基地为研究区域,选取经 8 a 淹水周期,仍然保持良好生长特性的牛鞭草、狗牙根草本植被根际土壤作为实验材料,采用 illumina hiseq 测序技术,对两种适生草本植物根际土壤细菌的季节动态分布格局及其驱动因子进行研究,同时结合基于未观测状态重建的群落系统发育研究(PICRUSt2)功能预测^[14]方法,对两种适生草本植物根际土壤细菌功能类群进行了预测分析,为深入探究消落带根际土壤细菌群落的变化规律,了解三峡库区消落带植被修复与重建对土壤微生物菌群的影响提供参考依据。

1 研究地点与方法

1.1 研究地点概况

研究区域位于重庆市忠县汝溪河流域(107°32'—108°14'E,30°03'—30°35'N),处于重庆市中部,远离主城区,水位变化与三峡大坝水位调度方式一致,区域属亚热带东南季风气候,季节分明,降雨充沛,全年温度 $\geq 10^{\circ}\text{C}$,年积温为 5787 $^{\circ}\text{C}$,年均气温 18.2 $^{\circ}\text{C}$,无霜期 341 d,日照时数 1327.5 h,日照率 29%,太阳总辐射能 $3.5 \times 10^5 \text{ J/cm}^2$,年降雨量 1200 mm,相对湿度 80%。该区域土壤主要为石灰性紫色土,土壤熟化程度较低,水土流失、土层侵蚀现象严重。

课题组于 2012 年 3—4 月在重庆忠县石宝镇汝溪河流域的消落带构建植被修复示范基地,基地面积 13.3 hm²,土壤质地、肥力状况基本一致。研究区域内,栽植有大量的牛鞭草、狗牙根多年生草本植物,所选岸坡样地平均坡度为 26°,岸坡光照辐射强度大致相同,土壤雨热条件基本一致,植被覆盖率为 100%。经过连续 8 a 的淹水周期,植物生长状况良好。

1.2 样品采集与土壤化学性质测定

根据水位在忠县石宝镇汝溪河流域的变化及植被生长情况,本实验分别于 2020 年 5 月(春季)、7 月(夏

季)、9月(秋季)进行野外取样调查,其采样时间分别对应消落带退水初期、草本植被生长旺盛期及消落带淹水前期,而冬季适生草本植被处于水淹状态,无法完成土壤取样。

实验材料为经过 8 a 反复水淹,生长状况良好的多年生草本植物狗牙根、牛鞭草根际土壤。为了确保样地不受到消落带上部可能的人为干扰以及下部的水文干扰带来的影响,采样时选择在海拔 160—170 m 中间地带划定 S 形取样带。在此海拔区间,两种草本生长状况良好,植被纯度及覆盖率高,在 S 形样带内划定 3 个 1 m×1 m 取样样方,每个样方间距十米以上。在每个样方内按梅花形设置 5 个(15 cm×15 cm×20 cm)重复取样点,去除表层地被物后,采集 0—20 cm 土层的原状土壤样品,然后将一个样方内的根际土壤混合。根际土壤的采样方法参考 Riley 和 Barberd 的抖落法,除去根系附近的石子及动植物残体,抖落根系表面的粒土和杂质,采集附着于根际表面 4 mm 以内的土壤作为根际土样^[15]。每个季节采集土壤混合样本 6 个,3 个季节共采集根际土壤混合样本 18 个。

采集的土壤样品分为两部分,一部分储存于-80℃用于细菌群落测定,一部分自然风干,研磨过筛(1 mm 和 0.25 mm),用于其他土壤化学性质的测定。土壤含水量采用烘干法^[16]测定,土壤 pH 值采用电极电位法测定(1:2.5 土水比浸提液),土壤全碳(TC)、全氮(TN)含量测定采用元素分析仪(Elementar Vario EL,德国),土壤有机质(OM)测定采用水合热重铬酸钾-硫酸-比色法^[17];土壤全磷(TP)、速效磷(AP)含量测定采用钼锑抗比色法;全钾(TK)、速效钾(AK)含量测定采用电感耦合等离子体发射光谱法^[18](ICP-OES, Thermo Fisher iCAP 6300,英国),土壤硝态氮、铵态氮采用全自动间断化学分析仪(CleverChem,德国)测定。

1.3 基于高通量测序的细菌群落结构分析

本研究中根际土壤总 DNA 的提取采用 DNeasy® PowerSoil® Kit(QIAGEN)试剂盒,操作步骤按内置使用说明进行,提取的总 DNA 经过 1.2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定,然后置于-20℃保存备用。采用通用引物细菌 16S V4—V5 区进行聚合酶链式反应(PCR)扩增,引物序列为 515F(5-GTGCCAGCMGCCGCGG-3)和 907R(5-CCGTC AATTCMTTTRAGTTT-3),每个样品进行三次重复扩增,然后混合同一样品扩增产物;PCR 产物切胶纯化,Qubit 荧光定量仪定量之后,等摩尔混合,建立测序文库,采用 illumina hiseq 进行测序。

测序获得的数据采用微生物生态学定量研究平台研究平台(QIIME)进行进一步的生物信息学分析^[19],采用 FLASH 算法拼接双端序列,同时,为获得高质量序列,根据质量分数 Q20 对序列进行质控,使用 UPARSE 算法^[20]将得到的高质量序列进行聚类 OTU,在聚类过程中严格去除嵌合体序列,使用核糖体数据库项目(RDP)数据库对可操作分类单元(OTU)代表序列进行物种注释。

土壤细菌 α 多样性由 Chao1 指数、Simpson 指数、Shannon 指数、Observed-Otus 和 PD-whole-tree 指数进行表征,Chao1 指数反映了种群的丰富度,Shannon 和 Simpson 指数反映了物种多样性,Observed-Otus 表示注释的 OTU 数目,通过对相似度高于 97% 的序列进行 Cluster 聚类得到。PD-whole-tree 指数是基于系统发育树进行计算的,其过程是将样品的代表序列发育树枝长加和,得到多样性指数,其值越大,群落多样性越高。

相关计算公式为:

$$\text{Chao 1 指数}(C): C = S_1 + \frac{n_1(n_1 - 1)}{2(n_2 + 1)}$$

$$\text{Simpson 指数}(D): D = \frac{\sum_{i=1}^{S_1} n_i(n_i - 1)}{N(N - 1)}$$

$$\text{Shannon-Wiener 指数}(H): H = - \sum_{i=1}^{S_1} \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$$

其中, S_1 为观察到的 OTU 目; n_i = 含有 i 条序列的 OTU 数目; N = 所有序列数。

1.4 统计分析

采用单因素方差分析(ANOVA)对不同季节根际土壤理化特性及细菌群落功能丰度进行分析,采用冗余

分析(RDA)分析微生物群落与土壤理化性质之间的关系,用 PICRUS2^[21]对细菌群落进行功能预测分析,下游数据分析在 QIIME、R 软件、SPSS 18.0 中进行,采用 R 4.0.3、Canoco 5、Excel 2018 作图。

2 结果与分析

2.1 植物根际土壤理化性质

研究区域土壤温度在不同季节间存在显著差异($P < 0.05$),其中夏季温度最高(表 1)。如表 1 所示,根际土壤含水量范围为 16.84%—18.86%,季节间差异不显著。狗牙根和牛鞭草两种适生草本根际土壤 pH 值范围为 6.89—7.37,且夏秋两季 pH 值显著高于春季($P < 0.05$)。与此同时,根际土壤全碳、全氮含量夏季显著高于秋季($P < 0.05$);土壤有机质含量秋季显著低于春夏两季($P < 0.05$);土壤铵态氮含量夏季显著大于春季($P < 0.05$);土壤速效钾随季节逐渐升高,且秋季显著大于春季($P < 0.05$)。

表 1 植物根际土壤理化性质的季节动态变化

Table 1 Seasonal dynamics of physicochemical properties of rhizosphere soils

土壤因子 Soil factors	春季 Spring	夏季 Summer	秋季 Autumn	土壤因子 Soil factors	春季 Spring	夏季 Summer	秋季 Autumn
T/°C	22.87±0.41c	27.42±0.19a	23.8±0.14b	TP/(mg/kg)	1.37±0.05a	1.05±0.22a	1.25±0.07a
ORP	325.83±12.40a	326.5±12.88a	293.5±10.63a	TK/(mg/kg)	23.95±0.34a	22.01±1.45a	23.77±0.19a
BD	1.37±0.042a	1.37±0.08a	1.40±0.06a	OM/(g/kg)	22.42±2.85a	23.07±2.84a	11.98±1.44b
SWC/%	18.32±0.51a	16.84±1.35a	18.86±1.09a	NH ₄ ⁺ /(mg/kg)	7.43±0.63b	11.33±1.62a	10.05±0.80ab
pH	6.89±0.036b	7.16±0.09a	7.37±0.101a	NO ₃ ⁻ /(mg/kg)	1.46±0.12a	1.06±0.08a	1.54±0.29a
TC/(g/kg)	14.25±2.26ab	17.46±2.91a	9.75±1.41b	AP/(mg/kg)	17.44±2.87a	14.70±1.44a	14.69±2.35a
TN/(g/kg)	1.77±0.18ab	1.90±0.25a	1.18±0.14b	AK/(mg/kg)	15.33±2.03b	21.21±1.85ab	23.83±3.36a

T:土壤温度 Temperature; ORP:土壤氧化还原电位 Oxidation-reduction potential; BD:土壤容重 Bulk density; SWC:土壤含水量 Soil water content; pH:土壤 pH 值 pH value; TC:土壤全碳 Total carbon; TN:土壤全氮 Total nitrogen; TP:土壤全磷 Total phosphorus; TK:土壤全钾 Total potassium; OM:土壤有机质 Organic matter; NH₄⁺:土壤铵态氮 Soil ammonium nitrogen; NO₃⁻:土壤硝态氮 Soil nitrate nitrogen; AP:土壤速效磷 Available phosphorus; AK:土壤速效钾 Available potassium;不同小写字母表示不同季节间差异显著($P < 0.05$);表中数据为平均值±标准误

2.2 根际土壤微生物群落 α 多样性指数

经过对 3 个季节两种适生草本根际土壤样品进行 16S rRNA 测序及物种注释,共得到 24409 个 OTU,其中春季、夏季、秋季各有 16499、17111、19559 个 OTU。3 个季节共有的 OTU 数目为 11486,约占总数的 47.1%;春季和夏季独有的 OTU 数目较为相似,分别占 OTU 总数的 8.1%和 8%,而秋季独有的 OTU 数目最多,约占全部的 13.1%。可见,秋季草本根际土壤中细菌物种数最多,春季和夏季较少(图 1)。

如表 2 所示,研究区域狗牙根与牛鞭草两种草本的根际土壤细菌群落 α 多样性指数存在显著的季节性差异,在春、夏、秋三次取样中,Chao1、Shannon 指数、Observed-Otus 均表现为秋季显著大于春夏两季($P < 0.05$)、PD-whole-tree 指数在秋季显著大于春季($P < 0.05$)。

2.3 根际土壤微生物群落结构组成

通过对 3 个季节植物根际土壤样本的高通量测序,共获得 1882871 条高质量序列,其中最少序列为 27715

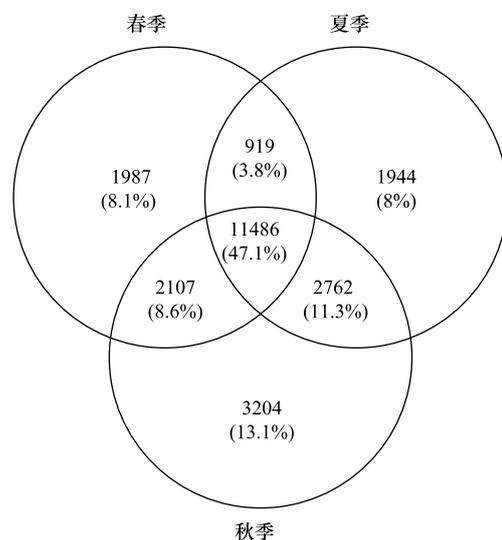


图 1 不同季节根际土壤细菌 OTUs Venn 图

Fig.1 Venn diagram showing overlap in rhizosphere bacterial OTUs from different seasons

OTUs:可操作分类单元(Operational Taxonomic Unit),代表发现的物种数

条,最多序列为 233350 条,平均 104604 条。这些序列的 99.87%可以分类到不同的细菌门,0.09%与数据库进行对比后分类到古菌门类。

表 2 根际土壤细菌群落 α 多样性指数的季节变化

Table 2 Seasonal variation of α -diversity index of rhizosphere soil bacterial community

多样性指数 Diversity index	春季 Spring	夏季 Summer	秋季 Autumn
Chao 指数 Chao1	6522.32±216.70b	7301.04±336.92b	8766.21±258.15a
辛普森指数 Simpson Index	0.9972±0.0006a	0.9965±0.0013a	0.9988±0.0001a
香农指数 Shannon Index	10.51±0.11b	10.64±0.13b	11.05±0.068a
观测的特征数 Observed-Otus	4245±77.60b	4579±135.76b	5108±134.35a
PD-whole-tree 指数 PD-whole-tree	198.15±3.9b	210.97±5.41ab	225.40±6.40a

所有样本共检测到细菌 60 门、151 纲、245 目、268 科和 403 属。图 2 和图 3 分别展示了不同季节各样地门(Phylum)和纲(Class)分类水平的细菌群落结构。由图 2 可知,3 个季节适生草本根际土壤中检测到的主要门有变形菌门(Proteobacteria)、酸杆菌门(Acidobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、放线菌门(Actinobacteria)、浮霉菌门(Planctomycetes)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、厚壁菌门(Firmicutes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)和未知菌门(WS3)。其中,变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门是根际土壤中占主导地位的细菌门类,约占细菌总数的 70.46%。各个季节根际细菌群落在组成上较为相似,其中仅放线菌门的相对丰度在春季显著低于秋季($P < 0.05$),芽孢杆菌门的相对丰度在夏季显著低于秋季($P < 0.05$),其余各门在季节间分布较均匀,差异不显著。纲分类层次(图 3)的统计表明,样品中优势菌纲主要有 α -变形杆菌纲(Alphaproteobacteria)、 β -变形菌纲(Betaproteobacteria)、酸杆菌纲(Acidobacteria-6)、 δ 变形菌纲(Deltaproteobacteria)、 γ 变形菌纲(Gammaproteobacteria),约占全部样品的 51.41%,其中,仅 α -变形杆菌纲相对丰度在春季显著高于夏季($P < 0.05$)。

2.4 根际土壤细菌群落与环境因子相关性

图 4 展示了各季节对细菌群落结构贡献率较大的理化因子与主要细菌门类的相关关系,其结果表明,春季适生草本根际土壤中 94.26%的细菌群落变化是由土壤理化性质引起的,此外, RDA 图的轴 1 解释了 81.04%,轴 2 进一步解释了 13.22%,对根际细菌群落结构贡献率较大的有土壤氧化还原电位(ORP)和 TP;此外,变形菌门、硝化螺旋菌门与土壤 pH 值和含水量呈显著正相关关系,与土壤 ORP 呈显著负相关关系。

夏季第一物种轴与第二物种轴分别可以解释 78.17%、17.36%的物种数据变化,累计解释了 95.53%的物种-环境关系,对夏季根际细菌群落贡献较大的有土壤 AK 和 TP,其中土壤 AK 对细菌群落有显著影响;此外,

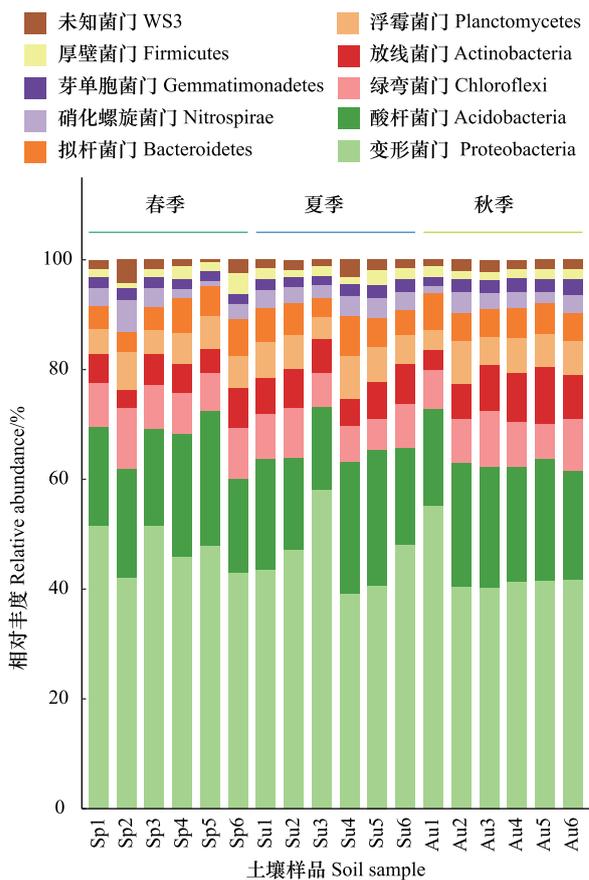


图 2 不同季节根际土壤样品中优势细菌门的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of dominant phylum in rhizosphere soil samples in different seasons

Sp 代表春季, Su 代表夏季, Au 代表秋季; 纵坐标代表主要细菌种类的相对丰度

土壤 AK、TK、TP 和 TN 与放线菌门、变形菌门呈正相关关系,与硝化螺旋菌门、厚壁菌门和绿弯菌门呈负相关关系。

秋季第一物种轴与第二物种轴分别可以解释 74.73%、20.6%的物种数据变化,累计解释了 95.33%的物种-环境关系,秋季土壤 OM 和含水量(SWC)对根际细菌群落组成有显著影响。此外,绿弯菌门、厚壁菌门和芽单胞菌门与土壤 NO₃ 呈正相关关系,与土壤 OM、AK 和 TP 呈负相关关系。

2.5 根际土壤细菌群落功能预测

通过对京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库进行比对,共获得 6 类一级生物代谢通路功能(图 5):代谢、遗传信息处理、环境信息处理、细胞过程、有机系统、人类疾病。在分布于 6 个代谢途径的细菌群落中,共鉴定了 45 个二级 KEGG 数据库中功能直系同源物(KO)组。其中,代谢、人类疾病、遗传信息处理和环境信息处理途径最为普遍,分别占 27.47%、19.4%、18.23%和 14.06%。

对预测基因二级功能层丰度进行分析(图 6),发现根际细菌群落主要涉及膜运输(10.69%)、翻译(9.69%)、氨基酸代谢(8.84%)、碳水化合物代谢(7.09%)、辅助因子和维生素的代谢(5.78%)、能量代谢(Energy metabolism)(5.38%)、复制和修复(5.14%)等 45 个二级功能,其中 14 个功能基因的丰度表现出显著的季节性差异(图 6)。

3 讨论

3.1 不同季节适生草本根际细菌群落结构特征

三峡库区消落带适生草本根际土壤细菌优势门为变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、绿弯菌门,这与大量研究土壤细菌的文献结果较为一致^[22-23]。本研究中,3 个季节细菌群落结构在门水平上组成较为相似,说明适生草本经过 8 a 的反复水淹,形成了较为稳定的根际细菌群落环境。变形菌门是根际细菌群落中丰度最大的一个门,现有的研究表明,变形菌门广泛分布于各种生境,如湖泊湿地^[24]、盐渍化土壤^[25]、温带针叶林土壤^[26]等,其包括的 α-变形杆菌纲、β-变形杆菌纲、δ 变形杆菌纲和 γ 变形杆菌纲在纲水平所占比例也超过了 41%。α-变形杆菌纲包含有植物共生菌(根瘤菌)等固氮细菌^[27],春季 α-变形杆菌纲的相对丰度显著高于秋季,对提高适生草本在退水初期固氮能力,进而促进植物快速生长具有重要意义。

放线菌门多数严格好氧,其分枝状的菌丝体能够产生各种胞外水解酶,降解土壤中各种难溶性有机物质以供细胞代谢所需的各种营养,在自然界物质循环、土壤改良等方面都具有重要作用^[28]。本研究中,放线菌门在秋季的相对丰度均显著高于春季,这与春季消落带退水初期土壤含水量高有一定关系,土壤水分过多会降低其透气性,而土壤含氧量较高的环境更适合放线菌门的生长,同时,放线菌能够分解纤维素和木质素^[29],秋季的土壤中,由于经过了一个生长季,可能有更多的纤维素和木质素,提供了更多的营养源供给放线菌的生长繁衍。Lauber 等^[30]发现芽单胞菌门更适合在土壤含水量较低的环境下生存,芽单胞菌门在夏季的相对丰

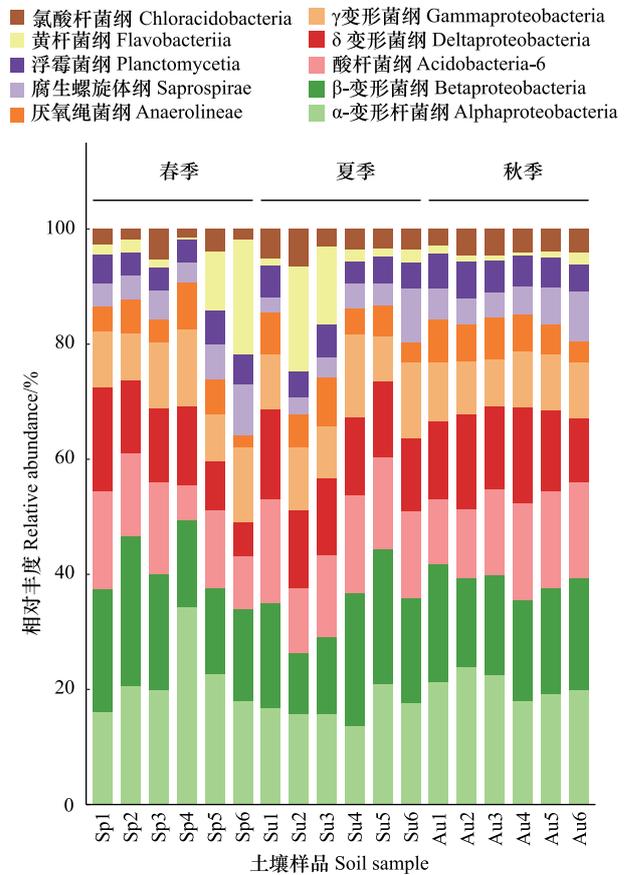


图 3 不同季节根际土壤样品中优势细菌纲的相对丰度
Fig.3 Relative abundance of dominant Class in rhizosphere soil samples in different seasons

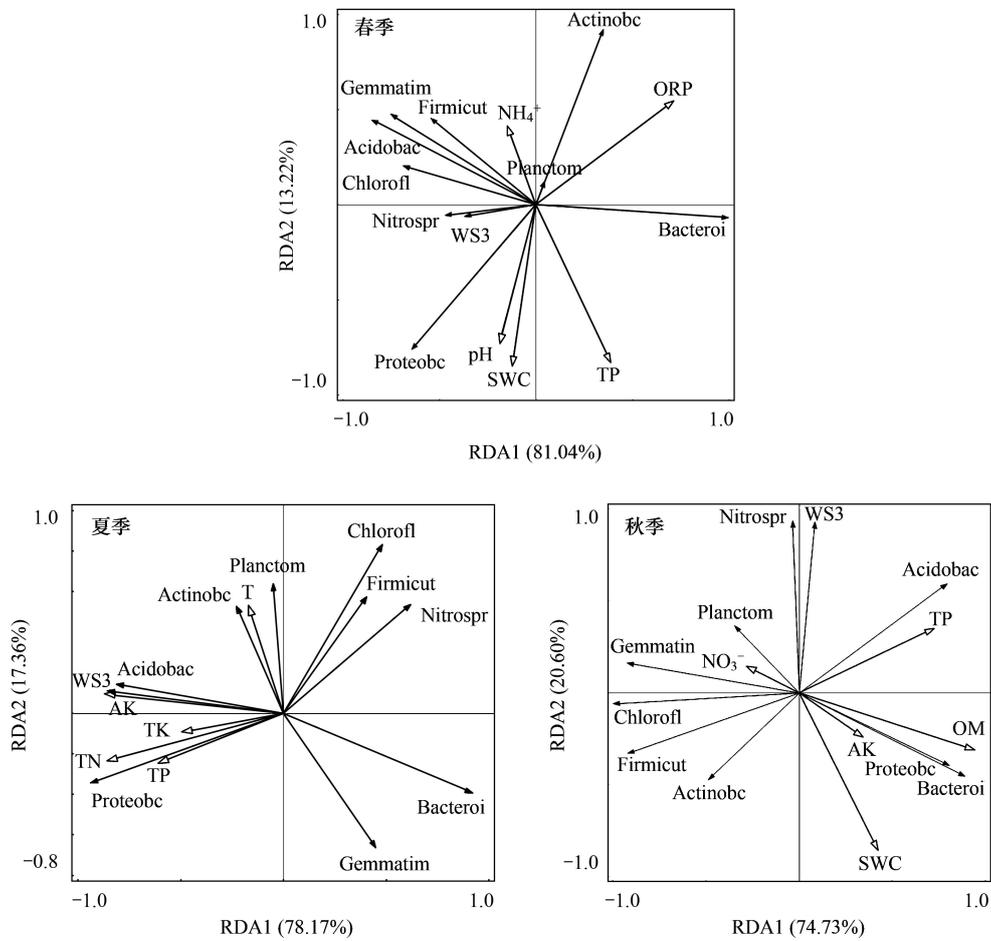


图 4 不同季节环境因素对土壤细菌群落结构特征影响的冗余分析

Fig.4 Redundancy analysis (RDA) of dominant bacterial phylum and soil environmental factors in different seasons

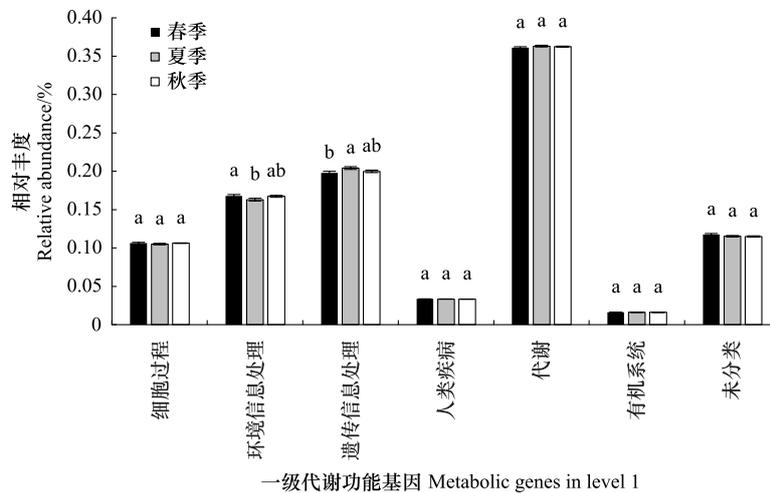


图 5 不同季节根际细菌预测功能基因一级功能丰度图

Fig.5 Relative abundance of rhizosphere soil bacterial community in different seasons in level 1

不同小写字母表示各代谢基因丰度在不同季节差异显著 ($P < 0.05$)

度均显著低于秋季,这与取样年份研究区降水过多有关,且取样当年夏季水位线一直保持较高水平,这在一定程度上说明了环境条件的变化会影响细菌群落的组成和分布。

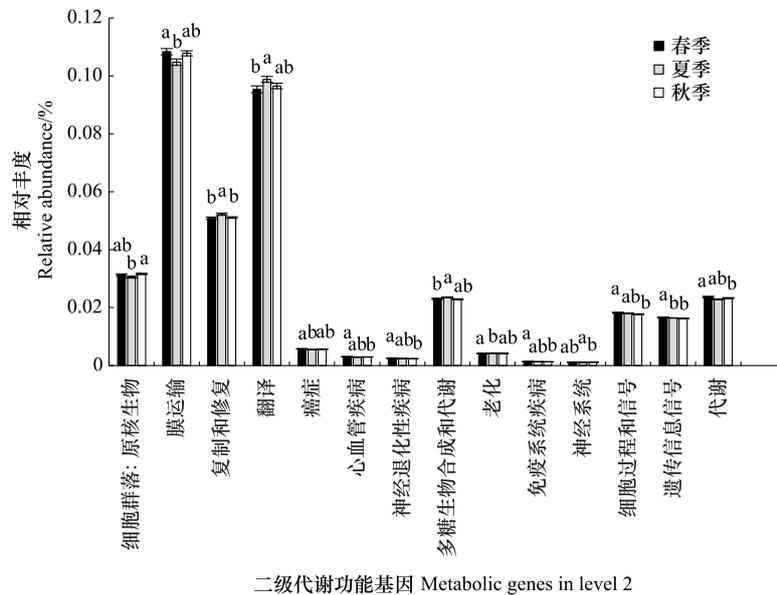


图 6 不同季节根际细菌预测功能基因二级功能丰度图

Fig.6 Relative abundance of rhizosphere soil bacterial community in different seasons in level 2

不同小写字母表示各代谢基因丰度在不同季节差异显著 ($P < 0.05$)

3.2 不同季节适生草本根际土壤细菌群落与多样性的影响因素

利用多样性指数分析土壤细菌群落是一种非常有效的方法^[31],土壤细菌多样性对提高土地生产力、增强胁迫环境下群落稳定性有着重要影响^[32]。本研究发现,根际细菌 α 多样性的变化与季节显著相关,说明土壤环境的季节变化显著影响适生草本根际细菌群落的丰富度和均匀度,且根际细菌群落的 α 多样性指数都表现为秋季 > 夏季 > 春季,即根际细菌种类随时间推移逐渐增加。有学者通过研究呼伦贝尔草原土壤细菌多样性的季节变化特征,发现 α 多样性指数在夏季最高,其次为秋季^[33]。但本研究结果与之不同,这与三峡库区反季节水位调度方式有关,即夏季低水位运行,冬季高水位运行,春季消落带水位逐渐下降,植物初露开始生长,细菌群落多样性最低;夏季温度最高,植被逐渐恢复生长,群落多样性较春季有所上升,但取样当年研究区夏季降水较多,土壤通气性和水分入渗减少,厌氧条件会限制好氧微生物的生长^[34];秋季降水较夏季减少,植物生长繁茂,植被的生长可以为细菌提供分泌物等一系列资源,故秋季群落多样性最大。总体而言,这些结果表明,适生草本根际细菌群落多样性对季节性环境波动有明显响应。

土壤温度、湿度、pH 值、有机和无机养分水平的变化可以影响微生物群落的结构^[35]。RDA 分析显示,影响研究区适生草本根际土壤细菌群落结构的理化因子主要有土壤 ORP、土壤有机质、土壤全磷和全钾等。Husson 证明了土壤 ORP 是土壤、植物、微生物系统的主要驱动因素^[36],这与本研究结果相似,消落带为水陆交错地带,干湿交替的土壤环境下,土壤氧化还原电位降低,促进还原物质产生,有利于有机质及氮元素的积累^[37],从而对细菌群落结构造成影响;土壤有机质对秋季细菌群落结构有显著影响 ($P < 0.05$),有机质含量与土壤肥力存在着密切的关系,可为植物提供营养物质,促进植物的生长发育,同时也可改变土壤的物理性质,促进土壤微生物的活动^[38],本研究中土壤有机质含量与细菌群落结构显著相关,其原因是随着人工修复草本植被年份的增加,土壤肥力得到很大改善,土壤根系分泌物增加,进而导致微生物群落结构的改善。

3.3 不同季节适生草本根际土壤细菌功能特征

植被对土壤细菌群落结构的影响会进一步影响土壤细菌功能组成^[39],目前三峡库区消落带土壤微生物研究主要集中在细菌群落多样性^[40],对细菌功能方面鲜有研究。PICRUSTt 较宏基因组研究成本低,更加方便快捷,已广泛的用于土壤^[41]、水体^[42]等不同生境的微生物功能研究。

PICRUSt2 功能预测结果表明,三峡库区消落带适生草本根际土壤中共有代谢、遗传信息处理、环境信息处理、细胞过程、有机系统、人类疾病 6 个一级功能层和膜运输、翻译、氨基酸代谢、碳水化合物代谢等 45 个二级功能层。土壤代谢功能在一级功能层中占比最高,这与对湿地土壤细菌功能研究的结果一致^[43]。部分细菌类群可通过代谢产生抗生素、抑菌蛋白及促生长激素等,从而提高消落带适生草本植物抑制病原菌的能力,促进植物的生长^[44]。

碳和氮的数量和质量可以通过调节细菌群落组成来驱动地下生态功能^[45]。二级功能层中,膜运输、翻译、氨基酸代谢、碳水化合物代谢的功能基因丰度最高,总计超过了 36%。土壤细菌活跃的膜运输功能有利于维持细菌各项生命活动,是土壤细菌正常发挥其功能的基础^[46]。氨基酸代谢主要通过脱氨作用、转氨作用、联合脱氨或脱羧作用分解成 α -酮酸、胺类及 CO_2 ,是碳代谢和氮代谢的中枢;碳水化合物合成与代谢则与氮、磷循环呈正相关,间接说明土壤细菌丰富度越高越有利于氮、磷的转化和迁移^[47],适生草本根际细菌中高丰度的此类功能基因,证明了根际土壤细菌在氮磷循环中发挥着重要的作用,同时氨基酸代谢可助细菌吸收氨基酸^[48],利于适生草本在消落带特殊生境下的存活与繁衍。根际土壤细菌 α 多样性指数在春季最低,而膜运输基因则在春季表现出最高丰度,这一现象与生态系统的自我调节机制有关,高丰度的膜运输功能基因可调节溶质如离子和小分子等通过生物膜,以促进根际土壤细菌在消落带退水初期快速生长。同时,各代谢途径在不同季节中也表现出一定差异,这与不同季节的植物相关活动有关,植被凋落物和根系分泌物的季节差异会改变土壤细菌组成和多样性,进而对土壤功能微生物产生特定的影响^[49]。

尽管 PICRUSt2 功能预测能够对细菌功能进行分析,但由于该功能预测没有基因数据支持,存在一定缺陷^[50],后续可结合宏基因组技术,对根际细菌与适生草本的相互作用机制进行进一步的研究。

4 结论

三峡库区适生草本植物根际土壤细菌多样性在秋季显著大于夏秋两季,而细菌群落组成在各季节差异不大,其中变形菌门、酸杆菌门、拟杆菌门、绿弯菌门为适生草本根际土壤中的优势菌门。土壤 ORP 和 TP 对春季细菌群落影响较大,AK 对夏季细菌群落影响显著,OM 和 SWC 对秋季细菌群落影响显著。根际土壤细菌功能预测表明,三峡库区消落带适生草本根际土壤中与 C、N、P 有关的细菌代谢功能丰度较高。

参考文献 (References):

- [1] Chen F Q, Xie Z Q. Reproductive allocation, seed dispersal and germination of *Myricaria laxiflora*, an endangered species in the Three Gorges Reservoir area. *Plant Ecology*, 2007, 191(1): 67-75.
- [2] 苏维词. 三峡库区消落带的生态环境问题及其调控. *长江科学院院报*, 2004, 21(2): 32-34, 41.
- [3] 马利民, 唐燕萍, 张明, 滕衍行, 刘东燕, 赵建夫. 三峡库区消落区几种两栖植物的适生性评价. *生态学报*, 2009, 29(4): 1885-1892.
- [4] 王海锋, 曾波, 李娅, 乔普, 叶小齐, 罗芳丽. 长期完全水淹对 4 种三峡库区岸生植物存活及恢复生长的影响. *植物生态学报*, 2008, 32(5): 977-984.
- [5] 洪明, 郭泉水, 聂必红, 康义, 裴顺祥, 金江群, 王祥福. 三峡库区消落带狗牙根种群对水陆生境变化的响应. *应用生态学报*, 2011, 22(11): 2829-2835.
- [6] Luo F L, Thiele B, Janzik I, Zeng B, Schurr U, Matsubara S. De-submergence responses of antioxidative defense systems in two wetland plants having escape and quiescence strategies. *Journal of Plant Physiology*, 2012, 169(17): 1680-1689.
- [7] Li M, Yang D, Li W. Leaf gas exchange characteristics and chlorophyll fluorescence of three wetland plants in response to long-term soil flooding. *Photosynthetica*, 2007, 45(2): 222-228.
- [8] Luo F L, Nagel K A, Scharr H, Zeng B, Schurr U, Matsubara S. Recovery dynamics of growth, photosynthesis and carbohydrate accumulation after de-submergence: a comparison between two wetland plants showing escape and quiescence strategies. *Annals of Botany*, 2011, 107(1): 49-63.
- [9] 李丽娟, 谢婷婷, 张松林, 袁中勋, 刘明辉, 李昌晓. 三峡库区消落带 4 种适生植物根际与非根际土壤养分与酶活性特征研究. *生态学报*, 2020, 40(21): 7611-7620.
- [10] 韩文娇, 白林利, 李昌晓. 水淹胁迫对狗牙根光合、生长及营养元素含量的影响. *草业学报*, 2016, 25(5): 49-59.
- [11] Hartmann A, Rothballer M, Schmid M. Lorenz Hiltner, a pioneer in rhizosphere microbial ecology and soil bacteriology research. *Plant and Soil*,

- 2008, 312(1): 7-14.
- [12] 陆雅海, 张福锁. 根际微生物研究进展. 土壤, 2006, 38(2): 113-121.
- [13] 鲁如坤. 土壤-植物营养学原理和施肥. 北京: 化学工业出版社, 1998.
- [14] Langille M G I, Zaneveld J, Caporaso J G, McDonald D, Knights D, Reyes J A, Clemente J C, Burkepille D E, Vega Thurber R L, Knight R, Beiko R G, Huttenhower C. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences. *Nature Biotechnology*, 2013, 31(9): 814-821.
- [15] 高雨秋, 戴晓琴, 王建雷, 付晓莉, 寇亮, 王辉民. 亚热带人工林下植被根际土壤酶化学计量特征. 植物生态学报, 2019, 43(3): 258-272.
- [16] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-109.
- [17] 杨贵明. 土壤有机质的光度法测定. 土壤肥料, 1987(1): 43-44.
- [18] Spohn M, Widdig M. Turnover of carbon and phosphorus in the microbial biomass depending on phosphorus availability. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 113: 53-59.
- [19] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, Bittinger K, Bushman F D, Costello E K, Fierer N, Peña A G, Goodrich J K, Gordon J I, Huttley G A, Kelley S T, Knights D, Koenig J E, Ley R E, Lozupone C A, McDonald D, Muegge B D, Pirrung M, Reeder J, Sevinsky J R, Turnbaugh P J, Walters W A, Widmann J, Yatsunenko T, Zaneveld J, Knight R. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336.
- [20] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [21] Douglas G M, Maffei V J, Zaneveld J R, Yurgel S N, Brown J R, Taylor C M, Huttenhower C, Langille M G I. PICRUSt2 for prediction of metagenome functions. *Nature Biotechnology*, 2020, 38(6): 685-688.
- [22] Zhang T, Shao M F, Ye L. 454 Pyrosequencing reveals bacterial diversity of activated sludge from 14 sewage treatment plants. *The ISME Journal*, 2012, 6(6): 1137-1147.
- [23] Delgado-Baquerizo M, Oliverio A M, Brewer T E, Benavent-González A, Eldridge D J, Bardgett R D, Maestre F T, Singh B K, Fierer N. A global atlas of the dominant bacteria found in soil. *Science*, 2018, 359(6373): 320-325.
- [24] 王鹏, 陈波, 张华. 基于高通量测序的鄱阳湖典型湿地土壤细菌群落特征分析. 生态学报, 2017, 37(5): 1650-1658.
- [25] 李明, 毕江涛, 王静. 宁夏不同地区盐碱化土壤细菌群落多样性分布特征及其影响因子. 生态学报, 2020, 40(4): 1316-1330.
- [26] 乔沙沙, 周永娜, 刘晋仙, 景炬辉, 贾彤, 李鑫, 杨欣, 柴宝峰. 关帝山针叶林土壤细菌群落结构特征. 林业科学, 2017, 53(2): 89-99.
- [27] Dedysh S N, Rieke P, Liesack W. NifH and NifD phylogenies: an evolutionary basis for understanding nitrogen fixation capabilities of methanotrophic bacteria. *Microbiology: Reading, England*, 2004, 150(Pt 5): 1301-1313.
- [28] 马文文, 姚拓, 靳鹏, 王国基, 张玉霞. 荒漠草原 2 种植物群落土壤微生物及土壤酶特征. 中国沙漠, 2014, 34(1): 176-183.
- [29] Kanokratana P, Uengwetwanit T, Rattanachomsri U, Buntermgsook B, Nimchua T, Tangphatsomruang S, Plengvidhya V, Champreda V, Eurwilaichitr L. Insights into the phylogeny and metabolic potential of a primary tropical peat swamp forest microbial community by metagenomic analysis. *Microbial Ecology*, 2011, 61(3): 518-528.
- [30] Lauber C L, Hamady M, Knight R, Fierer N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(15): 5111-5120.
- [31] 隋心, 张荣涛, 钟海秀, 许楠, 王继丰, 刘应竹, 袁海峰, 倪红伟. 利用高通量测序对三江平原小叶章湿地土壤细菌多样性的研究. 土壤, 2015, 47(5): 919-925.
- [32] 丁钰珮, 杜宇佳, 高广磊, 张英, 曹红雨, 朱宾宾, 杨思远, 张傲醒, 邱业, 刘惠林. 呼伦贝尔沙地樟子松人工林土壤细菌群落结构与功能预测. 生态学报, 2021, 41(10): 4131-4139.
- [33] 李梓正, 朱立博, 林叶春, 胡跃高, 曾昭海. 呼伦贝尔草原不同退化梯度土壤细菌多样性季节变化. 生态学报, 2010, 30(11): 2883-2889.
- [34] 李君锋, 杨建文, 杨婷婷, 达文燕, 胡磊, 景彩虹, 姚健, 牛世全. 甘肃玛曲高寒草甸土壤微生物季节变化特性的研究. 草业科学, 2012, 29(2): 189-197.
- [35] Thoms C, Gleixner G. Seasonal differences in tree species' influence on soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 66: 239-248.
- [36] Husson O. Redox potential (Eh) and pH as drivers of soil/plant/microorganism systems: a transdisciplinary overview pointing to integrative opportunities for agronomy. *Plant and Soil*, 2013, 362(1): 389-417.
- [37] Sahrawat K L. Organic matter accumulation in submerged soils. *Advances in Agronomy*, 2003, 81: 169-201.
- [38] 李志洪, 赵兰坡, 窦森. 土壤学. 北京: 化学工业出版社, 2008: 80-85.
- [39] Landesman W J, Nelson D M, Fitzpatrick M C. Soil properties and tree species drive β -diversity of soil bacterial communities. *Soil Biology and*

- Biochemistry, 2014, 76: 201-209.
- [40] Ren Q S, Li C X, Yang W H, Song H, Ma P, Wang C Y, Schneider R L, Morreale S J. Revegetation of the riparian zone of the Three Gorges Dam Reservoir leads to increased soil bacterial diversity. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(24): 23748-23763.
- [41] 厉桂香, 马克明. 北京东灵山树线处土壤细菌的 PICRUSt 基因预测分析. *生态学报*, 2018, 38(6): 2180-2186.
- [42] 阴星望, 田伟, 丁一, 孙峰, 袁键, 李玉英, 陈兆进. 丹江口库区表层沉积物细菌多样性及功能预测分析. *湖泊科学*, 2018, 30(4): 1052-1063.
- [43] 张拓, 徐飞, 怀宝东, 杨雪, 隋文志. 松花江下游沿江湿地土地利用变化对土壤细菌群落多样性的影响. *环境科学*, 2020, 41(9): 4273-4283.
- [44] 汪钱龙, 张德智, 王菊芬, 邓必强, 周丽洪, 魏兰芳. 不同植物促生细菌对玉米生长的影响及其生长素分泌能力研究. *云南农业大学学报: 自然科学*, 2015, 30(4): 494-498.
- [45] Chen L C, Sun J Q. The closed-form solution of the reduced Fokker - Planck - Kolmogorov equation for nonlinear systems. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, 2016, 41: 1-10.
- [46] Wu Z X, Hao Z P, Sun Y Q, Guo L P, Huang L Q, Zeng Y, Wang Y, Yang L, Chen B D. Comparison on the structure and function of the rhizosphere microbial community between healthy and root-rot *Panax notoginseng*. *Applied Soil Ecology*, 2016, 107: 99-107.
- [47] 胡洪涛, 朱志刚, 杨靖钟, 曹勘程, 颜冬冬. 不同处理对高山凤头姜姜瘟病的防效及土壤细菌群落结构和功能的影响. *微生物学通报*, 2020, 47(6): 1763-1775.
- [48] Rahman M S, Quadir Q F, Rahman A, Asha M N, Chowdhury M A K. Screening and characterization of Phosphorus solubilizing Bacteria and their effect on Rice seedlings. *Research in Agriculture Livestock and Fisheries*, 2015, 1(1): 27-35.
- [49] Somers E, Vanderleyden J, Srinivasan M. Rhizosphere bacterial signalling: a love parade beneath our feet. *Critical Reviews in Microbiology*, 2004, 30(4): 205-240.
- [50] 闫冰, 付嘉琦, 夏嵩, 易其臻, 桂双林, 吴九九, 熊继海, 魏源送. 厌氧氨氧化启动过程细菌群落多样性及 PICRUSt2 功能预测分析. *环境科学*, 2021, 42(8): 3875-3885.