

DOI: 10.20103/j.stxb.202401070054

朱媛, 王亚鑫, 覃方铨, 孟森, 王胜坤, 陆俊镔. 不同林龄桉树根际及非根际土壤微生物群落结构及功能. 生态学报, 2024, 44(18): 8409-8422.

Zhu Y, Wang Y X, Qin F C, Meng S, Wang S K, Lu J K. Composition and function of soil microbial community in rhizosphere soil and bulk soil of *Eucalyptus* plantation across different stand ages. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(18): 8409-8422.

不同林龄桉树根际及非根际土壤微生物群落结构及功能

朱媛^{1,2}, 王亚鑫¹, 覃方铨^{1,*}, 孟森¹, 王胜坤¹, 陆俊镔¹

1 中国林业科学研究院热带林业研究所, 广州 510520

2 南京林业大学, 南京 210037

摘要: 桉树 (*Eucalyptus* spp.) 是最重要的速生人工林树种之一, 但其导致的不良生态效应使其备受争议。桉树对土壤微生物群落的影响尚缺乏研究。以 2、7、12、17 和 22 年的桉树人工林为研究对象, 利用宏基因组测序技术探究根际和非根际微生物群落结构、多样性及功能对桉树林龄的响应。结果表明: 土壤理化性质及多样性随林龄呈现先降低后升高的趋势。根际土真菌群落多样性在 12 年最低, 非根际土细菌、根际及非根际土古菌群落均在 7 年最低。不同林龄间桉树根际及非根际土的微生物群落组成均存在显著差异, 但并未改变真菌群落优势菌属(根胞囊霉属, *Rhizophagus*)。然而, 根际土的细菌与古菌群落优势菌属与非根际土存在显著差异, 根际土的优势细菌菌属分别为慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*) 及拟杆菌属 (*Bacteroides*), 优势古菌菌属为 *Candidatus-Nitrosotalea* 属及甲烷粒菌属 (*Methanocorpusculum*)。真菌对硝态氮, 细菌、古菌群落 α 多样性及群落组成对 pH 有较大响应。此外, 古菌 α 多样性及群落组成对有效磷有较大响应。真菌、细菌、古菌的功能在根际及非根际间存在显著差异, 且细菌群落的变异最大。研究揭示了不同林龄桉树土壤微生物群落的动态变化规律, 为桉树人工林提质增效、多功能经营提供理论依据。

关键词: 桉树; 林龄; 土壤微生物群落; 多样性; 宏基因组测序

Composition and function of soil microbial community in rhizosphere soil and bulk soil of *Eucalyptus* plantation across different stand ages

ZHU Yuan^{1,2}, WANG Yaxin¹, QIN Fangcuo^{1,*}, MENG Sen¹, WANG Shengkun¹, LU Junkun¹

1 Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China

2 Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China

Abstract: *Eucalyptus* is one of the most important fast-growing tree species for afforestation with economically significance. But its adverse ecological effects of successive planting of *Eucalyptus* plantation have caused controversy, including soil degradation, reduced plant diversity and stand productivity. To ensure their sustainability remains an important topic in forestry. However, our understanding about the effects of *Eucalyptus* on composition and functions of soil microbial community remain poorly understood. Understanding these impacts is crucial to provide a basis for silvicultural management to address the adverse ecological effects on *Eucalyptus* plantations. In order to characterize the dynamics of different microbial categories, such as fungi, bacteria and archaea, a chronosequence of *Eucalyptus* plantations of 2, 7, 12, 17, and 22 years were selected. The metagenomic sequencing was used to measure the response of microbial community structure, diversity, and function in both rhizosphere and bulk soil of *Eucalyptus* plantations across different ages. The results suggested that there was a pattern of initial decline followed by an upswing in soil physicochemical properties and diversity

基金项目: 国家重点研发计划课题 (2023YFD2201005); 国家自然科学基金青年基金 (32101510); 广东省基础与应用基础研究基金 (2022A1515010413); 中国林业科学研究院基本科研业务费项目 (CAFYBB2023MA007)

收稿日期: 2024-01-07; **网络出版日期:** 2024-07-12

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: qinf@caf.ac.cn

with stand age. At 12 years, the fungal communities in rhizosphere soil showed the lowest diversity. Meanwhile, both archaea communities in the rhizosphere and bulk soil, as well as bacteria communities in the bulk soil, had their lowest diversity at 7 years, respectively. The composition of microbial communities between rhizosphere and bulk soil significantly differed across different stand ages. Interestingly, stand age did not induce significant shifts in the dominant fungal genus between rhizosphere and bulk soil, which was identified as *Rhizophagus*. However, the significant changes in the dominant genera of both bacterial and archaeal in rhizosphere soil were detected. The prevailing bacterial groups were identified as *Bradyrhizobium* and *Bacteroides*, while the dominant archaea were identified as *Candidatus-Nitrosotalea* and *Methanocorpusculum*. The nitrate nitrogen significantly influenced the composition and diversity of fungi, while pH significantly influenced bacterial and archaeal diversity and community composition. Additionally, soil phosphorus availability was another major driving factor for archaeal diversity and community composition. There were significant differences in the functional profiles of fungi, bacteria, and archaea between rhizosphere soil and bulk soil. Meanwhile, the bacterial community tended to be more variable than fungi and archaea. This study illustrated the dynamic response of soil microbial communities in both rhizosphere and bulk soil across a chronosequence of *Eucalyptus* plantations. The results emphasize the impacts of stand age on soil physicochemical properties and dynamics of microbial communities. The findings are with important implications for sustainable management of soil microorganisms, improving the productivity and multi-functional management of *Eucalyptus* plantations.

Key Words: *Eucalyptus*; stand age; soil microbial community; diversity; metagenomic sequencing

土壤微生物在地球生物化学循环中扮演着关键的角色^[1],对环境压力反应迅速,是反应土壤功能性、稳定性和可持续性的重要指标^[2]。土壤微生物主要包括细菌、真菌、古菌、原生动物等土壤微生物群体^[3],广泛参与生物固氮、有机磷矿化、有机碳同化固存等过程^[4-5]。理解植物对土壤微生物群落的影响,有助于对土壤微生物进行科学管理,提高生态系统服务与功能。

桉树(*Eucalyptus* spp.)是世界三大造林树种之一,具有产量高、适应性广、经济效益好的特点^[6],被广泛应用于造纸、生物质能源等领域。第九次全国森林资源清查结果显示,我国桉树种植面积超过 546.74 万 hm^2 ^[7]。然而,桉树连栽通常导致土壤退化、土壤养分有效性降低、土壤微生物功能及多样性降低等不良生态效应^[8-9]。与天然次生林相比,桉树人工林的真菌生物量及土壤微生物群落功能均显著降低^[10-11]。也有研究证明延长种植年限能够使林间土壤微生物群落多样性得到恢复,提高土壤养分有效性^[12]。利用乡土树种混交是缓解桉树纯林土壤退化、微生物群落多样性降低的有效措施^[13]。马占相思(*Acacia mangium*)、灰木莲(*Manglietia glauca*)等树种与桉树混交,均显著提高了土壤氮、磷养分有效性及周转率,促进微生物活性和加强关键功能^[14-16]。根际是土壤微生物活动和代谢的热点区域^[17]。植物生长过程中根系发育、根际分泌物、人为营林措施均会使根际和非根际间存在差异^[18],进一步对土壤微生物产生影响^[19-20]。

桉树是短轮伐期的树种,目前对桉树人工林土壤微生物的研究大多集中于不同连栽代次,其生物学特性和生长过程对土壤微生物的影响尚缺乏理解。因此,本研究以 2、7、12、17 和 22 年的桉树人工纯林为研究对象,利用宏基因组测序技术,探究不同林龄的根际及非根际土壤养分有效性变化,真菌、细菌及古菌群落多样性、组成和功能差异,阐明土壤微生物群落不同林龄下对养分有效性的响应,揭示桉树人工林土壤微生物群落随林龄变化的规律。研究结果将增强对桉树人工林生态效应的理解,为桉树人工林提质增效、多功能营林管理提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区域位于广西壮族自治区南宁市高峰林场(22° 97' N—108° 30' E)和七坡林场(22° 75' N—108° 21' E)。两地地理位置靠近,区域典型地貌均为低山丘陵,土壤母质相同,土壤类型均为赤红壤;海拔分别为 171—334 m 和 196—252 m。根据气象资料显示,两地均属典型的亚热带季风气候,年平均气温均为

21.6 °C,年平均降水量为 1300 mm。两地林下植被组成相似,灌木植被主要有牛白藤(*Hedyotis hedyotidea*)、杜茎山(*Maesa japonica*)、蛇蕙筋(*Rubus cochinchinensis*)等;草本植被主要有藿香蓟(*Ageratum conyzoides*)、鬼针草(*Bidens pilosa*)、蔓生莠竹(*Microstegium fasciculatum*)等。

1.2 样品采集

于 2022 年 10 月,选取 5 个林龄(2、7、12、17、22 年)的巨尾桉(*E. grandis* × *E. urophylla*)人工林作为研究对象,每个林型约 6.67 hm²。在每个林龄的桉树人工林样地分别设置 6 个海拔、地形相似且均匀分布的 20 m × 20 m 的样方;每个样方内随机选取 4 棵平均木(生长状况、胸径大小接近),抖落附着于细根上的土壤作为根际土;在两株桉树之间采集 0—20 cm 的土壤样品作为非根际土。将每个样方的 4 个根际土样和 4 个非根际土样分别均匀混合得到一个根际土样品和一个非根际土样品。每个林龄共收集得到 6 个根际土壤样品,6 个非根际土壤样品;5 个林龄共获得 30 个根际土壤样品,30 个非根际土壤样品。所有土壤样品均储存于干冰中,尽快带回实验室。每个样品分为三份,一份保存于-80 °C,用于提取 DNA 进行宏基因组测序;一份过 10 目筛后保存于 4 °C,用于测定硝态氮、铵态氮和微生物生物量碳、氮;另一份样品风干并过 10 目后用于测定 pH 和有效磷,过 100 目筛后用于测定有机碳、全氮和全磷。

1.3 土壤理化性质测定

利用电位法测定土壤 pH,重铬酸钾-浓硫酸外加热法测定土壤有机碳(Soil organic carbon, SOC),半微量凯氏法测定全氮(Total nitrogen, TN),离子色谱法测定铵态氮(NH₄⁺-N)和硝态氮(NO₃⁻-N),钼锑抗比色法测定全磷(Total phosphorus, TP)和有效磷(Available phosphorus, AP)^[21]。利用氯仿熏蒸法测定微生物生物量碳(Microbial biomass carbon, MBC)、微生物生物量氮(Microbial biomass nitrogen, MBN)^[22]。有机氮(Organic nitrogen, OrgN)含量为全氮减无机氮,无机氮为硝态氮与铵态氮的总量。碳氮比(C/N)为有机碳与全氮的比值。

1.4 土壤微生物宏基因组测序

每个林龄选取 6 个土壤样本进行宏基因组测序。使用 CTAB(十六烷基三甲基溴化铵)法提取土壤微生物总 DNA,以 adapter3 (AGATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCAC)和 adapter5 (AGATCGGAAGAGCGTCGTAGGGAAAGACTGT)作为引物^[23]。利用 VAHTS® Universal Plus DNA Library Pren Kit (ND617-C3-02)试剂盒构建测序文库。配对测序在北京百迈客生物科技有限公司的 Illumina Novaseq6000/ Novaseq6000 S4 Reagent Kit 平台上进行。每个样品生成 10 Gb 的宏基因组数据量,测试结果表明,每个样品的测序数据量相对均匀,稀释曲线的测试数据量已达饱和。使用 FASTP 对原始数据进行质量过滤^[24],MEGAHIT 对序列数据进行组装^[25]。使用 MetaGeneMark 进行 ORF 预测^[26]。将非冗余基因集的氨基酸序列和京都基因与基因组百科全书(KEGG)数据库进行比对,获得基因功能注释结果^[27];与 NCBI 非冗余蛋白质(NR)数据库比对,获得物种注释结果^[28]。

1.5 数据分析

使用 Microsoft Excel 2019 整理数据,进行理化性质、 α 多样性指数计算。使用 SPSS 26.0 软件对数据进行正态性及方差齐性检验,均满足正态性及方差齐性,通过双因素分析(ANOVA)检测林龄和土壤位置对理化性质、微生物丰度的影响($P < 0.05$),利用 Duncan 法进行多重比较。使用 R 4.3.2 软件进行主坐标分析(Principal co-ordinates analysis, PCoA)及 PERMANOVA 置换检验、曼特尔检验(Mantel test)、Metastats 差异分析。冗余分析(Redundancy analysis, RDA)中,首先将不同林龄土壤的理化性质指标(pH、SOC、TN、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N、TP、AP、MBC、MBN、OrgN、CN)进行对数转换,再作为环境因子进行共线性分析,剔除存在共线性的因子后,使用 R 软件进行分析,只保留存在显著性的因子。微生物丰度、 α 多样性分析、属水平物种组成及 Metastats 差异分析结果使用 Origin 2022 进行可视化。

2 结果分析

2.1 微生物群落多样性

林龄及土壤位置均显著影响微生物基因数目($P < 0.05$),无显著交互作用(图 1)。在不同林龄桉树间,根

际及非根际土微生物基因数目先降低后升高,呈“U”型,根际土微生物基因数目高于非根际土。除 22 年之外,非根际土真菌群落的 Shannon 及 Simpson 指数均大于根际土,根际土及非根际土 α 多样性指数最大值分别出现在 22 年及 2 年(图 2)。根际土细菌、古菌群落的 Shannon 及 Simpson 指数均大于非根际土,根际土、非根际土细菌群落 α 多样性指数最大值均分别出现在 22 年及 12 年;根际与非根际土古菌群落 α 多样性指数最大值均出现在 12 年。

基于 Bray-Curtis 距离的 PCoA 分析(图 3)表明, PCoA1 和 PCoA2 均较好表征了不同林龄土壤微生物群落结构的差异。PERMANOVA 分析表明,根际及非根际土的真菌、细菌及古菌群落组成均在不同林龄间存在显著差异($P<0.05$)。非根际土 22 年真菌群落与其他林龄存在显著差异,17 年细菌群落与其他林龄存在显著差异。根际及非根际土古菌群落 2 年和 7 年,12、17 和 22 年均分别聚集。

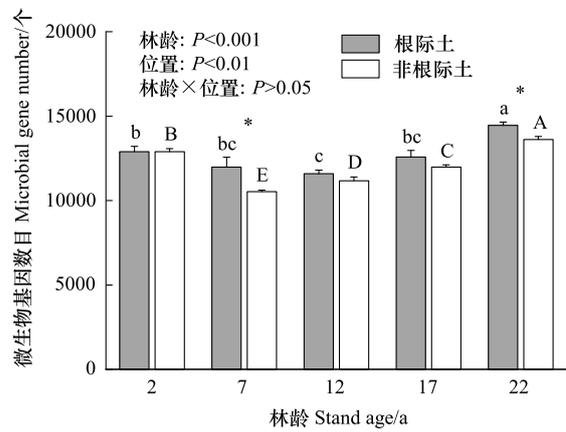


图 1 不同林龄根际及非根际土的微生物基因数目

Fig.1 Microbial gene number between rhizosphere and bulk soil of different stand ages

图中数据为均值±标准误差;不同小写字母表示不同林龄根际土之间的差异显著($P<0.05$);不同大写字母表示不同林龄非根际土之间的差异显著($P<0.05$);*表示同一林龄的根际土与非根际土之间差异显著($P<0.05$)

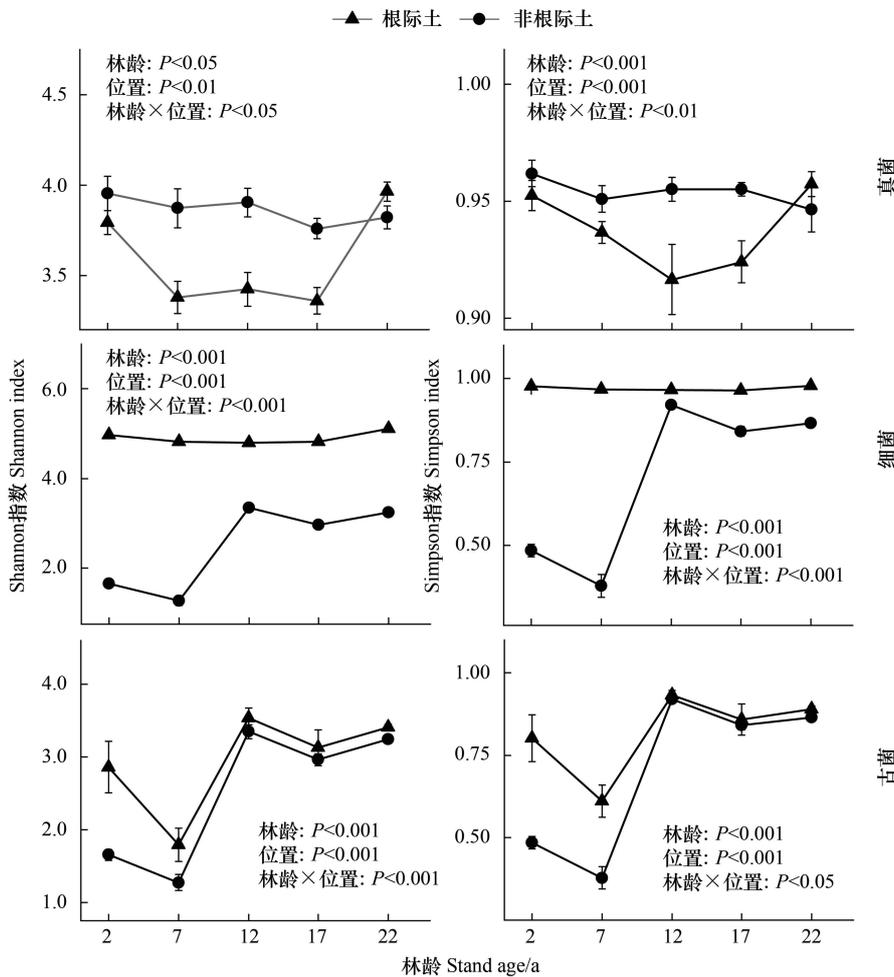


图 2 不同林龄根际及非根际土真菌、细菌及古菌群落的 α 多样性指数

Fig.2 Diversity index of fungal, bacterial and archaeal between rhizosphere and bulk soil of different stand ages

图中数据为均值±标准误差

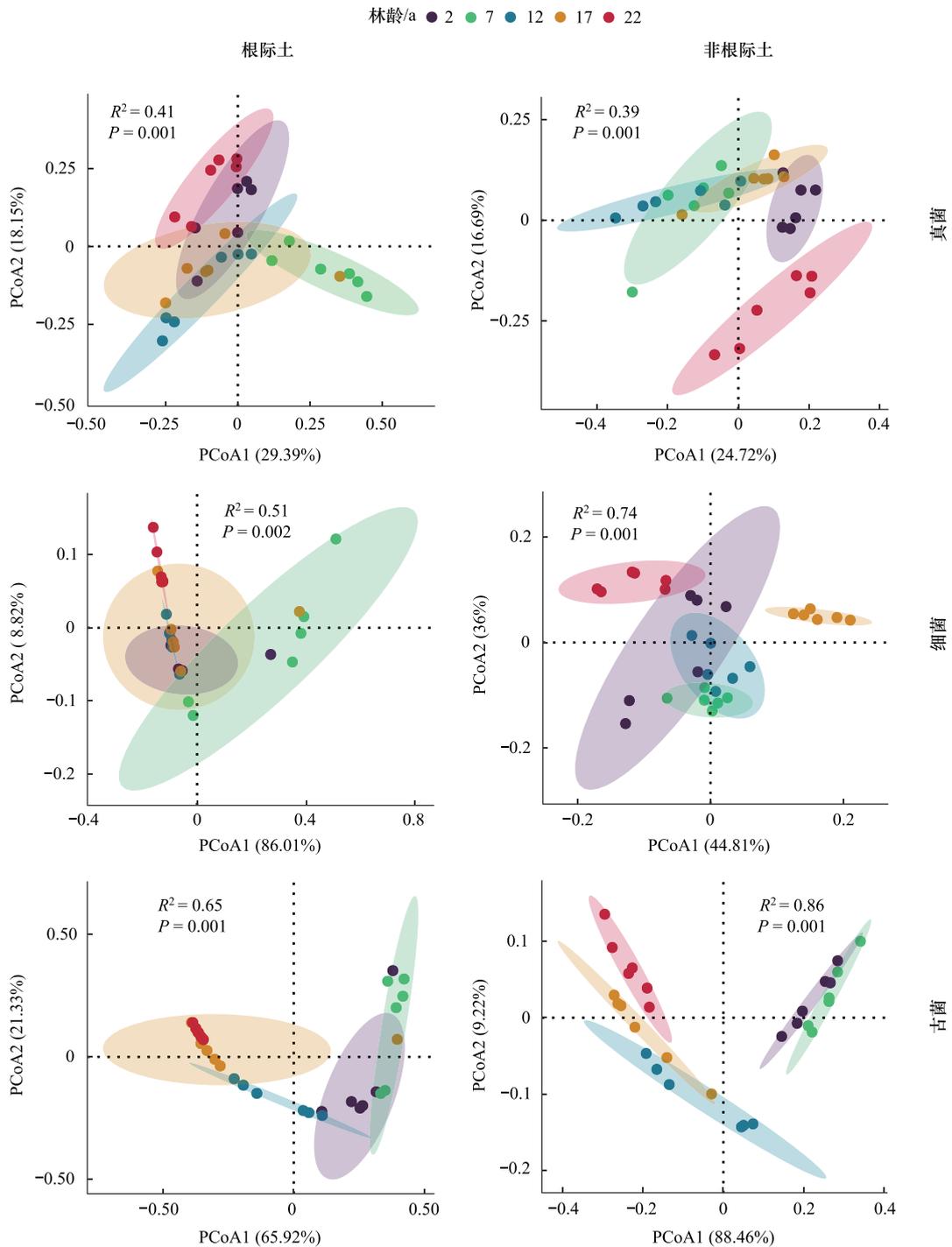


图3 不同林龄根际及非根际土壤真菌、细菌及古菌群落组成的主坐标分析

Fig.3 Principal co-ordinates analysis of fungal, bacterial and archaeal between rhizosphere and bulk soil of different stand ages

图中相同颜色区域表示对应林龄的95%置信区间

2.2 微生物群落组成

所有林龄共检测出真菌 405 属、细菌 2786 属、古菌 166 属。根据物种注释结果,不同林龄的土壤真菌、细菌和古菌群落在属水平上相对丰度排名前 10 位的物种如图 4 所示。根际土和非根际土真菌群落中优势菌属均为根孢囊霉属 (*Rhizophagus*), 均呈先上升后下降的趋势,12 年根际土及 7 年非根际土丰度最高。根际土细

菌群落中优势菌属为慢生根瘤菌属 (*Bradyrhizobium*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*), 非根际土细菌群落中优势菌属为慢生根瘤菌属、纤线杆菌属 (*Ktedonobacter*)。根际及非根际细菌群落相对丰度最高的均为慢生根瘤菌属, 除 12 年在根际土呈先下降后上升的趋势外, 在非根际土呈逐渐上升趋势, 于 12 年根际土及 22 年非根际土丰度最高。根际土古菌群落中优势物种为 *Candidatus-Nitrosotalea* 属、甲烷粒菌属 (*Methanocorpusculum*) 和甲烷短杆菌属 (*Methanobrevibacter*), 非根际土古菌群落中优势物种为 *Candidatus-Nitrosotalea* 属。*Candidatus-Nitrosotalea* 是根际及非根际土古菌群落相对丰度最高的属; 除 12 年外, 在根际土呈先下降后上升的趋势; 在非根际土呈先下降后上升的趋势, 于 2 年根际土及 7 年非根际土丰度最高。

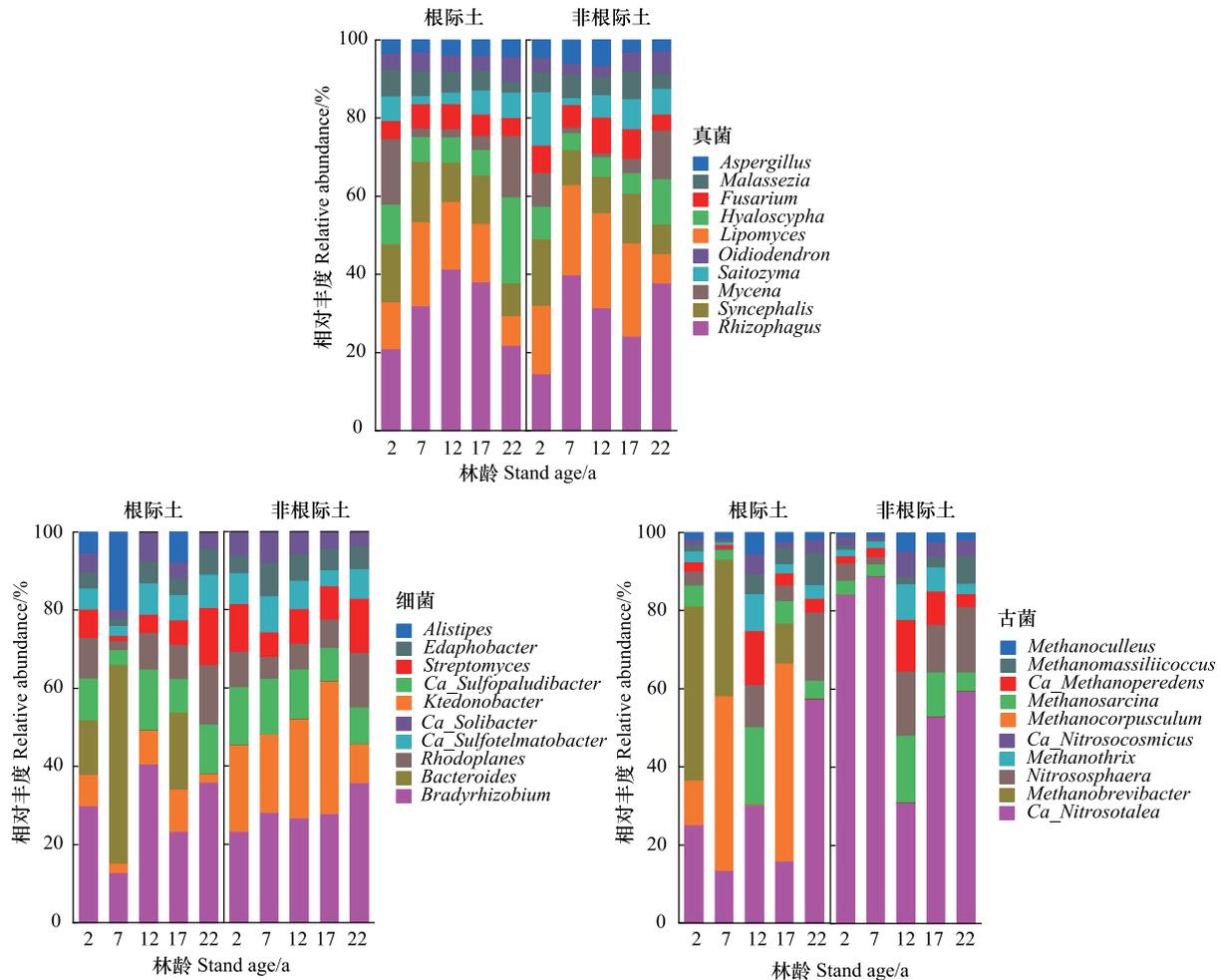


图 4 不同林龄根际及非根际土微生物属水平群落组成

Fig. 4 Genus level community composition of fungi, bacteria and archaea between rhizosphere and bulk soil of different stand ages

Rhizophagus: 根孢囊霉属; *Lipomyces*: 油脂酵母属; *Syncephalis*: 集珠霉属; *Hyaloscypha*: 晶杯属; *Mycena*: 小菇属; *Fusarium*: 镰刀菌属; *Malassezia*: 马拉色菌属; *Oidiodendron*: 树粉孢属; *Aspergillus*: 曲霉属; *Bradyrhizobium*: 慢生根瘤菌属; *Ktedonobacter*: 纤线杆菌属; *Bacteroides*: 拟杆菌属; *Rhodoplanes*: 红游动菌属; *Streptomyces*: 链霉菌属; *Edaphobacter*: 酸杆菌属; *Alistipes*: 另枝菌属; *Methanocorpusculum*: 甲烷粒菌属; *Methanobrevibacter*: 甲烷短杆菌属; *Methanosarcina*: 甲烷八叠球菌属; *Nitrososphaera*: 亚硝化球菌属; *Methanotherix*: 甲烷丝菌属; *Methanomassiliicoccus*: 甲烷马赛球菌属; *Methanoculleus*: 甲烷袋状菌属; *Ca*: *Candidatus*

2.3 微生物群落功能

真菌、细菌、古菌分别有 3306、12909120、214859 个基因注释到 4 大类 KEGG 通路中, 分别为代谢机制 (Metabolism)、遗传信息处理 (Genetic information processing)、环境信息处理 (Environmental information processing) 及细胞过程 (Cellular processes), 其中在代谢机制中被注释到的数目最多。根际、非根际土微生物

群落二级水平功能基因相对丰度的 Metastats 差异显著性分析结果如图 5 所示。真菌、细菌及古菌群落前三位的代谢通路均为全局和概述图谱、碳水化合物代谢、氨基酸代谢。整体而言,不同林龄根际及非根际土的真菌群落代谢通路在 17 年差异最大;细菌群落代谢通路在 22 年差异最大;古菌群落代谢通路在 2 年时差异均不显著,在 22 年差异最大。根际及非根际真菌群落在碳水化合物代谢和氨基酸代谢通路差异较大;细菌群落在碳水化合物代谢、跨膜运输、能量代谢通路差异较大;古菌群落在辅酶和维生素代谢及转录代谢通路差异较大。

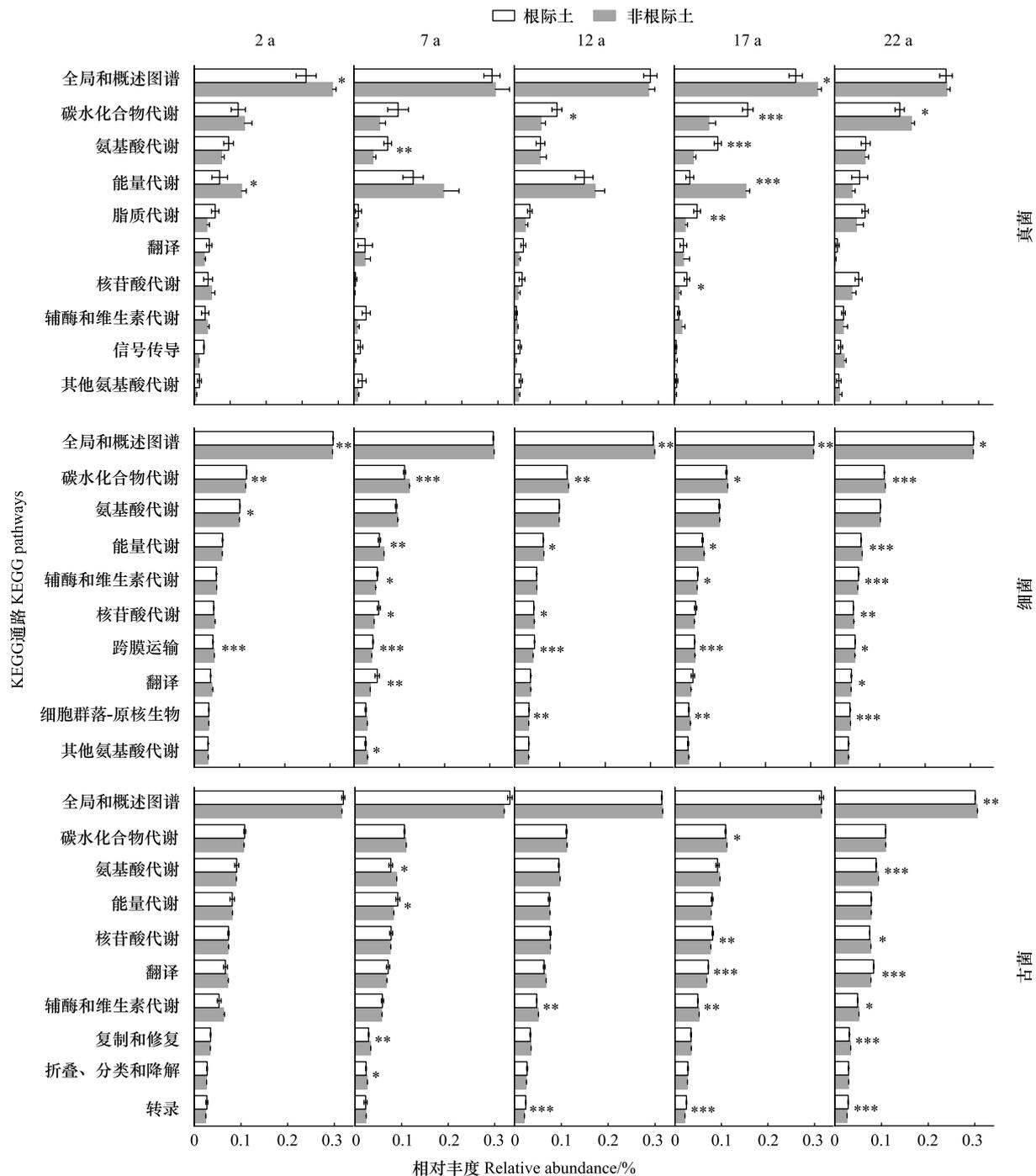


图 5 不同林龄根际及非根际土间功能基因相对丰度的 Metastats 分析

Fig.5 Metastats analysis of functional gene relative abundance between rhizosphere and bulk soil of different forest ages

图中数据为均值±标准误差; * 表示 $P < 0.05$, ** 表示 $P < 0.01$, *** 表示 $P < 0.001$; KEGG: 京都基因与基因组百科全书 Kyoto encyclopedia of genes and genomes

2.4 理化性质

方差分析结果表明,林龄及土壤位置对理化性质有显著影响,交互作用显著(表1)。由表2可知,根际和非根际土壤有机碳为17年最低,22年最高;pH、微生物生物量碳、微生物生物量氮均为7年最高,之后呈降低趋势;全氮、铵态氮、有机氮、全磷均为7年最高,17年最低;硝态氮、碳氮比随林龄增长总体呈现上升趋势;有效磷在7年最高。

表1 不同林龄、土壤位置的理化性质双因素方差分析

Table 1 Two-way ANOVA of physical-chemical properties of different forest ages and soil compartment

指标 Index	林龄 Stand age			土壤位置 Soil compartment			林龄×土壤位置 Stand age × soil compartment		
	df	F	P	df	F	P	df	F	P
pH	4	116.744	<0.001	1	51.207	<0.001	4	7.207	<0.001
有机碳 SOC/(g/kg)	4	46.506	<0.001	1	190.284	<0.001	4	4.297	0.005
铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/(mg/kg)	4	6.709	<0.001	1	13.359	0.001	4	3.967	0.007
硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/(mg/kg)	4	4.224	0.005	1	18.916	<0.001	4	3.586	0.012
全氮 TN/(g/kg)	4	30.509	<0.001	1	171.529	<0.001	4	5.639	0.001
有机氮 OrgN/(g/kg)	4	31.025	<0.001	1	166.969	<0.001	4	5.675	0.001
全磷 TP/(g/kg)	4	14.601	<0.001	1	0.091	0.764	4	0.307	0.872
有效磷 AP/(mg/kg)	4	75.177	<0.001	1	12.111	0.001	4	4.627	0.003
微生物生物量碳 MBC/(mg/kg)	4	15.089	<0.001	1	25.780	<0.001	4	3.168	0.021
微生物生物量氮 MBN/(mg/kg)	4	5.283	0.001	1	0.004	0.950	4	0.302	0.875
碳氮比 C/N	4	85.076	<0.001	1	28.091	<0.001	4	0.706	0.592

$n=6$; $P<0.05$ 表示显著, $P<0.01$ 表示极显著; SOC: 有机碳 Soil organic carbon; NH₄⁺-N: 铵态氮; NO₃⁻-N: 硝态氮; TN: 全氮 Total nitrogen; OrgN: 有机氮 Organic nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; AP: 有效磷 Available phosphorus; MBC: 微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen; C/N: 碳氮比

表2 不同林龄根际及非根际土壤理化性质

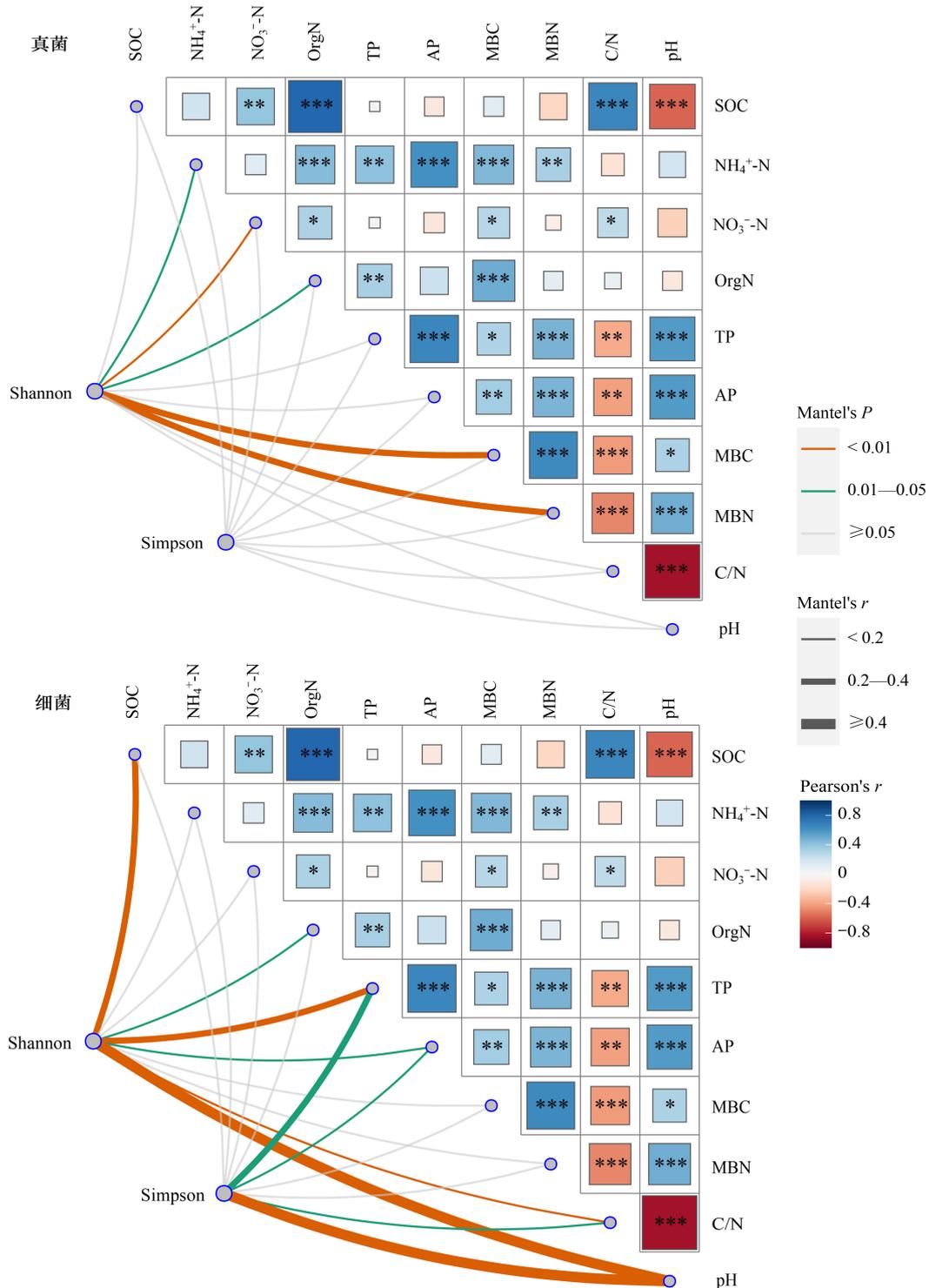
Table 2 Physical-chemical properties between rhizosphere and bulk soil of different forest ages

指标 Index	土壤位置 Soil compartment	林龄 Stand age/year				
		2	7	12	17	22
pH	根际	4.06±0.02b	4.34±0.03a	4.07±0.04b	4.07±0.02b	3.82±0.02c
	非根际	4.13±0.03B	4.67±0.03A	4.12±0.03B	4.17±0.02B	3.94±0.05C
有机碳 SOC/(g/kg)	根际	23.70±0.98c	26.37±0.14b	25.79±0.12bc	24.35±0.5bc	36.29±1.48a
	非根际	19.50±0.23B	16.61±1.19bC	18.69±0.19B	13.15±0.12C	25.94±2.14A
铵态氮 NH ₄ ⁺ -N/(mg/kg)	根际	4.59±0.73ab	5.63±0.38a	3.41±0.42bc	3.07±0.30c	3.31±0.19bc
	非根际	2.59±0.40B	3.73±0.14A	3.05±0.25AB	2.70±0.17B	3.66±0.34A
硝态氮 NO ₃ ⁻ -N/(mg/kg)	根际	35.56±5.02a	38.13±5.15a	40.49±3.5a	46.47±1.86a	40.18±1.13a
	非根际	30.47±3.87B	31.49±2.74B	20.47±2.45C	33.27±0.27B	42.17±0.51A
全氮 TN/(g/kg)	根际	1.47±0.06d	2.08±0.02a	1.71±0.03c	1.54±0.03d	1.86±0.05b
	非根际	1.26±0.02A	1.43±0.09A	1.35±0.02A	0.92±0.04B	1.46±0.11A
有机氮 OrgN/(g/kg)	根际	1.43±0.06d	2.03±0.02a	1.67±0.03c	1.49±0.03d	1.81±0.0b
	非根际	1.22±0.02A	1.40±0.09A	1.32±0.02A	0.88±0.04B	1.41±0.11A
全磷 TP/(g/kg)	根际	0.36±0.01b	0.53±0.06a	0.31±0.01bc	0.27±0.00c	0.36±0.01b
	非根际	0.33±0.01B	0.58±0.12A	0.29±0.01B	0.24±0.00B	0.34±0.01B
有效磷 AP/(mg/kg)	根际	31.23±4.13a	34.24±3.97a	1.19±0.03b	1.85±0.03b	1.69±0.02b
	非根际	14.79±2.25B	26.74±3.94A	0.80±0.11C	1.28±0.22C	1.16±0.07C
微生物生物量碳 MBC/(mg/kg)	根际	163.46±17.92c	420.33±51.8a	307.79±17.44b	218.18±25.04c	164.94±18.19c
	非根际	119.99±26.43B	229.6±32.08A	175.33±27.95AB	178.22±24.01AB	127.57±17.18B
微生物生物量氮 MBN/(mg/kg)	根际	16.83±1.04c	26.40±4.96a	19.48±1.48ab	15.78±1.66c	15.21±0.80c
	非根际	18.18±1.99 AB	24.37±4.44A	18.88±2.28AB	18.28±1.43AB	13.48±1.49B
碳氮比 C/N	根际	16.13±0.62b	12.7±0.16c	15.07±0.29b	15.8±0.32b	19.5±0.37a
	非根际	15.53±0.34B	11.59±0.29D	13.91±0.2C	14.45±0.51C	17.72±0.24A

表中数据为均值±标准误差($n=6$);不同小写字母表示根际上的同一指标在不同林龄之间的差异($P<0.05$);不同大写字母表示非根际上的同一指标在不同林龄之间的差异($P<0.05$)

2.5 微生物群落多样性和组成的影响因素

Mantel 分析结果表明(图 6),微生物 α 多样性指数与环境因子均呈现正相关。真菌群落 Shannon 指数与微生物生物量碳、微生物生物量氮、硝态氮、铵态氮和有机氮呈显著正相关($P < 0.05$)。细菌群落 α 多样性指数均与 pH、有效磷、全磷和碳氮比呈显著正相关($P < 0.05$);Shannon 指数与有机碳、有机氮呈显著正相关($P < 0.05$)。古菌群落 α 多样性指数均与全磷、有效磷、碳氮比、微生物生物量氮和 pH 呈显著正相关($P < 0.05$)。



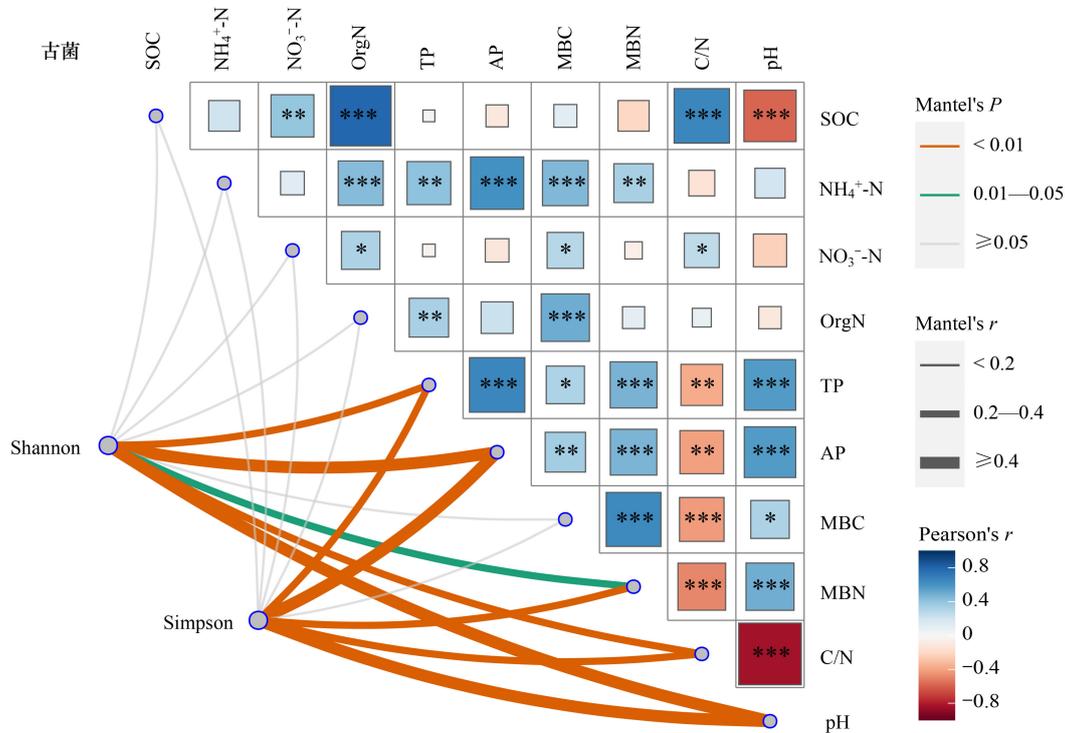


图 6 不同林龄根际及非根际土真菌、细菌及古菌多样性与土壤理化性质的 Mantel 分析

Fig.6 Mantel analysis of fungal, bacterial and archaeal community diversity and soil physical-chemical properties between rhizosphere and bulk soil of different forest ages

SOC:有机碳 Soil organic carbon; NH₄⁺-N: 铵态氮; NO₃⁻-N: 硝态氮; TN: 全氮 Total nitrogen; OrgN: 有机氮 Organic nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; AP: 有效磷 Available phosphorus; MBC: 微生物生物量碳 Microbial biomass carbon; MBN: 微生物生物量氮 Microbial biomass nitrogen; C/N: 碳氮比

不同林龄的土壤微生物群落与理化因子的冗余分析(RDA)结果表明(图7),环境因素分别解释了真菌、细菌和古菌群落结构变化的77.70%、81.82%和87.28%。从各林龄样本点及箭头分布来看,2、7、22年真菌群落主要受全磷、有效磷和碳氮比的影响,12、17年真菌群落主要受硝态氮影响。各林龄细菌群落主要受pH的影响,2年及22年根际土细菌群落还受到硝态氮、碳氮比和有机氮较大影响,7、22年根际土与非根际土细菌群落差异较大。2年古菌群落主要受有效磷影响,7、17年古菌群落主要受pH影响,22年根际土古菌群落主要受有机氮、碳氮比影响,12、22年非根际土主要受有效磷影响,22年根际土与非根际土古菌群落差异较大。

3 讨论

3.1 不同林龄微生物群落多样性和组成差异

Zhu等^[9]研究发现,连续种植尾叶桉(*E. urophylla*)显著降低了细菌多样性,呈先下降后上升再下降的趋势。Xu等^[29]的研究也表明了相似的结果。连栽造成人为干扰增加,破坏了土壤结构,影响了土壤质量,不利于微生物的生存。随着林龄的增加,腐殖质的累积及林下植被的生长将有利于微生物的繁衍^[30]。Xu等^[12]对尾巨桉(*E. urophylla*×*E. grandis*)的研究表明,真菌群落多样性在6年显著下降,但在10年逐渐恢复。我们的结果也表明,造林后真菌、细菌及古菌群落多样性随着林龄的增长先下降,至成熟林有上升趋势。细菌及真菌群落多样性在7年开始增长,而真菌在12年才逐渐增长。这可能是由于细菌及古菌是养分循环中最活跃的参与者^[31–32],相较于真菌,细菌及古菌的多样性波动较大,对土壤养分变化更敏感^[33–34]。拟杆菌门(Bacteroidota)细菌能够优先代谢土壤中的低分子碳水化合物^[35];纤线杆菌属属绿弯菌门(Chloroflexi),能够利

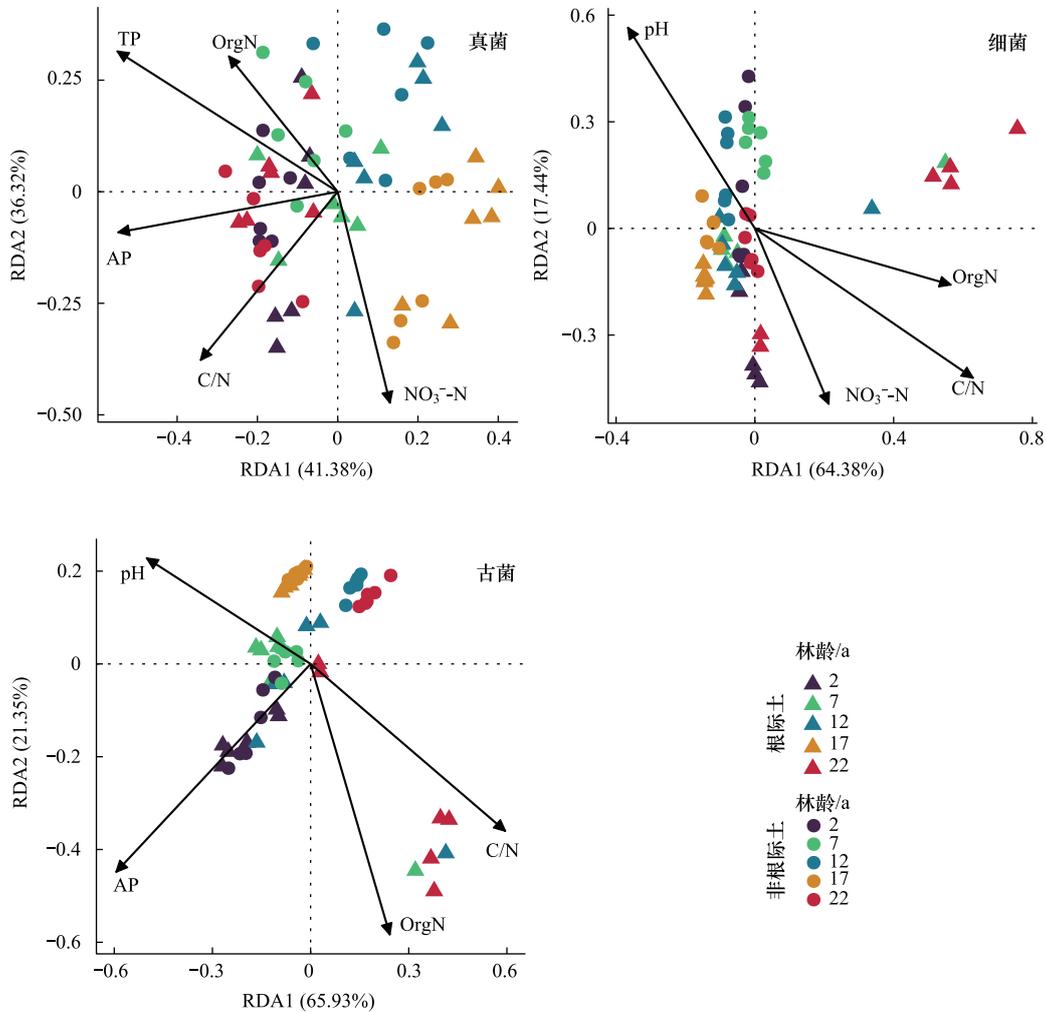


图7 不同林龄根际及非根际土壤微生物群落组成的 RDA 分析

Fig.7 Redundancy analysis of fungal, bacterial and archaeal communities with physical-chemical properties between rhizosphere and bulk soil of different forest ages

NO_3^- -N: 硝态氮; OrgN: 有机氮 Organic nitrogen; TP: 全磷 Total phosphorus; AP: 有效磷 Available phosphorus; C/N: 碳氮比

用顽固的碳源^[36]。甲烷短杆菌属属广古菌门 (Euryarchaeota), 有固氮、代谢硫和铁的能力^[37-38]; *Candidatus-Nitrosotalea* 属氨氧化古菌, 与氨氧化细菌相比对氨的亲合力更高。它们的快速响应对桉树养分及微生物多样性恢复有重要作用, 而桉树生长发育过程中不同林龄的真菌优势菌属均为根孢囊霉属, 并未发生改变。

植物生长发育过程中会释放根际分泌物, 吸引微生物富集于根际土壤^[39]。因此, 植物根际土壤微生物数量通常比非根际土多, 但多样性却低于非根际土^[18]。本研究也表明, 土壤位置并未改变真菌优势菌属, 但随着桉树林龄增加, 根际土真菌群落多样性较非根际更低, 变化更小。然而, 根际土细菌多样性更高且更稳定, 这可能是由于随着林龄增加, 根系分泌物的富集及凋落物的积累导致根际的有机质更丰富^[40], 而细菌可以利用简单的有机物保持相对稳定的群落多样性^[41]。根际土古菌群落多样性更高, 可能是因为优势菌属甲烷短杆菌属为桉树生长提供大量的铵态氮^[42]。

3.2 菌根真菌显著影响根际代谢途径

根际土是植物与土壤进行物质信息交换的最活跃的場所, 因此信息传递较非根际土更活跃。本研究发现, 真菌的碳水化合物代谢途径在根际土的相对丰度高于非根际土, 而细菌和古菌则相反。刘京伟等^[18]指出, 菌根真菌对植物根际碳循环有重要的作用, 与菌根共生的植物优先将根际释放的碳源分配给菌根真菌。

随着桉树林龄增加,外生菌根丰度逐渐升高^[43]。本研究中小菇属(外生菌根真菌)的丰度也随林龄上升。还发现,根际土真菌群落氨基酸代谢途径高于非根际土,而细菌及古菌无显著差异。这可能得益于菌根真菌能够促进植物获取氮养分,不仅能够通过根外菌丝获取无机氮养分,还能分泌胞外酶利用有机氮养分,促进根际的物质循环交流^[44]。

桉树是一个以木材生产为主要目的的速生树种,轮伐期通常为4—6年,甚至更短^[12]。本研究结果表明,真菌代谢通路的功能基因总数在22年最高,细菌及古菌均在7年最高。并且,真菌 α 多样性在12年后显著增加,22年最高;细菌及古菌均在7年显著增加。因此,增加桉树人工林轮伐期,更有利于增加土壤微生物群落多样性、提升土壤质量。

3.3 不同林龄微生物群落与土壤理化性质的关系

方差分析结果表明,林龄及土壤位置对理化性质有显著影响。长期连栽桉树导致土壤氮、磷养分有效性显著降低^[45]。然而,本文中根际及非根际土有机碳、铵态氮、有机氮和全磷含量均在7年以后逐渐降低,但在22年逐渐升高。Xu等^[12]的研究结果表明,延长桉树人工林的种植年限,能够增加土壤肥力,改善林下土壤理化性质。结果也发现随着桉树林龄增加,有机碳、铵态氮、有机氮和全磷养分含量均增加。

Wu等^[46]研究发现,硝态氮和有效磷是驱动真菌群落组成的最重要因素。也发现不同林龄桉树土壤真菌多样性及群落组成主要受硝态氮影响。桉树对硝态氮的利用成本是铵态氮的30倍^[47],利用率仅为铵态氮的十分之一^[48],桉树的速生生长特性需要大量的氮支持桉树早期的生长,利用了大量铵态氮,硝态氮在土壤内积累,导致真菌群落多样性随林龄增加至12年呈现降低趋势。另有研究发现,硝态氮的积累还会降低菌根真菌多样性^[49]。pH是影响细菌和古菌群落的重要因素^[50],本研究的结果表明,pH在7年后随着林龄降低。细菌及古菌(酸杆菌门、变形菌门、氨氧化古菌等)更适宜较低的pH^[51–52],导致细菌及古菌群落多样性随林龄增加而增加,群落结构改变。还发现,酸性条件下磷会与铁、铝形成不溶性磷酸盐^[53],造成有效磷含量显著下降,导致古菌群落多样性降低。然而,最近的研究表明,菌根真菌及古菌均能够矿化有机磷以获得可利用的磷,有利于降低磷限制对真菌及古菌群落的不利影响^[54–55]。而非根际土的环境波动更大^[18],因此养分有效性的升高也有利于非根际土微生物群落多样性的升高。

4 结论

本文利用宏基因组测序技术,研究了不同林龄桉树根际、非根际土壤的微生物群落结构及功能差异。结果表明,林龄及土壤位置显著影响了土壤理化性质及微生物多样性;没有改变真菌群落优势菌属,改变了细菌及古菌群落优势菌属。根际和非根际土真菌、细菌及古菌群落功能均存在显著差异。真菌群落 α 多样性及群落组成对硝态氮,细菌、古菌群落 α 多样性及群落组成对pH有较大响应。此外,古菌群落 α 多样性及群落组成对有效磷有较大响应,但菌根真菌及古菌能够矿化有机磷获得磷养分。综上所述,林龄是影响桉树人工林根际及非根际土壤微生物群落多样性及组成的重要因素,适当延长桉树人工林种植年限,有助于保护土壤微生物群落多样性、提升土壤质量,实现可持续的经营管理目标。

参考文献(References):

- [1] Bardgett R D, van der Putten W H. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature*, 2014, 515: 505-511.
- [2] Banning N C, Gleeson D B, Grigg A H, Grant C D, Andersen G L, Brodie E L, Murphy D V. Soil microbial community successional patterns during forest ecosystem restoration. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(17): 6158-6164.
- [3] Jansson J K, Hofmockel K S. Soil microbiomes and climate change. *Nature Reviews Microbiology*, 2020, 18: 35-46.
- [4] Tian J, Dungait J A J, Lu X K, Yang Y F, Hartley I P, Zhang W, Mo J M, Yu G R, Zhou J Z, Kuzyakov Y. Long-term nitrogen addition modifies microbial composition and functions for slow carbon cycling and increased sequestration in tropical forest soil. *Global Change Biology*, 2019, 25(10): 3267-3281.
- [5] 孔亚丽, 秦华, 朱春权, 田文昊, 朱晓芳, 虞轶俊, 张均华. 土壤微生物影响土壤健康的作用机制研究进展. *土壤学报*, 2024, 61(2): 331-347.

- [6] Bulgarelli R G, Leite M F A, de Hollander M, Mazzafera P, Andrade S A L, Kuramae E E. Eucalypt species drive rhizosphere bacterial and fungal community assembly but soil phosphorus availability rearranges the microbiome. *Science of the Total Environment*, 2022, 836: 155667.
- [7] 国家林业和草原局. 中国森林资源报告(2014-2018). 北京: 中国林业出版社, 2019.
- [8] Zhang Y, Tigabu M, Yi Z G, Li H T, Zhuang Z, Yang Z, Ma X Q. Soil parent material and stand development stage effects on labile soil C and N pools in Chinese fir plantations. *Geoderma*, 2019, 338: 247-258.
- [9] Zhu L Y, Wang X H, Chen F F, Li C H, Wu L C. Effects of the successive planting of *Eucalyptus urophylla* on soil bacterial and fungal community structure, diversity, microbial biomass, and enzyme activity. *Land Degradation & Development*, 2019, 30(6): 636-646.
- [10] 陈法霖, 张凯, 王芸, 吴爱平, 李有志, 邹冬生, 郑华. 引进种桉树人工林取代天然次生林对土壤微生物群落结构和功能的影响. *生态学报*, 2018, 38(22): 8070-8079.
- [11] Behera N, Sahani U. Soil microbial biomass and activity in response to *Eucalyptus* plantation and natural regeneration on tropical soil. *Forest Ecology and Management*, 2003, 174(1): 1-11.
- [12] Xu Y X, Du A, Wang Z C, Zhu W K, Li C, Wu L C. Effects of different rotation periods of *Eucalyptus* plantations on soil physiochemical properties, enzyme activities, microbial biomass and microbial community structure and diversity. *Forest Ecology and Management*, 2020, 456: 117683.
- [13] Chu S S, Ouyang J H, Liao D D, Zhou Y D, Liu S S, Shen D C, Wei X H, Zeng S C. Effects of enriched planting of native tree species on surface water flow, sediment, and nutrient losses in a *Eucalyptus* plantation forest in Southern China. *Science of the Total Environment*, 2019, 675: 224-234.
- [14] Koutika L S, Tchichelle S V, Mareschal L, Epron D. Nitrogen dynamics in a nutrient-poor soil under mixed-species plantations of eucalypts and acacias. *Soil Biology and Biochemistry*, 2017, 108: 84-90.
- [15] Pereira A P A, Durrer A, Gumiere T, Gonçalves J L M, Robin A, Bouillet J P, Wang J T, Verma J P, Singh B K, Cardoso E J B N. Mixed *Eucalyptus* plantations induce changes in microbial communities and increase biological functions in the soil and litter layers. *Forest Ecology and Management*, 2019, 433: 332-342.
- [16] Xu Y X, Ren S Q, Liang Y F, Du A P, Li C, Wang Z C, Zhu W K, Wu L C. Soil nutrient supply and tree species drive changes in soil microbial communities during the transformation of a multi-generation *Eucalyptus* plantation. *Applied Soil Ecology*, 2021, 166: 103991.
- [17] Tkacz A, Cheema J, Chandra G, Grant A, Poole P S. Stability and succession of the rhizosphere microbiota depends upon plant type and soil composition. *The ISME Journal*, 2015, 9(11): 2349-2359.
- [18] 刘京伟, 李香真, 姚敏杰. 植物根际微生物群落构建的研究进展. *微生物学报*, 2021, 61(2): 231-248.
- [19] Pérez-Jaramillo J E, Mendes R, Raaijmakers J M. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions. *Plant Molecular Biology*, 2016, 90(6): 635-644.
- [20] Galindo-Castañeda T, Hartmann M, Lynch J P. Location; root architecture structures rhizosphere microbial associations. *Journal of Experimental Botany*, 2024, 75(2): 594-604.
- [21] 鲍士旦. 土壤农化分析. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [22] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology and Biochemistry*, 1987, 19(6): 703-707.
- [23] Yin S Q, Zhang W M, Tong T J, Yu C X, Chang X Y, Chen K S, Xing Y H, Yang Y X. Feedstock-dependent abundance of functional genes related to nitrogen transformation controlled nitrogen loss in composting. *Bioresource Technology*, 2022, 361: 127678.
- [24] Chen S F, Zhou Y Q, Chen Y R, Gu J. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.
- [25] Li D H, Liu C M, Luo R B, Sadakane K, Lam T W. MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, 2015, 31(10): 1674-1676.
- [26] Zhu W H, Lomsadze A, Borodovsky M. Ab initio gene identification in metagenomic sequences. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(12): e132.
- [27] Kanehisa M, Araki M, Goto S, Hattori M, Hirakawa M, Itoh M, Katayama T, Kawashima S, Okuda S, Tokimatsu T, Yamanishi Y. KEGG for linking genomes to life and the environment. *Nucleic Acids Research*, 2008, 36(suppl_1): D480-D484.
- [28] 邓泱泱, 荔建琦, 吴松锋, 朱云平, 陈耀文, 贺福初. nr 数据库分析及其本地化. *计算机工程*, 2006, 32(5): 71-73, 76.
- [29] Xu Y X, Li C, Zhu Y L, Wang Z C, Zhu W K, Wu L C, Du A P. The shifts in soil microbial community and association network induced by successive planting of *Eucalyptus* plantations. *Forest Ecology and Management*, 2022, 505: 119877.
- [30] Liu G Y, Chen L L, Shi X R, Yuan Z Y, Yuan L Y, Lock T R, Kallenbach R L. Changes in rhizosphere bacterial and fungal community composition with vegetation restoration in planted forests. *Land Degradation & Development*, 2019, 30(10): 1147-1157.
- [31] Drigo B, Kowalchuk G A, Yergeau E, Bezemer T M, Boschker H T S, Van veen J A. Impact of elevated carbon dioxide on the rhizosphere communities of *Carex arenaria* and *Festuca rubra*. *Global Change Biology*, 2007, 13(11): 2396-2410.

- [32] Li J J, Liu F, Chen J W. The effects of various land reclamation scenarios on the succession of soil bacteria, archaea, and fungi over the short and long term. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2016, 4: 183799.
- [33] Delgado-Baquerizo M, Reich P B, Khachane A N, Campbell C D, Thomas N, Freitag T E, Abu Al-Soud W, Sørensen S, Bardgett R D, Singh B K. It is elemental; soil nutrient stoichiometry drives bacterial diversity. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(3): 1176-1188.
- [34] Singh D, Takahashi K, Adams J M. Elevational patterns in archaeal diversity on Mt. Fuji. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44494.
- [35] Sánchez-Cañizares C, Jorrín B, Poole P S, Tkacz A. Understanding the holobiont: the interdependence of plants and their microbiome. *Current Opinion in Microbiology*, 2017, 38: 188-196.
- [36] Klatt C G, Liu Z F, Ludwig M, Kühl M, Jensen S I, Bryant D A, Ward D M. Temporal metatranscriptomic patterning in phototrophic Chloroflexi inhabiting a microbial mat in a geothermal spring. *The ISME Journal*, 2013, 7(9): 1775-1789.
- [37] Edwards K J, Bond P L, Gihring T M, Banfield J F. An archaeal iron-oxidizing extreme acidophile important in acid mine drainage. *Science*, 2000, 287(5459): 1796-1799.
- [38] Hu H W, Zhang L M, Yuan C L, He J Z. Contrasting Euryarchaeota communities between upland and paddy soils exhibited similar pH-impacted biogeographic patterns. *Soil Biology and Biochemistry*, 2013, 64: 18-27.
- [39] Sun L J, Tsujii Y, Xu T L, Han M G, Li R, Han Y F, Gan D Y, Zhu B. Species of fast bulk-soil nutrient cycling have lower rhizosphere effects: a nutrient spectrum of rhizosphere effects. *Ecology*, 2023, 104(4): e3981.
- [40] Herre M, Heitkötter J, Heinze S, Rethemeyer J, Preusser S, Kandeler E, Marschner B. Differences in organic matter properties and microbial activity between bulk and rhizosphere soil from the top- and subsoils of three forest stands. *Geoderma*, 2022, 409: 115589.
- [41] Dang P, Gao Y, Liu J L, Yu S C, Zhao Z. Effects of thinning intensity on understory vegetation and soil microbial communities of a mature Chinese pine plantation in the Loess Plateau. *Science of the Total Environment*, 2018, 630: 171-180.
- [42] Cabello P, Roldán M D, Moreno-Vivián C. Nitrate reduction and the nitrogen cycle in archaea. *Microbiology*, 2004, 150(11): 3527-3546.
- [43] Chen Y L, Brundrett M C, Dell B. Effects of ectomycorrhizas and vesicular-arbuscular mycorrhizas, alone or in competition, on root colonization and growth of *Eucalyptus globulus* and *E. urophylla*. *New Phytologist*, 2000, 146(3): 545-555.
- [44] Van Der Heijden M G A, Bardgett R D, Van Straalen N M. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology Letters*, 2008, 11(3): 296-310.
- [45] Zhou X G, Zhu H G, Wen Y G, Goodale U M, Zhu Y L, Yu S F, Li C T, Li X Q. Intensive management and declines in soil nutrients lead to serious exotic plant invasion in *Eucalyptus* plantations under successive short-rotation regimes. *Land Degradation & Development*, 2020, 31(3): 297-310.
- [46] Wu N, Li Z, Meng S, Wu F. Soil properties and microbial community in the rhizosphere of *Populus alba* var. *pyramidalis* along a chronosequence. *Microbiological Research*, 2021, 250: 126812.
- [47] Pfautsch S, Rennenberg H, Bell T L, Adams M A. Nitrogen uptake by *Eucalyptus regnans* and *Acacia* spp. -preferences, resource overlap and energetic costs. *Tree Physiology*, 2009, 29(3): 389-399.
- [48] Warren C R, Adams P R. Uptake of nitrate, ammonium and glycine by plants of Tasmanian wet eucalypt forests. *Tree Physiology*, 2007, 27(3): 413-419.
- [49] Ma X C, Geng Q H, Zhang H G, Bian C Y, Chen H Y H, Jiang D L, Xu X. Global negative effects of nutrient enrichment on arbuscular mycorrhizal fungi, plant diversity and ecosystem multifunctionality. *New Phytologist*, 2021, 229(5): 2957-2969.
- [50] Zhu L Y, Tang Y H, Weng Y L, Huang K T, Wang J C, Zhao J Y, Wu L C. Effects of burning harvested residues on the archaeal and bacterial communities of *Eucalyptus urophylla* substituting native vegetation. *Applied Soil Ecology*, 2021, 158: 103796.
- [51] Jeanbille M, Buée M, Bach C, Cébron A, Frey-Klett P, Turpault M P, Uroz S. Soil parameters drive the structure, diversity and metabolic potentials of the bacterial communities across temperate beech forest soil sequences. *Microbial Ecology*, 2016, 71(2): 482-493.
- [52] Zhang L M, Hu H W, Shen J P, He J Z. Ammonia-oxidizing archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils. *The ISME Journal*, 2012, 6(5): 1032-1045.
- [53] 方晰, 陈金磊, 王留芳, 李胜蓝, 项文化, 雷丕锋. 亚热带森林土壤磷有效性及其影响因素的研究进展. *中南林业科技大学学报*, 2018, 38(12): 1-12.
- [54] Frey S D. Mycorrhizal fungi as mediators of soil organic matter dynamics. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2019, 50: 237-259.
- [55] Yuan H J, Zhang R Y, Li Q X, Han Q, Lu Q P, Wu J. Unveiling the ecological significance of phosphorus fractions in shaping bacterial and archaeal beta diversity in mesotrophic lakes. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1279751.