

引江济巢沿线消落区植物根际微生物群落特征及其 主要影响因素

郭文轩¹, 常杰伦¹, 李博文¹, 杨乐辉¹, 沈俊杰¹, 王欣玥¹, 王慧丽^{1,2*}, 张晓可^{1,2,3}

1. 安庆师范大学 生命科学学院, 安徽 安庆 246133;
2. 水生生物保护与水生态修复安徽省高等学校工程技术研究中心, 安徽 安庆 246133;
3. 安徽省皖江流域种群生态模拟与控制国际联合研究中心, 安徽 安庆 246133)

摘要: 植物根际微生物在消落区根际生态系统中发挥着重要作用, 本研究以此为指针来分析引江济巢工程(菜子湖线)运行前对生态系统的影响。采用16S rRNA基因测序技术对引江济巢工程沿线4个不同区域的植物根际微生物及其环境因子开展了系统调查, 在整个调查区域共检出隶属75门(古细菌3门、细菌72门)的根际微生物, 其中优势门25门, 最丰富的为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)和酸杆菌门(Acidobacteria)。4个区域之间根际微生物群落组成虽有明显差异, 但仍主要是以变形菌门、拟杆菌门、酸杆菌门或放线菌门(Actinobacteria)等为主。单因素方差分析结果表明, 4个区域根际微生物Chao1指数、香农指数和Goods coverage指数均存在显著差异, 其中巢湖和白石天河区域Chao1指数和香农指数均最低。冗余分析表明, 基质pH和有机质质量分数是影响引江济巢沿线根际微生物群落结构的主要环境因子。本研究首次揭示了引江济巢工程运行前植物根际微生物的群落结构及其空间变化, 相关结果可为后续评估引江济巢工程运行对沿线植物根际微生物群落的影响提供本底数据。

关键词: 根际微生物; 引江济巢; 多样性; 群落结构

中图分类号: Q939.96

文献标志码: A

文章编号: 2096-3491(2024)04-0378-12

Characteristics and main influencing factors of plant rhizospheric microbial communities in riparian zone along the project of water diversion from Yangtze River to the Chaohu Lake

GUO Wenxuan¹, CHANG Jielun¹, LI Bowen¹, YANG Lehui¹, SHEN Junjie¹, WANG Xinyue¹,
WANG Huili^{1,2*}, ZHANG Xiaoke^{1,2,3}

1. College of Life Sciences, Anqing Normal University, Anqing 246133, Anhui, China;
2. Engineering Technology Research Center for Aquatic Organism Conservation and Water Ecosystem Restoration in University of Anhui Province, Anqing 246133, Anhui, China;
3. International Joint Research Center of Simulation and Control for Population Ecology of Yangtze River in Anhui, Anqing 246133, Anhui, China)

Abstract: Rhizospheric microbes of plants play an important role in the rhizosphere ecosystem in the riparian zone. In order to understand the characteristics and main influencing factors of plant rhizospheric microbial communities before

收稿日期: 2024-01-26 修回日期: 2024-03-12 接受日期: 2024-08-20

作者简介: 郭文轩(1996-), 男, 硕士, 主要从事微生物生态学研究。E-mail: 1127197525@qq.com

* 通讯联系人: 王慧丽(1985-), 女, 博士, 高级实验师, 主要从事湿地生态学研究。E-mail: xiaoyou_041@163.com

基金项目: 安徽省重点研究与开发计划项目(2022107020002)

引用格式: 郭文轩, 常杰伦, 李博文, 等. 引江济巢沿线消落区植物根际微生物群落特征及其主要影响因素[J]. 生物资源, 2024, 46(4): 378-389.

Guo W X, Chang J L, Li B W, et al. Characteristics and main influencing factors of plant rhizospheric microbial communities in riparian zone along the project of water diversion from Yangtze River to the Chaohu Lake [J]. Biotic Resources, 2024, 46(4): 378-389.

the operation of the project of water diversion from Yangtze River to the Chaohu Lake (Caizihu line), a systematic survey of plant rhizospheric microbial communities and environmental factors in four different regions along this project was conducted. The results showed that a total of 75 phyla (3 phyla of archaea and 72 phyla of bacteria) of rhizospheric microbes were detected in the whole survey area, of which 25 phyla were dominant, and the Proteobacteria, Bacteroidetes, and Acidobacteria were the most abundant. Although there were significant differences in the composition of rhizospheric microbial communities among the four regions, they were still mainly composed of Proteobacteria, Bacteroidetes, Acidobacteria, or Actinobacteria. The results of one-way ANOVA showed that there were significant differences in Chao1, Shannon, and Goods coverage index of rhizospheric microbes in the four regions, among which Chao1 and Shannon index were the lowest in the Chaohu Lake and Baishitianhe River regions. Redundancy analysis showed that substrate pH and organic matter mass fraction were the main environmental factors affecting the rhizospheric microbial community structure along the project. This study revealed the community structure and spatial variation of plant rhizospheric microbial community structure before the operation of the project of water diversion from Yangtze River to the Chaohu Lake for the first time. The relevant results can provide background data for the subsequent evaluation of the impact of the operation of this project on the rhizospheric microbial communities.

Key words: rhizospheric microbe; the project of water diversion from Yangtze River to the Chaohu Lake; diversity; community structure

0 引言

根际微生物是消落区根际生态系统的重要组成部分,参与调控多种重要的生物地球化学过程,并对植物与土壤环境的相互作用有显著影响^[1,2]。根际微生物不仅能通过解磷、固氮、产生植物激素等对植物产生促生作用,调节植物的免疫能力,还能提高植物对于逆境胁迫的耐受性^[3,4]。同时,植物根际可通过对有机碳的分泌以及有益根际微生物的富集,促进凋落物和土壤有机质的分解,调节土壤生态系统的物质循环^[5]。

根际微生物的群落结构与多样性受众多生物与非生物因素的综合影响,主要包括植物地理位置、气候条件、根际分泌物以及水体和土壤理化性质等^[6-9]。有研究表明,水文条件对消落区植物根际微生物的群落结构也有重要塑造作用^[10]。引江济巢工程作为安徽省水资源配置的战略跨区域调水工程,参与调节诸多区域经济社会可持续发展过程,但其对沿线气候、水文、植被和土壤理化性质等的改变也必然会对根际微生物产生持续影响。目前中国对于引江济巢工程沿线的调查主要集中于水质与水动力、有机污染物和水生生物方面^[11-14],但对不同区域植物根际微生物的调查鲜有报道。

引江济巢工程包含菜子湖和西兆河2条输水线路,其中菜子湖线为新辟线路,水体通过枞阳闸进入长河,经菜子湖后依次进入孔城河、罗埠河和白石天河,最后进入巢湖。引江济巢工程通过增加江湖水量交换、缩短巢湖水体置换时间,可抑制巢湖蓝藻暴发并改善湖泊水质^[15]。为了解引江济巢工程(菜子

湖线)运行前沿线消落区植物根际微生物的群落特征及其主要影响因素,本研究于2023年4月对沿线4个不同区域进行了系统调查。相关研究结果不仅可为后续评估引江济巢工程运行对根际微生物群落的影响提供本底数据,还可为闸坝生态调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 采样区域及样点概况

引江济巢菜子湖线路全长113.18 km,所流经区域的生态功能类型、经济发展状况以及土地利用方式等不同,其水环境和沿岸带植被状况差异较大。长河为菜子湖入江河段,全长24 km,沿线消落区属于自然堤岸,植被多样性和盖度均较高,植被群落以藁草(*Carex* spp.)、藨草(*Phalaris arundinacea*)和天蓝苜蓿(*Medicago lupulina*)等为主。菜子湖由白兔湖、嬉子湖和菜子湖3个湖区共同组成,湖滨带消落区生境自然、植被丰富,其植被群落以藁草、紫云英(*Astragalus sinicus*)和狗牙根(*Cynodon dactylon*)等为主。白石天河为巢湖主要支流之一,沿线均为硬化堤岸,植被多样性和盖度均极低,输水线路未开通前水质较差。巢湖是中国第五大淡水湖,水体严重富营养化,消落区均为硬化堤岸,植被多样性和盖度均较低,其植被群落组成以芦苇(*Phragmites australis*)和狗牙根等为主。

2023年4月,在引江济巢菜子湖线共设置15个不同采样点。根据沿线水系情况,可划分为巢湖、白石天河、菜子湖和长河-长江等4个区域,本研究中4个区域采样点个数分别为4、3、4和4个(见图1)。

1.2 野外测量与样品采集

每个样点根据消落区植被特征沿垂直河岸或湖岸方向设置3~6个样方(1 m×1 m)。每个样方内使用土壤水分检测仪(Delta-T/WET-2-KIT)测量基质含水率,使用激光测距仪(Trueyard/SP-2000H)测量样方间的距离及高度差,使用便携式水质分析仪(YSI ProPlus)测量样点水体pH、温度、溶氧量及电导率;使用取土钻(1.0 m×50 mm)钻取样方内基质样本(钻取深度≥15 cm),重复取样3次,混合后作为一个样品用于测定土壤理化性质。现场鉴定每个样方内植被的种类并记录每种植被的密度、盖度及生物量。根据植物数据,从每个样方选取两种优势度最高的植物,采集其根际1~2 mm范围内的根际土壤样本用于根际微生物群落的测定。

1.3 理化参数测定

依据《土壤农业化学分析方法》^[16],使用电位法测定土壤pH值;使用高温外热重铬酸钾氧化-容量法测定土壤有机质含量;使用开氏消煮法测量土壤全氮;使用碱熔-钼锑抗分光光度法测量土壤全磷。根据采样区土壤质地特征,使用赋值法对基质类型进行分类,主要分为黏土(1.0)、淤泥(2.0)、壤土(3.0)、沙土(4.0)和石砾(5.0);根据采样区域人类活动频率、外来入侵种数量以及硬化堤岸覆盖程度,使用赋值法对研究区干扰强度进行分类,主要分为轻度干扰(1)、中度干扰(2)和重度干扰(3)^[17]。

1.4 基因组DNA提取、PCR扩增和16S rRNA基因测序

首先使用试剂盒[QIAGEN, DNeasy Blood and Tissue Kit(100)]从所采集的优势植物根际土壤样本中提取DNA样品,然后采用Nanodrop 2000分光光度计测定DNA的质量并将DNA稀释至10 ng/μL应用PCR扩增。采用通用引物515F(5'-GTGY-CAGCMGCCGCGGTA-3')和907R(5'-CCGT-CAATTCMTTTRAGT-3')引物扩增微生物16S rRNA基因的V4~V5高变区,其中引物515F的5'端连接12 nt长度的barcode序列用于后续的分选。

每25 μL PCR反应液中含有1×PCR buffer、1.5 mM MgCl₂、0.2 mM dNTP、1.0 μM引物、0.25 U Ex Taq (TaKaRa, 中国)和10 ng DNA模板。PCR扩增条件为94℃预变性3 min,然后进行30个循环的常规扩增,最后72℃延伸10 min。同一个样品同时扩增2次,将同一个样品扩增得到的2份PCR产物混合,使用1.2%的琼脂糖凝胶电泳切胶后采用sanPrep DNA凝胶回收试剂盒(生工,中国)

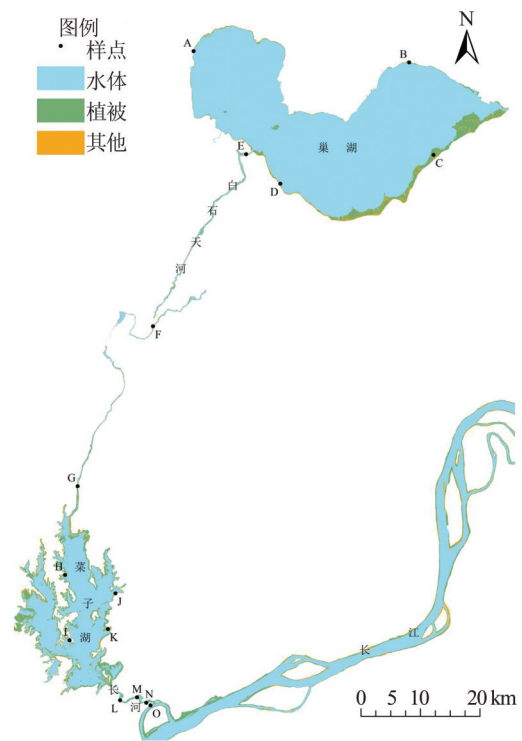


图1 引江济巢工程沿线采样点分布

Fig. 1 Distribution of sampling points along the project of water diversion from Yangtze River to the Chaohu Lake

纯化,将所有纯化的DNA等量混合后,采用Illumina Miseq进行PE250测序。

1.5 生物信息学和统计分析

1.5.1 根际微生物组成分析

对于测序所得到的下机序列,通过去除低质量、接头污染等过程完成数据过滤,得到可信的目标序列,用于后续分析。将双端测序的相应的Read 1与Read 2利用序列拼接软件FLAsH软件(Win, 34.0.0.192)进行拼接,作为测序数据量统计的序列;然后利用软件QIIME 1.9.0进行筛选,去除与引物不匹配的序列、长度小于300 bp的序列、含有模糊碱基N的序列及平均碱基质量小于30的序列^[18, 19]。然后采用Usearch软件包(<http://drive5.com/usearch/>)中的Uchime程序进行嵌合体检测^[20],去除检测到的嵌合体序列。分析前对每个样品的OTUs (operational taxonomic units)表进行均一化处理,然后使用QIIME 1.9.0软件按照序列97%的相似性进行OTUs划分^[21]。物种注释则采用Ribosomal Database Project classifier方法,原核生物参考数据库greengenes gg_13_8。对于测序所得到的结果,在门水平上,将至少在一个样品的相对丰度超过1%的门列为优势门;基于相同区域根际微生物优势属的平均值,使用Python 2.7软件绘制热图。使用单

因素方差分析检验不同区域根际微生物主要优势门或优势属是否存在显著差异。

1.5.2 根际微生物多样性分析

使用R程序^[22]中的“Vegan”包计算所有样品的 α 多样性指数(包括Chao1指数、辛普森指数、香农指数和Goods coverage指数),样点及区域间 α 多样性指数为范围内所有优势门样品的均值。使用单因素方差分析检验不同区域根际微生物 α 多样性指数是否存在显著差异。

1.5.3 根际微生物与环境因子相互关系分析

使用斯皮尔曼相关来检验所有环境因子之间的相关性,排除高度相关($|r|>0.7$)的两个环境因子中重要性较低的一个,剩余环境因子用于和微生物相互关系的分析^[23]。采用Canoco 5.0软件对根际微生物组成(纲水平)和环境因子进行梯度分析,首先对根际微生物组成进行除趋势对应分析,根据分析结果中各排序轴长度判断采用线性或非线性模型^[24];本研究选择冗余分析,实际参与分析的有13个环境因子。将丰度超过总OTUs 0.5%的OTUs定义为优势OTUs^[25]。采用斯皮尔曼相关来检验环境因子与优势OTUs之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 环境因子特征

15个样点土壤有机质质量分数、pH、全氮、全磷、含水率和基质类型的变化范围依次为26.7~233.3 g/kg、4.6~7.9、705.9~1146.4 mg/kg、78.6~407.8 mg/kg、14.4%~59.4%和1.0~4.0;水体pH、温度、溶解氧和电导率的变化范围分别为8.0~9.3、13.8~26.1 °C、4.6~7.5 mg/L和171.0~398.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$;水距和高程的变化范围为6.5~57.6 m和133.0~2436.7 cm;干扰强度、植物种类数、植物密度、植物盖度和植物生物量的变化范围分别为1.1~2.8、4.5~13.0、75.8~2582.8 ind./m²、12.1%~100.0%和65.5~2142.3 g/m²(详细信息见表1)。

4个区域相比,白石天河和长河-长江区域由于基质粒径较大,土壤含水率相对低于巢湖和菜子湖区域;菜子湖区域基质pH明显低于其他3个区域;长河-长江区域土壤全磷明显高于其他3个区域,但这4个区域土壤全氮无明显差异。水体理化性质方面,巢湖区域由于水体严重富营养化,电导率明显高于其他3个区域。此外,菜子湖和长河-长江区域由于人为干扰较小,植物密度、盖度和生物量均明显高于其他2个区域。

2.2 引江济巢沿线根际微生物群落组成

在引江济巢沿线的根际微生物样品中共获得6580392条有效序列,每个研究样本的测序深度为30041~390927条。得到的序列可分为717603个OTUs,每个研究样品有3084.7~7301.8个OTUs。整个调查区域根际微生物群落组成在门水平上存在差异,共检出75门(其中有3个古细菌门和72个细菌门),其中变形菌门(Proteobacteria)最丰富,其次是拟杆菌门(Bacteroidetes)和酸杆菌门(Acidobacteria),其他优势门包括绿弯菌门(Chloroflexi)、放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、泉古菌门(Crenarchaeota)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、浮霉菌门(Planctomycetes)、硝化螺旋菌门(Nitrospirae)、WS3、装甲菌门(Armatimonadetes)、蓝藻门(Cyanobacteria)、软壁菌门(Tenericutes)、绿菌门(Chlorobi)、疣微菌门(Verrucomicrobia)、TM7、迷踪菌门(Elusimicrobia)、NC10、梭杆菌门(Fusobacteria)、纤维杆菌门(Fibrobacteres)、OP11、广古菌门(Euryarchaeota)、OP3和螺旋体门(Spirochaetes)等22门。

4个不同区域根际微生物群落组成亦有明显差异。巢湖区域根际微生物群落以变形菌门、拟杆菌门和酸杆菌门等为主,其中变形菌门的相对丰度在4个区域中最高;白石天河区域根际微生物以变形菌门、拟杆菌门和放线菌门等为主,其中拟杆菌门的相对丰度在4个区域最高;菜子湖区域根际微生物以变形菌门、酸杆菌门和拟杆菌门等为主,其中酸杆菌门在4个区域相对丰度最高;长河-长江区域根际微生物以变形菌门、拟杆菌门和放线菌门为主,但其相对丰度均较低(图2)。单因素方差分析结果表明,4个区域变形菌门无显著差异,但酸杆菌门($F=12.096, P<0.001$)、拟杆菌门($F=3.758, P=0.013$)和放线菌门($F=4.893, P=0.003$)均存在显著差异。

热图从属水平上显示了研究区域根际微生物优势类群的分布(图3)。巢湖区域的主要优势属为一种称为Chitinophagaceae科中的菌属、一种称为Flavobacterium的菌属、一种称为i1~15目中的菌属和一种称为envOPS12目中的菌属;白石天河区域的主要优势属为称为Variovorax、Arthrobacter和Flavisolibacter的菌属以及一种称为Chitinophagaceae科中的菌属等;菜子湖区域的主要优势属为一种称为Koribacteraceae科中的菌属、一种称为Candidatus Koribacter的菌属、一种称为Ellin329目中的菌属和一种称为Ellin6513目中的菌属等;长河-长江区域的主要优势属为一种称为Chi-

表 1 引江济巢工程沿线 4 个区域理化参数(平均值)
Table 1 Physical and chemical parameters of four regions along the project of water transfer from Yangtze River to Chaohu Lake (average value)

环境变量	巢湖区域				白石天河区域			菜子湖区域				长河-长江区域			
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O
有机质质量分数/(g·kg ⁻¹)	44.0	32.0	101.8	68.8	79.0	26.7	57.9	153.7	135.5	175.9	120.3	223.3	124.8	94.0	72.6
基质 pH	7.4	7.5	7.3	7.7	7.7	7.9	6.6	5.6	4.7	4.6	5.4	7.0	7.8	7.9	7.0
土壤全氮/(mg·kg ⁻¹)	1033.3	1104.6	1146.4	1066.2	938.0	705.9	1046.8	1116.5	1025.0	1070.3	954.7	1104.8	1020.2	803.8	1094.6
土壤全磷/(mg·kg ⁻¹)	191.1	154.8	107.8	130.6	111.2	282.2	78.6	248.1	134.2	270.3	215.0	407.8	161.0	274.7	330.3
土壤含水率/%	28.6	32.5	43.2	24.7	17.4	26.6	29.8	31.7	27.8	28.3	59.4	37.4	24.5	14.4	15.4
基质类型	1.2	1.0	3.0	1.0	2.3	3.0	3.0	1.7	2.3	2.3	2.6	3.0	3.0	3.3	4.0
水体 pH	8.6	8.6	9.2	8.1	8.4	8.6	8.5	8.7	9.3	8.6	8.3	9.0	8.5	8.1	8.0
水体温度/°C	16.6	15.7	22.4	13.8	20.1	19.0	19.0	18.0	21.8	19.1	16.7	26.1	22.6	21.9	20.8
水体溶氧量/(mg·L ⁻¹)	7.5	5.6	5.7	7.4	6.6	4.6	4.6	6.0	6.2	5.9	5.8	6.3	4.6	5.5	6.2
水体电导率/(μS·cm ⁻¹)	392.8	356.0	398.3	333.0	267.8	238.5	235.1	222.9	171.0	224.6	178.5	285.7	295.3	285.6	284.8
水距/m	38.4	29.5	25.0	48.0	6.5	39.3	49.5	8.7	13.3	57.6	41.9	14.1	14.4	32.2	10.4
高程/cm	232.0	133.0	150.8	228.0	306.7	2436.7	260.3	136.7	171.3	145.3	127.2	129.5	145.0	1043.3	¹ 182.5
干扰强度	2.6	2.5	2.8	2.5	2.7	2.7	2.5	1.3	1.3	1.4	1.4	2.3	2.0	1.3	1.1
植物种类数	5.7	5.5	11.0	7.7	13.0	6.7	4.5	9.3	8.0	6.4	7.0	6.5	9.5	7.3	8.4
植物密度/(ind·m ⁻²)	218.6	115.3	521.8	513.2	225.7	365.0	694.8	1721.7	287.0	1491.1	1506.2	2582.8	502.3	98.7	75.8
植物盖度/%	26.4	41.4	58.9	33.2	44.6	12.1	19.7	82.4	42.7	94.1	89.3	100.0	100.0	26.3	27.3
植物生物量/(g·m ⁻²)	528.2	1562.9	962.5	741.4	1174.4	65.5	169.0	430.3	898.7	2138.9	2142.3	1036.7	1356.6	335.6	1805.0

tinophagaceae 科中的菌属、一种称为 *Flavobacterium* 的菌属、一种称为 envOPS12 目中的菌属和一种称为 i 1~15 目中的菌属等。单因素方差分析结果表明,4 个区域中,称为 *Flavobacterium* 的菌属不存在显著差异,但称为 Chitinophagaceae 科 ($F=3.561, P=0.017$) 和 Koribacteraceae 科 ($F=23.500, P<0.001$) 中的菌属、称为 i 1~15 目 ($F=8.306, P<0.001$)、envOPS12 目 ($F=5.876, P=0.001$)、El-lin329 目 ($F=14.862, P<0.001$) 和 Ellin6513 目 ($F=21.985, P<0.001$) 中的菌属以及称为 *Variovo-*

rax ($F=20.754, P<0.001$)、*Arthrobacter* ($F=9.302, P<0.001$)、*Candidatus Koribacter* ($F=13.765, P<0.001$) 和 *Flavisolibacter* ($F=11.212, P<0.001$) 的菌属等均存在显著差异。

2.3 引江济巢沿线根际微生物群落多样性

由表 2 可知,15 个样点根际微生物的 Chao1 指数、辛普森指数、香农指数和 Goods coverage 指数的变化范围分别为 10457.57~25390.75、0.99~1.00、9.49~11.08 和 0.74~0.88。3 个指数的均值分别为 16029.15、0.99、10.30 和 0.83。4 个区域根

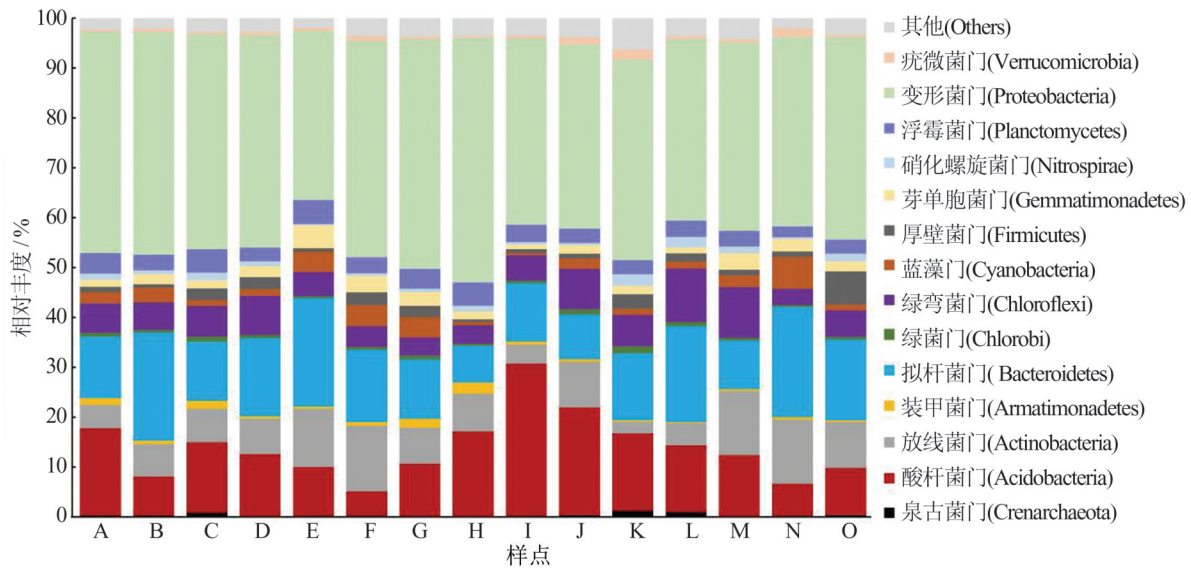


图2 调查样本中根际微生物优势门相对丰度

Fig. 2 Relative abundance of dominant phyla of rhizospheric microbiota in investigated samples

际微生物 Chao1 指数 ($F=8.247, P<0.001$)、香农指数 ($F=4.367, P=0.006$) 和 Goods coverage 指数 ($F=8.461, P<0.001$) 均存在显著差异, 而辛普森指数无显著差异。其中巢湖和白石天河区域 Chao1 指数显著低于菜子湖和长河-长江区域, 但 Goods coverage 指数却显著高于菜子湖和长河-长江区域; 白石天河区域香农指数显著低于菜子湖和长河-长江区域(图4)。

2.4 引江济巢沿线根际微生物群落对环境变化的响应

RDA 分析结果表明, 前两轴根际微生物与环境

因子的相关性分别为 0.991 和 0.996, 分别解释了 41.93% 和 20.09% 的物种-环境变量。蒙特卡罗 (Monte-Carlo) 检验分析表明, 排序轴的特征值具有显著性差异 ($P<0.05$)。13 个环境因子当中, 基质 pH 和有机质质量分数为影响根际微生物群落结构的主要环境因子, 二者解释率分别为 34.8% 和 11.3% (表3), 其中基质 pH 主要贡献于第一排序轴, 有机质质量分数主要贡献于第二排序轴。4 个象限中, 长河-长江区域样点主要分布在基质 pH 和有机质质量分数均较高的区域, 菜子湖区域样点主要分布在基质 pH 较低而有机质质量分数较高的区

表2 引江济巢沿线 4 个区域根际微生物的 α 多样性(平均值 \pm 标准误)

Table 2 α diversity of rhizospheric microbiota in four regions along the project of water diversion from Yangtze River to the Chaohu Lake (average value \pm SE)

区域	样点	Chao1 指数	辛普森指数	香农指数	Goods coverage 指数
巢湖	A	12 423.66 \pm 883.46	0.99 \pm 0.00	9.96 \pm 0.12	0.86 \pm 0.01
	B	10 457.57 \pm 532.85	0.99 \pm 0.00	9.49 \pm 0.14	0.88 \pm 0.01
	C	13 203.87 \pm 403.61	1.00 \pm 0.00	10.40 \pm 0.19	0.84 \pm 0.01
	D	16 437.92 \pm 532.62	1.00 \pm 0.00	10.90 \pm 0.09	0.81 \pm 0.01
白石天河	E	15 962.07 \pm 2 110.64	0.99 \pm 0.00	10.06 \pm 0.17	0.84 \pm 0.02
	F	10 477.98 \pm 1 079.83	0.99 \pm 0.00	9.76 \pm 0.21	0.88 \pm 0.01
	G	12 094.31 \pm 445.74	0.99 \pm 0.00	9.93 \pm 0.16	0.86 \pm 0.01
菜子湖	H	16 120.39 \pm 2 008.70	1.00 \pm 0.00	10.57 \pm 0.21	0.82 \pm 0.02
	I	25 390.75 \pm 2 302.63	1.00 \pm 0.00	10.85 \pm 0.24	0.75 \pm 0.02
	J	15 810.94 \pm 2 542.04	1.00 \pm 0.00	10.30 \pm 0.25	0.83 \pm 0.02
	K	19 701.39 \pm 2 518.40	1.00 \pm 0.00	10.84 \pm 0.28	0.80 \pm 0.02
长河-长江	L	19 726.69 \pm 1 163.03	1.00 \pm 0.00	10.65 \pm 0.17	0.80 \pm 0.01
	M	25 127.45 \pm 4 195.09	0.99 \pm 0.00	11.08 \pm 0.28	0.74 \pm 0.03
	N	13 394.99 \pm 320.71	0.99 \pm 0.00	9.66 \pm 0.17	0.86 \pm 0.00
	O	14 107.35 \pm 1 393.41	0.99 \pm 0.00	10.12 \pm 0.36	0.84 \pm 0.02



图 3 调查样本中根际微生物优势属热图

Fig. 3 Heatmap of dominant genera of rhizospheric microbiota in the investigated samples

域,巢湖和白石天河区域样点则主要分布在基质pH较高而有机质质量分数较低的区域(图5)。

斯皮尔曼相关性分析进一步证实了这些相关性,研究样本中大多数优势OTUs均与基质pH和

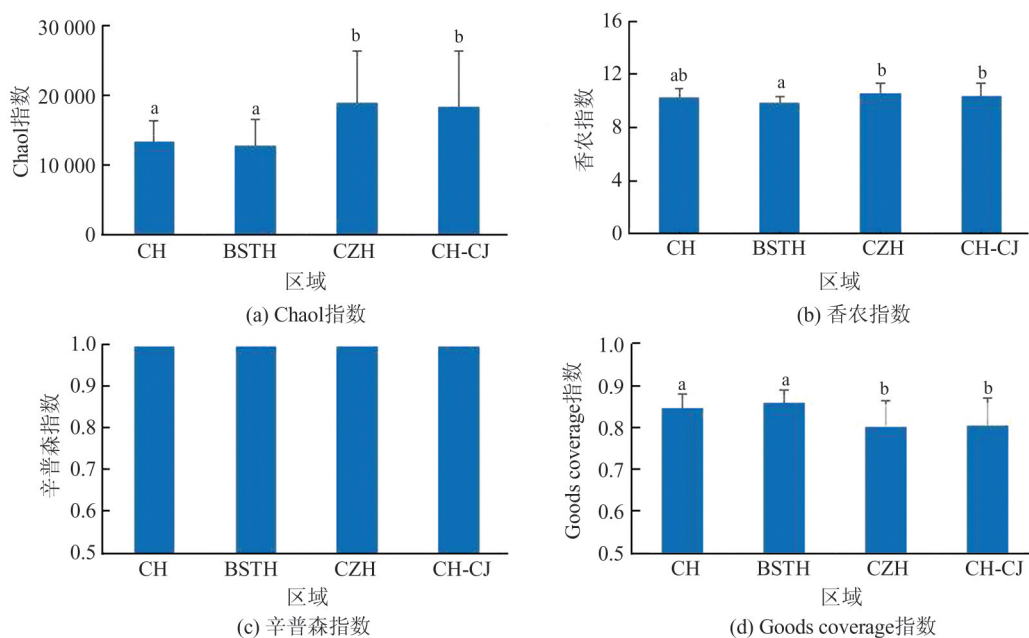


图 4 调查样本中不同区域的 Chao1 指数、香农指数、辛普森指数和 Goods coverage 指数

Fig. 4 Chao1 index, Shannon index, Simpson index and Goods coverage index in different regions of the investigated samples

注:CH为巢湖区域;BSTH为白石天河区域;CZH为菜子湖区域;CH-CJ为长河-长江区域

Note: CH, Chaohu Lake region; BSTH, Baishitianhe River region; CZH, Caizi Lake region; CH-CJ, Changhe-Yangtze River region

表 3 引江济巢沿线根际微生物与 13 个环境因子的相关性
Table 3 Correlation between rhizospheric microbiota and thirteen environmental factors along the project of water diversion from Yangtze River to the Chaohu Lake

环境因子	解释率/%	伪F值	P值
基质 pH	34.8	6.9	0.002
有机质质量分数	11.3	2.5	0.006
水体电导率	8.1	1.9	0.054
植物生物量	6.9	1.8	0.068
植物密度	6.0	1.6	0.102
水体溶氧量	5.8	1.7	0.096
干扰强度	4.4	1.3	0.232
水距	4.0	1.3	0.280
水体 pH	3.8	1.3	0.298
土壤全磷	3.1	1.0	0.402
基质类型	3.2	1.1	0.422
植物种类数	2.3	0.7	0.534
土壤全氮	1.4	0.3	0.734

有机质质量分数显著相关。其中,称为 *Variovorax*、*Arthrobacter* 的菌属以及称为 i 1~15 目、El-lin6067 目和 RB41 目中的菌属(OTU 194414、OTU 136733、OTU 470261、OTU 525244、OTU 431443 和 OTU 477830)均与基质 pH 显著正相关;一种称为 *Enterobacteriaceae* 科中的菌属以及称为 *Variovo-*

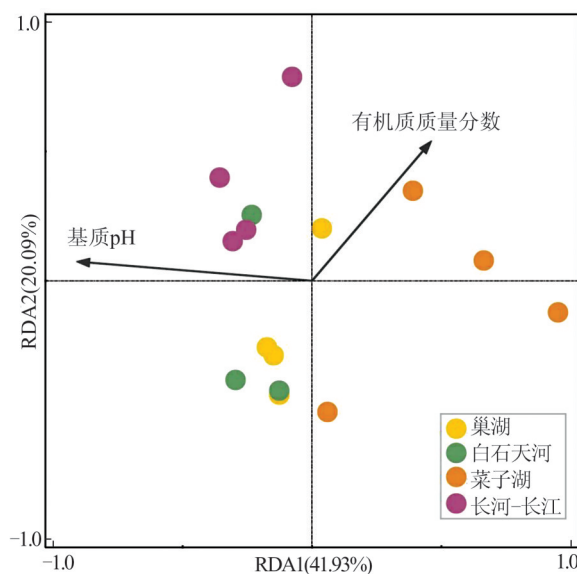


图 5 根际微生物采样点与显著环境因子之间的冗余分析

Fig. 5 Redundancy analysis of sampling sites of rhizospheric microbiota with significant environmental factors

rix、*Arthrobacter*、*Pseudomonas*、*Janthinobacterium* 和 *Flavobacterium* 的菌属 (OTU 40470、OTU 194414、OTU 136733、OTU 141577、OTU 470261 和 OTU 51694)均与有机质质量分数显著负相关;一种称为 *Bradyrhizobium* 的菌属 (OTU 337875)与

基质pH和有机质质量分数分别呈显著负相关和显著正相关,如表4所示。

3 讨论

3.1 根际微生物群落组成与多样性

本研究结果表明,整个引江济巢沿线共检出根际微生物75门(古细菌3门、细菌72门),其中优势门25门,最丰富的为变形菌门、拟杆菌门和酸杆菌门。与对亚热带湖泊湖滨带根际微生物的研究结果相比,菌门数量较为接近,且优势门的组成也较为相似^[10]。与典型沼泽化湖泊武昌湖主要优势种菰(*Zizania latifolia*)的根际微生物组成相比,优势门的组成也表现出极高的相似性^[26]。这表明亚热带区域水陆交错带根际微生物在较大的空间尺度可能存在一定的趋同性。此外,本研究中变形菌门的相对丰度在所有样点均最高,这主要是由于变形菌门本身是细菌中最大的一门,且在土壤氮循环和硫循环相关的大量生物化学过程中起主导作用。在多项研究中,变形菌门均被证实是湖泊湿地微生物群落中的核心根际细菌群落^[27,28]。

4个不同区域相比,巢湖和白石天河区域在优势门组成上更为相似,但巢湖的变形菌门相对丰度在4个区域最高,这是因为变形菌门多为兼性或专性厌氧菌,多存在于污染较重的土壤和废水中^[29];4个区域内巢湖水质最差,更容易导致变形菌门的大量滋生。白石天河区域拟杆菌门相对丰度在4个区域最高,可能主要跟引江济巢工程的施工有紧密联系;拟杆菌门多存在于水生环境中,白石天河在引江济巢施工过程中被高强度开掘清淤,使许多本存在于水体和底泥中的拟杆菌门细菌混入消落区基质中。菜子湖区域酸杆菌门相对丰度在4个区域最高,可能主要跟该区域较低的pH有关;目前对于此门的研究相对较少,已知其在土壤生态系统中有重要作用,且为嗜酸菌,因此菜子湖区域明显更低的pH值与这一变化趋势相吻合。长河-长江区域除广泛分布的变形菌门和拟杆菌门以外,还有大量放线菌门分布;已有研究表明,放线菌门相对丰度常与土壤氮含量呈显著正相关关系^[30],长河-长江区域土壤较高的全氮含量可能是出现这一现象的主要原因,在其他亚热带湖泊湖滨带和湿地植物根际微生物群落中放线菌门也是大量存在的优势菌门^[10,26]。

4个区域根际微生物的 α 多样性也存在显著差异,其中生境相对更为自然的菜子湖和长河-长江区域Chao1指数和香农指数明显高于人为干扰较大的巢湖和白石天河区域,这表明消落区生境质量对根

表4 优势OTUs与显著环境因子的斯皮尔曼相关
Table 4 Spearman's correlation between significant environmental factors and dominant OTUs

OTUs	基质pH	有机质质量分数
OTU 194414	0.412**	-0.474**
OTU 40470	-0.036	-0.409**
OTU 136733	0.489**	-0.444**
OTU 141577	0.037	-0.391**
OTU 525244	0.296**	-0.126
OTU 431443	0.267**	-0.057
OTU 337875	-0.363**	0.218*
OTU 199579	0.084	0.103
OTU 51694	0.053	-0.183*
OTU 470261	0.205*	-0.391**
OTU 477830	0.184*	-0.053

注:*,在0.05水平显著相关;**在0.01水平显著相关

Note: *, significant correlation at the 0.05 level; **, significant correlation at the 0.01 level

际微生物多样性存在重要影响。已有研究表明,过度的人为干扰会造成消落区植被稀疏以及土壤结构与质量的变化,进而导致土壤微生物多样性的降低;而受人类活动干扰较少的河岸带植物群落生长状况较好,植物残体为微生物的生长代谢提供了丰富营养,微生物多样性相对较高^[31]。本研究中白石天河区域由于引江济巢工程施工,大量河道被改造挖掘,河岸带植被破坏严重,干扰强度最高,因此多样性在4个区域最低。巢湖虽然也存在大量硬化堤岸,且植物群落的种类数、密度、盖度和生物量也相对较低,但其人为干扰强度低于白石天河,因此多样性也略高于后者。然而,巢湖和白石天河区域的Goods coverage指数却显著高于其他两个区域,这主要是因为这两个区域个别优势菌门占有更高的比重。

3.2 根际微生物群落与环境因子关系

从RDA分析结果可以看出,引江济巢沿线对根际微生物群落影响最大的环境因子是基质pH,其次是有机质质量分数。4个区域相比,长河-长江区域样点主要分布在基质pH和有机质质量分数均较高的区域,菜子湖区域样点主要分布在基质pH较低而有机质质量分数较高的区域,巢湖和白石天河区域样点则主要分布在基质pH较高而有机质质量分数较低的区域(图5)。4个区域相比,菜子湖基质pH明显低于其他3个区域,但菜子湖和长河-长江区域有机质质量分数明显高于巢湖和白石天河区域(表1),这与RDA排序结果一致。此外,其他一些研究也表明土壤微生物的代谢过程受土壤pH、土壤有

机质质量分数、土壤水分和植物群落等的影响^[32-34]。pH会影响微生物的分子结构,破坏细胞活性,因此微生物群落常与pH呈现显著的相关关系^[35];土壤有机质多来自于植物枯枝落叶及死根的腐殖作用^[36],可为微生物的生长代谢提供营养物质,导致微生物丰富度的提高。这与本研究结果一致。此外,在亚热带湖泊湖滨带区域土壤TN和TP也是显著影响微生物群落的环境因子^[10],但在本研究中却并无显著影响。这主要是由于土壤TN和TP含量的差异可能更多体现于不同季节之间;本研究仅对春季进行了调查,不同样点土壤总氮和总磷差异不大。

斯皮尔曼相关分析结果表明,本研究中大多数优势OTUs丰度虽与主要环境因子均存在显著相关关系,但其与有机质质量分数呈显著负相关,与基质pH呈显著正相关,这与他人研究结果不同。一般在pH相对较低而有机质质量分数更高的环境中微生物丰度会更高^[37, 38]。本研究中15个样点基质pH的变化范围为4.6~7.9,且大多数更接近中性或碱性水平,说明本研究区域大多数优势根际微生物可能更喜欢偏中性的环境。已有研究发现,一些广泛存在于土壤和水体的优势细菌更适应pH较高的环境^[39],以本研究中节杆菌属(OTU 136733, *Arthrobacter*属)为例,其广泛存在于空气、水、污染的土壤和污泥等环境中,且许多节杆菌属细菌对有机污染物的最大降解率都是在中性或碱性环境下达到的^[40-43]。有机质质量分数与优势根际微生物的相互关系有待进一步深入分析。

3.3 总结与建议

本研究结果表明引江济巢沿线4个不同区域生态环境差异较大,且植物根际微生物群落结构和多样性也存在明显不同。人为干扰强烈的白石天河区域和巢湖区域Chao1指数和香农指数明显低于菜子湖区域和长河-长江区域。考虑到微生物群落易受水系连通而进行扩散,因此引江济巢工程的运行必然会对4个区域根际微生物群落产生深远影响。基于本研究的结果,建议:(1)积极开展白石天河以及巢湖区域消落区植被的生态恢复工作,改善根际微生物栖息生境,提高根际微生物多样性;(2)加强引江济巢沿线根际微生物的监测与科学研究,促进沿线消落区基底环境的有效改善;(3)开展沿线优势植物与根际微生物相互关系研究,构建更加稳固-高效的水陆交错带。

参考文献

[1] 谭颖,周进宏,张雯静,等. 根际微生物-植物联合修

复土壤重金属污染的研究进展[J]. 节能与环保, 2020(Z1): 80-81.

Tan Y, Zhou J H, Zhang W J, *et al.* Research on rhizospheric microorganism-plant combined bioremediation of and of heavy metal contaminated soil [J]. Energy Conservation and Environmental Protection, 2020(Z1): 80-81.

[2] 李婷,吴明辉,杨馨婷,等. 植物与微生物对重金属的抗性机制及联合修复研究进展[J]. 应用与环境生物学报, 2021, 27(5): 1405-1414.

Li T, Wu M H, Yang X T, *et al.* Advances in the mechanism of heavy metal resistance and combined remediation of plants and microorganisms[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 2021, 27(5): 1405-1414.

[3] Pérez-Jaramillo J E, Mendes R, Raaijmakers J M. Impact of plant domestication on rhizosphere microbiome assembly and functions [J]. Plant Molecular Biology, 2016, 90(6): 635-644.

[4] Liu H, Brettell L E, Qiu Z, *et al.* Microbiome-mediated stress resistance in plants [J]. Trends in Plant Science, 2020, 25(8): 733-743.

[5] Senthilnathan A, D'Andrea R. Niche theory for positive plant-soil feedbacks [J]. Ecology, 2023, 104(4): e3993.

[6] Walters W A, Jin Z, Youngblut N, *et al.* Large-scale replicated field study of maize rhizosphere identifies heritable microbes [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2018, 115(28): 7368-7373.

[7] Hu L, Robert C A M, Cadot S, *et al.* Root exudate metabolites drive plant-soil feedbacks on growth and defense by shaping the rhizosphere microbiota [J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 2738.

[8] Doussan C, Pagès L, Pierret A. Soil exploration and resource acquisition by plant roots: an architectural and modelling point of view [J]. Agronomie, 2003, 23(5-6): 419-431.

[9] Banerjee S, Helgason B, Wang L, *et al.* Legacy effects of soil moisture on microbial community structure and N₂O emissions [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2016, 95: 40-50.

[10] Zhang X, Wang H, Li Z, *et al.* Hydrological and soil physiochemical variables determine the rhizospheric microbiota in subtropical lakeshore areas [J]. PeerJ, 2020, 8: e10078.

[11] 易雨君,郭玉明,刘泓汐. 不同典型年“引江济巢”工程对巢湖水质的影响[J]. 湖泊科学, 2022, 34(6): 1901-1911.

Yi Y J, Guo Y M, Liu H X. Impacts of the Yangtze

- River water transfer project on water quality of Lake Chaohu in different typical years [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2022, 34(6): 1903-1913.
- [12] 郭玉明. 引江济巢工程对巢湖水动力水质影响及模拟[D]. 烟台: 烟台大学, 2023.
- Guo Y M. Impacts and simulation of the Yangtze River water transfer project on the hydrodynamic water quality of Lake Chaohu [D]. Yantai: Yantai University, 2023.
- [13] 宋婧, 吕丹, 丁锐, 等. 引江济淮工程菜子湖线有机磷农药分布特征及生态风险评价[J]. *上海海洋大学学报*, 2022, 31(6): 1502-1513.
- Song J, Lü D, Ding R, *et al.* Distribution characteristics and risk assessment of organophosphorus pesticides in Caizihu Lake line of the leading water project from Yangtze River to Huaihe River [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2022, 31(6): 1502-1513.
- [14] 周盛, 杨森, 鲍明霞, 等. 基于遥感反演预测“引江济淮”工程对菜子湖越冬水鸟栖息地的影响[J]. *生态科学*, 2019, 38(1): 71-78.
- Zhou S, Yang S, Bao M X, *et al.* Predicting the impact of the water transfer project from Yangtze River to Huai River on habitats of wintering waterbirds in Caizi Lake using remote sensed images [J]. *Ecological Sciences*, 2019, 38(1): 71-78.
- [15] 谢三桃, 杨富宝. 巢湖流域磨墩水库流域水环境污染源调查及防治对策[J]. *水利规划与设计*, 2019(4): 30-36, 141.
- Xie S T, Yang F B. Investigation and control measures of water environmental pollution sources in Modun Reservoir basin of Chaohu Lake basin [J]. *Water Conservancy Planning and Design*, 2019(4): 30-36, 141.
- [16] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.
- Lu R K. Soil and agriculture chemical analysis methods [M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [17] Zhang X, Liu X, Wang H. Effects of water level fluctuations on lakeshore vegetation of three subtropical floodplain lakes, China [J]. *Hydrobiologia*, 2015, 747(1): 43-52.
- [18] Li H, Qu J, Li T, *et al.* Pika population density is associated with the composition and diversity of gut microbiota [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 758.
- [19] Ni J, Li X, He Z, *et al.* A novel method to determine the minimum number of sequences required for reliable microbial community analysis [J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2017, 139: 196-201.
- [20] Edgar R C, Haas B J, Clemente J C, *et al.* UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(16): 2194-2200.
- [21] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nature Methods*, 2013, 10: 996-998.
- [22] Dixon P. VEGAN, a package of R functions for community ecology [J]. *Journal of Vegetation Science*, 2003, 14(6): 927-930.
- [23] Alahuhta J, Kanninen A, Hellsten S, *et al.* Variable response of functional macrophyte groups to lake characteristics, land use, and space: implications for bioassessment [J]. *Hydrobiologia*, 2014, 737(1): 201-214.
- [24] Gauch H G. Multivariate analysis in community ecology [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1982.
- [25] Zuur A F, Ieno E N, Smith G M. Analyzing ecological data [M]. New York: Springer Verlag, 2007.
- [26] 刘赵文, 周葆华, 寇乐勇, 等. 武昌湖典型退化湿地菰草根际微生物群落结构[J]. *地球与环境*, 2018, 46(4): 339-347.
- Liu Z W, Zhou B H, Kou L Y, *et al.* Microbial diversity of *Zizania Latifolia* rhizosphere in typical degenerating wetland of Wuchang Lake [J]. *Earth and Environment*, 2018, 46(4): 339-347.
- [27] Chang Y, Fan J, Su J, *et al.* Spatial abundance, diversity, and activity of ammonia-oxidizing bacteria in coastal sediments of the Liaohe estuary [J]. *Current Microbiology*, 2017, 74(5): 632-640.
- [28] Zhang M, Daraz U, Sun Q, *et al.* Denitrifier abundance and community composition linked to denitrification potential in river sediments [J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 28(37): 51928-51939.
- [29] Waite D W, Vanwonderghem I, Rinke C, *et al.* Comparative genomic analysis of the class Epsilonproteobacteria and proposed reclassification to Epsilonbacteraeota (phyl. nov.) [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 682.
- [30] Dai Z M, Su W Q, Chen H H, *et al.* Long-term nitrogen fertilization decreases bacterial diversity and favors the growth of *Actinobacteria* and *Proteobacteria* in agroecosystems across the globe [J]. *Global Change Biology*, 2018, 24(8): 3452-3461.
- [31] 郭娜, 孙丽娜, 孟越, 等. 辽河保护区河岸带土壤微生物群落结构特征[J]. *沈阳大学学报(自然科学版)*, 2016, 28(6): 457-463.
- Guo N, Sun L N, Meng Y, *et al.* Soil microbial community structure characteristics of riparian zone in Liaohe River conservation area [J]. *Journal of Shenyang University (Natural Science Edition)*, 2016, 28(6): 457-463.
- [32] Hättenschwiler S, Treseder K K, Lehmann A, *et al.* Nutrient limitation of soil microbial processes in tropical

- forests [J]. *Ecological Monographs*, 2018, 88(1): 4-21.
- [33] Liu C, Jin Y, Hu Y, *et al.* Drivers of soil bacterial community structure and diversity in tropical agroforestry systems[J]. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2019, 278: 24-34.
- [34] 薛立, 吴敏, 徐燕, 等. 几个典型华南人工林土壤的养分状况和微生物特性研究[J]. *土壤学报*, 2005(6): 1017-1023.
- Xue L, Wu M, Xu Y, *et al.* Soil nutrients and microorganisms in soils of typical plantations in South China [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2005(6): 1017-1023.
- [35] Banda J F, Lu Y, Hao C, *et al.* The Effects of salinity and pH on microbial community diversity and distribution pattern in the brines of soda lakes in Badain Jaran Desert, China [J]. *Geomicrobiology Journal*, 2020, 37(1): 1-12.
- [36] Lange M, Eisenhauer N, Sierra C A, *et al.* Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage [J]. *Nature Communications*, 2015, 6(1): 6707.
- [37] 王涵, 王果, 黄颖颖, 等. pH变化对酸性土壤酶活性的影响[J]. *生态环境*, 2008, 17(6): 2401-2406.
- Wang H, Wang G, Huang Y Y, *et al.* The effects of pH change on the activities of enzymes in an acid soil [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2008, 17(6): 2401-2406.
- [38] 隋跃宇, 焦晓光, 高崇生, 等. 土壤有机质含量与土壤微生物量及土壤酶活性关系的研究[J]. *土壤通报*, 2009, 40(5): 1036-1039.
- Sui Y Y, Jiao X G, Gao C S, *et al.* The relationship among organic matter content and soil microbial biomass and soil enzyme activities [J]. *Chinese Journal of Soil Sciences*, 2009, 40(5): 1036-1039.
- [39] 侯建伟, 邢存芳, 邓晓梅, 等. pH对花椒根区土壤细菌群落结构的影响[J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2020, 48(5): 115-122.
- Hou J W, Xing C F, Deng X M, *et al.* Effect of pH on soil bacterial community structure in root zone of prickly ash [J]. *Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition)*, 2020, 48(5): 115-122.
- [40] Küce P, Coral G, Kantar C. Biodegradation of 2, 4-dinitrotoluene (DNT) by *Arthrobacter* sp. K1 isolated from a crude oil contaminated soil [J]. *Annals of Microbiology*, 2014, 65(1): 467-476.
- [41] Wang Q, Xie S. Isolation and characterization of a high-efficiency soil atrazine-degrading *Arthrobacter* sp. strain [J]. *International Biodeterioration and Biodegradation*, 2012, 71: 61-66.
- [42] Ruan A, Min H, Peng X, *et al.* Isolation and characterization of *Pseudomonas* sp. strain HF-1, capable of degrading nicotine [J]. *Research in Microbiology*, 2005, 156(5-6): 700-706.
- [43] Wang Y, Miao B, Hou D, *et al.* Biodegradation of di-n-butyl phthalate and expression of the 3,4-phthalate dioxygenase gene in *Arthrobacter* sp. ZH-2 strain [J]. *Process Biochemistry*, 2012, 47(6): 936-940.

□

(编辑: 杨晓翠 张丽红)