

橡胶树林长期喷施硫磺对土壤细菌多样性的影响

全 飞^{1,2}, 兰国玉^{2*}, 李玉武³, 李 君⁴

(1. 海南大学 热带农林学院, 海南 海口 570228; 2. 中国热带农业科学院 橡胶研究所, 海南 儋州 571737;
3. 中国科学院 西双版纳热带植物园, 云南 勐腊 666303; 4. 广州景源林业有限公司, 广东 广州 510000)

摘 要:分析橡胶林园长期大量喷施硫磺对橡胶林园土壤细菌群落组成及多样性的影响。采用高通量测序技术测定西双版纳橡胶园研究区 4 个硫磺喷洒浓度梯度和 1 个空白对照的橡胶林土壤细菌的 16S 序列, 测定土壤细菌群落组成及多样性的变化, 并分析环境因子对细菌组成的影响。结果表明, 在 OTU 水平上, 序列分析得到的物种数(Sobs)以空白对照组土壤样本最低, 其与喷施 0.5、1.0 倍和 1.5 倍硫磺土壤样本有显著差异; 各组间的覆盖度指数(Coverage)、丰富度指数(Chao)和多样性指数(Simpson 和 Shannon-wiener)无显著差异; 增加硫磺喷施浓度对 Verrucomicrobia(疣微菌门)、Planctomycetes(浮霉状菌门)、Latescibacteria 菌群生长有促进作用, 1.5~2.0 倍硫磺到达促进作用的顶点; 土壤有机质与细菌群落间无显著相关性。通过高通量测序技术分析喷施不同浓度梯度硫磺的土壤, 速效 P、全 K 和 pH 是影响土壤细菌多样性的重要因素。当前硫磺喷施量对橡胶林土壤细菌 α 多样性有显著促进作用, 但对橡胶林土壤细菌的组成无显著影响。

关键词:硫磺; 橡胶园; 高通量测序; 多样性指数; 土壤养分

中图分类号:S763.13 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2020)02-0131-06

Effects of Long-term Sulfur Spraying on Soil Bacterial Diversity in Rubber Plantations

QUAN Fei^{1,2}, LAN Guo-yu^{2*}, LI Yu-wu³, LI Jun⁴

(1. Institute of Tropical Agricultural and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China;
2. Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Danzhou 571737, Hainan, China;
3. Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, Yunnan, China;
4. Guangzhou Jingyuan Forestry Co., Ltd, Guangzhou 510000, Guangdong, China)

Abstract: The effects of long-term and large-scale sulfur spraying on the composition and diversity of soil bacterial community in rubber plantations were analyzed. High throughput sequencing technique was used to determine the 16s sequence of soil bacteria in four sulfur spraying concentration gradients and a blank control in the rubber plantation research area of Xishuangbanna. The changes of soil bacterial community composition and diversity with sulfur spraying at different concentration gradients were determined, and the effects of environmental factors on bacterial composition were analyzed. At the OTU (operational taxonomic units) level, the number of species (Sobs) obtained by sequencing analysis was the lowest in the blank control group, which was significantly different from the soil samples sprayed with 0.5, 1.0, and 1.5 times sulfur. There were no significant differences in the indices of Coverage, Chao and Simpson and Shannon-wiener among groups. Increased sulfur spraying concentration promoted the growth of Verrucomicrobia, Planctomycetes and Latescibacteria, and 1.5 to 2.0 times sulfur was used to promote the growth of

收稿日期:2019-04-17 修回日期:2019-08-21
基金项目: 海南省重点研发项目社会发展方向项目; 国家自然科学基金(31770661); 外交部澜沧江-湄公河国际合作项目(081720203994192003)。
作者简介: 全 飞, 男, 硕士在读, 研究方向: 森林生态学。E-mail: 1948917467@qq.com
* 通信作者: 兰国玉, 男, 研究员; 研究方向: 森林生态学。E-mail: langyrri@163.com

Verrucomicrobia, Planctomycetes and Latescibacteria to the apex of action. There was no significant correlation between soil organic matter and bacterial community. High-throughput sequencing technology was used to analyze the soil sprayed with sulfur of different concentration gradients. Available phosphorus, total potassium and pH were important factors affecting soil bacterial diversity. Current sulfur spraying amount had a significant effect on bacterial alpha diversity in rubber tree forest soil, but had no significant effect on bacterial composition in rubber forest soil.

Key words: sulfur; rubber plantation; high-throughput sequencing; diversity index; soil nutrient

橡胶树(*Hevea brasiliensis*)是生产橡胶产品和乳胶凝结物的最重要的天然橡胶来源^[1]。据统计,到2017年世界橡胶种植面积达到1 484万hm²^[2]。我国从19世纪50年代开始大规模引种橡胶树^[3]。橡胶树原产于亚马逊地区,引入亚洲热带地区^[4],如今世界上81%的橡胶种植在南亚和东南亚^[5]。印度尼西亚、马来西亚、泰国和其他国家形成了非常重要的橡胶种植带。除传统种植区外,橡胶种植区已扩展到东南亚的北部山地大陆地区,特别是在中国西南部、老挝、柬埔寨、缅甸、泰国东北部和越南西北部^[1],目前这些地区的橡胶种植园总面积150万hm²^[6]。海南和云南是我国主要的种植区,约占全国橡胶种植总面积的91.3%,橡胶林是热带地区林业经济的重要来源^[7]。到2010年,西双版纳的橡胶种植面积已达到约50万hm²^[8]。橡胶白粉病和炭疽病是全球橡胶种植园中的2种主要树叶病害。关于马来西亚、印度、巴西和巴布亚新几内亚的橡胶种植管理和干乳胶生产对疾病暴发的不利影响有许多历史报告^[9-11]。我国海南、云南南部和广东等主要橡胶种植区,基本处于橡胶生长的北限,与橡胶原产地南美热带雨林环境相比,多表现为冬春低温多雾,在当前大面积单一种植模式下,橡胶白粉病、炭疽病爆发频率高,严重危害橡胶树的健康,并影响树体开割时间和胶乳产量,如不及时防治,将给橡胶生产带来极大损失。

白粉病主要由橡胶粉孢(*Oidium heveae*)引起,橡胶炭疽病主要由胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)和尖孢炭疽菌(*C. acutatum*)引起^[12-13]。喷洒硫磺是橡胶种植园白粉病和炭疽病的常规预防和控制措施^[1]。硫磺粉是最便宜且有效的农药,每年农户在2月和3月的橡胶树叶片生长期间喷洒硫粉1次或2次。平均喷洒量为15 kg·hm⁻²。根据之前的橡胶种植面积数据,西双版纳橡胶种植园每年喷洒6 300~12 700 t硫磺粉。

土壤微生物为自然界的分解者,对地球生物化学循环起着不可替代的作用,直接参与或催化了土壤中各种物理化学作用。在土壤生态系统中,微生物的活动在改良土壤结构、增加养分供应、提高土

壤肥力方面具有重要作用,对地上植被的生长和物质循环等也具有重要影响^[14]。施用硫作为肥料或植物保护剂会降低土壤pH值^[15-16],对生态环境特别是对橡胶林生态系统自身的土壤生物地球化学循环产生何种影响以及影响程度如何?目前尚不清楚。在达到理想预防和治疗白粉病和炭疽病的前提下,目前的硫磺施用量是否已经造成了硫磺浪费和环境危害?以便维护大面积单一橡胶林生态系统安全,更好的服务我国橡胶生产。

本研究选择在我国第二大橡胶种植区云南南部西双版纳地区同一土壤类型、彼此邻近,立地条件基本相同的橡胶林作为研究对象,进行不同硫磺喷施量(设置4个硫磺喷施量梯度和1个空白对照)对土壤细菌组成和多样性的影响,尝试估算外源硫磺输入橡胶林土壤的最大安全阈值,以便能够服务和科学指导橡胶林的硫磺喷施过程从而推动橡胶安全生产,同时对我国云南南部橡胶林林业发展规划也具有一定的实践意义。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

西双版纳热带雨林是中国生物多样性最丰富的生态系统之一,西双版纳也被公认为国际上重要的生物多样性保护的热点地区之一^[17],该研究在中国科学院西双版纳热带植物园“橡胶园研究区”(64 hm²)(中国西南21°54'41"N,101°16'20"E)进行。位于东南亚热带地区的北部边缘。西双版纳位于东亚季风区,夏季以印度洋温暖潮湿的气团和冬季温带地区的大陆气团为主,气候季节性很强。旱季发生在1—4月,而雨季则是5—10月,雾季则是11—12月^[18-19]。年平均气温为21.7℃(1980—2008年)。年平均降雨量为1 512 mm(1980—2008年)(气象数据来自附近的XSTRES气象站)^[18]。整个旱季的总降雨量仅占年降雨总量的16.1%,最低月降雨量发生在1月份(平均15.6 mm)^[20]。

本研究选择一个23 a的单一种植橡胶种植园,因为它处于高而稳定的产量阶段。试验设计选择单一栽培橡胶种植园,4个硫磺喷施梯度(0.5、1.0、1.5

倍和 2.0 倍)和空白对照,1.0 倍为当前平均硫喷洒量($15\text{ kg}\cdot\text{hm}^{-2}$)。建立 1 个 $150\text{ m}\times 30\text{ m}$ 的测量地,其中包含 5 个具有不同硫喷射梯度的采样地($30\text{ m}\times 30\text{ m}$)。所有地点都位于由紫砂岩发育而成的黄色砖红壤上。

1.2 土壤采样

2013 年 3 月 8 日(2013 年 3 月 7 日喷硫)至 2014 年 2 月 8 日(12 次,每月 1 次)进行全年长期采样,每 3 个月取 1 次样。从每个子地获得复合土壤样品(500 g),使用土壤螺旋钻到 30 cm 的深度后,仔细的丢弃垫层和草层,因为 0~30 cm 的土层占橡胶树垂直根分布的 80%。除去任何可见的植物残体,包括根和结石,每个土壤样品用 2 mm 筛子筛分并保持在 4℃;微生物相关分析在 2 周内进行。

1.3 高通量测序

土壤样本由上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序。采用 515FmodF 引物 PCR,引物序列为: 5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3'^[21-22]。参照 P. D. Schloss 等^[23]的方法对获得的原始序列进行优化,在 97%序列相似性基础上将有效序列进行 OTU 类聚。在 OTU 水平上计算土壤样本的覆盖度指数(Coverage)、序列分析得到的物种数(Sobs)、丰富度指数(Chao)和多样性指数(Simpson 和 Shannon-wiener),在门的水平上进行细菌群落组成组间差异检验分析,在门和纲的水平上进行细菌群落组成分析,门的水平上细菌群落与土壤养分分析。

1.4 数据分析

使用 FLASH 软件对原始数据序列进行筛选优化,对优化序列提取非重复序列,按照 97%相似性对非重复序列(不含单序列)进行 OTU 聚类,得到相似性在 97%以上的有效序列。采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97%相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析,并分别在各个分类水平:domain(域)、kingdom(界)、phylum(门)、class(纲)、order(目)、family(科)、genus(属)和 species(种)统计各样本的群落组成(使用 silva 数据库)。利用 mothur 计算不同随机抽样下的 α 多样性指数。根据 tax summary a 文件夹中的数据表得到门和纲的水平上的群落结构组成情况。利用 Student *t* 检验,计算不同分组间多样性指数是否有显著性差异。根据单因素方差分析样本组中细菌组成是否存在显著性差异,然后对有差异的物种进行 post-hoc 检验,找出多组中存在差异的样本。通过相关性 Heatmap 分析计算环境因子与物种之间的相关性系数。利用 R 语言和 Excel 工具作图。

2 结果与分析

2.1 喷施不同浓度硫磺的橡胶林土壤样本细菌丰富度及多样性

通过表 1,从 20 份橡胶林土壤样本中得到 266 398 条有效的 16S 序列,在 97%序列相似性基础上类聚成 3 914 个 OUT,1 108 个种、548 个属、324 个科、170 个目、78 个纲、30 个门。5 组土壤细菌的 Coverage 指数在 0.948 7~0.953 5,表明测序数据基本包含了橡胶林土壤中所有细菌类群,能够表示橡胶林真实的土壤环境中细菌特性。Sobs 指数在 1 406.8~1 803. 2, Chao 指数在 2 151 ~2 518. 2,根据表 1 可知,空白对照组土壤样本细菌 Sobs 最低,显著低于喷施 0.5、1.0 倍和 1.5 倍硫磺土壤样本,其中以喷施 1.5 倍硫磺土壤样本 Sobs 最高,各土壤样本细菌 Chao 指数无显著差异;Shannon-wiener 指数在 4.966 3~5.670 1, Simpson 指数在 0.042 5~0.080 6,无显著差异。通过分析可知,OTU 水平上以空白对照组土壤样本细菌丰富度最低,喷施 1.5 倍硫磺土壤样本细菌丰富度最高;多样性指数(Shannon-wiener 和 Simpson)分析可知,各橡胶林土壤样本细菌多样性指数无显著差异。

2.2 喷施不同浓度硫磺对橡胶林土壤细菌群落组成的影响

由图 1 和表 2 可知,空白对照组和喷施不同浓度硫磺的橡胶林土壤样本细菌群落组成在门的水平上 97.92%属于 Proteobacteria(变形菌门)、Firmicutes(厚壁菌门)、Actinobacteria(放线菌门)、Acidobacteria(酸杆菌门)、Chloroflexi(绿弯菌门)、Verrucomicrobia(疣微菌门)、Planctomycetes(浮霉状菌门)、Gemmatimonadetes(芽单胞菌门)、Nitrospirae(硝化螺旋菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌门)和 Latescibacteria 11 个门,其中 Proteobacteria、Firmicutes、Actinobacteria 相对丰度分别为 22.82%、22.05%、21.25%,在土壤中占据明显优势,为橡胶林土壤的优势菌群。

由图 2 可知,空白对照组和喷施不同浓度硫磺的橡胶林土壤样本细菌群落组成在纲的水平上 93.94%属于 Bacilli(芽孢杆菌纲)、Actinobacteria(放线菌纲)、Acidobacteria(酸杆菌纲)、Alphaproteobacteria(α -变形菌纲)、Deltaproteobacteria(δ -变形菌纲)、Betaproteobacteria(β -变形菌纲)、Gammaproteobacteria(γ -变形菌纲)、Spartobacteria、Gemmatimonadetes(芽单胞菌纲)、Nitrospira(硝化螺旋菌纲)、OPB35_soil_group、JG37_AG_4、Planctomycetaria(浮霉菌纲)、Ktedonobacteria(纤线杆菌纲)、

norank_p_Latescibacteria、*Sphingobacteriia*(鞘脂杆菌纲)和 *Anaerolineae*(厌氧绳菌纲) 17 个纲,其中 *Bacilli*、*Actinobacteria*、*Acidobacteria* 相对丰度为 21.82%、21.26%、10.84%,占比都在 10%以上,它们分别属于 *Firmicutes*、*Actinobacteria* 和 *Acidobacteria* 菌门。

由表 3 可知,*Acidothermus*(热酸菌属)、*norank_f__Anaerolineaceae* 和 *norank_o__NB1-j* 等 22

个属的相对丰度有显著差异,*Acidothermus* 和 *unclassified_f__Gemmatimonadaceae* 等 8 个菌属呈负显著相关,*norank_f__Anaerolineaceae* 和 *norank_o__NB1-j* 等 14 个菌属呈显著正相关。22 个属属于变形菌门、放线菌门和浮霉菌门等 7 个菌门,变形菌门和放线菌门所属的属分别占 8 个和 6 个,是显著差异最多的 2 个门,其中变形菌门的 *norank_o__KI89A_clade* 相对丰度达到极显著正相关。

表 1 橡胶林土壤样本测序信息

Table 1 Sequencing information of soil samples in rubber plantations

喷施浓度 /倍	有效 16S 序列	OUT 数量	Coverage 覆盖度指数	Alpha 多样性(OUT 水平)			
				Sobs	Chao	Simpson	Shannon
CK	46 154	2 429	0.948 7	1 406.8b	2 151.0	0.080 6	4.966 3
S1	59 390	2 916	0.953 5	1 788.0a	2 518.2	0.054 5	5.407 2
S2	54 938	2 770	0.951 5	1 712.8a	2 393.5	0.044 4	5.483 4
S3	57 787	2 928	0.954 1	1 803.2a	2 464.4	0.042 5	5.670 1
S4	48 129	2 691	0.949 5	1 591.2ab	2 219.5	0.048 4	5.406 5

注:CK:空白对照,S1:喷施 0.5 倍硫磺,S2:喷施 1.0 倍硫磺,S3:喷施 1.5 倍硫磺,S4:喷施 2.0 倍硫磺,图 1、图 2 和表 1、表 2 同;同列数据后不同大、小写字母分别表示差异极显著($P<0.01$)或显著($P<0.05$)。

表 2 门水平上细菌的相对丰度

Table 2 Relative abundance of bacteria at phylum level

门类	CK	S1	S2	S3	S4	平均占比
Proteobacteria	0.243 5	0.214 6	0.205 2	0.242 4	0.235 4	0.228 2
Firmicutes	0.295 8	0.230 5	0.196 5	0.194 1	0.185 7	0.220 5
Actinobacteria	0.202 1	0.212 8	0.226 3	0.185 8	0.235 7	0.212 5
Acidobacteria	0.087 8	0.110 3	0.118 4	0.120 5	0.104 6	0.108 3
Chloroflexi	0.052 9	0.073 7	0.067 0	0.059 7	0.068 8	0.064 4
Verrucomicrobia	0.022 4	0.040 0	0.061 9	0.059 7	0.043 9	0.045 6
Planctomycetes	0.015 0	0.029 0	0.031 5	0.033 4	0.025 0	0.026 8
Gemmatimonadetes	0.026 3	0.021 6	0.019 6	0.020 2	0.020 2	0.021 6
Nitrospirae	0.018 5	0.021 5	0.019 7	0.022 0	0.024 3	0.021 2
Bacteroidetes	0.015 9	0.015 3	0.017 3	0.021 2	0.021 0	0.018 1
Latescibacteria	0.004 1	0.009 9	0.015 5	0.017 8	0.012 3	0.011 9

2.3 喷施不同浓度硫磺的橡胶林土壤细菌群落与土壤养分的关系

由图 3 可知, *Chloroflexi* 与速效 P 含量呈非常显著负相关,与 pH 呈显著负相关; *Acidobacteria* 与速效 P 含量呈非常显著负相关,与全 K 含量呈非常显著正相关,与 pH 呈显著负相关; *Nitrospirae* 与速效 P 含量呈非常显著负相关,与全 K 含量呈非常显著正相关,与 pH 呈显著负相关; *Proteobacteria* 与全 K 含量呈显著正相关; *Bacteroidetes* 与全 K 含量呈极显著正相关,与全 N 含量呈显著正相关; *Verrucomicrobia* 与速效 P 含量呈显著负相关,与全 K 含量呈非常显著正相关,与全 P 含量呈显著正相关; *Planctomycetes* 全 N 含量呈显著正相关; *Firmicutes* 与速效 P 含量呈显著正相关,与全 K 呈非常显著负相关; *Actinobacteria* 与速效 P 含量呈显著

正相关,与速效 K 含量呈非常显著正相关。表明橡胶树土壤养分对不同细菌类群产生不同的影响。土壤有机质含量与细菌数量无显著相关性,这与李君^[24]研究结果相似。

3 讨论

3.1 喷施不同浓度硫磺对橡胶林土壤细菌群落丰富度及多样性的影响

土壤微生物对土壤基质变化较为敏感,其生物量和群落组成是反映土壤肥力、土壤健康状况以及人类活动胁迫效应的重要生态学指标^[25-26]。本研究采用高通量测序技术分析喷施不同浓度梯度硫磺的橡胶林土壤样本细菌群落组成及多样性。结果显示,橡胶林土壤细菌群落在 OTU 的水平上,空白对照组土壤样本细菌 Sobs 最低,显著低于喷施 0.5、

表 3 相对丰度有显著差异的细菌(属水平)

Table 3 Bacteria with significant difference in relative abundance (genus level)

Genus(属)	Phylum,class (门、纲)	施硫后 丰度变化
<i>Acidothermus</i> (热酸菌属)	放线菌门	— *
<i>norank_f__Anaerolineaceae</i>	绿弯菌门	+ *
<i>norank_o__NB1-j</i>	变形菌门	+ *
<i>norank_c__Actinobacteria</i>	放线菌门	+ *
<i>unclassified_f__Gemmatimonadaceae</i>	芽单胞菌门	— *
<i>unclassified_f__Micromonosporaceae</i>	放线菌门	+ *
<i>Mycobacterium</i> (分枝杆菌属)	放线菌门	+ *
<i>norank_o__KI89A_clade</i>	γ-变形菌纲	+ * * *
<i>norank_f__Rhodospirillaceae</i>	α-变形菌纲	+ *
<i>Geobacter</i> (地杆菌属)	δ-变形菌纲	+ * *
<i>norank_c__Pla4_lineage</i>	浮霉菌门	— * *
<i>unclassified_f__Caulobacteraceae</i>	α-变形菌纲	— *
<i>norank_o__Myxococcales</i>	δ-变形菌纲	+ *
<i>unclassified_c__Acidobacteria</i>	酸杆菌门	— *
<i>unclassified_o__Solirubrobacterales</i>	放线菌门	— *
<i>norank_c__Pla3_lineage</i>	浮霉菌门	+ *
<i>Nordella</i>	α-变形菌纲	+ *
<i>unclassified_c__Alphaproteobacteria</i>	α-变形菌纲	+ *
<i>Gemmatirosa</i>	芽单胞菌门	— *
<i>AKYG587</i>	浮霉菌门	+ * *
<i>Frankia</i> (弗兰克氏菌属)	放线菌门	— *
<i>Neochlamydia</i> (新衣原体属)	衣原体门	+ *

注:“+”表示喷施硫磺后细菌丰度上升,“—”表示喷施硫磺后细菌丰度下降。* 0.01<P≤0.05, * * 0.001<P≤0.01, * * * P≤0.001,图3同。

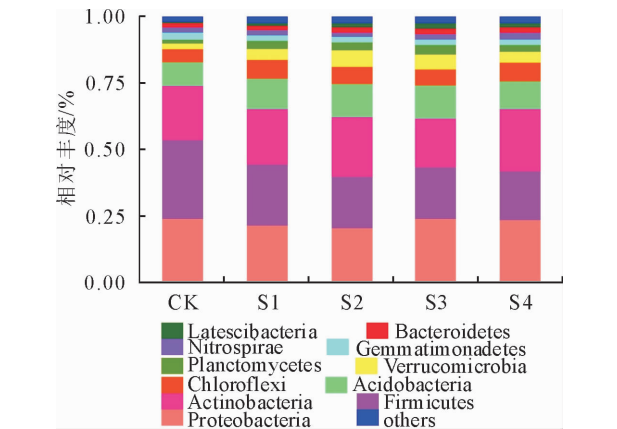


图 1 门水平上橡胶林土壤细菌群落组成

Fig. 1 Bacterial community composition in rubber plantations soil at phylum level

1.0 倍和 1.5 倍硫磺土壤样本,其中以喷施 1.5 倍硫磺土壤样本 Sobs 最高,说明喷施硫磺对土壤细菌丰度度有一定的促进作用,D. G. Maynard 等^[27]研究也表明硫沉积土壤总微生物量没有下降,而是缓慢增加。本研究表明,在 1.5 倍至 2.0 倍浓度间对大多数土壤细菌丰度度的促进作用达到顶点,之后硫磺浓度增加促进作用逐渐降低,但当达到 2.0 倍

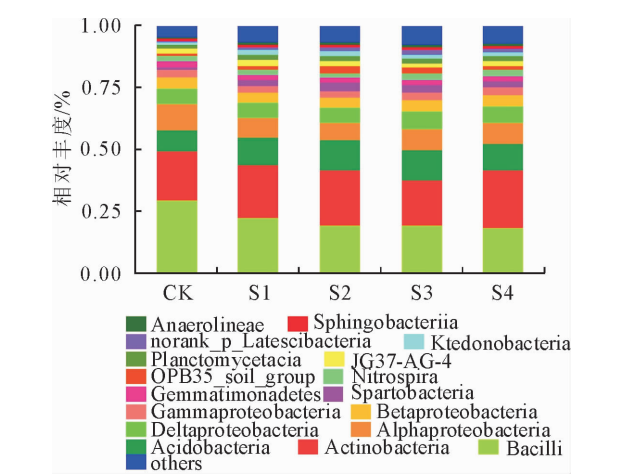
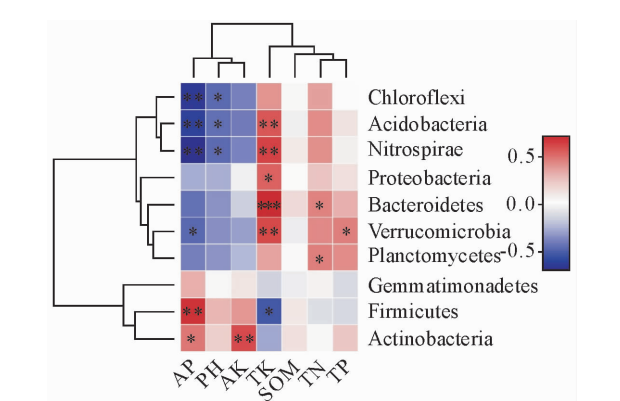


图 2 纲水平上橡胶林土壤细菌群落组成

Fig. 2 Bacterial community composition in rubber plantations soil at class level



注:X 轴和 Y 轴分别为环境因子和物种。R 值在图中以不同颜色展示,右侧图例是不同 R 值的颜色区间。物种和环境因子聚类树(如左侧和上侧)。

图 3 门水平上橡胶林土壤细菌群落与土壤养分的相关性

Fig. 3 Correlation between soil bacterial community and soil nutrients in rubber plantations at phylum level

浓度时对土壤细菌丰度度仍呈正面影响。各土壤样本细菌的 Chao 指数和多样性指数(Shannon-wiener 和 Simpson)均无显著差异,各橡胶林土壤样本细菌多样性指数无显著差异,与 Y. Li 等^[1]的研究结果相似。

3.2 喷施不同浓度硫磺的橡胶林土壤细菌群落组成变化

由表 2 可知,厚壁菌门菌群在空白对照组土壤中相对丰度明显大于喷施 0.5、1.0 倍和 2.0 倍硫磺的土壤,且随着浓度增加相对丰度逐渐减少,表明硫磺对厚壁菌门菌群有抑制作用,或是厚壁菌门菌群对 pH 较为敏感,这与厚壁菌门菌群适宜生长在弱碱性环境有关;疣微菌门、浮霉状菌门和 Latescibacteria 菌群在空白对照土壤中的相对丰度明显低于喷施 0.5、1.0、1.5 倍和 2.0 倍的土壤,且疣微菌门、浮霉状菌门和 Latescibacteria 菌群相对丰度在喷施 1.5~2.0 倍硫磺呈下降趋势,这可能是因为硫磺或较低的 pH 对疣微菌门、浮霉状菌门和 Latesci-

bacteria 的生长有促进作用,但喷施量1.5~2.0 倍浓度时促进作用逐渐减弱,硫磺浓度达到 2.0 倍时仍起促进作用。研究表明^[28],土壤微生物生物量碳(SMB-C)对硫添加量 22 kg·hm⁻² 没有显著反应,但通过加硫加倍(每年 44 kg·hm⁻²)显著增加 77%。由表 3 可知,喷施硫磺后 *norank_o__Myxococcales*、*Geobacter*(地杆菌属)和 *norank_f__Rhodospirillaceae* 的相对丰度显著增加。研究表明^[29-30],*norank_o__Myxococcales*、*Geobacter*(地杆菌属)和 *norank_f__Rhodospirillaceae* 与硫铁化合物的氧化有关。*Nordella* 的相对丰度呈显著正相关,研究表明^[31],*Nordella* 与硫代硫酸盐的氧化有关。AKYG587 属于浮霉菌门,其相对丰度呈非常显著正相关,研究表明^[32] AKYG587 为以亚硫酸为电子受体的厌氧氨氧化反应的优势菌属。*norank_o__KI89A_clade* 属于 γ -变形菌纲,其相对丰度呈极显著正相关,尚不清楚该菌属的代谢途径。有研究发现^[33],意大利海绵样本中发现 *KI89A_clade*,其存在于海绵的共生体中。*Acidobacteria* 属于酸杆菌门,其相对丰度呈显著负相关,这可能与土壤 pH 下降有关。研究表明酸杆菌的相对丰度与土壤 pH 呈正相关^[34],*Acidothermus* 属于放线菌门,是典型的嗜酸、嗜热细菌,而表 3 中其相对丰度呈负相关关系,其原因有待进一步研究。结合上述研究分析,随着硫磺施用量的累积,当土壤 pH 值降低时,土壤中使用硫作为能源并将硫氧化成硫酸盐的一些特定细菌数量增加,当喷施量到达 1.5~2.0 倍,超出土壤细菌的吸收利用或耐受范围,导致丰富度逐渐降低。土壤不断喷施硫磺对一些耐酸性较弱的细菌影响较大,导致土壤细菌群落的丰富度发生变化。当前的喷硫剂量(15~18 kg·hm⁻²)未达到改变细菌群落组成的阈值,细菌群落组成无显著性差异。

4 结论

本研究利用高通量测序分析喷施不同浓度硫磺对橡胶林土壤细菌组成及多样性的影响,高通量测序技术全面反映了橡胶林土壤细菌的组成及多样性。喷施硫磺对橡胶林土壤细菌丰富度起促进作用,当喷施量到达 1.5~2.0 倍时促进作用达到顶点,喷施 2.0 倍硫磺浓度对丰富度仍起促进作用,喷施多少浓度硫磺其促进作用消失还需增加喷施硫磺的浓度试验。速效 P、全 K 和 pH 是影响土壤细菌多样性的重要因素,土壤有机质含量与细菌数量无显著相关性;当前硫磺喷施量对橡胶林土壤细菌 α 多样性有显著促进作用,但对橡胶林土壤细菌的组成无显著影响。

参考文献:

[1] LI Y,XIA Y,LI H,*et al.* Accumulated impacts of sulfur spraying on soil nutrient availability and microbial biomass in rubber plantations[J]. *Clean-Soil, Air, Water*, 2016, 44(8): 1001-1010.

[2] 莫业勇,杨琳. 2017 年国内外天然橡胶产业发展形势[J]. *世界热带农业信息*, 2018(2): 1-3.

[3] 周玉杰,李建华,张广宇,等. 基于高通量测序的橡胶林土壤真菌多样性及群落组成分析[J]. *南方农业学报*, 2018, 49(9): 1729-1735.

ZHOU Y J,LI J H,ZHANG G Y,*et al.* Analysis of soil fungal diversity and community composition of rubber plantations based on high-throughput sequencing[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2018, 49(9): 1729-1735. (in Chinese)

[4] LIMKAISANG S,KOM-UN S,FURTADO E L,*et al.* Molecular phylogenetic and morphological analyses of *Oidium heveae*, a powdery mildew of rubber tree[J]. *Mycoscience*, 2005, 46: 220-226.

[5] FAO. Global forest resources assessment 2010[J]. *FAO Forestry Paper*, 2010: 163.

[6] LI Z,FOX J M. Mapping rubber tree growth in mainland Southeast Asia using time-series MODIS 250 m NDVI and statistical data[J]. *Appl Geogr*, 2012, 32: 420-432.

[7] 陈莉,兰国玉,谭正洪,等. 橡胶树与其他乡土树种混交对土壤微生物生物量碳的影响[J]. *西北林学院学报*, 2018, 33(6): 26-30.

CHEN L,LAN G Y,TAN Z H,*et al.* Effects of mixed cultivation of rubber trees with other indigenous tree species on soil microbial biomass carbon of rubber plantations[J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2018, 33(6): 26-30. (in Chinese)

[8] XU J C,GRUMBINE R E,BECKSCHÄFER P. Landscape transformation through the use of ecological and socioeconomic indicators in Xishuangbanna, Southwest China, Mekong region[J]. *Ecol. Indic*, 2014, 36: 749-756.

[9] BEELEY F. *Oidium heveae*: report on the 1933 outbreak of hevea leaf mildew[J]. *Rubber Res. Inst. Mal.*, 1933, 5: 5-13.

[10] MITRA M,MEHTA P R. Some leaf diseases of *Hevea brasiliensis* new to India[J]. *Indian J. Agric. Sci.*, 1938, 8: 185-188.

[11] SHAW D E. Powdery mildew of rubber in Papua, Papua and New Guinea[J]. *Agric. J.*, 1967, 19: 140-146.

[12] JAYASINGHE C K,FERMANDO T H P S,PRIYANKA U M S. *Colletotrichum acutatum* is the main cause of *Colletotrichum* leaf disease of rubber in Sri Lanka[J]. *Mycopathologia*, 1997, 137: 53-56.

[13] 张春霞,何明霞,李加智,等. 云南西双版纳地区橡胶炭疽病病原鉴定[J]. *植物保护*, 2008, 34(1): 103-106.

[14] 李君,兰国玉,李玉武. 海南儋州橡胶林与热带次生林土壤微生物区系研究[J]. *热带作物学报*, 2016, 37(3): 433-438

LI J,LAN G Y,LI Y W. Comparison on soil micro flora in rubber forest and tropical secondary forest in Danzhou, Hainan Island[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2016, 37(3): 433-438. (in Chinese)

本比较分析[J]. 林业调查规划,2007,32(2):100-102,107.

LIU J T,ZHAO L S. The comparison of benefit cost of 6 evergreen avenue tree species' management in Kunming city area[J]. Forest Inventory and Planning,2007,32(2):100-102,107. (in Chinese).

[14] 高秀梅,韩维栋. 论湛江市城市园林树种规划[J]. 西南林学院学报,2005,25(3):38-40.

GAO X M,HAN W D. Planning of ornamental tree species in Zhanjiang urban area[J]. Journal of Southwest Forestry College,2005,25(3):38-40. (in Chinese).

[15] 吴刘萍,李敏,孔令培,等. 湛江市城市行道树调查与分析[J]. 林业科技开发,2006,20(2):87-90.

[16] HIRABAYASHI S. i-Tree Streets/Design/Eco Rainfall Interception Model Comparisons

[17] 陈明玲. 上海城市典型林荫道生态效益调查分析与管理对策探讨[D]. 上海:上海交通大学,2013.

[18] 丛日亮. 苏南丘陵山区主要森林类型水文效应研究[D]. 南京:南京林业大学,2011.

[19] 李秉玲,董芮,王美仙,等. 太原市区行道树应用研究[J]. 西北林学院学报,2017,32(3):265-270,283.

LI B L,DONG R,WANG M X, *et al.* Application of street trees in central districts of Taiyuan[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32 (3) : 265-270, 283. (in Chinese).

[20] 罗贵斌. 汉市中心城区常绿行道树综合评价[J]. 西北林学院学报,2016,31(2):302-308.

LUO G B. Comprehensive Evaluation of the evergreen street trees planted in the downtown of Hanzhong city[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2016, 31 (2) : 302-308. (in Chinese).

(上接第 136 页)

[15] RUDOLPHS W. Influence of S oxidation upon growth of soybeans and its effect on bacterial flora of soil[J]. Soil Sci. , 1922,14:247-263.

[16] YOUNGE O R. Sulphur oxidation and reaction effects in Alberta soils[J]. Sci. Agric. ,1931,11:534-545.

[17] 兰国玉,朱华,曹敏. 西双版纳热带季节雨林树种的区系组成成分分析[J]. 西北林学院学报,2013,28(1):33-38.

LAN G Y,ZHU H,CAO M. Floristic Composition of tropical seasonal rain forests in Xishuangbanna[J]. Journal of Northwest Forestry University,2013,28(1):33-38. (in Chinese)

[18] CAO M,ZHANG J H,FENG Z L, *et al.* Tree species composition of a seasonal rain forest in Xishuangbanna,Southwest China[J]. Tropical Ecology,1996,37:183-192.

[19] LIU W J,ZHANG Y P,LI H M, *et al.* Fog- and rainwater chemistry in the tropical seasonal rain forest of Xishuangbanna,Southwest China[J]. Water Air Soil Pollut, 2005, 167: 295-309.

[20] LI Y,DENG X,CAO M, *et al.* Soil restoration potential with corridor replanting engineering in the monoculture rubber plantations of Southwest China[J]. Ecol. Eng. ,2013,51:169-177.

[21] WALTERS W,HYDE E R,BERG-LYONS D, *et al.* Improved bacterial 16S rRNA gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys[J]. mSystems,2016,1(1):9-15.

[22] SAMPSON T R,DEBELIUS J W,THRON T, *et al.* Gut Microbiota regulate motor deficits and neuroinflammation in a model of Parkinson's disease[J]. Cell, 2016, 167 (6) : 1469-1480.

[23] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, *et al.* Introducing mother: open source platform independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities [J]. Applied & Environmental Microbiology, 2009,75 (23):7537-7541.

[24] 李君. 海南与西双版纳橡胶林土壤微生物学特征研究[D]. 武汉:华中农业大学,2015.

[25] DILLY O,MUNCH J C. Ratios between estimates of microbial biomass content and microbial activity in soils [J]. Biology & Fertility of Soils,1998,27(4):374-379.

[26] 周丽霞,丁明懋. 土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用[J]. 生物多样性,2007,15(2):162-171.

[27] MAYNARD D G,GERMIDA J J,ADDISON P. The effect of elemental sulfur on certain chemical and biological properties of surface organic horizons of a forest soil[J]. Can. J. For. Res. ,1986,16:1050-1054.

[28] GUPTA V V,LAWRENCE J R,GERMIDA J J. Impact of elemental sulfur fertilization on agricultural soils I. effects on microbial biomass and enzymes activities[J]. Can. J. Soil Sci. , 1988,68:463-473.

[29] 张逸驰,蒋昭泓,刘颖. 电化学活性微生物在微生物燃料电池阳极中的应用[J]. 分析化学,2015,43(1):155-163.

[30] HANDLEY KIM M,WRIGHTON KELLY C,PICENO Y-VETTE M, *et al.* High-density phylochip profiling of stimulated aquifer microbial communities reveals a complex response to acetate amendment [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012,81(1).

[31] BERNARD LA SCOLA,LINA BARRASSI,DIDIER RAOULT. A novel alpha-Proteobacterium, Nordella oligomobilis gen. nov. ,sp. nov. ,isolated by using amoebal co-cultures[J]. Research in Microbiology,2003,155(1).

[32] 魏彩莹. EGSB 反应器中以亚硫酸为电子受体的厌氧氨氧化实验研究[D]. 重庆:重庆大学,2018.

[33] ILIA B,PATRICK M E,SUSANNA L L, *et al.* Biogeography rather than association with cyanobacteria structures symbiotic microbial communities in the marine sponge *Petrosia ficiiformis*[J]. Frontiers in Microbiology,2014,10,10.

[34] 张慧,李文卿,方宇,等. 施用不同肥料对烟草土壤细菌群落的影响[J]. 安徽农学通报,2019,25(10):29-35.