

不同林龄花椒根际土壤理化性质与微生物群落结构的分析

焦嘉卉¹,符晓¹,张硕¹,刘伟²,周姣姣¹,吴旭艳¹,林晓榕¹,
田雨露³,唐光辉^{1*},李培琴^{1*}

(1. 西北农林科技大学 林学院,西部森林生物灾害治理国家林业和草原局重点实验室,陕西 杨陵 712100;
2. 洛阳市林业生态建设发展中心,河南 洛阳 471000;3. 眉县国有营头林场,陕西 宝鸡 722307)

摘要:根际微生物是土壤生态系统的重要组成部分,明确植物根际土壤微生物的群落结构及影响因素对农林生态系统的可持续发展具有重要的意义。结合高通量测序技术及土壤理化性质测定,分析不同林龄花椒根际土壤理化性质的变化与微生物的群落结构差异。结果表明,随着林龄增加,花椒根际土壤呈现弱酸化,土壤养分整体表现出先增加而后降低的趋势,以8 a林龄根际土的养分最高;花椒根际土中含真菌 OTU 1 229 个,归属于 12 门、35 纲、78 目、149 科、321 属和 466 种;细菌 OTU 1 298 个,归属于 22 门、49 纲、71 目、163 科和 277 属。Alpha 多样性分析发现,林龄对花椒根际土壤真菌的物种丰富度和多样性影响显著,以8 a林龄的物种丰富度和多样性最高,15 a林龄的次之,3 a林龄的最低;而林龄对花椒根际土壤细菌的物种丰富度和多样性影响不显著。在3个不同林龄的花椒根际土壤中,优势真菌门均为子囊菌门(Ascomycota)和罗兹菌门(Rozellomycota),优势属均为缘刺盘菌属(Cheilymenia)和镰孢菌属(Fusarium);优势细菌门为变形菌门(Proteobacteria)和酸杆菌门(Acidobacteria),优势属为鞘氨醇单胞菌属(Sphingomonas)、酸杆菌门 Gp6 和 Gp4 群组和芽单胞菌属(Gemmatimonas);且发现不同林龄花椒根际土壤微生物的群落结构分离明显,说明林龄是微生物群落结构的主要影响因子。与花椒根际土壤微生物的 Alpha 多样性显著相关的土壤理化因子为 pH、有机质、速效磷和速效钾,而影响花椒根际土壤微生物群落结构的重要土壤理化因子为有机质、总氮和 pH。研究不仅阐明了林龄对花椒根际土壤理化性质与微生物群落结构的影响,还揭示了土壤理化性质与花椒根际土壤微生物群落结构之间的关系,不仅能为椒园土壤质量变化的动态监测提供依据,还能为花椒根际土壤微生物资源的功能开发奠定基础。

关键词:花椒;林龄;根际微生物;土壤理化性质;群落结构

中图分类号:S763.81 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2023)04-0156-10

Physiochemical Properties and Microorganism Community Structure of *Zanthoxylum bungeanum* Rhizosphere Soil at Different Ages

JIAO Jia-hui¹, FU Xiao¹, ZHANG Shuo¹, LIU Wei², ZHOU Jiao-jiao¹, WU Xu-yan¹, LIN Xiao-rong¹,
TIAN Yu-lu³, TANG Guang-hui^{1*}, LI Pei-qin^{1*}

(1. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Management of Western Forest Bio-Disaster, Forestry of College, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China;
2. Luoyang Forestry Ecological Construction and Development Center, Luoyang 471000, Henan, China;
3. Yingtou State Owned Forest Farm of Meixian, Baoji 722307, Shaanxi, China)

Abstract: Rhizosphere microorganism is an important part of soil ecosystem. It is meaningful to confirm the

收稿日期:2022-05-30 修回日期:2022-10-07

基金项目:国家级大学生创新创业训练项目(S202010712169);陕西省重点研发计划(2020NY-037);西北农林科技大学科技创新与成果转化项目(TGZX2021-23)。

第一作者:焦嘉卉。研究方向:森林病理学。E-mail:jjh665605@163.com

*通信作者:唐光辉,教授,博士生导师。研究方向:林业有害生物防治。E-mail:tanggh@nwsuaf.edu.cn
李培琴,副教授,硕士生导师。研究方向:森林病理学。E-mail:lipq@nwsuaf.edu.cn

community structure of rhizosphere soil microorganisms and its influence factors for the sustainable development of agroforestry ecosystem. High-throughput sequencing technology and physiochemical properties detection of soil were combined in this study, aiming to analyze the variation of soil physiochemical properties and differences of rhizosphere microorganisms community structure as the change of *Zanthoxylum bungeanum* age. The results showed that the rhizosphere soil of *Z. bungeanum* showed weak acidification and the soil nutrients, as a whole, increased first and then decreased as the increase of planting years. The nutrients in the rhizosphere soil of the 8-year-old *Z. bungeanum* were the highest. Totally, 1 229 fungal operational taxonomic units (OTUs) were identified in *Z. bungeanum* rhizosphere soil, belonging to 12 phyla, 35 classes, 78 orders, 149 families, 321 genera and 466 species, while 1 298 bacterial OTUs were obtained, belonging to 22 phyla, 49 classes, 71 orders, 163 families and 277 genera. By analyzing Alpha diversity, it was found that the ages of *Z. bungeanum* showed significant effects on the species richness and diversity of rhizosphere fungi, of which the 8-year-old *Z. bungeanum* exhibited the highest richness and diversity, followed by the 15-year-old, and the 3-year-old displayed the lowest. However, the ages of *Z. bungeanum* showed no significant effects on the bacterial richness and diversity. In the rhizosphere soil of all the three different ages of *Z. bungeanum*, the dominant fungal phyla and genera were respectively Ascomycota and Rozellomycota, and *Cheilymenia* and *Fusarium*, while the dominant bacterial phyla and genera were respectively Proteobacteria and Acidobacteria, and *Sphingomonas*, Acidobacteria GP4, Acidobacteria GP6, and *Gemmatimonas*. Moreover, it was found that the community structures of rhizosphere microorganisms were obviously separated by the age of *Z. bungeanum*, which indicated that the age was the dominant influence factor on microorganisms community structures. The physiochemical factors of soil, which showed the obvious relationship with the Alpha diversity of rhizosphere microorganisms of *Z. bungeanum*, were pH, organic matter, available phosphorus and available potassium. Whereas, the important influence factors on the microorganisms community structures were organic matter, total nitrogen and pH. This study not only demonstrates the effects of *Z. bungeanum* ages on the soil physiochemical properties and microorganism community structure, but also reveals the relationship between the soil physiochemical properties and variation of microorganism community structure, which can not only provide the basis for dynamic monitoring of the soil physiochemical properties in the *Z. bungeanum* plantation, but also lay the foundation for the function exploitation of rhizosphere microorganism of *Z. bungeanum*.

Key words: *Zanthoxylum bungeanum*; forest age; rhizosphere microorganism; soil physiochemical property; community structure

根际土壤微生物是土壤生态系统中物质循环和能量流动的主要参与者,承担着土壤中动植物残体分解^[1]、有机质积聚^[2]、矿物质吸收^[3]、土壤颗粒结构形成和养分转化^[4-5]等功能,已成为农林生态系统的重要组成部分。植物根际土壤存在着许多对植物有益的微生物群落,如促生菌、固氮菌、生防菌等^[6-7],具有活化根区养分、促进植物生长、增强植物抗逆性、抑制土传病害等功能,对植物生长和健康发挥着重要作用^[8-9]。我国农业生产由于化肥农药的过量施用导致土壤质量下降、土传病害频发和农田环境污染等问题,严重威胁农产品产量和安全,阻碍农业绿色发展^[10]。随着国内外土壤微生物组研究的开展,发现根际土壤微生物在促进化肥减施增效和农业绿色发展中具有巨大应用潜力,是微生物肥料和微生物农药的主要菌种来源,深入开发利用植

物的根际微生物资源为农林产业的增产增收措施的研究提供了新思路^[11]。随着分子生物学的快速发展,产生了不依赖于微生物分离培养的微生物高通量测序技术,避免了传统分离培养的技术限制,能真实反映植物根际土壤微生物的种群结构,对深入开发利用植物根际有益微生物提供了重要的指导依据。

花椒(*Zanthoxylum bungeanum*)为芸香科花椒属小乔木,原产于中国,是中国华北至西南多省重要的生态型经济林树种^[12]。中国花椒产量居世界首位,花椒产业早已成为我国陕甘川等省乡村振兴的主要支柱产业之一。然而,随着花椒种植面积的扩大、集中连片种植、种植品种单一化,以及环境和气候等问题的日益加剧,花椒栽培过程中的土壤质量下降、土传病害频发和椒园环境污染等问题也逐渐突出,严重影响了花椒的产量和质量,威胁了

绿色花椒产业的发展。基于根际土壤微生物在植物与土壤生态系统中的促进植物生长、增强植物抗逆性、加速土壤矿物质分解等功能,明确花椒根际土壤微生物的群落组成将能为绿色花椒产业发展中的微生物肥料和微生物农药资源的开发提供重要指导依据。植物根际土壤微生物的群落结构会受到多种因素影响,如土壤理化性质、植物的种类与林龄、植物种植方式等^[13-14]。林木根系向周围土壤分泌化学物质和养分,吸引大量的微生物聚集在根表附近,形成了一个以植物根系为主体核心,植物-土壤-微生物相互作用形成的微生态环境系统。林龄是影响根际土壤真菌和细菌群落结构和种群代谢功能的重要因素之一^[15-17],本研究以不同林龄花椒为研究对象,采用 Illumina Miseq 测序技术并结合土壤理化性质测定,分析林龄对花椒根际土壤理化性质和微生物群落结构的影响,为花椒根际土壤微生物生态功能的深入研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 采样地概况

采样地为陕西省宝鸡市凤县花椒试验示范基地(106°39'E, 33°59'N), 平均海拔 1 061 m, 该区属于暖温带山地气候, 特点为垂直变化明显, 小气候差异大, 降水集中, 分布不均, 气温日差较大。年日照率为 42%, 年日照平均为 1 840.3 h, 地面年平均温度为 13.5℃, 最高 14.3℃, 最低 12.7℃, 年平均降水 613.2 mm, 全年多盛行东风和西南风。椒园土壤为粗砂质棕壤土, 颗粒适中, 保肥保水性一般, 有机质含量较高, 为人工管理花椒林。试验林分为凤县大红袍 3 年生(幼龄期)、8 年生(盛果期)和 15 年生(衰退期)林分, 株行距为 2 m × 4 m, 林地无间作植物。椒园采用地膜滴灌, 生育期滴灌 5~7 次, 基肥为磷酸二铵、尿素、硫酸钾和混合有机肥等。

1.2 花椒根际土壤采集与处理

花椒根际土壤于 2020 年 8 月采集自凤县花椒试验示范站, 分别在 3、8 a 和 15 a 花椒林地中随机选择健康植株 3 株, 除去表层土壤, 采用抖落法采集根际土^[18], 具体操作为: 以树干基部为中心, 在距离其 15 cm 处设置 5 个取样点, 用土钻挖取距表土 10~20 cm 的土壤, 收集土壤中的花椒细根(直径 < 2 mm), 抖落细根上的大颗粒土壤, 将细根带回实验室, 用力抖落细根上的土(距离根表 < 4 mm), 即为根际土壤。将同一棵树下的根际土混合装入密封袋, 每个林龄 3 个重复, 共 9 个样品, 命名为 3 年生根际土(RS3), 编号为 RS3a、RS3b 和 RS3c; 8 年生根际土(RS8), 编号为 RS8a、RS8b 和 RS8c; 15 年生

根际土(RS15), 编号为 RS15a、RS15b 和 RS15c。每个土样过孔径为 2 mm 的细筛后, 储存于 -80℃ 冰箱, 用于测序。

1.3 花椒根际土壤化学性质测定

土壤化学性质测定方法参考《土壤分析技术规范》(第 2 版)^[19]进行, 其中土壤 pH 使用 pH 计测定, 土水比为 1:10; 有机质(Organic matter, OM)采用重铬酸钾氧化-容量法测定; 全氮(total nitrogen, TN)采用凯氏蒸馏法测定; 速效氮(available nitrogen, AN)采用碱解扩散法测定; 全磷(total phosphorus, TP)采用氢氧化钠熔融-钼锑抗比色法测定; 速效磷(available phosphorus, AP)采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定; 全钾(total potassium, TK)采用碱熔-火焰光度法测定; 速效钾(available potassium, AK)采用乙酸铵浸提-火焰光度法测定。

1.4 花椒根际土壤微生物的测序分析

1.4.1 基因组 DNA 提取、PCR 扩增和产物回收

花椒根际土壤微生物的总 DNA 采用 OMEGA 试剂盒 E. Z. N. ATM Mag-Bind Soil DNA Kit 提取, 提取的总 DNA 用琼脂糖凝胶检测其完整性, 采用 Qubit 3.0 定量检测 DNA 样本浓度。花椒根际土壤微生物的高通量测序采用 Illumina MiSeq 平台, 真菌的扩增及测序区域为 ITS1 区, 引物为 ITS1F(5'-CT-TGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2R(5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3'); 细菌的扩增及测序区域为 16S rDNA 的 V3-V4 区, 引物为 341F(5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') 和 805R(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')。PCR 扩增产物经 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 利用胶回收试剂盒进行纯化回收。

1.4.2 文库构建及测序 采用 Illumina 桥式 PCR 构建文库并采用 Qubit3.0 对其进行荧光定量, 质控合格的文库采用 Illumina MiSeq PE300 平台进行高通量测序。

1.4.3 数据处理及分析 使用 Cutadapt 软件对原始序列去除引物接头; 根据成对 reads 之间的 overlap 关系, 使用 PEAR 软件将其拼接成一条序列; 根据各样本 barcode 序列和引物序列从拼接后数据中分割出各样本数据, 并校正序列方向; 使用 PRINSEQ 软件切除 reads 尾部质量值 20 以下的碱基, 过滤质控后获得有效序列。

使用 Usearch 软件, 根据 97% 相似度对序列进行操作分类单元(Operational Taxonomic Units, OTU)聚类, 去除单序列和嵌合体, 选取每个 OTU 最长的序列作为代表序列。将真菌 ITS1 的 OTU

代表序列与 Unite 真菌数据库进行比对,细菌 16S rDNA 的 OTU 代表序列与 RDP 16S 数据库进行比对,获得每个 OTU 的分类学信息,即门、纲、目、科和属等各水平下的分类单元。

采用 R 软件和 Microsoft Excel 进行数据处理和分析作图。利用 R 软件的 vegan 包和 VennDiagram 分别计算 Alpha 和绘制 Venn 图;采用 Mouth 软件进行稀释曲线分析;使用 Phyloseq 计算样品间加权 Unifrac 距离矩阵表,使用 R 软件的 vegan 包绘图非度量多维尺度(non-metric multidimensional scaling,NMDS)可视化图形。冗余分析(redundancy analysis,RDA)土壤理化性质对花椒根际土壤微生物群落结构(OTU 水平上)的影响。采用 SAS 软

件的 PROC ANOVA 进行显著性差异分析,所有分析显著性水平设置为 $P<0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 不同林龄的花椒根际土壤理化性质分析

不同林龄花椒根际土壤理化性质表现出一定的差异(表 1)。随着林龄的增加,土壤 pH 呈下降趋势,由弱碱性向弱酸性变化。当花椒林龄由 3 a 增加至 8 a 时,根际土中的有机质、TN、AN、TP、AP、TK 和 AK 均显著增加;而当林龄由 8 a 增加至 15 a 时,有机质、TN 和 TP 虽有降低,但是与 8 a 林龄的差异不显著,而 AN、AP、TK 和 AK 的含量显著低于 8 a 林龄。

表 1 不同林龄花椒根际土壤的基本理化性质

Table 1 Basic physiochemical properties of rhizosphere soli of *Z. bungeanum* at different ages

检测指标	RS3	RS8	RS15
土壤 pH	7.18±0.05 a	7.01±0.04 a	6.79±0.01 b
有机质/(g·kg ⁻¹)	30.31±20.64 b	46.68±35.69 a	35.26±19.63 a
TN/(g·kg ⁻¹)	2.31±20.64 b	3.68±35.69 a	3.26±19.63 a
AN/(mg·kg ⁻¹)	98.31±13.64 b	169.08±14.36 a	87.16±9.54 c
TP/(g·kg ⁻¹)	1.16±11.36 b	2.56±20.36 a	2.31±9.36 a
AP/(mg·kg ⁻¹)	175.98±6.97 c	298.61±15.36 a	213.31±7.59 b
TK/(g·kg ⁻¹)	1.09±9.36 c	3.37±19.36 a	2.68±20.38 b
AK/(mg·kg ⁻¹)	89.36±9.84 c	356.45±14.56 a	175.23±20.36 b

注:同一行中不同的小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

2.2 花椒根际土壤微生物的测序结果

3 个林龄花椒根际土的 ITS rDNA 有效序列分别为 91471、77776 和 90002 条,以 RS3 和 RS15 的数目较多;16S rDNA 的有效序列分别为 80162、

68249 和 76613 条,以 RS3 的数目最多(表 2)。各样本文库覆盖率均在 99%以上,说明测序深度可覆盖土壤中的绝大部分微生物,能真实地反应各土样中的微生物群落信息。

表 2 不同林龄花椒根际土壤微生物的测序结果

Table 2 Sequencing of rhizosphere microbe of *Z. bungeanum* at different ages

样品	原始序列		有效序列		文库覆盖率	
	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌
RS3	92025±2423 a	80682±1716 a	91471±2142 a	80162±1652 a	0.9995±0.0002 a	0.9981±0.0011 a
RS8	78165±1777 b	68829±1181 c	77776±1959 b	68249±1111 c	0.9994±0.0002 a	0.9975±0.0007 a
RS15	90233±1631 a	76982±2728 b	90002±1632 a	76613±2841 b	0.9987±0.0016 a	0.9976±0.0014 a

2.3 不同林龄花椒根际土壤微生物群落的 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性主要采用 Chao1、Ace、Shannon 和 Simpson 等指数进行评价。Chao1 和 Ace 指数表示物种丰富度,其值越大,表示群落物种丰富度越高。Shannon 和 Simpson 指数可以反映物种的多样性,Shannon 指数越高,Simpson 指数越低,说明物种多样性越高,反之则越低。不同林龄花椒根际土壤真菌的 Chao1 和 Ace 指数差异显著(表 3),均随林龄的增加表现出先增加后降低的趋势,其中以 RS8 的物种丰富度最高、RS15 次之、RS3 最低;

Shannon 和 Simpson 指数在不同林龄的土样中差异也较为显著,以 RS8 的 Shannon 指数最大、RS15 次之、RS3 最低,而 Simpson 指数以 RS3 的最高、RS15 次之、RS8 最低。由此说明,林龄对花椒根际土壤真菌群落的 Alpha 多样性具有显著影响,随着林龄增加,整体呈现出先增加后降低的趋势。

与花椒根际土壤真菌群落的丰富度相比,细菌物种丰富度和物种多样性更高,但是不同林龄花椒根际土壤中细菌群落的 Chao1、Ace、Shannon 和 Simpson 指数的差异均不显著,表明林龄对花椒根际土壤细菌群落的物种丰富度和多样性影响不显

著,推断花椒根际土壤中的细菌群落组成较稳定。

2.4 不同林龄花椒根际土壤微生物的群落组成分析

2.4.1 真菌群落组成分析 从3个不同林龄花椒根际土中共得到1 229个真菌 OTU,归属于12门、35纲、78目、149科、321属和466种,其中以RS8的OTU数目最多,为858个,RS15次之,为705个,RS3的最少,仅为616个(图1)。Venn图分析发现3组样品的共有OTU为336个,占27.34%;RS3、RS8和RS15的特有OTU分别为114、284和

190个,分别占9.28%、23.11%和15.46%。从3个不同林龄花椒根际土中共注释到真菌321属,RS3、RS8和RS15中分别注释到209属、262属和205属,共有属为142属,占53.79%;RS3、RS8和RS15的特有属为19属、58属和31属,分别占7.20%、21.97%和11.74%(图1)。由此表明,林龄对花椒根际土壤真菌的丰富度和多样性具有明显的影响,以8a林龄花椒根际土壤真菌群落的物种丰富度和多样性最高。

表3 花椒根际土壤微生物的Alpha多样性指数

Table 3 Alpha diversity index of microorganisms in the rhizosphere soil of *Z. bungeanum*

微生物	样品	Chao1 指数	Ace 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
真菌	RS3	640.8485±15.9304 c	632.8591±26.1401 c	3.4713±0.0586 c	0.1372±0.0091 a
	RS8	903.2288±18.0021 a	898.0686±13.8170 a	4.1311±0.1621 a	0.0886±0.0069 c
	RS15	712.7120±16.3421 b	711.9461±26.9853 b	3.8124±0.1746 b	0.1296±0.0126 b
细菌	RS3	1273.1370±11.5161 a	1286.5164±7.4577 a	6.0985±0.0363 a	0.0061±0.0004 a
	RS8	1285.2227±7.7436 a	1284.2631±8.0730 a	6.0817±0.0546 a	0.0062±0.0002 a
	RS15	1283.6898±4.1877 a	1287.6153±4.9448 a	6.0645±0.0499 a	0.0070±0.0001 a

子囊菌门 Ascomycota 和罗兹菌门 Rozellomycota 是花椒根际土壤真菌的主要类群(图2),随着林龄的增加,优势菌门由子囊菌门向罗兹菌门过渡。RS3和RS8中以子囊菌门的相对丰度最高,分别为68.05%和43.68%,罗兹菌门为次优势菌门,相对丰度分别为11.80%和27.48%;而RS15中以罗兹菌门的相对丰度最高,为38.81%,子囊菌门的相对丰度为31.08%。担子菌门 Basidiomycota 和被孢霉门 Mortierellomycota 的相对丰度随着林龄的增加而降低,在RS3、RS8和RS15中的相对丰度分别为6.98%和3.42%、5.09%和3.22%、2.74%和1.73%。其余真菌门的相对丰度均较低。

不同林龄根际土壤的优势真菌在属水平上的多样性和丰度差异较大(图2)。3个林龄花椒根际土壤中的优势真菌属均为缘刺盘菌属 *Cheilymenia*,其相对丰度随着林龄的增加而降低,在RS3、RS8和RS15中的相对丰度分别为34.39%、10.41%和3.66%。在进行优势物种分析时,一般将其相对丰度超过1%的物种均作为优势物种。因此除了缘刺盘菌属外,RS3中的优势真菌属还有镰孢菌属 *Fusarium* (3.01%)、被孢霉属 *Mortierella* (3.43%)、*Fusicolla* (3.06%)、短梗霉属 *Aureobasidium* (2.57%)、腐质霉属 *Humicola* (1.76%)、*Pseudaleuria* (3.38%)、*Magnaporthiopsis* (3.37%)、*Waitea* (3.35%)和光黑壳属 *Preussia* (1.95%);RS8中的优势真菌属还有镰孢菌属(2.85%)、被孢霉属(3.21%)、*Fusicolla* (2.00%)、短梗霉属(1.48%)、腐质霉属(1.44%)、*Solicoccozyma*

(1.26%)和 *Minimedusa* (1.28%);RS15中的优势真菌属还有镰孢菌属(2.83%)、被孢霉属(1.73%)、*Fusicolla* (2.18%)、短梗霉属(1.11%)、腐质霉属(1.19%)和念珠菌属 *Candida* (1.22%)。

2.4.2 细菌群落组成分析 从花椒根际土壤中共获得1 298个细菌的OTU,归属于22门、49纲、71目、163科和277属。RS3、RS8和RS15中的OTU分别为1 270个、1 257个和1 270个,共有的OTU有1 217个,占93.76%,特有的OTU数目较少,仅为10、2和4,说明细菌群落结构在3个林龄土壤中差异不大。3个林龄土壤中的共有细菌属为254属,占91.70%,特有属仅为2、1和1(图1)。

3个林龄土样中相对丰度较高的细菌门为变形菌门 Proteobacteria(37.65%~43.85%)、酸杆菌门 Acidobacteria(15.44%~18.19%)、拟杆菌门 Bacteroidetes(6.05%~7.43%)、疣微菌门 Verrucomicrobia(5.77%~6.92%)、芽单胞菌门 Gemmatimonadetes(4.31%~5.49%)、浮霉菌门 Planctomycetes(3.13%~5.01%)、放线菌门 Actinobacteria(3.04%~5.39%)和厚壁菌门 Firmicutes(2.09%~2.32%)(图2)。优势细菌门均为变形菌门,次优势菌门均为酸杆菌门,第三优势菌门均为拟杆菌门。

3个林龄土样共注释到277个细菌属,相对丰度较高的为鞘氨醇单胞菌属 *Sphingomonas* (7.72%~9.39%)、酸杆菌门 Gp6组 Acidobacteria_Gp6(4.98%~6.04%)、酸杆菌门 Gp4组(4.60%~5.70%)、芽单胞菌属 *Gemmatimonas* (4.32%~

5.49%)、*Luteolibacter* (2.72%~3.69%)、假单胞菌属 *Pseudomonas* (1.27%~3.70%)、溶杆菌属 *Lysobacter* (2.05%~2.27%)、芽孢杆菌属 *Bacillus* (1.01%~2.01%)、*Aridibacter* (0.95%~1.01%)、新鞘脂菌属 *Novosphingobium* (0.70~1.10%)、剑菌属 *Ensiifer* (0.55%~1.04%)、肠杆

菌属 *Enterobacter* (0.43%~1.15%)、酸杆菌门 Gp3 组 *Acidobacteria_Gp3* (0.98%~1.39%) 和小梨形菌属 *Pirellula* (0.62%~1.34%) (图2)。优势属均为鞘氨醇单胞菌属,在 RS3、RS8 和 RS15 中的相对丰度分别 7.72%、8.34% 和 9.39%,以 15 年林龄根际土壤的最高。

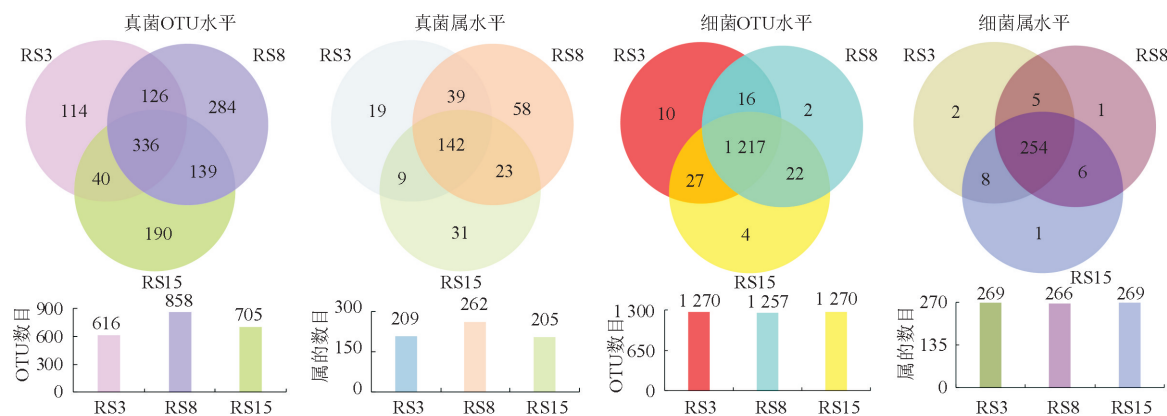


图1 花椒根际土壤真菌和细菌的韦恩图

Fig. 1 Venn diagrams of fungi and bacteria in rhizosphere soil of *Z. bungeanum*

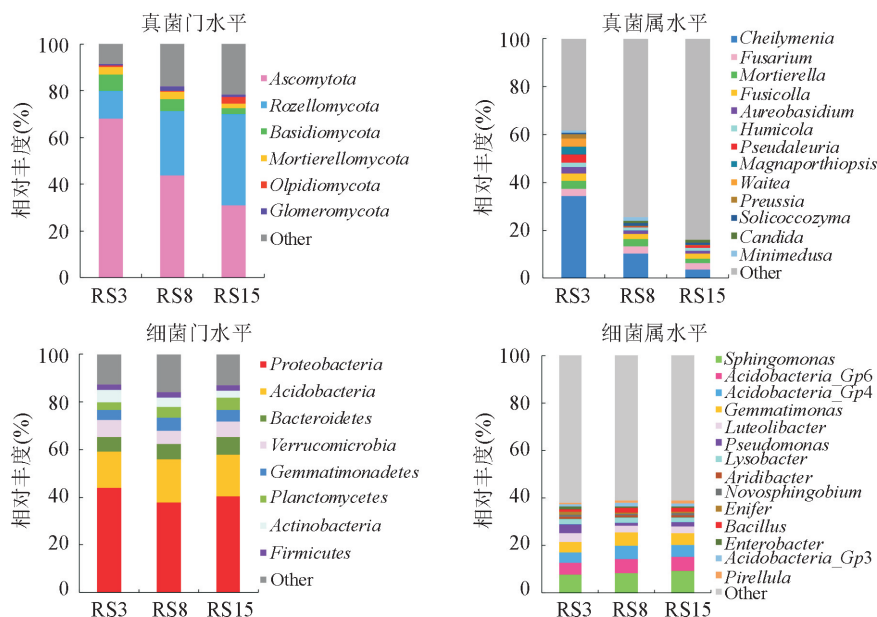


图2 花椒根际土壤真菌和细菌的相对丰度

Fig. 2 The relative abundance of fungi and bacteria in rhizosphere soil of *Z. bungeanum*

2.5 花椒根际土壤微生物的群落结构差异分析

NMDS 分析是一种将多维空间的研究对象(样本或变量)简化到低维空间进行定位、分析和归类,同时又保留对象间原始关系的数据分析方法。NMDS 分析结果的优劣性用 Stress 进行检验,通常认为 $\text{stress} < 0.2$ 时 NMDS 图形有一定的解释意义;当 $\text{stress} < 0.1$ 时,可以认为是一个好的排序;当 $\text{stress} < 0.05$ 时,则具有很好的代表性。结果显示,RS3、RS8 和 RS15 中的真菌群落明显分离,Stress 值为 0.089,说明不同林龄花椒根际土壤的真菌群落差异较大;而细菌群落的 NMDS 排序的 Stress 为

0.103,说明细菌的 NMDS 整体上能解释 3 个林龄土样的细菌群落差异,RS3、RS8 和 RS15 中的细菌群落也出现了明显分离,由此可知,不同林龄土壤中的细菌群落多样性组间差异较大(图3)。

2.6 土壤理化性质与微生物群落多样性和结构的相关性分析

花椒根际土壤理化性质与真菌和细菌的多样性均表现出不同程度的相关性(表4),但是显著相关的只有 pH、有机质、AP 和 AK。真菌的 Chao1 指数与土壤有机质、AP 和 AK 显著正相关,Ace 指数与有机质和 AP 极显著正相关,而与 AK 显著正相关,

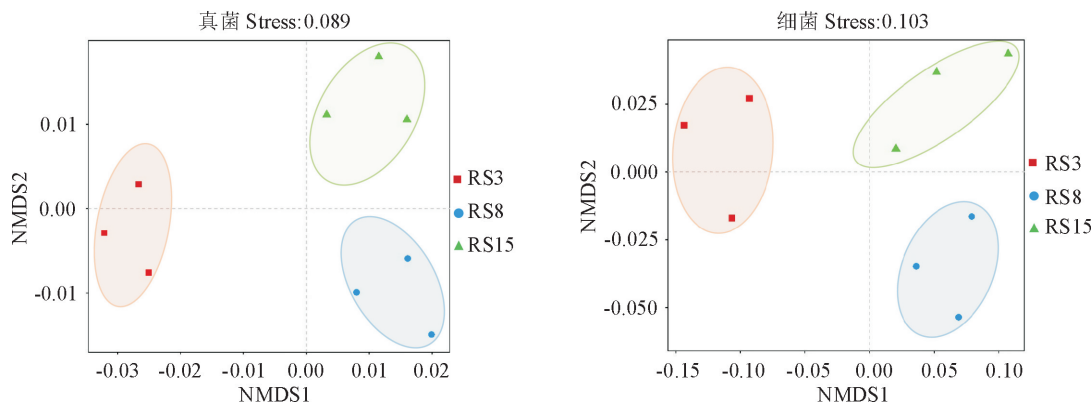


图 3 花椒根际土壤微生物群落在 OTU 水平的 NMDS 排序

Fig. 3 NMDS ordination of communities at OTU level of the microorganisms in rhizosphere soil of *Z. bungeanum*

表 4 土壤化学因子与花椒根际微生物 Alpha 多样性指数的相关性分析

Table 4 Correlation analysis between Alpha diversity index of microorganisms in the rhizosphere soil of *Z. bungeanum* and the chemical factors of soil

土壤化学因子	Chao1 指数		Ace 指数		Shannon 指数		Simpson 指数	
	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌	真菌	细菌
土壤 pH	-0.193	-0.756	-0.219	-0.390	-0.452	0.997 *	0.071	N
有机质	0.994 *	0.807	0.985 * *	0.810	0.970	-0.295	-0.988	N
TN	0.889	0.983	0.901	-0.480	0.980	-0.677	-0.826	N
AN	0.923	0.492	0.913	-0.980	0.784	0.125	-0.961	N
TP	0.819	0.999	0.834	-0.357	0.944	-0.770	-0.742	N
AP	0.999 *	0.0809	0.992 * *	-0.809	0.971 *	-0.297	-0.988	N
TK	0.887	0.983	0.899	-0.476	0.979	-0.680	-0.824	N
AK	0.999 *	0.819	0.995 *	0.798	0.975	-0.315	-0.985	N

注：* 和 * * 分别代表相关性显著 ($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$)；N 表示不存在相关性。

Shannon 指数与速效磷显著正相关。细菌的 Shannon 指数与土壤 pH 显著正相关。

通过 RDA 分析土壤理化因子对花椒根际土壤真菌群落结构的影响 (图 4)，发现第 1 轴和第 2 轴可解释各理化因子对真菌群落结构总变异的 71.74%，各理化因子对真菌群落的影响程度为 OM > TN > pH > AN > TP > TK > AK > AP；而通过

RDA 分析各理化因子对细菌群落结构的影响，发现第 1 轴和第 2 轴可解释各理化因子对细菌群落结构总变异的 78.34%，各理化因子对细菌群落的影响程度为 pH > OM > TN > TP > AN > TK > AP > AK。由此可知，影响花椒根际土壤微生物群落结构组成的重要土壤理化因子为 OM、TN 和 pH。

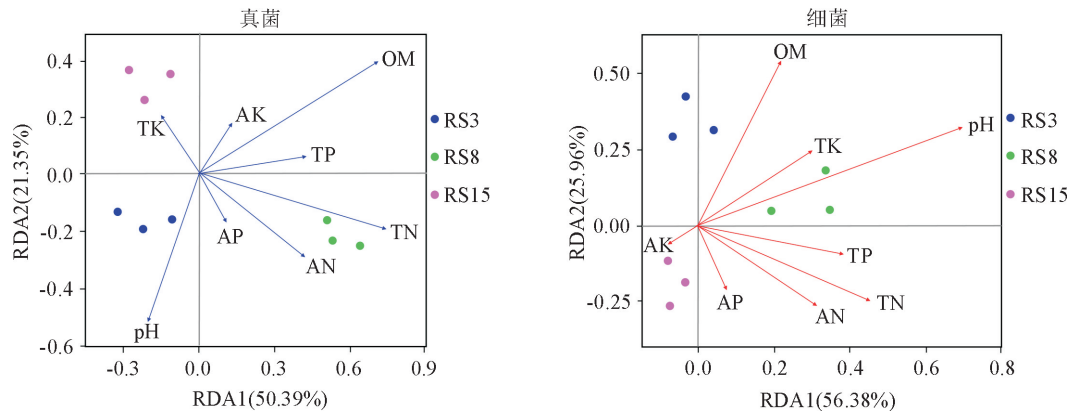


图 4 花椒根际土壤微生物群落结构 (OTU 水平) 与土壤理化性质的 RDA 分析

Fig. 4 Redundancy analysis of the relationship between the community structure (the level of OTU) of the microorganisms in rhizosphere soil of *Z. bungeanum* and the chemical factors of soil

3 讨论

3.1 林龄对植物根际土壤理化性质的影响

随着林木的不断生长,林分结构和林内气候环境发生改变,生态系统的物质循环受到影响,进而会影响植物根际土壤的理化性质。本研究分析发现陕西凤县花椒示范园不同林龄花椒根际土壤的理化性质差异显著,土壤 pH 随着林龄的增加呈现降低的趋势,与廖礼彬等^[20]对四川阿坝藏羌自治州茂县坡地花椒园不同种植年限花椒根际土壤 pH 检测的结果一致。花椒根际土壤随着种植年限增加由弱碱性向弱酸性转变,这可能是由于根系向根际土壤中分泌的有机酸等物质不断积累造成的^[21-22]。本研究发现花椒根际土壤中的有机质、TN、AN、TP、AP、TK 和 AK 的含量均随着林龄的增加表现出先增加后降低的趋势。刘姣姣等^[23]研究甘肃陇南地区的花椒根际土壤理化性质时却发现随着花椒连作年限的增加,有机质、TN、AN、TP、AP、TK、AK 含量均有所降低。本研究与刘姣姣等^[23]的报道结果有所差异,这可能是由于花椒的不同管理措施有所差异造成的,如吴富雨等^[24]发现花椒的种植密度对椒园土壤的理化性质有一定的影响;苟晓松等^[25]报道了覆膜模式和施用有机肥种类均会影响花椒根际土壤的理化性质。明确林木林龄与其根际土壤养分之间的相关性,能为深入研究林木连作障碍可能产生的机制奠定基础,为林木的科学种植与栽培提供一定的理论依据。

3.2 林龄对根际土壤微生物多样性和群落结构的影响

根际土壤微生物的多样性及群落结构是土壤生态系统评价的重要因子,其会受到多种因素的影响,如施肥管理措施、栽培方式、土壤理化性质、植物种类与林龄等。本研究发现林龄对花椒根际土壤真菌的 Alpha 多样性影响显著,表现出随着花椒林龄的增长先增加后降低的趋势,对细菌的 Alpha 多样性影响不显著,而廖礼彬等^[20]采用磷脂脂肪酸生物标记开展林龄对花椒根际土壤总微生物多样性影响的研究中却发现,林龄对花椒根际土壤总微生物的 Alpha 多样性指数影响不显著。此外,本研究还发现花椒根际土壤中真菌的物种多样性和丰富度低于细菌,Wu 等^[26]在分析不同林龄杨树根际土壤微生物的群落结构时,也发现真菌和细菌群落结构随着林龄变化而变化,真菌的多样性低于细菌,且随着林龄的增加,真菌群落多样性指数先升高后降低,25 a 林龄的多样性和丰富度指数最大。而 Bi 等^[27]却发现樟子松根际真菌和细菌的多样性均随着林龄的增

长先降低而再增加。林龄是影响植物根际土壤微生物群落组成的重要因子,本研究发现林龄对花椒根际土壤真菌和细菌的群落结构影响显著,而廖礼彬等^[20]却发现林龄仅对花椒根际土壤真菌的含量有显著影响,且表现出随着种植年限的增加而增加的趋势,细菌/真菌显著下降,这与本研究得出的结果有所差异,导致这种差异的原因可能与分析方法、花椒的栽培管理方式、地理位置等因素相关。

不同植物的根际土壤微生物的群落结构极其复杂,微生物种群结构会因宿主植物、林龄、土壤类型、气候、品种特性、栽培方式等因素的差异而表现出不同的变化动态^[18,28-29]。长期种植单一植物会诱导土壤真菌尤其土传病害致病真菌的增加,本研究中发现花椒根际土壤的优势真菌门为子囊菌门和罗兹菌门,优势真菌属为缘刺盘菌属和镰孢菌属,且随着花椒林龄的增加,优势真菌属由缘刺盘菌属向镰孢菌属过渡,可能导致花椒根部真菌病害的发生和加重。花椒根腐病是由茄腐镰刀菌 *F. solani* 引起^[30],由此推测花椒在种植 8 a 以后,根腐病的发生概率可能会明显增加。本研究中发现花椒根际土壤细菌的优势属为鞘氨醇单胞菌属和酸杆菌门细菌(GP6 和 GP4),鞘氨醇单胞菌属具有高效香味素降解能力^[31],推测其可能在花椒根际土壤中对花椒凋落物等的分解具有重要功能;而酸杆菌门细菌数量的增多,可能会导致土壤酸化,破坏土壤微生物的平衡,可能会增加花椒病害的发生。因此,在进行花椒园的建园与栽培管理时,应重视合理规划花椒的种植年限。

3.3 土壤理化性质对土壤微生物群落结构的影响

根际微生态系统是植物与土壤之间相互作用最为直接的场所,土壤、根系和微生物三者在其中紧密结合又相互影响,土壤环境作为微生物的栖息地,对微生物多样性和群落结构具有重要的影响,本研究发现影响花椒根际土壤微生物群落结构的主要因子为土壤 pH、有机质和总氮。同种植物在不同的生长状态或地理位置其根际微生物群落的影响因素也不尽相同,如廖礼彬等^[20]在研究四川省阿坝藏族羌族自治州茂县花椒园根际土壤微生物群落组成时,发现影响土壤微生物群落组成的主要因子为 pH、AP、AK 和多酚氧化酶活性。不同的植物其土壤微生物群落结构的影响因子有所差异,如罗达等^[32]发现影响云杉人工林土壤微生物群落结构的主要环境因子为土壤有机碳、TN、TK 以及细根生物量;王倩等^[33]发现 pH、总磷和总钾是影响云杉人工林土壤微生物群落结构的主要理化因子。由此可知,土壤环境的变化能调控根际微生物的群落结构。相反,

土壤微生物群落对生态系统功能和土壤肥力的维持也至关重要,在调节土壤碳、氮、磷循环过程中起着非常关键的作用。研究发现,土壤碳、氮循环过程可以被微生物群落来调控,如 Wang 等^[34]在研究在青藏高原牧草根际土壤微生物多样性时发现,随着牧草根际土壤细菌多样性的降低,其对土壤中碳的利用潜力下降了 30.4%。因此,明确土壤环境与微生物群落结构变化之间的关系,对科学评价土壤生态系统的稳定性与系统性具有重要的指导意义,也能为植物的科学种植产生积极作用。

4 结论

根际微生物是植物根际的核心功能区,明确根际微生物的群落结构及影响因素对农林生态系统的可持续发展具有重要的指导作用。本研究揭示了不同林龄花椒根际土壤微生物的多样性与群落结构的变化特征,明确了花椒根际土壤理化性质的变化趋势,并且分析了土壤理化性质与花椒根际土壤微生物群落结构之间的相关性,不仅能为椒园土壤质量动态变化和土壤微生物生态功能的深入研究奠定基础,还能为花椒根际土壤微生物资源的开发利用提供依据。

参考文献:

- [1] BUTTERLY C R, WANG X J, ARMSTRONG R D, *et al.* Elevated CO₂ induced rhizosphere effects on the decomposition and N recovery from crop residues[J]. *Plant Soil*, 2016, 408: 55-71.
- [2] GACHANDE B D, SHAIKH N F. Correlation of soil mycoflora and productivity in organic and inorganic farming of *Triticum aestivum* [J]. *International Journal of Botany Studies*, 2017, 2(5): 127-130.
- [3] JILLING A, KEILUWEIT M, CONTOSTA A R, *et al.* Minerals in the rhizosphere: overlooked mediators of soil nitrogen availability to plants and microbes[J]. *Biogeochemistry*, 2018, 139: 103-122.
- [4] JACOBY R P, KOPRIVA S. Metabolic niches in the rhizosphere microbiome: new tools and approaches to analyse metabolic mechanisms of plant-microbe nutrient exchange[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(4): 1087-1094.
- [5] 叶振城, 王杰, 刘国彬, 等. 近 20 年来生态修复中根际微生物的研究进展[J]. *西北林学院学报*, 2022, 37(3): 72-81.
YE Z C, WANG J, LIU G B, *et al.* Research Progress of Rhizosphere Microbes in Ecological Restoration in Recent 20 Years [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2022, 37(3): 72-81. (in Chinese)
- [6] AZAIZEH H A, SALHANI N, SEBESVARI Z, *et al.* The potential of rhizosphere microbes isolated from a constructed wetland to biomethylate selenium[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2003, 32(1): 55-62.
- [7] HALDAR S, SENGUPTAE S. Plant-microbe cross-talk in the rhizosphere: insight and biotechnological potential [J]. *The Open Microbiology Journal*, 2015, 9: 1-7.
- [8] KALKO G V, VOROBYEV N I, NOVIKOVA I I. The influence of antagonistic microbes on *Fusarium oxysporum* survival in greenhouse soil and cucumber rhizosphere[J]. *Mikologiya I Fitopatologiya*, 2003, 37(5): 84-92.
- [9] IBAL J C, JUNG B K, PARK C E, *et al.* Plant growth-promoting rhizobacteria used in South Korea[J]. *Applied Biological Chemistry*, 2018, 61(6): 709-716.
- [10] 杨珍, 戴传超, 王兴祥, 等. 作物土传真菌病害发生的根际微生物机制研究进展[J]. *土壤学报*, 2019, 56(1): 12-22.
YANG Z, DAI C C, WANG X X, *et al.* Advances in rhizosphere microbial mechanisms of soil-borne fungal diseases of crops[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2019, 56(1): 12-22. (in Chinese)
- [11] 张瑞福. 根际微生物: 农业绿色发展中大有所为的植物第二基因组[J]. *生物技术通报*, 2020, 36(9): 1-2.
- [12] ZHANG M M, WANG J L, ZHU L, *et al.* *Zanthoxylum bungeanum* Maxim. (Rutaceae): a systematic review of its traditional uses, botany, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics, and toxicology[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(10): 2172.
- [13] 蒙盼盼, 冯欢, 陈伟, 等. 椒树实生苗和嫁接苗根相关真菌群落结构和多样性[J]. *菌物学报*, 2021, 40(8): 1965-1979.
MENG P P, FENG H, CHEN W, *et al.* Community structure and diversity of root-associated fungi of *Catalpa bungei* seedlings and grafted seedlings[J]. *Mycosystema*, 2021, 40(8): 1965-1979. (in Chinese)
- [14] 陆海生, 刘守平, 梁国钱. 水旱轮作对滩涂绿花椰菜根际土壤真菌群落结构的影响[J]. *菌物学报*, 2021, 40(9): 2254-2265.
LU H S, LIU S P, LIANG G Q. Effects of paddy rice-upland crop rotation on fungal community structure and diversity in the rhizosphere of *Brassica oleracea* var. *italica* [J]. *Mycosystema*, 2021, 40(9): 2254-2265. (in Chinese)
- [15] 柴小粉, 杨雅菲, 张杰, 等. 有机肥施用量和树龄差异对苹果园土壤真菌群落的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2020, 25(5): 38-46.
CHAI X F, YANG Y F, ZHANG J, *et al.* Soil fungal community in apple orchards relative to manure application and cultivation history[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2020, 25(5): 38-46. (in Chinese)
- [16] 彭辉, 周红敏, 张弓乔, 等. 不同林龄红豆树土壤真菌群落组成和多样性[J]. *中南林业科技大学学报*, 2021, 41(11): 129-135.
PENG H, ZHOU H M, ZHANG G Q, *et al.* Composition structure and diversity of soil fungi community in *Ormosia hosiei* plantations at different ages [J]. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2021, 41(11): 129-135. (in Chinese)
- [17] 肖龙敏, 唐明, 张好强. 不同种植年限宁夏枸杞根际微生物的群落多样性[J]. *西北林学院学报*, 2018, 33(6): 31-39, 163.
XIAO L M, TANG M, ZHANG H Q. Diversity of Microbial Community in Rhizosphere Soils of *Lycium barbarum* Relative to Cultivation History[J]. *Journal of Northwest Forestry U-*

- niversity, 2018, 33(6): 31-39, 163. (in Chinese)
- [18] 杨琼, 谭凤仪, 吴苑玲, 等. 不同林龄海桑林和无瓣海桑林根际微生物特征[J]. 生态学杂志, 2014, 33(2): 296-302.
YANG Q, TAN F Y, WU Y L, *et al.* Soil microbial characteristics in the rhizosphere of *Sonneratia caseolaris* and *S. apetala* forests at different stand ages in Shenzhen Bay[J]. Chinese Journal of Ecology, 2014, 33(2): 296-302. (in Chinese)
- [19] 杜森, 高祥照. 土壤分析技术规范[M]. 第2版. 北京: 中国农业出版社, 2006: 34-68.
- [20] 廖礼彬, 石福孙, 张楠楠, 等. 不同种植年限对花椒根际土壤理化性质和微生物群落的影响[J]. 植物研究, 2022, 42(3): 466-474.
LIAO L B, SHI F S, ZHANG N N, *et al.* Effects of different planting years on rhizosphere soil physiochemical properties and microbial community of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. Bulletin of Botanical Research, 2022, 42(3): 466-474. (in Chinese)
- [21] 黄晶森, 刘国鑫, 刘佩杭, 等. 不同种植年限苹果园根际土壤养分、pH及微生物的相关性[J]. 山西农业科学, 2020, 48(8): 1263-1266.
HUANG J M, LIU G X, LIU P H, *et al.* Correlation of nutrient, pH, and microorganism in rhizosphere soil of apple orchard with different cultivation years[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2020, 48(8): 1263-1266. (in Chinese)
- [22] 杨布朗, 胡兴宜, 彭守亚, 等. 栎树柏木混交种植模式对土壤转化酶活性和碳氮含量的影响[J]. 森林工程, 2021, 37(3): 12-20.
YANG B L, HU X Y, PENG S Y, *et al.* Effects of different mixed planting model of *Koelreuteria paniculata* and *Cupressus funebris* on soil invertase activity, carbon and nitrogen content[J]. Forest Engineering, 2021, 37(3): 12-20. (in Chinese)
- [23] 刘姣姣, 何静, 陈伟, 等. 花椒连作对土壤化学性质及酶活性的影响[J]. 分子植物育种, 2019, 17(22): 7545-7550.
LIU J J, HE J, CHEN W, *et al.* Effects of continuous cropping of *Zanthoxylum bungeanum* on soil chemical properties and enzyme activities[J]. Molecular Plant Breeding, 2019, 17(22): 7545-7550. (in Chinese)
- [24] 吴富雨, 李元会, 文婧, 等. 花椒不同种植密度下土壤活性有机碳变化规律[J]. 安徽农业科学, 2021, 49(14): 119-121.
WU F Y, LI Y H, WEN Q, *et al.* Changes of soil active organic carbon under different planting densities of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2021, 49(14): 119-121. (in Chinese)
- [25] 苟晓松, 张开艳, 陈春旭, 等. 覆膜模式、有机肥种类对花椒种植土壤理化性质的影响[J]. 南方农业, 2022, 16(5): 9-11, 17.
GOU X S, ZHANG K Y, CHEN C X, *et al.* Effects of covering membrane mode and types of organic fertilizer on the physiochemical properties of planting soil of *Zanthoxylum bungeanum* [J]. Southern Agriculture, 2022, 16(5): 9-11, 17. (in Chinese)
- [26] WU N, LI Z, MENG S, *et al.* Soil properties and microbial community in the rhizosphere of *Populus alba* var. *pyramidalis* along a chronosequence [J]. Microbiological Research, 2021, 250(8): 126812.
- [27] BI B Y, YUAN Y, ZHANG H, *et al.* Rhizosphere soil metabolites mediated microbial community changes of *Pinus sylvestris* var. *mongolica* across stand ages in the Mu Us Desert [J]. Applied Soil Ecology, 2022, 169: 104222.
- [28] 贾丹, 王琪瑶, 肖宇飞, 等. 天然东北红豆杉林土壤细菌多样性研究[J]. 森林工程, 2022, 38(3): 26-31, 39.
JIA D, WANG Q Y, XIAO Y F, *et al.* Study on soil bacterial diversity of natural *Taxus cuspidata* forest [J]. Forest Engineering, 2022, 38(3): 26-31, 39. (in Chinese)
- [29] XU M P, JIAN J N, WANG J Y, *et al.* Response of root nutrient resorption strategies to rhizosphere soil microbial nutrient utilization along *Robinia pseudoacacia* plantation chronosequence [J]. Forestry Ecology and Management, 2021, 489: 119053.
- [30] 阮钊, 丁俊园, 唐光辉, 等. 花椒根腐病的病原鉴定与防治药剂筛选[J]. 植物病理学报, 2021, <https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000770>.
RUAN Z, DING J Y, TANG G H, *et al.* Pathogen identification of root rot of *Zanthoxylum bungeanum* and screening of fungicides [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2021, <https://doi.org/10.13926/j.cnki.apps.000770>. (in Chinese)
- [31] 王振兴, 陶敏, 方程, 等. 一株鞘氨醇单胞菌的分离鉴定及性质表征[J]. 大连工业大学学报, 2019, 38(6): 403-407.
WANG Z X, TAO M, FANG C, *et al.* Isolation, identification and characterization of a *Sphingomonas* sp. Strain [J]. Journal of Dalian Polytechnic University, 2019, 38(6): 403-407. (in Chinese)
- [32] 罗达, 刘顺, 史作民, 等. 川西亚高山不同林龄云杉人工林土壤微生物群落结构[J]. 应用生态学报, 2017, 28(2): 519-527.
LUO D, LIU S, SHI Z M, *et al.* Soil microbial community structure in *Picea asperata* plantations with different ages in subalpine of western Sichuan, Southwest China [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2017, 28(2): 519-527. (in Chinese)
- [33] 王倩, 李振双, 杨富成, 等. 广西凭祥红锥-马尾松混交林菌根际微生物群落结构[J]. 菌物学报, 2021, 40(6): 1343-1356.
WANG Q, LI Z S, YANG F C, *et al.* Mycorrhizosphere microbial community structure of *Castanopsis hystrix* and *Pinus massoniana* mixed plantation in Pingxiang, Guangxi of South China [J]. Mycosystema, 2021, 40(6): 1343-1356. (in Chinese)
- [34] WANG H, LIU S G, KUZYAKOV Y, *et al.* Differentiating microbial taxonomic and functional responses to physical disturbance in bulk and rhizosphere soils [J]. Land Degradation and Development, 2020, 31(18): 2858-2871.