

大别山五针松根际微生物和内生菌群落特征及功能多样性

项小燕¹, 阮思睿¹, 张颖², 赵菲菲², 徐伟芳^{2*}

(1. 安庆师范大学 生命科学学院/皖西南生物多样性研究与生态保护安徽省重点实验室, 安徽 安庆 246133;

2. 安徽中医药大学 药学院/中药研究与开发安徽省重点实验室, 合肥 230012)

摘要: 为了探明大别山五针松根际微生物和内生菌群落特征及功能多样性, 该研究以大别山五针松根际土壤和根部组织为研究对象, 利用高通量测序技术分析根际微生物和根部内生菌群落特征, 并利用PICRUSt和FUNGuild软件分别对细菌群落和真菌群落进行功能预测。结果表明: (1)根际微生物总操作分类单元(OTUs)数目和 α 多样性指数均明显大于根部内生菌。(2)根际微生物主要由厚壁菌门(如李斯特氏菌属)、变形菌门(如醋杆菌属)、子囊菌门(如镰刀菌属和毛壳属)等菌群构成, 而根部内生菌则以厚壁菌门(如乳杆菌属和芽孢杆菌属)、子囊菌门(如枝孢菌属)、担子菌门(如须腹菌属和针菌属)菌群为主。(3)功能预测结果显示, 根际细菌群落在细胞运动性、环境适应性、氨基酸代谢等功能方面较为突出, 而根部内生细菌功能主要体现在酶家族、消化系统、能量代谢等方面; 根际真菌群落和根部内生真菌均含有共生营养型、腐生营养型、病理营养型、及多种交叉营养型的真菌类群且外生菌根更多富集在根部组织中。该研究阐明, 大别山五针松根际微生物与根部内生菌在菌群丰富度、群落结构组成及功能多样性上均存在差异。研究结果为认识大别山五针松根际微生物和内生菌的结构与功能提供了依据, 也为后期开发促进大别山五针松生长、防治其病害的菌剂提供了一定的理论基础。

关键词: 大别山五针松, 根际微生物, 内生菌, 高通量测序, 多样性

中图分类号: Q948

文献标识码: A

Community characteristics and functional diversity of the rhizosphere microbiota and endophyte from *Pinus dabeshanensis*

XIANG Xiaoyan¹, RUAN Sirui¹, ZHANG Ying², ZHAO Feifei², XU Weifang^{2*}

(1. Key Laboratory of Biodiversity and Ecology Conservation in Southwest Anhui, College of Life Sciences, Anqing Normal University, Anqing 246133, Anhui, China; 2. Anhui Province Key Laboratory of Research & Development of Chinese Medicine, College of Pharmacy, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230012, China)

Abstract: *Pinus dabeshanensis* is an endangered plant. In order to explore the community characteristics and functional diversity of plant-associated microbes, the compositions of rhizosphere microbiota and root endophyte from *P. dabeshanensis* were analyzed based on the high-throughput sequencing technology. Then the functions of bacterial and fungal communities were predicted by using PICRUSt and FUNGuild software, respectively. The results were as follows: (1) The rhizosphere soil samples exhibited higher operational taxonomic units (OTUs) and α -diversity indices relative to those of the root endosphere. (2) Rhizosphere microbiota were mainly composed of Firmicutes (genus: *Listeria*), Proteobacteria (genus: *Acetobacter*), Ascomycetes (genus: *Fusarium* and *Chaetomium*), while root endophyte were mainly composed of Firmicutes (genus: *Lactobacillus* and *Bacillus*), Ascomycetes (genus: *Cladosporium*), and Basidiomycetes (genus: *Pleurotus* and *Chaetomium*). (3) The functional annotation results showed that the rhizosphere microbiota community was prominent in cell mobility,

基金项目: 安徽省自然科学基金(2108085QH374); 安庆师范大学科研项目(100001195); 皖西南生物多样性研究与生态保护安徽省重点实验室开放基金(Wxn202303); 中药研究与开发安徽省重点实验室开放基金(AKLPCDM202310)。

第一作者: 项小燕(1981-), 博士, 教授, 主要从事濒危物种资源保护与利用研究, (E-mail)xiaoyanxiang@aqnu.edu.cn。

***通信作者:** 徐伟芳, 博士, 讲师, 主要研究方向环境微生物多样性分析, (E-mail)xuweifang@ahtcm.edu.cn。

environmental adaptability, and amino acid metabolism, etc., while the root endosphere bacterial community was prominent in enzyme family, digestive system, and energy metabolism, etc. Both rhizosphere fungal community and root endophytes contain symbiotic, saprophytic, pathophytic and cross-trophic fungal groups, and ectomycorrhiza are more abundant in root tissue. Collectively, there were differences in flora richness, community structure and functional diversity between rhizosphere microbiota and root endophyte of *P. dabeshanensis*. The study contributed to knowledge of the structure and function of rhizosphere microbiota and endophytes of *P. dabeshanensis*, and it provided a theoretical basis for the later development of potential microbial agents for use in promoting plant growth and controlling plant diseases.

Key words: *Pinus dabeshanensis*, rhizosphere microbiota, endophytes, high-throughput sequencing, diversity

大别山五针松(*Pinus dabeshanensis*)是中国特有物种, 主要分布于安徽省的岳西县和金寨县, 以及湖北省的英山县(吴甘霖, 2016)。目前该物种仅存 200 余株且处于逐渐衰退趋势, 被列为国家一级珍稀濒危保护植物(王雷宏等, 2014)。有关大别山五针松的研究主要集中在物种竞争(王雷宏等, 2014; 项小燕等, 2015)、种群结构(项小燕等, 2016)、种子萌发特性(韩建伟等, 2014)、花粉活力(项小燕等, 2016)等方面, 而有关其微生物菌群的研究鲜有报道。

植物体在自然界的实际生存状态被认为是微生物和植物相互依存的状态(石晶盈等, 2006)。植物内生菌是指广泛存在于健康植物组织中, 与宿主植物共生且不引起宿主植物病害的微生物(黄雪珍和赵龙飞, 2023)。有研究推测植物内生菌是来自于土壤, 土壤微生物通过侵入宿主植物并与宿主植物共同进化逐渐成为植物内生菌(Afzal et al., 2019; Compant et al., 2010)。内生菌种群组成和数量可能与种植地土壤微生物及植物根际微生物的种群结构和数量有关(赵娟等, 2015)。同时有研究表明, 植物内生菌与根际微生物种类多样性存在一定的相关性, 一些内生细菌源于土壤(McInroy & Kloepper, 1994)。近年来, 科技工作者在桑树(Xie et al., 2021)、三七(Tan et al., 2017)、大豆(Pérez-Jaramillo et al., 2019)等植物根际-土壤-微生物之间的相互作用方面做了大量的探索工作。大别山五针松是一种仅局限分布在我国大别山区域的五针松组唯一一种植物, 是松类树种地理分布的特殊现象。然而, 人们对这种特定生境下的大别山五针松根系微生物群落特征缺乏系统的认知, 根系微生物群落结构与功能之间如何联系尚不清楚。近年来, 随着分子生物学和测序技术的不断发展, 基于高通量测序技术研究环境微生物多样性特征的报告日益增多(秦宇蒙等, 2021)。探明大别山五针松根系相关微生物的种群分布特征并预测其功能, 对解析大别山五针松的生态生存机制具有重要意义。

研究表明, 根际微生物与植物内生菌是促进宿主植物生长, 增强宿主植物抗逆性的两大类群(Reinhold-Hurek et al., 2015)。有益根际微生物通过多种机制促进植物生长并维持植物健康, 包括促进植物营养吸收、增强植物抗逆性、调节植物生理并抵御土传病害等(Gopal & Gupta, 2016)。植物根系也会向根际分泌大量化合物, 主要包含水、离子、酶、氧气、黏液等初级和次级代谢产物。其中有许多被认为可以介导根际中植物-微生物间的相互作用, 对植物的生长和适应性起着至关重要的作用。此外, 内生菌可通过分泌一些代谢产物如生长素、细胞分裂素等, 促进植物细胞分裂、根系发育、幼苗生长, 同时还可通过促进植物对土壤中营养物质的吸收而对宿主的生长发育起到积极影响(刘丽辉等, 2020)。尽管越来越多的研究表明根系相关微生物为其宿主植物提供了许多有益的功能, 那么大别山五针松根际土壤菌群结构和根部内生菌群落分布特征如何? 又有哪些微生物类群可能成为促进大别山五针松生长发育的重要资源? 这是本研究旨在解决的两大科学问题。

为此, 本研究采集大别山五针松的根际土壤和根部组织样品, 利用高通量测序技术, 对根际土壤和根内部中的细菌和真菌群落组成进行系统鉴定, 分析定殖在大别山五针松根系中的优势微生物类群, 并对其生物功能进行探讨, 以期揭示大别山五针松根部相关微生物的群落分布特征, 为解析大别山五针松的环境适应性以及为人工复壮大别山五针松种群提供重要理论支撑。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2020 年 11 月上旬, 于大别山五针松自然种群(115°24' E、30°44' N)分布地安徽省岳西县大王沟, 海拔 1 050~1 100 m 范围内, 采集阴坡健康植株样品。采集样品时, 随机选取 3 个 3 m × 3 m 的样方, 在每个样方中选取 1 株健康植株。去除土壤表面落叶杂草后, 在植株根部一侧小心挖掘, 待根系露出后, 挖掘部分健康根系(长度约为 10 cm), 利用“抖根法”(王香生等, 2022), 收集大别山五针松根际东南西北 4 个不同方向土壤混合样本, 编号为 CT, 作为根际土壤 DNA 样本; 并取同一植株东南西北 4 个不同方向的混合根样为根部 DNA 样本, 编号为 CR。待所有样本收集完毕, 立即放入冰盒带回实验室。

1.2 基因组 DNA 的提取

根际土壤样品依据 PowerSoil® DNA Isolation kit(MoBio, U.S.)试剂盒说明书中的方法提取总 DNA。根部样品经 75%酒精表面消毒后, 利用改良的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)方法(宫强等, 2005)提取总 DNA。利用琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的纯度, 取适量的样本 DNA 于离心管中, 使用无菌水稀释样本至 1 ng·μL⁻¹。

1.3 PCR 扩增

以稀释后的基因组 DNA 为模板, 根据测序区域的选择, 使用带 Barcode 的特异引物, New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GCBuffer 以及高效高保真酶进行 PCR 扩增。其中, 细菌采用 16S rDNA V4 区基因 (515F: 5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3' 和 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'), 真菌采用 ITS1 区基因 (ITS5-1737F: 5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3' 和 ITS2-2043R: 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 进行扩增。PCR 反应体系为 Phusion Master Mix(2×)15 μL, Primer(2 μmol·L⁻¹)3 μL, gDNA(1 ng·μL⁻¹)1 μL, H₂O 11 μL。反应程序为 98 °C 预变性 1 min, 30 个循环(98 °C, 10 s; 50 °C, 30 s; 72 °C, 30 s); 72 °C, 5 min。采用 Bio-rad T100 梯度 PCR 仪, PCR 产物使用 2% 浓度的琼脂糖凝胶电泳检测, 根据 PCR 产物浓度进行等浓度混样, 充分混匀后使用 1×TAE 浓度 2% 的琼脂糖胶电泳纯化 PCR 产物。其中, 产物纯化试剂盒使用 Thermo Scientific 公司 GeneJET 胶回收试剂盒。最后选择主带大小在 400~450 bp 之间的序列, 割胶回收目标条带。

1.4 文库构建和上机测序

使用 TruSeq® DNAPCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒进行文库构建, 构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量, 文库合格后, 使用 Nova Seq6000 进行上机测序。所得样品 DNA 委托北京诺禾致源生物信息科技有限公司完成测序。

1.5 测序数据处理与分析

根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样本数据, 截去 Barcode 和引物序列后使用 FLAS 软件进行拼接, 得到原始序列数据, 经过严格的过滤处理(Bokulich et al., 2013)后参照 Qiime(Caporaso et al., 2010)的序列质量控制流程, 再通过与物种注释数据库进行比对(Rognes et al., 2016), 检测并去除嵌合体序列, 得到最终的有效数据。利用 Uparse 软件对所有样本的全部有效数据进行聚类, 以 97% 的一致性将序列聚类成为操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU), 同时选取出现频数最高的序列作为 OTUs 的代表序列。通过对 OTUs 进行 Venn 图分析和 Alpha 多样性计算, 得到不同样本共有和特有 OTUs 信息以及物种丰富度和均匀度信息。利用独立样本 *t* 检验分析不同样本的差异显著性。此外, 对 OTUs

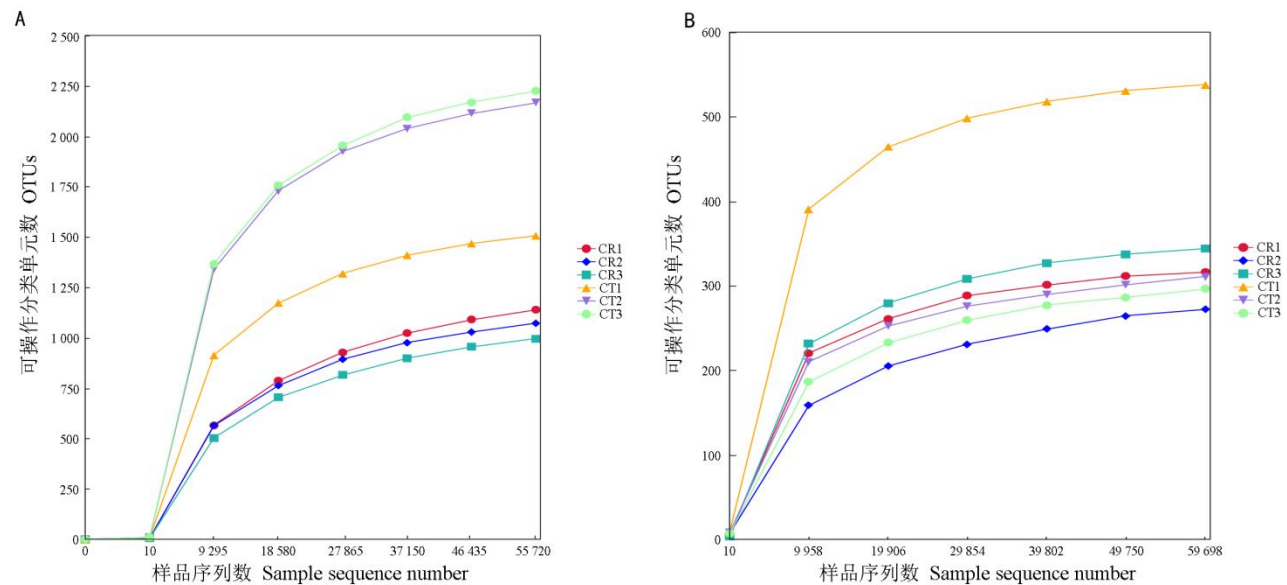
序列进行物种注释，细菌用 Mothur 方法与 SILVA138(Edgar et al., 2013)的 SSUrRNA 数据库(Wang et al., 2007)进行物种注释分析(设定阈值为 0.8~1)，真菌用 Qiime 软件(Version 1.9.1)中的 Blast 方法(Altschul et al., 1990)与 Unit(v8.2)数据库(Köljalg et al., 2013)进行物种注释分析，得到对应的物种信息和基于物种的丰度分布情况。另一方面，通过 R 软件(Version 3.0.3)绘制 PCoA 图探究不同样本群落结构的差异。物种组成分析能够反映样品在分类学水平的群落结构，本研究在门水平上选取了丰度排名前 5 的物种，属水平选取丰度前 20 的物种进行详细的物种群落结构组成分析。此外，本研究还利用 PICRUST 软件(KEGG 数据库)和 FUNGuild 软件对大别山五针松根际微生物总丰度前 35 的物种进行了功能预测。

2 结果与分析

2.1 测序概况分析

经细菌 16S rRNA 基因测序分析，细菌共获得 380 377 条有效序列，其中 3 份根际土壤样品的平均有效序列为 62 202 条，平均序列长度为 416 bp；3 份根部组织样品的平均有效序列为 64 591 条，平均序列长度为 409 bp。经真菌 ITS 测序分析，真菌共获得 389 661 条有效序列，其中 3 份根际土壤样品的平均有效序列为 66 142 条，平均序列长度为 261 bp；3 份根部组织样品的平均有效序列为 63 745 条，平均序列长度为 268 bp。独立样本 *t* 检验分析结果显示，根际土壤样品和根部组织样品有效序列数差异不显著($P>0.05$)。

从图 1 可以看出，细菌和真菌的稀释曲线上升到一定高度后趋于平稳，说明测序的深度已足够代表样品中大多数细菌和真菌种类且样本测序数量足够，可用于后续生物信息学分析。



CR. 根部组织样品；CT. 根际土壤样品。数字 1~3 表示样品的生物学重复。下同。

CR. Root tissue sample; CT. Soil samples from the rhizosphere. Numbers 1-3 refer to the replicates of each sample. The same below.

图 1 大别山五针松不同部位细菌(A)和真菌(B)稀释曲线

Fig.1 Dilution curves of bacteria (A) and fungi (B) in different parts of *Pinus dabeshanensis*

2.2 大别山五针松根际微生物和内生菌 OTU 分析

依据 97%相似度对所得序列进行 OTU 聚类，从根际土壤样品中共获得 1 843 个细菌 OTU 数目和 821 个真菌 OTU 数目，从根部组织中获得 1 073 个内生细菌 OTU 数目和 750 个真菌 OTU 数目。由此可以看出，无论是根际菌群还是根部内生菌，其细菌 OTU 数目均大于真菌 OTU 数目。同时，我们还发现，根际土壤 OTU 数目高于根部内生菌 OTU 数目：(1)对于细菌来说，CT 的总 OTU 数目(1 843)和特有的 OTU 数目(1 492)均大于 CR 的总 OTU 数目(1 073)和特有的 OTU 数目(722)(图 2: A)；(2)对于真菌来说，CT 的总 OTU 数目(821)和特有的 OTU 数目(738)亦均大于 CR 的总 OTU 数目(750)和特有的 OTU 数目(667)(图 2: B)。

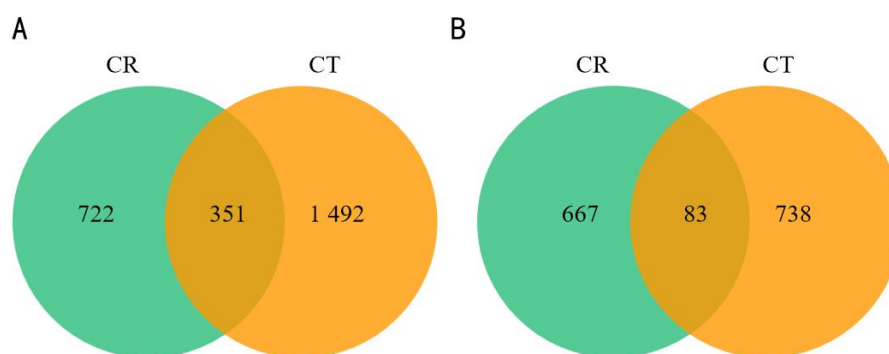


图 2 大别山五针松不同部位细菌(A)和真菌(B)OTU 韦恩图分析

Fig. 2 OTU venn diagram analysis of bacteria (A) and fungi (B) in different parts of *Pinus dabeshanensis*

2.3 大别山五针松根际菌和内生菌 α -多样性分析

综合分析细菌、真菌的 α -多样性指数可知，根际土壤样品中的微生物在细菌和真菌方面的多样性和物种丰富度均高于根部组织样品，但差异不显著。根际土壤样品细菌的 Observed-species 指数、Chao 指数、ACE 指数分别为 1 964.67、2 071.78 和 2 082.44 均显著大于根部组织样品(1 068.67、1 209.03 和 1 230.83)，但无显著性差异($P>0.05$)，而 Shannon 指数为 7.80，大于根部组织样品(3.20)且有显著性差异($P<0.05$)，根际土壤样品真菌的 Observed-species 指数、Chao 指数、ACE 指数和 Shannon 指数分别为 381.67、406.95、406.49 和 4.82，亦均大于根部组织样品的 310.67、329.04、329、75 和 3.72 且均无显著性差异($P>0.05$)(表 1)。说明大别山五针松根际土壤真菌的物种丰富度和多样性也高于根部内生真菌，但两者无显著性差异。

表 1 根际微生物和内生菌 α -多样性指数

Table 1 α -diversity index of rhizosphere microbiota and endophyte

指数 Index	细菌 Bacteria			真菌 Fungi		
	CR	CT	P	CR	CT	P
Chao	1 209.03±88.26	2 071.78±407.19	0.06	329.04±29.79	406.95±126.69	0.40
Observed-species	1 068.67±71.06	1 964.67±398.27	0.06	310.67±36.30	381.67±135.60	0.43
ACE	1 230.83±95.09	2 082.44±405.85	0.06	329.75±29.56	406.49±126.93	0.41
Shannon	3.20±0.08	7.80±0.87	0.01*	3.72±0.69	4.82±1.06	0.21

注：表中数值表示平均值±标准偏差；*表示样本间具有显著差异($P<0.05$)。CR. 根部组织样品；CT. 根际土壤样品。

Note: The values in the table indicate the average±standard deviation; * indicates that there are significant differences between samples ($P<0.05$). CR. Root tissue sample; CT. Soil samples from the rhizosphere.

2.4 大别山五针松根际微生物和内生菌 β -多样性分析

PCoA 分析即主坐标分析，通过样品间的空间距离来反映样品组间群落结构的差异性。其中，组间的空间距离越远，说明样品间群落结构差异越大(高嵩等, 2021)。本文基于 Unweighted Unitrac 距离进行 PCoA 分析，结果显示，无论是细菌还是真菌，大别山五针松根际土壤微生物菌群和根部内生菌菌群坐标点的空

间距离都较远,说明两组样品间群落结构存在差异。从图 3 可以看出,根际土壤样品与根部组织样品同组间的距离较近,表明组间群落结构组成相似,而根际土壤样品与根部组织样品不同组间距离较远,表明两组样品的群落结构相似性较低。

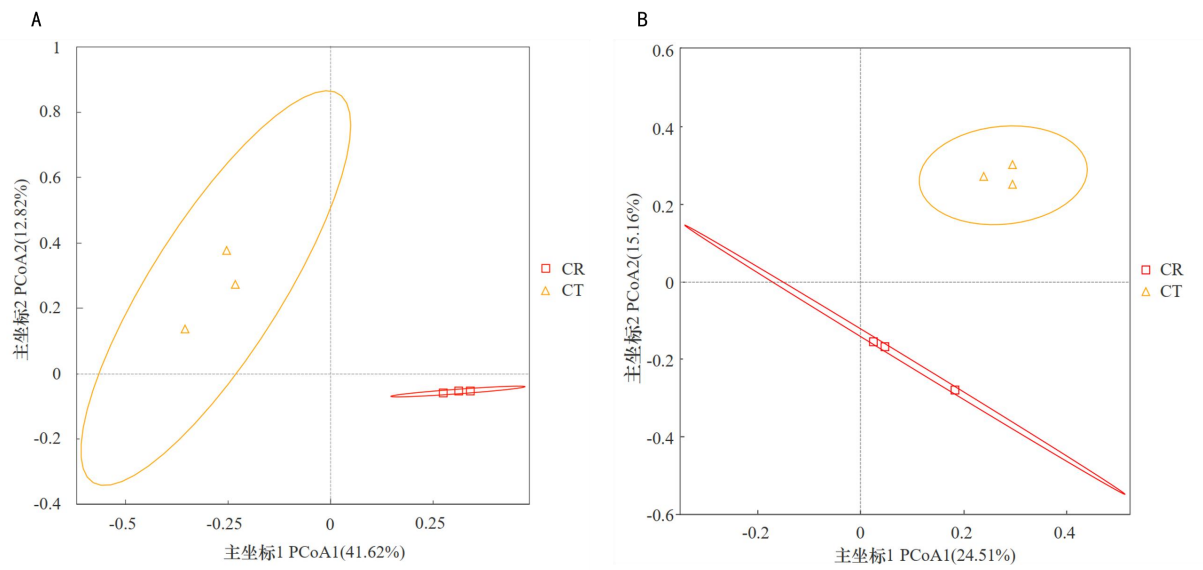


图 3 基于 Unweighted Unitrac 距离算法的大别山五针松不同部位细菌(A)和真菌(B)PCoA 分析
Fig.3 Principal coordinates analysis (PCoA) of bacterial (A) and fungal (B) community composition in different parts of *Pinus dabeshanensis* based on Unweighted Unitrac distances

2.5 大别山五针松根际微生物和内生菌群落结构组成分析

2.5.1 细菌

从大别山五针松根际土壤样品中获得的细菌分布于 174 纲 88 门 342 目 437 科 671 属,根部组织样品中获得的细菌分布于 91 纲 40 门 195 目 255 科 318 属。在门分类水平上,厚壁菌门(Firmicutes)、unidentified-Bacteria 和变形菌门(Proteobacteria)为两组样品的共有菌门,其中,前两者在根际土壤样品中相对丰度高于根部组织样品(厚壁菌门: 31.31%>5.48%; unidentified-Bacteria: 17.70%>2.35%),而后者在根际土壤样品中相对丰度低于根部组织样品(变形菌门: 9.50%<23.23%)。蓝藻菌门(Cyanobacteria)作为根部组织样品特有的菌门,其相对丰度为 61.82%(图 4)。在属分类水平上,根际土壤样品乳杆菌属(*Lactobacillus*, 0.73%)与根部组织样品(2.60%)有显著差异($P<0.05$)且相对丰度低于根部组织样品。根际土壤样品的优势菌属为李斯特氏菌属(*Planococcus*, 14.46%),其次为 unidentified-Actinomarinales(5.71%)、芽孢杆菌属(*Bacillus*, 3.90%)和拟杆菌属(*Bacteroides*, 2.85%),而根部组织样品的优势菌属为 unidentified-Chloroplast(61.46%),其次为 unidentified-Mitochondria(14.10%)、乳杆菌属(*Lactobacillus*, 2.60%)和李生菌属(*Macroccoccus*, 2.44%)(表 2)。

2.5.2 真菌

从大别山五针松根际土壤样品中获得的真菌分布于 11 门 187 属,根部组织样品中获得的真菌分布于 9 门 262 属。在门分类水平上,子囊菌门(Ascomycota)、球囊菌门(Glomeromycota)、壶菌门(Chytridiomycota)、罗兹菌门(Rozellomycota)和担子菌门(Basidiomycota)为两组样品的共有菌门。其中前四者在根际土壤样品中相对丰度均高于根部组织样品(子囊菌门: 50.56%>47.74%; 球囊菌门: 6.75%>0.18%; 壶菌门: 5.99%>0.07%; 罗兹菌门: 5.48%>0.08%),而担子菌门相对丰度明显低于根部组织样品(担子菌门: 1.40%<40.69%)(图 4)。在属分类水平上,篮状菌属(*Talaromyces*)、*Aspergil* 和镰刀菌属(*Fusarium*)为两组样品所共有,相对丰度不同且不存在显著性差异($P>0.05$)。在属分类水平上,根际土壤样品中的优势菌属为 *Melanocarpus* 和 *Pithoascus*,其相对丰度分别为 14.92%和 3.22%,根部组织样品中的优势菌属为

unidentified_Helotiales_sp、须腹菌属(*Rhizopogon*)和 *Thozetella*, 其相对丰度分别为 25.67%、25.37%和 10.00% (表 2)。

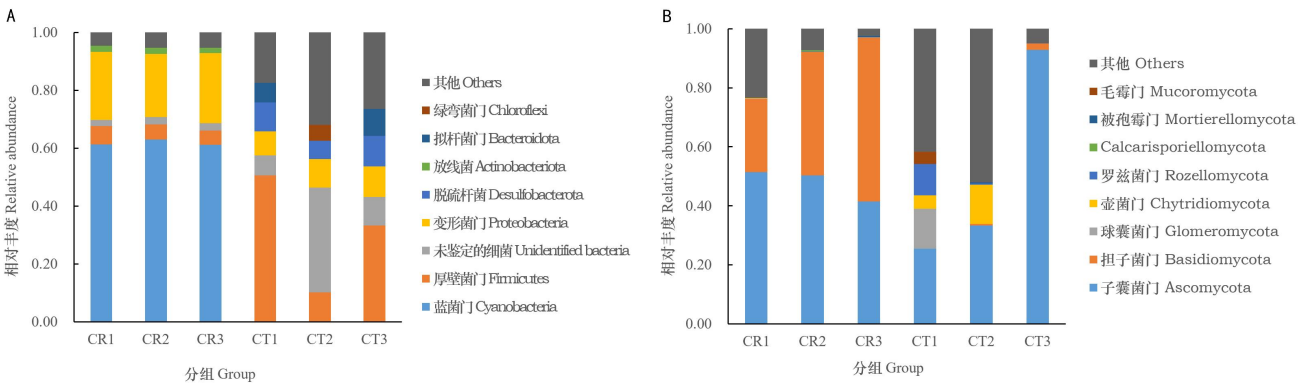


图 4 根际微生物和内生菌门水平上的细菌(A)和真菌(B)群落组成

Fig.4 Bacterial (A) and fungal (B) community composition of rhizosphere microbiota and endophyte of *Pinus dabeshanensis* at phylum level

表 2 根际微生物和内生菌属水平上的相对丰度

Table 2 Relative abundance of rhizosphere microbiota and endophyte at genus level

细菌属 Bacterial genus	相对丰度 Relative abundance (%)		真菌属 Fungal genus	相对丰度 Relative abundance (%)	
	CR	CT		CR	CT
<i>Burkholderia</i>	0.34±0.21	—	<i>Mycena</i>	0.46±0.51	—
<i>Citrobacter</i>	0.89±0.15	—	须腹菌属 <i>Rhizopogon</i>	25.37±9.61	—
<i>Acinetobacter</i>	1.60±0.22	—	<i>Mycoacia</i>	6.00±6.82	—
<i>Enhydrobacter</i>	0.36±0.05	—	<i>Cladosporium</i>	0.72±0.60	—
<i>Thermomonas</i>	0.21±0.04	—	篮状菌属 <i>Talaromyces</i>	0.30±0.30	0.54±0.63
<i>Massilia</i>	0.17±0.00	—	<i>Chaetomium</i>	—	2.09±3.27
<i>Stenotrophomonas</i>	0.15±0.03	—	镰刀菌属 <i>Fusarium</i>	0.23±0.19	4.56±3.79
<i>Sphingomonas</i>	0.31±0.04	—	<i>Penicillium</i>	—	0.52±0.15
<i>Enterobacter</i>	0.79±0.06	—	<i>Colletotrichum</i>	0.74±1.14	—
<i>Psychrobacter</i>	0.30±0.14	—	unidentified_Dothideomycetes_sp	0.28±0.44	—
<i>Bradyrhizobium</i>	0.37±0.20	—	<i>Cladophialophora</i>	0.29±0.50	—
<i>Roseovarius</i>	—	0.58±0.52	unidentified_Chaetothyriales_sp	0.38±0.33	—
<i>Desulfotignum</i>	—	1.98±1.72	unidentified_Capnodiales_sp	0.38±0.55	—
<i>Desulfofustis</i>	—	0.59±0.46	unidentified_Helotiales_sp	25.67±20.79	—
<i>ACEtobacter</i>	—	0.62±0.55	unidentified_Leotiomyces_sp	1.91±2.17	—
<i>Sulfurovum</i>	—	0.60±0.53	<i>Thozetella</i>	10.00±16.74	—
<i>Macrococcus</i>	2.44±0.73	—	<i>Cercospora</i>	0.21±0.34	—
乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	2.60±0.03	0.73±0.66*	<i>Submersisphaeria</i>	0.78±1.22	—
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	—	3.90±3.14	unidentified_Sordariales_sp	0.58±1.00	—
<i>Enterococcus</i>	—	0.93±0.82	<i>Catenulostroma</i>	0.33±0.55	—
李斯特氏菌属 <i>Planococcus</i>	—	14.47±13.09	<i>Saitozyma</i>	0.38±0.37	—
<i>Faecalibacterium</i>	—	1.34±0.77	<i>Tetraplospira</i>	0.16±0.20	—

<i>Acidothermus</i>	0.26±0.13	—	<i>Aspergillus</i>	0.28±0.17	11.19±18.57
拟杆菌属 <i>Bacteroides</i>	—	2.85±2.13	<i>Acremonium</i>	—	0.62±0.21
unidentified_Chloroplast	61.46±1.04	—	<i>Hysterangium</i>	—	0.43±0.74
unidentified_Mitochondria	14.10±1.67	—	<i>Thermomyces</i>	—	1.82±3.12
<i>Puia</i>	0.56±0.37	—	unidentified_Mortierellales_sp	—	0.38±0.35
<i>Gaiella</i>	0.17±0.01	—	unidentified_Ascomycota_sp	—	1.35±1.33
<i>Sinomonas</i>	0.19±0.03	—	unidentified1	—	0.49±0.83
<i>Acidibacter</i>	0.42±0.07	—	unidentified_Rozellomycota_sp	—	0.60±0.78
<i>ADurb.Bin120</i>	—	0.46±0.65	unidentified_Chytridiomycetes_sp	—	2.65±2.36
<i>IheB3</i>	—	0.44±0.27	<i>Plenodomus</i>	—	2.54±4.33
<i>Agathobacter</i>	—	0.72±0.87	unidentified	—	4.52±7.76
<i>Subgroup_10</i>	—	0.48±0.65	<i>Pithoascus</i>	—	3.22±5.43
<i>Ilyobacter</i>	—	0.49±0.45	<i>Umbelopsis</i>	—	1.35±2.33
unidentified_Alphaproteobacteria	—	0.53±0.73	unidentified_GS05_sp	—	2.86±4.92
<i>Desulfatiglans</i>	—	1.09±1.02	<i>Melanocarpus</i>	—	14.92±25.31
unidentified_Rhodobacteraceae	—	0.64±0.94	<i>Zygophlyctis</i>	—	2.91±4.97
unidentified_Actinomarinales	—	5.71±8.47	—	—	—

注：数值=平均值±标准偏差；—表示缺少该类群；*表示样本间具有显著性差异($P<0.05$)。

Note: The values=average±standard deviation; — indicates that the class group is missing; * indicates that there are significant differences between samples ($P<0.05$).

2.6 大别山五针松根际微生物和内生菌的功能预测

本研究利用 PICRUST 软件分析大别山五针松的根际细菌和根部内生细菌功能预测，并比较其代谢功能通路差异。结果如图 5 所示，除不可分类通路(Unclassified, None)，两组样品在一级功能层上共有六个代谢通路，分别为新陈代谢(Metabolism)、遗传信息处理(Genetic_Information_Processing)、环境信息处理(Environmental_Information_Processing)、细胞进程(Cellular_Processes)、人类疾病(Human_Diseases)和有机系统(Organismal_Systems)。其中，新陈代谢通路为两组样品的主要功能组成，在根际细菌的占比为 50.25%，在根部内生细菌的占比为 49.66%。同时，对大别山五针松根际细菌和根部内生菌基因二级功能层进行预测分析。结果发现，两组样品的二级功能层主要由膜运输(Membrane_Transport)、氨基酸代谢(Amino_Acid_Metabolism)、碳水化合物代谢(Carbohydrate_Metabolism)、能量代谢(Energy_Metabolism)和辅助因子和维生素的代谢(Metabolism_of_Cofactors_and_Vitamins)等 41 个子功能组成，功能丰富。对二级代谢通路预测基因相对丰度较高的子功能进行分析，结果表明，这些子功能基因的相对丰度在两组样品中存在差异。其中，根际细菌在膜运输、氨基酸代谢、碳水化合物代谢、特征不明显、脂质代谢和异生物质生物降解代谢方面高于根部内生细菌。在能量代谢、复制和修复、辅助因子和维生素的代谢和翻译等子功能上根际细菌样品低于根部内生细菌。细胞运动性、环境适应性等功能主要富集于根际细菌群落，而根部内生细菌功能主要体现在酶家族、消化系统等方面。

基于 FUNGuild 对大别山五针松根际真菌和根部内生真菌的功能进行预测，并按照真菌营养模式进行分类。结果显示，CR 和 CT 样品中均富集到共生营养型、腐生营养型、病理营养型及多种交叉营养型的真菌类群且以前两者为主要响应功能群，具体包括未知腐生营养模式(Undefined Saprotroph)、外生菌根(Ectomycorrhizal)、植物病原体土壤腐生物木材腐生物(Plant_Pathogen-Soil_Saprotroph-Wood_Saprotroph)、动物病原体内生菌真菌寄生物植物病原体木材腐生物(Animal_Pathogen-Endophyte-Fungal_Parasite-Plant_Pathogen-Wood_Saprotroph)、动物病原体内生菌植物病原体木材腐生物(Animal_Pathogen-Endophyte-Plant_Pathogen-Wood_Saprotroph)等(图 6: A)。其中，进一步对被分类的真菌营养模式进行差异性分析

后发现，仅外生菌根、动物病原体内生菌真菌寄生物植物病原体木材腐生物、动物病原体内生菌植物病原体木材腐生物 3 种营养模式的真菌在两者样品中存在显著性差异($P<0.05$)，其中，外生菌根在 CR 样品中所占比例为 25.99%，显著大于其在 CT 样品中所占丰度(0.44%) ($P=0.048$) (图 6: B)。

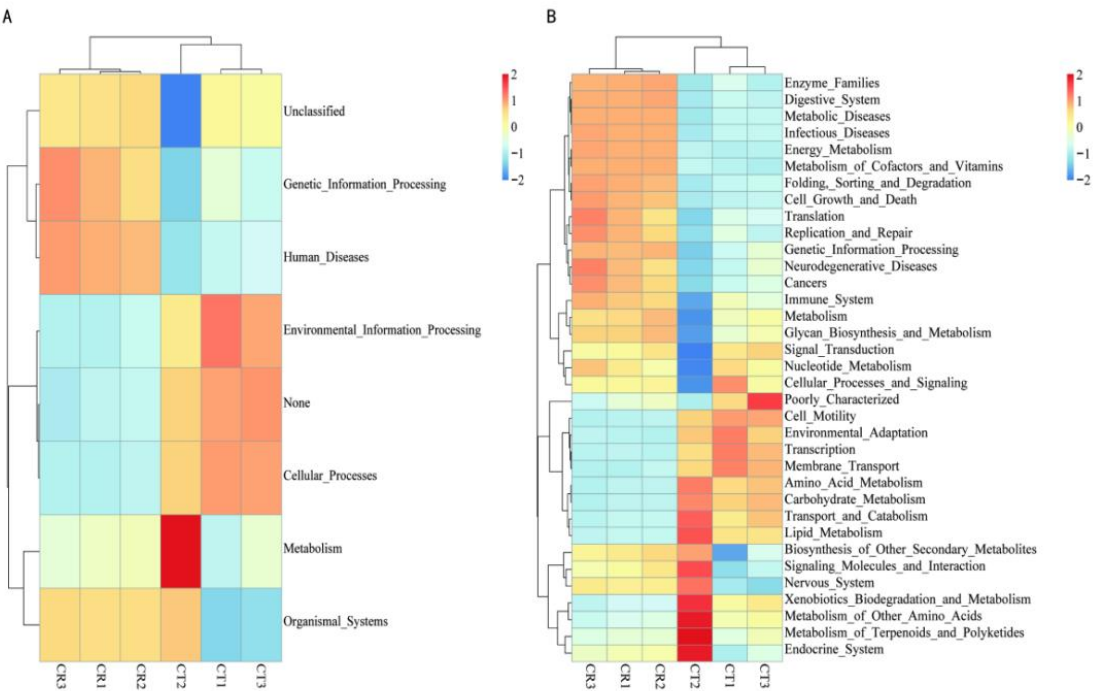


图 5 细菌群落代谢一级(A)和二级(B)功能预测注释聚类热图

Fig.5 The first (A) and second (B) function prediction of bacterial community metabolism annotated cluster heat map

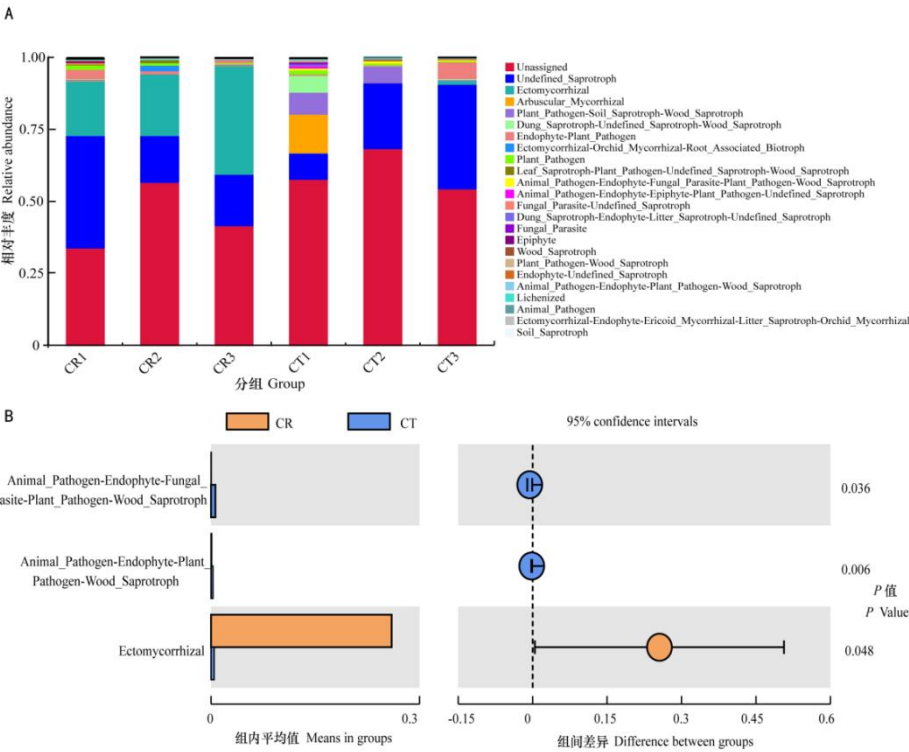


图 6 真菌群落 FUNGuild 功能预测(A)及显著性差异分析(B)

Fig.6 Prediction of fungal function based on FUNGuild (A) and significant difference analysis (B)

3 讨论与结论

3.1 根际微生物与根部内生菌群落组成分析

Observed-species 指数、Chao 指数和 ACE 指数用于反映微生物的物种丰富度,而 Shannon 指数则用于反映物种的多样性(武亚婷等, 2019)。在本研究中,根际微生物的总 OTUs 数目、Observed-species 指数、Chao 指数和 ACE 指数均明显大于根部内生菌群。大量研究结果也证实,根际微生物的群落丰富度与多样性均高于根部内生菌。有关韭菜、黔中金荞麦不同生态位群落组成的研究发现,韭菜和金荞麦根际土壤微生物的 OTUs 数目、Chao 指数、Shannon 指数、Simpson even 指数均大于根部内生菌(孙楠等, 2023; 付静等, 2018; 张涛等, 2022)。肖健等(2023)研究数据中显示甘蔗的根际土壤样品中真菌的 Chao 指数、Shannon 指数均大于根系内生真菌。

在本研究中,对于细菌来说,厚壁菌门和变形菌门为两个样品的共有菌门,而与根部组织样品相比,根际土壤样品中还含有少量的脱硫杆菌门和拟杆菌门;其中乳杆菌属为两组样品的共有菌属,根际土壤样品主要菌属为李斯特氏菌属、芽孢杆菌属、醋杆菌属和拟杆菌属;根部组织样品主要菌属为伯克氏菌属、不动杆菌属、肠杆菌属和慢生根瘤菌属;对于真菌来说,子囊菌门和担子菌门为两个样品所共有,而与根部组织样品相比,根际土壤样品中还含有少量的壶菌门和罗兹菌门;其中两组样品的共有菌属为镰刀菌属和篮状菌属,根际土壤样品的主要菌属为毛壳属和青霉属,根部组织样品的主要菌属为须腹菌属和针菌属。

张秋玉等(2022)研究发现莼菜内生细菌的优势菌群为变形菌门、厚壁菌门、放线菌门和拟杆菌门,安超等(2021)研究的野生竹根七根际土的细菌主要分布在变形菌门和放线菌门,以及迪拉热·海米提等(2021)也在盐穗木的根际土壤细菌中发现优势菌门为放线菌门和变形菌门,而内生真菌的优势门多为子囊菌门和担子菌门,同本研究相似。说明不同植物根际微生物或内生菌既存在差异,又具有一定的共性,尤其是变形菌门。研究表明,变形菌广泛存在于土壤环境中,适应能力强,因而在生理、形态和代谢等方面呈现出丰富的多样性,对土壤中的碳氮循环及生态系统具有重要的影响(Tang et al., 2020)。本研究同石水琴等(2022)对大别山五针松根际细菌的研究结果也有所不同,前者主要种类为变形菌门、放线菌门和酸杆菌门,推测其原因可能是生境不同导致的差异。前者取样地点为大别山五针松人工林,而本研究为天然林,植物的生境存在较大差别。

3.2 根际微生物与根部内生菌功能预测分析

据大量研究发现,根部微生物对植物的生长有很大的影响,如慢生根瘤菌属、肠杆菌属、伯克霍尔德氏菌属、拟杆菌属、不动杆菌属和芽孢杆菌属等都被证实可促进植物生长(张典利等, 2018)。朱滕滕等(2023)研究发现芽孢杆菌属、不动杆菌属的菌株对硒砂瓜幼苗的多种生长指标均有促进作用。江美彦等(2022)发现分离得到的芽孢杆菌属的菌株对白芷的生长具有较强的促进作用。在本研究的两组样品 PICRUST 功能预测中,氨基酸代谢、碳水化合物代谢及辅助因子和维生素代谢这三种子功能代谢占比较大。氨基酸是构成蛋白质的基本单位,游离的氨基酸可以通过调节渗透压帮助植物抵御环境的胁迫(燕辉等, 2012)。碳水化合物是植物生长的重要营养物质,有研究表明,非结构性碳水化合物在一定程度上可以增加植物的抗逆性(林夏珍等, 2021)。维生素是普遍存在于植物中的重要营养素,安华明等(2004)研究发现植物体内合成的维生素 C 在抗氧化和自由基清除、光合作用和光保护、细胞生长和分裂以及一些重要次生代谢物和乙烯的合成等方面具有非常重要的生理功能。由此推测,大别山五针松根际土壤样品与根部组织样品中不同细菌组成不同功能的基因,影响到氨基酸、碳水化合物及辅助因子和维生素等方面的代谢,对促进大别山五针松的生长,提高其对环境的抵抗性等方面发挥着重要的作用。

研究显示,土壤真菌群落的变化可以增加生态系统稳定性,与宿主植物的生长发育密切相关(陈羽彤等, 2023)。本研究发现,大别山五针松根部中包含共生营养型、腐生营养型、病理营养型及多种交叉营养型等四大真菌类群且以共生营养型和腐生营养型为主要响应功能群,这与马源等的研究结果一致(马源等, 2023)。

一般来说,腐生营养型真菌大多归属为子囊菌门,在分解土壤有机质和营养物质循环方面起重要的作用。菌根真菌是共生营养型的重要代表,其与植物存在共生关系,菌根真菌与寄主植物相互作用有助于植物吸收养分,菌根真菌也可以从寄主植物根中提取脂质和碳水化合物。外生菌根真菌是森林生态系统中与树木共生的重要成员,它与植物跨界共生具有复杂的分子互作过程(俞嘉瑞和袁海生,2023)。在本研究中,大别山五针松根部内生真菌中的外生菌根类群显著高于土壤根际真菌类群,这说明外生菌根在促进大别山五针松生长发育方面起到十分重要作用,有关外生菌根的生理活动对其宿主具体的影响机制有待后续进一步探索。另外,本研究仍有33.88%~68.31%的根部真菌功能未被鉴定,这说明真菌群落功能的复杂性仍需深入研究。

本研究采用高通量测序分析了大别山五针松根部微生物的多样性和群落结构,并预测了其功能。结果显示,根际土壤样品微生物的多样性和物种丰富度在细菌和真菌方面均高于根部组织样品且两组样品在细菌和真菌方面的群落结构组成差异较大。功能注释结果暗示了特定的细菌(不动杆菌属和芽孢杆菌属等)和真菌(外生菌根真菌等)可能在大别山五针松的生长与环境适应中发挥了重要作用。然而,该文仅基于PICRUSt和FUNGuild对大别山五针松的细菌和真菌功能进行了初步探索,各类群(尤其是关键类群)的确切功能尚不明晰,后续将利用宏基因组测序技术深入探索大别山五针松的群落结构组成及其相关的功能注释。此外,后续研究还将在本研究基础上通过改良培养基类型、模拟大别山自然生态条件,尽可能富集到多样的可培养微生物分离株,并从相关的菌种库中分离筛选具有抗逆促生功效的有益菌株,为促进大别山五针松的生长发育提供参考依据。

参考文献:

- AFZAL I, SHINWARI ZK, SIKANDAR S, et al., 2019. Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants [J]. Microbiol Res, 221: 36-49.
- ALTSCHUL SF, GISH W, MILLER W, et al., 1990. Basic local alignment search tool [J]. J Mol Biol, 215:403-410.
- AN C, MA SJ, XUE WJ, et al., 2021. Analysis of endophytic and rhizosphere bacterial community characteristics of *Tupistra chinensis* Baker based on high-throughput sequencing technology [J]. Genomics Appl Biol, 40(5): 2076-2082. [安超, 马赛箭, 薛文娇, 等, 2021. 基于高通量测序的野生竹根七根际及内生细菌群落结构特征分析[J]. 基因组学与应用生物学, 40(5): 2076-2082.]
- AN HM, CHEN LG, FAN WG, et al., 2004. Advances in research on function, biosynthesis and metabolism of ascorbic acid in higher plants [J]. J Integrat Plant Biol, (5): 608-617. [安华明, 陈力耕, 樊卫国, 等, 2004. 高等植物中维生素 C 的功能、合成及代谢研究进展[J]. 植物学通报, (5): 608-617.]
- BOKULICH NA, SUBRAMANIAN S, FAITH JJ, et al., 2013. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing [J]. Nat Meth, 10(1): 57-59.
- CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al., 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nat Meth, 7(5): 335-336.
- CHEN YT, ZHANG LM, WANG SQ, et al., 2024. Soil fungal community structure and functional group in response to different soil organic carbon inputs in the temperate forest during the freeze-thaw season [J]. Acta Ecol Sin, 44(6): 1-12. [陈羽彤, 张利敏, 王思琪, 等, 2024. 冻融季温带森林土壤真菌群落结构及功能类群对不同土壤有机碳输入的响应[J]. 生态学报, 44(6): 1-12.]
- COMPANT S, CLÉMENT C, SESSITSCH A, 2010. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization [J]. Soil Biol Biochem, 42: 669-678.
- DILARE HMT, FAN YH, WANG WN, et al., 2021. Analysis of microbial communities in leaves and rhizosphere soil of *Halostachys capsica* by high-throughput sequencing [J]. Xinjiang Agric Sci, 58(4): 731-740. [迪拉热·海米提, 樊永红, 王伟楠, 等, 2021. 盐穗木叶片及根际土壤微生物群落高通量分析[J]. 新疆农业科学, 58(4): 731-740.]

- EDGAR RC, 2013. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nat Meth*, 10(10):996-998.
- FU J, LIU YF, MEI M, et al., 2018. Comparing analysis of diversity of Chinese leek rhizospheric and endophytic fungal communities [J]. *Acta Agric Boreal-Sin*, 33(z1):246-252. [付静, 刘堰凤, 梅眉, 等, 2018. 韭菜根际真菌和内生真菌种群多样性分析[J]. 华北农学报, 33(z1): 246-252.]
- GAO S, SUN WS, YU CL, et al., 2021. Analysis of fungal community structure in gentian rhizosphere soil based on high-throughput sequencing [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 49(12): 190-195. [高嵩, 孙文松, 于春雷, 等, 2021. 基于高通量测序的龙胆草根际土壤真菌群落结构分析[J]. 江苏农业科学, 49(12): 190-195.]
- GONG Q, GUAN DM, WANG YB, et al., 2005. Meth extracted *Escherichia coli* genomic DNA using the fast ways [J]. *Mar Env Sci*, 24(4): 63-66. [宫强, 关道明, 王耀兵, 等, 2005. 大肠杆菌总 DNA 快速提取方法的比较研究[J]. 海洋环境科学, 24(4): 63-66.]
- GOPAL M, GUPTA A, 2016. Microbiome selection could spur next-generation plant breeding strategies [J]. *Front Microbiol*, 7.
- HAN JW, ZHANG ZY, WANG EM, et al., 2014. *Pinus dabeshanensis* seed characteristics and the promotion of seed germination [J]. *Chin Agr Sci Bull*, 30(1): 5-10. [韩建伟, 张智勇, 王恩茂, 等, 2014. 大别山五针松种子特性及促进种子萌发的研究[J]. 中国农学通报, 30(1): 5-10.]
- HUANG XZ, ZHAO LF, 2023. Mechanism of endophytes of medicinal plants in promoting the growth of host plants [J]. *Microbiol Chin*, 50(4):1653-1665. [黄雪珍, 赵龙飞, 2023. 药用植物内生菌对宿主植物促生作用机制研究进展[J]. 微生物学通报, 50(4):1653-1665.]
- JIANG MY, ZHOU Y, LIU RL, et al., 2022. Screening and plant growth promoting of grow-promoting bacteria in rhizosphere bacteria of *Angelica dahurica* var. *formosana* [J]. *Biotechnol Bull*, 38(8): 167-178. [江美彦, 周杨, 刘仁浪, 等, 2022. 白芷根际促生菌的筛选及其促生效果研究[J]. 生物技术通报, 38(8): 167-178.]
- KÖLJALG U, NILSSON RH, ABARENKOV K, et al., 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi [J]. *Mol Ecol*, 22(21): 5271-5277.
- LIN XZ, LIN L, DONG TT, et al., 2021. Effects of non-structural carbohydrate and nitrogen allocation on the ability of *Populus deltoides* and *P. cathayana* to resist soil salinity stress [J]. *J Plant Ecol*, 45(9): 961-971. [林夏珍, 林刘, 董婷婷, 等, 2021. 非结构性碳水化合物与氮分配对美洲黑杨和青杨耐盐能力的影响[J]. 植物生态学报, 45(9): 961-971.]
- LIU LH, JIANG HM, QU YC, et al., 2020. Identification and growth promotion of endophytic bacteria isolated from *Oryza meridionalis* [J]. *Chin J Appl Env Biol*, 26(5): 1051-1058. [刘丽辉, 蒋慧敏, 区宇程, 等, 2020. 南方野生稻内生细菌的分离鉴定及促生作用[J]. 应用与环境生物学报, 26(5): 1051-1058.]
- LOU J, LIU Y, YAN L, 2014. Review of high-throughput sequencing techniques in studies of soil microbial diversity [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 30(15): 256-260. [楼骏, 柳勇, 李延, 2014. 高通量测序技术在土壤微生物多样性研究中的研究进展[J]. 中国农学通报, 30(15): 256-260.]
- MA Y, WANG XL, MA YS, et al., 2024. Effects of the degree of alpine meadow degradation on the rhizosphere soil fungal community and the ecological network of dominant species [J]. *Acta Prat Sin*, 33(2): 125-137. [马源, 王晓丽, 马玉寿, 等, 2024. 高寒草甸退化程度对优势物种根际土壤真菌群落和生态网络的影响[J]. 草业学报, 33(2): 125-137.]
- MCINROY JA, KLOPPER WJ, 1994. Studies on indigenous endophytic bacteria of sweet corn and cotton [J]. *Mol Ecol Rhizosph Microorganisms*. <https://doi.org/10.1002/9783527615810.ch2>.
- PÉREZ-JARAMILLO JE, DE HOLLANDER M, RAMÍREZ CA, et al., 2019. Deciphering rhizosphere microbiome assembly of wild and modern common bean (*Phaseolus vulgaris*) in native and agricultural soils from Colombia [J]. *Microbiome*: 7.DOI:10.1186/s40168-019-0727-1.
- QIN YM, ZHOU XL, GUAN QL, et al., 2021. Fungal diversity in natural tomato fermentation as shown by

- high-throughput sequencing [J]. *Fujian J Agric Sci*, 36(9): 1110-1118. [秦宇蒙, 周笑犁, 管庆林, 等. 2021. 基于高通量测序分析番茄自然发酵过程中的真菌多样性[J]. *福建农业学报*, 36(9): 1110-1118.]
- REINHOLD-HUREK B, BÜNGER W, BURBANO CS, et al., 2015. Roots shaping their microbiome: global hotspots for microbial activity [J]. *Ann Rev Phytopathol*, 53: 403-424.
- ROGNES T, FLOURI T, NICHOLS B, et al., 2016. VSEARCH: a versatile open source tool for metagenomics [J]. *PeerJ*, 4: e2584.
- SHI JY, CHEN WX, LIU AY, 2006. Advances in the study of endophytes and their effects on control of plant diseases [J]. *Acta Eco Sin*, 26(7): 2395-2401. [石晶盈, 陈维信, 刘爱媛, 2006. 植物内生菌及其防治植物病害的研究进展[J]. *生态学报*, 26(7): 2395-2401.]
- SHI SQ, QIN HG, ZHANG JJ, et al., 2022. Characteristics and function analysis of rhizosphere bacterial community of endangered plant *Pinus dabeshanensis* [J]. *Bull Bot*, 57(4): 457-467. [石水琴, 秦华光, 张静静, 等, 2022. 濒危植物大别山五针松根际细菌群落特征与功能分析[J]. *植物学报*, 57(4): 457-467.]
- SUN N, LIANG FF, CHEN JH, et al., 2023. Effects of different niches of Chinese chives on the composition of microbial community and functional characters[J]. *J Chin Agric Univ*, 28(3): 61-73. [孙楠, 梁方方, 陈建华, 等, 2023. 韭菜不同生态位微生物群落组成及功能特征[J]. *中国农业大学学报*, 28(3): 61-73.]
- TAN Y, CUI Y, LI H, et al., 2017. Rhizospheric soil and root endogenous fungal diversity and composition in response to continuous *Panax notoginseng* cropping practices[J]. *Microbiol Res*, 194: 10-19.
- TANG HM, XIAO XP, LIC, et al., 2020. Microbial carbon source utilization in rice rhizosphere and nonrhizosphere soils with short-term manure N input rate in paddy field[J]. *Sci Rep*, 10:6487.
- WANG LH, HUANG QF, PU FG, et al., 2014. Interspecific relationship between *Pinus dabeshanensis* and dominant species in the community at Tianma national nature reserve [J]. *Resour Environ Yangtze Basin*, 23(7): 918-922. [王雷宏, 黄庆丰, 蒲发光, 等, 2014. 天马自然保护区大别山五针松与群落中优势种的种间关系[J]. *长江流域资源与环境*, 23(7): 918-922.]
- WANG Q, GARRITY GM, TIEDJE JM, et al., 2007. Naïve bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. *Appl Environ Microbiol*, 73(16): 5261-5267.
- WANG XS, LIAN YH, GUO H, et al., 2022. Effects of wheat/safflower intercropping on rhizosphere microbial community function and structure [J]. *Chin J Eco-Agric*, 31(4): 516-529. [王香生, 连延浩, 郭辉, 等, 2022. 小麦红花间作系统下根际微生物群落结构及功能分析[J]. *中国生态农业学报(中英文)*, 31(4): 516-529.]
- WU GL, XIANG XY, DUAN RY, et al., 2016. Research progress and conservation measures of *Pinus dabeshanensis* [J]. *J Anqing Nor Univ (Nat Sci Ed)*, 22(4): 97-99. [吴甘霖, 项小燕, 段仁燕, 等, 2016. 大别山五针松的研究进展及保护对策[J]. *安庆师范学院学报(自然科学版)*, 22(4): 97-99.]
- WU YT, DU MY, HE HH, et al., 2019. Microbial diversity analysis of natural fermented Chili Sauce from different regions in Xinjiang by high-throughput sequencing [J]. *Food Ferment Ind*, 45(21): 221-228. [武亚婷, 杜木英, 何欢欢, 等, 2019. 基于高通量测序技术分析新疆不同地区自然发酵辣椒酱微生物群落多样性[J]. *食品与发酵工业*, 45(21): 221-228.]
- XIANG XY, WU GL, DUAN RY, et al., 2015. Intraspecific and interspecific competition of *Pinus dabeshanensis* [J]. *Acta Eco Sin*, 35(2): 389-395. [项小燕, 吴甘霖, 段仁燕, 等, 2015. 大别山五针松种内和种间竞争强度[J]. *生态学报*, 35(2): 389-395.]
- XIANG XY, WU GL, DUAN RY, et al., 2016. Studies on population structure and dynamics of *Pinus dabeshanensis* [J]. *Resour Environ Yangtze Basin*, 25(1): 55-62. [项小燕, 吴甘霖, 段仁燕, 等, 2016. 大别山五针松种群结构及动态研究[J]. *长江流域资源与环境*, 25(1): 55-62.]
- XIANG XY, WU GL, DUAN RY, et al., 2016. Change in pollen viability of *Pinus dabeshanensis* at different storage temperatures [J]. *J Plant Resour Environ*, 25(2): 114-116. [项小燕, 吴甘霖, 段仁燕, 等, 2016. 不同贮藏温度下大别山五针松花粉活力的变化[J]. *植物资源与环境学报*, 25(2): 114-116.]
- XIAO J, YANG SD, TIAN L, et al., 2023. Effects of long-term applications with nitrogen fertilizers on soil and

- endophytic fungal compositions in rhizospheres and roots of sugarcane [J]. Chin J Trop Crops: 1-14[2024-01-30].<https://ifgfy2b08d79e045e4fd4h5uc0fuupn6cp6xxvfig.res.gxlib.org.cn/kcms/detail/46.1019.S.20230406.1001.002.html>. [肖健, 杨尚东, 阚梁, 等, 2023. 长期施氮对甘蔗根际土壤真菌和根系内生真菌群落结构的影响[J]. 热带作物学报: 1-14[2024-01-30]. <https://ifgfy2b08d79e045e4fd4h5uc0fuupn6cp6xxvfig.res.gxlib.org.cn/kcms/detail/46.1019.S.20230406.1001.002.html>.]
- XIE J, XU W, ZHANG M, et al., 2021. The impact of the endophytic bacterial community on mulberry tree growth in the Three Gorges Reservoir ecosystem, China[J]. Environ Microbiol, 23: 1858-1875.
- YAN H, PENG XB, XUE JJ, 2012. Effects of NaCl stress on leaf photosynthesis characteristics and free amino acid metabolism of *Heyedysarum scoparium* [J]. Chin J Appl Ecol, 23(7): 1790-1796. [燕辉, 彭晓邦, 薛建杰, 2012. NaCl胁迫对花棒叶片光合特性及游离氨基酸代谢的影响[J]. 应用生态学报, 23(7): 1790-1796.]
- YU JR, YUAN HS, 2023. Research progress on symbiotic interaction and host selection mechanisms of ectomycorrhizal fungi [J]. Mycosyst, 42(1): 86-100.[俞嘉瑞, 袁海生, 2023. 外生菌根真菌的共生互作和宿主选择机制研究进展[J]. 菌物学报, 42(1): 86-100.]
- ZHANG QY, CHEN J, ZHOU XM, et al., 2022. Diversity of endophytic bacteria in different tissues of *Brasenia schreberi* [J]. J S-Cent Univ Natl(Nat Sci Ed), 41(3): 285-291. [张秋玉, 陈晶, 周雪妹, 等, 2022. 菹菜不同组织内生细菌多样性的比较分析[J]. 中南民族大学学报(自然科学版), 41(3): 285-291.]
- ZHANG T, ZHOU SX, TANG YJ, et al., 2022. Diversity analysis of *Fagopyrum dibotrys* Qian Zhong endophytes and rhizosphere soil microorganism by high-throughput sequencing [J]. Shandong Agric Sci, 54(11): 70-75. [张涛, 周思旋, 唐远江, 等, 2022. 基于高通量测序分析黔中金荞麦内生菌及其根际土壤微生物多样性[J]. 山东农业科学, 54(11): 70-75.]
- ZHAO J, LIU T, PAN L, et al., 2015. Isolation and identification of root endophytic and rhizosphere bacteria of rice landraces in Yuanyang Terrace, China [J]. Chin J Appl Ecol, 26(12): 3737-3745. [赵娟, 刘涛, 潘磊, 等, 2015. 元阳梯田地方水稻品种根部内生菌及根际微生物的分离与鉴定[J]. 应用生态学报, 26(12): 3737-3745.]
- ZHANG DL, MENG Z, QI WZ, et al., 2018. The research and application status of plant growth promoting rhizobacteria [J]. World Pestic, 40(6): 37-43. [张典利, 孟臻, 齐文哲, 等, 2018. 植物根际促生菌的研究与应用现状[J]. 世界农药, 40(6): 37-43.]
- ZHU TT, HE XL, MIAN XJ, et al., 2023. Growth-promoting bacteria screening from Selenium watermelon rhizosphere and their growth promoting effects [J]. Agric Res in the Arid Areas, 41(2): 1-9.[朱滕滕, 何学莲, 勉小娟, 等, 2023. 硒砂瓜根际促生菌筛选鉴定及其促生效应研究[J]. 干旱地区农业研究, 41(2): 1-9.]