

李媛媛, 张琼, 陈小煌, 等. 基于高通量测序的中国水仙根际土壤微生物群落组成 [J]. 福建农业学报, 2021, 36 (8): 948–955.
LI Y Y, ZHANG Q, CHEN X H, et al. High-throughput Sequencing on Microbial Community in Rhizosphere Soil of Chinese Narcissus [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2021, 36 (8): 948–955.

基于高通量测序的中国水仙根际土壤微生物群落组成

李媛媛¹, 张 琼¹, 陈小煌², 张敬虎¹, 陆奎眉^{1*}

(1. 闽南师范大学生物科学与技术学院/闽台特色园林植物福建省高等学校重点实验室, 福建 漳州 363000;
2. 闽南师范大学化学化工与环境学院, 福建 漳州 363000)

摘 要:【目的】明确中国水仙植株根际土壤微生物群落的组成特征。【方法】采用 Illumina Miseq 高通量测序技术对水仙根际土壤微生物样品的保守基因区进行测序及生物信息学分析, 阐明中国水仙根际土壤的细菌、真菌和古菌群落结构组成, 并对水仙根际土壤微生物的优势菌属进行深入分析。【结果】共获得优化序列 175 840 条, 基于 97% 序列相似度, 聚类为 2 680 个 OTUs。优势细菌类群是绿弯菌门 *Chloroflexi* (30.86%) 和变形菌门 *Proteobacteria* (20.67%), 真菌以子囊菌门 *Ascomycota* (84.94%) 为主, 属水平上球毛壳菌 *Chaetomium globosum* (28.15%) 和散子囊菌 *Eurotiales* (25.01%) 占较高比例。古菌类群主要为奇古菌门 *Thaumarchaeota* (51.40%)、深古菌门 *Bathyarchaeota* (25.98%) 和广古菌门 *Euryarchaeota* (20.65%)。其中, 来自奇古菌门的 *SCG* 类群 (25.67%) 和嗜酸性氨氧化古菌 *Candidatus_Nitrosotalea* (12.93%) 占较高比例。【结论】中国水仙根际土壤微域具有丰富多样的微生物类群, 这对于开发和利用水仙根际土壤微生物资源具有重要意义。

关键词: 中国水仙; 根际土壤微生物; 高通量测序; 细菌; 真菌; 古菌

中图分类号: S 682

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2021) 08-0948-08

High-throughput Sequencing on Microbial Community in Rhizosphere Soil of Chinese Narcissus

LI Yuanyuan¹, ZHANG Qiong¹, CHEN Xiaohuang², ZHANG Jinghu¹, LU Luanmei^{1*}

(1. Provincial Key Laboratory of Landscape Plants with Fujian and Taiwan Characteristics/College of the Bioscience and Technology, Minnan Normal University, Zhangzhou, Fujian 363000, China; 2. College of the Chemistry, Chemical Engineering and Environment, Minnan Normal University, Zhangzhou, Fujian 363000, China)

Abstract: 【Objective】The microbial community in rhizosphere soils of Chinese narcissuses was analyzed. 【Method】The Illumina Miseq high-throughput sequencing technology was used to obtain the relevant conserved gene regions of the microbes in soil specimens from Chinese narcissus planting lots. The community structures and distributions of dominant species of bacteria, fungi, and archaea in the rhizosphere soils were analyzed. 【Result】In total, 175 840 optimized sequences were obtained and clustered from the specimens into 2 680 representative OTUs with a 97% similarity. The dominant bacteria were *Chloroflexi* (30.86%) and *Proteobacteria* (20.67%). Among the fungi, *Ascomycota* (84.94%) significantly overshadowed the others, with *Chaetomium globosum* (28.15%) and *Ascomycetes* (25.01%) accounted for the greater proportions. On archaea, *Thaumarchaeota* (51.40%), *Bathyarchaeota* (25.98%), and *Euryarchaeota* (20.65%) were the major phyla that had 25.67% *SCG* and 12.93% acidophilic ammonia oxidizing members. 【Conclusion】The rhizosphere soils of Chinese narcissuses harbored diverse and rich microbial species. The information obtained would aid the development and utilization of the natural resources.

Key words: Chinese narcissuses; rhizosphere soil microorganisms; high-throughput sequencing; bacteria; fungi; archaea

收稿日期: 2021-03-28 初稿; 2021-05-21 修改稿

作者简介: 李媛媛 (1989-), 女, 博士, 讲师, 主要从事环境微生物学研究 (E-mail: liyuanyuan9215@163.com)

* 通信作者: 陆奎眉 (1968-), 女, 教授, 主要从事观赏园艺学研究 (E-mail: 358070295@qq.com)

基金项目: 福建省科技计划对外合作重点项目 (2018I0014); 漳州市自然科学基金项目 (ZZ2020J10); 漳州市科技重大专项 (ZZ2019ZD01); 闽南师范大学校长基金项目 (4206/L21918)

0 引言

【研究意义】中国水仙 (*Narcissus tazetta* L. var. *chinensis* Roem.) 是石蒜科多年生草本植物, 原产我国, 已有一千多年栽培历史, 独具天然丽质, 芬芳清新, 素洁幽雅, 是我国十大观赏名花之一, 观赏价值极高, 在园林造景中也有广泛应用。近年来, 很多研究揭示了植物根际-土壤-微生物之间的相互作用机制, 探明中国水仙根际土壤微生物群落分布特征对于解析中国水仙的生态生存机制具有重要意义^[1-3]。但目前对中国水仙根际土壤微生物群落组成的认知仍然有限, 尤其对水仙根际土壤真菌和古菌的群落水平鲜有报道, 从而不能深入解析水仙根际土壤微生物与水仙生长发育的关系。【前人研究进展】水仙根际土壤微生物组成与栽培方式、地理位置及水仙的生长习性等密切相关^[4]。体外喷施有效微生物群制剂, 可显著促进水仙花的生长发育^[5]。已有研究证实, 大量微生物类群具有促进植物生长的机制。Ryu 等^[6]从拟南芥根际土壤鉴定出 2 种菌株, 它们释放出的一些挥发性物质极大促进了拟南芥的生长。此外, 从芽孢杆菌属、假单胞菌属和黄杆菌属中, 分离到多种可增强植物抗病性的促生菌菌株^[7-9]。根际土壤微生物也包括可以抑制植物生长甚至导致植株死亡的根际“有害菌”, 如根腐病原菌^[10]、青枯病原菌^[11]等, 它们普遍分布在根际土壤环境中, 略微积累, 就有可能影响根际土壤微生物群落的稳定, 产生有害物质, 抑制植物根系对土壤养分的吸收, 严重可导致植物死亡。根际环境成为土壤-根系-微生物互作的关键区域, 被称作植物的第二基因组^[12], 根际土壤微生物影响着植物的生长发育, 近年来一直是科学家们研究的热点。【本研究切入点】福建省漳州市具有栽培水仙花的得天独厚的地理环境, 可提供研究水仙根际土壤微生物群落结构、功能及其与植物互作的理想土壤材料。然而水仙根际土壤菌群结构的组成特征及根际细菌、真菌和古菌的关键微生物类群组成亟待深入探讨。【拟解决的关键问题】采集在漳州培育的漳州水仙根际土壤, 利用高通量测序技术, 对根际土壤中细菌、真菌和古菌群落的组成进行系统鉴定, 分析水仙根际土壤环境中优势的微生物类群, 并对其生物功能进行探讨, 以期揭示中国水仙根际土壤微生物的群落分布特征, 为解析水仙花的环境适应性机制以及建立科学合理的水仙花种植制度提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 根际土壤微生物样品采集

土壤样品于 2020 年 4 月 25 日在福建省漳州市“水仙花海”园区进行漳州水仙金盏银台根际土壤的采集。用 5 点取样法采集水仙根际土壤, 去除土壤表层杂草和凋落物, 在水仙植株的根部一侧小心挖掘, 待改侧植株根系露出后, 用毛刷刷取黏附在根表面的土壤。共采集 5 处样地的水仙根际土壤, 每处样地选择 3 株植株, 每处土样总采样量约为 50 g, 各样点土壤混匀后, 封入灭菌的 50 mL 离心管, 置于冰盒带回实验室。约 20 g 新鲜土样用于根际土壤核酸样品提取, 剩余部分置于通风橱中, 静置 24 h, 磨细后过 0.25 mm 筛, 用铝箔纸收集, 用于土壤理化性质测定。

1.2 土壤理化性质测定

用梅特勒-托利多 pH 计测定土壤 pH; 土壤有机质含量采用重铬酸钾 ($K_2Cr_2O_7$) 法测定^[13]; 土壤的全氮含量采用凯氏定氮法测定^[14]; 采用碱解扩散法^[15]、 $NaHCO_3$ 浸提法^[16]和醋酸铵浸提-火焰光度法^[17]测定土壤碱解氮、有效磷和速效钾含量。采用乙酸铵离心法测定土壤阳离子交换量 (Cation Exchange Capacity, CEC)^[18]; 用梅特勒-托利多电导率仪测定土壤电导率; 采用石墨炉原子吸收光谱法测定土壤中铅 (Pb) 含量^[19]。

1.3 DNA 抽提和 PCR 扩增

根际土壤微生物 DNA 样品依据 PowerSoil[®] DNA Isolation kit (MoBio, U.S.) 说明书的操作进行, DNA 的质量、浓度和纯度通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop2000 鉴定; 使用 338F (5'-ACTCCTACGG GAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGG GTWTCTAAT-3')^[20] 对 16S rRNA 基因 V3~V4 可变区进行 PCR 扩增; 使用 524F10extf (5'-TGTCAGCC GCCGCGGTAA-3') 和 Arch958RmodR (5'-YCCGGC GTTGAVTCCAATT-3')^[21] 对古菌 16S rRNA 基因的特异区间进行 PCR 扩增; 使用 SSU0817F (5'-TTAGC ATGGAATAATRRATAGGA-3') 和 1196R (5'-TC TGGACCTGGTGAGTTTCC-3')^[22] 对真菌 18S rRNA 基因的特异区间进行 PCR 扩增。扩增程序如下: 95 ℃ 3 min, 35 个循环 (95 ℃ 30 s, 58 ℃ 30 s, 72 ℃ 30 s), 72 ℃ 15 min, 最后 4 ℃ 保存 (PCR 仪: ABI Verity[®] 96 型)。PCR 反应体系为: 5×TransStart FastPfu 4 μL, 2.5 mmol·L⁻¹ dNTPs 2 μL, 上游引物 (5 μmol·L⁻¹) 0.8 μL, 下游引物 (5 μmol·L⁻¹) 0.8 μL, TransStart FastPfu DNA 聚合酶 0.4 μL, 模板 DNA 10 ng, 使用灭菌双蒸

水将体系补足至 20 μL 。每个样本设置 3 个重复。

1.4 Illumina Miseq 测序

使用 2% 琼脂糖凝胶分离 PCR 产物，然后对相应胶条进行切割回收，利用 MiniBEST Agarose Gel DNA Extraction Kit (TaKaRa, Japan) 进行回收产物纯化，并用 Quantus™ Fluorometer (Promega, USA) 对回收产物进行检测定量。建库依据 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行，具体步骤如下：①在 DNA 片段两端连上特定序列的接头；②利用样品本纯化磁珠进行片段筛选；③通过 PCR 扩增实现原始模板的富集；④将 PCR 扩增后的文库进行分选回收。采用 Illumina Miseq 测序技术（上海美吉生物医药科技有限公司）对文库进行高通量测序分析。原始数据上传至 NCBI SRA 数据库（序列号：SAMA16825444，Genbank 登录号：PRJNA679159）。

1.5 数据处理

利用 Trimmomatic 软件对接头（Adapter）序列和低质量序列进行过滤^[23]，使用 FLASH 软件实现测序数据的质控拼接^[24]，具体步骤如下：①去除尾部质量值的读长（Reads）在 20 以下的碱基，设置 50 bp 的窗口，如果窗口内的平均质量值低于 20，从窗口开始截去后端碱基，去除质控后 50 bp 以下的读长，去除含 N 碱基的读长；②根据读长之间的重叠，将对读长重叠区域连接起来，重叠区长度不低于 10 bp；③拼接序列的重叠区碱基错配率不高于 0.2；④根据序列首尾两端的 barcode 和引物区分样品，并调整序列方向，barcode 允许的错配数为 0，最大引物错配数为 2。使用的 UPARSE 软件^[25]，将序列相似性 > 97% 的定为一个 OTU。用 RDP classifier^[26-27]数据库，选取 OTU 代表序列跟数据库中的已知序列比对，获得每个 OTU 的物种注释信息，用 Mothur^[28]计算不同随机抽样下的 Alpha 多样性指数，用 R 语

言工具制作曲线图。以 OTU 丰度为基础，用 ACE 和 Chao 指数反映群落物种丰富度，用香农指数和辛普森指数反映群落多样性，同时估测物种均匀度。

2 结果与分析

2.1 采样地土壤理化特点

漳州位于福建省最南部，气候温暖，年平均气温 21 $^{\circ}\text{C}$ ；雨量充沛，水源充足，土壤松软，是水仙花的理想产地。对漳州圆山区“水仙花海”采样地的理化特性进行分析，采样地单位体积土壤有机质含量为 29 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，占比 3%；土壤全氮含量为 1.3 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，占比 0.13%，达到较高水平，其中速效氮含量丰富，在土壤中的含量为 91 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。说明该生产区土壤有机质含量丰富，熟化程度高，水仙生长及采样期间土壤的氮素供应能力较强^[29]。此外，采样区土壤质地属黏质土，CEC 含量较高，为 13.4 $\text{cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}$ 。土壤铅含量在 85 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ，符合农业种植土壤标准。

2.2 中国水仙根际土壤微生物多样性

由表 1 可知，测序得到的细菌、真菌和古菌的有效序列分别为 3.91 万、6.62 万和 7.04 万条。按照序列相似性 $\geq 97\%$ 归类为 1 个 OTU 分类单位的原则，分别得到细菌、真菌和古菌 OTU 分类单位 2 453、109 和 118 个。本次各样品测得的序列均远远大于 10 000，说明测序数据量足够大，可以反映样本中微生物多样性的主要信息。从每个土壤样品的 OTUs 中计算获得微生物群落的 α -多样性指数，包括 Chao、ACE、辛普森指数和香农指数，以此来反映微生物群落的丰富度和多样性。结果表明，根际土壤环境中，细菌的多样性明显高于真菌和古菌，且细菌门下各类物种的数量接近程度也更高。真菌群落和古菌群落中鉴定到的物种数目、物种数量的相对密度均较为接近，同时明显低于细菌群落。

表 1 中国水仙根际土壤微生物高通量测序数据及其多样性指数
Table 1 Summarized high-throughput sequences and diversity index of microorganisms in Chinese narcissus rhizosphere soil

微生物类型 Microorganism Type	测序序列数 Total sequence number	平均序列长度 Mean length/bp	OTUs (97%)	代表 OTUs	Chao 指数	Ace 指数	香农均匀度 Shannon evenness	辛普森均匀度 Simpson evenness	香农多样性指数 Shannon diversity index	辛普森多样性指数 Simpson diversity index
细菌 Bacteria	39 188	413.7	29 447	2 453	3 089	3 133	0.845 0	0.125 8	6.595 8	0.003 2
真菌 Fungi	66 216	381.8	49 162	109	109	109	0.523 8	0.056 6	2.455 1	0.162 0
古菌 Archaea	70 436	428.5	44 517	118	118	118	0.544 2	0.078 6	2.596 6	0.107 8

2.3 中国水仙根际土壤细菌群落的组成

利用高通量测序的方法，根据 OTU 分类学注释结果，按照门和属 2 个水平提取序列，计算各类物

种的相对丰富度。从图 1-A 可知，在水仙根际土壤细菌群落中系统鉴定到超过 40 种不同门类的细菌，其中，13 个门的细菌丰度总和高于总序列的 97%。

绿弯菌 *Chloroflexi* (30.86%)、变形菌 *Proteobacteria* (20.67%)、放线菌 *Actinobacteria* (18.25%) 和酸杆菌 *Acidobacteria* (13.69%) 是根际土壤细菌群落中的主要门类，总丰度高于总序列的 80%。通过属分类层次 (图 2-A) 分析，表明在细菌中占优势的菌属分别为 *SBR2076*、盖勒氏菌属 *Gaiellales*、水恒杆菌属

Mizugakiibacter、嗜酸栖热菌属 *Acidothermus*、微球菌属 *Micrococcales* 和 *Variibacter*，这 6 个属类各自的细菌丰度均高于总序列的 1%，其他占比较少。属水平上的统计分析表明，水仙根际土壤细菌群落中 53.77% 以上的细菌属于未知。

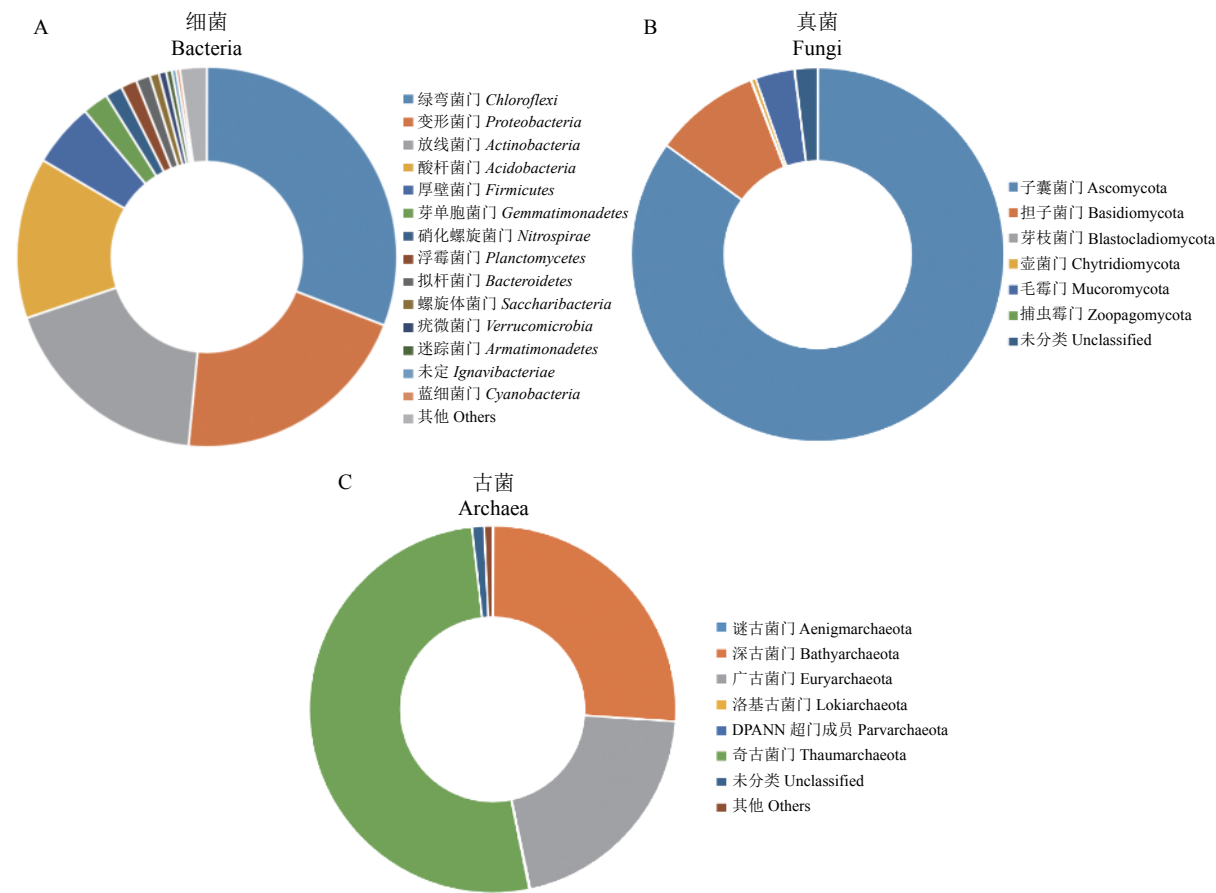


图 1 中国水仙根际微生物群落丰度分布

Fig. 1 Relative abundance of microorganisms in Chinese narcissus rhizosphere soil at phylum level

2.4 中国水仙根际土壤真菌群落的组成

在中国水仙根际土壤中检测到 6 种不同门类的真菌，真菌门类群大比例集中于子囊菌门 *Ascomycota*，占真菌总序列的 84.94%，其他真菌门类所占比例相对较少，分别为担子菌门 *Basidiomycota* (9.20%)、毛霉门 3.38%、壶菌门 *Chytridiomycota* (0.39%)、芽枝霉门 *Blastocladiomycota* (0.05%) 和捕虫霉门 *Zoopagomycota* (0.04%) (图 1-B)。通过属分类层次 (图 2-B) 分析，丰度高于总序列 1% 的优势真菌属分别为球毛壳菌 *Chaetomium globosum* (28.15%)、散子囊菌 *Eurotiales* (25.01%)、粪壳菌 *Sordariomycetes* (9.84%)、伞菌 *Agaricales* (7.09%)、锥毛壳属 *Coniochaeta fodinicola* (4.52%)、禾谷镰孢菌 *Fusarium graminearum* (3.93%)、葫芦霉

Cucurbitariaceae (3.29%)、油脂酵母菌 *Lipomyces starkeyi*、小囊菌 *Microascaceae* (1.88%) 和三色霉属 *Trimorphomycetaceae* (1.24%)，其他所占比例较少。

2.5 中国水仙根际土壤古菌群落的组成

对水仙根际土壤中古菌群落多样性的分析表明，古菌门类群主要包括奇古菌门 *Thaumarchaeota* (51.40%)、深古菌门 *Bathyarchaeota* (25.98%) 和广古菌门 *Euryarchaeota* (20.65%)，3 个门的古菌丰度总和高于总序列的 98% 以上。其他门类，包括洛基古菌门 *Lokiarchaeota*、谜古菌门 *Aenigmarchaeota*、*Parvarchaeota* 等，所占比例相对较少 (图 1-C)。通过属分类层次 (图 2-C) 分析，表明在古菌中占优势的菌属主要为来自奇古菌门的 SCG (Soil Crenarchaeotic Group) 类群和嗜酸性氢氧化古菌 *Candidatus_*

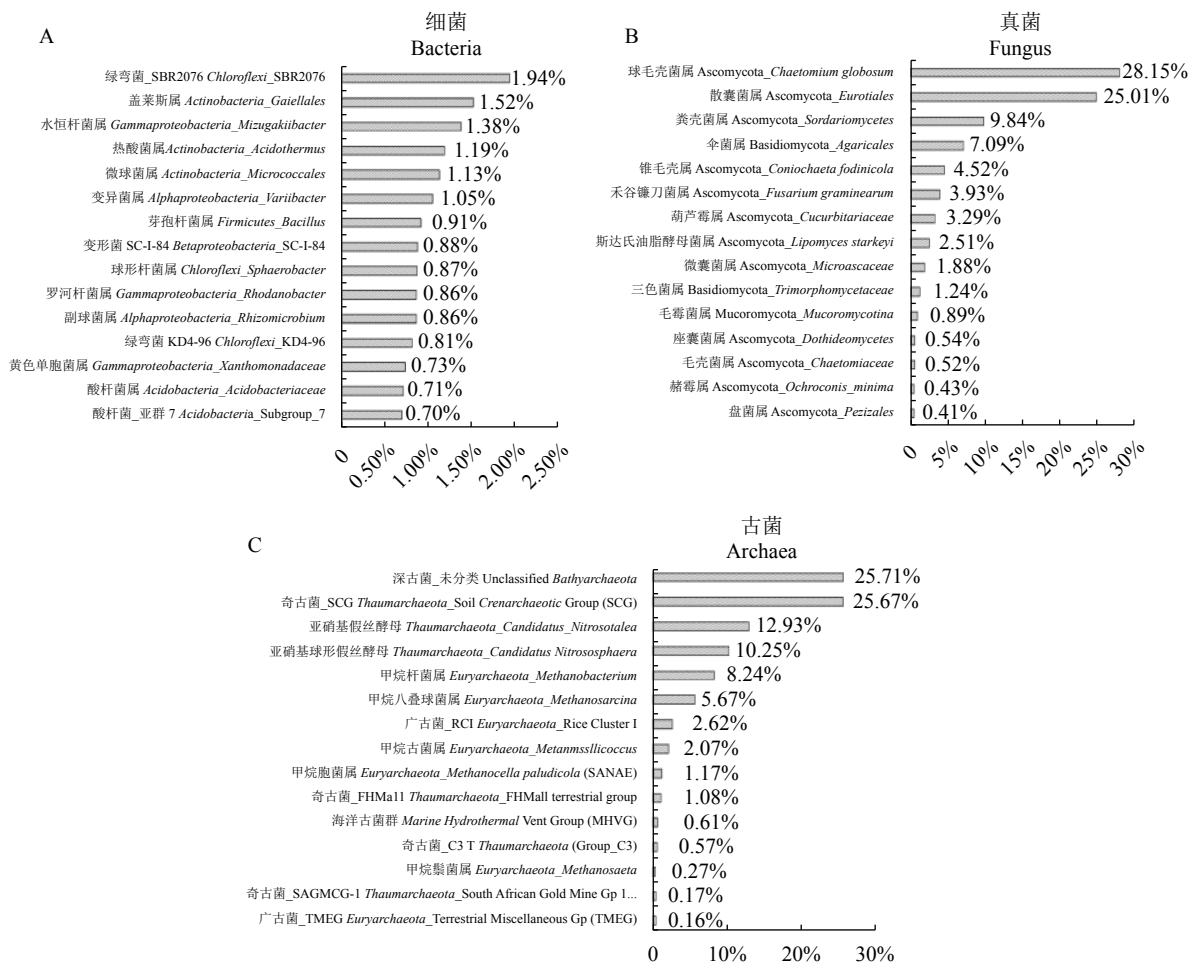


图 2 中国水仙根际 Top15 微生物属水平上丰富度分布
Fig. 2 Relative abundance of microorganisms in Chinese narcissus rhizosphere soil at genus level

Nitrosotalea 类群，在古菌总序列的占比分别为 25.67% 和 12.93%，以及来自广古菌门的甲烷杆菌属 *Methanobacterium* (8.24%)、甲烷八叠球菌属 *Methanosarcina* (5.67%)、Rice Cluster I (2.62%)、第七产甲烷古菌属 *Methanomassiliicoccus* (1.17%) 等。值得注意的是，属水平上的统计分析发现，古菌群落中 25.71% 以上的序列来自深古菌门里的未知属种。

3 讨论

植物根系是多细胞生物与土壤接触的界面。植物根际土壤微生物组成及其分布，与植物的生产和健康密切相关。漳州地理位置特殊，北有高山阻隔寒流入侵，南有海洋调节，自然条件优越，气候温和，雨季集中^[30]，花田土壤松软，是我国有名的水仙花主产区，有“天下水仙数漳州”的美誉。笔者以漳州市圆山麓脚下的水仙花种植园作为研究区域，以水仙花根际土壤微生物为研究对象，采用 Illumina Miseq 高通量测序技术，实现了对以漳州水仙为代表

的中国水仙根际土壤环境中不同微生物类群序列的初步研究。

从细菌群落结构及功能来看，研究发现，中国水仙根际最为优势的细菌为绿弯菌、变形菌、放线菌和酸杆菌，其中，绿弯菌是中国水仙根际细菌群落中的优势菌，占根际土壤细菌的比例约为 30%。绿弯菌广泛分布在土壤、海洋等各种环境中，是营养元素循环等生态学过程的重要参与者^[31]。Fan 等^[32]研究表明，土壤绿弯菌与作物产量指示基因呈显著正相关，提出绿弯菌是具有促生作用的土壤关键微生物菌群之一。变形菌也是水仙根际土壤占比较高的细菌群落之一，这与之前植物根际土壤细菌结构组成的研究结果基本一致，例如研究表明变形菌是大豆^[33]、玉米^[34]、柑橘^[35]等常见农作物，以及梭鱼草、美人蕉、红花等观赏植物根际土壤富集的主要菌群^[36-37]。在细菌属水平的组成上看，可以发现根际土壤环境中占比较高的 *Mizugakiibacter*、*Acidothermus*、*Variibacter* 等大多数为促生菌，在已有研究中，作物枯萎病^[38-39]、青枯病^[40]等土传病害发病较轻的土壤中这些类群的占比比较高，可作为水仙根际土壤促

生细菌潜在功能菌株。

根际土壤真菌作为根际生态系统中的重要组成，是分解者中的先锋物种，在维持根际生态系统稳定、代谢调节和抗病虫害等方面有重要调节作用^[41]。本研究发现，在中国水仙根际土壤真菌种群结构上，80%以上的真菌来自于子囊菌门，其次是担子菌。在世界范围内，土壤真菌群落中几乎均以子囊菌为优势型^[42]。在属水平上，本研究中的优势真菌是来自盘菌亚门的球毛壳菌属 *Chaetomium globosum* 和散子囊菌属 *Eurotiales*，与世界范围内的土壤真菌调查结果一致^[42]。根据 Pietro 等^[43]、Park 等^[44] 研究表明球毛壳菌是一种广谱拮抗性真菌，从该菌发酵液中提取出的代谢活性物质对稻瘟病、小麦叶锈病、番茄晚疫病等多种病原菌有拮抗作用，在生物防治中具有巨大的开发应用潜力。

古菌是地球进化最早期的生命体之一，能适应严寒、酷暑等极端环境，同时驱动着土壤碳、氮、硫等营养元素的生物地球化学循环^[45]。本研究中，古菌在土壤微生物群落及生物量亦占有不可忽视的比例。从古菌群落组成来看，古菌序列主要来自奇古菌门，其次来自广古菌门，二者参与了土壤碳、氮和氢的生物地球化学循环。已知奇古菌具有氨氧化、反硝化等多样的生理代谢特性和功能，易繁衍在有机质含量低、含水量较低，即氨态氮含量低的土壤^[46]。本研究中，奇古菌 SCG 类群丰度最高，嗜酸性氨氧化古菌 *Candidatus Nitrosotalea* 丰度紧随其后，与 Shao 等^[47] 对西北草原古菌群落所做的研究一致。本研究发现，广古菌在水仙根际土壤古菌群落中亦占有相当大的比例，已有研究表明，广古菌的相对丰度随氨态氮的增加会显著增加，而且还与土壤中的可利用硫正相关^[48]。研究还发现，来自广古菌门下的产甲烷古菌 *Methanobacteriu* 和甲烷八叠球古菌 *Methanosarcina* 是中国水仙根际土壤古菌群落丰度占比较高的类群，提示中国水仙种植地也是甲烷释放量较多的土壤类型。其中，产甲烷古菌是迄今所知的在严格厌氧条件下生存，并以甲烷为特异代谢产物的古菌群，它们产生的甲烷气体在全球碳循环中起到不可忽视的作用^[49]。已知古菌作为最古老的生命体，对不同土壤环境变异的适应能力较强，本研究对水仙花根际土壤微生物中古菌关键种群的鉴定及其丰度的研究，可为土壤古菌的地理分布规律及功能意义提供重要参考。

4 结论

综上所述，本研究基于3个不同类型微生物样

品：细菌、真菌和古菌，初步揭示了以漳州水仙为代表的中国水仙根际土壤的细菌多样性、真菌多样性以及古菌多样性，尤其是发现了之前未知的水仙根际土壤真菌类群和特有的古菌类群，这些结果将为开发和利用水仙根际土壤微生物资源奠定基础。同时，研究结果对于今后了解水仙微生物群落环境适应性具有重要意义。

参考文献：

- [1] CHAPARRO J M, BADRI D V, VIVANCO J M. Rhizosphere microbiome assemblage is affected by plant development [J]. *ISME Journal*, 2014, 8 (4) : 790–803.
- [2] MENDES R, GARBEVA P, RAAIJMAKERS J M. The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013, 37 (5) : 634–663.
- [3] BARDGETT R D, CARUSO T. Soil microbial community responses to climate extremes: Resistance, resilience and transitions to alternative states [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2020, 375 (1794) : 20190112.
- [4] 王鑫鑫, 杨珍珍, 周婉柔, 等. 水仙根围细菌群落组成 [J]. 微生物学通报, 2017, 44 (5) : 1081–1088.
WANG X X, YANG Z Z, ZHOU W R, et al. Identification of rhizosphere bacterial communities of *Narcissus tazetta* [J]. *Microbiology China*, 2017, 44 (5) : 1081–1088. (in Chinese)
- [5] 杨明俊, 李娟, 王永刚, 等. 水仙内生真菌的分离鉴定及聚类分析 [J]. 中草药, 2014, 6 (11) : 1625–1630.
YANG M J, LI J, WANG Y G, et al. Isolation and cluster analysis of endophytic fungi in *Narcissus tazetta* var. *chinensis* [J]. *Chinese Herbal Medicines*, 2014, 6 (11) : 1625–1630. (in Chinese)
- [6] RYU C M, FARAG, MOHAMED A, et al. Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, 100 (8) : 4927–4932.
- [7] MENDES R, KRUIJT M, DE BRUIJN I, et al. Deciphering the Rhizosphere Microbiome for Disease-Suppressive Bacteria [J]. *Science*, 2011, 332 (6033) : 1097–1100.
- [8] HU J, WEI Z, FRIMAN V P, et al. Probiotic diversity enhances rhizosphere microbiome function and plant disease suppression [J]. *American Society for Microbiology*, 2016, 7 (6) : e01790–16.
- [9] 黄秋斌, 张颖, 刘凤英, 等. 蜡芽孢杆菌B3-7在大田小麦根部的定殖动态及其对小麦纹枯病的防治效果 [J]. 生态学报, 2014, 34 (10) : 2559–2566.
HUANG Q B, ZHANG Y, LIU F Y, et al. Colonization dynamics of *Bacillus cereus* B3-7 on wheat roots and control efficiency against sharp eyespot of wheat [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34 (10) : 2559–2566. (in Chinese)
- [10] 杨光柱, 黄文静, 李云国, 等. 苹果根腐病根际土壤真菌组成及多样性研究 [J]. 果树学报, 2020, 37 (6) : 875–881.

- YANG G Z, HUANG W J, LI Y G, et al. Fungal community and diversity in rhizospheric soil with root rot in an apple orchard [J]. *Journal of Fruit Science*, 2020, 37 (6) : 875–881. (in Chinese)
- [11] 李得铭, 翟子翔, 邓涛, 等. 番茄青枯菌分离与三重PCR体系建立 [J]. *分子植物育种*, 2020, 18 (11) : 209–215.
- LI D M, ZHAI Z X, DENG T, et al. Isolation of *Ralstonia solanacearum* and establishment of triple PCR system [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2020, 18 (11) : 209–215. (in Chinese)
- [12] BACH E M, WILLIAMS R J, HARGREAVES S K, et al. Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 118: 217–226.
- [13] 钱宝, 刘凌, 肖潇. 土壤有机质测定方法对比分析 [J]. *河海大学学报(自然科学版)*, 2011, 39 (1) : 34–38.
- QIAN B, LIU L, XIAO X. Comparative tests on different methods for content of soil organic matter [J]. *Journal of Hohai University (Natural Sciences Edition)*, 2011, 39 (1) : 34–38. (in Chinese)
- [14] 马丹. 凯氏定氮法测定食品中蛋白质含量 [J]. *计量与测试技术*, 2008, 35 (6) : 57–58.
- MA D. Kjeldahl determination of protein content [J]. *Measurement and Testing Technology*, 2008, 35 (6) : 57–58. (in Chinese)
- [15] 叶祥盛, 赵竹青. 流动注射法与碱解扩散法测定土壤有效氮的比较 [J]. *安徽农业科学*, 2011, 20: 12166–12167, 12178.
- YE X S, ZHAO Z Q. Comparison of soil available nitrogen concentration between flow injection method and alkali-diffusion method [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 20: 12166–12167, 12178. (in Chinese)
- [16] BOWMAN R A, COLE C V. An exploratory method for fractionation of organic phosphorus from grassland soils [J]. *Soil science*, 1978, 125 (2) : 95–101.
- [17] SIMARD R R. Ammonium acetate-extractable elements. In *Soil sampling and methods of analysis* [M]. Lewis Publisher: Boca Raton, FL, USA, 1993(1): 39–42.
- [18] MEIER L P, KAHR G. Determination of the cation exchange capacity (CEC) of clay minerals using the complexes of copper(II) ion with triethylenetetramine and tetraethylenepentamine [J]. *Clays and Clay Minerals*, 1999, 47 (3) : 386–388.
- [19] 梁淑轩, 孙汉文. 石墨炉原子吸收光谱法分析药用植物中微量营养元素的含量 [J]. *光谱学与光谱分析*, 2002, 22 (5) : 847–849.
- LIANG S X, SUN H W. Determination of trace elements in medicinal plants by Graphite Furnace atomic absorption spectrometry [J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2002, 22 (5) : 847–849. (in Chinese)
- [20] CHEN C, ZHANG J N, LU M, et al. Microbial communities of an arable soil treated for 8 years with organic and inorganic fertilizers [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2016, 52 (4) : 455–467.
- [21] LI B X, CHEN H L, LI N N, et al. Spatio-temporal shifts in the archaeal community of a constructed wetland treating river water [J]. *The Science of the Total Environment*, 2017, 605/606: 269–275.
- [22] ZHAO S C, QIU S J, XU X P, et al. Change in straw decomposition rate and soil microbial community composition after straw addition in different long-term fertilization soils [J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 138: 123–133.
- [23] BOLGER A M, LOHSE M, USADEL B, et al. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data [J]. *Bioinformatics*, 2014, 30 (15) : 2114–2120.
- [24] MAGOČ T, SALZBERG S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27 (21) : 2957–2963.
- [25] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nature Methods*, 2013, 10 (10) : 996–998.
- [26] LAN Y M, WANG Q, COLE J R, et al. Using the RDP classifier to predict taxonomic novelty and reduce the search space for finding novel organisms [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (3) : e32491.
- [27] QUAST C, PRUESSE E, YILMAZ P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: Improved data processing and web-based tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 2013, 41 (D1) : D590–D596.
- [28] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, et al. Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75: 7537–7541.
- [29] 伍海兵, 张青青, 梁晶. 城市绿地土壤肥力质量综合评价方法初探 [J]. *土壤通报*, 2020, 51 (4) : 795–800.
- WU H B, ZHANG Q Q, LIANG J. A comprehensive evaluation method of soil fertility quality in urban green space [J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2020, 51 (4) : 795–800. (in Chinese)
- [30] 赖焕雄, 郑小琴. 漳州市近48年气候变化特征分析 [J]. *安徽农业科学*, 2010, 38 (15) : 8056–8060.
- LAI H X, ZHENG X Q. Characteristics of climate change in Zhangzhou City in Recent 48 years [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38 (15) : 8056–8060. (in Chinese)
- [31] DAVIS K E R, SANGWAN P, JANSSEN P H. *Acidobacteria*, *Rubrobacteridae* and *Chloroflexi* are abundant among very slow-growing and mini-colony-forming soil bacteria [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13 (3) : 798–805.
- [32] FAN K K, DELGADO-BAQUERIZO M, GUO X S, et al. Biodiversity of key-stone phylotypes determines crop production in a 4-decade fertilization experiment [J]. *The ISME Journal*, 2021, 15: 550–561.
- [33] HAN Q, MA Q, CHEN Y, et al. Variation in rhizosphere microbial communities and its association with the symbiotic efficiency of rhizobia in soybean [J]. *The ISME Journal*, 2020, 14 (8) : 1915–1928.
- [34] WALTERS W A, JIN Z, YOUNGBLUT N, et al. Large-scale replicated field study of maize rhizosphere identifies heritable microbes [J]. *PNAS*, 2018, 115 (28) : 7368–7373.
- [35] XU J, ZHANG Y, ZHANG P, et al. The structure and function of the global citrus rhizosphere microbiome [J]. *Natural Communication*, 2018, 9 (1) : 4894.
- [36] 雷旭, 李冰, 李晓, 等. 复合垂直流人工湿地系统中不同植物根际微生物群落结构 [J]. *生态学杂志*, 2015, 34 (5) : 1373–1381.
- LEI X, LI B, LI X, et al. Rhizosphere microbial community of three

- plants in vertical-flow constructed wetland [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2015, 34 (5) : 1373–1381. (in Chinese)
- [37] 杨美玲, 张霞, 王绍明, 等. 基于高通量测序的裕民红花根际土壤细菌群落特征分析 [J]. *微生物学通报*, 2018, 45 (11) : 2429–2438.
- YANG M L, ZHANG X, WANG S M, et al. High throughput sequencing analysis of bacterial communities in Yumin safflower [J]. *Microbiology China*, 2018, 45 (11) : 2429–2438. (in Chinese)
- [38] CHEN S J, ZHU Y, SHAO T Y, et al. Relationship between rhizosphere soil properties and disease severity in highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum*) [J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 127: 187–194.
- [39] GAO L, WANG R, GAO J M, et al. Analysis of the structure of bacterial and fungal communities in disease suppressive and disease conducive tobacco-planting soils in China [J]. *Soil Research*, 2019, 58 (1) : 35–40.
- [40] QI G F, CHEN S, KE L X, et al. Cover crops restore declining soil properties and suppress bacterial wilt by regulating rhizosphere bacterial communities and improving soil nutrient contents [J]. *Microbiological Research*, 2020, 238: 126505.
- [41] TEDERSOO L, BAHRAM M, PÖLME S, et al. Global diversity and geography of soil fungi [J]. *Science*, 2014, 346 (6213) : 1078.
- [42] EGIDI E, DELGADO-BAQUERIZO M, PLETT J M, et al. A few Ascomycota taxa dominate soil fungal communities worldwide [J]. *Nature Communication*, 2019, 10: 2369.
- [43] PIETRO A D, RELLA M G, PACHLATKO J P, et al. Role of antibiotics produced by *Chaetomium globosum* in biocontrol of *Pythium ultimum*, a causal agent of damping-off [J]. *Physiology and Biochemistry*, 1992, 8 (2) : 131–135.
- [44] PARK J H, CHOI G J, JANG K S, et al. Antifungal activity against plant pathogenic fungi of chaetoviridins isolated from *Chaetomium globosum* [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, 252 (2) : 309–313.
- [45] ANGEL R, SOARES M I M, UNGAR E D, et al. Biogeography of soil Archaea and bacteria along a steep precipitation gradient [J]. *The ISME Journal*, 2010, 4 (4) : 553–563.
- [46] HONG J K, CHO J C. Environmental variables shaping the ecological niche of thaumarchaeota in soil: Direct and indirect causal effects [J]. *PLoS One*, 2015, 10 (8) : e0133763.
- [47] SHAO K Q, JIANG X Y, HU Y, et al. Thaumarchaeota affiliated with Soil Crenarchaeotic Group are prevalent in the alkaline soil of an alpine grassland in northwestern China [J]. *Annals of Microbiology*, 2019, 69 (8) : 867–870.
- [48] JIAO S, XU Y Q, ZHANG J, et al. Environmental filtering drives distinct continental atlases of soil Archaea between dryland and wetland agricultural ecosystems [J]. *Microbiome*, 2019, 7 (1) : 1–13.
- [49] 段昌海, 张翠景, 孙艺华, 等. 新型产甲烷古菌研究进展 [J]. *微生物学报*, 2019, 59 (6) : 981–995.
- DUAN C H, ZHANG C J, SUN Y H, et al. Recent advances on the novel methanogens [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2019, 59 (6) : 981–995. (in Chinese)

(责任编辑：林海清)