



# 濒危红树杂交种海南海桑的杂种劣势与其根际微生物的关联分析

李骥<sup>1</sup>, 王芸<sup>1,2,3\*</sup>, 朱启聪<sup>1</sup>, 李国壕<sup>1</sup>, 张颖<sup>1,2</sup>, 蔺红苹<sup>1</sup>, 王锂韞<sup>1</sup>, 李敏<sup>1</sup>, 唐蜀昆<sup>4,5</sup>

- 1 岭南师范学院生命科学与技术学院红树林研究院, 广东 湛江 524048
- 2 红树林珍稀濒危物种保护与利用工程技术研究中心, 广东 湛江 524048
- 3 广东省粤西蓝碳资源开发与利用工程技术研究中心, 广东 湛江 524048
- 4 云南大学生命科学学院 云南省微生物研究所生物资源保护与利用重点实验室 微生物资源教育部重点实验室, 云南 昆明 650091
- 5 云南省发酵蔬菜重点实验室, 云南 红河 661100

李骥, 王芸, 朱启聪, 李国壕, 张颖, 蔺红苹, 王锂韞, 李敏, 唐蜀昆. 濒危红树杂交种海南海桑的杂种劣势与其根际微生物的关联分析[J]. 微生物学报, 2024, 64(8): 2823-2843.

LI Ji, WANG Yun, ZHU Qicong, LI Guohao, ZHANG Ying, LIN Hongping, WANG Liyun, LI Min, TANG Shukun. Association between rhizosphere microbiome and hybrid weakness of the endangered mangrove hybrid plant *Sonneratia*×*hainanensis*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(8): 2823-2843.

**摘要:**【目的】研究杂交物种与亲本的形态生理特征差异, 有助于理解物种的形成和进化机制。

【方法】植物学研究发现红树植物杯萼海桑(*Sonneratia alba*)和卵叶海桑(*Sonneratia ovata*)的自然杂交后代海南海桑(*Sonneratia*×*hainanensis*)表现出明显的生长劣势, 本研究通过 Illumina 高通量测序技术, 分析杂交后代与亲本根际微生物细菌与真菌群落差异, 解析子代杂种劣势原因。【结果】主坐标分析表明, 虽然 3 种植物根际细菌和真菌群落不存在显著差异, 但子代海南海桑根际群落结构和组成与生存力较强的母本差异较大, 与父本更为相似。物种组成分析表明, 细菌分布于 76 门 320 科 388 属, 优势的假单胞菌门(*Pseudomonadota*)在 3 种植物根际相对丰度都超过 41.00%, 其中子代丰度为 55.33%, 高于其亲本。属水平上, 脱硫球菌属(*Desulfococcus*, 3.23%)和

资助项目: 海南省院士创新平台科研专项(YSPTZX2022011); 粤西海洋中药及南药高值化开发利用创新团队(2021KCXTD039); 云南省科技计划(202205AG070001)

This work was supported by the Specific Research Fund of the Innovation Platform for Academicians of Hainan Province (YSPTZX2022011), the West Guangdong Marine Chinese Medicine and Southern Medicine High Value Development and Utilization Innovation Team (2021KCXTD039), and the Science and Technology Planning Project of Yunnan Province (202205AG070001).

\*Corresponding author. E-mail: wang\_xju@163.com

Received: 2024-01-16; Accepted: 2024-03-25; Published online: 2024-03-28

红游动菌属(*Rhodoplanes*, 0.94%)等 18 个共有属占据测序总量 15.77%, 但在子代中, 8 个耐盐菌属的丰度明显降低, 如深海弯曲杆菌属(*Mariprofundus*), 可能影响到子代的盐耐受性。真菌群落中的子囊菌门(41.89%)与担子菌门(4.53%)为优势菌门, 但在子代中的丰度均显著低于亲本, 并且特征优势属也不同。原核生物分类单元功能注释(functional annotation of prokaryotic taxa, FAPROTAX)功能预测发现, 红树林的原核微生物参与了硫代谢和氮代谢过程, 但在细菌群落中, 虽然子代的 Shannon 指数和 Simpson 指数均显著高于母本, 但母本中一些与氮循环相关的高丰度类群并未在子代中得到继承, 如 B-42 (unclassified *Trueperaceae*)、*Mariprofundus* 和氧化硫单胞菌属(*Sulfurimonas*)。土壤理化性质也显示, 子代全氮和全磷的含量均显著低于其母本, 一些与氮含量呈显著正相关的类群, 如细菌中的 *Mariprofundus* 和 B-42, 真菌中的曲霉属(*Aspergillus*)和红酵母属(*Rhodotorula*), 在子代中均有所减少。【结论】本研究有助于从土壤根际微生物视角进一步了解海南海桑的杂种劣势原因。

关键词: 红树林; 海桑; 杂种劣势; 根际微生物; 多样性

## Association between rhizosphere microbiome and hybrid weakness of the endangered mangrove hybrid plant *Sonneratia*×*hainanensis*

LI Ji<sup>1</sup>, WANG Yun<sup>1,2,3\*</sup>, ZHU Qicong<sup>1</sup>, LI Guohao<sup>1</sup>, ZHANG Ying<sup>1,2</sup>, LIN Hongping<sup>1</sup>, WANG Liyun<sup>1</sup>, LI Min<sup>1</sup>, TANG Shukun<sup>4,5</sup>

1 Life Science and Technology School, Mangrove Institute, Lingnan Normal University, Zhanjiang 524048, Guangdong, China

2 Engineering Technology Research Center for Protection and Utilization of Mangrove Rare and Endangered Species, Zhanjiang 524048, Guangdong, China

3 Engineering Technology Research Center for Development and Utilization of Blue Carbon Resources in Western Guangdong Province, Zhanjiang 524048, Guangdong, China

4 Yunnan Institute of Microbiology, Key Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-Resource, Key Laboratory for Microbial Resources of the Ministry of Education, School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming 650091, Yunnan, China

5 Yunnan Key Laboratory of Fermented Vegetables, Honghe 661100, Yunnan, China

**Abstract: [Objective]** To study the morphological and physiological characteristics of hybrids compared with their parents and contribute to research on the mechanisms of speciation and evolution. **[Methods]** *Sonneratia*×*hainanensis*, a natural hybrid of the mangrove plants *Sonneratia alba* and *S. ovata*, usually presents hybrid weakness than its parents. In this study, Illumina high-throughput sequencing was employed to compare the rhizosphere microbiomes (including bacteria and fungi) between the hybrid and its parents, on the basis of which the reason for hybrid weakness was explored. **[Results]** The principal coordinate analysis (PCoA) revealed no significant difference in the rhizosphere bacterial or fungal community structure between the hybrid and its parents. However, the rhizosphere microbiome of the hybrid was different from that of the female parent *S. alba* with strong survival ability but similar to that of

the male parent *S. ovata*. The rhizosphere bacteria belonged to 388 genera, 320 families of 76 phyla. The dominant phylum *Pseudomonadota* had the relative abundance above 41.00% in the rhizosphere of the three plant species, reaching 55.33% in the hybrid, which was higher than that in the parents. At the genus level, 18 common genera including *Desulfococcus* (3.23%) and *Rhodoplanes* (0.94%) in all the three mangrove plants showed the relative abundance of 15.77%. Among them, 8 salt-tolerant genera such as *Mariprofundus* showed decreased relative abundance in the hybrid, which may affect the salt tolerance. The rhizosphere fungi were dominated by *Ascomycota* and *Basidiomycota* with the relative abundance of 41.89% and 4.53%, respectively, which was significantly lower than that in the parents. Moreover, the predominant fungal genera were different in the three mangrove plants. Functional annotation of prokaryotic taxa (FAPROTAX) predicted that the mangrove prokaryotes were involved in sulfur metabolism and nitrogen metabolism. Although the hybrid had higher Shannon and Simpson indexes of rhizosphere bacteria than *S. alba*, some dominant taxa such as B-42 (unclassified *Trueperaceae*), *Mariprofundus*, and *Sulfurimonas* participating in the nitrogen cycle were not inherited by the hybrid. The soil total nitrogen (TN) and total phosphorus (TP) of the hybrid was significantly lower than that of *S. alba*. TN was significantly positively correlated with the relative abundance of *Mariprofundus*, B-42, *Aspergillus*, and *Rhodotorula*, which, however, demonstrated decreased relative abundance in the rhizosphere of the hybrid.

**[Conclusion]** The results help to understand the mechanisms of hybrid weakness in *Sonneratia*×*hainanensis*.

**Keywords:** mangrove; *Sonneratia*; hybrid weakness; rhizosphere microbiome; diversity

物种杂交在自然界中普遍发生,在植物中尤其常见,杂交与物种的进化和遗传密切相关,是一种适应性进化,也是高等植物新物种形成的重要途径<sup>[1]</sup>。根据研究,大约 11%的已描述的植物物种是由种间或属间杂交形成的<sup>[2-3]</sup>。杂交种可能具有比亲本植株更高的环境适应性,表现出杂种优势<sup>[4]</sup>,这对农作物新品种的选育有着重要意义。自然杂交种也常常表现出杂交劣势(hybrid weakness),表现为生长受限、生殖能力降低、易受病虫害侵袭等,杂交劣势会对杂交种群的长期存续和进化产生重要影响<sup>[5]</sup>。因此,研究杂交物种与亲本的根际微生态差异,探讨杂种特征与环境的适应性,有助于理解物种的形成和进化过程,对于植物分类学、生态学和进化学都至关重要<sup>[6]</sup>。

自然杂交在 40%的植物科和 16%的植物属

中都有发生<sup>[7]</sup>。红树林生态系统是一个物种多样性丰富,生产力水平高,但极易受盐度、缺氧、人类活动和气候变化威胁的生态系统<sup>[8]</sup>。目前,全球红树林有大约 70 个物种,代表 18 个科<sup>[9]</sup>。研究发现,红树中有 7 个属都存在种间杂交后代,这可能与红树林物种之间的地理分布重叠、栖息地和开花期重叠以及共享传粉者有关<sup>[10]</sup>。大多数红树植物中的自然杂交物种被发现仅限于 F1 代<sup>[11]</sup>,花粉活力和种子萌发率较低,杂种劣势表现明显,从而限制了杂交种群的繁殖扩张。海桑属(*Sonneratia*)是红树林中重要的乔木型树种,目前包括 6 个物种和 3 个杂交种,广泛分布于东非、印度马来亚地区,直到澳大利亚东北部以及西太平洋一些岛屿<sup>[12]</sup>,以及我国的海南。海南海桑是典型的杂交后代,我国仅分布于海南岛。杂交后代的形态特征往往会介于 2 个亲

本之间,或者更偏向其中某个亲本<sup>[13]</sup>。形态上,杂交种海南海桑与父本卵叶海桑更为相似。对植物群落的调研发现,海南海桑自然种群发育较差,与亲本卵叶海桑种群属于衰退型,未来种群数量将进一步降低,处于极度濒危状态,被国家林业和草原局列入首批极小种群野生植物保护名录<sup>[14]</sup>。母本杯萼海桑种群属于增长型,种群发育良好<sup>[15]</sup>。繁殖力方面,海南海桑不育花粉的比例高达 54.43%,而亲本杯萼海桑是 8.76%,卵叶海桑为 3.25%<sup>[16]</sup>。这些都证明杂交种海南海桑确实存在杂种劣势现象,种群发育堪忧。目前我国红树林正面临显著而持续的退化,杂种劣势对红树林种群扩大极为不利,因此多方面开展红树林物种基础研究对红树林植物的保护和管理非常有必要。

健康的植物根部寄生着种类多样的微生物群落,能够促进植物生长、提高植物养分吸收和对胁迫的耐受性及对病原体的抵抗性等<sup>[17]</sup>。根际微生物组成受到微生物和环境之间复杂相互作用的影响,对湿地植物的研究发现,根特异性特征对环境变化的响应在世代间具有遗传性<sup>[18]</sup>,宿主基因组会显著影响根际微生物组成<sup>[17]</sup>。根际微生物组成在植物早期营养生长阶段是动态变化的,但在营养生长过程中开始趋于一致,并在繁殖阶段稳定下来。比较基因组学和多组学分析表明,植物根际分泌特征与微生物底物利用之间的代谢同步,不同植物物种的根际中的微生物群落呈现可预测模式<sup>[19-20]</sup>,并且植物根际核心微生物群的小部分微生物在整个植物发育过程中始终以高相对丰度保持稳定<sup>[21-22]</sup>,持续对寄主产生有益影响<sup>[23-24]</sup>。

宿主基因型之间的遗传差异可能导致根际微生物组的差异,从而影响植物的生长和适应能力,此外,宿主杂交劣势也可能对微生物的组成和功能产生影响,还可能影响微生物的定殖和互

作。因此,了解杂交劣势对植物微生物组的影响对于理解植物的适应性和生态系统功能具有重要意义。针对海南海桑群体衰退现状,本研究从根际微生物角度,研究杂交种海南海桑与其亲本根际微生物组成差异,为解释海南海桑的杂种劣势提供微生物方面的证据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

海南省东寨港国家级自然保护区内生长有海南海桑(*Sonneratia*×*hainanensis*, SH)、杯萼海桑(*Sonneratia alba*, SAL)和卵叶海桑(*Sonneratia ovata*, SO) 3 种红树植物。选择 3 种生长良好的红树植物,对每种红树植物分别选择 3 棵树,并从每棵树的不同部位采集至少 5 份土壤样品,混合均匀后装入无菌样品袋中,总共采集 9 份土样。采集的土样保存在专门的便携式冷却器中。在实验室进行进一步处理时,每个土样被分成两份,一份用于进行土壤理化性质分析,储存在 4 °C 下,另一份储存在-80 °C 下,用于提取根际土壤的总 DNA。

### 1.2 土壤理化性质测定

土壤的氮、碳、磷和钾含量测定参照文献[25]的方法进行。氮和碳含量使用碳氮元素分析仪进行测定,磷含量使用钼锑抗显比色法检测,钾含量使用醋酸铵浸提-火焰光度计法检测。每个土样进行 3 次重复测定。

### 1.3 根际土壤细菌群落与真菌群落组成测定

使用 MoBio 强力土壤 DNA 提取试剂盒(MOBIO 公司)结合液氮冷研磨提取土壤样品中基因组 DNA,并将提取的 DNA 样品送至广州赛哲生物科技股份有限公司进行 Illumina MiSeq PE300 高通量测序和分析。细菌群落组成检测使用细菌 16S rRNA 基因序列 V4-V5 区进行分析,

其扩增引物对为 515F (5'-GTGCCAGCMGCCG DGGTAA-3')和 907R (5'-7RCCAGCMGCCGDG GTAA-3)。真菌群落扩增引物对为 ITS5 (5'-GGA AGTAAAAGTCGTAACAAGG-3')和 ITS2 (5'-S2 AGTAAAAGTCTCATCGATGC-3')。具体的 PCR 反应体系和反应参数设置参考文献[26]。

## 1.4 生物信息学分析

### 1.4.1 根际细菌与真菌类群的分类

通过使用 barcodes 对不同处理组的序列信息进行整合聚类, 利用物种操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 研究微生物群落的组成。每个 OTU 的分类信息通过与 Silva 数据库的比对获取, 相似性达到 97%。为了寻找对细菌和真菌群落有影响的核心种群, 并分析所有微生物类群的功能和贡献, 根据 Dai 等<sup>[27]</sup>的提议, 把稀有类群的阈值设定为 0.1%, 丰富类群的阈值设置为 1.0%, 并根据它们的丰度将所有 OTU 拆分为 6 个专属类别: 稀有物种 (rare taxa, RT)、丰富物种 (abundant taxa, AT)、中等物种 (moderate taxa, MT)、条件稀有物种 (conditionally rare taxa, CRT)、条件丰富物种 (conditionally abundant taxa, CAT) 和条件稀有或丰富物种 (conditionally rare or abundant taxa, CRAT)。按照拆分结果把所有的 OTUs 进行拆分, 并将丰富物种分析结果绘制为 Venn 图。

### 1.4.2 $\alpha$ 多样性分析

$\alpha$  多样性可以反映样本中的微生物群落的丰富度和多样性, 应用每个 OTU 在样品中的有效序列的绝对丰度和相对信息<sup>[28]</sup>, 使用 QIIME (version 1.9.1) 计算 Observed OTUs、Shannon、Simpson 和 Chao1 指数, 以评估各样本中微生物群落的物种丰富度和多样性等差异。其中 Observed OTUs 指数表示实际观测值, 能直观地反映样本的物种丰富度; Chao1 指数反映群落的丰富度, 用于估计样品的物种丰富度; Simpson

指数反映优势种在群落中的地位和作用; Shannon 指数同样用来反映样品中的微生物的多样性。

### 1.4.3 $\beta$ 多样性分析

使用 QIIME 软件的 version 1.9.1, 通过主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA) 和主成分分析 (principal component analysis, PCA) 研究样本中微生物群落的组成<sup>[29]</sup>, 通过置换多元方差分析 (permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA) 检验样本间微生物种群结构差异并进行分析。

### 1.4.4 RDA 数据分析

采用冗余分析 (redundancy analysis, RDA) 研究微生物群落与环境因子之间的相关性, 计算出显著性因子对微生物群落影响的程度。其中微生物物种以 OTU 代替, 采用 R 语言进行作图<sup>[30]</sup>。

### 1.4.5 LEfSe 分析

线性判别分析效应大小 (linear discriminant analysis effect size, LEfSe) 是一种用于发现和解释 OTU 的分析工具, 它强调统计意义和生物相关性, 能够在组与组之间寻找具有统计学差异的生物标识 (biomarker)<sup>[31]</sup>。LDA 分值由柱状图的长短表示, 当它越长时, 则贡献度越大。将 Kruskal-Wallis 检验值设置为 0.05, Wilcoxon 检验值设置为 0.05, 对数据进行分类和评估将差异显著的物种的影响力 (LDA score) 的默认值设置为 4.0, 得到 LDA 值分布柱状图。

### 1.4.6 功能预测

原核生物分类单元功能注释 (functional annotation of prokaryotic taxa, FAPROTAX) 是 Louca 等<sup>[32]</sup>为分析微生物群落功能于 2016 年创建的方法, 它是基于原核微生物分类的功能注释数据库对微生物群落进行功能预测。FAPROTAX 方法的原理是基于可培养菌的文献资料来整理原核生物功能注释数据库, 并用

python 语言编写了 collapse tablepy 的脚本, 将 OTU 分类表通过 python 脚本和 FAPROTAX 数据库来预测海洋微生物群落功能<sup>[33]</sup>。根据细菌与真菌 OTUs 相对丰度及注释信息, 使用 FAPROTAX 数据库预测土壤微生物功能<sup>[33]</sup>。

#### 1.4.7 数据统计

使用 QIIME 软件评估根际土壤细菌和真菌群落多样性, 并得到多样性指数。然后, 使用 SPSS 软件进行 ANOVA+Duncan 检验, 根据不同的距离矩阵计算方式(Unweighted Unifrac 和 Weighted Unifrac)分别计算。使用 R 语言进行 PCoA 和 PCA 分析, 并绘制多样性展示图<sup>[34-35]</sup>。使用 GraphPad Prism 绘制相对丰度累加图展示。使用 SPSS 进行功能预测的 ANOVA+Duncan 检验和菌群的相关性分析(使用 Spearman 相关性检验), 显著性水平为  $P<0.05$ 。物种丰度拆分和

热图的绘制使用 R 语言进行<sup>[36]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 测序数据

对 3 种红树植物根际土壤细菌群落和真菌群落进行测序, 每种植物 3 个重复, 共 18 个样本, 结果显示(表 1), 每个样本的测序数量都超过了 3 万条, 稀释性曲线趋于平台期(数据未显示)。

### 2.2 根际土壤理化性质

如表 2 所示, 子代海南海桑(SH)与其亲本杯萼海桑(SAL)、卵叶海桑(SO)的根际土壤全碳含量并无显著差异。在全氮(total nitrogen, TN)、全磷(total phosphorus, TP)以及速效钾(available potassium, AK)的含量上, 母本杯萼海桑均显著高于其他 2 种海桑。在碳氮比(C/N)方面, 各样点比值为子代海南海桑>父本卵叶海桑>母本杯

表 1 土壤样本测序数据量统计

Table 1 Statistical analysis of soil sample sequencing data

Sample	SH1	SH2	SH3	SAL1	SAL2	SAL3	SO1	SO2	SO3
Bacteria OTUs	6 231	6 046	6 141	1 037	1 905	1 336	6 184	6 587	6 641
Reads	39 429	37 210	37 469	39 702	37 969	37 147	39 255	37 220	37 443
Fungi OTUs	639	187	604	436	437	424	326	365	213
Reads	46 387	34 489	55 934	45 146	45 669	58 082	35 249	51 720	35 469

操作分类单元 OTUs 为按照 97%的相似度对非重复序列(不含单序列)进行 OTU 聚类得到的 OTU 代表序列量

The operation classification unit OTUs represents the number of sequences obtained by OTU clustering non repetitive sequences (excluding single sequences) based on 97% similarity.

表 2 土壤样品的理化性质(平均值±标准误差)

Table 2 Physicochemical properties of soil samples (mean±SD)

理化因子	海南海桑	杯萼海桑	卵叶海桑
Physical and chemical factors	SH	SAL	SO
土壤全碳 TC (mg/g)	17.03±3.70a	15.60±2.30a	14.80±3.48a
土壤全氮 TN (mg/g)	1.69±0.05c	4.64±0.04a	1.90±0.04b
土壤全磷 TP (mg/g)	0.23±0.01b	0.67±0.03a	0.14±0.01c
速效钾 AK (mg/g)	0.20±0.01c	0.67±0.01a	0.30±0.01b
碳氮比 C/N	10.02±2.00a	3.36±0.52b	7.82±2.00ba
氮磷比 N/P	7.36±0.55b	6.93±0.24b	18.86±0.94a

不同字母代表在  $P<0.05$  上差异显著

Different letters represent differences significant at  $P<0.05$ .

萼海桑, 其中子代海桑与父本海桑差异不显著。总体来看, 子代海南海桑与父本卵叶海桑在土壤理化性质方面更为相似, 两者与母本杯萼海桑差异较明显。根际土壤氮素和磷含量是三者差异比较显著的, 这 2 种都是植物生长的限制性营养元素。母本杯萼海桑的土壤含氮量约为海南海桑和卵叶海桑的 2.5 倍, 土壤含磷量约为海南海桑和卵叶海桑的 3.0 倍, 海南海桑的含氮量和含磷明显低于母本杯萼海桑, 与父本含量相似。

### 2.3 根际土壤细菌群落与真菌群落组成分析

如图 1A 所示, 在细菌群落中, 门水平上子代海南海桑中丰度最高的依次是假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、绿弯菌门(*Chloroflexeta*)、放线菌门(*Actinomycetota*)和酸杆菌门(*Acidobacteriota*), 共占 80.45%。母本杯萼海桑中依次是假单胞菌门、热栖菌门(*Thermi*)、拟杆菌门(*Bacteroidota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*), 共占 86.39%。父本卵叶海桑中依次是假单胞菌门、拟杆菌门、绿硫菌门(*Chlorobiota*)、绿弯菌门, 共占 63.49%。其中在 3 种海桑根际细菌中假单胞菌门的丰度最高, 子代、母本和父本含量分别为 55.33%、47.36%和 41.37%。在拟杆菌门、*Thermi*、厚壁菌门、热袍菌门和绿硫菌门上, 子代海南海桑相较于亲本丰度都有所减少。其中子代 SH 的 *Thermi*、厚壁菌门、热袍菌门(*Thermotogae*)的相对丰度分别只有 0.09%、0.73%、0.00%。在绿弯菌门、酸杆菌门、放线菌门和浮霉状菌门上, 海南海桑相较于亲本丰度都有所增加。其中母本杯萼海桑中的绿弯菌门、酸杆菌门、放线菌门、浮霉状菌门的相对丰度分别只有 0.31%、0.86%、0.15%、0.16%, 父本卵叶海桑放线菌门的相对丰度只有 0.60%。如图 1B 所示, 在真菌群落中, 子代海南海桑中丰度最高的依次是子囊菌门(*Ascomycota*)、担子菌门

(*Basidiomycota*)和虫霉门(*Entomophthoromycota*), 共占 46.98%。母本杯萼海桑中依次是子囊菌门、担子菌门和被孢霉门(*Mortierellomycota*), 共占 36.83%。父本卵叶海桑中依次是子囊菌门、担子菌门和 *Entomophthoromycota*, 共占 56.48%。在 3 种海桑根际细菌中子囊菌门丰度最高, 海南海桑含量为 44.74%、杯萼海桑为 27.66%、卵叶海桑为 53.27%。在子囊菌门、担子菌门和 *Mortierellomycota* 上子代海桑相较于亲本丰度都有所减少。然而在 *Entomophthoromycota* 子代海桑相较于亲本丰度都有所增加。

细菌群落在属水平上, 如图 1C 分析可知, 细菌群落中子代海南海桑占比前三的属依次是脱硫球菌属(*Desulfococcus*)、红游动菌属(*Rhodoplanes*)、*Mariprofundus*, 分别占比为 6.13%、2.38%、0.21%, 共占 8.72%。母本杯萼海桑中占比前三的属依次是 B-42 (*unclassified Trueperaceae*)、*Mariprofundus*、*Desulfococcus*, 分别占比为 19.84%、3.77%、0.20%, 共占 23.81%。父本卵叶海桑占比前三的属依次是 *Desulfococcus*、铁锈色细杆菌属(*Robiginitalea*)、氧化硫单胞菌属(*Sulfurimonas*), 分别占比为 3.38%、1.52%、1.12%, 共占 6.02%。其中子代海南海桑和父本卵叶海桑的 *Desulfococcus* 丰度最高, 而母本杯萼海桑的 B-42 丰度最高。在 B-42、*Mariprofundus* 和 *Sulfurimonas* 上, 子代海桑相较于亲本丰度有所减少, 其中 B-42、*Mariprofundus* 和 *Sulfurimonas* 的相对丰度分别只有 0.09%、0.21%、0.01%。在 *Desulfococcus* 和 *Rhodoplanes* 上, 子代海桑相较于亲本丰度都有所增加。此外母本杯萼海桑的 *Desulfococcus* 的相对丰度只有 0.20%, 父本卵叶海桑的 *Rhodoplanes* 的相对丰度只有 0.02%。

在属水平上的真菌群落结构中, 由图 1D 分析可知, 3 种植物主要的优势类群有所不同, 子

代海南海桑占比前三的属依次是蓝状菌属(*Talaromyces*)、枝顶孢属(*Acremonium*)和曲霉属(*Aspergillus*), 共占 36.66%。母本杯萼海桑中占比前三的属依次是 *Aspergillus*、毛癣菌属(*Trichophyton*)和红酵母属(*Rhodotorula*), 共占 14.02%。父本卵叶海桑占比前三的属依次是 *Aspergillus*、异头孢霉(*Xenoacremonium*)和马拉色菌属(*Malassezia*), 共占 41.96%。在 *Aspergillus*、*Trichophyton* 和 *Rhodotorula* 上子代海桑相较于亲本丰度都有所减少。在 *Talaromyces* 和 *Acremonium* 上子代海桑相较于亲本丰度都有所增加。

综上所述, 子代海南海桑与亲本海桑在根际微生物细菌群落和真菌群落中都有相似性, 但相

较于母本杯萼海桑而言子代海南海桑与父本卵叶海桑更为相似。在细菌群落中, 门水平上, 子代海南海桑的绿弯菌门、酸杆菌门、放线菌门、浮霉菌门的相对丰度远大于母本杯萼海桑, 却与父本卵叶海桑接近, 母本杯萼海桑的 *Thermi* 的相对丰度远大于海南海桑和卵叶海桑。属水平上, 以 *Desulfococcus* 和 *Rhodoplanes* 为主的 18 个共有属组成了根际主要核心属, 占测序总量 15.77%, 其中 10 个属相较于亲本而言, 子代海南海桑相对含量有所增加, 如 *Desulfococcus* 和 *Rhodoplanes* 等(附表 1, 数据已提交国家微生物科学数据中心, 编号: NMDCX0000267)。B-42、*Mariprofundus*、*Halorhodospira* 等 8 个属

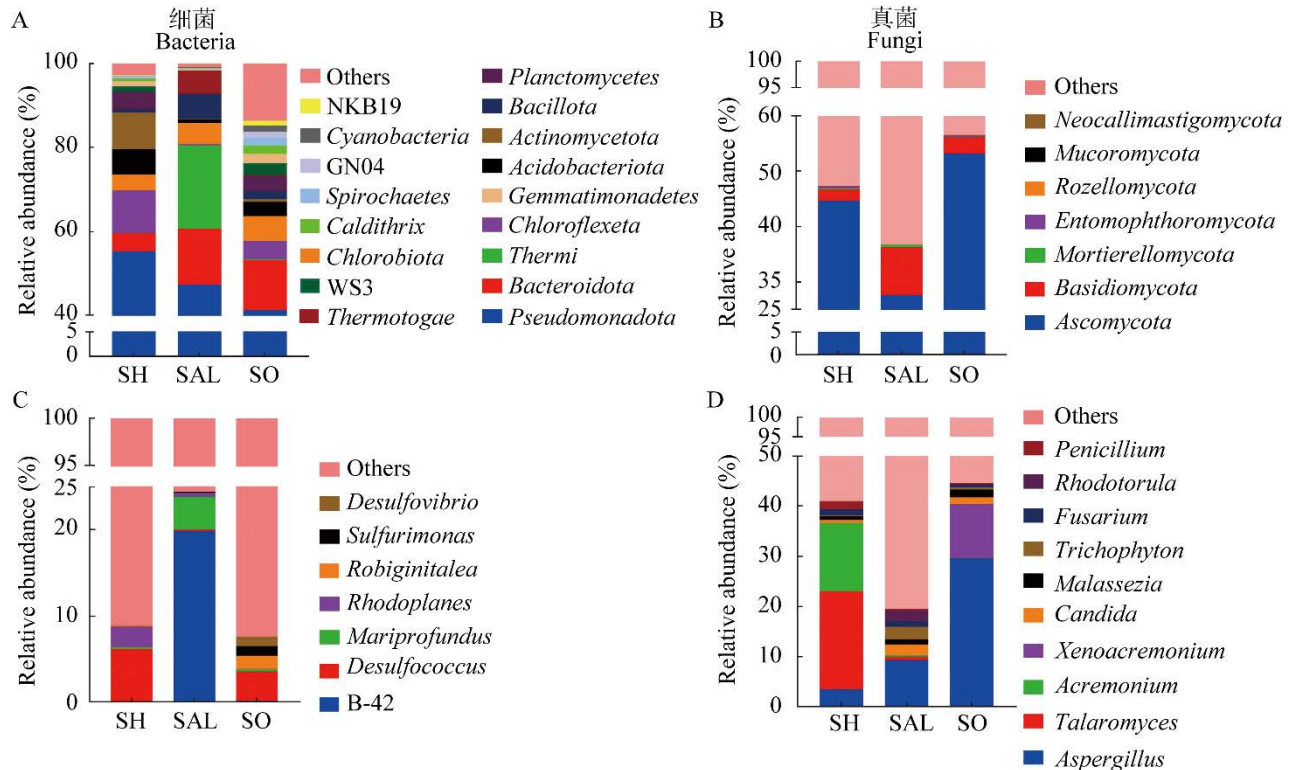


图 1 三种海桑属红树植物根际微生物物种组成分析 A: 细菌门水平. B: 真菌门水平. C: 细菌属水平. D: 真菌属水平. SH: 海南海桑; SAL: 杯萼海桑; SO: 卵叶海桑

Figure 1 Analysis of the rhizosphere microbial composition in three *Sonneratia* mangrove plants. A: Bacterial phylum level. B: Fungal phylum level. C: Bacterial genus level. D: Fungal genus level. SH: *Sonneratia x hainanensis*; SAL: *Sonneratia alba*; SO: *S. ovata*.



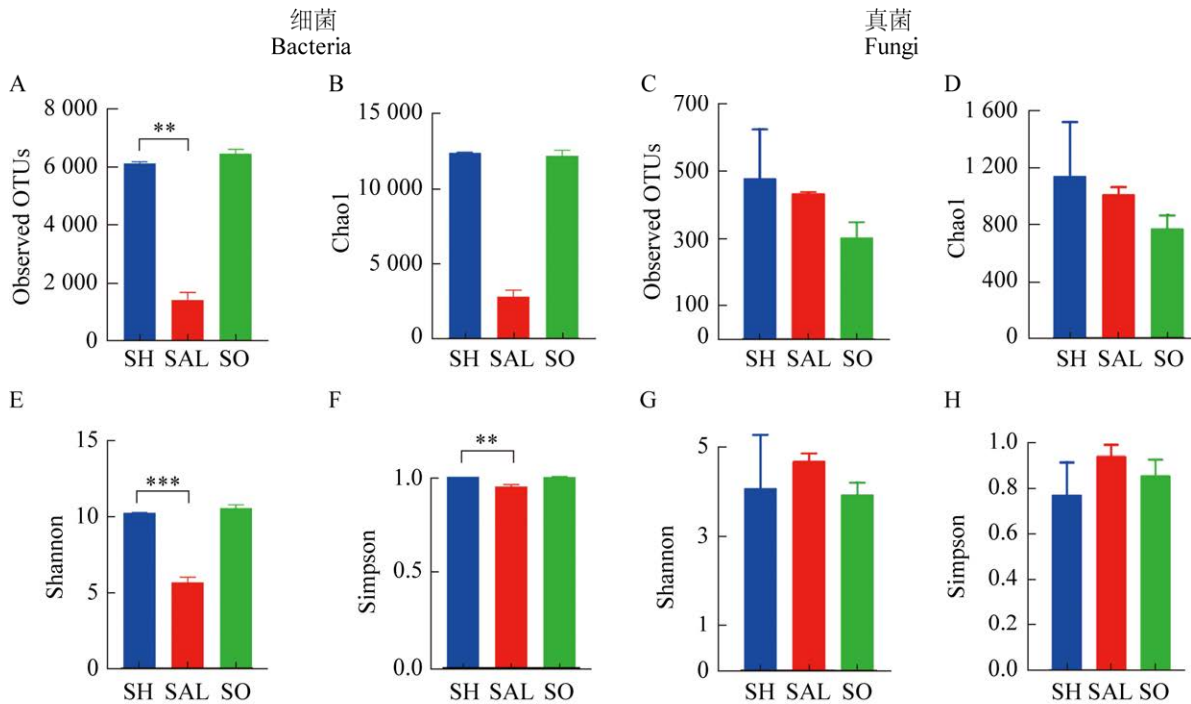
在子代海南海桑的相对丰度较于亲本明显降低。子代海桑和父本海桑相对丰度最高的属均为 *Desulfococcus*, 且二者占比之差为 2.57%, 而母本海桑丰度最高的优势属为 B-42, 占比为 19.84%。真菌群落中, 子代海南海桑和父本卵叶海桑丰度前三的门相同, 相对于母本而言各优势门占比更为接近。研究发现子代海南海桑相较于父本卵叶海桑与母本杯萼海桑在微生物群落结构上差异较大, 因此可能造成子代海桑与母本海桑在环境的适应能力上有所差异。

## 2.4 $\alpha$ 多样性分析

如图 2A、2E、2F 所示, 在细菌群落中, 可

以明显看到 Chao1 指数图与 Observed OTUs 指数图中母本杯萼海桑要低于子代与父本海桑, 表明母本杯萼海桑群落的物种丰富度低于子代海桑; 在 Shannon 指数图中同样可发现母本杯萼海桑低于子代海桑, 表明母本杯萼海桑在群落微生物多样性上要低于子代海桑; 子代海南海桑与母本杯萼海桑相比, Observed OTUs、Shannon 和 Simpson 指数中均存在显著性差异。然而在 Chao1 指数中则与母本无显著性差异。

在真菌群落中, Chao1 指数图与 Observed OTUs 指数图中显示 3 种海桑呈梯度排布呈下降趋势, 依次为子代海桑、母本海桑、父本海桑。



**图 2** 三种海桑属红树植物根际微生物群落  $\alpha$  多样性分析 A: 细菌 Observed OTUs 指数. B: 细菌 Chao1 指数. C: 真菌 Observed OTUs 指数. D: 真菌 Chao1 指数. E: 细菌 Shannon 指数. F: 细菌 Simpson 指数. G: 真菌 Shannon 指数. H: 真菌 Simpson 指数. Observed OTUs: Observed OTUs 指数; Chao1: Chao1 指数; Shannon: 香农指数. Simpson: 辛普森指数. \*\*\*: 在 0.005 水平(双侧)上极显著相关; \*\*: 在 0.01 水平(双侧)上极显著相关

**Figure 2** Analysis of the alpha diversity index of rhizosphere microbial communities in three *Sonneratia* mangrove plants. A: Bacterial Observed OTUs index. B: Bacterial Chao1 index. C: Fungal Observed OTUs index. D: Fungal Chao1 index. E: Bacterial Shannon index. F: Simpson index of bacteria. G: Fungal Shannon index. H: Fungal Simpson index. Observed OTUs: Observed OTUs index. Chao1: Chao1 index; Shannon: Shannon index; Simpson: Simpson index. \*\*\*: Significantly correlated at the 0.005 level (two-tailed); \*\*: Significantly correlated at the 0.01 level (two-tailed).

这表明子代海桑真菌物种丰富度要高于其亲本海桑，在 Shannon 指数与 Simpson 指数图中，母本杯萼海桑高于子代及父本海桑，但无显著性差异。

综上所述，在细菌与真菌群落中，子代海南海桑与母本杯萼海桑呈现出不同的显著性差异。子代海桑在细菌群落中表现出更高的丰富度与多样性。

## 2.5 $\beta$ 多样性研究

由图 3A 分析可知，对细菌群落而言，各组

间距离较大，组内距离较小，表示各组间差异较大，组内差异较小。从整体来看子代海南海桑相较于父本卵叶海桑，与母本杯萼海桑距离较大。

由图 3B 分析可知，对真菌群落而言，各组间距离较小，组内距离较大，表示各组间差异较小，组内差异较大。从加权 Unifrac 距离来看，子代海南海桑与母本杯萼海桑的距离更远。

由图 3C、3D 分析可知，在细菌群落方面，杯萼海桑组内距离大，表明母本杯萼海桑组内差异大；海南海桑与杯萼海桑组间距离大，表明

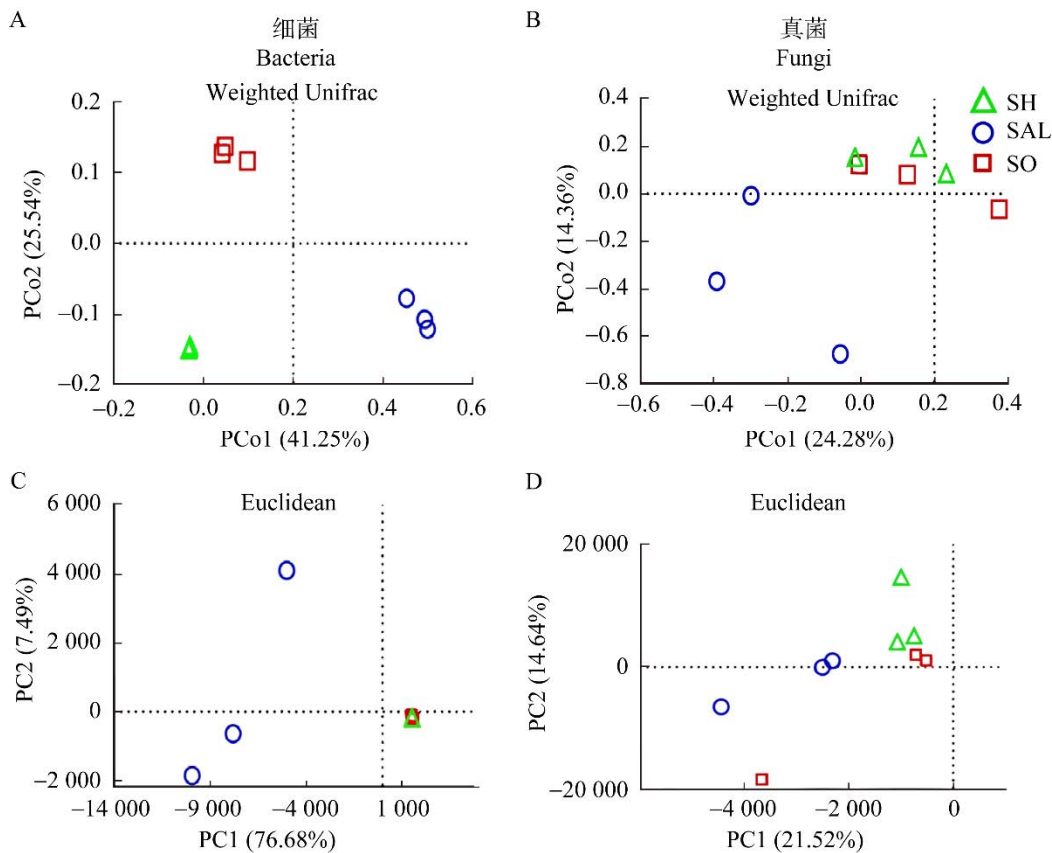


图 3 基于不同距离矩阵的 3 种海桑属红树植物根际微生物群落分析 A: 细菌基于 Weighted Unifrac 距离分析. B: 真菌基于 Weighted Unifrac 距离分析. C: 细菌基于 Euclidean 距离分析. D: 真菌基于 Euclidean 距离分析. Weighted Unifrac: 加权组平均聚类分析; Euclidean: 欧氏距离

Figure 3 Analysis of rhizosphere microbial community based on different distance matrices in three *Sonneratia* mangrove plants. A: Bacteria based on Weighted Unifrac distance analysis. B: Fungi based on Weighted Unifrac analysis. C: Bacteria based on Euclidean distance analysis. D: Fungi based on Euclidean distance analysis. Weighted Unifrac: Weighted group mean cluster analysis; Euclidean: Euclidean distance.

子代海南海桑与母本杯萼海桑组间的差异大。相较于杯萼海桑,卵叶海桑组内距离小且海南海桑与卵叶海桑组间距离小,表明子代海南海桑与父本卵叶海桑组间的差异小。在真菌层面,各组间距离较小,组内距离较大,从整体来看相较于母本杯萼海桑,子代海南海桑与父本卵叶海桑距离更近。

综上所述,据此2种距离来看,相较于母本杯萼海桑而言子代海南海桑与父本卵叶海桑的距离更近,说明子代海桑与父本海桑的根际微生物群落的结构更为相似,与母本海桑结构差异较大。这与此前3种海桑根际土壤微生物组成分析中得出的结论相符。

## 2.6 物种丰度分析

为寻找3种海桑根际微生物中重要类群,根据拆分OTU表得到CRAT组(即在所有样本中丰度均高于0.1%,同时在部分样本中丰度高于1.0%的物种),比较了子代与亲本的距离。如图4所示,在细菌群落方面,母本杯萼海桑所含的条件稀有或丰富根际物种多于子代海南海桑与父本卵叶海桑二者之和,子代与其亲本共有的条件稀有或丰富的OTU共有16个,其中9个属假单胞菌门、4个属拟杆菌门、2个属于绿硫菌门、

1个属于 *Thermi* 门;在真菌群落方面,母本杯萼海桑所含的条件稀有或丰富根际真菌物种同样多于子代海南海桑和父本卵叶海桑,而子代海南海桑和父本卵叶海桑的物种数量较为接近。子代与其亲本共有的条件稀有或丰富的OTU共有17个,其中有8个属于子囊菌门、1个属于担子菌门。

综上所述,3种海桑根际细菌和真菌群落中有相同的条件稀有或丰富物种,此外母本杯萼海桑中的条件稀有或丰富物种的多样性大于子代和父本,这也说明在3种海桑根际细菌与真菌群落在结构上存在相似性的同时在部分物种上也有所差异。此外母本杯萼海桑根际微生物的多样性大于其子代与父本,因此相较于父本卵叶海桑,子代海南海桑在根际微生物群落结构上与其母本的距离更为明显。

## 2.7 RDA 分析

在细菌群落方面,由图5A可以看出,RDA1轴占72.00%的解释量,RDA2轴占25.93%的解释量,共同解释了97.93%。3种海桑群落之间距离较远,说明此3种海桑群落之间差异较大。此外环境因子对细菌的影响程度为  $TN > AK > TP > TC$ 。环境因子全氮含量、全磷含量之间的夹

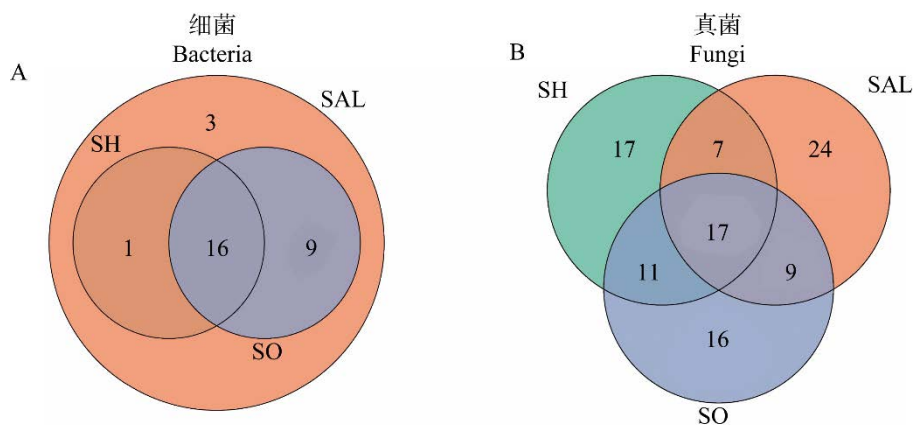


图4 CRAT组 Venn图 A: 细菌. B: 真菌

Figure 4 Venn diagram of CRAT group. A: Bacteria. B: Fungi.

角均为锐角,表明它们之间可能存在相互协同关系。结合图 5A 和表 3 可知,7 个属与全碳均无显著相关性,其中 *Desulfovibrio* 属同 *Robiginitalea* 属与全磷呈极显著负相关;B-42 属同 *Mariprofundus* 属与全氮呈极显著正相关,而 *Desulfococcus* 属与全氮呈极显著负相关。

在真菌群落方面,由图 5B 可以看出,RDA1

轴占 31.73%的解释量,RDA2 轴占 22.79%的解释量,共同解释了 54.52%。杯萼海桑群落与卵叶海桑群落较近,说明杯萼海桑与卵叶海桑真菌群落结构组成较为相似。环境因子对真菌的影响程度为 TC>AK>TN>TP。环境因子全氮含量、全磷含量之间的夹角为锐角,说明它们之间可能存在相互协同关系。结合图 5B 和表 4 可知,

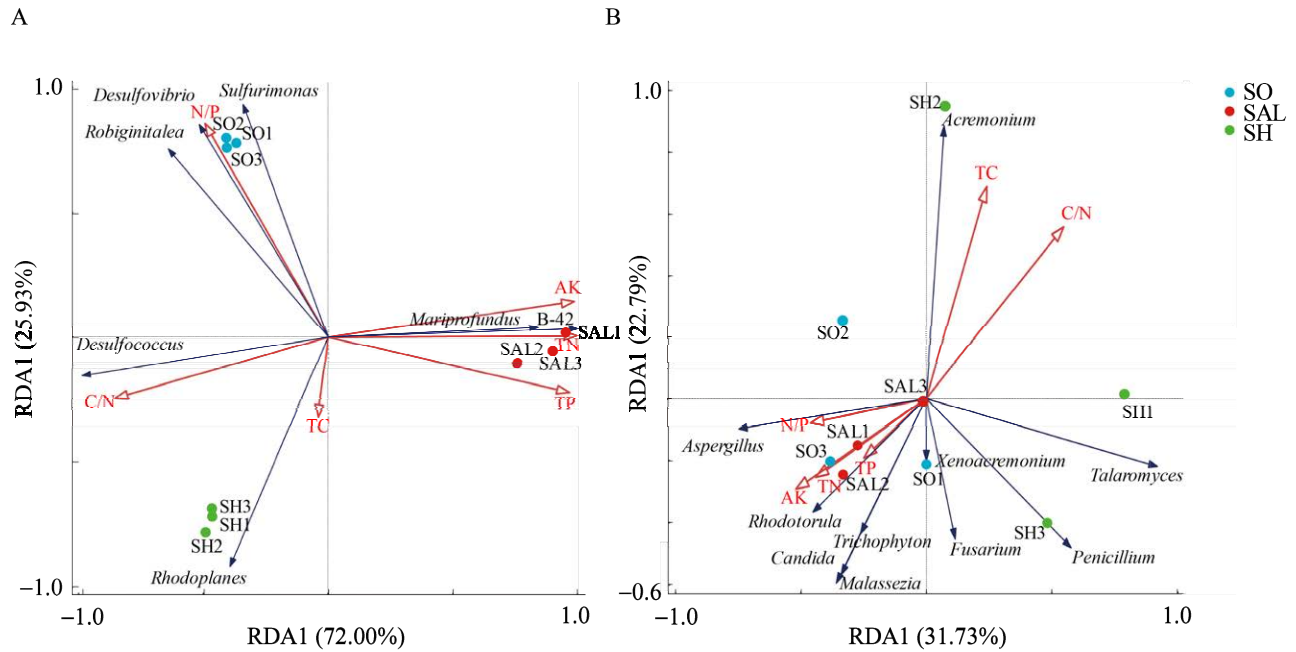


图 5 三种红树植物根际土壤微生物群落结构与环境因子的 RDA 分析 A: 细菌. B: 真菌

Figure 5 RDA analysis of microbial community structure and environmental factors in the rhizosphere soil of three *Sonneratia* mangrove plants. A: Bacteria. B: Fungi.

表 3 三种红树植物根际土壤细菌属与环境因子的相关性

Table 3 Correlation between bacterial genera and environmental factors in the rhizosphere soil of three *Sonneratia* mangrove plants

Strain	土壤全碳 TC	土壤全氮 TN	土壤全磷 TP	速效钾 AK	碳氮比 C/N	氮磷比 N/P
B-42	-0.084	0.867**	0.400	0.854**	-0.800**	-0.050
<i>Desulfococcus</i>	-0.033	-0.833**	-0.467	-0.921***	0.700*	0.217
<i>Desulfovibrio</i>	-0.218	-0.350	-0.917***	-0.435	0.483	0.817**
<i>Mariprofundus</i>	-0.444	0.833**	0.517	0.795*	-0.917***	-0.267
<i>Rhodoplanes</i>	0.209	-0.383	0.483	-0.418	0.267	-0.633
<i>Robiginitalea</i>	-0.100	-0.400	-0.883**	-0.393	0.567	0.733*
<i>Sulfurimonas</i>	-0.276	0.417	-0.467	0.460	-0.283	0.567

\*\*\*在 0.001 水平(双侧)上极显著相关; \*\*在 0.01 水平(双侧)上极显著相关; \*在 0.05 水平(双侧)上显著相关

\*\*\* was highly significant at the 0.001 level (two-sided); \*\* was highly significant at the 0.01 level (two-sided); \* was significant association at the 0.05 level (two-sided).

表 4 三种红树植物根际土壤真菌菌属与环境因子的相关性

Table 4 Correlation between fungal genera and environmental factors in the rhizosphere soil of three *Sonneratia* mangrove plants

Strain	土壤全碳 TC	土壤全氮 TN	土壤全磷 TP	速效钾 AK	碳氮比 C/N	氮磷比 N/P
<i>Acremonium</i>	0.800**	-0.085	0.220	0.034	0.390	-0.203
<i>Aspergillus</i>	-0.519	0.700*	-0.100	0.661	-0.650	0.367
<i>Candida</i>	-0.315	0.237	0.085	0.204	-0.458	-0.034
<i>Fusarium</i>	0.134	0.017	0.494	-0.034	-0.184	-0.536
<i>Malassezia</i>	-0.770*	0.467	-0.133	0.268	-0.650	0.317
<i>Penicillium</i>	0.183	-0.493	0.037	-0.413	0.146	-0.164
<i>Rhodotorula</i>	-0.387	0.787*	0.561	0.807**	-0.879**	-0.310
<i>Talaromyces</i>	-0.184	-0.495	0.228	-0.298	0.119	-0.485
<i>Trichophyton</i>	-0.067	0.267	0.367	0.243	-0.467	-0.283
<i>Xenoacremonium</i>	0.275	-0.137	-0.274	-0.138	0.274	0.274

$R > 0.7$  (相关性大于 0.7); \*\* 在 0.01 水平(双侧)上显著相关; \* 在 0.05 水平(双侧)上显著相关

$R > 0.7$  (correlation greater than 0.7); \*\* was highly significant at the 0.01 level (two-sided); \* significant association at the 0.05 level (two-sided).

*Acremonium* 属与全碳呈极显著正相关, *Malassezia* 与全碳呈显著负相关, *Aspergillus* 属和 *Rhodotorula* 属与全氮呈显著正相关。

利用蒙特卡洛(Monte Carlo)置换检验对 6 个环境变量的单因素影响及条件影响变化状况的分析表明(表 3、表 4), 细菌群落的环境变量中全氮对植物群落的影响最大(解释度均为 71.30%), 土壤细菌群落结构受到氮元素影响较为显著。真菌群落的环境变量中碳氮比对植物群落的影响最大(解释度均为 20.60%), 土壤真菌群落结构受到碳和氮的影响较为显著。

## 2.8 LEfSe 分析

为了进一步寻找子代与亲本物种组成的差异, 根据 LEfSe 分析方法, 我们发现在细菌群落中存在差异, 结果见图 6A, 子代海南海桑与母本杯萼海桑共有 27 个差异物种, 其中子代海桑差异物种 13 个, 主要判别细菌类群是门水平的 *Pseudomonadota*、*Chloroflexeta*、*Actinomycetota* 等和科水平的脱硫杆状菌科(*Desulfobacteraceae*) 等。母本海桑差异物种 14 个, 分别为门水平的 *Thermi* 等, 科水平的楚帕氏菌科(*Trueperaceae*) 和黄单胞菌科(*Xanthomonadaceae*) 等和属水平的 B-42。在真菌群落中, 如图 6B 子代海桑与母

本海桑共有 11 个差异物种, 其中子代海桑差异物种 5 个, 主要判别真菌类群是门水平的子囊菌门(*Ascomycota*) 等, 属水平的 *Talaromyces* 等。母本海桑差异物种 6 个, 分别为门水平的担子菌门(*Basidiomycota*), 科水平的裸囊菌科(*Arthrodermataceae*) 等, 属水平的 *Aspergillus* 和 *Trichophyton* 等。

如图 6C、6D 所示, 子代海南海桑和父本卵叶海桑的细菌和真菌 LDA 柱状图所示, 在细菌群落中, 子代海桑与父本海桑共有 16 个差异物种, 其中子代海桑差异物种 11 个, 分别为门水平的 *Pseudomonadota*、*Actinomycetota*、*Chloroflexeta* 等和属水平的 *Desulfococcus* 等。父本差异物种 5 个, 分别为门水平 *Bacteroidota* 和 *Chlorobiota* 等和科水平的着色菌科(*Chromatiaceae*) 和脱硫弓菌科(*Desulfarculaceae*) 等。在真菌群落中, 子代海桑与父本海桑共有 5 个差异物种, 其中子代海桑差异物种 4 个, 分别为属水平的 *Talaromyces* 等。父本差异物种 1 个, 为属水平的 *Aspergillus*。

以上结果与群落结构组成与差异性分析的结果相似, 进一步印证子代劣势的微生物群落的联系。

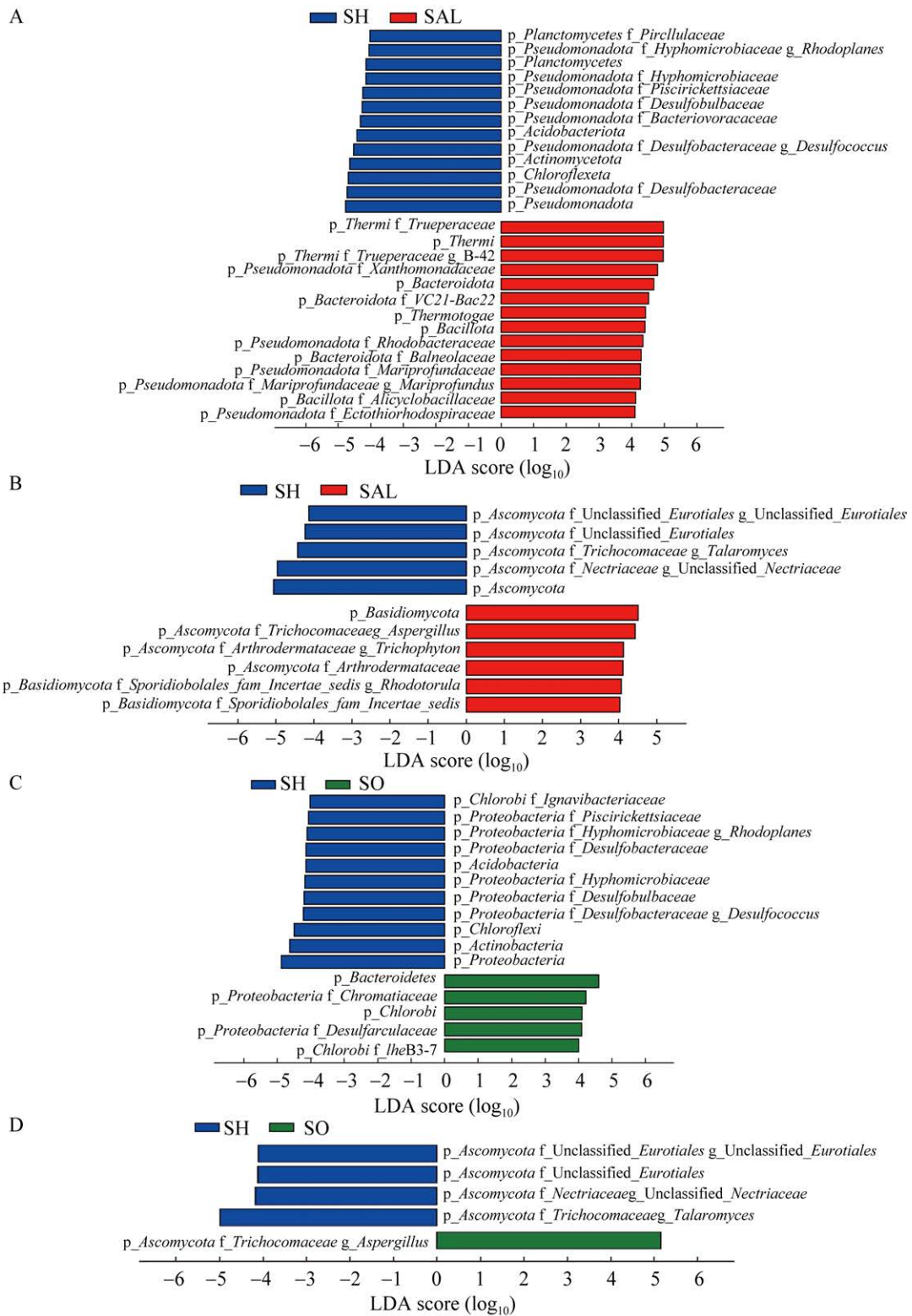


图 6 子代海桑与其亲本根际微生物群落结构 LefSe 分析 A、C: 细菌. B、D: 真菌

Figure 6 LefSe analysis of hybrids with its parents rhizosphere microbial community. A, C: Bacteria. B, D: Fungi.

## 2.9 功能预测

对 3 种海桑植物根际土壤细菌和真菌群落功能进行 FAPROTAX 分析(附表 3, 数据已提交国家微生物科学数据中心, 编号: NMDCX0000267)发现, 细菌中有 47 种, 真菌有 3 种功能被注释。细菌中丰富最高的是参与硫酸盐呼吸相关的功能基因, 其次是 19 种参与碳循环相关的功能基因, 尤其是好氧生物的异养代谢基因丰度较高(aerobic chemoheterotrophy), 细菌群落还发现有硝酸盐呼吸代谢途径。在厌氧呼吸中, 反硝化和硫酸盐还原是重要的能量产生途径, 这些代谢途径可能代表了特定细菌的重要能源来源。对中国和南美红树林生态系统的 380 个沉积物样本分析发现, 硫酸盐还原菌是底泥重要类群, 参与了硫循环和氮循环, 对维护群落的稳定非常重要<sup>[37]</sup>。本研究发现, 3 种红树根际原核生物群落具有完整的硝酸盐还原(包括异化和同化途径)、反硝化和固氮途径。根际中的 *Desulfococcus* 是本研究细菌中的优势类群, 可能参与了这些重要的代谢过程。本研究发现碳代谢中好氧代谢基因频率较高, 这与红树周期性水淹的习性似乎不符, 最近的研究发现, 在菌藻共生系统中, 藻类可通过光合作用为异养微生物提供氧气, 使其能够在无需外部氧气供应的情况下进行好氧生物降解和矿化有机污染物预测<sup>[38]</sup>。在红树林底泥中, 由于底栖动物的扰动也可以使微生物局部含氧, 因此在缺氧区可能也存在部分耗氧微生物。

功能预测中真菌功能较少, 分布在纤维素分解、木糖溶解和化学异养等方面(附表 3, 数据已提交国家微生物科学数据中心, 编号: NMDCX0000267), 可能是数据库信息不足的原因。红树林中的真菌在碳循环中发挥重要作用, 可能参与各种碳水化合物和肽底物的降解, 并且被发现具有完整的异化硝酸盐还原途径和部分

硝化途径, 但与原核生物群落相比, 红树林真菌群落可能发挥着不同的作用<sup>[39]</sup>。曲霉属为 3 种海桑共有的优势种, 文献报道具有提高土壤中的硝态氮和有效钾含量, 降低铵态氮含量, 并影响 N-乙酰基- $\beta$ -D-氨基葡萄糖苷酶(N-acetyl- $\beta$ -D-glucosaminidase, NAG)的活性<sup>[40]</sup>。

对 3 种海桑根际细菌群落功能基因进行差异分析(图 7), 发现子代海南海桑相较于亲本呈显著差异的有 18 种功能基因, 主要参与氮循环和碳循环。除硫化化合物的暗氧化功能外, 子代其余功能基因丰度均优于亲本。在子代海南海桑的优势属中发现 *Rhodoplanes* 属可以参与硝酸盐呼吸<sup>[41]</sup>。

## 3 讨论与结论

自 1999 年, 海南海桑被鉴定为杯萼海桑与卵叶海桑的天然杂交种, 人们从形态学、花粉学、细胞学等方面对海南海桑进行了多方面研究, 发现了诸多海南海桑显著的杂种劣势特征, 比如有明显的雄蕊退化现象<sup>[42]</sup>、泌盐腺小于母本杯萼海桑<sup>[43]</sup>, 种群发育调查发现子代海南海桑和卵叶海桑为衰退型, 未来繁衍困难, 而母本杯萼海桑为增长型, 演替更新良好<sup>[15]</sup>, 面对目前红树林种群不断衰退的现状, 如何保护和扩大红树林的面积, 研究者正积极努力地进行各方面红树林相关研究, 作为红树林生态系统重要的参与者, 杂交种的根际微生物研究没有得到关注。

杂交后代的形态特征往往会介于两个亲本之间, 或者更偏向其中某个亲本<sup>[44]</sup>。形态上, 杂交种海南海桑与父本卵叶海桑更为相似。对根际微生物群落组成分析表明, 子代海南海桑根际细菌和真菌群落与亲本虽然不存在显著差异, 但子代微生物群落明显与父本卵叶海桑更相似, 和形态观察结果一致。从子代根际微生物组成, 研究发现, 子代与亲本的主要类群非常相似, 但又从亲本根际微生物中继承了不同的特有种类。细

菌群落方面，门水平上假单胞菌门是主要的类群，在 3 种海桑种相对丰度均超过 41.00%，并且明显看出子代相较于母本和父本丰度分别增加了 7.97%和 13.96%。曾志浩等对秋茄、白骨壤、桐花树 3 种其他红树植物细菌群落组成分析中同样发现假单胞菌门占比最大<sup>[45]</sup>。假单胞菌门是在水环境中是重要的类群，有研究报道指出假单胞菌门为湿地环境第一优势门<sup>[46]</sup>，与环境氮、硫循环和污染修复等方面紧密相关<sup>[47]</sup>。属水平上，以 *Desulfococcus* 和 *Rhodoplanes* 为主的 18 个属组成了根际主要核心属，其中 10 个属相较于亲本而言，子代海南海桑相对含量有所增加，如 *Desulfococcus* 和 *Rhodoplanes* 等。文献报道，*Desulfococcus* 属可参与硫酸盐还原过程，促进微生物的固氮功能<sup>[41]</sup>。*Rhodoplanes* 可以参与硝酸盐还原。其他丰度较高的类群 B-42、*Mariprofundus*、*Halorhodospira* 等 8 个属在子代

海南海桑的相对丰度较于亲本明显降低，它们大都是嗜盐或耐盐性菌，能够进行固氮反应，这些种群在亲本中可提高植物的环境适应性。真菌群落方面，门水平上，3 种海桑真菌群落结构十分相似，但属水平上结构差异较大。门水平上子囊菌门、担子菌门为主要核心菌群，子囊菌门在纤维素、木质素、多糖和蛋白质的降解中起到重要作用，与红树林丰富的有机质含量相关<sup>[47]</sup>。属水平上，*Aspergillus*、*Talaromyces*、*Acremonium* 为核心菌群，曲霉属具有纤维素分解、化能异养及木聚糖分解三大功能，在一定程度上能促进海桑根际有机质的分解，为海桑和其他微生物提供营养。目前真菌相关的深入研究相较于细菌而言还较少，部分属的功能待研究。总之，子代的根际中一些嗜盐菌比例相对亲本降低，而很多嗜盐菌都具有良好的促生效果，可能会影响子代的环境适应性。

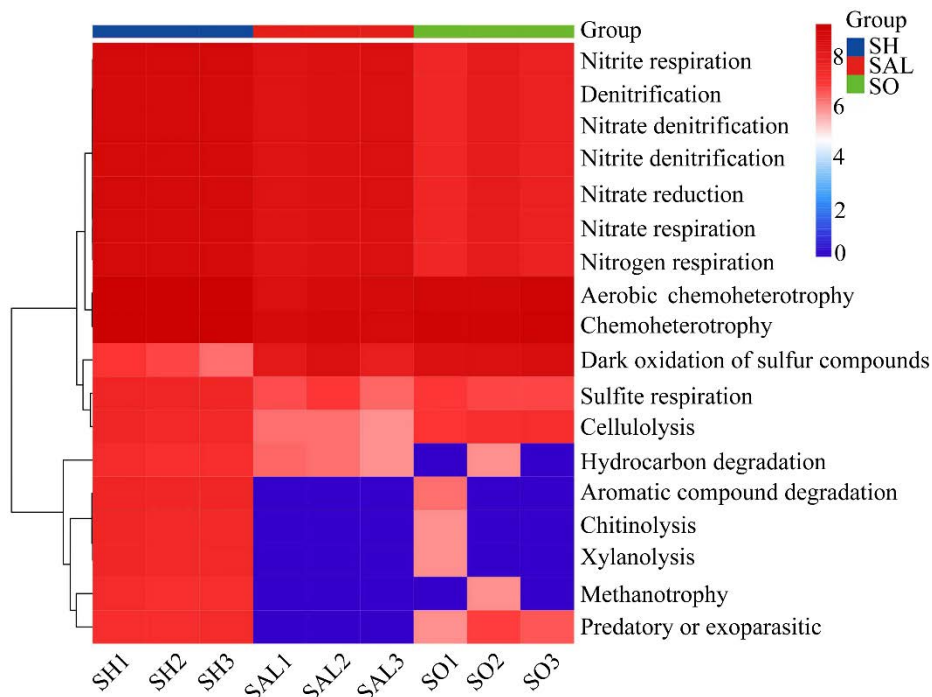


图 7 海南海桑与其亲本根际微生物之间呈显著性差异的 FAPROTAX 功能预测分析

Figure 7 Significant differences in FAPROTAX functional prediction analysis between *Sonneratia x hainanensis* and its parent rhizosphere microorganisms.



微生物的组成与结构与植物的生理功能有紧密的联系。从植物生理特性来看,杯萼海桑自然分布于低潮带滩涂<sup>[48]</sup>,平均每月至少有一半时间为潮水所淹,是三者中最耐盐,最耐淹的品种,子代海南海桑只适合生存于高潮带滩涂的生境。盐胁迫会对植物的生理和生化过程产生重要影响,包括养分吸收、渗透胁迫平衡、氧化应激、光合速率和整体生长等<sup>[49]</sup>,这些功能都受到植物宿主基因组的调控,目前研究表明,植物宿主基因组会显著影响根际微生物群落组成<sup>[17]</sup>。从微生物 $\alpha$ 多样性指数来看,细菌群落中,最耐盐的母本杯萼海桑4种多样性指数均低于子代及其父本,真菌群落中,母本的Chao1指数与Observed OTUs指数均低于子代海南海桑,推测是因为母本杯萼海桑为了适应耐盐、耐淹的环境胁迫,生长过程招募了更多耐盐的微生物类群,导致多样性降低。细菌群落中,耐盐菌分布于 *Pseudomonadota*、*Bacteroidota*、*Bacillota* 以及 *Thermi* 等门(附表2,数据已提交国家微生物科学数据中心,编号:NMDCX0000267),其中杯萼海桑属水平以 *Desulfosporosinus*、*Desulfuromonas* 和 B-42 等属为首的耐盐菌占比达到 5.60%,显著高于子代海南海桑(2.35%)与父本卵叶海桑(4.62%)。目前很多研究发现耐盐菌能够显著改善和提高植物耐盐性,例如 *Bacillus* 属还可促进植物激素吲哚乙酸的分泌和促进植物生长需求的磷酸盐以及氨生成。耐盐链霉菌可改善盐胁迫下的根系。此外,还发现在子代和父本中占比很低而在母本杯萼海桑中占比很高的耐盐属 *Desulfitobacter*、*Desulfosporosinus*、*Desulfuromonas*, 这些属在硫酸盐还原、铁硫循环以及重金属离子吸收等功能上发挥重要作用,可能与母本更强的环境适应性相关,但在子代中这些核心类群显然没有得到继承。

除了植物基因型,土壤理化特性会影响植物

的生长发育,进而影响根际微生物群落的组成<sup>[50]</sup>。土壤理化性质测定表明,氮素和磷含量在三者差异比较显著,这两种都是植物生长的限制性营养元素。子代海南海桑的氮素和磷含量明显低于母本杯萼海桑,与父本含量相似。文献报道,TN含量是影响土壤细菌和真菌多样性的重要因素<sup>[51]</sup>,本研究也符合这个规律,细菌群落中 B-42、*Mariprofundus* 和 *Desulfococcus* 等属都与 TN 含量显著相关,而 B-42 和 *Mariprofundus* 的相对丰度在子代中含量显著下降,相较于母本降低了 19.76%和 3.56%。B-42 属的功能未见报道,但 *Mariprofundus* 属于自养型细菌,可以进行铵态氮或硝酸盐代谢,并将硝酸盐还原<sup>[52]</sup>。真菌群落中 *Aspergillus* 属和 *Rhodotorula* 属也与 TN 显著相关,而且二者的相对丰度相较于母本分别降低了 5.89%和 2.11%。曲霉属类在其胁迫相关基因的帮助下能耐受一系列环境胁迫。在对菌株功能预测中,我们也发现大量参与氮循环相关基因,包括固氮基因、氨氧化相关基因、反硝化相关基因以及氮转运相关基因等,最近研究表明,一些参与硝化功能的根际微生物可以将色氨酸转化为植物激素吲哚乙酸,参与植物开花的调节,说明很多菌是多重功能的<sup>[19,53]</sup>。

植物基因型对塑造根际微生物群落结构的重要性已经在多项研究中得到证实,但在对小麦和菜豆根际微生物的研究中发现<sup>[54-55]</sup>,植物基因型的作用是较弱的。目前人们发现根际分泌物对塑造根际微生物群落结构也起到决定性的作用<sup>[56]</sup>,植物通过根际分泌物会招募特定的微生物,参与协助植物获取营养物质并防止根系病原体感染。目前关于根际分泌物与微生物的研究多在模式植物中开展,例如在植物的氮素吸收中,植物会将类黄酮物质分泌到根际,诱导根瘤菌的结节基因表达,这种共生关系有助于提高植物的氮素吸收<sup>[20]</sup>。本研究对细菌的功能预测中发现

大量参与氮循环的功能基因,而且子代中的相关基因丰度是明显与亲本有差异,这些可能会影响植物的生存能力。根分泌物还可以增加根际中磷和铁的可利用性,这些营养要素的转化都与微生物有着密切关系,但目前对植物如何通过根际分泌物招募微生物的机制还不清楚。根分泌物的组成取决于植物物种、基因型、发育阶段、根系特征、营养元素可用性和环境条件的不同<sup>[57]</sup>。红树植物通常会产丰富的次生代谢产物,但是如何识别与之在根际中相互作用的微生物,还需进一步研究。

总之,决定根际微生物群落结构的众多因素中,生物或非生物因素都发挥了重要的作用,具体哪种因素起决定性作用因土壤类型和植物种类而异,哪种因素的环境筛选作用越强,对微生物群落构建的相对贡献可能会越大<sup>[50]</sup>。在本研究中,在形态和生理都表现出部分杂交劣势特征的子代海南海桑,在根际微生物组成中,也能够发现一些杂种劣势特征,一些在亲本尤其是母本中占优势,重要的功能类群(如耐盐菌、氮循环功能菌),在子代中并没有继承,可能从而影响了子代植物的环境适应性。

## 参考文献

- [1] RIESEBERG LH, RAYMOND O, ROSENTHAL DM, LAI Z, LIVINGSTONE K, NAKAZATO T, DURPHY JL, SCHWARZBACH AE, DONOVAN LA, LEXER C. Major ecological transitions in wild sunflowers facilitated by hybridization[J]. *Science*, 2003, 301(5637): 1211-1216.
- [2] RIESEBERG LH. Hybrid origins of plant species[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1997, 28: 359-389.
- [3] RIESEBERG LH, WOOD TE, BAACK EJ. The nature of plant species[J]. *Nature*, 2006, 440: 524-527.
- [4] BASKETT ML, GOMULKIEWICZ R. Introgressive hybridization as a mechanism for species rescue[J]. *Theoretical Ecology*, 2011, 4(2): 223-239.
- [5] CHEN C, CHEN H, LIN YS, SHEN JB, SHAN JX, QI P, SHI M, ZHU MZ, HUANG XH, FENG Q, HAN B, JIANG LW, GAO JP, LIN HX. A two-locus interaction causes interspecific hybrid weakness in rice[J]. *Nature Communications*, 2014, 5: 3357.
- [6] NG WL, CHAN HT, SZMIDT AE. Molecular identification of natural mangrove hybrids of *Rhizophora* in Peninsular Malaysia[J]. *Tree Genetics & Genomes*, 2013, 9(5): 1151-1160.
- [7] WHITNEY KD, AHERN JR, CAMPBELL LG, ALBERT LP, KING MS. Patterns of hybridization in plants[J]. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2010, 12(3): 175-182.
- [8] MEERA SP, BHATTACHARYYA M, KUMAR A. Dynamics of mangrove functional traits under osmotic and oxidative stresses[J]. *Plant Growth Regulation*, 2023, 101(2): 285-306.
- [9] KUMAR A, ANJU T, ARCHA V, WARRIER VP, KUMAR S, GOUD GS, KASHYAP AK, SINGH S, KOMAL, SINGH P, KUMAR R, SHARMA S, RADHAKRISHNAN AM, RAMCHIARY N. Mangrove Forests: Distribution, Species Diversity, roles, Threats and Conservation Strategies[M]//SHARMA S, SINGH P ed. *Wetlands Conservation: Current Challenges and Future Strategies*. First Edition. New Jersey: John Wiley & Sons Ltd., 2021: 229-271.
- [10] RAGAVAN P, ZHOU RC, NG WL, RANA TS, MAGESWARAN T, MOHAN PM, SAXENA A. Natural hybridization in mangroves: an overview[J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2017, 185(2): 208-224.
- [11] ZHOU RC, SHI SH, WU CI. Molecular criteria for determining new hybrid species: an application to the *Sonneratia* hybrids[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2005, 35(3): 595-601.
- [12] DUKE NC. Australia's Mangroves: the Authoritative Guide to Australia's Mangrove Plants[M]. St Lucia Campus: University of Queensland, James Cook University, 2006.
- [13] YAN YB, DUKE NC, SUN M. Comparative analysis of the pattern of population genetic diversity in three indo-west Pacific *Rhizophora* mangrove species[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016, 7: 1434.
- [14] 钟才荣, 李海生, 黄仲琪, 陈建海, 陈桂株. 海南海桑的育苗造林技术[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2003, 42(S1): 224-226.
- ZHONG CR, LI HS, HUANG ZQ, CHEN JH, CHEN GZ. Seedling raising and afforestation techniques of

- Sonneratia hainanensis*[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2003, 42(S1): 224-226 (in Chinese).
- [15] 王瑞江, 陈忠毅, 陈二英, 郑馨仁. 国产海桑属植物的两个杂交种[J]. 广西植物, 1999, 19(3): 199-204. WANG RJ, CHEN ZY, CHEN EY, ZHENG XR. Two hybrids of the genus *Sonneratia* (*Sonneratiaceae*) from China[J]. Guihaia, 1999, 19(3): 199-204 (in Chinese).
- [16] 张孟文. 海南岛 2 种红树林自然杂交种与亲本的种群发育对环境适应性比较研究[D]. 海口: 海南大学博士学位论文, 2019. ZHANG MW. Comparative study on environmental adaptability of population development between two mangrove natural hybrids and their parents in Hainan Island[D]. Haikou: Doctoral Dissertation of Hainan University, 2019 (in Chinese).
- [17] TRIVEDI P, LEACH JE, TRINGE SG, SA TM, SINGH BK. Plant-microbiome interactions: from community assembly to plant health[J]. Nature Reviews Microbiology, 2020, 18: 607-621.
- [18] VAHSEN ML, BLUM MJ, MEGONIGAL JP, EMRICH SJ, HOLMQUIST JR, STILLER B, TODD-BROWN KEO, McLACHLAN JS. Rapid plant trait evolution can alter coastal wetland resilience to sea level rise[J]. Science, 2023, 379(6630): 393-398.
- [19] LU T, KE MJ, LAVOIE M, JIN YJ, FAN XJ, ZHANG ZY, FU ZW, SUN LW, GILLINGS M, PEÑUELAS J, QIAN HF, ZHU YG. Rhizosphere microorganisms can influence the timing of plant flowering[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 231.
- [20] KUDJORDJIE EN, SAPKOTA R, STEFFENSEN SK, FOMSGAARD IS, NICOLAISEN M. Maize synthesized benzoxazinoids affect the host associated microbiome[J]. Microbiome, 2019, 7(1): 59.
- [21] de SOUZA RSC, OKURA VK, ARMANHI JSL, JORRÍN B, LOZANO N, Da SILVA MJ, GONZÁLEZ-GUERRERO M, de ARAÚJO LM, VERZA NC, BAGHERI HC, IMPERIAL J, ARRUDA P. Unlocking the bacterial and fungal communities assemblages of sugarcane microbiome[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 28774.
- [22] CREGGER MA, VEACH AM, YANG ZK, CROUCH MJ, VILGALYS R, TUSKAN GA, SCHADT CW. The *Populus holobiont*: dissecting the effects of plant niches and genotype on the microbiome[J]. Microbiome, 2018, 6(1): 31.
- [23] EDWARDS JA, SANTOS-MEDELLÍN CM, LIECHTY ZS, NGUYEN B, LURIE E, EASON S, PHILLIPS G, SUNDARESAN V. Compositional shifts in root-associated bacterial and archaeal microbiota track the plant life cycle in field-grown rice[J]. PLoS Biology, 2018, 16(2): e2003862.
- [24] WEI Z, GU YA, FRIMAN VP, KOWALCHUK GA, XU YC, SHEN QR, JOUSSET A. Initial soil microbiome composition and functioning predetermine future plant health[J]. Science Advances, 2019, 5(9): eaaw0759.
- [25] 叶锦成, 陈毅青, 高琳, 周鲜娇, 钟才荣, 张颖, 王芸. 红树植物拟海桑及其亲本的根际细菌群落特征分析[J]. 热带海洋学报, 2022, 41(6): 75-89. YE JC, CHEN YQ, GAO L, ZHOU XJ, ZHONG CR, ZHANG Y, WANG Y. Analysis of rhizosphere bacterial community characteristics of mangrove plant *Sonneratia×gulgai* and its parents[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2022, 41(6): 75-89 (in Chinese).
- [26] JING X, SANDERS NJ, SHI Y, CHU HY, CLASSEN AT, ZHAO K, CHEN LT, SHI Y, JIANG YX, HE JS. The links between ecosystem multifunctionality and above- and belowground biodiversity are mediated by climate[J]. Nature Communications, 2015, 6: 8159.
- [27] DAI TJ, ZHANG Y, TANG YS, BAI YH, TAO YL, HUANG B, WEN DH. Identifying the key taxonomic categories that characterize microbial community diversity using full-scale classification: a case study of microbial communities in the sediments of Hangzhou Bay[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2016, 92(10): fiw150.
- [28] EDGAR RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10: 996-998.
- [29] CLARKE KR, AINSWORTH M. A method of linking multivariate community structure to environmental variables[J]. Marine Ecology Progress Series, 1993, 92: 205-219.
- [30] XIAO LJ, WANG T, HU R, HAN BP, WANG S, QIAN X, PADISÁK J. Succession of phytoplankton functional groups regulated by monsoonal hydrology in a large canyon-shaped reservoir[J]. Water Research, 2011, 45(16): 5099-5109.
- [31] SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, GEVERS D, MIROPOLSKY L, GARRETT WS, HUTTENHOWER C. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. Genome Biology, 2011, 12(6): R60.
- [32] LOUCA S, PARFREY LW, DOEBELI M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome[J]. Science, 2016, 353(6305): 1272-1277.

- [33] YAN GY, XING YJ, HAN SJ, ZHANG JH, WANG QG, MU CC. Long-time precipitation reduction and nitrogen deposition increase alter soil nitrogen dynamic by influencing soil bacterial communities and functional groups[J]. *Pedosphere*, 2020, 30(3): 363-377.
- [34] HAMADY M, LOZUPONE C, KNIGHT R. Fast UniFrac: facilitating high-throughput phylogenetic analyses of microbial communities including analysis of pyrosequencing and PhyloChip data[J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(1): 17-27.
- [35] YATSUNENKO T, REY FE, MANARY MJ, TREHAN I, DOMINGUEZ-BELLO MG, CONTRERAS M, MAGRIS M, HIDALGO G, BALDASSANO RN, ANOKHIN AP, HEATH AC, WARNER B, REEDER J, KUCZYNSKI J, CAPORASO JG, LOZUPONE CA, LAUBER C, CLEMENTE JC, KNIGHTS D, KNIGHT R, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography[J]. *Nature*, 2012, 486: 222-227.
- [36] JIANG XT, PENG X, DENG GH, SHENG HF, WANG Y, ZHOU HW, TAM NFY. Illumina sequencing of 16S rRNA tag revealed spatial variations of bacterial communities in a mangrove wetland[J]. *Microbial Ecology*, 2013, 66(1): 96-104.
- [37] OKSANEN J, KINDT R, LEGENDRE P, O'HARA B, STEVENS H, OKSANEN M. The vegan package[J]. *Community Ecology Package*, 2007, 10(631-637): 719.
- [38] DU H, PAN J, ZHANG CJ, YANG XL, WANG C, LIN XL, LI JH, LIU W, ZHOU HK, YU XL, MO SM, ZHANG GQ, ZHAO GP, QU W, JIANG CJ, TIAN Y, HE ZL, LIU Y, LI M. Analogous assembly mechanisms and functional guilds govern prokaryotic communities in mangrove ecosystems of China and South America[J]. *Microbiology Spectrum*, 2023, 11(5): e0157723.
- [39] ZHANG XY, CHEN D, HOU XY, JIANG N, LI Y, GE SJ, MU Y, SHEN JY. Nitrification-denitrification co-metabolism in an algal-bacterial aggregates system for simultaneous pyridine and nitrogen removal[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2023, 460: 132390.
- [40] ZHANG ZF, LIU LR, PAN YP, PAN J, LI M. Long-read assembled metagenomic approaches improve our understanding on metabolic potentials of microbial community in mangrove sediments[J]. *Microbiome*, 2023, 11(1): 188.
- [41] 王辉, 刘丽, 黄宇飞, 邹春蕾, 赵颖, 王琦, 刘长远. 黄柄曲霉 ASD 对辣椒疫病根际真菌菌群结构及土壤功能的影响[J]. *中国生物防治学报*, 2021, 37(4): 796-803.
- WANG H, LIU L, HUANG YF, ZOU CL, ZHAO Y, WANG Q, LIU CY. Effects of *Aspergillus flavipes* ASD on the structure of rhizosphere fungi and function of soil infected by *Phytophthora capsici* in pepper[J]. *Chinese Journal of Biological Control*, 2021, 37(4): 796-803 (in Chinese).
- [42] 沈桐, 江进, 李宁, 罗晓楠. 好氧反硝化细菌及其在微污染水源水修复中的应用研究进展[J]. *微生物学报*, 2023, 63(2): 465-482.
- SHEN T, JIANG J, LI N, LUO XN. Aerobic denitrifiers and the application in remediation of micro-polluted water source[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(2): 465-482 (in Chinese).
- [43] 张孟文. 南岛清澜港海桑属种群特征及其濒危种海南海桑繁殖生态学研究[D]. 海口: 海南大学硕士学位论文, 2012.
- ZHANG MW. *Sonneratia* plants distribution characteristics and population development research of *Sonneratia hainanensis* in Hainan Island[D]. Haikou: Master Dissertation of Hainan University, 2012 (in Chinese).
- [44] 李海生. 中国海桑属红树植物遗传多样性研究[D]. 广州: 中山大学博士学位论文, 2003.
- LI HS. Study on genetic diversity of mangrove species from China in the genus *Sonneratia*[D]. Guangzhou: Doctoral Dissertation of Sun Yat-Sen University, 2003 (in Chinese).
- [45] 曾志浩, 袁宗胜, 陈雪莹, 林鸿艳, 黄晓南, 刘芳. 3种红树植物根际与非根际土壤细菌群落结构及多样性特征[J]. *福建农业学报*, 2022, 37(6): 809-816.
- ZENG ZH, YUAN ZS, CHEN XY, LIN HY, HUANG XN, LIU F. Microbial community structure and diversity in rhizosphere and non-rhizosphere soils at fields of three varieties of mangrove plants[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 37(6): 809-816 (in Chinese).
- [46] 李振灵, 丁彦礼, 白少元, 李雪芬, 游少鸿, 解庆林. 潜流人工湿地基质结构与微生物群落特征的相关性[J]. *环境科学*, 2017, 38(9): 3713-3720.
- LI ZL, DING YL, BAI SY, LI XF, YOU SH, XIE QL. Correlations between substrate structure and microbial community in subsurface flow constructed wetlands[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(9): 3713-3720 (in Chinese).
- [47] 曲武. 红树林沉积物中微生物群落结构研究及琼胶酶基因资源的调查与利用[D]. 厦门: 厦门大学博士学位论文, 2019.
- QU W. Investigation and utilization of the microbial

- community structure and agarase genes in mangrove sediments[D]. Xiamen: Doctoral Dissertation of Xiamen University, 2019 (in Chinese).
- [48] 郑德璋, 廖宝文, 郑松发, 许达桂, 韩智. 海南岛清澜港红树树种适应生境能力与水平分布[J]. 林业科学研究, 1995, 8(1): 67-72.  
ZHENG DZ, LIAO BW, ZHENG SF, XU DG, HAN Z. Habitat adaptability and horizontal distribution of mangrove species in Qinglan Port, Hainan Island[J]. Forest Research, 1995, 8(1): 67-72 (in Chinese).
- [49] 唐密, 李昆, 向洪勇, 董雪, 金会鑫, 王悦, 杨海军, 张振兴. 盐胁迫对两种红树植物生态、生理及解剖结构的影响[J]. 生态科学, 2014, 33(3): 513-519.  
TANG M, LI K, XIANG HY, DONG X, JIN HX, WANG Y, YANG HJ, ZHANG ZX. Research on ecological, physiological and morphological adaptability of two mangrove species to salt stress[J]. Ecological Science, 2014, 33(3): 513-519 (in Chinese).
- [50] 刘京伟, 李香真, 姚敏杰. 植物根际微生物群落构建的研究进展[J]. 微生物学报, 2021, 61(2): 231-248.  
LIU JW, LI XZ, YAO MJ. Research progress on assembly of plant rhizosphere microbial community[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2021, 61(2): 231-248 (in Chinese).
- [51] 李海生, 陈桂珠, 施苏华. 海南海桑遗传多样性的 ISSR 研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2004, 43(2): 67-71.  
LI HS, CHEN GZ, SHI SH. Genetic diversity of *Sonneratia hainanensis* (*Sonneratiaceae*) detected by intersimple sequence repeats (ISSR) analysis[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2004, 43(2): 67-71 (in Chinese).
- [52] MAKITA H, TANAKA E, MITSUNOBU S, MIYAZAKI M, NUNOURA T, UEMATSU K, TAKAKI Y, NISHI S, SHIMAMURA S, KEN TK. *Mariprofundus micogutta* sp. nov., a novel iron-oxidizing *Zetaproteobacterium* isolated from a deep-sea hydrothermal field at the Bayonnaise knoll of the Izu-Ogasawara arc, and a description of *Mariprofundales* ord. nov. and *Zetaproteobacteria* classis nov.[J]. Archives of Microbiology, 2017, 199(2): 335-346.
- [53] MUTHUKKARUPPAN SSAS. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria and fungi associated with rice, mangrove and effluent contaminated soil[J]. Current Botany, 2011, 2(3): 22-25.
- [54] SIMONIN M, DASILVA C, TERZI V, NGONKEU ELM, DIOUF D, KANE A, BÉNA G, MOULIN L. Influence of plant genotype and soil on the wheat rhizosphere microbiome: evidences for a core microbiome across eight African and European soils[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2020, 96(6): fiae067.
- [55] STOPNISEK N, SHADE A. Persistent microbiome members in the common bean rhizosphere: an integrated analysis of space, time, and plant genotype[J]. The ISME Journal, 2021, 15: 2708-2722.
- [56] SUN HS, JIANG SX, JIANG CC, WU CF, GAO M, WANG QH. A review of root exudates and rhizosphere microbiome for crop production[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 28(39): 54497-54510.
- [57] ZHANG JY, LIU YX, ZHANG N, HU B, JIN T, XU HR, QIN Y, YAN PX, ZHANG XN, GUO XX, HUI J, CAO SY, WANG X, WANG C, WANG H, QU BY, FAN GY, YUAN LX, GARRIDO-OTER R, CHU CC, et al. NRT1.1B is associated with root microbiota composition and nitrogen use in field-grown rice[J]. Nature Biotechnology, 2019, 37: 676-684.