

尖叶木樨榄天然林地不同土层土壤微生物群落差异研究

郭翠莲¹, 付洁¹, 胡青^{2*}, 赵正雄¹, 赵敏², 陆斌^{2*}

(1. 云南农业大学 资源与环境学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南省林业和草原科学院, 云南 昆明 650201)

摘要:通过探究尖叶木樨榄天然林地不同土层土壤细菌和真菌群落结构及多样性,旨在探讨土层深度与微生物群落的关系。尖叶木樨榄天然林地不同土层土壤采用高通量测序技术进行测序,分析研究尖叶木樨榄天然林地 0~10、10~20、20~40、40~60 cm 4 个不同土层深度的土壤真菌、细菌群落组成及其分布规律。结果表明,1) 尖叶木樨榄天然林土所获得的细菌 OTU 隶属于 31 门 126 纲 198 目 890 科 2 624 属 83 种;真菌 OTU 隶属于 21 门 23 纲 34 目 18 科 69 属 152 种。2) 在门类水平上,尖叶木樨榄天然林土壤优势细菌群有变形菌门、放线菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门和酸杆菌门 5 门,表现为无显著差异;土壤优势真菌群落为子囊菌门、担子菌门、被孢霉门和其他菌门 4 门,表现为不同土层土壤真菌优势菌群子囊菌门相对丰度越高,担子菌门、被孢霉门和其他菌门真菌群落就会越低。3) 不同土层土壤微生物群落随着土壤深度的增加而减少。4) 在属类水平上未分类的真菌和细菌占比都较高,分别为 50%和 60%。由此可见,尖叶木樨榄天然林地不同土层土壤样品中的细菌和真菌群落结构均存在一定差异,土壤优势细菌群有变形菌门、放线菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门和酸杆菌门 5 门,土壤优势真菌群落为子囊菌门、担子菌门、被孢霉门和其他菌门 4 门。4 个土层土壤之间的土壤真菌群落多样性差异不显著,但土壤细菌群落多样性差异显著。

关键词:尖叶木樨榄;天然林地;土壤微生物群落多样性;优势菌群;高通量测序

中图分类号:S718.516 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2023)06-0046-08

Differences of Soil Microbial Communities Between Different Soil Layers of *Olea cuspidata* Natural Forest Land

GUO Cui-lian¹, FU Jie¹, HU Qing^{2*}, ZHAO Zheng-xiong¹, ZHAO Min², LU Bin^{2*}

(1. College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, Yunnan, China;

2. Yunnan Academy of Forestry and Grassland Sciences, Kunming 650201, Yunnan, China)

Abstract: The relationship between soil depth and microbial community was explored by studying the structure and diversity of soil bacterial and fungal communities in different soil layers of *Olea cuspidata* natural forest. The high-throughput sequencing technology was adopted to sequence the soils in different soil layers. The composition and distribution of soil fungal and bacterial communities in 0—10, 10—20, 20—40 and 40—60 cm deep soil layers were analyzed and studied. The results showed that 1) the bacterium OTU obtained belonged to 83 species of 2 624 genera, 890 families, 198 orders, 31 phyla, and 126 classes; the fungus OTU belonged to 152 species, 69 genera, 18 families, 34 orders, 21 phyla, and 23 classes. 2) At the class level, the dominant bacterium groups in the soil were Proteus, Actinomyces, Bacillus, Campylobacter and Acidobacteria, showing no significant difference. The dominant fungal communities in the soil were ascomycetes, basidiomycetes, Mortierella and other fungi. The higher the relative abundance of ascomycetes in

收稿日期:2022-08-29 修回日期:2022-12-14

基金项目:云南省种子种业联合实验室项目(202205AR070001-16);云南省科技厅高层次科技人才及创新团队选拔专项(202205AD160016)。

第一作者:郭翠莲。研究方向:经济林栽培。E-mail:530923235@qq.com

*通信作者:陆斌,硕士,二级研究员。研究方向:经济林育种与栽培。E-mail:kmlubin@163.com

胡青,博士,助理研究员。研究方向:经济林栽培与土壤肥力。E-mail:qing-hu08@163.com

different soil layers were, the lower the fungal communities of Basidiomycetes, Mortierella and other fungi were. 3) The soil microbial community decreased with soil depth. 4) At the generic level, the proportions of unclassified fungi and bacteria were both large, 50% and 60% respectively. It can be seen that there are certain differences in the bacterial and fungal community structure of soil samples from different soil layers. The dominant bacteria in the soil include 5 phyla, namely Proteus, Actinomyces, Bacillus, Campylobacter and Acidobacter, and the dominant fungal communities in the soil include 4 phyla, namely Ascomycetes, Basidiomycetes, Mortierella and other phyla. There was no significant difference in soil fungal community diversity among the four soil layers, but there was significant difference in soil bacterial community diversity.

Key words: *Olea cuspidata*; natural woodland; soil microbial community diversity; dominant bacterium; high throughput sequencing

土壤是植物生产的根本,是农业的基本生产资料^[1]。土壤微生物是土壤中最活跃的部分,在土壤物质转化、能量流动等过程中发挥重要作用^[2-5]。土壤微生物在植物生长过程中起着形成土壤结构、分解有机质、分解矿物质、固氮、调节植物生长和防止土传病害等作用^[6]。研究土壤微生物群落组成和多样性对促进土壤微生态环境的改善和土壤的可持续利用等方面具有重要意义^[7]。尖叶木樨榄(*Olea cuspidata*)又称印度木樨榄,与油橄榄同属,是木犀科木犀榄属常绿灌木或小乔木,其枝密叶浓、树形美观且生长快、萌芽力强、耐修剪、适应性强,尖叶木樨榄也可用作嫁接油橄榄的砧木^[8]。因此研究尖叶木樨榄土壤微生物群落组成和多样性对促进油橄榄产业发展具有重要意义。对于土壤微生物群落和多样性的研究,传统方法是微生物平板培养方法^[9],这种方法受微生物在固体培养基的选择和实验室条件的局限,大部分土壤微生物无法培养和统计出来。脂肪酸甲酯谱图分析法(fatty acid methyl ester, FAME)、磷脂脂肪酸分析法(phospholipid fatty acid, PLFA)、聚合酶链式反应技术(polymerase chain reaction, PCR)和 Sanger 等方法鉴别到的微生物种类有限,技术分析成本高、费时^[10]。第二代高通量测序技术是基于 PCR 和基因芯片发展而来的 DNA 测序技术。二代测序具有获得更多不可培养微生物,具有高通量和读长短等优势,已成为土壤微生物群落研究的重要技术手段^[11-12]。Zhang 等^[13]研究发现所有植物在其生存的土壤中均有特定生境的土壤微生物组。前人研究表明,枸杞^[14]、冰糖橙^[15]等植物的土壤微生物群落和多样性存在很大差异性。孔维宝等^[16]运用高通量测序分析了不同树龄不同土质油橄榄土壤微生物群落和多样性,结果表明不同树龄和不同土壤质地油橄榄土壤群落和结构差异显著。俞伟等^[17]研究表明土层厚度显著影响土壤微生物群落功能和植物的生长率。目前,关于油橄榄的研究有很多,针对油橄榄砧

木尖叶木樨榄天然林地土壤微生物群落及多样性的研究尚无报道。对尖叶木樨榄天然林地不同土层细菌 16SrRNA 基因的 V3—V4 区域和真菌 ITS1 区域进行 PCR 扩增及高通量测序,分析土壤中细菌和真菌的多样性,掌握油橄榄砧木尖叶木樨榄天然林地土壤细菌和真菌的群落结构、物种组成和差异特征,为尖叶木樨榄的栽培提供参考。

1 研究区域与研究方法

1.1 研究区概况

试验地位于云南省林业和草原科学院昆明树木园内油橄榄示范园,地理位置为 102°44'E, 25°9'N, 海拔为 1 950~2 045 m。示范园里尖叶木樨榄纯林,树龄 25 a,林下植被为草本植物。表层土壤覆有 5~6 cm 厚凋落物,由尖叶木樨榄的枯枝落叶及草本植物干枯的茎叶组成,所占比例为 8:2。凋落物的结构分层明显,具有均超过 1 cm 的未分解层、半分解层和已分解层,3 个层次的厚度逐渐减少。

1.2 样地设置与样品采集

2021 年 4 月,在云南省林业和草原科学院昆明树木园尖叶木樨榄林地中依据“S”形取样法选取同一块坡向、大小一致的示范林样地。每个样方分别采集 0~10、10~20、20~40、40~60 cm(A、B、C、D)4 个土层的土壤样品,样品去除植物残体和石块等杂质后,按土层混合均匀自封袋带回实验室。土壤样品保存于-20℃冰箱用于测定土壤微生物。

1.3 测定方法

将采集的土样存放于干冰中,送至上海的派森诺生物科技有限公司,对土壤微生物进行 Illumina Novaseq 高通量测序。

1.3.1 微生物的 DNA 提取、PCR 扩增及测序 提取的土壤微生物总 DNA 利用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳进行分子大小判断,利用紫外分光光度计对 DNA 进行定量。PCR 扩增选用真菌 ITS1 区特异性引物,序列为 ITS1F: (5'-CTTGGTCATTTAGAG-

GAAGTAA-3'); ITS2R: (5'-GCTGCGTTCT-TCATCGATGC-3'); 细菌 16S rDNA V3-V4 区特异性引物, 序列为 338F (5'-ACTCCTACGGGAG-GCAGCA-3'), 806R (5'-GGACTACHVGGGT-WTCTAAT-3')。PCR 采用 NEB Q5 DNA 高保真聚合酶, 将 PCR 反应所需的成分配置完后, 在 PCR 仪上于 98 °C 预变性 30 s, 使模板 DNA 充分变性, 然后进入扩增循环。在每一个循环中, 先于 98 °C 保持 15 s 使模板变性, 然后将温度降到 50 °C, 保持 30 s, 使引物与模板充分退火; 在 72 °C 保持 30 s, 使引物在模板上延伸, 合成 DNA, 完成一个循环。重复这样的循环 25~27 次, 使扩增的 DNA 片段大量累积。最后, 在 72 °C 保持 5 min, 使产物延伸完整, 4 °C 保存。扩增结果进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 切取目的片段然后用 Axygen 凝胶回收试剂盒回收目的片段。PCR 扩增产物回收后利用 Quant-iT PicoGreen dsDNA Assay Kit 对 PCR 产物在 Microplate reader (BioTek, FLx800) 上进行定量, 利用 Illumina 公司的 TruSeq Nano DNA LT Library Prep Kit 进行建库, 对合格的文库, 在 MiSeq 机器上利用 MiSeq Reagent Kit V3 (600cycles) 进行 2×250 bp 的双端测序。

1.3.2 测序数据处理 测序原始数据以 FASTQ 格式保存, 利用 Vsearch (v2.13.4_linux_x86_64) 和 cutadapt (v2.3) 软件进行去引物、拼接、质量过滤、去重、去嵌合体、聚类流程, 从而获得高质量序

列; 使用 cluster_size 模块, 在 97% 相似度水平对高质量序列聚类, 并分别输出代表序列和 OTU 表。最后, 去除 OTU 表格中的 singletons OTUs 及其代表序列。对于每个 ASVs 的特征序列或每个 OTU 的代表序列, 在 QIIME2 软件中使用默认参数, 使用预先训练好的 Naive Bayes 分类器进行物种注释分析。

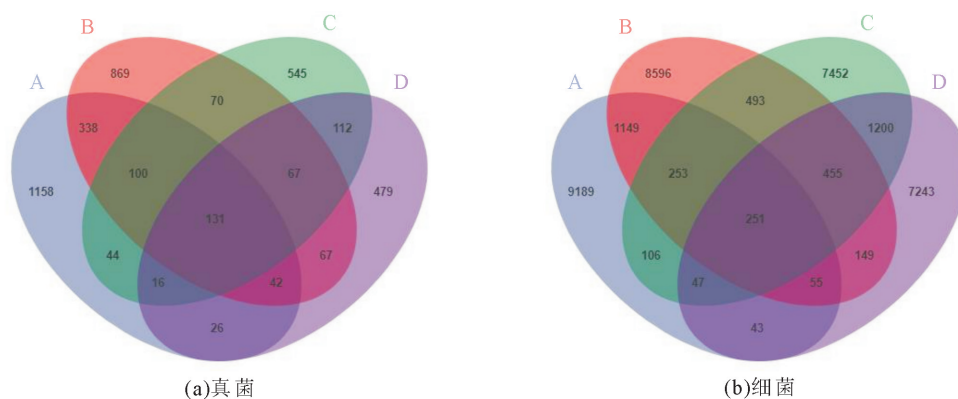
1.4 数据处理

利用 Excel2010 软件进行数据整理和计算; 利用 SPSS18 软件进行差异显著性检验; 利用 QIIME2 (2019.4) 软件计算 α 多样性指数; 利用 QIIME2 (2019.4) 软件进行物种组成的堆叠柱状图绘制; 利用 R 脚本、VennDiagram 包制作韦恩图; 利用 R 语言绘制聚类热图。

2 结果与分析

2.1 不同土层土壤微生物群落组成差异分析

不同土层中土壤微生物群落组成差异如图 1 所示。4 个土层土壤真菌和细菌的 OTU 总数均以 A 土层土壤最多, B 土层次之, D 土层最少。不同土层土壤共有的真菌 OTU 为 131 个, 共有的细菌 OTU 为 251 个。真菌和细菌特有 OTU 的数量均表现为 A>B>C>D。由此可见, 样地内土壤细菌 OTU 总数比真菌的多, 共有的细菌 OTU 数约为真菌的 1.9 倍, 且 A、B、C、D 土层土壤细菌特有 OTU 数分别是真菌特有 OTU 数的 7.9、9.9、13.7 倍和 15.1 倍。



A. 0~10 cm; B. 10~20 cm; C. 20~40 cm; D. 40~60 cm。下同。

图 1 不同土层土壤样品的 OTU 韦恩图

Fig. 1 OTU Wayne diagram of soil samples in different soil layers

2.2 不同土层土壤微生物多样性分析

表 1 和表 2 分别为不同土层土壤真菌和细菌 α 多样性指数的统计分析结果。结果表明, 不同土层土壤样本真菌、细菌 OTU 覆盖度 (coverage) 较高, 分别在 99%、94% 以上。在土壤真菌群落多样性方面, 4 个土层土壤之间差异不显著, 4 个土层土壤真

菌丰富度高低顺序表现为 A>B>C>D。从土壤细菌群落多样性和丰富度来看, 土壤细菌群落多样性呈现为 A>B>C>D, 各土层土壤之间差异显著。可见, 尖叶木樨榄天然林地中, 0~10 cm 土层土壤真菌和细菌群落物种多样性和丰富度均最高, 在 40~60 cm 土层土壤最低。

表 1 不同土层土壤真菌多样性指数
Table 1 Diversity index of soil fungi in different soil layers

土样	有效序列	Shannon 指数	Simpson 指数	Ace 指数	Chao1 指数	覆盖度(%)
A	101 482±2 371.82 a	6.18±0.15 a	0.94±0.001 a	859.57±66.51 a	860.74±66.46 a	99.99±0.0 a
B	101 482±2 371.82 a	6.87±0.20 a	0.97±0.01 a	739.7±62.52 b	740.70±62.60 b	99.99±0.0 a
C	107 325±7 574.03 a	5.42±1.39 a	0.87±0.13 a	441.87±53.77 c	442.75±53.96 c	99.99±0.0 a
D	101 799±2 777.12 a	6.30±1.13 a	0.95±0.06 a	394.53±40.18 c	395.05±40.62 c	99.99±0.0 a

注:小写字母表示差异达到 0.05 显著水平。下同。

表 2 不同土层土壤细菌多样性指数
Table 2 Diversity index of soil bacteria in different soil layers

土样	有效序列	Shannon 指数	Simpson 指数	Ace 指数	Chao1 指数	覆盖度(%)
A	35 120.67±2 306.27 b	11.14±0.11 a	0.999±0.000 2 a	4 395.6±221.25 a	4 592.83±292.91 a	96.43±0.01 a
B	40 699.67±3 196.45 ab	10.86±0.10 b	0.998±0.000 2 ab	4 364.27±101.43 a	4 775.71±80.79 a	95.13±0.01 a
C	48 166.67±7 569.55 a	10.48±0.20 c	0.997±0.000 8 b	3 948.07±75.45 b	4 583.47±328.44 a	94.75±0.01 a
D	43 462.33±4 164.27 ab	10.21±0.09 d	0.996±0.000 7 c	3 598.73±188.91 c	4 001.25±355.85 b	95.81±0.01 a

2.3 不同土层土壤微生物分类学组成分析

根据土壤基因组 DNA 序列分类学分析结果,本研究尖叶木樨榄天然林真菌 OTU 隶属于 21 门 23 纲 34 目 18 科 69 属 152 种。图 2 为不同土层土壤真菌群落在门分类水平上的分析结果,结果表明,不同土层土壤真菌组成包括子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢霉门(Mortierellomycota)、油壶菌门(Olpidiomycota)、罗兹菌门(Rozellomycota)等 11 门(图 2);其中,子囊菌门、担子菌门、被孢霉门、其他菌门 4 门相对丰度较大,其相对丰度之和占土壤真菌总量的 99% 以上,说明其为优势真菌群。对比尖叶木樨榄不同土层土壤发现,子囊菌门相对丰度为 A>D>B>C;担子菌门为 B>A>D>C;被孢霉门为 D>C>B>A;其他菌门为 B>D>A>C。土壤真菌群落相对丰度在不同土层间表现为子囊菌门越高,担子菌门、被孢霉门和其他菌门真菌群落就会越低。

本研究尖叶木樨榄天然林细菌 OTU 隶属于 31 门 126 纲 198 目 890 科 2 624 属 83 种。不同土层土壤细菌组成包括变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、芽单胞菌门(Gemmatimonadetes)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteriota)等 10 门(图 3),其中变形菌门、放线菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门、酸杆菌门 5 门相对丰度大,占总细菌总量的 97% 以上,说明其为优势细菌群。不同土层土壤之间优势细菌群落相对丰度大小表现为:变形菌门 A>B>C>D;放线菌门 A>B>C>D;芽单胞菌门 C>D>B>A;绿弯菌门 D>C>B>A;酸杆菌门 A>B>D>C。

表 3、表 4 分别为不同土层土壤真菌和细菌在属分类水平上相对丰度排名前 11 的菌群统计结果。由表 3 可以看出,A、B 2 个土层土壤的优势真菌群

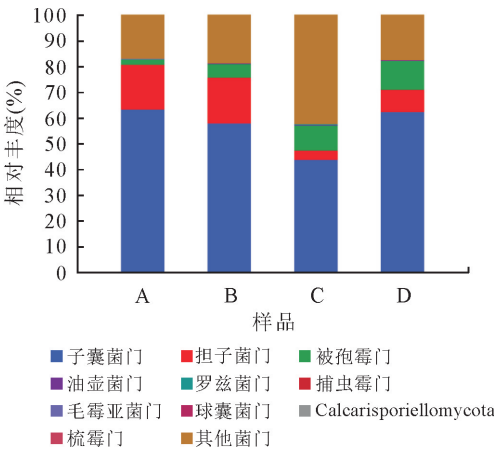


图 2 不同土层土壤真菌门水平群落组成
Fig. 2 Horizontal community composition of soil fungi in different soil layers

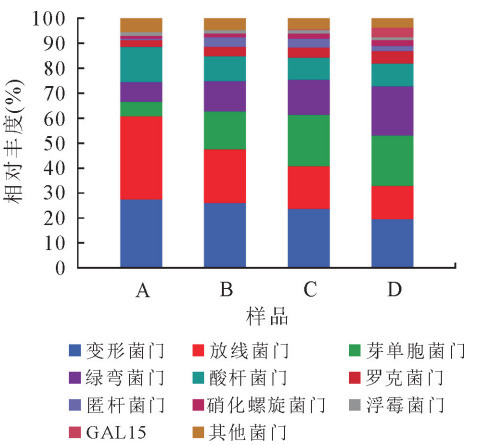


图 3 不同土层土壤细菌门水平群落组成
Fig. 3 Composition of horizontal community of soil bacteria in different soil layers

落均为亚隔孢壳属(*Didymella*)、溶胶菌属(*Solicoccozyma*),相对丰度分别为 23.51% 和 10.61%;C 土层土壤的优势真菌群落为头束霉属(*Cephalotri-*

chum), 相对丰度为 15.29%; D 土层土壤的优势真菌群落为被孢霉属 (*Mortierella*), 相对丰度为 11.28%。4 个土层土壤中仅 A、B 2 个土层土壤中存在相对丰度超过 10% 的溶胶菌属 (*Solicoccozyma*) 为共有优势真菌群落。由表 4 可以看出, 4 个土层土壤细菌群落相对丰度都低于 10%。各土层土壤在属水平上的真菌和细菌群落相对丰度各不相同, 但未分类的真菌和细菌占比都较高, 未分类真菌占比均高于 50%, 未分类细菌占比均高于 60%。

表 3 不同土层土壤属水平上真菌群落相对丰度

Table 3 Relative abundance of fungal community at soil genus level in different soil layers %

属	A	B	C	D
亚隔孢壳属 <i>Didymella</i>	23.51	10.61	0.10	0.63
被孢霉属 <i>Mortierella</i>	1.96	5.33	9.83	11.28
溶胶菌属 <i>Solicoccozyma</i>	12.75	11.40	0.28	0.94
头束霉属 <i>Cephalotrichum</i>	1.44	2.14	15.29	0.69
绿僵菌属 <i>Metarhizium</i>	0.34	0.24	2.12	9.79
无茎真菌属 <i>Acaulium</i>	0.46	2.49	0.58	8.45
腐质霉属 <i>Humicola</i>	3.97	3.82	0.38	0.89
镰刀菌属 <i>Fusarium</i>	2.95	2.19	1.57	1.57
金黄色葡萄球菌 <i>Ceratobasidium</i>	1.50	1.56	1.06	2.40
葡萄球菌属 <i>Staphylotri-</i> <i>chum</i>	0.41	1.83	1.21	2.39
其他	50.71	58.39	67.57	60.97

2.4 不同土层土壤微生物群落结构比较

尖叶木樨榄天然林地不同土层土壤样品真菌群落组成聚类热图(图 4a)表明, A、B 土层土壤样品聚类在一起, 说明 A、B 土层土壤之间真菌菌群的相似性高, C、D 土层土壤样品分别聚为一簇, 说明 C、D 土层土壤真菌菌群组成与 A、B 土层土壤差异较大。不同土层土壤样品细菌(图 4b), C、D 土层土壤样品聚类在一起, 说明 C、D 土层土壤之间细菌菌群的相似性高, A、B 土层土壤样品分别聚为一簇, 说明 A、B 土层土壤细菌菌群组成与 C、D 土层土壤差异较大。

表 4 不同土层土壤属水平上细菌群落相对丰度

Table 4 Relative abundance of bacterial community at soil genus level in different soil layers %

属	A	B	C	D
MND1	4.25	7.23	6.94	5.75
Subgroup_6	8.78	5.81	3.96	3.63
KD4-96 纲未定名属 Norank_c_KD4-96	4.29	7.08	5.16	5.03
六杆菌属 <i>Rokubacteriales</i>	2.37	3.69	4.17	4.97
AD3	0.01	0.14	2.86	9.52
晚杆菌属 <i>Latescibacteria</i>	0.58	3.99	3.47	2.06
硝化螺菌属 <i>Nitrospira</i>	1.24	1.48	2.16	2.42
IMCC26256	1.65	1.52	2.09	1.85
67-14 科未定名 <i>Norank</i> _ <i>f_67-14</i>	3.62	1.66	0.86	0.65
<i>Gaiella</i>	1.75	1.42	1.80	1.59
其他	71.45	65.97	66.55	62.51

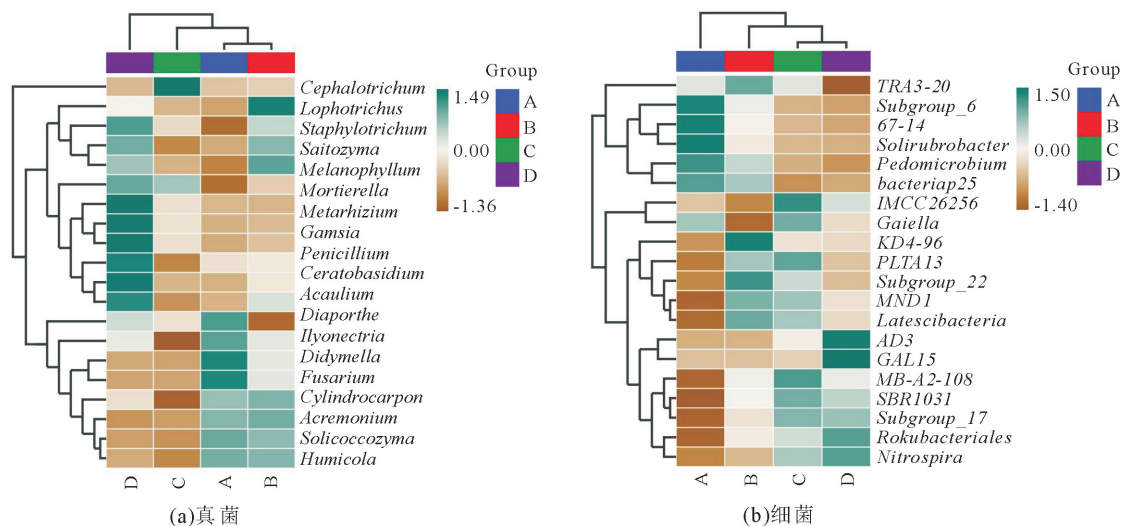


图 4 不同土层土壤样品的聚类热图

Fig. 4 Complex heat map of soil samples in different soil layers

3 结论与讨论

3.1 结论

本研究通过高通量测序技术对尖叶木樨榄天然林地不同土层土壤真菌和细菌多样性及其群落组成差异进行探究, 结果表明尖叶木樨榄天然林土层所

获得的细菌 OTU 隶属于 31 门 126 纲 198 目 890 科 2 624 属 83 种; 真菌 OTU 隶属于 21 门 23 纲 34 目 18 科 69 属 152 种。在门类水平上, 尖叶木樨榄天然林土壤优势细菌群有变形菌门、放线菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门和酸杆菌门 5 门, 表现为无显著差异; 土壤优势真菌群落为子囊菌门、担子菌门、被孢

霉门和其他菌门4门,表现为不同土层土壤真菌优势菌群子囊菌门相对丰度越高,担子菌门、被孢霉门和其他菌门真菌群落就会越低。尖叶木樨榄天然林不同土层土壤真菌和细菌的 OTU 总数均以 0~10 cm 土层土壤最多,40~60 cm 土层最少,即土层越深,土壤微生物群落越少。土壤真菌群落多样性在不同深度土层之间的差异不显著,但土壤细菌群落多样性在不同深度土层之间差异显著。在属分类水平上未分类的真菌和细菌占比都较高,分别为 50% 和 60%。0~10、10~20 cm 土壤两者真菌菌群相似性较高,与 20~40、40~60 cm 土壤真菌菌群组成差异较大;20~40、40~60 cm 土壤两者细菌菌群相似性高,与 0~10、10~20 cm 土壤细菌菌群组成差异较大。

3.2 讨论

土壤微生物过程的多样性和土壤特性受土壤微生物群落多样性影响,而土壤特性对土壤健康和植物生产力至关重要^[6]。由于土壤微生物群落数量庞大、种类繁多,土壤微生物群落多样性分析结果对研究技术要求很高,与传统的生理学^[9]、磷脂脂肪酸(PLFA)^[18]、PCR^[19]和梯度凝胶电泳(DGGE)^[20]等方法相比,高通量测序技术因高通量、高灵敏度和低运行成本等突出优势^[21],已成为测定土壤微生物群落结构和多样性的主要手段。目前高通量测序已在经济林^[22]、草地^[23]和耕地^[24]等领域广泛应用。有关尖叶木樨榄天然林不同土层的土壤微生物群落组成及多样性研究还未见报道。本研究首次采用高通量测序,对尖叶木樨榄天然林 0~10、10~20、20~40、40~60 cm 4 个土层的土壤真菌和细菌进行了多样性分析,得到真菌和细菌不同门类水平和属类水平的优势菌群及其相对丰度。研究结果表明,本研究尖叶木樨榄天然林不同土层所获得的细菌 OTU 隶属于 31 门 126 纲 198 目 890 科 2 624 属 83 种;真菌 OTU 隶属于 21 门 23 纲 34 目 18 科 69 属 152 种。不同土层土壤的真菌和细菌在门类水平上的分类组成分析比较清晰,在属类水平上未分类的真菌和细菌占比都较高,这可能和高通量测序数据、测序方法中比对序列信息量大小和测序时间有关^[25]。

本研究从尖叶木樨榄天然林不同土层的土壤微生物中发现,在门分类水平上不同土层土壤细菌 OTU 总数比真菌的多,与崔纪超等^[10]对甘薯根际土壤微生物群落结构及多样性的研究结果相似,也与朱怡等^[26]在细菌 OTU 数量比真菌 OTU 数量占优势的研究结果一致。在门类水平上,变形菌门、放线菌门、芽单胞菌门、绿弯菌门和酸杆菌门 5 个细菌

门为土壤细菌优势菌群,这与孔维宝等^[16]对尖叶木樨榄同属的油橄榄根际土壤细菌的研究结果相符。变形菌门和放线菌门能够参与到土壤有机质转化过程,同时有机质又促进土壤结构形成^[27],从而改善土壤物理性质。土壤微生物群落中变形菌门占比较大的土壤就越肥沃^[28-29]。芽单胞菌门具有一种强大的光合燃料能力可以氧化有机和无机化合物^[30]。绿弯菌门促进土壤碳循环、氮循环和硫循环,同时绿弯菌门也可以分解和吸附土壤有毒物质^[31-32]。酸杆菌门可以降解植物残体多聚物、参与单碳化合物代谢、参与铁循环和具有光合能力^[33]。在属分类水平上,4 个土层土壤细菌群落相对丰度都低于 10%。各土层比例最高的前 3 项属水平细菌群落包括, *MND1* 属于变形菌门, *Subgroup_6* 属于酸杆菌门, *KD4-96* 纲未定名属属于绿弯菌门。在真菌群落中,本研究中尖叶木樨榄天然林土层的土壤优势真菌群落为子囊菌门、担子菌门、被孢霉门和其他菌门,这与孔维宝等^[16]的研究结果中油橄榄根际土壤优势真菌群落为子囊菌门、接合菌门、担子菌门和球囊菌门不同,不同研究结果存在真菌种类的分布和组成差异。一方面是因为本研究区域为高海拔区域,气候和土壤的差异,另一方面是因为尖叶木樨榄天然林生态系统有其独特的微生物环境^[34-35]。

本研究中不同土层土壤微生物(真菌、细菌)的群落组成存在差异,4 个土层土壤真菌和细菌的 OTU 总数均以 0~10 cm 土层土壤最多,10~20 cm 土层次之,40~60 cm 土层最少,即土壤微生物群落随着土壤深度的增加而减少,这与 Gomoryova 等^[36]的研究结果一致。在门分类水平上,不同土层土壤真菌优势菌群相对丰度表现出子囊菌门越高,担子菌门、被孢霉门和其他菌门真菌群落就会越低的变化趋势,这一变化趋势在杨虎^[37]的研究中也有提出。这变化是由于不同土层土壤真菌优势菌群中子囊菌门占绝对优势的缘故。在属分类水平上,4 个土层 0~10、10~20、20~40 cm 土壤真菌属类均隶属于子囊菌门,40~60 cm 土壤优势菌群被孢霉属隶属于接合菌门,其与植物形成共生关系,能够改善土壤的结构性质和促进植物生长^[38]。0~10、10~20 cm 土壤两者真菌菌群相似性较高,与 20~40、40~60 cm 土壤真菌菌群组成差异较大;20~40、40~60 cm 土壤两者细菌菌群相似性高,与 0~10、10~20 cm 土壤细菌菌群组成差异较大。这可能与表层土壤环境变化有关,凋落物与表层土壤密切接触,最先影响表层,促使表层土壤养分状况发生变化。Keiblinger 等^[39]研究指出真菌对养分的需求比细菌低,而细菌比真菌更能适应养分的变化,面对

土壤养分的变化能更快做出反应^[40],因此,表层土壤细菌菌群组成差异较大。

参考文献:

- [1] 张露,张水清,任科宇,等.不同肥力潮土的酶活计量比特征及其与微生物量的关系[J].中国农业科学,2020,53(20):4226-4236.
ZHANG L,ZHANG S Q,REN K Y,*et al.* Soil ecoenzymatic stoichiometry and relationship with microbial biomass in fluvo-aquic soils with various fertilities[J]. Scientia Agricultura Sinica,2020,53(20):4226-4236. (in Chinese)
- [2] WAGG C,BENDER S F,WIDMER F,*et al.* Soil biodiversity and soil community composition determine ecosystem multifunctionality[J]. Proceedings of the national academy of sciences,2014,111(14):5266-5270.
- [3] 张青,王辰,孙宗湜,等.土壤微生物生物量及多样性影响因素研究进展[J].北方园艺,2022(8):116-121.
ZHANG Q,WANG C,SUN Z S,*et al.* Research progress on influencing factors of soil microbial biomass and diversity[J]. Northern Horticulture,2022(8):116-121. (in Chinese)
- [4] 陈玉真,王峰,吴志丹,等.林地转变为茶园对土壤细菌群落结构与多样性的影响[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2020,48(4):97-106.
CHEN Y Z,WANG F,WU Z D,*et al.* Effects of forestland to tea garden conversion on soil bacterial community and diversity [J]. Journal of Northwest A&F University: Nat. Sci. Ed., 2020,48(4):97-106. (in Chinese)
- [5] 何中声,陈佳嘉,朱静,等.戴云山南坡不同海拔森林土壤微生物功能多样性特征及影响因素研究[J].生态学报,2022(9):1-12.
HE Z S,CHEN J J,ZHU J,*et al.* Characteristics of microbial functional diversity and its influencing factors of forest soils at different elevations on the southern slope of Daiyun Mountain [J]. Acta Ecologica Sinica,2022(9):1-12. (in Chinese)
- [6] 李阜棣,胡正嘉.微生物学[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [7] 张旭龙,马森,吴振振,等.不同油葵品种对盐碱地根际土壤酶活性及微生物群落功能多样性的影响[J].生态学报,2017,37(5):1659-1666.
ZHANG X L,MA M,WU Z Z,*et al.* Effects of *Helianthus annuus* varieties on rhizosphere soil enzyme activities and microbial community functional diversity of saline-alkali land in Xinjiang[J]. Acta Ecologica Sinica,2017,37(5):1659-1666. (in Chinese)
- [8] 施宗明,罗方书,李云,等.尖叶木樨榄作砧木嫁接油橄榄的研究[J].云南植物研究,1991,13(1):65-74.
SHI Z M,LUO F S,LI Y,*et al.* Study on the rootstock (*Olea ferruginea*) for grafting olive [J]. Acta Botanica Yunnanica, 1991,13(1):65-74. (in Chinese)
- [9] 章家恩,蔡燕飞,高爱霞,等.土壤微生物多样性实验研究方法概述[J].土壤,2004,36(4):346-350.
ZHANG J E,CAI Y F,GAO A X,*et al.* Review on laboratory methods for soil microbial diversity[J]. Soils,2004,36(4):346-350. (in Chinese)
- [10] 崔纪超,武小霞,林怡,等.甘薯根际土壤微生物群落结构及多样性分析[J].西南农业学报,2022,35(9):2086-2095.
CUI J C,WU X X,LIN Y,*et al.* Analysis on community structure and diversity in rhizosphere soil of sweet potato[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences,2022,35(9):2086-2095. (in Chinese)
- [11] 楼骏,柳勇,李延.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,2014,30(15):256-260.
LOU J,LIU Y,LI Y. Review of high-throughput sequencing techniques in studies of soil microbial diversity[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin,2014,30(15):256-260. (in Chinese)
- [12] JONES R T,ROBESON M S,LAUBER C L,*et al.* A comprehensive survey of soil acidobacterial diversity using pyrosequencing and clone library analysis[J]. International Society for Microbial Ecology Journal,2009,3(4):442-453.
- [13] ZHANG Y,XU J,RIERA N,*et al.* Huanglongbing impairs the rhizosphere-to-rhizoplane enrichment process of the citrus root associated microbiome[J]. Microbiome,2017,5(1):97.
- [14] 肖龙敏,唐明,张好强.不同种植年限宁夏枸杞根际微生物的群落多样性[J].西北林学院学报,2018,33(6):31-39.
XIAO L M,TANG M,ZHANG H Q. Diversity of microbial community in rhizosphere soils of *Lycium barbarum* relative to cultivation history[J]. Journal of Northwest Forestry University,2018,33(6):31-39. (in Chinese)
- [15] 徐绍英,彭双,林先贵,等.不同品质冰糖橙果园土壤化学性质与微生物群落差异分析[J].核农学报,2022,36(7):1456-1465.
XU S Y,PENG S,LIN X G,*et al.* Analysis of differences in soil chemical properties and microbial communities in Bingtang Orange orchards with different quality[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences,2022,36(7):1456-1465. (in Chinese)
- [16] 孔维宝,霍焕燃,陈冬,等.基于高通量测序技术分析武都油橄榄根际土壤微生物多样性[J].西北师范大学学报:自然科学版,2020,56(6):75-82.
KONG W B,HUO H R,CHEN D,*et al.* Analysis of microbial diversity in rhizosphere soil of Wudu olive using high-throughput sequencing[J]. Journal of Northwest Normal University:Natural Science,2020,56(6):75-82. (in Chinese)
- [17] 俞伟,金雪梅,江振扬,等.土层厚度对种植屋面土壤微生物群落功能的影响[J].生态学报,2020,39(6):2004-2013.
YU W,JIN X M,JIANG Z Y,*et al.* Effects of soil thickness on soil microbial community function of green roof[J]. Chinese Journal of Ecology,2020,39(6):2004-2013. (in Chinese)
- [18] 赵梦赛,栾亚宁,戴伟,等.丝栗栎林土壤微生物 PLFA 群落结构的时空变化特征[J].西北林学院学报,2019,34(6):16-21.
ZHAO M S,LUAN Y N,DAI W,*et al.* Spatial and temporal variation characteristics of soil microbial PLFA community in *Castanopsis fargesii* [J]. Journal of Northwest Forestry University,2019,34(6):16-21. (in Chinese)
- [19] 余仲东,梅华全,曹支敏,等.杨树锈病的 PCR 检测[J].西北林学院学报,2005,20(3):131-132.
YU Z D,MEI H Q,CAO Z M,*et al.* Poplar rust disease quarantine by Polymerase Chain Reaction (PCR) [J]. Journal of Northwest Forestry University,2005,20(3):131-132. (in Chinese)
- [20] 张帅帅,南小宁,王云果,等.基于 PCR-DGGE 技术的 3 种植食性叶蜂幼虫肠道细菌群落结构分析[J].西北林学院学报,2017,32(5):154-160.
ZHANG S S,NAN X N,WANG Y G,*et al.* Gut bacteria flora from three kinds of Herbivorous Sawfly larvae based on PCR-

- DGGE technology[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32(5): 154-160. (in Chinese)
- [21] 毛伟华, 吴三玲, 张旭. 土壤微生物 16S rDNA 的 Ion Torrent PGM 高通量检测方法构建与应用[J]. 浙江农业学报, 2015, 27(12): 2165-2170.
- MAO W H, WU S L, ZHANG X. Establish and application of the high throughput sequencing method for soil microbial 16S rDNA using Ion Torrent PGM[J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2015, 27(12): 2165-2170. (in Chinese)
- [22] 王天, 宋佳承, 闫士朋, 等. 钾肥施用量对油橄榄根系发育及根际土壤微环境的影响[J]. 经济林研究, 2020, 38(3): 153-163.
- WANG T, SONG J C, YAN S P, *et al.* Effect of different potassium fertilizer application mass on olive root development and rhizospheric soil microenvironment[J]. Non-wood Forest Research, 2020, 38(3): 153-163. (in Chinese)
- [23] 罗正明, 刘晋仙, 胡砚秋, 等. 五台山不同退化程度亚高山草甸土壤微生物群落分类与功能多样性特征[J]. 环境科学, 2022.
- LUO Z M, LIU J X, HU Y Q, *et al.* Taxonomic and functional diversity of soil microbial communities in subalpine meadow with different degradation degrees in Mount Wutai[J]. Environmental Science, 2022. (in Chinese)
- [24] 姚丽茹, 李伟, 朱员正, 等. 施用生物炭对麦田土壤细菌群落多样性和冬小麦生长的影响[J]. 环境科学, 2022, 44(6): 3396-3407.
- YAO L R, LI W, ZHU Y Z, *et al.* Effects of biochar application on soil bacterial community diversity and winter wheat growth in wheat fields[J]. Environmental Science, 2022, 44(6): 3396-3407. (in Chinese)
- [25] 韩亚飞, 伊文慧, 王文波, 等. 基于高通量测序技术的连作杨树人工林土壤细菌多样性研究[J]. 山东大学学报: 理学版, 2014, 49(5): 1-6.
- HAN Y F, YI W H, WANG W B, *et al.* Soil bacteria diversity in continuous cropping poplar plantation by high throughput sequencing[J]. Journal of Shandong University: Natural Science, 2014, 49(5): 1-6. (in Chinese)
- [26] 朱怡, 吴永波, 安玉亭. 基于高通量测序的禁牧对土壤微生物群落结构的影响[J]. 生态学报, 2022, 42(17): 7137-7146.
- ZHU Y, WU Y B, AN Y T. Effects of grazing prohibition on soil microbial community structure based on high-throughput sequencing[J]. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(17): 7137-7146. (in Chinese)
- [27] 张蕾, 吴文强, 王维瑞, 等. 土壤调理剂及其配施微生物菌肥对设施菜田次生盐渍化土壤改良效果研究[J]. 中国土壤与肥料, 2021(3): 264-271.
- ZHANG L, WU W Q, WANG W R, *et al.* Study on the effect of soil conditioner and combined application with microbial fertilizer on the improvement of secondary salinized soil in vegetable field[J]. Soils and Fertilizers Sciences in China, 2021(3): 264-271. (in Chinese)
- [28] 刘玉冰, 王增如, 高天鹏. 温带荒漠生物土壤结皮微生物群落结构与功能演替研究综述[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2974-2983.
- LIU Y B, WANG Z R, GAO T P. Succession of microbial community structure and their functions of biological soil crusts in temperate desert: a review[J]. Microbiology China, 2020, 47(9): 2974-2983. (in Chinese)
- [29] LIU J J, SUI Y Y, YU Z H, *et al.* High throughput sequencing analysis of biogeographical distribution of bacterial communities in the black soils of Northeast China[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 70: 113-122.
- [30] IZABELA M, KASIA P, MICHAL K. Phylum Gemmatimonadota and its role in the environment[J]. Microorganisms, 2022, 10, 151: 1-17.
- [31] 鲜文东, 张潇檀, 李文均. 绿弯菌的研究现状及展望[J]. 微生物学报, 2020, 60(9): 1801-1820.
- XIAN W D, ZHANG X T, LI W J. Research status and prospect on bacterial phylum Chloroflexi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60(9): 1801-1820. (in Chinese)
- [32] ZHANG B, KONG W, WU N, *et al.* Bacterial diversity and community along the succession of biological soil crusts in the Gurbantunggut Desert, Northern China[J]. Journal of Basic Microbiology, 2016, 56(6): 670-679.
- [33] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. 生物技术通报, 2016, 32(2): 14-20.
- WANG G H, LIU J J, YU Z H, *et al.* Research progress of Acidobacteria ecology in soils[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(2): 14-20. (in Chinese)
- [34] DEGRUNE F, DUFRÉNE M, COLINET G, *et al.* A novel sub-phylum method discriminates better the impact of crop management on soil microbial community [J]. Agronomy for Sustainable Development, 2015, 35(3): 1157-1166.
- [35] SILVA APD, BABUJIA LC, FRANCHINI JC, *et al.* Soil structure and its influence on microbial biomass in different soil and crop management systems [J]. Soil and Tillage Research, 2014, 142(1): 42-53.
- [36] GOMORYOVA E, BARANCIKOVA G, TOBIA SOVA E, *et al.* Responses of soil microorganisms to land use in different soil types along the soil profiles[J]. Soil and Water Research, 2020, 15(2): 125-134.
- [37] 杨虎, 马巧蓉, 杨君珑, 等. 宁夏南部生态移民迁出区不同恢复模式土壤微生物群落特征[J]. 应用生态学报, 2022, 33(1): 219-228.
- YANG H, MA Q R, YANG J L, *et al.* Characteristics of soil microbial communities in different restoration models in the ecological immigrants' emigration area in Southern Ningxia, China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2022, 33(1): 219-228. (in Chinese)
- [38] 刘泽. 中国被孢霉属及近缘属的分类与分子系统发育研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2020.
- [39] KEIBLINGER K M, HALLE K, WANEK W, *et al.* The effect of resource quantity and resource stoichiometry on microbial carbon-use-efficiency[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 73(3): 430-440.
- [40] YIN C T, JONES K L, PETERSON D E, *et al.* Members of soil bacterial communities sensitive to tillage and crop rotation[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2010, 42: 2111-2118.