

付小猛,龙春瑞,杨虹霞,等. pH 值对柠檬根际土壤微生物群落结构与功能的影响[J]. 江苏农业科学,2025,53(6):264-271.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2025.06.034

pH 值对柠檬根际土壤微生物群落结构与功能的影响

付小猛,龙春瑞,杨虹霞,刘红明,毛加梅,杜玉霞,周先艳,魏舒娅,彭忠良,郭莉娜,岳建强

(云南省农业科学院热带亚热带经济作物研究所,云南保山 678000)

摘要:以 2 年生盆栽柠檬为研究对象,采用 Illumina 测序平台进行宏基因组高通量测序,分析不同 pH 值处理下土壤微生物群落的结构差异,并预测土壤微生物的功能特征。结果表明,酸性(PTLB)处理的柠檬根际土壤微生物多样性明显高于碱性(PTLD)、强碱(PTLE)处理,且物种组成结构差异显著。本研究基于宏基因组学测序得到的物种,隶属于 47 门 116 纲 221 目 416 科 977 属 3 638 种(除去未鉴定微生物),各处理的主要优势菌门均为假单胞菌门、放线菌门、热变形菌门。在属分类水平下对物种绝对丰度排名前 20 位的菌属进行聚类分析,发现强酸(PTLA)、酸性(PTLB)处理的微生物群落组成更相似,中性(PTLC)、碱性(PTLD)、强碱(PTLE)处理的微生物群落组成更相似,且大部分物种在 PTLA、PTLB 处理下的相对丰度要高于 PTLC、PTLD、PTLE 处理。基于 EggNOG 数据库注释,各处理参与翻译、核糖体结构和生物合成、能量生成与转化、氨基酸转运和代谢的功能基因的相对丰度较高,且 PTLB 处理中参与氨基酸转运和代谢、能量生成和转化的功能基因的相对丰度显著高于其他处理。相关性分析表明,5 个环境因子(土壤脲酶、蔗糖酶、纤维素酶、过氧化氢酶、处理液 pH 值)对土壤微生物的群落结构和功能均有显著影响,其中处理液 pH 值的影响最为突出。

关键词:柠檬;pH 值;宏基因组测序;土壤微生物;土壤酶活

中图分类号:S666.506⁺.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2025)06-0264-08

土壤微生物在土壤物质的循环利用中起着重要作用,它们能分解合成有机物、维持土壤肥力、稳定土壤生态系统,是土壤生态系统的核心^[1]。pH 值被认为是影响土壤微生物群落结构和多样性的重要因子^[2-5]。相关研究发现,土壤微生物多样性与土壤 pH 值关系密切,真菌多样性与土壤 pH 值呈负相关,细菌的磷酸脂肪酸组分则与土壤 pH 值呈正相关^[6]。中性土壤中微生物的多样性较高,酸性和碱性土壤中微生物的多样性较低^[7]。土壤中芽孢杆菌、自生固氮菌、氨化细菌、硝化细菌等功能微生物适宜在近中性土壤环境(pH 值为 6.5~7.5)中生存^[8]。当土壤 pH 值降低时,参与土壤氮硝化作用的微生物(如硝化细菌和氨氧化细菌)的数量和

活性都会显著降低^[9]。众多研究表明,微生物群落的多样性和结构是影响生态系统功能的主要因素。因此,研究土壤微生物群落结构及其功能特征,对更好地优化土壤生态系统功能和服务农业生产具有重要意义。以往的研究主要通过 16S/18S/ITS 扩增子测序技术来研究 pH 值对微生物群落结构的影响,有关 pH 值对微生物群落功能影响的报道尚不多见。相对于扩增子测序技术而言,宏基因组测序技术不仅可以更全面地揭示微生物群落的结构变化,还可以提供微生物的功能信息,有助于增强对微生物生态系统功能的了解和认知。

柠檬营养丰富,具有较高的食用、经济和药用价值。随着对健康的重视及生活质量的提升,人们对柠檬及其加工产品的需求持续上升。然而,由于柠檬对种植环境要求严格,果农的种植热情不高,目前柠檬市场供不应求。要实现柠檬的扩大种植,必须了解其对土壤环境的适应性,尤其是对土壤 pH 值的适应性。现阶段关于柠檬对土壤 pH 值适应性的研究主要停留在植株长势、光合生理、矿质养分、根系酶活性等基础层面,整体来看,研究还不够深入,柠檬与根际土壤微生物相关的研究鲜有报道。本研究以 2 年生盆栽柠檬为研究对象,采用 Illumina

收稿日期:2024-04-16

基金项目:国家重点研发计划(编号:2022YFF1302404);现代农业(柑橘)产业技术体系建设专项(编号:CARS-26);云南省科技厅农业联合专项(编号:202101BD070001-036);云南省科技厅重大科技专项(编号:202102AE090054)。

作者简介:付小猛(1986—),女,云南保山人,硕士,助理研究员,主要研究方向为土壤质量提升与微生物。E-mail:274772199@qq.com。

通信作者:岳建强,硕士,研究员,研究方向为柠檬栽培技术。E-mail:yjq7009@163.com。

测序平台进行宏基因组高通量测序,分析不同 pH 值处理下柠檬根际土壤的微生物群落结构差异,并预测土壤微生物的功能特征,以期为今后优质柠檬栽培适宜土壤的选择以及调控优化土壤微生物的群落结构和功能提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设计

试验于 2023 年在云南省农业科学院热带亚热带经济作物研究所(99°10′53″E、25°8′10″N)内进行,选取生长一致的 2 年生枳砧柠檬幼树为供试材料,采用相同土壤基质盆栽的方法,研究 pH 值对柠檬根际土壤微生物群落的影响。试验设 PTLA(强酸处理,pH 值为 5.0 ± 0.1)、PTLB(酸性处理,pH 值为 6.0 ± 0.1)、PTLC(中性处理,pH 值为 7.0 ± 0.1)、PTLD(碱性处理,pH 值为 8.0 ± 0.1)、PTLE(强碱处理,pH 值为 9.0 ± 0.1),共计 5 个处理,每个处理 3 个重复,每个重复设 5 株柠檬幼树。采用不同的 pH 值溶液进行浇灌,酸性溶液用盐酸(HCl)调节,碱性溶液用生石灰(CaO)调节,每 5 d 浇灌 1 次,连续处理 180 d。试验期间其他管理措施各处理保持严格一致。

1.2 土壤样品采集

采集柠檬根际土壤,去除石砾和根系,将土壤样品过 2 mm 筛后分成 2 部分,一部分土样风干粉碎后用于土壤酶活测定,另一部分土壤储存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下用于宏基因组测序。

1.3 土壤宏基因组测序分析

采用 CTAB 法提取根际土壤微生物全部 DNA,并用 Agilent 5400 检测 DNA 的浓度、完整度、纯度。待 DNA 样品检测合格后,应用 Covaris 超声波破碎机进行文库构建,并用 Qubit 2.0 对文库进行稀释,借助 Agilent 2100 检测文库的插入片段,使用 $q\text{-PCR}$ 方法精确测定文库的有效浓度。文库检测合格后,利用 Illumina Novaseq 平台进行双端测序,获取原始数据,并采用 KneadData、FastQC 软件对原始数据进行质控和评估。采用 Kraken2、Bracken 软件对有效序列进行注释和分类,并估算物种丰度。采用 HUMAnN3 软件与蛋白质数据库(UniRef 90)进行比对(基于 DIAMOND),然后再与 EggNOG 数据库中的参考蛋白序列进行比对,统计 EggNOG 功能类群丰度。本研究所涉及的宏基因组测序工作委托深圳微科盟科技集团有限公司完成。

1.4 土壤酶活检测

土壤脲酶、过氧化氢酶、蔗糖酶、纤维素酶活性均使用南京陌凡生物科技有限公司试剂盒进行测定。

1.5 数据统计与分析

使用 Excel 2021 和 SPSS 24.0 进行数据统计与分析,采用单因素方差分析和 LSD 法对数据进行多重比较。运用微科盟生科云平台(<https://www.bioincloud.tech/>)进行宏基因组数据分析并绘制相关图表。

2 结果与分析

2.1 宏基因组测序结果统计分析

如表 1 所示,不同 pH 值处理下柠檬根际土壤宏基因组测序得到原始序列共 352 768 877 条,各样本测序量在 6.00 ~ 8.28 GB 之间,经过质控后有效序列共有 328 639 891 条,各处理有效序列占原始序列的百分比范围为 90.42% ~ 95.01%。同时原始序列和有效序列中质量分高于 30 的碱基所占比例均大于 90%,说明数据质量达标,可用于后续分析。本次检测到的主要物种包括细菌(94.66%)、古细菌(4.78%)、真菌(0.54%)3 界微生物类群。

2.2 土壤微生物多样性分析

2.2.1 α 多样性指数比较 本研究运用体现群落丰富度的 Chao1 指数、ACE 指数,以及兼顾群落均匀度 Shannon 指数、Simpson 指数来反映菌群 α 多样性高低。分析结果表明,5 个处理的 Chao1 指数和 ACE 指数从大到小均符合 PTLB > PTLA > PTLC > PTLE > PTLD,且 PTLB 处理的 Chao1、ACE 指数均显著高于 PTLD、PTLE 处理,说明 PTLB 处理比 PTLD、PTLE 处理的群落明显更丰富;PTLA、PTLB、PTLC 处理的 Shannon、Simpson 指数均高于 PTLD、PTLE 处理,且显著高于 PTLE 处理,说明 PTLA、PTLB、PTLC 处理的物种丰富度以及均匀度相较 PTLD、PTLE 处理更高(表 2)。

2.2.2 β 多样性分析 将 5 个处理 15 个样本的土壤微生物进行主成分分析(PCoA),样本的距离越近,表明样本的物种组成结构越相似;距离越远,则说明 2 个样本的物种组成结构差异越大。如图 1 所示,第 1 主成分(Axis1)对样品差异的贡献值为 27.27%,第 2 主成分(Axis2)对样品差异的贡献值为 20.08%,各处理组内 3 个样本的距离较近,说明各处理组内物种组成结构较为相似。整体来看,5 个

表 1 宏基因组测序结果统计分析

样品 编号	测序原始数据 的总碱基数 (GB)	原始序列 (条)	原始序列中质量分 高于 20 的碱基 所占比例 (%)	原始序列中质量分 高于 30 的碱基所 占比例 (%)	有效序列 (条)	过滤率 (%)	有效序列中质量分 高于 20 的碱基 所占比例 (%)	有效序列中质量分 高于 30 的碱基 所占比例 (%)
PTLA1	7.39	24 634 028	97.97	94.50	22 979 191	93.28	99.38	97.53
PTLA2	8.11	27 038 015	98.02	94.65	25 310 656	93.61	99.39	97.58
PTLA3	7.04	23 479 674	97.95	94.47	21 902 498	93.28	99.37	97.52
PTLB1	7.87	26 238 124	97.94	94.44	24 499 887	93.38	99.37	97.50
PTLB2	7.27	24 238 713	97.98	94.52	22 552 865	93.04	99.38	97.56
PTLB3	8.28	27 586 893	98.04	94.76	26 209 747	95.01	99.38	97.54
PTLC1	6.97	23 228 638	98.08	94.80	21 805 624	93.87	99.39	97.59
PTLC2	6.66	22 195 776	98.06	94.73	20 767 304	93.56	99.40	97.60
PTLC3	6.00	20 013 680	98.12	94.74	18 345 756	91.67	99.41	97.63
PTLD1	6.10	20 342 935	98.02	94.52	18 672 827	91.79	99.37	97.51
PTLD2	6.93	23 112 126	98.05	94.69	21 594 053	93.43	99.38	97.56
PTLD3	6.40	21 330 066	97.71	93.92	19 285 917	90.42	99.42	97.68
PTLE1	6.97	23 242 287	98.01	94.63	21 779 539	93.71	99.39	97.57
PTLE2	6.72	22 393 359	97.95	94.48	20 823 465	92.99	99.39	97.57
PTLE3	7.11	23 694 563	97.95	94.44	22 110 562	93.31	99.36	97.48

表 2 不同处理的 α 多样性指数

处理	Chao1 指数	ACE 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
PTLA	2 480.17 ± 145.79ab	2 451.78 ± 133.54ab	6.62 ± 0.10a	0.934 7 ± 0.004 6a
PTLB	2 549.06 ± 203.55a	2 510.72 ± 192.36a	6.67 ± 0.05a	0.935 1 ± 0.004 3a
PTLC	2 349.68 ± 101.55ab	2 331.09 ± 107.48ab	6.63 ± 0.04a	0.936 8 ± 0.002 8a
PTLD	2 274.06 ± 53.55b	2 243.04 ± 47.98b	6.36 ± 0.02c	0.932 0 ± 0.003 2a
PTLE	2 297.17 ± 45.10b	2 264.19 ± 34.21b	6.52 ± 0.03b	0.919 4 ± 0.001 2b

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P < 0.05$)。表 3 同。

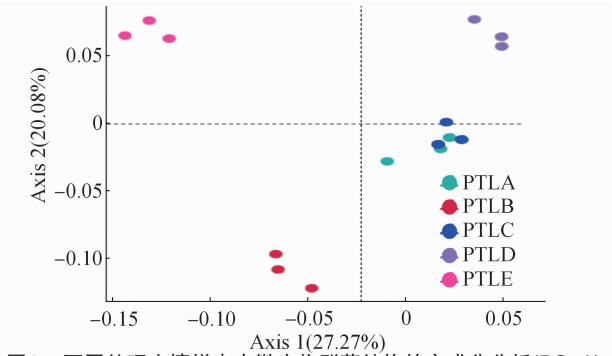


图 1 不同处理土壤样本中微生物群落结构的主成分分析(PCoA)

处理组间空间重合不多,除 PTLA 与 PTLC 处理距离较近相似度较高外,PTLB 与 PTLD、PTLE 处理距离较远,土壤微生物群落组成具有显著的分异性。

2.3 土壤微生物群落组成分析

本研究中基于宏基因组学测序得到的物种隶属于 47 门 116 纲 221 目 416 科 977 属 3 638 种(除去未鉴定微生物)。将 5 个处理中相对丰度在前 20

位的微生物在门分类水平下根据组成和丰度绘制组成柱状图(图 2),结果表明,假单胞菌门(38.06% ~ 45.54%)、放线菌门(21.46% ~ 27.03%)、热变形菌门(3.04% ~ 3.68%)的相对丰度在 5 个处理中占比均为最大,3 个菌门相对丰度之和在 5 个处理中均超过 65%,说明其为优势类群。不同处理假单胞菌门的相对丰度从高到低依次为 PTLD > PTLC > CPTLB > PTLA > PTLE,其在 PTLD 处理中的相对丰度显著高于其他处理。不同处理放线菌门的相对丰度从高到低依次为 PTLA > CPTLB > PTLC > PTLE > PTLD,其在偏酸性处理(PTLA、CPTLB)的丰度高于偏碱性处理(PTLE、PTLD),且在 PTLA 处理中的相对丰度显著高于 PTLE、PTLD 处理。不同处理热变形菌门的相对丰度从高到低依次为 PTLE > PTLC > PTLB > PTLA > PTLD,其在 PTLE 处理中的相对丰度显著高于 PTLB、PTLA、PTLD 处理。其余占比大于 1% 的菌门

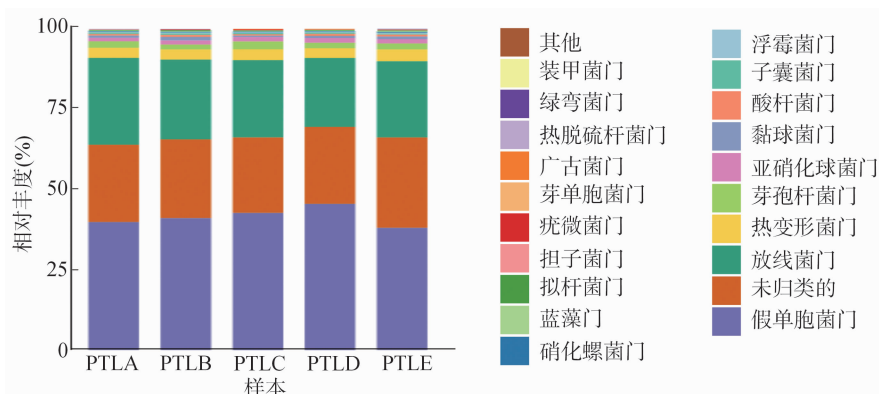


图2 不同处理样本在门分类水平下的相对丰度(排名前 20)

还有芽孢杆菌门(1.52% ~ 2.44%)、亚硝化球菌门(1.07% ~ 1.47%)、黏球菌门(0.43% ~ 1.12%)。

为进一步分析 pH 值对柠檬土壤微生物群落组成的影响,在属分类水平下对物种绝对丰度排名前 20 位的菌属进行聚类分析并绘制热图(图 3)。结果显示,PTLA、PTLB 处理聚在一起,PTLC、PTLD、PTLE 聚在一起,说明 PTLA、PTLB 处理的微生物群落组成更相似,PTLC、PTLD、PTLE 处理的微生物群落组成更相似。在属水平的物种相对丰度上,各处理之间具有一定的差异。其中,PTLA 处理中的草小螺菌属、贪铜菌属、小单孢菌属、阿菲波菌属、假诺卡氏菌属、链霉菌属、慢生根瘤菌属、分枝菌酸小杆菌属、剑菌属的相对丰度较其他处理较高。PTLB 处理中的食氢产水菌属、土壤杆菌属、类诺卡氏菌属、农霉菌属、鞘氨醇菌属、红球菌属、节杆菌属、束縛菌属相对丰度较其他处理较高。PTLC 处理中的胺杆菌属相对丰度较其他处理较高。总体来看,绝对丰度排名前 20 位的菌属中,大部分物种在 PTLA、PTLB 处理的相对丰度要高于 PTLC、PTLD、PTLE 处理。

2.4 微生物功能基因注释分析

基于 EggNOG 数据库中的功能注释结果,得到不同处理样本功能基因的相对丰度分布(图 4)。各处理平均相对丰度最高的功能基因均为翻译、核糖体结构和生物合成(13.66% ~ 14.72%),其次是能量生成和转化(9.49% ~ 9.97%);氨基酸转运和代谢(9.38% ~ 9.87%)、通用功能预测(7.30% ~ 7.81%)、转录(6.34% ~ 7.04%)的占比也较高。

为进一步了解各处理样本土壤微生物功能的组间差异,通过开展 LEfSe 分析($LDA > 2$),结果(图 5)表明,PTLA 处理中参与通用功能预测、碳水化合物的转运和代谢的功能基因相对丰度显著高于其他

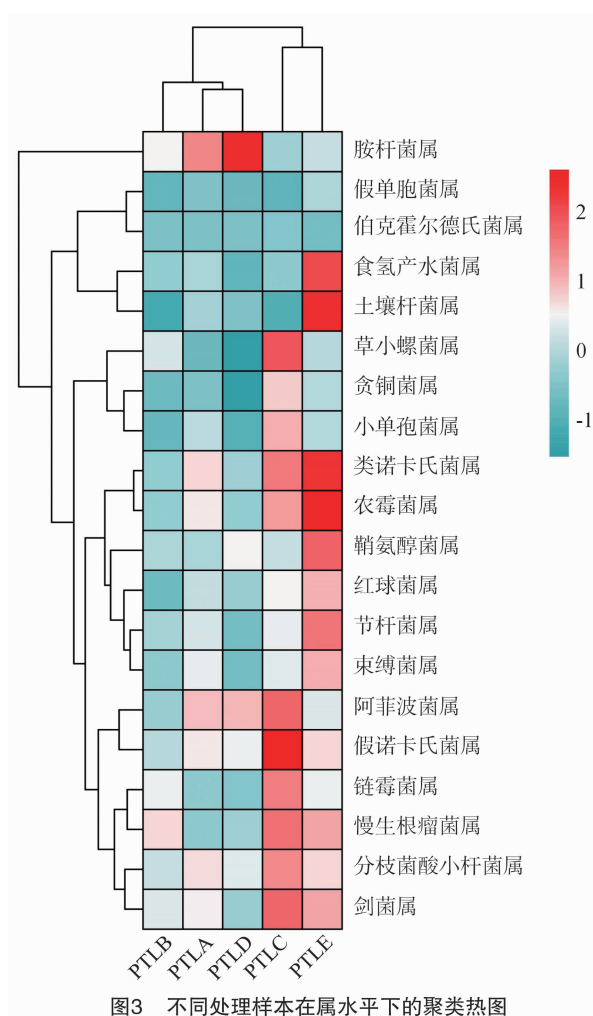


图3 不同处理样本在属水平下的聚类热图

处理;PTLB 处理中参与氨基酸转运和代谢、能量生成和转化的功能基因相对丰度显著高于其他处理;PTLC 处理中参与细胞壁/薄膜/膜的生物合成、细胞运动及胞内转运、分泌和小泡运输的功能基因相对丰度显著高于其他处理;PTLD 处理中参与未知功能及复制、重组和修复的功能基因相对丰度显著高于其他处理;PTLE 处理中参与翻译、核糖体结构和生

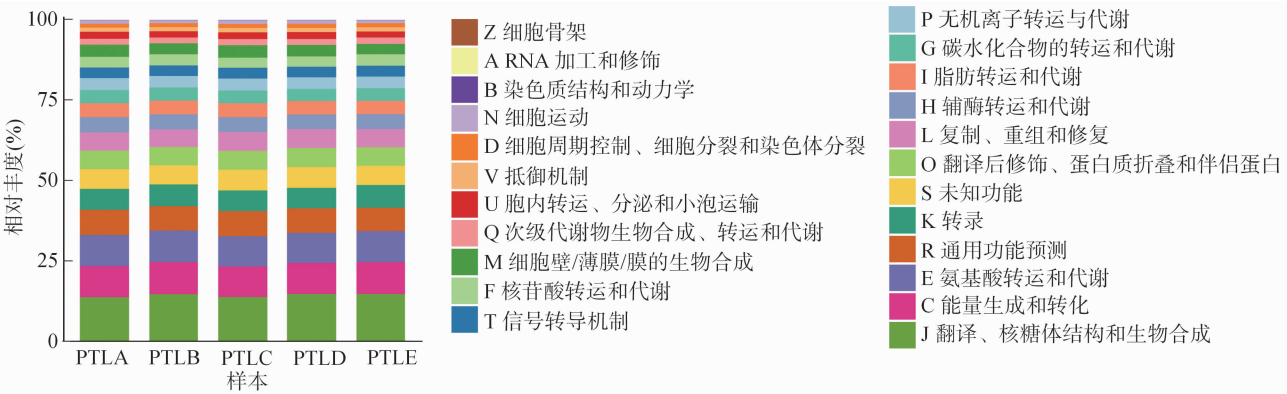


图4 不同处理的土壤微生物功能丰度

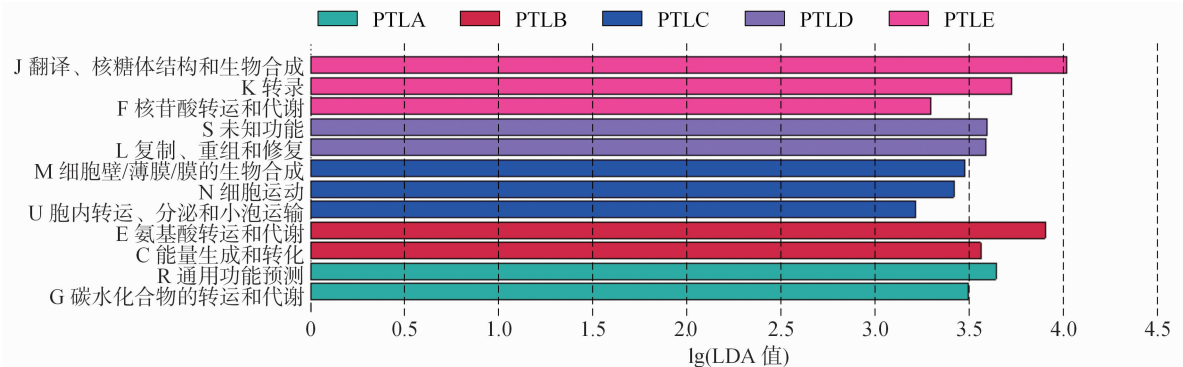


图5 基于 EggNOG 数据库功能丰度的 LEfSe 分析

物合成、转录、核苷酸转运和代谢的功能基因相对丰度显著高于其他处理。

2.5 相关性分析

2.5.1 不同 pH 值处理对柠檬根际土壤酶活的影响 由表 3 可知,脲酶活性从高到低依次为 PTLB > PTLD > PTLA > PTLC > PTLE,其中 PTLB 处理的脲酶活性显著高于其他处理。过氧化氢酶活性从高到低依次为 PTLD > PTLC > PTLE > PTLB > PTLA,其活性在中偏碱的处理中相对偏酸处理较高。蔗糖酶活性从高到低依次为 PTLB > PTLC > PTLD >

PTLE > PTLA,其中强酸和强碱处理下的蔗糖酶活性相对其他处理较低。纤维素酶活性从高到低依次为 PTLB > PTLC > PTLD > PTLE > PTLA,其中 PTLB 的纤维素酶活性显著高于其他处理。通过 5 个处理对比发现,PTLA 处理的过氧化氢酶、蔗糖酶、纤维素酶活性均为最低,PTLE 处理的脲酶活性最低,说明强酸或强碱处理会降低土壤酶活;PTLB 处理的脲酶、蔗糖酶、纤维素酶活性均高于其他处理,说明脲酶、蔗糖酶、纤维素酶在酸性处理下其活性更高。

表 3 不同 pH 值处理下柠檬根际土壤的酶活性

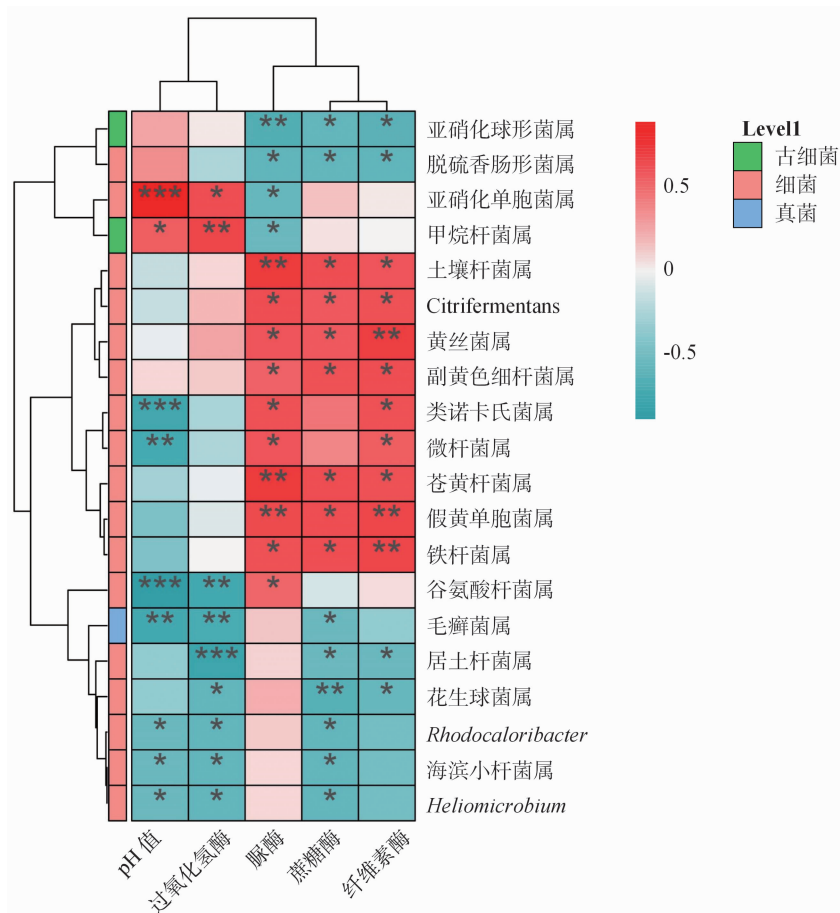
处理	脲酶活性 [$\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{d})$]	过氧化氢酶活性 [$\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$]	蔗糖酶活性 [$\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$]	纤维素酶活性 [$\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{d})$]
PTLA	291.70 ± 17.42b	631.30 ± 57.85b	8.53 ± 0.88c	0.67 ± 0.02b
PTLB	415.93 ± 40.87a	702.06 ± 29.67ab	13.23 ± 1.92a	1.15 ± 0.18a
PTLC	256.21 ± 32.75bc	737.74 ± 37.27a	12.94 ± 2.29ab	0.83 ± 0.13b
PTLD	299.34 ± 17.88b	754.39 ± 73.92a	10.48 ± 1.59abc	0.73 ± 0.08b
PTLE	225.97 ± 7.62c	726.17 ± 38.47ab	10.16 ± 0.22bc	0.69 ± 0.01b

2.5.2 柠檬根际土壤微生物群落组成与环境因子相关性分析 在属水平上选取丰度表中与环境因子最相关的前 20 名(首先根据显著的环境因子个数排名,然后根据显著的 P 值大小排名)柠檬根际

土壤微生物进行相关性热图分析(图 6),结果表明,土壤杆菌属、Citrifermentans、黄丝菌属、副黄色细杆菌属、苍黄杆菌属、假黄单胞菌属、铁杆菌属的丰度与土壤纤维素酶、蔗糖酶、脲酶活性呈显著或极显

著正相关,亚硝化球形菌属、脱硫香肠形菌属的丰度与土壤纤维素酶、蔗糖酶、脲酶活性呈显著或极显著负相关。亚硝化单胞菌属、甲烷杆菌属的丰度与处理液 pH 值、土壤过氧化氢酶活性呈显著或极显著正相关,与土壤脲酶活性呈显著负相关。类诺卡氏菌属、微杆菌属的丰度与土壤纤维素酶、脲酶活性呈显著正相关,与处理液 pH 值呈极显著负相关。谷氨酸杆菌属的丰度与土壤脲酶活性呈显著

正相关,与处理液 pH 值、土壤过氧化氢酶活性呈极显著负相关。毛癣菌属的丰度与处理液 pH 值、土壤过氧化氢酶、蔗糖酶活性呈显著或极显著负相关。居土杆菌属、花生球菌属的丰度与土壤纤维素酶、蔗糖酶、过氧化氢酶活性呈显著或极显著负相关。*Rhodocaloribacter*、海滨小杆菌属、*Heliomicrobium* 的丰度与处理液 pH 值、土壤过氧化氢酶、蔗糖酶活性呈显著负相关。



* 表示在 0.05 水平上显著相关; **、*** 分别表示在 0.01、0.001 水平上极显著相关

图6 属水平上微生物群落与环境因子之间的相关性热图分析

2.5.3 柠檬根际土壤微生物功能与环境因子相关性分析 基于 EggNOG 数据库功能注释结果,对本研究土壤微生物功能与 5 个环境因子的相关性进行 RDA 分析,结果显示第一、二排序轴分别解释了 90.87%、4.23% 的微生物功能差异(图 7),说明本研究所涉及的这 5 个环境因子具有一定的代表性,共解释了接近 95% 的微生物功能差异。5 个环境因子中,处理液 pH 值、土壤脲酶(S-UE)与土壤微生物功能具有显著的相关性($P < 0.05$),且处理液 pH 值与土壤微生物功能的相关性最大($r^2 =$

0.840 056 62, $P = 0.000 499 75$)。

3 讨论

本研究对 5 个不同 pH 值处理的柠檬根际土壤进行宏基因组测序,共发现 47 门 116 纲 221 目 416 科 977 属 3 638 种(除去未鉴定微生物)。5 个不同 pH 值处理的柠檬根际土壤中都是细菌占绝对优势,在总体微生物群落中占比为 93.54% ~ 95.30%,而古菌占比为 4.14% ~ 5.82%,真菌占比为 0.42% ~ 0.67%,这与前人对各种环境土壤微生物的研究结

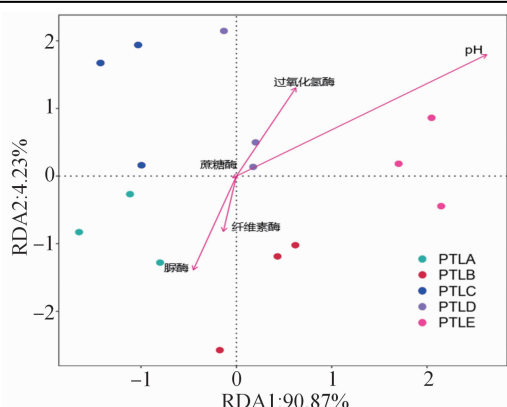


图7 土壤微生物功能与环境因子的相关性 RDA 分析

果^[10-11]是一致的。

土壤微生物是有机质分解、土壤物质转化循环的驱动者^[12],不同的管理措施会对土壤微环境产生不同的影响,进而影响土壤微生物群落的丰富度和多样性^[13-14]。通常用 α 多样性指数来评估某个样本的微生物群落多样性,不同的指数对于评估微生物群落多样性的侧重点各不相同,Chao1 指数、ACE 指数主要用于评估群落的物种丰富度,即群落中物种的数量,Shannon 指数、Simpson 指数则不仅考虑物种的数量,还包括物种的均匀度,即各物种在群落中的分布是否均匀,这些指数共同帮助我们从不不同角度理解和评估微生物群落的复杂性和多样性^[15-16]。本研究中,PTLA、PTLB、PTLC 处理的 Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数、Simpson 指数均高于 PTLD、PTLE 处理,且 PTLB 处理的 Chao1 指数、ACE 指数、Shannon 指数显著高于 PTLD、PTLE 处理,Simpson 指数显著高于 PTLE 处理,说明酸性处理下的柠檬根际土壤微生物多样性明显高于碱性和强碱处理。将 5 个处理 15 个样本的土壤微生物进行 β 多样性主成分分析 (PCoA),结果显示 PTLB、PTLD、PTLE 处理距离较远,说明 PTLB、PTLD、PTLE 处理土壤微生物群落组成具有明显的分离性,即酸性处理与碱性强碱处理下的柠檬根际土壤微生物群落组成存在差异。这可能与柠檬喜酸性土壤有关,柠檬适合生长环境 pH 值为 5.5 ~ 6.5^[17],在适宜的生长环境下(即本研究中的 PTLB 处理)其根系分泌物可以为果园土壤微生物提供更丰富的养分,进而提高土壤微生物的丰富度和多样性。

本研究中,在门分类水平上,各处理中注释到的假单胞菌门相对丰度均最高,其次为放线菌门,这一结果与前人对土壤微生物研究结果^[18-19]一致。

假单胞菌是自然界分布较广的微生物之一,广泛分布于土壤、淡水、海水以及生物体中,其生长的最适 pH 值为 7.0 ~ 8.5^[20]。本研究中不同处理假单胞菌门相对丰度从高到低依次为 PTLD > PTLC > PTLB > PTLA > PTLE,其在 PTLD 处理中的相对丰度显著高于其他处理,说明假单胞菌门在中性 (PTLC) 和碱性 (PTLD) 处理下相对丰度更高,这一结果与假单胞菌门生长最适 pH 值相吻合。放线菌门作为土壤中的优势微生物类群,在土壤健康和生态平衡中扮演着关键角色。这类微生物不仅能有效抑制土传病原真菌、减少植物病害,还能促进土壤中矿质元素的活化,通过分泌多种酶类,提高土壤酶活性,改善根际土壤微环境,从而有利于植物的生长和根系的健康。这些作用使得放线菌门在农业和环境科学中具有重要的研究和应用价值^[21]。本研究中,放线菌门相对丰度从高到低依次为 PTLA > PTLB > PTLC > PTLE > PTLD,其相对丰度随 pH 值的升高呈下降趋势,这与以往的研究结果^[22]一致。通过在属分类水平下对物种绝对丰度排名前 20 位的菌属进行聚类分析,发现 PTLA、PTLB 处理的微生物群落组成更相似,PTLC、PTLD、PTLE 处理的微生物群落组成更相似,且大部分物种在 PTLA、PTLB 处理的相对丰度要高于 PTLC、PTLD、PTLE 处理。

pH 值作为影响土壤微生物的主要因素,不仅能够影响土壤微生物群落的组成,还会影响土壤微生物的代谢功能^[4]。不同处理间柠檬根际土壤微生物功能基因的组成基本相同,但各功能基因的相对丰度存在一定差异,比如 PTLB 处理中参与氨基酸转运和代谢、能量生成和转化的功能基因相对丰度显著高于其他处理,可能是由于 PTLB 处理中某些丰度增加的菌种可能具有更高的氨基酸转运和代谢、能量生成和转化利用效率,从而增加了氨基酸转运和代谢、能量生成和转化相关基因的表达。本研究中,通过对属水平上微生物群落与环境因子之间的相关性、土壤微生物功能与环境因子的相关性进行分析,发现环境因子对土壤微生物的群落结构和功能均有显著影响,且 pH 值的影响最为突出,这与以往的许多研究结果^[23-26]是相符的。

4 结论

本研究利用宏基因组高通量测序技术,对不同 pH 值处理下柠檬根际土壤微生物进行了多样性、群落结构、功能以及相关性研究。多样性分析表明,

酸性(PTLB)处理下的柠檬根际土壤微生物多样性明显高于碱性(PTLD)、强碱(PTLE)处理,且物种组成结构差异显著。本研究中,基于宏基因组学测序得到的物种隶属于 47 门 116 纲 221 目 416 科 977 属 3 638 种(除去未鉴定微生物)。各处理的主要优势菌门均为假单胞菌门、放线菌门、热变形菌门。在属分类水平下对物种绝对丰度排名前 20 位的菌属进行聚类分析,发现 PTLA、PTLB 处理的微生物群落组成更相似,PTLC、PTLD、PTLE 处理的微生物群落组成更相似,且大部分物种在 PTLA、PTLB 处理的相对丰度要高于 PTLC、PTLD、PTLE 处理。基于 EggNOG 数据库注释,各处理参与翻译、核糖体结构和生物合成、能量生成与转化、氨基酸转运和代谢的功能基因相对丰度较高。LEfSe 分析结果显示,各处理样本土壤微生物功能存在一定差异。相关性分析表明,5 个环境因子(土壤脲酶、蔗糖酶、纤维素酶、过氧化氢酶、处理液 pH 值)对土壤微生物的群落结构和功能均有显著影响,且处理液 pH 值的影响最为突出。期待该研究结果能够有助于深入了解 pH 值对土壤微生物群落结构和功能的影响,为更好地调控土壤微生物群落结构和功能、优化土壤生态系统、服务农业生产提供参考依据。

参考文献:

- [1] Lange M, Eisenhauer N, Sierra C A, et al. Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage [J]. *Nature Communications*, 2015, 6: 6707.
- [2] Rousk J, Brookes P C, Bååth E. Investigating the mechanisms for the opposing pH relationships of fungal and bacterial growth in soil [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, 42(6): 926–934.
- [3] Bartram A K, Jiang X P, Lynch M D J, et al. Exploring links between pH and bacterial community composition in soils from the Craibstone Experimental Farm [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 87(2): 403–415.
- [4] Yun Y, Wang H M, Man B Y, et al. The relationship between pH and bacterial communities in a single Karst ecosystem and its implication for soil acidification [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1955.
- [5] Wu Y C, Zeng J, Zhu Q H, et al. pH is the primary determinant of the bacterial community structure in agricultural soils impacted by polycyclic aromatic hydrocarbon pollution [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 40093.
- [6] Staddon W J, Trevors J T, Duchesne L C, et al. Soil microbial diversity and community structure across a climatic gradient in western Canada [J]. *Biodiversity & Conservation*, 1998, 7(8): 1081–1092.
- [7] Luo Y, Wan S, Hui D, et al. Acclimatization of soil respiration to warming in a tall grass prairie [J]. *Nature*, 2001, 413(6856): 622–625.
- [8] 韩文炎, 王皖蒙, 郭 赞, 等. 茶园土壤细菌丰度及其影响因子研究 [J]. *茶叶科学*, 2013, 33(2): 147–154.
- [9] 付小猛, 杨虹霞, 龙春瑞, 等. 土壤 pH 值对果园土壤质量的影响及调控技术研究综述 [J]. *辽宁农业科学*, 2023(4): 75–78.
- [10] Ye L, Zhang T, Wang T T, et al. Microbial structures, functions, and metabolic pathways in wastewater treatment bioreactors revealed using high-throughput sequencing [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(24): 13244–13252.
- [11] Ceccon D M, Faoro H, da Cunha Lana P, et al. Metataxonomic and metagenomic analysis of mangrove microbiomes reveals community patterns driven by salinity and pH gradients in Paranaguá Bay, Brazil [J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 694: 133609.
- [12] 葛利芳, 李 静, 刘 萍, 等. 剑麻行间间种平托花生对土壤微生物群落的影响 [J]. *分子植物育种*, 2024, 22(5): 1613–1624.
- [13] Ai C, Zhang S Q, Zhang X, et al. Distinct responses of soil bacterial and fungal communities to changes in fertilization regime and crop rotation [J]. *Geoderma*, 2018, 319: 156–166.
- [14] 李其胜, 杨 凯, 蒋伟勤, 等. 有机(类)肥料对作物产量、土壤养分及土壤微生物多样性的影响 [J]. *江苏农业学报*, 2023, 39(8): 1772–1783.
- [15] 徐胜涛, 王攀磊, 何 翔, 等. 植物覆盖对蕉园土壤质量和微生物多样性的影响 [J]. *南方农业学报*, 2020, 51(3): 496–504.
- [16] 李承臻, 袁秉琛, 王燕茹, 等. 荔枝园间作柱花草对土壤理化性质和土壤细菌群落结构的影响 [J]. *热带作物学报*, 2017, 38(1): 1–17.
- [17] 宁加和, 刘黛诗, 莫昭展. 中国柠檬产业发展前景分析 [J]. *大众科技*, 2022, 24(2): 62–65.
- [18] 向 信, 殷恒霞, 朱肇宇, 等. 青藏高原极端生境细菌多样性差异及影响因素 [J]. *微生物学报*, 2023, 63(8): 3235–3251.
- [19] 雷云峰, 何志平, 龚建军, 等. 施用猪粪水对青脆李果实品质和产量、土壤中微生物群落与抗生素耐药基因的影响 [J]. *西南农业学报*, 2024, 37(1): 189–198.
- [20] 杨光富, 魏云林. 假单胞菌研究现状及应用前景 [J]. *生物技术通报*, 2011(1): 37–39, 49.
- [21] 李堆淑, 何念武, 冀玉良. 干旱胁迫下灰色链霉菌对桔梗幼苗根际土壤酶活性、养分及微生物的影响 [J]. *干旱地区农业研究*, 2017, 35(6): 173–180.
- [22] 徐晓凤. pH 值对红壤和潮土有机碳转化及土壤微生物群落结构的影响 [D]. 南昌: 江西农业大学, 2019: 47.
- [23] 杨 浩, 吴文龙, 闫连飞, 等. 土壤 pH 值对蓝莓生长和生理特性的影响及其调节方法综述 [J]. *江苏农业科学*, 2022, 50(6): 1–8.
- [24] 王智慧, 蒋先军. 紫色土中微生物群落结构及功能特征对土壤 pH 值的差异响应 [J]. *环境科学*, 2022, 43(7): 3876–3883.
- [25] Zhalnina K, Dias R, de Quadros P D, et al. Soil pH determines microbial diversity and composition in the park grass experiment [J]. *Microbial Ecology*, 2015, 69(2): 395–406.
- [26] Bahram M, Hildebrand F, Forslund S K, et al. Structure and function of the global topsoil microbiome [J]. *Nature*, 2018, 560(7717): 233–237.