



古井老枞茶树生态系统中细菌与真菌群落多样性特征分析

郑智胜¹, 周艳^{2,3}, 黄卫红¹, 陈小尘¹, 薛喜枚⁴, 吴宝川¹, 彭静静⁵, 莫佳伟¹, 张秋芳^{1*}

- 1 泉州师范学院海洋与食品学院, 福建 泉州 362000
- 2 武夷山国家公园科研监测中心, 福建 南平 354300
- 3 武夷山一地好茶生态茶业研究所, 福建 南平 354300
- 4 中国科学院城市环境研究所, 福建 厦门 361021
- 5 中国农业大学资源与环境学院, 北京 100193

郑智胜, 周艳, 黄卫红, 陈小尘, 薛喜枚, 吴宝川, 彭静静, 莫佳伟, 张秋芳. 古井老枞茶树生态系统中细菌与真菌群落多样性特征分析[J]. 微生物学报, 2024, 64(4): 1110-1126.

ZHENG Zhisheng, ZHOU Yan, HUANG Weihong, CHEN Xiaochen, XUE Ximei, WU Baochuan, PENG Jingjing, MO Jiawei, ZHANG Qiufang. Bacterial and fungal diversity in the old tea plant ecosystem of *Camellia sinensis* 'Fujian Shuixian' cultivated in Gujing[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(4): 1110-1126.

摘要:【目的】古井老枞经过漫长生长形成了独特“枞味”，而山场是茶叶品质形成的重要因素，微生物在山场生态系统的生物地球化学循环过程中可能起着关键作用，但老枞生态系统微生物群落组成特征还尚未明确。【方法】以生长于武夷山国家公园慧苑坑古井区域的老枞茶树为研究对象，采集茶树地上部叶片(叶际和叶内)和地下部土壤(根际、非根际和非茶园种植区空白)，分别以细菌 16S rRNA 基因和真菌内部转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)基因为分子标记，采用高通量测序技术分析其细菌和真菌群落组成特征。【结果】老枞茶树地上部细菌和真菌群落丰富度和多样性皆显著低于地下部。共现性网络中，各生态位网络的模块化指数均超过 0.4，且微生物物种之间的协同作用大于竞争。门水平，变形菌(*Proteobacteria*)、酸杆菌(*Acidobacteriota*)、放线菌(*Actinobacteriota*)、子囊菌(*Ascomycota*)和担子菌(*Basidiomycota*)皆为地上和地下共有优势菌门(相对丰度>1%)，地上部变形菌、放线菌和子囊菌含量高于地下部，而酸杆菌和担子菌则相反

资助项目：福建省科技厅引导性项目(2020N0032, 2022N0026)；福建省林业科技项目(2022FKJ08)

This work was supported by the Pilot Projects of Fujian Provincial Department of Science and Technology (2020N0032, 2022N0026) and the Forestry Science and Technology Project of Fujian Province (2022FKJ08).

*Corresponding author. E-mail: qfzhang@qztc.edu.cn

Received: 2023-10-08; Accepted: 2023-12-15; Published online: 2023-12-25

($P < 0.05$); 属水平, 优势物种中甲基杆菌 (*Methylobacterium-Methylobacterium*)、鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*)、假单胞菌 (*Pseudomonas*)、氨杆菌 (*Amnibacterium*)、芽胞杆菌 (*Bacillus*)、枝孢菌 (*Cladosporium*) 和镰刀菌 (*Fusarium*) 是古井老枞各生态位主要的生物标记物。【结论】研究揭示了古井老枞茶树生态系统中不同生态位的细菌与真菌群落组成特征, 可为今后深入研究老枞茶叶品质形成机理和茶树病害生物防治等相关功能菌种资源的应用提供科学参考。

关键词: 古井老枞茶树; 细菌; 真菌; 叶际; 叶内; 根际土壤; 非根际土壤

Bacterial and fungal diversity in the old tea plant ecosystem of *Camellia sinensis* ‘Fujian Shuixian’ cultivated in Gujing

ZHENG Zhisheng¹, ZHOU Yan^{2,3}, HUANG Weihong¹, CHEN Xiaochen¹, XUE Ximei⁴, WU Baochuan¹, PENG Jingjing⁵, MO Jiawei¹, ZHANG Qiufang^{1*}

1 College of Oceanology and Food Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000, Fujian, China

2 Research Monitoring Center, Wuyishan National Park, Nanping 354300, Fujian, China

3 Institute of Wuyishan Yidi Ecological Tea, Nanping 354300, Fujian, China

4 Institute of Urban Environment, Chinese Academy of Sciences, Xiamen 361021, Fujian, China

5 College of Resources and Environmental Sciences, China Agricultural University, Beijing 100193, China

Abstract: [Objective] Over a prolonged period of growth, the old tea plant ecosystem of *Camellia sinensis* ‘Fujian Shuixian’ in Gujing has acquired a distinctive fir flavor, with the mountainous environment playing a key role in shaping the tea quality. Microbial communities play a vital role in biogeochemical cycling within mountainous ecosystems. Nevertheless, the characteristics of the microbial community within the distinct old tea plant ecosystem remain incompletely understood. **[Methods]** Samples were collected from both the aboveground and belowground parts of the old *C. sinensis* ‘Fujian Shuixian’ tea garden in Gujing, situated in the central region of the Wuyishan National Park. The samples encompassed the phyllosphere and leaf endosphere, along with soils from the rhizosphere, non-rhizosphere, and surrounding regions. High-throughput sequencing of the 16S rRNA gene and internal transcribed spacer (ITS) region were carried out to assess the bacterial and fungal diversity, respectively. **[Results]** The richness and diversity of bacterial and fungal communities in the aboveground part were markedly lower than those in the belowground part. Within co-occurrence networks, the modularity index for taxa networks in each niche exceeded 0.4, and the positive correlations in interactions among microbial taxa are greater than the competition. The prevailing phyla, with the relative abundance greater than 1%, were *Proteobacteria*, *Acidobacteriota*, *Actinobacteriota*, *Ascomycota*, and *Basidiomycota*, which were present in both above and belowground habitats. Notably, the relative abundance of *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, and *Ascomycetes* aboveground surpassed that belowground, whereas that of *Acidobacteria* and *Basidiomycetes* displayed an opposite pattern ($P < 0.05$). The prominent genera (with the

abundance exceeding 1%) identified were *Methylobacterium-Methylorubrum*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Amnibacterium*, *Bacillus*, *Cladosporium*, and *Fusarium*. These genera potentially served as crucial biomarkers in the ecological niches of *C. sinensis* ‘Fujian Shuixian’ within the old tea plant ecosystem in Gujing. **[Conclusion]** The present study unveiled the unique attributes of bacterial and fungal communities within the old tea plant ecosystem of *C. sinensis* ‘Fujian Shuixian’ in Gujing, delivering valuable scientific insights for disease prevention and biocontrol in tea plant cultivation, tea quality improvement, and the exploration of functional microbial resources.

Keywords: old *Camellia sinensis* ‘Fujian Shuixian’ of Gujing; bacteria; fungi; phyllosphere; leaf endosphere; rhizosphere soil; non-rhizosphere soil

植物为内生和附生微生物群落提供了多个生态位,使微生物定殖于植物地上部和地下部的表面及内生组织中,形成复杂的互作关系,在协助植物摄取营养、促进生长、抗病及抗胁迫中都发挥着重要作用^[1]。叶表面是微生物附生的重要生态位,但也是一个苛刻且不稳定的生境,在寡营养、生物和非生物因素干扰下不利于微生物生存,经过层层“筛选”,最终成功定殖于叶表面的微生物称为叶际微生物^[2-3];生活在叶片组织内部的细胞间隙或细胞内,与植物长期协同进化的过程中形成了共生关系的微生物称为叶片内生菌^[4]。植物地下根系中,附着在根部表面约 1 mm 厚的土壤被称为根际土壤,超过该微域根系土壤被称为非根际土壤,受植物影响根际土壤形成“根际效应”可以从非根际土壤微生物群落中招募到适合该生境生存的微生物定殖^[5]。因此,非根际与根际土壤的微生物群落组成具有一定相似性,是根际土壤微生物物种的重要“发源地”^[6]。植物内生菌是地上和地下部微生物组进行联系的“桥梁”,微生物则可以通过植物特定的招募机制从根际和叶际区域进入内生组织中成为内生菌,实现了不同生态位的微生物群落交流与转移^[7]。

老枞是指树龄达 50 年以上的武夷水仙 (*Camellia sinensis*, ‘Fujian Shuixian’),具有木质、

青苔和粽叶等特殊“枞味”的茶树^[8]。生长于武夷山国家公园核心区慧苑坑深处的古井老枞,历经漫长岁月,植株从树干到树茎都布满绿色青苔,具有独特山场气息和浓厚的“枞味”,但由于古井山场种植面积很小,出产的茶叶也极其稀少,已成为诸多茶客追捧的茶中圣品。在茶树的微生态系统中,有益微生物对于茶树固氮、耐酸铝、生物地球化学循环及特殊风味的形成都有着重要作用^[9]。因此,明确古井老枞茶树各生态位微生物群落组成,对于探究茶叶品质形成与微生物互作,挖掘特定功能菌群及其对特殊“枞味”形成中微生物作用机理的都具有重要意义。目前,已有普洱等茶产区相关微生物群落多样性研究^[10-17],但截至目前,对老枞茶树生态系统中微生物群落组成特征的研究还尚未见报道。

本研究以具代表性和典型性的武夷山古井老枞茶树的微生态系统为研究对象,分别以细菌 16S rRNA 基因和真菌内部转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)基因为分子标记,利用高通量测序技术分析其地上部叶际、叶内及地下部根际、非根际和非种植区域土壤细菌和真菌群落组成特征,推测其茶叶内生菌的可能来源,进一步为研究古井老枞茶树病虫害生物防治及探究茶叶“枞味”形成机理提供科学参考。

1 材料与方 法

1.1 样品采集和前处理

古井老枞茶树生长区域位于武夷山风景区内慧苑坑(27.673°N, 117.855°E), 慧苑坑是武夷山九曲溪以北三道重要东西向坑涧中的最北一道, 也是“三坑两涧”的三坑中最大范围的坑, 海拔 447 m, 亚热带季风性气候, 年均气温约 18 °C, 年降水量大于 2 000 mm, 土壤里砂砾含量丰富, 土质疏松, 养分高^[8]。

为真实反映古井老枞茶树的生长情况, 将取样地划分为 5 个区设为 5 个生物学重复, 每个区域中选取 5 株长势良好且相近的老枞茶树作为采样对象, 其根部上易脱落的土壤作为非根际土壤(non-rhizosphere soils, NS), 粘在根部的土壤作为根际土壤(rhizosphere soils, RS)^[5]; 另外, 在非种植区空地中挖取的土壤作为空白对照土壤(bulk soil, BS), 各约 50 g。在采集土壤的同时, 也采摘了相应老枞植株下部成熟叶片, 每个区域各约 50 g。将叶片和土壤样品分别装入无菌密封袋, 低温保存, 快速运回实验室。

采集的土壤经冻干研磨, 过 2 mm 无菌筛后备用。新鲜叶片用无菌水轻微清洗表面灰尘, 晾干后称取 10 g 放入无菌三角瓶, 加入 200 mL 无菌 TE 缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, 1 mmol/L EDTA, pH 8.0), 200 r/min 摇床振荡 30 min 后用 40 kHz 超声 15 min 后使微生物细胞从叶表面中分离, 用 0.2 mm 无菌筛过滤获得叶际(phyllosphere, LP)微生物滤液备用^[18-19]; 过滤剩下的叶片用 75%乙醇浸泡 1 min, 无菌水冲洗 3 次, 再用 5%次氯酸钠表面消毒 5 min, 无菌水冲洗 3-5 次后, 使用无菌研钵进行充分研磨, 获得的叶片渣备用^[10], 使得叶内(leaf endosphere, LE)微生物从中释放出来。

1.2 DNA 提取和 PCR 扩增

取“1.1”备用的滤液、叶渣和土壤样品, 采用 FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals 公司)提取样品中的总 DNA, 提取步骤根据试剂盒说明书进行。应用 Qubit™4 Fluorometer (ThermoFisher Scientific 公司)检测提取到的 DNA 原液的含量和质量。PCR 扩增: 用带 barcode 条形码的引物扩增细菌 16S rRNA 基因 V5-V8 区序列, 第一轮引物为 799F (5'-AACMGGATTAGATACCCCKG-3') 和 1392R (5'-ACGGGCGGTGTGTRC-3'), 第二轮引物为 799F (5'-AACMGGATTAGATACCCCKG-3') 和 1193R (5'-ACGTCATCCCCACCTTCC-3')^[20]; 真菌 ITS 基因扩增采用带 barcode 条形码的引物 ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和 ITS2R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')^[21]。16S rRNA 基因 PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s (第一轮 27 个循环, 第二轮 13 个循环); 72 °C 10 min。ITS 基因 PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s (30 个循环); 72 °C 10 min。最后将经琼脂糖凝胶电泳检测得到明亮条带的 PCR 产物, 送至上海美吉生物医药科技有限公司在 MiSeq PE300 测序仪(Illumina 公司)上进行高通量测序。

1.3 数据处理

测序获得的数据在上海美吉生物医药科技有限公司提供的云平台(<https://cloud.majorbio.com/>)上进行处理和分析。原始的 DNA 序列经过 FLASH v1.2.11 软件进行去除杂质、嵌合体及低量序列并进行拼接处理, 得到优化序列^[22]。在 Uparse v11 软件平台上将相似性超过 97%的序列聚为一个操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)^[22]; 采用 RDP Classifier v2.13 软件对每一条序列进行物种分类注释, 对比 SILVA 数据库(Silva v138)和 UNITE 数据库(Unite v8.0),

设置对比阈值为 0.7^[23]。基于 OTU 水平, 利用 Mothur v1.30.2 软件计算不同随机抽样下的 α 多样性指数(Sobs 指数和 ACE 指数表示群落丰富度, Shannon 指数和 Simpson 指数表示群落多样性, Coverage 指数为文库的覆盖度), 利用 QIIME v1.9.1 软件根据 Bray-Curtis 距离算法进行 β 多样性的主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)和置换多因素方差分析(permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA), 各分类学水丰度表也由 QIIME v1.9.1 软件生成^[22]。共有和特有属水平物种的 Venn 图由 R 语言 v3.3.1 软件统计^[24], 属水平的物种关系网络图由 NetworkX v1.11 软件分析和可视化^[22]。线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)效应大小(LDA effect size, LEfSe)方法用于确定不同样品之间不同分类水平存在显著差异的微生物类群, 可作为生物标记物, 由网页 LEfSe (http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/root?tool_id=lef

se_upload)分析和可视化^[25]。由 R 语言 v3.3.1 的 vegan 和 igraph 包通过 Spearman's 相关系数构建微生物物种的共现网络, 并认为 Spearman's 相关系数大于 0.6 具有统计学意义($P < 0.05$), 并由 Gephi v0.9.4 软件进行可视化^[26]。 α 多样性指数箱型图、PCoA 图、菌门物种组成柱状叠堆图、菌属组成丰度气泡图和 Venn 图均由 R 语言 v3.3.1 软件实现可视化。利用 SPSS 25.0 软件的单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)的 Duncan 检验法对微生物 α 多样性指数和相关优势菌门的相对丰度进行显著性差异分析, 并使用 BH 法进行多重检验校正。

2 结果与分析

2.1 菌群组成结构

古井老枞茶树地上和地下 LP、LE、RS、NS 和 BS 共 5 个生态位经高通量测序分析, 共获得 10 个优势细菌门(相对丰度 > 1%) (图 1A)。

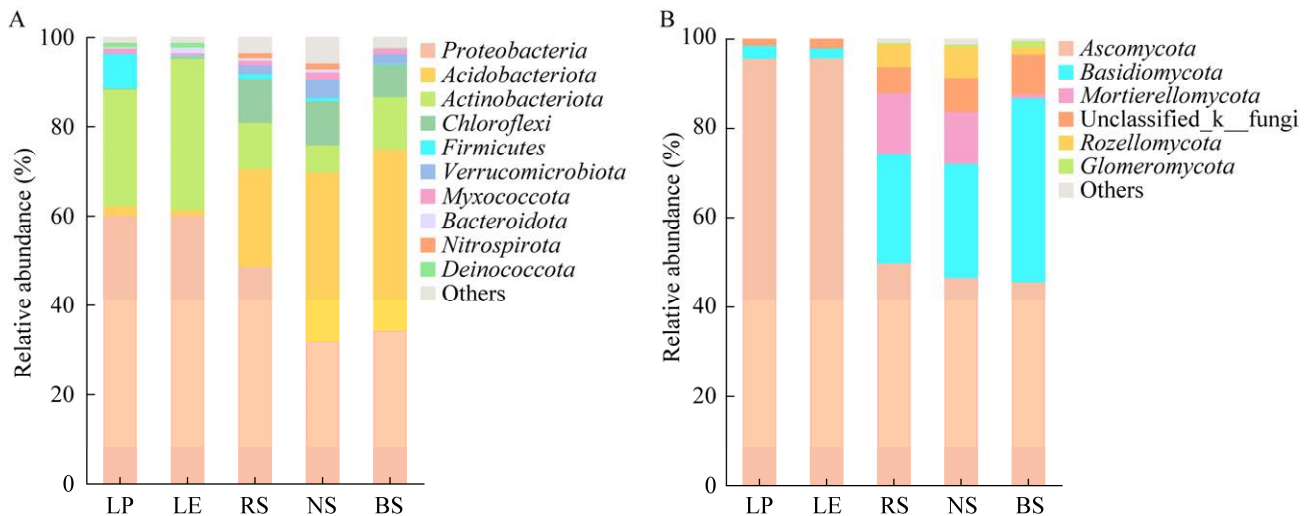


图 1 古井老枞茶树不同生态位的细菌(A)和真菌(B)门水平物种组成

Figure 1 Bacterial (A) and fungal (B) community in the different niches of the old *Camellia sinensis* 'Fujian Shuixian' of Gujing at the phylum level. The "Others" represents the sum of microbial taxa with relative abundance of less than 1%. LP, LE, RS, NS, BS represent phyllosphere, leaf endosphere, rhizosphere soil, non-rhizosphere soil and bulk soil, respectively. The same below.

其中,变形菌(*Proteobacteria*)、放线菌(*Actinobacteriota*)和酸杆菌(*Acidobacteriota*)是地上部和地下部共有优势物种,地上部的变形菌和放线菌含量显著高于地下部,而酸杆菌则相反;而异常球菌(*Deinococcota*)和拟杆菌(*Bacteroidota*)则是叶片特有优势物种,绿弯菌(*Chloroflexi*)、疣微菌(*Verrucomicrobia*)和硝化螺旋菌(*Nitrospirota*)是土壤特有优势物种;叶际的厚壁菌(*Firmicutes*)相对丰度显著高于叶内,根际和非根际土壤硝化螺旋菌相对丰度显著高于非茶园土壤。共获得6个优势真菌门(图1B),其中,子囊菌(*Ascomycota*)、担子菌(*Basidiomycota*)和Unclassified_k_fungi是叶片和土壤共有优势物种,叶片的子囊菌含量显著高于土壤,而担子菌则相反;被胞霉(*Mortierellomycota*)、罗兹菌(*Rozellomycota*)和球囊菌(*Glomeromycota*)是土壤特有优势物种;根际和非根际土壤的担子菌和球囊菌相对丰度显著低于非茶园土壤,被胞霉和罗兹菌的相对丰度在根际和非根际土壤中显著高于非茶园土壤($P<0.05$)。

属水平,如图2所示,相对丰度前30的细菌和真菌中,除未具体分类的属物种外,地上部叶际和叶内共有优势物种包含了甲基杆菌(*Methylobacterium-Methylorubrum*)、氨杆菌(*Amnibacterium*)、*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*、鞘氨醇单胞菌(*Sphingomonas*)、放线链胞菌(*Actinomycetospora*)、1174-901-12、*Quadrisphaera*、枝胞菌(*Cladosporium*)、顶齿霉(*Acrodontium*)、炭疽菌(*Colletotrichum*)、球壳胞(*Setophoma*)和横断胞(*Strelitziana*),叶际优势物种有芽胞杆菌(*Bacillus*)和畸球腔菌(*Teratoramularia*),叶内优势物种砂单胞菌(*Aureimonas*)和假单胞菌(*Pseudomonas*);地下部根际、非根际和非茶园土壤共有优势物种有 *Candidatus_Solibacter* 和 *Saitozyma*, 根际

和非根际土壤的共有优势物种有被胞霉(*Mortierella*), 根际和非茶园土壤共有优势物种有热酸菌(*Acidotherrmus*)和酸杆菌(*Acidibacter*), *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* 和朱氏杆菌(*Chujaibacter*)是根际土壤优势物种,苔藓杆菌(*Bryobacter*)、*ADurb.Bin063-1*、镰刀菌(*Fusarium*)、黄丝曲霉(*Talaromyce*)和毛壳(*Chaetomium*)是非根际土壤优势物种,慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium*)、红菇(*Russula*)、古菌根瘤菌(*Archaeorhizomyces*)、拟蜡菌(*Ceriporiopsis*)和梅氏瑚菌(*Membranomyces*)是非茶园种植区土壤优势物种。

2.2 α 多样性分析

α 多样性分析中,5个生态位的细菌和真菌基因文库覆盖度 Coverage 都大于0.99,说明所有样品测序深度都合理。叶际和叶内的细菌和真菌的丰富度和多样性显著低于根际、非根际和非茶园土壤(图3)。5个生态位上的细菌丰富度和多样性大小顺序皆为:RS>NS>BS>LP>LE;真菌丰富度大小顺序:RS>BS>NS>LP>LE,而多样性顺序:RS>NS>BS>LP>LE。

2.3 β 多样性分析

基于Bray-Curtis距离算法的PCoA分析结果表明,细菌和真菌总解释度分别为69.73%和57.03%(图4),PERMANOVA分析表明,不同生态位细菌($R^2=0.721$, $P=0.001$)和真菌($R^2=0.615$, $P=0.001$)群落组成差异皆达到显著水平。叶际和叶内、根际和非根际土壤之间的细菌和真菌群落具有一定相似性,但非茶园土壤与其他生态位之间的微生物群落组成结构具有显著的差异。

2.4 共有和特有物种组成分析

属水平下,5个生态位共获得细菌物种590个和真菌物种812个,真菌多样性高于细菌(图5)。其中,5个生态位共同含有的细菌和真菌物种数量分别有100个和84个,占总数16.95%和10.34%,

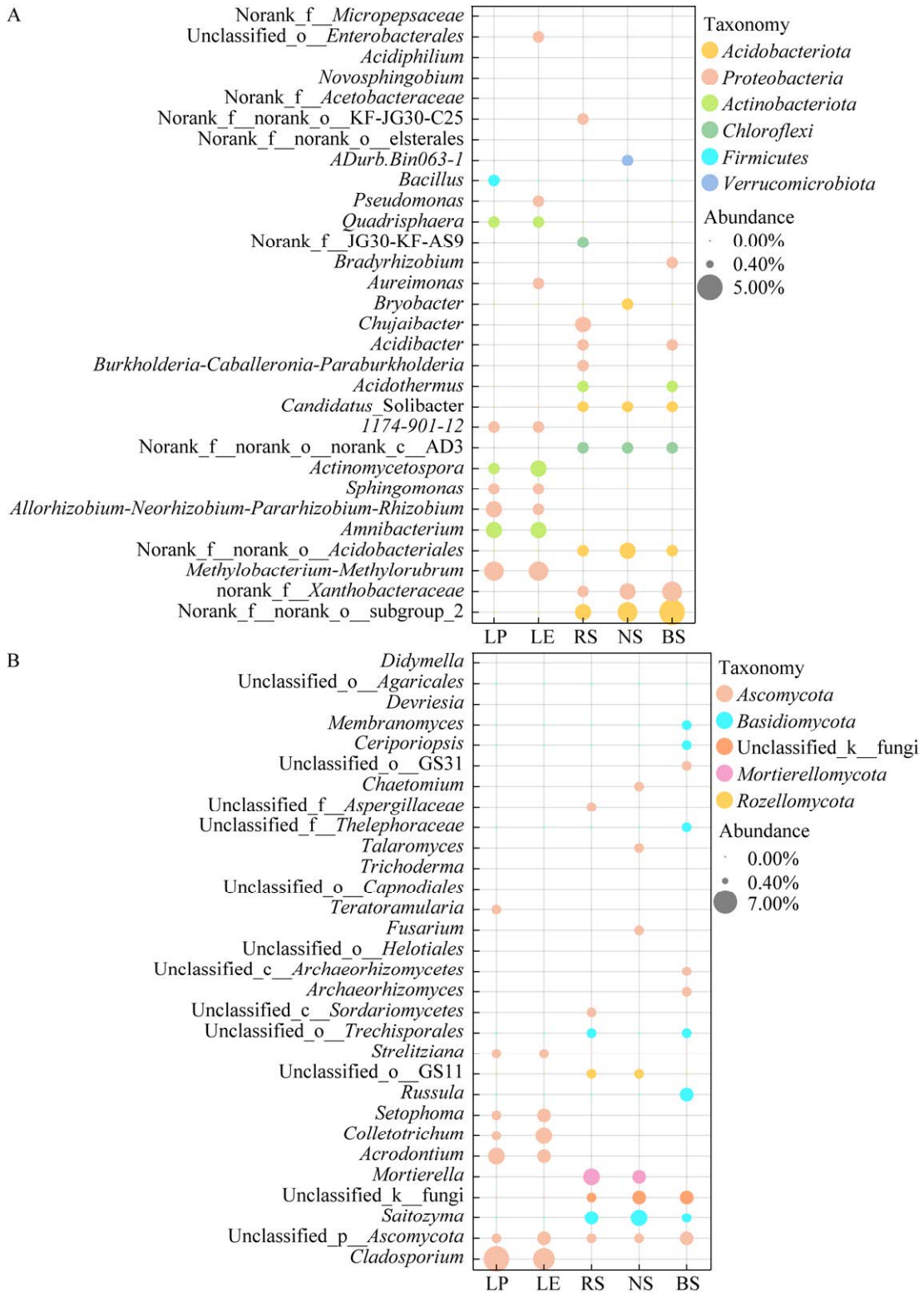


图 2 古井老枞茶树不同生态位细菌(A)和真菌(B)属水平物种组成

Figure 2 Bacterial (A) and fungal (B) community in the different niches of the old *Camellia sinensis* ‘Fujian Shuixian’ of Gujing at genus level. Nodes are colored at the phylum level and the size of point according to the relative abundance.

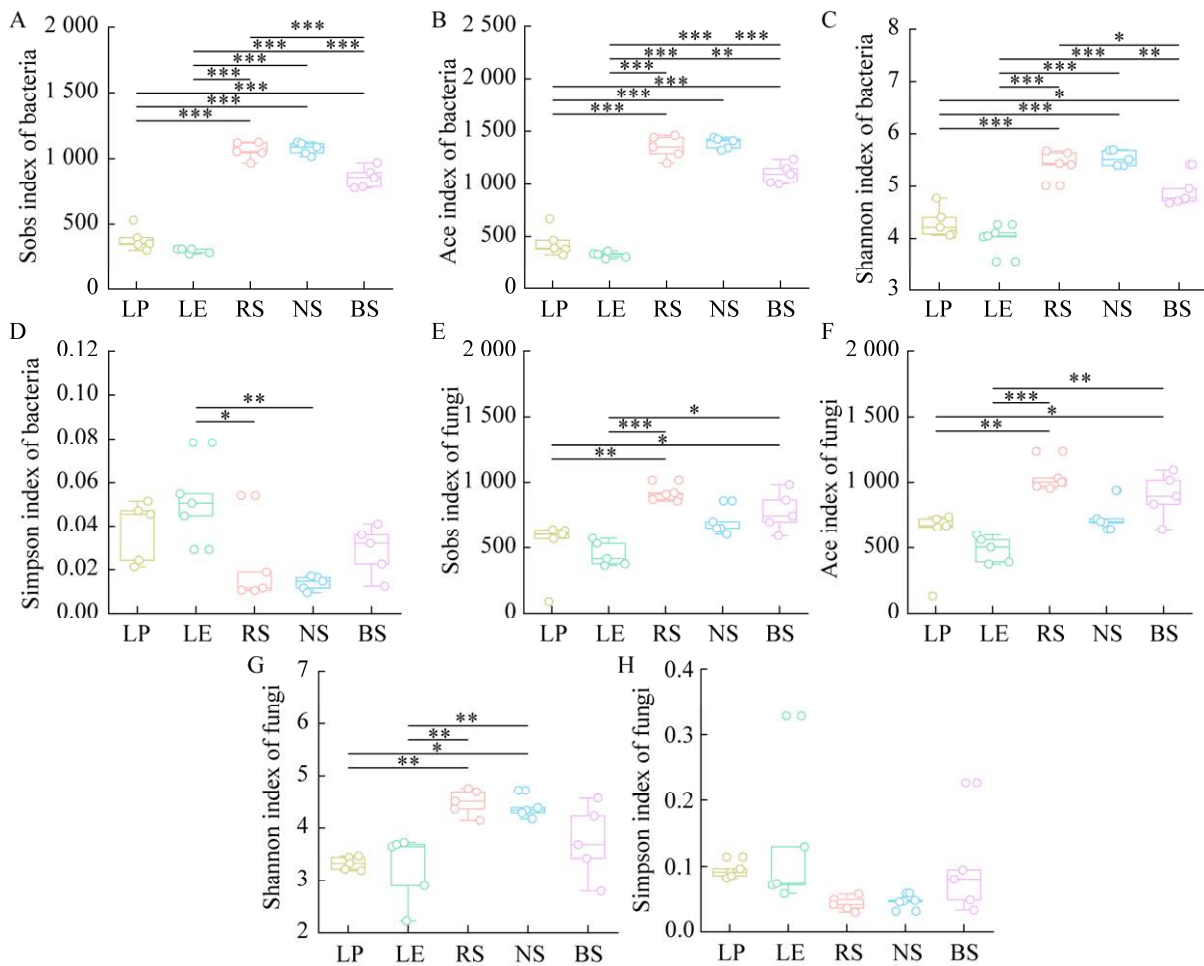


图 3 古井老枞茶树不同生态位细菌和真菌 α 多样性指数

Figure 3 Alpha diversity index of bacteria and fungi in the different niches of the old *Camellia sinensis* ‘Fujian Shuixian’ of Gujing. A, B, C, D represent Sobs, Ace, Shannon and Simpson analysis of bacteria, respectively. E, F, G, H represent Sobs, Ace, Shannon and Simpson analysis of fungi, respectively. The error bars represent the standard errors of the mean of the five repetitions. *: $0.01 < P \leq 0.05$; **: $0.001 < P \leq 0.01$; ***: $P \leq 0.001$.

而 LP、LE、RS、NS 和 BS 生态位特有细菌物种分别为 84 个(14.24%)、23 个(3.90%)、16 个(2.71%)、19 个(3.22%)和 9 个(1.53%)，真菌分别为 49 个(6.03%)、22 个(2.71%)、75 个(9.24%)、38 个(4.68%)和 76 个(9.36%)，细菌共有物种比例高于真菌，叶际中的特有细菌物种占比较高，而根际和非茶园土壤则含有较高占比的特有真菌物种；叶际和叶内共有细菌和真菌物种分别为 47 个(7.97%)和 58 个(7.14%)，叶内和根际土壤共有细菌和真菌物种数量分别为 2 个

(0.34%)和 3 个(0.37%)，叶际、叶内和根际土壤共有的细菌和真菌物种分别为 10 个(1.69%)和 37 个(4.56%)，推测叶内共生菌可能来源于根际土壤和叶际的微生物组，其中来源于叶际的比例较高。属水平序列条数大于 100 的细菌和真菌物种中，5 个生态位共有和特有菌属数量也表明了地上部与地下部微生物群落结构差异较大，而地上部和地下部各自组间的共有物种较多，但起到联系地上和地下的共有物种数量较少(图 6)。

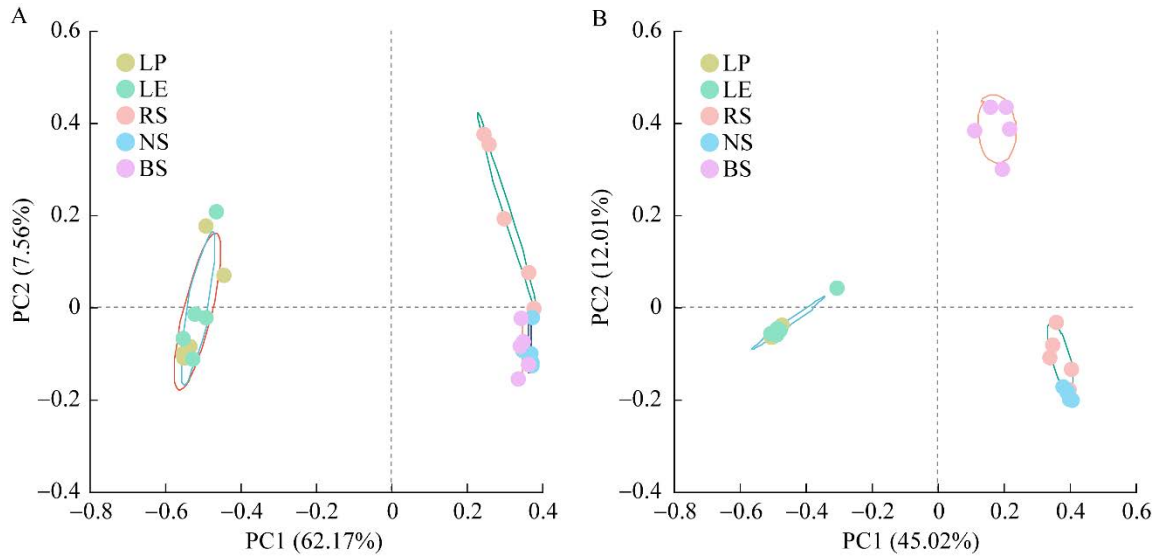


图 4 古井老枞茶树不同生态位细菌(A)和真菌(B)群落结构主成分(PCoA)分析

Figure 4 Bacterial (A) and fungal (B) community of principal coordinate analysis (PCoA) of the different niches of the old *Camellia sinensis* ‘Fujian Shuixian’ of Gujing.

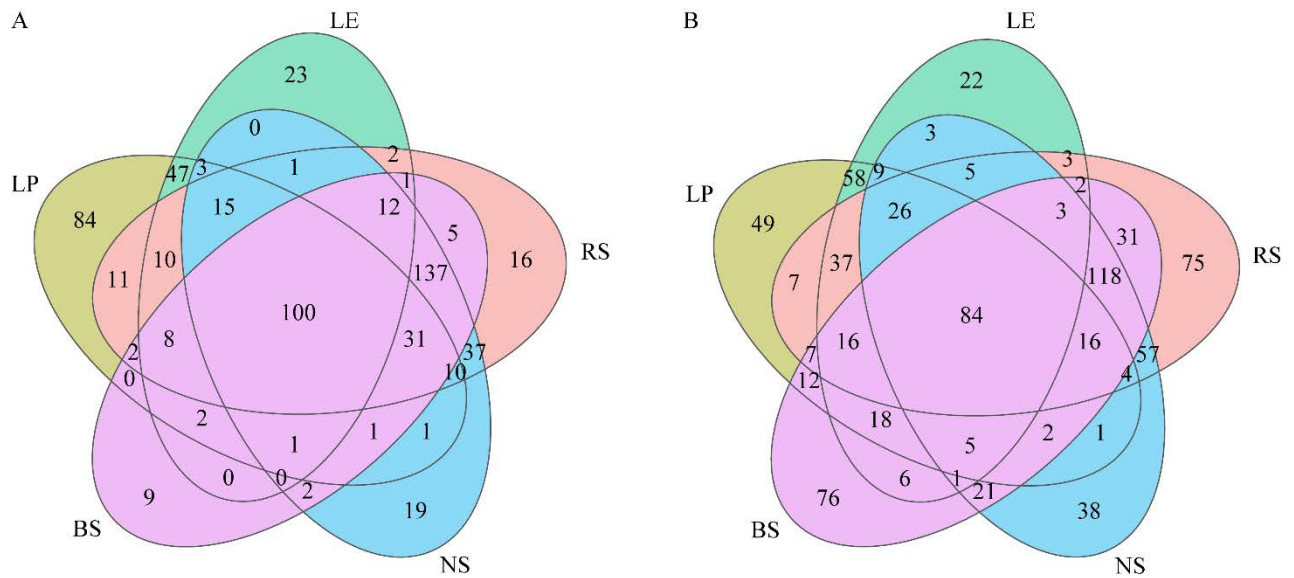


图 5 古井老枞茶树不同生态位细菌(A)和真菌(B)韦恩图分析

Figure 5 Venn diagram analysis of bacteria (A) and fungi (B) in the different niches of the old *Camellia sinensis* ‘Fujian Shuixian’ of Gujing.

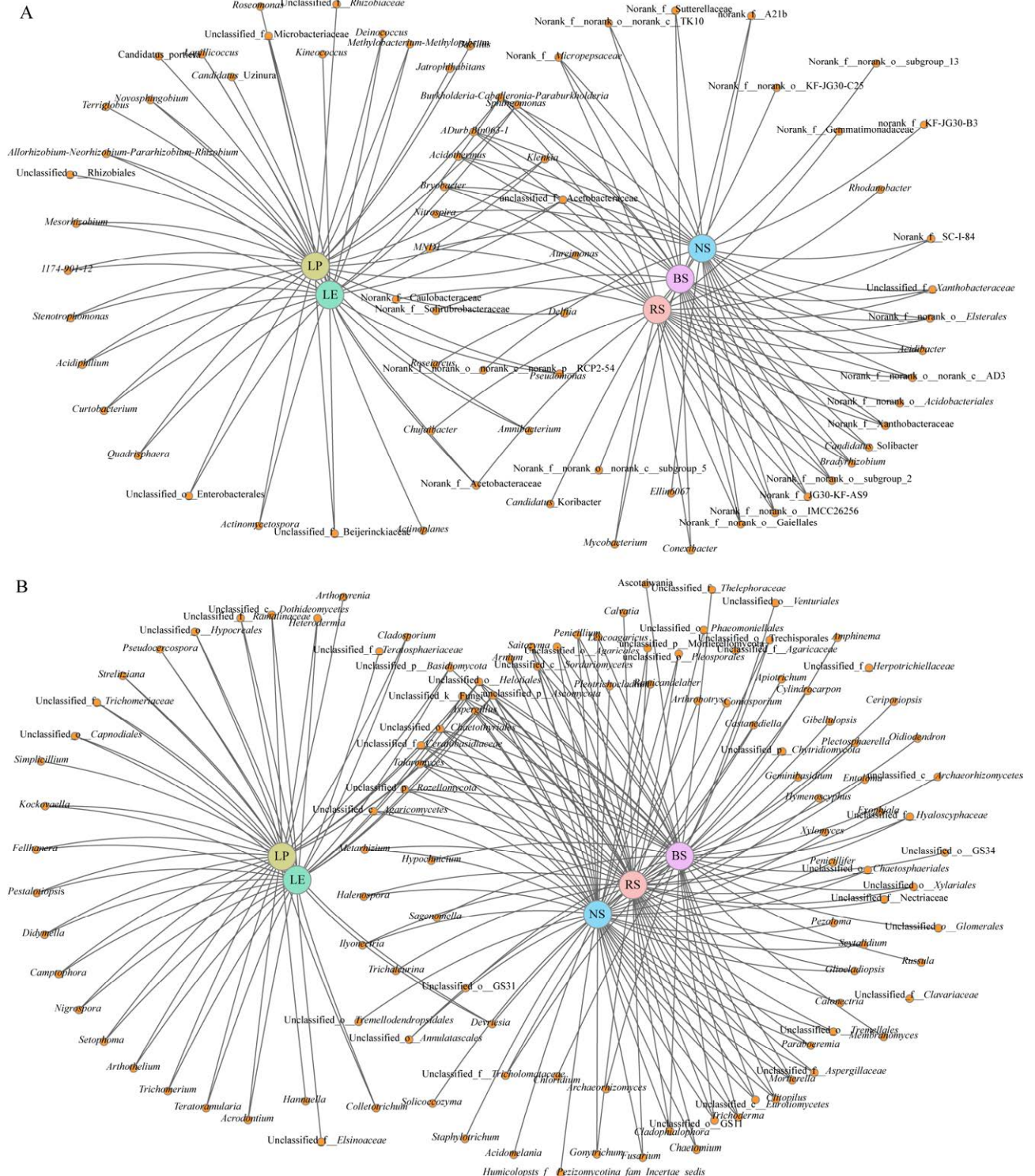


图 6 古井老枞茶树不同生态位属水平细菌(A)和真菌(B)共有和特有物种关系网络图
 Figure 6 Network of common and unique genera of bacteria (A) and fungi (B) in the different niches of the old *Camellia sinensis* ‘Fujian Shuixian’ of Gujing.

2.5 物种共现网络分析

共现性网络分析可以揭示不同生态位的微生物相互作用情况(图 7)。5 个生态位细菌和真菌的网络模块化指数均大于 0.4, 说明古井老枞生态系统不同生态位都具有较高模块化水平。网络节点平均度揭示了共现网络中各组分连接度, 平均度越高, 网络互作程度越高, 5 个生态位细菌网络节点平均度大小顺序为: LP>RS>NS>BS>LE (图 7A), 真菌网络节点平均度大小顺序为: RS>BS>LP>NS>LE (图 7B)。网络节点按门划分, 边以物种之间的正负相关性区分, LP、LE、RS、NS 和 BS 中的细菌共生网络分别由 357、235、401、375 和 325 个节点及 7 088、1 697、5 342、4 600 和 3 013 个边组成(图 7A), 正相关边数占比分别为 88.84%、80.44%、56.03%、60.98%和 69.33%; 而真菌共生网络分

别由 352、303、497、396 和 422 个节点及 4 410、2 665、7 578、4 736 和 5 431 个边组成(图 6B), 正相关边数占比分别为 85.65%、80.56%、72.83%、74.66%和 83.48%; 细菌节点主要归属于变形菌(35.01%–43.13%)和放线菌(15.13%–18.72%), 除此之外, 厚壁菌节点在地上部占比较高(9.79%–20.73%), 而酸杆菌节点在地下部占比较高(6.73%–8.31%), 真菌节点主要归属于子囊菌(64.22%–76.24%)和担子菌(20.96%–27.25%)。5 个生态位细菌和真菌的正相关边数均大于负相关边数, 表明老枞茶树生态系统中微生物群落都形成了较稳定的协同关系, 地上部的叶际和叶内的细菌和真菌的正相关边数均超过了 80%, 而老枞茶树地下部的生态位中由远到近, 即非茶园、非根际到根际土壤的细菌和真菌的正相关边数则逐渐下降。

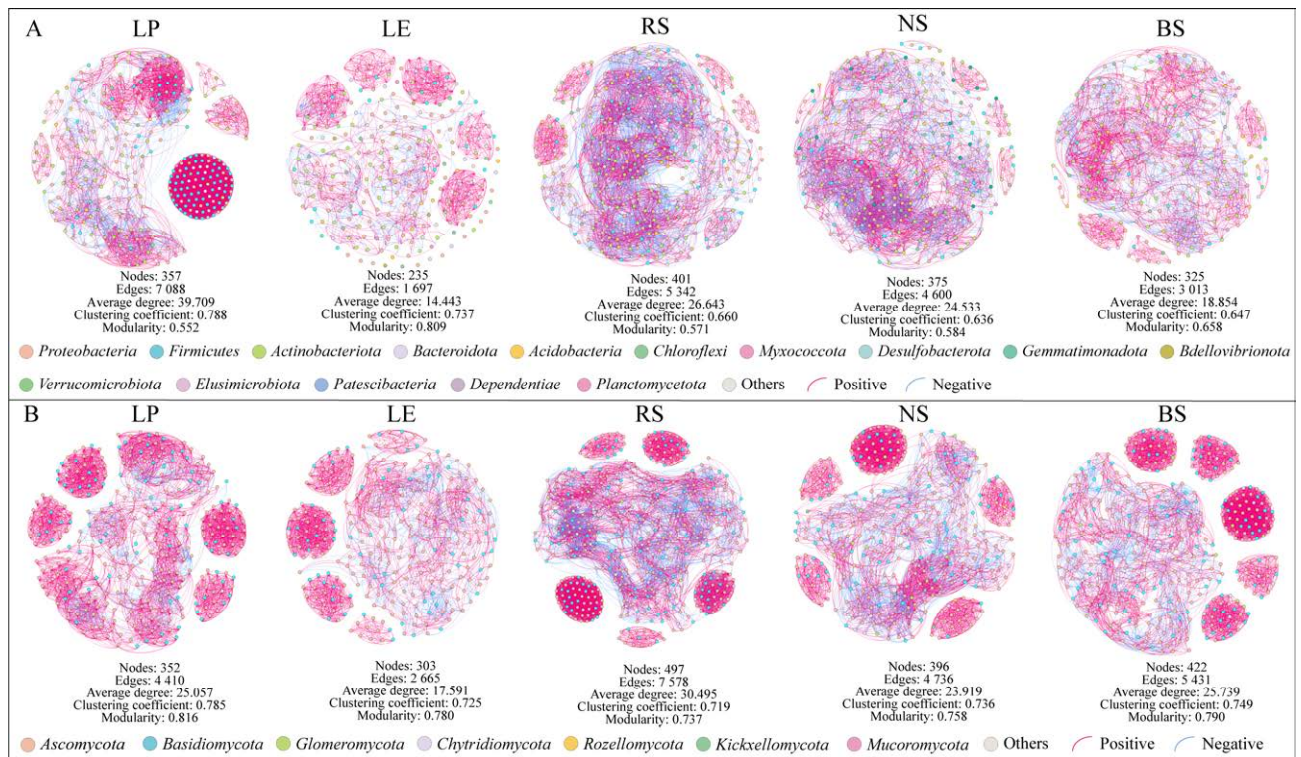


图 7 古井老枞茶树不同生态位细菌(A)和真菌(B)共现网络和拓扑特性

Figure 7 Co-occurrence network and topological properties of bacterial (A) and fungal (B) community of the different niches of the old *Camellia sinensis* 'Fujian Shuixian' of Gujing. Nodes are colored at the phylum level and the "Others" represents the sum of bacterial and fungal nodes with proportion of less than 1%.

2.6 差异标记物种分析

采用 LEfSe 分析老枞茶树不同生态位的细菌和真菌群落相对丰度存在显著差异的物种, 选择含量丰富、显著富集的属水平物种作为生物标记物(biomarker)。如图 8 所示, 门水平, 叶际显

著富集的物种有变形菌、厚壁菌、担子菌和真菌界未分类菌, 叶内显著富集物种有变形菌、放线菌和子囊菌, 根际土壤显著富集的物种有变形菌、绿弯菌和子囊菌, 非根际土壤显著富集物种有变形菌、绿弯菌、酸杆菌、放线菌、疣微菌、

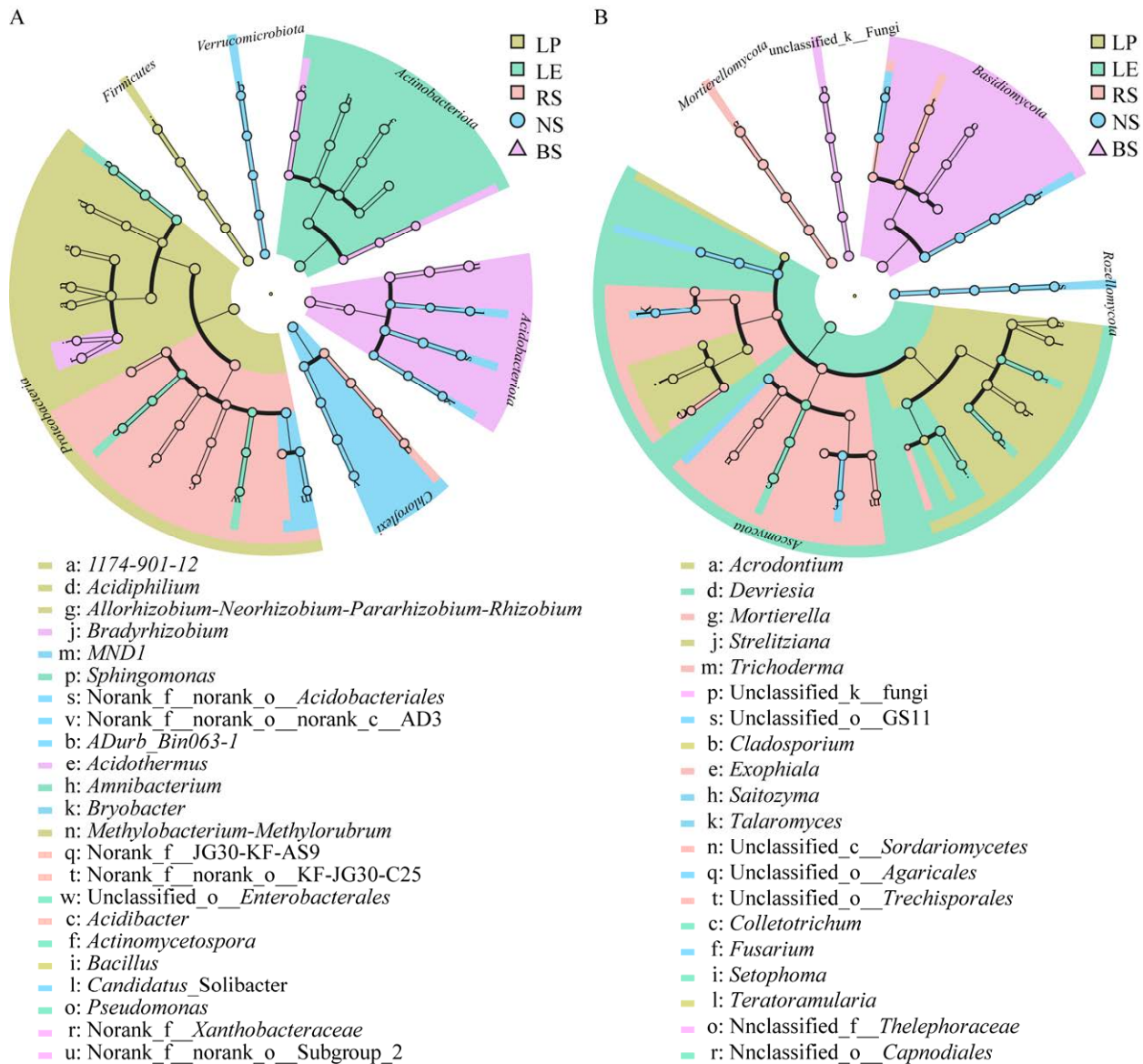


图 8 古井老枞茶树不同生态位细菌(A)和真菌(B) LEfSe 分析的进化分支图

Figure 8 Linear discriminant analysis (LDA) effect size taxonomic cladogram of the discriminants comparing bacteria (A) and fungi (B) in the different niches of the old *Camellia sinensis* 'Fujian Shuixian' of Gujing. Only the taxa with LDA value higher than 4.0 are presented. Different colored nodes indicate microorganisms that are significantly enriched in the corresponding group and have a significant effect on the differences between groups.

担子菌和真菌界未分类菌,非茶园土壤显著富集的有变形菌、酸杆菌、放线菌、担子菌和真菌界未分类菌;属水平,除未分类到属类群外,叶际的生物标记物为 1174-901-12、嗜酸菌(*Acidiphilium*)、*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-Rhizobium*、芽胞杆菌、甲基杆菌、顶齿霉、横断胞、枝胞菌和畸球腔菌,叶内的生物标记物为鞘氨醇单胞菌、氨杆菌、放线链胞菌、德沃斯氏菌(*Devriesia*)、假单胞菌、炭疽菌属和球壳胞,根际土壤的生物标记物为酸杆菌、被胞霉、木霉(*Trichoderma*)和外瓶霉(*Exophiala*),非根际土壤的生物标记物为 *MND1*、*ADurb.Bin063-1*、苔藓杆菌、*Candidatus_Solibacter*、*Saitozyma*、黄丝曲霉和镰刀菌,非茶园土壤的生物标记物为慢生根瘤菌和热酸菌。

3 讨论

古井山场是武夷山景区内最早种植水仙的地方,而生长于顶级山场、品质优异的古井老枞,形成了具有独特的山场气息和显而易见的“枞味”^[27]。长期生长于古井山场的老枞茶树,其不同生态位栖息和富集着诸多不同微生物菌群,两者之间形成了稳定和谐的生态系统。

研究发现古井老枞茶树地上部叶片的微生物群落丰富度和多样性显著低于地下部土壤(图 3),与普洱等茶树研究结果相似^[10,13,28];相对于地下部土壤环境,地上部叶片是一个极端不稳定的栖息地,叶际生态位所能提供生长的营养物质较为缺乏,并长期暴露在温度、湿度和紫外线照射等环境因子的剧烈波动中,而叶内生态位更是受到植物内部强大的选择压力^[29],因此只有更少的微生物种类能够成功地定殖于叶片中。古井老枞茶树的微生物共现性网络中,叶际和叶内的细菌和真菌物种之间的正相关边数占比皆超过了 80%,远高于负相关,说明茶叶微生物物种

之间具有强大的协同作用来应对严苛的外界生境,这种协同作用主要以首先适应该生境的初级定殖者为该生态网络的中心枢纽,并以此协助保护其他次级定殖者免受非生物选择因素的影响,使其他微生物也成功地栖息于该系统^[30]。地下部土壤中的细菌和真菌群落多样性大小顺序皆为根际、非根际和非茶园土壤(图 3),但在共现性网络中细菌和真菌物种之间协同作用顺序则刚好相反(图 7),这可能是土壤微生物受到老枞茶树根系分泌物产生的根际效应的长期影响,促进了周围环境微生物在根际土壤的富集和定殖^[31],从而扰乱了原有生态网络体系,降低物种之间的协同互作^[32],因此可以推测地下部网络协同作用的降低是同步于微生物群落多样性的升高。

古井老枞茶树地上和地下部的菌群结构存在明显不同,但在地上部的叶际和叶内或地下部根际和非根际土壤的各自生态位间的相似度则较高(图 4、图 6)。在地下部中根际和非根际土壤的微生物组成相似度较高,尤其是真菌群落最为明显(图 4B),这可能是由于根际土壤微生物群落主要来源是由根际效应下招募的非根际土壤菌群进行的水平迁移,而两者与非茶园种植区土壤的微生物群落组成相似度高于叶片的微生物群落组成^[6]。叶内微生物菌群作为茶树内生菌,与地下部根际菌群组成差异较大,而与同为地上部的叶际则有更高相似度(图 4、图 6),说明茶叶内生菌只有少部分是来源于土壤,而更多的是来自于叶际微生物的传播^[33],这与陈丽莹等^[34]对茶叶内生菌选择富集的研究结果一致,但不同于王桥美等^[10]对普洱茶叶内生菌来源于根际土壤的结论。古井老枞茶树相比于先前研究的普洱茶树^[10]可能有着更长的生长周期,地上部叶内更容易受到空气及周围环境中存在的微生物长期影响,从而进入植物体内成为内生菌^[34],

因此茶叶内生菌来源的研究结果不一致可能与茶树生长周期不同有关^[28]。

本研究中古井老枞茶树微生物群落主要的优势菌与普洱等几种类型的茶树一致,皆为变形菌、放线菌、子囊菌和担子菌等^[10,12,15,35]。地上部的变形菌、放线菌和子囊菌的相对丰度显著高于地下部,而酸杆菌和担子菌则相反。变形菌的鞘氨醇单胞菌、假单胞菌和放线菌的氨杆菌都可以通过产生多种生物活性代谢物来增强叶片抵抗致病菌危害的能力^[36-38],且这三者都在叶内显著富集,因此皆可成为老枞叶内的生物标记物;除此之外,鞘氨醇单胞菌是地上和地下部共有物种(图 6A),具有防紫外线和降解有机污染物功能^[39-40],茶叶发酵过程中可以合成茶氨酸以提高茶叶品质^[41]。芽胞杆菌在叶际生态系统中能够促进植物生长,而甲基杆菌则可以在叶际中利用植物和其他微生物产生的甲醇和其他单碳化合物作为营养源,且两者皆具有潜在固氮功能^[42],固氮菌群对于茶叶品质改善是至关重要^[43],芽胞杆菌和甲基杆菌显著富集于叶际,因此可作为老枞叶际生物标记物(图 8A)。出现在古井老枞茶树不同生态位的子囊菌是最优势真菌,与其他很多研究报道结果一致^[18-19],其中所含有的枝孢菌、横断胞、木霉和球壳胞等多种腐生菌对茶树凋落物分解起到重要作用^[44],且部分枝孢菌和镰刀菌物种可产生天然化合物和激素,从而防治植物病害,可促使农作物增产^[45-46],可作为老枞真菌生物标记物。富集于茶树土壤的酸杆菌和担子菌具有调节生物地球化学循环、分解聚合物及促进植物生长等生态功能^[47-48]。已有研究发现,老枞茶叶中咖啡碱含量的增加对于“枞味”的提升有着积极促进作用^[49],而霉菌有助于增加茶叶在发酵过程中产生的咖啡碱,其中黑曲霉是对茶叶咖啡碱含量增加作用最大的霉菌^[50],老枞茶叶发酵过程中起作用的菌种主要来源于

采收的茶叶,本研究发现曲霉是古井老枞茶树地上和地下共有物种(图 6B),因此,古井老枞特殊的“枞味”形成可能是与茶树生态系统中所含的曲霉在发酵过程中可能增加成品的咖啡碱含量有关。今后可以开展古井老枞茶叶黑曲霉的分离培养,以探究其与“枞味”形成的关系。

综上,古井老枞茶树生态系统中蕴藏着大量的微生物资源,老枞茶树的生长和品质形成与之息息相关。

4 结论

分析了古井老枞茶树生态系统中不同生态位的细菌和真菌群落组成特征,发现各生态位之间的细菌和真菌群落组成存在差异,含有不同的潜在功能菌群和与“枞味”形成相关的物种,且不同生态位微生物物种之间的协同作用皆大于竞争。本研究将有助于进一步探究武夷山老枞茶叶品质形成的机理和病虫害生物防治,并为特殊功能微生物资源的开发和应用提供科学依据。

参考文献

- [1] 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(11): 607-621.
- [2] BASHIR I, WAR AF, RAFIQ I, RESHI ZA, RASHID I, SHOUCHE YS. Phyllosphere microbiome: diversity and functions[J]. *Microbiological Research*, 2022, 254: 126888.
- [3] 杨宽, 王慧玲, 叶坤浩, 王佩, 孟广云, 罗成, 郭力维. 叶际微生物及与植物互作的研究进展[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2021, 36(1): 155-164.
YANG K, WANG HL, YE KH, WANG P, MENG GY, LUO C, GUO LW. Advances in research on phyllosphere microorganisms and their interaction with plants[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2021, 36(1): 155-164 (in Chinese).
- [4] SOHRABI R, PAASCH BC, LIBER JA, HE SY. Phyllosphere microbiome[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2023, 74: 539-568.

- [5] EDWARDS J, JOHNSON C, SANTOS-MEDELLÍN C, LURIE E, PODISHETTY NK, BHATNAGAR S, EISEN JA, SUNDARESAN V. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(8): E911-E920.
- [6] BAI B, LIU WD, QIU XY, ZHANG J, ZHANG JY, BAI Y. The root microbiome: community assembly and its contributions to plant fitness[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2022, 64(2): 230-243.
- [7] SANTOYO G. How plants recruit their microbiome? New insights into beneficial interactions[J]. *Journal of Advanced Research*, 2022, 40: 45-58.
- [8] 陈荣冰. 关于武夷水仙的“枞味”[J]. *茶道*, 2020(2): 96-97.
CHEN RB. About the ‘fir flavor’ of *Camellia sinensis* ‘Fujian Shuixian’[J]. *Teaism*, 2020(2): 96-97 (in Chinese).
- [9] 黄友谊, 方欣, 隋梦圆, 江广贤, 肖婧仪, 王文凤, 宁瑶瑶. 茶叶微生物研究现状与展望[J]. *华中农业大学学报*, 2022, 41(5): 24-32.
HUANG YY, FANG X, SUI MY, JIANG GX, XIAO JY, WANG WF, NING YY. Situation and prospect of studying tea microorganisms[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2022, 41(5): 24-32 (in Chinese).
- [10] 王桥美, 严亮, 杨瑞娟, 彭文书, 季爱兵, 刘丽, 张文杰, 胡先奇. 普洱地区茶叶内生细菌与根际土壤细菌群落结构分析[J]. *微生物学报*, 2022, 62(2): 703-714.
WANG QM, YAN L, YANG RJ, PENG WS, JI AB, LIU L, ZHANG WJ, HU XQ. Analysis on the community structure of bacteria in tea leaves and rhizosphere soil in Pu'er[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(2): 703-714 (in Chinese).
- [11] 赵兴丽, 卢声洁, 贺圣凌, 罗林丽, 周罗娜, 周玉锋. 基于高通量测序技术的茶树根际土壤细菌多样性及土壤有益微生物对炭疽病发生的影响[J]. *茶叶通讯*, 2020, 47(4): 597-603.
ZHAO XL, LU SJ, HE SL, LUO LL, ZHOU LN, ZHOU YF. Bacterial diversity in rhizosphere soil of tea plants based on high-throughput sequencing and the effect of soil beneficial microorganisms on the occurrence of tea anthracnose[J]. *Journal of Tea Communication*, 2020, 47(4): 597-603 (in Chinese).
- [12] 赵兴丽, 卯婷婷, 张金峰, 孟泽洪, 李帅, 周玉锋. 不同品种茶树根际土壤真菌群落多样性及结构特征[J]. *茶叶通讯*, 2019, 46(3): 284-290.
ZHAO XL, MAO TT, ZHANG JF, MENG ZH, LI S, ZHOU YF. Diversity and structural characteristics of fungi community in rhizospheres soil of different varieties of *Camellia sinensis*[J]. *Journal of Tea Communication*, 2019, 46(3): 284-290 (in Chinese).
- [13] XU P, STIRLING E, XIE HT, LI WB, LV XF, MATSUMOTO H, CHENG HY, XU AN, LAI WY, WANG YF, ZHENG ZT, WANG MC, LIU XM, MA B, XU JM. Continental scale deciphering of microbiome networks untangles the phyllosphere homeostasis in tea plant[J]. *Journal of Advanced Research*, 2023, 44: 13-22.
- [14] SUN LT, WANG Y, MA DX, WANG LL, ZHANG XM, DING YQ, FAN K, XU Z, YUAN CB, JIA HZ, REN YL, DING ZT. Differential responses of the rhizosphere microbiome structure and soil metabolites in tea (*Camellia sinensis*) upon application of cow manure[J]. *BMC Microbiology*, 2022, 22(1): 55.
- [15] 何宏竹. 基于微生物分离技术及高通量测序技术对几种茶树内生真菌群落结构的分析[D]. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 2017.
HE HZ. Analysis of community structure of endophytic fungi from several varieties of *Camellia sinensis* based on microbial culture-independent and high-throughput sequencing methods[D]. Hefei: Master's Thesis of Anhui Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [16] YANG YR, KIM J, CHUNG JO, CHO D, ROH JH, HONG YD, KIM WG, KANG H. Variations in the composition of tea leaves and soil microbial community[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2022, 58(2): 167-179.
- [17] WANG MJ, SUN HY, XU L, XU ZM. Bacterial diversity in tea plant (*Camellia sinensis*) rhizosphere soil from Qinling Mountains and its relationship with environmental elements[J]. *Plant and Soil*, 2021, 460(1): 403-415.
- [18] 刘利玲, 李会琳, 蒙振思, 彭进友, 李晓东, 彭超, 路璐, 胥晓. 青杨雌雄株叶际微生物群落多样性和结构的差异[J]. *微生物学报*, 2020, 60(3): 556-569.
LIU LL, LI HL, MENG ZS, PENG JY, LI XD, PENG C, LU L, XU X. Differences in phyllosphere microbial communities between female and male *Populus cathayana*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2020, 60(3): 556-569 (in Chinese).
- [19] KEMBEL SW, MUELLER RC. Plant traits and taxonomy drive host associations in tropical

- phyllosphere fungal communities[J]. *Botany*, 2014, 92(4): 303-311.
- [20] BULGARELLI D, GARRIDO-OTER R, MÜNCH PC, WEIMAN A, DRÖGE J, PAN Y, MCHARDY AC, SCHULZE-LEFERT P. Structure and function of the bacterial root microbiota in wild and domesticated barley[J]. *Cell Host and Microbe*, 2015, 17(3): 392-403.
- [21] CHENG T, XU C, LEI L, LI CH, ZHANG Y, ZHOU SL. Barcoding the kingdom *Plantae*: new PCR primers for ITS regions of plants with improved universality and specificity[J]. *Molecular Ecology Resources*, 2016, 16(1): 138-149.
- [22] REN Y, YU G, SHI CP, LIU LM, GUO Q, HAN C, ZHANG D, ZHANG L, LIU BX, GAO H, ZENG J, ZHOU Y, QIU YH, WEI J, LUO YC, ZHU FJ, LI XJ, WU Q, LI B, FU WY, et al. Majorbio cloud: a one-stop, comprehensive bioinformatic platform for multiomics analyses[J]. *iMeta*, 2022, 1(2): E12.
- [23] EDGAR RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10(10): 996-998.
- [24] RUVINDY R, WHITE III RA, NEILAN BA, BURNS BP. Unravelling core microbial metabolisms in the hypersaline microbial mats of Shark Bay using high-throughput metagenomics[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(1): 183-196.
- [25] GUERRERO-PRESTON R, GODOY-VITORINO F, JEDLICKA A, RODRÍGUEZ-HILARIO A, GONZÁLEZ H, BONDY J, LAWSON F, FOLAWIYO O, MICHAILIDI C, DZIEDZIC A, THANGAVEL R, HADAR T, NOORDHUIS MG, WESTRA W, KOCH W, SIDRANSKY D. 16S rRNA amplicon sequencing identifies microbiota associated with oral cancer, human papilloma virus infection and surgical treatment[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(32): 51320-51334.
- [26] BARBERÁN A, BATES ST, CASAMAYOR EO, FIERER N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 343-351.
- [27] 张小春. 浅谈生态环境对武夷岩茶品质的影响[J]. *商*, 2015(37): 277.
- ZHANG XC. Discuss the influence of ecological environment on the quality of Wuyi rock tea[J]. *Business*, 2015(37): 277 (in Chinese).
- [28] LI TQ, LI DB, CHEN XG, GÉRARD F, LI MG, WU JP, GAO JY. Compartments of roots and mature leaves are key hubs in the connectivity of tea-plant mycobiomes and are influenced by environmental factors and host age[J]. *Science of the Total Environment*, 2023, 893: 164827.
- [29] MÜLLER DB, VOGEL C, BAI Y, VORHOLT JA. The plant microbiota: systems-level insights and perspectives[J]. *Annual Review of Genetics*, 2016, 50: 211-234.
- [30] AGLER MT, RUHE J, KROLL S, MORHENN C, KIM ST, WEIGEL D, KEMEN EM. Microbial hub taxa link host and abiotic factors to plant microbiome variation[J]. *PLoS Biology*, 2016, 14(1): e1002352.
- [31] LING N, WANG TT, KUZYAKOV Y. Rhizosphere bacteriome structure and functions[J]. *Nature Communications*, 2022, 13: 836.
- [32] SHI SJ, NUCCIO EE, SHI ZJ, HE ZL, ZHOU JZ, FIRESTONE MK. The interconnected rhizosphere: high network complexity dominates rhizosphere assemblages[J]. *Ecology Letters*, 2016, 19(8): 926-936.
- [33] BEATTIE GA, LINDOW SE. Bacterial colonization of leaves: a spectrum of strategies[J]. *Phytopathology*, 1999, 89(5): 353-359.
- [34] 陈丽莹, 张玉满, 陈晓英, 方荣祥, 张莉莉. 茶树叶际选择性富集的内生细菌的鉴定[J]. *微生物学报*, 2018, 58(10): 1776-1785.
- CHEN LY, ZHANG YM, CHEN XY, FANG RX, ZHANG LL. Identification of endophytic bacteria selectively enriched in *Camellia sinensis* leaf[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2018, 58(10): 1776-1785 (in Chinese).
- [35] 浦滇, 罗义菊, 陈洪宇, 石明, 蓝增全. 长期种植云南大叶种茶对土壤真菌多样性的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2023, 29(2): 440-448.
- PU D, LUO YJ, CHENG HY, SHI M, LAN ZQ. Effects of long-term cultivation of Yunnan large-leaf tea (*Camellia sinensis* var. *assamica*) on soil fungal community characteristics[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2023, 29(2): 440-448 (in Chinese).
- [36] INNEREBNER G, KNIEF C, VORHOLT JA. Protection of *Arabidopsis thaliana* against leaf-pathogenic *Pseudomonas syringae* by *Sphingomonas* strains in a controlled model system[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(10): 3202-3210.
- [37] 刘迎雪, 赵滢, 张宝香, 杨义明, 范书田, 李昌禹, 王月, 许培磊, 秦红艳, 路文鹏. 植物内生细菌来源及生物学功能研究进展[J]. *特产研究*, 2020, 42(4):

- 60-67.
- LIU YX, ZHAO Y, ZHANG BX, YANG YM, FAN ST, LI CY, WANG Y, XU PL, QIN HY, LU WP. Research progress on the source and biological function of plant endophytic bacteria[J]. *Specialty Research*, 2020, 42(4): 60-67 (in Chinese).
- [38] JIANG ZK, TUO L, HUANG DL, OSTERMAN IA, TYURIN AP, LIU SW, LUKYANOV DA, SERGIEV PV, DONTSOVA OA, KORSHUN VA, LI FN, SUN CH. Diversity, novelty, and antimicrobial activity of endophytic *Actinobacteria* from mangrove plants in Beilun Estuary National Nature Reserve of Guangxi, China[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 868.
- [39] ZHOU, L, LI H, ZHANG Y, HAN S, XU H. *Sphingomonas* from petroleum-contaminated soils in Shenfu, China and their PAHs degradation abilities[J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2016, 47(2): 271-278.
- [40] STONE BWG, JACKSON CR. Biogeographic patterns between bacterial phyllosphere communities of the southern Magnolia (*Magnolia grandiflora*) in a small forest[J]. *Microbial Ecology*, 2016, 71(4): 954-961.
- [41] JIA WB, ZHAO YQ, LIAO SY, LI PW, ZOU Y, CHEN SX, CHEN W, HE CL, DU X, ZHU MZ, XU W. Dynamic changes in the diversity and function of bacterial community during black tea processing[J]. *Food Research International*, 2022, 161: 111856.
- [42] ZHU YG, PENG JJ, CHEN C, XIONG C, LI SL, GE AH, WANG ET, LIESACK W. Harnessing biological nitrogen fixation in plant leaves[J]. *Trends in Plant Science*, 2023, 28(12): 1391-1405.
- [43] WU S, CHANG J, YAO XH, WANG KL, HU QS, YANG SP. Improve tea quality by enhancing the stability of bacterial community interaction and nitrogen-fixing function in pecan-tea interplanted plantation[J]. *Rhizosphere*, 2023, 27: 100758.
- [44] VANCOV T, KEEN B. Amplification of soil fungal community DNA using the ITS86F and ITS4 primers[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2009, 296(1): 91-96.
- [45] PAN F, YANG N, ZHU XT, YU CY, JIANG MY, JIANG YJ, LIU SQ, WU W, LIU Y. Discovery of a natural hybrid polyketide produced by endophytic *Cladosporium sphaerospermum* for biocontrol of phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2023, 71(32): 12190-12202.
- [46] 张向民. 镰刀菌属分类学研究历史与现状[J]. *菌物研究*, 2005, 3(2): 59-62.
- ZHANG XM. History and current research on taxonomy of the genus *Fusarium*[J]. *Journal of Fungal Research*, 2005, 3(2): 59-62 (in Chinese).
- [47] KIELAK AM, BARRETO CC, KOWALCHUK GA, VEEN JAV, KURAMAE EE. The ecology of acidobacteria: moving beyond genes and genomes[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 744.
- [48] YELLE DJ, RALPH J, LU FC, HAMMEL KE. Evidence for cleavage of lignin by a brown rot basidiomycete[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(7): 1844-1849.
- [49] 商虎, 朱陈松, 叶婷婷, 甘爽, 罗玉琴, 孙威江. 老枞水仙品质特征分析[J]. *中国农学通报*, 2022, 38(10): 141-148.
- SHANG H, ZHU CS, YE TT, GAN S, LUO YQ, SUN WJ. The quality characteristics of *Camellia sinensis*' Fujian Shuixian[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2022, 38(10): 141-148 (in Chinese).
- [50] 高晓余, 严亮, 赵艳, 相宏宇, 谢秋宏. 微生物多样性与普洱茶品质关系研究进展[J]. *广东农业科学*, 2014, 41(22): 13-17.
- GAO XY, YAN L, ZHAO Y, XIANG HY, XIE QH. Advance in relationship between microbial diversity and Pu'er tea quality[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2014, 41(22): 13-17 (in Chinese).