张二豪,赵润东,尹秀,等.西藏产区葡萄表皮及根际土壤真菌群落结构组成分析 [J]. 食品工业科技,2021,42(16):106-111. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120225

ZHANG Erhao, ZHAO Rundong, YIN Xiu, et al. Analysis of Fungal Community Composition of Grape Surfaces and Rhizosphere Soil in Different Producing Areas in Tibet[J]. Science and Technology of Food Industry, 2021, 42(16): 106–111. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020120225

・生物工程・

西藏产区葡萄表皮及根际土壤 真菌群落结构组成分析

张二豪,赵润东,尹 秀,蔡 皓,禄亚洲,罗 章^{*} (西藏农牧学院食品科学学院,西藏林芝 860000)

摘 要:为探究西藏地区葡萄表皮及根际土壤真菌群落结构组成,采用高通量测序技术对西藏芒康和林芝地区葡萄 表皮及根际土壤样品进行真菌群落多样性分析。结果表明,芒康葡萄根际土壤(MS)真菌多样性最高,林芝葡萄 (LG)真菌多样性最低。在门分类水平上,2个地区样品中的优势类群均为子囊菌门(Ascomycota),其相对丰 度为76.06%~99.60%;在属分类水平上,不同样品中的优势菌群不同,林芝葡萄(LG)和芒康葡萄(MG)表皮 样品中的优势菌属分别为枝孢属(Cladosporium)和汉逊酵母属(Hanseniaspora),其相对丰度分别为64.43%和 31.59%,而林芝(LS)和芒康(MS)葡萄根际土壤样品中的优势菌属分别为镰胞菌属(Fusarium)和被孢霉属 (Mortierella),其相对丰度分别为50.02%和20.16%;主成分分析表明,不同样品中真菌群落结构组成差异较 大,不同地区葡萄表皮和根际土壤真菌群落结构组成相似;冗余分析表明,土壤中总钾(TK)、pH、总氮 (TN)、总磷(TP)和速效氮(AN)对真菌群结构组成影响较大,而土壤电导率(EC)和有机质(SOM)影响 不明显。综上所述,葡萄表皮和根际土壤富含丰富的真菌微生物,且不同地区样品间群落结构组成相似。西藏葡 萄表皮及根际土壤微生物多样性的研究为开发本地特色微生物提供了理论依据。

关键词:葡萄表皮,根际土壤,高通量测序,相对丰度,多样性

中图分类号:TS201.3 文献标识码:A 文章编号:1002-0306(2021)16-0106-06 **DOI:** 10.13386/j.issn1002-0306.2020120225

Analysis of Fungal Community Composition of Grape Surfaces and Rhizosphere Soil in Different Producing Areas in Tibet

ZHANG Erhao, ZHAO Rundong, YIN Xiu, CAI Hao, LU Yazhou, LUO Zhang*

(Food Science College, Tibet Agriculture and Animal Husbandry University, Linzhi 860000, China)

Abstract: To reveal the difference and diversity of fungal community structure on the surface of grape and rhizosphere soil from the different areas in Tibet, high-throughput sequencing technology was used to analyze the fungal diversity and community structure in grape and rhizosphere soil samples collected from Mangkang and Linzhi in Tibet. The results showed that the rhizosphere soil in Mangkang had a highest diversity of fungi, while the lowest on Linzhi grape surface. Ascomycota was the dominant phylum at phyla level, accounting for 76.06%~99.60%. At genus level, *Cladosporium* and *Hanseniaspora* were the dominant genus in LG and MG, respectively, accounting for 64.43% and 31.59%; while the dominant genus of LS and MS were *Fusarium* and *Mortierella*, respectively, accounting for 50.02% and 20.16%. Principal component analysis showed that the fungal community structure was significantly different in different samples, and the fungal community structure of grape epidermis and rhizosphere soil was similar in the different area. Redundancy analysis (RDA) showed that TK, pH, TN, TP and AN had a great influence on fungal community, but the effect of EC and SOM was not obvious. In conclusion, the surface of grape and rhizosphere soil microbial diversity from the different areas in Tibet

收稿日期: 2020-12-25

基金项目:中央财政支持地方高校改革发展资金-生物技术特色专业建设项目(2019-007)。

作者简介:张二豪(1989-),男,硕士,实验师,研究方向:微生物学及生物信息学研究,E-mail: zhangerhao@xza.edu.cn。

^{*} 通信作者:罗章(1965-),男,博士,教授,研究方向:畜产品加工,E-mail:luozhang1759@xza.edu.cn。

were very rich, the fungal community structure was significantly similar in two areas. The study of grape and rhizosphere microbial diversity in Tibet could provide a theoretical basis for the utilization and development of characteristic microorganisms in this area.

Key words: grape surface; rhizosphere soil; high-throughput sequencing; relative abundance; diversity

西藏昌都市芒康县和林芝市位于西藏东南部, 该地区具有光照充足、阳光辐射强、土壤砂质深厚、 昼夜温差大等独特的生态环境,为葡萄种植提供了得 天独厚的环境条件,以此原料酿造的葡萄酒香气浓 郁、口感饱满,因此,素有"中国野生红葡萄之乡"和 "西藏红酒之乡"之称。

根际土壤微生物是葡萄园生态系统中的重要组 成成分,在土壤能量转化和物质代谢等方面扮演着重 要角色[1]。根际存在多种对植物有益的微生物类群, 如生防菌、固氮菌及能产生植物生长激素的微生物, 对植物生长发育、物质吸收和能量代谢影响较大,因 此,其微生物多样性是土壤质量的重要评价指标[2-4]。 葡萄表皮上的微生物复杂多样,其微生物群落结构组 成对后续葡萄酒酿造及葡萄酒品质会产生一定的影 响^[5]。Bedriana 等^[6] 研究表明,本土酵母与酿酒酵母 共同发酵培养时,芳香类化合物含量显著增加,Bokulich 等^[7] 在研究增芳德葡萄表皮微生物时发现 Candida zemplinina 真菌能够增强葡萄酒的感官品质。葡萄 根际土壤及葡萄表皮微生物群落结构组成受地理因 素、气候条件、葡萄品种和土壤理化性质等因素影 响,魏玉洁等[8] 在研究新疆产区葡萄果实、叶片及根际 土壤微生物多样性时发现葡萄园地理位置不同,其微 生物多样性存在差异,且 Saccharomyces、Sordaria、 Tetracladium 和 Geomyces 是土壤中的优势真菌属, 而葡萄表皮真菌以 Aureobasidium、Cryptococcus、 Aspergillus 和 Sporospora 为主; 王伟等^[9] 发现新疆 四大产区葡萄园土壤微生物多样性存在显著差异, 且 Guehomyces、Gibberella 和 Tetracladium 是土壤 真菌的优势类群。杨敏等[10]发现香格里拉产区不同 葡萄园间根际土壤菌群丰度存在差异,且土壤微生物 群落受土壤电导率、有机质和速效钾含量影响;张世 伟等[11]研究表明葡萄品种是影响其表皮微生物多样 性的重要因素。综上所述,葡萄表皮及根际土壤微生 物群落结构组成与其生长环境和葡萄品种等诸多因 素有关。西藏独特的地理位置和气候环境,蕴藏着丰 富的微生物资源,研究葡萄表皮及根际土壤真菌群落 结构组成,对筛选和利用葡萄酒产区特色微生物具有 重要意义。目前,有关国内外产区葡萄表皮、根际土 壤微生物的研究较多[7-10,12],而西藏产区葡萄表皮及 根际土壤微生物的研究尚未见报道。

高通量测序技术由于其通量大、准确性高、能基本反映自然界中微生物的真实情况等优点,在生物学研究中得到广泛的应用和发展^[13-14]。因此,本文采用高通量测序技术对西藏昌都芒康和林芝2个产区黑

珍珠葡萄园中的酿酒葡萄表皮和根际土壤真菌群落 结构组成及多样性进行研究,揭示不同产区核心微生 物菌群的作用,以期为筛选利用本土特色酿酒微生物 提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料与仪器

黑珍珠葡萄及葡萄根际土壤 于 2019 年 9 月分 别从林芝市(纬度 29°25'33.37"N, 经度 94°26'50.93"E) 和昌都市芒康县(纬度 29°1'53.1"N, 经度 98°36'21.77"E) 采集并将样品命名如下: LG-林芝葡萄, MG-芒康葡 萄, LS-林芝葡萄根际土壤, MS-芒康葡萄根际土壤; DNeasy Plant Mini Kit Qiagen, Germantown, MD, USA; 2×Taq Master Mix, DNA 片段纯化试剂盒 天 根生化科技有限公司; 真菌通用引物(ITS1 和 ITS2) Invitrogen 公司。

Eppendorf 5424R 高速冷冻离心机 德国 Eppendorf 公司; Bio-Rad T100 PCR 仪 美国 Bio-Rad 公 司; 电泳仪 北京六一; NanoDrop2000 微量分光光 度计 美国 Thermo 公司; 漩涡混合器 XH-D 沃信 公司; Illumina Misq 测序平台 美国 Illumina 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 样品采集 随机选取 20 株生长良好的黑珍珠 葡萄植株,并用无菌剪刀采集同一葡萄植株上、中、 下 3 个部位的果实,置于无菌袋中,并混合均匀,低温 运输至实验室,-20 ℃ 保存备用;按照田间根际土壤 样品采集方法采集根际土壤样品^[15],除去杂质并混合 均匀,每组 3 个重复,放入无菌袋中,低温保存并带回 实验室,-20 ℃ 保存备用。

1.2.2 根际土壤理化性质分析 按照《土壤农化分析》^[16]操作步骤测定根际土壤样品中的总磷(TP)、总钾(TK)、总氮(TN)、有效磷(AP)、有效氮(AN)、pH、电导率(EC)和有机质(SOM)含量。

1.2.3 样品总 DNA 提取 称 50 g 葡萄果实, 加入 200 mL PBS 缓冲液(0.1 mol/L, pH7.0), 200 r/min 涡 旋 振 荡 30 min, 超 声 15 min, 0.22 µm(Millipore, USA) 微孔滤膜过滤, 用无菌剪刀剪碎滤膜并放入无 菌离心管中^[11]。按照 DNeasy Plant Mini Kit(Qiagen, Germantown, MD, USA) 操作步骤提取新鲜葡萄表 皮和根际土壤样品总 DNA, 琼脂糖凝胶电泳检测所 提 DNA 的质量, 并在 NanoDrop ND-2000 紫外分光 光度计下检测所提 DNA 的浓度和纯度。

1.2.4 样品 PCR 利用真菌转录间隔区(ITS)的通 用引物对核糖体 DNA 的 ITS1-ITS2 区域进行 PCR 扩增,引物为 ITS1F(CTTGGTCATTTAGAGGAA GTAA)和 ITS2R(GCTGCGTTCTTCATCGATGC)。 PCR 反应扩增体系(20 μ L)如下:10×PCR Buffer 2.0 μ L, 10 mmol/L ITS1F 和 ITS2R 引物各 1 μ L, 5 mmol/L dNTPs 1 μ L, 5.0 U/ μ L rTaq 酶 0.2 μ L, DNA 模板 1 μ L, 补 ddH₂O 至 20 μ L。PCR 反应程序: 94 °C 预变性 5 min; 94 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 35 个循环; 72 °C 延伸 10 min, 4 °C 保存。琼脂 糖凝胶电泳检测 PCR 扩增产物, 纯化后委托上海美 吉生物医药有限公司进行高通量测序。

1.3 数据处理

利用 QIIME(Version 1.9.1)对 Illumina MiSeq 测序所得原始数据进行去杂、优化、 α 多样性和主坐 标分析(Principal coordinates analysis, PCoA); α 多 样性指数包括 Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数和均匀度指数(Shannoneven),其中 Chao1 指数 值越大,说明丰富度越高; Shannon 指数值越大, Simpson 指数值越小,说明群落多样性越高;在 97% 相似度下,利用 UPARSE(7.0.1090)软件进行 OTU 聚类;通过 RDP classifer(Version 11.5)软件将 OTU 代表序列与真菌 UNITE 数据库比对,进行物种 注释并统计各样本在各分类水平下的相对丰度和群 落组成;利用 Mothur(Version 1.30.2)软件进行 α 多 样性分析;利用 R 语言进行韦恩图、冗余分析 (RDA, redundancy analysis)和热图制作。

2 结果与分析

2.1 样品根际土壤理化性质分析

根际土壤理化性质由表 1 可知, MS 样品中的总 磷(TP)、总氮(TN)、速效氮(AN)、电导率(EC)和土 壤有机质(SOM)含量均显著高于 LS, 而 MS 样品中 的速效磷(AP)含量显著低于 LS(P<0.05), 但两地样 品中的总钾(TK)含量无显著差异, 两地土壤 pH 差 异显著(P<0.05), LS 土壤偏酸性, 而 MS 土壤偏碱性。

2.2 样品真菌群落多样性分析

本研究共获得 546888 条有效序列, 隶属 12 门, 37 纲, 86 目, 176 科, 357 属; LG、MG、LS 和 MS 样 品所产生的 OTUs 数分别为 114、150、297 和 794。 LG 样品中所获得的 OTUs 低于 MG, MS 样品中所 获 OTUs 显著大于 LS。稀释曲线分析结果如图 1A 所示,随着测序深度的增加,稀释曲线逐渐趋于平坦, 各样本的测序覆盖度均大于 99.99%, 说明此次测序 结果能基本反映样品中真菌群落结构组成的真实情 况。韦恩图分析结果如图 1B 所示, 4 个样本中共获 得的物种数为 1008 种, 共同拥有的物种数为 22 种,



LG和MG共同拥有的物种数为46种,LS和MS共同拥有的物种数为140种,LG、MG、LS和MS样同拥有的物种数为140种,LG、MG、LS和MS样品中特有物种数分别为17、47、121和593种。*a多*样性分析结果如表2所示,MS样品中真菌群落多样性和丰富度指数最高,MG样品中真菌群落均匀度指数最高,而LG样品中真菌群落多样性、丰富度和均匀度指数最低。总体而言,芒康地区葡萄和根际土壤真菌种类最多,多样性指数最高,这可能与芒康土壤性质有关,芒康葡萄园土壤以腐殖土为主,而林芝葡萄园土壤以沙土为主。

2.3 样品真菌群落组成分析

样品真菌在门分类水平相对丰度如图 2 所示, 不同样品真菌群落结构在门分类水平组成差异较大, LG 样品门数最少,为 2 个门,MS 最多,为 11 个门。 子囊菌门(Ascomycota)和担子菌门(Basidiomycota) 在不同样品中广泛存在,它们的相对丰度分别为 76.06%~99.60%、0.40%~12.21%。Mortierellomycota 是 MS 中的次优势菌门,其相对丰度为 20.17%,壶菌 门(Chytridiomycota)、油壶菌门(Olpidiomycota)、芽 枝霉门(Blastocladiomycota)和 Kickxelomycota 是 MS 样品中特有的门,其平均相对丰度分别为 0.12%、0.06%、0.01%和 0.003%,而 Mucoromycota 是 LS 样品中特有的门,其平均相对丰度为 0.03%。

Table 1	Physical an	d chemical	properties	of rhizosphere	soil samples
	-				<u>.</u>

样品	总磷TP(g/kg)	总钾TK(g/kg)	总氮TN(g/kg)	速效氮AN(g/kg)	pН	电导率EC(us/cm)	速效磷AP(mg/kg)	有机质SOM(g/kg)
LS	0.78±0.01 ^b	5.83±0.04 ^a	0.81±0.04 ^b	0.15±0.01 ^b	6.75±0.09 ^b	59.83±3.37 ^b	30.85±1.03ª	7.98±0.43 ^b
MS	$1.03{\pm}0.06^{a}$	6.23±0.23 ^a	$3.21{\pm}0.26^{a}$	$0.24{\pm}0.02^{a}$	$7.18{\pm}0.04^{a}$	67.17 ± 0.94^{a}	16.83±1.27 ^b	76.19±1.50 ^a

注:LS-林芝葡萄根际土壤,MS-芒康葡萄根际土壤,同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

表2 样品真菌群落多样性 Table 2 Fungal diversity indexes in different samples

样品	Chao1指数	Shannon指数	Simpson指数	覆盖度(%)	均匀度指数	OTUs数量
LG	2.00±0.00	0.02±0.01	0.99±0.00	1.00	0.03±0.02	114
MG	3.00±0.00	0.37±0.02	0.78 ± 0.01	1.00	$0.34{\pm}0.02$	150
LS	7.67±0.33	0.30±0.03	0.85 ± 0.02	99.99	0.15±0.01	297
MS	10.67 ± 0.67	0.56±0.14	0.70±0.12	99.99	$0.24{\pm}0.06$	794

注: LG-林芝葡萄, MG-芒康葡萄, LS-林芝葡萄根际土壤, MS-芒康葡萄根际土壤。



samples at phylum level

属分类水平群落结构组成如图 3 所示, 枝孢属 (Cladosporium)和青霉属(Penicilium)是LG样品中 的优势属,其平均相对丰度分别为 64.43% 和 23.31%; MG 样品中的优势属是汉逊酵母属(Hanseniaspora)、 枝孢属(Cladosporium)和毕赤酵母属(Pichia),其平 均相对丰度分别为 31.59%、26.78% 和 18.71%; 镰 胞菌属(Fusarium)、青霉属(Penicilium)和枝孢属 (Cladosporium)是 LS 样品中的优势属,其平均相对 丰度分别为 50.02%、10.15% 和 8.18%; MS 样品中 的优势属是被孢霉属(Mortierella)、unclassified f Didymellaceae 和青霉属(Penicilium),其平均相对丰 度分别为 20.16%、10.72% 和 7.82%。样本聚类分 析表明,不同地区的葡萄表皮和不同地区的根际土壤 真菌被聚为一类。以上结果表明,不同样品中的优势 属群落结构组成差异较大,而不同地理位置环境下的 葡萄表皮和根际土壤真菌群落组成相似。

2.4 样品真菌群落聚类分析

主成分分析(Principal coordinate analysis)结果 如图 4 所示, 主成分分析 PC1 和主成分分析 PC2 对群 落结构组成差异的贡献率分别为 39.98% 和 24.48%, 合计 64.46%, 是差异的主要来源, 能够很好的区分不 同地区的葡萄和根际土壤样品。样本层级聚类分析 如图 5 所示,不同地区的葡萄样品和根际土壤样品



Fig.3 Composition of fungal community in the samples at genuslevel



图 4 真菌群落 PCA 分析

Fig.4 Principal coordinate analysis of fungal communities



聚为一类,说明不同地区的葡萄和不同地区的根际土 壤样品真菌群落结构组成相似。

2.5 门分类水平样品真菌群落结构与环境因子冗余 分析

土壤理化性质对真菌群落结构的影响如图 6 所 示, TK、TP、AN、TN 和 pH 对真菌群落结构组成有 影响, 其中 TK 影响最大, 而 AP、SOM 和 EC 不影 响真菌群落结构组成; MG 样品真菌群落结构与 TP、AN、TN 和 pH 呈正相关, 而与 TK 呈负相关, LG 和 MS 则相反, LS 样品与 TK 呈正相关, 而与 TP、AN、TN 和 pH 呈负相关。在门分类水平上, 子 囊菌门(Ascomycota)丰度变化与 TK、TP、AN、TN





Fig.6 Redundancy analysis biplot between the fungal community and environment factor

和 pH 呈负相关, 而 Mortierellomycota 丰度变化与 TP、AN、TN 和 TK 呈正相关, 与 pH 呈负相关, 而担 子菌门(Basidiomycota)丰度变化与 TP、AN、TN 和 pH 呈正相关, 而与 TK 呈负相关。

3 讨论与结论

本研究利用 Illumina Miseq 测序技术对西藏产 区昌都芒康县和林芝市两个地区的葡萄表皮及根际 土壤真菌群落结构进行分析。结果表明, MS 样品中 的总磷、总氮、速效氮、电导率和土壤有机质含量均 显著高于 LS, 这可能与土壤类型有关, MS 以腐殖质 为主, 而 LS 以沙土为主; 有研究表明, 根际土壤作为 一个天然的微生物资源库,为微生物生长提供必需的 营养物质[8,17],杨敏等[10]发现香格里拉产区葡萄根际 土壤微生物群落受土壤电导率、有机质和速效钾含 量影响。在门分类水上,子囊菌门(Ascomycota)是 葡萄表皮和根际土壤真菌的优势菌门, Pinto 等[18] 和 Stevanato 等^[19] 研究表明, 子囊菌门(Ascomycota)是 葡萄和根际土壤真菌的优势类群,这与本文研究结果 一致。MS 样品中检测到的真菌门最多, 而 LS 样品 中检测到相对较少的真菌门,这可能是两地土壤理化性 质有关^[20-23]。在属分类水平上,枝孢属(Cladosporium) 和青霉属(Penicilium)是LG样品中的优势属,而 MG 样品中的优势属是汉逊酵母属(Hanseniaspora)、 枝孢属(Cladosporium)和毕赤酵母属(Pichia),两地 葡萄表皮真菌差异较大,这可能与两地葡萄栽培、管 理和杀菌剂等因素有关[24]。魏玉洁等[8] 在研究新疆 产区葡萄果实时发现葡萄表皮真菌以 Aureobasidium、 Cryptococcus、Aspergillus 和 Sporospora 为主, 赵昱 等^[25]研究表明短梗霉属(Aureobasidium)和红酵母 属(Rhodotorula)是四个产区赤霞珠葡萄表皮真菌的 优势属,与本文研究结果差异较大,可能与气候环境 和葡萄品种等因素有关。两地根际土壤真菌群落组 成差异较大,土壤微生物群落结构和功能受果园土壤 理化性质及果园果树自身种类、覆草、施肥、农药等 因素影响[26-27],因此以上因素可能是导致两地根际土 壤真菌群落组成差异的关键因素。α多样性分析发 现, MS 样品真菌多样性、均匀度和丰富度指数明显 高于 LS, 且 MG 明显高于 LG, 可能与两地土壤理化 性质、施肥及水源等因素有关,张翔等[28]研究发现生 物有机肥可显著提高果园土壤微生物的丰富度和多 样性,赵昱^[25]研究发现不同产区酿酒葡萄微生物存 在的差异性可能与气候、水源、栽培等因素有关,杨 敏等[10]研究发现气候和土壤差异可能是导致根际微 生物差异的重要原因。

众所周知,酵母菌是葡萄酒酿造的关键菌株,目 前已报道的与酿酒相关的酵母菌高达 24 属 120 余 种。酵母菌在酿造过程中能够将糖类物质转化为乙 醇及其他次生代谢产物并释放多种香气物质,同时能 够抑制细菌生长; Bedriana 等^[6]研究表明,本土酵母 与酿酒酵母共同发酵能够增加芳香类化合物和风味 物质的合成,提高葡萄酒的香气,本文在 MG 样品中 检测到大量汉逊酵母属(Hanseniaspora)、Metschnikowia、Vishniacozyma 和毕赤酵母属(Pichia),说明 芒康地区葡萄富含与酿酒相关的酵母菌,可为本地酿 酒酵母菌株的筛选、开发和利用提供理论依据。

本研究通过高通量测序技术对西藏两个地区葡萄表皮和根际土壤真菌群落结构组成的进行分析。 结果表明,两地土壤理化性质差异较大,RDA分析可知,总磷、总氮和速效氮对真菌群落结构组成影响较大;MS样品真菌多样性、均匀度和丰富度指数均明显高于 LS,且 MG 明显高于 LG;在门水平,各样品 中的优势菌是子囊菌门(Ascomycota),在属水平,各 样品的优势属差异较大,枝孢属(*Cladosporium*)、汉 逊酵母属(*Hanseniaspora*)、镰胞菌属(*Fusarium*)和 被孢霉属(*Mortierella*)分别是 LG、MG、LS 和 MS 样品的优势属;主成分分析及样本聚类分析表 明,不同地区的葡萄表皮和根际土壤真菌群落组成相 似,这可能与样品特异性等因素有关;同时在芒康地 区发现较多与酿酒相关的酵母菌,可为本地酿酒菌株 的筛选和利用提供理论依据。

参考文献

[1] 张世伟. 酿酒葡萄微生物群落多样性及其氮代谢通量研究 [D]. 北京: 中国矿业大学, 2018.

[2] Lilia C C, Paul G D, Ben F, et al. Linking plant nutritional status to plant-microbe interactions[J]. PLoS One, 2013, 8(7): e68555.

[3] Morgan J A W, Bending G D, White P J. Biological costs and benefits to plant-microbe interactions in the rhizosphere[J]. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(417): 1729–1739.

[4] 周丽霞,丁明懋.土壤微生物学特性对土壤健康的指示作用[J]. 生物多样性,2007(2):162-171.

[5] Renouf V, Claisse O, Lonvaud-Funel A. Inventory and monitoring of wine microbial consortia[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2007, 75(1): 149.

[6] Bedriana R P, Queipo A L, Valles BS. Screening of enzymatic activities in non-saccharomyces cider yeasts[J]. Journal of Food Biochemistry, 2012, 36(6): 683–689.

[7] Bokulich N A, Joseph C M, Allen G, et al. Next-Generation Sequencing reveals significant bacterial diversity of botrytized wine[J]. PloS one, 2013, 7(5): e36357.

[8] 魏玉洁, 邹弯, 马文瑞, 等. 应用高通量测序技术研究新疆产 区葡萄果实、叶片及果园土壤微生物多样性[J]. 食品科学, 2018, 39(6): 162-170.

[9] 王伟, 布丽根·加冷别克, 胡晓东, 等. 基于高通量测序技术的 酿酒葡萄产区土壤微生物多样性[J]. 新疆农业科学, 2020, 57(5): 859-868.

[10] 杨敏,殷绒,张国涛,等.基于高通量测序技术的香格里拉 葡萄酒产区根际微生物多样性研究[J].云南农业大学学报(自然 科学),2020,35(3):392-400.

[11] 张世伟, 陈曦, 钟其顶, 等. 不同品种酿酒葡萄表皮微生物 群落多样性分析[J]. 生物技术通报, 2017, 33(3): 128-137.

[12] Martins G, Lauga B, Miot-Sertier C, et al. Characterization of

epiphytic bacterial communities from grapes, leaves, bark and soil of grapevine plants grown, and their relations[J]. PloS One, 2013, 8(8): e73013.

[13] Wu L, Wen C, Qin Y, et al. Phasing amplicon sequencing on Illumina Miseq for robust environmental microbial community analysis[J]. BMC Microbiol., 2015, 15(1): 125.

[14] You J, Wu G, Ren F, et al. Microbial community dynamics in Baolige oilfield during MEOR treatment, revealed by Illumina MiSeq sequencing[J]. Applied Microbiology & Biotechnology, 2016, 100(3): 1469–1478.

[15] 苏宝玲,韩士杰,王建国.根际微域研究中土样采集方法的研究进展[J].应用生态学报,2000,11(3):477-480.

[16] 鲍士旦. 土壤农化分析 (第三版)[M]. 北京: 中国农业出版 社, 1999.

[17] Wawrik B, Kerkhof L, Kukor J, et al. Effect of different carbon sources on community composition of bacterial enrichments from soil[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(11): 6776–6783.

[18] Pinto C, Pinho D, Sousa S, et al. Unravelling the diversity of grapevine microbiome[J]. PLoS One, 2014, 9(1): 85622.

[19] Stevanato P, Bertaggia M, Stellin F. Soil biological and biochemical traits linked to nutritional status in grapevine[J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2014, 14(3); 469–479.

[20] 彭玉娇, 崔学宇, 覃礼蒙, 等. 不同地区沙田柚果园土壤细 菌群落结构和多样性分析[J]. 四川农业大学学报, 2020, 38(6): 715-722.

[21] Griffiths R I, Thomson B C, James P, et al. The bacterial biogeography of British soils[J]. Environmental microbiology, 2011, 13(6): 1642–1654.

[22] Zubek S, Stefanowicz A M, Blaszkowski J, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil microbial communities under contrasting fertilization of three medicinal plants[J]. Applied Soil Ecology, 2012, 59: 106–115.

[23] Wei M, Zhuge Y P, Lou Y H, et al. Effects of fertilization on xanthoceras sorbifolia bunge growth and soil enzyme activities [J]. Journal of Soil & Water Conservation, 2010, 24(2): 237–240.

[24] Martins G, Vallance J, Mercier A, et al. Influence of the farming system on the epiphytic yeasts and yeast-like fungi colonizing grape berries during the ripening process[J]. Int J Food Microbiol, 2014, 177(3): 21–28.

[25] 赵昱, 李静媛, 解万翠, 等. 四个不同产区酿酒葡萄果皮微 生物多样性的研究 [J/OL]. 食品与发酵工业: 1-13.DOI: 10.13995/ j.cnki.11-1802/ts.025474.

[26] Kamma M, Mburu H, Blanchart E. Effects of organic and inorganic fertilization on soil bacterial and fungal microbial diversity in the Kabete long-term trial, Kenya[J]. Biology and Fertility of Soils, 2011, 47(3): 315–321.

[27] 陈伟,姜中武,胡艳丽,等.苹果园土壤微生物生态特征研 究[J].水土保持学报,2008,22(3):168-171.

[28] 张翔,朱洪勋,孙春河,等.长期施肥对土壤微生物和腐殖 质组分的影响[J].华北农学报,1998,13(2):87-92.