



中国科技核心期刊
中国农林核心期刊
全国优秀农业期刊
华东地区优秀期刊
江西省优秀期刊

CN 36-1124/S
ISSN 1001-8581

江西农业学报

Jiangxi Nongye Xuebao

ACTA

AGRICULTURAE

JIANGXI

第34卷 第5期

Vol.34 No.5

2022

江西省农业科学院 主办
江西省农学会

高通量测序分析羊肚菌—赤松茸轮作土壤微生物群落结构变化

邓莹莲;赵长林;

基于高通量测序平台Illumina Novaseq剖析了羊肚菌—赤松茸轮作土壤微生物的变化,探究了轮作赤松茸对羊肚菌土壤微生物群落结构和多样性的影响。结果表明:(1)轮作赤松茸后,土壤细菌、真菌群落的Simpson和Shannon指数显著提高;土壤微生物群落组成变化不显著,但其相对丰度存在显著差异。(2)ydj0、ydj1和csr1的优势细菌门均为Proteobacteria,优势真菌门均为Ascomycota;但3种土样优势属细菌分别为Pseudomonas、Sphingomonas和隶属于Gemmatimonadaceae的细菌属。(3)csr1土壤中Bacteroidota、Chitinophagaceae和Chaetomium的相对丰度较ydj1土壤的显著增加;而Myxococcota、Gemmatimonas、Basidiomycota和Tausonia相对丰度较ydj1土壤的显著降低;大多数细菌类群在csr1与ydj1土壤中相对丰度变化趋势相反。综上所述,羊肚菌—赤松茸轮作可以提高羊肚菌土壤微生物群落的物种多样性,有效调节羊肚菌土壤微生物菌群结构的平衡关系,栽培赤松茸对羊肚菌栽培土壤有一定的修复作用,但修复机制还有待进一步研究。

2022年11期 v. 34 56-64页 [\[查看摘要\]](#) [\[在线阅读\]](#) [\[下载\]](#) 2011K

[下载次数: 22] [网刊下载次数: 0] [引用频次: 0] [阅读次数: 26]

硅钾叶面肥喷施对烤烟生长、产量和质量的影响

王兴松;吴登权;白羽祥;王戈;张锦韬;康立夫;合云宇;李云川;黄光祥;马斌;王娜;

为了探索喷施硅钾叶面肥对烤烟农艺性状、抗病性、产量及质量的影响,开展了田间小区试验,共设置6个处理,其中处理A_1喷施清水(CK),处理A_2~A_6分别喷施硅钾肥400、600、800、1000和1200倍液。结果表明:与CK相比,A_6处理的烤烟农艺性状最优,其株高高出4.9 cm,最大腰叶长增加1.46 cm,最大腰叶宽增加2.46 cm;A_5处理的烤烟有最低的白粉病发病率(3.11%)和黑胥病发病率(2.12%),且与CK相比,上等烟比例提升了1.56个百分点,烤烟产量提升了19.76%,产值提升了29.04%。综上,喷施硅钾肥对烤烟的抗病性、外观质量、经济性状等均有一定的提升作用,以A_5处理(喷施硅钾肥1000倍液)的综合效果最优。

2022年11期 v. 34 65-69页 [\[查看摘要\]](#) [\[在线阅读\]](#) [\[下载\]](#) 1269K

[下载次数: 14] [网刊下载次数: 0] [引用频次: 0] [阅读次数: 18]

鄱阳湖区风沙化过程中土壤理化性质的变化特征

王农;彭浪;汤崇军;莫明浩;段剑;刘士余;

以江西省都昌县多宝乡风蚀区为研究区,采用空间代替时间的方法,将不同植被覆盖度的固定沙丘、半流动沙丘、流动沙丘代表风沙化过程的3个主要阶段,分析不同类型沙丘土壤性质的变化特征,为鄱阳湖沙丘土壤修复及植被恢复提供理论参考依据。结果表明:(1)不同类型沙丘的土壤理化性质差异显著,土壤含水率、孔隙度、有机质、全氮和全磷含量等指标均以固定沙丘最高,半流动沙丘次之,流动沙丘最低,土壤容重则以流动沙丘最大;(2)不同类型沙丘上层(0~10 cm)和下层(10~20 cm)土壤的理化性质不同,下层土壤的土壤含水率、容重高于上层土壤,上层土壤的土壤孔隙度、有机质、全氮和全磷含量均高于下层土壤;(3)不同类型沙丘样地的土壤含水率、孔隙度、有机质、全氮和全磷含量等指标均处于较低水平。鄱阳湖区沙地的风沙化过程导致了该区域土壤理化性质的下降,有效保护和恢复沙丘植被有利于改善土壤的理化性质。

2022年11期 v. 34 70-75页 [\[查看摘要\]](#) [\[在线阅读\]](#) [\[下载\]](#) 1290K

[下载次数: 5] [网刊下载次数: 0] [引用频次: 0] [阅读次数: 24]

不同母质红壤下干旱胁迫对草本植物生长的影响

张立存;

以南方红壤区常见的草本植物刺芒野古草、鹧鸪草、假俭草、宽叶雀稗、狗牙根、白三叶为供试植物,设计空白对照、复水、干旱胁迫、保水剂4种人工模拟自然干旱胁迫处理,研究了红砂岩红壤和第四纪红壤条件下干旱胁迫对6种草本植物生长的影响。结果表明:不同供试植物在4个处理条件下,苗高生长量、地上生物量、地下生物量和地下/地上生物量比率均表现为第四纪红壤>红砂岩红壤;在干旱胁迫环境下,假俭草、刺芒野古草、鹧鸪草、宽叶雀稗、狗牙根均表现出较强的适应性,以刺芒野古草最佳。研究结果可为植被恢复先锋植物的选择提供科学依据。

2022年11期 v. 34 76-80页 [\[查看摘要\]](#) [\[在线阅读\]](#) [\[下载\]](#) 1748K

[下载次数: 36] [网刊下载次数: 0] [引用频次: 0] [阅读次数: 23]

减氮减药栽培对滩涂水稻产量和效益的影响

颜淑云;于洪喜;袁嘉琦;周根友;陈澎军;汪波;

通过氮肥减量和精准用药减少喷施农药的次数,以提高滩涂耐盐水稻的氮肥利用效率和产量,保护滩涂生态环境,从而实现开发滩涂土地资源与构建良好生态环境的双重目的。减氮试验共设5种施肥处理:不施氮(N_0)、常规氮肥处理(N_(100)CP)、常规减氮15%(N_(85)CP)、减氮15%配施有机肥(N_(85)OP)和机插侧深施肥减氮15%(N_(85)CS)这5种施肥模式,其中每个氮处理分设2个用药处理,即常规用药6次(C)和常规用药4次(J),研究不同减氮措施及相应的减药处理对水稻氮肥利用效率、产量和效益的影响。结果表明:在机插侧深施肥模式减氮15%(N_(85)CS)的情况下,滩涂水稻的产量略低于常规施肥模式(N_(100)CP)的,减氮15%配施有机肥模式(N_(85)OP)的产量与常规减氮15%模式(N_(100)CP)持平;与常规施肥用药模式(N_(100)CPC)相比,机插侧深施肥减氮减药(N_(85)CSJ)的情况下,净收益最高,成本利润率最大,表明通过机插侧深减氮配合减药是经济效益很好的种植模式,是提升滩涂水稻效益的有效途径。

2022年11期 v. 34 81-86+93页 [\[查看摘要\]](#) [\[在线阅读\]](#) [\[下载\]](#) 1204K

[下载次数: 4] [网刊下载次数: 0] [引用频次: 0] [阅读次数: 30]

植物保护

利用遥感监测冬小麦病虫害的研究进展与思考

庄东英;王德领;殷毅;李卫国;耿安红;崔必波;

概述了近年来遥感技术应用于冬小麦病虫害监测的研究进展,阐述了作物病虫害遥感监测的机理与方法,介绍了主要的遥感数据源及其数据处理方法,指出了现阶段作物病虫害遥感监测研究中存在的主要问题,并探讨了该领域未来的研究方向。

2022年11期 v. 34 87-93页 [\[查看摘要\]](#) [\[在线阅读\]](#) [\[下载\]](#) 1202K

[下载次数: 44] [网刊下载次数: 0] [引用频次: 0] [阅读次数: 20]

芒果食叶象甲的生物学特性及其rDNA-ITS1序列特征分析

杨翠凤;滕峥;欧阳秋飞;苏仕林;

基于前期对百色地区芒果食叶象甲种类与为害调查的基础上,对为害指数较高的芒果切叶象甲、芒果蓝卷叶象和绿鳞象甲进行了生物学特征观察,通过掌握其生活史和生活习性,以期对百色地区芒果象甲为害的监测与防治提供一定的借鉴。对13头芒果食叶象甲rDNA-ITS1基因序列进行测序与分析,结果表明:13头象甲rDNA-ITS1序列长度为988~1240 bp,其中,A+T含量(64.37%~74.89%)显著高于G+C含量(25.11%~35.63%),表现出明显的A+T偏好性特点;NJ进化树将13头象甲分为2大类群,其中,象甲1-4、1-6与其他象甲的亲缘关系较远而聚类为1个分支,象甲1-2单独为1个亚类群,其余10头象甲的亲缘关系较近而聚类为另1个亚类群。rDNA-ITS1基因序列能够真实地反映出芒果食叶象甲之间的相似性与遗传分歧,适于今后开展芒果象甲分子生物学相关研究。

2022年11期 v. 34 94-99页 [\[查看摘要\]](#) [\[在线阅读\]](#) [\[下载\]](#) 1211K

高通量测序分析羊肚菌—赤松茸轮作土壤微生物群落结构变化

邓莹莲, 赵长林*

(西南林业大学 生物多样性保护学院, 云南 昆明 650224)

摘要: 基于高通量测序平台 Illumina Novaseq 剖析了羊肚菌—赤松茸轮作土壤微生物的变化, 探究了轮作赤松茸对羊肚菌土壤微生物群落结构和多样性的影响。结果表明: (1) 轮作赤松茸后, 土壤细菌、真菌群落的 Simpson 和 Shannon 指数显著提高; 土壤微生物群落组成变化不显著, 但其相对丰度存在显著差异。 (2) ydj0、ydj1 和 csr1 的优势细菌门均为 Proteobacteria, 优势真菌门均为 Ascomycota; 但 3 种土样优势属细菌分别为 *Pseudomonas*、*Sphingomonas* 和隶属于 Gemmatimonadaceae 的细菌属。 (3) csr1 土壤中 Bacteroidota、Chitinophagaceae 和 *Chaetomium* 的相对丰度较 ydj1 土壤的显著增加; 而 Myxococcota、*Gemmatimonas*、Basidiomycota 和 *Tausonia* 相对丰度较 ydj1 土壤的显著降低; 大多数细菌类群在 csr1 与 ydj1 土壤中相对丰度变化趋势相反。综上所述, 羊肚菌—赤松茸轮作可以提高羊肚菌土壤微生物群落的物种多样性, 有效调节羊肚菌土壤微生物菌群结构的平衡关系, 栽培赤松茸对羊肚菌栽培土壤有一定的修复作用, 但修复机制还有待进一步研究。

关键词: 高通量测序; 六妹羊肚菌; 大球盖菇; 连作障碍; 细菌; 真菌

中图分类号: S154.38 文献标志码: A 文章编号: 1001-8581(2022)11-0056-09

High-throughput Sequencing Analysis of Soil Microbial Community Structure Changes in *Morchella vulgaris*–*Stropharia rugosannulata* Rotation

DENG Ying-lian, ZHAO Chang-lin*

(College of Biodiversity Conservation, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

Abstract: The high-throughput sequencing Illumina Novaseq was used to analyze the changes of soil microorganisms in the *M. sextelata*–*S. rugosannulata* rotation, and the effect of *S. rugosannulata* rotation on the structure and diversity of the soil microbial community of *Morchella* was explored. The results showed that: (1) The Simpson and Shannon indices of the diversity of bacterial and fungal communities were significantly improved after *S. rugosannulata* rotation. The composition of soil microbial community did not change significantly after cultivation of *M. sextelata* and *S. rugosannulata*. However, there were significant differences in the relative abundance. (2) the dominant bacterial groups in the original soil of *M. sextelata* (ydj0), one-year soil of *M. sextelata* (ydj1) and one-year soil of *S. rugosannulata* (csr1) were Proteobacteria and belonging to Gemmatimonadaceae, and the dominant fungal group was Ascomycota. However, the dominant genera of bacteria in the three soil samples were *Pseudomonas*, *Sphingomonas* and Gemmatimonadaceae. (3) Compared with ydj1, the relative abundances of Bacteroidota, Chitinophagaceae and *Chaetomium* in csr1 were significantly increased, while the relative abundances of Myxococcota, *Gemmatimonas*, Basidiomycota and *Tausonia* were significantly lower than that of ydj1. The relative abundances of most bacterial groups in the soils of csr1 were opposite to that in ydj1. The studies have shown that *M. sextelata*–*S. rugosannulata* rotation can improve the species diversity of the *Morchella* soil microbial community, and effectively adjust the balance of the *Morchella* microbial community structure in the soil. Comprehensive analysis showed that the cultivated *S. rugosannulata* has a certain remediation effect on the cultivation soil of *Morchella*, but the remediation mechanism needs to be further studied.

Key words: High-throughput sequencing; *Morchella sextelata*; *Stropharia rugosannulata*; Continuous cropping obstacle; Bacteria; Fungus

收稿日期: 2022-06-16

基金项目: 云南省科技厅重点基础研究项目(202001AS070043)。

作者简介: 邓莹莲(1999—), 女, 硕士研究生, 主要从事羊肚菌、天麻连作障碍研究。*通信作者: 赵长林。

0 引言

羊肚菌 (*Morchella* spp.) 是在全球广泛分布的一类珍贵食(药)用真菌,隶属于囊菌门 Ascomycota、盘菌纲 (Pezizomycetes)、盘菌目 (Pezizales)、羊肚菌科 (Morchellaceae)、羊肚菌属 (*Morchella*), 具有重要的经济和药用价值^[1]。现代医学研究证实,羊肚菌具有调节机体免疫力、抗疲劳、抑制肿瘤、抗菌、抗病毒、降血脂、抗氧化等多种生物活性^[2]。近年来,我国羊肚菌产业发展迅猛,栽培规模扩大,助力羊肚菌产业发展已成为地方政府年度规划和当地农民重要的经济来源和特色产业。但羊肚菌栽培过程中连作障碍“卡脖子”问题已成为不可逾越的鸿沟,导致其产量和品质大幅下降,这一短板严重制约了羊肚菌产业的绿色健康、可持续发展。

作物连作障碍产生机理十分复杂,是系统内诸多因素综合作用的结果^[3]。随着科学研究的纵向延伸,研究成果推测作物—微生物—土壤系统的平衡关系失调是引起连作障碍的主要因素^[4]。连作障碍问题已成为严重制约农林业健康发展的首要问题。基于合理的轮作,有利于维持土壤微生物的生态平衡,助力土壤微生物活性增强,有效改善土壤质量,从而缓解连作障碍^[5]。此外,研究表明,羊肚菌与番茄^[6]、吊瓜^[7]、辣椒和长裙竹荪^[8]等轮作,不仅提高了土地资源的利用率,还提升了羊肚菌的产量和品质,同时在一定程度上改善了羊肚菌的连作障碍。

食用菌具有腐生特性,对土壤中矿物质转化、高分子降解及活性物质的富集均有较好的促进作用^[9]。赤松茸也是一种在国内被广泛推广栽培的珍稀食(药)用菌,学名大球盖菇 (*Stropharia rugoso-annulata* Farl. ex Murrill), 又名皱环球盖菇、皱球盖菇、酒红球盖菇、裴氏球盖菇、大红菇等,隶属于担子菌门 (Basidiomycota)、伞菌纲 (Agaricomycetes)、伞菌目 (Agaricales)、球盖菇科 (Strophariaceae)、球盖菇属 [*Stropharia* (Fr.) Quél.]^[10]。其栽培技术成熟,栽培原料来源丰富,环境适应性强、抗杂菌、抗逆能力强^[11]。种植赤松茸能够改善土壤理化性质及提高微生物群落丰度^[12]。研究揭示赤松茸与水稻、玉米、柑橘、草莓等^[13-14]轮作,可明显改善土壤质量,增加土壤酶活性,提高作物产量,有效缓解草莓连作障碍。

赤松茸和羊肚菌深受广大人民群众喜爱,其市

场前景广阔,其中羊肚菌在国内外市场上备受欢迎,近年来出口量持续走高,长期以来一直处于洛阳纸贵、供不应求的状态。土壤微生物在生物地化循环中扮演着重要角色,推动着土壤物质转换和能量流动^[15]。近年来有关羊肚菌—赤松茸轮作方式对羊肚菌土壤微生物群落结构影响的研究鲜有报道,因此,关于赤松茸—羊肚菌轮作栽培能否缓解羊肚菌连作障碍,其轮作前后土壤微生物时空变化机制等还有待进一步研究。本研究根据羊肚菌栽培时间 (11—12 月种植,种植周期约为 5 个月) 与赤松茸栽培时间 (6 月上旬栽植,种植周期 4~5 个月) 上的延续吻合性,选取云南省大理州剑川县六妹羊肚菌和赤松茸轮作栽培为试验样地,采用高通量测序平台 Illumina Novaseq 分析羊肚菌—赤松茸栽培后,土壤微生物群落中细菌和真菌的变化趋势,进而解析并探讨羊肚菌—赤松茸轮作模式是否能够缓解羊肚菌的连作障碍的科学问题,旨在为羊肚菌合理复种、缓解连作障碍提供基础数据参考。

1 材料与方法

1.1 试验信息

试验采样地位于云南省大理州剑川县弥沙乡六妹羊肚菌栽培基地 (海拔 2656.3 m, 99° 63' 61.57" E, 26° 34' 37.20" N)。羊肚菌栽培 1 年后,同年 6 月在同一块地上栽培赤松茸,待羊肚菌和赤松茸采收结束后,分批次进行采样,采样过程中土样设置 3 个重复,使用 50 mL 康宁离心管 (已灭菌) 进行分装,确保土样完整、无污染。取样完成后低温保藏,每个样本置于 -80 °C 冰箱中保存。本次采集土样分别为羊肚菌原壤 (ydj0: zcl051、zcl052、zcl053)、羊肚菌 1 年壤 (ydj1: zcl055、zcl056、zcl057) 和赤松茸 1 年壤 (csr1: zcl088、zcl089、zcl090)。

1.2 土壤微生物高通量测序及生物信息学分析

委托北京诺禾致源生物信息科技有限公司利用 Illumina Novaseq 平台进行土壤样品高通量测序。采用 DNA 提取试剂盒提取和纯化,使用特异引物 515F (5'-CCTAYGGRBGCASCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACNNGGTATCTAAT-3') 对土壤细菌 16S rRNA 基因的 16S V4 变区进行 PCR 扩增。扩增真菌通用引物 ITS5-1737F 和 ITS2-2043R (ITS5-1737F: 5'-GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG-3', ITS2-2043R: 5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3')。PCR 扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶回收,用 Qia-gen

Gel Extraction Kit (Qiagen, Ger-many) 进行纯化, 采用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 试剂盒进行文库构建, 经过 Qubit® 2.0 荧光计 (Thermo Scientific) 和 Agilent Bioanalyzer 2100 系统进行评估, 文库合格后, 在 Illumina NovaSeq 平台上对该文库进行测序, 并生成 250 bp 双末端读数。

使用 FLASH (Version 1.2.7) 软件对样本 Reads 进行拼接, 过滤处理, 参照 Qiime (Version 1.9.1) 软件进行质控处理, 使用 UCHIME 算法检测并去除嵌合体序列, 得到最终的有效数据。将序列在 97% 相似度下, 利用 Uparse (Version 7.0.1001) 软件对所有样本序列进行聚类成为 OTUs。用 Mothur (Version 1.30.2) 与 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析 (设定阈值为 0.8~1.0), 统计各个分类水平各样本的群落组成。对各样本的数据进行均一化处理, 使用 Qiime (Version 1.9.1) 软件计算 α 多样性指数 (Shannon、Simpson、Chao1、ACE、goods_coverage、PD_whole_tree), 使用 R (Version 2.15.3) 软件绘制稀释曲线和进行 α 多样性指数组间差异分析。

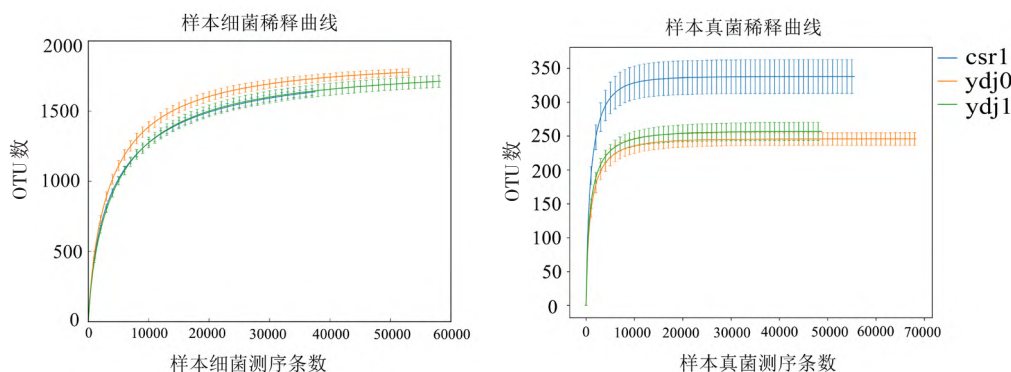


图1 样品稀释曲线

对所有处理在 97% 序列相似度下得到的土壤细菌 OTU 数目进行聚类统计, 绘制韦恩 (Venn) 图用以直观呈现不同处理共有特征和特有特征的数目 (图2), 从而结合特征所代表物种, 找出不同环境中特有微生物。所测得的细菌共有 27 门、60 纲、170 目、312 科、603 属和 683 种, 其中真菌共有 23 门、61 纲、123 目、176 科、197 属和 206 种。由图2可知, 羊肚菌原壤、羊肚菌 1 年壤和赤松茸 1 年壤 3 种土样共同拥有细菌 OTU 数目为 1760 个、真菌 OTU 数目为 177 个, 3 种土样特有细菌 OTU 数目分别为 7、28 和 88 个, 特有真菌 OTU 数目分别为 55、51 和 236 个, ydj0 和 ydj1 共有 111 个细菌 OTU、104 个真菌

2 结果与分析

2.1 羊肚菌—赤松茸土壤细菌和真菌 OTU 聚类分析

稀释性曲线 (Rarefaction Curve) 旨在从样本中随机抽取一定数量序列, 用于验证测序数据量是否足以反映样品中物种多样性, 并间接反映样品中物种丰富程度。由图1可知, 在各样品所含有效序列数范围内, 随样品测序条数的增加, 曲线趋于平缓, 说明样品序列充分, 此环境中物种并不会随测序数量的增加而显著增多, 可进行数据分析。通过统计各阶段序列数、序列长度等参数对数据开展评估。本试验共涵盖 9 个土壤样本, 测序后共获得细菌 739289 对原始序列 (Raw reads), 经质控、拼接后共产生 671886 条高质量序列 (Clean Reads), 每个样品至少产生 63726 条 Clean Reads, 平均产生 74654 条 Clean Reads, 平均长度为 253 bp。分析共获得真菌 728065 对 Raw Reads, 双端 Reads 质控、拼接后共产生 658169 条 Clean Reads, 每个样品至少产生 54299 条 Clean Reads, 平均产生 73130 条 Clean Reads。

OTU, 仅有 46 个细菌 OTU 和 31 个真菌 OTU 同时分布于 csr1 和 ydj1 中, csr1 与 ydj0 共有细菌 OTU 数目和真菌 OTU 数目分别为 31 和 42 个。

2.2 羊肚菌—赤松茸土壤细菌和真菌多样性分析

基于土壤样品中细菌群落 α 多样性分析指数, 对羊肚菌、赤松茸栽培土壤细菌群落物种丰富度和均匀度进行评估 (cutoff=57363)。结果揭示: 不同处理土壤的细菌和真菌多样性指数覆盖率分别达到 99.6% 以上和 100.0% (表1), 说明土壤样本测序数据足够真实, 可反映其细菌和真菌群落的多样性。由表1可知, 代表土壤细菌群落丰富度的 ACE 指数与 Chao1 指数和代表多样性的

Simpson 指数与 Shannon 指数均无显著差异, ACE 指数与 Chao1 指数随着羊肚菌和赤松茸的更替栽培均呈下降趋势,但 Simpson 指数分析显示, ydj1 细菌群落多样性最低, csr1 最高,而 Shannon 指数分析显示 ydj0、ydj1 和 csr1 的 Shannon 指数差异较明显, ydj0 中土壤细菌群落内物种分布多样性最高, csr1 次之, ydj1 中最低。表征真菌群落多样性

的 Shannon 指数和 Simpson 指数以及表征丰富度的 Chao1 指数和 ACE 指数均存在明显差异。与 ydj0 相比较, ydj1 和 csr1 的 α 多样性各指数大都在升高,且 csr1 各指数大都高于 ydj1,表明赤松茸栽培可提高羊肚菌土壤中细菌和真菌群落内物种的多样性,同时通过栽培赤松茸可提高羊肚菌土壤中真菌群落内的物种丰富度。

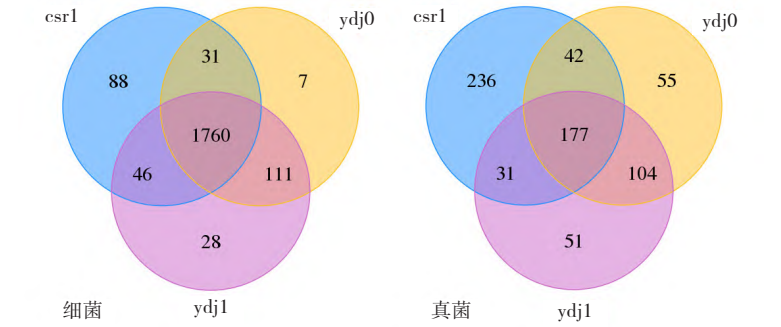


图2 韦恩图

表1 样本真菌和细菌 α 多样性指数

项目	土样	ACE 指数	Chao1 指数	Simpson 指数	Shannon 指数	覆盖率/%
细菌	ydj0	1821.54 ± 33.48	1837.38 ± 38.06	0.9911 ± 0.0084	9.0800 ± 0.4321	99.8
	ydj1	1765.82 ± 70.34	1782.67 ± 74.84	0.9857 ± 0.0089	8.6002 ± 0.1309	99.8
	csr1	1739.63 ± 39.16	1750.73 ± 48.19	0.9956 ± 0.0006	9.0669 ± 0.0830	99.6
真菌	ydj0	245.67 ± 15.95 b	245.67 ± 15.95 b	0.8843 ± 0.0412 b	5.0661 ± 0.4127 b	100.0
	ydj1	256.67 ± 23.12 b	256.67 ± 23.12 b	0.9177 ± 0.0253 ab	5.5280 ± 0.2945 b	100.0
	csr1	337.67 ± 43.06 a	337.67 ± 43.06 a	0.9583 ± 0.0021 a	6.2090 ± 0.1295 a	100.0

注: 平均值 ± 标准误 (n=3); 数字后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

非度量多维尺度 NMDS (Non-Metric Multi-Dimensional Scaling) 散射图估算的真菌和细菌群落 β 多样性显示, 群落分布分为 csr1、ydj0 和 ydj1 3 个不同的组 (图3), 图中点分别表示各样品, 不同颜色代表不同分组, 点与点之间的距离表示

差异程度, 真菌和细菌的 NMDS 分析图显示两者的 stress 分别为 0.0180 和 0.0254, 均小于 0.2, 表明 NMDS 分析具有一定的可靠性, 且 ydj0 和 ydj1 组真菌、细菌群落相似性较高, csr1 与其他 2 组的差异性较大。

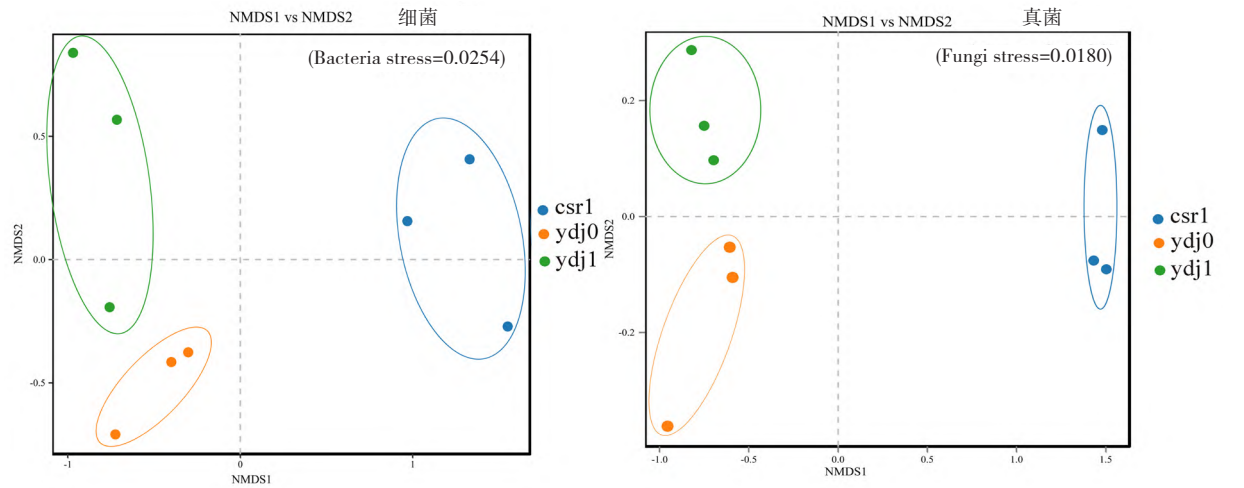


图3 NMDS 分析

2.3 羊肚菌—赤松茸土壤细菌群落结构组成分析

过滤低丰度特征 (物种丰度 $< 0.005\%$), 获取门水平各样品中相对丰度较大的 10 个细菌门类群 (图 4)。ydj0、ydj1 和 csr1 这 3 组土样中相对丰度存在差异, 其中 Proteobacteria 和 Bacteroidota 随着羊肚菌和赤松茸的栽培呈上升趋势, 且 Proteobacteria 为 3 组土壤细菌的主要优势类群, Bacteroidota 在 3 种土样中相对丰度存在显著差异; Chloroflexi 和 Myxococcota 随着羊肚菌—赤松茸的栽培呈下降趋势, 且 csr1 中 Myxococcota 相对丰度显著降低; ydj1 较 ydj0 的 Acidobacteriota 显著减少, 但通过栽培赤松茸后显著增加; Actinobacteriota 在羊肚菌栽培后呈现增加趋势, 但栽培赤松茸后显著降低。而 Gemmatimonadota 和 Verrucomicrobiota 变化与 Actinobacteriota 趋势相反; 与对照组 ydj0 相比, Firmicutes 呈上升趋势, 但与 ydj1 相比, 栽培赤松茸后该细菌类群减少。研究揭示栽培赤松茸可有效调节羊肚菌栽培后土壤内细菌菌群。

科、属水平分析表明: 在相对丰度较大的科和属中 (图 5), 栽培赤松茸后土壤细菌群落 Gemmatimonadaceae 的 *Gemmatimonas* 和 Pseudomonadaceae

的 *Pseudomonas* 显著下降, Gemmatimonadaceae 在 ydj0、ydj1 和 csr1 这 3 种土壤中为细菌优势菌科, 优势属细菌分别为 *Pseudomonas* (5.93%)、*Sphingomonas* (6.20%) 和隶属于 Gemmatimonadaceae 的未知属 (6.75%); Xanthobacteraceae (5.91%)、Nitrosomonadaceae (3.38%) 和 Micrococcaceae (3.59%) 相对丰度在 ydj1 中占比最高, 但经过栽培赤松茸后明显减少; Chitinophagaceae 和 Comamonadaceae 相对丰度随着羊肚菌和赤松茸的轮作栽培呈上升趋势, 且 Chitinophagaceae 显著增加。

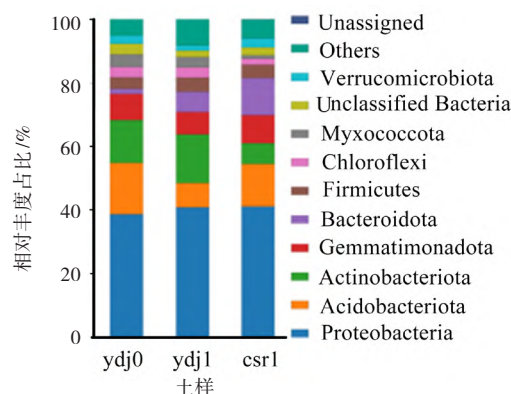


图 4 门水平上 3 组土样细菌分布情况

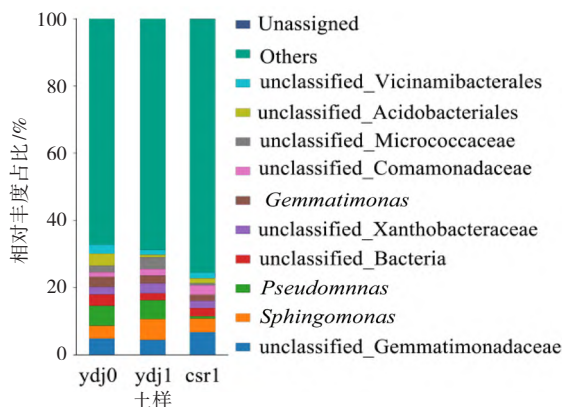
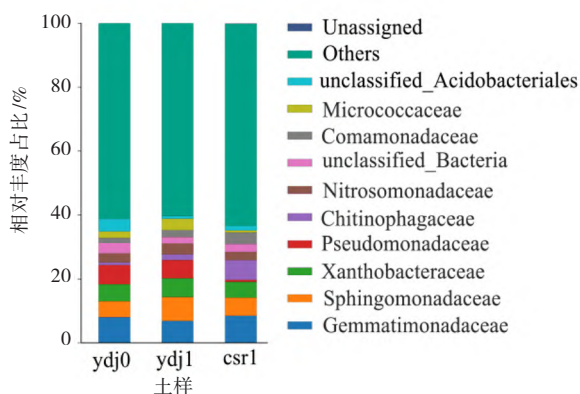


图 5 科 (属) 水平上各样本细菌分布情况

使用 R 软件, 选取土壤真菌菌群丰度排名前 100 的属, 根据其在各个土壤处理中的丰度信息, 从真菌菌群种类、土壤类型 2 个层面进行聚类, 根据聚类结果绘制成 Heatmap 热图 (图 6)。通过聚类能够区分高丰度和低丰度的分类单元, 红色和蓝色代表菌属的丰度, 越偏向红色表明丰度越高, 越偏向蓝色表明丰度越低。如图 6 所示对不同土样细菌在属种水平上进行分析, 根据进化关系, 细菌群落 OTU 在纵向上可以聚类为两大类, 根据丰度变化显示, *Arenimonas*、*Bacteroides*、*Bacillus*、*Pseudolabrys*、*Nitrospira*、*Bryobacter*、*Burkholderia*、

Caballeronia、*Paraburkholderia*、*Chryseolinea*、*Chthoniobacter*、*Comamonas*、*Devosia*、*Ellin6067*、*mle1_7*、*Pandora* 和 *Rubrobacter* 等在 csr1 中丰度最高, 且 csr1 中 *Candidatus_Solibacter* 和 *Candidatus_Udaeobacter* 丰度与 ydj0 的相近, *Bradyrhizobium* 细菌群落丰度在 csr1 中显著降低。

2.4 羊肚菌—赤松茸土壤真菌群落结构组成分析

原始特征表常涵盖极低丰度特征 (物种丰度 $< 0.005\%$), 过滤低丰度特征后, 旨在获取各样品中相对丰度较大的真菌类群, 研究分析了样本真菌群落在门和属水平上的丰度变化情况 (图 7)。基

于不同样品中优势真菌门的分析表明: ydj0、ydj1 和 csr1 优势门均为 Ascomycota, Mucoromycota 真菌在 csr1 中丰度最高, Basidiomycota 在 ydj0 中丰度最高; ydj0 和 ydj1 优势属真菌为 *Tausonia*, 而 csr1 优势属真菌为 Mucoromycota。

使用 R 软件, 选取土壤真菌菌群丰度排名前 100 的属, 根据其在各个土壤处理中的丰度信息, 从真菌菌群种类、土壤类型 2 个层面进行聚类, 根据聚类结果绘制成 Heatmap 热图。通过聚类能够区分高丰度和低丰度的分类单元, 红色、蓝色代表菌属的丰度, 越偏向红色表明丰度越高,

越偏向蓝色表明丰度越低。如图 8 所示对不同土样细菌在属种水平上进行分析, 根据进化关系, 细菌群落 OTU 在纵向上可以聚类为两大类, 根据真菌丰度变化趋势, ydj0 和 ydj1 这 2 组样本聚为一支, 表明这 2 组细菌群落组成相似度较高; csr1 与 ydj0、ydj1 这 2 组样本细菌群落组成差异性较大, 且差异性较大的真菌群落有 *Phymatotrichopsis*、*Sphaerode*、*Mortierella*、*Geminibasidium*、*Olpidium*、*Chaetomium*、*Thelebolus*、*Sistotrema* 和 *Spizellomyces*。值得关注的是, *Fusarium* 在 ydj0 组中丰度最高, 在 csr1 组中丰度最低。

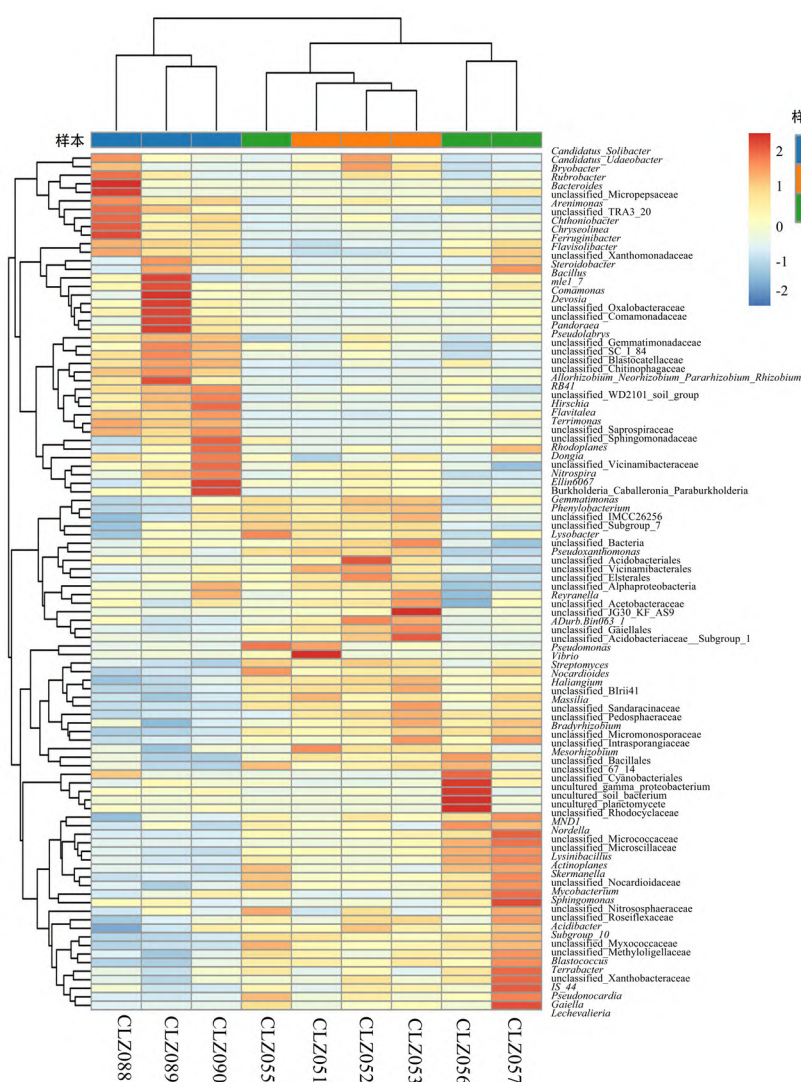


图 6 样品细菌属水平聚类热图

本试验土样中 Basidiomycota、*Fusarium* 和 *Tausonia*, Hypocreales、Pleosporales 和 Leotiomyces 内的一些真菌类群在栽培赤松茸后出现不同程度地减少, 而 *Chaetomium*、*Mortierella* 和 unclassified_Sordariales 的一些真菌属在栽培赤松茸后出现了不

同程度的增加, 栽培赤松茸后土壤中 Ascomycota 和 Mucoromycota 真菌相对丰度变化趋势与羊肚菌栽培后截然相反; 其中 Chaetomiaceae 内真菌在羊肚菌栽培后大幅增加, 但在栽培赤松茸后土壤中该类群真菌大幅度降低。

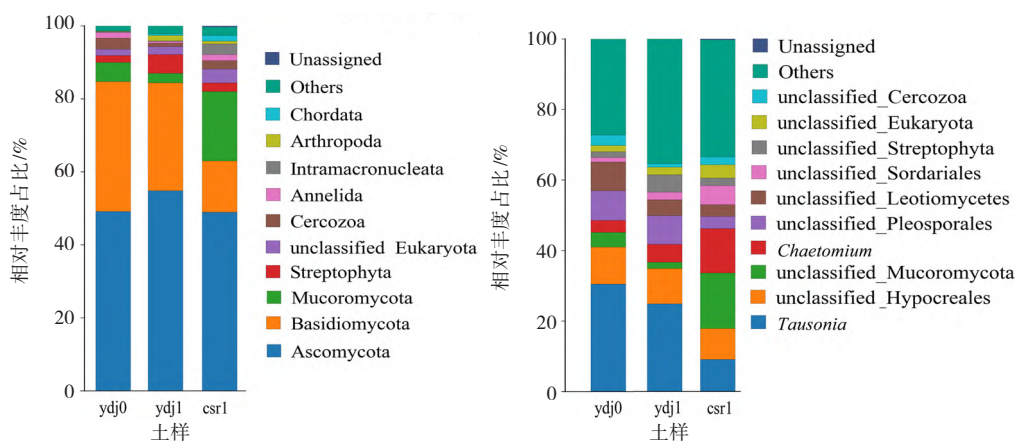


图7 门(属)水平上各样本真菌分布情况

3 结论与讨论

土壤细菌群落结构是土壤生态环境质量的重要组成部分,且扮演着不可替代的作用^[16];本研究土壤微生物群落结构分析表明,轮作对土壤微生物群落种类组成影响较小,但在群落相对丰度上存在显著差异。王瑾^[17]研究揭示,Chitinophagaceae与硝化作用呈正相关,Comamonadaceae参与有机碳的降解,Bacteroidetes参与有机氮的矿化;本研究中Chitinophagaceae、Comamonadaceae和Bacteroidota的相对丰度随着羊肚菌—赤松茸的轮作栽培呈上升趋势,且Bacteroidota和Chitinophagaceae的相对丰度显著增加,说明轮作赤松茸有助于增加羊肚菌土壤中的有益微生物。徐新雯等^[18]研究表明,轮作大蒜可以提高烟根际有益细菌Gemmatimonadetes的数量和多样性,而本研究中栽培羊肚菌后土壤中该类菌群减少,轮作赤松茸后该类菌群出现增加趋势,与上述研究结果一致。殷继忠等^[16]基于分析连作对大豆根际土壤细菌菌群结构的影响表明,大豆连作后土壤中*Sphingomonas*的相对丰度均大于轮作土样,本研究中*Sphingomonas*在yjd1的丰度占比显著增加,通过轮作赤松茸可显著降低该菌群的丰度,从而维持土壤细菌群落的平衡。纳小凡等^[19]基于研究连作对再植枸杞根际细菌群落多样性和群落结构的影响,表明了枸杞根际连作后Verrucomicrobiota的相对丰度明显降低;本研究中yjd1样品中该菌群最低,轮作赤松茸后土壤中该类菌群出现增加趋势,间接证明轮作可维持土壤中该菌群的平衡。轮作赤松茸后土壤中大多数细菌类群与栽培羊肚菌后变化趋势相反,该结果表明轮作赤松茸能够干扰羊肚菌与土壤微生物间的互相作用,可有效调节羊肚菌

根际土壤益生菌和致病菌群间的平衡关系。

肖礼^[20]研究认为,土壤微生物中大部分真菌类群参与了土壤有机质矿化的分解,促进了土壤养分的更新和再利用,并提高了土壤有效养分的含量。Phong等^[21]研究表明,真菌*Chaetomium*类群为常见的生防菌,可有效降解纤维素和有机物,并对土壤中其他微生物产生拮抗作用;本研究数据揭示真菌*Chaetomium*类群在赤松茸栽培后显著增加,可能是赤松茸土壤中大多数真菌相对丰度减少的原因之一。钟壹鸣等^[22]通过槟榔间作香露兜发现,自养型有益细菌Chloroflexi的相对丰度与全磷呈极显著负相关,而羊肚菌栽培后土壤磷含量显著上升^[23],本研究中栽培羊肚菌后Chloroflexi呈下降趋势,这可能是由土壤磷含量显著上升导致;Tan等^[24]研究表明,Chloroflexi的丰度与羊肚菌产量呈正相关,推测该类群微生物与羊肚菌连作障碍呈负相关。本研究数据显示:栽培赤松茸后Mucoromycota和Sordariales有增加趋势,而Sordariomycetes中*Paecilomyces penicillatus*和*Dipl-oospora longispora*是阻碍羊肚菌的生产和质量以及引起羊肚菌白霉病^[25]和霉菌性枯萎病^[26]的主要病原菌,因此赤松茸轮作后,在羊肚菌栽培过程中需及时防范该类病害的发生。

敖金成等^[27]研究表明,土壤真菌、细菌、放线菌、固氮、解磷等功能菌数量与土壤肥力高低呈正相关;徐继伟等^[23]通过研究羊肚菌栽培的经济效益及对土壤的影响,发现羊肚菌栽培前后棚内外土壤磷含量显著上升,而微球菌Micrococcaceae为解磷作用的微生物^[28],本研究中Micrococcaceae相对丰度在yjd1中占比最高,推测该类菌群与羊肚菌栽培后磷元素含量的上升有直接关系。土壤

结构的良好维持和物质养分的转化,离不开土壤中较高的微生物群落多样性^[29],Tan等^[30]研究揭示,羊肚菌产量与土壤真菌和细菌群落多样性呈正相关,且在羊肚菌高产量土壤中发现了一些参与固氮和硝化的细菌微生物,如*Arthrobacter*、*Bradyrhizobium*、*Devosia*、*Pseudarthrobacter*、*Pseudolabrys*、*Nitrospira*和*Candidatus_Solibacter*等^[31];Fan等^[32]研究证实,*Candidatus_Solibacter*和*Brad-*

*rhizobium*的生物多样性决定了作物的产量,与作物产量呈正相关,并与大部分参与养分循环的功能基因丰度呈正相关。本试验中栽培赤松茸后*Candidatus_Solibacter*、*Devosia*、*Pseudolabrys*等微生物显著增加,且表征微生物群落多样性的Shannon指数和Simpson指数在csr1组中均高于yjd1组;该结果表明:轮作赤松茸有利于提高土壤肥力的同时也有助于羊肚菌产量的提高。

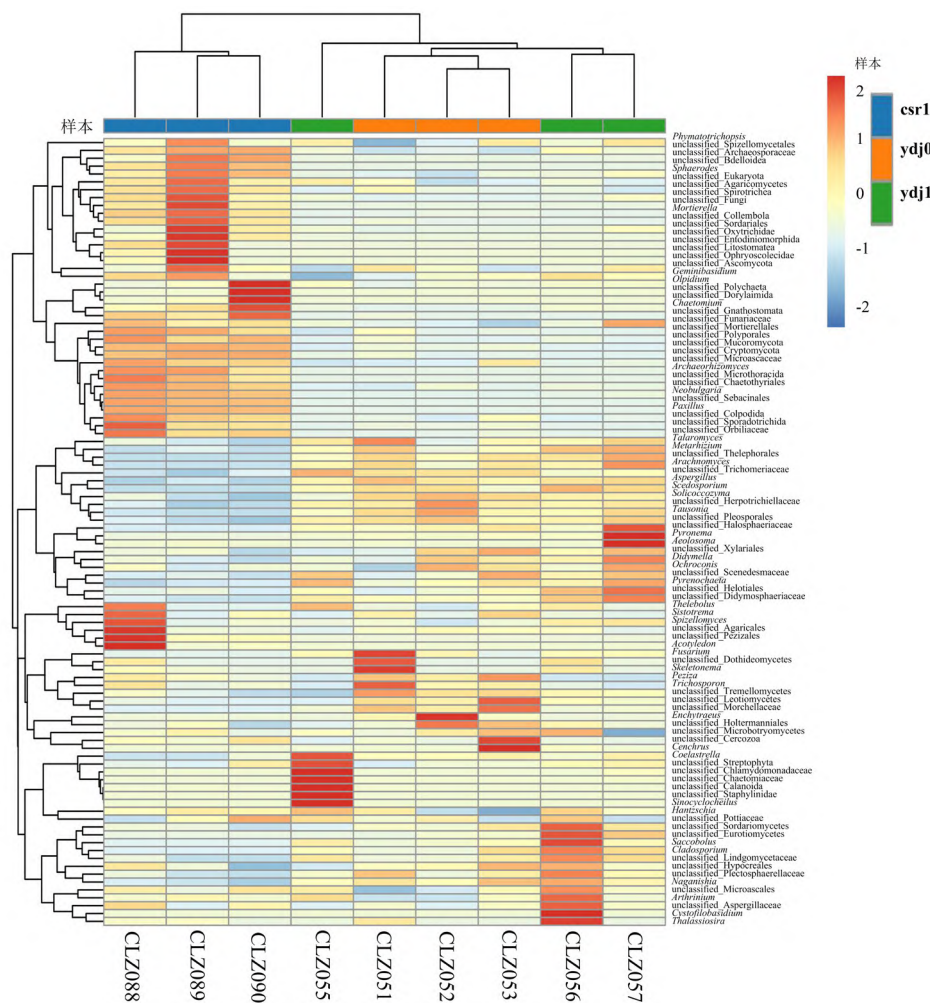


图8 样品真菌属水平聚类热图

研究发现菇—菜—辣椒^[33]和西瓜—草菇—辣椒^[34]轮作能明显改善土壤根际环境,提高土壤有机质的含量,增加土壤中细菌的数量,降低有害病原真菌的数量,恢复土壤微生物种群数量,对辣椒连作障碍有明显缓解作用。本研究采用高通量测序技术从土壤微生态菌群变化视角进行分析,结果表明:轮作赤松茸可提高羊肚菌土壤中微生物群落物种多样性,有助于增加土壤有益细菌类群和降低病原真菌类群,同时在一定程度上能够有效调节羊肚菌土壤微生物菌群结构的平衡关系,

与上述研究结果一致,这为进一步解析羊肚菌连作障碍“卡脖子”问题提供了微生物学视角的基础数据支持。但该研究仅从细菌、真菌群落组成及相对丰度的角度分析了羊肚菌—赤松茸轮作土壤微生物群落结构和多样性,这些微生物丰度变化所导致的生态功能不同及对羊肚菌和赤松茸产量的影响仍需从不同角度进行深入剖析。

参考文献:

[1] 杜习慧,赵琪,杨祝良.羊肚菌的多样性、演化历史及栽

- 培研究进展[J].菌物学报,2014,33(2):183-197.
- [2] Wu F, Zhou L W, Yang Z L, et al. Resource diversity of Chinese macrofungi: Edible, medicinal and poisonous species [J]. Fungal Diversity, 2019, 98(1): 1-76.
- [3] 刘逊.湘西烟区气候与土壤环境特征及其对烟草品质的影响[D].长沙:湖南农业大学,2014.
- [4] 李世金,朱启法,裴洲洋,等.烟草种植连作障碍产生的原因及防治对策[J].现代农业科技,2018,36(4):54-56,58.
- [5] 吴宏亮,康建宏,陈阜,等.不同轮作模式对砂田土壤微生物区系及理化性状的影响[J].中国生态农业学报,2013,21(6):674-680.
- [6] 李鹏程,张智平,王兴国,等.高山羊肚菌—番茄茬口模式栽培试验[J].南方农机,2018,49(14):247-248.
- [7] 左清文,廖任娅.四川巴州吊瓜套作羊肚菌高效种植模式[J].农业工程技术,2019,39(8):52-54.
- [8] 陈丽花,张宇,刘杨,等.不同轮作模式对两种食用菌产量和品质的影响[J].湖北农业科学,2021,60(18):110-114.
- [9] 常明昌.食用菌栽培[M].北京:中国农业出版社,2009.
- [10] Brodzinska Z, Lasota W. Chemical composition of cultivated mushrooms Part I. *Stropharia rugosoannulata* Farlow ex. Murrill [J]. Bromatologia Chemia Toksykologiczna, 1981, 14(3/4): 229-238.
- [11] 闫培生,李桂舫,蒋家慧,等.大球盖菇菌丝生长的营养需求及环境条件[J].食用菌学报,2001,8(1):5-9.
- [12] 龚赛.林下大球盖菇栽培对土壤养分及微生物的影响[D].山东:山东农业大学,2017.
- [13] 夏建平.大球盖菇与单季稻轮作稳粮增收栽培模式[J].食药菌,2013,21(4):239-240.
- [14] 毛宁,贾海燕,王金成,等.大球盖菇、香菇与草莓轮作对土壤质量及草莓生长的影响[J].中国食用菌,2020,39(7):61-64.
- [15] 张薇,魏海雷,高洪文,等.土壤微生物多样性及其环境影响因子研究进展[J].生态学杂志,2005,24(1):48-52.
- [16] 殷继忠,李亮,接伟光,等.连作对大豆根际土壤细菌菌群结构的影响[J].生物技术通报,2018,34(1):230-238.
- [17] 王瑾.城镇污泥蚯蚓堆肥共性微生物群落多样性及功能研究[D].兰州:兰州交通大学,2021.
- [18] 徐新雯,林正全,拓阳阳,等.烟蒜轮作对烟株根际土壤细菌群落结构的影响[J].西南农业学报,2020,33(9):1917-1924,2137.
- [19] 纳小凡,郑国旗,邢正操,等.连作对再植枸杞根际细菌群落多样性和群落结构的影响[J].土壤学报,2017,54(5):1280-1292.
- [20] 肖礼.黄土地陵区梯田土壤微生物群落和活性特征及其影响因素[D].杨凌:西北农林科技大学,2017.
- [21] Phong H, Pongnak W, Soyong K. Antifungal activities of *Chaetomium* spp. against fusarium wilt of tea [J]. Plant Protection Science, 2016, 52(1): 10-17.
- [22] 钟壹鸣,张昂,王志勇,等.槟榔间作香露兜对土壤细菌群落结构和多样性的影响[J].西南农业学报,2022,35(4):915-923.
- [23] 徐继伟,周玖璇,何俊,等.羊肚菌栽培的经济效益及对土壤的影响[J].中国食用菌,2021,40(5):23-30,35.
- [24] Tan H, Yu Y, Tang J, et al. Build your own mushroom soil: Microbiota succession and nutritional accumulation in semi-synthetic substratum drive the fructification of a soil-saprotrophic Morel [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 5(12): 1-18.
- [25] 付博,王家哲,李英梅,等.羊肚菌霉菌性枯萎病病原真菌的分离鉴定及其生物学特性[J].西北农业学报,2022,31(5):640-647.
- [26] Chen C, Fu R T, Wang J, et al. Genome sequence and transcriptome profiles of pathogenic fungus *Paecilomyces penicillatus* reveal its interactions with edible fungus *Morchella importuna* [J]. Computational and Structural Biotechnology Journal, 2021, 4(19): 2607-2617.
- [27] 敖金成,徐天养,王加春,等.土壤肥力状况对植烟土壤微生物区系的影响[J].江西农业学报,2022,34(2): 122-126.
- [28] 蒋学剑,王志强,王志清,等.微球菌 *Micrococcus* NT_1001 解磷特性研究[J].安徽农业科学,2020,48(12): 168-172.
- [29] 韩冬雪,王宁,王楠楠,等.不同海拔红松林土壤微生物功能多样性[J].应用生态学报,2015,26(12):3649-3656.
- [30] Tan H, Liu T, Yu Y, et al. Morel production related to soil microbial diversity and evenness [J]. Microbiology Spectrum, 2021, 9(2): 1-16.
- [31] Yu F M, Jayawardena R S, Thongklang N, et al. Morel production associated with soil nitrogen-fixing and nitrifying microorganisms [J]. Journal of Fungi, 2022, 8(3): 299.
- [32] Fan K K, Baquerizo M D, Guo X S, et al. Biodiversity of key-stone phylotypes determines crop production in a 4-decade fertilization experiment [J]. The ISME Journal, 2020, 15(2): 550-561.
- [33] 田福发,张黎杰,周玲玲,等.菇—菜轮作对连作根际土壤养分、微生物含量及辣椒死苗率的影响[J].江西农业学报,2016,28(06):46-49.
- [34] 张黎杰,周玲玲,姜若勇,等.大棚西瓜—草菇—辣椒轮作对解除设施西瓜连作障碍的效果[J].江西农业学报,2016,28(4):11-14,18.

(责任编辑:管珊红)