

中国麻业科学
ISSN 1671-3622

中国麻业科学编辑部

ISSN 1671-3622

中国麻业科学

PLANT FIBER SCIENCES IN CHINA

双月刊

第44卷 第6期
Vol. 44 No. 6

2022年12月



中国农业科学院麻类研究所主办

中国麻业科学编辑部
地址：北京海淀区中关村南大街12号
电话：010-64193549 64193548 64193547 64193546

首页

期刊介绍

编委会

投稿指南

期刊征订

广告业务

联系我们

请输入关键词

检索 高级搜索

专家审稿系统

编辑办公系统

作者投稿系统

下载中心

更多>>

投稿须知

论文模板

版权协议

友情链接

更多>>

学术不端检测系统

国际知识资源总库

2022年06期目录

原料生产·生态环保

根腐线虫胁迫对不同抗性苕麻品种根系生长发育的影响

周倩文;全丙萍;王薇;刘纯;李璠;余伟;杨瑞芳;崔国贤;

以3种对根腐线虫具有不同抗性的苕麻品种为材料,采用盆栽模拟试验,研究根腐线虫感染后苕麻产量性状及根系生理指标的变化。结果表明:根腐线虫胁迫下,3个不同抗性苕麻品种根系鲜重均下降,其中苕4号下降率最低,为23.77%;不同抗性苕麻品种根冠比为抗病品种增加,感病品种下降;抗病品种根系抗氧化酶POD活性、CAT活性高于感病品种,MDA含量则低于感病品种;根腐线虫胁迫下抗病、感病品种总酚含量、绿原酸含量均增加,木质素含量则表现为抗病品种增加,感病品种降低。在供试材料苕麻根系中共检测到16种氨基酸,根据氨基酸增幅及变化规律,将其分为六类,其中苯丙氨酸与其他氨基酸表现都不同,抗病品种增幅大于感病品种,与抗性呈正相关。接种后,抗病、感病品种根系氨基酸总量都表现为增加,感病品种氨基酸总量为抗病品种的3~4倍。该研究明确根腐线虫胁迫下苕麻产量性状及根系生理指标等变化特点,为揭示苕麻与根腐线虫互作的根系生理机制及抗性指标的筛选提供理论参考。

2022年06期 v.44;No.218 313-320页 [查看摘要][在线阅读][下载 1165K]

[下载次数: 32] [网刊下载次数: 0] [引用频次: 0] [阅读次数: 12]

基于高通量测序的天麻连作根际土壤真菌群落多样性分析

蔡丽琼;陈瑞;杨德强;赵长林;

为探究天麻连作根际真菌群落结构及多样性,利用Illumina高通量测序技术对云南省昭通市彝良县荞山镇未种植天麻(cha001)、新茬天麻(cha002)、重茬天麻(cha003)的根际土壤样品进行对比分析。结果表明:9个样品测序获得真菌1342个OTUs,分属9门27纲57目107科165属。cha002较cha001根际土壤真菌群落丰度和多样性指数升高,随种植年限增加,cha003根际真菌群落丰度及多样性下降明显。其中cha001和cha002中的真菌优势门为子囊菌门(Ascomycota),相对丰度分别为56.20%、63.58%,而cha003的真菌优势门为担子菌门(Basidiomycota),相对丰度为42.83%;cha001的真菌优势菌纲为unclassified _ Ascomycota,相对丰度为34%,cha002的真菌优势菌纲为古菌纲(Archaeorhizomycetes),相对丰度为25.45%,cha003的真菌优势菌纲为伞菌纲(Agaricomycetes),相对丰度38.77%;cha001的真菌优势菌目为unclassified _ Ascomycota,相对丰度为34%,cha002和cha003的真菌优势菌目为古菌纲(Archaeorhizomycetales),相对丰度分别为25.45%、15.49%;cha001的真菌优势菌属为unclassified _ Ascomycota,相对丰度为34%,cha002和cha003的优势菌属为Archaeorhizomyces,相对丰度分别为25.45%、15.49%。PCoA分析揭示天麻连作根际和非根际土壤真菌群落分布特征存在明显差异。天麻连作导致土壤真菌群落结构发生变化,破坏土壤原有的微生态平衡可能是造成天麻减产且形成连作障碍的原因之一。

2022年06期 v.44;No.218 321-330页 [查看摘要][在线阅读][下载 1058K]

[下载次数: 88] [网刊下载次数: 0] [引用频次: 0] [阅读次数: 10]

文章编号:1671-3532(2022)06-0321-10

基于高通量测序的天麻连作根际土壤 真菌群落多样性分析

蔡丽琼¹, 陈瑞¹, 杨德强², 赵长林^{1*}

(1. 西南林业大学生物多样性保护学院, 云南 昆明 650224;

2. 云南国诚农业发展有限公司, 云南 昭通 657000)

摘要:为探究天麻连作根际真菌群落结构及多样性,利用 Illumina 高通量测序技术对云南省昭通市彝良县荞山镇未种植天麻(cha001)、新茬天麻(cha002)、重茬天麻(cha003)的根际土壤样品进行对比分析。结果表明:9 个样品测序获得真菌 1342 个 OTUs,分属 9 门 27 纲 57 目 107 科 165 属。cha002 较 cha001 根际土壤真菌群落丰度和多样性指数升高,随种植年限增加,cha003 根际真菌群落丰度及多样性下降明显。其中 cha001 和 cha002 中的真菌优势门为子囊菌门(Ascomycota),相对丰度分别为 56.20%、63.58%,而 cha003 的真菌优势门为担子菌门(Basidiomycota),相对丰度为 42.83%;cha001 的真菌优势菌纲为 unclassified_Ascomycota,相对丰度为 34%,cha002 的真菌优势菌纲为古菌根菌纲(Archaeorhizomycetes),相对丰度为 25.45%,cha003 的真菌优势菌纲为伞菌纲(Agaricomycetes),相对丰度 38.77%;cha001 的真菌优势菌目为 unclassified_Ascomycota,相对丰度为 34%,cha002 和 cha003 的真菌优势菌目为古根菌目(Archaeorhizomycetales),相对丰度分别为 25.45%、15.49%;cha001 的真菌优势菌属为 unclassified_Ascomycota,相对丰度为 34%,cha002 和 cha003 的优势菌属为 Archaeorhizomyces,相对丰度分别为 25.45%、15.49%。PCoA 分析揭示天麻连作根际和非根际土壤真菌群落分布特征存在明显差异。天麻连作导致土壤真菌群落结构发生变化,破坏土壤原有的微生态平衡可能是造成天麻减产且形成连作障碍的原因之一。

关键词:天麻;连作;根际土壤;非根际土壤;真菌多样性;高通量测序**中图分类号:**S567.9 **文献标识码:**A **开放科学(资源服务)标识码(OSID):**

Analysis of Fungal Community Diversity in Rhizosphere Soil of the Continuous Cropping *Gastrodia elata* Based on the High-throughput Sequencing

CAI Liqiong¹, CHEN Rui¹, YANG Deqiang², ZHAO Changlin^{1*}

(1. College of Biodiversity Conservation, Southwest Forestry University,

Kunming 650224, Yunnan, China;

2. Yunnan Guocheng Agricultural Development Co. LTD, Zhaotong 657000, Yunnan, China)

Abstract: To explore the rhizosphere soil fungal community structure and diversity of *Gastrodia elata*

收稿日期:2022-09-04

基金项目:云南省科技厅重点基础研究项目(202001AS070043)

作者简介:蔡丽琼(1997-),女,在读硕士研究生,聚焦高通量测序分析天麻种植土壤微生物区系互作研究。E-mail:fungiliqiong@163.com

*通信作者:赵长林(1985-),男,教授,博士,主要从事天麻连作障碍研究。E-mail:fungichanglinz@163.com

continuous cropping, the Illumina high-throughput sequencing technology was used to compare and analyze the rhizosphere soil samples of contrast group (cha001), first year-continuous crop for *Gastrodia elata* (cha002) and second year-continuous crop for *Gastrodia elata* (cha003) in Qiaoshan town, Yiliang county, Zhaotong, Yunnan Province. According to the results, a total of 1342 OTUs were obtained from 9 soil samples in which they belonged to 165 genera, 107 families, 57 orders, 27 classes, 9 phyla. To compare with cha001, the abundance and diversity index of rhizosphere fungi community in cha002 were increased, and the abundance and diversity of rhizosphere fungi community in cha003 decreased significantly with the increase of the continuous planting years. The dominant phyla of cha001 and cha002 were Ascomycota, with a relative abundance of 56.20% and 63.58%, and the dominant phyla of cha003 was Basidiomycota, with a relative abundance of 42.83%, in which the dominant class of cha001 was unclassified_Ascomycota, with a relative abundance of 34%, and the dominant class of cha002 was Archaeorhizomycetes, with a relative abundance of 25.45%, and the dominant class of cha003 was Agaricomycetes, with a relative abundance of 38.77% and the dominant order of cha001 was unclassified_Ascomycota, and the relative abundance was 34%, the dominant order of cha002 and cha003 was Archaeorhizomycetales, and the relative abundance was 25.45% and 15.49%, in which the dominant genus of sample cha001 was unclassified_Ascomycota, and the relative abundance was 34%, and the dominant genus of sample cha002 and cha003 were *Archaeorhizomyces*, and the relative abundance were 25.45% and 15.49%. The Principal coordinates analysis showed that the distribution characteristics of the soil fungal communities between rhizosphere and non-rhizosphere soil under the continuous cropping of *Gastrodia elata* were significantly different. The continuous cropping of *Gastrodia elata* resulted in the change of soil fungal community structure and the destruction of the original soil microecological balance may be one of the reasons for the reduction of yield of *Gastrodia elata* and the formation of the continuous cropping obstacles.

Key words: *Gastrodia elata*; the continuous cropping; the rhizosphere soil; non-rhizosphere soil; fungal diversity; high-throughput sequencing

天麻(*Gastrodia elata* Bl.)又名赤箭、定风草、独摇芝等,兰科多年生草本植物,为优质道地药材^[1-3]。20世纪50年代,天麻人工栽培技术被攻破,在全国范围内广泛推广并促进了天麻种植业的发展,但天麻连续多代种植后,会出现病害加重、产量降低和天麻品质变劣等问题^[4]。连作障碍普遍存在于农业生产中,相较于其他作物,药用植物因其特殊化学物质及次生代谢产物,在生产过程中更易发生连作障碍^[5-6]。

微生物是土壤中除植物和动物外的另一种能量载体^[7-8],在土壤功能和植物健康等方面发挥重要调节作用^[9-10],其群落结构在很大程度上决定着土壤的生物活性^[11]。研究^[12-14]揭示,随着种植年限的增加,多种药用植物根际土壤中的微生物群落结构均发生显著变化,如西洋参、三七、丹参等。刘伟等^[14]研究揭示,丹参重茬种植后,其根际土壤中真菌群落结构发生显著变化,连作致使土壤中耐冷酵母属真菌丰度显著降低,异常威克汉姆酵母属真菌丰度显著上升,且连作两年土壤中炭疽菌属真菌等致病菌成为优势菌属,进而导致丹参发病率提升;高嵩等^[15]基于龙胆草根际土壤细菌多样性研究表明:随连作年限增加,龙胆草根际土壤细菌多样性逐年降低,而病原微生物丰度增加,进而导致根际微生态失衡,造成龙胆草连作障碍;周界等^[16]基于高通量测序技术分析穿心莲连作根际土壤细菌群落多样性发现连作种植降低了土壤细菌的丰富度和多样性,使土壤微生态平衡遭到破坏,同时有益菌相对丰度降低,病原菌相对丰度增加,进而造成细菌群落结构改变和失衡。

开展天麻及其根际土壤微生物研究,不仅有助于分析天麻与根际土壤微生物之间的相互作用机制,而且也有助于解决天麻病害防治及连作障碍等实际生产应用问题,提高天麻产量和品质。

目前关于云南省昭通地区天麻与根际土壤微生物相互作用的研究报道较少,天麻在生长过程中与根际微生物相互作用的机制也不明确,因此,本研究通过高通量测序技术研究不同种植茬数天麻根际土壤真菌群落,分析其组成、丰度和多样性,旨在找到连作土壤中优势真菌类群,进而从微生物生态学角度研究天麻连作障碍的成因,为天麻连作障碍防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 土壤样地条件

本研究对象分布于云南省昭通市彝良县乔山镇海坝村(海拔 1650 m, 27°39'33"N, 104°16'14"E), 年均气温 11 °C, 年均降水量 860 mm, 属亚热带季风气候。

1.2 土壤样品采集

试验共设 3 个处理, 所有处理均在同一块地上进行, 土壤类型相同, 每组试验相邻种植, 间距 30 cm, 每个处理平行取样 3 份, 共 9 个土样。空白组为未种植天麻的土壤(cha001: CLZ019、CLZ020、CLZ021)、新茬天麻土壤(cha002: CLZ0015、CLZ016、CLZ017)、重茬天麻土壤(cha003: CLZ079、CLZ080、CLZ081)。新茬天麻于 2019 年 12 月种下, 2020 年 9 月份收集天麻根际土壤样本; 重茬天麻于 2020 年在新茬天麻土壤样地连续种下天麻, 2021 年 9 月收集重茬天麻根际土壤样本。根际土壤采用五点取样法, 用铁铲除去覆盖天麻表面的土壤、植物根系、碎石及其他杂物, 挖至天麻的块根部位, 用灭菌的刷子和不锈钢铲收集附着于根系 0~5 mm 范围内的土壤, 装入已灭菌的离心管(50 mL), 注明样品编号、名称、地点、日期及采集者, 置于-80 °C 冰箱保存, 用于提取土壤真菌 DNA。

1.3 试验方法

1.3.1 土壤总 DNA 的提取与电泳检测

分别取 3 个处理的土壤样品, 使用 E.Z.N.A.® soil DNA kit(Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 土壤 DNA 试剂盒, 按照说明书进行微生物群落总 DNA 的提取, 使用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量, DNA 浓度和纯度用 NanoDrop 2000 紫外可见分光光度计测定。

1.3.2 土壤真菌 ITS 序列的 PCR 扩增及高通量测序

将提取的总 DNA 作为模板, 采用真菌通用引物 ITS1-ITS2 (ITS1F: 5'-CTTGGTCATTTAGAG-GAAGTAA-3', ITS2R: 5'-GCTGCGTTCCTTCATCGATGC-3') 扩增。扩增程序为 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s, 共 35 个循环, 72 °C 终止延伸 10 min 结束。每个样品重复 3 次, 混合同一样品的 PCR 产物, 后使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 AxyPrep DNA Gel Extractin Kit 凝胶回收试剂盒进行回收产物纯化, 2% 琼脂糖凝胶进行电泳检测, 采用 QuantiFluor™-ST 对回收产物进行检测、定量。Miseq 文库构建和测序均在北京诺禾致源科技股份有限公司进行, 测序平台为 Illumina Novaseq 6000。

1.3.3 生物信息学分析

对 Illumina Miseq 测序所得数据进行处理, 得到优质序列进行下列分析。使用 QIIME2 软件对所得优质序列进行聚类, 以 97% 的相似性将序列聚类为 OTUs, 挑选丰度最大的序列作为代表进行分类注释及分类学分析, 使用 R 语言进行稀释曲线构建^[17]。利用 QIIME 软件进行多样性分析, 计算各物种多样性指数, 用来衡量不同种植年限天麻根际土壤真菌多样性。利用 QIIME 软件生成不同分类水平上的物种丰度表, 再利用 R 语言工具绘制成样品各分类学水平下的群落结构图。使用 QIIME 软件进行 Beta 多样性分析, 比较不同样品在物种多样性方面的相似程度。

2 结果与分析

2.1 稀释曲线

基于稀释曲线可直接反映测序数据的合理性, 间接反映样品中物种的丰富程度。当曲线趋于平缓时, 说明测序数据量满足试验要求^[18]。本研究测序数据的稀释曲线(图 1)表明: OTU 数目随

着测序数量的增加而增加,曲线呈先上升后趋于平缓的趋势,当达到足够的数量之后,真菌曲线均进入饱和状态,即测序量足以覆盖土壤样品的真菌类群。本研究测序数据量合理,测序深度能够覆盖样品根际土壤中的全部真菌微生物。

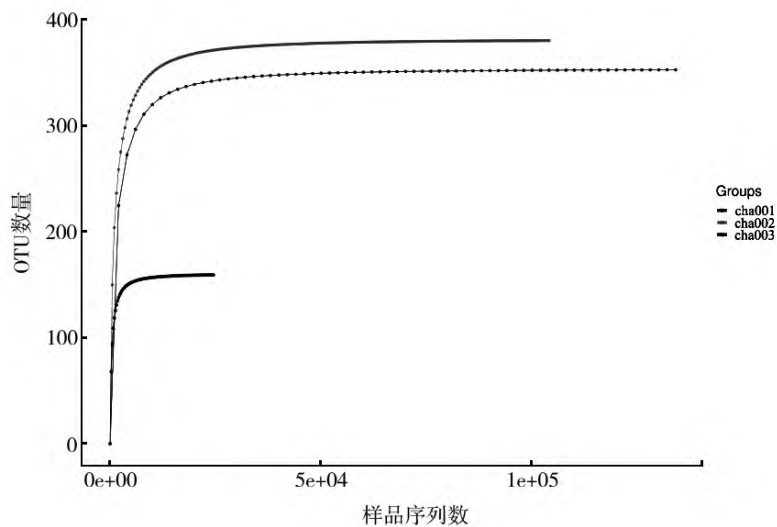


图 1 天麻根际土壤样品真菌的稀释曲线

Fig.1 Dilution curve of fungi in rhizosphere soil sample of *Gastrodia elata*

2.2 真菌群落丰富度多样性统计分析

本研究通过 Illumina 测序平台深入分析 9 个土壤样品,获得 1 957 704 条 eads,每个样品至少产生 30 891 条 Clean Reads,平均产生 186 984 条 Clean Reads。在 97%序列相似性基础上可划分为 1342 个 OTUs,3 组样品所含真菌 OTU 数量分别为 723、675、210 个,种植不同茬数天麻的根际土壤 OTU 数量排序为 cha001(未种植)>cha002(新茬)>cha003(重茬)。Alpha 多样性分析结果(表 1)表明,不同种植茬数天麻根际土壤真菌群落丰富度指数(Ace 指数、Chao1 指数)和多样性指数(Shannon 指数、Simpson 指数)存在如下规律:cha002>cha001>cha003,即 3 个处理样品变化趋势均呈现先升高后下降趋势。样品 cha002 的 Ace 指数和 Chao1 指数最高,揭示该样品中根际土壤微生物丰富度较高;样品 cha002 的 Shannon 均匀度指数最大,表明该样品中微生物群落分布的均匀度较高;3 组样品覆盖度均为 1.0,进一步阐释测序结果能够代表莽山镇天麻根际土壤微生物的真实情况。结果表明:新茬天麻土壤中的真菌多样性比未种植天麻的根际土壤丰富,而重茬天麻土壤中的真菌多样性显著低于未种植和新茬天麻土壤的,其暗示随着种植茬数增加,丰富度及多样性指数呈明显下降趋势,揭示了连续种植天麻明显降低了土壤真菌多样性,连作使土壤真菌群落的种类趋于单一化,且种类数量降低。

表 1 天麻根际土壤样品真菌 Alpha 多样性

Table 1 Fungi Alpha diversity of rhizosphere soil samples of *Gastrodia elata*

处理	OTU 数量/个	Ace 指数	Chao1 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	覆盖度 Coverage
cha001	723	353.000 0	353.000 0	6.212 3	0.962 0	1.0
cha002	675	380.469 9	380.666 7	6.598 6	0.968 6	1.0
cha003	210	159.426 4	159.333 3	4.914 2	0.846 6	1.0

2.3 土壤真菌群落结构分析

2.3.1 在门水平上的土壤真菌群落丰富度分析

基于天麻不同种植茬数根际土壤的真菌群落在门水平进行分析,图 2 表明,其主要为 Ascomycota、Basidiomycota、unclassified_Fungi、Mortierellomycota、Glomeromycota、Chytridiomycota、Rozellomycota、Mucoromycota、Kickxellomycota 9 个门。其中,Ascomycota、Basidiomycota、unclassified_Fungi 和 Mortierellomycota 为突出优势菌门,Ascomycota 为未种植天麻(cha001)和新茬天麻(cha002)根际

土壤真菌群落的第一优势菌门,相对丰度分别为 56.20% 和 63.58%,随种植茬数增加相对丰度呈先升高后降低趋势;Basidiomycota 为重茬天麻根际土壤真菌群落的第一优势菌门,相对丰度达 42.83%,其丰度随种植茬数增加呈上升趋势;unclassified_Fungi 在未种植天麻土壤中所占比例较高,达 21.98%,丰度随连作茬数增加而降低;Mortierellomycota 的丰度随连作茬数增加呈先升高后降低趋势。

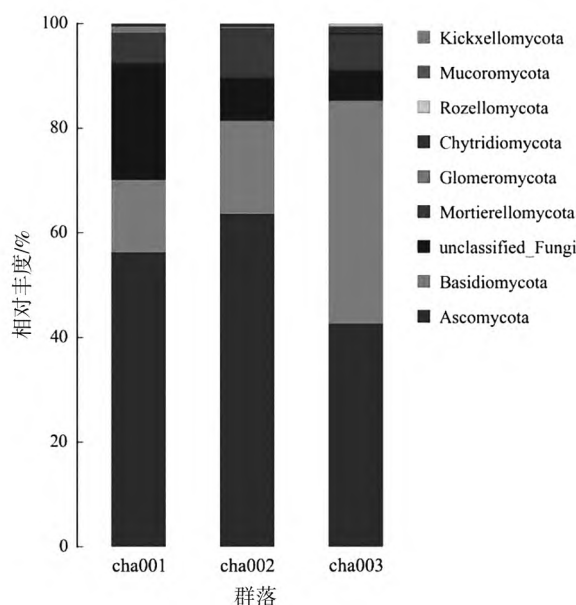


图2 不同根际土壤样品真菌在门水平上的相对丰度

Fig.2 Relative abundance of fungi in different rhizosphere soil samples at phylum level

2.3.2 在纲水平上的土壤真菌群落丰度分析

通过对不同种植茬数天麻根际土壤纲水平的分析(图3),揭示其真菌群落分为27个类群,由高到低依次为 Agaricomycetes、Archaeorhizomycetes、unclassified_Ascomycota、unclassified_Fungi。其中,unclassified_Ascomycota 为未种植天麻土壤真菌群落的第一优势菌纲,相对丰度达34%,该菌群丰度随天麻连作茬数的增加显著降低,其次为 unclassified_Fungi,相对丰度达21.98%,相对丰度随种植茬数增加呈降低趋势;Archaeorhizomycetes 为新茬天麻根际土壤真菌群落的第一优势菌纲,相对丰度达25.45%,连作提高了 Archaeorhizomycetes 的丰度,并随种植茬数的增加呈降低趋势;而 Agaricomycetes 为重茬天麻根际土壤真菌群落的第一优势菌纲,相对丰度达38.77%,该菌纲相对丰度随种植茬数的增加呈显著上升趋势。

2.3.3 在目水平上的土壤真菌群落丰度分析

基于不同种植茬数天麻根际土壤真菌群落在目水平上(图4)研究揭示:其分为59个类群,优势菌目由高到低依次为 Archaeorhizomycetales、unclassified_Ascomycota、unclassified_Fungi、Mortierellales。其中 unclassified_Ascomycota 和 unclassified_Fungi 在未种植天麻土壤中占比最高,相对丰度分别达34%、21.98%,并随种植茬数增加呈降低趋势;Archaeorhizomycetales 在新茬天麻和重茬天麻土壤中相对丰度最高,达25.45%、15.49%,可以看出,连作显著提高了 Archaeorhizomycetales 的相对丰度,随种植茬数增加其丰度逐渐降低;连作天麻土壤中的 Mortierellales 丰度高于未种植天麻土壤中的相对丰度,且随种植茬数增加丰度逐渐降低。重茬天麻土壤中 Helotiales 和 Polyporales 相对丰度显著升高,该目在未种植和新茬天麻土壤中相对丰度极低,Polyporales 在新茬天麻土壤中相对丰度为0,由此可见,天麻连作在目水平上改变了土壤中真菌群落结构。

2.3.4 在属水平上的土壤真菌群落丰度分析

对不同种植茬数天麻根际土壤真菌群落属水平上(图5)分析表明:共分为165个类群,优势菌属由高到低依次为 Archaeorhizomyces、unclassified_Ascomycota、unclassified_Fungi、unidentified 和

Mortierella。其中 unclassified_Ascomycota 和 unclassified_Fungi 为未种植天麻土壤中相对丰度最高的两个类群,相对丰度为 34%、21.98%,且丰度随种植茬数的增加呈显著降低趋势;*Archaeorhizomyces* 为新茬和重茬天麻根际土壤真菌群落的第一优势菌属,相对丰度达 25.45%、15.49%,连作土壤中该类群丰度高于未种植天麻的土壤,随种植茬数增加呈降低趋势;连作还提高了土壤中 *Mortierella* 的丰度,且在重茬天麻根际土壤中出现新类群 *Sebacina* 和 *Paxillus*。

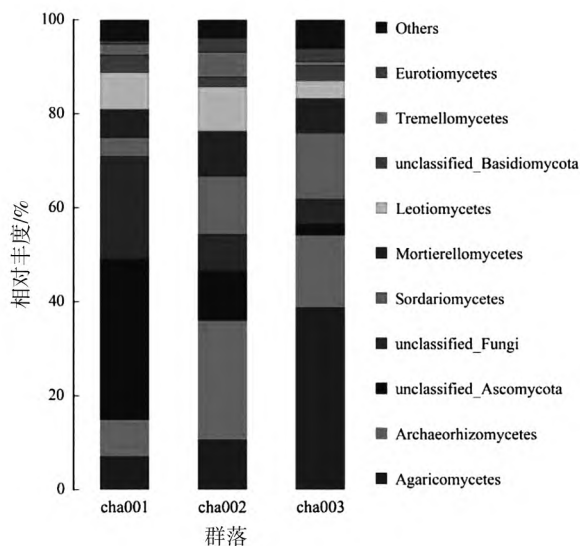


图 3 不同根际土壤样品真菌在纲水平上的相对丰度

Fig.3 Relative abundance of fungi in different rhizosphere soil samples at class level

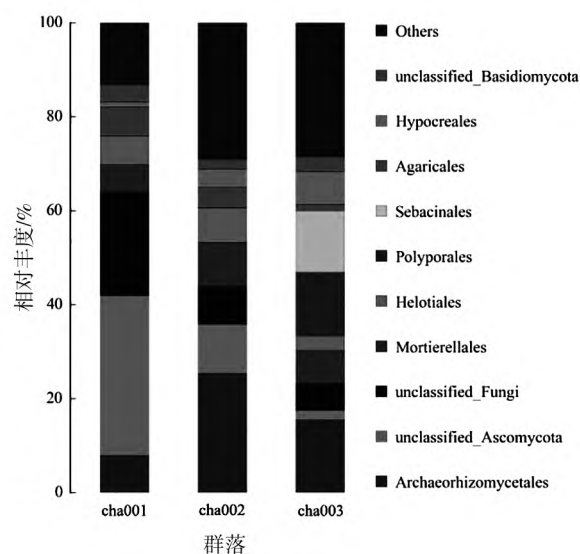


图 4 不同根际土壤样品真菌在目水平上的相对丰度

Fig.4 Relative abundance of fungi in different rhizosphere soil samples at order level

2.4 不同年限土壤真菌菌群的分类学组成分析

采用 R 软件对不同种植茬数天麻根际真菌在门水平上的群落组成数据根据分类单元的丰度加以聚类,并通过热图呈现其分析结果(图 6),通过聚类可以将高丰度和低丰度的分类单元区分,并以颜色梯度反映样品之间的群落组成相似度^[12]。结果表明:横向真菌群落根据进化关系聚类为两大支,其中 cha003 组单独聚为一类,再与 cha001 和 cha002 组聚为另一类,这表明 cha001 和 cha002 组在群落结构分布上相近,与 cha003 组的真菌菌群结构分布有明显差异。纵向 OTU 间聚为两大支,根据变化趋势的类型基本上可以分为 4 类,类群 (I) 在 cha001 组中所占比例较低,在

cha003 组中所占比例最高;类群(Ⅱ)在 cha003 组中所占比例较低,在 cha001 组中所占比例较 cha002 组高;类群(Ⅲ)在 cha001 组中所占比例较高,在 cha002 组和 cha003 组中所占比例均显著降低;类群(Ⅳ)在 cha002 组中所占比例较高,在 cha003 组中所占比例显著降低。

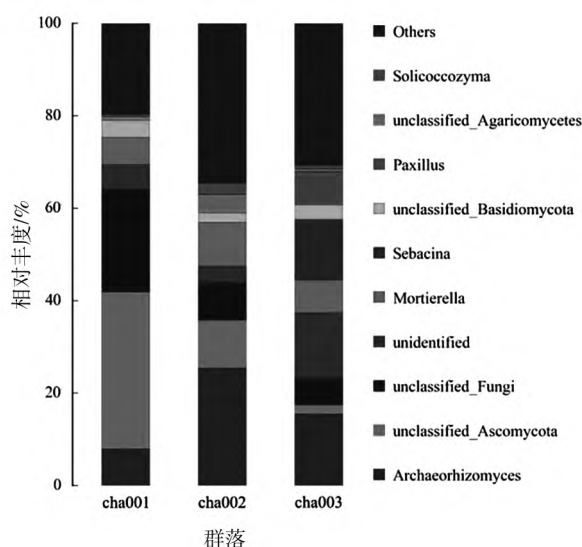


图 5 不同根际土壤样品真菌在属水平上的相对丰度

Fig.5 Relative abundance of fungi in different rhizosphere soil samples at genus level

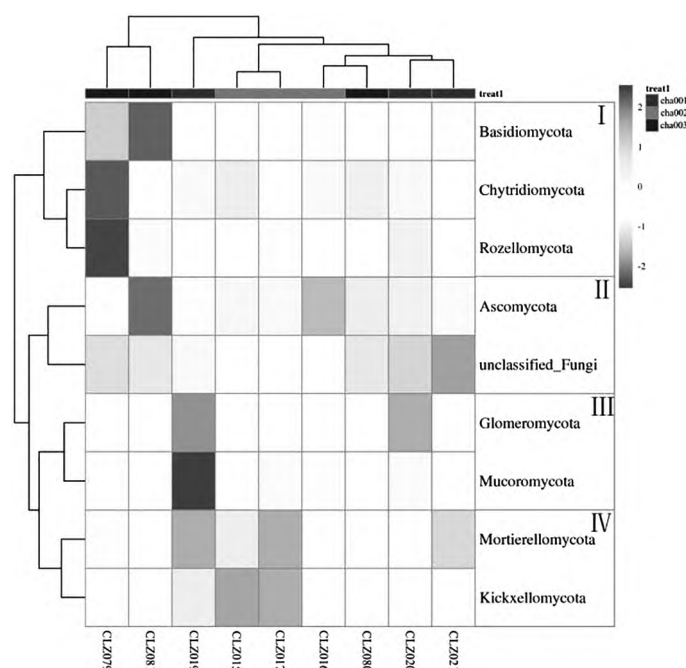


图 6 不同根际土壤样品真菌在门水平上的聚类热图

Fig.6 Cluster heatmap of fungi in different rhizosphere soil samples at phylum level

2.5 Beta 多样性分析

采用 β -多样性分析深入探究不同样本之间群落结构的相似性,主坐标分析^[19](Principal coordinates analysis, PCoA)结果表明(图 7):PC1 的贡献率为 46.72%,PC2 的贡献率为 17.55%,两者共解释了方差变量的 64.27%。cha001、cha002 和 cha003 相互之间的距离较远,说明不同种植茬数天麻根际真菌群落结构均具明显差异;cha002 和 cha003 组表现出明显的组内聚集,表明这两组土壤样品具有极相似的真菌群落结构。UPGMA 分析结果显示,样品越靠近,枝长越短,说明两个样品

的物种组成越相似,如图 8 所示,不同种植茬数天麻根际真菌群落差异与 PCoA 分析结果一致。

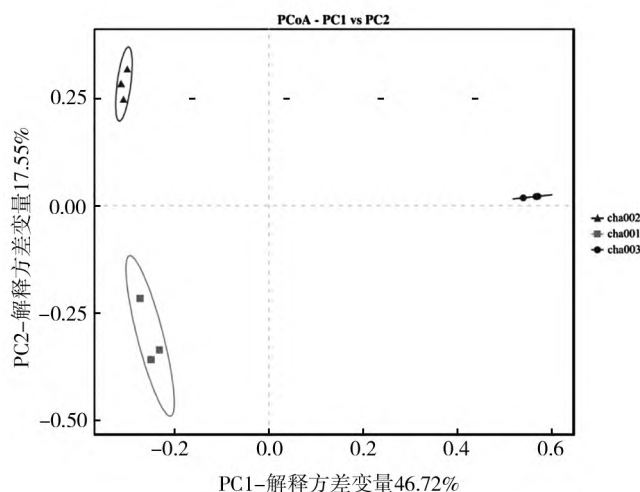


图 7 不同根际土壤样品真菌群落的 PCoA 分析

Fig.7 PCoA analysis of fungal communities in different rhizosphere soil samples

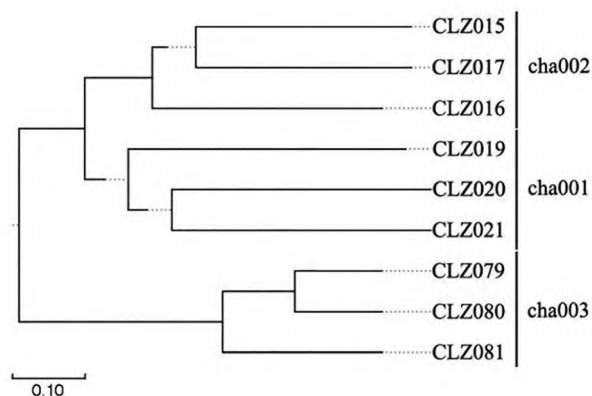


图 8 不同根际土壤样品真菌群落的 UPGMA 分析

Fig.8 UPGMA analysis of fungal communities in different rhizosphere soil samples

3 讨论与结论

土壤养分和微生物群落对作物的生长发育有着重要的影响^[20]。在农业生态系统中,微生物多样性受多种因素影响,如气候条件、地理地势、植物物种、植物轮作、间作与连作等,其中,连作对微生物有显著影响^[21]。土壤中有益微生物减少和病原微生物富集可引发作物各种土传病害,导致土壤微生物群落组成多样性失衡,这是造成连作障碍的根本原因^[22]。本研究采用高通量测序技术开展了未种植天麻与连作天麻根际土壤真菌多样性及群落组成深入分析,结果表明:未种植天麻土壤中的 OTU 数量多于连作天麻根际土壤,新茬天麻根际土壤样本的 Chao1 指数、Ace 指数和 Shannon 指数数值高于未种植天麻土壤样本,但无显著差异,重茬天麻根际土壤样本的 Chao1 指数、Ace 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数数值显著降低,其揭示新茬天麻在一定程度上提高了土壤真菌群落的多样性,但重茬种植会导致土壤中真菌多样性降低。整体门水平剖析表明,天麻连作并未改变根际土壤真菌在门水平的种类组成,改变趋向于门下水平组成,其导致不同真菌类群比例在不同种植茬数中呈现出明显差异。门水平明晰连作天麻与未种植天麻根际土壤真菌界内 Ascomycota 为优势菌,这与前人相关研究结果一致^[23-26],Ascomycota 内部分腐生菌对土壤中不易降解的有机物有分解作用,可驱动养分循环^[27-28],且自然界中多数 Ascomycota 具有很强的无性繁殖能力,可以产生大量分生孢子,其快速增长,在数量上占据明显优势^[29],也是 Ascomycota 在众多植物根际

中所占比例最大的原因。本研究中 Ascomycota 类群真菌在纲、目、属水平上 unclassified 真菌占比较高,且随连作茬数增加,丰度显著降低,但该类群真菌是否对天麻生长发育有直接影响,以及与天麻连作障碍的成因是否有关联还需进行深入研究。门水平上聚类热图结果表明,Basidiomycota、Chytridiomycota 及 Rozellomycota 的丰度均在重茬天麻土壤中显著增加,而 Ascomycota、Glomeromycota、Mucoromycota、Mortierellomycota 及 Kickxellomycota 的丰度在重茬天麻土壤中均显著降低。本研究分析发现,unclassified_fungi 在土壤真菌类群中占比较高,且随天麻连作茬数的增加,其丰度显著降低,其暗示天麻根际与非根际土壤中存在大量未知真菌类群或 NCBI 未报道类群,且其土壤生态学功能和与天麻生长发育之间互动关系有待进一步研究。

本研究基于属水平分析揭示各处理的真菌优势菌属存在较大差异,cha001 处理优势菌属为 unclassified_Ascomycota,cha002 和 cha003 的优势菌属为 *Archaeorhizomyces*。unclassified_Ascomycota 与 unclassified_Fungi 随连作茬数增加丰度显著降低。*Archaeorhizomyces* 是常见的陆生好气真菌^[30],该属一些种能利用葡萄糖或纤维素作为其唯一碳源,其暗示可能参与分解,且不需要通过共生从植物获得碳源,但其生态作用尚不清楚,前人研究^[31]揭示该属真菌既不是病原菌,也不是外生菌根共生体。*Mortierella* 真菌在不同种植茬数天麻土壤中占据一定比例,这与赵文静等^[32-33]研究土壤真菌的多样性及茎瘤芥根肿病不同发病时期根际土壤真菌群落变化特征结果一致。*Mortierella* 真菌是土壤中较为常见的真菌,且对土壤生态和作物健康有益,并能促进植物根系吸收矿质元素、抑制病原菌等^[34-35]。基于门、纲、目、属水平上分析,连作天麻根际土壤中 *Mortierella* 丰度均呈现升高趋势,但随连作种植茬数增加其丰度逐渐降低,因此,其暗示 *Mortierella* 在天麻连作过程中扮演一种益生菌的角色,重茬土壤中其丰度显著降低,可能导致土壤中部分病原菌数量的增加,也是导致天麻连作障碍形成的因素之一。重茬天麻根际土壤中 *Sebacina* 和 *Paxillus* 真菌类群呈现由无到有的趋势,其在未种植天麻和新茬天麻根际土壤中未曾检查到,其揭示天麻连作直接对属水平土壤真菌组成结构造成影响。

本研究利用高通量测序技术分析未种植天麻与连作天麻根际土壤中微生物多样性和群落组成结构差异性,结果揭示连作种植改变了土壤真菌群落结构组成,导致土壤中部分真菌数量下降,致使土壤微生态平衡遭到破坏,进而不利于天麻的健康生长,最终导致连续单一种植天麻出现严重连作障碍。

参考文献:

- [1] 孙海燕,郝丹青,李新生,等.不同品种及产地鲜天麻挥发性物质差异性分析[J].食品与机械,2022,38(4):58-64.
- [2] 孙海燕,刘笑,裴金金,等.鲜天麻内生菌分离鉴定及功能活性探究[J].食品与机械,2022,38(1):38-43.
- [3] 王潇,王正前,张宝花,等.天麻块茎腐烂原因的研究[J].中国食用菌,2022,41(5):71-85.
- [4] 易思荣,肖波,黄娅,等.中药材天麻的现代栽培技术研究进展[J].中国现代中药,2013,15(8):677-679.
- [5] 顾艳,梅瑜,徐世强,等.药用植物连作障碍研究进展[J].广东农业科学,2021,48(12):162-173.
- [6] 胡双,孙文静,高林怡,等.药用植物连作障碍研究进展[J].江苏农业科学,2021,49(16):38-48.
- [7] Maier S, Tamm A, Wu D M, et al. Photoautotrophic organisms control microbial abundance, diversity, and physiology in different types of biological soil crusts[J]. The ISME Journal Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology, 2018, 12(4): 1032-1045.
- [8] 白雪花,陈晓蓉,陈新范,等.连作与非连作天麻根际微生物的多样性研究[J].中国麻业科学,2021,43(5):222-230.
- [9] TENG W, CHEN W. Soil microbiomes—a promising strategy for contaminated soil remediation: a review[J]. Soil Science Society of China, 2019, 29(3): 283-297.
- [10] CHEN Y D, DU J F, Li Y, et al. Evolutions and managements of soil microbial community structure drove by continuous cropping[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 839494.
- [11] 张东艳,赵建,杨水平,等.川明参轮作对烟地土壤微生物群落结构的影响[J].中国中药杂志,2016,41(24):4556-4563.
- [12] 李丽,蒋景龙.基于高通量测序的西洋参根际土壤细菌群落分析[J].中药材,2019,42(1):7-12.
- [13] 付丽娜,汪娅婷,王星,等.三七连作根际微生物多样性研究[J].云南农业大学学报(自然科学),2018,33(2):198-207.
- [14] 刘伟,周冰谦,王晓,等.基于 ITS 序列的丹参连作根际土壤真菌群落组成及多样性分析[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(9):130-135.
- [15] 高嵩,孙文松,温健,等.连作龙胆草根际土壤细菌多样性及功能预测分析[J].沈阳农业大学学报,2021,52(1):102-108.

- [16] 周界, 李明, 徐友阳, 等. 基于高通量测序的穿心莲连作根际土壤细菌群落多样性分析[J]. 华南农业大学学报, 2021, 42(3): 55-63.
- [17] Bokulich N A, Sathish S, Faith J J, et al. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing[J]. Nature Methods, 2012, 10(1): 57-59.
- [18] 高鑫媛, 赵红玲, 白茹玥, 等. 北苍术根腐病植株根际土壤真菌群落多样性分析[J]. 西南农业学报, 2022, 35(4): 812-821.
- [19] Gower J C. Some distance properties of latent root and vector methods used in multivariate analysis[J]. Biometrika, 1966, 53(3-4): 325-338.
- [20] 冯翠, 衣政伟, 钱巍, 等. 不同种植模式下番茄根际土壤养分和真菌多样性分析[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(2): 462-468.
- [21] 王雅琼, 刘吉宏, 李军乔, 等. 连作方式对蕲麻根际土壤真菌群落结构的影响[J]. 生物学杂志, 2021, 38(4): 71-76.
- [22] Pugliese M, Benetti A, Gilardi G, et al. Control of soil-borne diseases by different composts in potted vegetable crops[J]. Communications in Agricultural and Applied Biological Sciences, 2014, 79(2): 37-40.
- [23] 付亚娟, 张江丽, 侯晓强. 大花杓兰根际与非根际土壤真菌多样性的高通量测序分析[J]. 西北农业学报, 2019, 28(2): 253-259.
- [24] 吴秋芳, 侯立江, 何玲敏, 等. 北艾根际与非根际土壤微生物多样性的高通量测序分析[J]. 河南农业大学学报, 2021, 55(5): 928-935.
- [25] 严绍裕, 傅成杰, 余燕华, 等. 不同连栽代数杉木人工林土壤真菌群落结构及多样性分析[J]. 武夷学院学报, 2020, 39(6): 19-24.
- [26] 孙倩, 吴宏亮, 陈阜, 等. 不同轮作模式下作物根际土壤养分及真菌群落组成特征[J]. 环境科学, 2020, 41(10): 4682-4689.
- [27] Beimforde, Feldberg C, Nylander K, et al. Estimating the Phanerozoic history of the Ascomycota lineages: Combining fossil and molecular data[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2014, 78: 386-398.
- [28] Zhao S C, Qiu X J, Xu X P, et al. Change in straw decomposition rate and soil microbial community composition after straw addition in different long-term fertilization soils[J]. Applied Soil Ecology, 2019, 138: 123-133.
- [29] Al-Sadi A M, Al-Mazroui S S, Phillips A J L. Evaluation of culture-based techniques and 454 pyrosequencing for the analysis of fungal diversity in potting media and organic fertilizers[J]. Journal of Applied Microbiology, 2015, 119(2): 500-509.
- [30] Peralta A L, Matthews J W, Flanagan D N, et al. Environmental Factors at dissimilar spatial scales influence plant and microbial communities in restored wetlands[J]. The Journal of the Society of Wetland Scientists, 2012, 32(6): 1125-1134.
- [31] Rosling A, Timling I, Taylor D L. Archaeorhizomycetes: patterns of distribution and abundance in soil[J]. Genomics of Soil and Plant-associated Fungi, 2013, 36: 333-349.
- [32] 赵文静, 周明, 孙海, 等. 额尔古纳国家级自然保护区内 4 种林型土壤真菌的多样性[J]. 东北林业大学学报, 2014, 42(5): 105-109.
- [33] 王殿东, 谭永忠, 田雪亮, 等. 茎瘤芥(榨菜)根肿病不同发病时期根际土壤真菌群落变化特征的高通量分析[J]. 中国蔬菜, 2016, 5: 33-37.
- [34] LI F, CHEN L, Redmile-Gordon M, et al. *Mortierella elongate*'s roles in organic agriculture and crop growth promotion in a mineral soil[J]. Land Degradation and Development, 2018, 29(6): 1642-1651.
- [35] MIAO C P, MI Q L, QIAO X G, et al. Rhizospheric fungi of *Panax notoginseng*: diversity and antagonism to host phytopathogens[J]. Journal of Ginseng Research, 2016, 40(2): 127-134.