

杨鑫, 樊吴静, 李丽淑, 等. 不同栽培模式对冬作马铃薯根际土壤真菌多样性的影响 [J]. 福建农业学报, 2020, 35 (2): 192–199.

YANG X, FAN W J, LI L S, et al. Effect of Cultivation Practices on Fungal Diversity in Rhizosphere Soil at Winter Potato Fields as Determined by High-throughput Sequencing [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, 35 (2): 192–199.

不同栽培模式对冬作马铃薯根际土壤 真菌多样性的影响

杨鑫, 樊吴静, 李丽淑*, 何虎翼, 唐洲萍

(广西壮族自治区农业科学院经济作物研究所, 广西 南宁 530007)

摘要:【目的】从土壤微生态角度研究不同覆盖栽培模式对冬作马铃薯根际土壤真菌多样性的影响, 旨在为广西冬作马铃薯生产探索最佳栽培模式。【方法】采用 Illumina Miseq 高通量测序技术对马铃薯在黑地膜覆盖栽培、稻草覆盖栽培和常规栽培 (对照) 3 种处理条件下的马铃薯全生育期根际土壤真菌群落进行多样性分析。【结果】黑地膜覆盖栽培的根际土壤真菌多样性指数最高, 其中黑地膜覆盖栽培 Simpson 指数与稻草覆盖栽培差异达显著水平 ($P < 0.05$); 不同处理优势菌株种类和相对丰度随着马铃薯生育进程呈现不同变化规律, 子囊菌门均为最优势真菌门, 其中黑地膜覆盖栽培子囊菌门相对丰度最高, 3 种栽培模式的优势菌属分别为头束霉属、田头菇属、被孢霉属; 在马铃薯生长后期, 黑地膜覆盖栽培处理的根际土壤中被孢霉菌、头束霉属、粉红粘帚霉属、枝顶孢属的相对丰度比常规栽培处理的高, 稻草覆盖栽培处理镰孢菌相对丰度较其他两个处理的更低。【结论】黑地膜覆盖栽培处理的根际土壤真菌群落结构和多样性比稻草覆盖栽培和常规栽培处理更加优化和丰富, 有利于土壤中有机质的分解转化和有益微生物的生长繁殖, 可为马铃薯生长发育提供充足的养分条件和稳定的根际微生态环境; 稻草覆盖栽培可以缓解镰孢菌引起的马铃薯土传病害。

关键词: 高通量测序; 根际土壤; 真菌多样性; 黑地膜覆盖; 马铃薯

中图分类号: S532

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2020) 02-0192-08

Effect of Cultivation Practices on Fungal Diversity in Rhizosphere Soil at Winter Potato Fields as Determined by High-throughput Sequencing

YANG Xin, FAN Wu-jing, LI Li-shu*, HE Hu-yi, TANG Zhou-ping

(Commercial Crop Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China)

Abstract: 【Objective】 From the perspective of micro-ecology, effect of varied cultivation practices on fungal diversity in the rhizosphere soil of winter potato fields were studied to improve the cultivation in Guangxi. 【Methods】 The Illumina Miseq high-throughput sequencing was used to compare the fungal diversity in the rhizosphere soils at fields under either black film mulching (BFM), rice straw mulching (RSM) or conventional practice (CK). 【Results】 The fungal diversity index in rhizosphere soil was higher under BFM than the other two. The difference on the Simpson indices of BFM and RSM was significant ($P < 0.05$). The species and relative abundance of dominant strains in the soils differed among the treatments and potato growth period. *Ascomycota* was the most dominant phylum found in the soils under all 3 methods with its relative abundance being the greatest under BFM. The dominant fungi genus under BFM was *Cephalotrichum*, under RSM *Agrocybe*, and under CK *Mortierella*. In late stage of potato growth, BFM resulted in a higher relative abundance of *Mortierella*, *Cephalotrichum*, *Clonostachys*, and *Acremonium* than did CK, but the lowest in the relative abundance of *Fusarium* among all treatments. 【Conclusion】 The application of a black film for mulching on the ground (BFM) at potato growing fields significantly improved the species abundance, structure, and diversity of fungal community in the rhizosphere soil over the other practices. It facilitated the decomposition and transformation of organic matters in soil, the growth and

收稿日期: 2019-10-18 初稿; 2019-12-12 修改稿

作者简介: 杨鑫 (1987-), 女, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 主要从事马铃薯栽培技术相关研究 (E-mail: yangxin122009@163.com)

* 通信作者: 李丽淑 (1979-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 主要从事马铃薯育种与栽培技术研究 (E-mail: shukity@126.com)

基金项目: 国家马铃薯产业技术体系综合试验站项目 (CARS-10-ES15); 广西重点研发技术项目 (桂科 AB16380116)

proliferation of beneficial microorganisms, and the stability of the rhizosphere microbial environment for optimal growth and development of potatoes. On the other hand, the use of rice straws in RSM appeared to mitigate the soil-borne disease caused by *Fusarium* on the potato.

Key words: High-throughput sequencing; rhizosphere soil; fungal diversity; black film mulching; potato

0 引言

【研究意义】真菌是土壤中一类重要的微生物，具有降解有机质、驱动养分循环^[1]、促进植物生长^[2]、参与植物病虫害生物防治^[3]等功能，是评价土壤质量的生物指标。因此，研究根际土壤真菌多样性对马铃薯土传病害防控和土壤微环境改良具有重要意义。【前人研究进展】根际土壤真菌的多样性在维持土壤生态系统平衡和土壤质量方面起到了重要的作用，根际土壤是直接受植物根系及其分泌物影响的土壤区域，是土壤微生物与植物相互作用的重要场所，植物通过根系活动影响根际土壤的养分含量和土壤理化性状，并改变根际微生物群落组成和多样性^[4]。同时，根际土壤微生物多样性和优势菌属的变化，也会在一定程度上反映出土壤肥力和质量的变化趋势^[5]。传统的土壤真菌研究方法，如平板培养法可以得到少部分的可培养真菌，但无法获得其真菌群落结构组成和功能等信息。高通量测序作为第二代测序技术，具有操作简单、成本低、结果可信度高等优势，能够一次并行地对几百万条，甚至上千万条的DNA序列分别进行测序^[6]，有助于准确分析环境中微生物的组成和分布，能够深入了解微生物群落组分在科、属和OTU (Operational Taxonomic Units, 指分类研究的个体，真菌分类中一般是指菌株) 水平上的变化^[7]。徐雪等^[8]采用Illumina Miseq方法，对不同沟垄覆膜种植模式下马铃薯连作的根际土壤真菌多样性进行研究，认为采用全膜垄播种植处理的土壤真菌多样性最高，半膜垄播种植对镰孢菌引起的马铃薯病害有一定的防治作用。张国青等^[9]基于真菌ITS1高通量测序，证明环保肥料增效剂可明显改善土壤真菌的种群结构。姜晓芳^[10]通过高通量测序方法对全生育期马铃薯根际土壤微生物群落多样性进行研究，结果表明：稻草包芯栽培模式可不同程度改变土壤的细菌和真菌群落结构，提高土壤细菌群落多样性，降低土壤真菌多样性，在马铃薯生育关键期可通过提高土壤抑菌性真菌丰度来抑制某些病原菌的增长。【本研究切入点】目前，采用高通量测序分析技术对南方冬作区马铃薯不同覆盖栽培模式下微生物多样性的研究鲜有报道。【拟解决的关键问题】揭示不同覆盖栽培模式下冬作马

铃薯根际土壤真菌物种多样性和群落结构的变化规律，探讨在不同栽培模式下马铃薯全生育期根际土壤真菌多样性的变化规律。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验在广西农业科学院武鸣里建科研基地内进行。该地区海拔117 m，年均降水量1 233.4 mm，年平均气温21.9℃，无霜期360 d。试验地前茬作物为玉米，土壤为砖红壤，0~20 cm土层的基本理化性质：pH值5.1，含速效氮120 mg·kg⁻¹、速效磷39 mg·kg⁻¹、速效钾106 mg·kg⁻¹、有机质30.4 g·kg⁻¹。

1.2 试验设计

供试马铃薯品种为华薯1号，由华中农业大学提供，一级原种。田间试验采用单因素随机区组设计，设3个处理，分别为：处理A，黑地膜覆盖；处理B，稻草覆盖；处理C (CK)，无覆盖的常规栽培，作为对照。各处理3次重复，共9个小区，小区面积24 m² (每小区4行)。马铃薯采用单垄双行种植，株距25 cm。于2018年11月24日种植，2019年3月成熟收获。

1.3 样品采集

分别在马铃薯苗期 (12月24日)、块茎形成期 (1月24日)、块茎膨大期 (2月9日)、淀粉积累期 (2月24日)、块茎成熟期 (3月24日) 采集土样。采用五点取样法在每个小区每隔4株间取样，5个点的土样混合均匀后为该小区的土样。取样时将马铃薯整株挖出，注意不伤到根系，轻轻抖落根系上较大土块，用消毒过的毛刷刷下根系表面 (约2~3 mm) 的土作为根际土壤样品，土样封装到无菌封口袋中，用冰盒带回实验室置于-80℃冰箱保存，用于土壤微生物DNA提取及后续测定。

1.4 根际土壤总DNA提取及测序

将采集的土壤样品送到北京百迈克生物科技有限公司进行Illumina Miseq 2500高通量测序。利用前向引物ITS1F (5'-CTTGTTCATTAGAGGAAGTAA-3') 和反向引物ITS2 (5'-GCTGCGTTCTTCATC GATGC-3') 对真菌ITS1区进行PCR扩增，PCR反应采用20 μL体系。PCR扩增条件为1× (5 min、95℃)；35× (1 min、95℃，1 min、50℃，1 min、72℃)；1×

(7 min、72℃); 4℃ 保存。

1.5 数据分析与处理

根据 PE Reads 之间的 Overlap 关系, 将测序得到的双端序列数据拼接成一条序列 Tags, 同时对 Reads 的质量和拼接效果进行质控过滤。主要步骤: (1) 使用 FLASHv12.7 软件, 通过 Overlap 对每个样品的 Reads 进行拼接, 得到的拼接序列即原始 Tags 数据。(2) 使用 TrimmomaticV0.33 软件, 对拼接得到的 Raw Tags 进行过滤, 得到高质量的 Tags 数据。(3) 使用 UCHIME v4.2 软件, 鉴定并去除嵌合体序列, 得到最终有效数据 (Effective Tags)。信息分析内容: 划分 OTU, 进行多样性及差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 测序数据质量评估及 OTU 聚类分析

对 15 个样品 ITS2 区测序的原始数据进行 PEReads 拼接, Tags 过滤和去嵌合体后, 共得到 1 032 153 条有效序列, 平均每个样品有 68 810 条有效序列, 其中: 处理 A 平均有效序列 73 157 条、处理 B 平均有效序列 73 453 条、处理 C 平均有效序列 73 021 条, 每条序列平均长度 249 bp、有效率达 91.4%, 具体见表 1。

图 1 是相似度为 0.97 条件下各土壤样品的稀释曲线, 利用稀释曲线可了解样本间的物种多样性和丰富程度, 以及样本取样深度情况。图 1 的横坐标为样本中随机抽取的测序条数, 纵坐标为该测序条数聚类得到的 OTU 数量, 每条曲线代表表 1 的 1 个样品, 随着测序条数的加大, 曲线趋于平缓, 表示此环境中的物种并不会随着测序数量的增加而显著增多, 所有样本文库的测序深度指数在 99.92%~99.97%。说明取样合理, 环境中真菌群落结构的置信度高, 能够真实反映土壤样本的真菌群落。

2.2 不同栽培模式冬作马铃薯根际土壤真菌群落多样性分析

通过多样性分析可以反映单个样品物种多样性和物种丰度, 常用衡量指标有: ACE、Chao1、Shannon 和 Simpson, ACE 和 Chao1 为物种丰富度指数, Shannon 和 Simpson 为物种多样性指数。ACE 和 Chao1 指数越大, 说明物种数量越多; Shannon 指数越大, Simpson 指数越小, 说明样品的物种多样性越高^[11-13]。由表 2 看出, 各处理的根际土壤真菌丰富度指数 ACE 排序为: 处理 C>处理 B>处理 A, 丰富度指数 Chao1 排序为: 处理 C>处理 A>处理 B, 3 个处理之间的丰富度指数 Chao1 差异均达显著水平; 多样性指数

表 1 样本测序数据统计结果

Table 1 Sequencing of soil samples

处理 Treatment	有效序列数 Effective Tags	样品长度 AvgLen/bp	有效序列数 百分比 Effective/%	测序深度指数 Coverage/%
A ₁	73 725	249	91.99	99.97
A ₂	73 708	250	92.08	99.95
A ₃	71 870	245	89.82	99.94
A ₄	72 707	240	91.01	99.96
A ₅	73 774	240	92.04	99.93
B ₁	72 440	248	90.87	99.93
B ₂	73 058	251	91.62	99.95
B ₃	74 061	278	92.43	99.94
B ₄	7 862	283	92.0	99.95
B ₅	73 842	248	91.95	99.92
C ₁	73 199	255	91.42	99.96
C ₂	73 334	237	91.27	99.95
C ₃	73 179	240	91.23	99.97
C ₄	73 357	243	91.34	99.95
C ₅	72 037	235	89.98	99.93

注: A₁~A₅依次为黑地膜覆盖栽培的苗期、块茎形成期、块茎膨大期、淀粉积累期、成熟期, B₁~B₅依次为稻草覆盖栽培的苗期、块茎形成期、块茎膨大期、淀粉积累期、成熟期, C₁~C₅依次为露地栽培的苗期、块茎形成期、块茎膨大期、淀粉积累期、成熟期, 下同。

Note: A₁~A₅ is seeding, tuber initiation stage, bulking stage, starch accumulation stage, maturation stage of black film mulching; B₁~B₅ is seeding, tuber initiation stage, bulking stage, starch accumulation stage, maturation stage of rice straw mulching; C₁~C₅ is seeding, tuber initiation stage, bulking stage, starch accumulation stage, maturation stage of conventional culture. the same as below.

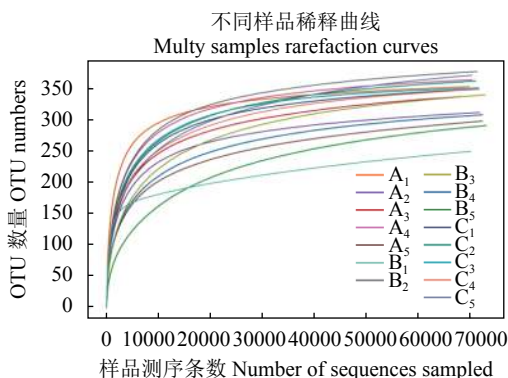


图 1 相似度为 0.97 条件下各土壤样品的稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction cures of soil samples at 3% cut off level

Simpson 排序为: 处理 B>处理 C>处理 A, 多样性指数 Shannon 排序为: 处理 A>处理 C>处理 B, 其中处理 A 与处理 B 的 Simpson 指数差异达显著水平。由此可知, 处理 C 马铃薯根际真菌丰富度最高, 处

表 2 不同栽培模式马铃薯根际土壤真菌群落多样性
Table 2 Diversity of fungal communities in rhizosphere soils on grounds under different cultivation practices

处理 Treatment	数目 OTU	丰富度指数 ACE	丰富度指数 Chao1	多样性指数 Simpson	多样性指数 Shannon
A ₁	352	364.33±5.81 cde	373.00±6.25 bcd	0.06±0.02 c	4.04±0.22 a
A ₂	311	333.17±7.51 fg	346.06±5.51 def	0.11±0.01 bc	3.30±0.32 ab
A ₃	336	362.02±2.08 def	359.43±9.16 cd	0.05±0.03 c	3.70±0.06 ab
A ₄	363	376.37±2.00 abcd	382.89±1.10 abc	0.04±0.02 c	3.94±0.21 ab
A ₅	297	334.80±2.11 efg	346.04±5.75 def	0.08±0.02 c	3.24±0.41 ab
B ₁	249	394.80±3.98 abc	322.67±2.90 f	0.08±0.01 c	3.69±0.12 ab
B ₂	376	397.94±4.85 ab	404.33±7.54 a	0.05±0.01 c	3.80±0.32 ab
B ₃	339	367.40±3.73 bcd	371.34±1.85 bcd	0.21±0.02 ab	2.74±0.18 ab
B ₄	307	328.59±5.02 g	326.69±5.58 ef	0.10±0.02 c	3.14±0.50 ab
B ₅	290	329.51±7.33 g	323.00±5.51 f	0.24±0.03 a	2.34±0.34 b
C ₁	348	361.80±2.32 def	363.12±4.00 cd	0.14±0.02 abc	3.20±0.23 ab
C ₂	361	379.03±5.23 abcd	396.00±4.16 ab	0.06±0.02 c	3.72±0.38 ab
C ₃	350	357.21±2.61 defg	358.14±1.39 cd	0.10±0.01 c	3.51±0.26 ab
C ₄	348	366.62±10.75 cd	372.39±5.48 bcd	0.04±0.01 c	3.94±0.42 ab
C ₅	370	401.10±8.72 a	400.49±6.64 ab	0.14±0.03 abc	3.25±0.28 ab
A (总计/平均)	1659	354.14±2.98 a	361.49±1.09 b	0.07±0.01 b	3.64±0.16 a
B (总计/平均)	1561	363.65±4.85 a	349.61±2.97 c	0.14±0.01 a	3.14±0.08 a
C (总计/平均)	1777	373.15±4.31 a	373.03±0.59 a	0.10±0.01 ab	3.53±0.28 a

注：表中同列数据后的小写字母反映的是不同处理间在0.05水平上的差异显著性。
Note: The lowercase letters after the same column in the table represent difference significant between different treatment at 0.05 level.

理 A 马铃薯根际土壤真菌多样性指数最高。

不同栽培模式处理的马铃薯全生育期根际真菌多样性变化规律不同，处理 A 真菌多样性指数 Shannon 表现为随着生育进程呈先降低后升高再降低的趋势，而处理 B 和处理 C 均表现为呈先升高后降低再升高最后又降低的趋势。处理 A₃ 多样性指数 Simpson 与处理 B₃ 差异达显著水平，说明黑地膜覆盖栽培比稻草覆盖栽培可提高马铃薯块茎膨大期根际土壤的真菌多样性；与对照处理（C₃、C₄）相比，处理 A（A₃、A₄）显著提高了马铃薯块茎膨大期到淀粉积累期真菌群落的物种丰富度指数；与处理 B（B₄、B₅）相比，处理 A（A₄、A₅）提高了马铃薯淀粉积累期到成熟期真菌群落的物种丰富度指数，但差异不显著。

2.3 不同栽培模式冬作马铃薯根际土壤真菌群落结构多样性分析

由图 2 可知，在门分类水平上不同处理间真菌群落结构相似，主要有子囊菌门（Ascomycota）、被孢菌门（Mortierellomycota）、担子菌门（Basidiomycota）、

丝足虫类（Cercozoa），以及其他未分类真菌（Fungi-unclassified），其中：子囊菌门是优势菌门，处理 A 占比最高（76%），处理 C 占比 69%，处理 B 占比 58%；次优势菌门为被孢菌门，处理 C 占比最高

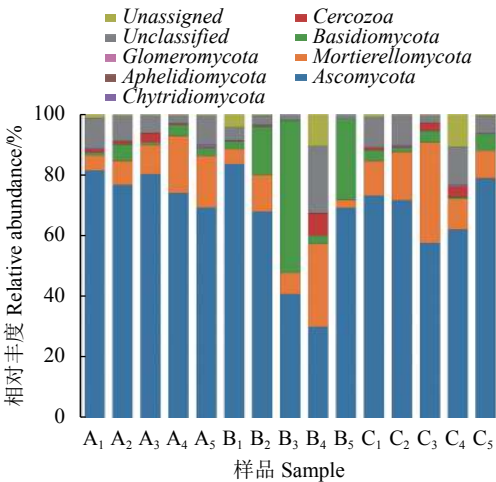


图 2 不同栽培模式根际土壤真菌门水平群落组成及相对丰度
Fig.2 Composition and relative abundance of fungi phyla in rhizosphere soils under different cultivation practices

(16%)，处理 A、处理 B 占比均为 11%。担子菌门比例以处理 B 最高 (20%)，而且处理 A 和处理 C 担子菌门比例均为 3%；处理 B 的丝足虫类相对丰度比其他处理高，属于特异菌门。

通过对马铃薯不同生育期门分类水平真菌群落结构相对丰度的分析结果可知，处理 A 和处理 C 的子囊菌门相对丰度随着马铃薯生育期推进变化不大，处理 B 的子囊菌门变化较明显。处理 A₃ 子囊菌门在块茎膨大期相对丰度分别比处理 B₃、处理 C₃ 提高 95%、38%，处理 A₄ 子囊菌门在淀粉积累期相对丰度比处理 B₄ 提高 147%，处理 A₁ 担子菌门在苗期相对丰度分别比处理 B₁、处理 C₁ 提高 50%、89%，处理 A₅ 担子菌门在块茎成熟期相对丰度分别比处理 B₅、处理 C₅ 提高 67%、40%，处理 A₄ 担子菌门相对丰度在淀粉积累期分别比处理 B₄、处理 C₄ 提高 33%、300%。

由图 3 可知，不同覆盖栽培模式在属分类水平上主要有被孢霉属 *Mortierella*、小不整球壳菌 *Plectosphaerella*、头束霉属 *Cephalotrichum*、假裸囊菌属 *Pseudogymnoascus*、粉红粘帚霉属 *Clonostachys*、田头菇属 *Agrocybe*，所占比例均在 4%~16% 范围。此外，还有镰孢菌属 *Fusarium*、赤霉菌属 *Gibberella*、*Mariannaea*、毛壳菌属 *Chaetomium* 所占比例较低，均在 1%~3% 之间。通过真菌群落丰度比例可知，处理 A 的优势属为：头束霉属（相对丰度 13%），次优势属依次为被孢霉属（相对丰度 12%）、小不整球壳菌（相对丰度 10%）、假裸囊菌属（相对丰度 6%）、粉红粘帚霉属（相对丰度 5%）、镰孢菌属（相对丰度 3%）；处理 B 优势属为：田头菇属（相对丰度 15%），其他菌属依次为小不整球壳菌（相对丰度 12%）、被孢霉属（相对丰度 11%）、头束霉属（相对丰度 6%）、假裸囊菌属（相对丰度 6%）；对照处理 C 优势属为：被孢霉属（相对丰度 16%），次优势属依次为小不整球壳菌（相对丰度 10%）、假裸囊菌属（相对丰度 7%）、头束霉属（相对丰度 4%）。由此可见，不同栽培模式根际土壤真菌群落优势菌株种类和丰度存在较大差异，处理 A 和处理 B 的物种多样性比处理 C（对照）丰富。

通过对马铃薯不同生育期属分类水平真菌群落结构相对丰度的分析结果可知，在块茎成熟期，处理 A₅ 被孢霉属相对丰度比处理 B₅、处理 C₅ 分别提高 467%、89%；在块茎形成期，处理 A₂ 被孢霉属相对丰度分别比处理 B₂、处理 C₂ 降低 33%、50%。在块茎膨大期，处理 A₃ 小不整球壳菌属相对丰度比处理 C₃ 提高 120%；在淀粉积累期，处理 A₄ 小不整球

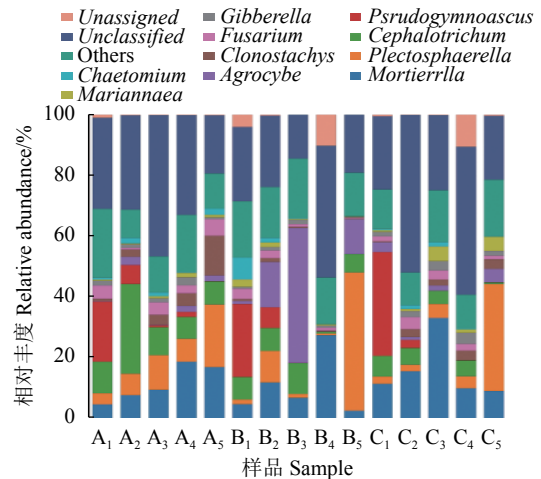


图 3 不同栽培模式根际土壤真菌属水平群落组成及相对丰度
Fig. 3 Composition and relative abundance of fungi genera in rhizosphere soils under different cultivation practices

壳属相对丰度比处理 C₄ 提高 100%；在块茎成熟期，处理 A₅ 小不整球壳菌属相对丰度比处理 C₅ 降低 40%；在块茎形成期，处理 A₂ 头束霉属的相对丰度比处理 B₂、处理 C₂ 分别提高 275%、500%；在块茎膨大期，处理 A₃ 头束霉属的相对丰度比处理 C₃ 提高 125%。

2.4 不同栽培模式冬作马铃薯根际土壤真菌群落热图分析

根据 OTU 丰度进行聚类，将高丰度、低丰度的物种模块聚集，通过颜色变化与相似程度来直观反映不同样品在属水平上群落结构的差异性和相似性，热图能够较为直观反应不同处理样品间真菌群落中物种组成相似性、差异性、物种聚类关系等情况。由图 4 可知：在马铃薯的苗期，处理 A 的优势菌属为 *Edenia*、*Lectera*、*Ilyonectria*，处理 B 优势菌属为 *Ochroconis*、*Chaetomium*、*Wallemia*、*Kurtzmanomyces*；在块茎形成期，处理 A 的优势菌属为 *Parasola*、*Sallozima*、*Tetracladium*，处理 B 的优势菌属为 *Coprinellus*、*Collarina*、*Hydropisonaera*，处理 C 的优势菌属为 *Corynascella*、*Arthrographis*；在块茎膨大期，处理 A 的优势菌属为 *Acremonium*，处理 B 的优势菌属为 *Agrocybe*、*Psathyrella*，处理 C 的优势菌属为 *Tetragoniomyces*、*Hirsutella*；在淀粉积累期，处理 A 的优势菌属为 *Fusicolla*、*Amaurodon*、*Latorua*，处理 B 的优势菌属为 *Polyschema*、*Coprinopsis*、*Pseudopithomyces*、*Coniophora*，处理 C 优势菌属为 *Microdochium*、*Zopllella*、*Campylocarpon*；在成熟期，处理 A 的优势菌属为 *Clonostachys*，处理 B 的优势菌属为 *Panaeolus*、*Immersiella*，处理 C 的优势菌属为 *Trichoderma*、*Sparassis*、*Volutella*。

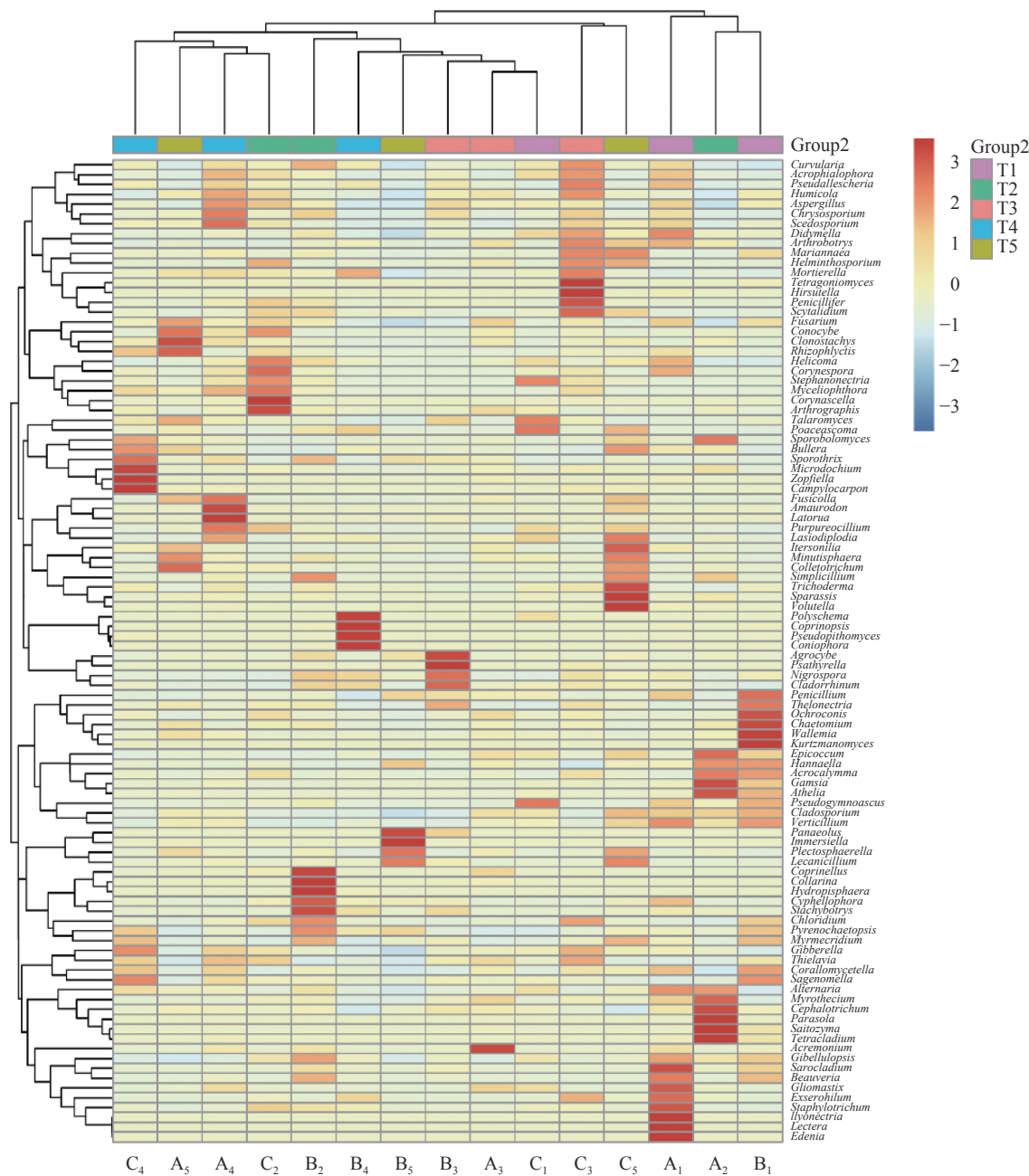


图 4 不同栽培模式根际土壤真菌群落结构属水平的热图聚类

Fig. 4 Genus-level heatmap of fungal community structure in rhizosphere soils under different cultivation practices

热图聚类结果（图 4）中，颜色代表物种丰度，纵向聚类表示不同物种在各处理间丰度的相似情况，两物种间距离越近，枝长越短，说明这两个物种在各样品间的丰度越相似；横向聚类表示不同处理间物种丰度的相似情况，与纵向聚类一样，两样品距离越近，枝长越短，说明这两个样品的各物种丰度越相似。由聚类树可知，在马铃薯块茎形成期、成熟期，处理 A 与处理 C 的物种丰度存在明显差异；在块茎膨大期，处理 A 与处理 B 的物种丰度比较相似；在块茎形成期，处理 B 和处理 C 物种丰度较为相似。

3 讨论与结论

3.1 不同栽培模式对冬作马铃薯根际土壤真菌多样性的影响

土壤真菌数量巨大、种类繁多，与宿主植物相互作用，在有机质分解、养分循环及交换中发挥着基础作用，因此土壤真菌多样性可作为评价土壤生态系统等功能变化的重要指标^[12]。ACE 和 Chao1 指数侧重于体现群落丰富度，而 Shannon 和 Simpson 多样性指数则兼顾丰富度和均匀度，更能体现真菌群落的多样性，在相同物种丰度的情况下，群落中各物种具有越大的均匀度，群落就具有越大的多样

性^[13]。本研究结果表明, 处理 A 物种多样性指数最高, 黑地膜覆盖栽培处理 Simpson 指数与稻草覆盖栽培差异达显著水平, 说明黑地膜覆盖栽培可提高土壤真菌群落多样性。前人的研究结果也证明, 黑地膜全膜覆盖栽培可增加土壤贮水量, 改善土壤理化性状, 有利于提高土壤微生物多样性^[8, 14]。

不同栽培模式可影响到马铃薯根际真菌多样性随生育进程的变化规律。本研究结果表明, 处理 A 的真菌多样性指数 (Shannon) 表现为先降低后升高再降低的趋势, 而处理 B 和处理 C 的变化趋势都表现为先升高后降低再升高最后降低。马铃薯在块茎形成期后, 从以地上部茎叶生长为中心逐渐转向地上茎叶生长与地下块茎形成同时进行, 这是决定单株结薯数量的关键时期, 此时是马铃薯需水、需肥量最大的时期^[15]。此期马铃薯根系吸收养分的能力增强, 与微生物竞争养分的结果使得微生物的同化作用减弱, 导致微生物多样性降低^[16]。处理 A 多样性指数最低值出现时间比处理 B 和处理 C 提前, 这可能与用黑地膜覆盖栽培的土壤温度和含水量均比用稻草覆盖和常规栽培的更高有关^[17]。前人研究结果也表明, 黑地膜覆盖栽培可促进马铃薯物候期提前, 明显加快马铃薯的生长发育进程^[18]。本研究结果表明的在成熟期根际真菌多样性指标均降低, 与前人研究结果并不一致^[19], 具体原因有待于进一步研究。

3.2 不同栽培模式对冬作马铃薯根际土壤真菌群落结构和功能的影响

土壤真菌多样性及其群落结构组成对维护生态系统平衡起着重要的作用。子囊菌门是常见的土壤腐生菌, 是土壤中重要的分解者, 可以分解难降解的有机质, 在养分循环方面起着重要作用^[20], 头束霉属存在于有机质含量丰富的土壤中。被孢霉属是土壤习居菌, 它可以通过合成并分泌草酸来溶解多种类型土壤中的矿物磷, 释放到土壤中, 并具有较强分解纤维素的能力, 能有效促进土壤碳循环, 保持土壤的健康状况^[21]。本研究结果表明, 不同栽培模式中子囊菌门均为最优势真菌门, 其中处理 A 的子囊菌门相对丰度比处理 B 和处理 C 更高, 处理 A 比处理 C 提高了块茎膨大期到成熟期的头束霉属的丰度, 说明黑地膜覆盖栽培比其他栽培方式更有利于土壤有机质分解转化^[22]; 与处理 C 相比, 处理 A 苗期和块茎膨大期的被孢霉属丰度较低, 但从块茎淀粉积累期到成熟期, 处理 A 被孢霉属丰度逐渐提高, 说明黑地膜覆盖栽培通过提高薯块生长后期解磷真菌的丰度来提高该时期土壤有效磷的含量,

可有效延缓土壤养分的释放, 有利于保证马铃薯后期地下部分生长对养分的需求。处理 A 与处理 B、处理 C 相比, 均提高了粉红粘帚霉属丰度, 粉红粘帚霉属是一种重寄生菌, 具有繁殖速度快、寄主范围广、寄生能力强、拮抗机制多样等优点, 是目前已发现的拮抗微生物中极具潜力的生防因子之一^[23]。由物种丰度热图可知, 块茎膨大期处理 A 的优势菌属为枝顶孢属, 枝顶孢属是一类能够分泌某些酶或者其他物质来抑制细菌和真菌生长繁殖的抑菌微生物, 这与前人的研究结果中黑地膜覆盖栽培可以提高块茎形成关键时期土壤抑菌属丰度^[24]吻合。镰孢菌属是常见的土壤习居菌, 可分解纤维素、降解有机质, 同时也是多种植物病原菌之一, 可引起马铃薯枯萎病和干腐病^[25]。本研究表明, 随着马铃薯生育进程, 处理 B 镰孢菌属相对丰度逐渐降低, 到成熟期土壤中已检测不到镰孢菌属, 说明稻草覆盖栽培在一定程度上抑制了镰孢菌的繁殖, 可以缓解镰孢菌引起的马铃薯土传病害, 这与前人的研究结果相似^[10]。

综上所述, 黑地膜覆盖栽培处理的根际土壤真菌多样性比稻草覆盖栽培和常规栽培处理的丰富, 黑地膜覆盖栽培主要通过提高马铃薯块茎生长后期土壤修复真菌 (被孢霉属、头束霉属), 改善土壤真菌群落结构, 有利于土壤有机质降解, 提高土壤肥力, 为马铃薯生长提供更充足的养分条件; 同时通过增加抑菌属 (粉红粘帚霉属、枝顶孢属) 的丰度, 抑制土壤中病原菌繁殖, 有利于有益微生物生长, 降低马铃薯发病风险。

参考文献:

- [1] 张晶, 张惠文, 李新宇, 等. 土壤真菌多样性及分子生态学研究进展 [J]. *应用生态学报*, 2004, 15 (10): 1958-1962.
ZHANG J, ZHANG H W, LI X Y, et al. Research advances in soil fungal diversity and molecular ecology [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2004, 15 (10): 1958-1962. (in Chinese)
- [2] 李发虎, 李明, 刘金泉, 等. 生物炭对温室黄瓜根际土壤真菌丰度和根系生长的影响 [J]. *农业机械学报*, 2017, 48 (4): 265-270, 341.
LI F H, LI M, LIU J Q, et al. Effect of biochar on fungal abundance of rhizosphere soil and cucumber root growth in greenhouse [J]. *Transactions of the Chinese Society for Agricultural Machinery*, 2017, 48 (4): 265-270, 341. (in Chinese)
- [3] VAN ELSAS J D, GARBEVA P, SALLES J. Effects of agronomical measures on the microbial diversity of soils as related to the suppression of soil-borne plant pathogens [J]. *Biodegradation*, 2002, 13 (1): 29-40.
- [4] KNELMAN J E, LEGG T M, O' NEILL S P, et al. Bacterial community structure and function change in association with colonizer plants during early primary succession in a glacier forefield [J]. *Soil*

- Biology and Biochemistry*, 2012, 46: 172–180.
- [5] Lynch JM. *The Rhizosphere*[M]. Chichester: John Wiley and Sons, Ltd. 1990: 458
- [6] 周登博, 井涛, 陈宇丰, 等. 土壤微生物多样性研究方法及其在土传病害防治中的应用展望 [J]. 热带农业科学, 2018, 38 (2): 79–86, 112.
- ZHOU D B, JING T, CHEN Y F, et al. Analysis methods for microbial population diversity in soils and their application prospect in the control of soil-borne diseases [J]. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 2018, 38 (2): 79–86, 112. (in Chinese)
- [7] 秦楠, 栗东芳, 杨瑞霞. 高通量测序技术及其在微生物学研究中的应用 [J]. 微生物学报, 2011, 51 (4): 445–457.
- QIN N, LI D F, YANG R F. Next-generation sequencing technologies and the application in microbiology: a review [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2011, 51 (4): 445–457. (in Chinese)
- [8] 徐雪雪, 王东, 秦舒浩, 等. 沟垄覆膜连作马铃薯根际土壤真菌多样性分析 [J]. 水土保持学报, 2015, 29 (6): 301–306, 310.
- XU X X, WANG D, QIN S H, et al. Diversity analysis of fungal communities in potato continuous cropping soil under different patterns of ridge-furrow film mulching [J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2015, 29 (6): 301–306, 310. (in Chinese)
- [9] 张国青, 赵盼, 董彦旭, 等. 高通量测序分析环保肥料增效剂对马铃薯根际土壤真菌多样性变化影响 [J]. 微生物学通报, 2017, 44 (11): 2644–2651.
- ZHANG G Q, ZHAO P, DONG Y X, et al. Effects of a novel fertilizer synergist on fungi diversity from potato rhizosphere soil [J]. *Microbiology China*, 2017, 44 (11): 2644–2651. (in Chinese)
- [10] 姜晓芳. 马铃薯稻草芯栽培根际土壤微生物多样性分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2016.
- JIANG X F. Study on microbial diversity in rhizosphere soil of potato by straw-mulching in sandwich model[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2016. (in Chinese)
- [11] GRICE E A, KONG H H, CONLAN S, et al. Topographical and temporal diversity of the human skin microbiome [J]. *Science*, 2009, 324 (5931): 1190–1192.
- [12] 黄修梅, 李明, 戎素萍, 等. 生物炭添加对马铃薯根际土壤真菌多样性和产量的影响 [J]. 中国蔬菜, 2019 (1): 51–56.
- HUANG X M, LI M, RONG S P, et al. Effects of biochar addition on fungi diversity of potato rhizosphere soil and yield of potato [J]. *China Vegetables*, 2019 (1): 51–56. (in Chinese)
- [13] 张瑞平, 苟小梅, 张毅, 等. 生物有机肥与化肥配施对植烟土壤养分和真菌群落特征的影响 [J]. 西北农林科技大学学报, 2020, 48 (8): 85–92.
- ZHANG R P, GOU X M, ZHANG Y, et al. Effects of bio-organic fertilizer combined with chemical fertilizer on nutrients and fungal community characteristics in tobacco-growing soil [J]. *Journal of Northwest Agriculture & Forestry university(Natural Science Edition)*, 2020, 48 (8): 85–92. (in Chinese)
- [14] 王静, 张天佑, 杨娟娟, 等. 旱地不同膜覆盖种植模式对土壤微生物数量的影响 [J]. 生态与农村环境学报, 2011, 27 (6): 55–58.
- WANG J, ZHANG T Y, YANG J J, et al. Effects of plastic film mulching on population of soil microbes in dryland [J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2011, 27 (6): 55–58. (in Chinese)
- [15] 于振文. 作物栽培学各论[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003.
- [16] LIESACK W, SCHNELL S, REVSBECH N P. Microbiology of flooded rice paddies [J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, 24 (5): 625–645.
- [17] 李丽淑, 樊吴静, 杨鑫, 等. 不同栽培方式、播种深度对冬种马铃薯土壤水热及产量的影响 [J]. 西南农业学报, 2018, 31 (4): 673–679.
- LI L S, FAN W J, YANG X, et al. Effects of different cultivation methods and sowing depth on soil water, temperature and yield of winter potato [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2018, 31 (4): 673–679. (in Chinese)
- [18] 郑有才, 杨祁峰. 不同覆盖模式对旱作马铃薯生育期及土壤含水量的影响 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36 (20): 8462–8464.
- ZHEN Y C, Yang Q F. Influence of different mulching models on the growth and development of potato and soil water content in dry land [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36 (20): 8462–8464. (in Chinese)
- [19] 曾路生, 廖敏, 黄昌勇, 等. 水稻不同生育期的土壤微生物量和酶活性的变化 [J]. 中国水稻科学, 2005, 19 (5): 441–446.
- ZENG L S, LIAO M, HUANG C Y, et al. Variation of soil microbial biomass and enzyme activities at different developmental stages in rice [J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2005, 19 (5): 441–446. (in Chinese)
- [20] BEIMFORDE C, FELDBERG K, NYLINDER S, et al. Estimating the Phanerozoic history of the Ascomycota lineages: Combining fossil and molecular data [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2014, 78: 386–398.
- [21] 牛秀群, 李金花, 张俊莲, 等. 甘肃省干旱灌区连作马铃薯根际土壤中镰刀菌的变化 [J]. 草业学报, 2011, 20 (4): 236–243.
- NIU X Q, LI J H, ZHANG J L, et al. Changes of Fusarium in rhizosphere soil under potato continuous cropping systems in arid-irrigated area of Gansu Province [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2011, 20 (4): 236–243. (in Chinese)
- [22] 杨艳华. 土壤解磷微生物的分离鉴定[D]. 郑州: 河南农业大学, 2014.
- YANG Y H. Isolation and identification of phosphate-solubilizing microorganism from soil[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [23] 周翠. 粉红粘帚霉的形态特征及分子生物学鉴定 [J]. 山东林业科技, 2017, 47 (4): 61–62, 73.
- ZHOU C. Morphological and molecular identification of *Gliocladium roseum* [J]. *Journal of Shandong Forestry Science and Technology*, 2017, 47 (4): 61–62, 73. (in Chinese)
- [24] 耿月华. 中国土壤暗色丝孢菌五个疑属的形态学和分子系统学分析[D]. 泰安: 山东农业大学, 2011.
- GENG Y H. Morphological and molecular phylogenetic analysis of five genera of soil dematiaceous hyphomycetes in China[D]. Taian, China: Shandong Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [25] 安小敏, 胡俊, 武建华, 等. 马铃薯枯萎病病原菌研究概述 [J]. 中国马铃薯, 2017, 31 (5): 302–306.
- AN X M, HU J, WU J H, et al. Overview of pathogen causing potato *Fusarium wilt* [J]. *Chinese Potato Journal*, 2017, 31 (5): 302–306. (in Chinese)